

論文 / 著書情報
Article / Book Information

題目(和文)	ケミカルスペースの拡充を指向した三次元骨格分子の創出とin silico創薬への展開
Title(English)	
著者(和文)	梅寺倅平
Author(English)	Kohei Umedera
出典(和文)	学位:博士(理学), 学位授与機関:東京工業大学, 報告番号:甲第12672号, 授与年月日:2024年3月26日, 学位の種別:課程博士, 審査員:中村 浩之,岡田 智,田中 克典,金原 数,山口 雅浩,門之園 哲哉
Citation(English)	Degree:Doctor (Science), Conferring organization: Tokyo Institute of Technology, Report number:甲第12672号, Conferred date:2024/3/26, Degree Type:Course doctor, Examiner:,,,,,
学位種別(和文)	博士論文
Type(English)	Doctoral Thesis

令和五年度 学位論文

ケミカルスペースの拡充を指向した
三次元骨格分子の創出と *in silico* 創薬への展開



東京工業大学 生命理工学院 生命理工学系
ライフエンジニアリングコース
梅寺 倅平

目次

Abbreviations

第一章「序論」

1-1	はじめに	2
1-2	医薬品開発における標的分子の偏り	2
1-3	生体高分子の作用面の特徴	3
1-3-1	酵素や受容体の特徴	3
1-3-2	PPI 界面の特徴	4
1-3-3	RNA の特徴	5
1-3-4	創薬標的の作用面の特徴の違いのまとめ	5
1-4	医薬品開発における化合物の特徴の偏り	5
1-4-1	母骨格構造の偏り	6
1-4-2	分子形状の偏り	6
1-5	医薬品開発における複雑な構造をもつ分子の有用性	7
1-5-1	複雑な骨格によるタンパク質表面への結合	7
1-5-2	三次元性の高い骨格による医薬品らしさの向上	8
1-5-3	架橋構造の導入による結合力の向上	9
1-6	三次元性の高い骨格の合成戦略	10
1-6-1	多様性指向型合成	10
1-6-2	天然物の三次元骨格を基軸としたライブラリー構築	12
1-6-3	Pseudo-natural product	13
1-7	PPI阻害剤の開発	14
1-7-1	ペプチドを基盤としたPPI阻害剤の開発	14
1-7-2	スクリーニングを起点とした低分子 PPI 阻害剤の開発	15
1-7-3	ペプチド模倣分子による低分子 PPI 阻害剤の開発	16
1-8	<i>In silico</i> 技術によるケミカルスペースの探索	18
1-9	本論文の概要	20
1-10	References	21

第二章「三環性籠型骨格の開発とペプチド模倣分子への応用」

2-1	はじめに	26
2-2	架橋三環性骨格の合成計画	26
2-3	アザトリシクロドデセンの合成検討	27
2-4	金触媒を用いた Conia-ene 反応の位置選択性向上の検討	28
2-4-1	配位子と銀塩の検討	28

2-4-2	アルキン上への置換基導入による金触媒反応の位置選択性向上の検討	29
2-5	ジアザトリシクロドデセン骨格への展開	31
2-5-1	ジアザトリシクロドデセン骨格の合成計画	31
2-5-2	ジアザトリシクロドデセン骨格の合成検討	31
2-6	ジアザトリシクロドデセン骨格を母骨格としたペプチド模倣分子の設計	32
2-6-1	HIF-1 α 模倣分子の設計	33
2-6-2	狂犬病ウイルスの N タンパク質模倣分子の設計	34
2-7	ペプチド模倣分子の合成	35
2-7-1	ペプチド模倣分子の合成戦略	35
2-7-2	ペプチド模倣分子の合成検討	36
2-8	極性アミノ酸残基模倣を指向した置換基の導入	37
2-8-1	置換基 R ³ の多様化	37
2-8-2	置換基 R ² の多様化	39
2-8-3	置換基 R ¹ の多様化	40
2-9	ペプチド模倣分子ライブラリーの三次元性の評価	41
2-10	ペプチド模倣分子の生物活性評価	42
2-10-1	細胞増殖抑制活性評価	42
2-10-2	HIF 転写活性の阻害活性評価	44
2-10-3	抗狂犬病ウイルス活性の評価	45
2-11	まとめ	46
2-12	References	47
	Experimental section	48

第三章「不斉四環性籠型骨格の構築」

3-1	はじめに	168
3-2	Diels-Alder 反応による籠型骨格の構築と合成標的化合物の設定	168
3-3	四環性籠型骨格の合成計画	169
3-4	四環性籠型骨格の合成検討	170
3-5	四環性籠型骨格への置換基導入の検討	172
3-5-1	ケトン 4a への置換基導入検討	172
3-5-2	ケトン 4b への置換基導入検討	174
3-6	四環性籠型骨格のさらなる構造変換	176
3-7	三置換体の HeLa 細胞増殖抑制活性の評価	178
3-8	四環性籠型骨格の三次元性の評価	181
3-9	まとめ	181
3-10	References	182
	Experimental section	183

第四章「二環性籠型骨格の開発と CD28 ペプチド模倣分子への応用」

4-1	はじめに	300
4-2	PI3K/CD28 相互作用	301
4-3	PI3K/CD28 相互作用阻害剤の分子設計	301
4-4	CD28 ペプチド模倣分子の合成計画	303
4-5	CD28 ペプチド模倣分子の合成検討	304
4-6	籠型オキソピペラジンの PMI 解析	307
4-7	まとめ	306
4-8	References	307
	Experimental section	308

第五章「籠型骨格生成器 “DeepCubist” の開発」

5-1	はじめに	352
5-2	籠型骨格生成器 “DeepCubist” の開発戦略	353
5-3	籠型骨格データベースの作成	354
5-4	籠型骨格データベースの特徴	355
5-5	深層学習によるヘテロ原子と不飽和結合の導入	356
5-5-1	学習データセットの作成	356
5-5-2	生成 AI モデルの比較	357
5-5-3	Transformer を用いた学習の検討	357
5-5-4	学習データの拡張	358
5-5-5	拡張した学習データセットを用いた検討	359
5-5-6	籠型骨格データベースへのヘテロ原子・不飽和結合モデルの適用	360
5-6	DeepCubist によるペプチド模倣分子の設計	360
5-6-1	ターン構造模倣分子の設計	361
5-6-2	ヘリックス構造模倣分子の設計	362
5-6-3	ループ構造模倣分子の設計	363
5-7	まとめ	364
5-8	References	365
	Experimental section	366

第六章「構造活性相関 (SAR) 転位の予測による側鎖構造最適化の実証」	
6-1 はじめに	370
6-2 MMP-1 阻害剤への SAR 転位の予測	371
6-3 新規 MMP-1 阻害剤候補化合物の合成と阻害活性評価	372
6-4 新規 MMP-1 阻害剤の結合様式のモデリング	374
6-5 まとめ	376
6-6 References	377
Experimental section	378
第七章「結論」	
7-1 本論文のまとめ	394

謝辞

Abbreviations

Å	ångström	FKBP51	FK506-binding protein 51
α	specific rotatory power	Fsp ³	fraction sp ³
Ac	acetyl	Gln	glutamine
Ad	1-adamantyl	Glu	glutamic acid
AI	artificial intelligence	GLUT	glucose transporter
Arg	arginine	GPC	gel permeation chromatography
Asp	asparagine	GPCR	G protein-coupled receptor
ATP	adenosine triphosphate	h	hours
Bn	benzyl	HIF	hypoxia inducible factor
Boc	<i>t</i> -butoxycarbonyl group	His	histidine
br	broad	HOBt	1-hydroxybenzotriazole
Bu	butyl	HPV	human papillomavirus
c	centi-, concentration	HTS	high throughput screening
°C	degrees Celsius	Hz	hertz
cal	calorie	<i>i</i>	iso
calcd	calculated	IC ₅₀	half maximal inhibitory concentration
CaM	calmodulin	IL-2	interleukin-2
cat.	catalyst	IL-2R α	interleukin-2 receptor subunit alpha
Cbz	benzyloxycarbonyl	IR	infrared spectroscopy
Cy	cyclohexyl	<i>J</i>	coupling constant
d	doublet	Keap1	Kelch-like ECH-associated protein 1
δ	chemical shift in parts per million	K _i	inhibitory constant
DCM	dichloromethane	K _d	dissociation constant
DEAD	diethyl azodicarboxylate	KSP	kinesin spindle protein
DMAP	4-(dimethylamino)pyridine	L	Liter(s), leucine
DMF	<i>N,N</i> -dimethylformamide	LBDD	ligand-based drug design
DMP	Dess-Martin periodinane	LDA	lithium diisopropylamide
DNA	deoxyribonucleic acid	Leu	leucine
DNP	Dictionary of Natural Products	LSTM	Long Short Term Memory
DOS	diversity-oriented synthesis	Lys	lysine
EDCI	1-(3-dimethylaminopropyl)-3-ethylcarbodiimide	M	moles per liter, mega
Et	ethyl	m	milli, multiplet
equiv.	equivalent	μ	micro
F	phenylalanine	MD	molecular dynamics
FBDD	fragment-based drug design	Me	methyl
FDA	Food and Drug Administration	min	minute(s)
mol	mole(s)	MMP	matrix metalloprotease

Mp	melting point	SMILES	simplified molecular input line entry system
MS	mass spectrometry	SRC-1	steroid receptor co-activating factor-1
Ms	mesyl	SSD	sum of squared difference
MTT	3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyl-2- <i>H</i> -tetrazol-3-ium bromide	<i>t</i>	tertiary
Mw	molecular weight	t	triplet
n	nano	TBAF	tetrabutylammonium fluoride
N2a	Neuro 2a	TBS	<i>t</i> -butyldimethylsilyl
NMI	1-methylimidazole	TBSOTf	<i>t</i> -butyldimethylsilyl trifluoromethanesulfonate
NMM	<i>N</i> -methylmorpholine	TCFH	chloro- <i>N,N,N',N'</i> -tetramethylformamidium hexafluorophosphate
NMR	nuclear magnetic resonance	TCR	T cell receptor
NNMT	nicotinamide <i>N</i> -methyltransferase	Tf	trifluoromethylsulfonyl
npr	normalized PMI ratio	TFA	trifluoroacetic acid
Nrf2	NF-E2-related factor 2	THF	tetrahydrofuran
Ns	nosyl	TLC	thin layer chromatography
Phe	phenylalanine	TMS	trimethylsilyl
<i>p</i>	para	TOF	time-of-flight
P	preparative	Trp	tryptophan
PBS	phosphate buffered salts	Trt	triphenylmethyl
PDB	Protein Data Bank	TS	transition state
PDE	phosphodiesterase	Tyr	tyrosine
Ph	phenyl	UV	ultraviolet
PG	protecting group(s)	Val	valine
PI3K	phosphatidylinositol-3 kinase	Y	tyrosine
PMB	<i>p</i> -methoxybenzyl		
PMI	principle moment of inertia		
PPAR- γ	peroxisome proliferator-activated receptor- γ		
PPI	protein-protein interaction		
ppm	parts per million		
Pr	propyl		
%	percent		
q	quartet		
RNA	ribonucleic Acid		
rt	room temperature		
s	singlet		
SAM	<i>S</i> -adenosyl- <i>L</i> -methionine		
SAR	structure-activity relationship		
SBDD	structure-based drug design		
Ser	serine		

発表論文

(第二章)

Umedera, K.; Morita, T.; Yoshimori, A.; Yamada, K.; Katoh, A.; Kouji, H.; Nakamura, H. Synthesis of Three-Dimensional (Di)Azatricyclododecene Scaffold and Its Application to Peptidomimetics. *Chem. Eur. J.* **2021**, *27*, 11888–11894.

(第三章)

Umedera, K.; Morita, T.; Nakamura, H. Asymmetric construction of densely functionalized three-dimensional aza-tetracyclic scaffolds for drug discovery. *Chem. Commun.* **2022**, *58*, 13592–13595.

(第五章)

Umedera, K.; Yoshimori, A.; Chen, H.; Kouji, H.; Nakamura, H.; Bajorath, J. DeepCubist: Molecular Generator for Designing Peptidomimetics Based on Complex three-dimensional scaffolds. *J. Comput. Aided Mol. Des.* **2023**, *37*, 107–115.

(第六章)

Umedera, K.; Yoshimori, A.; Bajorath, J.; Nakamura, H. Design of MMP-1 Inhibitors via SAR Transfer and experimental validation. *Sci. Rep.* **2022**, *12*, 20915.

国内学会における発表

1. 含窒素三環性骨格を基盤とした HIF 転写活性阻害剤の開発, ○梅寺倭平, 中村浩之, 第 25 回がん分子標的治療学会学術大会 (オンライン) ポスター発表, 2021 年 5 月 26 日–28 日.
2. 三次元骨格ジアザトリシクロドデセンの開発とペプチド模倣分子への応用, ○梅寺倭平, 盛田大輝, 吉森篤史, 山田健太郎, 小路弘之, 中村浩之, 第 11 回 CSJ 化学フェスタ 2021 (オンライン) ポスター発表, 2021 年 10 月 19 日, 優秀ポスター発表賞受賞.
3. Development of Peptidomimetics based on three dimensional scaffolds, ○Kohei Umedera, Taiki Morita, Atsushi Yoshimori, Kentaro Yamada, Hiroyuki Kouji, Hiroyuki Nakamura, 第 13 回大津会議, 口頭発表, 2022 年 10 月 13 日.
4. SAR 転移による MMP-1 阻害剤の設計と実験的実証, ○梅寺倭平, 吉森篤史, Jürgen Bajorath, 中村浩之, 日本薬学会第 143 年会, 口頭発表 (北海道大学, 札幌), 2023 年 3 月 25 日–28 日, 学生優秀発表賞受賞.
5. SAR 転移に基づく MMP-1 阻害剤の設計と実証, ○梅寺倭平, 中村浩之, 第 27 回日本がん分子標的治療学会学術集会, ポスター発表 (佐賀市文化会館, 佐賀), 2023 年 6 月 22 日.
6. ペプチド模倣分子への応用を目指した籠型骨格の開発, ○梅寺倭平, 盛田大輝, 吉森篤史, Hengwei Chen, 小路弘行, Jürgen Bajorath, 中村浩之, 第 122 回有機合成シンポジウム, 口頭発表 (東工大蔵前会館, 東京), 2023 年 7 月 19 日.

国際学会における発表

1. Synthesis of Three-Dimensional Diazatricyclododecene Scaffold and Design of Peptidomimetics, ○Kohei Umedera, Taiki Morita, Atsushi Yoshimori, Kentaro Yamada, Akira Katoh, Hiroyuki Kouji, Hiroyuki Nakamura, The 13th AFMC International Medicinal Chemistry Symposium (AIMECS-2021) (online) Poster, November 29- December 2, 2021.
2. Synthesis of sp^3 -carbon rich azatricyclododecene framework via gold-catalyzed Conia-ene reaction ○Kohei Umedera, Taiki Morita, Hiroyuki Nakamura, Pacificchem (online, Honolulu Hawaii USA) Poster, December 16-21, 2021.
3. DeepCubist: Molecular generator for designing peptidomimetics, ○K. Umedera, A. Yoshimori, H. Chen, H. Kouji, J. Bajorath, H. Nakamura, The 28th International SPACC Symposium (online), oral, December 20th, 2023.

第一章

序論

1-1 はじめに

低分子医薬品の開発は、標的分子に一定以上の結合力をもつ“ヒット化合物”を見いだすことから始まる。酵素や受容体を標的とした低分子医薬品の開発においては、数万から数十万の化合物をスクリーニングするハイスループットスクリーニング (HTS) を実施することで、ヒット化合物が数多く見いだされてきた。しかしながら、タンパク質-タンパク質間相互作用 (PPI) をはじめとした、明確な基質結合部位をもたない標的に対するヒット化合物の取得は困難とされている¹。

この一因として、HTS に用いる化合物ライブラリーの構造的多様性の欠如が指摘されている。鈴木-宮浦カップリングや Buchwald-Hartwig カップリングに代表されるクロスカップリング反応の登場は、 sp^2 炭素上での結合形成を容易にし、芳香族化合物を基盤とする生物活性分子の開発が進められてきた²。その結果、医薬品分子やその候補化合物の構造は、直線的・平面的なものに偏りが生じた³。互いに相補的な形状をもつ生体高分子と低分子化合物が結合し得ることから、構造的多様性の欠如した化合物ライブラリーでは、創薬標的もまた制限される。創薬標的を拡充するためには、芳香族化合物を脱却した分子設計により、ケミカルスペースを拡充することが強く求められる⁴。

本論文では、医薬品開発においてその活用が見過ごされてきた三次元性の高い骨格を開発し、創薬のケミカルスペースを拡充するべく研究に取り組んだ。

1-2 医薬品開発における標的分子の偏り

細胞内では、デオキシリボ核酸 (DNA) からリボ核酸 (RNA) が転写され、RNA からタンパク質が翻訳されている (Figure 1-1)。セントラルドグマ⁵ として提唱された一連の過程からも分かるように、細胞活動は多様な生体高分子で成り立っており、そのそれぞれが創薬標的となり得る。

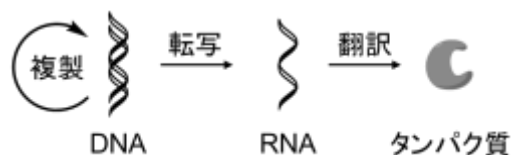


Figure 1-1. DNA からタンパク質がつくられるまでの一連の過程

しかしながら、これまでに承認された低分子医薬品は、限られた種類の生体高分子が標的となっている。米国食品医薬品局 (FDA) によって承認された経口薬について、標的分子ごとの薬の比率を以下に示す (Figure 1-2)⁶。キナーゼを含む酵素を標的とする薬は全体の 33%、G タンパク質共役受容体 (GPCR) は 21%、イオンチャンネルは 7%、核内受容体は 5%、トランスポーターは 4% である。このことは、医薬品の標的が、酵素や受容体の機能をもったタンパク質に偏重しており、タンパク質間相互作用 (PPI) を介して機能するタンパク質や、核酸を標的とした医薬品開発が殆ど進んでいないことを示している。酵素や受容体への治療薬が充足しつつある現状、創薬標的の拡充が求められる。

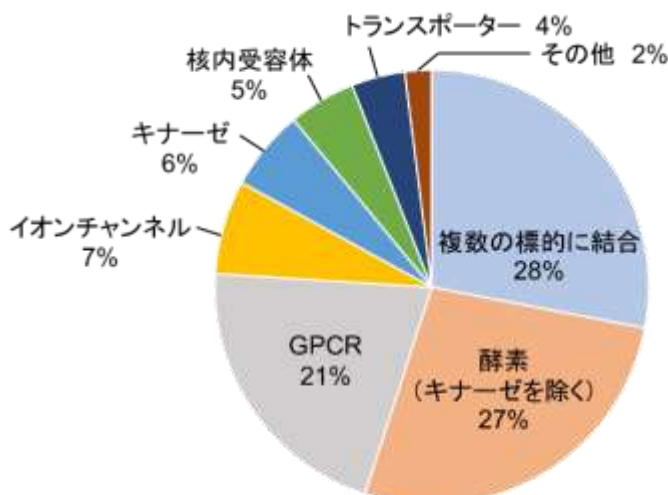


Figure 1-2. 1900-2020 年にかけて FDA に承認された経口薬の標的分子の内訳

1-3 生体高分子の作用面の特徴

前節では、従来の低分子医薬品が、限られた種類の生体高分子を標的にしていることを述べた。このような偏りが生じている要因として、生体高分子の機能や役割ごとに作用面の特徴が大きく異なることが挙げられる。本節においては、酵素や受容体として機能するタンパク質、PPI を介して機能するタンパク質、そして、RNA を例にして創薬標的的作用面の特徴の違いについて述べる。

1-3-1 酵素や受容体の特徴

酵素は、特定の基質に対し、加水分解などの化学反応を触媒する機能をもつ。受容体は、内因性リガンドと結合することでシグナル伝達や物質輸送を担う。したがって、酵素や受容体には低分子化合物が結合できるような深い窪み (平均約 300\AA^3)⁷ が存在し、これを薬の結合部位として活用できるとともに、内因性分子の構造を基にした医薬品設計を可能にする。一例として、ニコチンアミド-N-メチルトランスフェラーゼ (NNMT) 阻害剤の設計手法を以下に示す⁸。NNMT は、S-adenosyl-L-methionine (SAM) のメチル基をニコチンアミドへと転移するのを触媒する酵素である。このとき、SAM (1) とニコチンアミド (2) の結合部位は、タンパク質に取り囲まれた奥深くに存在している (Figure 1-3A)。そして、これら二つの基質がリンカーを介して結合したような構造を設計することで、NNMT 阻害剤 (3) が見いだされた (Figure 1-3B)。

酵素や受容体の作用面は、深く窪んでいることに加え、Figure 1-3A の SAM と NNMT との間に見られるように、疎水性相互作用のみならず水素結合も多く観測される。このことは、極性官能基導入による化合物の標的選択性の向上や水溶性などの物性の改善が期待でき、医薬品開発に有利な特徴である。

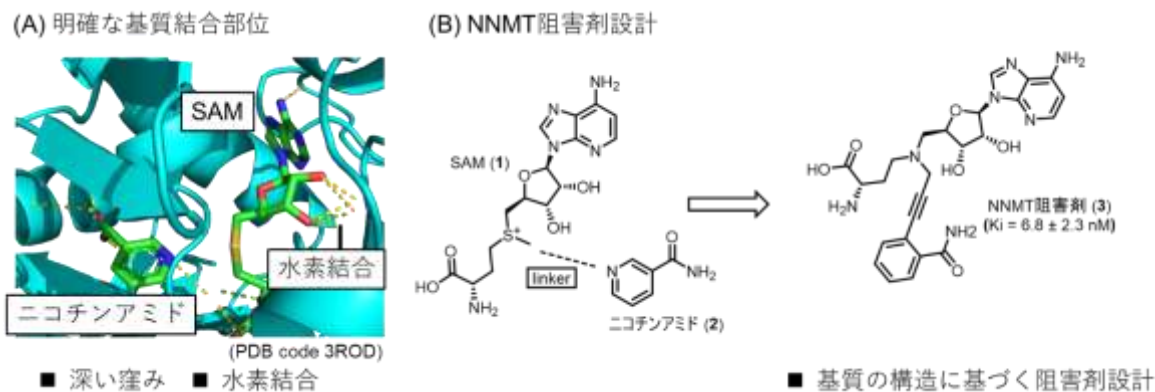


Figure 1-3. 酵素を標的とした阻害剤開発の例

1-3-2 PPI 界面の特徴

酵素や受容体に明確な基質結合部位が存在していたのと対照的に、PPI 界面は、比較的小さな窪み (平均約 100\AA^3) を介した結合が、タンパク質表面の三から五ヶ所に点在して見られる⁷。したがって、PPI 阻害剤の設計を試みると、分散した結合部位を標的とするために、分子量が大きくなる傾向がある。一例として、インターロイキン 2 (IL-2) とインターロイキン 2 受容体 α 鎖 (IL-2R α) の PPI 阻害剤を示す。IL-2/IL-2R α 相互作用は、T 細胞の活性化に関わるが、その相互作用面の構造を確認すると (PDB code 1Z92)⁹、明確な窪みは見られない (Figure 1-4A)。そして、PPIに必要な IL-2R α の Asp4 と Arg36 が離れた位置に存在している。その結果、この離れた結合部位を標的とするため、IL-2/IL-2R α 相互作用阻害剤である SP4206 (4) の分子量は約 649 と (Figure 1-4B)¹⁰、経口薬として望ましいとされる分子量 500 以下の条件¹¹を大きく上回っている。また、PPI 界面の結合様式の 85%は、疎水性相互作用によるものであり、水素結合 (13.7%) やイオン性の結合 (2.5%) などと比べて支配的である¹²。したがって、PPI 阻害剤の脂溶性は高くなる傾向にあるが、脂溶性の高さは、標的選択性の低下を招く要因として知られており、PPI 阻害剤の開発を困難にしている¹³。

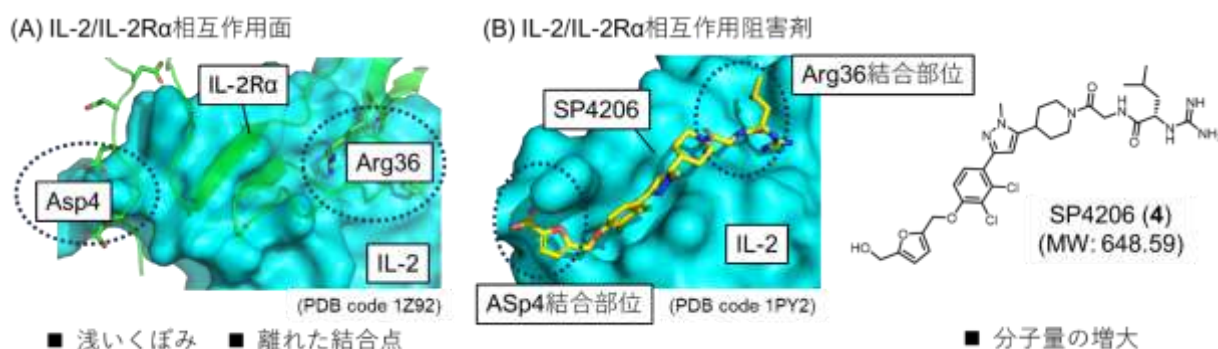


Figure 1-4. PPI 作用面の特徴

1-3-3 RNAの特徴

近年、創薬標的として注目を集めつつある RNA は、その構成要素が核酸であり、アミノ酸を構成単位とするタンパク質とは特徴が大きく異なる。RNA 表面は、リン酸構造に由来して負に帯電しており (Figure 1-5), 医薬品設計において、静電相互作用を介した低分子化合物との非特異的な結合を避けることが求められる。また、RNA 構造は動的であり、酵素や受容体のように、明確な基質結合部位をもたない。これらの特徴の違いから、RNA を創薬標的としたとき、標的選択性や結合力の向上には、タンパク質標的薬とは異なった分子設計が求められる¹⁴。

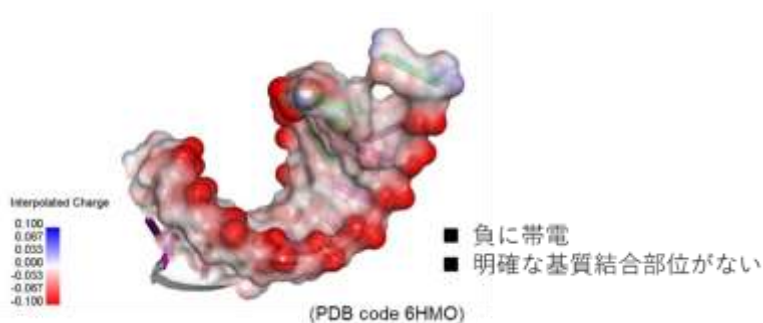


Figure 1-5. RNA 表面の特徴

1-3-4 創薬標的の作用面の特徴の違いのまとめ

創薬標的ごとの作用面の特徴の違いを以下にまとめる (Table 1-1). 従来の低分子医薬品が標的としてきた酵素や受容体は、内因性のリガンドが存在するため、低分子化合物が結合するのに適した構造をもつ。これに対し、PPI や RNA は内因性のリガンドをもたず、その作用面も酵素や受容体の基質結合部位とは、構造的にも静電的にも大きく異なる。

Table 1-1. 創薬標的の作用面の特徴

	酵素・受容体	PPI	RNA
内因性リガンドの有無	有	無	無
作用面の構造	深い窪み	浅い窪みが点在	動的
作用面の静電的環境	疎水的な環境に加え、 親水的な環境も存在	疎水性が高い	負に帯電している

1-4 医薬品開発における化合物の特徴の偏り

前節で述べたように、生体高分子の作用面の構造的・静電的特徴は、その機能や役割によって大きく異なる。したがって、医薬品開発に用いられる化合物は、標的分子ごとに異なる特性をもつことが望まれる。しかし、標的分子が酵素や受容体に偏っている現状、医薬品やその候補化合物の特性にも偏りが生じており、創薬標的の拡充を困難にしている。以下、その詳細について述べる。

1-4-1 母骨格構造の偏り

医薬品開発においては、共通の化学構造をもつ一連の化合物群を合成し、部分構造を改変していくことで、活性の向上や物性の改善を図る¹⁵。この共通の化学構造は、分子の“母骨格”として認識されており、化合物の物性や作用機序に大きな影響を与え、医薬品設計において中心的な役割を果たす¹⁶。Blaggらは、医薬品とその候補化合物のデータベースである ChEMBL を解析し、母骨格構造に大きな偏りがあることを報告した¹⁷。すなわち、解析に用いた 519341 種類もの化合物のうち、わずか2000種類程度の母骨格で、化合物全体の75%を占めた^a。そして、519341化合物のうち、その12%にあたる 60145 化合物は、以下に示すわずか四種類の芳香族化合物 **5-8** を母骨格として開発されていた (Figure 1-6)。

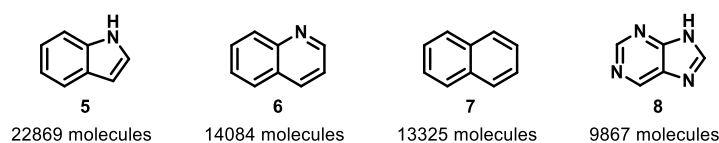


Figure 1-6. 医薬品開発で頻用される母骨格の構造

1-4-2 分子形状の偏り

前項では、限られた種類の母骨格に基づいて医薬品開発が進められていることを述べた。本項では、母骨格構造のみならず、分子全体の形状にも偏りが生じていることを述べる。化合物ライブラリーの構造的特徴を可視化する手法の一つに、PMI (Principal Moment of Inertia) プロット¹⁸が報告されている。PMI プロットは、ライブラリーに含まれる化合物を、その三次元構造がアルキンのような棒状に近いほど逆三角形の左上に、ベンゼンのように円盤状に近いほど中央下に、アダマンタンのように球状に近いほど右上にプロットする。医薬品データベースである DrugBank¹⁹に登録されている承認医薬品の PMI プロットを以下に示す (Figure 1-7)^b。イリノテカン (**9**) やイマチニブ (**10**)、セレコキシブ (**11**) に代表されるような従来の低分子医薬品は、アルキンやベンゼン環のように直線的・平面的構造に偏っていることが示されている。

上述の解析から、従来の低分子医薬品の形状に偏りがあることが一見して明らかになり、アダマンタンのように三次元性の高い分子により、未開拓ケミカルスペースを探索できることが示された。

^a Blaggらは、ChEMBLに登録された化合物には、68370種類の母骨格構造が含まれ、そのうち3.06%の割合の母骨格で、化合物全体の75%を占めることを示しており¹⁷、このときの母骨格の数を算出した ($68370 \times 0.0306 = 2092.1$)。

^b PMIプロットの作成に用いた化合物の三次元構造は、LigandScout4.4²⁰の“iCon”機能により発生させた配座のうち、最安定配座を用いた。PMIプロットの座標は、RDKit²¹を用いて求めた。

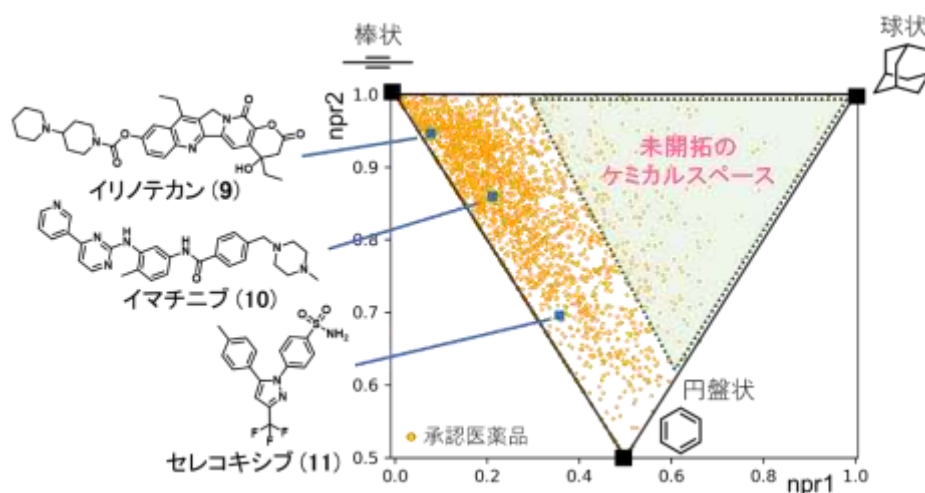


Figure 1-7. 承認医薬品の PMI プロット

1-5 医薬品開発における複雑な構造をもつ分子の有用性

前節において、従来の低分子医薬品の母骨格構造や分子形状に偏りがあり、医薬品開発におけるケミカルスペースの拡充には三次元性の高い骨格が求められることを述べた。三次元性の高い骨格は、立体化学を考慮する必要があるなど、芳香族化合物に比べて合成が困難である。しかしながら、三次元性が高く、複雑な骨格を分子設計に取り入れることで、実際に新たな生物活性分子を創出し得ることを本節で述べる。

1-5-1 複雑な骨格によるタンパク質表面への結合

これまで述べてきた通り、芳香族化合物を基盤として開発されてきた低分子化合物の中から PPI 制御分子を見いだすのは困難になっている。一方で、複雑な分子骨格をもつ天然物からは、酵素や受容体以外のタンパク質表面に結合することで生物活性を発現する化合物が数多く見いだされている (Figure 1-8)。抗がん剤として広く利用されるパクリタキセル (12) は西洋イチイ樹皮から単離された天然物であり、チューブリン表面に結合することで微小管の脱重合を阻害し、細胞分裂を抑制する²²。常緑樹である *Garcinia hanburyi* から単離された(-)-gambogic acid (13) は、分子シャペロンである HSP90 の N 末端領域に結合することでその機能を阻害し、抗がん活性を示すことが報告されている²³。海洋天然物である lactrunculin A (14) は、ATP 依存的に重合するアクチンのアロステリック部位に結合し、その重合を阻害する²⁴。フシコクシン-A (15) は真菌の代謝産物として単離され、植物細胞において、PPI に関わる 14-3-3 タンパク質と結合することで、植物の生育を阻害する²⁵。

従来の低分子医薬品に見られない生物活性をもつ天然物の構造に着目すると、これまで開発されてきた化合物群に比べて次のような違いあることが分析されている²⁶。すなわち、天然物は、① 不斉炭素を多くもつ、② 骨格の飽和度が高い、③ 環構造は、縮環構造、架橋構造、及びスピロ環の立体的に固定された状態をとることが多い。

天然物のように三次元性が高く、複雑な骨格を分子設計に取り入れることで、PPI 制御分子をはじめとする、新規生物活性分子の取得が期待できる。

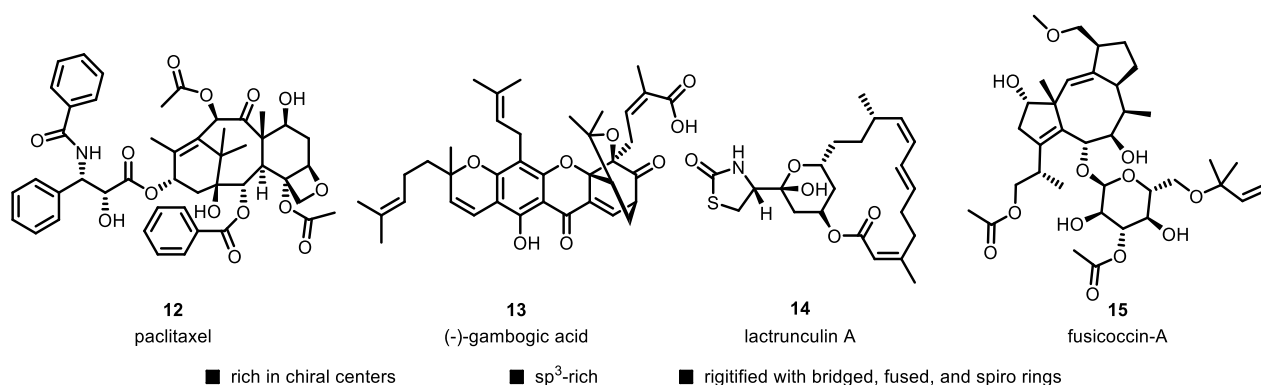
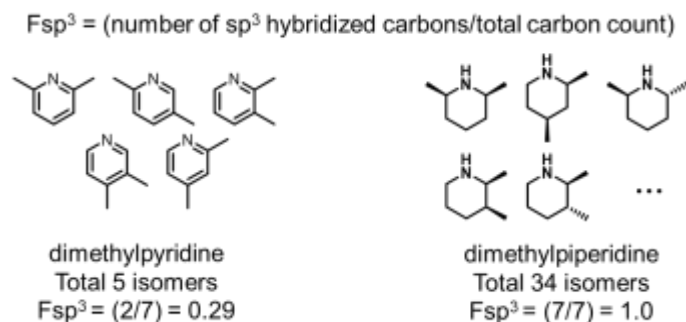


Figure 1-8. タンパク質表面に結合する天然物

1-5-2 三次元性の高い骨格による医薬品らしさの向上

1997年にLipinskiらは、①水素結合供与体が5つより多い、②水素結合受容体が10より多い、③分子量が500より大きい、④CLogPの値が5より大きい化合物は、溶解性や細胞膜透過性に乏しい傾向にあり、経口医薬品に適さないことを報告している¹¹。いわゆる“rule of 5”と呼ばれるこの指標は、医薬品開発において、化合物が“医薬品らしさ”をもつことが重要であることを示している。そして、化合物の三次元性が高いほど、医薬品らしいことが解析されている。

Loveringらは、分子の複雑さを記述する指標として、分子に含まれる炭素原子のうち、 sp^3 混成軌道をとる炭素の割合で算出される“fraction sp^3 (F_{sp^3})”を報告した (Figure 1-9)²⁷。例えば、ジメチルピリジン ($F_{sp^3} = 0.29$) とジメチルピペリジン ($F_{sp^3} = 1.0$) を比べたとき、 F_{sp^3} の高いジメチルピペリジンの方が立体的であり、多数の異性体をもつことから、より複雑な分子であると評価される。

Figure 1-9. ジメチルピリジンとジメチルピペリジンの F_{sp^3}

そして、臨床試験に進んでいる化合物群を解析すると、 F_{sp^3} の値が高いほど、化合物の医薬品らしさが向上していた。まず、経口薬は水溶性であることが求められるが、 F_{sp^3} が高いほど水溶性が向上していた (Figure 1-10A)。また、融点が 175°C である化合物の F_{sp^3} が0.27であるのにたいし、 25°C では0.34に向上していた (Figure 1-10B)。高い融点をもつ化合物は水に難溶な傾向にあり、経口吸収性にも悪影響を与えることから、 F_{sp^3} が高いほど医薬品らしいと言える。そして、探索段階の化合物の F_{sp^3} の平均値が0.35であるのに対し、承認医薬品においては0.47に向上している (Figure 1-10C)。したがって、 F_{sp^3} を向上させることは、化合物の化学特性の改善のみならず、医薬品として実用化され

る確率の向上にも繋がることを示された。これらに留まらず、Lovering は、標的選択性も F_{sp^3} と相関が見られることを報告した²⁸。

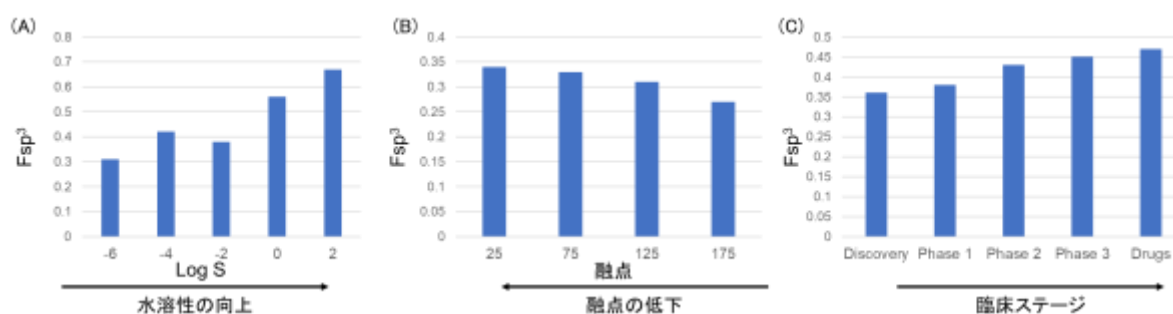


Figure 1-10. F_{sp^3} と医薬品らしさの相関

1-5-3 架橋構造の導入による結合力の向上

医薬品開発において、分子の立体配座を固定することは、創薬標的への結合力を向上させるのに重要な戦略である²⁹。創薬標的と医薬品分子の結合自由エネルギー ΔG は、エントロピー変化 ΔH とエンタルピー変化 ΔS を用いて、 $\Delta G = \Delta H - T\Delta S$ と表される。したがって、 ΔS の減少は結合に不利に働くが、創薬標的の結合面において分子のとり得る立体配座は制限されることから ΔS の減少は避けられない。このとき、あらかじめ分子の立体配座を固定しておき、創薬標的の結合面における ΔS の減少幅を小さくすることで、結合力の向上が期待できる。

Wünsch らは、シグマ₁ (σ_1) 受容体リガンドとして見いだされたピペラジン **16** を基に、二環性化合物 **17** を設計することで、 σ_1 受容体への結合力の向上を達成している (Figure 1-11)³⁰。ピペラジン **16** は、二種類のいす型配座が存在することに加え、ピペラジン環に結合したメチレンアルコールが自由に回転できることから、多様な立体配座をとり得る。これに対し、二環性化合物 **17** は、架橋構造が導入されたことにより、ピペラジン環の立体配座とヒドロキシ基の向きが固定されている。その結果、二環性化合物 **17** がピペラジン **16** に比べて、 σ_1 受容体への強い結合力を示した ($K_i = 7.5$ vs 12.4 nM)。

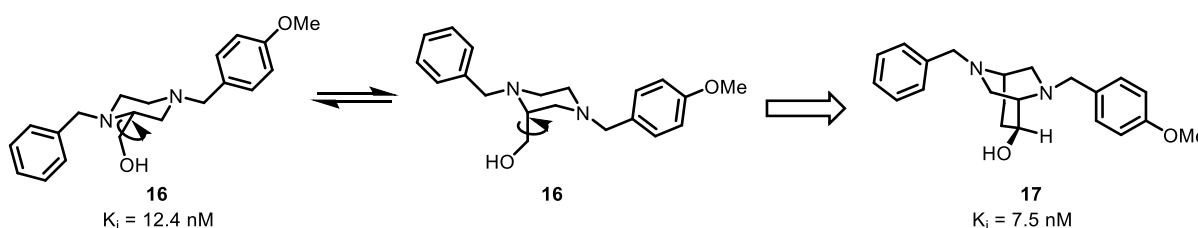


Figure 1-11. 架橋構造の導入による σ_1 受容体への結合力の向上

Hausch らは、ピペリジン **18** へと架橋構造を導入した二環性化合物 **19** を設計することで、標的タンパク質である FK506-binding protein 51 (FKBP51) への結合力の向上を達成した (Figure 1-12)³¹。ピペリジン **18** や二環性化合物 **19** のカルボニル炭素は、FKBP51 のチロシン残基 (Y113) と双極子間相互作用していることが示唆されている。このとき、ピペリジン **18** については、回転可能なカルボニ

ル基が結合部位において Y113 との相互作用を確立するのに適切な配置をとる必要がある。対照的に、二環性化合物 **19** については、カルボニル基が Y113 と相互作用するのに適切な配置が架橋構造により維持されている。結果として、二環性化合物 **19** の結合力がピペリジン **18** に比べて向上した ($K_i = 0.3$ vs $7.6 \mu\text{M}$)。

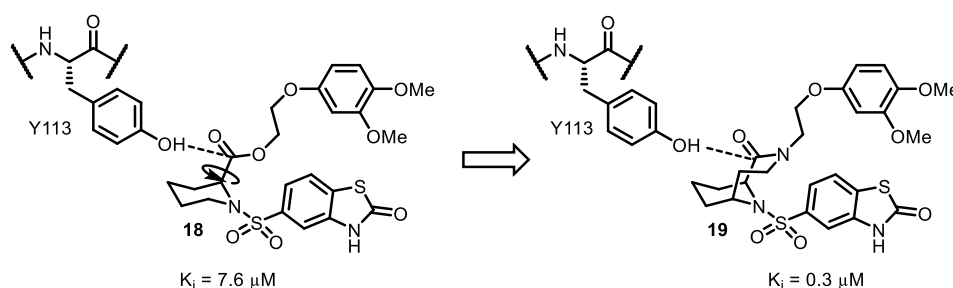


Figure 1-12. 架橋構造の導入による官能基の配置の制御

前項で述べたように、飽和炭素が豊富な三次元性の高い骨格は、医薬品設計において有用である。中でも、架橋構造をもつ籠状分子は、天然物で見られるように、従来の低分子医薬品では困難だったタンパク質表面へと結合し得る。さらには、本項で述べたように、創薬標的へと結合するのに適切な立体配座を保持することで、創薬標的への結合力の向上が期待できる。籠型骨格を基盤とする分子設計により、新たな生物活性分子の創出が期待できる。

1-6 三次元性の高い骨格の合成戦略

前節において、三次元性の高い骨格を分子設計に取り入れることで、新たな生物活性分子を取得し得ることを述べた。本項においては、これまで取り組まれてきた三次元骨格の開発戦略を述べる。

1-6-1 多様性指向型合成

Schreiberらは、構造的に多様な骨格群を効率的に得るための合成戦略である多様性指向型合成 (diversity-oriented synthesis, DOS) を提唱した³²。DOSは、 sp^3 炭素の割合が高い中間体を中心に合成展開することで、分子構造に多様性をもたせる合成戦略であり、次の二つの方法に大別される。すなわち、① 一つの共通中間体から骨格の多様化を図る方法と、② 同様の反応条件を異なる基質に適用して多様な骨格を得る方法である。

Schreiberらは①の戦略に基づき、複数の反応点と不斉炭素をもつアミノプロパルギルアルコール **20** を共通中間とし、異なる反応条件を用いることで化合物**21–25**へと分岐させた (Figure 1-13)³³。さらに、化合物**22**を化合物**26,27**へと、化合物**25**を化合物**28–30**へと導き、共通中間体**20**から十種類の骨格を一挙に取得することに成功した。得られた骨格は、直鎖上の化合物**22, 24**、異なる大きさの環構造を持つ化合物**21,23,26**、架橋構造をもつ化合物**29,30**、縮環構造をもつ**25,27,28**といったように、構造的な多様性に富んでいた。

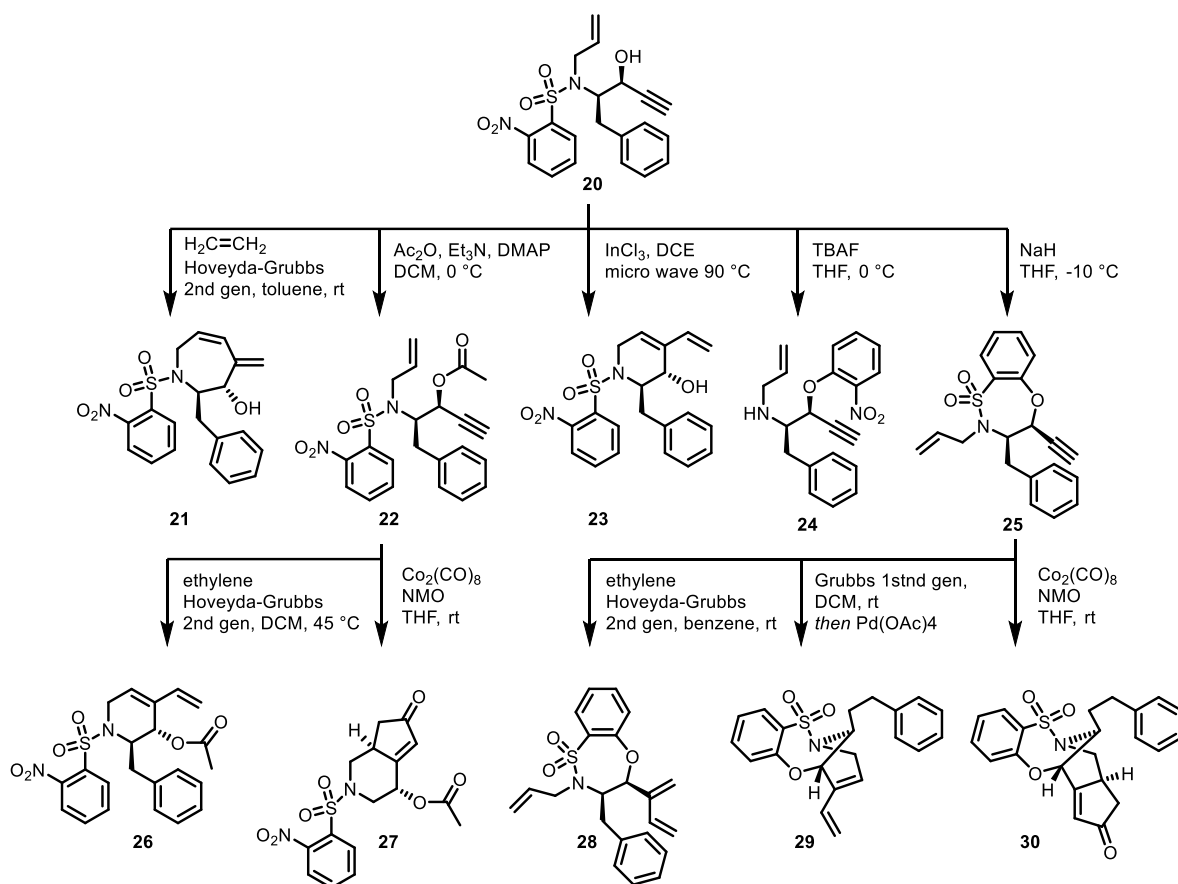


Figure 1-13. 一つの共通中間体から多様な骨格群を得るDOSの実践例

戦略②に基づいたDOSとして、Showらによるラクタム化合物ライブラリーの構築が挙げられる (Figure 1-14A)³⁴. 固相担持されたアルデヒド**31**とアミン (R^1NH_2) からイミン**32**を得たのち、酸無水物**33**と反応させてラクタム環を構築し、カルボン酸**34**を合成した. 得られたカルボン酸**34**とアミン (R^2NH_2) を縮合してアミド**35**としたのち、固相から溶出させることで望むラクタム**36**を得た. このとき、用いる酸無水物**33a-d**を変更することで、ラクタム環の大きさや立体化学を調節することができる (Figure 1-14B). さらに、用いるアミン ($\text{R}^1\text{NH}_2, \text{R}^2\text{NH}_2$) を多様化させることで400化合物から成る化合物ライブラリーが構築された. 得られた化合物から生物活性分子を探索すると、従来の低分子医薬品では開発困難であったタンパク質-DNA相互作用阻害剤**36e**を見出すことに成功している.

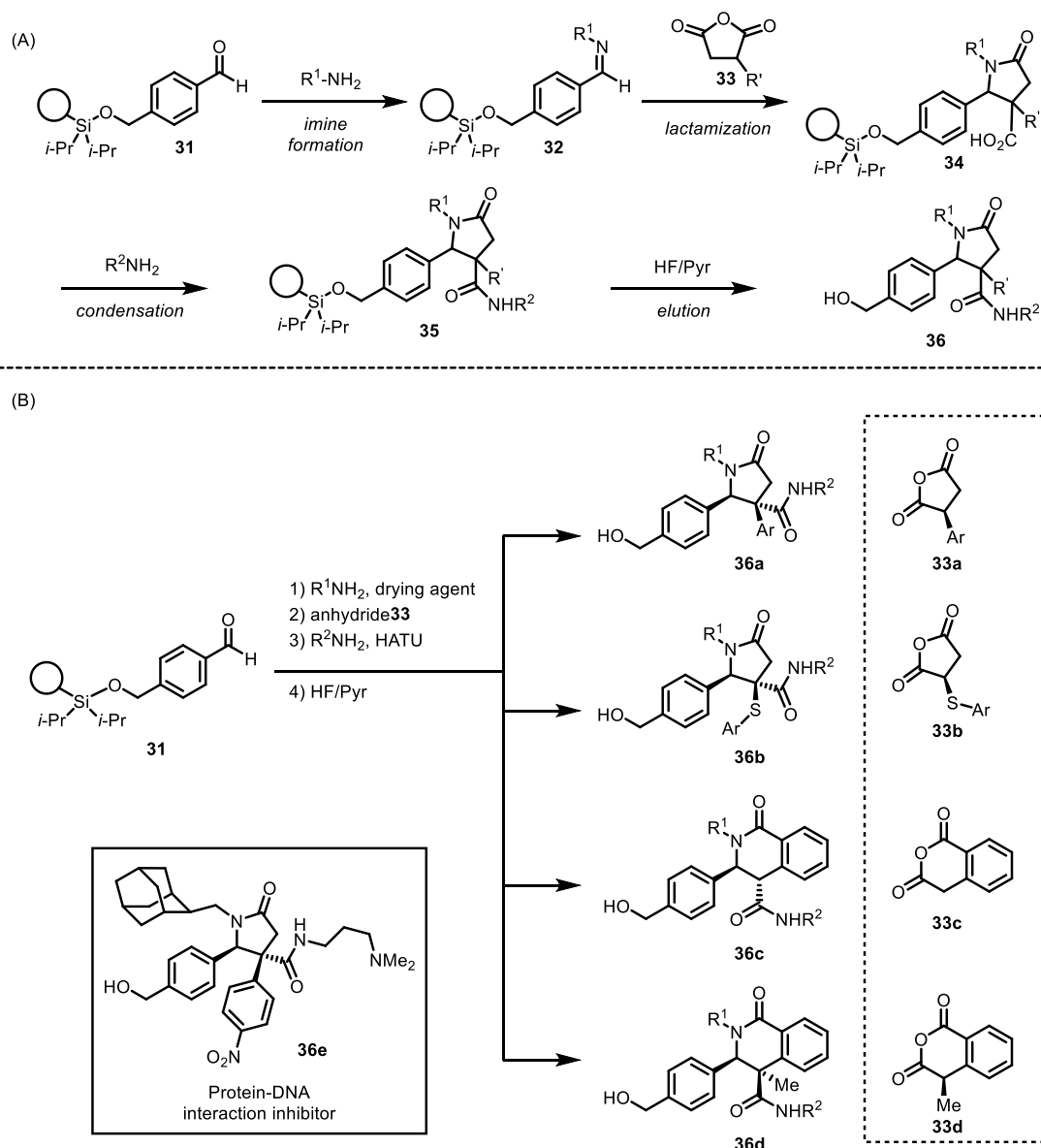


Figure 1-14. 同一の反応条件を異なる基質に適用したDOSの実践例

上述した通り、中間体や反応様式を設計することで、構造的多様性に富んだ低分子化合物ライブラリーの構築が可能である。構築された化合物ライブラリーの中からは、新規の生物活性を示す化合物が見出されており、医薬品開発における構造的多様性の重要性が示された。

1-6-2 天然物の三次元骨格を基軸としたライブラリー構築

1-5-1で述べたように、天然物は、従来の低分子医薬品では見られなかった生物活性を示し、複雑な構造をもつ。特にその母骨格構造に着目すると、天然物のデータベース (Dictionary of Natural Products, DNP) に登録されている化合物のうち70%が $Fsp^3 > 0.45$ の値をとり、従来の低分子化合物の母骨格構造 ($Fsp^3 < 0.45$) よりも、高い三次元性をもつことが解析されている³⁵。したがって、立体的な化合物を設計する際、天然物に見られる母骨格の利用は有効な戦略である。Quinneらは、DNPに登録された天然物から三次元性の高い母骨格 ($Fsp^3 > 0.45$) を網羅的に抽出することで、セドラン骨格

37 ($F_{sp^3} = 1$)を見いだした (Figure 1-15)³⁶. セドラン骨格**37**を母骨格とした天然物が多様な生物活性を示していたことから、本骨格を分子設計に取り入れることで、新規活性分子の創出が期待された. 実際に、セドラン骨格**37**に置換基を導入した化合物ライブラリーを構築すると、 α チューブリンに作用する化合物、ミトコンドリアに作用する化合物、リソソームに作用する化合物など、多様な生物活性分子を得られた.

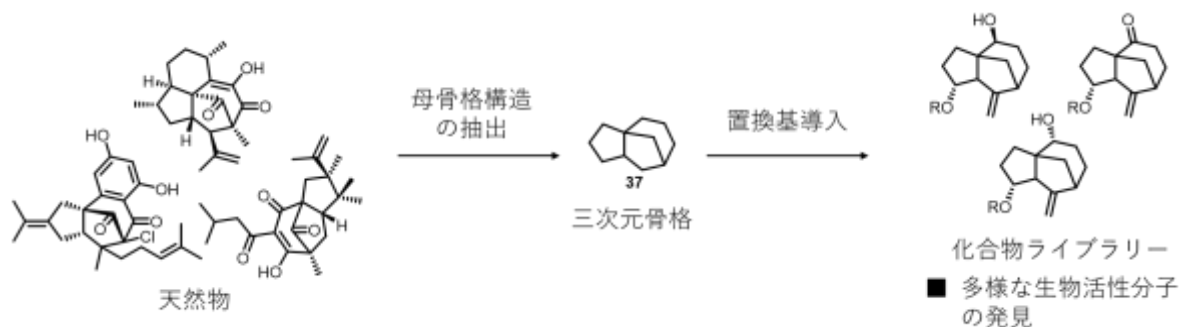


Figure 1-15. 天然物骨格を基軸とした三次元化合物ライブラリーの構築

1-6-3 Pseudo-natural product

前項で示したように、生物活性分子の設計において、天然物やその誘導体の構造が活用できる. 事実、1981年–2019年にかけて承認された医薬品の32%は天然物由来であったことが報告されている³⁷. しかしながら、天然物の構造を基にした医薬品は、その由来となった天然物と同様の生物活性しか示さないことが懸念される. これに対し、Waldmannらは、二つの異なる天然物骨格を組み合わせた“pseudo-natural product”を設計することで、新たな生物活性の獲得に繋がることを提唱した³⁸. 以下に一例を示す (Figure 1-16)³⁹. まず、クロマン骨格**38**とテトラヒドロピリミジノン骨格**39**をもつ天然物が、多様な生物活性を示すことに着目した. そして、これら二つの骨格が架橋構造で連結された chromopynone **40**を、pseudo natural productとして設計した. 設計したchromopynone **40** は、酸素と窒素の二つのヘテロ元素をもち、架橋構造により高い三次元性をもつなど、基盤とした骨格**38,39**のいずれとも大きく異なる構造であり、新規生物活性を獲得することが期待された. 実際にWaldmannらは、それまで報告例のなかった、グルコース輸送体GLUT-1から-4のうち、GLUT-1とGLUT-3の2つを選択的に阻害するchromopynone **40a**を創出している.

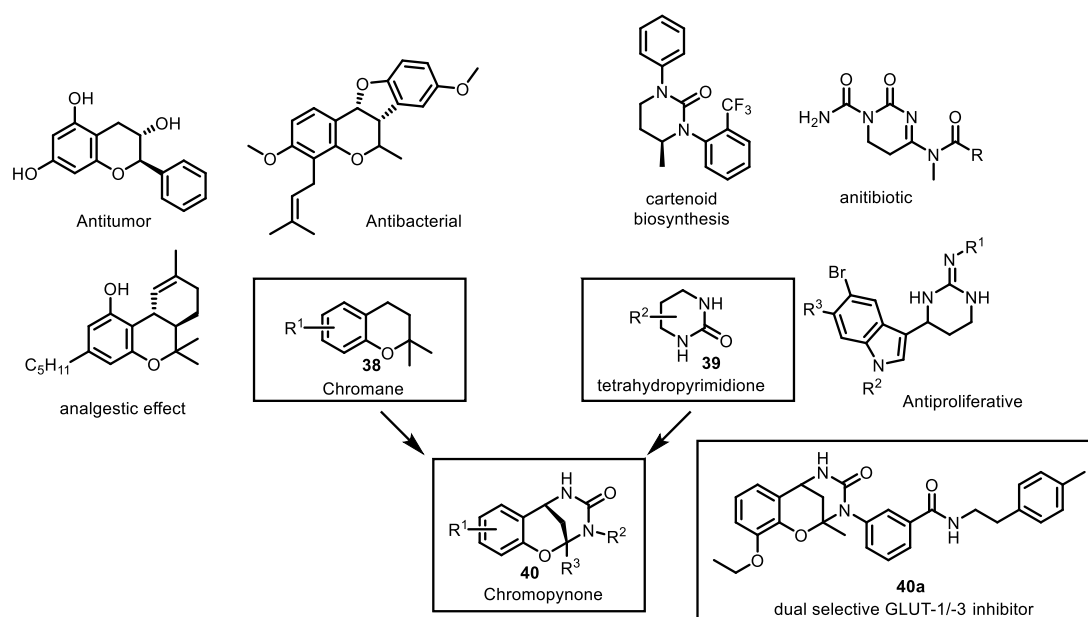


Figure 1-16. pseudo-natural productの設計

生物活性をもつ天然物を組み合わせ、構造的特徴の全く異なる新規骨格を構築することで、新たな生物活性分子が得られた。分子の生物活性がその三次元構造に大きく依存していることが示唆され、新規骨格の創出が生物活性分子の創出に繋がることが期待される。

1-7 PPI阻害剤の開発

前節までに、三次元性の高い骨格を分子設計に取り入れることで、従来の低分子医薬品では見られなかった生物活性を獲得し得ることを述べた。本節においては、従来の低分子医薬品では開発が困難になっているPPI阻害剤について、これまでの開発戦略について述べる。

1-7-1 ペプチドを基盤としたPPI阻害剤の開発

PPI阻害剤の開発において、PPI界面に位置するペプチド鎖そのものが阻害剤の候補になり得る。しかし、ペプチドを医薬品として用いるには次のような問題点が指摘されている。すなわち、ペプチド鎖は、① 代謝安定性に乏しく、生体内のプロテアーゼにより容易に加水分解され、活性を維持できない、② 細胞膜透過性に乏しく生体内から迅速に排出されてしまう、③ 複数の立体配座をとり得るため、標的選択性に乏しい、など多くの点で医薬品としての利用に適さない⁴⁰。

上述の課題を克服するため、二つのアミノ酸残基を共有結合性のリンカーを介して架橋したステープルドペプチド (stapled peptide) が開発されている (Figure 1-17A)⁴⁰。ステープルドペプチドは、リンカーの位置や長さを適切にすることでペプチドの二次構造を安定化し、活性のある配座を保持するとともに、代謝安定性を向上させる。一方で、ステープルドペプチドは必ずしも細胞膜透過性に優れているわけではなく、活性本体のペプチド鎖に対し、環状ペプチド⁴¹や非ペプチド性の構造⁴²を導入することで、膜透過性を向上させる必要がある (Figure 1-17B)。これは、分子構造の複雑化を招くと同時に、経口薬としての応用を妨げる。

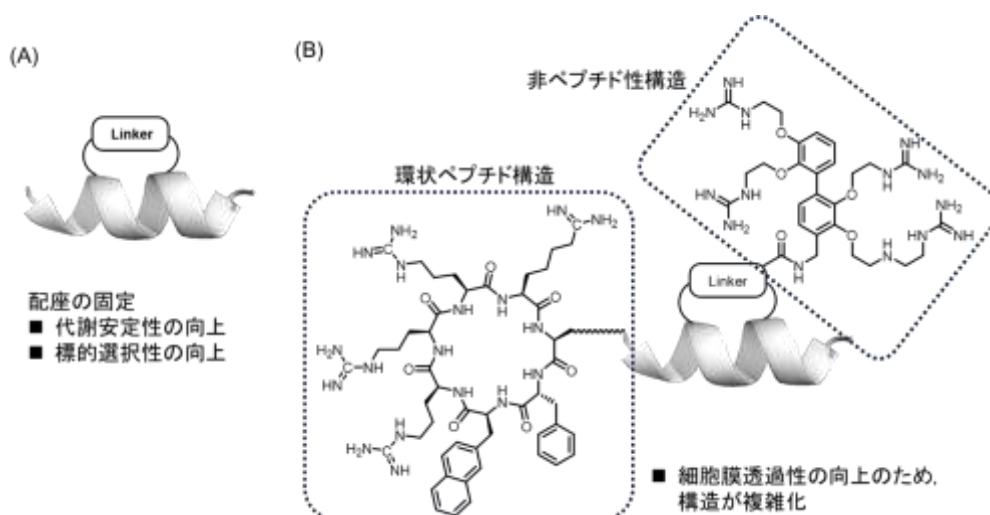


Figure 1-17. ステープルドペプチドの模式図

環状ペプチドは、直鎖のペプチドと比べてとき、① 細胞膜透過性に優れる、② 代謝安定性に優れる、③ 標的タンパク質との親和性が高いなど、多くの面で医薬品として有用である⁴³。特に、分子量が比較的大きいながら ($M_w > 500$) 細胞膜透過性に優れることは、作用面の広いPPIを標的とする上で重要な特徴である。一例として、免疫抑制剤として用いられているシクロスポリンA (**41**) は、分子量1201と大きいながら経口投与可能であり、細胞内でシクロフィリン (cyclophilin) とカルシニューリン (calcineurin) のPPIを安定化する (Figure 1-18)^{43b,44}。しかしながら、環状ペプチドが優れた細胞膜透過性や標的選択性を示すには、アミド窒素上にメチル基を導入する必要がある^{45,46}、*N*-メチル化ペプチドの効率的な合成手法は発展途上である⁴⁷。

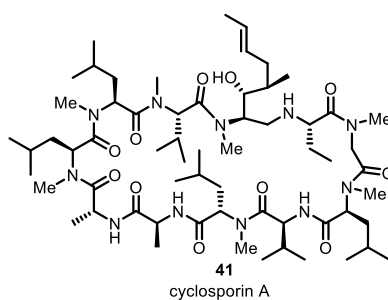


Figure 1-18. シクロスポリン A の構造

1-7-2 スクリーニングを起点とした低分子 PPI 阻害剤の開発

PPI 阻害剤の開発にあたり、前項で示した課題を抱えるペプチドに代わり、低分子化合物は一般に経口吸収性に優れ、多様な合成手法を採れるため、その利用が期待される。低分子 PPI 阻害剤は、数少ないながらも、HTSにより見いだされている⁴⁸。p53/MDM2 相互作用阻害剤 (**42**)⁴⁹ やヒトパピローマウイルス (HPV) E1/E2 相互作用阻害剤 (**43**)⁵⁰、KEAP1/NRF2 相互作用阻害剤 (**44**)⁵¹ などがある (Figure 1-19)。しかしながら、HTS による PPI 阻害剤が困難であるのは、上述してきた通りである。

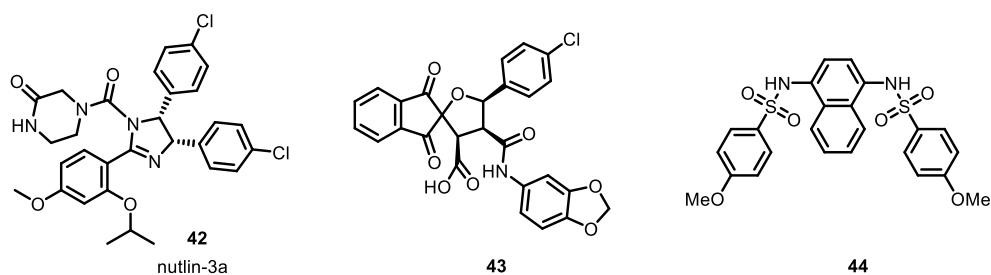


Figure 1-19. HTS により特定された PPI 阻害剤の構造

スクリーニングを用いた他の手法として Fragment-based drug design (FBDD) が挙げられる。FBDD は、重原子数 20 個以下と、比較的小さなフラグメント化合物を用いてスクリーニングを行い、標的タンパク質に結合した複数のフラグメント化合物を連結することで、結合力の向上したリード化合物を得る手法である⁵²。PPI 阻害剤の開発において、FBDD は、結合点の分散した PPI 界面に結合する化合物を効率よく探索できるため、有用な戦略である⁴⁸。FBDD を起点として開発された PPI 阻害剤として、抗悪性腫瘍剤として承認された venetoclax (45) が挙げられる (Figure 1-20)⁵³。すなわち、スクリーニングにより得られたフラグメント化合物 46,47 を連結することで結合力の向上した化合物 48 ($K_i = 36$ nM)としたのち、構造最適化により標的選択性を調整し、venetoclax (45)が開発された。

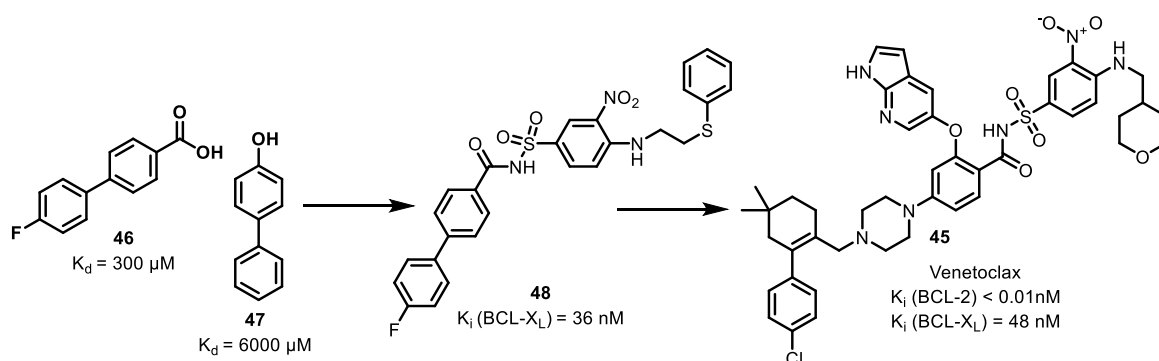


Figure 1-20. FBDD を起点に開発された venetoclax の構造

HTS や FBDD により低分子 PPI 阻害剤が特定されているが、スクリーニングにより無作為に医薬品候補化合物を見いだそうとする性質上、膨大な数の化合物が要求される。スクリーニングに代わり、合理的に低分子 PPI 阻害剤を設計する手法を以下に紹介する。

1-7-3 ペプチド模倣分子による低分子 PPI 阻害剤の開発

スクリーニングにより見いだされた nutlin-3a (42) は、標的タンパク質の MDM2 と結合するとき、その置換基の空間配置が p53 ペプチドの側鎖の空間配置と一致していることが X 線結晶構造解析により明らかとなっている (Figure 1-21A)。医薬品として承認されている venetoclax (45) においても同様に、その置換基の位置が、リガンドペプチドの一つである Bax の側鎖の空間配置と一致している (Figure 1-21B)。

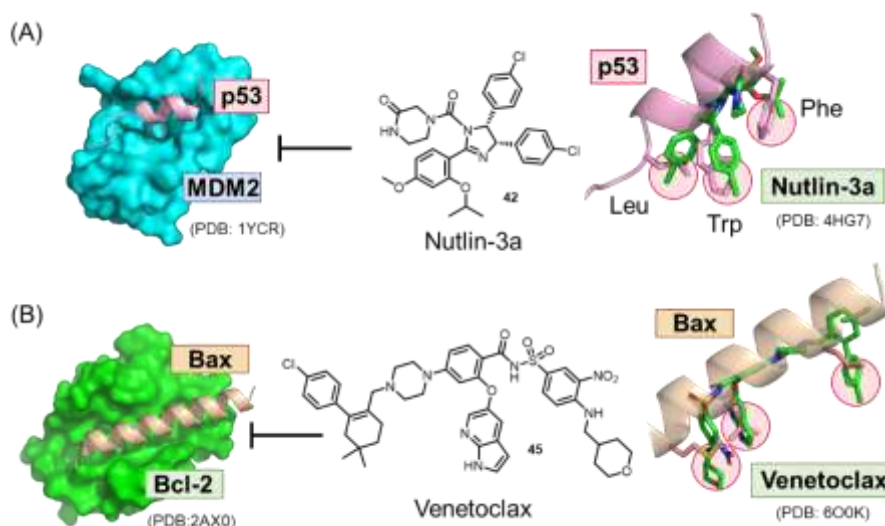


Figure 1-21. 低分子 PPI 阻害剤の置換基配置とリガンドペプチドの側鎖の空間配置の比較

これらのことから、低分子化合物を母骨格とし、PPI 界面におけるリガンドペプチドの結合様式を再現する“ペプチド模倣分子”の設計が、PPI 阻害剤の開発において注目を集める⁵⁴。Hamilton らは、テルフェニル骨格 **49** がペプチドの α ヘリックス構造を模倣し得ることを報告した (Figure 1-22)⁵⁵。各フェニル基上に置換基が導入されたテルフェニル骨格 **49** は、分子内の立体反発により、ねじれた構造をとる。そのときの置換基の配置が、 α ヘリックスペプチドの $i, i+3, i+7$ 番目に位置するアミノ酸残基の側鎖の空間配置を再現していることが確かめられた。テルフェニル骨格 **49** を基盤とすることで、ヘリックス構造を介したカルモジュリン (CaM) と環状ヌクレオチドジエステラーゼ (PDE) の相互作用阻害活性をもつ低分子化合物 **50** が見いだされた。

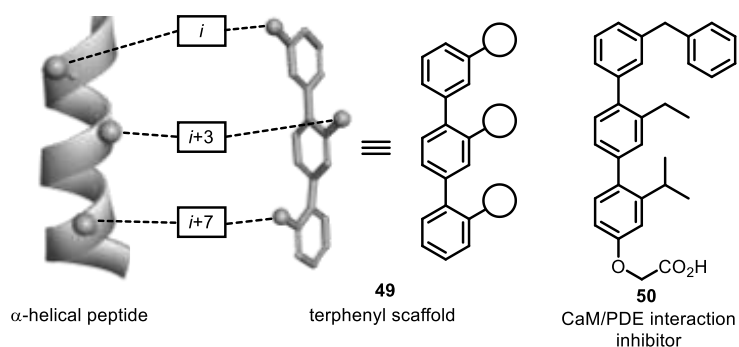


Figure 1-22. テルフェニル骨格 **49** に基づくペプチド模倣

Hamilton らは、テルフェニル骨格 **49** 以外にも、テレピリジン骨格 **51**⁵⁶、テレフタルアミド骨格 **52**⁵⁷、ベンゾウレア骨格 **53**⁵⁸、オリゴアミド骨格 **54**⁵⁹ などに基づいた α ヘリックス模倣分子を開発した (Figure 1-23)。骨格 **51–54** については、分子内水素結合により、その立体配座が固定されるように設計されている。そして、これらの骨格を母骨格とし、PPI 阻害剤のみならず、タンパク質-RNA 相互作用阻害剤が開発された⁶⁰。Hamilton らの報告を受け、細胞膜透過性や溶解性の向上を目指し、複素芳

香環を積極的に取り入れたヘリックス模倣分子 **55, 56** も開発されている^{61, 62}. これらのペプチド模倣分子の母骨格には平面性の高い芳香族化合物が用いられてきた. 一方, Arora らは, 母骨格の三次元性の高いオリゴキソピペラジン **57** を主骨格用いても, ヘリックス構造の側鎖の空間配置を模倣できることを報告している⁶³. 開発されたペプチド模倣分子は, 動物実験においても抗腫瘍活性を示すことが報告されており⁶⁴, ペプチド模倣分子による PPI 阻害剤の開発が有効であることが示された.

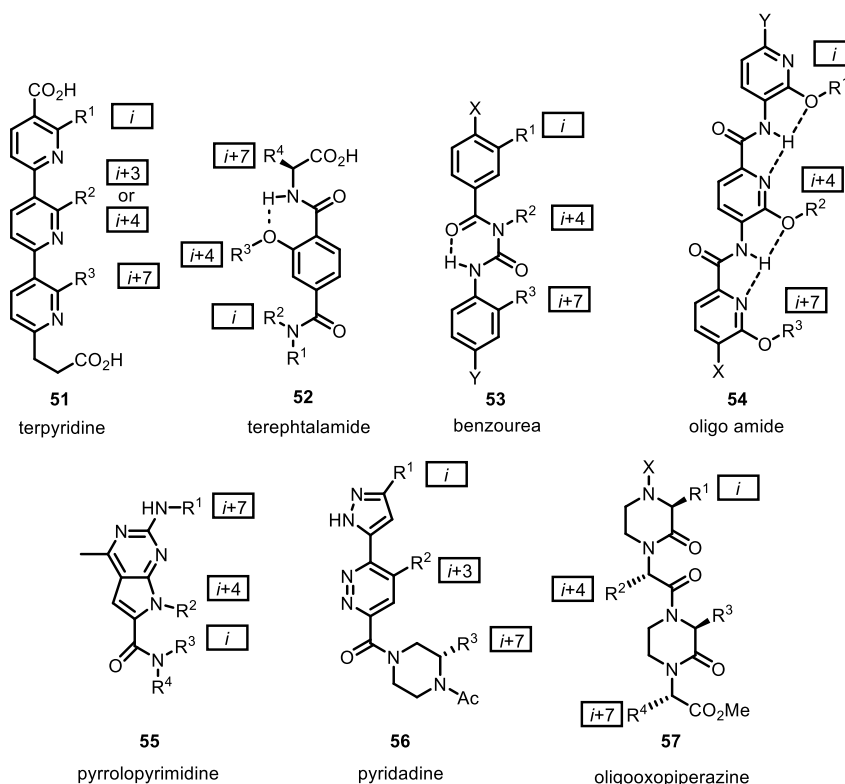


Figure 1-23. 低分子を基盤とした α ヘリックス構造の模倣

ペプチド模倣分子は, PPI 界面におけるリガンドペプチド構造を再現することで, PPI の制御を目指す. このとき, sp^3 炭素が豊富なペプチド構造を精密に模倣するには, ペプチド模倣分子の母骨格もまた, sp^3 炭素豊富であることが望ましいと考える. 上述してきたように, これまでにも, sp^3 炭素に富んだ立体的な骨格の合成戦略が開発されてきた. しかしながら, 多くの場合は母骨格構造の多様化に注力しており, ペプチド模倣分子のように, 置換基構造の入れ替えを前提に設計された母骨格の開発は限られる. 低分子 PPI 阻害剤の合理的な設計に向け, ペプチド模倣分子を指向した三次元性の高い母骨格の開発が望まれる.

1-8 *In silico* 技術によるケミカルスペースの探索

上述してきたように, 未開拓のケミカルスペースを探索することにより, 新たな生物活性分子を創出し得る. しかしながら, 理論的に存在し得る化合物の数は 10^{60} 以上とも見積もられており⁶⁵, これらすべてを実験的に検討することは不可能である. したがって, ケミカルスペースの効率的な探索には, 計算機上で活性分子を絞り込む *in silico* 創薬の技術が欠かせない. *In silico* での医薬品設計

手法は、創薬標的の立体構造に基づく **structure-based drug design (SBDD)** と、既知の活性化合物の化学構造に基づく **ligand-based drug design (LBDD)** に大別される (Figure 1-24)⁶⁶.

SBDD には、ドッキングシミュレーションや分子動力学 (MD) シミュレーションが含まれ、創薬標的への結合様式を予測することで、活性のある候補化合物を絞り込む。本手法は、既知の活性化合物と化学構造の大きく異なる候補化合物を探索できる一方、創薬標的の立体構造を必要とし、分子設計の対象が限定される。

LBDD は、既に活性がある化合物と類似した構造や化学特性をもつ化合物を見いだすことで、候補化合物を絞り込む。LBDD において、分子構造は **MACCS keys**⁶⁷ や **Morgan Finger**⁶⁸ などの分子記述子により、ベクトルとして表現されている。このベクトル同士の距離を算出することで、化学構造の類似度が定量される。本手法は、既知の活性化合物の構造の大きく異なる候補化合物の探索は困難であるが、創薬標的の立体構造を必要せず、分子設計の対象が SBDD に比べて広範である。

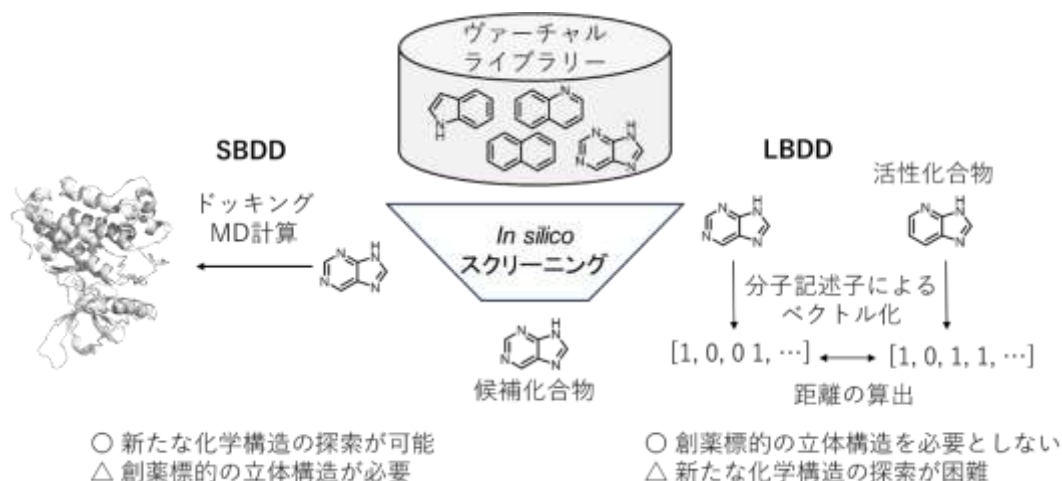


Figure 1-24. SBDD と LBDD の概要

° 一例として、MACCS keys においては、ベクトルの各要素がフェニル基やカルボン酸などの事前に定義されている化学構造に対応しており、対象化合物がその構造をもっていれば要素を 1 とし、もっていなければ 0 とする (Figure 1-AA)。そして、0 と 1 で表された二値ベクトルの類似度は、タニモト係数により、0 (類似しない) から 1 (類似する) の範囲で定量化される (Figure 1-AB)⁶⁹。

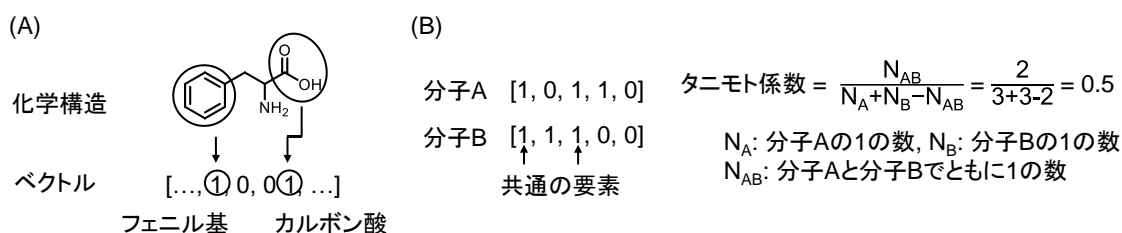


Figure 1-A. (A) MACCS keys による化学構造のベクトル化の模式図. (B) タニモト係数の導出

In silico 技術で探索できるケミカルスペースは、用意したバーチャルライブラリーによって規定される。実際に、ドッキングシミュレーションにおいては、大規模なバーチャルライブラリーを用いたほど、より多くの候補化合物を取得できたことが報告されている⁷⁰。

三次元性の高いケミカルスペースの探索には、バーチャルライブラリーを構築する化合物の三次元性の向上が欠かせない。

1-9 本論文の概要^d

本論文は、「ケミカルスペースの拡充を指向した三次元骨格分子の創出と *in silico* 創薬への展開」と題し、以下七章で構成される (Figure 1-25)。

第一章「序論」では、三次元性の高い骨格を分子設計に取り入れることで、創薬のケミカルスペースを拡充できることを述べた。特に架橋構造をもった籠型分子は、直線的・平面的な構造をもつ低分子化合物に見られない作用機序や、創薬標的との結合力の向上が期待でき、医薬品開発において有用であることを述べた。そして、ペプチド模倣分子の設計に求められるような、自在な置換基導入を可能にする籠型骨格の開発は限られていることを指摘し、本研究の意義を明らかにした。

第二章「三環性籠型骨格の開発とペプチド模倣分子への応用」においては、三次元性の高い骨格として、三環性籠型分子骨格の開発を目指した。そして、芳香族化合物に代わり、開発した骨格をペプチド模倣分子の設計に用いることで、籠型骨格の医薬品設計における有用性の実証を目指した。

第三章「不斉四環性籠型骨格の開発」では、新たな三次元骨格として、四環性籠型骨格の開発に取り組んだ。このとき、医薬品開発において強く望まれている不斉分子の供給を目指し、アミノ酸を出発原料とする合成経路の確立に取り組んだ。

第四章「二環性籠型骨格の開発と CD28 ペプチド模倣分子への応用」においては、置換基導入が容易な三次元骨格として、二環性籠型分子骨格の開発に取り組んだ。そして、リン酸化チロシンの結合様式を模倣するため、取り扱い困難な極性官能基の導入が求められる CD28 ペプチド模倣分子へと応用することで、開発した二環性籠型骨格の医薬品開発における有用性の実証を目指した。

第五章「籠型骨格生成器 “DeepCubist” の開発」においては、ペプチド模倣分子への応用を指向した籠型骨格の設計手法の確立に取り組んだ。このとき、籠型骨格のデータベースの構築することで、従来の低分子医薬品に見られない三次元ケミカルスペースの探索を目指した。そして、深層学習を活用することで、未知の籠型骨格へとヘテロ原子や不飽和結合を導入し、合成可能な籠型骨格を取得することで、ペプチド模倣分子の母骨格構造の最適化を目指した。

第六章「構造活性相関 (SAR) 転移の予測による側鎖構造最適化の実証」においては、母骨格構造のみならず、側鎖構造の最適化手法の確立に向け、構造活性相関 (SAR) の転位による側鎖構造最適化の実証に取り組んだ。

第七章においては、本論文を総括している。

^d 本論文において化合物番号は、各章において独立して割り当てられている。

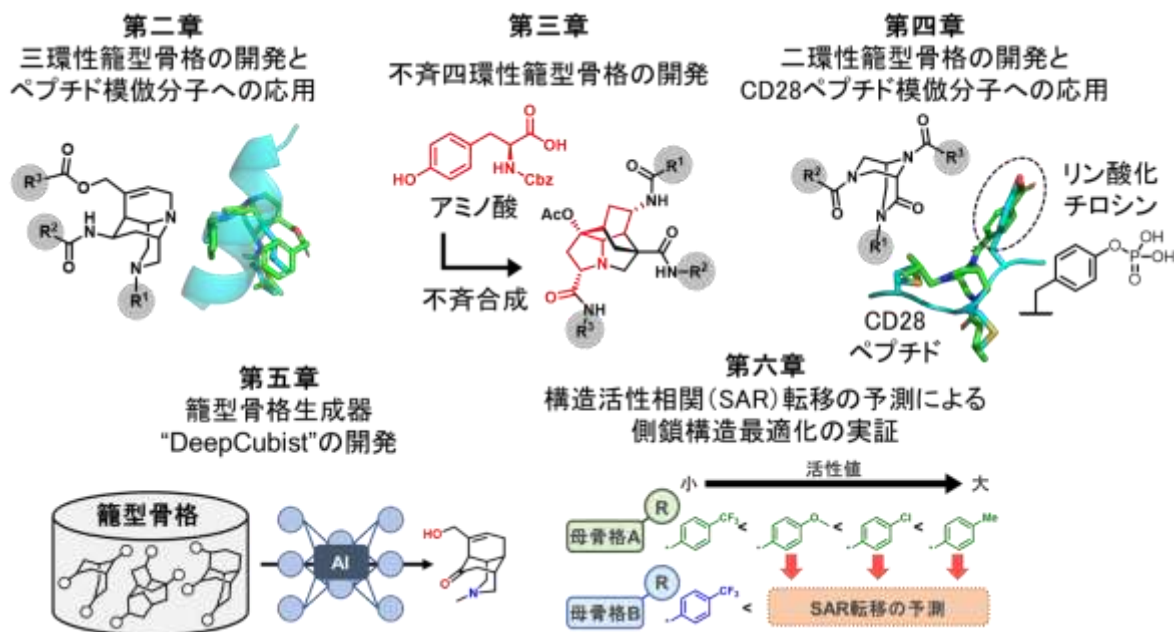


Figure 1-25. 本論文の概要

1-10 References

- (1) Barker, A.; Kettle, J. G.; Nowak, T.; Pease, J. E. Expanding medicinal chemistry space. *Drug Discov. Today* **2013**, *18*, 298–304.
- (2) Walters, W. P.; Green, J.; Weiss, J. R.; Mureko, M. A. What Do Medicinal Chemists Actually Make? A 50-Year Retrospective. *J. Med. Chem.* **2011**, *54*, 6405–6416;
- (3) Brown, D. G.; Boström, J. Analysis of Past and Present Synthetic Methodologies on Medicinal Chemistry: Where Have All the New Reactions Gone? *J. Med. Chem.* **2016**, *59*, 4443–4458.
- (4) Dandapani, S.; Marcaurelle, L. A. Grand Challenge Commentary: Accessing new chemical space for “undruggable” targets. *Nat. Chem. Biol.* **2010**, *6*, 861–863.
- (5) Crick, F. H. On Protein Synthesis. *Symp. Soc. Exp Biol.* **1958**, *12*, 138–163.
- (6) Agarwal, P.; Huckle, J.; Newman, J.; Reid, D. L. Trends in small molecule drug properties: A developability molecule assessment perspective. *Drug Discov. Today* **2022**, *27*, 103366.
- (7) Fuller, J. C.; Burgoyne, N. J.; Jackson, R. M. Predicting druggable binding sites at the protein-protein interface. *Drug Discov. Today* **2009**, *14*, 155–161.
- (8) Chen, D.; Li, L.; Diaz, K.; Iyamu, I. D.; Yadav, R.; Noinaj, N.; Huang, R. Novel Propargyl-Linked Bisubstrate Analogues as Tight-Binding Inhibitors for Nicotinamide N-Methyltransferase. *J. Med. Chem.* **2019**, *62*, 10783–10797.
- (9) Rickert, M.; Wang, X.; Boulanger, M. J.; Goriatcheva, N.; Garcia, K. C. The structure of interleukin-2 complexed with its alpha receptor. *Science* **2005**, *308*, 1477–1480.
- (10) (a) Thanos, C. D.; Randal, M.; Wells, J. A. Potent Small-Molecule Binding to a Dynamic Hot Spot on IL-2. *J. Am. Chem. Soc.* **2003**, *125*, 15280–15281.
- (11) Lipinski, C. A.; Lombardo, F.; Dominy, B. W.; Feeney, P. J. Experimental and computational approaches to estimate solubility and permeability in drug discovery and development settings. *Adv. Drug Deliv. Rev.* **2001**, *46*, 3–26.
- (12) Da Silva, F.; Bret, G.; Teixeira, L.; Gonzalez, C. F.; Rognan, D. Exhaustive Repertoire of Druggable Cavities at Protein-Protein Interfaces of Known Three-Dimensional Structure. *J. Med. Chem.* **2019**, *62*, 9732–9742.
- (13) Truong, J.; George, A.; Holien, J. K. Analysis of physicochemical properties of protein-protein interaction modulators suggests stronger alignment with the “rule of five.” *RSC Med. Chem.* **2021**, *12*, 1731–1749.
- (14) Hargrove, A. E. Small molecule-RNA targeting: starting with the fundamentals. *Chem. Commun.* **2020**, *56*, 14744–14756.

- (15) Wess, G.; Urmann, M.; Sickenberger, B. Medicinal Chemistry: Challenges and Opportunities. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2001**, *40*, 3341–3350.
- (16) Hu, Y.; Stumpfe, D.; Bajorath, J. Computational Exploration of Molecular Scaffolds in Medicinal Chemistry. *J. Med. Chem.* **2016**, *59*, 4062–4076.
- (17) Langdon, S. R.; Brown, N.; Blagg, J. Scaffold Diversity of Exemplified Medicinal Chemistry Space. *J. Chem. Inf. Model.* **2011**, *51*, 2174–2185.
- (18) Sauer, W. H. B.; Schwarz, M. K. Molecular Shape Diversity of Combinatorial Libraries: A Prerequisite for Broad Bioactivity. *J. Chem. Inf. Comput. Sci.* **2003**, *43*, 987–1003.
- (19) Wishart, D. S.; Feunang, Y. D.; Guo, A. C.; Lo, E. J.; Marcu, A.; Grant, J. R.; Sajed, T.; Johnson, D.; Li, C.; Sayeeda, Z.; Assempour, N.; Iynkkaran, I.; Liu, Y.; Maciejewski, A.; Gale, N.; Wilson, A.; Chin, L.; Cummings, R.; Le, D.; Pon, A.; Knox, C.; Wilson, M. DrugBank 5.0: a major update to the DrugBank database for 2018. *Nucleic Acids Res.* **2018**, *46*, D1074–D1082.
- (20) Wolber, G.; Langer, T. LigandScout: 3-D Pharmacophores Derived from Protein-Bound Ligands and Their Use as Virtual Screening Filters. *J. Chem. Inf. Model.* **2005**, *45*, 160–169.
- (21) Landrum, G. RDKit: Open-Source Cheminformatics Software; <https://www.rdkit.org>.
- (22) Weaver, B. A. How Taxol/Paclitaxel kills cancer cells. *Mol. Biol. Cell* **2014**, *25*, 2677–2681.
- (23) Davenport, J.; Manjarrez, J. R.; Peterson, L.; Krumm, B.; Blagg, B. S. J.; Matts, R. L. Gambogic Acid, a Natural Product Inhibitor of Hsp90. *J. Nat. Prod.* **2011**, *74*, 1085–1092.
- (24) Yarmola, E. G.; Somasundaram, T.; Boring, T. A.; Spector, I.; Bubb, M. R. Actin-Latrunculin A Structure and Function: DIFFERENTIAL MODULATION OF ACTIN-BINDING PROTEIN FUNCTION BY LATRUNCULIN A. *J. Biol. Chem.* **2000**, *275*, 28120–28127.
- (25) Würtele, M.; Jelic-Ottmann, C.; Wittinghofer, A.; Oecking, C. Structural view of a fungal toxin acting on a 14-3-3 regulatory complex. *EMBO J.* **2003**, *22*, 987–994.
- (26) Feher, M.; Schmidt, J. M. Property Distributions: Differences between Drugs, Natural Products, and Molecules from Combinatorial Chemistry. *J. Chem. Inf. Comput. Sci.* **2003**, *43*, 218–227.
- (27) Lovering, F.; Bikker, J.; Humblet, C. Escape from Flatland: Increasing Saturation as an Approach to Improving Clinical Success. *J. Med. Chem.* **2009**, *52*, 6752–6756.
- (28) Lovering, F. Escape from Flatland 2: complexity and promiscuity. *Med. Chem. Commun.* **2013**, *4*, 515–519.
- (29) Ruben, A. J.; Kiso, Y.; Freire, E. Overcoming roadblocks in lead optimization: a thermodynamic perspective. *Chem. Biol. Drug Des.* **2006**, *67*, 2–4.
- (30) Geiger, C.; Zelenka, C.; Weigl, M.; Fröhlich, R.; Wibbeling, B.; Lehmkuhl, K.; Schepmann, D.; Grünert, R.; Bednarski, P. J.; Wünsch, B. Synthesis of Bicyclic Sigma Receptor Ligands with Cytotoxic Activity. *J. Med. Chem.* **2007**, *50*, 6144–6153.
- (31) Wang, Y.; Kirschner, A.; Fabian, A.-K.; Gopalakrishnan, R.; Kress, C.; Hoogeland, B.; Koch, U.; Kozany, C.; Bracher, A.; Hausch, F. Increasing the Efficiency of Ligands for FK506-Binding Protein 51 by Conformational Control. *J. Med. Chem.* **2013**, *56*, 3922–3935.
- (32) Galloway, W. R. J. D.; Isidro-Llobet, A.; Spring, D. R. Diversity-oriented synthesis as a tool for the discovery of novel biologically active small molecules. *Nat. Commun.* **2010**, *1*, 80.
- (33) Pizzirani, D.; Kaya, T.; Clemons, P. A.; Schreiber, S. L. Stereochemical and skeletal diversity arising from amino propargylic alcohols. *Org. Lett.* **2010**, *12*, 2822–2825.
- (34) Ng, P. Y.; Tang, Y.; Knosp, W. M.; Stadler, H. S.; Shaw, J. T. Synthesis of Diverse Lactam Carboxamides Leading to the Discovery of a New Transcription-Factor Inhibitor. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2007**, *46*, 5352–5355.
- (35) Tajabadi, F. M.; Campitelli, M. R.; Quinn, R. J. Scaffold Flatness: Reversing the Trend. *Springer Science Reviews* **2013**, *1*, 141–151.
- (36) Mazraati Tajabadi, F.; Pouwer, R. H.; Liu, M.; Dashti, Y.; Campitelli, M. R.; Murtaza, M.; Mellick, G. D.; Wood, S. A.; Jenkins, I. D.; Quinn, R. J. Design and Synthesis of Natural Product Inspired Libraries Based on the Three-Dimensional (3D) Cedrane Scaffold: Toward the Exploration of 3D Biological Space. *J. Med. Chem.* **2018**, *61*, 6609–6628.
- (37) Newman, D. J.; Cragg, G. M. Natural Products as Sources of New Drugs over the Nearly Four Decades from 01/1981 to 09/2019. *J. Nat. Prod.* **2020**, *83*, 770–803.
- (38) Karageorgis, G.; Foley, D. J.; Laraia, L.; Waldmann, H. Principle and design of pseudo-natural products. *Nat. Chem.* **2020**, *12*, 227–235.
- (39) Karageorgis, G.; Reckzeh, E. S.; Ceballos, J.; Schwalfenberg, M.; Sievers, S.; Ostermann, C.; Pahl, A.; Ziegler, S.; Waldmann, H. Chromopyrones are pseudo natural product glucose uptake inhibitors targeting glucose transporters GLUT-1 and -3. *Chem.* **2018**, *10*, 1103–1111.

- (40) (a) Lau, Y. H.; de Andrade, P.; Wu, Y.; Spring, D. R. Peptide stapling techniques based on different macrocyclisation chemistries. *Chem. Soc. Rev.* **2015**, *44*, 91–102; (b) Li, X.; Chen, S.; Zhang, W.-D.; Hu, H.-G. Stapled Helical Peptides Bearing Different Anchoring Residues. *Chem. Rev.* **2020**, *120* (18), 10079–10144.
- (41) Dougherty, P. G.; Wen, J.; Pan, X.; Koley, A.; Ren, J.-G.; Sahni, A.; Basu, R.; Salim, H.; Appiah Kubi, G.; Qian, Z.; Pei, D. Enhancing the Cell Permeability of Stapled Peptides with a Cyclic Cell-Penetrating Peptide. *J. Med. Chem.* **2019**, *62*, 10098–10107.
- (42) Wu, Y.; Kaur, A.; Fowler, E.; Wiedmann, M. M.; Young, R.; Galloway, W. R. J. D.; Olsen, L.; Sore, H. F.; Chattopadhyay, A.; Kwan, T. T.-L.; Xu, W.; Walsh, S. J.; de Andrade, P.; Janecek, M.; Arumugam, S.; Itzhaki, L. S.; Lau, Y. H.; Spring, D. R. Toolbox of Diverse Linkers for Navigating the Cellular Efficacy Landscape of Stapled Peptides. *ACS Chem. Biol.* **2019**, *14*, 526–533.
- (43) (a) Zorzi, A.; Deyle, K.; Heinis, C. Cyclic peptide therapeutics: past, present and future. *Curr. Opin. Chem. Biol.* **2017**, *38*, 24–29; (b) Naylor, M. R.; Bockus, A. T.; Blanco, M.-J.; Lokey, R. S. cyclic peptide natural products chart the frontier of oral bioavailability in the pursuit of undruggable targets. *Curr. Opin. Chem. Biol.* **2017**, *38*, 141–147.
- (44) Huai, Q.; Kim, H.-Y.; Liu, Y.; Zhao, Y.; Mondragon, A.; Liu, J. O.; Ke, H. crystal structure of calcineurin-cyclophilin-cyclosporin shows common but distinct recognition of immunophilin-drug complexes. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **2002**, *99*, 12037–12042.
- (45) White, T. R.; Renzelman, C. M.; Rand, A. C.; Rezai, T.; McEwen, C. M.; Gelev, V. M.; Turner, R. A.; Linington, R. G.; Leung, S. S. F.; Kalgutkar, A. S.; Bauman, J. N.; Zhang, Y.; Liras, S.; Price, D. A.; Mathiowetz, A. M.; Jacobson, M. P.; Lokey, R. S. On-resin n-methylation of cyclic peptides for discovery of orally bioavailable scaffolds. *Nat. Chem. Biol.* **2011**, *7*, 810–817.
- (46) Tanada, M.; Tamiya, M.; Matsuo, A.; Chiyoda, A.; Takano, K.; Ito, T.; Irie, M.; Kotake, T.; Takeyama, R.; Kawada, H.; Hayashi, R.; Ishikawa, S.; Nomura, K.; Furuichi, N.; Morita, Y.; Kage, M.; Hashimoto, S.; Nii, K.; Sase, H.; Ohara, K.; Ohta, A.; Kuramoto, S.; Nishimura, Y.; Iikura, H.; Shiraiishi, T. Development of Orally Bioavailable Peptides Targeting an Intracellular Protein: From a Hit to a Clinical KRAS Inhibitor. *J. Am. Chem. Soc.* **2023**, *145*, 16610–16620.
- (47) Otake, Y.; Shibata, Y.; Hayashi, Y.; Kawauchi, S.; Nakamura, H.; Fuse, S. N-Methylated Peptide Synthesis via Generation of an Acyl N-Methylimidazolium Cation Accelerated by a Brønsted Acid. *Angew. Chem. Int. Ed Engl.* **2020**, *59*, 12925–12930.
- (48) Scott, D. E.; Bayly, A. R.; Abell, C.; Skidmore, J. Small molecules, big targets: drug discovery faces the protein-protein interaction challenge. *Nat. Rev. Drug Discov.* **2016**, *15*, 533–550.
- (49) Vassilev, L. T.; Vu, B. T.; Graves, B.; Carvajal, D.; Podlaski, F.; Filipovic, Z.; Kong, N.; Kammlott, U.; Lukacs, C.; Klein, C.; Fotouhi, N.; Liu, E. A. In vivo activation of the p53 pathway by small-molecule antagonists of MDM2. *Science* **2004**, *303*, 844–848.
- (50) White, P. W.; Titolo, S.; Brault, K.; Thauvette, L.; Pelletier, A.; Welchner, E.; Bourgon, L.; Doyon, L.; Ogilvie, W. W.; Yoakim, C.; Cordingley, M. G.; Archambault, J. Inhibition of human papillomavirus DNA replication by small molecule antagonists of the E1-E2 protein interaction. *J. Biol. Chem.* **2003**, *278*, 26765–26772.
- (51) Marcotte, D.; Zeng, W.; Hus, J.-C.; McKenzie, A.; Hession, C.; Jin, P.; Bergeron, C.; Lugovskoy, A.; Enyedy, I.; Cuervo, H.; Wang, D.; Atmanene, C.; Roecklin, D.; Vecchi, M.; Vivat, V.; Kraemer, J.; Winkler, D.; Hong, V.; Chao, J.; Lukashev, M.; Silvian, L. Small molecules inhibit the interaction of Nrf2 and the Keap1 Kelch domain through a non-covalent mechanism. *Bioorg. Med. Chem.* **2013**, *21*, 4011–4019.
- (52) Erlanson, D. A.; Fesik, S. W.; Hubbard, R. E.; Jahnke, W.; Jhoti, H. Twenty years on: the impact of fragments on drug discovery. *Nat. Rev. Drug Discov.* **2016**, *15*, 605–619.
- (53) (a) Oltersdorf, T.; Elmore, S. W.; Shoemaker, A. R.; Armstrong, R. C.; Augeri, D. J.; Belli, B. A.; Bruncko, M.; Deckwerth, T. L.; Dinges, J.; Hajduk, P. J.; Joseph, M. K.; Kitada, S.; Korsmeyer, S. J.; Kunzer, A. R.; Letai, A.; Li, C.; Mitten, M. J.; Nettesheim, D. G.; Ng, S.; Nimmer, P. M.; O'Connor, J. M.; Oleksijew, A.; Petros, A. M.; Reed, J. C.; Shen, W.; Tahir, S. K.; Thompson, C. B.; Tomaselli, K. J.; Wang, B.; Wendt, M. D.; Zhang, H.; Fesik, S. W.; Rosenberg, S. H. An inhibitor of Bcl-2 family proteins induces regression of solid tumours. *Nature* **2005**, *435*, 677–681; (b) Souers, A. J.; Levenson, J. D.; Boghaert, E. R.; Ackler, S. L.; Catron, N. D.; Chen, J.; Dayton, B. D.; Ding, H.; Enschede, S. H.; Fairbrother, W. J.; Huang, D. C. S.; Hymowitz, S. G.; Jin, S.; Khaw, S. L.; Kovar, P. J.; Lam, L. T.; Lee, J.; Maecker, H. L.; Marsh, K. C.; Mason, K. D.; Mitten, M. J.; Nimmer, P. M.; Oleksijew, A.; Park, C. H.; Park, C.-M.; Phillips, D. C.; Roberts, A. W.; Sampath, D.; Seymour, J. F.; Smith, M. L.; Sullivan, G. M.; Tahir, S. K.; Tse, C.; Wendt, M. D.; Xiao, Y.; Xue, J. C.; Zhang, H.; Humerickhouse, R. A.; Rosenberg, S. H.; Elmore, S. W. ABT-199, a potent and selective BCL-2 inhibitor, achieves antitumor activity while sparing platelets. *Nat. Med.* **2013**, *19*, 202–208.
- (54) Pelay-Gimeno, M.; Glas, A.; Koch, O.; Grossmann, T. N. Structure-Based Design of Inhibitors of Protein-Protein Interactions: Mimicking Peptide Binding Epitopes. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2015**, *54*, 8896–8927.

- (55) Orner, B. P.; Ernst, J. T.; Hamilton, A. D. Toward Proteomimetics: Terphenyl Derivatives as Structural and Functional Mimics of Extended Regions of an α -Helix. *J. Am. Chem. Soc.* **2001**, *123*, 5382–5383.
- (56) Davis, J. M.; Truong, A.; Hamilton, A. D. Synthesis of a 2,3';6',3''-Terpyridine Scaffold as an Alpha-Helix Mimetic. *Org. Lett.* **2005**, *7*, 5405–5408.
- (57) Yin, H.; Lee, G.-I.; Sedey, K. A.; Rodriguez, J. M.; Wang, H.-G.; Sebti, S. M.; Hamilton, A. D. Terephthalamide Derivatives as Mimetics of Helical Peptides: Disruption of the Bcl-x(L)/Bak Interaction. *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, *127*, 5463–5468.
- (58) Rodriguez, J. M.; Ross, N. T.; Katt, W. P.; Dhar, D.; Lee, G.-I.; Hamilton, A. D. Structure and Function of Benzoylurea-Derived Alpha-Helix Mimetics Targeting the Bcl-x(L)/Bak Binding Interface. *ChemMedChem* **2009**, *4*, 649–656.
- (59) Ernst, J. T.; Becerril, J.; Park, H. S.; Yin, H.; Hamilton, A. D. Design and Application of an Alpha-Helix-Mimetic Scaffold Based on an Oligoamide-Foldamer Strategy: Antagonism of the Bak BH3/Bcl-XL Complex. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2003**, *42*, 535–539.
- (60) Maity, D.; Kumar, S.; Curreli, F.; Debnath, A. K.; Hamilton, A. D. α -Helix-Mimetic Foldamers for Targeting HIV-1 TAR RNA. *Chemistry* **2019**, *25*, 7265–7269.
- (61) Lee, J. H.; Zhang, Q.; Jo, S.; Chai, S. C.; Oh, M.; Im, W.; Lu, H.; Lim, H.-S. Novel Pyrrolopyrimidine-Based α -Helix Mimetics: Cell-Permeable Inhibitors of Protein–protein Interactions. *J. Am. Chem. Soc.* **2011**, *133*, 676–679.
- (62) Volonterio, A.; Moisan, L.; Rebek, J., Jr. Synthesis of Pyridazine-Based Scaffolds as Alpha-Helix Mimetics. *Org. Lett.* **2007**, *9*, 3733–3736.
- (63) Tošovská, P.; Arora, P. S. Oligoioxopiperazines as Nonpeptidic α -Helix Mimetics. *Org. Lett.* **2010**, *12*, 1588–1591.
- (64) Lao, B. B.; Grishagin, I.; Mesallati, H.; Brewer, T. F.; Olenyuk, B. Z.; Arora, P. S. In vivo modulation of hypoxia-inducible signaling by topographical helix mimetics. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **2014**, *111*, 7531–7536.
- (65) Bohacek, R. S.; McMartin, C.; Guida, W. C. The art and practice of structure-based drug design: a molecular modeling perspective. *Med. Res. Rev.* **1996**, *16*, 3–50.
- (66) Ripphausen, P.; Nisius, B.; Peltason, L.; Bajorath, J. Quo Vadis, Virtual Screening? A Comprehensive Survey of Prospective Applications. *J. Med. Chem.* **2010**, *53*, 8461–8467.
- (67) Durant, J. L.; Leland, B. A.; Henry, D. R.; Nourse, J. G. Reoptimization of MDL Keys for Use in Drug Discovery. *J. Chem. Inf. Comput. Sci.* **2002**, *42*, 1273–1280.
- (68) Morgan, H. L. The generation of a unique machine description for chemical structures—a technique developed at chemical abstracts service. *J. Chem. Doc.* **1965**, *5*, 107–113.
- (69) Kumar, A. Chemical Similarity Methods : A Tutorial Review. *Chem. Educ.* **2011**, *16*, 1–5.
- (70) Lyu, J.; Wang, S.; Balius, T. E.; Singh, I.; Levit, A.; Moroz, Y. S.; O'Meara, M. J.; Che, T.; Alga, E.; Tolmacheva, K.; Tolmachev, A. A.; Shoichet, B. K.; Roth, B. L.; Irwin, J. J. Ultra-large library docking for discovering new chemotypes. *Nature* **2019**, *566*, 224–229.

第二章

三環性籠型骨格の開発と ペプチド模倣分子への応用

2-1 はじめに

序論で述べた通り、芳香族化合物を基盤として開発されてきた従来の低分子医薬品は、その構造が直線的・平面的なものに偏っている。医薬品の形状は、標的タンパク質との相互作用の確立に最も重要な要素の一つであり、構造的多様性の欠如した現状の化合物群では、創薬標的もまた制限される。したがって、創薬標的を拡充するため、これまで十分に活用されてこなかった三次元性の高い骨格の開発が強く望まれる。

このような背景のもと、当研究室植田は、架橋二環性骨格であるビスクロ[3.3.1]ノン-2-エン骨格 **I** を基盤とする生物活性分子を報告した (Figure 2-1A)¹。剛直な籠状分子の利用は、その骨格上の各置換基を三次元空間の特定の位置に配置できるため、標的選択的な生物活性分子の設計において有効な戦略と考えられる。本章においては、籠型骨格の生物活性分子への応用をさらに進めるべく、架橋二環性骨格 **II** を発展させ、架橋三環性骨格 **III** の利用を考えた (Figure 2-1B)。すなわち、架橋三環性骨格 **III** を足場として、架橋二環式骨格 **II** とは異なった置換基の空間配置パターンを実現することで、新たな生物活性分子の創出を目指した。

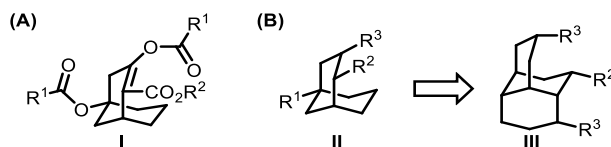
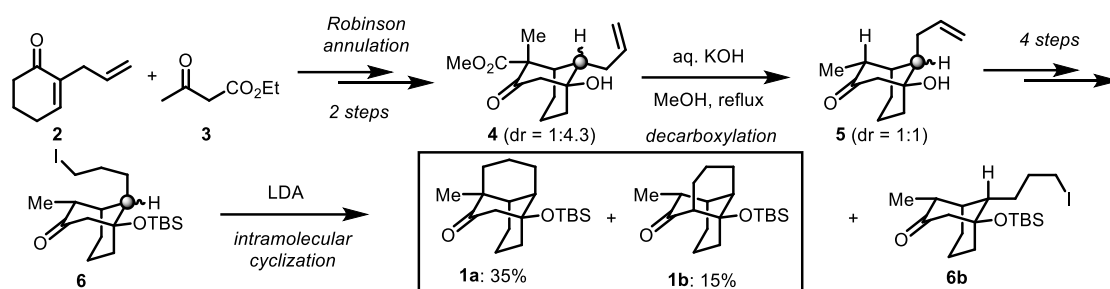


Figure 2-1. ビシクロ[3.3.1]ノン-2-エン骨格 **I** の構造 (A) と架橋三環性骨格 **III** への展開 (B)

2-2 架橋三環性骨格の合成計画

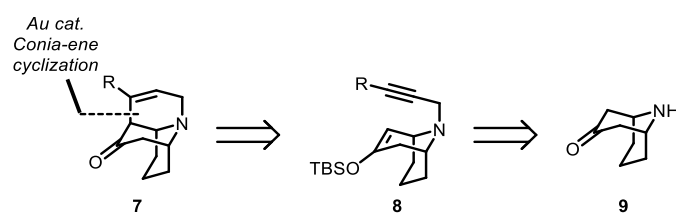
架橋三環性骨格 **III** の合成例として、トリシクロ[6.4.0.0^{4,9}]-ドデカン骨格 **1** の合成が Crowe らにより報告されている (Scheme 2-1)²。まず、エノン **2** と β-ケトエステル **3** を出発物質とし、ロビンソン環化を経て、架橋二環性骨格 **4** を合成した。骨格 **4** を塩基性条件下で加熱することで、メチルエステルの加水分解に続く脱炭酸反応が進行し、アルケン **5** を得た。アルケン **5** から四工程を経てヨウ素体 **6** とした。最後に、ヨウ素体 **6** に LDA を作用させることで分子内環化反応が進行し、架橋三環性骨格 **1** の合成を達成した。

しかし、上述の合成法は二つの問題点を抱える。一つ目は、ヨウ素体 **6** の分子内求核置換反応によって、架橋三環性骨格 **1** を構築するために、架橋二環性骨格 **5** から四工程もの官能基変換を要したことである。二つ目は、ヨウ素体 **6** が、ジアステレオマー混合物である架橋二環性骨格 **4** から誘導されたため、その分子内環化反応において、反応の進行しない立体異性体 **6b** が回収されてしまったことである。



Scheme 2-1. Crowe らによるトリシクロ[6.4.0.0^{4,9}]-ドデカン骨格 **1** の合成

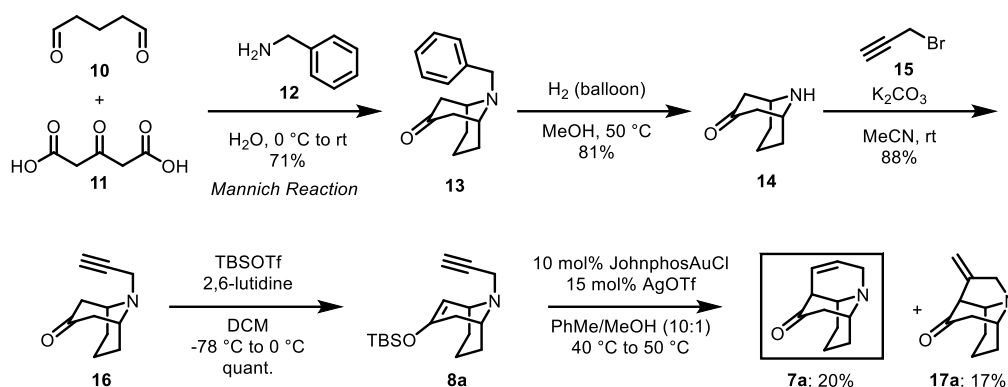
上述した問題点の解決を目指し、本研究においてはアザトリシクロドデセン **7** を合成標的として設計した (Scheme 2-2)。架橋三環性骨格 **7** をアルキン **8** の金触媒を用いた Conia-ene 反応³により合成することとした。これにより、ハロゲン原子を導入するための官能基変換を必要としない架橋三環性骨格の構築を達成できると考えた。そして、アルキン **8** は、架橋二環性骨格 **9** へのプロパルギル基の導入により得られると考えた。アルキン **8** の窒素原子上に導入されたプロパルギル基は、その立体化学が固定されていないため、Conia-ene 反応において全ての基質が消費され得ると考えた。



Scheme 2-2. 架橋三環性骨格 **7** の合成計画

2-3 アザトリシクロドデセン **7a** の合成検討

合成計画に従い、アザトリシクロドデセン骨格 **7a** の合成を検討した (Scheme 2-3)。まず、Mannich 反応により架橋二環性骨格 **13**⁴ を得たのち、水素添加反応によりベンジル基を除去することで、第二級アミン **14**⁵ とした。第二級アミン **14** とプロパルギルブロミド (**15**) の求核置換反応により、プロパルギルアミン **16** を収率 88% で得た。続いて、2,6-ルチジン存在下で TBSOTf と混合することで、シリルエノールエーテル **8a** を調製した。環化前駆体 **8a** に対しトルエン/メタノール混合溶媒中、金触媒として JohnphosAuCl を用いて Conia-ene 反応を試みた。その結果、6-endo-dig 環化反応が進行し、望みのアザトリシクロドデセン **7a** が得られた。

Scheme 2-3. アザトリシクロドデセン **7a** の合成検討

以上の検討から、架橋二環性骨格 **8a** の金触媒を用いた Conia-ene 反応により、架橋三環性骨格 **7a** が構築できることを明らかにした。しかしながら、三環性骨格 **7a** の収率は 20% と満足のものではなく、5-*exo-dig* 環化異性体 **17a** も収率 17% で得られており、位置選択性が課題となった。

2-4 金触媒を用いた Conia-ene 反応の位置選択性向上の検討

2-4-1 配位子と銀塩の検討

前節で述べた通り、シリルエノールエーテル **8a** の分子内環化反応における位置選択性が課題となった。そこで、金触媒の配位子と銀塩を変更することで、環化反応の位置選択性の向上を目指した。^a 検討の結果を Table 1 に示す。銀塩を AgOTf とし、種々の配位子を用いて Conia-ene 反応を実施したところ、PPh₃, Sphos, MeDalphos, CycloJhonphos を用いた際に (entry 1, 7–9), 望む **7a** が 5-*exo-dig* 環化体 **17a** よりも多く得られた。しかし、**7a** と **17a** との収率の差が最大でも 23% (entry 8) と、高い選択性は見られなかった。また、検討した 12 条件のうち 7 条件 (entry 3–6, 10–12) において、望まない **17a** の収率が **7a** の収率を上回っており、5-*exo-dig* 環化が起こりやすいことが推察される。

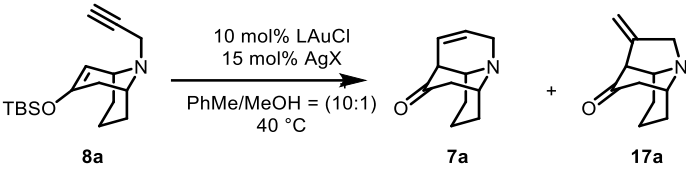
以上の検討から、配位子と銀塩を変更することでは、シリルエノールエーテル **8a** の Conia-ene 反応の位置選択性の向上が困難であると考えた。

^a Bariiault らは、シリルエノールエーテル **IV** の金触媒を用いた Conia-ene 反応において、配位子の変更によって位置選択性が逆転することを報告している (Table 2-A, entry 1 vs 2).⁶

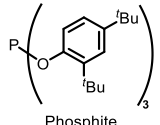
Table 2-A. 配位子の変更による金触媒を用いた Conia-ene 反応の位置選択性の制御

entry	L	Yield (%) of V/VI
1	L1	24/58
2	L2	55/23

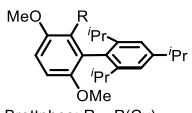
Table 2-1. 配位子と銀塩の検討



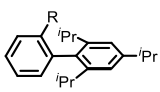
entry	L	X	yield (%) ^a of 7a	yield (%) ^a of 17a
1 ^b	PPh ₃	OTf	24	12
2 ^b	Phosphite	OTf	<5	<5
3 ^b	Xphos	OTf	31	42
4	<i>t</i> -BuXphos	OTf	37	39
5	Brettphos	OTf	35	43
6	<i>t</i> -Brettphos	OTf	37	44
7	Sphos	OTf	40	30
8	MeDalphos	OTf	52	29
9	CycloJohnphos	OTf	45	33
10 ^b	Johnphos	OTf	41	42
11	Johnphos	NTf ₂	28	58
12	Johnphos	SbF ₆	41	46



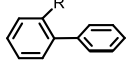
Phosphite



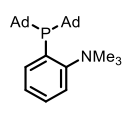
Brettphos: R = P(Cy)₂
^tBuBrettphos: R = P(^tBu)₂



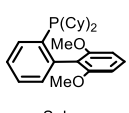
Xphos: R = P(Cy)₂
^tBuXphos: R = P(^tBu)₂



Johnphos: R = P(^tBu)₂
CycloJohnphos: R = P(Cy)₂



MeDalphos



Sphos

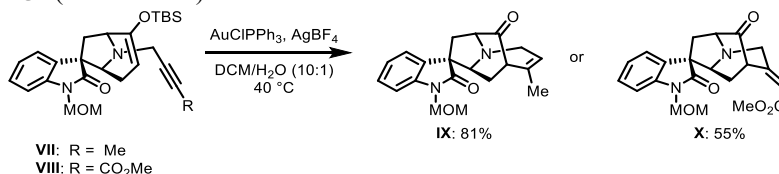
^aDetermined by crude ¹H NMR analysis with 1-methylpyrazole as an internal standard. ^bReaction was performed at 40 °C and heated to 50 °C. Cy = cyclohexyl, Ad = 1-adamantyl.

2-4-2 アルキン上への置換基導入による金触媒反応の位置選択性向上の検討

前項では、用いる銀塩や配位子に関わらず、アザトリシクロドデセン **7a** の選択的な合成は困難であった。一方、金触媒による Conia-ene 反応の位置選択性は、アルキン上の置換基の違いによっても制御され得る。^b そこで、アルキン上に種々の置換基をもつ環化前駆体 **8** を調製し、それらの Conia-ene 反応における位置選択性を調査した (Table 2-2)。

まず、アルキン上に TMS 基を導入した基質 **8b** の環化反応を試みると、生成物からは TMS 基が除去されており、**8a** を用いたときと同様に、環化位置の選択性に大きな差は見られなかった (entry 2)。アルキン上に 4-メトキシフェニル基を有する基質 **8c** を用いると、完全な位置選択性にて 6-endo-dig 環化体 **7c** が良好な収率 (75%) で得られた (entry 3)。さらに、シロキシメチル基、フタルイミジルメチル基、メチル基といったアルキル基を有する環化前駆体 **8d-f** も完全な位置選択性にてアザトリ

^b She らは、金触媒による Conia-ene 反応において、アルキン上の置換基がメチル基である **VII** からは 7-endo-dig 環化体 **IX** が選択的に得られ、メトキシカルボニル基をもつ **VIII** からは 6-exo-dig 環化体 **X** が選択的に得られることを報告している (Scheme 2-A)⁷。

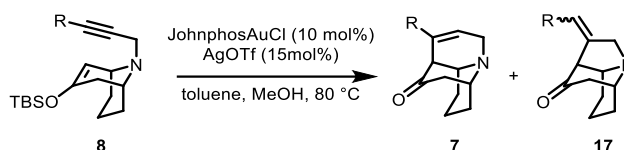


Scheme 2-A. アルキン上の置換基の違いによる分子内環化反応の位置選択性の制御

シクロドデセン **7d-f** に変換された (entry 4–6). 一方, トリフルオロメチル基を導入した基質 **8g** やエステル **8h**, アミド **8i** といった, アルキン上の置換基が電子求引基である場合, 5-*exo-dig* 環化体 **17** が完全な位置選択性にて得られた (entry 7–9). なお, ヨードアルキン **8j** を本反応条件に付すと, 複雑な混合物が生じた (entry 10)

検討の結果, シリルエノールエーテル **8** の Conia-ene 反応の位置選択性が, そのアルキン上の置換基によって制御できることを明らかにし, 設計したアザトリシクロドデセン骨格 **7** を完全な位置選択性かつ良好な収率で得ることに成功した.

Table 2-2. 末端アルキンの修飾による位置選択的な金触媒的環化反応の検討



entry	substrate	R	yield (%) of 7 ^a	yield (%) of 17 ^a
1 ^b	8a	H	20	17
2	8b	TMS	21 ^c	26 ^d
3 ^e	8c	4-MeOC ₆ H ₄	75	0
4 ^e	8d	TBSOCH ₂	67	0
5	8e		55	0
6	8f	Me	66	0
7 ^f	8g	F ₃ C	0	25 (45) ^h
8 ^f	8h	EtOCO	0	50
9 ^f	8i	<i>n</i> -BuNHCO	0	36
10 ^g	8j	I	-	-

^aIsolated yield. ^bPerformed at 40 °C and heated to 50 °C. ^cThe product was obtained as **7a**. ^dThe product was obtained as **17a**. ^ePerformed at 40 °C. ^fSingle diastereomer. ^gComplex mixture. ^hRecovery of **8g** in parenthesis.

観測されたアルキン上の置換基による位置選択性の違いについて, 以下の通り考察した. すなわち, 置換基が電子供与効果をもつ場合, 6-*endo-dig* 環化反応の遷移状態 TS2 において, 隣接炭素の部分的正電荷が安定化を受けることで選択性が発現したと考えた (Figure 2-2). アルキン上の置換基がアルキル基であった場合, 遷移状態 TS1 と TS2 において電子的効果に差がないと考えられるが, 環化体 **8** や **17** の立体が強固に固定されていることから, 環ひずみのより小さい六員環の生成が優先したと考えた. 置換基が電子求引基である場合, 遷移状態 TS1 において隣接炭素に生じる部分的正電荷が不安定化されると同時に Michael 付加型の反応が活性化されるため, 5-*exo-dig* 環化が選択的に起こったと考えた.

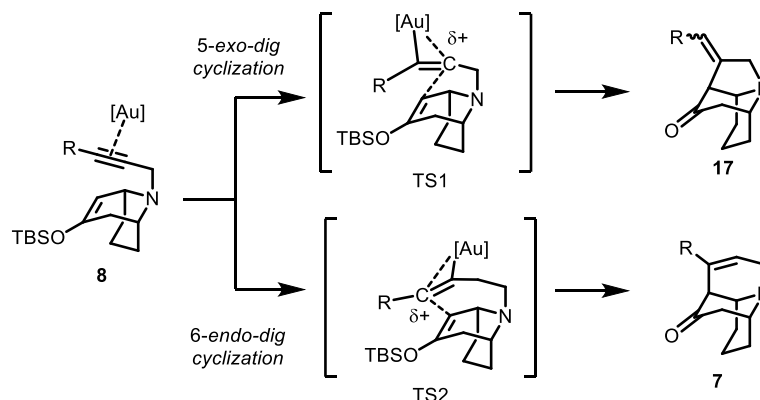
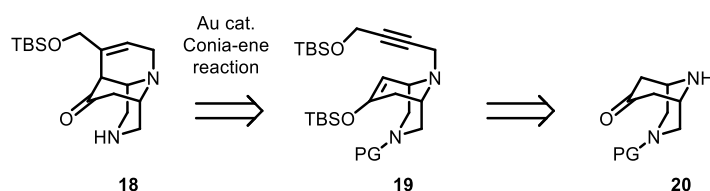


Figure 2-2. シリルエノールエーテル **8** の金触媒による Conia-ene 反応の推定反応機構

2-5 ジアザトリシクロドデセン骨格への展開

2-5-1 ジアザトリシクロドデセン骨格の合成計画

架橋三環性骨格を生物活性分子へと展開するためには、その骨格に対して多様な置換基を導入できることが要求される。そこで、アザトリシクロドデセン **7** の骨格中に、置換基導入の足掛かりとなる窒素原子をさらに導入したジアザトリシクロドデセン **18** を設計し、その合成を目指すこととした (Scheme 2-4)。設計したジアザトリシクロドデセン **18** は、第 2 級アミンやカルボニル基、シロキシ基を足掛かりとした置換基導入が期待でき、これを共通中間体とした化合物ライブラリーを構築できると考えた。架橋三環性骨格 **18** は、基質 **8b** と同様に (Table 2-2)、アルキン上にシロキシ基をもつ環化前駆体 **19** の金触媒を用いた Conia-ene 反応によって構築できると考えた。この環化前駆体 **19** は、架橋二環性骨格 **20** に対してプロパルギル基を導入したのち、シリルエノールエーテルへと変換することで調製できると考えた。

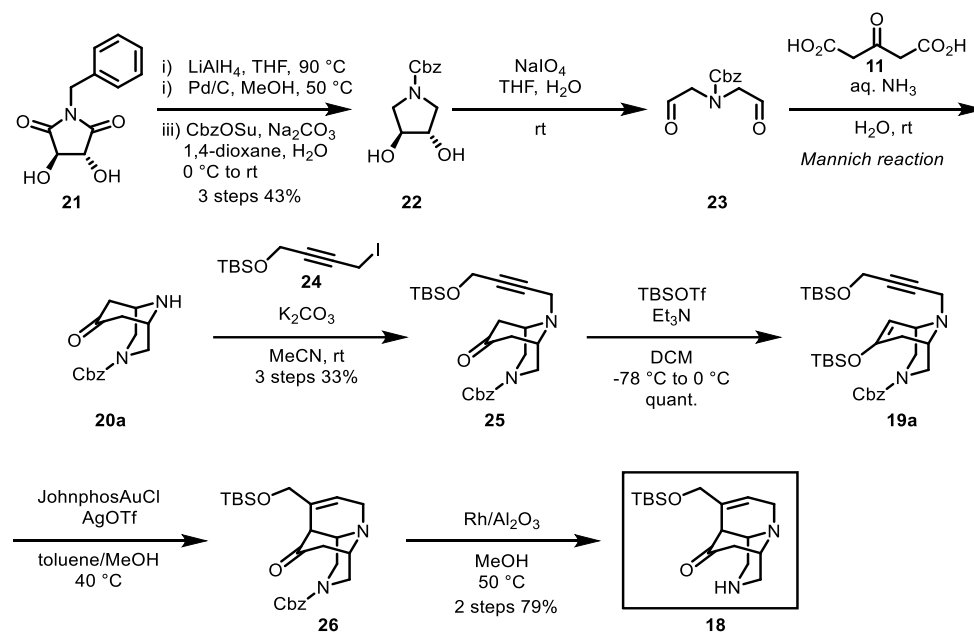


Scheme 2-4. ジアザトリシクロドデセン骨格 **18** の合成計画

2-5-2 ジアザトリシクロドデセン骨格の合成検討

合成計画に従い、ジアザトリシクロドデセン骨格 **18** の合成検討に取り組んだ (Scheme 2-5)。まず、Wünsch らと同様の手法でジアルデヒド **23** の合成に取り組んだ⁸。すなわち、既知のイミド **21**⁸ を LiAlH_4 による還元、接触水素化還元によるベンジル基の除去、生成した第 2 級アミンの Cbz 基による保護の三工程を経て、ジオール **22** へと導いた。得られたジオール **22** を、 NaIO_4 を用いて酸化的に開裂させることで、目的のジアルデヒド **23** とした。ケトン **13** の合成と同様に (Scheme 2-3)、ジアルデヒド **23** を用いた Mannich 反応によって、ジアザビシクロ[3.3.1]ノナン骨格をもつ第 2 級アミン **20a** を合成した。第 2 級アミン **20a** とプロパルギルヨージド **24** を炭酸カリウム共存下、アセトニトリル溶媒中で攪拌することで求核置換反応が進行し、第 3 級アミン **25** を三工程 33% の収率で得た。

第三級アミン **25** とトリエチルアミンをジクロロメタン溶媒中で混合したのち、TBSOTf を添加することでシリルエノール **19a** を定量的に調製した。シリルエノールエーテル **19a** を基質とし、触媒を用いた Conia-ene 反応を試みると、架橋三環性骨格 **26** の生成が確認された。架橋三環性骨格 **26** は、シリカゲルクロマトグラフィーによる精製操作後、触媒由来の夾雑物との混合物として得られた。混合物として得られた **26** について、ロジウム触媒を用いた接触水素化還元を試みると、^c アルケン構造を保持したまま Cbz 基が除去され、目的のジアザトリシクロドデセン **18** が二工程 79%の収率で得られた。



Scheme 2-5. ジアザトリシクロドデセン骨格 **18** の合成

上記の検討から、アルケン上の置換基をシロキシメチル基とすることで、シリルエノールエーテル **27** においても 6-exo-dig 環化が優先し、目的のジアザトリシクロドデセン **18** が二工程 79%と良好な収率で得られることを明らかにした。三次元性の高い骨格が強く望まれる医薬品開発において、高度に官能基化された架橋三環性骨格 **18** は有用な母骨格になり得ると考える。

2-6 ジアザトリシクロドデセン骨格を母骨格としたペプチド模倣分子の設計

序論でも述べたように、籠型骨格はペプチド模倣分子を設計する上で有用な骨格である。すなわち、籠型骨格の立体配座は強固に固定されており、標的選択的な分子設計が期待できる。そして、飽和炭素が豊富である籠型骨格は、飽和炭素豊富なペプチド構造を模倣するのに適すると考える。ジアザトリシクロドデセン骨格 **18** を母骨格としたペプチド模倣分子を設計し、生物活性分子の創出を目指した。

^c Pd/C 触媒を用いたところ、粗精製物 **26** から **18** が収率約 56%で得られるに留まった。**26** や **18** のアルケンが部分的に還元されてしまい、収率の低下を招いたと考える。

2-6-1 HIF-1 α 模倣分子の設計

ペプチド模倣分子の設計を行うにあたり, hypoxia-inducible factor-1 α (HIF-1 α) の C 末端ヘリックス (helix 3) をモデルペプチドとした (Figure 2-3). HIF-1 α /p300 相互作用はがん治療の標的として注目されており, これまでにも, helix 3 模倣分子を設計することで, PPI 阻害剤が開発されている^{9,10}. また, 当研究室植田は, helix 3 に含まれる Leu818, Leu819, Leu822 の側鎖の空間配置を模倣した分子を設計することで生物活性分子を創出しており,^d 本研究においても, この三つのロイシン残基の模倣を試みることにした.

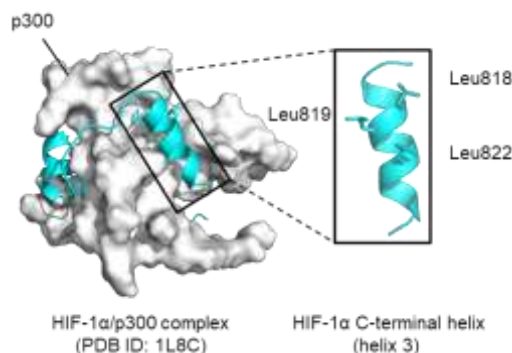


Figure 2-3. HIF-1 α /p300 の複合体と HIF-1 α C 末端ペプチド (helix 3) の構造

まず, ジアザトリシクロドデセン骨格 **18** に三つの置換基が導入された化合物 **27** をペプチド模倣分子のモデル化合物として設計した (Figure 2-4). 置換基には, 疎水性アミノ酸であるロイシンの側鎖の模倣を指向したもの ($R = tBu$) に加え, フェニルアラニンの側鎖の模倣を指向したもの ($R = Bn$) も取り入れた.

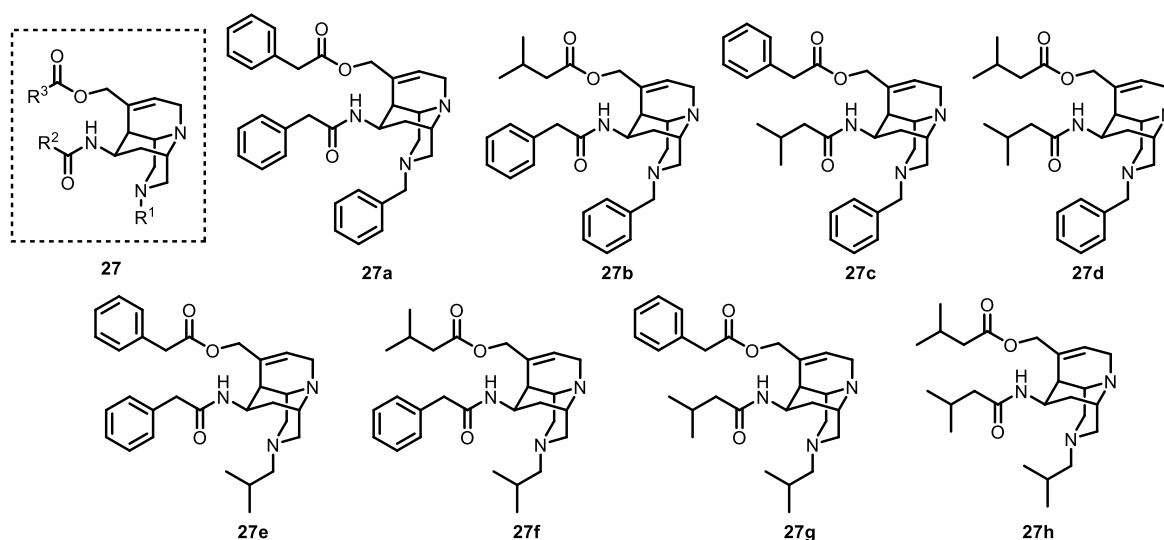


Figure 2-4. ペプチド模倣分子のライブラリー設計

^d 設計された分子の作用機序は明らかでないが, HIF-1 α の転写活性を阻害することが報告された.¹

設計したモデル化合物 **27** が helix 3 を模倣しているかをファーマコフォアモデリング^e により評価した (Figure 2-5A). まず、それぞれの化合物について 25 種の配座を発生させ、helix 3 の LLxxL 配列を基に、三つの疎水性相互作用点から構成されるファーマコフォアを作成した. 続いて、配座を発生させたモデル化合物 **27** の中から、作成したファーマコフォアを満たすものをスクリーニングした. その結果、モデル化合物 **27a** は、三つのロイシン残基の空間配置を再現し得ることが見いだされた. また、得られた構造を helix 3 と重ね合わせることで、母骨格のジアザトリシクロドデセン骨格が、ペプチド主鎖の位置に収まっていることが確かめられた. 同様の結果が、モデル化合物 **27b** についても得られた (Figure 2-5B).

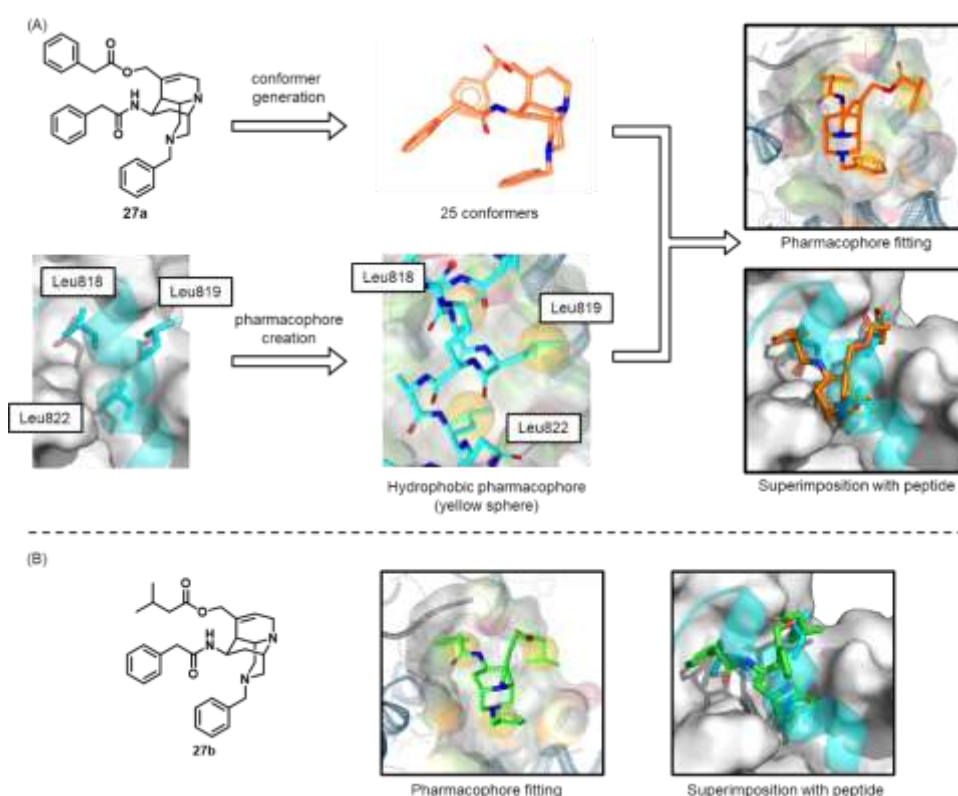


Figure 2-5. helix 3 模倣分子の設計

2-6-2 狂犬病ウイルスの N タンパク質模倣分子の設計

狂犬病は、狂犬病ウイルスを病原体とするウイルス性感染症であり、発熱、頭痛、幻覚、けいれんなどの症状を伴い、症状が発症したのちの致死率は 100%に近く、その治療薬の開発が強く望まれている¹². 狂犬病ウイルスの持つ N タンパク質は、ウイルス RNA の保護と複製の開始に関わっており、その発現を阻害することで、ウイルスの増殖を抑制できることが報告されている¹³. また、狂犬病の N タンパク質の構造は、X 線結晶構造解析により明らかとなっており (PDB code 2GTT)¹⁴, その立体情報に基づく分子設計が可能である. N タンパク質の構造を見ると、近傍に存在する三つの疎水性

^e ファーマコフォアモデルの作成には、LigandScout4.4¹¹を用いた.

アミノ酸の配列として, FxxFL 配列 (Phe438–Phe441, Leu442) がヘリックス構造に含まれていることが確認できる (Figure 2-6).

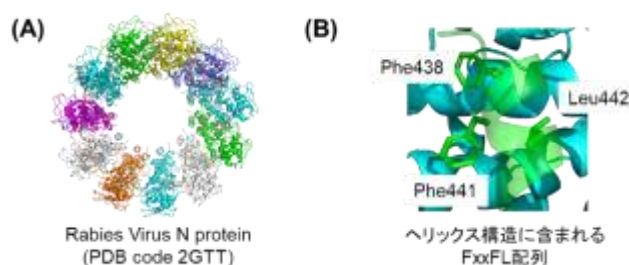


Figure 2-6. 狂犬病ウイルス N タンパク質の構造 (A) とヘリックス構造に含まれる FxxFL 配列

前項で設計した三つの疎水性置換基をもつモデル化合物 **27** が, FxxFL 配列の構造を模倣し得るかをファーマコフォアモデリングにより評価した. その結果, 化合物 **27b** の三つの置換基が FxxFL 配列のファーマコフォアを満たしており, その母骨格がペプチド主鎖の位置に収まることが確認された (Figure 2-7).

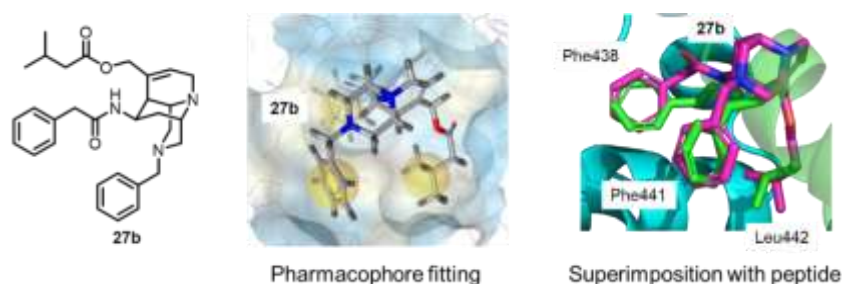


Figure 2-7. 狂犬病ウイルスの N タンパク質模倣分子の設計

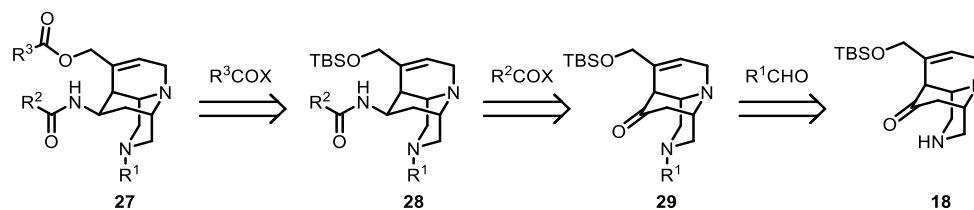
上述した分子設計により, 開発したジアザトリシクロドデセン骨格 **18** は, LLxxL 配列や FxxFL 配列など, 多様なヘリックス構造を模倣し得ることを明らかにした.

2-7 ペプチド模倣分子の合成

前節において, ジアザトリシクロドデセン骨格 **18** を母骨格とすることで, ヘリックス構造を模倣し得ることを明らかにした. 本節においては, 設計した模倣分子 **27** の合成検討に取り組んだ.

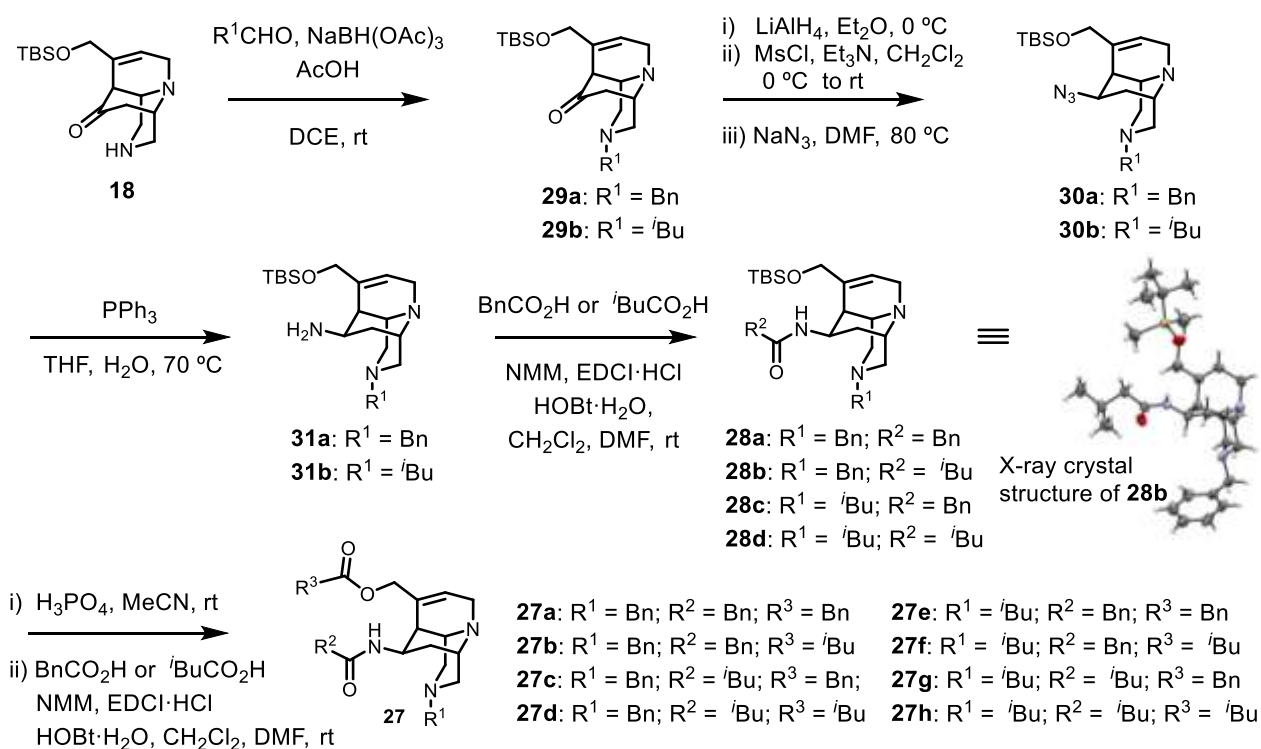
2-7-1 ペプチド模倣分子の合成戦略

以下にペプチド模倣分子 **27** の合成戦略を示す (Scheme 2-6). すなわち, 置換基 R^3 はアミド **28** のシロキシメチル部位に対してエステル結合を介して導入できると考えた. 置換基 R^2 の導入は, ジアザトリシクロドデセン骨格 **29** のカルボニル基をアミノ基へと変換したのち, 縮合反応により導入することを考えた. 置換基 R^1 は, 第二級アミン **18** とアルデヒドとの還元的アミノ化により, 容易に導入し得ると考えた.

Scheme 2-6. ペプチド模倣分子 **27** の逆合成解析

2-7-2 ペプチド模倣分子の合成検討

前項で示した合成戦略に基づき、ペプチド模倣分子 **27** の合成を検討した (Scheme 2-7). まず、ジアザトリシクロドデセン **18** と対応するアルデヒドの還元的アミノ化により、置換基 R^1 を第二級アミン部位へ導入し、第三級アミン **29a,b** を得た. 続いて、置換基 R^2 を導入するべく、四工程の官能基変換を経てカルボニル基を足掛かりにアミノ基を導入した. すなわち、第三級アミン **29a,b** のカルボニル基を LiAlH_4 により還元し、生じたヒドロキシ基をメシル化した. そして、DMF 溶媒中 80°C で NaN_3 と混合すると、求核置換反応が進行し、アジド **30a,b** を三段階収率 59%–77% で得た. 得られたアジド **30a,b** を、 PPh_3 共存下、THF/ H_2O 混合溶媒中で 70°C に加熱することでアミン **31a,b** へと導いた. 得られたアミン **31a,b** と対応するカルボン酸との縮合により、置換基 R^2 を収率 75%–91% で導入した. このとき、アミド **28b** の単結晶 X 線結晶構造解析により、ジアザトリシクロドデセン骨格の構造および、アミノ基の立体絶対配置を特定した. 続いて、リン酸を用いてアミド **28a–d** の TBS 基を除去したのち、対応するカルボン酸との縮合によりエステル結合を介して置換基 R^3 を導入し、ペプチド模倣分子 **27a–h** を収率 33%–89% で得た.

Scheme 2-7. ペプチド模倣分子 **27** の合成

上記の検討において、アミド **28b** の X 線結晶構造解析から、 LiAlH_4 を用いてケトン **29** のカルボニル基を還元すると、生じるヒドロキシ基は、置換基 R^1 の側に配置されることが強く示唆された。これは、ケトン **29** の下側に位置するピペラジン構造が、いす型配座をとっており、 LiAlH_4 がより立体障害の少ない上側からカルボニル基へと接近したためと考える (Figure 2-8)。

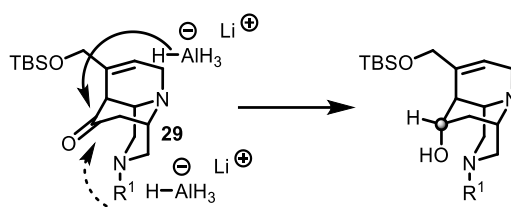


Figure 2-8. ケトン **29** の LiAlH_4 を用いた立体選択的な還元反応の推定反応機構

上述の検討により、設計したペプチド模倣分子 **27** の合成を達成した。開発した合成経路では、三つの置換基を段階的に導入することから、それぞれの段階において異なる構造を導入し得る。これは、ジアザトリシクロドデセン骨格に導入する置換基の組み合わせの多様化に繋がり、分子設計に有用な合成経路であると考えられる。

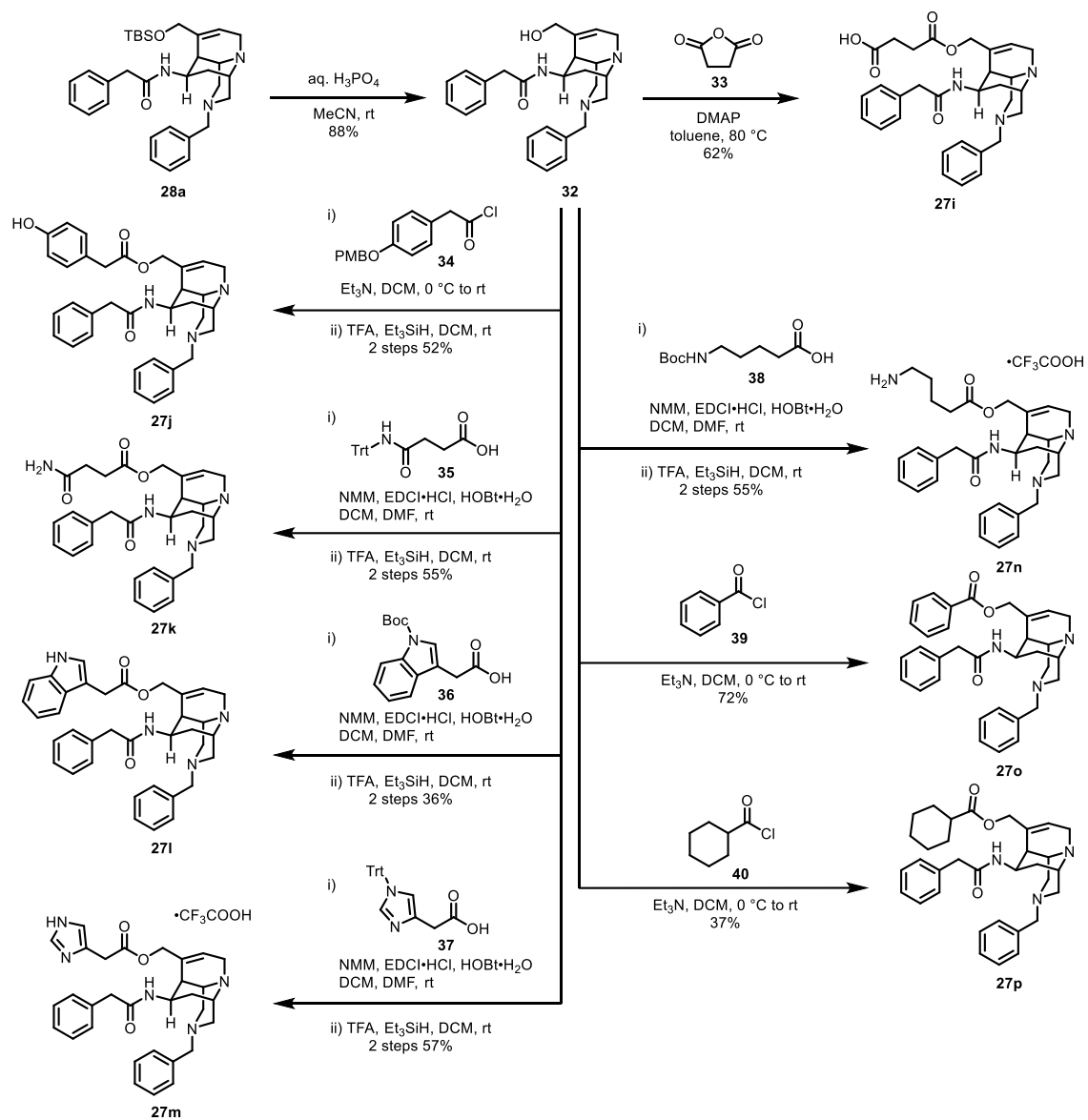
2-8 極性アミノ酸残基模倣を指向した置換基の導入

前節では、 LLxxL 配列や FxxFL 配列の模倣を指向し、疎水性アミノ酸残基であるロイシン残基やフェニルアラニン残基を模倣した置換基をジアザトリシクロドデセン骨格**18**に導入した。しかしながら、イオン結合や水素結合といった極性アミノ酸残基を介する結合もPPIには重要である。また、ペプチド模倣に限らず、多様な置換基の導入が可能であることは、架橋三環性骨格**18**を生物活性分子の母骨格として利用する上で重要である。そこで本節では、ジアザトリシクロドデセン骨格**18**に極性アミノ酸残基模倣を指向した置換基を導入し、化合物ライブラリーの拡張を目指した。

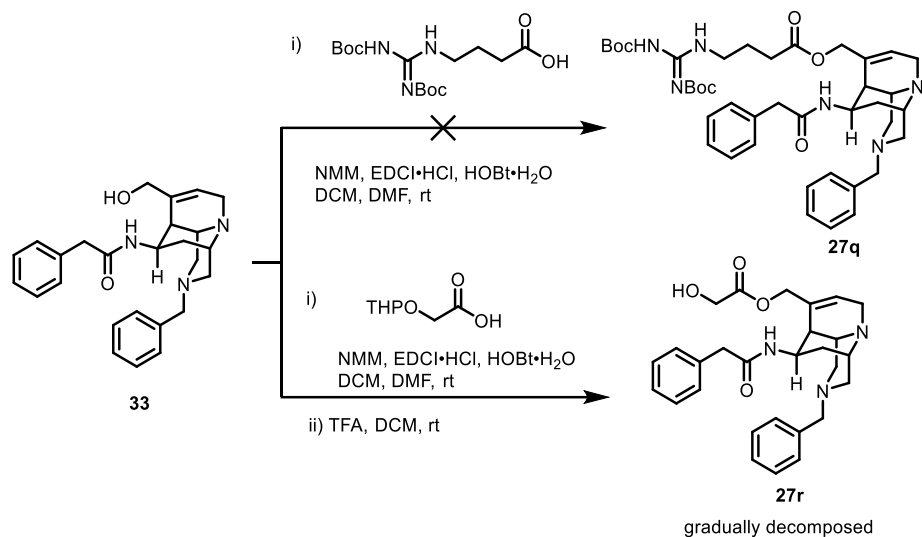
2-8-1 置換基 R^3 の多様化

ペプチド模倣分子ライブラリーを拡張するにあたり、まず、エステル結合を介して導入する置換基 R^3 の多様化を検討した (Scheme 2-8)。アミド **28a** の TBS 基を除去し、共通中間体であるアルコール **32** を得た。得られたアルコール **32** を用い、触媒量の DMAP 存在下、トルエン溶媒中 80°C に加熱することで無水コハク酸 (**33**) を開環させ、Glu-Phe-Phe 模倣分子 **27i** を得た。続いて、アルコール **33** と対応するカルボン酸 **34–38** を縮合したのち、酸性条件下で脱保護することで、Tyr-Phe-Phe 模倣分子 **27j**、Gln-Phe-Phe 模倣分子 **27k**、Trp-Phe-Phe 模倣分子 **27l**、His-Phe-Phe 模倣分子 **27m**、Lys-Phe-Phe 模倣分子 **27n** をそれぞれ得た。このとき、カルボン酸の自己縮合を避けるため、カルボン酸 **34** を PMB 基で、カルボン酸 **36** 及び **38** を Boc 基で、カルボン酸 **35** と **37** を Trt 基で予め保護した。これらの保護基は、アルコール **33** との縮合後、保護基の脱離時に生じるカルボカチオンの捕捉剤として Et_3SiH を共存させ、TFA を用いて除去した。

また、ペプチド模倣を指向した置換基のみならず、塩化ベンゾイル (**39**) やシクロヘキサンカルボニルクロリド (**40**) をアルコール **33** と反応させることにより、アミド **27o**, **27p** を得ることもできた。

Scheme 2-8. 置換基 R³ の多様化

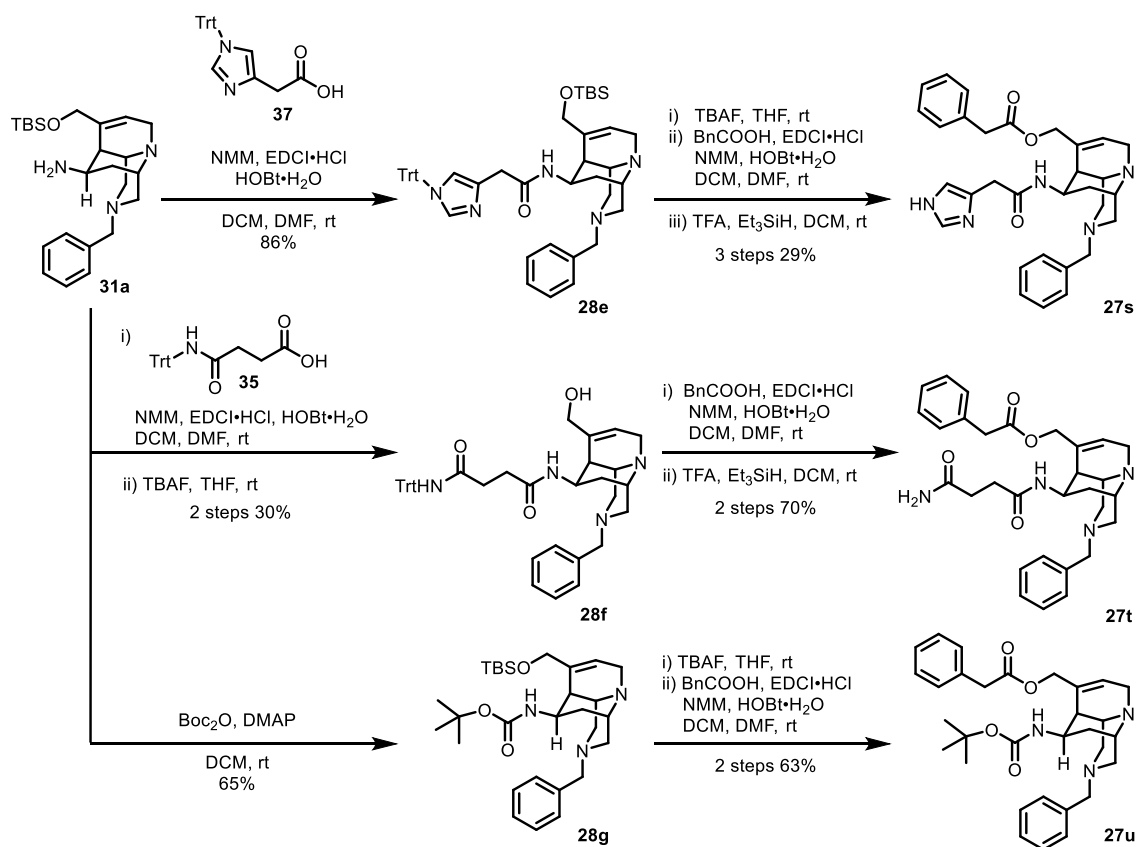
また、アルギニン模倣分子であるエステル **27q** の合成も試みたが、縮合反応の進行が認められず、検討を断念した (Scheme 2-9). Ser-Phe-Phe 模倣分子 **27r** の合成を試みると、縮合反応と THP 基の脱保護により目的物の生成が確認できたものの、単離困難であり、検討を断念した。



Scheme 2-9. アミド **27q,r** の合成の検討

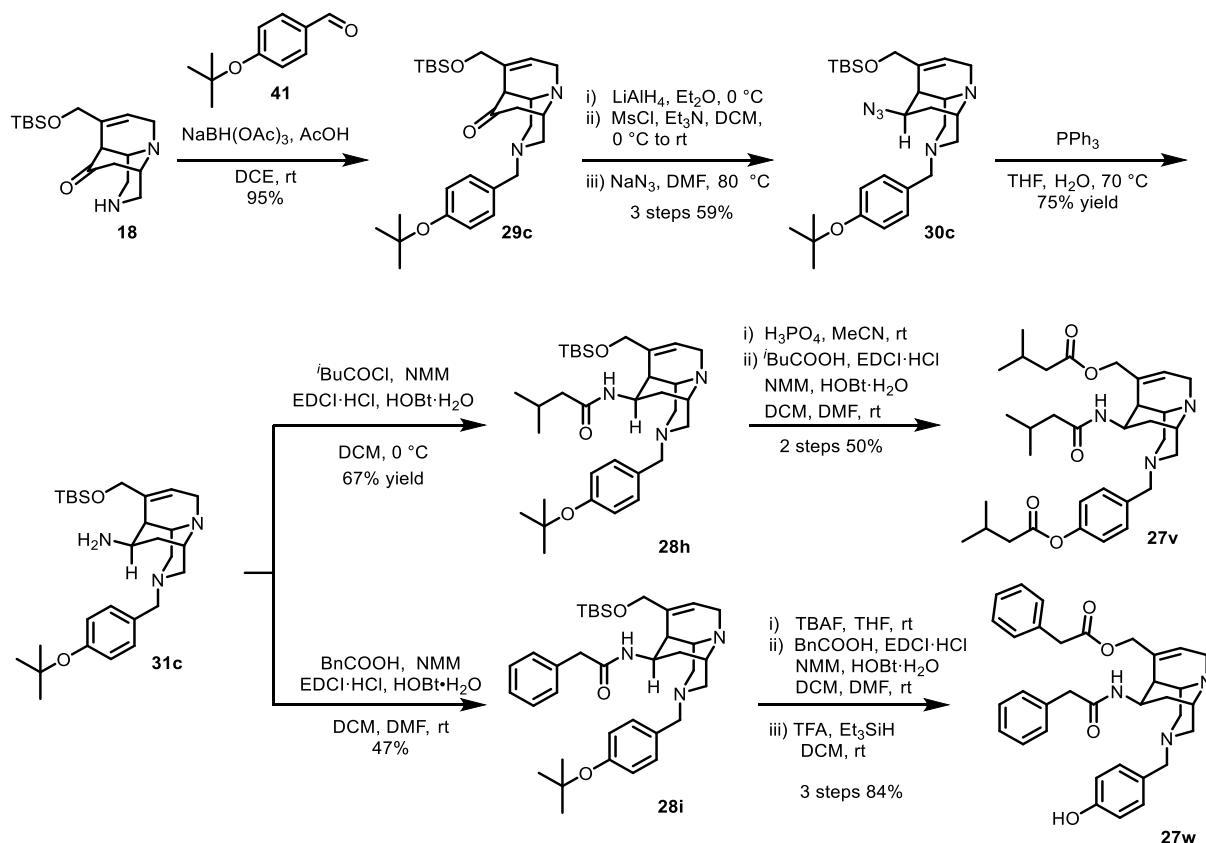
2-8-2 置換基 R² の多様化

前項に続き、ペプチド模倣分子ライブラリーを拡張すべく、第一級アミンを足掛かりとして導入する置換基 R² の多様化に取り組んだ (Scheme 2-10). まず、アミン **31a** とカルボン酸 **37** を縮合し、アミド **28e** を 86% の収率で得た. 得られたアミド **28e** に対し、TBAF による TBS 基の除去、フェニル酢酸 (BnCO₂H) との縮合、イミダゾール環上の Trt 基の TFA による除去の三工程を経て、Phe-His-Phe 模倣分子 **27s** を得た. 続いて、アミン **31a** とカルボン酸 **35** を縮合したのち、TBS 基を除去することでアルコール **28f** を得た. 続く、フェニル酢酸との縮合、Trt 基の除去の二工程により Phe-Gln-Phe 模倣分子 **27t** を合成した. さらに、Boc 基をアミン **31a** に導入して **28g** としたのち、シロキシメチル部位への置換基導入を行うことで、対応するアミド **27u** も得られた.

Scheme 2-10. 置換基 R² の多様化

2-8-3 置換基 R¹ の多様化

置換基 R¹ の多様化にも取り組むこととした (Scheme 2-11). アミン **18** とアルデヒド **41** の還元のアミノ化により, 第三級アミン **29c** を得た. 得られた第二級アミン **29c** を三工程でアジド **30c** に変換し, 続く還元反応によりアミン **31c** を収率 75% で得た. アミン **31c** とイソ吉草酸クロリドを縮合し, アミド **28h** を合成したのち, リン酸による TBS 基の除去を試みると, フェノキシ基上の *tert*-ブチル基も同時に除去されてしまった. そこで, 過剰量のイソ吉草酸と縮合反応を行うことで, ジエステル **27v** へと導いた. アミド **28i** については, TBAF により TBS 基を選択的に除去した. そして, フェニル酢酸を縮合したのち, TFA によりフェノール上 *tert*-ブチル基を除去することで, Phe-Phe-Tyr 模倣分子 **27w** を合成した.

Scheme 2-11. 置換基 R¹ の多様化

以上の検討から、開発したジアザトリシクロドデセン **18** に対する置換基 R¹, R², R³ の逐次的な導入に成功した。設計した合成経路は、官能基許容性に優れており、フェニル基やアルキル基といった単純な官能基のみならず、カルボン酸やアミド、複素芳香環などの多岐に渡る官能基の導入を達成した。

2-9 ペプチド模倣分子ライブラリーの三次元性の評価

前節までに合成したペプチド模倣分子 **27a-p,s-w** の三次元性について、PMI プロット¹⁵ を承認医薬品と比較することで評価した (Figure 2-9)。発生させた三次元構造の最安定配座^fを用いて PMI 解析を実施すると、FDA 承認医薬品については、左上にプロットが集中しており、“+”で示した平均座標は (npr1, npr2) = (0.27, 0.83) であった。それに比べ、合成した籠型骨格 **27** は右側寄りにプロットが集中しており、平均座標は (0.47, 0.83) であった。したがって、開発したジアザトリシクロドデセン骨格 **18** を母骨格とした分子設計は、従来の低分子医薬品よりも三次元性の高いケミカルスペースの探索を可能にすると考えられる。

^f 三次元構造の発生には、LigandScout 4.4.を用いた。

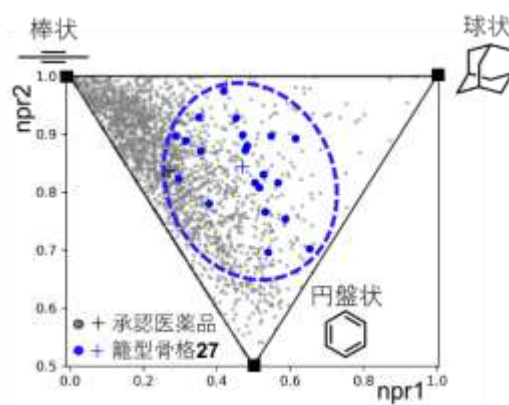


Figure 2-9. ペプチド模倣分子 27 の PMI 解析

2-10 ペプチド模倣分子の生物活性評価

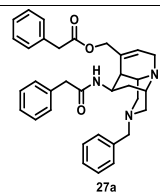
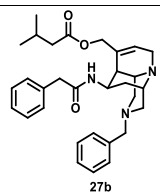
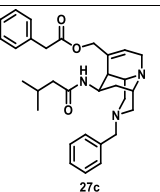
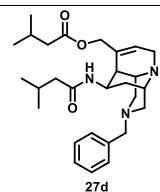
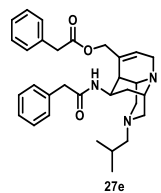
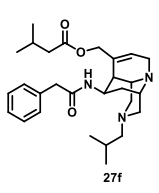
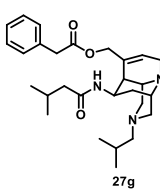
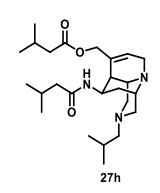
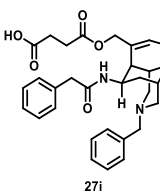
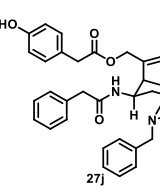
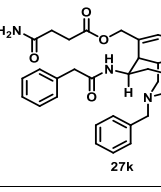
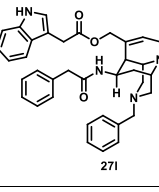
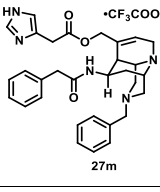
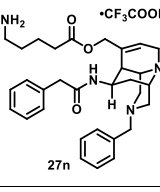
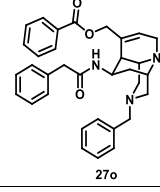
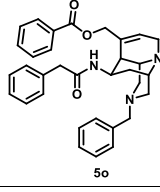
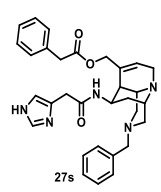
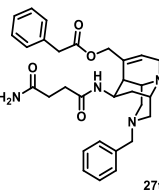
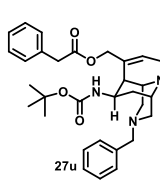
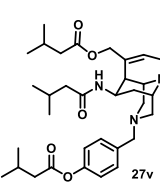
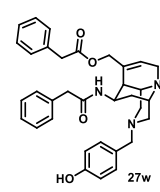



2-10-1 細胞増殖抑制活性評価

三次元骨格を基盤としたペプチド模倣分子 27 が、生物活性を示し得るかを検証するべく、ヒト子宮頸がん細胞 (HeLa 細胞) 及び、マウス神経芽細胞腫 (N2a 細胞) の細胞増殖抑制活性を MTT アッセイにより評価した。すなわち、それぞれの細胞をペプチド模倣分子 27 の存在下で 72 時間培養したのち、細胞生存率が 50%となる化合物濃度 (IC_{50}) を求めた。このとき、HeLa 細胞においては、化合物の濃度の最大値を $30 \mu\text{M}$ とし、N2a 細胞については、化合物の最大濃度を $36 \mu\text{M}$ とした。

MTT アッセイの結果を Table 3 に示す。化合物 27o, p, v は HeLa 細胞と N2a 細胞のいずれに対しても比較的強い細胞増殖抑制活性 ($IC_{50} < 10 \mu\text{M}$) を示した (entry 16, 17, 21)。一方、化合物 27i, k, m, n, s, t は、いずれの細胞種に対しても強い増殖抑制活性を示さなかった ($IC_{50} > 20 \mu\text{M}$, entry 10, 12, 14, 15, 18, 19)。そして、化合物 27a-h, t は HeLa 細胞よりも N2a 細胞の増殖を強く阻害していた (entry 2-9, 20)。化合物 27j, l, w は HeLa 細胞と N2a 細胞の増殖を同程度阻害した (entry 11, 13, 22)。

化合物 27j, l, o, p, v, w は、細胞種に依らず同程度の増殖抑制活性を示していたことから、同様の作用機序で生物活性を発現していることが考え得る。いずれの細胞種に対しても強い細胞増殖抑制活性を示さなかった化合物 27i, k, m, n, s, t は、カルボン酸、アミド、イミダゾール、アミンといった極性官能基をもち、細胞膜透過性に優れなかったと考える。化合物 27a-h, t は HeLa 細胞よりも N2a 細胞に対してより強い細胞増殖抑制活性を示しており、細胞種によって異なる作用機序をもち得ると考える。

Table 2-3. ペプチド模倣分子 27 の HeLa 細胞及び N2a 細胞の増殖抑制活性評価

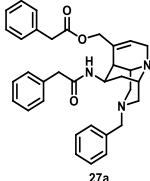
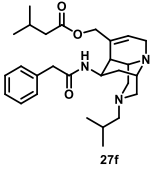
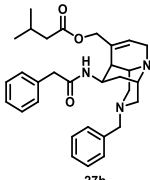
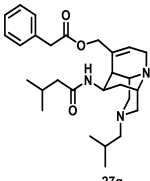
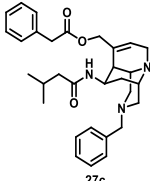
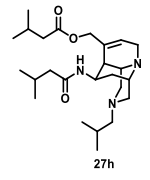
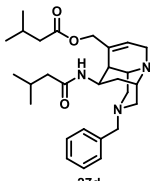
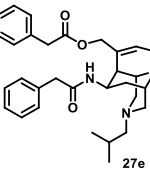
entry		1	2	3	4	5	
compound		FK866 (control)	 27a	 27b	 27c	 27d	
IC ₅₀ [μM]	HeLa	1.9 ± 0.1 nM	10.3 ± 0.8	15.9 ± 2.6	> 30	> 30	
	N2a	2.3 ± 0.5 nM	2.1 ± 0.6	3.4 ± 1.0	9.2 ± 2.0	5.6 ± 0.4	
6		7		8		9	
 27e		 27f		 27g		 27h	
16.9 ± 4.3		25.7 ± 0.4		> 30		> 30	
3.9 ± 1.2		4.8 ± 0.1		11.8 ± 1.6		17.8 ± 1.7	
10		11		12		13	
 27i		 27j		 27k		 27l	
> 30		14.9 ± 1.7		> 30		14.8 ± 1.7	
26.9 ± 9.8		12.6 ± 1.1		> 36		14.1 ± 0.7	
14		15		16		17	
 27m		 27n		 27o		 5o	
> 30		> 30		4.4 ± 0.9		4.6 ± 0.7	
> 36		> 36		7.4 ± 0.7		5.7 ± 1.1	
18		19		20		21	
 27s		 27t		 27u		 27v	
> 30		> 30		11.5 ± 1.4		5.3 ± 1.8	
> 36		21.2 ± 3.0		5.8 ± 0.4		3.7 ± 0.6	
22		23		24		25	
 27w		 27x		 27y		 27z	
14.7 ± 3.5		11.6 ± 1.0		11.5 ± 1.4		11.5 ± 1.4	

2-10-2 HIF 転写活性の阻害活性評価

ペプチド模倣分子 **27a,b** は, helix 3 の三つのロイシン残基の側鎖の空間配置を模倣し得ることを確かめており (Figure 2-5), HIF-1 α /p300 相互作用を阻害することが期待される. そこで, 模倣分子 **27a,b** が HIF 転写活性を阻害するかをルシフェラーゼレポーター遺伝子アッセイにより評価した. すなわち, HIF 依存的なホタルルシフェラーゼレポーターを導入した HeLa 細胞を, 模倣分子 **27** と共に酸素濃度 1%環境下で 12 時間培養したのち, ルシフェラーゼの酵素活性を定量することで, HIF の転写活性を評価した. このとき, **27a,b** に加え, 三つの疎水性置換基をもつ **27c-h** も評価した.

評価結果を Table 4 に示す. ポジティブコントロールとして YC-1¹⁶ を用いた. 化合物 **27h** (entry 8) は, HIF-1 α 転写活性を顕著には阻害しなかった ($IC_{50} > 30 \mu M$). 評価した化合物のうち, **27a** (entry 1) が最も強い阻害活性を示した ($IC_{50} = 4.1 \mu M$). しかし, **27a** は HeLa 細胞の増殖抑制活性の IC_{50} 値も $10.3 \mu M$ と比較的高く (Table 2-3), HIF-1 α を直接的に標的しているか定かでない. 一方, **27c** は強い HeLa 細胞増殖抑制活性を示さず (Table 2-3, MTT $IC_{50} > 30 \mu M$), HIF-1 α 転写活性を比較的強く阻害した (entry 3, $IC_{50} = 9.1 \mu M$). **27b, d-g** は, IC_{50} 値が 11.0 – $21.2 \mu M$ の範囲で阻害活性を示した.

Table 2-4. HIF 転写活性の阻害活性評価

entry	compound	Inhibition of HIF transcriptional activity: IC_{50} [μM] ^a	entry	compound	Inhibition of HIF transcriptional activity: IC_{50} [μM] ^a
1		4.1 ± 0.8	6		18.9 ± 6.0
2		11.0 ± 0.1	7		11.7 ± 4.2
3		9.1 ± 1.8	8		> 30
4		21.2 ± 2.2	9	YC-1 (positive control)	2.9 ± 1.3
5		12.5 ± 2.7			

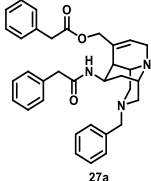
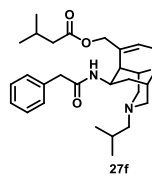
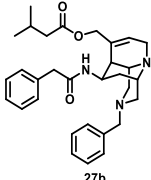
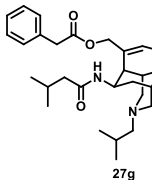
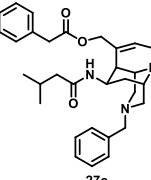
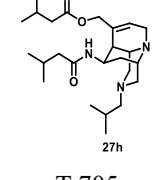
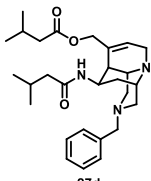
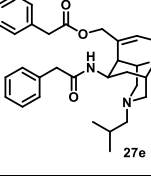
^aIndicated values are mean \pm SD of single experiment conducted in triplicate.

2-10-3 抗狂犬病ウイルス活性の評価

ペプチド模倣分子 **27b** が狂犬病ウイルスの N タンパク質中の FxxFL 配列の構造を模倣し得ることを述べた (Figure 2-7). そこで、前節と同様に、**27a–h** の狂犬病ウイルス増殖抑制活性を、ルシフェラーゼレポーターアッセイにより評価した. すなわち、N2a 細胞を *Gaussia* ルシフェラーゼ遺伝子をもつ狂犬病ウイルスとともに 3 日間培養したのち、培養上清を採取してルシフェラーゼを添加後、その発光量を測定した. このとき、化合物の最大濃度を 18 μM とした.

評価結果を Table 2-5 に示す. ポジティブコントロールとして T-705¹² を用いた. 模倣分子 **27h** (entry 8) は測定濃度の範囲内で強い抗ウイルス活性を示さなかった ($\text{IC}_{50} > 18 \mu\text{M}$). 模倣分子 **27a–g** は、 IC_{50} 値が 4.1–12.4 μM の範囲で抗ウイルス活性を示した (entry 1–7). 模倣分子 **27a–g** は、狂犬病ウイルスの宿主である N2a 細胞の増殖抑制活性も IC_{50} 値が 2.1–11.8 μM の範囲で示している (Table 3, entry 1–7). したがって、得られたウイルス増殖抑制活性が、化合物 **27** の抗ウイルス作用によるものではなく、宿主細胞に対する細胞毒性によるものであることを否定できない. 一方で、N2a 細胞増殖抑制活性とウイルス増殖抑制活性の間には、必ずしも相関関係がなく、化合物 **27** が抗ウイルス活性をもつことを直ちに否定しないと考える.

Table 2-5. 抗狂犬病ウイルス活性の評価

entry	compound	Antiviral activity: IC_{50} [μM] ^a	entry	compound	Antiviral activity: IC_{50} [μM] ^a
1		11.0 \pm 3.6	6		12.1 \pm 0.5
2		4.2 \pm 1.2	7		8.3 \pm 3.3
3		12.4 \pm 4.3	8		> 18
4		9.7 \pm 3.0	9	T-705 (positive control)	37.7
5		11.6 \pm 0.9			

^aIndicated values are mean \pm SD of single experiment conducted in triplicate.

生物活性評価の結果、ペプチド模倣分子 **27** は Hela 細胞と N2a 細胞に対する増殖抑制活性, HIF 転写活性の阻害, 抗ウイルス活性を示した. そして, これらの活性値は一様ではなく, 置換基の組み合わせに大きく依存していた. すなわち, ジアザトリシクロドデセンは, 導入する置換基により生物活性を調整可能であり, 医薬品開発において有用な母骨格であると考ええる.

2-11 まとめ

本章では, 三環性籠型骨格の開発と, そのペプチド模倣分子への応用について述べた (Figure 2-10)¹⁷. まず, 三次元性の高い骨格として, 新たな三環性籠型骨格 **7** の構築手法の確立に取り組んだ. 環化前駆体を第二級アミン **8** とし, 分子内環化反応を金触媒を用いた Conia-ene 反応とすることで, アザトリシクロドデセン骨格 **7** の効率的な合成手法を開発した. このとき, アルキン上の置換基を電子供与基とすることで, 6-*exo-dig* 環化反応が選択的に進行することを見出した. さらに, 本手法を基に, 窒素原子が一つ追加されたジアザトリシクロドデセン骨格 **18** の構築へと展開した. 開発した三環性骨格 **18** は, 高度に官能基化されており, 多様な置換基導入が要求される医薬品開発において, 有用な母骨格であると考ええる.

続いて, 三環性骨格 **18** を母骨格としたペプチド模倣分子 **27** の設計と合成に取り組んだ. ファーマコフォアモデリングにより, 骨格に三つの置換基を導入することで, ヘリックス構造に存在する LLxxL 配列や FxxFL 配列の側鎖の空間配置を模倣し得ることを明らかにした. 模倣分子の合成にあたっては, 三つの置換基をそれぞれ段階的に導入する合成経路を開発することで, 計 21 種類の化合物から成る化合物ライブラリーを構築した. そして, 合成した化合物群の三次元性を評価し, 従来の低分子医薬品よりも球状に近いケミカルスペースに位置することを明らかにした.

得られたペプチド模倣分子 **27** について生物活性を評価したところ, がん細胞増殖抑制活性, HIF 転写阻害活性を示したとともに, 抗ウイルス作用をもつことが示唆された. 疎水性アミノ酸置換基の組み合わせの違いにより多様な生物活性を示したジアザトリシクロドデセン骨格は, ペプチド模倣分子を始めとする生物活性分子の設計に有用であると考ええる.

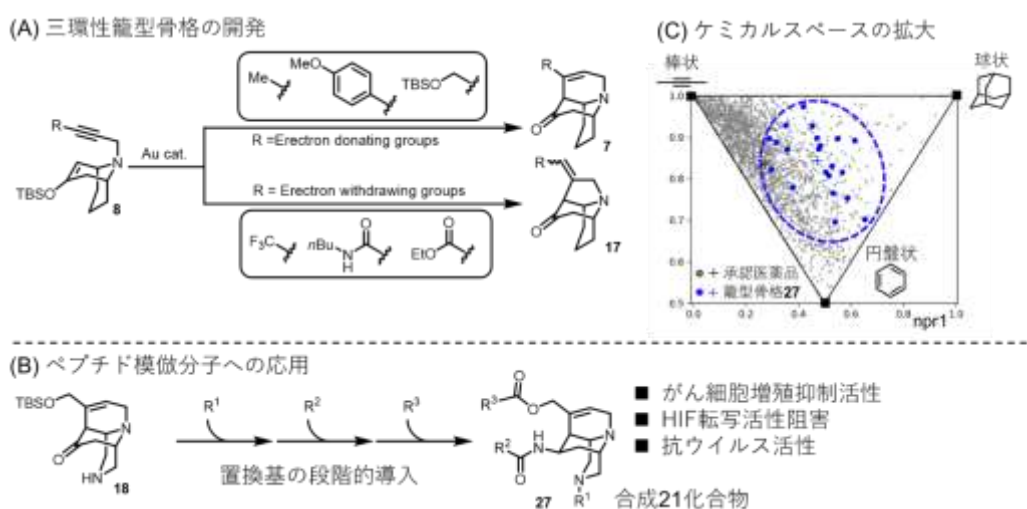


Figure 2-10. 第二章のまとめ

2-12 References

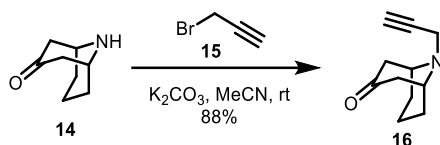
- (1) Ueda, H.; Yoshimori, A.; Nakamura, H. Discovery of bicyclo[3,3,1]non-2-ene as a novel skeleton for HIF-1 inhibitors. *Bioorg. Med. Chem.* **2018**, *26*, 3345–3351.
- (2) Wang, D.; Crowe, W. E. A facile approach to tricyclo[6.4.0.04,9]-dodecane framework. *Chin. Chem. Lett.* **2015**, *26*, 238–242.
- (3) Staben, S. T.; Kennedy-Smith, J. J.; Huang, D.; Corkey, B. K.; Lalonde, R. L.; Toste, F. D. Gold(I)-Catalyzed Cyclizations of Silyl Enol Ethers: Application to the Synthesis of (+)-Lycoplidine A. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2006**, *45*, 5991–5994.
- (4) Mach, R. H.; Luedtke, R. R.; Unsworth, C. D.; Boundy, V. A.; Nowak, P. A.; Scripko, J. G.; Elder, S. T.; Jackson, J. R.; Hoffman, P. L.; Evora, P.; Rae, A. V.; Molinoff, P. B.; Childers, S. R.; Ehrenkauffer, R. L. Fluorine-18 labeled benzamides for studying the dopamine D₂ receptor with positron emission tomography. *J. Med. Chem.* **1993**, *36*, 3707–3720.
- (5) Rafiee, M.; Miles, K. C.; Stahl, S. S. Electrocatalytic Alcohol Oxidation with TEMPO and Bicyclic Nitroxyl Derivatives: Driving Force Trumps Steric Effects. *J. Am. Chem. Soc.* **2015**, *137*, 14751–14757.
- (6) Barabé, F.; Levesque, P.; Korobkov, I.; Barriault, L. Synthesis of Fused Carbocycles via a Selective 6-Endo Dig Gold(I)-Catalyzed Carbocyclization. *Org. Lett.* **2011**, *13*, 5580–5583.
- (7) Chen, P.; Yang, H.; Zhang, H.; Chen, W.; Zhang, Z.; Zhang, J.; Li, H.; Wang, X.; Xie, X.; She, X. Total Synthesis of (-)-Gardmultimine A. *Org. Lett.* **2020**, *22*, 2022–2025.
- (8) Kopp, N.; Wunsch, B. Synthesis of Iminodiacetaldehyde Derivatives as Building Blocks for Pharmacologically Active Agents. *Synthesis* **2010**, *5*, 791–796.
- (9) Burslem, G. M.; Kyle, H. F.; Breeze, A. L.; Edwards, T. A.; Nelson, A.; Warriner, S. L.; Wilson, A. J. Small-molecule proteomimetic inhibitors of the HIF-1 α -p300 protein-protein interaction. *Chembiochem* **2014**, *15*, 1083–1087.
- (10) Lao, B. B.; Grishagin, I.; Mesallati, H.; Brewer, T. F.; Olenyuk, B. Z.; Arora, P. S. In vivo modulation of hypoxia-inducible signaling by topographical helix mimetics. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **2014**, *111*, 7531–7536.
- (11) Wolber, G.; Langer, T. LigandScout: 3-D Pharmacophores Derived from Protein-Bound Ligands and Their Use as Virtual Screening Filters. *J. Chem. Inf. Model.* **2005**, *45*, 160–169.
- (12) Du Pont V, Plemper RK, Schnell MJ. Status of antiviral therapeutics against rabies virus and related emerging lyssaviruses. *Curr. Opin. Virol.* **2019**, *35*, 1–13.
- (13) Yang, Y.-J.; Zhao, P.-S.; Zhang, T.; Wang, H.-L.; Liang, H.-R.; Zhao, L.-L.; Wu, H.-X.; Wang, T.-C.; Yang, S.-T.; Xia, X.-Z. Small interfering RNAs targeting the rabies virus nucleoprotein gene. *Virus Res.* **2012**, *169*, 169–174.
- (14) Albertini, A. A. V.; Wernimont, A. K.; Muziol, T.; Ravelli, R. B. G.; Clapier, C. R.; Schoehn, G.; Weissenhorn, W.; Ruijgrok, R. W. H. Crystal structure of the rabies virus nucleoprotein-RNA complex. *Science* **2006**, *313*, 360–363.
- (15) Sauer, W. H. B.; Schwarz, M. K. Molecular Shape Diversity of Combinatorial Libraries: A Prerequisite for Broad Bioactivity. *J. Chem. Inf. Comput. Sci.* **2003**, *43*, 987–1003.
- (16) Yeo, E.-J.; Chun, Y.-S.; Cho, Y.-S.; Kim, J.; Lee, J.-C.; Kim, M.-S.; Park, J.-W. YC-1: a potential anticancer drug targeting hypoxia-inducible factor 1. *J. Natl. Cancer Inst.* **2003**, *95*, 516–525.
- (17) Umedera, K.; Morita, T.; Yoshimori, A.; Yamada, K.; Katoh, A.; Kouji, H.; Nakamura, H. Synthesis of Three-Dimensional (Di)Azatricyclododecene Scaffold and Its Application to Peptidomimetics. *Chem. Eur. J.* **2021**, *27*, 11888–11894.

Experimental section

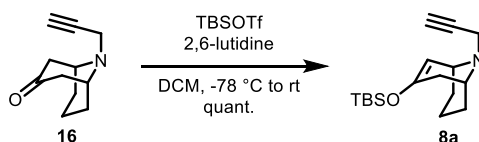
General techniques

NMR spectra were recorded on a Bruker biospin AVANCE II (400 MHz for ^1H , 100 MHz for ^{13}C , 376 MHz for ^{19}F) or a Bruker biospin AVANCE III (500 MHz for ^1H , 125 MHz for ^{13}C) instrument in the indicated solvent. Chemical shifts are reported in units of parts per million (ppm) relative to CDCl_3 (7.26 ppm for ^1H NMR, 77.16 ppm for ^{13}C NMR), CD_3OD (3.31 ppm for ^1H NMR, 49.00 ppm for ^{13}C NMR), or $\text{DMSO}-d_6$ (2.50 ppm for ^1H NMR, 39.52 ppm for ^{13}C NMR). Multiplicities are reported using the following abbreviations: s; singlet, d; doublet, dd; doublet of doublets, t; triplet, q; quartet, m; multiplet, br; broad, J ; coupling constants in Hertz (Hz). IR spectra were recorded on a JASCO FT/IR-4200 spectrometer. Only the strongest and/or structurally important peaks are reported as IR data given in cm^{-1} . High-resolution mass spectra (HRMS) were recorded on Bruker ESI-TOF-MS (micro TOF II). Analytical thin layer chromatography (TLC) was performed on a glass plate of silica gel 60 GF254 (Merck) with UV light (254 nm), visualized by an aqueous alkaline KMnO_4 solution. Column chromatography was performed using silica gel (Fuji Silysia, CHROMATREX PSQ 60B, 50-200 μm). Preparative thin-layer chromatography (PTLC) was performed using Wakogel B5-F silica coated plates (1.0 mm) prepared in our laboratory. Gel permeation chromatography (GPC) for purification was performed on Japan Analytical Industry Model LC- 9225 NEXT (recycling preparative HPLC) and a Japan Analytical Industry Model UV-600 NEXT ultraviolet detector with a polystyrene gel column (JAIGEL-1H, 20 mm \times 600 mm), using chloroform as solvent (3.5 mL/min). Analytical HPLC was performed using JASCO PU-2080 Plus Intelligent HPLC pump system with a JASCO UV-2075 Plus Intelligent UV/VIS Detector, JASCO CO4060 Column Oven, JASCO LG-4580 Quaternary Gradient Unit, JASCO DG-2080-53 3-Line Degasser, JASCO AS-4550 Autosampler and JASCO LC-NetII/ADC Interface Box. 9-Azabicyclo[3.3.1]nonan-3-one (**14**),¹ (3*S*,4*S*)-1-benzylpyrrolidine-3,4-diol (**21**),² *tert*-butyl(4-iodobut-2-ynyloxy)dimethylsilane (**24**),³ 2-(1-(*tert*-butoxycarbonyl)-1*H*-indol-3-yl)-acetic acid (**36**),⁴ 2-(1-trityl-1*H*-imidazol-4-yl)acetic acid (**37**),⁵ Boc-5-aminovaleric acid (**38**),⁶ carboxylic acid **S17**⁷ were prepared according to the literatures.

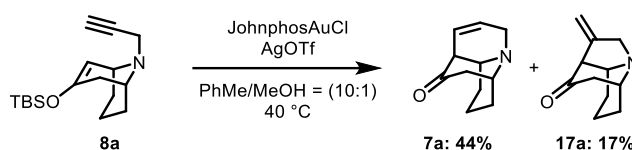
Chemistry

Preparation of ketone **15**

A mixture of amine **14** (1.40 g, 10.1 mmol, 1.0 equiv.), K_2CO_3 (2.09 g, 15.2 mmol, 1.5 equiv.), and propargyl bromide (**15**) (770 μ L, 10.2 mmol, 1.0 equiv.) in MeCN (30 mL) was stirred at room temperature for 2.5 h under an argon atmosphere. After this time, another amount of propargyl bromide (350 μ L, 4.65 mmol, 0.46 equiv.) was added and stirred for additional 1 h. The reaction mixture was diluted with water and the aqueous layer was extracted with EtOAc for three times. The combined organic layers were washed with brine, dried over anhydrous Na_2SO_4 , and concentrated under reduced pressure. The residue was purified by silica gel column chromatography (hexane : EtOAc = 70 : 30 to 50 : 50) to afford ketone **16** (1.58 g, 8.91 mmol, 88% yield) as a white solid. Mp 91 $^{\circ}C$; 1H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 3.45 (d, $J = 2.4$ Hz, 2H), 3.42 (m, 2H), 2.59 (dd, $J = 16.7$ Hz, $J = 6.6$ Hz, 2H), 2.20 (t, $J = 2.4$ Hz, 1H), 2.12 (d, $J = 16.8$ Hz, 2H), 1.83-1.76 (m, 2H), 1.42-1.26 (m, 4H). ^{13}C (100 MHz, $CDCl_3$) δ 210.1, 80.3, 72.6, 53.2, 42.5, 41.9, 28.8, 16.1; IR (neat): 3220, 2952, 2935, 2915, 2871, 2823, 1697, 1465, 1445, 1412, 1352, 1208, 1122, 1103, 979, 913, 841, 753 cm^{-1} ; HRMS (ESI) calcd for $C_{11}H_{16}NO^+$ $[M + H]^+$ 178.1226, found 178.1229.

Preparation of silyl enol ether **8a**

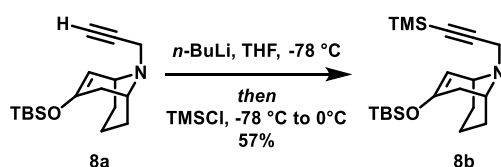
To a solution of ketone **16** (293 mg, 1.65 mmol, 1.0 equiv.) and 2,6-lutidine (290 μ L, 2.50 mmol, 1.5 equiv.) in DCM (5.0 mL) was added TBSOTf (460 μ L, 2.00 mmol, 1.2 equiv.) dropwise at $-78^{\circ}C$ under an argon atmosphere. After being stirred for 40 min at $0^{\circ}C$, the reaction mixture was diluted with water. The aqueous layer was extracted with EtOAc for three times. The combined organic layers were washed with brine, dried over anhydrous Na_2SO_4 , and concentrated under reduced pressure. The residue was purified by silica gel column chromatography (deactivated with 1% triethylamine in hexane, hexane : EtOAc = 70:30) to afford silyl enol ether **8a** (483 mg, 1.66 mmol, quant.) as a yellow oil. 1H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 4.65 (d, $J = 5.2$ Hz, 1H), 3.49-3.48 (m, 1H), 3.32-3.22 (m, 3H), 2.33 (dd, $J = 18.2$, $J = 7.2$ Hz, 1H), 2.19 (t, $J = 2.5$ Hz, 1H), 1.87-1.76 (m, 2H), 1.71-1.59 (m, 2H), 1.55-1.51 (m, 1H), 1.46-1.39 (m, 2H), 0.91 (s, 9H), 0.15 (s, 3H), 0.14 (s, 3H); ^{13}C (100 MHz, $CDCl_3$) δ 150.3, 102.5, 81.3, 72.0, 53.3, 51.4, 42.9, 33.5, 30.0, 29.6, 25.8, 18.1, 15.6, -4.2 , -4.3 ; IR (neat): 3310, 2928, 2854, 1662, 1460, 1430, 1252, 1099, 1054, 864, 837, 710 cm^{-1} ; HRMS (ESI) calcd for $C_{17}H_{30}NOSi^+$ $[M + H]^+$ 292.2091, found 292.2093.

Preparation of azatricyclidodecene **7a** and Azatricyclononae **17a**

To a mixture of silyl enol ether **8a** (29.7 mg, 0.102 mmol, 1.0 equiv.), JohnPhosAuCl (5.4 mg, 0.010 mmol, 10 mol%), and AgOTf (4.6 mg, 0.018 mmol, 18 mol%) in toluene (500 μ L) was added MeOH (50 μ L) and stirred at 40 °C for 24 h under an argon atmosphere. The reaction mixture was passed through a pad of Celite[®] and concentrated under reduced pressure. The residue was purified by PTLC with EtOAc to afford **7a** (8.0 mg, 0.0451 mmol, 44% yield) as a yellow oil and **17a** (3.1 mg, 0.0175 mmol, 17% yield) as a yellow oil.

7a: ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 5.94-5.82 (m, 2H), 4.04 (d, J = 19.6 Hz, 1H), 3.49-3.47 (m, 1H), 3.33-3.28 (m, 2H), 2.95-2.87 (m, 2H), 2.15 (d, J = 15.8 Hz, 1H), 1.94-1.82 (m, 2H), 1.76 (d, J = 13.1 Hz, 1H), 1.76 (d, J = 14.8 Hz, 1H), 1.51-1.45 (m, 2H); ¹³C (100 MHz, CDCl₃) δ 210.2, 131.0, 126.8, 59.8, 57.5, 55.7, 52.2, 39.4, 33.2, 29.7, 16.2; IR (neat): 3031, 2926, 2878, 2850, 1698, 1637, 1573, 1468, 1435, 1279, 1164, 1079, 1018, 907, 844, 734 cm⁻¹; HRMS (ESI) calcd for C₁₁H₁₆NO⁺ [M + H]⁺ 178.1226, found 178.1226.

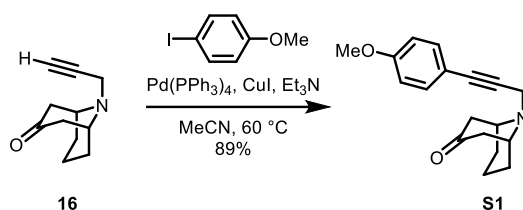
17a: ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 5.17 (s, 1H), 4.96 (s, 1H), 3.80 (d, J = 16.6 Hz, 1H), 3.52-3.48 (m, 2H), 3.40 (s, 1H), 3.20 (s, 1H), 2.70 (dd, J = 16.2 Hz, J = 8.0 Hz, 1H), 2.11-1.99 (m, 2H), 1.94-1.85 (m, 2H), 1.66 (d, J = 13.0 Hz, 1H), 1.51-1.39 (m, 2H); ¹³C (400 MHz, CDCl₃) δ 208.6, 150.4, 107.4, 64.7, 63.5, 58.9, 57.9, 40.3, 32.6, 24.8, 15.0; IR (neat): 2939, 2923, 2885, 2853, 1707, 1658, 1468, 1445, 1415, 1376, 1287, 1265, 1198, 1176, 1072, 1010, 901, 856, 754 cm⁻¹; HRMS (ESI) calcd for C₁₁H₁₆NO⁺ [M + H]⁺ 178.1226, found 178.1227.

Preparation of silyl enol ether **8b**

To a solution of silyl enol ether **8a** (409 mg, 1.40 mmol, 1.0 equiv.) in THF (10 mL) was added *n*-BuLi (880 μ L, 1.59 M in hexane, 1.40 mmol, 1.0 equiv.) at -78 °C and stirred for 30 min at the same temperature under an argon atmosphere. TMSCl (190 μ L, 1.50 mmol, 1.1 equiv.) was added to the reaction mixture and stirred for another 4 h at 0 °C. The reaction mixture was diluted with saturated aqueous NH₄Cl and the aqueous layer was extracted with EtOAc for three times. The combined organic layers were washed with brine, dried over MgSO₄, and concentrated under reduced pressure. The residue was purified by silica gel column chromatography (hexane/EtOAc = 95:5 to 90:10) to afford silyl enol ether **8b** (291 mg, 0.800 mmol, 57% yield) as an orange oil. ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 4.63 (d, J = 5.2 Hz, 1H), 3.44 (brs, 1H), 3.27 (m, 3H), 2.32 (dd, J = 18.1 Hz, J = 7.2 Hz, 1H), 1.86-1.76 (m, 2H), 1.69-1.62 (m, 2H), 1.52-1.49 (m, 1H), 1.41-1.39 (m, 2H), 0.90 (s, 9H), 0.13-0.12 (m, 15H); ¹³C NMR (125 MHz, CDCl₃) δ 150.2, 103.2, 102.4, 88.4, 53.2, 51.2, 43.8 (t, J = 2.8 Hz), 33.4, 29.9, 29.6, 25.8, 18.0, 15.6, 0.10, -4.25, -4.32; IR (neat) 3042, 2957, 2934, 2898, 2859, 2179, 1664, 1363, 1350,

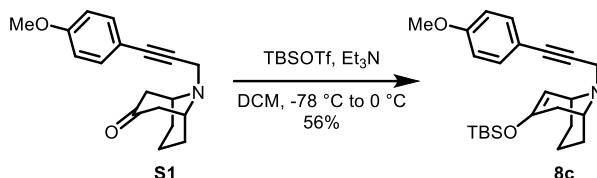
1249, 1194, 865, 841 cm^{-1} ; HRMS (ESI) calcd for $\text{C}_{20}\text{H}_{38}\text{NOSi}_2^+ [\text{M} + \text{H}]^+$ 364.2486, found 364.2485.

Preparation of *N*-propargylamine **S1**

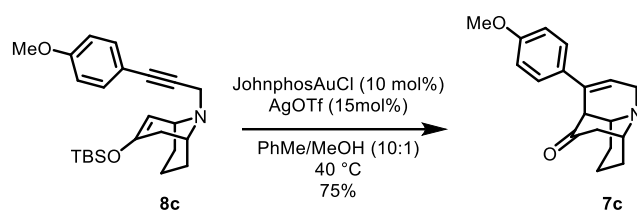


Following a reported procedure,⁸ to a mixture of ketone **16** (177 mg, 1.00 mmol, 1.0 equiv.), 4-iodoanisole (234 mg, 1.00 mmol, 1.0 equiv.), CuI (17.1 mg, 0.0899 mmol, 0.09 equiv.), and Pd(PPh₃)₄ (34.7 mg, 0.0300 mmol, 0.03 equiv.) in MeCN (5.0 mL) was added Et₃N (210 μL , 1.51 mmol, 1.5 equiv.) and stirred at 60 °C for 15.5 h under an argon atmosphere. The reaction mixture was concentrated under reduced pressure and the residue was purified by silica gel column chromatography (hexane : EtOAc = 70:30 to 50:50) to afford ketone **S1** (252 mg, 0.889 mmol, 89% yield) as a brown solid. Mp 129 °C; ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 7.35 (d, J = 8.5 Hz, 2H), 6.80 (d, J = 8.5 Hz, 2H), 3.78 (m, 5H), 3.60 (brs, 2H), 2.77 (dd, J = 16.7 Hz, J = 6.6 Hz, 2H), 2.27 (d, J = 16.7 Hz, 2H), 1.99-1.93 (m, 2H), 1.56-1.45 (m, 4H); ¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃) δ 210.7, 159.7, 133.2, 115.1, 114.0, 84.7, 84.2, 55.3, 53.5, 43.1, 42.8, 29.2, 16.4; IR (neat) 2936, 2878, 2837, 1701, 1606, 1569, 1509, 1291, 1249, 1185, 1173, 1032, 831 cm^{-1} ; HRMS (ESI) calcd for $\text{C}_{18}\text{H}_{22}\text{NO}_2^+ [\text{M} + \text{H}]^+$ 284.1645, found 284.1650.

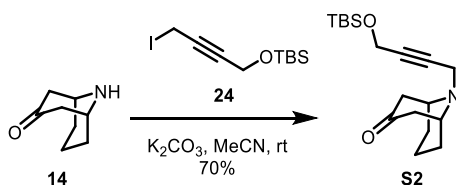
Preparation of silyl enol ether **8c**



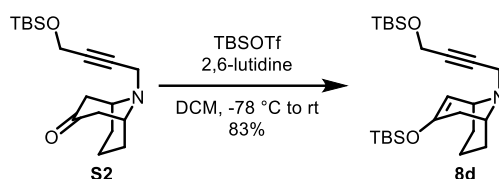
To a solution of ketone **S1** (172 mg, 0.607 mmol, 1.0 equiv.) and Et₃N (130 μL , 0.933 mmol, 1.5 equiv.) in DCM (3.0 mL) was added TBSOTf (180 μL , 0.783 mmol, 1.3 equiv.) at -78 °C and stirred for 1 h at 0 °C under an argon atmosphere. The reaction mixture was added silica gel, passed through a pad of Celite[®] eluting with EtOAc, and the filtrate was concentrated under reduced pressure. The residue was purified by GPC to afford silyl enol ether **8c** (135 mg, 0.340 mmol, 56% yield) as a yellow oil. ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 7.37-7.33 (m, 2H), 6.80-6.76 (m, 2H), 4.68 (d, J = 5.2 Hz, 1H), 3.75 (s, 3H), 3.55-3.53 (m, 1H), 3.48 (d, J = 1.9 Hz, 2H), 3.38-3.36 (m, 1H), 2.40 (dd, J = 18.2 Hz, J = 7.3 Hz, 1H), 1.90-1.79 (m, 2H), 1.73-1.62 (m, 2H), 1.56-1.53 (m, 1H), 1.46-1.43 (m, 2H), 0.93 (s, 9H), 0.160 (s, 3H), 0.156 (s, 3H); ¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃) δ 159.3, 150.2, 133.2, 115.7, 113.8, 102.5, 85.1, 83.7, 55.2, 53.2, 51.3, 43.6, 33.4, 30.0, 29.6, 25., 18.0, 15.6, -4.2, -4.3; IR (cm^{-1}) 3046, 2998, 2930, 2857, 1738, 1663, 1607, 1509, 1362, 1351, 1248, 1196, 1182, 865, 834 cm^{-1} ; HRMS (ESI) calcd for $\text{C}_{24}\text{H}_{36}\text{NO}_2\text{Si}^+ [\text{M} + \text{H}]^+$ 398.2510, found 398.2505.

Preparation azatricyclododecene **7c**

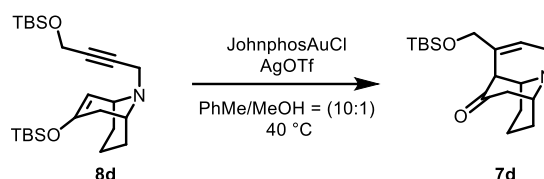
To a mixture of silyl enol ether **8c** (40.1 mg, 0.101 mmol, 1.0 equiv.), JohnphosAuCl (5.3 mg, 10 mol%), and AgOTf (3.9 mg, 15 mol%) in toluene (500 μ L) was added MeOH (50 μ L) and stirred at 40 $^{\circ}$ C for 14 h under an argon atmosphere. The reaction mixture was passed through a pad of Celite[®] and the filtrate was concentrated under reduced pressure. The residue was purified by PTLC with EtOAc to afford **7c** (21.6 mg, 0.0762 mmol, 75% yield) as a yellow oil. ¹H NMR (500 MHz, CDCl₃) δ 7.43 (d, J = 8.7 Hz, 2H), 6.84 (d, J = 8.7 Hz, 2H), 6.16-6.15 (m, 1H), 4.18 (d, J = 20.1 Hz, 1H), 3.78 (s, 3H), 3.51-3.45 (m, 3H), 3.38 (brs, 1H), 2.89 (dd, J = 15.6 Hz, J = 7.4 Hz, 1H), 2.20 (d, J = 15.6 Hz, 1H), 1.97-1.91 (m, 2H), 1.85 (d, J = 11.7 Hz, 1H), 1.69 (d, J = 13.2 Hz, 1H), 1.65-1.52 (m, 2H); ¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃) δ 210.7, 159.1, 135.9, 132.1, 126.5, 123.6, 114.0, 60.0, 58.2, 55.8, 55.4, 54.4, 39.7, 32.8, 29.7, 16.2; IR (neat) 2933, 2835, 1697, 1607, 1512, 1258, 1247, 1173, 1143, 1033, 850 cm^{-1} ; HRMS (ESI) calcd for C₁₈H₂₂NO₂⁺ [M + H]⁺ 284.1645, found 284.1652.

Preparation of *N*-propargylamine **S2**

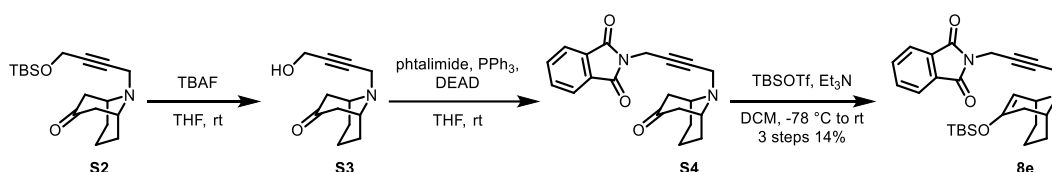
A mixture of amine **14** (417 mg, 3.00 mmol, 1.0 equiv.), K₂CO₃ (415 mg, 3.00 mmol, 1.0 equiv.), and propargyl iodide **24** (931 mg, 3.00 mmol, 1.0 equiv.) in MeCN (15 mL) was stirred at room temperature for 15.5 h under an argon atmosphere. The reaction mixture was diluted with saturate aqueous NH₄Cl and the aqueous layer was extracted with EtOAc for three times. The combined organic layers were washed with brine, dried over anhydrous Na₂SO₄, and concentrated under reduced pressure. The residue was purified by silica gel column chromatography (hexane : EtOAc = 70:30) to afford ketone **S2** (675 mg, 2.10 mmol, 70% yield) as a yellow oil. ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 4.18 (t, J = 1.9 Hz, 2H), 3.46 (t, J = 2.0 Hz, 2H), 3.40 (brs, 2H), 2.56 (dd, J = 16.8 Hz, J = 6.6 Hz, 2H), 2.10 (d, J = 16.8 Hz, 2H), 1.81-1.75 (m, 2H), 1.40-1.24 (m, 4H), 0.75 (s, 9H), 0.04 (s, 6H); ¹³C (100 MHz, CDCl₃) δ 210.0, 83.0, 80.9, 53.1, 51.6, 42.4, 42.2, 28.8, 25.6, 18.1, 16.1, -5.3; IR (neat): 2944, 2928, 2880, 2856, 1707, 1470, 1406, 1354, 1335, 1252, 1186, 1143, 1113, 1078, 836, 777, 748 cm^{-1} ; HRMS (ESI) calcd for C₁₈H₃₂NO₂Si⁺ [M + H]⁺ 322.2197, found 322.2206.

Preparation of silyl enol ether **8d**

To a solution of ketone **S2** (821 mg, 2.55 mmol, 1.0 equiv.) and 2,6-lutidine (450 μL , 3.88 mmol, 1.5 equiv.) in DCM (7.7 mL) was added TBSOTf (700 μL , 3.05 mmol, 1.2 equiv.) dropwise at $-78\text{ }^\circ\text{C}$ under an argon atmosphere. After being stirred for 50 min at $0\text{ }^\circ\text{C}$, the reaction mixture was diluted with water and the aqueous layer was extracted with EtOAc for three times. The combined organic layers were washed with brine, dried over anhydrous MgSO_4 , and concentrated under reduced pressure. The residue was purified by silica gel column chromatography (hexane : EtOAc = 80:20) to afford silyl enol ether **8d** (921 mg, 2.11 mmol, 83% yield) as a yellow oil. $^1\text{H NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ 4.64 (d, $J = 4.8$ Hz, 1H), 4.31 (s, 2H), 3.47 (s, 1H), 3.34-3.25 (m, 3H), 2.32 (dd, $J = 18.2$ Hz, $J = 7.2$ Hz, 1H), 1.84-1.75 (m, 2H), 1.70-1.60 (m, 2H), 1.52 (d, $J = 12.1$ Hz, 1H), 1.42 (d, $J = 9.8$ Hz, 2H), 0.92 (s, 9H), 0.89 (s, 9H), 0.144 (s, 3H), 0.136 (s, 3H), 0.09 (s, 6H); ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) δ 150.2, 102.6, 82.5, 82.1, 53.2, 52.1, 51.4, 43.2, 33.5, 30.0, 29.6, 26.0, 25.8, 18.4, 18.1, 15.7, -4.2 , -4.3 , -5.0 ; IR (neat): 2955, 2930, 2897, 2857, 1664, 1472, 1462, 1363, 1350, 1254, 1196, 1143, 1113, 1082, 866, 837, 777 cm^{-1} ; HRMS (ESI) calcd for $\text{C}_{24}\text{H}_{46}\text{NO}_2\text{Si}^+$ $[\text{M} + \text{H}]^+$ 436.3062, found 436.3073.

Preparation of azatricyclododecene **7d**

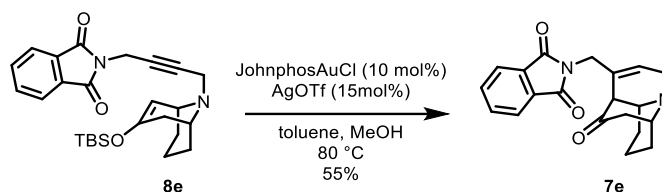
To a mixture of ketone **8d** (850 mg, 1.95 mmol, 1.0 equiv.), JohnPhosAuCl (102 mg, 0.192 mmol, 10 mol%), and AgOTf (76.6 mg, 0.298 mmol, 16 mol%) in toluene (9.8 mL) was added MeOH (980 μL) and stirred at $40\text{ }^\circ\text{C}$ for 14 h under an argon atmosphere. The reaction mixture was filtered through a pad of Celite[®] and concentrated under reduced pressure. The residue was purified silica gel column chromatography (hexane : EtOAc = 70:30 to 50:50) to afford **7d** (420 mg, 1.31 mmol, 67% yield) as a yellow solid. $^1\text{H NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ 5.81 (s, 1H), 4.04 (d, $J = 19.4$ Hz, 1H), 3.98-3.91 (m, 2H), 3.45-3.43 (m, 1H), 3.32 (dd, $J = 19.4$ Hz, $J = 1.8$ Hz, 1H), 3.26 (s, 1H), 2.81 (dd, $J = 16.0$ Hz, $J = 7.4$ Hz, 1H), 2.75 (s, 1H), 2.11 (d, $J = 16.0$ Hz, 1H), 1.93-1.84 (m, 2H), 1.76 (d, $J = 13.4$ Hz, 1H), 1.63 (d, $J = 13.0$ Hz, 1H), 1.53-1.36 (m, 2H), 0.88 (s, 9H), 0.041 (s, 3H), 0.025 (s, 3H); ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) δ 209.5, 137.1, 122.5, 64.0, 59.6, 57.4, 55.2, 52.7, 39.4, 33.1, 29.7, 26.0, 18.5, 16.3, -5.30 , -5.32 ; IR (neat): 2953, 2928, 2902, 2884, 2855, 1701, 1672, 1471, 1435, 1410, 1361, 1251, 1174, 1155, 1132, 1086, 1073, 861, 836, 777, 737 cm^{-1} ; HRMS (ESI) calcd for $\text{C}_{18}\text{H}_{32}\text{NO}_2\text{Si}^+$ $[\text{M} + \text{H}]^+$ 322.2197, found 322.2205.

Preparation of silyl enol ether **8e**

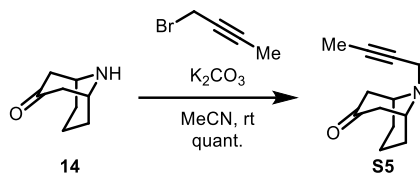
To a solution of ketone **S2** (293 mg, 0.911 mmol, 1.0 equiv.) in THF (1.0 mL) was added TBAF (1.8 mL, 1.0 M in THF, 2.0 equiv.) and stirred at room temperature for 10.5 h under an argon atmosphere. The reaction mixture was diluted with saturated aqueous NH_4Cl and the aqueous layer was extracted with EtOAc for three times. The combined organic layers were washed with brine, dried over anhydrous MgSO_4 , and concentrated under reduced pressure to afford crude alcohol **S3**, which was used for the next reaction without further purification.

To a solution of crude alcohol **S3**, PPh_3 (359 mg, 1.37 mmol, 1.5 equiv.), and phthalimide (197 mg, 1.37 mmol, 1.5 equiv.) in THF (5.0 mL) was added diethyl azodicarboxylate (DEAD, 620 μL , 40% in toluene, 1.5 equiv.) under an argon atmosphere. After being stirred at room temperature for 5 h, the reaction mixture was diluted with saturated NaHCO_3 and the aqueous layer was extracted with EtOAc for three times. The combined organic layers were washed with brine, dried over anhydrous MgSO_4 , and concentrated under reduced pressure. The residue was purified by PTLC with toluene : EtOAc = 70 : 30 to afford crude imide **S4** (71.5 mg), which was used for the next reaction without further purification.

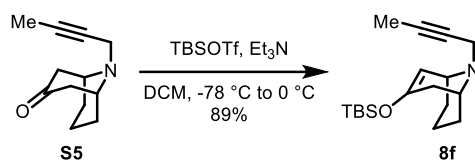
To a solution of crude imide **S4** (71.5 mg, 0.213 mmol, 1.0 equiv.) and Et_3N (50 μL , 0.359 mmol, 1.7 equiv.) in DCM (1.0 mL) was added TBSOTf (60 μL , 0.261 mmol, 1.2 equiv.) dropwise at $-78\text{ }^\circ\text{C}$ under an argon atmosphere. After being stirred at $0\text{ }^\circ\text{C}$ for 20 min, the reaction mixture was added silica gel, passed through a pad of Celite[®] eluting with EtOAc, and the filtrate was concentrated under reduced pressure. The residue was purified by silica gel column chromatography (hexane : EtOAc = 80:20 to 60:40) to afford silyl enol ether **8e** (56.3 mg, 0.125 mmol, 14% yield over 3 steps) as a white solid. Mp. $130\text{ }^\circ\text{C}$; ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 7.85 (dd, $J = 5.4\text{ Hz}$, $J = 3.0\text{ Hz}$, 2H), 7.72 (dd, $J = 5.4\text{ Hz}$, $J = 3.0\text{ Hz}$, 2H), 4.63 (d, $J = 5.3\text{ Hz}$, 1H), 4.46 (s, 2H), 3.45 (s, 1H), 3.27-3.22 (m, 3H), 2.30 (dd, $J = 18.2\text{ Hz}$, $J = 7.2\text{ Hz}$, 1H), 1.85-1.76 (m, 2H), 1.68-1.59 (m, 2H), 1.52 (d, $J = 16.1\text{ Hz}$, 1H), 1.43-1.41 (m, 2H), 0.90 (s, 9H), 0.13 (s, 3H), 0.12 (s, 3H); ^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3) δ 167.2, 150.3, 134.2, 132.3, 123.6, 102.3, 80.3, 77.4, 53.3, 51.4, 43.0, 33.3, 29.9, 29.7, 27.7, 25.8, 18.1, 15.6, -4.2, -4.3; IR (neat) 2929, 2857, 1772, 1722, 1664, 1469, 1422, 1391, 1345, 1196, 1117, 942, 866, 722 cm^{-1} ; HRMS (ESI) calcd for $\text{C}_{26}\text{H}_{35}\text{N}_2\text{O}_3\text{Si}^+$ $[\text{M} + \text{H}]^+$ 451.2411, found 451.2420.

Preparation of azatricyclododecene **7e**

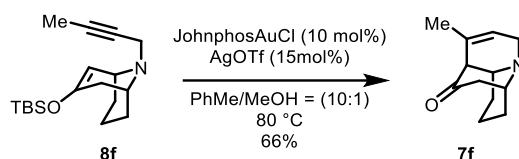
To a mixture of silyl enol ether **8e** (47.2 mg, 0.105 mmol, 1.0 equiv.), JohnphosAuCl (5.6 mg, 10 mol%), and AgOTf (4.0 mg, 15 mol%) in toluene (500 μ L) was added MeOH (50 μ L) and stirred at 80 $^{\circ}$ C for 17.5 h. The reaction mixture was passed through a pad of Celite[®] and the filtrate was concentrated under reduced pressure. The residue was purified by PTLC with EtOAc to afford **7e** (19.3 mg, 0.0574 mmol, 55% yield) as a yellow oil. ¹H NMR (500 MHz, CDCl₃) δ 7.87-7.83 (m, 2H), 7.74-7.70 (m, 2H), 5.81 (m, 1H), 4.35 (dq, J = 15.5 Hz, J = 2.4 Hz, 1H), 4.14-4.11 (m, 1H), 4.07 (d, J = 19.6 Hz, 1H), 3.48 (m, 1H), 3.38-3.34 (m, 2H), 2.94 (s, 1H), 2.84 (dd, J = 16.0 Hz, J = 7.5 Hz, 1H), 2.09 (d, J = 16.1 Hz, 1H), 1.96 (bs, 2H), 1.79-1.76 (m, 1H), 1.62-1.59 (m, 1H), 1.50-1.37 (m, 2H); ¹³C NMR (125 MHz, CDCl₃) δ 208.4, 168.3, 134.2, 132.1, 131.8, 125.7, 123.5, 59.8, 57.7, 54.9, 53.6, 41.9, 39.1, 32.6, 29.1, 15.9; IR (neat) 2922, 2881, 2850, 1771, 1712, 1613, 1468, 1426, 1390, 1347, 1331, 1173, 1113, 732, 711 cm^{-1} ; HRMS (ESI) calcd for C₂₀H₂₁N₂O₃⁺ [M + H]⁺ 337.1547, found 337.1556.

Preparation of ketone **S5**

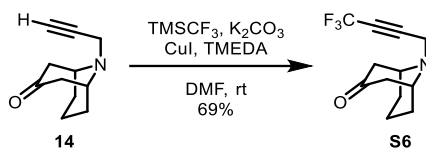
To a suspension of amine **14** (178 mg, 1.28 mmol, 1.1 equiv.) and K₂CO₃ (221 mg, 1.60 mmol, 1.3 equiv.) in MeCN (3.0 mL) was added 1-bromo-2-butyne (110 μ L, 1.22 mmol, 1.0 equiv.) and stirred for 27 h at room temperature under an argon atmosphere. The reaction mixture was passed through a pad of Celite[®] and the filtrate was concentrated under reduced pressure. The residue was purified by silica gel column chromatography (hexane : EtOAc = 70:30 to 40:60) to afford ketone **S5** (237 mg, 1.24 mmol, quant.) as a white solid. Mp. 80 $^{\circ}$ C; ¹H NMR (500 MHz, CDCl₃) δ 3.51 (brs, 2H), 3.48 (q, J = 2.3 Hz, 2H), 2.68 (dd, J = 16.8 Hz, J = 6.7 Hz, 2H), 2.21 (d, J = 16.6 Hz, 2H), 1.91-1.85 (m, 2H), 1.78 (t, J = 2.4 Hz, 3H), 1.51-1.36 (m, 4H); ¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃) δ 210.6, 80.6, 75.2, 53.3, 42.6, 42.5, 29.1, 16.4, 3.7; IR (neat) 2934, 2873, 2821, 1702, 1406, 1357, 1279, 1187, 1110, 1100 cm^{-1} ; HRMS (ESI) calcd for C₁₂H₁₈NO⁺ [M + H]⁺ 192.1383, found 192.1387.

Preparation of silyl enol ether **8e**

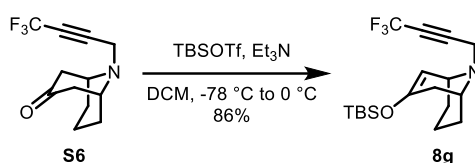
To a solution of ketone **S5** (672 mg, 3.51 mmol, 1.0 equiv.) and Et₃N (730 μL, 5.24 mmol, 1.5 equiv.) in DCM (18 mL) was added TBSOTf (910 μL, 3.96 mmol, 1.1 equiv.) at -78 °C and stirred for 15 min at 0 °C under an argon atmosphere. The reaction mixture was added silica gel, passed through a pad of Celite[®] eluting with EtOAc, and the filtrate was concentrated under reduced pressure. The residue was purified by silica gel column chromatography (hexane : EtOAc = 80:20 to 70:30) to afford silyl enol ether **8f** (949 mg, 3.11 mmol, 89% yield) as a yellow oil. ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 4.63 (d, *J* = 5.2 Hz, 1H), 3.46 (brs, 1H), 3.29-3.15 (m, 3H), 2.31 (dd, *J* = 18.1 Hz, *J* = 7.2 Hz, 1H), 1.86-1.74 (m, 5H), 1.70-1.57 (m, 2H), 1.53-1.49 (m, 1H), 1.43-1.40 (m, 2H), 0.90 (s, 9H), 0.13 (s, 3H), 0.12 (s, 3H); ¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃) δ 150.2, 102.6, 79.5, 76.2, 53.1, 51.2, 43.1, 33.5, 30.0, 29.6, 25.8, 18.1, 15.7, 3.8, -4.2, -4.4; IR (neat) 3041, 2929, 2858, 1664, 1471, 1362, 1350, 1195, 1184, 865, 839 cm⁻¹; HRMS (ESI) calcd for C₁₈H₃₂NOSi⁺ [*M* + H⁺] 306.2248, found 306.2251.

Preparation of azatricyclododecene **7f**

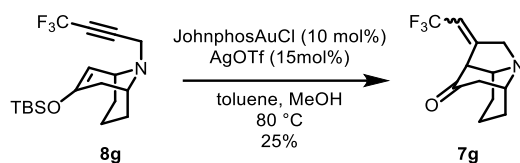
To a mixture of silyl enol ether **8f** (61.0 mg, 0.200 mmol, 1.0 equiv.), JohnphosAuCl (10.6 mg, 10 mol%), and AgOTf (7.7 mg, 15 mol%) in toluene (1.0 mL) was added MeOH (100 μL) and stirred at 80 °C for 13.5 h under an argon atmosphere. The reaction mixture was passed through a pad of Celite[®] and the filtrate was concentrated under reduced pressure. The residue was purified by PTLC with EtOAc to afford **7f** (25.0 mg, 0.131 mmol, 66% yield) as a yellow oil. ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 5.55-5.53 (m, 1H), 3.98 (dq, *J* = 19.3 Hz, *J* = 2.4 Hz, 1H), 3.43-3.41 (m, 1H), 3.28-3.22 (m, 2H), 2.83 (dd, *J* = 16.0 Hz, *J* = 7.5 Hz, 1H), 2.70 (s, 1H), 2.09 (dd, *J* = 16.0 Hz, *J* = 0.4 Hz, 1H), 1.94-1.83 (m, 2H), 1.77-1.72 (m, 1H), 1.65-1.60 (m, 4H), 1.54-1.38 (m, 2H); ¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃) δ 209.4, 134.0, 123.4, 59.4, 57.3, 57.1, 55.3, 39.2, 33.1, 29.6, 21.9, 16.3; IR (neat) 3018, 2921, 2878, 2851, 2834, 1699, 1667, 1170, 1159, 738 cm⁻¹; HRMS (ESI) calcd for C₁₂H₁₈NO⁺ [*M* + H⁺] 192.1383, found 192.1386.

Preparation of ketone **S6**

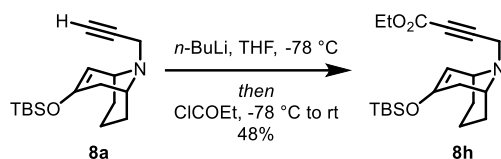
Following a reported procedure,⁹ a mixture of CuI (286 mg, 1.50 mmol, 1.5 equiv.), K₂CO₃ (415 mg, 3.00 mmol, 3.0 equiv.) and *N,N,N',N'*-tetramethylethylenediamine (TMEDA, 230 μ L, 1.54 mmol, 1.5 equiv.) in DMF (4.3 mL) was stirred at room temperature under air atmosphere for 15 min. After this time, TMSCF₃ (295 μ L, 1.99 mmol, 2.0 equiv.) was added and stirred for another 15 min. The reaction mixture was cooled to 0 °C and a solution of amine **14** (177 mg, 1.00 mmol, 1.0 equiv.) and TMSCF₃ (295 μ L, 1.99 mmol, 2.0 equiv.) in DMF (4.3 mL), which was pre-cooled to 0 °C, was added in one portion. After being stirred at 0 °C for 30 min, the reaction mixture was warm to room temperature and stirred under air atmosphere for another 16.5 h. The reaction mixture was diluted with ice cooled water and the aqueous layer was extracted with Et₂O for three times. The combined organic layers were washed with brine, dried over anhydrous MgSO₄, and concentrated under reduced pressure. The residue was purified by silica gel column chromatography (hexane : EtOAc = 60:40) to afford ketone **S6** (170 mg, 0.693 mmol, 69% yield) as a yellow oil. ¹H NMR (500 MHz, CDCl₃) δ 3.72 (q, *J* = 3.3 Hz, 2H), 3.48 (brs, 2H), 2.72 (dd, *J* = 16.8 Hz, *J* = 6.6 Hz, 2H), 2.31 (d, *J* = 17.0 Hz, 2H), 1.98-1.90 (m, 2H), 1.60-1.43 (m, 4H); ¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃) δ 209.5, 113.9 (q, *J* = 255.5 Hz), 84.9 (q, *J* = 5.5 Hz), 71.6 (q, *J* = 52.3 Hz), 53.7, 42.9, 41.8, 28.5, 16.1; ¹⁹F (376 MHz, CDCl₃) δ -50.5; IR (neat) 2941, 2880, 2286, 2259, 1704, 1286, 1137 cm⁻¹; HRMS (ESI) calcd for C₁₂H₁₅F₃NO⁺ [M + H]⁺ 246.1100, found 246.1104.

