

2021 年度 課程博士学位論文

ペプチド性ヒドロキシエチルアミン型 BACE1 阻害剤における
P1'置換型誘導体および大環状誘導体の合成と活性評価

薬品化学分野 大谷拓也

本論文は、以下の論文の内容を総括したものである。

- 1) Kazuya Kobayashi, Takuya Otani, Saki Ijiri, Yuki Kawasaki, Hiroki Matsubara, Takahiro Miyagi, Taishi Kitajima, Risa Iseki, Katsuyasu Ishizawa, Naoka Shindo, Kouta Okawa, Kouta Ueda, Syun Ando, Momoka Kawakita, Yasunao Hattori, Kenichi Akaji. Structure-activity relationship study of hydroxyethylamine isostere and $P1'$ site structure of peptide mimetic BACE1 inhibitors. *Bioorg. Med. Chem.* **2021**, 50, 116459. [第 1 章]
- 2) Takuya Otani, Yasunao Hattori, Kenichi Akaji, Kazuya Kobayashi. Macrocyclic BACE1 inhibitors with hydrophobic cross-linked structures: Optimization of ring size and ring structure. *Bioorg. Med. Chem.* **2021**, 52, 116517. [第 2 章]

目次

理論の部

序論・・1

本論

第1章 HEA型 BACE1 阻害剤の P1'位に関する構造活性相関研究

第1節 緒言・・7

第2節 P1'置換型 BACE1 阻害剤の合成と活性評価・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・8

第1項 逆合成解析・・8

第2項 P1'置換型阻害剤の合成・・8

第3項 P1'置換型阻害剤の BACE1 阻害活性評価・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・9

第4項 P1'置換型阻害剤の相互作用解析・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・12

第3節 小括・・15

第2章 P1-P3 側鎖間に架橋構造を有する大環状 BACE1 阻害剤の合成と阻害活性評価

第1節 緒言・・16

第2節 大環状 BACE1 阻害剤の合成と活性評価・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・18

第1項 非環状阻害剤の合成と BACE1 阻害活性評価・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・18

第2項 大環状阻害剤の設計と逆合成解析・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・18

第3項 P1、P3 フラグメントと大環状阻害剤の合成・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・19

第4項 大環状阻害剤の BACE1 阻害活性評価・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・23

第5項 大環状阻害剤の相互作用解析・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・24

第3節 P3 修飾付加型大環状 BACE1 阻害剤の合成と活性評価・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・26

第1項 P3 修飾付加型大環状阻害剤の設計と逆合成解析・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・26

第2項 P1、P3 フラグメントと P3 修飾付加型大環状阻害剤の合成・・・・・・・・・・・・26

第3項 P3 修飾付加型大環状阻害剤の BACE1 阻害活性評価・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・29

第4項 P3 修飾付加型大環状阻害剤の相互作用解析・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・30

第4節 P1'-4-CMP 型大環状 BACE1 阻害剤の合成と活性評価・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・32

第1項 P1'-4-CMP 型大環状阻害剤の設計と逆合成解析・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・32

第2項 P1 フラグメントと P1'-4-CMP 型大環状阻害剤の合成・・・・・・・・・・・・32

第3項 P1'-4-CMP 型大環状阻害剤の BACE1 阻害活性評価・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・34

第4項 P1'-4-CMP 型大環状阻害剤の相互作用解析・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・35

第5節 小括・・37

総括・・38

実験の部

第1章の実験の部・・41

第2章の実験の部・・58

謝辞・・85

引用文献・・86

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

Asn : asparagine

Asp : aspartic acid

Bn : benzyl

Boc : *tert*-butoxycarbonyl

Et : ethyl

Fmoc : 9-fluorenylmethyloxycarbonyl

Glu : glutamic acid

Gly : glycine

HEA : hydroxyethylamine

His : histidine

HMC : hydroxymethylcarbonyl

Ile : isoleucine

Leu : leucine

Lys : lysine

Ms : methanesulfonyl

Ns : 2-nitrobenzenesulfonyl

Nva : norvaline

Phe : phenylalanine

Ser : serine

TBS : *tert*-butyldimethylsilyl

t-Bu : *tert*-butyl

Tf : trifluoromethanesulfonyl

Thi : thienylalanine

Thr : threonine

Val : valine

Z : benzyloxycarbonyl

溶媒、試薬に関する略号

CSA : 10-camphorsulfonic acid

DBU : 1,8-diazabicyclo[5.4.0]undec-7-ene

DCC : *N,N'*-dicyclohexylcarbodiimide

(DHQD)₂AQN : hydroquinidine (anthraquinone-1,4-diyl) diether
DIAD : diisopropyl azodicarboxylate
DMAP : *N,N*-dimethyl-4-aminopyridine
DMF : *N,N*-dimethylformamide
DMP : Dess-Martin periodinane
EDC : 1-ethyl-3-(3-dimethylaminopropyl)carbodiimide
FmocOSu : *N*-(9-fluorenylmethoxycarbonyloxy)succinimide
HFIP : hexafluoroisopropanol
HOBT : 1-hydroxybenzotriazole
IBCF : isobutyl chloroformate
KHMDS : potassium bis(trimethylsilyl)amide
LAH : lithium aluminum hydride
m-CPBA : *m*-chloroperoxybenzoic acid
NaHMDS : sodium bis(trimethylsilyl)amide
NMM : *N*-methylmorpholine
TBAF : tetra-*n*-butylammonium fluoride
TEA : triethylamine
TFA : trifluoroacetic acid
THF : tetrahydrofuran
TIS : triisopropylsilane

その他略号

AD : Alzheimer's disease
A β : amyloid β peptide
APP : amyloid precursor protein
BACE1 : β -site APP cleaving enzyme 1
EI : electron ionization
ESI : electrospray ionization
FAB : fast atom bombardment
HPLC : high performance liquid chromatography
IC₅₀ : half maximal inhibitory concentration
MOE : molecular operating environment
PDB : protein data bank
rBACE1 : recombinant BACE1

理論の部

序論

アルツハイマー病 (AD) は、変性性認知症の一種であり、老人斑、神経原線維変化、神経細胞死といった病理学的特徴を示す疾患である。¹近年、高齢化とともに認知症患者は増加傾向にあり、その症例においてアルツハイマー型認知症は約 50~60%を占めている。²そのため、AD は健康寿命延伸のために現代社会において克服すべき課題となっている。現在、認知症に対する薬剤は、いくつか存在しているが、いずれも症状の進行を遅らせるものであり、根本的治療にはつなげていない。2021年6月にアデュカヌマブが認知症に対する治療薬としてFDAによって承認されたが、その承認は条件付きであり、治療効果については今後も検証が必要とされている。そのため、ADの根本的な治療につながる薬剤の開発は、今なお臨床現場で強く求められている。

脳内の神経細胞が死滅する詳細な原因はいまだ明らかになっていないが、神経細胞死滅後の脳には特徴的な病理変化、すなわち、アミロイド β ペプチド ($A\beta$) やタウタンパクなどのタンパク質の断片でできた老人斑や神経原線維変化が観察される。これらの病理学的特徴から、ADの発症機構としてアミロイド仮説やタウ仮説が提唱されている。著者はこれらのうち、 $A\beta$ を発症原因の一つとするアミロイド仮説に着目した。

$A\beta$ は、アミロイド前駆体タンパク質 (APP) から β -セクレターゼ (BACE1) と γ -セクレターゼという2つのアスパラギン酸プロテアーゼによって切り出されることで産生される (Figure 1)。³その過程では、まず BACE1 が APP の N 末端側を切断し、99 残基からなる膜結合型 APP を生成する。ついで γ -セクレターゼが C 末端側を切断することによって、40 または 42 残基からなる $A\beta$ が産生される。BACE1 による APP 切断が $A\beta$ 産生の一段階目であることから、BACE1 は、AD 治療薬開発において重要な創薬標的の一つと捉えられており、BACE1 に対する阻害剤の開発は、AD 治療薬の創出につながると期待されている。

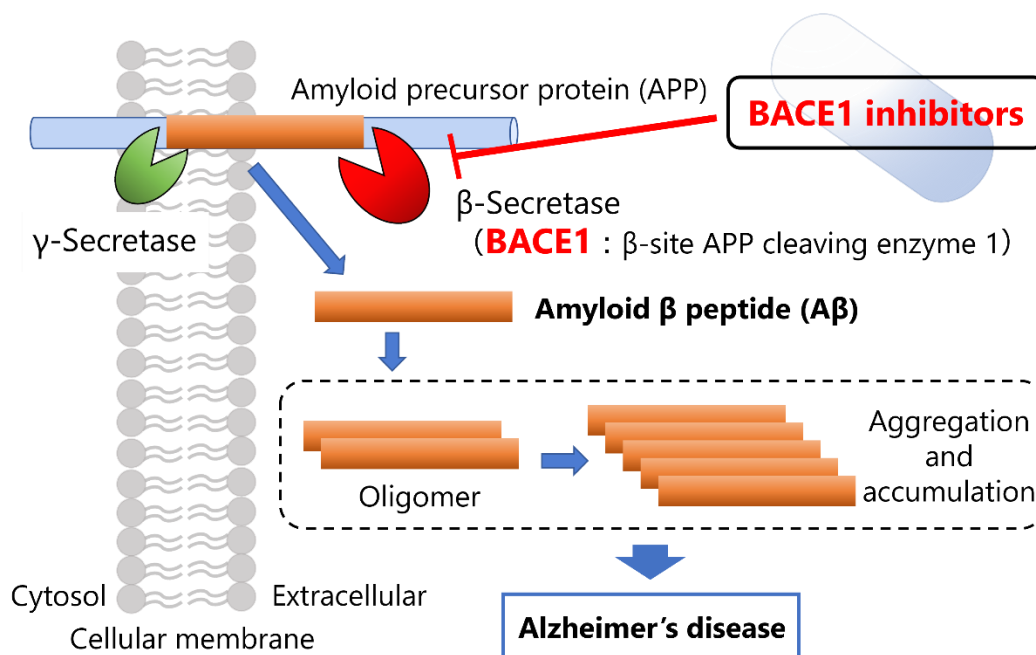


Figure 1. アルツハイマー病の発症機構 (アミロイド仮説)

アスパラギン酸プロテアーゼでは、切断部分のペプチド結合と活性中心に存在する 2 つのアスパラギン酸残基および 1 分子の水とで遷移状態を形成し、加水分解反応が進行することで、基質のペプチド結合が切断される (Figure 2)。

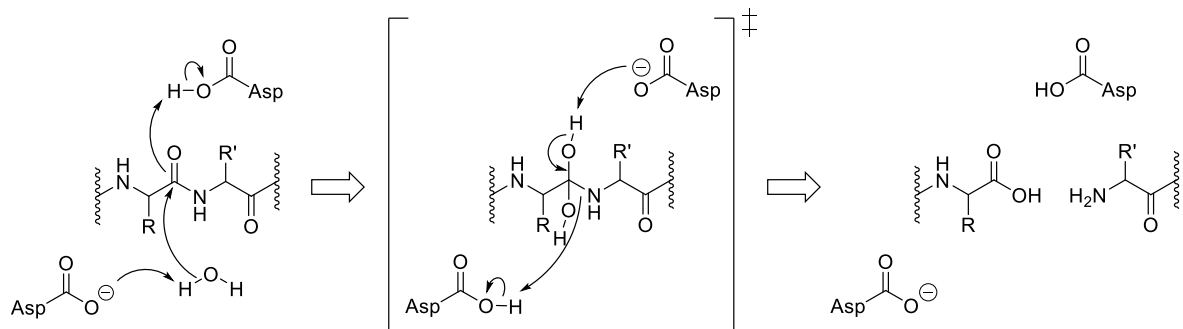


Figure 2. アスパラギン酸プロテアーゼによる基質ペプチドの切断機構

そのため、アスパラギン酸プロテアーゼ阻害剤の設計には、遷移状態を模倣したペプチドミメティックと呼ばれる構造を基質切断部位に導入する方法が多く用いられてきた。たとえば、ペプチドミメティックとして、以下に示すようなヒドロキシエチレン⁴、ヒドロキシメチルカルボニル (HMC)⁵、ヒドロキシエチルアミン (HEA)⁶などが報告されている (Figure 3)。

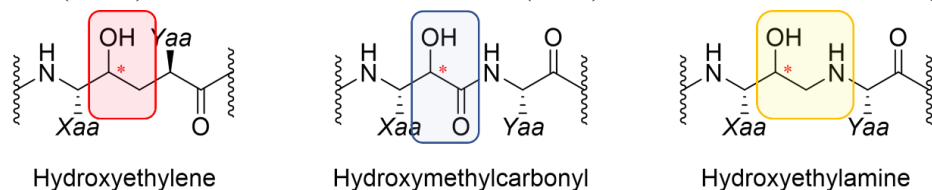


Figure 3. ペプチドミメティックの構造の一例

野生型 APP における BACE1 による切断部位周辺配列と比較して、遺伝性が知られている家族性 AD の患者から同定されたスウェーデン変異型 APP の切断部位周辺配列は、切断部位から N 末端側 2 残基分のアミノ酸が変異している (Figure 4)。

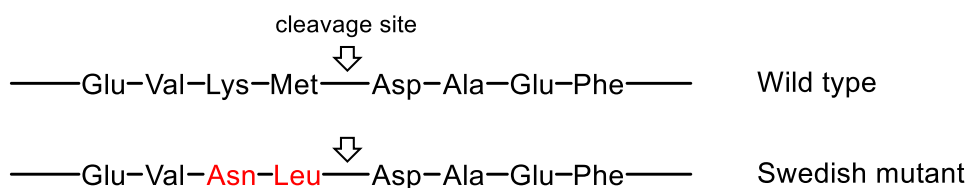


Figure 4. 野生型とスウェーデン変異型 APP の基質切断部位の周辺配列

スウェーデン変異型基質は、野生型基質よりも BACE1 に切断されやすいことから、このスウェーデン変異型基質配列とペプチドミメティックを組み合わせた阻害剤設計が検討され、ヒドロキシエチレン型ミメティックを含む化合物 (OM99-2) が初期の BACE1 阻害剤として 2000 年に Tang らによって報告された (Figure 5a)。⁴

OM99-2 は、 K_i が 1.6 nM と非常に強力な BACE1 阻害活性を示し、のちに BACE1 との共結晶の X 線構造解析からその結合構造が決定された (Figure 5b, c)。⁷ この構造から、BACE1 の活性部位における阻害剤の結合様式について以下の知見が得られた。

- 1) OM99-2 のヒドロキシエチレン中の水酸基は、活性中心である 2 つのアスパラギン酸残基と水素結合を形成している。
- 2) OM99-2 の主鎖は、直線的ではなく P2'位で折れ曲がっている。P3'位および P4'位は、酵素表面に位置しており、酵素とほとんど相互作用していない。
- 3) OM99-2 の P1 ロイシン側鎖および P3 バリン側鎖は、互いに近接しており、疎水性残基から構成される S1 および S3 ポケットにおいて疎水性相互作用を形成している。

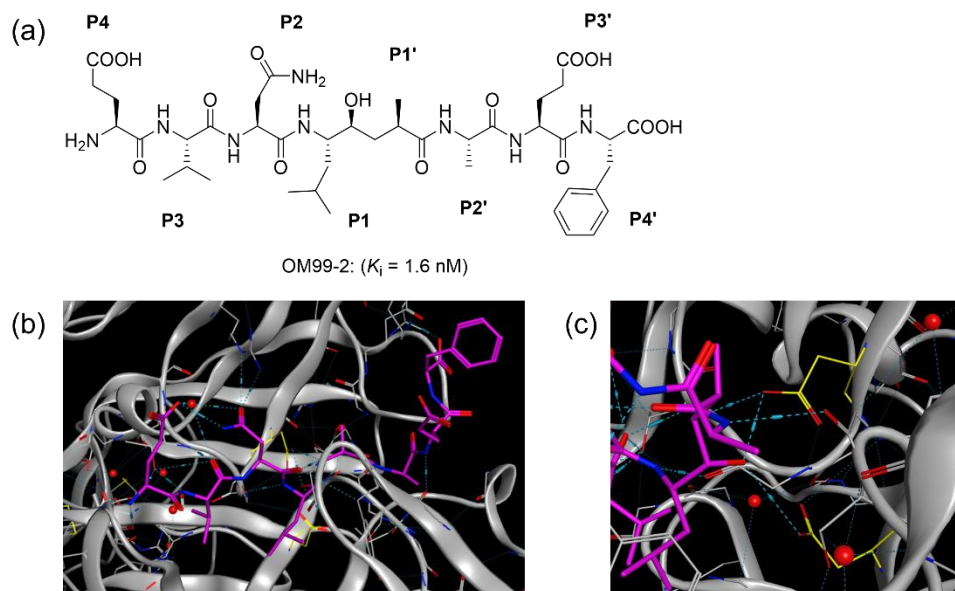


Figure 5. (a) OM99-2 の構造、(b) OM99-2 (マゼンタ) と BACE1 との共結晶 X 線結晶構造 (PDB: 1FKN) の全体図、(c) 活性中心付近の拡大図。赤い球は水分子、黄色の残基は BACE1 活性中心の 2 つのアスパラギン酸残基を示している。

この知見を基に、OM99-2 の構成アミノ酸を変更した阻害剤がいくつか合成されたが、^{8,9} ペプチド性阻害剤の一般的な問題として、分子サイズが大きいこと、多くのペプチド結合を有することによる生体内安定性や脳内移行性などの物性の悪さが克服すべき課題として存在していた。

その後、木曾らは分子量およびペプチド結合の数を減らすことを目的として、ペプチド長の短縮を検討した (Figure 6)。¹⁰ その結果、阻害活性を維持するためには、P4-P1'にまたがるペプチドが必要であることが明らかとなった。これは、OM99-2 から得られた 2 つ目の知見に合致する結果であった。また、この報告における構造活性相関研究において、P1'位および P4 位について検討がなされ、それぞれを非天然アミノ酸に置換した化合物 KMI-370 で IC_{50} が 3.4 nM と非常に強力な BACE1 阻害活性が確認された。この化合物は、ペプチドではあるものの、両末端が非天然アミノ酸であることから、生体内でのエキソペプチダーゼによる分解に対して安定であることが期待される。

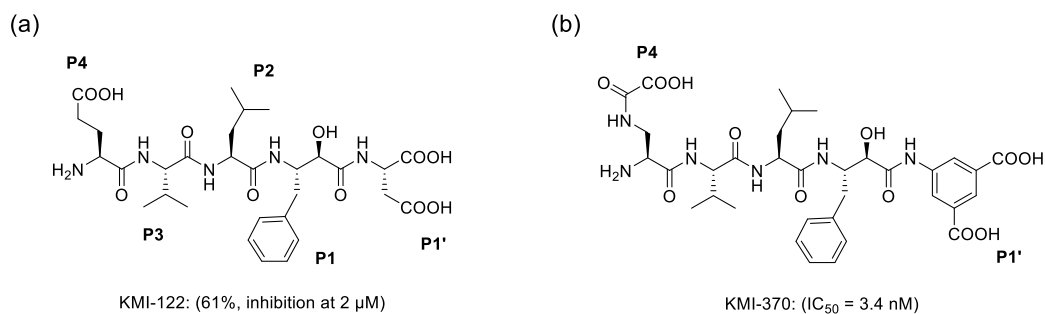


Figure 6. (a) P4-P1'ペプタペプチド型 BACE1 阻害剤のリード化合物 KMI-122 の構造、(b) 高活性阻害剤 KMI-370 の構造

また、John らはペプチド性を低減した HEA 型阻害剤として P2 位にイソブチル酸構造を有する阻害剤を報告しており (Figure 7a)、この化合物の P1'位について構造活性相関研究を行った結果、P1'位にメタヨードベンジル基を有する阻害剤で良好な酵素活性および細胞効力が認められることを明らかにした。¹¹ この阻害剤と BACE1 との複合体の X 線結晶構造解析から、阻害剤のベンジル基は S1'ポケットではなく、S2'ポケットの方向に位置していることが明らかにされている (Figure 7b, c)。

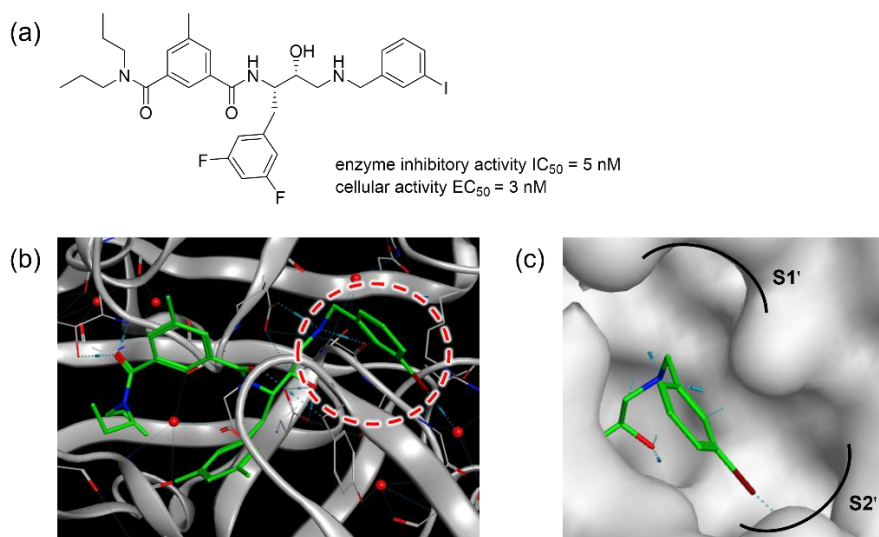


Figure 7. (a) P1'-ベンジル型阻害剤の構造、(b) P1'-ベンジル型阻害剤 (緑) と BACE1 との共結晶 X 線結晶構造 (PDB: 2IQG) の全体図、(c) ベンジル基近傍の拡大図。

これらの先行研究から、ペプチド性 BACE1 阻害剤における構成アミノ酸の非天然アミノ酸への変換、特に P1'位での構造変換の重要性が示されており、阻害活性や生体内安定性の改善には、P1'位の構造に関するより詳細な検討が必要であると考えられる。

一方で、阻害活性の向上に加えて物性改善という点にも着目し、ペプチド性 BACE1 阻害剤の側鎖に架橋構造を導入する環状化戦略が複数のグループにより検討されてきた。これは、架橋構造の導入により適切に阻害剤の構造を固定化することができれば、酵素への結合親和

性や選択性の向上、阻害剤の物理化学的性質の改善が期待されるためである。¹² ペプチド性 BACE1 阻害剤への架橋構造の導入については、McCarthy らが OM99-2 から得られた 3 つ目の知見を基に、P1-P3 および P1-N2 での環状化を報告している (Figure 8)。¹³ この報告において、P1-P3 架橋型阻害剤では阻害活性の向上は認められなかったが、P1-N2 架橋型阻害剤では非環状阻害剤と比較して、阻害剤の構造固定化にともなう酵素活性 (BACE FRET IC_{50} = 0.065 μ M) および細胞効力 (HEK293 A β inhibition IC_{50} = 0.880 μ M) の向上を示す結果が得られている。

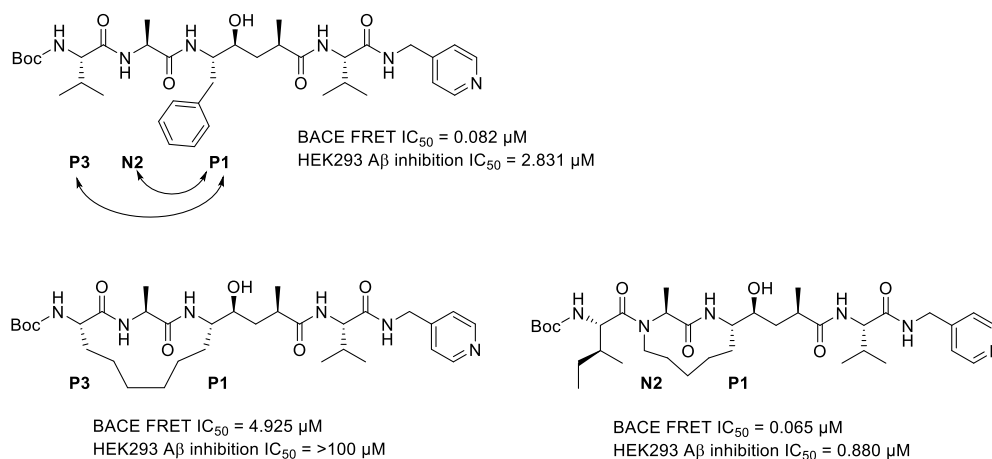


Figure 8. 架橋型阻害剤の設計と P1-P3 および P1-N2 架橋型 BACE1 阻害剤の構造

また、Kessler らは、生体内安定性向上を目的に P1-P3 側鎖で架橋したホスフィノジペプチド構造を含む BACE1 阻害剤を報告している (Figure 9)。¹⁴ この大環状阻害剤は、対応する非環状阻害剤と比較して、 IC_{50} が 47 nM と良好な阻害活性を維持しつつ、ヒト血清中において約 3 倍の安定性向上を示している。

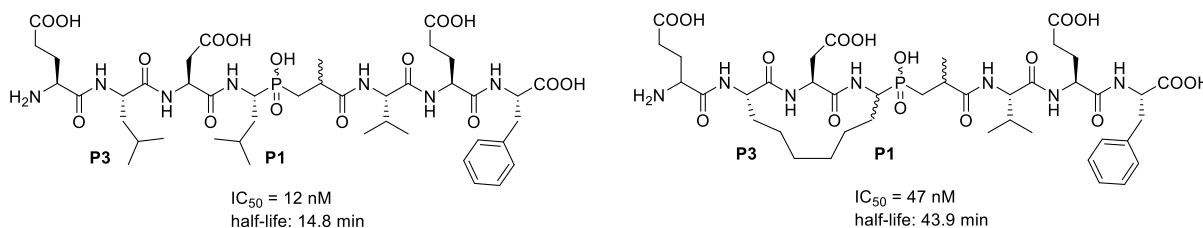


Figure 9. ホスフィノジペプチド構造を含む非環状阻害剤および大環状阻害剤の構造

このように、ペプチド性 BACE1 阻害剤への架橋構造の導入は、阻害活性の向上とともに物性の改善に寄与していることが示されており、医薬品開発を目指すうえで有用性の高い手法であると考えられる。

著者の所属研究グループではこれまでに、BACE1 の膜外ドメイン (46-454) に相当する rBACE1 の安定発現系の構築に成功し、rBACE1 を用いた基質類縁ペプチドの探索を行うことで、スウェーデン変異型基質よりも 10 倍速く切断される異常アミノ酸を含有する基質類縁配列を見出している (Figure 10)。¹⁵

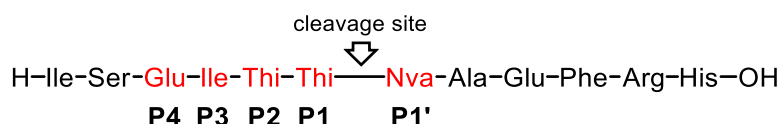


Figure 10. 異常アミノ酸を含有する基質類縁配列

また、この基質類縁配列とペプチドミメティックである HMC および HEA 構造を組み合わせた新規 BACE1 阻害剤の合成と活性評価を行い (Figure 11)、P1 側鎖にチエニル基を有する HEA 型阻害剤 **2a** ($IC_{50} = 9.4 \mu M$) が、対応する HMC 型阻害剤 **1a** ($IC_{50} = 26 \mu M$) よりも高い阻害活性を示すこと、活性発現に必要な水酸基の立体配置がイソスター間で異なっていること、P1'位での相互作用が HEA 型阻害剤の阻害活性に影響を与えている可能性があることを明らかにしている。¹⁶

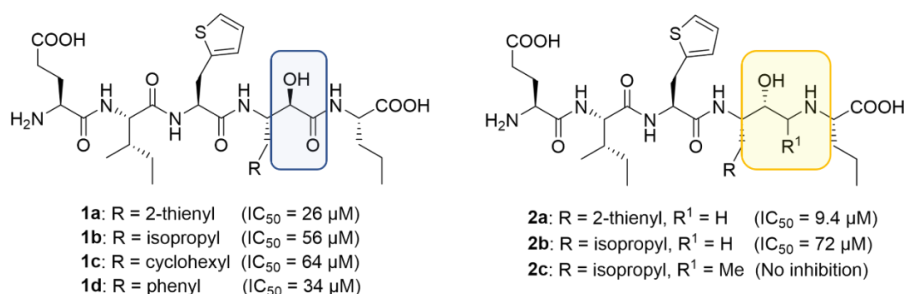


Figure 11. 基質類縁配列に基づく HMC および HEA 型 BACE1 阻害剤の構造

以上の研究動向を踏まえ、著者は、基質類縁配列を基に設計した阻害剤に対して、P1'位の構造最適化および P1-P3 への架橋構造の導入を行うことで、より有用な阻害剤の開発が可能であると考えた。

第 1 章では、P1'位の非天然アミノ酸への置換による阻害活性への影響に着目し、P1'置換型誘導体の合成、阻害活性評価および相互作用解析について論述した。

第 2 章では、環状化戦略の有用性に着目し、架橋構造を有する大環状誘導体の合成、阻害活性評価および相互作用解析について論述した。

第1章 HEA型 BACE1阻害剤の P1'位に関する構造活性相関研究

第1節 緒言

著者の所属研究グループではこれまでに、スウェーデン変異型基質配列よりも 10 倍速く BACE1 によって切断される基質類縁配列を見出しており、¹⁵ この配列と HMC および HEA 型ペプチドミメティックを組み合わせた BACE1 阻害剤について構造活性相関研究を行っている。¹⁶ この検討において、中程度の BACE1 阻害活性を有する HEA 型阻害剤 **2b** ($IC_{50} = 72 \mu M$) と BACE1 との複合体の X 線結晶構造解析の結果から、ペプチドミメティックの水酸基の立体配置が活性発現に重要であること、P1'位における相互作用が阻害活性に影響を及ぼしていることが示されている (Figure 12)。また、P1'位の構造変換における初期検討において、P1'にトリル基を有するスウェーデン変異型基質配列に基づく阻害剤 **3** が中程度の阻害活性を示していたことから (**3**: $IC_{50} = 55 \mu M$)、基質類縁配列と P1'位のトリル基を組み合わせた誘導体の構造活性相関研究が行われた。その結果、HEA 構造を有する阻害剤 **4** において、**2b** と比較して阻害活性が 18 倍向上することが明らかとなった (**4**: $IC_{50} = 4.0 \mu M$)。

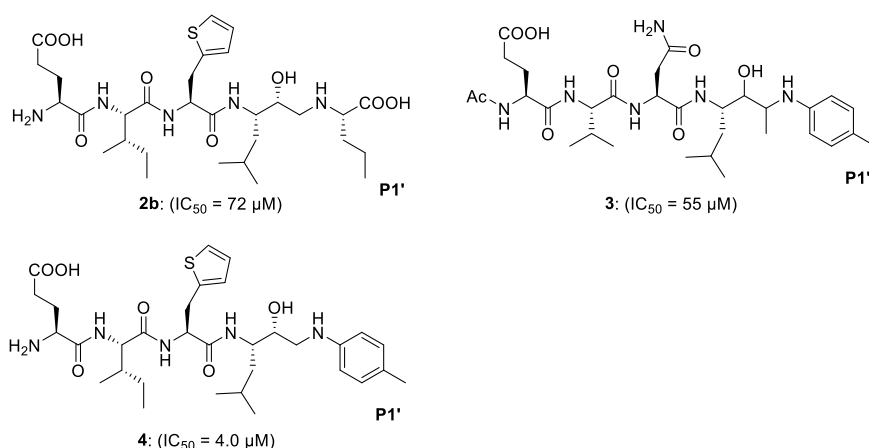


Figure 12. 基質類縁配列またはスウェーデン変異型基質配列に基づく HEA 型 BACE1 阻害剤の構造

この P1'位の構造に関しては、序章でも示した通り、他のグループでも検討がなされている。木曾らの報告した化合物では、P1'位の構造として同様にベンゼン誘導体が検討されているが、ペプチドミメティックは HMC 構造であり、HEA 型阻害剤とは P1'位における相互作用様式が異なる可能性が考えられた (Figure 6b)。¹⁰ また、P1'位ベンゼン環上の置換基については、メタ位での検討が主であり、パラ位での検討はほとんど行われていなかった。一方、John らが報告した化合物では、ペプチドミメティックは同じ HEA 構造であるものの、P1'位としてはベンジル誘導体が検討されており、このベンジル基は S2'ポケットの方向に位置していることが結晶構造から明らかにされていた (Figure 7c)。¹¹

そこで著者は、所属研究グループで見出した基質類縁配列を含む HEA 型阻害剤 **4** の阻害活性向上を目的として、S1'ポケットでの相互作用を期待し、P1'位ベンゼン環上のアミノ基に対するパラ位方向を中心に、P1'位に関するより詳細な構造活性相関研究を行うこととした。

第2節 P1'置換型 BACE1 阻害剤の合成と活性評価

第1項 逆合成解析

目的化合物であるテトラペプチド誘導体 **5** は、P1 フラグメント **6** に対し、市販で入手可能なアミノ酸誘導体を順次縮合することで合成できると考えた (Figure 13)。また、P1 フラグメント **6** は、立体選択的に合成したエポキシド **7** に対して、P1'位となるアミン誘導体による開環反応を行うことで合成することとした。このエポキシド **7** は、アルケン体 **9** に対するシャープレス不斉ジヒドロキシ化反応により立体選択的に得られるジヒドロキシ体 **8** から官能基変換を行うことで得られるため、アルケン体 **9** を市販で入手可能なロイシン誘導体 **10** から合成することとした。

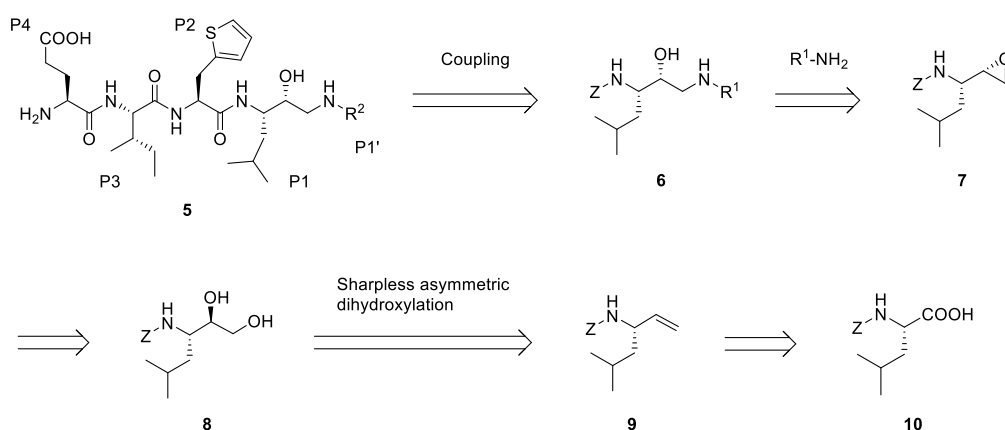
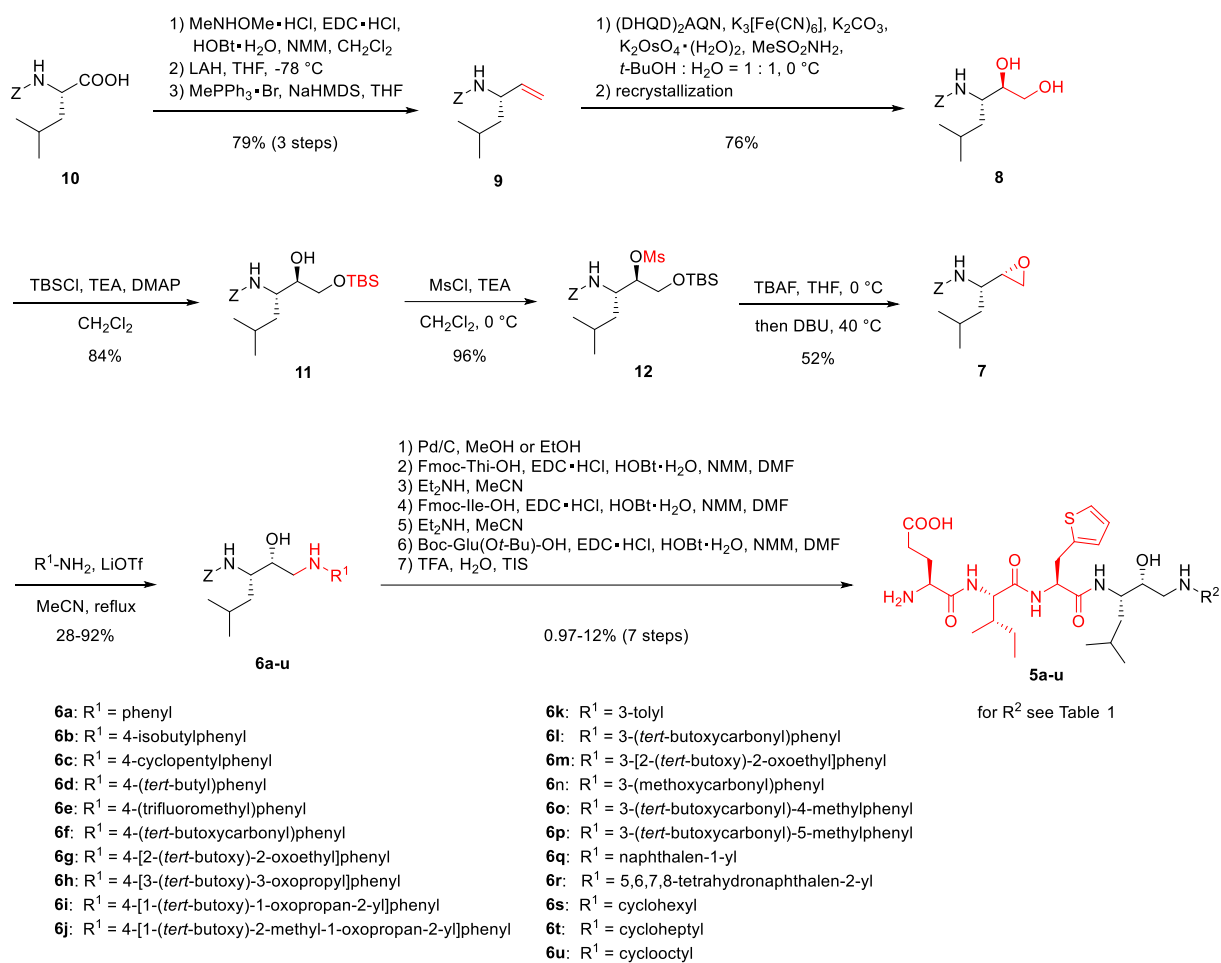


Figure 13. P1'置換型阻害剤 **5** の逆合成解析

第2項 P1'置換型阻害剤の合成

出発原料であるロイシン誘導体 **10** に対し、ワインレブアミド化、LAH還元、Wittig反応を行い、アルケン体 **9** を得た。続いて、不斉配位子として(DHQD)₂AQNを用いたシャープレス不斉ジヒドロキシ化反応と再結晶によって、ジオール **8** を単一のジアステレオマーとして合成した。このジオール **8** の第1級水酸基をTBS基で保護し、第2級水酸基をメシル化によって脱離基とした後、TBS基の脱保護と続く分子内環化反応を行うことで、目的の立体を有するエポキシド **7** を得た。得られたエポキシド **7** の立体化学は既知化合物のNMRデータと比較することで確認した。¹⁷ このエポキシド **7** を共通中間体として、LiOTf存在下、様々なアミン誘導体を反応させることで、Z保護されたP1フラグメント **6a-u** を合成した。化合物 **6i** (R¹ = 4-[1-(*tert*-butoxy)-1-oxopropan-2-yl]phenyl) は、反応試薬としてラセミ体の2-(4-アミノフェニル)プロピオン酸 *tert*-ブチルエステルを用いたため、ジアステレオマー混合物として得られることが予想されたが、¹Hおよび¹³C NMRスペクトル解析の結果から、単一のジアステレオマーとして得られていることが示唆された。しかし、得られたスペクトルデータからは、P1'位のベンジル位に存在するメチル基の立体化学の決定までは至らなかった。化合物 **6a-u** のZ基を脱保護した後、アミノ酸誘導体 (Fmoc-Thi-OH、Fmoc-Ile-OH、Boc-Glu(*Ot*-Bu)-OH) との縮合およびFmoc基の脱保護と、TFAによるBoc基および*t*-Bu基の脱保護を行い、P1'置換型阻害剤 **5a-u** を合成した (Scheme 1)。



Scheme 1. P1置換型阻害剤 5a-u の合成

第3項 P1置換型阻害剤の BACE1 阻害活性評価

合成した P1置換型阻害剤 5a-u の阻害活性は、rBACE1 を用いて評価した (Table 1)。基質ペプチド、阻害剤および rBACE1 を 37 °C で 90 分間インキュベートし、基質ペプチドの残存量を分析用 HPLC で定量した。算出された阻害率を各阻害剤濃度とともにプロットすることで得られるシグモイド曲線から、各阻害剤の IC₅₀ 値を算出した (Figure 14)。ポジティブコントロールとしては、既存の低分子型 BACE1 阻害剤であるラナベセスタットを用いた。

