

2019 年度 課程博士学位論文

オクタヒドロイソクロメン構造を核とする
SARS 3CL プロテアーゼ阻害剤の設計と合成

薬品化学分野 吉澤慎一郎

本論文は、以下の論文の内容を総括したものである。

Shin-ichiro Yoshizawa, Yasunao Hattori, Kazuya Kobayashi, and Kenichi Akaji. Evaluation of an octahydroisochromene scaffold as a novel SARS 3CL protease inhibitor. *Bioorg. Med. Chem.* “in press”, DOI: 10.1016/j.bmc.2019.115273.[第 1 章][第 2 章]

目次

略号表

理論の部

序論・・・1

本論

第1章 オクタヒドロイソクロメン型 SARS 3CL^{pro} 阻害剤の評価

第1節 オクタヒドロイソクロメン型阻害剤 **4** の設計・・・・・・・・・・・・・・・・・・6

第2節 逆合成解析・・7

第3節 オクタヒドロイソクロメン型阻害剤 **4** の合成

第1項 オクタヒドロイソクロメン骨格 **6** の形成・・・・・・・・・・・・・・・・・・8

第2項 候補化合物 **16a-16d** の合成・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・9

第4節 阻害活性評価・・12

第2章 オクタヒドロイソクロメン骨格の立体構造と阻害活性

第1節 オクタヒドロイソクロメン骨格の立体化学・・・・・・・・・・・・・・・・・・13

第2節 Sharpless 不斉ジヒドロキシ化反応における配位子と立体選択性・・・・・・・・14

第3節 縮環構造部の絶対立体配置の決定・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・16

第4節 Sharpless 不斉ジヒドロキシ化反応における立体選択性・・・・・・・・・・18

第5節 候補化合物 **4a** の合成・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・20

第6節 阻害活性評価・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・21

第7節 化合物 **4b** 及び **4c** と R188I SARS 3CL^{pro} の相互作用考察・・・・・・・・・・22

総括・・24

文献・・25

謝辞・・30

実験の部・・31

NMR data・・50

略号表

本論文で使用した略号を以下に示す。

構造に関する略号

Ac : acetyl

Ala : alanine

Arg : arginine

Bu : butyl

Cys : cysteine

Et : ethyl

Gln : glutamine

Gly : glycine

His : histidine

Ile : isoleucine

Leu : leucine

Lys : lysine

Me : methyl

Ph : phenyl

Phe : phenylalanine

Pr : propyl

Ser : serine

TBDPS : *tert*-butyldiphenylsilyl

Tf : trifluoromethanesulfonyl

Thr : threonine

Trt : trityl

溶媒、試薬に関する略号

AQN : anthraquinone

AZADO : azaadamantane *N*-oxyl

CSA : camphorsulfonic acid

DBU : diazabicycloundecene

DET : diethyl tartrate

DHQD : dihydroquinidine

DHQ : dihydroquinine

DIBAL-H : diisobutylaluminium hydride

DIPEA : diisopropylethylamine

DMSO : dimethyl sulfoxide

HOBt : 1-hydroxybenzotirazole

MS : molecular sieves
NCS : *N*-chlorosuccinimide
NMO : *N*-methylmorpholine *N*-oxide
PCC : pyridinium chlorochromate
PHAL : phthalazine
Pyr : pyrimidine
TBAF : tetrabutylammonium fluoride
TBHP : *tert*-butylhydroperoxide
TFE : trifluoroethanol
TFA : trifluoroacetic acid
THF : tetrahydrofuran
TIS : triisopropylsilane
TPAP : tetrapropylammonium perruthenate
p-TsOH : *p*-toluenesulfonic acid

その他略号

ACE : angiotensin converting enzyme
CL^{pro} : chymotrypsine-like protease
COSY : correlated spectroscopy
CoV : coronavirus
DEPT : distortionless enhanced by polarization transfer
DNA : deoxyribonucleic acid
dr : diastereomeric ratio
EI : electron ionization
ESI : electrospray ionization
FAB : fast atom bombardment
HPLC : high performance liquid chromatography
HRMS : high resolution mass spectrometry
HSQC : heteronuclear single quantum coherence
IC : inhibitory concentration
IT-TOF : ion trap-time of flight
LC : liquid chromatography
MERS : middle east respiratory syndrome
MOE : molecular operating environment
MS : mass spectrometry
NMR : nuclear magnetic resonance
nOe : nuclear overhauser effect
NOESY : nuclear overhauser effect and exchange spectroscopy

PDB : protein data bank

PP : polyprotein

RNA : ribonucleic acid

SARS : severe acute respiratory syndrome

UV : ultraviolet

WHO : world health organization

理論の部

序論

重症急性呼吸器症候群 (SARS) は 2002 年に中国広東省で発生し、8000 を超える症例と約 800 人の死者を出した新興の呼吸器症候群である¹⁻³。感染原因ウイルスは SARS CoV であることが確認されている。2003 年には WHO より終息宣言が発令された。しかし、2012 年に SARS CoV に類似した MERS CoV が報告され^{4,5}、2015 年には中東地域、中国、韓国で流行し、致死率は 30~40% と非常に高く終息宣言もされていない。2019 年末には中国の武漢市でさらに新種の CoV が報告され、2020 年 2 月上旬時点でも感染拡大が続いている。いずれの疾病も治療法が確立されておらず、パンデミックが懸念されている。

SARS CoV の増殖にはウイルスが発現する SARS 3CL^{pro} が必須である^{6,7}。SARS 3CL^{pro} はキモトリプシン様の構造を持つシステインプロテアーゼで、ウイルス複製に必要な RNA レプリカーゼなどのプロセッシングを担う酵素である。このため、SARS 3CL^{pro} 阻害剤は有望な治療薬候補と考えられている (図 1)⁸。

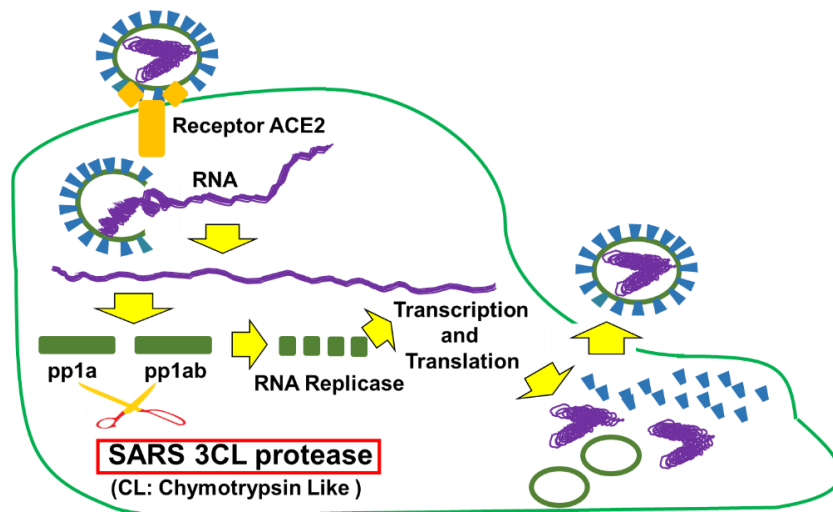


図 1 SARS CoV の増殖機構

野生型の SARS 3CL^{pro} は分解されやすく、調製が困難であると共に、阻害活性試験で再現性が取れないことが問題となっていた。著者の所属研究室の研究により、切断部位が特定され、Arg188 / Gln189 部位で分解を受けやすく、これにより活性が失われることが明らかとされた。そこで野生型 SARS 3CL^{pro} の 188 位の Arg を側鎖の立体効果を大きく変えることなく、イオン性のグアニジノ基を除去することができる Ile に置換した変異型の R188I SARS 3CL^{pro} が開発された⁹。R188I SARS 3CL^{pro} は分解されにくいことに加え、野生型の SARS 3CL^{pro} との比較により、約 10⁶ 倍の酵素活性を有していることが示された (図 2)。

しかしながら、R188I SARS 3CL^{pro} がその変異のために野生型と比較して活性中心構造に変化を生じる可能性がある。そこで、R188I SARS 3CL^{pro} の X 線結晶構造解析が行われ、野生型

SARS 3CL^{pro} の結晶構造との比較により、変異による活性中心構造への影響がないことが明らかにされた¹⁰。この結果から、R188I SARS 3CL^{pro}による野生型 SARS 3CL^{pro}と同様の阻害活性評価が可能となった。従って、R188I SARS 3CL^{pro}を用いることで、蛍光試薬などを用いることなく、HPLC を用いた再現性の高い阻害活性評価系が構築された。また阻害剤との共結晶作製にも利用でき、複合体 X 線結晶構造解析による相互作用解明にも用いられている^{10,11}。

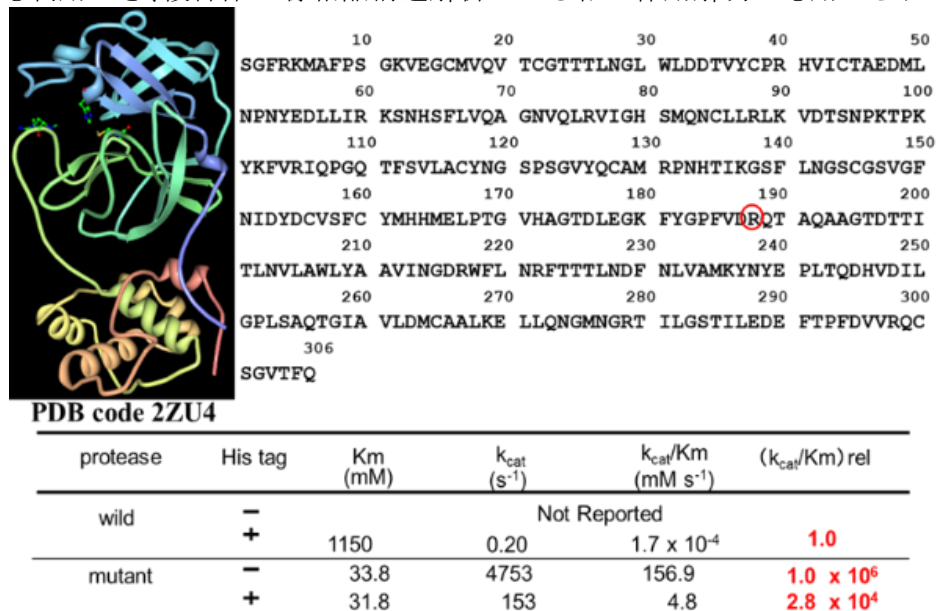


図2 分解抵抗性 R188I SARS 3CL^{pro}

SARS 3CL^{pro} を含むシステインプロテアーゼによる作用様式について図3に示した。①プロテアーゼの活性中心である Cys 残基に近接している His 残基のイミダゾールがチオールのプロトンを引き抜く。②活性化されたチオラートアニオンが基質タンパク質のカルボニル部位に求核付加する。③ペプチド結合の切断が起こる。④水分子による加水分解が起こり元の状態に戻る。

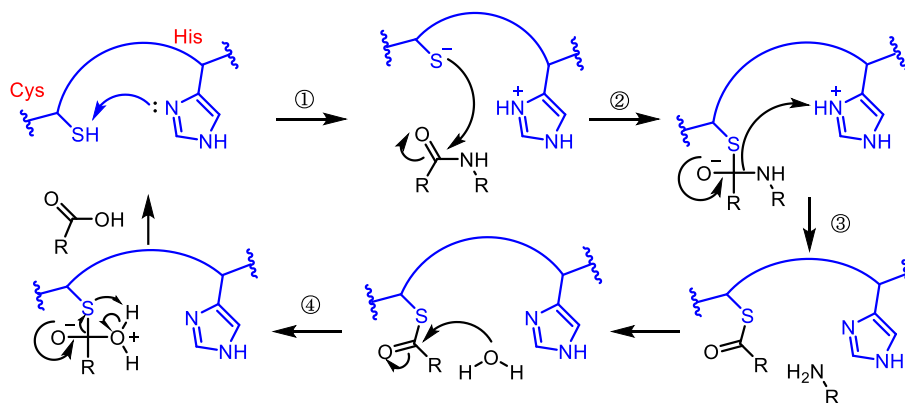


図3 システインプロテアーゼの反応機構

数々の SARS 3CL^{pro} 阻害剤が報告されており¹²⁻³³、アミド構造の代わりに図3②のチオラートアニオンの求核付加を受けやすい官能基を有する化合物が主となっている。例えばアルデ

ヒドや α -ケトアミド、マイケルアクセプターを用いた阻害剤がその代表的なものである (図 4)³⁴。アルデヒドを用いると、他の官能基と同等もしくは高い阻害活性を示すことが多いが、化合物の安定性や選択性が懸念される。 α -ケトアミドやマイケルアクセプターを用いる場合、窒素原子もしくは酸素原子の置換基を検討する必要があると考えられている。実際に置換基の構造により阻害活性が減弱する例も紹介されており⁷、アルデヒドと比較するとこれらは嵩高い官能基であることが原因の一つとされている。

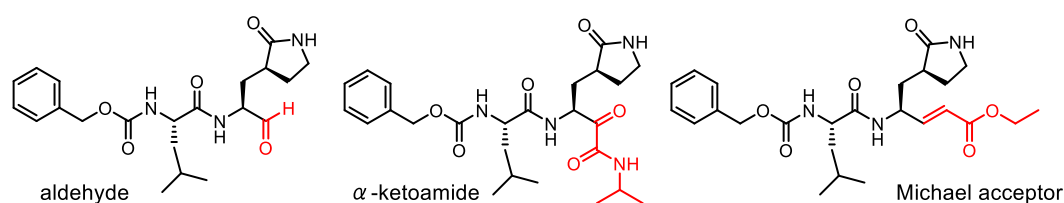


図 4 システインプロテアーゼ阻害剤の一例

所属研究室において、SARS 3CL^{pro} 阻害剤開発の足掛かりとして、基質配列の最適化が行われ、H-Thr-Ser-Ala-Val-Leu-Gln-Ser-Gly-Phe-Arg-Lys-NH₂ が選択された。この基質配列の切断部位からノンプライム側 5 残基を有する誘導体がペプチドアルデヒド型阻害剤として報告された⁹。さらに側鎖官能基の最適化が行われたペプチドアルデヒド型阻害剤 **1** が報告されており、IC₅₀ = 98 nM と強力な阻害活性を示すことが見出されていた¹⁰。阻害剤 **1** と酵素との複合体 X 線結晶構造解析にも成功しており、以下の点が阻害活性を示すのに重要であることが明らかとなっていた。① C 末端のアルデヒド基がプロテアーゼ活性中心のチオール基と水素結合距離にある。② S₁ ポケットは His 側鎖のイミダゾール基が適切である。③ S₂ ポケットでの相互作用では疎水性相互作用が主要因子である (図 5)。

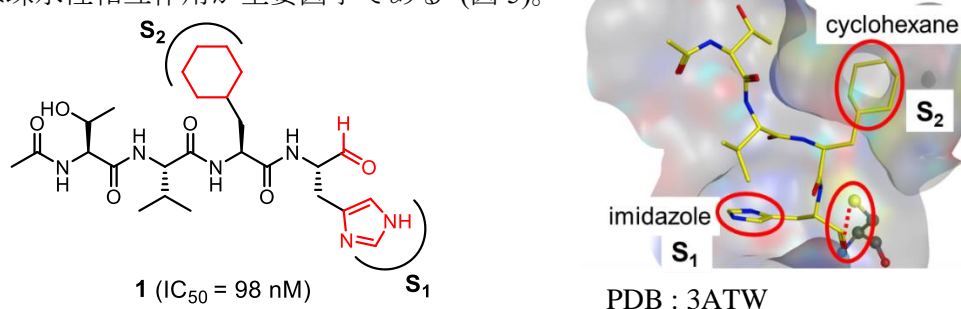


図 5 阻害剤 **1** と R188I SARS 3CL^{pro} の複合体 X 線結晶構造解析

しかし、ペプチド型阻害剤は一般的に生体内での代謝安定性が低いという問題点があるため、よりドラッグライクな骨格を有する非ペプチド型阻害剤の設計が行われた。ペプチド型阻害剤 **1** の S₂ ポケットにおける疎水性相互作用に着目し、複合体 X 線結晶構造解析の結果から、S₂ ポケットにおけるシクロヘキサン環とペプチド主鎖が近接していることが明らかとなったため、それらをメチレンリンカーで連結したデカヒドロイソキノリン型阻害剤 **2** が設計された¹¹。合成されたデカヒドロイソキノリン型阻害剤 **2** は IC₅₀ = 63 μ M の阻害活性を示した。一定の阻害活性は示したが、ペプチド型阻害剤 **1** と比較すると阻害活性が低下した。

その原因として、阻害剤 **2** とプロテアーゼとの複合体 X 線結晶構造解析の結果から、 S_4 ポケットでの相互作用がなくなったことと、ブロモフェニル基が酵素の表面に向いており、プロテアーゼとの相互作用が十分でなかったためと考えられた。一方、デカヒドロイソキノリン骨格は S_2 ポケットに収容され、デカヒドロイソキノリン骨格が新たな SARS 3CL^{pro} 阻害剤として有用であることが明らかにされた (図 6)。

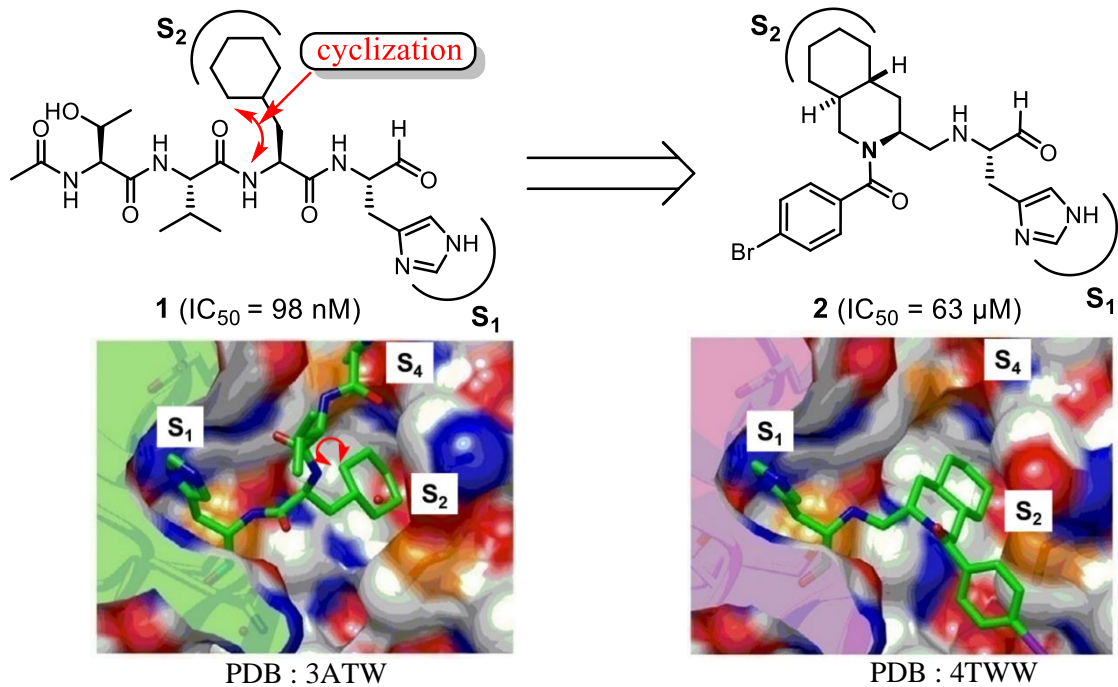


図 6 阻害剤 **1** 及び **2** と R188I SARS 3CL^{pro} の複合体 X 線結晶構造解析

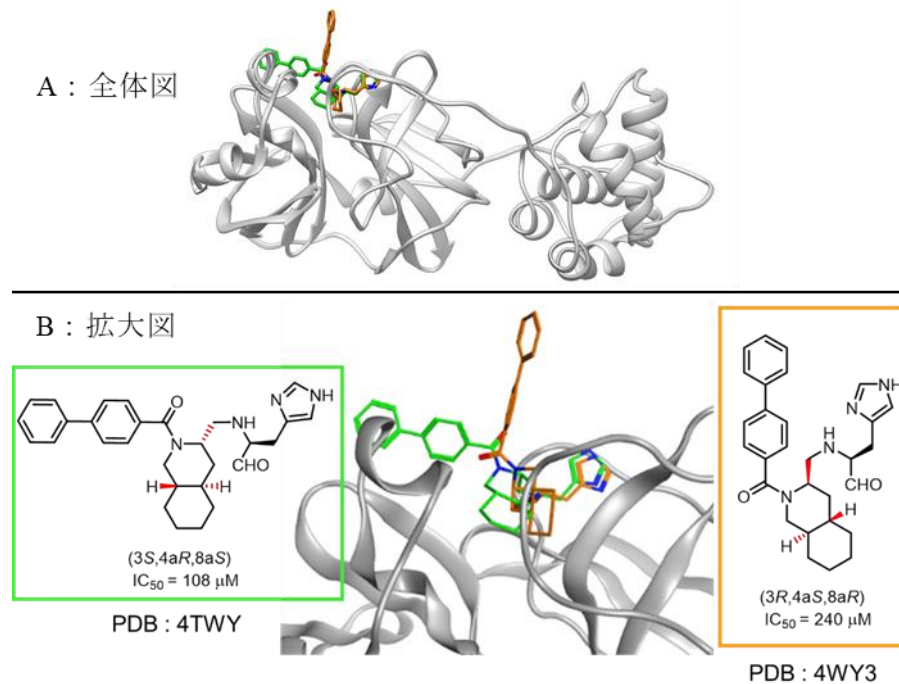


図 7 縮環構造部の立体化学の違いによる置換基への影響
 [(3*S*,4*aR*,8*aS*) : 緑色、(3*R*,4*aS*,8*aR*) : 茶色]

デカヒドロイソキノリンの立体化学による阻害活性への影響についても明らかにされていた。図7に示した2種のジアステレオマーについて阻害活性評価を行った結果、(3*S*,4*aR*,8*aS*)の立体化学を有する化合物の方が(3*R*,4*aS*,8*aR*)の立体を有する化合物よりも2倍程度高い阻害活性を示した。酵素との相互作用解析が行われ、デカヒドロイソキノリン骨格の立体化学の違いにより、ビフェニル基が酵素表面あるいは酵素の外側に出ていることが明らかとなり、阻害活性の差につながったと考えられた。

次に阻害活性向上のため、デカヒドロイソキノリン型阻害剤2にS₄ポケットでの相互作用部位を導入した化合物の設計が行われた(図8)³⁵。阻害剤1とX線結晶構造を重ね合わせた結果、阻害剤2のデカヒドロイソキノリン4位炭素と阻害剤1のシクロヘキシルアラニンの窒素原子との距離が1.63 Åであると推測された。この距離はC-N結合の距離に近いので、デカヒドロイソキノリンの4位炭素に直接窒素原子を導入しS₄ポケットでの相互作用部位として阻害剤1の部分構造を模倣したAc-Thr-Gly-のジペプチドを導入した阻害剤3が設計された。合成された阻害剤3はIC₅₀ = 26 μMと阻害活性が阻害剤2よりも向上したため、デカヒドロイソキノリンの4位における置換基はS₄ポケットでの相互作用部位となり得ることが示唆された。

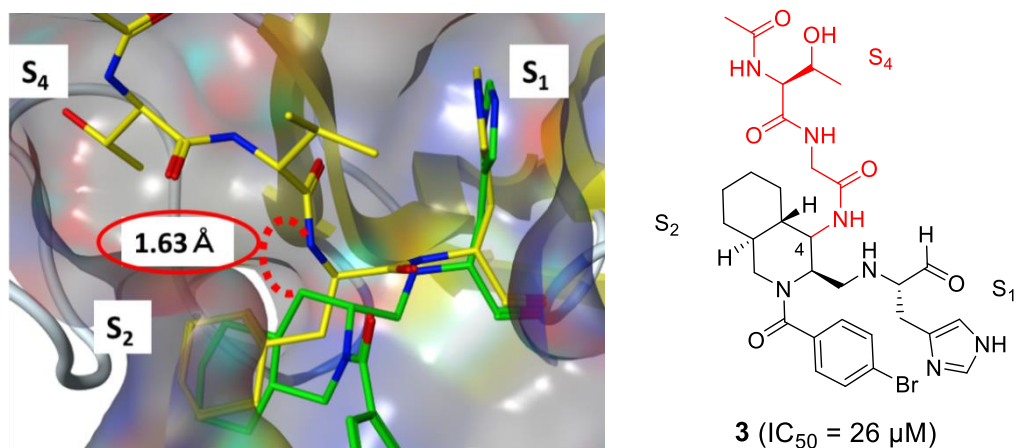


図8 阻害剤3の設計
(ペプチド型阻害剤1：黄色、デカヒドロイソキノリン型阻害剤2：緑色)

著者はこれらの研究背景を踏まえた上で、SARS 3CL^{pro}阻害剤開発に着手した。

第1章では、新たな縮環構造であるオクタヒドロイソクロメン骨格を有する非ペプチド型阻害剤の設計と合成およびR188I SARS 3CL^{pro}に対する阻害活性評価を行った。

第2章では、第1章で合成したオクタヒドロイソクロメン骨格の立体選択的合成と絶対立体配置の決定ならびに活性構造の同定について論じた。

第1章 オクタヒドロイソクロメン型 SARS 3CL^{pro} 阻害剤の評価

第1節 オクタヒドロイソクロメン型阻害剤 4 の設計

序論で示したように、阻害剤 **2** の縮環構造部の立体化学の違いにより、置換基の配向性が変化し阻害活性に差が認められたため、縮環構造部は立体選択的に合成する必要があった。デカヒドロイソキノリン骨格を構成するヘテロ原子を窒素から酸素に置換したオクタヒドロイソクロメン骨格とすることで、酸素原子の特性を生かした不斉反応 (Sharpless-香月不斉エポキシ化反応と Sharpless 不斉ジヒドロキシ化反応) を活用し、活性型縮環構造の同定と効率的構造最適化を可能になると考えた。

SARS 3CL^{pro} 活性中心のチオールと相互作用する官能基としてはこれまで同様、アルデヒドを用いることとした。阻害剤 **2** と比較するため、序論で示したように、他の官能基を用いる場合、この部位での構造最適化が必要であり、縮環構造部の立体化学や置換基の検討をした後の方が良いと考えた。

置換基については、阻害剤 **2** のブロモフェニル基はプロテアーゼの表面に向いていたため、阻害剤 **4** では置換基の配置を変更することで、S₁-S₄ ポケットとは異なる部位での新規相互作用を得られると考えた。阻害剤 **2** を基にしたドッキングシミュレーションによりプロテアーゼとの水素結合が期待されたことから、置換基に窒素を導入し、また、置換基効果を確認するために、直鎖の *n*-ブチル、アリル、分岐鎖の *i*-ブチルや、芳香族のベンジル基を導入した化合物を設計した。なお、S₄ ポケットでの相互作用を期待する場合、阻害剤 **3** と同様に阻害剤 **4** の縮環構造部 4 位への置換基導入が有効であると想定した。

しかしながら、阻害剤 **3** の阻害活性評価の結果から、縮環構造部 4 位の置換基の導入について一定の評価ができたことと、1 位における置換基効果を複合体 X 線結晶構造解析に成功している阻害剤 **2** と比較するには 4 位は無置換であることが望ましく、合成工程と阻害剤の物性からも 4 位無置換体を合成し、阻害剤 **4** の阻害活性を確認することを優先することとした (図 9)。

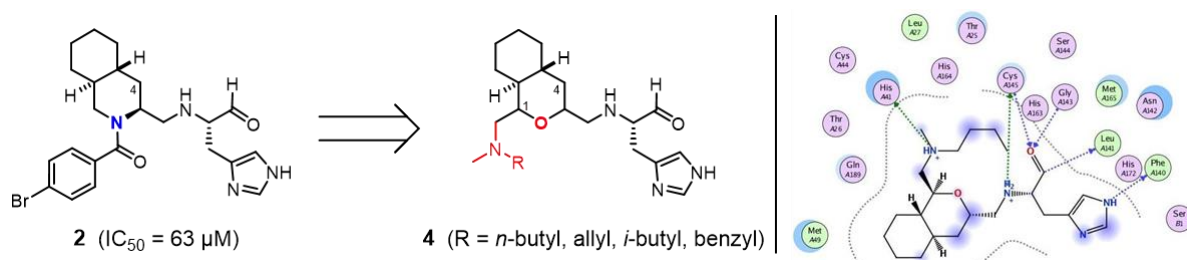


図 9 オクタヒドロイソクロメン型阻害剤 4 の設計

第2節 逆合成解析

目的化合物 **4** はオクタヒドロイソクロメン骨格を有する化合物 **5** とヒスチジン誘導体による、還元的アミノ化反応により得られると考えた。化合物 **5** は環化体 **6** から、還元的アミノ化反応により得られ、用いるアミンを変更することで **R** での構造活性相関を行うこととした。また、環化体 **6** は Sharpless 不斉ジヒドロキシ化反応により合成した化合物 **7** から立体選択的に得られると考えた³⁶⁻³⁸。また各不斉反応で用いる配位子を変更することで、縮環構造部 1 位と 3 位の立体化学が異なる環化体 **5** を合成可能と考えた。エポキシアルコール **8** は市販されている化合物 **9** から種々の官能基変換と Sharpless-香月不斉エポキシ化反応³⁹により立体選択的に得られると考えた (図 10)。

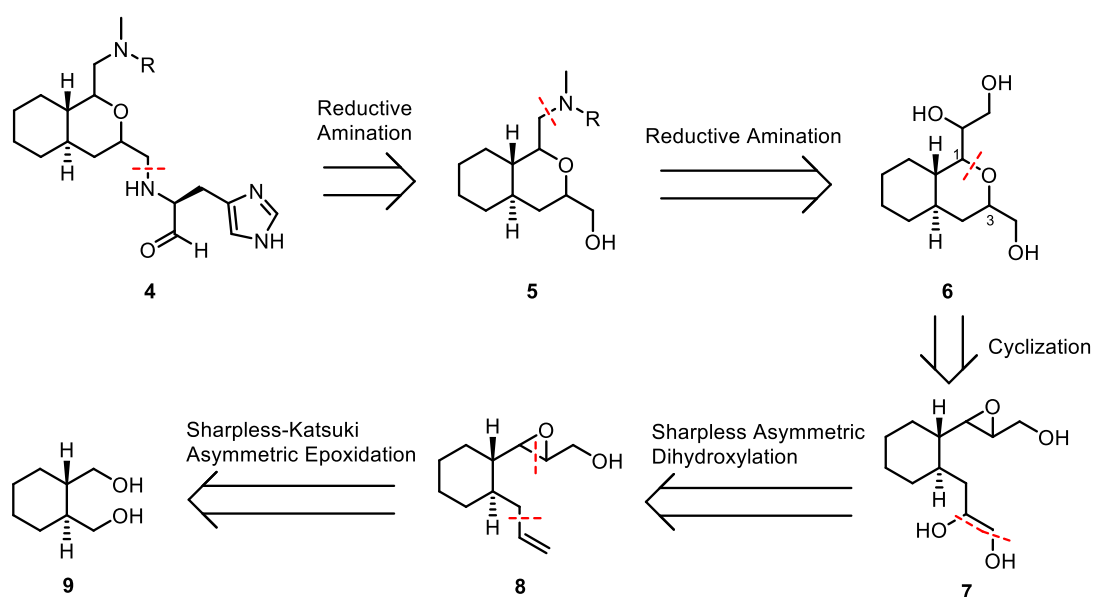


図 10 候補化合物 **4** の逆合成解析

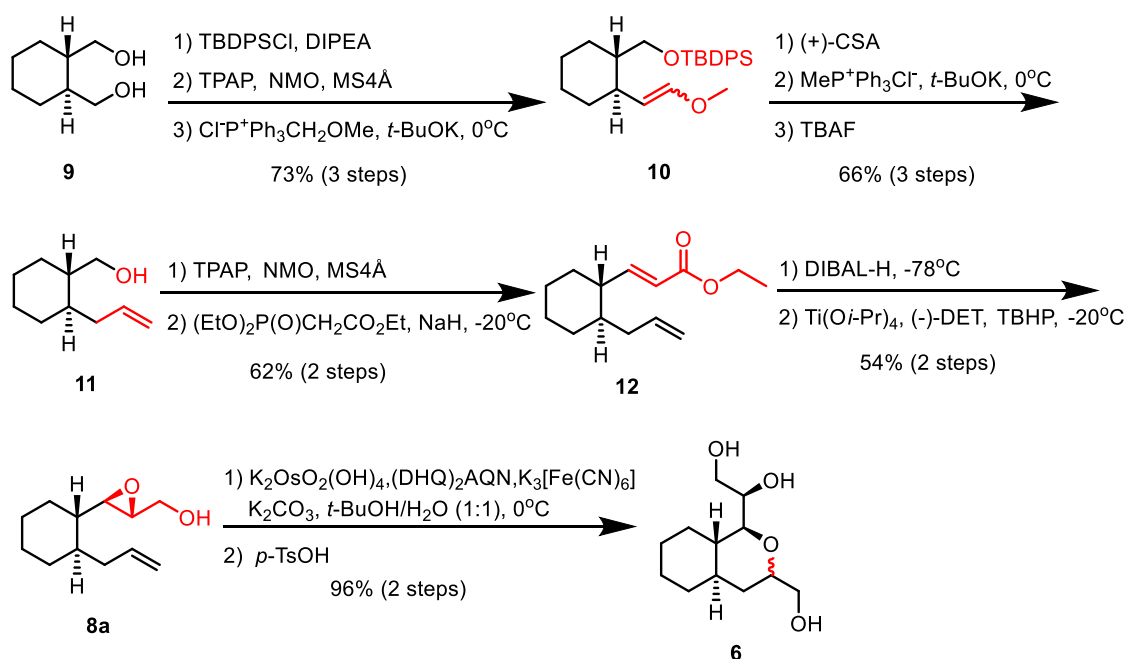
第3節 オクタヒドロイソクロメン型阻害剤4の合成

第1項 オクタヒドロイソクロメン骨格6の形成

市販されている (1*S*,2*S*)-cyclohexanedimethanol の片側のアルコールを TBDPSCI を用いて TBDPS 基で保護した⁴⁰。その後、Ley-Griffith 酸化と Wittig 反応⁴¹⁻⁴³を行いメトキシ体 **10** をジアステレオマー混合物として合成した。メトキシ体 **10** を (+)-CSA を用いた開裂反応によりアルデヒド体を合成し、続けて Wittig 反応を行い末端オレフィンを導入した。その後、TBAF を用いて TBDPS 基の脱保護を行いアルコール **11** を合成した。1 級アルコールに Ley-Griffith 酸化を行いアルデヒド体とし、続けて Horner-Wadsworth-Emmons 反応⁴⁴⁻⁴⁶を行い増炭した化合物 **12** を合成した。

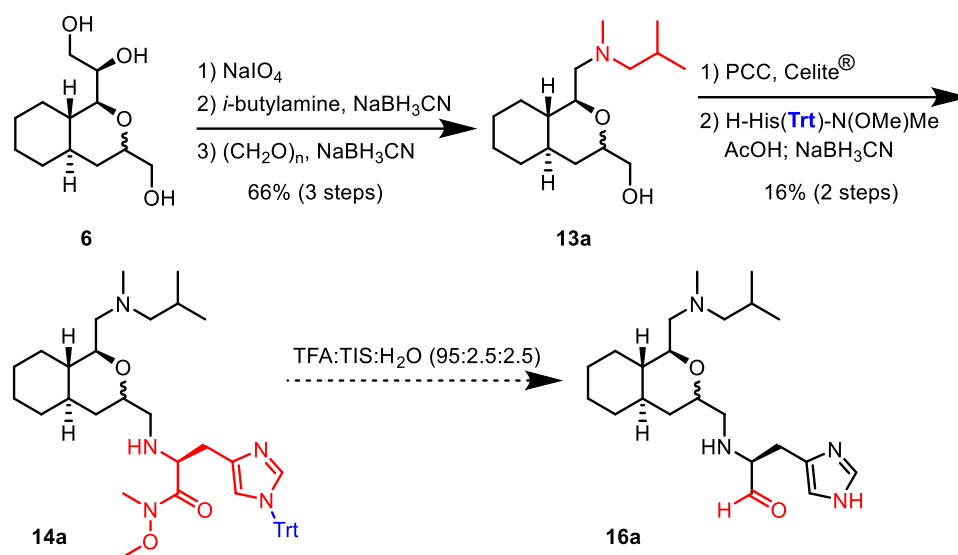
化合物 **12** のエチルエステルを DIBAL-H を用いた還元により、アリルアルコール体を合成し、その後配位子 (-)-DET を用いて Sharpless-香月不斉エポキシ化反応を行いエポキシ体 **8a** を単一のジアステレオマーとして得た。立体選択性は ¹H NMR 解析からエポキシドに由来するシグナル強度から判断した。得られた化合物 **8a** に対し Sharpless 不斉ジヒドロキシ化反応を行い、その後 *p*-TsOH を用いた酸性条件下におけるエポキシドの開裂により環化体 **6** を合成した。

¹H NMR から環化体 **6** が得られていることは分かったが、¹H NMR 解析からはシングルジアステレオマーかどうか区別できなかったため、立体選択性については不明であった (後の各種 NMR スペクトル解析によりジアステレオマー混合物であることを同定した)。オクタヒドロイソクロメン骨格の有効性を確認するため、候補化合物への変換を優先し、立体選択性については阻害活性評価後に確認することとした (Scheme 1)。



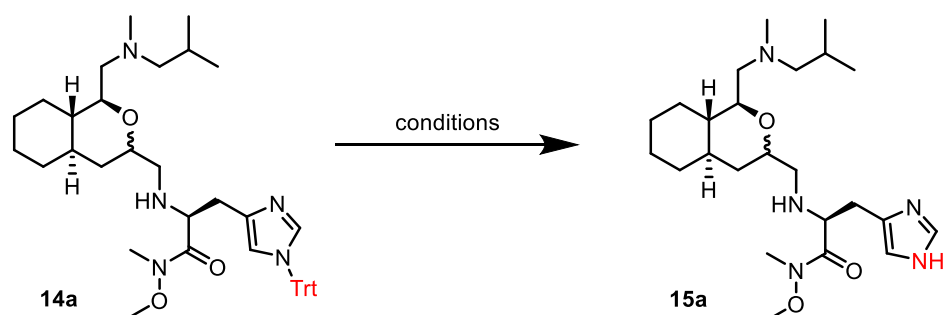
Scheme 1 環化体 **6** の合成

第2項 候補化合物 16a-16d の合成



Scheme 2 候補化合物 16a の合成経路

環化体 **6** の過ヨウ素酸ナトリウムを用いた 1,2 ジオールの開裂反応⁴⁷により、アルデヒド体を合成し、続いて *i*-ブチルアミンと還元的アミノ化反応を行った。引き続きパラホルムアルデヒドとの還元的アミノ化反応を行い化合物 **13a** を合成した。アルコール **13a** を PCC 酸化でアルデヒドとし、別途合成した His 誘導体⁴⁸ との還元的アミノ化反応を行い化合物 **14a** とした。化合物 **14a** の Trt 基を TFA を用いた条件下で脱保護を試みたが、化合物が分解したため条件検討を行った (Scheme 2)。以下に条件検討の結果を示す (表 1)。