Preparation of silyl enol ether **8g**

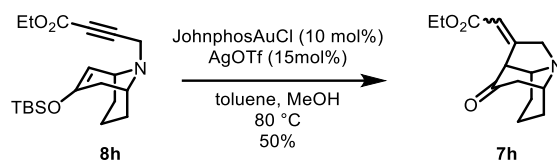
To a solution of ketone **S6** (142 mg, 0.579 mmol, 1.0 equiv.) and Et₃N (120 μ L, 0.861 mmol, 1.5 equiv.) in DCM (2.9 mL) was added TBSOTf (170 μ L, 0.740 mmol, 1.3 equiv.) at -78 °C and stirred for 30 min at 0 °C under an argon atmosphere. The reaction mixture was added silica gel, passed through a pad of Celite® eluting with EtOAc, and the filtrate was concentrated under reduced pressure. The residue was purified by silica gel column chromatography (hexane : EtOAc = 95:5 to 90:10) to afford silyl enol ether **8g** (179 mg, 0.498 mmol, 86% yield) as a yellow oil. ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 4.66 (d, *J* = 5.2 Hz, 1H), 3.46-3.33 (m, 3H), 3.23-3.21 (m, 1H), 2.34 (dd, *J* = 18.3 Hz, *J* = 7.2 Hz, 1H), 1.86-1.75 (m, 2H), 1.70-1.62 (m, 2H), 1.60-1.53 (m, 1H), 1.47-1.41 (m, 2H), 0.92 (s, 9H), 0.153 (s, 3H), 0.146 (s, 3H); ¹³C NMR (125 MHz, CDCl₃) δ 150.4, 114.1 (q, *J* = 255.1 Hz), 101.9, 85.6 (q, *J* = 6.6 Hz), 71.4 (q, *J* = 51.9 Hz), 53.7, 51.9, 42.6, 33.4, 29.9, 29.6, 25.8, 18.1, 15.3, -4.26, -4.32; ¹⁹F (376 MHz, CDCl₃) δ -50.2; IR (neat) 2932, 2858, 2266, 1664, 1364, 1287, 1208, 1197, 1140, 864, 839 cm⁻¹; HRMS (ESI) calcd for C₁₈H₂₉F₃NOSi⁺ [M + H]⁺ 360.1965, found 360.1969.

Preparation of azatricyclononane **7g**

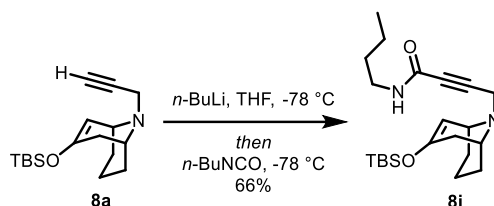
To a mixture of silyl enol ether **8g** (71.8 mg, 0.200 mmol, 1.0 equiv.), JohnphosAuCl (10.6 mg, 10 mol%), and AgOTf (7.7 mg, 15 mol%) in toluene (1.0 mL) was added MeOH (100 μ L) and stirred at 80 $^{\circ}$ C for 13.5 h under an argon atmosphere. The reaction mixture was passed through a pad of Celite[®] and the filtrate was concentrated under reduced pressure. The residue was purified by PTLC with EtOAc to afford **7g** (12.2 mg, 0.0497 mmol, 25% yield) as a yellow oil. ¹H NMR (500 MHz, CDCl₃) δ 5.65 (qq, $J = 7.8$ Hz, $J = 2.2$ Hz, 1H), 3.94 (dt, $J = 17.2$ Hz, $J = 2.7$ Hz, 1H), 3.69-3.64 (m, 2H), 3.53-3.52 (m 1H), 3.44-3.43 (m, 1H), 2.59 (dd, $J = 16.2$ Hz, $J = 8.0$ Hz, 1H), 2.19 (d, $J = 16.2$ Hz, 1H), 2.15-2.06 (m, 1H), 2.00-1.91 (m, 2H), 1.74-1.69 (m, 1H), 1.56-1.50 (m, 2H); ¹³C NMR (125 MHz, CDCl₃) δ 204.6, 152.7 (m), 122.7 (q, $J = 269.1$ Hz), 112.3 (q, $J = 35.5$ Hz), 64.9, 60.3, 59.5, 57.7, 40.9, 32.0, 24.1, 14.6; ¹⁹F (376 MHz, CDCl₃) δ -59.1; IR (neat) 2946, 2926, 2855, 1715, 1686, 1364, 1353, 1268, 1173, 1173, 1154, 1114, 1100, 859 cm^{-1} ; HRMS (ESI) calcd for C₁₂H₁₅F₃NO⁺ [M + H]⁺ 246.1100, found 246.1104.

Preparation of silyl enol ether **8h**

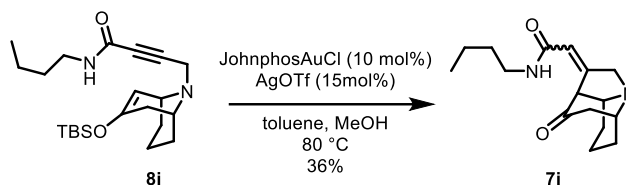
To a solution of silyl enol ether **8a** (272 mg, 0.933 mmol, 1.0 equiv.) in THF (3.7 mL) was added *n*-BuLi (590 μ L, 1.59 M in hexane, 0.938 mmol, 1.0 equiv.) at -78 $^{\circ}$ C and stirred for 15 min at the same temperature under an argon atmosphere. After this time, ethyl chloroformate (90 μ L, 0.945 mmol, 1.0 equiv.) was added and the reaction mixture was slowly warm to room temperature and stirred for 10.5 h. The reaction mixture was diluted with saturated aqueous NH₄Cl and the aqueous layer was extracted with EtOAc for three times. The combined organic layers were washed with brine, dried over anhydrous MgSO₄, and concentrated under reduced pressure. The residue was purified by GPC to afford silyl enol ether **8h** (163 mg, 0.448 mmol, 48% yield) as a yellow oil. ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 4.63 (d, $J = 5.2$ Hz, 1H), 4.18 (q, $J = 7.1$ Hz, 2H), 3.44-3.34 (m, 3H), 3.25-3.23 (m, 1H), 2.31 (dd, $J = 18.3$ Hz, $J = 7.3$ Hz, 1H), 1.83-1.72 (m, 2H), 1.68-1.56 (m, 2H), 1.54-1.50 (m, 1H), 1.44-1.38 (m, 2H), 1.26 (t, $J = 7.1$ Hz, 3H), 0.90 (s, 9H), 0.13 (s, 3H), 0.12 (s, 3H); ¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃) δ 153.6, 150.2, 102.1, 85.5, 76.1, 61.9, 53.5, 51.7, 43.0, 33.4, 29.9, 29.5, 25.7, 18.0, 15.4, 14.1, -4.3, -4.4; IR (neat) 2928, 2858, 2237, 1713, 1663, 1472, 1462, 1364, 1351, 1251, 1204, 1197, 1066, 868, 838 cm^{-1} ; HRMS (ESI) calcd for C₂₀H₃₄NO₃Si⁺ [M + H]⁺ 364.2302, found 364.2309.

Preparation of azatricyclononane **7h**

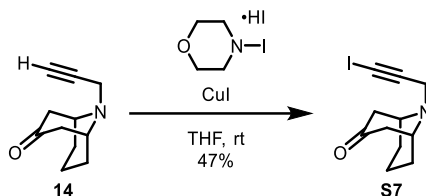
To a mixture of silyl enol ether **8h** (72.9 mg, 0.201 mmol, 1.0 equiv.), JohnphosAuCl (10.6 mg, 10 mol%), and AgOTf (7.7 mg, 15 mol%) in toluene (1.0 mL) was added MeOH (100 μ L) and stirred at 80 $^{\circ}$ C for 13.5 h under an argon atmosphere. The reaction mixture was passed through a pad of Celite[®] and the filtrate was concentrated under reduced pressure. The residue was purified by PTLC with EtOAc to afford **7h** (25.2 mg, 0.101 mmol, 50% yield) as a yellow oil. ¹H NMR (500 MHz, CDCl₃) δ 5.84 (m, 1H), 4.29 (d, J = 1.2 Hz, 1H), 4.23-4.14 (m, 2H), 3.98 (d, J = 17.7 Hz, 1H), 3.68 (d, J = 17.7 Hz, 1H), 3.55-3.54 (m, 1H), 3.44 (s, 1H), 2.60 (dd, J = 16.1 Hz, J = 7.8 Hz, 1H), 2.18 (d, J = 16.1 Hz, 1H), 2.14-2.09 (m, 1H), 2.02-1.96 (m, 2H), 1.73-1.70 (m, 1H), 1.63-1.52 (m, 2H), 1.29 (t, J = 7.2 Hz, 3H); ¹³C NMR (125 MHz, CDCl₃) δ 205.3, 165.4, 160.7, 114.3, 65.0, 61.6, 60.6, 60.4, 57.9, 41.4, 32.4, 24.4, 14.9, 14.4; IR (neat) 2925, 2850, 1718, 1660, 1370, 1344, 1267, 1175, 1154, 1035, 854 cm^{-1} ; HRMS (ESI) calcd for C₁₄H₂₀NO₃⁺ [M + H]⁺ 250.1438, found 250.1439.

Preparation of silyl enol ether **8i**

To a solution of silyl enol ether **8a** (529 mg, 1.81 mmol, 1.0 equiv.) in THF (13 mL) was added *n*-BuLi (1.14 mL, 1.59 M in hexane, 1.81 mmol, 1.0 equiv.) at -78 $^{\circ}$ C and stirred for 20 min at the same temperature under an argon atmosphere. After this time, the reaction mixture was added butyl isocyanate (200 μ L, 1.80 mmol, 1.0 equiv.) and stirred for another 1.5 h at -78 $^{\circ}$ C. The reaction mixture was diluted with saturated aqueous NH₄Cl and the aqueous layer was extracted with DCM for three times. The combined organic layers were washed with brine, dried over anhydrous MgSO₄, and concentrated under reduced pressure. The residue was purified by silica gel column chromatography (hexane : EtOAc = 40:60 to 30:70) to afford silyl enol ether **8i** (463 mg, 1.19 mmol, 66% yield) as a yellow oil. ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 5.94 (m, 1H), 4.64 (d, J = 5.2 Hz, 1H), 3.46-3.35 (m, 3H), 3.28-3.23 (m, 3H), 2.34 (dd, J = 18.3 Hz, J = 7.2 Hz, 1H), 1.86-1.75 (m, 2H), 1.71-1.59 (m, 2H), 1.56-1.41 (m, 5H), 1.37-1.28 (m, 2H), 0.92-0.88 (m, 12H), 0.14 (s, 3H), 0.13 (s, 3H); ¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃) δ 153.1, 150.2, 102.1, 83.1, 78.6, 53.5, 51.7, 43.0, 39.6, 33.3, 31.4, 29.9, 29.6, 25.7, 20.0, 18.0, 15.3, 13.7, -4.3, -4.4; IR (neat) 3258, 3053, 2954, 2930, 2859, 2243, 1739, 1662, 1633, 1540, 1363, 1255, 1196, 867, 839, 778 cm^{-1} ; HRMS (ESI) calcd for C₂₂H₃₉N₂O₂Si⁺ [M + H]⁺ 391.2775, found 391.2784.

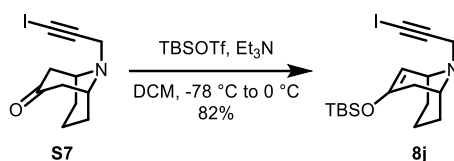
Preparation of azatricyclononane **7i**

To a mixture of silyl enol ether **8i** (78.1 mg, 0.200 mmol, 1.0 equiv.), JohnphosAuCl (10.6 mg, 10 mol%), and AgOTf (7.7 mg, 15 mol%) in toluene (1.0 mL) was added MeOH (100 μ L) and stirred at 80 °C for 14 h under an argon atmosphere. The reaction mixture was passed through a pad of Celite[®] and the filtrate was concentrated under reduced pressure. The residue was purified by silica gel column chromatography (EtOAc 100% to DCM : MeOH = 90:10) to afford **7i** (19.8 mg, 0.716 mmol, 36% yield) as a yellow oil. ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 5.83 (brs, 1H), 5.79 (m, 1H), 4.00 (d, $J = 2.3$ Hz, 1H), 3.90 (dd, $J = 17.3$ Hz, $J = 2.0$ Hz, 1H), 3.59 (d, $J = 17.3$ Hz, 1H), 3.51-3.49 (m, 1H), 3.38 (brs, 1H), 3.30-3.26 (m, 2H), 2.59 (dd, $J = 16.7$ Hz, $J = 8.0$ Hz, 1H), 2.17 (d, $J = 16.7$ Hz, 1H), 2.11-2.03 (m, 1H), 1.98-1.89 (m, 2H), 1.69-1.66 (m, 1H), 1.57-1.42 (m, 4H), 1.40-1.32 (m, 2H), 0.92 (t, d, $J = 7.4$ Hz, 3H); ¹³C NMR (125 MHz, CDCl₃) δ 206.4, 165.1, 151.1, 119.0, 64.5, 60.8, 59.5, 57.2, 40.5, 39.6, 32.0, 31.7, 24.4, 20.3, 14.8, 13.9; IR (neat) 3283, 3057, 2954, 2930, 2872, 1707, 1673, 1635, 1545, 1442, 1246, 1177, 1159, 854, 751 cm^{-1} ; HRMS (ESI) calcd for C₁₆H₂₅N₂O₂⁺ [M + H⁺] 277.1911, found 277.1917.

Preparation of ketone **S7**

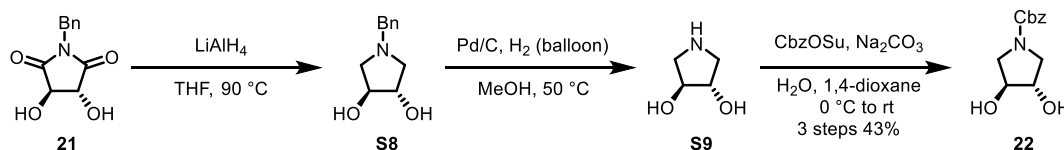
Following a slightly modified procedure in the literature,¹⁰ to a mixture of amine **14** (332 mg, 1.87 mmol, 1.2 equiv.) and CuI (17.7 mg, 0.0929 mmol, 0.06 equiv.) in THF (4.7 mL) was added *N*-iodomorpholin-hydrogen iodide (541 mg, 1.59 mmol, 1.0 equiv.) and stirred for 3 h at room temperature under an argon atmosphere. The reaction mixture was passed through a pad of basic alumina and the filtrate was concentrated under reduced pressure. The residue was purified by silica gel column chromatography (hexane : EtOAc = 80:20 to 70:30) to afford ketone **S7** (226 mg, 0.746 mmol, 47% yield) as a white solid. Decomposed at 140 °C; ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 3.70 (s, 2H), 3.47 (bs, 2H), 2.68 (dd, $J = 16.8$ Hz, $J = 6.6$ Hz, 2H), 2.22 (d, $J = 16.9$ Hz, 2H), 1.93-1.84 (m, 2H), 1.51-1.35 (m, 4H); ¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃) δ 210.3, 90.6, 53.4, 44.2, 42.8, 28.9, 16.2, 0.6; IR (neat) 2936, 2875, 2852, 2816, 1735, 1698, 1685, 1362, 1353, 1216, 1203, 1099 cm^{-1} ; HRMS (ESI) calcd for C₁₁H₁₅NOI⁺ [M + H]⁺ 304.0193, found 304.0198.

Preparation of silyl enol ether **8j**



To a solution of ketone **S7** (211 mg, 0.696 mmol, 1.0 equiv.) and Et₃N (145 μ L, 1.04 mmol, 1.6 equiv.) in DCM (3.5 mL) was added TBSOTf (190 μ L, 0.827 mmol, 1.2 equiv.) at -78 $^\circ$ C and stirred for 30 min at 0 $^\circ$ C under an argon atmosphere. The reaction mixture was added silica gel, passed through a pad of Celite[®] eluting with EtOAc, and the filtrate was concentrated under reduced pressure. The residue was purified by silica gel column chromatography (hexane : EtOAc = 90:10 to 80:20) to afford silyl enol ether **8j** (239 mg, 0.573 mmol, 82% yield) as a white solid. Mp 97 $^\circ$ C; ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 4.64 (d, J = 5.2 Hz, 1H), 3.49-3.40 (m, 3H), 3.28-3.26 (m, 1H), 2.33 (dd, J = 18.2 Hz, J = 7.2 Hz, 1H), 1.87-1.75 (m, 2H), 1.71-1.59 (m, 2H), 1.55-1.52 (m, 1H), 1.45-1.42 (2H), 0.92 (s, 9H), 0.15 (s, 3H), 0.14 (s, 3H); ¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃) δ 150.3, 102.4, 91.6, 53.3, 51.5, 44.9, 33.4, 30.0, 29.6, 25.8, 18.1, 15.6, -1.3, -4.2, -4.3; IR (neat) 2929, 2898, 2857, 1255, 1197, 866, 839, 778 cm⁻¹; HRMS (ESI) calcd for C₁₇H₂₉INOSi⁺ [M + H]⁺ 418.1058, found 418.1054.

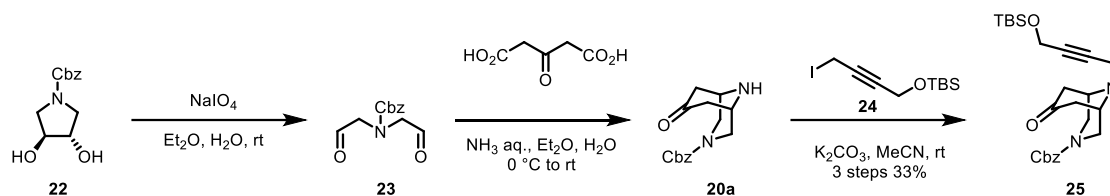
Preparation of benzyl (3*S*,4*S*)-3,4-dihydroxypyrrolidine-1-carboxylate (**22**)



To a suspension of LiAlH₄ (4.90 g, 129 mmol, 2.5 equiv.) in THF (260 mL) was added imide **21** (11.5 g, 52.0 mmol, 1.0 equiv.) at 0 $^\circ$ C under an argon atmosphere. The reaction mixture was heated to 90 $^\circ$ C and stirred for 3.5 h before saturated aqueous Na₂SO₄ was added dropwise at 0 $^\circ$ C. The reaction mixture was filtered through a pad of Celite[®] and the solvent was removed under reduced pressure to afford crude amine **S8** (7.45 g, 38.6 mmol), which was used for the next reaction without further purification.

To a solution of crude amine **S8** (7.45g, 38.6 mmol) in MeOH (120 mL) was added Pd/C (1.50 g, 20wt%) and stirred at 50 $^\circ$ C for 4 h under H₂ atmosphere. The reaction mixture was filtered through a pad of Celite[®] and the solvent was removed under reduced pressure to afford crude amine **S9** (3.93 g, 38.1 mmol), which was used for the next reaction without further purification.

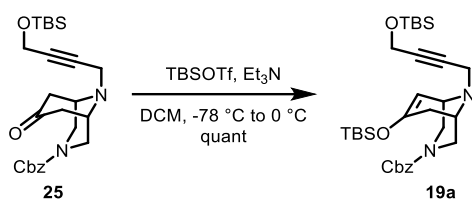
To a solution of crude amine **S9** (3.93 g, 38.1 mmol, 1.0 equiv.) in 1,4-dioxane (100 mL) and aqueous Na₂CO₃ (20wt%, 80 mL) was added CbzOSu (11.4g, 45.7 mmol, 1.2 equiv.) at 0 $^\circ$ C under air. After being stirred for 2.5 h at the same temperature, the reaction mixture was diluted with saturated aqueous NH₄Cl and the aqueous layer was extracted with EtOAc for three times. The combined organic layers were washed with brine, dried over anhydrous MgSO₄, and concentrated under reduced pressure. The residue was purified by silica gel column chromatography (DCM : MeOH = 98:2 to 90:10) to afford diol **22** (5.32 g, 22.4 mmol, 3 steps 43%) as an orange oil. The compound data was in accordance with previous report.¹¹

Preparation of ketone **25**

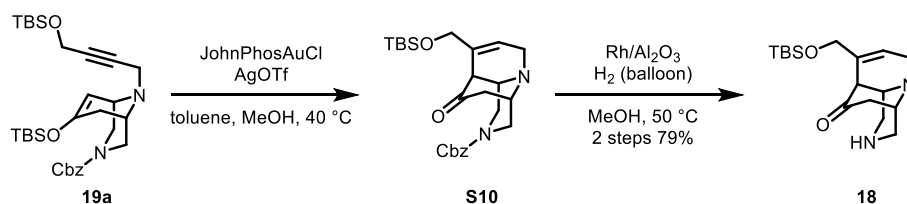
Following a slightly modified procedure in the literature,³ to a solution of diol **22** (5.03 g, 21.2 mmol, 1.0 equiv.) in Et₂O (100 mL) was added a solution of NaIO₄ (5.43 g, 25.4 mmol, 1.2 equiv.) in H₂O (60 mL) and stirred at room temperature for 19 h under air. The reaction mixture was concentrated under reduced pressure, diluted with brine, and the aqueous layer was extracted with EtOAc for three times. The combined organic layers were dried over anhydrous Na₂SO₄ and concentrated under reduced pressure. The residue was diluted with DCM and MgSO₄ was added. The resulting suspension was filtered and concentrated under reduced pressure to afford crude dialdehyde **23**, which was used for the next reaction without further purification.

To a solution of 1,3-acetonedicarboxylic acid (3.11 g, 21.3 mmol, 1.0 equiv.) and 25% ammonia solution (15 mL) in H₂O (15 mL) was added crude dialdehyde **23** dissolved in Et₂O (8.0 mL) at 0 °C under air. The reaction mixture was slowly warmed to room temperature and stirred for 46 h. The resulting mixture was diluted with brine and the aqueous layer was extracted with EtOAc for three times. The combined organic layers were dried over anhydrous MgSO₄, filtered, and concentrated under reduced pressure. The residue was purified by silica gel column chromatography (DCM : MeOH = 98:2 to 90:10) to afford crude amine **20a** (2.68 g, 9.76 mmol) as an orange oil, which was used for the next reaction without further purification.

A mixture of crude amine **20a** (2.68 g, 9.76 mmol, 1.0 equiv.), K₂CO₃ (2.02 g, 14.6 mmol, 1.5 equiv.), and propargyl iodide **24** (3.04 g, 9.80 mmol, 1.0 equiv.) in MeCN (30 mL) was stirred at room temperature for 7.5 h under an argon atmosphere. The reaction mixture was filtered through a pad of Celite[®] and concentrated under reduced pressure. The residue was purified by silica gel column chromatography (hexane : EtOAc = 70:30 to 50:50) to afford ketone **25** (3.24 g, 7.10 mmol, 3 steps 33%) as a yellow oil. ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 7.36-7.28 (m, 5H), 5.09 (d, *J* = 6.9 Hz, 2H), 4.33 (s, 2H), 4.06-3.92 (m, 2H), 3.61 (s, 2H), 3.50 (d, *J* = 14.7 Hz, 2H), 3.17 (m, 2H), 2.65 (dd, *J* = 15.8 Hz, *J* = 5.8 Hz, 2H), 2.25 (m, 2H), 0.90 (s, 9H), 0.10 (s, 6H); ¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃) δ 205.2, 155.5, 136.5, 128.6, 128.2, 84.1, 80.1, 67.8, 54.6, 51.9, 48.4, 48.2, 42.3, 40.8, 25.9, 18.4, -5.1; IR (neat): 2953, 2929, 2857, 1711, 1432, 1362, 1244, 1204, 1130, 1107, 1077, 984, 837, 778 cm⁻¹; HRMS (ESI) calcd for C₂₅H₃₆N₂O₄SiNa⁺ [M + Na]⁺ 479.2337, found 479.2338.

Preparation of silyl enol ether **19a**

To a solution of ketone **25** (1.84 g, 4.03 mmol, 1.0 equiv.) and Et₃N (840 μL, 6.03 mmol, 1.5 equiv.) in DCM (20 mL) was added TBSOTf (1.11 mL, 4.83 mmol, 1.2 equiv.) at -78 °C and stirred at 0 °C for 10 min under an argon atmosphere. The reaction mixture was diluted with saturated aqueous NH₄Cl and the aqueous layer was extracted with DCM for three times. The combined organic layer was washed with brine, dried over anhydrous MgSO₄, filtered, and concentrated under reduced pressure. The residue was purified by silica gel column chromatography (hexane : EtOAc = 70:30) to afford silyl enol ether **19a** (2.27 g, 3.98 mmol, quant.) as a yellow oil. ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 7.34-7.33 (m, 5H), 5.15-4.99 (m, 2H), 4.65 (dd, *J* = 17.1 Hz, *J* = 4.8 Hz, 1H), 4.33 (s, 2H), 4.08 (dd, *J* = 51.6 Hz, *J* = 13.2 Hz, 1H), 3.85 (dd, *J* = 41.4 Hz, *J* = 12.4 Hz, 1H), 3.47-3.08 (m, 6H), 2.35 (dd, *J* = 18.3 Hz, *J* = 7.0 Hz, 1H), 1.79 (dd, *J* = 34.6 Hz, *J* = 18.2 Hz, 1H), 0.90 (m, 18H), 0.12-0.10 (m, 12H); ¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃) δ 156.2, 155.9, 150.4, 149.8, 136.9, 128.59, 128.56, 128.1, 128.03, 127.98, 99.8, 99.6, 83.2, 81.1, 67.3, 52.8, 52.7, 52.0, 51.0, 50.9, 50.7, 48.1, 47.9, 42.8, 28.6, 28.5, 25.9, 25.8, 18.4, 18.0, -4.4, -4.5, -5.0; IR (neat): 2954, 2928, 2895, 2857, 1703, 1664, 1471, 1461, 1432, 1362, 1254, 1200, 1131, 1079, 948, 838, 779 cm⁻¹; HRMS (ESI) calcd for C₃₁H₅₁N₂O₄Si₂⁺ [M + H]⁺ 571.3382, found 571.3376.

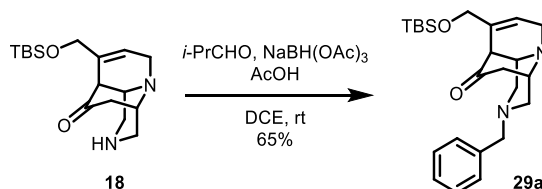
Preparation of diazatriacyclododecene **18**

A suspension of silyl enol ether **19a** (2.27 g, 3.98 mmol, 1.0 equiv.), JohnPhosAuCl (213 mg, 0.397 mmol, 10 mol%), and AgOTf (160 mg, 0.623 mmol, 16 mol%) in toluene (20 mL) was added MeOH (2 mL) and stirred at 40 °C for 1.5 h under an argon atmosphere. The reaction mixture was filtered through a pad of Celite[®] and concentrated under reduced pressure to afford crude ketone **S10** (2.51 g), which was used for the next reaction without further purification.

To a solution of crude ketone **S10** (2.51 g) in MeOH (12 mL) was added Rh on activated alumina (500 mg, 20wt%) and stirred at 50 °C under H₂ atmosphere. After being stirred for 11 h, the reaction mixture was filtered through a pad of Celite[®] and concentrated under reduced pressure. The residue was purified by silica gel column chromatography (EtOAc 100% to DCM : MeOH = 95:5) to afford **18** (1.01 g, 3.13 mmol, 2 steps 79%) as a yellow oil. ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 5.68 (s, 1H), 3.92-3.87 (m, 3H), 3.20-3.26 (m, 2H), 3.01 (s, 1H), 2.95-2.91 (m, 2H), 2.86 (d, *J* = 11.2 Hz, 1H), 2.71 (d, *J* = 10.8 Hz, 1H), 2.66-2.61 (m, 2H), 2.03 (d, *J* = 15.5 Hz, 1H), 1.54 (bs, 1H), 0.76 (s, 9H), -0.07 (s, 3H), -0.09 (s, 3H); ¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃) δ 205.2, 137.2, 121.4,

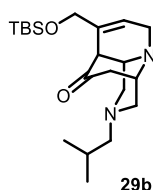
63.8, 60.3, 57.9, 54.9, 52.8, 51.5, 49.8, 38.7, 25.9, 18.3, -5.4, -5.5; IR (neat): 3346, 2952, 2928, 2903, 2855, 2830, 1700, 1671, 1473, 1471, 1460, 1435, 1410, 1346, 1252, 1184, 1166, 1137, 1086, 836, 777 cm^{-1} ; HRMS (ESI) calcd for $\text{C}_{17}\text{H}_{31}\text{N}_2\text{O}_2\text{Si}^+$ $[\text{M} + \text{H}]^+$ 323.2149, found 323.2151.

Representative procedure for synthesis of ketones 29a–c

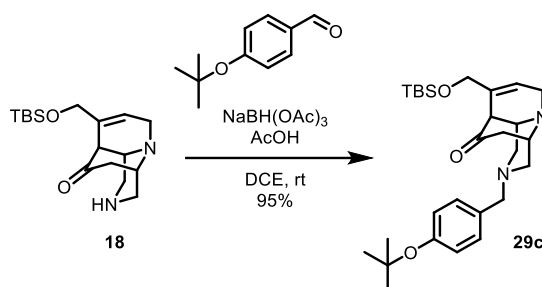


To a solution of amine **18** (652 mg, 2.02 mmol, 1.0 equiv.), benzaldehyde (310 μL , 3.07 mmol, 2.5 equiv.), and AcOH (115 μL , 2.01 mmol, 1.0 equiv.) in DCE (10.0 mL) was added $\text{NaBH}(\text{OAc})_3$ (856 mg, 4.04 mmol, 2.0 equiv.) under an argon atmosphere. After being stirred at room temperature for 40 min, the reaction mixture was diluted with saturated aqueous NH_4Cl and the aqueous layer was extracted with EtOAc for three times. The combined organic layers were washed with brine, dried over anhydrous MgSO_4 , filtered, and concentrated under reduced pressure. The residue was purified by silica gel chromatography (hexane : EtOAc = 30:70) to afford ketone **29a** (541 mg, 1.31 mmol, 65%) as a colorless oil. ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 7.33–7.29 (m, 2H), 7.23–7.21 (m, 3H), 5.81 (s, 1H), 4.03–4.00 (m, 3H), 3.53 (d, $J = 13.2$ Hz, 1H), 3.47 (d, $J = 13.2$ Hz, 1H), 3.34–3.32 (m, 2H), 3.15 (s, 1H), 2.81 (d, $J = 11.1$ Hz, 1H), 2.75–2.70 (m, 2H), 2.63 (d, $J = 10.7$ Hz, 1H), 2.45–2.41 (m, 2H), 2.10 (d, $J = 15.5$ Hz, 1H), 0.89 (s, 9H), 0.05 (s, 3H), 0.04 (s, 3H); ^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3) δ 203.9, 138.1, 137.4, 128.8, 128.5, 127.2, 121.5, 63.9, 62.3, 59.9, 59.2, 57.4, 56.5, 54.4, 51.8, 39.0, 26.0, 18.5, -5.31, -5.34; IR (neat): 3059, 3026, 2952, 2928, 2905, 2883, 2855, 2810, 2768, 1703, 1672, 1496, 1461, 1410, 1389, 1369, 1344, 1279, 1253, 1179, 1141, 1082, 1066, 1050, 1027, 1005, 837 cm^{-1} ; HRMS (ESI) calcd for $\text{C}_{24}\text{H}_{37}\text{N}_2\text{O}_2\text{Si}^+$ $[\text{M} + \text{H}]^+$ 413.2619, found 413.2619.

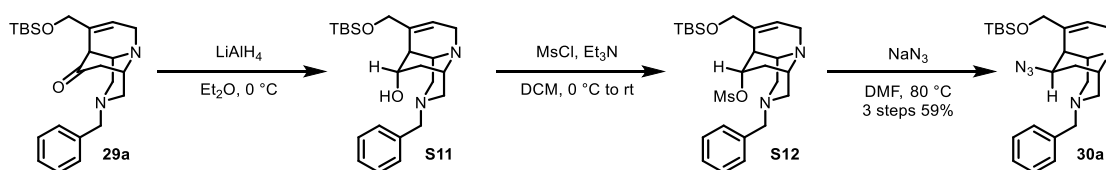
Preparation of ketone 29b



Following representative procedure using amine **18** (350 mg, 1.09 mmol) and isobutylaldehyde (250 μL , 2.74 mmol), purification by silica gel column chromatography (hexane : EtOAc = 20:80) afforded ketone **29b** (349 mg, 0.922 mmol, 85%) as a colorless oil. ^1H NMR (500 MHz, CDCl_3) δ 5.80 (m, 1H), 4.03–4.00 (m, 3H), 3.35–3.31 (m, 2H), 3.15 (s, 1H), 2.79 (d, $J = 11.2$ Hz, 1H), 2.75–2.70 (m, 2H), 2.64 (dt, $J = 10.8$ Hz, $J = 2.3$ Hz, 1H), 2.41–2.37 (m, 2H), 2.12 (d, $J = 15.6$ Hz, 1H), 2.09–2.02 (m, 2H), 1.74–1.67 (m, 1H), 0.89 (s, 9H), 0.82 (d, $J = 3.9$ Hz, 3H), 0.81 (d, $J = 3.9$ Hz, 3H), 0.05 (s, 3H), 0.03 (s, 3H); ^{13}C NMR (125 MHz, CDCl_3) δ 203.1, 137.4, 121.3, 66.3, 63.9, 60.2, 59.9, 57.4, 57.2, 54.4, 51.9, 38.9, 26.0, 25.8, 20.8, 20.7, 18.5, -5.28, -5.31; IR (neat): 2952, 2928, 2903, 2855, 2807, 2360, 2340, 1705, 1672, 1471, 1255, 1145, 1085, 836, 777 cm^{-1} ; HRMS (ESI) calcd for $\text{C}_{21}\text{H}_{39}\text{N}_2\text{O}_2\text{Si}^+$ $[\text{M} + \text{H}]^+$ 379.2775, found 379.2785.

Preparation of ketone **29c**

Following representative procedure using amine **18** (753 mg, 2.34 mmol) and 4-*tert*-butoxybenzaldehyde (1.02 mL, 5.85 mmol), purification by silica gel column chromatography (hexane : EtOAc = 70:30 to 50:50) afforded ketone **29c** (1.08 g, 2.23 mmol, 95%) as a yellow oil. ^1H NMR (500 MHz, CDCl_3) δ 7.02 (d, $J = 8.5$ Hz, 2H), 6.85 (d, $J = 8.5$ Hz, 2H), 5.72 (s, 1H), 3.94-3.92 (m, 3H), 3.39 (d, $J = 13.2$ Hz, 1H), 3.35 (d, $J = 13.3$ Hz, 1H), 3.26-3.22 (m, 2H), 3.07 (s, 1H), 2.73 (d, $J = 11.2$ Hz, 1H), 2.66-2.62 (m, 2H), 2.54 (d, $J = 10.8$ Hz, 1H), 2.35-2.32 (m, 2H), 2.01 (d, $J = 15.5$ Hz, 1H), 1.24 (s, 9H), 0.81 (s, 9H), -0.02 (s, 3H), -0.04 (s, 3H); ^{13}C NMR (125 MHz, CDCl_3) δ 203.6, 154.3, 137.2, 132.6, 129.0, 123.9, 121.4, 78.0, 63.8, 61.6, 59.7, 58.9, 57.2, 56.2, 54.2, 51.6, 38.8, 28.8, 25.9, 18.3, -5.4, -5.5; IR (neat): 2975, 2952, 2928, 2906, 2885, 2855, 2830, 2813, 1702, 1673, 1607, 1506, 1460, 1364, 1256, 1235, 1174, 1160, 1142, 1086, 1069, 1050, 897, 837, 776, 744, 669 cm^{-1} ; HRMS (ESI) calcd for $\text{C}_{28}\text{H}_{45}\text{N}_2\text{O}_3\text{Si}^+$ $[\text{M} + \text{H}]^+$ 485.3194, found 485.3195.

Representative procedure for synthesis of azides **30a-c**

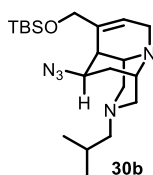
To a solution of ketone **29a** (57.8 mg, 0.140 mmol, 1.0 equiv.) in Et_2O (980 μL) was added LiAlH_4 (13.3 mg, 0.350 mmol, 2.5 equiv.) portion wise at 0 $^\circ\text{C}$ and stirred at the same temperature for 20 min under an argon atmosphere. The reaction mixture was diluted with saturated aqueous Na_2SO_4 , filtered through a pad of Celite[®], and concentrated under reduced pressure afford crude alcohol **S11**, which was used for the next reaction without further purification.

To a solution of crude alcohol **S11** and triethylamine (29.3 μL , 0.21 mmol, 1.5 equiv.) in DCM (420 μL) was added MsCl (13.0 μL , 0.168 mmol, 1.2 equiv.) at 0 $^\circ\text{C}$ under an argon atmosphere. After being stirred at room temperature for 1 h, the reaction mixture was diluted with EtOAc and washed with water and brine. The organic layer was dried over anhydrous Na_2SO_4 and concentrated under reduced pressure to afford crude mesylate **S13**, which was used for the next reaction without further purification.

To a solution of crude mesylate **S12** in DMF (560 μL) was added NaN_3 (18.2 mg, 0.280 mmol, 2.0 equiv.) and the reaction mixture was stirred at 80 $^\circ\text{C}$ for 1 h under an argon atmosphere. The reaction mixture was diluted with EtOAc and washed with brine. The organic layer was dried over anhydrous MgSO_4 , filtered, and concentrated under reduced pressure. The residue was purified by column chromatography (hexane : EtOAc = 60:40) to afford azide **30a** (36.2 mg, 0.0823 mmol, 3 steps 59 %) as a yellow oil. ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3)

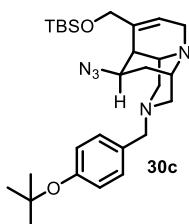
δ 7.36-7.32 (m, 2H), 7.29-7.24 (m, 3H), 5.82 (s, 1 H), 5.41-5.36 (m, 1H), 4.29 (dd, $J = 14.0$ Hz, $J = 1.9$ Hz, 1H), 4.05 (dd, $J = 14.0$ Hz, $J = 2.0$ Hz, 1H), 3.83 (d, $J = 18.9$ Hz, 1H), 3.45 (s, 2H), 3.16 (dd, $J = 19.2$ Hz, $J = 2.4$ Hz, 1H), 3.00 (s, 1H), 2.92-2.89 (m, 2H), 2.79 (d, $J = 10.4$ Hz, 1H), 2.49-2.45 (m, 2H), 2.32 (d, $J = 5.0$ Hz, 1H), 1.87-1.77 (m, 2H), 0.92 (s, 9H), 0.082 (s, 3H), 0.077 (s, 3H); ^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3) δ 138.4, 138.2, 128.9, 128.6, 127.3, 122.0, 66.8, 63.2, 59.2, 58.7, 57.4, 56.6, 54.2, 54.1, 37.3, 28.1, 26.1, 18.6, -5.1, -5.2; IR (neat): 3028, 2952, 2927, 2903, 2855, 2807, 2768, 2091, 1460, 1347, 1252, 1146, 1119, 1004, 836, 776, 736 cm^{-1} ; HRMS (ESI) calcd for $\text{C}_{24}\text{H}_{38}\text{N}_5\text{OSi}^+$ $[\text{M} + \text{H}]^+$ 440.2840, found 440.2841.

Preparation of azide **30b**



Following representative procedure using ketone **29b** (349 mg, 0.922 mmol), purification by silica gel column chromatography (hexane : EtOAc = 40:60) afforded azide **30b** (288 mg, 0.710 mmol, 3 steps 77%) as a yellow oil. ^1H NMR (500 MHz, CDCl_3) δ 5.79 (s, 1H), 5.31-5.27 (m, 1H), 4.26 (dd, $J = 13.9$ Hz, $J = 1.9$ Hz, 1H), 4.04 (dd, $J = 14.0$ Hz, $J = 2.0$ Hz, 1H), 3.79 (d, $J = 18.2$ Hz, 1H), 3.12 (dd, $J = 19.2$ Hz, $J = 2.5$ Hz, 1H), 2.96 (s, 1H), 2.85 (d, $J = 4.0$ Hz, 1H), 2.84 (d, $J = 3.3$ Hz, 1H), 2.74 (d, $J = 10.6$ Hz, 1H), 2.37-2.30 (m, 3H), 1.98 (d, $J = 7.5$ Hz, 2H), 1.84-1.72 (m, 3H), 0.89 (s, 9H), 0.88-0.86 (m, 6H), 0.06 (s, 3H), 0.05 (s, 3H). ^{13}C NMR (125 MHz, CDCl_3) δ 138.1, 122.1, 66.9, 66.8, 59.5, 58.8, 57.4, 57.1, 54.3, 54.1, 37.4, 28.2, 26.1, 25.2, 21.0, 20.9, 18.5, -5.1, -5.2. IR (neat): 2954, 2928, 2902, 2869, 2856, 2833, 2807, 2780, 2091, 1461, 1251, 1150, 1119, 1067, 1005, 888, 836, 776 cm^{-1} ; HRMS (ESI) calcd for $\text{C}_{21}\text{H}_{40}\text{N}_5\text{OSi}^+$ $[\text{M} + \text{H}]^+$ 406.2997, found 406.3006.

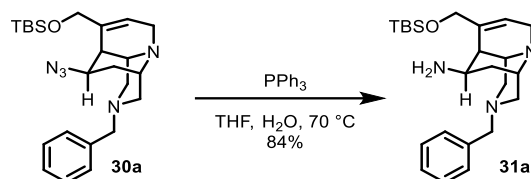
Preparation of azide **30c**



Following representative procedure using ketone **29c** (996 mg, 2.05 mmol), purification by silica gel column chromatography (hexane : EtOAc = 40:60) afforded azide **30c** (616 mg, 1.20 mmol, 3 steps 59 %) as a yellow oil. ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 7.14 (d, $J = 7.8$ Hz, 2H), 6.93 (d, $J = 7.6$ Hz, 2H), 5.80 (s, 1H), 5.38-5.33 (m, 1H), 4.27 (d, $J = 14.0$ Hz, 1H), 4.04 (d, $J = 14.0$ Hz, 1H), 3.80 (d, $J = 19.1$ Hz, 1H), 3.38 (s, 2H), 3.14 (d, $J = 19.1$ Hz, 1H), 2.98 (s, 1H), 2.88-2.86 (m, 2H), 2.76 (d, $J = 10.6$ Hz, 1H), 2.44-2.41 (m, 2H), 2.29 (d, $J = 4.8$ Hz, 1H), 1.84-1.74 (m, 2H), 1.33 (s, 9H), 9.37 (s, 9H), 0.06 (s, 6H); ^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3) δ 154.5, 138.2, 133.0, 129.2, 124.1, 122.1, 78.3, 66.7, 62.5, 59.1, 58.7, 57.3, 56.5, 54.2, 54.0, 37.2, 28.9, 28.0, 26.1, 18.5, -5.1, -5.2; IR (neat): 2952, 2927, 2902, 2855, 2807, 2089, 1607, 1505, 1461, 1389, 1365, 1345, 1236, 1160, 1147, 1119, 1086, 1065, 1004, 896, 837, 776, 736, 664 cm^{-1} ; HRMS (ESI) calcd for $\text{C}_{28}\text{H}_{46}\text{N}_5\text{O}_2\text{Si}^+$ $[\text{M} + \text{H}]^+$ 512.3415,

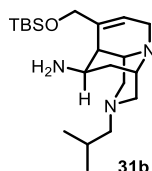
found 512.3414.

Representative procedure for synthesis of amines 31a–c

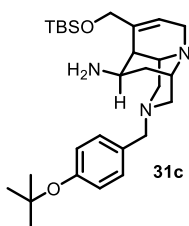


To a solution of azide **30a** (20.4 mg, 0.0464 mmol, 1.0 equiv.) in THF (500 μ L) and H₂O (50 μ L) was added PPh₃ (18.3 mg, 0.0696 mmol, 1.5 equiv.). The reaction mixture was stirred at 70 °C for 2.5 h before concentrated under reduced pressure. The residue was purified by column chromatography (DCM : MeOH : Et₃N = 92:8:1) to afford amine **31a** (16.2 mg, 0.0392 mmol, 84%) as a yellow oil. ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 7.28-7.26 (m, 4H), 7.24-7.18 (m, 1H), 5.80 (s, 1H), 4.50-4.44 (m, 1H), 4.23 (dd, J = 14.1 Hz, J = 1.8 Hz, 1H), 4.04 (dd, J = 14.1 Hz, J = 2.0 Hz, 1H), 3.79 (dd, J = 19.1 Hz, J = 2.5 Hz, 1H), 3.41 (d, J = 13.1 Hz, 1H), 3.37 (d, J = 13.2 Hz, 1H), 3.14 (dd, J = 19.2 Hz, J = 2.3 Hz, 1H), 2.90-2.88 (m, 2H), 2.82 (d, J = 1.6 Hz, 1H), 2.77 (d, J = 10.6 Hz, 1H), 2.43-2.40 (m, 2H), 2.18 (d, J = 4.7 Hz, 1H), 1.64 (dd, J = 13.2 Hz, J = 5.3 Hz, 1H), 1.49-1.42 (m, 1H), 1.33 (brs, 2H), 0.89 (s, 9H), 0.053 (s, 3H), 0.048 (s, 3H); ¹³C NMR (125 MHz, CDCl₃) δ 138.7, 138.4, 128.8, 128.3, 126.9, 122.5, 67.7, 63.3, 59.5, 57.8, 56.9, 54.6, 54.2, 47.5, 41.3, 34.0, 26.1, 18.5, -5.19, -5.21; IR (neat): 2951, 2927, 2898, 2855, 2804, 2767, 1471, 1460, 1389, 1370, 1253, 1145, 1145, 1145, 836, 776, 732 cm⁻¹; HRMS (ESI) calcd for C₂₄H₄₀N₃OSi⁺ [M + H]⁺ 414.2935, found 414.2943.

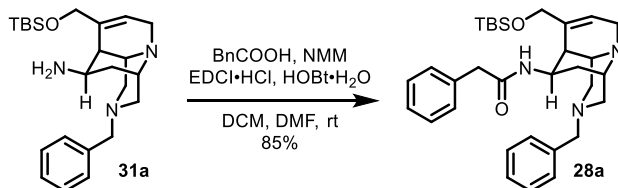
Preparation of amine 31b



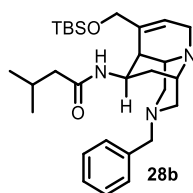
Following representative procedure using azide **30b** (247 mg, 0.609 mmol), purification by silica gel column chromatography (DCM : MeOH = 95:5 to 9:1) afforded amine **31b** (183 mg, 0.482 mmol, 79%) as a yellow oil. ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 5.75 (s, 1H), 4.36-4.31 (m, 1H), 4.20 (dd, J = 14.1 Hz, J = 1.8 Hz, 1H), 4.01 (dd, J = 14.1 Hz, J = 2.1 Hz, 1H), 3.74 (dd, J = 19.1 Hz, J = 2.6 Hz, 1H), 3.09 (dd, J = 19.1 Hz, J = 2.4 Hz, 1H), 2.84-2.77 (m, 3H), 2.69 (d, J = 10.4 Hz, 1H), 2.32-2.27 (m, 2H), 2.15 (d, J = 4.6 Hz, 1H), 1.91 (d, J = 7.5 Hz, 2H), 1.73-1.67 (m, 1H), 1.59 (dd, J = 13.1 Hz, J = 5.3 Hz, 1H), 1.45-1.37 (m, 1H), 1.17 (brs, 2H), 0.85 (s, 9H), 0.812 (d, J = 1.2 Hz, 3H), 0.80 (d, J = 1.2 Hz, 3H), 0.02 (s, 3H), 0.01 (s, 3H); ¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃) δ 138.4, 122.4, 67.6, 67.1, 59.7, 57.8, 57.3, 54.7, 54.2, 47.4, 41.4, 34.2, 26.0, 25.2, 20.90, 20.87, 18.5, -5.22, -5.24; IR (neat, cm⁻¹): 2952, 2927, 2899, 2857, 2830, 2804, 2777, 1460, 1361, 1252, 1148, 1115, 1091, 1067, 835, 775 cm⁻¹; HRMS (ESI) calcd for C₂₁H₄₂N₃OSi⁺ [M + H]⁺ 380.3092, found 380.3094.

Preparation of amine **31c**

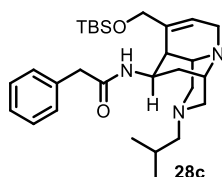
Following representative procedure using azide **30c** (576 mg, 1.13 mmol), purification by silica gel column chromatography (DCM : MeOH = 95:5 to 90:10) afforded amine **31c** (413 mg, 0.850 mmol, 75%) as a yellow oil. ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 7.12 (d, $J = 8.2$ Hz, 2H), 6.87 (d, $J = 8.3$ Hz, 2H), 5.77 (s, 1H), 4.48-4.43 (m, 1H), 4.20 (d, $J = 14.0$ Hz, 1H), 4.02 (d, $J = 14.0$ Hz, 1H), 3.76 (d, $J = 18.9$ Hz, 1H), 3.34 (d, $J = 13.1$ Hz, 1H), 3.29 (d, $J = 13.1$ Hz, 1H), 3.11 (d, $J = 19.2$ Hz, 1H), 2.87-2.72 (m, 4H), 2.39-2.35 (m, 2H), 2.16 (d, $J = 4.4$ Hz, 1H), 1.64-1.39 (m, 4H), 1.29 (s, 9H), 0.86 (s, 9H), 0.03 (s, 3H), 0.02 (s, 3H); ^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3) δ 154.2, 138.3, 133.4, 129.1, 123.9, 122.7, 78.2, 67.6, 62.7, 59.4, 57.7, 56.8, 54.6, 54.2, 47.4, 41.3, 33.8, 28.9, 26.0, 18.5, -5.22, -5.24; IR (neat): 2975, 2952, 2927, 2899, 2856, 2803, 2767, 1607, 1579, 1506, 1461, 1389, 1365, 1252, 1235, 1160, 1146, 1092, 1067, 898, 837, 776 cm^{-1} ; HRMS (ESI) calcd for $\text{C}_{28}\text{H}_{48}\text{N}_3\text{O}_2\text{Si}^+$ $[\text{M} + \text{H}]^+$ 486.3510, found 486.3511.

Representative procedure for synthesis of amides **28a–e, i**

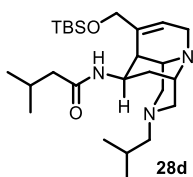
To a solution of amine **31a** (25.3 mg, 0.0612 mmol, 1.0 equiv.) in DCM (250 μL) and DMF (60 μL) were added phenylacetic acid (10.3 mg, 0.0757 mmol, 1.2 equiv.), 4-methylmorpholine (20.3 μL , 0.185 mmol, 3.0 equiv.), HOBt· H_2O (10.4 mg, 0.679 mmol, 1.1 equiv.), and EDCI· HCl (16.9 mg, 0.0882 mmol, 1.4 equiv.) at room temperature under an argon atmosphere. After being stirred for 2 h, the reaction mixture was diluted with saturated aqueous NaHCO_3 and extracted with EtOAc for three times. The combined organic layers were washed with brine, dried over anhydrous MgSO_4 , filtered, and concentrated under reduced pressure. The residue was purified by silica gel column chromatography (hexane : EtOAc = 20:80 to 10:90) to afford amide **28a** (27.6 mg, 0.0519 mmol, 85%) as yellow oil. ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 7.45-7.43 (m, 2H), 7.36-7.32 (m, 4H), 7.28-7.26 (m, 3H), 7.24-7.21 (m, 1H), 5.90-5.82 (m, 2H), 5.63 (d, $J = 8.9$ Hz, 1H), 3.90-3.76 (m, 3H), 3.56-3.42 (m, 4H), 3.13 (dd, $J = 19.3$ Hz, $J = 2.0$ Hz, 1H), 2.98 (d, $J = 11.2$ Hz, 1H), 2.88 (s, 1H), 2.82-2.79 (m, 2H), 2.46-2.42 (m, 2H), 2.32 (d, $J = 4.6$ Hz, 1H), 1.65 (dd, $J = 13.0$ Hz, $J = 5.5$ Hz, 1H), 1.47-1.40 (m, 1H), 0.91 (s, 9H), 0.07 (s, 6H); ^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3) δ 169.9, 138.6, 138.0, 135.4, 129.4, 129.1, 129.0, 128.5, 127.2, 127.0, 124.8, 67.4, 63.2, 59.1, 57.5, 56.6, 54.5, 54.2, 45.8, 44.2, 38.7, 29.5, 26.1, 18.7, -4.9, -5.0; IR (neat): 3295, 3061, 3028, 2952, 2926, 2898, 2855, 2804, 2765, 1644, 1540, 1495, 1454, 1370, 1254, 1146, 1083, 1065, 836, 777, 735 cm^{-1} ; HRMS (ESI) calcd for $\text{C}_{32}\text{H}_{46}\text{N}_3\text{O}_2\text{Si}^+$ $[\text{M} + \text{H}]^+$ 532.3354, found 532.3360.

Preparation of amide **28b**

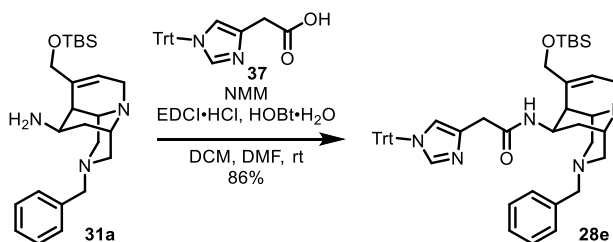
Following representative procedure using amine **31a** (60.7 mg, 0.147 mmol) and isovaleric acid (17.9 μ L, 0.162 mmol), purification by silica gel column chromatography (DCM : MeOH = 95:5 to 90:10) afforded amide **28b** (43.4 mg, 0.0872 mmol, 75%) as a white solid. Mp. 149-150 $^{\circ}$ C. ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 7.45 (d, $J = 7.4$ Hz, 2H), 7.33 (dd, $J = 7.4$ Hz, $J = 7.4$ Hz, 2H), 7.21 (t, $J = 7.4$ Hz, 1H), 5.95-5.84 (m, 3H), 4.07 (d, $J = 12.9$ Hz, 1H), 3.99 (d, $J = 13.4$ Hz, 1H), 3.81 (d, $J = 19.1$ Hz, 1H), 3.49 (d, $J = 13.1$ Hz, 1H), 3.45 (d, $J = 13.1$ Hz, 1H), 3.17 (d, $J = 19.0$ Hz, 1H), 2.99 (d, $J = 11.0$ Hz, 1H), 2.90 (s, 1H), 2.85-2.80 (m, 2H), 2.48-2.42 (m, 2H), 2.29-2.26 (m, 1H), 2.21-2.11 (m, 1H), 2.05-1.93 (m, 2H), 1.73 (dd, $J = 13.2$ Hz, $J = 5.0$ Hz, 1H), 1.54-1.47 (m, 1H), 0.96 (d, $J = 6.7$ Hz, 3H), 0.94 (d, $J = 7.0$ Hz, 3H), 0.92 (s, 9H), 0.10 (s, 6H); ^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3) δ 171.6, 138.6, 137.9, 129.1, 128.5, 127.0, 126.0, 67.9, 63.2, 59.2, 57.5, 56.6, 54.6, 54.3, 46.5, 45.2, 39.6, 29.9, 26.20, 26.17, 22.8, 22.5, 18.8, -4.8, -4.9; IR (neat): 3274, 3062, 3028, 2954, 2928, 2902, 2857, 2803, 2767, 1639, 1542, 1460, 1371, 1254, 1147, 1114, 1003, 836, 776, 738 cm^{-1} ; HRMS (ESI) calcd for $\text{C}_{29}\text{H}_{48}\text{N}_3\text{O}_2\text{Si}^+$ $[\text{M} + \text{H}]^+$ 498.3510, found 498.3519.

Preparation of amide **28c**

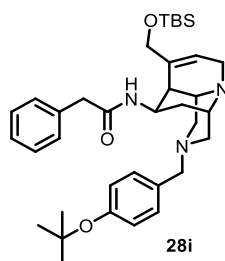
Following representative procedure using amine **31b** (137 mg, 0.361 mmol) and phenylacetic acid (73.8 mg, 0.542 mmol), purification by silica gel column chromatography (EtOAc : hexane = 60:40 to DCM : MeOH = 95:5) afforded amide **28c** (158 mg, 0.317 mmol, 88%) as a yellow oil. ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 7.32-7.29 (m, 2H), 7.25-7.22 (m, 3H), 5.81 (s, 1H), 5.75-5.68 (m, 1H), 5.56 (d, $J = 8.8$ Hz, 1H), 3.85-3.76 (m, 3H), 3.47 (s, 2H), 3.12 (dd, $J = 19.3$ Hz, $J = 1.8$ Hz, 1H), 2.96 (d, $J = 11.2$ Hz, 1H), 2.88 (s, 1H), 2.80-2.77 (m, 2H), 2.36-2.33 (m, 3H), 1.99 (d, $J = 7.5$ Hz, 2H), 1.83-1.75 (m, 1H), 1.65 (dd, $J = 12.9$ Hz, $J = 5.3$ Hz, 1H), 1.46-1.39 (m, 1H), 0.95 (d, $J = 6.5$ Hz, 3H), 0.93 (d, $J = 6.4$ Hz, 3H), 0.91 (s, 9H), 0.06 (s, 6H). ^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3) δ 169.7, 137.9, 135.3, 129.3, 128.9, 127.2, 124.6, 67.3, 67.2, 59.7, 57.5, 57.0, 54.5, 54.2, 45.7, 44.1, 38.6, 29.5, 26.1, 25.3, 21.1, 21.0, 18.7, -4.97, -5.03; IR (neat): 3295, 3062, 3029, 2953, 2927, 2900, 2856, 2805, 2779, 1644, 1541, 1495, 1460, 1348, 1254, 1149, 1068, 1003, 836, 777, 739 cm^{-1} ; HRMS (ESI) calcd for $\text{C}_{29}\text{H}_{48}\text{N}_3\text{O}_2\text{Si}^+$ $[\text{M} + \text{H}]^+$ 498.3510, found 498.3518.

Preparation of amide **28d**

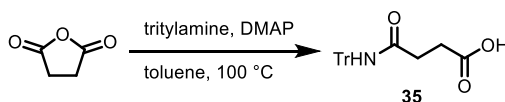
Following representative procedure using amine **31b** (137 mg, 0.361 mmol) and isovaleric acid (60 μ L, 0.542 mmol), purification by silica gel column chromatography (DCM : MeOH = 95:5 to 90:10) afforded amide **28d** (152 mg, 0.328 mmol, 91%) as a white solid. Mp 119-120 $^{\circ}$ C 1 H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 5.87-5.84 (m, 2H), 5.76-5.68 (m, 1H), 4.06 (dd, $J = 13.3$ Hz, $J = 1.4$ Hz, 1H), 3.99 (dd, $J = 13.2$ Hz, $J = 1.2$ Hz, 1H), 3.80 (d, $J = 18.2$ Hz, 1H), 3.16 (dd, $J = 19.3$ Hz, $J = 1.7$ Hz, 1H), 2.96 (d, $J = 11.1$ Hz, 1H), 2.89 (s, 1H), 2.83-2.78 (m, 2H), 2.38-2.30 (m, 3H), 2.17-2.07 (m, 1H), 2.02-1.89 (m, 4H), 1.83-1.71 (m, 2H), 1.52-1.45 (m, 1H), 0.95-0.88 (m, 21H), 0.09 (s, 6H); 13 C NMR (100 MHz, CDCl_3) δ 171.4, 137.9, 125.7, 67.8, 67.2, 59.6, 57.6, 57.2, 54.6, 54.3, 46.4, 45.3, 39.5, 29.9, 26.2, 26.0, 25.4, 22.8, 22.4, 21.1, 21.0, 18.8, -4.87, -4.94; IR (neat): 3285, 2953, 2930, 2897, 2870, 2810, 2780, 1634, 1545, 1464, 1368, 1253, 1149, 1109, 1079, 1062, 835, 773 cm^{-1} ; HRMS (ESI) calcd for $\text{C}_{26}\text{H}_{50}\text{N}_3\text{O}_2\text{Si}^+$ [$\text{M} + \text{H}^+$] 464.3667, found 464.3667.

Preparation of amide **28e**

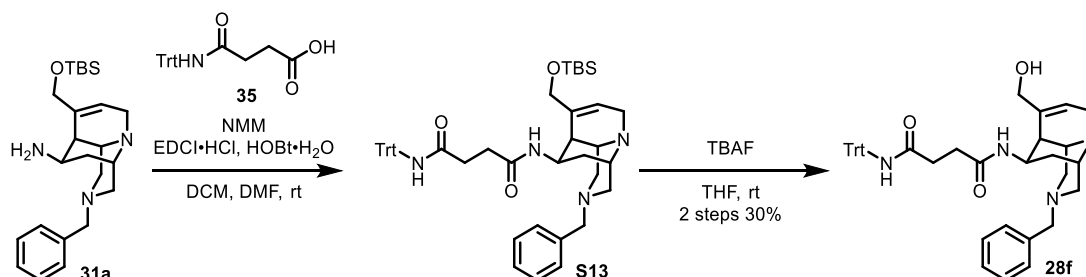
Following representative procedure using amine **31a** (104 mg, 0.251 mmol) and carboxylic acid **28** (139 mg, 0.377 mmol), purification by silica gel column chromatography (hexane : EtOAc = 40 : 60 to DCM : MeOH = 90:10) afforded amide **28e** (166 mg, 0.217 mmol, 86%) as a yellow oil. 1 H NMR (500 MHz, CDCl_3) δ 7.44 (d, $J = 7.3$ Hz, 2H), 7.38 (d, $J = 1.3$ Hz, 1H), 7.34-7.31 (m, 11H), 7.21 (t, $J = 7.4$ Hz, 1H), 7.12-7.10 (m, 6H), 6.86 (d, $J = 8.9$ Hz, 1H), 6.69 (s, 1H), 5.87-5.81 (m, 2H), 4.12 (dd, $J = 13.8$ Hz, $J = 1.5$ Hz, 1H), 3.94 (d, $J = 13.9$ Hz, 1H), 3.83 (d, $J = 19.0$ Hz, 1H), 3.50-3.42 (m, 4H), 3.16 (dd, $J = 19.2$ Hz, $J = 1.9$ Hz, 1H), 3.03 (d, $J = 11.2$ Hz, 1H), 2.94-2.87 (m, 1H), 2.83-2.78 (m, 2H), 2.47-2.44 (m, 3H), 1.60-1.51 (m, 2H), 0.85 (s, 9H), 0.008 (s, 3H), 0.009 (s, 3H); 13 C NMR (100 MHz, CDCl_3) δ 169.4, 142.4, 138.8, 138.59, 138.56, 135.4, 129.8, 129.0, 128.4, 128.2, 126.9, 123.2, 119.6, 75.4, 67.1, 63.2, 59.2, 57.4, 56.7, 54.4, 54.2, 45.6, 37.9, 36.4, 29.3, 26.1, 18.5, -5.06, -5.09; IR (neat): 3299, 3059, 3030, 2927, 2854, 2804, 2767, 1667, 1536, 1494, 1445, 1295, 1254, 1148, 1125, 1065, 1001, 837, 745, 701 cm^{-1} ; HRMS (ESI) calcd for $\text{C}_{48}\text{H}_{58}\text{N}_5\text{O}_2\text{Si}^+$ [$\text{M} + \text{H}^+$] 764.4354, found 764.4347.

Preparation of amide **28i**

Following representative procedure using amine **31c** (112 mg, 0.231 mmol) and phenylacetic acid (52.6 mg, 0.386 mmol), purification by silica gel column chromatography (hexane : EtOAc = 30:70 to DCM : MeOH = 95:5) afforded amide **28i** (79.8 mg, 0.132 mmol, quant.) as a yellow oil. ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 7.35-7.24 (m, 7H), 6.95 (d, $J = 8.4$ Hz, 2H), 5.87-5.81 (m, 2H), 5.63 (d, $J = 8.9$ Hz, 1H), 3.90-3.78 (m, 3H), 3.54 (d, $J = 16.2$ Hz, 1H), 3.50 (d, $J = 15.9$ Hz, 1H), 3.43 (d, $J = 13.1$ Hz, 1H), 3.39 (d, $J = 13.0$ Hz, 1H), 3.13 (dd, $J = 19.2$ Hz, $J = 1.8$ Hz, 1H), 2.98 (d, $J = 11.2$ Hz, 1H), 2.89 (s, 1H), 2.80-2.77 (m, 2H), 2.46-2.41 (m, 2H), 2.32 (d, $J = 4.5$ Hz, 1H), 1.64 (dd, $J = 13.0$ Hz, $J = 5.4$ Hz, 1H), 1.47-1.40 (m, 1H), 1.32 (s, 9H), 0.91 (s, 9H), 0.06 (s, 6H); ^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3) δ 169.9, 154.4, 137.9, 135.3, 133.2, 129.4, 129.3, 129.0, 127.2, 124.6, 124.2, 78.2, 67.3, 62.6, 58.9, 57.5, 56.5, 54.5, 54.2, 45.7, 44.1, 38.5, 29.4, 29.0, 26.1, 18.6, -4.98, -5.03; IR (neat): 3298, 3060, 3029, 2975, 2952, 2928, 2901, 2856, 2829, 2803, 1649, 1540, 1506, 1460, 1348, 1294, 1255, 1236, 1160, 1119, 1066, 1001, 896, 837, 777, 738, 696 cm^{-1} ; HRMS (ESI) calcd for $\text{C}_{36}\text{H}_{54}\text{N}_3\text{O}_3\text{Si}^+ [\text{M} + \text{H}]^+$ 604.3929, found 604.3924.

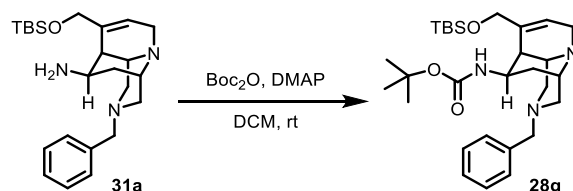
Preparation of carboxylic acid **35**

A mixture of succinic anhydride (208 mg, 2.08 mmol, 1.0 equiv.) and triethylamine (543 mg, 2.09 mmol, 1.0 equiv.) in toluene was added DMAP (20.7 mg, 0.169 mmol, 0.081 equiv.) and stirred at 100 °C for 13 h under an argon atmosphere. The reaction mixture was diluted with aqueous 6M NaOH and washed with Et_2O . Then the aqueous layer was acidified with aqueous 2M HCl and extracted with EtOAc for three times. The combined organic layers were washed with brine, dried over anhydrous MgSO_4 , and concentrated under reduced pressure. The residue was washed with Et_2O to afford crude carboxylic acid **35** (379 mg, 1.05 mmol, 50%) as a white solid. The compound data was in accordance with the literature.¹²

Preparation of amide **28f**

To a solution of amine **31a** (82.7 mg, 0.200 mmol, 1.0 equiv.) in DCM (800 μ L) and DMF (200 μ L) was added carboxylic acid **35** (105 mg, 0.292 mmol, 1.5 equiv.), 4-methylmorpholine (70 μ L, 0.637 mmol, 3.2 equiv.), HOBT·H₂O (41.3 mg, 0.270 mmol, 1.4 equiv.), and EDCI·HCl (55.5 mg, 0.290 mmol, 1.5 equiv.) at room temperature under an argon atmosphere. After being stirred for 8 h, the reaction mixture was diluted with saturated aqueous NaHCO₃ and extracted with EtOAc for three times. The combined organic layers were washed with brine, dried over anhydrous MgSO₄, filtered, and concentrated under reduced pressure. The residue was purified by PTLC with DCM : MeOH =93:7) to afford crude amide **S13**, which was used for the next reaction without further purification.

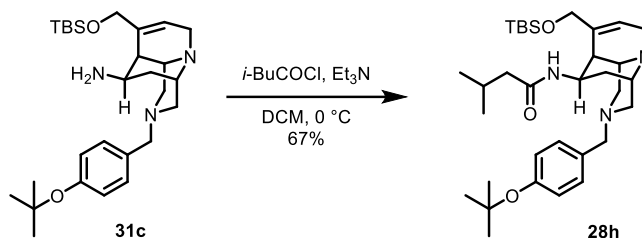
To a solution of crude amide **S13** in THF (600 μ L) was added TBAF (1.0 M in THF, 400 μ L, 0.40 mmol, 2.0 equiv.) and stirred at room temperature for 1 h. The reaction mixture was diluted with saturated aqueous NH₄Cl and the aqueous layer was extracted with EtOAc for three times. The combined organic layers were washed with brine, dried over anhydrous MgSO₄, and concentrated under reduced pressure. The residue was purified by PTLC with DCM : MeOH = 98:2, diluted with Et₂O, and filtered to afford amide **28f** (38.8 mg, 0.0605 mmol, 2 steps 30%) as a white solid. Decomposition temperature 220 °C. ¹H NMR (500 MHz, DMSO-*d*₆) δ 8.63 (s, 1H), 7.46-7.42 (m, 3H), 7.28-7.18 (m, 16H), 5.76 (s, 1H), 5.64-5.59 (m, 1H), 4.80 (t, *J* = 5.3 Hz, 1H), 3.81 (dd, *J* = 13.4 Hz, *J* = 4.6 Hz, 1H), 3.74 (dd, *J* = 13.0 Hz, *J* = 3.3 Hz, 1H), 3.61 (d, *J* = 19.0 Hz, 1H), 3.49 (d, *J* = 13.6 Hz, 1H), 3.39 (d, *J* = 13.7 Hz, 1H), 3.09 (d, *J* = 18.8 Hz, 1H), 2.88-2.86 (m, 2H), 2.75 (d, *J* = 9.9 Hz, 1H), 2.65 (s, 1H), 2.60-2.54 (m, 1H), 2.47-2.41 (m, 1H), 2.36 (d, *J* = 9.5 Hz, 1H), 2.31-2.17 (m, 4H), 1.58-1.53 (m, 1H), 1.43 (dd, *J* = 12.6 Hz, *J* = 5.2 Hz, 1H); ¹³C NMR (125 MHz, DMSO-*d*₆) δ 171.4, 170.3, 145.0, 139.1, 138.5, 128.6, 128.4, 128.3, 127.4, 126.7, 126.3, 69.2, 65.5, 62.5, 59.1, 56.4, 56.2, 53.7, 53.4, 44.9, 31.7, 30.9, 28.5; IR (neat): 3276, 3056, 3024, 2901, 2803, 2773, 1645, 1523, 1491, 1446, 1371, 1290, 1146, 1031, 1000, 745, 699, 636 cm⁻¹; HRMS (ESI) calcd for C₄₁H₄₅N₄O₃⁺ [M + H]⁺ 641.3486, found 641.3484.

Preparation of amide **28g**

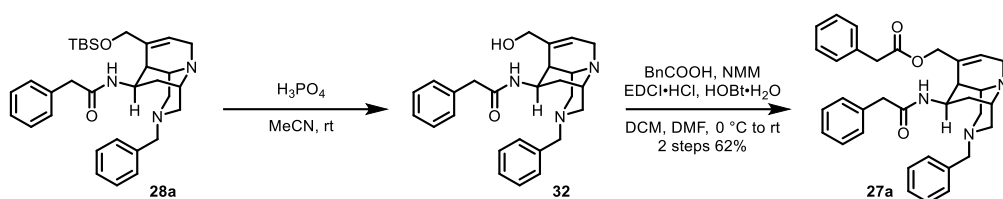
To a solution of amine **31a** (47.4 mg, 0.115 mmol, 1.0 equiv.) in DCM (500 μ L) was added di-*tert*-butyl dicarbonate (46.6 mg, 0.214 mmol, 1.9 equiv.) and DMAP (1.0 mg) at room temperature under an argon atmosphere. After being stirred for 30 min, the reaction mixture was concentrated under reduced pressure. The

residue was purified by silica gel chromatography (hexane : EtOAc = 60:40 to EtOAc 100%) to afford amide **28g** (38.4 mg, 0.0747 mmol, 65% yield) as a white solid. Mp 107-108 °C. ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 7.41 (d, *J* = 7.2 Hz, 2H), 7.33-7.30 (m, 2H), 7.22 (t, *J* = 7.3 Hz, 1H), 5.84 (s, 1H), 5.48 (s, 1H), 4.85 (d, *J* = 8.3 Hz, 1H), 4.08 (d, *J* = 14.5 Hz, 1H), 4.02 (d, *J* = 13.6 Hz, 1H), 3.81 (d, *J* = 19.1 Hz, 1H), 3.49 (d, *J* = 12.9 Hz, 1H), 3.44 (d, *J* = 12.9 Hz, 1H), 3.16 (d, *J* = 19.2 Hz, 1H), 2.99-2.91 (m, 2H), 2.83-2.81 (m, 2H), 2.49-2.45 (m, 2H), 2.36 (d, *J* = 4.1 Hz, 1H), 1.74 (dd, *J* = 13.0 Hz, *J* = 5.0 Hz, 1H), 1.46 (m, 10H), 0.92 (s, 9H), 0.10 (s, 6H); ¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃) δ 155.2, 138.6, 138.2, 129.1, 128.4, 127.0, 123.8, 78.8, 67.4, 63.1, 59.0, 57.6, 56.6, 54.5, 54.3, 46.8, 39.0, 29.8, 28.7, 26.2, 18.7, -5.1; IR (neat): 3336, 2954, 2927, 2900, 2856, 2767, 2360, 1709, 1494, 1472, 1460, 1389, 1364, 1347, 1292, 1254, 1168, 1150, 1117, 1088, 1070, 1046, 1021, 981, 939, 837, 777, 734, 699 cm⁻¹; HRMS (ESI) calcd for C₂₉H₄₈N₃O₃Si⁺ [M + H]⁺ 514.3459, found 514.3456.

Preparation of amide **28h**

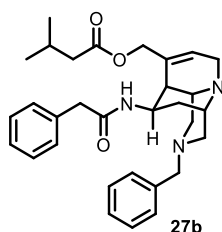


To a solution of amine **31c** (108 mg, 0.222 mmol, 1.0 equiv.) and Et₃N (61.8 μL, 0.443 mmol, 2.0 equiv.) in DCM (700 μL) was added isovaleryl chloride (32.4 μL, 0.266 mmol, 1.2 equiv.) at 0 °C and stirred for 1 h at the same temperature under an argon atmosphere. The reaction mixture was diluted with saturated aqueous NaHCO₃ and extracted with EtOAc for three times. The combined organic layers were washed with brine, dried over anhydrous MgSO₄, filtered, concentrated under reduced pressure. The residue was purified by column chromatography (hexane : EtOAc = 30:70 to DCM : MeOH = 95:5) to afford amide **28h** (85.2 mg, 0.149 mmol, 67%) as a yellow oil. ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 7.31 (d, *J* = 8.2 Hz, 2H), 6.94 (d, *J* = 8.2 Hz, 2H), 5.95-5.84 (m, 3H), 4.07 (d, *J* = 13.9 Hz, 1H), 3.99 (d, *J* = 13.2 Hz, 1H), 3.82 (d, *J* = 19.4 Hz, 1H), 3.44 (d, *J* = 13.1 Hz, 1H), 3.39 (d, *J* = 13.0 Hz, 1H), 3.17 (d, *J* = 19.4 Hz, 1H), 2.99-2.91 (m, 2H), 2.80 (m, 2H), 2.48-2.42 (m, 2H), 2.29 (d, *J* = 3.7 Hz, 1H), 2.18-2.10 (m, 1H), 2.04-1.92 (m, 2H), 1.72 (dd, *J* = 13.2 Hz, *J* = 5.2 Hz, 1H), 1.54-1.46 (m, 1H), 1.31 (s, 9H), 0.96-0.91 (m, 15H), 0.09 (s, 6H); ¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃) δ 171.6, 154.3, 137.9, 133.3, 129.4, 125.6, 124.2, 78.2, 67.8, 62.6, 58.9, 57.6, 56.4, 54.6, 54.2, 46.5, 45.2, 39.5, 29.8, 29.0, 26.2, 22.7, 22.4, 18.7, -4.87, -4.93; IR (neat): 3311, 3058, 2954, 2928, 2900, 2857, 2828, 2803, 2767, 1649, 1606, 1539, 1506, 1462, 1389, 1365, 1348, 1298, 1256, 1236, 1160, 1116, 1084, 1065, 1003, 898, 838, 779, 669 cm⁻¹; HRMS (ESI) calcd for C₃₃H₅₆N₃O₃Si⁺ [M + H]⁺ 570.4085, found 570.4085.

Representative procedure for synthesis of esters **27a–h, v**

To a solution of amide **28a** (19.6 mg, 0.0369 mmol, 1.0 equiv.) in MeCN (300 μ L) was added H_3PO_4 (≥ 85 wt%, 200 μ L) under an argon atmosphere. After being stirred for 1 h at room temperature, the reaction mixture was diluted with saturated aqueous NaHCO_3 and extracted with EtOAc for three times. The combined organic layers were washed with brine, dried over anhydrous MgSO_4 , filtered, and concentrated under reduced pressure to afford crude alcohol **32**, which was used for the next reaction without further purification.

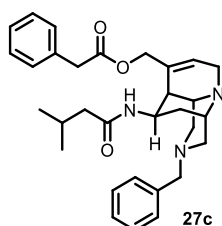
To a solution of crude alcohol **32** in DCM (400 μ L) and DMF (100 μ L) was added phenylacetic acid (5.4 mg, 0.0397 mmol, 1.1 equiv.), 4-methylmorpholine (12.3 μ L, 0.111 mmol, 3.0 equiv.), $\text{HOBT}\cdot\text{H}_2\text{O}$ (7.3 mg, 0.0477 mmol, 1.3 equiv.), and $\text{EDCI}\cdot\text{HCl}$ (9.6 mg, 0.0500 mmol, 1.4 equiv.). The same amount of phenylacetic acid, 4-methylmorpholine, $\text{HOBT}\cdot\text{H}_2\text{O}$, and $\text{EDCI}\cdot\text{HCl}$ was repeatedly added until the full consumption of alcohol **32**. The reaction mixture was diluted with saturated aqueous NaHCO_3 and extracted with EtOAc for three times. The combined organic layer was washed with brine, dried over anhydrous MgSO_4 , filtered, and concentrated under reduced pressure. The residue was purified by silica gel column chromatography (EtOAc 100% to DCM : MeOH = 95:5) to afford ester **27a** (12.3 mg, 0.0230 mmol, 2 steps 62%) as a yellow oil. ^1H NMR (500 MHz, CDCl_3) δ 7.45-7.19 (m, 15H), 6.14 (d, $J = 9.9$ Hz, 1H), 5.93-5.87 (m, 1H), 5.50 (s, 1H), 4.33 (d, $J = 14.3$ Hz, 1H), 4.12 (dd, $J = 14.4$ Hz, $J = 2.3$ Hz, 1H), 3.71-3.65 (m, 3H), 3.56 (d, $J = 14.7$ Hz, 1H), 3.50 (d, $J = 14.7$ Hz, 1H), 3.45 (d, $J = 13.2$ Hz, 1H), 3.42 (d, $J = 13.1$ Hz, 1H), 3.02 (dd, $J = 19.4$ Hz, $J = 2.3$ Hz, 1H), 2.93 (d, $J = 11.2$ Hz, 1H), 2.85 (s, 1H), 2.79-2.74 (m, 2H), 2.43-2.38 (m, 2H), 2.19 (d, $J = 4.8$ Hz, 1H), 1.58 (dd, $J = 13.1$ Hz, $J = 5.5$ Hz, 1H), 1.44-1.39 (m, 1H); ^{13}C NMR (125 MHz, CDCl_3) δ 171.9, 170.3, 138.5, 135.6, 133.74, 133.68, 129.44, 129.40, 129.1, 128.84, 128.77, 128.6, 127.5, 127.1, 127.0, 124.0, 67.2, 63.2, 59.1, 57.4, 56.4, 54.0, 53.8, 45.1, 44.2, 41.6, 37.4, 29.3; IR (neat): 3341, 3085, 3060, 3028, 2914, 2804, 2804, 2483, 1729, 1662, 1495, 1454, 1294, 1243, 1155, 1110, 1075, 734 cm^{-1} ; HRMS (ESI) calcd for $\text{C}_{34}\text{H}_{38}\text{N}_3\text{O}_5^+$ [$\text{M} + \text{H}$] $^+$ 536.2908, found 536.2908.

Preparation of ester **27b**

Following representative procedure using **28a** (29.3 mg, 0.051 mmol) and isovaleric acid (12.2 μ L, 0.110 mmol), purification by silica gel column chromatography (EtOAc 100% to DCM : MeOH = 95 : 5) afforded ester **27b** (9.4 mg, 0.0187 mmol, 2 steps 34%) as a yellow oil. ^1H NMR (CDCl_3 , 400 MHz) δ 7.46-7.44 8 (m,

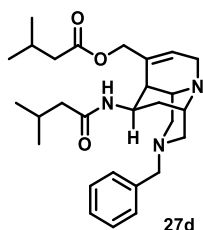
2H), 7.37-7.28 (m, 6H), 7.25-7.22 (m, 2H), 6.40 (d, $J = 10.0$ Hz, 1H), 6.00-5.93 (m, 1H), 5.68 (s, 1H), 4.39 (d, $J = 14.5$ Hz, 1H), 4.13 (dd, $J = 14.6$ Hz, $J = 2.4$ Hz, 1H), 3.85 (d, $J = 18.1$ Hz, 1H), 3.59 (d, $J = 14.5$ Hz, 1H), 3.53 (d, $J = 14.5$ Hz, 1H), 3.46 (s, 2H), 3.14 (dd, $J = 19.3$ Hz, $J = 2.2$ Hz, 1H), 2.98 (d, $J = 11.6$ Hz, 1H), 2.92 (d, $J = 24.4$ Hz, 2H), 2.81 (d, $J = 10.8$ Hz, 1H), 2.53 (d, $J = 9.6$ Hz, 2H), 2.28-2.26 (m, 3H), 2.20-2.10 (m, 1H), 1.65 (dd, $J = 13.4$ Hz, $J = 5.5$ Hz, 1H), 1.53-1.46 (m, 1H), 1.00 (d, $J = 1.6$ Hz, 3H), 0.99 (d, $J = 1.6$ Hz, 3H); ^{13}C NMR (125 MHz, CDCl_3) δ 173.6, 170.2, 138.5, 135.8, 134.2, 129.4, 129.2, 128.8, 128.6, 127.1, 127.0, 123.8, 66.7, 63.3, 59.2, 57.4, 56.6, 54.1, 54.0, 45.0, 44.1, 43.5, 37.6, 29.4, 25.9, 22.7, 22.6; IR (neat): 3662, 3060, 3027, 2957, 2925, 2871, 2804, 2767, 2481, 1726, 1665, 1495, 1429, 1371, 1293, 1252, 1184., 1167, 1110, 1028, 795, 735 cm^{-1} ; HRMS (ESI) calcd for $\text{C}_{31}\text{H}_{40}\text{N}_3\text{O}_3^+$ $[\text{M} + \text{H}]^+$ 502.3064, found 502.3072.

Preparation of ester 27c



Following representative procedure using **28b** (12.8 mg, 0.0257 mmol) and phenylacetic acid (3.9 mg, 0.028 mmol), purification by silica gel column chromatography (EtOAc 100% to DCM : MeOH = 95:5) afforded ester **27c** (6.6 mg, 0.0132 mmol, 2 steps 51%) as a yellow oil. ^1H NMR (500 MHz, CDCl_3) δ 7.46 (d, $J = 7.5$ Hz, 2H), 7.36-7.26 (m, 7H), 7.23 (t, $J = 7.3$ Hz, 1H), 6.25 (d, $J = 10.2$ Hz, 1H), 5.97-5.91 (m, 1H), 5.48 (s, 1H), 4.65 (d, $J = 14.5$ Hz, 1H), 4.29-4.26 (m, 1H), 3.72-3.68 (m, 3H), 3.47 (d, $J = 13.7$, 1H), 3.44 (d, $J = 13.5$, 1H), 3.03 (dd, $J = 19.4$ Hz, $J = 2.1$ Hz, 1H), 2.97 (d, $J = 11.2$ Hz, 1H), 2.86 (s, 1H), 2.81-2.78 (m, 2H), 2.44-2.40 (m, 2H), 2.23-2.13 (m, 2H), 2.05-2.03 (m, 2H), 1.61 (dd, $J = 13.2$ Hz, $J = 5.6$ Hz, 1H), 1.50-1.44 (m, 1H), 0.95 (d, $J = 5.3$ Hz, 3H), 0.94 (d, $J = 5.4$ Hz, 3H); ^{13}C NMR (125 MHz, CDCl_3) δ 172.0, 171.9, 138.6, 133.8, 133.7, 129.4, 129.2, 128.8, 128.6, 127.5, 127.0, 123.5, 67.2, 63.2, 59.2, 57.5, 56.6, 54.1, 53.9, 46.3, 44.6, 41.6, 37.8, 29.8, 26.3, 22.8, 22.6; IR (neat): 3025, 2952, 2917, 2850, 2831, 2804, 2768, 1729, 1600, 1529, 1495, 1454, 1369, 1241, 1148, 1107, 1003, 797, 732 cm^{-1} ; HRMS (ESI) calcd for $\text{C}_{31}\text{H}_{40}\text{N}_3\text{O}_3^+$ $[\text{M} + \text{H}]^+$ 502.3064, found 502.3072.

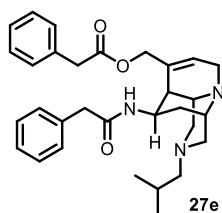
Preparation of ester 27d



Following representative procedure using **28b** (13.9 mg, 0.0279 mmol) and isovaleric acid (3.4 μL , 0.031 mmol), purification by silica gel column chromatography (EtOAc 100% to DCM : MeOH = 95:5) afforded ester **27d** (4.3 mg, 0.0092 mmol, 2 steps 33%) as a yellow oil. ^1H NMR (500 MHz, CDCl_3) δ 7.47 (d, $J = 7.4$ Hz, 2H), 7.35 (dd, $J = 7.6$ Hz, $J = 7.6$ Hz, 2H), 7.23 (t, $J = 7.4$ Hz, 1H), 6.48 (d, $J = 10.1$ Hz, 1H), 6.00-5.95 (m,

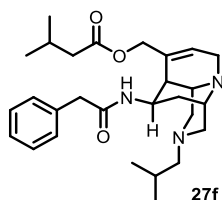
1H), 5.71 (s, 1H), 4.63 (d, $J = 14.5$ Hz, 1H), 4.26 (dd, $J = 14.6$ Hz, $J = 2.5$ Hz, 1H), 3.79 (d, $J = 18.7$, 1H), 3.49 (d, $J = 13.0$ Hz, 1H), 3.45 (d, $J = 13.0$ Hz, 1H), 3.14 (dd, $J = 19.3$ Hz, $J = 2.3$ Hz, 1H), 3.00 (d, $J = 11.3$ Hz, 1H), 2.89 (s, 1H), 2.85 (s, 1H), 2.81 (d, $J = 10.7$ Hz, 1H), 2.47-2.42 (m, 2H), 2.28 (d, $J = 7.1$ Hz, 2H), 2.24-2.23 (m, 1H), 2.21-2.03 (m, 4H), 1.65 (dd, $J = 13.1$ Hz, $J = 5.4$ Hz, 1H), 1.55-1.49 (m, 1H), 0.99-0.95 (m, 12H); ^{13}C NMR (125 MHz, CDCl_3) δ 173.7, 172.0, 138.6, 134.3, 129.2, 128.6, 127.0, 123.3, 66.7, 63.3, 59.1, 57.5, 56.6, 54.2, 54.0, 46.4, 44.6, 43.4, 38.0, 29.8, 26.3, 25.9, 22.8, 22.6, 22.5; IR (neat): 3650, 3496, 3062, 3027, 2956, 2926, 2871, 2803, 2765, 1726, 1667, 1648, 1531, 1453, 1370, 1294, 1167, 1110, 1001, 744, 700 cm^{-1} ; HRMS (ESI) calcd for $\text{C}_{28}\text{H}_{42}\text{N}_3\text{O}_3^+$ $[\text{M} + \text{H}]^+$ 468.3221, found 468.3229.

Preparation of ester 27e



Following representative procedure using **28b** (30.3 mg, 0.0609 mmol) and phenylacetic acid (16.6 mg, 0.122 mmol), purification by silica gel column chromatography (EtOAc 100% to DCM : MeOH = 95:5) afforded ester **27e** (27.3 mg, 0.0544 mmol, 2 steps 89%) as a yellow oil. ^1H NMR (500 MHz, CDCl_3) δ 7.38-7.29 (m, 5H), 7.25-7.17 (m, 5H), 6.08 (d, $J = 9.8$ Hz, 1H), 5.80-5.73 (m, 1H), 5.51 (s, 1H), 4.33 (d, $J = 14.3$ Hz, 1H), 4.12 (dd, $J = 14.3$ Hz, $J = 2.3$ Hz, 1H), 3.70-3.66 (m, 3H), 3.52 (d, $J = 14.6$ Hz, 1H), 3.45 (d, $J = 14.7$ Hz, 1H), 3.01 (dd, $J = 19.4$ Hz, $J = 2.4$ Hz, 1H), 2.93 (d, $J = 11.2$ Hz, 1H), 2.84 (s, 1H), 2.77 (d, $J = 10.6$ Hz, 1H), 2.73 (s, 1H), 2.34-2.28 (m, 2H), 2.22 (d, $J = 4.7$ Hz, 1H), 1.98 (d, $J = 7.5$ Hz, 2H), 1.82-1.74 (m, 1H), 1.59 (dd, $J = 13.1$ Hz, $J = 5.5$ Hz, 1H), 1.44-1.38 (m, 1H), 0.97 (d, $J = 6.5$ Hz, 3H), 0.94 (d, $J = 6.5$ Hz, 3H); ^{13}C NMR (125 MHz, CDCl_3) δ 171.9, 170.1, 135.6, 133.8, 133.7, 129.44, 129.41, 128.8, 128.7, 127.5, 127.0, 124.1, 67.3, 67.2, 59.8, 57.4, 56.9, 54.1, 53.9, 45.2, 44.1, 41.6, 37.5, 29.4, 25.4, 21.11, 21.06; IR (neat): 3327, 3061, 3029, 2952, 2926, 2868, 2805, 2779, 1731, 1650, 1531, 1495, 1455, 1438, 1366, 1295, 1250, 1148, 1106, 998, 725 cm^{-1} ; HRMS (ESI) calcd for $\text{C}_{31}\text{H}_{40}\text{N}_3\text{O}_3^+$ $[\text{M} + \text{H}]^+$ 502.3064, found 502.3076.

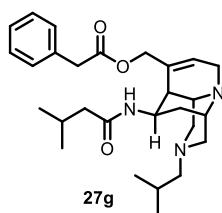
Preparation of ester 27f



Following representative procedure using **28b** (27.5 mg, 0.0552 mmol) and isovaleric acid (12.1 μL , 0.110 mmol), purification by silica gel column chromatography (EtOAc 100% to DCM : MeOH = 95:5) afforded ester **27f** (14.8 mg, 0.0316 mmol, 2 steps 57%) as a yellow oil. ^1H NMR (500 MHz, CDCl_3) δ 7.31-7.27 (m, 4H), 7.25-7.21 (m, 1H), 6.27 (d, $J = 9.9$ Hz, 1H), 5.83-5.77 (m, 1H), 5.68 (s, 1H), 4.38 (d, $J = 14.4$ Hz, 1H), 4.15-

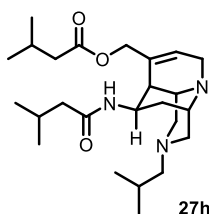
4.11 (m, 1H), 3.76 (d, d, $J = 19.4$ Hz, 1H), 3.55 (d, $J = 14.6$ Hz, 1H), 3.49 (d, $J = 14.6$ Hz, 1H), 3.10 (dd, $J = 19.4$ Hz, $J = 2.5$ Hz, 1H), 2.97 (d, $J = 11.2$ Hz, 1H), 2.87 (m, 1H), 2.81-2.78 (m, 2H), 2.35-2.32 (m, 2H), 2.27-2.26 (m, 3H), 2.19-2.11 (m, 1H), 2.00 (d, $J = 7.5$ Hz, 2H), 1.83-1.75 (m, 1H), 1.63 (dd, $J = 13.1$ Hz, $J = 5.5$ Hz, 1H), 1.49-1.43 (m, 1H), 1.01 (d, $J = 1.5$ Hz, 3H), 0.99 (d, $J = 1.5$ Hz, 3H), 0.97 (d, $J = 6.5$ Hz, 3H), 0.95 (d, $J = 6.5$ Hz, 3H); ^{13}C NMR (125 MHz, CDCl_3) δ 173.6, 170.2, 135.8, 134.1, 129.4, 128.7, 126.9, 123.8, 67.3, 66.8, 59.8, 57.5, 57.0, 54.2, 54.0, 45.2, 44.1, 43.5, 37.6, 29.5, 25.9, 25.4, 22.64, 22.57, 21.11, 21.09; IR (neat): 3299, 3063, 3025, 2955, 2927, 2910, 2869, 2805, 2776, 1730, 1648, 1534, 1495, 1458, 1367, 1294, 1187, 1167, 1106, 997, 728 cm^{-1} ; HRMS (ESI) calcd for $\text{C}_{28}\text{H}_{42}\text{N}_3\text{O}_3^+$ $[\text{M} + \text{H}]^+$ 468.3221, found 468.3225.

Preparation of ester 27g



Following representative procedure using **28c** (36.4 mg, 0.0785 mmol) and phenylacetic acid (21.4 mg, 0.157 mmol), purification by silica gel column chromatography (EtOAc 100% to DCM : MeOH = 95:5) afforded ester **27g** (29.2 mg, 0.0624 mmol, 2 steps 79%) as a yellow oil. ^1H NMR (500 MHz, CDCl_3) δ 7.36-7.28 (m, 5H), 6.17 (d, $J = 10.0$ Hz, 1H), 5.83-5.76 (m, 1H), 5.49 (s, 1H), 4.65 (d, $J = 14.3$ Hz, 1H), 4.28 (dd, $J = 14.5$ Hz, $J = 2.6$ Hz, 1H), 3.71-3.68 (m, 3H), 3.03 (dd, $J = 19.4$ Hz, $J = 2.5$ Hz, 1H), 2.96 (d, $J = 11.3$ Hz, 1H), 2.86 (s, 1H), 2.81-2.77 (m, 2H), 2.34-2.31 (m, 2H), 2.23 (d, $J = 4.8$ Hz, 1H), 2.17-2.10 (m, 1H), 2.05-1.95 (m, 4H), 1.83-1.75 (m, 1H), 1.63 (dd, $J = 13.1$ Hz, $J = 5.5$ Hz, 1H), 1.49-1.43 (m, 1H), 0.97 (d, $J = 6.6$ Hz, 3H), 0.95 (d, $J = 6.6$ Hz, 3H), 0.91 (d, $J = 6.4$ Hz, 3H), 0.90 (d, $J = 6.4$ Hz, 3H); ^{13}C NMR (125 MHz, CDCl_3) δ 172.0, 171.9, 133.8, 133.7, 129.4, 128.8, 127.5, 123.5, 67.3, 67.2, 59.7, 57.5, 57.0, 54.1, 54.0, 46.3, 44.8, 41.6, 37.9, 29.7, 26.1, 25.4, 22.8, 22.6, 21.1; IR (neat): 2953, 2868, 2806, 1731, 1647, 1537, 1455, 1367, 1298, 1249, 1159, 1108, 1078, 796, 724 cm^{-1} ; HRMS (ESI) calcd for $\text{C}_{28}\text{H}_{42}\text{N}_3\text{O}_3^+$ $[\text{M} + \text{H}]^+$ 468.3221, found 468.3228.

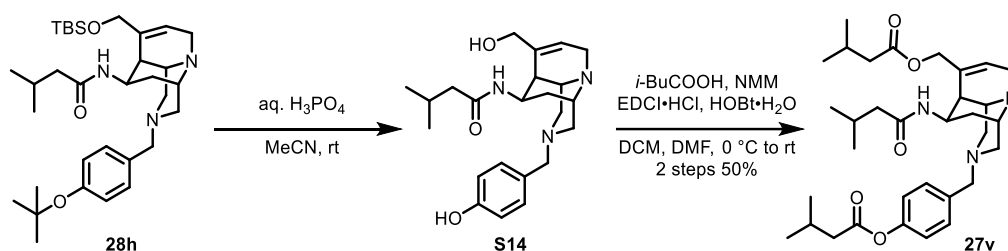
Preparation of ester 27h



Following representative procedure using **28c** (30.6 mg, 0.0660 mmol) and isovaleric acid (14.6 μL , 0.132 mmol), purification by silica gel column chromatography (EtOAc 100% to DCM : MeOH = 95:5) afforded ester **27h** (15.4 mg, 0.0355 mmol, 2 steps 54%) as a yellow oil. ^1H NMR (500 MHz, CDCl_3) δ 6.39 (d, $J = 10.0$ Hz, 1H), 5.86-5.80 (m, 1H), 5.71 (s, 1H), 4.64 (d, $J = 14.5$ Hz, 1H), 4.27 (dd, $J = 14.5$ Hz, $J = 2.4$ Hz, 1H), 3.79 (d, $J = 19.2$ Hz, 1H), 3.13 (dd, $J = 19.3$ Hz, $J = 2.3$ Hz, 1H), 2.99 (d, $J = 11.2$ Hz, 1H), 2.89 (s, 1H), 2.84-2.81 (m,

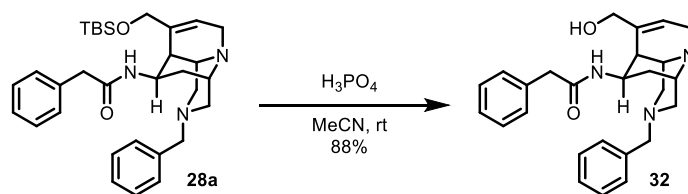
2H), 2.38-2.35 (m, 2H), 2.28-2.24 (m, 3H), 2.18-2.10 (m, 2H), 2.09-1.98 (m, 4H), 1.82-1.77 (m, 1H), 1.67 (dd, $J = 13.1$ Hz, $J = 5.4$ Hz, 1H), 1.69-1.65 (m, 1H), 0.99-0.91 (m, 18H); ^{13}C NMR (125 MHz, CDCl_3) δ 173.6, 171.9, 134.3, 123.4, 67.2, 66.8, 59.7, 57.6, 57.1, 54.2, 54.0, 46.4, 44.8, 43.4, 38.0, 29.8, 26.1, 25.9, 25.4, 22.8, 22.7, 22.6, 22.5, 21.11, 21.09. IR (neat): 3521, 3345, 2955, 2929, 2869, 2804, 2778, 1730, 1644, 1534, 1464, 1367, 1296, 1186, 1167, 1108, 1003 cm^{-1} ; HRMS (ESI) calcd for $\text{C}_{25}\text{H}_{44}\text{N}_3\text{O}_3^+$ $[\text{M} + \text{H}]^+$ 434.3377, found 434.3386.

Preparation of ester **27v**



Following representative procedure using **28h** (34.8 mg, 0.0611 mmol) and isovaleric acid (13.5 μL , 0.122 mmol), purification by PTLC (EtOAc 100%) afforded diester **27v** (17.4 mg, 0.0306 mmol, 2 steps 50%) as a yellow oil. ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 7.48 (d, $J = 8.4$ Hz, 2H), 7.06 (d, $J = 8.4$ Hz, 2H), 6.54 (d, $J = 10.2$ Hz, 1H), 6.01-5.91 (m, 1H), 5.71 (s, 1H), 4.63 (d, $J = 14.3$ Hz, 1H), 4.27 (dd, $J = 14.6$ Hz, $J = 2.2$ Hz, 1H), 3.82 (d, $J = 19.4$ Hz, 1H), 3.45 (s, 2H), 3.15 (dd, $J = 19.3$ Hz, $J = 2.1$ Hz, 1H), 3.00 (d, $J = 11.2$ Hz, 1H), 2.92-2.81 (m, 3H), 2.47 (m, 2H), 2.41 (d, $J = 7.2$ Hz, 2H), 2.29-2.13 (m, 6H), 2.09-2.01 (m, 2H), 1.67 (dd, $J = 13.2$ Hz, $J = 5.5$ Hz, 1H), 1.57-1.49 (m, 1H), 1.06-0.94 (m, 18H); ^{13}C NMR (125 MHz, CDCl_3) δ 173.7, 172.1, 171.8, 149.8, 135.9, 134.4, 130.1, 121.7, 66.6, 62.4, 58.7, 57.6, 56.1, 54.2, 53.8, 46.4, 44.4, 43.5, 43.4, 37.9, 29.6, 26.3, 26.0, 25.9, 22.8, 22.6, 22.54, 22.48; IR (neat): 3342, 3059, 2958, 2929, 2871, 2803, 2360, 2340, 1755, 1730, 1670, 1652, 1525, 1507, 1464, 1417, 1369, 1295, 1248, 1191, 1162, 1103, 1015, 1001, 856, 796, 750 cm^{-1} ; HRMS (ESI) calcd for $\text{C}_{33}\text{H}_{50}\text{N}_3\text{O}_5^+$ $[\text{M} + \text{H}]^+$ 568.3745, found 568.3746.

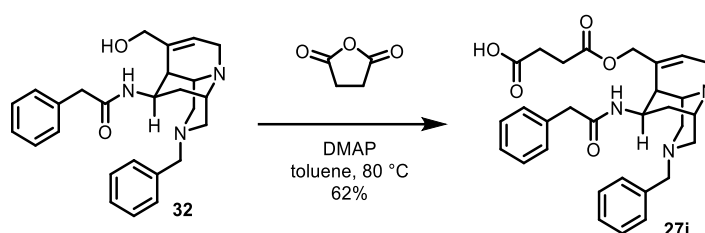
Preparation of primary alcohol **32**



To a solution of amide **28a** (521 mg, 0.980 mmol, 1.0 equiv.) in MeCN (4.0 mL) was added phosphoric acid (≥ 85 wt. %, 2.0 mL) and stirred at room temperature for 1 h under an argon atmosphere. The reaction mixture was diluted with saturated aqueous NaHCO_3 and the aqueous layer was extracted with EtOAc for three times. The combined organic layers were washed with brine, dried over anhydrous MgSO_4 , and concentrated under reduced pressure. The residue was purified by silica gel chromatography (DCM : MeOH = 95:5 to 90:10) to afford alcohol **32** (363 mg, 0.869 mmol, 88% yield) as a yellow amorphous solid. ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3)

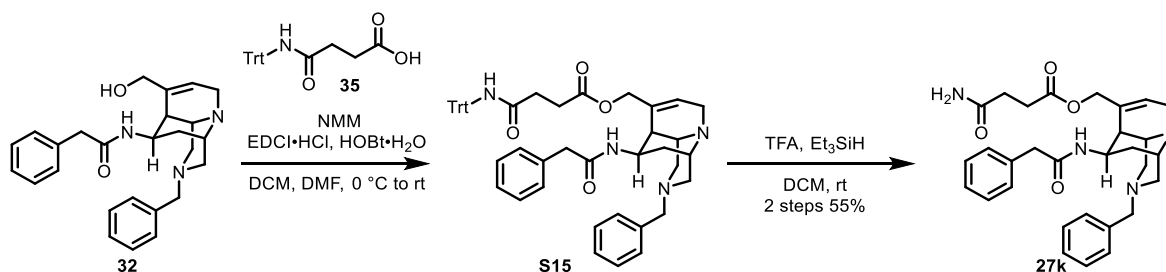
δ 7.46-7.19 (m, 10 H), 6.81 (d, $J = 8.5$ Hz, 1H), 5.90-5.84 (m, 2H), 3.89 (dd, $J = 11.9$ Hz, $J = 0.8$ Hz, 1H), 3.75 (d, $J = 18.5$ Hz, 1H), 3.67 (d, $J = 11.9$ Hz, 1H), 3.53-3.41 (m, 4H), 3.09 (d, $J = 19.3$ Hz, 1H), 2.94 (d, $J = 11.2$ Hz, 1H), 2.84-2.76 (m, 4H), 2.47-2.40 (m, 2H), 2.30 (d, $J = 4.3$ Hz, 1H), 1.76 (dd, $J = 13.1$ Hz, $J = 5.3$ Hz, 1H), 1.45-1.37 (m, 1H); ^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3) δ 170.4, 138.5, 137.7, 135.8, 129.5, 129.0, 128.8, 128.5, 128.1, 127.0, 67.1, 63.1, 59.0, 57.5, 56.5, 54.7, 54.1, 45.5, 44.2, 39.7, 29.6; IR (neat): 3259, 3061, 3029, 2904, 2806, 1647, 1557, 1542, 1523, 1508, 1455, 1435, 1349, 1301, 1147, 997, 735, 698 cm^{-1} ; HRMS (ESI) calcd for $\text{C}_{26}\text{H}_{32}\text{N}_3\text{O}_2^+$ $[\text{M} + \text{H}]^+$ 418.2489, found 418.2492.

Preparation of ester 27i



To a solution of alcohol **32** (20.6 mg, 0.0493 mmol, 1.0 equiv.) and succinic anhydride (5.9 mg, 0.059 mmol, 1.2 equiv.) in toluene (500 μL) was added DMAP (1.0 mg) and stirred at 80 $^\circ\text{C}$ for 20 min under an argon atmosphere. After this time, another amount of succinic anhydride (2.9 mg, 0.029 mmol, 0.59 equiv.) was added and stirred for additional 20 min at 80 $^\circ\text{C}$. The reaction mixture was concentrated under reduce pressure and the residue was purified by silica gel chromatography (DCM : MeOH = 98:2 to 85:15) to afford ester **27i** (19.3 mg, 0.0373 mmol, 62% yield) as a yellow amorphous solid. ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 7.43-7.21 (m, 10H), 6.80 (d, $J = 10.2$ Hz, 1H), 6.06-5.97 (m, 1H), 5.95 (s, 1H), 4.39 (d, $J = 15.3$ Hz, 1H), 4.13 (d, $J = 15.3$ Hz, 1H), 3.87 (d, $J = 18.7$ Hz, 1H), 3.64-3.43 (m, 4H), 3.25-3.10 (m, 3H), 2.96 (d, $J = 12.0$ Hz, 1H), 2.81 (d, $J = 11.6$ Hz, 1H), 2.72-2.56 (m, 6H), 2.28 (d, $J = 4.4$ Hz, 1H), 1.77-1.63 (m, 2H); ^{13}C NMR (125 MHz, CDCl_3) δ 177.1, 173.7, 170.8, 137.6, 135.5, 133.5, 129.3, 129.1, 128.8, 128.7, 127.5, 127.0, 119.0, 66.3, 62.6, 57.0, 56.4, 53.2, 51.7, 44.1, 44.0, 37.2, 30.41, 30.36, 28.8; IR (neat): 3422, 3341, 3057, 3028, 2924, 2817, 1727, 1657, 1547, 1536, 1453, 1376, 1352, 1297, 1243, 1207, 1159, 1073, 989, 793, 735, 700 cm^{-1} ; HRMS (ESI) calcd for $\text{C}_{30}\text{H}_{36}\text{N}_3\text{O}_5^+$ $[\text{M} + \text{H}]^+$ 518.2649, found 518.2641.

Representative procedure for synthesis of 27k,i,t

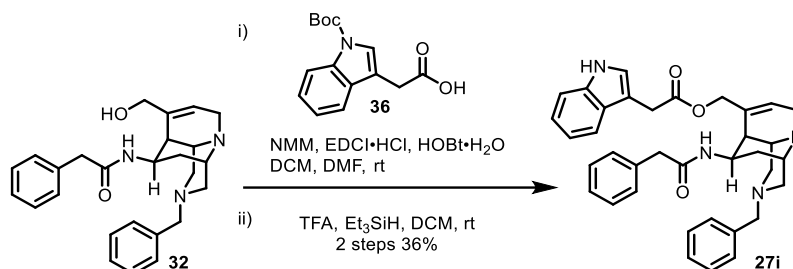


To a solution of alcohol **32** (36.9 mg, 0.0884 mmol, 1.0 equiv.) in DCM (360 μL) and DMF (90 μL) was added carboxylic acid **35** (63.1 mg, 0.176 mmol, 2.0 equiv.), 4-methylmorpholine (29.3 μL , 0.266 mmol, 3.0 equiv.), HOBT· H_2O (27.8 mg, 0.181 mmol, 2.0 equiv.), and EDCI·HCl (32.2 mg, 0.168 mmol, 1.9 equiv.) at

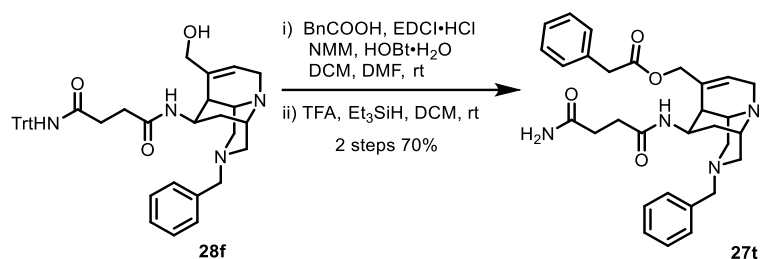
room temperature. The same amount of carboxylic acid **35**, 4-methylmorphrine, HOBt·H₂O, and EDCI·HCl was repeatedly added until the full consumption of alcohol **32**. The reaction mixture was diluted with saturated aqueous NaHCO₃ and extracted with EtOAc for three times. The combined organic layer was washed with brine, dried over anhydrous MgSO₄, filtered, concentrated under reduced pressure to afford crude ester **S15**, which was used for the next reaction without further purification.

To a suspension of crude ester **S15** in DCM (500 μL) were added Et₃SiH (500 μL) and TFA (500 μL) at room temperature. After being stirred for 2 h, the reaction mixture was diluted with saturated aqueous NaHCO₃ and the aqueous layer was extracted with EtOAc for three times. The combined organic layers were washed with brine, dried over anhydrous MgSO₄, and concentrated under reduced pressure. The residue was purified by PTLC with DCM : MeOH = (95:5) to afford ester **27k** (24.9 mg, 0.0482 mmol, 2 steps 55%) as a white solid. Mp 117 °C. ¹H NMR (500 MHz, CDCl₃) δ 7.43-7.22 (m, 10H), 6.06 (m, 1H), 5.95-5.89 (m, 1H), 5.74 (s, 2H), 5.59 (s, 1H), 4.35 (d, *J* = 14.2 Hz, 1H), 4.23 (d, *J* = 14.2 Hz, 1H), 3.85 (d, *J* = 19.1 Hz, 1H), 3.58 (d, *J* = 15.0 Hz, 1H), 3.53 (d, *J* = 15.0 Hz, 1H), 3.46 (s, 2H), 3.16 (d, *J* = 19.1 Hz, 1H), 3.00-2.91 (m, 3H), 2.80 (d, *J* = 10.8 Hz, 1H), 2.81-2.65 (m, 2H), 2.56-2.49 (m, 4H), 2.38 (s, 1H), 1.62 (dd, *J* = 13.3 Hz, *J* = 8.0 Hz, 1H), 1.51-1.45 (m, 1H); ¹³C NMR (125 MHz, CDCl₃) δ 173.9, 173.2, 170.6, 138.1, 135.4, 133.7, 129.4, 129.1, 128.9, 128.6, 127.21, 127.17, 123.6, 67.1, 62.9, 58.4, 57.5, 55.8, 54.1, 53.5, 45.1, 43.9, 37.1, 30.1, 29.3, 28.8; IR (neat): 3327, 3197, 3061, 3029, 2919, 2810, 1729, 1669, 1538, 1496, 1373, 1349, 1295, 1243, 1201, 1170, 1030, 1000, 799, 738, 700 cm⁻¹; HRMS (ESI) calcd for C₃₀H₃₇N₄O₄⁺ [M + H]⁺ 517.2809, found 517.2811.

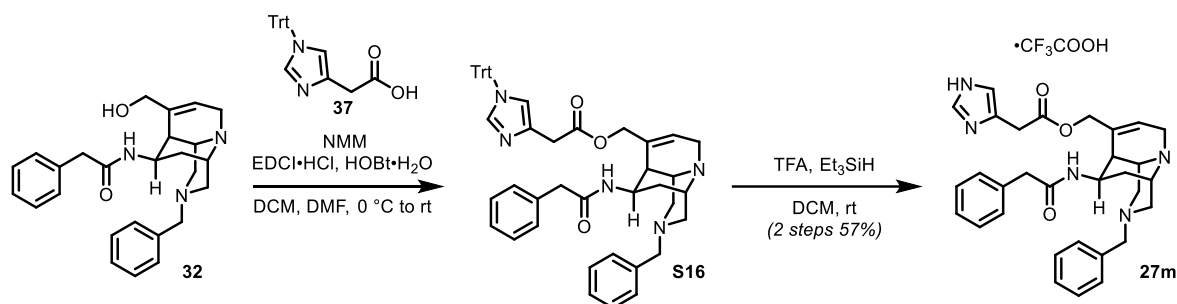
Preparation of ester **27i**



Following representative procedure starting using alcohol **32** (22.1 mg, 0.0529 mmol) and carboxylic acid **36** (32.1 mg, 0.117 mmol), purification by silica gel chromatography (hexane : EtOAc = 10:90 to DCM : MeOH = 97:3) afforded ester **27i** (11.0 mg, 0.0191 mmol, 2 steps 36%) as a colorless oil. ¹H NMR (500 MHz, CD₃OD) δ 7.53 (dt, *J* = 7.9 Hz, *J* = 0.9 Hz, 1H), 7.40 (d, *J* = 7.0 Hz, 2H), 7.34-7.16 (m, 10H), 7.06-7.03 (m, 1H), 6.97-6.94 (m, 1H), 5.84-5.80 (m, 1H), 5.63 (s, 1H), 4.41 (d, *J* = 13.4 Hz, 1H), 4.28 (dd, *J* = 13.5 Hz, *J* = 1.8 Hz, 1H), 3.79 (dd, *J* = 15.2 Hz, *J* = 0.7 Hz, 1H), 3.75 (dd, *J* = 15.1 Hz, *J* = 0.7 Hz, 1H), 3.57-3.43 (m, 5H), 3.06 (d, *J* = 19.2 Hz, 1H), 2.93 (s, 1H), 2.79 (d, *J* = 11.5 Hz, 2H), 2.49 (s, 1H), 2.40 (d, *J* = 11.1 Hz, 1H), 2.30-2.27 (m, 2H), 1.69-1.63 (m, 1H), 1.52 (dd, *J* = 13.5 Hz, *J* = 5.6 Hz, 1H); ¹³C NMR (125 MHz, CD₃OD) δ 174.0, 173.2, 139.5, 138.0, 136.9, 135.4, 130.2, 130.0, 129.6, 128.5, 128.1, 127.9, 124.9, 122.6, 120.0, 119.7, 112.3, 108.5, 68.5, 63.7, 59.0, 58.6, 56.7, 55.2, 54.0, 46.5, 44.0, 38.2, 32.5, 29.0; IR (neat): 3263, 3059, 3028, 2919, 2850, 2807, 2765, 1726, 1645, 1532, 1494, 1455, 1371, 1352, 1293, 1244, 1155, 1108, 1010, 796, 739, 699 cm⁻¹; HRMS (ESI) calcd for C₃₆H₃₉N₄O₃⁺ [M + H]⁺ 575.3017, found 575.3017.

Preparation of ester **27t**

Following representative procedure using alcohol **28f** (28.5 mg, 0.0445 mmol) and phenylacetic acid (12.1 mg, 0.0889 mmol), purification by silica gel column chromatography (EtOAc 100% to DCM : MeOH = 95:5) afforded ester **27t** (16.1 mg, 0.0312 mmol, 2 steps 70%) as a yellow oil. ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 7.42-7.27 (m, 9H), 7.25-7.21 (m, 1H), 6.52 (d, $J = 9.8$ Hz, 1H), 6.38 (brs, 1H), 5.92-5.84 (m, 1H), 5.52 (s, 1H), 5.40 (brs, 1H), 4.61 (d, $J = 14.4$ Hz, 1H), 4.32 (dd, $J = 14.4$ Hz, $J = 2.3$ Hz, 1H), 3.72-3.64 (m, 3H), 3.44 (s, 2H), 3.03 (dd, $J = 19.4$ Hz, $J = 2.3$ Hz, 1H), 2.95 (d, $J = 11.2$ Hz, 1H), 2.87 (s, 1H), 2.80-2.77 (m, 2H), 2.62-2.47 (m, 4H), 2.44-2.40 (m, 2H), 2.22 (d, $J = 4.8$ Hz, 1H), 1.60 (dd, $J = 13.2$ Hz, $J = 5.6$ Hz, 1H), 1.52-1.45 (m, 1H); ^{13}C NMR (125 MHz, CDCl_3) δ 175.0, 172.3, 171.5, 138.5, 133.73, 133.65, 129.5, 129.1, 128.8, 128.5, 127.5, 127.1, 123.8, 67.3, 63.2, 59.1, 57.3, 56.4, 53.94, 53.85, 45.2, 41.6, 37.5, 31.8, 31.3, 29.3; IR (neat): 3330, 3195, 3060, 3029, 2915, 2806, 2769, 1726, 1660, 1536, 1454, 1371, 1293, 1244, 1155, 1110, 1000, 983, 796, 734, 700 cm^{-1} ; HRMS (ESI) calcd for $\text{C}_{30}\text{H}_{37}\text{N}_4\text{O}_4^+$ $[\text{M} + \text{H}]^+$ 517.2809, found 517.2811.

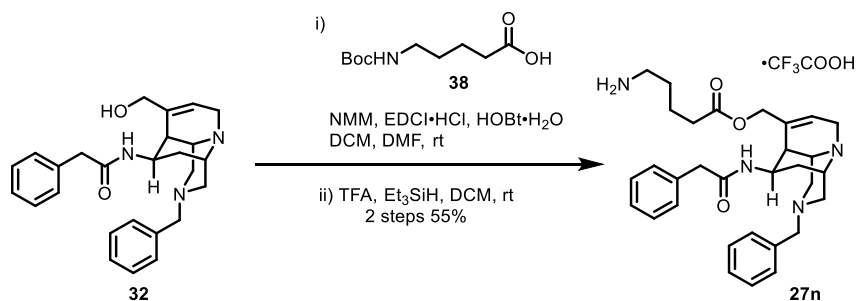
Representative procedure for synthesis of **27m** and **27n**

To a solution of alcohol **32** (24.6 mg, 0.0599 mmol, 1.0 equiv.) in DCM (240 μL) and DMF (60 μL) were added carboxylic acid **37** (44.3 mg, 0.120 mmol, 2.0 equiv.), 4-methylmorpholine (19.8 μL , 0.180 mmol, 3.0 equiv.), $\text{HOBT}\cdot\text{H}_2\text{O}$ (18.6 mg, 0.121 mol, 2.0 equiv.), and $\text{EDCI}\cdot\text{HCl}$ (24.6 mg, 0.128 mmol, 2.1 equiv.) at room temperature under an argon atmosphere. The same amount of carboxylic acid **37**, 4-methylmorpholine, $\text{HOBT}\cdot\text{H}_2\text{O}$, and $\text{EDCI}\cdot\text{HCl}$ was repeatedly added until the full consumption of alcohol **32**. The reaction mixture was diluted with saturated aqueous NaHCO_3 and extracted with EtOAc for three times. The combined organic layer was washed with brine, dried over anhydrous MgSO_4 , filtered, concentrated under reduced pressure to afford crude ester **S16**, which was used for the next reaction without further purification.

To a suspension of crude ester **S16** in DCM (500 μL) were added Et_3SiH (500 μL) and TFA (500 μL) at room temperature. After being stirred for 2 h, the reaction mixture was diluted with saturated aqueous NaHCO_3 and the reaction mixture was concentrated under reduced pressure. The residue was purified by silica gel

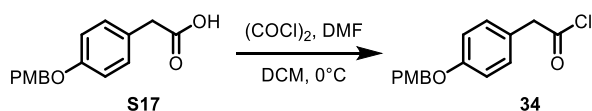
chromatography (DCM : MeOH = 95:5 to 85:15) to afford TFA salt of **27m** (21.4 mg, 0.0407 mmol, 2 steps 57% yield) as an amorphous solid. $^1\text{H NMR}$ (500 MHz, CD_3OD) δ 8.02 (d, $J = 1.0$ Hz, 1H), 7.41-7.20 (m, 10H), 7.15 (s, 1H), 5.97-5.92 (m, 2H), 4.50 (dd, $J = 14.0$ Hz, $J = 1.3$ Hz, 1H), 4.46 (dd, $J = 14.0$ Hz, $J = 1.8$ Hz, 1H), 4.08 (d, $J = 18.6$ Hz, 1H), 3.76-3.66 (m, 3H), 3.58-3.49 (m, 5H), 3.36 (s, 1H), 3.19 (d, $J = 12.8$ Hz, 1H), 3.05 (d, $J = 12.4$ Hz, 1H), 2.78 (dd, $J = 5.2$ Hz, $J = 1.7$ Hz, 1H), 2.68 (d, $J = 12.6$ Hz, 1H), 2.64 (dd, $J = 12.9$ Hz, $J = 3.6$ Hz, 1H), 2.06-2.00 (m, 1H), 1.85 (dd, $J = 14.2$ Hz, $J = 5.5$ Hz, 1H); $^{13}\text{C NMR}$ (125 MHz, CD_3OD) δ 173.7, 171.5, 163.3, 138.5, 136.6, 136.0, 135.6, 130.7, 130.2, 130.1, 129.7, 129.6, 128.5, 128.0, 122.1, 119.4, 118.6, 117.1, 68.2, 63.0, 59.6, 57.3, 56.0, 55.2, 53.1, 45.7, 43.8, 37.9, 32.6, 27.8; $^{19}\text{F NMR}$ (376 MHz, CD_3OD) δ -77.2; IR (neat): 3413, 1680, 1440, 1206, 1135, 842, 802, 724 cm^{-1} ; HRMS (ESI) calcd for $\text{C}_{31}\text{H}_{36}\text{N}_5\text{O}_3^+$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 526.2813, found 526.2816.

Preparation of ester **27n**



Following representative procedure using alcohol **32** (24.9 mg, 0.0596 mmol) and carboxylic acid **29** (26.1 mg, 0.120 mmol), purification by silica gel chromatography (DCM : MeOH = 90:10 to 85:15) afforded TFA salt of ester **27n** (20.8 mg, 0.0403 mmol, 2 steps 55%) as an amorphous solid. $^1\text{H NMR}$ (400 MHz, CD_3OD) δ 7.94 (d, $J = 8.2$ Hz, 1H), 7.41-7.24 (m, 9H), 6.02-5.94 (m, 2H), 4.48 (s, 2H), 4.18 (d, $J = 18.2$ Hz, 1H), 3.80 (d, $J = 19.1$ Hz, 1H), 3.66-3.51 (m, 6H), 3.25 (d, $J = 13.0$ Hz, 1H), 3.08 (d, $J = 12.5$ Hz, 1H), 2.94-2.85 (m, 3H), 2.75-2.68 (m, 2H), 2.41 (t, $J = 6.7$ Hz, 2H), 2.13-2.06 (m, 1H), 1.92 (dd, $J = 14.2$ Hz, $J = 5.6$ Hz, 1H), 1.69-1.63 (m, 4H); $^{13}\text{C NMR}$ (125 MHz, CD_3OD) δ 174.4, 173.9, 173.8, 163.3, 163.0, 138.3, 136.6, 136.0, 130.3, 130.1, 129.7, 129.6, 128.6, 128.0, 119.4, 117.1, 71.0, 67.6, 62.8, 59.9, 56.7, 56.2, 54.8, 52.8, 45.6, 43.8, 40.3, 37.8, 34.0, 27.9, 22.7; $^{19}\text{F NMR}$ (376 MHz, CD_3OD) δ -77.2; IR (neat): 3401, 2967, 2922, 2866, 2844, 1681, 1438, 1206, 1134, 1054, 1033, 843, 802, 725 cm^{-1} ; HRMS (ESI) calcd for $\text{C}_{31}\text{H}_{41}\text{N}_4\text{O}_3^+$ $[\text{M} + \text{H}]^+$ 517.3173, found 517.3173.

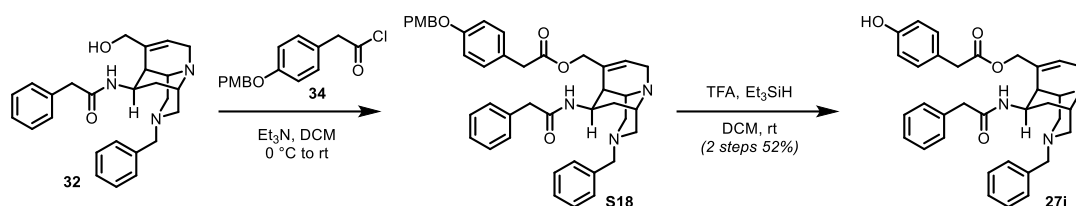
Preparation of acid chloride **34**



To a suspension of carboxylic acid **S17** (49.5 mg, 0.182 mmol, 1.0 equiv.) in DCM (1.0 mL) was added oxalyl chloride (50 μL , 0.583 mmol, 3.2 equiv.) and DMF (10 μL) at 0 °C under an argon atmosphere. After being stirred at 0 °C for 1 h, the reaction mixture was concentrated under reduced pressure to afford crude **34**. The

product was used in the next step without further purification.

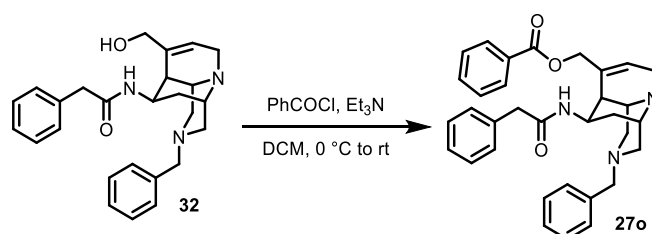
Preparation of ester **27j**



To a solution of alcohol **32** (23.5 mg, 0.0563 mmol, 1.0 equiv.) in DCM (200 μ L) were added triethylamine (100 μ L) and acid chloride **34** suspended in toluene (500 μ L) at 0 $^{\circ}$ C under an argon atmosphere. After being stirred at room temperature for 1 h, the reaction mixture was diluted with saturated aqueous NaHCO_3 and the aqueous layer was extracted with EtOAc for three times. The combined organic layers were washed with brine, dried over MgSO_4 , and concentrated under reduced pressure to afford crude ester **S18**, which was used for the next reaction without further purification.

To a solution of crude ester **S18** in DCM (200 μ L) were added Et_3SiH (200 μ L) and TFA (200 μ L) at room temperature under an argon atmosphere. After being stirred for 1h, the reaction mixture was diluted with saturated aqueous NaHCO_3 and the aqueous layer was extracted with EtOAc for three times. The combined organic layers were washed with brine, dried over anhydrous MgSO_4 , and concentrated under reduced pressure. The residue was purified by silica gel chromatography (DCM : MeOH = 97:3) to afford **27j** (16.6 mg, 0.0293 mmol, 2 steps 52%) as a yellow oil. ^1H NMR (500 MHz, CDCl_3) δ 7.43 (d, J = 7.0 Hz, 2H), 7.33 (t, J = 7.5 Hz, 2H), 7.29-7.21 (m, 6H), 7.13 (d, J = 8.6 Hz, 2H), 6.73 (d, J = 8.6 Hz, 2H), 6.29 (d, J = 10.0 Hz, 1H), 5.95-5.89 (m, 1H), 5.31 (s, 1H), 4.34 (d, J = 14.3 Hz, 1H), 4.10 (dd, J = 14.5 Hz, J = 2.4 Hz, 1H), 3.61-3.50 (m, 5H), 3.44 (d, J = 13.2 Hz, 1H), 3.41 (d, J = 13.1 Hz, 1H), 2.97-2.86 (m, 3H), 2.79-2.74 (m, 2H), 2.47-2.41 (m, 2H), 2.18 (d, J = 4.7 Hz, 1H), 1.59 (dd, J = 13.2 Hz, J = 5.5 Hz, 1H), 1.44-1.39 (m, 1H); ^{13}C NMR (125 MHz, CDCl_3) δ 172.4, 170.7, 156.2, 138.4, 135.5, 133.7, 130.6, 129.4, 129.2, 128.8, 128.6, 127.13, 127.09, 125.0, 123.4, 115.8, 66.9, 63.1, 58.7, 57.3, 56.2, 53.9, 53.4, 45.1, 44.1, 40.9, 37.3, 29.2; IR (neat): 3407, 3061, 3028, 2916, 2809, 2770, 1726, 1648, 1516, 1453, 1371, 1271, 1245, 1151, 1107, 1085, 986, 826, 798, 737, 699 cm^{-1} ; HRMS (ESI) calcd for $\text{C}_{34}\text{H}_{38}\text{N}_3\text{O}_4^+$ $[\text{M} + \text{H}]^+$ 552.2857, found 552.2850.

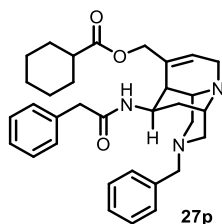
Representative procedure for synthesis of esters **27o** and **27p**



To a solution of alcohol **32** (19.9 mg, 0.0477 mmol, 1.0 equiv.) and triethylamine (13.3 μ L, 0.0954, 2.0 equiv.) in DCM (500 μ L) was added benzoyl chloride (6.6 μ L, 0.057 mmol, 1.2 equiv.) at 0 $^{\circ}$ C under an argon atmosphere. After being stirred for 1 h at room temperature, the same amount of benzoyl chloride and

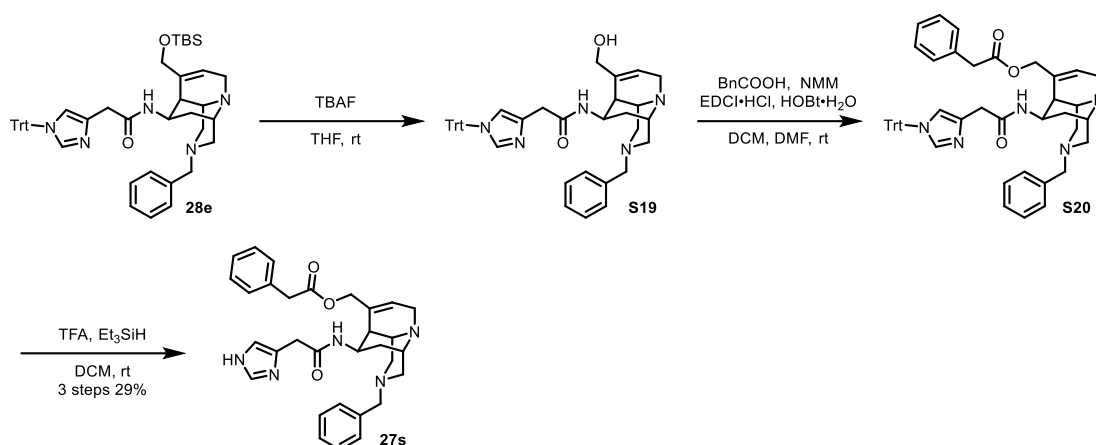
triethylamine was added and stirred for another 20 min. The reaction mixture was diluted with saturated aqueous NaHCO_3 and the aqueous layer was extracted with EtOAc for three times. The combined organic layers were washed with brine, dried over anhydrous MgSO_4 , and concentrated under reduced pressure. The residue was purified by silica gel chromatography (hexane : EtOAc = 5:95 to DCM : MeOH = 95:5) to afford ester **27o** (18.0 mg, 0.0345 mmol, 2 steps 72%) as a yellow oil. ^1H NMR (400 MHz, CD_3OD) δ 8.03 (d, $J = 8.1$ Hz, 2H), 7.65-7.16 (m, 13H), 5.98-5.94 (m, 2H), 4.68 (d, $J = 13.8$ Hz, 1H), 4.55 (d, $J = 13.9$ Hz, 1H), 3.76 (d, $J = 19.2$ Hz, 1H), 3.56-3.51 (m, 3H), 3.43 (d, $J = 13.1$ Hz, 1H), 3.29-3.24 (m, 1H), 3.08 (d, $J = 11.5$ Hz, 1H), 3.00 (s, 1H), 2.92 (s, 1H), 2.83 (d, $J = 10.8$ Hz, 1H), 2.59 (d, $J = 4.5$ Hz, 1H), 2.50-2.45 (m, 2H), 1.85-1.77 (m, 1H), 1.60 (dd, $J = 13.4$ Hz, $J = 5.4$ Hz, 1H); ^{13}C NMR (125 MHz, CDCl_3) δ 170.5, 167.0, 138.2, 135.7, 134.1, 133.7, 129.9, 129.7, 129.4, 129.2, 128.79, 128.75, 128.7, 127.2, 127.0, 66.9, 63.1, 58.5, 57.7, 55.9, 54.2, 53.6, 44.8, 44.1, 37.6, 29.3; IR (neat): 3343, 3060, 3028, 2925, 2805, 2767, 1711, 1663, 1601, 1495, 1452, 1426, 1294, 1272, 1176, 1141, 1110, 1070, 1026, 733, 712, 699 cm^{-1} ; HRMS (ESI) calcd for $\text{C}_{33}\text{H}_{36}\text{N}_3\text{O}_3^+$ $[\text{M} + \text{H}]^+$ 522.2751, found 522.2747.

Preparation of ester **27p**



Following representative procedure using alcohol **32** (22.3 mg, 0.0534 mmol) and cyclohexanecarboxylic acid chloride (8.7 μL , 0.064 mmol), purification by silica gel column chromatography (hexane : EtOAc = 5:95 to DCM : MeOH = 95:5) afforded ester **27p** (10.3 mg, 0.0195 mmol, 37%) as a yellow oil. ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 7.45 (d, $J = 7.6$ Hz, 2H), 7.37-7.21 (m, 8H), 6.41 (d, $J = 9.9$ Hz, 1H), 5.98-5.90 (m, 1H), 5.64 (s, 1H), 4.34 (d, $J = 14.5$ Hz, 1H), 4.10 (d, $J = 14.6$ Hz, 1H), 3.79 (d, $J = 18.9$ Hz, 1H), 3.59 (d, $J = 14.5$ Hz, 1H), 3.52 (d, $J = 14.5$ Hz, 1H), 3.45 (s, 2H), 3.11 (dd, $J = 19.2$ Hz, $J = 1.8$ Hz, 1H), 2.98 (d, $J = 11.3$ Hz, 1H), 2.90 (s, 1H), 2.84-2.78 (m, 2H), 2.48-2.46 (m, 2H), 2.37 (tt, $J = 11.3$ Hz, $J = 3.4$ Hz, 1H), 2.23 (d, $J = 4.4$ Hz, 1H), 1.95 (m, 2H), 1.81-1.78 (m, 2H), 1.69-1.59 (m, 2H), 1.52-1.43 (m, 3H), 1.37-1.21 (m, 3H); ^{13}C NMR (125 MHz, CDCl_3) δ 176.6, 170.4, 138.2, 135.7, 134.4, 129.4, 129.2, 128.7, 128.6, 127.2, 127.0, 121.8, 66.2, 63.0, 58.4, 57.7, 55.9, 54.2, 53.6, 44.6, 44.1, 43.3, 37.5, 29.3, 29.2, 29.1, 25.8, 25.6, 25.5. IR (neat): 3024, 2930, 2855, 2805, 2769, 2360, 2324, 1717, 1652, 1540, 1455, 1419, 1288, 1276, 1191, 1169, 913, 764, 748, 698 cm^{-1} ; HRMS (ESI) calcd for $\text{C}_{33}\text{H}_{42}\text{N}_3\text{O}_3^+$ $[\text{M} + \text{H}]^+$ 528.3221, found 528.3211.

Representative procedure for synthesis of 27s and 27w



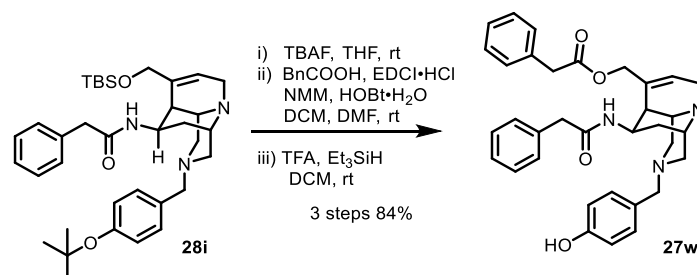
To a solution of amide **28e** (88.8 mg, 0.116 mmol, 1.0 equiv) in THF (300 μ L) was added TBAF (1.0 M in THF, 230 μ L, 0.23 mmol, 2.0 equiv.) and stirred at room temperature for 30 min under an argon atmosphere. The reaction mixture was diluted with saturated aqueous NH_4Cl and the aqueous layer was extracted with EtOAc for three times. The combined organic layers were washed with brine, dried over anhydrous MgSO_4 , and concentrated under reduced pressure to afford crude alcohol **S19**, which was used for the next reaction without further purification.

To a solution of crude alcohol **S19** in DCM (460 μ L) and DMF (120 μ L) were added phenylacetic acid (31.0 mg, 0.228 mmol, 2.0 equiv.), 4-methylmorpholine (38.4 μ L, 0.349 mmol, 3.0 equiv.), HOBt· H_2O (36.0 mg, 0.235 mol, 2.0 equiv.), and EDCI·HCl (49.0 mg, 0.257 mmol, 2.2 equiv.) at room temperature under an argon atmosphere. The same amount of phenylacetic acid, 4-methylmorpholine, HOBt· H_2O , and EDCI·HCl were repeatedly added until the full consumption of alcohol **S20**. The reaction mixture was diluted with saturated aqueous NaHCO_3 and extracted with EtOAc for three times. The combined organic layers were washed with brine, dried over anhydrous MgSO_4 , filtered, concentrated under reduced pressure to afford crude ester **S20**, which was used for the next reaction without further purification.

To a solution of crude ester **S20** in DCM (200 μ L) was added Et_3SiH (200 μ L) and TFA (600 μ L) at room temperature under an argon atmosphere. After being stirred for 1 h, the reaction mixture was diluted with saturated aqueous NaHCO_3 and the aqueous layer was extracted with EtOAc for three times. The combined organic layers were washed with brine, dried over anhydrous MgSO_4 , and concentrated under reduced pressure. The residue was purified by silica gel column chromatography (DCM : MeOH = 95:5 to 90:10) to afford ester **27s** (17.4 mg, 0.0331 mmol, 3 steps 29%) as a yellow oil. ^1H NMR (500 MHz, CDCl_3) δ 7.44-7.41 (m, 3H), 7.34-7.30 (m, 4H), 7.27-7.25 (m, 3H), 7.22 (t, J = 7.4 Hz, 1H), 6.78 (s, 1H), 6.73 (d, J = 9.5 Hz, 1H), 5.91-5.84 (m, 1H), 5.63 (s, 1H), 4.32 (d, J = 13.8 Hz, 1H), 4.13 (dd, J = 13.7 Hz, J = 1.5 Hz, 1H), 3.71 (d, J = 19.5 Hz, 1H), 3.63 (s, 2H), 3.54 (d, J = 16.2 Hz, 1H), 3.50 (d, J = 16.4 Hz, 1H), 3.46 (d, J = 13.2 Hz, 1H), 3.41 (d, J = 13.1 Hz, 1H), 3.06 (dd, J = 19.4 Hz, J = 1.8 Hz, 1H), 2.93 (d, J = 11.3 Hz, 1H), 2.87 (s, 1H), 2.79 (d, J = 10.5 Hz, 1H), 2.72 (s, 1H), 2.43 (d, J = 10.5 Hz, 1H), 2.38 (dd, J = 11.3 Hz, J = 3.7 Hz, 1H), 2.27 (d, J = 4.7 Hz, 1H), 1.60 (dd, J = 13.0 Hz, J = 5.5 Hz, 1H), 1.53-1.47 (m, 1H); ^{13}C NMR (125 MHz, CDCl_3) δ 172.1, 169.7, 138.5, 135.4, 133.9, 133.7, 129.5, 129.0, 128.8, 128.5, 127.4, 127.1, 125.6, 67.7, 63.2, 59.2, 57.3, 56.4, 54.0,

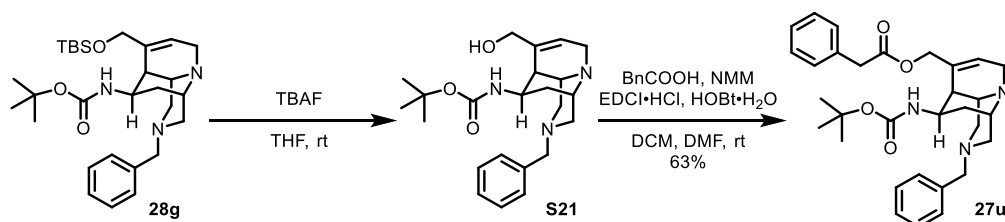
53.9, 45.4, 41.5, 37.3, 35.0, 29.0; IR (neat): 3192, 3086, 3061, 3029, 2907, 2807, 2769, 1731, 1651, 1536, 1496, 1454, 1371, 1346, 1295, 1254, 1154, 1108, 1085, 1000, 984, 822, 797, 737, 700, 664, 626 cm^{-1} ; HRMS (ESI) calcd for $\text{C}_{31}\text{H}_{36}\text{N}_5\text{O}_3^+$ $[\text{M} + \text{H}]^+$ 526.2813, found 526.2806.

Preparation of ester **27w**



Following representative procedure using **28i** (25.0 mg, 0.0414 mmol) and phenylacetic acid (12.9 mg, 0.0947 mmol), purification by silica gel column chromatography EtOAc 100% to DCM : MeOH = 95:5) afforded ester **27w** (19.1 mg, 0.0346 mmol, 3 steps 84%) as a yellow oil. ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 7.37-7.17 (m, 12H), 6.81 (d, J = 8.5 Hz, 2H), 6.31 (d, J = 10.1 Hz, 1H), 5.93-5.85 (m, 1H), 5.49 (s, 1H), 4.30 (d, J = 14.0 Hz, 1H), 4.11 (dd, J = 14.1 Hz, J = 1.7 Hz, 1H), 3.71-3.66 (m, 3H), 3.58 (d, J = 14.6 Hz, 1H), 3.50 (d, J = 14.6 Hz, 1H), 3.34 (d, J = 12.8 Hz, 1H), 3.30 (d, J = 12.6 Hz, 1H), 3.00 (dd, J = 19.2 Hz, J = 2.0 Hz, 1H), 2.92-2.89 (m, 1H), 2.85 (s, 1H), 2.77-2.74 (m, 2H), 2.40-2.34 (m, 2H), 2.17 (d, J = 4.5 Hz, 1H), 1.56 (dd, J = 13.4 Hz, J = 4.5 Hz, 1H), 1.44-1.37 (m, 1H); ¹³C NMR (125 MHz, CDCl₃) δ 172.0, 171.1, 155.9, 135.3, 133.7, 133.6, 130.4, 129.44, 129.40, 129.38, 128.84, 128.79, 127.5, 127.1, 123.9, 115.6, 67.1, 62.5, 58.7, 57.3, 56.1, 53.9, 53.7, 45.3, 44.0, 41.6, 37.3, 29.2; IR (neat): 3327, 3061, 3029, 2921, 2806, 2768, 1727, 1649, 1613, 1595, 1515, 1496, 1455, 1370, 1347, 1293, 1246, 1150, 1106, 1080, 997, 985, 833, 796, 726, 697 cm^{-1} ; HRMS (ESI) calcd for $\text{C}_{34}\text{H}_{38}\text{N}_3\text{O}_4^+$ $[\text{M} + \text{H}]^+$ 552.2857, found 552.2859.

Preparation of ester **27u**



To a solution of amide **28g** (31.8 mg, 0.0619 mmol, 1.0 equiv.) in THF (400 μL) was added TBAF (1.0 M in THF, 120 μL , 0.12 mmol, 1.9 equiv.) and stirred at room temperature for 15 min under an argon atmosphere. The reaction mixture was diluted with saturated aqueous NH₄Cl and the aqueous layer was extracted with EtOAc for three times. The combined organic layers were washed with brine, dried over anhydrous MgSO₄, and concentrated under reduced pressure to afford crude alcohol **S21**, which was used for the next reaction without further purification.

To a solution of crude alcohol **S21** in DCM (240 μL) and DMF (60 μL) were added phenylacetic acid (16.9 mg), 4-methylmorpholine (20.4 μL , 0.186 mmol, 3.0 equiv.), HOBT·H₂O (19.0 mg, 0.124 mol, 2.0 equiv.), and

EDCI·HCl (23.7 mg, 0.124 mmol, 2.0 equiv.) and stirred at room temperature under an argon atmosphere. The same amount of phenylacetic acid, 4-methylmorphrine, HOBt·H₂O, and EDCI·HCl was repeatedly added until the full consumption of crude alcohol **S21**. The reaction mixture was diluted with saturated aqueous NaHCO₃ and extracted with EtOAc for three times. The combined organic layers were washed with brine, dried over anhydrous MgSO₄, filtered, and concentrated under reduced pressure. The residue was purified by silica gel column chromatography (hexane : EtOAc = 5:95 to DCM : MeOH = 95:5) to afford ester **27u** (20.3 mg, 0.0392 mmol, 2 steps 63% yield) as a yellow oil. ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 7.40-7.24 (m, 10H), 5.69 (s, 1H), 5.54 (s, 1H), 4.71 (d, *J* = 8.3 Hz, 1H), 4.57 (d, *J* = 13.4 Hz, 1H), 4.41 (d, *J* = 13.4 Hz, 1H), 3.76 (d, *J* = 19.3 Hz, 1H), 3.67 (s, 2H), 3.51 (d, *J* = 13.1 Hz, 1H), 3.42 (d, *J* = 12.4 Hz, 1H), 3.08 (d, *J* = 19.6 Hz, 1H), 2.98-2.88 (m, 2H), 2.80-2.74 (m, 2H), 2.48-2.46 (m, 3H), 1.67 (dd, *J* = 13.2 Hz, *J* = 5.4 Hz, 1H), 1.46 (m, 10H); ¹³C NMR (125 MHz, CDCl₃) δ 171.3, 155.2, 138.4, 134.03, 133.95, 129.4, 129.1, 128.7, 128.5, 127.3, 127.1, 126.2, 79.1, 68.1, 63.0, 58.6, 57.4, 56.3, 54.1, 53.7, 46.6, 41.5, 38.4, 29.4, 28.6; IR (neat): 3413, 3362, 3061, 3029, 2974, 2926, 2805, 2768, 1733, 1709, 1507, 1469, 1390, 1365, 1347, 1295, 1242, 1165, 1046, 1019, 979, 770, 731, 698 cm⁻¹; HRMS (ESI) calcd for C₃₁H₄₀N₃O₄⁺ [M + H⁺] 518.3013, found 518.3002.

Biology

Cell culture

Human epithelioid cervical carcinoma (HeLa) cells were incubated with RPMI-1640 medium (FUJIFILM Wako Pure Chemical) containing 10% fetal bovine serum (Gibco; Thermo Fisher Scientific) and 1% peniciline/streptomycine (FUJIFILM Wako Pure Chemical). Cells were incubated in a cell incubator with 5% CO₂ at 37 °C.

Neuro 2a (N2a) cells were incubated with D-MEM medium (FUJIFILM Wako Pure Chemical) containing 10% fetal bovine serum (Gibco; Thermo Fisher Scientific) and 1% peniciline/streptomycine (FUJIFILM Wako Pure Chemical). Cells were incubated in a cell incubator with 5% CO₂ at 37 °C.

MTT assay

HeLa cells or N2a cells (5×10³ cells per well of a 96-well plate) were incubated under 5% CO₂ at 37 °C in RPMI-1640 media (for HeLa cells) or D-MEM media (for N2a cells) containing 10% fetal bovine serum, 1% peniciline/streptomycine, and various concentrations of compound **20a-h** (10 mM in DMSO) for 72 h. After the incubation, 3'-(4,5-dimethylthiazole-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide (MTT) in PBS (5mg/mL, 10 μL) were added, and the cells were further incubated at 37 °C for 2 h. After removal of the medium, DMSO (100 μL) was added and the absorbance at 590 nM was measured with a microplate reader. The IC₅₀ value was determined from semilogarithmic dose-response plots.

Luciferase reporter gene assay for HIF transcriptional activity

HeLa cells transfected with hypoxia response element dependent firefly luciferase reporter construct (HRE-Luc) were seeded in a 96-well plate (2.5×10^4 cells per a well) and incubated for 6 h under 5% CO₂ at 37 °C with RPMI-1640 media containing 10% fetal bovine serum, 1% peniciline/streptomycine. After the incubation, cells were treated with various concentration of compound **21a-h** (10 mM in DMSO) and incubated at the same condition for 1 h. Then the cells were incubated at normoxic condition (1% O₂, 5% CO₂, 37 °C) for 12 h. At the same time, cells without compounds were incubated at hypoxic condition for 12 h. After removal of the media cells were washed with PBS and the luciferase reporter gene assay was performed with Luciferase Assay System (Promega, Madison, WI, USA) according to the manufacturer's instructions. The compound concentration required to reduce relative luminescence units (RLU) by 50% (IC₅₀) was determined from semilogarithmic dose-response plots.

Luciferase reporter gene assay for antiviral activity against rabies virus

The recombinant rabies virus strain 1088 expressing gaussia luciferase (1088/GLuc) was generated as described previously.¹³ The virus titer was determined using focus assay as reported¹⁴ and expressed as focus-forming units (FFU). N2a cells (4×10^4 cells per well) and 1088/GLuc (4×10^2 FFU per well) were prepared in E-MEM containing 10% fetal bovine serum and antibiotics, and the mixed solution was applied to a 96-well black plate with clear bottoms (Greiner). Subsequently, various concentrations of compounds were prepared in the medium and added to each well. The microplates were incubated at 37 °C under 5% CO₂ for 3 days, and then, a luciferase reporter gene assay was performed using Pierce Gaussia Luciferase Glow Assay Kit (Thermo Fisher Scientific). The substrate solution was added to each well, and RLU was immediately measured using a microplate luminometer LuMate (Awareness Technology). Based on the RLU value, IC₅₀ was determined from semilogarithmic dose-response plots.

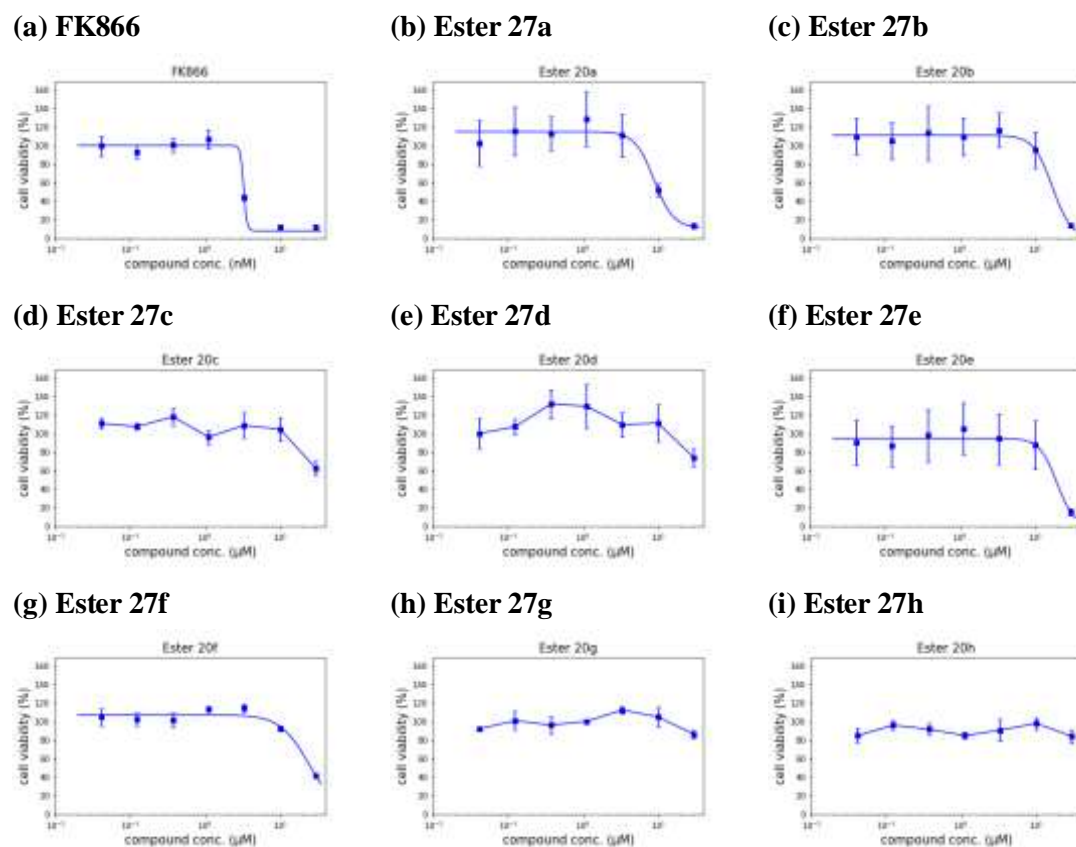


Figure S1. Antiproliferative effect of compounds on HeLa cells. FK866 was used as positive control.¹⁵

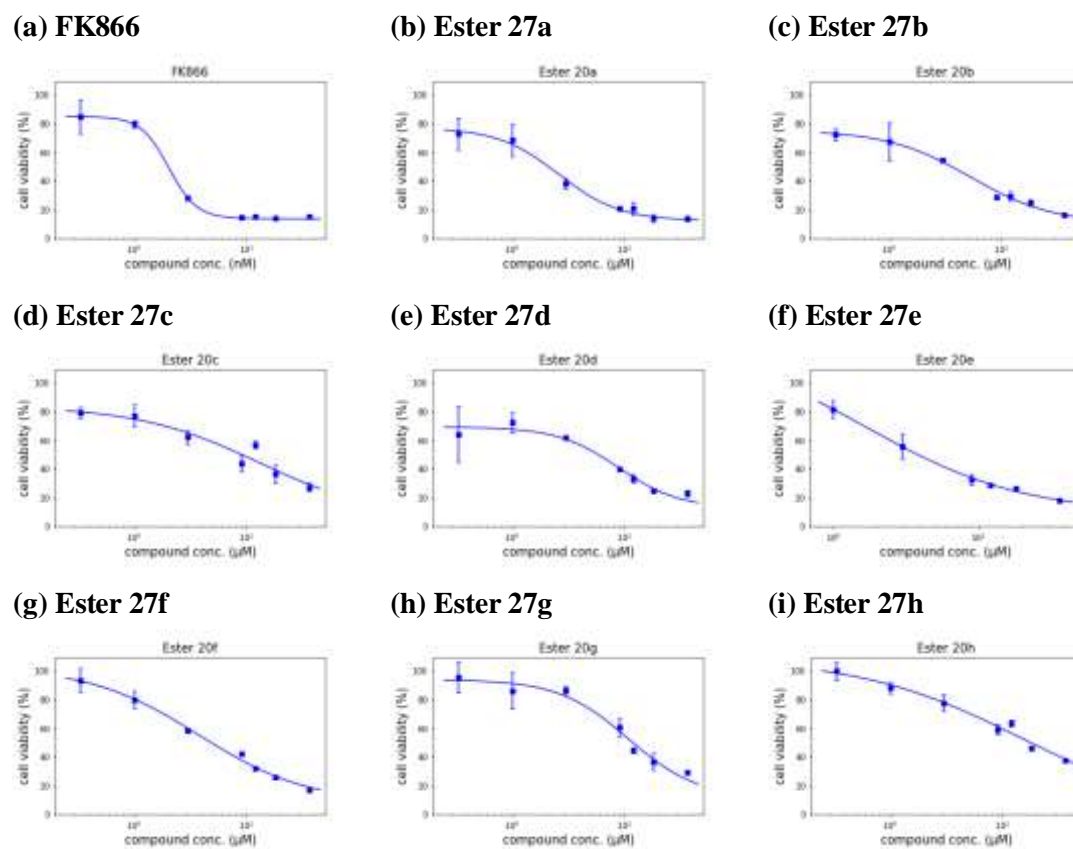


Figure S2. Antiproliferative effect of compounds on N2a cells. FK866 was used as positive control.¹⁵

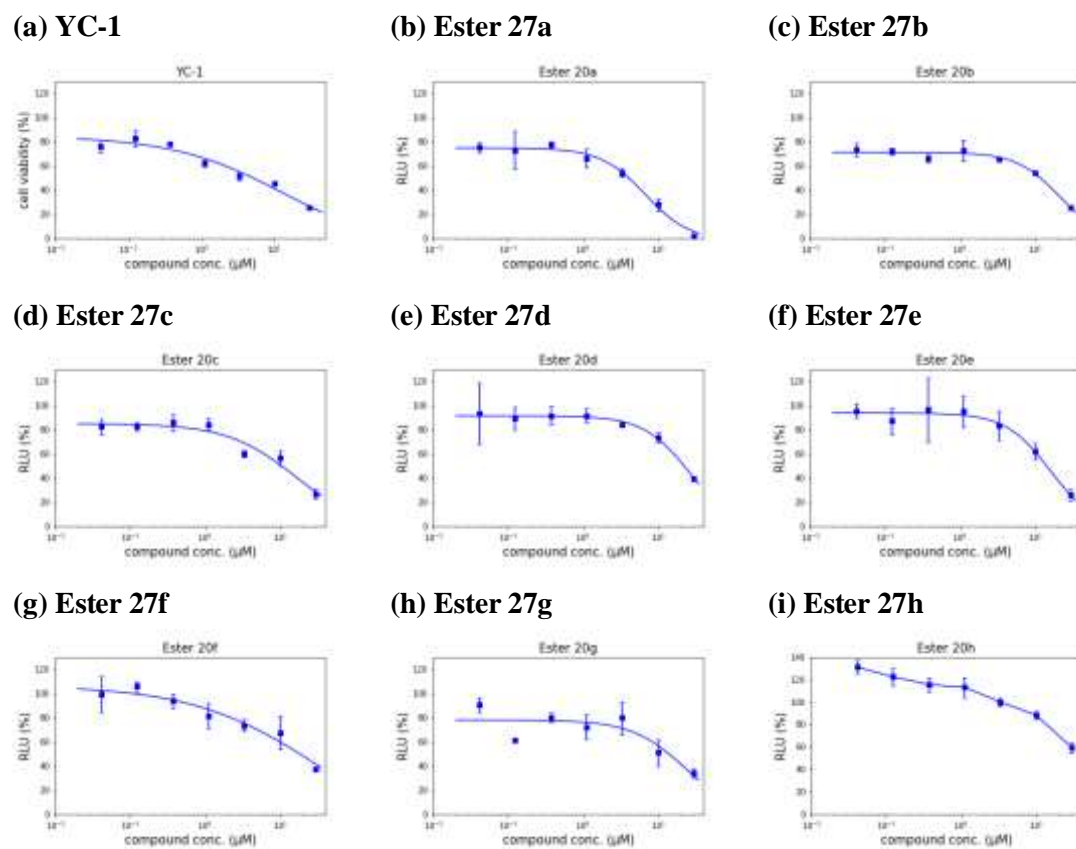


Figure S3. Inhibitory effect of compounds on HIF transcriptional activity. YC-1 was used as positive control. RLU = relative luminescence units.

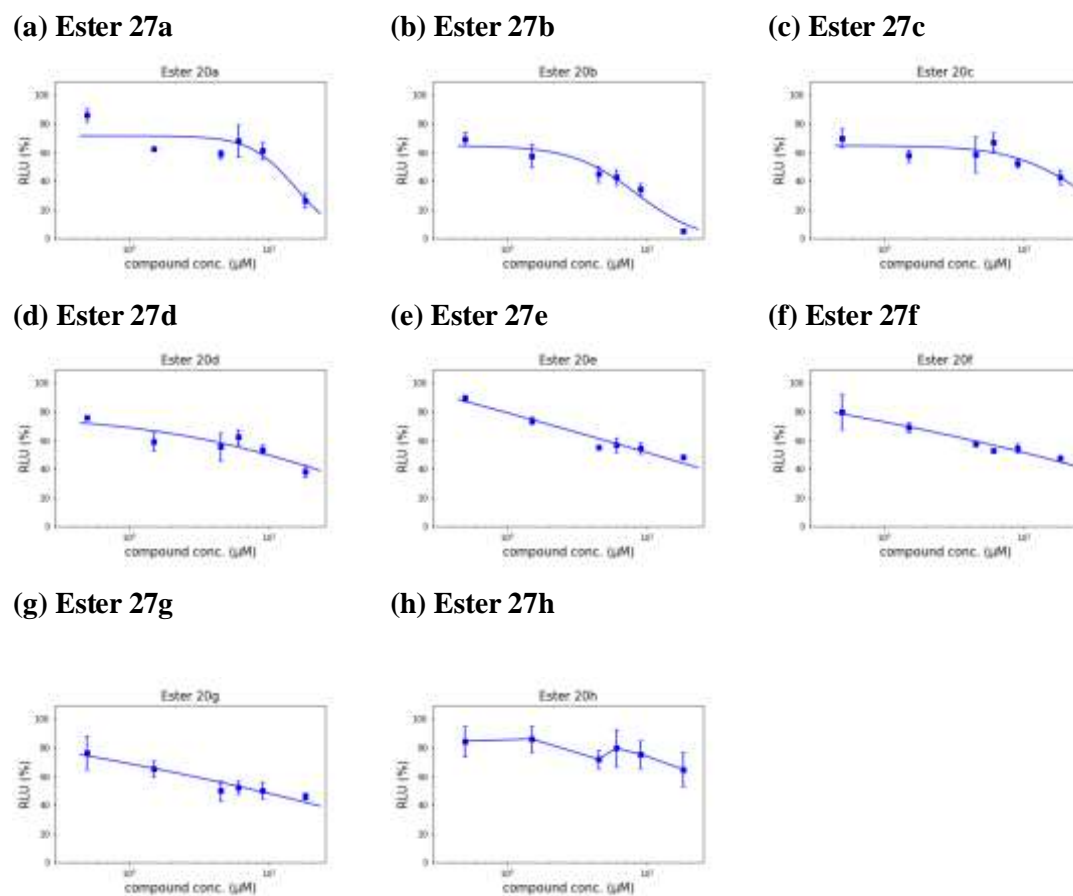


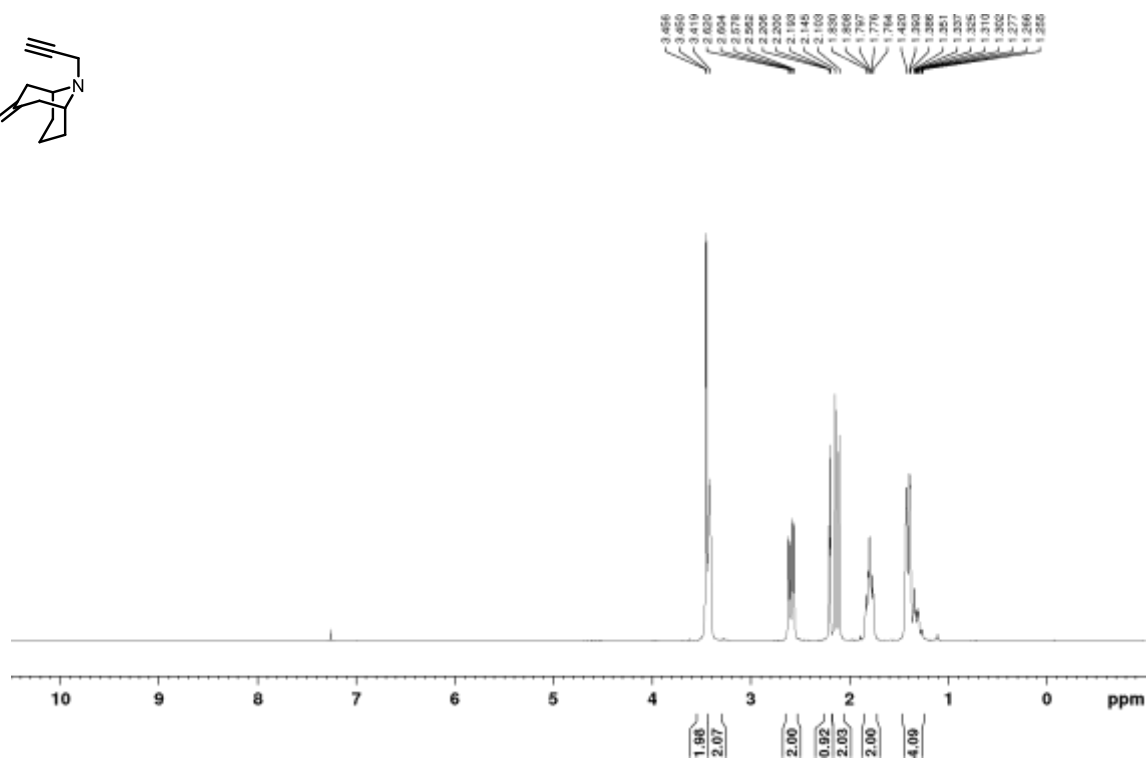
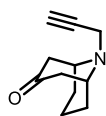
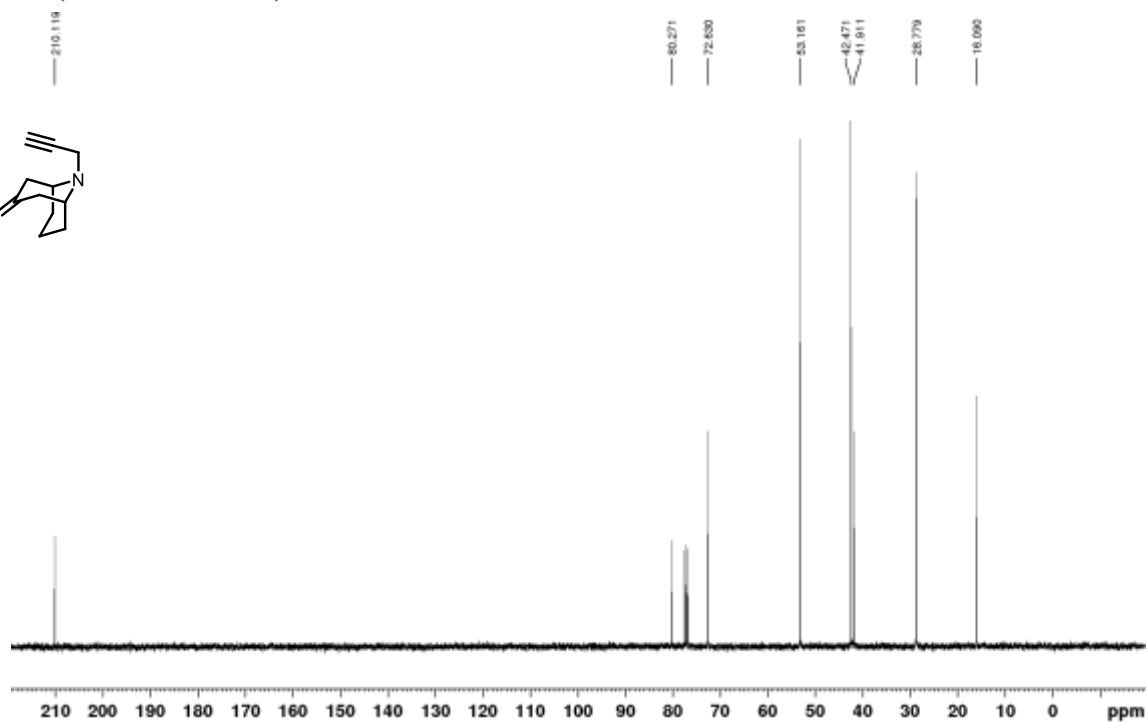
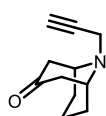
Figure S4. Antiviral activity of compounds on rabies virus. RLU = relative luminescence units.

References

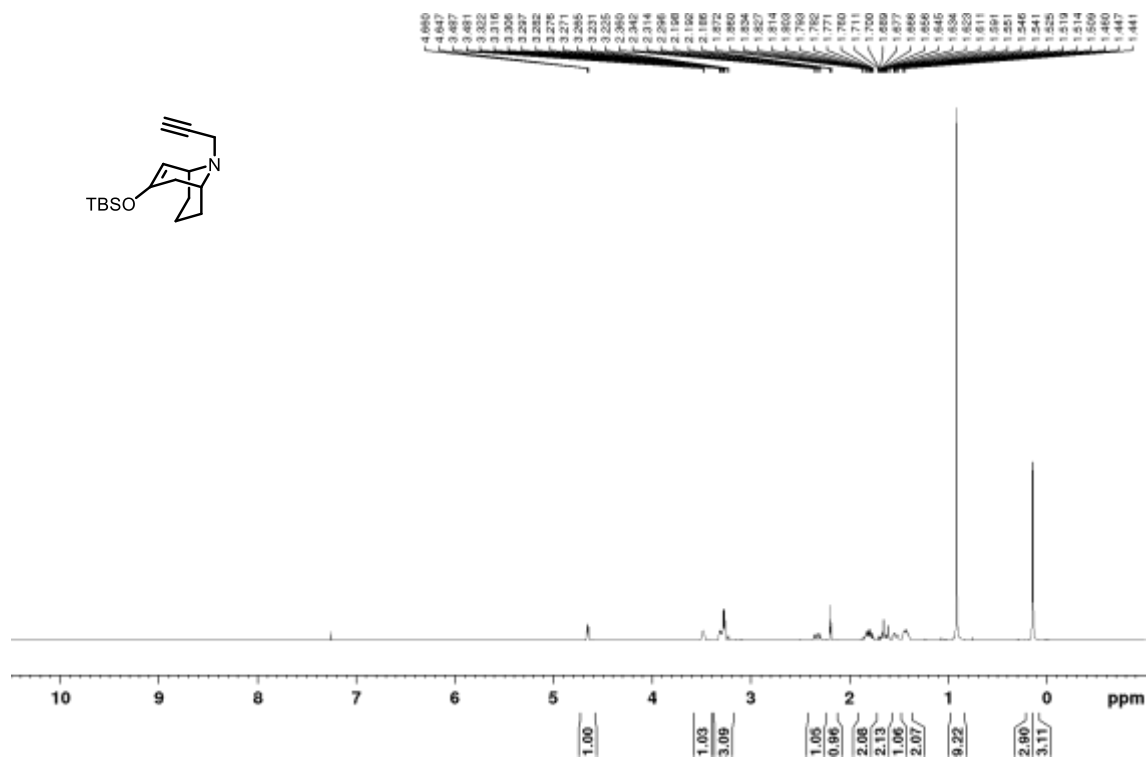
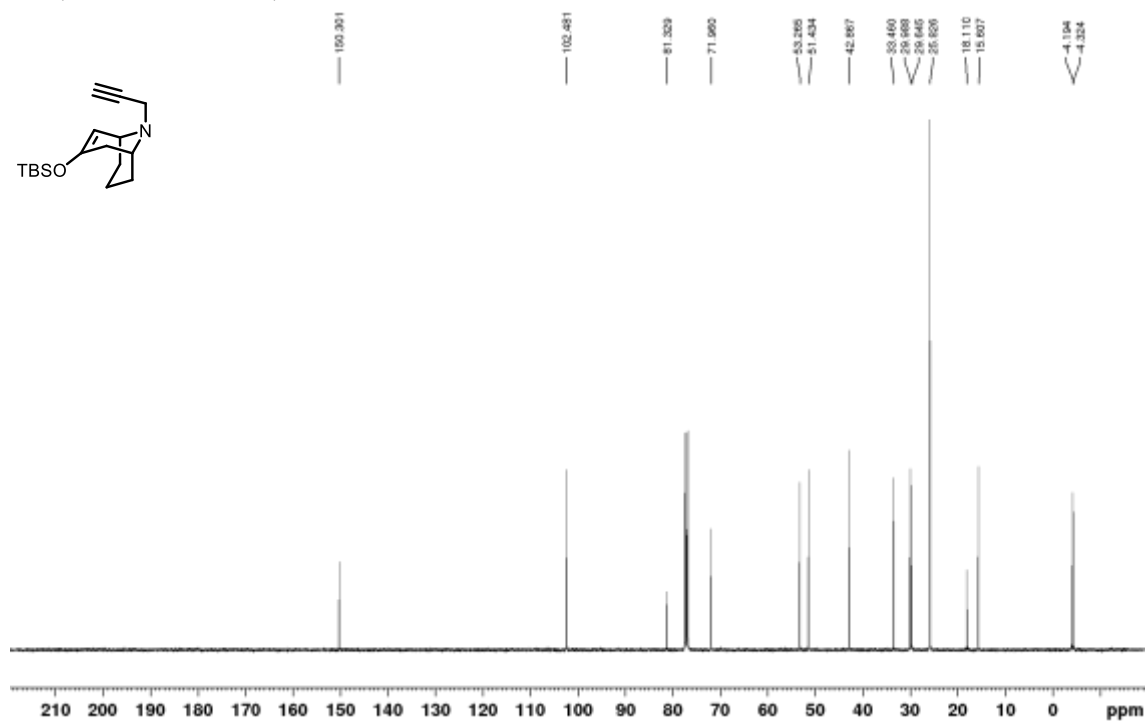
- (1) (a) Mach, R. H.; Luedtke, R. R.; Unsworth, C. D.; Boundy, V. A.; Nowak, P. A.; Scripko, J. G.; Elder, S. T.; Jackson, J. R.; Hoffman, P. L.; Evora, P. H. Fluorine-18 labeled benzamides for studying the dopamine D2 receptor with positron emission tomography. *J. Med. Chem.* **1993**, *36*, 3707–3720; (b) Lauber, M. B.; Stahl, S. S. Efficient Aerobic Oxidation of Secondary Alcohols at Ambient Temperature with an ABNO/NOx Catalyst System. *ACS Catal.* **2013**, *3*, 2612–2616.
- (2) Kopp, N.; Wunsch, B. Synthesis of Iminodiacetaldehyde Derivatives as Building Blocks for Pharmacologically Active Agents. *Synthesis* **2010**, *5*, 791–796.
- (3) Billaud, E. M. F.; Rbah-Vidal, L.; Vidal, A.; Besse, S.; Tarrit, S.; Askienazy, S.; Maisonia, A.; Moins, N.; Madelmont, J.-C.; Miot-Noirault, E.; Chezal, J.-M.; Auzeloux, P. Synthesis, Radiofluorination, and in Vivo Evaluation of Novel Fluorinated and Iodinated Radiotracers for PET Imaging and Targeted Radionuclide Therapy of Melanoma. *J. Med. Chem.* **2013**, *56*, 8455–8467.
- (4) Kalantzi, S.; Athanassopoulos, C. M.; Ruonala, R.; Helariutta, Y.; Papaioannou, D. General Approach for the Liquid-Phase Fragment Synthesis of Orthogonally Protected Naturally Occurring Polyamines and Applications Thereof. *J. Org. Chem.* **2019**, *84*, 15118–15130.
- (5) Meredith, E. L.; Ksander, G.; Monovich, L. G.; Papillon, J. P. N.; Liu, Q.; Miranda, K.; Morris, P.; Rao, C.; Burgis, R.; Capparelli, M.; Hu, Q.-Y.; Singh, A.; Rigel, D. F.; Jeng, A. Y.; Beil, M.; Fu, F.; Hu, C.-W.; LaSala, D. Discovery and in Vivo Evaluation of Potent Dual CYP11B2 (Aldosterone Synthase) and CYP11B1 Inhibitors. *ACS Med. Chem. Lett.* **2013**, *4*, 1203–1207.
- (6) Bhushan, B.; Lin, Y. A.; Bak, M.; Phanumartwiwath, A.; Yang, N.; Bilyard, M. K.; Tanaka, T.; Hudson, K. L.; Lercher, L.; Stegmann, M.; Mohammed, S.; Davis, B. G. Genetic Incorporation of Olefin Cross-Metathesis Reaction Tags for Protein Modification. *J. Am. Chem. Soc.* **2018**, *140*, 14599–14603.
- (7) Rakowitz, D.; Angerer, H.; Matuszczak, B. Synthesis and Aldose Reductase Inhibitory Activities of Novel O-Substituted Hydroxyphenylacetic Acid Derivatives. *Arch. Pharm.* **2006**, *339*, 547–558.
- (8) Nakamura, H.; Ishikura, M.; Sugiishi, T.; Kamakura, T.; Biellmann, J.-F. Synthesis of mono- and 1,3-disubstituted allenes from propargylic amines via palladium-catalysed hydride-transfer reaction. *Org. Biomol. Chem.* **2008**, *6*, 1471–1477.
- (9) Guissart, C.; Dolbois, A.; Tresse, C.; Saint-Auret, S.; Evano, G.; Blanchard, N. A Straightforward Entry to γ -Trifluoromethylated Allenamides and Their Synthetic Applications. *Synlett* **2016**, *27*, 2575–2580.
- (10) Hein, J. E.; Tripp, J. C.; Krasnova, L. B.; Sharpless, K. B.; Fokin, V. V. Copper(I)-Catalyzed Cycloaddition of Organic Azides and 1-Iodoalkynes. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2009**, *48*, 8018–8021.
- (11) Chapman, T. M.; Courtney, S.; Hay, P.; Davis, B. G. Highly Diastereoselective Additions to Polyhydroxylated Pyrrolidine Cyclic Imines: Ready Elaboration of Aza-Sugar Scaffolds to Create Diverse Carbohydrate-Processing Enzyme Probes. *Chemistry* **2003**, *9*, 3397–3414.
- (12) Theodorou, V.; Karkatsoulis, A.; Kinigopoulou, M.; Ragoussis, V.; Skobridis, K. Tritylamine as an ammonia synthetic equivalent: preparation of primary amides. *ARKIVOC* **2009**, *11*, 277–287.
- (13) Isomura, M.; Yamada, K.; Noguchi, K.; Nishizono, A. Near-infrared fluorescent protein iRFP720 is optimal for in vivo fluorescence imaging of rabies virus infection. *J. Gen. Virol.* **2017**, *98*, 2689–2698.
- (14) Yamada, K.; Park, C.-H.; Noguchi, K.; Kojima, D.; Kubo, T.; Komiya, N.; Matsumoto, T.; Mitui, M. T.; Ahmed, K.; Morimoto, K.; Inoue, S.; Nishizono, A. Serial passage of a street rabies virus in mouse neuroblastoma cells resulted in attenuation: potential role of the additional N-glycosylation of a viral glycoprotein in the reduced pathogenicity of street rabies virus. *Virus Res.* **2012**, *165*, 34–45.
- (15) Hasmann, M.; Schemainda, I. FK866, a Highly Specific Noncompetitive Inhibitor of Nicotinamide Phosphoribosyltransferase, Represents a Novel Mechanism for Induction of Tumor Cell Apoptosis. *Cancer Res.* **2003**, *63*, 7436–7442.

NMR Spectra

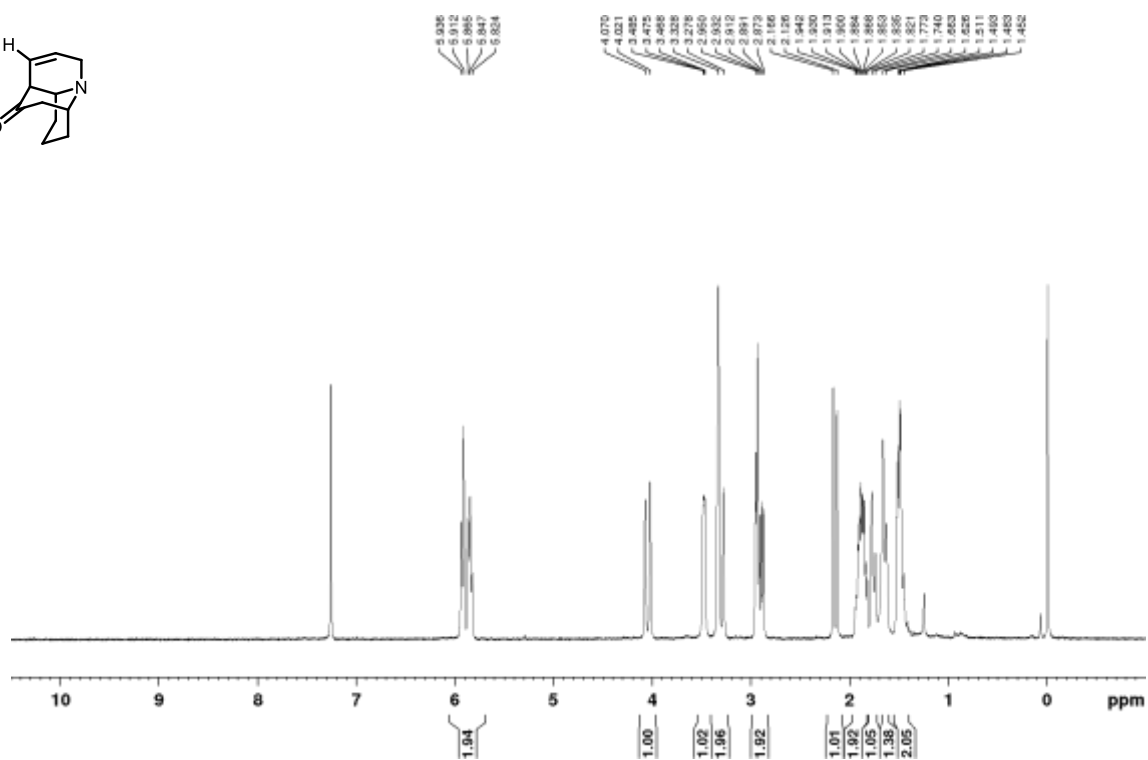
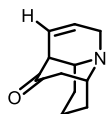
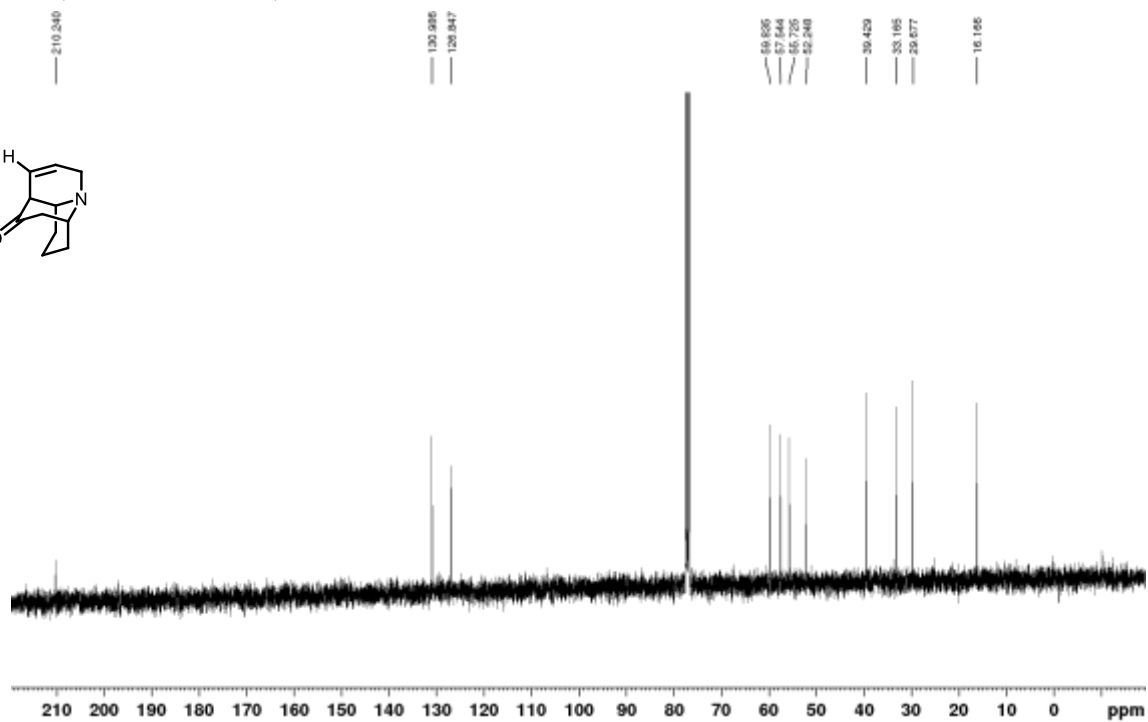
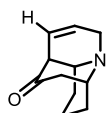
Ketone 14

 ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) ^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3)

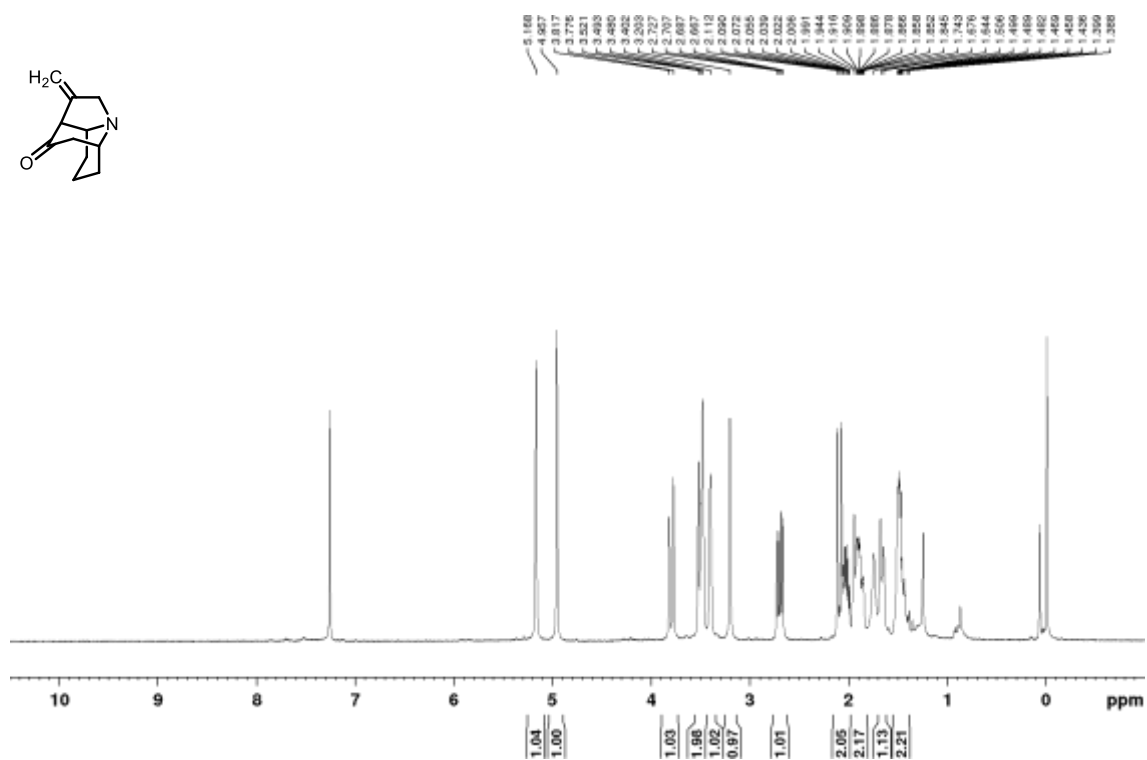
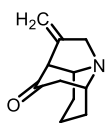
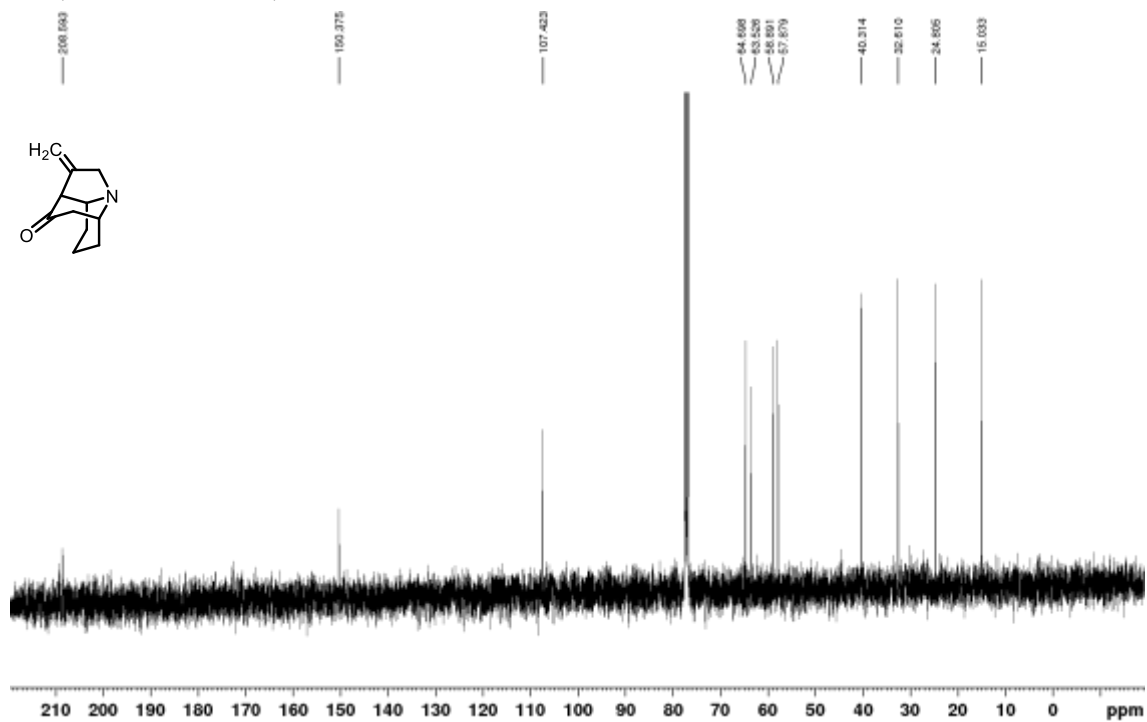
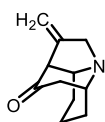
Silyl enol ether 8a

 ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) ^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3)

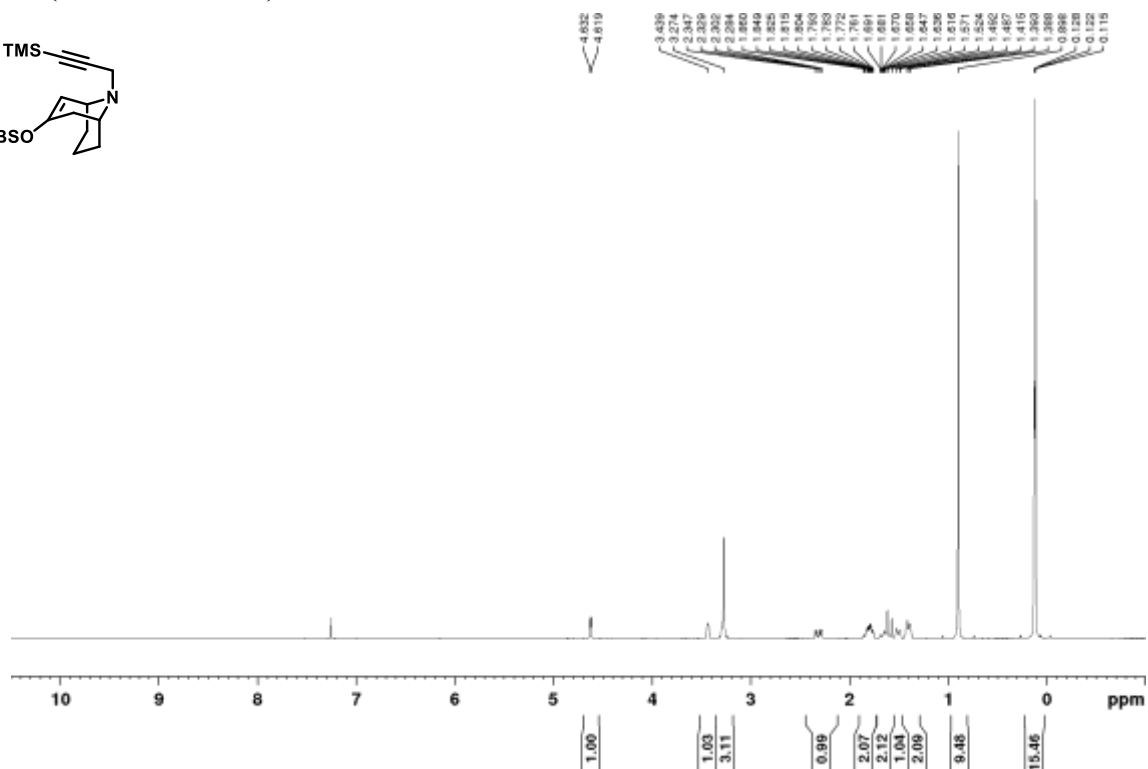
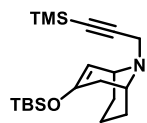
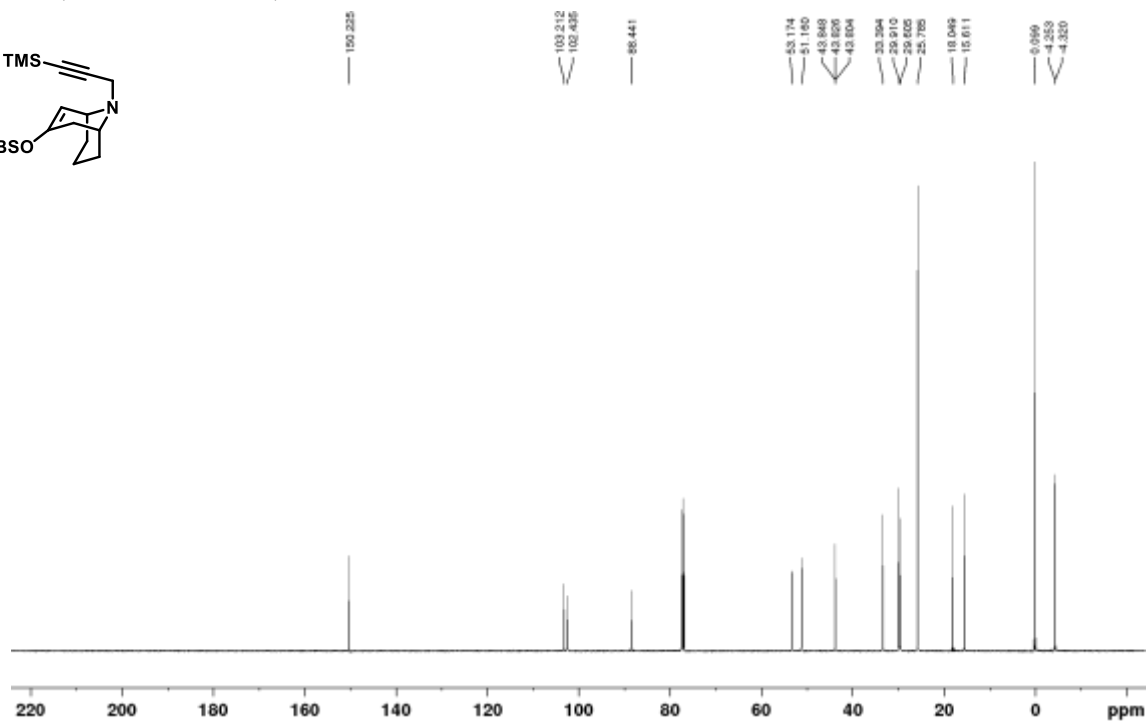
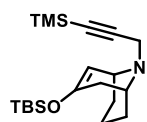
Azatricyclododecene 7a

 ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) ^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3)

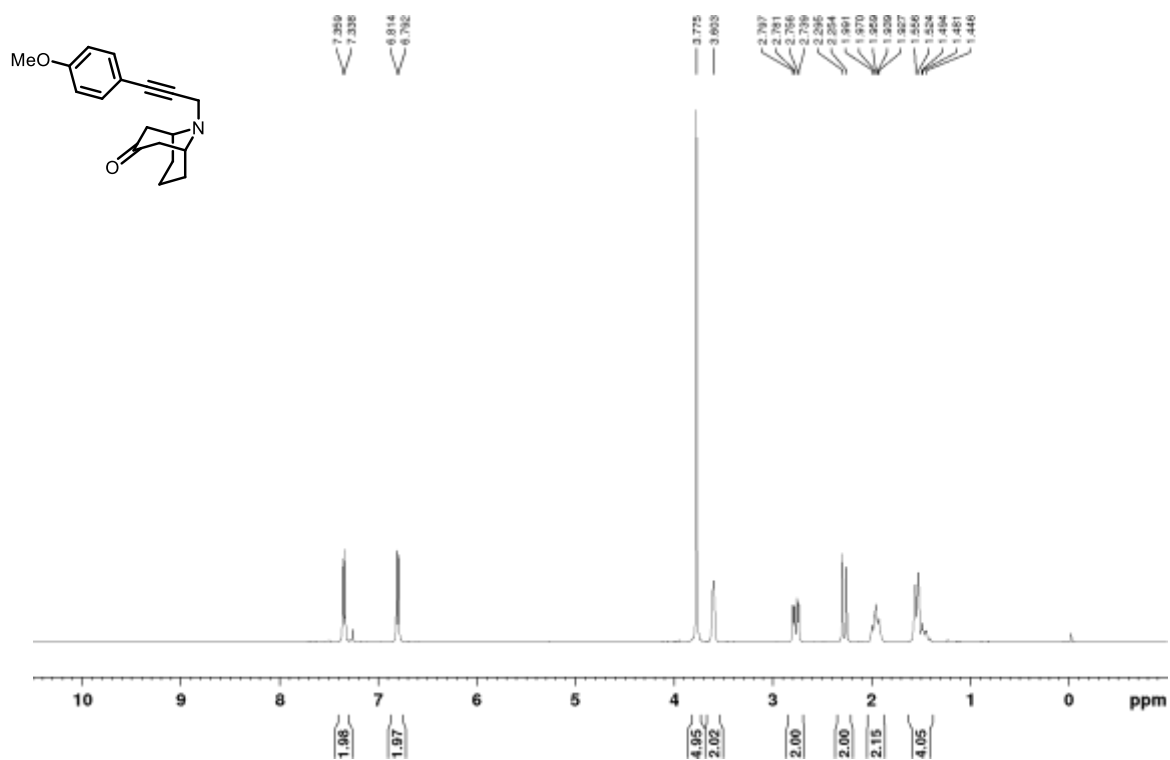
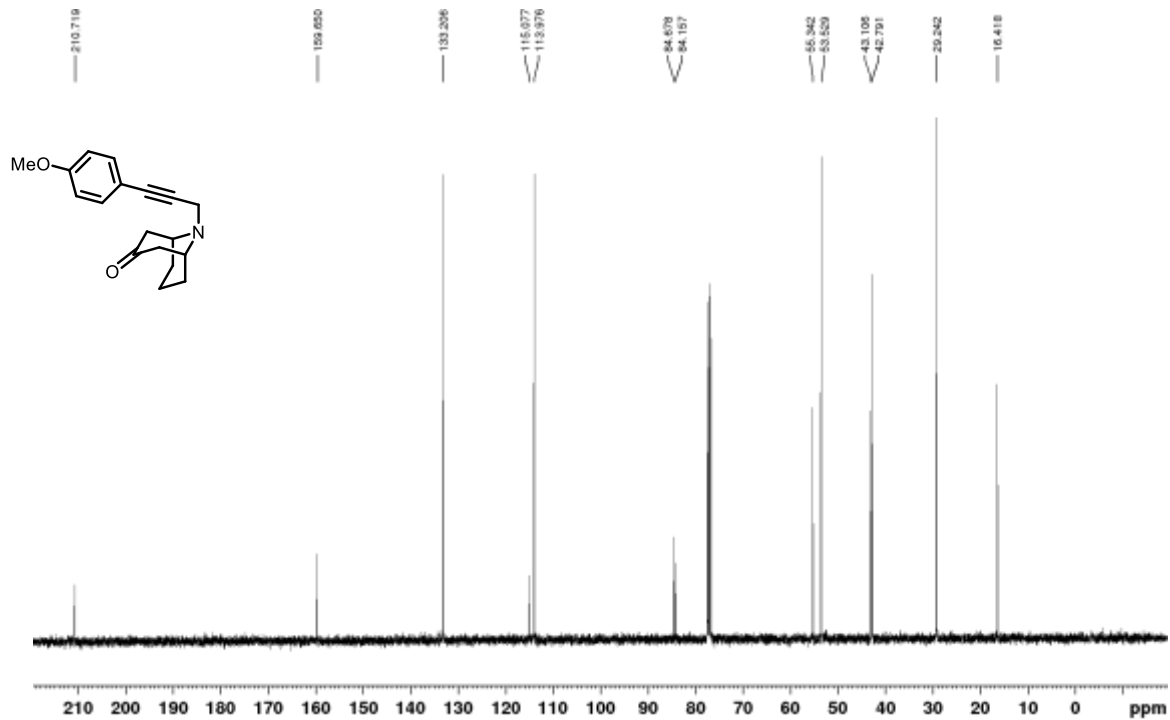
Azatricyclonone 17a

 ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) ^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3)

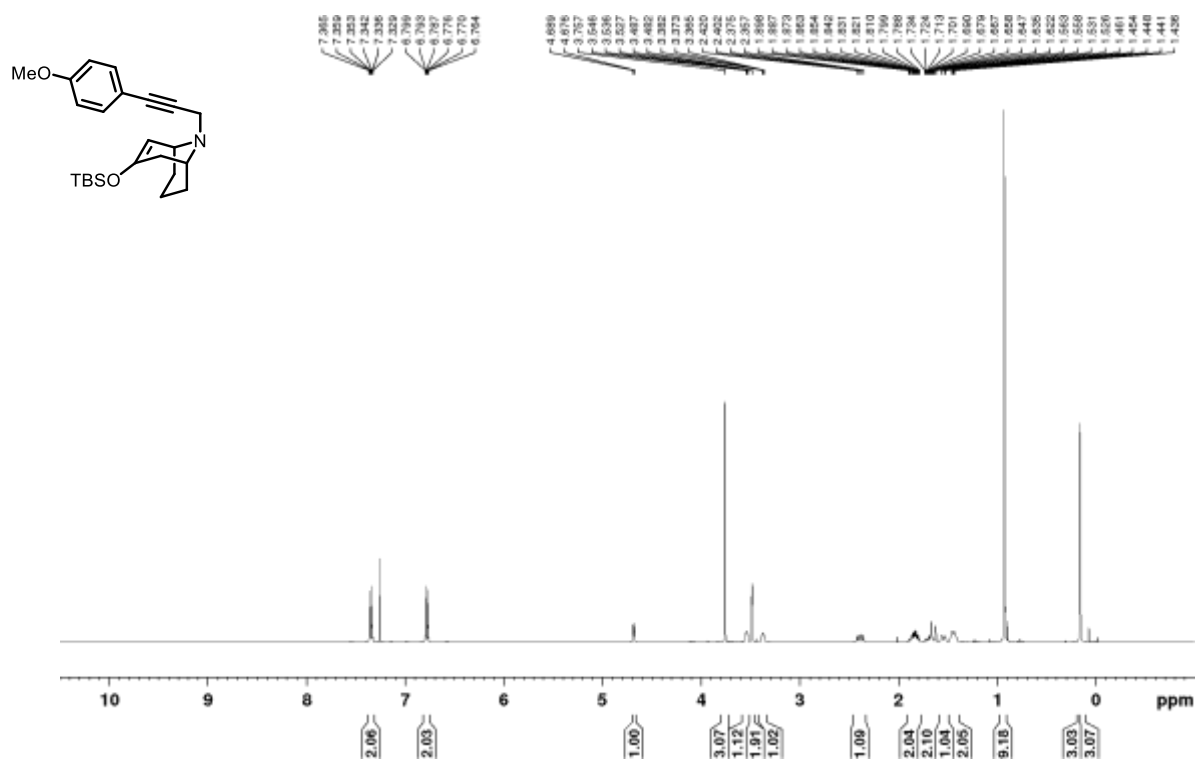
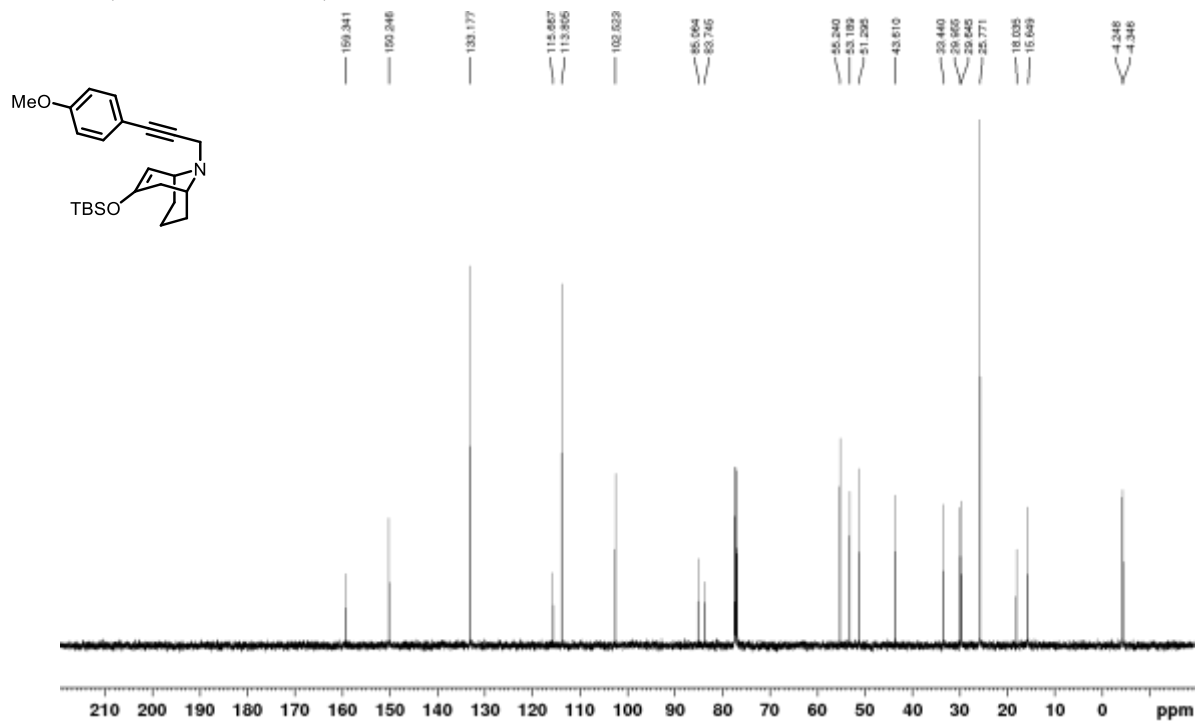
Silyl enol ether 8b

 ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) ^{13}C NMR (125 MHz, CDCl_3)

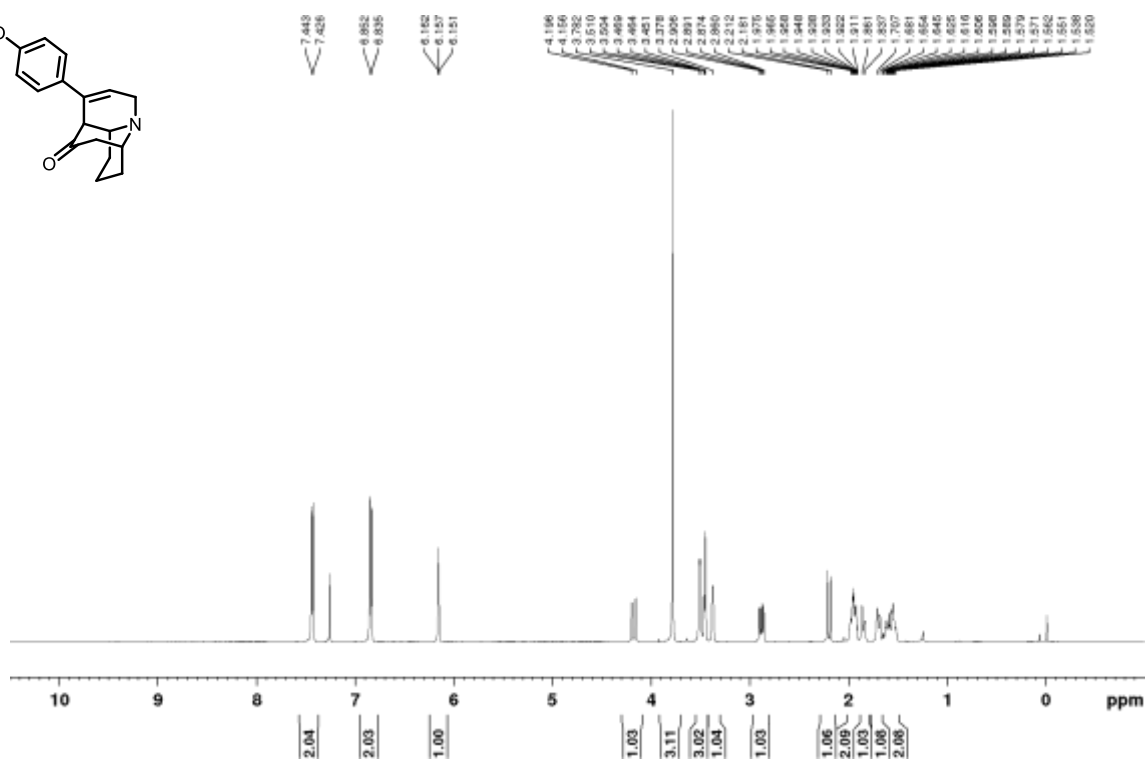
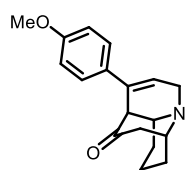
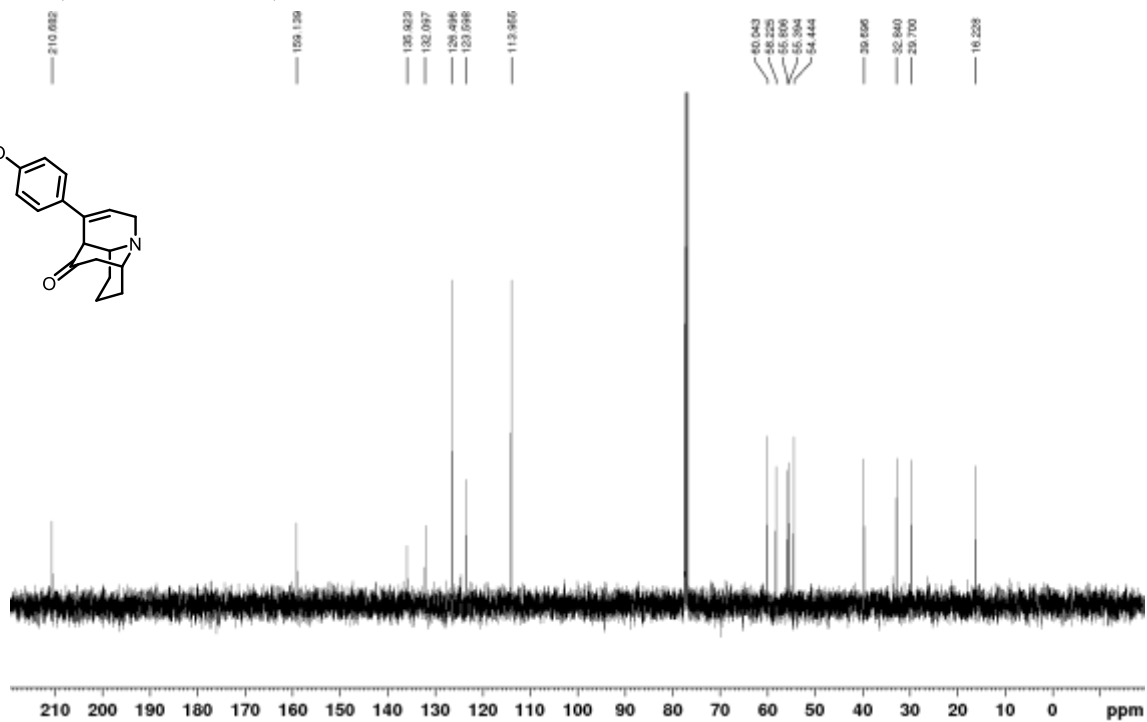
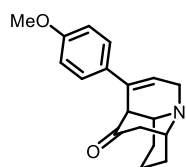
Ketone S1

 ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) ^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3)

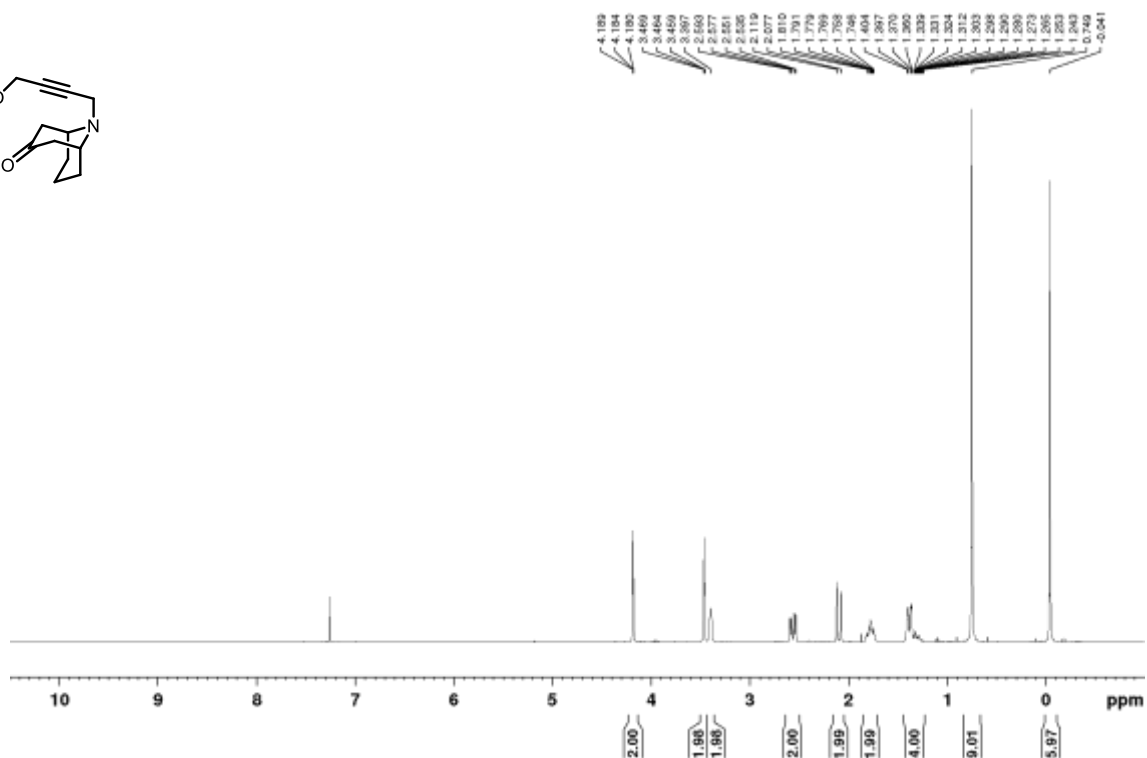
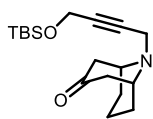
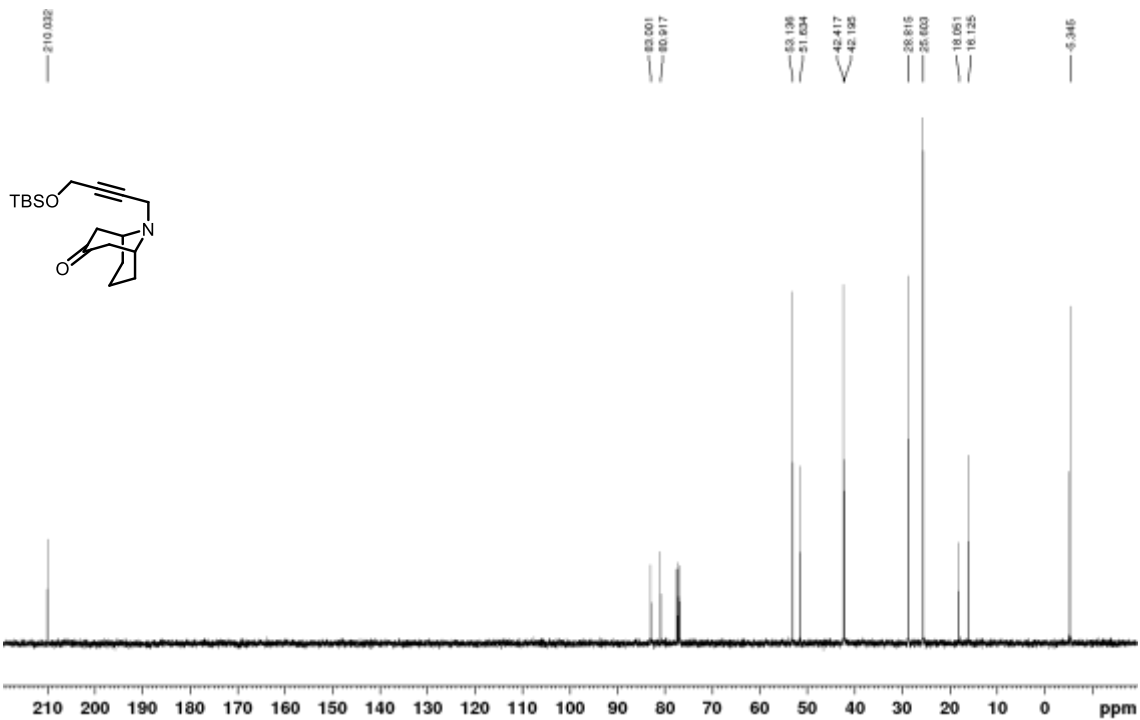
Silyl enol ether 8c

 ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) ^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3)

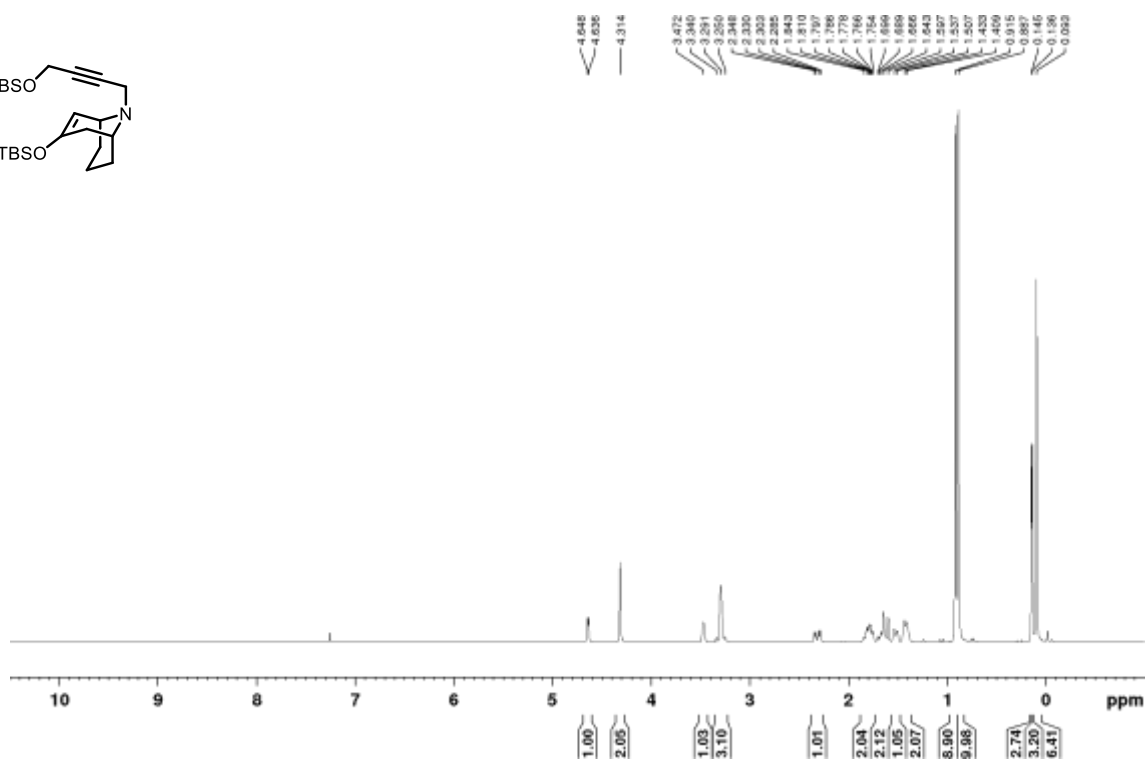
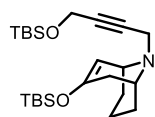
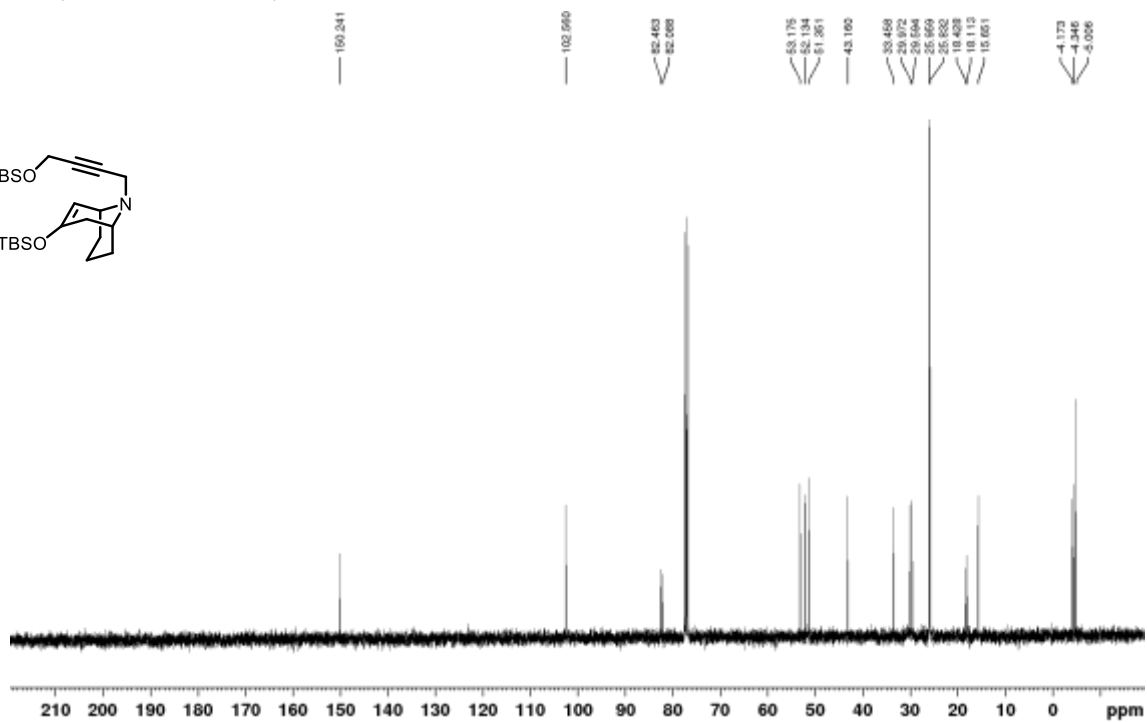
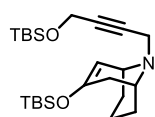
Azatricyclododecene 7c

 ^1H NMR (500 MHz, CDCl_3) ^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3)

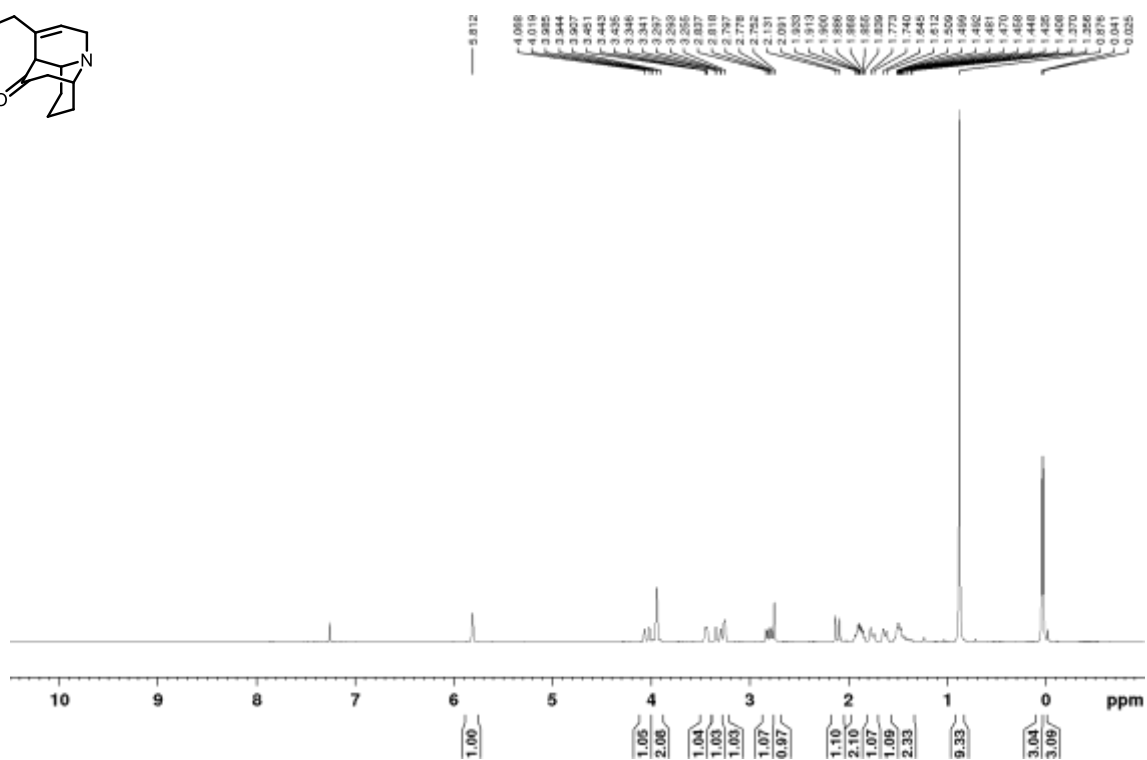
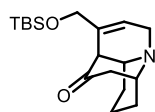
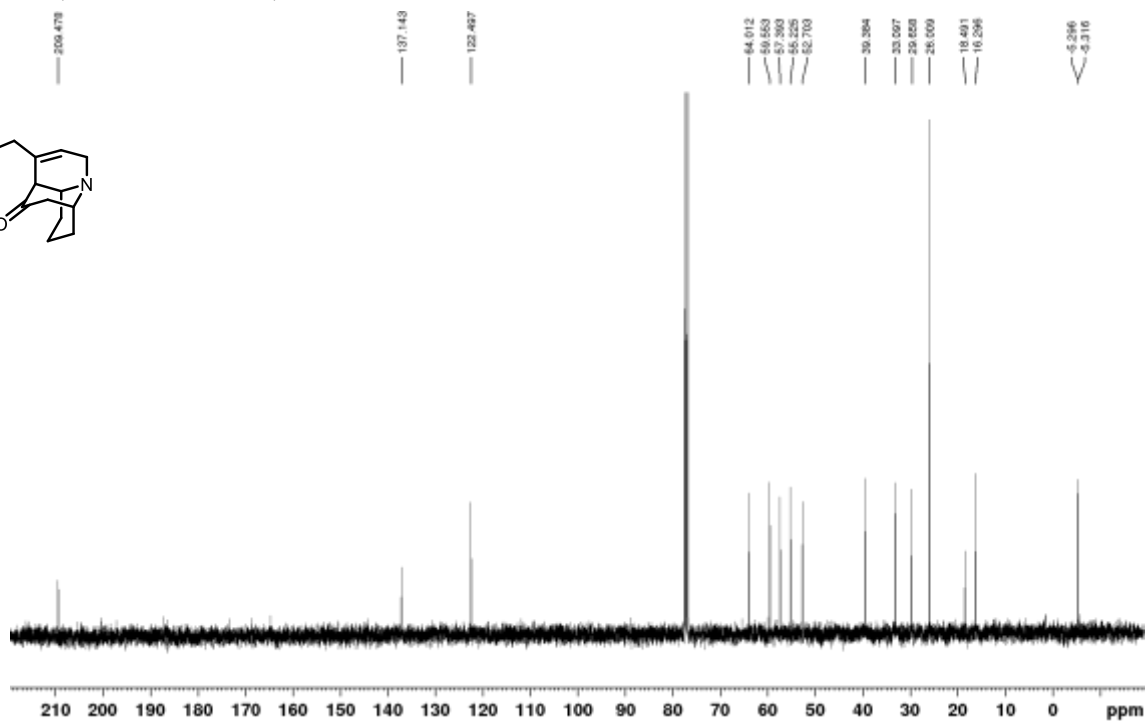
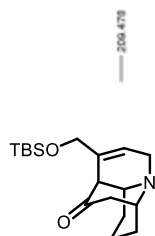
Ketone S2

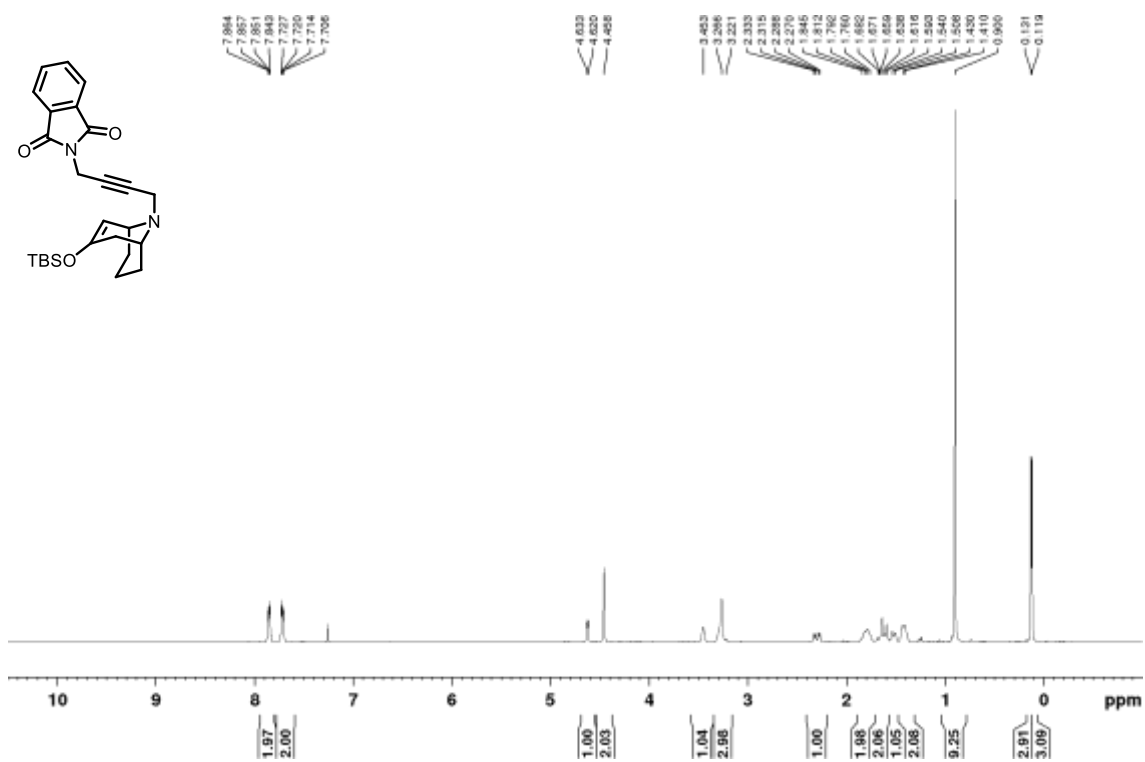
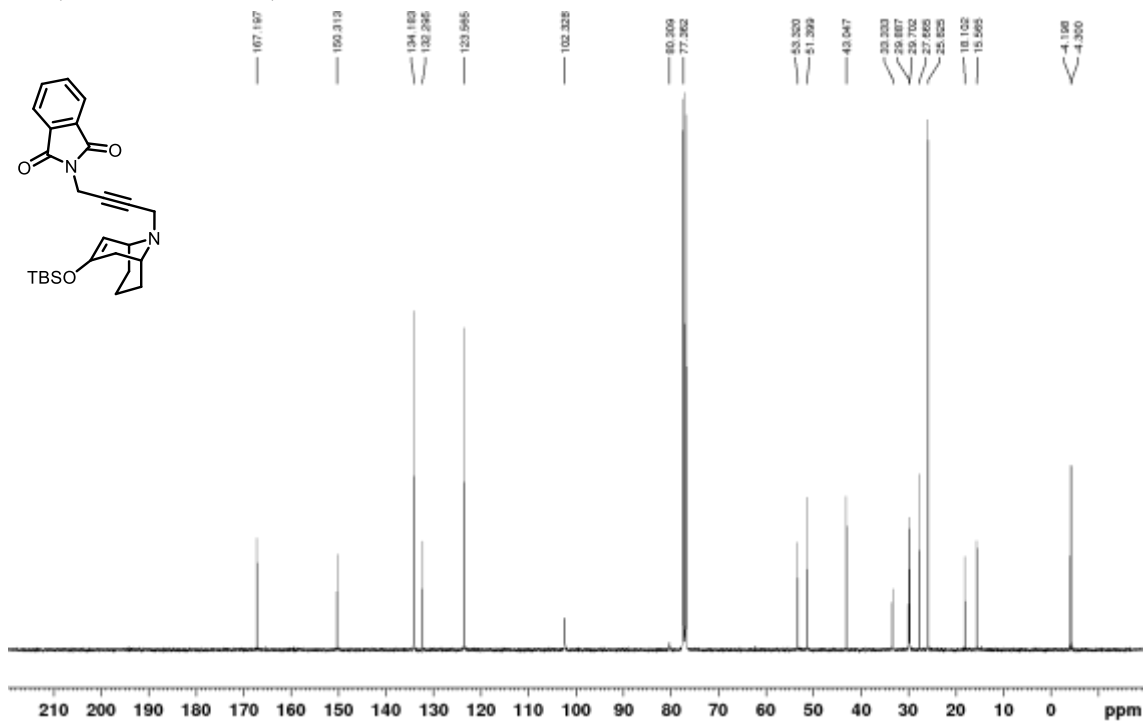
 ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) ^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3)