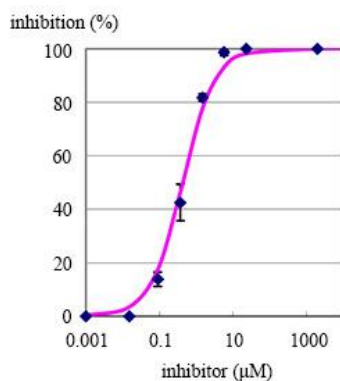
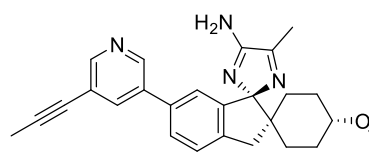
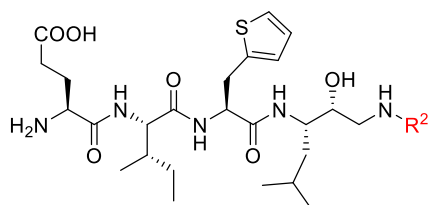


Figure 14. 化合物 5g (IC₅₀ = 0.43 μM) のシグモイド曲線

Table 1. P1'置換型阻害剤 **5a–u** の BACE1 阻害活性



Lanabecestat

Compound	R ²	IC ₅₀ (μM)	Compound	R ²	IC ₅₀ (μM)
4		4.0	5k		14
5a		8.8	5l		5.6
5b		5.1	5m		2.5
5c		6.5	5n		93
5d		2.4	5o		4.9
5e		176	5p		13
5f		33	5q		7.5
5g		0.43	5r		14
5h		1.4	5s		4.4
5i		0.59	5t		9.2
5j		0.72	5u		10
			Lanabecestat		1.9

阻害活性評価の結果を以下に述べる。無置換ベンゼンを有する **5a** の阻害活性は、親化合物 **4** から約 2 倍低下しており (**5a**: $IC_{50} = 8.8 \mu M$ vs. **4**: $IC_{50} = 4.0 \mu M$)、ベンゼン環のパラ位へのメチル基の置換は、阻害活性の向上に寄与していることが示唆された。また、種々のアルキル基でベンゼン環のパラ位を置換した **5b-d** ($IC_{50} = 2.4-6.5 \mu M$) も、無置換体 **5a** より良好な阻害活性を示し、立体的にかさ高い *t*-Bu 基を有する **5d** が最も良い阻害活性を示した (**5d**: $IC_{50} = 2.4 \mu M$)。これらの結果から、パラ位の周辺にかさ高いアルキル基を許容しうる疎水性の空間が存在することが示唆された。しかし、トリフルオロメチル基を有する **5e** の阻害活性は、大きく低下したため (**5e**: $IC_{50} = 176 \mu M$)、パラ位周辺には単純な疎水性相互作用以外に、阻害活性に影響を与える因子が存在することが示唆された。一方、親水性置換基をパラ位に導入したところ、カルボキシ基を有する **5f** では、阻害活性は低下し (**5f**: $IC_{50} = 33 \mu M$)、カルボキシメチル基や 2-カルボキシエチル基を有する **5g** および **5h** では、阻害活性は向上した (**5g**: $IC_{50} = 0.43 \mu M$ および **5h**: $IC_{50} = 1.4 \mu M$)。その中でも、**5g** の IC_{50} 値は、親化合物 **4** の約 10 倍と、今回合成したすべての阻害剤の中で最も優れていた。これらの結果から、**5g** および **5h** では、カルボキシ基とベンゼン環の間へのアルキル鎖の挿入によって、カルボキシ基が適切な位置に配置され、阻害活性の向上につながったものと推測した。そこで、パラ位周辺の疎水性空間の占有とカルボキシ基の配向制御を期待して、**5g** の α 炭素上へのメチル基の導入を検討したが、その阻害活性は **5g** と比較してわずかに低下する結果となった (**5i**: $IC_{50} = 0.59 \mu M$ および **5j**: $IC_{50} = 0.72 \mu M$)。この結果から、 α 位へ導入したメチル基は、疎水性空間内の適切な位置に配置されず、カルボキシ基の配向制御にわずかに不利な影響を及ぼしていることが示唆された。

ベンゼン環上のメタ位への置換基の導入においては、無置換体 **5a** と比較して、メチル基では阻害活性はわずかに低下し (**5k**: $IC_{50} = 14 \mu M$)、カルボキシ基では阻害活性は向上した (**5l**: $IC_{50} = 5.6 \mu M$)。これらの結果は、パラ置換体の結果と対照的であった。続いてパラ位での検討と同様に、**5l** のカルボキシ基とベンゼン環の間へのメチレン基の導入を検討したところ、阻害活性は向上したものの (**5m**: $IC_{50} = 2.5 \mu M$)、その向上率は対応するパラ置換体 **5g** よりも小さい結果となった。また、メチルエステル化した誘導体 **5n** では、その阻害活性は **5l** の 15 倍以上低下したことから (**5n**: $IC_{50} = 93 \mu M$)、**5l** のカルボキシ基による相互作用が活性発現に重要であることが示唆された。一方、**5l** を基に設計した二置換化合物 **5o** および **5p** は、**5l** と比較して阻害活性の向上を示さなかった (**5o**: $IC_{50} = 4.9 \mu M$ および **5p**: $IC_{50} = 13 \mu M$)。 **5o** の阻害活性が **5l** とほぼ同等であったことから、メタ位カルボキシ基の相互作用がパラ位メチル基の相互作用よりも優先的に形成され、メタ位での相互作用が **5o** の阻害活性に主に寄与しているものと考えられた。

ベンゼン環をナフタレンおよび 1,2,3,4-テトラヒドロナフタレンに置換した誘導体では、阻害活性の向上は認められなかった (**5q**: $IC_{50} = 7.5 \mu M$ および **5r**: $IC_{50} = 14 \mu M$)。そこで、芳香環の代わりにシクロアルキル基を有する P1 誘導体についても検討を行ったところ、シクロヘキシル基は、フェニル基 (**5a**: $IC_{50} = 8.8 \mu M$) と比較して、阻害活性を約 2 倍に向上させ (**5s**: $IC_{50} = 4.4 \mu M$)、シクロヘプチル基とシクロオクチル基は、フェニル基と同等の阻害活性を示した (**5t**: $IC_{50} = 9.2 \mu M$ および **5u**: $IC_{50} = 10 \mu M$)。シクロアルキルアミンとアニリン誘導体

では、アミン部分の性質は異なるが、両者の間に顕著な阻害活性の差は認められなかった。これらの結果から、S1'ポケットは、テトラヒドロナフチル基やシクロオクチル基を挿入するのに十分な大きさを有していることが示されたが、疎水性相互作用だけでは阻害活性の顕著な向上につながらないことが示唆された。

ポジティブコントロールとして用いたラナベセスタットの IC₅₀ 値は 1.9 μM であり、報告されている値 (IC₅₀ = 0.6 nM) とは異なっていた。¹⁸ 報告されている IC₅₀ 値は、酵素を用いた TR-FRET 法で評価されたものであるが、本研究での IC₅₀ 値は、UV 検出器を用いた分析用 HPLC で評価したものである。UV 検出は、蛍光検出に比べて感度が低いため、本研究の評価系における最終的な基質濃度は 175 μM であり、TR-FRET による評価系での基質濃度 (100 nM) に比べて 1000 倍以上も高い値となっている。この基質濃度の違いが、ラナベセスタットの IC₅₀ 値の差の原因と考えられる。本評価系で得られた IC₅₀ 値のみを相対的に評価する際には、既報との IC₅₀ 値の差を考慮する必要はないと判断し、合成した誘導体とラナベセスタットを比較したところ、最も阻害活性が良好であった **5g** は、ラナベセスタットよりも高い阻害活性を示すことが明らかとなった。

第 4 項 P1'置換型阻害剤の相互作用解析

阻害剤 **4**, **5g**, **5l** と rBACE1 とのドッキングモデルを Molecular Operating Environment (MOE) ソフトウェアを用いて構築し、これらの相互作用様式を解析した (Figure 15–17)。ドッキングシミュレーションでは、P1'位にノルバリンを有する HEA 型阻害剤 **2b** の結合構造 (PDB: 4TRW) を用い、その主鎖および HEA 構造を鋳型として指定したテンプレートドッキングを行った。テンプレートドッキングでは、指定したテンプレート構造周辺にリガンド化合物の対応する構造が配置されるように拘束をかけた条件でドッキングシミュレーションが実行される。得られたドッキングモデルにおいて、阻害剤 **4** および **5l** のドッキングスコア (GBVI/WSA dG スコア) は、ほぼ同じであったが (**4**: -10.4605 kcal/mol および **5l**: -10.1752 kcal/mol)、**5g** のドッキングスコアは、**4** および **5l** と比較してわずかに高い値であった (**5l**: -11.1471 kcal/mol)。阻害剤 **4** および **5l** の HEA 部位の水酸基は、活性中心である Asp93 と水素結合を形成しており、これは鋳型化合物 **2b** の相互作用様式と一致していた (Figure 16a, c)。一方、**5g** の水酸基は、もう一つの活性中心である Asp289 と水素結合を形成していた (Figure 16b)。すべての相互作用モデルにおいて、P1、P2、P3 残基の側鎖は、それぞれ S1、S2、S3 ポケットに位置していたが、P4 位側鎖の位置は、鋳型化合物 **2b** とは異なっていた (Figure 15)。また、P1'位の芳香環は、鋳型化合物 **2b** のノルバリ側鎖とは異なり、S1'ポケットに位置していた。この S1'ポケットでの相互作用を確認すると、**4** のパラ位メチル基は、S1'ポケットの疎水性空間を占めていることが示された (Figure 15a)。この疎水性相互作用によって、**4** は **5a** と比較して高い阻害活性を示したと考えられる (**4**: IC₅₀ = 4.0 μM vs. **5a**: IC₅₀ = 8.8 μM)。同様にパラ位に疎水性置換基を有する **5b–d** が高い阻害活性を示したことも、このパラ位での疎水性相互作用により説明可能であると考えた (**5b**: IC₅₀ = 5.1 μM, **5c**: IC₅₀ = 6.5 μM および **5d**: IC₅₀ = 2.4 μM)。最も高い阻害活性を示した **5g** では、カルボキシ基と Lys285 との間にイオ

ン結合が形成されていることが確認された (Figure 17a)。先に示したように **5g** の水酸基の活性中心での相互作用様式は、鋳型化合物 **2b** とは異なっていたが、これは、**P1'**位における新たな相互作用の形成によって、結合構造がわずかに変化し、水酸基の向きが変わったことに起因していると推測した。いずれの相互作用がより活性に寄与しているかは定かではないが、このように Lys285 の近傍に **P1'**位のカルボキシ基を配置できたことが、**5g** の高活性の要因と考えている (**5g**: $IC_{50} = 0.43 \mu\text{M}$)。またこれらの結果から、**5f** の阻害活性が低い原因は、パラ位のカルボキシ基が Lys285 とイオン結合を形成できない位置で疎水性空間を占有しているためであると考えられた (**5f**: $IC_{50} = 33 \mu\text{M}$)。一方、**5l** のメタ位カルボキシ基においても、Lys285 とのイオン結合の形成が確認された (Figure 17b)。この結果から、*p,m*-二置換誘導体 **5o** のパラ位メチル基は、メタ位カルボキシ基と Lys285 とのイオン結合形成にほとんど影響しないこと (**5o**: $IC_{50} = 4.9 \mu\text{M}$ vs. **5l**: $IC_{50} = 5.6 \mu\text{M}$)、*m,m*-二置換誘導体 **5p** のメタ位メチル基は、メタ位カルボキシ基の位置を変化させることでイオン結合の形成を妨げること (**5p**: $IC_{50} = 13 \mu\text{M}$ vs. **5l**: $IC_{50} = 5.6 \mu\text{M}$)、が示唆された。

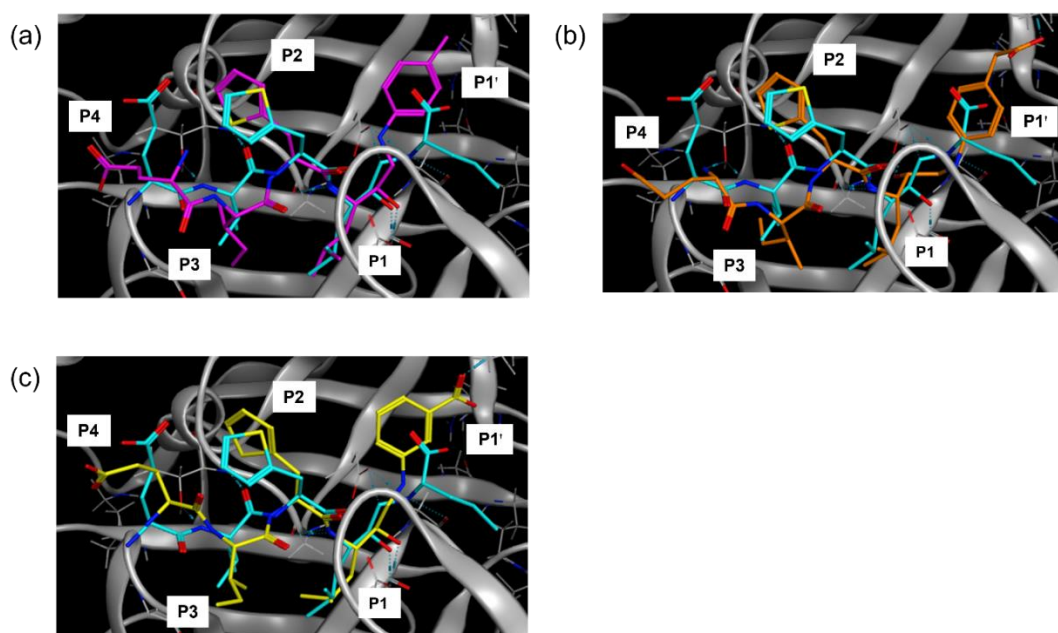


Figure 15. 阻害剤 **4**、**5g**、**5l** の rBACE1 との相互作用モデル。(a) 鋳型化合物 **2b** (シアン) および阻害剤 **4** (マゼンタ) の重ね合わせ、(b) 鋳型化合物 **2b** (シアン) および阻害剤 **5g** (オレンジ) の重ね合わせ、(c) 鋳型化合物 **2b** (シアン) および阻害剤 **5l** (黄) の重ね合わせ。

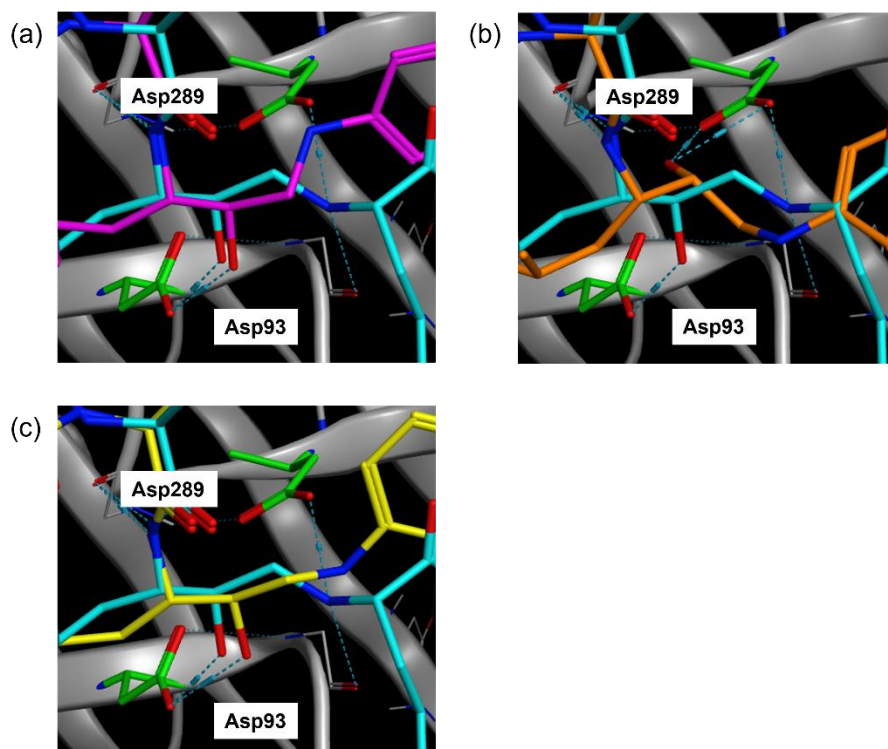


Figure 16. 阻害剤 4、5g、5l の活性中心付近での相互作用。緑色の残基は BACE1 活性中心の 2 つのアスパラギン酸残基を、阻害剤と BACE1 の残基間に存在する点線は 3.5 Å 以内の相互作用を示している。(a) 鋳型化合物 2b (シアン) および阻害剤 4 (マゼンタ) の重ね合わせ、(b) 鋳型化合物 2b (シアン) および阻害剤 5g (オレンジ) の重ね合わせ、(c) 鋳型化合物 2b (シアン) および阻害剤 5l (黄) の重ね合わせ。

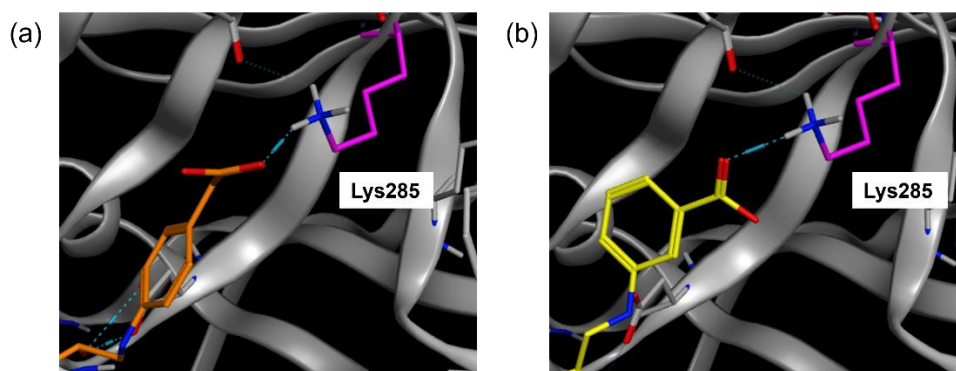


Figure 17. 阻害剤 5g、5l の S1'ポケットでの相互作用。マゼンタの残基は BACE1 のリジン残基を、阻害剤と BACE1 の残基間に存在する点線は 3.5 Å 以内の相互作用を示している。(a) 阻害剤 5g (オレンジ)、(b) 阻害剤 5l (黄)。

第3節 小括

先行研究で見出された親化合物 **4** を基に、P1'位における詳細な構造活性相関研究を行った。P1'位のフェニル基のパラ位にアルキル基を導入した誘導体 (**4**, **5b-d**) では、無置換体と比較して阻害活性の向上が認められたが、メタ位にメチル基を導入した誘導体 **5k** では、その阻害活性は低下した。これらの結果から、S1'ポケットの芳香環のパラ位周辺には、疎水性の空間が存在することが示された。この考察は、パラ位に親水性のカルボキシ基を導入した **5f** の阻害活性が低下した結果と矛盾しないが、その一方で、カルボキシメチル基をパラ位に導入すると、阻害活性の大幅な向上が認められた。これは、ドッキングシミュレーションの結果から示されるように、**5g** のカルボキシ基と BACE1 の Lys285 残基との間でイオン結合が形成されたためであると推定している。得られた誘導体 **5g** の阻害活性は親化合物 **4** の約 10 倍であり、既存の BACE1 阻害剤ラナベセスタットよりも高い値を示した。また、メタ位へのカルボキシ基の導入も阻害活性の向上に寄与することを明らかにしたが、パラ位またはメタ位に追加のメチル基を導入しても阻害活性への影響は認められなかった。

以上の結果から、著者は、P1'位の芳香環への各種置換基の導入が、S1'ポケットとの相互作用を通して、HEA 型阻害剤の阻害活性に大きく影響することを明らかにし、パラ位にカルボキシメチル基を導入した BACE1 阻害剤 **5g** が、ラナベセスタットを超える強力な阻害活性を有することを見出した。

第 2 章 P1–P3 側鎖間に架橋構造を有する大環状 BACE1 阻害剤の合成と阻害活性評価

第 1 節 緒言

著者は、ペプチド性 BACE1 阻害剤の更なる阻害活性の向上を目指し、環状化戦略に着目した。序章でも述べた通り、架橋構造の導入により適切に阻害剤の構造を固定化することで、阻害活性の向上が期待できるためである。¹² また、環状化によって阻害活性以外に物性の向上も期待できるため、¹⁹ ペプチド性阻害剤の一般的な課題である低い生体内安定性や膜透過性に対する解決方策につながる可能性があると考えた。

ペプチド性大環状 BACE1 阻害剤については、序章で述べたように、Kessler らによって、阻害活性を維持しつつ、生体内安定性の向上した大環状阻害剤が見出されている (Figure 9)。¹⁴ また他のグループでは、Dahlgren らが主鎖骨格の一部はペプチド性ではないものの、HEA 構造と大環状構造を組み合わせた BACE1 阻害剤を合成し、Caco-2 細胞において良好な透過性を有する阻害剤を見出している (Figure 18a)。²⁰ さらに、HEA 構造を有する大環状阻害剤を合成した Zhong らは、環化体と対応する非環化体における BACE1 阻害活性評価だけでなく、有害な副作用が懸念されるアスパラギン酸プロテアーゼであるカテプシン D に対する選択性も評価しており、環状化により BACE1 への選択性が向上することを示している (Figure 18b)。

21

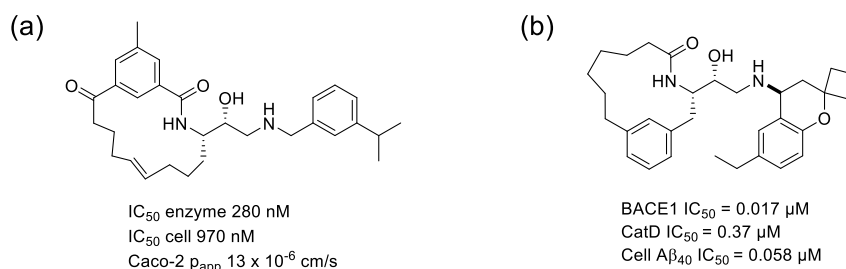


Figure 18. (a) Dahlgren らが報告した非ペプチド性大環状 BACE1 阻害剤の構造、(b) Zhong らが報告した非ペプチド性大環状 BACE1 阻害剤の構造

このように、BACE1 阻害剤においても、大環状骨格を利用した構造展開は有用であることが示されている。こうした環状化を検討する場合、環サイズおよび環構造の適切な選択は最も重要な要素の一つである。上記の研究でも、環サイズの検討は行われているが、最適な環サイズは阻害剤の骨格によって異なっている。このため、阻害剤の環状化による阻害活性・物性の改善を成功させるためには、環サイズと環構造の最適化を綿密に検討する必要がある。

著者の所属研究グループではこれまでに、阻害剤 **2b** と BACE1 との共結晶 X 線結晶構造解析の結果より、阻害剤の P1–P3 側鎖間に大きな疎水性空間が存在することを確認している (Figure 19)。そこで著者は、この疎水性空間を適切な官能基で埋めることができれば、阻害活性の向上が期待できると考え、P1–P3 側鎖間への架橋構造の導入と環構造の最適化を行うこととした。

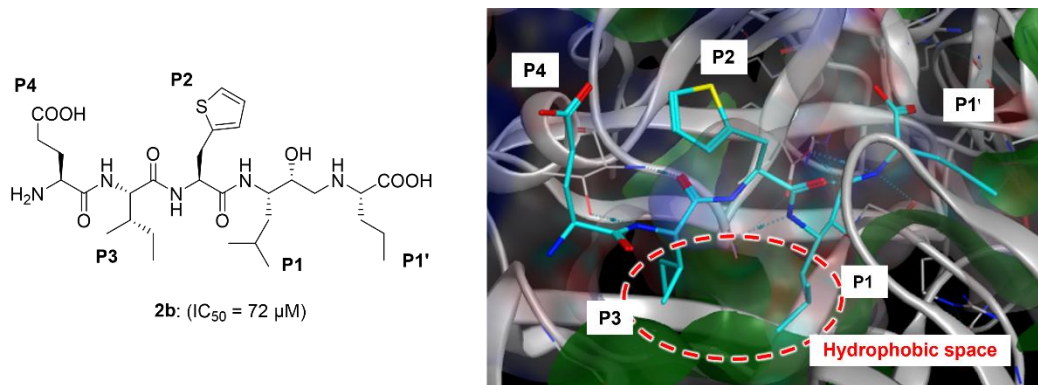


Figure 19. 阻害剤 **2b** (シアン) と rBACE1 との共結晶 X 線結晶構造 (PDB: 4TRW)

大環状阻害剤 **13** の設計にあたって、P1'位の構造として、ノルバリンよりも阻害活性が高く、第 1 章で見出した 4-カルボキシシメチルフェニル (4-CMP) 基よりも合成の容易なトリル基を選択した。また、阻害剤 **2b** における P2 位のチエニル基が架橋部構築時の接触還元において触媒毒となる可能性を考慮して、基質類縁配列の探索時にチエニルアラニンの次に良好な切断率を示したノルバリン¹⁵を P2 残基として選択した (Figure 20)。

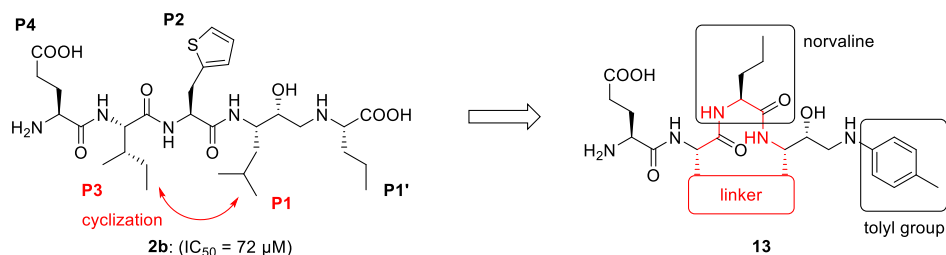
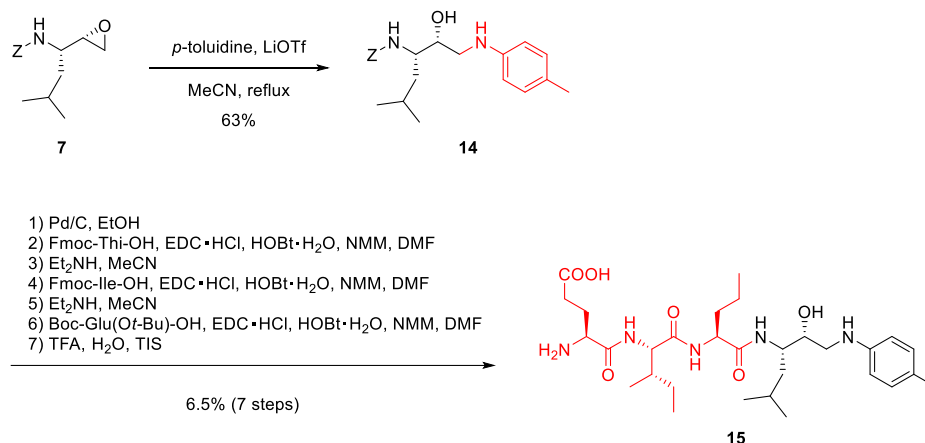


Figure 20. 大環状 BACE1 阻害剤 **13** の設計

第2節 大環状 BACE1 阻害剤の合成と活性評価

第1項 非環状阻害剤の合成と BACE1 阻害活性評価

架橋の有無による阻害活性を比較するため、まず P2 位にノルバリンを有する非環状阻害剤 **15** の合成と阻害活性評価を行った。阻害剤 **15** は、第1章で述べた合成法と同様の手順によりエポキシド **7** から8工程で合成した (Scheme 2)。阻害剤 **15** の BACE1 阻害活性評価を行ったところ、 $IC_{50} = 6.1 \mu M$ であった。P2 位がチエニルアラニンである阻害剤 **4** ($IC_{50} = 4.0 \mu M$) と比較して、大きな阻害活性の低下は認められなかったため、この非環状阻害剤 **15** を親化合物として、以降の大環状阻害剤の合成と活性評価を行った。



Scheme 2. 非環状阻害剤 **15** の合成

第2項 大環状阻害剤の設計と逆合成解析

大環状化合物の架橋部の構築は、P1 および P3 側鎖に末端アルケンを有する環化前駆体に対する閉環オレフィンメタセシス反応 (RCM) によって達成できると考えた。この環化前駆体は、4種類のフラグメントを順次縮合することで合成した (Figure 21)。また、合成する大環状化合物の環サイズは、先の X 線結晶構造解析 (Figure 19) の結果から、12~15員環が適当であると推定した。そこでまず、末端アルケンを有する様々な側鎖長の P1 および P3 フラグメント (**24–28**) の合成に着手した。

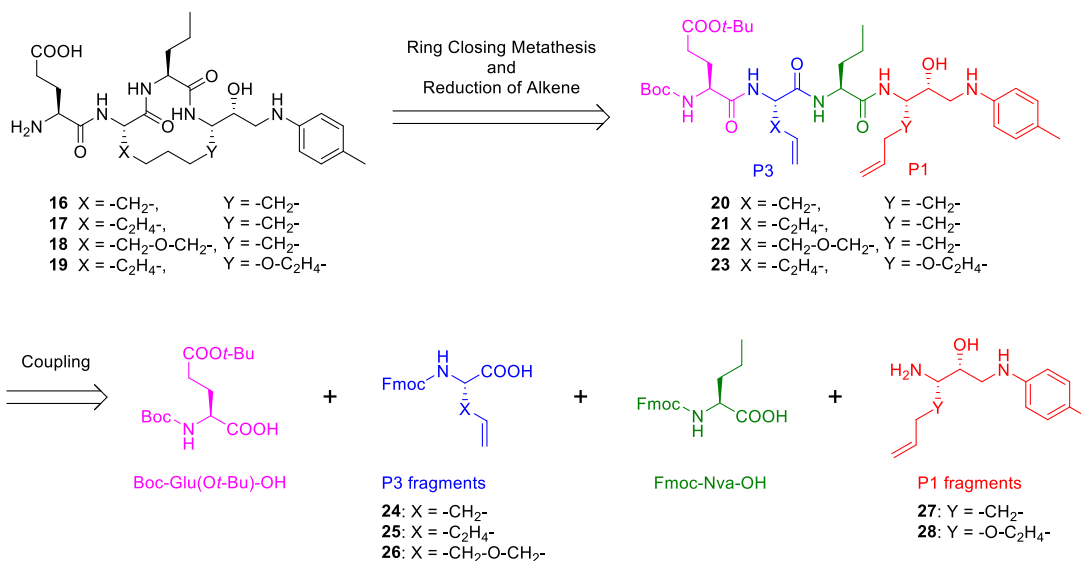
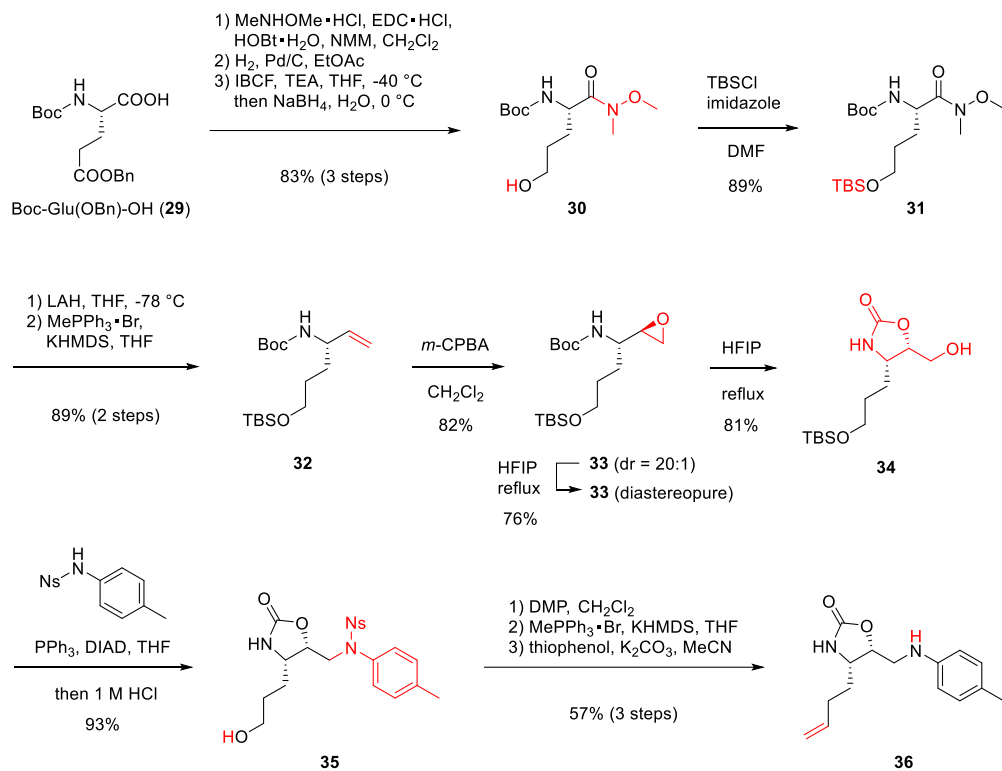


Figure 21. 大環状阻害剤 16–19 の逆合成解析

第3項 P1、P3 フラグメントと大環状阻害剤の合成

市販で入手可能なグルタミン酸誘導体 **29** を出発原料として、主鎖カルボン酸に対し、ワインレブアミド化を行った (Scheme 3)。側鎖のベンジル基を脱保護後、混合酸無水物を經由して、水素化ホウ素ナトリウムにより還元を行うことで、アルコール体 **30** を得た。続いて、この水酸基を TBS 基で保護し、化合物 **31** を得た。ワインレブアミドを LAH 還元と Wittig 反応によりアルケンへと変換後、*m*-CPBA によりエポキシド **33** をジアステレオマー混合物として得た。この混合物を HFIP 中、短時間加熱することで速度論的分割を行い、エポキシド **33** を単一のジアステレオマーとして単離した。この速度論的分割については、遷移状態における立体障害の影響が寄与していると推定している (Figure 22)。すなわち、副生成物である (*S*)-エポキシドは、HFIP 中で加熱することにより、TBS 基を有する側鎖とエポキシドのメチレン基が *trans* 配置となる立体障害の少ない遷移状態を經由して分子内環化反応が進行し、速やかに対応するオキサゾリジノンに変換されるが、目的とする主生成物である (*R*)-エポキシドでは、TBS 基を有する側鎖とエポキシドのメチレン基が *cis* 配置となる立体障害の大きい遷移状態を經由するため、オキサゾリジノンへの変換速度が遅いと考えられる。反応を短時間で停止した場合、(*S*)-エポキシドは速やかに消費されるのに対し、(*R*)-エポキシドの多くは反応せずに残存するため、所望の立体を有するエポキシドを単離することができたと考えている。続いて、得られたエポキシド **33** に対して HFIP での長時間処理による分子内環化反応を行うことで、望みの立体を有するオキサゾリジノン **34** を得た。得られたオキサゾリジノン **34** の立体化学は、*n*Oe を測定することで決定した。このオキサゾリジノン **34** に対して、光延反応により別途合成したノシル基で保護されたトルイジン²²を導入し、続いて Dess-Martin 酸化と Wittig 反応により側鎖水酸基のアルケンへの変換を行った。しかし、得られた生成物をカラムクロマトグラフィーにて精製したところ、ノシル基が外れた化合物とノシル基が残っている化合物の混合物として得られていることが ¹H NMR および質量分析の結果から明らかになっ

た。得られた混合物は、分離困難であったため、混合物のままチオフェノールで処理し、P1フラグメント前駆体 **36** を得た。



Scheme 3. P1 フラグメント前駆体 **36** の合成

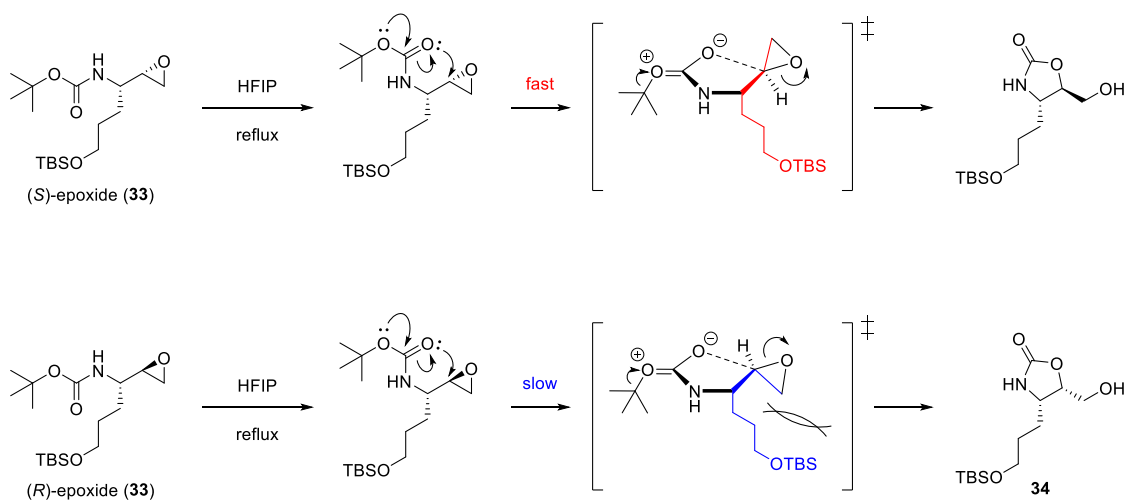
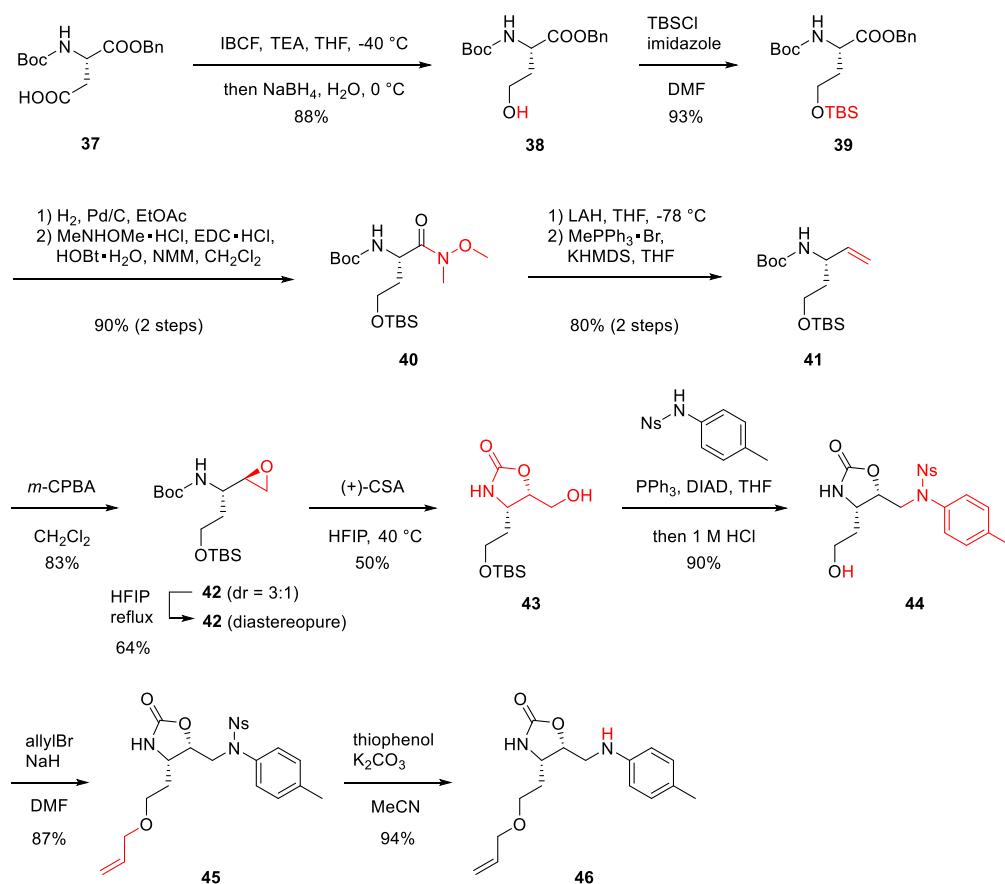