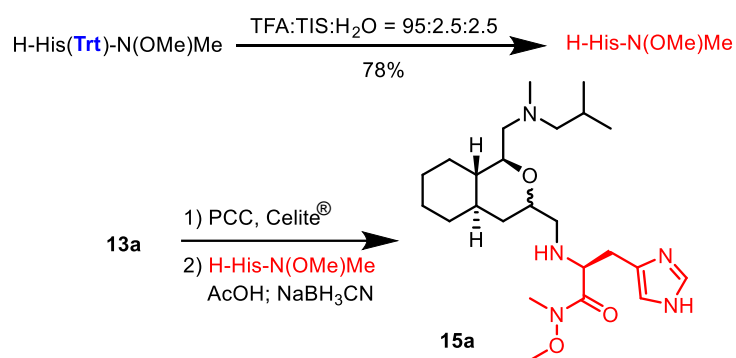
entry	conditions	yield (%)
1	TFA:TIS:H ₂ O = 95:2.5:2.5	N.D. ^a
2	0.2% TFA, 1% H ₂ O in CH ₂ Cl ₂	N.D.
3	90% AcOH, 60°C	24
4	Yb(OTf) ₃ , H ₂ O, THF	N.R. ^b
5	HOBt, TFE ¹³	60 (crude)

^aN.D.: not detected ^bN.R.: no reaction

表 1 化合物 **14a** から **15a** への脱 Trt 化反応の検討

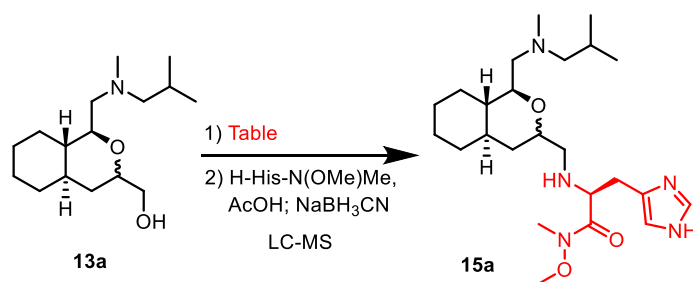
TFA を用いた条件では目的物が得られず、原料も分解した (entries 1, 2)。90% 酢酸、60 °C の条件下では 24% の収率で **15a** が得られたが、主は原料回収となった (entry 3)。また反応温度を上げると化合物の分解がみられた。60 °C の条件下では目的物は得られるが反応時間がかかると判断した。ルイス酸である Yb(OTf)₃ を用いた条件⁴⁹ では反応が進行しなかった (entry 4)。0.5 M HOBt、トリフルオロエタノール条件下⁵⁰ では反応が進行し、化合物 **15a** が得られたが、過剰に用いた HOBt の除去が問題となった (entry 5)。

この問題を解決するため、還元的アミノ化反応で用いている His 誘導体の Trt 基を TFA 条件下であらかじめ脱保護することとした。脱 Trt 化した His 誘導体でも化合物 **15a** への反応は進行した。Trt 基を脱保護し極性が高くなったことで LC-MS での精製を行うこととしたが、PCC 酸化で生じたペースト状の残渣が残存しており、シリカゲルやセライト、フィルター等での除去を試みたが、十分な除去には至らず LC-MS への影響を考慮し精製を断念した (Scheme 3)。



Scheme 3 化合物 **15a** の合成

上記の理由から酸化条件を検討することとした。結果について以下に示した。

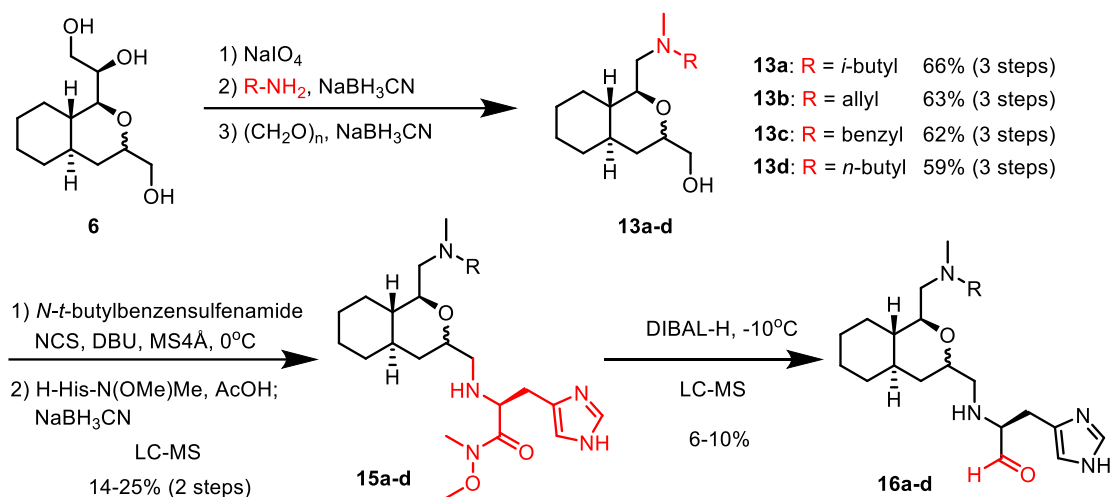


entry	reagent	solvent	temperature (°C)	yield (%) (2 steps)	
1	PCC	CH ₂ Cl ₂	rt	16 (crude)	
2	1-Me-AZADO, (AcO) ₂ IPh	CH ₂ Cl ₂	rt	N.R. ^a	
3	TPAP, NMO	CH ₂ Cl ₂	rt	N.R.	
4	SO ₃ -pyridine, Et ₃ N	DMSO	rt	N.R.	
5	(COCl) ₂ , Et ₃ N	DMSO	-78	N.R.	
6	Dess-Martin Periodinane	CH ₂ Cl ₂	rt	N.R.	
7	<i>N</i> - <i>t</i> -butylbensulfenamide, NCS, DBU	CH ₂ Cl ₂	0	22	^a N.R.: no reaction

表 2 アルコール **13a** の酸化反応の検討

PCC 酸化に代えて行った、AZADO 酸化、Ley-Griffith 酸化、SO₃-ピリジン酸化、Dess-Martin 酸化ではアルデヒドへの酸化が進行せず、原料回収が主となった (entries 2-6)。一方、向山酸化⁵¹では LC-MS での精製後、化合物 **15a** が得られた (entry 7)。なお化合物 **15a** は UV が観測できなかったため HPLC での精製は断念し、LC-MS での精製を行った (表 2)。

得られた化合物 **15a** のワインレブアミドの還元によりアルデヒド体 **16a** を合成した。合成途上で用いるアミンをアリルアミン、ベンジルアミン、*n*-ブチルアミンに変更することで、それぞれ対応する化合物 **16b** から **16d** を得た (Scheme 4)。



Scheme 4 候補化合物 **16a-16d** の合成

第4節 阻害活性評価

合成した化合物 **16a-16d** について阻害活性評価を行った (表 3)。基質ペプチドおよび阻害剤、序論で示した変異型酵素 R188I SARS 3CL^{PRO} をインキュベートし阻害剤濃度と基質ペプチドの切断率から IC₅₀ 値を算出した (図 11)⁷。

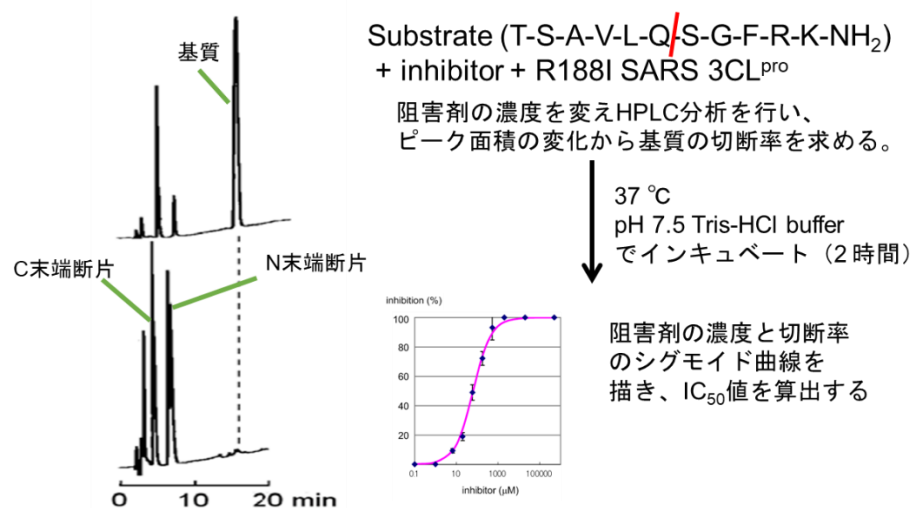


図 11 HPLC を用いた R188I SARS 3CL^{PRO} 阻害活性評価の方法

阻害活性試験の結果、直鎖状の *n*-ブチル基を導入した化合物 **16d** が比較的良好な阻害活性値を示した。アシル基を導入した化合物 **16b** やベンジル基を導入した化合物 **16c** は化合物 **16d** と比較すると阻害活性が減弱した。化合物 **16b** が化合物 **16d** より阻害活性が低い原因として、アシル基は 1 炭素短いことで疎水性相互作用において劣る、また不飽和結合による剛直性の影響が考えられる。分岐鎖である *i*-ブチル基を導入した化合物 **16a** では大幅に阻害活性が低下した。ベンジル基はサイズは大きい平面構造をとることから空間占有率の高い *i*-ブチル基を導入した化合物 **16a** より阻害活性が高かったと考えた。

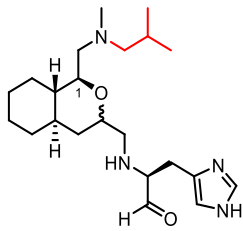
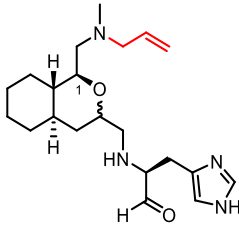
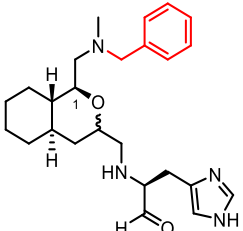
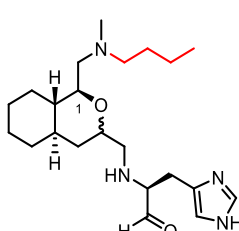
compound	IC ₅₀	compound	IC ₅₀
	>1,600 μM		420 μM
16a		16b	
	400 μM		100 μM
16c		16d	

表 3 化合物 **16a-16d** の阻害活性評価

第2章 オクタヒドロイソクロメン骨格の立体構造と阻害活性

第1節 オクタヒドロイソクロメン骨格の立体化学

第1章で直鎖状の *n*-ブチル基を導入した化合物 **16d** が比較的良好な阻害活性を示したため、*n*-ブチル基は固定し、縮環構造部の立体化学が異なる化合物 **4a-4d** を設計した。これらの化合物を合成・評価することで縮環構造部の立体化学が阻害活性に与える影響を調べ、また中間体化合物において縮環構造部の絶対立体配置を決定し、活性型縮環構造を特定することを目的とした (図12)。

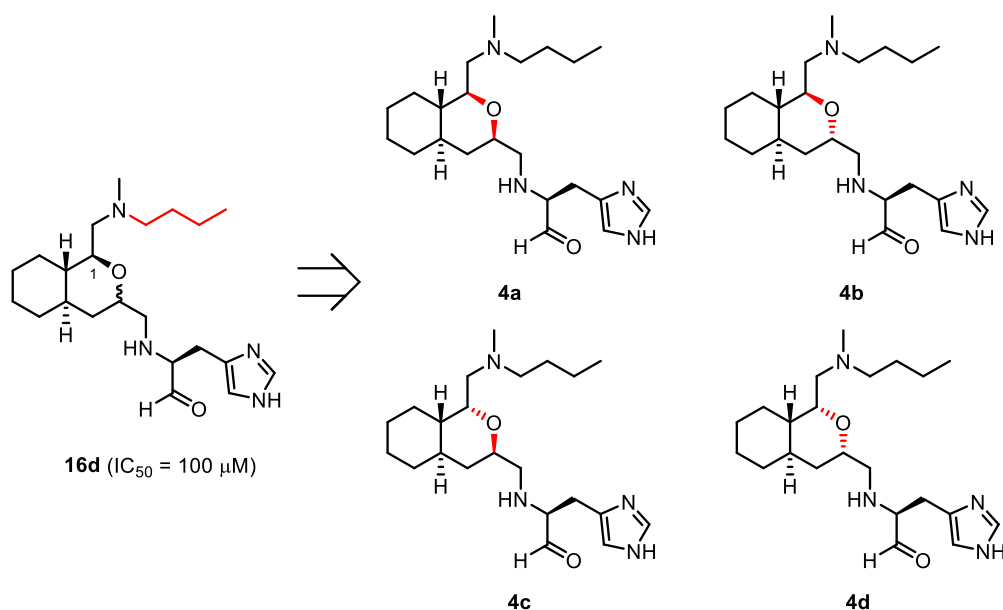
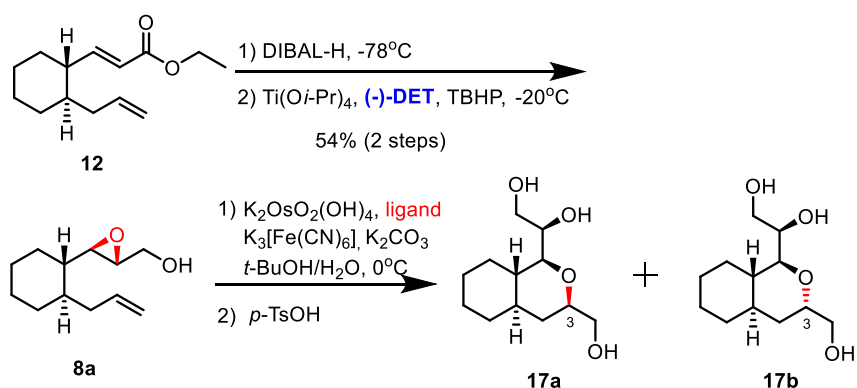


図12 化合物 **4a-4d** の設計

第2節 Sharpless 不斉ジヒドロキシ化反応における配位子と立体選択性

第1章にて確認できていなかった Sharpless 不斉ジヒドロキシ化反応での立体選択性について検証した。エステル体 **12** を DIBAL-H でアリルアルコールとし、Sharpless-香月不斉エポキシ化反応を行いエポキシ体 **8a** を単一の立体化学で合成した。その後、Sharpless 不斉ジヒドロキシ化反応を行ったが、この時点で一部環化体 **17** が確認されシリカゲルカラムクロマトグラフィーによる分離が困難であったため、混合物のまま *p*-TsOH を酸触媒として用い環化体 **17** とし、異性体比を評価した。環化体 **17a** とそのジアステレオマー**17b** は ¹H NMR スペクトルからは区別がつかなかったが、¹³C NMR スペクトルからは明確なシグナルの違いが観測された。従ってジアステレオマー混合物 **6** の異性体比は ¹³C NMR スペクトルのシグナル強度の比から算出可能となった。

第1章で用いていた (DHQ)₂AQN では予想に反し 1.5:1 と十分な選択性が得られていなかった。そこで、配位子の検討を行ったところ、(DHQ)₂PHAL では 6:1、(DHQ)₂Pyr では 7:1 と選択性が向上した。また縮環構造部 3 位の立体化学が反転した化合物が優先的に得られると考えられる (DHQD)₂Pyr では 1:15 と高い選択性を示した。配位子無しでは 1:1 であった (表 4)。



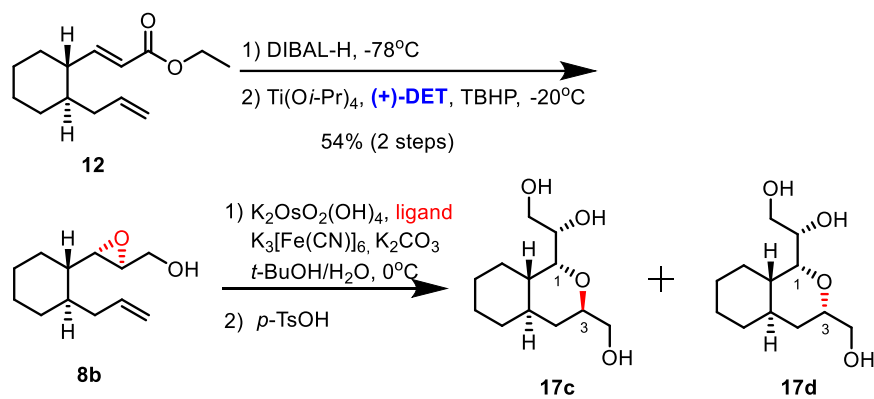
entry	ligand	ratio of the mixture* (17a : 17b)	yield of 17a + 17b (2 steps)
1	(DHQ) ₂ AQN	1.5:1	96
2	(DHQ) ₂ PHAL	6:1	85
3	(DHQ) ₂ Pyr	7:1	84
4	(DHQD) ₂ Pyr	1:15	85
5	-	1:1	82

*The ratio of **17a** and **17b** was determined by ¹³C NMR analysis.

表 4 Sharpless 不斉ジヒドロキシ化反応での配位子検討 1

Sharpless-香月不斉エポキシ化反応で用いる配位子を (+)-DET に変更することで縮環構造部 1 位の立体化学が反転した化合物 **17** を合成した。エポキシド **8b** は ¹H NMR スペクトルから単一の立体で得られていることを確認した。続く Sharpless 不斉ジヒドロキシ化反応では同様の配位子検討を行った。結果を以下に示したが表 4 の結果と大きな違いはなかったため、

エポキシアルコール部分の立体化学による Sharpless 不斉ジヒドロキシ化反応の立体選択性への影響は大きくないことが示唆された (表 5)。



entry	ligand	ratio of the mixture* (17c : 17d)	yield of 17c + 17d (2 steps)
1	(DHQ) ₂ AQN	3:1	88
2	(DHQ) ₂ PHAL	6:1	84
3	(DHQ) ₂ Pyr	8:1	81
4	(DHQD) ₂ Pyr	<1:29	74
5	-	1:1	84

*The ratio of **17c** and **17d** was determined by ¹³C NMR analysis.

表 5 Sharpless 不斉ジヒドロキシ化反応での配位子検討 2

第3節 縮環構造部の絶対立体配置の決定

第2節にて立体選択比 7:1 と 1:15 で得られたジアステロオマー混合物 **17** をフラッシュクロマトグラフィーで精製し、含有量の多い化合物を単離した。それぞれの化合物について ^1H NMR、 ^{13}C NMR、DEPT、HSQC、H-H COSY スペクトルから縮環構造部 1 と 3、4a 位のプロトンシグナルの位置を同定した。NOESY スペクトル解析を行った結果、上段に示した化合物は 1 位と 3 位、3 位と 4a 位、4a 位と 1 位において相関が見られたため、化合物 **17a** の立体化学を有していると決定した。下段に示した化合物は 1 位と 4a 位にのみ相関が見られたため、化合物 **17b** の立体化学を有していると決定した (図 13)。

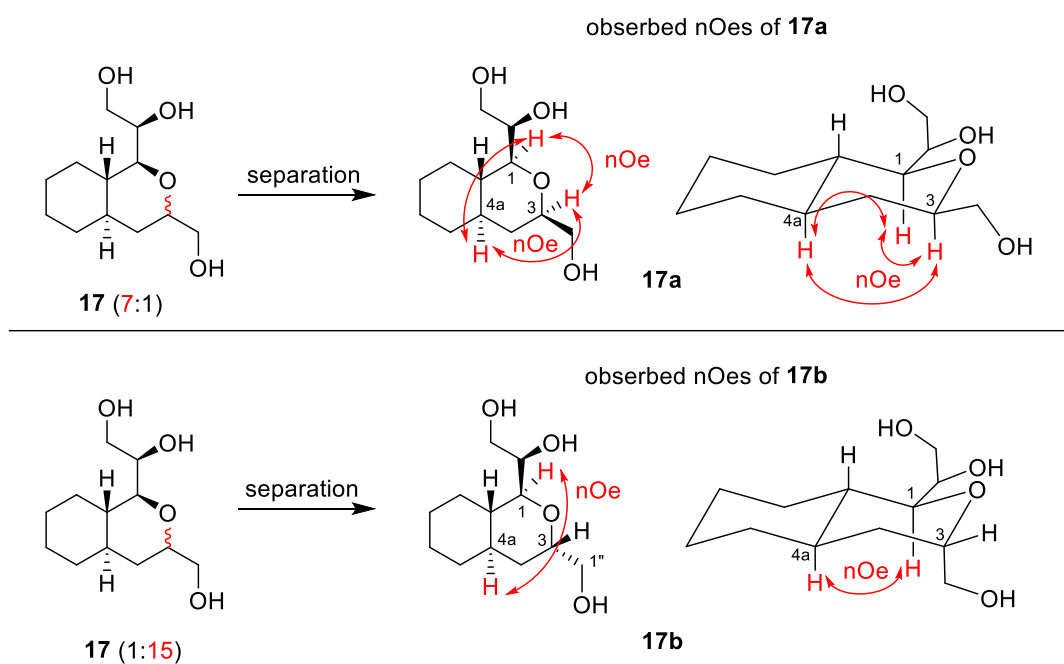


図 13 化合物 **17a** と **17b** の絶対立体配置の決定

第2節において立体選択比 8:1 と 1:29 以上で得られた化合物も同様に精製・単離し各種 NMR 解析を行った後、NOESY スペクトル解析を行った。上段に示した化合物は 4a 位と 3 位のみに関連が見られたため、化合物 **17c** の立体化学を有していると決定した。下段に示した化合物は 1 位と 3 位、4a 位において、それぞれ関連が見られなかったため、化合物 **17d** の立体化学を有していると決定した。化合物 **17d** は 1 位と 3 位の置換基が共にアキシアル位に配置しており、配座異性体との相互変換が考えられるが、 ^{13}C NMR スペクトルからは配座異性体のシグナルは観測されなかったことと、舟形配座である場合、1 位と 3 位、8a 位のプロトンが疑似的にアキシアル位に配置し、それぞれに関連が見られるはずであることから、化合物 **17d** ではいす型配座として存在すると考えた (図 14)。

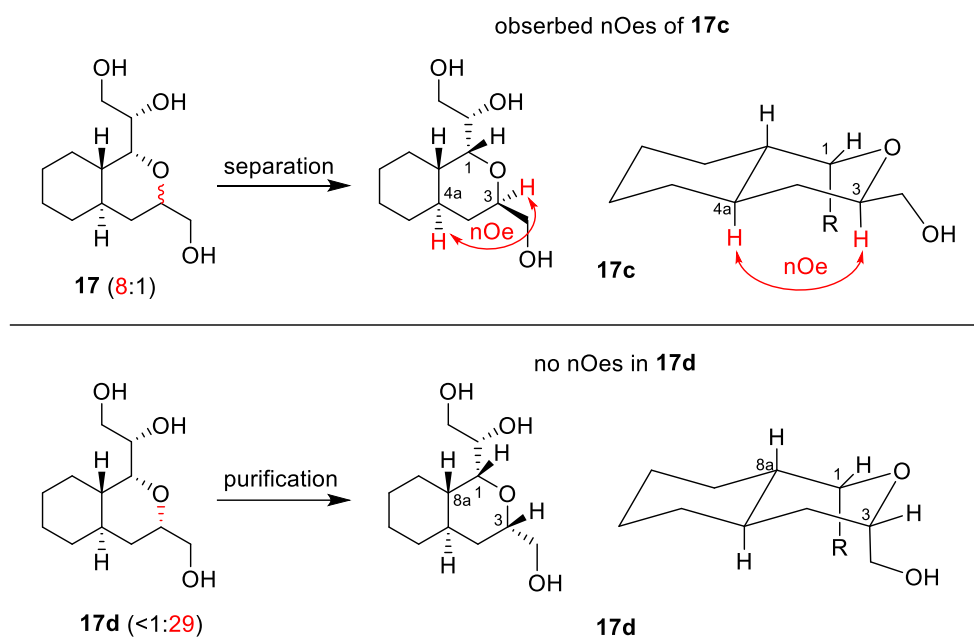


図 14 化合物 **17c** と **17d** の絶対立体配置の決定 2

第4節 Sharpless 不斉ジヒドロキシ化反応における立体選択性

化合物 **17a-17d** について絶対立体配置を決定した結果、それぞれの化合物の縮環構造部 3 位の立体化学が Sharpless 不斉ジヒドロキシ化反応で用いた配位子より推定される立体選択性から逆転していることがわかった。Sharpless 不斉ジヒドロキシ化反応で得られる立体選択性について図 15 に示す。Sharpless 不斉ジヒドロキシ化反応における立体選択性は経験則に基づき、アルケンの置換基の大きさ (R_L, R_M, R_S) と使用する配位子の組み合わせから推定される (Empirical model)。このモデルに従い、上段に示したように、選択性は以下の手順で推定した。①アルケン部位は 1 置換体であるため、置換基を左上に配置する。②配位子に $(DHQ)_2$ を用いた場合は二重結合の上側から反応が起こり、 $(DHQD)_2$ では二重結合の下側から反応が起こる。この推測に基づいて化合物 **8a** から $(DHQ)_2$ Pyr を用いた反応系で環化体 **17** まで合成した場合、下段上側に示したように環化体 **17b** が選択的に得られるはずであるが、選択的に得られたのは下側の化合物 **17a** であった。 $(DHQD)_2$ Pyr を用いた場合も同様の結果を与えた。原因を考察するため、Sharpless 不斉ジヒドロキシ化反応における立体選択性が逆転した例について文献を調べることにした。

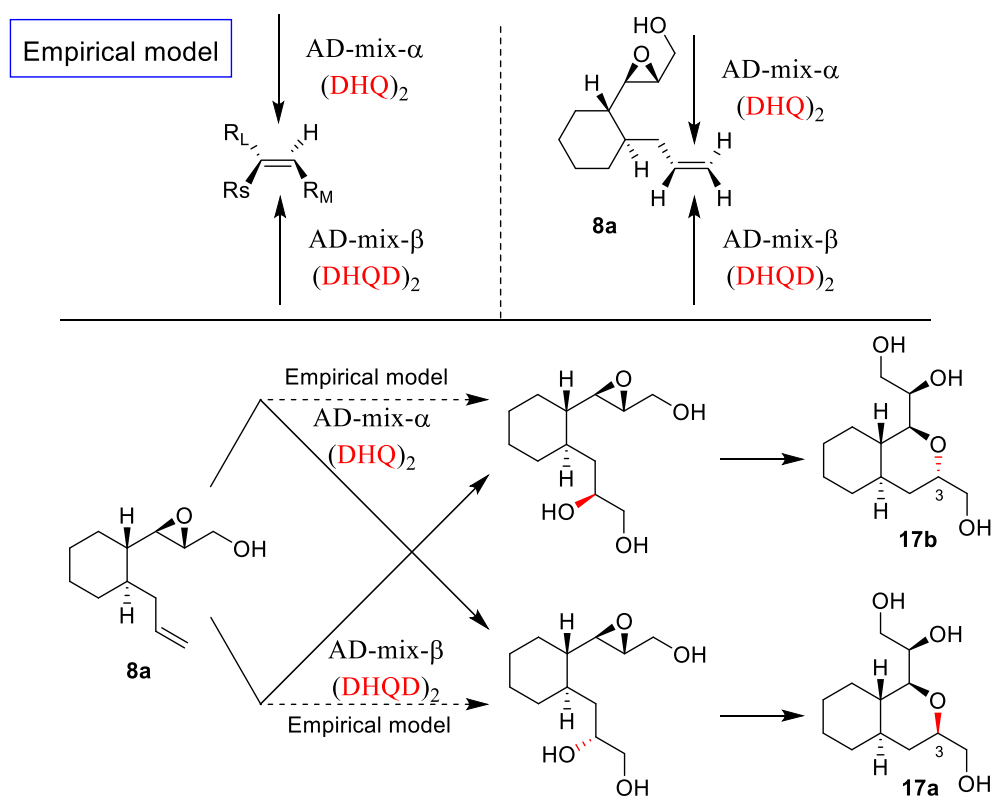


図 15 Sharpless 不斉ジヒドロキシ化反応における立体選択性

Sharpless 不斉ジヒドロキシ化反応で立体選択性が逆転した例はいくつか報告されていたが⁵²⁻⁵⁵、その中で基質の特徴が類似しているものを以下に示す (図 16)⁵²。それぞれベンゼン環にニトロ基がオルト、メタ、パラ位に置換した化合物であり、オルト位に置換した化合物のみ立体選択性が逆転したことが報告されていた。化合物 **13a** とはシクロヘキサン環とベンゼン環という違いがあるが、シクロヘキサン環の 1,2 位に置換基を有する場合、オルト置換体と同

様に配位子と立体反発を生じることで立体選択性が逆転する可能性があると考えた。

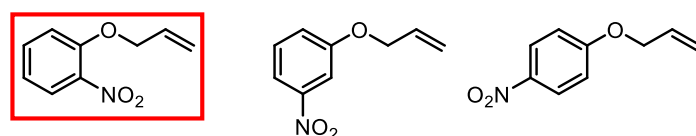


図 16 Sharpless 不斉ジヒドロキシ化反応における立体選択性の逆転例

上記した配位子との立体反発について考察するため、Corey が提唱する遷移状態モデル⁵⁶に基づき、化合物 **8a** と図中に示した配位子の組み合わせで分子模型を用いて遷移状態モデルを考察した (図 17)。上段に示した (DHQ)₂Pyr を用いた場合には、通常は右側に示した配置で基質が反応するが、この場合エポキシアルコール部分が配位子左側のキノリン環との立体反発が大きいことが想定された。一方、左側に示した配置で基質が反応する場合エポキシアルコール部分を許容できるスペースがあることが想定された。このため推定される立体選択性は逆転した左側に示した配置で反応が起こると考えた。また (DHQ)₂AQN を用いた場合には右側に示した配置では同様の立体反発が想定される。左側の配置で反応する場合、AQN は Pyr と比較すると中央の縮環部分が基質方向に長くなっているため、エポキシアルコール部分との立体反発が想定された。従って (DHQ)₂AQN を用いた場合には、どちらの遷移状態も組みにくいため、選択性が十分に得られなかった (1.5:1) と考えた。

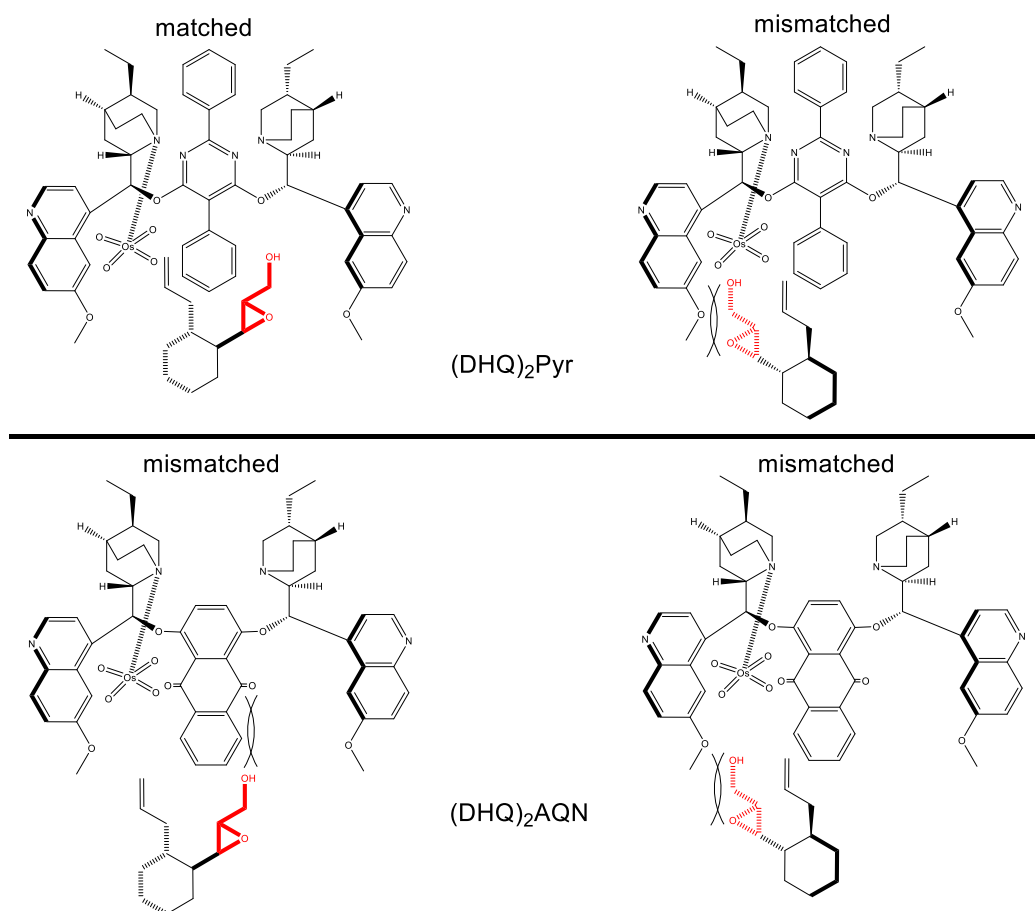
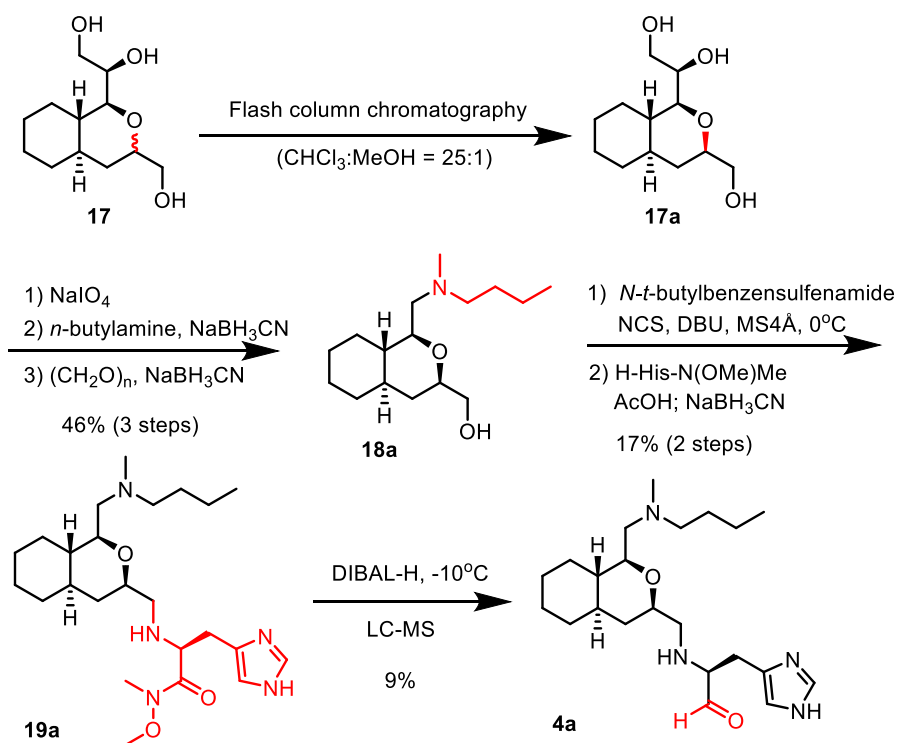


図 17 各配位子と化合物 **8a** の遷移状態モデル

第5節 候補化合物 4a の合成

第1章と同様の合成経路でアルデヒド体 4a を合成した。化合物 17 の立体選択比が 7:1 と向上したことでフラッシュクロマトグラフィー (CHCl₃:MeOH = 25:1) によりジアステレオマーの分離が可能となった。化合物 18a を向山酸化でアルデヒドとしたとき、DBU に α 水素が引き抜かれることによるエピメリ化が懸念されるため、¹H NMR 解析から化合物 19a がジアステレオマー混合物でないことを確認した。縮環構造部の立体化学が異なる他 3 種の化合物 4b-4d も同様にアルデヒド体へと変換した (Scheme 5)。



Scheme 5 候補化合物 4a の合成

第 6 節 阻害活性評価

得られた化合物 **4a** から **4d** について R188I SARS 3CL^{pro} に対する阻害活性試験を行った。結果、縮環構造部に (1*S*,3*S*) の立体化学を有する化合物 **4b** が比較的良好な阻害活性を示した。一方で縮環構造部に (1*R*,3*R*) の立体化学を有する化合物 **4c** は化合物 **4b** と比較すると約 8 倍阻害活性が低下した。阻害活性に差が見られたことから縮環構造部の立体化学により、置換基の R188I SARS 3CL^{pro} との相互作用様式が異なることが示唆された。また縮環構造部に (1*S*,3*S*) の立体化学を有することが R188I SARS 3CL^{pro} との相互作用に適していることが明らかになった(表 6)。

compound	IC ₅₀	compound	IC ₅₀
 4a (1 <i>S</i> ,3 <i>R</i>)	260 μM	 4b (1 <i>S</i> ,3 <i>S</i>)	95 μM
 4c (1 <i>R</i> ,3 <i>R</i>)	780 μM	 4d (1 <i>R</i> ,3 <i>S</i>)	440 μM

表 6 化合物 **4a-4d** の阻害活性評価

第7節 化合物 4b 及び 4c と R188I SARS 3CL^{pro} の相互作用考察

縮環構造部の立体化学の違いによる阻害活性への影響について考察するため、化合物 4a-4d について、MOE を用い、デカヒドロイソキノリン型阻害剤 2 と R188I SARS 3CL^{pro} との複合体 X 線結晶構造を基にドッキングシミュレーションを行った。阻害剤 4a、4b、および 4d で得られたドッキングスコアは類似していた (4a : IC₅₀ = 260 μM ; -8.3615 kcal/mol、4b : IC₅₀ = 95 μM ; -8.3982 kcal/mol、4d : IC₅₀ = 440 μM ; -8.4354 kcal/mol) が、4c のドッキングスコアは比較的低い結果となった (IC₅₀ = 780 μM ; -7.9265 kcal/mol)。このときの縮環構造部に (1*S*,3*S*) の立体化学を有する化合物 4b と最も阻害活性に差の見られた (1*R*,3*R*) の立体化学を有する化合物 4c の推定される R188I SARS 3CL^{pro} との相互作用様式について図 18 に示した。

水色の構造で示したデカヒドロイソキノリン型阻害剤 2 と比較すると、化合物 4b、4c 共に縮環構造部では同様の疎水性相互作用が想定される。一方、イミダゾール環による相互作用様式は異なっており、化合物 4b ではプロテアーゼ活性中心と水素結合距離にあることが推定されたが、化合物 4c はプロテアーゼの外側に向いていることが想定された。縮環構造部 1 位の置換基は両化合物共にプロテアーゼ側に向いていると示された。1 位の置換基は柔軟性が高いことから大きな差は見られなかった。図 18 に示したように化合物 4b のオクタヒドロイソクロメンとイミダゾール、アルデヒド部位がデカヒドロイソキノリン型阻害剤 2 と同様のプロテアーゼとの相互作用を行うと算出され、これらの阻害剤が同等の阻害活性値を示している (化合物 4b : IC₅₀ = 95 μM, デカヒドロイソキノリン型阻害剤 2 : IC₅₀ = 63 μM) ことから、化合物 4b の 1 位の置換基による疎水性相互作用、もしくは水素結合による相互作用とデカヒドロイソキノリン型阻害剤 2 のブロモフェニル基によるプロテアーゼとの相互作用による阻害活性に与える影響は同等であると考えた。