Silyl enol ether 8d

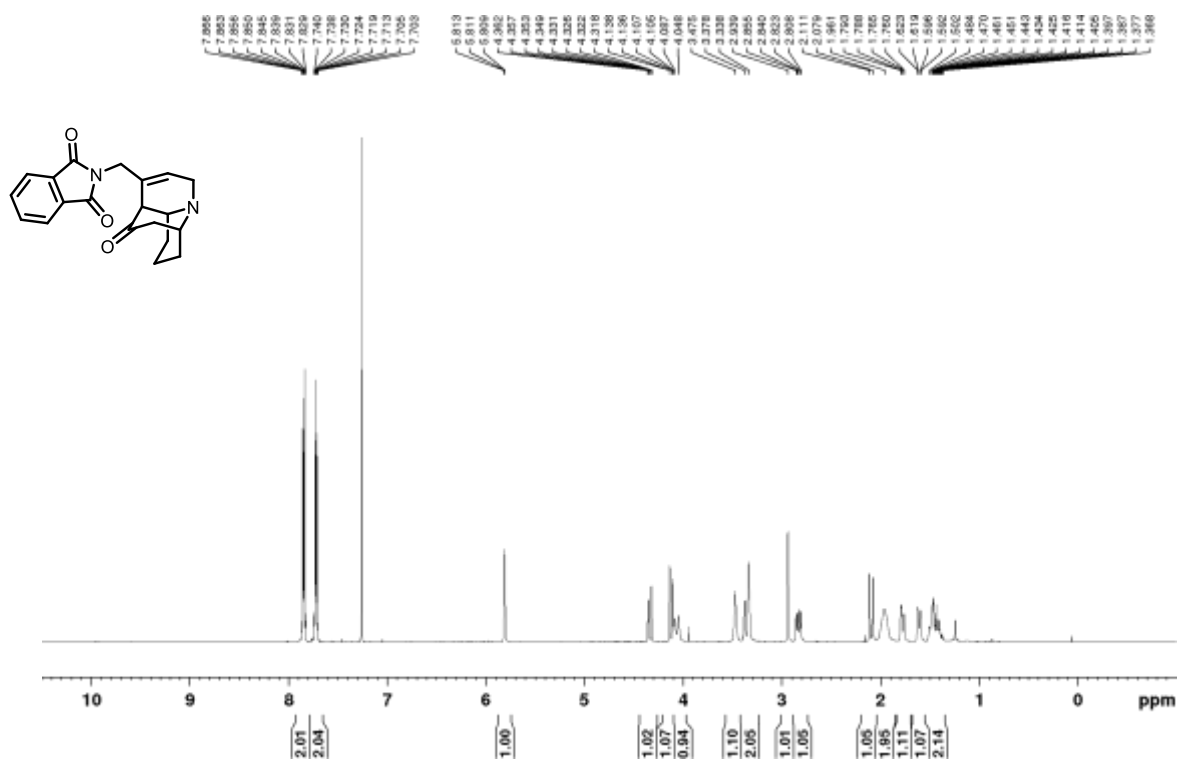
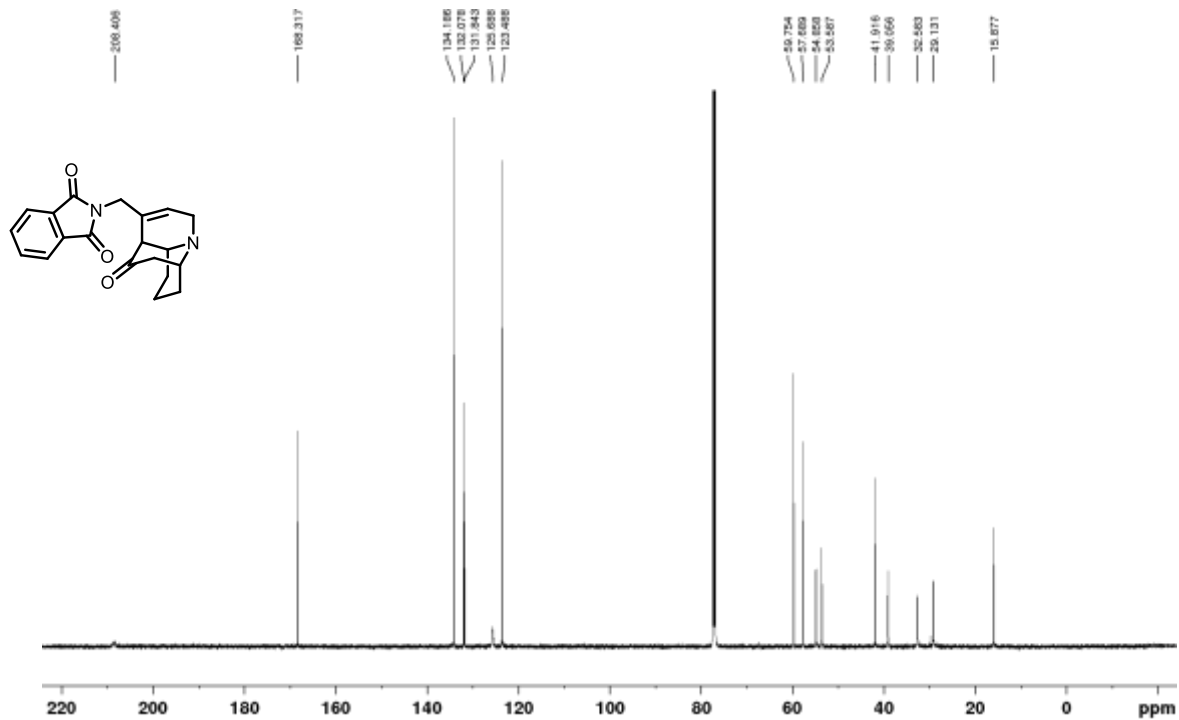
 ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) ^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3)

Azatricyclododecene 7d

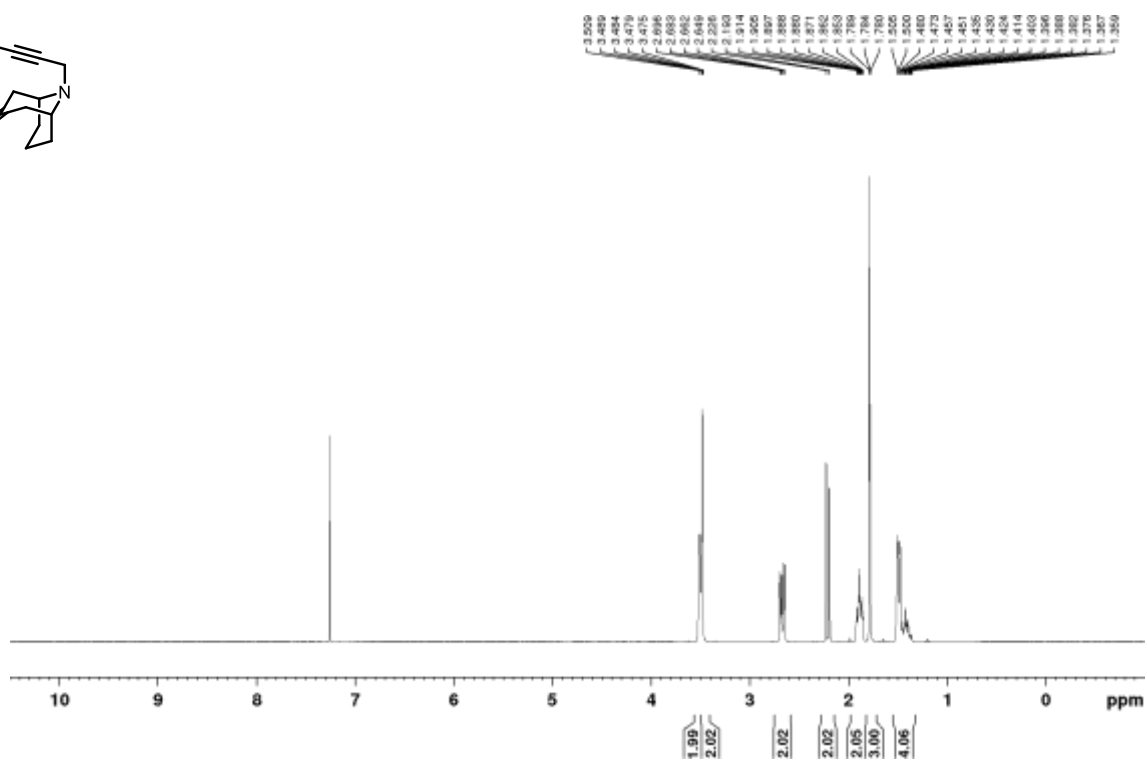
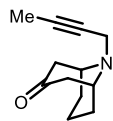
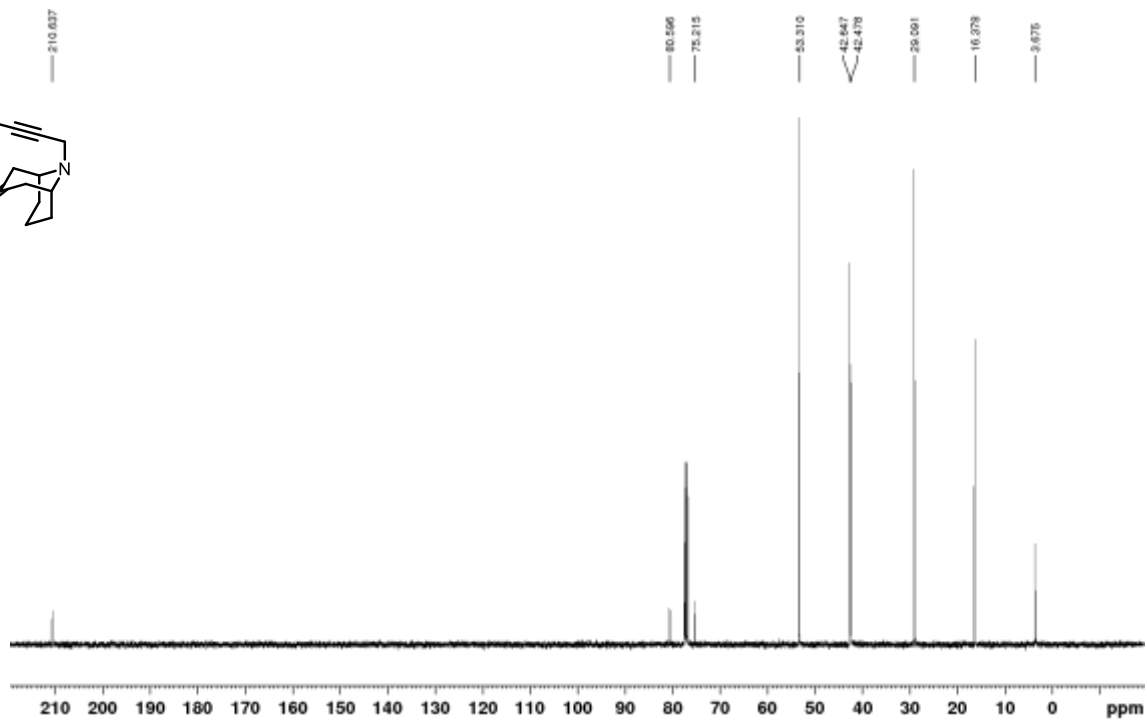
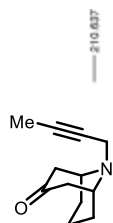
 ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) ^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3)

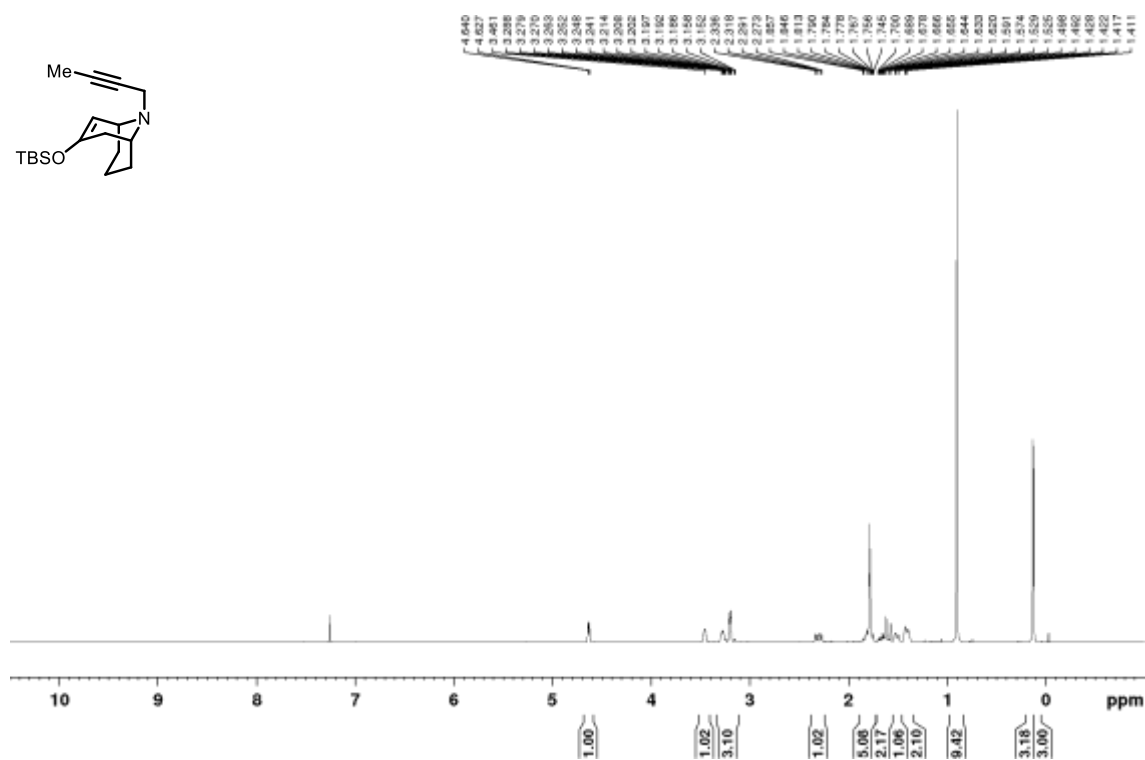
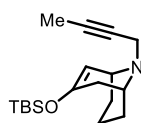
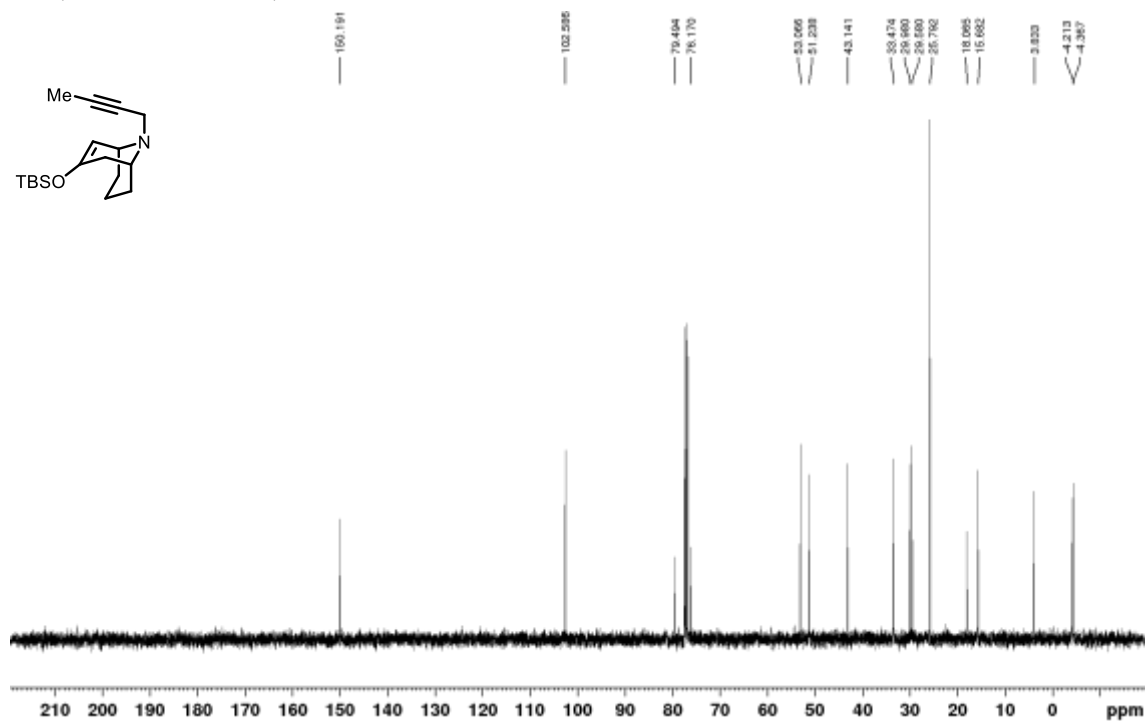
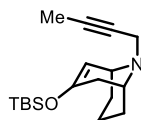
Silyl enol ether **8e** ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) ^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3)

Azatricyclododecene 7e

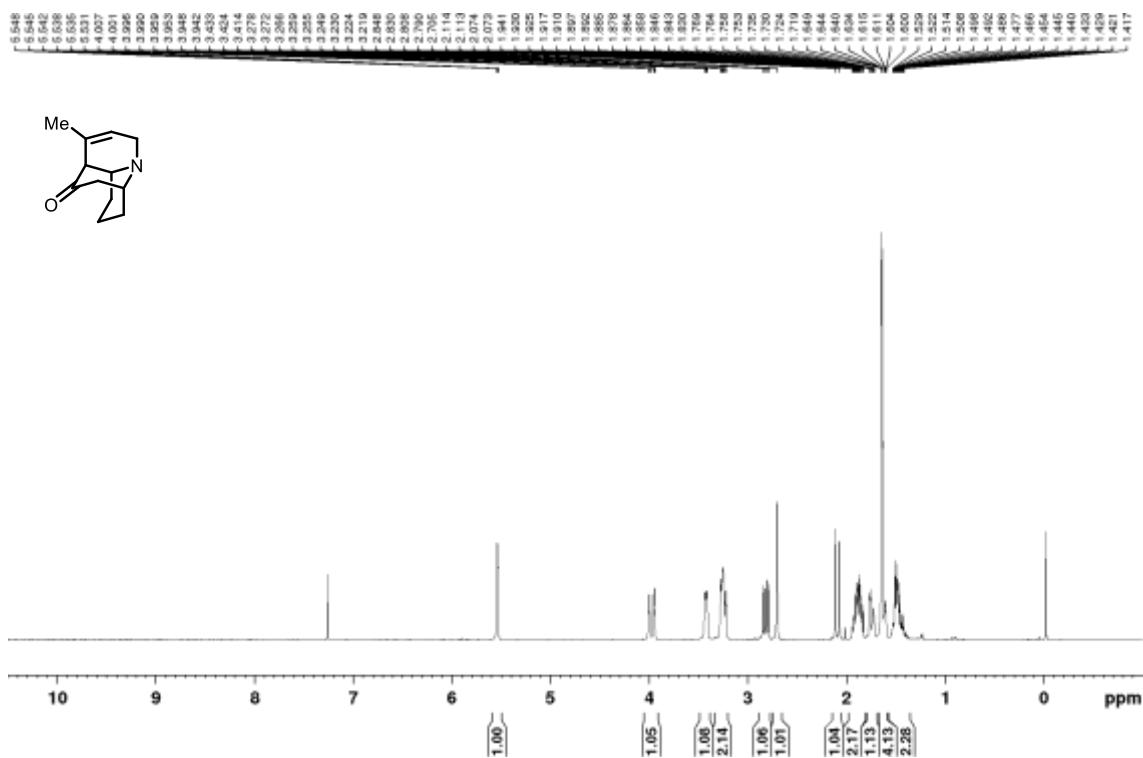
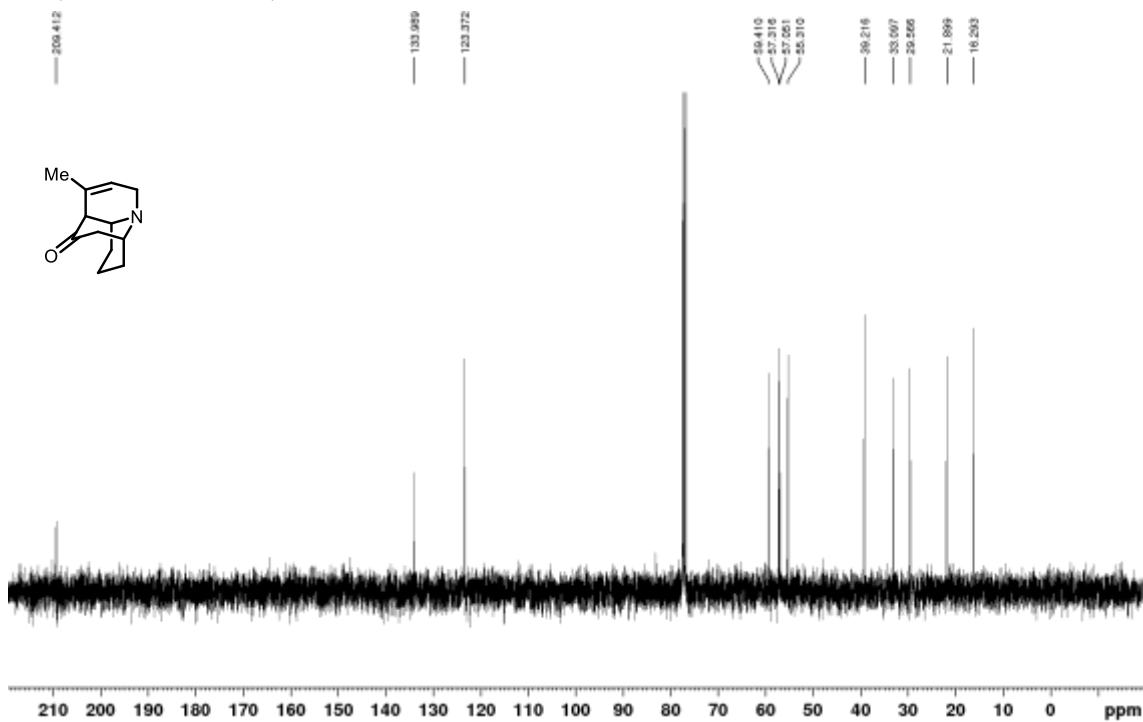
 ^1H NMR (500 MHz, CDCl_3) ^{13}C NMR (125 MHz, CDCl_3)

Ketone S5

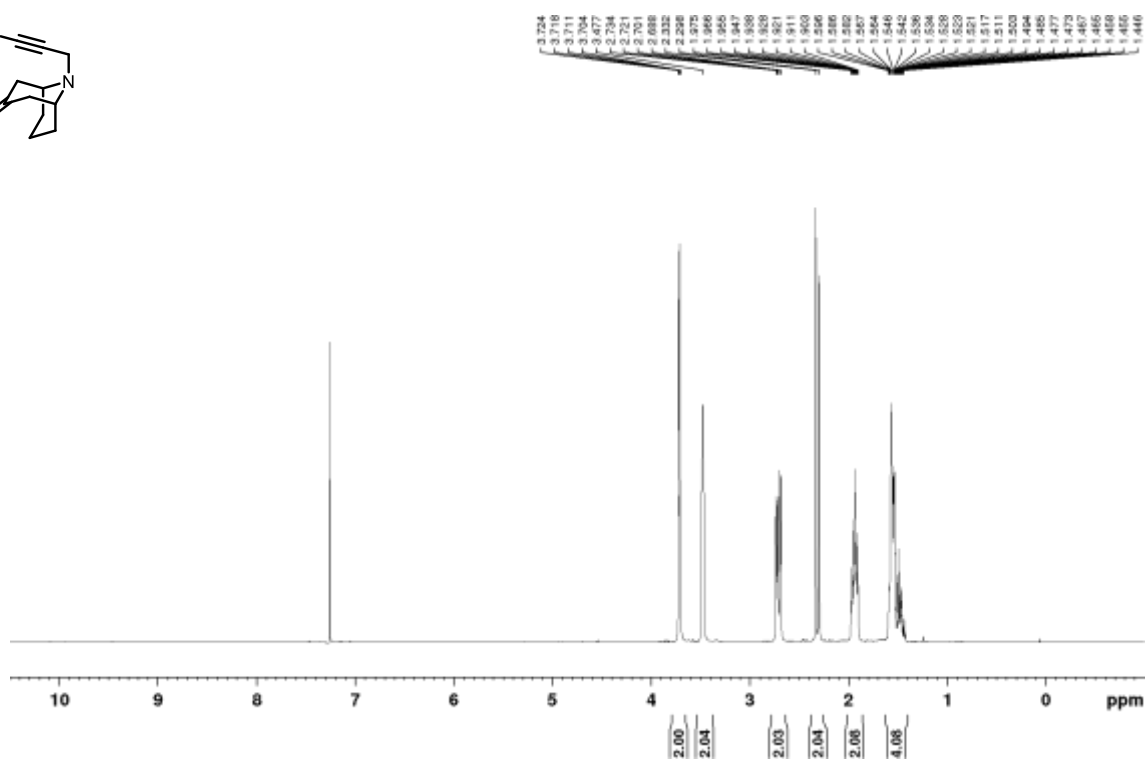
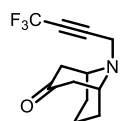
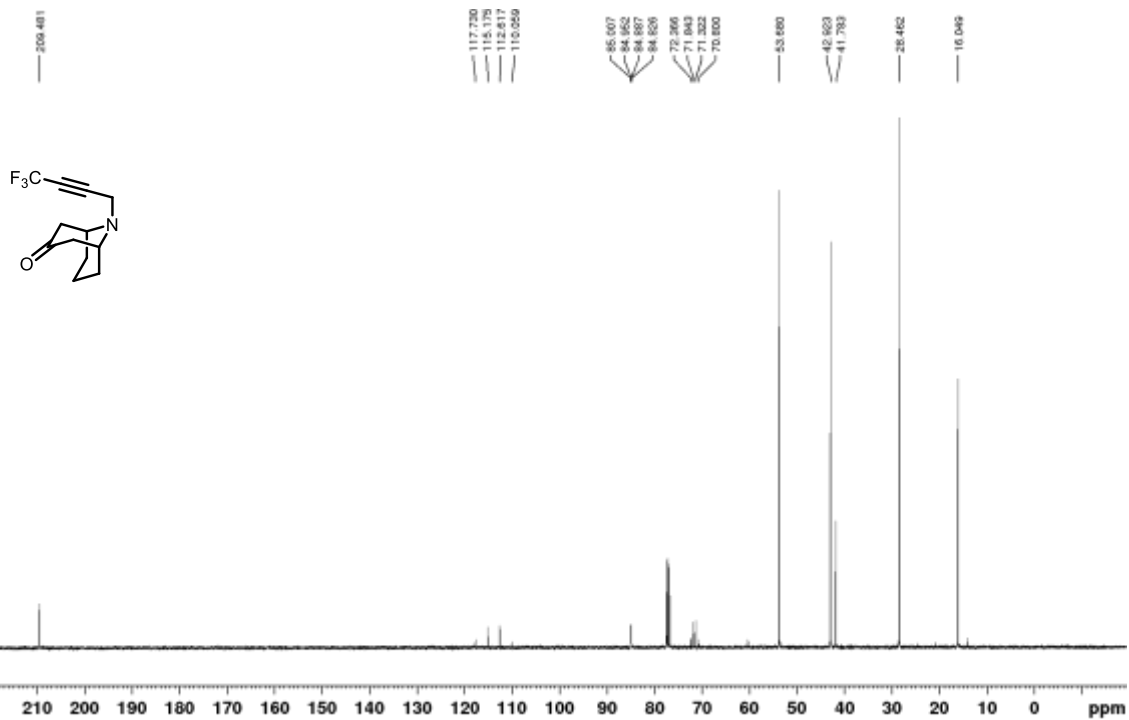
 ^1H NMR (500 MHz, CDCl_3) ^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3)

Silyl enol ether **8f** ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) ^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3)

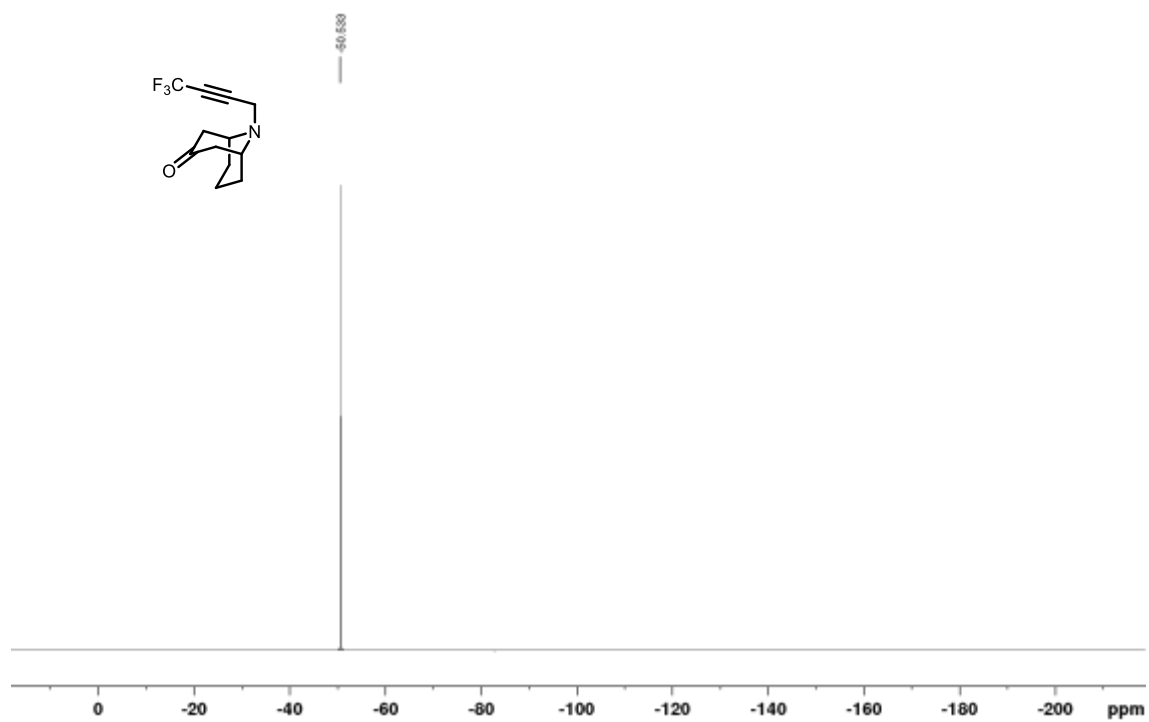
Azatricyclododecene 7f

 ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) ^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3)

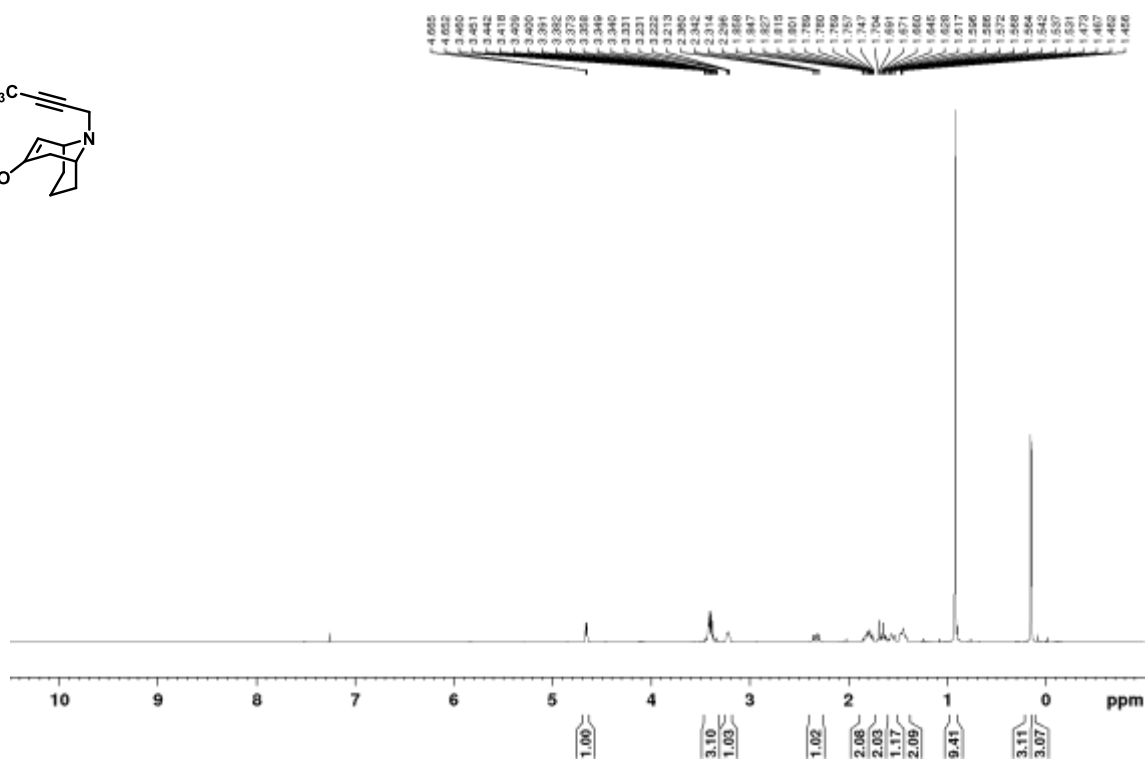
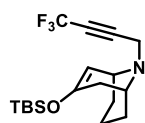
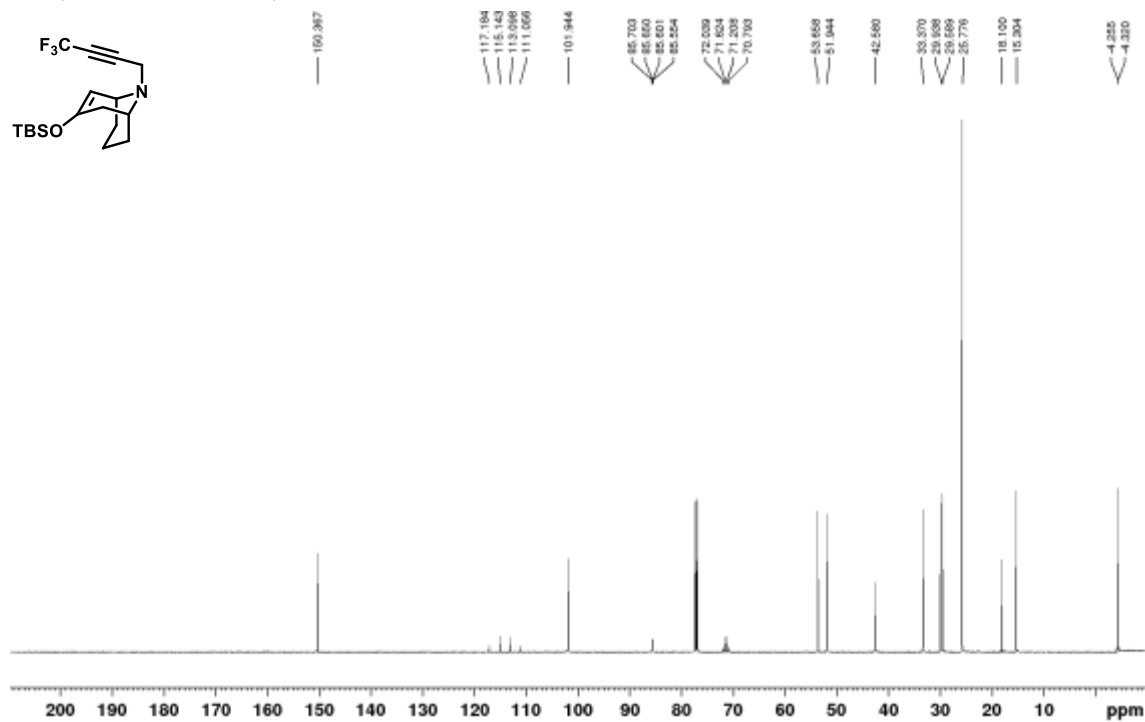
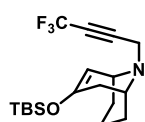
Ketone S6

 ^1H NMR (500 MHz, CDCl_3) ^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3)

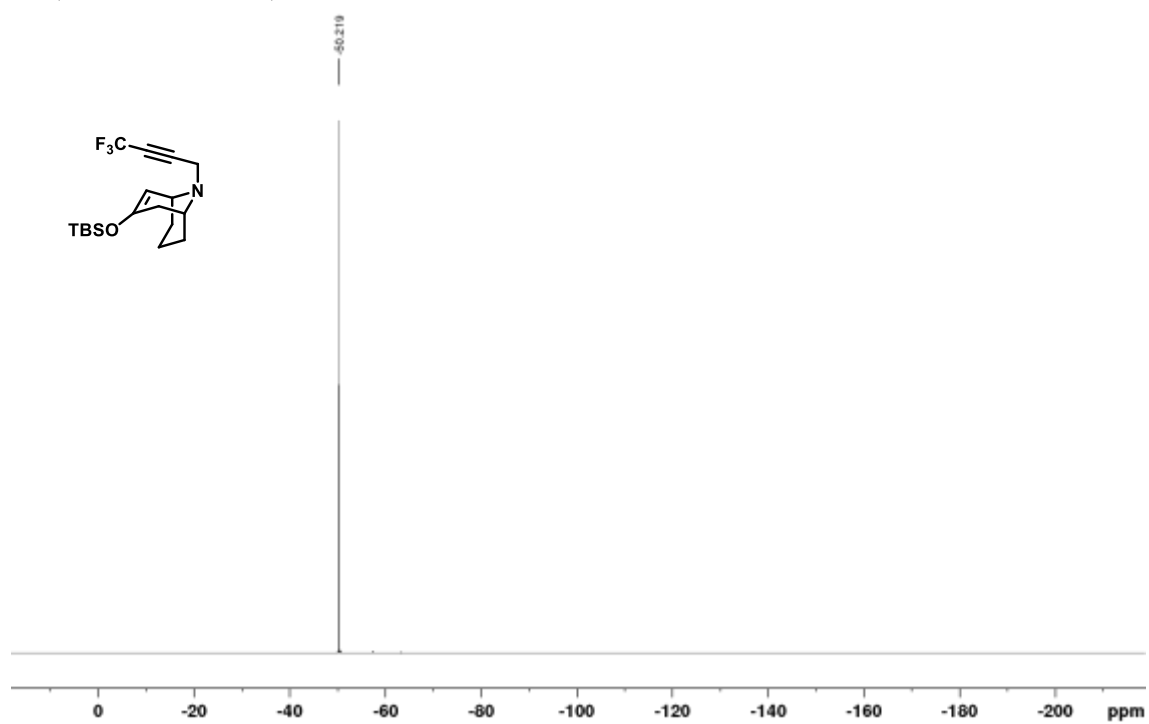
^{19}F NMR (376 MHz, CDCl_3)



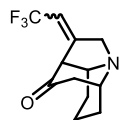
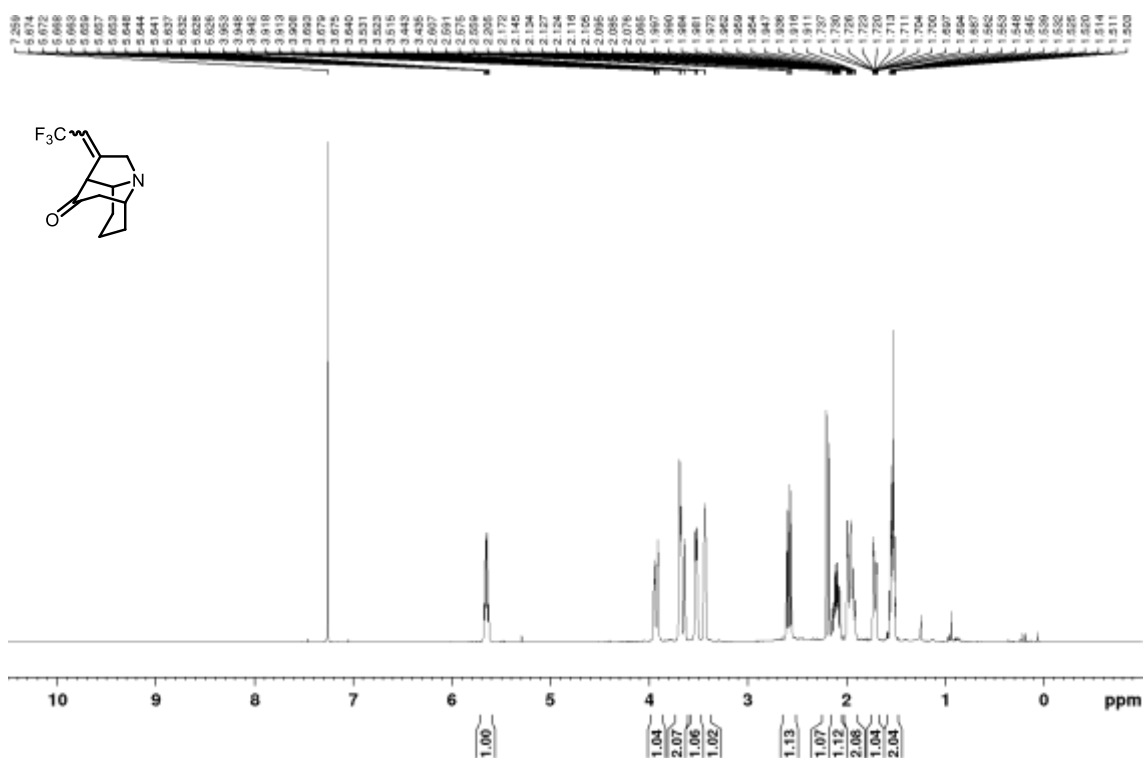
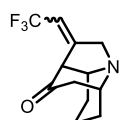
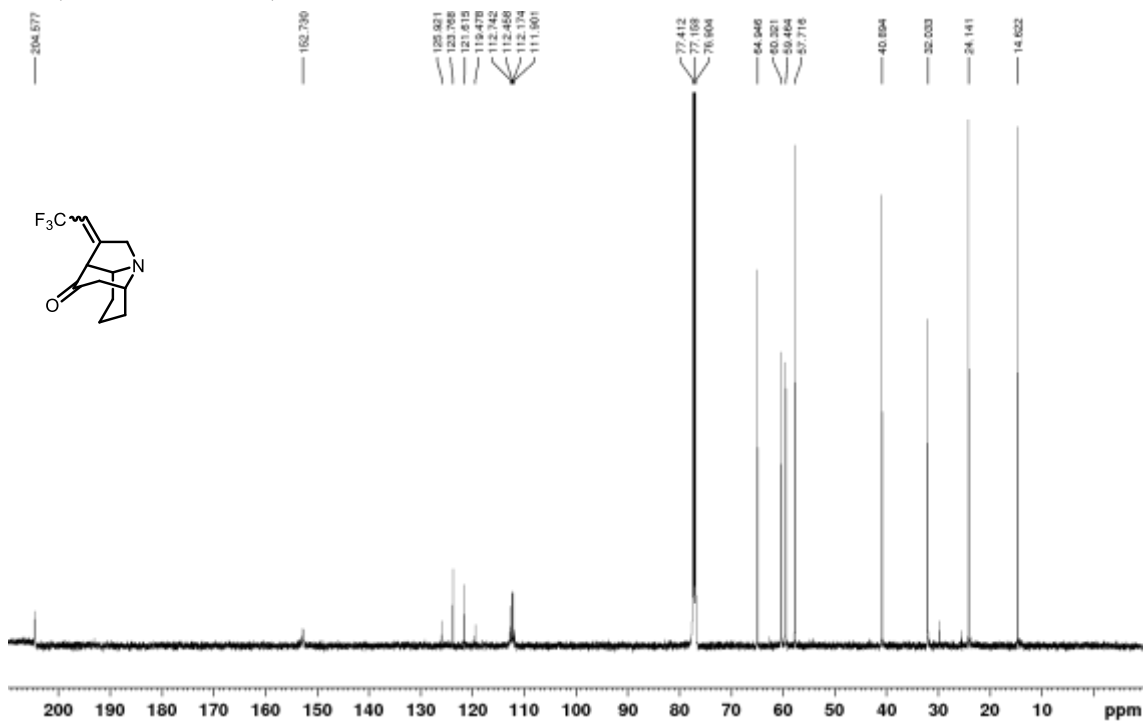
Silyl enol ether 8g

 ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) ^{13}C NMR (125 MHz, CDCl_3)

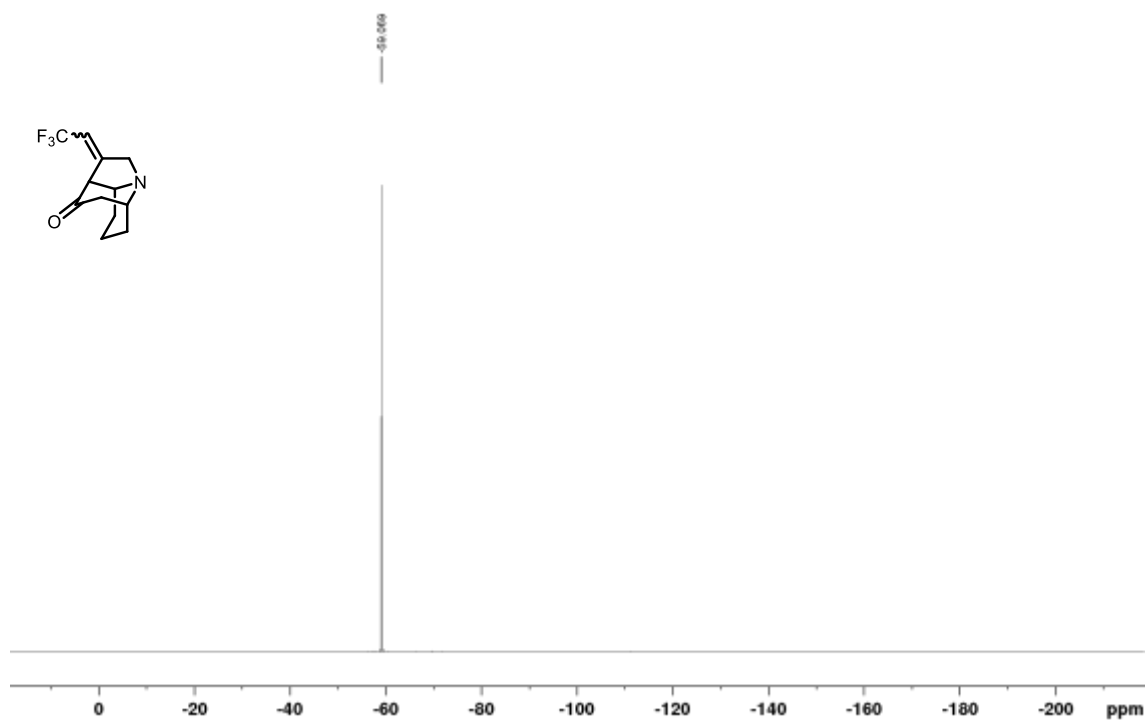
^{19}F NMR (376 MHz, CDCl_3)



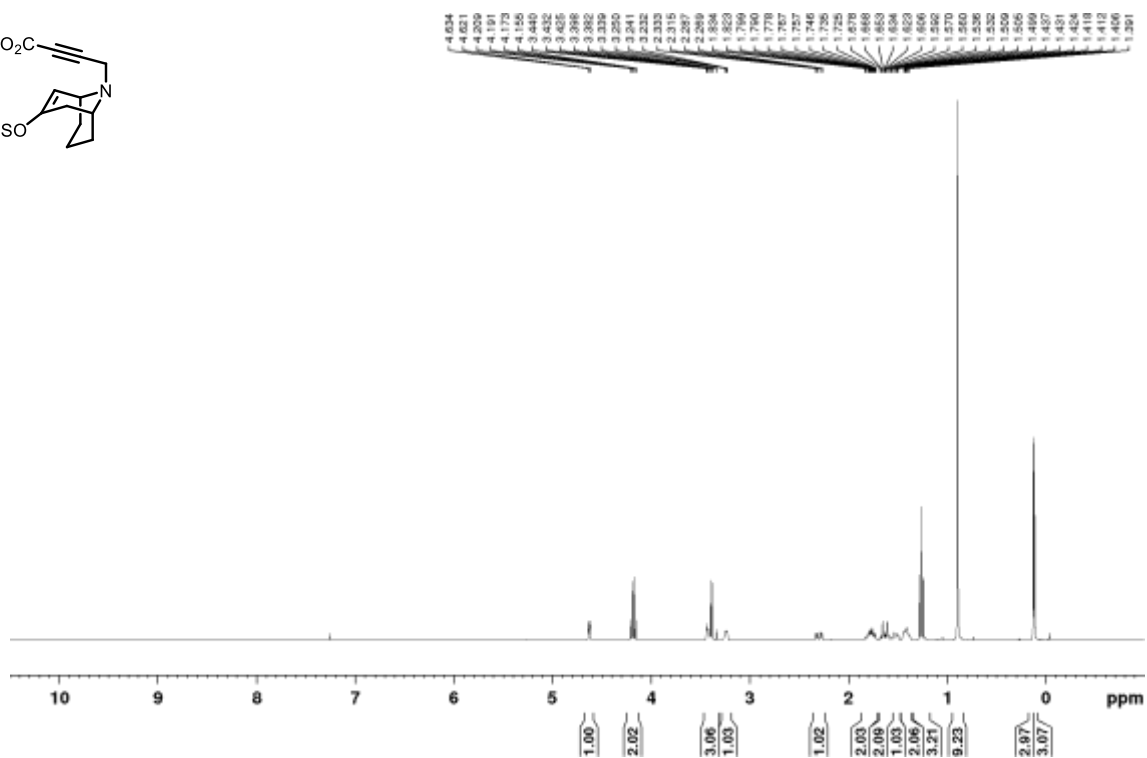
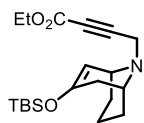
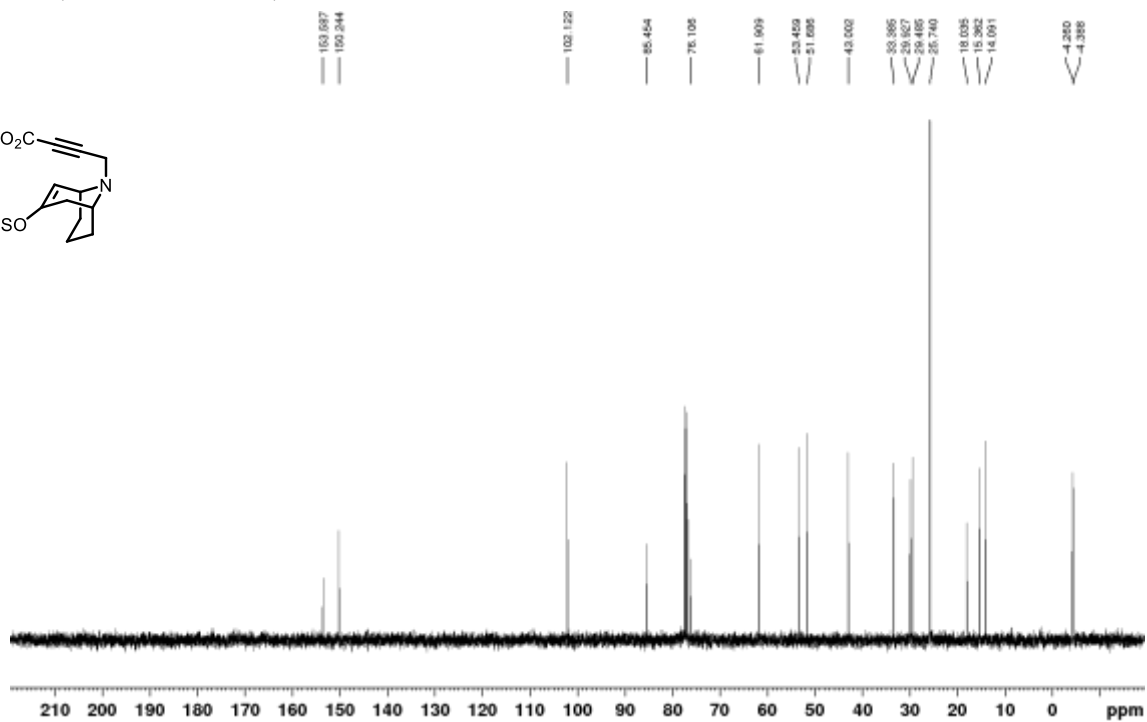
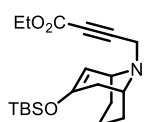
Azatricyclododecene 17g

 ^1H NMR (500 MHz, CDCl_3) ^{13}C NMR (125 MHz, CDCl_3)

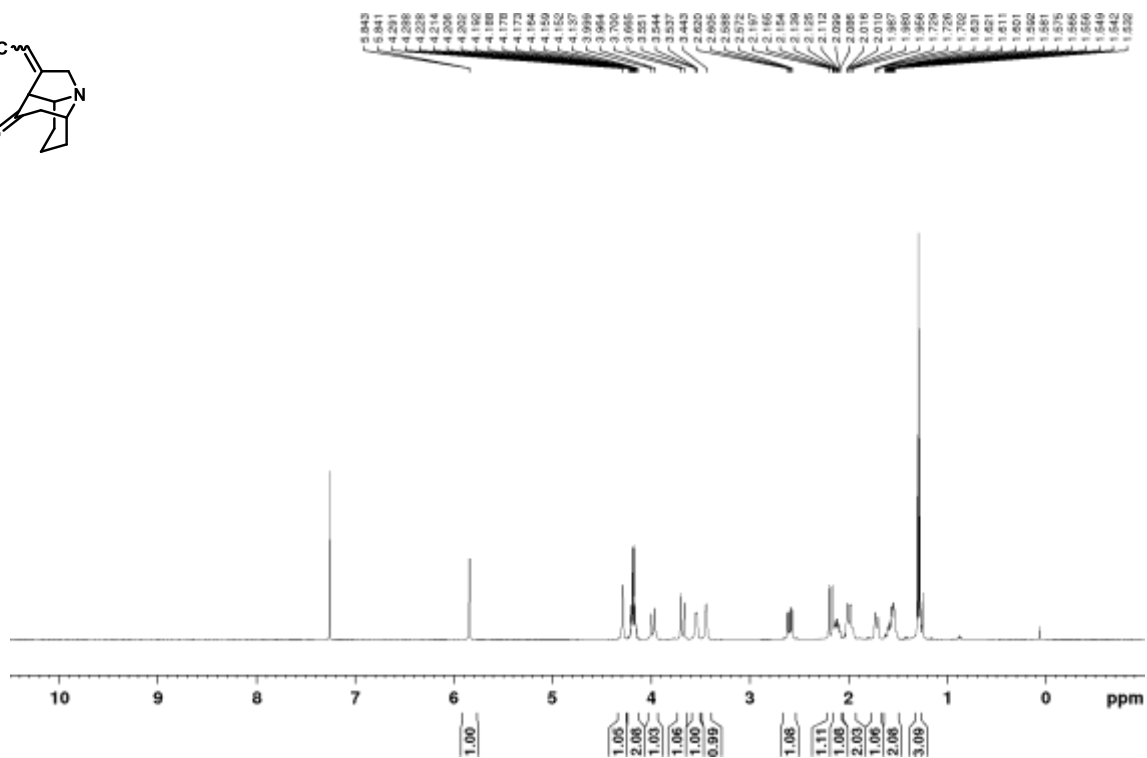
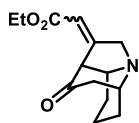
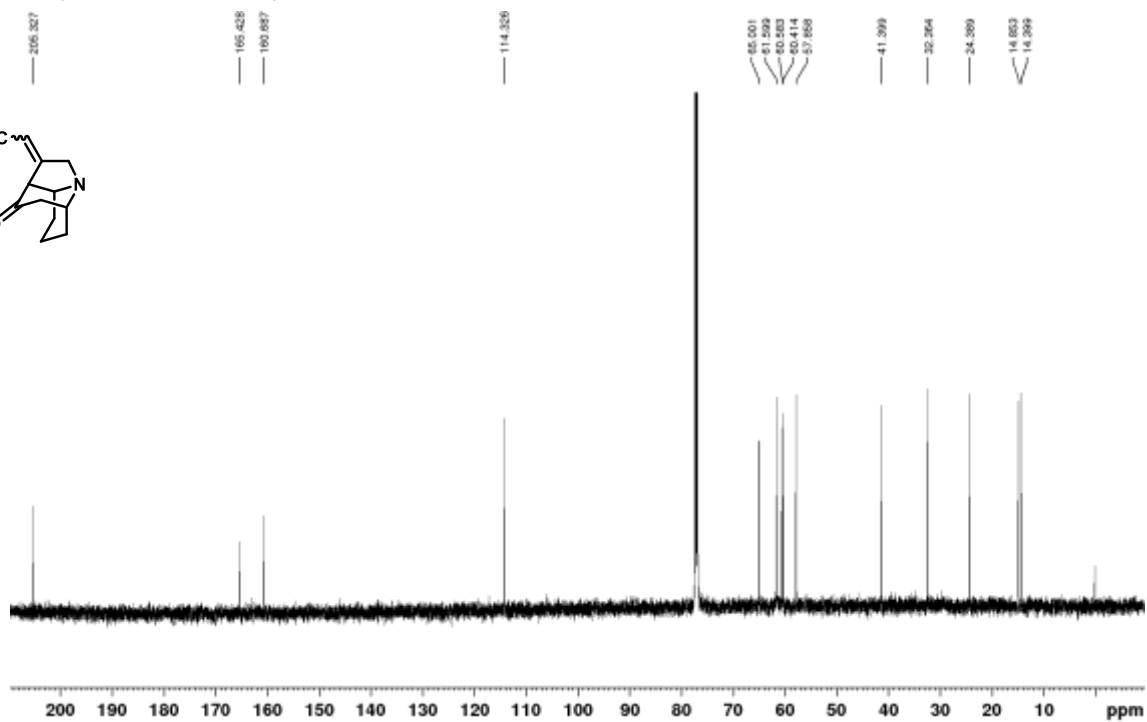
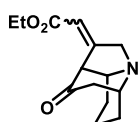
^{19}F NMR (376 MHz, CDCl_3)



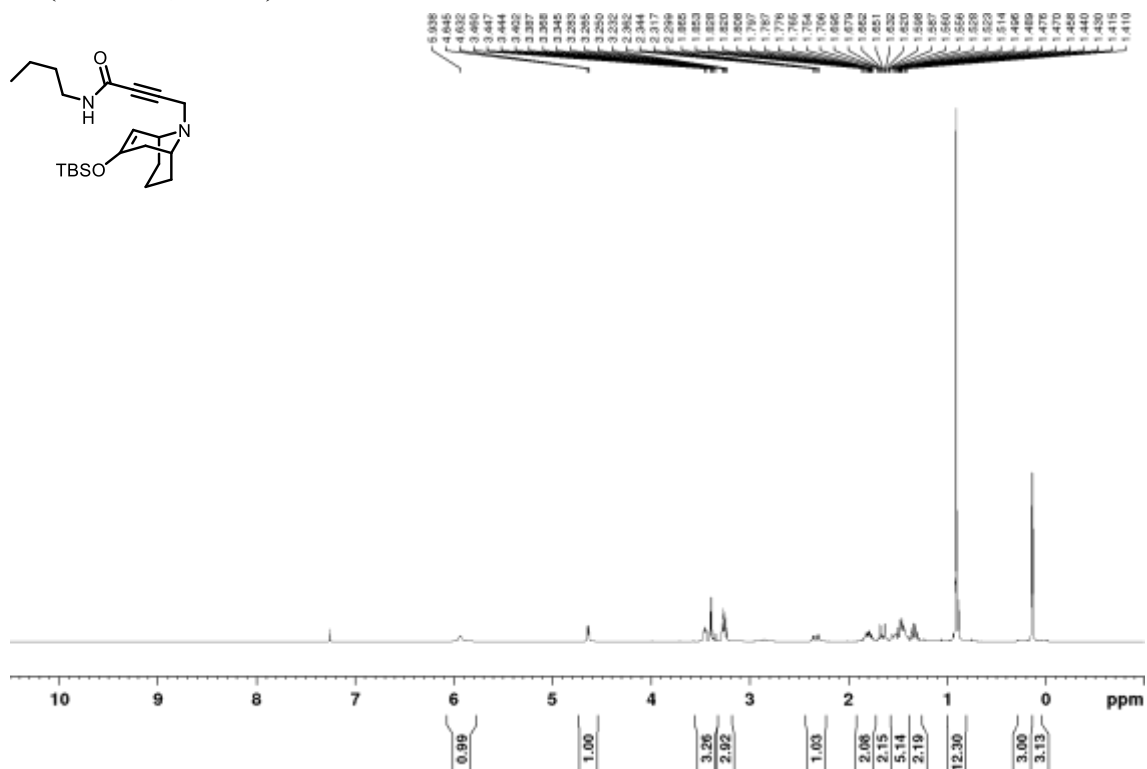
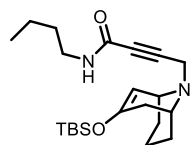
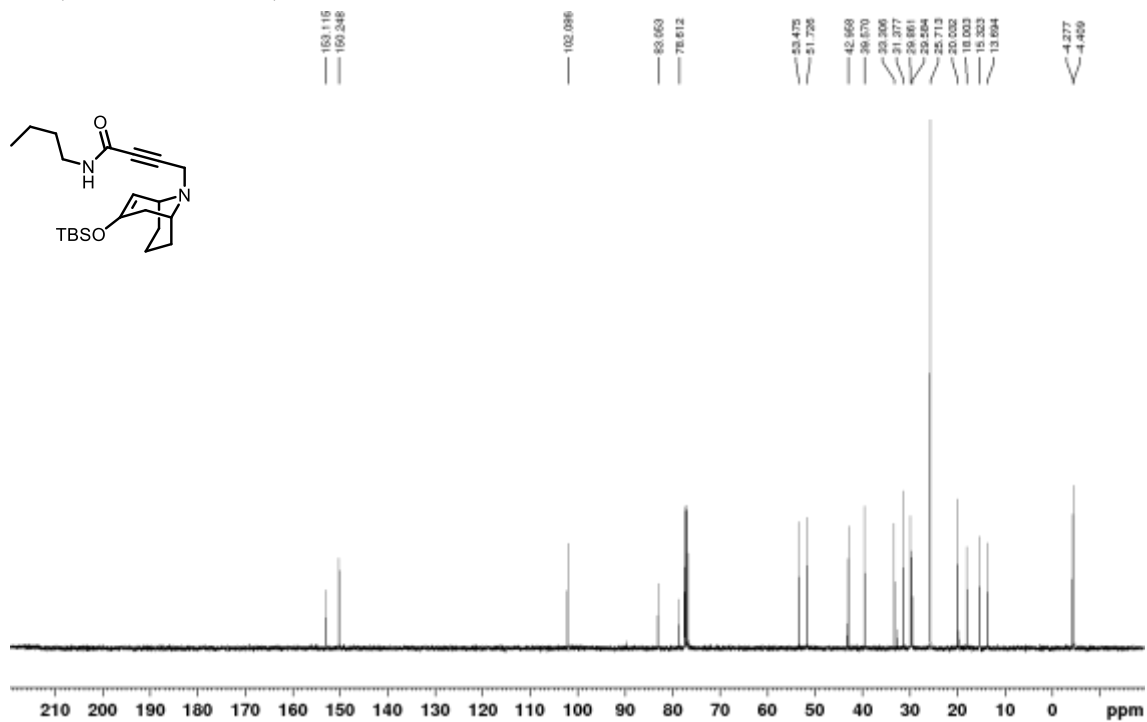
Silyl enol ether 8h

 ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) ^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3)

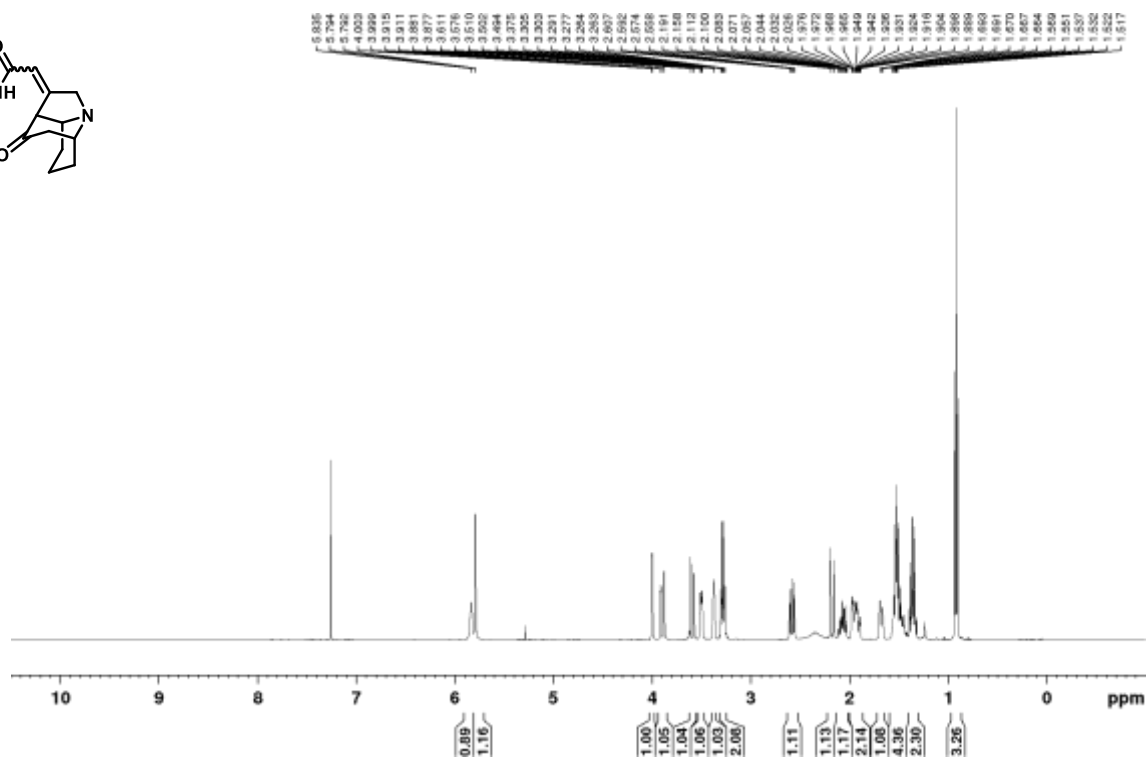
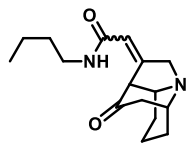
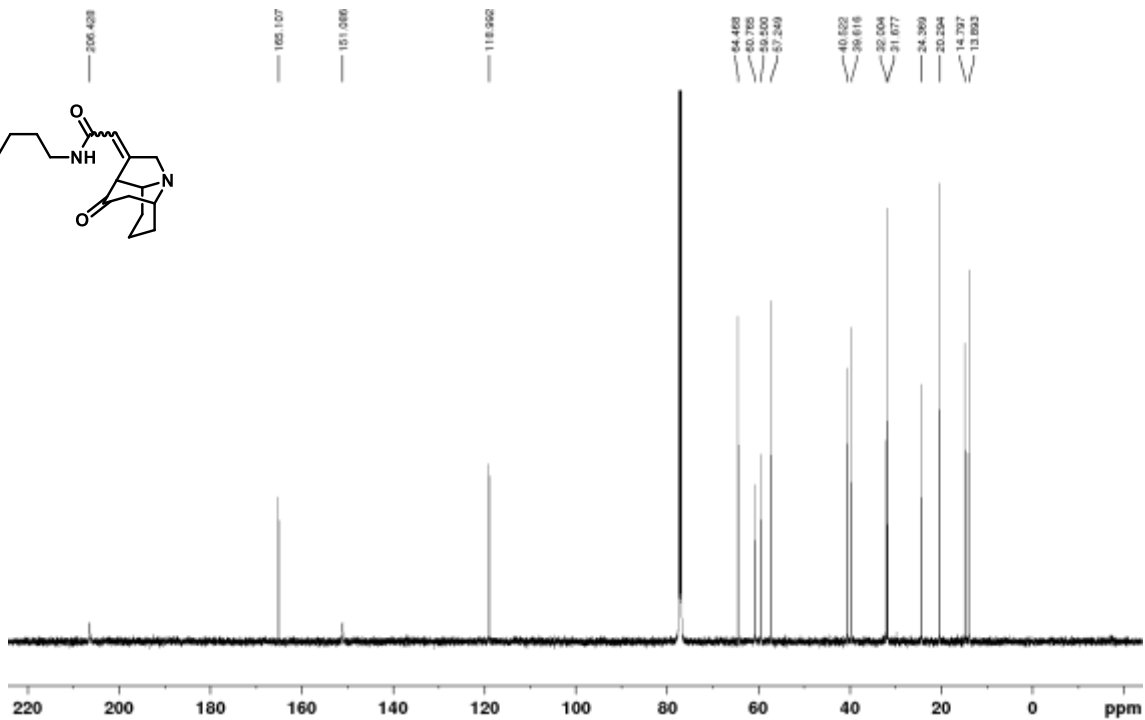
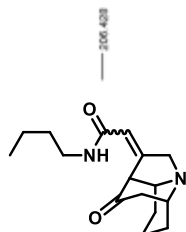
Azatricyclododecene 17h

 ^1H NMR (500 MHz, CDCl_3) ^{13}C NMR (125 MHz, CDCl_3)

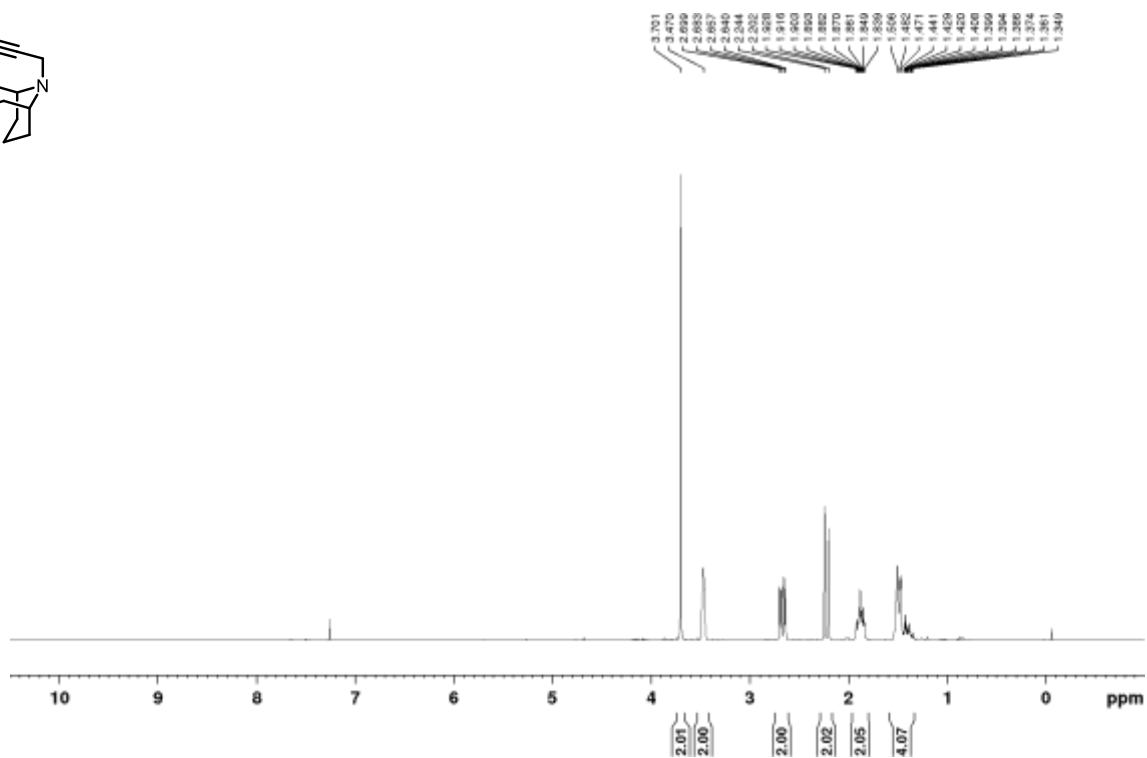
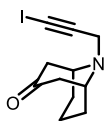
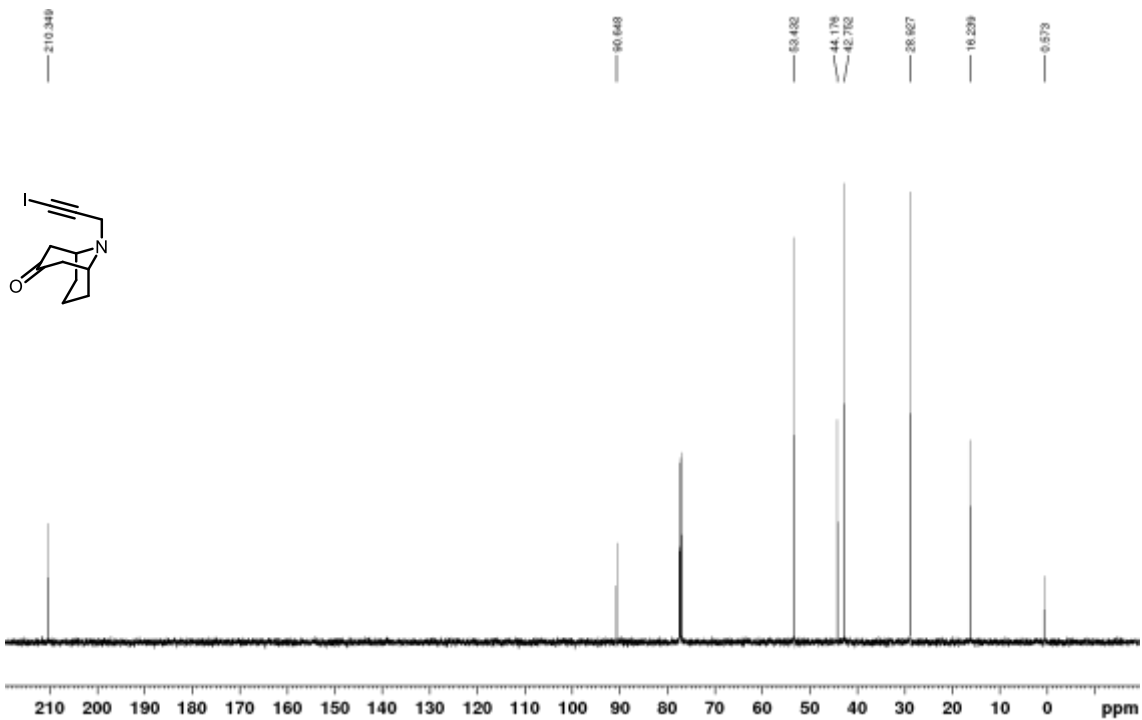
Silyl enol ether 8i

 ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) ^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3)

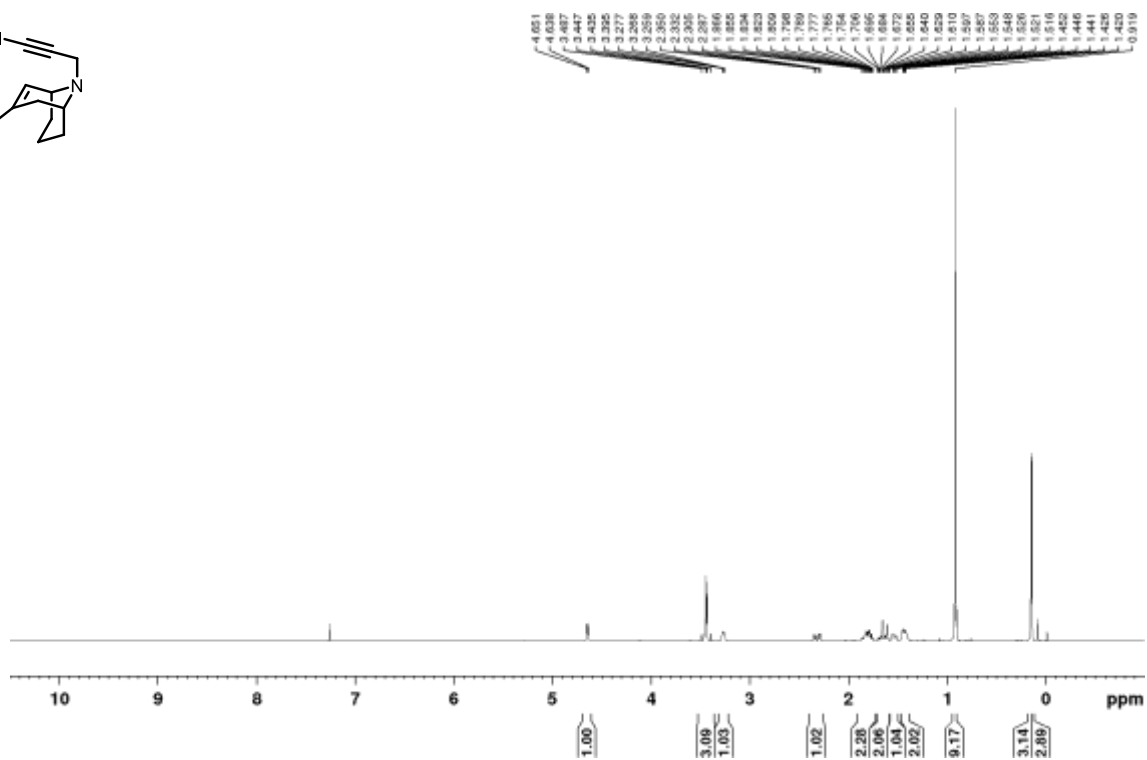
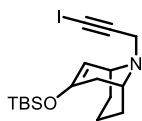
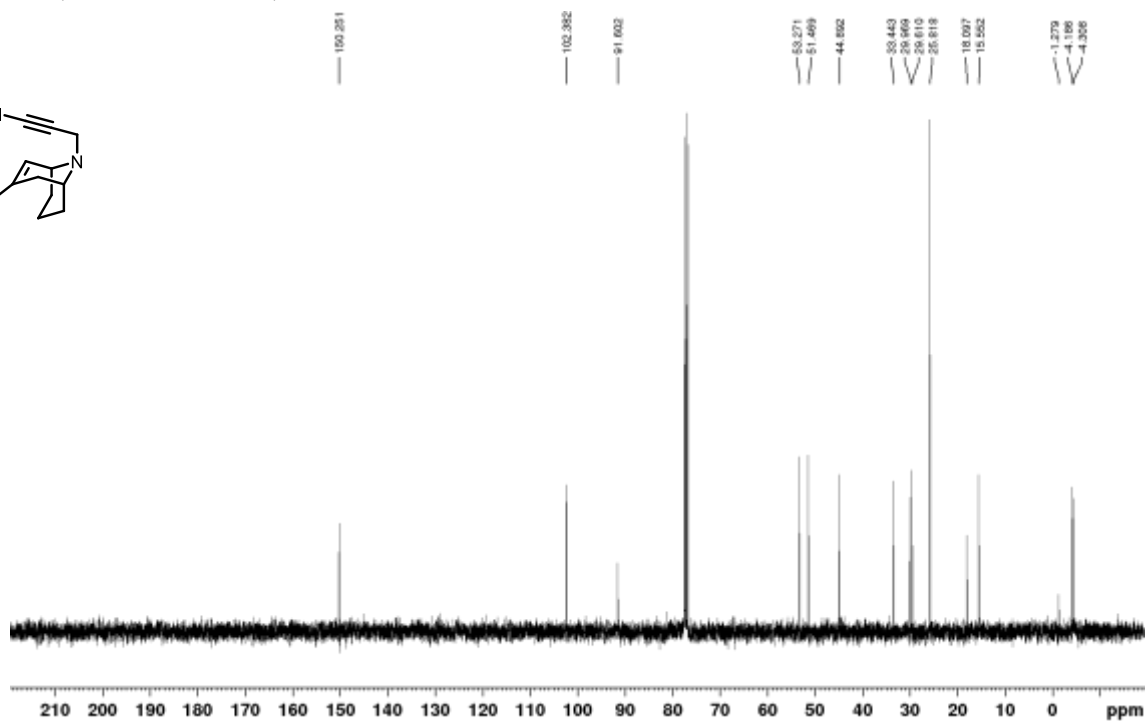
Azatricyclododecene 17i

 ^1H NMR (500 MHz, CDCl_3) ^{13}C NMR (125 MHz, CDCl_3)

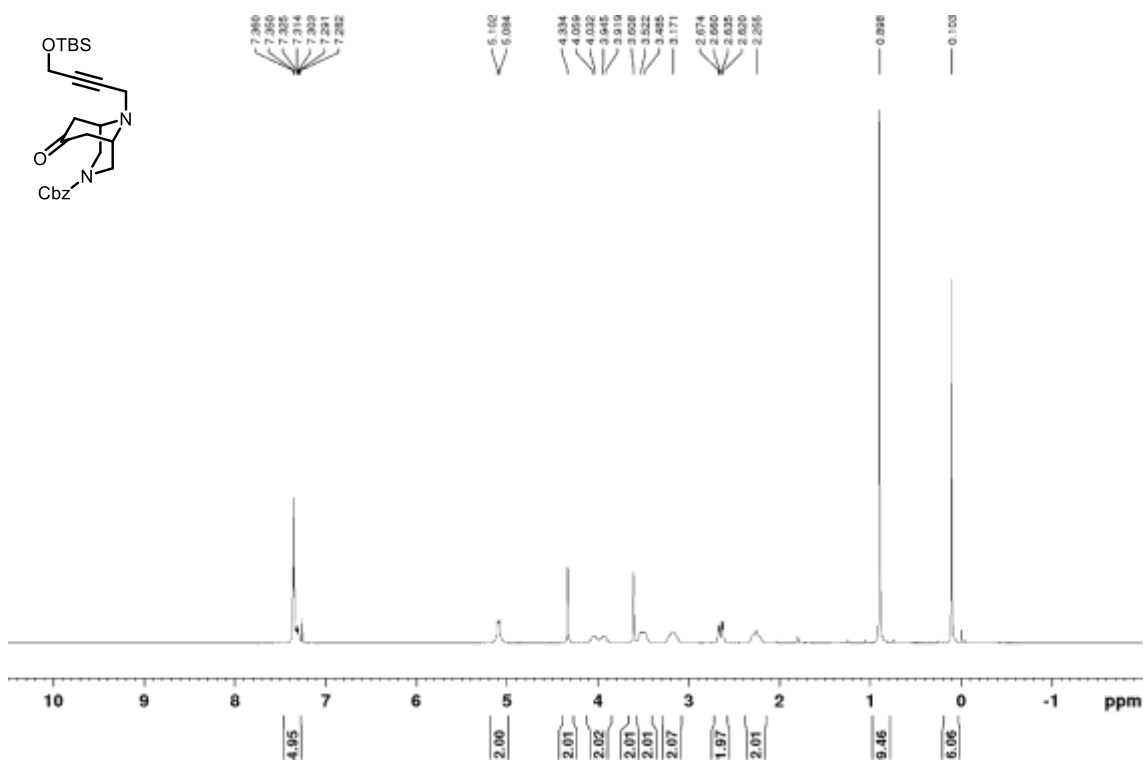
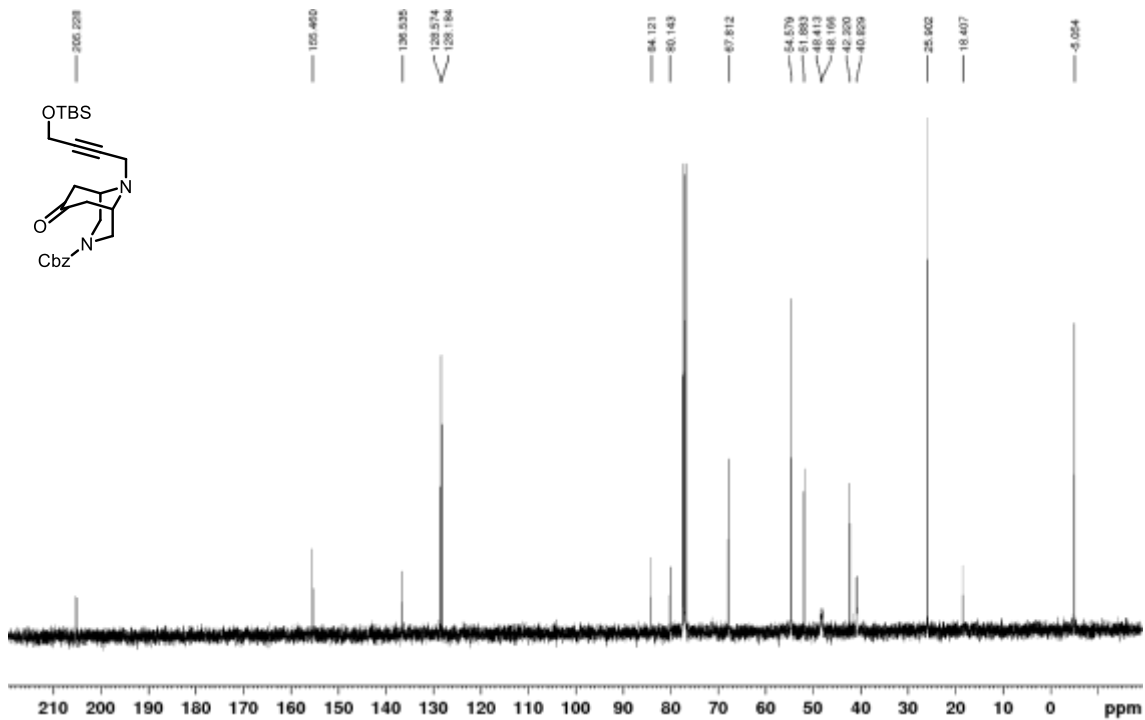
Ketone S7

 ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) ^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3)

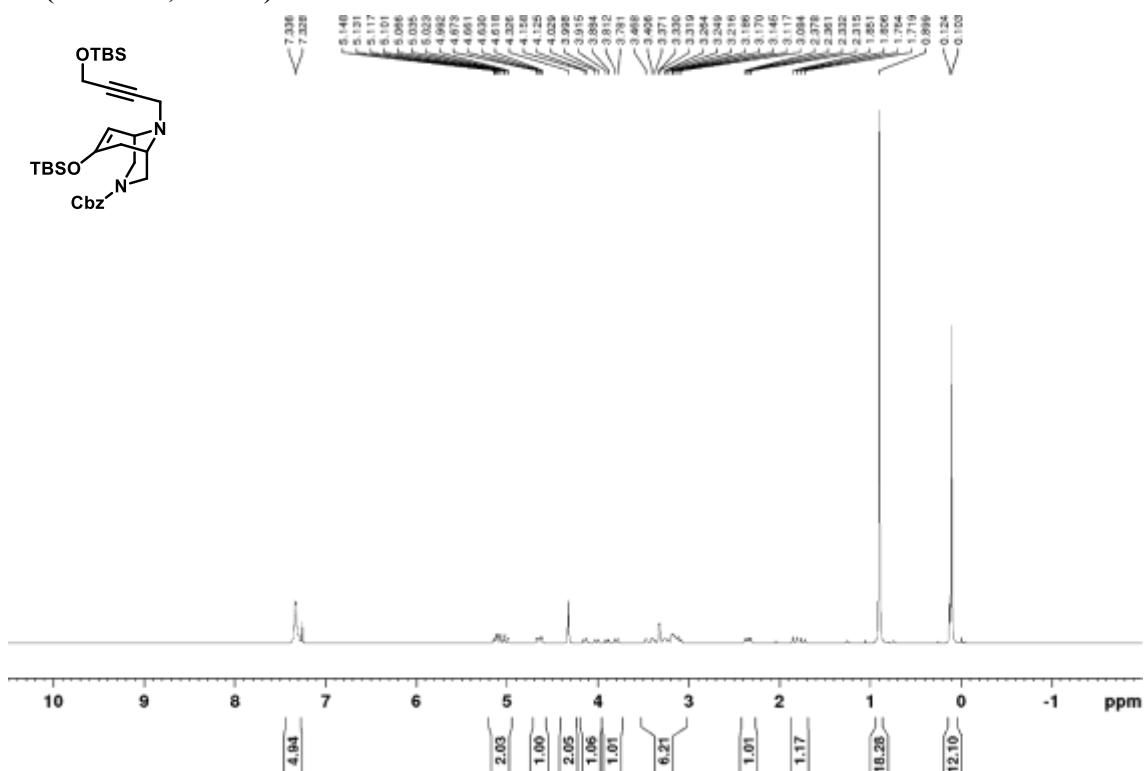
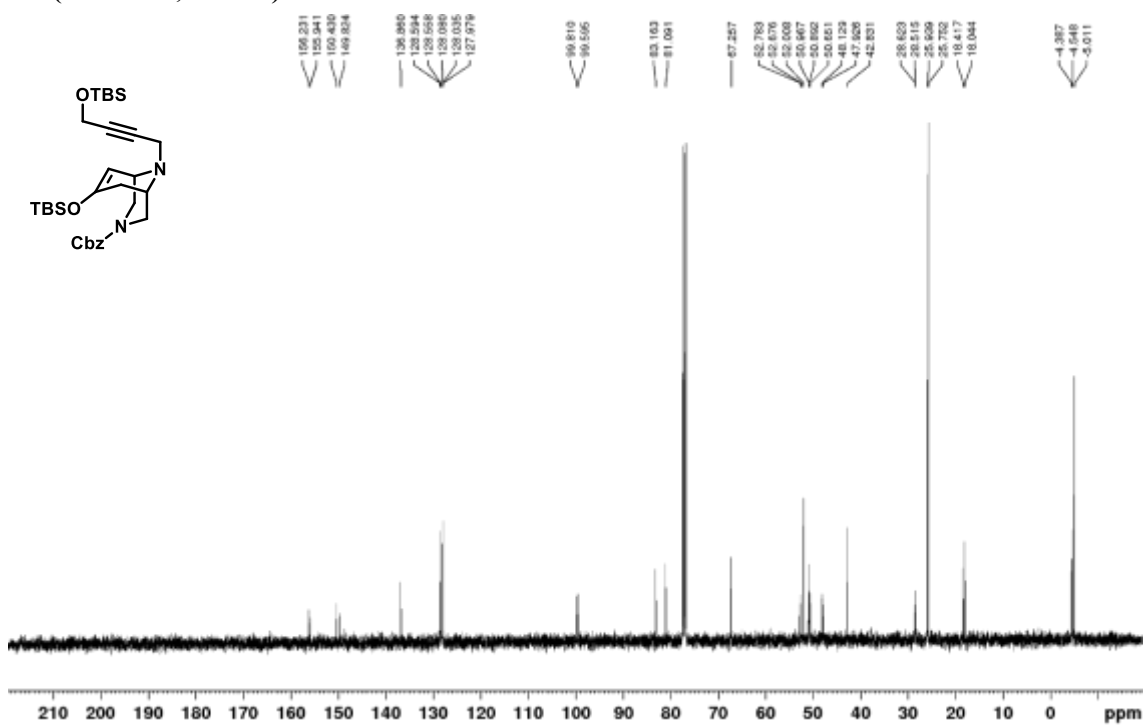
Silyl enol ether 8j

 ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) ^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3)

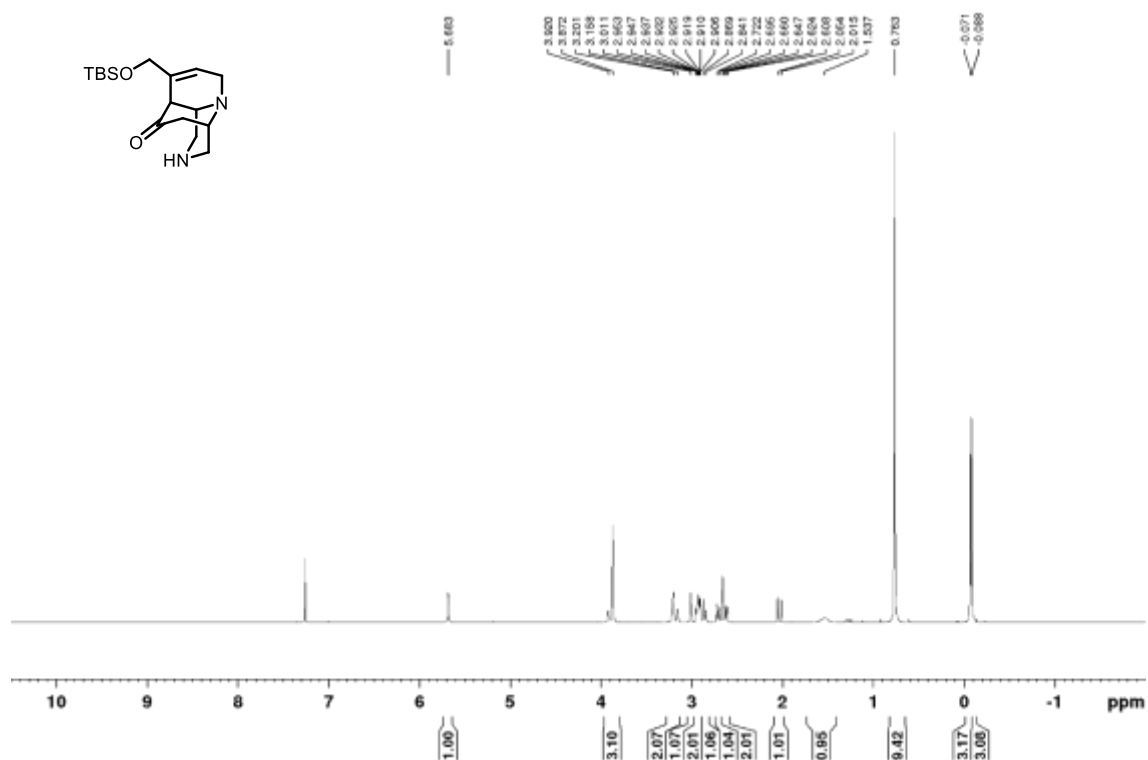
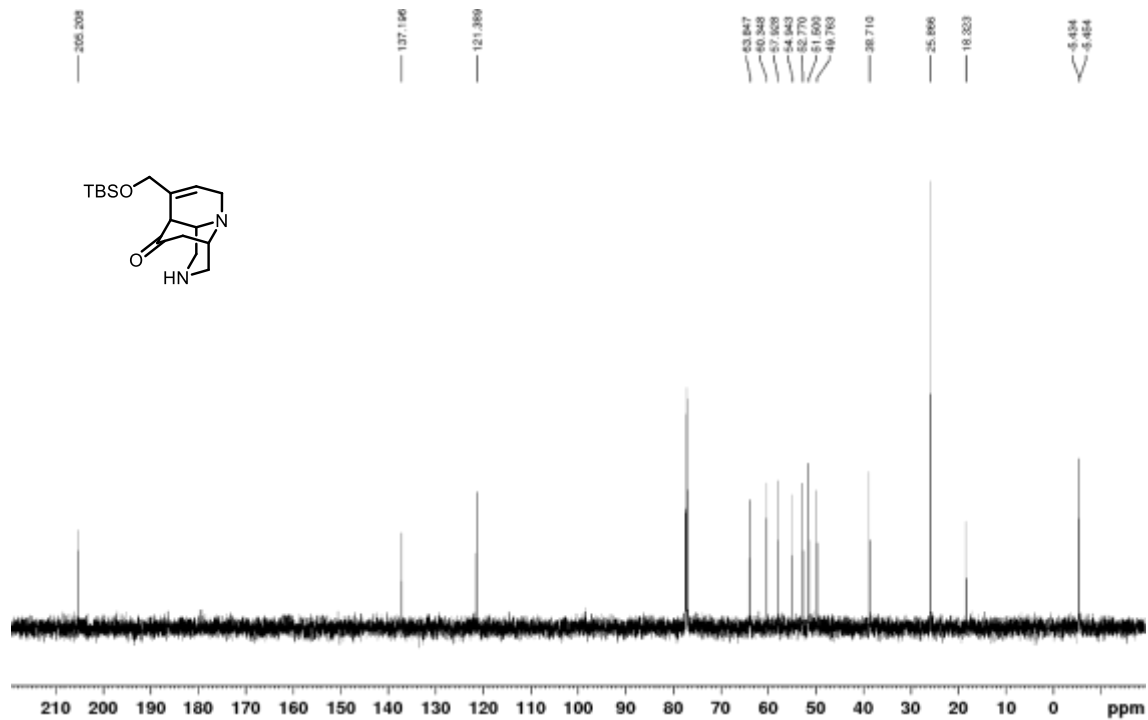
Ketone 25

 ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) ^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3)

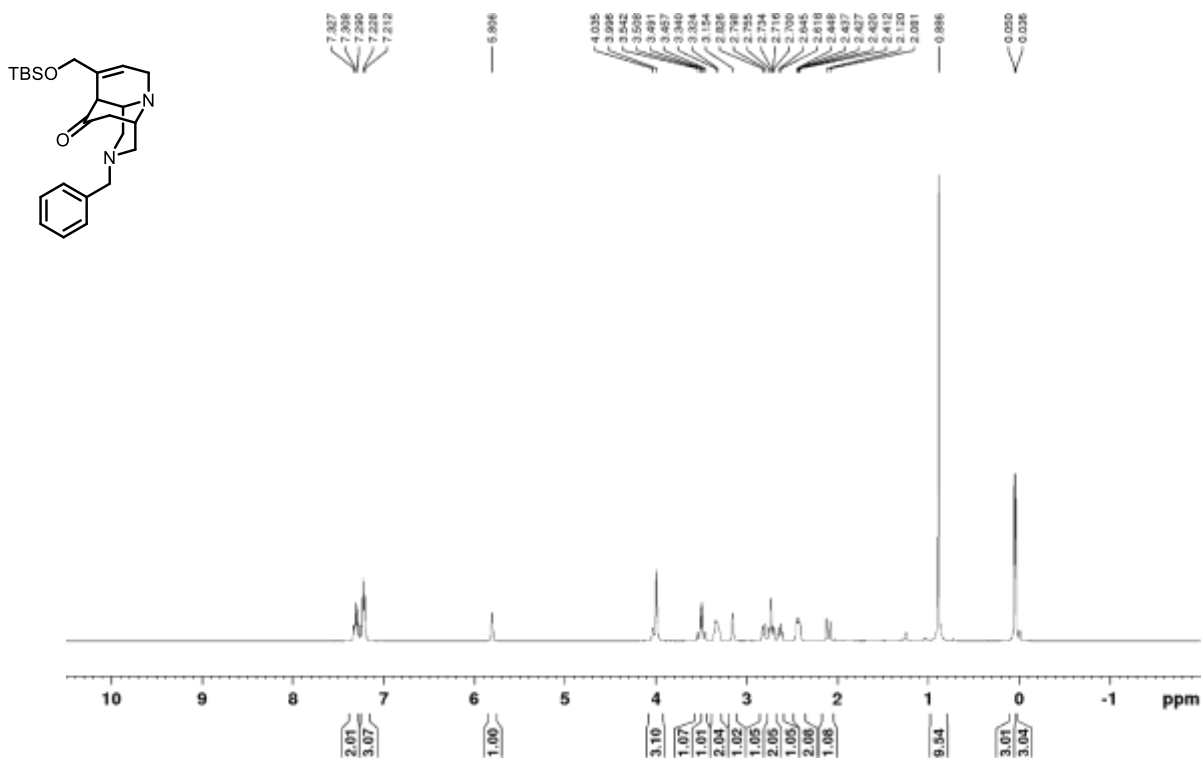
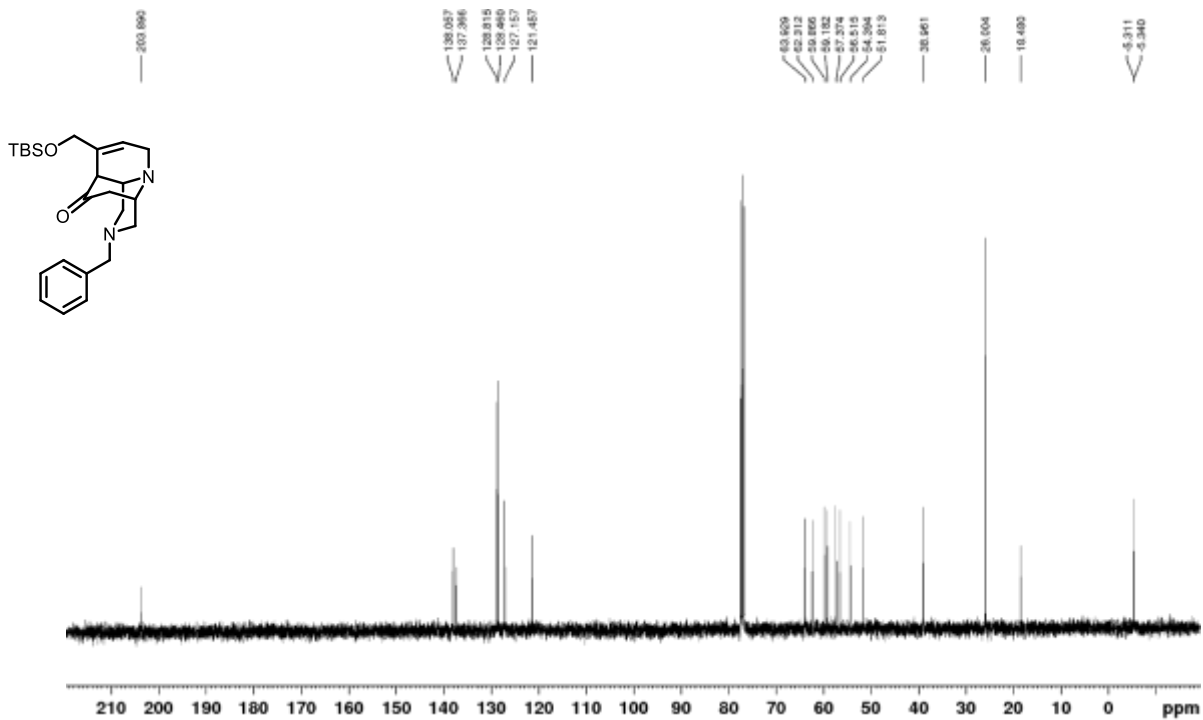
Silyl enol ether 19a

 ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) ^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3)

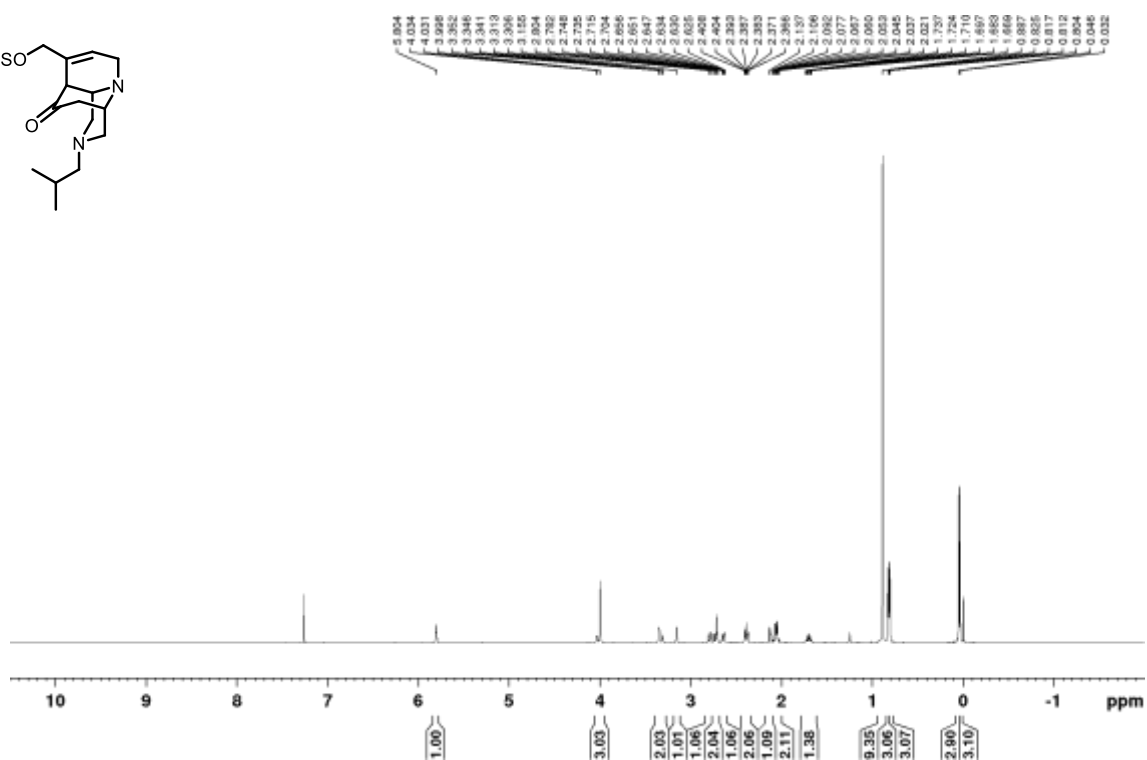
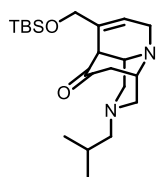
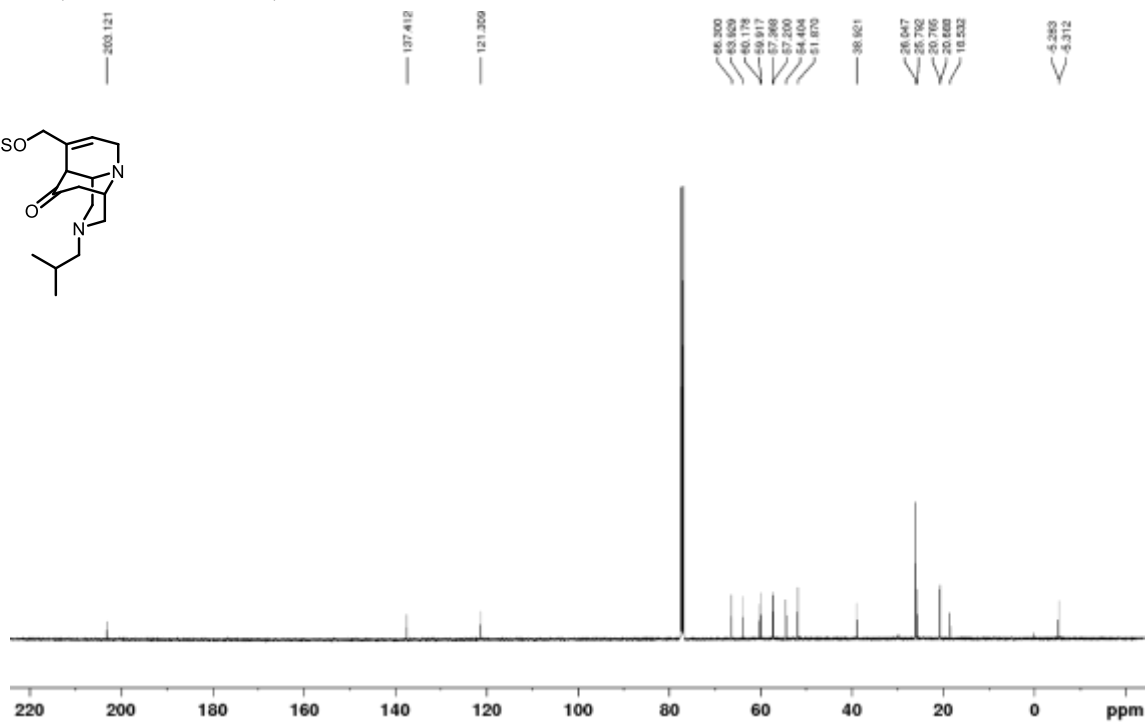
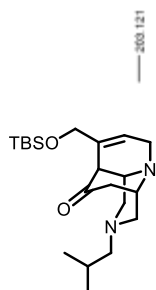
Silyl enol ether 18

 ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) ^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3)

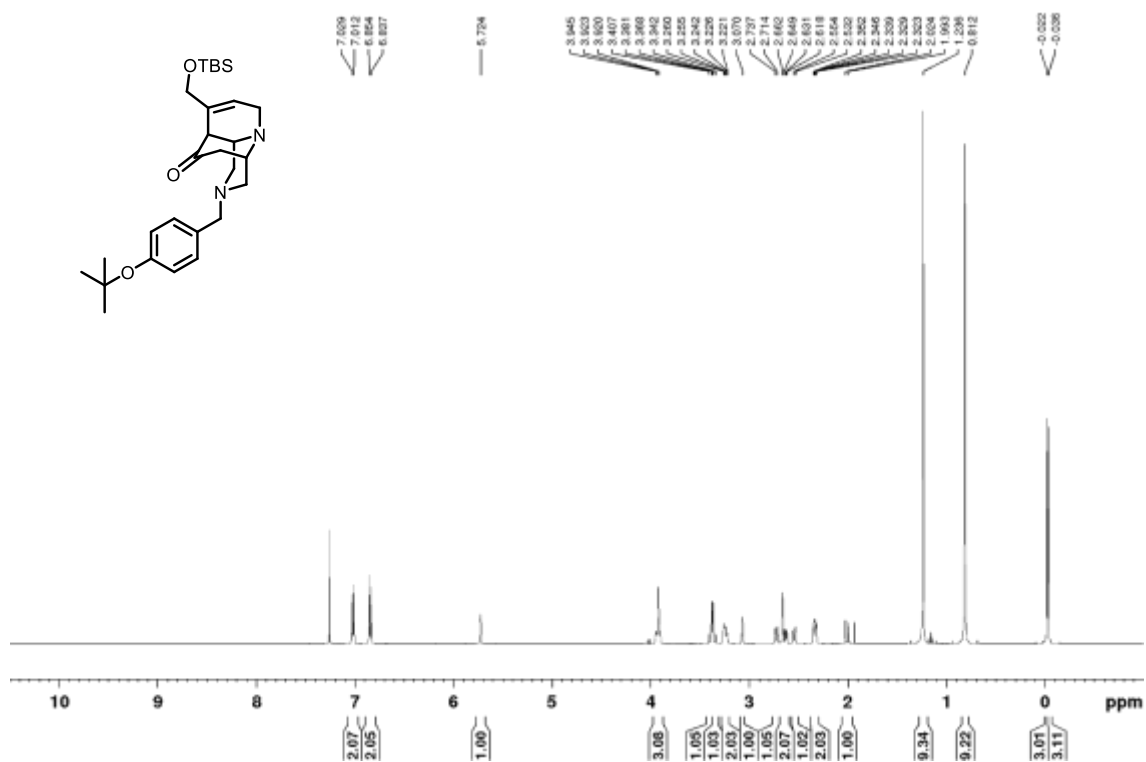
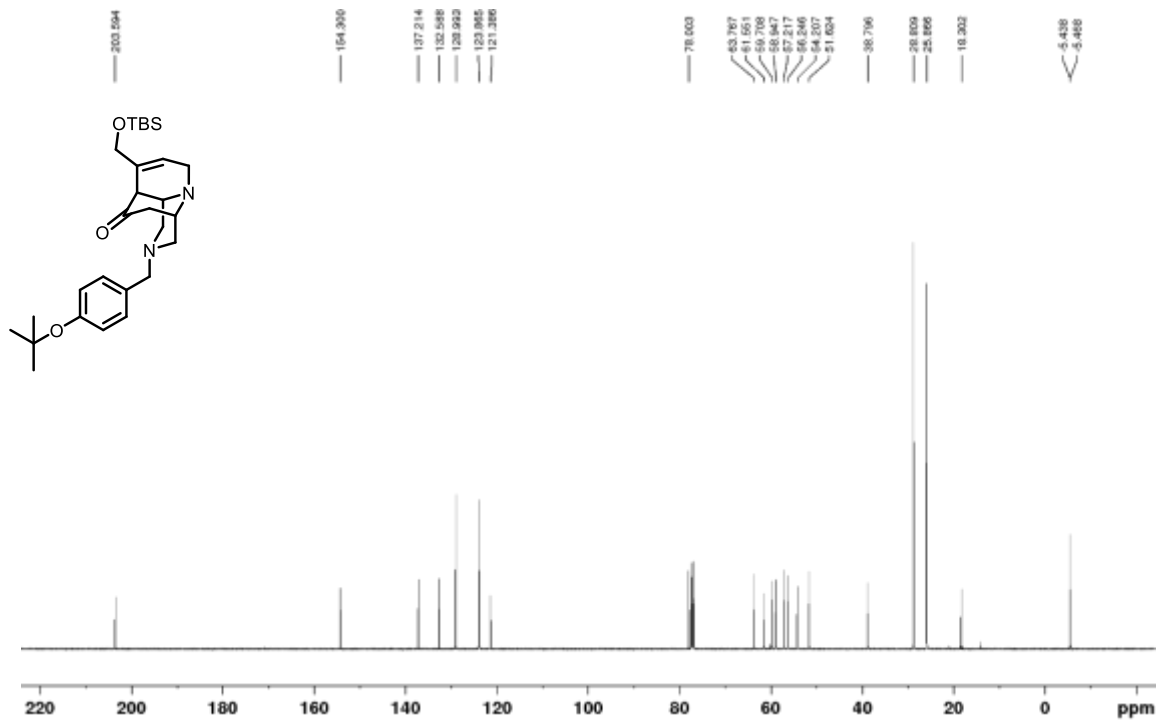
Ketone 29a

 $^1\text{H NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) $^{13}\text{C NMR}$ (100 MHz, CDCl_3)

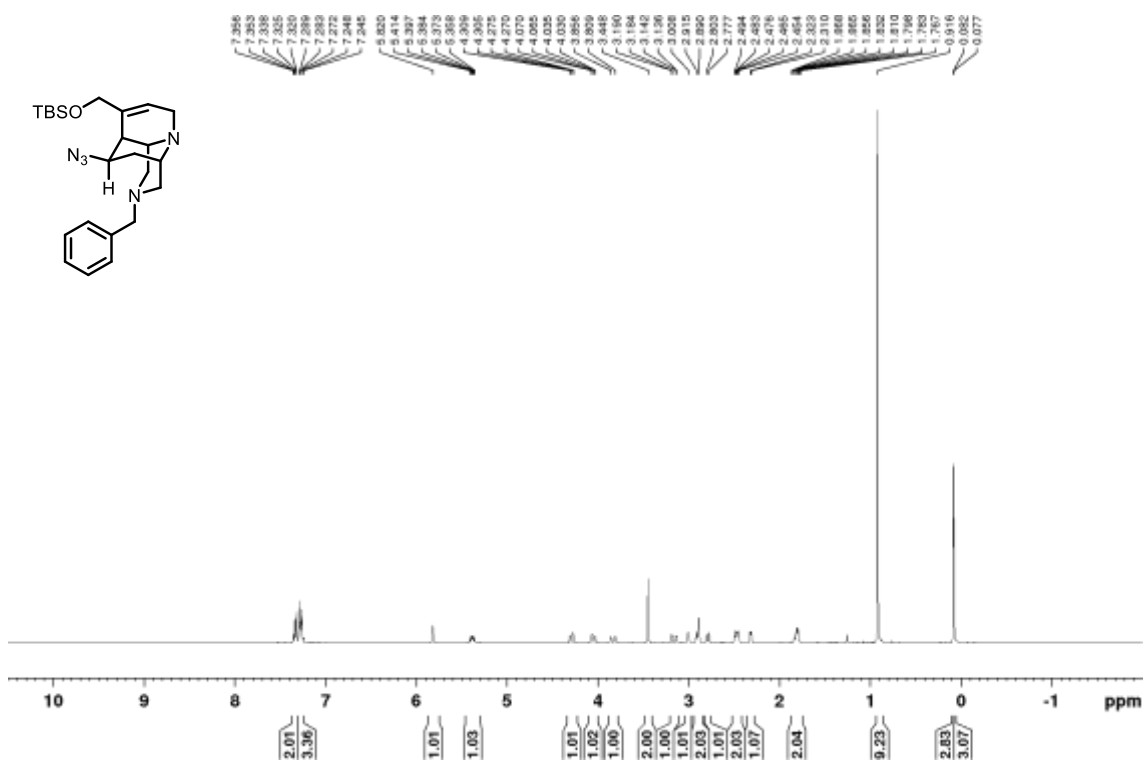
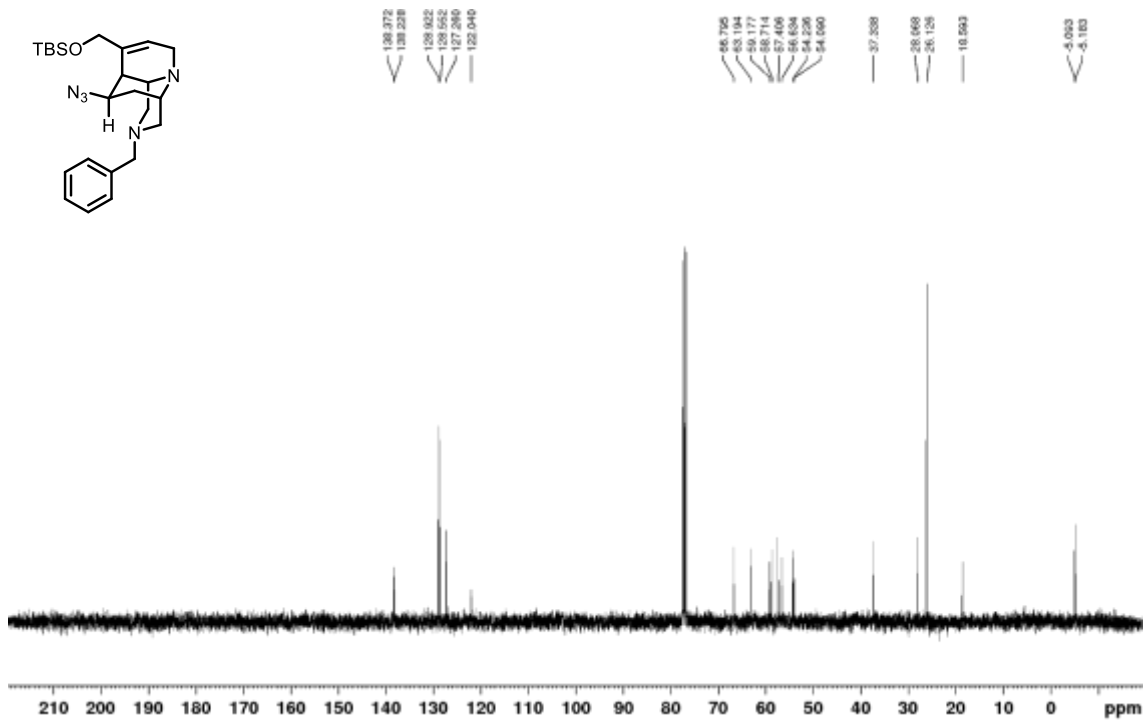
Ketone 29b

 ^1H NMR (500 MHz, CDCl_3) ^{13}C NMR (125 MHz, CDCl_3)

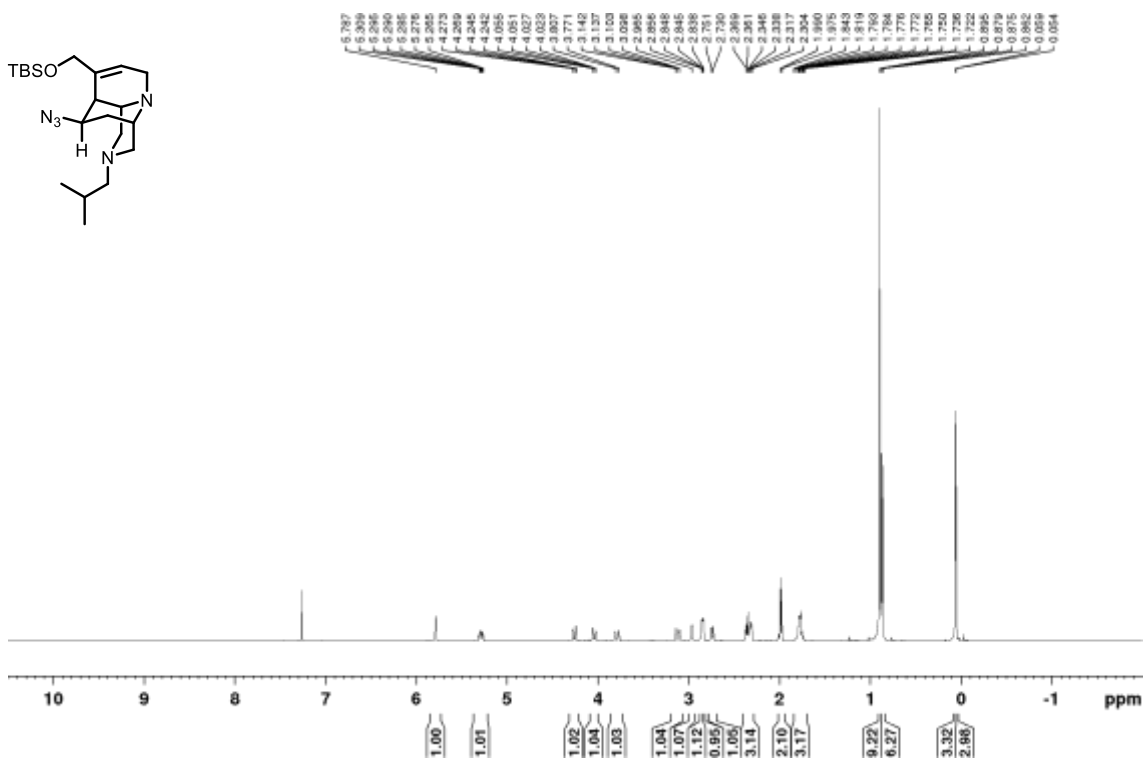
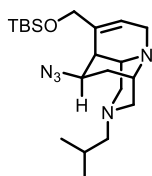
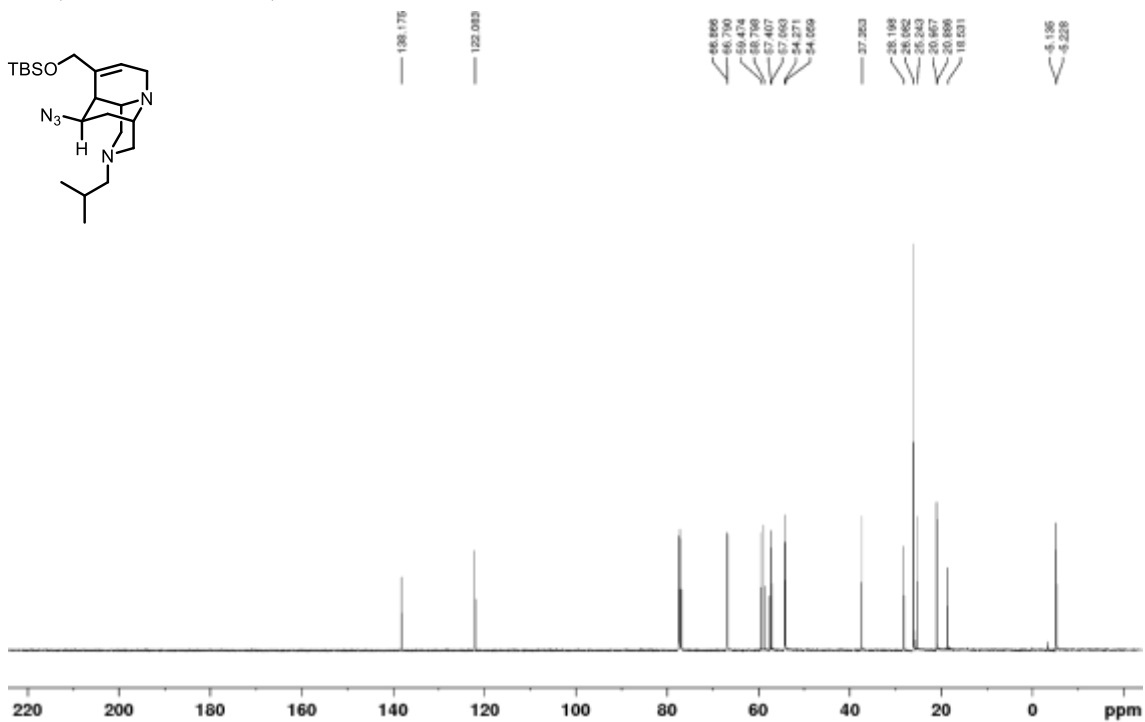
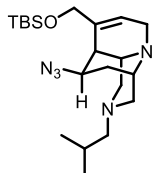
Ketone 29c

 ^1H NMR (500 MHz, CDCl_3) ^{13}C NMR (125 MHz, CDCl_3)

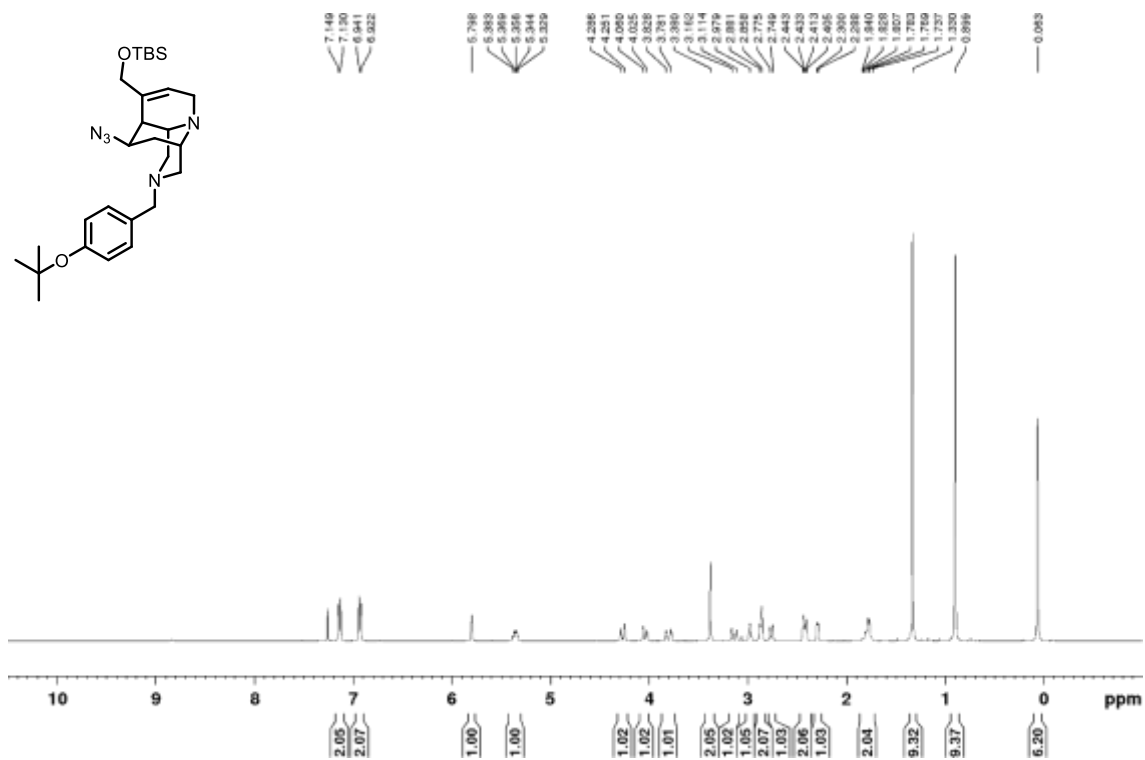
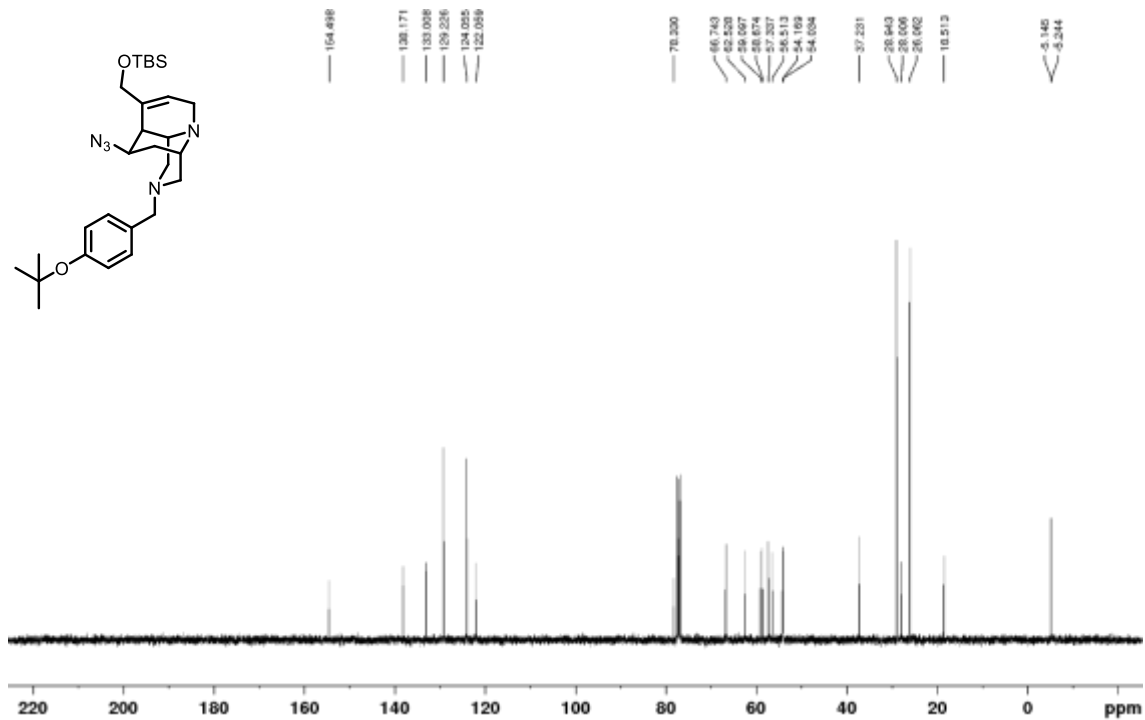
Azide 30a

 ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) ^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3)

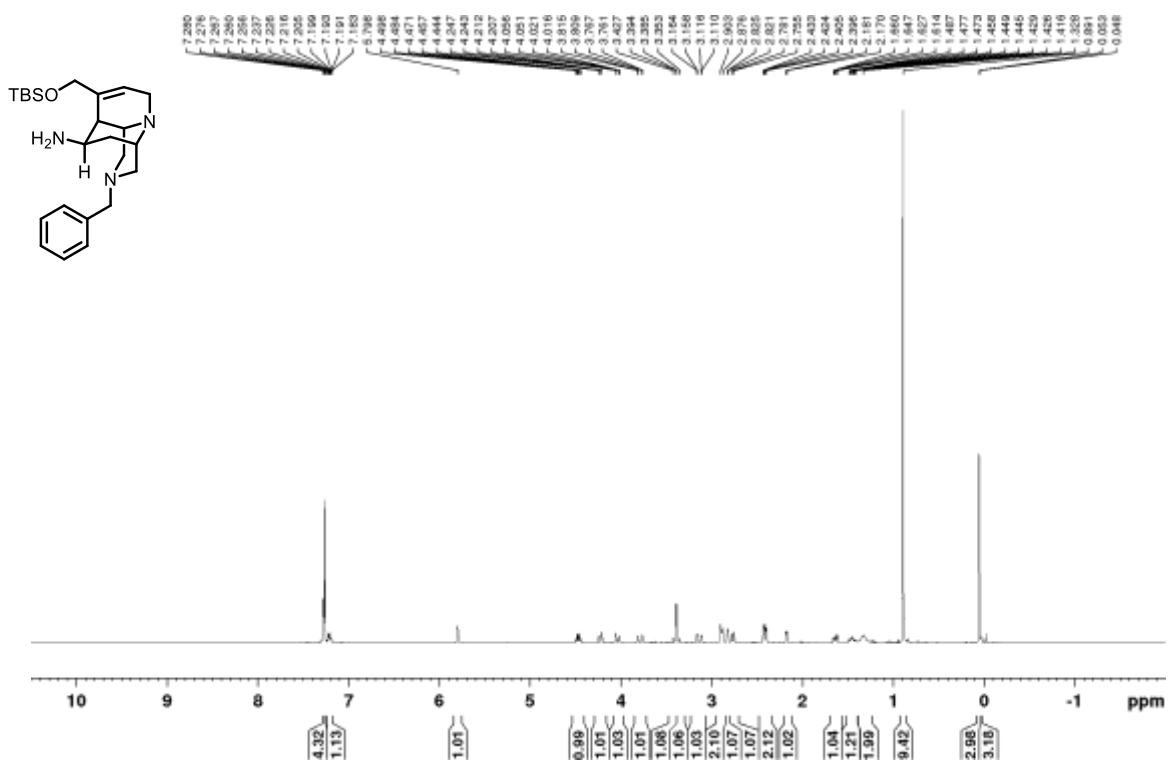
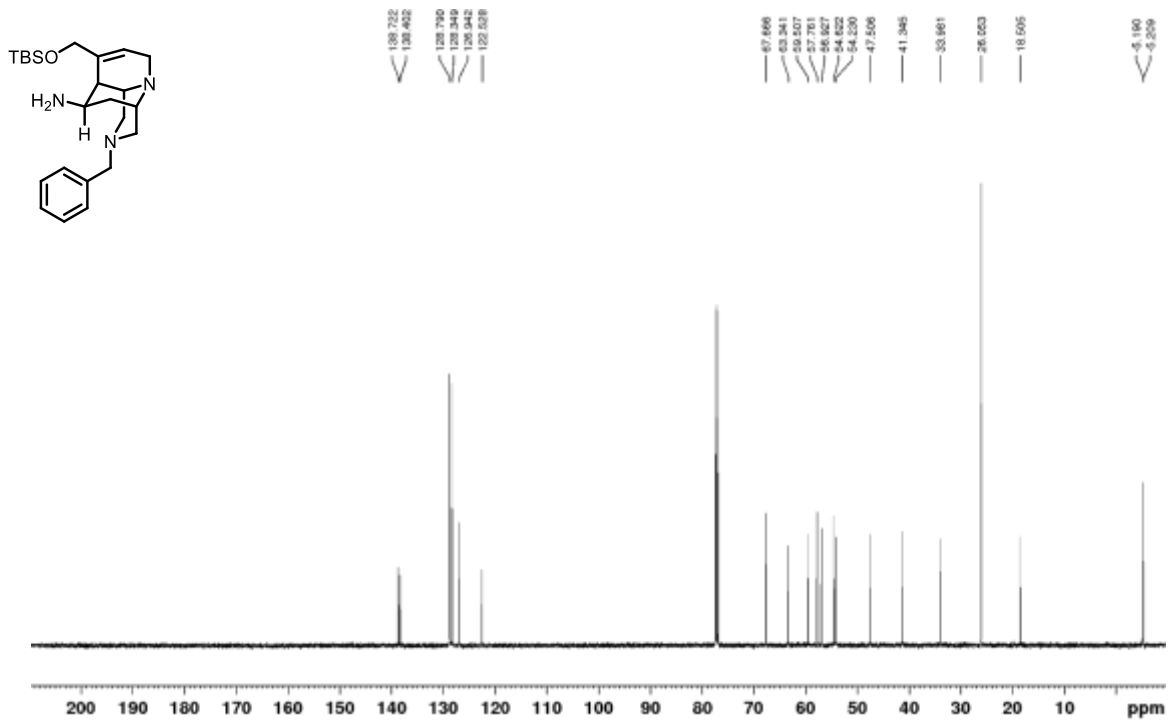
Azide 30b

 ^1H NMR (500 MHz, CDCl_3) ^{13}C NMR (125 MHz, CDCl_3)

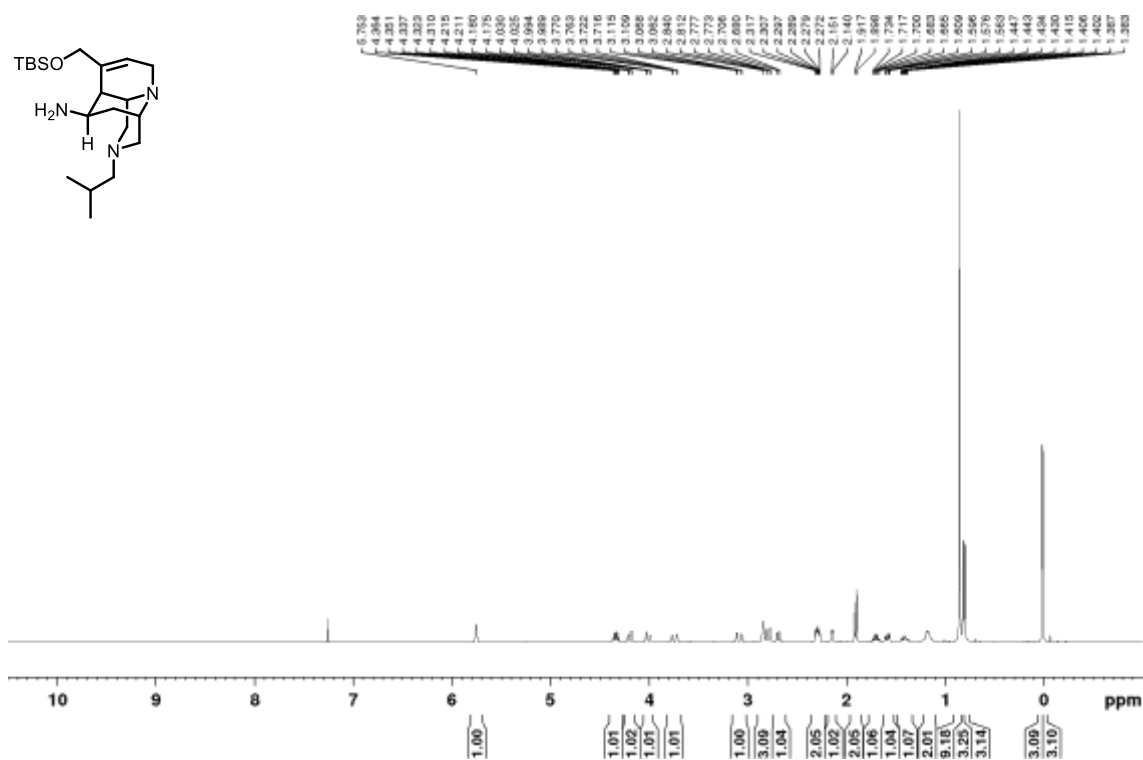
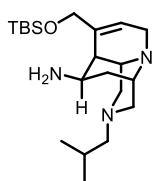
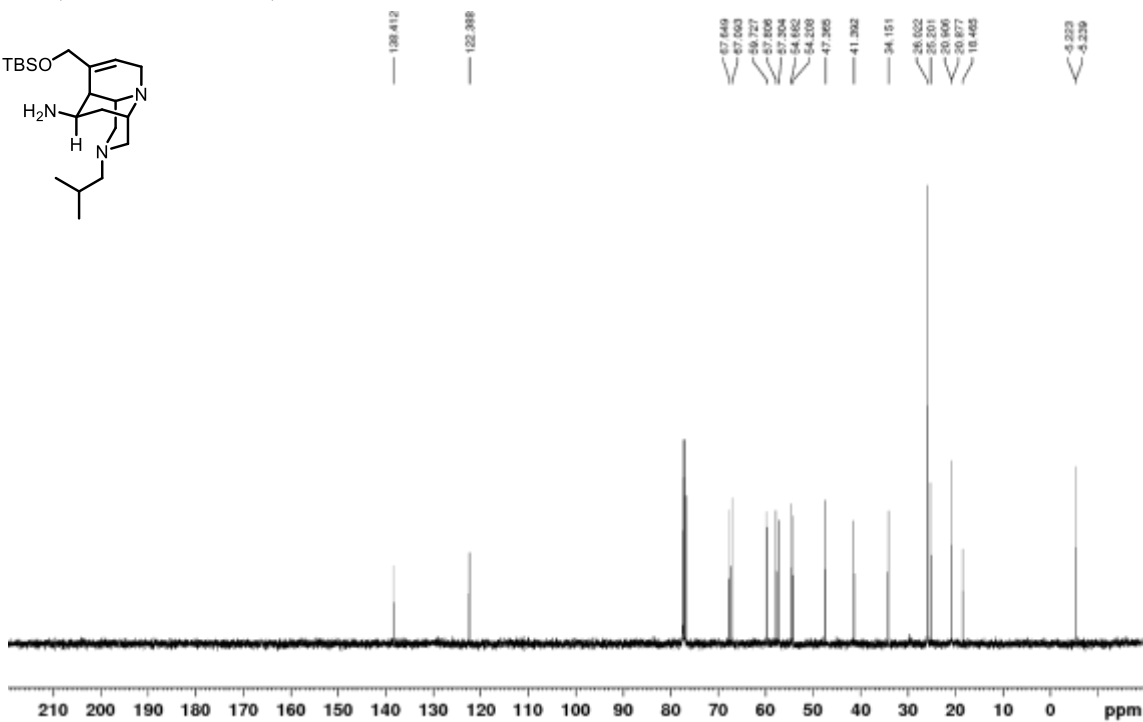
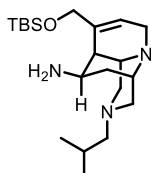
Azide 30c

 ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) ^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3)

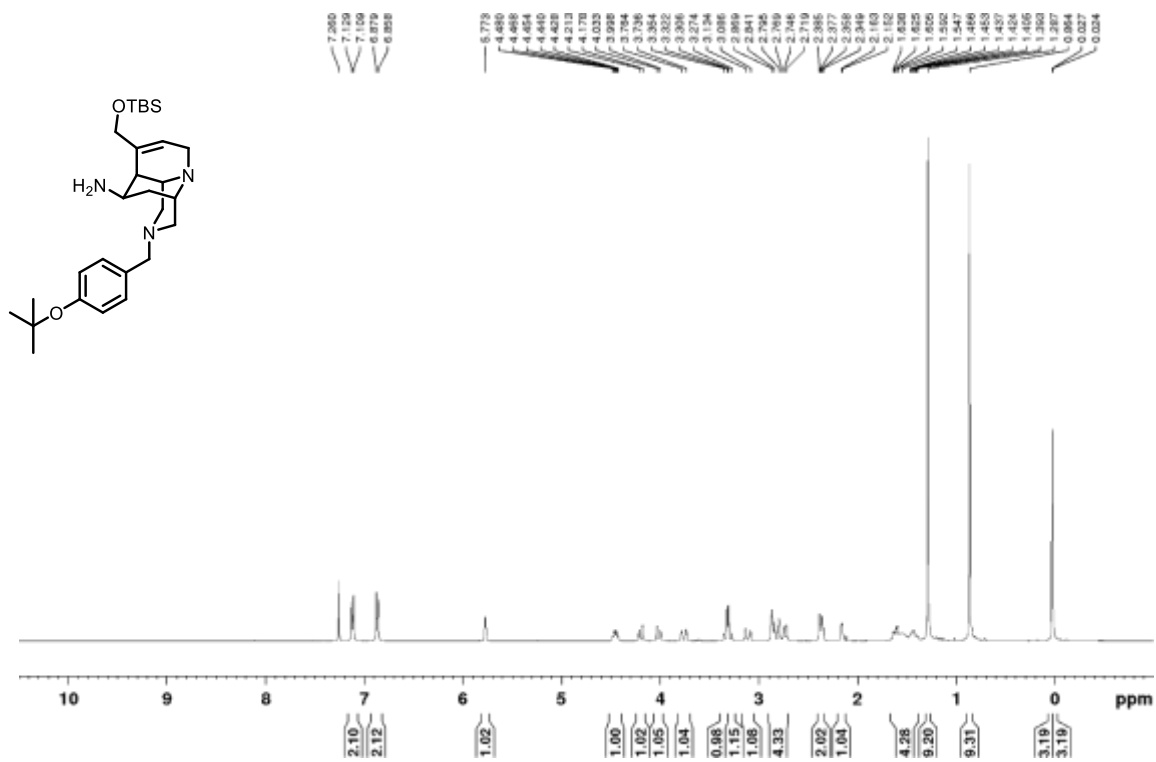
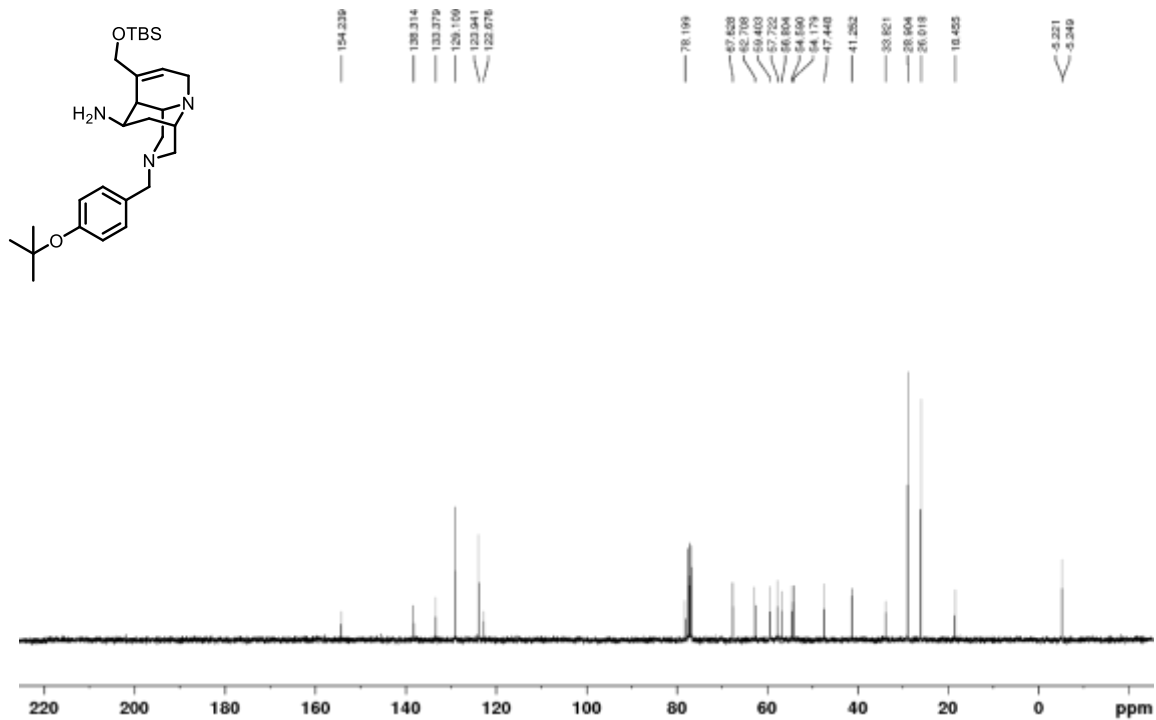
Amine 31a

 ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) ^{13}C NMR (125 MHz, CDCl_3)

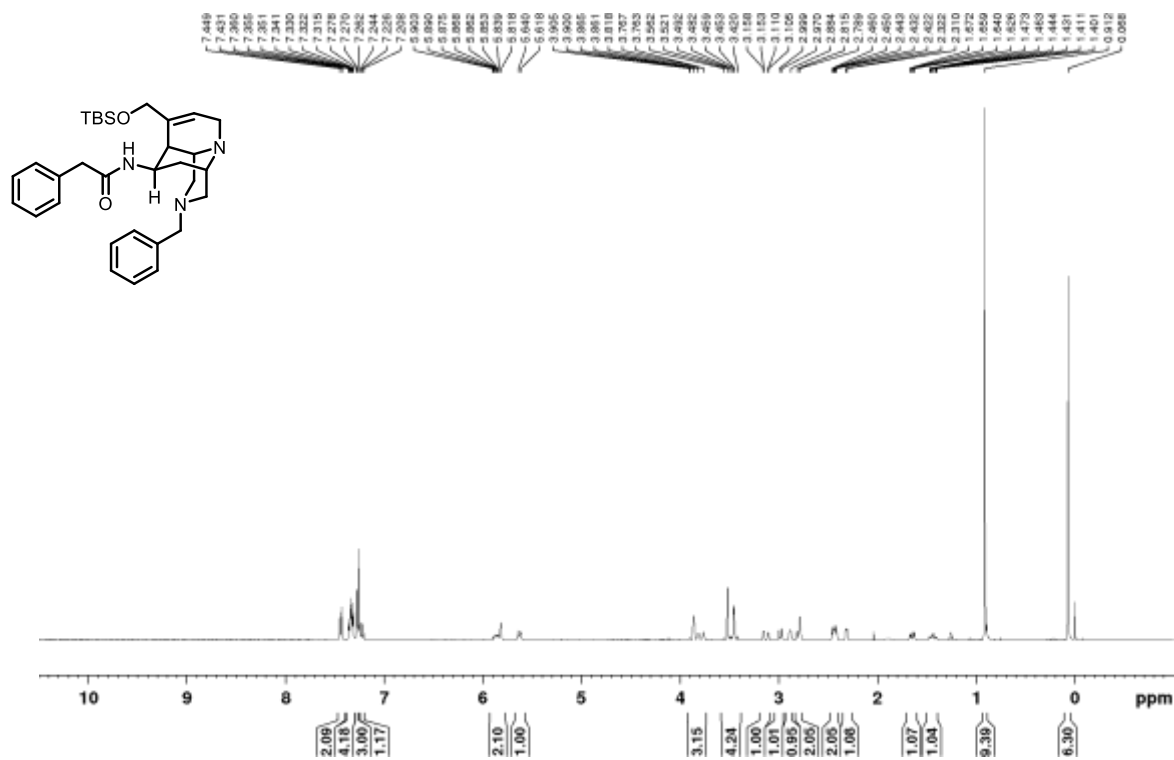
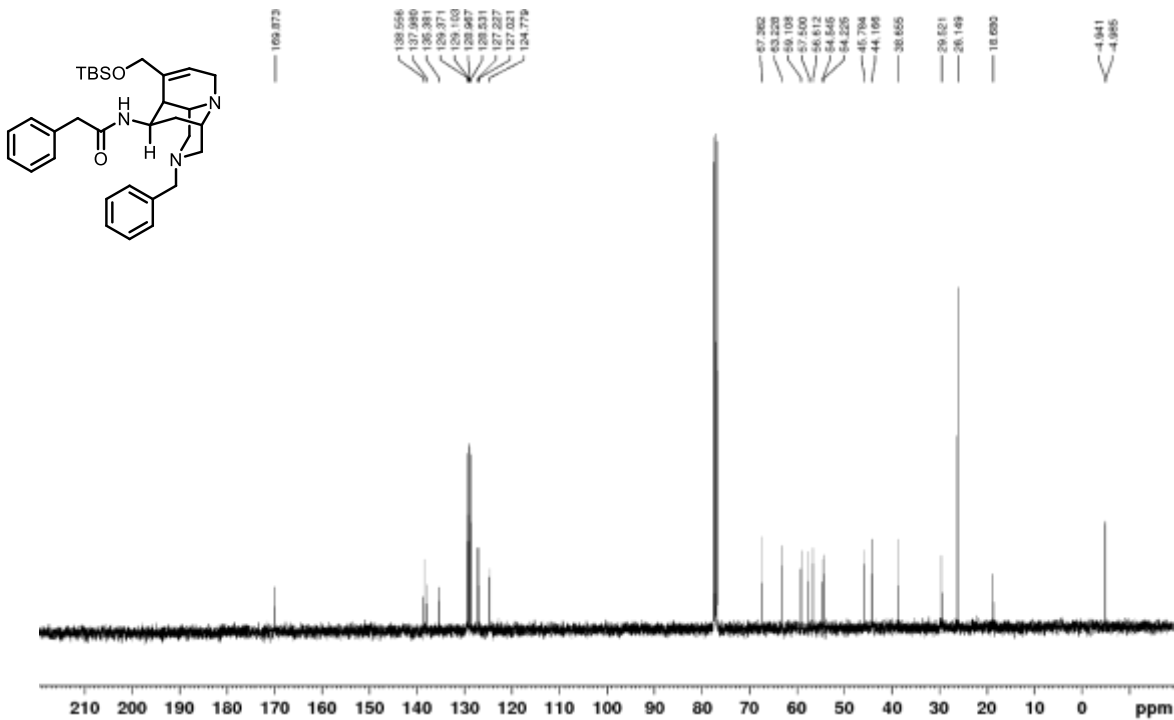
Amine 31b

 ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) ^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3)

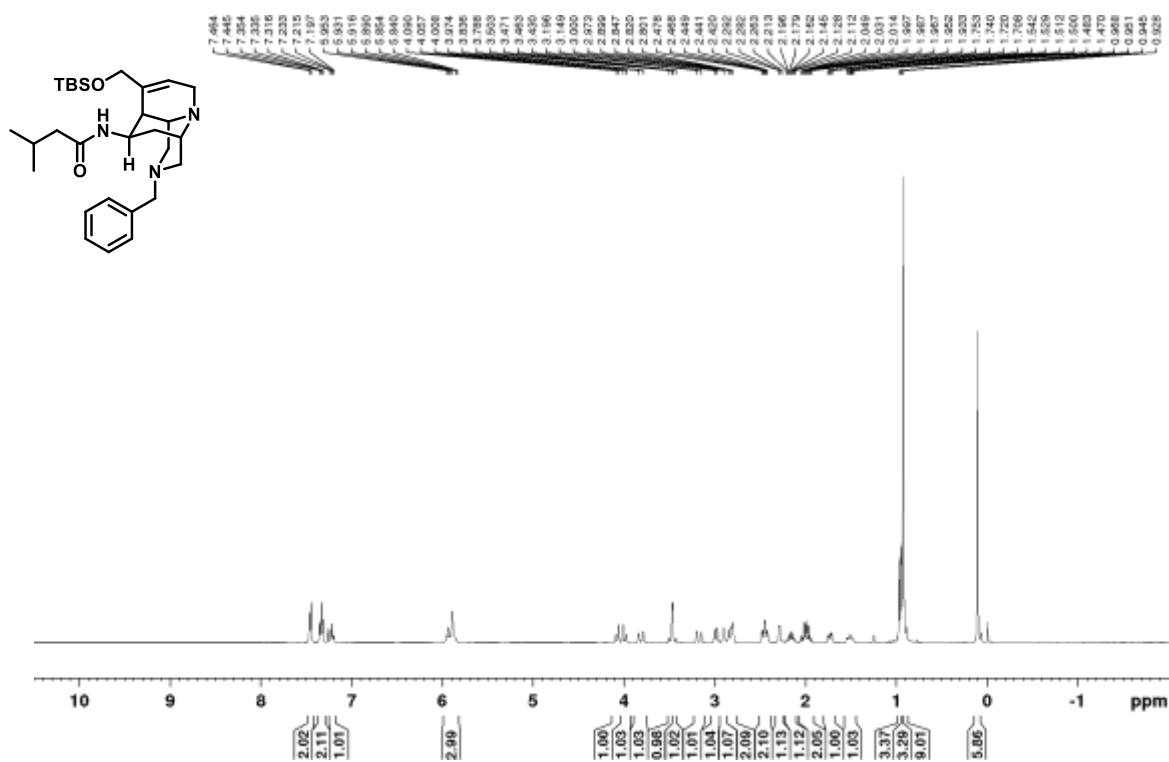
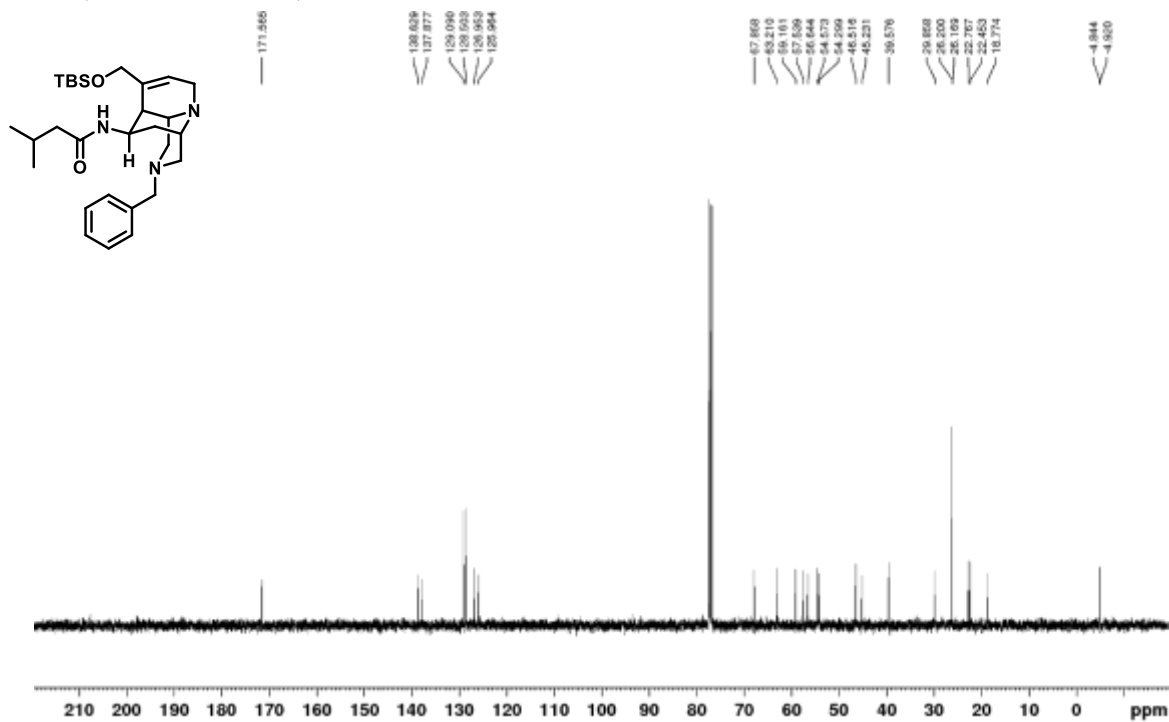
Amine 31c

 ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) ^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3)

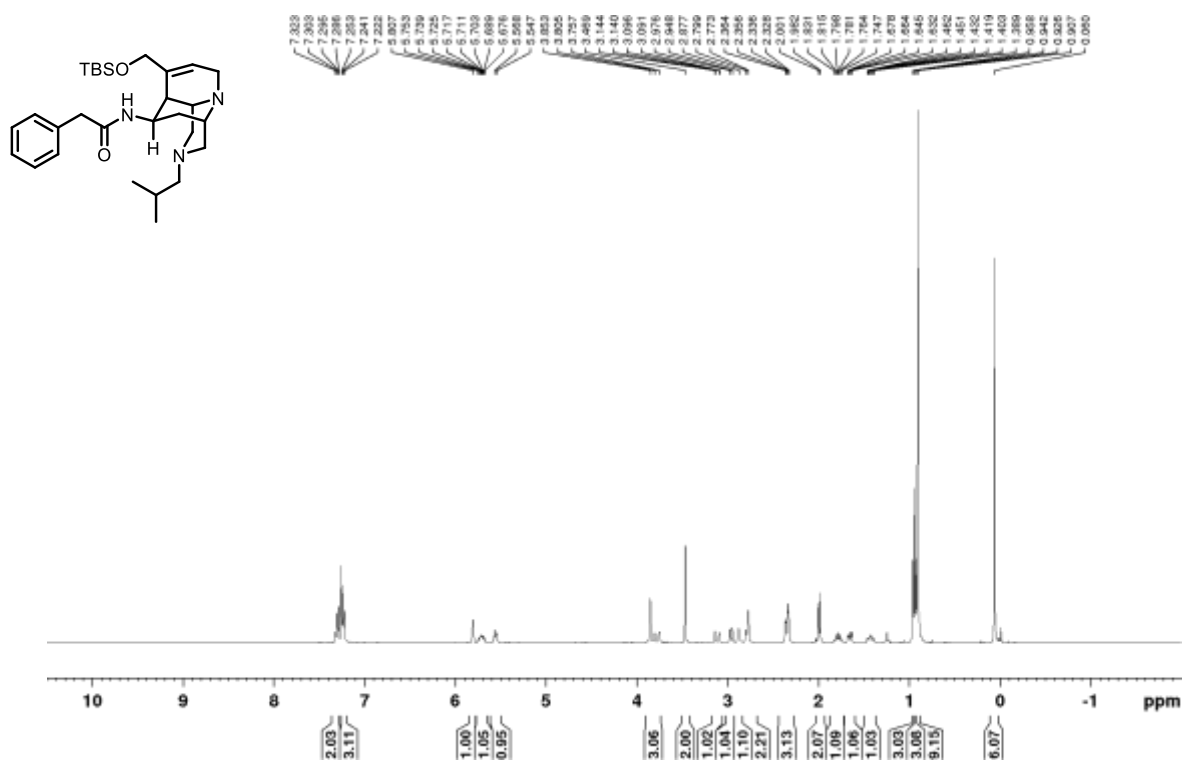
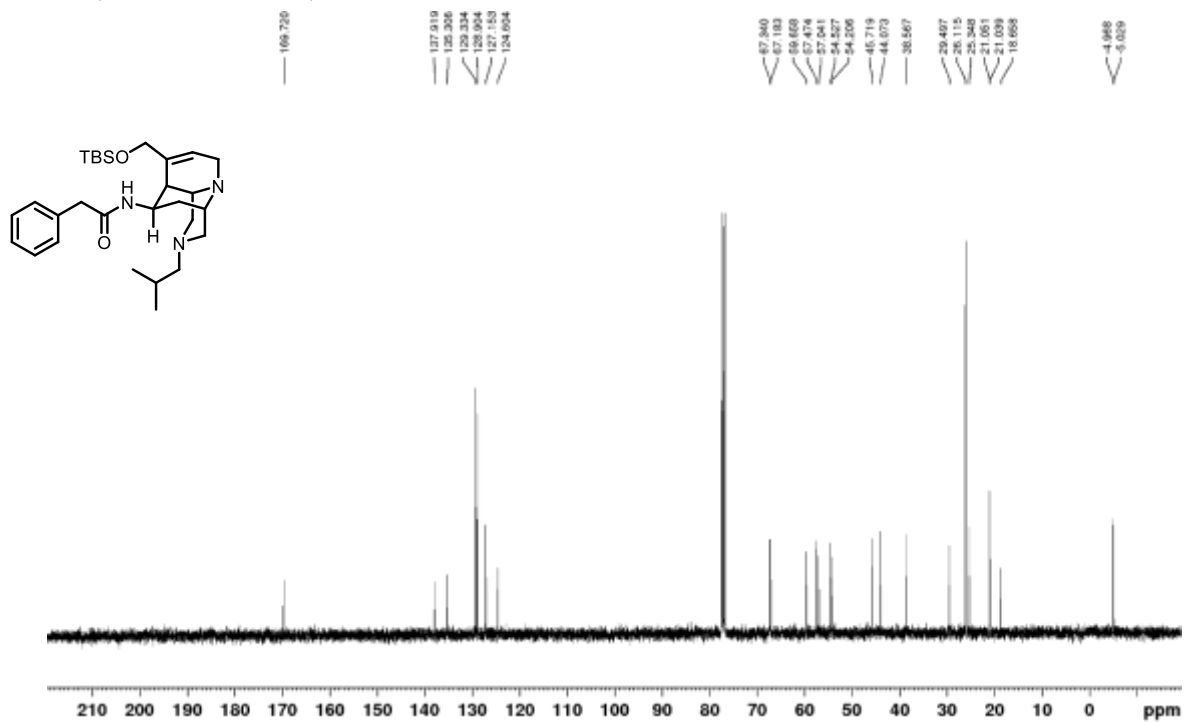
Amide 28a

 ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) ^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3)

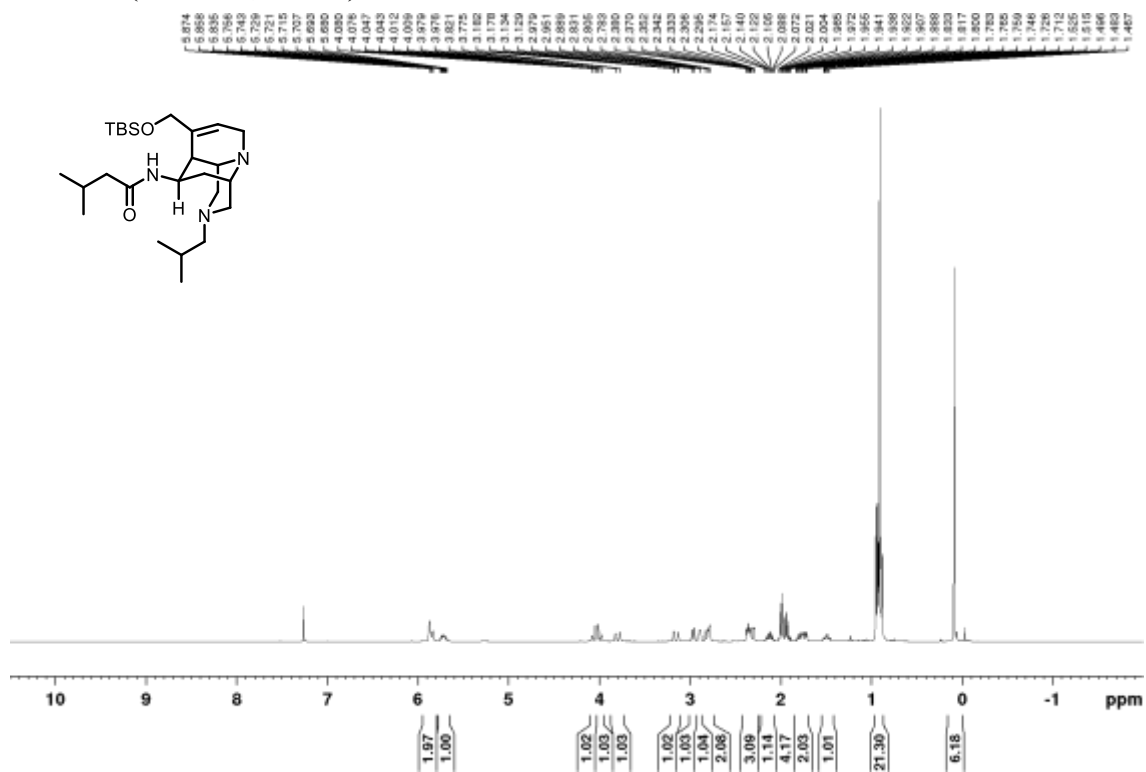
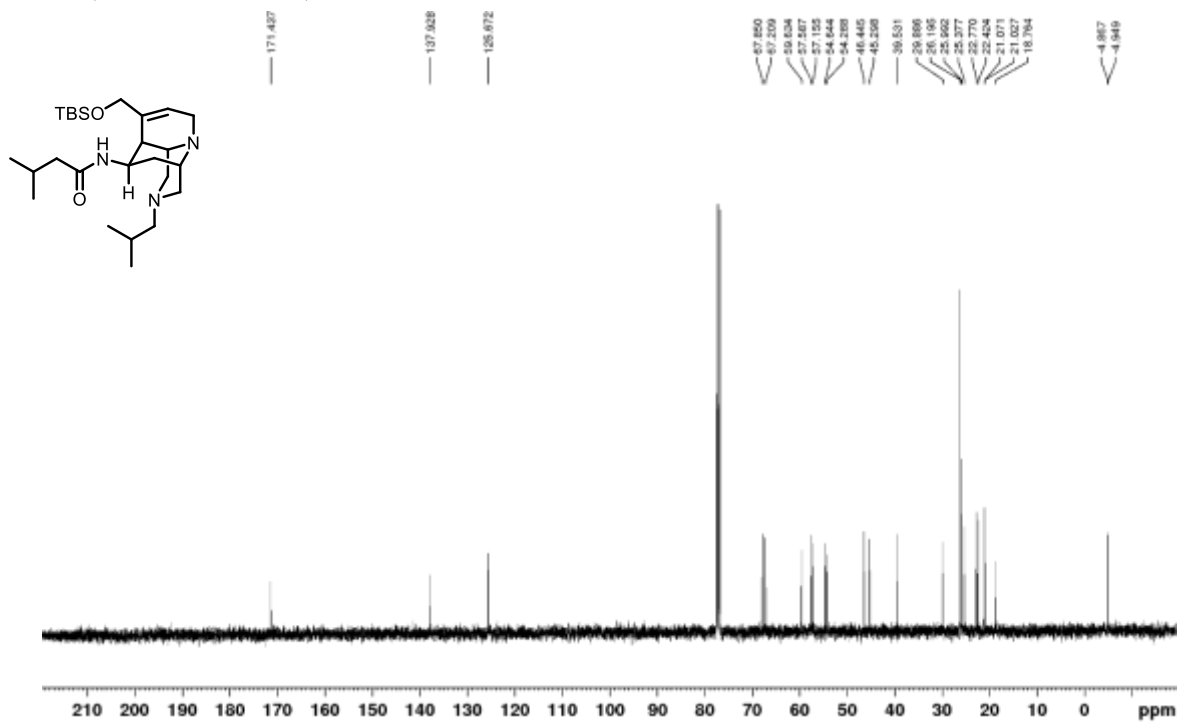
Amide 28b

 ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) ^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3)

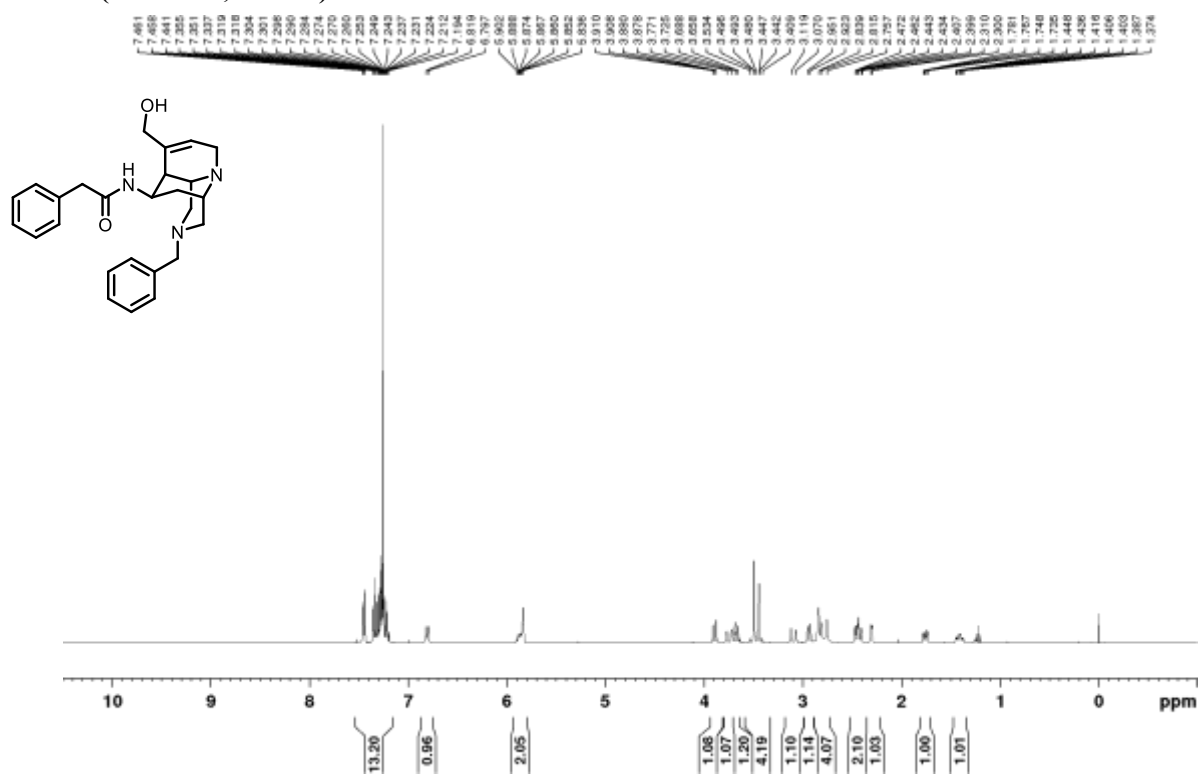
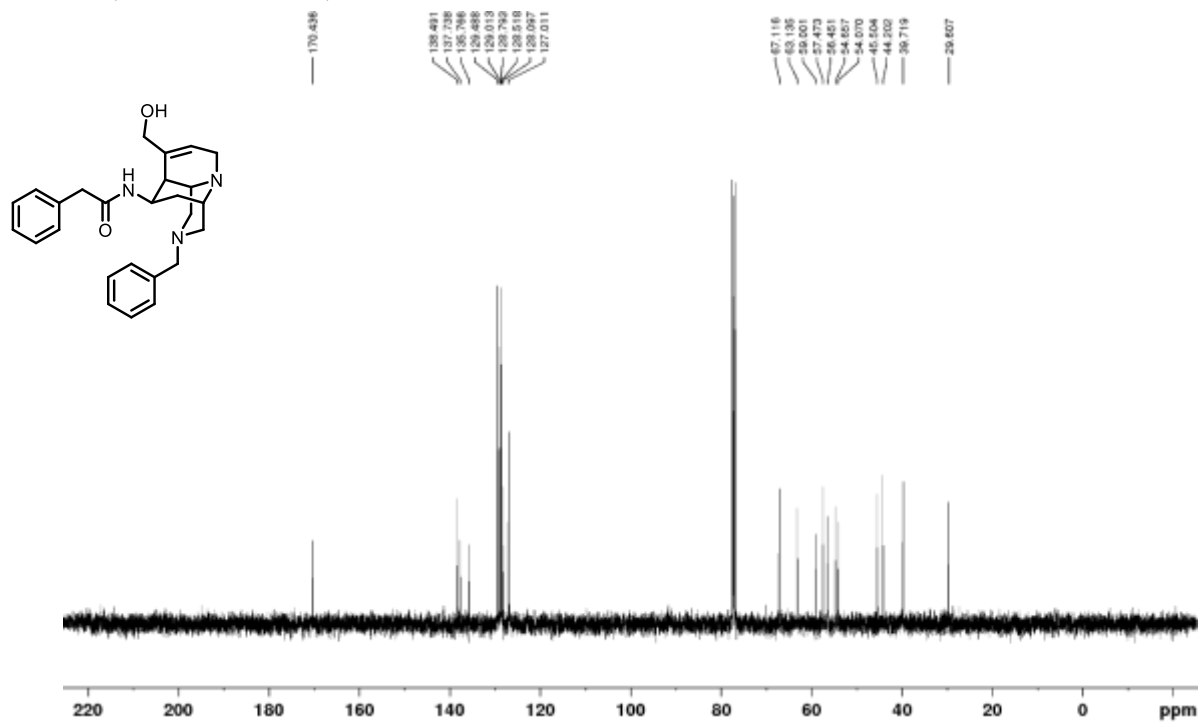
Amide 28c

 ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) ^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3)

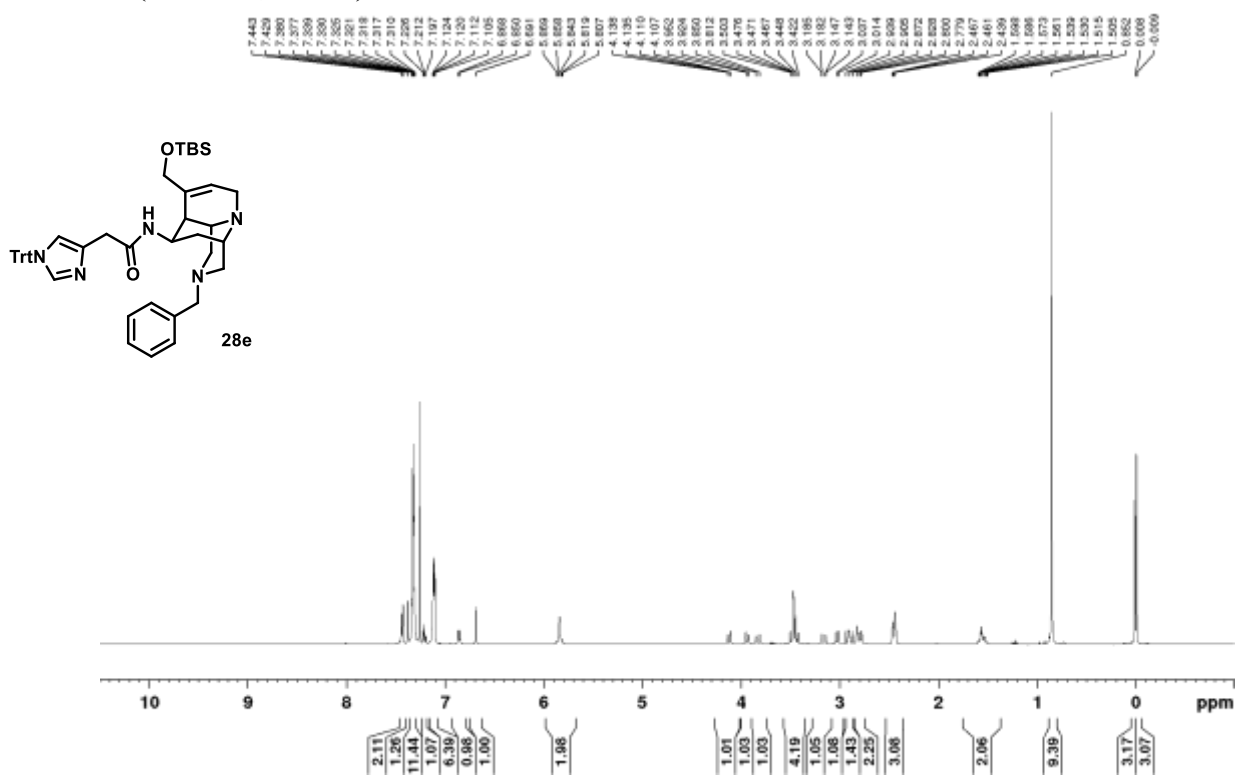
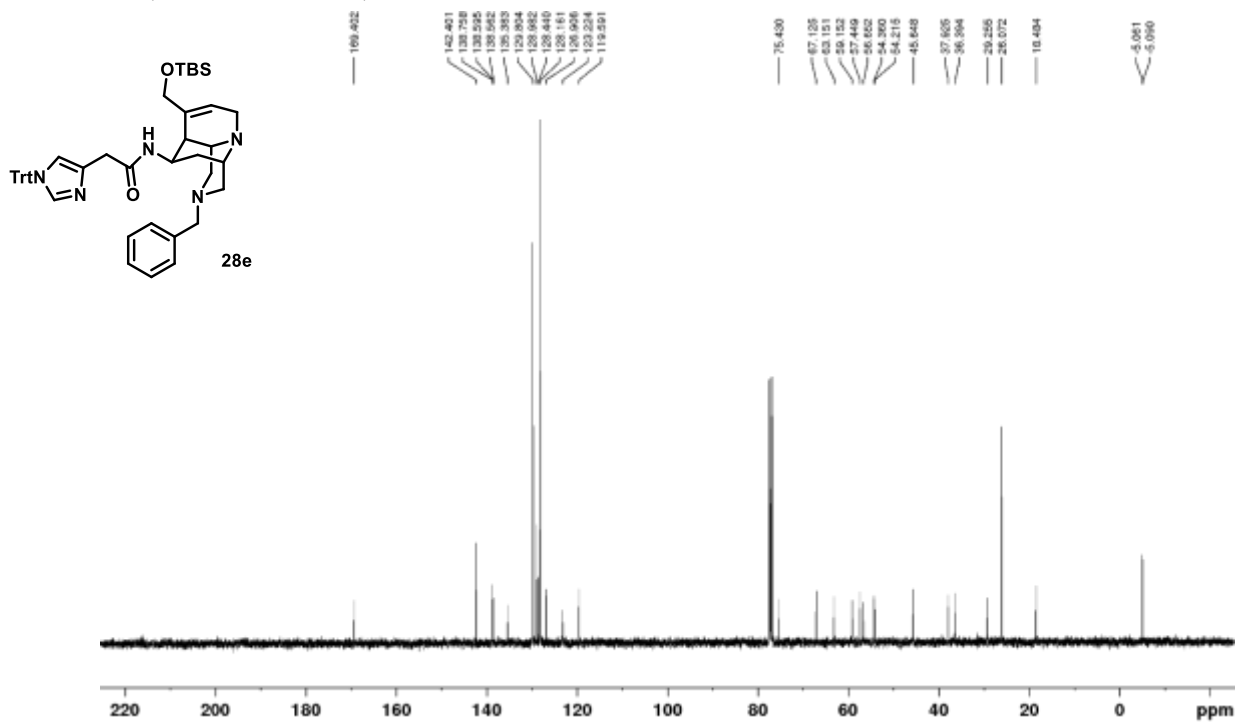
Amide 28d

 ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) ^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3)

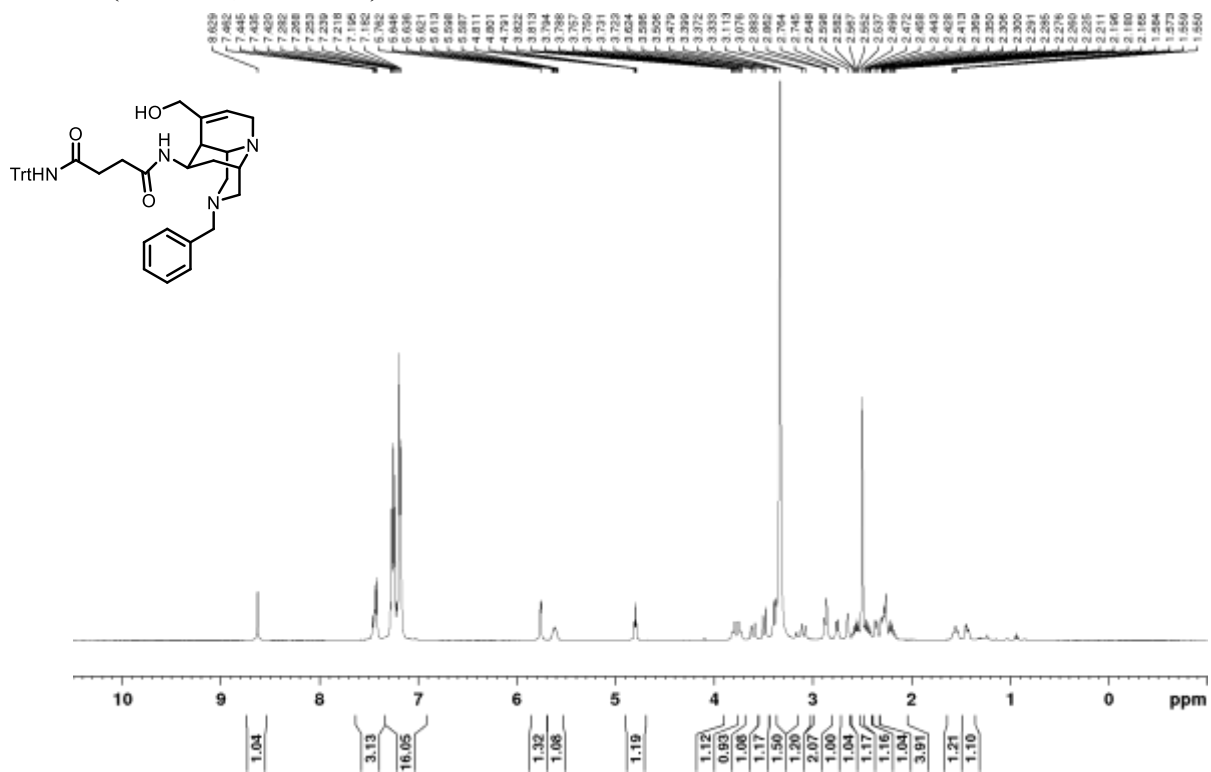
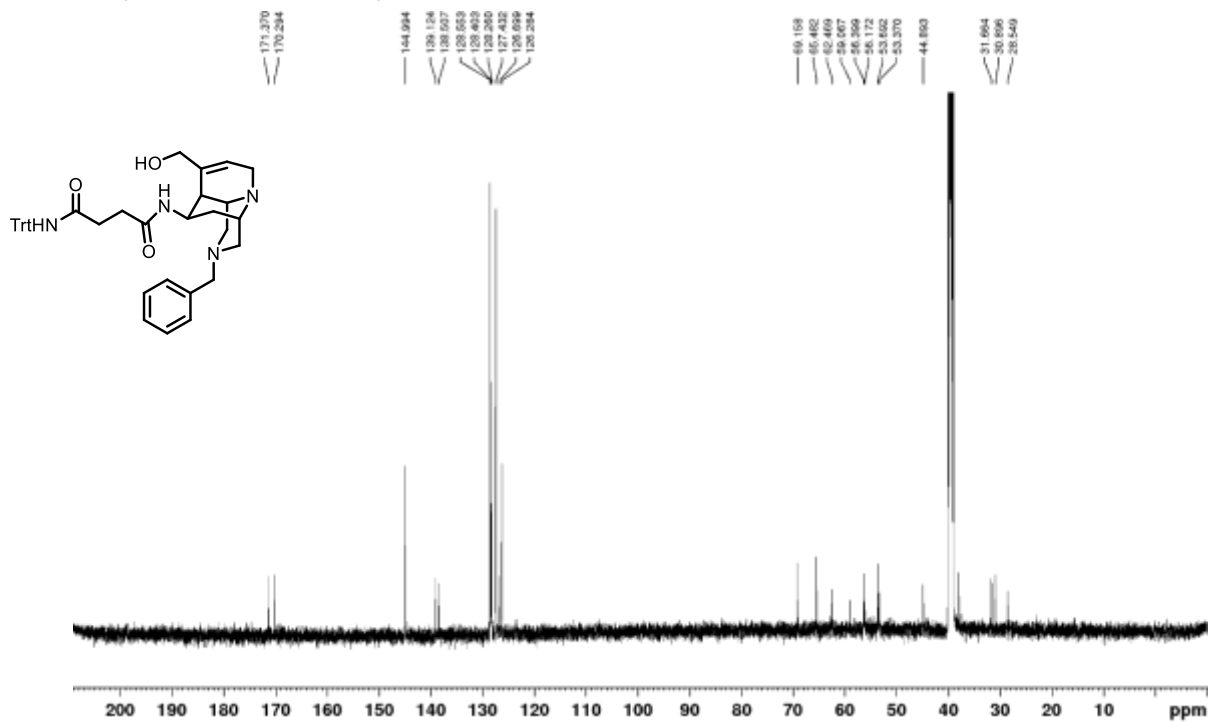
Amide 32

 ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) ^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3)

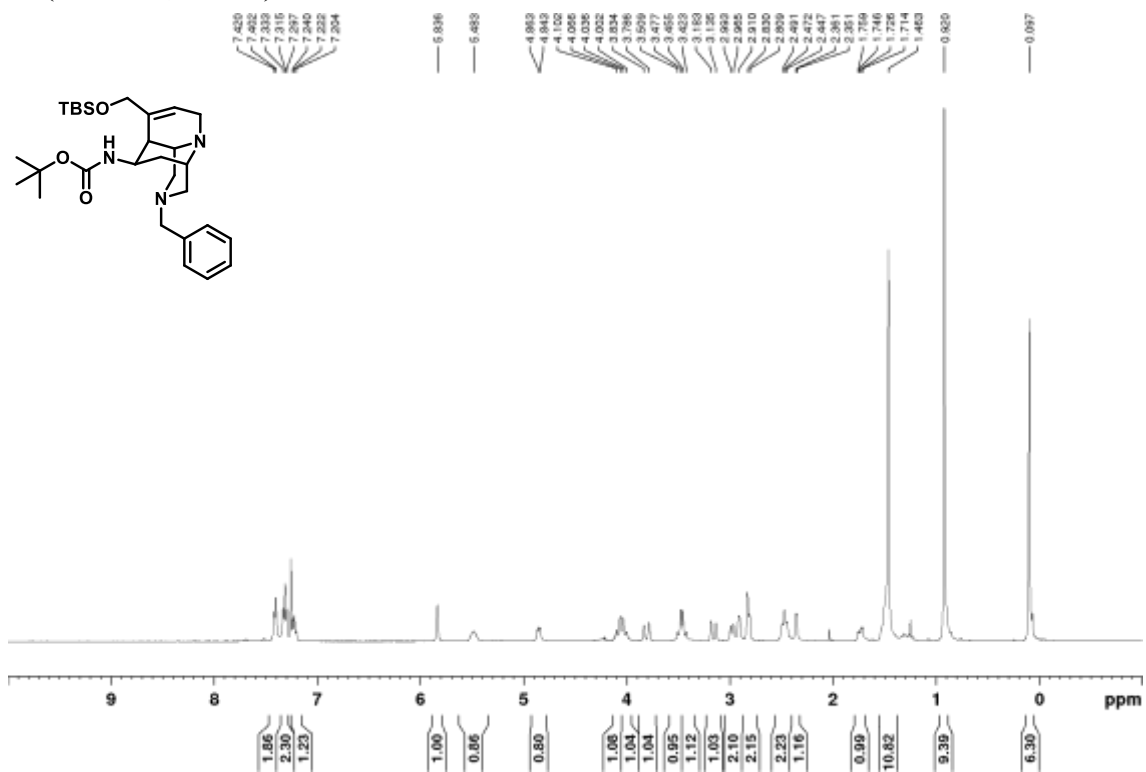
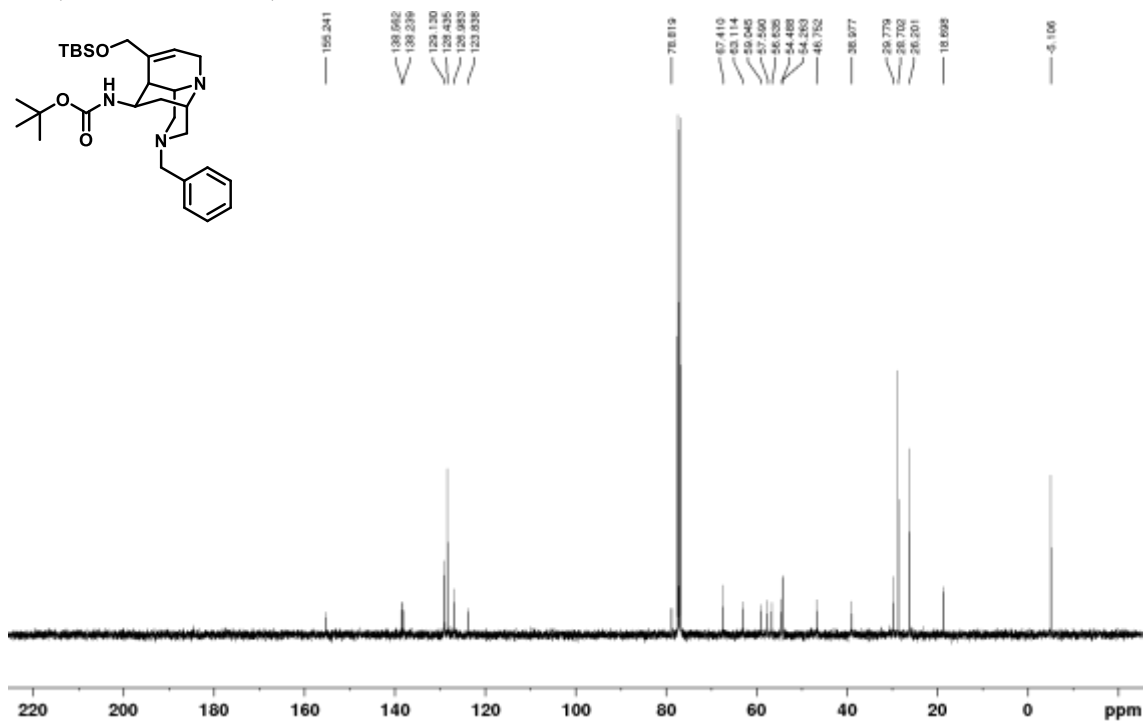
Amide 28e

 ^1H NMR (500 MHz, CDCl_3) ^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3)

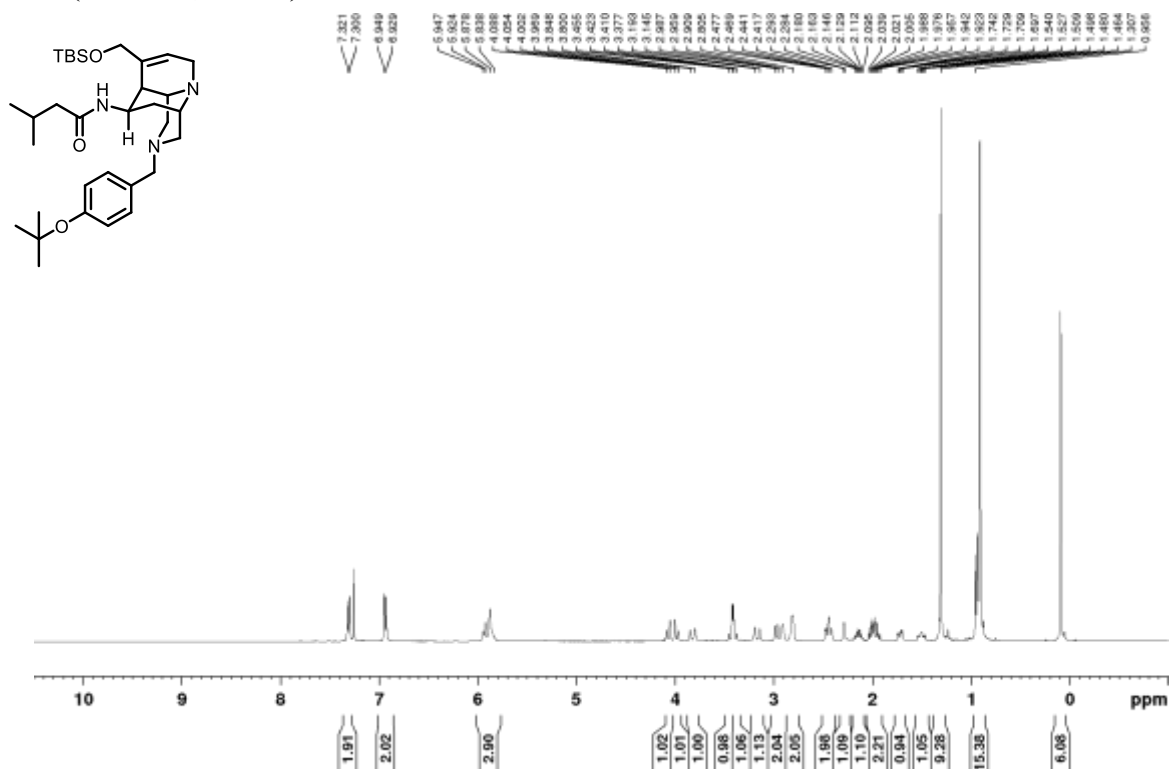
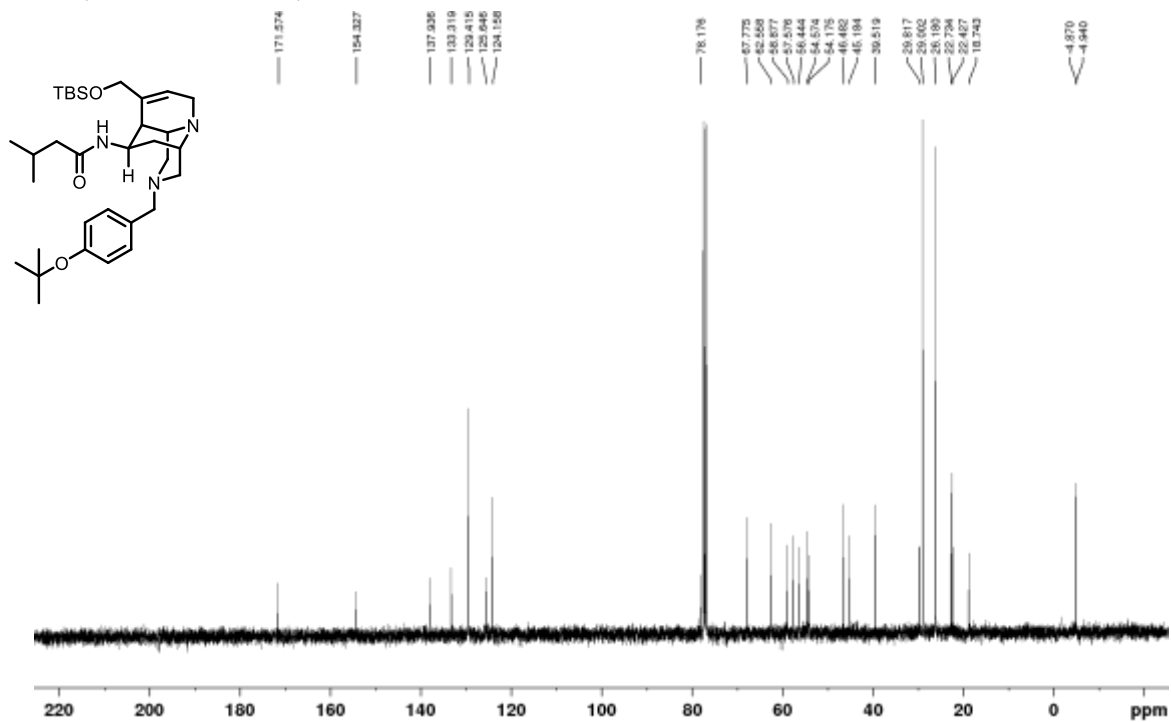
Amide 28f

 ^1H NMR (500 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) ^{13}C NMR (125 MHz, $\text{DMSO-}d_6$)

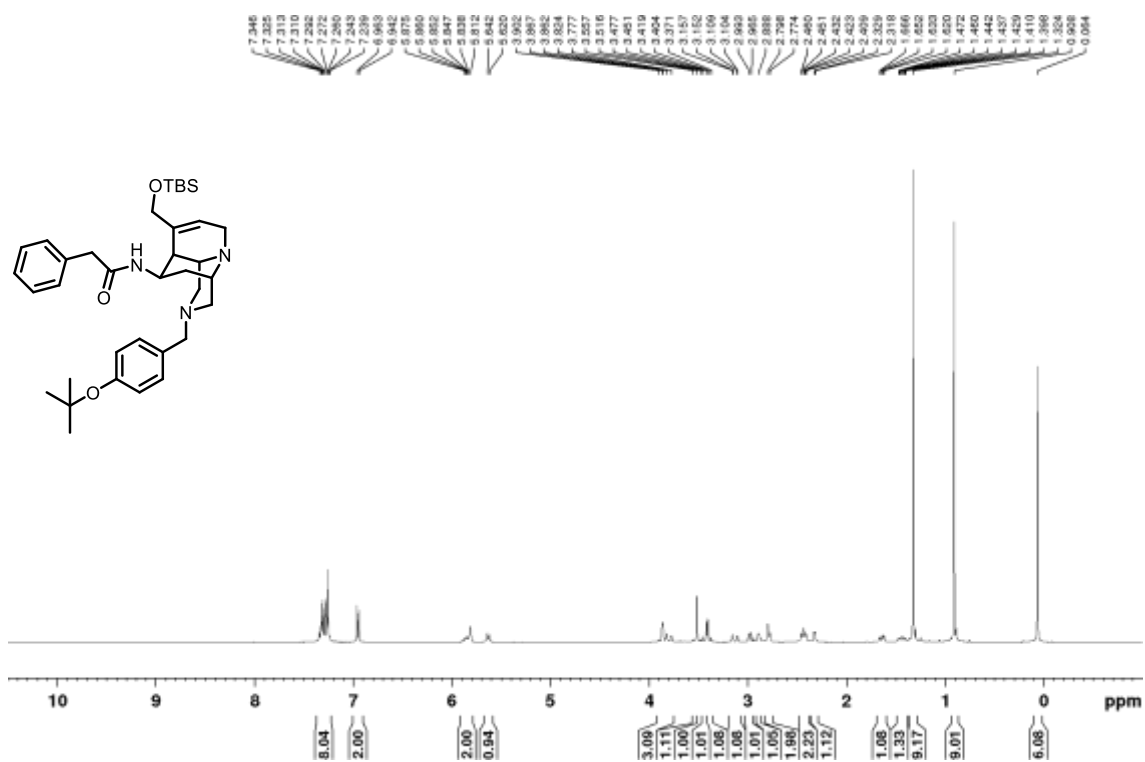
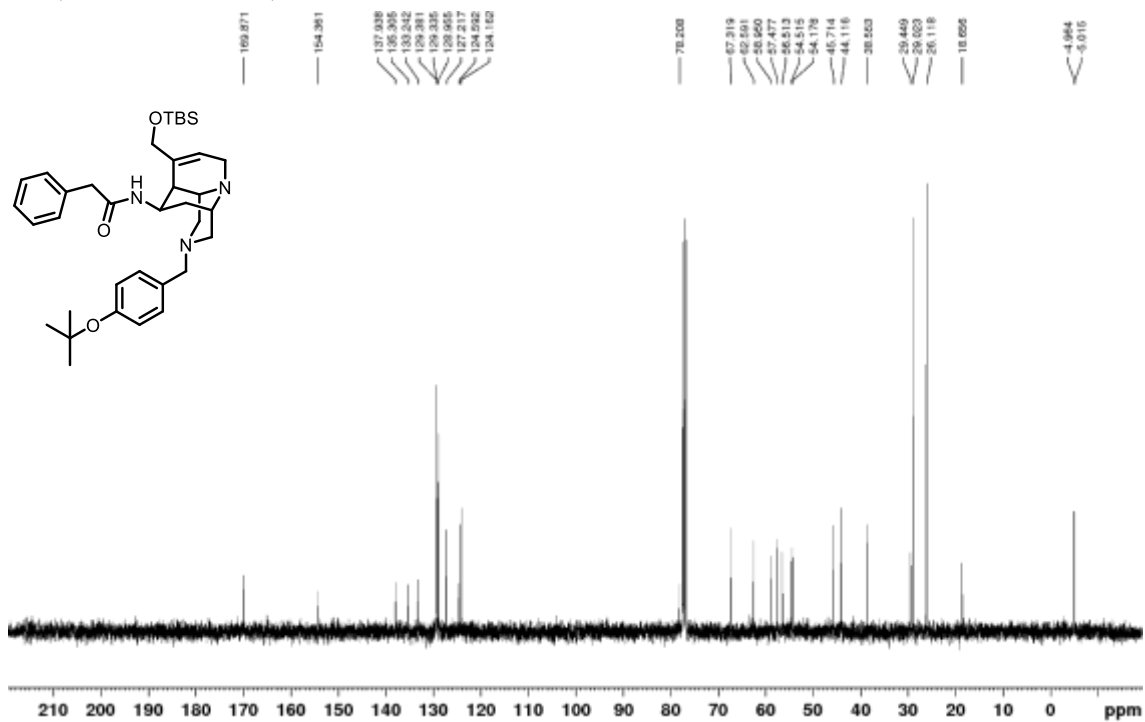
Amide 28g

 ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) ^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3)

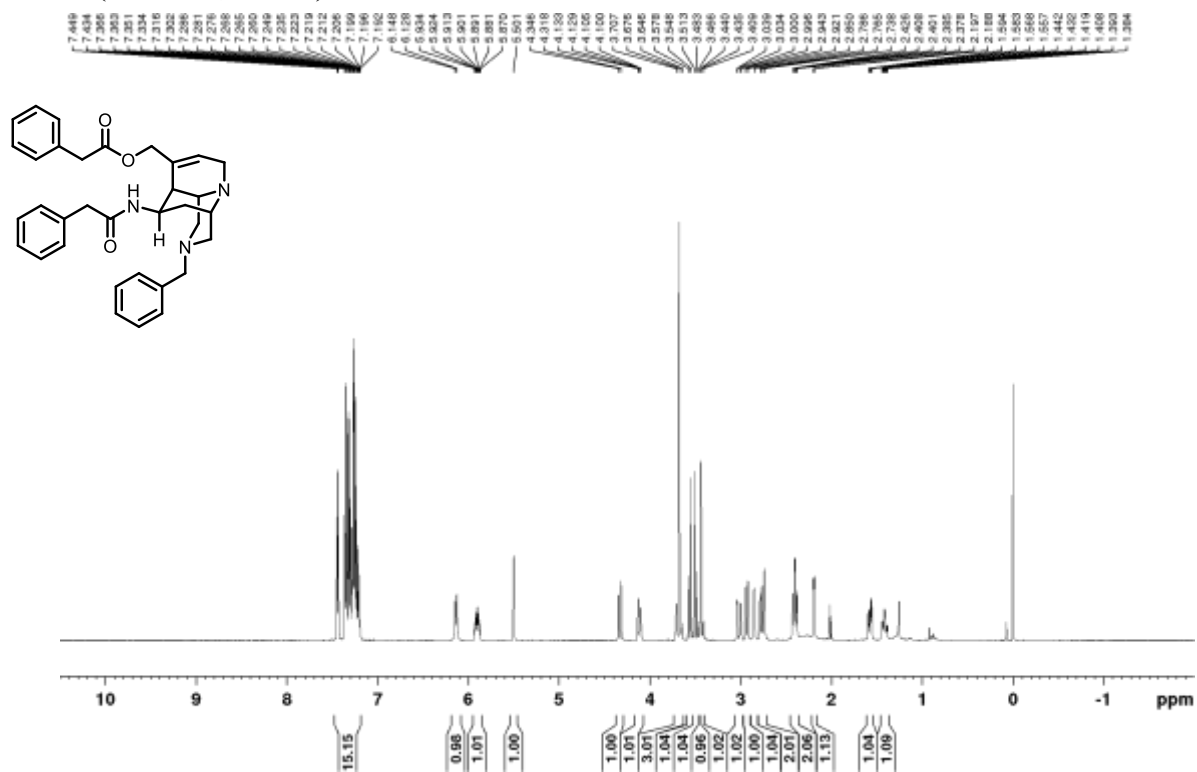
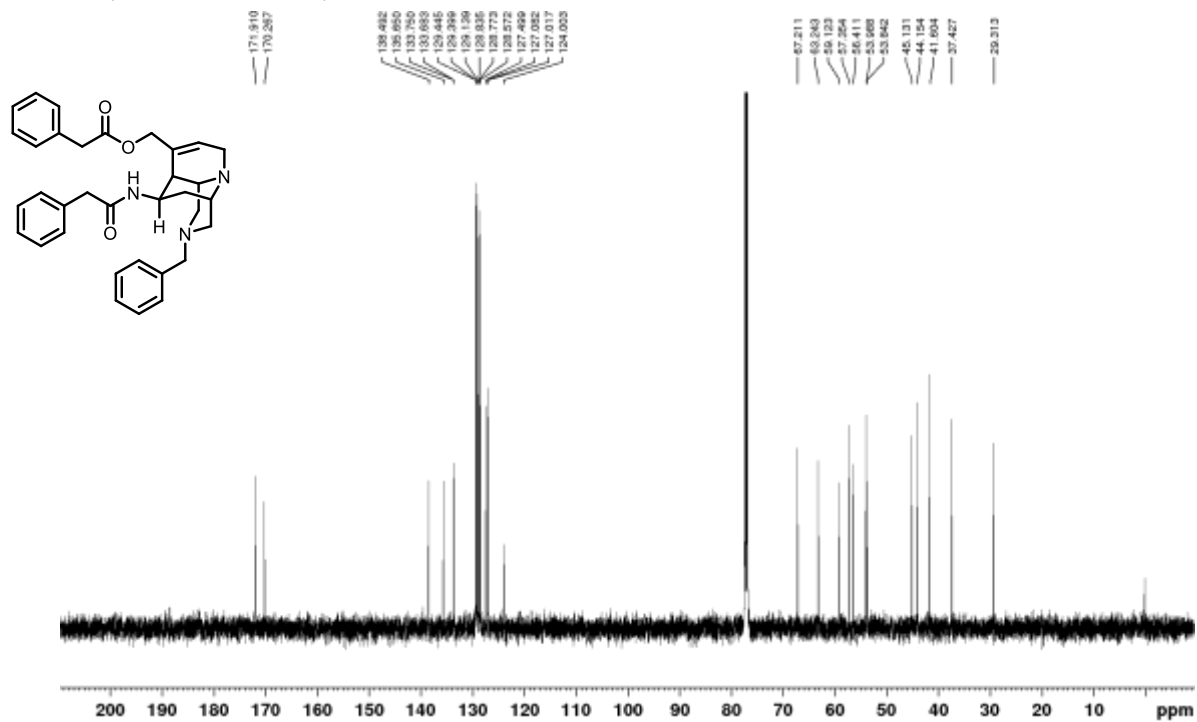
Amide 28h

 ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) ^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3)

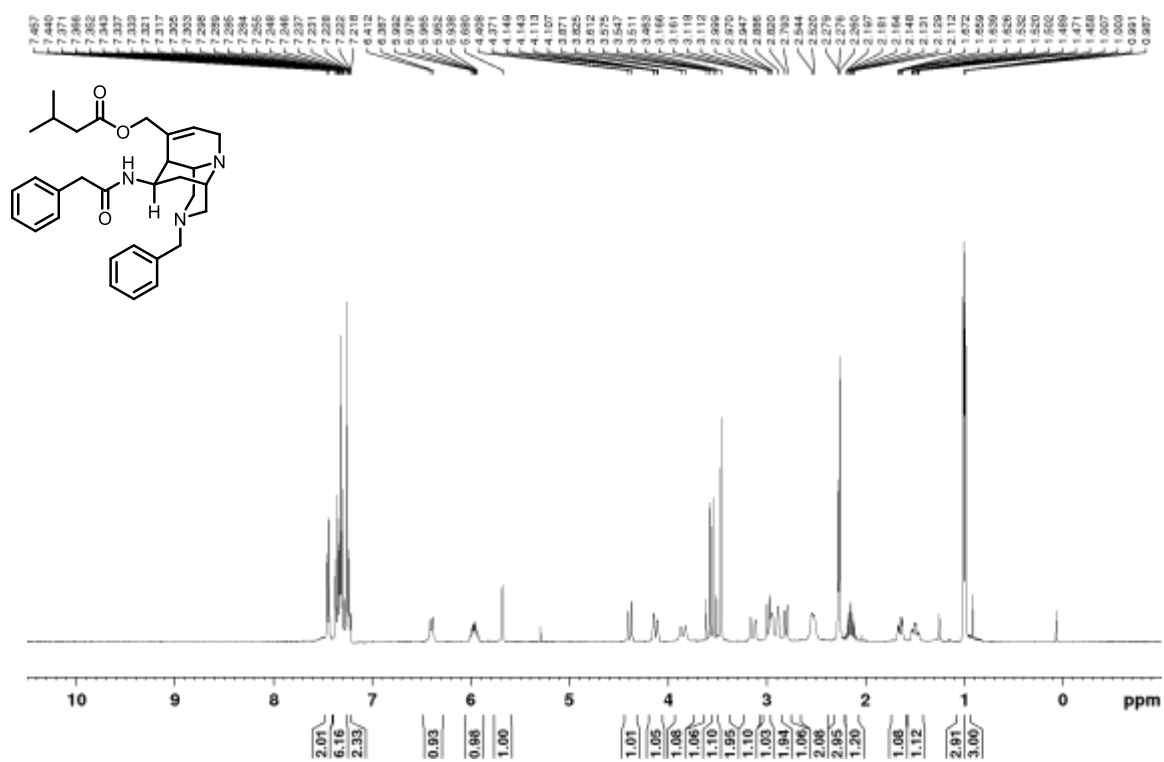
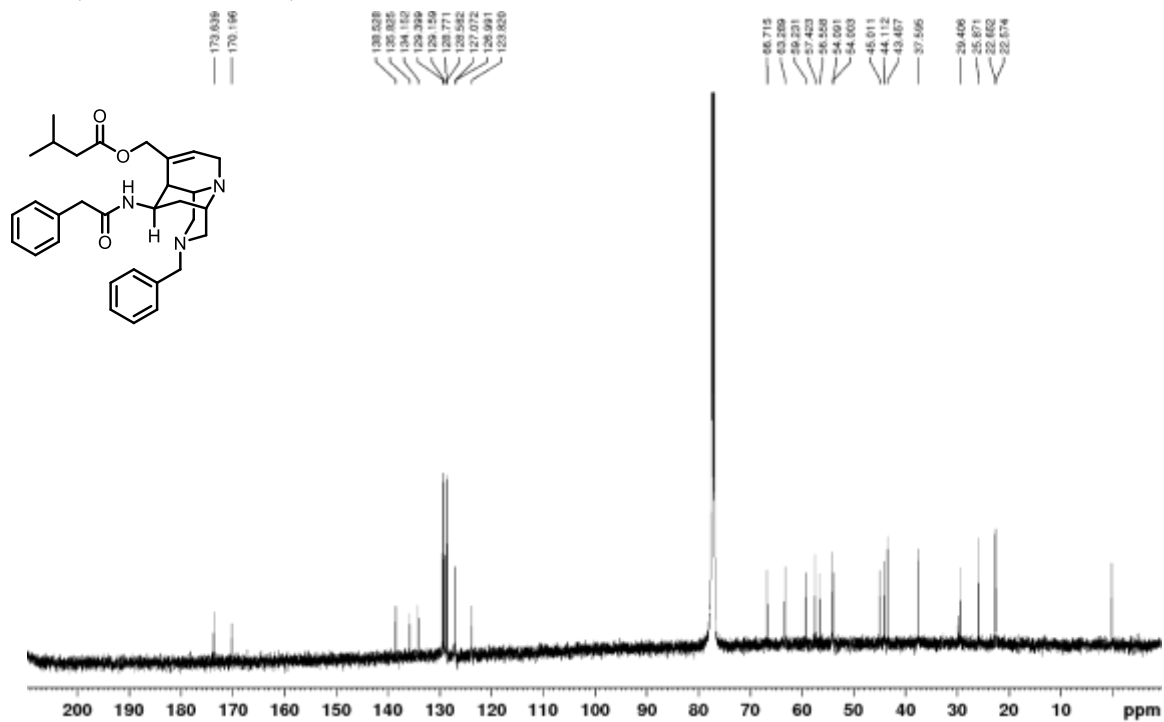
Amide 28i

 ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) ^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3)

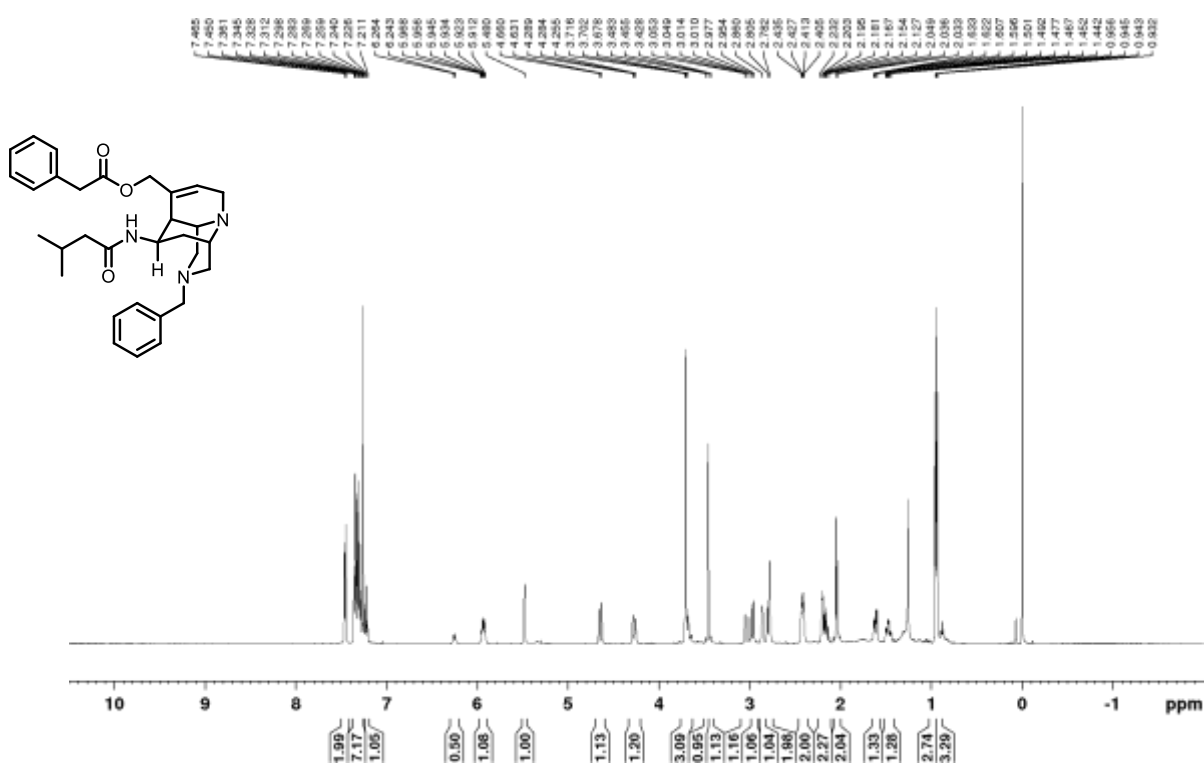
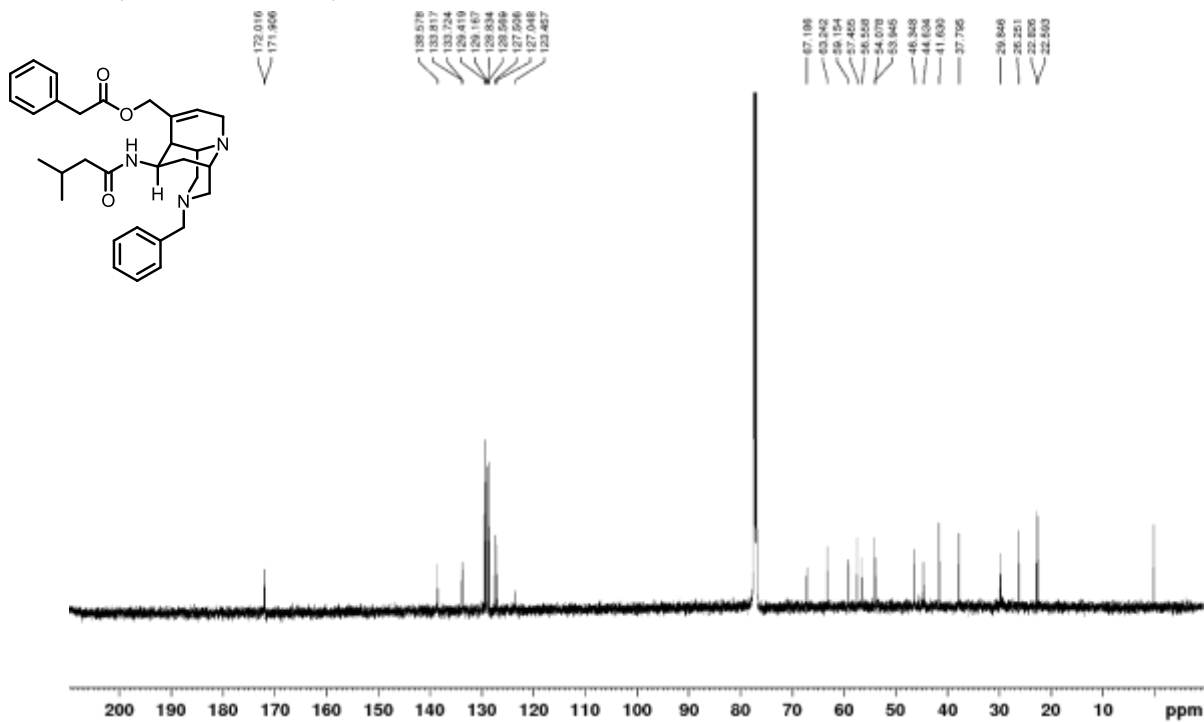
Ester 27a

 ^1H NMR (500 MHz, CDCl_3) ^{13}C NMR (125 MHz, CDCl_3)

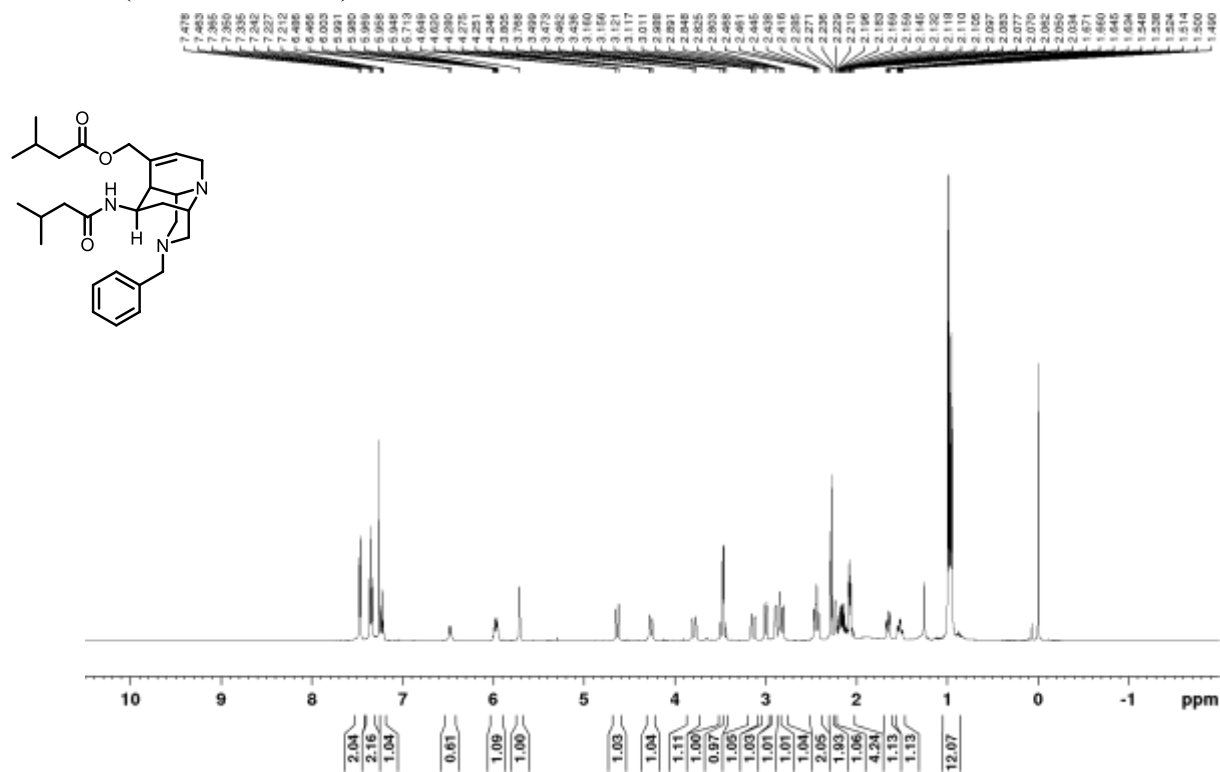
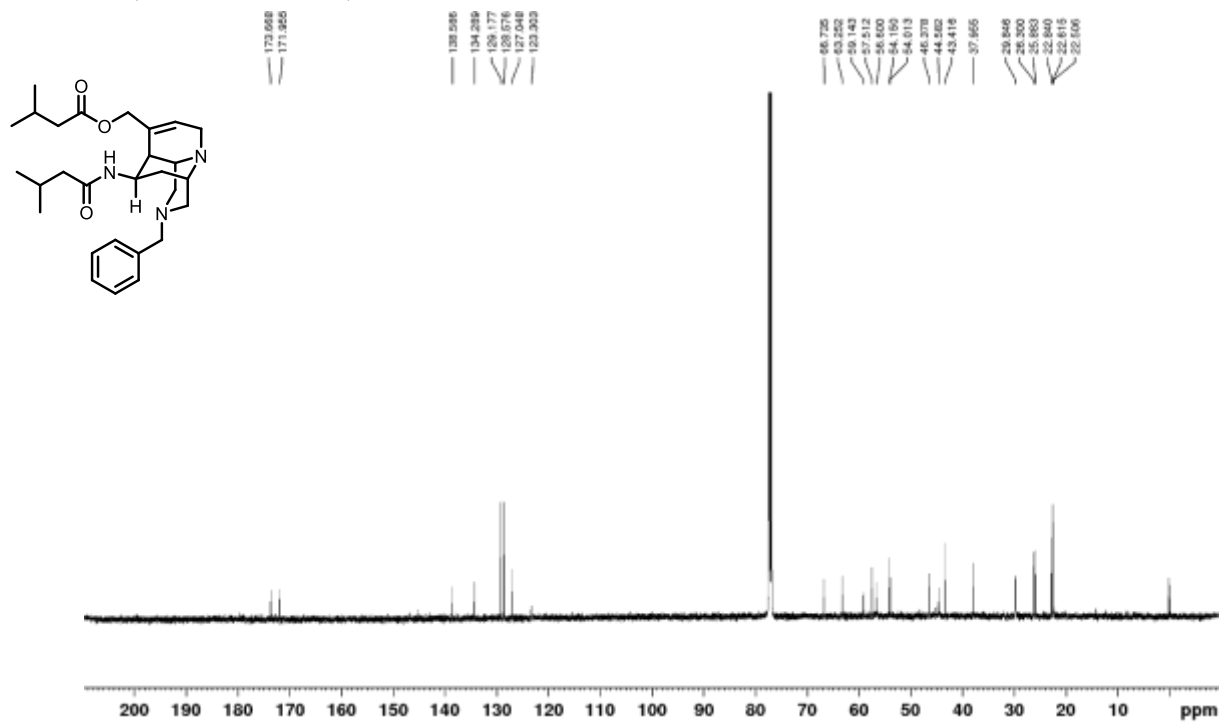
Ester 27b

 ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) ^{13}C NMR (125 MHz, CDCl_3)

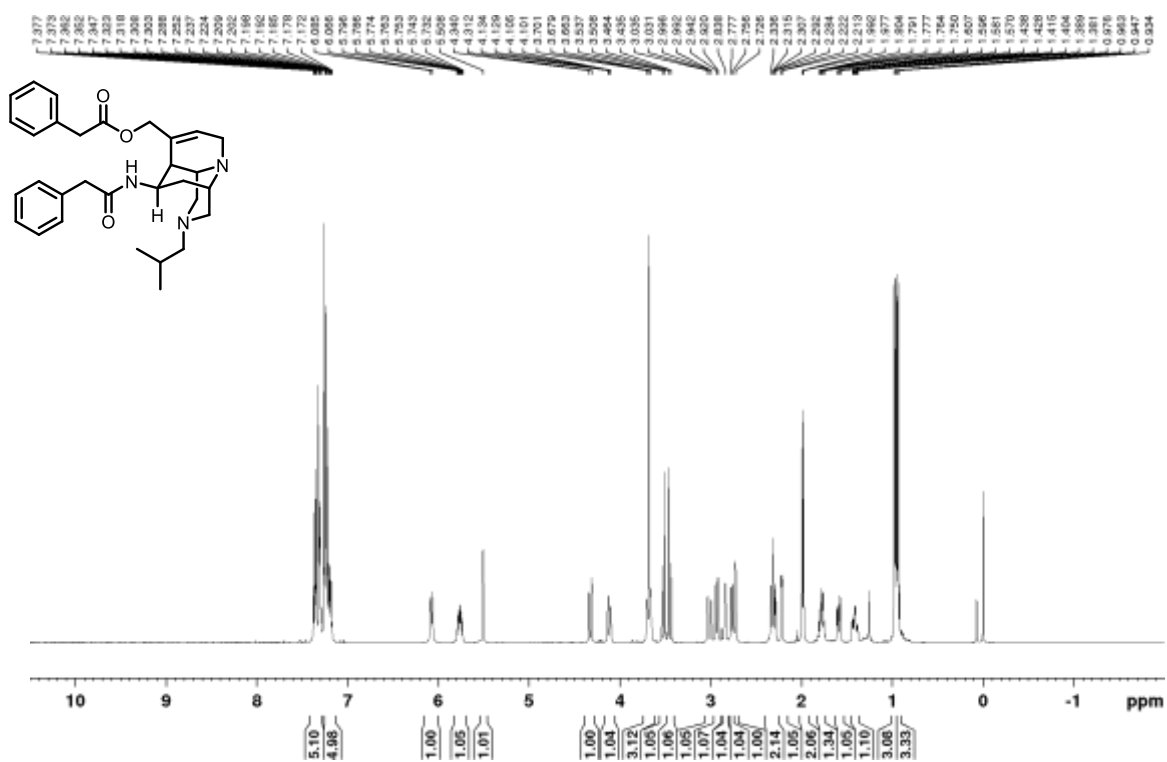
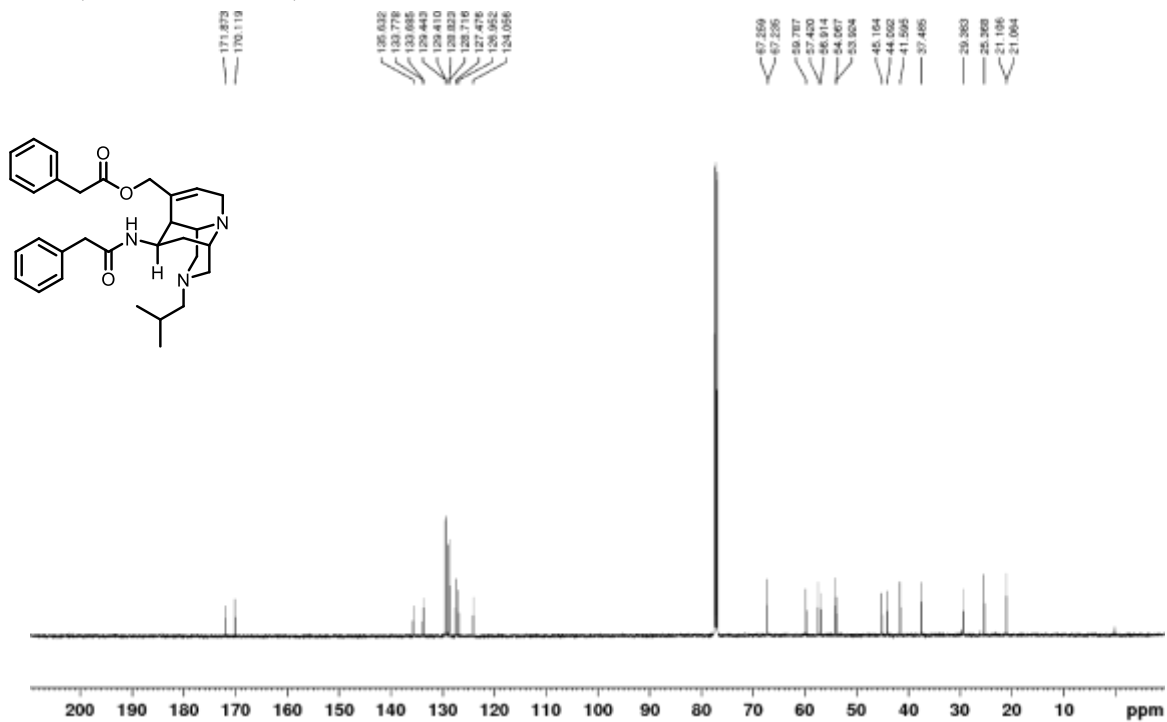
Ester 27c

¹H NMR (500 MHz, CDCl₃)¹³C NMR (125 MHz, CDCl₃)

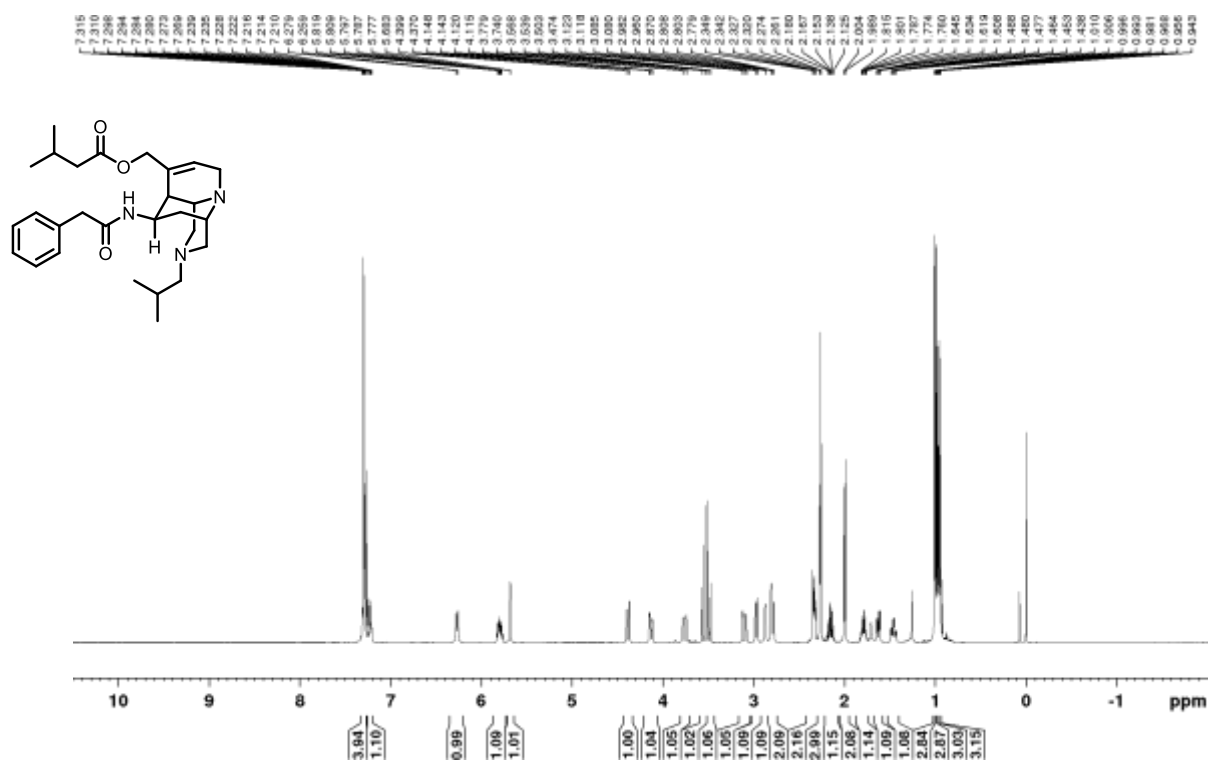
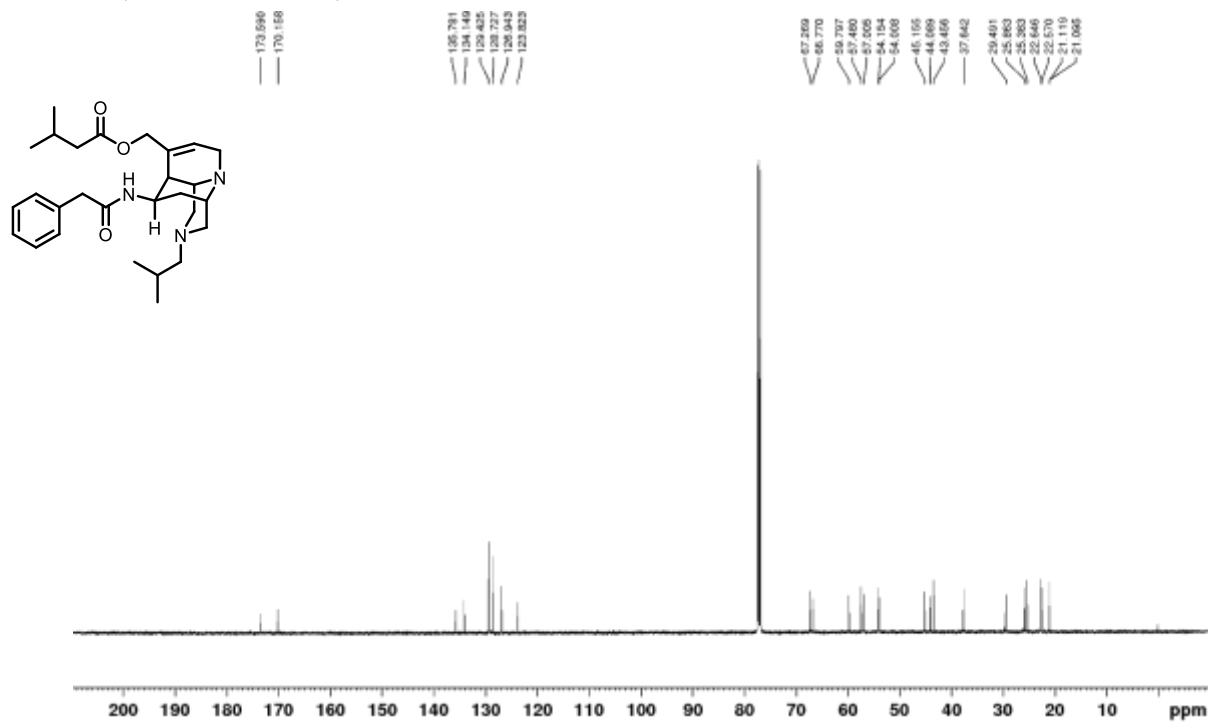
Ester 27d