Figure 22. エポキシド **33** の速度論的分割

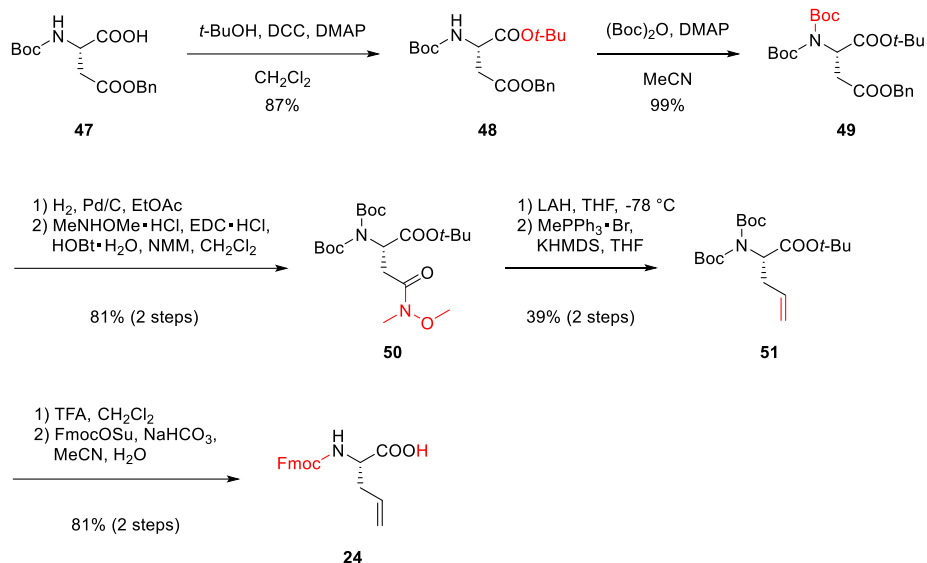
次に側鎖長の異なる P1 フラグメント前駆体 **46** を合成した (Scheme 4)。市販で入手可能なアスパラギン酸誘導体 **37** の側鎖カルボン酸を混合酸無水物に変換し、水素化ホウ素ナトリウムを用いてアルコールに還元することで、ホモセリン誘導体 **38** を得た。続いて TBS 基による水酸基の保護を行い、主鎖のベンジル基を脱保護した後、得られたカルボン酸をワインレブアミドに変換した。ワインレブアミド **40** からエポキシド **42** への変換は、Scheme 3 に記載した手順と同様の方法で行った。エポキシド **42** に対する分子内環化反応では、反応時間短縮のため、(+)-CSA を添加した条件で反応を行った。その結果、終夜攪拌が必要であった分子内環化反応を 1 時間で終結させることができた。続いて光延反応によりトリイジンユニットを導入し、臭化アリルを用いたアリル化、ノシル基の脱保護を行うことで、P1 フラグメント前駆体 **46** を得た。



Scheme 4. P1 フラグメント前駆体 **46** の合成

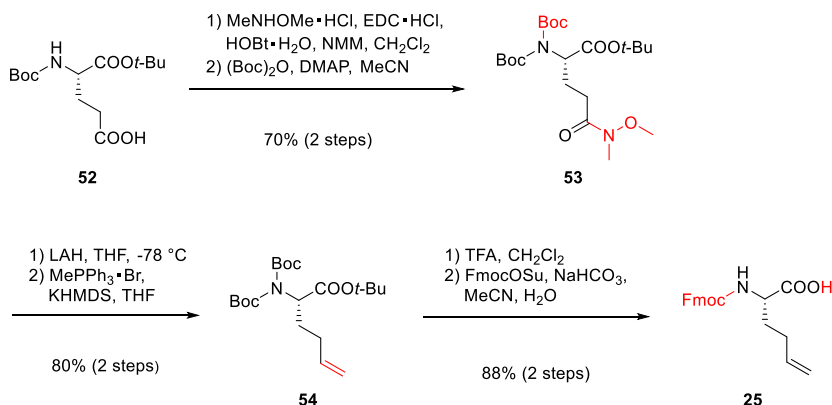
P3 フラグメント (**24**、**25**、**26**) は、市販で入手可能なアスパラギン酸誘導体 **47**、グルタミン酸誘導体 **52**、セリン誘導体 **55** から合成した (Scheme 5–7)。

アスパラギン酸誘導体 **47** の主鎖カルボン酸を *t*-Bu 基で保護し、アミンを di-Boc 化することで化合物 **49** を得た (Scheme 5)。次に、側鎖ベンジル基を脱保護した後、カルボン酸をワインレブアミドに変換し、LAH 還元と Wittig 反応により、アルケン体 **51** を得た。最後に、TFA を用いて Boc 基と *t*-Bu 基を脱保護し、アミンを Fmoc 基で保護することで、P3 フラグメント **24** を合成した。



Scheme 5. P3 フラグメント 24 の合成

P3 フラグメント 25 は、グルタミン酸誘導体 52 から合成した (Scheme 6)。側鎖カルボン酸をワインレブアミドに変換後、アミンを di-Boc 化することで化合物 53 へと誘導した。続いて、Scheme 5 と同様の手順で側鎖の末端アルケンを構築し、保護基を付け替えることで P3 フラグメント 25 を得た。



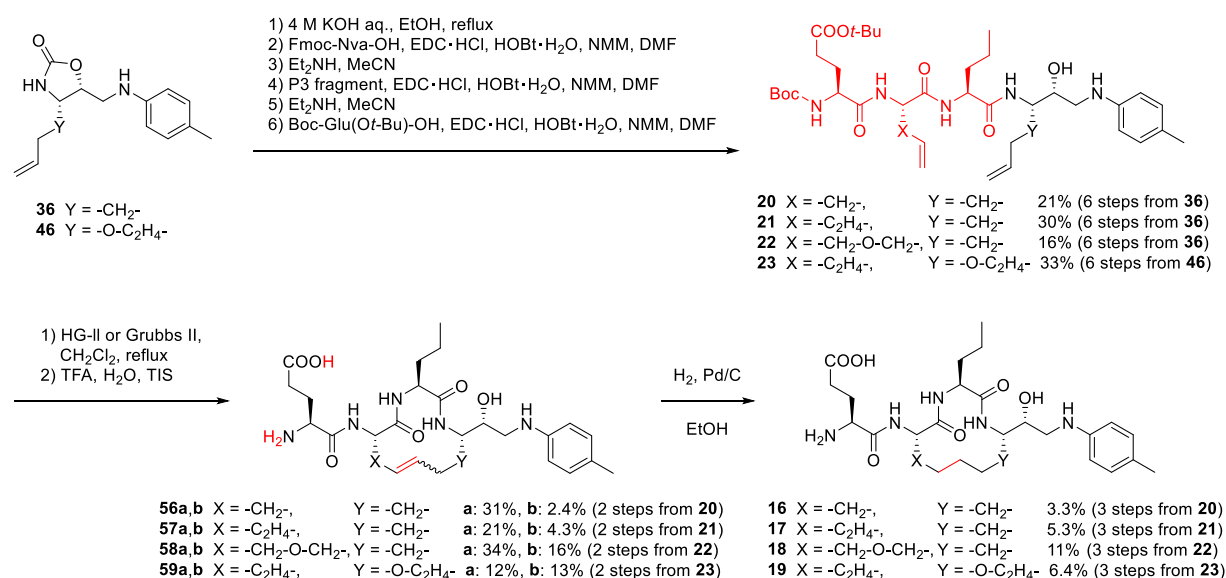
Scheme 6. P3 フラグメント 25 の合成

P3 フラグメント 26 は、セリン誘導体 55 を出発原料として、アリル化、Boc 基の脱保護および Fmoc 基による保護の 3 工程で合成した (Scheme 7)。



Scheme 7. P3 フラグメント 26 の合成

得られた P1 および P3 フラグメントを組み合わせることで、環サイズの異なる大環状化合物を合成した (Scheme 8)。用いた P1、P3 フラグメントの組み合わせと、構築できる環サイズを Table 2 に示した。まず、P1 フラグメント前駆体 **36** および **46** に対する水酸化カリウムを用いた加水分解を行った後、Fmoc-Nva-OH、P3 フラグメント、Boc-Glu(Ot-Bu)-OH の縮合と Fmoc 基の脱保護を繰り返すことで、環化前駆体 **20–23** を合成した。続いて、得られた環化前駆体に対して、第 2 世代 Hoveyda-Grubbs 触媒または Grubbs 触媒を用いた RCM、TFA による Boc 基および *t*-Bu 基の脱保護、接触還元を行い、目的化合物 **16–19** を得た。また、架橋部の構造が阻害活性に及ぼす影響を検討するため、**16–19** の合成中間体であるアルケン体 **56–59** を単離し、阻害活性評価を行った。このアルケン体については、それぞれ目的物と同一質量を有する 2 つの化合物が単離されたため、HPLC での溶出順に「a」、「b」の文字を化合物番号に付記した。これらの化合物は、(*E*)-または (*Z*)-アルケン体であると推定しているが、NMR スペクトルからアルケンの幾何異性を決定することはできなかった。



Scheme 8. 大環状阻害剤の合成

Table 2. 大環状阻害剤の環サイズと P1、P3 フラグメントの組み合わせ

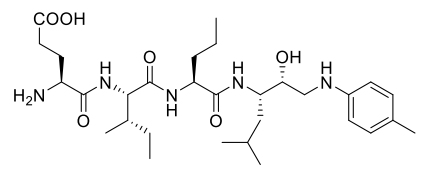
Ring size	P3	P1
12	24	27
13	25	27
14	26	27
15	25	28

第 4 項 大環状阻害剤の BACE1 阻害活性評価

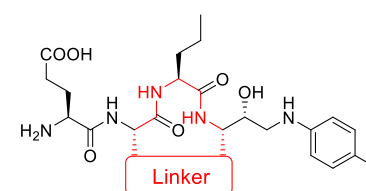
阻害活性は、第 1 章と同様の方法で IC₅₀ 値を算出して評価した (Table 3)。12 員環誘導体では、還元体 **16** (IC₅₀ = 1400 μM)、アルケン体 **56a** (IC₅₀ > 1500 μM)、**56b** (IC₅₀ = 1050 μM) のいずれも、阻害活性は大きく低下した。13 員環誘導体では、アルケンの幾何異性体の 1 つが

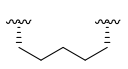
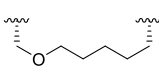
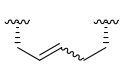
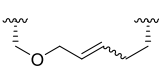
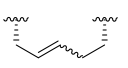
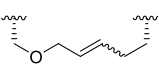
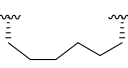
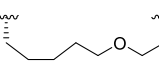
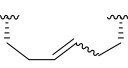

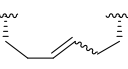

弱いながらも明らかな阻害活性を示し (**57a**: $IC_{50} = 380 \mu M$)、もう一方のアルケン体 **57b** との間に約 4 倍の阻害活性の差が認められた (**57b**: $IC_{50} = 1410 \mu M$)。また、還元体 **17** は、その中間程度の阻害活性を示した (**17**: $IC_{50} = 780 \mu M$)。一方、14 員環および 15 員環誘導体は、アルケンの有無およびアルケンの幾何異性にかかわらず、全く阻害活性を示さなかった (**18**、**58a**、**58b**: $IC_{50} > 1500 \mu M$ および **19**、**59a**、**59b**: $IC_{50} = N.D.$)。親化合物 **15** と比較して、合成したすべての環状化合物において阻害活性が低下したが、13 員環誘導体 **57a** が比較的良好な阻害活性を維持したことから、13 員環が阻害活性の発現に最適な環サイズであることが推定された。

Table 3. 大環状阻害剤の BACE1 阻害活性



15 (control)



Ring size	Compound	Linker	IC_{50} (μM)	Ring size	Compound	Linker	IC_{50} (μM)
(control)	15		6.1				
12	16		1400	14	18		>1500**
	56a*		>1500**		58a*		>1500**
	56b*		1050		58b*		>1500**
13	17		780	15	19		N.D.***
	57a*		380		59a*		N.D.***
	57b*		1410		59b*		N.D.***

* The alkene geometry could not be determined.
 ** $\approx 20\text{--}40\%$ inhibition at $1500 \mu M$
 *** N.D.: not detected

第 5 項 大環状阻害剤の相互作用解析

合成した環状化合物における阻害活性低下の原因を探索するため、rBACE1 との相互作用モデルを構築した。比較的良好な阻害活性を示した **57a** について、阻害剤 **2b** の結晶構造を鋳型としたテンプレートドッキングを行った (Figure 23)。13 員環アルケン体 **57a** はアルケン部の幾何異性が決定できなかったため、ドッキングシミュレーションでは、(E)-および (Z)-アルケン両方についてモデル構築を行った。その結果、いずれの環状阻害剤でも、得られた相互

作用モデルにおいて、P1'、P1、P2、P3 側鎖が対応する S1'、S1、S2、S3 ポケットに收容されていることを確認することができた (Figure 23a)。一方、第 1 章のドッキングシミュレーションと同様に P4 グルタミン酸のカルボキシ基とアミノ基の位置が異なっていた。HEA 部分の水酸基とアミノ基は、鑄型化合物 **2b** と同様に、2 つのアスパラギン酸残基と水素結合を形成していることが示唆された。P1-P3 架橋部においては、(E)-および (Z)-アルケン誘導体の間に明確な違いが見られた (Figure 23b)。(Z)-アルケンの架橋部は、より大員環の外側に突出しており、その結果 rBACE1 のファンデルワールス (vdW) 面に近接していた。一方、(E)-アルケンの架橋部は、(Z)-アルケンと比較して内側に位置しており、vdW 面から離れていた。これらの結果は、(Z)-アルケン誘導体が (E)-アルケン誘導体よりも、S1-S3 ポケットにおいて、rBACE1 と強い疎水性相互作用を形成しうることを示唆していることから、**57a** は Z 体であると推定した。

次に P3 側鎖の相互作用に着目すると、鑄型化合物 **2b** のイソロイシン側鎖は vdW 面に近接しており、rBACE1 と疎水性相互作用を形成していることが示されているのに対して、環状阻害剤の P3 側鎖に該当する部分は vdW 面から離れた場所に位置しており、大環状阻害剤においては鑄型化合物 **2b** で観察された P3 側鎖での疎水性相互作用が失われていることが示唆された (Figure 19c)。これらの結果から、単純な架橋構造の導入では、S3 ポケットに存在する疎水性空間の占有率が低く、十分な疎水性相互作用が形成されないため、阻害活性が低下したものと推定した。

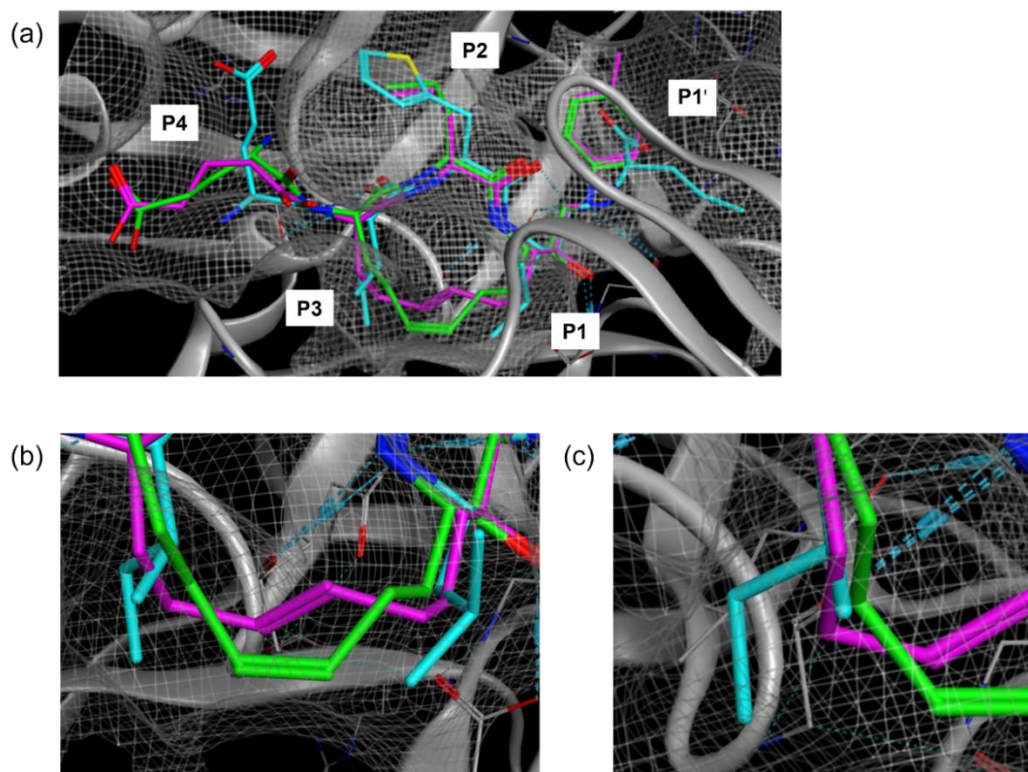


Figure 23. 13 員環アルケン体 **57a** および **57b** の rBACE1 との相互作用モデル。周囲の網掛けは rBACE1 の vdW 面を示している。(a) 鑄型化合物 **2b** (シアン) および 13 員環アルケン体 ((Z)-アルケン: 緑、(E)-アルケン: マゼンタ) の重ね合わせの全体図、(b) S1-S3 ポケットの拡大図、(c) S3 ポケットの拡大図。

第3節 P3 修飾付加型大環状 BACE1 阻害剤の合成と活性評価

第1項 P3 修飾付加型大環状阻害剤の設計と逆合成解析

第2節第5項のドッキングシミュレーションの結果から、阻害活性を向上させるためには、より立体的にかさ高い置換基を架橋部に導入する必要があることが示唆された。そこで、Figure 23c の P3 位に着目し、P3-β 位に阻害剤 **2b** のイソロイシン側鎖に対応するアルキル基を有する新規大環状阻害剤 **60–62** を設計した (Figure 24)。環サイズは、第2節第4項の結果から 13 員環に固定した。P3-β 位へ導入するアルキル基には 1 つまたは 2 つのメチル基を選択し、モノメチル誘導体においてはメチル基の立体配置が阻害活性に及ぼす影響も検討することとした。架橋構造の構築には、前節と同様に RCM を用い、RCM に必要となる側鎖に末端アルケンを有する P1 および P3 フラグメントを合成した。

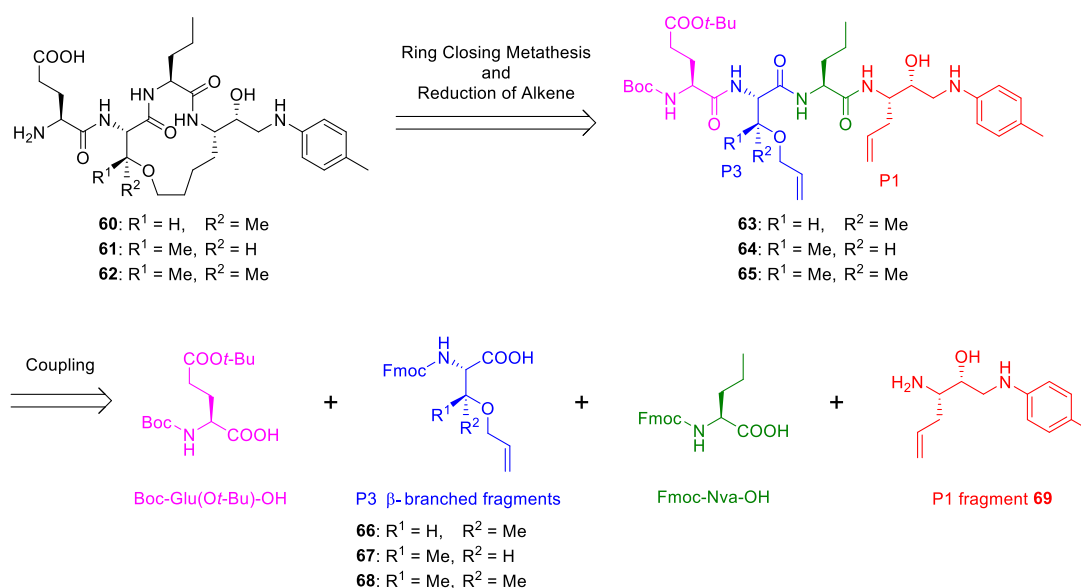
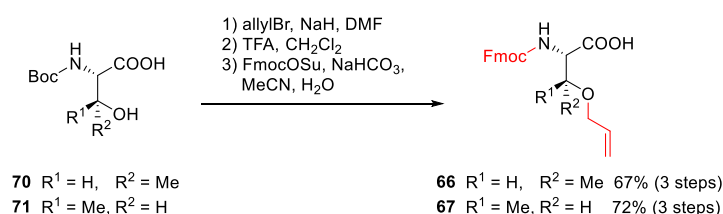


Figure 24. P3 修飾付加型大環状阻害剤 **60–62** の逆合成解析

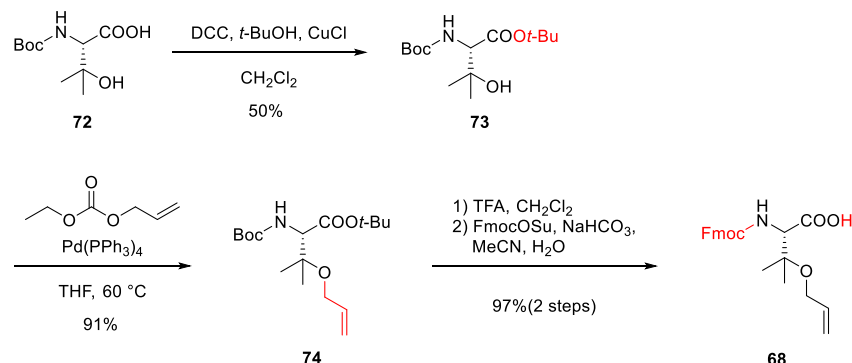
第2項 P1、P3 フラグメントと P3 修飾付加型大環状阻害剤の合成

β 位の立体化学が異なる P3 フラグメント **66** および **67** は、それぞれ市販で入手可能なスレオニン誘導体 **70** と *allo*-スレオニン誘導体 **71** の側鎖水酸基のアリル化、Boc 基の脱保護およびアミノ基の Fmoc 化を行うことで合成した (Scheme 9)。



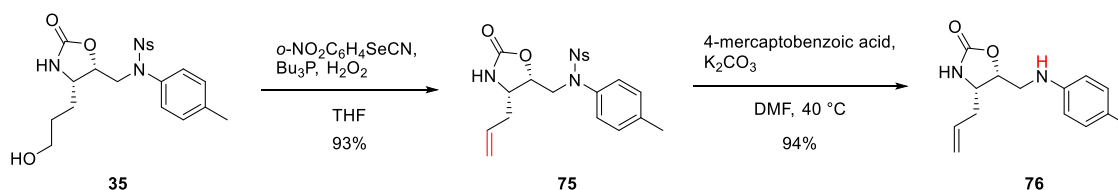
Scheme 9. P3 フラグメント **66** および **67** の合成

P3-β位にジメチル基を有する P3 フラグメント **68** は、既知化合物 **72**²³ から合成した (Scheme 10)。化合物 **72** のカルボン酸を *t*-Bu 基で保護した後、辻・トロスト反応を用いてアリル化を行い、化合物 **74** を得た。Boc 基および *t*-Bu 基を TFA で脱保護し、アミンを Fmoc 基で保護することで P3 フラグメント **68** を得た。



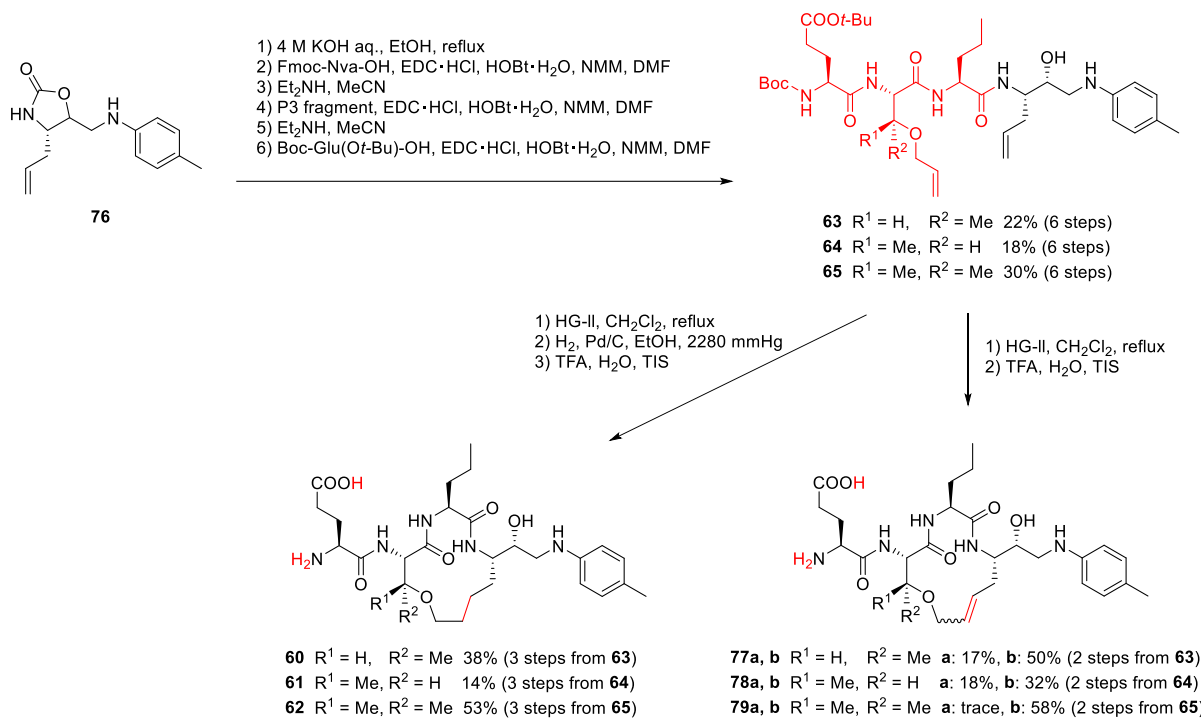
Scheme 10. P3 フラグメント **68** の合成

これらの P3 フラグメントと組み合わせて 13 員環を構築するため、P1 フラグメント前駆体 **36** より 1 炭素短い側鎖を有する P1 フラグメント前駆体 **76** を合成した (Scheme 11)。P1 フラグメント前駆体 **36** の合成中間体である化合物 **35** から合成を開始し、西沢-Grieco 脱離を行うことでアルケン体 **75** を得た。続いて、アルケン **75** のノシル基を脱保護し、P1 フラグメント前駆体 **76** を合成した。



Scheme 11. P1 フラグメント前駆体 **76** の合成

P1 フラグメント前駆体 **76** および P3 フラグメント **66**、**67**、**68** を用いて、Scheme 8 と同様の合成法により環化前駆体 **63–65** を得た (Scheme 12)。続いて第 2 世代 Hoveyda-Grubbs 触媒での RCM を行った後、前節と同様の手順で目的化合物 **60–62** の合成を試みたが、アルケンの還元反応が進行せず、目的化合物を得ることはできなかった。これは、脱保護された化合物の溶解度が低いことが原因であると考えられたため、脱保護前に接触還元を行うこととした。反応性の向上と反応時間の短縮を目的として加圧下 (2280 mmHg) で接触還元反応を行ったところ還元反応は進行し、目的化合物 **60–62** を得ることができた。また、前節と同様に架橋部の構造が阻害活性に及ぼす影響を検討するため、環化前駆体 **63–65** から RCM と Boc 基および *t*-Bu 基の脱保護によりアルケン誘導體 **77–79** を合成した。この際、アルケン部の異性体と推定される化合物 **79a** は、構造決定および阻害活性評価をできるだけ量の量を得ることができなかったため、以降の検討には用いなかった。



Scheme 12. P3 修飾付加型大環状阻害剤の合成

合成した多くのアルケン誘導体について、そのアルケンの幾何異性を決定することはできなかったが、**79b** のみ nOe 相関において、アルケンに隣接する炭素原子に結合する H1^a と H4^a との間に相関が認められた (Figure 25)。この相関は、(Z)-アルケンでは確認されうる相関であるが、(E)-アルケンでは確認されえない相関であることから、**79b** は Z 体であると決定した。

この結果から、**79a** は (E)-アルケンであることが推定された。**79a** では、P3-β位のジメチル基の立体効果により (E)-アルケンを含む環状構造のコンフォメーションが制限され、環の歪みが大きくなっている可能性が考えられる。そのため、RCM 時における (E)-アルケンの形成が不利となり、ほぼ独占的に (Z)-アルケン **79b** が得られたと考えている。

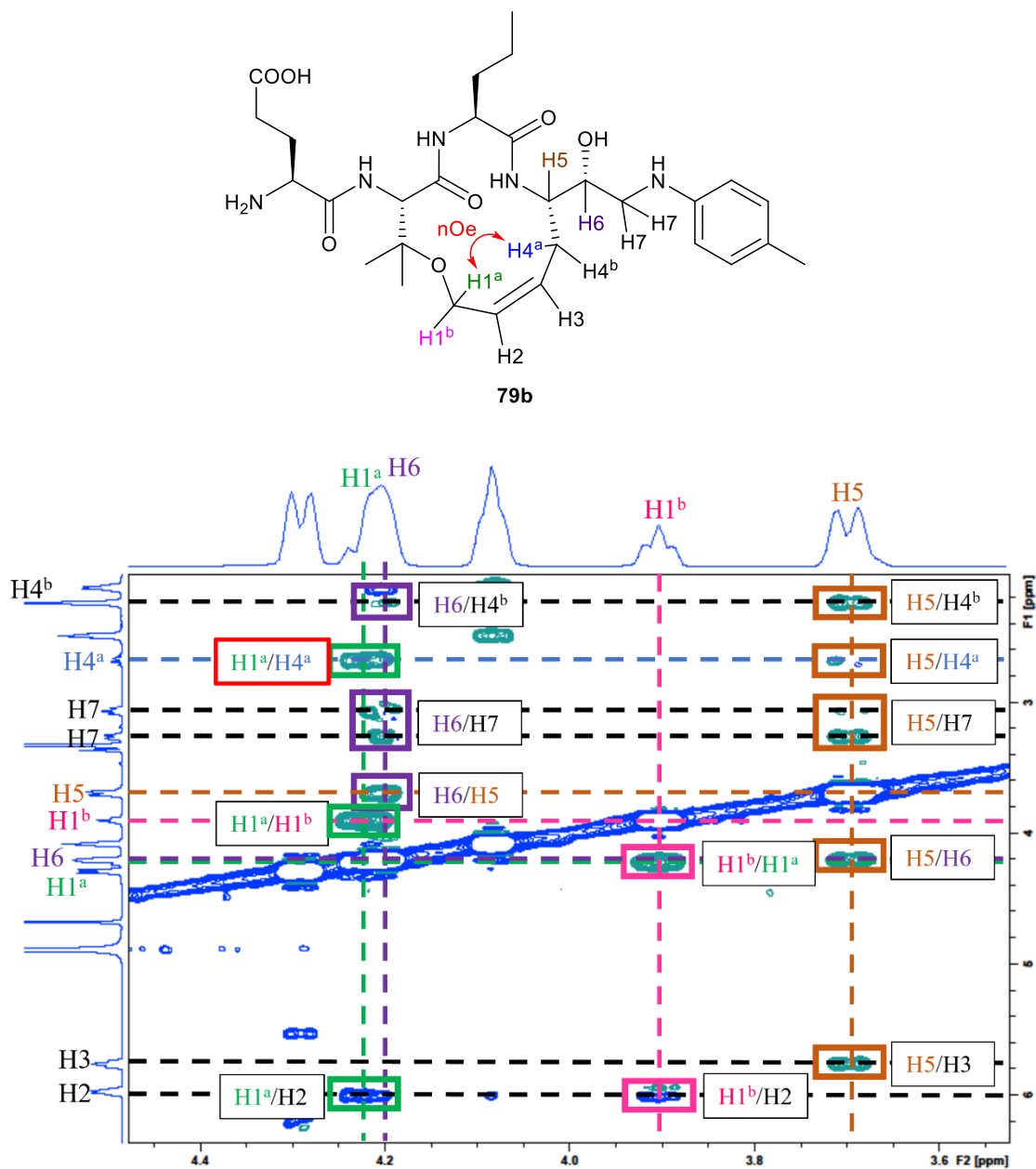


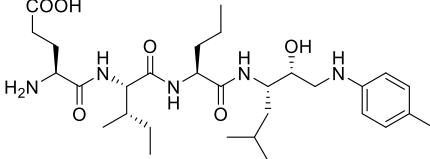
Figure 25. 化合物 79b の nOe 相関

第 3 項 P3 修飾付加型大環状阻害剤の BACE1 阻害活性評価

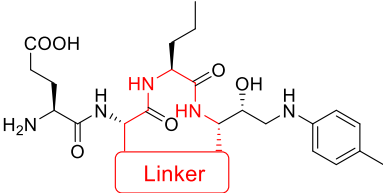
阻害活性の評価は、前節と同様の方法を用いて行った (Table 4)。(R)-メチル基を有する 60、77a および 77b では、アルケンの幾何異性体の一つである 77b が良好な阻害活性を示し、P3 非修飾型大環状阻害剤 57a と比較して約 3 倍の阻害活性の向上が認められた (77b: IC₅₀ = 117 μM vs. 57a: IC₅₀ = 380 μM)。しかし、還元体 60 およびもう一方のアルケン体 77a の阻害活性は著しく低下した (60: IC₅₀ = 1000 μM および 77a: IC₅₀ = 1420 μM)。これらの結果は、P3 非修飾型誘導体の場合と同様に、架橋部に存在するアルケンの有無およびアルケンの幾何異性が阻害活性に大きく影響していることを示唆している。(R)-メチル誘導体における上記の阻害活

性の傾向は、(S)-メチル誘導体 **61**、**78a** および **78b** でも同様に認められた (**78b**: $IC_{50} = 11.7 \mu M$; **61**: $IC_{50} = 135 \mu M$; **78a**: $IC_{50} = 1000 \mu M$)。また、これらの阻害活性は対応する (R)-メチル誘導体よりも高く、**78b** は **77b** と比較して 10 倍高い阻害活性を示した (**78b**: $IC_{50} = 11.7 \mu M$ vs. **77b**: $IC_{50} = 117 \mu M$)。ジメチル誘導体 **62** および **79b** では、更なる阻害活性の向上が認められた (**62**: $IC_{50} = 6.1 \mu M$ および **79b**: $IC_{50} = 3.9 \mu M$)。特に、(Z)-アルケン体 **79b** は、P3 非修飾型大環状阻害剤 **57a** と比較して約 100 倍、非環状阻害剤 **15** と比較して約 1.5 倍の阻害活性の向上を示した。これらの結果から、S3 ポケットはジメチル基を収容するのに十分な大きさを有しており、このポケットを疎水性置換基で占有することは、期待通り阻害活性の向上につながる事が示された。また、(S)-メチル基は、(R)-メチル基よりも阻害活性への寄与が大きいこと、2つのメチル基は相加的に作用していることが明らかとなった。

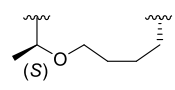
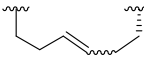
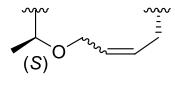
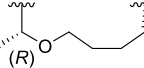
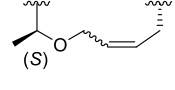
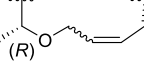
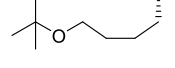
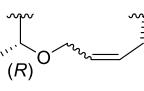
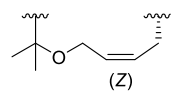
Table 4. P3 修飾付加型大環状阻害剤の BACE1 阻害活性



15 (control)



Linker

Compound	Linker	IC ₅₀ (μM)	Compound	Linker	IC ₅₀ (μM)
15 (control)		6.1	61		135
57a*		380	78a*		1000
60		1000	78b*		11.7
77a*		1420	62		6.1
77b*		117	79b**		3.9

* The alkene geometry could not be determined.
 ** *E/Z*-isomer was determined by nOe correlations.