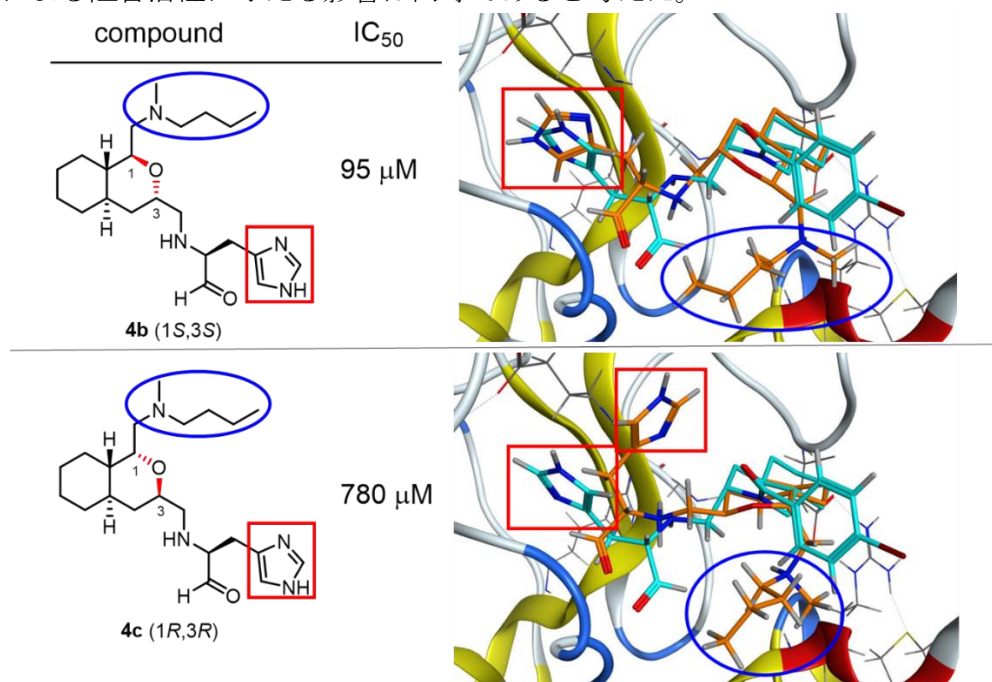


図 18 化合物 4b 及び 4c と R188I SARS 3CL^{pro} のドッキングシミュレーション (化合物 4b 及び 4c : オレンジ色, デカヒドロイソキノリン型阻害剤 2 : 水色)

化合物 **4b**、**4c** と R188ISARS 3CL^{pro} の推定相互作用様式について図 19 に示した。両化合物共にアルデヒドはプロテアーゼ活性中心である Cys145 と水素結合距離にあることが推定される。イミダゾール環による相互作用では化合物 **4b** はデカヒドロイソキノリン型阻害剤 **2** と同様の Phe140 と水素結合距離にあるが、化合物 **4c** ではプロテアーゼの外側に向いているため、水素結合距離にないことが想定される。縮環構造部 1 位の置換基について上段に示した図では大きな差は見られないが、化合物 **4b** は N 原子が His41 と水素結合距離にあるが、化合物 **4c** では水素結合距離にないことが推定された。これら 2 点が化合物 **4b**、**4c** と R188ISARS 3CL^{pro} 阻害活性の差に影響したことが考えられる。また第 1 章にて縮環構造部 1 位に分岐鎖状の *i*-ブチル基を導入した化合物では大幅に阻害活性が低下した原因として、図に示したように嵩高い置換基を収容できるスペースがないことが原因であると考えた。

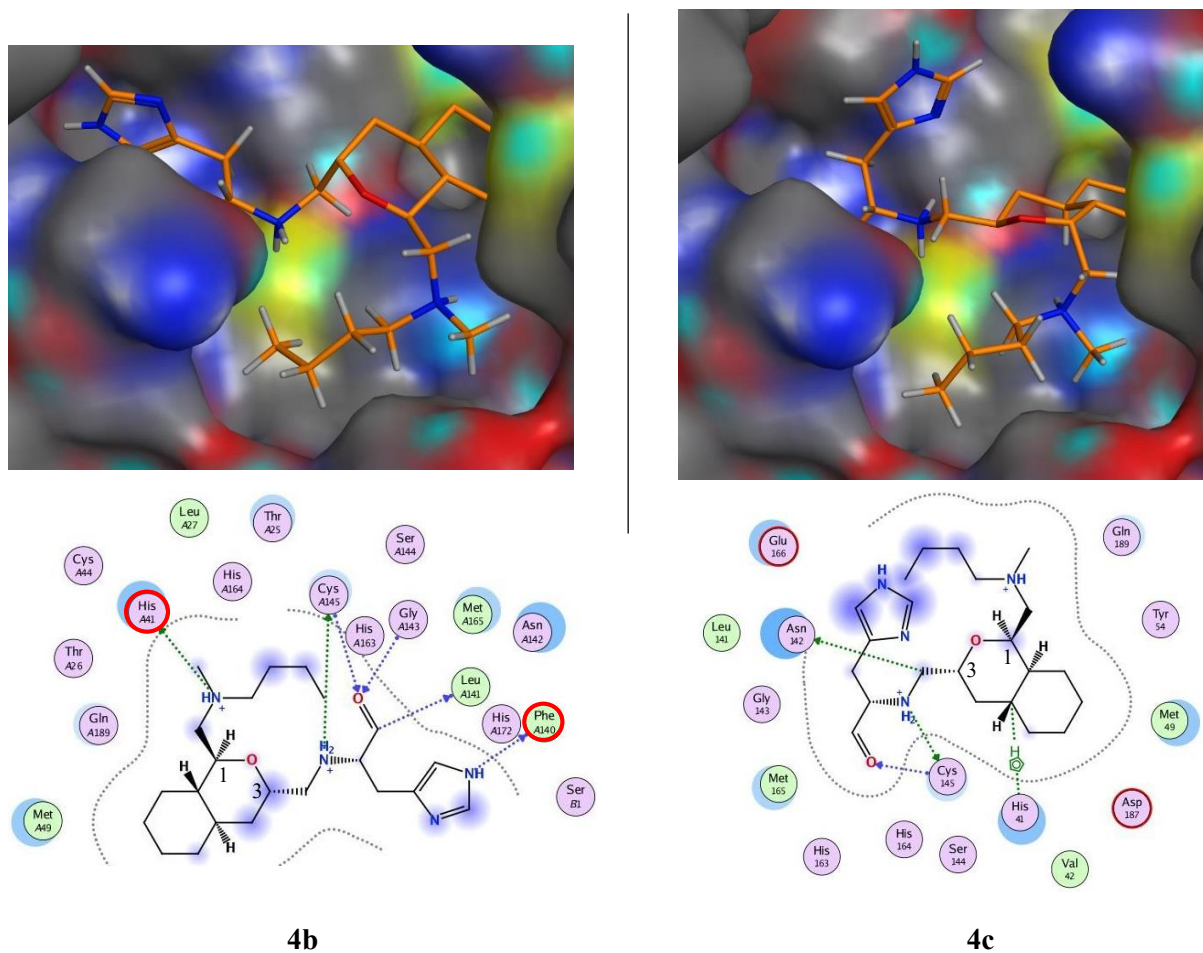


図 19 化合物 **4b** 及び **4c** と R188ISARS 3CL^{pro} の推定相互作用

総括

第 1 章ではデカヒドロイソキノリンに代わる新規の疎水性部位としてオクタヒドロイソクロメン骨格を設計し、合成に成功した。合成した化合物 **16d** が一定の阻害活性を示したことからオクタヒドロイソクロメン骨格が R188I SARS 3CL^{pro} 阻害剤として有用であることを明らかにした。縮環構造部 1 位のアミン構造の置換基として *n*-ブチル基が比較的適していた。またこの部位における置換基により阻害活性に差がみられたため、プロテアーゼと何らかの相互作用をしていることが示唆された。

第 2 章では Sharpless 不斉ジヒドロキシ化反応において配位子を検討し、(DHQD)₂Pyr が最良の結果を与えることと、(DHQD)₂Pyr を用いるとジアステレオ選択性が逆転することを明らかにした。縮環構造部の立体化学の異なる化合物 **4a-4d** を合成し、阻害活性に与える影響について評価すると共に、合成中間体において縮環構造部の立体化学を決定した。合成した化合物について阻害活性評価を行った結果、阻害活性に差がみられたため、縮環構造部の立体化学の違いにより置換基によるプロテアーゼとの相互作用様式が異なることが示唆された。縮環構造部に (1*S*,3*S*) の立体化学を有する化合物 **4b** が R188I SARS 3CL^{pro} との相互作用において適していることを見出した。

文献

1. Lee, N.; Hui, D.; Wu, A.; Chan, P.; Cameron, P.; Joynt, G. M.; Ahuja, A.; Yung, M. Y.; Leung, C. B.; To, K. F.; Lui, S. F.; Szeto, C. C.; Chung, S.; Sung, J. J. Y. A major outbreak of severe acute respiratory syndrome in Hong Kong. *N. Engl. J. Med.* **2003**, *348*, 1986-1994.
2. Drosten, C.; Günther, S.; Preiser, W.; Ven der Werf, S.; Brodt, H. R.; Becker, S.; Rabenau, H.; Panning, M.; Kolensnikova, L.; Fouchier, R. A. M.; Berger, A.; Burguière, A. M.; Cinatl, J.; Eickmann, M.; Escriou, N.; Grywna, K.; Kramme, S.; Manuguerra, J. C.; Müller, S.; Rickerts, V.; Stürmer, M.; Vieth, S.; Klenk, H. D.; Osterhaus, A. D. M. E.; Schmitz, H.; Doerr, H. W. Identification of a novel coronavirus in patients with severe acute respiratory syndrome. *N. Engl. J. Med.* **2003**, *348*, 1967-1976.
3. Ksiazek, T. G.; Erdman, D.; Goldsmith, C. S.; Zaki, S. R.; Peret, T.; Emery, S.; Tong, S.; Urbani, C.; Comer, J. A.; Lim, W.; Rollin, P. E.; Dowell, S. F.; Ling, A. E.; Humphrey, C. D.; Shieh, W. J.; Guarner, J.; Paddock, C. D.; Rota, P.; Fields, B.; DeRisi, J.; Yang, J. Y.; Cox, N.; Hughes, J. M.; LeDuc, J. W.; Bellini, W. J.; Anderson, L. J. A novel coronavirus associated with severe acute respiratory syndrome. *N. Engl. J. Med.* **2003**, *348*, 1953-1966.
4. Ren, Z.; Yan, L.; Zhang, N.; Guo, Y.; Yang, C.; Lou, Z.; Rao, Z. The newly emerged SARS-like coronavirus HCoV-EMC also has an “Achilles’ heel”: current effective inhibitor targeting a 3C-like protease. *Protein and Cell* **2013**, *4*, 248-250.
5. Kilianski, A.; Mielech, A. M.; Deng, X.; Baker, S. Assessing activity and inhibition of middle east respiratory syndrome coronavirus papain-like and 3C-like protease using luciferase-based biosensors. *J. Virol.* **2013**, *87*, 11955-11962.
6. Pillaiyar, T.; Manickam, M.; Namasivayam, V.; Hayashi, Y.; Jung, S-H. An overview of severe acute respiratory syndrome–coronavirus (SARS-CoV) 3CL protease inhibitors: Peptidomimetics and small molecule chemotherapy. *J. Med. Chem.* **2016**, *59*, 6595-6628, and references cited therein.
7. Akaji, K. Advances in the design of ligands interacting with 3CL protease of novel coronaviruses causing infectious respiratory syndrome. *Amino Acids Pept. Proteins*, **2018**, *42*, 228-279, and references cited therein.
8. Zhu, X.; Liu, Q.; Du, L.; Lu, L.; Jiang, S. Receptor-binding domain as a target for developing SARS vaccines. *J. Thorac. Dis.* **2012**, *5(S2)*, S142-148.
9. Akaji, K.; Konno, H.; Onozuka, M.; Makino, A.; Saito, H.; Nosaka, K. Evaluation of peptide-aldehyde inhibitors using R188I mutant of SARS 3CL protease as a proteolysis-resistant mutant. *Bioorg. Med. Chem.* **2008**, *16*, 9400-9408.
10. Akaji, K.; Konno, H.; Mitsui, H.; Teruya, K.; Shimamoto, Y.; Hattori, Y.; Ozaki, T.; Kusunoki, M.; Sanjoh, A. Structure-based design, synthesis, and evaluation of peptide-mimetic SARS 3CL protease inhibitors. *J. Med. Chem.* **2011**, *54*, 7962-7973.

11. Shimamoto, Y.; Hattori, Y.; Kobayashi, K.; Teruya, K.; Sanjoh, A.; Nakagawa, A.; Yamashita, E.; Akaji, K. Fused-ring structure of decahydroisoquinolin as a novel scaffold for SARS 3CL protease inhibitors. *Bioorg. Med. Chem.* **2015**, *23*, 876-890.
12. Thanigaimalai, P.; Konno, S.; Yamamoto, T.; Koiwai, Y.; Taguchi, A.; Takayama, K.; Yakushiji, F.; Akaji, K.; Kiso, Y.; Kawasaki, Y.; Chen, S-E.; Naser-Tavakolian, A.; Schön, A.; Freire, E.; Hayashi, Y. Design, synthesis, and biological evaluation of novel dipeptide-type SARS-CoV 3CL protease inhibitors: structure-activity relationship study. *Eur. J. Med. Chem.* **2013**, *65*, 436-447.
13. Chuck, C-P.; Chen, C.; Ke, Z.; Wan, D. C-C.; Chow, H-F.; Wong, K-B. Design, synthesis and crystallographic analysis of nitrile-based broad-spectrum peptidomimetic inhibitors for coronavirus 3C-like proteases. *Eur. J. Med. Chem.* **2013**, *59*, 1-6.
14. Regnier, T.; Sarma, D.; Hidaka, K.; Bacha, U.; Freire, E. Hayashi, Y.; Kiso, Y. New developments for the design, synthesis and biological evaluation of potent SARS-CoV 3CL^{pro} inhibitors. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2009**, *19*, 2722-2727.
15. Ghosh, A. K.; Xi, K.; Grum-Tokars, V.; Xu, X.; Ratia, K.; Fu, W.; Houser, K. V.; Baker, S. C.; Johnson, M. E.; Mesecar, A. D. Structure-based design, synthesis, and biological evaluation of peptidomimetic SARS-CoV 3CL^{pro} inhibitors. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2007**, *17*, 5876-5880.
16. Park, J-Y.; Kim, J. H.; Kwon, J. M.; Kwon, H-J.; Jeong, H. J.; Kim, Y. M.; Kim, D.; Lee, W. S.; Ryu, Y. B. Dieckol, a SARS-CoV 3CL^{pro} inhibitor, isolated from the edible brown algae *Ecklonia cava*. *Bioorg. Med. Chem.* **2013**, *21*, 3730-3737.
17. Ryu, Y. B.; Park, S-J.; Kim, Y. M.; Lee, J-Y.; Seo, W. D.; Chang, J. S.; Park, K. H.; Rho, M-C.; Lee, W. S. SARS-CoV 3CL^{pro} inhibitory effects of quinone-methide triterpenes from *Tripterigium regelii*. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2010**, *20*, 1873-1876.
18. Wen, C-C.; Kuo, Y-H.; Jan, J-T.; Liang, P-H.; Wang, S-Y.; Liu, H-G.; Lee, C-K.; Chang, S-T.; Kuo, C-J.; Lee, S-S.; Hou, C-C.; Hsiao, P-W.; Chien, S-C.; Shyur, L-F. Yang, N-S. Specific plant terpenoids and lignoids possess potent antiviral activities against severe acute respiratory syndrome coronavirus. *J. Med. Chem.* **2007**, *50*, 4087-4095.
19. Ikejiri, M.; Saijo, M.; Morikawa, S.; Fukushi, S.; Mizutani, T.; Kurane, I.; Maruyama, T. Synthesis and biological evaluation of nucleoside analogues having 6-chloropurine as anti-SARS-CoV agents. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2007**, *17*, 2470-2473.
20. Cho, J. H.; Bernard, D. L.; Sidwell, R. W.; Kern, E. R.; Chu, C. K. Synthesis of cyclopentenyl carbocyclic nucleosides as potential antiviral agents against orthopoxviruses and SARS. *J. Med. Chem.* **2006**, *49*, 1140-1148.
21. Biot, C.; Daher, W.; Chavain, N.; Fandeur, T.; Khalife, J.; Dive, D.; Clercq, E. D. Design and synthesis of hydroxyferroquine derivatives with antimalarial and antiviral activities. *J. Med. Chem.* **2006**, *49*, 2845-2849.
22. Liu, W.; Zhu, H-M.; Niu, G-J.; Shi, E-Z.; Chen, J.; Sun, B.; Chen, W-Q.; Zhou, H-G.; Yang, C. Synthesis, modification and docking studies of 5-sulfonyl isatin derivatives as SARS-CoV 3C-like protease inhibitors. *Bioorg. Med. Chem.* **2014**, *22*, 292-302.

23. Lee, H.; Mittal, A.; Patel, K.; Gatuz, J. L.; Truong, L.; Torres, J.; Mulhearn, D. C.; Johnson, M. E. Identification of novel drug scaffolds for inhibition of SARS-CoV 3-chymotrypsin-like protease using virtual and high-throughput screenings. *Bioorg. Med. Chem.* **2014**, *22*, 167-177.
24. Jacobs, J.; Grum-Tokars, V.; Zhou, Y.; Turlington, M.; Saldanha, S. A.; Chase, P.; Egger, A.; Dawson, E. S.; Baez-Santos, Y. M.; Tomar, S.; Mielech, A. M.; Baker, S. C.; Lindsley, C. W.; Hodder, P.; Mesecar, A.; Stauffer, S. R. Discovery, synthesis, and structure-based optimization of a series of *N*-(*tert*-butyl)-2-(*N*-arylamino)-2-(pyridine-3-yl) acetamides (ML188) as potent noncovalent small molecule inhibitors of the severe acute respiratory syndrome coronavirus (SARS-CoV) 3CL protease. *J. Med. Chem.* **2013**, *56*, 534-546.
25. Ramajayam, R.; Tan, K-P.; Liu, H-G.; Liang, P-H. Synthesis and evaluation of pyrazolone compounds as SARS-coronavirus 3C-like protease inhibitors. *Bioorg. Med. Chem.* **2010**, *18*, 7849-7854.
26. Fan, K.; Wei, P.; Feng, Q.; Chen, S.; Huang, C.; Ma, L.; Lai, B.; Pei, J.; Liu, Y.; Chen, J.; Lai, L. Biosynthesis, purification, and substrate specificity of severe acute respiratory syndrome coronavirus 3C-like proteinase. *J. Biol. Chem.* **2004**, *279*, 1637-1642.
27. Jin, K.; Dae K.; Young K.; Hyung, K.; Hyung, J.; Cha, K.; Ki, P.; Woo, L.; Young R. Chalcones isolated from *Angelica keiskei* inhibit cysteine proteases of SARS-CoV. *J. Enzyme Inhib. Med. Chem.* **2016**, *31*, 23-30.
28. Konno, H.; Wakabayashi, M.; Takanuma, D.; Saito Y.; Akaji, K. Design and synthesis of a series of serine derivatives as small molecule inhibitors of the SARS coronavirus 3CL protease. *Bioorg. Med. Chem.* **2016**, *24*, 1241–1254.
29. Vathan, K.; Kian-Pin, T.; Ying-Ming, W.; Sheng-Wei, L.; Po-Huang, L. Identification, synthesis and evaluation of SARS-CoV and MERS-CoV 3C-like protease inhibitors. *Bioorg. Med. Chem.* **2016**, *24*, 3035–3042.
30. Ji-Young, P.; Heung, Y.; Hyung, R.; Su, L.; Kyung, K.; Ki, P.; Young, R.; Woo, L. Evaluation of polyphenols from *Broussonetia papyrifera* as coronavirus protease inhibitors. *J. Enzyme Inhib. Med. Chem.* **2017**, *32*, 504-515.
31. Kumar, V.; Shin, J.; Shie, J.; Ku, B.; Kim, C.; Go, Y.; Huang, F.; Kim, M.; Liang, H. Identification and evaluation of potent middle east respiratory syndrome coronavirus (MERS-CoV) 3CLPro inhibitors. *Antivira Research* **2017**, *141*, 101-106.
32. Konno, H.; Onuma, T.; Nitana, I.; Wakabayashi, M.; Yano, S.; Teruya, K.; Akaji, K. Synthesis and evaluation of phenylisoserine derivatives for the SARS CoV 3CL protease inhibitor. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2017**, *27*, 2746–2751.
33. Jo, S.; Kim, S.; Shin, H.; Kim, S. Inhibition of SARS-CoV 3CL protease by flavonoids. *J. Enzyme Inhib. Med. Chem.* **2020**, *35*, 145-151.
34. Dragovich, P. S.; Prins, T. J.; Zhou, Ru.; Webber, S. E.; Marakovits, J. T.; Fuhrman, S. A.; Patick, A. K.; Matthews, D. A.; Lee, C. A.; Ford, C. E.; Burke, B. J.; Rejto, P. A.; Hendrickson, T. F.; Tuntland, T.; Brown, E. L.; Meador III J. W.; Ferre, R. A.; Harr, J. E. V.; Kosa, M. B.; Worland, S.

- T. Structure-based design, synthesis, and biological evaluation of irreversible human rhinovirus 3C protease inhibitors. 4. Incorporation of P1 lactam moieties as L-glutamine replacements. *J. Med. Chem.* **1999**, *42*, 1213-1224.
35. Ohnishi, K.; Hattori, Y.; Kobayashi, K.; Akaji, K. Evaluation of a non- prime site substituent and warheads combined with a decahydroisoquinolin scaffold as SARS 3CL protease inhibitor. *Bioorg. Med. Chem.* **2019**, *27*, 425-435.
36. Hentges, S. G.; Sharpless K. B. Asymmetric induction in the reaction of osmium tetroxide with olefins. *J. Am. Chem. Soc.* **1980**, *102*, 4263-4265.
37. Sharpless, K. B.; Amberg, W.; Bennani, L.; Crispino, A.; Hartung, J.; Jeong, K.; Kwong, H.; Morikawa, K.; Wang, Z.; Xu, D.; Zhang, X. The osmium-catalyzed asymmetric dihydroxylation: a new ligand class and a process improvement. *J. Org. Chem.* **1992**, *57*, 2768.
38. Becker, H.; Sharpless, B. A new ligand class for the asymmetric dihydroxylation of olefins. *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1996**, *35*, 448-451.
39. Katsuki, T.; Sharpless, K. B. The first practical method for asymmetric epoxidation. *J. Am. Chem. Soc.* **1980**, *102*, 5974-5976.
40. Chengzhi, Y.; Bin, L.; Longqin, H. A convenient biphasic process for the monosilylation of symmetrical 1,n-primary diols. *Tetrahedron Lett.* **2000**, *41*, 4281-4285.
41. Wittig, G.; Geissler, G. Course of reactions of pentaphenylphosphorus and certain derivatives. *Liebigs Ann. Chem.* **1953**, *580*, 44-57.
42. Wittig, G.; Schollkopf, U. Triphenylphosphinemethylene as an olefin-forming reagent. I. *Chem. Ber.* **1954**, *97*, 1318-1330.
43. Wittig, G.; Haag, W. Triphenylphosphinemethylenes as olefin-forming reagents. II. *Chem. Ber.* **1955**, *88*, 1654-1666.
44. Horner, L.; Hoffmann, H.; Wippel, G. Phosphorus organic compounds. XII. Phosphine oxides as reagents for the olefin formation. *Chem. Ber.* **1958**, *91*, 61-63.
45. Horner, L.; Hoffman, H.; Wippel, G.; Klahre, G. Phosphorus organic compounds. XX. Phosphine oxides as reagents for olefin formation. *Chem. Ber.* **1959**, *92*, 2499-2505.
46. Wadsworth, S.; Emmons, D. The utility of phosphonate carbanions in olefin synthesis. *J. Am. Chem. Soc.* **1961**, *83*, 1733-1738.
47. Fatiadi, A. J. New applications of periodic acid and periodates in organic and bio-organic chemistry. *Synthesis*, **1974**, *4*, 229-272.
48. Basha, A.; Lipton, J. L.; Weinreb, S. M. A mild, general for conversion of esters to amides. *Tetrahedron Lett.* **1977**, *18*, 4171-4174.
49. Lu, R.; Liu, D.; Giese, R. Detritylation with ytterbium triflate. *Tetrahedron Lett.* **2000**, *41*, 2817-2819.
50. Bodansky, M.; Bednarek, A.; Bodansky, A. Coupling in the absence of tertiary amines. *Int. J. Pept. Protein Res.* **1982**, *20*, 387-395.
51. Mukaiyama, T.; Matsuo, J.; Yanagisawa, M. A new and efficient method for oxidation of various

- alcohols by using *N-tert*-butyl phenylsulfinimidoyl chloride. *Chem. Lett.* **2000**, *29*, 1072-1073.
52. Bredikhina, Z. A.; Kurenkov, A. V.; Antonovich, O. A.; Pashagin, A. V.; Bredikhin, A. A. A rare case of facial selectivity inversion for Sharpless asymmetric dihydroxylation in a series of structurally homogeneous substrates: Synthesis of non-racemic 3-(nitrophenoxy)-propane-1,2-diols. *Tetrahedron: Asymmetry* **2014**, *25*, 1015-1021.
53. Nicolas, M.; Bernard, M.; Francoise, C.; Yves, C. Molecular dynamics-based models explain the unexpected diastereoselectivity of the Sharpless asymmetric dihydroxylation of allyl D-xylosides. *Eur. J. Org. Chem.* **2000**, 995-1005.
54. Scott, E.; Jeromy, J. Synthesis of (+)-1-epiaustraline. *J. Org. Chem.* **2001**, *66*, 4276-4284.
55. Nicolas, M.; Christophe, H.; Christophe, L.; Yves, C. Toward a computational tool predicting the stereochemical outcome of asymmetric reactions. 1. Application to Sharpless asymmetric dihydroxylation. *J. Org. Chem.* **2002**, *67*, 7275-7282.
56. Corey, E. J.; Zhang J. Highly effective transition structure designed catalyst for the enantio- and position-selective dihydroxylation of polyisoprenoids. *Org Lett.* **2001**, *3*, 3211-3214.

謝辞

本研究実施の機会を与えて戴き、その進行に際し、熱心な御指導、御鞭撻を賜りました京都薬科大学 薬品化学学分野 赤路健一教授に心より感謝申し上げます。

本論文作成にあたり、多大な御助言賜りました京都薬科大学 薬品製造学分野 山下正行教授、並びに、京都薬科大学 薬化学学分野 古田巧教授に深く感謝致します。

本研究を進めるにあたり、有益な御助言賜りました京都薬科大学 薬品化学学分野 小林数也准教授に深く感謝申し上げます。

本研究を進めるにあたり、直接の御指導、御助言賜りました京都薬科大学 共同利用機器センター 服部恭尚講師に深く感謝申し上げます。

高分解能質量測定にあたり、多大なご協力をいただきました京都薬科大学 共同利用機器センター 長谷川功紀准教授、安東友繁助教に厚く御礼申し上げます。

本研究を行うにあたり、適切な助言をいただきました大西康司博士、大谷拓也学士に深く感謝いたします。

また、学部学生時代に苦楽を共に分かち合った嶋本康広博士、岸一俊学士、古田善宏学士、御礼申し上げます。

本研究にご協力をいただきました越野裕貴学士、足尾真美学士、山中優季学士、山本侑人氏に感謝いたします。

最後に、長い学生生活を温かく見守っていただいた家族に深く感謝申し上げます。

実験の部

使用機器等について

本実験において、反応に使用したジクロロメタンは水素化カルシウムで蒸留したものをを用いた。THFは金属ナトリウムとベンゾフェノンを使用した sodium benzophenone ketyl で蒸留したものをを用いた。各反応の定性にはシリカゲル 70F254Plate-Wako (厚さ 0.25 mm) を用い、紫外線吸収の確認には 254 nm の波長を使用した。発色試薬は EtOH に溶いた 5% のリンモリブデン酸を用いた。カラムクロマトグラフィーに用いたシリカゲルはワコーゲル[®]60N (63~212 μm)、ワコーゲル[®]C-300E (45~75 μm) のいずれかを用い、分取薄層クロマトグラフィー (PTLC) は 70PE254 Plate-Wako (厚さ 0.75 mm) を用い行った。

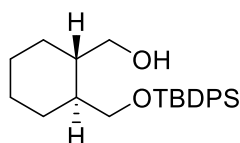
高速液体クロマトグラフ質量分析計 (LC-MS) は Shimadzu LCMS-2010EV システムを用いた。分析用逆相カラムは COSMOSIL 5C₁₈-AR-II (4.6×150 mm) を使用した。分取用逆相カラムは COSMOSIL 5C₁₈-AR-II (20×250 mm) を使用した。分析、分取での LC-MS の溶出液は 0.05% AcOH を含む水溶液およびアセトニトリル溶液を用い、2 液の濃度勾配による溶出を行った。

¹H NMR スペクトルは Bruker Ascend-500 (500 MHz)、Bruker AV-300 (300 MHz) のいずれかを用い測定した。¹³C NMR スペクトルは、Bruker Ascend-500 (125 MHz)、Bruker AV-300 (75 MHz) のいずれかを用い測定した。溶媒には特に記載のない限り CDCl₃ を用いた。ケミカルシフトには ppm を用い、特に記載のない限り ¹H NMR ではテトラメチルシランの 0 ppm を、¹³C NMR では CDCl₃ の 77.0 ppm を内標準物質の基準値として用いた。またカップリング定数には Hz を使用した。

高分解能質量測定は JMS-SX-102A (FAB) または JEOL GCmateII (EI)、Shimadzu LCMS-IT-TOF (ESI) のいずれかを用い、低分解能質量測定は Shimadzu LCMS-2010EV (ESI) を用いた。

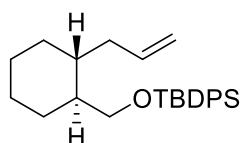
比旋光度は、日本分光 P-2200 型旋光計を用いて測定した。

実験項



アルコール 9-1

(1*S*,2*S*)-1,2-シクロヘキサンジメタノール (14.4 g, 100 mmol) と DIPEA (87 mL, 500 mmol) をジクロロメタン (200 mL) に溶解させ、TBDPSCl (30 mL, 110 mmol) を加えた。室温で10時間攪拌した後に反応停止のため、飽和塩化アンモニウム水溶液を加えた。その後、溶液を酢酸エチルを用いて抽出し、飽和食塩水で洗浄し、無水硫酸ナトリウムで乾燥させ、ろ過後に濃縮をした。得られた混合物をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (ヘキサン: 酢酸エチル = 25:1) で精製し、無色の油状物 (37.4 g, 98%) を得た。 $[\alpha]_D^{20} +6.1$ (c 0.48, MeOH); $^1\text{H NMR}$ (300 MHz, CDCl_3) δ : 7.68–7.65 (m, 4H), 7.47–7.36 (m, 6H), 3.65–3.54 (m, 4H), 3.18 (brs, 1H), 1.73–1.65 (m, 3H), 1.48–1.32 (m, 3H), 1.28–0.85 (m, 4H), 1.06 (s, 9H); $^{13}\text{C NMR}$ (75 MHz, CDCl_3) δ : 135.6, 133.1, 129.80, 127.78, 127.7, 69.0, 67.2, 44.7, 43.3, 29.9, 29.7, 26.8, 26.09, 26.05, 19.1; HRMS (ESI) calcd for $\text{C}_{24}\text{H}_{34}\text{NaO}_2\text{Si}$ $[\text{M}+\text{Na}]^+$: 405.2626. Found: 405.2224.



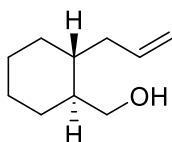
オレフィン 9-2

先のアルコール 9-1 (37.4 g, 98.0 mmol) をジクロロメタン (180 mL) に溶解し MS4Å、TPAP (688 mg, 1.96 mmol)、NMO (45.9 g, 392 mmol) を順に加えた。アルゴン雰囲気下、室温で1時間攪拌した。反応停止のため、シリカゲルショートパッドカラムにかけ濃縮した。この混合物はこれ以上の精製は行わず続く反応へと用いた。

アルゴン雰囲気下、氷冷下でメトキシメチルトリフェニルホスホニウムクロリド (67.1 g, 196 mmol) を THF (200 mL) に溶解させ、*t*-ブトキシカリウム (21.9 g, 196 mmol) を加えた。その後1時間攪拌し、先ほどの酸化で得られたアルデヒドを THF に溶解し、この溶液をゆっくり滴下し10時間攪拌した。反応停止のため氷冷下、飽和塩化アンモニウム水溶液を加えた。その後、この溶液を酢酸エチルを用いて抽出し、飽和食塩水で洗浄し、無水硫酸ナトリウムで乾燥させ、ろ過後に濃縮をした。得られた混合物をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (ヘキサン: 酢酸エチル = 30:1) で粗精製し、無色の油状物 (29.7 g, 74%, 2 steps) を得た。得られた化合物は不安定であることから間を置かず次の反応を行った。得られた化合物をジクロロメタン (200 mL) に溶解し、(+)-カンファースルホン酸 (25.4 g, 109 mmol) を加え、室温で2時間攪拌した。反応停止のため氷冷下、飽和炭酸水素ナトリウム水溶液を加えた。その後、この溶液を酢酸エチルを用いて抽出し、飽和食塩水で洗浄し、無水硫酸ナトリウムで乾燥させ、ろ

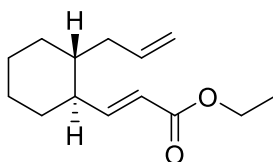
過後に濃縮をした。この混合物はこれ以上の精製は行わず続く反応へと用いた。

アルゴン雰囲気下、氷冷下でメチルトリフェニルホスホニウムブロミド (52.1 g, 146 mmol) をTHF (200 mL) に溶解させ、*t*-ブトキシカリウム (16.3 g, 146 mmol) を加えた。その後1時間攪拌し、先ほど得られたアルデヒドをTHFに溶解し、この溶液をゆっくり滴下し10時間攪拌した。反応停止のため氷冷下、飽和塩化アンモニウム水溶液を加えた。その後、この溶液を酢酸エチルを用いて抽出し、飽和食塩水で洗浄し、無水硫酸ナトリウムで乾燥させ、ろ過後に濃縮をした。得られた混合物をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (ヘキサン : 酢酸エチル = 30:1) で精製し、無色の油状物 (20.3 g, 72%, 2 steps) を得た。 $[\alpha]_D^{20} +3.1$ (*c* 0.93, MeOH); ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ : 7.69–7.65 (m, 4H), 7.43–7.34 (m, 6H), 5.71 (dddd, $J = 16.8, 10.3, 8.0, 6.5$ Hz, 1H), 4.94–4.86 (m, 2H), 3.69–3.57 (m, 2H), 2.23–2.18 (m, 1H), 1.88–1.78 (m, 2H), 1.73–1.67 (m, 3H), 1.43–1.17 (m, 5H), 1.06 (s, 9H), 1.06–0.95 (m, 1H); ^{13}C NMR (75 MHz, CDCl_3) δ : 137.2, 135.6, 134.0, 129.49, 129.47, 127.56, 127.55, 115.6, 66.3, 43.8, 37.9, 31.3, 30.0, 26.9, 26.3, 26.1, 19.4; HRMS (FAB) calcd for $\text{C}_{26}\text{H}_{37}\text{OSi}$ $[\text{M}+\text{H}]^+$: 393.2614. Found: 393.2623.



アルコール10

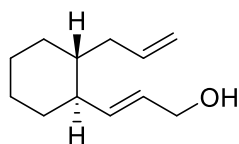
先のオレフィン9-2 (20.3 g, 52.0 mmol) をTHF (150 mL) に溶解し、TBAF (1.0 M solution in THF; 78 mL, 78 mmol) を加え、室温で10時間攪拌した。反応停止のため氷冷下、飽和塩化アンモニウム水溶液を加えた。その後、この溶液を酢酸エチルを用いて抽出し、飽和食塩水で洗浄し、無水硫酸ナトリウムで乾燥させ、ろ過後に濃縮をした。得られた混合物をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (ヘキサン : 酢酸エチル = 20:1) で精製し、無色の油状物 (7.3 g, 92%) を得た。 $[\alpha]_D^{20} +12.9$ (*c* 1.55, MeOH); ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ : 5.80 (dddd, $J = 16.8, 10.3, 7.9, 6.5$ Hz, 1H), 5.04–4.98 (m, 2H), 3.70 (dd, $J = 10.7, 2.9$ Hz, 1H), 3.56 (dd, $J = 10.8, 5.4$ Hz, 1H), 2.33–2.24 (m, 1H), 2.01–1.91 (m, 1H), 1.82–1.71 (m, 4H), 1.26–1.12 (m, 5H), 1.08–0.96 (m, 1H); ^{13}C NMR (75 MHz, CDCl_3) δ : 137.0, 115.8, 65.4, 43.7, 37.94, 37.92, 31.6, 29.5, 26.0, 25.8.



エチルエステル12

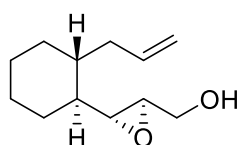
先のアルコール10 (7.30 g, 47.4 mmol) をジクロロメタン (160 mL) に溶解し、MS4Å、TPAP (330 mg, 0.940 mmol)、NMO (22.1 g, 189 mmol) を順に加えた。アルゴン雰囲気下、室温で1時間攪拌した。反応停止のため、シリカゲルショートパッドカラムにかけ濃縮した。この混合物はこれ以上の精製は行わず続く反応へと用いた。

NaH (60% dispersion in mineral oil; 2.40 g, 61.6 mmol) をTHF (160 mL) に懸濁させた後、-20°C に反応液を冷却した。ジエチルホスホノ酢酸エチル (13 mL, 66 mmol) を加えた。その後20分攪拌し、先ほどの酸化で得られたアルデヒドをTHFに溶解し、この溶液をゆっくり滴下し30分攪拌した。反応停止のため氷冷下、飽和塩化アンモニウム水溶液を加えた。その後、この溶液を酢酸エチルを用いて抽出し、飽和食塩水で洗浄し、無水硫酸ナトリウムで乾燥させ、ろ過後に濃縮をした。得られた混合物をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (ヘキサン:酢酸エチル= 30:1) で精製し、無色の油状物 (6.50 g, 62%, 2 steps) を得た。 $[\alpha]_D^{20} +10.3$ (*c* 1.68, MeOH); $^1\text{H NMR}$ (300 MHz, CDCl_3) δ : 6.81 (dd, *J*= 15.8, 9.5 Hz, 1H), 5.79 (dd, *J*= 15.6, 0.6 Hz, 1H), 5.72 (dddd, *J*= 16.2, 11.0, 8.1, 6.2 Hz, 1H), 5.00–4.93 (m, 2H), 4.19 (q, *J*= 7.1 Hz, 2H), 2.22–2.17 (m, 1H), 1.91–1.65 (m, 6H), 1.34–1.21 (m, 4H), 1.29 (t, *J*= 7.1 Hz, 3H), 1.01–0.88 (m, 1H); $^{13}\text{C NMR}$ (75 MHz, CDCl_3) δ : 166.8, 153.5, 136.5, 120.9, 116.2, 60.1, 46.4, 41.0, 39.0, 32.6, 30.9, 25.9, 25.5, 14.3; HRMS (EI) calcd for $\text{C}_{14}\text{H}_{22}\text{O}_2$ $[\text{M}]^+$: 222.1620. Found: 222.1615.