 ^1H NMR (CDCl_3 , 400 MHz) ^{13}C NMR (CDCl_3 , 125 MHz)

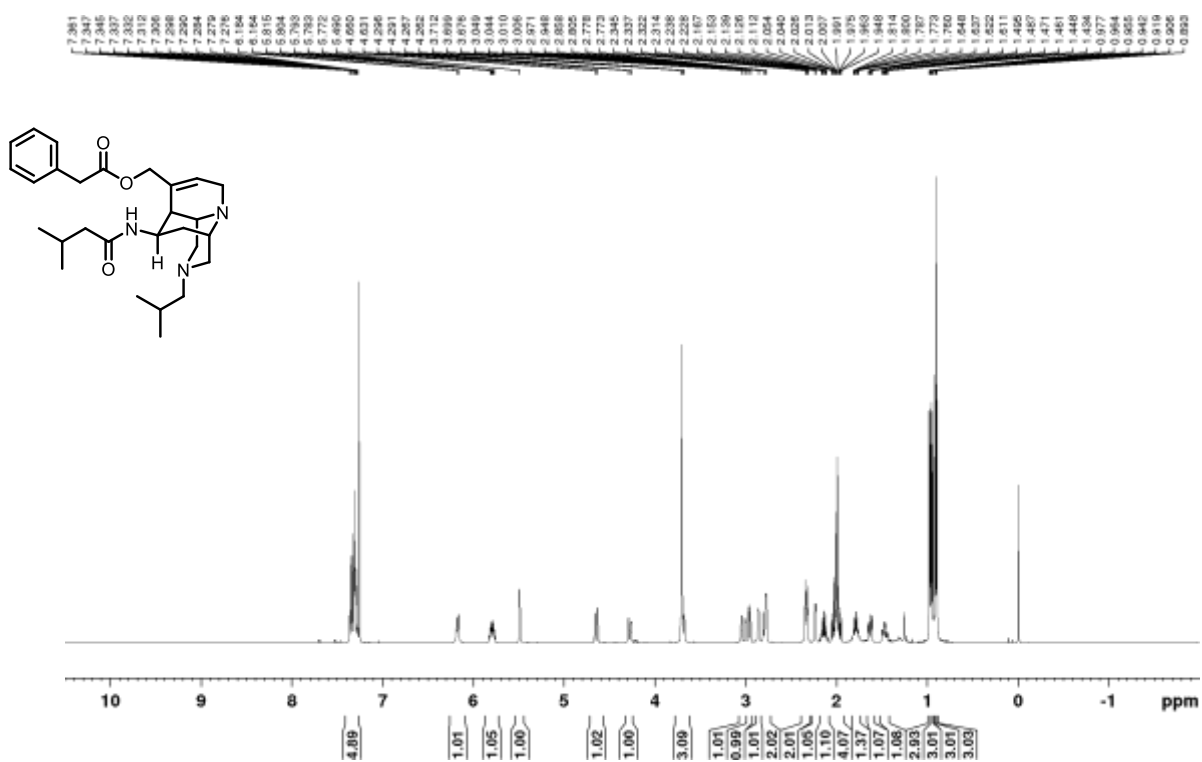
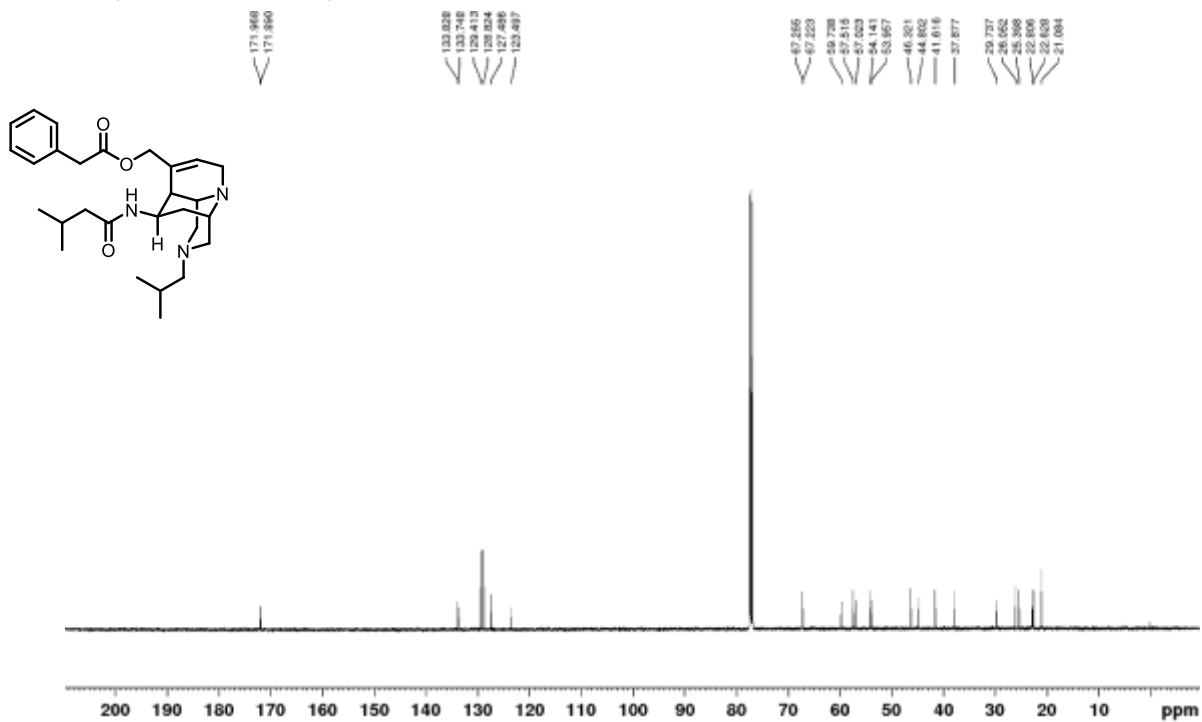
Ester 27e

 ^1H NMR (500 MHz, CDCl_3) ^{13}C NMR (125 MHz, CDCl_3)

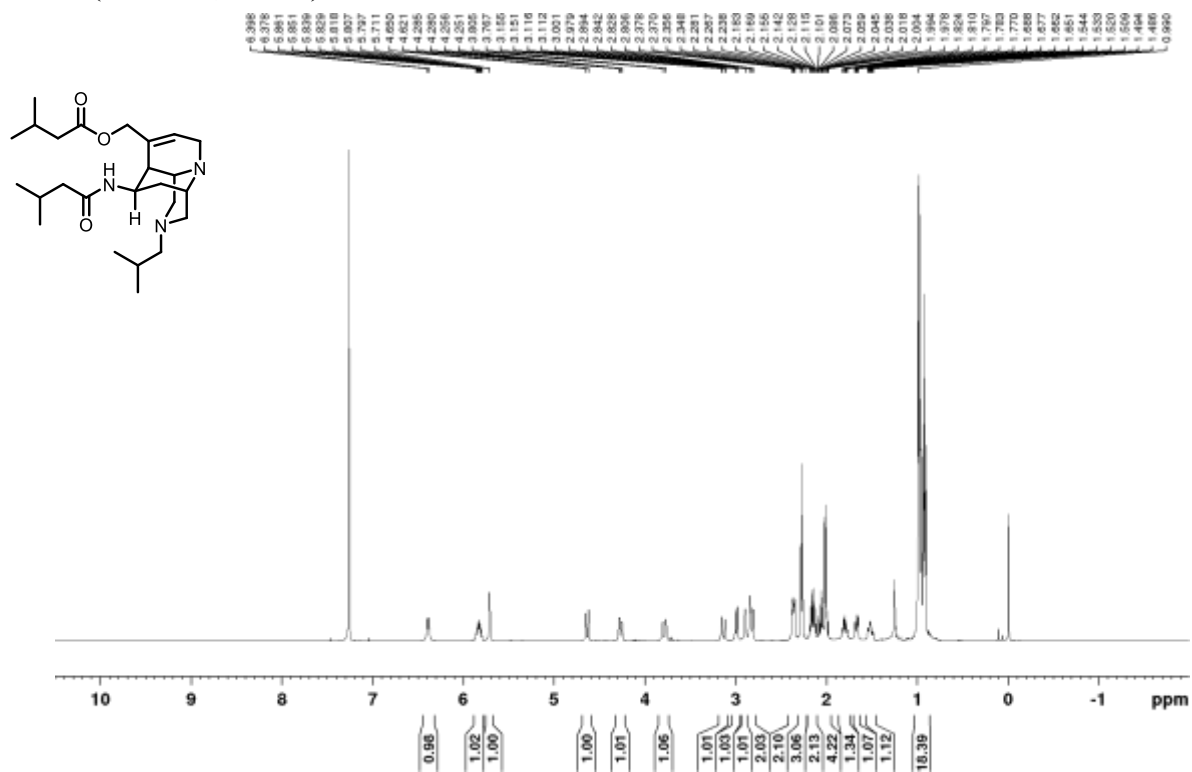
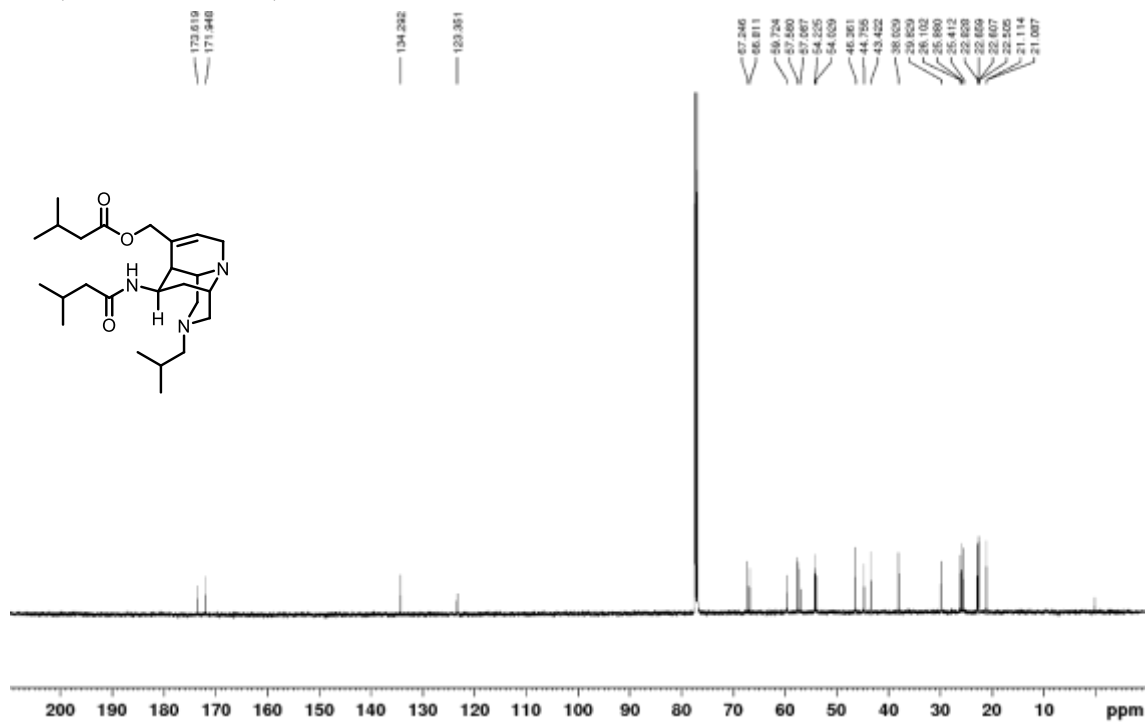
Ester 27f

 ^1H NMR (500 MHz, CDCl_3) ^{13}C NMR (125 MHz, CDCl_3)

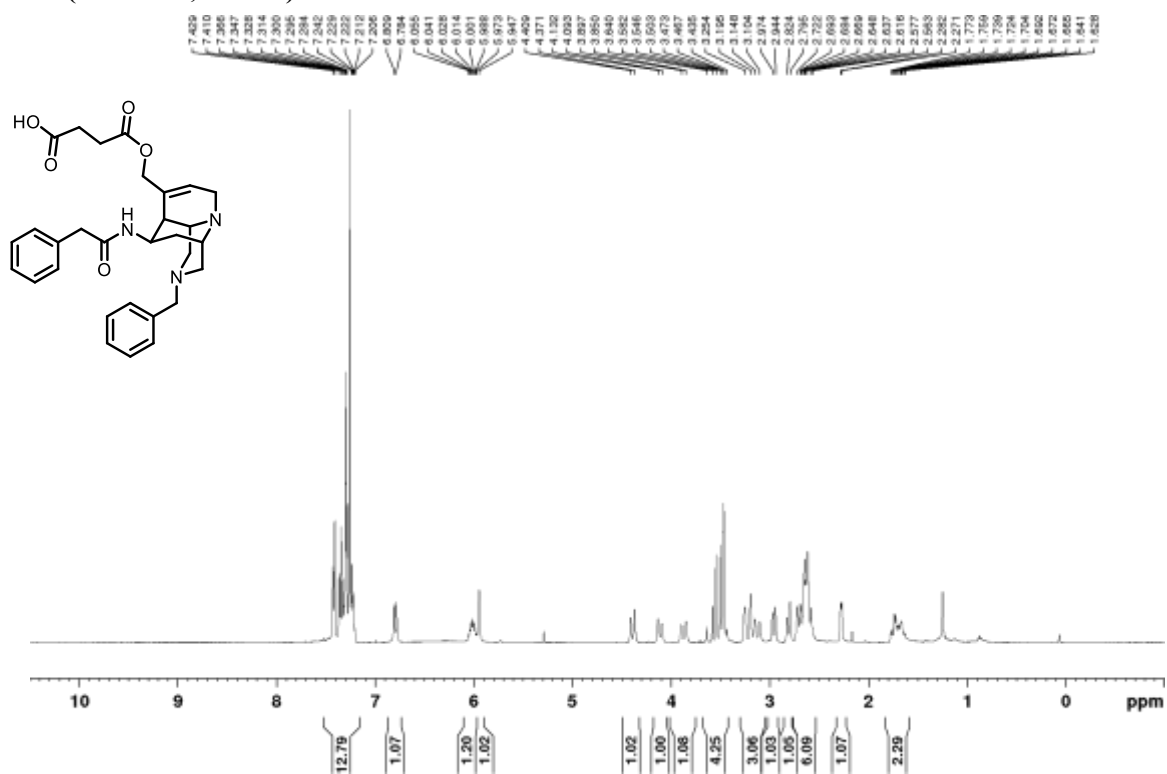
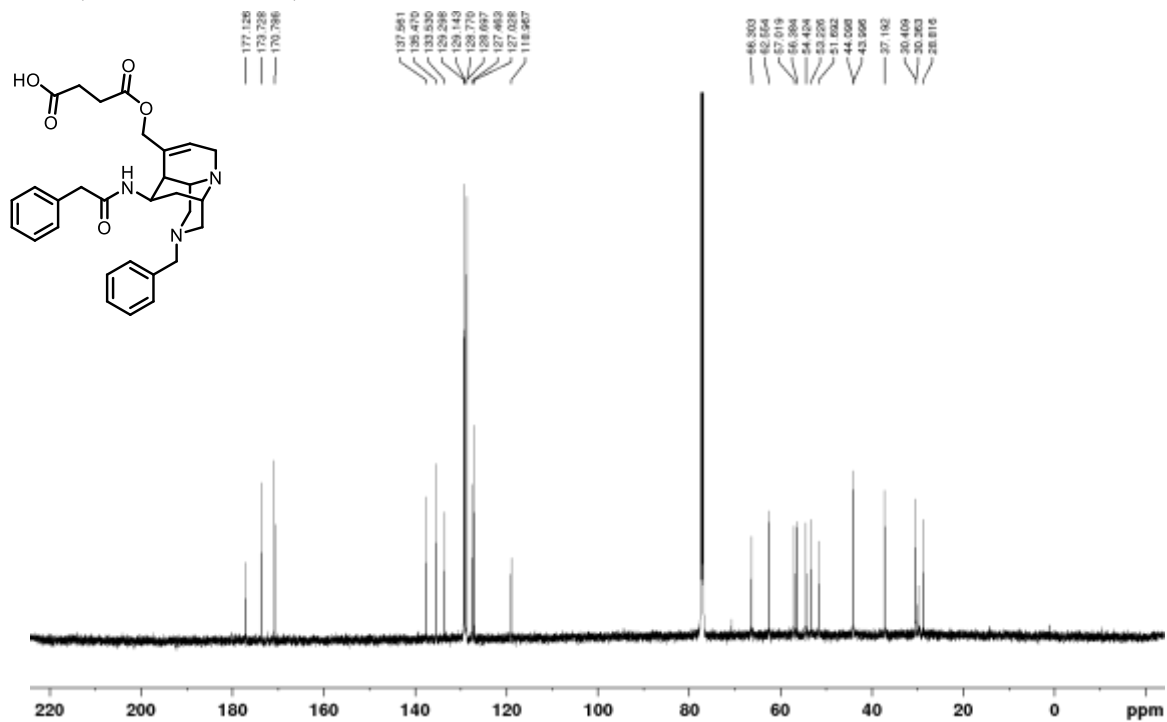
Ester 27g

 $^1\text{H NMR}$ (500 MHz, CDCl_3) $^{13}\text{C NMR}$ (125 MHz, CDCl_3)

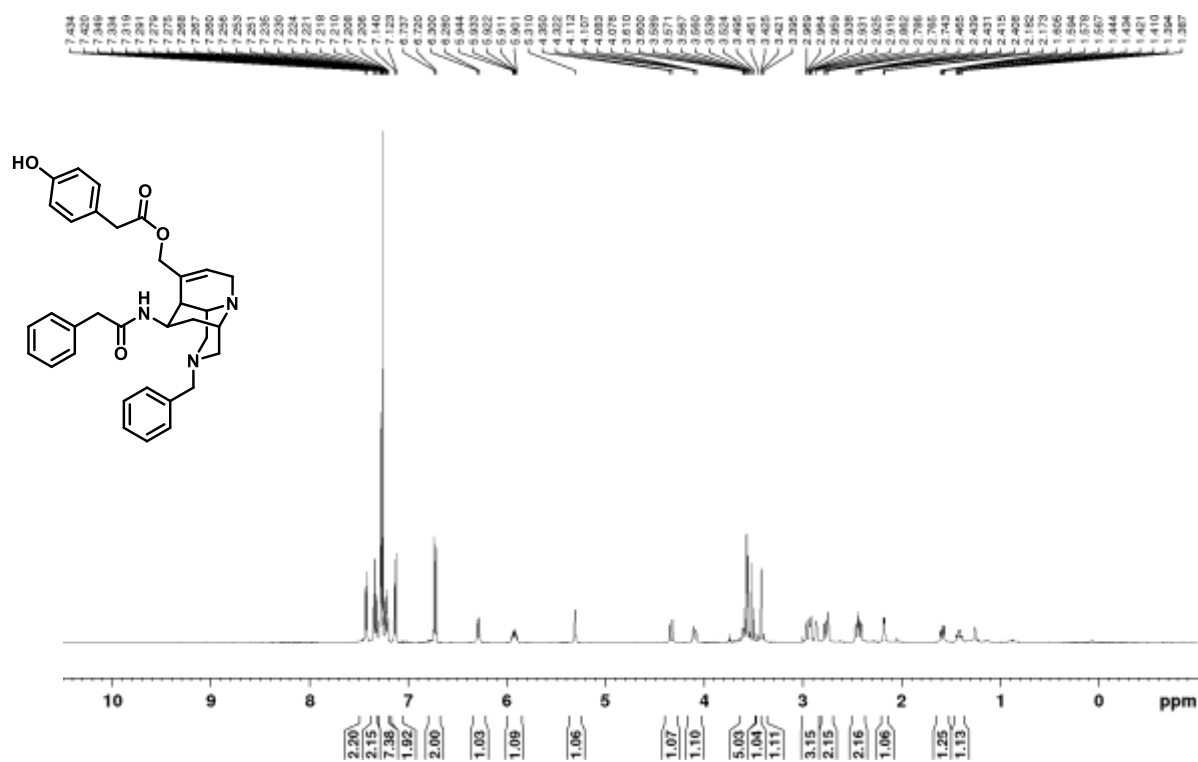
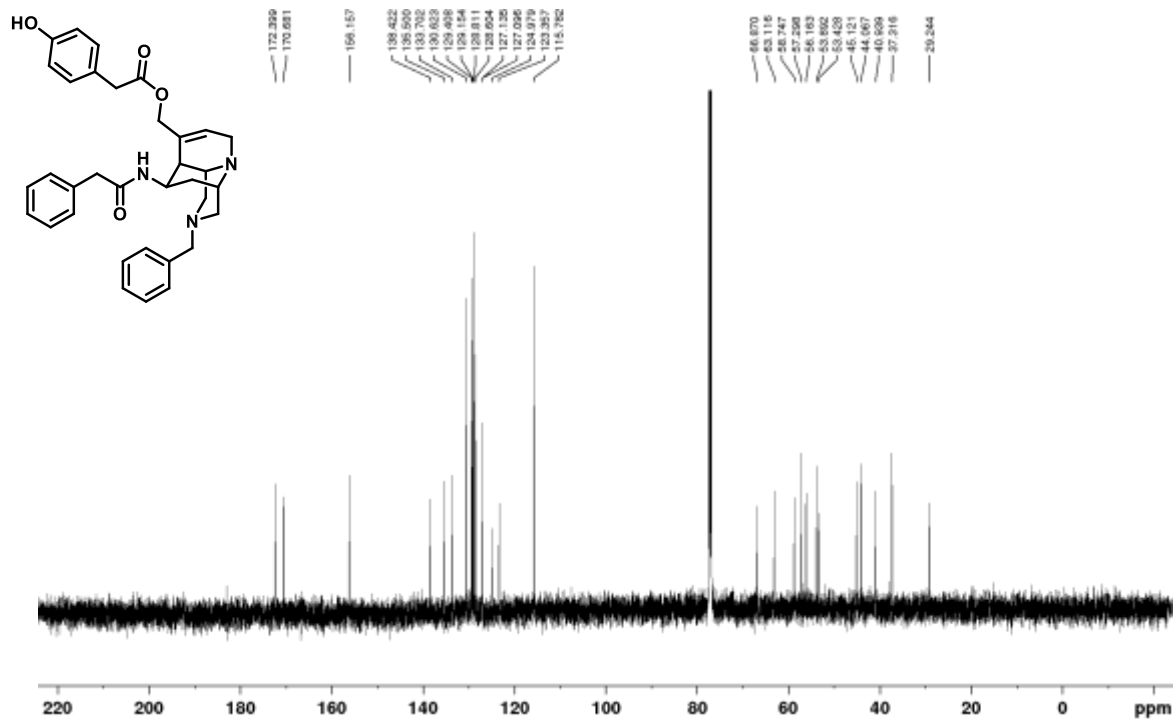
Ester 21h

 ^1H NMR (500 MHz, CDCl_3) ^{13}C NMR (125 MHz, CDCl_3)

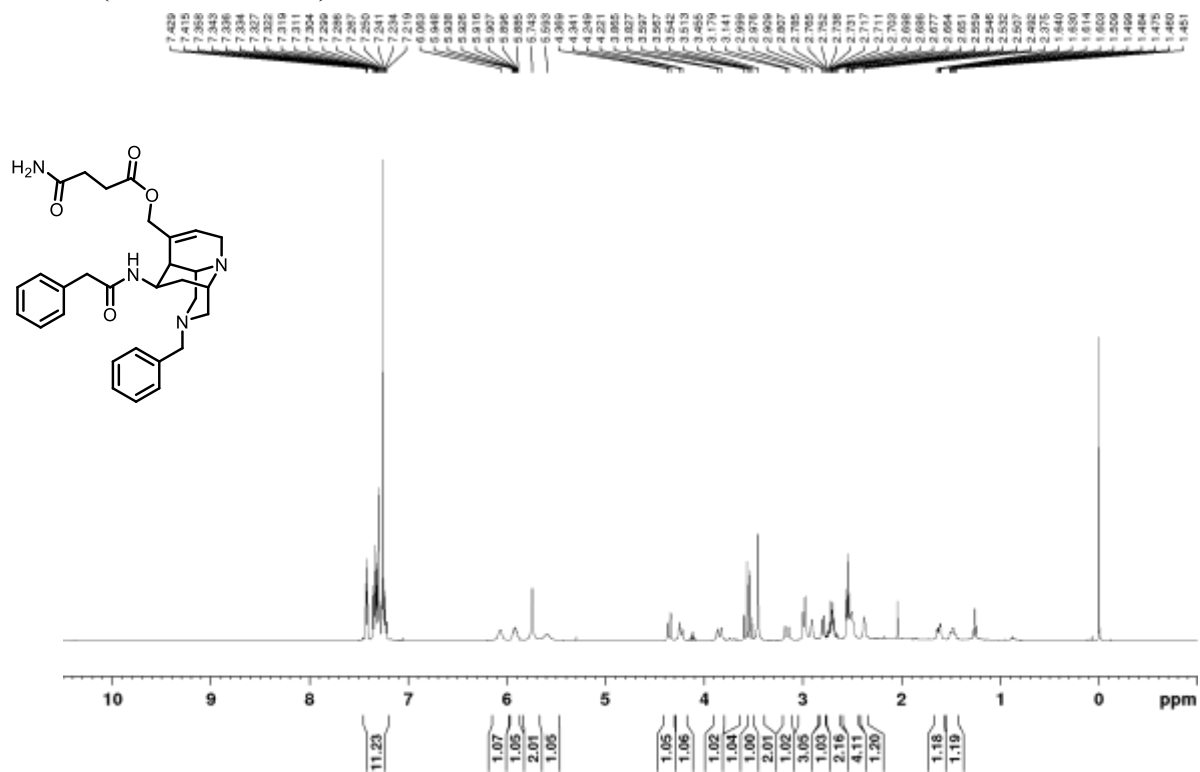
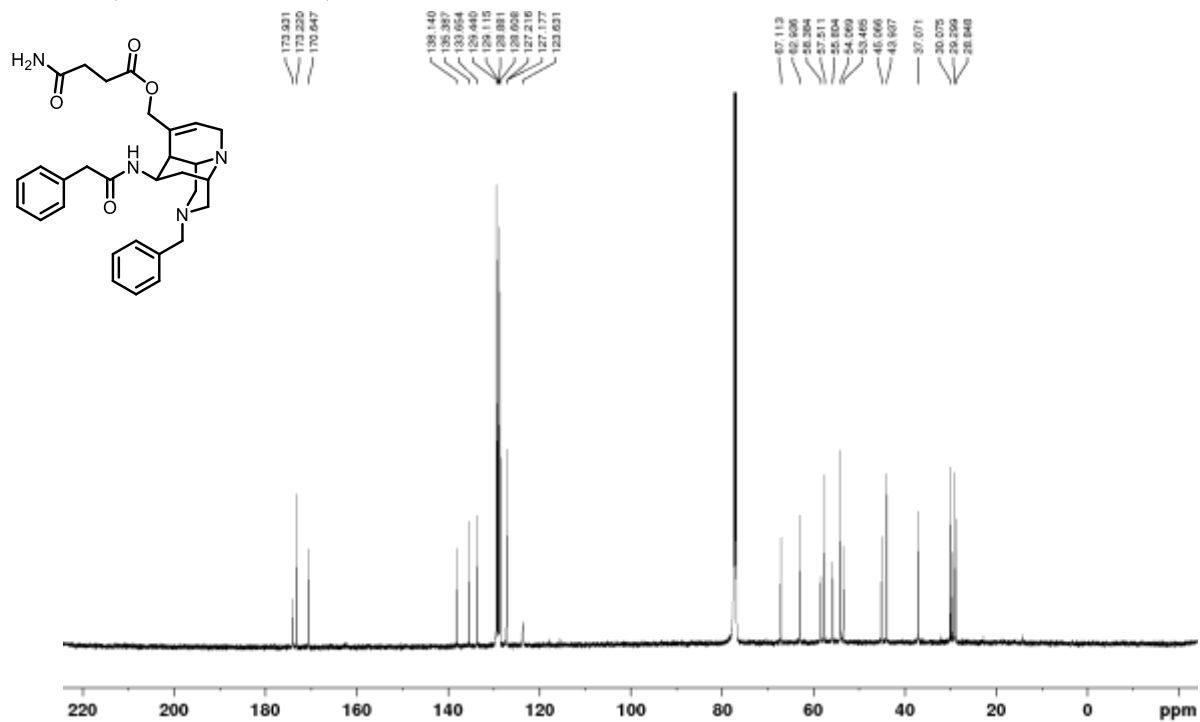
Ester 27i

 ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) ^{13}C NMR (125 MHz, CDCl_3)

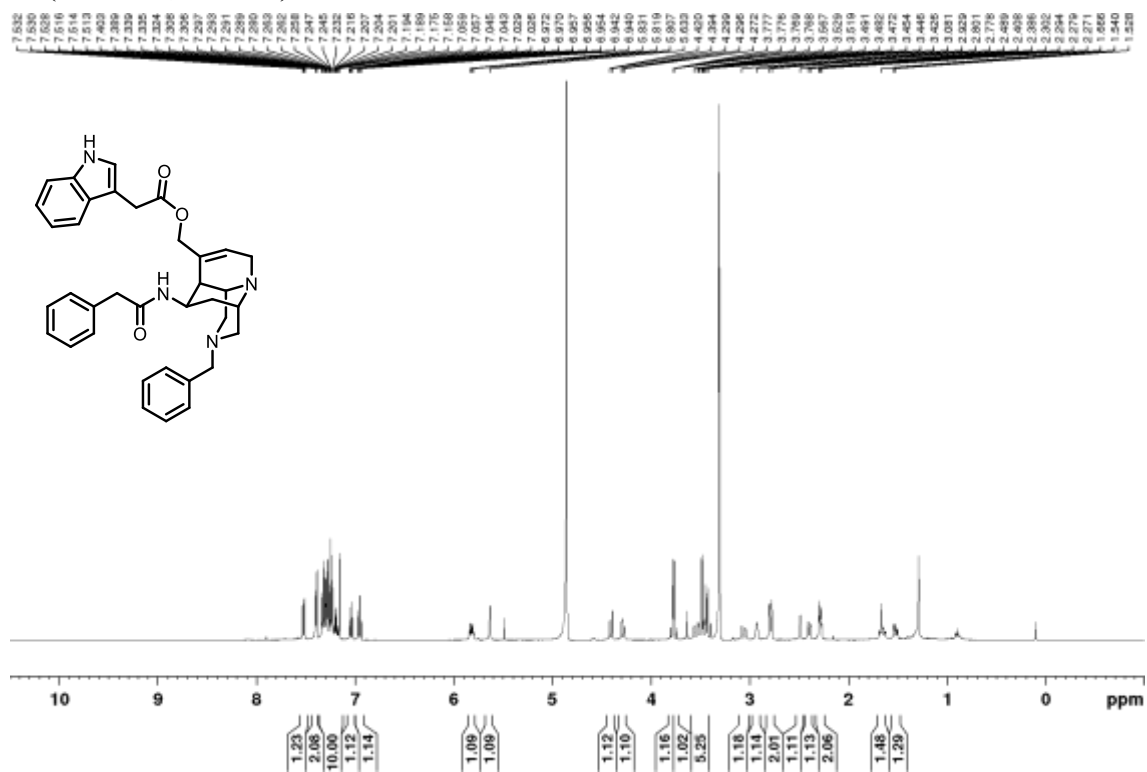
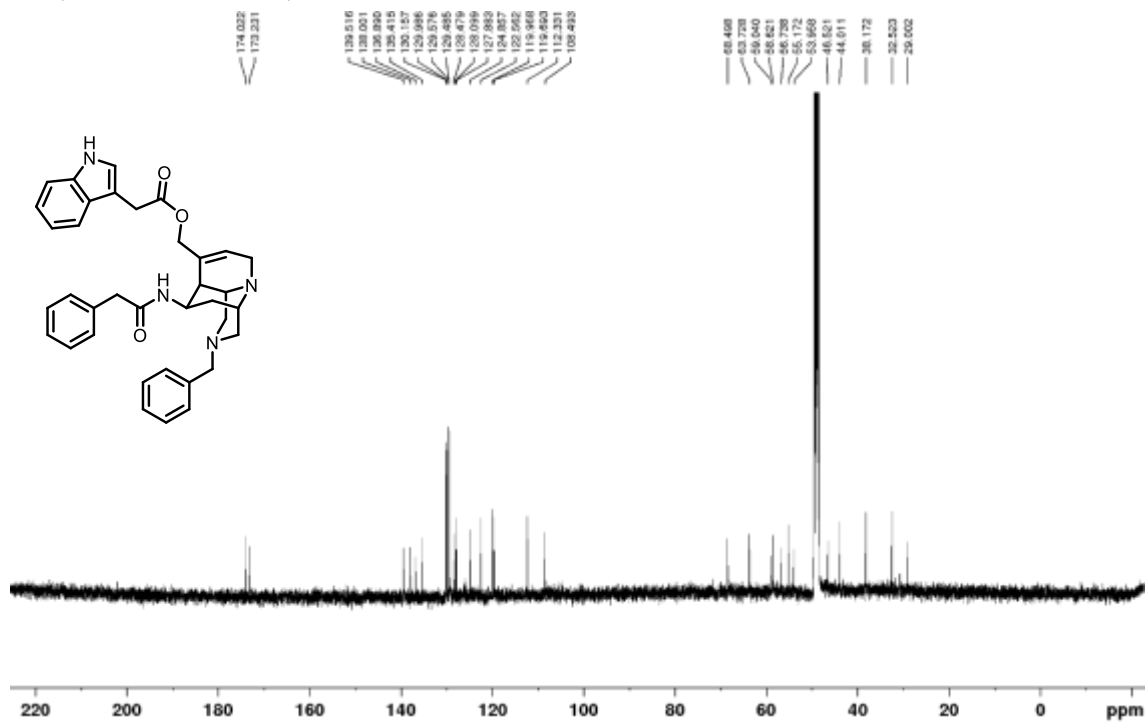
Ester 27j

 ^1H NMR (500 MHz, CDCl_3) ^{13}C NMR (125 MHz, CDCl_3)

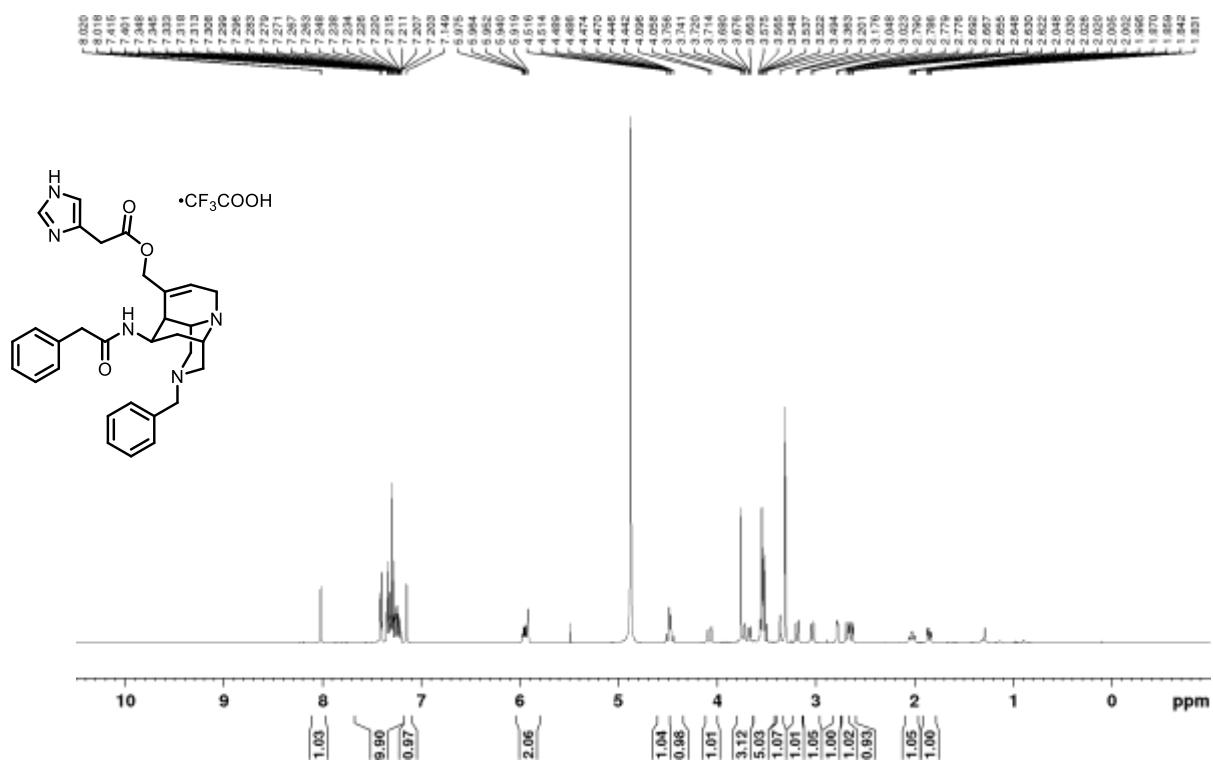
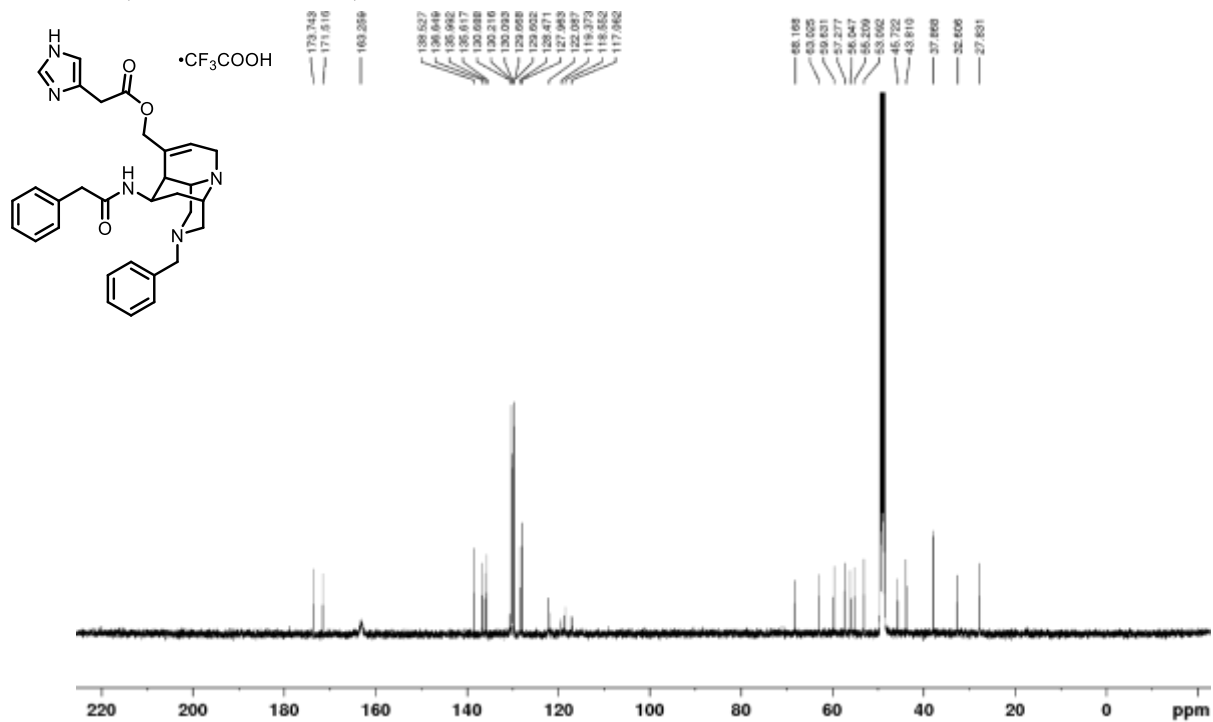
Ester 27k

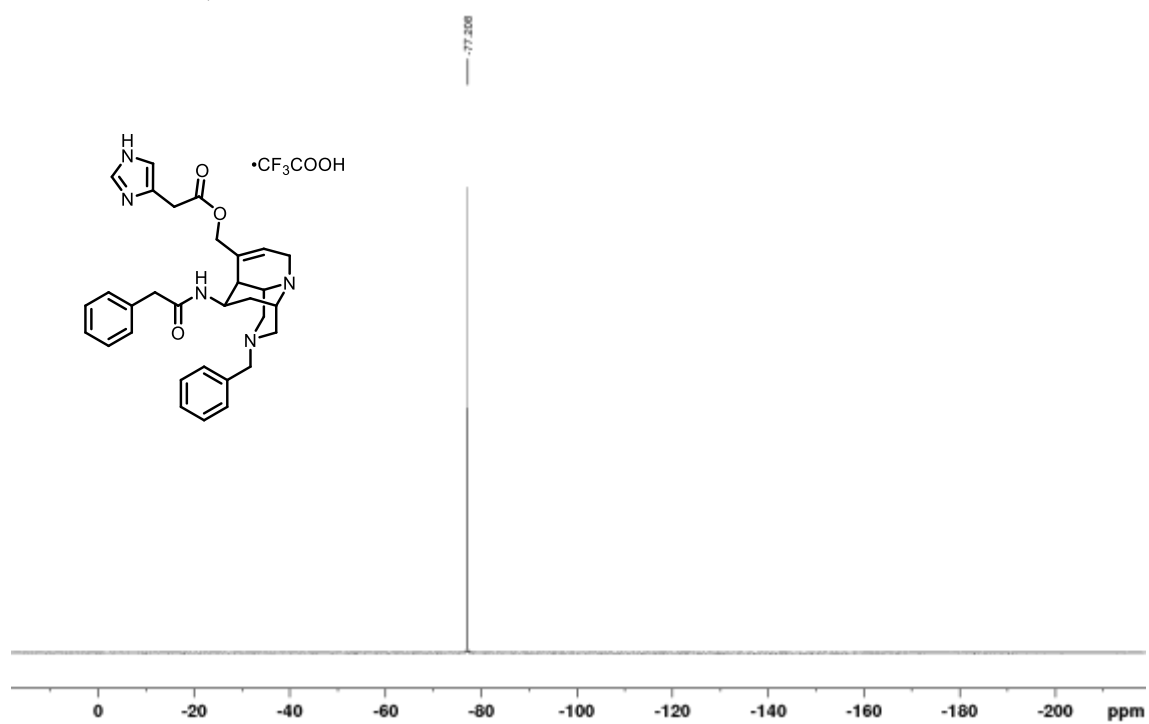
 ^1H NMR (500 MHz, CDCl_3) ^{13}C NMR (125 MHz, CDCl_3)

Ester 271

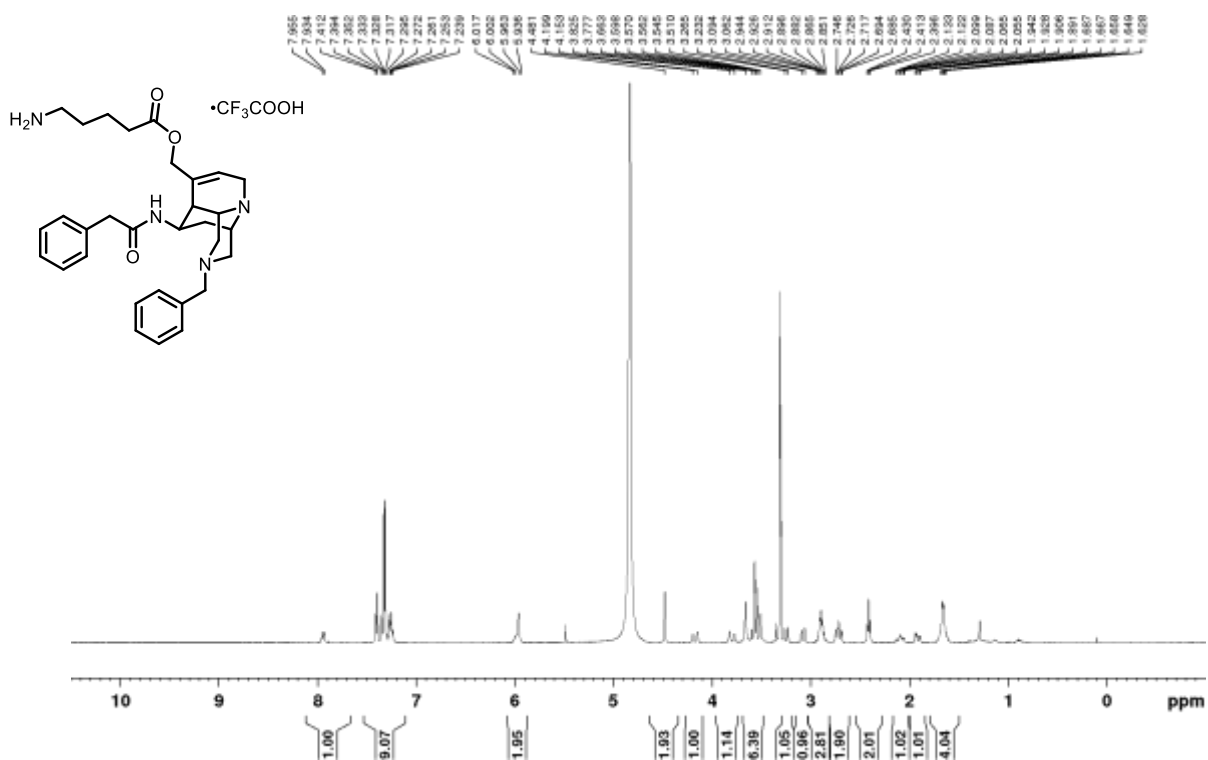
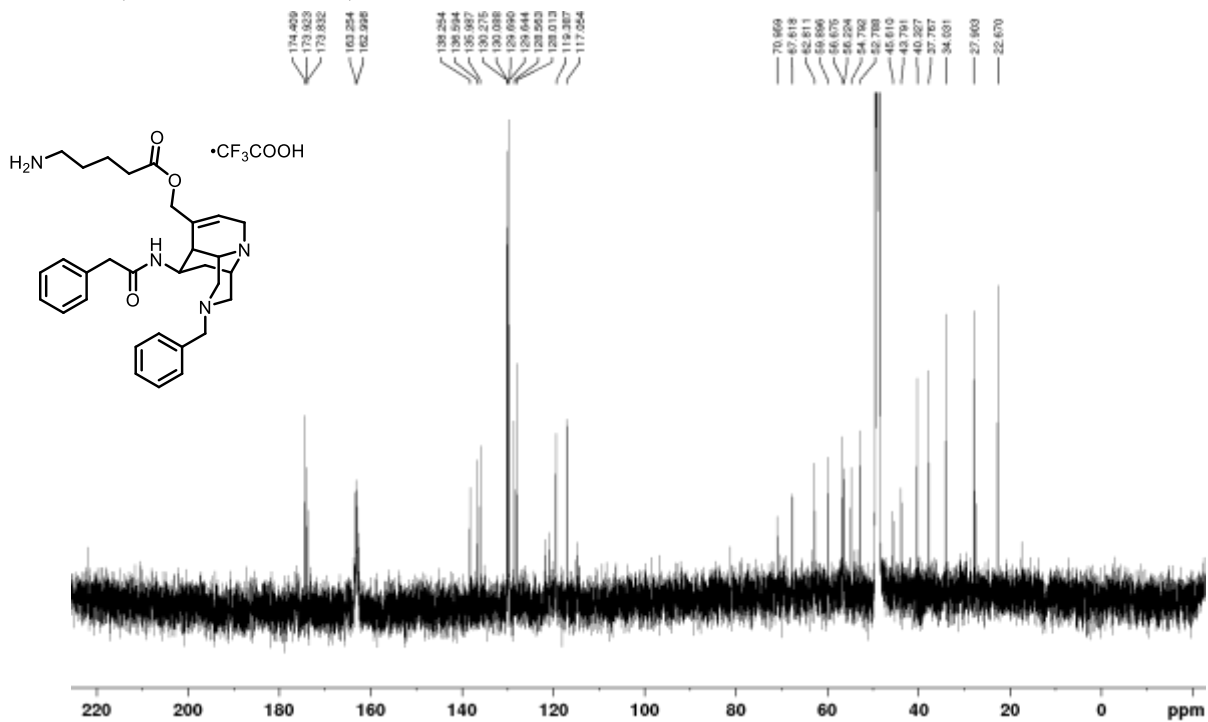
 $^1\text{H NMR}$ (500 MHz, CD_3OD) $^{13}\text{C NMR}$ (125 MHz, CD_3OD)

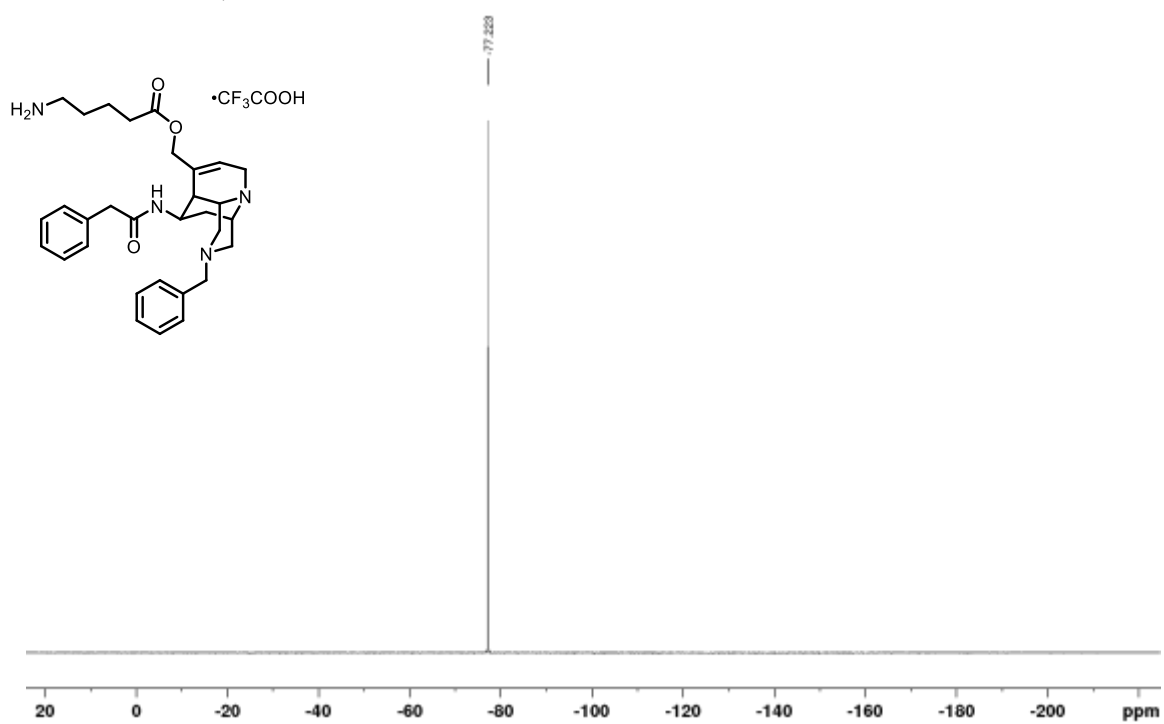
Ester 27m

 ^1H NMR (500 MHz, CD_3OD) ^{13}C NMR (125 MHz, CD_3OD)

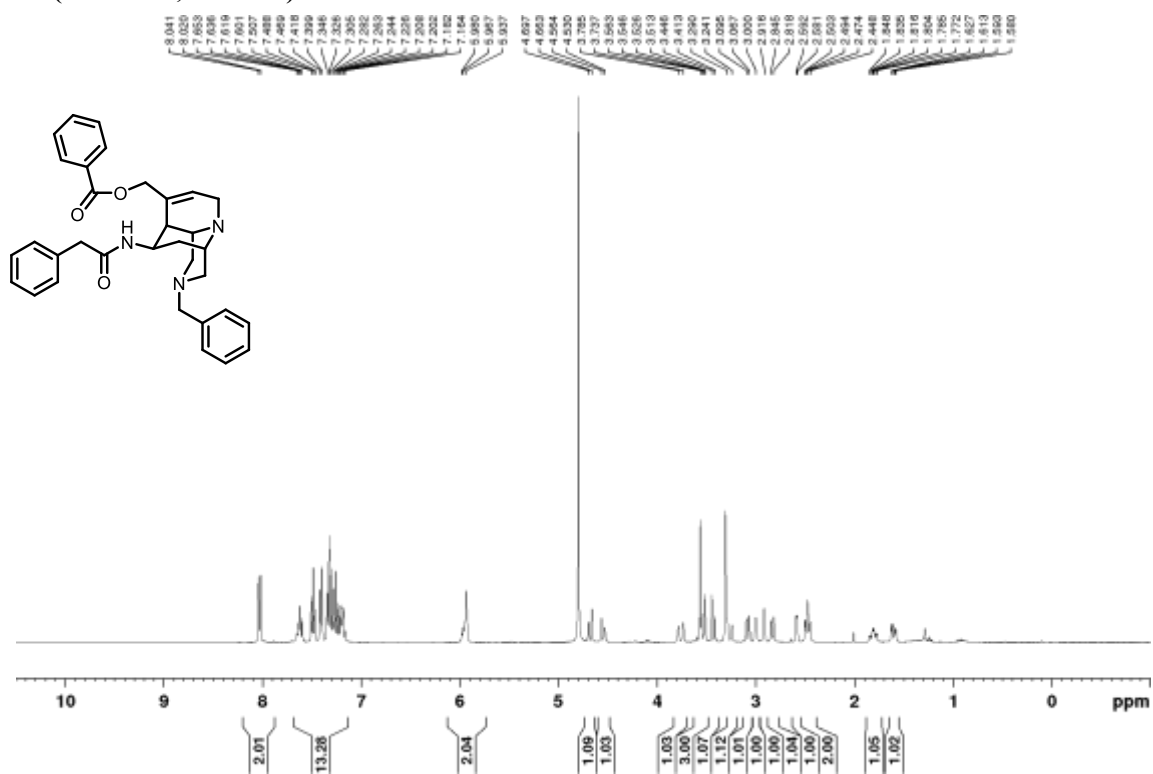
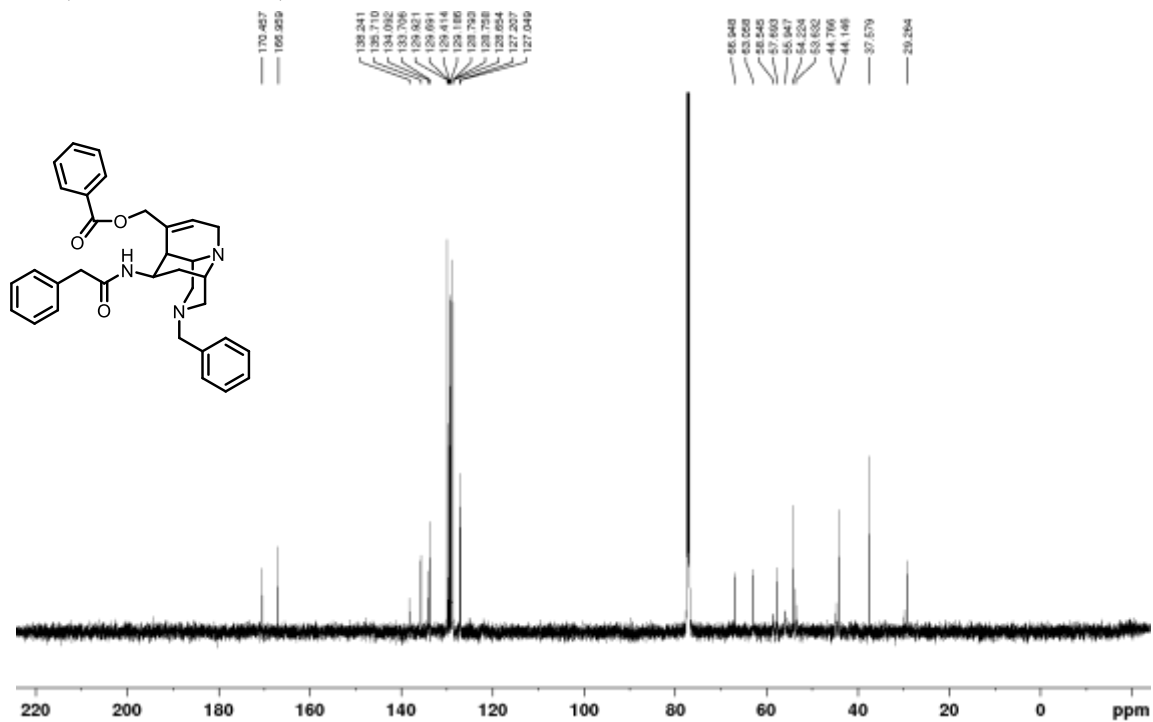
^{19}F (376 MHz, CD_3OD)

Ester 27n

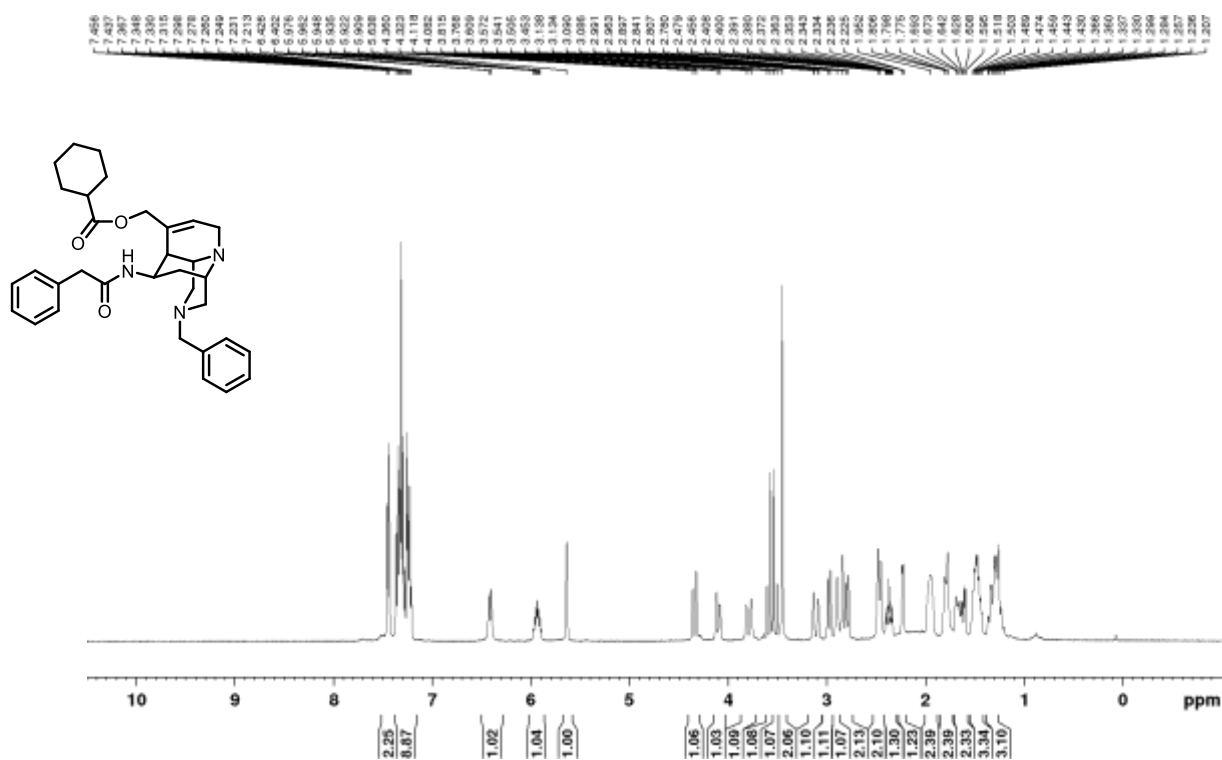
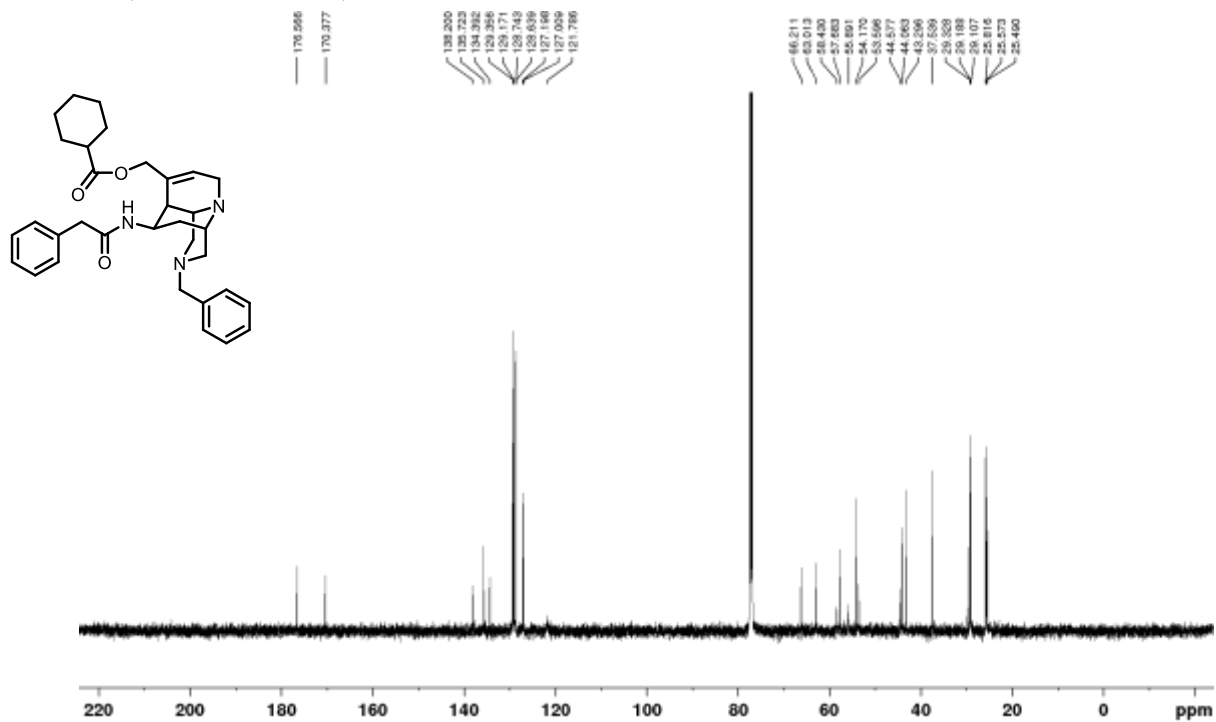
 ^1H NMR (500 MHz, CD_3OD) ^{13}C NMR (125 MHz, CD_3OD)

^{19}F (376 MHz, CD_3OD)

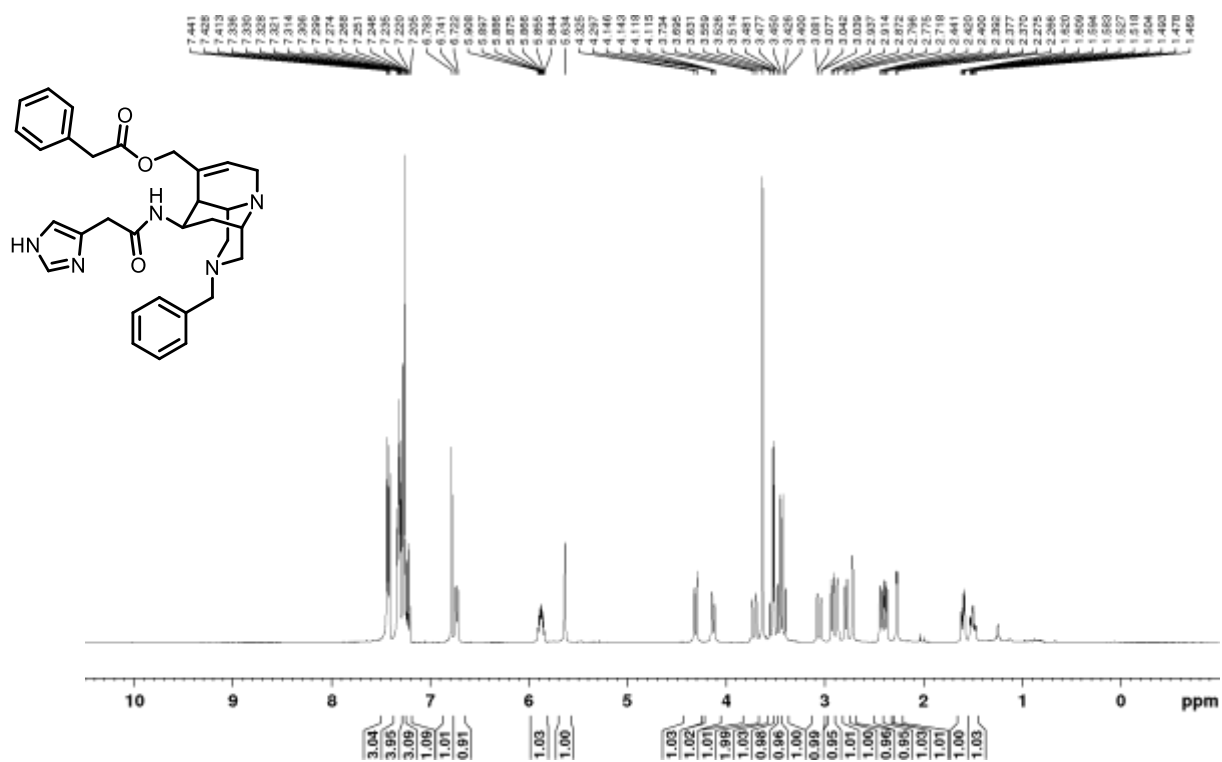
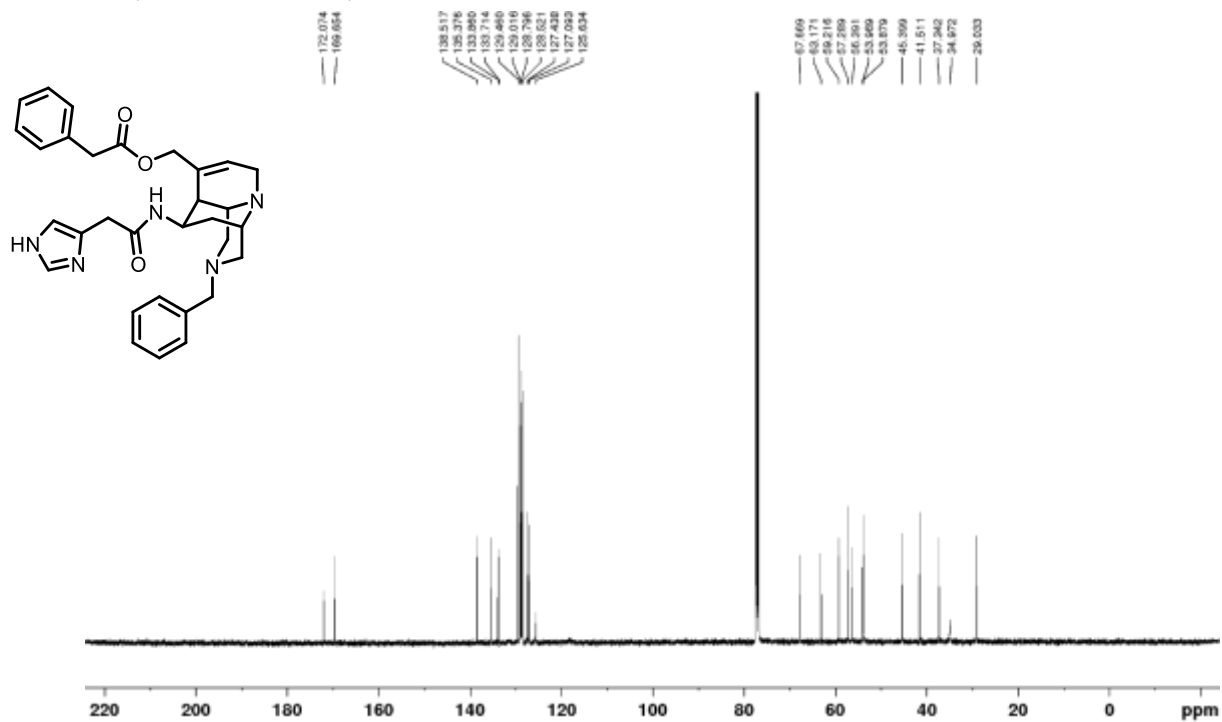
Ester 27o

 ^1H NMR (400 MHz, CD_3OD) ^{13}C NMR (125 MHz, CDCl_3)

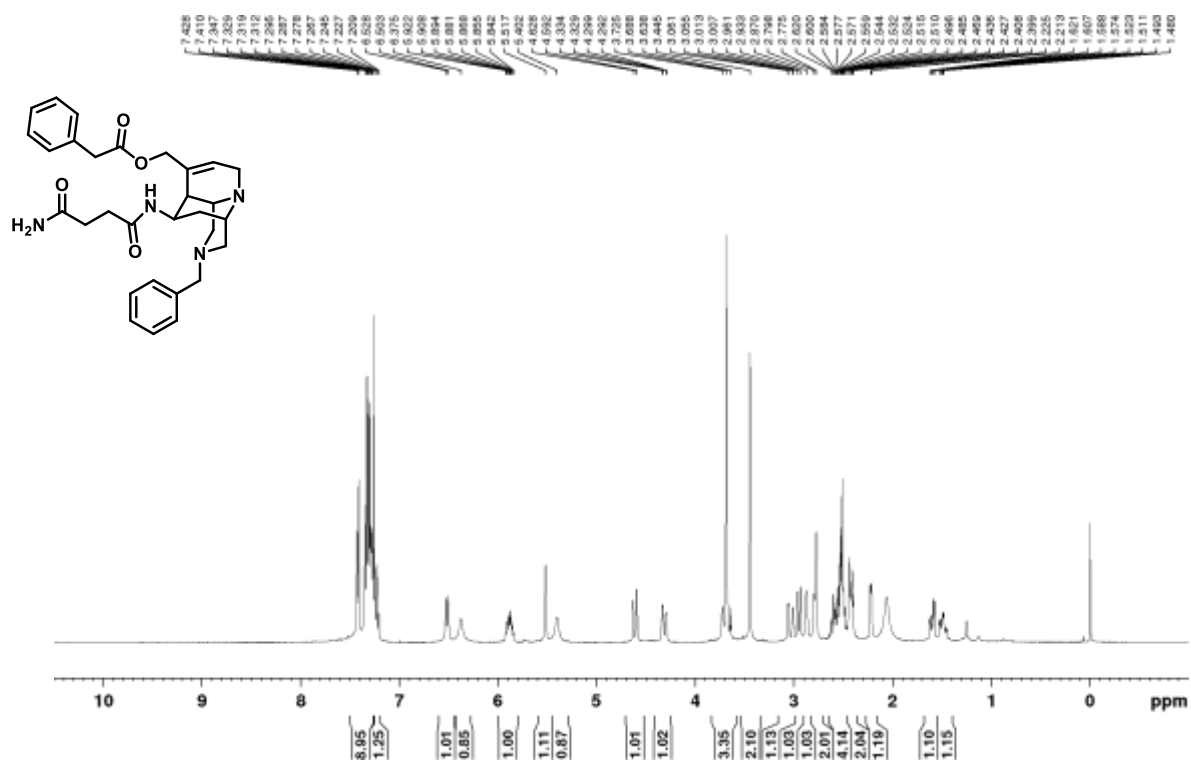
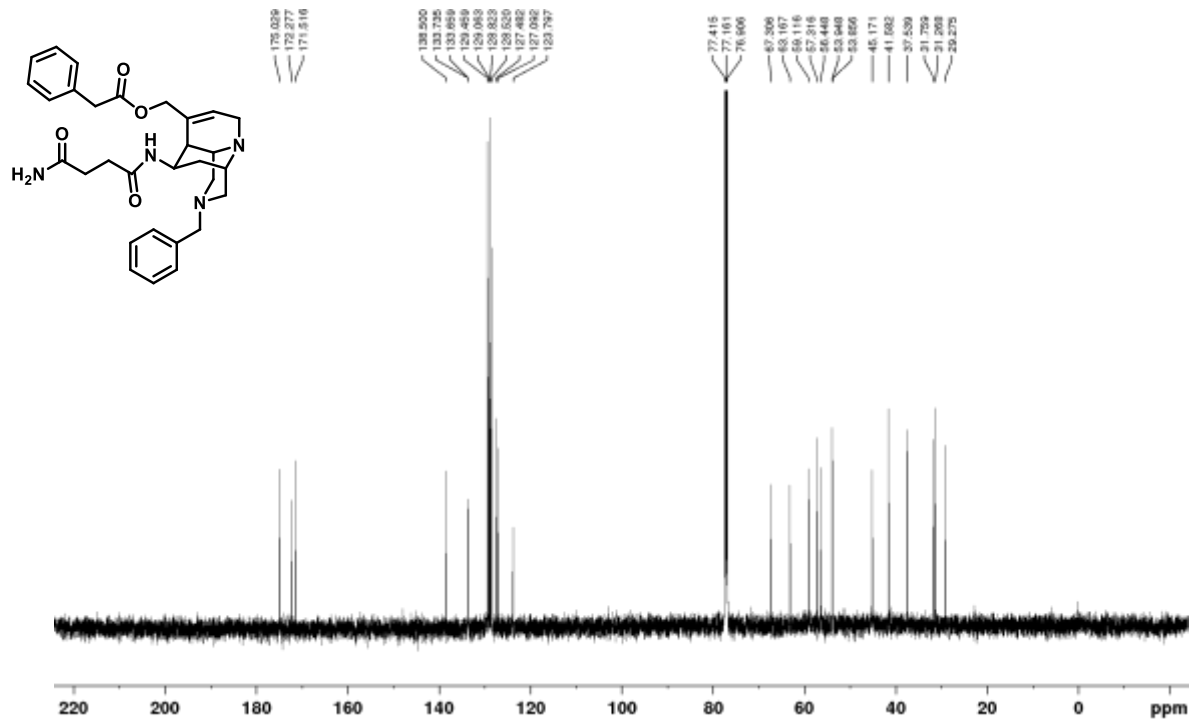
Ester 27p

 ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) ^{13}C NMR (125 MHz, CDCl_3)

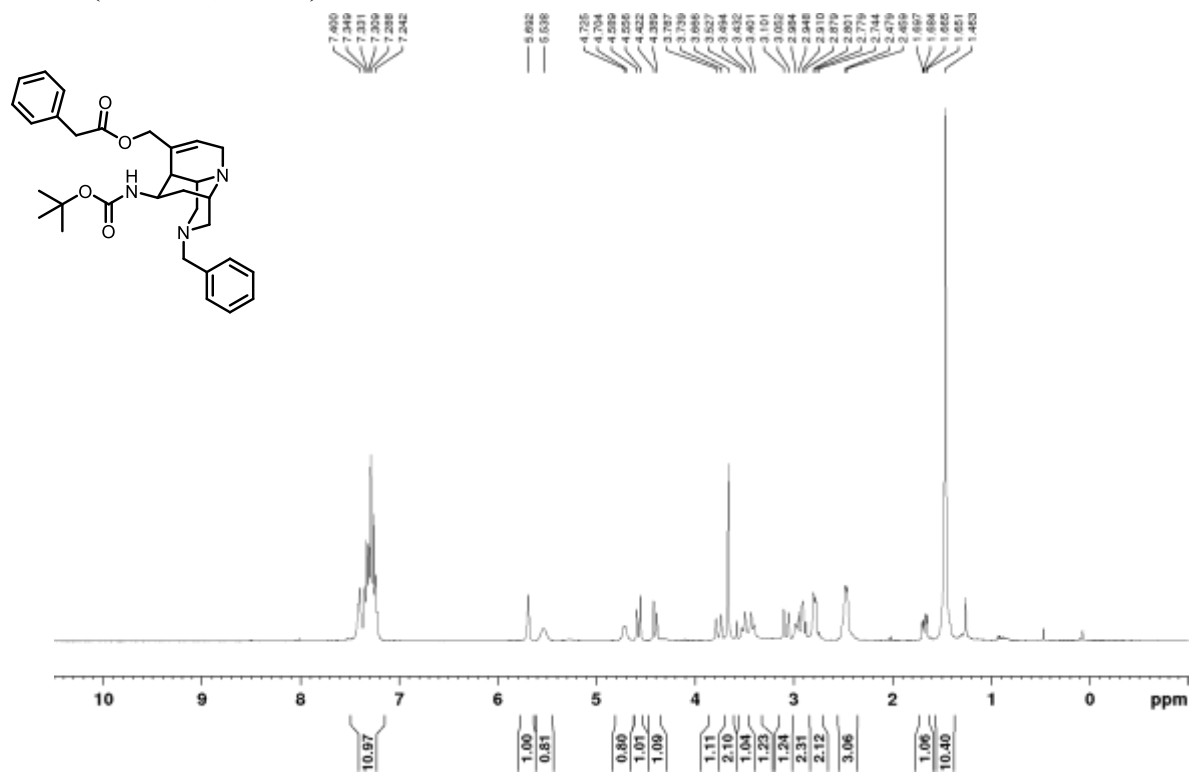
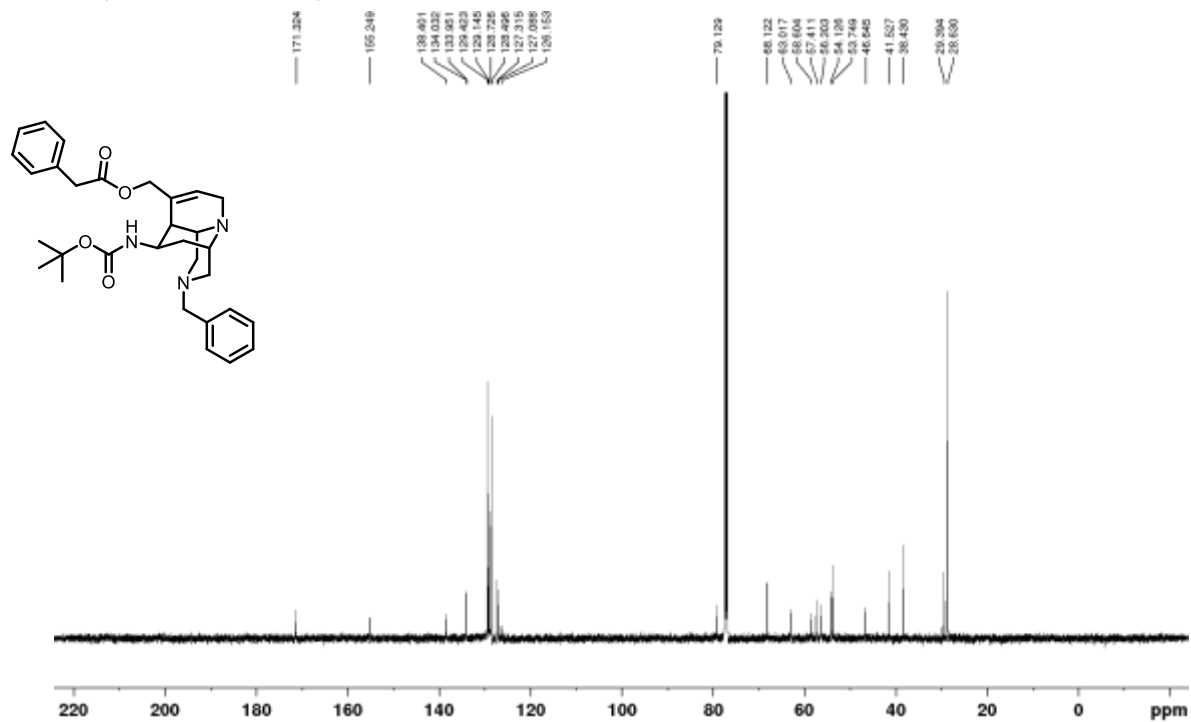
Ester 27s

 ^1H NMR (500 MHz, CDCl_3) ^{13}C NMR (125 MHz, CDCl_3)

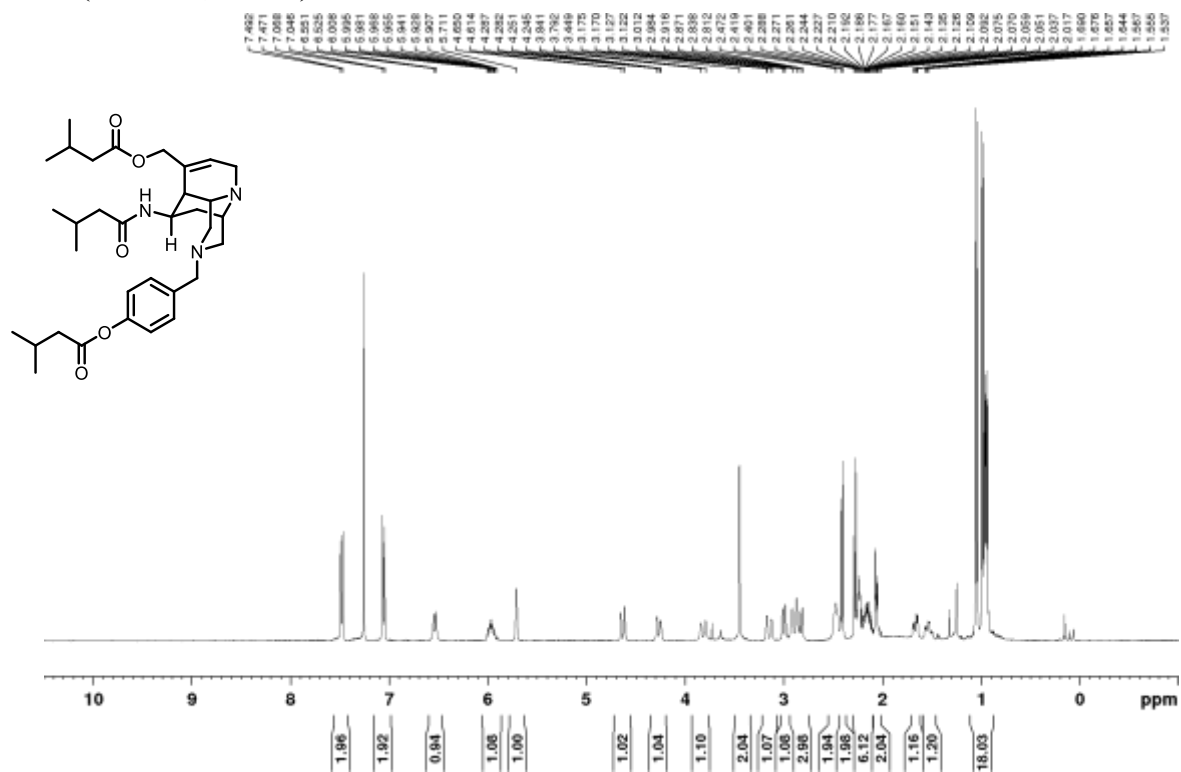
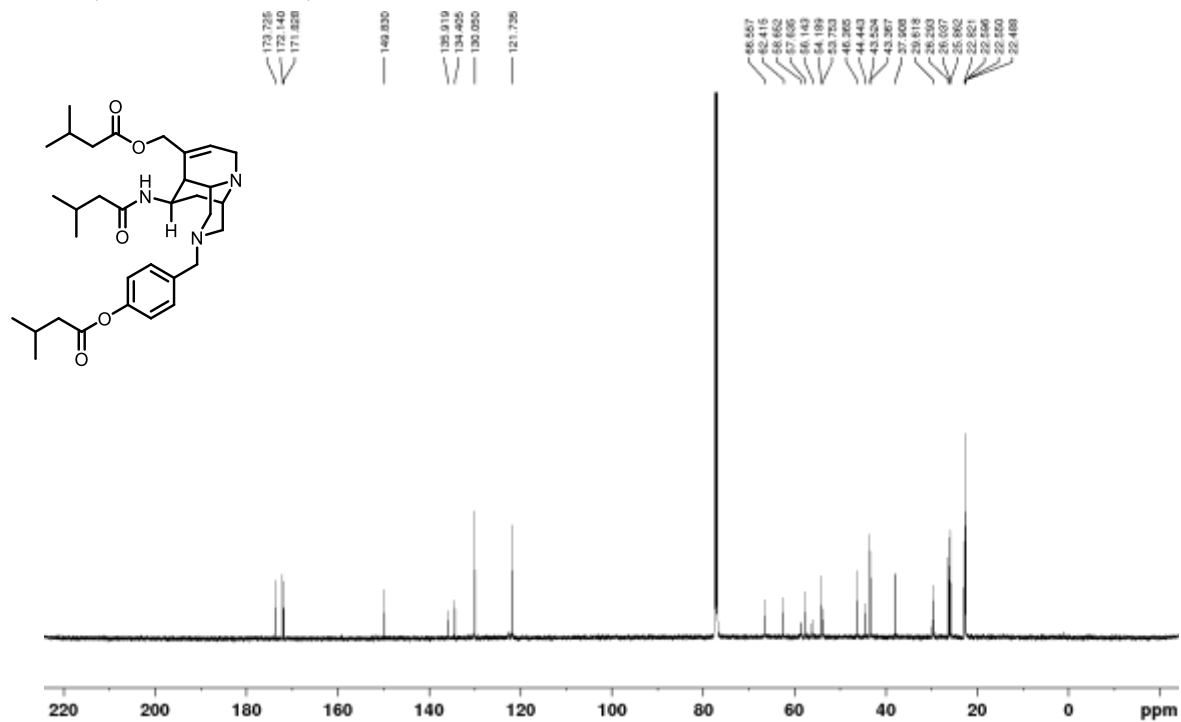
Ester 27t

 ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) ^{13}C NMR (125 MHz, CDCl_3)

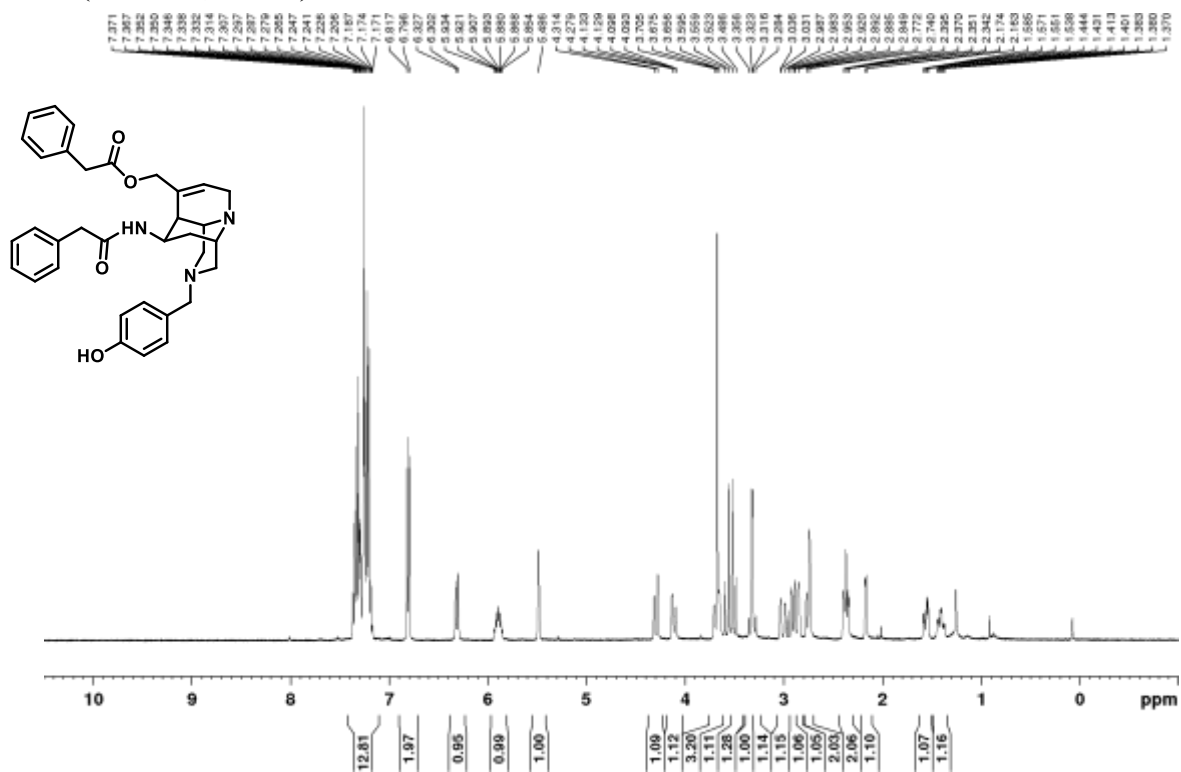
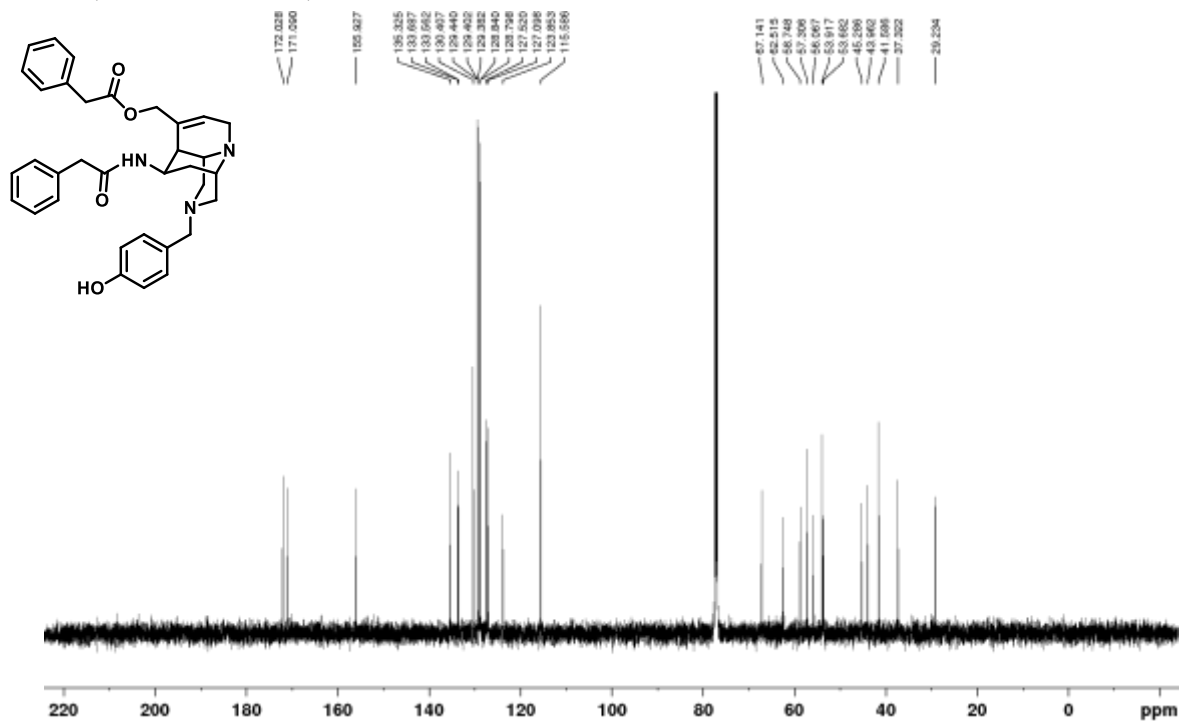
Ester 27u

 ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) ^{13}C NMR (125 MHz, CDCl_3)

Ester 27v

 ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) ^{13}C NMR (125 MHz, CDCl_3)

Ester 27w

 $^1\text{H NMR}$ (500 MHz, CDCl_3) $^{13}\text{C NMR}$ (125 MHz, CDCl_3)

第三章

不斉四環性籠型骨格の構築

3-1 はじめに

序論で述べた通り，創薬標的の拡充のため，医薬品開発に有用な三次元性の高い骨格の開発が望まれる。第二章においては，三次元性の高い骨格として三環性籠型骨格を開発したが，ラセミ体での合成に留まる。不斉分子は，サリドマイド¹のように鏡像異性体同士で異なる生物活性をもち得ること，光学分割による精製では目的物の理論最大収率が50%に留まることから，不斉合成されることが望まれる (Figure 3-1)。本章では，医薬品開発において有用な分子骨格の創出を目的に，不斉合成可能な籠型骨格の構築を目指した。

A 鏡像異性体同士で異なる生物活性をもつ

B 光学分割による収率の低下

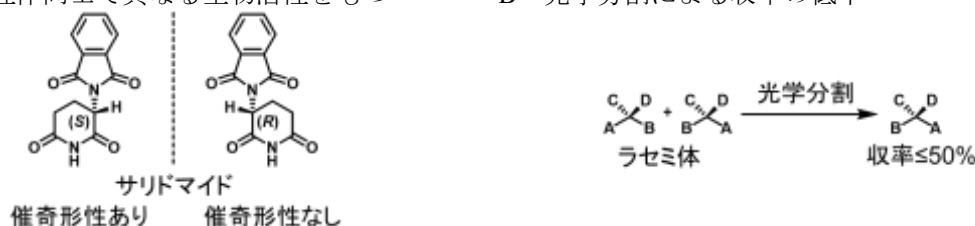
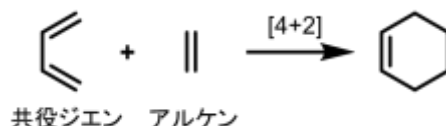


Figure 3-1. 医薬品開発における不斉合成の重要性

3-2 Diels-Alder 反応による籠型骨格の構築と合成標的化合物の設定

Diels-Alder 反応は，共役ジエンとアルケンの[4+2]付加環化反応であり，基質の組み合わせによっては，金属触媒などを必要とせず，加熱のみの簡便な操作で反応が進行する (Figure 3-2A)。また，分子内反応とすることで，一工程での多環式化合物の合成が可能であることから，複雑な多環式構造をもつ籠型骨格の構築に有用な合成であると考えられる (Figure 3-2B)。

A 分子環 Diels-Alder 反応



B 分子内 Diels-Alder 反応による多環式化合物の合成

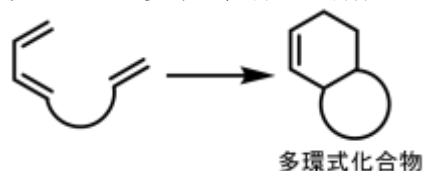
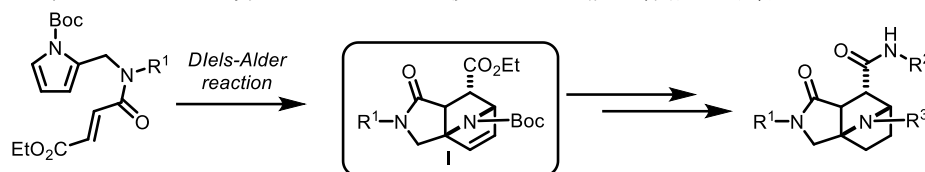


Figure 3-2. Diels-Alder 反応

これまでも，分子内 Diels-Alder 反応による籠型分子の合成と，得られた骨格への置換基導入による化合物ライブラリーの構築が報告されている²。Moody らは，ピロール環を共役ジエンとした分子内 Diels-Alder 反応により籠型骨格 I が得られることを報告し，その化合物ライブラリーの構築を報告した (Figure 3-3A)^{2a}。Clausen らは，アリルアミン，アルデヒド，フリルボロン酸の Petasis 反応に続く分子内 Diels-Alder 反応によって，効率的な籠型骨格 II の構築を達成しており，種々の置換基導入による化合物ライブラリーの構築を報告している (Figure 3-3B)^{2b}。

A ピロール環を共役ジエンとした分子内 Diels-Alder 反応による籠型骨格の構築



B フラン環を共役ジエンとした分子内 Diels-Alder 反応による籠型骨格の構築

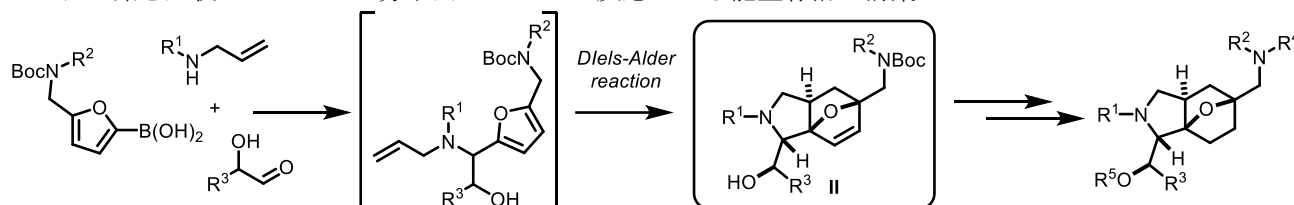
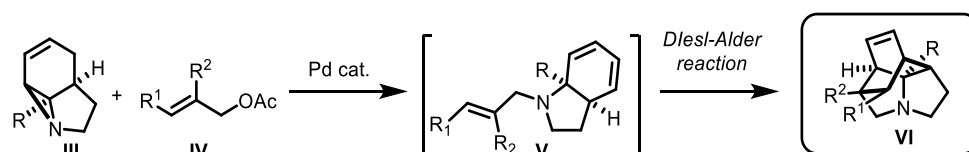


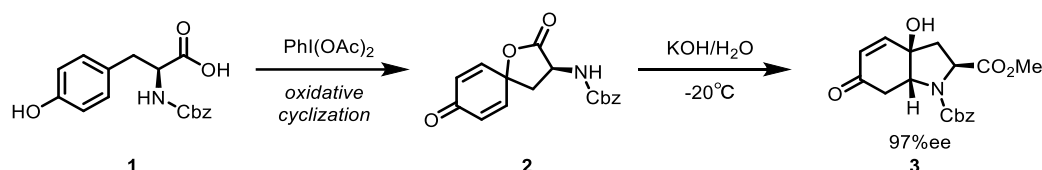
Figure 3-3. 分子内 Diels-Alder 反応による籠型分子の合成と化合物ライブラリーの構築

化合物ライブラリーの構築を目的としていないものの, Booker-Milburn らは分子内 Diels-Alder 反応による四環性籠型骨格 **VI** の構築を達成している (Scheme 3-1).³ すなわち, アジリジン **III** とアリルアセテート **IV** をパラジウム触媒存在下で混合することで, 二環式縮環骨格 **V** が生成し, 続く分子内 Diels-Alder 反応によって四環性籠型分子 **VI** がラセミ体として得られた. 得られた四環性アミンの構造は, これまでに合成例がなく, 医薬品開発に応用することで生物活性分子の創出が期待できる. 本章においては, 四環性籠型骨格 **VI** の類縁体を合成標的とし, 医薬品開発への応用を指向して, その不斉合成法の確立に取り組むこととした.

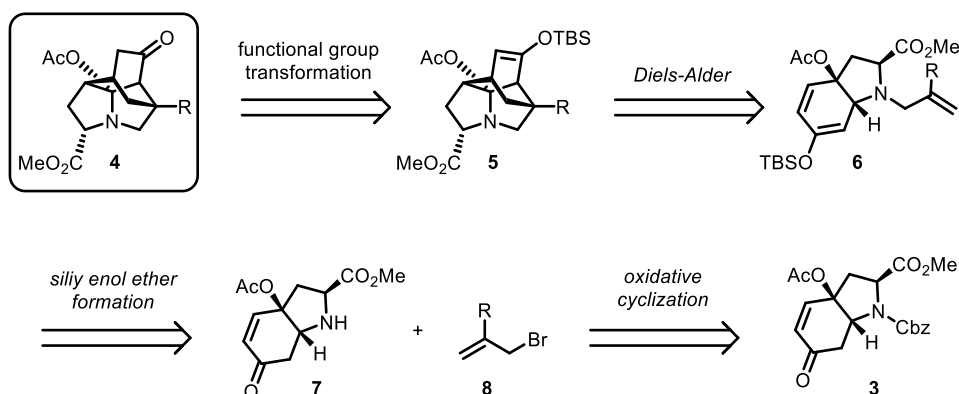
Scheme 3-1. 四環性籠型分子 **VI** の合成

3-3 四環性籠型骨格の合成計画

キラルプール法は, アミノ酸やテルペンといった入手容易な不斉分子を原料に用いることで, より複雑な不斉分子を合成する方法である. Wipf らは, チロシン誘導体 **1** を原料とし, $\text{PhI}(\text{OAc})_2$ を用いることで, ラクトン **2** へと導き, 続く加水分解により二環性縮環骨格 **3** を 97%ee で得られることを報告した (Scheme 3-2).⁴

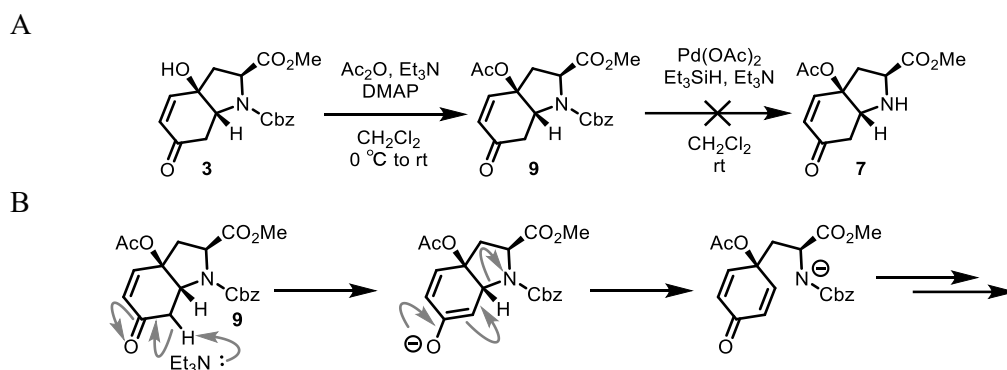
Scheme 3-2. キラルプール法による二環性縮環骨格 **3** の不斉合成

本研究においては, 二環性縮環骨格 **3** を用いることで, 四環性籠型骨格 **4** の不斉合成を達成できると考えた (Scheme 3-3). すなわち, 合成標的 **4** は, 籠型骨格 **5** の TBS 基を除去することで得ることとした. 籠型骨格 **5** はシリルエノールエーテル **6** の分子内 Diels-Alder 反応によって構築できる考えた. シリルエノールエーテル **6** は, アリルブロミド **8** を用いた第二級アミン **7** へのアリル基の導入後に誘導することとした. エノン **7** を, 不斉合成される縮環二環式骨格 **3** から誘導することで, 合成標的 **4** の不斉合成が達成される考えた.

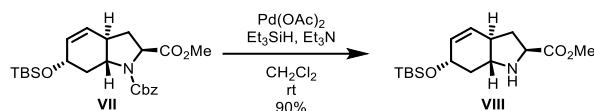
Scheme 3-3. 複数の置換基導入をもつ四環性籠型骨格 **4** の合成計画

3-4 四環性籠型骨格の合成検討

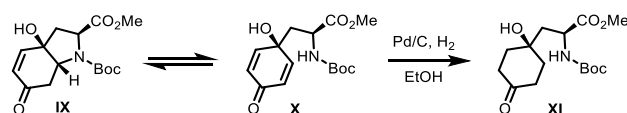
合成計画に従い、まず、第二級アミン **7** の合成を試みた (Scheme 3-4A). 既知の二環性縮環骨格 **3**⁴ のヒドロキシ基をアセチル基で保護したのち、アルケン存在下で Cbz 基の選択的な除去を試みるため、パラジウム触媒と Et₃N 存在下で、Et₃SiH を添加した.^a しかし、反応系中の複雑化を招き、目的の第二級アミン **7** は得られなかった. 反応系中が複雑化した要因の一つとして、エノンのレトロアザマイケル反応を起点とした副反応が推察される (Scheme 3-4B).^b

Scheme 3-4. 第二級アミン **7** の合成検討 (A) と推察される副反応 (B)

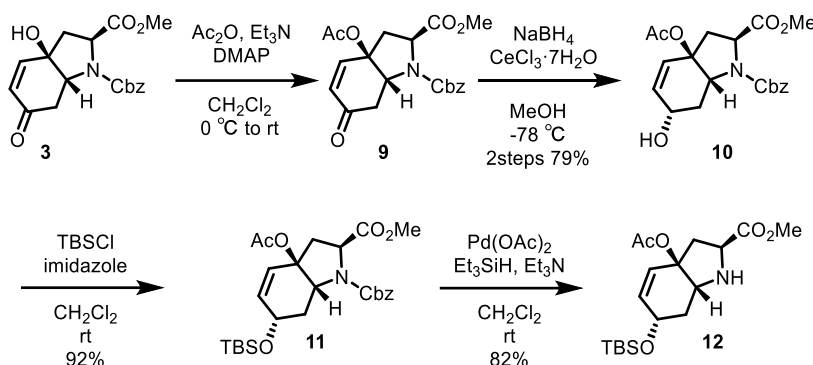
^a Wipf らは、アルケン **VII** に対し、Pd(OAc)₂ 触媒存在下で Et₃SiH を添加する条件⁵で第二級アミン **VIII** が 90% の収率で得られること報告している (Scheme 3-A).⁶

Scheme 3-A. アルケン **VII** の Cbz 基の除去

^b Jenkins らは、エノン **IX** を接触水素化還元 conditions に付すと、シクロヘキサノン **XI** が生成したことを報告した. このときの中間体として、エノン **IX** のレトロアザマイケル反応生成物であるジエノン **X** を提唱している (Scheme 3-B).⁷

Scheme 3-B. エノン **IX** の開環を伴う還元反応

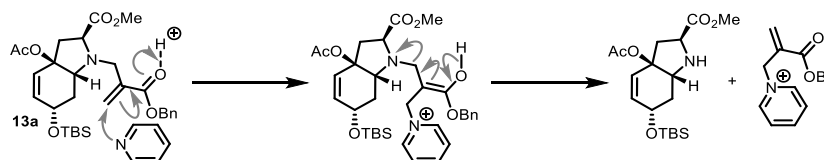
上述したように、二環性骨格 **9** のエノン構造が反応系中の複雑化を招く一因になったと考え、ケトン部位を還元したのちの Cbz 基の除去を試みることにした (Scheme 3-5)。まず、二環式縮環骨格 **3** をアセチル化して得られたエノン **9** に対し、 CeCl_3 存在下で NaBH_4 を添加することで、1,2-還元体であるアリルアルコール **10** を二工程 79%の収率で得た。得られたアリルアルコール **10** のヒドロキシ基を TBS 基で保護することで、92%の収率でアルケン **11** へと導いた。そして、上述した条件 (Scheme 3-4) により、アルケン **11** の Cbz 基の除去を試みると、目的の第二級アミン **12** が 82%と良好な収率で得られた。



Scheme 3-5. 第二級アミン **12** の合成検討

第二級アミン **12** が得られたことから、四環性籠型骨格 **4** の構築を検討することとした (Scheme 3-6)。第二級アミン **12** とアリルブロミド **8** との求核置換反応により、アルケン **13** を得た。アルケン **13a** の TBS 基を HF-pyridine を用いることで、アルケン **13b** の TBS 基を TBAF を用いることで、それぞれ脱保護し、アルコール **14a, b** を 90%以上の良好な収率で得た。生じたヒドロキシ基を酸化することでエノン **15** とし、 Et_3N 存在下で TBSOTf を添加することでシリルエノールエーテル **6** へと導いた。得られたシリルエノールエーテル **6** をトルエン溶媒中で加熱することで、四環性籠型骨格 **5** の構築を達成した。^d このとき、キラル HPLC により、籠型骨格のエナンチオマー過剰率が 97%ee であることを確認し (Figure 3-S1)、二環性縮環骨格 **3** を用いることで四環性籠型骨格の不斉合成を達成した。続けて、籠型骨格 **5** に HF-pyridine を作用させることで、TBS 基を脱保護し、合成標的として設定したケトン **4** を定量的に得た。ケトン **4** は、カルボニル基を足掛かりとした置換基導入を可能にするとともに、籠型骨格 **4** に比べて、医薬品らしさの指標の一つである Fsp^3 値⁸ が向上している (0.82 vs 0.91)^e。

^cアルケン **13b** の TBS 基の脱保護を HF-pyridine で試みると、反応系中の複雑化を招いた。これは、脱アリル化反応が進行してしまったと考え (Scheme 3-C)、TBAF による TBS 基の脱保護を検討した。



Scheme 3-C. HF-pyridine によるアルケン **13a** の TBS 基の脱保護の検討において推定された副反応

^dシリルエノールエーテル **6b** は、反応系を 80°C まで加熱することで、原料の消失が TLC にて確認されたが、シリルエノールエーテル **6a** については、150°C まで昇温する必要があった。

^e籠型骨格の Fsp^3 は、環構造に含まれる炭素のみから算出した (Figure 3-A)。

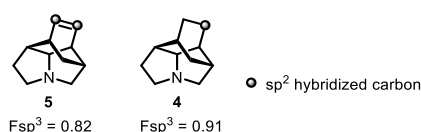
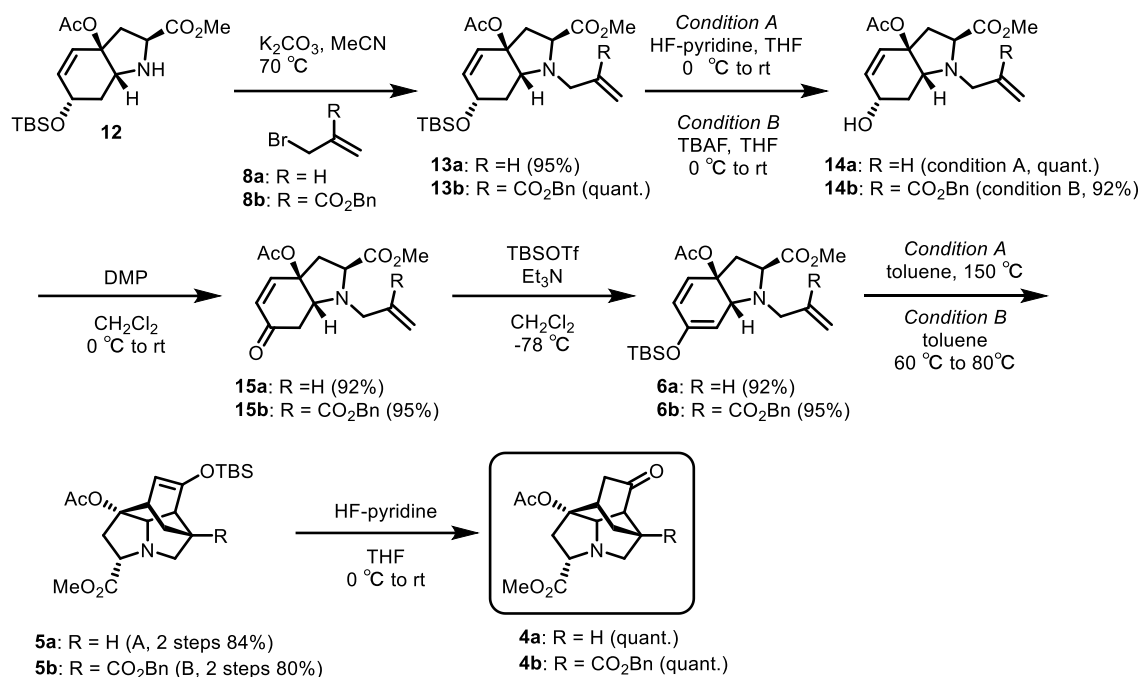


Figure 3-A. 籠型骨格 **5** と **4** の Fsp^3 値の算出に用いた構造



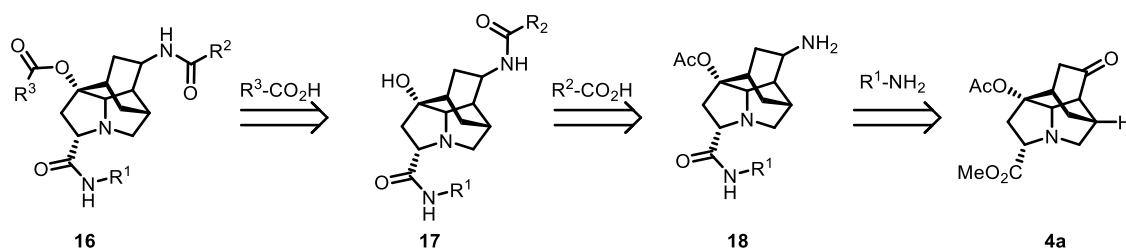
Scheme 3-6. 四環性籠型骨格の構築

3-5 四環性籠型骨格への置換基導入の検討

前節において、籠型骨格 **5** の構築を達成し、置換基導入の足掛かりとなるカルボニル基をもつケトン **4** が得られたことから、置換基導入方法の確立に取り組むこととした。

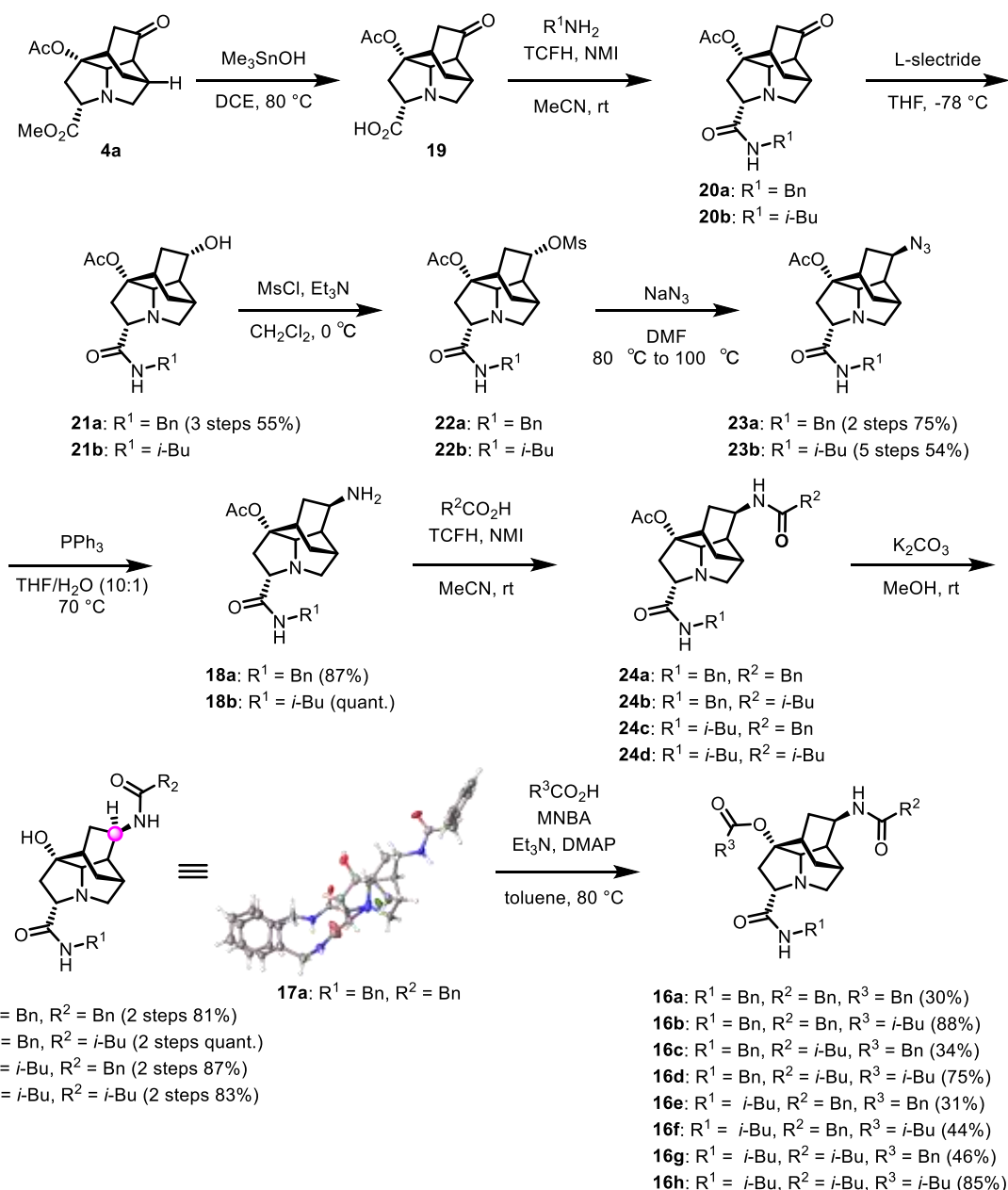
3-5-1 ケトン **4a** への置換基導入検討

まず、ケトン **4a** への置換基導入に取り組むこととした (Scheme 3-7)。すなわち、望みの三置換体 **16** は、二置換体 **17** のヒドロキシ基とカルボン酸 ($R^3\text{-CO}_2\text{H}$) を縮合することで得ることとした。二置換体 **17** は、一置換体 **18** のアミノ基とカルボン酸 ($R^2\text{-CO}_2\text{H}$) を縮合したのちに、誘導することを考えた。そして、一置換体 **18** は、ケトン **4a** へのメチルエステル部位へとアミン ($R^1\text{-NH}_2$) を導入することで得られると考えた。計画した合成経路により、三つの異なる置換基を、操作の簡便な縮合反応で導入できると考えた。

Scheme 3-7. ケトン **4a** への置換基導入計画

上述した合成計画に従い、合成検討に取り組んだ (Scheme 3-8)。ケトン **4a** のメチルエステルを Me_3SnOH によりアセチル基存在下で選択的に加水分解し、⁹カルボン酸 **19** とした。カルボン酸 **19** とアミン ($R^1\text{NH}_2$) を TCFH と NMI を用いて縮合し、¹⁰一つ目の置換基を導入した。得られたアミド **20** のカルボニル基を L-selectride により還元し、アルコール **21** へと導いた。このとき、アルコール **21a** は、精製操作後に単一の立体異性体として得られたが、アルコール **21b** は、単離が適わず、混合物として次の反応に用いた。得られたアルコール **21** をメシル化し、求核置換反応により、アジド基を導入した。このとき、アジド **23a,b** は、精製操作後、共に単一の立体異性体として得た。得られたアジド **23** を THF と水の混合溶媒中、 PPh_3 存在下で加熱することでアジド基を還元し、一置換体 **18** と

カルボン酸 (R^2COOH) を縮合し、アミド **24** とすることで、二つ目の置換を導入した。アミド **24** にメタノール溶媒中、 K_2CO_3 を作用させることでアセチル基を脱保護し、二置換体 **17** を得た。このとき、**17a** の構造は X 線結晶構造解析され、その不斉炭素における絶対立体配置が決定された。そして、二置換体 **17** とカルボン酸 (R^3COOH) を 2-methyl-6-nitrobenzoic anhydride (MNBA)¹¹ を用いて縮合することでエステルとし、三つ置換基をもつ四環性籠型骨格 **16a-h** の合成を達成した。このとき、フェニル酢酸 ($BnCO_2H$) と縮合して得られた **16a,c,e,g** の収率 (30–46%) は、イソ吉草酸 ($iBuCO_2H$) との縮合で得られた **16b,d,f,h** の収率 (44–88%) よりも低い傾向にあった。これは、イソ吉草酸が液体であったのに対し、フェニル酢酸が固体であり、反応溶媒であるトルエンに十分に溶解していなかったためと考える。

Scheme 3-8. ケトン **4a** への置換基導入検討

上述したように、アルコール **17a** の立体絶対配置が X 線結晶構造解析により明らかとなっている。その結果から、ケトン **20** の還元によって生じるアルコール **21** 不斉炭素の絶対配置は S であることが示唆された。これは、還元剤である L-selectride が、ケトン **20** のアセチル基を避ける経路で、カルボニル基に接近したためと考える (Figure 3-4)。

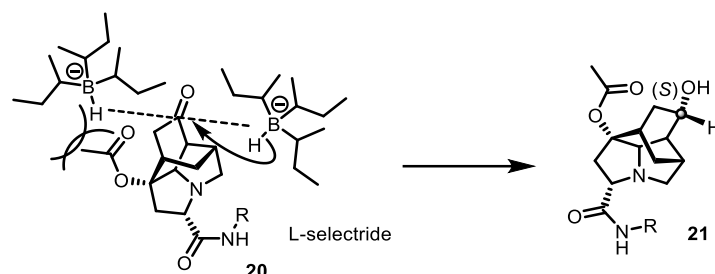
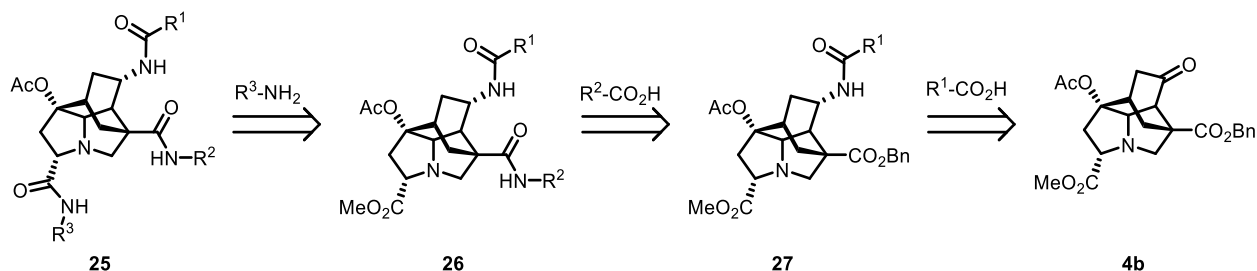


Figure 3-4. ケトン **20** の還元における立体選択性の考察

3-5-2 ケトン **4b** への置換基導入検討

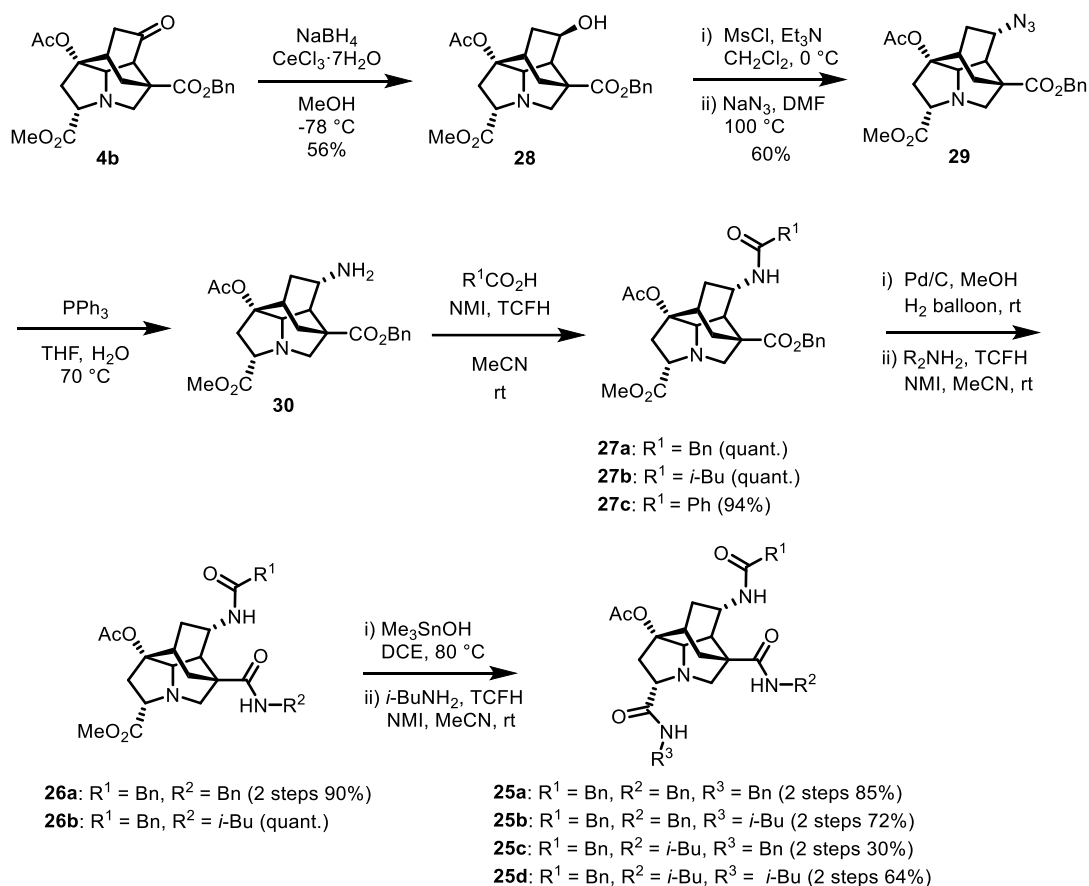
続いてケトン **4b** への置換基導入を検討することとした。このとき、ケトン **4a** がもたないベンジルエステルを足掛かりとして、置換基導入をすることを考えた (Scheme 3-9)。三置換体 **25** は、二置換体 **26** のメチルエステル部位にアミン ($R^3\text{-NH}_2$) を導入することで得られると考えた。二置換体 **26** は、一置換体 **27** のベンジルエステル部位にアミン ($R^2\text{-NH}_2$) を導入することで得ることとした。一置換体 **27** は、ケトン **4b** のカルボニル基をアミノ基へと変換したのち、カルボン酸 ($R^1\text{-COOH}$) と縮合することで得られると考えた。ベンジルエステルを活用した置換基導入により、ケトン **4b** は、ケトン **4a** とは異なる置換基の空間配置を実現し得ると考える。



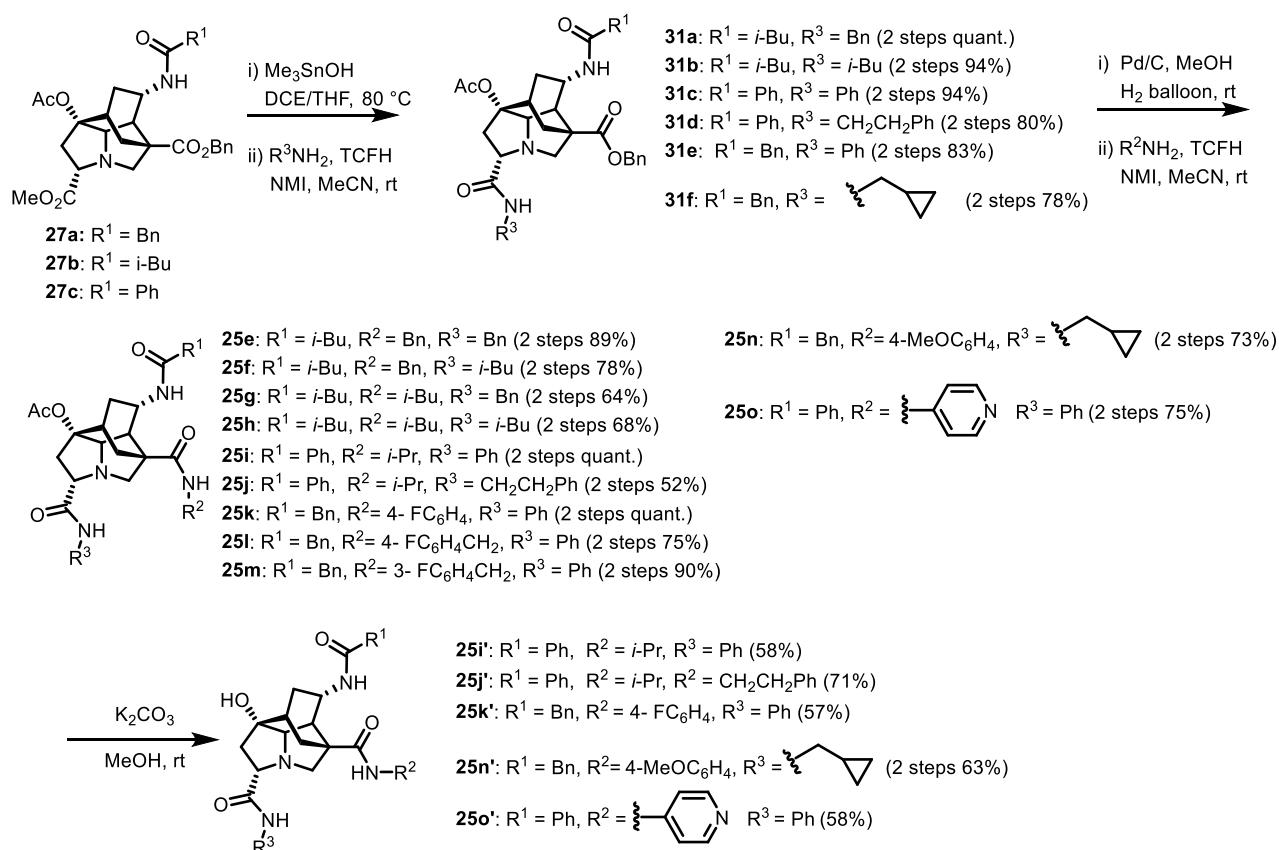
Scheme 3-9. ケトン **4b** への置換基導入計画

上述した合成計画に従い、ケトン **4b** への置換基導入を検討した (Scheme 10)。ケトン **4b** を NaBH_4 により還元し、精製操作後、アルコール **28** を単一のジアステレオマーとして得た[†]。得られたアルコール **28** のヒドロキシ基をメシル化したのち、求核置換によるアジド **29** への誘導、続く還元反応によりアミン **30** とした。アミン **30** とカルボン酸 ($R^1\text{COOH}$) を縮合し、一つ目の置換基を導入した。得られた一置換体 **27a** のベンジルエステルを接触水素化還元によって脱保護しカルボン酸としたのち、アミン ($R^2\text{-NH}_2$) と縮合することで、二つ目の置換基を導入した。続いて、二置換体 **26a,b** のメチルエステルを Me_3SnOH で選択的に加水分解したのち、アミン ($R^3\text{-NH}_2$) と縮合することで、三置換の四環性籠型骨格 **25a-d** の合成を達成した。

[†]アルコール **28** のジアステレオマーと考えらえる生成物を TLC 上で確認したが、単離は叶わなかった。また、ヒドロキシ基の立体化学は、後述のように R 体であることが強く示唆された (Scheme 3-13 参照)。

Scheme 3-10. ケトン **4b** への置換基導入検討

上記の検討において、アミド **27b** のベンジルエステルを接触水素化還元すると、メタノール溶媒への溶解性が低く、反応に用いた Pd/C との分離が困難であった。そこで、化合物の溶解性が向上することを期待し、二つ目の置換基をメチルエステル部位へと先に導入する合成経路を検討することとした (Scheme 3-11)。アミド **27b,c** のメチルエステルを選択的に加水分解し、得られたカルボン酸をアミン (R³-NH₂) と縮合することで、二つ目の置換基を導入した。得られた二置換体 **31 a-f** のベンジルエステルを接触水素化還元によって脱保護し、得られたカルボン酸をアミン (R²-NH₂) と縮合することで三置換体 **25e-o** の合成を達成した。三置換体 **25i-k,n,o** については、メタノール溶媒中で K₂CO₃ と混合することでアセチル基を脱保護し、アルコール **25i'-k',n',o'** へと導いた。

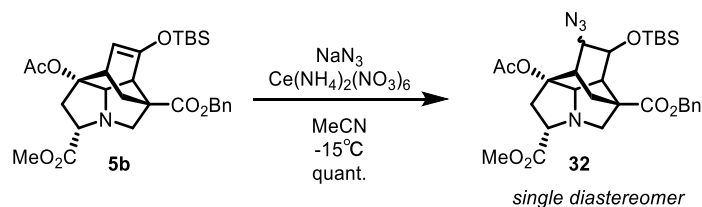


Scheme 3-11. 順序を変更した置換基導入の検討

確立した四環性籠型骨格への導入方法 (Scheme 3-9-11) は、三つの置換基を独立に導入していることから、多様な置換基の組み合わせを可能にすると考えられる。また、ケトン **4b** においては、置換基の導入順序を変更できることを実証しており (Scheme 3-10 vs 3-11)、官能基許容性を考慮した合成経路を選択することで、多様な置換基導入を達成できると考える。

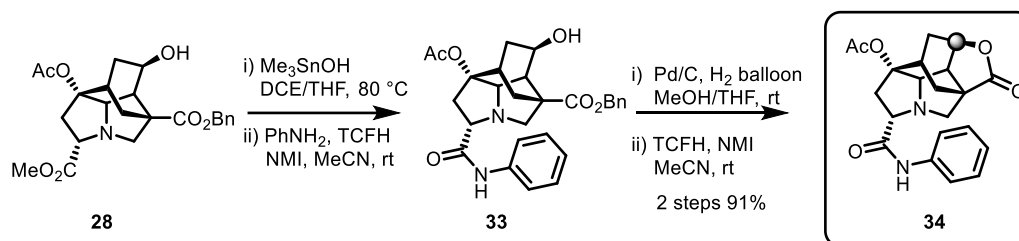
3-6 四環性籠型骨格のさらなる構造変換

開発した四環性籠型骨格の活用を広げるべく、さらなる官能基の導入を試みた (Scheme 3-12). 分子内 Diels-Alder 反応によって得られたシリルエノールエーテル **5b** に対し、硝酸二アンモニウムセリウム存在下でアジ化ナトリウムを添加することで,¹² 絶対立体配置は決定されていないものの、アジド **32** が単一の立体異性体として得られた. 導入されたアジド基を足掛かりとした、さらなる置換基導入が期待できる。



Scheme 3-12. 籠型骨格へのさらなるアジド基の導入

続いて、四環性骨格のさらなる骨格構造の変換を試みた (Scheme 3-13). まず、アルコール **28** のメチルエステルを加水分解し、アニリンと縮合した. 得られたアミド **33** のベンジルエステルを接触水素化還元により脱保護してカルボン酸とした. 得られたカルボン酸を縮合条件に付すと、分子内ラクトン化が進行し、新規五環性骨格 **34** が得られた. この分子内ラクトン化の進行したことから、アルコール **28** の不斉炭素の絶対配置は R であることが強く示唆された. これは、アルコール **21** の対応する不斉炭素の絶対配置が S であるのと対照的であった.



Scheme 3-13. 新規五環性籠型骨格の構築

アルコール **28** は 56% の収率で単離されており、ケトン **20** とケトン **4b** の還元反応において、立体選択性が逆転していることが示唆された. これは、ケトン **4b** の還元においては、アセチル基よりも嵩高いベンジルエステルとの立体障害を避けることを優先して、水素化ホウ素ナトリウムがカルボニル基に接近したため考える (Figure 3-5). このような立体選択性の逆転を伴うことは、同じ四環性籠型骨格をもちながらも、置換基の多様な空間配置パターンを可能にすると考えられる.

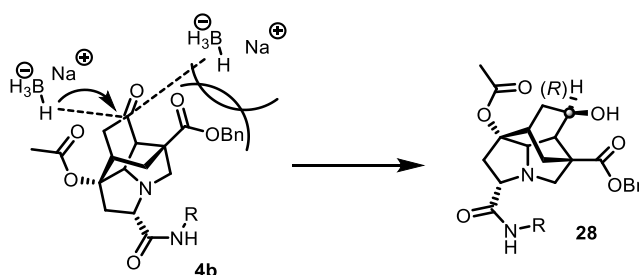
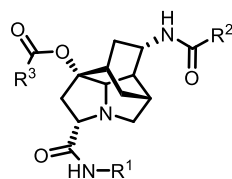


Figure 3-5. ケトン **4b** の還元における立体選択性の考察

3-7 三置換体の HeLa 細胞増殖抑制活性の評価

四環性籠型骨格の細胞膜透過性や毒性の知見を得るため、三置換体の HeLa 細胞増殖抑制活性を MTT アッセイにより評価した。まず、三置換体 **16a-h** について評価した (Table 3-1)。化合物の濃度が 100 μM においては、HeLa 細胞の増殖を 57%–87% の範囲で抑制した。10 μM の化合物濃度においては、22%–43% の範囲で HeLa 細胞の増殖を抑制した。化合物濃度 10 μM で HeLa 細胞の増殖を 40% 程度阻害した四化合物 (entry 1–4) のうち、三つの化合物 (entry 1–3) は置換基 R^2 としてベンジル基をもっていた。置換基 R^1 と置換基 R^2 については、イソブチル基とベンジル基をもつ化合物が二つずつ存在していた。これらのことから、置換基 R^2 が HeLa 細胞増殖抑制活性に及ぼす影響が比較的強いことが示唆された。

Table 3-1. 三置換体 **16a-h** の HeLa 細胞増殖抑制活性

Entry	compound	R^1	R^2	R^3	^a Growth inhibition rate (%) at 100 μM	^a Growth inhibition rate (%) at 10 μM
1	16b				87±1	43±4
2	16a				83±3	43±15
3	16f				75±6	40±9
4	16g				68±4	40±12
5	16e				83±3	35±22
6	16c				73±6	34±16
7	16d				60±3	25±22
8	16h				57±6	22±7

^aGrowth inhibition rate of HeLa cells shown as the mean±SD of triplicated samples.

続いて、三置換体 **25a-o** の HeLa 細胞増殖抑制活性を評価した (Table 3-2). HeLa 細胞を 100 μM の化合物濃度で培養したとき、7%-93%の範囲で細胞増殖が抑制された. 10 μM の化合物濃度においては、HeLa 細胞の増殖を殆ど阻害しないか (entry 12-15), 15%から 58%の範囲で阻害した (entry 1-11). 化合物濃度 10 μM で HeLa 細胞の増殖を 40%程度阻害した四化合物 (entry 1-4) のうち、三つの化合物 (entry 1-3) は、置換基 R^1 としてベンジル基をもつか、置換基 R^2 としてフェニル基をもっていた. さらに、そのうち二化合物は (entry 1,3), 置換基 R^1 としてベンジル基を置換基 R^2 としてフェニル基をもっていることから、置換基 R^1 と置換基 R^2 の組み合わせが、HeLa 細胞増殖抑制活性に影響を与えることが示唆された.

Table 3-2. 三置換体 **25a-o** の HeLa 細胞増殖抑制活性

entry	compound	R^1	R^2	R^3	^a Growth inhibition rate (%) at 100 μM	^a Growth inhibition rate (%) at 10 μM
1	25m				93±1	58±5
2	25i				71±7	44±4
3	25k				94±1	43±6
4	25b				75±1	42±10
5	25l				93±1	37±6
6	25h				50±7	36±16
7	25o				93±1	33±6
8	25e				57±6	30±5
9	25a				85±2	20±18
10	25g				42±7	19±10
11	25c				63±5	15±7
12	25n				49±2	^b
13	25j				28±5	^b
14	25d				19±11	^b
15	25f				7±19	^b

^aGrowth inhibition rate of HeLa cells shown as the mean±SD of triplicated samples. ^bNo inhibitory activity was observed.

続いて、アセチル基の脱保護によって得られた三置換体 **25i'-k',n',o'** の HeLa 細胞増殖抑制活性を評価した (Table 3-3). アセチル基をもつ三置換体 **25i-k,n,o** と同様に, 化合物濃度 10 μ M で HeLa 細胞の増殖を 40%程度阻害した二化合物 (entry 1,2) は, 置換基 R^1 としてベンジル基をもつか, 置換基 R^2 としてフェニル基をもっており, 改めて, 置換基 R^1 と置換基 R^2 の組み合わせが HeLa 細胞増殖抑制活性に影響を与えることが示唆された. また, 三置換体 **25o** と三置換体 **25o'** を比べると, 脱アセチル化によって化合物濃度 10 μ M での細胞増殖抑制活性が 16%程度向上し (33% vs 48%), 三置換体 **25i** と三置換体 **25i'** においては, 18%程度の低下を招いた (44% vs 26%). このことから, 置換基 R^1, R^2, R^3 のみならず, アセチル基の脱保護によっても四環性籠型骨格の生物活性を制御し得るが示唆された.

Table 3-3. 三置換体 **25i'-k',n',o'** の HeLa 細胞増殖抑制活性

entry	compound	R^1	R^2	R^3	^a Growth inhibition rate (%) at 100 μ M	^a Growth inhibition rate (%) at 10 μ M
1	25k'				97 \pm 0	51 \pm 7
2	25o'				94 \pm 1	49 \pm 5
3	25i'				70 \pm 4	26 \pm 2
4	25n'				60 \pm 3	25 \pm 22
5	25j'				41 \pm 6	- ^b

^aGrowth inhibition rate of HeLa cells shown as the mean \pm SD of triplicated samples. ^bNo inhibitory activity was observed.

上述の生物活性評価から, 四環性籠型骨格について, ① 細胞膜を透過しうること, ② 骨格自身に依存する強い細胞毒性を示さないこと, ③ 置換基の組み合わせを変えることによって生物活性を調整し得ることが示され, 医薬品開発における母骨格として活用できると考える.

3-8 四環性籠型骨格の三次元性の評価

開発した四環性籠型の構造的特徴を解析するため、三置換体 **16** ならびに **25** の 28 化合物について PMI プロットを作成した (Figure 3-6)¹³. 承認医薬品を示す点が、逆三角形の左上に偏ってプロットされており、“+”で示した平均座標は、 $(npr1, npr2) = (0.27, 0.84)$ であった. これに対し、三置換体の籠型骨格 **4** を示すプロットは、より右上に広がっており、その平均座標は $(0.47, 0.82)$ であった. したがって、四環性籠型骨格を母骨格とした分子設計によって、従来の低分子医薬品よりも三次元性の高いケミカルスペースの探索を可能にすると考える.

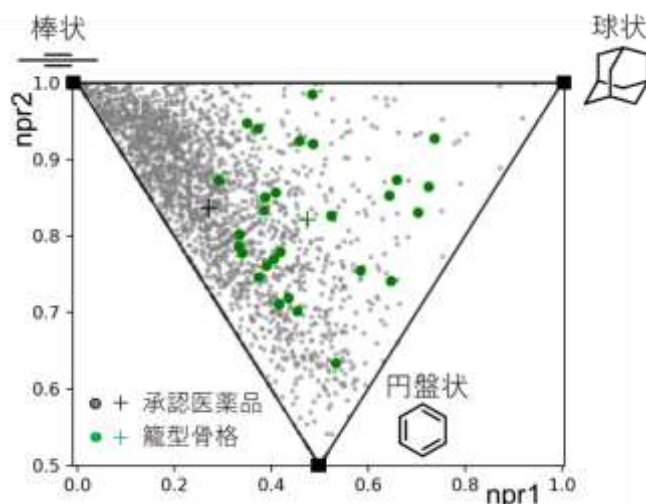


Figure 3-6. 四環性籠型骨格の PMI 解析

3-9 まとめ

本章においては、医薬品分子の母骨格を指向した籠型骨格の不斉合成法の確立について述べた (Figure 3-7).¹⁴ 新規ケミカルスペースの開拓するため、ラセミ体での合成が初めて報告された四環性籠型骨格の構造を合成標的とし、チロシン誘導体を出発物質とすることで、四環性籠型骨格の不斉合成を可能にした. 合成検討においては、ビルディングブロックを変更することで、籠型骨格の異なる頂点に置換基導入を可能にするとともに、不斉炭素における立体化学の反転が可能であることを見出した. また、三つの異なる置換基の導入を可能にし、その導入順序も変更できることを示した.

籠型骨格の HeLa 細胞増殖抑制活性を評価すると、置換基の組み合わせの違いにより、異なる度合いで HeLa 増殖抑制活性を示した. そして、四環性籠型骨格の PMI 解析を行うと、従来の低分子医薬品よりも三次元性が高いことが示された.

置換基の多様な組み合わせと空間配置を可能にする四環性籠型骨格は、医薬品開発における母骨格として有用であり、本骨格を分子設計に取り入れることで、未開拓のケミカルスペースを探索できると考える.

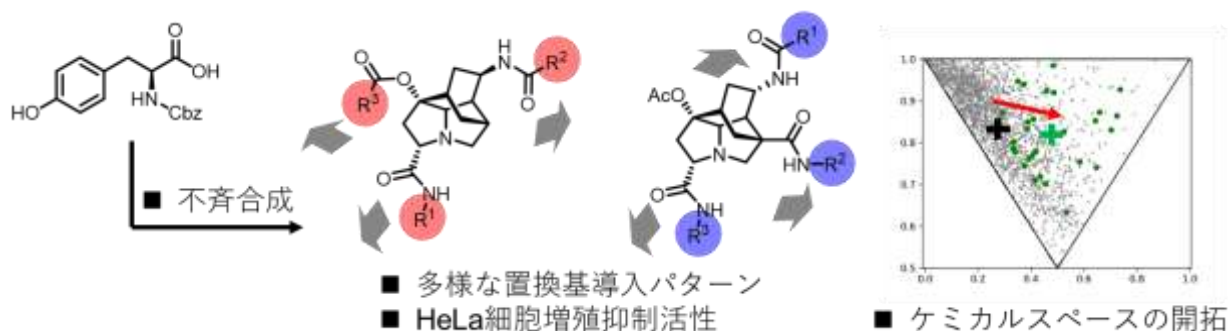


Figure 3-7. 第三章のまとめ

3-10 References

- (1) Eriksson, T.; Björkman, S.; Höglund, P. Clinical pharmacology of thalidomide. *Eur. J. Clin. Pharmacol.* **2001**, *57*, 365–376.
- (2) (a) Murray, A. T.; Packard, E.; Nortcliffe, A.; Lewis, W.; Hamza, D.; Jones, G.; Moody, C. J. Synthesis of Epibatidine Analogues by Pyrrole Diels–Alder Reactions: Rapid Access to Azabicyclo[2.2.1]Heptane and 3,8-diazabicyclo[3.2.1]Octane Scaffolds for Library Synthesis. *European J. Org. Chem.* **2017**, 138–148; (b) Flagstad, T.; Azevedo, C. M. G.; Troelsen, N. S.; Min, G. K.; Macé, Y.; Willaume, A.; Guilleux, R.; Velay, M.; Bonnet, K.; Morgentin, R.; Nielsen, T. E.; Clausen, M. H. Generation of a Heteropolycyclic and Sp³-Rich Scaffold for Library Synthesis from a Highly Diastereoselective Petasis/Diels–Alder and ROM-RCM Reaction Sequence. *Eur. J. Org. Chem.* **2019**, 1061–1076; (c) Wu, P.; Petersen, M. Å.; Petersen, R.; Flagstad, T.; Guilleux, R.; Ohsten, M.; Morgentin, R.; Nielsen, T. E.; Clausen, M. H. Tandem Mannich/Diels–Alder reactions for the synthesis of indole compound libraries. *RSC Adv.* **2016**, *6*, 46654–46657.
- (3) Knowles, J. P.; Steeds, H. G.; Schwarz, M.; Latter, F.; Booker-Milburn, K. I. Pd-Catalyzed Cascade Reactions of Aziridines: One-Step Access to Complex Tetracyclic Amines. *Org. Lett.* **2021**, *23*, 4986–4990.
- (4) Pierce, J. G.; Kasi, D.; Fushimi, M.; Cuzzupe, A.; Wipf, P. Synthesis of Hydroxylated Bicyclic Amino Acids from L-Tyrosine: Octahydro-1H-Indole Carboxylates. *J. Org. Chem.* **2008**, *73*, 7807–7810.
- (5) Sakaitani, M.; Ohfuné, Y. Syntheses and Reactions of Silyl Carbamates. 1. Chemoselective Transformation of Amino Protecting Groups via tert-Butyldimethylsilyl Carbamates. *J. Org. Chem.* **1990**, *55*, 870–876.
- (6) Wipf, P.; Rector, S. R.; Takahashi, H. Total Synthesis of (-)-Tuberostemonine. *J. Am. Chem. Soc.* **2002**, *124*, 14848–14849.
- (7) Sydnes, M. O.; Van Le, P.; Olschmike, J.; Healy, P. C.; Garavelas, A.; Tajabadi, F. M.; Pedro, L.; Quinn, R. J.; Jenkins, I. D. Synthesis of two chiral octahydroindole scaffolds for drug discovery. *Tetrahedron* **2016**, *72*, 1225–1228.
- (8) Lovering, F.; Bikker, J.; Humblet, C. Escape from Flatland: Increasing Saturation as an Approach to Improving Clinical Success. *J. Med. Chem.* **2009**, *52*, 6752–6756.
- (9) Nicolaou, K. C.; Estrada, A. A.; Zak, M.; Lee, S. H.; Safina, B. S. A Mild and Selective Method for the Hydrolysis of Esters with Trimethyltin Hydroxide. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2005**, *44*, 1378–1382.
- (10) Beutner, G. L.; Young, I. S.; Davies, M. L.; Hickey, M. R.; Park, H.; Stevens, J. M.; Ye, Q. TCFH-NMI: Direct Access to N-Acyl Imidazoliums for Challenging Amide Bond Formations. *Org. Lett.* **2018**, *20*, 4218–4222.
- (11) Shiina, I.; Ibuka, R.; Kubota, M. A New Condensation Reaction for the Synthesis of Carboxylic Esters from Nearly Equimolar Amounts of Carboxylic Acids and Alcohols Using 2-Methyl-6-Nitrobenzoic Anhydride. *Chem. Lett.* **2002**, *31*, 286–287.
- (12) Magnus, P.; Barth, L. Oxidative addition of azide anion to triisopropylsilyl enol ethers: synthesis of α -azido ketones. *Tetrahedron Lett.* **1992**, *33*, 2777–2780.
- (13) Sauer, W. H. B.; Schwarz, M. K. Molecular Shape Diversity of Combinatorial Libraries: A Prerequisite for Broad Bioactivity. *J. Chem. Inf. Comput. Sci.* **2003**, *43*, 987–1003.
- (14) Umedera, K.; Morita, T.; Nakamura, H. Asymmetric construction of densely functionalized three-dimensional aza-tetracyclic scaffolds for drug discovery. *Chem. Commun.* **2022**, *58*, 13592–13595.

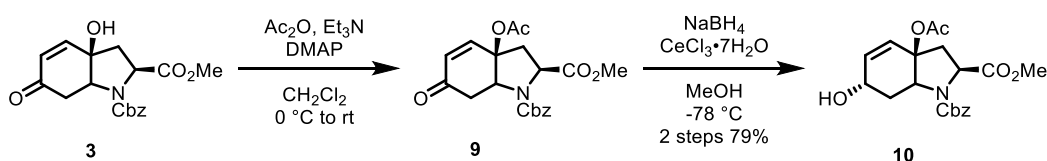
Experimental section

General techniques

NMR spectra were recorded on a Bruker biospin AVANCE II (400 MHz for ^1H , 100 MHz for ^{13}C , 376 MHz for ^{19}F) or a Bruker biospin AVANCE III (500 MHz for ^1H , 125 MHz for ^{13}C) instrument in the indicated solvent. Chemical shifts are reported in units parts per million (ppm) relative to CDCl_3 (7.26 ppm for ^1H NMR, 77.16 ppm for ^{13}C NMR) or CD_3OD (3.31 ppm for ^1H NMR, 49.00 ppm for ^{13}C NMR). Multiplicities are reported using the following abbreviations: s; singlet, d; doublet, dd; double doublets, ddd; double double doublets, dq; double quartet, t; triplet, q; quartet, m; multiplet, br; broad, *J*; coupling constants in Hertz (Hz). IR spectra were recorded on a JASCO FT/IR-4200 spectrometer. Only the strongest and/or structurally important peaks are reported as IR data given in cm^{-1} . High-resolution mass spectra (HRMS) were recorded on Bruker ESI-TOF-MS (micro TOF II). Analytical thin layer chromatography (TLC) was performed on a glass plate of silica gel 60 GF254 (Merck) with UV light (254 nm), visualized by an aqueous alkaline KMnO_4 solution. Column chromatography was performed using silica gel (Fuji Silysia, CHROMATREX PSQ 60B, 50-200 μm). Preparative thin-layer chromatography (PTLC) was performed using Wakogel B5-F silica coated plates (1.0 mm) prepared in our laboratory. Gel permeation chromatography (GPC) for purification was performed on Japan Analytical Industry Model LC-9225 NEXT (recycling preparative HPLC) and a Japan Analytical Industry Model UV-600 NEXT ultraviolet detector with a polystyrene gel column (JAIGEL-1H, 20 mm \times 600 mm), using chloroform as solvent (3.5 mL/min). Analytical HPLC was performed using JASCO PU-2080 Plus Intelligent HPLC pump system with a JASCO UV-2075 Plus Intelligent UV/VIS Detector, JASCO CO4060 Column Oven, JASCO LG-4580 Quaternary Gradient Unit, JASCO DG-2080-53 3-Line Degasser, JASCO AS-4550 Autosampler and JASCO LC-NetII/ADC Interface Box. Bicyclic scaffold **3**¹ and ally bromide **8b**² were prepared according to the literature.

Chemistry

Preparation of alcohol 10

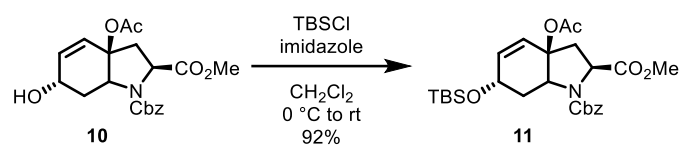


To a solution of alcohol **3**¹ (6.02 g, 17.4 mmol, 1.0 equiv.) in CH_2Cl_2 (90.0 mL) was added Et_3N (2.20 mL, 15.8 mmol, 3.0 equiv.), Ac_2O (3.29 mL, 34.8 mmol, 2.0 equiv.), and DMAP (213 mg, 1.74 mmol, 0.10 equiv.) at 0 $^\circ\text{C}$. After being stirred at room temperature for 5.5 h under an argon atmosphere, the reaction mixture was diluted with saturated aqueous NaHCO_3 , and the aqueous layer was extracted with CH_2Cl_2 for three times. The combined organic layers were washed with brine, dried over Mg_2SO_4 , filtered, and concentrated under reduced pressure. The residue was purified by silica gel column chromatography (hexane:EtOAc = 60:40 to hexane:EtOAc = 45:55) to afford crude enone **11** (5.61 g) as a yellow amorphous solid.

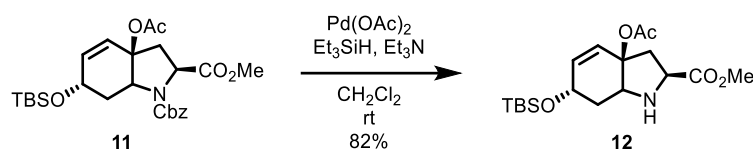
To a solution of crude enone **9** (5.61 g) in MeOH (120 mL) was added $\text{CeCl}_3 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ (7.04 g, 18.9 mmol) at

room temperature. The reaction mixture was cooled to $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$, and NaBH_4 (605 mg, 16.0 mmol) was added. After being stirred at $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ for 10 min under an argon atmosphere, the reaction mixture was diluted with saturated aqueous NH_4Cl and passed through a pad of Celite[®]. The aqueous layer was extracted with CH_2Cl_2 for three times. The combined organic layers were washed with brine, dried over Mg_2SO_4 , filtered, and concentrated under reduced pressure. The residue was purified by silica gel column chromatography (hexane:EtOAc = 50:50 to hexane:EtOAc = 45:55) to afford alcohol **10** (5.34 g, 13.7 mmol, 2 steps 79%) as a white amorphous solid. $[\alpha]_{\text{D}}^{29.3} -524.2$ (c 1.00 in CHCl_3); $^1\text{H NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ 7.37-7.28 (m, 5H), 5.97-5.90 (m, 1H), 5.82-5.74 (m, 1H), 5.27-5.02 (m, 2H), 4.61-4.45 (m, 3H), 3.72-3.58 (m, 3H), 2.86-2.62 (m, 2H), 2.46-2.02 (m, 2H), 1.93-1.91 (m, 3H), 1.46-1.34 (m, 1H); $^{13}\text{C NMR}$ (100 MHz, CDCl_3) δ 171.7, 171.2, 170.3, 170.0, 154.7, 154.2, 136.7, 136.4, 136.4, 136.2, 128.7, 128.6, 128.3, 128.2, 128.1, 125.2, 124.9, 85.4, 84.4, 67.6, 67.3, 66.0, 65.8, 61.0, 60.2, 58.6, 58.4, 52.4, 52.2, 39.6, 38.9, 38.8, 37.9, 22.0, 21.9; IR (neat): 3455, 3064, 3034, 2952, 1738, 1706, 1413, 1366, 1353, 1248, 1233, 1212, 1127, 1115, 1067, 1031, 970, 765, 753 cm^{-1} ; HRMS (ESI) calcd for $\text{C}_{20}\text{H}_{23}\text{NO}_7\text{Na}^+$ $[\text{M} + \text{Na}]^+$ 412.1367, found 412.1376.

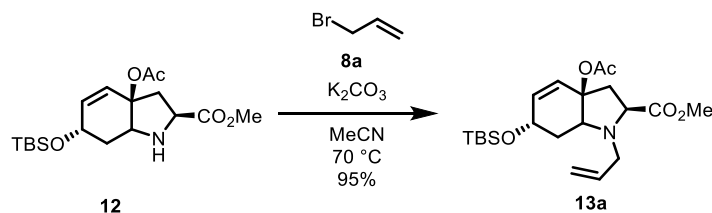
Preparation of silyl ether **11**



To a solution of alcohol **10** (1.58 g, 4.06 mmol, 1.0 equiv.) in CH_2Cl_2 (20 mL) was added TBSCl (918 mg, 6.09 mmol, 1.5 equiv.) and imidazole (831 mg, 12.2 mol, 3.0 equiv.) at $0\text{ }^{\circ}\text{C}$. After being stirred at room temperature for 14 h under an argon atmosphere, the reaction mixture was diluted with water and the aqueous layer was extracted with CH_2Cl_2 for three times. The combined organic layers were washed with brine, dried over Mg_2SO_4 , filtered, and concentrated under reduced pressure. The residue was purified by silica gel column chromatography (hexane:EtOAc = 90:10 to hexane:EtOAc = 50:50) to afford silyl ether **11** (1.89 g, 3.75 mmol, 92%) as a colorless oil. $[\alpha]_{\text{D}}^{27.3} -370.6$ (c 1.00 in CHCl_3); $^1\text{H NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ 7.38-7.27 (m, 5H), 5.87-5.69 (m, 2H), 5.34-5.01 (m, 2H), 4.62-4.38 (m, 3H), 3.73-3.57 (m, 3H), 2.77-2.38 (m, 3H), 1.93-1.90 (m, 3H), 1.46-1.36 (m, 1H), 0.88-0.85 (m, 9H), 0.10-0.00 (m, 6H); $^{13}\text{C NMR}$ (100 MHz, CDCl_3) δ 171.8, 171.2, 170.3, 170.0, 154.5, 154.1, 137.8, 137.5, 128.7, 128.5, 128.34, 128.30, 128.2, 128.1, 124.4, 124.3, 85.7, 84.6, 67.6, 67.2, 66.7, 66.5, 61.2, 60.3, 58.53, 58.46, 52.3, 52.2, 39.7, 39.4, 38.8, 38.3, 25.94, 25.90, 22.0, 21.9, 18.21, 18.20, -4.45, -4.54, -4.63, -4.78; IR (neat): 3064, 3034, 2953, 2930, 2886, 2856, 1758, 1740, 1711, 1411, 1344, 1251, 1213, 1090, 1040, 836, 776, 698 cm^{-1} ; HRMS (ESI) calcd for $\text{C}_{26}\text{H}_{37}\text{NO}_7\text{SiNa}^+$ $[\text{M} + \text{Na}]^+$ 526.2231, found 526.2234.

Preparation of amine **12**

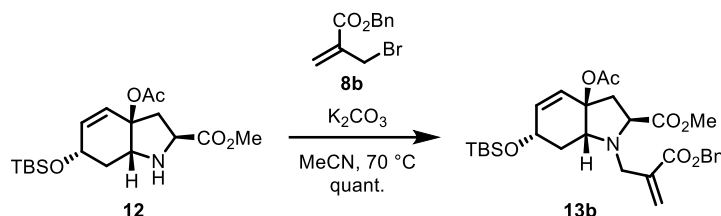
Following the slightly modified procedure reported in the literature,³ to a solution of Pd(OAc)₂ (27.1 mg, 0.121 mmol, 0.05 equiv.) in CH₂Cl₂ (12 mL) was added Et₃N (33.7 μL, 0.242 mmol, 0.1 equiv.) and Et₃SiH (850 μL, 5.34 mmol, 2.2 equiv.). After being stirred at room temperature for 15 min under an argon atmosphere, ester **11** (1.22 g, 2.42 mmol, 1.0 equiv.) dissolved in CH₂Cl₂ (12 mL) was added, and the reaction mixture was stirred for another 4.5 h. After this time, the reaction mixture was diluted with saturated aqueous NaHCO₃, and the aqueous layer was extracted with CH₂Cl₂ for three times. The combined organic layers were washed with brine, dried over Mg₂SO₄, filtered, and concentrated under reduced pressure. The residue was purified by silica gel column chromatography (hexane:EtOAc = 95:5 to hexane:EtOAc = 70:30) to afford amine **12** (735 mg, 1.99 mmol, 82%) as a pale yellow oil. [α]_D^{27.3} -353.7 (c 1.00 in CHCl₃); ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 6.00 (d, *J* = 10.2 Hz, 1H), 5.82 (dd, *J* = 10.2, 2.6 Hz, 1H), 4.32 (m, 1H), 3.87 (t, *J* = 7.02 Hz, 1H), 3.73-3.70 (m, 4H), 2.83 (brs, 1H), 2.55 (d, *J* = 6.8 Hz, 2H), 2.04 (dt, *J* = 13.3, 4.7 Hz, 1H), 1.92 (s, 3H), 1.77-1.70 (m, 1H), 0.86 (s, 9H), 0.06 (s, 6H); ¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃) δ 175.1, 170.3, 135.0, 126.2, 85.1, 65.8, 60.8, 58.4, 52.3, 41.4, 37.3, 25.9, 21.9, 18.2, -4.58, -4.63; IR (neat): 3456, 3356, 3037, 2953, 2930, 2886, 2857, 1740, 1461, 1387, 1367, 1320, 1252, 1084, 1017, 977, 936, 836, 777 cm⁻¹; HRMS (ESI) calcd for C₁₈H₃₂NO₅Si⁺ [*M* + *H*]⁺ 370.2044, found 370.2054.

Preparation of allyl amine **13a**

To a mixture of amine **12** (2.22 g, 6.01 mmol, 1.0 equiv.) and K₂CO₃ (4.15 g, 30.0 mmol, 5.0 equiv.) in MeCN (18 mL) was added allyl bromide (**8a**) (1.52 mL, 18.0 mmol, 3.0 equiv.) and stirred at 70 °C for 1 h. After this time, allyl bromide (500 μL, 5.91 mmol, 0.98 equiv.) was further added and stirred at the same temperature for 1 h before another amount of allyl bromide (500 μL, 5.91 mmol, 0.98 equiv.) was added. After being stirred at 70 °C for another 1 h, the reaction mixture was passed through a pad of Celite[®], and the filtrate was concentrated under reduced pressure. The residue was purified by silica gel column chromatography (hexane:EtOAc = 95:5 to hexane:EtOAc = 80:20) to afford allyl amine **13a** (2.29 g, 5.59 mmol, 93%) as a colorless oil. [α]_D^{29.0} -434.3 (c 1.00 in CHCl₃); ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 5.96-5.85 (m, 2H), 5.79 (dt, *J* = 10.2, 1.3 Hz, 1H), 5.20 (dq, *J* = 17.1, 1.47 Hz, 1H), 5.09 (dd, *J* = 10.1, 0.8 Hz, 1H), 4.38-4.34 (m, 1H), 3.81 (dd, *J* = 12.3, 4.8 Hz, 1H), 3.68 (s, 3H), 3.58 (dd, *J* = 9.4, 4.9 Hz, 1H), 3.44 (ddt, *J* = 13.5, 5.3, 1.6 Hz, 1H), 3.34 (dd, *J* = 13.5, 5.3 Hz, 1H), 2.61 (dd, *J* = 14.5, 5.0 Hz, 1H), 2.40 (dd, *J* = 14.5, 9.4 Hz, 1H), 2.20-2.14 (m, 1H), 1.98 (s, 3H), 1.40-1.32 (m,

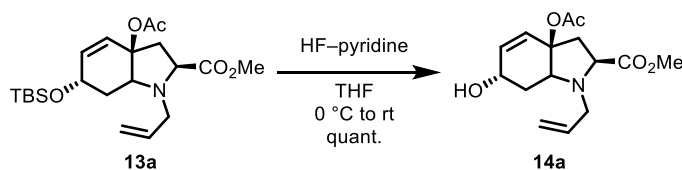
1H), 0.89 (s, 9H), 0.072 (s, 3H), 0.068 (s, 3H); ^{13}C NMR (125 MHz, CDCl_3) δ 173.9, 170.8, 136.6, 135.9, 126.3, 117.3, 85.8, 67.0, 63.8, 61.9, 52.1, 51.9, 41.1, 34.3, 26.0, 22.4, 18.3, -4.5, -4.6; IR (neat): 3074, 3034, 2952, 2930, 2886, 2857, 1738, 1471, 1366, 1251, 1193, 1175, 1084, 994, 836, 776, 665 cm^{-1} ; HRMS (ESI) calcd for $\text{C}_{21}\text{H}_{36}\text{NO}_5\text{Si}^+$ $[\text{M} + \text{H}]^+$ 410.2357, found 410.2362.

Preparation of allyl amine 13b



A mixture of amine **12** (1.51 g, 4.08 mmol, 1.0 equiv.), allyl bromide **8b**² (3.04 g, 11.9 mmol, 2.9 equiv.), and K_2CO_3 (7.25 g, 52.5 mmol, 19.9 mmol, 4.9 equiv.) in MeCN (16.0 mL) was stirred at 70 °C for 4 h under an argon atmosphere. After this time, the reaction mixture was passed through a pad of Celite[®], and the filtrate was concentrated under reduced pressure. The residue was purified by silica gel column chromatography (hexane:EtOAc = 95:5 to hexane:EtOAc = 80:20) to afford allyl amine **16b** (2.17 g, 3.99 mmol, quant.) as a colorless oil. $[\alpha]_{\text{D}}^{24.0}$ -104.1 (c 1.00 in CHCl_3); ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 7.37 (m, 5H), 6.24 (s, 1H), 5.84-5.79 (m, 3H), 5.23 (d, J = 13.0 Hz, 1H), 5.17 (d, J = 12.5 Hz, 1H), 4.38 (dd, J = 10.3, 4.4 Hz, 1H), 3.88 (d, J = 15.8 Hz, 1H), 3.78-3.72 (m, 2H), 3.64-3.55 (m, 4H), 2.63 (dd, J = 14.4, 2.9 Hz, 1H), 2.31 (dd, J = 14.2, 9.1 Hz, 1H), 2.19-2.13 (m, 1H), 1.94 (s, 3H), 1.38-1.30 (m, 1H), 0.88 (s, 9H), 0.07 (s, 3H), 0.06 (s, 3H); ^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3) δ 174.0, 170.5, 166.7, 138.7, 137.2, 136.2, 128.7, 128.3, 128.2, 126.2, 125.8, 86.0, 67.0, 66.5, 63.8, 62.2, 51.6, 48.8, 40.6, 36.9, 26.0, 22.2, 18.3, -4.4, -4.6. IR (neat): 3065, 3033, 2951, 2930, 2886, 2856, 1734, 1456, 1253, 1141, 1083, 836, 777, 697 cm^{-1} ; HRMS (ESI) calcd for $\text{C}_{29}\text{H}_{41}\text{NO}_7\text{Si}^+$ $[\text{M} + \text{H}]^+$ 544.2725, found 544.2724.

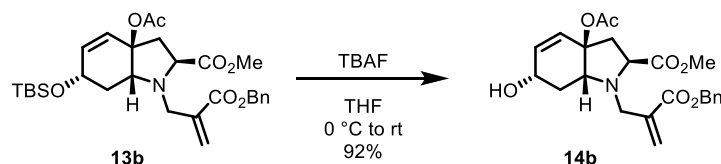
Preparation of alcohol 14a



To a solution of allyl amine **13a** (252 mg, 0.627 mmol) in THF (3.1 mL) was added pyridinium poly(hydrogenfluoride) (630 μL) at 0 °C. After being stirred at room temperature for 50 min under an argon atmosphere, the reaction mixture was diluted with saturated aqueous NaHCO_3 , and the aqueous layer was extracted with EtOAc for three times. The combined organic layers were washed with brine, dried over Mg_2SO_4 , filtered, and concentrated under reduced pressure. The residue was purified by silica gel column chromatography (hexane:EtOAc = 80:20 to hexane:EtOAc = 40:60) to afford alcohol **14a** (188 mg, 0.637 mmol, quant.) as a pale yellow oil. $[\alpha]_{\text{D}}^{28.8}$ -501.9 (c 1.00 in CHCl_3); ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 6.07 (dd, J = 10.2, 0.5 Hz, 1H), 6.02 (dd, J = 10.2, 4.4 Hz, 1H), 5.81-5.71 (m, 1H), 5.14 (dq, J = 17.1, 1.5 Hz, 1H), 5.09 (dq, J =

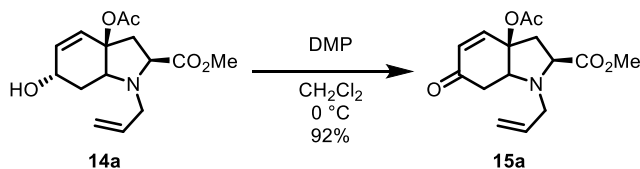
10.1, 0.8 Hz, 1H), 4.10 (dd, $J = 8.1, 4.0$ Hz, 1H), 3.78 (dd, $J = 9.0, 3.4$ Hz, 1H), 3.75 (t, $J = 4.1$ Hz, 1H), 3.67-3.62 (m, 4H), 3.30 (dd, $J = 13.6, 8.3$ Hz, 1H), 2.53 (dd, $J = 14.6, 9.0$ Hz, 1H), 2.42 (dd, $J = 14.6, 3.4$ Hz, 1H), 2.13-2.01 (m, 2H), 1.95 (s, 3H); ^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3) δ 173.2, 170.2, 134.6, 131.4, 129.4, 118.2, 82.6, 64.3, 63.5, 60.4, 51.5, 50.6, 41.9, 28.9, 21.8; IR (neat): 3438, 3076, 3033, 2951, 2927, 2859, 1736, 1435, 1369, 1245, 1202, 1174, 1117, 1061, 1032, 927, 789 cm^{-1} ; HRMS (ESI) calcd for $\text{C}_{15}\text{H}_{22}\text{NO}_5^+$ $[\text{M} + \text{H}]^+$ 296.1492, found 296.1493.

Preparation of alcohol **14b**



To a solution of allyl amine **13b** (10.9 g, 20.0 mmol, 1.0 equiv.) in THF (100 mL) was added tetrabutylammonium fluoride (TBAF) (ca. 1 mol/L in THF, 60 mL) at 0 °C. After being stirred for 1.5 h at room temperature under argon atmosphere, the reaction mixture was diluted with saturated aqueous NH_4Cl , and the aqueous layer was extracted with EtOAc for three times. The combined organic layers were washed with brine, dried over Mg_2SO_4 , filtered, and concentrated under reduced pressure. The residue was purified by silica gel column chromatography (hexane:EtOAc = 70:30 to 50:50) to afford alcohol **14b** (7.88 g, 18.3 mmol, 92%) as a pale yellow oil. $[\alpha]_{\text{D}}^{24.0} - 145.30$ (c 1.00 in CHCl_3); ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 7.35-7.32 (m, 5H), 6.27 (s, 1H), 6.09 (d, $J = 10.2$ Hz, 1H), 6.03 (dd, $J = 10.1, 5.6$ Hz, 1H), 5.69 (s, 1H), 5.22 (d, $J = 12.3$ Hz, 1H), 5.15 (d, $J = 12.3$ Hz, 1H), 4.09 (brs, 1H), 3.99 (d, $J = 13.3$ Hz, 1H), 3.81-3.75 (m, 2H), 3.65-3.60 (m, 5H), 2.55 (dd, $J = 14.5, 9.3$ Hz, 1H), 2.34 (dd, $J = 14.6, 2.9$ Hz, 1H), 2.23-2.18 (m, 1H), 2.07 (dt, $J = 15.1, 4.0$ Hz, 1H), 1.97 (s, 3H). ^{13}C NMR (125 MHz, CDCl_3) δ 173.4, 170.2, 166.1, 137.1, 135.9, 131.3, 129.2, 129.0, 128.7, 128.5, 128.4, 81.9, 66.9, 63.9, 62.5, 59.8, 51.5, 49.0, 41.6, 28.9, 21.8; IR (neat): 3463, 3091, 3065, 2950, 2890, 1734, 1455, 1435, 1368, 1255, 1201, 1168, 1124, 1063, 1036, 750, 699 cm^{-1} ; HRMS (ESI) calcd for $\text{C}_{23}\text{H}_{28}\text{NO}_7^+$ $[\text{M} + \text{H}]^+$ 430.1860, found 430.1867.

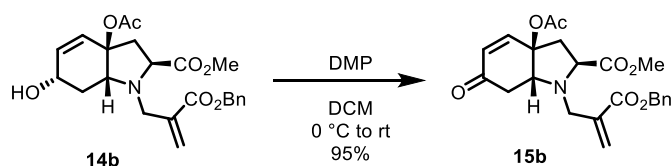
Representative procedure for preparation of enone **15a,b**



To a solution of alcohol **14a** (155 mg, 0.525 mmol, 1.0 equiv) in CH_2Cl_2 (2.6 mL) was added Dess-Martin periodinane (DMP) (274 mg, 0.646 mmol, 1.2 equiv) at 0 °C. After being stirred at the same temperature under an argon atmosphere, the reaction mixture was diluted with saturated aqueous NaHCO_3 , and the aqueous layer was extracted with CH_2Cl_2 for three times. The combined organic layers were washed with brine, dried over Mg_2SO_4 , filtered, and concentrated under reduced pressure. The residue was purified by silica gel column chromatography (hexane:EtOAc = 80:20 to hexane:EtOAc = 70:30) to afford enone **15a** (142 mg, 0.483 mmol,

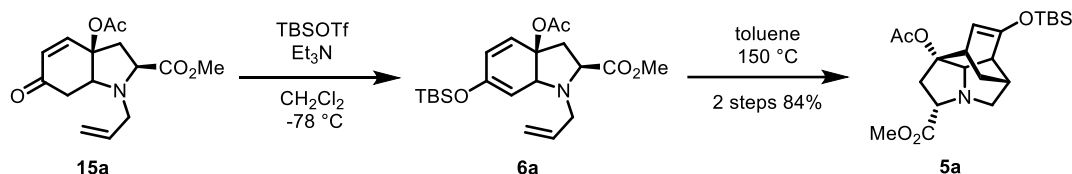
92%) as a pale yellow oil. $[\alpha]_D^{26.1} -343.9$ (c 1.00 in CHCl_3) $^1\text{H NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ 6.92 (dd, $J = 10.3$, 1.5 Hz, 1H), 5.93 (d, $J = 10.3$ Hz, 1H), 5.75-5.65 (m, 1H), 5.09 (dq, $J = 17.2$, 1.5 Hz, 1H), 5.03 (dd, $J = 10.1$, 0.8 Hz, 1H), 3.97-3.95 (m, 1H), 3.74 (dd, $J = 9.31$, 3.56 Hz, 1H), 3.65 (s, 3H), 3.40 (ddt, $J = 13.9$, 4.9 Hz, $J = 1.7$ Hz, 1H), 3.22 (dd, $J = 13.9$, 8.0 Hz, 1H), 2.84 (dd, $J = 16.6$, 5.0 Hz, 1H), 2.62-2.54 (m, 2H), 2.43 (dd, $J = 14.6$, 3.6 Hz, 1H), 2.01 (s, 3H); $^{13}\text{C NMR}$ (100 MHz, CDCl_3) δ 196.9, 173.5, 170.2, 145.8, 135.0, 128.4, 117.6, 81.4, 64.3, 60.6, 51.6, 50.6, 41.1, 37.6, 21.5. IR (neat): 3077, 3005, 2978, 2952, 2907, 2852, 1736, 1688, 1434, 1369, 1239, 1200, 1170, 1111, 1038, 928, 763 cm^{-1} ; HRMS (ESI) calcd for $\text{C}_{15}\text{H}_{20}\text{NO}_5^+$ $[\text{M} + \text{H}]^+$ 294.1336, found 294.1342.

Preparation of enone 15b



Following the representative procedure using alcohol **14b** (94.0 mg, 0.219 mmol, 1.0 equiv.), purified by silica gel column chromatography (hexane:EtOAc = 75:25 to hexane:EtOAc = 70:30) afforded enone **15b** (88.6 mg, 0.207 mmol, 95%) as a yellow oil. $[\alpha]_D^{23.3} -61.80$ (c 1.00 in CHCl_3); $^1\text{H NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ 7.36-7.31 (m, 5H), 6.93 (dd, $J = 10.3$, 1.5 Hz, 1H), 6.23 (d, $J = 0.7$ Hz, 1H), 5.96 (d, $J = 10.4$ Hz, 1H), 5.63 (d, $J = 1.5$ Hz, 1H), 5.21 (d, $J = 12.5$ Hz, 1H), 5.14 (d, $J = 12.4$ Hz, 1H), 4.03-4.01 (m, 1H), 3.79 (dd, $J = 9.1$, 3.3 Hz, 1H), 3.67 (s, 3H), 3.63 (d, $J = 16.1$ Hz, 1H), 3.56 (d, $J = 16.0$ Hz, 1H), 2.87 (dd, $J = 16.8$, 4.9 Hz, 1H), 2.63-2.57 (m, 2H), 2.47 (dd, $J = 14.5$, 3.4 Hz, 1H), 2.04 (s, 3H); $^{13}\text{C NMR}$ (125 MHz, CDCl_3) δ 196.7, 173.6, 170.3, 166.3, 145.8, 137.5, 136.1, 128.7, 128.6, 128.33, 128.31, 127.0, 81.0, 66.5, 64.5, 60.6, 51.8, 47.9, 41.4, 37.8, 21.5; IR (neat): 3090, 3062, 3032, 2952, 2888, 1735, 1689, 1651, 1455, 1369, 1240, 1208, 1121, 1038, 981, 750, 699 cm^{-1} ; HRMS (ESI) calcd for $\text{C}_{23}\text{H}_{26}\text{NO}_7^+$ $[\text{M} + \text{H}]^+$ 428.1704, found 428.1712.

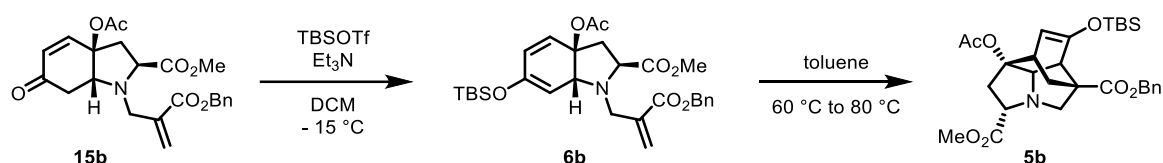
Preparation of tetracyclic amine 5a



A solution of TBSOTf (1.40 mL) in DCM (4.6 mL) was prepared. To a solution of enone **15a** (1.10 g, 3.75 mmol, 1.0 equiv) in CH_2Cl_2 (19 mL) was added Et_3N (1.57 mL, 11.3 mmol, 3.0 equiv.) and the prepared solution of TBSOTf (4.9 mL) at -78°C . After being stirred for 10 min at the same temperature under an argon atmosphere, the reaction mixture was again added the prepared solution of TBSOTf (1.0 mL) and stirred for another 10 min. The reaction mixture was diluted with saturated aqueous NaHCO_3 and the aqueous layer was extracted with CH_2Cl_2 for three times. The combined organic layers were washed with brine, dried over Mg_2SO_4 , filtered, and concentrated under reduced pressure. The residue was purified by silica gel column chromatography (hexane:EtOAc = 95:5 to hexane:EtOAc = 80:20) to afford crude silyl enol ether **6a** (1.43 g) as an orange oil.

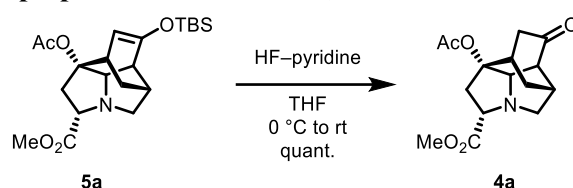
Sealed tube was charged with the crude silyl enol ether **6a** (1.43 g) and then toluene (15 mL) was added. The reaction mixture was stirred at 150 °C for 3.5 h before being concentrated under reduced pressure. The residue was purified by silica gel column chromatography (hexane:EtOAc = 70:30 to hexane:EtOAc = 30:70) to afford tetracyclic amines **5a** (1.28 g, 3.15 mmol, 84%) as a pale yellow oil. $[\alpha]_D^{27.8} -52.6$ (c 1.00 in CHCl₃); ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 5.02 (dd, *J* = 7.1, 2.2 Hz, 1H), 3.84 (dd, *J* = 9.8, 3.5 Hz, 1H), 3.72 (s, 3H), 3.45-3.41 (m, 2H), 3.28-3.26 (m, 1H), 2.92-2.89 (m, 1H), 2.65 (dd, *J* = 15.5, 9.9 Hz, 1H), 2.40 (dd, *J* = 15.5, 3.6 Hz, 1H), 2.4 (d, *J* = 11.3 Hz, 1H), 2.07-2.03 (m, 1H), 1.94 (s, 3H), 1.60-1.54 (m, 1H), 1.17 (dd, *J* = 13.9, 1.7 Hz, 1H), 0.91 (s, 9H), 0.13 (s, 6H); ¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃) δ 174.5, 170.4, 152.4, 104.6, 94.0, 73.1, 71.1, 64.3, 52.3, 49.0, 38.3, 36.0, 34.0, 32.7, 25.8, 21.7, 18.1, -4.2, -4.5; IR (neat): 3064, 2952, 2932, 2883, 2858, 1732, 1646, 1453, 1366, 1251, 1221, 1202, 1170, 1072, 931, 835, 781 cm⁻¹; HRMS (ESI) calcd for C₂₁H₃₄NO₅Si⁺ [M + H]⁺ 408.2201, found 403.2208.

Preparation of tetracyclic amine **5b**

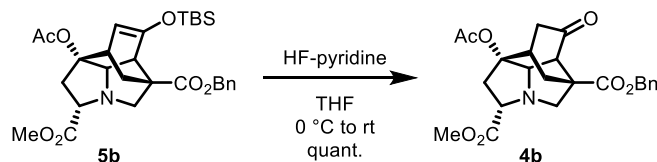


To a solution of enone **15b** (7.31 g, 17.1 mmol, 1.0 equiv.) and Et₃N (7.00 mL, 47.4 mmol, 2.8 equiv.) in CH₂Cl₂ (7.0 mL) was added TBSOTf (4.70 mmL, 20.4 mmol, 1.2 equiv.) at -15 °C under an argon atmosphere. After being stirred for 10 min at the same temperature, the reaction mixture was diluted with saturated aqueous NaHCO₃, and the aqueous layer was extracted with CH₂Cl₂ for three times. The combined organic layers were washed with brine, dried over Mg₂SO₄, filtered, and concentrated under reduced pressure to afford crude silyl enol ether **6b**.

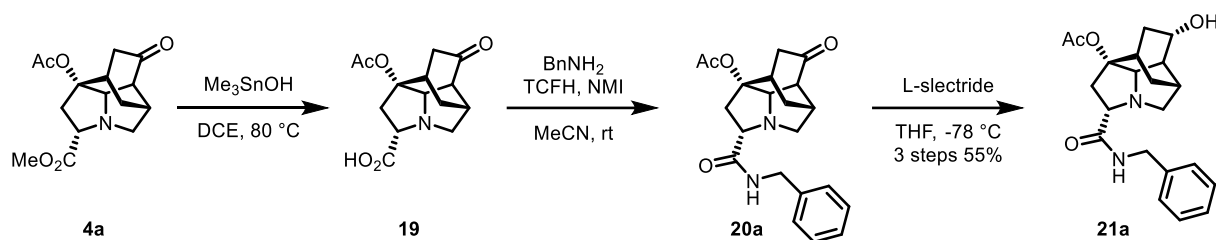
The crude silyl enol ether **6b** was dissolved in toluene (50 mL) and stirred for at 60 °C for 12.5 h under an argon atmosphere. After this time, the reaction mixture was heated to 80 °C and stirred for additional 30 min before being concentrated under reduced pressure. The residue was purified by silica gel column chromatography (hexane:EtOAc = 70:30 to hexane:EtOAc = 50:50) to afford tetracyclic amine **5b** (7.42 g, 13.7 mmol, 2 steps 80%) as a red oil. $[\alpha]_D^{22.6} -66.80$ (c 1.00 in CHCl₃); ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 7.35-7.27 (m, 5H), 5.08 (s, 2H), 5.02 (dd, *J* = 7.13, 2.14, 1H), 3.82 (dd, *J* = 9.88, 3.84, 1H), 3.75-3.72 (m, 4H), 3.53-3.51 (m, 1H), 3.38-3.34 (m, 2H), 2.70 (dd, *J* = 15.5, 9.9 Hz, 1H), 2.58 (d, *J* = 11.3 Hz, 1H), 2.42 (dd, *J* = 15.5, 3.9 Hz, 1H), 2.14-2.10 (m, 1H), 1.95 (s, 3H), 1.46 (dd, *J* = 14.3, 2.9 Hz, 1H), 0.88 (s, 9H), 0.103 (s, 3H), 0.099 (s, 3H); ¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃) δ 174.3, 173.3, 170.4, 151.2, 135.9, 128.6, 128.3, 127.9, 103.8, 93.1, 73.3, 70.8, 67.0, 66.9, 52.4, 52.0, 50.1, 38.5, 36.7, 35.0, 25.7, 21.7, 18.1, -4.3, -4.6; IR (neat): 3066, 3033, 3004, 2953, 2931, 2886, 2856, 1731, 1646, 1455, 1435, 1367, 1253, 1207, 1085, 835, 763, 750, 698 cm⁻¹; HRMS (ESI) calcd for C₂₉H₄₀NO₇Si⁺ [M + H]⁺ 542.2569, found 542.2574.

Representative procedure for preparation of ketone **4a,b**

To a solution of tetracyclic amine **5a** (576 mg, 1.41 mmol) in THF (7.0 mL) was added pyridinium poly(hydrogenfluoride) (1.40 mL) at 0 °C. After being stirred at room temperature for 50 min under an argon atmosphere, the reaction mixture was diluted with saturated aqueous NaHCO₃, and the aqueous layer was extracted with EtOAc for three times. The combined organic layers were washed with brine, dried over Mg₂SO₄, filtered, and concentrated under reduced pressure. The residue was purified by silica gel column chromatography (hexane:EtOAc = 80:20 to hexane:EtOAc = 40:60) to afford ketone **4a** (188 mg, 0.637 mmol, quant.) as a yellow oil. $[\alpha]_D^{29.5} -16.7$ (c 1.00 in CHCl₃); ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 3.88 (dd, *J* = 9.8, 4.0 Hz, 1H), 3.73 (s, 3H), 3.64 (d, *J* = 4.8 Hz, 1H), 3.46 (dd, *J* = 11.3, 3.7 Hz, 1H), 2.80-2.94 (m, 1H), 2.87-2.85 (m, 1H), 2.77 (dd, *J* = 15.5, 9.8 Hz, 1H), 2.55 (dd, *J* = 15.5, 4.0 Hz, 1H), 2.45 (d, *J* = 11.3 Hz, 1H), 2.34-2.30 (m, 1H), 2.25 (dt, *J* = 19.3, 2.9 Hz, 1H), 2.00 (s, 3H), 1.98-1.93 (m, 2H), 1.43 (d, *J* = 14.9 Hz, 1H); ¹³C NMR (125 MHz, CDCl₃) δ 212.4, 174.0, 170.3, 89.3, 72.0, 69.6, 65.6, 55.0, 52.5, 39.33, 39.32, 34.5, 33.0, 30.8, 21.5; IR (neat): 2951, 2877, 1730, 1436, 1370, 1243, 1218, 1068, 1023 cm⁻¹; HRMS (ESI) calcd for C₁₅H₂₀NO₅⁺ [M + H]⁺ 294.1336, found 294.1339.

Preparation of ketone **4b**

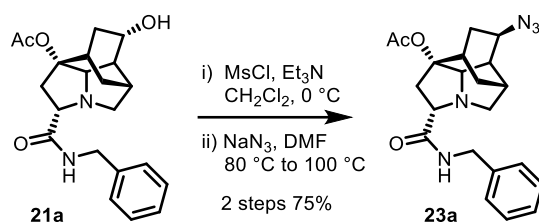
Following the representative procedure using **5b** (572.5 mg, 1.06 mmol, 1.0 equiv.), purified by silica gel column chromatography (hexane:acetone = 80:20 to hexane:EtOAc = 50:50) to afford ketone **4b** (447 mg, 1.05 mmol, quant.) as an orange oil. $[\alpha]_D^{21.6} -21.9$ (c 1.00 in CHCl₃); ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 7.36-7.24 (m, 5H), 5.10 (d, *J* = 12.4 Hz, 1H), 5.06 (d, *J* = 12.4 Hz, 1H), 3.85 (dd, *J* = 10.0, 4.7 Hz, 1H), 3.73-3.69 (m, 5H), 3.14 (d, *J* = 5.28 Hz, 1H), 3.04 (brs, 1H), 2.83 (dd, *J* = 15.5, 9.8 Hz, 1H), 2.68 (d, *J* = 11.4 Hz, 1H), 2.53 (dd, *J* = 15.4, 4.7 Hz, 1H), 2.37 (d, *J* = 14.8 Hz, 1H), 2.26 (dt, *J* = 19.2, 2.9 Hz, 1H), 2.05-2.00 (m, 4H), 1.70 (dt, *J* = 15.0, 3.0 Hz, 1H); ¹³C NMR (125 MHz, CDCl₃) δ 208.9, 173.8, 172.1, 170.2, 135.2, 128.7, 128.5, 128.1, 88.1, 72.5, 69.6, 67.4, 67.3, 56.9, 52.6, 49.8, 39.6, 38.8, 33.6, 33.5, 21.4; IR (neat): 3089, 3063, 3032, 2953, 2889, 2845, 1732, 1455, 1436, 1243, 1175, 1147, 1087, 749, 699 cm⁻¹; HRMS (ESI) calcd for C₂₃H₂₆NO₇⁺ [M + H]⁺ 428.1704, found 428.1707.

Preparation of alcohol **21a**

Following the slightly modified procedure reported in the literature,⁴ to a solution of ketone **4a** (371 mg, 1.26 mmol, 1.0 equiv.) in DCE (6.0 mL) was added trimethyltin hydroxide (342 mg, 1.89 mmol, 1.5 equiv.). After being stirred at $80\text{ }^\circ\text{C}$ for 50 min under an argon atmosphere, the reaction mixture was added another amount of trimethyltin hydroxide (114 mg, 0.631 mmol, 0.5 equiv.) and stirred for 1 h. After this time, another amount of trimethyltin hydroxide (22.7 mg, 0.126 mmol, 0.1 equiv.) was added and stirred for 20 min. The reaction mixture was concentrated under reduced pressure and passed through a pad of silica eluting with MeOH to afford crude carboxylic acid **19** (345 mg) as a white solid.

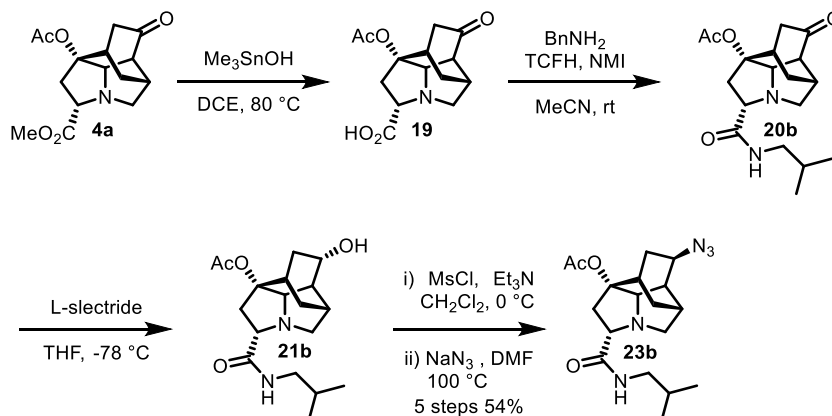
Following the slightly modified procedure reported in the literature,⁵ to a suspension of crude carboxylic acid **17** (345 mg), benzylamine (165 μL , 1.51 mmol, 1.2 equiv.), and *N*-methylimidazole (300 μL , 3.80 mmol, 3.0 equiv.) in MeCN (5.0 mL) was added TCFH (424 mg, 1.51 mmol, 1.2 equiv.). After being stirred for 40 min at room temperature under an argon atmosphere, the reaction mixture was diluted with water and the aqueous layer was extracted with EtOAc for three times. The combined organic layers were washed with brine, dried over Mg_2SO_4 , filtered, and concentrated under reduced pressure. The residue was purified by silica gel column chromatography (hexane:EtOAc = 10:90 to hexane:EtOAc = 5:95) to afford crude amide **20a** (504 mg) as a yellow oil.

To a solution of amide **18a** (504 mg) in THF (8.8 mL) was added L-selectride (1.4 mL, 1.0 M in THF, 1.1 equiv.) at $-78\text{ }^\circ\text{C}$. After being stirred for 20 min at the same temperature under an argon atmosphere, the reaction mixture was diluted with saturated aqueous NH_4Cl , and the aqueous layer was extracted with EtOAc for three times. The combined organic layers were washed with brine, dried over Mg_2SO_4 , filtered, and concentrated under reduced pressure. The residue was purified by silica gel column chromatography (hexane:EtOAc = 30:70 to EtOAc:MeOH = 90:10) to afford alcohol **21a** (258 mg, 0.696 mmol, 3 steps 55%) as a white amorphous solid. $[\alpha]_{\text{D}}^{27.3} + 80.0$ (c 1.00 in CHCl_3); $^1\text{H NMR}$ (500 MHz, CDCl_3) δ 8.10 (t, $J = 5.3$ Hz, 1H), 7.36-7.28 (m, 5H), 4.48 (dd, $J = 14.9, 6.1$ Hz, 1H), 4.43 (dd, $J = 14.9, 5.9$ Hz, 1H), 4.18 (d, $J = 9.8$ Hz, 1H), 3.62 (dd, $J = 10.2, 4.4$ Hz, 1H), 3.37 (d, $J = 4.9$ Hz, 1H), 3.32 (dd, $J = 11.0, 3.6$ Hz, 1H), 2.77 (dd, $J = 15.5, 10.2$ Hz, 1H), 2.67 (dd, $J = 15.5, 4.4$ Hz, 1H), 2.60 (brs, 1H), 2.42 (dd, $J = 8.4, 4.0$ Hz, 1H), 2.28 (d, $J = 11.1$ Hz, 1H), 2.04 (s, 3H), 1.99-1.96 (m, 1H), 1.84-1.79 (m, 1H), 1.70-1.65 (m, 2H), 1.51 (ddd, $J = 14.7, 5.4, 2.7$ Hz, 1H), 1.16 (d, $J = 14.6, 1\text{H}$); $^{13}\text{C NMR}$ (125 MHz, CDCl_3) δ 174.0, 170.0, 138.7, 128.8, 127.8, 127.5, 90.1, 70.5, 67.7, 65.6, 64.8, 45.9, 43.4, 40.2, 33.7, 32.4, 31.0, 30.5, 21.7; IR (neat): 3421, 3339, 3086, 3060, 3028, 2932, 2869, 2359, 2341, 1727, 1653, 1518, 1454, 1367, 1224, 1055, 1036, 1022, 732, 699 cm^{-1} ; HRMS (ESI) calcd for $\text{C}_{21}\text{H}_{27}\text{N}_2\text{O}_4 + [\text{M} + \text{H}]^+$ 371.1965, found 371.1965.

Preparation of azide **23a**

To a solution of alcohol **21a** (677 mg, 1.83 mmol, 1.0 equiv.) and Et_3N (765 μL , 5.46 mmol, 3.0 equiv.) in CH_2Cl_2 (7.3 mL) was added methanesulfonyl chloride (184 μL , 2.38 mmol, 1.3 equiv.) at $0\text{ }^\circ\text{C}$. After being stirred for 10 min under argon atmosphere at the same temperature, the reaction mixture was diluted with saturated aqueous NaHCO_3 , and the aqueous layer was extracted with EtOAc for three times. The combined organic layers were washed with brine, dried over Mg_2SO_4 , filtered, and concentrated under reduced pressure to afford crude mesylate (762 mg) as a white amorphous.

To a solution of crude mesylate (762 mg) in DMF (7.3 mL) was added NaN_3 (240 mg, 3.66 mmol, 2.0 equiv.) and stirred at $80\text{ }^\circ\text{C}$ under argon atmosphere. After being stirred for 2 h, the reaction mixture was heated to $100\text{ }^\circ\text{C}$ and further stirred for 40 min. After this time, the reaction mixture was diluted with ice cooled water, and the aqueous layer was extracted with EtOAc for three times. The combined organic layers were washed with brine, dried over Mg_2SO_4 , filtered, and concentrated under reduced pressure. The residue was purified by silica gel column chromatography (hexane: EtOAc = 65:45 to hexane: EtOAc = 45:65) to afford azide **23a** (543 mg, 1.37 mmol, 2 steps 75%) as a colorless solid. $[\alpha]_D^{26.1} + 38.5$ (c 1.00 in CHCl_3); $^1\text{H NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ 8.04 (t, J = 5.5 Hz, 1 H), 7.37-7.26 (m, 5H), 4.51-4.41 (m, 2H), 3.94-3.89 (m, 1H), 3.64 (dd, J = 10.2, 4.4 Hz, 1H), 3.30 (dd, J = 11.2, 3.6 Hz, 1H), 3.17 (d, J = 5.0 Hz, 1H), 2.77 (dd, J = 15.5, 10.3 Hz, 1H), 2.63 (dd, J = 15.5, 4.5 Hz, 1H), 2.57-2.55 (m, 1H), 2.35-2.32 (m, 1H), 2.27 (d, J = 11.2 Hz, 1H), 2.21-2.17 (m, 1H), 2.05-1.97 (m, 4H), 1.94-1.88 (m, 1H), 1.28-1.21 (m, 2H); $^{13}\text{C NMR}$ (100 MHz, CDCl_3) δ 173.8, 169.9, 138.7, 128.8, 127.8, 127.5, 89.8, 71.1, 70.7, 65.9, 54.0, 43.3, 43.2, 39.7, 30.8, 30.5, 30.2, 29.3, 21.6; IR (neat): 3343, 3086, 3062, 3028, 2936, 2872, 2099, 1733, 1670, 1511, 1454, 1367, 1243, 1227, 1076, 1024, 699 cm^{-1} ; HRMS (ESI) calcd for $\text{C}_{21}\text{H}_{26}\text{N}_5\text{O}_3^+$ $[\text{M} + \text{H}^+]$ 396.2030, found 396.2035.

Preparation of azide **23b**

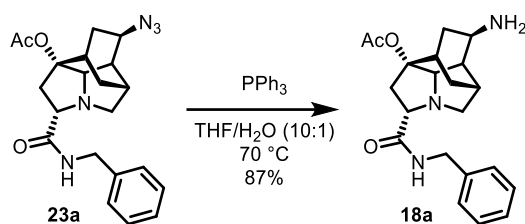
To a solution of ketone **4a** (979 mg, 3.34 mmol, 1.0 equiv.) in DCE (16.0 mL) was added trimethyltin hydroxide (906 mg, 5.01 mmol, 1.5 equiv.). After being stirred at 80 °C for 1.5 h under an argon atmosphere, the reaction mixture was added another amount of trimethyltin hydroxide (604 mg, 3.34 mmol, 1.0 equiv.) and stirred for 1 h. The reaction mixture was concentrated under reduced pressure and passed through a pad of silica eluting with MeOH to afford crude carboxylic acid **19** (893 mg) as a white solid.

To a suspension of crude carboxylic acid **19** (893 mg), isobutylamine (400 μ L, 4.03 mmol, 1.2 equiv.), and *N*-methylimidazole (790 μ L, 10.0 mmol, 3.0 equiv.) in MeCN (13.0 mL) was added TCFH (1.13 mg, 4.01 mmol, 1.2 equiv.). After being stirred for 4 h at room temperature under an argon atmosphere, the reaction mixture was diluted with water and the aqueous layer was extracted with EtOAc for three times. The combined organic layers were washed with brine, dried over Mg₂SO₄, filtered, and concentrated under reduced pressure. The residue was purified by silica gel column chromatography (hexane:EtOAc = 10:90 to EtOAc = 100%) to afford crude amide **20b** (1.83 g) as a yellow oil.

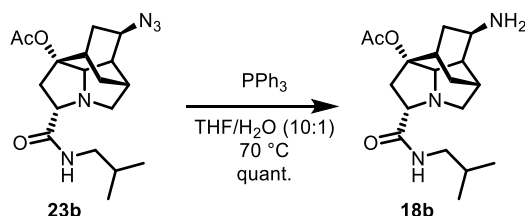
To a solution of the crude amide **20b** (1.83 g) in THF (23.0 mL) was added L-selectride (4.00 mL, 1.0 M in THF, 1.1 equiv.) at -78 °C. After being stirred for 15 min at the same temperature under an argon atmosphere, the reaction mixture was diluted with saturated aqueous NH₄Cl, and the aqueous layer was extracted with EtOAc for three times. The combined organic layers were washed with brine, dried over Mg₂SO₄, filtered, and concentrated under reduced pressure. The residue was purified by silica gel column chromatography (hexane:acetone = 65:35 to 45:55) to afford crude alcohol **21b** (685 mg) as a white solid.

To a solution of the crude alcohol **21b** (685 mg, assumed as 2.04 mmol, 1.0 equiv.) and Et₃N (850 μ L, 6.10 mmol, 3.0 equiv.) in CH₂Cl₂ (8.0 mL) was added methanesulfonyl chloride (20.5 μ L, 2.65 mmol, 1.3 equiv.) at 0 °C. After being stirred for 10 min under argon atmosphere at the same temperature, the reaction mixture was diluted with saturated aqueous NaHCO₃, and the aqueous layer was extracted with EtOAc for three times. The combined organic layers were washed with brine, dried over Mg₂SO₄, filtered, and concentrated under reduced pressure to afford crude mesylate (708 mg) as a white amorphous.

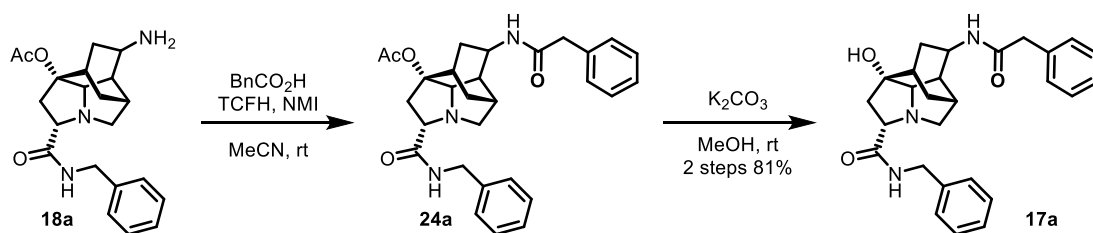
To a solution of crude mesylate (708 mg) in DMF (8.0 mL) was added NaN₃ (265 mg, 4.08 mmol, 2.0 equiv.) and stirred at 100 °C under argon atmosphere. After being stirred for 1 h, the reaction mixture was diluted with ice cooled water, and the aqueous layer was extracted with EtOAc for three times. The combined organic layers were washed with brine, dried over Mg₂SO₄, filtered, and concentrated under reduced pressure. The residue was purified by silica gel column chromatography (hexane:acetone = 80:20) to afford azide **23b** (651 mg, 1.80 mmol, 5 steps 54%) as a colorless solid. $[\alpha]_D^{24.8} - 45.3$ (c 1.00 in CHCl₃); ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 7.79 (brs, 1H), 3.96-3.92 (m, 1H), 3.58 (dd, *J* = 10.4, 4.6 Hz, 1H), 3.34 (dd, *J* = 11.2, 3.5 Hz, 1H), 3.17 (d, *J* = 5.0 Hz, 1H), 3.16-3.09 (m, 1H), 3.06-3.00 (m, 1H), 2.76 (dd, *J* = 15.5, 10.2 Hz, 1H), 2.58-2.53 (m, 2H), 2.40-2.37 (m, 1H), 2.28 (d, *J* = 11.2 Hz, 1H), 2.23-2.20 (m, 1H), 2.04-1.97 (m, 4H), 1.94-1.88 (m, 1H), 1.85-1.75 (m, 1H), 1.28-1.21 (m, 2H), 0.93 (s, 3H), 0.91 (m, 3H); ¹³C NMR (125 MHz, CDCl₃) δ 173.7, 169.9, 89.7, 71.1, 70.8, 65.9, 54.0, 46.5, 43.2, 39.8, 30.8, 30.4, 30.2, 29.3, 28.8, 21.6, 20.3, 20.2; IR (neat): 3343, 2956, 2935, 2871, 2100, 1734, 1671, 1517, 1465, 1368, 1242, 1227, 1178, 1073, 1023, 948 cm⁻¹; HRMS (ESI) calcd for C₁₈H₂₈N₅O₃⁺ [M + H]⁺ 362.2187, found 362.2190.

Representative procedure for preparation of amine **18a,b**

To a solution of azide **23a** (78.5 mg, 0.199 mmol, 1.0 equiv.) in a mixture of THF (1.0 mL) and H₂O (100 μ L) was added PPh₃ (85.8 mg, 0.327 mmol, 1.6 equiv.). After being stirred for 2 h at 70 °C under an argon atmosphere, the reaction mixture was concentrated under reduced pressure. The residue was purified by silica gel column chromatography (EtOAc = 100% to CH₂Cl₂/MeOH/Et₃N = 90:10:1) to afford amine **18a** (64.4 mg, 0.174 mmol, 87%) as a colorless oil. $[\alpha]_D^{25.5} + 59.2$ (c 1.00 in CHCl₃); ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 8.11 (t, $J = 5.46$ Hz, 1H), 7.35-7.25 (m, 5H), 4.45 (d, $J = 6.24$ Hz, 2H), 3.63 (dd, $J = 10.4, 4.5$ Hz, 1H), 3.30-3.24 (m, 2H), 3.14 (d, $J = 5.0$ Hz, 1H), 2.79 (dd, $J = 15.5, 10.3$ Hz, 1H), 2.58 (dd, $J = 15.4, 4.6$ Hz, 1H), 2.48 (brs, 1H), 2.25 (d, $J = 11.1$ Hz, 1H), 2.20-2.18 (m, 1H), 2.09-2.06 (m, 1H), 2.04-1.96 (m, 4H), 1.93-1.86 (m, 1H), 1.60 (brs, 2H), 1.18 (d, $J = 14.4$ Hz, 1H), 0.90 (ddd, $J = 13.7, 5.2, 2.2$). ¹³C NMR (125 MHz, CDCl₃) δ 174.1, 169.9, 138.6, 128.6, 127.6, 127.2, 89.8, 71.0, 70.95, 66.1, 46.9, 43.1, 42.6, 39.8, 33.6, 31.03, 31.00, 29.4, 21.5; IR (neat): 3341, 3292, 3085, 3059, 3029, 2932, 2868, 1730, 1663, 1513, 1454, 1367, 1246, 1227, 1078, 1022, 732, 699 cm⁻¹; HRMS (ESI) calcd for C₂₁H₂₈N₃O₃⁺ [M + H⁺] 370.2125, found 370.2131.

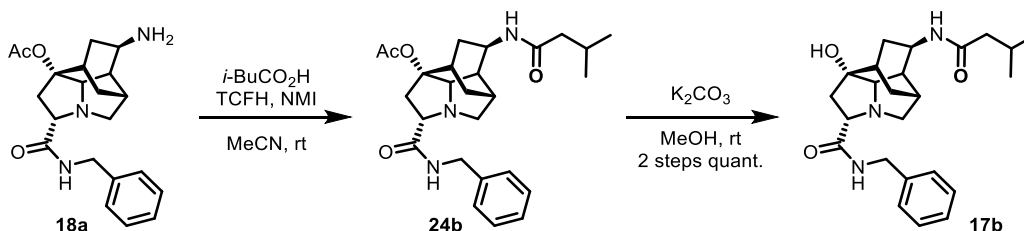
preparation of amine **18b**

Following the representative procedure using azide **23b** (615 mg, 1.70 mmol, 1.0 equiv.), purification by silica gel column chromatography (EtOAc = 100% to CH₂Cl₂/MeOH/Et₃N = 90:10:1) afforded amine **18b** (599 mg, 1.78 mmol, quant.) as a yellow oil. $[\alpha]_D^{27.5} - 17.4$ (c 1.00 in CHCl₃); ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 7.86 (t, $J = 5.6$ Hz, 1H), 3.56 (dd, $J = 10.4, 4.6$ Hz, 1H), 3.31-3.28 (m, 2H), 3.15-3.09 (m, 2H), 3.05-3.00 (m, 1H), 2.77 (dd, $J = 15.4, 10.4$ Hz, 1H), 2.53-2.48 (m, 2H), 2.26 (d, $J = 11.1$ Hz, 1H), 2.14-2.19 (m, 1H), 2.14-2.11 (m, 1H), 2.03-1.96 (m, 4H), 1.93-1.86 (m, 1H), 1.85-1.75 (m, 1H), 1.41 (brs, 2H), 1.18 (d, $J = 14.6$ Hz, 1H), 0.92-0.87 (m, 7H); ¹³C NMR (125 MHz, CDCl₃) δ 174.1, 170.0, 90.0, 71.3, 71.2, 66.3, 47.1, 46.5, 42.9, 40.0, 33.9, 31.2, 31.1, 29.6, 28.8, 21.6, 20.3, 20.2; IR (neat): 3342, 2955, 2931, 2869, 1731, 1661, 1519, 1466, 1368, 1246, 1227, 1078, 1022, 750 cm⁻¹; HRMS (ESI) calcd for C₁₈H₃₀N₃O₃⁺ [M + H⁺] 336.2282, found 336.2287.

Representative procedure for preparation of alcohol **17a-d**:

To a solution of amine **18a** (211 mg, 0.571 mmol, 10 equiv.), phenylacetic acid (93.3 mg, 0.685 mmol, 1.2 equiv.), and *N*-methylimidazole (192 μ L, 1.71 mmol, 3.0 equiv.) in MeCN (2.3 mL) was added TCFH (192 mg, 0.685 mmol, 1.2 equiv.). After being stirred for 1 h at room temperature under an argon atmosphere, the reaction mixture was diluted with saturated aqueous NaHCO₃, and the aqueous layer was extracted with EtOAc for three times. The combined organic layers were washed with brine, dried over Mg₂SO₄, filtered, and concentrated under reduced pressure. The residue was purified by silica gel column chromatography (hexane:EtOAc = 10:90 to EtOAc = 100%) to afford crude amide **24a** (314 mg) as a white amorphous solid.

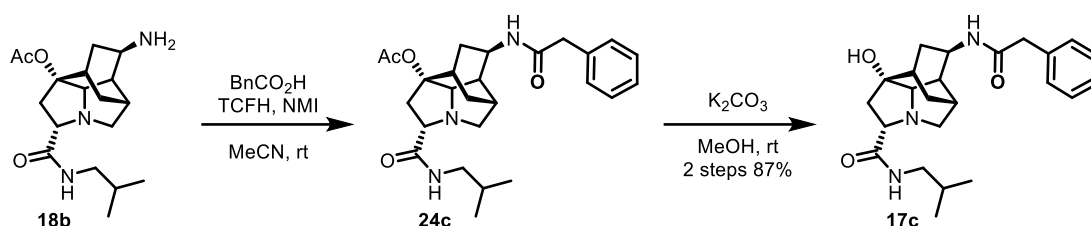
To a solution of the crude amide **24a** (314 mg) in MeOH (2.3 mL) was added K₂CO₃ (315 mg, 2.28 mmol, 4.0 equiv.) and stirred at room temperature for 3 h under an argon atmosphere. After this time, another amount of MeOH (1.0 mL) and K₂CO₃ (78.9 mg, 0.571 mmol, 1.0 equiv.) and stirred for additional 15 h. The reaction mixture was diluted with saturated aqueous NH₄Cl and the aqueous layer was extracted with EtOAc for three times. The combined organic layers were washed with brine, dried over Mg₂SO₄, filtered, and concentrated under reduced pressure. The residue was purified by silica gel column chromatography (hexane:EtOAc = 10:90 to EtOAc:MeOH = 90:10) to afford alcohol **17a** (207 mg, 0.465 mmol, 2 steps 81%) as a white amorphous solid. $[\alpha]_D^{26.4}$ - 31.3 (c 1.00 in CHCl₃); ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 8.09 (t, *J* = 5.8 Hz, 1H), 7.36-7.23 (m, 10 H), 5.42 (d, *J* = 7.4 Hz, 1H), 4.46-4.36 (m, 2H), 4.32-4.25 (m, 1H), 3.54 (s, 2H), 3.50 (dd, *J* = 9.8, 4.4 Hz, 1H), 3.19 (dd, *J* = 11.2, 3.6 Hz, 1H), 2.96 (d, *J* = 5.0 Hz, 1H), 2.68 (brs, 1H), 2.54-2.40 (m, 2H), 2.34 (dd, *J* = 14.6, 4.5 Hz, 1H), 2.27-2.25 (m, 1H), 2.15 (d, *J* = 11.2 Hz, 1H), 1.79-1.77 (m, 1H), 1.70 (s, 1H), 1.65-1.59 (m, 1H), 1.17 (d, *J* = 14.4 Hz, 1H), 0.70 (ddd, *J* = 13.7, 4.9, 2.1 Hz, 1H); ¹³C NMR (125 MHz, CDCl₃) δ 174.3, 170.6, 138.4, 135.1, 129.4, 129.1, 128.8, 127.7, 127.5, 82.1, 72.3, 70.4, 65.7, 43.9, 43.3, 43.2, 42.9, 41.8, 34.3, 31.6, 31.0, 29.8; IR (neat): 3409, 3307, 3078, 3061, 3028, 2929, 2870, 1644, 1454, 1357, 1309, 1264, 1177, 1099, 1029, 970, 930, 730, 697 cm⁻¹; HRMS (ESI) calcd for C₂₁H₃₂N₃O₃⁺ [M + H]⁺ 446.2438, found 446.2443.

Preparation of alcohol **17b**

Following the representative procedure using amine **18a** (236 mg, 0.639 mmol, 1.0 equiv.) and isovaleric acid (84.7 μ L, 0.767 mmol, 1.2 equiv.) purification by silica gel column chromatography (hexane:EtOAc = 10:90 to EtOAc:MeOH = 90:10) afforded alcohol **17b** (257 mg, 0.624 mmol, 2 steps quant.) as a white

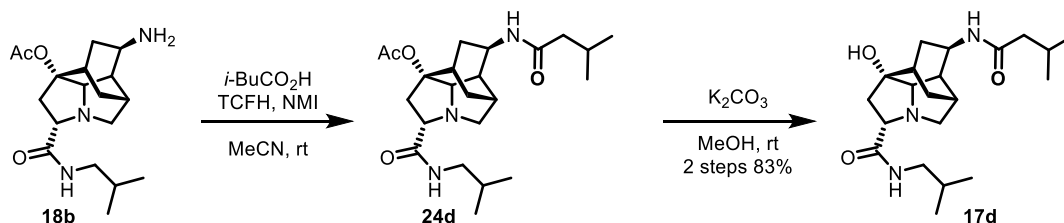
amorphous solid. $[\alpha]_D^{26.0} + 16.6$ (c 1.00 in CHCl_3); $^1\text{H NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ 8.12 (t, $J = 6.7$ Hz, 1H), 7.35-7.25 (m, 5H), 5.51 (m, 1H), 4.47-4.30 (m, 3H), 3.54 (dd, $J = 9.9, 4.4$ Hz, 1H), 3.26-3.23 (m, 1H), 3.01 (d, $J = 5.0$ Hz, 1H), 2.73 (brs, 1H), 2.61-2.46 (m, 2H), 2.37 (dd, $J = 14.6, 4.5$ Hz, 1H), 2.32 (m, 1H), 2.22 (d, $J = 11.2$ Hz, 1H), 2.12-1.95 (m, 4H), 1.85-1.78 (m, 2H), 1.26 (d, $J = 13.8$ Hz, 1H), 0.94-0.91 (m, 6H), 0.89-0.84 (m, 1H); $^{13}\text{C NMR}$ (100 MHz, CDCl_3) δ 174.4, 172.2, 138.5, 128.8, 127.7, 127.5, 82.2, 72.4, 70.5, 65.9, 46.3, 43.5, 43.4, 43.1, 41.6, 34.5, 31.8, 31.3, 30.0, 26.4, 22.6, 22.5; IR (neat): 3409, 3310, 3085, 3063, 3029, 2954, 2927, 2869, 1643, 1521, 1454, 1359, 1309, 1263, 1214, 1113, 734, 698, 669 cm^{-1} ; HRMS (ESI) calcd for $\text{C}_{24}\text{H}_{34}\text{N}_3\text{O}_3^+$ $[\text{M} + \text{H}]^+$ 412.2595, found 412.2599.

Preparation of alcohol 17c



Following the representative procedure using amine **18b** (225 mg, 0.671 mmol, 1.0 equiv.) and phenylacetic acid (110 mg, 0.805 mmol, 1.2 equiv.), purification by silica gel column chromatography (hexane:EtOAc = 5:95 to EtOAc:MeOH = 90:10) afforded alcohol **17c** (241 mg, 0.586 mmol, 2 steps 87%) as a white amorphous solid. $[\alpha]_D^{27.0} - 49.0$ (c 1.00 in CHCl_3); $^1\text{H NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ 7.80 (t, $J = 5.5$ Hz, 1H), 7.38-7.24 (m, 5H), 5.34 (d, $J = 7.6$ Hz, 1H), 4.33-4.27 (m, 1H), 3.56 (s, 2H), 3.45 (dd, $J = 9.9, 4.2$ Hz, 1H), 3.24 (dd, $J = 11.2, 3.6$ Hz, 1H), 3.12-2.98 (m, 2H), 2.95 (d, $J = 4.9$ Hz, 1H), 2.55-2.48 (m, 1H), 2.45-2.39 (m, 1H), 2.35-2.30 (m, 1H), 2.29 (dd, $J = 14.6, 4.3$ Hz, 1H), 2.17 (d, $J = 11.2$ Hz, 1H), 1.81-1.71 (m, 3H), 1.65-1.59 (m, 1H), 1.20-1.17 (d, $J = 14.2$ Hz, 1H), 0.91 (s, 3H), 0.90 (s, 3H), 0.72-0.68 (m, 1H); $^{13}\text{C NMR}$ (125 MHz, CDCl_3) δ 174.1, 170.6, 135.2, 129.4, 129.2, 127.5, 82.2, 72.4, 70.4, 65.7, 46.6, 44.0, 43.2, 43.0, 41.9, 34.3, 31.7, 31.0, 29.9, 28.7, 20.31, 20.28; IR (neat): 3412, 3299, 3086, 3061, 3027, 2956, 2925, 2869, 1644, 1529, 1465, 1264, 1211, 1099, 1031, 729, 696 cm^{-1} ; HRMS (ESI) calcd for $\text{C}_{24}\text{H}_{34}\text{N}_3\text{O}_3^+$ $[\text{M} + \text{H}]^+$ 412.2595, found 412.2602.

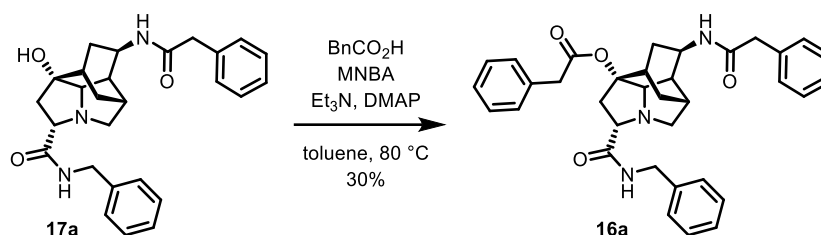
Preparation of alcohol 17d



Following the representative procedure using amine **18b** (209 mg, 0.623 mmol, 1.0 equiv.) and isovaleric acid (83.0 μL , 0.752 mmol, 1.2 equiv.), purification by silica gel column chromatography (hexane:EtOAc = 5:95 to EtOAc:MeOH = 90:10) afforded alcohol **17d** (196 mg, 0.518 mmol, 2 steps 83%) as a white amorphous solid. $[\alpha]_D^{26.8} - 1.9$ (c 0.756 in CHCl_3); $^1\text{H NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ 7.85 (t, $J = 5.8$ Hz, 1H), 5.44 (d, $J = 7.5$ Hz, 1H), 4.38-4.32 (m, 1H), 3.49 (dd, $J = 10.0, 4.3$ Hz, 1H), 3.29 (dd, $J = 11.2, 3.6$ Hz, 1H), 3.13-2.98 (m, 3H),

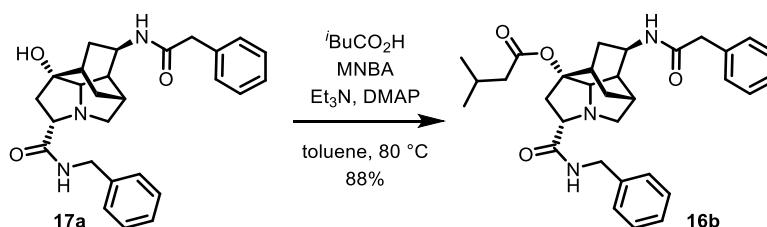
2.62-2.56 (m, 1H), 2.48 (dd, $J = 14.6, 10.1$ Hz, 1H), 2.41-2.38 (m, 1H), 2.31 (dd, $J = 14.6, 4.4$ Hz, 1H), 2.24 (d, $J = 11.2$ Hz, 1H), 2.15-1.97 (m, 4H), 1.85-1.73 (m, 3H), 1.29-1.25 (m, 1H), 0.95-0.85 (m, 13H); ^{13}C NMR (125 MHz, CDCl_3) δ 174.2, 172.2, 82.3, 72.5, 70.5, 65.9, 46.6, 46.4, 43.5, 43.2, 41.6, 34.5, 31.8, 31.3, 30.0, 28.7, 26.4, 22.6, 22.5, 20.32, 20.29; IR (neat): 3307, 3064, 2956, 2926, 2869, 1642, 1530, 1465, 1367, 1214, 1096, 1032, 749 cm^{-1} ; HRMS (ESI) calcd for $\text{C}_{21}\text{H}_{36}\text{N}_3\text{O}_3^+$ $[\text{M} + \text{H}]^+$ 378.2751, found 378.2759.

Representative procedure for preparation of ester 16a-h



Following the slightly modified procedure reported in the literature,⁶ to a mixture of alcohol **17a** (41.9 mg, 0.0940 mmol, 1.0 equiv.), phenylacetic acid (25.6 mg, 0.188 mmol, 2.0 equiv.) and DMAP (1.4 mg, 0.011 mmol, 0.12 equiv.) in toluene (500 μL) was added Et_3N (39.0 μL , 0.280 mmol, 3.0 equiv.) and MNBA (69.9 mg, 0.203 mmol, 2.0 equiv.). After being stirred for 1.5 h under an argon atmosphere, the reaction mixture was diluted with saturated aqueous NaHCO_3 , and the aqueous layer was extracted with EtOAc for three times. The combined organic layers were washed with brine, dried over Mg_2SO_4 , filtered, and concentrated under reduced pressure. The residue was purified by GPC to afford ester **16a** (15.9 mg, 0.0282 mmol, 75%) as a colorless oil. $[\alpha]_{\text{D}}^{28.4} - 26.1$ (c 1.00 in CHCl_3); ^1H NMR (500 MHz, CDCl_3) δ 8.03 (t, $J = 5.7$ Hz, 1H), 7.37-7.23 (m, 15H), 5.22 (d, $J = 7.6$ Hz, 1H), 4.48 (dd, $J = 14.8, 6.3$ Hz, 1H), 4.40 (dd, $J = 14.8, 5.7$ Hz, 1H), 4.14-4.09 (m, 1H), 3.60-3.51 (m, 5H), 3.22-3.18 (m, 2H), 2.74 (dd, $J = 15.5, 10.3$ Hz, 1H), 2.59 (dd, $J = 15.5, 4.6$ Hz, 1H), 2.42 (brs, 1H), 2.28-2.26 (m, 1H), 2.19 (d, $J = 11.2$ Hz, 1H), 1.79-1.73 (m, 2H), 1.66-1.59 (m, 2H), 1.14 (d, $J = 14.7$ Hz, 1H), 0.58 (ddd, $J = 14.1, 5.6, 2.2$ Hz, 1H); ^{13}C NMR (125 MHz, CDCl_3) δ 173.8, 170.59, 170.58, 138.6, 135.1, 134.0, 129.3, 129.2, 128.82, 128.75, 127.7, 127.6, 127.5, 127.3, 90.0, 71.0, 70.6, 66.0, 44.0, 43.3, 42.8, 42.0, 41.5, 40.0, 31.2, 30.9, 30.6, 29.7; IR (neat): 3308, 3084, 3059, 3028, 2871, 1731, 1644, 1519, 1454, 1256, 1160, 1076, 1018, 728, 697 cm^{-1} ; HRMS (ESI) calcd for $\text{C}_{35}\text{H}_{38}\text{N}_3\text{O}_4^+$ $[\text{M} + \text{H}^+]$ 564.2857, found 564.2863.

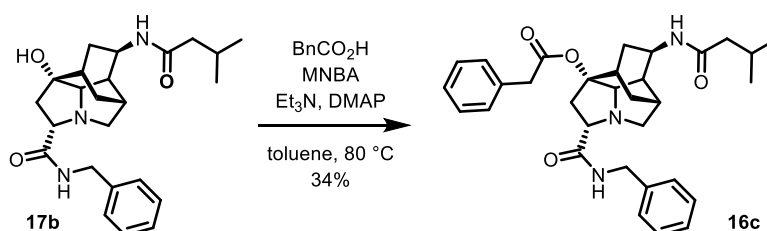
Preparation of ester 16b



Following the representative procedure using alcohol **17a** (40.1 mg, 0.0900 mmol, 1.0 equiv.) and isovaleric acid (20.0 μL , 0.181 mmol, 2.0 equiv.), purification by PTLC (hexane:acetone = 65:35) to afford ester **16b** (41.8 mg, 0.0789 mmol, 88%) as a colorless oil. $[\alpha]_{\text{D}}^{27.5} + 32.4$ (c 1.00 in CHCl_3); ^1H NMR (500 MHz, CDCl_3) δ 8.05 (t, $J = 5.3$ Hz, 1H), 7.37-7.23 (m, 10H), 5.37 (d, $J = 7.6$ Hz, 1H), 4.53 (dd, $J = 14.8, 6.7$ Hz, 1H), 4.36 (dd, $J =$

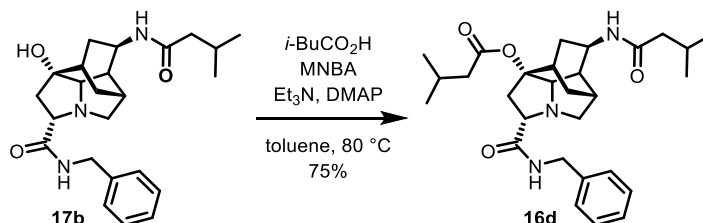
14.9, 5.5 Hz, 1H), 4.27-4.23 (m, 1H), 3.59 (dd, $J = 10.2, 4.3$ Hz, 1H), 3.55 (s, 2H), 3.22-3.20 (m, 2H), 2.75 (dd, $J = 15.5, 10.3$ Hz, 1H), 2.57 (dd, $J = 15.5, 4.4$ Hz, 1H), 2.49 (brs, 1H), 2.29-2.27 (m, 1H), 2.20 (d, $J = 11.2$ Hz, 1H), 2.16-1.98 (m, 4H), 1.82-1.80 (m, 1H), 1.69-1.64 (m, 1H), 1.17 (d, $J = 14.6$ Hz, 1H), 0.97-0.92 (m, 6H), 0.74 (ddd, $J = 14.0, 5.3, 2.1$ Hz, 1H); ^{13}C NMR (125 MHz, CDCl_3) δ 173.8, 172.2, 170.7, 138.7, 135.0, 129.4, 129.2, 128.8, 127.7, 127.6, 127.5, 89.4, 77.4, 71.0, 70.7, 65.9, 44.0, 43.8, 43.2, 42.9, 41.6, 40.0, 31.19, 31.15, 30.7, 29.7, 25.7, 22.60, 22.57; IR (neat): 3299, 3084, 3060, 3028, 3005, 2956, 2930, 2870, 1729, 1644, 1519, 1519, 1454, 1361, 1296, 1255, 1167, 1077, 748, 729, 697 cm^{-1} ; HRMS (ESI) calcd for $\text{C}_{32}\text{H}_{40}\text{N}_3\text{O}_6^+$ $[\text{M} + \text{H}]^+$ 530.3013, found 530.3014.

Preparation of ester 16c



Following the representative procedure using alcohol **17b** (42.3 mg, 0.103 mmol, 1.0 equiv.) and phenylacetic acid (28.0 mg, 0.206 mmol, 2.0 equiv.), purification by GPC afforded ester **16c** (18.4 mg, 0.0347 mmol, 34%) as a colorless oil. $[\alpha]_{\text{D}}^{28.1} - 6.73$ (c 0.728 in CHCl_3); ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 8.06 (t, $J = 5.8$ Hz, 1H), 7.37-7.22 (m, 10H), 5.30 (d, $J = 7.6$ Hz, 1H), 4.49 (dd, $J = 14.9, 6.3$ Hz, 1H), 4.41 (dd, $J = 14.9, 5.7$ Hz, 1H), 4.52-4.38 (m, 1H), 3.63-3.52 (m, 3H), 3.27-3.23 (m, 2H), 2.79 (dd, $J = 15.5, 10.3$ Hz, 1H), 2.60 (dd, $J = 15.5, 4.7$ Hz, 1H), 2.48 (brs, 1H), 2.35-2.32 (m, 1H), 2.25 (d, $J = 11.2$ Hz, 1H), 2.13-1.95 (m, 4H), 1.85-1.76 (m, 2H), 1.22 (d, $J = 14.7$ Hz, 1H), 0.95 (d, $J = 4.9$ Hz, 3H), 0.93 (d, $J = 4.9$ Hz, 3H), 0.74 (ddd, $J = 14.0, 5.8, 2.1$ Hz, 1H); ^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3) δ 173.9, 172.1, 170.6, 138.6, 134.1, 129.4, 128.83, 128.76, 127.8, 127.5, 127.3, 90.1, 71.1, 70.7, 66.1, 46.3, 43.3, 43.1, 42.0, 41.3, 40.1, 31.4, 31.1, 30.8, 29.8, 26.4, 22.6, 22.5; IR (neat): 3310, 3085, 3062, 3029, 2954, 2928, 2869, 1732, 1644, 1519, 1455, 1255, 1219, 1159, 1128, 1076, 1018, 750, 726, 698 cm^{-1} ; HRMS (ESI) calcd for $\text{C}_{32}\text{H}_{40}\text{N}_3\text{O}_4^+$ $[\text{M} + \text{H}]^+$ 530.3013, found 530.3018.