第 4 項 P3 修飾付加型大環状阻害剤の相互作用解析

最も良好な阻害活性を示したジメチル (Z)-アルケン誘導体 **79b** について、rBACE1 とのドッキングシミュレーションを行った (Figure 26)。阻害剤 **79b** の P1–P3 側鎖は、S1–S3 ポケットに位置しており、HEA 部分の水酸基およびアミノ基の rBACE1 との相互作用は、P3 非修飾型阻害剤 **57a** および **57b** のものと一致していた。P3 位に着目すると、**79b** のジメチル基は鋳

型化合物 **2b** のイソロイシン側鎖とおおよそ同じ方向を向いていた (Figure 26b)。2つのメチル基は、それぞれ vdW 表面に近い場所に位置していることから、これらのジメチル基は S3 ポケットにおいて rBACE1 と疎水性相互作用を形成していることが示唆された。この疎水性相互作用の増加により、**79b** の阻害活性は **57a** と比較して向上したと考えている。ここで、**79b** のジメチル基のうち、モノメチル誘導体における (*R*)-および (*S*)-配置に相当するメチル基を比較した。その結果、*pro*-(*R*)-メチル基は鑄型化合物 **2b** の P3-β 位から伸びるエチル基と重なるように位置しているが、S3 ポケットおよびエチル基の奥に存在する S3 サブポケットを十分に占有できていないことが認められた。一方、*pro*-(*S*)-メチル基は S3 ポケットの狭い空間に存在しており、vdW 面の近くに位置していた。この P3-β 位メチル基のポケット内における占有位置の違いが、(*S*)-メチル基を有する阻害剤 (**61**: IC₅₀ = 135 μM、**78a**: IC₅₀ = 1000 μM および **78b**: IC₅₀ = 11.7 μM) が対応する (*R*)-メチル基を有する阻害剤 (**60**: IC₅₀ = 1000 μM、**77a**: IC₅₀ = 1420 μM および **77b**: IC₅₀ = 117 μM) と比較して高い阻害活性を示した理由であると考えている。また、**79b** の (*Z*)-アルケン部分は vdW 面の近くに位置しており、この結合構造は Figure 23b に示した (*Z*)-アルケン誘導体のドッキングシミュレーションの結果と類似のコンフォメーションであった (Figure 26c)。この結果は、架橋部において (*Z*)-アルケンが (*E*)-アルケンよりも阻害活性の向上に適しているという第2節第5項の知見を支持するものである。

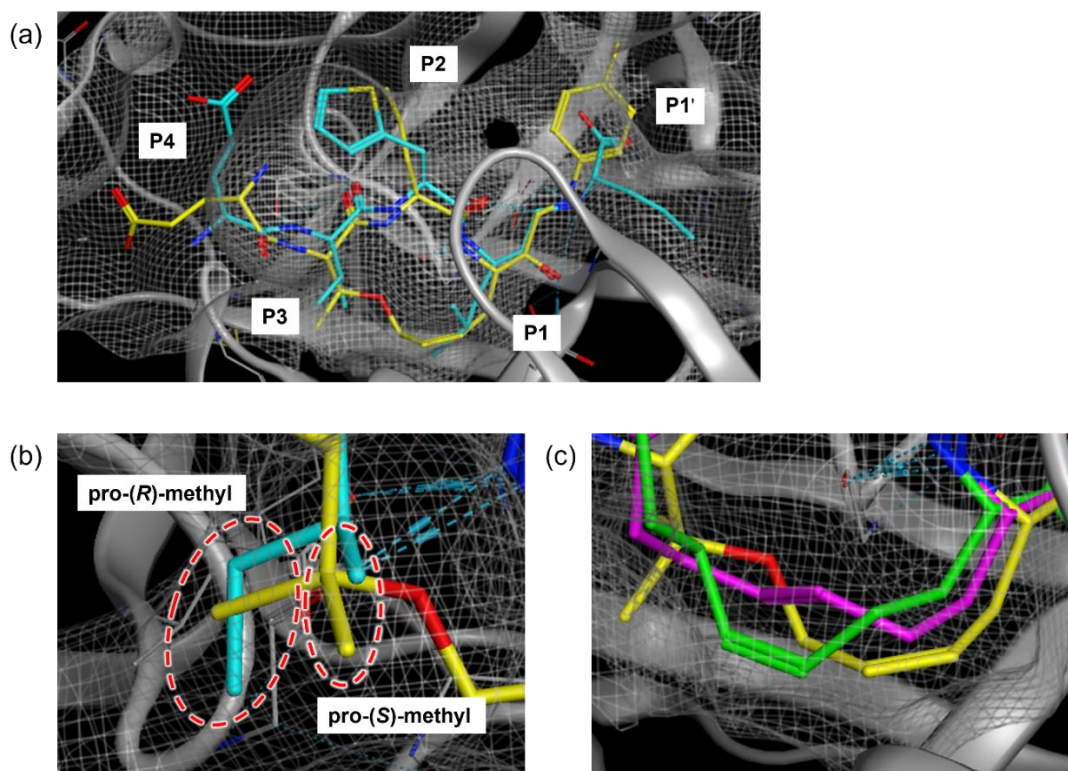


Figure 26. ジメチル (*Z*)-アルケン誘導体 **79b** の rBACE1 との相互作用モデル。(a) 鑄型化合物 **2b** (シアン) およびジメチル (*Z*)-アルケン誘導体 **79b** (黄) の重ね合わせの全体図、(b) S3 ポケットの拡大図、(c) ジメチル (*Z*)-アルケン誘導体 **79b** (黄) および 13 員環誘導体 **57a**, **57b** ((*Z*)-アルケン: 緑、(*E*)-アルケン: マゼンタ) の重ね合わせの S1-S3 ポケット拡大図。

第4節 P1'-4-CMP 型大環状 BACE1 阻害剤の合成と活性評価

第1項 P1'-4-CMP 型大環状 BACE1 阻害剤の設計と逆合成解析

P3 修飾付加型の架橋構造を有する大環状阻害剤において、阻害活性の良好な化合物が見出されたことから、この大環状骨格を基に更なる阻害活性の向上を目的として、環外での構造変換を行った。第1章の構造活性相関研究の結果に基づいて、良好な阻害活性を示した4-カルボキシメチルフェニル (4-CMP) 基を P1'位に導入した大環状阻害剤 **80** を設計した (Figure 27)。阻害剤 **80** の逆合成解析は前節と同様である。

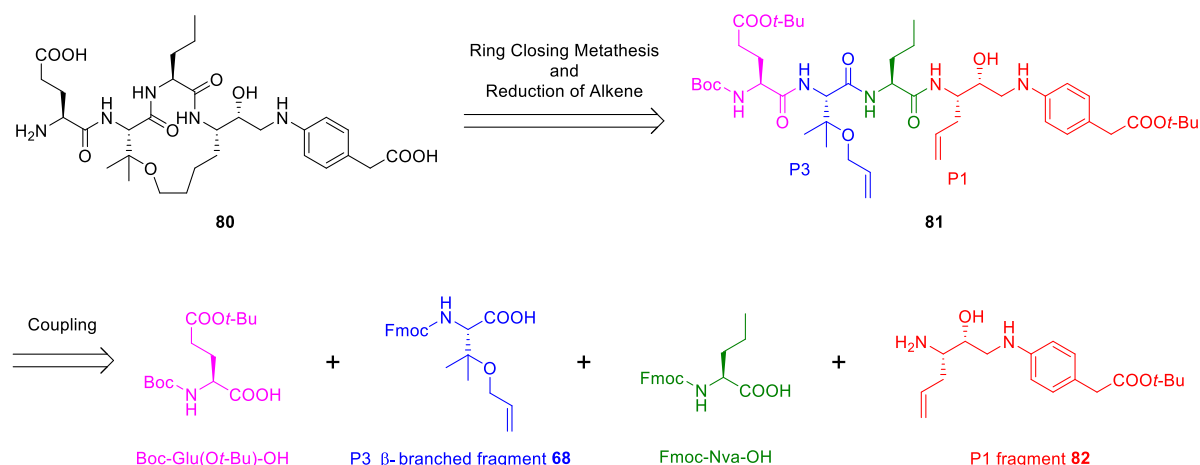
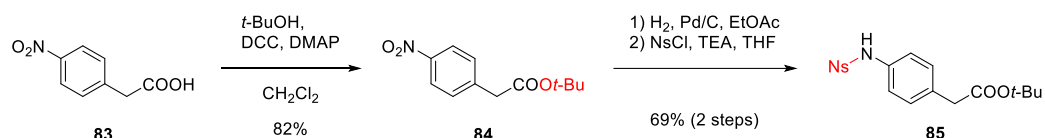


Figure 27. P1'-4-CMP 型大環状阻害剤 **80** の逆合成解析

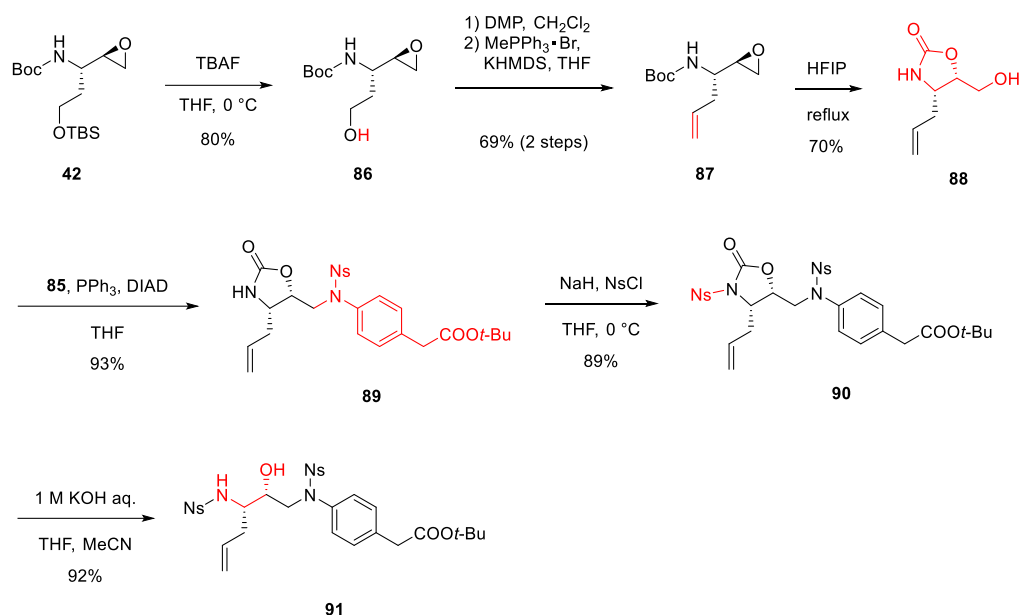
第2項 P1 フラグメントと P1'-4-CMP 型大環状阻害剤の合成

P1 フラグメント **82** の合成に必要なノシル保護された P1'ユニット **85** の合成を行った (Scheme 13)。市販で入手可能な4-ニトロフェニル酢酸 **83** のカルボン酸を *t*-Bu 基で保護した後、ニトロ基を還元し、得られたアミンをノシル基で保護することで P1'ユニット **85** を得た。



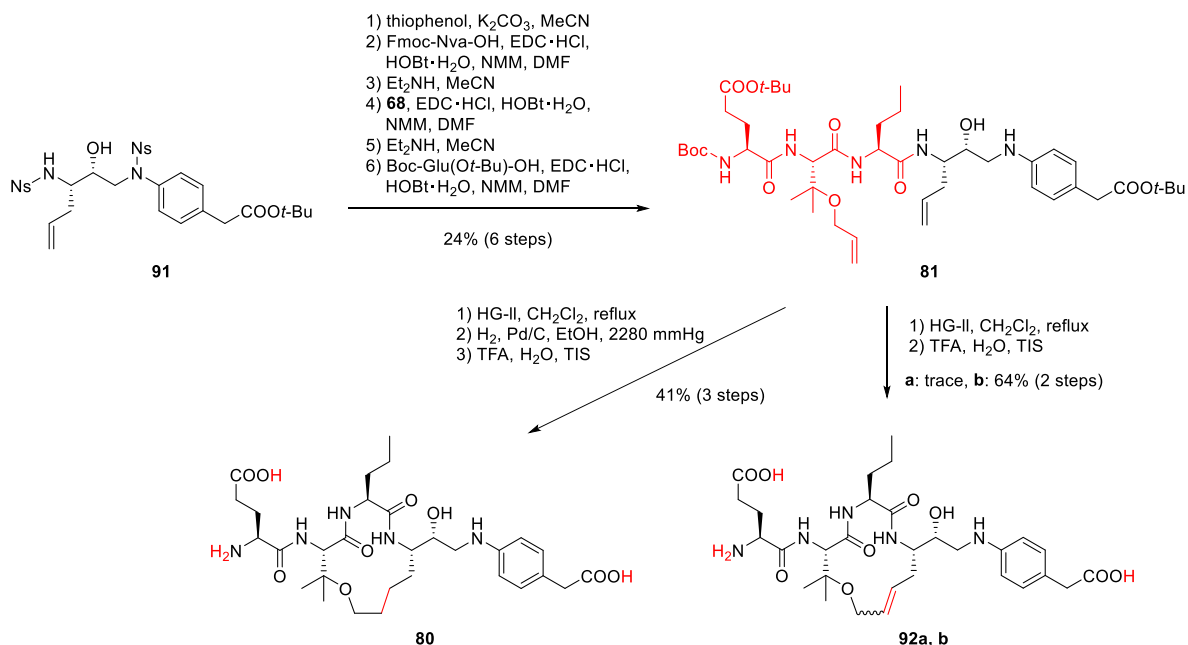
Scheme 13. P1'ユニット **85** の合成

この P1'ユニット **85** を用いて、P1 フラグメント前駆体 **91** を合成した (Scheme 14)。まず、P1 フラグメント前駆体 **46** の合成中間体 **42** の TBS 基を脱保護し、アルコール **86** を得た。この水酸基を Dess-Martin 酸化と Wittig 反応によりアルケンへと変換し、エポキシド **87** に対する HFIP を用いた分子内環化反応によりオキサゾリジノン **88** へと誘導後、光延反応により P1'ユニット **85** を導入することで化合物 **89** を得た。オキサゾリジノン上の窒素原子にノシル基を導入した後、室温、1 M 水酸化カリウム水溶液という反応条件で加水分解反応を行い、P1 フラグメント前駆体 **91** を合成した。



Scheme 14. P1 フラグメント前駆体 **91** の合成

大環状化合物 **80** および **92b** は、P1 フラグメント前駆体 **91** に対して、チオフェノールを用いたノシル基の脱保護を行った後、Scheme 12 と同様の手順に従い、環化前駆体 **81** を経由して合成した (Scheme 15)。ここで、アルケン誘導体 **92a** は、**79a** と同様に十分な収量を得ることができなかつたため、以降の検討には用いなかつた。また、**92b** のアルケンの幾何異性は、**79b** と同様に *nOe* 相関から *Z* 体であると決定した (Figure 28)。



Scheme 15. P1'-4-CMP 型大環状阻害剤の合成

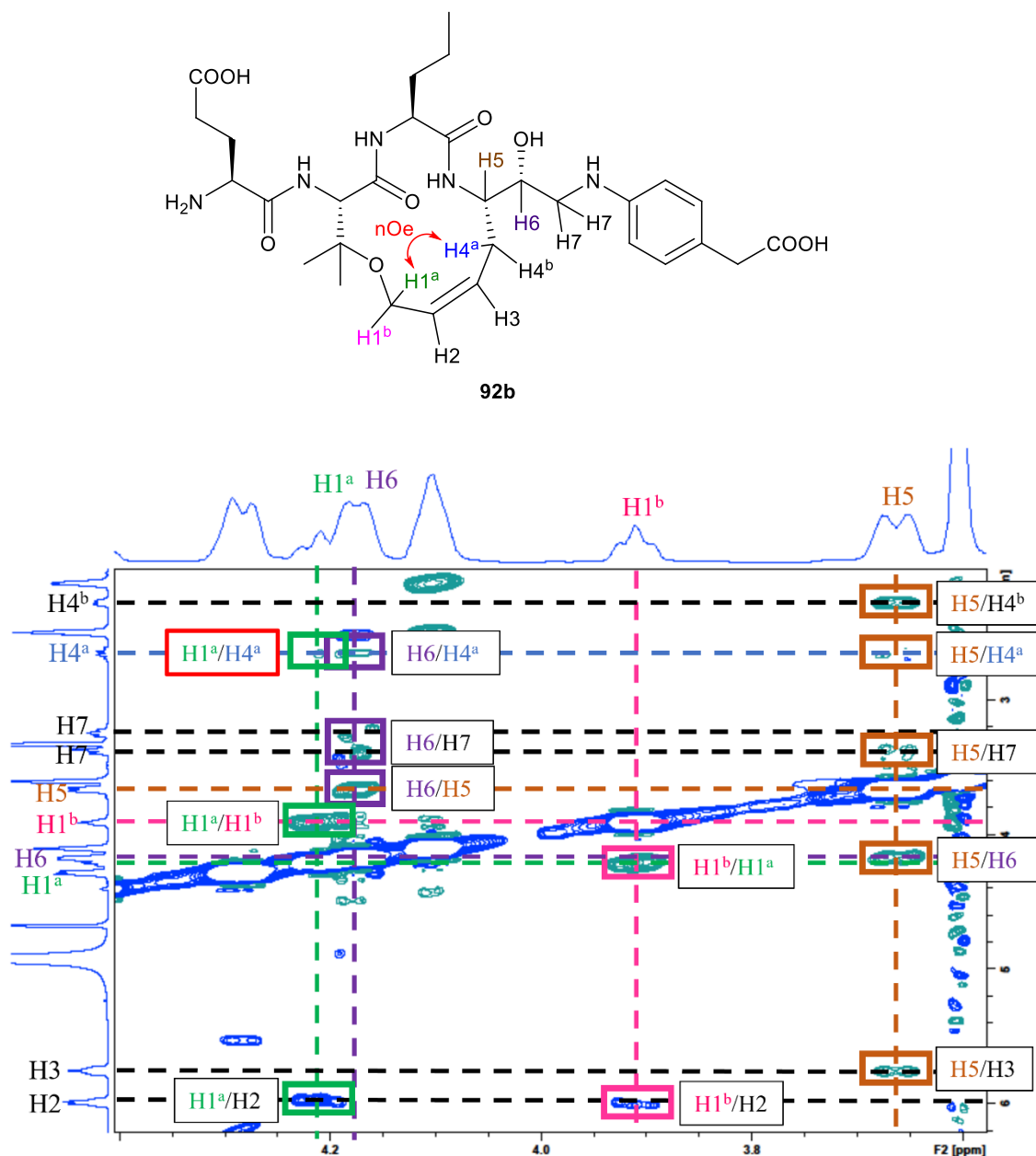


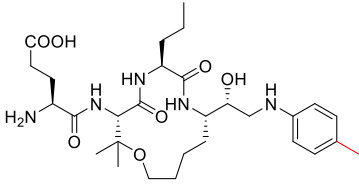
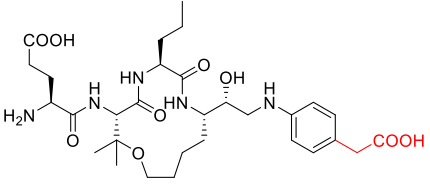
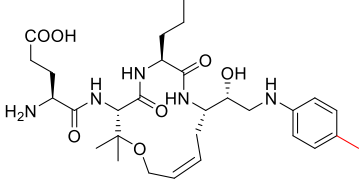
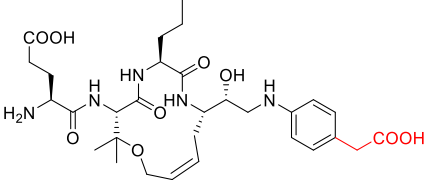
Figure 28. 化合物 92b の nOe 相関

第 3 項 P1'-4-CMP 型大環状阻害剤の BACE1 阻害活性評価

合成した P1'-4-CMP 型誘導体の rBACE1 に対する阻害活性評価を行った (Table 5)。いずれの P1'-4-CMP 型誘導体においても、対応する P1'-トリル型大環状阻害剤と比較して、約 3.5 倍の阻害活性の向上を示し (62: $IC_{50} = 6.1 \mu M$ vs. 80: $IC_{50} = 1.6 \mu M$ および 79b: $IC_{50} = 3.9 \mu M$ vs. 92b: $IC_{50} = 1.2 \mu M$)、ポジティブコントロールとして用いたラナビセスタットを超える阻害活性が認められた (80: $IC_{50} = 1.6 \mu M$ および 92b: $IC_{50} = 1.2 \mu M$ vs. Lanabecestat: $IC_{50} = 1.9 \mu M$)。大環状阻害剤における阻害活性の向上率は、第 1 章で示した非環状阻害剤への 4-CMP 基の導入により観測された値よりも低かったが (4: $IC_{50} = 4.0 \mu M$ vs. 5g: $IC_{50} = 0.43$

μM)、4-CMP 基を P1'位に導入することで、期待通り阻害活性が向上した誘導体を得ることができた。

Table 5. P1'-4-CMP 型大環状阻害剤の BACE1 阻害活性

P1'-tolyl type	IC ₅₀ (μM)	P1'-4-CMP type	IC ₅₀ (μM)
	6.1		1.6
	3.9		1.2
		Lanabecestat	1.9

第 4 項 P1'-4-CMP 型大環状阻害剤の相互作用解析

最も阻害活性の良かった **92b** についてドッキングシミュレーションを行った (Figure 29)。阻害剤 **92b** と rBACE1 との結合構造は、**79b** と類似していた (Figure 29a)。新たに置換基を導入した P1'位に着目すると、カルボキシ基は、rBACE1 の Lys285 に近接していた。しかし、カルボキシ基と Lys285 の側鎖アミノ基との間にイオン結合は確認されず (Figure 29b)、イオン結合が確認された非環状阻害剤 **5g** のドッキングシミュレーションの結果とは異なっていた (Figure 29c)。これは、環状構造の形成によって構造全体がわずかにひずみ、非環状阻害剤 **5g** と比較してカルボキシ基の位置が変化したためであると考えた。今回の相互作用モデルは、酵素側の構造を固定して構築したものであるため、実際には **92b** のカルボキシ基は Lys285 と相互作用している可能性もあるが、この構造のひずみとカルボキシ基の位置の違いが大環状阻害剤における阻害活性の向上率の低さの原因であると考えている。この推定を検証するため、**5g** および **92b** の rBACE1 との共結晶を現在作成中である。

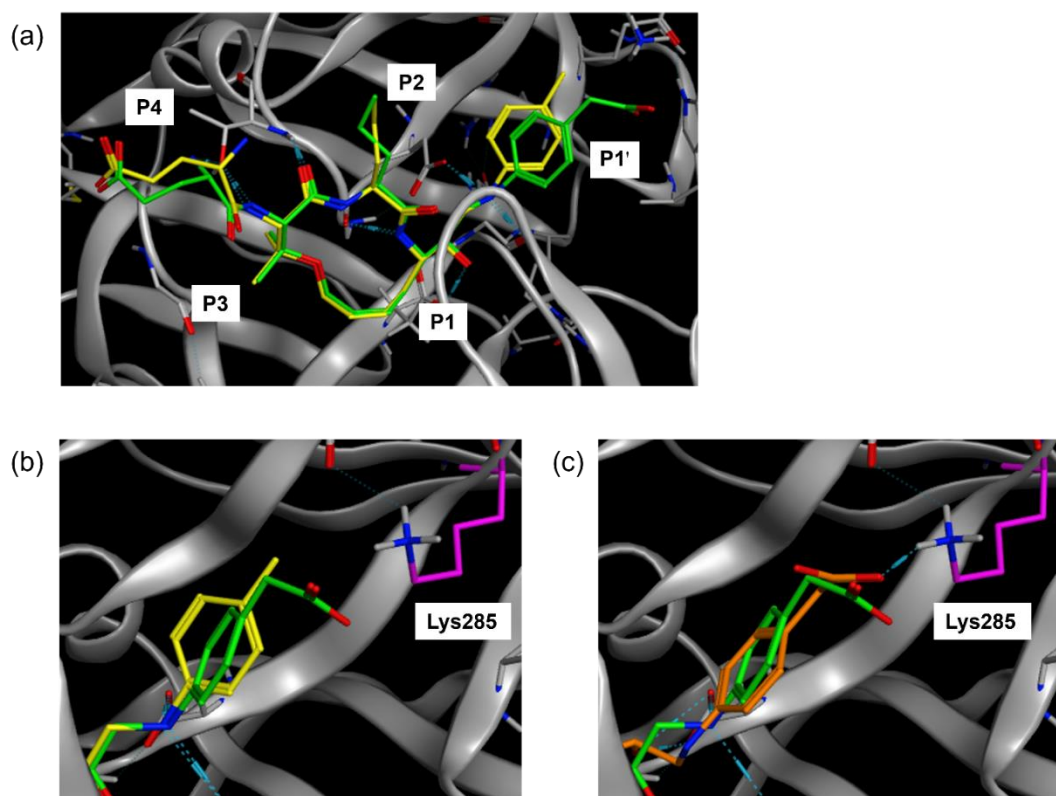


Figure 29. P1'-4-CMP 型誘導体 **92b** の rBACE1 との相互作用モデル。マゼンタの残基は BACE1 のリジン残基を、阻害剤と BACE1 の残基間に存在する点線は 3.5 Å 以内の相互作用を示している。(a) ジメチル (Z)-アルケン誘導体 **79b** (黄) および P1'-4-CMP 型誘導体 **92b** (緑) の重ね合わせの全体図、(b) P1'ポケットの拡大図、(c) P1'-4-CMP 型誘導体 **92b** (緑) および非環状誘導体 **5g** (オレンジ) の重ね合わせの P1'ポケット拡大図。

第5節 小括

先行研究で見出されたペプチド性阻害剤における阻害活性の向上を目的として、阻害剤 **2b** と rBACE1 との共結晶 X 線結晶構造解析の結果に基づき、12~15 員環を有する大環状阻害剤を設計・合成し、阻害活性評価を行った。これらの大環状阻害剤は、様々な側鎖長の末端アルケンを有する P1 および P3 フラグメントを用いて RCM により合成した。すべての大環状阻害剤は、非環状阻害剤 **15** と比較して、阻害活性の著しい低下を示したが、13 員環誘導体の 1 つである **57a** が比較的良好な阻害活性を維持したことから、環状構造の大きさは 13 員環が適当であると推定した。また、ドッキングシミュレーションを用いた **57a** の相互作用モデル解析では、P3 位の疎水性相互作用の喪失が阻害活性の低下に寄与していることが示唆された。

これらの結果に基づき、次に阻害剤の P3- β 位に置換基を有する 13 員環阻害剤の合成と阻害活性評価を行った。合成したモノメチル誘導体のうちの 3 化合物 (**61**、**77b** および **78b**) において、期待通り P3 非修飾型大環状阻害剤 **57a** と比較して阻害活性の向上が認められ、(S)-メチル基を有する誘導体 **78b** は、対応する (R)-メチル誘導体 **77b** よりも良好な阻害活性を示した。さらに、P3- β 位にジメチル基を導入すると、阻害活性の更なる向上が認められた。最も良い阻害活性を示した **79b** の相互作用モデルでは、2 つのメチル基が鑄型化合物 **2b** の P3 側鎖と同様に S3 ポケットを占有していること、pro-(S)-メチル基が pro-(R)-メチル基よりも vdW 面に近接していること、(Z)-アルケンが S1-S3 ポケットにおける相互作用形成において有利であること、が示唆された。以上の結果から、P1-P3 側鎖を架橋した大環状阻害剤の阻害活性には、S3 ポケットでの疎水性相互作用と (Z)-アルケンによる架橋部構造のコンフォメーション制御が重要であることを明らかにした。

さらに、第 1 章で最も良い阻害活性を示した P1'位の置換基である 4-CMP 基を大環状阻害剤 **79b** の P1'位に導入することで、非環状阻害剤 **15** よりも約 5 倍阻害活性が向上した新規大環状阻害剤 **92b** を見出した。また、この 4-CMP 型大環状阻害剤は、ラナベセスタットを超える阻害活性を有していた。

総括

第1章では、ペプチド性 HEA 型 BACE1 阻害剤の P1'位における詳細な構造活性相関研究を行った。合成した 21 種類の阻害剤のうち、P1'位ベンゼン環のパラ位にカルボキシメチル基を有する **5g** において、非常に強力な阻害活性が確認された。そのドッキングシミュレーションからは、S1'ポケットでの Lys285 側鎖アミノ基と導入したカルボキシ基とのイオン結合の形成を示唆するデータが得られた。以上の結果から、P1'位の芳香環およびその置換基の S1'ポケットでの相互作用が、HEA 型阻害剤の阻害活性に大きく影響することを見出した。

第2章では、ペプチド性 BACE1 阻害剤の阻害活性向上を目的として、阻害剤 **2b** の X 線結晶構造解析の結果を基に設計した P1-P3 側鎖間に架橋構造を有する大環状阻害剤の合成と阻害活性評価を行った。12~15 員環を有する大環状阻害剤では、阻害活性の著しい低下が認められたが、13 員環誘導体の1つである **57a** が弱いながらも阻害活性を維持していたことから、13 員環が最適な環サイズであることが推定された。一方でドッキングシミュレーションの結果から、P3-β 位周辺での疎水性相互作用の欠如が阻害活性低下の原因であることが示唆されたため、続いて P3-β 位に置換基を有する 13 員環大環状阻害剤の合成を行った。その結果、P3-β 位への 2 つのメチル基の導入によって、阻害活性が大幅に向上することを見出した。また、高活性を示した誘導体 **79b** のドッキングシミュレーションの結果から、P1-P3 側鎖を架橋した大環状阻害剤の阻害活性には、S3 ポケットでの疎水性相互作用と (Z)-アルケンによる架橋部構造のコンフォメーション制御が重要であることが示唆された。さらに、この大環状阻害剤 **79b** の P1'位に、第1章において良好な阻害活性を示した 4-CMP 基を導入することで、非環状阻害剤 **15** から約 5 倍阻害活性の向上した新規大環状阻害剤 **92b** を見出した。

第1章で得られた **5g** と第2章で得られた **80** および **92b** の IC₅₀ 値は、既存の低分子型 BACE1 阻害剤であるラナベセスタットよりも良好であったことから、これらの阻害剤は AD 治療薬開発における有望なリード化合物となることが期待される。

本研究は、P1'位の構造最適化および大環状化による阻害活性への影響に関する有用な知見を提供するものであり、これらの知見は今後の BACE1 阻害剤開発に貢献するものと考えられる。

実験の部

使用機器等について

本実験に際し、各反応は特記のない限りアルゴン雰囲気下で行った。反応追跡のための薄層クロマトグラフィーには Silicagel 70 F₂₅₄ TLC Plate-Wako を用いた。スポットの検出には 254 nm の UV 照射または、発光剤に 5%リンモリブデン酸/エタノール溶液、5%ニンヒドリン/エタノール溶液を用いた呈色反応を利用した。カラムクロマトグラフィーにはシリカゲル Wakogel 60N (63–212 μm)、Wakogel C-300E (45–75 μm) または Wakogel C-200E (75–150 μm) のいずれかを用い、分取薄層クロマトグラフィーは Silicagel 70 PF₂₅₄ Plate-Wako (膜厚 0.75 mm) を用いて行った。

分析高速液体クロマトグラフィーには、ポンプに HITACHI Chromaster 5110 型、紫外線可視吸光検出器に HITACHI L-7405 型を用い、カラムに COSMOSIL 5C₁₈-AR-II (4.6 ID × 150 mm) を使用した。分取高速液体クロマトグラフィーには、ポンプに Shimadzu LC-10AT 型または LC-20AT 型、紫外線可視吸光検出器に Shimadzu SPD-10A 型を用い、カラムは COSMOSIL 5C₁₈-AR-II (20 ID × 250 mm) を使用した。分析、分取での HPLC の溶出液は 0.05%TFA 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 および ¹³C NMR スペクトルは Bruker AV300 (300 MHz)、Bruker AV500 (500 MHz) のいずれかで測定した。溶媒には、クロロホルム-*d* またはメタノール-*d*₄ を用いた。ケミカルシフトには ppm を用い、内部標準物質としてテトラメチルシラン、クロロホルムまたはメタノールのいずれかを使用した。また、カップリング定数には Hz を利用した。

高分解能質量測定は JEOL SX-102A (FAB)、JEOL GC mate II (EI) または 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。

融点はヤナコ微量融点測定装置を用いて測定した。

第 1 章の実験の部

Benzyl (*S*)-(5-methylhex-1-en-3-yl)carbamate (9)

アルゴン雰囲気下、Z-Leu-OH **10** (5.07 g, 19.1 mmol)、HOBt 一水和物 (3.24 g, 21.1 mmol)、EDC 塩酸塩 (4.35 g, 22.7 mmol) をジクロロメタン (38 mL) に溶解し、0 °C で 5 分間攪拌した。この溶液に *N,O*-ジメチルヒドロキシルアミン塩酸塩 (2.38 g, 24.4 mmol)、NMM (2.49 mL, 22.6 mmol) を加え、室温で 3 時間攪拌した。減圧下で溶媒を留去した後、残渣に酢酸エチル、1 M 塩酸水溶液を加え、有機層を 1 M 塩酸水溶液、飽和炭酸水素ナトリウム水溶液、飽和塩化ナトリウム水溶液で洗浄し、無水硫酸マグネシウムで乾燥させた。濾過後、減圧下で溶媒を留去し、ワインレブアミドを粗精製物として得た。得られた生成物は精製を行わず次の反応に供した。

アルゴン雰囲気下、得られたワインレブアミド体を脱水 THF (37 mL) に溶解し、-78 °C に冷却後、LAH (925 mg, 24.4 mmol) を加え、1 時間攪拌した。1 M 硫酸水素カリウム水溶液で反応を停止させ、酢酸エチルで抽出した後、有機層を 1 M 塩酸水溶液、飽和炭酸水素ナトリウム水溶液、飽和塩化ナトリウム水溶液で洗浄し、無水硫酸ナトリウムで乾燥させた。濾過後、減圧下で溶媒を留去し、アルデヒドを粗精製物として得た。得られた生成物は精製を行わず次の反応に供した。

アルゴン雰囲気下、メチルトリフェニルホスホニウムブロミド (9.85 g, 27.6 mmol) を脱水 THF (40 mL) に溶解し、0 °C に冷却後、NaHMDS (1.0 M THF 溶液; 28.0 mL, 28.0 mmol) を滴下し、10 分間攪拌した。この溶液にアルデヒド体を脱水 THF (144 mL) に溶解した溶液を滴下し、室温で終夜攪拌した。飽和塩化アンモニウム水溶液で反応を停止させ、減圧下で溶媒を留去した後、ヘキサンで抽出を行い、有機層を飽和塩化ナトリウム水溶液で洗浄し、無水硫酸マグネシウムで乾燥させた。濾過後、減圧下で溶媒を留去し、カラムクロマトグラフィ (ヘキサン: 酢酸エチル=10:1) で精製を行い、無色油状の化合物 **9** (3.74 g, 79%, over 3 steps) を得た。[α]_D²³ +5.76 (*c* 1.05, CHCl₃); ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ 7.38–7.31 (m, 5H), 5.24–5.01 (m, 4H), 5.74 (ddd, *J* = 17.2, 10.4, 5.9 Hz, 1H), 4.71–4.53 (m, 1H), 4.32–4.13 (m, 1H), 1.67 (ddd, *J* = 20.5, 13.2, 6.6 Hz, 1H; overlapped with an unknown peak), 1.41–1.30 (m, 2H), 0.97–0.88 (m, 6H); ¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃) δ 155.8, 139.1, 136.6, 128.5 (2C), 128.3, 128.1 (2C), 114.5, 66.7, 51.7, 44.4, 24.7, 22.7, 22.4; HRMS (ESI) *m/z* calcd for C₁₅H₂₁NO₂Na ([M+Na]⁺) 270.1465, found 270.1461.

Benzyl [(2*R*,3*S*)-1,2-dihydroxy-5-methylhexan-3-yl]carbamate (8)

フェリシアン化カリウム (12.3 g, 37.5 mmol)、炭酸カリウム (5.18 g, 37.5 mmol)、オスミウム酸カリウム二水和物 (18.4 mg, 50.0 μ mol)、(DHQD)₂AQN (107 mg, 125 μ mol) を *tert*-ブチルアルコール/水 (60 mL, 1:1 (v/v)) に溶解し、0 °C で 30 分間攪拌した。この溶液に化合物 **9** (3.09 g, 12.5 mmol) を *tert*-ブチルアルコール/水 (65 mL, 1:1 (v/v)) に溶解した溶液を滴下し、メタンサルホンアミド (1.19 g, 12.5 mmol) を加え、0 °C で終夜攪拌した。飽和亜硫酸ナトリウム水溶液で反応を停止させ、酢酸エチルで抽出後、有機層を飽和塩化ナトリウム水溶液で洗浄し、無水硫酸マグネシウムで乾燥させた。濾過後、減圧下で溶媒を留去し、カラムクロマトグラ

フィー (ヘキサン : 酢酸エチル = 1:1) および再結晶 (ヘキサン-酢酸エチル混合液) により、白色固体の化合物 **8** (2.68 g, 76%) を得た。融点 89–90 °C; $[\alpha]^{22}_{\text{D}} -33.4$ (c 1.01, CHCl_3); $^1\text{H NMR}$ (500 MHz, CDCl_3) δ 7.40–7.30 (m, 5H), 5.13 (d, $J = 12.2$ Hz, 1H), 5.09 (d, $J = 12.2$ Hz, 1H), 4.88–4.78 (br s, 1H), 3.90–3.81 (m, 1H), 3.72–3.65 (m, 1H), 3.61–3.47 (m, 2H), 2.87–2.77 (br m, 1H), 2.19–2.06 (br m, 1H), 1.73–1.63 (m, 1H), 1.62–1.51 (m, 1H, overlapped with H_2O peak), 1.35 (ddd, $J = 13.8, 8.8, 5.0$ Hz, 1H), 0.90–0.96 (m, 6H); $^{13}\text{C NMR}$ (75 MHz, CDCl_3) δ 157.4, 136.2, 128.5 (2C), 128.2, 128.0 (2C), 73.6, 67.0, 63.7, 49.9, 41.0, 24.7, 23.1, 21.9; HRMS (ESI) m/z calcd for $\text{C}_{15}\text{H}_{23}\text{NO}_4\text{Na}$ ($[\text{M}+\text{Na}]^+$) 304.1519, found 304.1516.

Benzyl {(2R,3S)-1-[(*tert*-butyldimethylsilyloxy)-2-hydroxy-5-methylhexan-3-yl]carbamate (11)

アルゴン雰囲気下、化合物 **8** (600 mg, 2.13 mmol) を脱水ジクロロメタン (8.5 mL) に溶解し、TEA (445 μL , 3.20 mmol)、DMAP (26.0 mg, 213 μmol)、TBSCl (354 mg, 2.35 mmol) を加え、室温で1時間攪拌した。この溶液に、TEA (445 μL , 3.20 mmol)、DMAP (26.0 mg, 213 μmol)、TBSCl (354 mg, 2.35 mmol) を追加し、さらに1時間攪拌した。飽和塩化アンモニウム水溶液で反応を停止させ、酢酸エチルで抽出後、有機層を1 M 塩酸水溶液、飽和塩化ナトリウム水溶液で洗浄し、無水硫酸マグネシウムで乾燥させた。濾過後、減圧下で溶媒を留去し、カラムクロマトグラフィー (ヘキサン : 酢酸エチル = 5:1) で精製を行い、無色油状の化合物 **11** (709 mg, 84%) を得た。 $[\alpha]^{23}_{\text{D}} -19.8$ (c 1.13, CHCl_3); $^1\text{H NMR}$ (500 MHz, CDCl_3) δ 7.38–7.28 (m, 5H), 5.12 (d, $J = 12.3$ Hz, 1H), 5.06 (d, $J = 12.3$ Hz, 1H), 5.00 (d, $J = 9.6$ Hz, 1H), 3.76–3.69 (m, 1H), 3.68–3.61 (m, 2H), 3.50–3.42 (m, 1H), 2.63 (br s, 1H), 1.71–1.63 (m, 1H), 1.56 (ddd, $J = 13.7, 9.5, 5.6$ Hz, 1H), 1.35 (ddd, $J = 13.7, 8.4, 5.3$ Hz, 1H), 0.96–0.90 (m, 6H), 0.89 (s, 9H), 0.06 (s, 3H), 0.05 (s, 3H); $^{13}\text{C NMR}$ (75 MHz, CDCl_3) δ 156.4, 136.6, 128.4 (2C), 128.0, 127.9 (2C), 73.3, 66.5, 64.7, 49.7, 41.9, 25.7 (3C), 34.6, 23.0, 22.1, 18.2, -5.44, -5.49; HRMS (ESI) m/z calcd for $\text{C}_{21}\text{H}_{37}\text{NO}_4\text{SiNa}$ ($[\text{M}+\text{Na}]^+$) 418.2384, found 418.2386.

Benzyl {(2R,3S)-1-[(*tert*-butyldimethylsilyloxy)-2-[(methylsulfonyloxy)-5-methylhexan-3-yl]carbamate (12)

アルゴン雰囲気下、化合物 **11** (3.40 g, 8.92 mmol) をジクロロメタン (72 mL) に溶解し、0 °C に冷却後、TEA (1.49 mL, 10.9 mmol)、MsCl (840 μL , 10.9 mmol) を加えて、30 分間攪拌した。飽和塩化アンモニウム水溶液で反応を停止させ、酢酸エチルで抽出後、有機層を飽和塩化ナトリウム水溶液で洗浄し、無水硫酸マグネシウムで乾燥させた。濾過後、減圧下で溶媒を留去し、カラムクロマトグラフィー (ヘキサン : 酢酸エチル = 5:1) で精製を行い、白色油状の化合物 **12** (4.05 g, 96%) を得た。 $[\alpha]^{23}_{\text{D}} -24.5$ (c 1.35, CHCl_3); $^1\text{H NMR}$ (500 MHz, CDCl_3) δ 7.39–7.29 (m, 5H), 5.14 (d, $J = 12.2$ Hz, 1H), 5.06 (d, $J = 12.2$ Hz, 1H), 4.80 (d, $J = 9.9$ Hz, 1H), 4.06–3.97 (m, 1H), 3.83–3.76 (m, 2H), 3.07 (s, 3H), 1.75–1.63 (m, 1H), 1.50 (ddd, $J = 14.0, 9.8, 5.2$ Hz, 1H), 1.39 (ddd, $J = 14.0, 8.8, 4.8$ Hz, 1H), 0.94 (d, $J = 6.6$ Hz, 6H), 0.89 (s, 9H), 0.07 (s, 3H), 0.06 (s, 3H); $^{13}\text{C NMR}$ (75 MHz, CDCl_3) δ 157.2, 135.9, 128.6 (2C), 128.3, 128.1 (2C), 83.6, 67.4, 61.1, 48.6, 40.7, 38.6, 25.6 (3C), 24.5, 23.0, 21.7, 18.1, -3.00 (2C); HRMS (ESI) m/z calcd for $\text{C}_{22}\text{H}_{39}\text{NO}_6\text{SiNa}$ ($[\text{M}+\text{Na}]^+$)

496.2160, found 496.2151.

Benzyl {(S)-3-methyl-1-[(S)-oxiran-2-yl]butyl}carbamate (7)¹⁷

アルゴン雰囲気下、化合物 **12** (3.43 g, 7.24 mmol) を脱水 THF (72 mL) に溶解し、0 °C において TBAF (1.0 M THF 溶液, 10.9 mL, 10.9 mmol) を加え、2 時間攪拌後、DBU (3.25 mL, 21.7 mmol) を加え、40 °C で 1 時間攪拌した。この溶液に、DBU (3.25 mL, 21.7 mmol) を追加し、さらに 1 時間攪拌した。反応液にジエチルエーテルを加え、有機層を水、飽和塩化ナトリウム水溶液で洗浄し、無水硫酸マグネシウムで乾燥させた。濾過後、減圧下で溶媒を留去し、カラムクロマトグラフィー (ヘキサン : 酢酸エチル = 4:1) で精製を行い、無色油状の化合物 **7** (990 mg, 52%) を得た。¹H NMR (500 MHz, CDCl₃) δ 7.40–7.29 (m, 5H), 5.10 (s, 2H), 4.67–4.53 (br m, 1H), 3.67–3.53 (m, 1H), 2.93–2.81 (m, 1H), 2.81–2.68 (m, 2H), 1.80–1.67 (m, 1H), 1.47–1.34 (m, 2H), 0.96–0.88 (m, 6H).

Benzyl [(2R,3S)-2-hydroxy-5-methyl-1-(phenylamino)hexan-3-yl]carbamate (6a)

アルゴン雰囲気下、化合物 **7** (52.2 mg, 198 μmol) をアセトニトリル (400 μL) に溶解し、アニリン (37.7 μL, 414 μmol)、LiOTf (31.4 mg, 201 μmol) を加え、還流条件下で 2 時間攪拌した。水で反応を停止させ、酢酸エチルで抽出後、有機層を 1 M 塩酸水溶液、飽和塩化ナトリウム水溶液で洗浄し、無水硫酸マグネシウムで乾燥させた。濾過後、減圧下で溶媒を留去し、カラムクロマトグラフィー (ヘキサン : 酢酸エチル = 3:1) で精製を行い、白色固体の化合物 **6a** (42.3 mg, 60%) を得た。融点 122–124 °C; [α]²⁴_D –7.08 (c 0.71, CHCl₃); ¹H NMR (500 MHz, CDCl₃) δ 7.38–7.29 (m, 5H), 7.23–7.11 (m, 2H), 6.78–6.71 (m, 1H), 6.66 (d, *J* = 7.8 Hz, 2H), 5.16–5.05 (m, 2H), 4.83 (d, *J* = 8.4 Hz, 1H), 3.89–3.79 (m, 1H), 3.79–3.70 (m, 1H), 3.32–3.23 (m, 1H), 3.10 (dd, *J* = 12.4, 7.7 Hz, 1H), 1.75–1.62 (m, 1H), 1.47–1.33 (m, 2H), 1.00–0.87 (m, 6H); ¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃) δ 157.1, 148.4, 136.2, 129.3 (2C), 128.6 (2C), 128.3, 128.1 (2C), 118.2, 113.7 (2C), 73.3, 67.1, 52.8, 46.5, 39.6, 24.8, 23.6, 21.6; HRMS (FAB) *m/z* calcd for C₂₁H₂₉N₂O₃ ([M+H]⁺) 357.2178, found 357.2172.