アリルアルコール**12-1**

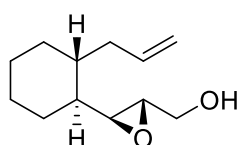
アルゴン雰囲気下、-78°Cで先のエチルエステル**12** (6.5 g, 29.3 mmol) をジクロロメタン (100 mL) に溶解し、DIBAL-H (1.0 M solution in hexane; 88 mL, 88 mmol) をゆっくり加えた。1時間攪拌後、反応停止のためメタノールを加えた。この溶液を室温に昇温させ、白色の固形物の析出後、これをシリカゲルを充填した桐山漏斗でろ過をした。ろ液を濃縮し、得られた混合物をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (ヘキサン:酢酸エチル=6:1) で精製し、無色の油状物 (4.1 g, 79%) を得た。 $[\alpha]_D^{20} +11$ (*c* 0.10, MeOH); $^1\text{H NMR}$ (300 MHz, CDCl_3) δ : 5.81–5.67 (m, 1H), 5.62 (dt, *J*= 15.4, 5.5 Hz, 1H), 5.62 (dt, *J*= 15.4, 8.4 Hz, 1H), 4.99–4.92 (m, 2H), 4.10 (d, *J*= 5.4 Hz, 2H), 2.30–2.22 (m, 1H), 1.82–1.58 (m, 7H), 1.25–1.12 (m, 4H), 0.98–0.84 (m, 1H); $^{13}\text{C NMR}$ (75 MHz, CDCl_3) δ : 137.9, 137.3, 128.7, 115.7, 63.9, 46.3, 41.4, 38.9, 33.7, 31.3, 26.2, 25.9.



エポキシド**8a**

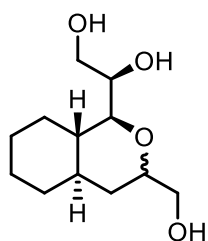
アルゴン雰囲気下、氷冷下で (-)-酒石酸ジエチル (7.8 mL, 46 mmol) をジクロロメタン (100 mL) に溶解し、チタン酸テトライソプロピル (13 mL, 46 mmol) を加え20分攪拌後、-20°Cに反応液を冷却した。TBHP (6.0 M solution in toluene; 15 mL, 90 mmol) を加えた後、先のアリルアルコール**12-1** (4.1 g, 23 mmol) をゆっくり加えた。6時間攪拌後、0°Cまで昇温し、反応停止のために10%(+)-酒石酸ナトリウムカリウム水溶液を加えた。その後、この溶液をジクロロメ

タンを用いて抽出後、濃縮した。混合物をジエチルエーテルに溶解し、1 M水酸化ナトリウム溶液を加え、室温で2時間攪拌した。この溶液をジエチルエーテルを用いて抽出し、無水硫酸ナトリウムで乾燥させ、ろ過後に濃縮をした。得られた混合物をシリカゲルカラムクロマトグラフィー（ヘキサン：酢酸エチル=6:1）で精製し、無色の油状物（3.10 g, 68%）を得た。 $[\alpha]_D^{20} +34$ (*c* 0.50, MeOH); $^1\text{H NMR}$ (300 MHz, CDCl_3) δ : 5.83–5.69 (m, 1H), 5.03–4.98 (m, 2H), 3.95–3.92 (m, 1H), 3.70–3.63 (m, 1H), 2.99–2.98 (m, 1H), 2.72 (dd, $J=8.7, 2.1$ Hz, 1H), 2.33–2.29 (m, 1H), 1.94–1.73 (m, 5H), 1.34–1.13 (m, 4H), 0.99–0.92 (m, 2H); $^{13}\text{C NMR}$ (75 MHz, CDCl_3) δ : 136.7, 116.2, 61.4, 59.7, 59.4, 44.6, 39.6, 38.6, 31.2, 29.8, 26.0, 25.4; HRMS (ESI) calcd for $\text{C}_{12}\text{H}_{20}\text{NaO}_2$ $[\text{M}+\text{Na}]^+$: 219.1361. Found: 219.1357.



エポキシド**8b**

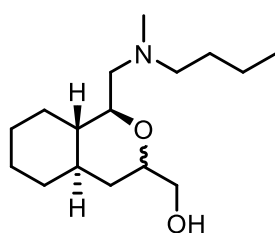
(+)-酒石酸ジエチルを用い、エポキシド**8a**と同様の方法で合成した。 $[\alpha]_D^{20} +8.7$ (*c* 0.55, MeOH); $^1\text{H NMR}$ (300 MHz, CDCl_3) δ : 5.89–5.75 (m, 1H), 5.06–4.98 (m, 2H), 3.95–3.90 (m, 1H), 3.64–3.59 (m, 1H), 2.88–2.87 (m, 1H), 2.80 (dd, $J=8.0, 2.3$ Hz, 1H), 2.56–2.48 (m, 1H), 2.04–1.94 (m, 1H), 1.82–1.64 (m, 4H), 1.39–1.05 (m, 4H), 1.00–0.87 (m, 2H); $^{13}\text{C NMR}$ (75 MHz, CDCl_3) δ : 137.1, 116.0, 61.9, 60.0, 56.1, 44.7, 42.2, 38.5, 31.1, 29.1, 25.8, 25.6; HRMS (ESI) calcd for $\text{C}_{12}\text{H}_{20}\text{NaO}_2$ $[\text{M}+\text{Na}]^+$: 219.1361. Found: 219.1356.



トリオール**6**

フェリシアン化カリウム (15.3 g, 46.5 mmol)、炭酸カリウム (6.42 g, 46.5 mmol)、 $(\text{DHQ})_2\text{AQN}$ (118 mg, 0.137 mmol) とオスミウム (VI) 酸カリウム二水和物 (22.7 mg, 0.0894 mmol) を順に加え、水と*t*-BuOHの混合溶媒(1:1, 150 mL)中に溶解した。室温で20分攪拌後、この混合溶液を氷冷下に冷却した。その後、先のオレフィン**8a** (3.01 g, 13.1 mmol) を水と*t*-BuOHの混合溶媒(1:1, 20 mL)に溶解し加えた。氷冷下10時間攪拌後、反応停止のためチオ硫酸ナトリウム水溶液を加えた。その後、この溶液を酢酸エチルを用いて抽出し、飽和食塩水で洗浄し、無水硫酸ナトリウムで乾燥させ、ろ過後に濃縮をした。得られた混合物をシリカゲルカラムクロマトグラフィー(クロロホルム：メタノール=20:1)で精製し、無色の油状物を混合物として得た。

この混合物をジクロロメタン (200 mL) に溶解し、*p*-トルエンスルホン酸(836 mg, 4.40 mmol) を加え、室温で10時間攪拌した。反応停止のため、飽和炭酸水素ナトリウム水溶液を加えた。その後、この溶液を酢酸エチルを用いて抽出し、飽和食塩水で洗浄し、無水硫酸ナトリウムで乾燥させ、ろ過後に濃縮をした。得られた混合物をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (クロロホルム：メタノール=20:1) で精製し、無色の油状物 (3.20 g, 96%, 2 steps) を得た。¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ: 4.13–4.07 (m, 1H), 3.87–3.75 (m, 2H), 3.67–3.53 (m, 2H), 3.50–3.29 (m, 2H), 1.79–1.37 (m, 6H), 1.25–1.18 (m, 3H), 1.10–0.88 (m, 3H); ¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃, 5:4 mixture of two diastereoisomers) δ: 83.8, 78.8, 76.2, 74.2, 71.2, 70.9, 66.1, 62.4, 62.2, 60.4, 43.6, 43.2, 40.5, 36.2, 34.6, 33.5, 33.2, 27.3, 27.0, 25.9, 25.8, 25.7; HRMS (ESI) calcd for C₁₂H₂₂NaO₄ [M+Na]⁺: 253.1416. Found: 253.1410.

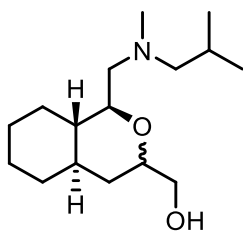


アルコール**13d**

環化体**6** (800 mg, 3.48 mmol) をTHFと水の混合溶媒 (1:1, 16 mL) 中に溶解し、過ヨウ素酸ナトリウム (1.00 g, 4.67 mmol) を加え、室温で10分攪拌した。この溶液を酢酸エチルを用いて抽出し、飽和食塩水で洗浄し、無水硫酸ナトリウムで乾燥させ、ろ過後に濃縮をした。

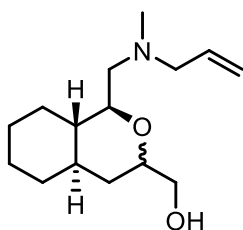
この混合物はこれ以上の精製は行わず続く反応へと用いた。得られた混合物をジクロロメタン (15 mL) に溶解し、*n*-ブチルアミン (460 μL, 4.7 mmol)、シアノトリヒドロほう酸ナトリウム(640 mg, 10.2 mmol) を加え、室温で1時間攪拌した。反応停止のため、飽和塩化アンモニウム水溶液を加えた。その後、この溶液をジクロロメタンを用いて抽出し、飽和食塩水で洗浄し、無水硫酸ナトリウムで乾燥させ、ろ過後に濃縮をした。この粗生成物は精製を行わず続く反応へと用いた。

粗生成物をエタノール (14 mL) に溶解し、パラホルムアルデヒド (2.70 g)、シアノトリヒドロほう酸ナトリウム (640 mg, 10.2 mmol) を加え、室温で12時間攪拌した。反応停止のため、飽和塩化アンモニウム水溶液を加えた。その後、この溶液をジクロロメタンを用いて抽出し、飽和食塩水で洗浄し、無水硫酸ナトリウムで乾燥させ、ろ過後に濃縮をした。得られた混合物をシリカゲルカラムクロマトグラフィー(クロロホルム：メタノール = 15:1)で精製し、無色の油状物 (468 mg, 59%, 3 steps) として得た。¹H NMR (300 MHz, CDCl₃, 3:2 mixture of two diastereoisomers) δ: 4.04–4.02 (m, 1H), 3.56–3.51 (m, 1H), 3.49–3.36 (m, 1.6H), 3.28–3.21 (m, 0.4H), 2.58–2.57 (m, 1H), 2.52–2.42 (m, 1H), 2.35 (s, 1.2H), 2.33 (s, 1.8H), 2.35–2.15 (m, 3H), 1.84–1.49 (m, 6H), 1.43–1.17 (m, 4H), 1.08–0.82 (m, 9H); ¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃, 3:2 mixture of two diastereoisomers) δ: 79.3, 74.9, 74.5, 70.1, 65.6, 60.4, 59.2, 58.6, 58.0, 45.1, 44.8, 43.1, 40.1, 35.6, 34.0, 33.4, 32.9, 27.6, 27.3, 26.3, 25.8, 25.7, 25.6, 20.17, 20.12, 13.68, 13.65; HRMS (ESI) calcd for C₁₆H₃₂NO₂ [M+H]⁺: 270.2434. Found: 270.2432.



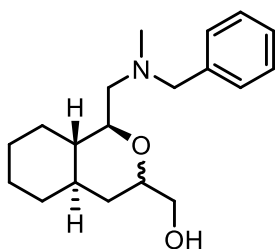
アルコール**13a**

化合物**13d**と同様に合成した (66%, 3 steps)。¹H NMR (300 MHz, CDCl₃, 3:2 mixture of two diastereoisomers) δ: 4.22–4.04 (m, 1H), 3.64–3.48 (m, 2H), 3.41 (td, *J* = 9.4, 3.1 Hz, 0.6H), 3.31 (dd, *J* = 11.9, 3.2 Hz, 0.4H), 3.13 (dd, *J* = 13.4, 2.0 Hz, 0.4H), 3.09–2.75 (m, 3.6H), 2.87 (s, 1.2H), 2.79 (s, 1.8H), 2.17–2.06 (m, 1H), 1.80–1.41 (m, 5H), 1.31–1.24 (m, 3H), 1.14–0.88 (m, 4H), 1.13 (d, *J* = 6.6 Hz, 1.8H), 1.09 (d, *J* = 6.9 Hz, 1.2H), 1.07 (d, *J* = 6.9 Hz, 1.2H), 1.04 (d, *J* = 6.6 Hz, 1.8H); ¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃, 3:2 mixture of two diastereoisomers) δ: 79.0, 74.7, 74.5, 69.7, 66.5, 65.5, 64.4, 60.3, 59.7, 58.3, 45.0, 44.8, 44.1, 42.8, 40.0, 35.5, 34.0, 33.4, 32.92, 32.86, 27.4, 27.2, 25.8, 25.69, 25.65, 25.5, 24.9, 24.5, 21.3, 21.0, 20.93, 20.90; HRMS (EI) calcd for C₁₆H₃₁NO₂ [M]⁺: 269.2355. Found: 269.2355.



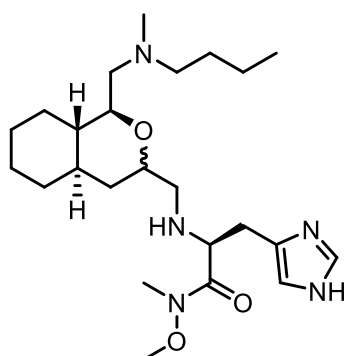
アルコール**13b**

化合物**13d**と同様に合成した (63%, 3 steps)。¹H NMR (300 MHz, CDCl₃, 4:1 mixture of two diastereoisomers) δ: 6.12–5.98 (m, 1H), 5.54–5.46 (m, 2H), 4.18–4.07 (m, 2H), 3.96–3.90 (m, 1H), 3.74–3.38 (m, 3.2H), 3.33 (d, *J* = 9.3 Hz, 0.8H), 3.10 (dd, *J* = 13.1, 2.0 Hz, 0.8H), 3.03–3.02 (m, 0.2H), 2.94–2.92 (m, 0.2H), 2.84 (dd, *J* = 12.9, 9.9 Hz, 0.8H), 2.81 (s, 2.4H), 2.75 (s, 0.6H), 1.79–1.69 (m, 2H), 1.62–1.50 (m, 2H), 1.48–1.39 (m, 1H), 1.25–1.22 (m, 3H), 1.03–0.91 (m, 3H); ¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃, 4:1 mixture of two diastereoisomers) δ: 128.1, 127.5, 124.9, 124.6, 78.9, 74.3, 74.2, 69.6, 65.4, 60.44, 60.37, 59.1, 57.9, 57.3, 44.9, 44.6, 42.4, 40.5, 39.8, 35.4, 33.9, 33.3, 32.81, 32.75, 27.3, 25.7, 25.6, 25.5; HRMS (ESI) calcd for C₁₅H₂₈NO₂ [M+H]⁺: 254.2122. Found: 254.2113.



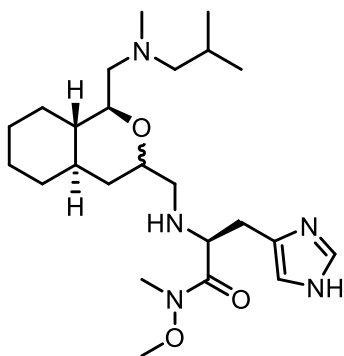
アルコール**13c**

化合物**13d**と同様に合成した (62%, 3 steps)。¹H NMR (300 MHz, CDCl₃, 1:1 mixture of two diastereomers) δ: 7.32–7.24 (m, 5H), 4.03–3.96 (m, 1H), 3.69–3.16 (m, 6H), 2.55–2.48 (m, 2H), 2.26 (s, 1.5H), 2.25 (s, 1.5H), 1.75–1.38 (m, 6H), 1.28–1.17 (m, 3H), 1.07–0.78 (m, 3H); ¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃, 1:1 mixture of two diastereomers) δ: 138.6, 138.2, 129.4, 129.2, 128.2, 127.1, 127.0, 79.3, 78.0, 72.90, 72.87, 66.2, 63.1, 62.5, 60.9, 59.8, 59.5, 45.0, 44.5, 43.5, 43.0, 40.6, 36.0, 34.6, 33.6, 33.4, 32.8, 28.0, 27.8, 26.2, 26.1, 26.0, 25.9; HRMS (ESI) calcd for C₁₉H₃₀NO₂ [M+H]⁺: 304.2277. Found: 304.2273.



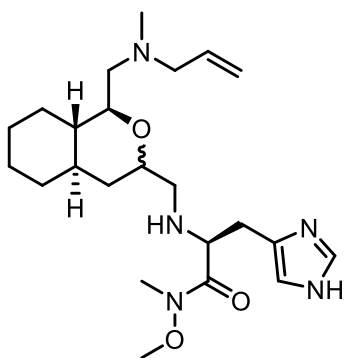
ワインレブアミド**15d**

氷冷下、アルコール**13d** (30.0 mg, 0.12 mmol)、MS4Åをジクロロメタン (2 mL) に溶解し、*N-tert*-ブチルベンゼンスルフェンアミド (20 μL, 0.11 mmol)、DBU (100 μL, 0.64 mmol)、NCS (44.0 mg, 0.66 mmol) の順で加え、0°C条件下で2時間攪拌した。反応停止のため、飽和炭酸水素ナトリウム水溶液を加えた。その後、この溶液をジクロロメタンを用いて抽出し、無水硫酸ナトリウムで乾燥させ、ろ過後に濃縮をした。この混合物はこれ以上の精製は行わず続く反応へと用いた。この混合物をジクロロメタン (3 mL) に溶解し、メタノール (7 mL) に溶解したH-His-N(OMe)Me (65.0 mg, 0.328 mmol)、酢酸 (500 μL)、シアノトリヒドロほう酸ナトリウム (20.7 mg, 0.329 mmol) を加え、室温で1時間攪拌した。反応停止のため、飽和炭酸水素ナトリウム水溶液を加えた。その後、この溶液をジクロロメタンを用いて抽出し、無水硫酸ナトリウムで乾燥させ、ろ過後に濃縮をした。この混合物をアセトニトリルと水の混合溶媒 (1:4) 中に溶解し、LC-MS [B液の濃度比率を10%から35%へと30分かけて上昇させた (B: 0.05% 酢酸のアセトニトリル溶液, A: 0.05% 酢酸水溶液)] で精製し、黄色の油状物 (18 mg, 18%, 2 steps) として得た。¹H NMR (300 MHz, CDCl₃, 3:2 mixture of two diastereomers) δ: 7.54 (s, 0.4H), 7.51 (s, 0.6H), 6.79 (s, 1H), 4.03–3.96 (m, 0.6H), 3.74–3.72 (m, 1H), 3.65 (s, 3H), 3.50–3.45 (m, 1.4H), 3.23 (s, 1.8H), 3.22 (1.2H), 3.23–3.22 (m, 1H), 2.98–2.86 (m, 2.6H), 2.75–2.57 (m, 3.4H), 2.52–2.42 (m, 4H), 2.37 (s, 1.8H), 2.34 (s, 1.2H), 1.78–1.46 (m, 6H), 1.39–1.26 (m, 5H), 1.08–0.85 (m, 3H), 0.91 (t, *J* = 7.5 Hz, 3H); ¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃, 55:45 mixture of two diastereoisomers) δ: 174.9, 174.7, 135.1, 134.9, 129.0, 124.5, 73.0, 72.3, 61.6, 59.7, 59.0, 58.8, 58.6, 53.0, 48.3, 44.8, 44.6, 43.4, 43.1, 40.7, 36.5, 35.5, 34.4, 33.6, 33.4, 32.3, 29.7, 29.3, 28.6, 28.5, 28.1, 28.0, 27.8, 26.12, 26.09, 26.0, 25.9, 20.6, 14.0; HRMS (ESI) calcd for C₂₄H₄₄N₅O₃ [M+H]⁺: 450.3446. Found: 450.3439.



ワインレブアミド**15a**

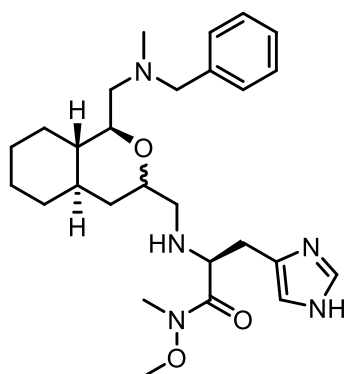
化合物**15d**と同様に合成した (25%, 2 steps)。¹H NMR (500 MHz, CDCl₃, 55:45 mixture of two diastereomers) δ: 7.56 (s, 0.45H), 7.55 (s, 0.55H), 6.81 (s, 1H), 3.99–3.97 (m, 0.55H), 3.81–3.75 (m, 1H), 3.64 (s, 3H), 3.49–3.42 (m, 1H), 3.27–3.20 (m, 0.45H), 3.224 (s, 1.65H), 3.216 (s, 1.35H), 2.95 (dd, *J* = 15.0, 4.0 Hz, 1H), 2.91–2.86 (m, 1H), 2.74–2.66 (m, 1.55H), 2.62–2.39 (m, 3.45H), 2.35 (s, 1.65H), 2.33 (s, 1.35H), 2.30–2.17 (m, 2H), 1.82–1.70 (m, 5.45H), 1.61–1.55 (m, 1H), 1.51–1.45 (m, 0.55H), 1.41–1.38 (m, 1H), 1.26–1.20 (m, 3H), 1.08–0.86 (m, 8H); ¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃, 55:45 mixture of two diastereoisomers) δ: 174.6, 174.5, 134.8, 134.6, 129.5, 129.3, 123.8, 123.5, 73.0, 72.4, 67.2, 67.0, 61.6, 60.5, 60.3, 58.7, 58.4, 52.9, 48.2, 44.7, 44.5, 43.8, 43.6, 40.7, 36.5, 35.4, 34.5, 33.6, 33.4, 32.2, 28.9, 28.5, 28.2, 27.9, 26.14, 26.08, 26.0, 25.9, 25.8, 21.1, 21.0, 20.99, 20.95; HRMS (EI) calcd for C₂₄H₄₃N₅O₃ [M]⁺: 449.3366. Found: 449.3364.



ワインレブアミド**15b**

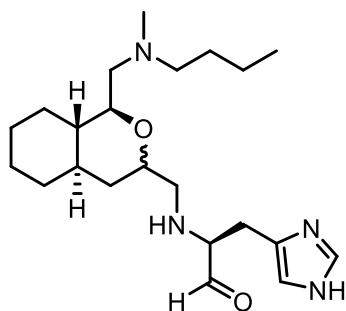
化合物**15d**と同様に合成した (14%, 2 steps)。¹H NMR (300 MHz, CDCl₃, 4:1 mixture of two diastereomers) δ: 7.55 (s, 0.2H), 7.52 (s, 0.8H), 6.81 (s, 1H), 5.87 (ddt, *J* = 17.0, 10.3, 6.7 Hz, 1H), 5.21–5.13 (m, 2H), 4.04–3.98 (m, 1H), 3.75–3.63 (m, 1H), 3.68 (s, 2.4H), 3.65 (s, 0.6H), 3.50–3.43 (m, 1.6H), 3.40–3.34 (m, 0.4H), 3.24 (s, 2.4H), 3.22 (s, 0.6H), 3.21–3.17 (m, 1H), 3.09 (dd, *J* = 13.5, 6.6 Hz, 1H), 2.97–2.85 (m, 2H), 2.79–2.63 (m, 2H), 2.58 (dd, *J* = 13.5, 1.5 Hz, 1H), 2.50–2.38 (m, 3H), 2.34 (s, 2.4H), 2.33 (s, 0.6H), 1.74–1.53 (m, 4H), 1.47 (dd, *J* = 12.5, 1.5 Hz, 1H), 1.39 (dd, *J* = 3.9, 1.5 Hz, 0.8H), 1.39 (dd, *J* = 4.1, 1.4 Hz, 0.2H), 1.25–1.16 (m, 3H), 1.10–0.82 (m, 2H); ¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃, 4:1 mixture of two diastereoisomers) δ: 174.7, 174.3, 135.0, 134.8, 133.5, 133.3, 129.0, 128.8, 123.9, 119.6, 119.5, 74.6, 72.6, 72.4, 61.6, 61.4, 61.2, 58.94, 58.87, 58.7, 58.4, 48.4, 44.7, 44.6, 42.9,

42.8, 40.6, 36.5, 35.5, 34.6, 33.5, 33.3, 32.2, 29.2, 28.6, 28.1, 27.8, 26.0, 25.9, 25.8, 22.9; HRMS (EI) calcd for $C_{23}H_{39}N_5O_3$ $[M]^+$: 433.3053. Found: 433.3054.



ワインレブアミド**15c**

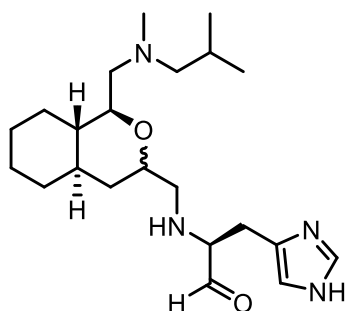
化合物**15d**と同様に合成した (17%, 2 steps)。 1H NMR (500 MHz, $CDCl_3$, 2:1 mixture of two diastereomers) δ : 7.51–7.45 (m, 1H), 7.34–7.23 (m, 5H), 6.80 (s, 1H), 5.41–5.38 (m, 2H), 3.78–3.70 (m, 1H), 3.65–3.62 (m, 2H), 3.63 (s, 2H), 3.62 (s, 1H), 3.52–3.50 (m, 2H), 3.31–3.20 (m, 1H), 3.23 (s, 1H), 3.22 (s, 2H), 2.92–2.89 (m, 1H), 2.70–2.62 (m, 1H), 2.57–2.46 (m, 1H), 2.43–2.39 (m, 1H), 2.31 (s, 3H), 2.07–1.95 (m, 1H), 1.75–1.38 (m, 5H), 1.25–0.82 (m, 6H); ^{13}C NMR (75 MHz, $CDCl_3$, 2:1 mixture of two diastereomers) δ : 175.7, 174.3, 137.7, 134.8, 134.6, 129.7, 129.5, 129.2, 129.0, 128.29, 128.26, 127.4, 127.3, 124.0, 73.2, 72.4, 62.8, 62.7, 61.6, 59.2, 58.9, 58.8, 58.3, 52.9, 48.2, 44.7, 44.5, 43.3, 43.1, 40.7, 36.6, 36.5, 35.5, 34.5, 33.6, 33.3, 32.2, 30.6, 29.7, 28.8, 28.4, 28.1, 27.7, 26.14, 26.08, 26.0, 25.9, 23.2, 22.3; HRMS (EI) calcd for $C_{27}H_{41}N_5O_3$ $[M]^+$: 483.3209. Found: 483.3214.



アルデヒド**16d**

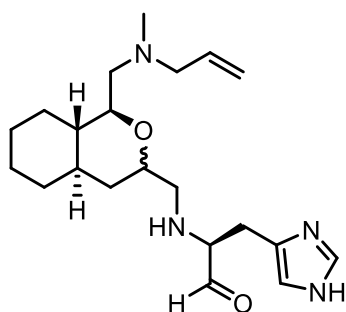
アルゴン雰囲気下、 $-10^\circ C$ で化合物**15d** (4.5 mg, 0.00932 mmol) をジクロロメタン (1.5 mL) に溶解し、DIBAL-H (1.0 M solution in hexane; 200 μL , 0.2 mmol) をゆっくり加えた。30分撹拌後、反応停止のためメタノールを加えた。この混合物を濃縮後、アセトニトリルと水の混合溶媒 (1:4) 中に溶解し、LC-MS [B液の濃度比率を5%から35%へと30分かけて上昇させた (B: 0.05%酢酸のアセトニトリル溶液, A: 0.05%酢酸水溶液)] で精製し、黄色の固形物 (450 μg , 10%) として得た。 1H NMR (500 MHz, $CDCl_3$, 3:2 mixture of two diastereomers) δ : 8.85–8.84 (m, 0.6H), 8.75 (m, 0.4H), 8.25 (m, 0.6H), 8.08 (s, 0.4H), 7.27–7.24 (m, 1H), 4.71 (m, 1H), 4.34 (m, 0.4H), 3.93 (m, 0.6H), 3.81 (m, 1H), 3.69–3.62 (m, 3H), 3.45–3.44 (m, 1H), 3.35–3.29 (m, 1H), 3.21–3.12 (m,

3H), 2.98–2.90 (m, 1H), 2.94 (s, 2H), 2.93 (s, 1H), 1.84–1.65 (m, 6H), 1.46–1.29 (m, 6H), 1.67–0.89 (m, 7H); HRMS (ESI) calcd for C₂₂H₃₉N₄O₂ [M+H]⁺: 391.3075. Found: 391.3028.



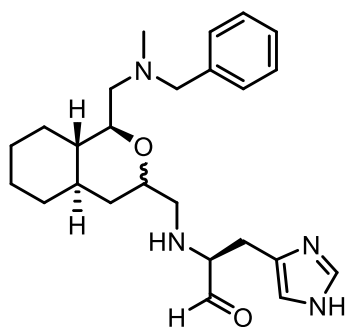
アルデヒド**16a**

化合物**16d**と同様に合成した (9%)。¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ: 8.62 (s, 1H), 8.07 (s, 1H), 7.41–7.38 (m, 1H), 4.77 (m, 1H), 4.37–4.32 (m, 2H), 3.96–3.81 (m, 2H), 3.75–3.63 (m, 3H), 3.26 (m, 3H), 2.98 (s, 3H), 2.98–2.92 (m, 1H), 2.24–2.15 (m, 2H), 1.85–1.64 (m, 6H), 1.42–1.29 (m, 4H), 1.12–1.03 (m, 7H); HRMS (ESI) calcd for C₂₂H₃₉N₄O₂ [M+H]⁺: 391.3075. Found: 391.3068.



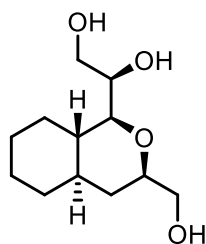
アルデヒド**16b**

化合物**16d**と同様に合成した (6%)。¹H NMR (300 MHz, CDCl₃, 3:2 mixture of two diastereomers) δ: 8.86 (m, 0.6H), 8.76 (m, 0.4H), 8.22–8.19 (m, 1H), 7.25–7.24 (m, 1H), 6.03–5.94 (m, 1H), 5.63–5.60 (m, 2H), 4.75–4.73 (m, 1H), 4.34–4.32 (m, 0.4H), 4.23 (m, 0.6H), 3.92–3.82 (m, 2H), 3.74–3.56 (m, 3H), 3.37 (m, 1H), 3.24–3.22 (m, 1H), 3.19–3.18 (m, 2H), 2.94 (s, 1.2H), 2.92 (s, 1.8H), 2.69–2.61 (m, 1H), 1.86–1.66 (m, 4H), 1.47–1.25 (m, 3H), 1.17–0.79 (m, 5H); HRMS (ESI) calcd for C₂₁H₃₅N₄O₂ [M+H]⁺: 375.2762. Found: 375.2755.



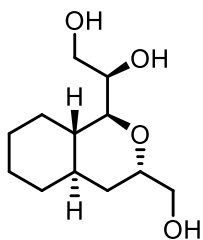
アルデヒド**16c**

化合物**16d**と同様に合成した (10%)。¹H NMR (500 MHz, CDCl₃) δ: 8.33 (s, 1H), 8.07 (s, 1H), 7.54–7.52 (m, 5H), 7.28 (s, 1H), 4.78–4.74 (m, 1H), 4.51 (d, *J* = 13.5 Hz, 1H), 4.33–4.29 (m, 1H), 3.87 (m, 1H), 3.22–3.09 (m, 2H), 2.93 (s, 3H), 2.84–2.64 (m, 4H), 2.00–1.95 (m, 2H), 1.76–1.61 (m, 4H), 1.48–1.29 (m, 5H), 1.13–0.88 (m, 3H); HRMS (ESI) calcd for C₂₅H₃₇N₄O₂ [M+H]⁺: 425.2918. Found: 425.2911.



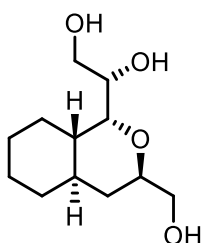
トリオール**17a**

フェリシアン化カリウム (15.3 g, 46.5 mmol)、炭酸カリウム (6.42 g, 46.5 mmol)、(DHQ)₂Pyr (121 mg, 0.137 mmol) とオスミウム(VI)酸カリウム二水和物 (22.7 mg, 0.0894 mmol) を順に加え、水と *t*-BuOH の混合溶媒 (1:1, 150 mL) 中に溶解した。室温で 20 分攪拌後、この混合溶液を氷冷下に冷却した。その後、先のオレフィン**8a** (3.01 g, 13.1 mmol) を水と *t*-BuOH の混合溶媒 (1:1, 20 mL) に溶解し加えた。氷冷下 10 時間攪拌後、反応停止のためチオ硫酸ナトリウム水溶液を加えた。その後、この溶液を酢酸エチルを用いて抽出し、飽和食塩水で洗浄し、無水硫酸ナトリウムで乾燥させ、ろ過後に濃縮をした。得られた混合物をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (クロロホルム : メタノール = 20:1) で精製し、無色の油状物を混合物として得た。この混合物をジクロロメタン (200 mL) に溶解し、*p*-トルエンスルホン酸 (836 mg, 4.40 mmol) を加え、室温で 10 時間攪拌した。反応停止のため、飽和炭酸水素ナトリウム水溶液を加えた。その後、この溶液を酢酸エチルを用いて抽出し、飽和食塩水で洗浄し、無水硫酸ナトリウムで乾燥させ、ろ過後に濃縮をした。得られた混合物をフラッシュシリカゲルカラムクロマトグラフィー (クロロホルム : メタノール = 25:1) で精製し、無色の油状物 (2.87 g, 80%, 2 steps) を得た。[α]_D²⁰ +11.6 (*c* 1.08, MeOH); ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ: 4.47 (brs, 1H), 4.22 (brs, 1H), 4.14–4.03 (m, 2H), 3.91–3.80 (m, 2H), 3.68–3.65 (m, 1H), 3.59 (dd, *J* = 9.9, 3.0 Hz, 1H), 3.51–3.36 (m, 1H), 3.32 (d, *J* = 8.4 Hz, 1H), 1.78–1.37 (m, 6H), 1.27–1.17 (m, 3H), 1.13–0.89 (m, 3H); ¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃) δ: 76.3, 74.1, 70.1, 62.5, 60.4, 43.6, 36.2, 33.4, 33.1, 27.2, 25.8, 25.7; HRMS (ESI) calcd for C₁₂H₂₂NaO₄ [M+Na]⁺: 253.1416. Found: 253.1414.



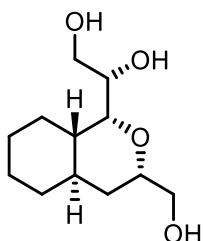
トリオール**17b**

化合物**17a**と同様に合成した (85%, 2 steps)。 $[\alpha]_D^{20} +12$ (*c* 0.48, MeOH); $^1\text{H NMR}$ (300 MHz, CDCl_3) δ : 4.53 (brs, 1H), 4.22 (brs, 1H), 3.86–3.81 (m, 2H), 3.68–3.60 (m, 1H), 3.57–3.48 (m, 3H), 3.45–3.40 (d, $J = 7.8$ Hz, 1H), 2.24 (brs, 1H), 1.79–1.62 (m, 4H), 1.44–1.39 (m, 1H), 1.29–1.21 (m, 3H), 1.07–0.92 (m, 4H); $^{13}\text{C NMR}$ (75 MHz, CDCl_3) δ : 84.1, 78.9, 70.5, 66.1, 62.5, 43.2, 40.4, 34.6, 33.1, 27.0, 25.9, 25.8; HRMS (ESI) calcd for $\text{C}_{12}\text{H}_{22}\text{NaO}_4$ $[\text{M}+\text{Na}]^+$: 253.1416. Found: 253.1410.



トリオール**17c**

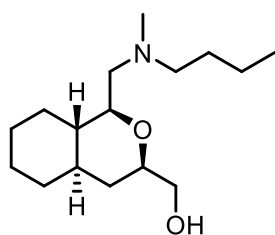
化合物**17a**と同様に合成した (81%, 2 steps)。 $[\alpha]_D^{20} -16$ (*c* 0.18, MeOH); $^1\text{H NMR}$ (300 MHz, CDCl_3) δ : 3.96 (dd, $J = 8.3, 4.4$ Hz, 1H), 3.86 (dd, $J = 12.0, 6.3$ Hz, 1H), 3.77–3.57 (m, 3H), 3.51 (dd, $J = 11.7, 3.0$ Hz, 1H), 3.51 (dd, $J = 11.7, 7.8$ Hz, 1H), 1.80–1.69 (m, 4H), 1.59–1.50 (m, 3H), 1.44–1.37 (m, 1H), 1.25–1.10 (m, 4H), 1.00–0.93 (m, 1H); $^{13}\text{C NMR}$ (75 MHz, CDCl_3) δ : 78.9, 72.8, 71.7, 66.0, 64.2, 40.1, 34.7, 32.3, 31.6, 27.6, 26.7, 26.0; HRMS (ESI) calcd for $\text{C}_{12}\text{H}_{22}\text{NaO}_4$ $[\text{M}+\text{Na}]^+$: 253.1416. Found: 253.1414.



トリオール**17d**

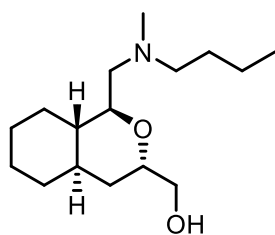
化合物**17a**と同様に合成した (74%, 2 steps)。 $[\alpha]_D^{20} -12$ (*c* 0.24, MeOH); $^1\text{H NMR}$ (300 MHz, CDCl_3) δ : 4.37 (brs, 1H), 4.04 (brs, 1H), 3.83 (dd, $J = 11.3, 4.7$ Hz, 2H), 3.75 (d, $J = 10.5$ Hz, 1H), 3.68 (dd, $J = 9.0, 4.2$ Hz, 1H), 3.61–3.50 (m, 2H), 3.46–3.38 (m, 2H), 1.81–1.65 (m, 4H), 1.54–1.41 (m, 2H), 1.36–1.17 (m, 4H), 1.00–0.94 (m, 2H); $^{13}\text{C NMR}$ (75 MHz, CDCl_3) δ : 76.9, 73.2, 69.4, 66.3, 64.0, 44.4,

34.8, 34.5, 34.2, 28.6, 27.0, 26.0; HRMS (ESI) calcd for C₁₂H₂₂NaO₄ [M+Na]⁺: 253.1416. Found: 253.1410.



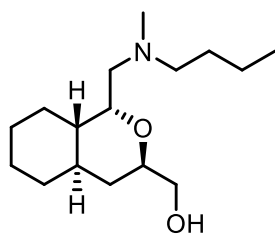
アルコール**18a**

化合物**13d**と同様に合成した (46%, 3 steps)。[α]_D²⁰ +35 (*c* 0.21, MeOH); ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ: 4.06 (d, *J* = 10.2 Hz, 1H), 4.01 (d, *J* = 10.2 Hz, 1H), 3.51–3.32 (m, 2H), 2.49–2.24 (m, 4H), 2.26 (s, 3H), 1.75–1.68 (m, 3H), 1.61–1.38 (m, 5H), 1.36–1.22 (m, 5H), 1.04–0.85 (m, 3H), 0.91 (t, *J* = 7.2 Hz, 3H); ¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃) δ: 74.2, 70.6, 60.6, 59.5, 58.6, 44.7, 43.1, 35.7, 33.5, 32.9, 27.7, 27.0, 25.9, 25.6, 20.3, 13.8; HRMS (EI) calcd for C₁₆H₃₁NO₂ [M]⁺: 269.2355. Found: 269.2352.



アルコール**18b**

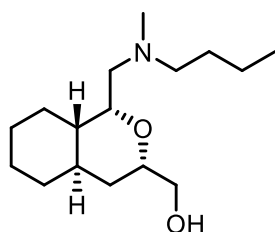
化合物**13d**と同様に合成した (43%, 3 steps)。[α]_D²⁰ +13 (*c* 0.50, MeOH); ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ: 3.64–3.59 (m, 2H), 3.50–3.45 (m, 1H), 3.37 (td, *J* = 9.3, 4.0 Hz, 1H), 3.09–2.88 (m, 4H), 2.76 (s, 3H), 1.82–1.64 (m, 4H), 1.55–1.21 (m, 8H), 1.09–0.92 (m, 4H), 0.97 (t, *J* = 7.2 Hz, 3H); ¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃) δ: 78.2, 77.8, 66.1, 59.6, 57.9, 45.1, 42.4, 40.4, 34.5, 33.3, 28.2, 27.7, 26.1, 25.9, 20.6, 14.0; HRMS (ESI) calcd for C₁₆H₃₂NO₂ [M+H]⁺: 270.2435. Found: 270.2430.