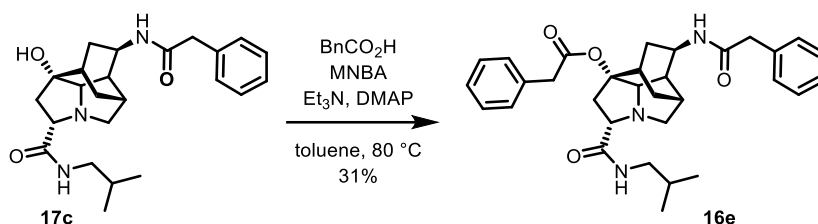
Preparation of ester 16d



Following the representative procedure using alcohol **17b** (42.3 mg, 0.103 mmol, 1.0 equiv.) and isovaleric acid (23.0 μL , 0.208 mmol, 2.0 equiv.), purified by PTLC (hexane:acetone = 65:35) afforded ester **16d** (38.5 mg, 0.0777 mmol, 75%) as a white amorphous solid. $[\alpha]_{\text{D}}^{27.6} + 67.4$ (c 1.00 in CHCl_3); ^1H NMR (500 MHz, CDCl_3) δ 8.08 (t, $J = 5.9$ Hz, 1H), 7.35-7.27 (m, 5H), 5.49 (d, $J = 7.6$ Hz, 1H), 4.53 (dd, $J = 14.9, 6.5$ Hz, 1H), 4.36 (dd, $J = 14.9, 5.6$ Hz, 1H), 4.32-4.26 (m, 1H), 3.62 (dd, $J = 10.3, 4.4$ Hz, 1H), 3.28-3.24 (m, 2H), 2.79 (dd,

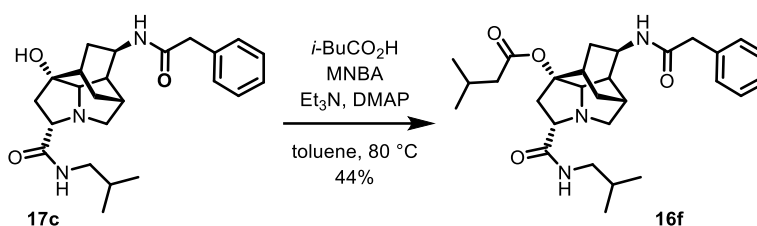
$J = 15.5, 10.3$ Hz, 1H), 2.60-2.56 (m, 2H), 2.34-2.33 (m, 1H), 2.26 (d, $J = 11.2$ Hz, 1H), 2.19-1.97 (m, 8H), 1.87-1.82 (m, 1H), 1.27-1.23 (m, 1H), 0.97-0.89 (m, 13H); ^{13}C NMR (125 MHz, CDCl_3) δ 173.9, 172.3, 172.2, 138.6, 128.8, 127.7, 127.5, 89.5, 71.0, 70.8, 66.1, 46.3, 43.8, 43.2, 43.1, 41.3, 40.2, 31.3, 30.9, 29.9, 26.4, 25.7, 22.61, 22.57, 22.5; IR (neat): 3309, 3196, 3085, 3063, 3029, 2956, 2930, 2870, 1729, 1643, 1519, 1464, 1367, 1296, 1178, 1119, 1077, 1019, 730, 699 cm^{-1} ; HRMS (ESI) calcd for $\text{C}_{29}\text{H}_{42}\text{N}_3\text{O}_4^+$ [$\text{M} + \text{H}^+$] 496.3170, found 496.3173.

Preparation of ester 16e



Following the representative procedure using alcohol **17c** (44.1 mg, 0.107 mmol, 1.0 equiv.) and phenylacetic acid (21.9 mg, 0.161 mmol, 1.5 equiv.), purification by GPC affords ester **16e** (17.6 mg, 0.0332 mmol, 31%) as a colorless oil. $[\alpha]_{\text{D}}^{25.4} - 66.9$ (c 1.00 in CHCl_3); ^1H NMR (500 MHz, CDCl_3) δ 7.77 (t, $J = 6.1$ Hz, 1H), 7.38-7.21 (m, 10H), 5.22 (d, $J = 7.6$ Hz, 1H), 4.16-4.11 (m, 1H), 3.56-3.51 (m, 5H), 3.25-3.21 (m, 2H), 3.16-3.12 (m, 1H), 3.00-2.95 (m, 1H), 2.73 (dd, $J = 15.6, 10.3$ Hz, 1H), 2.50 (dd, $J = 15.4, 4.7$ Hz, 1H), 2.43 (brs, 1H), 2.35-2.33 (m, 1H), 2.20 (d, $J = 11.2$ Hz, 1H), 1.82-1.71 (m, 3H), 1.64-1.59 (m, 1H), 1.13 (d, $J = 14.7$ Hz, 1H), 0.92 (s, 3H), 0.90 (s, 3H), 0.58 (ddd, $J = 14.1, 5.7, 2.2$ Hz, 1H); ^{13}C NMR (125 MHz, CDCl_3) δ 173.7, 170.7, 170.6, 135.1, 134.0, 129.4, 129.3, 129.2, 128.7, 127.6, 127.2, 90.0, 71.1, 70.7, 65.9, 46.5, 44.0, 42.9, 42.0, 41.6, 40.2, 31.2, 30.9, 30.5, 29.7, 28.7, 20.3, 20.2; IR (neat): 3298, 3085, 3063, 3028, 2955, 2929, 2870, 1732, 1644, 1524, 1252, 1159, 1074, 728, 696, 669 cm^{-1} ; HRMS (ESI) calcd for $\text{C}_{32}\text{H}_{40}\text{N}_3\text{O}_4^+$ [$\text{M} + \text{H}^+$] 530.3013, found 530.3021.

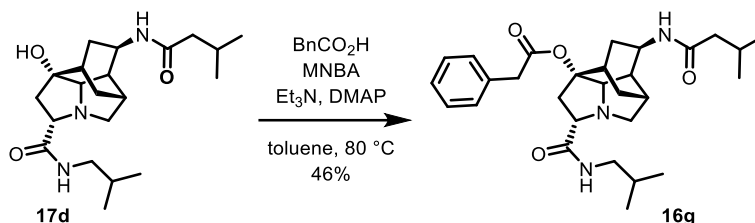
Preparation of ester 16f



Following the representative procedure using alcohol **17c** (41.7 mg, 0.101 mmol, 1.0 equiv.) and isovaleric acid (17.0 μL , 0.154 mmol, 1.5 equiv.), purification by PTLC (hexane:acetone = 65:35) afforded ester **16f** (22.1 mg, 0.0446 mmol, 44%) as a colorless oil. $[\alpha]_{\text{D}}^{26.4} - 40.2$ (c 1.00 in CHCl_3); ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 7.78 (t, $J = 5.8$ Hz, 1H), 7.38-7.24 (m, 5H), 5.34 (d, $J = 7.6$ Hz, 1H), 4.30-4.24 (m, 1H), 3.57 (s, 2H), 3.53 (dd, $J = 10.3, 4.5$ Hz, 1H), 3.27-3.14 (m, 3H), 2.97-2.93 (m, 1H), 2.74 (dd, $J = 15.5, 10.3$ Hz, 1H), 2.51-2.46 (m, 2H), 2.36-2.33 (m, 1H), 2.21 (d, $J = 11.1$ Hz, 1H), 2.13-1.96 (m, 4H), 1.84-1.73 (m, 2H), 1.70-1.63 (m, 1H), 1.17 (d, $J = 14.6$, 1H), 0.91-0.90 (m, 12H), 0.75-0.70 (m, 1H); ^{13}C NMR (125 MHz, CDCl_3) δ 173.8, 172.3, 170.7, 135.0, 129.4, 129.2, 127.6, 89.4, 71.1, 70.9, 65.9, 46.4, 44.0, 43.8, 42.9, 41.7, 40.3, 31.20, 31.16, 30.7, 29.7, 28.8, 25.7,

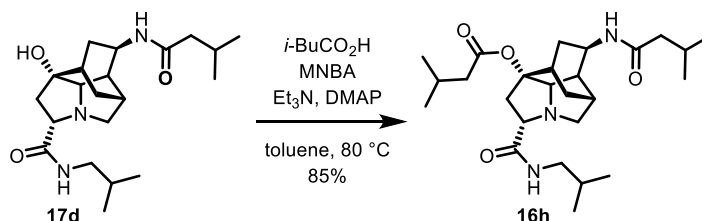
22.6, 22.5, 20.22, 20.15; IR (neat): 3297, 3082, 3062, 3028, 2957, 2927, 2870, 1730, 1644, 1527, 1465, 1367, 1296, 1167, 1121, 730, 697 cm^{-1} ; HRMS (ESI) calcd for $\text{C}_{29}\text{H}_{42}\text{N}_3\text{O}_4^+$ $[\text{M} + \text{H}]^+$ 496.3170, found 496.3178.

Preparation of ester 16

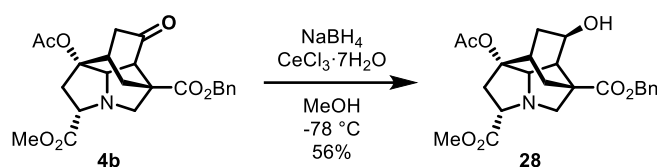


Following the representative procedure using alcohol **17d** (40.9 mg, 0.108 mmol, 1.0 equiv.) and phenylacetic acid (29.4 mg, 0.216 mmol, 2.0 equiv.) purification by GPC afforded ester **16g** (24.8 mg, 0.0500 mmol, 46%) as a colorless oil. $[\alpha]_{\text{D}}^{25.3} - 70.0$ (c 1.00 in CHCl_3); ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 7.81 (t, $J = 6.0$ Hz, 1H), 7.31-7.20 (m, 5H), 5.34 (d, $J = 7.6$ Hz, 1H), 4.21-4.14 (m, 1H), 3.57-3.49 (m, 3H), 3.29-3.25 (m, 2H), 3.19-3.12 (m, 1H), 3.01-2.95 (m, 1H), 2.78 (dd, $J = 15.5, 10.3$ Hz, 1H), 2.53-2.48 (m, 2H), 2.41-2.38 (m, 1H), 2.25 (d, $J = 11.1$ Hz, 1H), 2.16-1.96 (m, 4H), 1.81-1.74 (m, 3H), 1.20 (d, $J = 14.8$ Hz, 1H), 0.95 (d, $J = 4.4$ Hz, 3H), 0.94 (d, $J = 4.4$ Hz, 3H), 0.92 (s, 3H), 0.90 (s, 3H), 0.73 (ddd, $J = 14.1, 5.8, 1.92$ Hz, 1H); ^{13}C NMR (125 MHz, CDCl_3) δ 173.8, 172.2, 170.6, 134.0, 129.3, 128.7, 127.2, 90.0, 77.4, 71.2, 70.8, 66.1, 46.3, 43.1, 42.0, 41.3, 40.3, 31.3, 31.1, 29.8, 28.7, 26.4, 26.3, 22.6, 22.5, 20.3, 20.2; IR (neat): 3306, 3089, 3064, 3030, 2955, 2929, 2869, 1732, 1643, 1527, 1455, 1253, 1219, 1159, 1075, 1018, 727, 695 cm^{-1} ; HRMS (ESI) calcd for $\text{C}_{29}\text{H}_{42}\text{N}_3\text{O}_4^+$ $[\text{M} + \text{H}]^+$ 496.3170, found 496.3177.

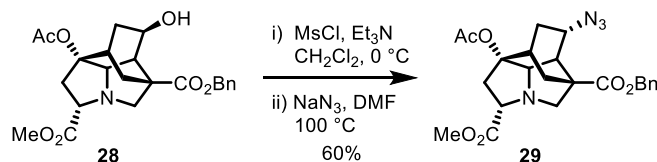
Preparation of ester 16h



Following the representative procedure using alcohol **17d** (42.1 mg, 0.112 mmol, 1.0 equiv.) and isovaleric acid (25.0 μL , 0.226 mmol, 2.0 equiv.), purification by PTLC (hexane:acetone = 65:35) afforded ester **16h** (43.9 mg, 0.0951 mmol, 85%) as a colorless oil. $[\alpha]_{\text{D}}^{25.6} - 17.8$ (c 1.00 in CHCl_3); ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 7.81 (t, $J = 6.1$ Hz, 1H), 5.45 (d, $J = 7.6$ Hz, 1H), 4.35-4.28 (m, 1H), 3.56 (dd, $J = 10.3, 4.6$ Hz, 1H), 3.30 (dd, $J = 11.1, 3.5$ Hz, 1H), 3.26 (d, $J = 5.1$ Hz, 1H), 3.22-3.15 (m, 1H), 2.98-2.92 (m, 1H), 2.79 (dd, $J = 15.5, 10.3$ Hz, 1H), 2.57 (brs, 1H), 2.50 (dd, $J = 15.5, 4.6$ Hz, 1H), 2.42-2.39 (m, 1H), 2.27 (d, $J = 11.1$ Hz, 1H), 2.17-1.96 (m, 8H), 1.88-1.73 (m, 2H), 1.27-1.23 (m, 1H), 0.96-0.87 (m, 19H); ^{13}C NMR (125 MHz, CDCl_3) δ 173.8, 172.31, 172.27, 89.5, 71.1, 71.0, 66.0, 46.4, 46.3, 43.8, 41.1, 40.4, 31.4, 30.8, 29.9, 28.8, 26.4, 25.7, 22.6, 25.7, 22.62, 22.55, 22.5, 20.23, 20.16; IR (neat): 3305, 3061, 2957, 2931, 2870, 1731, 1643, 1528, 1465, 1367, 1296, 1254, 1167, 1120, 1089, 1019, 750, 674 cm^{-1} ; HRMS (ESI) calcd for $\text{C}_{26}\text{H}_{44}\text{N}_3\text{O}_4^+$ $[\text{M} + \text{H}]^+$ 462.3326, found 496.3334.

Preparation of alcohol **28**

To a solution of ketone **4b** (328 mg, 0.767 mmol, 10 equiv.) and $\text{CeCl}_3 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ (765 mg, 2.05 mmol, 2.7 equiv.) in MeOH (6.0 mL) was added NaBH_4 (63.3 mg, 1.67 mmol, 2.2 equiv.) at $-78\text{ }^\circ\text{C}$ and stirred for 40 min under argon atmosphere. The reaction mixture was diluted with saturated aqueous NH_4Cl , and the aqueous layer was extracted with EtOAc for three times. The combined organic layers were washed with brine, dried over Mg_2SO_4 , filtered, and concentrated under reduced pressure. The residue was purified by silica gel column chromatography (hexane:EtOAc = 30:70 to 25:75) to afford alcohol **28** (184 mg, 0.428 mmol, 56%) as a white amorphous solid. $[\alpha]_{\text{D}}^{19.5} - 1.5$ (c 1.00 in CHCl_3); $^1\text{H NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ 7.36-7.30 (m, 5H), 5.24 (s, 2H), 4.15 (brs, 1H), 3.74-3.67 (m, 5H), 3.51 (d, $J = 5.0$ Hz, 1H), 2.89-2.83 (m, 2H), 2.74 (dd, $J = 15.4, 9.9$ Hz, 1H), 2.64 (brs, 1H), 2.50 (d, $J = 11.2$ Hz, 1H), 2.46-2.38 (m, 2H), 2.13-2.07 (m, 1H), 2.02 (s, 3H), 1.47 (d, $J = 14.9$ Hz, 1H), 1.21 (dd, $J = 14.0, 3.6$ Hz, 1H); $^{13}\text{C NMR}$ (125 MHz, CDCl_3) δ 175.7, 174.2, 170.4, 135.5, 128.8, 128.6, 128.2, 88.7, 72.0, 69.8, 69.2, 67.3, 63.7, 52.5, 48.3, 46.7, 39.8, 34.0, 33.7, 31.3, 21.5; IR (neat): 3493, 3091, 3067, 3033, 3003, 2951, 2884, 1731, 1455, 1435, 1371, 1247, 1092, 1040, 749, 699 cm^{-1} ; HRMS (ESI) calcd for $\text{C}_{23}\text{H}_{28}\text{NO}_7^+$ $[\text{M} + \text{H}]^+$ 430.1860, found 430.1861.

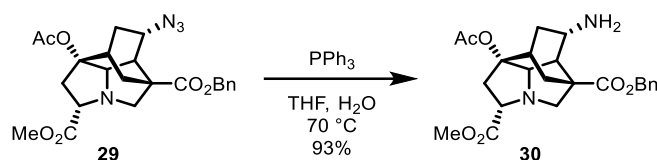
Preparation of azide **29**

To a solution of alcohol **28** (2.79 g, 6.50 mmol, 1.0 equiv.) and Et_3N (2.70 mL, 19.4 mmol, 3.0 equiv.) in CH_2Cl_2 (26.0 mL) was added methanesulfonyl chloride (1.00 mL, 12.9 mmol, 2.0 equiv.) at $0\text{ }^\circ\text{C}$. After being stirred for 20 min under argon atmosphere at the same temperature, the reaction mixture was diluted with saturated aqueous NaHCO_3 , and the aqueous layer was extracted with EtOAc for three times. The combined organic layers were washed with brine, dried over Mg_2SO_4 , filtered, and concentrated under reduced pressure to afford crude mesylate (3.30 g) as a yellow amorphous solid.

To a solution of the crude mesylate (3.30 g) in DMF (20 mL) was added NaN_3 (1.27 g, 19.5 mmol, 3.0 equiv.) and stirred at $100\text{ }^\circ\text{C}$ under argon atmosphere. After being stirred for 10.5 h, the reaction mixture was heated to $100\text{ }^\circ\text{C}$ and further stirred for 40 min. After this time, the reaction mixture was diluted with ice cooled water, and the aqueous layer was extracted with EtOAc for three times. The combined organic layers were washed with brine, dried over Mg_2SO_4 , filtered, and concentrated under reduced pressure. The residue was purified by silica gel column chromatography (hexane:EtOAc = 70:30 to hexane:EtOAc = 55:45) to afford azide **29** (1.77 g, 3.89 mmol, 2 steps 60%) as a yellow oil. $[\alpha]_{\text{D}}^{21.5} + 8.5$ (c 1.00 in CHCl_3); $^1\text{H NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ 7.35-7.27 (m, 5H), 5.15-5.09 (m, 2H), 3.98 (dt, $J = 10.1, 3.2$ Hz, 1H), 3.76-3.67 (m, 6H), 2.87 (t, $J = 4.1$ Hz,

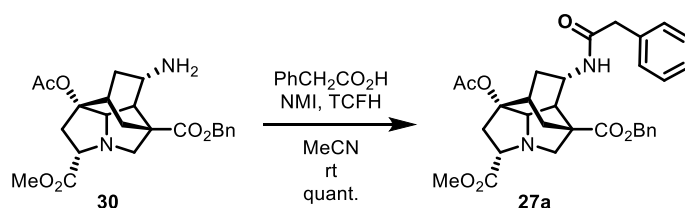
1H), 2.69-2.62 (m, 2H), 2.54 (dd, $J = 15.5, 3.7$ Hz, 1H), 2.45 (d, $J = 11.2$ Hz, 1H), 2.19 (d, $J = 14.8$ Hz, 1H), 2.06 (s, 3H), 1.76-1.69 (m, 1H), 1.61 (dd, $J = 14.7, 2.8$ Hz, 1H), 1.43 (d, $J = 14.9$ Hz, 1H); ^{13}C NMR (125 MHz, CDCl_3) δ 174.0, 173.0, 170.7, 135.5, 128.8, 128.6, 128.1, 88.2, 68.8, 68.6, 68.2, 67.1, 52.6, 52.0, 47.6, 45.4, 40.0, 33.1, 31.7, 27.5, 21.6; IR (neat): 3091, 3065, 3004, 2951, 2886, 2853, 2102, 1730, 1455, 1436, 1370, 1248, 1090, 749, 699 cm^{-1} ; HRMS (ESI) calcd for $\text{C}_{23}\text{H}_{27}\text{N}_4\text{O}_6^+$ $[\text{M} + \text{H}]^+$ 455.1925, found 455.1925.

Preparation of amine **30**



To a solution of azide **29** (111 mg, 0.244 mmol, 1.0 equiv.) in THF (1.2 mL) and H_2O (120 μL) was added PPh_3 (96.0 mg, 0.366 mmol, 1.5 equiv.). The reaction mixture was stirred at 70 $^\circ\text{C}$ for 10.5 h under argon atmosphere before being concentrated under reduced pressure. The residue was purified by silica gel column chromatography (EtOAc 100% to $\text{CH}_2\text{Cl}_2:\text{MeOH} = 90:10$) to afford amine **30** (97.1 mg, 0.227 mmol, 93%) as a yellow oil. $[\alpha]_{\text{D}}^{23.9} - 2.3$ (c 1.00 in CHCl_3); ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 7.35-7.26 (m, 5H), 5.12 (d, $J = 12.4$ Hz), 5.08 (d, $J = 12.4$ Hz, 1H), 3.74-3.67 (m, 6H), 3.21 (dt, $J = 10.7, 3.2$ Hz, 1H), 2.75-2.67 (m, 3H), 2.50-2.44 (m, 2H), 2.24 (d, $J = 14.0$ Hz, 1H), 2.05 (s, 3H), 1.82-1.75 (m, 1H), 1.71 (brs, 2H), 1.37-1.26 (m, 2H); ^{13}C NMR (125 MHz, CDCl_3) δ 174.4, 173.6, 170.3, 135.7, 128.8, 128.5, 128.1, 89.0, 69.2, 68.9, 68.8, 66.9, 52.5, 50.0, 48.1, 41.9, 40.3, 32.8, 32.18, 32.15, 21.6; IR (neat): 3370, 3063, 3031, 2989, 1730, 1455, 1436, 1371, 1246, 1091, 763, 750, 699 cm^{-1} ; HRMS (ESI) calcd for $\text{C}_{23}\text{H}_{29}\text{N}_2\text{O}_6^+$ $[\text{M} + \text{H}]^+$ 429.2020, found 429.2022.

Representative procedure for preparation of amide **27a-c**



To a solution of amine **30** (344 mg, 0.803 mmol, 1.0 equiv.), phenylacetic acid (132 mg, 0.969 mmol, 1.2 equiv.), and *N*-methylimidazole (190 μL , 2.38 mmol, 3.0 equiv.) in MeCN (3.2 mL) was added TCFH (278 mg, 0.991 mmol, 1.2 equiv.). After being stirred for 3 h at room temperature under an argon atmosphere, the reaction mixture was diluted with saturated aqueous NaHCO_3 and the aqueous layer was extracted with EtOAc for three times. The combined organic layers were washed with brine, dried over Mg_2SO_4 , filtered, and concentrated under reduced pressure. The residue was purified by silica gel column chromatography (hexane:acetone = 80:20 to 65:35) to afford amide **27a** (436 mg, 0.798 mmol, quant.) as a white amorphous solid. $[\alpha]_{\text{D}}^{23.3} - 29.9$ (c 1.00 in CHCl_3); ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 7.36-7.21 (m, 10H), 5.52 (d, $J = 9.1$ Hz, 1H), 5.16 (d, $J = 12.4$ Hz, 1H), 5.11 (d, $J = 12.4$ Hz, 1H), 4.54-4.49 (m, 1H), 3.71 (s, 3H), 3.68-3.52 (m, 4H), 3.32 (d, $J = 5.0$ Hz, 1H), 2.84-2.82 (m, 1H), 2.69 (dd, $J = 15.3, 10.0$ Hz, 1H), 2.57 (brs, 1H), 2.44 (d, $J = 11.1$ Hz, 1H), 2.34 (dd, $J = 15.4,$

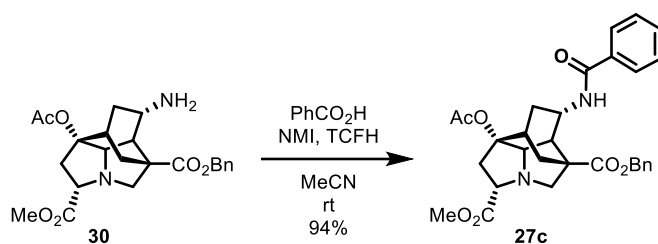
4.9 Hz, 1H), 2.23 (d, $J = 14.7$ Hz, 1H), 1.83-1.76 (m, 1H), 1.60 (s, 3H), 1.27 (d, $J = 14.9$ Hz, 1H), 1.85 (dd, $J = 14.7, 2.69$ Hz, 1H); ^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3) δ 174.2, 172.9, 169.8, 169.6, 135.7, 134.9, 129.6, 129.3, 128.7, 128.3, 128.0, 127.6, 88.4, 69.2, 69.0, 68.6, 67.1, 52.4, 47.6, 45.5, 44.0, 40.2, 39.5, 32.4, 31.6, 30.1, 21.1; IR (neat): 3415, 3315, 3086, 3061, 3030, 2952, 1731, 1669, 1652, 1508, 1455, 1370, 1246, 1092, 763, 750, 699 cm^{-1} ; HRMS (ESI) calcd for $\text{C}_{31}\text{H}_{35}\text{N}_2\text{O}_7^+$ $[\text{M} + \text{H}]^+$ 547.2439, found 547.2448.

Preparation of amide 27b



Following the representative procedure using amine **30** (767 mg, 1.79 mmol, 1.0 equiv.) and isovaleric acid (237 μL , 2.15 mmol, 1.2 equiv.), purification by silica gel column chromatography (hexane:acetone = 80:20 to 50:50) to afford amide **27b** (887 mg, 1.73 mmol, quant.) as a white amorphous solid. $[\alpha]_{\text{D}}^{23.3} - 31.1$ (c 1.00 in CHCl_3); ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 7.35-7.27 (m, 5H), 5.60 (d, $J = 8.7$ Hz, 1H), 5.15 (d, $J = 12.4$ Hz, 1H), 5.11 (d, $J = 12.4$ Hz, 1H), 4.53-4.47 (m, 1H), 3.71-3.67 (m, 5H), 3.58 (d, $J = 5.8$ Hz, 1H), 2.85-2.84 (m, 1H), 2.75 (dd, $J = 9.9, 15.4$ Hz, 1H), 2.67 (brs, 1H), 2.49-2.44 (m, 2H), 2.30-2.26 (m, 1H), 2.09-1.87 (m, 7H), 1.34-1.24 (m, 2H), 0.94 (d, $J = 6.5$ Hz, 6H); ^{13}C NMR (100 MHz, MeOD) δ 174.3, 172.9, 171.1, 169.6, 135.7, 128.7, 128.3, 128, 89, 69.5, 68.9, 68.5, 67.1, 52.4, 47.7, 46.5, 45.5, 40.3, 39.4, 32.7, 31.7, 30.9, 26.3, 22.6, 22.6, 21.5; IR (neat): 3288, 3008, 2980, 2965, 2922, 2841, 2824, 1732, 1654, 1541, 1525, 1456, 1368, 1247, 1218, 1054, 1032, 1013, 796 cm^{-1} ; HRMS (ESI) calcd for $\text{C}_{28}\text{H}_{37}\text{N}_2\text{O}_7^+$ $[\text{M} + \text{H}]^+$ 513.2595, found 513.2602.

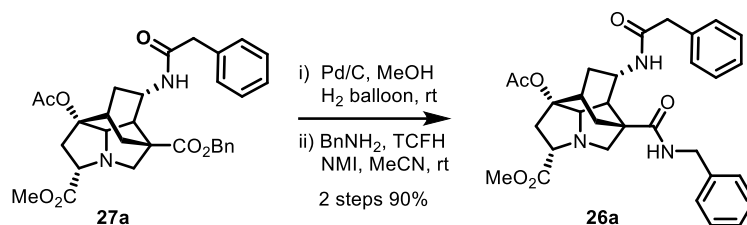
Preparation of amide 27c



Following the representative procedure using amine **30** (108 mg, 0.252 mmol, 1.0 equiv.) and benzoic acid (37.1 mg, 0.303 mmol, 1.2 equiv.), purification by silica gel column chromatography (hexane:acetone = 80:20 to 70:30) to afford amide **27c** (126 mg, 0.237 mmol, 94%) as a white amorphous solid. $[\alpha]_{\text{D}}^{28.5} - 43.0$ (c 0.853 in CHCl_3); ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 7.72-7.70 (m, 2H), 7.50 (t, $J = 7.3$ Hz, 1H), 7.43 (t, $J = 7.4$ Hz, 2H), 7.36-7.29 (m, 5H), 6.39 (d, $J = 8.6$ Hz, 1H), 5.21 (d, $J = 12.4$ Hz, 1H), 5.16 (d, $J = 12.4$ Hz, 1H), 4.73-4.67 (m, 1H), 3.75-3.70 (m, 6H), 3.03 (t, $J = 4.5$ Hz, 1H), 2.81 (dd, $J = 9.9, 15.4$ Hz, 1H), 2.74 (brs, 1H), 2.54-2.48 (m, 2H), 2.34 (d, $J = 14.6$ Hz, 1H), 2.06 (s, 3H), 2.04-1.97 (m, 1H), 1.45-1.36 (m, 2H); ^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3) δ 174.5, 173, 169.6, 166.3, 135.7, 134.7, 131.7, 128.8, 128.8, 128.4, 128.1, 126.7, 89.2, 69.6, 69.1, 68.7, 67.2,

52.5, 47.6, 45.4, 40.5, 40.2, 32.9, 31.8, 30.9, 21.5; IR (neat, cm^{-1}): 3439, 3062, 3031, 2951, 2884, 1731, 1655, 1519, 1486, 1369, 1245, 1091, 912, 745, 697 cm^{-1} ; HRMS (ESI) calcd for $\text{C}_{30}\text{H}_{33}\text{N}_2\text{O}_7^+$ $[\text{M} + \text{H}]^+$ 533.2282, found 533.2278.

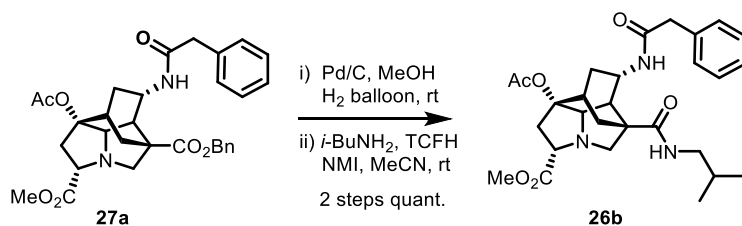
Representative procedure for preparation of amide **26a,b**



To a solution of amide **27a** (403 mg, 0.737 mmol, 1.0 equiv.) in MeOH (3.5 mL) was added Pd/C (46.6 mg, 12wt%) and stirred for 3.5 h at room temperature under H_2 atmosphere. The reaction mixture was passed through a pad of Celite[®], and the filtrate was concentrated under reduced pressure to afford crude carboxylic acid.

To a solution of the crude carboxylic acid, *N*-methylimidazole (175 μL , 2.20 mmol, 3.0 equiv.), and benzylamine (100 μL , 0.915 mmol, 1.2 equiv.) in MeCN (3.8 mL) was added TCFH (255 mg, 0.909 mmol, 1.2 equiv.). After being stirred for 1 h at room temperature under an argon atmosphere, the reaction mixture was diluted with saturated aqueous NaHCO_3 , and the aqueous layer was extracted with EtOAc for three times. The combined organic layers were washed with brine, dried over Mg_2SO_4 , filtered, and concentrated under reduced pressure. The residue was purified by silica gel column chromatography (hexane:acetone = 70:30 to 40:60). Further purification with silica gel column chromatography (EtOAc:MeOH = 98:2) afforded amide **26a** (360 mg, 0.660 mmol, 2 steps 90%) as a white amorphous solid. $[\alpha]_{\text{D}}^{23.1} - 21.9$ (c 1.00 in CHCl_3); ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 7.39-7.22 (m, 10H), 6.61 (brs, 1H), 5.37 (d, $J = 7.6$ Hz, 1H), 4.56 (dd, $J = 14.8, 6.2$ Hz, 1H), 4.39-4.34 (m, 2H), 3.72 (s, 3H), 3.68 (dd, $J = 9.8, 4.2$ Hz, 1H), 3.57 (s, 2H), 3.44 (d, $J = 11.2$ Hz, 1H), 3.38 (d, $J = 4.9$ Hz, 1H), 2.84-2.82 (m, 1H), 2.68 (dd, $J = 15.6, 9.8$ Hz, 1H), 2.62-2.60 (m, 1H), 2.53 (d, $J = 1.2$ Hz, 1H), 2.42 (dd, $J = 15.4, 4.1$ Hz, 1H), 2.18-2.14 (m, 1H), 1.83-1.75 (m, 1H), 1.68 (m, 3H), 1.49 (d, $J = 15.2$ Hz, 1H), 1.03 (dd, $J = 14.7, 3.1$ Hz, 1H); ^{13}C NMR (125 MHz, CDCl_3) δ 174.2, 172.7, 171.2, 169.8, 138.3, 134.6, 129.7, 129.4, 128.8, 127.6, 127.5, 88.5, 69.6, 69.4, 68.7, 52.5, 48.1, 43.81, 43.75, 43.6, 40.5, 39.9, 33.2, 32.0, 28.8, 21.3; IR (neat): 3413, 3318, 3085, 3061, 3005, 2950, 2871, 1734, 1647, 1525, 1455, 1369, 1255, 1204, 1171, 843, 763, 749, 699 cm^{-1} ; HRMS (ESI) calcd for $\text{C}_{31}\text{H}_{36}\text{N}_3\text{O}_6^+$ $[\text{M} + \text{H}^+]$ 546.2599, found 546.2606.

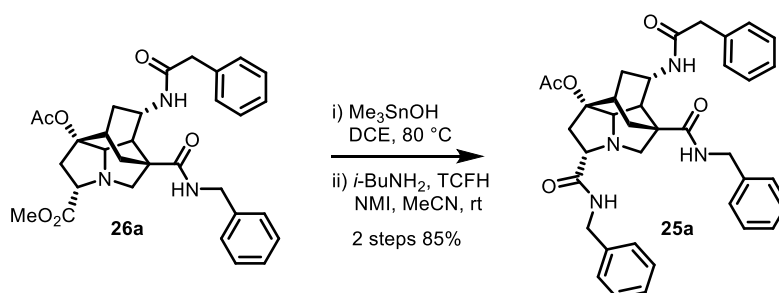
Preparation of amide **26b**



Following the representative procedure using amide **27a** (429 mg, 0.785 mmol, 1.0 equiv.) and isobutylamine (95.0 μL , 0.956 mmol, 1.2 equiv.), purification by silica gel column chromatography (hexane:acetone = 70:30

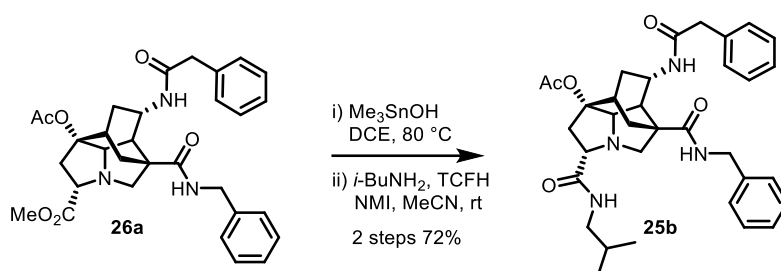
to EtOAc:MeOH = 97:3) afforded amide **26b** (415 mg, 0.811 mmol, 2 steps quant.) as a white amorphous solid. $[\alpha]_D^{24.7} - 6.7$ (c 1.00 in MeOH); $^1\text{H NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ 7.41-7.25 (m, 5H), 6.27 (brs, 1H), 5.33 (d, $J = 7.42$ Hz, 1H), 4.34-4.31 (m, 1H), 3.74-3.72 (m, 4H), 3.66-3.57 (m, 2H), 3.39 (d, $J = 5.5$ Hz, 2H), 3.17-3.11 (m, 1H), 3.07-3.01 (m, 1H), 2.84 (m, 1H), 2.74 (dd, $J = 15.3, 10.0$ Hz, 1H), 2.60-2.57 (m, 2H), 2.41 (dd, $J = 15.6, 4.4$ Hz, 1H), 2.08 (d, $J = 14.8$ Hz, 1H), 1.83-1.75 (m, 2H), 1.66 (s, 3H), 1.59 (d, $J = 15.3$ Hz, 1H), 1.02 (dd, $J = 14.4, 2.6$ Hz, 1H), 0.90 (d, $J = 6.6$ Hz, 6H); $^{13}\text{C NMR}$ (100 MHz, MeOD) δ 175.5, 175.3, 173.7, 172.0, 136.9, 130.1, 129.8, 128.0, 90.0, 70.1, 68.8, 68.7, 52.7, 49.5, 48.2, 48.1, 45.0, 43.5, 42.0, 40.4, 34.0, 33.4, 30.0, 29.6, 21.4, 20.5; IR (neat): 3417, 3297, 3064, 3029, 3004, 2957, 2872, 2844, 1734, 1655, 1530, 1371, 1256, 1052, 1032, 842 cm^{-1} ; HRMS (ESI) calcd for $\text{C}_{28}\text{H}_{38}\text{N}_3\text{O}_6^+$ $[\text{M} + \text{H}]^+$ 512.2755, found 512.2757.

Representative procedure for preparation of amide **25a-d**

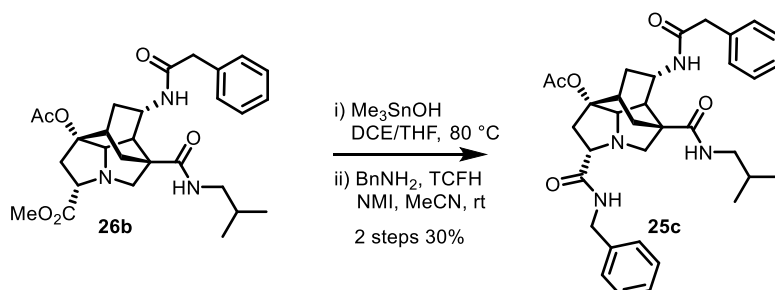


To a solution of amide **26a** (40.3 mg, 0.0739 mmol, 1.0 equiv.) in 1,2-dichloroethane (500 μL) was added trimethyltin hydroxide (23.5 mg, 0.130 mmol, 1.8 equiv.), and the reaction mixture was stirred for 45 min at 80 $^{\circ}\text{C}$ under an argon atmosphere. After this time, another amount of trimethyltin hydroxide (16.5 mg, 0.913 mmol, 1.3 equiv.) and stirred for additional 3 h. The reaction mixture was passed through a pad of silica gel with MeOH, and the filtrate was concentrated under reduced pressure to afford crude carboxylic acid (37.7 mg) as a white solid.

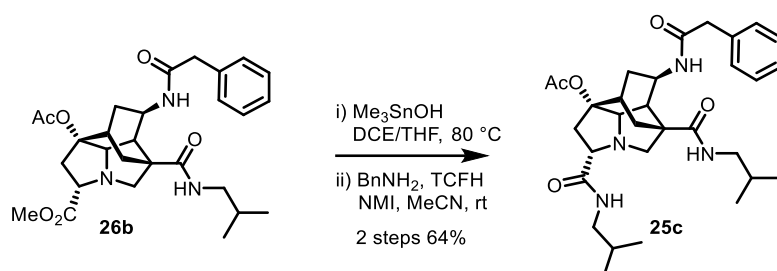
To a solution of the crude carboxylic acid (37.7 mg), *N*-methylimidazole (18.0 μL , 0.228 mmol, 3.1 equiv.), and benzylamine (10.0 μL , 0.0915 mmol, 1.2 equiv.) in MeCN (500 μL) was added TCFH (30.4 mg, 0.108 mmol, 1.5 equiv.). After being stirred for 1 h at room temperature under an argon atmosphere, the reaction mixture was diluted with saturated aqueous NaHCO_3 and the aqueous layer was extracted with EtOAc for three times. The combined organic layers were washed with brine, dried over Mg_2SO_4 , filtered, and concentrated under reduced pressure. The residue was purified by silica gel column chromatography (hexane:acetone = 70:30 to EtOAc:MeOH = 97:3) to afford amide **25a** (28.9 mg, 0.0466 mmol, 2 steps 85%) as a white amorphous solid. $[\alpha]_D^{22.9} - 1.7$ (c 1.00 in MeOH); $^1\text{H NMR}$ (400 MHz, MeOD) δ 7.37-7.21 (m, 15H), 4.49-4.30 (m, 5H), 3.71 (dd, $J = 10.1, 3.8$ Hz, 1H), 3.55 (s, 2H), 3.49-3.44 (m, 2H), 2.83 (dd, $J = 4.9, 3.1$ Hz, 1H), 2.74 (dd, $J = 15.4, 10.2$ Hz, 1H), 2.62-2.53 (m, 3H), 2.15 (d, $J = 13.5$ Hz, 1H), 1.89-1.82 (m, 4H), 1.63 (d, $J = 14.8$ Hz, 1H), 1.38-1.34 (m, 1H); $^{13}\text{C NMR}$ (100 MHz, MeOD) δ 176.4, 175.2, 173.5, 171.8, 140.1, 140.0, 136.9, 130.1, 129.8, 129.6, 129.5, 128.4, 128.3, 128.2, 128.1, 90.3, 70.6, 69.8, 69.0, 49.7, 45.3, 44.2, 43.9, 43.7, 42.0, 41.0, 33.7, 33.5, 30.3, 21.4; IR (neat): 3408, 3313, 3085, 3058, 3026, 3006, 2938, 2844, 1734, 1653, 1519, 1454, 1367, 1247, 1052, 1032, 843, 748, 697 cm^{-1} ; HRMS (ESI) calcd for $\text{C}_{37}\text{H}_{41}\text{N}_4\text{O}_5^+$ $[\text{M} + \text{H}]^+$ 621.3071, found 621.3079.

Preparation of amide **25b**

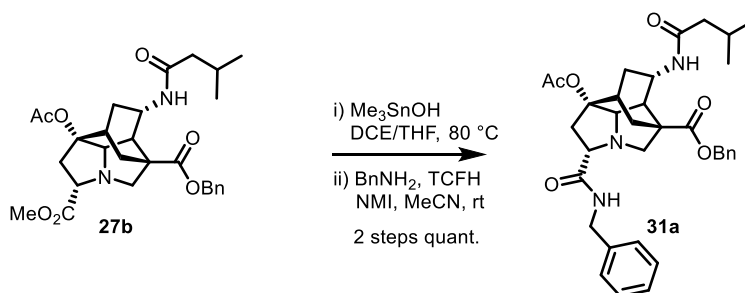
Following the representative procedure using amide **26a** and isobutylamine (11.0 μL , 0.110 mmol, 1.3 equiv.), purification by GPC to afford amide **25b** (36.5 mg, 0.662 mmol, 2 steps 72%) as a white amorphous solid. $[\alpha]_{\text{D}}^{21.7} - 9.7$ (c 0.58 in CHCl_3); $^1\text{H NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ 7.62 (t, $J = 6.1$ Hz, 1H), 7.37-7.21 (m, 10H), 6.53 (t, $J = 5.6$ Hz, 1H), 5.33 (d, $J = 7.5$ Hz, 1H), 4.56 (dd, $J = 14.8, 6.0$ Hz, 1H), 4.42-4.33 (m, 2H), 3.51 (dd, $J = 10.3, 4.4$ Hz, 1H), 3.39 (d, $J = 11.0$ Hz, 1H), 3.16-2.99 (m, 3H), 2.81 (dd, $J = 5.1, 3.3$ Hz, 1H), 2.73 (dd, $J = 15.6, 10.3$ Hz, 1H), 2.63 (brs, 1H), 2.56-2.50 (m, 2H), 2.17 (d, $J = 14.0$ Hz, 1H), 1.84-1.76 (m, 2H), 1.62 (s, 3H), 1.52 (dt, $J = 15.2, 3.0$ Hz, 1H), 1.04-1.00 (m, 1H), 0.93 (dd, $J = 6.7, 0.8$ Hz, 6H); $^{13}\text{C NMR}$ (125 MHz, CDCl_3) δ 173.2, 172.4, 171.1, 169.4, 138.3, 134.6, 129.7, 129.4, 128.9, 127.9, 127.8, 127.6, 88.8, 70.1, 69.3, 69.1, 48.3, 46.6, 43.9, 43.8, 43.7, 40.6, 40.0, 33.2, 332.0, 28.7, 21.2, 20.3, 20.2; IR (neat): 3407, 3310, 3082, 3061, 3028, 2956, 2937, 2923, 2870, 2843, 1733, 1651, 1524, 1238, 1053, 1032, 699 cm^{-1} ; HRMS (ESI) calcd for $\text{C}_{34}\text{H}_{43}\text{N}_4\text{O}_5^+$ $[\text{M} + \text{H}]^+$ 587.3228, found 587.3236.

Preparation of amide **25c**

Following the representative procedure using amide **26b** (51.1 mg, 0.0999 mmol, 1.0 equiv.) and benylamine (14.0 μL , 0.128 mmol, 1.3 equiv.) purification by PTLC (EtOAc:MeOH = 97:3) afforded amide **25c** (17.4 mg, 0.0297 mmol, 2 steps 30%) as a white amorphous solid. $[\alpha]_{\text{D}}^{21.1} + 2.5$ (c 1.00 in MeOH); $^1\text{H NMR}$ (400 MHz, MeOD) δ 7.36-7.20 (m, 10H), 4.46 (d, $J = 14.9$ Hz, 1H), 4.36 (d, $J = 14.9$ Hz, 1H), 4.27 (dt, $J = 10.8, 3.4$ Hz, 1H), 3.70 (dd, $J = 10.1, 3.7$ Hz, 1H), 3.53 (s, 2H), 3.45 (d, $J = 5.0$ Hz, 1H), 3.40 (d, $J = 10.9$ Hz, 1H), 3.05-2.96 (m, 2H), 2.78 (dd, $J = 4.9, 3.1$ Hz, 1H), 2.73 (dd, $J = 15.6, 10.1$ Hz, 1H), 2.60-2.52 (m, 3H), 2.10 (d, $J = 14.4$ Hz, 1H), 1.88-1.76 (m, 5H), 1.63 (d, $J = 14.8$ Hz, 1H), 1.35 (dd, $J = 14.4, 3.2$ Hz, 1H), 0.89 (d, $J = 6.7$ Hz, 6H); $^{13}\text{C NMR}$ (100 MHz, MeOD) δ 176.3, 175.3, 173.6, 171.8, 140.1, 136.9, 130.1, 129.8, 129.6, 128.5, 128.3, 128.1, 90.4, 70.5, 69.8, 69.1, 49.8, 48.1, 45.1, 44, 43.6, 42.1, 40.9, 33.9, 33.6, 30.1, 29.6, 21.4, 20.5; IR (neat): 3416, 3319, 3064, 3030, 3003, 2955, 2922, 2870, 2844, 2824, 1733, 1653, 1521, 1247, 1053, 1032, 1016, 843 cm^{-1} ; HRMS (ESI) calcd for $\text{C}_{34}\text{H}_{43}\text{N}_4\text{O}_5^+$ $[\text{M} + \text{H}]^+$ 587.3228, found 587.3217.

Preparation of amide **25d**

Following the representative procedure using amide **26b** (53.1 mg, 0.104 mmol, 1.0 equiv.) and benylamine (13.0 μL , 0.130 mmol, 1.2 equiv.), purification by silica gel column chromatography (hexane:acetone = 70:30 to EtOAc:MeOH = 97:3) afforded amide **25c** (37.0 mg, 0.0669 mmol, 2 steps 64%) as a white amorphous solid. $[\alpha]_{\text{D}}^{21.5} - 10.0$ (c 1.00 in MeOH); $^1\text{H NMR}$ (400 MHz, MeOD) δ 7.67 (t, $J = 5.7$ Hz, 1H), 7.34-7.23 (m, 5H), 4.29 (dt, $J = 10.9, 3.4$ Hz, 1H), 3.64 (dd, $J = 10.1, 3.8$ Hz, 1H), 3.55 (s, 2H), 3.44 (d, $J = 4.9$ Hz, 1H), 3.41 (d, $J = 11.0$ Hz, 1H), 3.12-2.96 (m, 3H), 2.81-2.79 (m, 1H), 2.71 (dd, $J = 15.3, 10.2$ Hz, 1H), 2.59-2.57 (m, 2H), 2.49 (dd, $J = 15.4, 3.9$ Hz, 1H), 2.10 (d, $J = 14.6$ Hz, 1H), 1.87-1.77 (m, 6H), 1.62 (d, $J = 14.9$ Hz, 1H), 1.38-1.33 (m, 1H), 0.94-0.89 (m, 12H); $^{13}\text{C NMR}$ (100 MHz, MeOD) δ 176.2, 175.3, 173.6, 171.8, 136.9, 130.1, 129.8, 128.1, 90.3, 70.5, 69.8, 69.1, 49.8, 48.1, 47.6, 45.1, 43.6, 42.1, 41.0, 33.8, 33.5, 30.1, 29.8, 29.6, 21.4, 20.5, 20.4; IR (neat): 3407, 3328, 3061, 3026, 3003, 2957, 2937, 2870, 2842, 1734, 1650, 1523, 1455, 1237, 1053, 1032, 1017, 844 cm^{-1} ; HRMS (ESI) calcd for $\text{C}_{31}\text{H}_{45}\text{N}_4\text{O}_5^+$ $[\text{M} + \text{H}]^+$ 553.3384, found 553.3386.

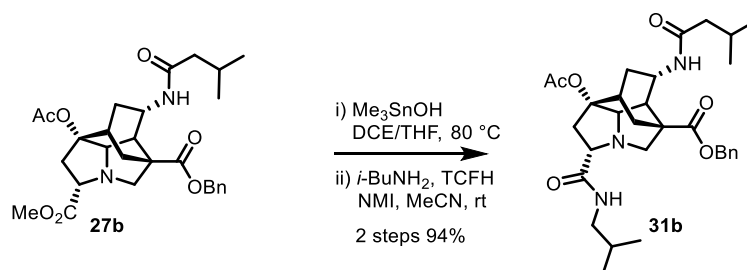
Representative procedure for preparation of amide **31a-f**

To a solution of amide **27b** (52.6 mg, 0.102 mmol, 1.0 equiv.) in 1,2-dichloroethane (1.0 mL) was added trimethyltin hydroxide (29.1 mg, 0.161 mmol, 1.6 equiv.), and the reaction mixture was stirred for 1 h at 80 °C under an argon atmosphere. After this time, another amount of trimethyltin hydroxide (31.0 mg, 0.171 mmol, 1.7 equiv.). After being stirred for 1 h, the reaction mixture was passed through a pad of silica gel with MeOH, and the filtrate was concentrated under reduced pressure to afford crude carboxylic acid (56.6 mg) as a white solid.

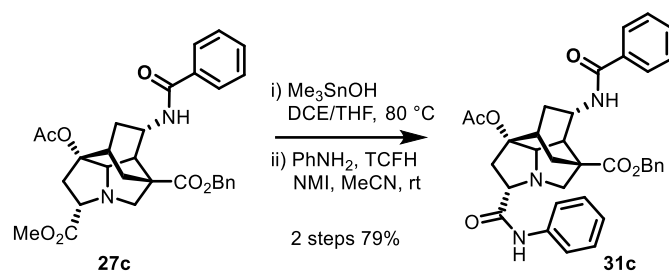
To a solution of the crude carboxylic acid (56.6 mg), *N*-methylimidazole (24.0 μL , 0.304 mmol, 3.0 equiv.), and benylamine (13.0 μL , 0.119 mmol, 1.2 equiv.) in MeCN (500 μL) was added TCFH (46.9 mg, 0.175 mmol, 1.6 equiv.). After being stirred for 45 min at room temperature under an argon atmosphere, the reaction mixture was diluted with saturated aqueous NaHCO_3 , and the aqueous layer was extracted with EtOAc for three times. The combined organic layers were washed with brine, dried over Mg_2SO_4 , filtered, and concentrated under

reduced pressure. The residue was purified by silica gel column chromatography (hexane:acetone = 75:25 to 60:40) to afford amide **31a** (61.4 mg, 0.104 mmol, 2 steps quant.) as a colorless oil. $[\alpha]_D^{21.7} -25.7$ (c 1.00 in CHCl_3); $^1\text{H NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ 7.94 (t, $J = 5.8$ Hz, 1H), 7.35-7.26 (m, 10H), 5.49 (d, $J = 8.4$ Hz, 1H), 5.15 (s, 2H), 4.51-4.38 (m, 3H), 3.63-3.59 (m, 2H), 3.33 (d, $J = 5.0$ Hz, 1H), 2.89 (dd, $J = 10.4, 15.6$ Hz, 1H), 2.83 (t, $J = 4.4$ Hz, 1H), 2.71 (brs, 1H), 2.61 (dd, $J = 5.1, 15.5$ Hz, 1H), 2.49 (d, $J = 11.2$ Hz, 1H), 2.31 (d, $J = 13.6$ Hz, 1H), 2.09-2.04 (m, 4H), 2.00-1.95 (m, 2H), 1.95-1.88 (m, 1H), 1.40 (d, $J = 14.9$ Hz, 1H), 1.28-1.24 (m, 1H), 0.95 (d, $J = 2.4$ Hz, 6H), 0.94 (d, $J = 2.5$ Hz, 6H); $^{13}\text{C NMR}$ (100 MHz, CDCl_3) δ 173.5, 172.8, 171.3, 169.2, 138.5, 135.7, 128.8, 128.8, 128.5, 128.2, 127.9, 127.6, 89.3, 70.5, 69.1, 68.4, 67.2, 47.9, 46.6, 45.6, 43.4, 40.5, 39.6, 32.6, 31.8, 30.6, 26.3, 22.7, 21.5; IR (neat): 3316, 3061, 3031, 3008, 2954, 2923, 2867, 2842, 2825, 1731, 1653, 1519, 1508, 1454, 1368, 1094, 1054, 1032, 1014, 783, 731, 698 cm^{-1} ; HRMS (ESI) calcd for $\text{C}_{34}\text{H}_{42}\text{N}_3\text{O}_6^+$ $[\text{M} + \text{H}]^+$ 588.3068, found 588.3062.

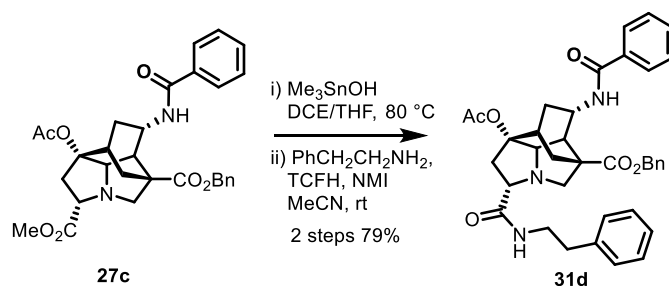
Preparation of amide **31b**



Following the representative procedure using amide **27b** (64.9 mg, 0.127 mmol, 1.0 equiv.) and isobutylamine (15.0 μL , 0.150 mmol, 1.2 equiv.), purification by silica gel column chromatography (hexane:acetone = 75:25 to 60:40) afforded amide **31b** (65.9 mg, 0.119 mmol, 2 steps 94%) as a colorless oil. $[\alpha]_D^{22.2} -19.0$ (c 1.00 in CHCl_3); $^1\text{H NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ 7.69 (t, $J = 6.0$ Hz, 1H), 7.39-7.30 (m, 5H), 5.50 (d, $J = 8.4$ Hz, 1H), 5.17 (s, 2H), 4.53-4.48 (m, 1H), 3.66 (d, $J = 11.0$ Hz, 1H), 3.55 (dd, $J = 5.1, 10.3$ Hz, 1H), 3.34 (d, $J = 5.1$ Hz, 1H), 3.07 (t, $J = 6.5$ Hz, 2H), 2.91-2.84 (m, 2H), 2.71 (brs, 1H), 2.58-2.49 (m, 2H), 2.33-2.30 (m, 1H), 2.13-2.05 (m, 4H), 2.02-2.00 (m, 2H), 1.95-1.89 (m, 1H), 1.84-1.74 (m, 1H), 1.41-1.38 (m, 1H), 1.27-1.23 (m, 1H), 0.96 (d, $J = 6.4$ Hz, 6H), 0.91 (d, $J = 6.7$ Hz, 6H); $^{13}\text{C NMR}$ (125 MHz, CDCl_3) δ 173.4, 172.9, 171.3, 169.2, 135.7, 128.8, 128.5, 128.3, 89.3, 70.5, 69.2, 68.4, 67.3, 47.8, 46.6, 46.6, 45.6, 40.6, 39.7, 32.6, 31.8, 30.6, 28.7, 26.4, 22.7, 22.7, 21.5, 20.3, 20.2; IR (neat): 3437, 3322, 3063, 3032, 3005, 2956, 2869, 1732, 1653, 1522, 1464, 1368, 1244, 1059, 1032, 733, 697 cm^{-1} ; HRMS (ESI) calcd for $\text{C}_{31}\text{H}_{44}\text{N}_3\text{O}_6^+$ $[\text{M} + \text{H}]^+$ 554.3225, found 554.3222.

Preparation of amide **31c**

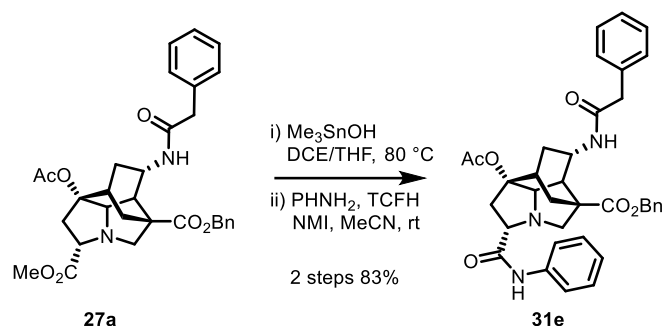
Following the representative procedure using amide **27c** (107 mg, 0.201 mmol, 1.0 equiv.) and aniline (22.0 μL , 0.241 mmol, 1.2 equiv.), purification by silica gel column chromatography (hexane:EtOAc = 60:40 to 50:50) to afford amide **31c** (94.3 mg, 0.159 mmol, 2 steps 79%) as a white amorphous solid. $[\alpha]_{\text{D}}^{26.2}$ -28.2 (c 1.02 in CHCl_3); ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 9.62 (s, 1H), 7.74-7.71 (m, 2H), 7.62-7.60 (m, 2H), 7.52-7.48 (m, 1H), 7.45-7.29 (m, 9H), 7.09 (t, $J = 7.4$ Hz, 1H), 6.34 (d, $J = 8.4$ Hz, 1H), 5.23 (s, 2H), 4.76-4.70 (m, 1H), 3.79 (d, $J = 11.2$ Hz, 1H), 3.71 (dd, $J = 5.2, 10.5$ Hz, 1H), 3.56 (d, $J = 5.4$ Hz, 1H), 3.12 (t, $J = 4.6$ Hz, 1H), 2.99 (dd, $J = 10.6, 15.7$ Hz, 1H), 2.80 (brs, 1H), 2.69 (dd, $J = 5.2, 15.6$ Hz, 1H), 2.63 (d, $J = 11.2$ Hz, 1H), 2.42-2.39 (m, 1H), 2.07-2.03 (m, 4H), 1.49-1.41 (m, 2H); ^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3) δ 172.8, 171.6, 169.1, 166.3, 137.6, 135.6, 134.5, 131.8, 129.1, 128.9, 128.8, 128.5, 128.3, 126.7, 124.4, 119.3, 89.4, 70.9, 69.2, 68.5, 67.4, 47.7, 45.5, 40.6, 40.3, 32.7, 31.9, 30.4, 21.5; IR (neat): 3438, 3264, 3059, 3031, 2954, 2885, 1730, 1660, 1600, 1519, 1486, 1442, 1240, 1091, 1030, 911, 753, 731, 695 cm^{-1} ; HRMS (ESI) calcd for $\text{C}_{35}\text{H}_{36}\text{N}_3\text{O}_6^+$ $[\text{M} + \text{H}]^+$ 594.2599, found 594.2592.

Preparation of amide **31d**

Following the representative procedure using amide **27c** (118 mg, 0.222 mmol, 1.0 equiv.) and 2-phenylethylamine (34.0 μL , 0.269 mmol, 1.2 equiv.), purification by silica gel column chromatography (hexane:acetone = 75:25 to hexane:EtOAc = 30:70) afforded amide **31d** (110 mg, 0.177 mmol, 2 steps 80%) as a white amorphous solid. $[\alpha]_{\text{D}}^{27.4}$ -8.51 (c 0.67 in MeOH); ^1H NMR (500 MHz, CDCl_3) δ 7.74 (d, $J = 7.0$ Hz, 2H), 7.65 (t, $J = 5.8$ Hz, 1H), 7.54 (t, $J = 7.3$ Hz, 1H), 7.48 (t, $J = 7.5$ Hz, 2H), 7.41-7.32 (m, 5H), 7.18-7.12 (m, 4H), 7.01 (t, $J = 7.3$ Hz, 1H), 6.30 (d, $J = 8.5$ Hz, 1H), 5.20 (s, 2H), 4.71-4.67 (m, 1H), 3.58-3.41 (m, 4H), 3.27 (d, $J = 4.6$ Hz, 1H), 2.95-2.74 (m, 5H), 2.51-2.47 (m, 2H), 2.32 (d, $J = 15.7$ Hz, 1H), 2.09 (s, 3H), 1.98 (t, $J = 12.5$ Hz, 1H), 1.42-1.38 (m, 2H); ^{13}C NMR (125 MHz, CDCl_3) δ 173.5, 172.9, 169, 166.3, 139, 135.7, 134.6, 131.9, 128.9, 128.9, 128.8, 128.5, 128.5, 128.2, 126.7, 126.5, 89.3, 70.5, 69, 68.3, 67.3, 47.6, 45.3, 40.8, 40.3, 40.3, 35.6, 32.7, 31.8, 30.5, 21.5; IR (neat): 3433, 3355, 3082, 3060, 3026, 1725, 1650, 1519, 1485, 1455, 1367,

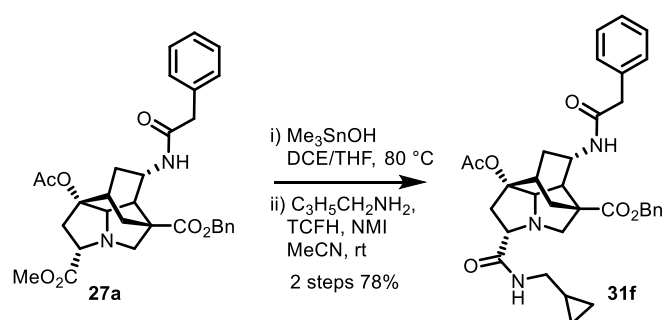
1240, 1093, 1066, 1032, 842, 749, 699 cm^{-1} ; HRMS (ESI) calcd for $\text{C}_{37}\text{H}_{39}\text{N}_3\text{O}_6\text{Na}^+$ $[\text{M} + \text{Na}]^+$ 644.2731, found 644.2729.

Preparation of amide **31e**



Following the representative procedure using amide **27a** (130 mg, 0.238 mmol, 1.0 equiv.) and aniline (30 μL , 0.329 mmol, 1.4 equiv.), purification by silica gel column chromatography (hexane:acetone = 75:25 to hexane:EtOAc = 30:70) afforded amide **31e** (120 mg, 0.197 mmol, 2 steps 83%) as a white amorphous solid. $[\alpha]_{\text{D}}^{28.7}$ -8.7 (c 0.904 in MeOH); ^1H NMR (400 MHz, MeOD) δ 7.61 (d, J = 7.6 Hz, 2H), 7.39-7.24 (m, 10H), 7.18-7.12 (m, 2H), 5.20 (d, J = 12.3 Hz, 1H), 5.16 (d, J = 12.3 Hz, 1H), 4.31 (td, J = 3.2, 10.9 Hz, 1H), 3.80 (dd, J = 3.9, 10.1 Hz, 1H), 3.73 (d, J = 11.1 Hz, 1H), 3.54 (s, 2H), 3.51 (d, J = 5.0 Hz, 1H), 2.86 (dd, J = 3.6, 4.8 Hz, 1H), 2.74 (dd, J = 10.1, 15.4 Hz, 1H), 2.66 (d, J = 11.1 Hz, 1H), 2.61 (dd, J = 4.0, 15.4 Hz, 1H), 2.56 (brs, 1H), 2.28 (d, J = 15.0 Hz, 1H), 1.90-1.82 (m, 4H), 1.59 (d, J = 14.9 Hz, 1H), 1.35 (dd, J = 2.9, 14.5 Hz, 1H). ^{13}C NMR (125 MHz, CDCl_3) δ 172.7, 171.5, 170.1, 169.2, 137.6, 135.5, 134.7, 129.6, 129.3, 129.1, 128.7, 128.4, 128.2, 127.7, 124.3, 119.3, 88.7, 70.7, 68.8, 68.3, 67.3, 47.6, 45.4, 44, 40.2, 39.8, 32.4, 31.6, 29.5, 21.0; IR (neat): 3451, 3290, 3059, 3028, 2968, 2949, 2880, 1735, 1663, 1599, 1499, 1412, 1367, 1231, 1092, 753, 696 cm^{-1} ; HRMS (ESI) calcd for $\text{C}_{36}\text{H}_{38}\text{N}_3\text{O}_6^+$ $[\text{M} + \text{H}]^+$ 608.2755, found 608.2757.

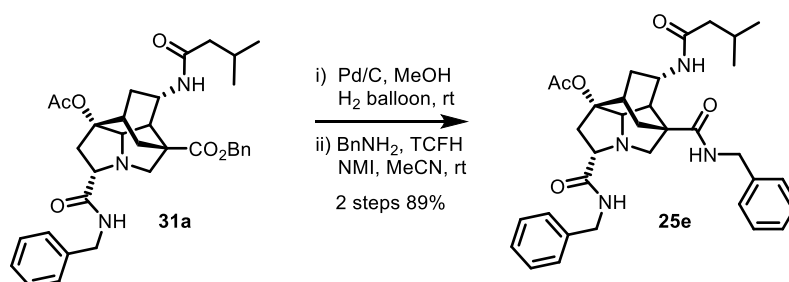
Preparation of amide **31f**



Following the representative procedure using amide **27a** (120 mg, 0.220 mmol, 1.0 equiv.) and cyclopropylmethylamine (100 μL , 1.17 mmol, 5.3 equiv.), purification by silica gel column chromatography (hexane:acetone = 75:25 to hexane:EtOAc = 25:75) afforded amide **31f** (101 mg, 0.172 mmol, 2 steps 78%) as a white amorphous solid. $[\alpha]_{\text{D}}^{27.8}$ -10.4 (c 1.00 in MeOH); ^1H NMR (500 MHz, CDCl_3) δ 7.66 (t, J = 5.5 Hz, 1H), 7.40-7.31 (m, 7H), 7.29-7.27 (m, 1H), 7.24-7.23 (m, 2H), 5.43 (d, J = 8.6 Hz, 1H), 5.18 (d, J = 12.5 Hz, 1H), 5.15 (d, J = 12.4 Hz, 1H), 4.52-4.47 (m, 1H), 3.65 (d, J = 11.0 Hz, 1H), 3.61 (d, J = 16.8 Hz, 1H), 3.57

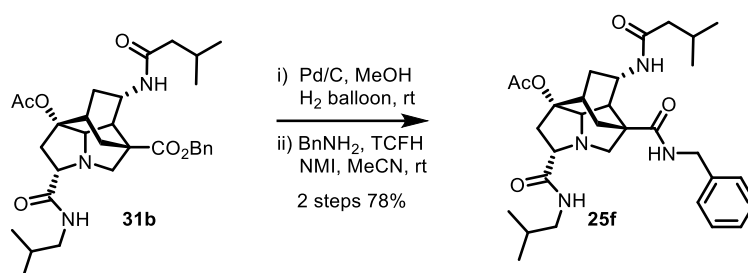
(d, $J = 16.5$ Hz, 1H), 3.49 (dd, $J = 5.0, 10.3$ Hz, 1H), 3.17-3.05 (m, 3H), 2.88 (t, $J = 4.4$ Hz, 1H), 2.77 (dd, $J = 10.5, 15.7$ Hz, 1H), 2.61 (brs, 1H), 2.48-2.41 (m, 2H), 2.26 (dd, $J = 1.3, 14.8$ Hz, 1H), 1.83-1.77 (m, 1H), 1.58 (s, 3H), 1.35-1.32 (m, 1H), 1.05-1.02 (m, 1H), 1.00-0.93 (m, 1H), 0.55-0.53 (m, 2H), 0.24-0.21 (m, 2H); ^{13}C NMR (125 MHz, CDCl_3) δ 173.4, 173, 170.1, 169.3, 135.7, 134.9, 129.7, 129.3, 128.8, 128.5, 128.2, 127.7, 88.8, 70.3, 68.8, 68.4, 67.3, 47.7, 45.5, 44.1, 44, 40.4, 39.8, 32.5, 31.6, 29.7, 21.1, 10.8, 3.5, 3.4; IR (neat): 3325, 3082, 3061, 3026, 2969, 2933, 2872, 1736, 1717, 1644, 1576, 1525, 1487, 1455, 1363, 1277, 1108, 1076, 1044 cm^{-1} ; HRMS (ESI) calcd for $\text{C}_{34}\text{H}_{40}\text{N}_3\text{O}_6^+$ $[\text{M} + \text{H}]^+$ 586.2912, found 586.2919.

Representative procedure for preparation of amide 25e-o

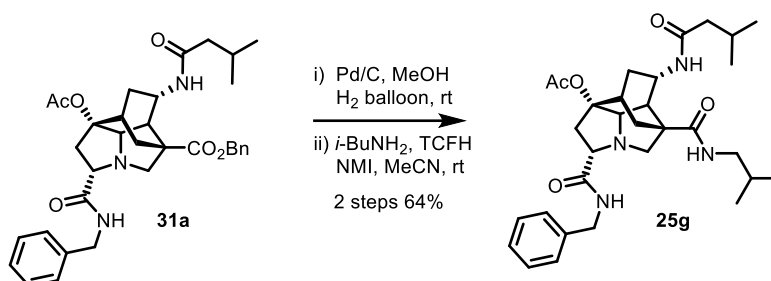


To a solution of amide **31a** (42.4 mg, 0.0721 mmol, 1.0 equiv.) in MeOH (700 μL) was added Pd/C (5.6 mg, 13wt%) and stirred for 3.5 h at room temperature under H_2 atmosphere. The reaction mixture was passed through a pad of Celite[®], and the filtrate was concentrated under reduced pressure to afford crude carboxylic acid (43.5 mg).

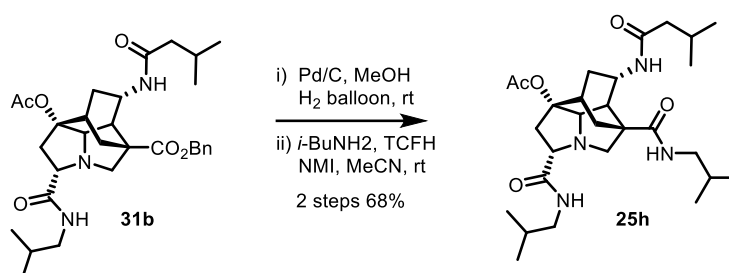
To a mixture of the crude carboxylic acid (43.5 mg), *N*-methylimidazole (17.0 μL , 0.215 mmol, 3.0 equiv.), and benzylamine (9.0 μL , 0.0823 mmol, 1.1 equiv.) in MeCN (500 μL) was added TCFH (43.8 mg, 0.156 mmol, 2.2 equiv.). After being stirred for 17 h at room temperature under an argon atmosphere, the reaction mixture was diluted with saturated aqueous NaHCO_3 , and the aqueous layer was extracted with EtOAc for three times. The combined organic layers were washed with brine, dried over Mg_2SO_4 , filtered, and concentrated under reduced pressure. The residue was purified by silica gel column chromatography (hexane:acetone = 70:30 to EtOAc:MeOH = 98:2) to afford amide **25e** (37.8 mg, 0.0644 mmol, 2 steps 89%) as a white amorphous solid. $[\alpha]_{\text{D}}^{20.9} + 7.9$ (c 1.00 in MeOH); ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 7.88 (t, $J = 5.9$ Hz, 1H), 7.34-7.22 (m, 10H), 6.77 (t, $J = 5.2$ Hz, 1H), 5.37 (d, $J = 7.1$ Hz, 1H), 4.54 (dd, $J = 5.9, 14.7$ Hz, 1H), 4.56-4.31 (m, 4H), 3.60 (dd, $J = 4.8, 9.1$ Hz, 1H), 3.38 (d, $J = 11.1$ Hz, 1H), 3.29 (d, $J = 4.9$ Hz, 1H), 2.81-2.70 (m, 4H), 2.55 (d, $J = 11.2$ Hz, 1H), 2.16 (d, $J = 14.8$ Hz, 1H), 2.07-1.99 (m, 6H), 1.93-1.86 (m, 1H), 1.61 (d, $J = 15.0$ Hz, 1H), 1.28-1.24 (m, 1H), 0.95-0.92 (m, 6H); ^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3) δ 173.1, 172.7, 172.6, 169.5, 138.5, 138.4, 128.8, 127.9, 127.8, 127.6, 127.5, 89.3, 69.9, 69.1, 69, 48.5, 46.2, 43.7, 43.5, 40.7, 39.7, 33.4, 32.2, 28.9, 26.3, 22.6, 22.6, 21.7; IR (neat): 3319, 3008, 2965, 2866, 2844, 2824, 1736, 1718, 1647, 1634, 1540, 1455, 1317, 1240, 1054, 1032, 1013783, 698 cm^{-1} ; HRMS (ESI) calcd for $\text{C}_{34}\text{H}_{43}\text{N}_4\text{O}_5^+$ $[\text{M} + \text{H}]^+$ 587.3228, found 587.3229.

Preparation of amide **25f**

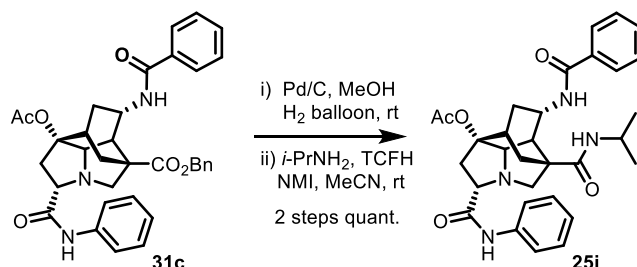
Following the representative procedure using amide **31b** (64.7 mg, 0.110 mmol, 1.0 equiv.) and benzylamine (13.0 μL , 0.119 mmol, 1.1 equiv.), purification by silica gel column chromatography (hexane:acetone = 75:25 to EtOAc:MeOH = 98:2) afforded amide **25f** (47.4 mg, 0.0858 mmol, 2 steps 89%) as a white amorphous solid. $[\alpha]_{\text{D}}^{21.1} - 21.7$ (c 1.00 in MeOH); $^1\text{H NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ 7.63 (t, $J = 6.0$ Hz, 1H), 7.33-7.24 (m, 5H), 6.82 (t, $J = 5.6$ Hz, 1H), 5.42 (d, $J = 7.0$ Hz, 1H), 4.54 (dd, $J = 6.0, 14.8$ Hz, 1H), 4.41-4.32 (m, 2H), 3.53 (dd, $J = 4.2, 9.7$ Hz, 1H), 3.41 (d, $J = 11.0$ Hz, 1H), 3.31 (d, $J = 4.9$ Hz, 1H), 3.14-3.07 (m, 1H), 3.03-2.97 (m, 1H), 2.88 (dd, $J = 3.1, 4.7$ Hz, 1H), 2.77-2.63 (m, 3H), 2.55 (d, $J = 11.1$ Hz, 1H), 2.19-1.98 (m, 7H), 1.92-1.85 (m, 1H), 1.82-1.72 (m, 1H), 1.61 (d, $J = 14.9$ Hz, 1H), 1.27-1.24 (m, 1H), 0.95 (d, $J = 4.4$ Hz, 6H), 0.89 (d, $J = 6.7$ Hz, 6H); $^{13}\text{C NMR}$ (100 MHz, CDCl_3) δ 173.1, 172.9, 172.8, 169.6, 138.4, 128.8, 127.9, 127.5, 89.3, 69.9, 69.2, 68.9, 48.4, 46.6, 46.2, 43.7, 43.6, 40.8, 39.8, 33.4, 32.2, 28.9, 28.7, 26.3, 22.6, 22.5, 21.6, 20.2, 20.2; IR (neat): 3423, 3317, 3062, 3026, 3005, 2956, 2923, 2869, 2826, 1733, 1652, 1524, 1464, 1369, 1248, 1054, 1032, 1017, 845 cm^{-1} ; HRMS (ESI) calcd for $\text{C}_{31}\text{H}_{45}\text{N}_4\text{O}_5^+$ $[\text{M} + \text{H}]^+$ 553.3384, found 553.3381.

Preparation of amide **25g**

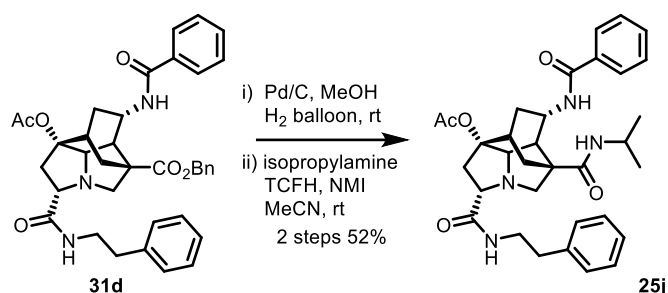
Following the representative procedure using amide **31a** (58.8 mg, 0.100 mmol, 1.0 equiv.) and isobutylamine (11.0 μL , 0.110 mmol, 1.1 equiv.), purification by silica gel column chromatography (hexane:acetone = 70:30 to EtOAc:MeOH = 98:2) afforded amide **25g** (35.3 mg, 0.0639 mmol, 2 steps 64%) as a white amorphous solid. $[\alpha]_{\text{D}}^{21.3} - 1.8$ (c 1.00 in MeOH); $^1\text{H NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ 7.89 (t, $J = 5.7$ Hz, 1H), 7.35-7.28 (m, 5H), 6.44 (t, $J = 5.3$ Hz, 1H), 5.35 (d, $J = 7.7$ Hz, 1H), 4.50-4.39 (m, 2H), 4.33-4.29 (m, 1H), 3.62 (dd, $J = 5.2, 8.6$ Hz, 1H), 3.35 (d, $J = 11.1$ Hz, 1H), 3.30 (d, $J = 4.8$ Hz, 1H), 3.10 (t, $J = 6.3$ Hz, 2H), 2.82-2.75 (m, 4H), 2.57 (d, $J = 11.2$ Hz, 1H), 2.14-2.00 (m, 7H), 1.92-1.78 (m, 2H), 1.65 (d, $J = 15.2$ Hz, 1H), 1.28-1.25 (m, 1H), 0.95-0.90 (m, 12H); $^{13}\text{C NMR}$ (100 MHz, CDCl_3) δ 173.1, 172.9, 172.8, 169.6, 138.6, 128.8, 127.9, 127.6, 89.4, 69.9, 69.2, 48.5, 47.1, 46.2, 43.5, 43.4, 40.8, 39.7, 33.6, 32.3, 28.8, 28.6, 26.4, 22.6, 22.6, 21.7, 20.3, 20.3; IR (neat): 3322, 2980, 2965, 2922, 2867, 2843, 1733, 1653, 1637, 1540, 1508, 1362, 1238, 1054, 1032, 1013 cm^{-1} ; HRMS (ESI) calcd for $\text{C}_{31}\text{H}_{45}\text{N}_4\text{O}_5^+$ $[\text{M} + \text{H}]^+$ 553.3384, found 553.3386.

Preparation of amide **25h**

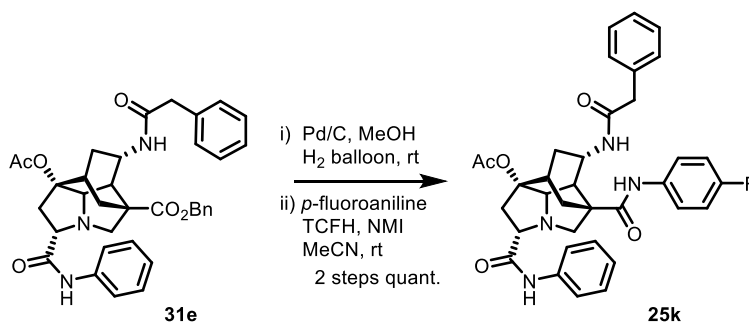
Following the representative procedure using amide **31b** (50.8 mg, 0.0917 mmol, 1.0 equiv.) and isobutylamine (10.0 μ L, 0.0998 mmol, 1.1 equiv.) purification by silica gel column chromatography (hexane:acetone = 70:30 to EtOAc:MeOH = 98:2) afforded amide **25h** (32.6 mg, 0.0628 mmol, 2 steps 68%) as a white amorphous solid. $[\alpha]_D^{21.7} - 9.4$ (c 0.705 in MeOH); ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 7.63 (t, $J = 6.0$ Hz, 1H), 6.47 (t, $J = 5.5$ Hz, 1H), 5.39 (d, $J = 6.8$ Hz, 1H), 4.34-4.30 (m, 1H), 3.56 (dd, $J = 4.6, 9.9$ Hz, 1H), 3.39 (d, $J = 11.1$ Hz, 1H), 3.31 (d, $J = 4.9$ Hz, 1H), 3.16-3.06 (m, 3H), 3.04-2.97 (m, 1H), 2.85 (dd, $J = 2.9, 4.9$ Hz, 1H), 2.78-2.65 (m, 3H), 2.58 (d, $J = 11.1$ Hz, 1H), 2.13-2.01 (m, 7H), 1.92-1.75 (m, 3H), 1.65 (d, $J = 14.9$ Hz, 1H), 1.28-1.24 (m, 1H), 0.97-0.89 (m, 18H). ¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃) δ 173, 173, 172.8, 169.5, 89.4, 69.9, 69.3, 69.2, 48.5, 47.1, 46.6, 46.2, 43.3, 40.9, 39.7, 33.6, 32.2, 28.8, 28.6, 26.4, 22.7, 22.5, 21.7, 20.3, 20.3, 20.2, 20.2; IR (neat): 3416, 3326, 2957, 2936, 2870, 2843, 1734, 1652, 1525, 1465, 1369, 1248, 1053, 1032, 1015, 846 cm⁻¹; HRMS (ESI) calcd for C₂₈H₄₇N₄O₅⁺ [M + H]⁺ 519.3541, found 519.3538.

Preparation of amide **25i**

Following the representative procedure using amide **31c** (77.2 mg, 0.130 mmol, 1.0 equiv.) and isopropylamine (100 μ L, 1.17 mmol, 9.0 equiv.), purification by silica gel column chromatography (hexane:acetone = 70:30 to EtOAc:MeOH = 95:5) afforded amide **25i** (70.5 mg, 0.129 mmol, 2 steps quant.) as a white amorphous solid. $[\alpha]_D^{26.8} - 14.5$ (c 0.994 in MeCN); ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 9.57 (brs, 1H), 7.74-7.71 (m, 2H), 7.61-7.59 (m, 2H), 7.54-7.51 (m, 1H), 7.47-7.43 (m, 2H), 7.33-7.29 (m, 2H), 7.09 (t, $J = 7.4$ Hz, 1H), 6.30 (d, $J = 7.6$ Hz, 1H), 6.11 (d, $J = 7.2$ Hz, 1H), 4.58-4.51 (m, 1H), 4.19-4.09 (m, 2H), 3.72 (dd, $J = 4.3, 9.8$ Hz, 1H), 3.53-3.50 (m, 2H), 3.03 (dd, $J = 3.1, 5.0$ Hz, 1H), 2.89 (dd, $J = 9.9, 15.7$ Hz, 1H), 2.83-2.78 (m, 2H), 2.68 (d, $J = 11.2$ Hz, 1H), 2.25 (d, $J = 14.3$ Hz, 1H), 2.08-1.99 (m, 4H), 1.70-1.66 (m, 2H), 1.43 (dd, $J = 3.2, 14.7$ Hz, 1H), 1.28-1.22 (m, 7H); ¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃) δ 171.7, 171.3, 169.5, 167.8, 137.8, 134.1, 132.1, 129.2, 129, 126.8, 124.4, 119.4, 89.5, 70.5, 69.2, 48.4, 43.7, 41.9, 41.3, 39.8, 33.5, 32.4, 29, 22.8, 22.8, 21.7; IR (neat, cm⁻¹): 3547, 3474, 3412, 2965, 2939, 2844, 2827, 1732, 1646, 1522, 1444, 1370, 1053, 1032, 1014, 841; HRMS (ESI) calcd for C₃₁H₃₇N₄O₅⁺ [M + H]⁺ 545.2758, found 545.2757.

Preparation of amide **25j**

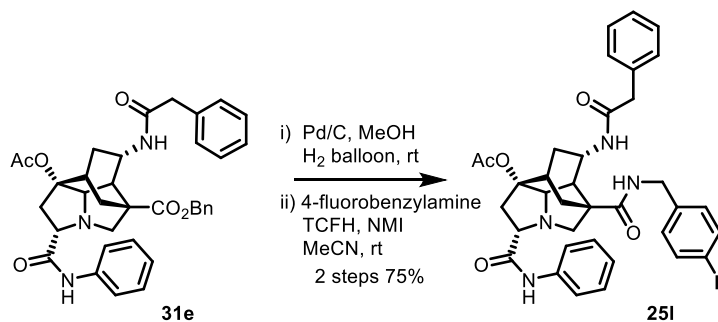
Following the representative procedure using amide **31d** and isopropylamine (100 μL , 1.17 mmol, 10.5 equiv.), purification by silica gel column chromatography (hexane:acetone = 70:30 to EtOAc:MeOH = 97:3) afforded amide **25j** (33.1 mg, 0.0578 mmol, 2 steps 52%) as a white amorphous solid [α]_D^{30.3} + 14.2 (c 0.720 in MeOH); ¹H NMR (500 MHz, CDCl₃) δ 7.76-7.75 (m, 2H), 7.62-7.55 (m, 2H), 7.51-7.42 (m, 2H), 7.17-7.12 (m, 4H), 6.98-6.94 (m, 1H), 6.21 (d, J = 7.7 Hz, 1H), 6.11 (d, J = 7.3 Hz, 1H), 4.53-4.48 (m, 1H), 4.14-4.08 (m, 1H), 3.56-3.49 (m, 2H), 3.45-3.38 (m, 1H), 3.30 (d, J = 11.2 Hz, 1H), 3.20 (d, J = 5.0 Hz, 1H), 2.87-2.74 (m, 5H), 2.62 (dd, J = 15.6, 4.3 Hz, 1H), 2.53 (d, J = 11.1 Hz, 1H), 2.18 (d, J = 14.0 Hz, 1H), 2.10 (s, 3H), 2.01-1.95 (m, 1H), 1.59 (d, J = 15.1 Hz, 1H), 1.40 (dd, J = 3.1, 14.6 Hz, 1H), 1.25 (d, J = 7.3 Hz, 3H), 1.20 (d, J = 6.5 Hz, 3H); ¹³C NMR (125 MHz, CDCl₃) δ 173.3, 171.8, 169.4, 167.6, 139.1, 134.2, 132.1, 129, 129, 128.5, 126.8, 126.5, 89.4, 70, 69.2, 69, 48.2, 43.5, 41.8, 41.2, 40.4, 40, 35.6, 33.3, 32.3, 29, 22.8, 22.7, 21.7; IR (neat, cm⁻¹): 3423, 3337, 3064, 3027, 2968, 2938, 2875, 1730, 1650, 1523, 1484, 1462, 1371, 1248, 1174, 1028, 842, 751, 702; HRMS (ESI) calcd for C₃₃H₄₁N₄O₅⁺ [M + H]⁺ 573.3071, found 573.3077.

Preparation of amide **25k**

Following the representative procedure using amide **31e** (101 mg, 0.166 mmol, 1.0 equiv.) and *p*-fluoroaniline (25 μL , 0.264 mmol, 1.6 equiv.), purification with PTLC (hexane:EtOAc = 30:70) afforded amide **25k** (96.7 mg, 0.158 mmol, 2 steps quant.) as a white amorphous solid. [α]_D^{26.9} + 6.6 (c 0.90 in CHCl₃); ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 9.55 (s, 1H), 8.37 (s, 1H), 7.73-7.63 (m, 2H), 7.64 (d, J = 7.8 Hz, 2H), 7.40-7.35 (m, 4H), 7.31-7.28 (m, 3H), 7.15 (t, J = 7.4 Hz, 1H), 7.04 (t, J = 8.6 Hz, 2H), 5.33 (d, J = 6.6 Hz, 1H), 4.42-4.40 (m, 1H), 3.71 (dd, J = 5.0, 9.4 Hz, 1H), 3.67 (s, 2H), 3.59 (d, J = 11.1 Hz, 1H), 3.28 (d, J = 5.0 Hz, 1H), 3.05 (dd, J = 2.5, 4.9 Hz, 1H), 2.79-2.69 (m, 4H), 2.19 (d, J = 15.8 Hz, 1H), 1.88-1.81 (m, 1H), 1.76-1.71 (m, 4H), 1.10-1.07 (m, 1H); ¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃) δ 172.3, 171.2, 171, 169.4, 159.7 (d, J = 244 Hz), 137.8, 134.3, 134.1 (d, J = 2.3 Hz), 129.7, 129.5, 129.3, 128, 124.5, 121.9 (d, J = 7.7 Hz), 119.4, 115.8 (d, J = 22.5 Hz), 88.6, 70.5, 69, 68.9,

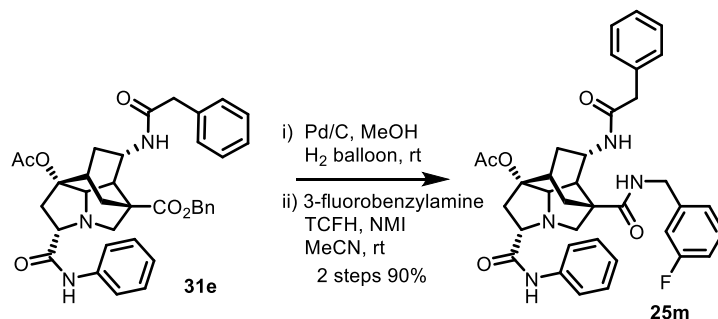
49.3, 43.8, 42.9, 41.1, 39.4, 33.5, 32.4, 27.8, 21.3; ^{19}F NMR (376 MHz, CDCl_3) δ -117.7; IR (neat, cm^{-1}): 3289, 3028, 2969, 2945, 2873, 1736, 1663, 1600, 1509, 1443, 1367, 1232, 1162, 1092, 1034, 834, 755, 695; HRMS (ESI) calcd for $\text{C}_{35}\text{H}_{36}\text{FN}_4\text{O}_6^+$ $[\text{M} + \text{H}]^+$ 611.2664, found 611.2652.

Preparation of amide 25l



Following the representative procedure using amide **31e** (33.1 mg, 0.0545 mmol, 1.0 equiv.) and 4-fluorobenzylamine (10.0 μL , 0.0879 mmol, 1.6 equiv.) purification by silica gel column chromatography (hexane:acetone = 75:25 to EtOAc:MeOH = 95:5) afforded amide **25l** (25.4 mg, 0.0407 mmol, 2 steps 75%) as a white amorphous solid. $[\alpha]_{\text{D}}^{28.4} - 2.6$ (c 0.99 in CHCl_3); ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 9.55 (s, 1H), 7.63 (d, $J = 7.7$ Hz, 2H), 7.38-7.27 (m, 6H), 7.24-7.22 (m, 3H), 7.14 (t, $J = 7.4$ Hz, 1H), 7.02 (t, $J = 8.7$ Hz, 2H), 6.65 (t, $J = 5.4$ Hz, 1H), 5.33 (d, $J = 7.2$ Hz, 1H), 4.50 (dd, $J = 5.9, 14.7$ Hz, 1H), 4.42-4.32 (m, 2H), 3.66 (dd, $J = 4.3, 10.2$ Hz, 1H), 3.58 (s, 2H), 3.47 (d, $J = 11.1$ Hz, 1H), 3.20 (d, $J = 5.0$ Hz, 1H), 2.89 (dd, $J = 3.2, 4.9$ Hz, 1H), 2.79 (dd, $J = 10.3, 15.7$ Hz, 1H), 2.67-2.61 (m, 3H), 2.18 (d, $J = 14.2$ Hz, 1H), 1.84-1.77 (m, 2H), 1.64 (m, 3H), 1.57 (d, $J = 15.0$ Hz, 1H), 1.04 (dd, $J = 3.0, 14.7$ Hz, 1H); ^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3) δ 172.5, 171.6, 171.4, 162.4 (d, $J = 245.9$ Hz), 161.1, 137.8, 134.5, 134.1 (d, $J = 3.2$ Hz), 129.7, 129.6 (d, $J = 8.2$ Hz), 129.5, 129.2, 127.9, 124.5, 119.4, 115.8 (d, $J = 21.6$ Hz), 88.8, 70.6, 69.3, 68.9, 48.3, 43.9, 43.7, 43.1, 40.7, 39.8, 33.2, 32.2, 28.6, 21.2; ^{19}F NMR (376 MHz, CDCl_3) δ -115.0; IR (neat, cm^{-1}): 3414, 3297, 3059, 3028, 3005, 2968, 2943, 2875, 1735, 1654, 1600, 1519, 1443, 1368, 1229, 846, 756, 695; HRMS (ESI) calcd for $\text{C}_{36}\text{H}_{38}\text{FN}_4\text{O}_5^+$ $[\text{M} + \text{H}]^+$ 625.2821, found 625.2823.

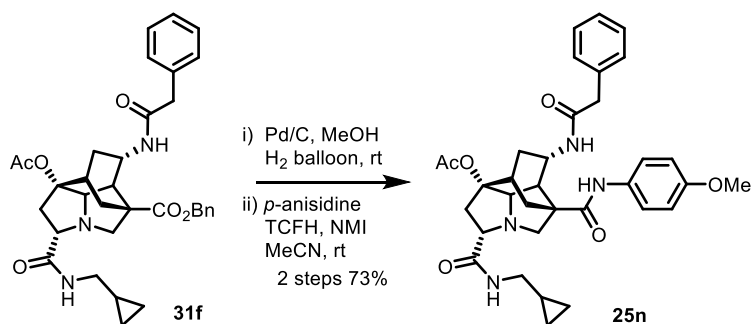
Preparation of amide 25m



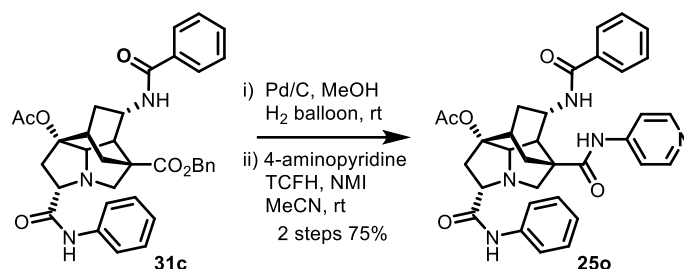
Following the representative procedure using amide **31e** (36.9 mg, 0.0607 mmol, 1.0 equiv.) and 3-fluorobenzylamine (10.0 μL , 0.0887 mmol, 1.5 equiv.), purification by GPC afforded amide **25m** (34.2 mg, 0.0547 mmol, 2 steps 90%) as a white amorphous solid. $[\alpha]_{\text{D}}^{28.4} - 2.45$ (c 1.02 in CHCl_3); ^1H NMR (400 MHz,

CDCl₃) δ 9.54 (s, 1H), 7.63 (d, $J = 7.7$ Hz, 2H), 7.38-7.28 (m, 5H), 7.24-7.22 (m, 3H), 7.15-7.09 (m, 2H), 7.03-6.94 (m, 2H), 6.81 (t, $J = 5.7$ Hz, 1H), 5.34 (d, $J = 7.2$ Hz, 1H), 4.57 (dd, $J = 6.1, 15.0$ Hz, 1H), 4.43-4.33 (m, 2H), 3.66 (dd, $J = 4.4, 10.2$ Hz, 1H), 3.58 (s, 2H), 3.48 (d, $J = 11.0$ Hz, 1H), 3.20 (d, $J = 5.0$ Hz, 1H), 2.90 (dd, $J = 3.2, 4.9$ Hz, 1H), 2.79 (dd, $J = 10.3, 15.6$ Hz, 1H), 2.68-2.63 (m, 3H), 2.19 (d, $J = 15.1$ Hz, 1H), 1.85-1.78 (m, 1H), 1.65 (s, 3H), 1.59 (d, $J = 15.2$ Hz, 1H), 1.05 (dd, $J = 2.9, 14.6$ Hz, 1H); ¹³C NMR (125 MHz, CDCl₃) δ 172.5, 171.6, 171.4, 169.4, 163.1 (d, $J = 246.2$ Hz), 140.9 (d, $J = 6.9$ Hz), 137.7, 134.4, 130.4 (d, $J = 8.0$ Hz), 129.6, 129.4, 129.2, 127.9, 124.4, 123.3 (d, $J = 2.8$ Hz), 119.4, 114.6 (d, $J = 12.4$ Hz), 114.5 (d, $J = 11.9$ Hz), 88.7, 70.5, 69.3, 68.9, 48.3, 43.8, 43.5, 43.2 (d, $J = 1.9$ Hz), 40.8, 39.7, 33.1, 32.1, 28.5, 21.2; ¹⁹F NMR (376 MHz, CDCl₃) δ -112.7; IR (neat, cm⁻¹): 3409, 3289, 3082, 3059, 3028, 2936, 2875, 1734, 1652, 1599, 1519, 1443, 1368, 1233, 1030, 754, 696; HRMS (ESI) calcd for C₃₆H₃₈FN₄O₅⁺ [M + H]⁺ 625.2821, found 625.2824.

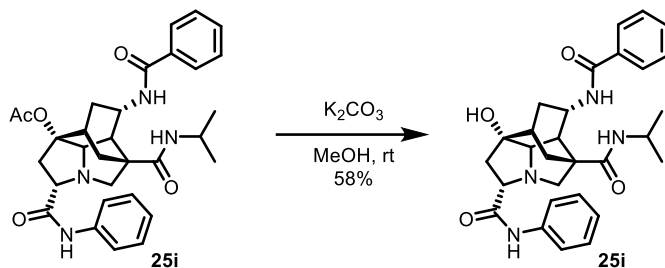
Preparation of amide 25n



Following the representative procedure using amide **30f** and *p*-anisidine (31.6 mg, 0.257 mmol, 1.9 equiv.), purification by PTLC (EtOAc = 100%) afforded amide **4v** (58.5 mg, 0.0974 mmol, 2 steps 73%) as a white amorphous solid [α]_D^{28.8} + 2.4 (c 0.83 in MeOH); ¹H NMR (500 MHz, MeOD) δ 7.43 (d, $J = 9.1$ Hz, 2H), 7.33-7.32 (m, 4H), 7.27-7.23 (m, 1H), 6.87 (d, $J = 9.0$ Hz, 2H), 4.38 (td, $J = 3.5, 11.0$ Hz, 1H), 3.77 (s, 3H), 3.67 (dd, $J = 3.8, 10.1$ Hz, 1H), 3.57 (s, 2H), 3.52 (d, $J = 11.0$ Hz, 1H), 3.49 (d, $J = 5.0$ Hz, 1H), 3.10 (d, $J = 6.9$ Hz, 1H), 2.93 (dd, $J = 3.1, 5.0$ Hz, 1H), 2.75-2.68 (m, 2H), 2.61 (brs, 1H), 2.53 (dd, $J = 3.8, 15.4$ Hz, 1H), 2.20 (d, $J = 14.5$ Hz, 1H), 1.89-1.86 (m, 4H), 1.72 (d, $J = 14.7$ Hz, 1H), 1.38 (dd, $J = 3.3, 14.4$ Hz, 1H), 1.05-0.99 (m, 1H), 0.52-0.49 (m, 2H), 0.26-0.23 (m, 2H); ¹³C NMR (125 MHz, MeOD) δ 176.1, 173.7, 173.7, 171.8, 158.3, 136.9, 132.3, 130.2, 129.8, 128.1, 124.2, 114.9, 90.4, 70.5, 69.7, 68.8, 55.8, 50.3, 45, 44.8, 43.6, 42.1, 40.9, 33.8, 33.7, 30, 21.4, 11.7, 3.8, 3.6; IR (neat): 3406, 3312, 3059, 3030, 3003, 2936, 2873, 2836, 1735, 1653, 1510, 1242, 1027, 833 cm⁻¹; HRMS (ESI) calcd for C₃₄H₄₁N₄O₆⁺ [M + H]⁺ 601.3021, found 601.3022.

Preparation of amide **25o**

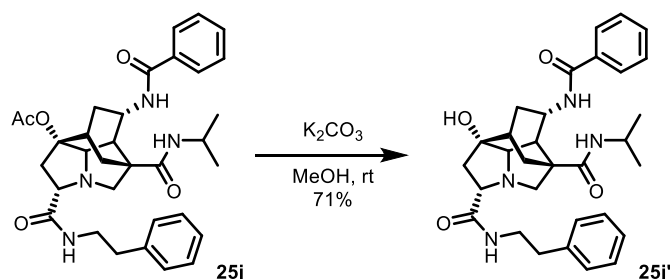
Following the representative procedure using amide **31c** (74.1 mg, 0.125 mmol, 1.0 equiv.) and 4-aminopyridine (18.5 mg, 0.197 mmol, 1.6 equiv.), purification by PTLC (EtOAc:MeOH = 90:10) to afforded amide **25o** (55.4 mg, 0.0933 mmol, 2 steps 75%) as a white amorphous solid. $[\alpha]_D^{24.3} + 9.25$ (c 0.984 in MeOH); ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 9.49 (s, 1H), 9.19 (s, 1H), 8.55 (d, $J = 5.7$ Hz, 2H), 7.83-77.79 (m, 4H), 7.59-7.56 (m, 3H), 7.49 (t, $J = 7.5$ Hz, 2H), 7.31 (t, $J = 7.8$ Hz, 2H), 7.09 (t, $J = 7.4$ Hz, 1H), 6.22 (d, $J = 6.1$ Hz, 1H), 4.61-4.60 (m, 1H), 3.74 (dd, $J = 2.5, 9.6$ Hz, 1H), 3.65 (d, $J = 11.2$ Hz, 1H), 3.55 (d, $J = 4.8$ Hz, 1H), 3.25 (d, $J = 3.2$ Hz, 1H), 2.96-2.90 (m, 2H), 2.81-2.73 (m, 2H), 2.24 (d, $J = 14.9$ Hz, 1H), 2.08-2.03 (m, 4H), 1.89 (d, $J = 15.5$ Hz, 1H), 1.53 (d, $J = 13.2$ Hz, 1H). ¹³C NMR (125 MHz, CDCl₃) δ 172.5, 170.8, 169.8, 168.9, 150.9, 145.4, 137.7, 133.4, 132.5, 129.2, 129, 127, 124.4, 119.5, 114.3, 89.1, 69.9, 69.1, 67.9, 49.9, 42.7, 42, 38.8, 33.6, 32.4, 27.5, 21.8; IR (neat): 3435, 3273, 3085, 3058, 3032, 2948, 2875, 1733, 1681, 1592, 1518, 1443, 1330, 1287, 1241, 911, 830, 730 cm⁻¹; HRMS (ESI) calcd for C₃₃H₃₄N₅O₅⁺ [M + H⁺] 580.2554, found 580.2555.

Representative procedure for preparation of alcohol **25i'**-**k'**,**n'**,**o'**-

To a solution of amide **25i** (26.6 mg, 0.0488 mmol, 1.0 equiv.) in MeOH (500 μ L) was added K₂CO₃ (27.0 mg, 0.195 mmol, 4.0 equiv.), and the reaction mixture was being stirred for 3 h at room temperature under an argon atmosphere. The reaction mixture was diluted with saturated aqueous NH₄Cl, and the aqueous layer was extracted with EtOAc for three times. The combined organic layers were washed with brine, dried over Mg₂SO₄, filtered, and concentrated under reduced pressure. The residue was purification by silica gel column chromatography (EtOAc 100% to EtOAc:MeOH = 95:5) to afforded alcohol **25i'** (14.1 mg, 0.0281 mmol, 58%) as a white amorphous solid. $[\alpha]_D^{28.9} - 4.48$ (c 0.580 in CHCl₃); ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 9.58 (brs, 1H), 7.73 (d, $J = 7.8$ Hz, 2H), 7.49-7.44 (m, 3H), 7.37 (t, $J = 7.5$ Hz, 1H), 7.20 (t, $J = 7.9$ Hz, 1H), 7.02 (t, $J = 7.9$ Hz, 1H), 6.73 (d, $J = 7.4$ Hz, 1H), 6.42 (d, $J = 7.7$ Hz, 1H), 4.51-4.46 (s, 1H), 4.16-4.08 (s, 1H), 3.64 (dd, $J = 4.3, 9.7$ Hz, 1H), 3.43 (d, $J = 11.2$ Hz, 1H), 3.23 (d, $J = 5.1$ Hz, 1H), 2.96-2.94 (m, 1H), 2.64-2.56 (m, 2H), 2.50 (dd, $J = 4.4, 14.7$ Hz, 1H), 2.18 (d, $J = 15.0$ Hz, 1H), 2.04-1.96 (m, 2H), 1.92-1.86 (m, 1H), 1.66 (d, $J = 15.0$ Hz, 1H), 1.28-1.21 (m, 6H); ¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃) δ 172.3, 172, 167.7, 137.6, 134, 131.8, 129.1, 128.8,

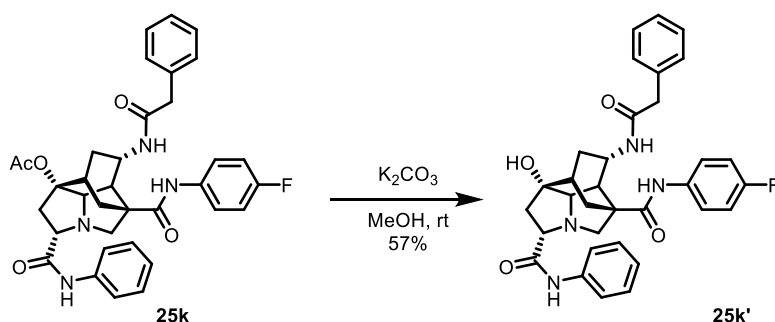
127, 124.4, 119.5, 81.6, 70.7, 70.1, 69.2, 48.3, 44, 42.8, 41.8, 41.6, 36, 34, 28.4, 22.8, 22.8. IR (neat): 3285, 3053, 3031, 3008, 2966, 2936, 2921, 2869, 1646, 1522, 1444, 1360, 1317, 1277, 1051, 1032, 1010, 754, 691 cm^{-1} ; HRMS (ESI) calcd for $\text{C}_{29}\text{H}_{35}\text{N}_4\text{O}_4^+$ $[\text{M} + \text{H}]^+$ 503.2653, found 503.2654.

Preparation of alcohol **25j'**



Following the representative procedure using amide **4r** (19.6 mg, 0.0342 mmol, 1.0 equiv.), purification by PTLC (EtOAc 100%) afforded alcohol **4r'** (14.1 mg, 0.0281 mmol, 58%) as a colorless oil. $[\alpha]_{\text{D}}^{28.0} + 27.4$ (c 0.420 in CHCl_3); ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 7.79-7.77 (m, 2H), 7.58-7.42 (m, 2H), 7.44 (t, $J = 7.4$ Hz, 2H), 7.16-7.09 (m, 4H), 7.02-6.98 (m, 1H), 6.66 (d, $J = 7.3$ Hz, 1H), 6.37 (d, $J = 7.7$ Hz, 1H), 4.48-4.42 (m, 1H), 4.15-4.06 (m, 1H), 3.52-3.36 (m, 3H), 3.28 (d, $J = 11.2$ Hz, 1H), 2.95 (d, $J = 5.0$ Hz, 1H), 2.84-2.69 (m, 3H), 2.53-2.47 (m, 2H), 2.31 (dd, $J = 4.0, 14.7$ Hz, 1H), 2.12 (d, $J = 14.5$ Hz, 1H), 1.99-1.88 (m, 3H), 1.62 (d, $J = 14.9$ Hz, 1H), 1.25 (d, $J = 6.5$ Hz, 3H), 1.20 (d, $J = 6.5$ Hz, 3H); ^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3) δ 174.0, 172.5, 167.6, 138.9, 134.2, 131.8, 128.9, 128.8, 128.6, 127.1, 126.6, 81.4, 70.7, 69.5, 69, 48.2, 43.8, 42.9, 41.7, 41.6, 40.4, 35.9, 35.6, 34.1, 28.3, 22.8, 22.7; IR (neat): 3325, 3082, 3061, 3026, 2969, 2933, 2872, 1736, 1644, 1525, 1363, 1277, 1227, 1108, 1044, 700 cm^{-1} ; HRMS (ESI) calcd for $\text{C}_{31}\text{H}_{39}\text{N}_4\text{O}_4^+$ $[\text{M} + \text{H}]^+$ 531.2966, found 531.2960.

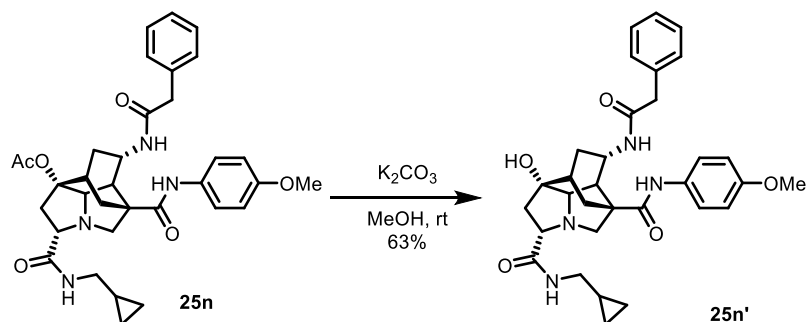
Preparation of alcohol **25k'**



Following the representative procedure using amide **25k** (44.3 mg, 0.0725 mmol, 1.0 equiv.), purification by PTLC (hexane:EtOAc = 20:80) afforded alcohol **25k'** (23.3 mg, 0.0410 mmol, 57%) as a white amorphous solid. $[\alpha]_{\text{D}}^{28.8} - 36.8$ (c 1.10 in MeOH); ^1H NMR (400 MHz, MeOD) δ 7.62-7.55 (m, 4H), 7.48 (d, $J = 7.6$ Hz, 1H), 7.35 (t, $J = 7.9$ Hz, 2H), 7.30-7.24 (m, 4H), 7.19-7.12 (m, 2H), 7.04 (t, $J = 8.8$ Hz, 2H), 4.42-4.38 (m, 1H), 3.77 (dd, $J = 4.2, 10.1$ Hz, 1H), 3.58 (d, $J = 11.2$ Hz, 1H), 3.53 (d, $J = 14.4$ Hz, 1H), 3.48 (d, $J = 14.4$ Hz, 1H), 3.26 (d, $J = 5.0$ Hz, 1H), 2.93 (dd, $J = 3.5, 4.9$ Hz, 1H), 2.76 (d, $J = 11.2$ Hz, 1H), 2.59 (dd, $J = 10.3, 14.4$ Hz, 1H), 2.38 (dd, $J = 4.3, 14.4$ Hz, 1H), 2.21 (d, $J = 14.2$ Hz, 1H), 1.94 (brs, 1H), 1.86-1.71 (m, 3H); ^{13}C NMR (100 MHz, MeOD) δ 174.7, 174, 173.4,

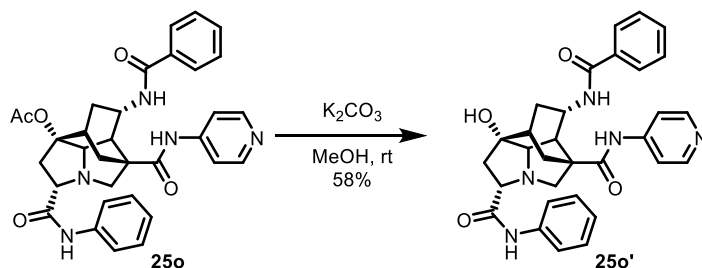
161.0 (d, $J = 242.2$ Hz), 139.1, 136.8, 135.7 (d, $J = 3.1$ Hz), 130.1, 129.9, 129.7, 128, 125.6, 124.4 (d, $J = 7.7$ Hz), 121.3, 116.1 (d, $J = 22.5$ Hz), 81.9, 71.1, 71, 68.8, 50.3, 45.8, 44.1, 44, 42.1, 37.2, 34.4, 29.6. ^{19}F NMR (376 MHz, CDCl_3) δ -117.9; IR (neat, cm^{-1}): 3463, 3027, 3015, 3003, 2967, 2946, 2924, 1737, 1441, 1366, 1216, 912, 846; HRMS (ESI) calcd for $\text{C}_{33}\text{H}_{34}\text{FN}_4\text{O}_4^+$ [$\text{M} + \text{H}^+$] 569.2559, found 569.2552

Preparation of alcohol **4n'**



Following the representative procedure using amide **25n** (37.9 mg, 0.0631 mmol, 1.0 equiv.), purification by PTLC (EtOAc:MeOH = 95:5) afforded alcohol **25n'** (22.2 mg, 0.0397 mmol, 63%) as a white amorphous solid. $[\alpha]_{\text{D}}^{28.8} - 12.8$ (c 0.99 in MeOH); ^1H NMR (400 MHz, MeOD) δ 7.43 (d, $J = 9.0$ Hz, 2H), 7.33-7.21 (m, 5H), 6.86 (d, $J = 9.0$ Hz, 2H), 4.39 (td, $J = 3.8, 10.2$ Hz, 1H), 3.76 (s, 3H), 3.59 (dd, $J = 4.5, 10.1$ Hz, 1H), 3.56-3.47 (m, 3H), 3.17 (d, $J = 5.1$ Hz, 1H), 3.10 (d, $J = 7.0$ Hz, 2H), 2.85 (dd, $J = 3.6, 5.0$ Hz, 1H), 2.66 (d, $J = 11.0$ Hz, 1H), 2.52 (dd, $J = 10.6, 14.2$ Hz, 1H), 2.24 (dd, $J = 4.6, 14.3$ Hz, 1H), 2.18 (d, $J = 14.5$ Hz, 1H), 1.90 (brs, 1H), 1.85-1.74 (m, 2H), 1.66 (d, $J = 14.6$ Hz, 1H), 1.06-0.97 (m, 1H), 0.53-0.48 (m, 2H), 0.26-0.23 (m, 2H); ^{13}C NMR (100 MHz, MeOD) δ 176.7, 174.1, 173.3, 158.3, 136.8, 132.4, 130.2, 129.7, 128, 124.3, 114.9, 81.8, 71, 70.7, 69.2, 55.9, 50.2, 46, 44.8, 44.4, 44, 42.2, 37.3, 34.4, 29.8, 11.6, 3.8, 3.7; IR (neat): 3449, 3026, 3018, 3001, 2967, 2941, 1737, 1643, 1511, 1441, 1366, 1216, 1111, 1030, 900, 827, 726 cm^{-1} ; HRMS (ESI) calcd for $\text{C}_{32}\text{H}_{39}\text{N}_4\text{O}_5^+$ [$\text{M} + \text{H}^+$] 559.2915, found 559.2911.

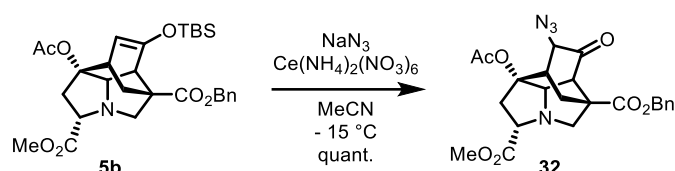
Preparation of alcohol **25o'**



Following the representative procedure using amide **25o** (37.5 mg, 0.0647 mmol, 1.0 equiv.), purification by PTLC (EtOAc:MeOH = 90:10) afforded alcohol **25o'** (14.1 mg, 0.0454 mmol, 70%) as a white amorphous solid. $[\alpha]_{\text{D}}^{25.5} - 14.3$ (c 0.580 in MeOH); ^1H NMR (400 MHz, CD_3CN) δ 9.84 (s, 1H), 8.72 (s, 1H), 8.45 (d, $J = 6.0$ Hz, 1H), 7.80-7.77 (m, 2H), 7.71-7.69 (m, 2H), 7.62 (d, $J = 7.6$ Hz, 2H), 7.53-7.49 (m, 1H), 7.44 (t, $J = 7.4$ Hz, 2H), 7.29 (t, $J = 7.9$ Hz, 2H), 7.18 (d, $J = 7.6$ Hz, 1H), 7.06 (t, $J = 7.4$ Hz, 1H), 4.63-4.58 (m, 1H), 3.69 (dd, $J = 4.3, 10.3$ Hz, 1H), 3.51 (d, $J = 11.1$ Hz, 1H), 3.36 (d, $J = 5.2$ Hz, 1H), 3.03 (dd, $J = 3.6, 5.0$ Hz, 1H), 2.78 (d, $J =$

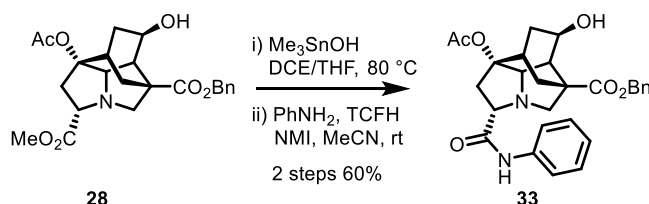
11.0 Hz, 1H), 2.61 (dd, $J = 10.3, 14.5$ Hz, 1H), 2.36 (dd, $J = 4.6, 14.6$ Hz, 1H), 2.10 (d, $J = 14.4$ Hz, 1H), 2.02-1.98 (m, 2H), 1.87-1.77 (m, 2H); ^{13}C NMR (125 MHz, CDCl_3) δ 174.1, 173.5, 167.6, 151.5, 146.9, 139.6, 135.6, 132.4, 129.8, 129.5, 127.9, 124.7, 120.5, 114.9, 82.3, 71, 70.7, 68.5, 50.3, 45.1, 44, 42.4, 36.9, 34.4, 29.2; IR (neat, cm^{-1}): 3367, 3255, 3033, 3005, 2938, 2869, 1646, 1592, 1519, 1444, 1417, 1329, 1284, 1051, 1032, 832, 754, 693; HRMS (ESI) calcd for $\text{C}_{31}\text{H}_{32}\text{N}_5\text{O}_4^+$ $[\text{M} + \text{H}]^+$ 538.2449, found 580. 538.2441.

Preparation of azide **32**



Following the slightly modified procedure reported in the literature,⁷ to a solution of silyl enol ether **5b** (162 mg, 0.299 mmol, 1.0 equiv.) in MeCN (1.2 mL) was added ammonium cerium(IV) nitrate (509 mg, 0.928 mmol, 3.1 equiv.) dissolved in MeCN (3.6 mL). After being stirred for 20 min at $-15\text{ }^\circ\text{C}$ under an argon atmosphere, the reaction mixture was diluted with saturated aqueous NaHCO_3 , and the aqueous layer was extracted with EtOAc for three times. The combined organic layers were washed with brine, dried over Mg_2SO_4 , filtered, and concentrated under reduced pressure. The residue was purified by silica gel column chromatography (hexane:EtOAc = 60:40 to hexane:EtOAc = 30:70) to afford azide **32** (139 mg, 0.297 mmol, quant.) as a white amorphous solid. $[\alpha]_{\text{D}}^{21.5} + 96.2$ (c 1.00 in CHCl_3); ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 7.37-7.28 (m, 5H), 5.14 (d, $J = 12.2$ Hz, 1H), 5.09 (d, $J = 12.2$ Hz, 1H), 3.86 (dd, $J = 3.9, 9.8$ Hz, 1H), 3.88-3.68 (m, 6H), 3.24 (d, $J = 5.0$ Hz, 1H), 2.97 (d, $J = 2.8$ Hz, 1H), 2.78 (dd, $J = 9.8, 15.6$ Hz, 1H), 2.72-2.65 (m, 2H), 2.60 (dd, $J = 3.9, 15.6$ Hz, 1H), 2.05 (2, 3H), 1.52-1.48 (m, 1H); ^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3) δ 205.6, 173.4, 171.3, 170.1, 135.1, 128.7, 128.6, 128.2, 87.8, 72, 69.1, 67.6, 67.5, 58.1, 55.8, 52.6, 50.8, 39.9, 38.4, 27.1, 21.5; IR (neat, cm^{-1}): 3090, 3065, 3033, 2953, 2890, 2106, 1734, 1455, 1436, 1371, 1275, 1240, 1078, 1035, 749, 698; HRMS (ESI) calcd for $\text{C}_{23}\text{H}_{25}\text{N}_4\text{O}_7^+$ $[\text{M} + \text{H}]^+$ 469.1718, found 469.1705.

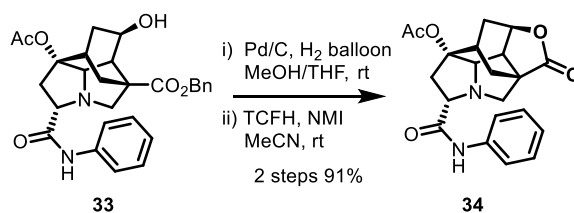
Preparation of amide **33**



To a solution of alcohol **28** (76.7 mg, 0.179 mmol, 1.0 equiv.) in 1,2-dichloroethane (700 μL) was added trimethyltin hydroxide (49.3 mg, 0.273 mmol, 1.5 equiv.), and the reaction mixture was stirred for 1 h at $80\text{ }^\circ\text{C}$ under an argon atmosphere. After this time, another amount of trimethyltin hydroxide (51.1 mg, 0.284 mmol, 1.6 equiv.). After being stirred for 1 h, the reaction mixture was passed through a pad of silica gel with MeOH, and the filtrate was concentrated under reduced pressure to afford crude carboxylic acid (60.8 mg) as a white solid.

To a solution of crude carboxylic acid (60.8 mg), *N*-methylimidazole (35.0 μ L, 0.439 mmol, 2.5 equiv.), and aniline (16.0 μ L, 0.175 mmol, 0.98 equiv.) in MeCN (500 μ L) was added TCFH (125 mg, 0.445 mmol, 2.5 equiv.). After being stirred for 30 min at room temperature under an argon atmosphere, the reaction mixture was diluted with saturated aqueous NaHCO₃, and the aqueous layer was extracted with EtOAc for three times. The combined organic layers were washed with brine, dried over Mg₂SO₄, filtered, and concentrated under reduced pressure. The residue was purified by silica gel column chromatography (hexane:EtOAc = 60:40 to 55:45) to afford amide **33** (52.4 mg, 0.107 mmol, 2 steps 60%) as a white solid. $[\alpha]_D^{22.3}$ -25.9 (c 1.00 in CHCl₃); ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 9.59 (s, 1H), 7.61 (d, J = 7.7 Hz, 1H), 7.41-7.32 (m, 7H), 7.11 (t, J = 7.4 Hz, 1H), 5.20 (d, J = 12.2 Hz, 1H), 5.16 (d, J = 12.2 Hz, 1H), 4.18-4.12 (m, 1H), 3.73-3.70 (m, 2H), 3.46 (dd, J = 5.3, 28.3 Hz, 1H), 2.93-2.87 (m, 2H), 2.83 (dd, J = 2.5, 5.1 Hz, 1H), 2.67-2.59 (m, 3H), 2.48-2.44 (m, 1H), 2.18-2.12 (m, 1H), 1.98 (s, 3H), 1.59 (m, 1H), 1.26-1.21 (m, 1H); ¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃) δ 175.6, 171.7, 170, 137.7, 135.4, 129.2, 128.9, 128.8, 128.4, 124.4, 119.6, 88.9, 71.6, 71.4, 69, 67.6, 63.7, 48.5, 46.9, 39.9, 33.8, 33.6, 31.6, 21.5; IR (neat, cm⁻¹): 3446, 3273, 3089, 3060, 3032, 2953, 2888, 1730, 1674, 1599, 1519, 1443, 1246, 1091, 1079, 912, 753, 732, 696; HRMS (ESI) calcd for C₂₈H₃₁N₃O₆⁺ [M + H]⁺ 491.2177, found 491.2182.

Preparation of lactone **34**



To a solution of amide **33** (63.8 mg, 0.130 mmol, 1.0 equiv.) in MeOH (1.0 mL) and THF (500 μ L) was added Pd/C (11.1 mg, 17wt%) and stirred for 3 h at room temperature under H₂ atmosphere. The reaction mixture was passed through a pad of Celite[®], and the filtrate was concentrated under reduced pressure to afford crude carboxylic acid (57.4 mg) as a white amorphous solid.

To a mixture of crude carboxylic acid (57.4 mg) and *N*-methylimidazole (31.0 μ L, 0.393 mmol, 3.0 equiv.) in MeCN (1.0 mL) was added TCFH (76.2 mg, 0.272 mmol, 2.1 equiv.). After being stirred for 20 min at room temperature under an argon atmosphere, the reaction mixture was diluted with saturated aqueous NaHCO₃, and the aqueous layer was extracted with EtOAc for three times. The combined organic layers were washed with brine, dried over Mg₂SO₄, filtered, and concentrated under reduced pressure. The residue was purified by PTLC (hexane:EtOAc = 75:25) to afford lactone **34** (45.0 mg, 0.118 mmol, 2 steps 91%) as a white amorphous solid. $[\alpha]_D^{25.5}$ -12.9 (c 0.945 in MeOH); ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 9.55 (brs, 1H), 7.62 (d, J = 7.8 Hz, 2H), 7.34 (t, J = 7.8 Hz, 2H), 7.12 (t, J = 7.4 Hz, 1H), 4.78 (t, J = 5.5 Hz, 1H), 3.75 (dd, J = 5.6, 10.6 Hz, 1H), 3.48 (d, J = 5.2 Hz, 1H), 3.41 (d, J = 10.8 Hz, 1H), 3.18 (t, J = 5.3 Hz, 1H), 3.08 (dd, J = 10.7, 15.6 Hz, 1H), 2.82 (brs, 1H), 2.68 (dd, J = 5.6, 15.5 Hz, 1H), 2.50 (d, J = 10.9 Hz, 1H), 2.22 (dd, J = 2.7, 15.1 Hz, 1H), 2.01 (s, 3H), 1.93-1.82 (m, 2H), 1.56 (d, J = 15.1 Hz, 1H); ¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃) δ 172.9, 171.5, 169.7, 137.5, 129.2, 124.5, 119.6, 86.1, 74.7, 71.5, 63.6, 59.6, 49.1, 47, 41.8, 32, 30.8, 26.7, 21.5; IR (neat, cm⁻¹): 3270, 2955, 2935, 1780,

1732, 1681, 1599, 1520, 1443, 1371, 1235, 1070, 1052, 907, 845, 755, 695; HRMS (ESI) calcd for $C_{21}H_{23}N_2O_5^+$ $[M + H]^+$ 383.1601, found 383.1603.

HPLC analysis of 5b

HPLC analysis of 22b on Daicel CHIRALCEL® OD (*i*-PrOH/hexane = 80:20, flow rate = 1.0 mL/min, 254 nm) indicated 97% ee: tR (major) = 4.30 min., tR (minor) = 6.47 min

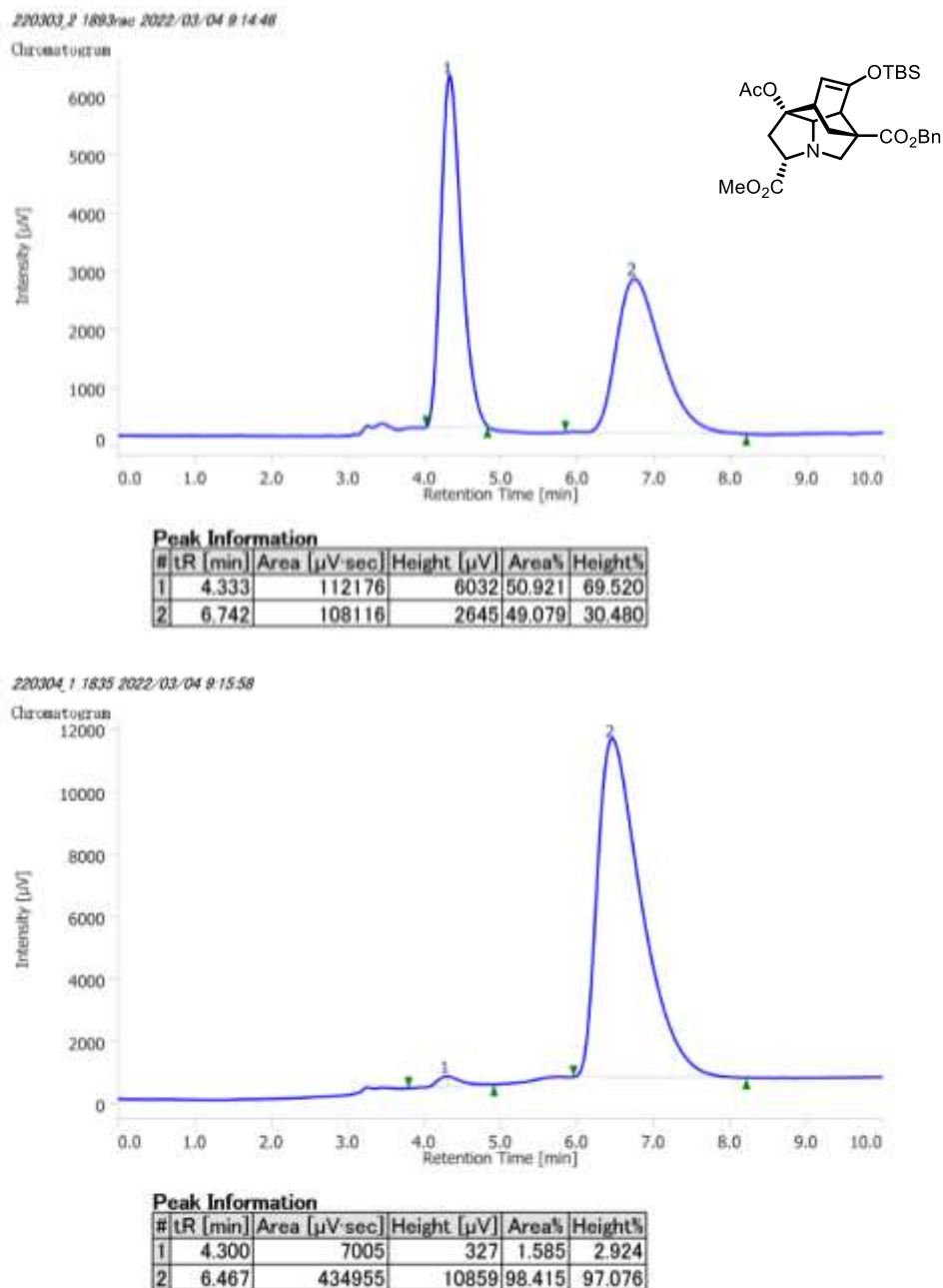


Figure S1. HPLC analysis of 5b

X-ray structural analysis of 24a

checkCIF/PLATON report

Structure factors have been supplied for datablock(s) crl41-1740_autored

THIS REPORT IS FOR GUIDANCE ONLY. IF USED AS PART OF A REVIEW PROCEDURE FOR PUBLICATION, IT SHOULD NOT REPLACE THE EXPERTISE OF AN EXPERIENCED CRYSTALLOGRAPHIC REFEREE.

No syntax errors found. CIF dictionary Interpreting this report

Datablock: crl41-1740_autored

Bond precision: C-C = 0.0098 Å Wavelength=1.54184

Cell: a=6.1843(1) b=11.5565(1) c=34.6069(3)
 alpha=90 beta=90 gamma=90

Temperature: 90 K

	Calculated	Reported
Volume	2473.32(5)	2473.32(5)
Space group	P 21 21 21	P 21 21 21
Hall group	P 2ac 2ab	P 2ac 2ab
Moiety formula	C27 H31 N3 O3, Cl	Cl, C27 H31 N3 O3
Sum formula	C27 H31 Cl N3 O3	C27 H31 Cl N3 O3
Mr	481.00	481.00
Dx, g cm ⁻³	1.292	1.292
Z	4	4
Mu (mm ⁻¹)	1.636	1.636
F000	1020.0	1020.0
F000'	1024.22	
h, k, lmax	7, 14, 43	7, 14, 43
Nref	5235 [3029]	5034
Tmin, Tmax	0.851, 0.926	0.529, 1.000
Tmin'	0.729	

Correction method= # Reported T Limits: Tmin=0.529 Tmax=1.000
 AbsCorr = MULTI-SCAN

Data completeness= 1.66/0.96 Theta(max)= 76.681

R(reflections)= 0.0934(4922) wR2(reflections)=
 S = 1.054 Npar= 384 0.2563(5034)

The following ALERTS were generated. Each ALERT has the format

test-name_ALERT_alert-type_alert-level.

Click on the hyperlinks for more details of the test.

● Alert level B

PLAT035_ALERT_1_B	_chemical_absolute_configuration Info	Not Given	Please Do !
PLAT094_ALERT_2_B	Ratio of Maximum / Minimum Residual Density	4.57 Report
PLAT097_ALERT_2_B	Large Reported Max. (Positive) Residual Density		1.92 eA-3
PLAT971_ALERT_2_B	Check Calcd Resid. Dens.	0.80Ang From N7	2.82 eA-3

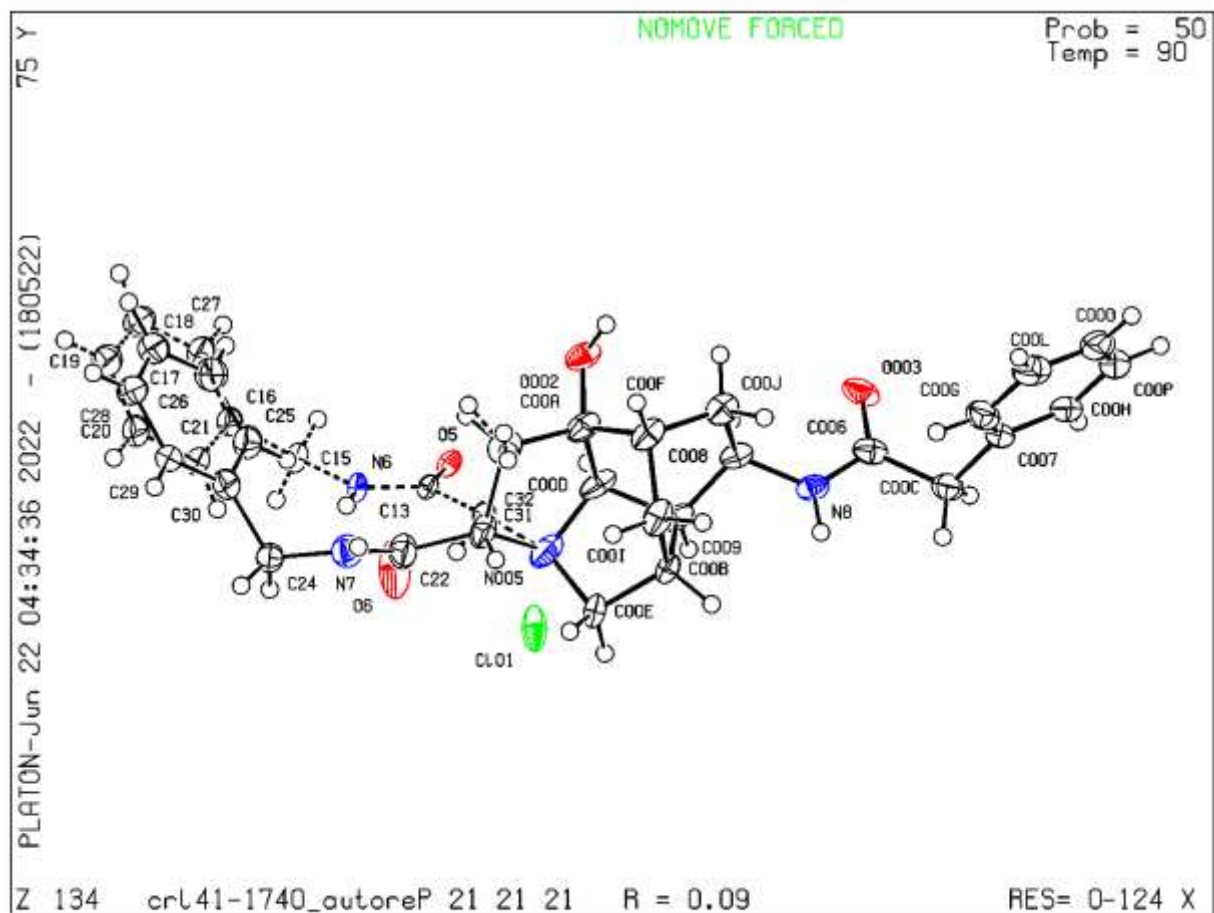
● Alert level C

DIPMX02_ALERT_1_C	The maximum difference density is > 0.1*ZMAX*0.75 The relevant atom site should be identified.		
PLAT042_ALERT_1_C	Calc. and Reported MoietyFormula Strings Differ		Please Check
PLAT084_ALERT_3_C	High wR2 Value (i.e. > 0.25)	0.26 Report
PLAT213_ALERT_2_C	Atom O6	has ADP max/min Ratio	3.1 prolat
PLAT234_ALERT_4_C	Large Hirshfeld Difference N005	--C32	0.17 Ang.
PLAT340_ALERT_3_C	Low Bond Precision on C-C Bonds	0.00984 Ang.
PLAT431_ALERT_2_C	Short Inter HL..A Contact C101	..N005	3.06 Ang.
		x,y,z =	1_555 Check
PLAT906_ALERT_3_C	Large K Value in the Analysis of Variance	2.281 Check
PLAT918_ALERT_3_C	Reflection(s) with I(obs) much Smaller I(calc)		3 Check
PLAT975_ALERT_2_C	Check Calcd Resid. Dens.	1.09Ang From N005	0.45 eA-3

● Alert level G

PLAT003_ALERT_2_G	Number of Uiso or Uij Restrained non-H Atoms	...	45 Report
PLAT007_ALERT_5_G	Number of Unrefined Donor-H Atoms	4 Report
PLAT072_ALERT_2_G	SHELXL First Parameter in WGHT Unusually Large		0.15 Report
PLAT083_ALERT_2_G	SHELXL Second Parameter in WGHT Unusually Large		6.47 Why ?
PLAT142_ALERT_4_G	s.u. on b - Axis Small or Missing	0.00010 Ang.
PLAT143_ALERT_4_G	s.u. on c - Axis Small or Missing	0.00030 Ang.
PLAT178_ALERT_4_G	The CIF-Embedded .res File Contains SIMU Records		2 Report
PLAT186_ALERT_4_G	The CIF-Embedded .res File Contains ISOR Records		2 Report
PLAT301_ALERT_3_G	Main Residue Disorder(Resd 1)	33% Note
PLAT410_ALERT_2_G	Short Intra H...H Contact H00F	..H32	1.92 Ang.
		x,y,z =	1_555 Check
PLAT720_ALERT_4_G	Number of Unusual/Non-Standard Labels	45 Note
PLAT791_ALERT_4_G	Model has Chirality at C008	(Sohnke SpGr)	R Verify
PLAT791_ALERT_4_G	Model has Chirality at C009	(Sohnke SpGr)	R Verify
PLAT791_ALERT_4_G	Model has Chirality at C00B	(Sohnke SpGr)	R Verify
PLAT791_ALERT_4_G	Model has Chirality at C00D	(Sohnke SpGr)	R Verify
PLAT791_ALERT_4_G	Model has Chirality at C00F	(Sohnke SpGr)	S Verify
PLAT811_ALERT_5_G	No ADDSYM Analysis: Too Many Excluded Atoms	! Info
PLAT860_ALERT_3_G	Number of Least-Squares Restraints	738 Note
PLAT912_ALERT_4_G	Missing # of PCF Reflections Above STh/L=	0.600	54 Note
PLAT978_ALERT_2_G	Number C-C Bonds with Positive Residual Density.		1 Info

0 ALERT level A - Most likely a serious problem - resolve or explain
 4 ALERT level B - A potentially serious problem, consider carefully
 10 ALERT level C - Check. Ensure it is not caused by an omission or oversight
 20 ALERT level G - General information/check it is not something unexpected



Biology

Cell culture

Human epithelioid cervical carcinoma (HeLa) cells were incubated with DMEM medium (FUJIFILM Wako Pure Chemical) containing 10% fetal bovine serum (Gibco; Thermo Fisher Scientific) and 1% penicilline/streptomycine (Gibco, 15070063). Cells were incubated in a cell incubator with 5% CO₂ at 37 °C.

MTT assay

HeLa cells (1.0×10^3 cells/dish) were seeded in a 96-well plate and incubated at 37°C for 24 h in 5% CO₂. The medium was replaced with new medium containing indicated concentration compounds. After incubation at 37°C for 72 h in 5% CO₂, the medium was replaced with new medium containing 0.5 mg/mL thiazolyl blue tetrazolium bromide (MTT). After incubation for 3 h at 37 °C, the medium was removed, and 150 µL of dimethyl sulfoxide (DMSO) was added. Absorbance at 590 nm were measured using a microplate reader.

PMI analysis

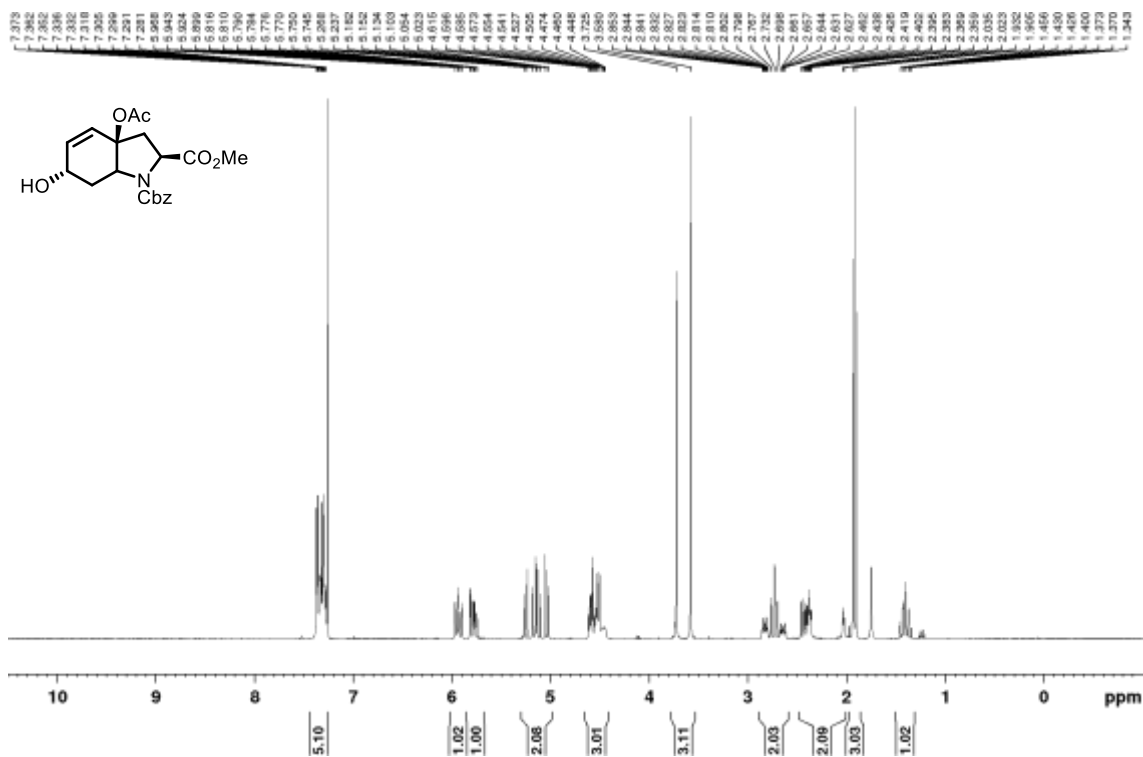
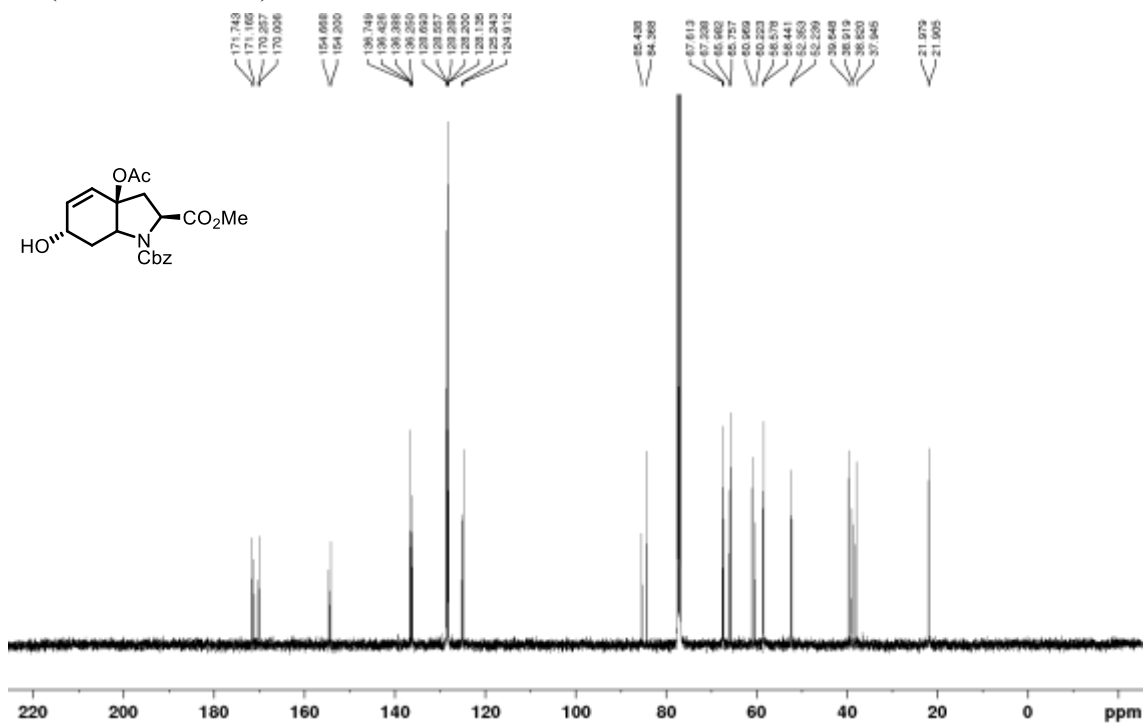
PMI analysis⁵ of the synthesized compounds was performed as follows. Conformers of the compounds were generated using “iconfgen” module implemented in LigandScout 4.4.⁸ Normalized PMIs (npr1, npr2) were calculated for the structures with the lowest energy among the generated conformers, using RDKit.⁹

References

- (1) Pierce, J. G.; Kasi, D.; Fushimi, M.; Cuzzupe, A.; Wipf, P. Synthesis of Hydroxylated Bicyclic Amino Acids from L-Tyrosine: Octahydro-1H-Indole Carboxylates. *J. Org. Chem.* **2008**, *73*, 7807–7810.
- (2) Liu, H.; Ge, L.; Wang, D.-X.; Chen, N.; Feng, C. Photoredox-Coupled F-Nucleophilic Addition: Alkylation of Gem-Difluoroalkenes. *Angew. Chem. Int. Ed Engl.* **2019**, *58*, 3918–3922.
- (3) Wipf, P.; Rector, S. R.; Takahashi, H. Total Synthesis of (-)-Tuberostemonine. *J. Am. Chem. Soc.* **2002**, *124*, 14848–14849.
- (4) Nicolaou, K. C.; Estrada, A. A.; Zak, M.; Lee, S. H.; Safina, B. S. A Mild and Selective Method for the Hydrolysis of Esters with Trimethyltin Hydroxide. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2005**, *44*, 1378–1382.
- (5) Beutner, G. L.; Young, I. S.; Davies, M. L.; Hickey, M. R.; Park, H.; Stevens, J. M.; Ye, Q. TCFH-NMI: Direct Access to N-Acyl Imidazoliums for Challenging Amide Bond Formations. *Org. Lett.* **2018**, *20*, 4218–4222.
- (6) Shiina, I.; Ibuka, R.; Kubota, M. A New Condensation Reaction for the Synthesis of Carboxylic Esters from Nearly Equimolar Amounts of Carboxylic Acids and Alcohols Using 2-Methyl-6-Nitrobenzoic Anhydride. *Chem. Lett.* **2002**, *31*, 286–287.
- (7) Magnus, P.; Barth, L. Oxidative addition of azide anion to triisopropylsilyl enol ethers: synthesis of α -azido ketones. *Tetrahedron Lett.* **1992**, *33*, 2777–2780.
- (8) Sauer, W. H. B.; Schwarz, M. K. Molecular Shape Diversity of Combinatorial Libraries: A Prerequisite for Broad Bioactivity. *J. Chem. Inf. Comput. Sci.* **2003**, *43*, 987–1003.
- (9) RDKit: Cheminformatics and Machine Learning Software. <http://www.rdkit.org>.

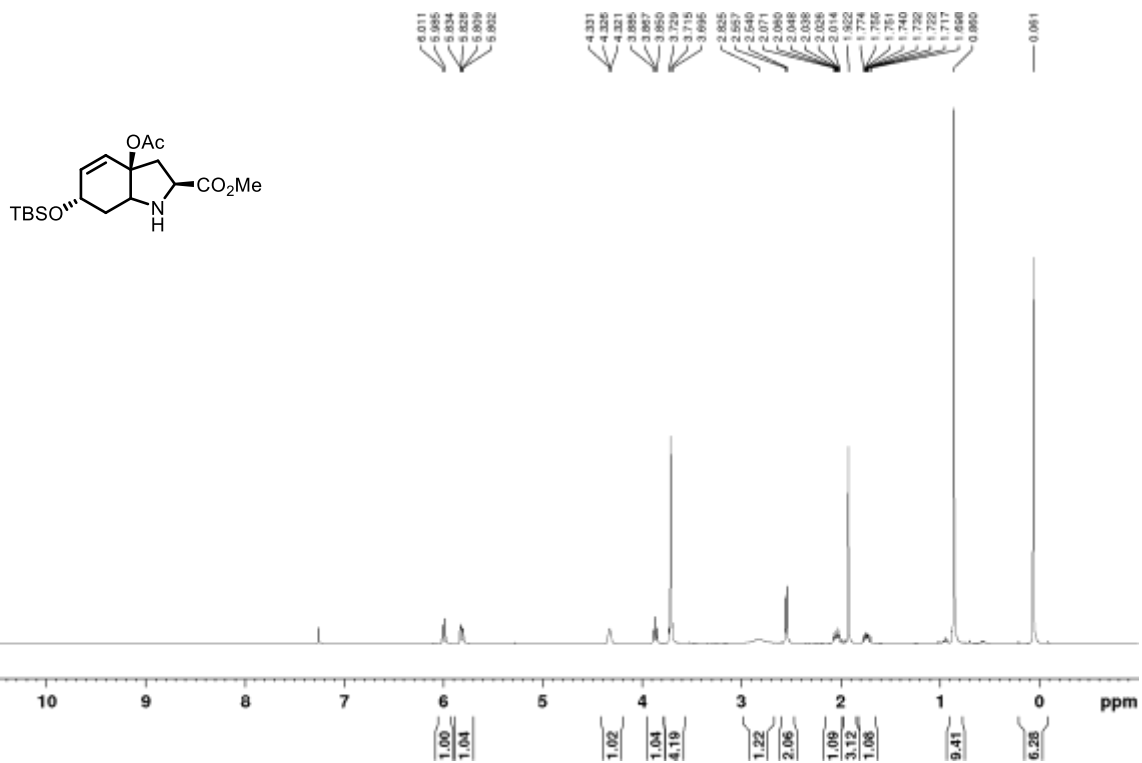
NMR spectra

Alcohol 10

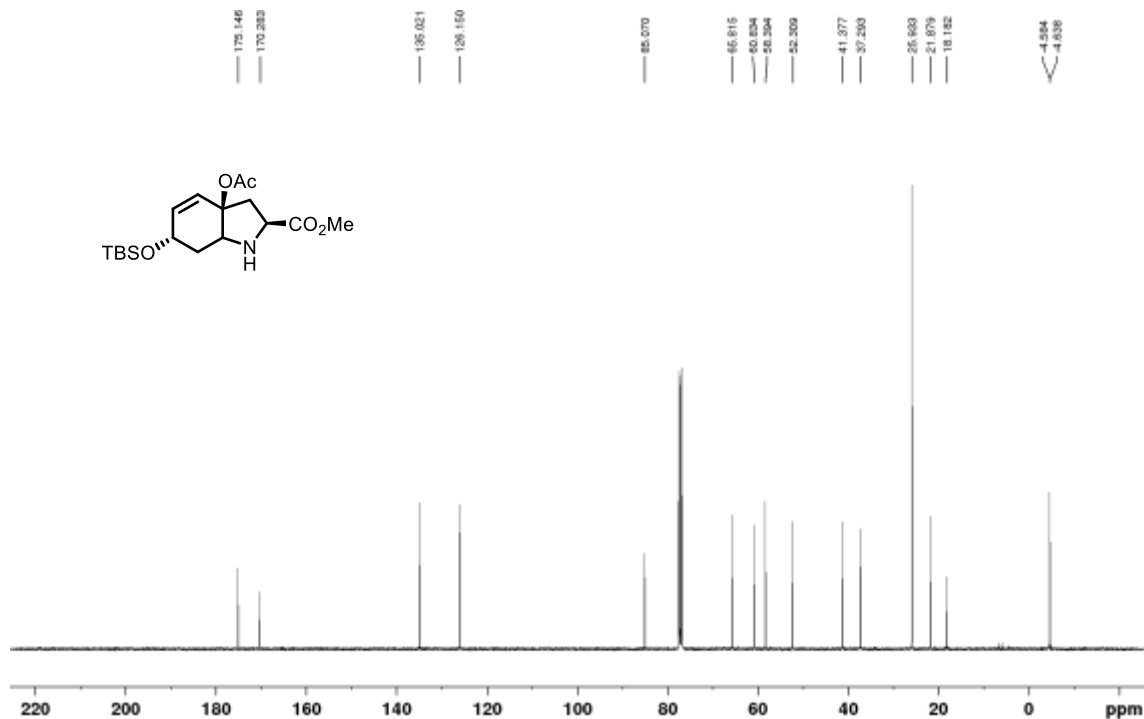
 ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) ^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3)

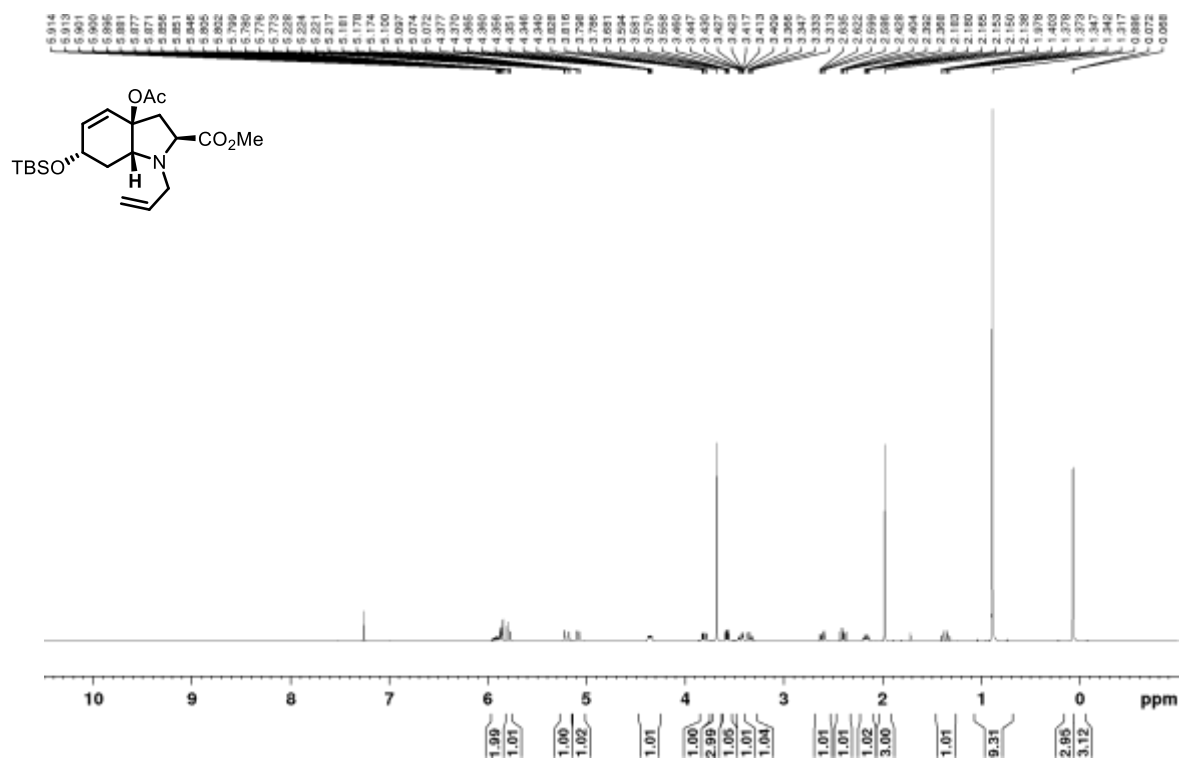
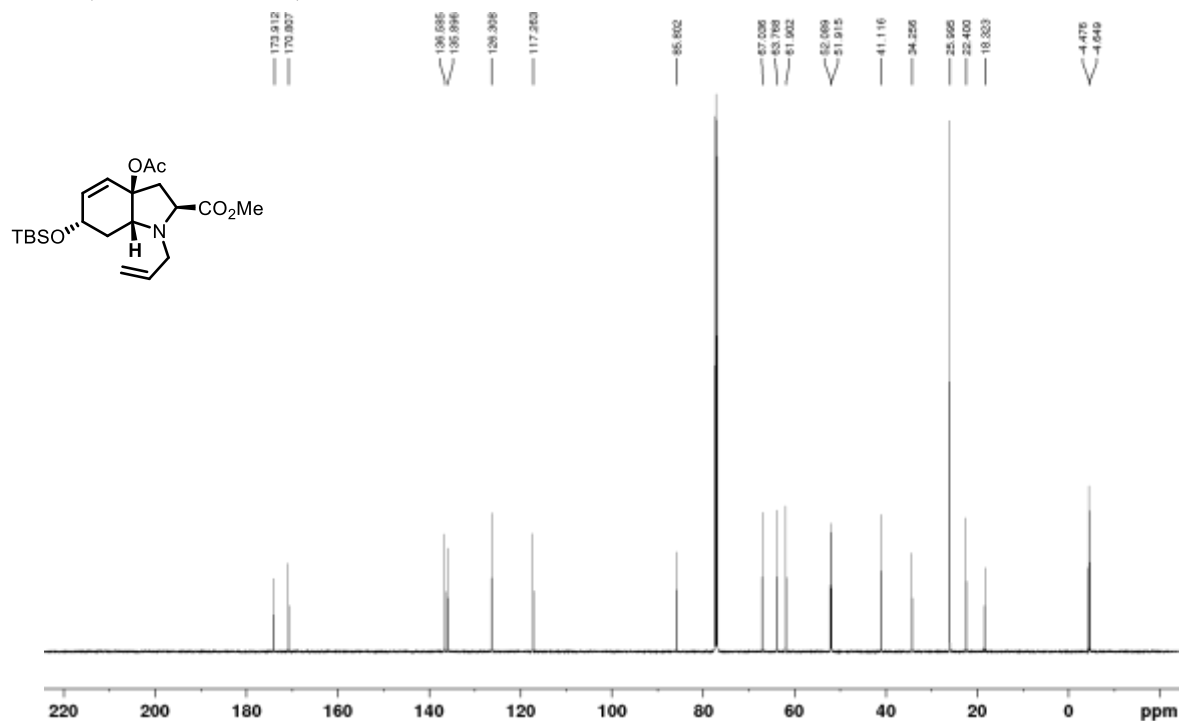
Amine 12

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3)



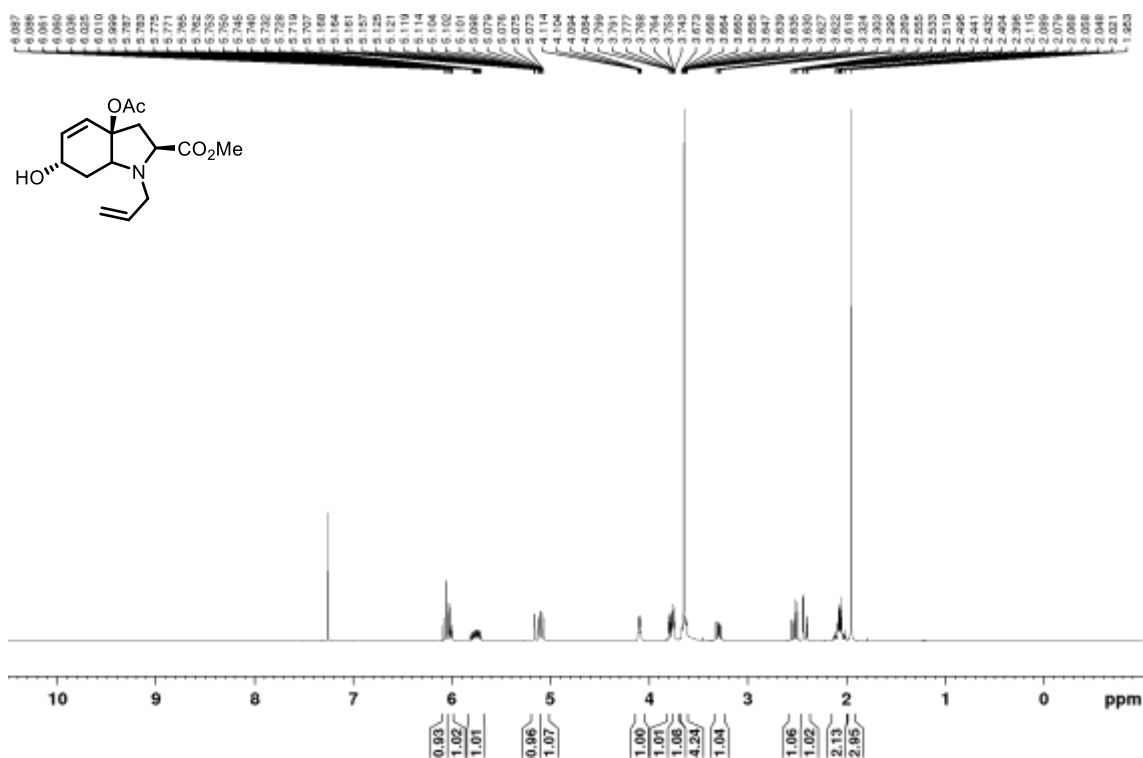
^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3)



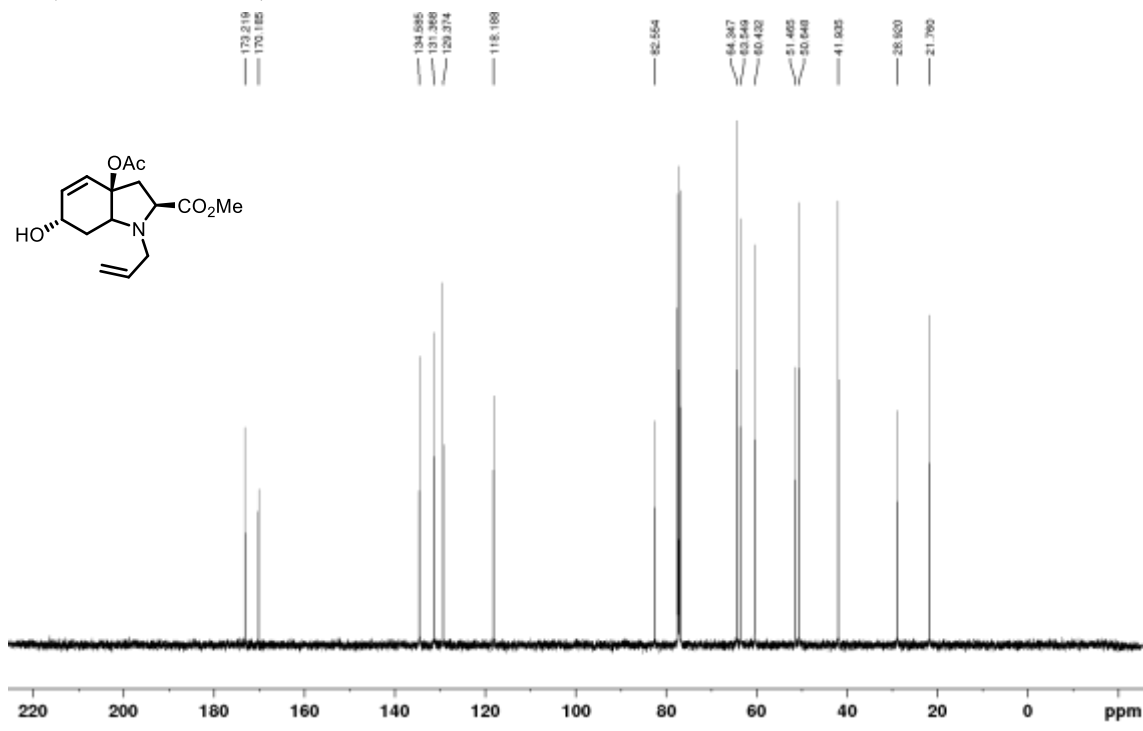
Allyl amine **13a** ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) ^{13}C NMR (125 MHz, CDCl_3)

Alcohol 14a

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃)

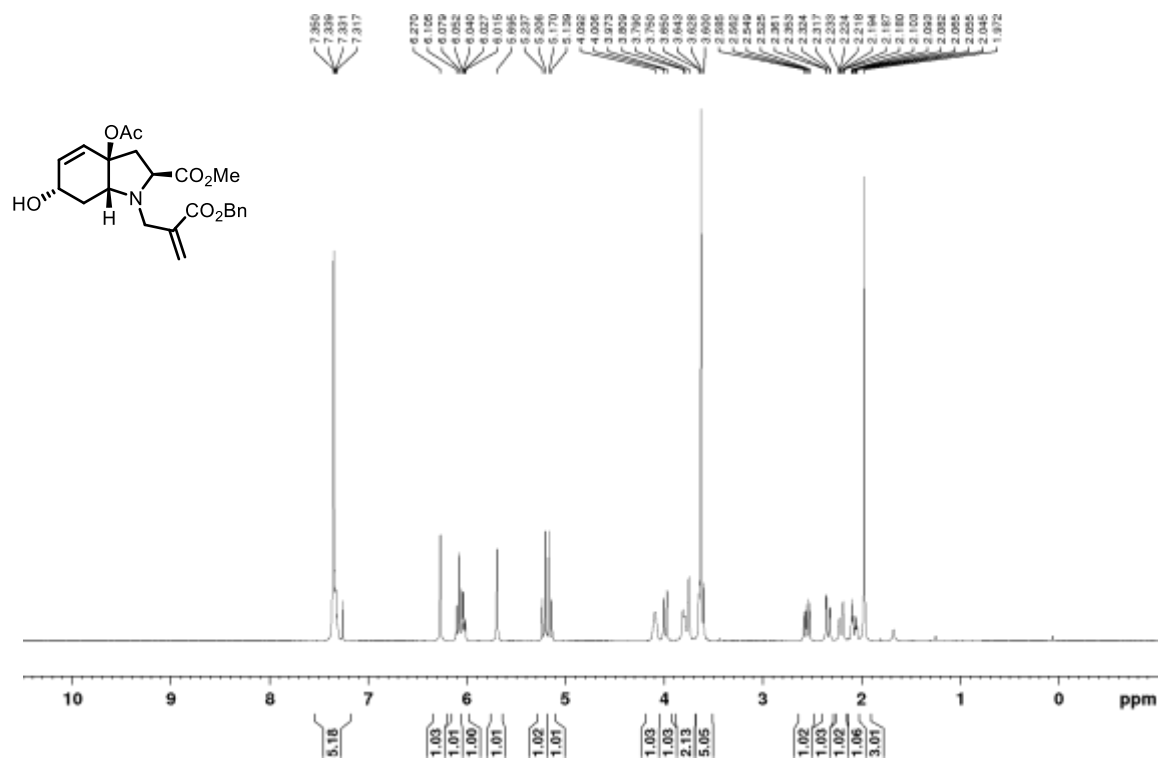


¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃)

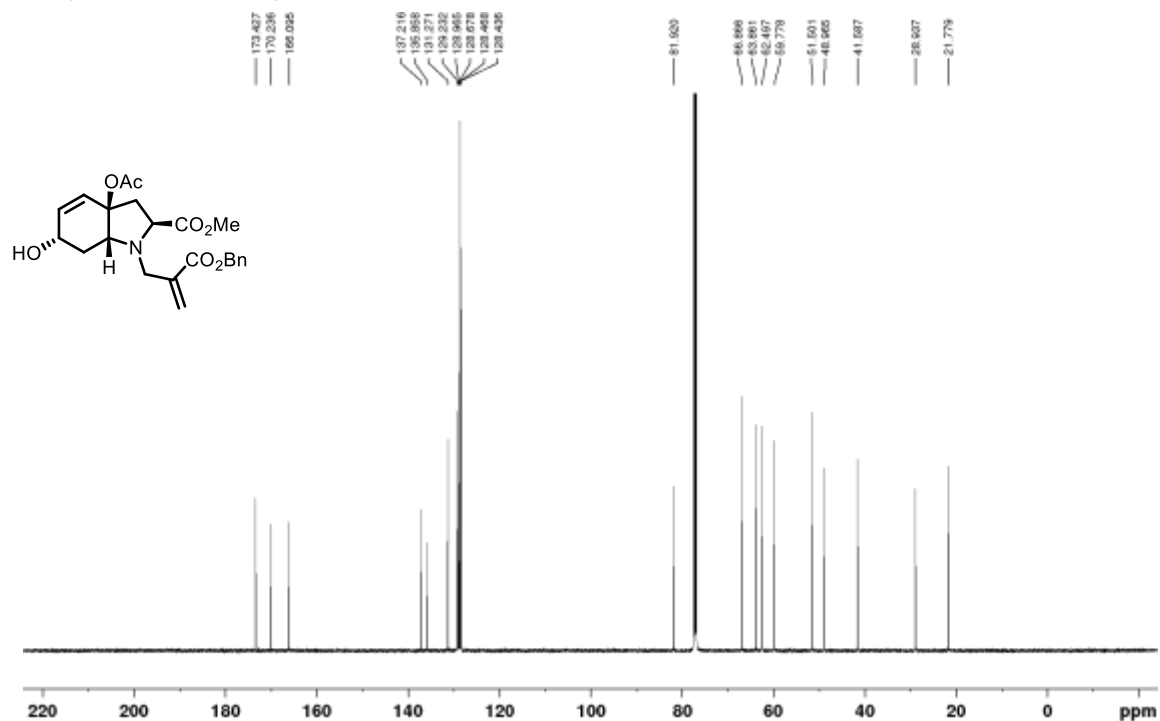


Alcohol **14b**

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃)

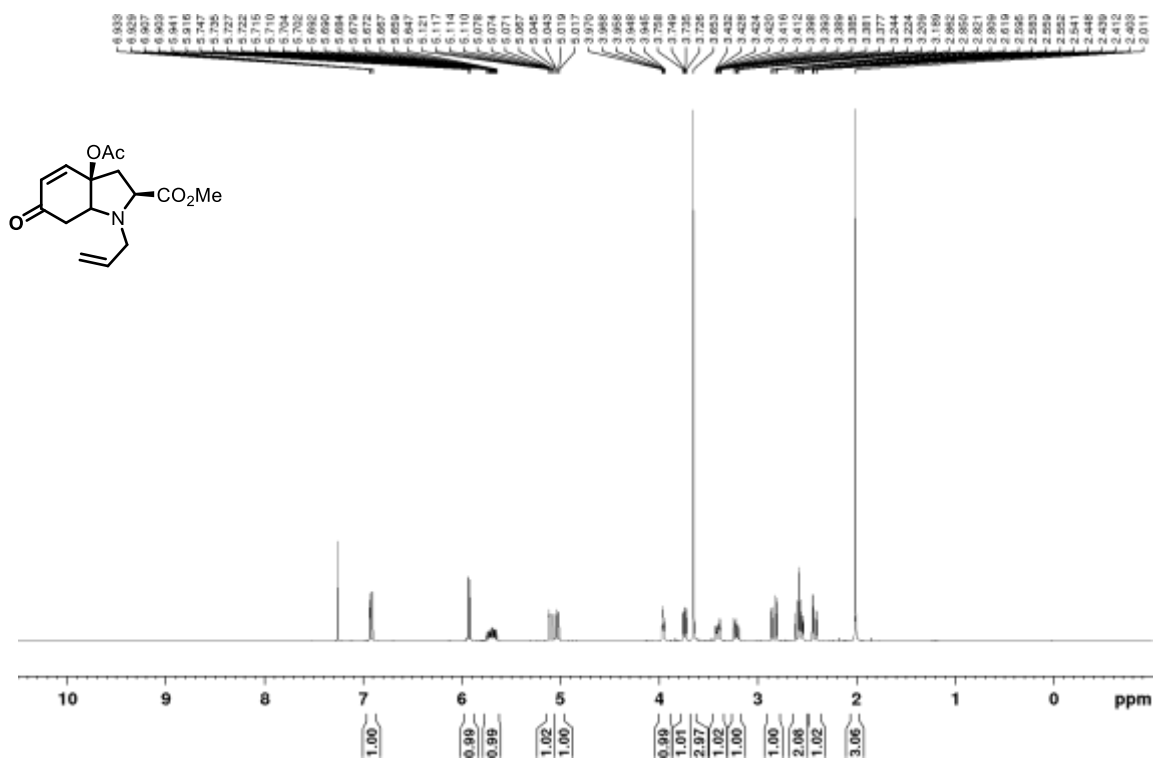


¹³C NMR (125 MHz, CDCl₃)

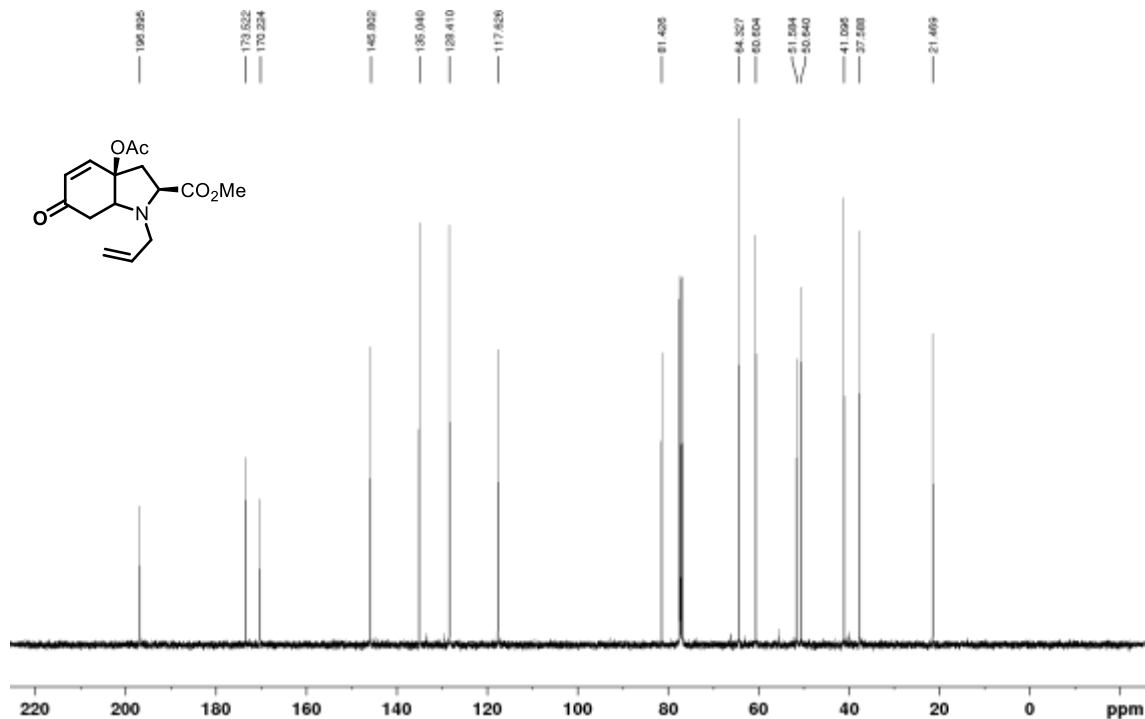


Enone **15a**

$^1\text{H NMR}$ (400 MHz, CDCl_3)

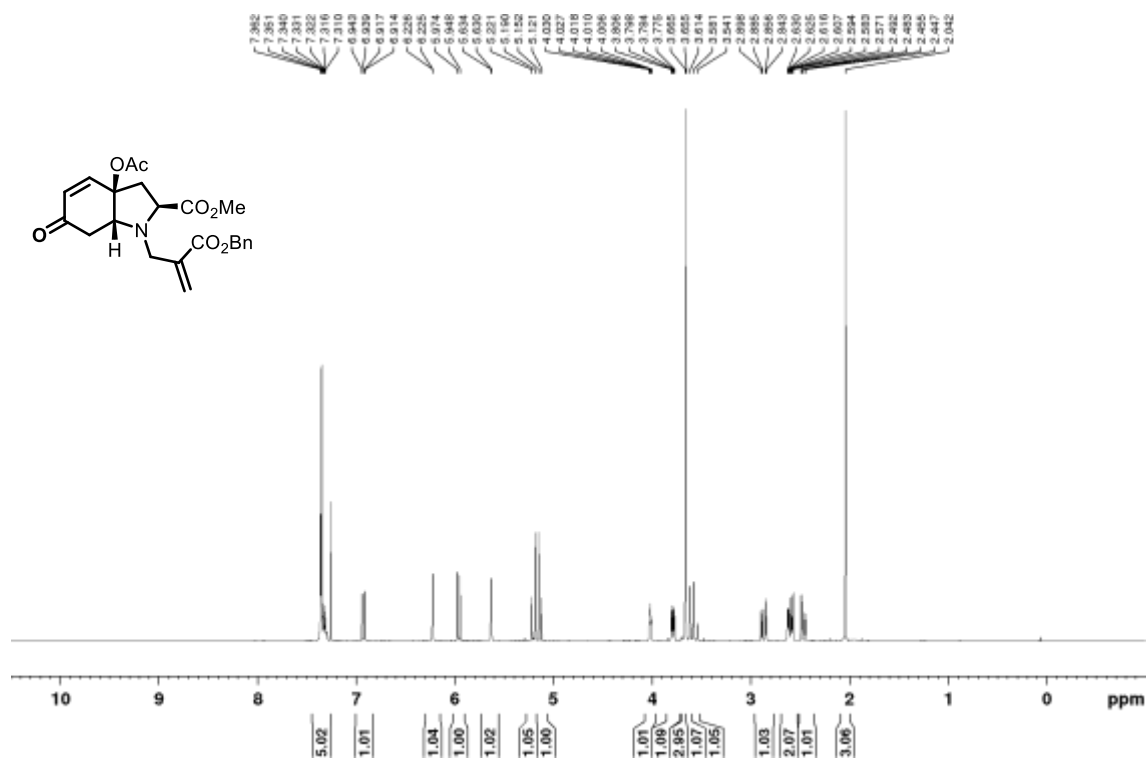


$^{13}\text{C NMR}$ (100 MHz, CDCl_3)

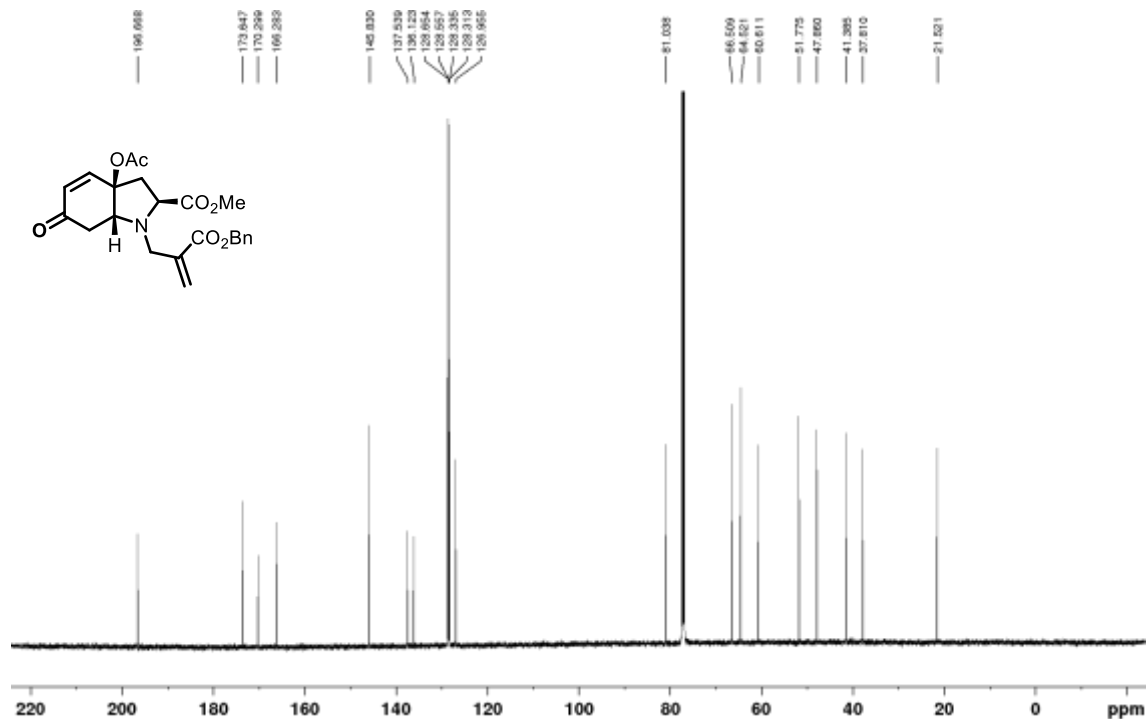


Enone **15b**

$^1\text{H NMR}$ (400 MHz, CDCl_3)

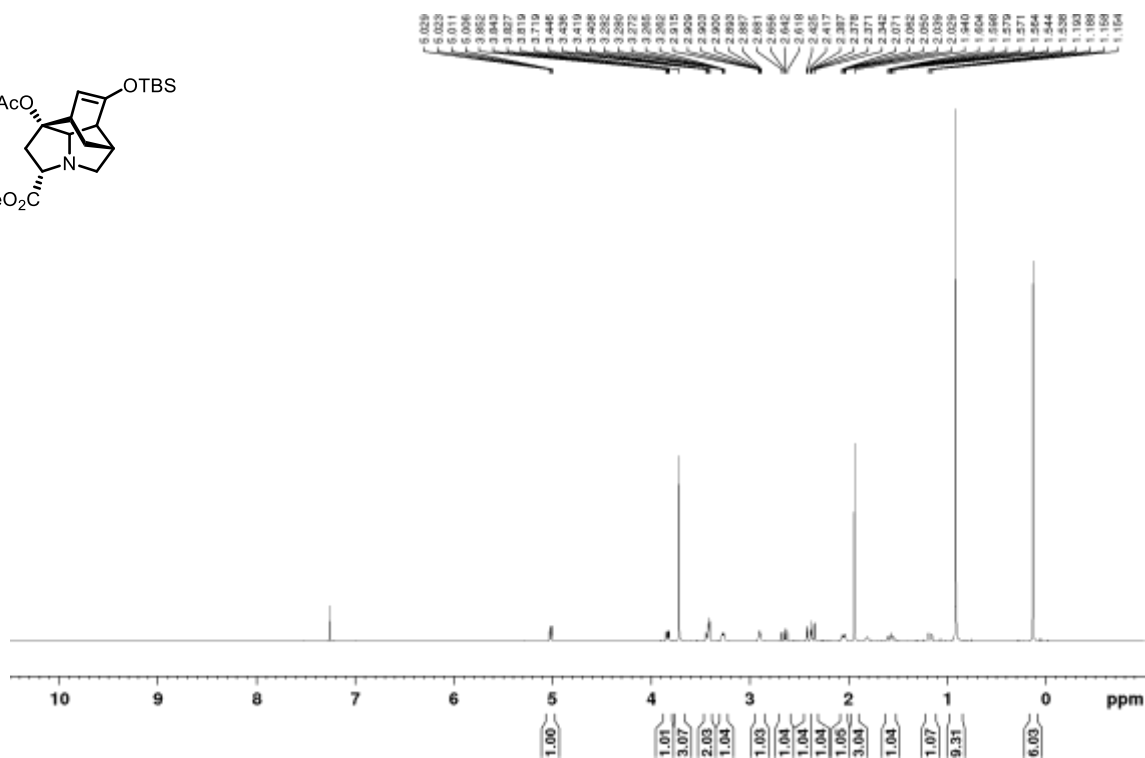
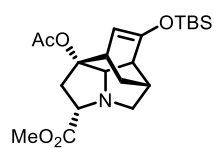


$^{13}\text{C NMR}$ (125 MHz, CDCl_3)

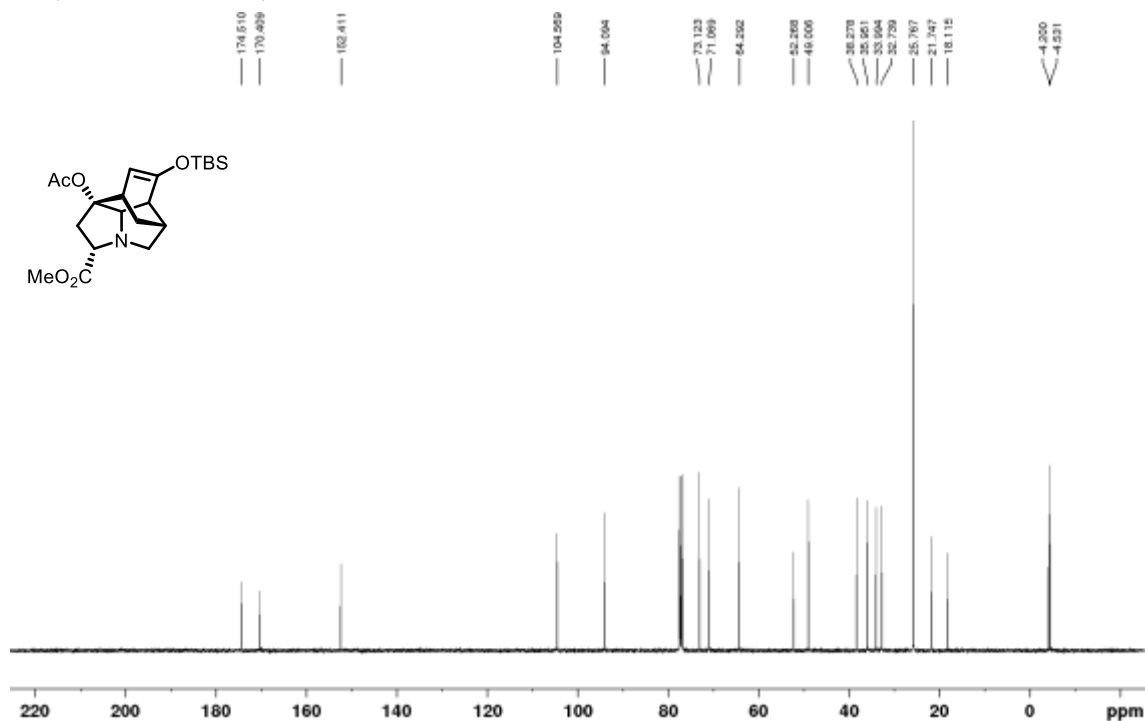
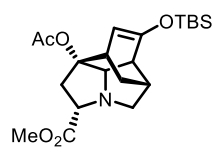


Tetracyclic amine 5a

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃)

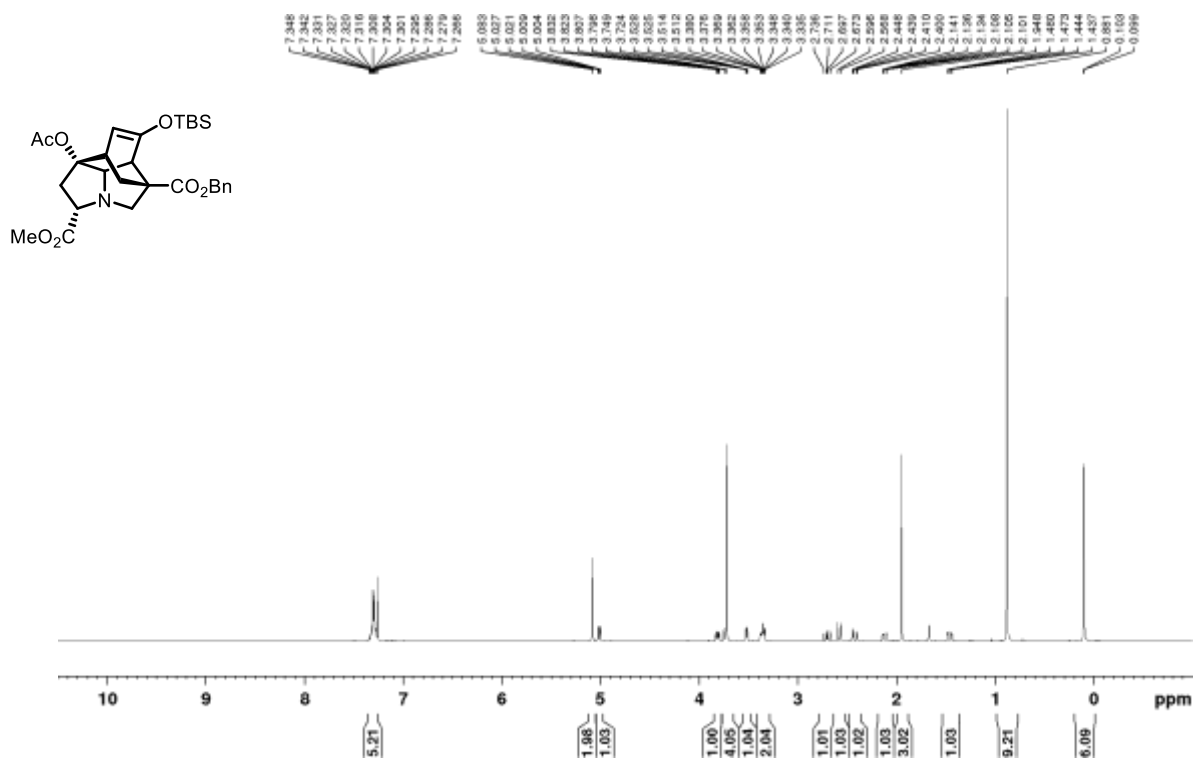


¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃)

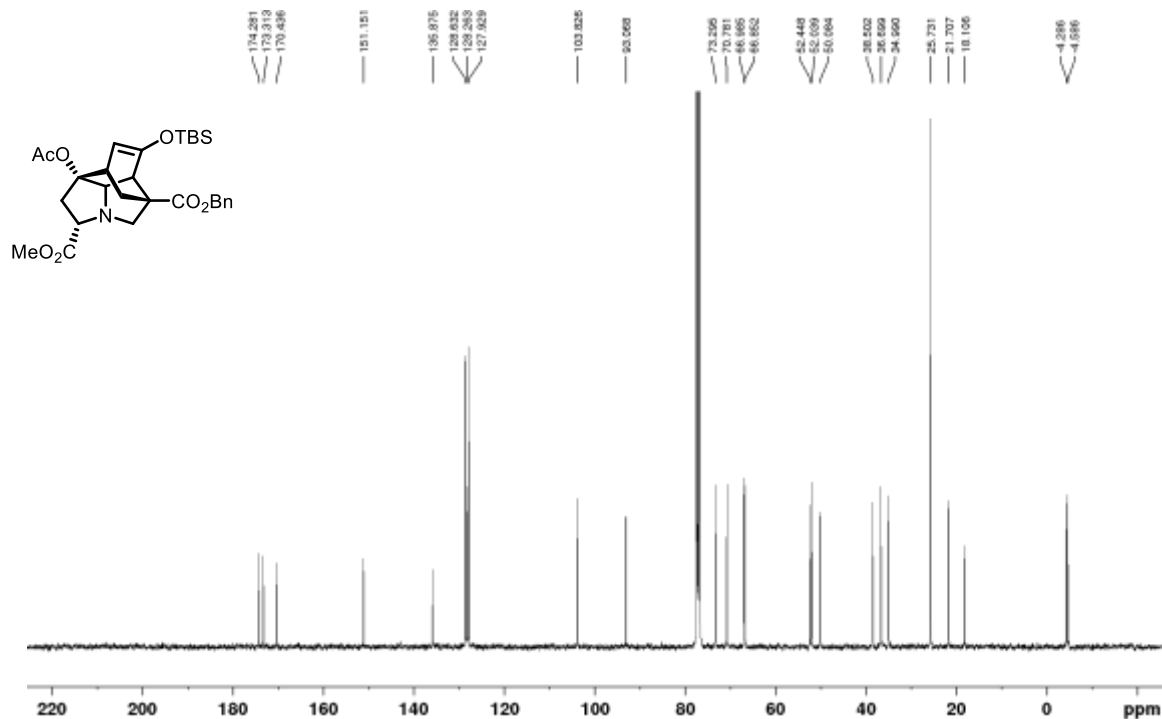


Tetracyclic amine 5b

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃)

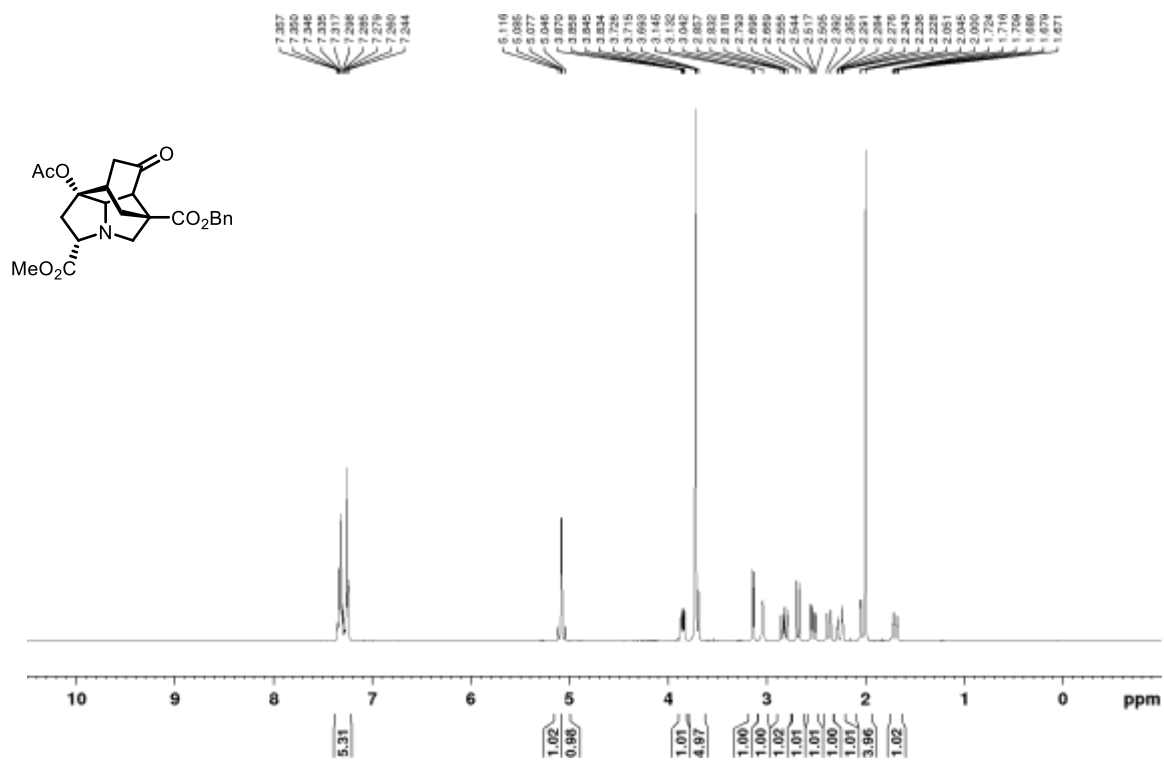


¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃)

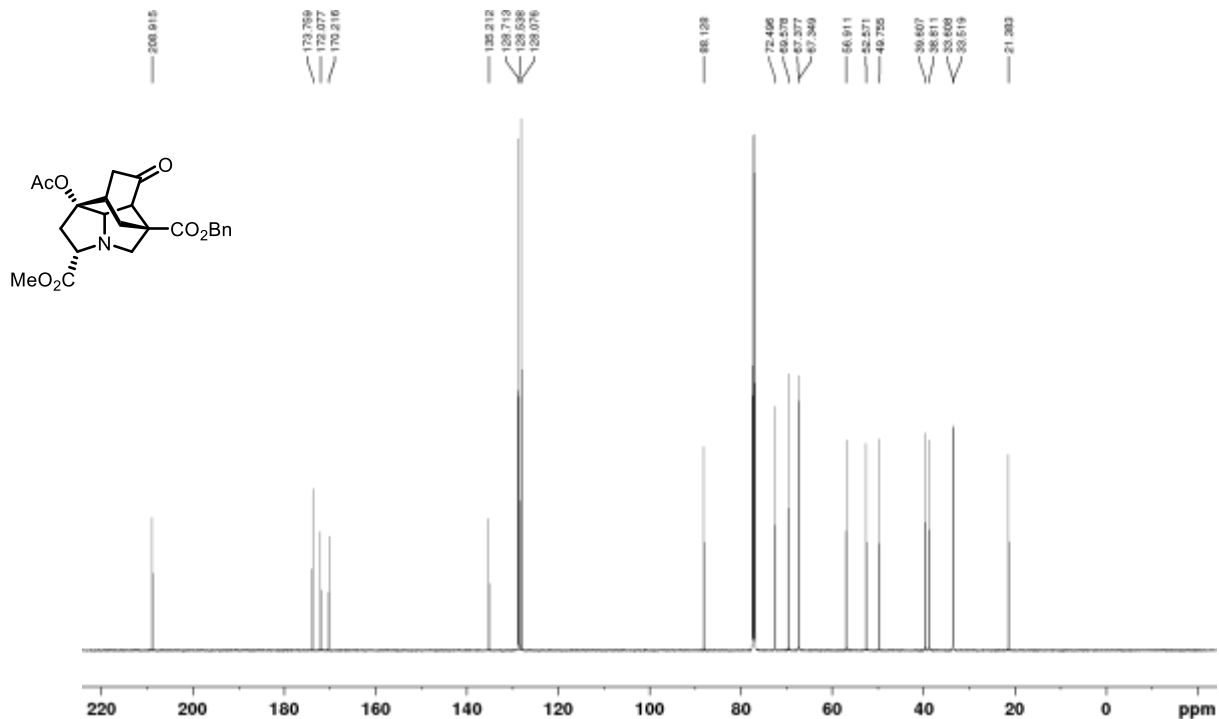


Ketone **4b**

$^1\text{H NMR}$ (400 MHz, CDCl_3)

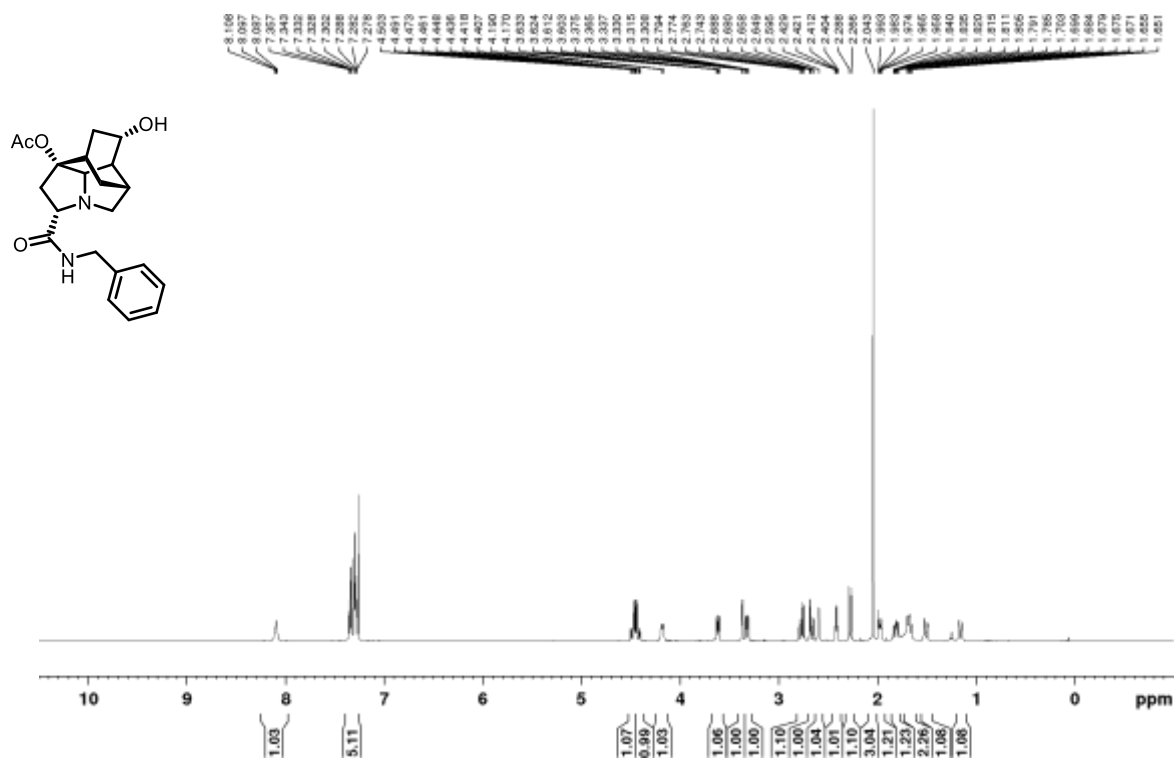


$^{13}\text{C NMR}$ (125 MHz, CDCl_3)

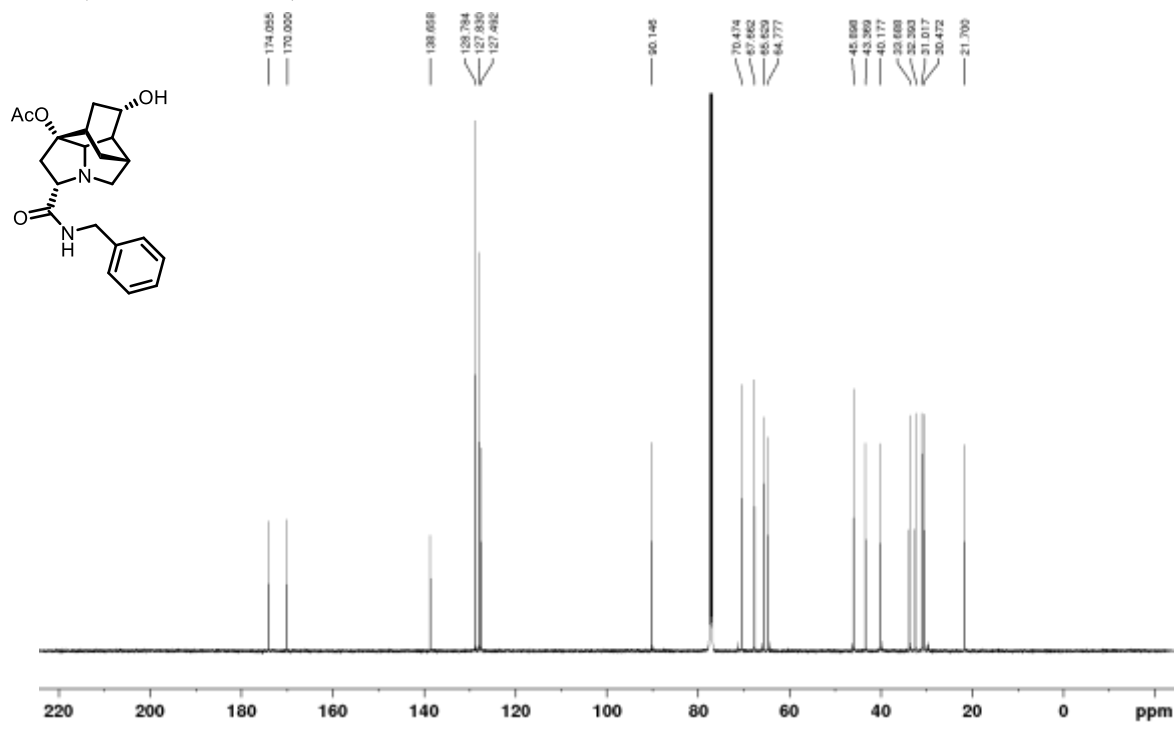


Alcohol **21a**

^1H NMR (500 MHz, CDCl_3)

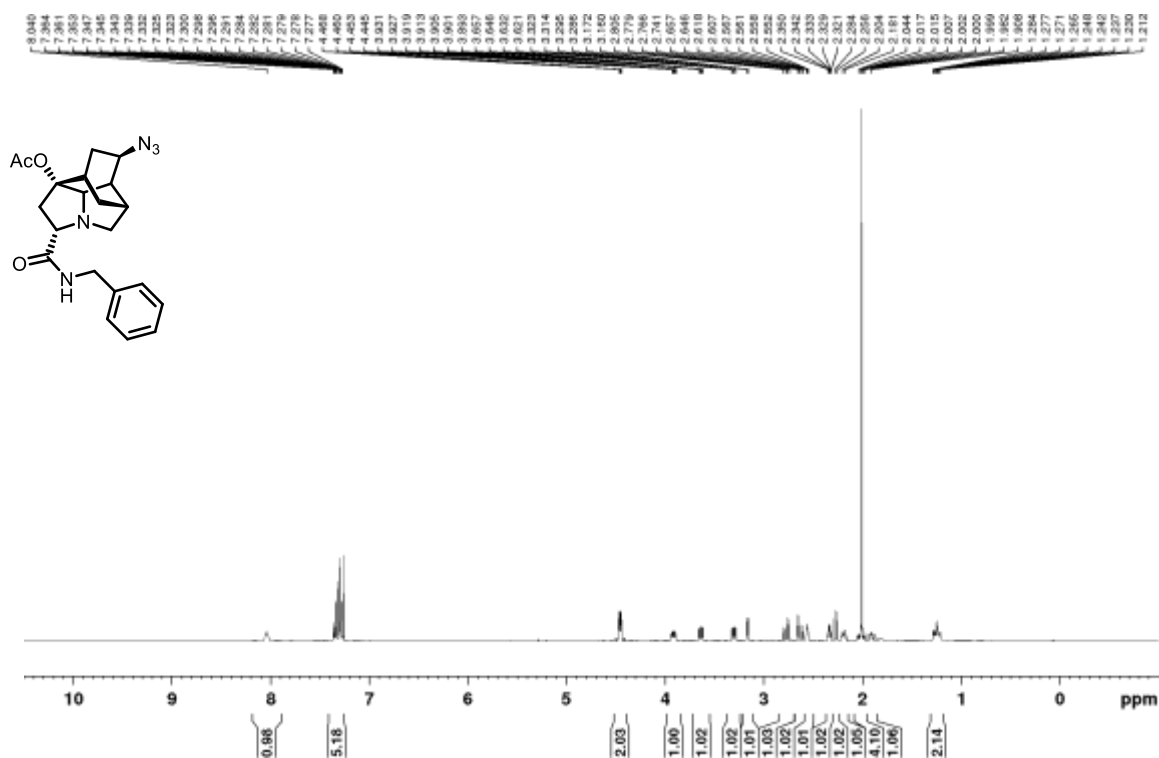


^{13}C NMR (125 MHz, CDCl_3)

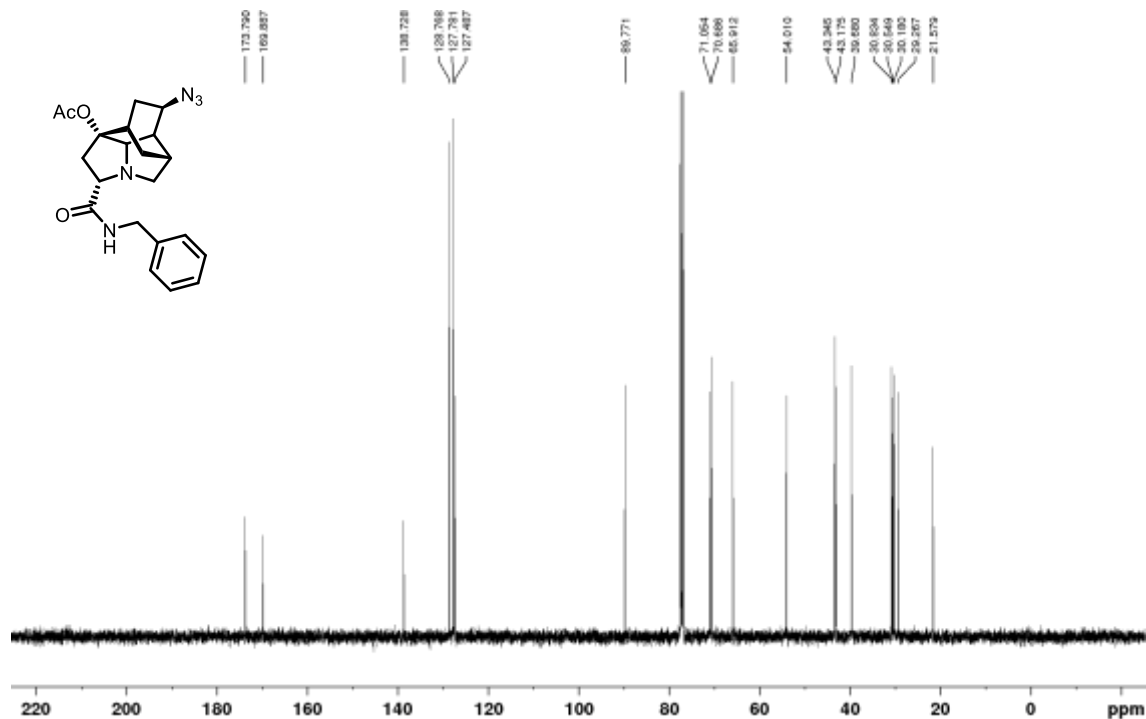


Azide **23a**

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3)

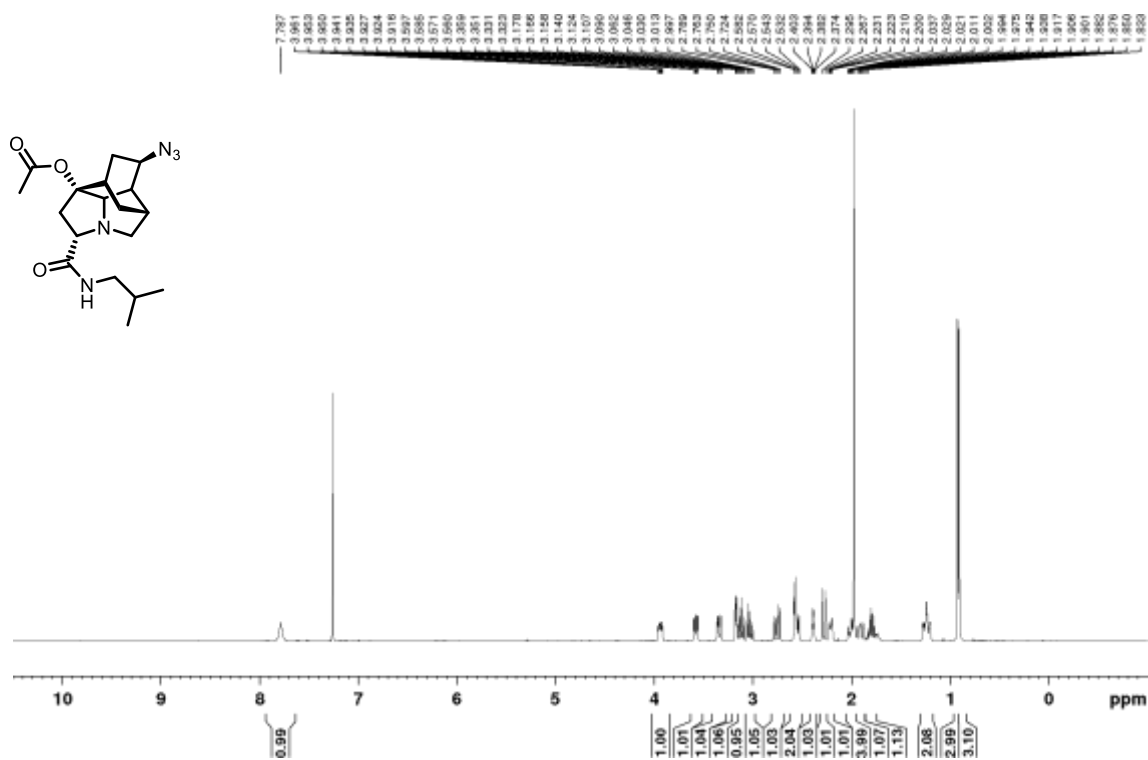


^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3)

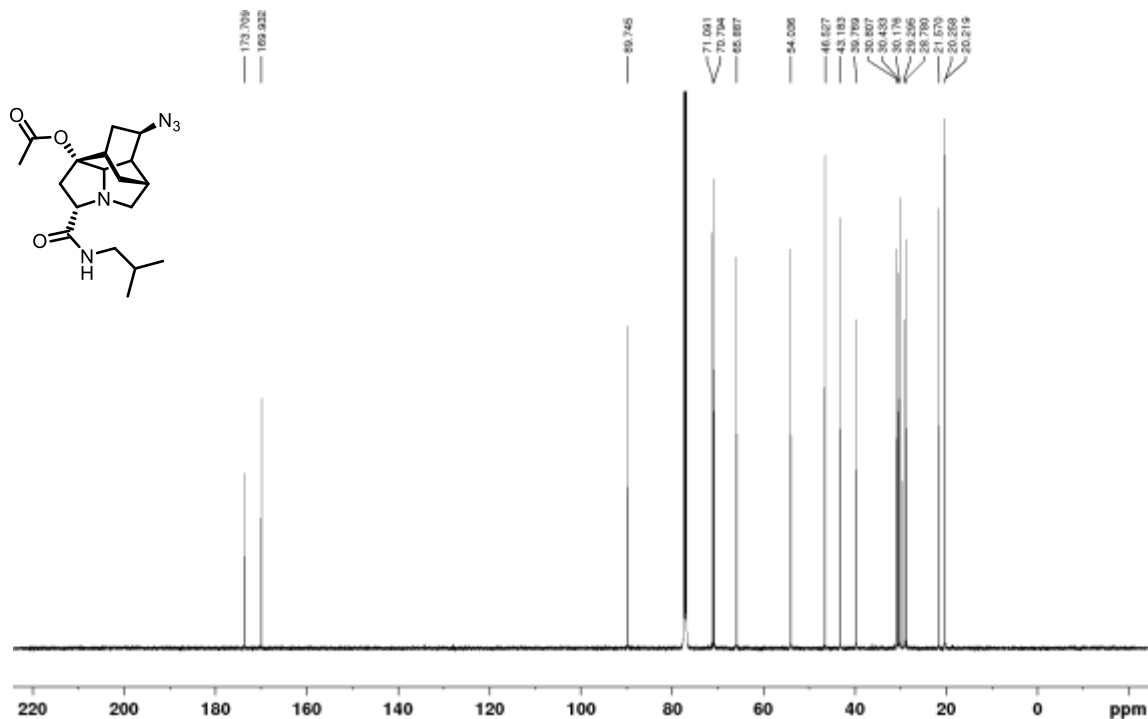


Azide **23b**

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3)

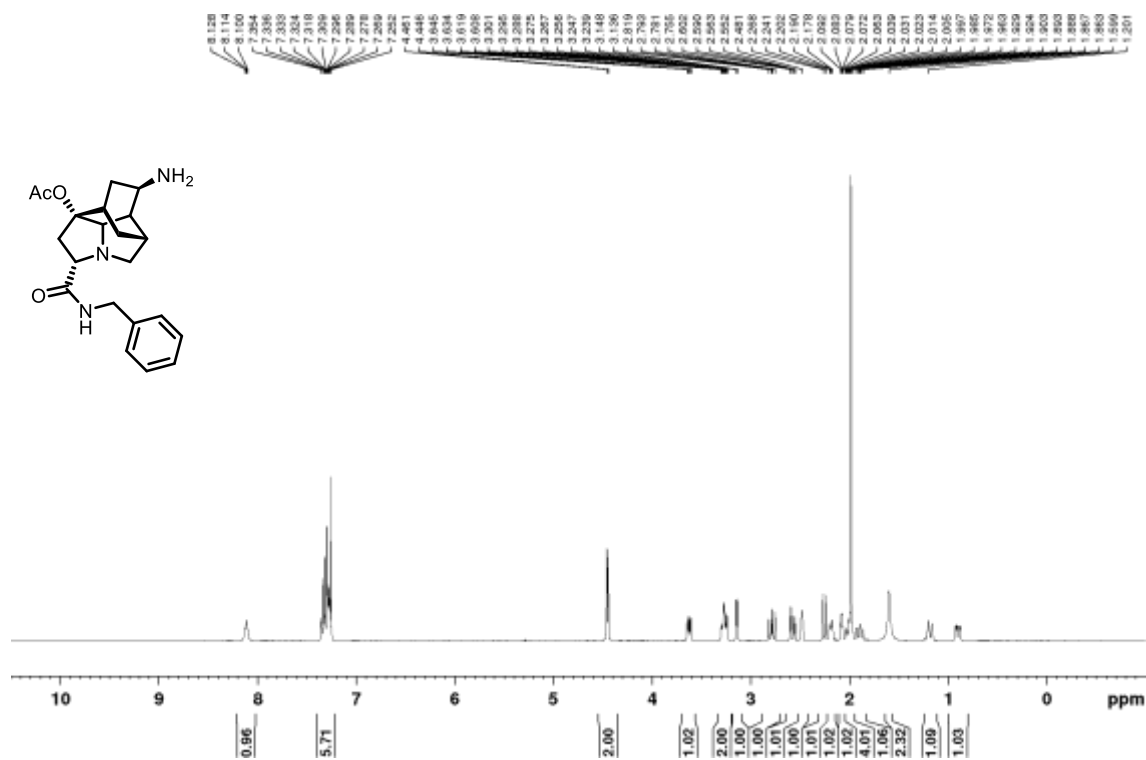


^{13}C NMR (125 MHz, CDCl_3)

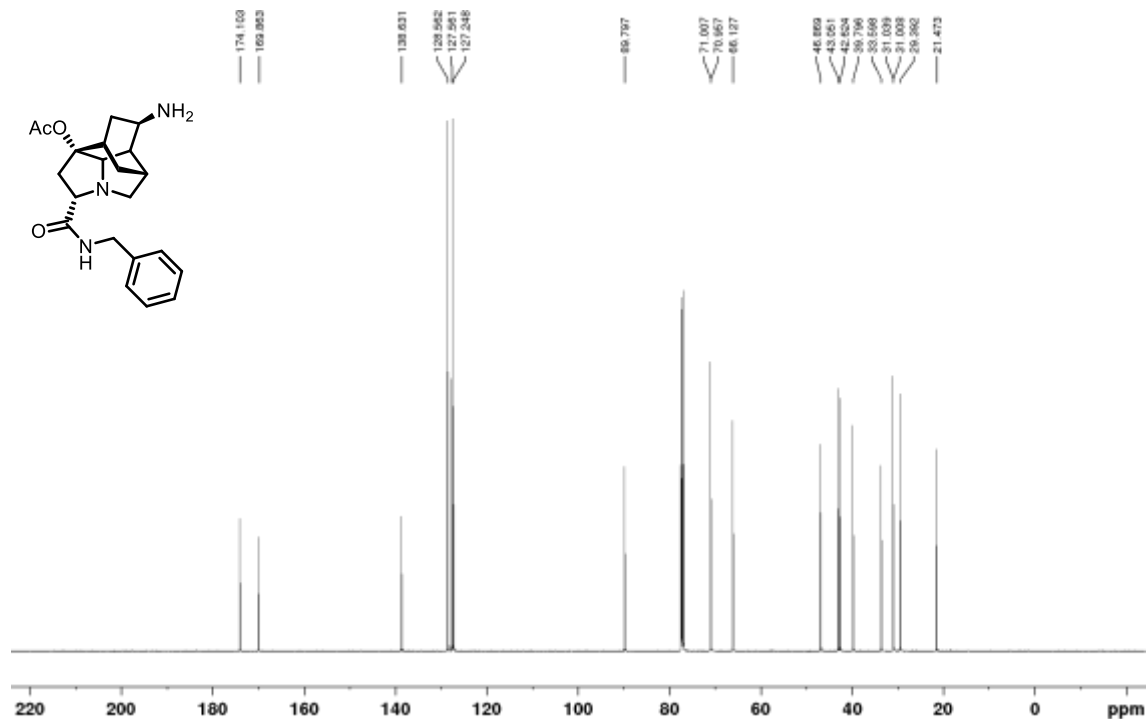


Amine **18a**

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3)

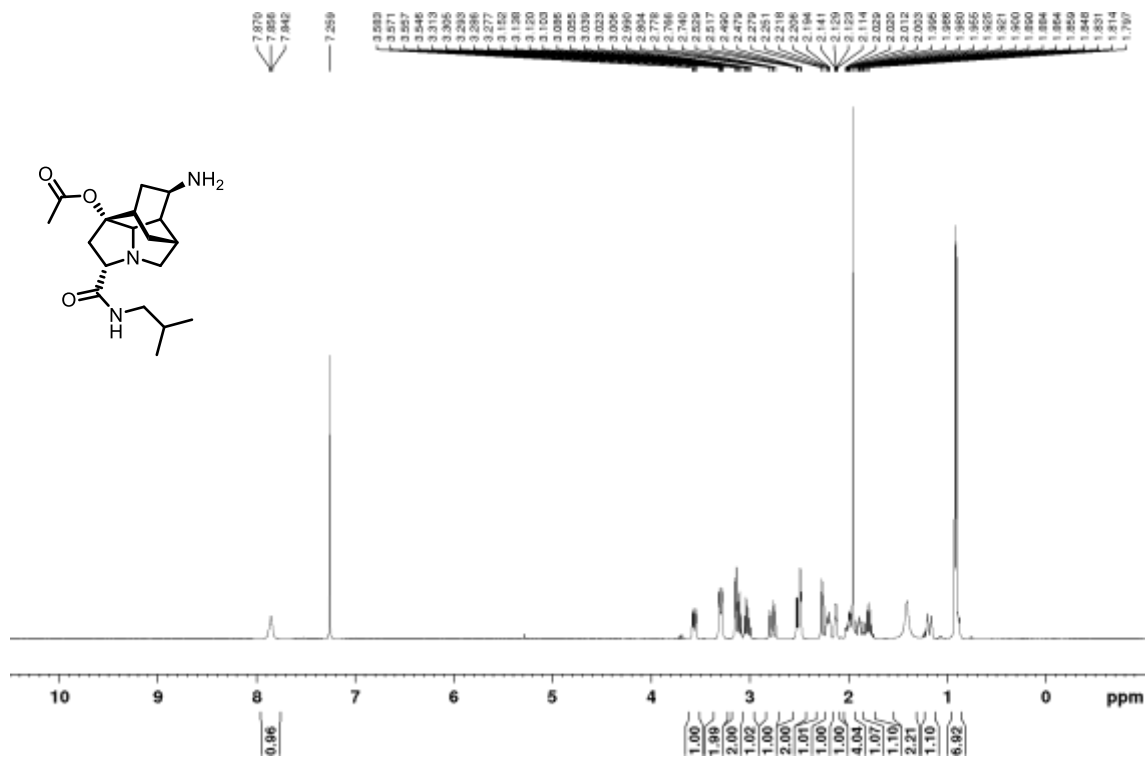


^{13}C NMR (125 MHz, CDCl_3)

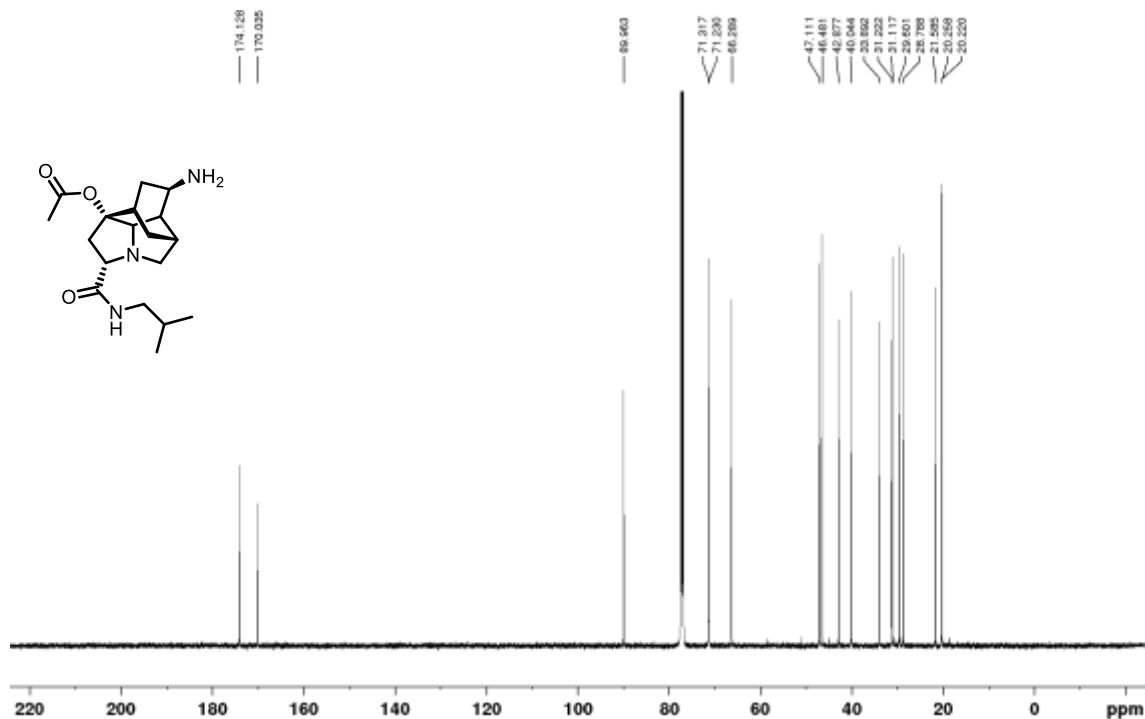


Amine **18b**

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3)

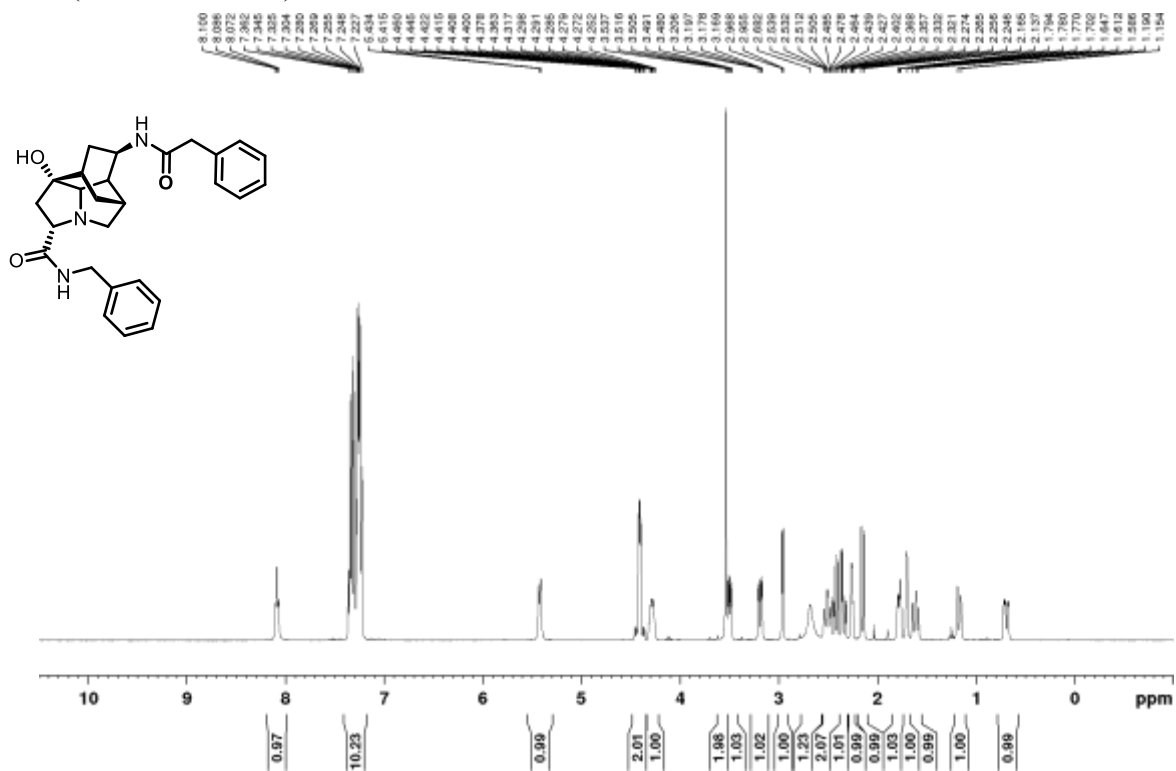


^{13}C NMR (125 MHz, CDCl_3)

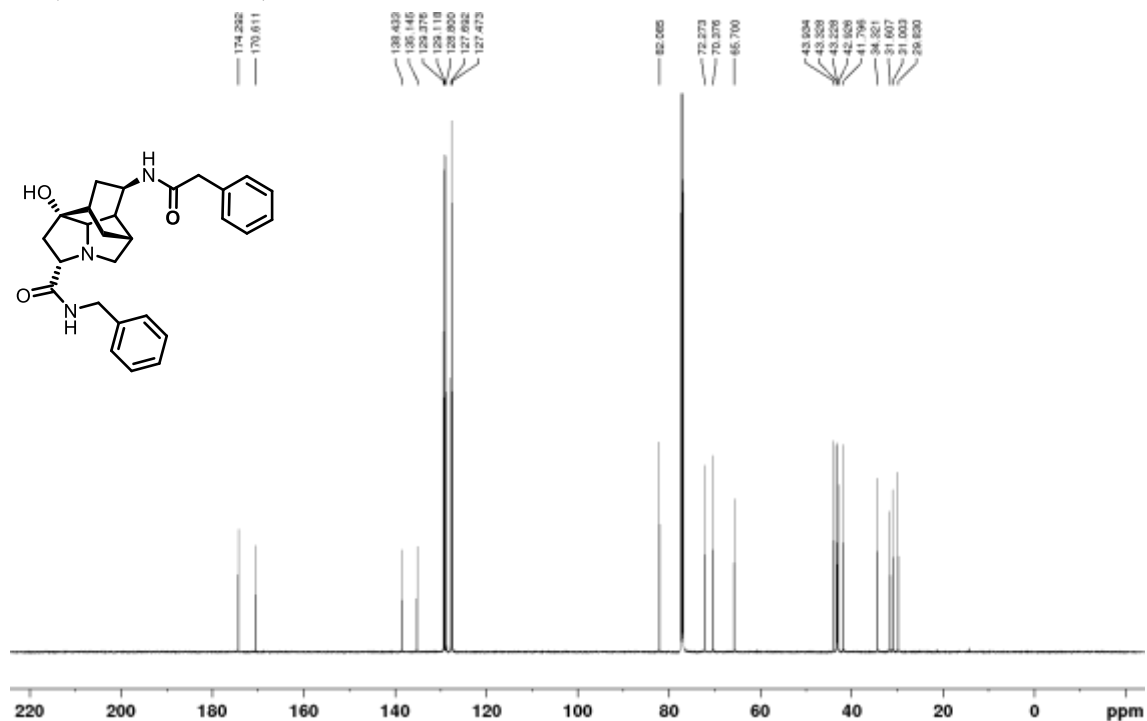


Alcohol **17a**

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3)

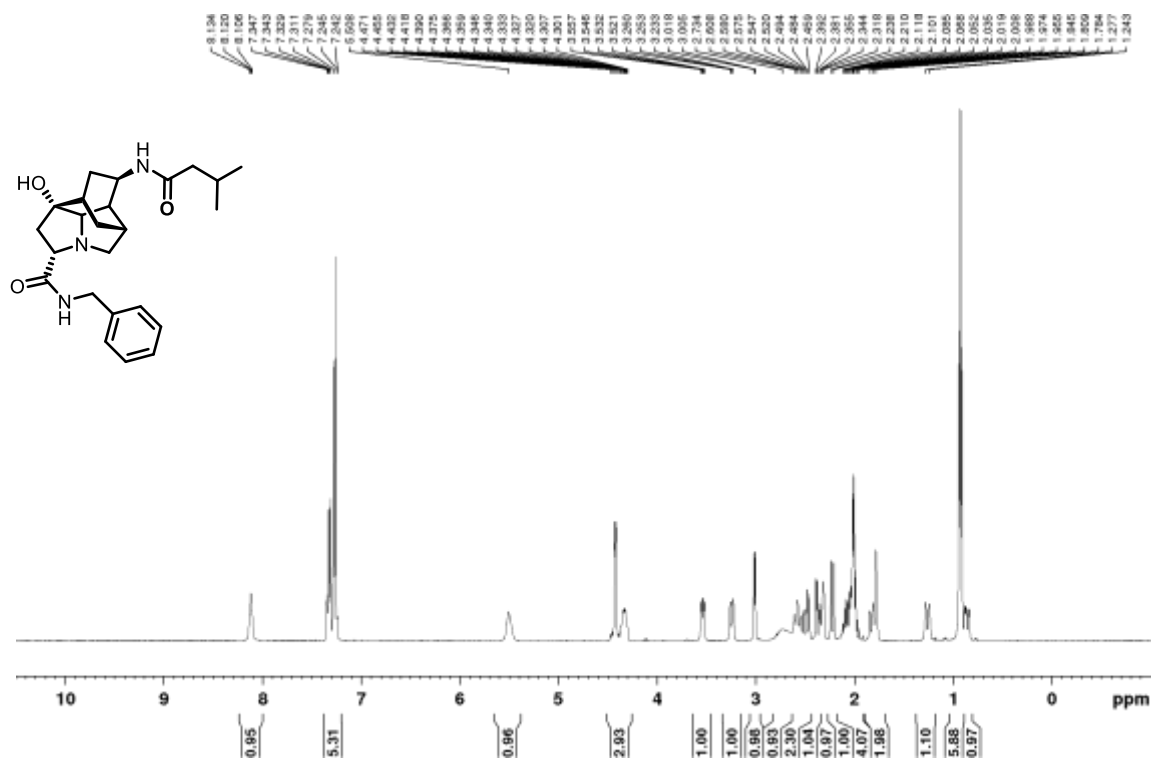


^{13}C NMR (125 MHz, CDCl_3)