Benzyl [(2R,3S)-2-hydroxy-5-methyl-1-{[4-(2-methylpropyl)phenyl]amino}]hexan-3-yl]carbamate (6b).

4-イソブチルアニリン (44.2 mg, 296 μmol, CAS No. 30090-17-6) を用いて、化合物 **6a** の合成と同様の操作により反応を行い、化合物 **7** (52.1 mg, 198 μmol) から橙色油状の化合物 **6b** (33.6 mg, 41%) を得た。[α]²⁵_D –6.64 (c 1.22, CHCl₃); ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ 7.38–7.29 (m, 5H), 6.95 (d, *J* = 8.2 Hz, 2H), 6.60 (d, *J* = 8.2 Hz, 2H), 5.16–5.04 (m, 2H), 4.87 (d, *J* = 8.5 Hz, 1H), 3.90–3.67 (m, 2H), 3.25 (dd, *J* = 12.8, 3.2 Hz, 1H), 3.08 (dd, *J* = 12.8, 7.5 Hz, 1H), 2.36 (d, *J* = 7.1 Hz, 2H), 1.87–1.60 (m, 2H), 1.49–1.30 (m, 2H), 0.98–0.80 (m, 12H); ¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃) δ 157.0, 146.2, 136.2, 131.6, 129.8 (2C), 128.5 (2C), 128.2, 128.0 (2C), 113.6 (2C), 73.2, 67.0, 52.7, 46.9, 44.5, 39.5, 30.3, 24.7, 23.6, 22.3 (2C), 21.5; HRMS (FAB) *m/z* calcd for C₂₅H₃₇N₂O₃ ([M+H]⁺) 413.2804, found 413.2806.

Benzyl {(2*R*,3*S*)-1-[(4-cyclopentylphenyl)amino]-2-hydroxy-5-methylhexan-3-yl}carbamate (6c)

4-シクロペンチルアニリン (48.7 mg, 302 μmol , CAS No. 20029-53-2) を用いて、化合物 **6a** の合成と同様の操作により反応を行い、化合物 **7** (55.3 mg, 210 μmol) から薄橙色油状の化合物 **6c** (35.3 mg, 40%) を得た。 $[\alpha]_{\text{D}}^{25} -4.31$ (c 1.48, CHCl_3); $^1\text{H NMR}$ (300 MHz, CDCl_3) δ 7.38–7.27 (m, 5H), 7.06 (d, $J = 8.3$ Hz, 2H), 6.61 (d, $J = 8.3$ Hz, 2H), 5.15–5.04 (m, 2H), 4.94–4.82 (m, 1H), 3.89–3.65 (m, 2H), 3.25 (dd, $J = 12.8, 3.0$ Hz, 1H), 3.07 (dd, $J = 12.8, 7.5$ Hz, 1H), 2.96–2.80 (m, 1H), 2.08–1.93 (m, 2H), 1.85–1.72 (m, 2H), 1.72–1.60 (m, 3H), 1.60–1.46 (m, 2H), 1.43–1.29 (m, 2H), 0.98–0.87 (m, 6H); $^{13}\text{C NMR}$ (75 MHz, CDCl_3) δ 157.0, 146.2, 136.2 (2C), 128.5 (2C), 128.2, 128.0 (2C), 127.8 (2C), 113.8 (2C), 73.2, 67.0, 52.7, 46.9, 45.1, 39.5, 34.6 (2C), 25.3 (2C), 24.7, 23.6, 21.5; HRMS (FAB) m/z calcd for $\text{C}_{26}\text{H}_{37}\text{N}_2\text{O}_3$ ($[\text{M}+\text{H}]^+$) 425.2804, found 425.2816.

Benzyl [(2*R*,3*S*)-1-[[4-(*tert*-butyl)phenyl]amino]-2-hydroxy-5-methylhexan-3-yl]carbamate (6d)

4-*tert*-ブチルアニリン (55.0 μL , 350 μmol , CAS No. 769-92-6) を用いて、化合物 **6a** の合成と同様の操作により反応を行い、化合物 **7** (54.8 mg, 208 μmol) から黄色固体の化合物 **6d** (55.6 mg, 65%) を得た。融点 46–49 $^\circ\text{C}$; $[\alpha]_{\text{D}}^{25} -4.20$ (c 1.05, CHCl_3); $^1\text{H NMR}$ (500 MHz, CDCl_3) δ 7.39–7.27 (m, 5H), 7.21 (d, $J = 8.5$ Hz, 2H), 6.63 (d, $J = 8.5$ Hz, 2H), 5.15–5.05 (m, 2H), 4.88 (d, $J = 8.8$ Hz, 1H), 3.87–3.78 (m, 1H), 3.76–3.69 (m, 1H), 3.26 (dd, $J = 12.7, 3.0$ Hz, 1H), 3.09 (dd, $J = 12.7, 7.5$ Hz, 1H), 1.74–1.61 (m, 1H), 1.48–1.32 (m, 2H), 1.28 (s, 9H), 0.96–0.89 (m, 6H); $^{13}\text{C NMR}$ (75 MHz, CDCl_3) δ 157.0, 145.9, 141.0, 136.2, 128.5 (2C), 128.2, 128.0 (2C), 126.0 (2C), 113.5 (2C), 73.2, 67.0, 52.7, 46.8, 39.5, 33.8, 31.5 (3C), 24.7, 23.6, 21.5; HRMS (FAB) m/z calcd for $\text{C}_{25}\text{H}_{37}\text{N}_2\text{O}_3$ ($[\text{M}+\text{H}]^+$) 413.2804, found 413.2810.

Benzyl [(2*R*,3*S*)-2-hydroxy-5-methyl-1-[[4-(trifluoromethyl)phenyl]amino]hexan-3-yl]carbamate (6e)

4-トリフルオロメチルアニリン (45.8 μL , 370 μmol , CAS No. 455-14-1) を用いて、化合物 **6a** の合成と同様の操作により反応を行い、化合物 **7** (49.9 mg, 189 μmol) から白色固体の化合物 **6e** (25.9 mg, 32%) を得た。融点 124–127 $^\circ\text{C}$; $[\alpha]_{\text{D}}^{25} +1.78$ (c 0.76, CHCl_3); $^1\text{H NMR}$ (300 MHz, CDCl_3) δ 7.43–7.31 (m, 7H), 6.64 (d, $J = 8.3$ Hz, 1H), 5.20–5.04 (m, 2H), 4.82–4.70 (br m, 1H), 4.59–4.45 (br s, 1H), 3.92–3.71 (m, 2H), 3.37–3.25 (m, 1H), 3.11 (dd, $J = 12.8, 7.5$ Hz, 1H), 3.05–2.94 (br s, 1H), 1.79–1.61 (m, 1H, overlapped with H_2O peak), 1.50–1.32 (m, 2H), 1.00–0.90 (m, 6H); $^{13}\text{C NMR}$ (75 MHz, CDCl_3) δ 157.3, 150.9, 136.1, 128.6 (2C), 128.4, 128.1 (2C), 126.70, 126.65, 126.60, 126.56, 112.5 (2C), 73.5, 67.3, 52.9, 45.7, 39.6, 24.9, 23.5, 21.6; HRMS (ESI) m/z calcd for $\text{C}_{22}\text{H}_{27}\text{N}_2\text{O}_3\text{F}_3\text{Na}$ ($[\text{M}+\text{Na}]^+$) 447.1866, found 447.1864.

tert*-Butyl*4- $\{N$ -[(2*R*,3*S*)-3- $\{N$ -[(benzyloxy)carbonyl]amino]-2-hydroxy-5-****methylhexyl]amino}benzoate (6f)**

4-アミノ安息香酸 *tert*-ブチルエステル (108 mg, 559 μmol , CAS No. 18144-47-3) を用いて、

化合物 **6a** の合成と同様の操作により反応を行い、化合物 **7** (73.2 mg, 278 μmol) から白色固体の化合物 **6f** (57.6 mg, 45%) を得た。融点 33–35 °C; $[\alpha]_D^{25} -0.298$ (c 1.08, CHCl_3); $^1\text{H NMR}$ (500 MHz, CDCl_3) δ 7.79 (d, $J = 8.4$ Hz, 2H), 7.37–7.27 (m, 5H), 6.54 (d, $J = 8.4$ Hz, 2H), 5.16–5.04 (m, 2H), 4.98–4.87 (m, 1H), 4.73–4.43 (br s, 1H), 3.88–3.71 (m, 2H), 3.35–3.17 (m, 2H), 3.11 (dd, $J = 12.7, 8.0$ Hz, 1H), 1.73–1.62 (m, 1H), 1.56 (s, 9H), 1.44–1.34 (m, 2H), 0.98–0.86 (m, 6H); $^{13}\text{C NMR}$ (125 MHz, CDCl_3) δ 166.2, 157.2, 151.8, 136.1, 131.3 (2C), 128.6 (2C), 128.3, 128.1 (2C), 120.7, 111.9 (2C), 79.9, 73.4, 67.2, 52.9, 45.6, 39.4, 28.3 (3C), 24.8, 23.5, 21.5; HRMS (FAB) m/z calcd for $\text{C}_{26}\text{H}_{37}\text{N}_3\text{O}_5$ ($[\text{M}+\text{H}]^+$) 457.2702, found 457.2696.

tert-Butyl 2-(4-{N-[(2R,3S)-3-{N-[(benzyloxy)carbonyl]amino}-2-hydroxy-5-methylhexyl]amino}phenyl)acetate (6g)

4-アミノフェニル酢酸 *tert*-ブチルエステル (97.8 mg, 472 μmol , CAS No. 174579-31-8) を用いて、化合物 **6a** の合成と同様の操作により反応を行い、化合物 **7** (81.2 mg, 308 μmol) から白色固体の化合物 **6g** (72.3 mg, 50%) を得た。融点 67–69 °C; $[\alpha]_D^{23} -3.57$ (c 1.11, CHCl_3); $^1\text{H NMR}$ (300 MHz, CDCl_3) δ 7.37–7.29 (m, 5H), 7.06 (d, $J = 8.3$ Hz, 2H), 6.60 (d, $J = 8.2$ Hz, 2H), 5.16–5.04 (m, 2H), 4.87 (d, $J = 8.0$ Hz, 1H), 3.94–3.65 (m, 2H), 3.40 (s, 2H), 3.25 (dd, $J = 12.7, 3.1$ Hz, 1H), 3.06 (dd, $J = 12.7, 7.5$ Hz, 1H), 1.76–1.60 (m, 1H), 1.49–1.29 (m, 11H), 0.98–0.86 (m, 6H); $^{13}\text{C NMR}$ (75 MHz, CDCl_3) δ 171.7, 157.1, 147.2, 136.2, 130.0 (2C), 128.6 (2C), 128.3, 128.1 (2C), 124.3, 113.8 (2C), 80.6, 73.3, 67.1, 52.8, 46.6, 41.7, 39.6, 28.1 (3C), 24.8, 23.6, 21.6; HRMS (ESI) m/z calcd. for $\text{C}_{27}\text{H}_{38}\text{N}_2\text{O}_5\text{Na}$ ($[\text{M}+\text{Na}]^+$) 493.2673, found 493.2674.

tert-Butyl 3-(4-{N-[(2R,3S)-3-{N-[(benzyloxy)carbonyl]amino}-2-hydroxy-5-methylhexyl]amino}phenyl)propanoate (6h)

3-(4-アミノフェニル)プロピオン酸 *tert*-ブチルエステル (102 mg, 461 μmol , CAS No. 103790-48-3) を用いて、化合物 **6a** の合成と同様の操作により反応を行い、化合物 **7** (80.7 mg, 306 μmol) から白色固体の化合物 **6h** (87.8 mg, 59%) を得た。融点 63–65 °C; $[\alpha]_D^{25} -7.01$ (c 1.25, CHCl_3); $^1\text{H NMR}$ (300 MHz, CDCl_3) δ 7.37–7.29 (m, 5H), 7.00 (d, $J = 8.3$ Hz, 2H), 6.59 (d, $J = 8.3$ Hz, 2H), 5.16–5.04 (m, 2H), 4.88 (d, $J = 8.4$ Hz, 1H), 3.91–3.68 (m, 2H), 3.24 (dd, $J = 12.7, 3.1$ Hz, 1H), 3.07 (dd, $J = 12.7, 7.5$ Hz, 1H), 2.85–2.73 (m, 1H), 2.52–2.40 (m, 2H), 1.77–1.58 (m, 1H), 1.47–1.35 (m, 11H), 0.97–0.88 (m, 6H); $^{13}\text{C NMR}$ (75 MHz, CDCl_3) δ 172.6, 157.0, 146.6, 136.2, 130.4, 129.1 (2C), 128.5 (2C), 128.2, 128.0 (2C), 113.8 (2C), 80.2, 73.2, 67.0, 52.7, 46.8, 39.5, 37.5, 30.2, 28.1 (3C), 24.7, 23.6, 21.5; HRMS (FAB) m/z calcd for $\text{C}_{28}\text{H}_{41}\text{N}_2\text{O}_5$ ($[\text{M}+\text{H}]^+$) 485.3015, found 485.3035.

tert-Butyl 2-(4-{N-[(2R,3S)-3-{N-[(benzyloxy)carbonyl]amino}-2-hydroxy-5-methylhexyl]amino}phenyl)propanoate (6i)

2-(4-アミノフェニル)プロピオン酸 *tert*-ブチルエステル (104 mg, 470 μmol , CAS No. 595570-58-4) を用いて、化合物 **6a** の合成と同様の操作により反応を行い、化合物 **7** (81.2 mg, 308 μmol) から黄色油状の化合物 **6i** (56.9 mg, 38%) を得た。 $[\alpha]_D^{23} -8.25$ (c 1.11, CHCl_3); $^1\text{H NMR}$ (300 MHz,

CDCl₃) δ 7.37–7.29 (m, 5H), 7.10 (d, *J* = 8.3 Hz, 2H), 6.61 (d, *J* = 8.3 Hz, 2H), 5.16–5.04 (m, 2H), 4.86 (d, *J* = 8.3 Hz, 1H), 3.89–3.68 (m, 2H), 3.49 (q, *J* = 7.2 Hz, 1H), 3.26 (dd, *J* = 12.7, 3.0 Hz, 1H), 3.07 (dd, *J* = 12.7, 7.5 Hz, 1H), 1.77–1.55 (m, 1H), 1.44–1.31 (m, 14H), 0.99–0.88 (m, 6H); ¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃) δ 174.5, 157.1, 147.2, 136.2, 130.8, 128.6 (2C), 128.3, 128.2, 128.1 (2C), 126.5, 113.7 (2C), 80.2, 73.3, 67.1, 52.8, 46.7, 45.6, 39.6, 28.0 (3C), 24.8, 23.6, 21.6, 18.6; HRMS (ESI) *m/z* calcd for C₂₈H₄₀N₂O₅Na ([M+Na]⁺) 507.2829, found 507.2822.

***tert*-Butyl 2-(4-{*N*-[(2*R*,3*S*)-3-{*N*-[(benzyloxy)carbonyl]amino}-2-hydroxy-5-methylhexyl]amino}phenyl)-2-methylpropanoate (6j)**

2-(4-アミノフェニル)-2-メチルプロピオン酸 *tert*-ブチルエステル (50.4 mg, 214 μmol, CAS No. 1532807-04-7) を用いて、化合物 **6a** の合成と同様の操作により反応を行い、化合物 **7** (38.1 mg, 145 μmol) から赤色油状の化合物 **6j** (50.8 mg, 72%) を得た。[α]²³_D –6.01 (*c* 1.02, CHCl₃); ¹H NMR (500 MHz, CDCl₃) δ 7.37–7.28 (m, 5H), 7.15 (d, *J* = 8.3 Hz, 2H), 6.60 (d, *J* = 8.3 Hz, 2H), 5.16–5.04 (m, 2H), 5.01–4.88 (br s, 1H), 3.87–3.77 (m, 1H), 3.76–3.68 (m, 1H), 3.30–3.21 (m, 1H), 3.07 (dd, *J* = 12.3, 7.7 Hz, 1H), 1.73–1.62 (m, 1H), 1.47 (s, 6H), 1.43–1.33 (m, 11H), 0.97–0.88 (m, 6H); ¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃) δ 176.3, 157.0, 146.6, 136.2, 135.0, 128.5 (2C), 128.2, 128.0 (2C), 126.5 (2C), 113.4 (2C), 80.0, 73.2, 67.0, 52.7, 46.6, 46.1, 39.5, 27.8 (3C), 26.5 (2C), 24.7, 23.6, 21.5; HRMS (ESI) *m/z* calcd for C₂₉H₄₂N₂O₅Na ([M+Na]⁺) 521.2986, found 521.2982.

Benzyl {(2*R*,3*S*)-2-hydroxy-5-methyl-1-[(3-methylphenyl)amino]hexan-3-yl}carbamate (6k)

m-トルイジン (81.0 μL, 748 μmol) を用いて、化合物 **6a** の合成と同様の操作により反応を行い、化合物 **7** (98.6 mg, 374 μmol) から白色固体の化合物 **6k** (106 mg, 76%) を得た。融点 108–110 °C; [α]²⁵_D –5.50 (*c* 0.95, CHCl₃); ¹H NMR (500 MHz, CDCl₃) δ 7.38–7.28 (m, 5H), 7.10–7.03 (m, 1H), 6.57 (d, *J* = 7.4 Hz, 1H), 6.52–6.44 (m, 2H), 5.16–5.05 (m, 2H), 4.84 (d, *J* = 8.3 Hz, 1H), 3.88–3.79 (m, 1H), 3.77–3.70 (m, 1H), 3.26 (dd, *J* = 12.7, 3.0 Hz, 1H), 3.08 (dd, *J* = 12.7, 7.6 Hz, 1H), 2.27 (s, 3H), 1.75–1.62 (m, 1H), 1.48–1.32 (m, 2H), 0.97–0.89 (m, 6H); ¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃) δ 157.0, 148.3, 139.1, 136.2, 129.1, 128.5 (2C), 128.2, 128.0 (2C), 119.1, 114.5, 110.7, 73.3, 67.1, 52.8, 46.5, 39.5, 24.8, 23.6, 21.6 (2C); HRMS (FAB) *m/z* calcd for C₂₂H₃₁N₂O₃ ([M+H]⁺) 371.2335, found 371.2349.

***tert*-Butyl 3-{*N*-[(2*R*,3*S*)-3-{*N*-[(benzyloxy)carbonyl]amino}-2-hydroxy-5-methylhexyl]amino}benzoate (6l)**

3-アミノ安息香酸 *tert*-ブチルエステル (53.8 mg, 278 μmol, CAS No. 72146-82-2) を用いて、化合物 **6a** の合成と同様の操作により反応を行い、化合物 **7** (61.0 mg, 232 μmol) から茶色油状の化合物 **6l** (77.3 mg, 73%) を得た。[α]²⁶_D –3.76 (*c* 1.00, CHCl₃); ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ 7.38–7.24 (m, 7H, overlapped with CHCl₃ peak), 7.23–7.13 (m, 1H), 6.80 (d, *J* = 7.3 Hz, 1H), 5.16–5.04 (m, 2H), 4.84 (d, *J* = 7.3 Hz, 1H), 3.91–3.73 (m, 2H), 3.30 (dd, *J* = 12.7, 3.0 Hz, 1H), 3.11 (dd, *J* = 12.7, 7.7 Hz, 1H), 1.74–1.63 (m, 1H), 1.58 (s, 9H), 1.46–1.34 (m, 2H), 0.98–0.88 (m, 6H); ¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃) δ 166.1, 157.2, 148.3, 136.2, 133.0, 129.0, 128.6 (2C), 128.2, 128.1 (2C), 119.1, 117.7,

114.0, 80.8, 73.3, 67.2, 53.0, 46.3, 39.6, 28.2 (3C), 24.8, 23.5, 21.6; HRMS (EI) m/z calcd for $C_{26}H_{36}N_2O_5$ ($[M]^+$) 456.2624, found 456.2621.

***tert*-Butyl 2-(3-{*N*-[(2*R*,3*S*)-3-{*N*-[(benzyloxy)carbonyl]amino}-2-hydroxy-5-methylhexyl]amino}phenyl)acetate (6m)**

3-アミノフェニル酢酸 *tert*-ブチルエステル (95.7 mg, 462 μ mol, CAS No. 183180-53-2) を用いて、化合物 **6a** の合成と同様の操作により反応を行い、化合物 **7** (80.7 mg, 306 μ mol) から橙色油状の化合物 **6m** (50.6 mg, 35%) を得た。 $[\alpha]_D^{23}$ -15.7 (c 1.64, $CHCl_3$); 1H NMR (500 MHz, $CDCl_3$) δ 7.39–7.29 (m, 5H), 7.15–7.08 (m, 1H), 6.65 (d, J = 7.5 Hz, 1H), 6.60–6.52 (m, 2H), 5.19–5.06 (m, 2H), 4.85–4.75 (br s, 1H), 3.88–3.79 (m, 1H), 3.79–3.70 (m, 1H), 3.44 (s, 2H), 3.28 (dd, J = 12.7, 3.0 Hz, 1H), 3.10 (dd, J = 12.7, 7.5 Hz, 1H), 1.75–1.64 (m, 1H), 1.49–1.37 (m, 11H), 0.98–0.90 (m, 6H); ^{13}C NMR (75 MHz, $CDCl_3$) δ 171.1, 157.1, 148.5, 136.2, 135.8, 129.4, 128.60, 128.56, 128.3, 128.1 (2C), 119.1, 114.6, 112.1, 80.7, 73.4, 67.1, 52.8, 46.4, 42.7, 39.6, 28.1 (3C), 24.8, 23.6, 21.6; HRMS (ESI) m/z calcd for $C_{27}H_{38}N_2O_5Na$ ($[M+Na]^+$) 493.2673, found 493.2677.

Methyl 3-{*N*-[(2*R*,3*S*)-3-{*N*-[(benzyloxy)carbonyl]amino}-2-hydroxy-5-methylhexyl]amino}benzoate (6n)

3-アミノ安息香酸メチルエステル (66.5 mg, 440 μ mol, CAS No. 4518-10-9) を用いて、化合物 **6a** の合成と同様の操作により反応を行い、化合物 **7** (60.0 mg, 228 μ mol) から茶色油状の化合物 **6n** (77.2 mg, 82%) を得た。 $[\alpha]_D^{24}$ -8.52 (c 1.00, $CHCl_3$); 1H NMR (500 MHz, $CDCl_3$) δ 7.42–7.38 (m, 1H), 7.38–7.29 (m, 6H), 7.25–7.19 (m, 1H), 6.84 (d, J = 7.7 Hz, 1H), 4.81–4.75 (m, 1H), 3.91–3.82 (m, 4H), 3.81–3.76 (m, 1H), 3.31 (dd, J = 12.6, 3.2 Hz, 1H), 3.12 (dd, J = 12.6, 7.7 Hz, 1H), 1.73–1.65 (m, 1H), 1.61–1.54 (m, 1H), 1.47–1.37 (m, 2H), 1.00–0.91 (m, 6H); ^{13}C NMR (75 MHz, $CDCl_3$) δ 167.5, 157.2, 148.4, 136.1, 131.0, 129.2, 128.5 (2C), 128.2, 128.1 (2C), 119.1, 118.2, 113.8, 73.3, 67.1, 52.9, 52.0, 46.1, 39.5, 24.8, 23.5, 21.5; HRMS (FAB) m/z calcd for $C_{23}H_{31}N_2O_5$ ($[M+H]^+$) 415.2233, found 415.2247.

***tert*-Butyl 5-{*N*-[(2*R*,3*S*)-3-{*N*-[(benzyloxy)carbonyl]amino}-2-hydroxy-5-methylhexyl]amino}-2-methylbenzoate (6o)**

5-アミノ-2-メチル安息香酸 *tert*-ブチルエステル (36.0 mg, 174 μ mol, CAS No. 209223-88-1) を用いて、化合物 **6a** の合成と同様の操作により反応を行い、化合物 **7** (31.5 mg, 120 μ mol) から黄色油状の化合物 **6o** (15.6 mg, 28%) を得た。 $[\alpha]_D^{28}$ -9.39 (c 1.25, $CHCl_3$); 1H NMR (300 MHz, $CDCl_3$) δ 7.40–7.29 (m, 5H), 7.18–7.11 (m, 1H), 7.04–6.95 (m, 1H), 6.74–6.65 (m, 1H), 5.10 (s, 2H), 4.82 (d, J = 8.3 Hz, 1H), 3.92–3.69 (m, 2H), 3.27 (dd, J = 12.6, 3.2 Hz, 1H), 3.08 (dd, J = 12.6, 7.6 Hz, 1H), 2.43 (s, 3H), 1.76–1.62 (m, 1H), 1.58 (s, 9H, overlapped with H_2O peak), 1.45–1.34 (m, 2H), 0.99–0.88 (m, 6H); ^{13}C NMR (75 MHz, $CDCl_3$) δ 167.6, 157.1, 146.1, 136.2, 132.3, 128.5 (2C), 128.3, 128.2, 128.0 (2C), 118.3, 116.9, 115.3, 81.0, 73.2, 67.1, 52.8, 46.6, 39.5, 28.2 (3C), 24.7, 23.5, 21.5, 20.8; HRMS (ESI) m/z calcd for $C_{27}H_{38}N_3O_5Na$ ($[M+Na]^+$) 493.2673, found 493.2669.

***tert*-Butyl 3-{*N*-[(2*R*,3*S*)-3-{*N*-[(benzyloxy)carbonyl]amino}-2-hydroxy-5-methylhexyl]amino}-5-methylbenzoate (6p)**

3-アミノ-5-メチル安息香酸 *tert*-ブチルエステル (71.8 mg, 346 μmol , CAS No. 1527490-25-0) を用いて、化合物 **6a** の合成と同様の操作により反応を行い、化合物 **7** (60.8 mg, 231 μmol) から黄色油状の化合物 **6p** (42.4 mg, 39%) を得た。 $[\alpha]^{25}_{\text{D}} -6.15$ (c 1.09, CHCl_3); $^1\text{H NMR}$ (300 MHz, CD_3OD) δ 7.37–7.29 (m, 5H), 7.19–7.15 (m, 1H), 7.11–7.06 (m, 1H), 6.66–6.59 (m, 1H), 5.10 (s, 2H), 4.87 (d, $J = 8.3$ Hz, 1H), 3.91–3.72 (m, 2H), 3.29 (dd, $J = 12.6, 3.2$ Hz, 1H), 3.09 (dd, $J = 12.6, 7.6$ Hz, 1H), 2.29 (s, 3H), 1.76–1.61 (m, 1H), 1.57 (s, 9H), 1.44–1.34 (m, 2H), 1.00–0.89 (m, 6H); $^{13}\text{C NMR}$ (75 MHz, CDCl_3) δ 166.3, 157.2, 148.3, 138.9, 136.2, 132.8, 128.5 (2C), 128.2, 128.1 (2C), 120.0, 118.5, 111.2, 80.7, 73.3, 67.1, 52.9, 46.3, 39.5, 28.2 (3C), 24.8, 23.5, 21.6, 21.4; HRMS (FAB) m/z calcd for $\text{C}_{27}\text{H}_{39}\text{N}_2\text{O}_5$ ($[\text{M}+\text{H}]^+$) 471.2859, found 471.2855.

Benzyl [(2*R*,3*S*)-2-hydroxy-5-methyl-1-(naphthalen-1-ylamino)hexan-3-yl]carbamate (6q)

1-ナフチルアミン (111.1 mg, 776 μmol , CAS No. 134-32-7) を用いて、化合物 **6a** の合成と同様の操作により反応を行い、化合物 **7** (102 mg, 387 μmol) から紫色油状の化合物 **6q** (129 mg, 82%) を得た。 $[\alpha]^{25}_{\text{D}} +2.17$ (c 1.17, CHCl_3); $^1\text{H NMR}$ (500 MHz, CDCl_3) δ 7.87 (d, $J = 8.3$ Hz, 1H), 7.78 (d, $J = 7.8$ Hz, 1H), 7.47–7.41 (m, 1H), 7.41–7.37 (m, 1H), 7.37–7.28 (m, 6H), 7.28–7.23 (m, 1H, overlapped with CHCl_3 peak), 6.63 (d, $J = 7.5$ Hz, 1H), 5.14 (d, $J = 12.2$ Hz, 1H), 5.09 (d, $J = 12.2$ Hz, 1H), 4.98–4.89 (m, 1H), 3.98–3.87 (m, 2H), 3.42 (dd, $J = 12.4, 2.5$ Hz, 1H), 3.23 (dd, $J = 12.4, 7.1$ Hz, 1H), 1.77–1.63 (m, 1H), 1.49–1.33 (m, 2H), 0.99–0.88 (m, 6H); $^{13}\text{C NMR}$ (75 MHz, CDCl_3) δ 157.3, 143.5, 136.1, 134.2, 128.5 (3C), 128.2, 128.0 (2C), 126.4, 125.8, 124.9, 124.0, 120.2, 118.1, 105.0, 73.1, 67.1, 53.0, 46.1, 39.6, 24.8, 23.5, 21.6; HRMS (FAB) m/z calcd for $\text{C}_{25}\text{H}_{31}\text{N}_2\text{O}_3$ ($[\text{M}+\text{H}]^+$) 407.2335, found 407.2319.

Benzyl {(2*R*,3*S*)-2-hydroxy-5-methyl-1-[(5,6,7,8-tetrahydronaphthalen-2-yl)amino]hexan-3-yl}carbamate (6r)

5,6,7,8-テトラヒドロナフタレン-2-アミン (118 mg, 802 μmol , CAS No. 2217-43-8) を用いて、化合物 **6a** の合成と同様の操作により反応を行い、化合物 **7** (106 mg, 403 μmol) から淡黄色固体の化合物 **6r** (71.4 mg, 43%) を得た。融点 115–116 $^{\circ}\text{C}$; $[\alpha]^{22}_{\text{D}} -4.16$ (c 1.11, CHCl_3); $^1\text{H NMR}$ (300 MHz, CDCl_3) δ 7.38–7.28 (m, 5H) 6.88 (d, $J = 8.2$ Hz, 1H), 6.50–6.42 (m, 1H), 6.39 (s, 1H), 5.10 (s, 2H), 4.85 (d, $J = 8.4$ Hz, 1H), 3.90–3.66 (m, 2H), 3.24 (dd, $J = 12.7, 3.2$ Hz, 1H), 3.06 (dd, $J = 12.7, 7.4$ Hz, 1H), 2.74–2.58 (m, 4H), 1.80–1.60 (m, 5H), 1.48–1.31 (m, 2H), 0.98–0.87 (m, 6H); $^{13}\text{C NMR}$ (75 MHz, CDCl_3) δ 157.0, 146.0, 137.9, 136.2, 129.8, 128.5 (2C), 128.2, 128.0 (2C), 127.1, 113.9, 112.0, 73.2, 67.0, 52.7, 46.9, 39.5, 29.6, 28.5, 24.7, 23.6, 23.5, 23.3, 21.5; HRMS (ESI) m/z calcd for $\text{C}_{25}\text{H}_{35}\text{N}_2\text{O}_3$ ($[\text{M}+\text{H}]^+$) 411.2642, found 411.2646.

Benzyl [(2*R*,3*S*)-1-(cyclohexylamino)-2-hydroxy-5-methylhexan-3-yl]carbamate (6s)

シクロヘキシルアミン (51.0 μL , 445 μmol , CAS No. 108-91-8) を用いて、化合物 **6a** の合成と同様の操作により反応を行い、化合物 **7** (59.0 mg, 224 μmol) から白色固体の化合物 **6s** (71.5 mg, 88%) を得た。融点 84–87 $^{\circ}\text{C}$; $[\alpha]_{\text{D}}^{24} -4.20$ (c 1.61, MeOH); ^1H NMR (300 MHz, CD_3OD) δ 7.40–7.24 (m, 5H), 5.14 (d, $J = 12.5$ Hz, 1H), 5.04 (d, $J = 12.5$ Hz, 1H), 3.63–3.46 (m, 2H), 2.91–2.82 (m, 1H), 2.70–2.54 (m, 2H), 1.98–1.85 (m, 2H), 1.84–1.72 (m, 2H), 1.72–1.60 (m, 2H), 1.56–1.06 (m, 7H, overlapped with unknown peak), 0.97–0.86 (m, 6H); ^{13}C NMR (75 MHz, CD_3OD) δ 159.0, 138.6, 129.5 (2C), 129.0, 128.6 (2C), 73.1, 67.4, 58.2, 53.9, 49.5, 40.7, 32.3, 32.2, 26.7, 25.0 (3C), 24.1, 21.7; HRMS (FAB) m/z calcd for $\text{C}_{21}\text{H}_{35}\text{N}_2\text{O}_3$ ($[\text{M}+\text{H}]^+$) 363.2648, found 363.2645.

Benzyl [(2R,3S)-1-(cycloheptylamino)-2-hydroxy-5-methylhexan-3-yl]carbamate (6t)

シクロヘプチルアミン (80.6 mg, 712 μmol , CAS No. 5452-35-7) を用いて、化合物 **6a** の合成と同様の操作により反応を行い、化合物 **7** (93.6 mg, 355 μmol) から黄色固体の化合物 **6t** (80.3 mg, 60%) を得た。融点 177–180 $^{\circ}\text{C}$; $[\alpha]_{\text{D}}^{25} -6.29$ (c 1.22, CHCl_3); ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 7.37–7.28 (m, 5H), 5.27–5.15 (m, 1H), 5.15–5.04 (m, 2H), 5.00–4.77 (br s, 2H), 3.80–3.69 (m, 1H), 3.69–3.59 (m, 1H), 3.08–2.98 (m, 1H), 2.98–2.88 (m, 1H), 2.79 (dd, $J = 12.2, 8.2$ Hz, 1H), 2.00–1.89 (m, 2H), 1.74–1.62 (m, 3H), 1.62–1.46 (m, 7H), 1.46–1.30 (m, 3H), 0.95–0.83 (m, 6H); ^{13}C NMR (75 MHz, CDCl_3) δ 157.1, 136.4, 128.5 (2C), 128.1, 127.7 (2C), 70.9, 66.9, 60.2, 52.3, 48.6, 39.6, 32.2, 31.8, 27.7, 27.6, 24.5, 23.81, 23.77, 23.6, 21.3; HRMS (FAB) m/z calcd for $\text{C}_{22}\text{H}_{37}\text{N}_2\text{O}_3$ ($[\text{M}+\text{H}]^+$) 377.2804, found 377.2791.

Benzyl [(2R,3S)-1-(cyclooctylamino)-2-hydroxy-5-methylhexan-3-yl]carbamate (6u)

シクロオクチルアミン (33.0 μL , 236 μmol , CAS No. 5452-37-9) を用いて、化合物 **6a** の合成と同様の操作により反応を行い、化合物 **7** (31.5 mg, 120 μmol) から白色固体の化合物 **6u** (43.0 mg, 92%) を得た。融点 141–143 $^{\circ}\text{C}$; $[\alpha]_{\text{D}}^{23} -12.8$ (c 0.95, CHCl_3); ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 7.38–7.24 (m, 5H, overlapped with CHCl_3 peak), 6.04–5.80 (br s, 2H), 5.55–5.40 (m, 1H), 5.17–5.01 (m, 2H), 3.96–3.81 (m, 1H), 3.73–3.57 (m, 1H), 3.20–3.04 (m, 2H), 2.95–2.74 (m, 1H), 2.00–1.83 (m, 2H), 1.81–1.30 (m, 15H, overlapped with H_2O peak), 0.93–0.83 (m, 6H); ^{13}C NMR (75 MHz, CD_3OD) δ 159.3, 138.5, 129.5 (2C), 129.1, 128.6 (2C), 71.7, 67.7, 60.1, 53.7, 48.9, 40.5, 31.0, 30.6, 27.31, 27.28, 26.8, 25.8, 25.1, 25.0, 24.0, 21.6; HRMS (EI) m/z calcd for $\text{C}_{23}\text{H}_{38}\text{N}_2\text{O}_3$ ($[\text{M}]^+$) 390.2883, found 390.2883.

Glu-Ile-Thi-HEA(Leu)-benzene-2TFA (5a)

アルゴン雰囲気下、化合物 **6a** (50.0 mg, 140 μmol) をメタノール (1.4 mL) に溶解し、パラジウム/炭素 (Pd 10%, 23.6 mg) を加えた。アルゴンを水素ガスに置換後、室温で 1.5 時間攪拌した。反応液を濾過後、減圧下で溶媒を留去し、脱保護体を得た。得られた生成物は精製を行わず次の反応に供した。

アルゴン雰囲気下、Fmoc-Thi-OH (84.1 mg, 214 μmol)、HOBt 一水和物 (34.2 mg, 223 μmol)、EDC 塩酸塩 (43.0 mg, 224 μmol) を DMF (700 μL) に溶解し、NMM (77 μL , 700 μmol) を加え、

5 分間攪拌した。この混合液を、DMF (700 μ L) に溶解した脱保護体の溶液に 0 $^{\circ}$ C で滴下し、室温で 2 時間攪拌した。水で反応を停止させ、酢酸エチルで抽出後、有機層を飽和炭酸水素ナトリウム水溶液、飽和塩化アンモニウム水溶液、飽和塩化ナトリウム水溶液で洗浄し、無水硫酸マグネシウムで乾燥させた。濾過後、減圧下で溶媒を留去した。得られた残渣にアセトニトリル (900 μ L)、ジエチルアミン (900 μ L) を加えて室温で 1 時間攪拌した後、減圧下で溶媒を留去し、Fmoc 基を除去したジペプチドイソスターの粗精製物を得た。得られた粗精製物に対して、同様の縮合反応と Fmoc 基の除去操作を用いて Fmoc-Ile-OH (77.6 mg, 220 μ mol)、Boc-Glu(O*t*-Bu)-OH (65.4 mg, 216 μ mol) を順次縮合し、Boc 保護されたテトラペプチドイソスターの粗精製物を得た。得られた粗精製物に TFA/H₂O/TIS (1.4 mL, 95:2.5:2.5 (v/v/v)) を加え、室温で 2 時間攪拌した。減圧下で溶媒を留去した後、氷冷下でジエチルエーテルを加えて固体を沈殿させ、遠心分離した後、ジエチルエーテルをデカンテーションして除去し、化合物 **5a** を粗精製物として得た。その後、HPLC にて精製を行い、白色凍結乾燥粉末の化合物 **5a** (7.9 mg, 6.7%, over 7 steps) を得た。[α]²³_D -14.5 (*c* 0.60, MeOH); ¹H NMR (300 MHz, CD₃OD) δ 8.47 (d, *J* = 8.1 Hz, 1H), 8.03 (d, *J* = 9.0 Hz, 1H), 7.41–7.24 (m, 2H), 7.09 (dd, *J* = 5.1, 1.0 Hz, 1H), 7.06–6.91 (m, 3H), 6.89–6.83 (m, 1H), 6.77 (dd, *J* = 5.1, 3.5 Hz, 1H), 4.70–4.57 (m, 1H), 4.29 (d, *J* = 7.7 Hz, 1H), 4.02–3.94 (m, 1H), 3.94–3.83 (m, 1H), 3.56–3.44 (m, 1H), 3.37–3.25 (m, 1H, overlapped with MeOH peak), 3.18–3.01 (m, 2H), 2.96–2.81 (m, 1H), 2.52–2.41 (m, 2H), 2.15–2.02 (m, 2H), 1.89–1.73 (m, 1H), 1.70–1.34 (m, 4H), 1.26–1.08 (m, 1H), 0.97–0.81 (m, 12H); ¹³C NMR (75 MHz, CD₃OD) δ 175.9, 172.8, 172.7, 169.6, 144.7, 139.9, 130.6 (2C), 128.0, 127.6, 125.4, 123.5, 118.5 (2C), 72.2, 59.3, 56.1, 53.5, 51.9, 51.3, 40.3, 38.3, 33.1, 30.2, 28.0, 25.9, 25.5, 24.3, 21.7, 15.8, 11.4; HRMS (ESI) *m/z* calcd for C₃₁H₄₈N₅O₆S ([M+H]⁺) 618.3320, found 618.3314.

Glu-Ile-Thi-HEA(Leu)-4-(2-methyl)propylbenzene·2TFA (5b)

化合物 **5a** の合成と同様の操作により反応を行い、化合物 **6b** (57.5 mg, 139 μ mol) から白色凍結乾燥粉末の化合物 **5b** (1.5 mg, 1.2%, over 7 steps) を得た。[α]²³_D -7.11 (*c* 0.15, MeOH); ¹H NMR (300 MHz, CD₃OD) δ 8.38 (d, *J* = 7.9 Hz, 1H), 7.17–7.05 (m, 2H), 7.03–6.85 (m, 3H), 6.77–6.72 (m, 1H), 6.65 (dd, *J* = 5.0, 3.5 Hz, 1H), 4.56–4.49 (m, 1H), 4.19 (d, *J* = 7.7 Hz, 1H), 3.87 (t, *J* = 6.3 Hz, 1H), 3.83–3.72 (m, 1H), 3.41–3.32 (m, 1H), 3.26–3.15 (m, 1H, overlapped with MeOH peak), 3.06–2.87 (m, 2H), 2.85–2.71 (m, 1H), 2.43–2.31 (m, 4H), 2.05–1.94 (m, 2H), 1.81–1.64 (m, 2H), 1.55–1.24 (m, 4H), 1.16–0.99 (m, 1H), 0.88–0.71 (m, 18H); ¹³C NMR (75 MHz, CD₃OD) δ 176.8 (br), 172.7, 172.5, 169.9, 147.8 (br), 139.9, 132.0, 130.7 (2C), 128.0, 127.6, 125.4, 114.9 (2C), 73.6, 59.4, 56.2, 53.8, 52.0, 48.7 (overlapped with MeOH peak)^註, 45.7, 40.2, 38.3, 33.3, 31.7 (2C), 28.4, 25.9, 25.6, 24.3, 22.7 (2C), 21.8, 15.8, 11.5; HRMS (ESI) *m/z* calcd for C₃₅H₅₆N₅O₆S ([M+H]⁺) 674.3946, found 674.3943.