アルコール**18c**

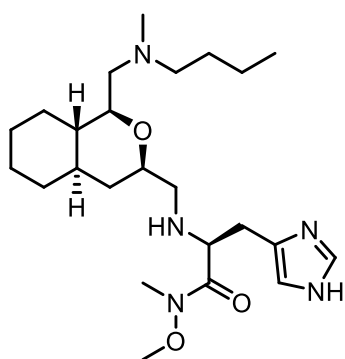
化合物**13d**と同様に合成した (44%, 3 steps)。[α]_D²⁰ –17 (*c* 0.18, MeOH); ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ: 4.07 (dd, *J* = 6.0, 5.1 Hz, 1H), 4.00 (dd, *J* = 10.5, 5.7 Hz, 1H), 3.66 (t, *J* = 12.0 Hz, 1H), 3.38 (dd, *J* = 12.3, 4.8 Hz, 1H), 2.96 (t, *J* = 12.8 Hz, 1H), 2.75–2.65 (m, 1H), 2.52–2.46 (m, 1H), 2.43 (s, 3H), 2.23 (dd, *J* = 12.6, 4.8 Hz, 1H), 1.78–1.64 (m, 4H), 1.63–1.22 (m, 10H), 1.00–0.88 (m, 2H), 0.95 (t, *J* = 7.2 Hz, 3H); ¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃) δ: 72.6, 69.6, 65.2, 58.8, 57.0, 43.2, 40.7, 34.1, 32.7, 29.5,

27.8, 27.7, 26.6, 26.0, 20.5, 13.9; HRMS (EI) calcd for C₁₆H₃₁NO₂ [M]⁺: 269.2355. Found: 269.2360.



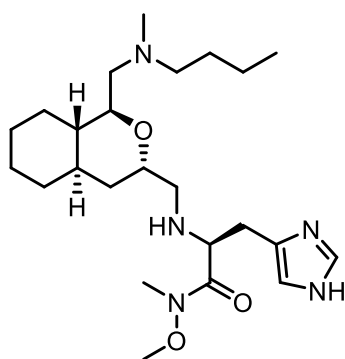
アルコール**18d**

化合物**13d**と同様に合成した (42%, 3 steps)。[α]_D²⁰ -14 (*c* 0.74, MeOH); ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ: 3.99-3.95 (m, 1H), 3.81-3.77 (m, 2H), 3.55 (dd, *J* = 6.6, 1.8 Hz, 1H), 3.48 (dd, *J* = 6.6, 4.2 Hz, 1H), 2.94 (dd, *J* = 8.1, 6.3 Hz, 1H), 2.76-2.68 (m, 1H), 2.55-2.44 (m, 2H), 2.35 (s, 3H), 2.24 (dd, *J* = 8.1, 1.8 Hz, 1H), 1.79-1.58 (m, 3H), 1.53-1.44 (m, 4H), 1.42-1.21 (m, 5H), 1.04-0.91 (m, 6H); ¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃, 4:1 mixture of two conformers) δ: 78.7, 73.7, 70.3, 66.4, 65.9, 58.8, 57.9, 57.3, 53.0, 45.1, 44.3, 42.4, 40.3, 34.9, 34.32, 34.25, 34.0, 33.1, 28.7, 28.3, 27.5, 27.1, 26.6, 26.1, 25.9, 25.8, 20.6, 20.4, 14.0, 13.8; HRMS (EI) calcd for C₁₆H₃₁NO₂ [M]⁺: 269.2355. Found: 269.2354.



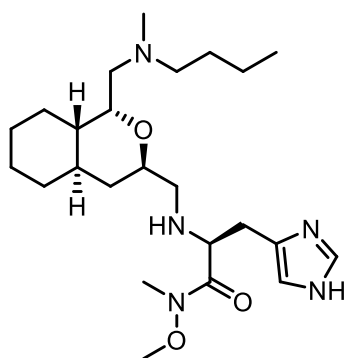
ワインレブアミド**19a**

化合物**15d**と同様に合成した (17%, 2 steps)。[α]_D²⁰ +17 (*c* 0.55, MeOH); ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ: 7.54 (s, 1H), 6.79 (s, 1H), 3.99-3.96 (m, 1H), 3.84-3.81 (m, 1H), 3.66-3.64 (m, 1H), 3.61 (s, 3H), 3.56-3.48 (m, 1H), 3.13 (s, 3H), 2.98-2.90 (m, 2H), 2.77-2.61 (m, 4H), 2.56-2.32 (m, 3H), 2.49 (s, 3H), 1.74-1.66 (m, 5H), 1.58-1.44 (m, 3H), 1.39-1.17 (m, 5H), 0.96-0.90 (m, 2H), 0.92 (t, *J* = 7.2 Hz, 3H); ¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃) δ: 174.9, 135.0, 129.4, 123.7, 72.4, 61.6, 59.3, 58.8, 58.4, 48.3, 44.6, 42.6, 35.4, 34.4, 33.5, 32.2, 29.4, 28.7, 28.0, 27.6, 26.0, 25.8, 20.5, 13.9; HRMS (EI) calcd for C₂₄H₄₃N₅O₃ [M]⁺: 449.3366. Found: 449.3361.



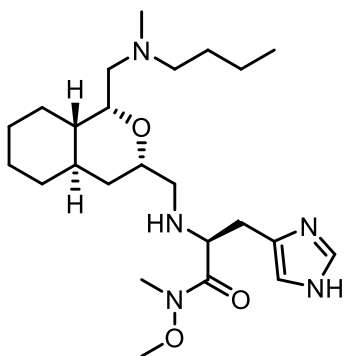
ワインレブアミド**19b**

化合物**15d**と同様に合成した (13%, 2 steps)。 $[\alpha]_{\text{D}}^{20} +36$ (*c* 0.050, MeOH); $^1\text{H NMR}$ (500 MHz, CDCl_3) δ : 7.54 (s, 1H), 6.79 (s, 1H), 3.74–3.73 (m, 1H), 3.64 (s, 3H), 3.48 (td, $J = 8.8, 2.0$ Hz, 1H), 3.36–3.34 (m, 1H), 3.27–3.20 (m, 1H), 3.22 (s, 3H), 2.92 (dd, $J = 15.0, 3.5$ Hz, 1H), 2.75–2.67 (m, 3H), 2.59 (d, $J = 13.5$ Hz, 2H), 2.52–2.44 (m, 3H), 2.36–2.31 (m, 1H), 2.35 (s, 3H), 1.77–1.66 (m, 4H), 1.59 (m, 1H), 1.54–1.44 (m, 2H), 1.39–1.16 (m, 4H), 1.33 (q, $J = 7.5$ Hz, 2H), 1.07–0.86 (m, 2H), 0.92 (t, $J = 7.5$ Hz, 3H); $^{13}\text{C NMR}$ (75 MHz, CDCl_3) δ : 176.4, 134.4, 128.9, 121.2, 76.5, 76.0, 61.7, 58.0, 57.8, 57.6, 52.4, 44.7, 42.0, 40.0, 36.1, 33.0, 28.4, 27.3, 25.8, 25.7, 25.6, 22.5, 20.0, 13.7; HRMS (EI) calcd for $\text{C}_{24}\text{H}_{43}\text{N}_5\text{O}_3$ $[\text{M}]^+$: 449.3366. Found: 449.3365.



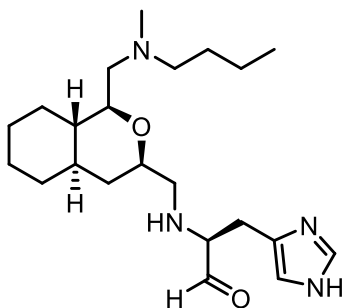
ワインレブアミド**19c**

化合物**15d**と同様に合成した (19%, 2 steps)。 $[\alpha]_{\text{D}}^{20} -7.2$ (*c* 0.42, MeOH); $^1\text{H NMR}$ (500 MHz, CDCl_3 , 4:1 mixture of two conformers) δ : 7.55 (s, 0.8H), 7.52 (s, 0.2H), 6.80 (s, 1H), 3.97–3.93 (m, 1H), 3.85 (dd, $J = 8.5, 4.0$ Hz, 0.8H), 3.80–3.77 (m, 1.2H), 3.66 (s, 2.4H), 3.64 (s, 0.6H), 3.21 (s, 3H), 2.96 (dd, $J = 15.0, 3.5$ Hz, 0.8H), 2.91 (dd, $J = 15.0, 4.0$ Hz, 0.2H), 2.78–2.64 (m, 2.4H), 2.58–2.40 (m, 5.2H), 2.37 (s, 2.4H), 2.32 (s, 0.6H), 2.29–2.28 (m, 0.2H), 2.24 (dd, $J = 13.3, 3.3$ Hz, 0.2H), 1.78–1.57 (m, 6H), 1.52–1.16 (m, 8H), 1.06–0.89 (m, 2H), 0.92 (t, $J = 7.3$ Hz, 3H); $^{13}\text{C NMR}$ (75 MHz, CDCl_3) δ : 174.4, 135.0, 128.8, 124.2, 72.4, 71.3, 61.6, 58.5, 58.2, 57.3, 53.2, 41.8, 34.3, 34.2, 32.3, 31.2, 29.5, 28.4, 27.7, 26.7, 26.0, 23.5, 20.6, 14.0; HRMS (EI) calcd for $\text{C}_{24}\text{H}_{43}\text{N}_5\text{O}_3$ $[\text{M}]^+$: 449.3366. Found: 449.3365.



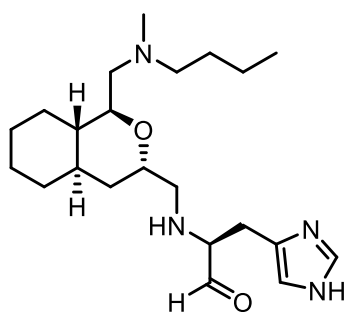
ワインレブアミド**19d**

化合物**15d**と同様に合成した (22%, 2 steps)。 $[\alpha]_D^{20} -3.1$ (c 0.72, MeOH); $^1\text{H NMR}$ (500 MHz, CDCl_3 , 4:1 mixture of two conformers) δ : 7.58 (s, 0.2H), 7.53 (s, 0.8H), 6.80 (s, 1H), 4.02–4.00 (m, 0.8H), 3.83–3.76 (m, 1.8H), 3.72–3.67 (m, 0.2H), 3.64 (s, 3H), 3.61–3.56 (m, 0.2H), 3.22 (s, 2.4H), 3.20 (s, 0.6H), 3.00 (dd, $J = 13.3, 10.3$ Hz, 0.8H), 2.91 (dd, $J = 15.0, 4.0$ Hz, 1.2H), 2.73–2.64 (m, 2.8H), 2.58–2.46 (m, 2.4H), 2.43 (dd, $J = 11.8, 2.8$ Hz, 0.8H), 2.37 (s, 3H), 2.30 (dd, $J = 13.3, 2.8$ Hz, 1H), 1.77–1.65 (m, 4H), 1.53–1.48 (m, 4H), 1.42–1.28 (m, 3H), 1.24–1.20 (m, 2H), 1.05–0.89 (m, 3H), 0.91 (t, $J = 7.3$ Hz, 3H); $^{13}\text{C NMR}$ (75 MHz, CDCl_3 , 4:1 mixture of two conformers) δ : 174.5, 134.9, 134.5, 129.3, 123.8, 73.6, 69.1, 61.6, 59.1, 58.4, 58.3, 57.4, 52.7, 44.8, 44.4, 42.0, 40.4, 36.8, 36.4, 34.3, 34.0, 32.2, 28.8, 28.5, 28.4, 28.3, 27.7, 27.4, 26.6, 26.0, 25.8, 23.2, 23.0, 20.6, 20.4, 14.0, 13.9; HRMS (EI) calcd for $\text{C}_{24}\text{H}_{43}\text{N}_5\text{O}_3$ $[\text{M}]^+$: 449.3366. Found: 449.3369.



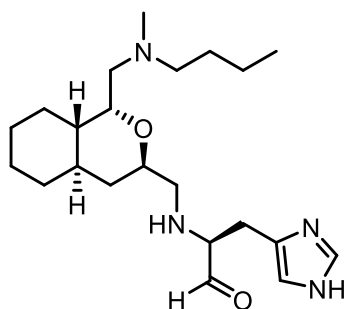
アルデヒド**4a**

化合物**16d**と同様に合成した (9%)。 $^1\text{H NMR}$ (300 MHz, CDCl_3) δ : 7.90 (s, 1H), 7.72–7.69 (m, 1H), 6.96 (m, 1H), 4.68 (m, 1H), 4.30 (m, 2H), 4.15–4.12 (m, 2H), 3.78–3.65 (m, 3H), 3.45–3.43 (m, 1H), 3.34–3.34 (m, 2H), 3.00–2.79 (m, 4H), 1.85–1.53 (m, 6H), 1.48–1.22 (m, 7H), 1.20–0.90 (m, 6H); HRMS (ESI) calcd for $\text{C}_{22}\text{H}_{39}\text{N}_4\text{O}_2$ $[\text{M}+\text{H}]^+$: 391.3075. Found: 391.3068.



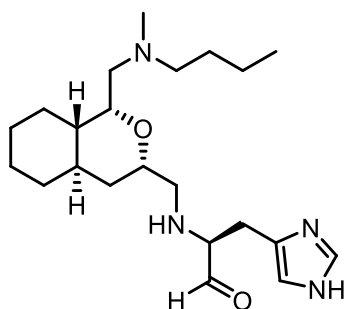
アルデヒド**4b**

化合物**16d**と同様に合成した (7%)。¹H NMR (500 MHz, CDCl₃) δ: 8.79–8.74 (m, 1H), 8.10 (s, 1H), 7.19–7.18 (m, 1H), 4.71 (m, 1H), 3.90 (d, *J* = 10.3 Hz, 1H), 3.83–3.79 (m, 1H), 3.63–3.61 (m, 3H), 3.44 (m, 1H), 3.28–3.24 (m, 1H), 3.16–3.10 (m, 3H), 2.99–2.91 (m, 1H), 2.97 (s, 3H), 1.83–1.59 (m, 6H), 1.42–1.28 (m, 6H), 1.15–0.88 (m, 7H); HRMS (ESI) calcd for C₂₂H₃₉N₄O₂ [M+H]⁺: 391.3075. Found: 391.3077.



アルデヒド**4c**

化合物**16d**と同様に合成した (6%)。¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ: 8.35 (m, 1H), 8.07 (s, 1H), 7.28 (s, 1H), 4.65 (m, 1H), 4.34 (m, 2H), 4.26–4.20 (m, 2H), 3.25–3.19 (m, 3H), 3.15–3.10 (m, 3H), 2.94–2.93 (m, 4H), 1.91–1.62 (m, 7H), 1.62–1.37 (m, 7H), 1.24–1.01 (m, 5H); HRMS (ESI) calcd for C₂₂H₃₉N₄O₂ [M+H]⁺: 391.3075. Found: 391.3068.



アルデヒド**4d**

化合物**16d**と同様に合成した (7%)。¹H NMR (500 MHz, CDCl₃) δ: 8.20 (s, 1H), 7.98 (m, 1H), 7.21 (s, 1H), 4.63 (m, 1H), 4.34 (m, 1H), 4.21 (m, 1H), 4.04–4.02 (m, 1H), 3.65 (m, 1H), 3.53 (m, 1H), 3.40–3.36 (m, 2H), 3.22–3.20 (m, 2H), 3.11–2.87 (m, 5H), 1.87–1.57 (m, 7H), 1.46–1.23 (m, 6H), 1.08–

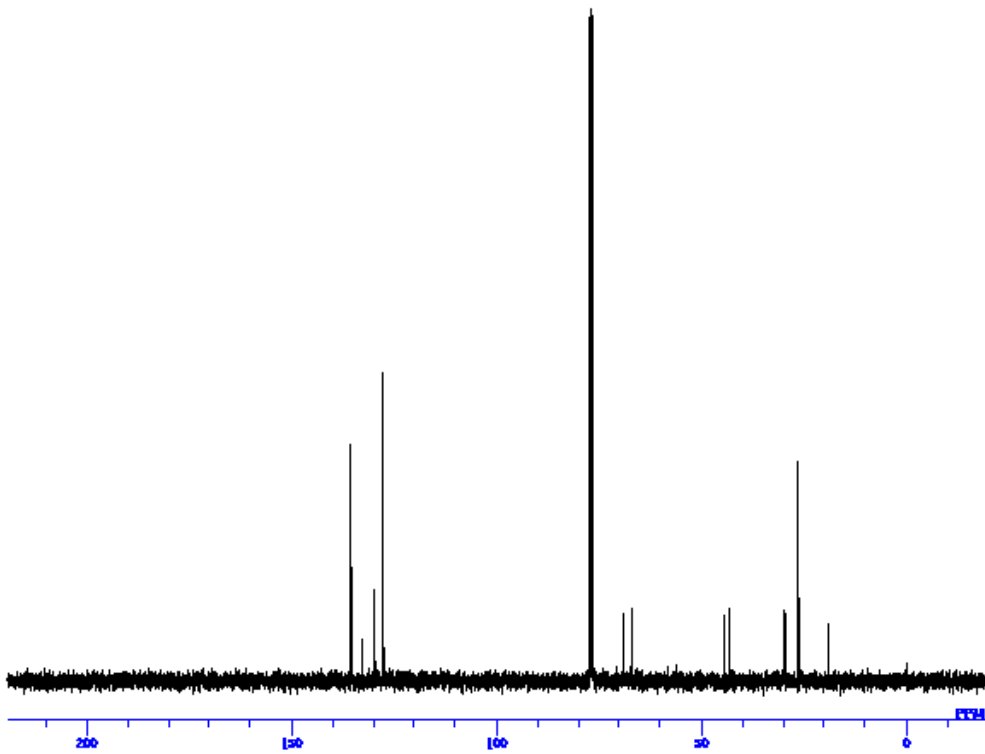
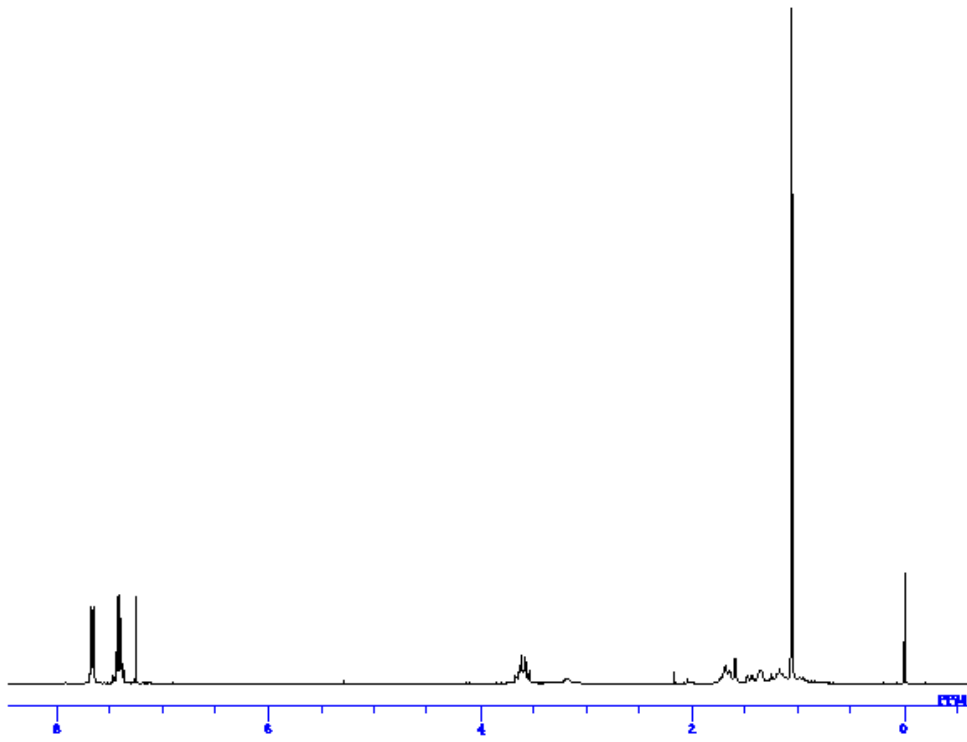
0.90 (m, 3H), 1.03 (t, $J = 7.3$ Hz, 3H); HRMS (ESI) calcd for $C_{22}H_{39}N_4O_2$ $[M+H]^+$: 391.3074. Found: 391.3068.

R188I SARS 3CL^{pro}に対する阻害活性評価

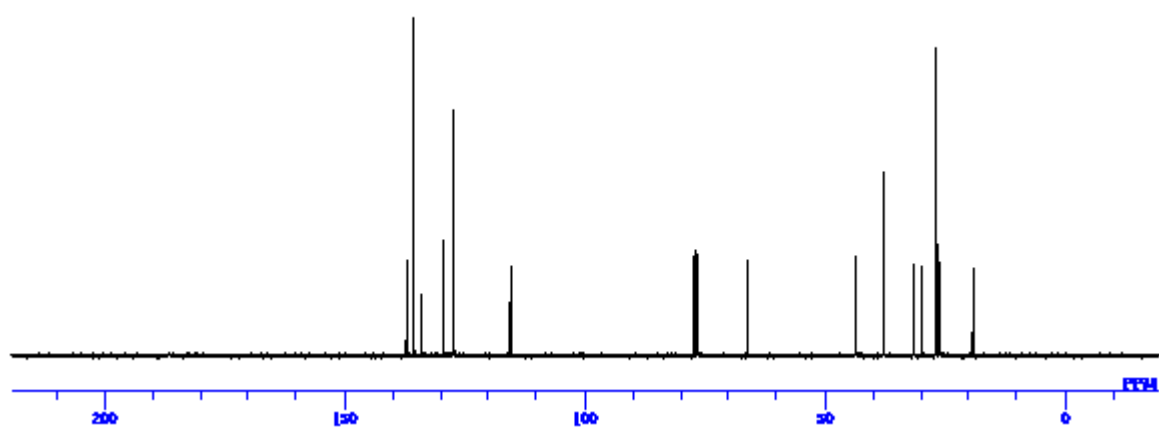
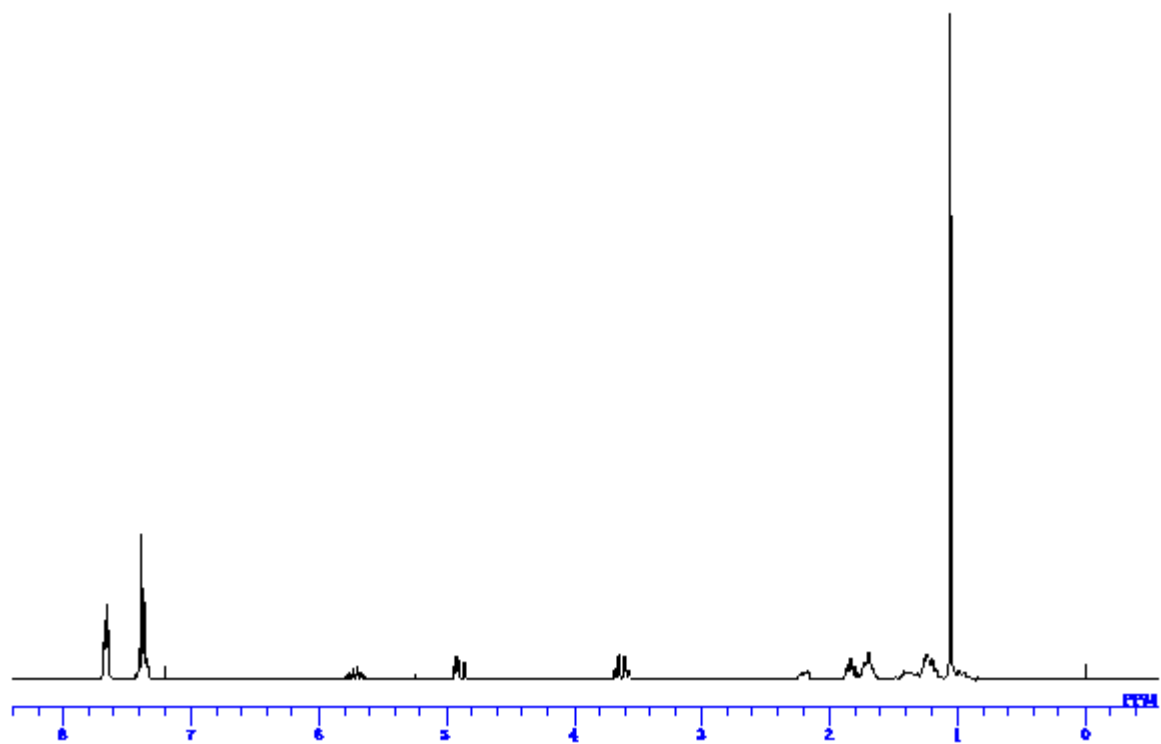
基質ペプチド (H-Thr-Ser-Ala-Val-Leu-Gln-Ser-Gly-Phe-Arg-Lys-NH₂ : 111 μ M) を DTT (7 mM) を含む緩衝液 (25 μ L of 20 mM Tris-HCl buffer pH 7.5 containing) に加え、R188I SARS 3CL^{pro}、様々な濃度の阻害剤と共に、37°C 条件下2時間インキュベートした。反応混合物を分析用 HPLC で溶出し [CH₃CN in aqueous 0.1% TFA (10-20% over 30 min)], 基質ペプチドのピーク面積の減少率から切断率を算出した。この基質ペプチド切断率と阻害剤濃度をプロットし、シグモイド曲線を描き、IC₅₀を算出した。この試験を3回行い、平均値を算出した。

NMR data

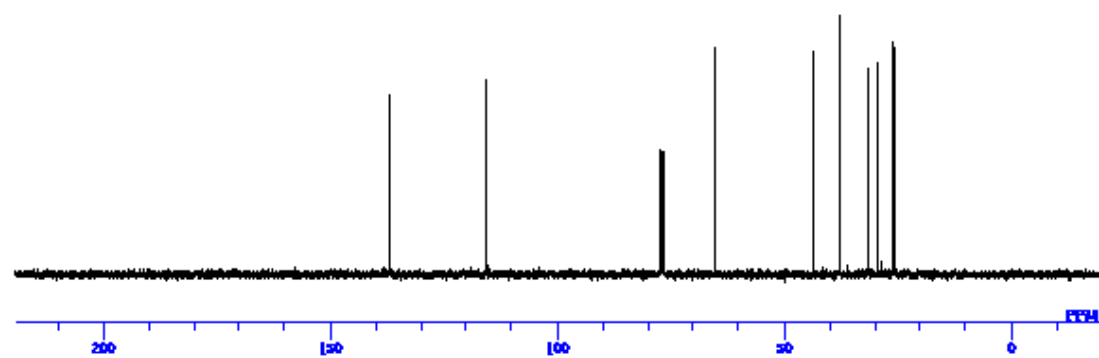
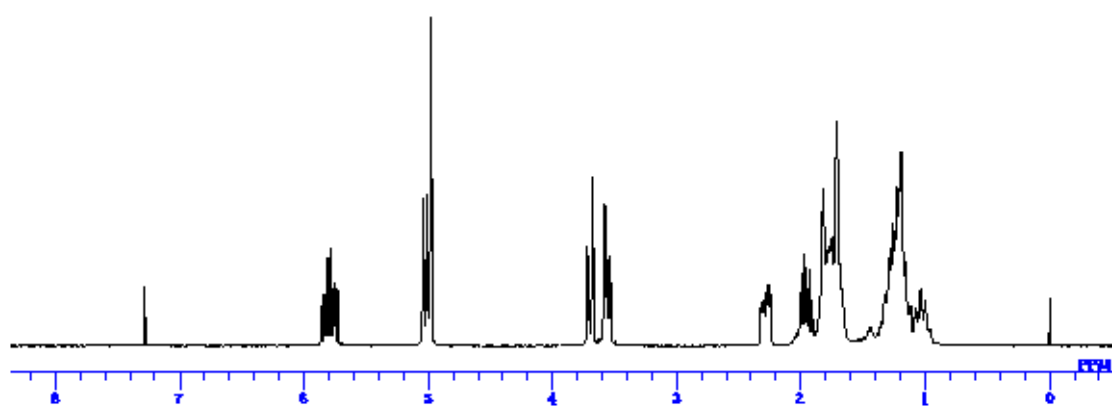
アルコール9-1



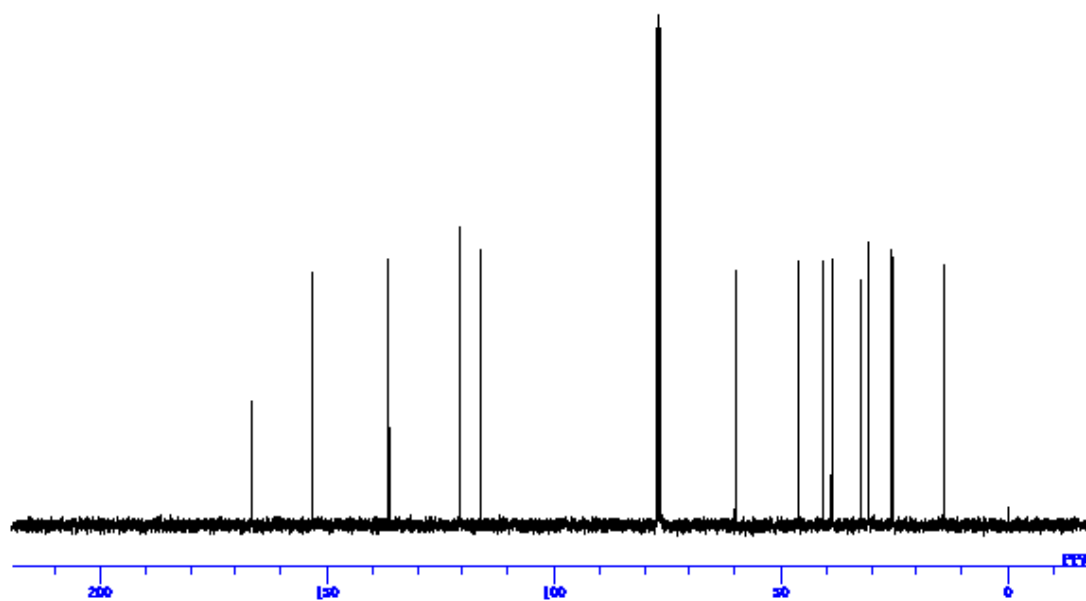
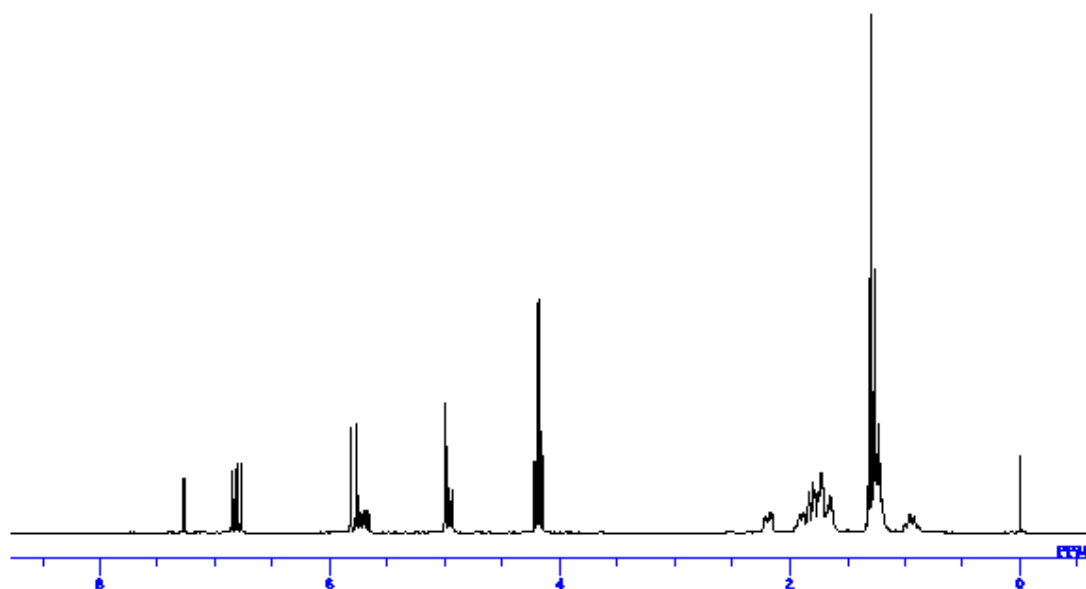
オレフィン 9-2



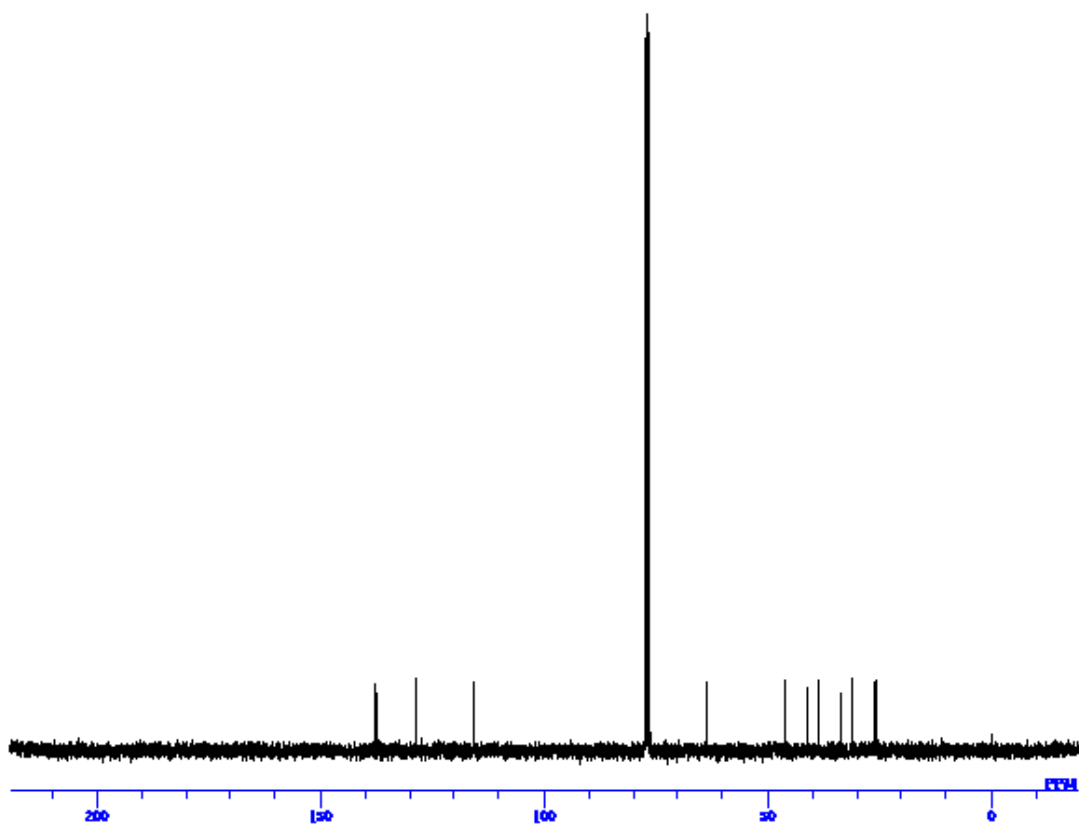
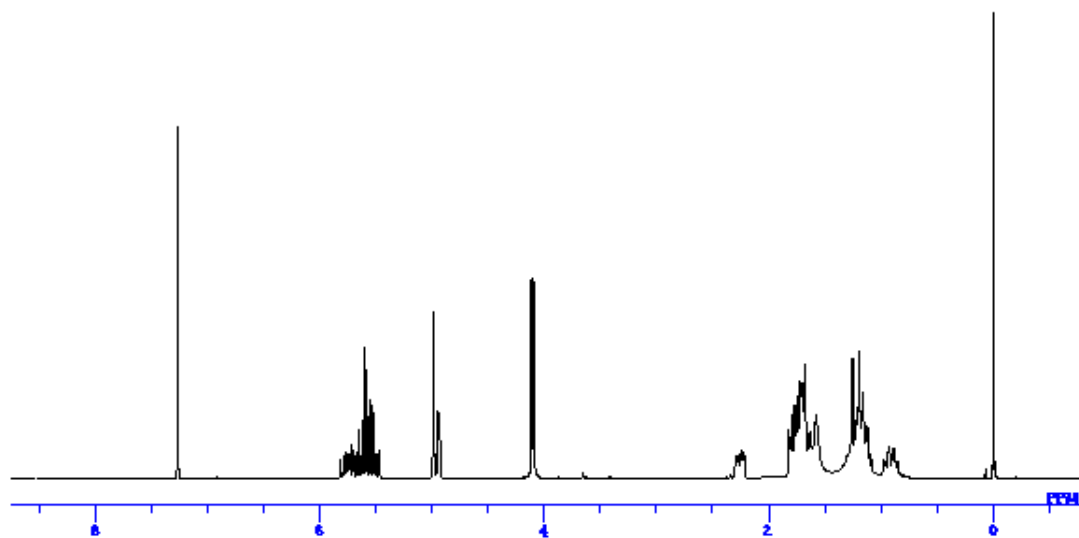
アルコール 10