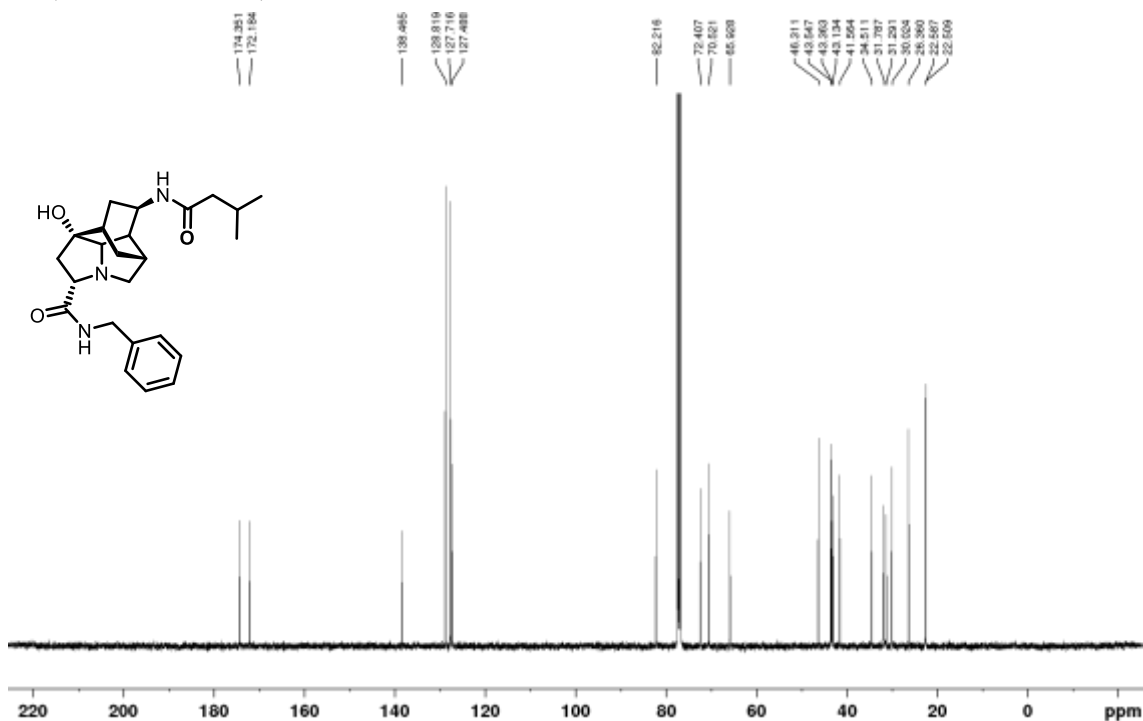


Alcohol **17b**

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3)

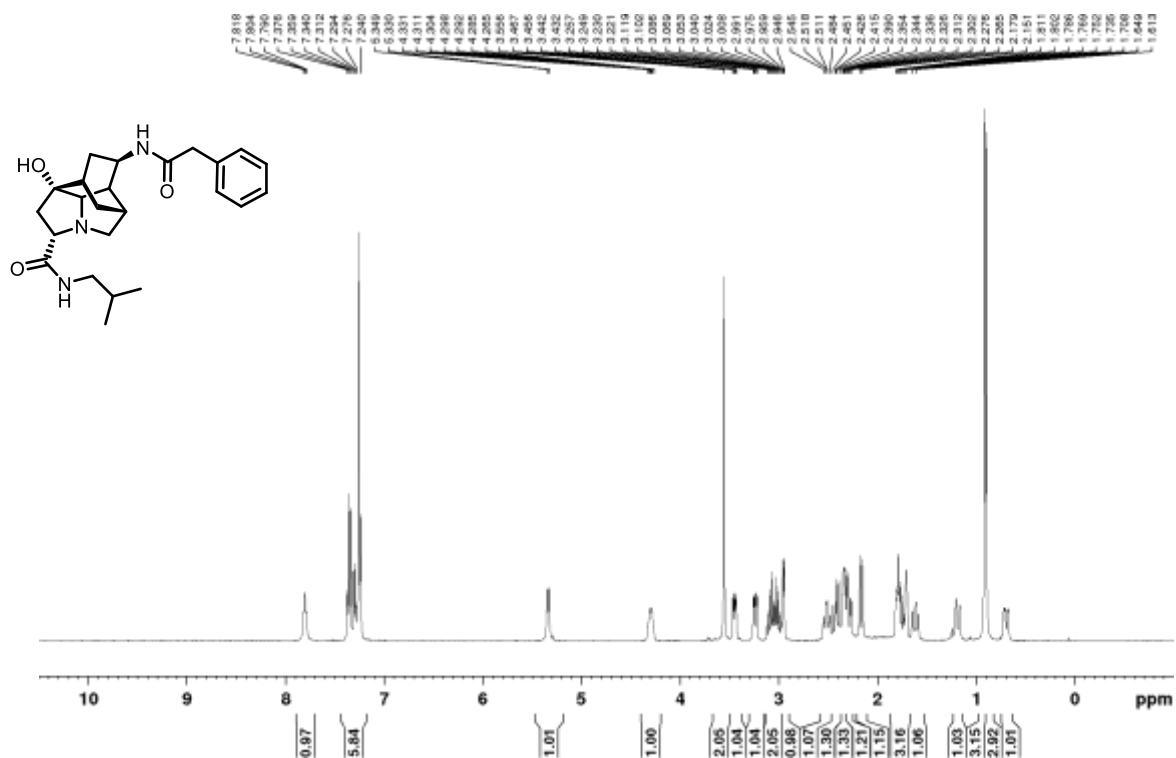


^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3)

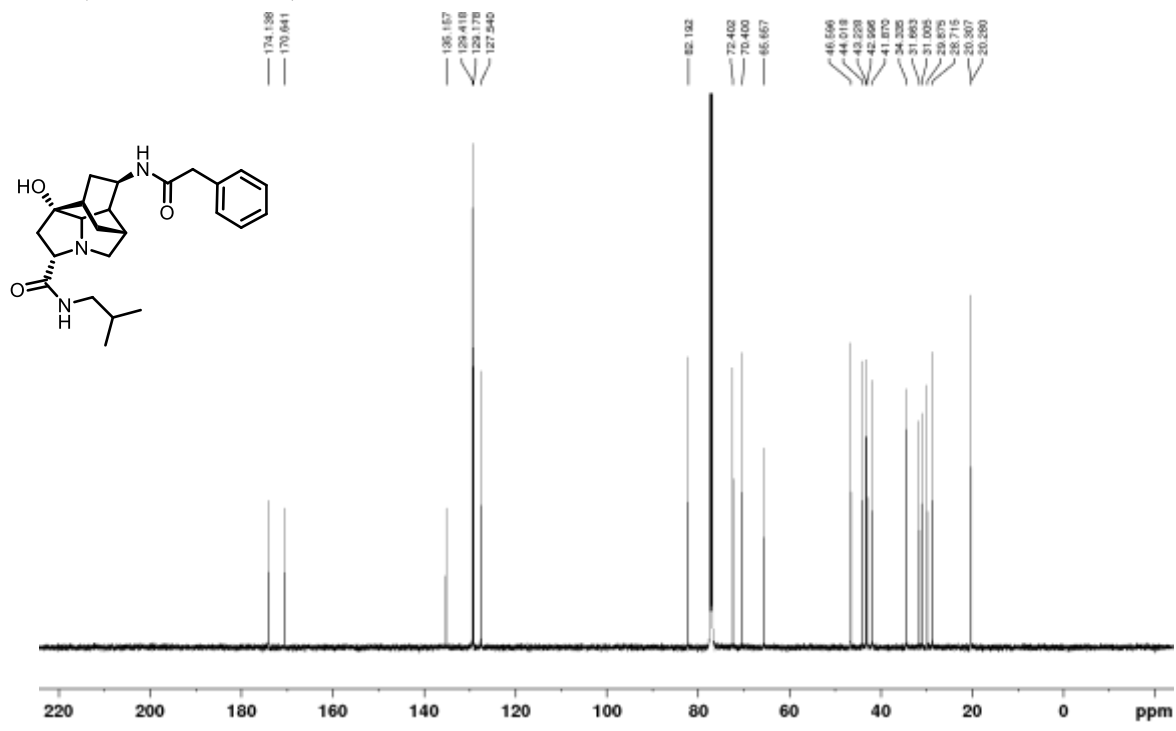


Alcohol 17c

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃)

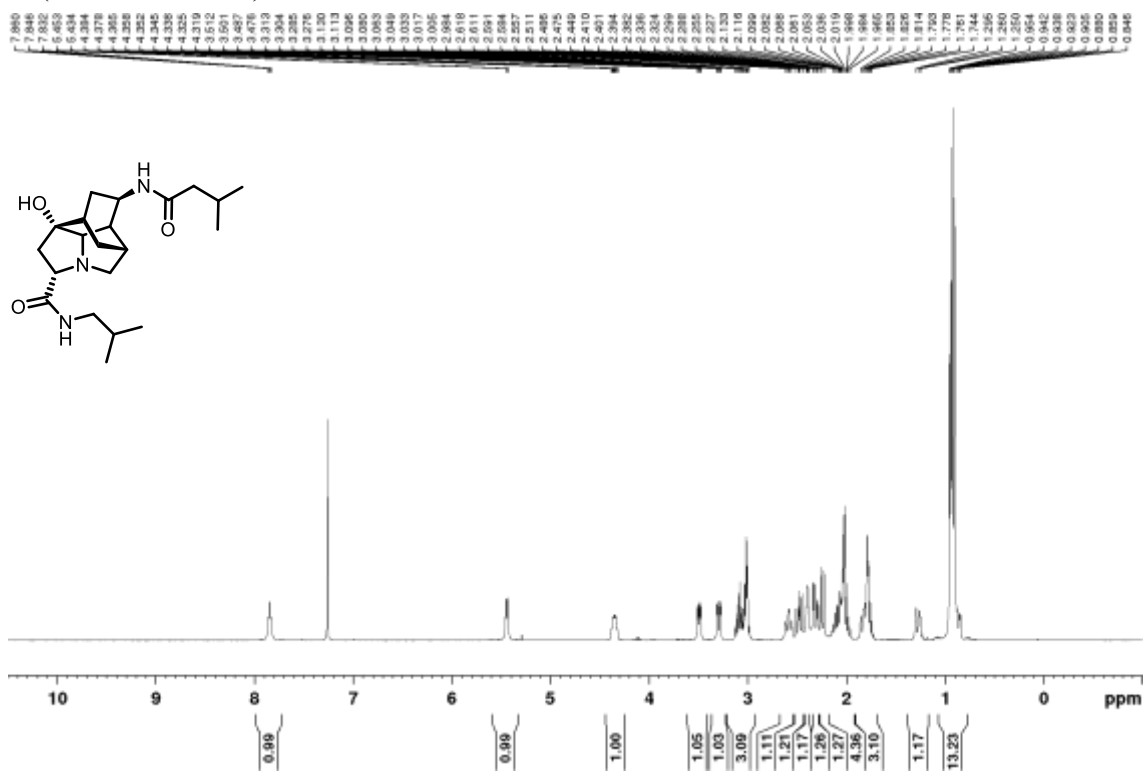


¹³C NMR (125 MHz, CDCl₃)

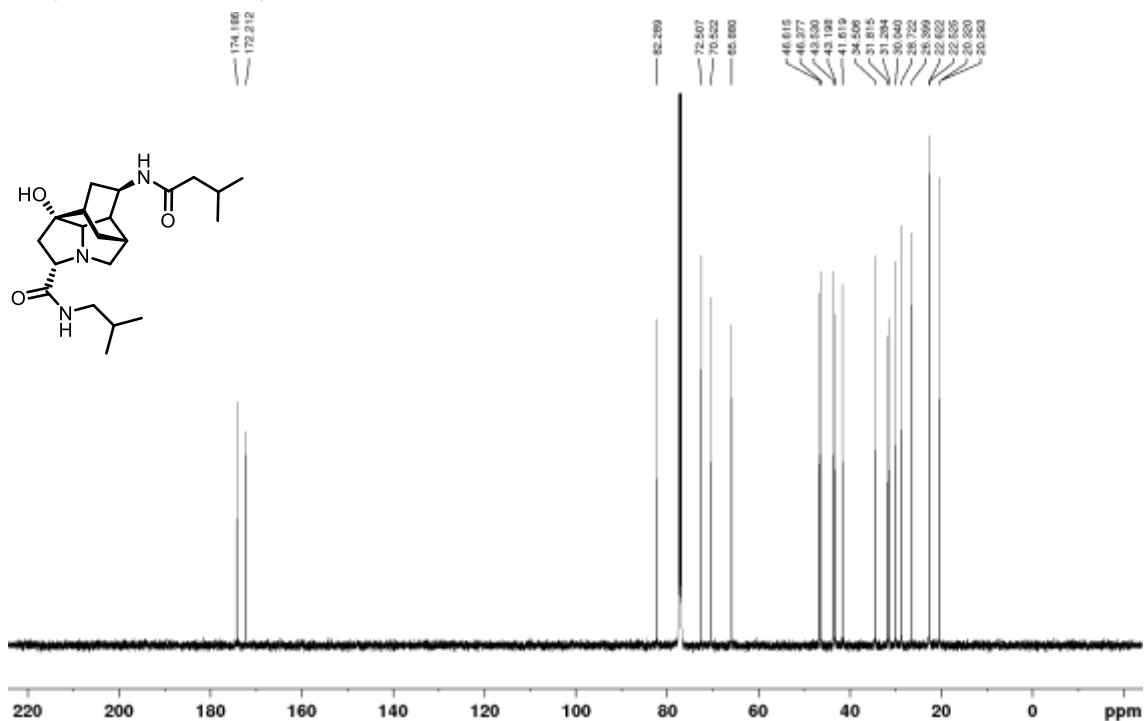


Alcohol **17d**

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3)

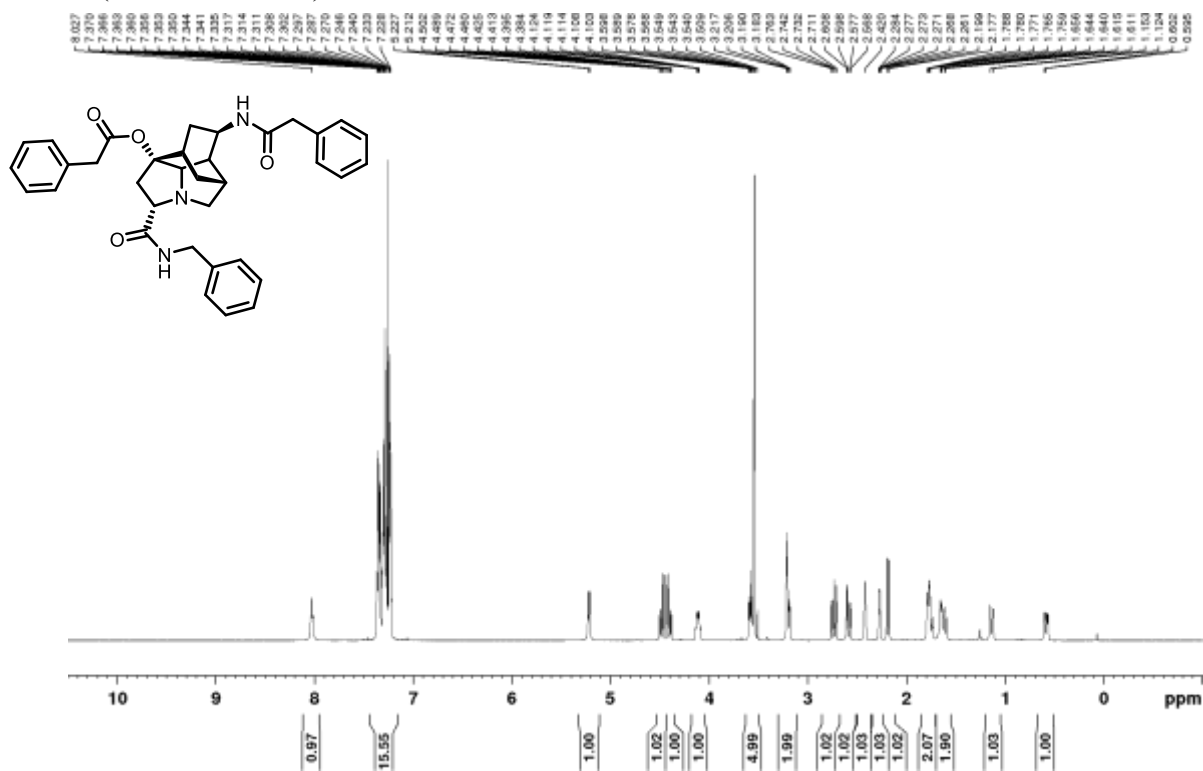


^{13}C NMR (125 MHz, CDCl_3)

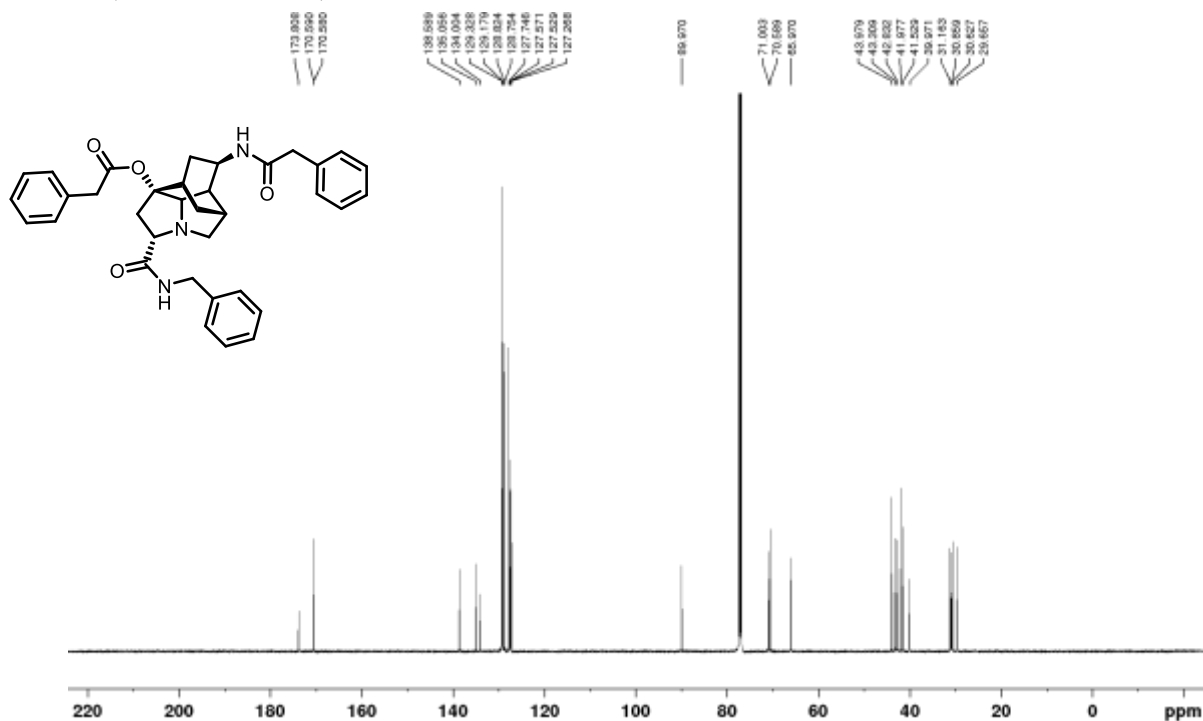


Ester **16a**

¹H NMR (500 MHz, CDCl₃)

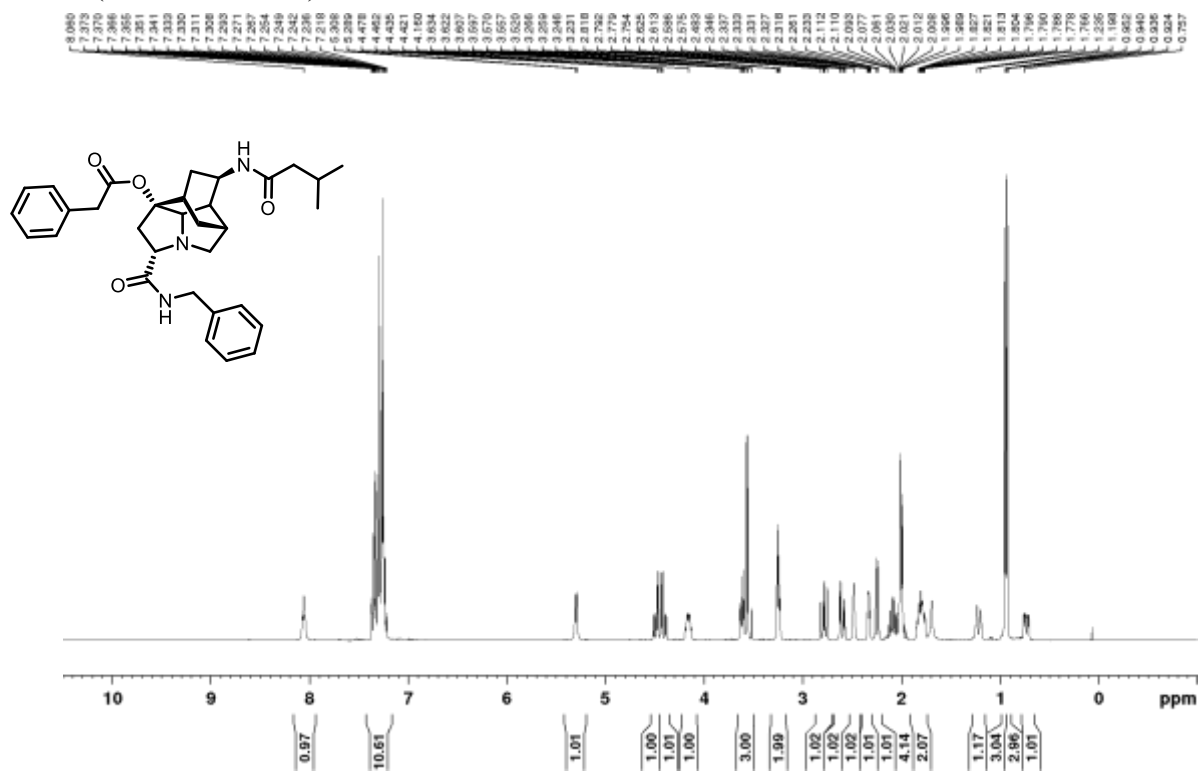


¹³C NMR (125 MHz, CDCl₃)

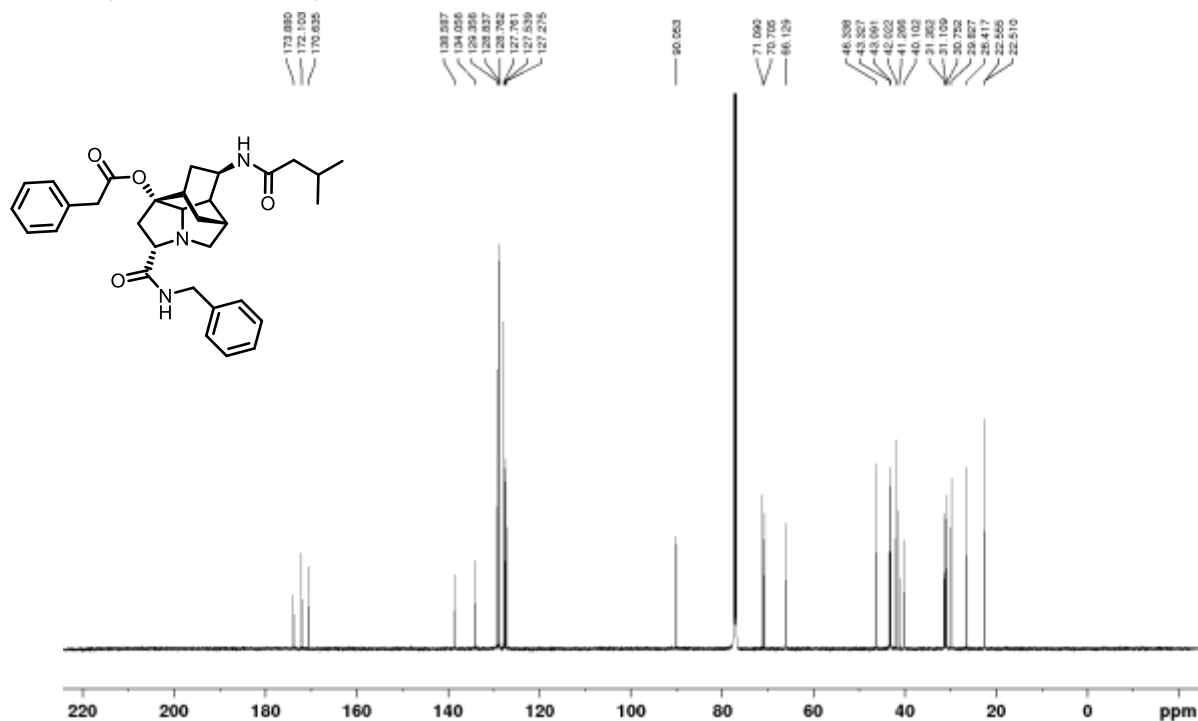


Ester 16c

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃)

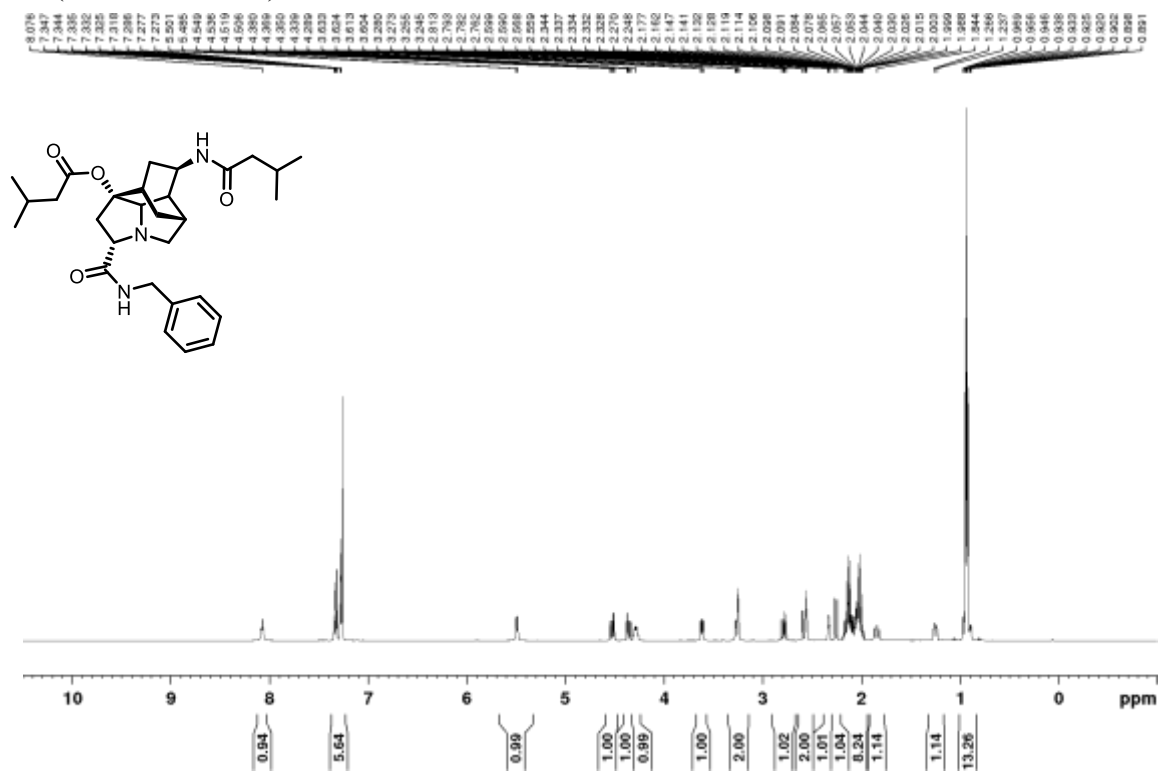


¹³C NMR (125 MHz, CDCl₃)



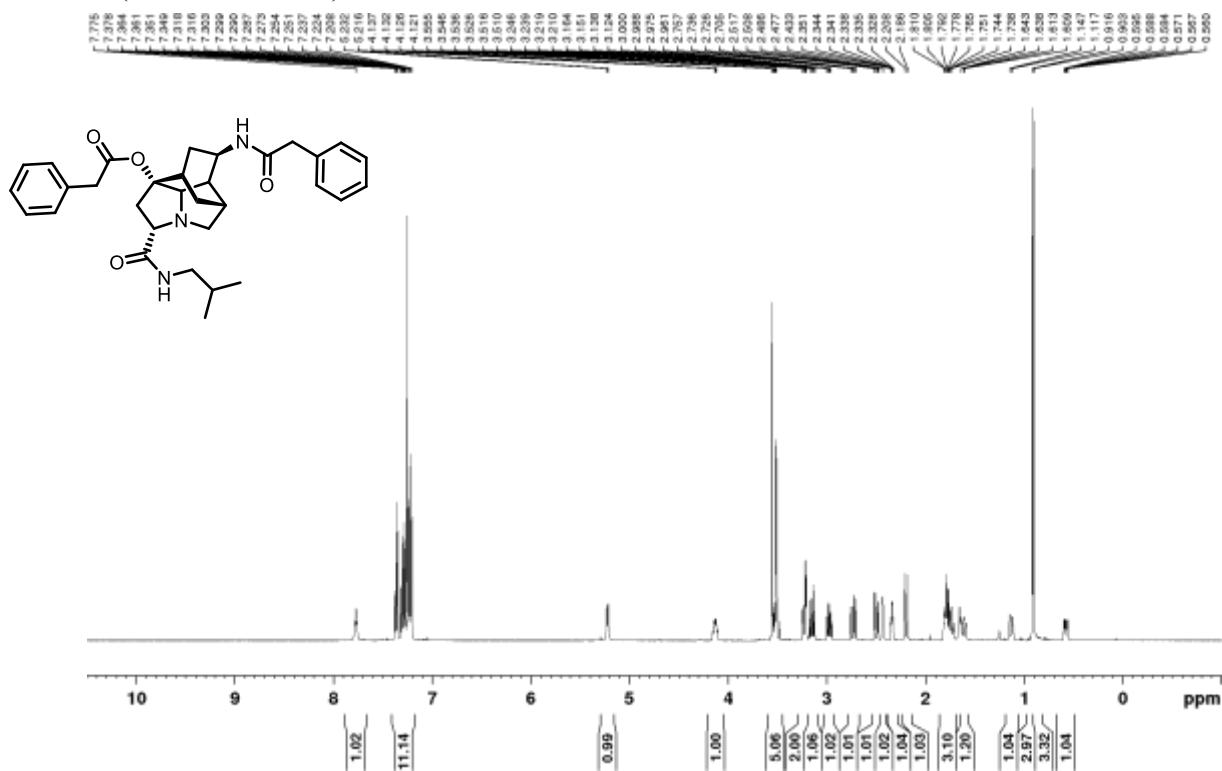
Ester 16d

¹H NMR (500 MHz, CDCl₃)

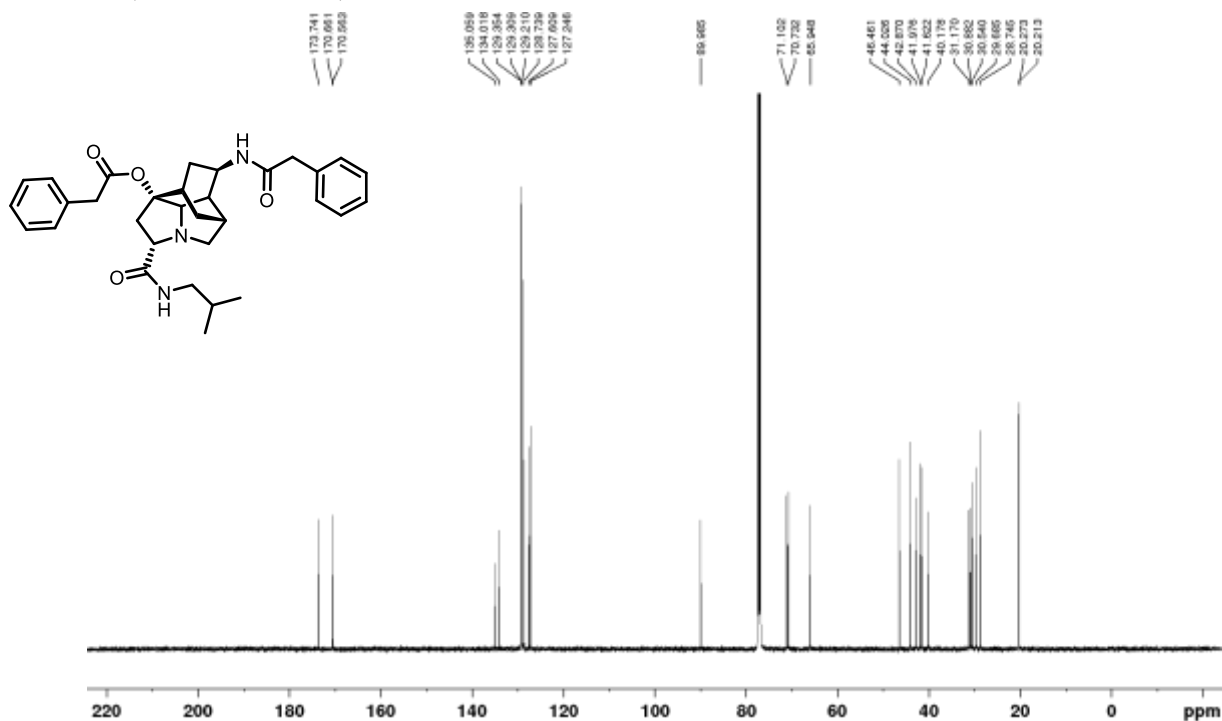


Ester 16e

¹H NMR (500 MHz, CDCl₃)

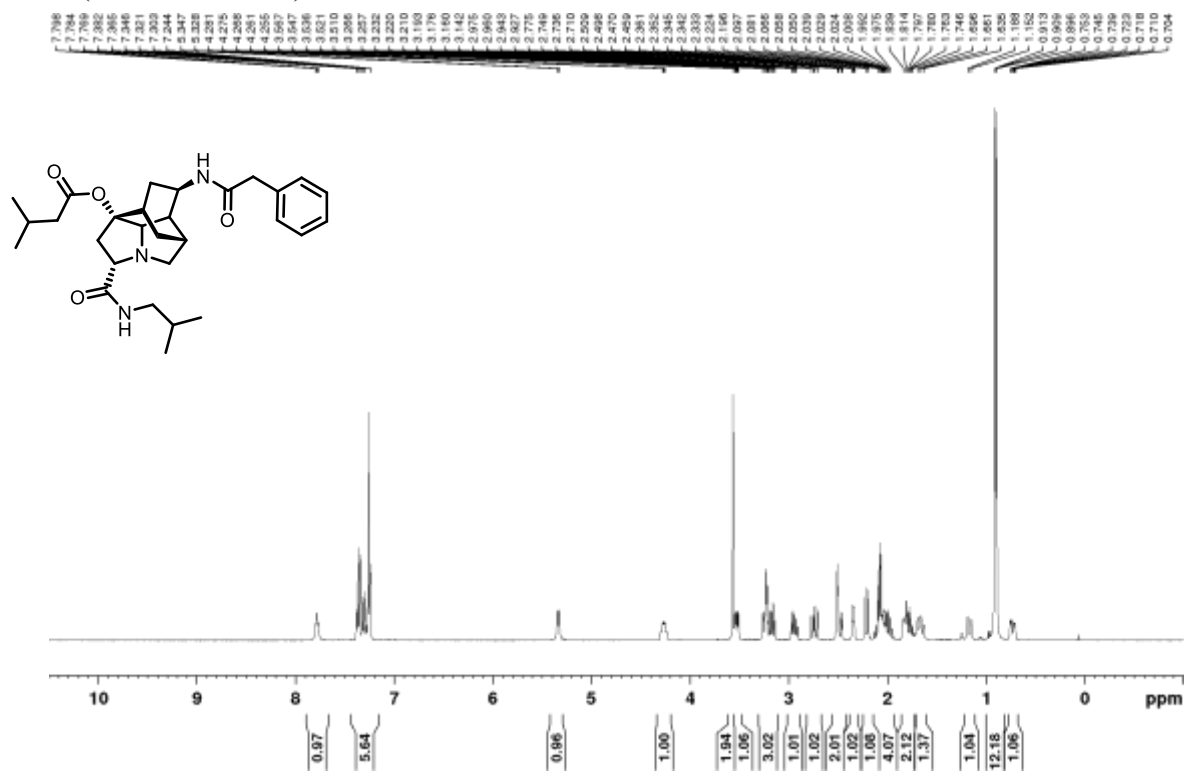


¹³C NMR (125 MHz, CDCl₃)

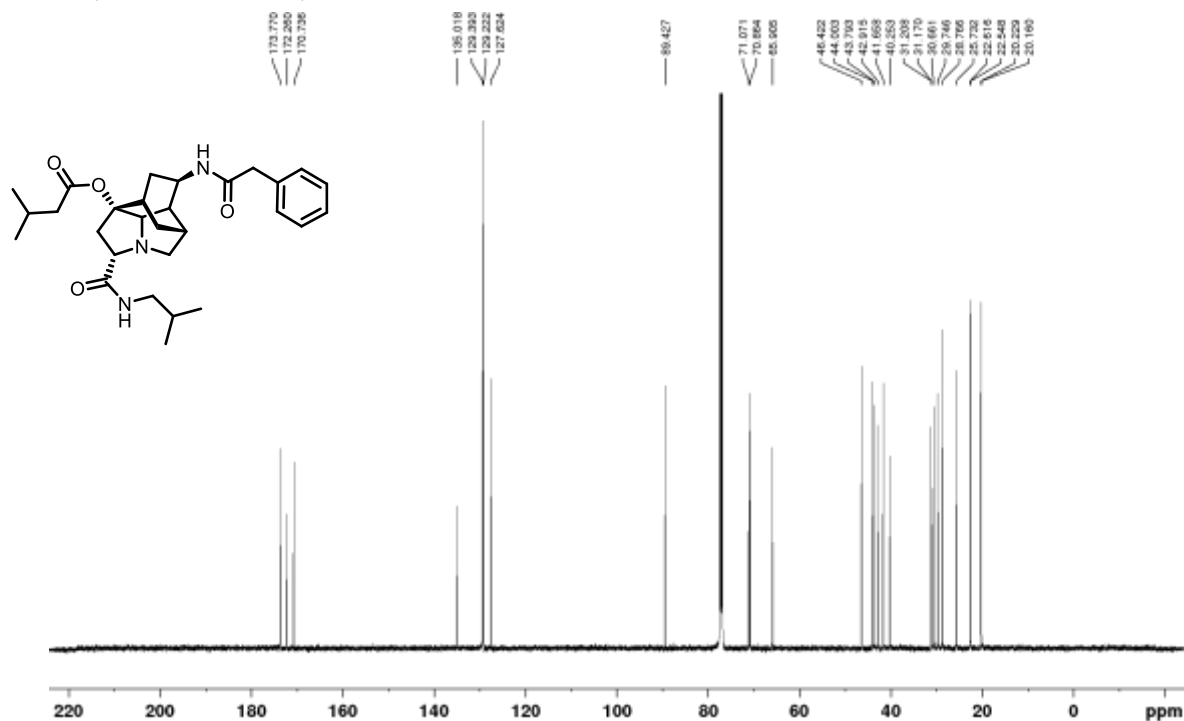


Ester **16f**

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3)

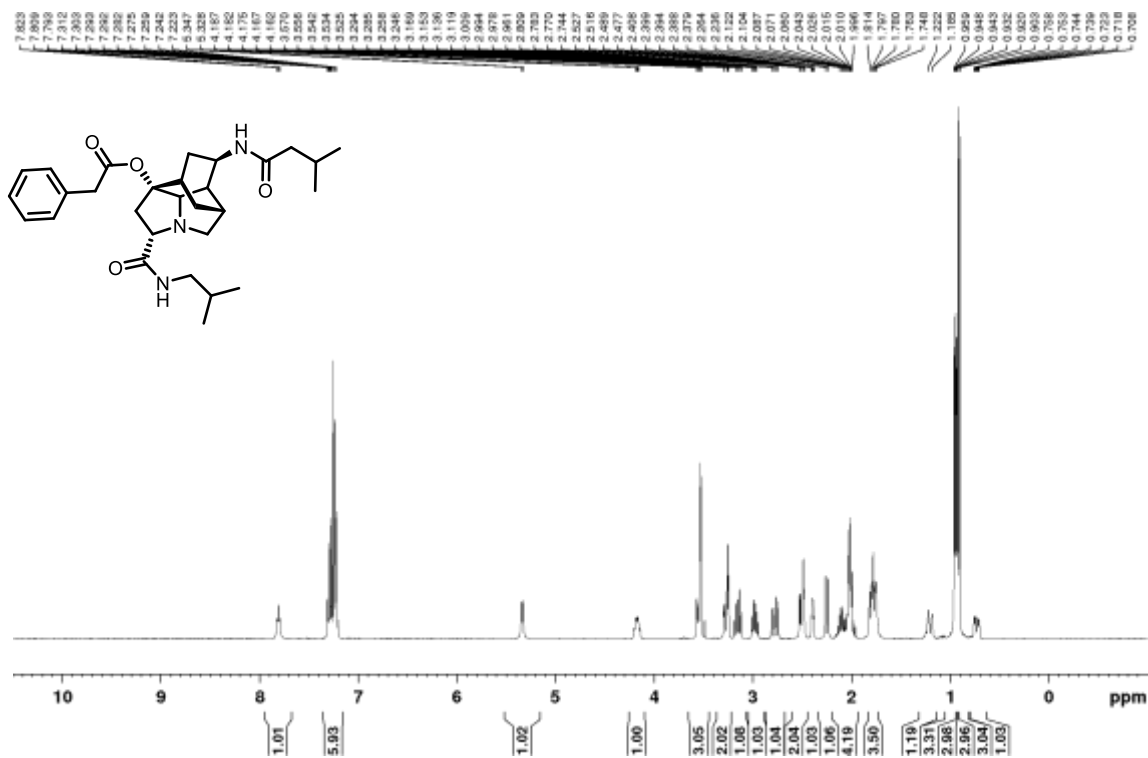


^{13}C NMR (125 MHz, CDCl_3)

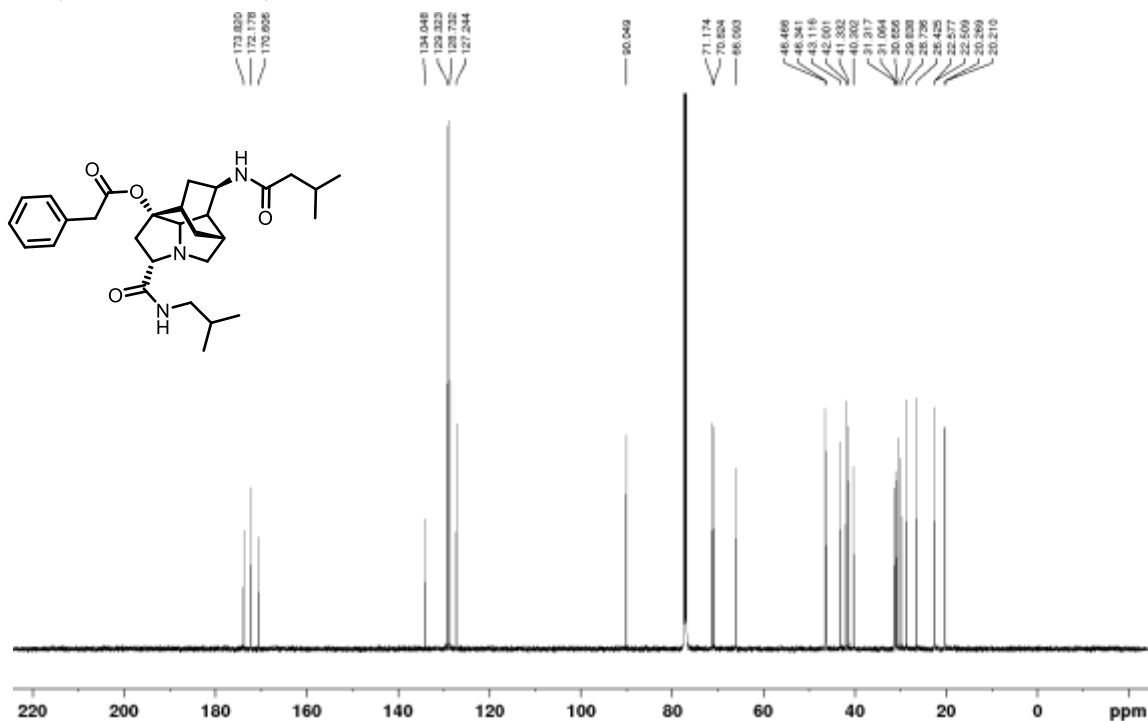


Ester 16g

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃)

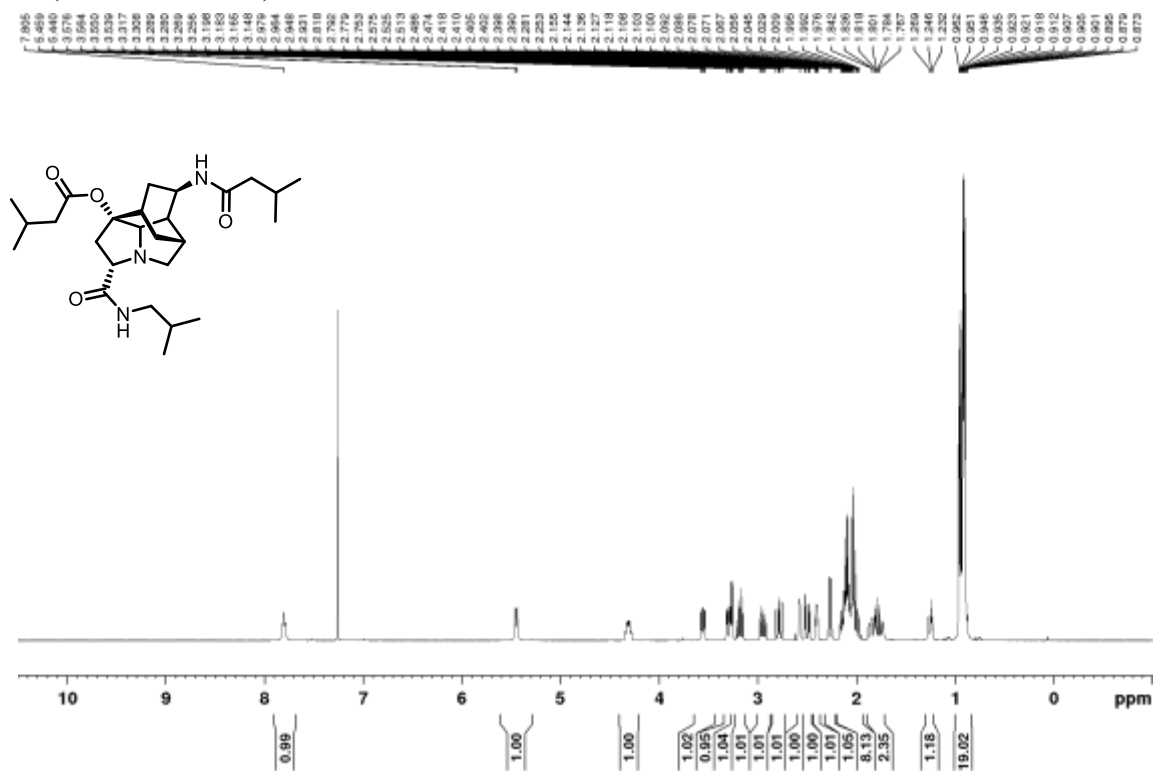


¹³C NMR (125 MHz, CDCl₃)

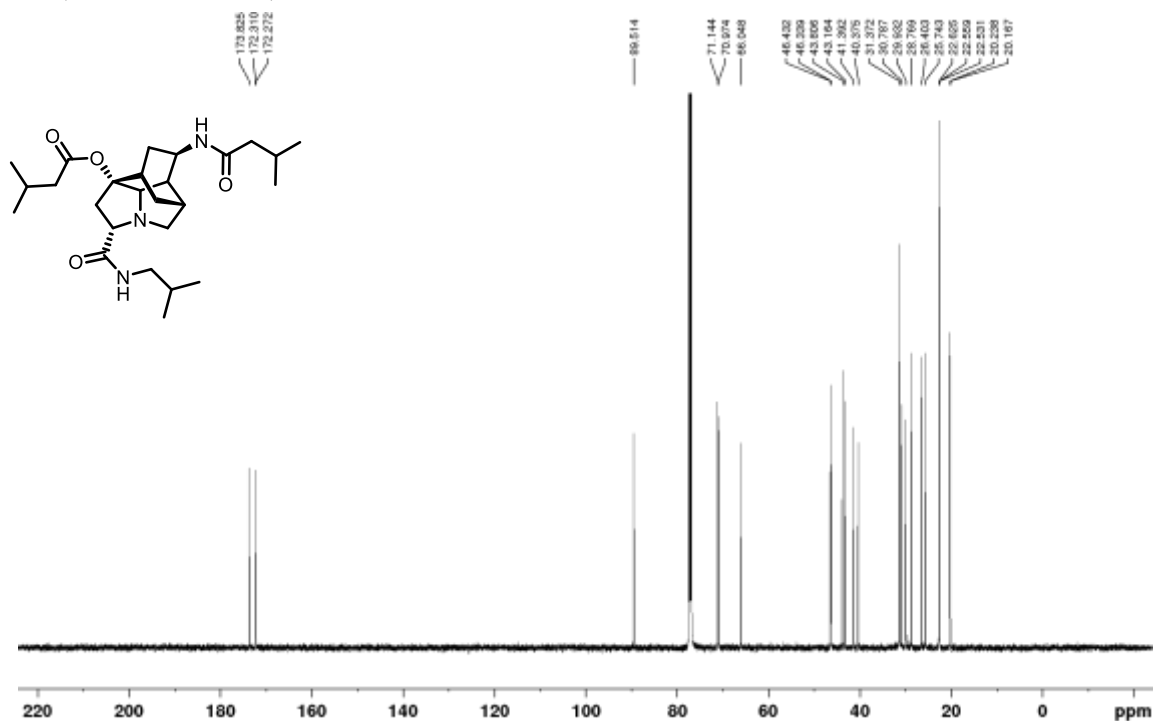


Ester **16h**

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃)

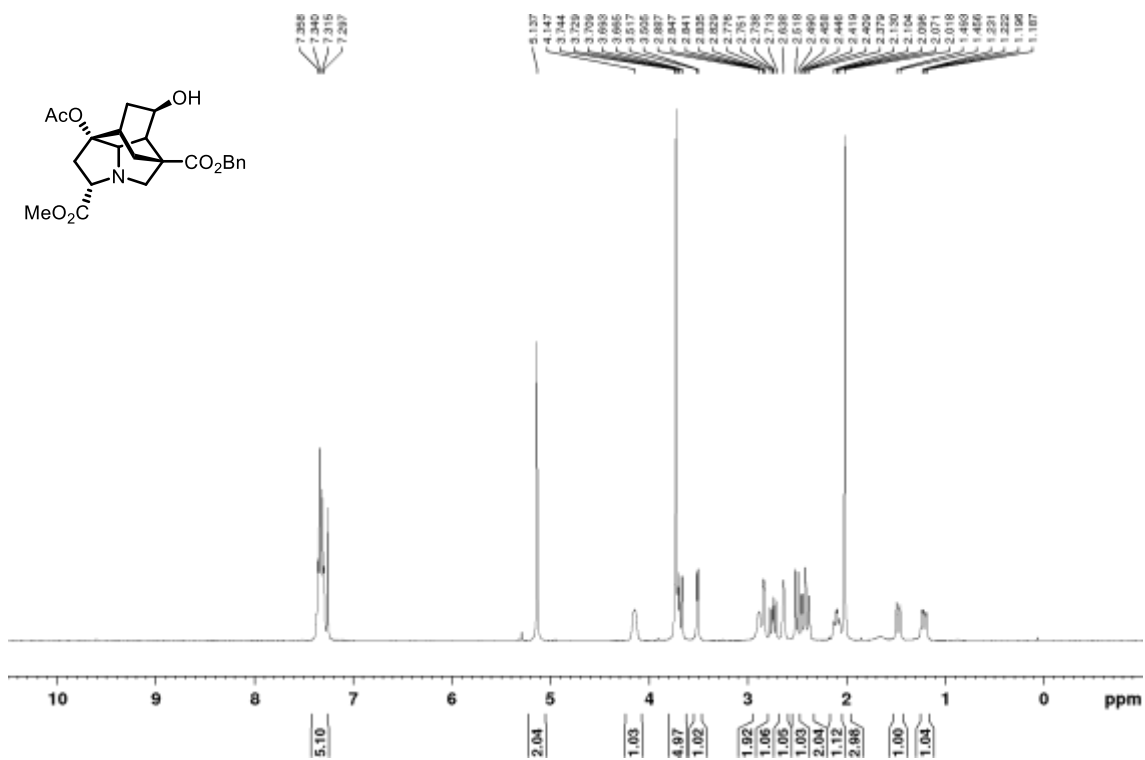


¹³C NMR (125 MHz, CDCl₃)

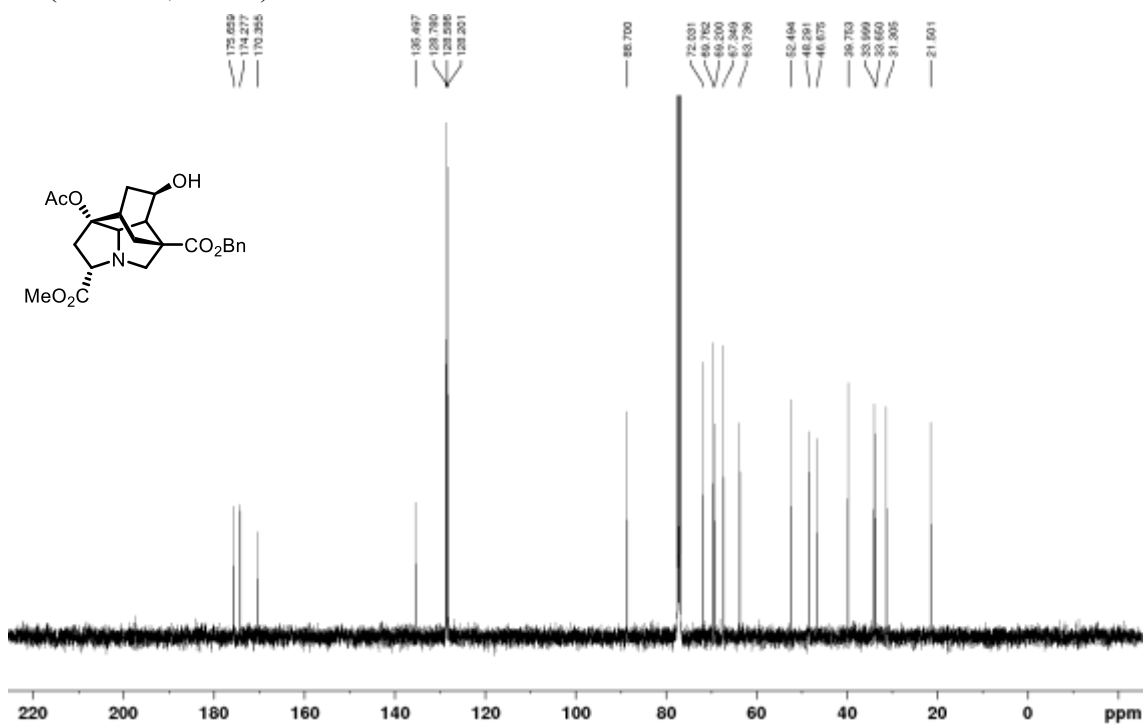


Alcohol **28**

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3)

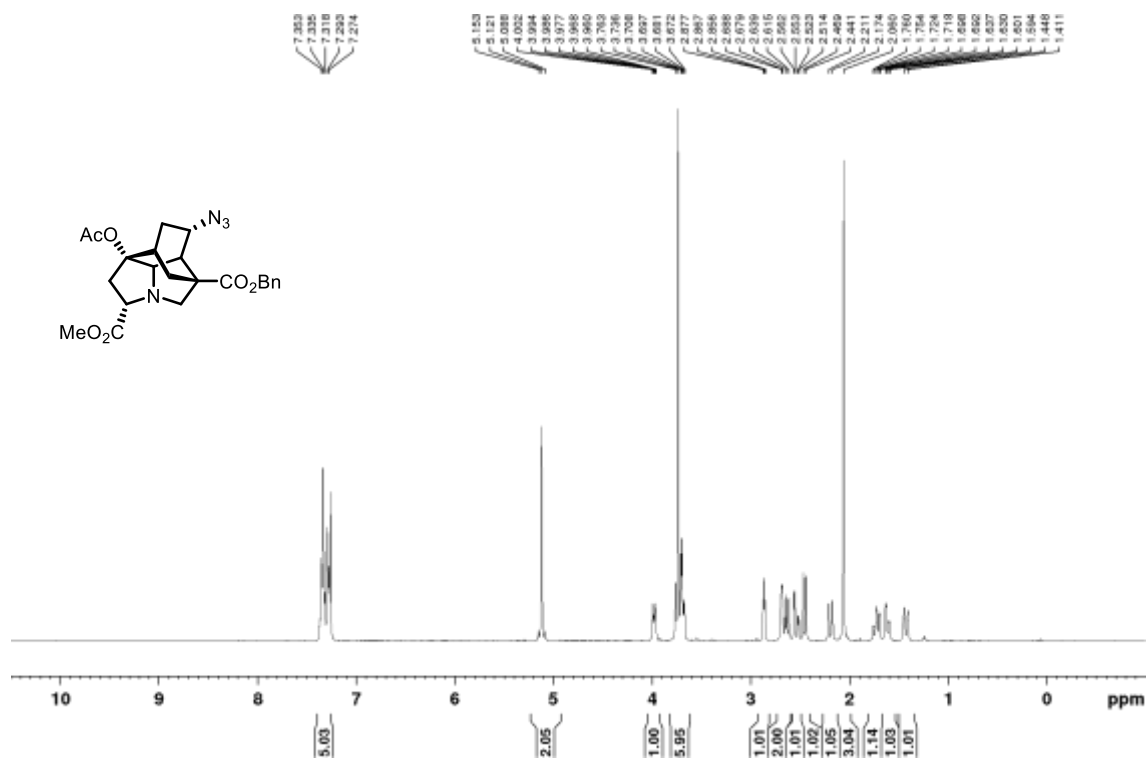


^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3)

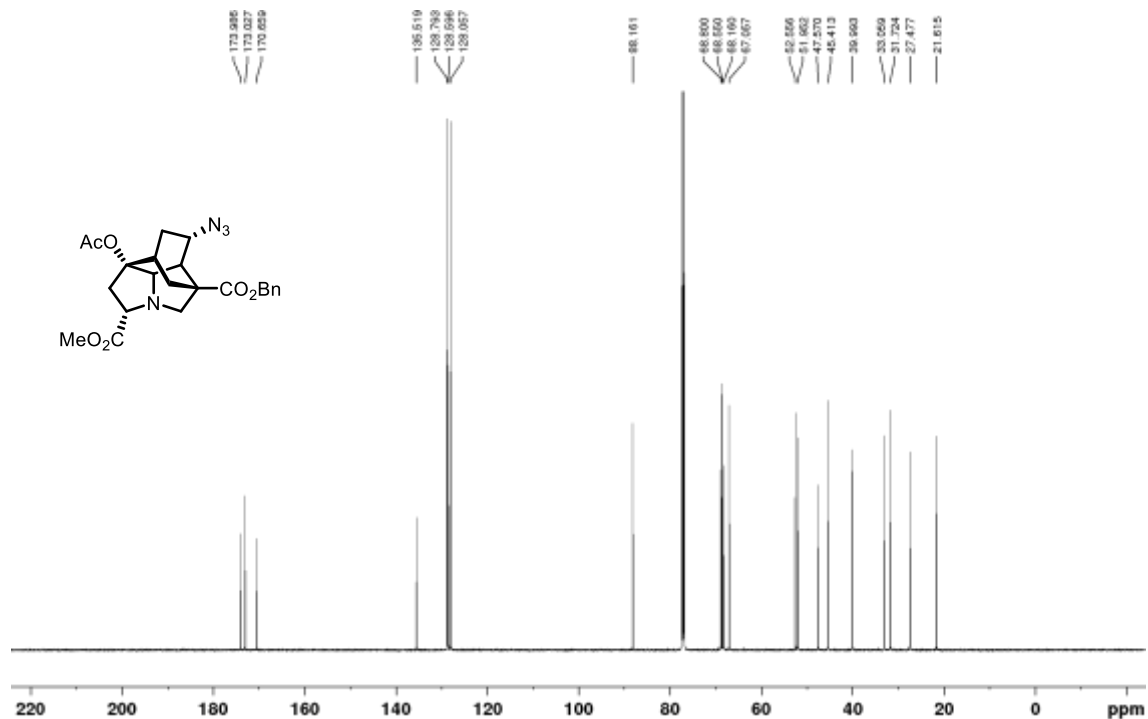


Azide **29**

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3)

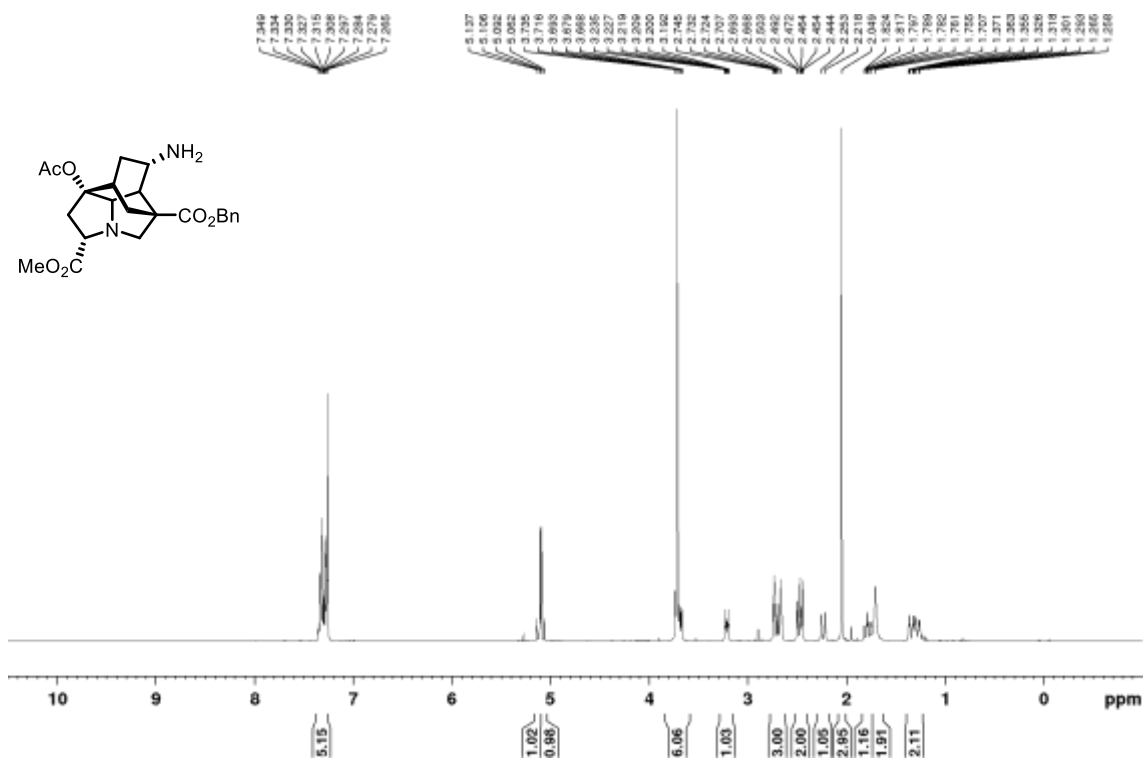


^{13}C NMR (125 MHz, CDCl_3)

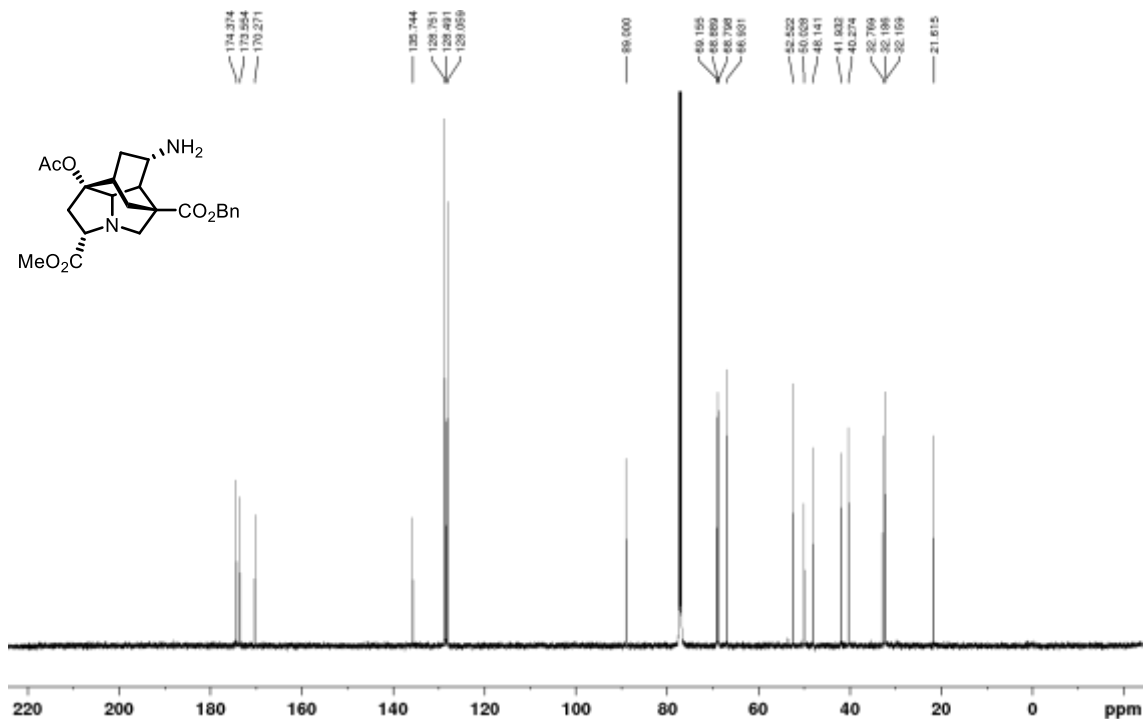


Amine **30**

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3)

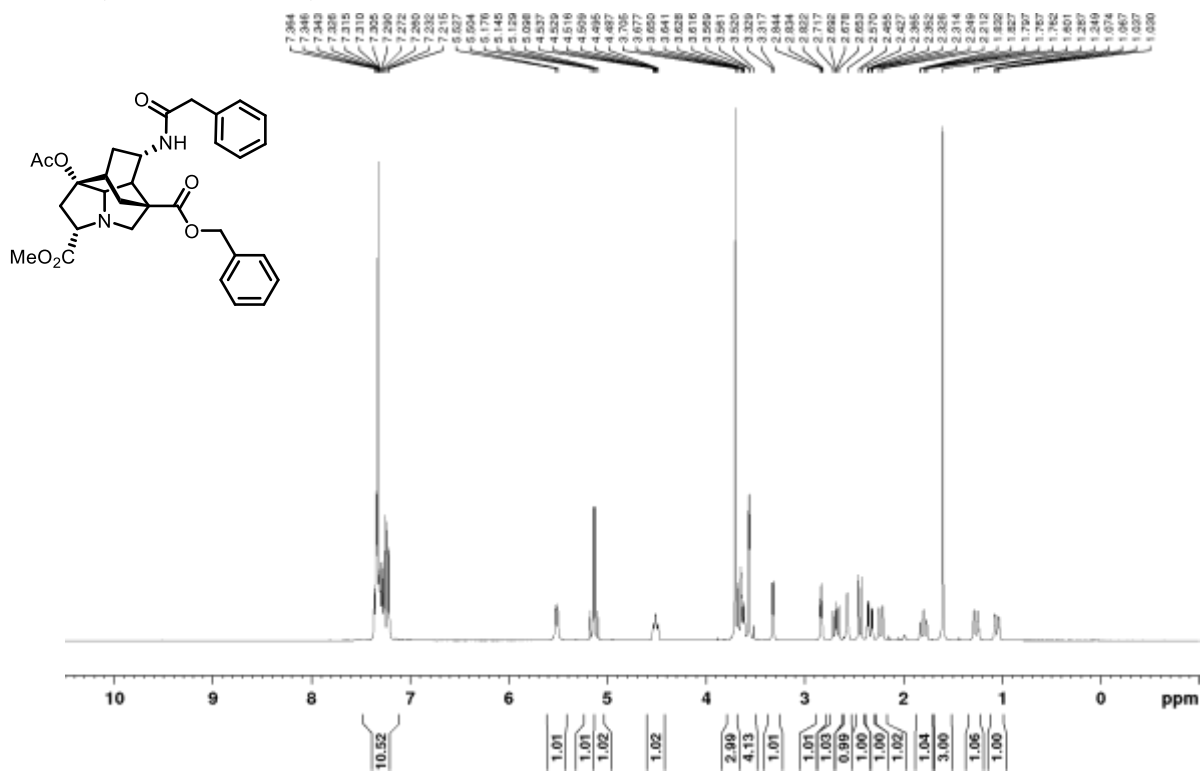


^{13}C NMR (125 MHz, CDCl_3)

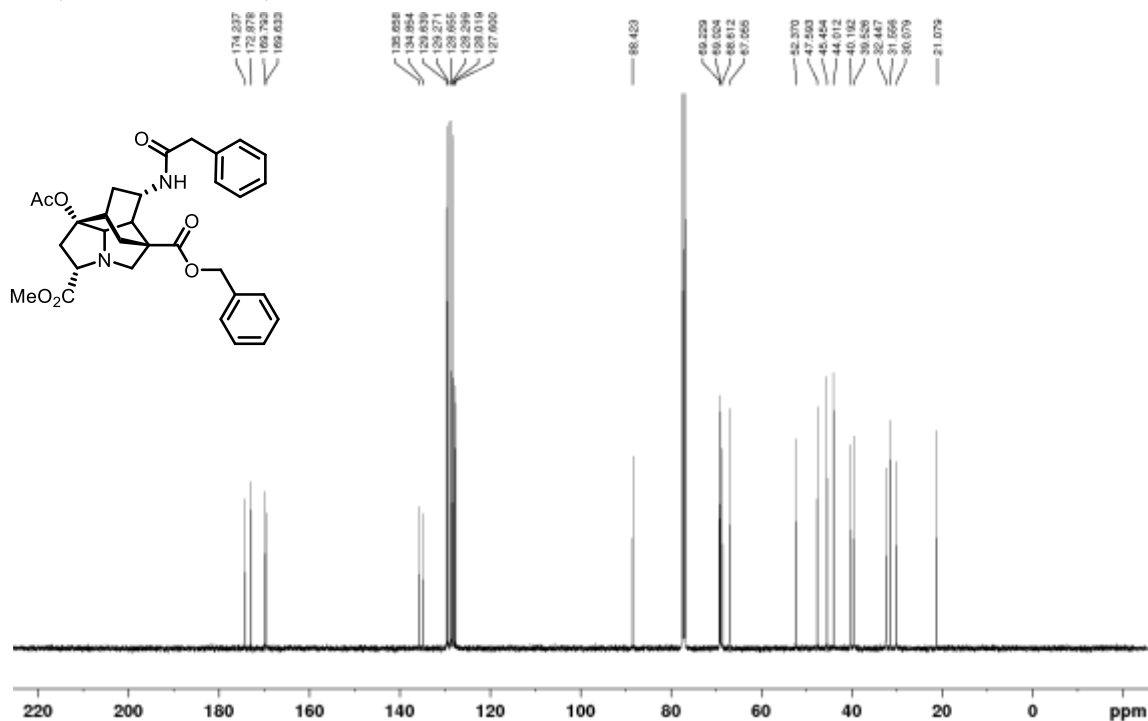


Amide **27a**

$^1\text{H NMR}$ (400 MHz, CDCl_3)

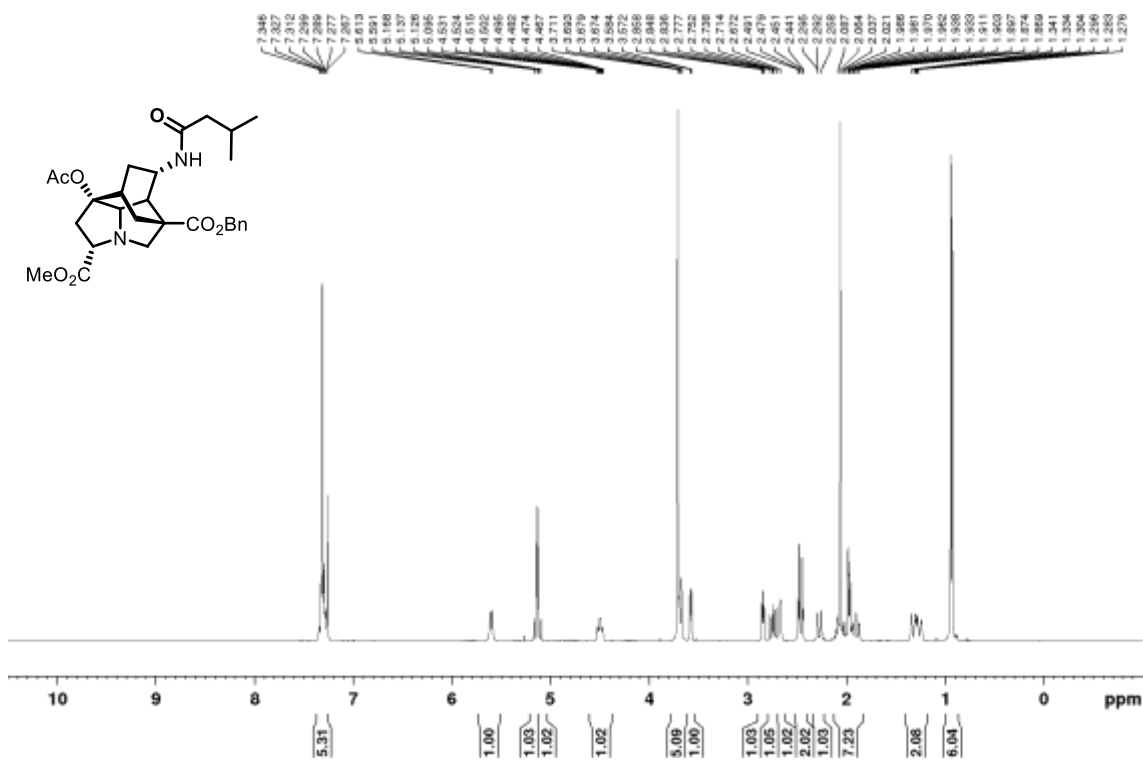


$^{13}\text{C NMR}$ (100 MHz, CDCl_3)

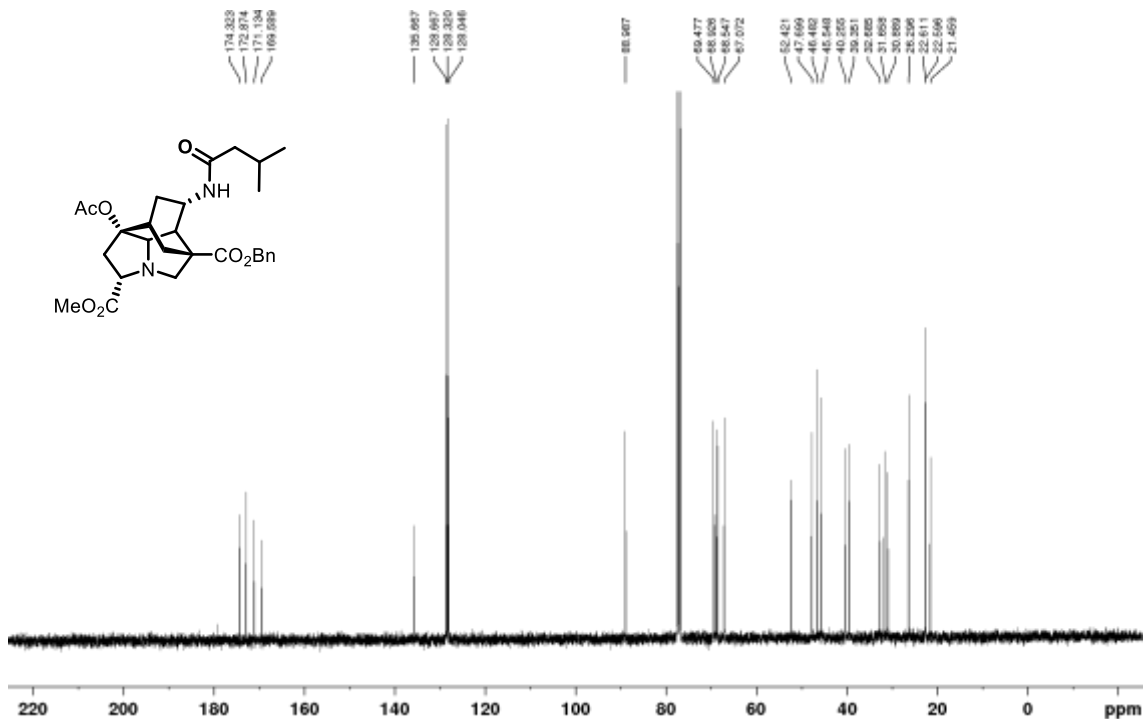


Amide **27b**

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3)

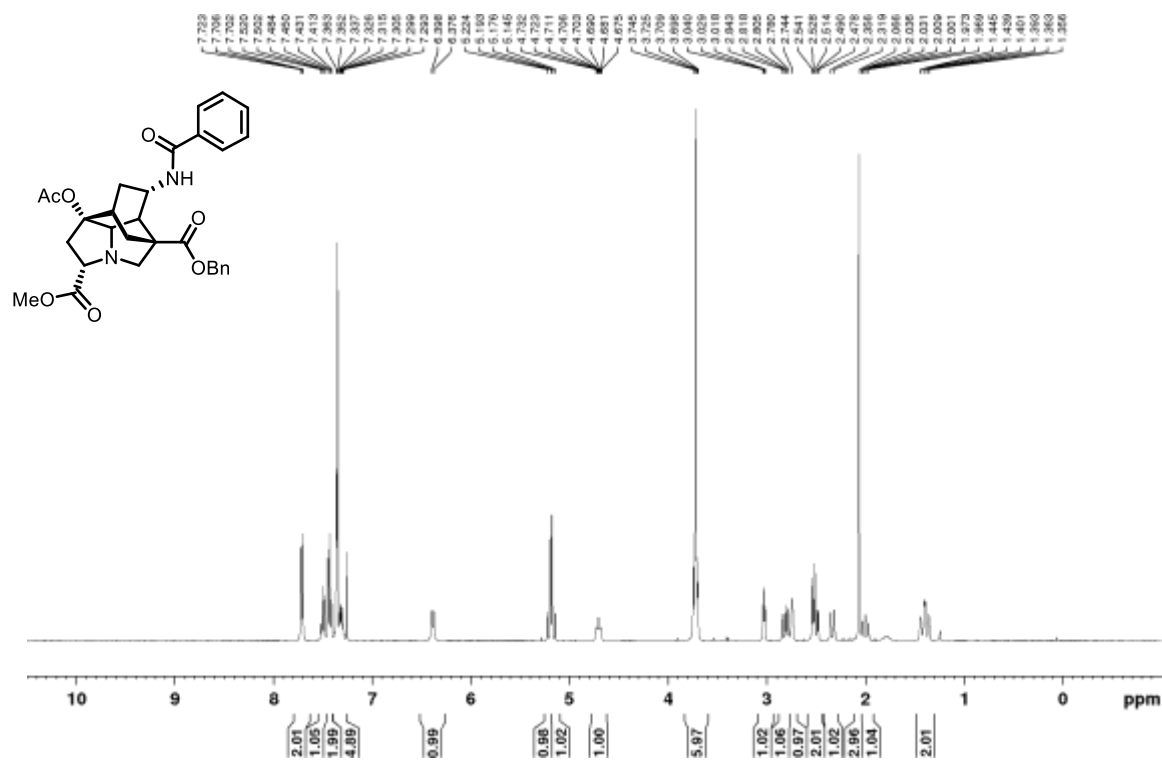


^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3)

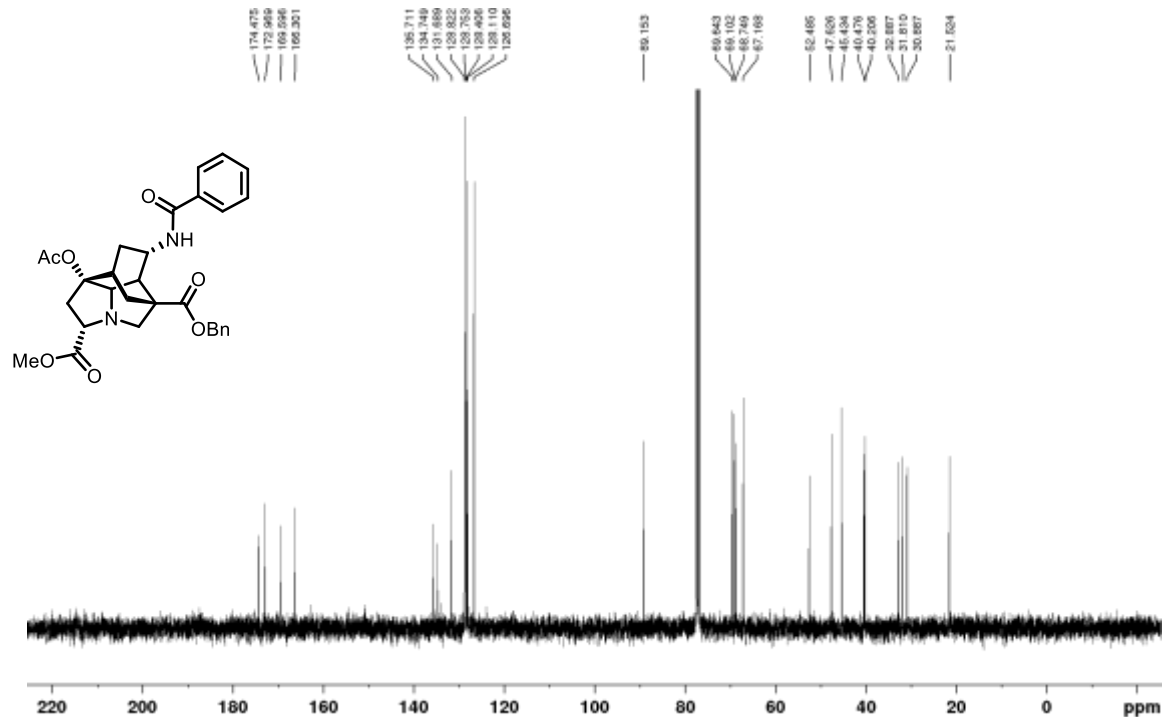


Amide **27c**

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3)

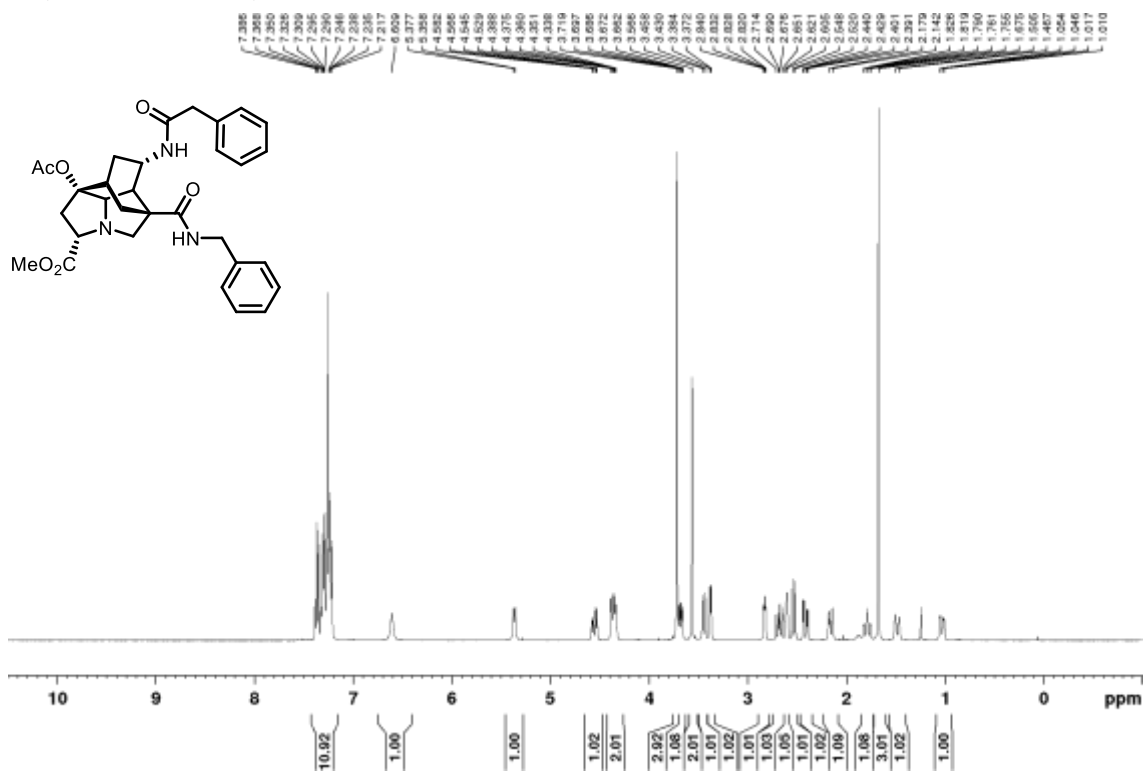


^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3)

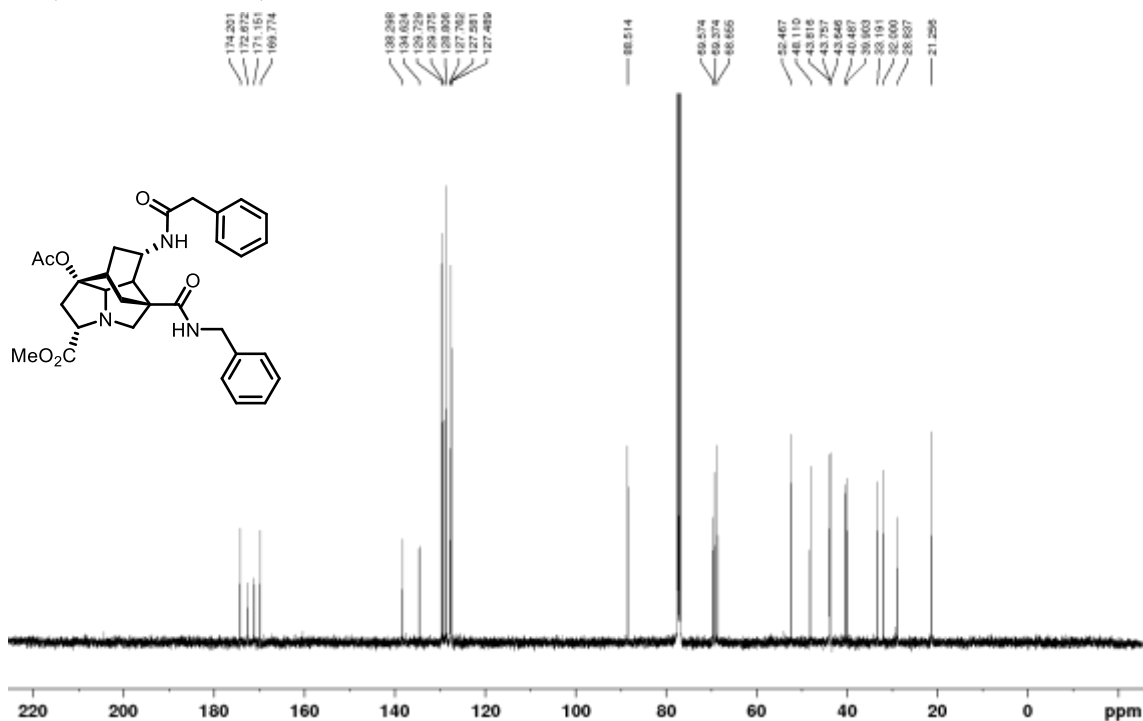


Amide **26a**

$^1\text{H NMR}$ (400 MHz, CDCl_3)

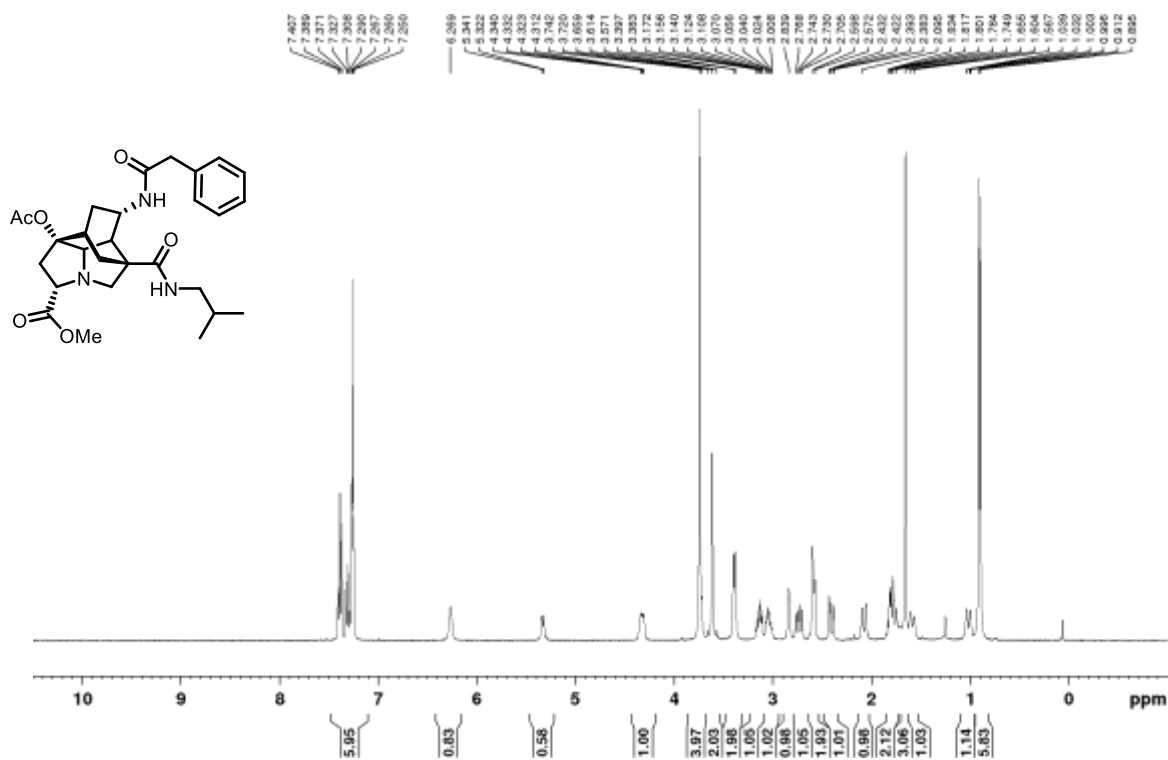


$^{13}\text{C NMR}$ (100 MHz, CDCl_3)

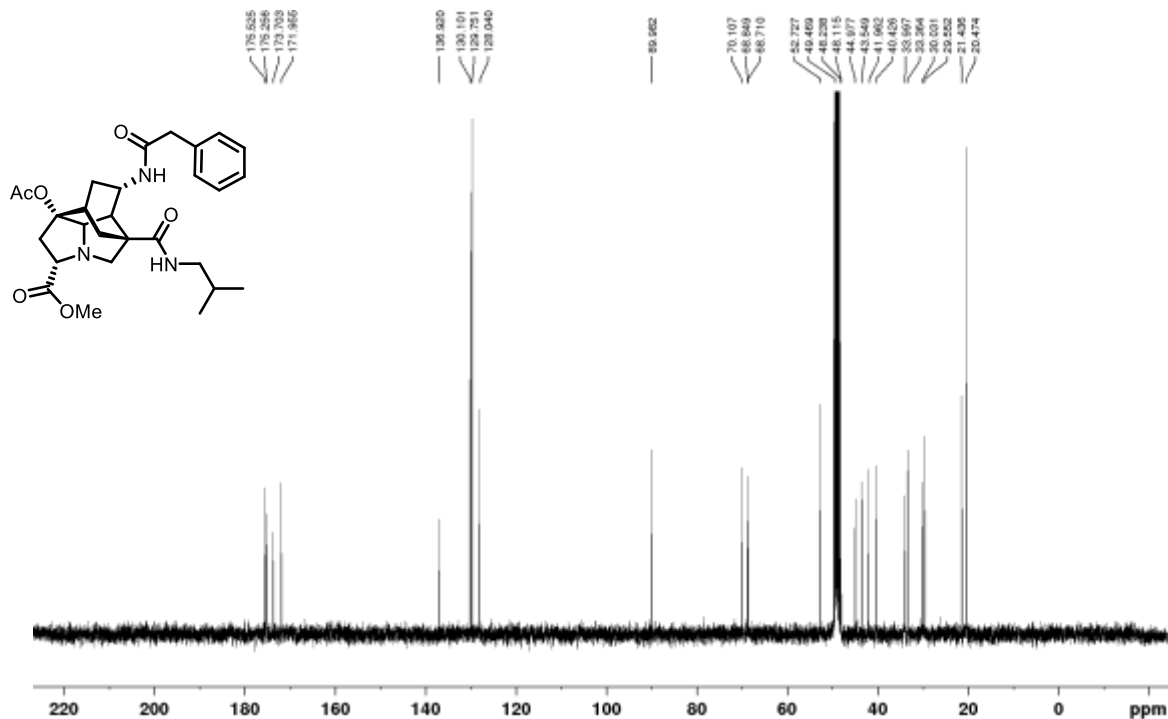


Amide **26b**

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃)

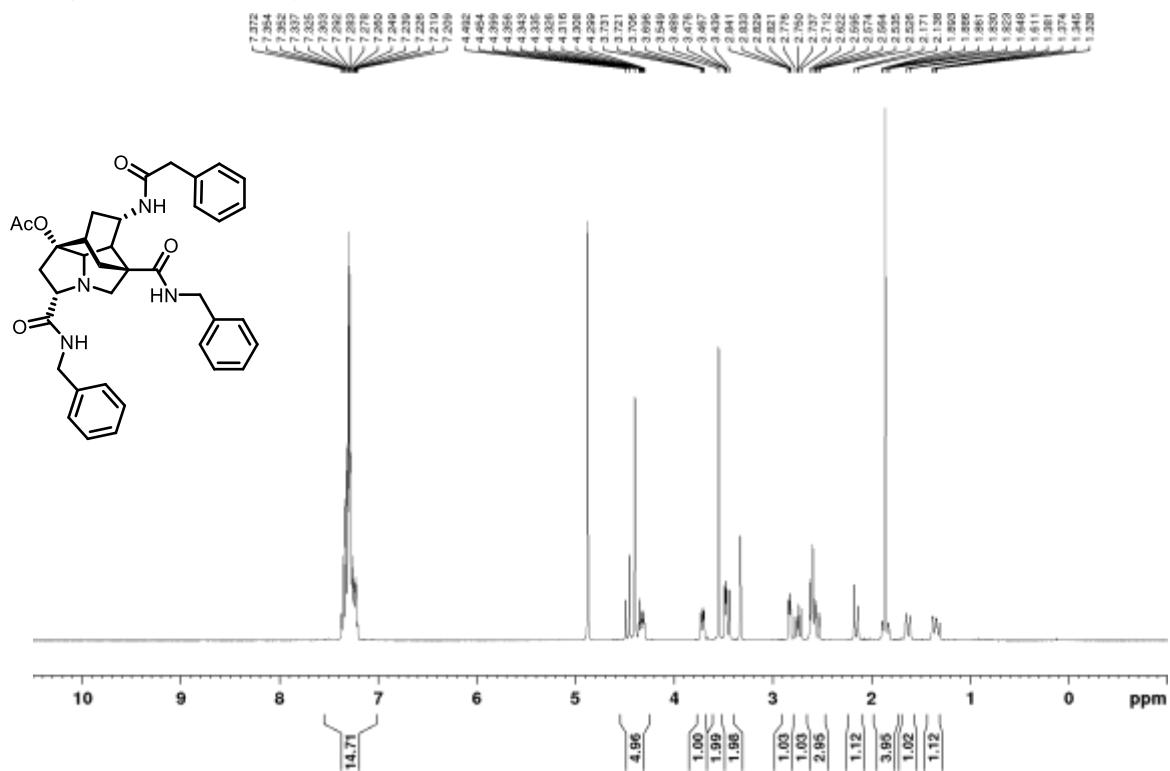


¹³C NMR (100 MHz, CD₃OD)

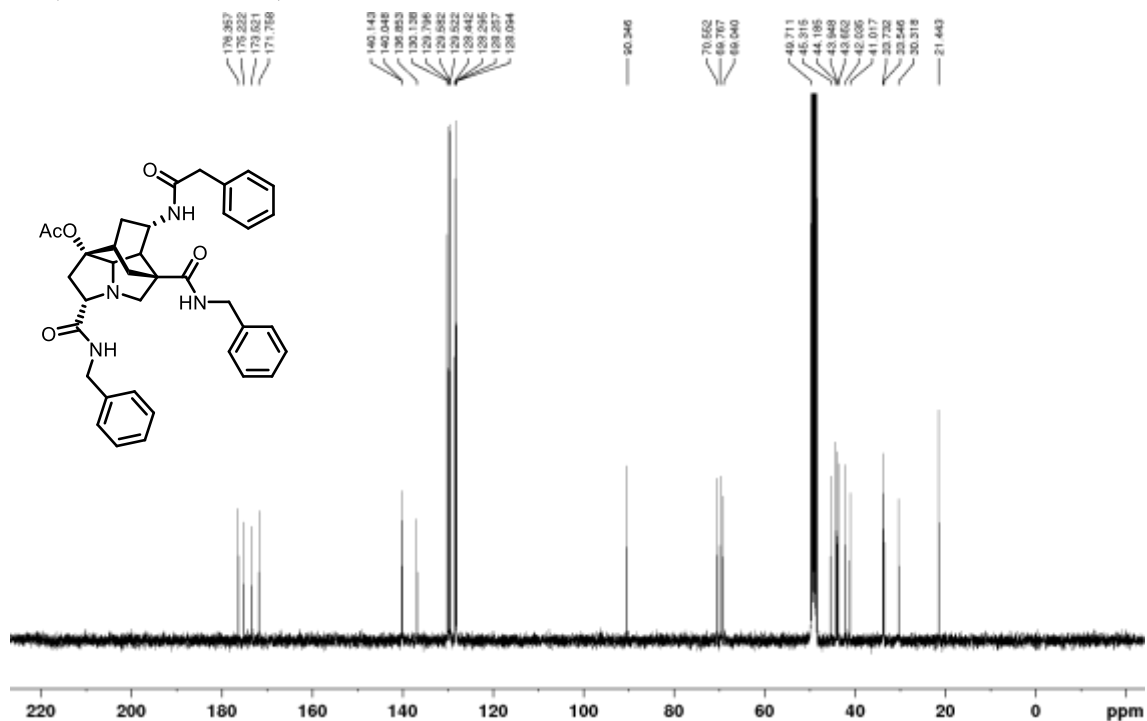


Amide **25a**

^1H NMR (400 MHz, CD_3OD)

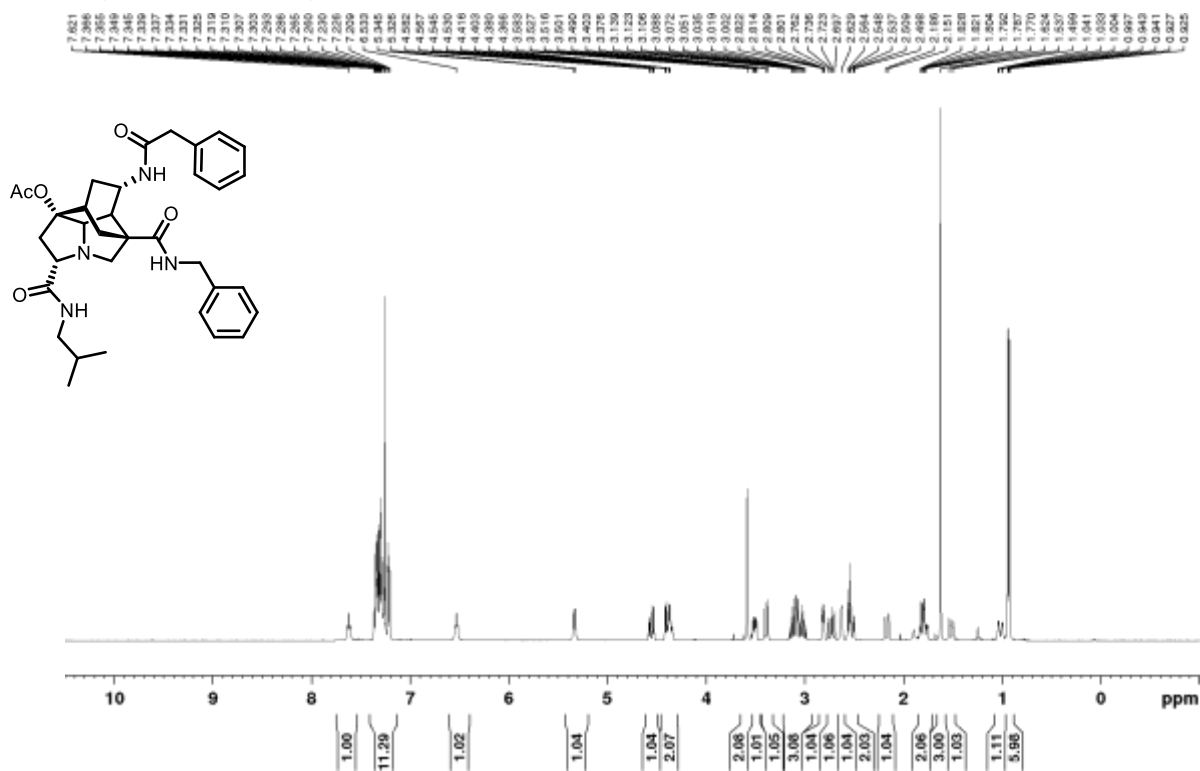


^{13}C NMR (100 MHz, CD_3OD)

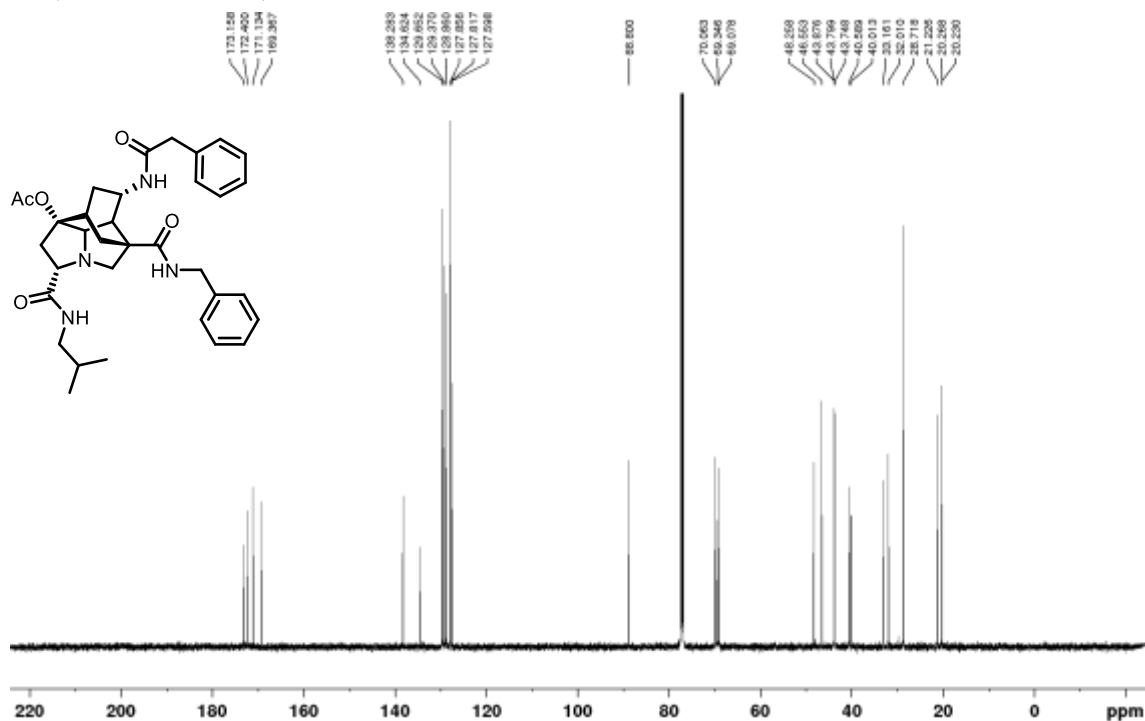


Amide **25b**

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3)

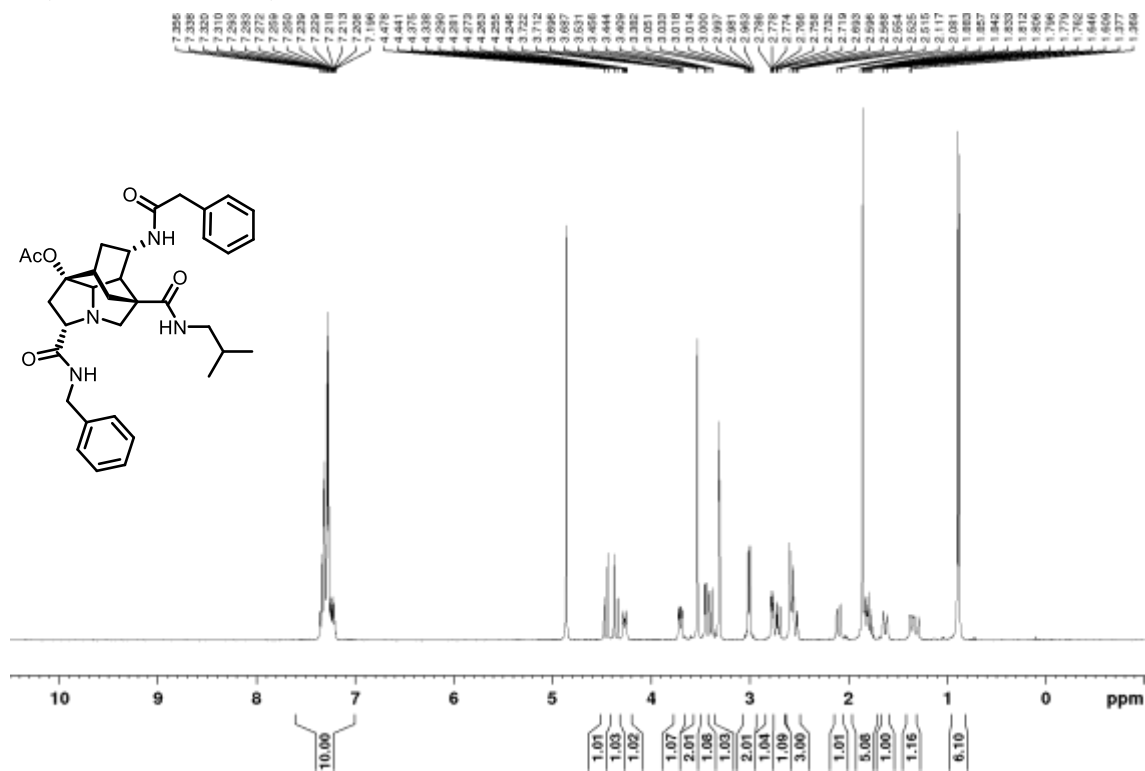


^{13}C NMR (125 MHz, CDCl_3)

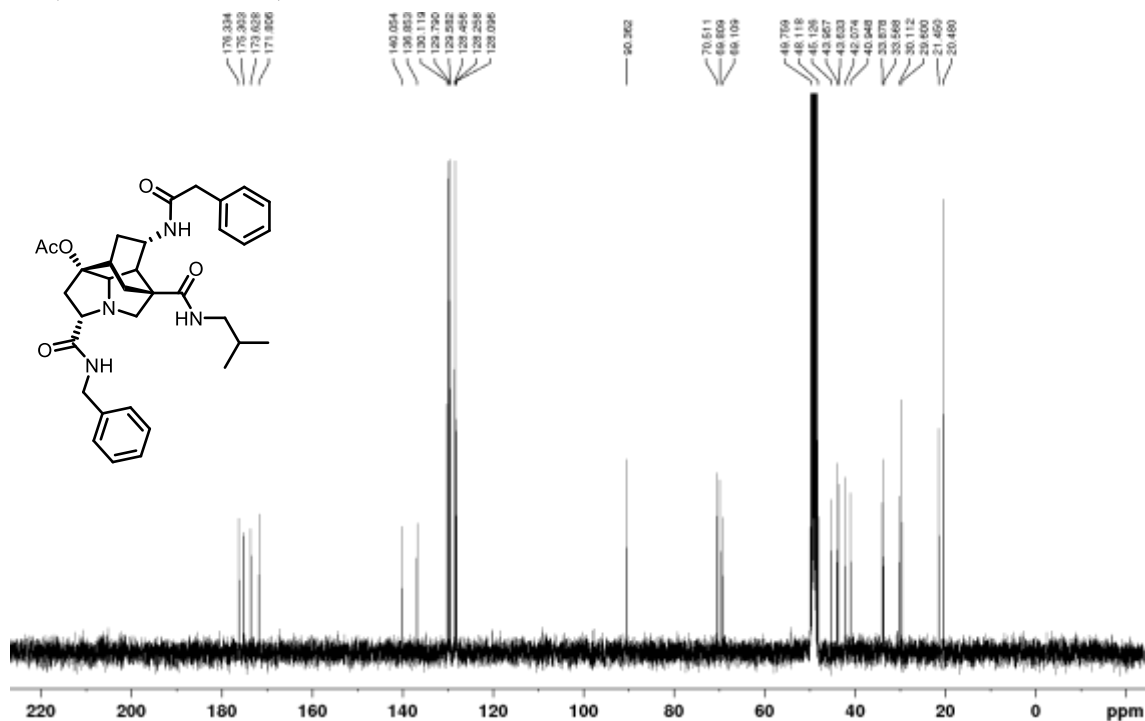


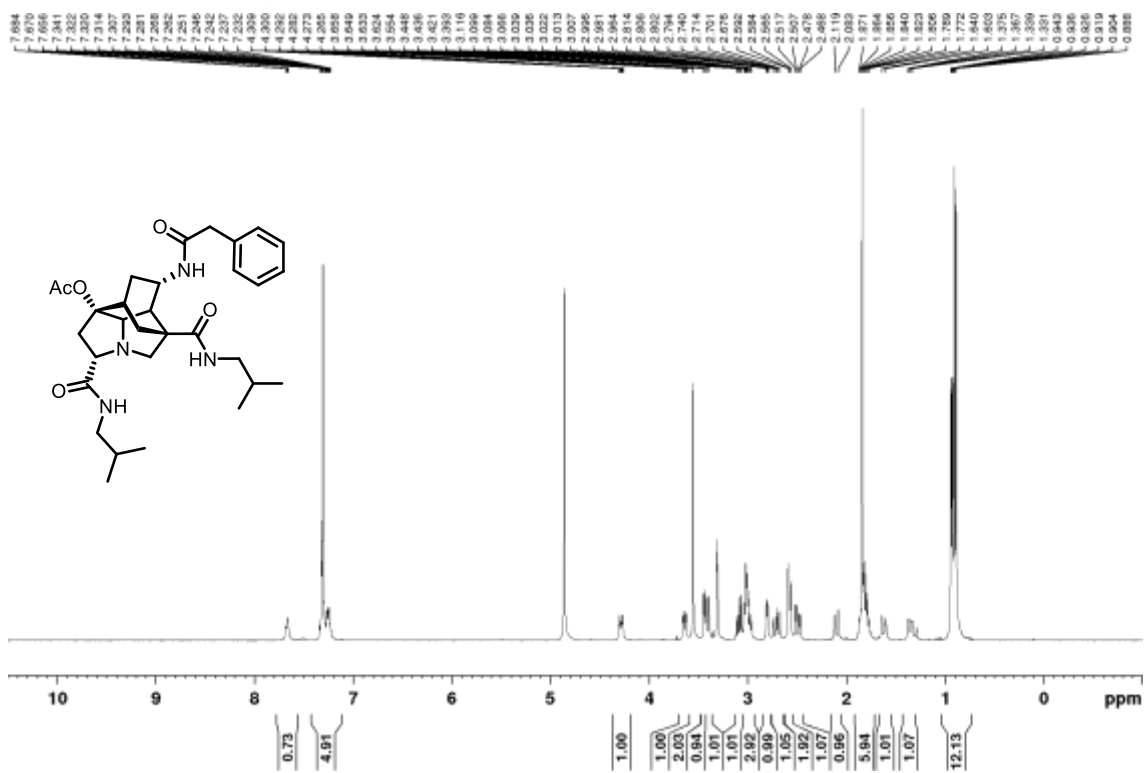
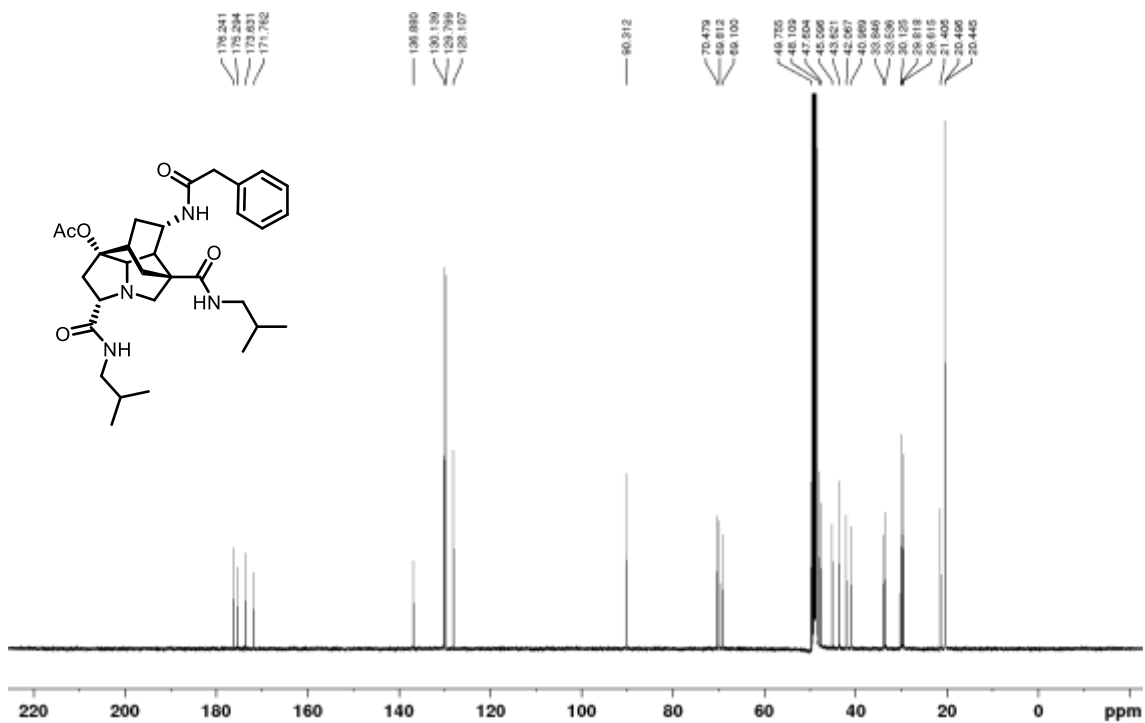
Amide **25c**

^1H NMR (400 MHz, CD_3OD)



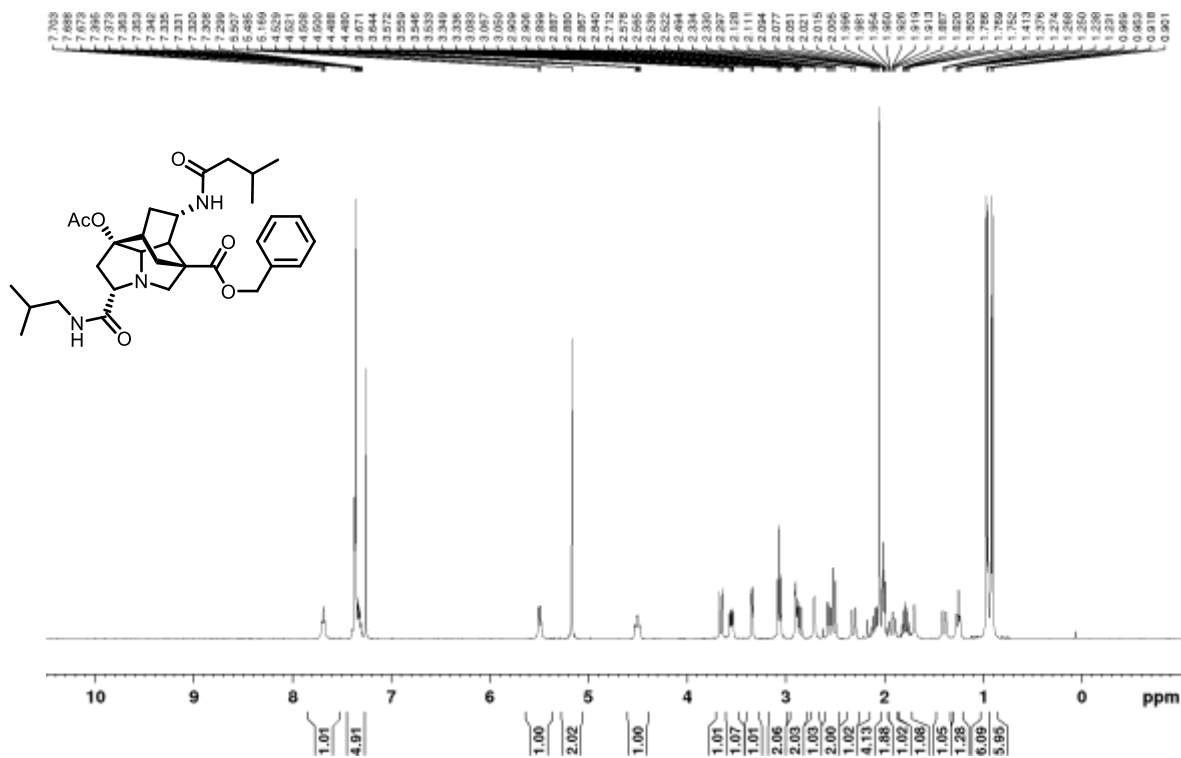
^{13}C NMR (100 MHz, CD_3OD)



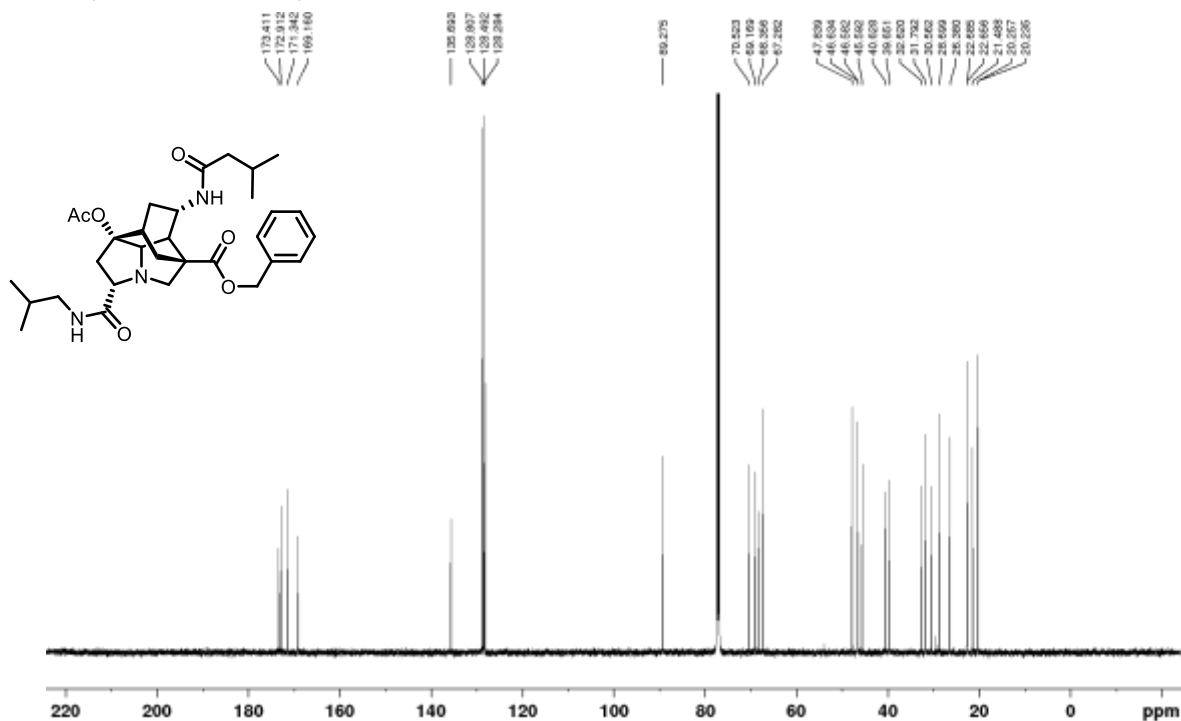
Amide **25d** ^1H NMR (400 MHz, CD_3OD) ^{13}C NMR (125 MHz, CD_3OD)

Amide **31b**

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃)

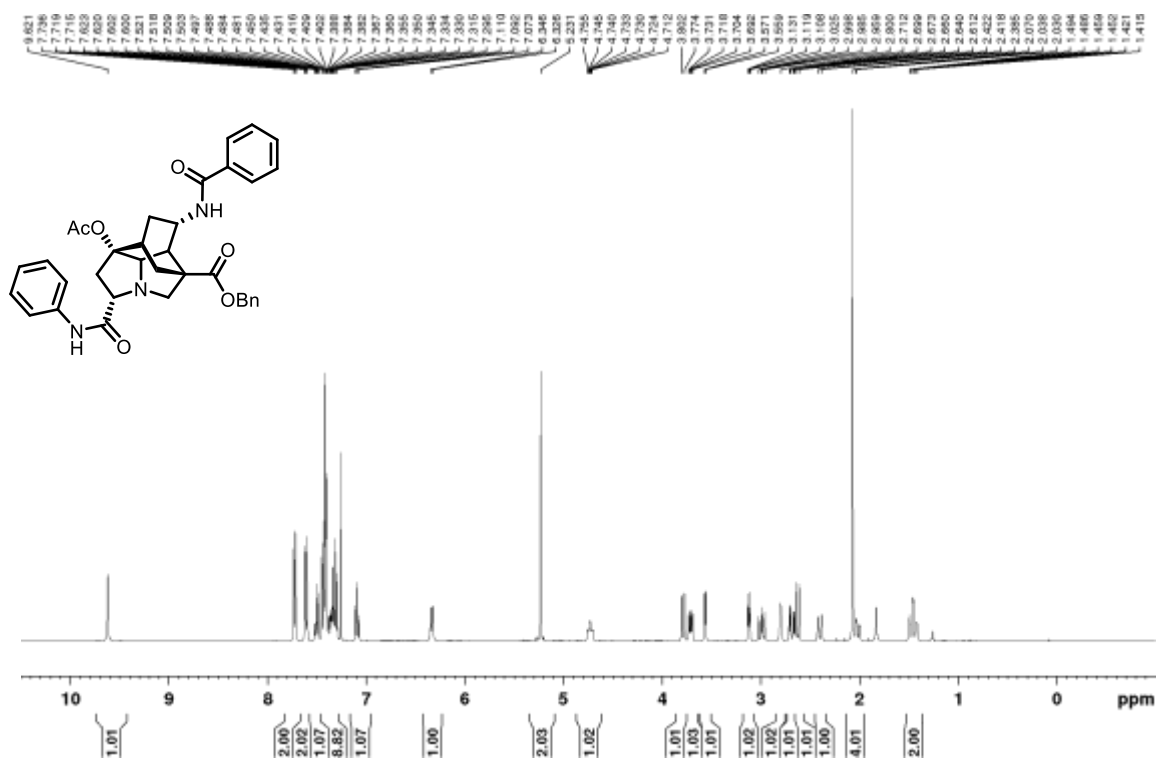


¹³C NMR (125 MHz, CDCl₃)

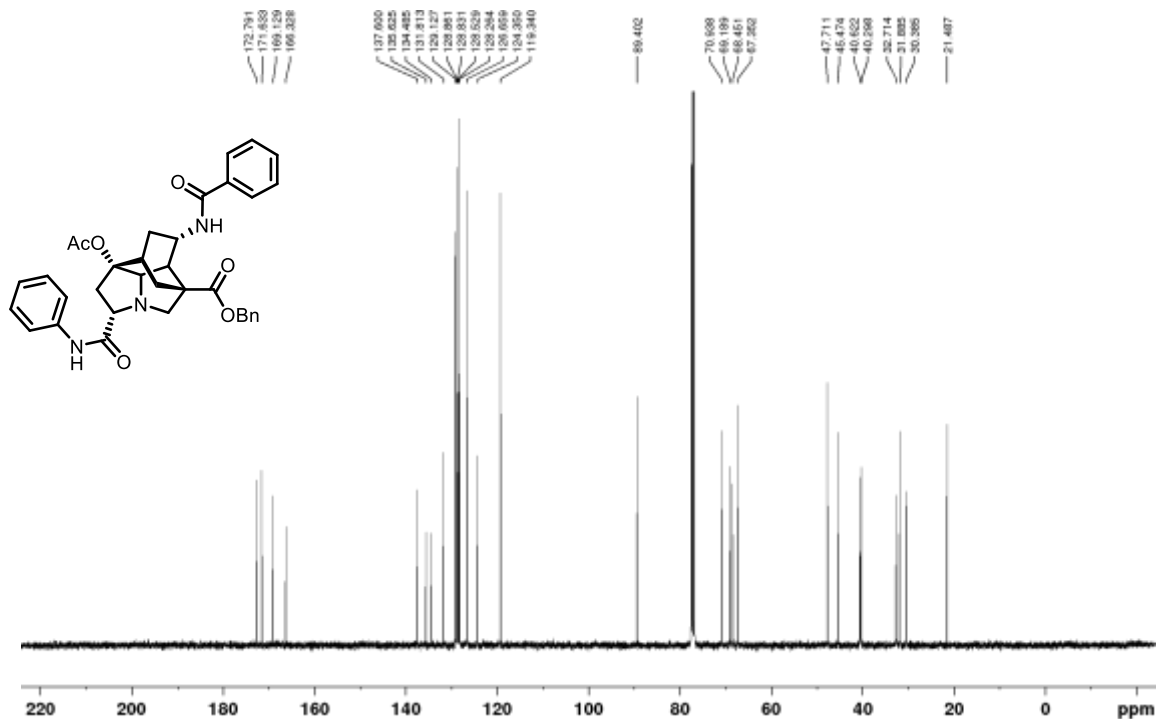


Amide **31c**

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3)

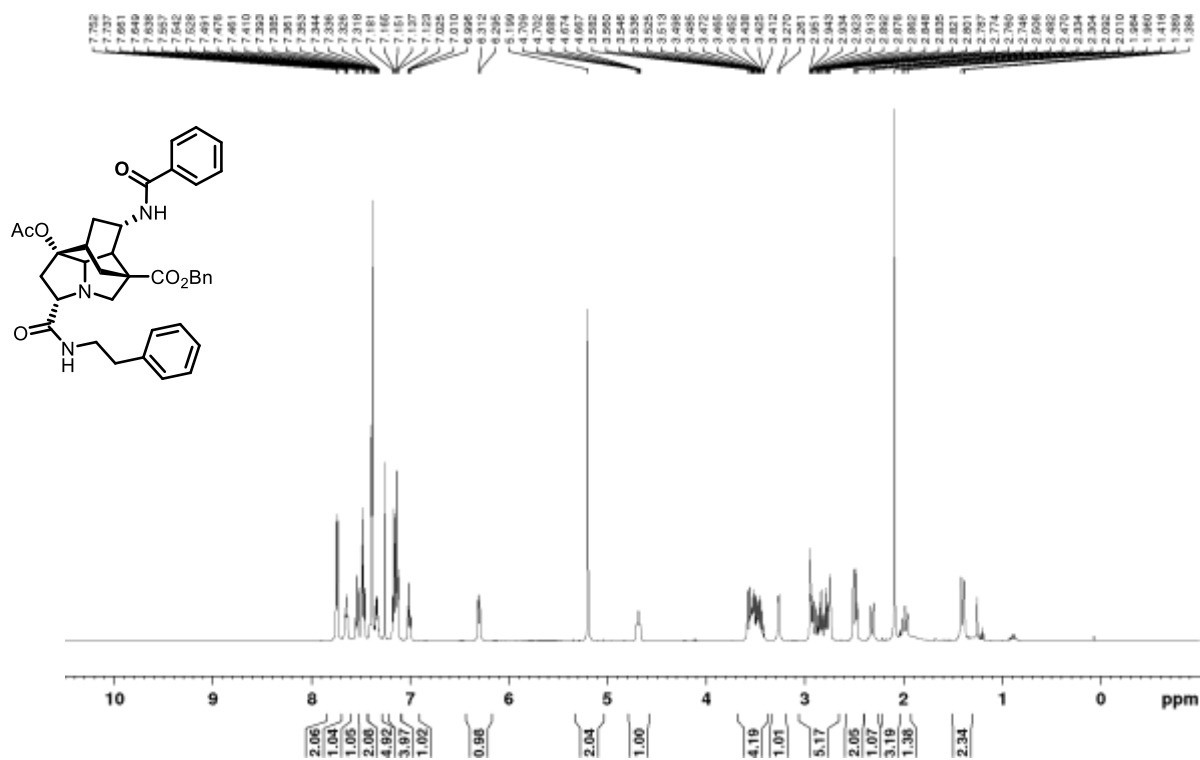


^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3)

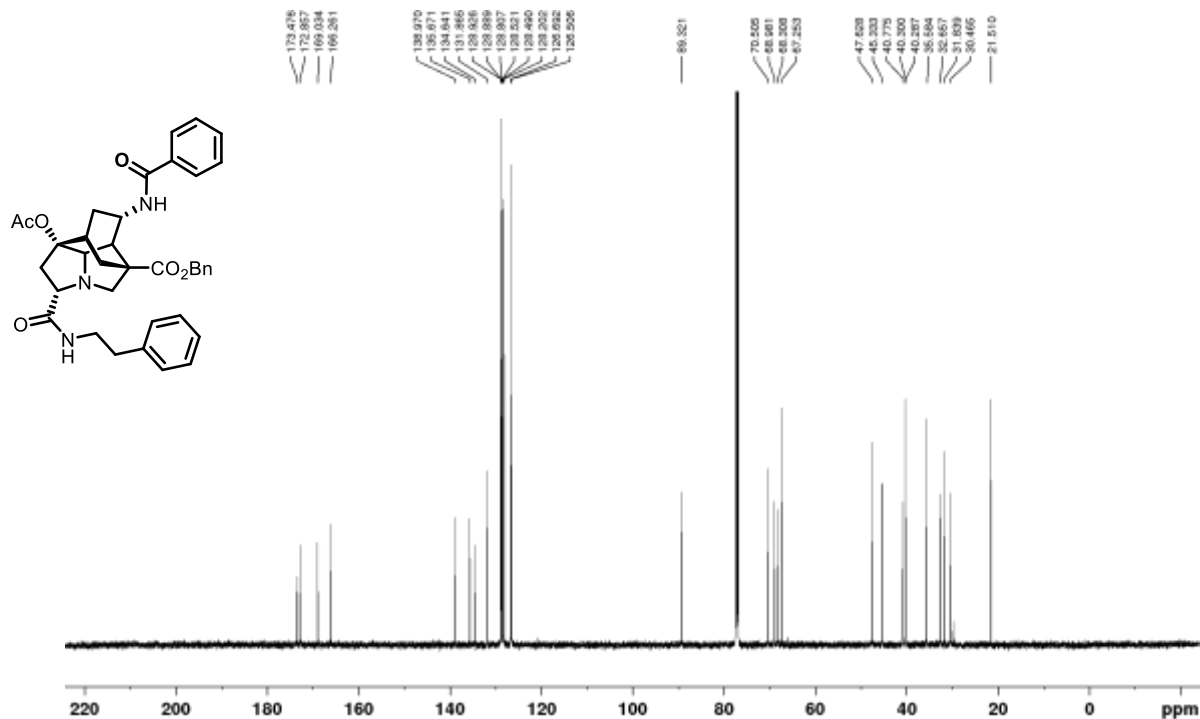


Amide **31d**

^1H NMR (500 MHz, CDCl_3)

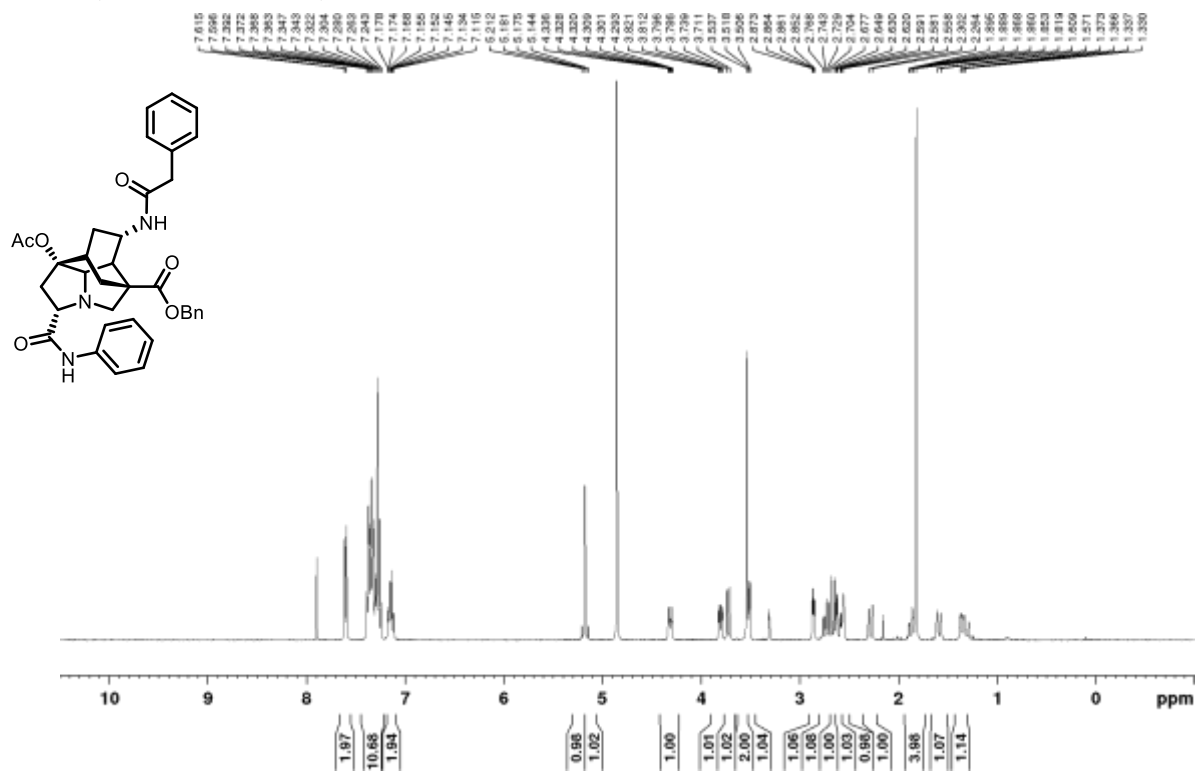


^{13}C NMR (125 MHz, CDCl_3)

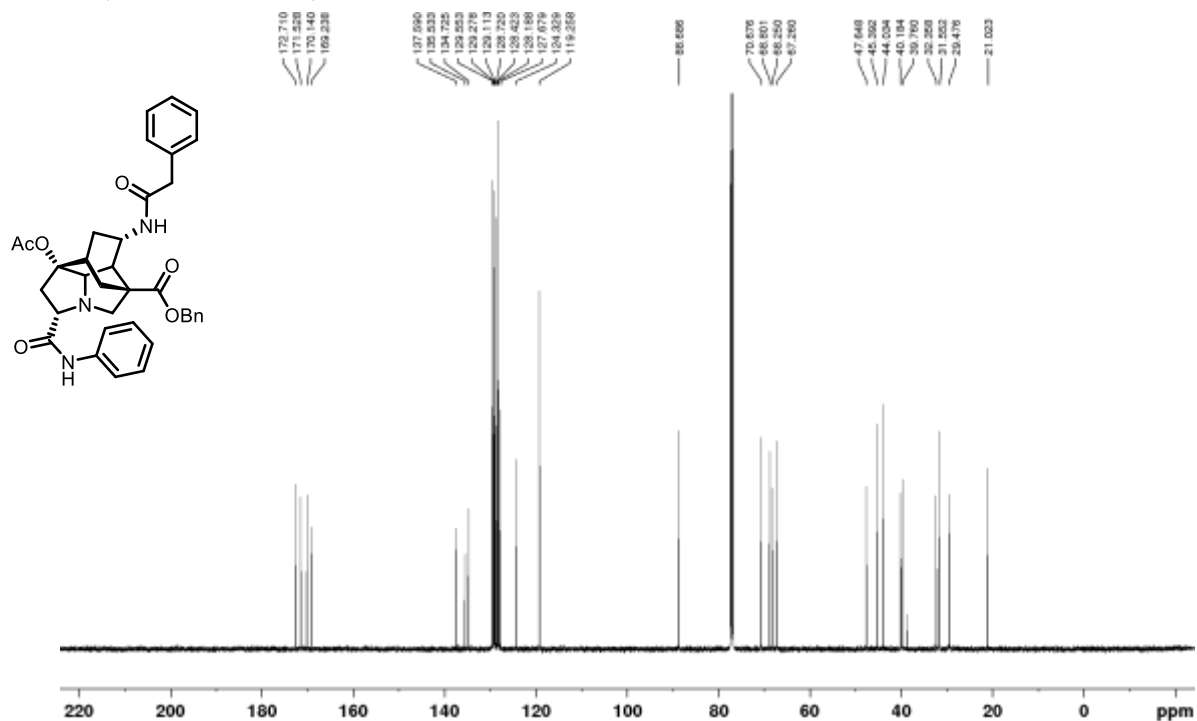


Amide **31e**

^1H NMR (400 MHz, CD_3OD)

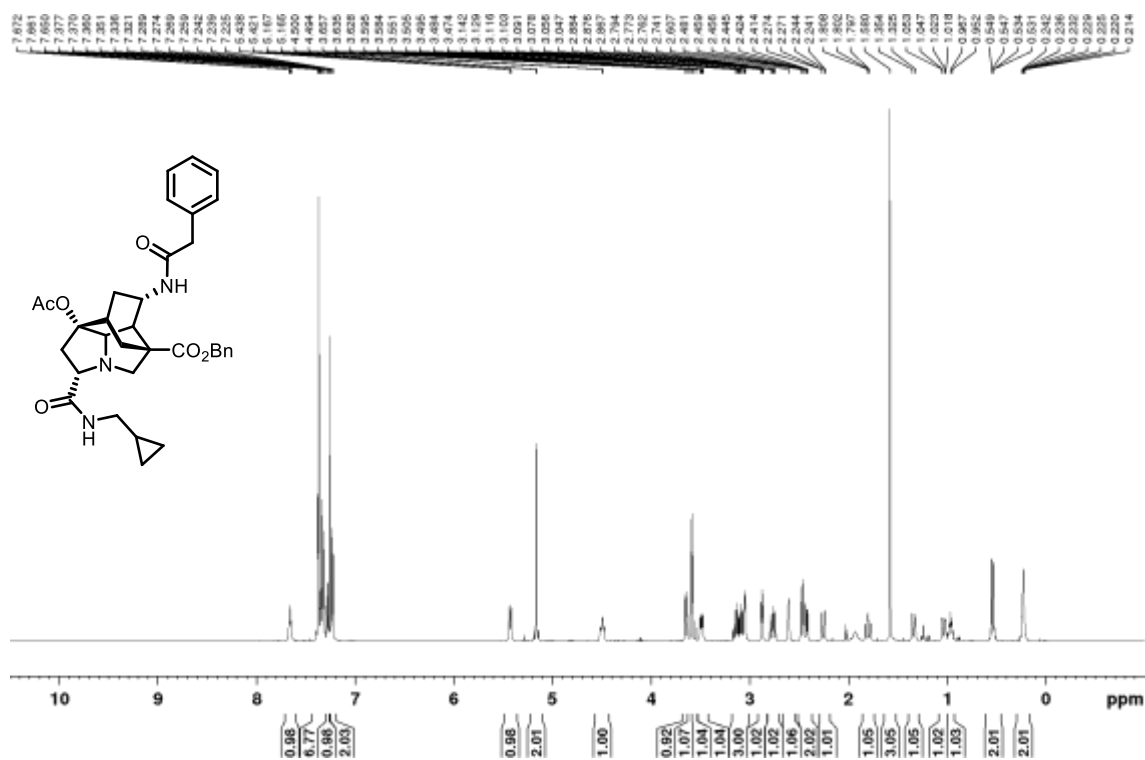


^{13}C NMR (125 MHz, CDCl_3)

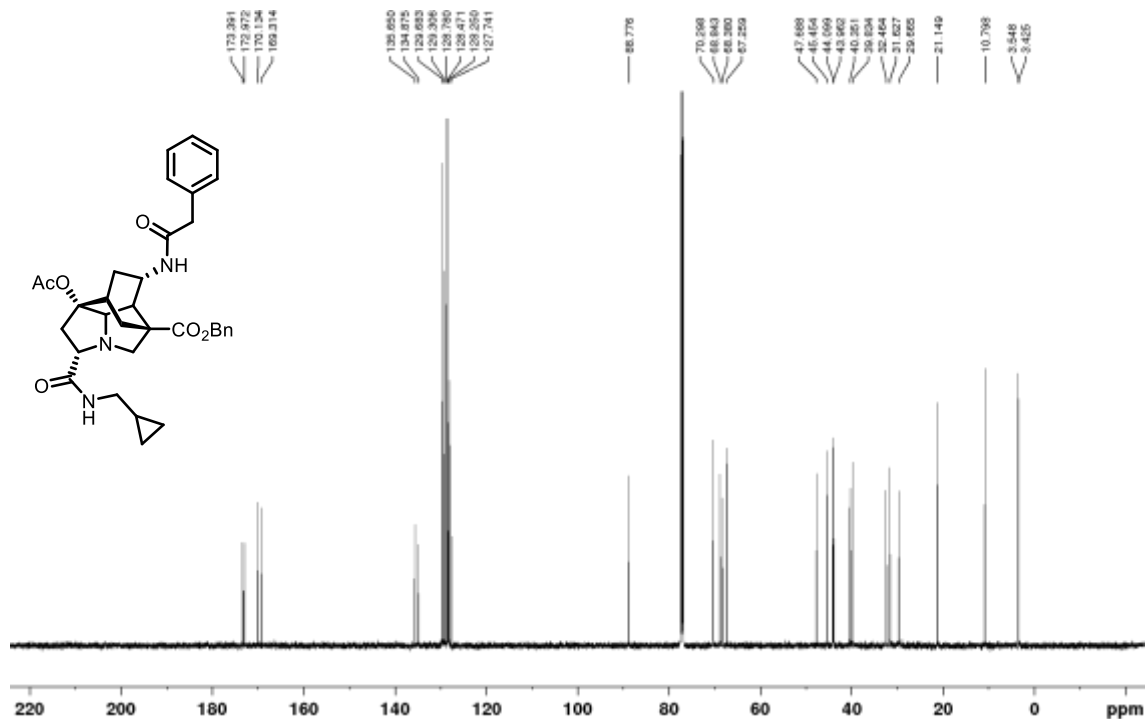


Amide **31f**

^1H NMR (500 MHz, CDCl_3)

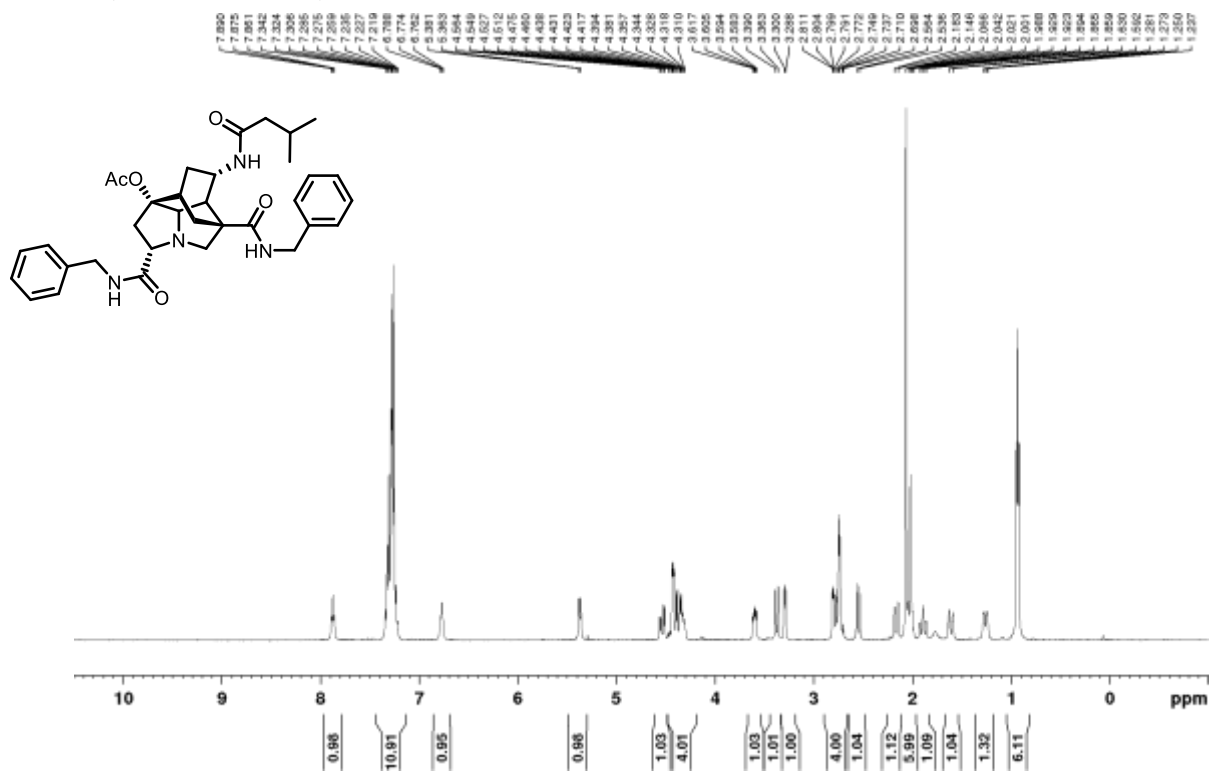


^{13}C NMR (125 MHz, CDCl_3)

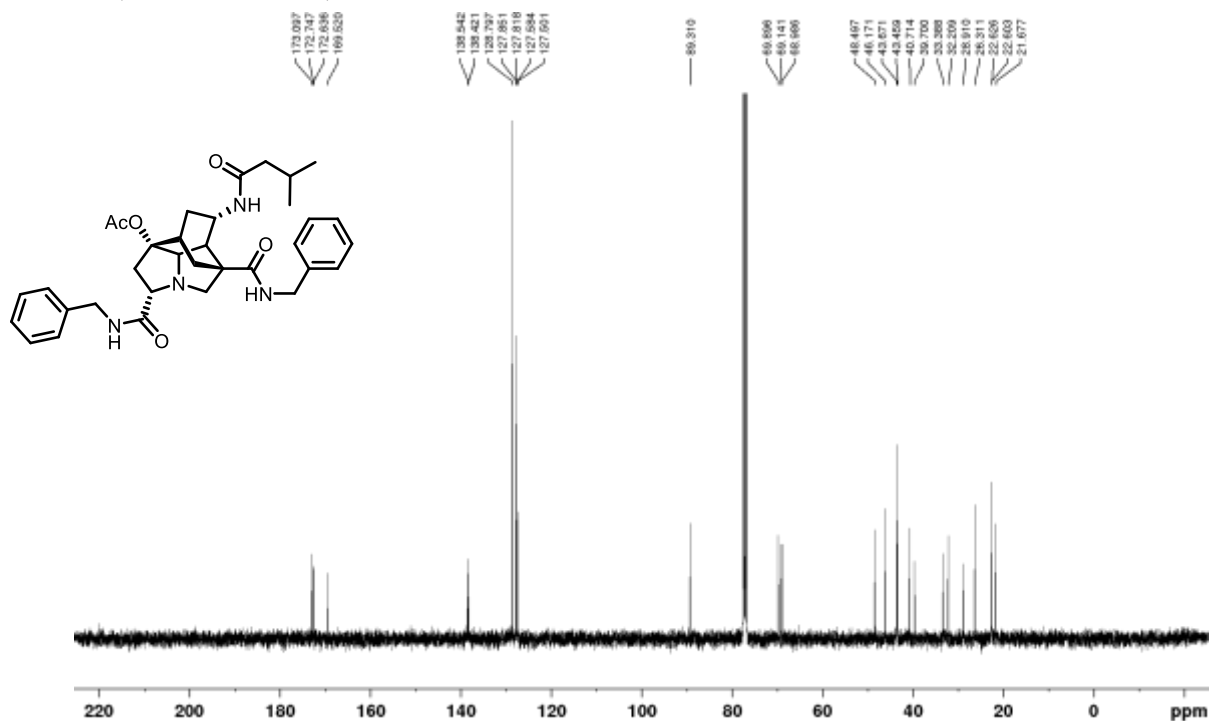


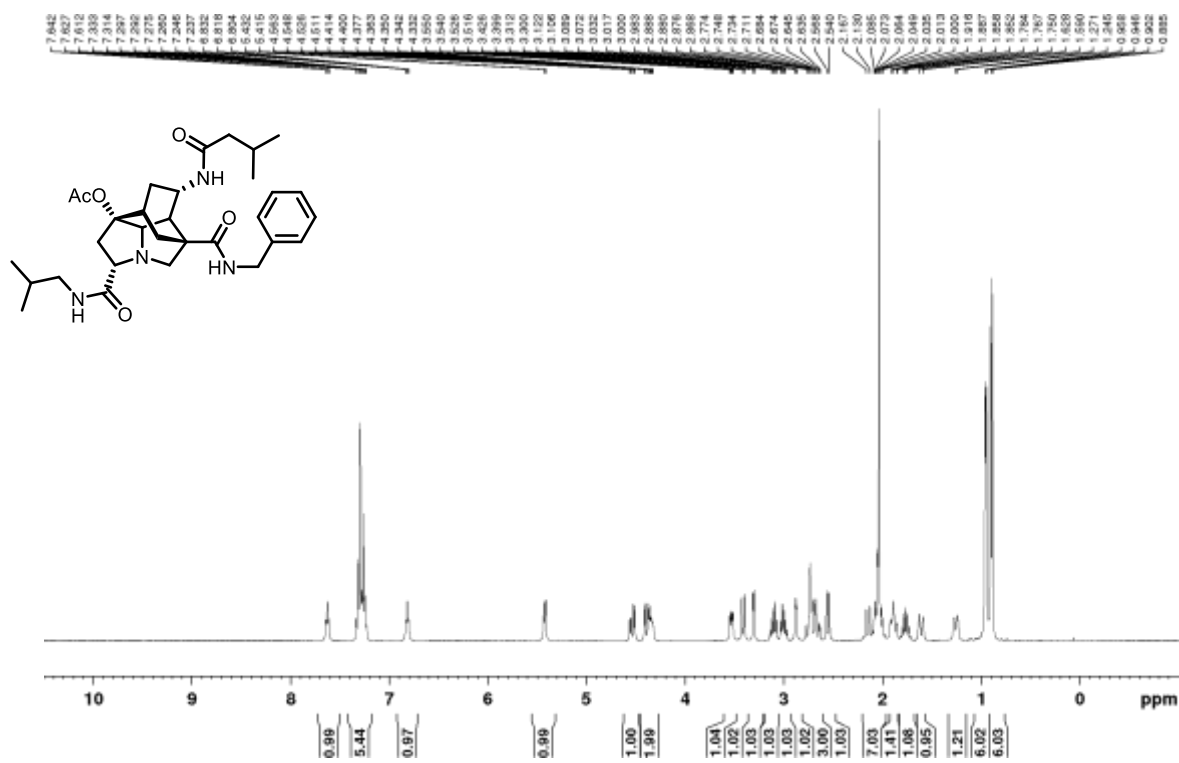
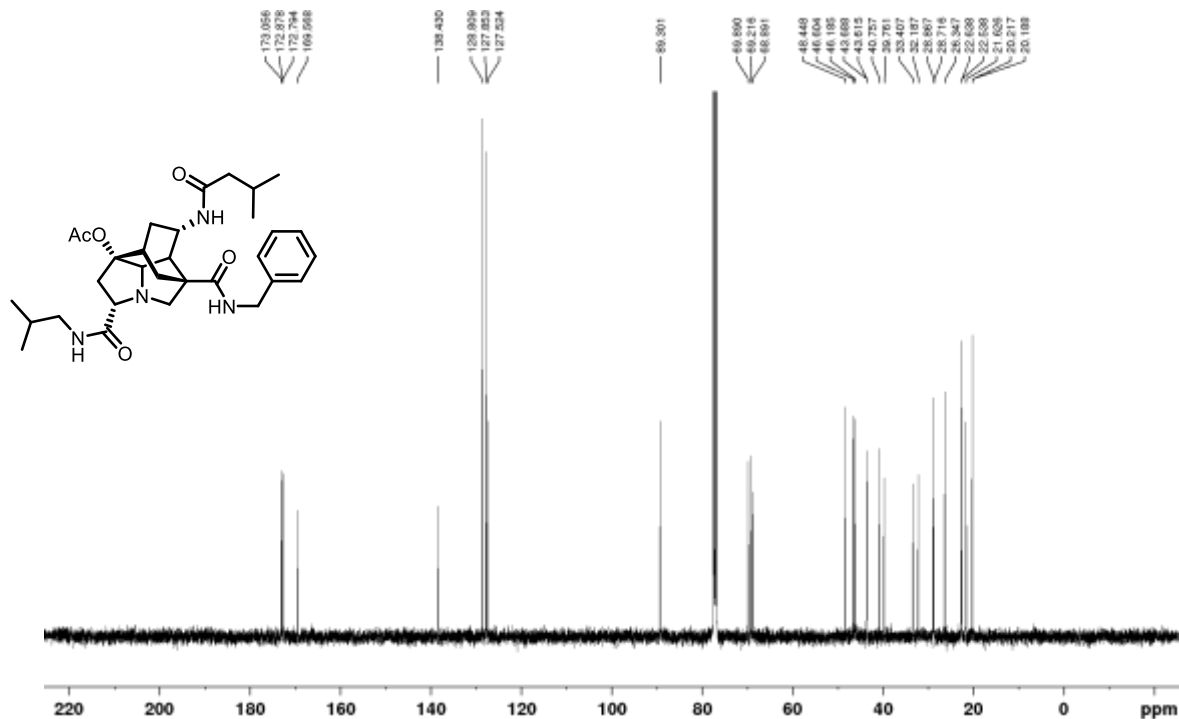
Amide **25e**

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3)



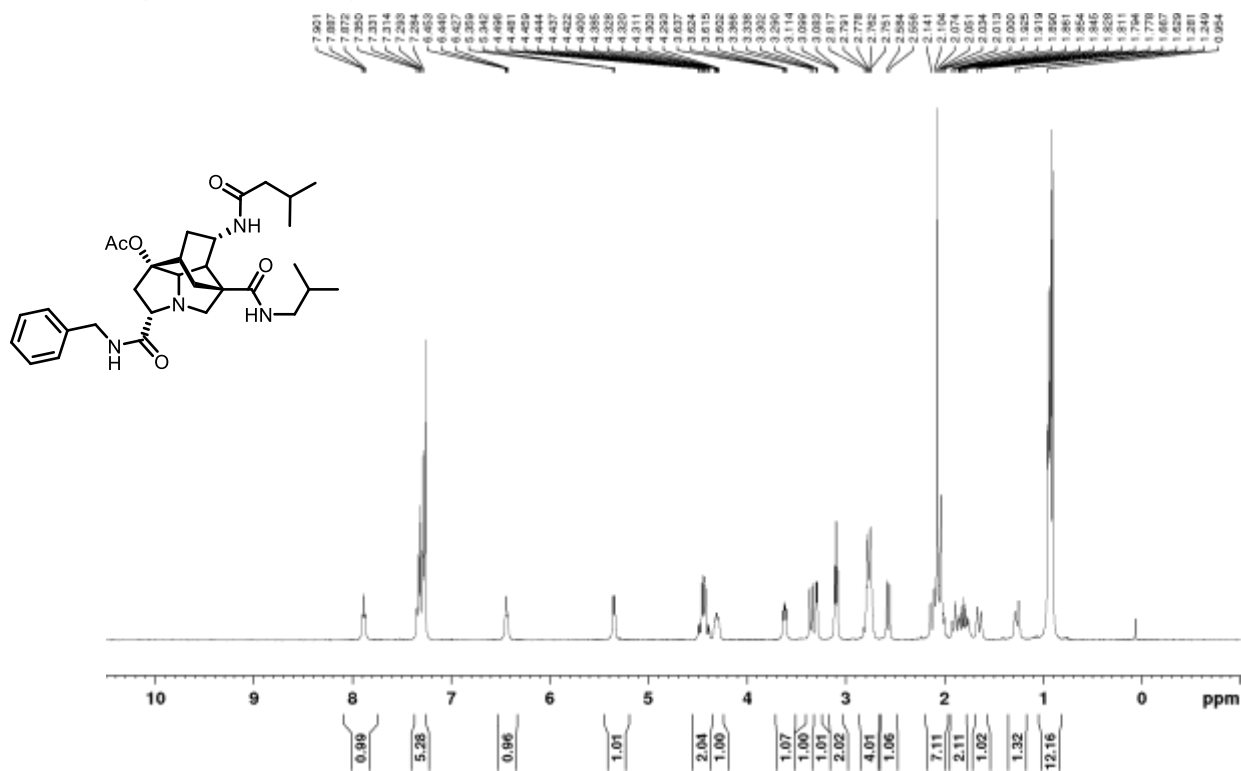
^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3)



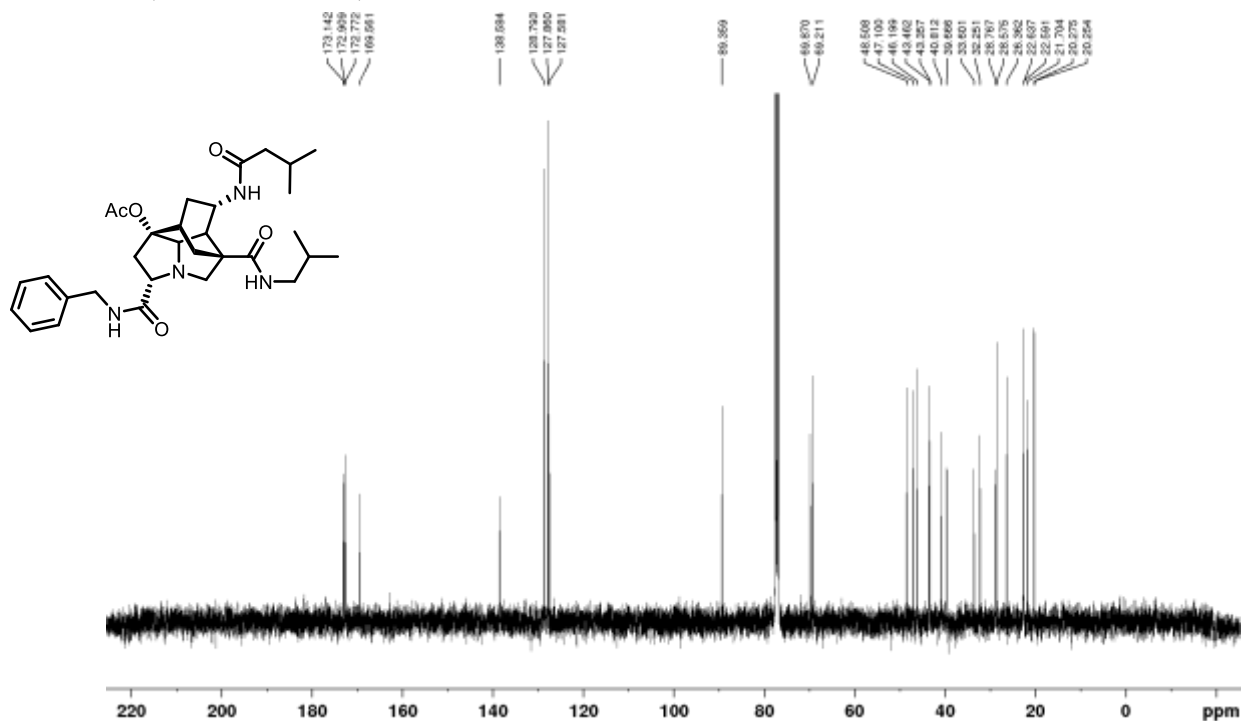
Amide **25f** ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) ^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3)

Amide **25g**

$^1\text{H NMR}$ (400 MHz, CDCl_3)

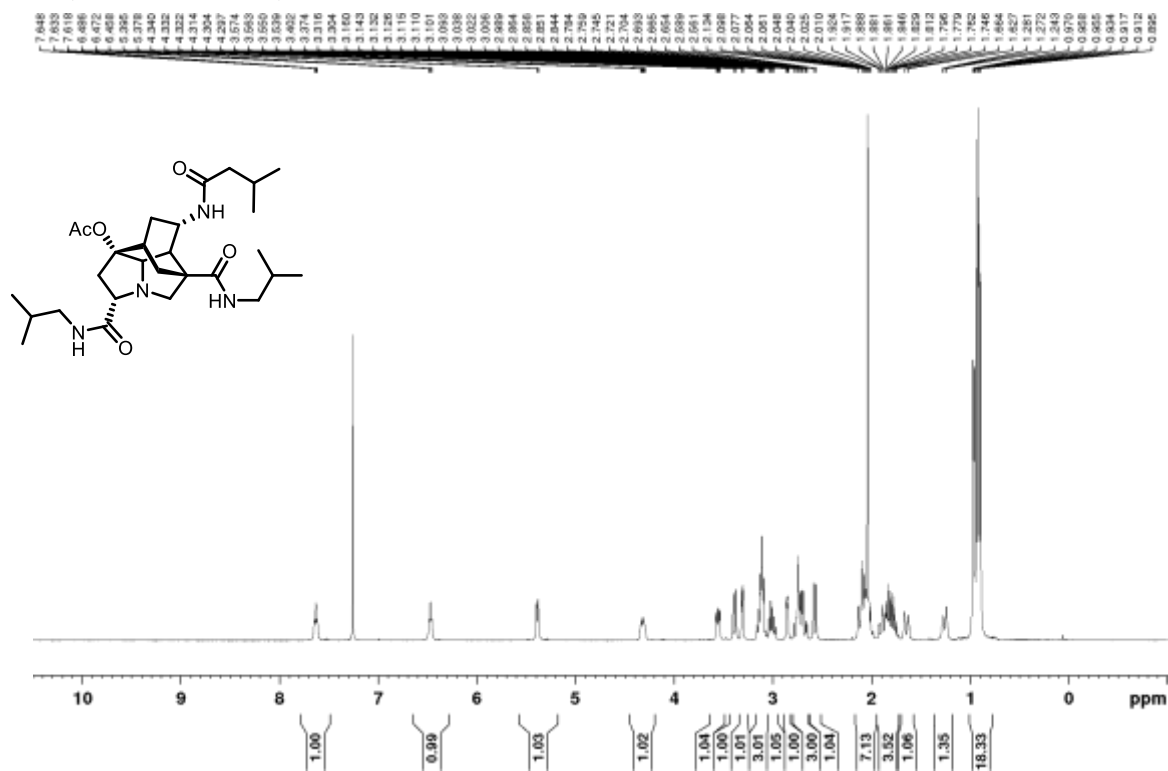


$^{13}\text{C NMR}$ (100 MHz, CDCl_3)

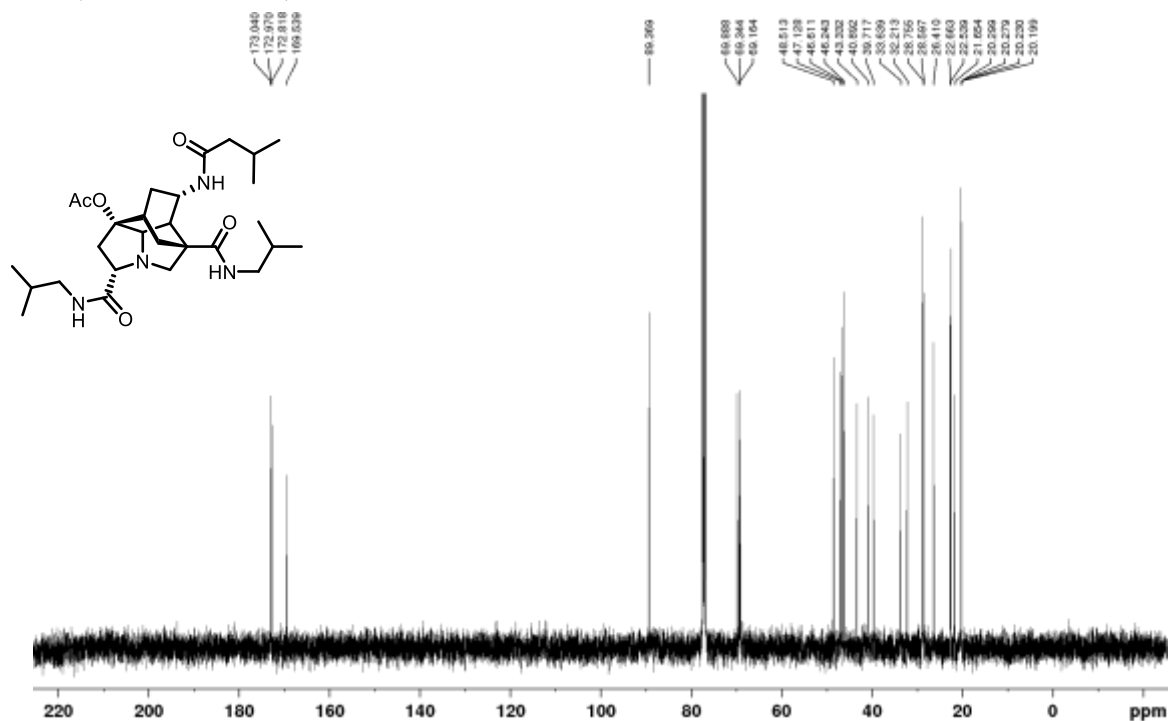


Amide **25h**

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3)

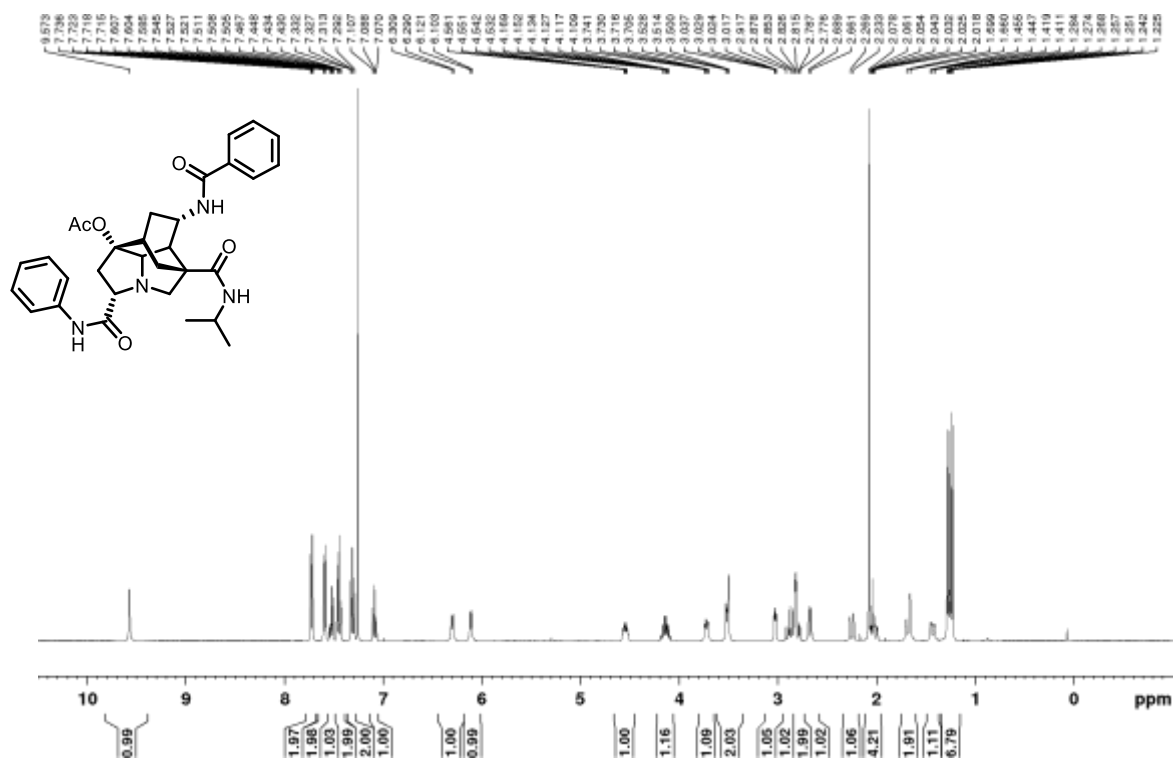


^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3)

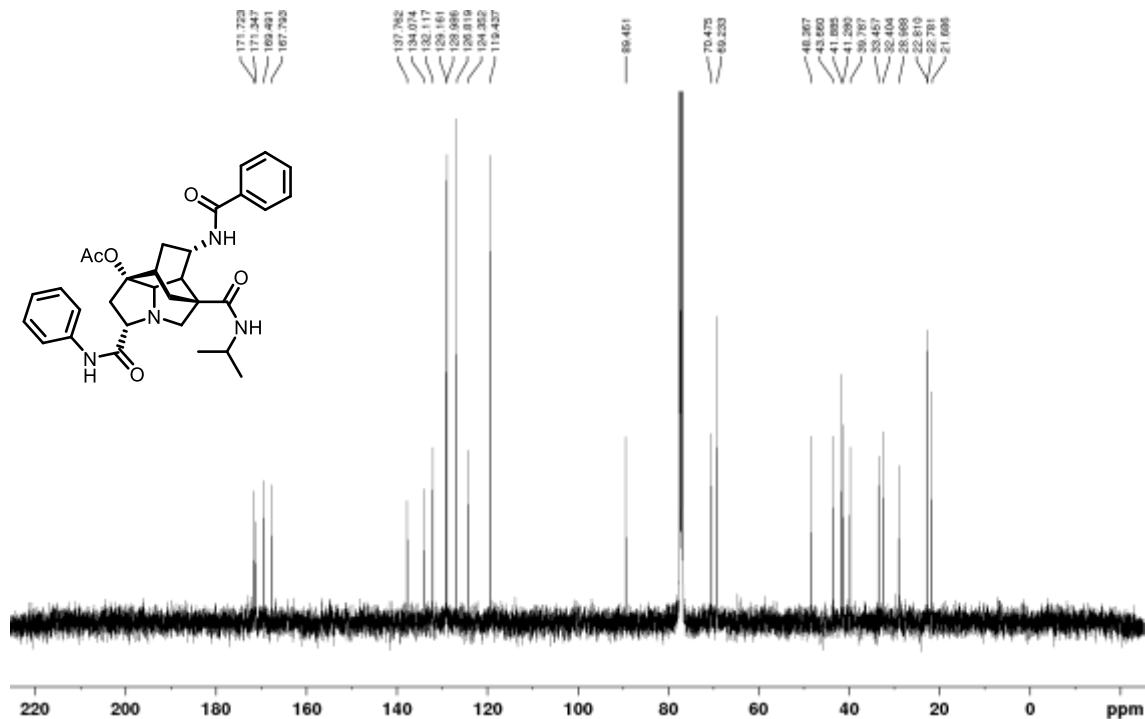


Amide **25i**

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3)

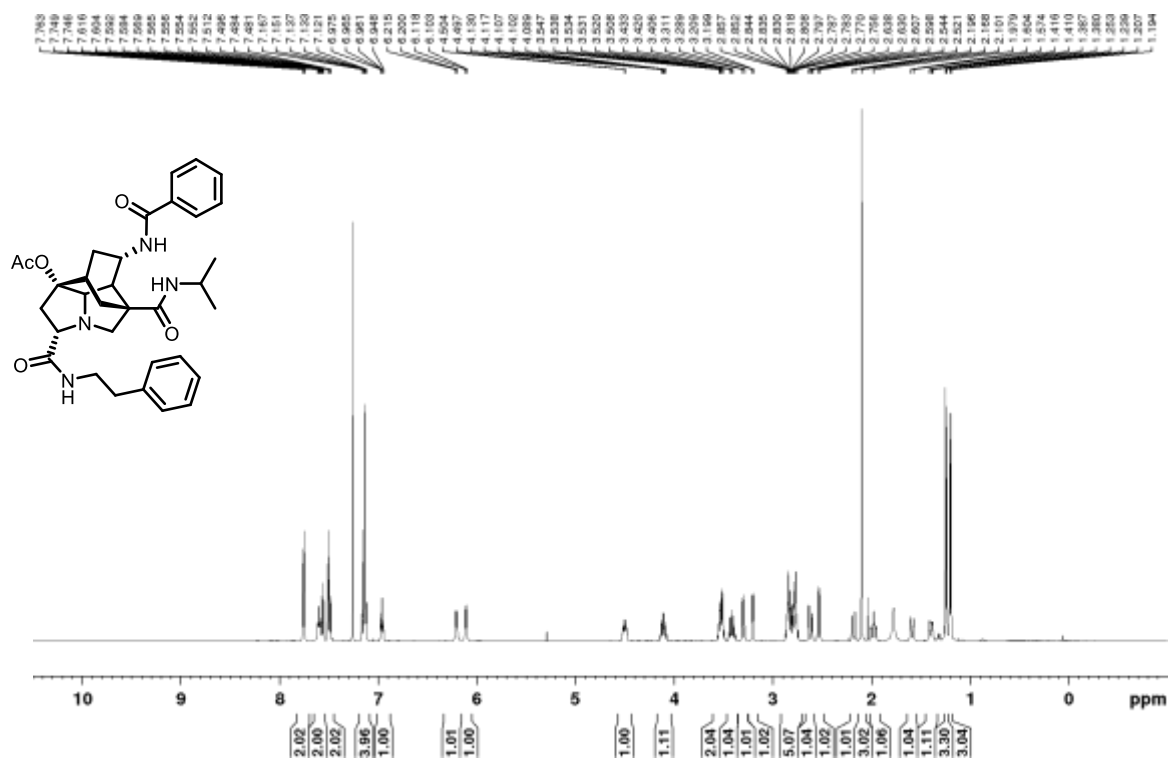


^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3)

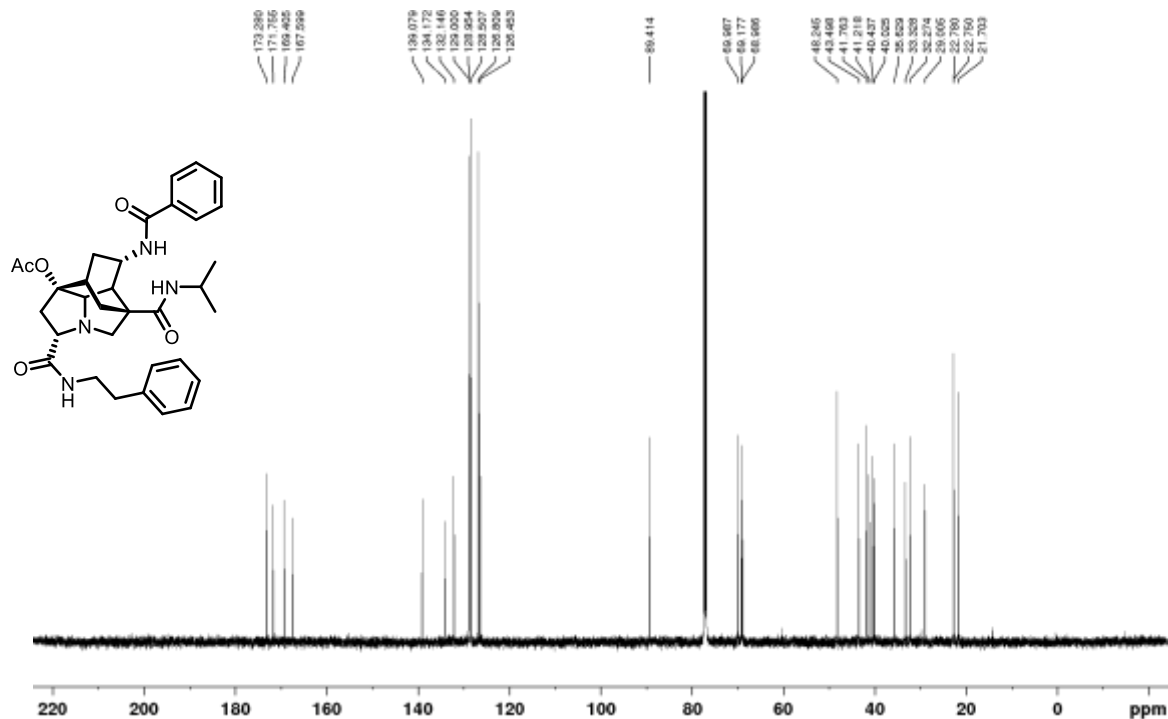


Amide **25j**

$^1\text{H NMR}$ (500 MHz, CDCl_3)

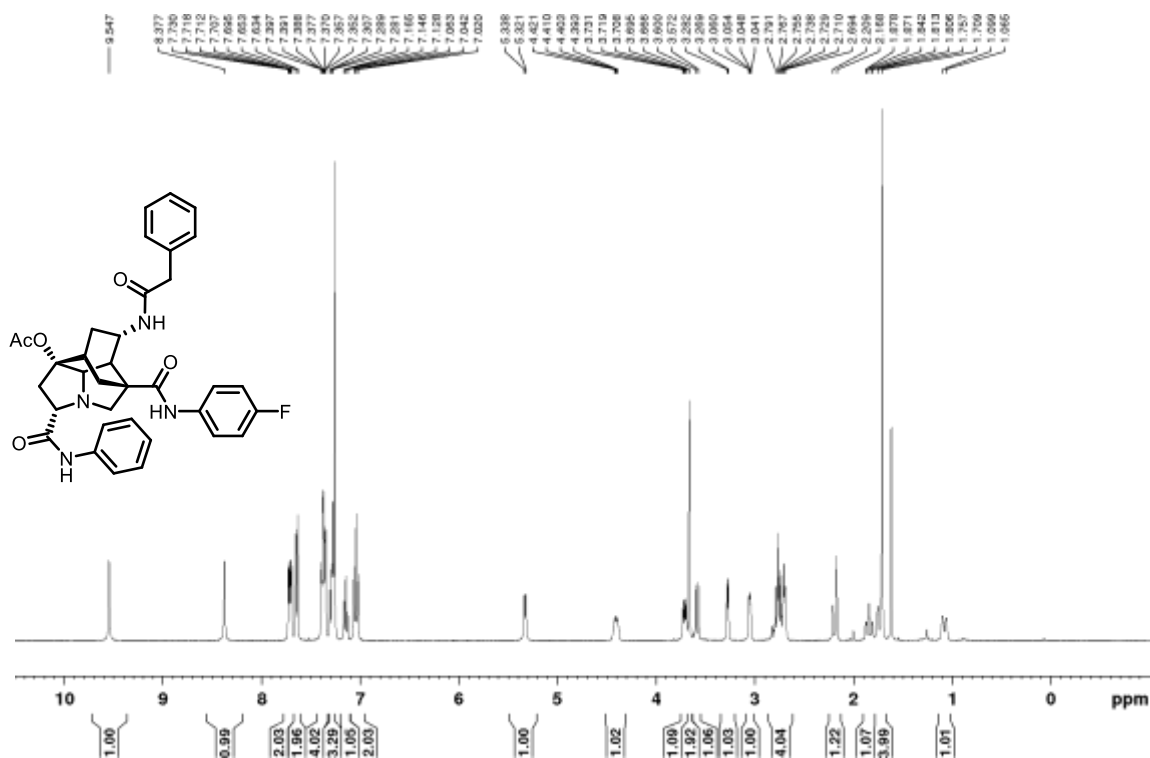


$^{13}\text{C NMR}$ (125 MHz, CDCl_3)

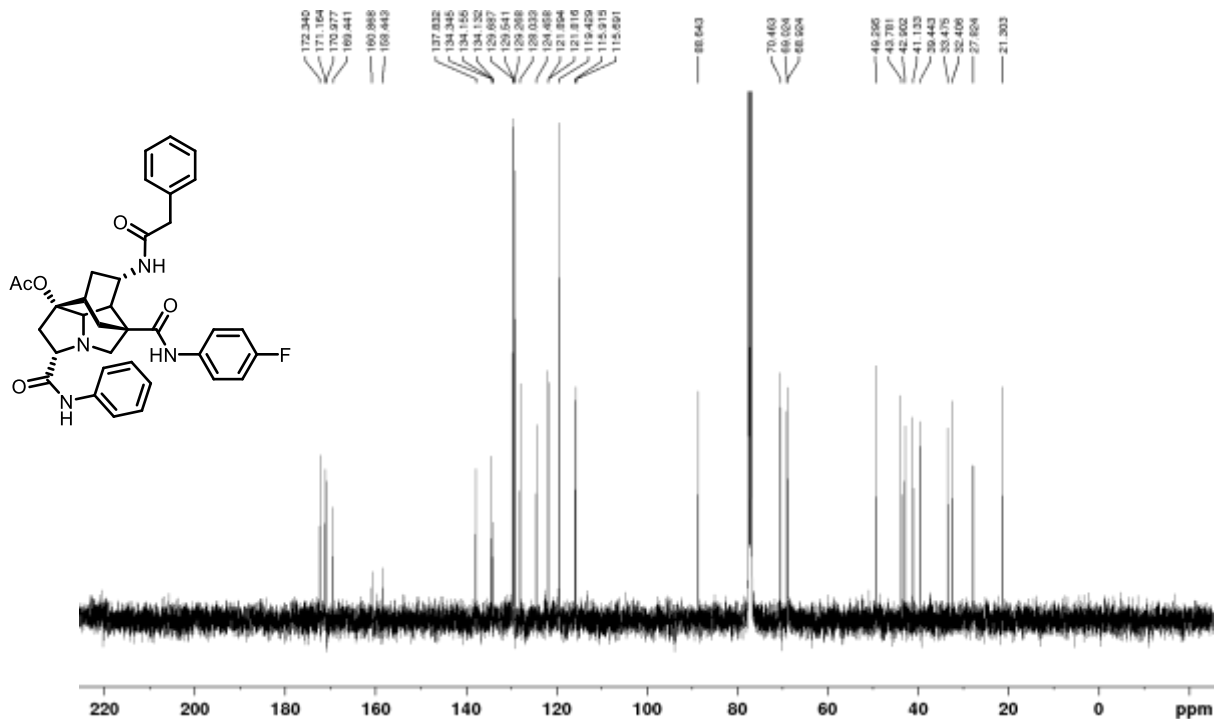


Amide **25k**

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3)



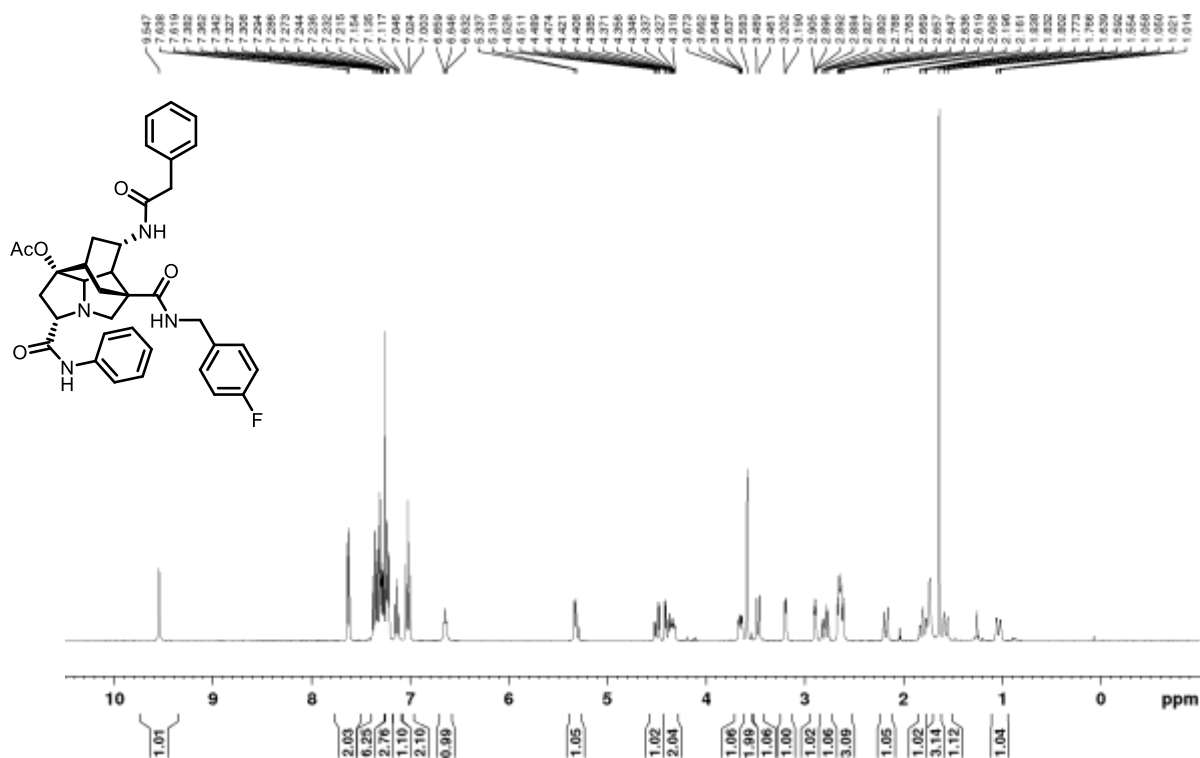
^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3)



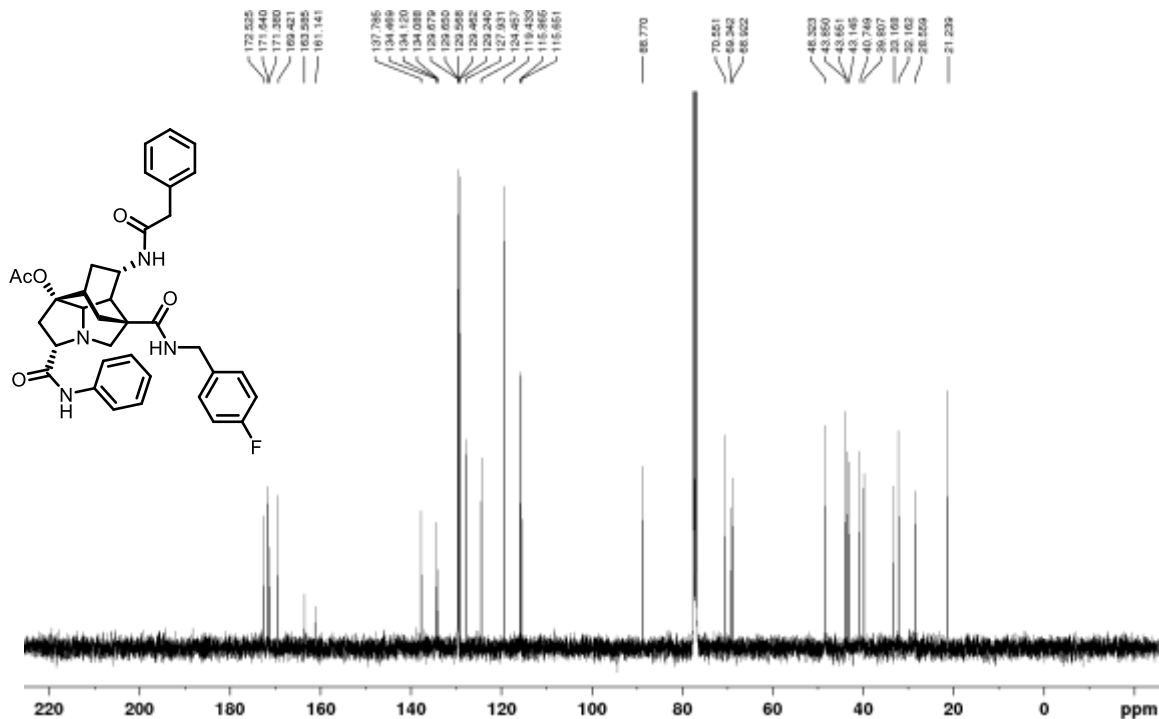
^{19}F NMR (376 MHz, CDCl_3)

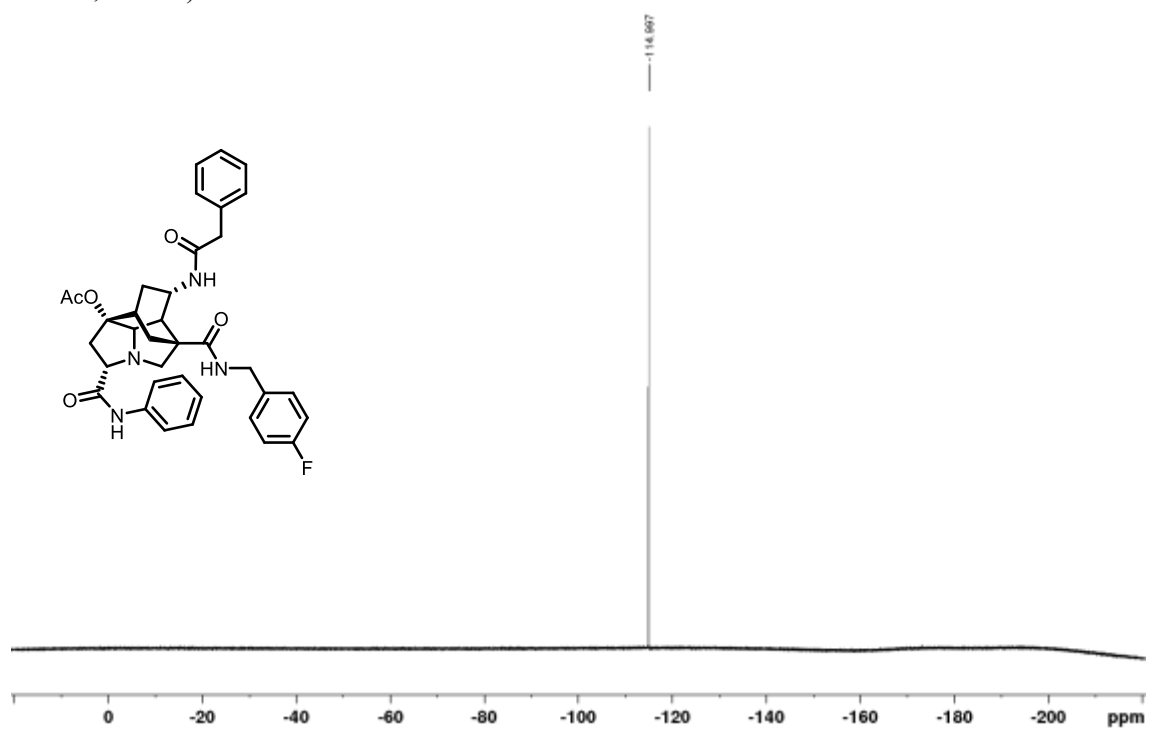
Amide **251**

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3)



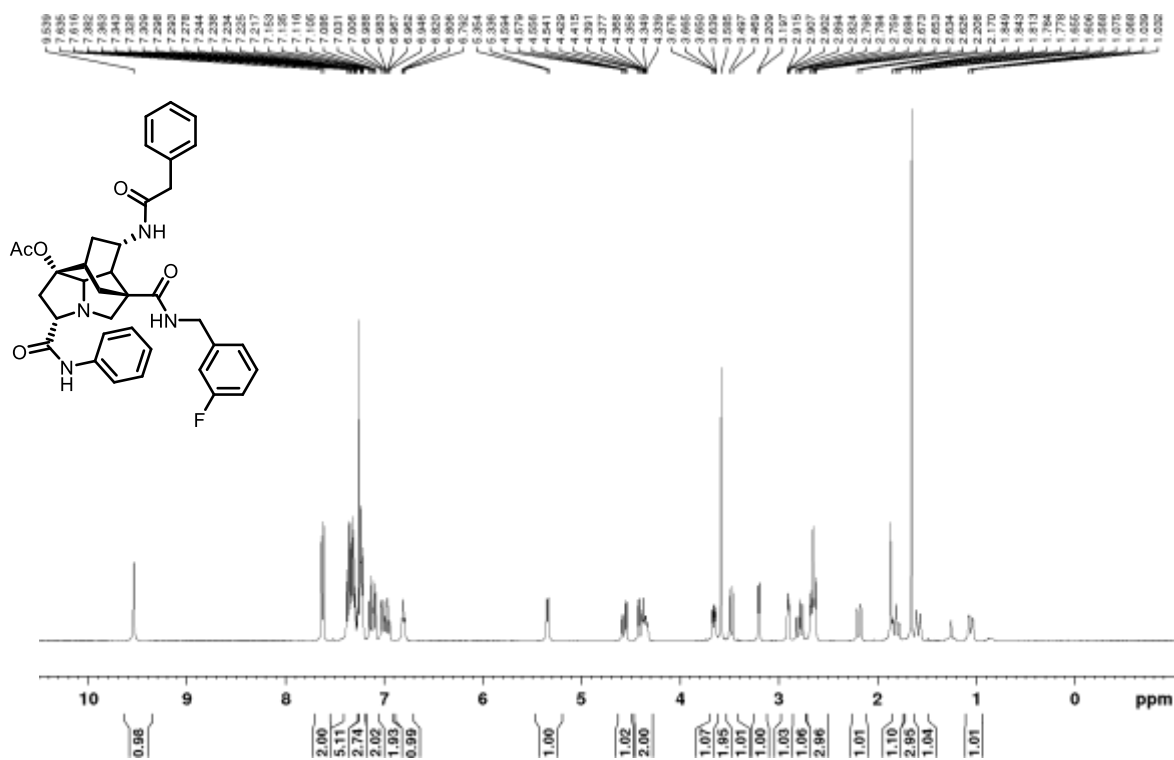
^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3)



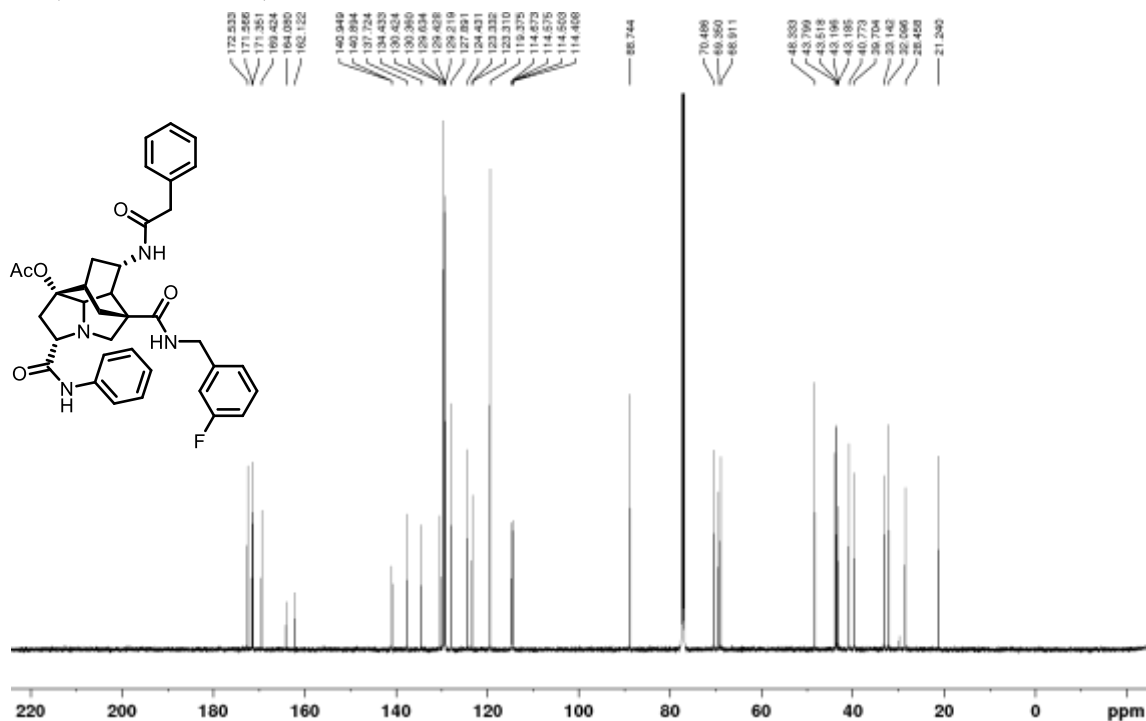
^{19}F (376 MHz, CDCl_3)

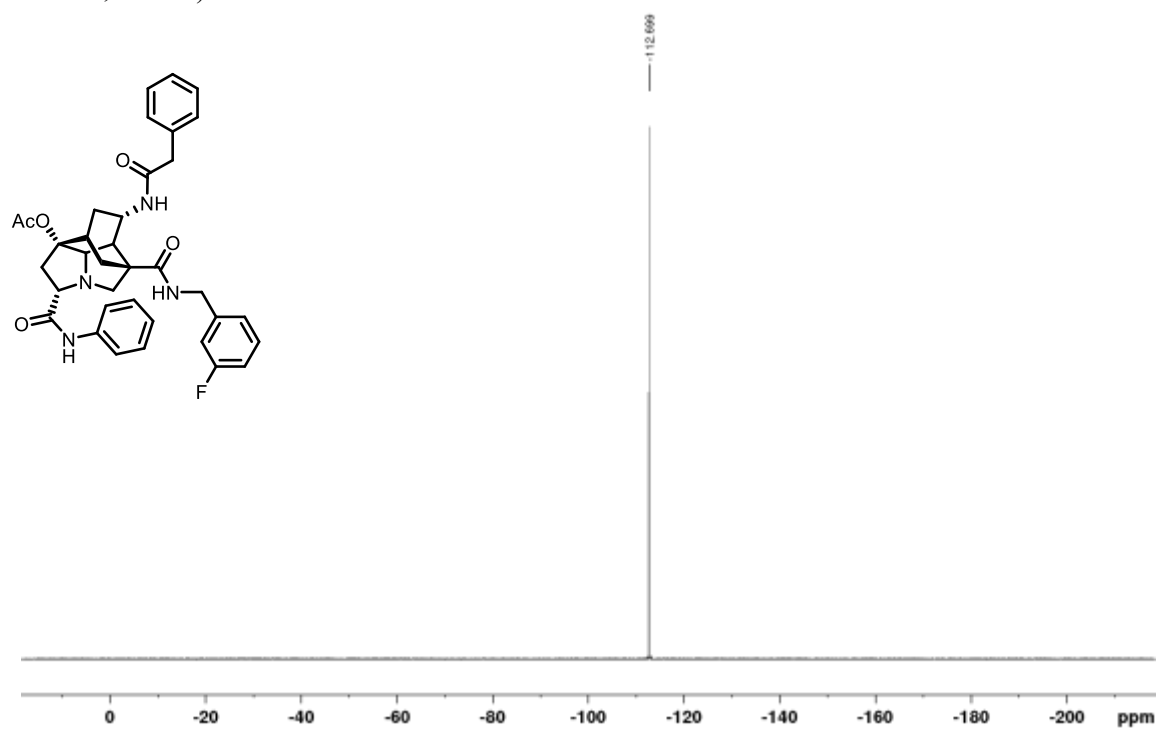
Amide **25m**

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃)



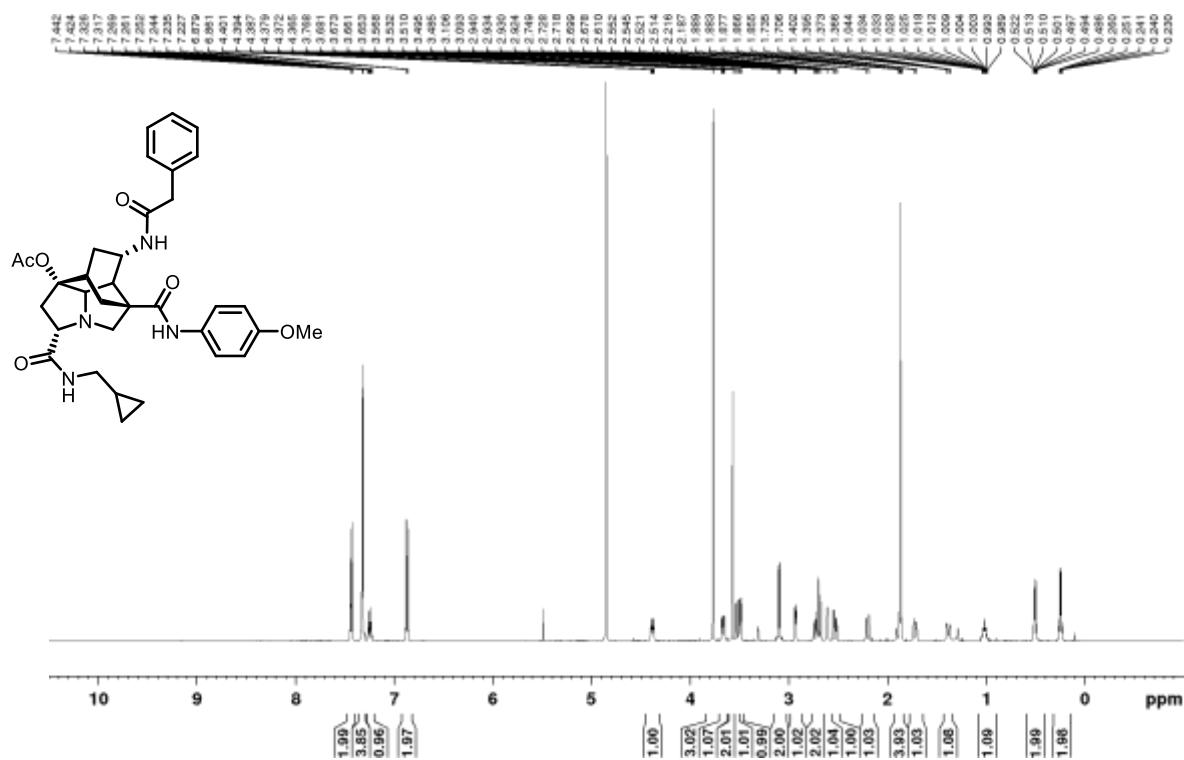
¹³C NMR (125 MHz, CDCl₃)



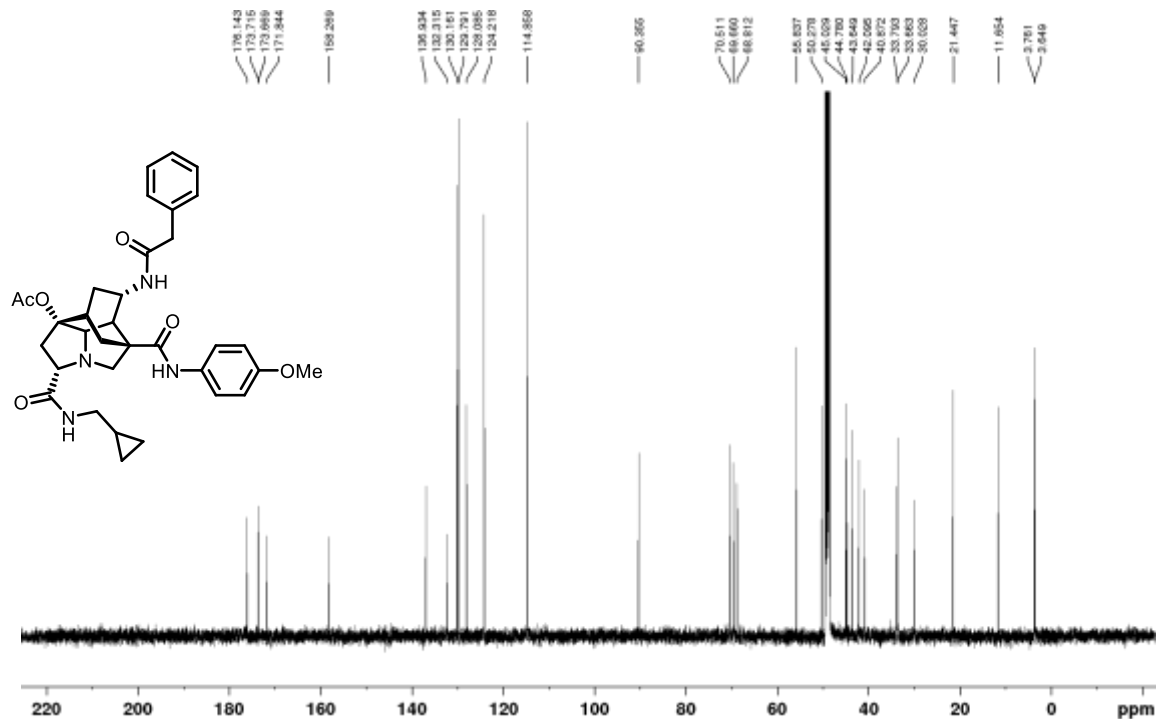
^{19}F (376 MHz, CDCl_3)

Amide **25n**

¹H NMR (500 MHz, MeOD)

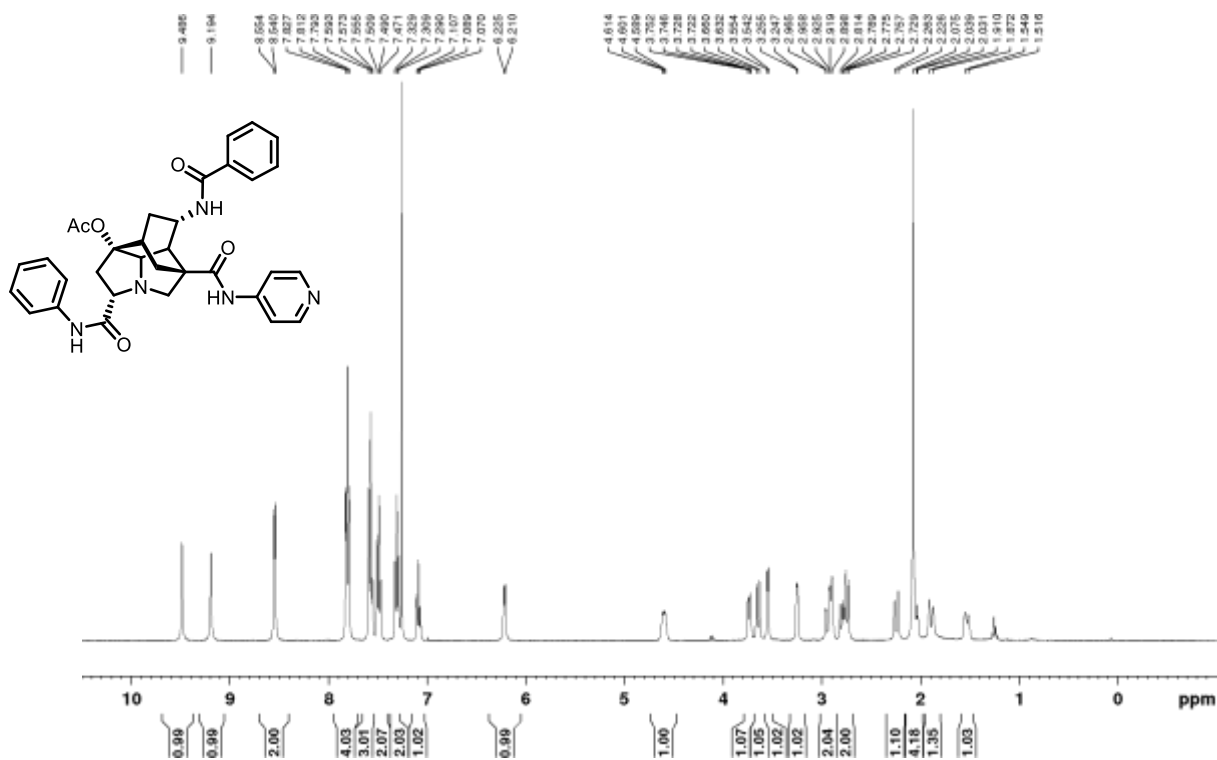


¹³C NMR (125 MHz, MeOD)

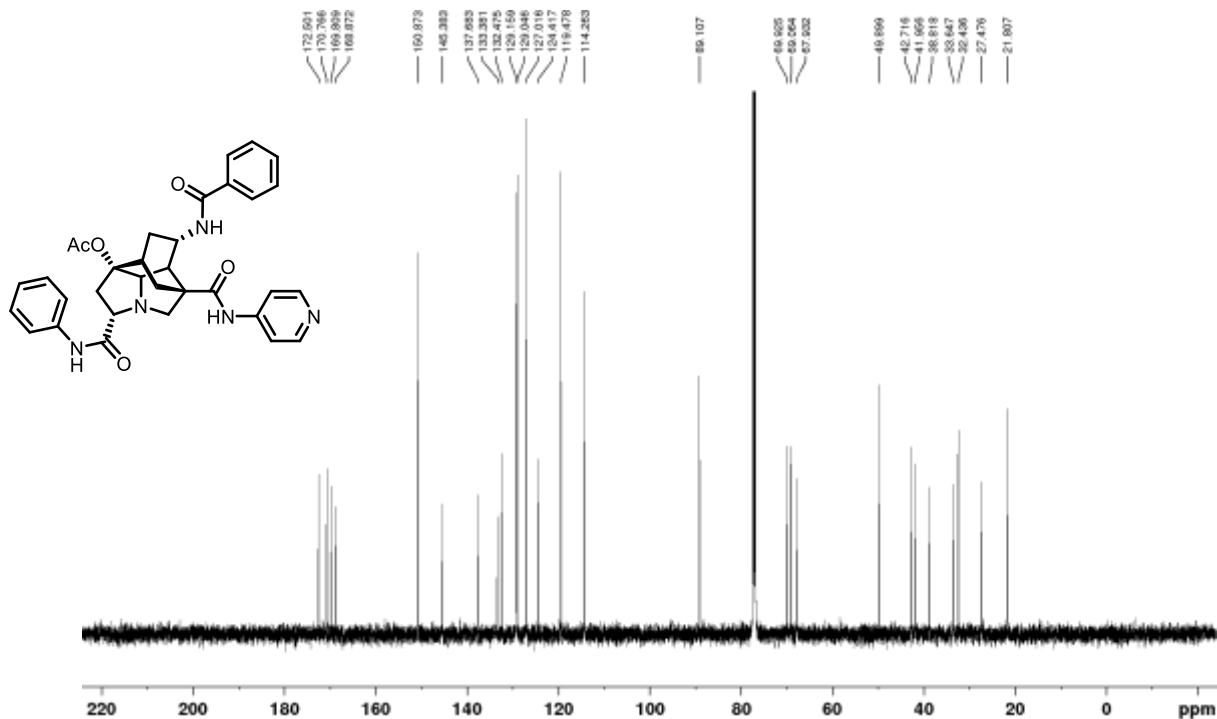


Amide **25o**

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3)

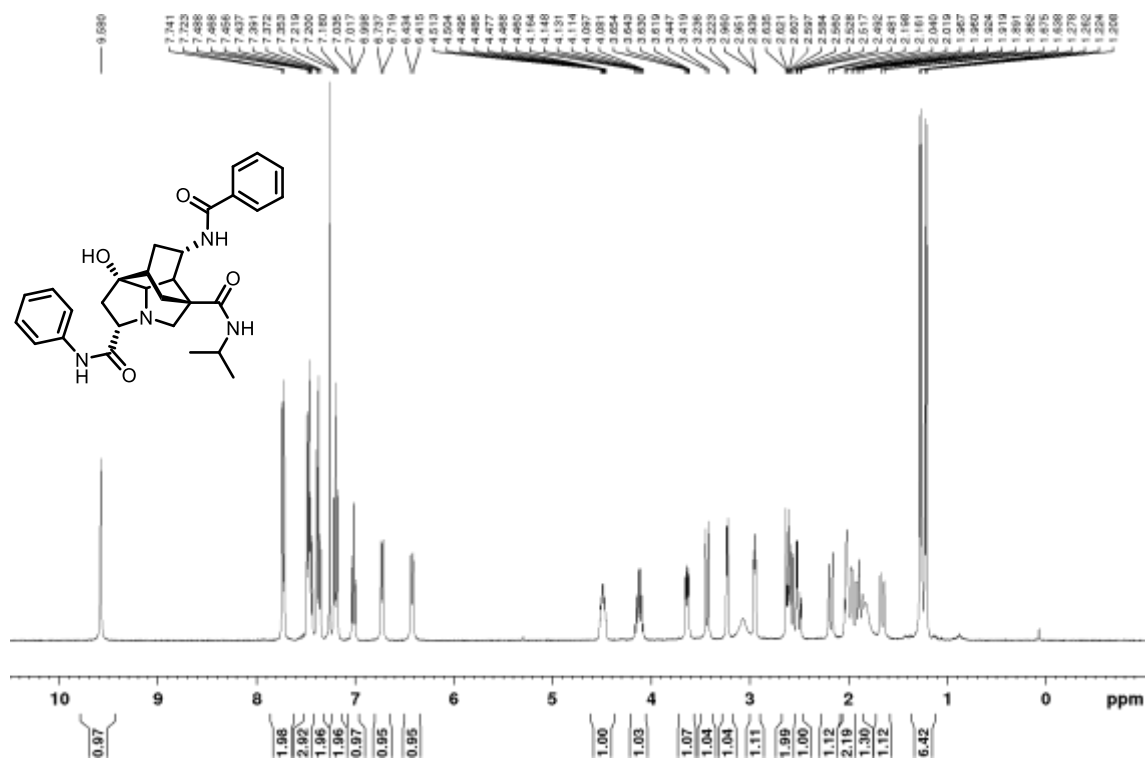


^{13}C NMR (125 MHz, CDCl_3)

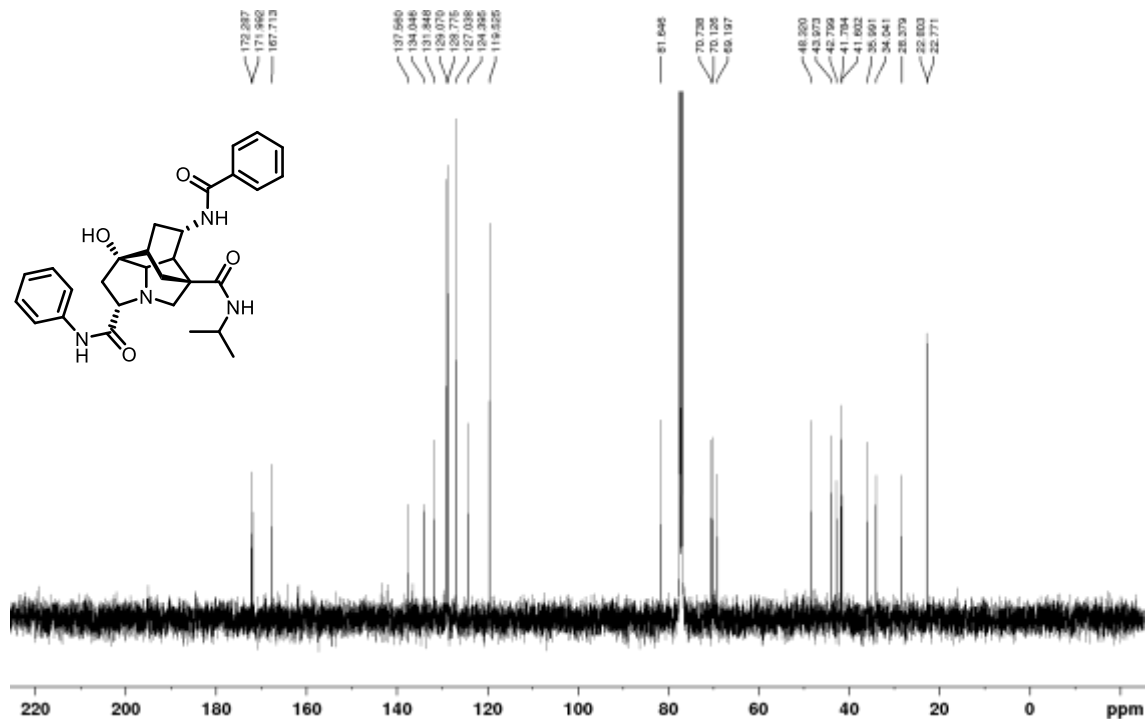


Alcohol **25i'**

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3)

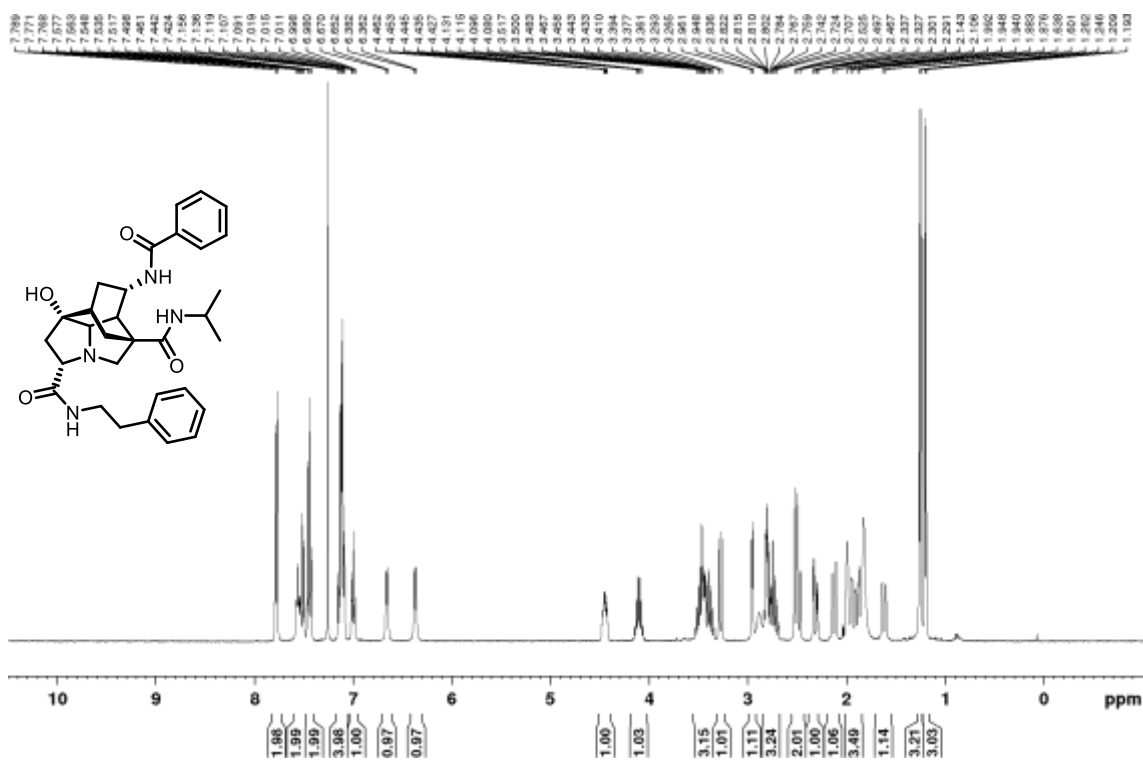


^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3)

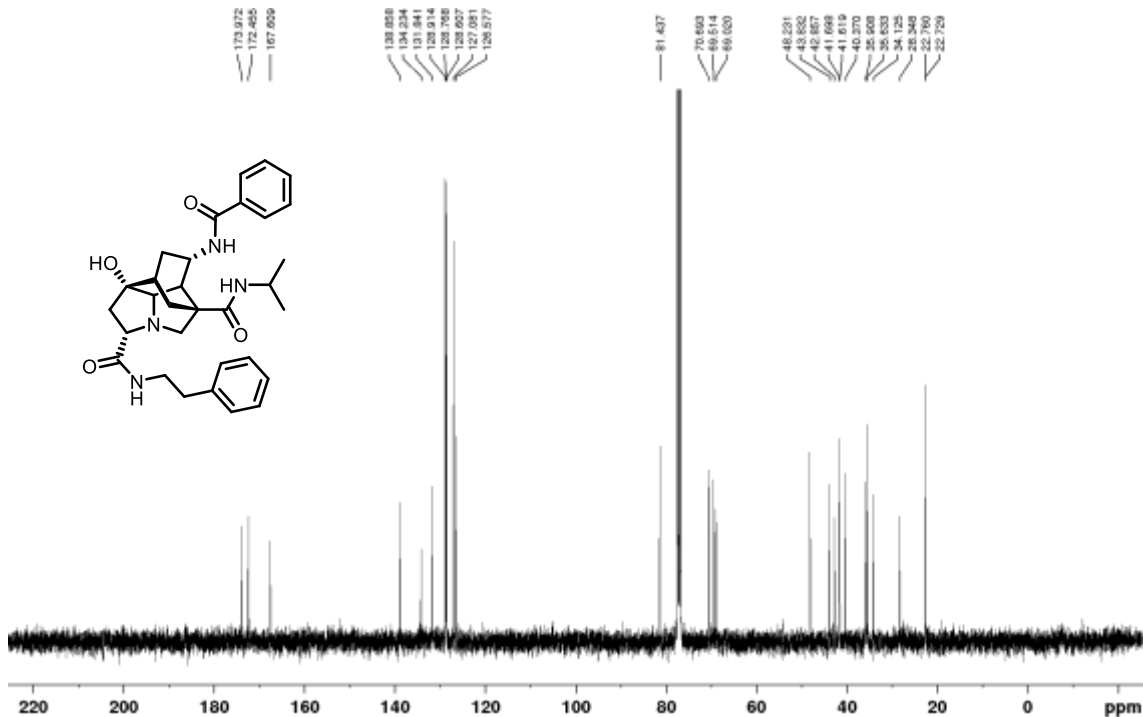


Alcohol **25j'**

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3)

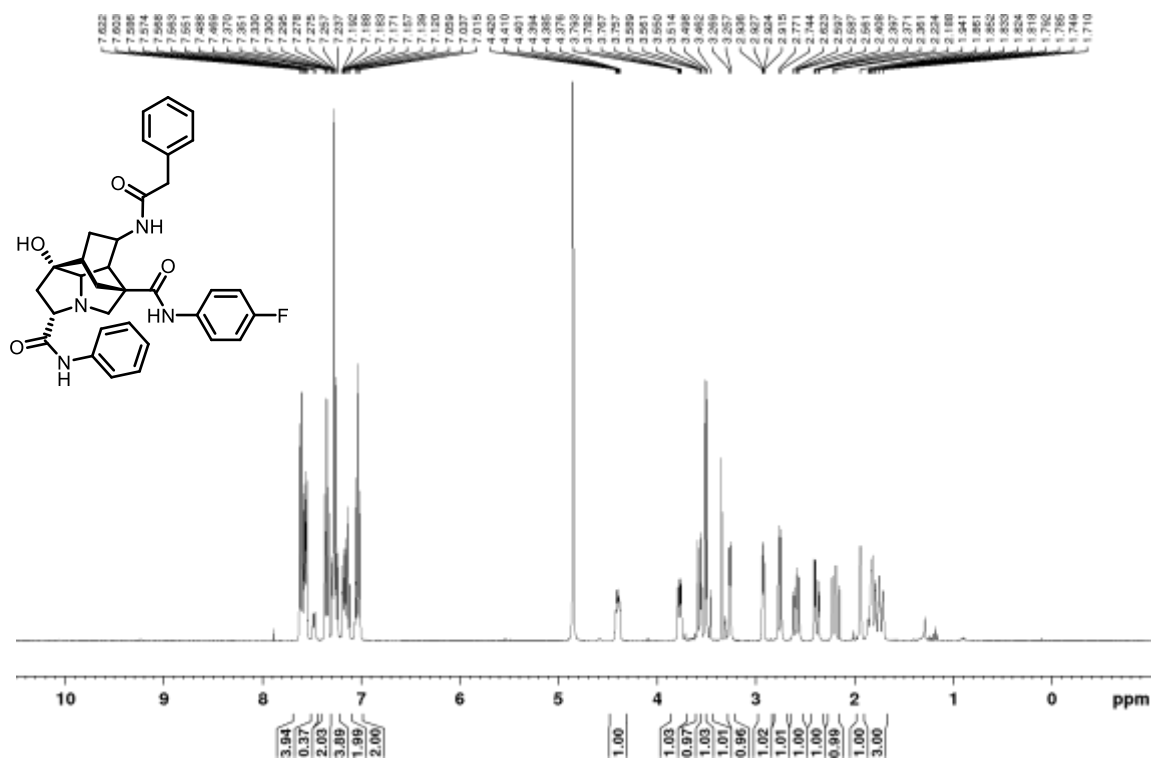


^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3)

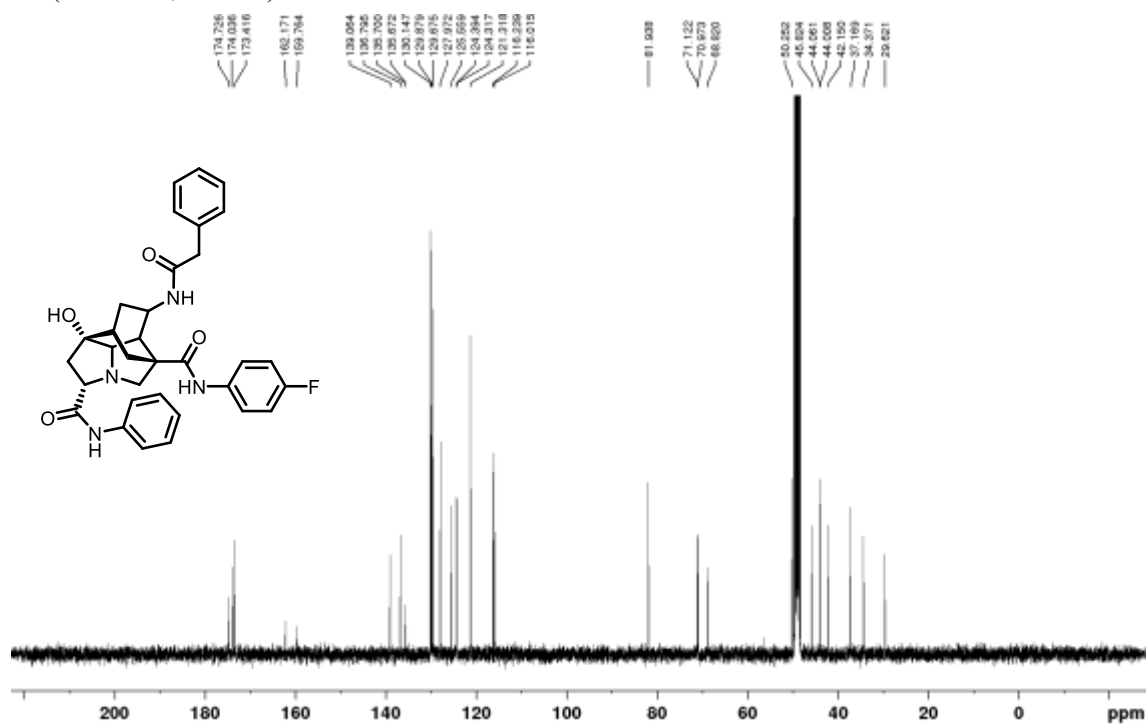


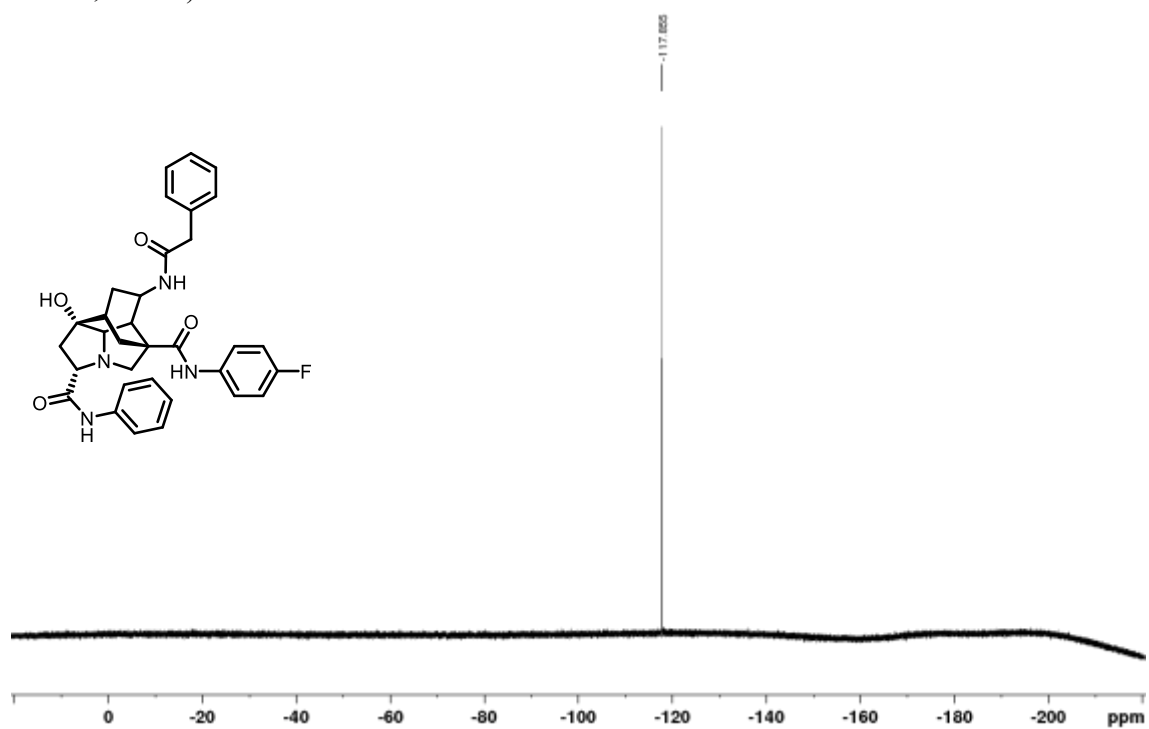
Alcohol **25k'**

¹H NMR (400 MHz, MeOD)