^註 化合物の炭素シグナル [CH(OH)CH₂NH] が測定溶媒中のメタノールのシグナルと重なっていたため、HSQC を用いてケミカルシフトを決定した。以下同様に^註と記した。

Glu-Ile-Thi-HEA(Leu)-4-cyclopentylbenzene·2TFA (5c)

化合物 **5a** の合成と同様の操作により反応を行い、化合物 **6c** (61.7 mg, 145 μ mol) から白色凍結乾燥粉末の化合物 **5c** (3.8 mg, 2.9%, over 7 steps) を得た。 $[\alpha]^{23}_{\text{D}} -14.4$ (c 0.38, MeOH); ^1H NMR (300 MHz, CD_3OD) δ 8.47 (d, $J = 7.6$ Hz, 1H), 7.38 (d, $J = 8.2$ Hz, 1H), 7.20 (d, $J = 8.2$ Hz, 1H), 7.11–7.04 (m, 1H), 6.86–6.79 (m, 1H), 6.77–6.70 (m, 1H), 4.67–4.56 (m, 1H), 4.28 (d, $J = 7.6$ Hz, 1H), 3.98 (t, $J = 6.3$ Hz, 1H), 3.92–3.78 (m, 1H), 3.52–3.41 (m, 1H), 3.36–3.24 (m, 1H, overlapped with MeOH peak), 3.16–2.85 (m, 4H), 2.52–2.41 (m, 2H), 2.16–2.01 (m, 4H), 1.91–1.68 (m, 5H), 1.68–1.47 (m, 5H), 1.47–1.34 (m, 1H), 1.21–1.09 (m, 1H), 0.95–0.83 (m, 12H); ^{13}C NMR (75 MHz, CD_3OD) δ 174.0 (br), 172.7, 172.5, 169.7, 147.3 (br), 139.9, 130.1, 128.6 (2C), 127.9, 127.6, 125.4, 115.4 (2C), 73.4, 59.3, 56.2, 53.7, 52.0, 48.7 (overlapped with MeOH peak)[‡], 46.6, 40.1, 38.3, 35.8 (2C), 33.2, 30.8, 28.1, 26.3 (2C), 25.9, 25.6, 24.3, 21.8, 15.8, 11.5; HRMS (ESI) m/z calcd for $\text{C}_{36}\text{H}_{56}\text{N}_5\text{O}_6\text{S}$ ($[\text{M}+\text{H}]^+$) 686.3946, found 686.3940.

Glu-Ile-Thi-HEA(Leu)-4-(tert-butyl)benzene·2TFA (5d)

化合物 **5a** の合成と同様の操作により反応を行い、化合物 **6d** (55.6 mg, 135 μ mol) から白色凍結乾燥粉末の化合物 **5d** (3.6 mg, 3.0%, over 7 steps) を得た。 $[\alpha]^{23}_{\text{D}} -19.1$ (c 0.15, MeOH); ^1H NMR (500 MHz, CD_3OD) δ 7.98 (d, $J = 9.2$ Hz, 1H), 7.17 (d, $J = 8.5$ Hz, 2H), 6.95 (d, $J = 4.8$ Hz, 1H), 6.88 (d, $J = 3.3$ Hz, 1H), 6.79 (dd, $J = 4.8, 3.3$ Hz, 1H), 6.60 (d, $J = 8.5$ Hz, 2H), 4.63 (t, $J = 7.1$ Hz, 1H), 4.30 (d, $J = 7.7$ Hz, 1H), 3.98–3.88 (m, 2H), 3.56–3.48 (m, 1H), 3.37–3.25 (m, 1H, overlapped with MeOH peak), 3.17–3.06 (m, 2H), 2.85–2.75 (m, 1H), 2.51–2.39 (m, 2H), 2.10–2.00 (m, 2H), 1.87–1.77 (m, 1H), 1.58–1.50 (m, 1H), 1.49–1.42 (m, 2H), 1.26 (s, 9H), 1.21–1.15 (m, 1H), 0.94–0.84 (m, 12H); ^{13}C NMR (125 MHz, CD_3OD) δ 177.2 (br), 172.7, 172.5, 169.9, 147.3, 141.6, 139.9, 127.9, 127.6, 126.8 (2C), 125.4, 114.8 (2C), 73.6, 59.3, 56.2, 53.8, 51.9, 48.8 (overlapped with MeOH peak)[‡], 40.1, 38.3, 34.7, 33.2, 32.0 (3C), 30.8, 28.4, 25.9, 25.6, 24.4, 21.8, 15.8, 11.5; HRMS (ESI) m/z calcd for $\text{C}_{35}\text{H}_{56}\text{N}_5\text{O}_6\text{S}$ ($[\text{M}+\text{H}]^+$) 674.3946, found 674.3938.

Glu-Ile-Thi-HEA(Leu)-4-(trifluoromethyl)benzene·2TFA (5e)

化合物 **5a** の合成と同様の操作により反応を行い、化合物 **6e** (44.6 mg, 105 μ mol) から白色凍結乾燥粉末の化合物 **5e** (4.6 mg, 4.8%, over 7 steps) を得た。 $[\alpha]^{23}_{\text{D}} -13.1$ (c 0.11, MeOH); ^1H NMR (500 MHz, CD_3OD) δ 8.00 (d, $J = 9.2$ Hz, 1H), 7.34 (d, $J = 8.5$ Hz, 2H), 7.11 (d, $J = 4.9$ Hz, 1H), 6.90 (d, $J = 2.9$ Hz, 1H), 6.83–6.78 (m, 1H), 6.65 (d, $J = 8.5$ Hz, 2H), 4.67–4.61 (m, 1H, overlapped with H_2O peak), 4.30 (d, $J = 7.6$ Hz, 1H), 3.97–3.87 (m, 2H), 3.56–3.48 (m, 1H), 3.42–3.25 (m, 1H, overlapped with MeOH peak), 3.18–3.08 (m, 2H), 2.86 (dd, $J = 13.4, 7.9$ Hz, 1H), 2.52–2.38 (m, 2H), 2.11–1.96 (m, 2H), 1.87–1.77 (m, 1H), 1.66–1.50 (m, 2H), 1.50–1.41 (m, 2H), 1.23–1.11 (m, 1H), 0.96–0.88 (m, 9H), 0.86 (d, $J = 6.4$ Hz, 3H); ^{13}C NMR (125 MHz, CD_3OD) δ 177.7, 172.8, 172.5, 170.1, 153.0, 139.9, 127.9 (2C), 127.6, 127.3, 127.2, 125.4, 118.8, 113.1 (2C), 73.5, 59.4, 56.2, 54.0, 51.8, 47.4, 40.0, 38.3, 33.2, 32.3, 28.6, 25.9, 25.6, 24.4, 21.8, 15.8, 11.5; HRMS (ESI) m/z calcd for $\text{C}_{32}\text{H}_{47}\text{F}_3\text{N}_5\text{O}_6\text{S}$ ($[\text{M}+\text{H}]^+$) 686.3194, found 686.3202.

Glu-Ile-Thi-HEA(Leu)-4-carboxybenzene·2TFA (5f)

化合物 **5a** の合成と同様の操作により反応を行い、化合物 **6f** (46.4 mg, 102 μmol) から白色凍結乾燥粉末の化合物 **5f** (7.7 mg, 8.5%, over 7 steps) を得た。 $[\alpha]_{\text{D}}^{24} -4.17$ (*c* 0.69, MeOH); ^1H NMR (500 MHz, CD_3OD) δ 8.03 (d, *J* = 9.2 Hz, 1H), 7.78 (d, *J* = 8.8 Hz, 2H), 7.11 (d, *J* = 5.0 Hz, 1H), 6.90 (d, *J* = 3.4 Hz, 1H), 6.81 (dd, *J* = 5.0, 3.4 Hz, 1H), 6.58 (d, *J* = 8.8 Hz, 2H), 4.69–4.61 (m, 1H), 4.33–4.28 (m, 1H), 3.99–3.87 (m, 2H), 3.56–3.49 (m, 1H), 3.37–3.27 (m, 1H, overlapped with MeOH peak), 3.17–3.08 (m, 2H), 2.87 (d, *J* = 13.6, 8.0 Hz, 1H), 2.49–2.40 (m, 2H), 2.11–2.02 (m, 2H), 1.87–1.76 (m, 1H), 1.66–1.50 (m, 2H), 1.50–1.41 (m, 2H), 1.22–1.12 (m, 1H), 0.95–0.83 (m, 12H); ^{13}C NMR (125 MHz, CD_3OD) δ 177.0, 172.7, 172.5, 170.8, 169.9, 154.4, 139.8, 132.7 (2C), 127.9, 127.7, 125.5, 118.5, 112.6 (2C), 73.5, 59.4, 56.2, 53.8, 51.8, 47.3, 40.1, 38.3, 33.2, 31.5, 28.3, 25.9, 25.5, 24.4, 21.8, 15.8, 11.5; HRMS (FAB) *m/z* calcd for $\text{C}_{32}\text{H}_{48}\text{N}_5\text{O}_8\text{S}$ ($[\text{M}+\text{H}]^+$) 662.3224, found 662.3240.

Glu-Ile-Thi-HEA(Leu)-4-(carboxymethyl)benzene·2TFA (5g)

化合物 **5a** の合成と同様の操作により反応を行い、化合物 **6g** (70.1 mg, 149 μmol) から白色凍結乾燥粉末の化合物 **5g** (1.3 mg, 0.97%, over 7 steps) を得た。 $[\alpha]_{\text{D}}^{23} -12.5$ (*c* 0.13, MeOH); ^1H NMR (300 MHz, CD_3OD) δ 7.99 (d, *J* = 9.1 Hz, 1H), 7.11 (dd, *J* = 5.1, 1.0 Hz, 1H), 7.05 (d, *J* = 8.5 Hz, 2H), 6.92–6.87 (m, 1H), 6.80 (dd, *J* = 5.1, 3.5 Hz, 1H), 6.58 (d, *J* = 8.5 Hz, 2H), 4.68–4.59 (m, 1H), 4.30 (d, *J* = 7.7 Hz, 1H), 4.00–3.87 (m, 2H), 3.57–3.47 (m, 1H), 3.45 (s, 2H), 3.37–3.25 (m, 1H, overlapped with MeOH peak), 3.19–3.03 (m, 2H), 2.80 (dd, *J* = 13.2, 8.1 Hz, 1H), 2.51–2.40 (m, 2H), 2.12–2.00 (m, 2H), 1.89–1.74 (m, 1H), 1.67–1.41 (m, 4H), 1.25–1.09 (m, 1H), 0.96–0.82 (m, 12H); ^{13}C NMR (125 MHz, CD_3OD) δ 176.54, 176.51, 172.7, 172.4, 169.8, 148.9, 139.8, 130.9 (2C), 128.0, 127.6, 125.4, 124.6, 114.7 (2C), 73.6, 59.4, 56.2, 53.7, 51.9, 48.5 (overlapped with MeOH peak)[‡], 41.2, 40.1, 38.3, 33.2, 31.0, 28.2, 25.9, 25.6, 24.3, 21.8, 15.8, 11.4; HRMS (ESI) *m/z* calcd. for $\text{C}_{33}\text{H}_{50}\text{N}_5\text{O}_8\text{S}$ ($[\text{M}+\text{H}]^+$) 676.3375, found 676.3377.

Glu-Ile-Thi-HEA(Leu)-4-(2-carboxyethyl)benzene·2TFA (5h)

化合物 **5a** の合成と同様の操作により反応を行い、化合物 **6h** (81.5 mg, 168 μmol) から白色凍結乾燥粉末の化合物 **5h** (18.1 mg, 12%, over 7 steps) を得た。 $[\alpha]_{\text{D}}^{23} -16.7$ (*c* 0.85, MeOH); ^1H NMR (300 MHz, CD_3OD) δ 8.49 (d, *J* = 7.9 Hz, 1H), 8.08 (d, *J* = 8.8 Hz, 2H), 7.41 (d, *J* = 8.3 Hz, 2H), 7.27 (d, *J* = 8.3 Hz, 2H), 7.06 (dd, *J* = 5.0, 1.0 Hz, 1H), 6.86–6.79 (m, 1H), 6.72 (dd, *J* = 5.0, 3.5 Hz, 1H), 4.67–4.56 (m, 1H), 4.28 (d, *J* = 7.7 Hz, 1H), 3.99 (t, *J* = 6.3 Hz, 1H), 3.91–3.78 (m, 1H), 3.53–3.42 (m, 1H), 3.37–3.24 (m, 1H, overlapped with MeOH peak), 3.18–2.87 (m, 5H), 2.70–2.59 (m, 2H), 2.53–2.41 (m, 2H), 2.17–2.04 (m, 2H), 1.88–1.73 (m, 1H), 1.70–1.48 (m, 3H), 1.47–1.33 (m, 1H), 1.26–1.08 (m, 1H), 0.99–0.78 (m, 12H); ^{13}C NMR (75 MHz, CD_3OD) δ 176.3, 175.9, 173.1, 172.7, 169.7, 142.7, 139.8, 131.4, 131.1 (2C), 128.0, 127.7, 125.5, 123.0 (2C), 70.5, 59.4, 56.1, 54.9, 53.5, 51.9, 40.6, 38.2, 36.3, 33.0, 31.3, 30.2, 27.9, 25.9, 25.4, 24.2, 21.6, 15.8, 11.5; HRMS (ESI) *m/z* calcd for $\text{C}_{34}\text{H}_{52}\text{N}_5\text{O}_8\text{S}$ ($[\text{M}+\text{H}]^+$) 690.3531, found 690.3534.

Glu-Ile-Thi-HEA(Leu)-4-(1-carboxyethyl)benzene·2TFA (5i)

化合物 **5a** の合成と同様の操作により反応を行い、化合物 **6i** (56.9 mg, 117 μ mol) から白色凍結乾燥粉末の化合物 **5i** (5.7 mg, 5.3%, over 7 steps) を得た。 $[\alpha]^{23}_{\text{D}} -9.24$ (*c* 0.47, MeOH); $^1\text{H NMR}$ (500 MHz, CD_3OD) δ 8.48 (d, *J* = 8.1 Hz, 1H), 7.34 (d, *J* = 8.1 Hz, 2H), 7.09–6.97 (m, 3H), 6.84 (d, *J* = 3.2 Hz, 1H), 6.74 (dd, *J* = 5.0, 3.5 Hz, 1H), 4.66–4.59 (m, 1H), 4.29 (d, *J* = 7.7 Hz, 1H), 4.02–3.95 (m, 1H), 3.92–3.83 (m, 1H), 3.76–3.68 (m, 1H), 3.53–3.44 (m, 1H), 3.34–3.27 (m, 1H, overlapped with MeOH peak), 3.10 (dd, *J* = 14.7, 7.0 Hz, 1H), 3.07–2.94 (m, 1H), 2.94–2.80 (m, 1H), 2.51–2.44 (m, 2H), 2.14–2.06 (m, 2H), 1.86–1.76 (m, 1H), 1.69–1.49 (m, 3H), 1.48–1.36 (m, 4H), 1.23–1.11 (m, 1H), 0.96–0.88 (m, 9H), 0.86 (d, *J* = 6.4 Hz, 3H); $^{13}\text{C NMR}$ (150 MHz, CD_3OD) δ 178.9, 176.0, 172.7, 172.5, 169.6, 147.5 (br), 139.8, 132.1 (br), 129.2 (2C), 128.0, 127.6, 125.4, 115.6 (2C), 73.2, 59.3, 56.2, 53.5, 51.9, 48.6 (overlapped with MeOH peak)[‡], 45.8, 40.2, 38.3, 33.2, 30.3, 28.0, 25.9, 25.6, 24.3, 21.8, 19.1, 15.8, 11.5; HRMS (ESI) *m/z* calcd for $\text{C}_{34}\text{H}_{52}\text{N}_5\text{O}_8\text{S}$ ($[\text{M}+\text{H}]^+$) 690.3531, found 690.3522.

Glu-Ile-Thi-HEA(Leu)-4-(2-carboxypropan-2-yl)benzene·2TFA (5j)

化合物 **5a** の合成と同様の操作により反応を行い、化合物 **6j** (50.8 mg, 102 μ mol) から白色凍結乾燥粉末の化合物 **5j** (4.1 mg, 4.2%, over 7 steps) を得た。 $[\alpha]^{24}_{\text{D}} -12.2$ (*c* 0.29, MeOH); $^1\text{H NMR}$ (300 MHz, CD_3OD) δ 7.99 (d, *J* = 9.3 Hz, 1H), 7.17 (d, *J* = 8.6 Hz, 2H), 7.11–7.06 (m, 1H), 6.88 (d, *J* = 3.0 Hz, 1H), 6.79 (dd, *J* = 5.0, 3.5 Hz, 1H), 6.60 (d, *J* = 8.6 Hz, 2H), 4.68–4.58 (m, 1H), 4.30 (d, *J* = 7.7 Hz, 1H), 4.01–3.86 (m, 2H), 3.57–3.46 (m, 1H), 3.38–3.25 (m, 1H, overlapped with MeOH peak), 3.18–3.04 (m, 2H), 2.89–2.74 (m, 1H), 2.53–2.40 (m, 2H), 2.15–2.02 (m, 2H), 1.89–1.74 (m, 1H), 1.69–1.40 (m, 10H), 1.25–1.09 (m, 1H), 0.96–0.84 (m, 12H); $^{13}\text{C NMR}$ (125 MHz, CD_3OD) δ 181.2 (br), 176.7 (br), 172.7, 172.4, 169.9, 148.5 (br), 139.8, 135.1, 128.0, 127.6, 127.4 (2C), 125.4, 114.5 (2C), 73.5, 59.3, 56.2, 53.7, 51.9, 48.8 (overlapped with MeOH peak)[‡], 46.5 (br), 40.1, 38.3, 33.2, 30.8, 28.3, 27.1 (2C), 25.9, 25.6, 24.4, 21.8, 15.8, 11.5; HRMS (FAB) *m/z* calcd for $\text{C}_{35}\text{H}_{54}\text{N}_5\text{O}_8\text{S}$ ($[\text{M}+\text{H}]^+$) 704.3693, found 704.3691.

Glu-Ile-Thi-HEA(Leu)-3-methylbenzene·2TFA (5k)

化合物 **5a** の合成と同様の操作により反応を行い、化合物 **6k** (50.5 mg, 136 μ mol) から白色凍結乾燥粉末の化合物 **5k** (4.1 mg, 3.5%, over 7 steps) を得た。 $[\alpha]^{23}_{\text{D}} -18.2$ (*c* 0.30, MeOH); $^1\text{H NMR}$ (300 MHz, CD_3OD) δ 8.49 (d, *J* = 7.9 Hz, 1H), 8.05 (d, *J* = 8.6 Hz, 1H), 7.31–7.20 (m, 1H), 7.12–7.05 (m, 1H), 7.03–6.81 (m, 4H), 6.76 (dd, *J* = 5.1, 3.5 Hz, 1H), 4.72–4.56 (m, 1H), 4.29 (d, *J* = 7.7 Hz, 1H), 4.04–3.81 (m, 2H), 3.57–3.43 (m, 1H), 3.41–3.25 (m, 1H, overlapped with MeOH peak), 3.19–2.79 (m, 3H), 2.56–2.41 (m, 2H), 2.35 (s, 3H), 2.15–2.04 (m, 2H), 1.89–1.73 (m, 1H), 1.70–1.34 (m, 4H), 1.25–1.10 (m, 1H), 0.98–0.80 (m, 12H); $^{13}\text{C NMR}$ (125 MHz, CD_3OD) δ 175.9, 172.7, 172.6, 169.6, 147.1 (br), 140.2, 139.8, 130.2, 127.9, 127.6, 125.4, 122.1 (br), 117.4 (br), 114.1 (br), 72.8, 59.3, 56.1, 53.5, 51.9, 48.5 (overlapped with MeOH peak)[‡], 40.2, 38.3, 33.2, 30.2, 28.0, 25.9, 25.5, 24.3, 21.7, 21.6, 15.8, 11.4; HRMS (ESI) *m/z* calcd for $\text{C}_{32}\text{H}_{50}\text{N}_5\text{O}_6\text{S}$ ($[\text{M}+\text{H}]^+$) 632.3476, found 632.3471.

Glu-Ile-Thi-HEA(Leu)-3-carboxybenzene·2TFA (5l)

化合物 **5a** の合成と同様の操作により反応を行い、化合物 **6l** (101.1 mg, 221 μ mol) から白色凍結乾燥粉末の化合物 **5l** (15.6 mg, 7.9%, over 7 steps) を得た。 $[\alpha]^{27}_D -20.2$ (*c* 0.60, MeOH); ^1H NMR (300 MHz, CD_3OD) δ 8.47 (d, *J* = 8.1 Hz, 1H), 8.05 (d, *J* = 9.1 Hz, 1H), 7.57–7.41 (m, 2H), 7.39–7.27 (m, 1H), 7.15–6.99 (m, 2H), 6.92–6.84 (m, 1H), 6.78 (dd, *J* = 5.1, 3.5 Hz, 1H), 4.72–4.59 (m, 1H), 4.30 (d, *J* = 7.7 Hz, 1H), 4.04–3.84 (m, 2H), 3.60–3.45 (m, 1H), 3.38–3.25 (m, 1H, overlapped with MeOH peak), 3.20–3.01 (m, 2H), 2.97–2.79 (m, 1H), 2.53–2.41 (m, 2H), 2.14–2.02 (m, 2H), 1.89–1.72 (m, 1H), 1.70–1.35 (m, 4H, overlapped with unknown peak), 1.24–1.10 (m, 1H), 0.94–0.83 (m, 12H); ^{13}C NMR (75 MHz, CD_3OD) δ 175.9, 172.7, 172.6, 170.0, 169.6, 147.3, 139.8, 132.9, 130.4, 127.9, 127.7, 125.4, 122.2, 121.2, 117.2, 72.7, 59.3, 56.2, 53.5, 51.9, 48.1 (overlapped with MeOH peak)[‡], 40.3, 38.3, 33.2, 30.2, 28.0, 25.9, 25.5, 24.2, 21.8, 15.8, 11.5; HRMS (ESI) *m/z* calcd for $\text{C}_{32}\text{H}_{48}\text{N}_5\text{O}_8\text{S}$ ($[\text{M}+\text{H}]^+$) 662.3218, found 662.3211.

Glu-Ile-Thi-HEA(Leu)-3-(carboxymethyl)benzene·2TFA (5m)

化合物 **5a** の合成と同様の操作により反応を行い、化合物 **6m** (50.6 mg, 108 μ mol) から白色凍結乾燥粉末の化合物 **5m** (10.6 mg, 11%, over 7 steps) を得た。 $[\alpha]^{23}_D -11.6$ (*c* 0.90, MeOH); ^1H NMR (300 MHz, CD_3OD) δ 8.50 (d, *J* = 8.0 Hz, 1H), 8.07 (d, *J* = 8.8 Hz, 1H), 7.51–7.42 (m, 1H), 7.36–7.27 (m, 1H), 7.27–7.22 (m, 1H), 7.22–7.15 (m, 1H), 7.06 (dd, *J* = 5.1, 1.0 Hz, 1H), 6.86–6.79 (m, 1H), 6.72 (dd, *J* = 5.1, 3.5 Hz, 1H), 4.69–4.57 (m, 1H), 4.28 (d, *J* = 7.7 Hz, 1H), 4.04–3.93 (m, 1H), 3.93–3.79 (m, 1H), 3.70 (s, 2H), 3.53–3.41 (m, 1H), 3.37–3.25 (m, 1H, overlapped with MeOH peak), 3.10 (d, *J* = 14.6, 6.8 Hz, 1H), 3.05–2.79 (m, 2H), 2.53–2.41 (m, 2H), 2.15–2.04 (m, 2H), 1.88–1.74 (m, 1H), 1.71–1.48 (m, 3H), 1.46–1.33 (m, 1H), 1.26–1.09 (m, 1H), 0.94–0.87 (m, 9H), 0.85 (d, *J* = 6.1 Hz, 3H); ^{13}C NMR (75 MHz, CD_3OD) δ 175.9, 174.8, 173.0, 172.7, 169.7, 145.5 (br), 139.8, 138.5, 131.1, 129.3 (br), 128.0, 127.7, 125.5, 123.1 (br), 120.7 (br), 70.8, 59.3, 56.1, 53.5, 51.8, 49.0 (overlapped with MeOH peak)[‡], 41.5, 40.6, 38.2, 33.0, 30.2, 27.9, 25.9, 25.4, 24.2, 21.6, 15.8, 11.5; HRMS (ESI) *m/z* calcd for $\text{C}_{33}\text{H}_{50}\text{N}_5\text{O}_8\text{S}$ ($[\text{M}+\text{H}]^+$) 676.3375, found 676.3373.

Glu-Ile-Thi-HEA(Leu)-3-(methylcarboxyl)benzene·2TFA (5n)

化合物 **5a** の合成と同様の操作により反応を行い、化合物 **6n** (77.2 mg, 186 μ mol) から白色凍結乾燥粉末の化合物 **5n** (2.5 mg, 1.5%, over 7 steps) を得た。 $[\alpha]^{24}_D -11.4$ (*c* 0.10, MeOH); ^1H NMR (300 MHz, CD_3OD) δ 8.47 (d, *J* = 8.3 Hz, 1H), 8.03 (d, *J* = 9.4 Hz, 1H), 7.35–7.17 (m, 3H), 7.13–7.06 (m, 1H), 6.94–6.83 (m, 2H), 6.79 (dd, *J* = 5.1, 3.5 Hz, 1H), 4.72–4.59 (m, 1H), 4.31 (d, *J* = 7.7 Hz, 1H), 4.01–3.90 (m, 2H), 3.86 (s, 3H), 3.58–3.46 (m, 1H), 3.38–3.25 (m, 1H, overlapped with MeOH peak), 3.18–3.05 (m, 2H), 2.84 (d, *J* = 13.0, 7.9 Hz, 1H), 2.51–2.40 (m, 2H), 2.15–2.03 (m, 2H), 1.90–1.74 (m, 1H), 1.69–1.36 (m, 4H, overlapped with unknown peak), 1.26–1.08 (m, 1H), 0.98–0.83 (m, 12H); ^{13}C NMR (125 MHz, CD_3OD) δ 177.5 (br), 172.7, 172.5, 170.0, 169.4, 150.4, 139.9, 131.9, 130.1, 127.9, 127.7, 125.4, 119.1, 118.9, 114.3, 73.5, 59.4, 56.2, 53.9, 52.5, 51.9, 47.9, 40.2, 38.3, 33.2, 32.0,

28.5, 25.9, 25.6, 24.4, 21.8, 15.8, 11.5; HRMS (FAB) m/z calcd for $C_{33}H_{50}N_5O_8S$ ($[M+H]^+$) 676.3380, found 676.3400.

Glu-Ile-Thi-HEA(Leu)-3-carboxy-4-methylbenzene·2TFA (5o)

化合物 **5a** の合成と同様の操作により反応を行い、化合物 **6o** (66.7 mg, 142 μ mol) から白色凍結乾燥粉末の化合物 **5o** (2.8 mg, 2.2%, over 7 steps) を得た。 $[\alpha]^{25}_D -15.5$ (c 0.10, MeOH); 1H NMR (300 MHz, CD_3OD) δ 8.47 (d, $J = 7.8$ Hz, 1H), 8.03 (d, $J = 9.4$ Hz, 1H), 7.49–7.38 (m, 1H), 7.25–7.14 (m, 1H), 7.14–7.06 (m, 1H), 7.02–6.93 (m, 1H), 6.93–6.83 (m, 1H), 6.83–6.73 (m, 1H), 4.71–4.57 (m, 1H), 4.30 (d, $J = 7.6$ Hz, 1H), 4.03–3.83 (m, 2H), 3.56–3.42 (m, 1H), 3.38–3.24 (m, 1H, overlapped with MeOH peak), 3.18–2.97 (m, 2H), 2.93–2.77 (m, 1H), 2.56–2.38 (m, 5H), 2.17–2.03 (m, 2H), 1.90–1.73 (m, 1H), 1.69–1.35 (m, 4H, overlapped with unknown peak), 1.24–1.10 (m, 1H), 0.97–0.82 (m, 12H); ^{13}C NMR (75 MHz, CD_3OD) δ 174.6 (br), 172.7, 172.5, 169.80, 169.75, 148.0, 139.9, 133.2 (2C), 129.0, 128.0, 127.7, 125.4, 118.4, 116.1, 73.5, 59.4, 56.3, 53.7, 51.9, 48.2 (overlapped with MeOH peak)^注, 40.2, 38.3, 33.2, 30.8 (br), 28.2, 26.0, 25.6, 24.4, 21.8, 20.8, 15.8, 11.5; HRMS (ESI) m/z calcd for $C_{33}H_{50}N_5O_8S$ ($[M+H]^+$) 676.3375, found 676.3385.

Glu-Ile-Thi-HEA(Leu)-3-carboxy-5-methylbenzene·2TFA (5p)

化合物 **5a** の合成と同様の操作により反応を行い、化合物 **6p** (62.3 mg, 132 μ mol) から白色凍結乾燥粉末の化合物 **5p** (9.5 mg, 8.0%, over 7 steps) を得た。 $[\alpha]^{23}_D -12.8$ (c 0.80, MeOH); 1H NMR (300 MHz, CD_3OD) δ 8.47 (d, $J = 8.2$ Hz, 1H), 8.05 (d, $J = 9.0$ Hz, 1H), 7.34 (s, 1H), 7.27 (s, 1H), 7.09 (dd, $J = 5.1, 1.2$ Hz, 1H), 6.93–6.82 (m, 2H), 6.78 (dd, $J = 5.1, 3.4$ Hz, 1H), 4.70–4.59 (m, 1H), 4.30 (d, $J = 7.7$ Hz, 1H), 4.04–3.82 (m, 2H), 3.57–3.45 (m, 1H), 3.38–3.25 (m, 1H, overlapped with MeOH peak), 3.20–2.99 (m, 2H), 2.94–2.78 (m, 1H), 2.53–2.39 (m, 2H), 2.34 (s, 3H), 2.16–2.03 (m, 2H), 1.90–1.72 (m, 1H), 1.70–1.36 (m, 4H), 1.26–1.08 (m, 1H), 0.95–0.84 (m, 12H); ^{13}C NMR (75 MHz, CD_3OD) δ 175.9, 172.7, 172.5, 170.5, 169.6, 148.9 (br), 140.2, 139.8, 132.5, 127.9, 127.7, 125.4, 121.6 (br), 120.7 (br), 113.5 (br), 73.1, 59.3, 56.2, 53.5, 51.9, 48.1 (overlapped with MeOH peak)^注, 40.3, 38.3, 33.2, 30.2, 28.0, 25.9, 25.5, 24.3, 21.8, 21.5, 15.8, 11.5; HRMS (ESI) m/z calcd for $C_{33}H_{50}N_5O_8S$ ($[M+H]^+$) 676.3375, found 676.3370.

Glu-Ile-Thi-HEA(Leu)-1-naphthalene·2TFA (5q)

化合物 **5a** の合成と同様の操作により反応を行い、化合物 **6q** (37.8 mg, 93.0 μ mol) から淡緑色凍結乾燥粉末の化合物 **5q** (5.2 mg, 6.2%, over 7 steps) を得た。 $[\alpha]^{24}_D -5.32$ (c 0.15, MeOH); 1H NMR (500 MHz, CD_3OD) δ 8.47 (d, $J = 8.2$ Hz, 1H), 8.08 (d, $J = 9.1$ Hz, 1H), 8.03–7.96 (m, 1H), 7.79–7.71 (m, 1H), 7.46–7.39 (m, 2H), 7.34–7.27 (m, 1H), 7.24–7.18 (m, 1H), 7.05 (d, $J = 5.1$ Hz, 1H), 6.89–6.83 (m, 1H), 6.77–6.72 (m, 1H), 6.62–6.54 (m, 1H), 4.70–4.63 (m, 1H, overlapped with H_2O peak), 4.30 (d, $J = 7.6$ Hz, 1H), 4.10–4.00 (m, 1H), 4.00–3.93 (m, 1H), 3.75–3.66 (m, 1H), 3.37–3.25 (m, 2H, overlapped with MeOH peak), 3.12 (dd, $J = 14.7, 7.7$ Hz, 1H), 3.05–2.96 (m, 1H), 2.51–2.41 (m, 2H), 2.15–2.04 (m, 2H), 1.87–1.77 (m, 1H), 1.70–1.60 (m, 1H), 1.60–1.44 (m, 3H), 1.24–1.10 (m, 1H), 0.96–

0.86 (m, 12H); ^{13}C NMR (125 MHz, CD_3OD) δ 176.0, 172.7, 172.6, 169.6, 144.8, 139.8, 135.9, 129.4, 127.9, 127.6, 127.5, 126.6, 125.6, 125.4, 125.3, 121.7, 118.5, 106.2, 73.5, 59.3, 56.2, 53.5, 52.0, 48.5 (overlapped with MeOH peak)[‡], 40.3, 38.3, 33.2, 30.3, 28.0, 25.9, 25.6, 24.4, 21.8, 15.8, 11.5; HRMS (FAB) m/z calcd for $\text{C}_{35}\text{H}_{50}\text{N}_5\text{O}_6\text{S}$ ($[\text{M}+\text{H}]^+$) 668.3482, found 668.3498.

Glu-Ile-Thi-HEA(Leu)-2-(5,6,7,8-tetrahydro)naphthalene·2TFA (5r)

化合物 **5a** の合成と同様の操作により反応を行い、化合物 **6r** (51.3 mg, 125 μmol) から白色凍結乾燥粉末の化合物 **5r** (2.5 mg, 2.2%, over 7 steps) を得た。 $[\alpha]^{23}_{\text{D}} -10.0$ (c 0.17, MeOH); ^1H NMR (500 MHz, CD_3OD) δ 7.10 (d, $J = 5.2$ Hz, 1H), 6.88 (d, $J = 3.0$ Hz, 1H), 6.85–6.78 (m, 2H), 6.47–6.42 (m, 1H), 6.37 (s, 1H), 4.63 (t, $J = 7.3$ Hz, 1H), 4.30 (d, $J = 7.5$ Hz, 1H), 3.97–3.89 (m, 2H), 3.52–3.47 (m, 1H), 3.38–3.25 (m, 1H, overlapped with MeOH peak), 3.18–3.04 (m, 2H), 2.83–2.74 (m, 1H), 2.72–2.61 (m, 4H), 2.49–2.42 (m, 2H), 2.11–2.01 (m, 2H), 1.85–1.72 (m, 5H), 1.64–1.58 (m, 1H), 1.58–1.51 (m, 1H), 1.48–1.41 (m, 2H), 1.21–1.12 (m, 1H), 0.94–0.84 (m, 12H); ^{13}C NMR (125 MHz, CD_3OD) δ 172.7, 172.5, 170.3, 169.9, 139.9, 138.5, 138.3, 130.6, 127.9, 127.6, 125.4, 121.7 (br), 115.3, 113.8, 73.5, 59.3, 56.2, 53.8, 51.9, 49.0 (overlapped with MeOH peak)[‡], 40.2, 38.3, 33.3, 31.5 (br), 30.8, 29.6, 28.3, 25.9, 25.6, 25.0, 24.6, 24.4, 21.8, 15.8, 11.5; HRMS (ESI) m/z calcd for $\text{C}_{35}\text{H}_{54}\text{N}_5\text{O}_6\text{S}$ ($[\text{M}+\text{H}]^+$) 672.3789, found 672.3781.

Glu-Ile-Thi-HEA(Leu)-cyclohexane·2TFA (5s)

化合物 **5a** の合成と同様の操作により反応を行い、化合物 **6s** (71.5 mg, 197 μmol) から淡緑色凍結乾燥粉末の化合物 **5s** (8.2 mg, 4.9%, over 7 steps) を得た。 $[\alpha]^{26}_{\text{D}} -3.99$ (c 0.30, MeOH); ^1H NMR (300 MHz, CD_3OD) δ 8.52 (d, $J = 8.1$ Hz, 1H), 8.17 (d, $J = 8.6$ Hz, 1H), 7.26 (dd, $J = 4.5, 1.8$ Hz, 1H), 7.00–6.93 (m, 2H), 4.73–4.64 (m, 1H), 4.28 (d, $J = 7.7$ Hz, 1H), 4.03–3.94 (m, 1H), 3.83–3.70 (m, 1H), 3.57–3.46 (m, 1H), 3.43–3.26 (m, 1H, overlapped with MeOH peak), 3.15 (dd, $J = 14.8, 7.3$ Hz, 1H), 2.93–2.72 (m, 2H), 2.59 (dd, $J = 12.7, 7.6$ Hz, 1H), 2.53–2.41 (m, 2H), 2.15–1.97 (m, 4H), 1.93–1.10 (m, 14H, overlapped with unknown peaks), 0.95–0.88 (m, 9H), 0.84 (d, $J = 6.2$ Hz, 3H); ^{13}C NMR (125 MHz, CD_3OD) δ 178.4 (br), 173.6, 172.9, 170.7, 140.2, 128.1, 127.6, 125.5, 70.8, 59.6, 58.6, 56.0, 54.1, 51.9, 48.7 (overlapped with MeOH peak)[‡], 40.3, 38.2, 32.8 (2C), 30.3, 30.0, 28.9, 26.0, 25.9, 25.59, 25.57, 25.4, 24.2, 21.6, 15.8, 11.5; HRMS (ESI) m/z calcd for $\text{C}_{31}\text{H}_{54}\text{N}_5\text{O}_6\text{S}$ ($[\text{M}+\text{H}]^+$) 624.3789, found 624.3782.

Glu-Ile-Thi-HEA(Leu)-cycloheptane·2TFA (5t)

化合物 **5a** の合成と同様の操作により反応を行い、化合物 **6t** (53.9 mg, 143 μmol) から白色凍結乾燥粉末の化合物 **5t** (4.3 mg, 3.5%, over 7 steps) を得た。 $[\alpha]^{24}_{\text{D}} -10.2$ (c 0.33, MeOH); ^1H NMR (500 MHz, CD_3OD) δ 7.29–7.24 (m, 1H), 7.21–7.16 (m, 1H), 6.99–6.92 (m, 2H), 6.92–6.86 (m, 1H), 4.74–4.66 (m, 1H, overlapped with H_2O peak), 4.28 (d, $J = 7.5$ Hz, 1H), 4.00–3.91 (m, 1H), 3.79–3.69 (m, 1H), 3.55–3.46 (m, 1H), 3.42–3.29 (m, 1H, overlapped with MeOH peak), 3.20–3.13 (m, 1H), 3.09–2.99 (m, 1H), 2.82–2.73 (m, 1H), 2.63–2.54 (m, 1H), 2.51–2.40 (m, 2H), 2.11–1.96 (m, 4H), 1.86–1.74

(m, 3H), 1.71–1.40 (m, 12H), 1.24–1.11 (m, 1H), 0.99–0.81 (m, 12H); ^{13}C NMR (125 MHz, CD_3OD) δ 176.9, 173.6, 172.8, 170.0, 140.1, 128.1, 127.5, 125.5, 70.8, 60.9, 59.4, 55.7, 53.7, 51.8, 48.7 (overlapped with MeOH peak)[‡], 40.3, 38.2, 32.9, 32.0, 31.8, 31.3, 28.6, 28.5, 28.3, 25.9, 25.4, 25.1 (2C), 24.2, 21.5, 15.8, 11.5; HRMS (FAB) m/z calcd for $\text{C}_{32}\text{H}_{56}\text{N}_5\text{O}_6\text{S}$ ($[\text{M}+\text{H}]^+$) 638.3951, found 638.3965.