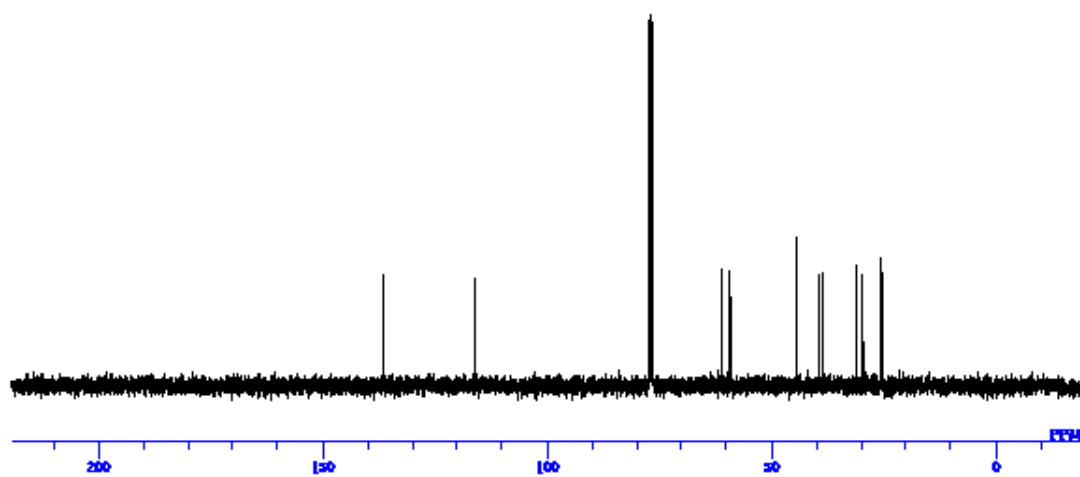
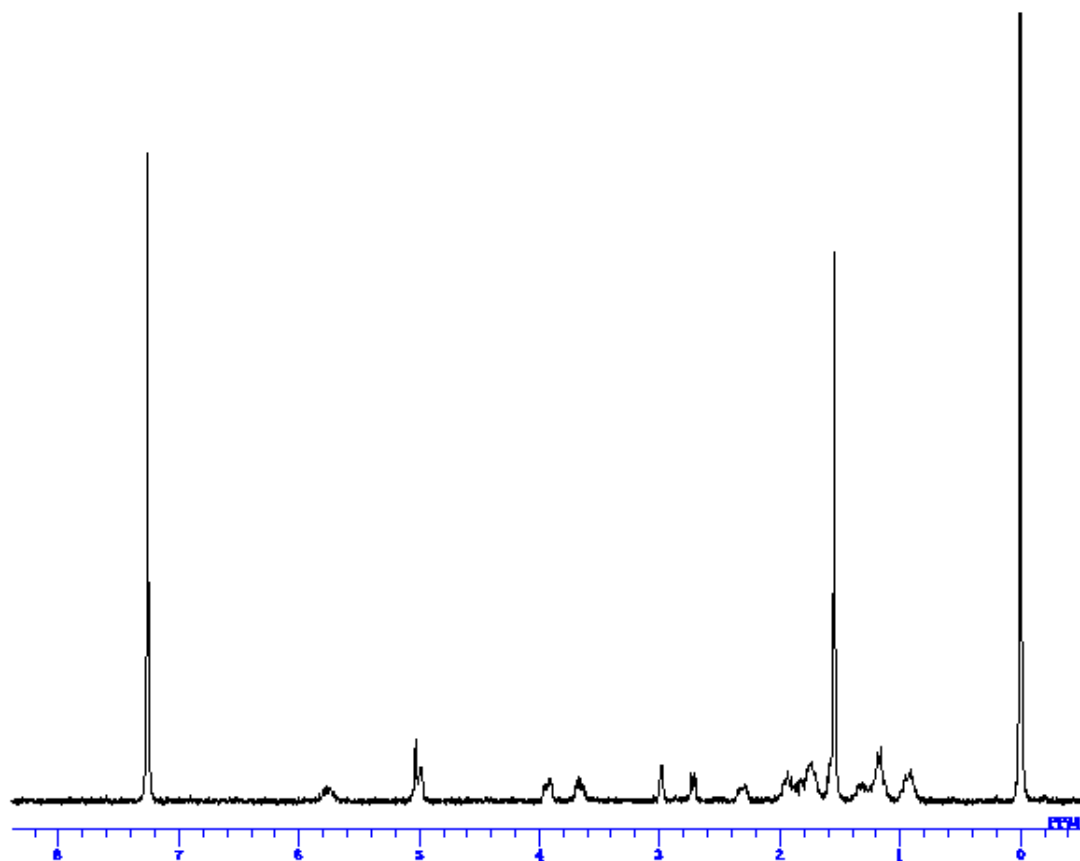
エチルエステル 12



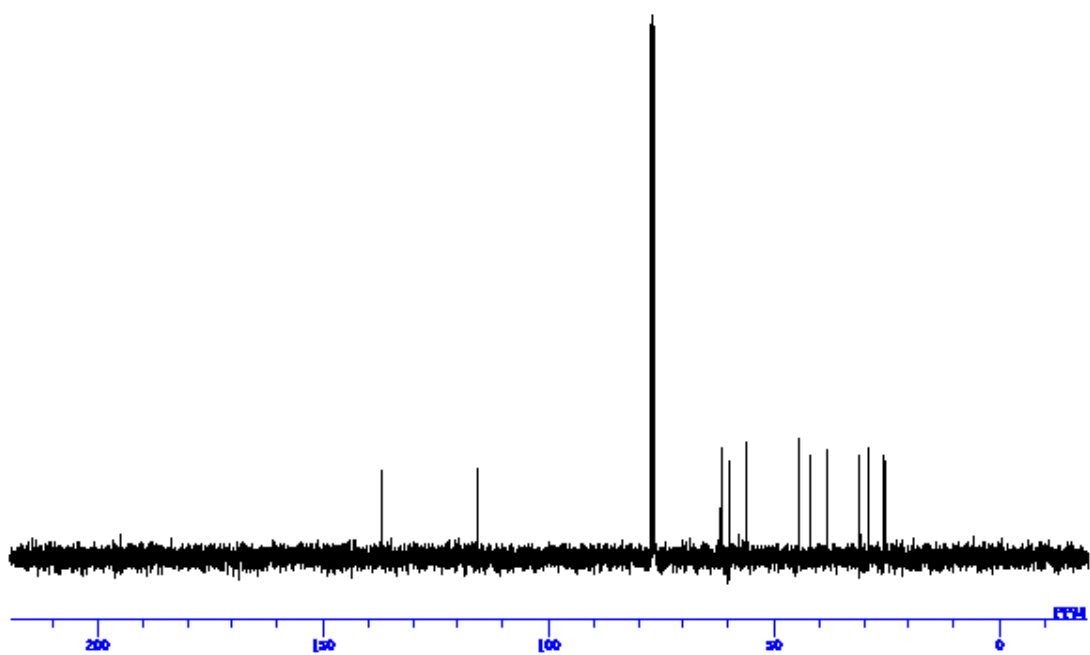
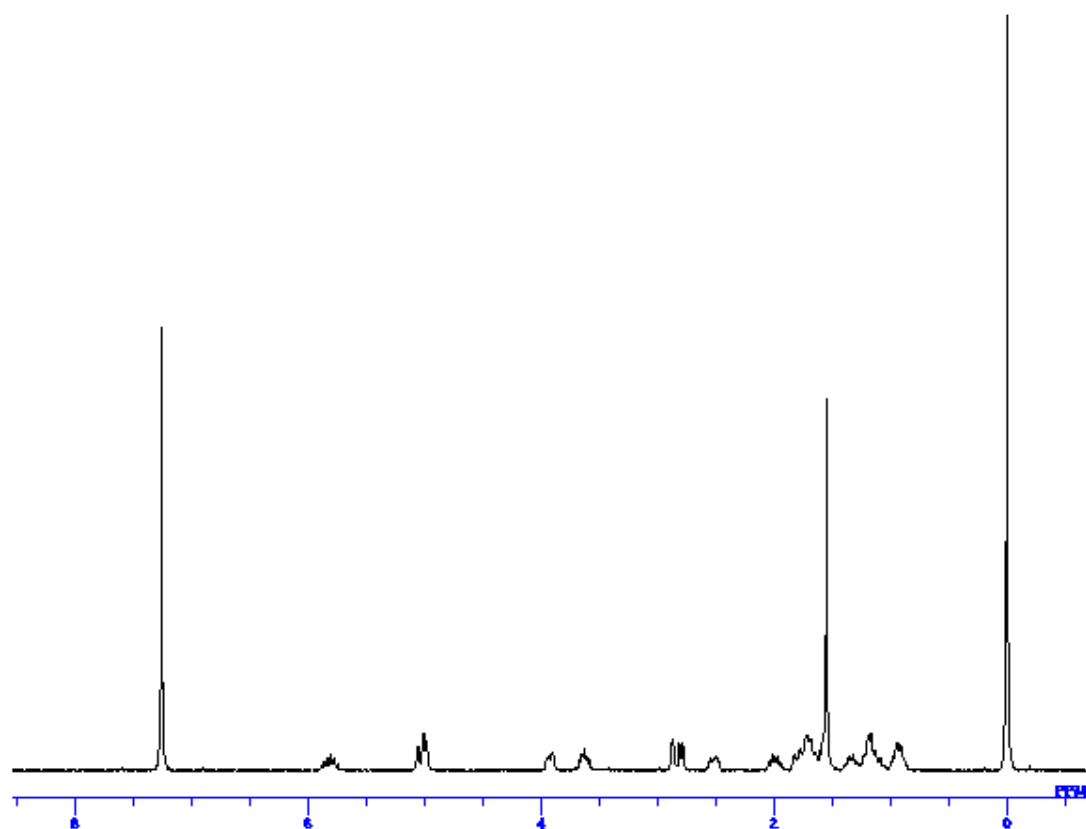
アリルアルコール 12-1



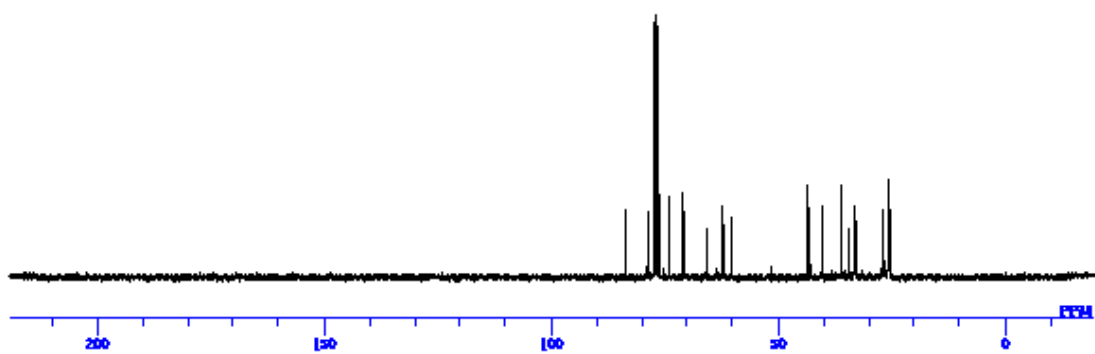
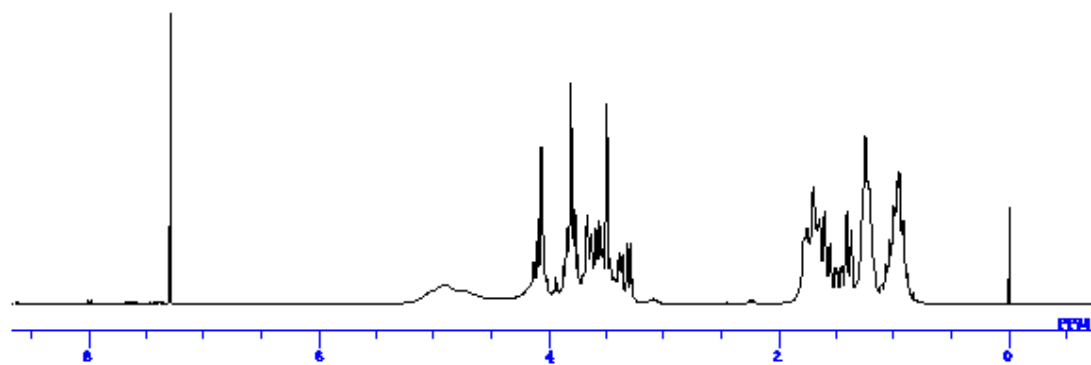
エポキシド8a



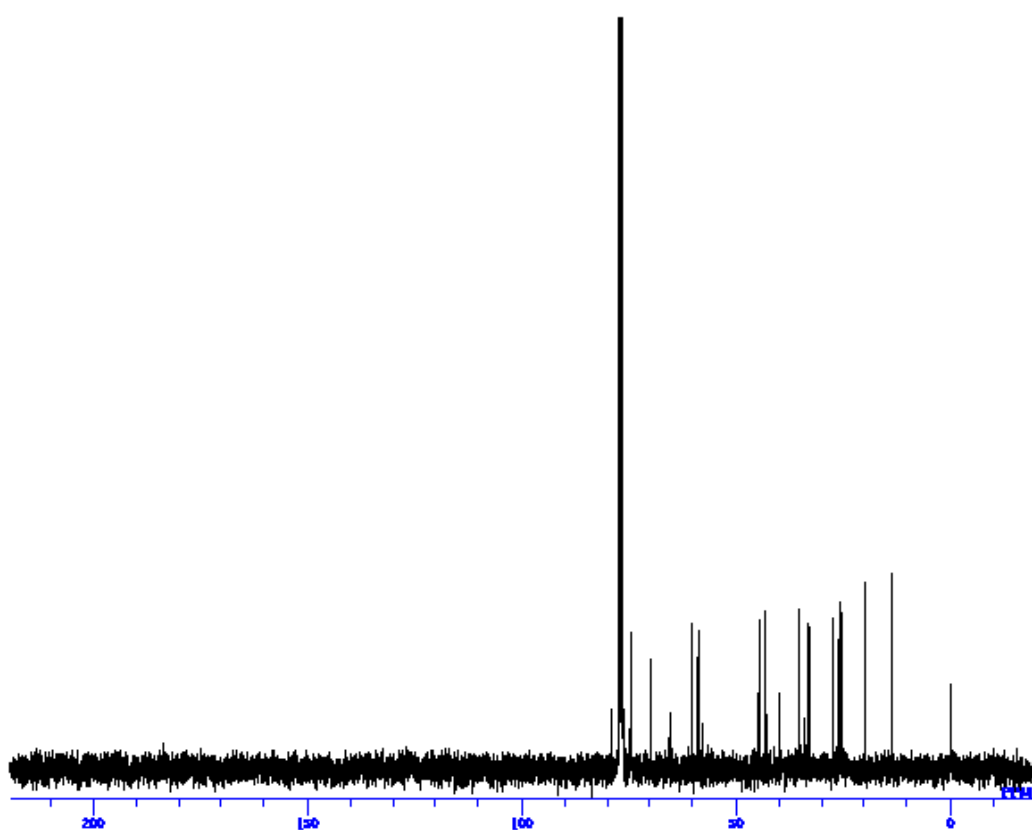
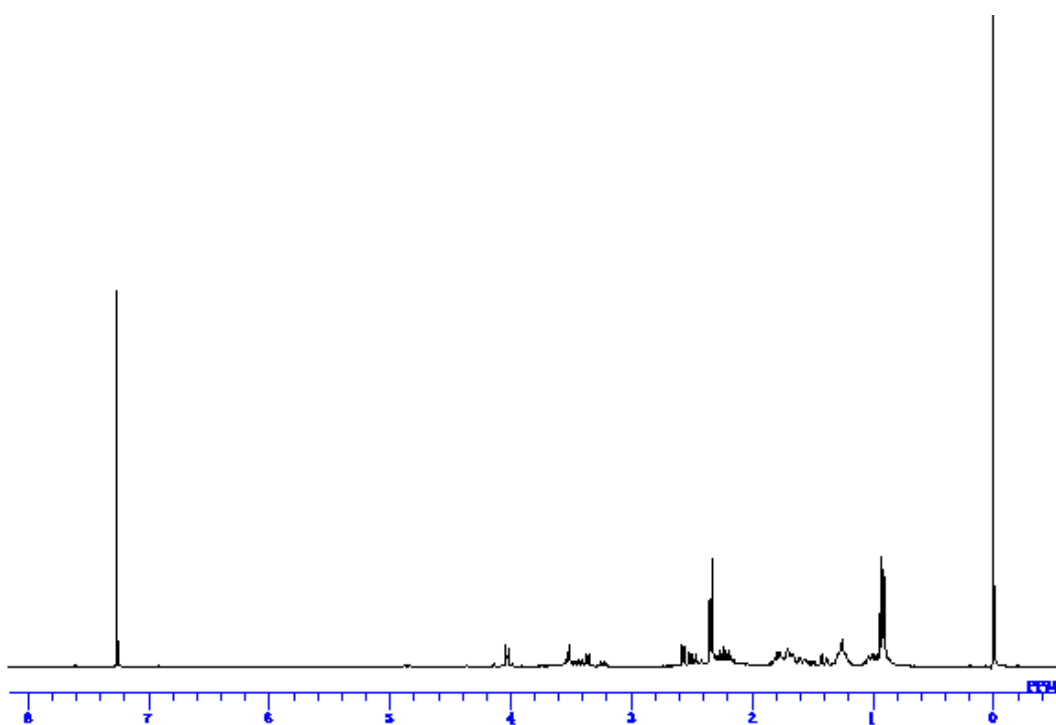
エポキシド8b



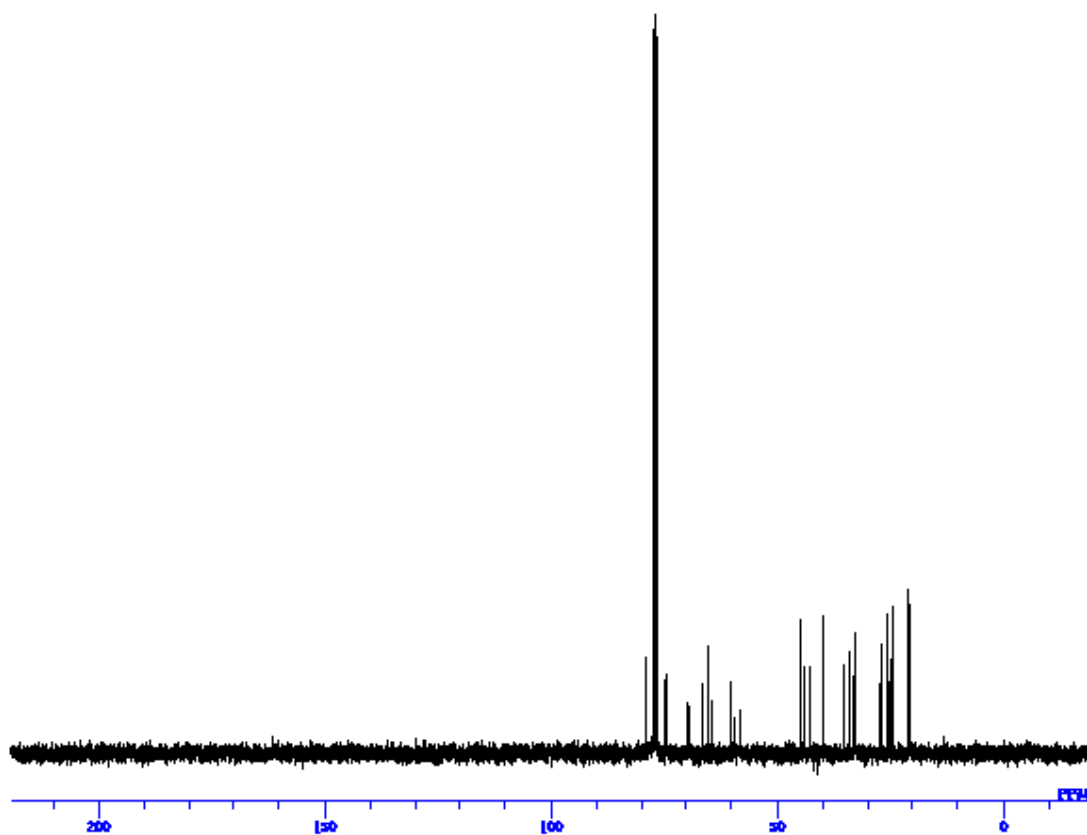
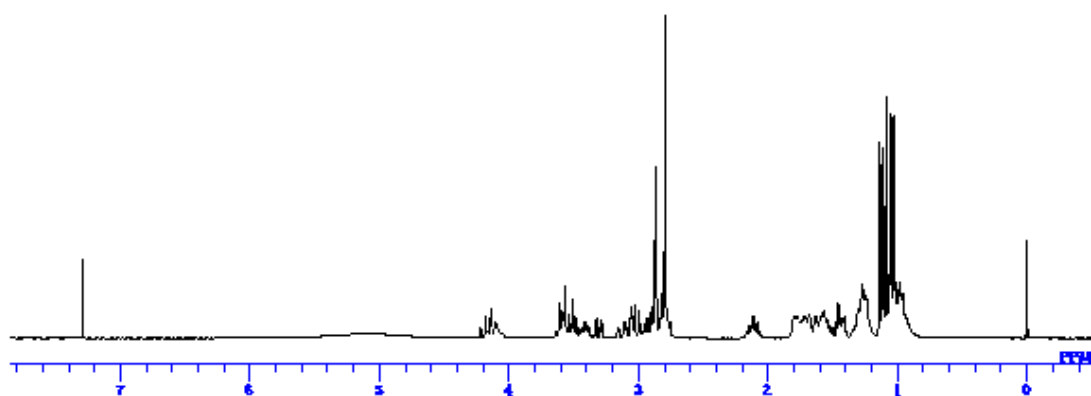
トリオール6



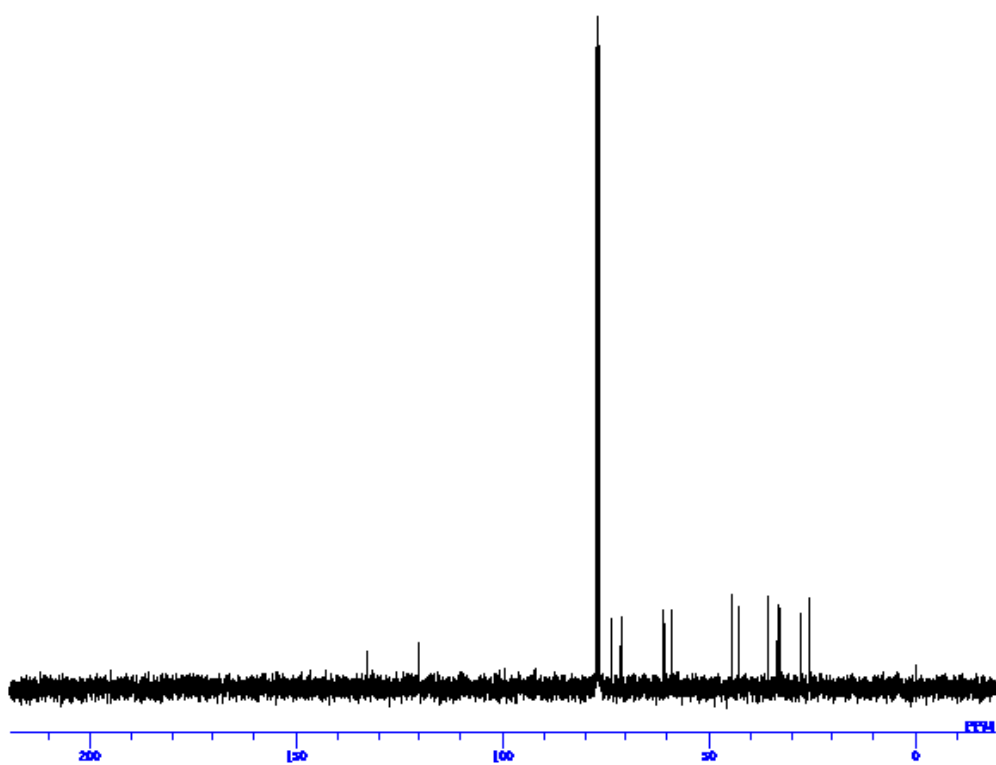
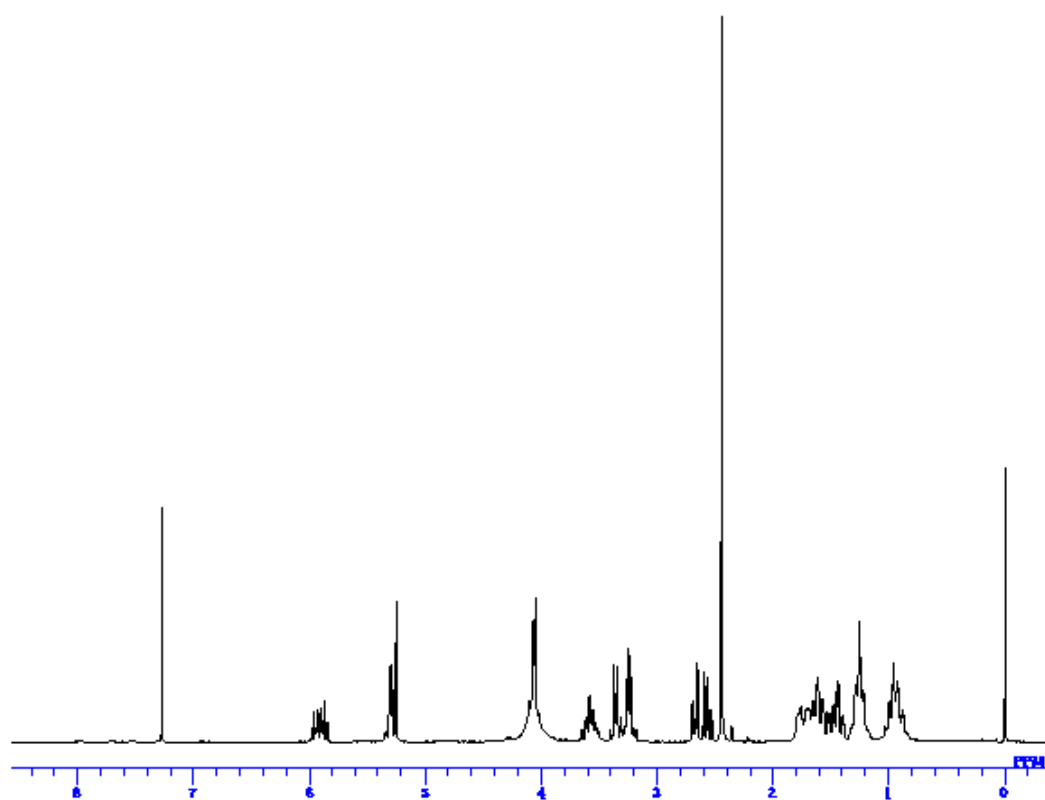
アルコール13d



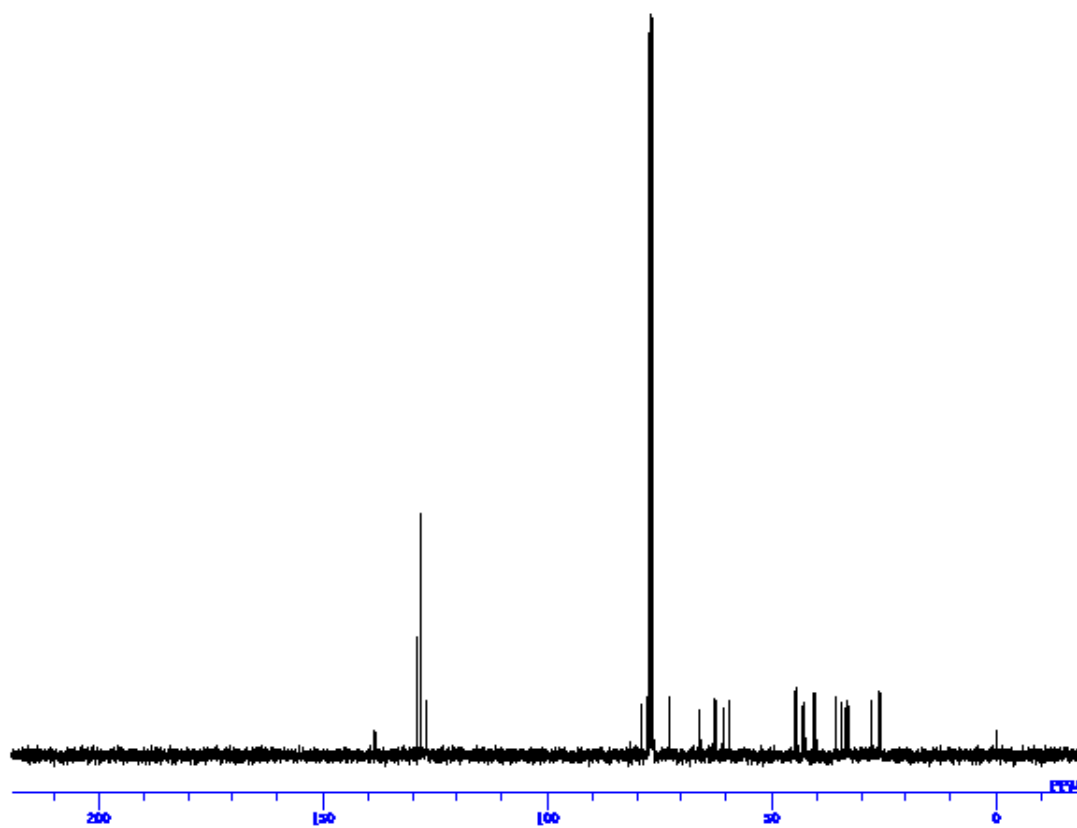
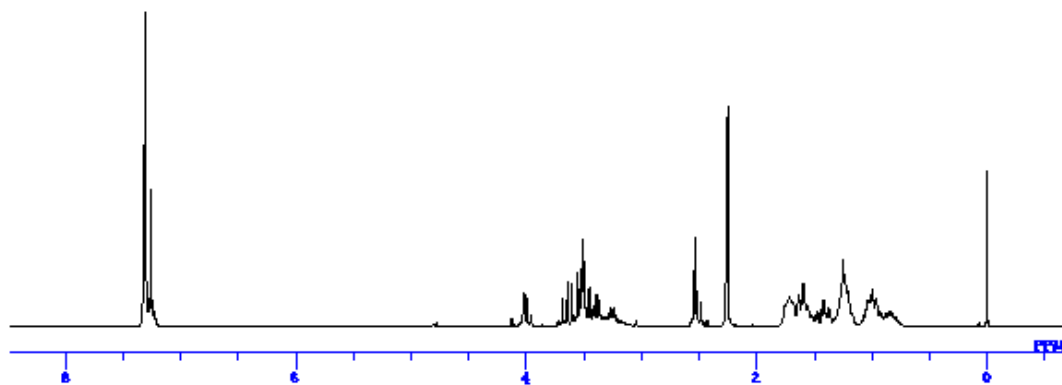
アルコール13a



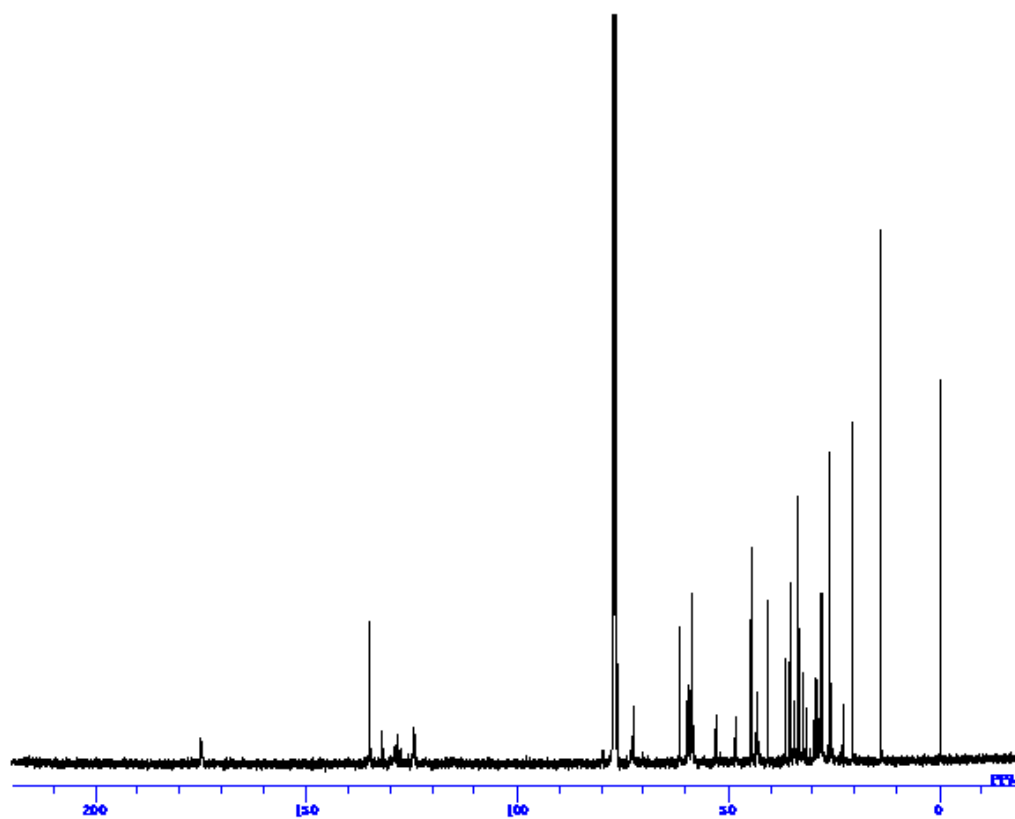
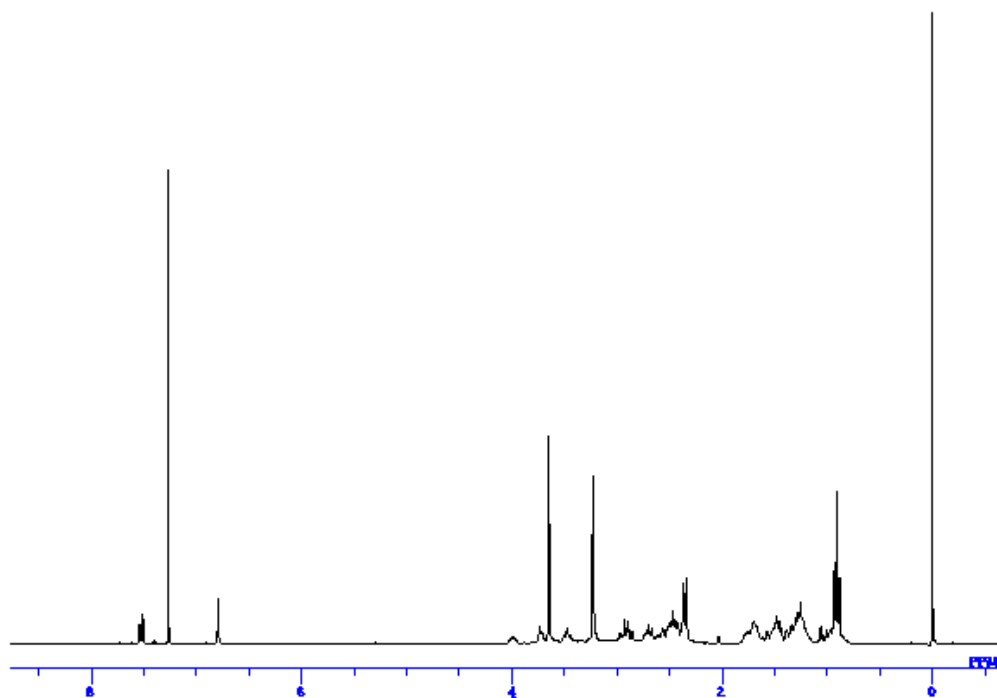
アルコール13b



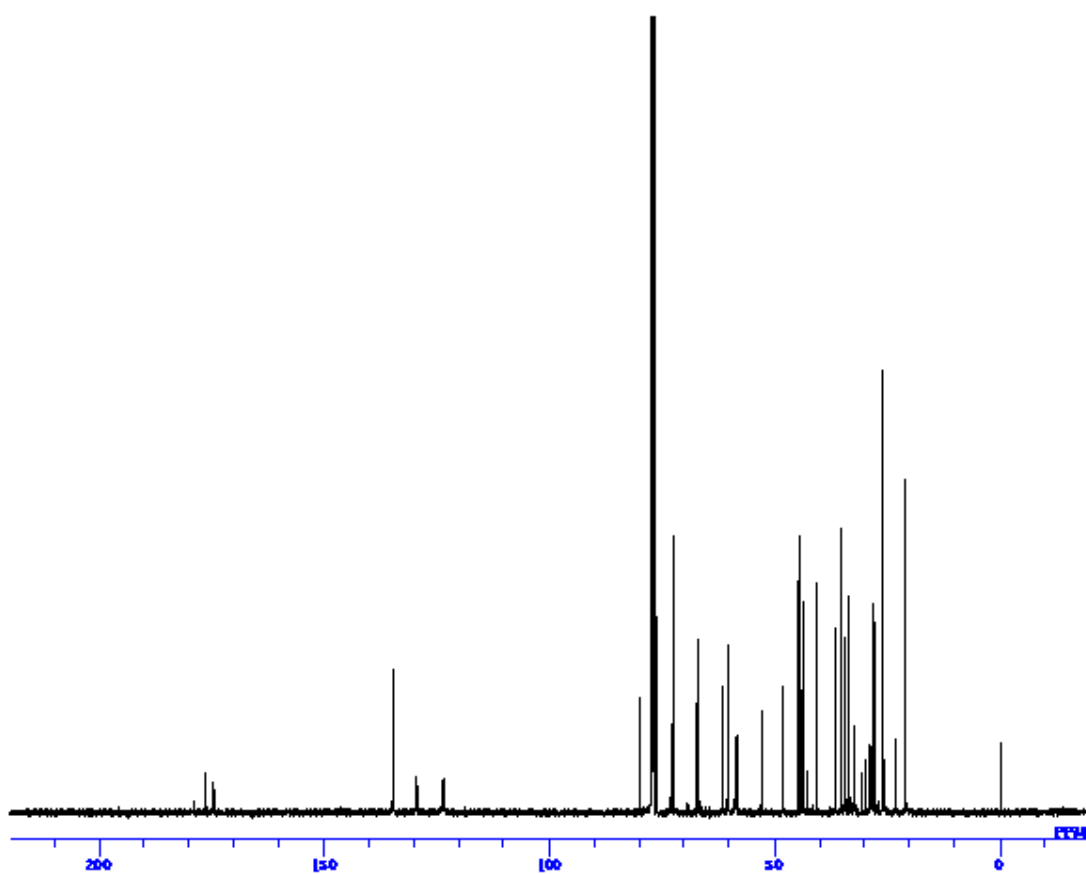
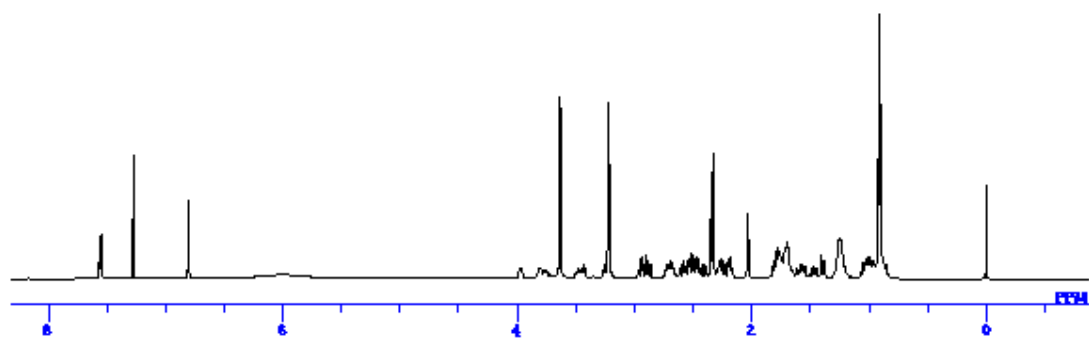
アルコール13c