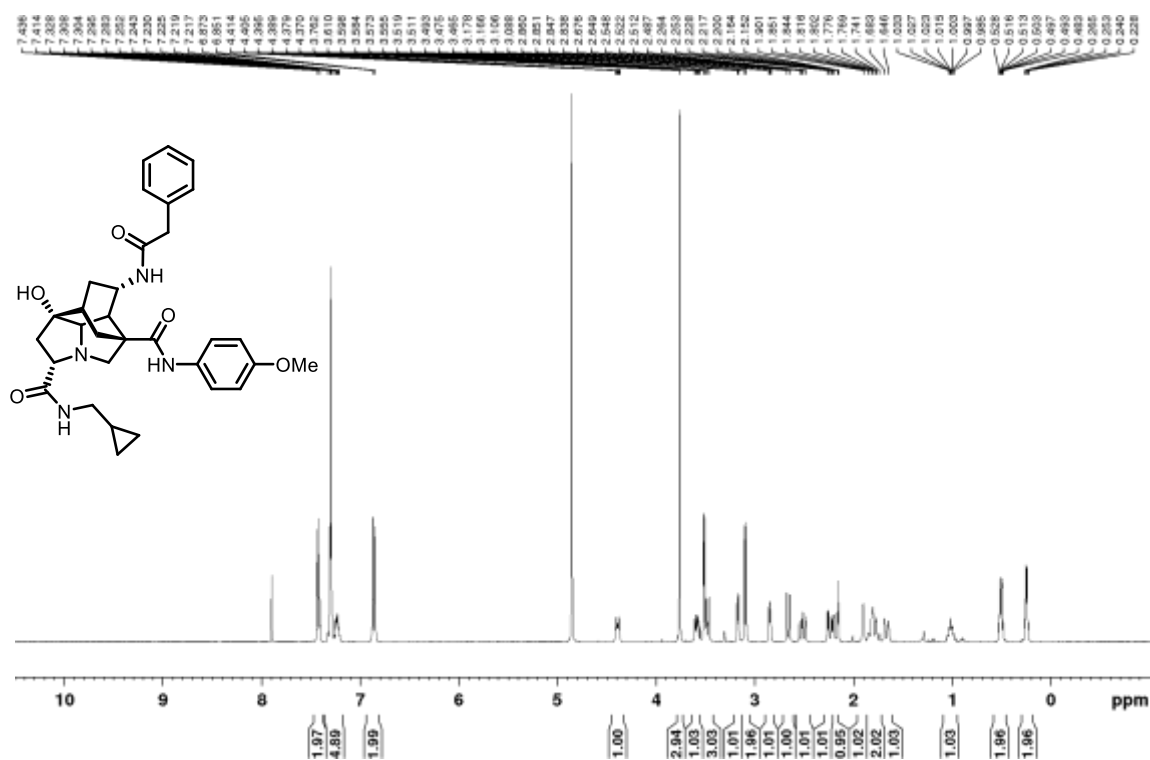
¹³C NMR (100 MHz, MeOD)



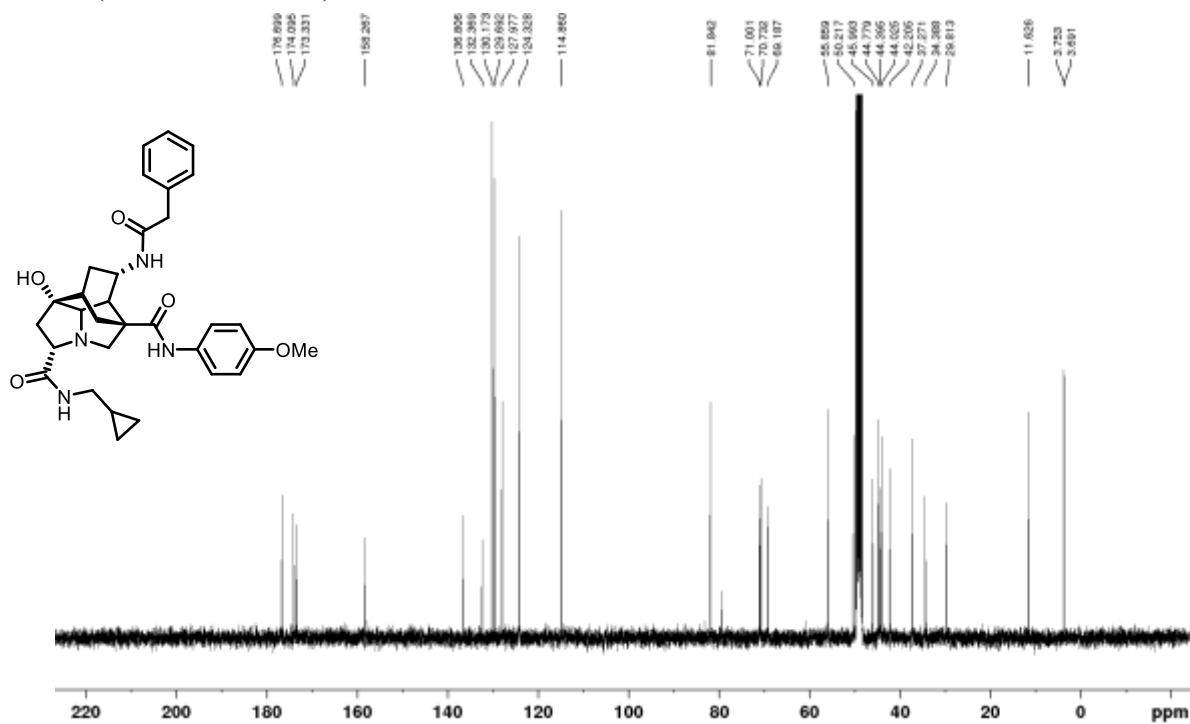
^{19}F (376 MHz, CDCl_3)

Alcohol **25n'**

$^1\text{H NMR}$ (400 MHz, CD_3OD)

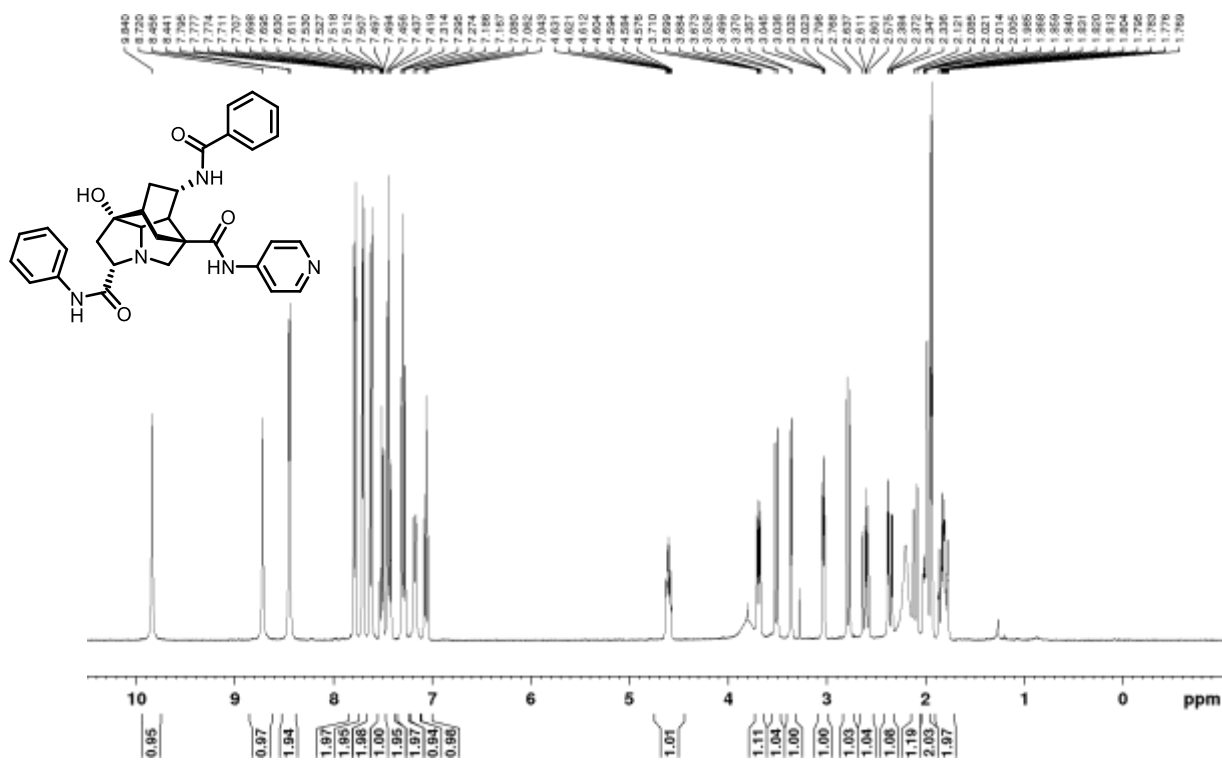


$^{13}\text{C NMR}$ (100 MHz, CD_3OD)

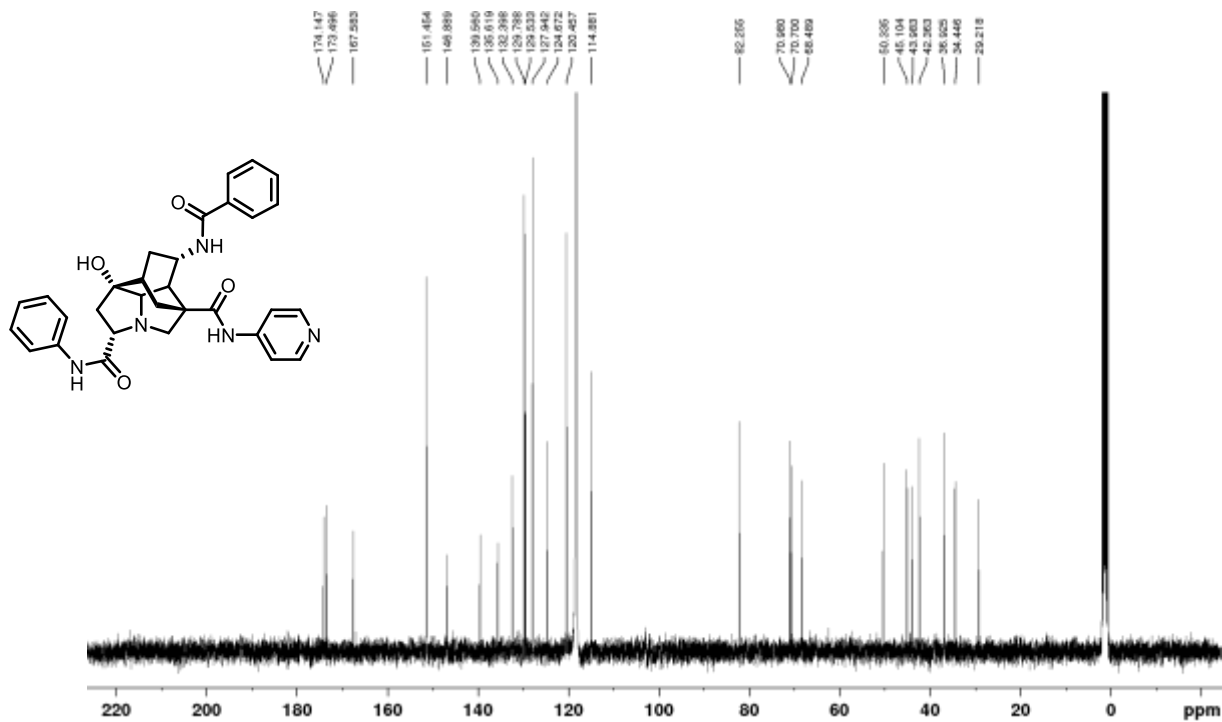


Alcohol **25o'**

^1H NMR (400 MHz, CD_3CN)

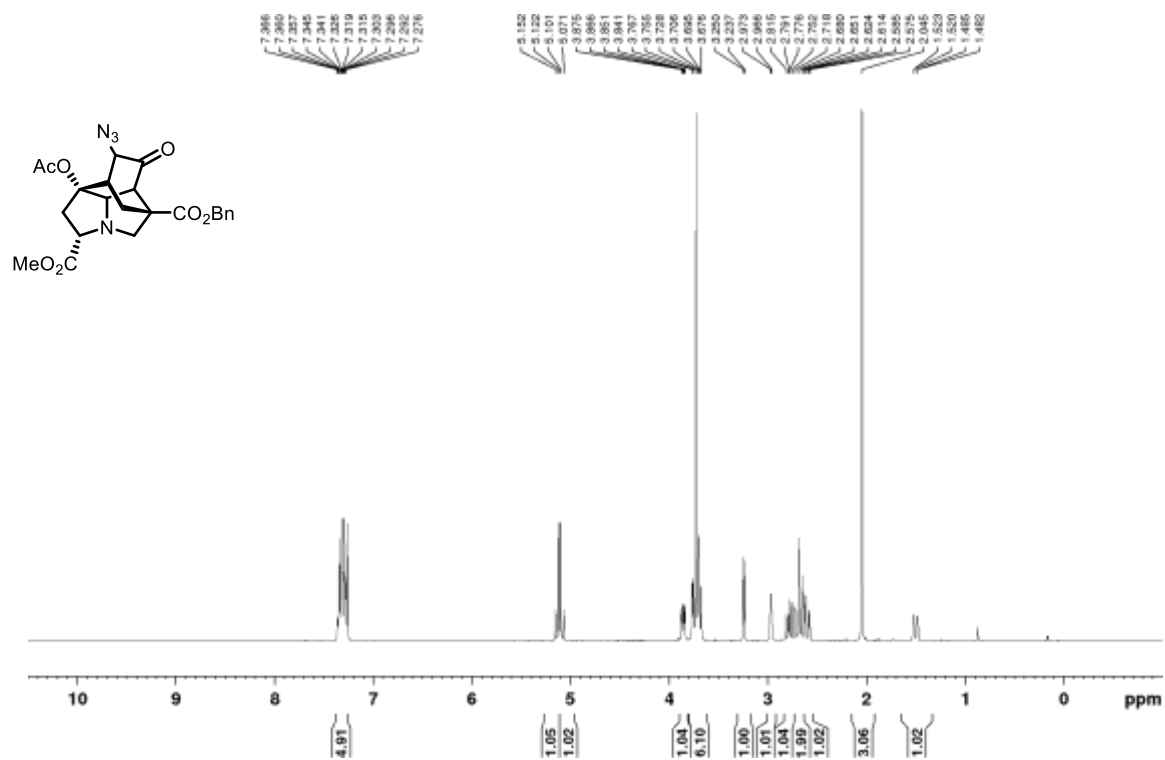


^{13}C NMR (100 MHz, CD_3CN)

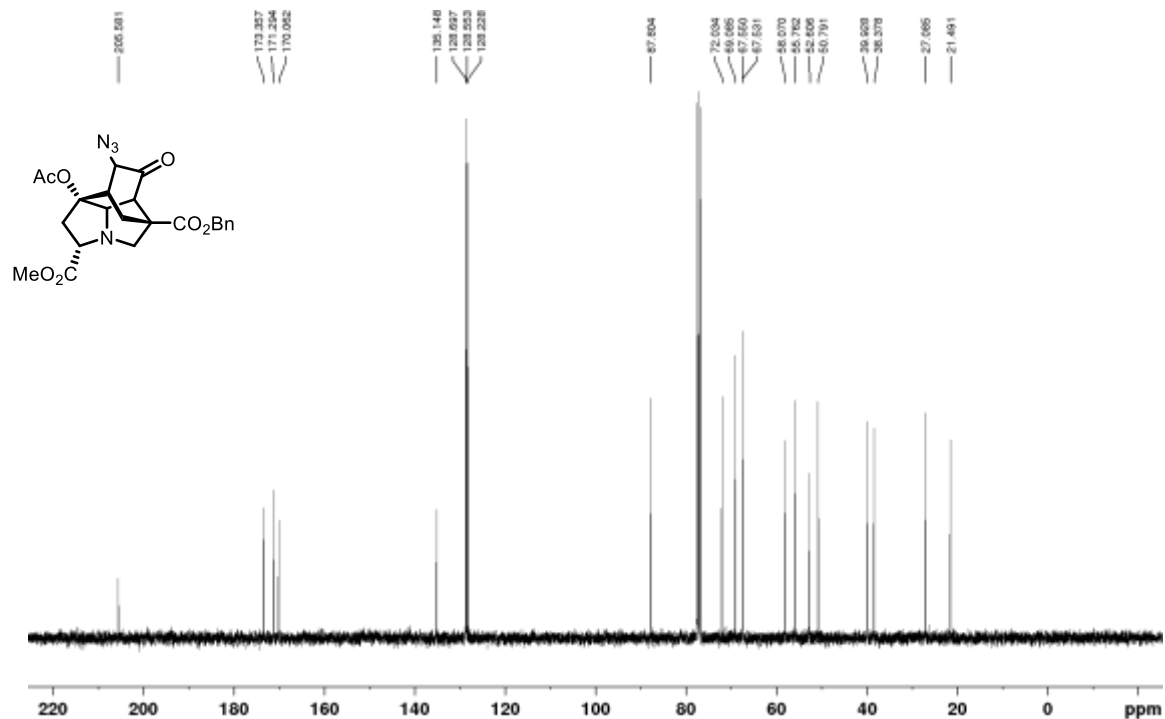


Azide 32

$^1\text{H NMR}$ (400 MHz, CDCl_3)

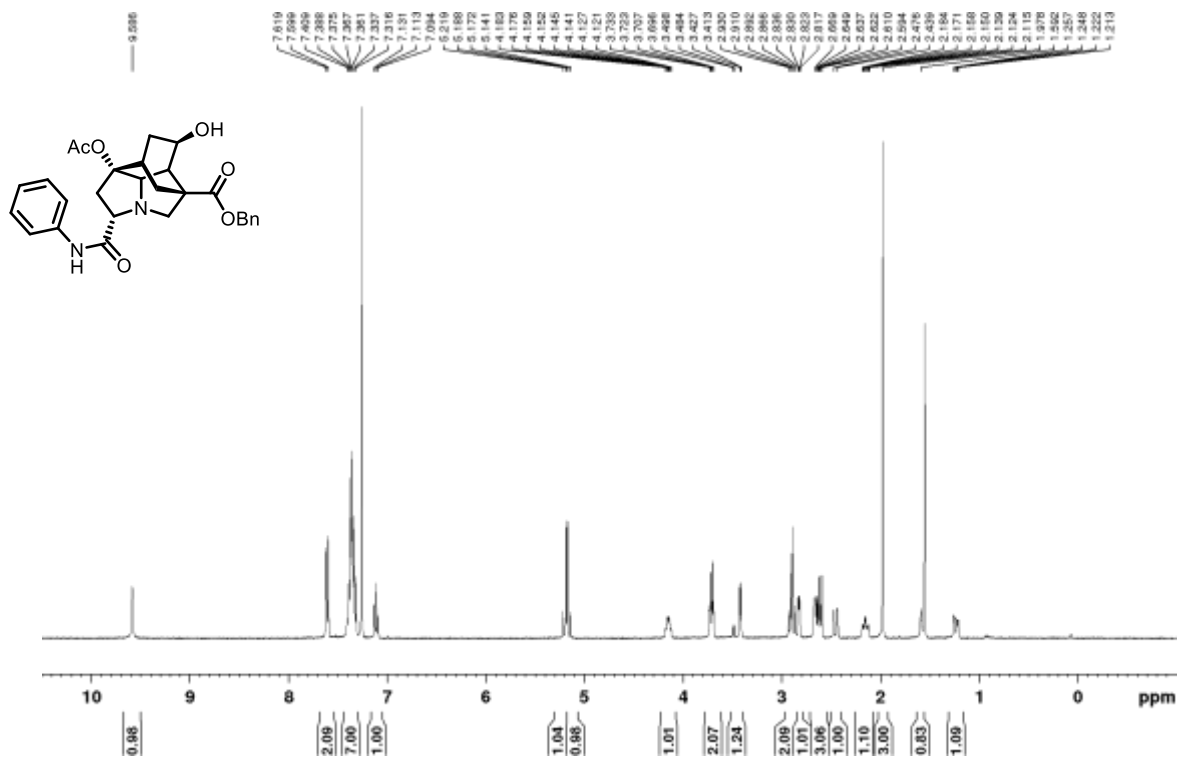


$^{13}\text{C NMR}$ (100 MHz, CDCl_3)

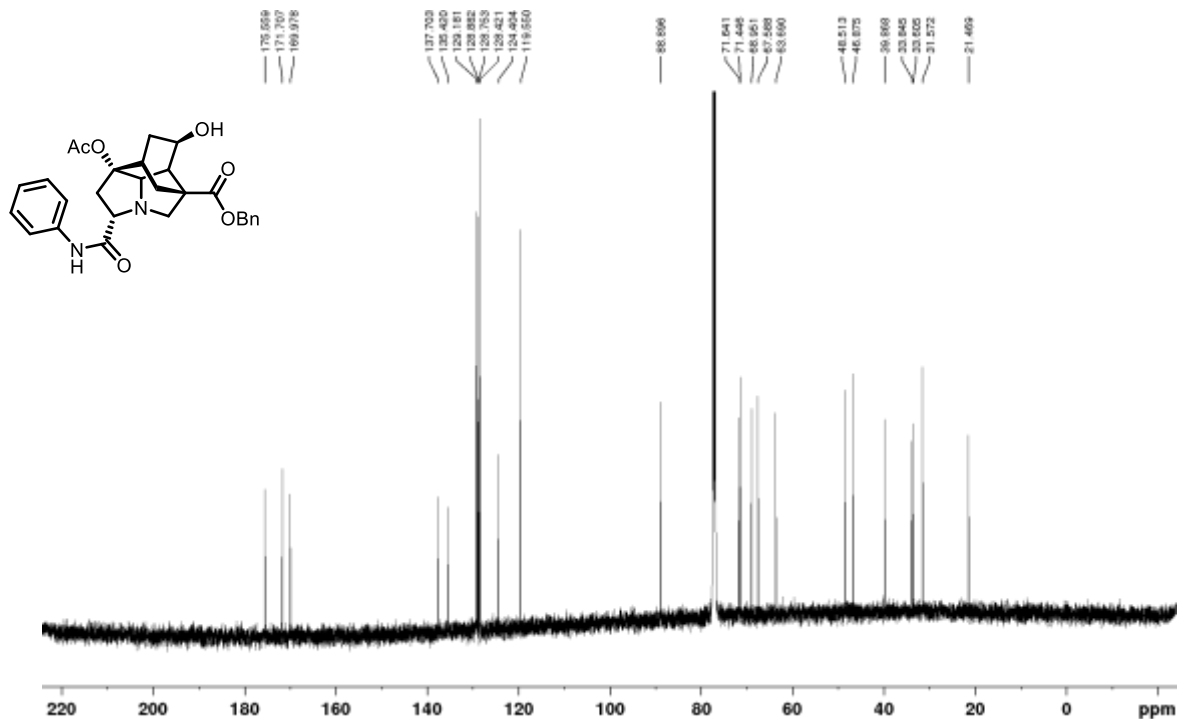


Amide 33

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3)

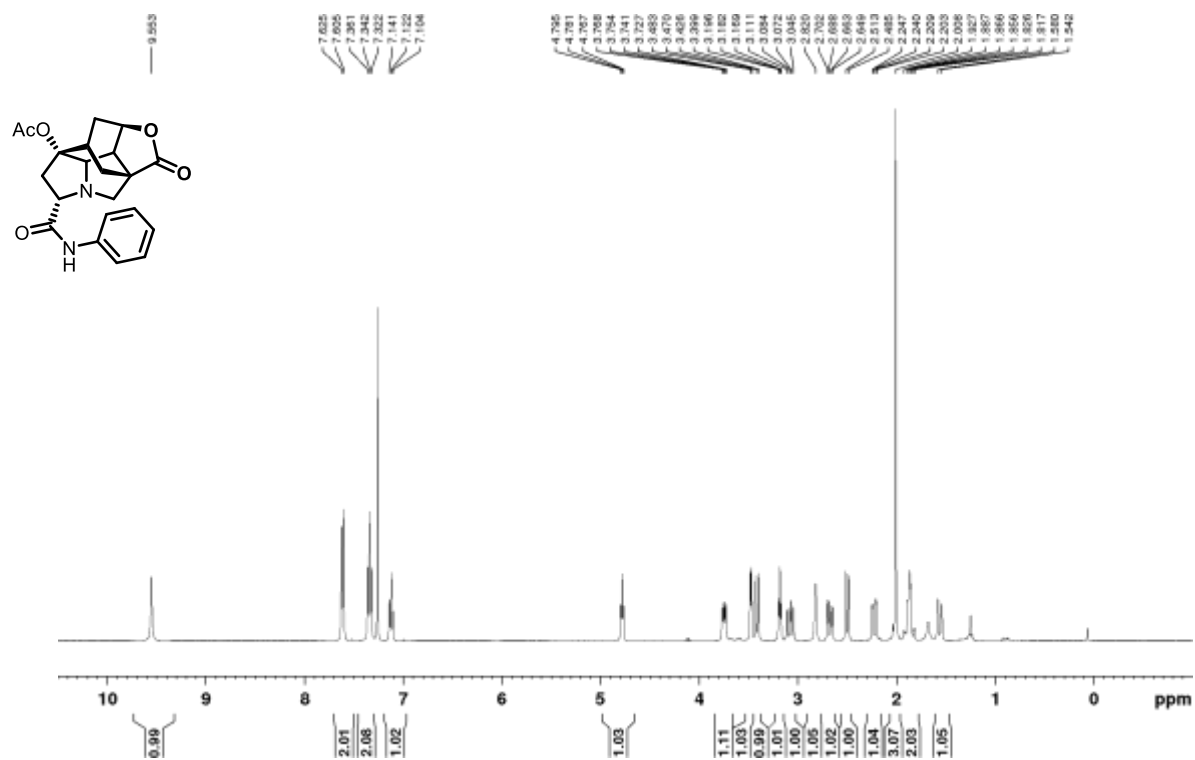


^{13}C NMR (125 MHz, CDCl_3)

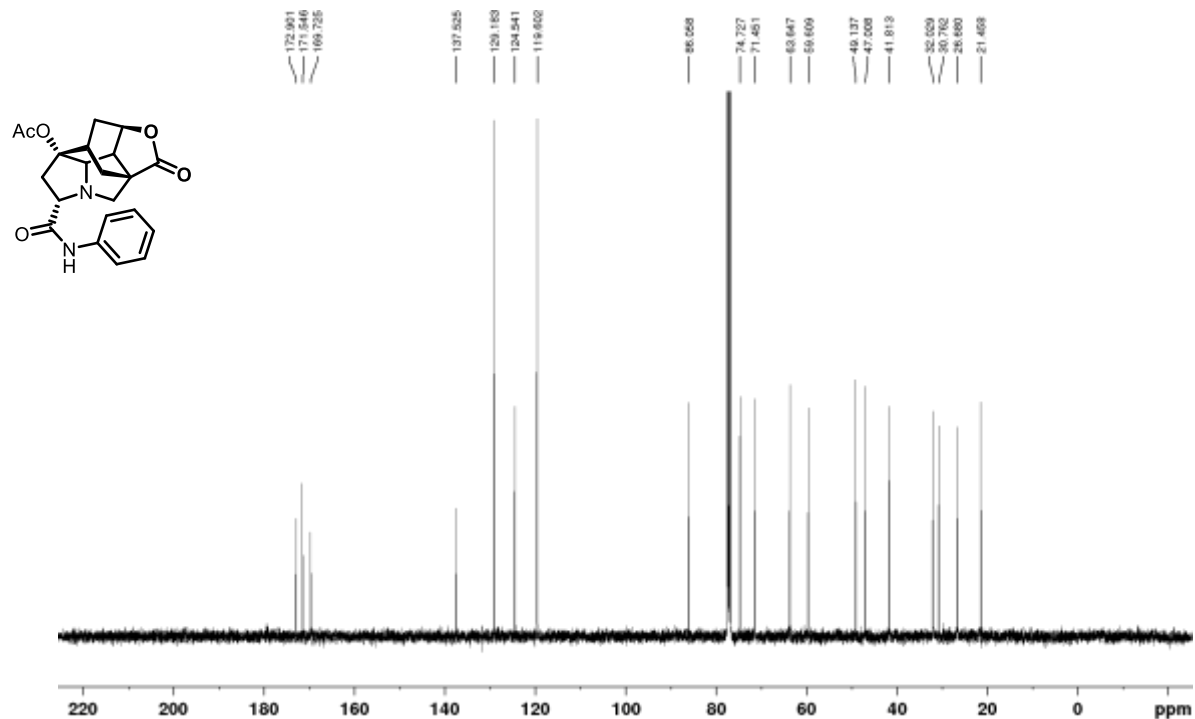


Lactone 34

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3)



^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3)



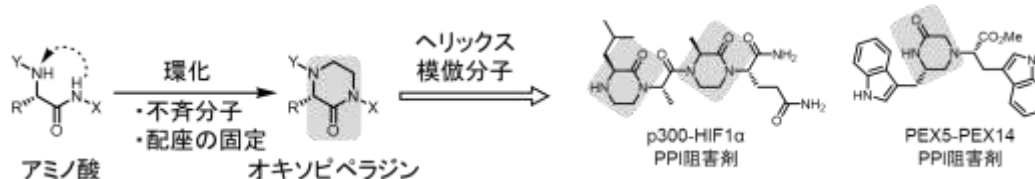
第四章

二環性籠型骨格の開発と CD28 ペプチド模倣分子への応用

4-1 はじめに

序論でも述べた通り、ペプチド模倣分子の設計による合理的な PPI 阻害剤の開発を進めるため、多様な置換基導入を可能にする母骨格の開発が求められている。オキソピペラジン骨格は、アミノ酸を環化した構造であることから不斉分子の構築が可能であり、分子の立体配座の固定に繋がることからペプチド模倣分子の設計に有用である¹。これまでも、オキソピペラジン骨格を母骨格としたヘリックス模倣分子を設計することで、PPI 阻害剤が開発されてきた (Figure 4-1A)¹⁻³。そして、オキソピペラジンをもつ籠型骨格に着目すると、天然物 (I-III)⁴⁻⁶ や阻害剤 IV⁷ の構造に見られ、生物活性分子の設計に有用な骨格であることが窺われる (Figure 4-1B)。複数の標的分子に対して生物活性を示し得る母骨格構造は、“privileged structure” と呼ばれ⁸、医薬品開発に欠かせない構造である。

A オキソピペラジン骨格をもつヘリックス模倣分子



B 籠型のオキソピペラジン骨格を持つ天然物や阻害剤

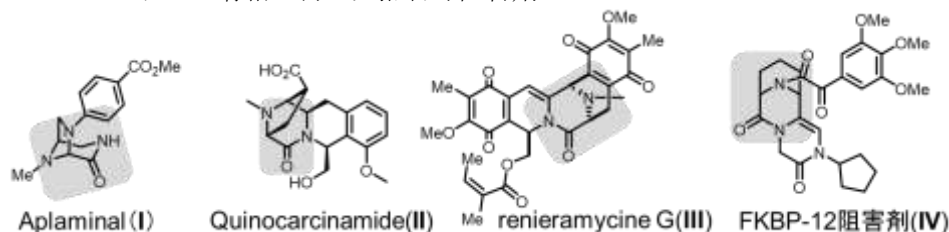
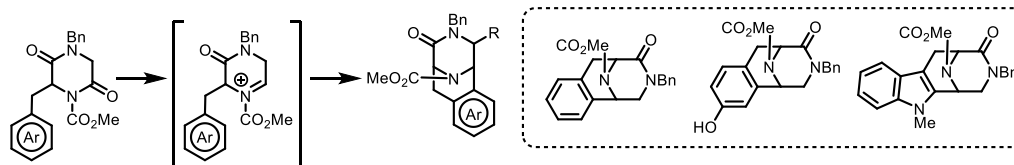


Figure 4-1. オキソピペラジン骨格をもつ化合物の構造

活性分子の創出に重要な構造であることから、オキソピペラジンを含んだ籠型骨格の構築手法の報告が複数あり、架橋構造の異なる骨格群の合成 (Figure 4-2A)⁹ や、特定の橋頭位への置換基導入 (Figure 4-2B)¹⁰ が達成されている。しかし、複数の置換基を異なる組み合わせで導入できるように設計された籠型オキソピペラジンの合成例は殆どない。したがって、容易な置換基導入を可能にする籠型オキソピペラジン骨格を開発すれば、医薬品開発のケミカルスペースの拡充に繋がると考えた。

本章においては、置換基導入が容易な籠型オキソピペラジン骨格の開発と、そのペプチド模倣分子への応用を目的とした。ここでは、当研究室で着目している PPI の一つである PI3K/CD28 相互作用を標的とした。

A 多様な架橋構造をもつ籠型オキソピペラジン



B 籠型オキソピペラジンの橋頭位への置換基導入

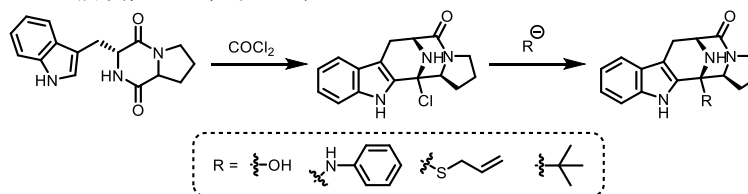


Figure 4-2. 籠型オキソピペラジンの合成手法

4-2 PI3K/CD28 相互作用

免疫とは体内に侵入したウイルスや病原体を排除する機能であり、健康の維持に欠かせない。しかし、過剰な免疫応答は、アトピー性皮膚炎などのアレルギーや関節リウマチなどの自己免疫疾患の原因になることから、免疫機能の制御分子の開発が望まれている¹¹。免疫応答は、抗原提示を受けたT細胞が活性化され、エフェクターT細胞へと分化することではじまる。このとき、T細胞の十分な活性化や分化には、T細胞抗原受容体 (TCR) からの抗原特異的なシグナルに加え、補助刺激受容体 CD28 などからの抗原非特異的な補助シグナルが必要である (Figure 4-3)¹²。そして、CD28 受容体の下流シグナルを担う分子として、細胞膜成分であるリン脂質のリン酸化を触媒するホスファチジルイノシトール 3-キナーゼ (PI3K) が知られる¹³。PI3K の触媒作用によって産生されたホスファチジルイノシトール-3,4,5-三リン酸 (PtdInsP₃) は、アンカーとして機能し、その下流シグナルのタンパク質を細胞膜にリクルートすることでT細胞の活性化を制御する。PI3K の触媒作用は、その制御サブユニット p85 が、CD28 の SH2 ドメインのうち、リン酸化されたチロシン残基を含む pYMNM 配列に結合することで活性化される。したがって、PI3K/CD28 相互作用阻害剤の開発により、自己免疫疾患やアレルギーの治療につながると期待される。PI3K/CD28 相互作用阻害剤は、ホウ素クラスターであるカルボランを母骨格とした化合物 **1** が当研究グループから報告されたのみであり¹⁴、PI3K/CD28 相互作用の機能解明や、治療薬への応用を進めるために、さらなる PI3K/CD28 相互作用阻害剤の開発が求められる。

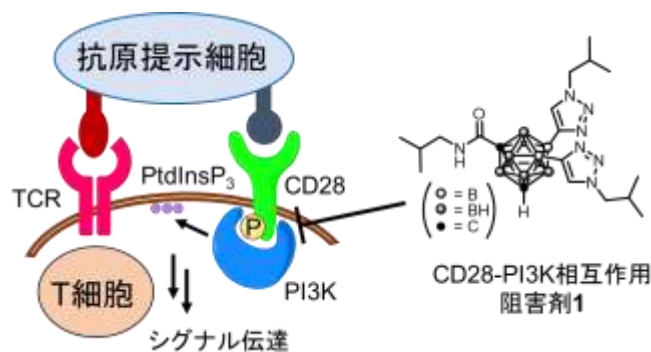


Figure 4-3. PI3K-CD28 相互作用と PPI 阻害剤 **1**

4-3 PI3K/CD28 相互作用阻害剤の分子設計

PI3K と CD28 の相互作用面の構造は、X 線結晶構造解析 (PDB code 5AUL) によって明らかとなっており¹⁵、タンパク質の立体構造に基づく分子設計が可能である。PI3K/CD28 相互作用面の構造を確認すると、CD28 由来のペプチドの構造が一意に定まっておらず、揺らいでいた。そこで、複合体構造について、エネルギー最小化したのちに分子設計を進めることとした (Figure 4-4)^a。

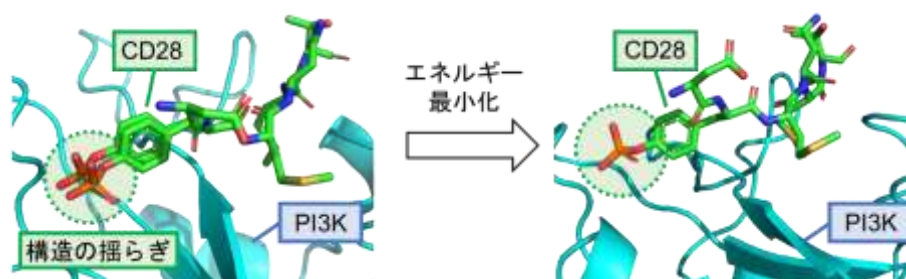


Figure 4-4. PI3K/CD28 複合体構造のエネルギー最小化

^a PI3K/CD28 複合体構造のエネルギー最小化には、BIOVIA Discovery Studio¹⁶ の “Simulation tools”を用いた。

まず、エネルギー最小化によって得られた構造から、PI3K/CD28 相互作用面におけるファーマコフォアモデルを Ligand Scout 4.4¹⁷ を用いて作成した (Figure 4-5A). その結果、CD28 ペプチドについて、二つのメチオニン残基に由来する疎水性相互作用と、リン酸化されたチロシン残基の隣接した疎水性相互作用と負電荷帯電性が PI3K/CD28 相互作用に重要であることが示唆された. そして、得られたファーマコフォアが三方向に広がっていたことから、オキシピペラジンを窒素原子を介した架橋構造を導入し、トリアザビシクロ[3.3.1]ノナン (**2**) とすれば、CD28 ペプチドの側鎖の空間配置を模倣し得ると考えた (Figure 4-5B).

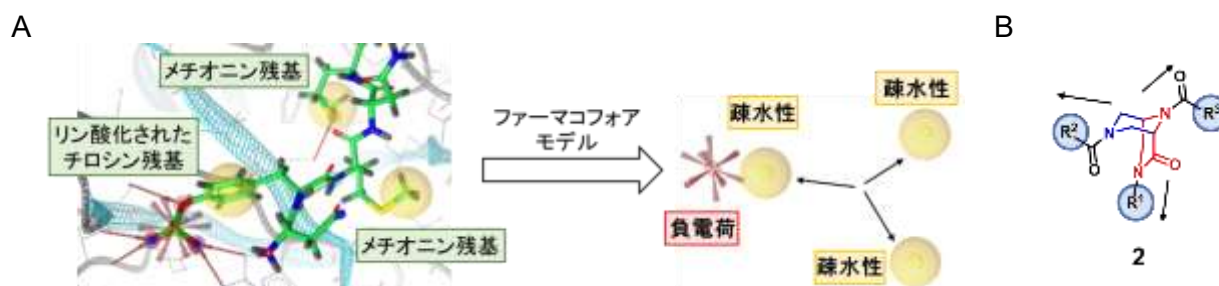


Figure 4-5. (A) PI3K-CD28 相互作用のファーマコフォアモデルの作成, (B) オキシピペラジンを骨格をもつトリアザビシクロ[3.3.1]ノナン骨格 (**2**) の構造.

籠型オキシピペラジンを骨格 **2** を CD28 ペプチド模倣分子へと応用するため、合成標的化合物の設計に取り組んだ. まず、CD28 ペプチドのメチオニン残基とリン酸化チロシン残基の結合様式の模倣を指向した置換基構造を籠型骨格に導入し、候補化合物のバーチャルライブラリーを作成した (Figure 4-6). このとき、籠型骨格 **2** の各窒素原子上に導入する置換基構造は、化学的安定性やビルディングブロックの入手容易性、合成容易性を考慮して選んだ. すなわち、メチオニン残基の疎水性の模倣には、酸化を受けやすい硫黄原子を除き、アルキル鎖やフェニル基を R^1, R^2, R^3 のいずれかに導入することとした. そして、リン酸化チロシン残基の模倣には、入手容易なテレフタル酸を用いることとし、 R^2, R^3 のいずれかに導入することとした. カルボン酸構造を一つ含むことを条件に候補化合物を列挙すると、合成容易であると考えられる 36 化合物を得た.

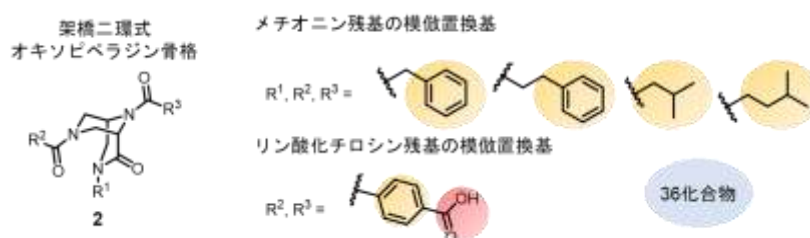
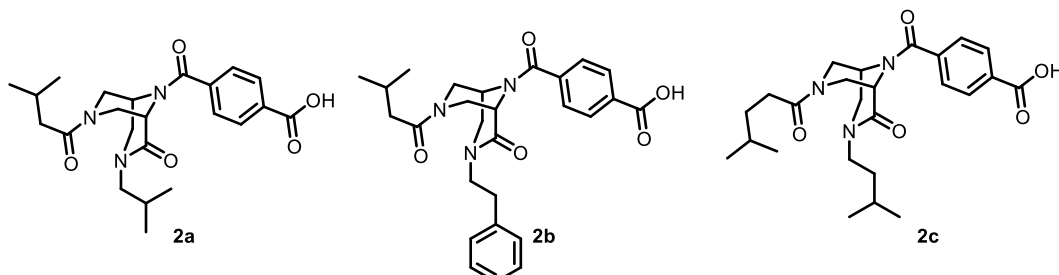


Figure 4-6. CD28 ペプチド模倣分子の設計に向けたバーチャルライブラリーの構築

続いて、仮想的に発生させた 36 化合物の中から CD28 ペプチドの結合様式を模倣し得る分子を探るために *in silico* スクリーニングを行った (Figure 4-7A). すなわち、CD28 ペプチドの結合部位においてドッキングシミュレーションを行い、各化合物について、スコアが上位 10 位以内のドッキングポーズを得た. 続いて、得られたドッキングポーズの立体配座について、CD28/PI3K 相互作用面から作成したファーマコフォアモデル (Figure 4-5A) へのフィッティングを行った. これにより、予測された複数の結合様式のうち、CD28 ペプチドと同様の形式でドッキングされた化合物を見出し、CD28 ペプチド模倣分子とした. 以上の *in silico* スクリーニングから、仮想的に発生させた 36 化合物のうち 3 化合物 (**2a-c**) を CD28 ペプチド模倣分子として得た (Figure 4-7B).

A CD28 ペプチド模倣分子の探索に向けた *in silico* スクリーニング

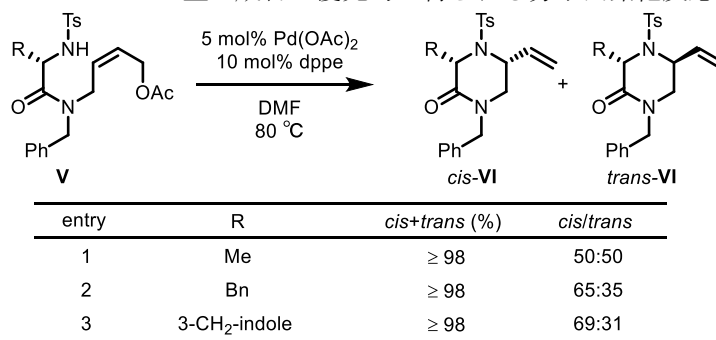
B バーチャルヒット化合物の構造

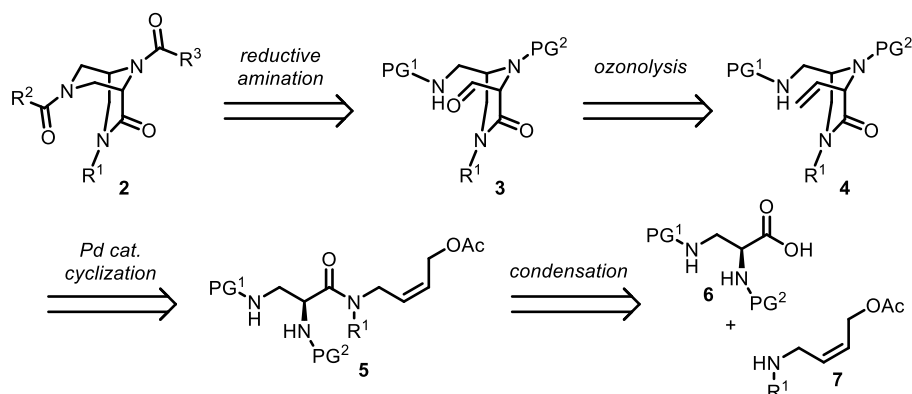
Figure 4-7. *in silico* スクリーニングによる CD28 ペプチド模倣分子の設計

4-4 CD28 ペプチド模倣分子の合成計画

籠型オキソピペラジン骨格 **2** を母骨格とし、置換基導入を行うことで、CD28 ペプチドの結合様式を再現し得ることが明らかとなったことから、合成標的化合物の合成検討に取り組むとした (Scheme 4-1). すなわち、目的のトリアザビシクロ[3.3.1]ノナン骨格 **2** は、アルデヒド **3** の還元的アミノ化による架橋構造の導入によって構築できると考えた. アルデヒド **3** は、オレフィン **4** のオゾン分解によって得られると考えた. オレフィン **4** は、アリルアセテート **5** のパラジウム触媒を用いた分子内環化反応によって得られると考えた^b. アリルアセテート **5** は、アミノ酸 **6** と第二級アミン **7** の縮合によって合成できると考えた.

^b アルデヒド **3** の還元的アミノ化による架橋構造の導入を達成するためには、アミノメチル基とアルデヒド基が *cis* 型の配座を取る必要がある. Poli らは、アリルアセテート **V** のパラジウム触媒を用いた分子内型反応によって、*cis* 型で生成物 **VI** が優先的に得られることを報告している (Table 4-A)¹⁸.

Table 4-A. *cis* 型生成物が優先的に得られる分子内環化反応

Scheme 4-1. CD28 ペプチド模倣分子 **2** の合成計画

4-5 CD28 ペプチド模倣分子の合成検討

合成計画に従い、CD28 ペプチド模倣分子 **2** の合成検討に取り組んだ (Scheme 4-2)。購入可能な Fmoc-Dap(Boc)-OH (**6a**) を出発原料とし、混合炭酸無水物を經由した第二級アミンとの縮合により、置換基 R^1 が導入された第三級アミド **5a-c** を 79%–82% の良好な収率で得た^c。得られた第三級アミドの Fmoc 基を、ジエチルアミンを用いて脱保護し、生じた第一級アミンを Ns 基で保護することで、アリルアセテート **5a'-c'** とした。得られたアリルアセテート **5a'-c'** のパラジウム触媒を用いた分子内環化反応によって、オレフィン **4a-c** を *cis-trans* 異性体の混合物として得た。このとき、いずれの生成物も *cis* 型が優勢であった。得られたオレフィン **4a-c** をオゾン分解によってアルデヒドへと導いたのち、 CF_3COOH 存在下で Et_3SiH を添加すると、還元的アミノ化による分子内環化反応が進行し、目的のトリアザビシクロ[3.3.1]ノナン骨格 **8a-c** の構築を達成した。このとき、オレフィン **4a-c** の合成において、*cis* 異性体の生成が優先する分子内環化反応とすることで、籠型オキソピペラジン **8a-c** は三工程 50% 以上の収率で得られた。そして、籠型オキソピペラジン **8a-c** の構築は、Boc 基の脱保護を伴った反応であったことから、カルボン酸 (R^2COOH) との縮合により、置換基 R^2 を直ちに導入した。得られた二置換体の Ns 基を、DMF 溶媒中 K_2CO_3 存在下で PhSH を添加することで脱保護し、第二級アミン **9a-c** とした。このとき、二置換体 **9d,e** も同様の合成経路で得た。得られた第二級アミン **9a-d** とテレフタル酸モノメチルを縮合することで、三つ目の置換基を導入した。最後に、メ

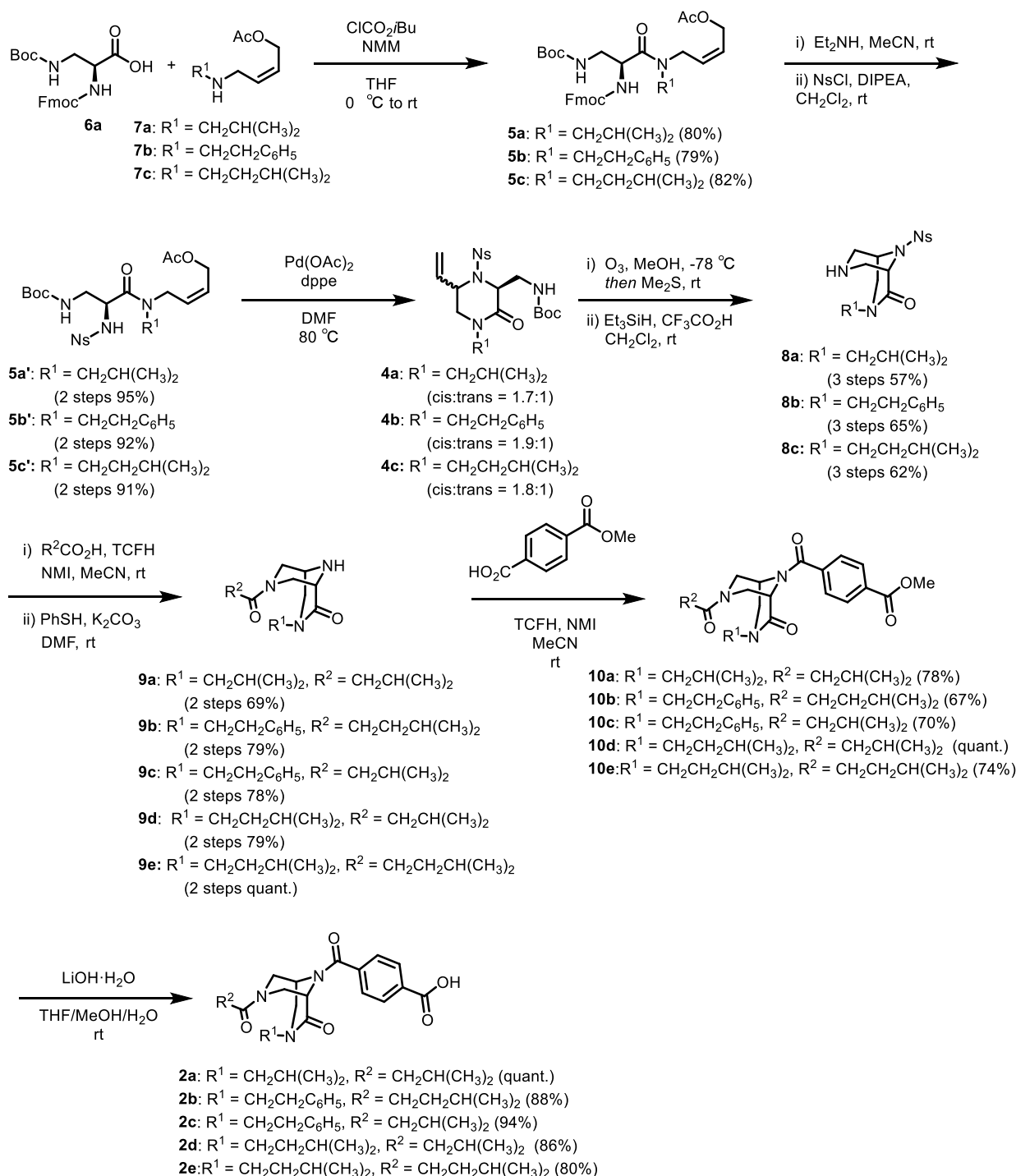
^c 初期検討において、アミノ基上の保護基が Ns 基であるアミノ酸 **V**、第二級アミン **IV** との縮合を試みると、反応の進行が殆ど確認できなかった (Table 4-B)。

Table 4-B. アミノ基上に Ns 基をもつアミノ酸と第二級アミンの合成検討

entry	conditions	result ^a
1	VI , TCFH (2.0 equiv.), NMI (3.0 equiv.), MeCN, rt	N.D.
2	isobutyl chloroformate (1.05 equiv.), NMM (2.0 equiv.), -15 °C then VI (1.0 equiv.), rt	trace
3	$(COCl)_2$ (1.2 equiv.), DMF (cat.), CH_2Cl_2 , rt then VI (1.0 equiv.), CH_2Cl_2 /toluene, rt to 100 °C	N.D.

^aanalyzed by MS

チルエステルを加水分解することでカルボン酸とし、設計した CD28 ペプチド模倣分子 **2a-c** とその類縁体 **2d,e** の合成を達成した。



Scheme 4-2. CD28 ペプチド模倣分子の合成

4-6 籠型オキソピペラジンの PMI 解析

開発した籠型オキソピペラジン骨格の構造的特徴を PMI プロット¹⁹により解析した (Figure 4-8). 解析には、籠型骨格をもつ **8a-c**, **9a-e**, **10a-e**, **2a-e** を用いた. 従来の低分子医薬品は、球状に近い構造を示す化合物を含むものの、その多くが棒状の化合物に集中しており、“+”で示した PMI プロットの座標の平均値は、(npr1, npr2) = (0.27, 0.84) である. それに比べて、開発した籠型オキソピペラジ

ン骨格は、逆三角形の辺に接するような極端に直線的・平面的な形状を示すことはなかった。特に、二置換体 **9b-e** は、逆三角形の中央部にプロットされ、三次元性が高いことが示された。解析に用いた籠型骨格の PMI プロットの平均値の座標は (0.34,0.86) であり、籠型オキソピペラジンを分子設計へと取り入れることで、従来の低分子医薬品よりも三次元性の高いケミカルスペースを探索できると考える。

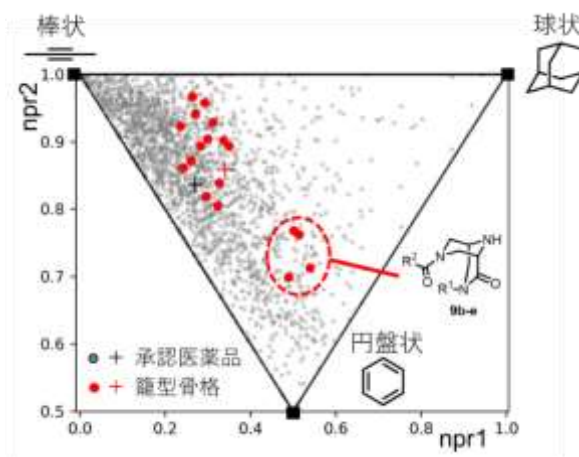


Figure 4-8. 承認医薬品と籠型オキソピペラジン骨格の PMI プロット

4-7 まとめ

本章においては、置換基導入が容易な籠型オキソピペラジン骨格の開発と CD28 ペプチド模倣分子の設計への応用について述べた (Figure 4-9)。オキソピペラジンは、生物活性分子の創出に有用であるが、その籠型の分子骨格については、医薬品設計への応用が不十分であった。そこで、PI3K/CD28 相互作用を標的とし、籠型オキソピペラジンに基づくペプチド模倣分子を開発することで、医薬品開発のケミカルスペースの拡大を目指した。ペプチド模倣分子の設計においては、PI3K/CD28 相互作用面の特徴から、トリアザビシクロ[3.3.1]ノナン骨格 **2** を合成標的として設定した。そして、*in silico* スクリーニングにより、籠型骨格 **2** が CD28 ペプチド側鎖の空間配置を再現し得ることを確かめた。

設計した CD28 ペプチド模倣分子の合成を実際に検討し、籠型オキソピペラジンの構築と三つの置換基導入を達成した。三つの置換基はそれぞれ独立に導入できることから、多様な置換基の組み合わせの検討を可能にする。特に、置換基 R^2, R^3 は、籠型骨格構築後に窒素原子を足掛かりとした導入を可能にするため、類縁体の合成展開も容易にすると考える。さらには、本合成経路は、カルボン酸のような極性官能基が導入できることを実証しており、開発した籠型オキソピペラジン骨格は医薬品探索に有用な骨格であると考えられる。

最後に、合成した籠型オキソピペラジンの構造的特徴を解析し、従来の低分子医薬品よりも三次元性の高いケミカルスペースを探索できることを明らかにした。

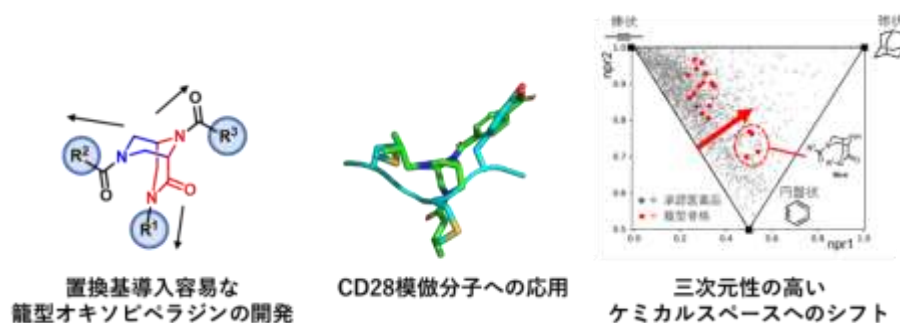


Figure 4-9. 第四章のまとめ

4-8 References

- (1) (a) Tošovská, P.; Arora, P. S. Oligoioxopiperazines as Nonpeptidic α -Helix Mimetics. *Org. Lett.* **2010**, *12*, 1588–1591; (b) Lao, B. B.; Grishagin, I.; Mesallati, H.; Brewer, T. F.; Olenyuk, B. Z.; Arora, P. S. In vivo modulation of hypoxia-inducible signaling by topographical helix mimetics. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **2014**, *111*, 7531–7536; (c) Lao, B. B.; Drew, K.; Guarracino, D. A.; Brewer, T. F.; Heindel, D. W.; Bonneau, R.; Arora, P. S. Rational Design of Topographical Helix Mimics as Potent Inhibitors of Protein–Protein Interactions. *J. Am. Chem. Soc.* **2014**, *136*, 7877–7888.
- (2) Tedesco, F.; Calugi, L.; Lenci, E.; Trabocchi, A. Peptidomimetic Small-Molecule Inhibitors of 3CLPro Activity and Spike-ACE2 Interaction: Toward Dual-Action Molecules against Coronavirus Infections. *J. Org. Chem.* **2022**, *87*, 12041–12051.
- (3) Marciniak, M.; Mróz, P.; Napolitano, V.; Kalel, V. C.; Fino, R.; Pykacz, E.; Schliebs, W.; Plettenburg, O.; Erdmann, R.; Sattler, M.; Popowicz, G. M.; Dawidowski, M. Development of novel PEX5-PEX14 protein-protein interaction (PPI) inhibitors based on an oxopiperazine template. *Eur. J. Med. Chem.* **2023**, *258*, 115587.
- (4) Kuroda, T.; Kigoshi, H. Aplaminal: A Novel Cytotoxic Amino Acid Isolated from the Sea Hare *Aplysia Kurodai*. *Org. Lett.* **2008**, *10*, 489–491.
- (5) Williams, R. M.; Glinka, T.; Flanagan, M. E.; Gallegos, R.; Coffman, H.; Pei, D. Cannizzaro-Based O₂-Dependent Cleavage of DNA by Quinocarcin. *J. Am. Chem. Soc.* **1992**, *114*, 733–740.
- (6) David, B. S. RENIERAMYCIN G, A NEW ALKALOID FROM THE SPONGE XESTOSPONGZA CAYCEDOZ. *Tetrahedron Lett.* **1992**, *33*, 3721–3724.
- (7) Guo, C.; Reich, S.; Showalter, R.; Villafranca, E.; Dong, L. A concise synthesis of AG5473/5507 utilizing N-acyliminium ion chemistry. *Tetrahedron Lett.* **2000**, *41*, 5307–5311.
- (8) (a) Evans, B. E.; Rittle, K. E.; Bock, M. G.; DiPardo, R. M.; Freidinger, R. M.; Whitter, W. L.; Lundell, G. F.; Veber, D. F.; Anderson, P. S.; Chang, R. S.; Lotti, V. J.; Cerino, D. J.; Chen, T. B.; Kling, P. J.; Kunkel, K. A.; Springer, J. P.; Hirshfield, J. Methods for drug discovery: development of potent, selective, orally effective cholecystokinin antagonists. *J. Med. Chem.* **1988**, *3*, 2235–2246; (b) Schneider, P.; Schneider, G. Privileged Structures Revisited. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2017**, *56*, 7971–7974.
- (9) Veerman, J. J. N.; Bon, R. S.; Hue, B. T. B.; Girones, D.; Rutjes, F. P. J. T.; van Maarseveen, J. H.; Hiemstra, H. Synthesis of 2,6-Bridged Piperazine-3-Ones by N-Acyliminium Ion Chemistry. *J. Org. Chem.* **2003**, *68*, 4486–4494.
- (10) Wauters, I.; Goossens, H.; Delbeke, E.; Muylaert, K.; Roman, B. I.; Van Hecke, K.; Van Speybroeck, V.; Stevens, C. V. Beyond the Diketopiperazine Family with Alternatively Bridged Brevianamide F Analogues. *J. Org. Chem.* **2015**, *80*, 8046–8054.
- (11) Edner, N. M.; Carlesso, G.; Rush, J. S.; Walker, L. S. K. Targeting co-stimulatory molecules in autoimmune disease. *Nat. Rev. Drug Discov.* **2020**, *19*, 860–883.
- (12) Acuto, O.; Michel, F. CD28-mediated co-stimulation: a quantitative support for TCR signalling. *Nat. Rev. Immunol.* **2003**, *3*, 939–951.
- (13) Rudd, C. E.; Schneider, H. Unifying concepts in CD28, ICOS and CTLA4 co-receptor signalling. *Nat. Rev. Immunol.* **2003**, *3*, 544–556.
- (14) Ogawa, S.; Asawa, Y.; Iiyama, M.; Yoshimori, A.; Nakamura, H.; Oda, M. Regulation of CD28 binding to SH2 domains of Grb2 and PI3K by trisubstituted carboranes for T-cell activation. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2022**, *78*, 129049.
- (15) Inaba, S.; Numoto, N.; Ogawa, S.; Morii, H.; Ikura, T.; Abe, R.; Ito, N.; Oda, M. Crystal Structures and Thermodynamic Analysis Reveal Distinct Mechanisms of CD28 Phosphopeptide Binding to the Src Homology 2 (SH2) Domains of Three Adaptor Proteins. *J. Biol. Chem.* **2017**, *292*, 1052–1060.
- (16) BIOVIA Dassault Systems, Discovery Studio 2020; Dassault Systems: San Diego, CA, USA, 2020.
- (17) Wolber, G.; Langer, T. LigandScout: 3-D Pharmacophores Derived from Protein-Bound Ligands and Their Use as Virtual Screening Filters. *J. Chem. Inf. Model.* **2005**, *45*, 160–169.
- (18) Ferber, B.; Lemaire, S.; Mader, M. M.; Prestat, G.; Poli, G. A new access to 3,5-disubstituted piperazinones via Pd(0)-catalyzed amination. *Tetrahedron Lett.* **2003**, *44*, 4213–4216.
- (19) Sauer, W. H. B.; Schwarz, M. K. Molecular Shape Diversity of Combinatorial Libraries: A Prerequisite for Broad Bioactivity. *J. Chem. Inf. Comput. Sci.* **2003**, *43*, 987–1003.

Experimental section

General

NMR spectra were recorded on a Bruker biospin AVANCE II (400 MHz for ^1H , 100 MHz for ^{13}C , 376 MHz for ^{19}F) or a Bruker biospin AVANCE III (500 MHz for ^1H , 125 MHz for ^{13}C) instrument in the indicated solvent. Chemical shifts are reported in units of parts per million (ppm) relative to CDCl_3 (7.26 ppm for ^1H NMR, 77.16 ppm for ^{13}C NMR) or CD_3OD (3.31 ppm for ^1H NMR, 49.00 ppm for ^{13}C NMR). Multiplicities are reported using the following abbreviations: s; singlet, d; doublet, dd; double doublets, t; triplet, m; multiplet, br; broad, *J*; coupling constants in Hertz (Hz). IR spectra were recorded on a JASCO FT/IR-4200 spectrometer. Only the strongest and/or structurally important peaks are reported as IR data given in cm^{-1} . High-resolution mass spectra (HRMS) were recorded on Bruker ESI-TOF-MS (micro TOF II). Analytical thin layer chromatography (TLC) was performed on a glass plate of silica gel 60 GF254 (Merck) with UV light (254 nm), visualized by an aqueous alkaline KMnO_4 solution. Column chromatography was performed using silica gel (Fuji Silysia, CHROMATREX PSQ 60B, 50-200 μm). Preparative thin-layer chromatography (PTLC) was performed using Wakogel B5-F silica coated plates (1.0 mm) prepared in our laboratory. Gel permeation chromatography (GPC) for purification was performed on Japan Analytical Industry Model LC- 9225 NEXT (recycling preparative HPLC) and a Japan Analytical Industry Model UV-600 NEXT ultraviolet detector with a polystyrene gel column (JAIGEL-1H, 20 mm \times 600 mm), using chloroform as solvent (3.5 mL/min). Compound **6a** was purchased from BLDpharm.

Virtual screening

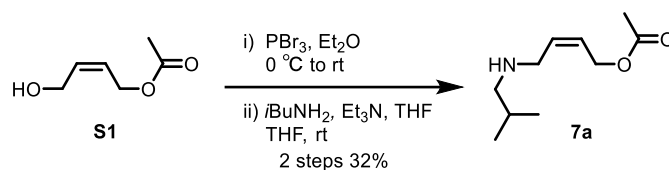
Docking calculations were performed with BIOVIA Discovery Studio 2020.¹ The crystal structures of PI3K c-SH2 and CD28 (PDB code 5AUL) were obtained from PDB.² After removing all water molecules, energy minimization of the complex structure was performed using “Simulation tools” module. PI3K c-SH2 protein (chain A) was further processed by the protocol “Prepare Proteins”, and the virtual library of compound **2** was processed by the protocol “Prepare Ligands”. Then the docking calculations were performed at binding site defined from CD28 (chain B), using CDOCKER module.³ The resulted docking poses were filtered by predefined pharmacophores, including three hydrophobic features and one negative ionizable feature, using LigandScout 4.4.⁴

PMI analysis

PMI analysis⁵ of the synthesized compounds was performed as follows. Conformers of the compounds were generated using “iconfgen” module implemented in LigandScout 4.4.⁴ Normalized PMIs (npr1, npr2) were calculated for the structures with the lowest energy among the generated conformers, using RDKit.⁶

Chemistry

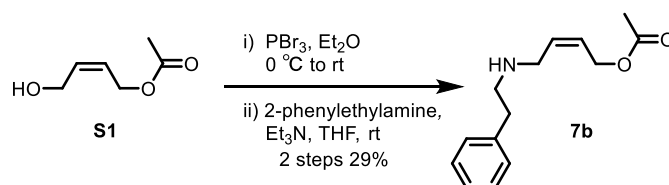
Preparation of allyl amine 7a



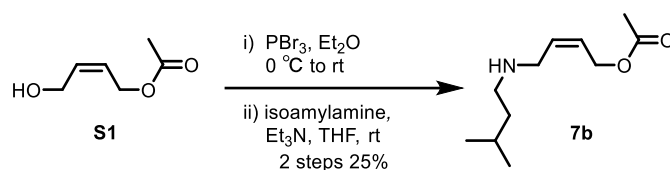
To a solution of alcohol **S1**⁷ (3.25 g, 25.0 mmol, 1.0 equiv.) in Et_2O (50 mL) was added PBr_3 (1.19 mL, 12.5 mmol, 0.5 equiv.) at $0\text{ }^\circ\text{C}$ under argon atmosphere, and the reaction mixture was stirred at room temperature for 20 min before being diluted with water. The organic layer was washed with saturated aqueous NaHCO_3 and brine, dried over MgSO_4 , filtered, and concentrated under reduced pressure to afford crude product (2.94 g).

To a solution of isobutylamine (3.05 mL, 30.4 mmol) and Et_3N (6.36 mL, 45.6 mmol) in THF (30.4 mL) was added the above crude product (2.94 g) dissolved in THF (30.4 mL) dropwise at room temperature under argon atmosphere. The reaction mixture was stirred for 3 h at the same temperature before being diluted with saturated aqueous NaHCO_3 . The organic layer was removed under reduced pressure, and the aqueous layer was extracted with EtOAc for three times. The combined organic layers were washed with brine, dried over MgSO_4 , filtered, and concentrated under reduced pressure. The residue was purified by silica gel column chromatography (hexan: EtOAc = 70:30 to EtOAc : MeOH = 90:10) to afford allyl amine **7a** (1.46 g, 7.88 mmol, 2 steps 32%) as a yellow oil. (^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 5.76-5.70 (m, 1H), 5.65-5.58 (m, 1H), 4.63 (d, J = 6.7 Hz, 2H), 3.31-3.30 (m, 2H), 2.41 (d, J = 6.8 Hz, 2H), 2.04 (s, 3H), 1.78-1.68 (m, 1H), 1.20 (brs, 1H), 0.90 (d, J = 6.7 Hz, 6H). ^{13}C NMR (125 MHz, CDCl_3) δ 171.0, 133.7, 125.2, 60.4, 57.8, 46.6, 28.5, 21.1, 20.8; IR (neat): 3026, 2954, 2870, 2812, 1739, 1467, 1445, 1372, 1230, 1118, 1028, 956 (cm^{-1}); HRMS (ESI): $[\text{M}+\text{H}]^+$ calcd for $\text{C}_{10}\text{H}_{20}\text{NO}_2$: 186.1489, found: 186.1488.

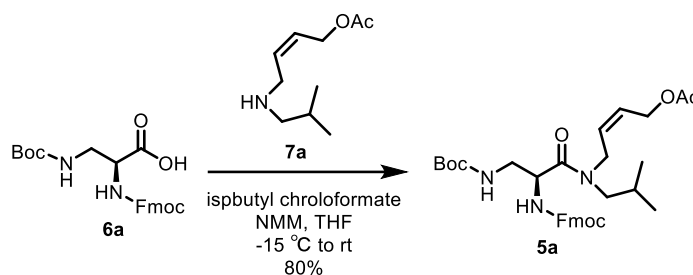
Preparation of allyl amine 7b



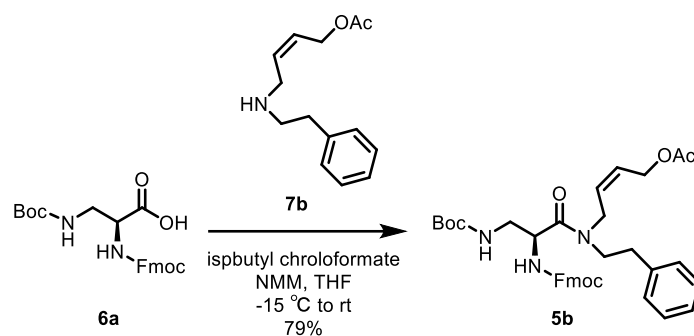
This compound was prepared from alcohol **S1**⁷ (3.25 g, 25.0 mmol) following the procedure described for **7a**, using 2-phenylethylamine (3.41 mL, 27.0 mmol) instead of isobutyl amine. Purification by silica gel column chromatography (hexan: EtOAc = 70:30 to EtOAc : MeOH = 90:10) yielded allyl amine **7b** (1.70 g, 7.29 mmol, 2 steps 29%) as a yellow oil. (^1H NMR (500 MHz, CDCl_3) δ 7.29 (t, J = 7.5 Hz, 2H), 7.21-7.20 (m, 3H), 5.73-5.68 (m, 1H), 5.64-5.59 (m, 1H), 4.62 (d, J = 6.7 Hz, 2H), 3.33 (d, J = 6.7 Hz, 2H), 2.89-2.87 (m, 2H), 2.81 (t, J = 6.9 Hz, 2H), 2.04 (s, 3H), 1.31 (brs, 1H). ^{13}C NMR (125 MHz, CDCl_3) δ 171.0, 140.0, 133.3, 128.8, 128.6, 126.3, 125.4, 60.3, 50.8, 46.4, 36.5, 21.0; IR (neat): 3454, 3317, 3085, 3059, 3026, 2933, 2832, 1736, 1601, 1496, 1454, 1372, 1229, 1120, 1027, 954, 748, 700 (cm^{-1}); HRMS (ESI): $[\text{M}+\text{H}]^+$ calcd for $\text{C}_{14}\text{H}_{20}\text{NO}_2$: 234.1489, found: 234.1491.

Preparation of allyl amine **7c**

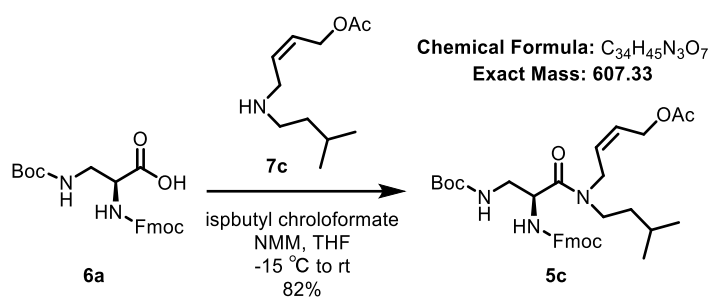
This compound was prepared from alcohol **S1**⁷ (3.25 g, 25.0 mmol) following the procedure described for **7a**, using isoamylamine (2.86 ml, 24.6 mmol) instead of isobutyl amine. Purification by silica gel column chromatography (hexan:EtOAc = 70:30 to EtOAc:MeOH = 90:10) to afford allyl amine **7c** (1.27 g, 6.37 mmol, 2 steps 25%) as a yellow oil. ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 5.77-5.70 (m, 1H), 5.65-5.59 (m, 1H), 4.64 (d, *J* = 6.8 Hz, 2H), 3.32-3.31 (m, 2H), 2.61 (t, *J* = 7.5 Hz, 1H), 2.05 (s, 3H), 1.65-1.59 (m, 1H), 1.40-1.34 (m, 2H), 1.23 (brs, 1H), 0.89 (d, *J* = 6.6 Hz, 6H). ¹³C NMR (125 MHz, CDCl₃) δ 171.0, 133.5, 125.2, 60.4, 47.9, 46.6, 39.3, 26.3, 22.8, 21.1; IR (neat): 3317, 3023, 2955, 2924, 1740, 1642, 1466, 1372, 1230, 1118, 1028, 956, 750 (cm⁻¹); HRMS (ESI): [M+H]⁺ calcd for C₁₁H₂₂NO₂: 200.1645, found: 200.1646.

Preparation of amide **5a**

To a solution of Boc-Dap(Fmoc)-OH (**6a**) (426 mg, 1.00 mmol, 1.0 equiv.) and *N*-methylmorpholine (220 μL, 2.00 mmol, 2.0 equiv.) in THF (2.0 mL) was added isobutyl chloroformate (138 μL, 1.05 mmol, 1.05 equiv.) at -15 °C under an argon atmosphere. After being stirred for 10 min at the same temperature, allyl amine **7a** (185 mg, 1.00 mmol, 1.0 equiv.) dissolved in THF (1.5 mL) was added to the mixture. After being stirred for 30 min at room temperature, the reaction mixture was diluted with saturated aqueous NaHCO₃, and the aqueous layer was extracted with EtOAc for three times. The combined organic layers were washed with brine, dried over MgSO₄, filtered, and concentrated under reduced pressure. The residue was purified by silica gel column chromatography (hexan:EtOAc = 70:30 to 60:40) to afford amide **5a** (474 mg, 0.798 mmol, 80%) as a white amorphous solid. $[\alpha]_D^{29.3} = -4.21^\circ$ (*c* = 0.997, CHCl₃); ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃, mixture of rotamers) δ 7.75 (d, *J* = 7.5 Hz, 2H), 7.60-7.57 (m, 2H), 7.39 (t, *J* = 7.4 Hz, 2H), 7.32-7.28 (m, 2H), 5.85-5.53 (m, 3H), 5.15-5.03 (m, 1H), 4.81-4.64 (m, 3H), 4.40-3.88 (m, 5H), 3.44-3.03 (m, 4H), 2.05 (s, 3H), 1.98-1.89 (m, 1H), 1.43 (s, 9H), 0.97-0.87 (m, 6H); ¹³C NMR (125 MHz, CDCl₃, mixture of rotamers) δ 170.9, 170.8, 170.6, 170.3, 156.2, 156.1, 156.0, 144.0, 143.8, 141.4, 141.4, 141.4, 141.4, 130.0, 129.8, 127.8, 127.3, 127.2, 126.7, 125.2, 125.2, 120.1, 79.8, 67.2, 67.1, 59.9, 59.7, 54.7, 53.2, 51.5, 51.2, 47.2, 47.2, 45.3, 43.5, 43.4, 28.4, 27.8, 26.8, 21.0, 21.0, 20.3, 20.2, 20.1, 19.7; IR (neat): 3319, 3066, 3038, 3003, 2962, 2933, 2872, 1720, 1631, 1512, 1450, 1366, 1229, 1167, 1083, 1032, 951, 759, 742 (cm⁻¹); HRMS (ESI): [M+Na]⁺ calcd for C₃₃H₄₃N₃O₇Na: 616.2993, found: 616.2991.

Preparation of amide **5b**

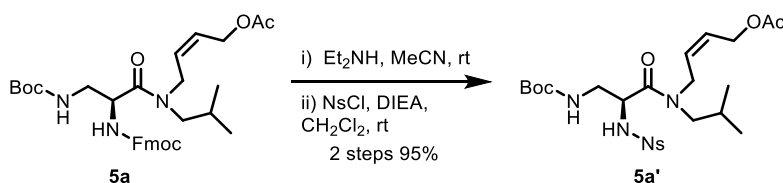
This compound was prepared from Boc-Dap(Fmoc)-OH (**6a**) (1.07 g, 2.50 mmol, 1.0 equiv.) following the procedure described for **5a**, using allyl amine **7b** (583 mg, 2.50 mmol, 1.0 equiv.) instead of **7a**. Purification by silica gel column chromatography (hexan:EtOAc = 70:30 to 50:50) yielded amide **5b** (1.27 mg, 1.98 mmol, 79%) as a white amorphous solid. $[\alpha]_D^{30.0} = -5.64^\circ$ ($c = 1.01$, CHCl_3); $^1\text{H NMR}$ (500 MHz, CDCl_3 , mixture of rotamers) δ 7.76 (d, $J = 7.5$ Hz, 2H), 7.61-7.59 (m, 2H), 7.39 (t, $J = 7.4$ Hz, 2H), 7.32-7.18 (m, 7H), 5.95-5.88 (m, 1H), 5.74-5.69 (m, 1H), 5.59-5.57 (m, 1H), 5.08-5.07 (m, 1H), 4.76-4.53 (m, 3H), 4.41-4.36 (m, 2H), 4.24-3.92 (m, 3H), 3.75-3.18 (m, 4H), 2.95-2.85 (m, 2H), 2.06-2.06 (m, 3H), 1.44-1.43 (m, 9H); $^{13}\text{C NMR}$ (125 MHz, CDCl_3 , mixture of rotamers) δ 170.9, 170.8, 168.8, 168.6, 156.3, 156.2, 147.9, 147.8, 134.6, 134.3, 133.7, 132.9, 132.8, 130.5, 130.4, 129.2, 129.2, 127.8, 126.9, 126.0, 125.8, 80.1, 80.0, 59.7, 59.7, 54.7, 54.6, 54.2, 53.1, 44.9, 44.0, 43.7, 43.5, 28.4, 27.8, 26.5, 21.0, 20.1, 20.0, 19.9, 19.7; IR (neat): 3320, 3061, 3027, 3001, 2970, 2937, 1720, 1632, 1498, 1451, 1366, 1229, 1165, 1030, 758, 740, 700 (cm^{-1}); HRMS (ESI): $[\text{M}+\text{Na}]^+$ calcd for $\text{C}_{37}\text{H}_{43}\text{N}_3\text{O}_7\text{Na}$: 664.2993, found: 664.2997.

Preparation of amide **5c**

This compound was prepared from Boc-Dap(Fmoc)-OH (**6a**) (1.07 g, 2.50 mmol, 1.0 equiv.) following the procedure described for **5a**, using allyl amine **7c** (498 mg, 2.50 mmol, 1.0 equiv.) instead of **7a**. Purification by silica gel column chromatography (hexan:EtOAc = 85:15 to 50:50) yielded amide **5c** (1.25 g, 2.06 mmol, 82%) as a white amorphous solid. $[\alpha]_D^{28.9} = -7.49^\circ$ ($c = 1.01$, CHCl_3); $^1\text{H NMR}$ (500 MHz, CDCl_3 , mixture of rotamers) δ 7.74 (d, $J = 7.5$ Hz, 2H), 7.58 (t, $J = 6.4$ Hz, 2H), 7.38 (t, $J = 7.4$ Hz, 2H), 7.31-7.28 (m, 2H), 5.94 (brs, 1H), 5.74-5.54 (m, 2H), 5.17-5.11 (m, 1H), 4.74-4.63 (m, 3H), 4.41-4.33 (m, 2H), 4.24-3.91 (m, 3H), 3.49-3.24 (m, 4H), 2.06-2.05 (m, 3H), 1.61-1.43 (m, 12H), 0.94 (d, $J = 6.0$ Hz, 3H), 0.91 (d, $J = 6.6$ Hz, 3H); $^{13}\text{C NMR}$ (125 MHz, CDCl_3 , mixture of rotamers) δ 170.8, 170.8, 169.9, 156.1, 156.1, 143.9, 143.8, 141.4, 141.3, 130.1, 130, 127.8, 127.3, 127.1, 126.8, 125.2, 125.2, 120, 79.7, 67.2, 67.1, 59.9, 59.6, 51.4, 51.3, 47.2, 46.2, 45,

44.9, 43.6, 43.3, 43, 37.9, 36.1, 28.4, 26.2, 26.2, 22.6, 22.5, 22.5, 21.0; IR (neat): 3319, 3067, 3039, 3002, 1713, 1632, 1512, 1450, 1367, 1229, 1167, 1081, 1032, 759, 740 (cm^{-1}); HRMS (ESI): $[\text{M}+\text{Na}]^+$ calcd for $\text{C}_{34}\text{H}_{45}\text{N}_3\text{O}_7\text{Na}$: 630.3150, found: 630.3168.

Preparation of sulfonamide **5a'**



To a solution of amide **5a** (893 mg, 1.50 mmol, 1.0 equiv.) in MeCN (6.0 mL) was added Et_2N (3.0 mL) under an argon atmosphere. The reaction mixture was stirred for 1 h at room temperature before being concentrated under reduced pressure to afford crude amine.

To a solution of the crude amine in CH_2Cl_2 (4.5 mL) was added *N,N*-diisopropylethylamine (332 μL , 1.95 mmol) and 2-nitrobenzenesulfonyl chloride (399 mg, 1.80 mmol) at room temperature under an argon atmosphere. After being stirred for 45 min at the same temperature, the reaction mixture was diluted with saturated aqueous NaHCO_3 , and the aqueous layer was extracted with CH_2Cl_2 for three times. The combined organic layers were washed with brine, dried over MgSO_4 , filtered, and concentrated under reduced pressure. The residue was purified by silica gel column chromatography (hexan:EtOAc = 70:30 to 55:45) to afford amide **5a'** (792 mg, 1.42 mmol, 2 steps 95%) as a yellow amorphous solid. $[\alpha]_D^{30.0} = -34.16^\circ$ ($c = 1.01$, CHCl_3); ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3 , mixture of rotamers) δ 8.06-8.02 (m, 1H), 7.91-7.86 (m, 1H), 7.73-7.65 (m, 2H), 6.77 (brs, 1H), 5.73-5.56 (m, 1H), 5.33-5.17 (m, 2H), 4.74-4.49 (m, 3H), 4.40-3.69 (m, 2H), 3.50-2.78 (m, 4H), 2.07-2.02 (m, 3H), 1.86-1.74 (m, 1H), 1.42 (s, 9H), 0.90-0.69 (m, 6H); ^{13}C NMR (125 MHz, CDCl_3 , mixture of rotamers) δ 170.9, 170.8, 168.8, 168.6, 156.3, 156.2, 147.9, 147.8, 134.6, 134.3, 133.7, 132.9, 132.8, 130.5, 130.4, 129.2, 129.2, 127.8, 126.9, 126.0, 125.8, 80.1, 80.0, 59.7, 59.7, 54.7, 54.6, 54.2, 53.1, 44.9, 44.0, 43.7, 43.5, 28.4, 27.8, 26.5, 21, 20.1, 20, 19.9, 19.7; IR (neat): 3340, 3098, 2968, 2933, 2872, 1737, 1709, 1641, 1542, 1410, 1366, 1276, 1232, 1170, 1107, 1030, 957, 854, 784, 741 (cm^{-1}); HRMS (ESI): $[\text{M}+\text{Na}]^+$ calcd for $\text{C}_{24}\text{H}_{36}\text{N}_4\text{O}_9\text{SNa}$: 579.2095, found: 579.2099.

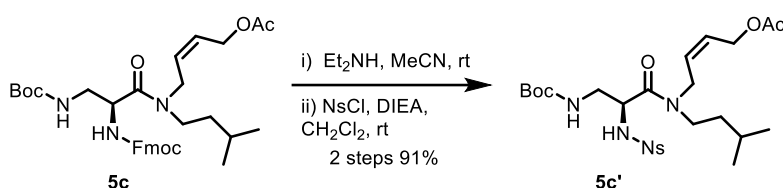
Preparation of sulfonamide **5b'**



This compound was prepared from amide **5b** (1.27 g, 1.98 mmol, 1.0 equiv.) following the procedure described for **5a'**. Purification by silica gel column chromatography (hexan:EtOAc = 70:30 to 50:50) yielded sulfonamide **5b'** (1.10 g, 1.82 mmol, 2 steps 92%) as a yellow amorphous solid. $[\alpha]_D^{28.8} = -9.02^\circ$ ($c = 1.02$, CHCl_3); ^1H NMR (500 MHz, CDCl_3 , mixture of rotamers) δ 8.06-7.97 (m, 1H), 7.93-7.89 (m, 1H), 7.73-7.64

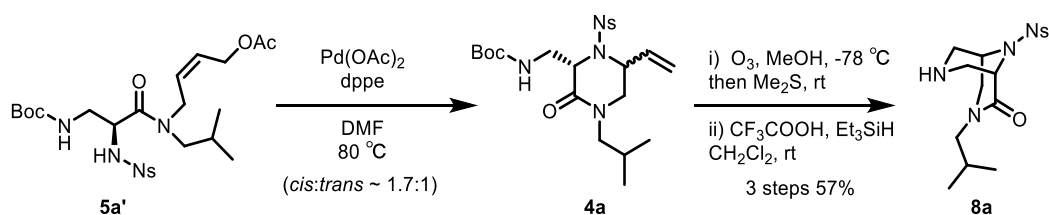
(m, 2H), 7.33-7.09 (m, 5H), 6.73-6.67 (m, 1H), 5.73-5.60 (m, 1H), 5.35-5.16 (m, 2H), 4.68-4.50 (m, 3H), 4.24-3.93 (m, 1H), 3.90-3.16 (m, 4H), 2.98-2.76 (m, 2H), 2.68-2.59 (m, 1H), 2.08-2.04 (m, 3H), 1.42-1.41 (m, 9H); ^{13}C NMR (125 MHz, CDCl_3 , mixture of rotamers) δ 170.9, 168.7, 168.4, 156.2, 147.9, 147.9, 138.4, 137.6, 134.5, 133.8, 133.0, 132.8, 130.5, 130.2, 129.4, 129.1, 129.0, 128.8, 128.7, 128.0, 127.1, 127.0, 126.7, 126.0, 125.9, 80.1, 59.7, 59.6, 54.4, 54.2, 48.8, 47.9, 45.1, 43.6, 43.6, 43.1, 35.6, 33.6, 28.4, 28.4, 21.0; IR (neat): 3325, 3092, 3061, 3025, 3002, 2975, 2935, 1735, 1705, 1643, 1541, 1500, 1366, 1232, 1167, 1122, 1028, 742 (cm^{-1}); HRMS (ESI): $[\text{M}+\text{Na}]^+$ calcd for $\text{C}_{28}\text{H}_{36}\text{N}_4\text{O}_9\text{SNa}$: 627.2095, found: 627.2103.

Preparation of **5c'**



This compound was prepared from amide **5c** (1.21 g, 1.99 mmol, 1.0 equiv.) following the procedure described for **5a'**. Purification by silica gel column chromatography (hexan:EtOAc = 80:20 to 55:45) yielded sulfonamide **5c'** (1.04 g, 1.82 mmol, 2 steps 91%) as a yellow amorphous solid. $[\alpha]_D^{27.1} = -28.8^\circ$ ($c = 1.00$, CHCl_3); ^1H NMR (500 MHz, CDCl_3 , mixture of rotamers) δ 8.06-8.03 (m, 1H), 7.94-7.89 (m, 1H), 7.75-7.68 (m, 2H), 6.73 (brs, 1H), 5.75-5.58 (m, 1H), 5.39-5.16 (m, 2H), 4.75-4.49 (m, 3H), 4.34-3.72 (m, 2H), 3.64-2.95 (m, 4H), 2.09-2.04 (m, 3H), 1.61-1.34 (m, 10H), 1.29-1.06 (m, 2H), 0.97-0.80 (m, 6H); ^{13}C NMR (125 MHz, CDCl_3 , mixture of rotamers) δ 170.9, 170.8, 168.2, 156.3, 156.2, 147.9, 134.6, 134.4, 133.8, 133.8, 132.9, 132.9, 130.5, 130.3, 129.5, 129.4, 127.8, 127.0, 126.1, 125.9, 80.1, 59.7, 59.7, 54.7, 54.6, 45.9, 45, 44.6, 43.9, 43.8, 43.0, 38.1, 36.0, 28.4, 28.4, 26.1, 22.6, 22.5, 22.5, 22.4, 21.0; IR (neat): 3328, 3173, 3094, 2958, 2934, 2870, 1737, 1708, 1641, 1542, 1411, 1366, 1236, 1170, 1109, 1029, 958, 853, 783, 741, 654 (cm^{-1}); HRMS (ESI): $[\text{M}+\text{Na}]^+$ calcd for $\text{C}_{23}\text{H}_{38}\text{N}_4\text{O}_9\text{SNa}$: 593.2252, found: 593.2266.

Preparation of amine **8a**^{8,9}



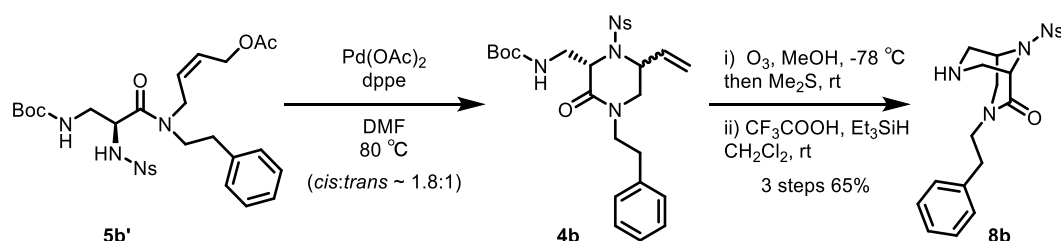
A round bottom flask was charged $\text{Pd}(\text{OAc})_2$ (15.7 mg, 0.07 mmol, 0.05 equiv.) and 1,2-bis(diphenylphosphino)ethane (55.8 mg, 0.14 mmol, 0.10 equiv.), and a solution of sulfonamide **5a'** (779 mg, 1.40 mmol, 1.0 equiv.) in DMF (7.0 mL) was added to the flask under an argon atmosphere. The reaction mixture was stirred for 6.5 h at 80 °C before being diluted with 1N aqueous HCl, and the aqueous layer was extracted with EtOAc for three times. The combined organic layers were washed with brine, dried over MgSO_4 , filtered, and concentrated under reduced pressure. The residue was purified by silica gel column chromatography

(hexan:EtOAc = 70:30 to 55:45) to afford **4a** as a mixture of *cis-trans* isomers (*cis:trans* ~ 1.7:1, 632 mg). The mixture was used in the next step without further purification.

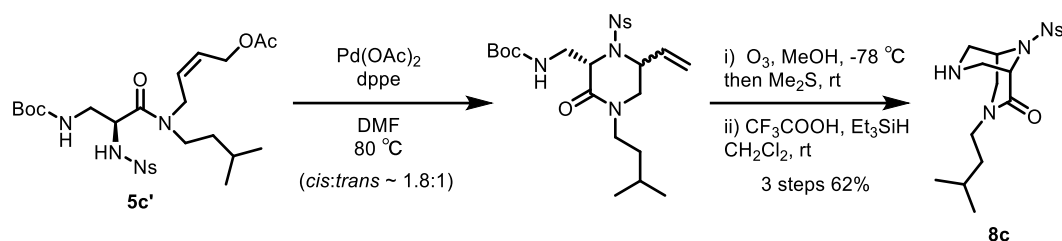
A solution of the **4a** (632 mg) in MeOH (13.0 mL) was bubbled with ozone at -78 °C until the color of reaction mixture turned blue. Then the nitrogen was bubbled into the solution until the blue color disappeared. The reaction mixture was added dimethyl sulfide (342 μL, 4.62 mmol) and stirred for 18 h at room temperature before being concentrated under reduced pressure to afford the crude aldehyde.

To a solution of the crude product in CH₂Cl₂ (6.60 mL) was added Et₃SiH (526 μL, 3.30 mmol) and CF₃COOH (1.52 mL, 19.8 mmol) at room temperature. After being stirred for 7 h at the same temperature, the reaction mixture was neutralized with saturated aqueous NaHCO₃ at 0 °C, and the aqueous layer was extracted with CH₂Cl₂ for three times. The combined organic layers were washed with brine, dried over MgSO₄, filtered, and concentrated under reduced pressure. The residue was purified by silica gel column chromatography (hexan:EtOAc = 90:10 to EtOAc:MeOH = 95:5) to afford amine **8a** (304 mg, 0.795 mmol, 3 steps 57%) as a yellow amorphous solid. $[\alpha]_D^{28.8} = -32.8^\circ$ (*c* = 0.75, CHCl₃); ¹H NMR (500 MHz, CDCl₃) δ 8.02-8.01 (m, 1H), 7.73-7.64 (m, 3H), 4.21-4.20 (m, 1H), 4.17-4.15 (m, 1H), 3.76-3.72 (m, 1H), 3.21-3.17 (m, 2H), 3.15-3.05 (m, 3H), 3.00 (dd, *J* = 1.5, 12.5 Hz, 1H), 2.95 (dd, *J* = 3.0, 12.2 Hz, 1H), 1.93-1.87 (m, 1H), 1.72 (brs, 1H), 0.82 (d, *J* = 6.7 Hz, 3H), 0.78 (d, *J* = 6.7 Hz, 3H); ¹³C NMR (125 MHz, CDCl₃) δ 167.0, 147.7, 134.2, 133.0, 132.3, 130.9, 124.6, 56.4, 53.8, 51.5, 50.3, 48.5, 48.1, 26.1, 20.1, 19.9; IR (neat): 3334, 3091, 2958, 2870, 1650, 1542, 1495, 1465, 1439, 1370, 1336, 1176, 1130, 1068, 1012, 852, 745 (cm⁻¹); HRMS (ESI): [M+H]⁺ calcd for C₁₆H₂₃N₄O₅S: 383.1384, found: 383.1389.

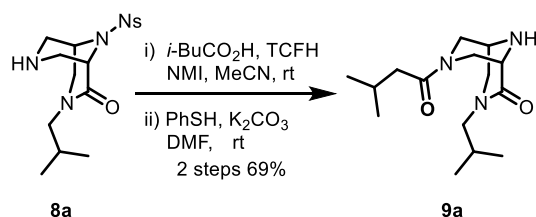
Preparation of amine **8b**



This compound was prepared from sulfonamide **5b'** (1.01 g, 1.65 mmol, 1.0 equiv.) following the procedure described for **8a**. Purification by silica gel column chromatography (EtOAc = 100% to EtOAc:MeOH = 85:15) yielded amine **8b** (464 mg, 1.08 mmol, 3 steps 65%) as an orange amorphous solid. $[\alpha]_D^{27.8} = -10.8^\circ$ (*c* = 0.996, CHCl₃); ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 8.03-8.01 (m, 1H), 7.73-7.64 (m, 3H), 7.28-7.25 (m, 2H), 7.21-7.18 (m, 3H), 4.15-4.14 (m, 1H), 4.11-4.09 (m, 1H), 3.80-3.73 (m, 1H), 3.66 (dd, *J* = 6.6, 12.1 Hz, 1H), 3.30-3.24 (m, 1H), 3.12 (dd, *J* = 1.5, 12.7 Hz, 1H), 3.10-3.06 (m, 1H), 3.03 (d, *J* = 12.3 Hz, 1H), 2.94 (dd, *J* = 3.2, 12.5 Hz, 1H), 2.86-2.72 (m, 3H), 1.45 (brs, 1H); ¹³C NMR (125 MHz, CDCl₃) δ 166.6, 147.8, 138.6, 134.2, 132.9, 132.3, 130.9, 128.8, 128.7, 126.8, 124.6, 56.4, 51.1, 50.4, 48.3, 48.1, 47.8, 33.1; IR (neat): 3328, 3088, 3069, 3060, 3024, 2923, 1650, 1542, 1495, 1453, 1439, 1369, 1343, 1176, 1131, 1067, 851, 745, 701 (cm⁻¹); HRMS (ESI): [M+H]⁺ calcd for C₂₀H₂₃N₄O₅S: 431.1384, found: 431.1396.

Preparation of amine **8c**

This compound was prepared from sulfonamide **5c'** (941 mg, 1.65 mmol, 1.0 equiv.) following the procedure described for **8a**. Purification by silica gel column chromatography (hexane:EtOAc = 10:90 to EtOAc:MeOH = 85:15) yielded amine **8c** (409 mg, 1.03 mmol, 3 steps 62%) as a yellow amorphous solid. $[\alpha]_D^{27.8} = -39.3^\circ$ ($c = 0.973$, CHCl₃); ¹H NMR (500 MHz, CDCl₃) δ 7.98 (d, $J = 6.1$ Hz, 1H), 7.71-7.61 (m, 3H), 4.19-4.18 (m, 1H), 4.15 (d, $J = 2.1$ Hz, 1H), 3.73 (dd, $J = 6.9, 12.4$ Hz, 1H), 3.32-3.26 (m, 1H), 3.14-3.10 (m, 4H), 2.99 (d, $J = 12.9$ Hz, 1H), 2.96 (dd, $J = 2.9, 12.4$ Hz, 1H), 1.71 (brs, 1H), 1.44-1.39 (m, 1H), 1.20-1.16 (m, 2H), 0.81 (s, 3H), 0.80 (s, 3H); ¹³C NMR (125 MHz, CDCl₃) δ 166.4, 147.7, 134.1, 132.8, 132.3, 130.8, 124.4, 56.3, 51.5, 49.4, 48.3, 48, 45, 35.1, 25.9, 22.5, 22.4; IR (neat): 3327, 3092, 3072, 3018, 2955, 2927, 2869, 1651, 1542, 1497, 1466, 1438, 1370, 1345, 1176, 1130, 1068, 1011, 969, 928, 852, 780, 745, 649 (cm⁻¹); HRMS (ESI): $[M+H]^+$ calcd for C₁₇H₂₅N₄O₅: 397.1540, found: 397.1547.

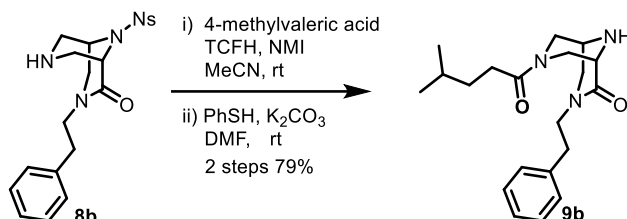
Preparation of amine **9a**¹⁰

To a solution of amine **8a** (146 mg, 0.382 mmol, 1.0 equiv.), isovaleric acid (63.3 μ L, 0.573 mmol, 1.5 equiv.), and *N*-methylimidazole (90.8 μ L, 1.15 mmol, 3.0 equiv.) in MeCN (1.9 mL) was added TCFH (214 mg, 0.764 mmol, 2.0 equiv.). After being stirred for 1.5 h at room temperature under an argon atmosphere, the reaction mixture was diluted with saturated aqueous NaHCO₃, and the aqueous layer was extracted with EtOAc for three times. The combined organic layers were dried over MgSO₄, filtered, and concentrated under reduced pressure. The residue was purified by silica gel column chromatography (hexane:EtOAc = 70:30 to 60:40) to afford crude product.

To a solution of the above crude product and K₂CO₃ (159 mg, 1.15 mmol) in DMF (1.90 mL) was added benzenethiol (77.9 μ L, 0.764 mmol) at room temperature under an argon atmosphere. After being stirred for 40 min at the same temperature, the reaction mixture was diluted with saturated aqueous NH₄Cl, and the aqueous layer was extracted with CH₂Cl₂ for three times. The combined organic layers were dried over MgSO₄, filtered, and concentrated under reduced pressure. The residue was purified by silica gel column chromatography (EtOAc 100% to EtOAc:MeOH = 70:30) to afford amine **9a** (73.6 mg, 0.262 mmol, 2 steps 69%) as a colorless oil. $[\alpha]_D^{29.9} = -52.9^\circ$ ($c = 0.705$, CHCl₃); ¹H NMR (500 MHz, CDCl₃) δ 4.63 (d, $J = 13.4$ Hz, 1H), 4.03 (d, $J =$

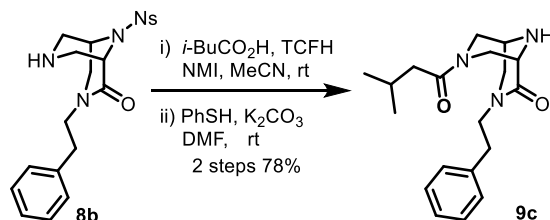
12.8 Hz, 1H), 3.56-3.52 (m, 2H), 3.35-3.34 (m, 1H), 3.29 (dd, $J = 2.9, 12.8$ Hz, 1H), 3.22-3.18 (m, 2H), 3.07 (dd, $J = 7.7, 13.3$ Hz, 1H), 2.92 (dd, $J = 2.6, 13.3$ Hz, 1H), 2.14-1.89 (m, 6H), 0.89 (d, $J = 6.5$ Hz, 3H), 0.86 (d, $J = 6.7$ Hz, 3H), 0.83 (d, $J = 6.7$ Hz, 3H); ^{13}C NMR (125 MHz, CDCl_3) δ 172.3, 169.2, 54.7, 54.0, 51.6, 48.7, 46.8, 46.1, 41.7, 26.2, 25.4, 22.8, 22.7, 20.1; IR (neat): 3471, 3285, 2956, 2930, 2870, 1636, 1495, 1464, 1433, 1366, 1288, 1218, 1138, 1076, 817 (cm^{-1}); HRMS (ESI): $[\text{M}+\text{H}]^+$ calcd for $\text{C}_{15}\text{H}_{28}\text{N}_3\text{O}_2$: 282.2176, found: 282.2179.

Preparation of amine 9b



This compound was prepared from amine **8b** (203 mg, 0.472 mmol, 1.0 equiv.) following the procedure described for **8a**, using 4-methylvaleric acid (89.5 μL , 0.708 mmol, 1.5 equiv.) instead of isovaleric acid. Purification by silica gel column chromatography (EtOAc 100% to EtOAc:MeOH = 75:25) yielded amine **9b** (128 mg, 0.373 mmol, 2 steps 79%) as a pale yellow oil. $[\alpha]_D^{27.9} = -59.5^\circ$ ($c = 0.810$, CHCl_3); ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 7.30-7.26 (m, 2H), 7.21-7.18 (m, 3H), 4.65 (d, $J = 13.3$ Hz, 1H), 4.05 (d, $J = 12.9$ Hz, 1H), 3.67-3.60 (m, 1H), 3.56 (brs, 1H), 3.45 (dd, $J = 6.3, 12.0$ Hz, 1H), 3.39-3.31 (m, 2H), 3.29-3.27 (m, 1H), 3.24 (d, $J = 12.4$ Hz, 1H), 2.93-2.89 (m, 1H), 2.87-2.83 (m, 1H), 2.77-2.71 (m, 1H), 2.26-2.22 (m, 2H), 2.01 (brs, 1H), 1.59-1.49 (m, 1H), 1.47-1.42 (m, 2H), 0.88 (s, 3H), 0.86 (s, 3H); ^{13}C NMR (125 MHz, CDCl_3) δ 173.1, 169, 138.8, 128.8, 128.7, 126.6, 54.8, 51.6, 48.7, 48.7, 46.9, 46.2, 34.0, 33.1, 30.9, 27.9, 22.5, 22.4; IR (neat): 3472, 3285, 3086, 3059, 3026, 2953, 2972, 2867, 1637, 1495, 1429, 1365, 1298, 1218, 1084, 750, 700 (cm^{-1}); HRMS (ESI): $[\text{M}+\text{H}]^+$ calcd for $\text{C}_{20}\text{H}_{30}\text{N}_3\text{O}_2$: 344.2333, found: 344.2332.

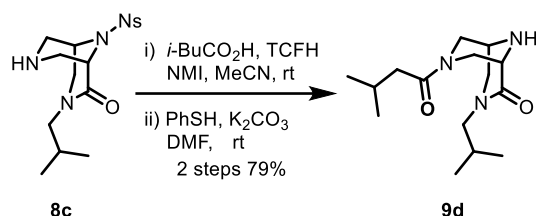
Preparation of amine 9c



This compound was prepared from amine **8b** (216 mg, 0.502 mg, 1.0 equiv.) following the procedure described for **8a**. Purification by silica gel column chromatography (EtOAc 100% to EtOAc:MeOH = 75:25) yielded amine **9c** (129 mg, 0.392 mmol, 2 steps 78%) as a pale yellow oil. $[\alpha]_D^{28.7} = -55.4^\circ$ ($c = 1.01$, CHCl_3); ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 7.30-7.26 (m, 2H), 7.21-7.18 (m, 3H), 4.65 (d, $J = 13.3$ Hz, 1H), 4.05 (d, $J = 12.9$ Hz, 1H), 3.58-3.50 (m, 2H), 3.47-3.40 (m, 2H), 3.33-3.27 (m, 2H), 3.23 (d, $J = 12.1$ Hz, 1H), 2.93-2.82 (m, 2H), 2.77-2.70 (m, 1H), 2.37-2.11 (m, 2H), 2.08-2.00 (m, 2H), 0.91 (d, $J = 2.8$ Hz, 3H), 0.90 (d, $J = 2.7$ Hz,

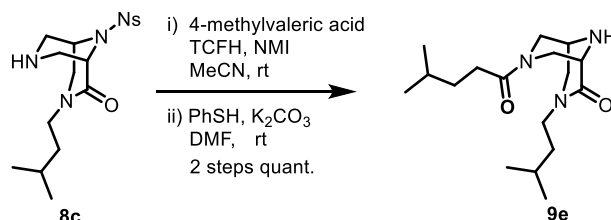
3H); ^{13}C NMR (125 MHz, CDCl_3) δ 172.2, 168.9, 138.7, 128.8, 128.7, 126.6, 54.7, 51.6, 48.7, 46.9, 46.1, 41.7, 33.1, 25.5, 22.8, 22.7; IR (neat): 3472, 3284, 3087, 3059, 3026, 2955, 2929, 2867, 1636, 1496, 1454, 1431, 1365, 1345, 1298, 1216, 1081, 751, 700; HRMS (ESI): $[\text{M}+\text{H}]^+$ calcd for $\text{C}_{19}\text{H}_{28}\text{N}_3\text{O}_2$: 330.2176, found: 330.2181.

Preparation of amine 9d

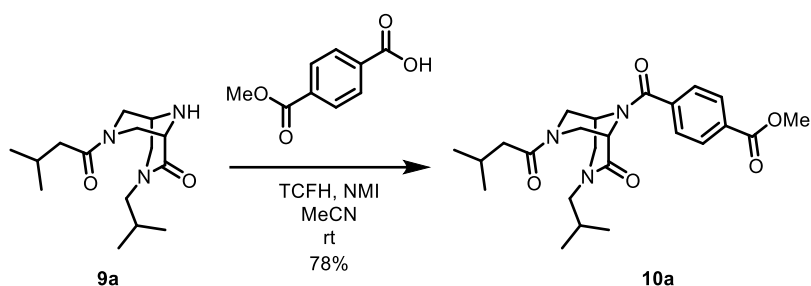


This compound was prepared from amine **8c** (168 mg, 0.424 mmol, 1.0 equiv.) following the procedure described for **8a**. Purification by silica gel column chromatography (EtOAc 100% to CH_2Cl_2 :MeOH = 80:20) yielded **9d** (99.7 mg, 0.337 mmol, 2 steps 79%) as a colorless oil. $[\alpha]_D^{26.1} = -55.2^\circ$ ($c = 0.98$, CHCl_3); ^1H NMR (500 MHz, CDCl_3) δ 4.65 (d, $J = 13.3$ Hz, 1H), 4.00 (d, $J = 12.9$ Hz, 1H), 3.55-3.51 (m, 2H), 3.48-3.42 (m, 1H), 3.32-3.31 (m, 1H), 3.28 (dd, $J = 2.9, 13.0$ Hz, 1H), 3.21 (d, $J = 12.4$ Hz, 1H), 3.10-3.04 (m, 1H), 2.89 (dd, $J = 2.3, 13.3$ Hz, 1H), 2.13 (brs, 1H), 2.10-2.07 (m, 2H), 2.05-1.97 (m, 1H), 1.54-1.46 (m, 1H), 1.40-1.26 (m, 2H), 0.90-0.86 (m, 12H); ^{13}C NMR (125 MHz, CDCl_3) δ 172.0, 168.6, 54.7, 50.8, 48.7, 46.9, 46.2, 45.2, 41.6, 35.3, 26.1, 25.4, 22.9, 22.7, 22.6, 22.5; IR (neat): 3472, 3290, 2954, 2929, 2868, 1739, 1635, 1545, 1498, 1433, 1366, 1215, 1132, 1063, 852, 779 (cm^{-1}); HRMS (ESI): $[\text{M}+\text{H}]^+$ calcd for $\text{C}_{16}\text{H}_{30}\text{N}_3\text{O}_2$: 296.2333, found: 296.2339.

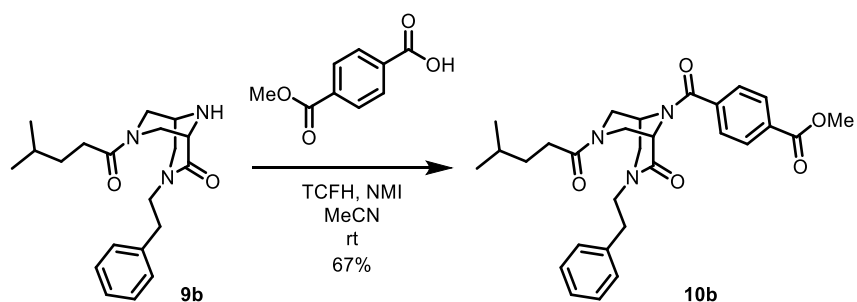
Preparation of amine 9e



This compound was prepared from amine **8c** (168 mg, 0.424 mmol, 1.0 equiv.) following the procedure described for **8a**, using 4-methylvaleric acid (80.4 μL , 0.636 mmol, 1.5 equiv.) instead of isovaleric acid. Purification by silica gel column chromatography (EtOAc 100% to CH_2Cl_2 :MeOH = 80:20) yielded **9e** (128 mg, 0.414 mmol, 2 steps quant.) as a colorless oil. $[\alpha]_D^{27.0} = -47.9^\circ$ ($c = 0.955$, CHCl_3); ^1H NMR (500 MHz, CDCl_3) δ 4.65 (d, $J = 13.3$ Hz, 1H), 4.00 (d, $J = 13.0$ Hz, 1H), 3.58-3.50 (m, 3H), 3.32-3.28 (m, 2H), 3.22 (d, $J = 12.4$ Hz, 1H), 3.01-2.95 (m, 1H), 2.89 (dd, $J = 2.2, 13.3$ Hz, 1H), 2.21-2.18 (m, 2H), 2.11 (brs, 1H), 0.88-0.85 (m, 12H); ^{13}C NMR (125 MHz, CDCl_3) δ 172.8, 168.6, 54.7, 50.8, 48.6, 47, 46.2, 45.2, 35.3, 33.9, 30.8, 27.9, 26.1, 22.6, 22.5, 22.5, 22.4; IR (neat): 3479, 3285, 2955, 2930, 2868, 1637, 1496, 1454, 1432, 1366, 1216, 1134, 1078, 916, 858, 781 (cm^{-1}) HRMS (ESI): $[\text{M}+\text{H}]^+$ calcd for $\text{C}_{17}\text{H}_{32}\text{N}_3\text{O}_2$: 310.2489, found: 310.2491.

Preparation of methyl ester **10a**¹⁰

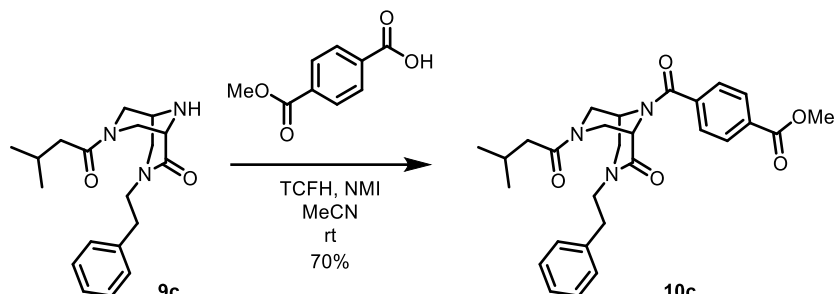
To a solution of amine **9a** (106 mg, 0.377 mmol, 1.0 equiv.), monomethyl terephthalate (102 mg, 0.566 mmol, 1.5 equiv.), and *N*-methylimidazole (89.2 μL , 1.13 mmol, 3.0 equiv.) in MeCN (1.9 mL) was added TCFH (212 mg, 0.754 mmol, 2.0 equiv.). After being stirred for 30 min at room temperature under an argon atmosphere, the reaction mixture was diluted with saturated aqueous NaHCO_3 , and the aqueous layer was extracted with EtOAc for three times. The combined organic layers were dried over MgSO_4 , filtered, and concentrated under reduced pressure. The residue was purified by pTLC (hexane:EtOAc = 10:90) to afford methyl ester **10a** (130 mg, 0.293 mmol, 78%) as a white amorphous solid. $[\alpha]_D^{30.0} = -31.3^\circ$ ($c = 1.00$, CHCl_3); $^1\text{H NMR}$ (500 MHz, CDCl_3 , mixture of rotamers) δ 8.10 (d, $J = 7.7$ Hz, 2H), 7.47 (brs, 2H), 5.11 (d, $J = 98.4$ Hz, 1H), 4.85-4.68 (m, 1H), 4.31-4.02 (m, 2H), 3.93 (s, 3H), 3.80-2.84 (m, 6H), 2.10-1.93 (m, 4H), 0.90 (d, $J = 5.72$ Hz, 6H), 0.86-0.84 (m, 6H); $^{13}\text{C NMR}$ (125 MHz, CDCl_3 , mixture of rotamers) δ 172.3, 168.8, 166.1, 165.9, 165.4, 137.7, 132.5, 130.4, 127.4, 57.7, 54, 52.6, 52.3, 50.9, 49.5, 48.2, 47.7, 46.2, 45.7, 44.1, 43.7, 42.1, 41.7, 26, 25.4, 22.7, 20.1, 19.9; IR (neat): 2957, 2929, 2870, 1725, 1650, 1493, 1425, 1330, 1280, 1107, 1074, 866, 724 (cm^{-1}); HRMS (ESI): $[\text{M}+\text{Na}]^+$ calcd for $\text{C}_{24}\text{H}_{33}\text{N}_3\text{O}_5\text{Na}$: 466.2312, found: 466.2317.

Preparation of methyl ester **10b**

This compound was prepared from **9b** (98.7 mg, 0.287 mmol, 1.0 equiv.) following the procedure described for **10a**. Purification by pTLC (hexane:EtOAc = 30:70) yielded methyl ester **10b** (99.8 mg, 0.197 mmol, 67%) as a white amorphous solid. $[\alpha]_D^{28.9} = -78.6^\circ$ ($c = 0.500$, CHCl_3); $^1\text{H NMR}$ (500 MHz, CDCl_3 , mixture of rotamers) δ $^1\text{H NMR}$ (500 MHz, CDCl_3) δ 8.08 (d, $J = 8.2$ Hz, 2H), 7.39 (d, $J = 8.4$ Hz, 2H), 7.29 (t, $J = 7.4$ Hz, 2H), 7.23 (t, $J = 7.3$ Hz, 1H), 7.18 (d, $J = 7.0$ Hz, 2H), 5.22-4.96 (m, 1H), 4.85-4.63 (m, 1H), 4.28-3.86 (m, 5H), 3.71-2.72 (m, 1H), 2.22 (m, 2H), 1.53-1.43 (m, 3H), 0.87 (brs, 6H); $^{13}\text{C NMR}$ (125 MHz, CDCl_3 , mixture of rotamers) δ 173.1, 168.5, 166.1, 165.6, 165, 138.5, 138.1, 137.6, 132.4, 130.3, 128.8, 127.4, 127.1, 126.7, 57.7, 52.6, 52.3, 51.3, 49.5, 48.9, 48.3, 47.7, 46.4, 45.7, 43.7, 33.9, 32.9, 30.8, 27.8, 22.4, 22.4; IR (neat): 3086, 3062,

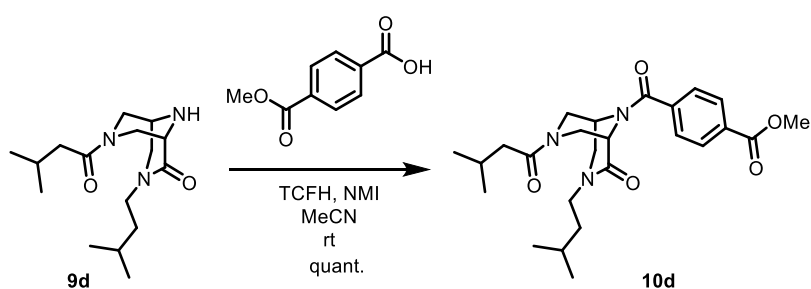
3025, 2953, 2931, 2866, 1724, 1649, 1494, 1423, 1330, 1279, 1107, 997, 866, 824, 783, 740, 723, 700 (cm⁻¹); HRMS (ESI): [M+Na]⁺ calcd for C₂₉H₃₅N₃O₅Na: 528.2469, found: 528.2478.

Preparation of methyl ester 10c



This compound was prepared from **9c** (89.2 mg, 0.271 mmol, 1.0 equiv.) following the procedure described for **10a**. Purification by pTLC (hexane:EtOAc = 30:70) yielded methyl ester **10c** (93.0 mg, 0.189 mmol, 70%) as a white amorphous solid. $[\alpha]_D^{30.0} = -70.0^\circ$ ($c = 1.03$, CHCl₃); ¹H NMR (500 MHz, CDCl₃) δ 8.10 (d, $J = 8.2$ Hz, 2H), 7.40 (d, $J = 8.3$ Hz, 2H), 7.24-7.23 (m, 1H), 7.31 (t, $J = 7.4$ Hz, 1H), 7.19 (d, $J = 7.2$ Hz, 2H), 5.23-4.98 (m, 1H), 4.88-4.65 (m, 1H), 4.27-3.86 (m, 5H), 3.72-2.88 (m, 7H), 2.79-2.73 (m, 1H), 2.17-2.03 (m, 3H), 0.92 (brs, 6H); ¹³C NMR (125 MHz, CDCl₃, mixture of rotamers) δ 172.2, 168.5, 166.1, 165.6, 165, 138.6, 138.1, 137.6, 132.4, 130.3, 128.8, 127.5, 127.1, 126.8, 57.6, 52.6, 52.3, 51.4, 49.6, 48.9, 48.4, 47.8, 46.3, 45.7, 43.7, 41.6, 32.9, 25.4, 22.8, 22.7; IR (neat): 3085, 3061, 3024, 2953, 2930, 2868, 1724, 1648, 1493, 1423, 1330, 1279, 1109, 867, 724, 701 (cm⁻¹); HRMS (ESI): [M+Na]⁺ calcd for C₂₈H₃₃N₃O₅Na: 514.2312, found: 514.2320.

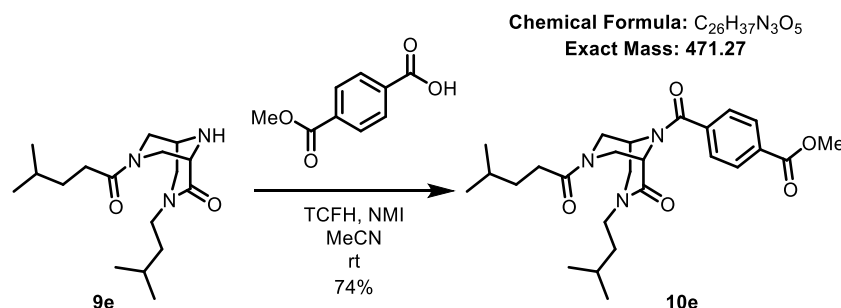
Preparation of methyl ester 10d



This compound was prepared from **9d** (79.8 mg, 0.270 mmol, 1.0 equiv.) following the procedure described for **10a**. Purification by pTLC (EtOAc = 100%) to afford methyl ester **10d** (118 mg, 0.258 mmol, quant.) as a white amorphous solid. $[\alpha]_D^{24.3} = -49.0^\circ$ ($c = 1.02$, CHCl₃); ¹H NMR (500 MHz, CDCl₃, mixture of rotamers) δ 8,10 (d, $J = 7.8$ Hz, 2H), 7.47 (brs, 2H), 5.18-5.01 (m, 1H), 4.87-4.71 (m, 1H), 4.27-4.00 (m, 2H), 3.93 (s, 3H), 3.78-3.20 (m, 4H), 3.13-3.08 (m, 1H), 2.97-2.81 (m, 1H), 2.08-2.01 (m, 3H), 1.56-1.48 (m, 1H), 1.41-1.28 (m, 2H), 0.92-0.88 (m, 12H); ¹³C NMR (125 MHz, CDCl₃, mixture of rotamers) δ 172.1, 168.6, 166.1, 165.2, 164.8, 138.0, 137.7, 132.4, 130.3, 127.5, 127.1, 57.7, 52.6, 52.3, 50.1, 49.8, 48.9, 48.4, 47.8, 46.3, 45.7, 45.4, 43.8, 41.6, 35.2, 26.2, 25.3, 22.8, 22.7, 22.5, 22.5; IR (neat): 2955, 2930, 2868, 1725, 1650, 1495, 1427, 1330,

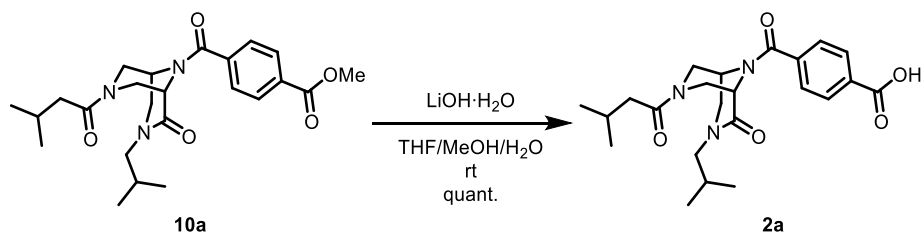
1279, 1107, 1042, 983, 867, 824, 724 (cm^{-1}); HRMS (ESI): $[\text{M}+\text{Na}]^+$ calcd for $\text{C}_{25}\text{H}_{35}\text{N}_3\text{O}_5\text{Na}$: 480.2469, found: 480.2480

Preparation of methyl ester **10e**



This compound was prepared from **9e** (88.3 mg, 0.285 mmol, 1.0 equiv.) following the procedure described for **10a**. Purification by GPC yielded methyl ester **10e** (98.8 mg, 0.210 mmol, 74) as a colorless oil. $[\alpha]_D^{24.8} = -40.0^\circ$ ($c = 0.49$, CHCl_3); ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3 , mixture of rotamers) δ 8,10 (d, $J = 8.0$ Hz, 2H), 7.48-7.47 (m, 2H), 5.19-5.00 (m, 1H), 4.85-4.73 (m, 1H), 4.29-3.99 (m, 2H), 3.94 (s, 3H), 3.76-3.30 (m, 4H), 3.08-2.83 (m, 2H), 2.22 (br2, 2H), 1.55-1.27 (m, 6H), 0.91-0.86 (m, 12H); ^{13}C NMR (125 MHz, CDCl_3 , mixture of rotamers) δ 173, 168.6, 166.1, 165.2, 164.8, 138.0, 137.7, 132.4, 130.3, 127.5, 127.1, 57.7, 52.6, 52.3, 50.1, 49.9, 48.9, 48.3, 47.7, 46.4, 45.8, 45.4, 43.8, 35.2, 33.8, 30.8, 27.8, 26.1, 22.6, 22.5, 22.4; IR (neat): 2955, 2932, 2869, 1725, 1649, 1495, 1425, 1330, 1279, 1107, 866, 823, 723 (cm^{-1}); HRMS (ESI): $[\text{M}+\text{Na}]^+$ calcd for $\text{C}_{26}\text{H}_{37}\text{N}_3\text{O}_5$: 494.2625, found: 494.2630.

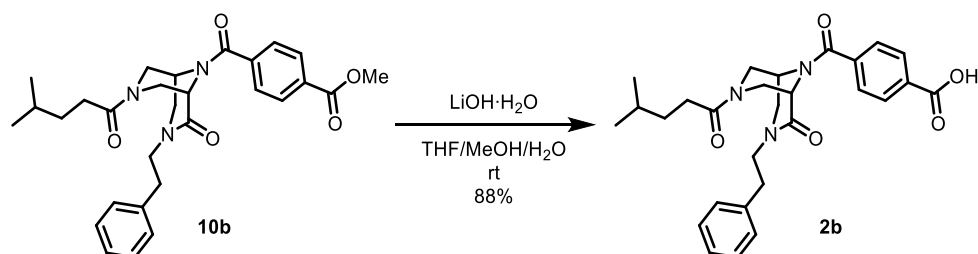
Preparation of carboxylic acid **2a**



To a solution of methyl ester **10a** (40.0 mg, 0.0901 mmol, 1.0 equiv.) in THF (180 μL), MeOH (180 μL), and H_2O (180 μL) was added lithium hydroxide monohydrate (11.3 mg, 0.270) at room temperature. After being stirred for 1 h at the same temperature under an argon atmosphere, the reaction mixture was diluted with saturated aqueous NaHCO_3 . The aqueous layer was washed with Et_2O for two times, acidified with 1N HCl, and extracted with EtOAc for three times. The combined organic layers were dried over MgSO_4 , filtered, and concentrated under reduced pressure. The residue was purified by silica gel column chromatography (hexane: $\text{EtOAc} = 10:90$ to $\text{EtOAc}:\text{MeOH} = 90:10$) to afford carboxylic acid **2a** (39.9 mg, 0.0929 mmol, quant.) as a colorless oil. $[\alpha]_D^{29.9} = -41.1^\circ$ ($c = 0.285$, CHCl_3); ^1H NMR (500 MHz, CDCl_3 , mixture of rotamers) δ 8.13-7.95 (m, 2H), 7.51-7.40 (m, 2H), 5.25-5.05 (m, 1H), 4.90 (d, $J = 13.6$ Hz, 1H), 4.74 (s, 1H), 4.26 (d, $J = 13.4$ Hz, 1H), 4.06-3.84 (m, 1H), 3.64-3.01 (m, 5H), 2.19-1.98 (m, 4H), 0.92 (d, $J = 6.3$ Hz, 6H), 0.88 (d, $J = 6.6$ Hz, 6H); ^{13}C NMR (125 MHz, CDCl_3 , mixture of rotamers) δ 172.6, 169.3, 168.0, 167.4, 137.4, 132.4, 130.5, 127.2,

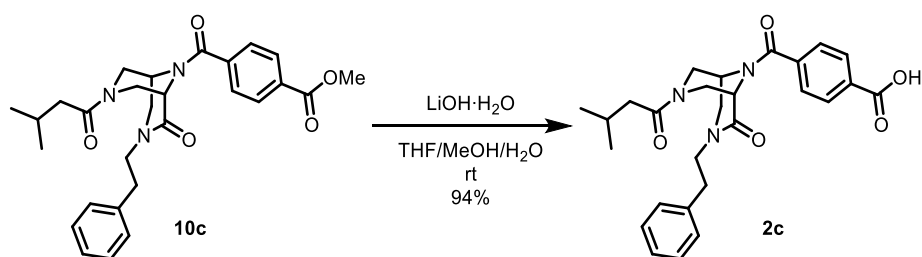
56.7, 54.4, 49.6, 48.3, 45.9, 43.6, 41.7, 26.1, 25.5, 22.7, 20.1, 19.9; IR (neat): 2958, 2930, 2870, 2618, 2492, 1714, 1644, 1503, 1463, 1426, 1331, 1243, 1173, 1075, 1038, 866, 785, 738 (cm⁻¹); HRMS (ESI): [M-H]⁻ calcd for C₂₃H₃₀N₃O₂: 428.2191, found: 428.2196.

Preparation of carboxylic acid **2b**



This compound was prepared from **10b** (47.5 mg, 0.0939 mmol, 1.0 equiv.) following the procedure described for **2a**. Purification by silica gel column chromatography (hexane:EtOAc = 50:50 to EtOAc:MeOH = 90:10) yielded carboxylic acid **2b** (40.7 mg, 0.0828 mmol, 88%) as a colorless oil. $[\alpha]_D^{28.9} = -67.5^\circ$ (c = 0.810, CHCl₃); ¹H NMR (500 MHz, CDCl₃, mixture of rotamers) δ 8.1-7.95 (m, 2H), 7.36-7.31 (m, 4H), 7.27-7.24 (m, 1H), 7.21 (d, *J* = 7.2 Hz, 2H), 5.27-5.00 (m, 1H), 4.91 (d, *J* = 13.6 Hz, 1H), 4.68 (s, 1H), 4.28 (d, *J* = 13.4 Hz, 1H), 3.90-3.75 (m, 1H), 3.65-3.57 (m, 2H), 3.40 (dd, *J* = 12.7, 38.1 Hz, 2H), 2.30-2.27 (m, 2H), 1.58-1.51 (m, 1H), 1.49-1.46 (m, 2H), 0.88 (s, 3H), 0.87 (s, 2H); ¹³C NMR (125 MHz, CDCl₃, mixture of rotamers) δ 173.5, 168.9, 167.5, 167.5, 137.7, 137.4, 132.3, 130.4, 128.9, 128.8, 127.3, 127.0, 56.7, 49.7, 48.7, 48.5, 46.0, 43.5, 34.0, 30.9, 27.8, 22.4, 22.4; IR (neat): 3449, 3085, 3061, 3024, 2954, 2927, 2866, 2619, 2484, 1715, 1649, 1496, 1453, 1423, 1330, 1238, 1083, 866, 783, 740, 700 (cm⁻¹); HRMS (ESI): [M-H]⁻ calcd for C₂₈H₃₂N₃O₅: 490.2347, found: 490.2358.

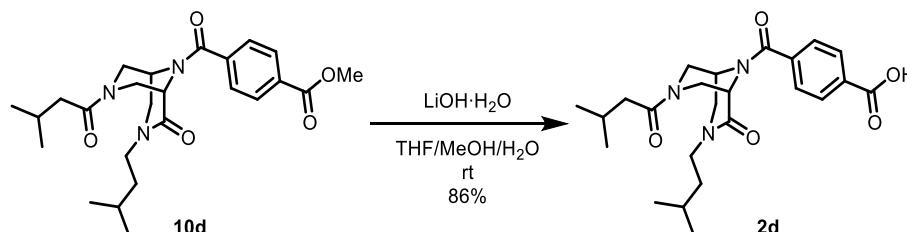
Preparation of carboxylic acid **2c**



This compound was prepared from **10c** (40.6 mg, 0.0826 mmol, 1.0 equiv.) following the procedure described for **2a**. Purification by silica gel column chromatography (hexane:EtOAc = 50:50 to EtOAc:MeOH = 90:10) yielded carboxylic acid **2c** (40.7 mg, 0.0828 mmol, 94%) as a colorless oil. $[\alpha]_D^{28.9} = -94.0^\circ$ (c = 0.420, CHCl₃); ¹H NMR (500 MHz, CDCl₃, mixture of rotamers) δ 8.11-7.95 (m, 2H), 7.35-7.31 (m, 4H), 7.27-7.24 (m, 1H), 7.21 (d, *J* = 7.31 Hz, 2H), 5.26-5.00 (m, 1H), 4.92 (d, *J* = 13.8 Hz, 1H), 4.66 (s, 1H), 4.28 (d, *J* = 13.5 Hz, 1H), 3.90-3.73 (m, 1H), 3.71-3.65 (m, 1H), 3.57-3.56 (m, 1H), 3.38 (dd, *J* = 12.7, 30.3 Hz, 2H), 3.14-2.78 (m, 3H), 2.21-2.04 (m, 3H), 0.94-0.92 (m, 6H); ¹³C NMR (125 MHz, CDCl₃, mixture of rotamers) δ 172.6, 168.9, 167.5, 167.5, 137.7, 137.4, 132.3, 130.4, 128.9, 128.8, 127.3, 127.0, 56.7, 49.7, 48.7, 48.5, 45.9, 43.5, 41.6, 32.9, 25.5,

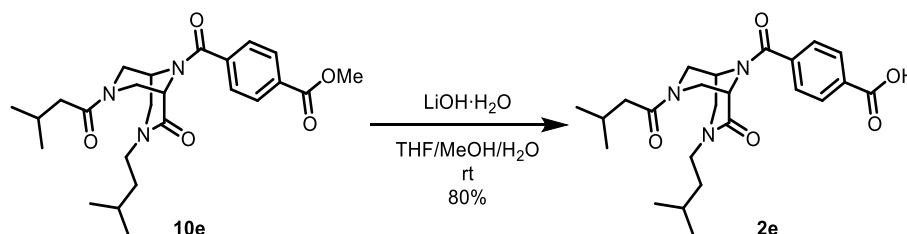
22.8, 22.7; IR (neat): 3449, 3058, 3025, 2956, 2928, 2870, 2621, 2501, 1715, 1648, 1499, 1424, 1330, 1234, 1173, 1078, 997, 867, 784, 741, 701 (cm^{-1}); HRMS (ESI): $[\text{M}-\text{H}]^-$ calcd for $\text{C}_{27}\text{H}_{30}\text{N}_3\text{O}_5$: 476.2191, found: 476.2188.

Preparation of carboxylic acid **2d**



This compound was prepared from **10d** (38.4 mg, 0.0839 mmol, 1.0 equiv.) following the procedure described for **2a**. Purification by silica gel column chromatography (hexane:EtOAc = 30:70 to EtOAc:MeOH = 90:10) yielded carboxylic acid **2d** (32.0 mg, 0.0721 mmol, 86%) as a colorless oil. $[\alpha]_D^{25.6} = -56.6^\circ$ ($c = 0.38$, CHCl_3); $^1\text{H NMR}$ (500 MHz, CDCl_3 , mixture of rotamers) δ 8.13-7.95 (m, 2H), 7.51-7.40 (m, 2H), 5.22-5.04 (m, 1H), 4.92 (d, $J = 13.6$ Hz, 1H), 4.69 (m, 1H), 4.25 (d, $J = 13.4$ Hz, 1H), 4.05-3.80 (m, 1H), 3.61-3.56 (m, 1H), 3.39 (dd, $J = 12.5, 25.0$ Hz, 2H), 3.15-3.09 (m, 1H), 3.00 (d, $J = 13.2$ Hz, 1H), 2.19-2.03 (m, 3H), 1.57-1.48 (m, 1H), 1.44-1.37 (m, 2H), 0.93-0.90 (m, 12H); $^{13}\text{C NMR}$ (125 MHz, CDCl_3 , mixture of rotamers) δ 172.4, 169.1, 167.4, 167.3, 137.4, 132.4, 130.4, 127.2, 56.6, 49.1, 48.4, 45.9, 43.6, 41.6, 35.1, 26.2, 25.4, 22.9, 22.7, 22.5, 22.4; IR (neat): 3443, 2956, 2931, 2870, 2607, 2487, 1716, 1647, 1506, 1426, 1330, 1240, 1075, 868, 768, 737 (cm^{-1}); HRMS (ESI): $[\text{M}-\text{H}]^-$ calcd for $\text{C}_{24}\text{H}_{32}\text{N}_3\text{O}_5$: 442.2347, found: 442.2345.

Preparation of carboxylic acid **2e**

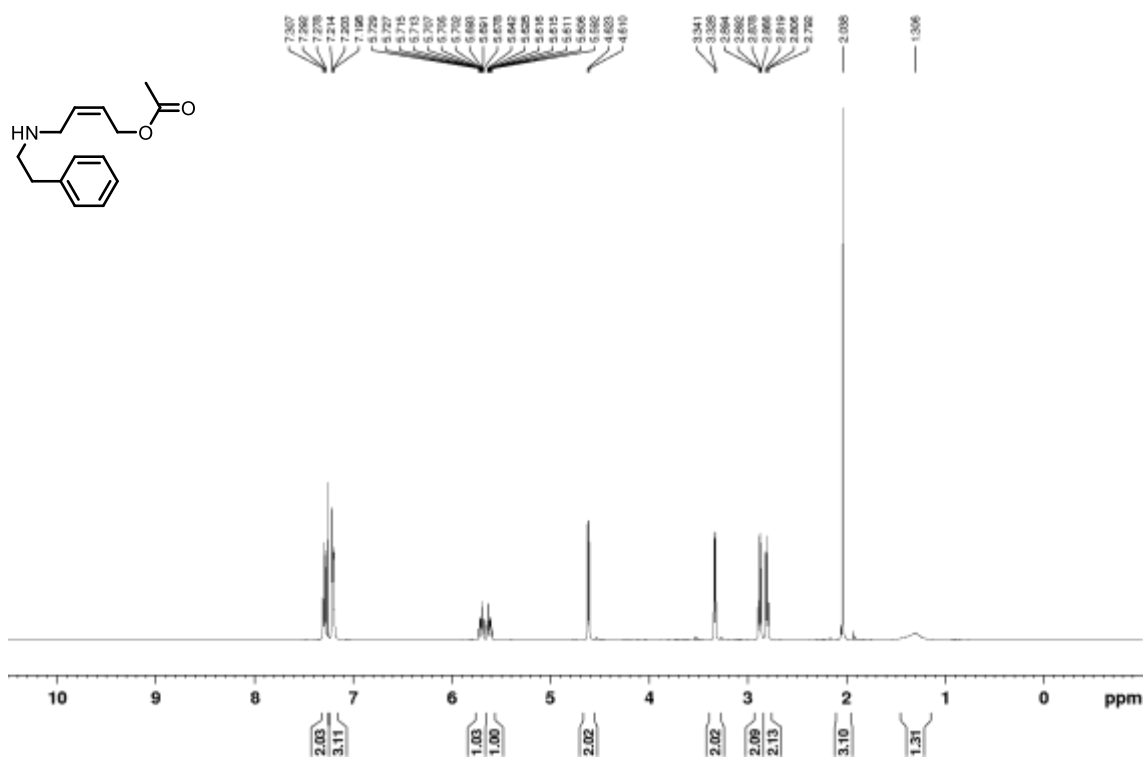
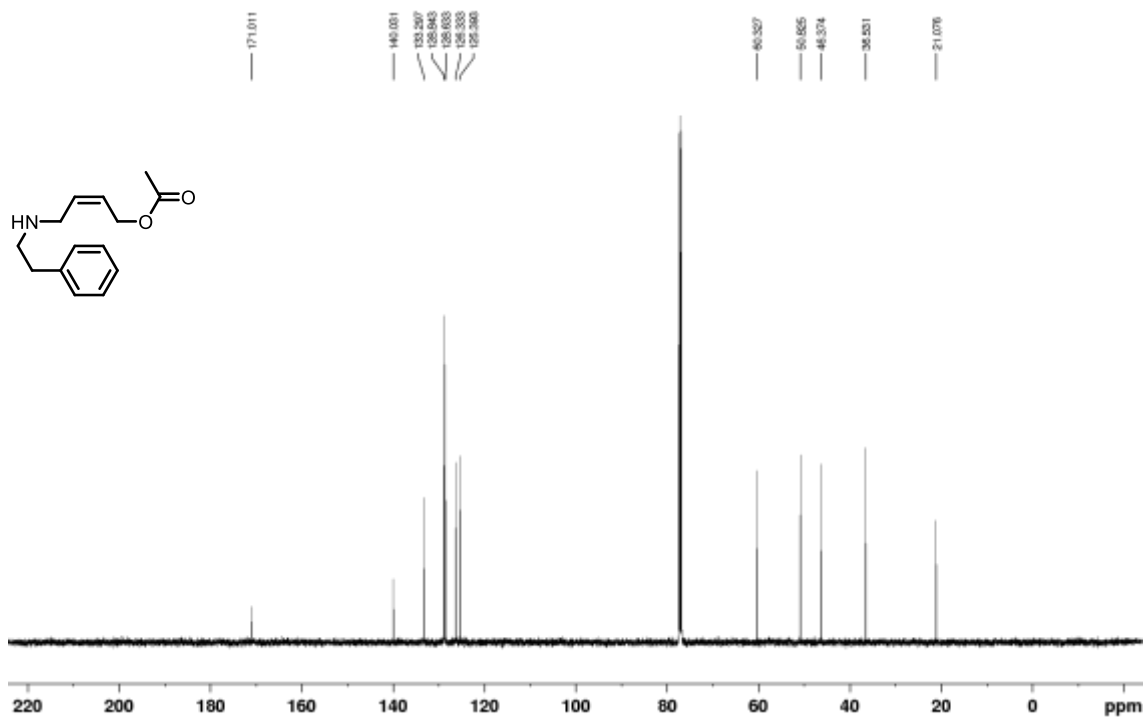


This compound was prepared from **10e** (38.4 mg, 0.0839 mmol, 1.0 equiv.) following the procedure described for **2a**. Purification by silica gel column chromatography (hexane:EtOAc = 30:70 to EtOAc:MeOH = 90:10) to afford carboxylic acid **2e** (28.5 mg, 0.0623 mmol, 80%) as a colorless oil. $[\alpha]_D^{26.0} = -60.0^\circ$ ($c = 0.245$, CHCl_3); $^1\text{H NMR}$ (500 MHz, CDCl_3 , mixture of rotamers) δ 8.13-7.94 (m, 2H), 7.51-7.40 (m, 2H), 5.23-5.03 (m, 1H), 4.92 (d, $J = 13.6$ Hz, 1H), 4.70 (s, 1H), 4.26 (d, $J = 13.4$ Hz, 1H), 3.82-3.79 (m, 1H), 3.69-3.63 (m, 1H), 3.40 (dd, $J = 12.5, 31.1$ Hz, 2H), 3.07-2.99 (m, 2H), 2.27-2.25 (m, 2H), 1.56-1.37 (m, 7H), 0.91 (d, $J = 6.6$ Hz, 6H), 0.87 (d, $J = 6.3$ Hz, 6H); $^{13}\text{C NMR}$ (125 MHz, CDCl_3 , mixture of rotamers) δ 173.2, 169.1, 167.4, 167.3, 137.4, 132.3, 130.4, 127.2, 56.6, 49.1, 48.4, 45.9, 43.7, 35.1, 33.9, 30.9, 27.8, 26.1, 22.5, 22.5, 22.4; IR (neat): 2955, 2929, 2869, 2614, 2490, 1715, 1648, 1504, 1425, 1330, 1311, 1078, 867, 784, 736 (cm^{-1}); HRMS (ESI): $[\text{M}-\text{H}]^-$ calcd for $\text{C}_{25}\text{H}_{34}\text{N}_3\text{O}_5$: 456.2504, found: 456.2502.

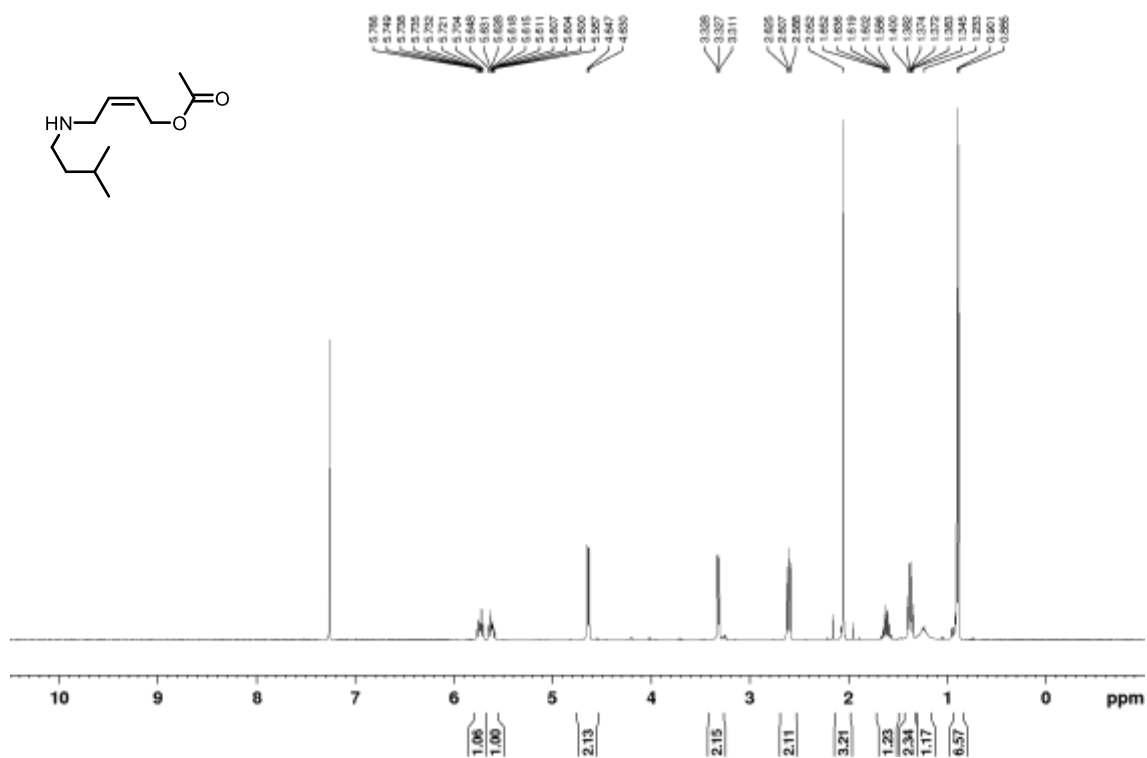
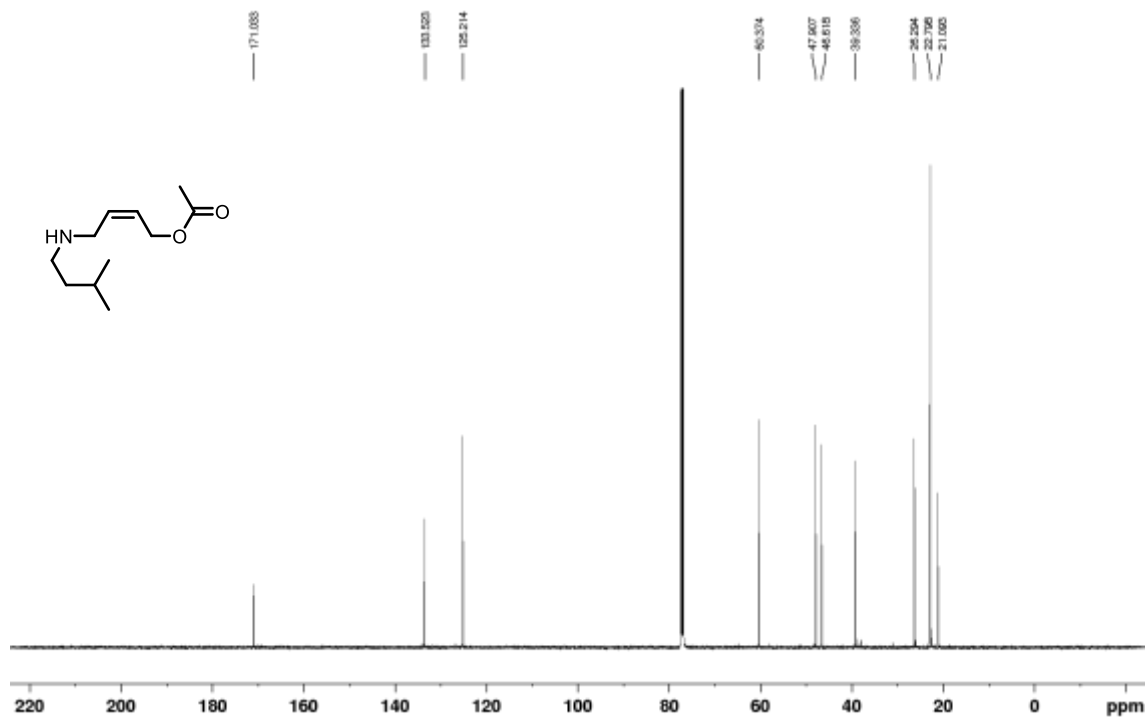
References

- (1) Berman, H. M.; Westbrook, J.; Feng, Z.; Gilliland, G.; Bhat, T. N.; Weissig, H.; Shindyalov, I. N.; Bourne, P. E. The Protein Data Bank. *Nucleic Acids Res.* **2000**, *28*, 235–242.
- (2) BIOVIA Dassault Systems, Discovery Studio 2020; Dassault Systems: San Diego, CA, USA, 2020.
- (3) Wu, G., Robertson, D. H., Brooks, C. L., 3rd, and Vieth, M. Detailed analysis of grid-based molecular docking: a case study of CDOCKER-A CHARMM-based MD docking algorithm. *J. Comput. Chem.* **2003**, *24*, 1549–1562.
- (4) Wolber G, Langer T. LigandScout: 3-D pharmacophores derived from protein-bound ligands and their use as virtual screening filters. *J. Chem. Inf. Model.* **2005**, *45*, 160-169.
- (5) Sauer, W. H. B.; Schwarz, M. K. Molecular Shape Diversity of Combinatorial Libraries: A Prerequisite for Broad Bioactivity. *J. Chem. Inf. Comput. Sci.* **2003**, *43*, 987–1003.
- (6) RDKit: Cheminformatics and Machine Learning Software. <http://www.rdkit.org>.
- (7) Ma, G.; Afewerki, S.; Deiana, L.; Palo-Nieto, C.; Liu, L.; Sun, J.; Ibrahim, I.; Córdova, A. A Palladium/Chiral Amine Co-Catalyzed Enantioselective Dynamic Cascade Reaction: Synthesis of Polysubstituted Carbocycles with a Quaternary Carbon Stereocenter. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2013**, *52*, 6050–6054.
- (8) Ferber, B.; Lemaire, S.; Mader, M. M.; Prestat, G.; Poli, G. A new access to 3,5-disubstituted piperazinones via Pd(0)-catalyzed amination. *Tetrahedron Lett.* **2003**, *44*, 4213–4216.
- (9) Tošovská, P.; Arora, P. S. Oligooxopiperazines as Nonpeptidic α -Helix Mimetics *Org. Lett.* **2010**, *12*, 1588–1591.
- (10) Beutner, G. L.; Young, I. S.; Davies, M. L.; Hickey, M. R.; Park, H.; Stevens, J. M.; Ye, Q. TCFH-NMI: Direct Access to N-Acyl Imidazoliums for Challenging Amide Bond Formations. *Org. Lett.* **2018**, *20*, 4218–4222.

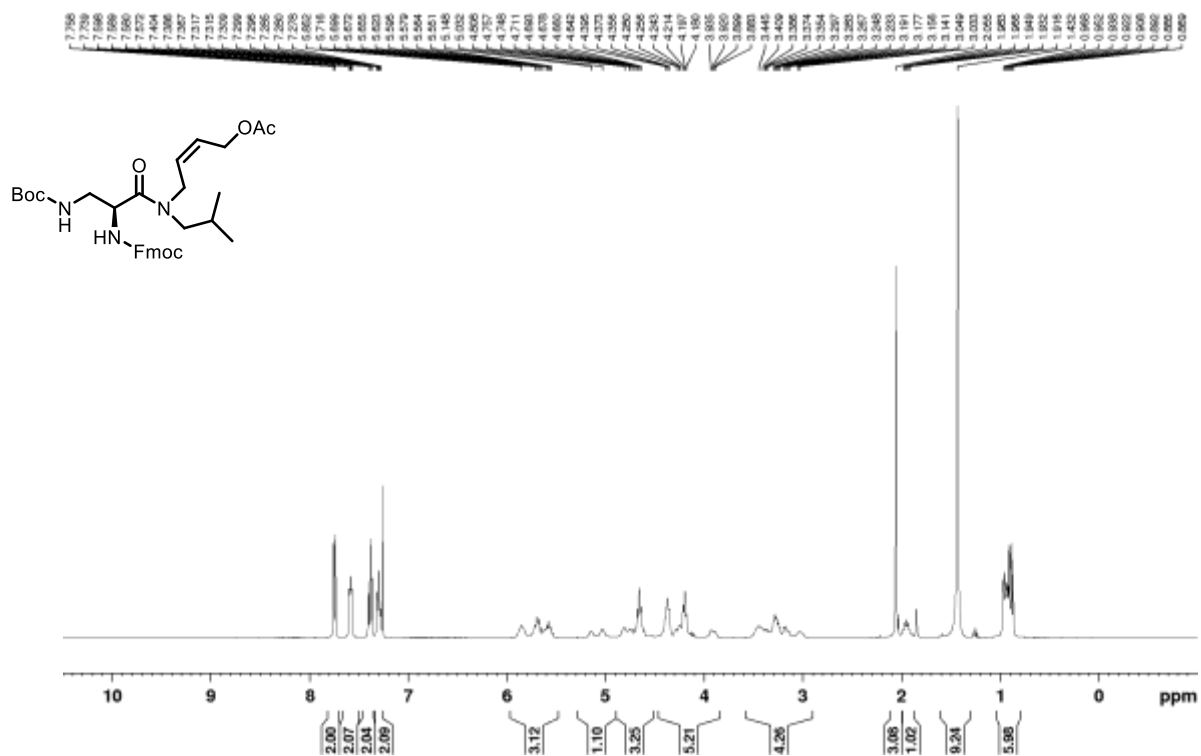
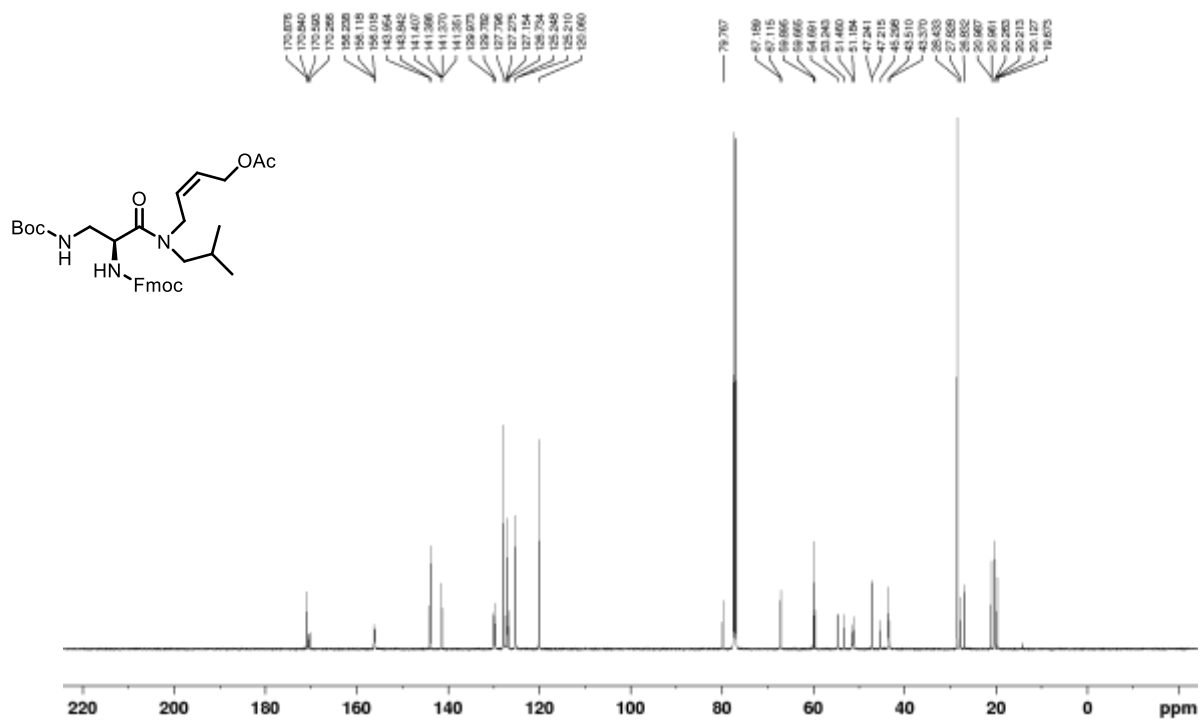
Allyl amine 7b

 ^1H NMR (500 MHz, CDCl_3) ^{13}C NMR (125 MHz, CDCl_3)

Allyl amine 7c

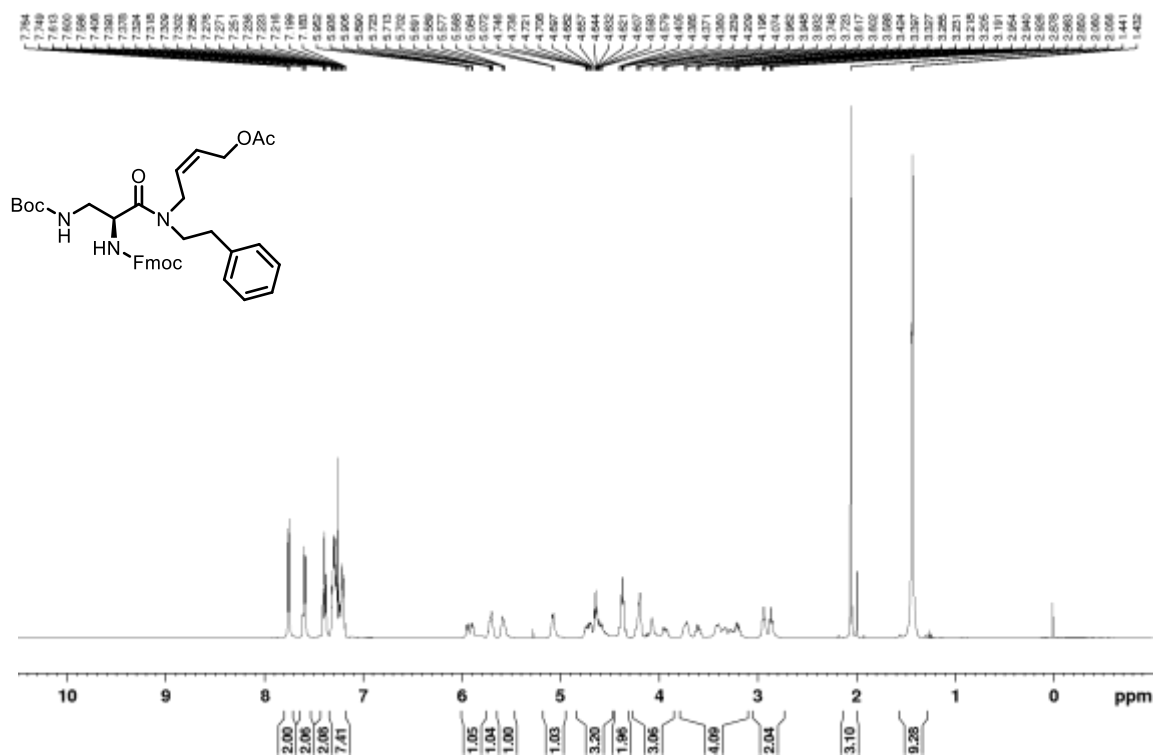
 ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) ^{13}C NMR (125 MHz, CDCl_3)

Amide 5a

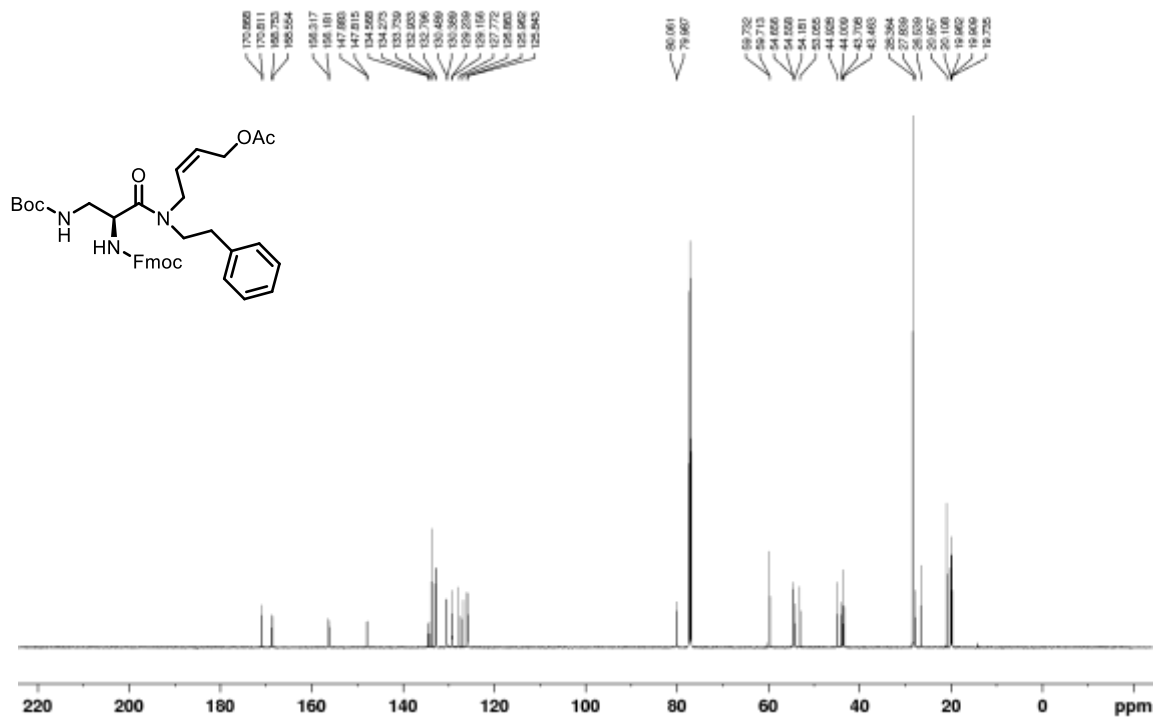
H NMR (400 MHz, CDCl₃)¹³C NMR (125 MHz, CDCl₃)

Amide 5b

$^1\text{H NMR}$ (500 MHz, CDCl_3)

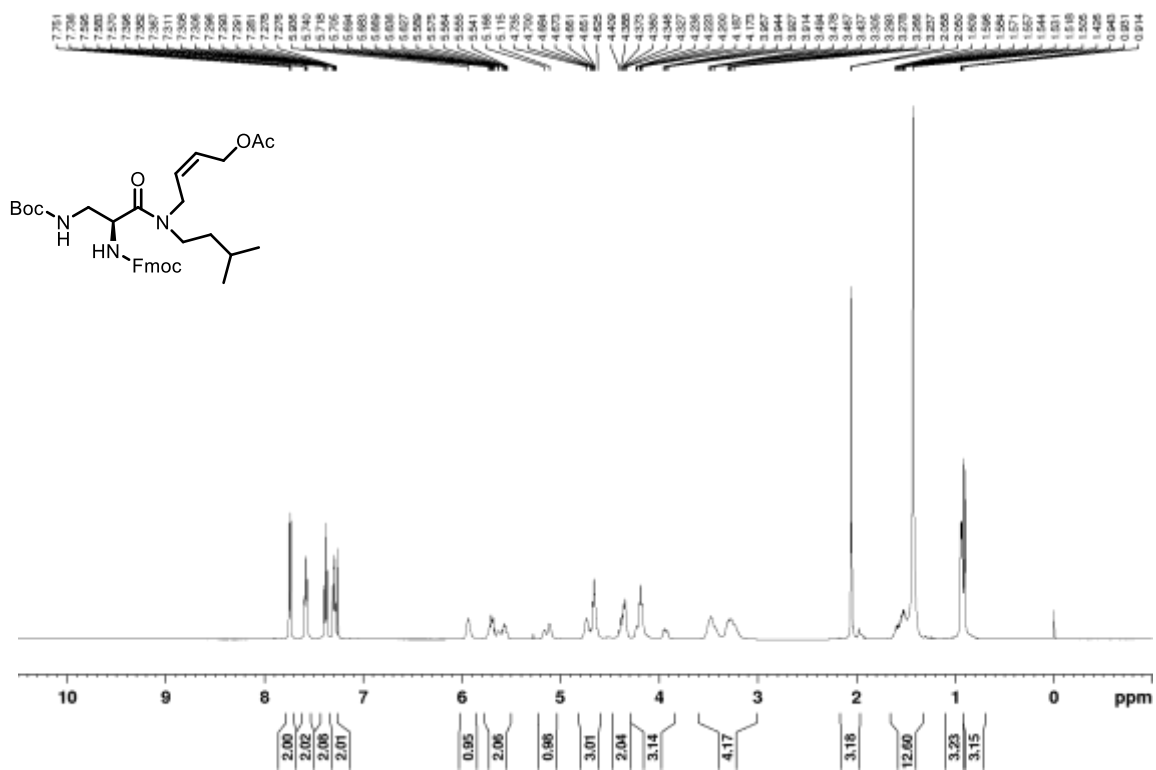


$^{13}\text{C NMR}$ (125 MHz, CDCl_3)

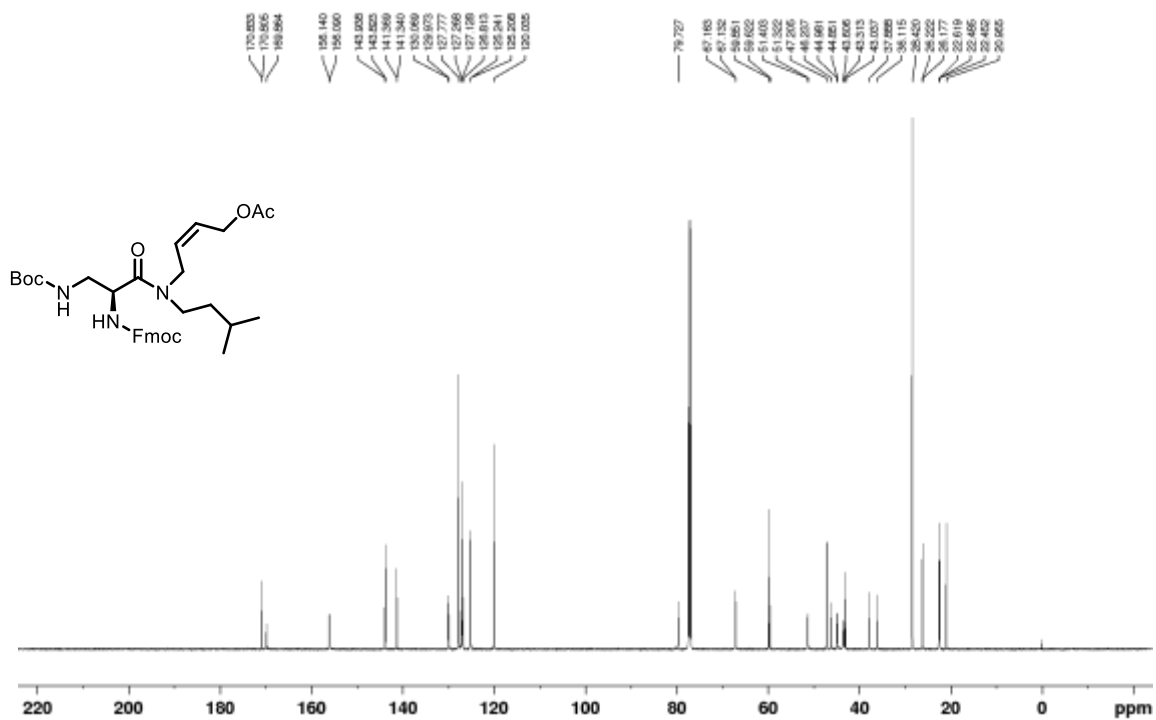


Amide 4c

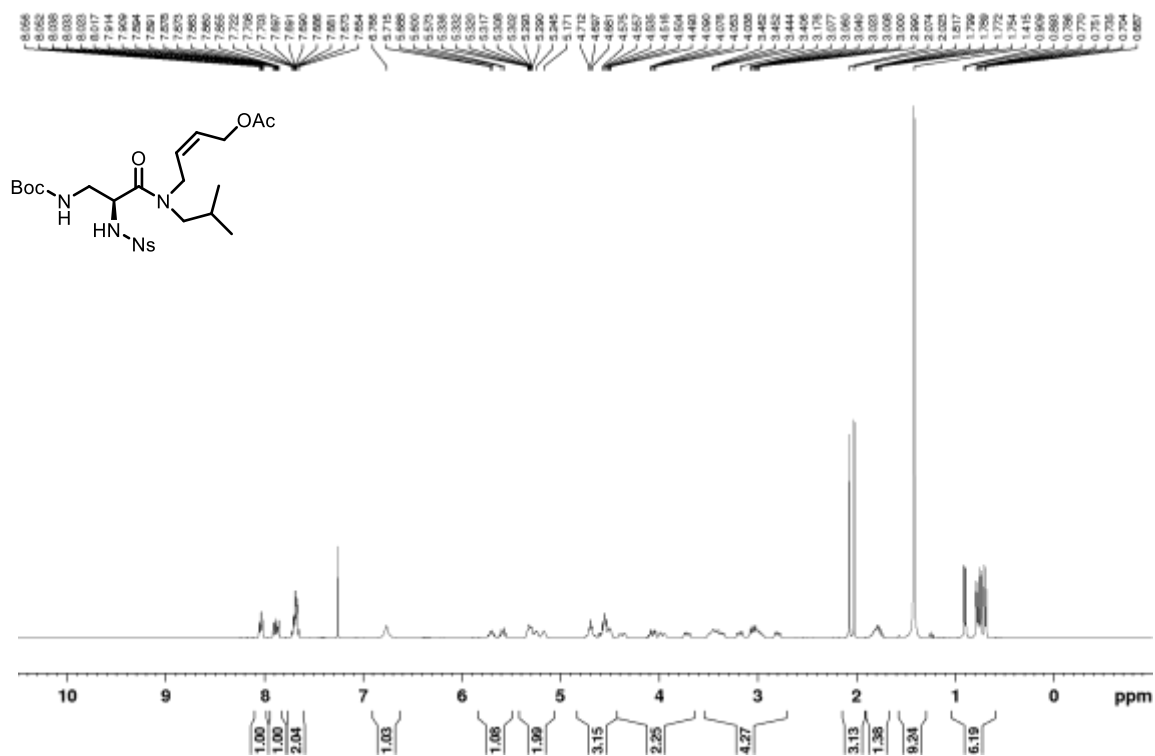
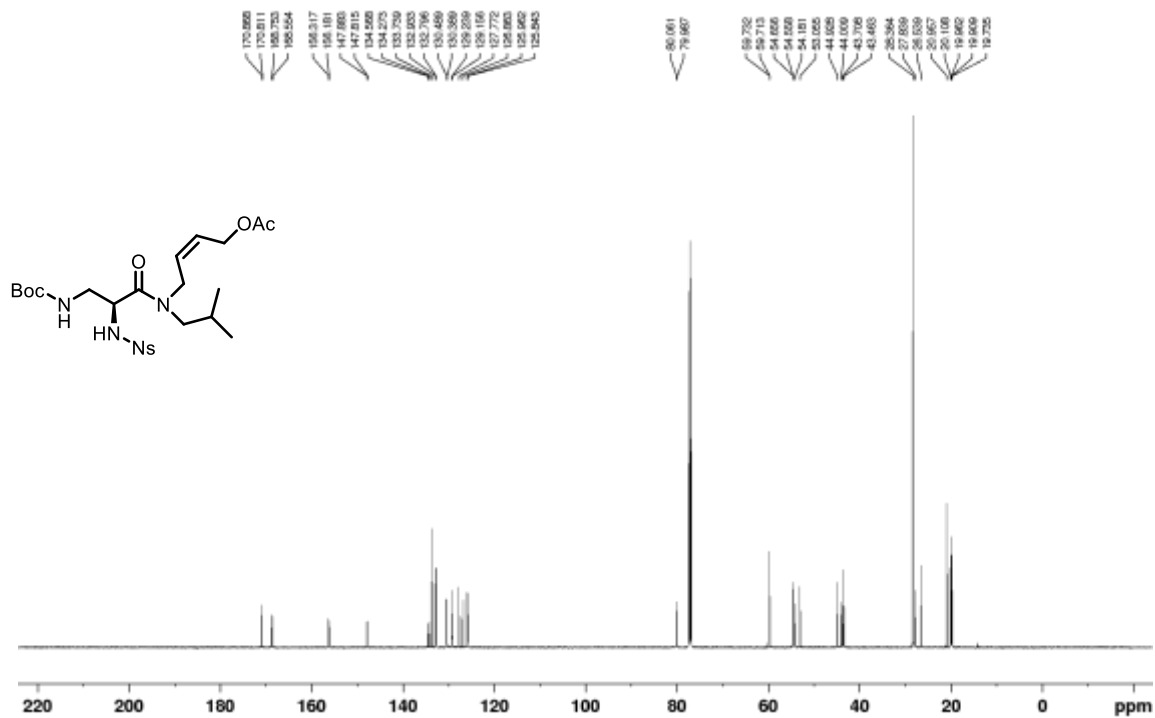
¹H NMR (500 MHz, CDCl₃)



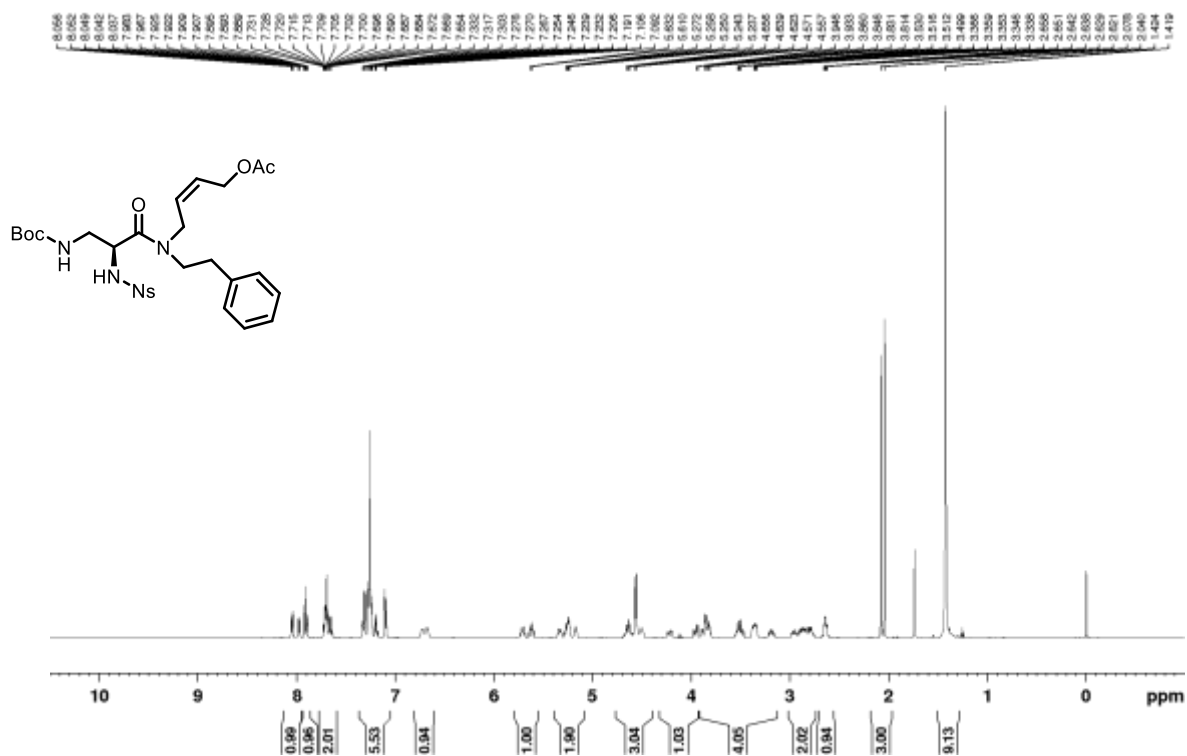
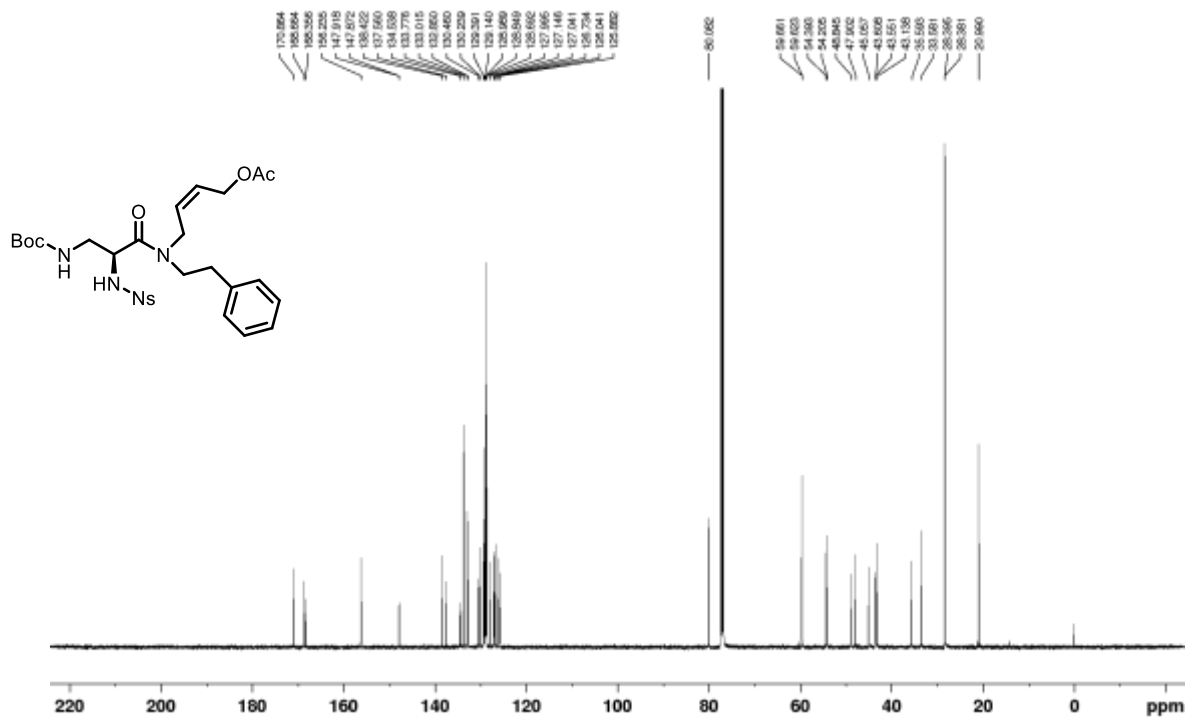
¹³C NMR (125 MHz, CDCl₃)



Sulfonamide 5a'

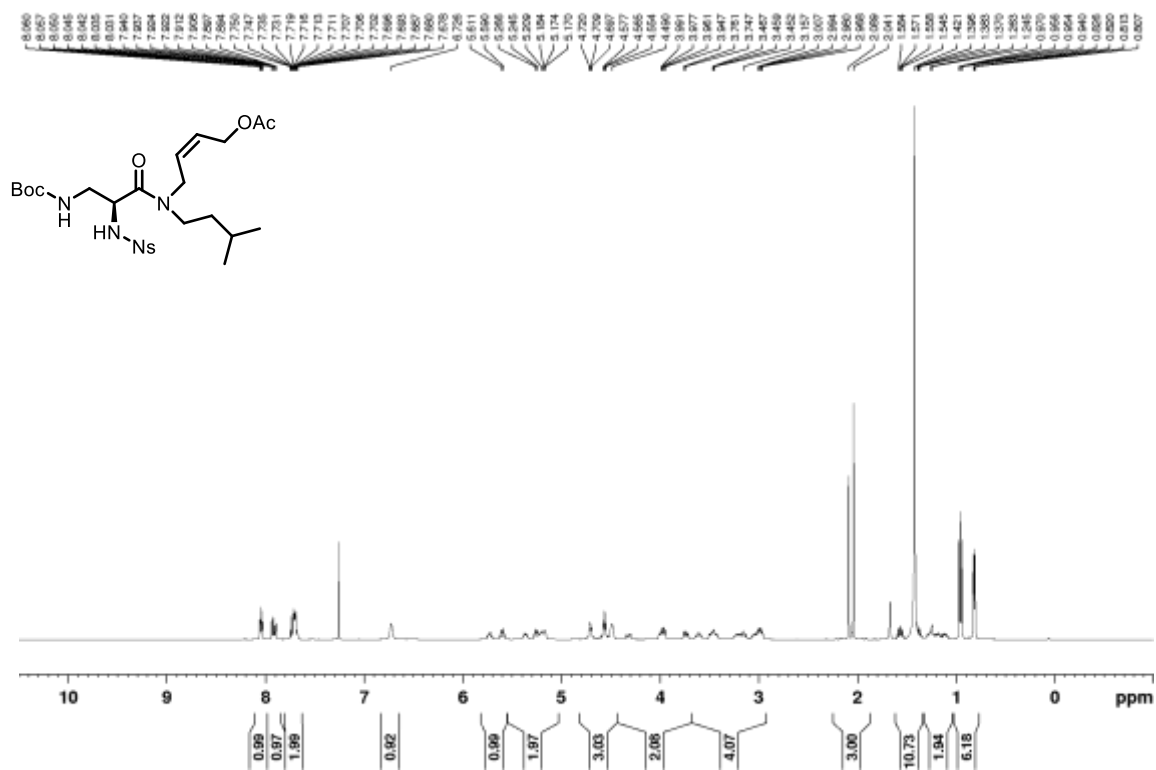
 ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) ^{13}C NMR (125 MHz, CDCl_3)

Sulfonamide 5b'

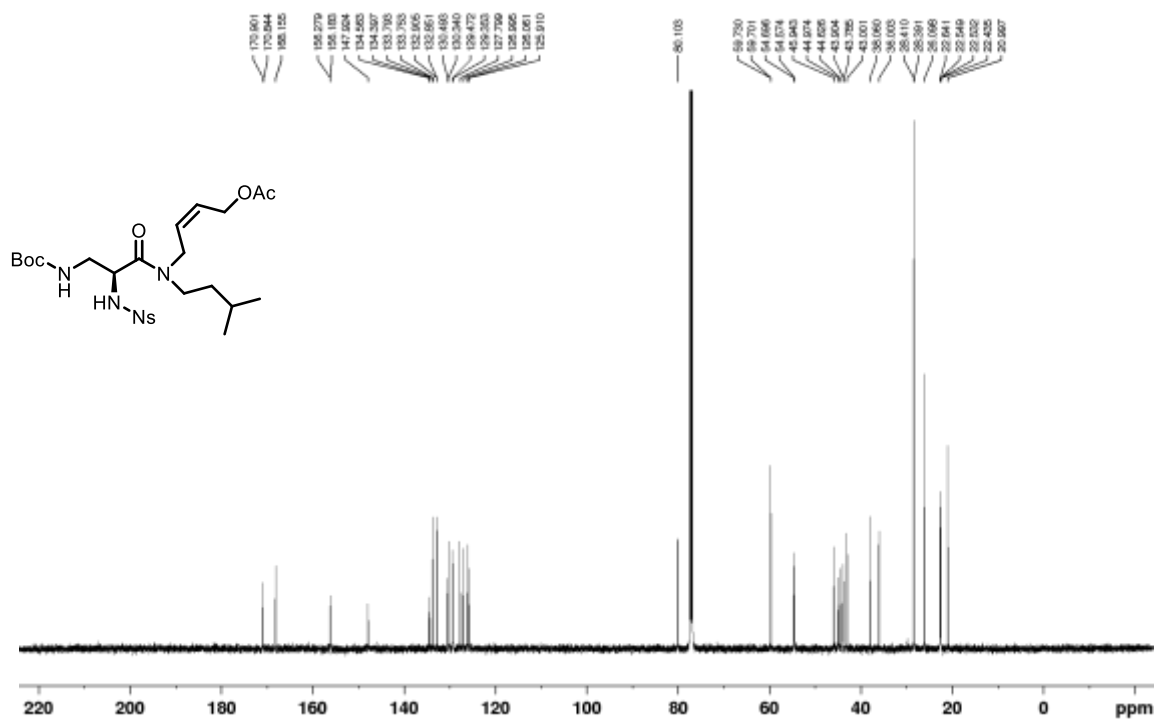
 ^1H NMR (500 MHz, CDCl_3) ^{13}C NMR (125 MHz, CDCl_3)

Sulfonamide 5c'

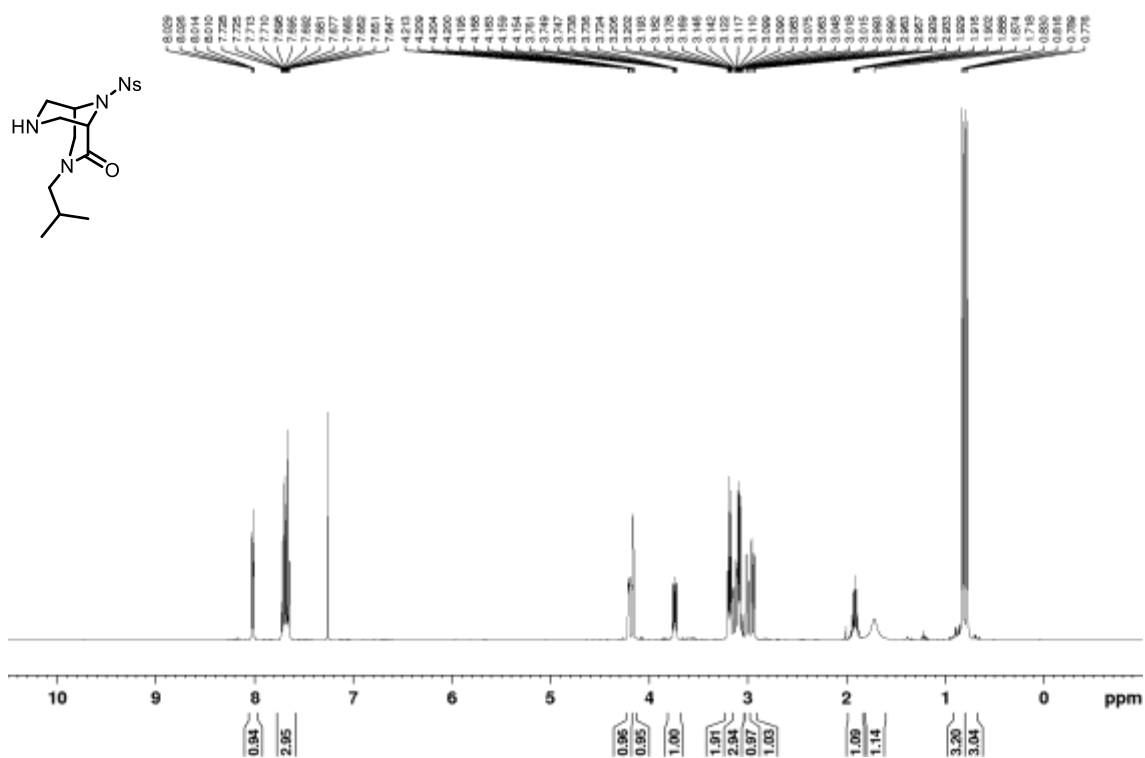
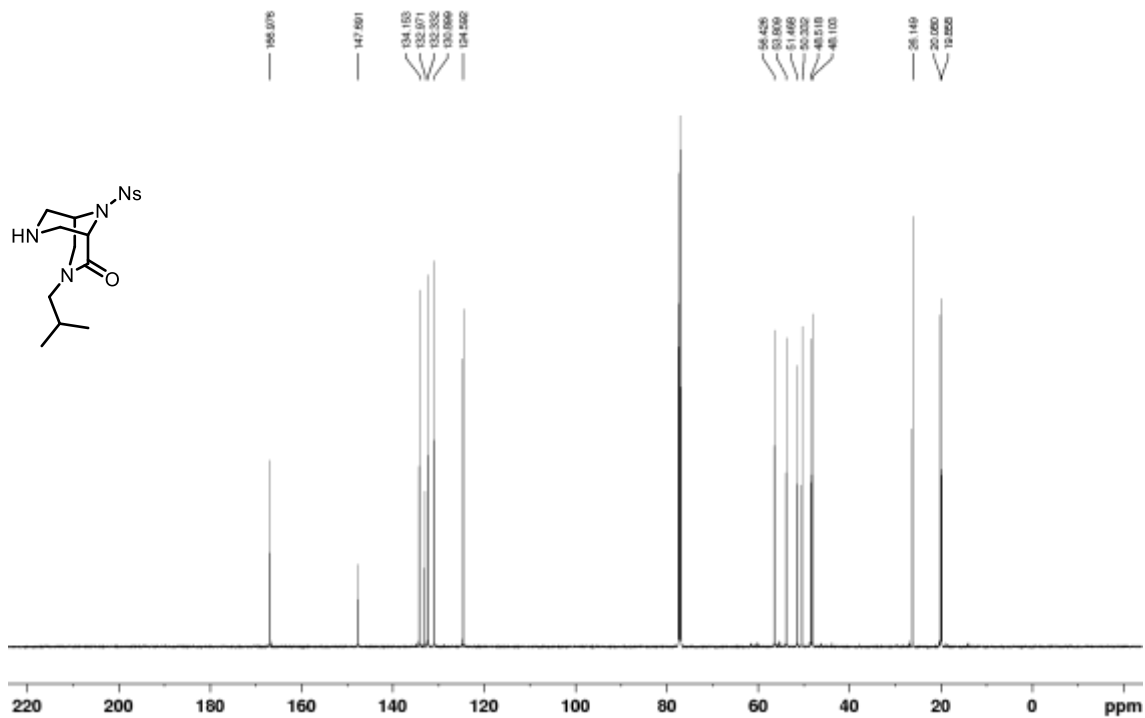
¹H NMR (500 MHz, CDCl₃)

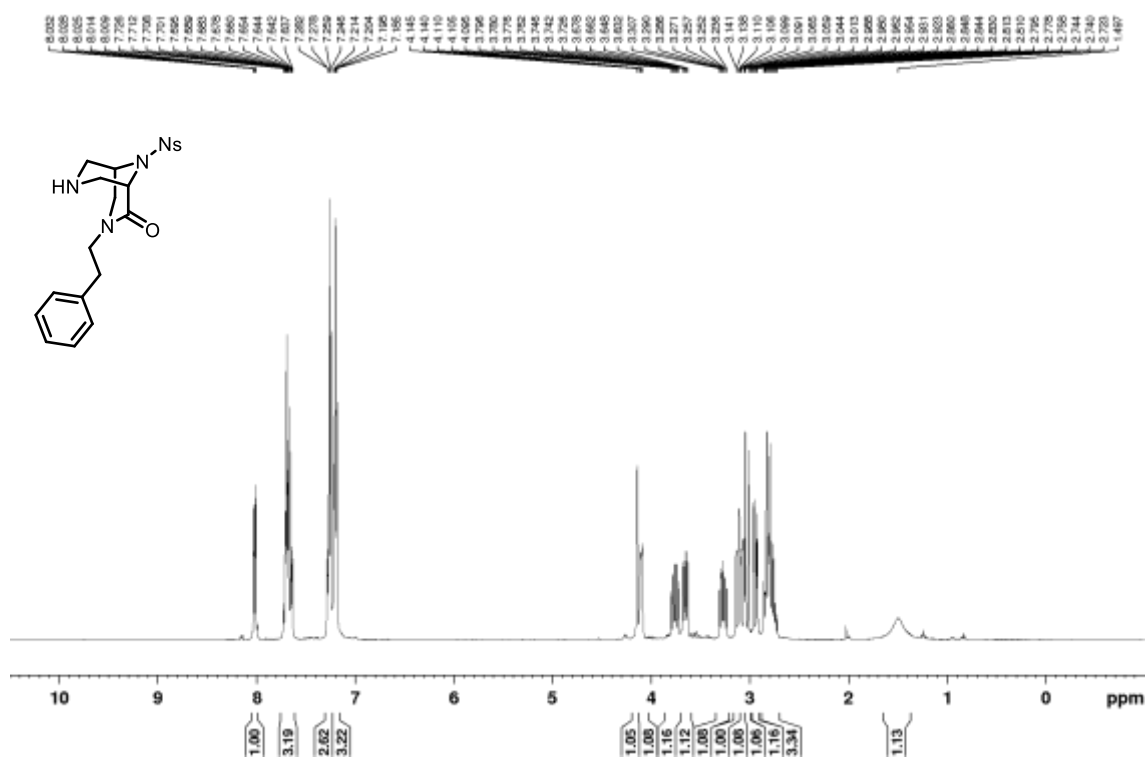
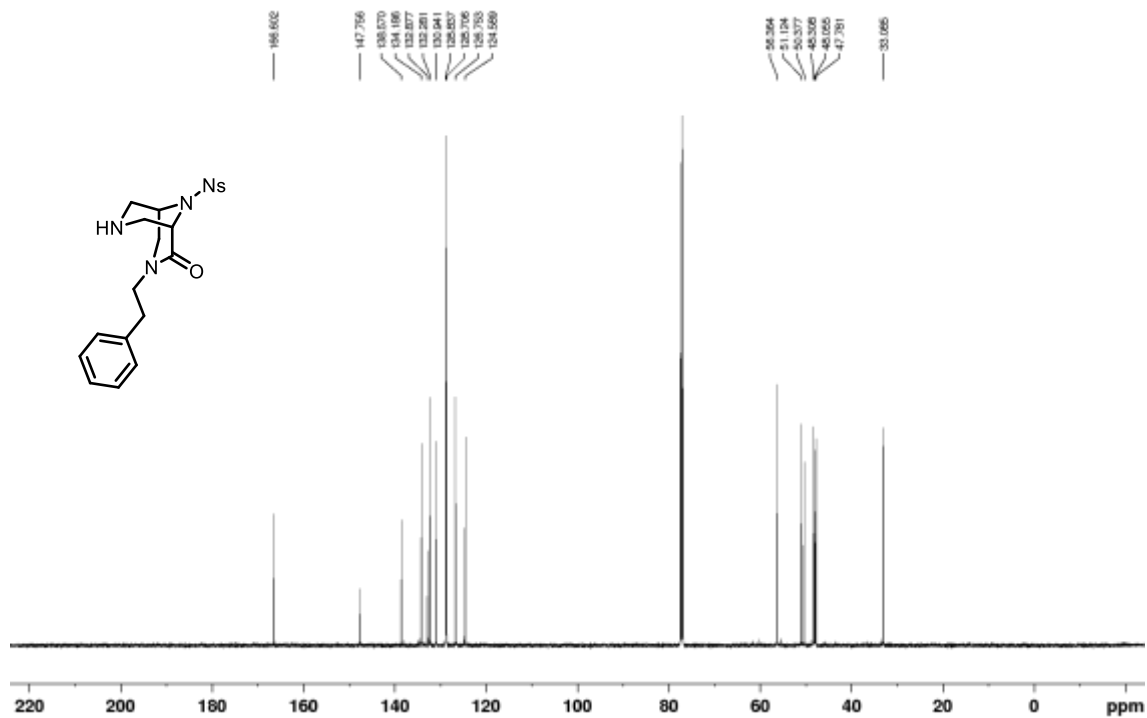


¹³C NMR (125 MHz, CDCl₃)

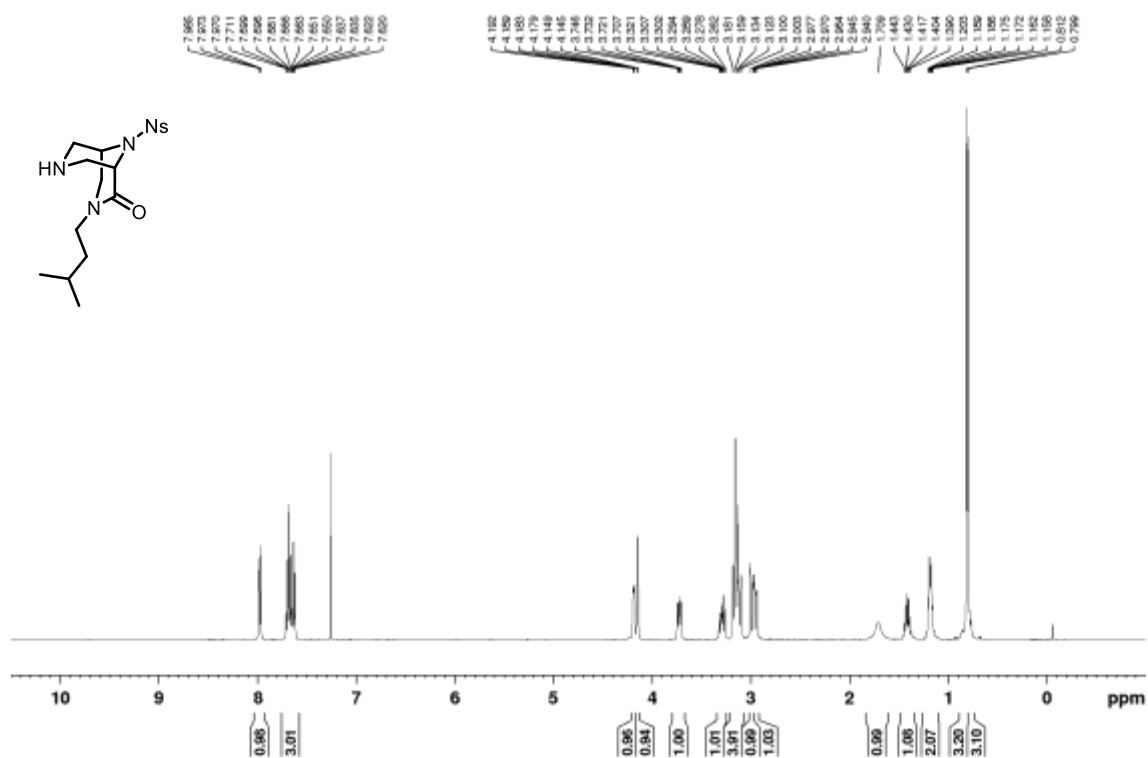
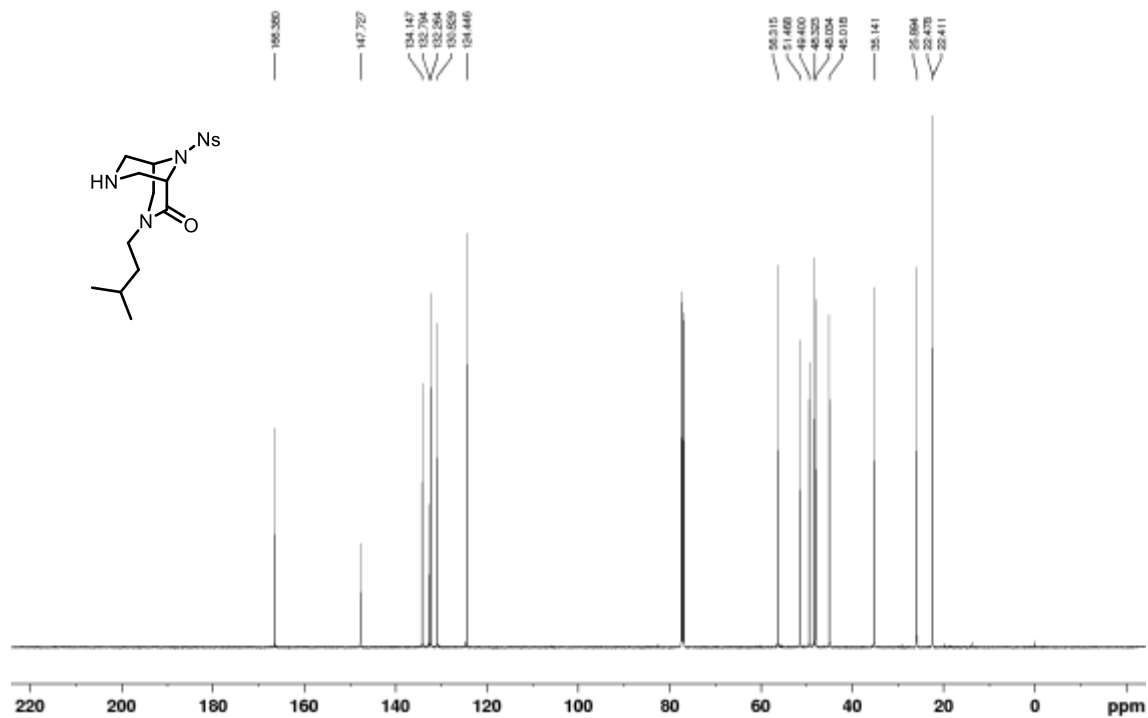


Amine 8a

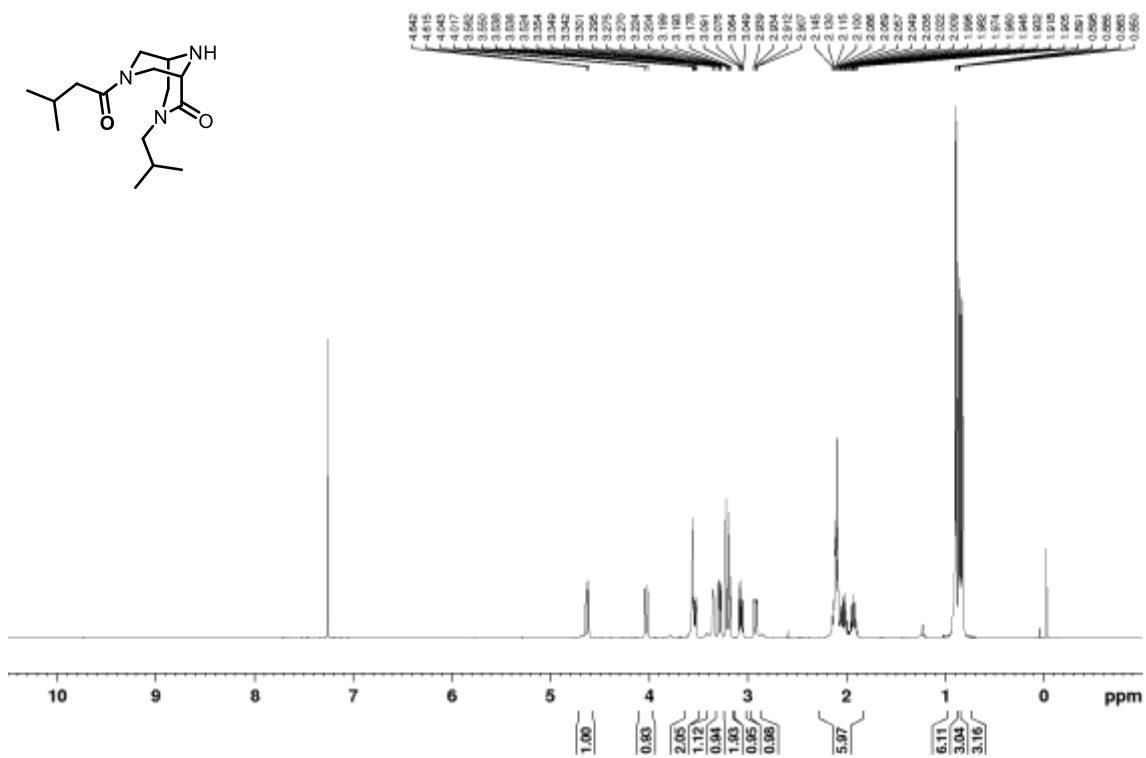
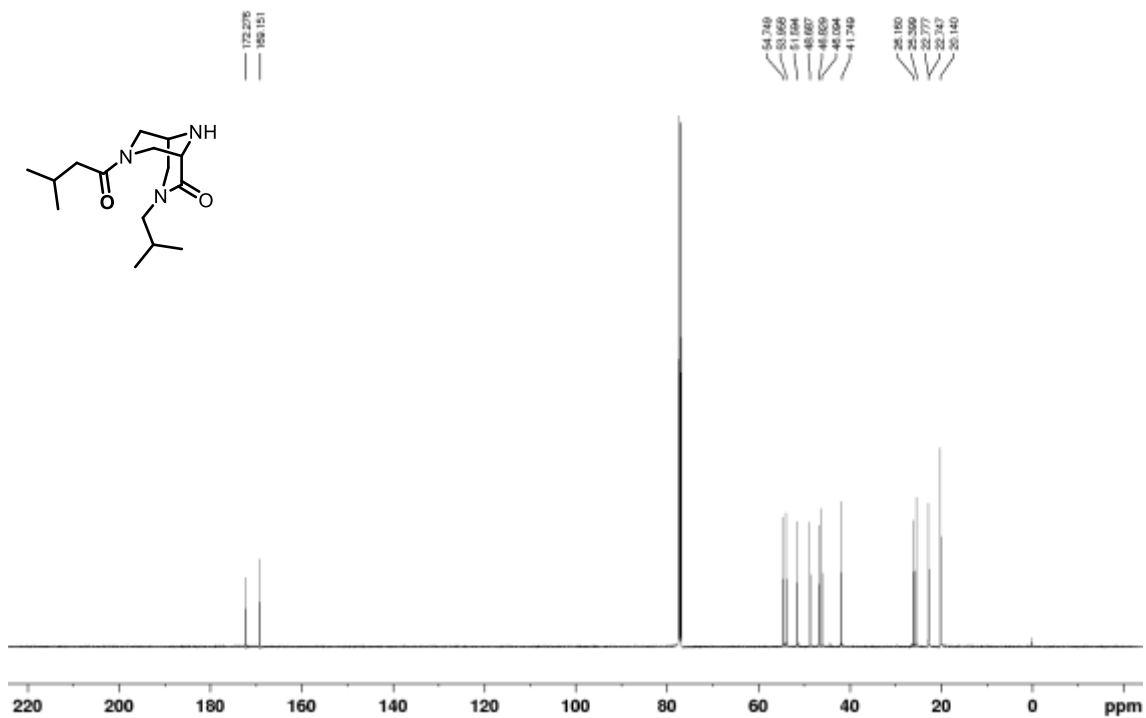
 ^1H NMR (500 MHz, CDCl_3) ^{13}C NMR (125 MHz, CDCl_3)

Amine 8b ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) ^{13}C NMR (125 MHz, CDCl_3)

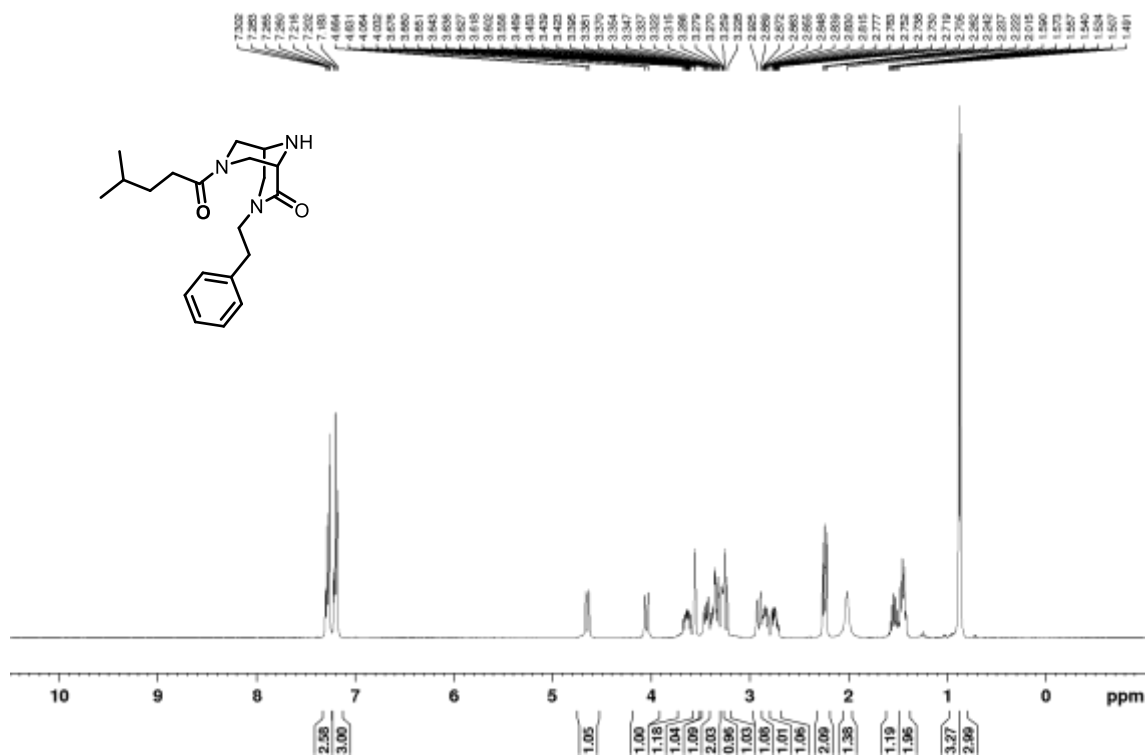
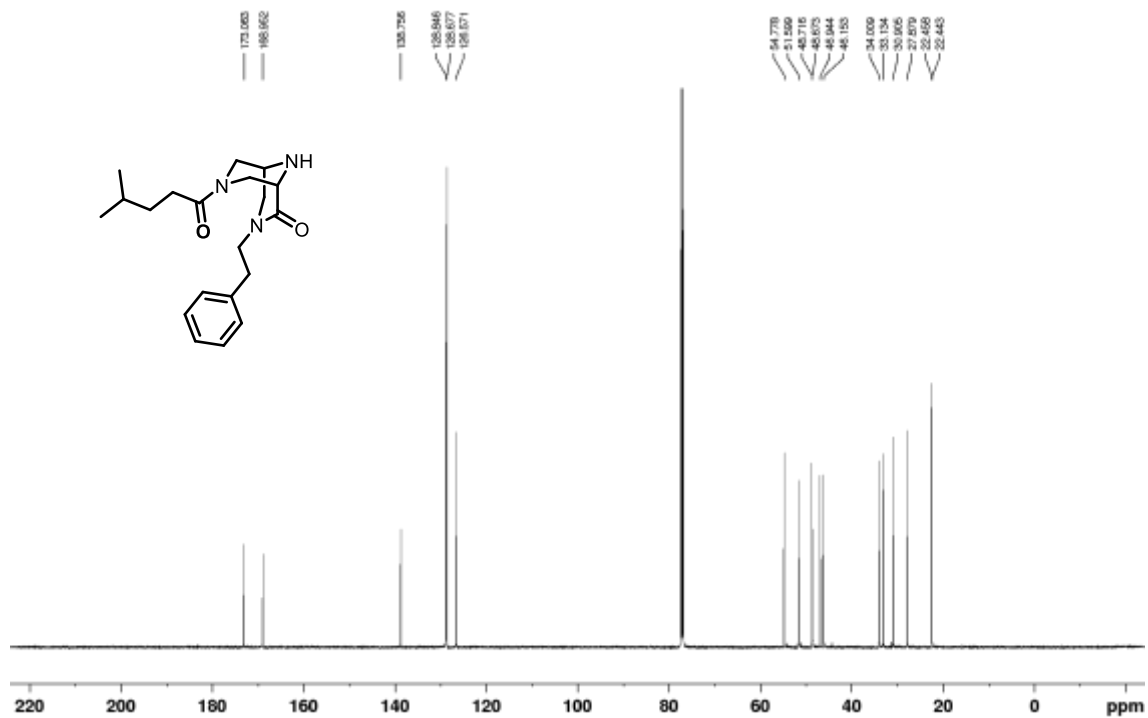
Amine 8c

 ^1H NMR (500 MHz, CDCl_3) ^{13}C NMR (125 MHz, CDCl_3)

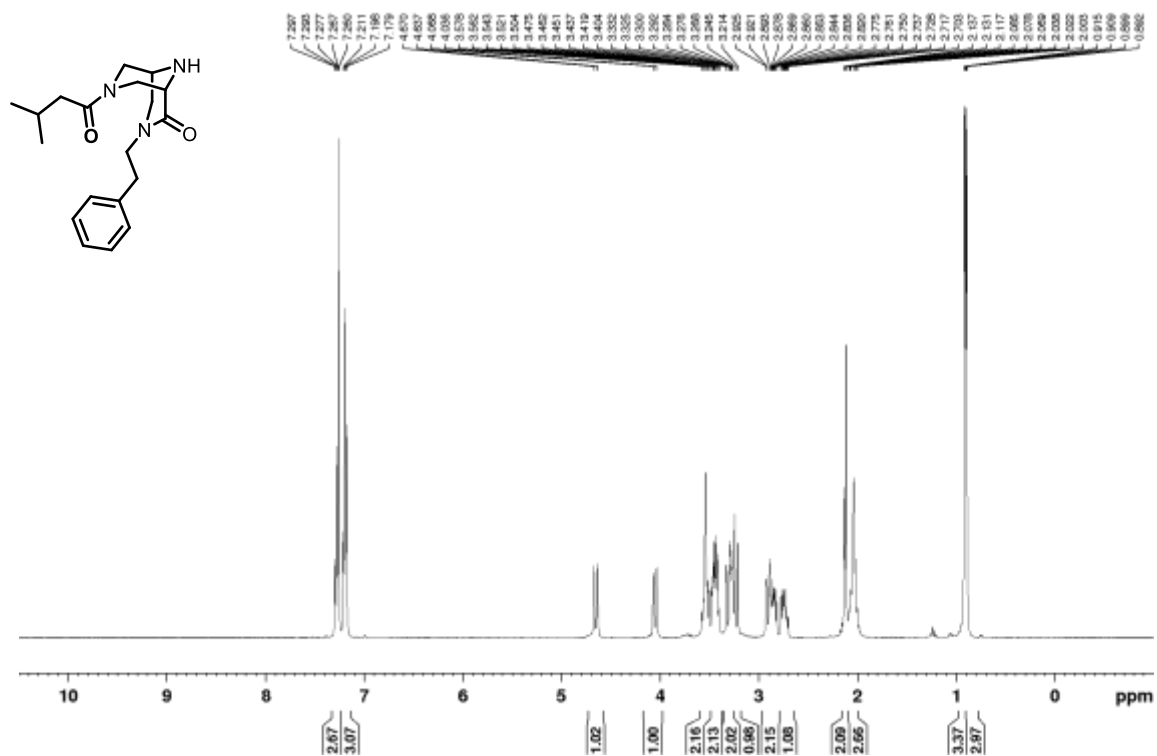
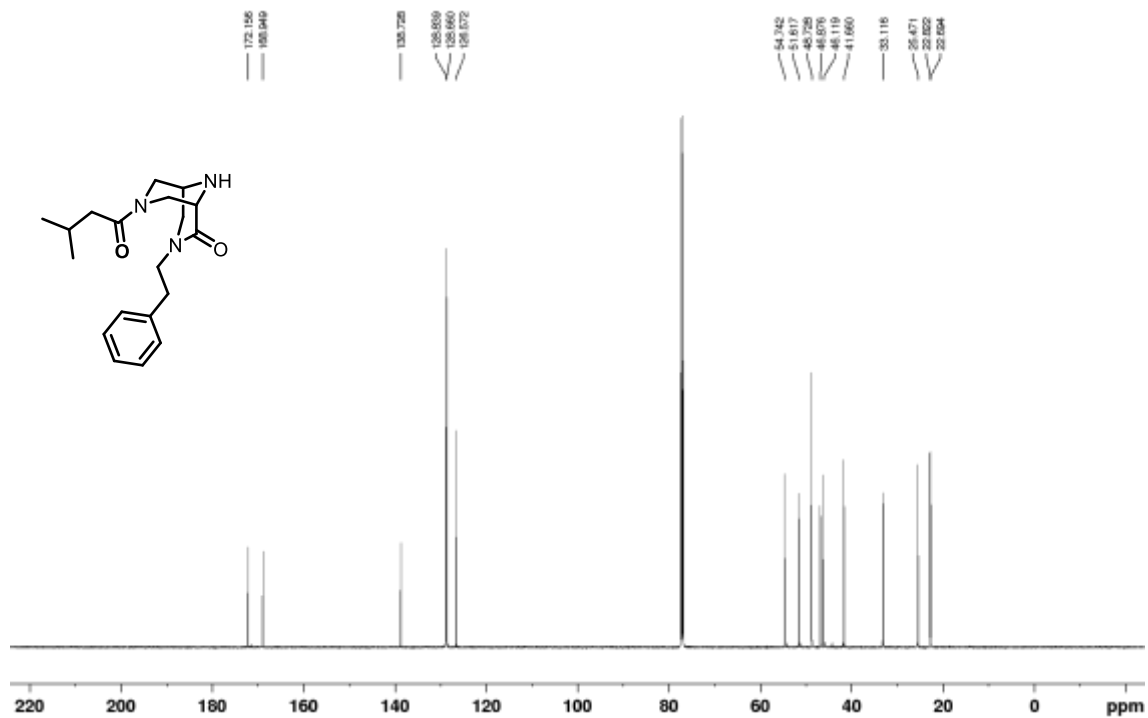
Amine 9a

 ^1H NMR (500 MHz, CDCl_3) ^{13}C NMR (125 MHz, CDCl_3)

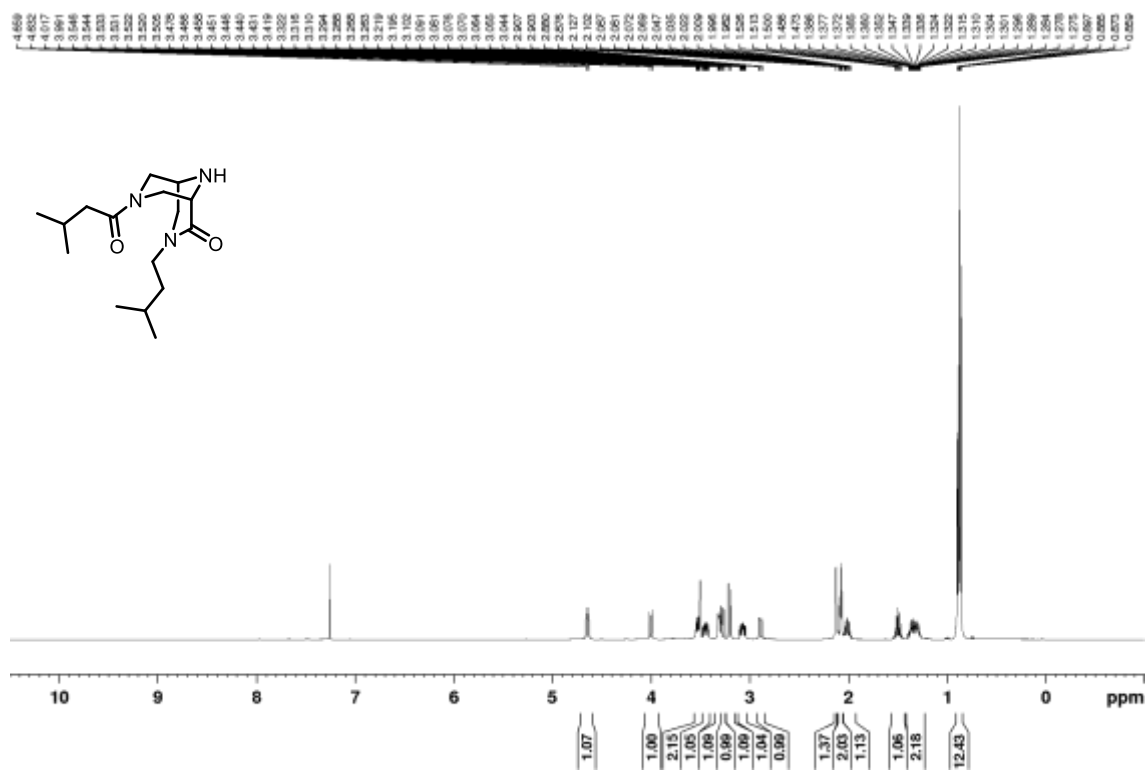
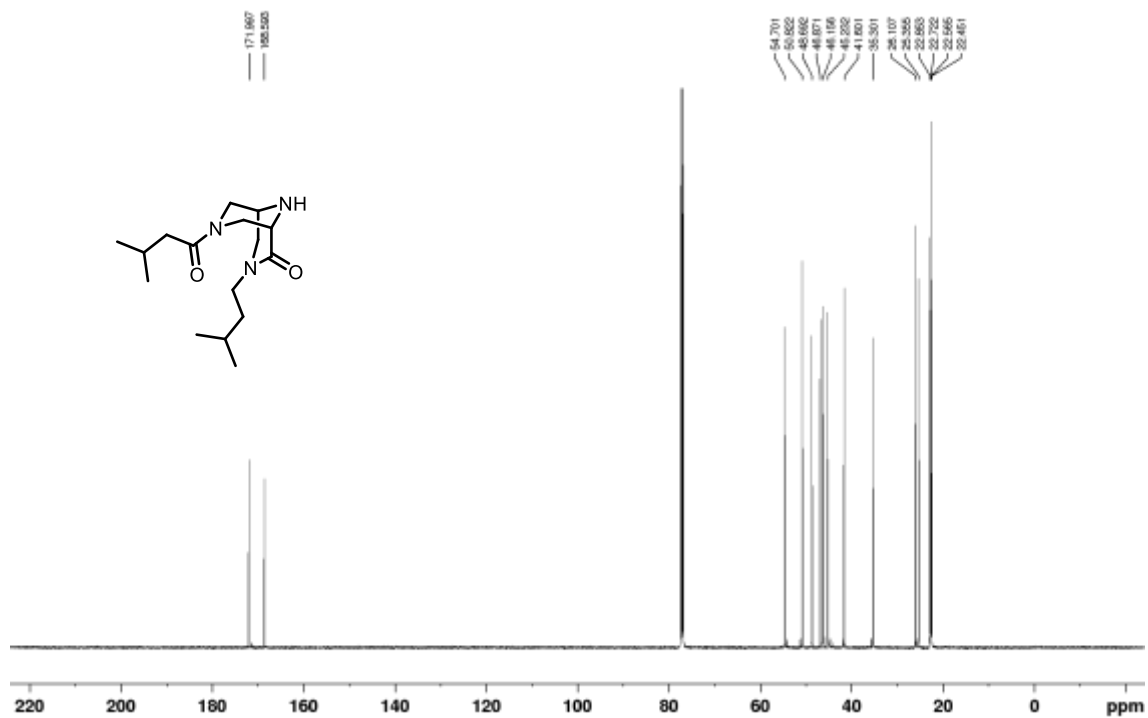
Amine 9b

 ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) ^{13}C NMR (125 MHz, CDCl_3)

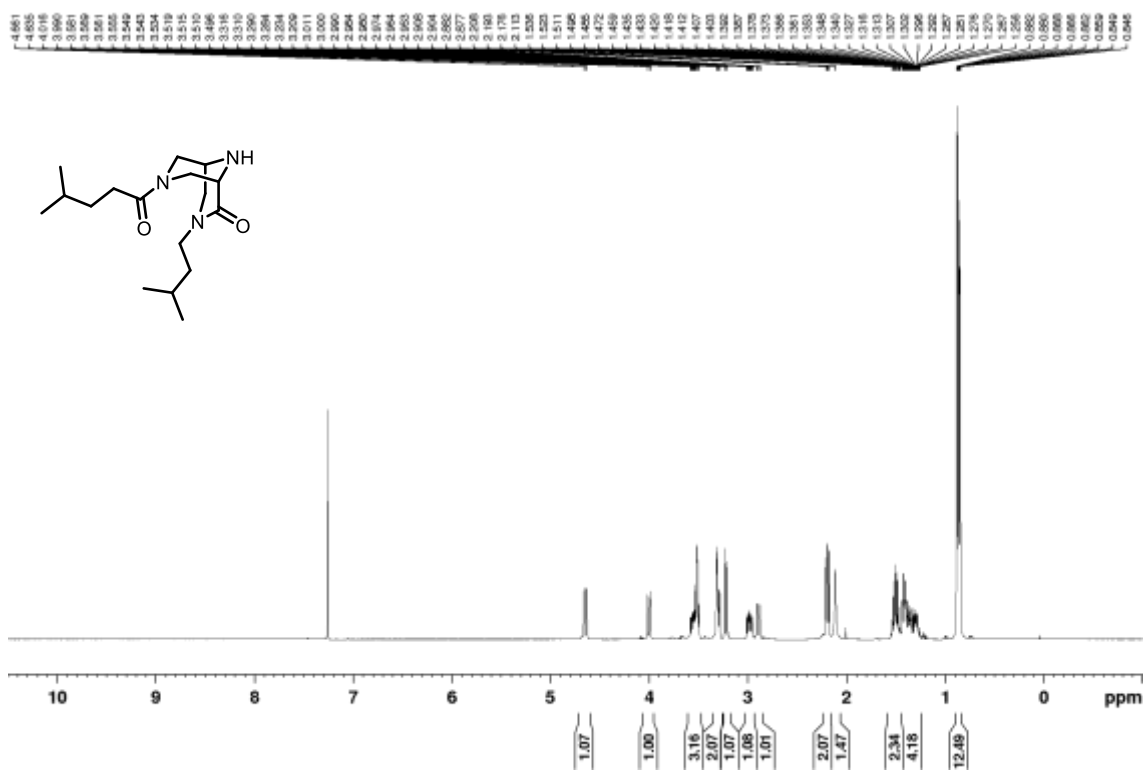
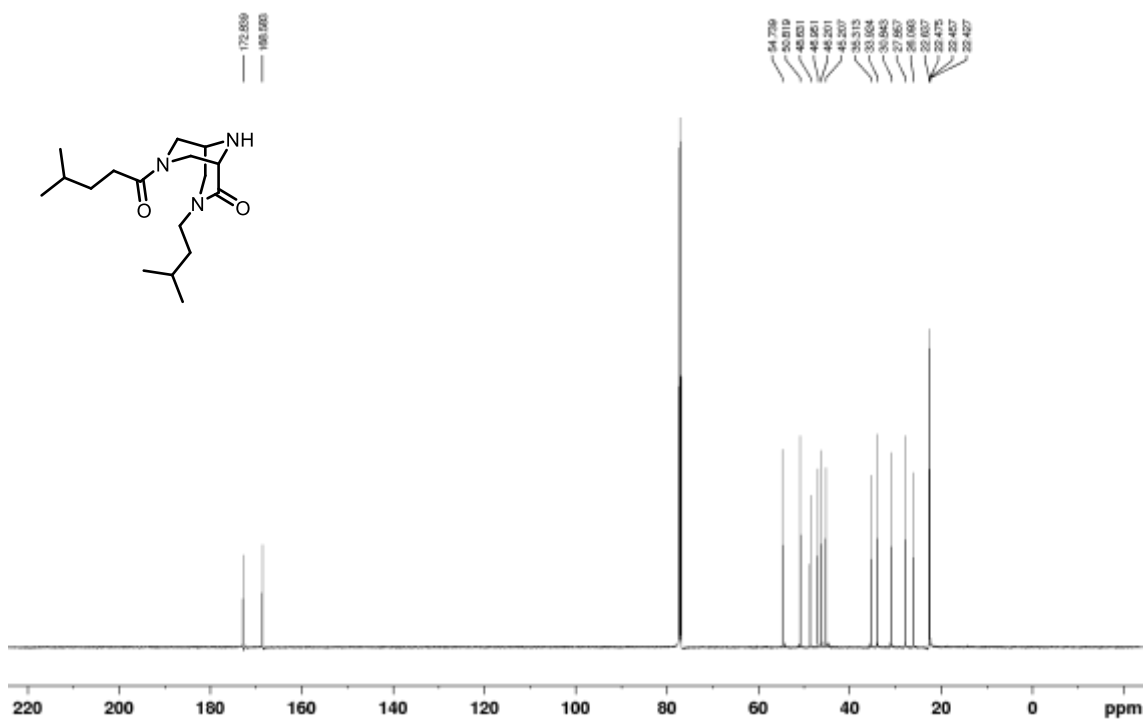
Amine 9c

 ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) ^{13}C NMR (125 MHz, CDCl_3)

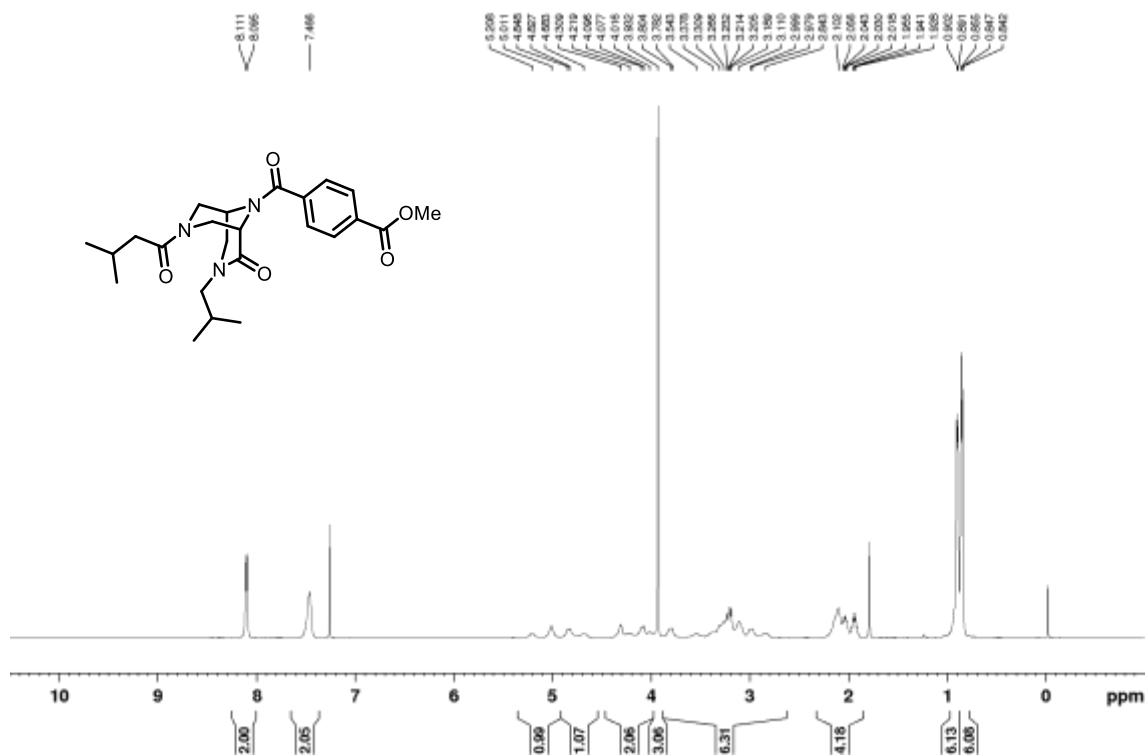
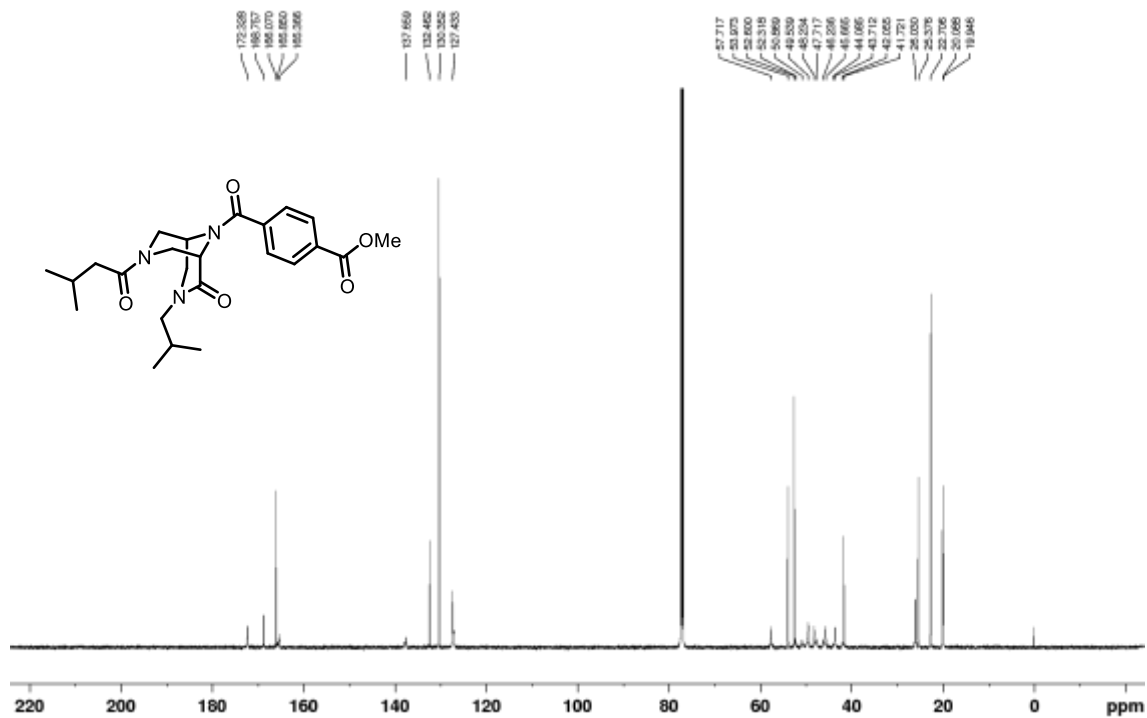
Amine 9d