Glu-Ile-Thi-HEA(Leu)-cyclooctane·2TFA (5u)

化合物 **5a** の合成と同様の操作により反応を行い、化合物 **6u** (129 mg, 330 μmol) から淡緑色凍結乾燥粉末の化合物 **5u** (4.2 mg, 1.4%, over 7 steps) を得た。 $[\alpha]_{\text{D}}^{26}$ -11.1 (c 0.10, MeOH); ^1H NMR (300 MHz, CD_3OD) δ 7.26 (dd, $J = 4.7, 1.5$ Hz, 1H), 7.00–6.93 (m, 2H), 4.75–4.65 (m, 1H), 4.28 (d, $J = 7.6$ Hz, 1H), 4.03–3.92 (m, 1H), 3.81–3.68 (m, 1H), 3.56–3.45 (m, 1H), 3.42–3.27 (m, 1H, overlapped with MeOH peak), 3.24–3.08 (m, 2H), 2.79 (dd, $J = 12.8, 2.8$ Hz, 1H), 2.56 (dd, $J = 12.8, 7.3$ Hz, 1H), 2.51–2.41 (m, 2H), 2.15–2.02 (m, 2H), 1.96–1.37 (m, 19H, overlapped with unknown peak), 1.26–1.12 (m, 1H), 0.96–0.87 (m, 9H), 0.84 (d, $J = 6.3$ Hz, 3H); ^{13}C NMR (75 MHz, CD_3OD) δ 175.9 (br), 173.6, 172.8, 169.8, 140.1, 128.1, 127.5, 125.5, 70.8, 60.2, 59.4, 55.7, 53.6, 51.8, 48.7 (overlapped with MeOH peak)[‡], 40.3, 38.2, 32.9, 30.7 (3C), 28.1, 27.2, 27.1, 26.8, 25.9, 25.4, 25.2, 25.0, 24.2, 21.5, 15.8, 11.5; HRMS (ESI) m/z calcd for $\text{C}_{33}\text{H}_{58}\text{N}_5\text{O}_6\text{S}$ ($[\text{M}+\text{H}]^+$) 652.4102, found 652.4107.

第 2 章の実験の部

Benzyl *N*-{(2*R*,3*S*)-2-hydroxy-5-methyl-1-[*N*-(4-methylphenyl)amino]hexan-3-yl}carbamate (**14**)

p-トルイジン (75.4 mg, 704 μmol) を用いて、化合物 **6a** の合成と同様の操作により反応を行い、化合物 **7** (92.6 mg, 352 μmol) から白色固体の化合物 **14** (81.9 mg, 63%) を得た。融点 114–116 °C; $[\alpha]_{\text{D}}^{23} -7.08$ (*c* 0.62, CHCl_3); $^1\text{H NMR}$ (500 MHz, CDCl_3) δ 7.34 (s, 5H), 6.99 (d, *J* = 8.0 Hz, 2H), 6.60 (d, *J* = 8.0 Hz, 2H), 5.10 (dd, *J* = 16.3, 12.3 Hz, 2H), 4.82 (d, *J* = 8.5 Hz, 1H), 3.85–3.80 (m, 1H), 3.76–3.73 (m, 1H), 3.25 (dd, *J* = 12.5, 3.0 Hz, 1H), 3.08 (dd, *J* = 12.5, 7.5 Hz, 1H), 2.24 (s, 3H), 1.73–1.65 (m, 1H), 1.46–1.35 (m, 2H), 0.94 (d, *J* = 6.5 Hz, 3H), 0.93 (d, *J* = 6.0 Hz, 3H); $^{13}\text{C NMR}$ (125 MHz, CDCl_3) δ 157.1, 146.0, 136.2, 129.8 (2C), 128.6 (2C), 128.3, 128.1 (2C), 127.6, 114.0 (2C), 73.3, 67.1, 52.8, 47.0, 39.6, 24.8, 23.6, 21.6, 20.4; HRMS (FAB) *m/z* calcd for $\text{C}_{22}\text{H}_{31}\text{N}_2\text{O}_3$ ($[\text{M}+\text{H}]^+$) 371.2335, found 371.2349.

Glu-Ile-Nva-HEA(Leu)-4-methylbenzene·2TFA (**15**)

化合物 **5a** の合成と同様の操作により反応を行い、化合物 **14** (31.7 mg, 85.6 μmol) から白色粉凍結乾燥末の化合物 **15** (4.5 mg, 6.5%, over 7 steps) を得た。 $[\alpha]_{\text{D}}^{23} -28.4$ (*c* 0.12, MeOH); $^1\text{H NMR}$ (300 MHz, CD_3OD) δ 8.24 (d, *J* = 7.8 Hz, 1H), 7.93 (d, *J* = 9.3 Hz, 1H), 7.10 (d, *J* = 7.5 Hz, 2H), 6.88 (d, *J* = 7.2 Hz, 2H), 4.37–4.30 (m, 1H), 4.26 (d, *J* = 7.8 Hz, 1H), 3.98 (t, *J* = 6.0 Hz, 1H), 3.94–3.89 (m, 1H), 3.65–3.53 (m, 1H), 3.28 (br s, 1H), 3.09–3.02 (m, 1H), 2.47 (t, *J* = 7.7 Hz, 2H), 2.27 (s, 3H), 2.11 (dd, *J* = 14.1, 7.2 Hz, 2H), 1.87–1.77 (m, 1H), 1.74–1.27 (m, 9H), 1.24–0.85 (m, 1H), 0.98–0.85 (m, 15H); $^{13}\text{C NMR}$ (125 MHz, CD_3OD) δ 176.4, 173.9, 172.9, 169.8, 147.2, 130.5 (2C), 128.3, 115.1 (2C), 73.8, 59.5, 54.6, 53.6, 51.8, 49.3 (overlapped with MeOH peak)^註, 40.3, 38.0, 35.6, 30.7, 28.1, 25.9, 25.6, 24.3, 21.8, 20.5, 20.2, 15.8, 14.0, 11.4; HRMS (FAB) *m/z* calcd for $\text{C}_{30}\text{H}_{52}\text{N}_5\text{O}_6$ ($[\text{M}+\text{H}]^+$) 578.3918, found 578.3916.

tert-Butyl *N*-{(*S*)-5-hydroxy-1-[methoxy(methyl)amino]-1-oxopentan-2-yl}carbamate (**30**)

アルゴン雰囲気下、Boc-Glu(OBn)-OH **29** (50.0 g, 148 mmol)、HOBt 一水和物 (25.0 g, 163 mmol)、EDC 塩酸塩 (34.1 g, 178 mmol) をジクロロメタン (296 mL) に溶解し、0 °C で 5 分間攪拌した。この溶液に *N,O*-ジメチルヒドロキシルアミン塩酸塩 (16.6 g, 170 mmol)、NMM (19.6 mL, 178 mmol) を加え、室温で終夜攪拌した。酢酸エチル、1 M 塩酸水溶液を加え、減圧下で溶媒を留去した。その残渣に酢酸エチルを加え、有機層を 1 M 塩酸水溶液、飽和炭酸水素ナトリウム水溶液、飽和塩化ナトリウム水溶液で洗浄し、無水硫酸ナトリウムで乾燥させた。濾過後、減圧下で溶媒を留去し、ワインレブアミドを粗精製物として得た。得られた生成物は精製を行わず次の反応に供した。

アルゴン雰囲気下、ワインレブアミド体を酢酸エチル (494 mL) に溶解し、パラジウム/炭素 (Pd 10%, 5.64 g) を加えた。アルゴンを水素ガスに置換後、室温で終夜攪拌した。反応液を濾過後、減圧下で溶媒を留去し、脱保護体を得た。得られた生成物は精製を行わず次の反応に供した。

アルゴン雰囲気下、脱保護体、TEA (22.7 mL, 163 mmol) を THF (494 mL) に溶解し、 $-40\text{ }^{\circ}\text{C}$ に冷却後、IBCF (23.1 mL, 178 mmol) を滴下し、40 分間攪拌した。この溶液に水素化ホウ素ナトリウム (16.8 g, 445 mmol)、水 (74.0 mL) を加え、 $0\text{ }^{\circ}\text{C}$ で 1 時間攪拌した。飽和塩化アンモニウム水溶液で反応を停止させ、酢酸エチルで抽出した後、有機層を飽和塩化ナトリウム水溶液で洗浄し、無水硫酸ナトリウムで乾燥させた。濾過後、減圧下で溶媒を留去し、カラムクロマトグラフィー (ヘキサン : 酢酸エチル = 1:3) で精製を行い、無色油状の化合物 **30** (34.1 g, 83%, over 3 steps) を得た。 $[\alpha]_{\text{D}}^{21} -0.279$ (c 1.05, CHCl_3); $^1\text{H NMR}$ (500 MHz, CDCl_3) δ 5.35 (d, $J = 8.0$ Hz, 1H), 4.74 (br s, 1H), 3.78 (s, 3H), 3.70–3.64 (m, 2H), 3.21 (s, 3H), 2.05 (s, 1H), 1.85–1.80 (m, 1H), 1.69–1.60 (m, 3H), 1.44 (s, 9H); $^{13}\text{C NMR}$ (75 MHz, CDCl_3) δ 173.1, 155.7, 79.7, 62.3, 61.7, 50.1, 32.1, 29.7, 28.4 (4C); HRMS (FAB) m/z calcd for $\text{C}_{12}\text{H}_{25}\text{N}_2\text{O}_5$ ($[\text{M}+\text{H}]^+$) 277.1763, found 277.1751.

***tert*-Butyl *N*-{(S)-5-[(*tert*-butyldimethylsilyl)oxy]-1-[methoxy(methyl)amino]-1-oxopentan-2-yl}carbamate (31)**

アルゴン雰囲気下、化合物 **30** (34.1 g, 123 mmol) を DMF (247 mL) に溶解し、 $0\text{ }^{\circ}\text{C}$ に冷却後、イミダゾール (27.7 g, 407 mmol)、TBSCl (27.9 g, 185 mmol) を加え、室温で 16 時間攪拌した。酢酸エチルで希釈した後、有機層を 1 M 塩酸水溶液、飽和塩化ナトリウム水溶液で洗浄し、無水硫酸ナトリウムで乾燥させた。濾過後、減圧下で溶媒を留去し、カラムクロマトグラフィー (ヘキサン : 酢酸エチル = 3:1) で精製を行い、無色油状の化合物 **31** (42.8 g, 89%) を得た。 $[\alpha]_{\text{D}}^{22} +1.30$ (c 1.30, CHCl_3); $^1\text{H NMR}$ (500 MHz, CDCl_3) δ 5.22 (d, $J = 9.0$ Hz, 1H), 4.67 (br s, 1H), 3.77 (s, 3H), 3.62 (t, $J = 5.8$ Hz, 2H), 3.21 (s, 3H), 1.82–1.75 (m, 1H), 1.64–1.54 (m, 3H), 1.43 (s, 9H), 0.88 (s, 9H), 0.04 (s, 6H); $^{13}\text{C NMR}$ (125 MHz, CDCl_3) δ 173.3, 155.6, 79.5, 62.5, 61.6, 50.3, 32.1, 29.3, 28.7, 28.4 (3C), 25.9 (3C), 18.3, -5.3 (2C); HRMS (FAB) m/z calcd for $\text{C}_{18}\text{H}_{39}\text{N}_2\text{O}_5\text{Si}$ ($[\text{M}+\text{H}]^+$) 391.2628, found 391.2639.

***tert*-Butyl *N*-{(S)-6-[(*tert*-butyldimethylsilyl)oxy]hex-1-en-3-yl}carbamate (32)**

アルゴン雰囲気下、化合物 **31** (13.1 g, 33.6 mmol) を脱水 THF (67.0 mL) に溶解し、 $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ に冷却後、LAH (1.66 g, 43.6 mmol) を加え、1 時間攪拌した。1 M 硫酸水素カリウム水溶液で反応を停止させた後、酢酸エチルで抽出を行い、有機層を 1 M 塩酸水溶液、飽和炭酸水素ナトリウム水溶液、飽和塩化ナトリウム水溶液で洗浄し、無水硫酸ナトリウムで乾燥させた。濾過後、減圧下で溶媒を留去し、アルデヒドを粗精製物として得た。得られた生成物は精製を行わず次の反応に供した。

アルゴン雰囲気下、メチルトリフェニルホスホニウムブロミド (18.0 g, 50.3 mmol) を脱水 THF (200 mL) に溶解し、 $0\text{ }^{\circ}\text{C}$ に冷却後、KHMDS (0.5 M トルエン溶液; 101 mL, 50.5 mmol) を滴下し、10 分間攪拌した。この溶液にアルデヒド体を脱水 THF (136 mL) に溶解した溶液を滴下し、室温で終夜攪拌した。飽和塩化アンモニウム水溶液で反応を停止させ、減圧下で溶媒を留去した後、ヘキサンで抽出を行い、有機層を飽和塩化ナトリウム水溶液で洗浄し、無水硫酸ナトリウムで乾燥させた。濾過後、減圧下で溶媒を留去し、カラムクロマトグラフィー (ヘキサン : 酢酸エチル = 10:1) で精製を行い、無色油状の化合物 **32** (9.88 g, 89%, over 2

steps) を得た。[α]²²_D+7.39 (*c* 1.15, CHCl₃); ¹H NMR (500 MHz, CDCl₃) δ 5.74 (ddd, *J* = 16.5, 10.5, 6.0 Hz, 1H), 5.15 (d, *J* = 17.0 Hz, 1H), 5.08 (d, *J* = 10.5 Hz, 1H), 4.63 (br s, 1H), 4.10 (br s, 1H), 3.62 (t, *J* = 5.8 Hz, 2H), 1.61–1.48 (m, 4H), 1.44 (s, 9H), 0.89 (s, 9H), 0.05 (s, 6H); ¹³C NMR (125 MHz, CDCl₃) δ 155.4, 139.1, 114.3, 79.2, 62.8, 53.5, 31.4, 28.8, 28.4 (3C), 26.0 (3C), 18.3, –5.3 (2C); HRMS (FAB) *m/z* calcd for C₁₇H₃₆NO₃Si ([M+H]⁺) 330.2464, found 330.2459.

***tert*-Butyl *N*-{(*S*)-4-[(*tert*-butyldimethylsilyloxy)-1-[(*R*)-oxiran-2-yl]butyl]carbamate (33)**

アルゴン雰囲気下、化合物 **32** (5.06 g, 15.4 mmol) をジクロロメタン(154 mL) に溶解し、*m*-CPBA (10.6 g, 61.4 mmol) を加え、室温で終夜攪拌した。ジエチルエーテルを加えた後、1 M チオ硫酸ナトリウム水溶液で反応を停止させ、酢酸エチルで抽出を行い、有機層を飽和炭酸水素ナトリウム水溶液、飽和塩化ナトリウム水溶液で洗浄し、無水硫酸ナトリウムで乾燥させた。濾過後、減圧下で溶媒を留去し、カラムクロマトグラフィー (ヘキサン : 酢酸エチル = 8:1) で精製を行い、化合物 **33** (4.33 g, 82%, *dr* = 20:1) をジアステレオマー混合物として得た。

アルゴン雰囲気下、得られたジアステレオマー混合物を HFIP (25.0 mL) に溶解し、還流条件下で 5 分間攪拌した。減圧下で溶媒を留去した後、カラムクロマトグラフィー (ヘキサン : 酢酸エチル = 6:1) で精製を行い、単一のジアステレオマーとして無色油状の化合物 **33** (3.27 g, 76%) を得た。[α]²²_D+0.490 (*c* 1.02, CHCl₃); ¹H NMR (500 MHz, CDCl₃) δ 4.49 (d, *J* = 8.0 Hz, 1H), 3.87 (br s, 1H), 3.64 (t, *J* = 6.0 Hz, 2H), 3.02 (br s, 1H), 2.73 (t, *J* = 4.3 Hz, 1H), 2.58 (br s, 1H), 1.77–1.68 (m, 2H), 1.67–1.54 (m, 2H), 1.43 (s, 9H), 0.89 (s, 9H), 0.05 (s, 6H); ¹³C NMR (125 MHz, CDCl₃) δ 155.9, 79.6, 62.6, 53.7, 48.9, 44.3, 29.7, 29.0, 28.3 (3C), 25.9 (3C), 18.3, –5.3 (2C); HRMS (ESI) *m/z* calcd for C₁₇H₃₅NO₄SiNa ([M+Na]⁺) 368.2228, found 368.2229.

(4*S*,5*S*)-4-{3-[(*tert*-Butyldimethylsilyloxy)propyl]-5-(hydroxymethyl)-1,3-oxazolidin-2-one (34)

アルゴン雰囲気下、化合物 **33** (3.25 g, 9.41 mmol) を HFIP (94.1 mL) に溶解し、還流条件下で終夜攪拌した。減圧下で溶媒を留去した後、カラムクロマトグラフィー (ヘキサン : 酢酸エチル = 1:1) で精製を行い、白色固体の化合物 **34** (2.22 g, 81%) を得た。融点 45–47 °C; [α]²³_D+0.151 (*c* 0.885, CHCl₃); ¹H NMR (500 MHz, CDCl₃) δ 6.39 (s, 1H), 4.68 (ddd, *J* = 10.8, 5.4, 2.9 Hz, 1H), 3.98–3.94 (m, 1H), 3.90–3.80 (m, 2H), 3.66 (t, *J* = 5.5 Hz, 2H), 2.80–2.76 (m, 1H), 1.77–1.69 (m, 1H), 1.66–1.56 (m, 3H), 0.90 (s, 9H), 0.06 (s, 6H); ¹³C NMR (125 MHz, CDCl₃) δ 159.1, 79.6, 62.6, 60.6, 54.7, 29.7, 26.9, 25.9 (3C), 18.3, –5.4 (2C); HRMS (FAB) *m/z* calcd for C₁₃H₂₈NO₄Si ([M+H]⁺) 290.1788, found 290.1773.

(4*S*,5*R*)-4-(3-Hydroxypropyl)-5-[(4-methylphenyl)[(2-nitrophenyl)sulfonyl]amino]methyl-1,3-oxazolidin-2-one (35)

アルゴン雰囲気下、化合物 **34** (949 mg, 3.28 mmol)、*N*-(4-メチルフェニル)-2-ニトロベンゼンスルホンアミド (1.92 g, 6.56 mmol, CAS No. 63228-66-0)、トリフェニルホスフィン (1.72 g, 6.56 mmol) を脱水 THF (32.8 mL) に溶解し、0 °C に冷却後、DIAD (2.54 mL, 13.1 mmol) を滴下し、室温で 3 時間攪拌した。1 M 塩酸水溶液で反応を停止させ、減圧下で溶媒を留去した。その

残渣に酢酸エチルを加え、有機層を 1 M 塩酸水溶液、飽和塩化ナトリウム水溶液で洗浄し、無水硫酸ナトリウムで乾燥させた。濾過後、減圧下で溶媒を留去し、カラムクロマトグラフィー（ヘキサン：酢酸エチル=1:3 to 1:5）で精製を行い、白色固体の化合物 **35** (1.37 g, 93%) を得た。融点 112–114 °C; $[\alpha]_{\text{D}}^{23} +51.8$ (*c* 1.34, CHCl₃); ¹H NMR (500 MHz, CDCl₃) δ 7.68–7.65 (m, 1H), 7.62 (d, *J* = 7.5 Hz, 1H), 7.49 (d, *J* = 4.0 Hz, 2H), 7.10 (s, 4H), 6.95 (s, 1H), 4.65–4.61 (m, 1H), 4.14–4.00 (m, 2H), 3.88–3.84 (m, 1H), 3.67–3.58 (m, 2H), 2.87 (br s, 1H), 2.31 (s, 3H), 1.68–1.57 (m, 4H); ¹³C NMR (125 MHz, CDCl₃) δ 159.1, 148.0, 139.2, 134.9, 133.9, 132.1, 131.6, 131.3, 130.3 (2C), 129.5 (2C), 123.9, 80.1, 61.9, 54.6, 51.6, 29.1, 26.6, 21.2; HRMS (EI) *m/z* calcd for C₂₀H₂₃N₃O₇S ([M]⁺) 449.1257, found 449.1259.

(4*S*,5*R*)-4-(But-3-en-1-yl)-5-[(4-methylphenyl)amino]methyl-1,3-oxazolidin-2-one (**36**)

アルゴン雰囲気下、化合物 **35** (82.6 mg, 184 μmol) をジクロロメタン (1.8 mL) に溶解し、DMP (93.5 mg, 221 μmol) を加え、室温で 30 分間攪拌した。0 °C に冷却後、飽和炭酸水素ナトリウム水溶液/1 M チオ硫酸ナトリウム水溶液/ジエチルエーテル (1:1:1 (v/v/v)) を加え、室温で 30 分間攪拌した。減圧下で溶媒を留去した後、酢酸エチルで抽出を行い、有機層を飽和塩化ナトリウム水溶液で洗浄し、無水硫酸ナトリウムで乾燥させた。濾過後、減圧下で溶媒を留去し、カラムクロマトグラフィー（ヘキサン：酢酸エチル=1:2）で粗精製を行い、アルデヒド体を得た。

アルゴン雰囲気下、メチルトリフェニルホスホニウムブロミド (98.5 mg, 276 μmol) を脱水 THF (900 μL) に溶解し、0 °C に冷却後、KHMDS (0.5 M トルエン溶液; 551 μL, 276 μmol) を滴下し、10 分間攪拌した。この溶液にアルデヒド体を脱水 THF (900 μL) に溶解した溶液を滴下し、室温で終夜攪拌した。飽和塩化アンモニウム水溶液で反応を停止させ、酢酸エチルで抽出後、有機層を飽和塩化ナトリウム水溶液で洗浄し、無水硫酸ナトリウムで乾燥させた。濾過後、減圧下で溶媒を留去し、カラムクロマトグラフィー（ヘキサン：酢酸エチル=2:1 to 1:1）で精製を行い、目的物と目的物から Ns 基の外れた化合物の混合物を得た。得られた混合物は分離不可能であったため、混合物のまま次の脱保護反応に供した。

アルゴン雰囲気下、得られた混合物をアセトニトリル (1.2 mL) に溶解し、炭酸カリウム (63.9 mg, 462 μmol)、チオフェノール (35.0 μL, 347 μmol) を加え、室温で 13.5 時間攪拌した。反応液を濾過し、減圧下で溶媒を留去した後、カラムクロマトグラフィー（ヘキサン：酢酸エチル=2:1 to 1:2）で精製を行い、橙色固体の化合物 **36** (27.3 mg, 57%, over 3 steps) を得た。融点 55–57 °C; $[\alpha]_{\text{D}}^{23} +25.1$ (*c* 0.93, CHCl₃); ¹H NMR (500 MHz, CDCl₃) δ 7.01 (d, *J* = 8.0 Hz, 2H), 6.57 (d, *J* = 8.5 Hz, 2H), 6.54 (s, 1H), 5.82–5.74 (m, 1H), 5.11 (dd, *J* = 17.0, 1.5 Hz, 1H), 5.06 (dd, *J* = 10.3, 1.3 Hz, 1H), 4.81 (td, *J* = 8.5, 3.2 Hz, 1H), 3.97–3.92 (m, 1H), 3.90–3.85 (m, 1H), 3.45–3.31 (m, 2H), 2.24 (s, 1H), 2.23–2.19 (m, 1H), 2.14–2.07 (m, 1H), 1.74–1.65 (m, 2H); ¹³C NMR (125 MHz, CDCl₃) δ 159.1, 144.9, 136.6, 129.9 (2C), 127.8, 116.5, 113.7 (2C), 77.8, 54.4, 43.8, 30.6, 28.9, 20.4; HRMS (EI) *m/z* calcd for C₁₅H₂₀N₂O₂ ([M]⁺) 260.1525, found 260.1525.

Benzyl (*S*)-4-hydroxy-2-[(*tert*-butoxycarbonyl)amino]butanoate (**38**)²⁴

アルゴン雰囲気下、Boc-Asp-OBn **37** (8.97 g, 27.7 mmol)、TEA (4.24 mL, 30.5 mmol) を脱水 THF (92.5 mL) に溶解し、 -40°C に冷却後、IBCF (4.32 mL, 33.3 mmol) を滴下し、40 分間攪拌した。この溶液に水素化ホウ素ナトリウム (3.15 g, 83.2 mmol)、水 (13.9 mL) を加え、 0°C で 1 時間攪拌した。飽和塩化アンモニウム水溶液で反応を停止させ、酢酸エチルで抽出後、有機層を飽和塩化ナトリウム水溶液で洗浄し、無水硫酸ナトリウムで乾燥させた。濾過後、減圧下で溶媒を留去し、カラムクロマトグラフィー (ヘキサン:酢酸エチル=2:1) で精製を行い、無色油状の化合物 **38** (7.53 g, 88%) を得た。 $^1\text{H NMR}$ (300 MHz, CDCl_3) δ 7.39–7.27 (m, 5H), 5.53 (d, $J=8.1$ Hz, 1H), 5.20 (d, $J=12.3$ Hz, 1H), 5.15 (d, $J=12.0$ Hz, 1H), 4.51 (td, $J=8.9, 3.1$ Hz, 1H), 3.73–3.58 (m, 2H), 3.41 (br s, 1H), 2.19–2.08 (m, 1H), 1.70–1.62 (m, 1H), 1.43 (s, 9H).

Benzyl (S)-4-[(*tert*-butyldimethylsilyl)oxy]-2-[(*tert*-butoxycarbonyl)amino]butanoate (**39**)²⁵

化合物 **31** の合成と同様の操作により反応を行い、化合物 **38** (7.53 g, 24.3 mmol) から無色油状の化合物 **39** (9.57 g, 93%) を得た。 $^1\text{H NMR}$ (300 MHz, CDCl_3) δ 7.36–7.31 (m, 5H), 5.77 (d, $J=7.5$ Hz, 1H), 5.22 (d, $J=12.6$ Hz, 1H), 5.11 (d, $J=12.6$ Hz, 1H), 4.22 (dd, $J=11.7, 6.9$ Hz, 1H), 3.73–3.60 (m, 2H), 2.10–1.89 (m, 2H), 1.43 (s, 9H), 0.89 (s, 9H), 0.03 (s, 3H), 0.02 (s, 3H).

tert-Butyl *N*-{(S)-4-[(*tert*-butyldimethylsilyl)oxy]-1-[methoxy(methyl)amino]-1-oxobutan-2-yl}carbamate (**40**)²⁶

アルゴン雰囲気下、化合物 **39** (9.57 g, 22.6 mmol) を酢酸エチル (75.3 mL) に溶解し、パラジウム/炭素 (Pd 10%, 957 mg) を加えた。アルゴンを水素ガスに置換後、室温で終夜攪拌した。反応液を濾過後、減圧下で溶媒を留去し、脱保護体を得た。得られた生成物は精製を行わず次の反応に供した。

アルゴン雰囲気下、脱保護体、HOBt 一水和物 (3.81 g, 24.9 mmol)、EDC 塩酸塩 (5.20 g, 27.1 mmol) をジクロロメタン (45.2 mL) に溶解し、 0°C で 5 分間攪拌した。この溶液に *N,O*-ジメチルヒドロキシルアミン塩酸塩 (2.54 g, 26.0 mmol)、NMM (3.00 mL, 27.1 mmol) を加え、室温で終夜攪拌した。酢酸エチル、1 M 塩酸水溶液を加え、減圧下で溶媒を留去した。残渣に酢酸エチルを加え、有機層を 1 M 塩酸水溶液、飽和炭酸水素ナトリウム水溶液、飽和塩化ナトリウム水溶液で洗浄し、無水硫酸ナトリウムで乾燥させた。濾過後、減圧下で溶媒を留去し、カラムクロマトグラフィー (ヘキサン:酢酸エチル=2:1) で精製を行い、白色固体の化合物 **40** (7.64 g, 90%, over 2 steps) を得た。 $^1\text{H NMR}$ (300 MHz, CDCl_3) δ 5.49 (d, $J=8.1$ Hz, 1H), 4.75 (td, $J=8.5, 2.9$ Hz, 1H), 3.79 (s, 3H), 3.74–3.65 (m, 2H), 3.21 (s, 3H), 2.03–1.92 (m, 1H), 1.78–1.69 (m, 1H), 1.43 (s, 9H), 0.91 (s, 9H), 0.07 (s, 3H), 0.05 (s, 3H).

tert-Butyl *N*-{(S)-5-[(*tert*-butyldimethylsilyl)oxy]pent-1-en-3-yl}carbamate (**41**)

化合物 **32** の合成と同様の操作により反応を行い、化合物 **40** (2.46 g, 6.52 mmol) から無色油状の化合物 **41** (1.65 g, 80%, over 2 steps) を得た。 $[\alpha]_D^{23} -0.874$ (c 1.13, CHCl_3); $^1\text{H NMR}$ (500 MHz, CDCl_3) δ 5.78 (ddd, $J=16.5, 10.8, 5.8$ Hz, 1H), 5.48 (br s, 1H), 5.18 (d, $J=17.5$ Hz, 1H), 5.12 (d, $J=10.5$ Hz, 1H), 4.26 (br s, 1H), 3.78–3.74 (m, 1H), 3.70–3.66 (m, 1H), 1.86 (br s, 1H), 1.67–1.61 (m, 1H),

1.43 (s, 9H), 0.91 (s, 9H), 0.06 (s, 6H); ^{13}C NMR (125 MHz, CDCl_3) δ 155.4, 138.5, 114.3, 78.8, 60.2, 51.5, 36.3, 28.4 (3C), 25.9 (3C), 18.1, -5.57 (2C); HRMS (FAB) m/z calcd for $\text{C}_{16}\text{H}_{34}\text{NO}_3\text{Si}$ ($[\text{M}+\text{H}]^+$) 316.2308, found 316.2299.

***tert*-Butyl *N*-{(*S*)-3-[(*tert*-butyldimethylsilyloxy)-1-[(*R*)-oxiran-2-yl]propyl]carbamate (42)**

化合物 **33** の合成と同様の操作により反応を行い、化合物 **41** (1.05 g, 3.34 mmol) から無色油状の化合物 **42** (553 mg, 53%, over 2 steps) を得た。 $[\alpha]_{\text{D}}^{23}$ -12.9 (c 1.13, CHCl_3); ^1H NMR (500 MHz, CDCl_3) δ 4.86 (d, J = 7.0 Hz, 1H), 4.02 (br s, 1H), 3.80 (br s, 1H), 3.77–3.73 (m, 1H), 3.05 (s, 1H), 2.72 (t, J = 4.0 Hz, 1H), 2.57 (s, 1H), 1.92–1.91 (m, 1H), 1.75–1.74 (m, 1H), 1.43 (s, 9H), 0.90 (s, 9H), 0.07 (s, 3H), 0.06 (s, 3H); ^{13}C NMR (125 MHz, CDCl_3) δ 155.6, 79.1, 60.0, 53.7, 47.3, 44.2, 35.5, 28.3 (3C), 25.9 (3C), 18.1, -5.55, -5.56; HRMS (FAB) m/z calcd for $\text{C}_{16}\text{H}_{34}\text{NO}_4\text{Si}$ ($[\text{M}+\text{H}]^+$) 332.2257, found 332.2269.

(4*S*,5*S*)-4-{2-[(*tert*-Butyldimethylsilyloxy)ethyl]-5-(hydroxymethyl)-1,3-oxazolidin-2-one (43)

アルゴン雰囲気下、化合物 **42** (553 mg, 1.67 mmol) を HFIP (33.4 mL) に溶解し、(+)-CSA (38.7 mg, 167 μmol) を加え、40 $^\circ\text{C}$ で1時間攪拌した。飽和炭酸水素ナトリウム水溶液で反応を停止させ、酢酸エチルで抽出後、有機層を飽和塩化ナトリウム水溶液で洗浄し、無水硫酸ナトリウムで乾燥させた。濾過後、減圧下で溶媒を留去し、カラムクロマトグラフィー (ヘキサン : 酢酸エチル = 1:2 to 1:3) で精製を行い、白色固体の化合物 **43** (230 mg, 50%) を得た。融点 56–57 $^\circ\text{C}$; $[\alpha]_{\text{D}}^{23}$ +0.601 (c 0.885, CHCl_3); ^1H NMR (500 MHz, CDCl_3) δ 5.83 (s, 1H), 4.70–4.67 (m, 1H), 4.08 (td, J = 9.0, 3.2 Hz, 1H), 3.88–3.84 (m, 2H), 3.82–3.79 (m, 1H), 3.75–3.70 (m, 1H), 2.76 (br s, 1H), 1.87–1.77 (m, 2H), 0.91 (s, 9H), 0.08 (s, 6H); ^{13}C NMR (125 MHz, CDCl_3) δ 158.6, 79.3, 61.9, 60.7, 54.3, 31.7, 25.9 (3C), 18.2, -5.45, -5.53; HRMS (FAB) m/z calcd for $\text{C}_{12}\text{H}_{26}\text{NO}_4\text{Si}$ ($[\text{M}+\text{H}]^+$) 276.1631, found 276.1650.

(4*S*,5*R*)-4-(2-Hydroxyethyl)-5-[(4-methylphenyl)[(2-nitrophenyl)sulfonyl]amino]methyl-1,3-oxazolidin-2-one (44)

化合物 **35** の合成と同様の操作により反応を行い、化合物 **43** (210 mg, 763 μmol) から薄橙色固体の化合物 **44** (297 mg, 90%) を得た。融点 49–51 $^\circ\text{C}$; $[\alpha]_{\text{D}}^{23}$ +55.4 (c 1.04, CHCl_3); ^1H NMR (500 MHz, CDCl_3) δ = 7.68–7.61 (m, 2H), 7.50–7.46 (m, 2H), 7.13–7.09 (m, 4H), 6.38 (s, 1H), 4.65 (dd, J = 14.0, 6.5 Hz, 1H), 4.06 (d, J = 6.5 Hz, 2H), 4.04–4.01 (m, 1H), 3.85–3.81 (m, 1H), 3.74–3.70 (m, 1H), 2.33 (s, 3H), 1.83–1.73 (m, 2H); ^{13}C NMR (125 MHz, CDCl_3) δ 158.7, 148.0, 139.2, 134.9, 133.8, 132.3, 131.6, 131.3, 130.3 (2C), 129.4 (2C), 123.9, 76.9 (overlapped with CHCl_3 peak), 60.3, 53.7, 51.6, 31.2, 21.2; HRMS (EI) m/z calcd for $\text{C}_{19}\text{H}_{21}\text{N}_3\text{O}_7\text{S}$ ($[\text{M}]^+$) 435.1100, found 435.1101.

(4*S*,5*R*)-5-[(4-Methylphenyl)[(2-nitrophenyl)sulfonyl]amino]methyl-4-[2-(prop-2-enoxy)ethyl]-1,3-oxazolidin-2-one (45)

アルゴン雰囲気下、化合物 **44** (109 mg, 250 μmol) を DMF (5.0 mL) に溶解し、0 $^\circ\text{C}$ に冷却

後、水素化ナトリウム (60% dispersion in oil, 12.0 mg, 300 μmol)、臭化アリル (21.6 μL , 250 μmol) を加え、室温で 1 時間攪拌した。飽和塩化アンモニウム水溶液で反応を停止させ、減圧下で溶媒を留去した後、酢酸エチルで抽出を行った。有機層を飽和塩化ナトリウム水溶液で洗浄し、無水硫酸ナトリウムで乾燥させた。濾過後、減圧下で溶媒を留去し、カラムクロマトグラフィー (ヘキサン : 酢酸エチル = 1:3 to 1:4) で精製を行い、橙色固体の化合物 **45** (104 mg, 87%) を得た。融点 38–40 °C; $[\alpha]_{\text{D}}^{23} +48.3$ (c 0.845, CHCl_3); $^1\text{H NMR}$ (500 MHz, CDCl_3) δ 7.68–7.64 (m, 1H), 7.61 (d, $J = 7.5$ Hz, 1H), 7.50–7.46 (m, 2H), 7.14–7.10 (m, 4H), 5.77–5.69 (m, 1H), 5.24–5.20 (m, 2H), 4.61–4.57 (m, 1H), 4.26 (dd, $J = 14.8, 3.3$ Hz, 1H), 4.11 (dd, $J = 15.8, 4.8$ Hz, 1H), 4.00 (dd, $J = 14.8, 9.3$ Hz, 1H), 3.95–3.91 (m, 1H), 3.81–3.76 (m, 1H), 3.73–3.68 (m, 1H), 3.60 (dd, $J = 16.0, 7.5$ Hz, 1H), 2.33 (s, 3H), 1.97–1.88 (m, 2H); $^{13}\text{C NMR}$ (125 MHz, CDCl_3) δ 157.3, 148.0, 139.1, 135.1, 133.8, 132.3, 132.1, 131.8, 131.2, 130.3 (2C), 129.4 (2C), 123.8, 118.7, 75.4, 59.1, 55.1, 51.9, 45.2, 29.5, 21.2; HRMS (EI) m/z calcd for $\text{C}_{22}\text{H}_{25}\text{N}_3\text{O}_7\text{S}$ ($[\text{M}]^+$) 475.1413, found 475.1415.

(4*S*,5*R*)-5-[(4-Methylphenyl)amino]methyl-4-[2-(prop-2-enoxy)ethyl]-1,3-oxazolidin-2-one (46)

アルゴン雰囲気下、化合物 **45** (104 mg, 218 μmol) をアセトニトリル (2.2 mL) に溶解し、炭酸カリウム (122 mg, 871 μmol)、チオフェノール (68.0 μL , 654 μmol) を加え、室温で 13.5 時間攪拌した。反応液を濾過し、減圧下で溶媒を留去した後、カラムクロマトグラフィー (ヘキサン : 酢酸エチル = 1:1 to 1:4) で精製を行い、橙色油状の化合物 **46** (59.9 mg, 94%) を得た。 $[\alpha]_{\text{D}}^{23} +35.4$ (c 0.98, CHCl_3); $^1\text{H NMR}$ (500 MHz, CDCl_3) δ 6.99 (d, $J = 8.0$ Hz, 2H), 6.58 (d, $J = 8.5$ Hz, 2H), 5.80–5.72 (m, 1H), 5.26–5.22 (m, 2H), 4.74 (td, $J = 8.3, 3.7$ Hz, 1H), 4.11 (dd, $J = 16.0, 5.0$ Hz, 1H), 4.00 (td, $J = 8.3, 4.0$ Hz, 1H), 3.82–3.79 (m, 1H), 3.72–3.64 (m, 2H), 3.58 (dd, $J = 13.3, 3.8$ Hz, 1H), 3.27 (dd, $J = 13.3, 8.8$ Hz, 1H), 2.24 (s, 3H), 1.97–1.85 (m, 2H); $^{13}\text{C NMR}$ (125 MHz, CDCl_3) δ 157.7, 144.9, 132.1, 129.9 (2C), 127.7, 118.6, 113.8 (2C), 75.8, 59.6, 55.9, 45.1, 44.0, 29.3, 20.4; HRMS (EI) m/z calcd for $\text{C}_{16}\text{H}_{22}\text{N}_2\text{O}_2$ ($[\text{M}]^+$) 290.1631, found 290.1630.

4-*O*-Benzyl 1-*O*-*tert*-butyl (*S*)-2-[(*tert*-butoxycarbonyl)amino]butanedioate (48)²⁷

アルゴン雰囲気下、Boc-Asp(OBn)-OH **47** (5.00 g, 15.5 mmol) をジクロロメタン (38.8 mL) に溶解し、0 °C に冷却後、*tert*-ブチルアルコール (4.40 mL, 46.5 mmol)、DCC (3.84 g, 18.6 mmol)、DMAP (189 mg, 1.55 mmol) を加え、室温で 1 時間攪拌した。反応液を濾過し、減圧下で溶媒を留去した後、残渣に酢酸エチルを加えた。有機層を 1 M 塩酸水溶液、飽和塩化ナトリウム水溶液で洗浄し、無水硫酸ナトリウムで乾燥させた。濾過後、減圧下で溶媒を留去し、カラムクロマトグラフィー (ヘキサン : 酢酸エチル = 7:1) で精製を行い、白色固体の化合物 **48** (5.11 g, 87%) を得た。 $^1\text{H NMR}$ (300 MHz, CDCl_3) δ 7.37–7.25 (m, 5H), 5.53 (d, $J = 8.1$ Hz, 1H), 5.14 (d, $J = 12.3$ Hz, 1H), 5.08 (d, $J = 12.3$ Hz, 1H), 4.46 (dt, $J = 8.4, 4.3$ Hz, 1H), 2.97 (dd, $J = 16.8, 4.5$ Hz, 1H), 2.82 (dd, $J = 16.8, 4.8$ Hz, 1H), 1.44 (s, 9H), 1.40 (s, 9H).

4-*O*-Benzyl 1-*O*-*tert*-butyl (*S*)-2-[bis(*tert*-butoxycarbonyl)amino]butanedioate (49)

アルゴン雰囲気下、化合物 **48** (5.09 g, 13.4 mmol) をアセトニトリル (53.6 mL) に溶解し、

DMAP (327 mg, 2.70 mmol)、(Boc)₂O (11.7 g, 53.7 mmol) を加え、室温で 24 時間攪拌した。減圧下で溶媒を留去した後、カラムクロマトグラフィー (ヘキサン : 酢酸エチル = 7:1) で精製を行い、無色油状の化合物 **49** (6.36 g, 99%) を得た。[α]²³_D -13.7 (*c* 1.03, CHCl₃); ¹H NMR (500 MHz, CDCl₃) δ 7.36–7.29 (m, 5H), 5.36 (t, *J* = 7.0 Hz, 1H), 5.18 (d, *J* = 12.5 Hz, 1H), 5.09 (d, *J* = 12.5 Hz, 1H), 3.27 (dd, *J* = 16.5, 7.0 Hz, 1H), 2.74 (dd, *J* = 16.5, 6.5 Hz, 1H), 1.50 (s, 18H), 1.43 (s, 9H); ¹³C NMR (125 MHz, CDCl₃) δ 170.8, 168.6, 152.0 (2C), 135.8, 128.5 (2C), 128.2 (2C), 128.1, 83.2 (2C), 81.9, 66.6, 55.6, 35.6, 28.0 (6C), 27.9 (3C); HRMS (FAB) *m/z* calcd for C₂₅H₃₈NO₈ ([M+H]⁺) 480.2597, found 480.2614.