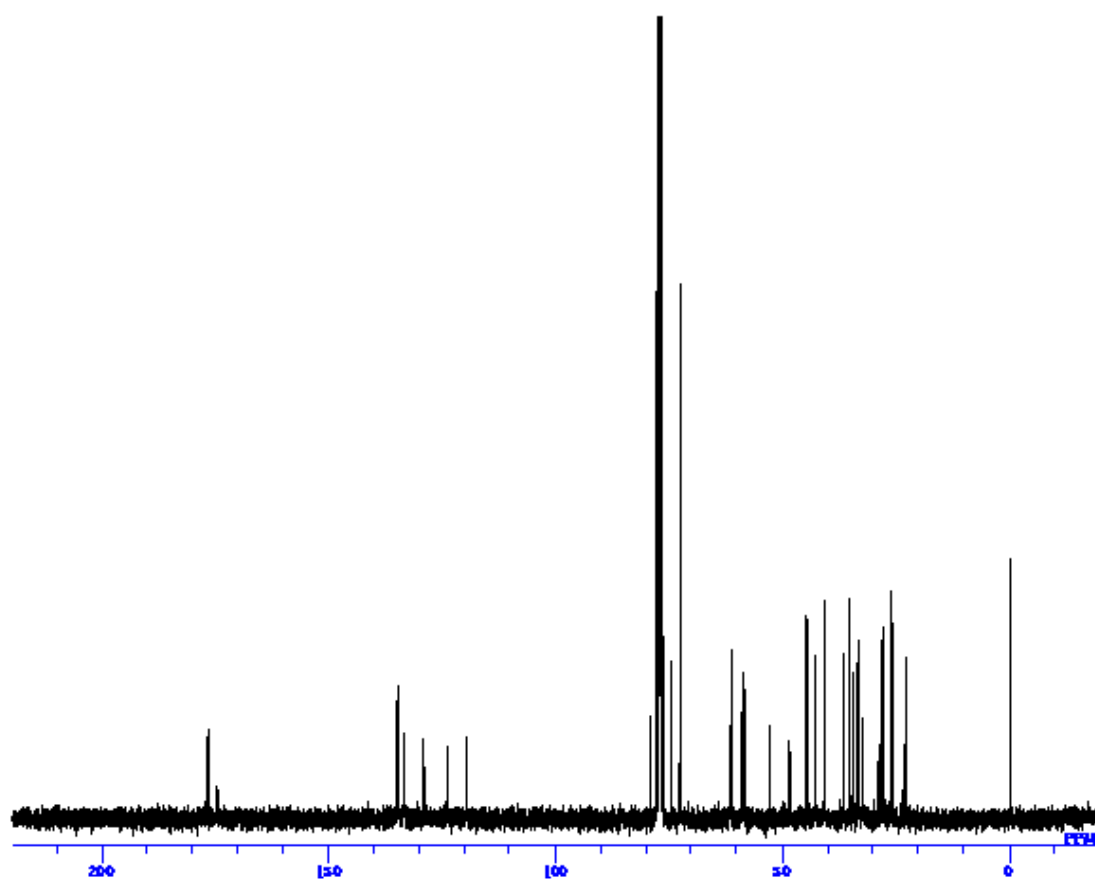
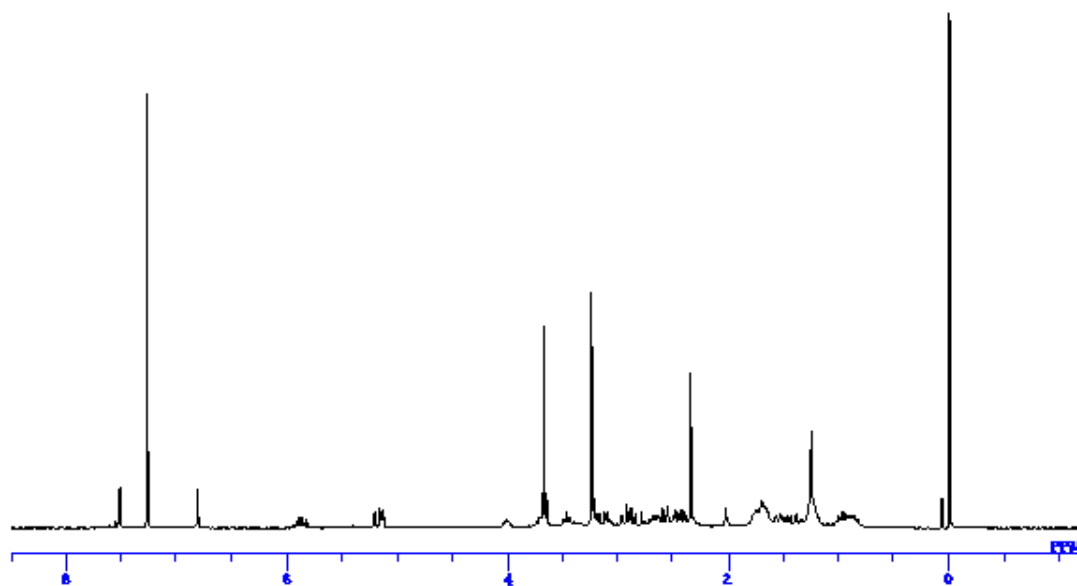
ワインレブアミド15d



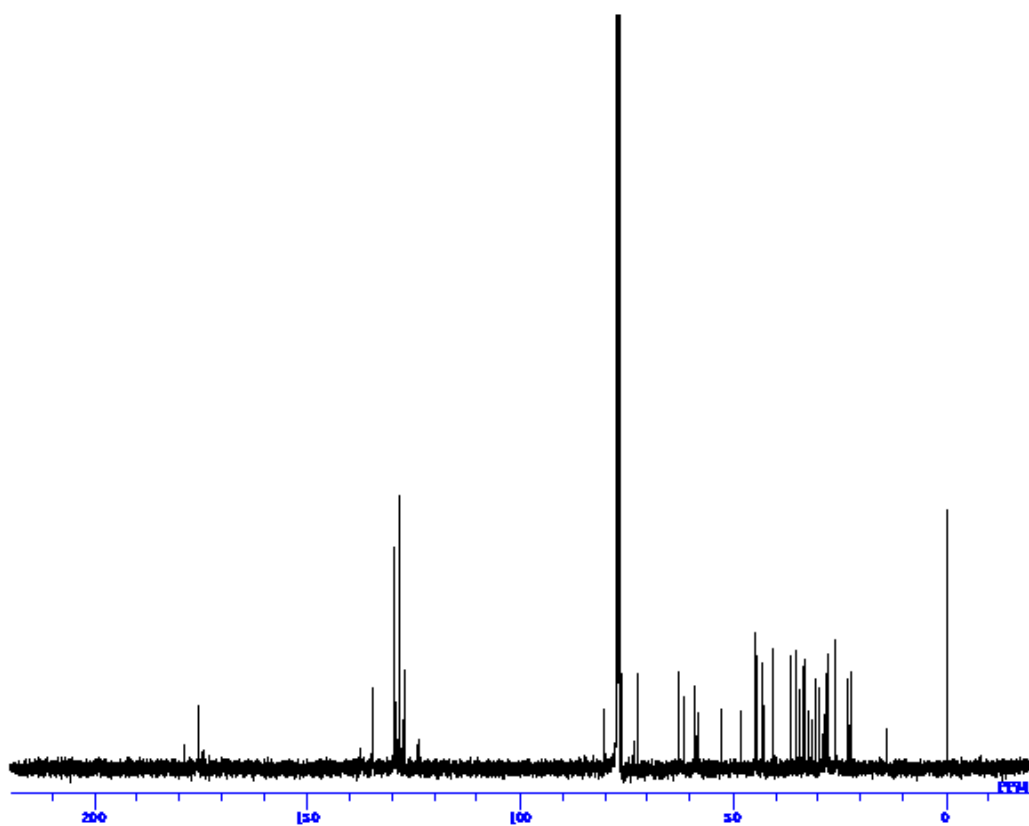
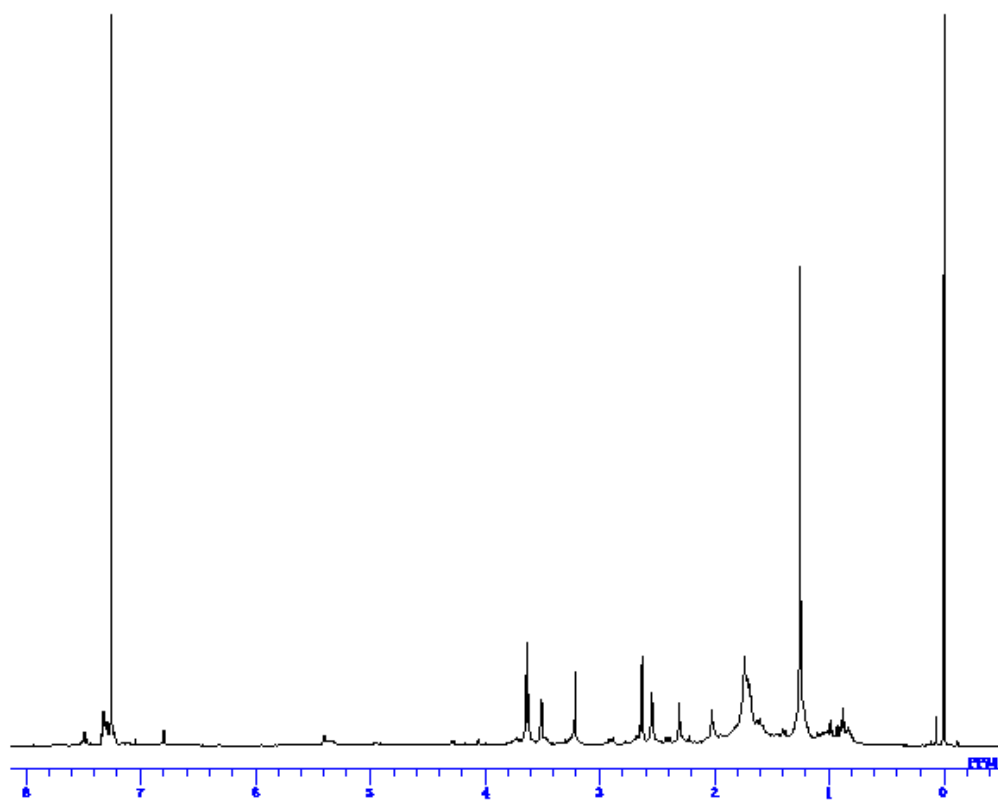
ワインレブアミド15a



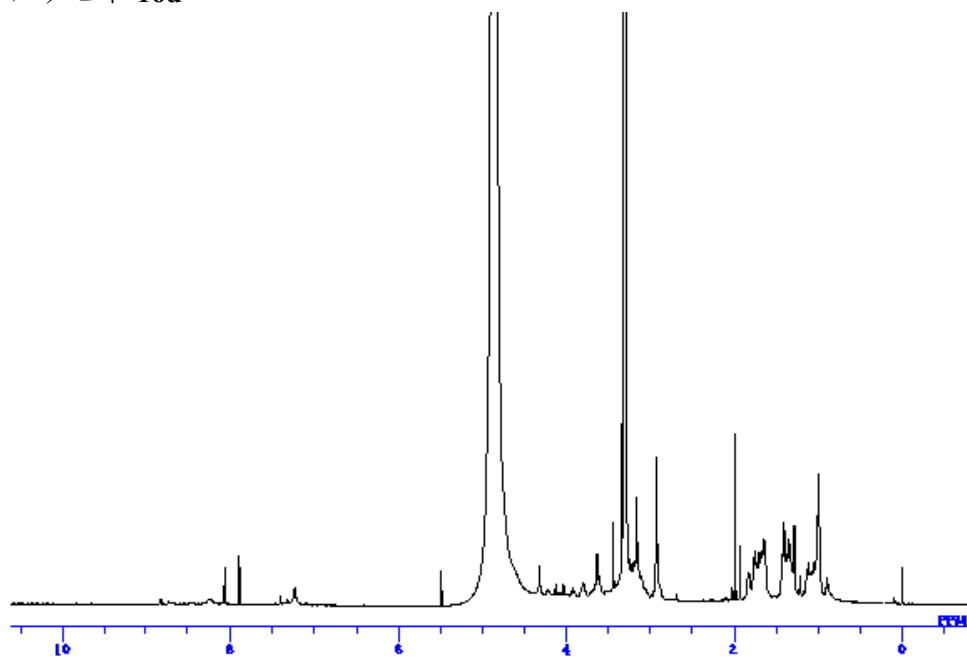
ワインレブアミド15b



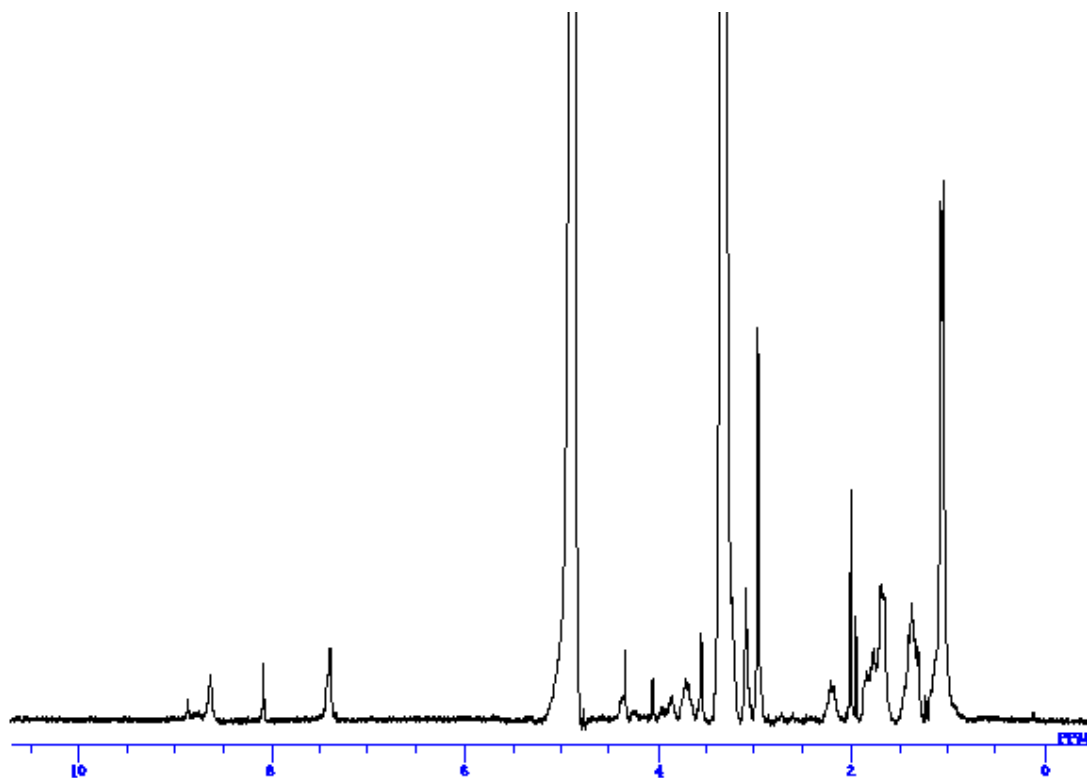
ワインレブアミド15c



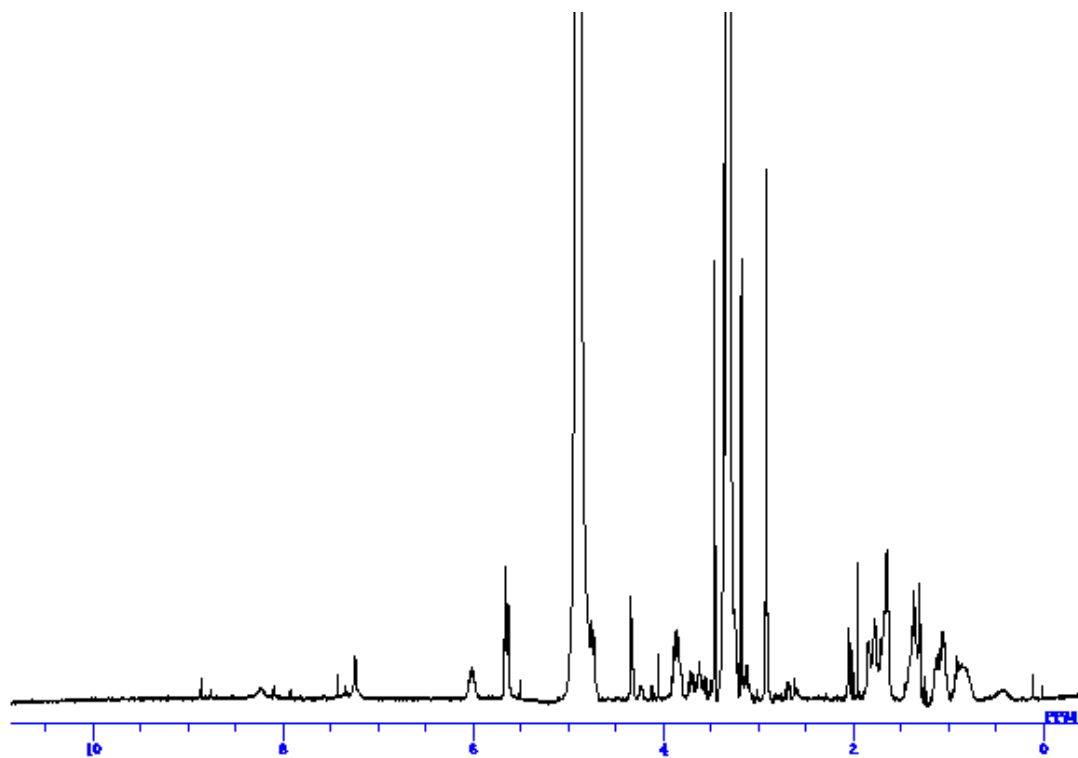
アルデヒド 16d



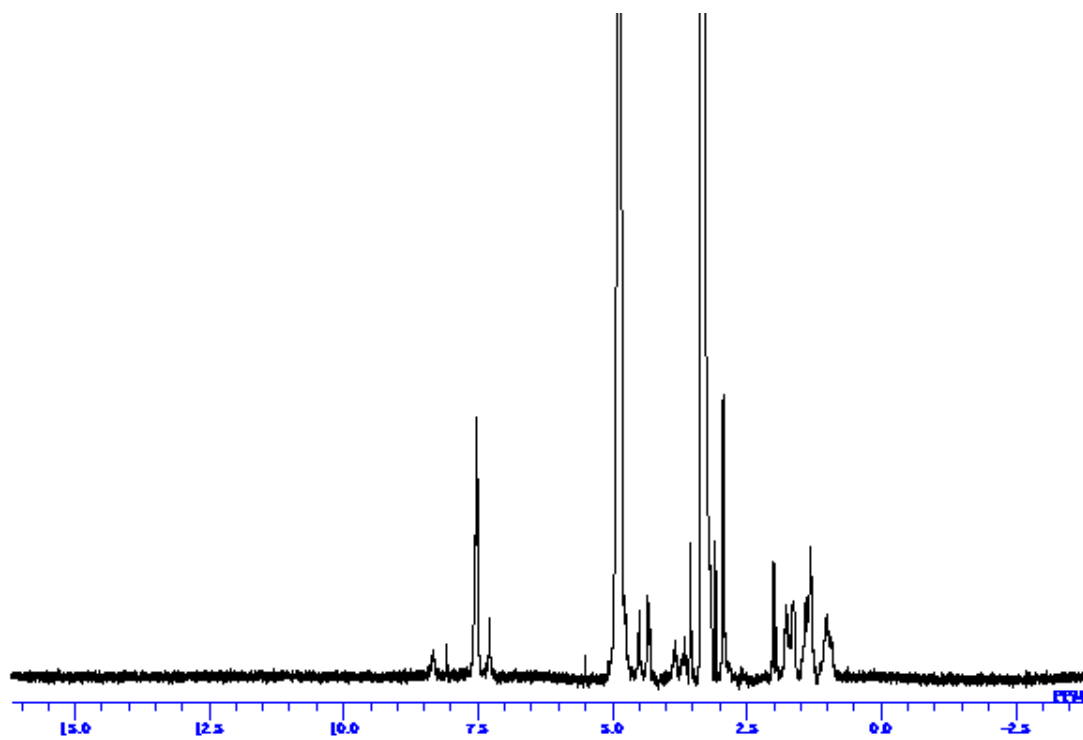
アルデヒド 16a



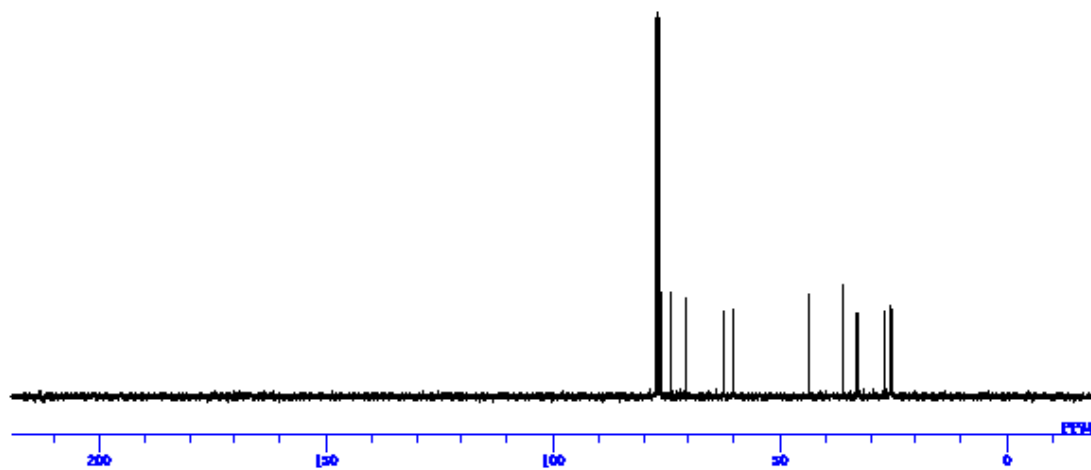
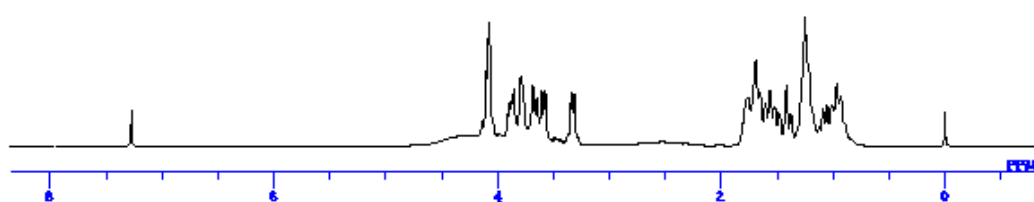
アルデヒド 16b



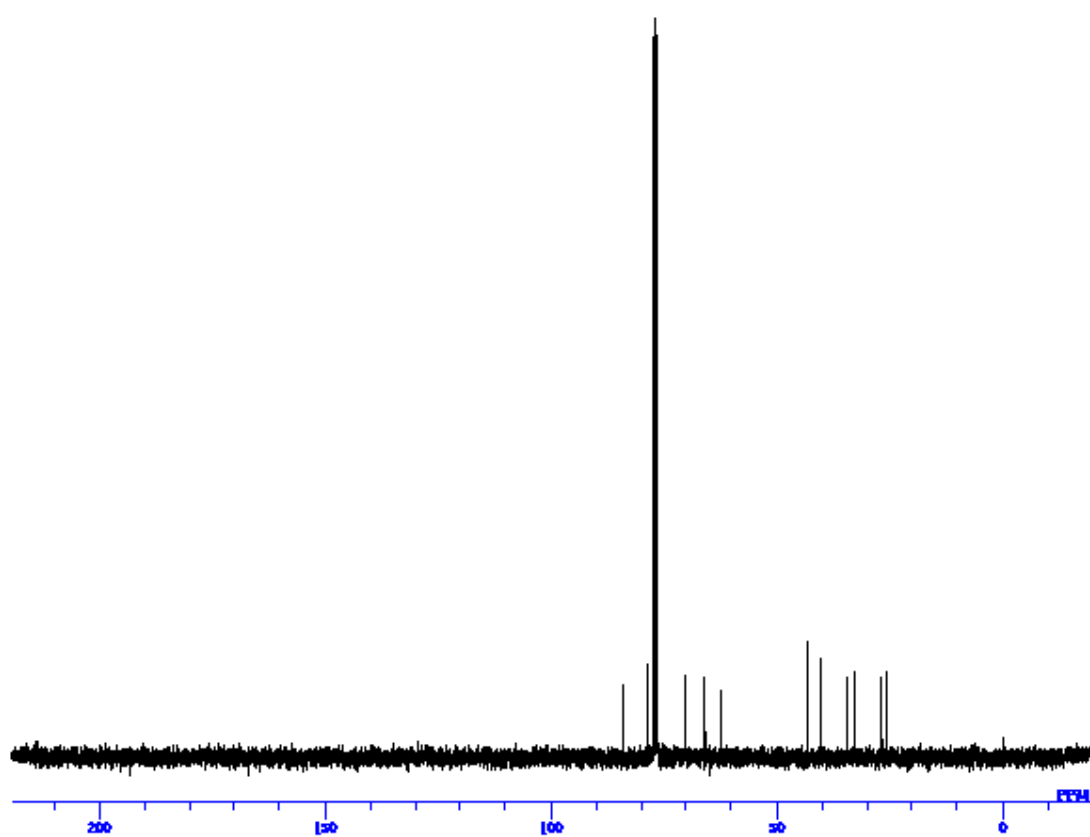
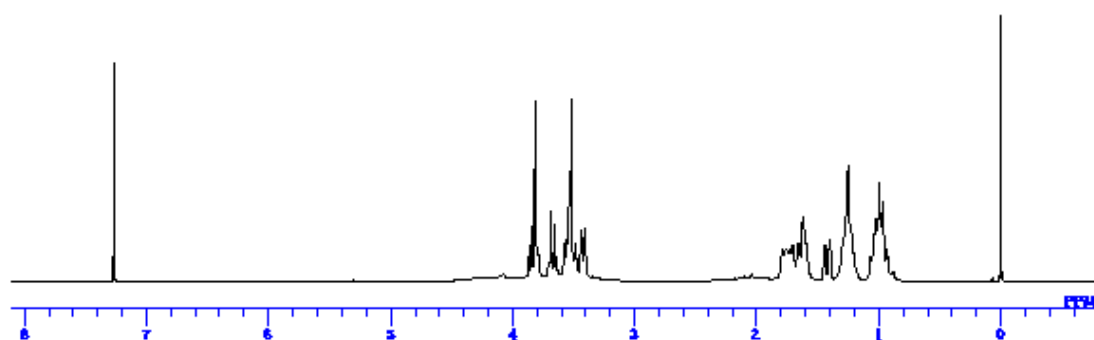
アルデヒド 16c



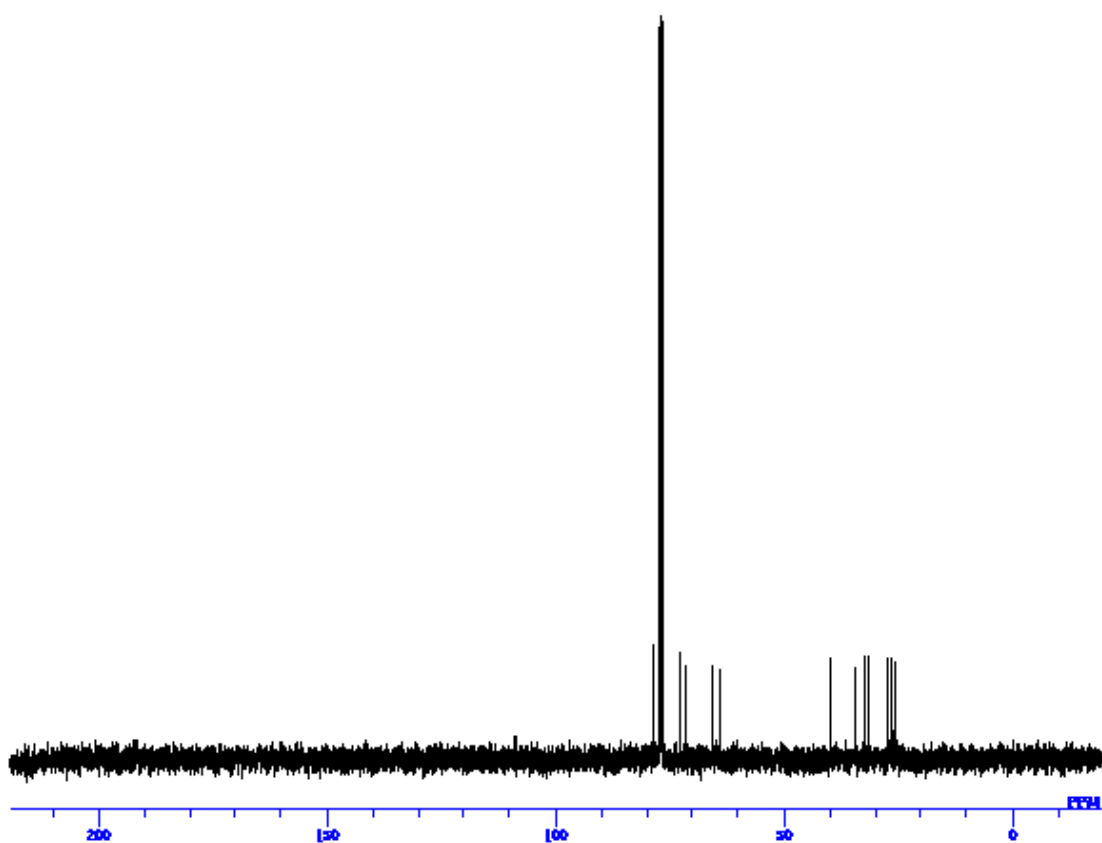
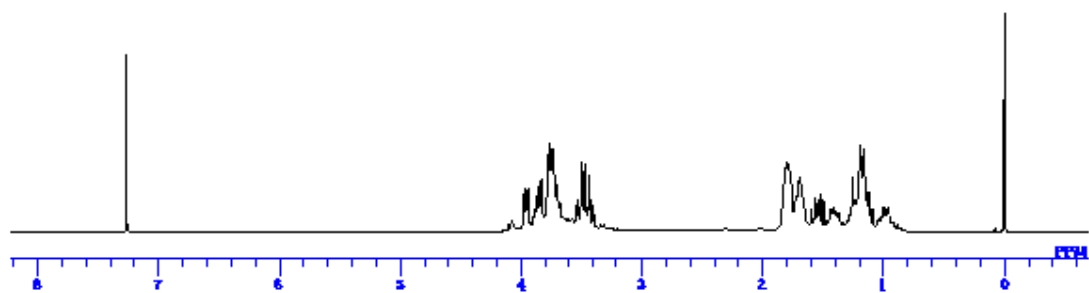
トリオール17a



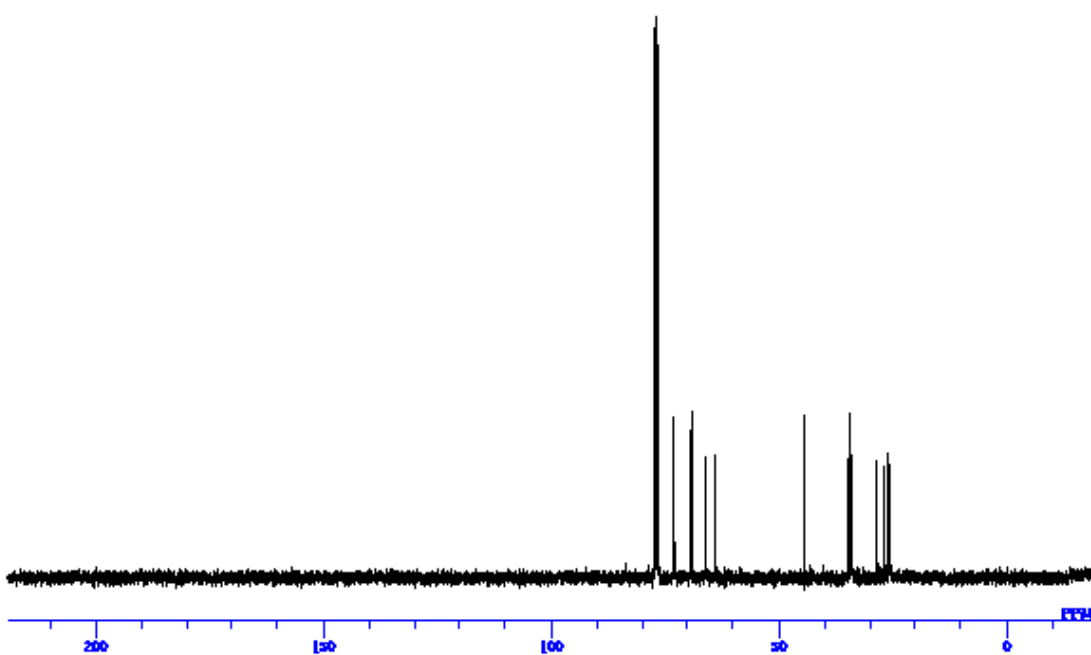
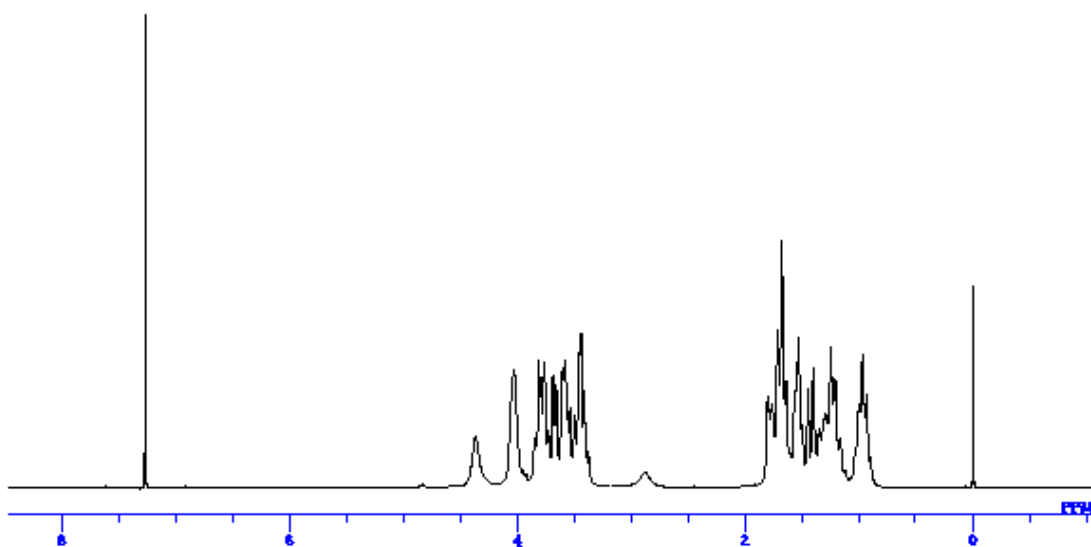
トリオール17b



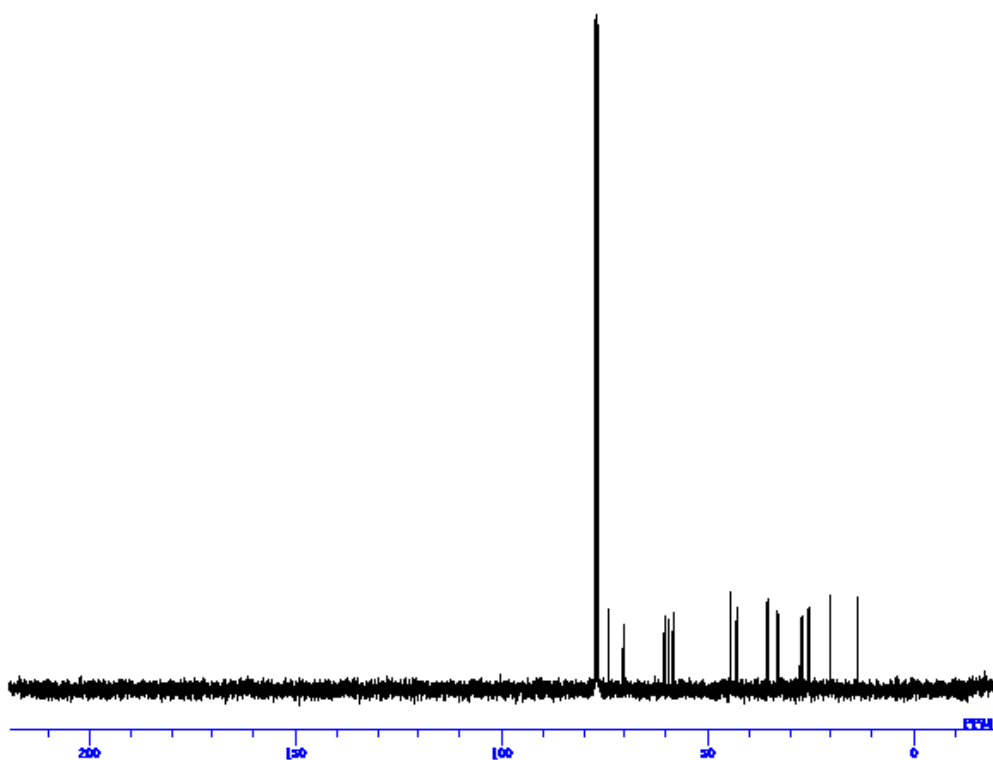
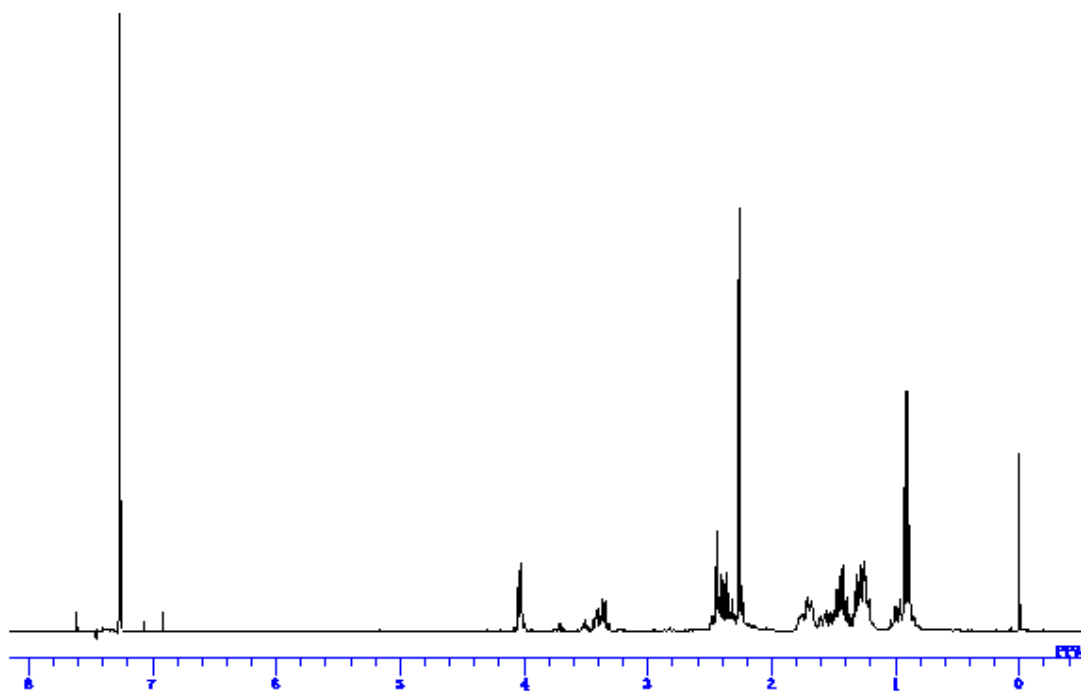
トリオール17c