 ^1H NMR (500 MHz, CDCl_3) ^{13}C NMR (125 MHz, CDCl_3)

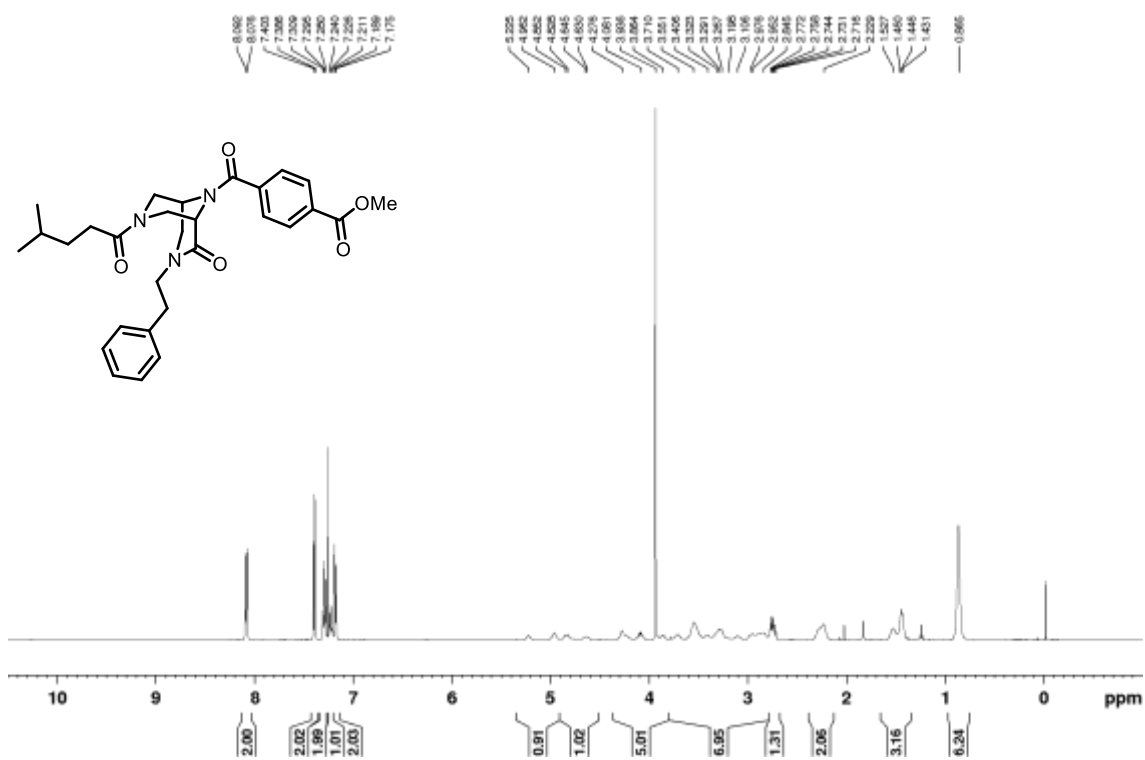
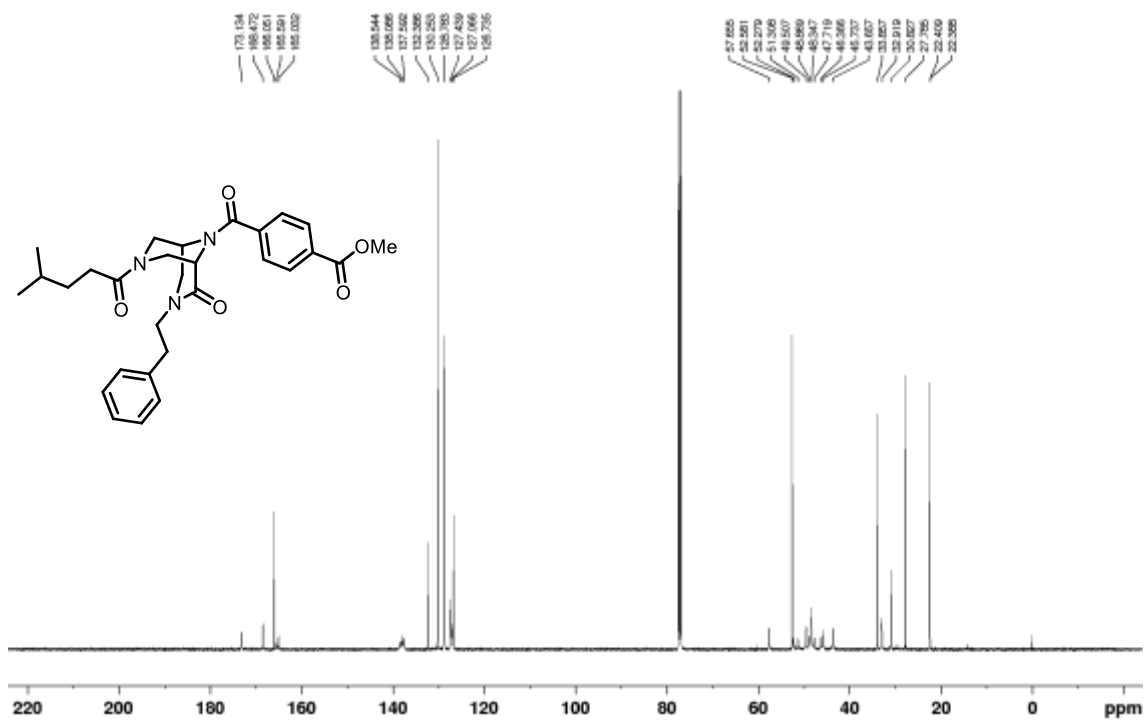
Amine 9e

 ^1H NMR (500 MHz, CDCl_3) ^{13}C NMR (125 MHz, CDCl_3)

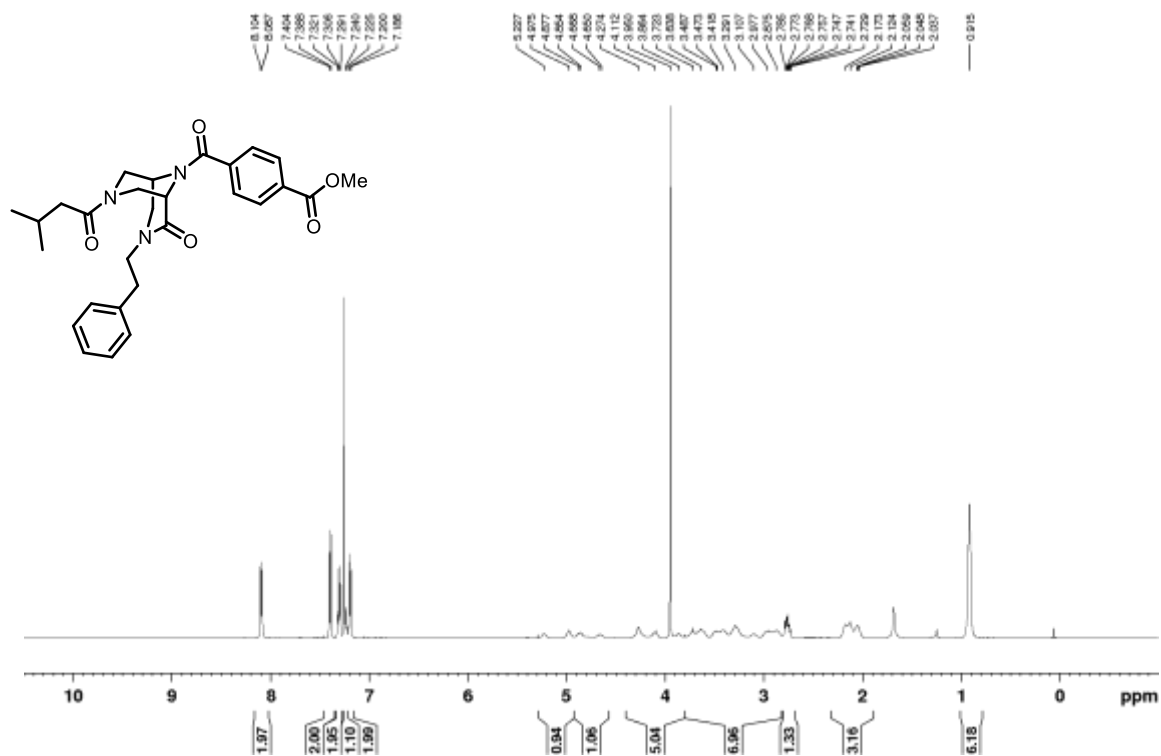
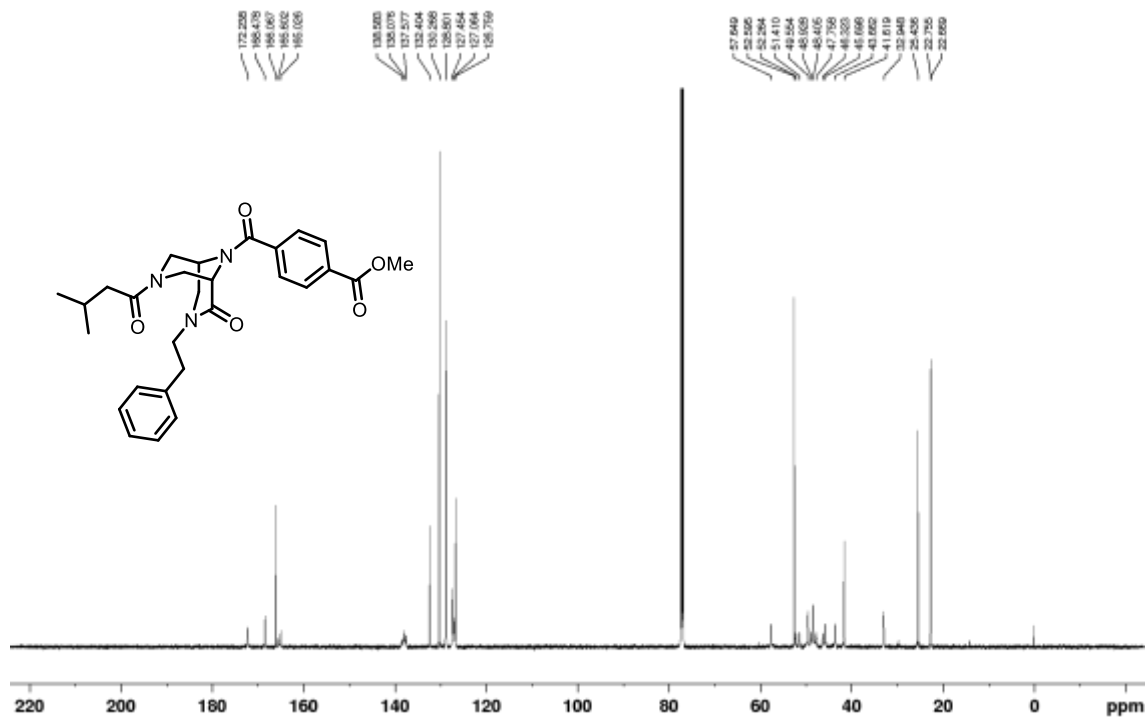
Methyl ester 10a

 ^1H NMR (500 MHz, CDCl_3) ^{13}C NMR (125 MHz, CDCl_3)

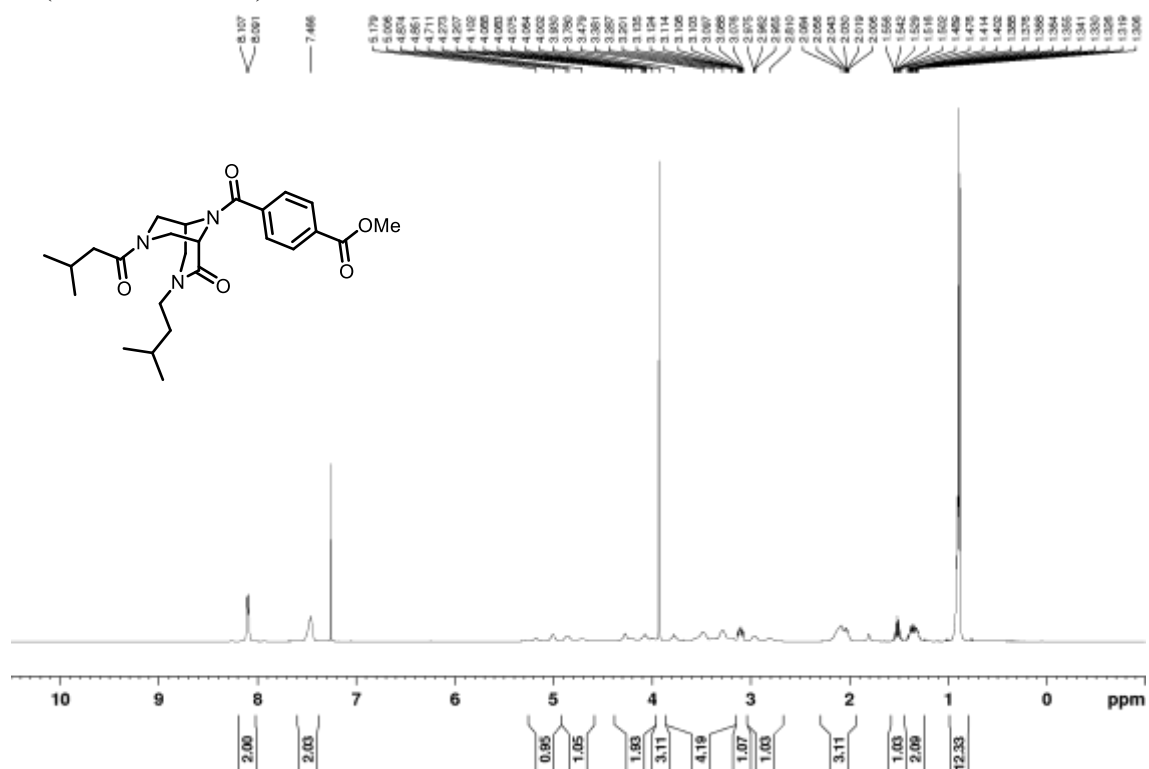
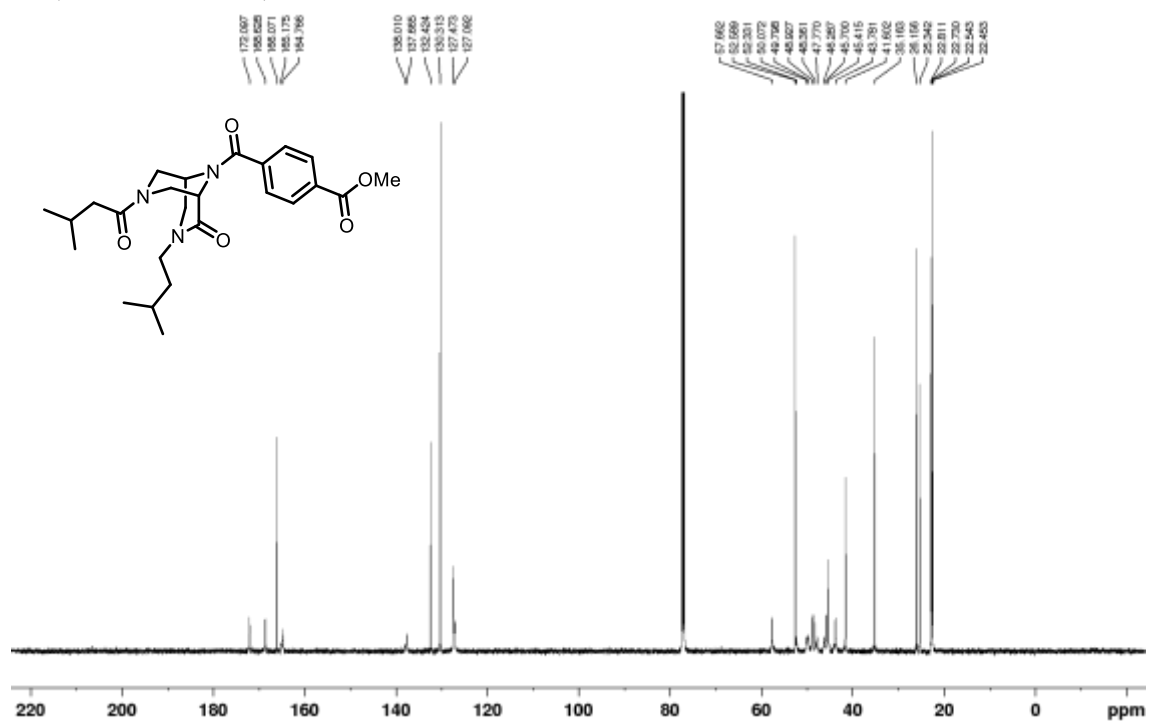
Methyl ester 10b

 ^1H NMR (500 MHz, CDCl_3) ^{13}C NMR (125 MHz, CDCl_3)

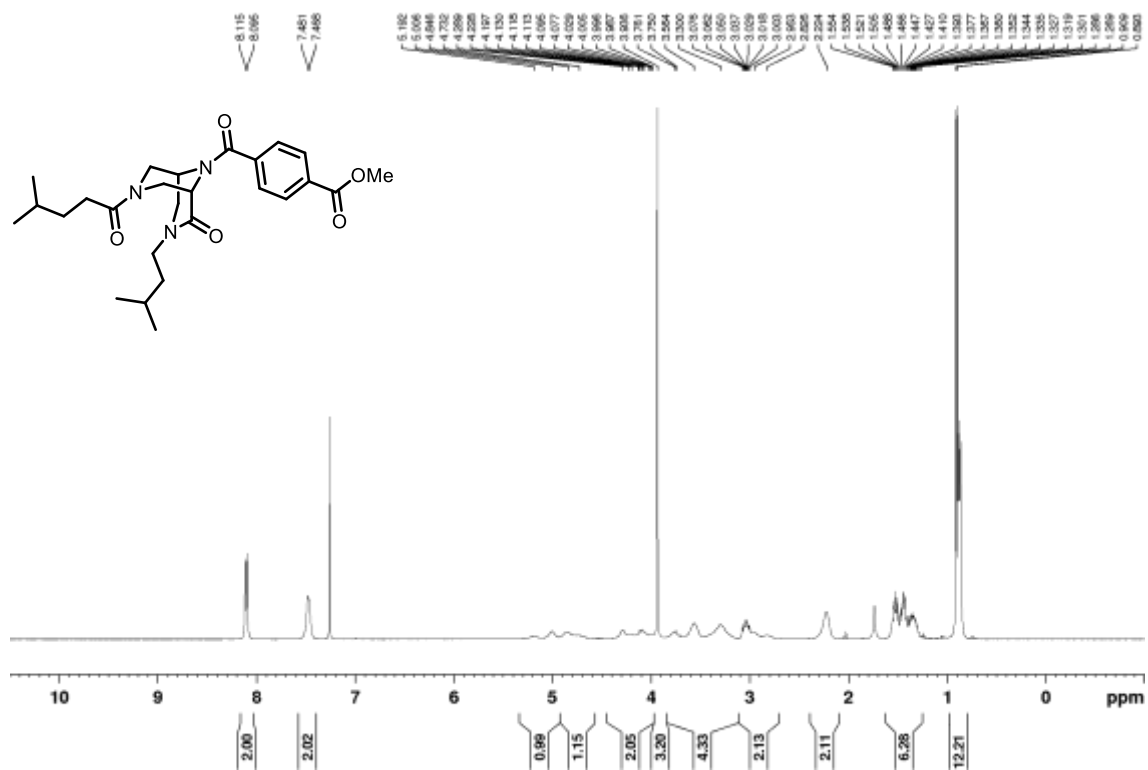
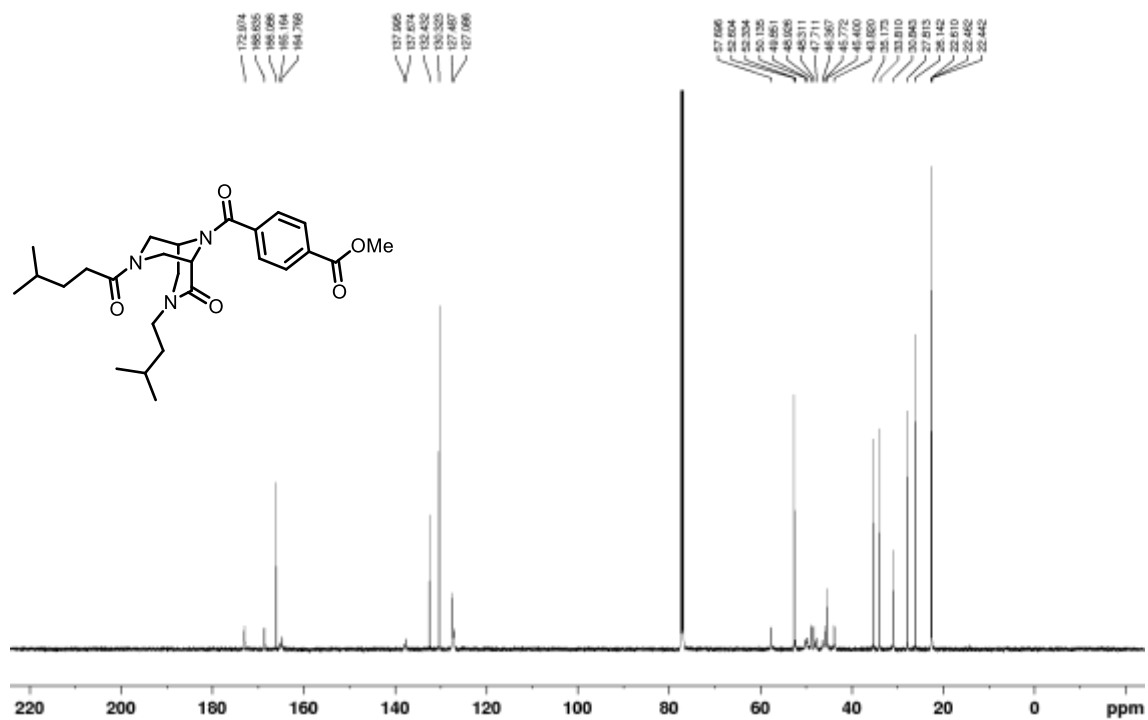
Methyl ester 10c

 ^1H NMR (500 MHz, CDCl_3) ^{13}C NMR (125 MHz, CDCl_3)

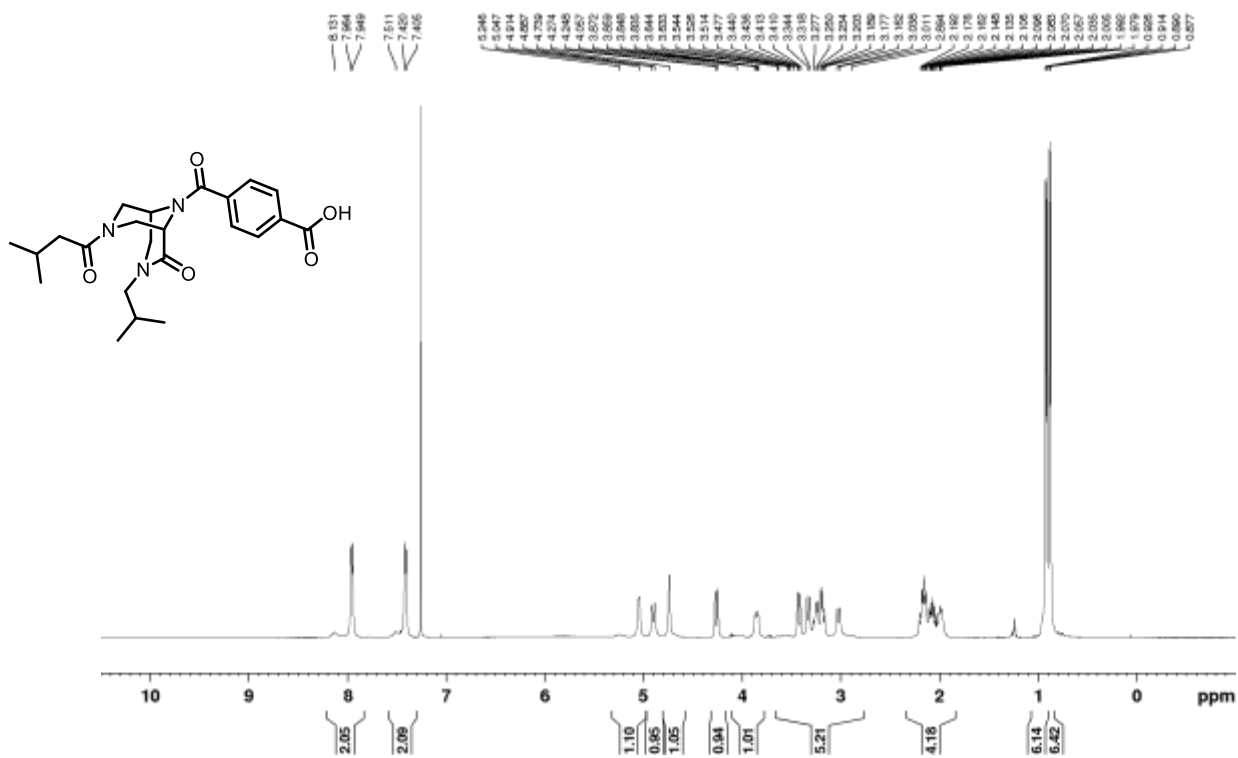
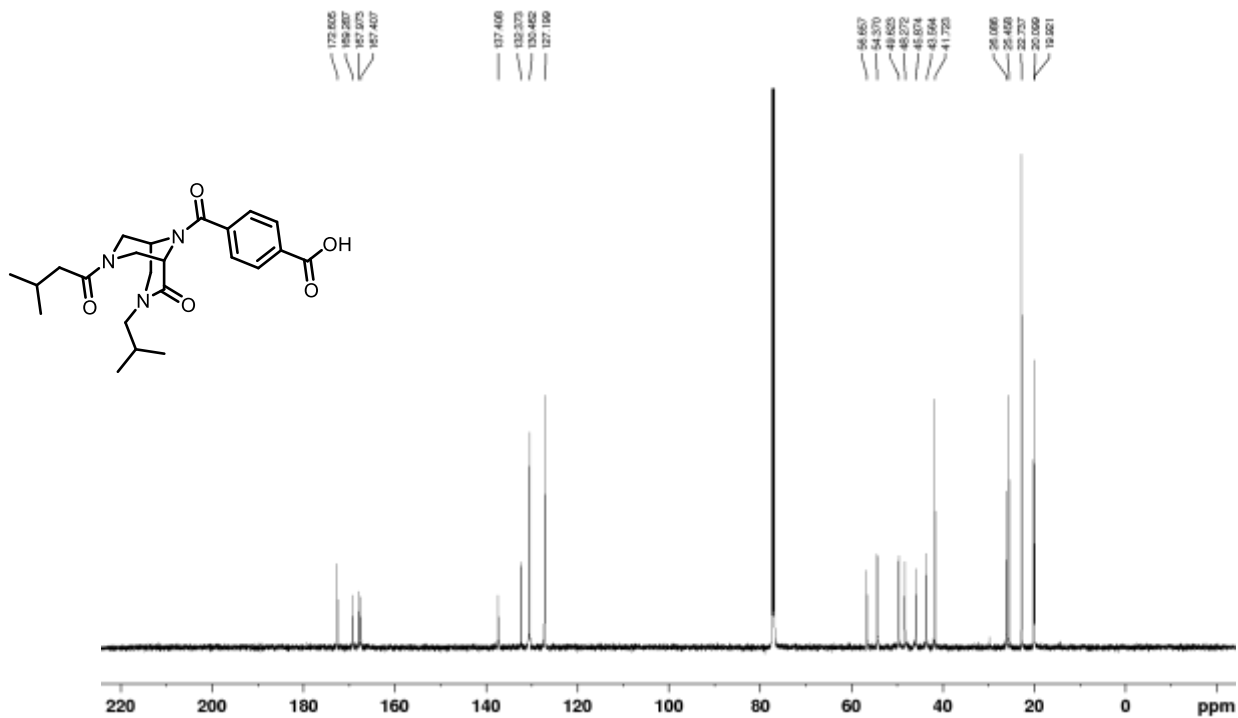
Methyl ester 10d

 ^1H NMR (500 MHz, CDCl_3) ^{13}C NMR (125 MHz, CDCl_3)

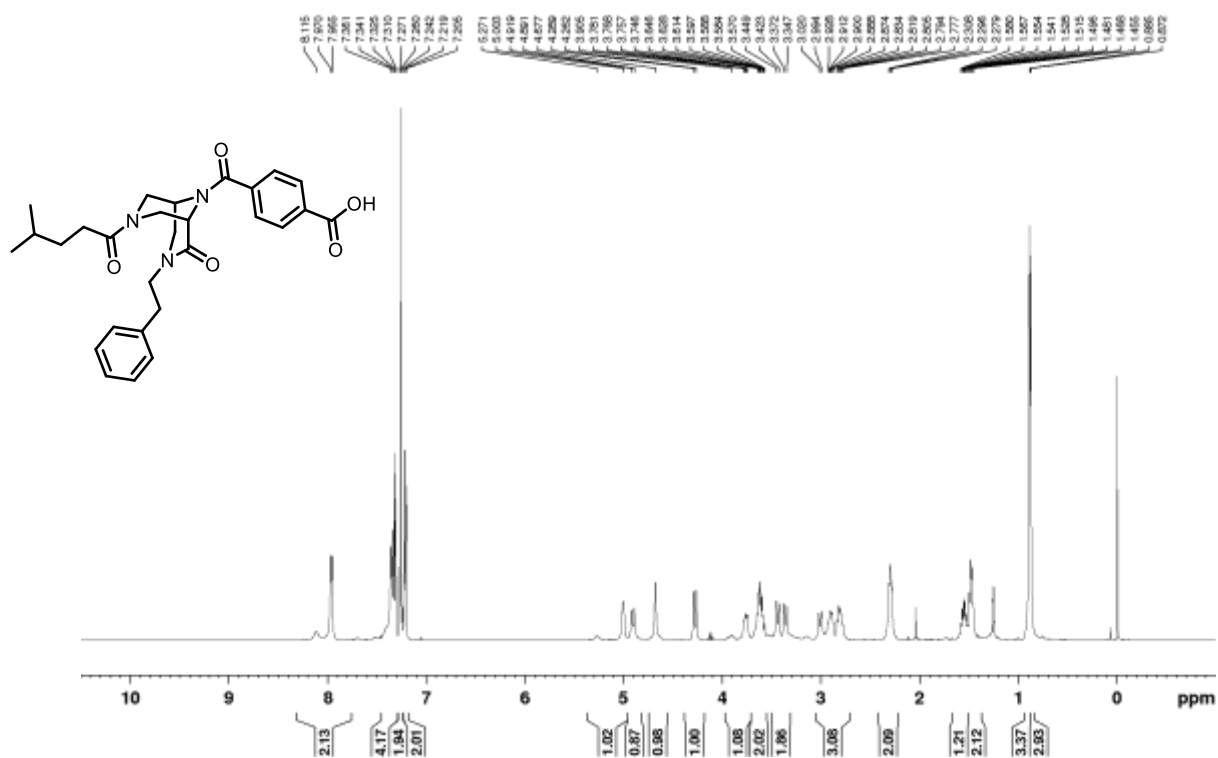
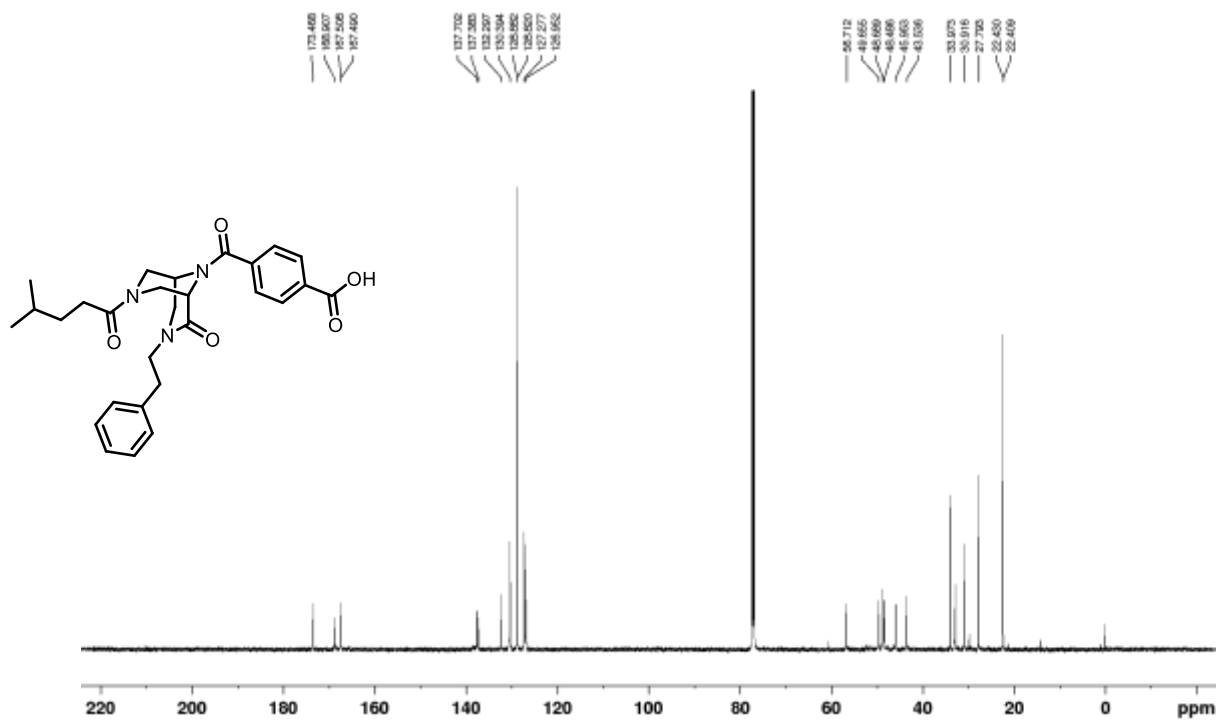
Methyl ester 10e

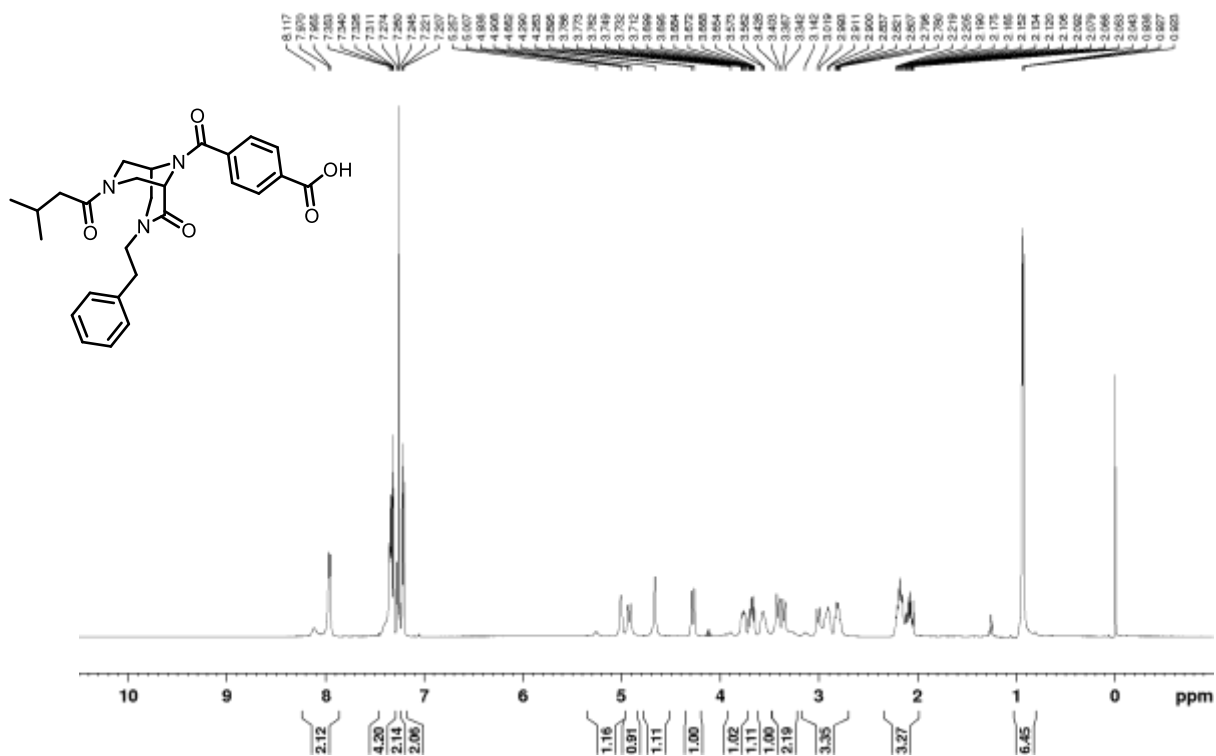
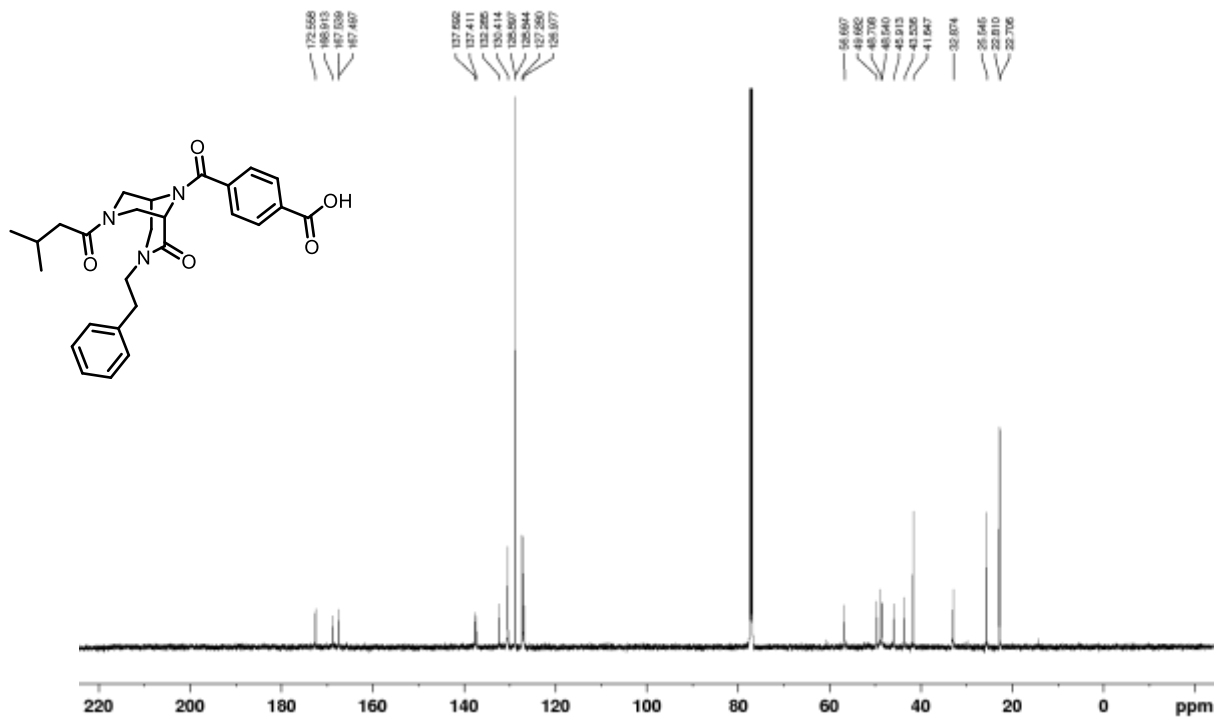
 ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) ^{13}C NMR (125 MHz, CDCl_3)

Carboxylic acid 2a

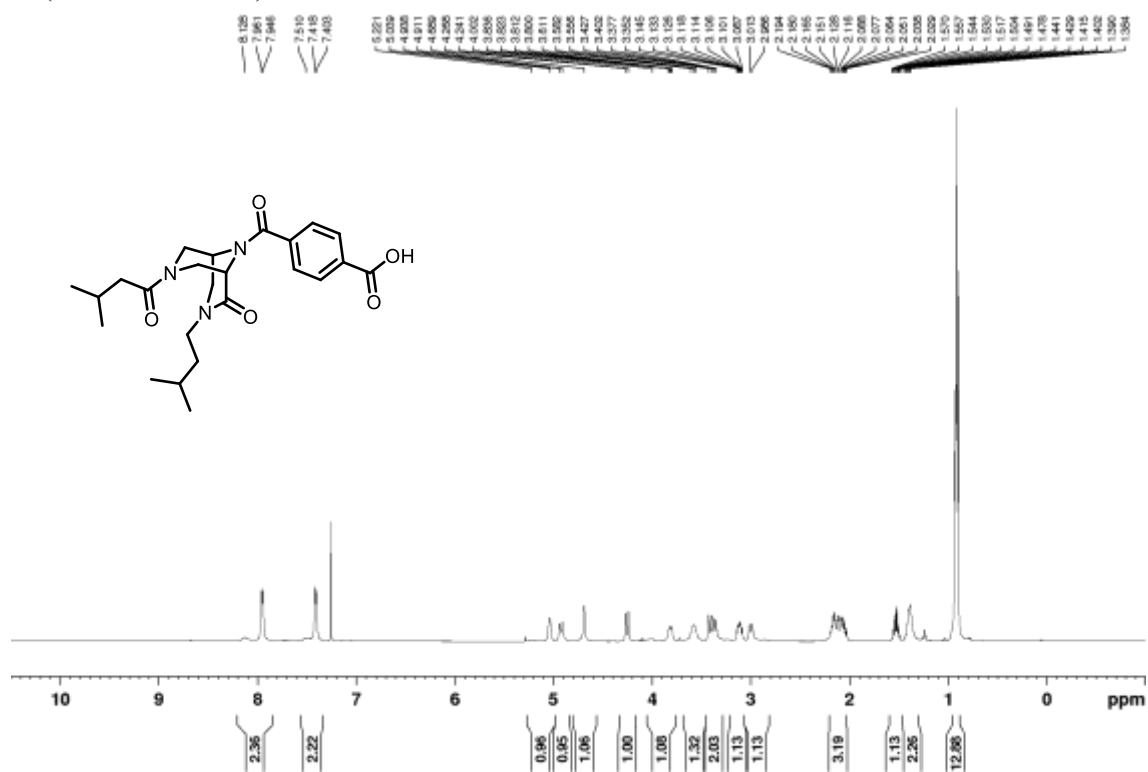
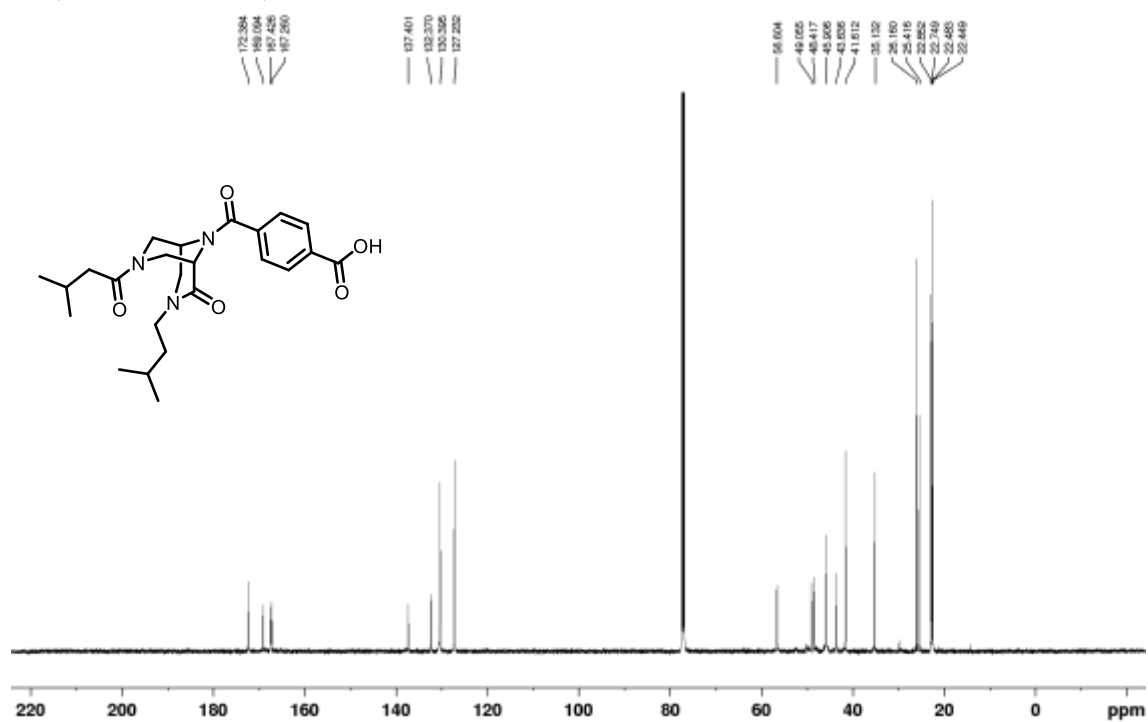
 ^1H NMR (500 MHz, CDCl_3) ^{13}C NMR (125 MHz, CDCl_3)

Carboxylic acid 2b

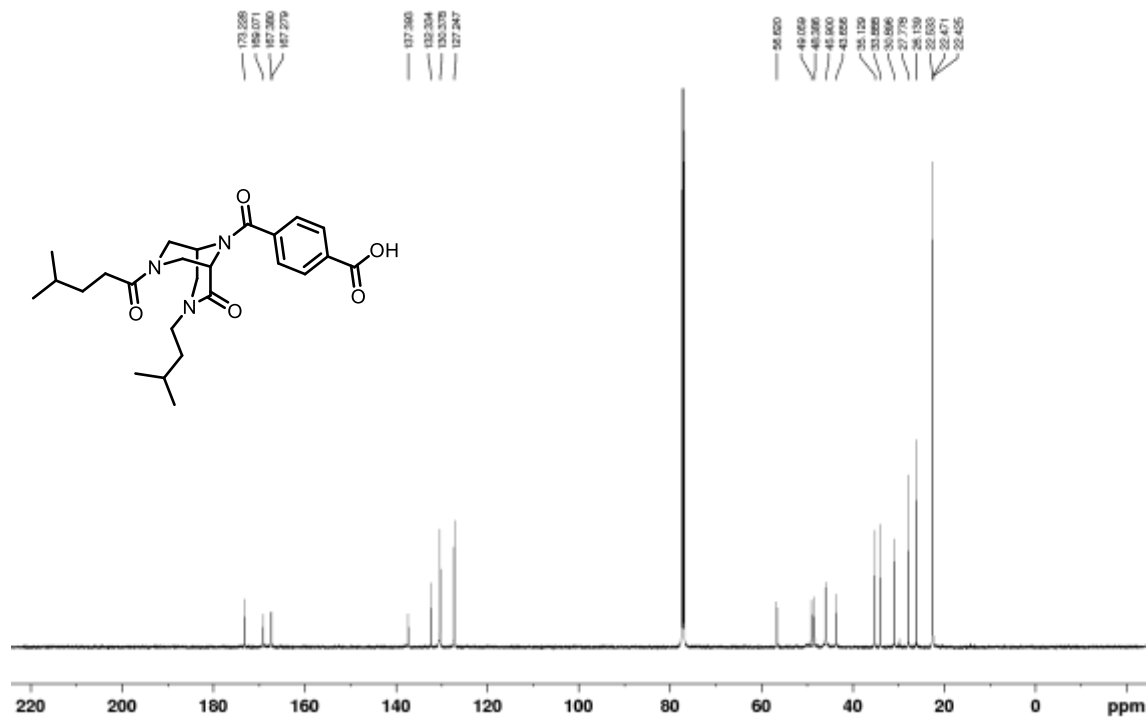
 ^1H NMR (500 MHz, CDCl_3) ^{13}C NMR (125 MHz, CDCl_3)

Carboxylic acid **2c** ^1H NMR (500 MHz, CDCl_3) ^{13}C NMR (125 MHz, CDCl_3)

Carboxylic acid 2d

 ^1H NMR (500 MHz, CDCl_3) ^{13}C NMR (125 MHz, CDCl_3)

Carboxylic acid 2e

 ^1H NMR (500 MHz, CDCl_3) ^{13}C NMR (125 MHz, CDCl_3)

第五章

籠型骨格生成器 “DeepCubist” の開発

5-1 はじめに

有機化合物の数について考えたとき、炭素、窒素、酸素、硫黄原子を 30 以下含む分子に限っても、 10^{60} 種類以上が存在し得ると見積もられており¹、医薬品設計において考えるべきケミカルスペースは膨大である。この膨大なケミカルスペースの中から、実際の医薬品開発へと応用できる化合物を見いだすためには、合成可能と考えられる構造を網羅的に発生させたのち、特定のルールに基づいて化学構造をふるい分け、望みの特性をもつ構造を絞り込むことが必要不可欠である。Reymond らは、膨大なケミカルスペースのうち、特に環構造に着目した探索を行うことで活性分子を創出している (Figure 5-1)²。まず、合成可能と考えられる環状分子を得るため、一分子中に含まれる環構造の数や原子数に制限をかけて環構造を発生させた。続いて、得られたデータベースの中から、不飽和結合をもたない、五員環で構築されるなどの条件で環構造の絞り込みを行った。その結果、天然物には含まれることから合成可能性が高いながらも、これまで医薬品に用いられることのなかった環構造 **I** を見いだすことに成功した。そして、得られた環構造を分子設計に取り入れることで新規阻害剤 **II** の開発を達成した。

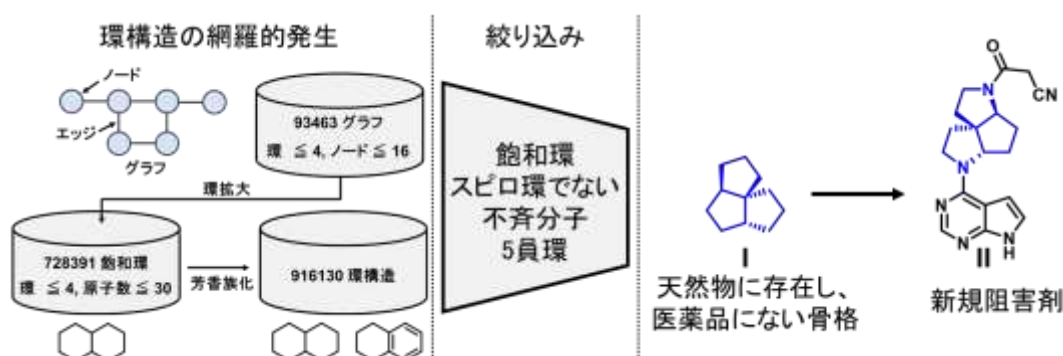


Figure 5-1. 環状構造のケミカルスペースの探索による新規阻害剤の開発

生成 AI を用いたケミカルスペースの探索も注目を集める³。文字列を扱う生成 AI は、特定の入力に対して出力すべき文字や単語の並びの確立分布を学習することで、文章要約や翻訳などを達成する (Figure 5-2A)。化学構造の表記方法として、図式的な構造式の他に、SMILES⁴ と呼ばれる文字列を用いた手法が開発されている (Figure 5-2B)。したがって、SMILES の文字列の並びの確立分布を生成 AI が学習することで、化学構造の生成が可能になる。このとき、生物活性分子データベースに登録された化合物を学習データに用いれば、類似した化学構造の生成により、生物活性分子ケミカルスペースの探索を可能にする (Figure 5-2C)^{5,6}。

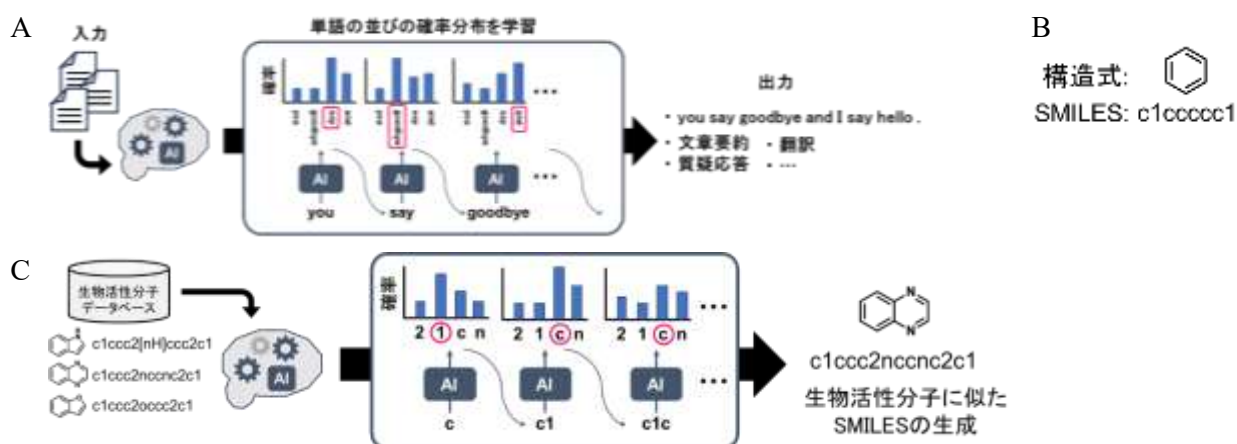


Figure 5-2. 生成 AI の学習内容の模式図と SMILES 表記を用いた化学構造生成への応用

本章においては、膨大なケミカルスペースの中から、ペプチド模倣分子の母骨格に適した籠型骨格を探索する手法の開発を目的とした。

5-2 籠型骨格生成器 “DeepCubist” の開発戦略

第二章から第四章においては、特定の骨格に着目し、その骨格のペプチド模倣分子への応用を議論してきた。この方法では、着目した骨格の構造が、標的ペプチドの側鎖の空間配置を再現するのに必ずしも適していないという課題を抱える。本章においては、ペプチド構造を鋳型として、その側鎖の空間配置を模倣するのに最も適した籠型骨格の設計を可能にするべく、籠型骨格生成器 “DeepCubist” の開発に取り組んだ。DeepCubist による籠型骨格の設計は、二つの段階で達成することを考えた (Figure 5-3)。

一段階目は、標的ペプチドの立体構造を模倣するのに最も適した形状をもつ籠型骨格を特定することである。これを達成するために、まず、多様な形状をもつ籠型の炭素骨格を網羅的に含むデータベースを作成する。続いて、データベース中の骨格と標的ペプチドの構造を重ね合わせることで、最も重なるの良い骨格の形状を特定する。

二段階目は、一段階目に特定された形状をもつ炭素骨格に対し、ヘテロ原子や不飽和結合を導入することである。炭素骨格のままでは、その逆合成解析を行い、実際の合成検討を行うのは困難である。そこで、生成 AI を用いてヘテロ原子や不飽和結合を導入した構造を出力することで、逆合成解析の起点となる化合物を得ることを考えた。

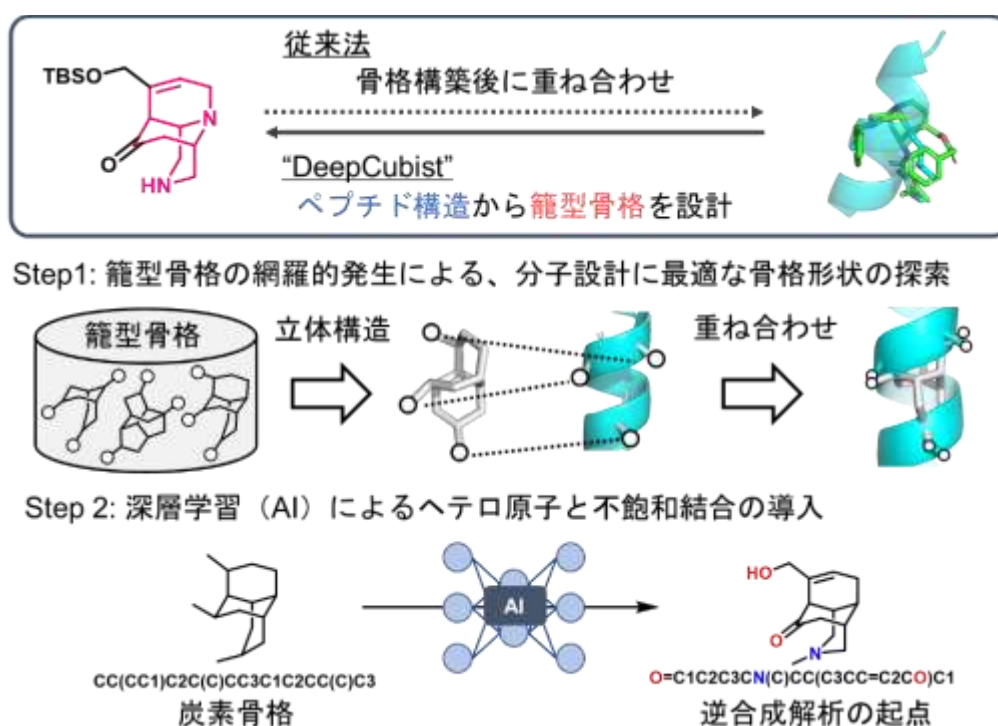


Figure 5-3. 型骨格生成器 “DeepCubist” の開発戦略

5-3 籠型骨格データベースの作成

“DeepCubist”の開発戦略に従い、籠型骨格のデータベースの作成に取り組んだ。データベースの作成にあたり、合成可能な範囲に含まれるケミカルスペースを探索するため、籠型骨格を「五員環あるいは六員環で構成される架橋三環性骨格及び、架橋四環性骨格」と定義した。これは、五員環、六員環構造の環ひずみが比較的小さく^a、熱力学的に安定であり、合成可能性が高いと考えたためである。そして、三環性・四環性骨格とすることで、二環性骨格よりも多様な骨格構造を探索できると考えた。定義に従い、まず、五員環あるいは六員環で構成される縮環型と架橋型の二環性骨格を列挙すると、六つの構造 (1-6) が得られた (Figure 5-4)。

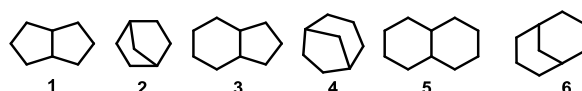


Figure 5-4. 五員環、六員環で構成される二環性骨格

続いて、それぞれの二環性骨格に、炭素数 m の直鎖構造を一つ付加することで三環性骨格を構築し、得られた三環性骨格に対してさらに炭素数 n の直鎖構造を付加することで、四環性骨格を構築することを考えた (Figure 5-5)。このとき、一分子に含まれる炭素の数は 10 個から 14 個までとした (任意に定義し得る)。一分子に含まれる炭素の数が固定されることから、各二環性骨格に導入する直鎖構造の炭素原子の数の組み合わせ (m, n) が決定される。一例として、炭素原子数 8 の架橋二環性骨格 1 から、炭素原子数 10 の籠型骨格を構築するとき、直鎖構造の炭素数の組み合わせ (m, n) は $\{(2,0), (1,1)\}$ の二通り考えられる。このように、各二環性骨格から炭素原子数 10 から 14 の籠型骨格を構築するときにおいて、(m, n) の組み合わせを全て試行することで、三環性、四環性構造を網羅的に発生させた。このことに加え、直鎖構造を導入する頂点を選択するとき、頂点 (0,1)、頂点 (0,2)、 \dots 、頂点 (1,2)、 \dots 、と頂点の組み合わせの順列を作成することでも、網羅的な構造発生を可能にした。

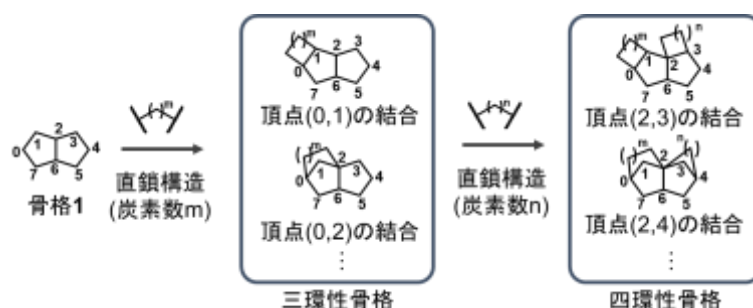


Figure 5-5. 三環性、四環性構造の網羅的な構築

次に、網羅的に発生させた環構造のうち、① 五員環と六員環のみで構築されている、② 架橋構造をもっている、③ 立体配座の発生^bにおけるエネルギー値が 100 kcal/mol 以下である条件でフィルタリングすることにより、望みの籠型骨格を 405 構造得た (Figure 5-6,S2)。このとき、鏡像異性体同士の構造は区別せずに、同一のものとして考えた。

^aシクロアルカンの環ひずみは以下のように見積もられている (Table 5-A)⁷。

Table 5-A. シクロアルカンの環ひずみ

環の大きさ	環ひずみ (kcal mol ⁻¹)	環の大きさ	環ひずみ (kcal mol ⁻¹)
3	27.6	6	0.1
4	26.3	7	6.4
5	6.5	8	10

^b 立体配座の発生には、Discovery Studio の “Prepare Ligands” を用いた。



Figure 5-6. フィルタリングによる籠型骨格の取得

最後に、得られた籠型骨格に対して、三つの置換基導入を、第四級炭素を一つまで許容して導入することで、28440の籠型骨格で構成されるデータベースの作成を達成した (Figure 5-7)。このとき、鏡像異性体同士の構造は区別せずに、同一のものとして考えた。

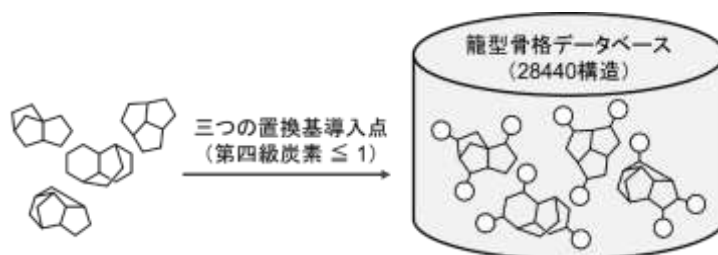


Figure 5-7. 置換基導入点の追加によるデータベース作成

5-4 籠型骨格データベースの特徴

前項で網羅的に発生させた籠型骨格群について、置換基導入点を付与していない 405 構造の各炭素数における内訳を Table 5-1 に示す。各炭素数における籠型骨格の数は、14-194 個の範囲で分布しており、炭素数が増えるほど、より多くの籠型骨格が生成されていた。そして、炭素数が 10 の骨格について、二環性骨格においては縮環骨格 5 のみであったのに比べ、データベース中には 14 個存在していた。籠型骨格を三環性・四環性骨格とすることで、より広範なケミカルスペースの探索が可能になったと考える。

Table 5-1. 籠型骨格の炭素数ごとの数

籠型骨格の炭素数	籠型骨格の数
10	14
11	22
12	53
13	122
14	194
合計	405

作成した籠型骨格データベースの三次元性について PMI プロット⁸により解析した (Figure 5-8)。解析には、置換基導入点を付与していない 405 構造を用いた。従来の低分子医薬品は、その多くが直線的・平面的な構造に偏っており、“+”で示した PMI プロットの座標の平均値は、(npr1, npr2) = (0.27, 0.84)である。それに比べて、解析に用いた籠型骨格の PMI プロットの平均値の座標は (0.47, 0.86)であった。籠型骨格は置換基構造をもたず、一概には比較できないが、従来の低分子医薬品よりも三次元性の高いことが確かめられた。発生させた籠型骨格を母骨格とした分子設計により、未開拓のケミカルスペースを探索できると考える。

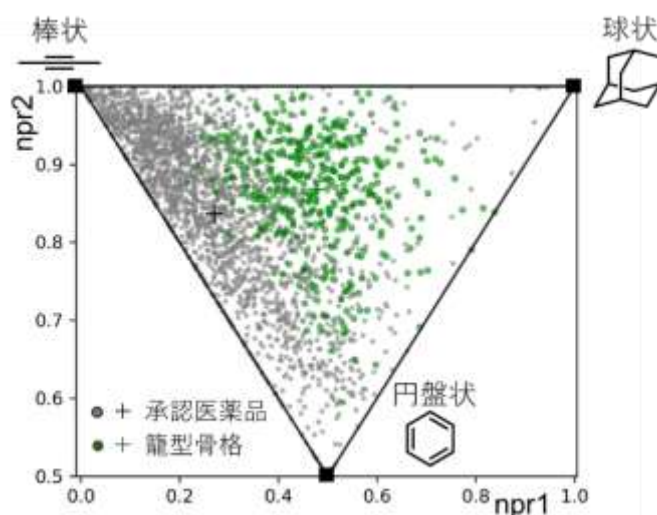


Figure 5-8. 籠型骨格の三次元性の評価

5-5 深層学習によるヘテロ原子と不飽和結合の導入

籠型骨格のデータベースを作成したことから、分子設計に最適な形状をもつ炭素骨格を特定したのちの段階として、逆合成解析の起点となる化合物へと変換する手法の開発に取り組むこととした。まず、合成可能な骨格とは、実在する化合物と同様の原子配置をもったものであると考えた。そこで、炭素骨格を入力としたとき、実在する化合物の部分構造を出力するような生成 AI を開発できれば、逆合成の起点となる化学構造が得られると考えた (Figure 5-9)。

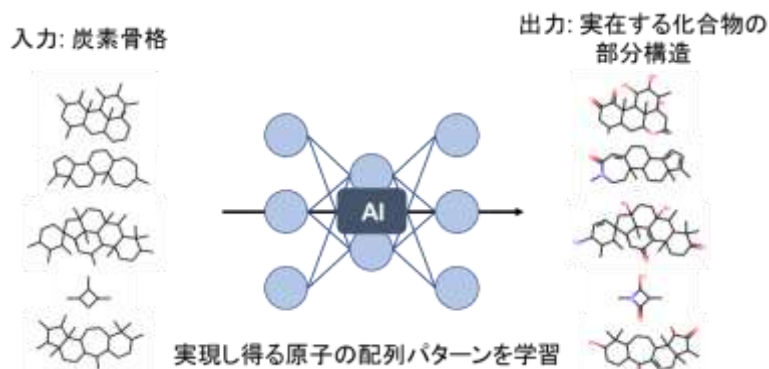


Figure 5-9. 生成 AI による炭素骨格へのヘテロ原子・不飽和結合の導入

5-5-1 学習データセットの作成

ヘテロ原子・不飽和結合導入モデルの開発に向け、学習に用いる入力構造と出力構造のデータセットの作成に取り組んだ (Figure 5-10)。まず、学習データに用いる化学構造として、生物活性分子のデータベースである ChEMBL⁹ と天然物化合物のデータベースである COCONUT¹⁰ に登録されている化合物を用いることで、活性分子のケミカルスペースの探索が可能になると考えた。そして、生成 AI によって出力される化合物の部分構造を得るため、環構造と環構造に隣接した原子を抽出した。このとき、環構造に含まれない原子は、置換基導入点に見立てることができると考えた。抽出した出力の構造について、ヘテロ原子を炭素原子へと、不飽和結合を単結合へと変換することで生成 AI の学習における入力構造を得た。このように入出力構造の組み合わせを作成すると、53075 の学習データセットが得られた。

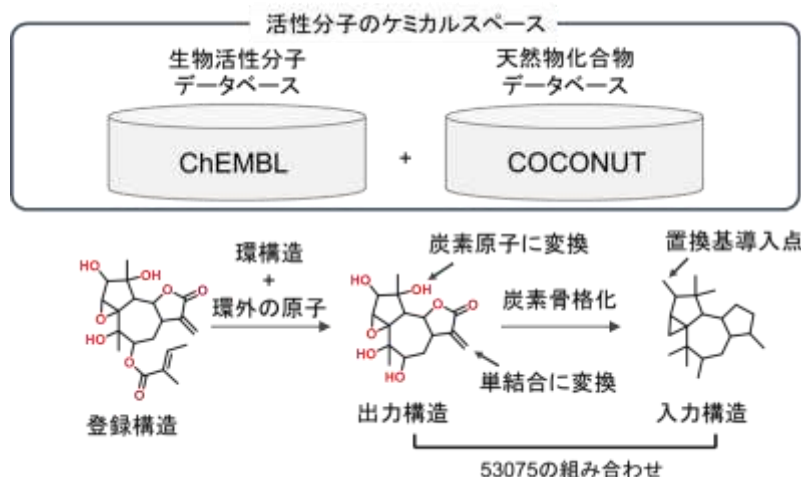
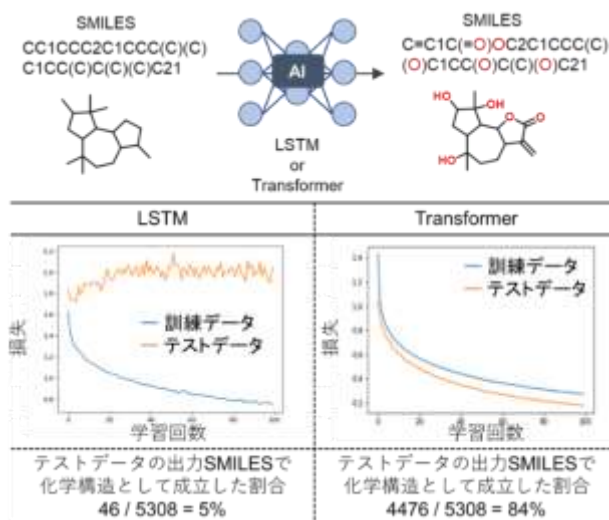


Figure 5-10. 生成 AI の学習データセットの作成

5-5-2 生成 AI モデルの比較

作成した入出力構造のデータセットを用いて、生成 AI の学習を行うこととした。まず、文字列を生成する AI の仕組みとして LSTM (Long Short-Term Memory)¹¹ と Transformer¹² のいずれが本研究に適しているか検討した (Table 5-2)。データセットを 47767 個の訓練用データ (90%) と 5308 個のテストデータ (10%) にランダムに分割し、入出力の構造として、一組ずつの SMILES を用いて学習を行った。学習を 100 回繰り返したのち、テストデータの 5308 構造を入力に用いると、化学構造として成立した出力は LSTM においては 5% にあたる 46 構造のみであった。これに対し、Transformer では 84% にあたる 4476 個の化学構造が出力された。Transformer は、入力と出力の対応関係を効率よく学習する “Attention” と呼ばれる仕組みをもち、SMILES 記法を用いた分子構造の生成においても有利に働くことが報告されている¹³。化学構造の生成効率の高い Transformer を用いて今後の検討を進めることとした。

Table 5-2. 生成 AI モデルである LSTM と Transformer の比較



5-5-3 Transformer を用いた学習の検討

Transformer を用いた学習方法をさらに検討するため、先に分割した 47767 の訓練用データを改めて、4777 テスト用データ (10%) と 42,990 個の訓練用データに (90%) 分割した。先と同様に、入力と出力について一組ずつの SMILES の組み合わせを用いて Transformer の学習を行った。(Figure 5-11A)。学習を 200 回まで繰り返した結果、学習回数を重ねていく過程で、テスト用のデータを用いた

ときの AI の正答率が低下していく様子が確認された (Figure 5-11B). そして、一例として炭素骨格 7 について、ヘテロ原子や不飽和結合が導入された構造を 100 個出力すると、入力と同じ構造をもっていたものは 9 個のみであった (Figure 5-11C). 残りの 91 個は、炭素骨格 7 にはない架橋構造が導入されたもの、炭素骨格 7 の七員環構造が八員環構造に拡大したもの、炭素骨格 7 の五員環構造が四員環構造に縮小したものが確認された. このことから、入出力構造として一組ずつの SMILES を用いた学習では、入力構造を保持したままの変換に課題があることが明らかとなった.

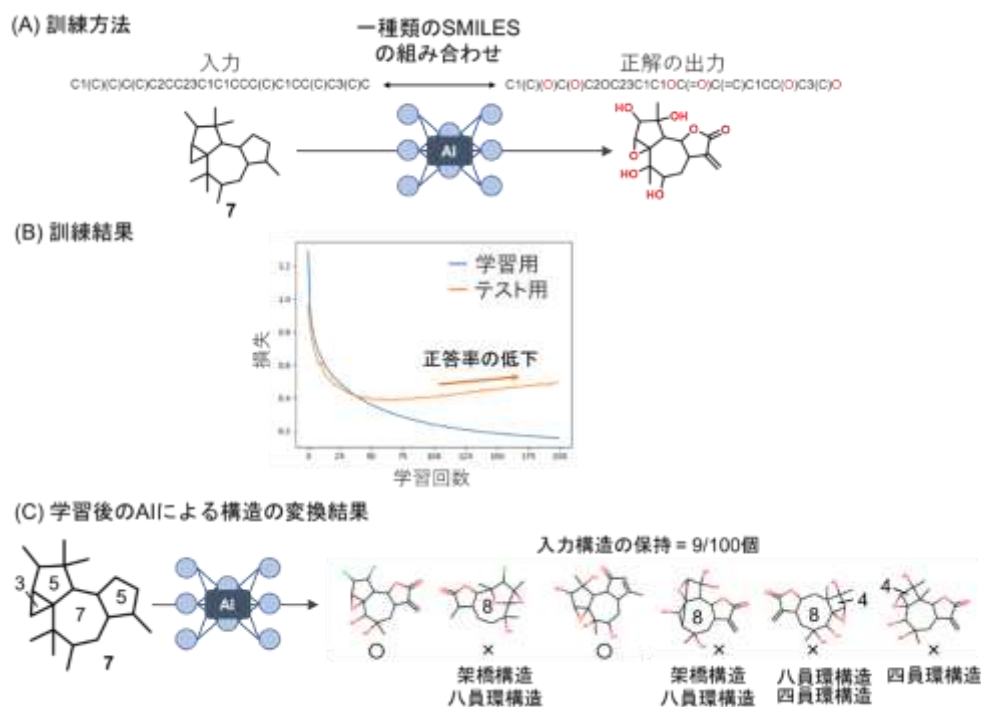


Figure 5-11. 入出力構造として一組ずつの SMILES を用いた学習結果

5-5-4 学習データの拡張

入力構造を保持したままのヘテロ原子・不飽和結合の導入に課題が明らかとなったことから、学習データセットの改良に取り組むこととした. SMILES を用いた構造生成器の開発において、一つの化合物を複数の SMILES で表現することで、より多くの化学構造が出力できるようになったことが報告されている¹⁴. また、Song らは、SMILES を用いた逆合成予測モデルの開発において、生成物と反応物について、それぞれ複数の SMILES で表現し、互いの文字列の編集距離が最も短くなるように組み合わせることで、学習を行うことで、予測精度が向上したことを報告した (Figure 5-12)¹⁵.

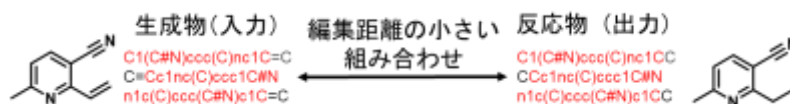


Figure 5-12. Song らによる逆合成予測モデルの学習データ

同様に、本研究のヘテロ原子・不飽和結合導入モデルの作成においても、入出力に複数種類の SMILES を互いの文字列配列が最大限に一致するように学習を行うことで、正確な変換が可能になると考え、学習データセットの作成に取り組んだ (Figure 5-13). まず、① 入出力の構造について、各原子を頭文字とした複数の SMILES を出力した. 続けて、② 出力構造の SMILES に含まれるヘテロ原子を炭素原子へと変換した. そして、③ アミノ酸や塩基配列のアライメントを行う目的で開発された Biopython¹⁶ を用いて、文字列をアライメントした. このとき、Figure 5-9 で示したように、入力 SMILES が出力 SMILES から作成された性質上、ギャップが入力 SMILES のみに見られる組み合

わせが存在し得る. この組み合わせを選択することで, ④ 入力 SMILES と出力 SMILES の文字列を最大限に一致する学習ペアを作成した.

Song らは, 複数発生させた SMILES について, その頭文字に着目した比較手法を用いており, SMILES 全体の文字列同士の比較は行っていない¹⁵. これに対し, Biopython を用いると, SMILES に含まれる各文字の一致度合いを評価することから, より編集距離が小さい入出力構造の組み合わせを見出せると考える.

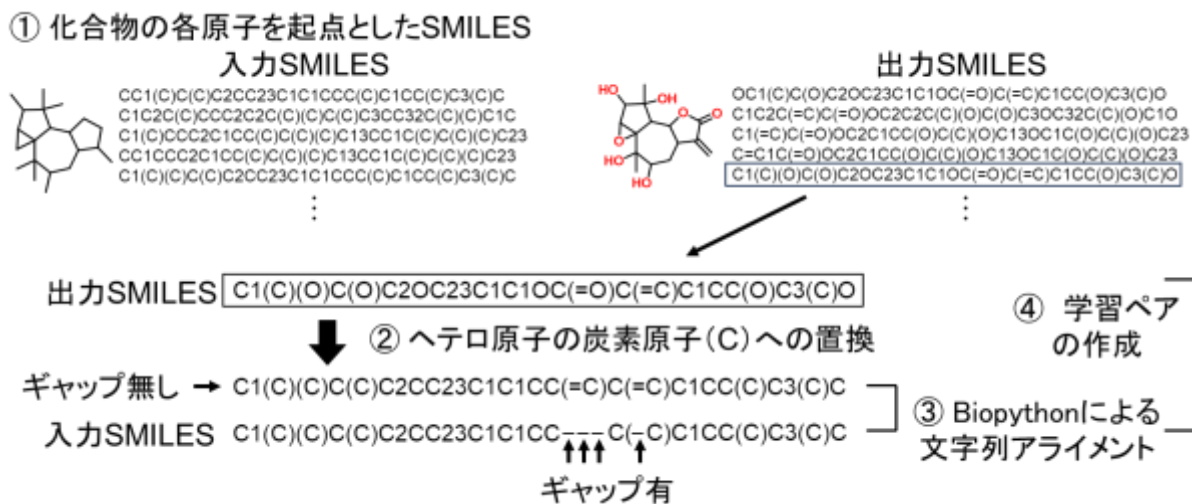


Figure 5-13. 学習データの拡張

5-5-5 拡張した学習データセットを用いた検討

拡張したデータセットを用いて, 再度学習を行った (Figure 5-14). その結果, 一組ずつの SMILES を用いた学習を行ったときと比べ, 学習回数を重ねていく過程で, 検証用のデータに対する正答率の低下が緩やかである様子が確認された. そして, 炭素骨格 7 について, 再度ヘテロ原子や飽和結合が導入された構造を AI に 100 回出力させると, そのうち 99 個が入力の炭素骨格と同じ構造をもっており, 高い確率で入力構造が保持された.

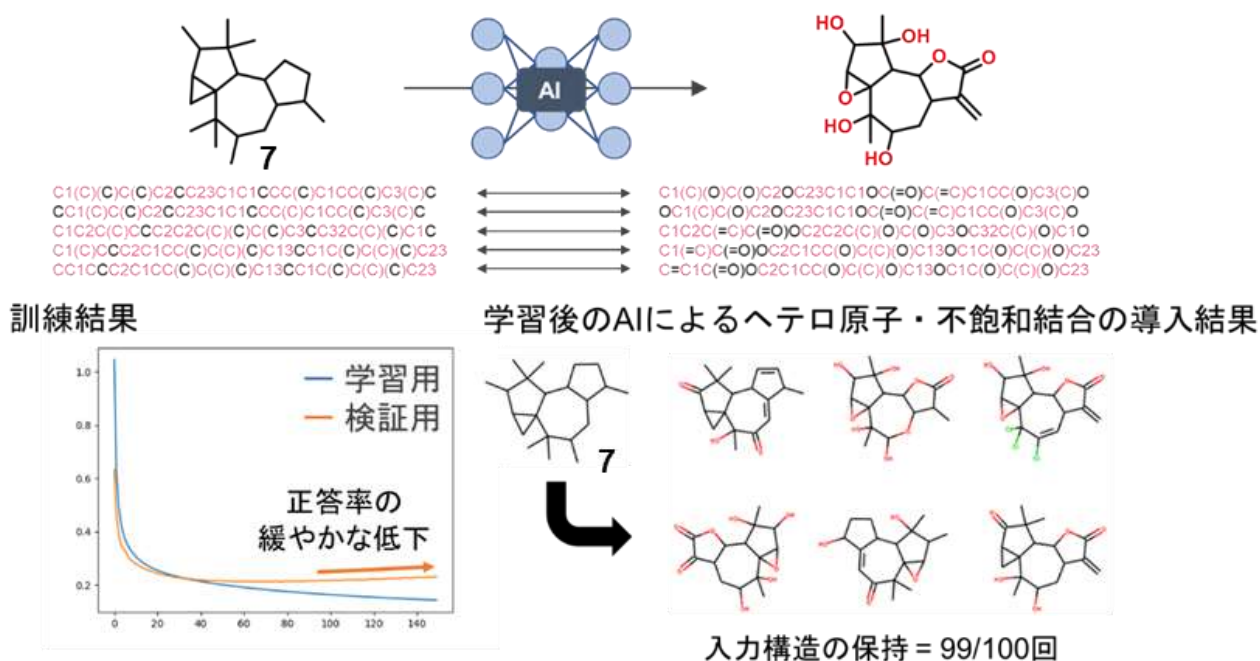


Figure 5-14. 拡張した学習データセットを用いた学習

5-5-6 籠型骨格データベースへのヘテロ原子・不飽和結合モデルの適用

テストデータに含まれた炭素骨格 7 に対して、その入力構造を保持したまま、ヘテロ原子や不飽和結合を導入できたことから、籠型骨格のデータベース中の構造に適用可能か検討した (Figure 5-15). 検討には、データベース中に含まれる籠型骨格をランダムに 100 個選択し、各々の骨格について、AI による変換を 100 回ずつ試みた. その結果、AI によって出力された文字列が化学構造として成立した出力の割合は約 94%であった. このうち、約 99%は入力構造を保持していた. このことから、開発した AI は、籠型骨格へとヘテロ原子や不飽和結合を導入するのに十分な学習を行ったと考えた. また、出力された化学構造はいずれもテストデータに含まれておらず、100%の新規性を有しており、未開拓ケミカルスペースの探索を可能にすると考えられる.

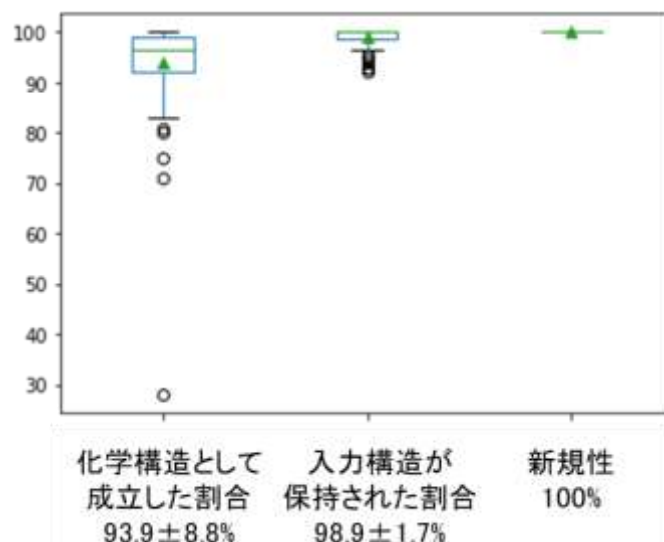


Figure 5-15. 籠型骨格に対するヘテロ原子・不飽和結合導入の評価

5-6 DeepCubist によるペプチド模倣分子の設計

DeepCubist の構成要素である籠型骨格データベースとヘテロ原子・不飽和導入モデルの開発を達成したことから、ペプチド模倣分子の設計を試みることにした. まず、標的ペプチドの側鎖の空間配置を最もよく再現する籠型骨格を特定するために、ペプチドの $C\alpha$ - $C\beta$ 結合と籠型骨格の置換基導入点を重ね合わせる (Figure 5-16). その後、開発した生成 AI を用いてヘテロ原子・不飽和結合を導入し、入力構造が保持された割合を確認する. このとき、得られた構造の合成可能性を評価するため、合成難易度を 1 (合成容易) から 10 (合成困難) で評価する SA score¹⁷ を算出することとした. 上記の手順で、ターン構造、ヘリックス構造、ループ構造の三つの異なる二次構造の模倣分子の設計することで、本手法の汎用性を検討することとした.

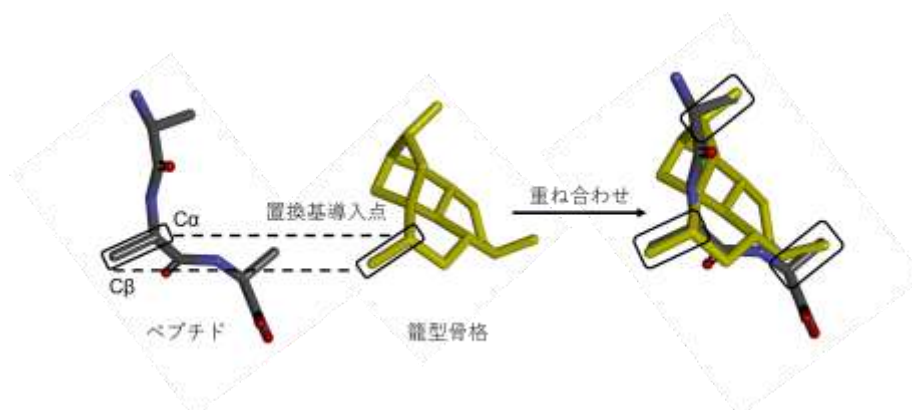


Figure 5-16. 標的ペプチドと籠型骨格の重ね合わせる位置

5-6-1 ターン構造模倣分子の設計

まず、ターン構造模倣分子の設計に取り組んだ。Glu-Asp-Leu は HIV-1 プロテアーゼ阻害剤であり、酵素の活性部位においてターン構造をとっていることが X 線結晶構造解析により明らかとなっている (PDB code 1A30)¹⁸。トリペプチドの C α -C β 結合と籠型骨格の置換基導入点を重ね合わせると、重なり具合を表す sum of standard deviations (SSD) は、0.94–26.1 Å² の範囲で分布しており、その平均値は 10.6 Å² であった (Figure 5-17)。このとき、最も良い重なり (SSD = 0.94 Å²) を示したのは骨格 8 であり、骨格 9 の重なりが最も小さかった。

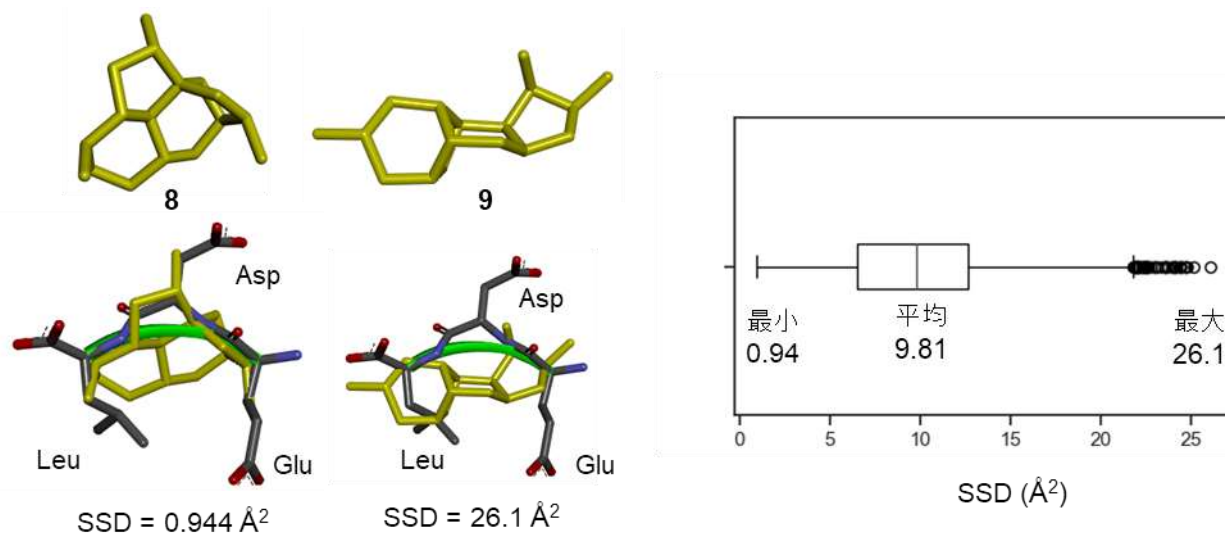


Figure 5-17. 籠型骨格とターン構造の重ね合わせ

続いて、得られた四環性骨格 8 へのヘテロ原子・不飽和結合の導入を試みた (Figure 5-18)。AI の学習のときと同様に、五種類の SMILES をランダムに選択し、100 個の構造を出力させると、個は入力構造を保持していた。出力された骨格について、合成難易度を 1 から 10 で評価する SA score を算出すると、中程度であった (6.17±0.21)。

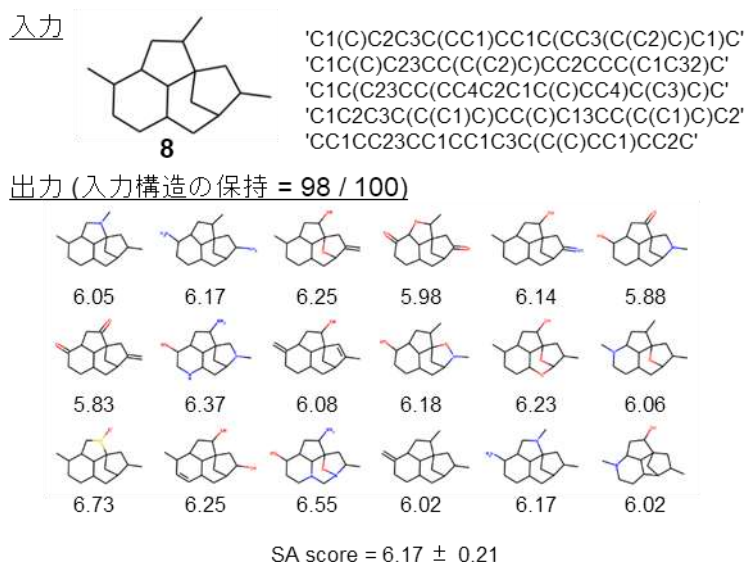


Figure 5-18. 籠型骨格 8 へのヘテロ原子・不飽和結合の導入

5-6-2 ヘリックス構造模倣分子の設計

続いて、ヘリックス構造模倣分子の設計に取り組んだ。転写因子である peroxisome proliferator-activated receptor- γ (PPAR- γ) は、steroid receptor co-activating factor-1 (SRC-1) のヘリックス構造に含まれる LxxLL 配列と相互作用することが X 線結晶構造解析 (PDB code 2PRG) により明らかとなっている¹⁹。ヘリックス構造に含まれる LxxLL 配列は、多くの PPI 作用面に見られ²⁰、それぞれの構造を精密に模倣できれば選択的な PPI 阻害剤の開発が期待できる。籠型骨格と SRC-1 ペプチドを重ね合わせた結果、四環性骨格 **10** (SSD = 1.28 Å²) が最もペプチド側鎖の空間配置を再現し得ることが明らかとなった (Figure 5-19)。そして、骨格 **11** の重なりが最も小さく (SSD = 26.1 Å²)、SSD の平均値は 10.6 Å²であった。

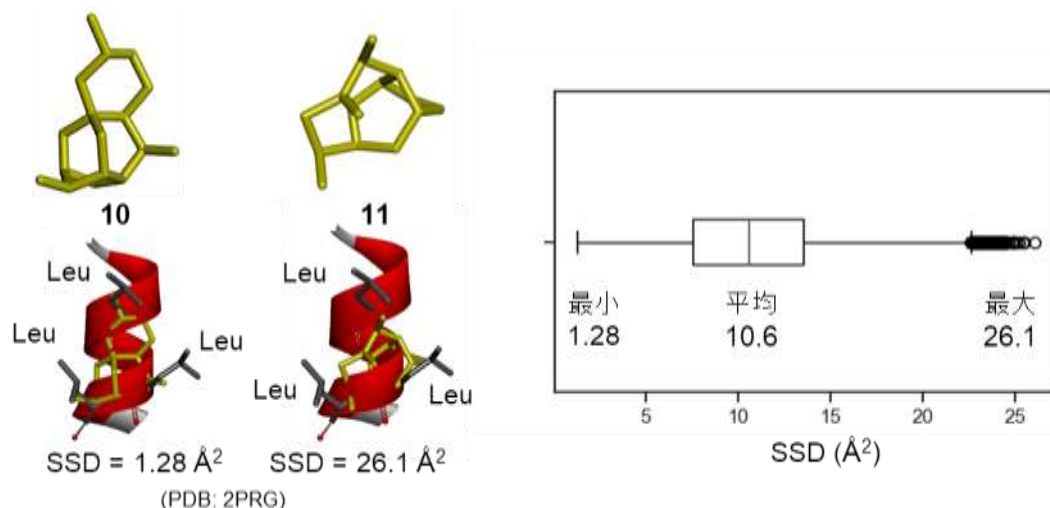


Figure 5-19. 籠型骨格とヘリックス構造の重ね合わせ

骨格 **11** への AI によるヘテロ原子・不飽和結合の導入を試みると (Figure 5-20), 出力した 100 構造のうち 98 個は入力構造を保持しており、合成難易度は中程度と算出された (SA score: 6.52±0.33).

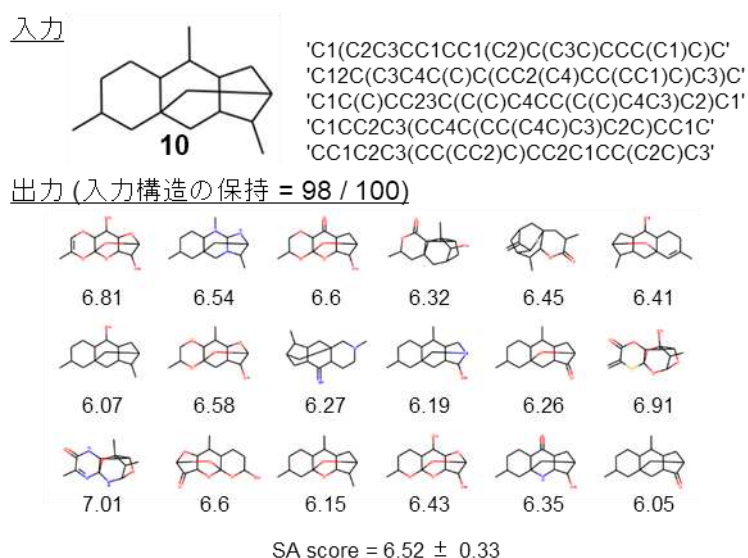


Figure 5-20. 籠型骨 **10** へのヘテロ原子・不飽和結合の導入

5-6-3 ループ構造模倣分子の設計

続いて、ループ構造模倣分子の設計に取り組んだ。転写因子である Nrf2 (nuclear factor erythroid 2-related factor) の活性化は、がんの進行や薬剤耐性の一因でありことから、Nrf2 阻害剤の開発により、がんの化学療法による治療効果の向上が期待される²¹。Keap 1 (Kelch-like-ECH-associated protein 1) とその結合を介して活性化される Nrf2 は、その相互作用面において、ループ構造をとっていることが X 線結晶構造解析 (PDB code 5WFV)²² により明らかとなっている。Nrf2 ペプチド側鎖と籠型骨格の重ね合わせを実行したところ、SSD 値の平均値は 8.50 \AA^2 であり、 $0.16\text{--}24.4 \text{ \AA}^2$ の範囲で分布していた (Figure 5-21)。そして、四環性骨格 **12** (SSD 値: 0.16 \AA^2) が最も模倣分子の設計に適していることが明らかとなった。骨格 **13** は、標的ペプチドの模倣分子の設計に最も適さないと考えられる。

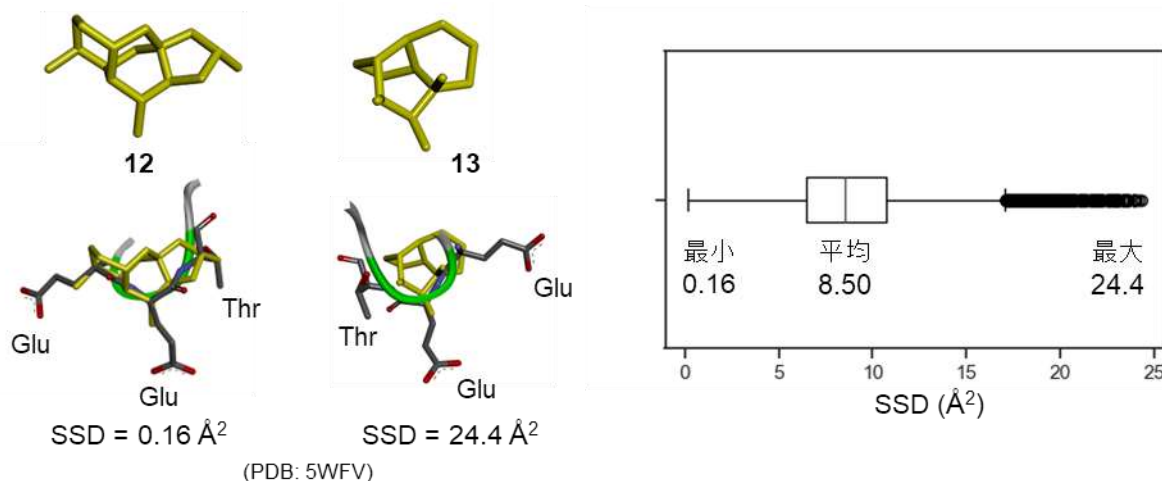
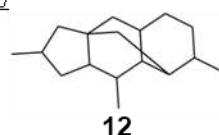


Figure 5-21. 籠型骨格とループ構造の重ね合わせ

得られた籠型骨格 **12** へのヘテロ原子・不飽和結合の導入を試みると (Figure 5-22), 出力した 100 構造のうち 85 個は入力構造を保持しており、合成難易度の平均値は中程度と算出された (SA score: 6.60 ± 0.21).

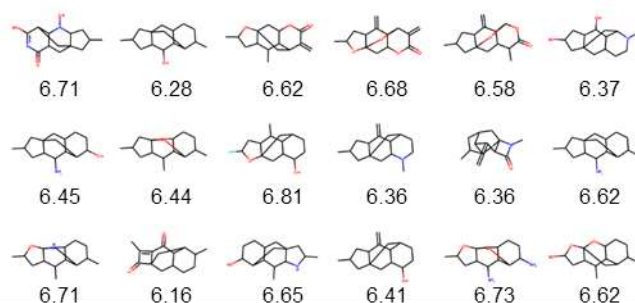
② ヘテロ原子・不飽和結合の導入

入力



```
'C1(CC23CC4CCC(C(C3)C4C(C)C2C1)C)C'
'C12C(C3CC(CG43CC1C(C)CCC2C4)C)C'
'C12C3C(CC4(C1)C(CC(C4)C)C3C)C(CC2)C'
'C1C23CC4C(C(C)C2CC(C3)C)C1CCC4C'
'C1C23CC4CCC(C1C4C(C2CC(C3)C)C)C'
```

出力 (入力構造の保持 = 85 / 100 compounds)

SA score of 100 scaffolds = 6.60 ± 0.21 Figure 5-22. 籠型骨格 **12** へのヘテロ原子・不飽和結合の導入

籠型骨格を網羅的に発生させたデータベースを作成することで、標的としたペプチド構造に合わせて、分子設計に最適な骨格形状を見いだすことができた。また、開発した生成 AI は、骨格構造に関わらず、高い確率 (85%–98%) で入力構造を保持したままのヘテロ原子・不飽和結合の導入を達成した。したがって、DeepCubist は、多様な PPI 界面を標的とした PPI 阻害剤を設計し得ると考える。

5-7 まとめ

本章においては、ペプチド模倣分子の母骨格となる籠型骨格の設計に向け、構造生成器である“DeepCubist”の開発について述べた (Figure 5-23)²³。DeepCubist は、籠型骨格を網羅的に発生させたデータベースと、炭素骨格へのヘテロ原子・不飽和結合導入モデルの二つの要素で構築した。網羅的に発生させた籠型骨格は、従来の低分子医薬品よりも三次元性が高く、未開拓のケミカルスペースが探索可能である。導入モデルの開発に当たっては、学習に用いる入力と出力の SMILES を、一つの化学構造について複数発生させ、文字列の配列が最大限に一致するように組み合わせることで効率的な学習を達成した。学習後の AI により、ペプチド模倣分子の設計を試みると、学習データに含まれていない籠型骨格に対しても、効率的なヘテロ原子・不飽和結合の導入が達成された。DeepCubist によって出力された化学構造が直ちに合成できるものとは限らないが、逆合成解析を考える起点となり、籠型骨格を母骨格としたペプチド模倣分子の設計の一助になると考える。

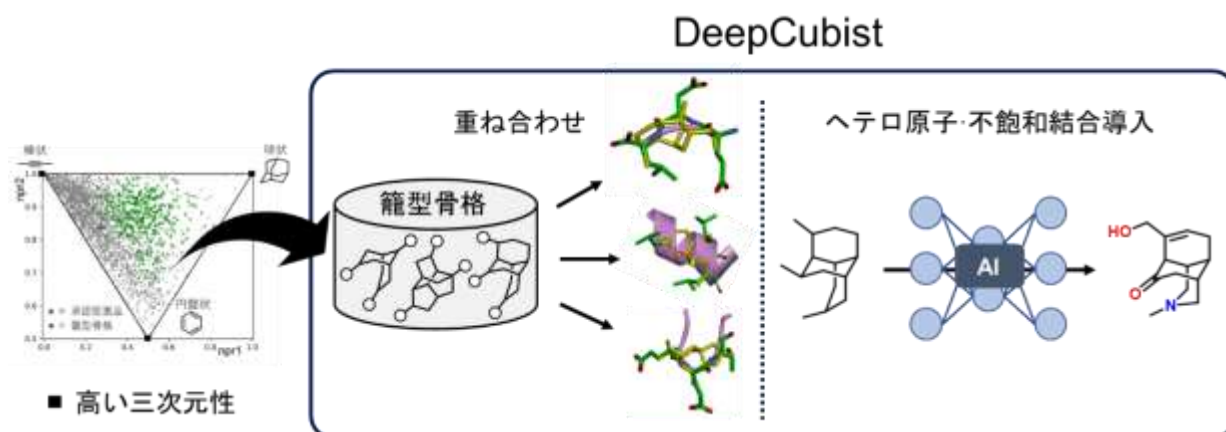


Figure 5-23. 第五章のまとめ

5-8 References

- (1) Bohacek, R. S.; McMartin, C.; Guida, W. C. The Art and Practice of Structure-Based Drug Design: A Molecular Modeling Perspective. *Med. Res. Rev.* **1996**, *16*, 3–50.
- (2) Meier, K.; Arús-Pous, J.; Reymond, J.-L. A Potent and Selective Janus Kinase Inhibitor with a Chiral 3D-Shaped Triquinazine Ring System from Chemical Space. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2021**, *60*, 2074–2077.
- (3) Elton, D. C.; Boukouvalas, Z.; Fuge, M. D.; Chung, P. W. Deep Learning for Molecular Design—a Review of the State of the Art. *Mol. Syst. Des. Eng.* **2019**, *4*, 828–849.
- (4) 齋藤康毅 「ゼロから作る Deep Learning ② —自然言語処理編」, 株式会社オライリー・ジャパン, 2018年7月, 207 ページ
- (5) Merk, D.; Friedrich, L.; Grisoni, F.; Schneider, G. De Novo Design of Bioactive Small Molecules by Artificial Intelligence. *Mol. Inform.* **2018**, *37*, 17001535.
- (6) Zheng, S.; Yan, X.; Gu, Q.; Yang, Y.; Du, Y.; Lu, Y.; Xu, J. QBMG: quasi-biogenic molecule generator with deep recurrent neural network. *J. Cheminform.* **2019**, *11*, 5.
- (7) 古賀憲司・野依良治・村橋俊一監修, 大寫幸一郎・小田嶋和徳・小松満男・戸部義人訳 「ボルハルト・シヨア—現代有機化学 第8版(上)」, 化学同人, 2011年8月, 169 ページ.
- (8) Sauer, W. H. B.; Schwarz, M. K. Molecular Shape Diversity of Combinatorial Libraries: A Prerequisite for Broad Bioactivity. *J. Chem. Inf. Comput. Sci.* **2003**, *43*, 987–1003.
- (9) Bento, A. P.; Gaulton, A.; Hersey, A.; Bellis, L. J.; Chambers, J.; Davies, M.; Krüger, F. A.; Light, Y.; Mak, L.; McGlinchey, S.; Nowotka, M.; Papadatos, G.; Santos, R.; Overington, J. P. The ChEMBL Bioactivity Database: An Update. *Nucleic Acids Res.* **2014**, *42*, D1083–D1090.
- (10) Sorokina, M.; Merseburger, P.; Rajan, K.; Yirik, M. A.; Steinbeck, C. COCONUT Online: Collection of Open Natural Products Database. *J. Cheminform.* **2021**, *13*, 1–13.
- (11) Hochreiter, S.; Schmidhuber, J. Long Short-Term Memory. *Neural Comput.* **1997**, *9*, 1735–1780.
- (12) Vaswani, A. *et al.* Attention is all you need. *Adv. Neural Inf. Process. Syst.* **2017**, *5*, 6000–6010.
- (13) Kim, H.; Na, J.; Lee, W. B. Generative Chemical Transformer: Neural Machine Learning of Molecular Geometric Structures from Chemical Language via Attention. *J. Chem. Inf. Model.* **2021**, *61*, 5804–5814.
- (14) Arús-Pous, J.; Johansson, S. V.; Prykhodko, O.; Bjerrum, E. J.; Tyrchan, C.; Reymond, J.-L.; Chen, H.; Engkvist, O. Randomized SMILES strings improve the quality of molecular generative models. *J. Cheminform.* **2019**, *11*, 71.
- (15) Zhong, Z.; Song, J.; Feng, Z.; Liu, T.; Jia, L.; Yao, S.; Wu, M.; Hou, T.; Song, M. Root-aligned SMILES: a tight representation for chemical reaction prediction. *Chem. Sci.* **2022**, *13*, 9023–9034.
- (16) Cock, P. J. A.; Antao, T.; Chang, J. T.; Chapman, B. A.; Cox, C. J.; Dalke, A.; Friedberg, I.; Hamelryck, T.; Kauff, F.; Wilczynski, B.; de Hoon, M. J. L. Biopython: Freely Available Python Tools for Computational Molecular Biology and Bioinformatics. *Bioinformatics* **2009**, *25*, 1422–1423.
- (17) Ertl, P.; Schuffenhauer, A. Estimation of synthetic accessibility score of drug-like molecules based on molecular complexity and fragment contributions. *J. Cheminform.* **2009**, *1*, 8.
- (18) Louis, J. M.; Dyda, F.; Nashed, N. T.; Kimmel, A. R.; Davies, D. R. Hydrophilic Peptides Derived from the Transframe Region of Gag-Pol Inhibit the HIV-1 Protease. *Biochemistry* **1998**, *37*, 2105–2110.
- (19) Nolte, R. T.; Wisely, G. B.; Westin, S.; Cobb, J. E.; Lambert, M. H.; Kurokawa, R.; Rosenfeld, M. G.; Willson, T. M.; Glass, C. K.; Milburn, M. V. Ligand binding and co-activator assembly of the peroxisome proliferator-activated receptor- γ . *Nature* **1998**, *395*, 137–143.
- (20) Plevin, M. J.; Mills, M. M.; Ikura, M. The LxxLL motif: a multifunctional binding sequence in transcriptional regulation. *Trends Biochem. Sci.* **2005**, *30*, 66–69.
- (21) Magesh, S.; Chen, Y.; Hu, L. Small Molecule Modulators of Keap1-Nrf2-ARE Pathway as Potential Preventive and Therapeutic Agents. *Med. Res. Rev.* **2012**, *32*, 687–726.
- (22) Zhong, M.; Lynch, A.; Muellers, S. N.; Jehle, S.; Luo, L.; Hall, D. R.; Iwase, R.; Carolan, J. P.; Egbert, M.; Wakefield, A.; Streu, K.; Harvey, C. M.; Ortet, P. C.; Kozakov, D.; Vajda, S.; Allen, K. N.; Whitty, A. Interaction Energetics and Druggability of the Protein-Protein Interaction between Kelch-like ECH-Associated Protein 1 (KEAP1) and Nuclear Factor Erythroid 2 Like 2 (Nrf2). *Biochemistry* **2020**, *59*, 563–581.
- (23) Umedera, K.; Yoshimori, A.; Chen, H.; Kouji, H.; Nakamura, H.; Bajorath, J. DeepCubist: Molecular Generator for Designing Peptidomimetics based on Complex three-dimensional scaffolds. *J. Comput. Aided Mol. Des.* **2023**, *37*, 107–115.

Experimental section

Preparation of scaffold database

Scaffold database for DeepCubist was prepared as follows.

- 1) Bridged or fused bicyclic systems consisting of 5- and/or 6-membered rings were enumerated to obtain 6 different structures.
- 2) Tricyclic ring systems were generated by adding fragments consist of m carbon atoms to every pair of the bicyclic systems. From the resulting tricyclic ring systems, fragments with n carbon atoms were further added to every atom pair of the tricyclic systems to obtain tetracyclic ring systems. Combination of (m,n) can be determined from predefined number of carbon atoms of target scaffolds, which was set between 10 and 14 for this study.
- 3) The generated tri- and tetracyclic structures were then filtered to collect scaffolds with limited strain energy. Scaffold conformers were generated using the “ligand preparation” option of Discovery Studio 2020. Conformers with a “clean energy” value of no more than 100 kcal/mol were collected to obtain 405 different 3D scaffolds with no chiral information.
- 4) Finally, combinations of three substituents were added to each filtered scaffold. While the operation, each scaffold was allowed to possess quaternary carbon at most one. case permitting the presence of at most one quaternary carbon. As a result, a total of 28,440 unique carbon atom scaffolds with no chiral information.

Preparation of source and target structures for training

Compounds were obtained from ChEMBL (version 30)¹ and COCONUT². Target (output) structures were extracted from the original compounds by removing all exocyclic atoms, except for atoms directly connected to the ring structures. The obtained target structures were then converted to Source (input) structures by replacing of all heteroatoms with carbons and conversion of all bond orders to 1. After original compounds were decomposed, target structures with no more than eight atoms in individual rings and {C, N, O, S, F, Cl, Br, I} elements were collected. A total of 53,075 pairs of targets and corresponding source structures were obtained. The above-mentioned process was conducted using RDKit³.

Transformer model architecture

Pytorch⁴ was used to construct a multi-head attention transformer model (Figure S1). Tokens of SMILES were embedded in 512 dimensions. The number of heads was set as 8. The number of sub-layers in both encoder and decoder units was set to 3. The dimensionality of the feed-forward network model was set to 512. For all remaining parameters, default settings were used as shown in Figure S1. For introduction of heteroatoms and unsaturated bonds, SMILES tokens were sampled according to the learned probability distribution.

Scripts for the calculations and the data are provided through the following link:

https://www.dropbox.com/s/4gdhew9xjit43e4/DeepCubist_Materials.zip?dl=0.

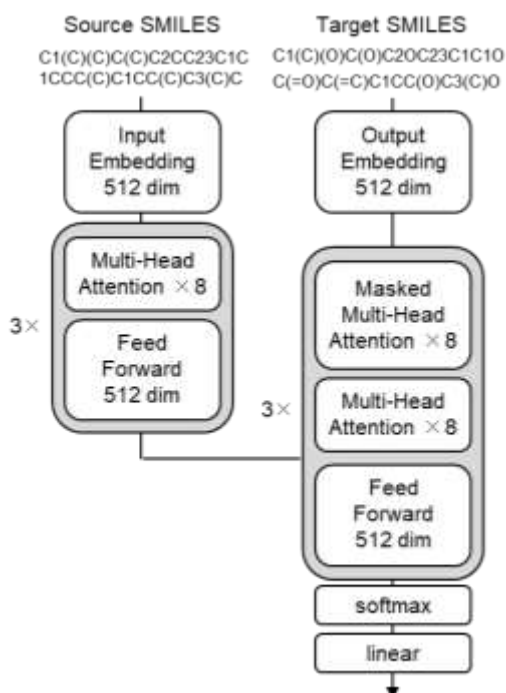


Figure S1. Architecture of Transformer model and parameter settings

Design of peptide mimetics

The $C\alpha$ - $C\beta$ bonds of the target peptide were superimposed on attachment points of bridged scaffolds stored in DeepCubist's database using the "rdAlignment.GetAlignmentTransform" module implemented in RDKit³. The scaffolds with the lowest value of a sum of squared deviations (SSD) were then used as the input structure of Transformer model to sample 100 unique structures. Those synthetic feasibility was evaluated with SA score⁵ using RDKit³.

References

- (1) Bento, A. P.; Gaulton, A.; Hersey, A.; Bellis, L. J.; Chambers, J.; Davies, M.; Krüger, F. A.; Light, Y.; Mak, L.; McGlinchey, S.; Nowotka, M.; Papadatos, G.; Santos, R.; Overington, J. P. The ChEMBL Bioactivity Database: An Update. *Nucleic Acids Res.* **2014**, *42*, D1083–D1090.
- (2) Sorokina, M.; Merseburger, P.; Rajan, K.; Yirik, M. A.; Steinbeck, C. COCONUT Online: Collection of Open Natural Products Database. *J. Cheminform.* **2021**, *13*, 1–13.
- (3) RDKit: Cheminformatics and Machine Learning Software. <http://www.rdkit.org>.
- (4) Paszke, A.; Gross, S.; Massa, F.; Lerer, A.; Bradbury, J.; Chanan, G.; Killeen, T.; Lin, Z.; Gimeshe, N.; Antiga, L.; Desmaison, A.; Köpf, A.; Yang, E.; DeVito, Z.; Raison, M.; Tejani, A.; Chilamkurthy, S.; Steiner, B.; Fang, L.; Bai, J.; Chintala, S. PyTorch: An Imperative Style, High-Performance Deep Learning Library. In *Adv. Neural Inf. Process. Syst.* 2019.
- (5) Ertl, P.; Schuffenhauer, A. Estimation of synthetic accessibility score of drug-like molecules based on molecular complexity and fragment contributions. *J. Cheminform.* **2009**, *1*, 8.

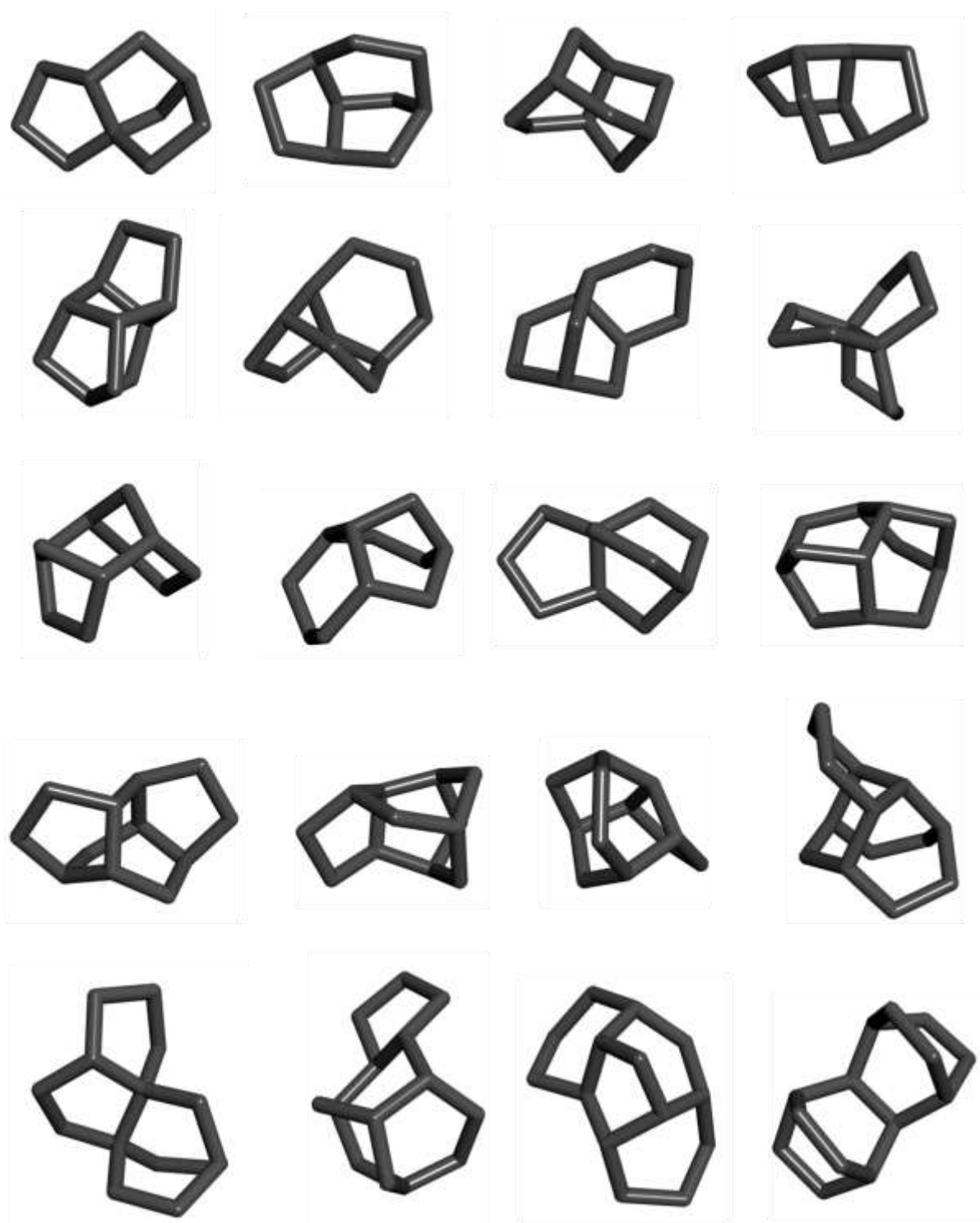


Figure S2. Example structures of bridged scaffolds

第六章

構造活性相関（SAR）転位の予測による 側鎖構造最適化の実証

本手法は、大規模な生物活性分子データベースから側鎖構造の改変系列のデータベースを作成しておくことで、阻害剤の母骨格構造や標的タンパク質に依存せず、網羅的な SAR の比較を可能にする。そして、開発早期にある阻害剤について、同様の構造活性相関を示しつつ、より多様な構造変換が施された阻害剤を探索することで、SAR 転位を予測し得る (Figure 6-3)。本章においては、SAR 転移の予測による阻害剤の側鎖構造の最適化を実証することを目的とした。

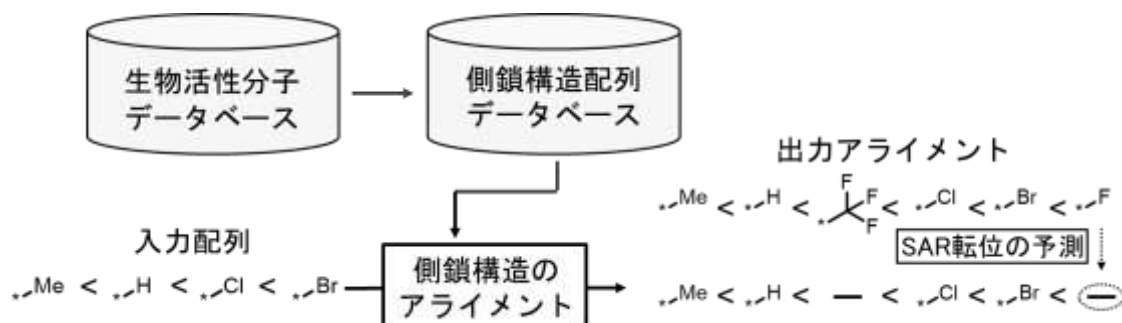


Figure 6-3. SAR 転移の予測

6-2 MMP-1 阻害剤への SAR 転位の予測

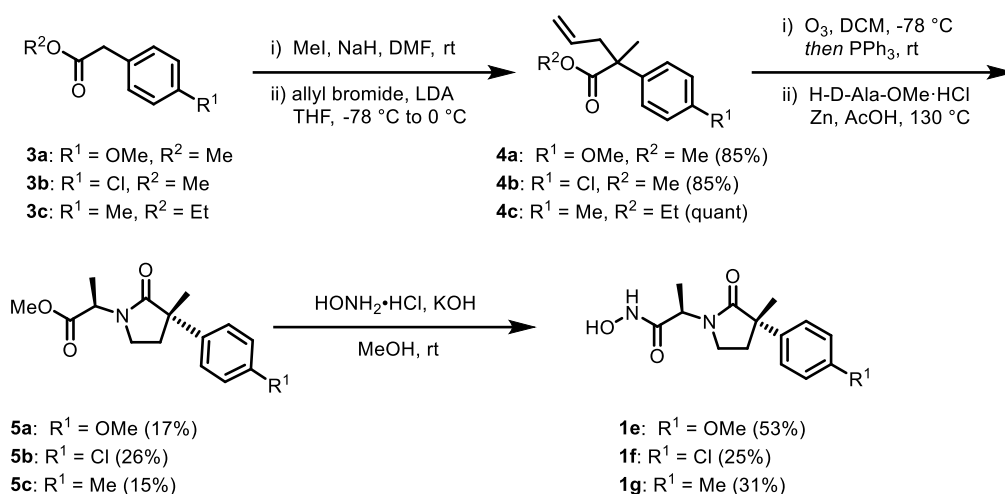
Matrix metalloprotease (MMP) は、亜鉛イオン依存性のプロテアーゼ活性をもつタンパク質ファミリーであり、コラーゲンなどの細胞外マトリックス成分を分解する役割を担う。MMP の過剰な働きは、がん細胞の浸潤や転位⁹、関節リウマチ¹⁰などの多様な疾患に関わっており、阻害剤開発が進められている¹¹。当研究グループは、MMP のサブファミリーの一つである MMP-1 の阻害剤 **1a-c**¹² に対し、側鎖構造 R をトリフルオロメチルフェニル基とした **1d**¹³ を新たに設計し、MMP-1 阻害活性の向上を達成している (Table 6-1)。

Table 6-1. MMP-1 阻害剤の構造

Compound	R	IC ₅₀ (μ M)
1a		11.5
1b		11.1
1c		1.54
1d		0.18

本章においては、阻害剤 **1a-d** の側鎖構造の改変系列への SAR 転移を可能にする阻害剤を見出すことで、さらなる活性の向上を目指した (Figure 6-4)。まず、大規模な生物活性分子のデータベースである ChEMBL¹⁴ に登録された化合物について、側鎖構造を活性値の順に配列すると、146385 種類の

⁹ 化合物 **1d** は化合物 **1c** に比べて、大幅な阻害活性に向上が見られる (IC₅₀ = 0.18 vs 1.54 μ M)。このように、部分構造の変化が大幅な活性向上をもたらす現象は activity cliff⁵ と呼ばれる。化合物 **1d** は、activity cliff を予測する SAR matrix 法を用いて設計された。詳細は参考文献 13 を参照。

Scheme 6-1. MMP-1 阻害剤候補化合物 **1e-g** の合成

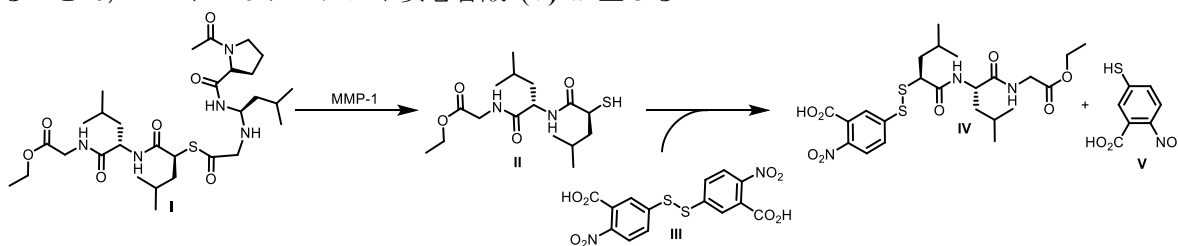
設計した新規阻害剤候補化合物の合成を達成したことから、MMP-1 のプロテアーゼ阻害活性を比色法により評価した (Table 6-2). すなわち、化合物 **1e-g** 存在下、MMP-1 の酵素反応に依存して生成する 2-ニトロ-5-メルカプト安息香酸の吸光度 ($\lambda_{\max} = 412 \text{ nm}$) を定量し^d、阻害活性を比較した. トリフルオロメチル基体 **1d** よりも活性の向上が予測された三つの化合物のうち、メトキシ基体 **1e** とメチル基体 **1g** は、予想に反して活性の低下を招いた ($\text{IC}_{50} = 0.12 \text{ vs } 0.36, 0.50 \mu\text{M}$). クロロ基を導入した化合物 **1f** は、トリフルオロメチル基体 **1d** よりも高い阻害活性を示し ($0.034 \text{ vs } 0.12 \mu\text{M}$), SAR 転位の予測による活性の向上を達成した.

Table 6-2. MMP-1 阻害活性評価

Compound	R	IC ₅₀ (μM) ^a
1d	CF ₃	0.12 ± 0.01
1e	OMe	0.36 ± 0.04
1f	Cl	0.034 ± 0.026
1g	Me	0.50 ± 0.023

^aThe compound concentration required for 50% inhibition (IC₅₀) was determined from semi-logarithmic dose-response plots, and the results represent the mean ± SD of triplicated samples.

^d MMP-1 colorimetric drug discovery kit (ENZ, BML-AK404-0001) を用いて評価した. 2-ニトロ-5-メルカプト安息香酸 (**V**) は、Figure 6-A で示した MMP-1 の酵素反応で生じる. すなわち、反応系中に存在する基質ペプチド **I** が MMP-1 により加水分解され、チオール **II** が生じる. チオール **II** がエルマン試薬 (**III**) とジスルフィド交換することで、2-ニトロ-5-メルカプト安息香酸 (**V**) が生じる.

Figure 6-A. MMP-1 の酵素反応による 2-ニトロ-5-メルカプト安息香酸 (**V**) の生成

6-4 新規 MMP-1 阻害剤の結合様式のモデリング

化合物 **1f** のみが MMP-1 阻害活性の向上を達成した理由を考察すべく、その結合様式のモデリングに取り組んだ (Figure 6-5). MMP-1 の立体構造は、リガンド **6** との共結晶として X 線結晶構造解析によって明らかとなっている (PDB code 1FBL)¹⁹. リガンド **6** は、MMP 阻害剤 **1** と同様にヒドロキサム酸であり、MMP-1 の活性中心で亜鉛イオン (Zn^{2+}) と配位している. リガンド **6** からファーマコフォアモデルを作成すると、水素結合ドナー性、負電荷帯電性、疎水性、亜鉛イオン結合性の四つの結合様式で構築された. このモデルに対し、MMP-1 阻害剤 **1** をファーマコフォアフィッティングしたのち、得られた構造のエネルギー最小化を行うことで結合モデルとした.

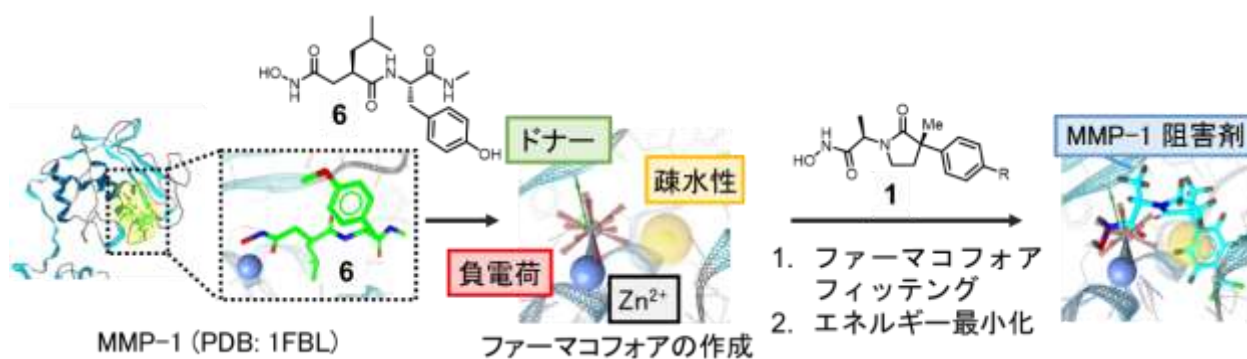


Figure 6-5. MMP-1 阻害剤の結合様式のモデリング

得られた結合モデルからファーマコフォアを作成し、結合様式を確認すると、阻害剤 **1d** と **1f** のいずれにおいてもリガンド **6** で見られた結合様式を保持することが示唆された (Figure 6-6). すなわち、① ヒドロキサム酸部位を介して、亜鉛イオンへの配位しており、② Ala181 のカルボニル基と水素結合を形成し、③ フェニル基を介して MMP-1 と疎水性相互作用していることが示された. また、④ γ -ラクタム環のカルボニル基において、Leu181 と Ala182 のアミド窒素と水素結合を形成していることも阻害剤 **1d** と **1f** で共通していた^o. 両者の異なる点として、Figure 6-6B で示したように、クロロ基をもつ阻害剤 **1f** においてのみ、⑤ Arg214 とハロゲン結合が示唆された ($N \cdots Cl$ 距離: 3.37Å, $N \cdots Cl-C$ 角: 153°). ハロゲン結合は、ハロゲン原子とルイス塩基の間で生じる非共有結合であり、リガンド分子-タンパク質間の結合力の向上に重要であることが解析されていることから^{20,21}, 阻害剤 **1f** の阻害活性が向上した一因と考えられる. そして、阻害剤 **1e** と **1g** の活性が低下したことから、Figure 6-6A においては描画されなかったものの、阻害剤 **1d** も Arg182 とハロゲン結合が形成している可能性を排除しない. したがって、Arg182 とのハロゲン結合の形成能の有無が阻害剤 **1** の MMP-1 阻害活性重要であることが示唆された.

^o Figure 5 におけるファーマコフィッティングには用いなかったが、リガンド **6** も Leu181 と水素結合を形成していることが示唆されていた.

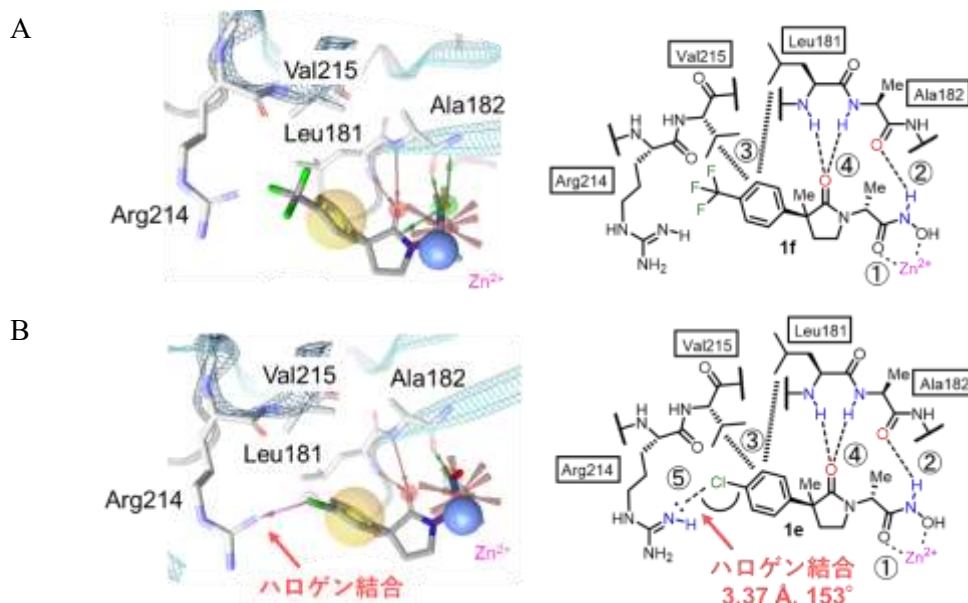


Figure 6-6. 阻害剤 **1d** と **1f** 結合様式の比較

MMP-1 阻害剤 **1** の活性の向上に、MMP-1 タンパク質の Arg214 との相互作用が重要であることは、KSP 阻害剤 **2** の結合部位を確認することでも支持される。KSP 阻害剤 **2** と KSP タンパク質の X 線結晶構造解析の報告はないものの、阻害剤 **2** の分子設計の基になった阻害剤 **7** の結合様式は明らかとなっている (PDB code 2XAE)²²。そして、阻害剤 **7** は、阻害剤 **2** の部分構造 R に対応する構造として、クロロ基をもっていることが確認できる (Figure 6-7)。このクロロ基は KSP タンパク質の Ile136, Leu160, Phe239 に取り囲まれた疎水性の高い環境となっており、ハロゲン結合が形成し得るアルギニン残基は存在していない。したがって、KSP 阻害剤 **2** はハロゲン原子の有無に依存しない SAR (KSP 阻害活性: R = CF₃ < OMe < Cl < Me) を示し、対称的に、MMP-1 阻害剤においては、ハロゲン原子の存在に依存した SAR を示したと考える。

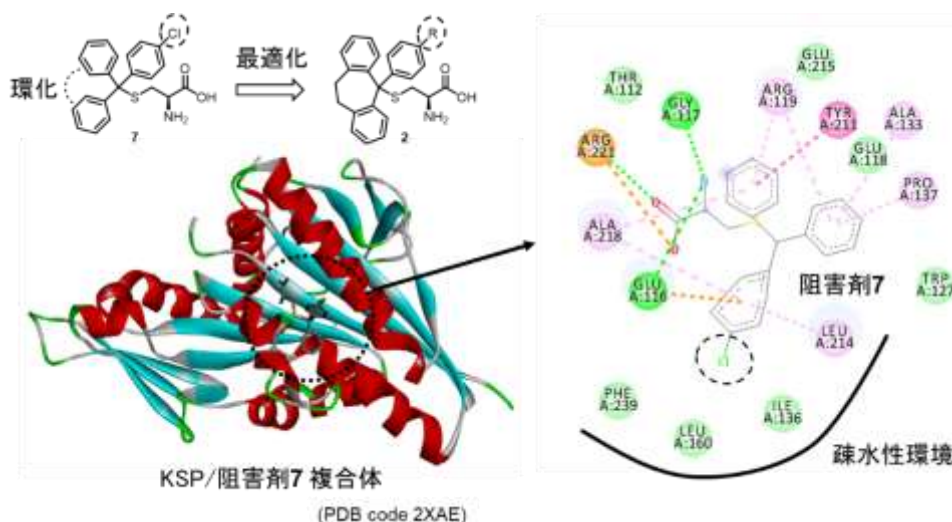


Figure 6-7. KSP 阻害剤の結合様式

上述の考察により、MMP1 阻害剤の設計において、ハロゲン結合の重要性が示唆された。ハロゲン結合の結合力は、Cl < Br < I である²¹。したがって、阻害剤 **1f** のさらなる活性の向上には、クロロ基をブロモ基やヨード基に変換することが考えられる。迅速な構造最適化を可能にした本手法は、新たな分子設計の指針の立案にもつながった。

6-5 まとめ

本章では、SAR 転移が可能な阻害剤の組み合わせを予測することで、迅速に側鎖構造を最適する実証研究に取り組んだ (Figure 6-8)²³. まず、モデルとした MMP-1 阻害剤について、網羅的な SAR の比較手法により、KSP 阻害剤から SAR 転移が可能であると予測した. これら阻害剤は、その母骨格構造も、標的タンパク質の機能も大きく異なっており、探索空間を限定せずに SAR の比較を行う有用性を明らかにした.

阻害剤 **1d** に比べて MMP-1 阻害活性の向上が予測された **1e-g** を評価すると、化合物 **10c** の阻害活性が実際に向上していた. このことは、部分構造の改変系列をアライメントする本手法が、SAR 転移の予測を可能にすることを実証した. タンパク質の立体構造を必要としない本手法は、側鎖構造の迅速な最適化を可能にする.

阻害剤 **1** の結合様式をモデリングすると、MMP-1 の阻害活性の向上には、Arg214 とのハロゲン結合の形成が重要であることが示唆された. これは、SAR 転移の予測の基となった KSP 阻害剤の結合様式とは異なるものであり、タンパク質の立体構造を直接に比較しない本手法で得られた知見である.

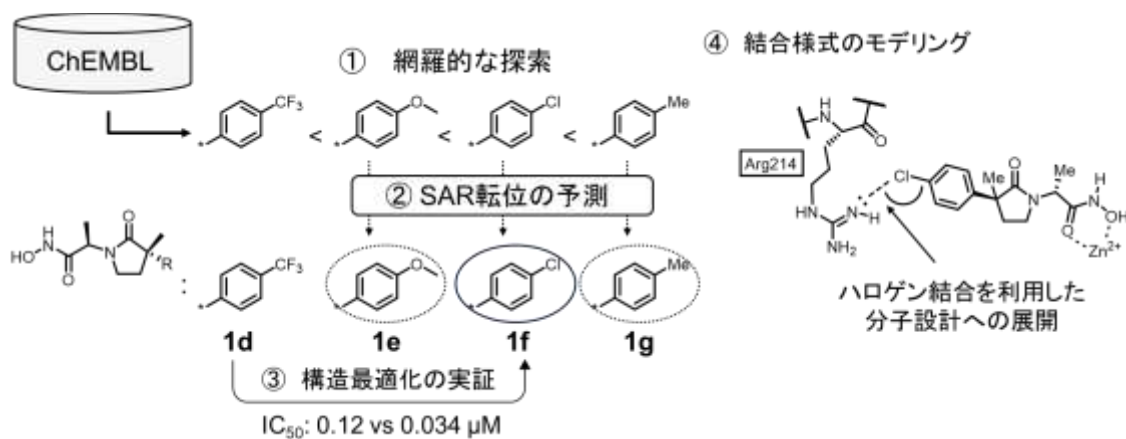


Figure 6-8. 第六章のまとめ

6-6 References

- (1) Wess, G.; Urmann, M.; Sickenberger, B. Medicinal Chemistry: Challenges and Opportunities. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2001**, *40*, 3341–3350.
- (2) Wassermann, A. M.; Bajorath, J. A Data Mining Method to Facilitate SAR Transfer. *J. Chem. Inf. Model.* **2011**, *51*, 1857–1866.
- (3) Zhang, B.; Wassermann, A. M.; Vogt, M.; Bajorath, J. Systematic Assessment of Compound Series with SAR Transfer Potential. *J. Chem. Inf. Model.* **2012**, *52*, 3138–3143.
- (4) Bonanni, D.; Lolli, M. L.; Bajorath, J. Computational Method for Structure-Based Analysis of SAR Transfer. *J. Med. Chem.* **2020**, *63*, 1388–1396.
- (5) Yoshimori, A.; Bajorath, J. Computational method for the systematic alignment of analogue series with structure-activity relationship transfer potential across different targets. *Eur. J. Med. Chem.* **2022**, *239*, 114558.
- (6) Morgan, H. L. The Generation of a Unique Machine Description for Chemical Structures - A Technique Developed at Chemical Abstracts Service. *J. Chem. Doc.* **1965**, *5*, 107–112.
- (7) Awale, M.; van Deursen, R.; Reymond, J.-L. MQN-Mapplet: Visualization of Chemical Space with Interactive Maps of DrugBank, ChEMBL, PubChem, GDB-11, and GDB-13. *J. Chem. Inf. Model.* **2013**, *53*, 509–518.
- (8) Needleman, S. B.; Wunsch, C. D. A general method applicable to the search for similarities in the amino acid sequence of two proteins. *J. Mol. Biol.* **1970**, *48*, 443–453.
- (9) Jabłońska-Trypuć, A.; Matejczyk, M.; Rosochacki, S. Matrix metalloproteinases (MMPs), the main extracellular matrix (ECM) enzymes in collagen degradation, as a target for anticancer drugs. *J. Enzyme Inhib. Med. Chem.* **2016**, *31*, 177–183.
- (10) Ishikawa, T.; Nishigaki, F.; Miyata, S.; Hirayama, Y.; Minoura, K.; Imanishi, J.; Neya, M.; Mizutani, T.; Imamura, Y.; Ohkubo, Y.; Mutoh, S. Prevention of progressive joint destruction in adjuvant induced arthritis in rats by a novel matrix metalloproteinase inhibitor, FR217840. *Eur. J. Pharmacol.* **2005**, *508*, 239–247.
- (11) Gimeno, A.; Beltrán-Debón, R.; Mulero, M.; Pujadas, G.; Garcia-Vallvé, S. Understanding the variability of the S1' pocket to improve matrix metalloproteinase inhibitor selectivity profiles. *Drug Discov. Today* **2020**, *25*, 38–57.
- (12) Duan, J. J.-W.; Chen, L.; Wasserman, Z. R.; Lu, Z.; Liu, R.-Q.; Covington, M. B.; Qian, M.; Hardman, K. D.; Magolda, R. L.; Newton, R. C.; Christ, D. D.; Wexler, R. R.; Decicco, C. P. Discovery of γ -Lactam Hydroxamic Acids as Selective Inhibitors of Tumor Necrosis Factor α Converting Enzyme: Design, Synthesis, and Structure–Activity Relationships. *J. Med. Chem.* **2002**, *45*, 4954–4957.
- (13) Asawa, Y.; Yoshimori, A.; Bajorath, J.; Nakamura, H. Prediction of an MMP-1 inhibitor activity cliff using the SAR matrix approach and its experimental validation. *Sci. Rep.* **2020**, *10*, 14710.
- (14) Bento, A. P.; Gaulton, A.; Hersey, A.; Bellis, L. J.; Chambers, J.; Davies, M.; Krüger, F. A.; Light, Y.; Mak, L.; McGlinchey, S.; Nowotka, M.; Papadatos, G.; Santos, R.; Overington, J. P. The ChEMBL Bioactivity Database: An Update. *Nucleic Acids Res.* **2014**, *42*, D1083–D1090.
- (15) Stumpfe, D.; Bajorath, J. Exploring Activity Cliffs in Medicinal Chemistry. *J. Med. Chem.* **2012**, *55*, 2932–2942.
- (16) Ogo, N.; Ishikawa, Y.; Sawada, J.-I.; Matsuno, K.; Hashimoto, A.; Asai, A. Structure-Guided Design of Novel L-Cysteine Derivatives as Potent KSP Inhibitors. *ACS Med. Chem. Lett.* **2015**, *6*, 1004–1009.
- (17) Blangy, A.; Lane, H. A.; d'Hérin, P.; Harper, M.; Kress, M.; Nigg, E. A. Phosphorylation by p34cdc2 regulates spindle association of human Eg5, a kinesin-related motor essential for bipolar spindle formation in vivo. *Cell* **1995**, *83*, 1159–1169.
- (18) Mayer, T. U.; Kapoor, T. M.; Haggarty, S. J.; King, R. W.; Schreiber, S. L.; Mitchison, T. J. Small molecule inhibitor of mitotic spindle bipolarity identified in a phenotype-based screen. *Science* **1999**, *286*, 971–974.
- (19) Li, J.; Brick, P.; O'Hare, M. C.; Skarzynski, T.; Lloyd, L. F.; Curry, V. A.; Clark, I. M.; Bigg, H. F.; Hazleman, B. L.; Cawston, T. E. Structure of full-length porcine synovial collagenase reveals a C-terminal domain containing a calcium-linked, four-bladed β -propeller. *Structure* **1995**, *3*, 541–549.
- (20) Hardegger, L. A.; Kuhn, B.; Spinnler, B.; Anselm, L.; Ecabert, R.; Stihle, M.; Gsell, B.; Thoma, R.; Diez, J.; Benz, J.; Plancher, J.-M.; Hartmann, G.; Banner, D. W.; Haap, W.; Diederich, F. Systematic Investigation of Halogen Bonding in Protein-Ligand Interactions. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2011**, *50*, 314–318.
- (21) Wilcken, R.; Zimmermann, M. O.; Lange, A.; Joerger, A. C.; Boeckler, F. M. Principles and Applications of Halogen Bonding in Medicinal Chemistry and Chemical Biology. *J. Med. Chem.* **2013**, *56*, 1363–1388.
- (22) Kaan, H. Y. K.; Weiss, J.; Menger, D.; Ulaganathan, V.; Tkocz, K.; Laggner, C.; Popowycz, F.; Joseph, B.; Kozielski, F. Structure-Activity Relationship and Multidrug Resistance Study of New S-Triptyl-L-Cysteine Derivatives as Inhibitors of Eg5. *J. Med. Chem.* **2011**, *54*, 1576–1586.
- (23) Umedera, K.; Yoshimori, A.; Bajorath, J.; Nakamura, H. Design of MMP-1 inhibitors via SAR transfer and experimental validation. *Sci. Rep.* **2022**, *12*, 20915.

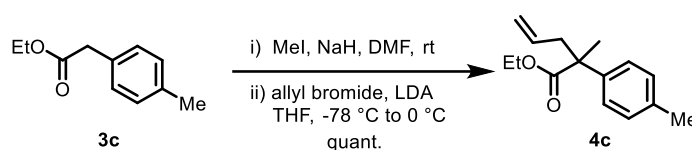
Experimental section

General

Compound **1d** was synthesized according to the previously reported procedures¹. Compounds **3a** and **3b,c** were purchased from Acros Organics and TCI Co. Ltd., respectively. The intermediates **4a** and **4b** were synthesized according to the literature procedure and the compound data were in accordance with those in the literature².

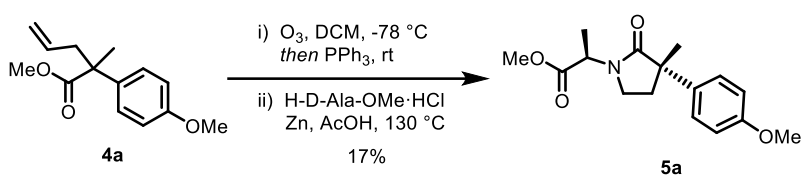
Chemistry

Synthesis of methyl 2-methyl-2-(*p*-tolyl)pent-4-enoate (**4c**)



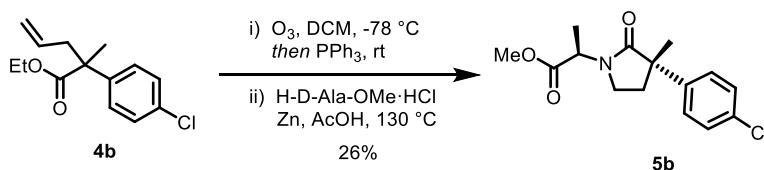
A suspension of NaH 60% dispersion in Paraffin Liquid (116 mg, 2.90 mmol) in DMF (9.0 mL) was cooled to 0 °C and ethyl *p*-tolylacetate (529 μL , 3.00 mmol) was added dropwise. After being stirred for 2 h at the same temperature under an argon atmosphere, methyl iodide (187 μL , 3.00 mmol) was added, and the reaction mixture was further stirred for 1 h at room temperature. The reaction mixture was then diluted with saturated aqueous NH_4Cl , and the aqueous layer was extracted with Et_2O for three times. The combined organic layers were washed with brine, dried over MgSO_4 , filtered, and concentrated under reduced pressure. The residue was passed through a pad of silica gel (hexane:EtOAc = 8:2) to afford crude ester (587 mg). To a solution of diisopropylamine (600 μL , 4.27 mmol) in THF (12 mL) was added 1.59 M *n*-BuLi hexane solution (2.45 mL, 3.90 mmol) dropwise at -78 °C. The reaction mixture was stirred for 30 min at 0 °C under an argon atmosphere. The crude ester (587 mg) dissolved in THF (3.0 mL) was added at -78 °C. After being stirred for 1 h at -78 °C, the reaction mixture was added allyl bromide (400 μL , 4.74 mmol) and stirred for 40 min at 0 °C. The reaction mixture was diluted with saturated aqueous NH_4Cl , and the aqueous layer was extracted with Et_2O for three times. The combined organic layers were washed with brine, dried over MgSO_4 , filtered, and concentrated under reduced pressure. The residue was purified by silica gel column chromatography (hexane 100% to hexane:EtOAc = 95:5) to afford compound **4c** (688 mg, 2.96 mmol, quant. in 2 steps) as a yellow oil. ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 7.22 (d, $J = 8.3$ Hz, 2H), 7.14 (d, $J = 8.2$ Hz, 2H), 5.69-5.59 (m, 1H), 5.10-5.04 (m, 2H), 4.14 (q, $J = 7.1$ Hz, 2H), 2.83 (dd, $J = 13.7, 7.4$ Hz, 1H), 2.65 (dd, $J = 13.7, 7.1$ Hz, 1H), 2.34 (s, 3H), 1.52 (s, 3H), 1.20 (t, $J = 7.1$ Hz, 1H); ^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3) δ 175.9, 140.7, 136.4, 134.4, 129.2, 126, 118.3, 77.5, 77.2, 76.8, 60.9, 49.6, 43.9, 22.8, 21, 14.2; IR (neat): 3076, 2979, 2937, 2870, 1727, 1514, 1456, 1375, 1229, 1143, 1096, 1020, 815, 916 cm^{-1} ; HRMS (ESI) calcd for $\text{C}_{15}\text{H}_{21}\text{O}_2^+$ $[\text{M} + \text{H}]^+$ 233.1536, found 233.1531.

Synthesis of methyl (*S*)-2-(3-(4-methoxyphenyl)-3-methyl-2-oxopyrrolidin-1-yl)acetate (**5a**)



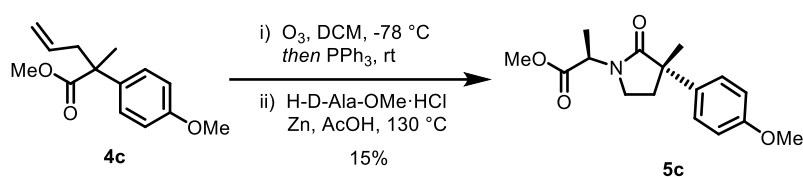
Ozone was pumped into a solution of ester **4a** (579 mg, 2.47 mmol) in CH₂Cl₂ (7.0 mL) at -78 °C. After starting material disappeared by TLC analysis, the reaction mixture was purged with argon followed by the addition of triphenylphosphine (579 mg, 2.96 mmol). After stirred for 1 h at room temperature, the mixture was concentrated under vacuum. The residue was purified silica gel column chromatography (hexane:EtOAc = 90:10 to 80:20) to afford the crude aldehyde (394 mg). To a solution of the crude aldehyde and D-alanine methyl ester hydrochloride (257 mg, 1.84 mmol) in acetic acid (8.0 mL) was added zinc powder (1.09 g, 16.7 mmol) portion-wise. The mixture was stirred for 2.5 h at 130 °C, and then cooled to room temperature. Following addition of CH₂Cl₂, the mixture was passed through a pad of Celite® and the filter cake was washed with MeOH/CH₂Cl₂. The filtrate was concentrated under reduced pressure. The residue was purified by silica gel column chromatography (hexane:EtOAc = 80:20 to 70:30) to afford slow eluting isomer **5a** (124 mg, 0.426 mmol, 17% in 2 steps) as a yellow oil. [α]_D^{28.5} + 10.2 (c 1.00 in CHCl₃); ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 7.33 (d, *J* = 8.8 Hz, 2H), 6.85 (d, *J* = 8.8 Hz, 2H), 4.96 (q, *J* = 7.4 Hz, 1H), 3.77 (s, 3H), 3.66 (s, 3H), 3.36-3.33 (m, 2H), 2.44-2.38 (m, 1H), 2.14-2.07 (m, 1H), 1.52 (s, 3H), 1.45 (d, *J* = 7.1 Hz, 3H); ¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃) δ 178.1, 171.9, 158.3, 135.7, 127.5, 113.8, 55.3, 52.3, 49.6, 48.2, 40.5, 36, 24.9, 14.8; IR (neat): 3068, 3032, 2954, 2886, 2837, 1742, 1688, 1610, 1513, 1455, 1423, 1278, 1249, 1185, 1031, 832 cm⁻¹; HRMS (ESI) calcd for C₁₆H₂₂NO₄⁺ [M + H]⁺ 292.1541, found 292.1546.

Synthesis of methyl (*S*)-2-(3-methyl-2-oxo-3-(4-chlorophenyl)pyrrolidin-1-yl)acetate (**5b**)



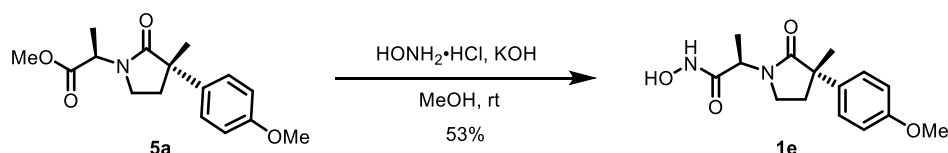
This compound was prepared from ester **4b** (541 mg, 2.27 mmol) using the procedure described above for **5a** to afford the slow eluting desired isomer **5b** (97.6 mg, 0.354 mmol, 2 steps 15%) as a yellow oil. [α]_D^{27.1} -2.9 (c 1.0 in CHCl₃); ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 7.35 (d, *J* = 8.7 Hz, 2H), 7.28 (d, *J* = 8.7 Hz, 2H), 4.94 (q, *J* = 7.4 Hz, 1H), 3.67 (s, 3H), 3.37-3.34 (m, 2H), 2.42-2.36 (m, 1H), 2.17-2.10 (m, 1H), 1.52 (s, 3H), 1.45 (d, *J* = 7.4 Hz, 3H); ¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃) δ 177.5, 171.8, 142.2, 132.6, 128.6, 127.9, 52.3, 49.7, 48.5, 40.5, 35.8, 24.8, 14.8; IR (neat): 3026, 2969, 2952, 2928, 2876, 1718, 1690, 1653, 1514, 1455, 1364, 1277, 1214, 1179, 924 cm⁻¹; HRMS (ESI) calcd for C₁₅H₁₈ClNO₃Na⁺ [M + Na]⁺ 318.0867, found 318.0876.

Synthesis of ethyl (*S*)-2-(3-methyl-2-oxo-3-(*p*-tolyl)pyrrolidin-1-yl)acetate (**5c**)

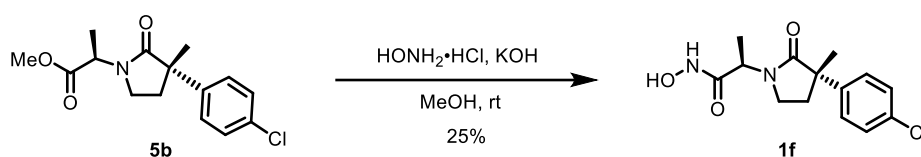


This compound was prepared from ester **4c** (539 mg, 2.32 mmol) using the procedure described above for **5a** to afford the slow eluting desired isomer **5c** (97.6 mg, 0.354 mmol, 2 steps 15%) as a yellow oil. $[\alpha]_{\text{D}}^{27.8} +3.0$ (c 0.99 in CHCl_3); $^1\text{H NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ 7.30 (d, $J = 8.2$ Hz, 2H), 7.13 (d, $J = 8.1$ Hz, 2H), 4.97 (q, $J = 7.4$ Hz, 1H), 3.67 (s, 3H), 3.37-3.33 (m, 2H), 2.46-2.40 (m, 1H), 2.31 (s, 3H), 2.16-2.10 (m, 1H), 1.54 (s, 3H), 1.45 (d, $J = 7.5$ Hz, 3H); $^{13}\text{C NMR}$ (100 MHz, CDCl_3) δ 178, 171.9, 140.7, 136.3, 129.2, 126.3, 52.3, 49.6, 48.6, 40.5, 36.1, 24.9, 21.0, 14.9; IR (neat): 3026, 2969, 2952, 2928, 2876, 1743, 1690, 1514, 1455, 1421, 1375, 1277, 1204, 1076, 818 cm^{-1} ; HRMS (ESI) calcd for $\text{C}_{16}\text{H}_{22}\text{NO}_3^+$ $[\text{M} + \text{H}]^+$ 276.1594, found 276.1598.

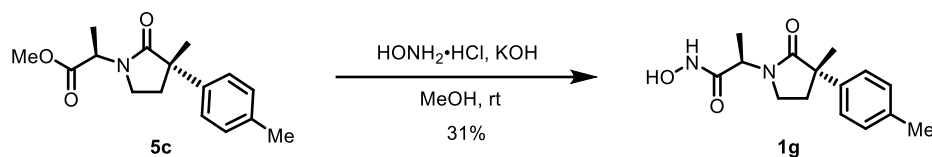
Synthesis of (*R*)-*N*-hydroxy-2-((*S*)-3-(4-methoxyphenyl)-3-methyl-2-oxopyrrolidin-1-yl)propenamide (**1e**)



Hydroxylamine hydrochloride (738 mg, 11.4 mmol) in hot methanol (3.8 mL) was added KOH (890 mg, 15.9 mmol) dissolved in MeOH (2.2 mL). The mixture was cooled to room temperature and passed through a pad of Celite® to afford 1.9 M hydroxylamine solution. To a solution of **5a** (64.9 mg, 0.219 mmol) in MeOH (500 μL) was added hydroxylamine solution (620 μL) and stirred for 1 h at room temperature under an argon atmosphere. The reaction mixture was then diluted with water and the pH was adjusted to 5–6 with 1 N HCl at 0 $^\circ\text{C}$. The aqueous layer was extracted three times with EtOAc. The combined organic layers were washed with brine, dried over MgSO_4 , filtered, and concentrated under reduced pressure. The residue was purified by preparative TLC (hexane:EtOAc = 5:95) to afford hydroxyamide **1e** (31.0 mg, 0.106 mmol, 53%) as a yellow oil. $[\alpha]_{\text{D}}^{28.4} + 44.5$ (c 0.95 in CHCl_3); $^1\text{H NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ 7.21 (d, $J = 8.8$ Hz, 2H), 6.82 (d, $J = 8.8$ Hz, 2H), 4.69 (q, $J = 7.1$ Hz, 1H), 3.74 (s, 3H), 3.42 (t, $J = 6.5$ Hz, 2H), 2.38–2.31 (m, 1H), 2.10–2.04 (m, 1H), 1.49 (s, 3H), 1.37 (d, $J = 7.0$ Hz, 3H); $^{13}\text{C NMR}$ (100 MHz, CDCl_3) δ 179, 167.8, 158.5, 135.2, 127.2, 114.1, 55.4, 48.5, 48.4, 41.2, 35.7, 24.6, 14.2; IR (neat): 3208, 3029, 2969, 2936, 1716, 1513, 1455, 1431, 1249, 1186, 1031, 833 cm^{-1} ; HRMS (ESI) calcd for $\text{C}_{15}\text{H}_{19}\text{N}_2\text{O}_4^-$ $[\text{M} - \text{H}]^-$ 291.1350, found 291.1342.

(R)-N-hydroxy-2-((S)-3-(4-chlorophenyl)-3-methyl-2-oxopyrrolidin-1-yl)propenamide (1f)

This compound was prepared from ester **5b** (64.9 mg, 0.219 mmol) using the procedure described above for **1e** to afford **1f** (16.5 mg, 0.0556 mmol, 25%) as a yellow oil. $[\alpha]_{\text{D}}^{27.9} + 56.9$ (c 0.79 in CHCl₃); ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 7.24 (s, 4H), 4.69 (q, $J = 7.04$ Hz, 1H), 3.48-3.38 (m, 2H), 2.37-2.30 (m, 1H), 2.15-2.08 (m, 1H), 1.50 (s, 3H), 1.39 (d, $J = 7.03$, 3H); ¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃) δ 178.4, 167.8, 141.7, 132.9, 128.9, 127.6, 48.8, 48.4, 41.2, 35.5, 24.6, 14.2; IR (neat): 3211, 3027, 2971, 2932, 2882, 1737, 1660, 1492, 1455, 1429, 1372, 1281, 1098, 1010 cm⁻¹; HRMS (ESI) calcd for C₁₆H₁₆N₂O₃⁻ [M - H]⁻ 295.0855, found 295.0847.

Synthesis of (R)-N-hydroxy-2-((S)-3-(p-tolyl)-3-methyl-2-oxopyrrolidin-1-yl)propenamide (1g)

This compound was prepared from ester **5c** (58.3 mg, 0.20 mmol) using the procedure described above for **1e** to afford **1g** (18.5 mg, 0.0669 mmol, 31%) as a yellow oil. $[\alpha]_{\text{D}}^{28.2} + 44.7$ (c 0.84 in CHCl₃); ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 7.18 (d, $J = 8.1$ Hz, 2H), 7.10 (d, $J = 8.0$ Hz, 2H), 4.69 (q, $J = 7.1$ Hz, 1H), 3.44-3.39 (m, 2H), 2.39-2.34 (m, 1H), 2.29 (s, 3H), 2.12-2.07 (m, 1H), 1.51 (s, 3H), 1.38 (d, $J = 7.1$ Hz, 3H); ¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃) δ 178.9, 167.8, 140.1, 136.6, 129.5, 126, 48.8, 48.4, 41.3, 35.7, 24.6, 21.0, 14.1; IR (neat): 3208, 3024, 2969, 2926, 2873, 1737, 1660, 1514, 1455, 1430, 1373, 1279, 1216, 1022, 817 cm⁻¹; HRMS (ESI) calcd for C₁₅H₁₉N₂O₃⁻ [M - H]⁻ 275.1401, found 275.1393.

Biology

MMP-1 inhibitory assay was performed using the Matrix Metalloproteinase-1 (MMP-1) colorimetric drug discovery kit (ENZ, BML-AK404-0001) according to the manufacturer's instructions. A known MMP-1 inhibitor, 2-[(2-Methylpropyl)[(4-methoxyphenyl)sulfonyl]amino]acetoxyacetic acid (NNGH), was used as a positive control of the assay. Test inhibitors (10 mM in DMSO) were diluted at desired concentration in assay buffer. NNGH was diluted at 1/200 in assay buffer. MMP substrate was diluted at 1/25 in assay buffer. MMP-1 enzyme was diluted at 1/40 in assay buffer. After appropriate amount of assay buffer was pipetted into each desired well, prepared solutions of test inhibitors (20 μ L, final concentrations: 0.014–10 μ M), NNGH (20 μ L), and MMP-1 (20 μ L) were added to appropriate wells. The microplate was incubated for 30 min at 37 °C. The 10 μ L of the prepared MMP-1 substrate solution was added into each well to allow the reaction start. The absorbance of the wells was measured at $A_{412\text{nm}}$ using a microplate reader every minute for data analysis.

Pharmacophore fitting

A pharmacophore model was constructed from the crystal structure of the compound **6**/MMP-1 complex (PDB: 1FBL) using LigandScout 4.4 (InteLigand GmbH) for prediction of the binding interaction between compounds and MMP-1. Four pharmacophore features of compound **6** were used including a hydrogen bond acceptor, hydrophobic site, negative ionizable site, and zinc binding site/location feature. The scoring function was set to 'Relative Pharmacophore-Fit'. After test compounds were fit to the compound **6** pharmacophore model, their interaction energy with MMP-1 was minimized.

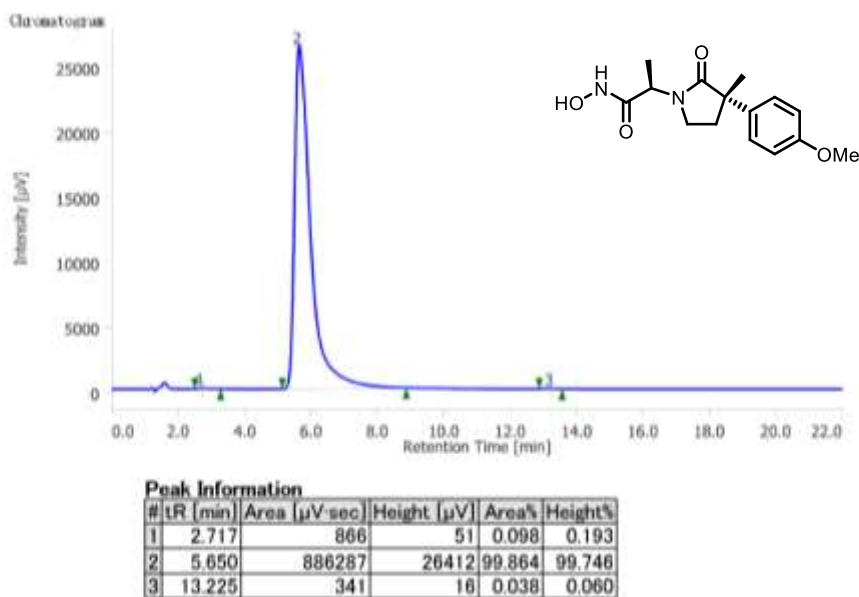
Detection of SAR transfer analogue using AS alignment

The details of the SAR transfer methodology have been published elsewhere.³ Briefly, the procedure consists of two steps of AS database construction and AS alignment. Compounds with activity data were obtained from ChEMBL⁴ (version 29). Compounds from each assay of a target protein were fragmented by cleaving exocyclic single bonds applying the Hussain and Rea algorithm⁵ implemented in RDKit⁶. The value fragments (substituents) consisted of up to 14 non-hydrogen atoms, and up to 40% of the non-hydrogen atoms of the source compound were allowed. Key (scaffold) and value (substituent) fragments were stored in an index table. All source compounds associated with the same key fragment (scaffold) form an AS with a single substitution site. ASs were generated from each assay of a target protein if they contained at least three analogues. On the basis of these selection criteria, AS dataset consisting of 146,385 ASs originated from 2,359 target proteins. AS alignment enabled systematic search calculations in the AS dataset. In order to align between target AS and query AS, AS alignment is achieved by Needleman-Wunsch dynamic programming.⁶ Alignment scores range from 0 to 1.

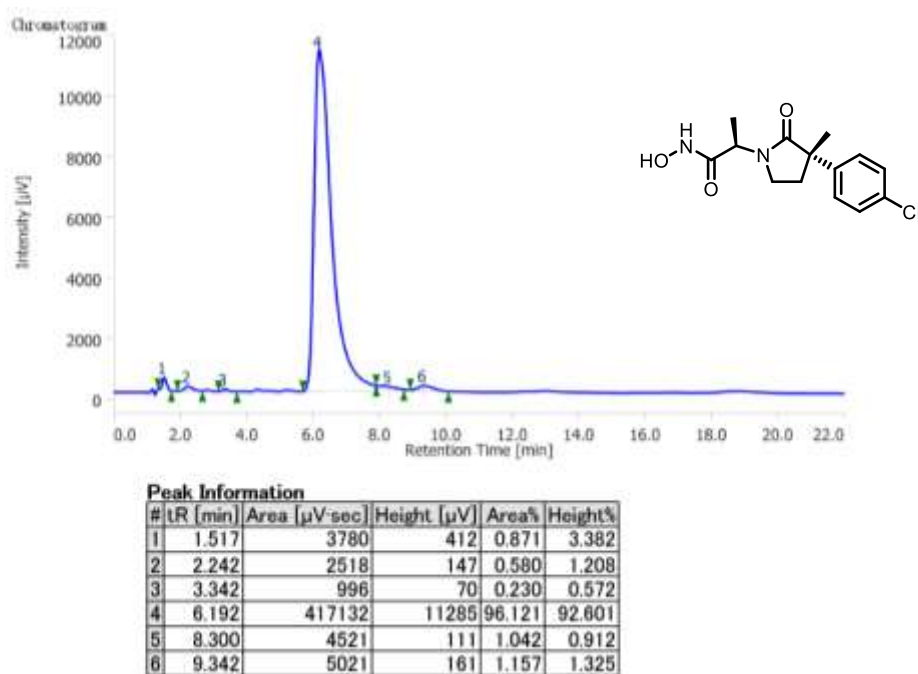
Purity analysis of tested compounds by HPLC

(R)-N-hydroxy-2-((S)-3-(4-methoxyphenyl)-3-methyl-2-oxopyrrolidin-1-yl)propenamide (1e)

GL science Inertsil ODS-3, 5 μm , 4.6 \times 75 mm (0.1% TFA in H₂O / 0.1% TFA in MeCN = 78:22, flow rate = 1.0 mL/min, 254 nm)

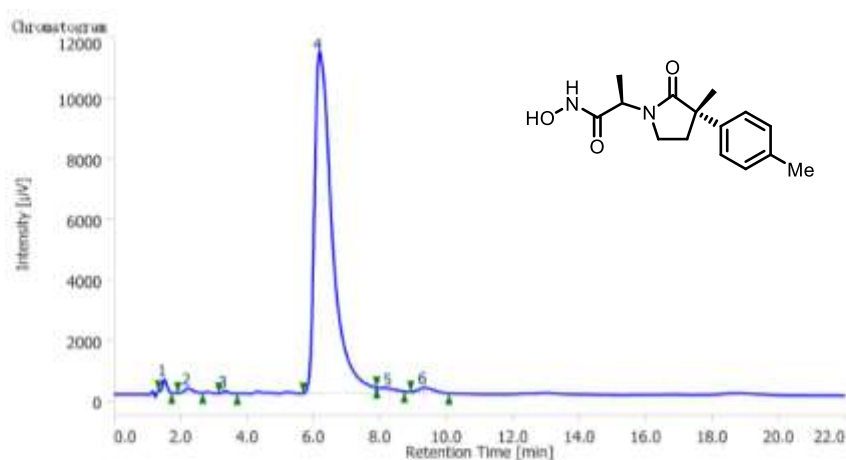
**(R)-N-hydroxy-2-((S)-3-(4-chlorophenyl)-3-methyl-2-oxopyrrolidin-1-yl)propenamide (1f)**

GL science Inertsil ODS-3, 5 μm , 4.6 \times 75 mm (0.1% TFA in H₂O / 0.1% TFA in MeCN = 73:27, flow rate = 1.0 mL/min, 254 nm)

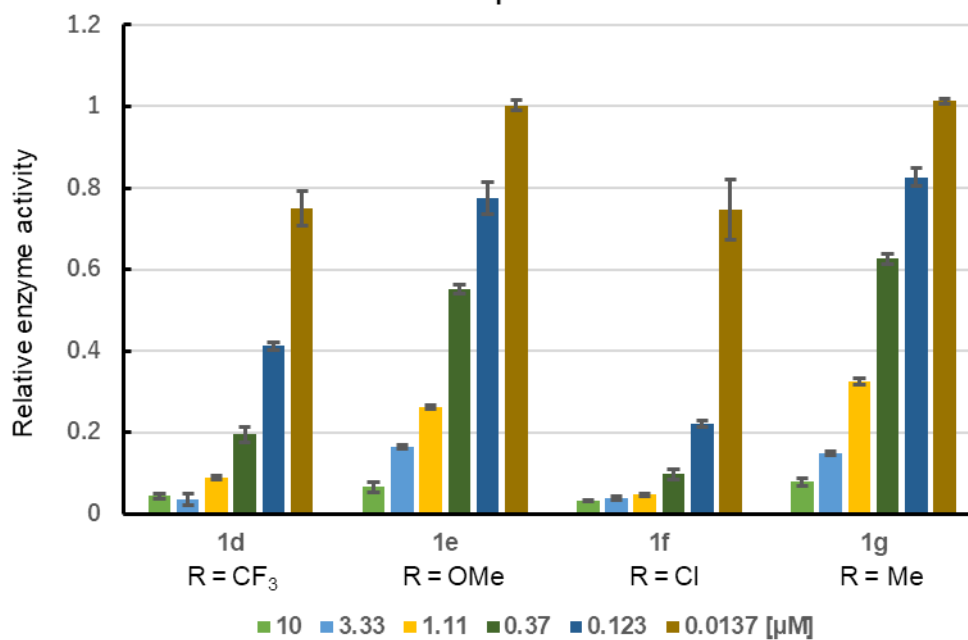
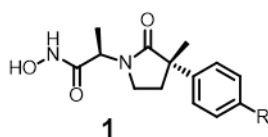


(R)-N-hydroxy-2-((S)-3-(*p*-tolyl)-3-methyl-2-oxopyrrolidin-1-yl)propanamide (1g)

GL science Inertsil ODS-3, 5 μm , 4.6 \times 75 mm (0.1% TFA in H₂O / 0.1% TFA in MeCN = 73:27, flow rate = 1.0 mL/min, 254 nm)



Peak Information					
#	tR [min]	Area [$\mu\text{V}\cdot\text{sec}$]	Height [μV]	Area%	Height%
1	1.517	3780	412	0.871	3.382
2	2.242	2518	147	0.580	1.208
3	3.342	996	70	0.230	0.572
4	6.192	417132	11285	96.121	92.601
5	8.300	4521	111	1.042	0.912
6	9.342	5021	161	1.157	1.325

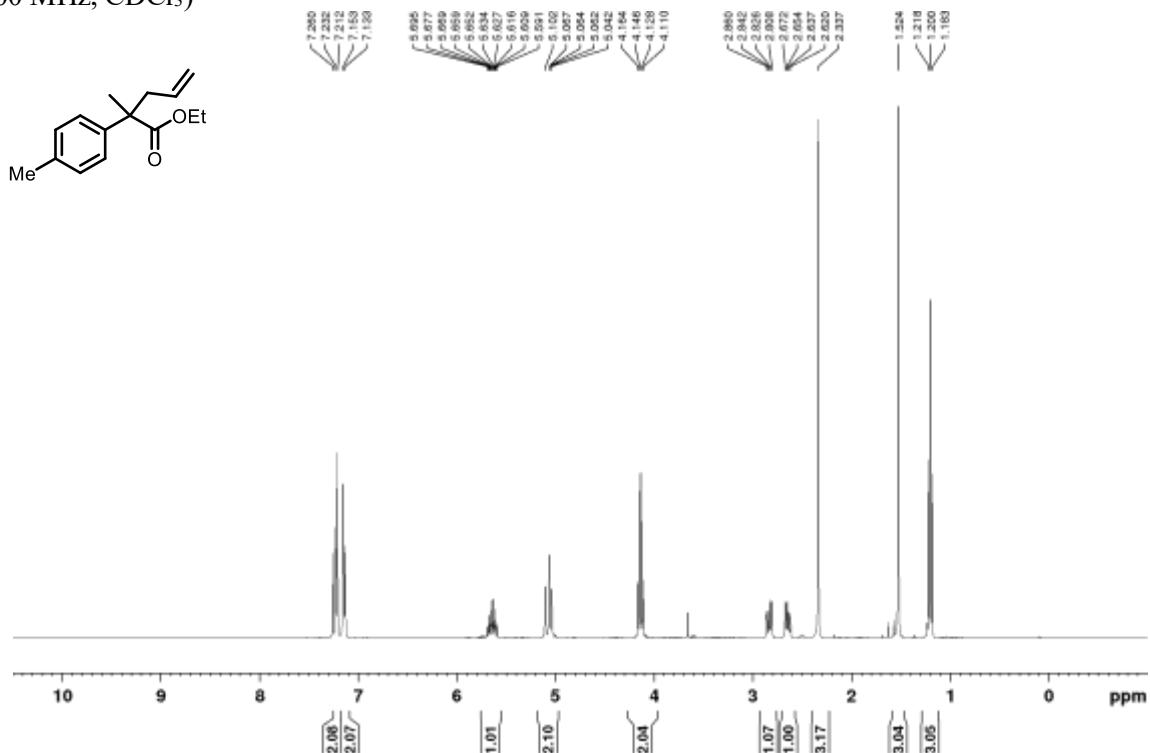
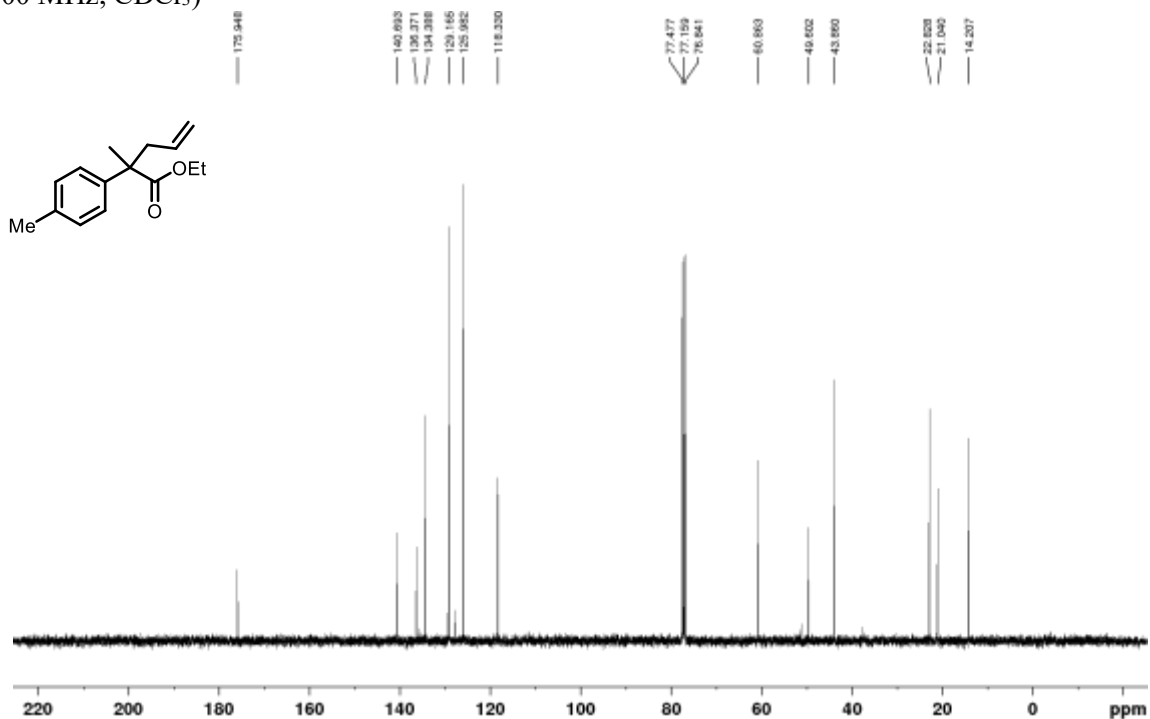
MMP1 inhibitory activity of compounds at tested concentration

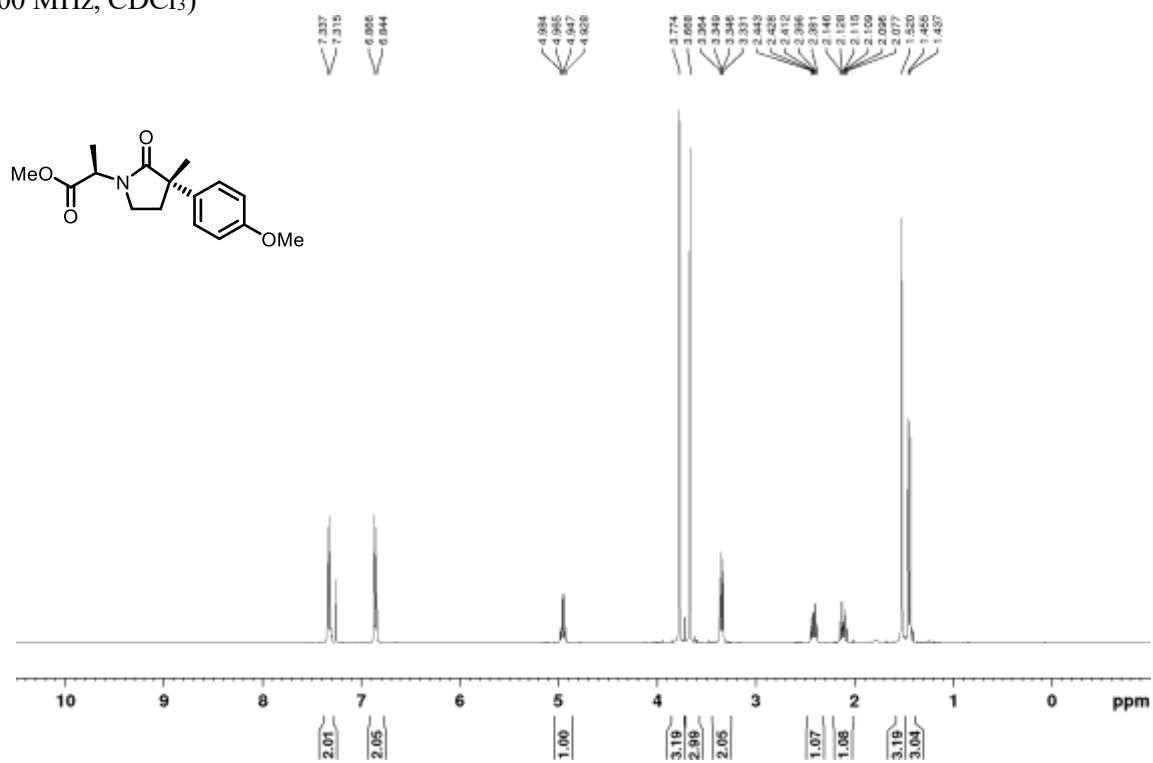
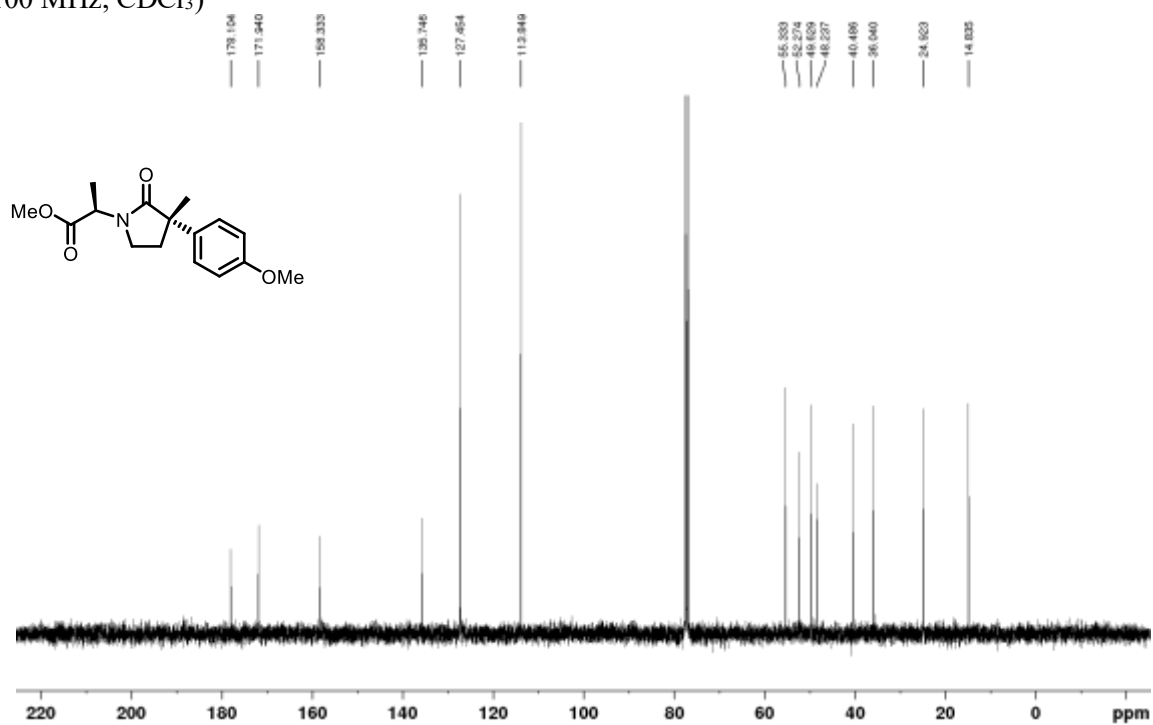
Relative activity of MMP1 of compounds at indicated concentrations are shown as means \pm standard error of the mean (SEM) from three independent experiments.

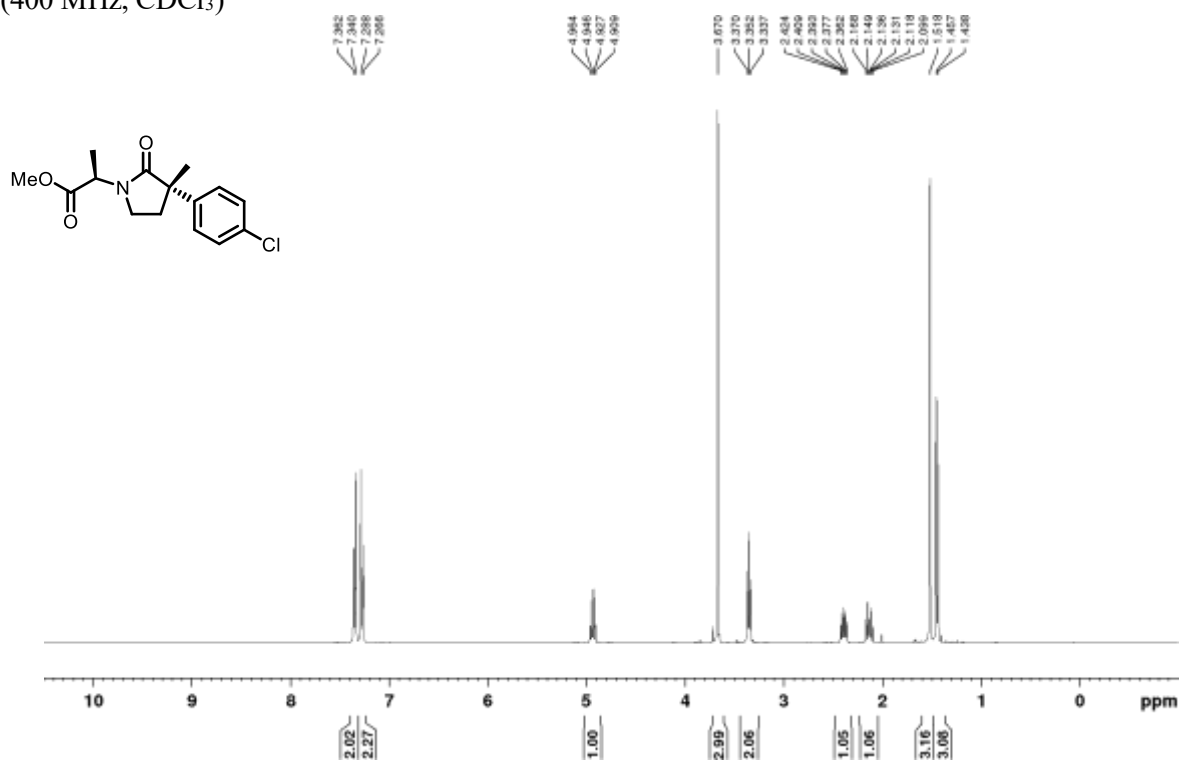
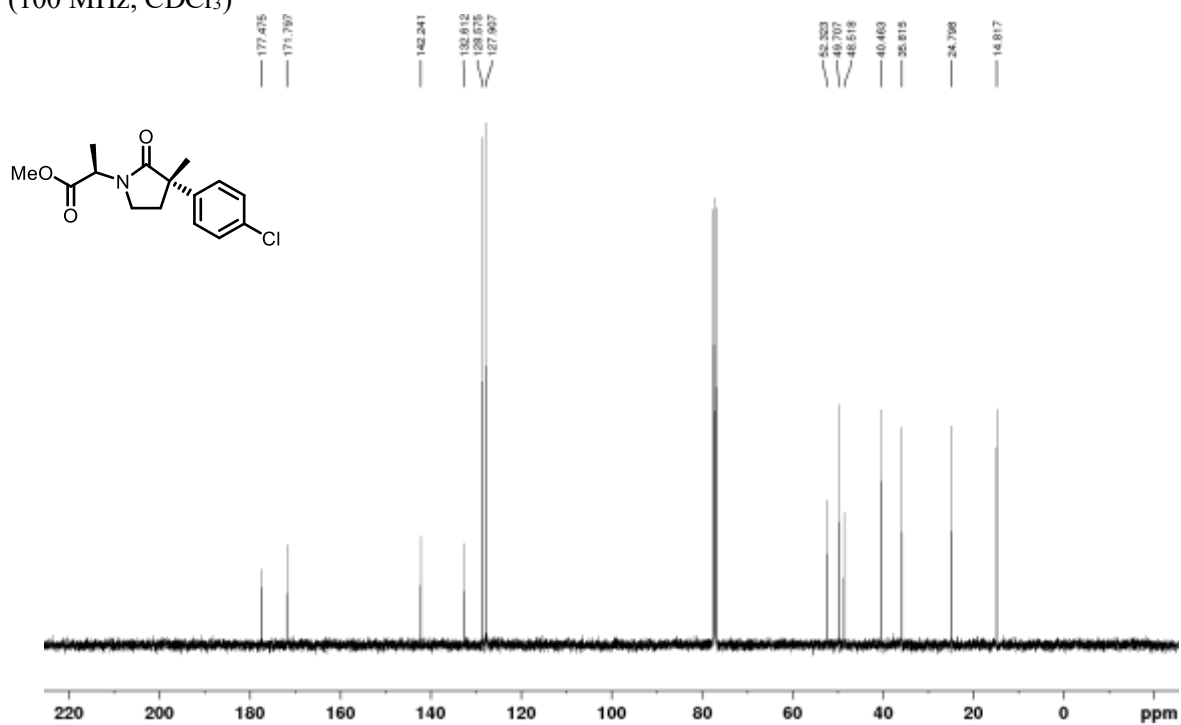
References

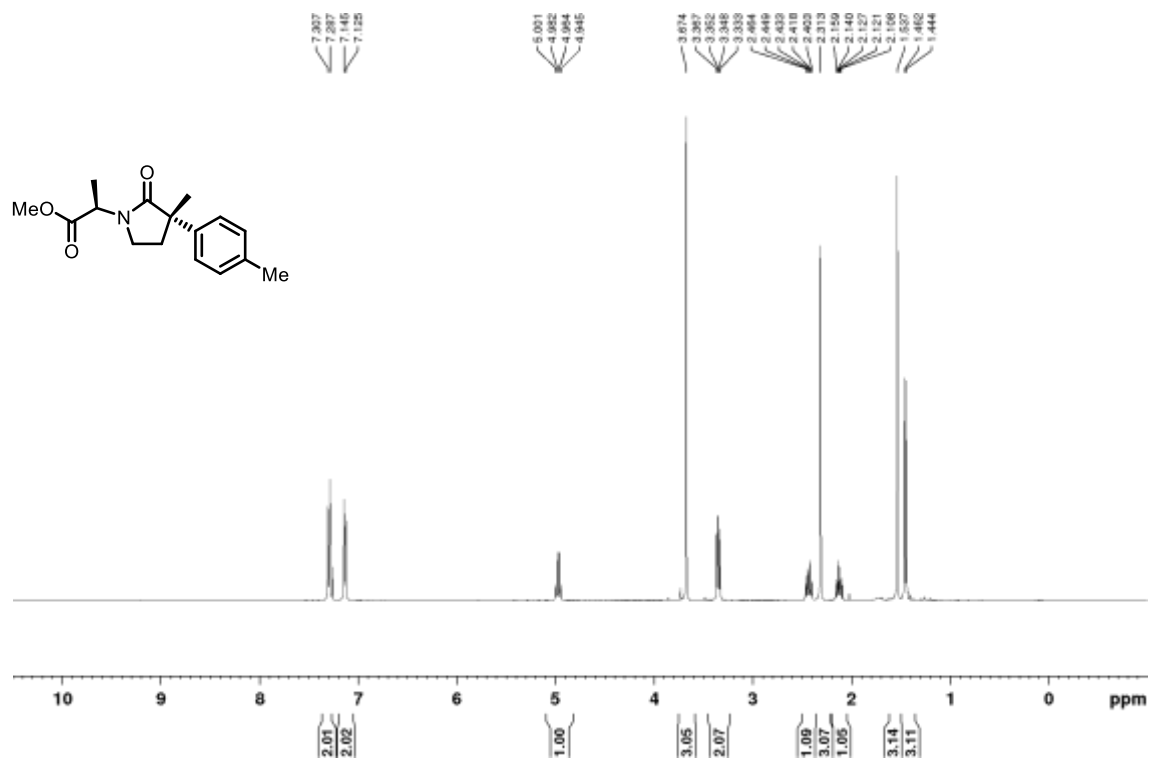
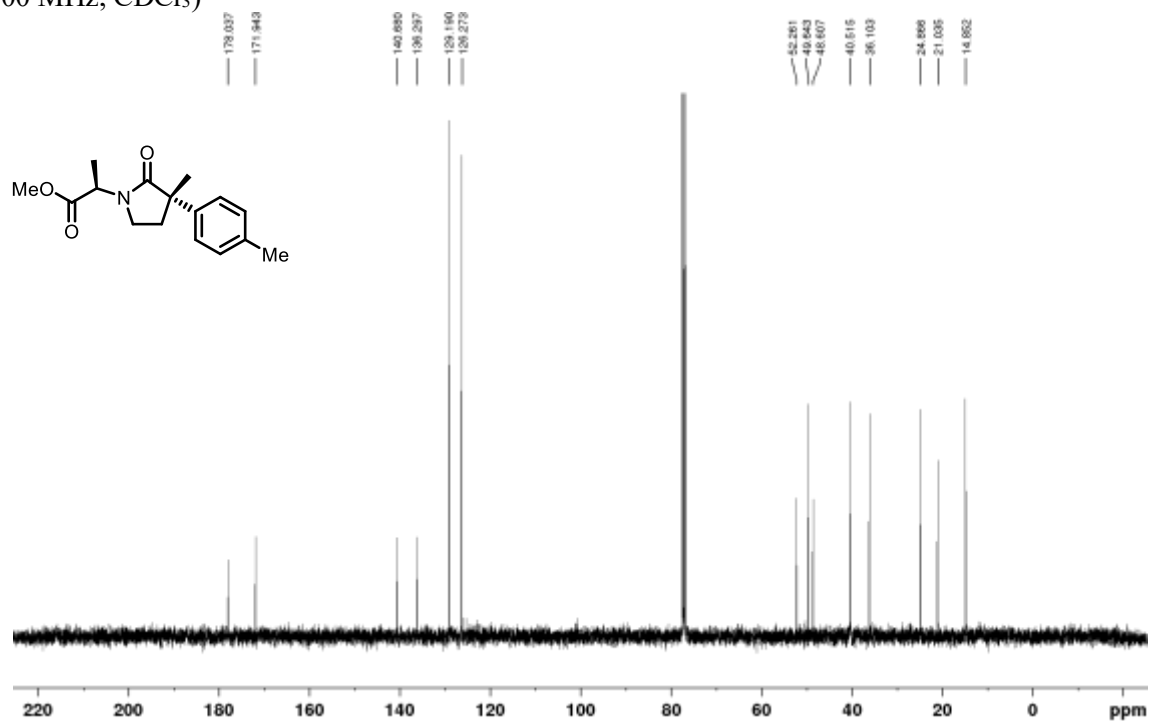
- (1) Asawa, Y.; Yoshimori, A.; Bajorath, J.; Nakamura, H. Prediction of an MMP-1 inhibitor activity cliff using the SAR matrix approach and its experimental validation. *Sci. Rep.* **2020**, *10*, 14710.
- (2) Yip, S. Y. Y.; Aïssa, C. Isomerization of Olefins Triggered by Rhodium-Catalyzed C-H Bond Activation: Control of Endocyclic β -Hydrogen Elimination. *Angew. Chem. Int. Ed Engl.* **2015**, *54*, 6870–6873.
- (3) Yoshimori, A.; Bajorath, J. Computational method for the systematic alignment of analogue series with structure-activity relationship transfer potential across different targets. *Eur. J. Med. Chem.* **2022**, *239*, 114558.
- (4) Bento, A. P.; Gaulton, A.; Hersey, A.; Bellis, L. J.; Chambers, J.; Davies, M.; Krüger, F. A.; Light, Y.; Mak, L.; McGlinchey, S.; Nowotka, M.; Papadatos, G.; Santos, R.; Overington, J. P. The ChEMBL Bioactivity Database: An Update. *Nucleic Acids Res.* **2014**, *42*, D1083–D1090.
- (5) Hussain, J.; Rea, C. Computationally Efficient Algorithm to Identify Matched Molecular Pairs (MMPs) in Large Data Sets. *J. Chem. Inf. Model.* **2010**, *50*, 339–348.
- (6) RDKit: Cheminformatics and Machine Learning Software. <http://www.rdkit.org>.

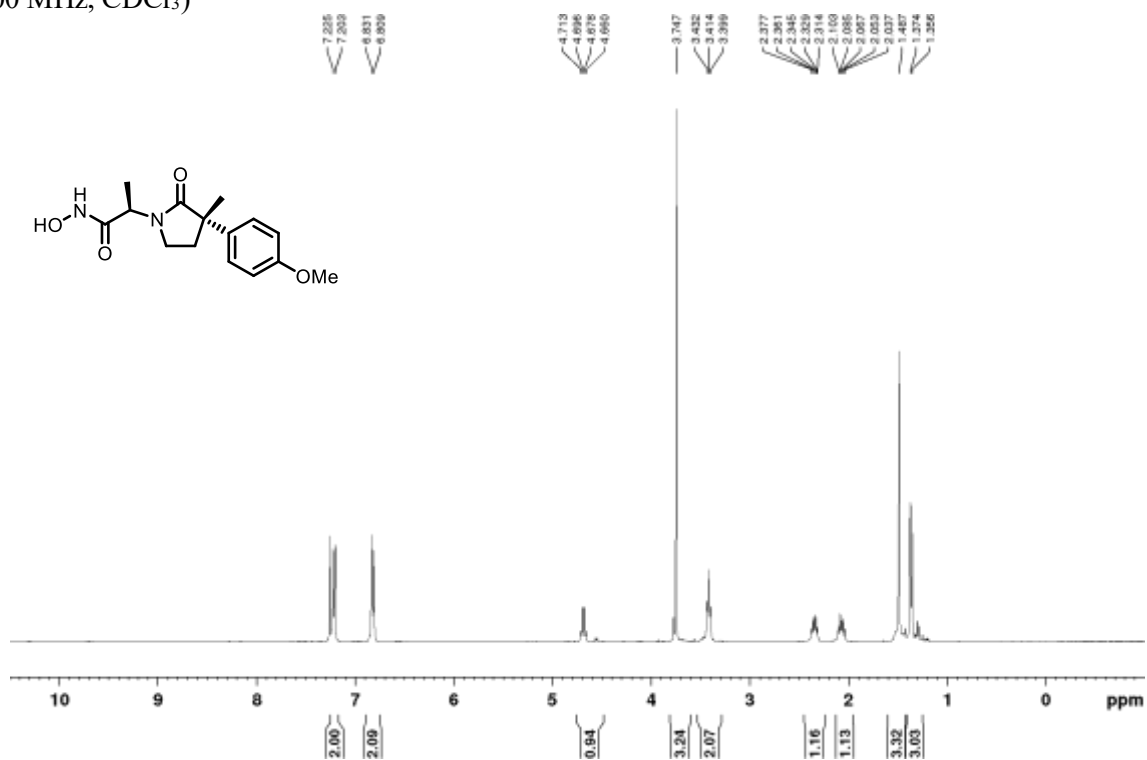
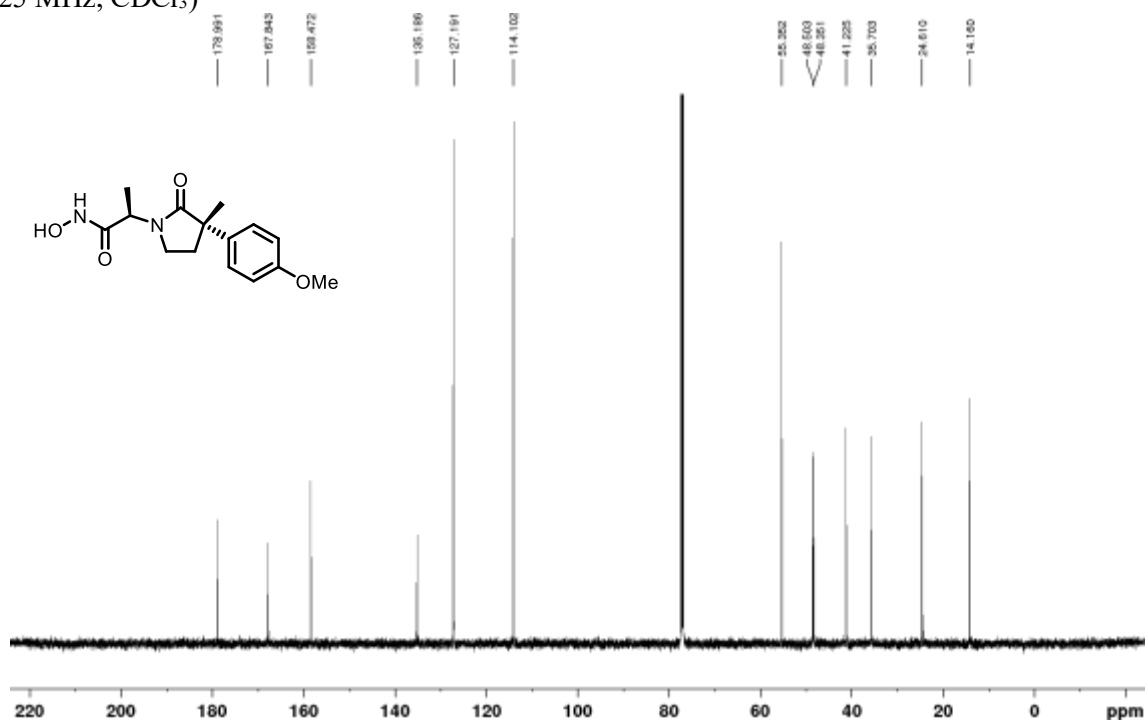
NMR spectra of Compounds

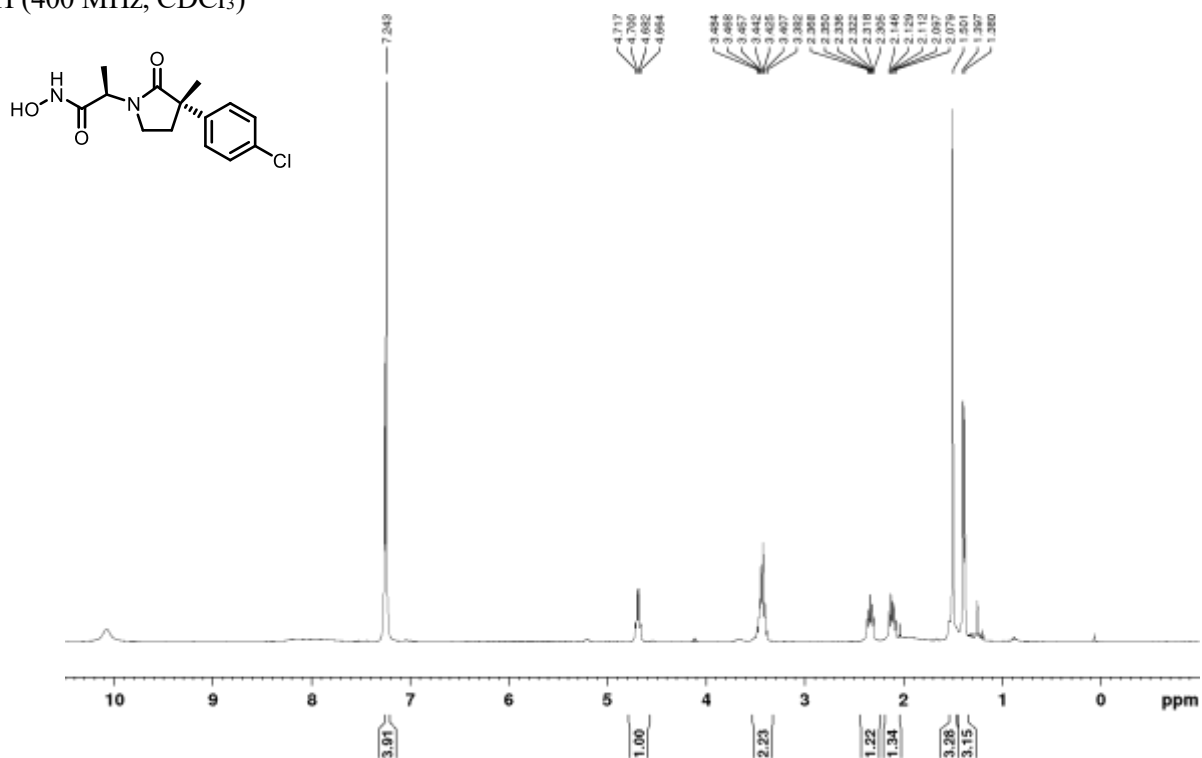
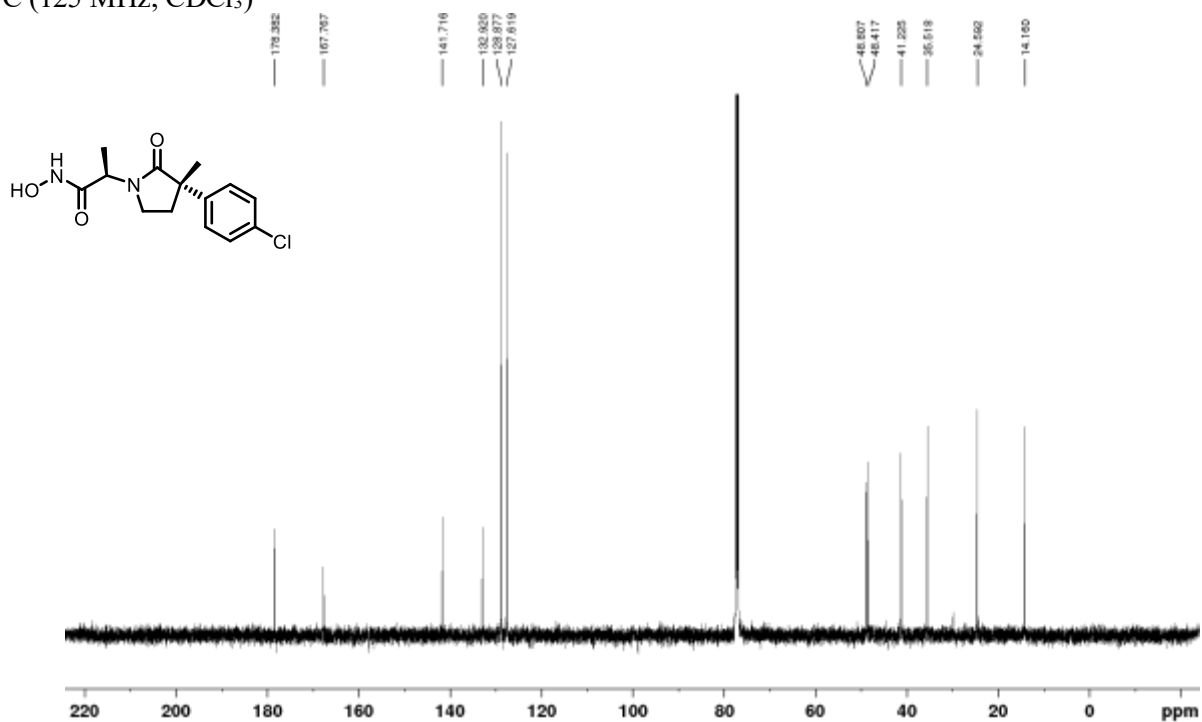
Ethyl 2-methyl-2-(*p*-tolyl)pent-4-enoate (4c) ^1H (400 MHz, CDCl_3) ^{13}C (100 MHz, CDCl_3)

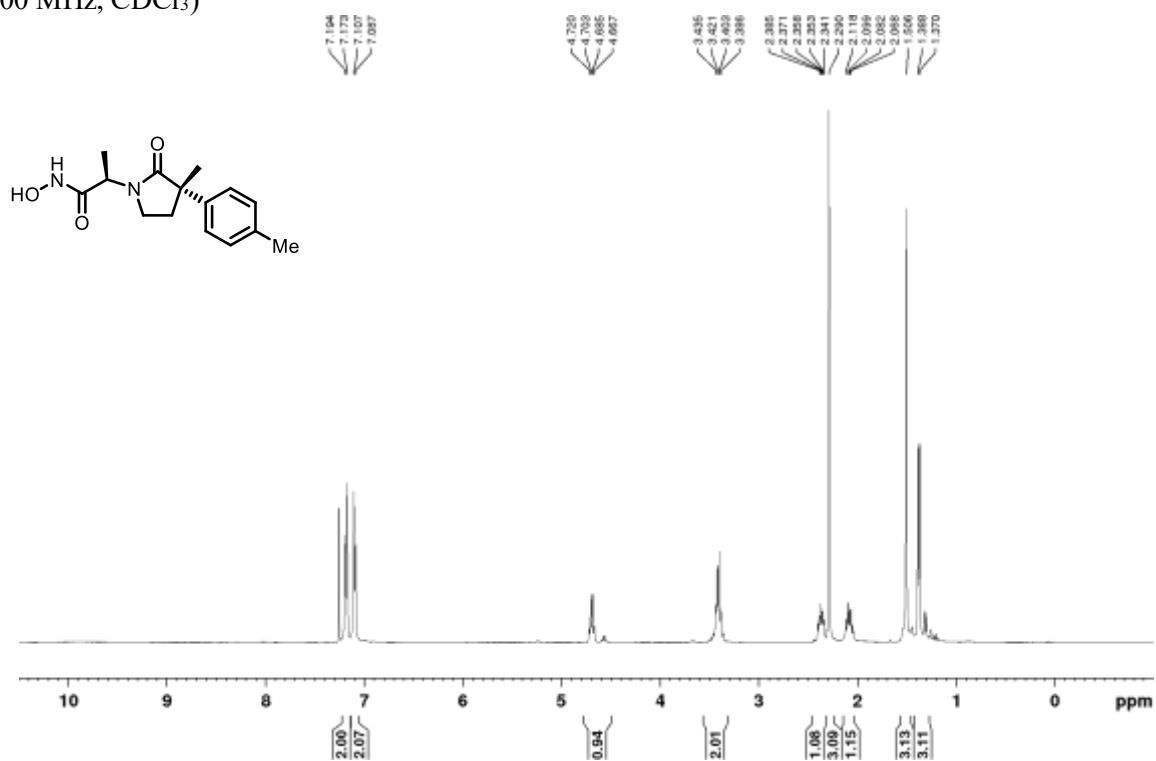
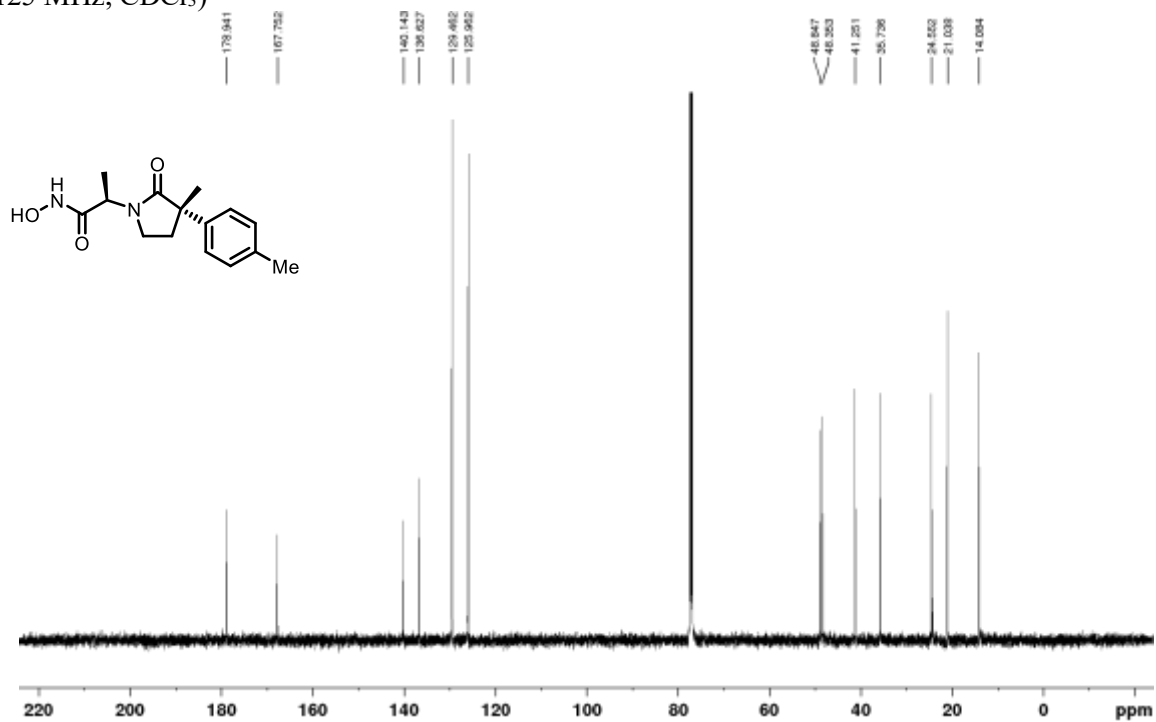
Methyl (*S*)-2-(3-(4-methoxyphenyl)-3-methyl-2-oxopyrrolidin-1-yl)acetate (5a**)** ^1H (400 MHz, CDCl_3) ^{13}C (100 MHz, CDCl_3)

Methyl (*S*)-2-(3-methyl-2-oxo-3-(4-chlorophenyl)pyrrolidin-1-yl)acetate (**5b**) ^1H (400 MHz, CDCl_3) ^{13}C (100 MHz, CDCl_3)

Methyl (*S*)-2-(3-methyl-2-oxo-3-(*p*-tolyl)pyrrolidin-1-yl)acetate (**5c**) ^1H (400 MHz, CDCl_3) ^{13}C (100 MHz, CDCl_3)

(R)-N-hydroxy-2-((S)-3-(4-methoxyphenyl)-3-methyl-2-oxopyrrolidin-1-yl)propanamide (1e) ^1H (400 MHz, CDCl_3) ^{13}C (125 MHz, CDCl_3)

(R)-N-hydroxy-2-((S)-3-(4-chlorophenyl)-3-methyl-2-oxopyrrolidin-1-yl)propanamide (1f)¹H (400 MHz, CDCl₃)¹³C (125 MHz, CDCl₃)

(R)-N-hydroxy-2-((S)-3-(p-tolyl)-3-methyl-2-oxopyrrolidin-1-yl)propanamide (1g)¹H (400 MHz, CDCl₃)¹³C (125 MHz, CDCl₃)

第七章

結論

7-1 本論文のまとめ

本論文は、低分子医薬品の可能性を拡充するべく、これまでに十分に活用されてこなかった三次元骨格を基盤とした分子設計について述べたものである。酵素や受容体を標的とした医薬品が充足しつつあるなか、創薬標的の拡充に向けて、芳香族化合物を基盤とする従来の医薬品設計を脱却し、より三次元性の高い骨格に基づく医薬品開発が求められている。本論文では、三次元性の高い骨格の中でも、架橋構造をもつ籠型骨格に着目し、その合成手法と *in silico* での設計手法の確立を目指して研究に取り組んだ。

以下、各章を総括する。

第一章「序論」では、低分子医薬品について、創薬標的が酵素や受容体に偏重しており、分子構造も直線的・平面的なものに偏っていることを述べた。そして、生体高分子の作用面の特徴が、その機能や役割ごとに大きく異なることを述べ、創薬標的の拡充には、三次元性の高い骨格を分子設計に活用し、創薬のケミカルスペースを拡充する必要があることを示した。このとき、三次元性の高い骨格の中でも、架橋構造をもつ籠状分子が、医薬品設計において有用性が高いことを示した。すなわち、籠状分子が、従来の低分子医薬品に見られない作用機序を示していること、創薬標的との結合力の向上していることを述べた。そして、ペプチド模倣分子をはじめ、医薬品開発に求められるような、複数の置換基の入れ分けが可能な籠型骨格の供給が限られていることを述べ、本研究の意義を明らかにした。

第二章「三環性籠型骨格の開発とペプチド模倣分子の開発」においては、まず、三次元骨格として籠型骨格 **2** の合成手法の確立に取り組んだ (Figure 7-1)。このとき、環化前駆体 **1** のアルキン上の置換基を電子供与基とすることで、籠型骨格 **2** が選択的に得られ、電子供与基とすることで、籠型骨格 **3** が選択的に得られることを見いだした。籠型骨格 **2** の医薬品開発における有用性を実証するため、複数の置換基の導入を可能にする籠型骨格 **4** の合成へと展開し、ペプチド模倣分子 **5** の設計に活用した。実際に、籠型骨格 **4** へと置換基導入を行い、21 種類のペプチド模倣分子 **5** を合成すると、新たな生物活性分子が得られた。そして、ペプチド模倣分子 **5** は、従来の低分子医薬品よりも、高い三次元性をもつことを PMI プロットで示した。籠型骨格を母骨格とする分子設計により、ケミカルスペースが拡充できるとともに、新たな生物活性分子の開発につながることを実証した。

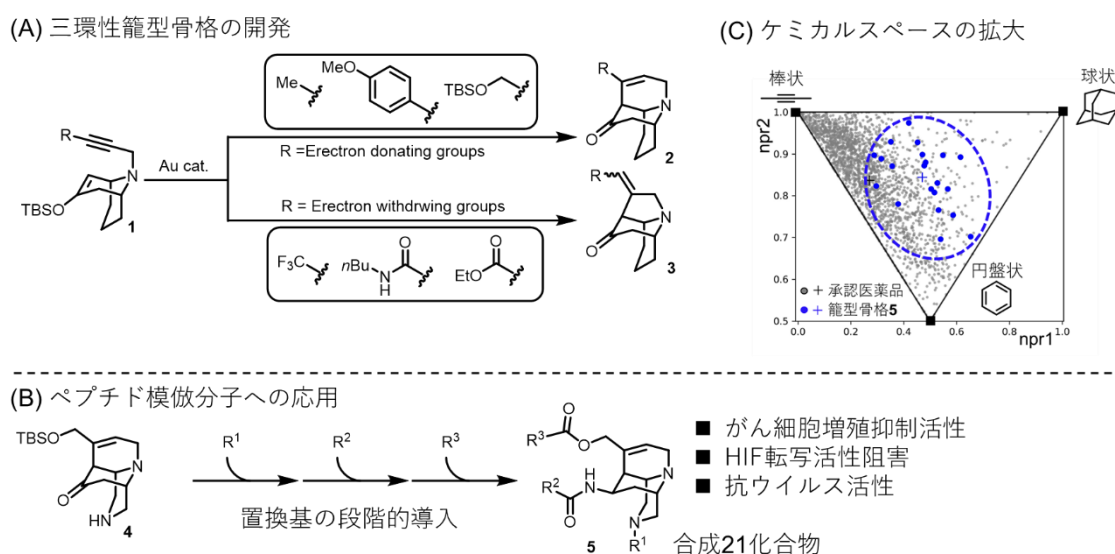


Figure 7-1. 第二章のまとめ

第二章において、籠型骨格を母骨格とする分子設計により、新たな生物活性分子が得られたが、開発した籠型骨格 **4** はラセミ体での供給に留まる。光学活性化合物は、異性体同士で異なる生物活性を示し得ることから、その不斉合成が強く望まれる。

第三章「不斉四環性籠型骨格の開発」においては、医薬品開発に有用な三次元骨格として、四環性籠型骨格の開発に取り組んだ (Figure 7-2)。まず、ケミカルスペースを拡充するため、ラセミ体としてのみ合成されていた四環性籠型骨格を母骨格として、籠状分子 **7,8** を設計した。合成検討においては、チロシン誘導体 **6** を出発原料とすることで、籠状分子 **7,8** の不斉合成を達成した。籠状分子は、三つの異なる置換基の導入を可能にし、籠状分子 **8** については、その導入順序も変更できることを示した。そして、籠状分子 **7** と **8** では、四環性籠型骨格の異なる頂点に置換基導入が可能であるとともに、不斉炭素における立体化学が反転している。籠状分子の HeLa 細胞増殖抑制活性を評価すると、置換基の組み合わせの違いにより、異なる度合いで HeLa 増殖抑制活性を示した。そして、籠状分子の PMI 解析を行うと、従来の低分子医薬品よりも三次元性が高いことが示された。

置換基の多様な組み合わせと空間配置を可能にする籠状分子 **7,8** は、医薬品開発に有用であり、未開拓のケミカルスペースを探索できると考える。

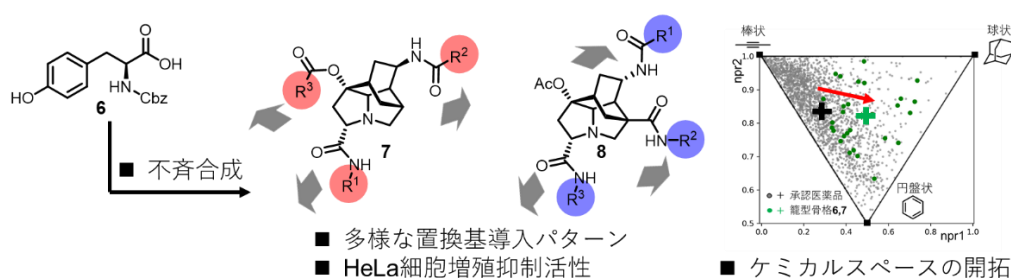


Figure 7-2. 第三章のまとめ

第四章「二環性籠型骨格の開発と CD28 ペプチド模倣分子の開発」においては、置換基導入が容易な三次元骨格として、籠型オキソピペラジン骨格の開発について述べた (Figure 7-3)。オキソピペラジンは、生物活性分子の創出に有用であるが、その籠型の分子骨格については、医薬品設計への応用が不十分であった。第四章においては、PI3K/CD28 相互作用を標的とし、籠型オキソピペラジンに基づくペプチド模倣分子を開発することで、医薬品開発のケミカルスペースの拡充を目指した。ペプチド模倣分子の設計においては、PI3K/CD28 相互作用面の特徴から、トリアザビシクロ[3.3.1]ノナン骨格 **9** を合成標的として設定した。

設計した CD28 ペプチド模倣分子 **9** を実際に合成し、籠型オキソピペラジンの構築と三つの置換基導入を達成した。三つの置換基はそれぞれ独立に導入できることから、多様な置換基の組み合わせの検討を可能にする。特に、置換基 R^2, R^3 は、籠型骨格構築後に窒素原子を足掛かりとした導入を可能にするため、類縁体の合成展開も容易にすると考える。さらには、本合成経路は、カルボン酸のような極性官能基が導入できることを実証しており、開発した籠型オキソピペラジン骨格は医薬品探索に有用な骨格であると考えられる。最後に、合成した籠型オキソピペラジンの構造的特徴を解析し、従来の低分子医薬品よりも三次元性の高いケミカルスペースを探索できることを明らかにした。

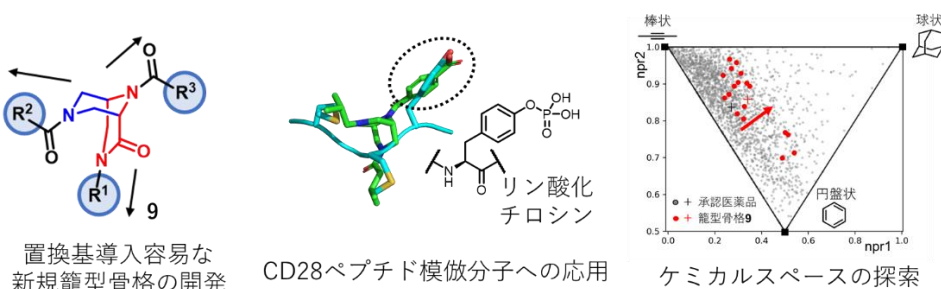


Figure 7-3. 第四章のまとめ

第二章や第四章においては、特定の籠型骨格に着目し、その骨格のペプチド模倣分子への応用を議論してきた。この方法では、着目した籠型骨格の構造が、標的ペプチドの側鎖の模倣に必ずしも適していない。

第五章「籠型骨格生成器 “DeepCubist”の開発」においては、ペプチド構造を鋳型とした籠型骨格の設計に向け、構造生成器である “DeepCubist” の開発について述べた (Figure 7-4)。DeepCubist は、籠型骨格を網羅的に発生させたデータベースと、炭素骨格へのヘテロ原子・不飽和結合導入モデルの二つの要素で構築した。網羅的に発生させた籠型骨格は、従来の低分子医薬品よりも三次元性が高く、未開拓のケミカルスペースが探索可能である。ヘテロ原子・不飽和結合導入モデルの開発に当たっては、学習に用いる入力と出力の SMILES を、一つの化学構造について複数発生させ、文字列の配列が最大限に一致するように組み合わせることで効率的な学習を達成した。学習後の AI により、ペプチド模倣分子の設計を試みると、学習データに含まれていない籠型骨格に対しても、効率的なヘテロ原子・不飽和結合の導入が達成された。DeepCubist によって出力された化学構造が直ちに合成できるものとは限らないが、逆合成解析を考える起点となり、籠型骨格を母骨格としたペプチド模倣分子の設計の一助になると考える。

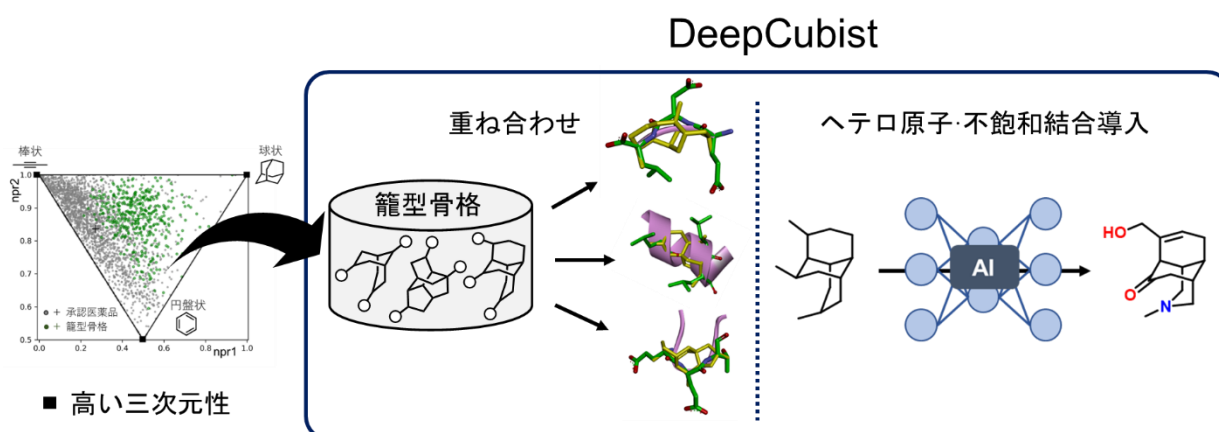


Figure 7-4. 第五章のまとめ

第五章においては、ペプチド模倣分子の母骨格として最適な籠型骨格の取得を目指した。医薬品開発においては、母骨格の構造を固定し、部分構造を改変していくことで活性の向上や物性の改善を目指すことから、母骨格構造のみならず、側鎖構造の最適化も求められる。

第六章「構造活性相関 (SAR) 転位の予測による側鎖構造最適化の実証」では、SAR 転移が可能な阻害剤の組み合わせを予測することで、迅速に側鎖構造を最適化する実証研究に取り組んだ (Figure 7-5)。まず、部分構造の改変系列をアライメントすることで、網羅的に SAR を比較すると、モデルとした MMP-1 阻害剤について、KSP 阻害剤から SAR 転移が可能であると予測した。これら阻害剤は、その母骨格構造も、標的タンパク質の機能も大きく異なっており、探索空間を限定せずに SAR の比較を行う有用性を明らかにした。

阻害剤 **10a** に比べて MMP-1 阻害活性の向上が予測された **10b-c** を評価すると、化合物 **10c** の阻害活性が実際に向上していた。このことは、部分構造の改変系列をアライメントする本手法が、SAR 転移の予測を可能にすることを実証した。タンパク質の立体構造を必要としない本手法は、側鎖構造の迅速な最適化を可能にする。

阻害剤 **10** の結合様式をモデリングすると、MMP-1 の阻害活性の向上には、Arg214 とのハロゲン結合の形成が重要であることが示唆された。これは、SAR 転移の予測の基となった KSP 阻害剤の結合様式とは異なるものであり、タンパク質の立体構造を直接に比較しない本手法で得られた知見である。

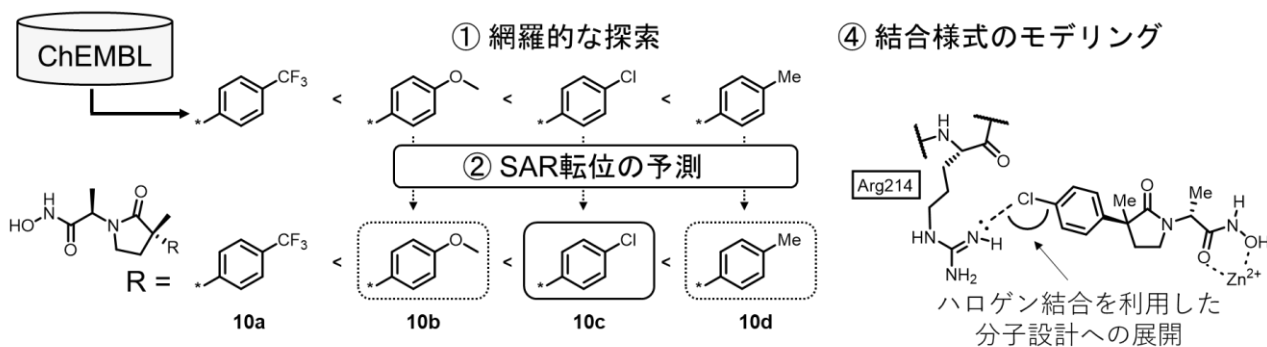


Figure 7-5. 第六章のまとめ

従来の低分子医薬品は合成容易な芳香族化合物を基盤として開発されてきた。より三次元性の高い骨格を分子設計に取り入れる重要性が認識されながらも、その合成難易度の高さから、活用が進んでいない。これに対し、本研究においては、三次元性の高い籠型骨格を母骨格とし、創薬標的に合わせて置換基構造を変える分子設計戦略を提示した。本分子設計戦略によって創出された化合物は、第二章から第四章で開発して籠型骨格に限っても、従来の低分子医薬品よりも分子形状が多様であるのは明らかである (Figure 7-6)。そして、第二章や第三章では、同一の籠型骨格を母骨格としても、置換基構造を変えることで生物活性を制御し得ることを示してきた。これらのことは、籠型骨格を母骨格とすることで、限られた数の化合物で、芳香族化合物を基盤とするよりも広範なケミカルスペースが探索可能であることを示している。そして、第五章で網羅的に発生させた籠型骨格に分子形状の多様性が見て取れるように、籠型骨格のケミカルスペースには探索の余地が残る。

籠型骨格を母骨格とする分子設計が普及することで、供給される化合物数が制限されながらも、従来の低分子医薬品にない生物活性をもつ化合物が見いだされ、低分子医薬品の開発が加速すると考える。

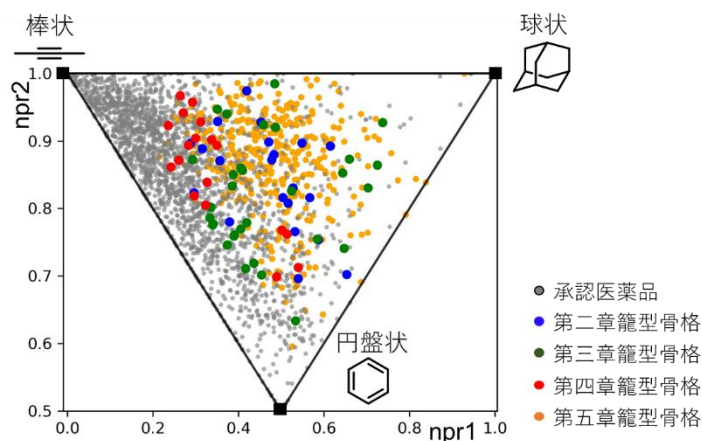


Figure 7-6. 籠型骨格のケミカルスペース

謝辞

本研究を行うにあたり、終始御指導、御鞭撻、暖かい励ましを頂きました中村浩之教授に心より感謝申し上げます。

本研究を行うにあたり、終始御指導、御鞭撻、暖かい励ましを頂きました岡田智准教授に心より感謝申し上げます。

本研究を行うにあたり、研究者としての心構えや有機合成実験操作を基礎から御指導して頂きました、盛田大輝助教に心より感謝申し上げます。

本研究を行うにあたり、様々な御助言や暖かい励ましを頂きました、三浦一輝助教に心より感謝申し上げます。

本研究を行うにあたり、有機合成に関わる様々な御助言を頂きました、名古屋大学の布施新一郎教授に心より感謝申し上げます。

本研究を行うにあたり、様々な御助言や暖かい励ましを頂きました、東北大学の佐藤伸一助教に心より感謝申し上げます。

本研究を行うにあたり、三次元骨格を基盤としたペプチド模倣分子の設計に御尽力頂きました(株)大分大学先端医学研究所の小路弘行博士と(株)理論創薬研究所の吉森篤史博士に深く感謝いたします。

第二章の研究において、狂犬病ウイルスの増殖抑制活性の評価に御尽力頂きました宮崎大学の山田健太郎准教授に心より感謝申し上げます。

留学を快く受け入れてくださるとともに、第五章と第六章の研究を行うにあたり、多大な御助言をいただいた、ボン大学の Jürgen Bajorath 教授に心より感謝申し上げます。

第五章の研究を行うにあたり、様々な御助言をいただいた、ボン大学の Hengwei Chen 氏に心より感謝申し上げます。

第二章と第三章の化合物の X 線結晶構造解析を行うにあたり、多大なご協力を賜りました東京工業大学オープンファシリティセンターの清悦久博士に深く感謝いたします。