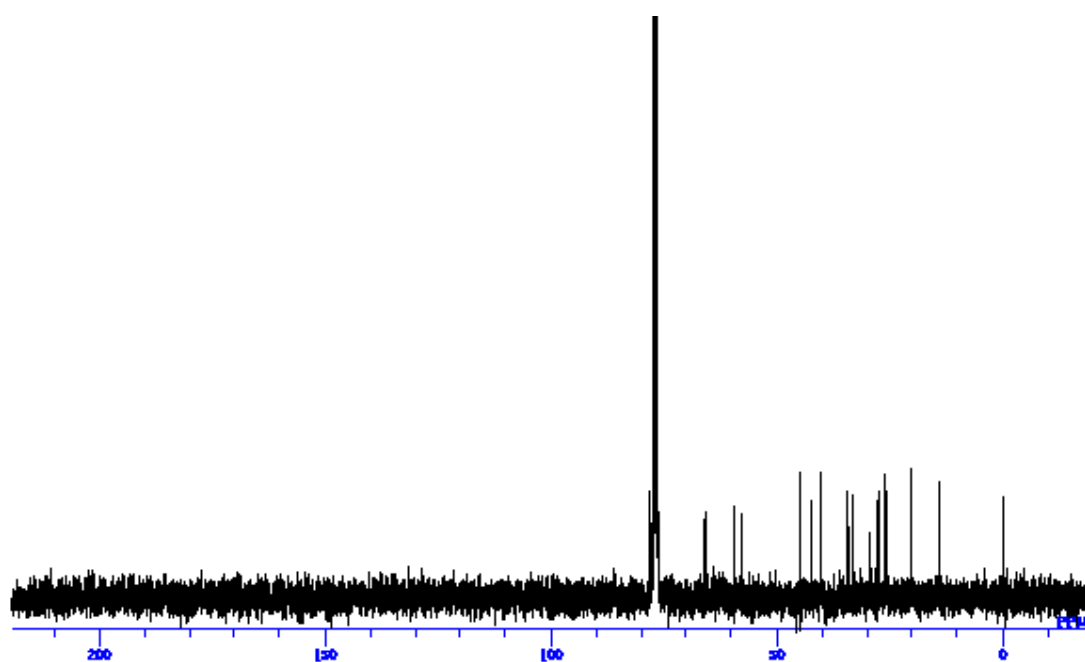
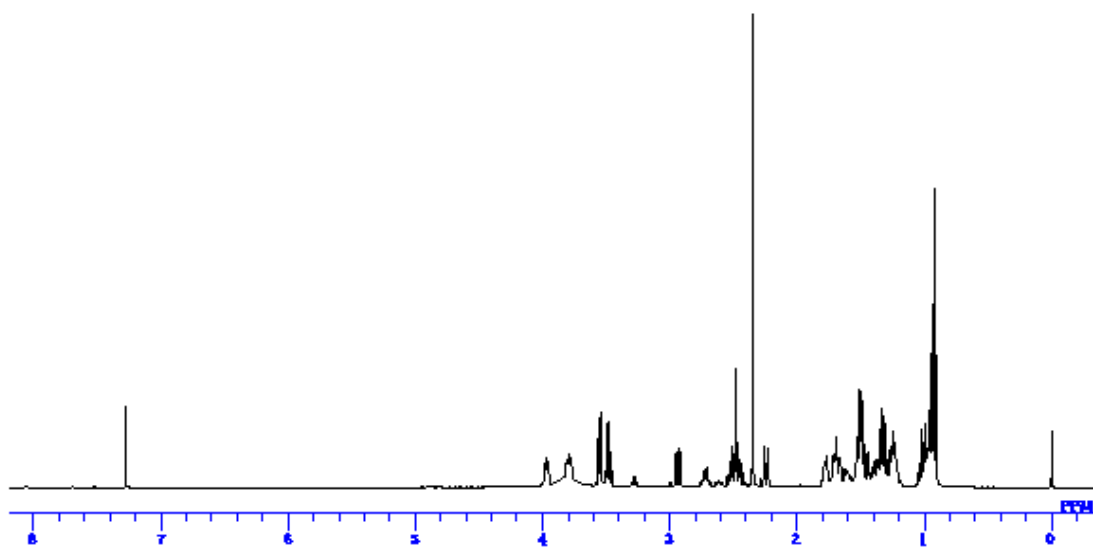
トリオール17d



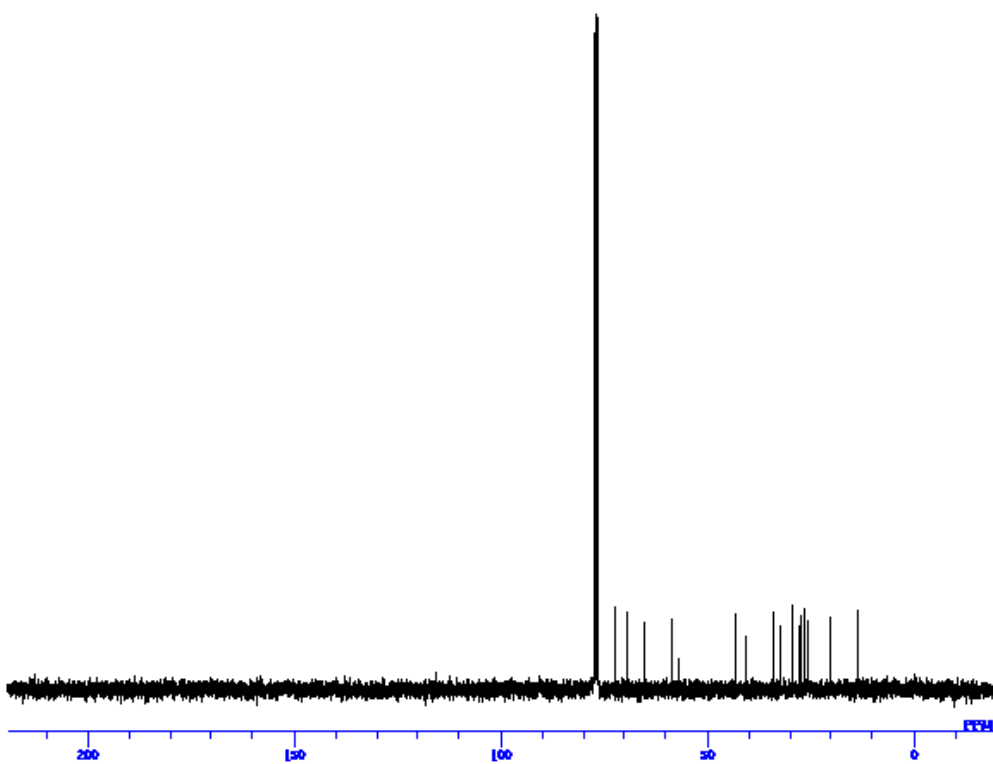
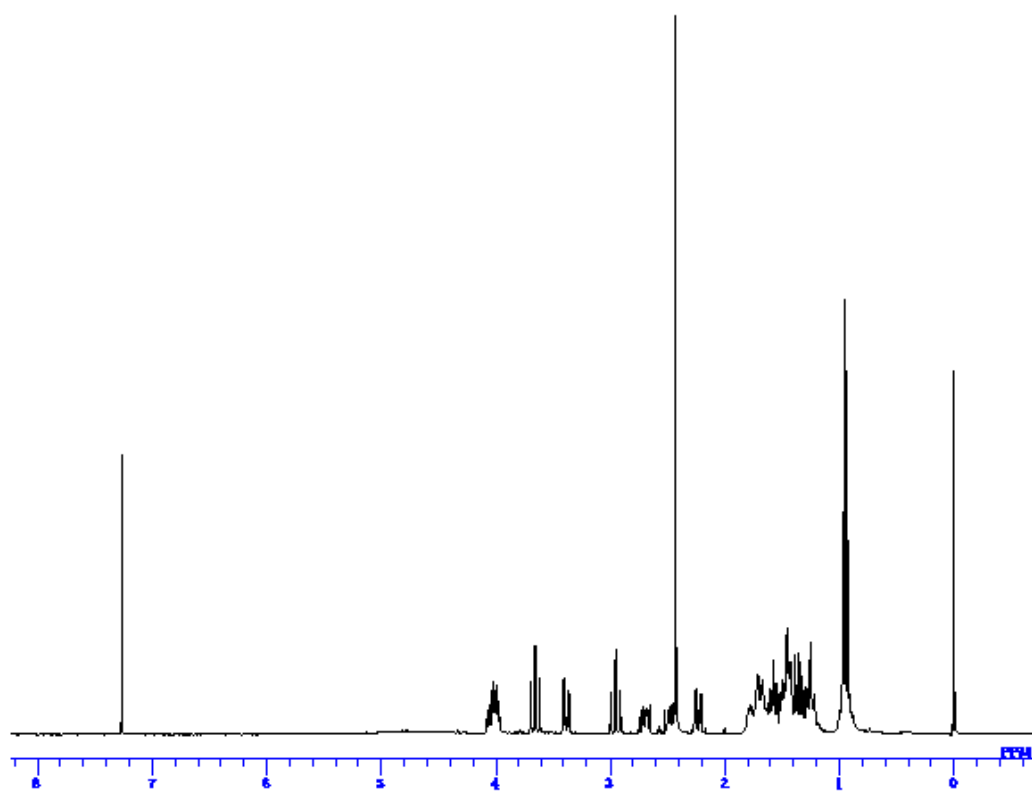
アルコール18a



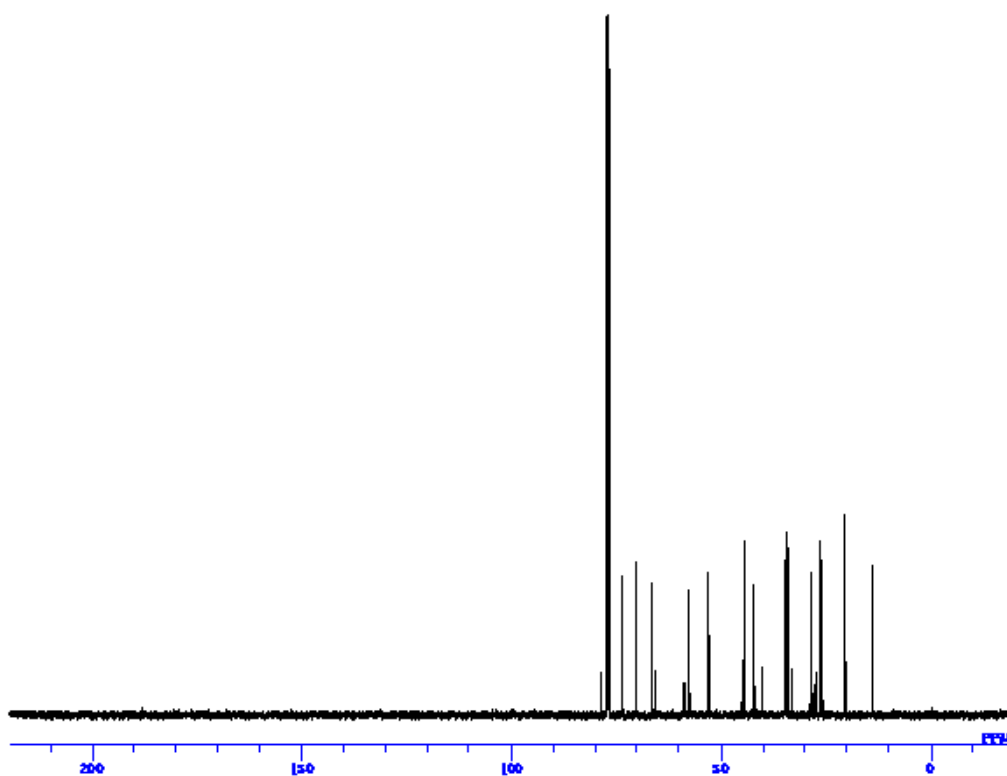
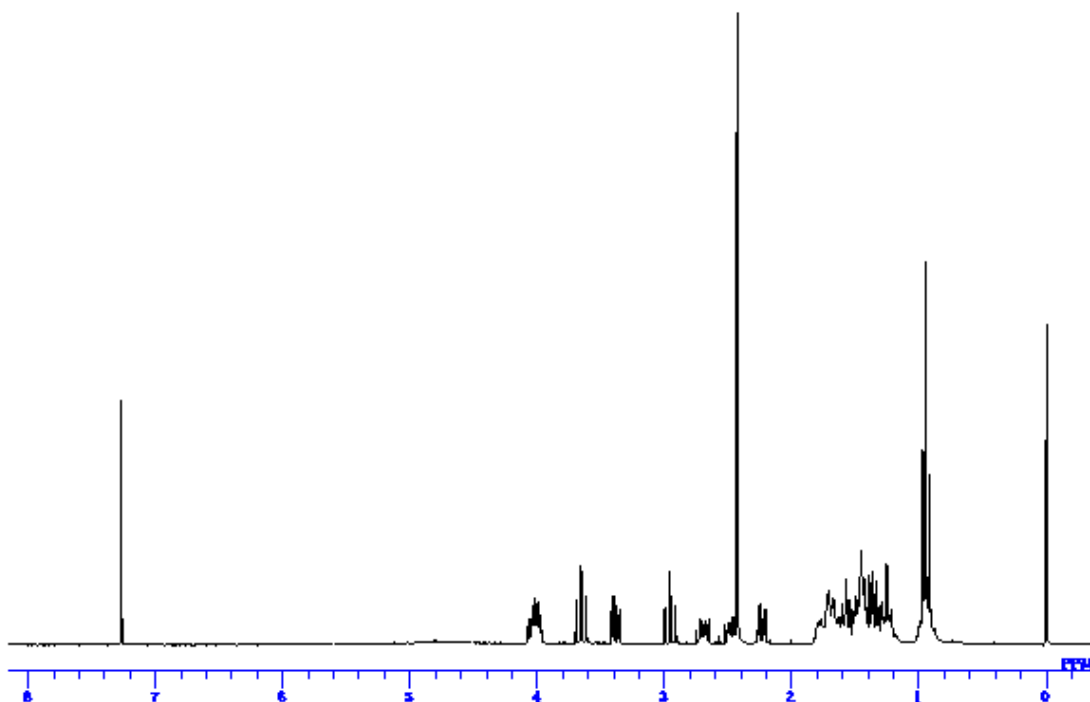
アルコール18b



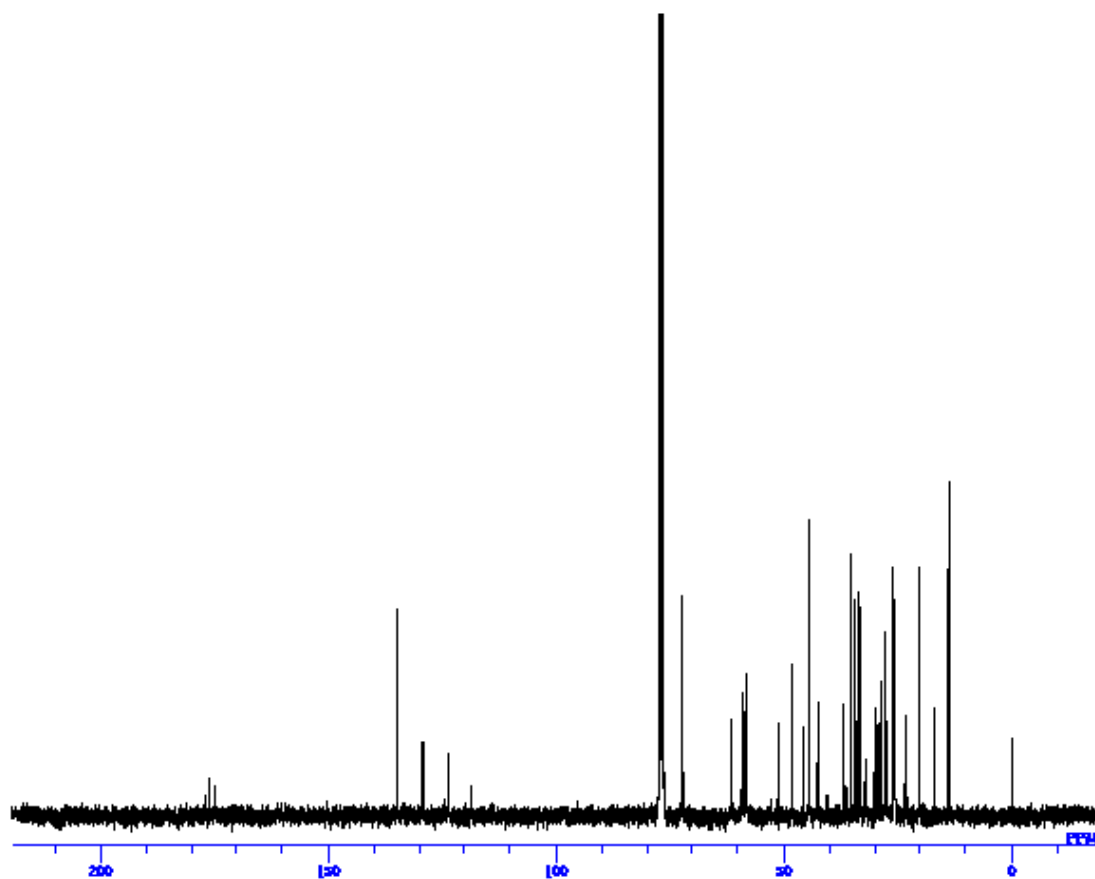
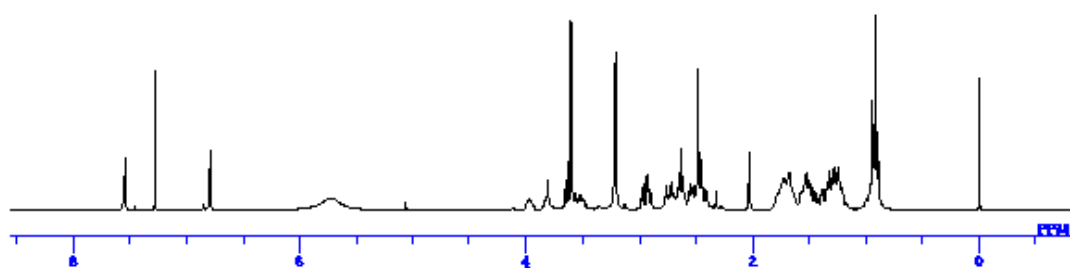
アルコール18c



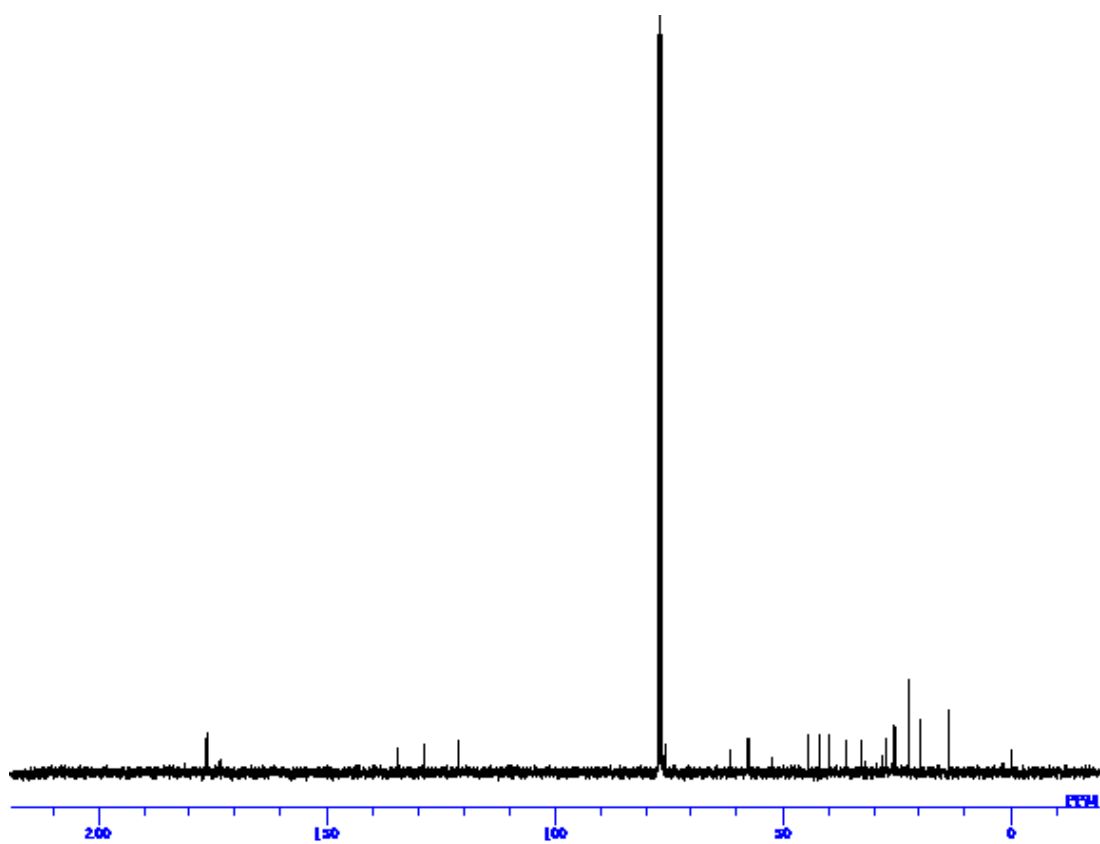
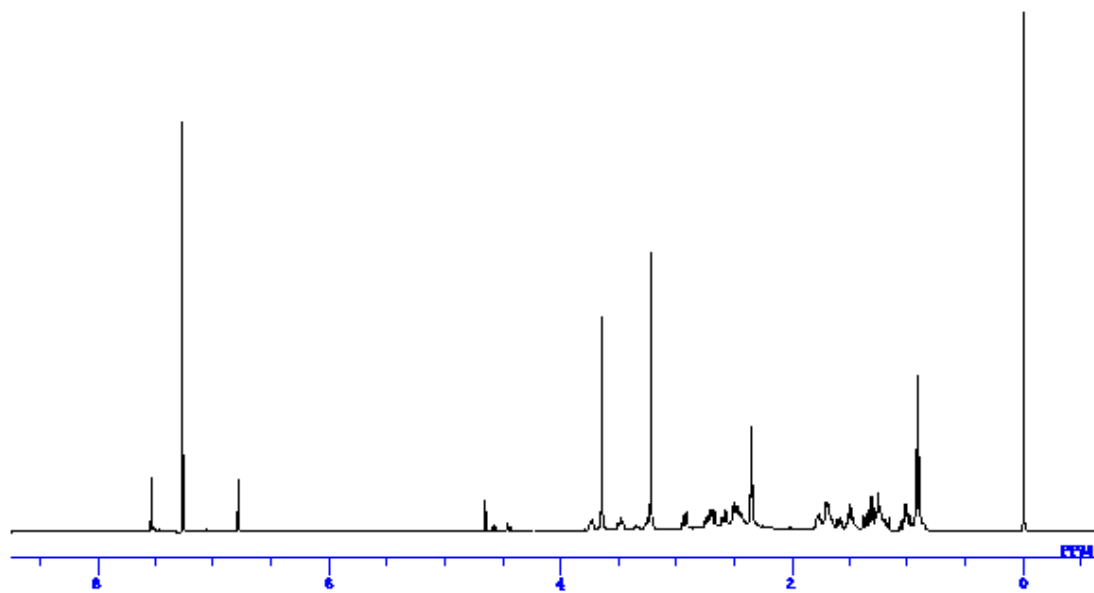
アルコール18d



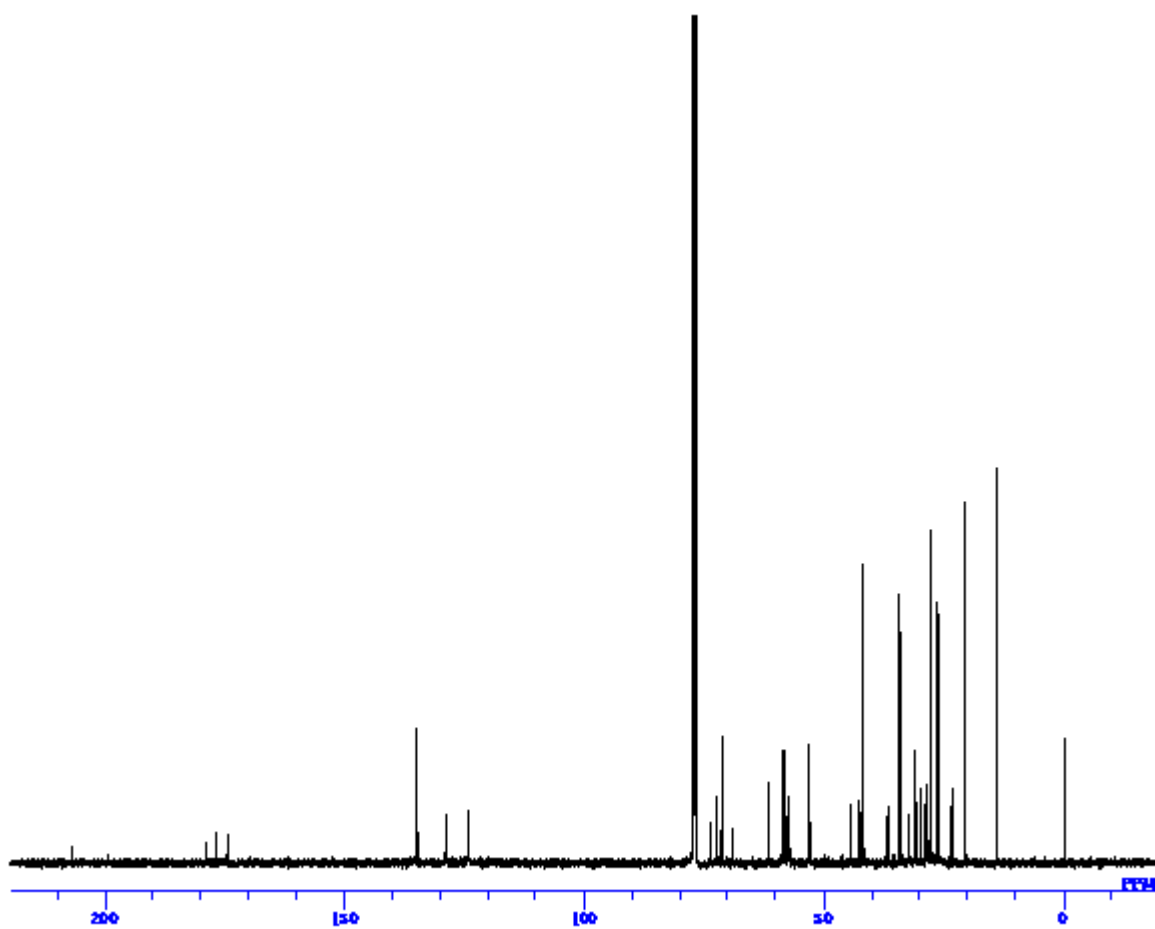
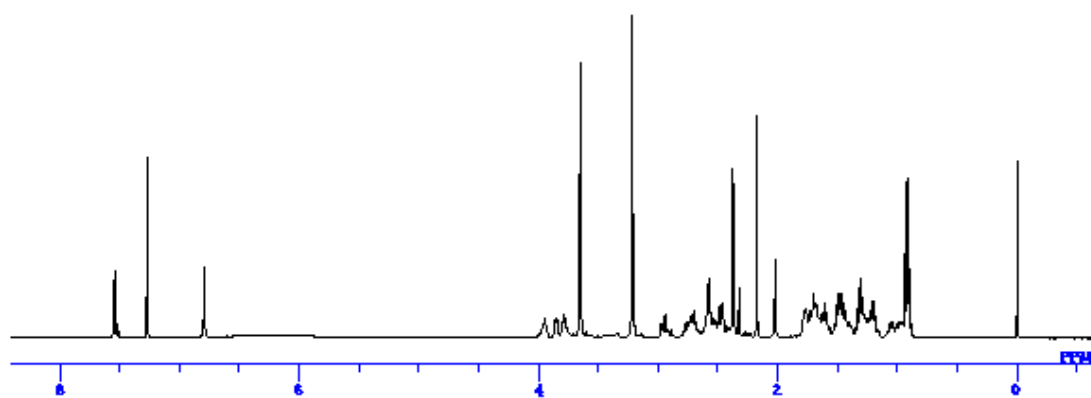
ワインレブ 19a



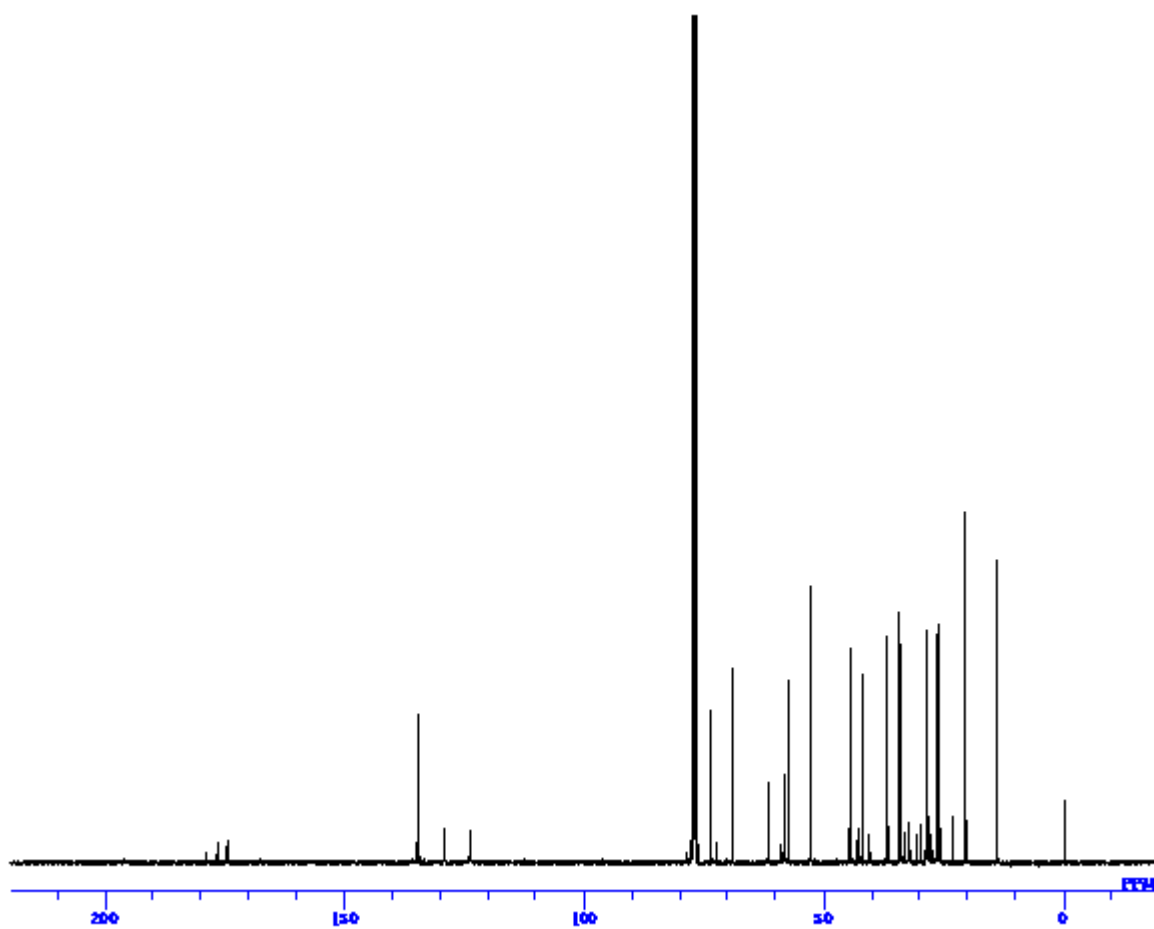
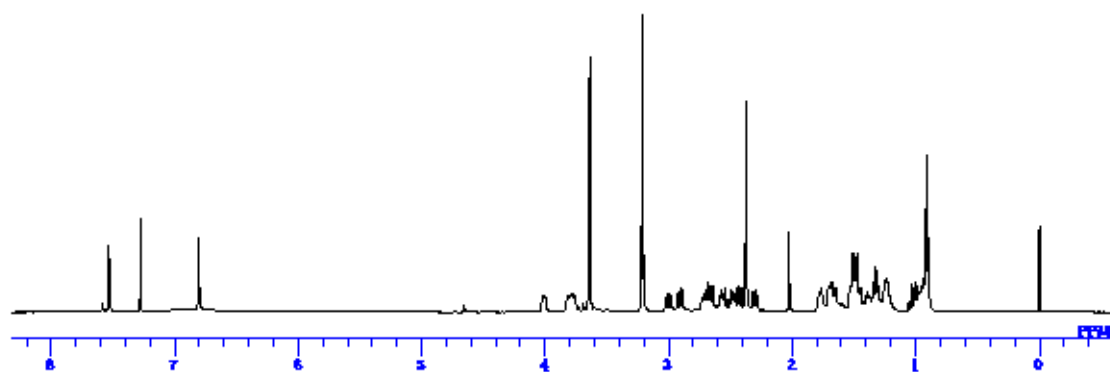
ワインレブ19b



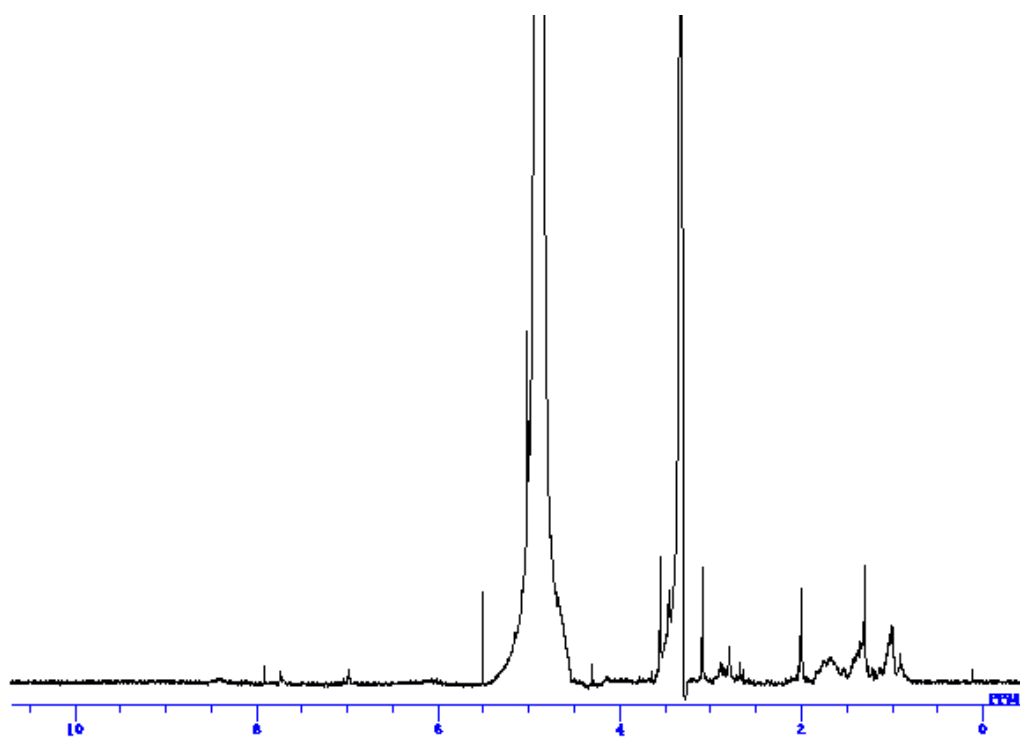
ワインレブ19c



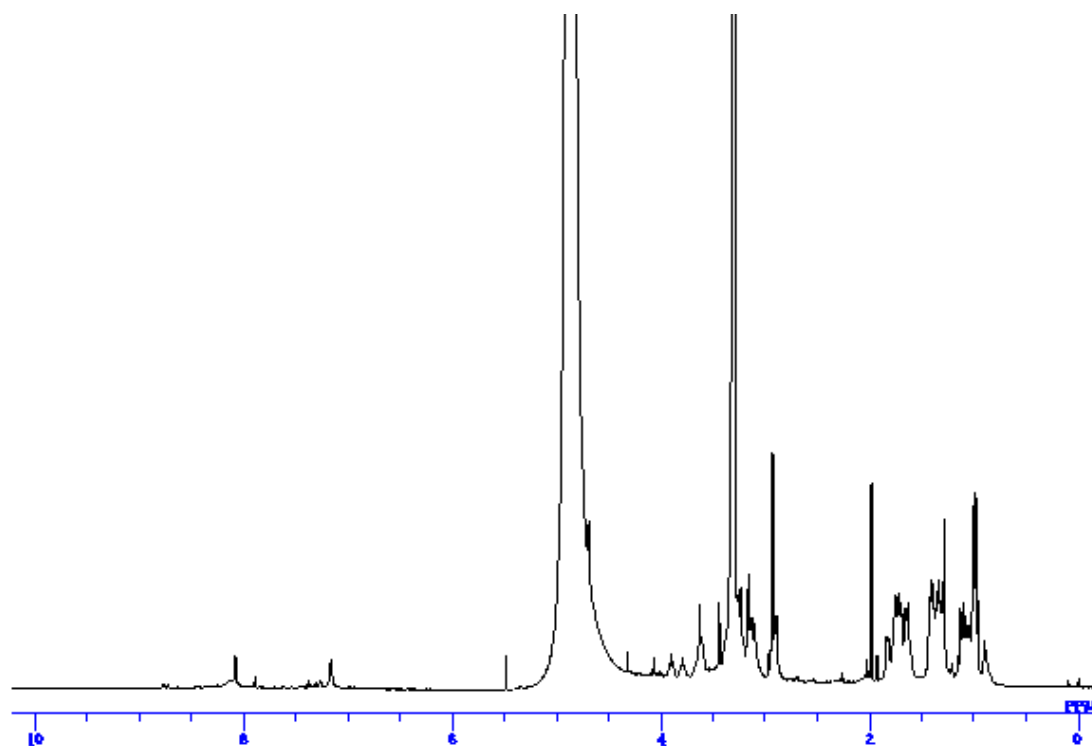
ワインレブ19d



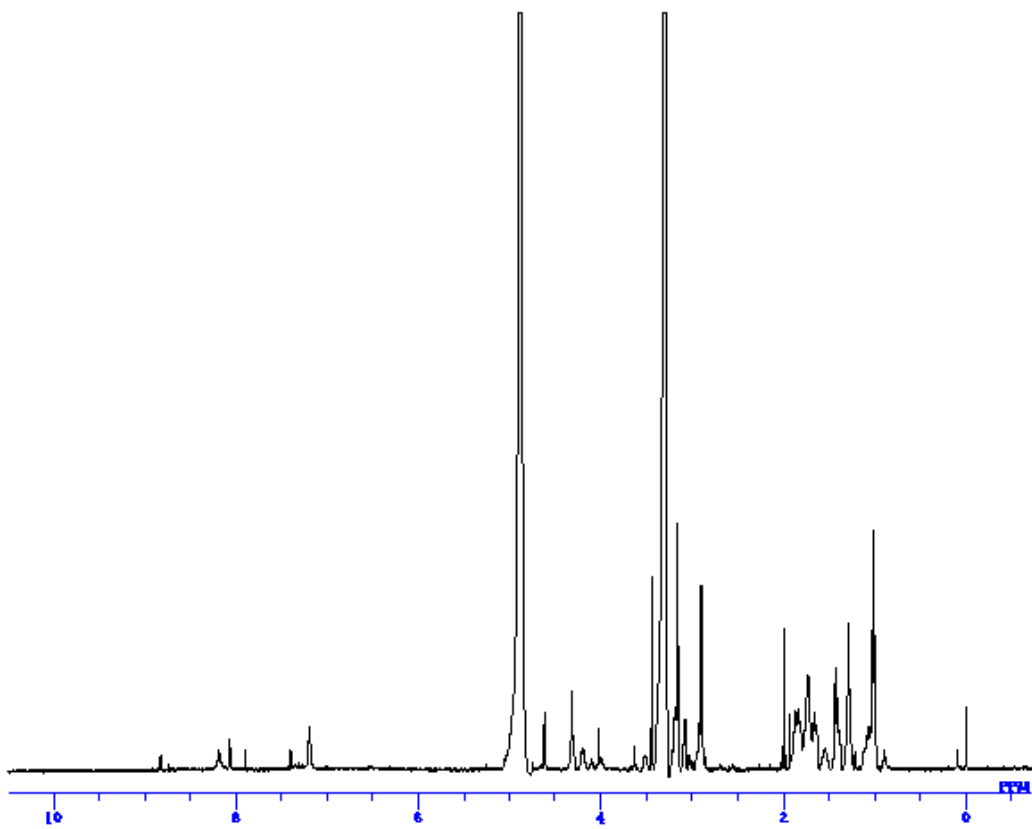
アルデヒド 4a



アルデヒド 4b



アルデヒド 4c



アルデヒド4d