***tert*-Butyl (S)-2-[bis(*tert*-butoxycarbonyl)amino]-4-[methoxy(methyl)amino]-4-oxobutanate (50)**

化合物 **40** の合成と同様の操作により反応を行い、化合物 **49** (6.34 g, 13.2 mmol) から無色油状の化合物 **50** (4.64 g, 81%, over 2 steps) を得た。[α]²³_D -21.6 (*c* 1.03, CHCl₃); ¹H NMR (500 MHz, CDCl₃) δ 5.46 (t, *J* = 6.5 Hz, 1H), 3.71 (s, 3H), 3.41 (dd, *J* = 16.5, 6.5 Hz, 1H), 3.18 (s, 3H), 2.74 (dd, *J* = 16.5, 6.0 Hz, 1H), 1.52 (s, 18H), 1.45 (s, 9H); ¹³C NMR (125 MHz, CDCl₃) δ 171.6, 169.3, 152.1 (2C), 82.9 (2C), 81.6, 61.3, 55.5, 33.3, 32.3, 28.0 (6C), 27.9 (3C); HRMS (FAB) *m/z* calcd for C₂₀H₃₇N₂O₈ ([M+H]⁺) 433.2550, found 433.2537.

***tert*-Butyl (S)-2-[bis(*tert*-butoxycarbonyl)amino]pent-4-enoate (51)**

化合物 **32** の合成と同様の操作により反応を行い、化合物 **50** (4.59 g, 10.6 mmol) から白色固体の化合物 **51** (1.52 g, 39%, over 2 steps) を得た。融点 51–53 °C; [α]²⁴_D -1.14 (*c* 1.05, CHCl₃); ¹H NMR (500 MHz, CDCl₃) δ 5.81–5.73 (m, 1H), 5.08 (d, *J* = 17.0 Hz, 1H), 5.04 (d, *J* = 10.0 Hz, 1H), 4.83 (dd, *J* = 10.0, 5.0 Hz, 1H), 2.83–2.78 (m, 1H), 2.67–2.61 (m, 1H), 1.50 (s, 18H), 1.45 (s, 9H); ¹³C NMR (125 MHz, CDCl₃) δ 169.4, 152.4 (2C), 134.5, 117.6, 82.7 (2C), 81.3, 58.3, 33.9, 28.0 (6C), 27.9 (3C); HRMS (FAB) *m/z* calcd for C₁₉H₃₃NO₆Na ([M+Na]⁺) 394.2206, found 394.2191.

(S)-2-([(9*H*-Fluoren-9-yl)methoxy]carbonyl)amino)pent-4-enoic acid (24**)²⁸**

化合物 **51** (1.50 g, 4.04 mmol) をジクロロメタン (20.0 mL) に溶解し、TFA (20.0 mL) を加え、室温で終夜攪拌した。減圧下で溶媒を留去し、脱保護体を得た。得られた生成物は精製を行わず次の反応に供した。

脱保護体を水 (20.0 mL) に溶解し、0 °C に冷却後、炭酸水素ナトリウム (1.01 g, 12.0 mmol)、アセトニトリル (20.0 mL) に溶解した FmocOSu (2.02 g, 6.05 mmol) を加え、室温で終夜攪拌した。反応液を水で抽出後、水層をジエチルエーテルで洗浄し、1 M 塩酸水溶液で中和した。混合液を酢酸エチルで抽出後、有機層を飽和塩化ナトリウム水溶液で洗浄し、無水硫酸ナトリウムで乾燥させた。濾過後、減圧下で溶媒を留去し、カラムクロマトグラフィー (クロロホルム : メタノール = 9:1) で精製を行い、白色固体の化合物 **24** (1.10 g, 81%, over 2 steps) を得た。¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ 7.76 (d, *J* = 7.5 Hz, 2H), 7.59 (d, *J* = 7.2 Hz, 2H), 7.40 (t, *J* = 7.4 Hz, 2H), 7.31 (td, *J* = 7.4, 0.8 Hz, 2H), 5.82–5.66 (m, 1H), 5.30 (d, *J* = 8.1 Hz, 1H), 5.19 (d, *J* = 12.0 Hz, 2H), 4.50 (dd, *J* = 12.8, 6.5 Hz, 1H), 4.41 (d, *J* = 6.9 Hz, 2H), 4.23 (t, *J* = 6.9 Hz, 1H), 2.70–2.52

(m, 2H).

***tert*-Butyl (S)-2-[bis(*tert*-butoxycarbonyl)amino]-5-[methoxy(methyl)amino]-5-oxopentanoate (53)**

アルゴン雰囲気下、Boc-Glu-O*t*-Bu **52** (1.01 g, 3.30 mmol)、HOBt 一水和物 (555 mg, 3.63 mmol)、EDC 塩酸塩 (758 mg, 3.96 mmol) をジクロロメタン (6.6 mL) に溶解し、0 °C で 5 分間攪拌した。この溶液に *N,O*-ジメチルヒドロキシルアミン塩酸塩 (370 mg, 3.79 mmol)、NMM (434 μ L, 3.96 mmol) を加え、室温で終夜攪拌した。酢酸エチル、1 M 塩酸水溶液を加え、減圧下で溶媒を留去した。残渣に酢酸エチルを加え、有機層を 1 M 塩酸水溶液、飽和炭酸水素ナトリウム水溶液、飽和塩化ナトリウム水溶液で洗浄し、無水硫酸ナトリウムで乾燥させた。濾過後、減圧下で溶媒を留去し、ワインレブアミドを粗精製物として得た。得られた生成物は精製を行わず次の反応に供した。

アルゴン雰囲気下、ワインレブアミド体をアセトニトリル (13.3 mL) に溶解し、DMAP (81.4 mg, 666 μ mol)、(Boc)₂O (2.91 g, 13.3 mmol) を加え、室温で 24 時間攪拌した。減圧下で溶媒を留去した後、カラムクロマトグラフィー (ヘキサン:酢酸エチル=5:2 to 1:1) で精製を行い、橙色油状の化合物 **53** (1.04 g, 70%, over 2 steps) を得た。[α]²⁴_D -20.3 (*c* 1.02, CHCl₃); ¹H NMR (500 MHz, CDCl₃) δ 4.84–4.81 (m, 1H), 3.67 (s, 3H), 3.17 (s, 3H), 2.55–2.41 (m, 3H), 2.17–2.10 (m, 1H), 1.50 (s, 18H), 1.45 (s, 9H); ¹³C NMR (125 MHz, CDCl₃) δ 173.6, 169.4, 152.3 (2C), 82.8 (2C), 81.2, 61.1, 58.4, 32.2, 28.6, 28.0 (6C), 27.9 (3C), 24.4; HRMS (FAB) *m/z* calcd for C₂₁H₃₉N₂O₈ ([M+H]⁺) 447.2706, found 447.2717.

***tert*-Butyl (S)-2-[bis(*tert*-butoxycarbonyl)amino]hex-5-enoate (54)**

化合物 **32** の合成と同様の操作により反応を行い、化合物 **53** (725 mg, 1.62 mmol) から白色固体の化合物 **54** (499 mg, 80%, over 2 steps) を得た。融点 32–34 °C; [α]²⁴_D -2.11 (*c* 1.22, CHCl₃); ¹H NMR (500 MHz, CDCl₃) δ 5.85–5.77 (m, 1H), 5.04 (dd, *J* = 17.0, 1.5 Hz, 1H), 4.98 (dd, *J* = 10.0, 1.0 Hz, 1H), 4.73 (dd, *J* = 9.3, 4.8 Hz, 1H), 2.20–2.08 (m, 3H), 1.98–1.91 (m, 1H), 1.51 (s, 18H), 1.45 (s, 9H); ¹³C NMR (125 MHz, CDCl₃) δ 169.9, 152.4 (2C), 137.6, 115.3, 82.7 (2C), 81.1, 58.3, 30.5, 28.7, 28.0 (6C), 27.9 (3C); HRMS (FAB) *m/z* calcd for C₂₀H₃₆NO₆ ([M+H]⁺) 386.2543, found 386.2539.

(S)-2-([(9*H*-Fluoren-9-yl)methoxy]carbonyl)amino]hex-5-enoic acid (25)¹⁴

化合物 **24** の合成と同様の操作により反応を行い、化合物 **54** (102 mg, 259 μ mol) から白色固体の化合物 **25** (81.1 mg, 88%, over 2 steps) を得た。¹H NMR (500 MHz, CDCl₃) δ 8.76 (br s, 1H), 7.74 (dd, *J* = 14.5, 7.0 Hz, 2H), 7.57 (t, *J* = 6.3 Hz, 1H), 7.51 (d, *J* = 7.0 Hz, 1H), 7.37 (t, *J* = 7.0 Hz, 2H), 7.29 (t, *J* = 7.3 Hz, 2H), 5.81–5.66 (m, 1H), 5.45 (d, *J* = 7.0 Hz, 1H), 5.06–4.99 (m, 2H), 4.48 (d, *J* = 5.5 Hz, 1H), 4.41 (dd, *J* = 17.8, 11.3 Hz, 2H), 4.20 (t, *J* = 6.8 Hz, 1H), 2.13 (dd, *J* = 14.0, 6.5 Hz, 2H), 2.02–1.95 (m, 1H), 1.83–1.74 (m, 1H).

(S)-2-([(9*H*-Fluoren-9-yl)methoxy]carbonyl)amino-3-(prop-2-enoxy)propanoic acid (26)²⁹

アルゴン雰囲気下、Boc-Ser-OH **55** (1.00 g, 4.87 mmol) を DMF (9.7 mL) に溶解し、0 °C に冷却後、水素化ナトリウム (60% dispersion in oil, 390 mg, 9.74 mmol)、臭化アリル (510 μ L, 5.84 mmol) を加え、室温で 20 時間攪拌した。反応液を水で抽出後、水層を酢酸エチルで洗浄し、1 M 塩酸水溶液で中和した。混合液を酢酸エチルで抽出後、有機層を飽和塩化ナトリウム水溶液で洗浄し、無水硫酸ナトリウムで乾燥させた。濾過後、減圧下で溶媒を留去し、側鎖 *O*-アリル体を得た。得られた生成物は精製を行わず次の反応に供した。

側鎖 *O*-アリル体をジクロロメタン (39.0 mL) に溶解し、TFA (9.7 mL) を加え、室温で 30 分間攪拌した。減圧下で溶媒を留去し、脱保護体を得た。得られた生成物は精製を行わず次の反応に供した。

脱保護体を水 (24.4 mL) に溶解し、0 °C に冷却後、炭酸水素ナトリウム (1.23 g, 14.6 mmol)、アセトニトリル (24.4 mL) に溶解した FmocOSu (2.46 g, 7.31 mmol) を加え、室温で終夜攪拌した。反応液を水で抽出後、水層をジエチルエーテルで洗浄し、1 M 塩酸水溶液で中和した。混合液を酢酸エチルで抽出後、有機層を飽和塩化ナトリウム水溶液で洗浄し、無水硫酸ナトリウムで乾燥させた。濾過後、減圧下で溶媒を留去し、カラムクロマトグラフィー (クロロホルム : メタノール = 5 : 1) で精製を行い、白色固体の化合物 **26** (1.34 g, 75%, over 3 steps) を得た。¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ 8.00 (br s, 1H), 7.72 (d, J = 7.5 Hz, 2H), 7.59 (t, J = 6.0 Hz, 2H), 7.36 (t, J = 7.5 Hz, 2H), 7.27 (t, J = 7.4 Hz, 2H), 5.94 (d, J = 8.1 Hz, 1H), 5.89–5.76 (m, 1H), 5.22 (d, J = 17.1 Hz, 1H), 5.14 (d, J = 10.2 Hz, 1H), 4.52 (t, J = 3.8 Hz, 1H), 4.36 (d, J = 6.6 Hz, 2H), 4.20 (t, J = 7.2 Hz, 1H), 3.98–3.90 (m, 3H), 3.70 (d, J = 6.9 Hz, 1H).

Compound 20

化合物 **36** (201 mg, 773 μ mol) をエタノール (12.9 mL) に溶解し、4 M 水酸化カリウム水溶液 (12.9 mL) を加え、還流条件下で終夜攪拌した。1 M 塩酸水溶液で反応を停止させ、水層をジエチルエーテルで洗浄し、飽和炭酸水素ナトリウム水溶液で中和した。混合液を酢酸エチルで抽出後、有機層を飽和塩化ナトリウム水溶液で洗浄し、無水硫酸ナトリウムで乾燥させた。濾過後、減圧下で溶媒を留去し、脱保護体を得た。得られた生成物は精製を行わず次の反応に供した。

アルゴン雰囲気下、Fmoc-Nva-OH (392 mg, 1.16 mmol)、HOBt 一水和物 (178 mg, 1.16 mmol)、EDC 塩酸塩 (222 mg, 1.16 mmol) を DMF (4.0 mL) に溶解し、NMM (423 μ L, 3.85 mmol) を加え、5 分間攪拌した。この混合液を、DMF (3.7 mL) に溶解した脱保護体の溶液に 0 °C で滴下し、室温で 2 時間攪拌した。水で反応を停止させ、酢酸エチルで抽出後、有機層を飽和炭酸水素ナトリウム水溶液、飽和塩化アンモニウム水溶液、飽和塩化ナトリウム水溶液で洗浄し、無水硫酸ナトリウムで乾燥させた。濾過後、減圧下で溶媒を留去した。得られた残渣にアセトニトリル (5.1 mL)、ジエチルアミン (5.1 mL) を加えて室温で 1 時間攪拌した後、減圧下で溶媒を留去し、Fmoc 基を除去したジペプチドイソスターの粗精製物を得た。得られた粗精製物に対して、同様の縮合反応と Fmoc 基の除去操作を用いて P3 フラグメント **24** (391 mg, 1.16 mmol)、Boc-Glu(*O**t*-Bu)-OH (352 mg, 1.16 mmol) を順次縮合し、化合物 **20** を粗精製物として得た。その後、HPLC にて精製を行い、白色凍結乾燥粉末の化合物 **20** (135 mg, 21%, over 6 steps)

を得た。[α]_D²⁴ -4.46 (*c* 0.81, CHCl₃); ¹H NMR (500 MHz, CDCl₃) δ 7.45 (br s, 1H), 7.16–7.09 (m, 6H), 5.77–5.65 (m, 3H), 5.09 (d, *J* = 12.0 Hz, 2H), 4.99–4.93 (m, 2H), 4.22 (br d, *J* = 7.0 Hz, 2H), 4.00 (br s, 2H), 3.85 (br s, 1H), 3.37 (br d, *J* = 12.0 Hz, 1H), 3.23 (br s, 1H), 2.61 (br d, *J* = 13.5 Hz, 1H), 2.44–2.35 (m, 2H), 2.30 (s, 3H), 2.27–2.26 (m, 1H), 2.11 (br s, 1H), 2.03–1.99 (m, 2H), 1.88–1.85 (m, 2H), 1.78–1.75 (m, 1H), 1.69 (br s, 2H), 1.44–1.26 (m, 20H), 0.92 (t, *J* = 7.0 Hz, 3H); ¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃) δ 173.2, 172.8, 171.8, 171.2, 156.3, 141.1, 137.8, 133.1, 132.2, 130.1 (2C), 118.8, 117.5 (2C), 115.2, 81.1, 80.3, 71.5, 60.4, 54.8, 53.2, 52.1, 51.0, 35.1, 33.8, 31.7, 30.2, 28.9, 28.3 (3C), 28.0 (3C), 26.9, 20.7, 19.3, 13.6; HRMS (FAB) *m/z* calcd for C₃₈H₆₂N₅O₈ ([M+H]⁺) 716.4598, found 716.4582.

Compounds 56a and 56b

化合物 **20** (13.7 mg, 16.5 μ mol) をジクロロメタン (38.3 mL) に溶解し、第2世代 Hoveyda-Grubbs 触媒 (6.0 mg, 9.6 μ mol) を加え、還流条件下で終夜攪拌した。減圧下で溶媒を留去し、環化体を得た。得られた生成物は精製を行わず次の反応に供した。

環化体に TFA/H₂O/TIS (1.0 mL, 95:2.5:2.5 (v/v/v)) を加え、室温で2時間攪拌した。減圧下で溶媒を留去した後、氷冷下でジエチルエーテルを加えて固体を沈殿させ、遠心分離した後、ジエチルエーテルをデカンテーションして除去し、化合物 **56a** および化合物 **56b** の混合物を粗精製物として得た。その後、HPLC にて精製を行い、白色凍結乾燥粉末の化合物 **56a** (3.9 mg, 31%, over 2 steps) および化合物 **56b** (0.3 mg, 2.4%, over 2 steps) を得た。

化合物 **56a**: [α]_D²³ -82.3 (*c* 0.39, MeOH); ¹H NMR (500 MHz, CD₃OD) δ 6.95 (d, *J* = 8.5 Hz, 2H), 6.60 (d, *J* = 7.5 Hz, 2H), 5.55–5.42 (m, 2H), 4.35 (t, *J* = 7.8 Hz, 1H), 4.24 (t, *J* = 5.0 Hz, 1H), 4.00 (t, *J* = 6.3 Hz, 1H), 3.87 (t, *J* = 7.8 Hz, 1H), 3.69–3.59 (m, 2H), 3.45–3.44 (m, 1H), 3.17–3.16 (m, 1H), 2.93 (dd, *J* = 13.0, 8.0 Hz, 1H), 2.70–2.63 (m, 1H), 2.51–2.37 (m, 3H), 2.20 (s, 3H), 2.18–2.10 (m, 1H), 2.08–2.02 (m, 2H), 1.81–1.73 (m, 1H), 1.60–1.50 (m, 1H), 1.33–1.27 (m, 4H), 0.92 (t, *J* = 7.5 Hz, 3H); ¹³C NMR (125 MHz, CD₃OD) δ 175.9, 173.3, 172.8, 169.3, 146.7 (br), 137.9, 130.8 (2C), 130.3 (br), 123.7, 116.4 (2C), 72.8, 55.6, 54.1, 53.5 (2C), 49.1 (overlapped with MeOH peak)[‡], 37.7, 33.1, 31.7, 30.1, 29.8, 27.8, 20.6, 20.0, 14.0; HRMS (FAB) *m/z* calcd for C₂₇H₄₂N₅O₆ ([M+H]⁺) 532.3135, found 532.3149.

化合物 **56b**: [α]_D²⁴ -59.0 (*c* 0.03, MeOH); ¹H NMR (500 MHz, CD₃OD) δ 7.00 (d, *J* = 7.5 Hz, 2H), 6.69 (d, *J* = 7.5 Hz, 2H), 5.51–5.45 (m, 1H), 5.40–5.34 (m, 1H), 4.39–4.35 (m, 2H), 3.95 (t, *J* = 6.3 Hz, 1H), 3.88 (t, *J* = 8.0 Hz, 1H), 3.65–3.59 (m, 1H), 3.35 (s, 1H), 2.99–2.95 (m, 1H), 2.56–2.47 (m, 2H), 2.38–2.31 (m, 2H), 2.22 (s, 3H), 2.12 (dd, *J* = 14.3, 7.3 Hz, 2H), 2.07–2.00 (m, 2H), 1.80–1.73 (m, 1H), 1.59–1.44 (m, 2H), 1.39–1.24 (m, 3H), 0.92 (t, *J* = 7.5 Hz, 3H); ¹³C NMR (125 MHz, CD₃OD) δ 176.0, 173.3, 172.8, 169.3, 144.7 (br), 138.0, 130.8 (br), 130.7 (2C), 123.7, 115.9 (2C), 73.0, 55.6, 54.1, 53.6, 53.5, 49.6 (overlapped with MeOH peak)[‡], 37.8, 33.1, 31.7, 30.1, 29.9, 27.8, 20.5, 20.0, 14.0; HRMS (FAB) *m/z* calcd for C₂₇H₄₂N₅O₆ ([M+H]⁺) 532.3135, found 532.3149.

Compound 16

化合物 **20** (10.0 mg, 12.0 μmol) をジクロロメタン (28.0 mL) に溶解し、第 2 世代 Hoveyda-Grubbs 触媒 (4.4 mg, 7.0 μmol) を加え、還流条件下で終夜撹拌した。減圧下で溶媒を留去し、環化体を得た。得られた生成物は精製を行わず次の反応に供した。

環化体に TFA/H₂O/TIS (1.0 mL, 95:2.5:2.5 (v/v/v)) を加え、室温で 2 時間撹拌した。減圧下で溶媒を留去した後、氷冷下でジエチルエーテルを加えて固体を沈殿させ、遠心分離した後、ジエチルエーテルをデカンテーションして除去し、脱保護体を得た。得られた生成物は精製を行わず次の反応に供した。

アルゴン雰囲気下、脱保護体をエタノール (1.0 mL) に溶解し、パラジウム/炭素 (Pd 10%, 3.0 mg) を加えた。アルゴンを水素ガスに置換後、室温で終夜撹拌した。反応液を濾過後、減圧下で溶媒を留去し、残渣を HPLC にて精製し、白色凍結乾燥粉末の化合物 **16** (0.3 mg, 3.3%, over 3 steps) を得た。[α]_D²⁴ -36.2 (*c* 0.58, MeOH); ¹H NMR (500 MHz, CD₃OD) δ 6.98 (d, *J* = 8.5 Hz, 2H), 6.65 (d, *J* = 8.0 Hz, 2H), 4.48 (t, *J* = 7.5 Hz, 1H), 4.36 (dd, *J* = 7.5, 4.0 Hz, 1H), 3.98 (t, *J* = 6.3 Hz, 1H), 3.87 (t, *J* = 8.0 Hz, 1H), 3.65 (s, 1H), 3.63–3.59 (m, 1H), 3.45 (dt, *J* = 3.2, 1.6 Hz, 1H), 3.00–2.96 (m, 1H), 2.53 (t, *J* = 7.5 Hz, 1H), 2.21 (s, 3H), 2.11 (dd, *J* = 14.0, 7.5 Hz, 2H), 2.03 (s, 1H), 1.85–1.70 (m, 3H), 1.64–1.45 (m, 2H), 1.38–1.29 (m, 5H), 1.22–1.16 (m, 2H), 1.09 (t, *J* = 6.8 Hz, 1H), 0.94 (t, *J* = 7.5 Hz, 3H); ¹³C NMR (125 MHz, CD₃OD) δ 175.6, 174.3, 173.9, 169.8, 146.8 (br), 131.9 (br), 131.3 (2C), 119.5 (2C), 71.4, 56.1, 54.5, 54.2, 53.7, 49.6 (overlapped with MeOH peak)^註, 32.0, 31.0, 30.1, 29.6, 28.5, 27.7, 24.8, 23.3, 20.7, 20.2, 14.0; HRMS (FAB) *m/z* calcd for C₂₇H₄₄N₅O₆ ([M+H]⁺) 534.3292, found 534.3278.

Compound 21

P3 フラグメントとして化合物 **25** (548 mg, 1.56 mmol) を用いて、化合物 **20** の合成と同様の操作により反応を行い、化合物 **36** (296 mg, 1.14 mmol) から白色凍結乾燥粉末の化合物 **21** (261 mg, 30%, over 6 steps) を得た。[α]_D²⁴ -15.8 (*c* 0.59, CHCl₃); ¹H NMR (500 MHz, CDCl₃) δ 7.39 (br s, 1H), 7.09–7.03 (m, 3H), 6.95 (br s, 1H), 6.86–6.82 (m, 3H), 5.82–5.68 (m, 3H), 5.03–4.94 (m, 4H), 4.28 (br s, 1H), 4.11 (dd, *J* = 13.5, 7.0 Hz, 1H), 4.06–4.00 (m, 2H), 3.82 (br s, 1H), 3.31 (d, *J* = 12.5 Hz, 1H), 3.12 (dd, *J* = 11.5, 8.0 Hz, 1H), 2.41–2.35 (m, 1H), 2.32–2.26 (m, 4H), 2.14–1.92 (m, 7H), 1.91–1.81 (m, 2H), 1.79–1.67 (m, 4H), 1.48–1.32 (m, 20H), 0.93 (t, *J* = 7.3 Hz, 3H); ¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃) δ 173.2, 172.7, 172.5, 172.0, 156.3, 144.3 (br), 137.9, 136.8, 129.9 (2C), 129.1, 116.0, 115.2 (2C), 114.8, 81.2, 80.5, 72.1, 54.6, 54.4, 53.6, 52.3, 48.5, 33.8, 31.6, 30.3, 29.8, 29.0, 28.3 (3C), 28.2, 28.1 (3C), 26.9, 20.5, 19.3, 13.6; HRMS (FAB) *m/z* calcd for C₃₉H₆₄N₅O₈ ([M+H]⁺) 730.4755, found 730.4761.

Compounds 57a and 57b

化合物 **56a** および化合物 **56b** の合成と同様の操作により反応を行い、化合物 **21** (20.1 mg, 23.8 μmol) から白色凍結乾燥粉末の化合物 **57a** (3.9 mg, 21%, over 2 steps) および化合物 **57b** (0.8 mg, 4.3%, over 2 steps) を得た。

化合物 **57a**: [α]_D²⁴ -7.13 (*c* 0.48, MeOH); ¹H NMR (500 MHz, CD₃OD) δ 8.48 (d, *J* = 7.5 Hz, 1H),

7.06 (d, $J = 8.0$ Hz, 2H), 6.80 (d, $J = 8.0$ Hz, 2H), 5.45–5.39 (m, 1H), 5.34–5.29 (m, 1H), 4.35 (dd, $J = 8.5, 3.5$ Hz, 1H), 4.26–4.22 (m, 1H), 3.95 (t, $J = 6.3$ Hz, 1H), 3.85 (t, $J = 8.3$ Hz, 1H), 3.68–3.59 (m, 1H), 3.35 (s, 1H), 3.03 (dd, $J = 12.0, 7.5$ Hz, 1H), 2.56–2.47 (m, 2H), 2.32–2.27 (m, 2H), 2.25 (s, 3H), 2.19–1.97 (m, 5H), 1.95–1.91 (m, 1H), 1.88–1.77 (m, 2H), 1.68–1.55 (m, 2H), 1.43–1.24 (m, 2H), 0.91 (t, $J = 7.0$ Hz, 3H); ^{13}C NMR (125 MHz, CD_3OD) δ 175.9, 173.1, 172.3, 169.0, 146.8 (br), 131.9, 130.9 (2C), 130.5, 130.0, 117.2 (2C), 72.0, 54.9, 54.8, 54.4, 53.4, 49.6 (overlapped with MeOH peak)[‡], 33.3, 31.4, 30.6, 30.1, 29.1, 28.4, 27.8, 20.6, 20.2, 14.0; HRMS (FAB) m/z calcd for $\text{C}_{28}\text{H}_{44}\text{N}_5\text{O}_6$ ($[\text{M}+\text{H}]^+$) 546.3292, found 546.3272.

化合物 **57b**: $[\alpha]^{24}_{\text{D}} -21.8$ (c 0.17, MeOH); ^1H NMR (300 MHz, CD_3OD) δ 6.93 (d, $J = 8.1$ Hz, 2H), 6.57 (d, $J = 8.4$ Hz, 2H), 5.55–5.42 (m, 2H), 4.53–4.43 (m, 1H), 3.95 (t, $J = 6.2$ Hz, 1H), 3.84 (t, $J = 7.4$ Hz, 1H), 3.70–3.65 (m, 2H), 3.25 (d, $J = 3.6$ Hz, 1H), 2.97 (dd, $J = 12.9, 7.8$ Hz, 1H), 2.60–2.48 (m, 2H), 2.19 (s, 3H), 2.09–1.98 (m, 6H), 1.90–1.74 (m, 4H), 1.65–1.53 (m, 1H), 1.40–1.29 (m, 4H), 0.95 (t, $J = 7.4$ Hz, 3H); ^{13}C NMR (125 MHz, CD_3OD) δ 176.5, 173.7, 173.1, 169.4, 147.3, 131.5, 130.6 (2C), 129.7, 128.1, 114.9 (2C), 72.5, 54.3, 54.1, 53.6, 53.2, 49.3 (overlapped with MeOH peak)[‡], 33.3, 33.1, 31.5, 30.7, 28.0, 23.7, 22.6, 20.5, 20.1, 14.1; HRMS (FAB) m/z calcd for $\text{C}_{28}\text{H}_{44}\text{N}_5\text{O}_6$ ($[\text{M}+\text{H}]^+$) 546.3292, found 546.3281.

Compound 17

化合物 **16** の合成と同様の操作により反応を行い、化合物 **21** (10.2 mg, 12.1 μmol) から白色凍結乾燥粉末の化合物 **17** (0.5 mg, 5.3%, over 3 steps) を得た。 $[\alpha]^{24}_{\text{D}} -24.5$ (c 0.16, MeOH); ^1H NMR (500 MHz, CD_3OD) δ 7.18 (d, $J = 4.0$ Hz, 2H), 7.00 (d, $J = 5.5$ Hz, 2H), 4.50–4.42 (m, 1H), 4.40–4.37 (m, 1H), 4.33 (t, $J = 7.5$ Hz, 1H), 4.08 (dd, $J = 9.8, 3.3$ Hz, 1H), 3.99–3.93 (m, 1H), 3.87–3.77 (m, 1H), 3.64–3.60 (m, 1H), 3.17–3.12 (m, 1H), 2.53 (t, $J = 7.5$ Hz, 1H), 2.48 (td, $J = 7.3, 4.0$ Hz, 1H), 2.31 (s, 3H), 2.20–2.08 (m, 2H), 2.04 (s, 1H), 1.90–1.83 (m, 1H), 1.81–1.74 (m, 2H), 1.70–1.58 (m, 2H), 1.49–1.23 (m, 10H), 0.93 (t, $J = 7.3$ Hz, 3H); ^{13}C NMR (75 MHz, CD_3OD) δ 175.6, 174.0, 173.9, 169.7, 143.4, 130.9 (2C), 128.5 (br), 117.6 (2C), 72.3, 57.0, 54.6, 53.7, 53.0, 51.5, 33.2, 31.4, 30.1, 29.5, 27.6, 27.1, 25.7, 23.9, 22.0, 20.6, 20.2, 14.0; HRMS (FAB) m/z calcd for $\text{C}_{28}\text{H}_{46}\text{N}_5\text{O}_6$ ($[\text{M}+\text{H}]^+$) 548.3448, found 548.3469.

Compound 22

P3 フラグメントとして化合物 **26** (419 mg, 1.14 mmol) を用いて、化合物 **20** の合成と同様の操作により反応を行い、化合物 **36** (198 mg, 761 μmol) から白色凍結乾燥粉末の化合物 **22** (107 mg, 16%, over 6 steps) を得た。 $[\alpha]^{24}_{\text{D}} -5.52$ (c 1.03, CHCl_3); ^1H NMR (500 MHz, CDCl_3) δ 7.32 (d, $J = 7.5$ Hz, 1H), 7.23 (d, $J = 5.5$ Hz, 1H), 7.14–7.10 (m, 3H), 6.93 (d, $J = 9.0$ Hz, 1H), 6.30 (s, 1H), 5.84 (m, 2H), 5.45 (br s, 1H), 5.26–5.19 (m, 2H), 4.99–4.93 (m, 2H), 4.45–4.41 (m, 1H), 4.23 (br s, 1H), 4.01–3.88 (m, 4H), 3.81 (br s, 2H), 3.67 (dd, $J = 10.0, 3.5$ Hz, 1H), 3.38 (d, $J = 12.5$ Hz, 1H), 3.27 (dd, $J = 12.8, 5.8$ Hz, 1H), 2.55–2.50 (m, 1H), 2.43–2.37 (m, 1H), 2.30 (s, 3H), 2.15–1.93 (m, 6H), 1.72–1.64 (m, 2H), 1.47–1.26 (m, 20H), 0.91 (t, $J = 7.3$ Hz, 3H); ^{13}C NMR (75 MHz, CDCl_3) δ 173.8, 173.6,

173.5, 170.4, 157.1, 140.9, 138.2, 133.5, 132.2, 130.1 (2C), 118.1, 117.6 (2C), 114.8, 81.9, 81.4, 72.4, 72.1, 67.9, 57.6, 55.5, 54.5, 52.0, 51.4, 33.4, 32.5, 30.2, 29.1, 28.2 (3C), 28.0 (3C), 25.7, 20.7, 19.5, 13.4; HRMS (FAB) m/z calcd for $C_{39}H_{64}N_5O_9$ ($[M+H]^+$) 746.4704, found 746.4702.

Compounds 58a and 58b

化合物 **56a** および化合物 **56b** の合成と同様の操作により反応を行い、化合物 **36** (20.2 mg, 23.5 μ mol) から白色凍結乾燥粉末の化合物 **58a** (6.4 mg, 34%, over 2 steps) および化合物 **58b** (2.9 mg, 16%, over 2 steps) を得た。

化合物 **58a**: $[\alpha]^{24}_D +5.29$ (c 0.61, MeOH); 1H NMR (300 MHz, CD_3OD) δ 6.97 (d, $J = 8.1$ Hz, 2H), 6.64 (d, $J = 8.1$ Hz, 2H), 5.75 (dt, $J = 14.5, 7.1$ Hz, 1H), 5.48 dt ($J = 15.4, 3.8$ Hz, 1H), 4.64 (dd, $J = 7.2, 4.5$ Hz, 1H), 4.44 (t, $J = 7.2$ Hz, 1H), 3.98 (t, $J = 6.2$ Hz, 1H), 3.91 (t, $J = 6.5$ Hz, 3H), 3.84 (dd, $J = 9.5, 4.4$ Hz, 1H), 3.65–3.55 (m, 2H), 3.25 (s, 1H), 2.93 (dd, $J = 12.8, 8.3$ Hz, 1H), 2.54 (t, $J = 7.5$ Hz, 2H), 2.42–2.37 (m, 1H), 2.21 (s, 3H), 2.16–2.09 (m, 3H), 2.06–1.99 (m, 1H), 1.81–1.70 (m, 1H), 1.63–1.53 (m, 2H), 1.41–1.29 (m, 3H), 0.92 (t, $J = 7.4$ Hz, 3H); ^{13}C NMR (75 MHz, CD_3OD) δ 176.0, 172.9, 171.6, 169.6, 144.3 (br), 133.1 (br), 130.6 (2C), 128.9, 127.3, 115.5 (2C), 72.8, 71.4, 70.4, 54.7, 54.6, 54.4, 53.5, 49.8 (overlapped with MeOH peak)[‡], 35.7, 32.1, 30.3, 30.2, 27.8, 20.5, 20.2, 14.1; HRMS (FAB) m/z calcd for $C_{28}H_{44}N_5O_7$ ($[M+H]^+$) 562.3241, found 562.3223.

化合物 **58b**: $[\alpha]^{24}_D -7.92$ (c 0.29, MeOH); 1H NMR (500 MHz, CD_3OD): $\delta = 6.99$ (d, $J = 8.0$ Hz, 2H), 6.68 (d, $J = 8.5$ Hz, 2H), 5.64–5.55 (m, 2H), 4.60 (dd, $J = 5.3, 3.8$ Hz, 1H), 4.41 (t, $J = 7.5$ Hz, 1H), 4.00 (t, $J = 6.3$ Hz, 1H), 2.96–3.91 (m, 2H), 3.84–3.82 (m, 2H), 3.70–3.65 (m, 2H), 3.28 (br s, 1H), 2.97 (dd, $J = 13.0, 8.0$ Hz, 1H), 2.52 (t, $J = 7.5$ Hz, 2H), 2.26–2.17 (m, 4H), 2.16–2.08 (m, 2H), 1.94–1.88 (m, 1H), 1.84–1.77 (m, 1H), 1.65–1.51 (m, 2H), 1.43–1.29 (m, 3H), 0.94 (t, $J = 7.5$ Hz, 3H); ^{13}C NMR (125 MHz, CD_3OD) δ 175.9, 173.8, 171.4, 169.5, 145.8 (br), 137.0, 130.8 (2C), 129.0 (br), 125.7, 116.5 (2C), 72.4, 71.5, 68.4, 54.5, 54.4, 53.5, 53.0, 49.6 (overlapped with MeOH peak)[‡], 33.7, 30.2, 30.1, 27.8, 24.6, 20.6, 20.2, 14.0; HRMS (FAB) m/z calcd for $C_{28}H_{44}N_5O_7$ ($[M+H]^+$) 562.3241, found 562.3242.

Compound 18

化合物 **16** の合成と同様の操作により反応を行い、化合物 **22** (48.7 mg, 56.6 μ mol) から白色凍結乾燥粉末の化合物 **18** (5.0 mg, 11%, over 3 steps) を得た。 $[\alpha]^{24}_D -22.8$ (c 0.59, MeOH); 1H NMR (300 MHz, CD_3OD) δ 7.04 (d, $J = 7.2$ Hz, 2H), 6.77 (d, $J = 7.2$ Hz, 2H), 4.58 (br s, 1H), 4.41 (t, $J = 7.1$ Hz, 1H), 4.00 (t, $J = 5.7$ Hz, 1H), 3.90 (t, $J = 7.5$ Hz, 1H), 3.66 (br s, 1H), 3.58 (br s, 2H), 3.45 (br s, 2H), 3.05–2.98 (m, 1H), 2.53 (t, $J = 7.1$ Hz, 2H), 2.24 (s, 3H), 2.16–2.09 (m, 2H), 1.83–1.74 (m, 2H), 1.58 (s, 3H), 1.38–1.31 (m, 8H), 0.93 (t, $J = 6.9$ Hz, 3H); ^{13}C NMR (75 MHz, CD_3OD) δ 175.9, 173.7, 171.1, 169.5, 144.7 (br), 130.9 (2C), 129.8 (br), 117.0 (2C), 72.8, 72.6, 71.5, 54.4, 54.3, 53.5, 52.9, 51.0, 34.0, 31.3, 30.1, 29.8, 27.8 (2C), 26.1, 20.6, 20.2, 14.0; HRMS (FAB) m/z calcd for $C_{28}H_{46}N_5O_7$ ($[M+H]^+$) 564.3397, found 564.3390.

Compound 23

P3 フラグメントとして化合物 **25** (334 mg, 944 μmol) を用いて、化合物 **20** の合成と同様の操作により反応を行い、化合物 **46** (183 mg, 630 μmol) から白色凍結乾燥粉末の化合物 **23** (180 mg, 33%, over 6 steps) を得た。 $[\alpha]_{\text{D}}^{24} -19.5$ (c 0.75, CHCl_3); $^1\text{H NMR}$ (500 MHz, CDCl_3) δ 7.44 (d, $J = 7.0$ Hz, 1H), 7.19 (d, $J = 4.5$ Hz, 1H), 6.99 (d, $J = 8.0$ Hz, 2H), 6.61 (d, $J = 8.0$ Hz, 2H), 5.99 (d, $J = 4.0$ Hz, 1H), 5.92–5.84 (m, 1H), 5.82–5.73 (m, 1H), 5.40–5.34 (m, 2H), 5.08–5.03 (m, 2H), 4.40–4.24 (m, 5H), 3.99 (br s, 1H), 3.77–3.71 (m, 1H), 3.64–3.58 (m, 1H), 3.41–3.37 (m, 1H), 3.25–3.21 (m, 2H), 2.46–2.33 (m, 3H), 2.24 (s, 3H), 2.20–2.05 (m, 4H), 1.99–1.94 (m, 2H), 1.88–1.81 (m, 2H), 1.75–1.69 (m, 2H), 1.46–1.31 (m, 21H), 0.93 (t, $J = 7.3$ Hz, 3H); $^{13}\text{C NMR}$ (75 MHz, CDCl_3) δ 173.4, 172.8, 172.6, 172.1, 156.5, 144.7, 136.8, 129.9 (2C), 127.8, 124.1, 116.3, 114.2, 114.0 (2C), 81.5, 80.9, 80.7, 66.2, 62.0, 58.0, 55.3, 52.9, 48.4, 47.2, 32.6, 32.1, 31.8, 30.6, 29.7, 28.3 (3C), 28.0 (3C), 26.1, 20.4, 19.1, 13.5; HRMS (FAB) m/z calcd for $\text{C}_{40}\text{H}_{66}\text{N}_5\text{O}_9$ ($[\text{M}+\text{H}]^+$) 760.4861, found 760.4868.

Compounds 59a and 59b

化合物 **56a** および化合物 **56b** の合成と同様の操作により反応を行い、化合物 **23** (29.2 mg, 33.4 μmol) から白色凍結乾燥粉末の化合物 **59a** (3.1 mg, 12%, over 2 steps) および化合物 **59b** (3.6 mg, 13%, over 2 steps) を得た。

化合物 **59a**: $[\alpha]_{\text{D}}^{23} -12.8$ (c 0.17, MeOH); $^1\text{H NMR}$ (300 MHz, CD_3OD) δ 7.00 (d, $J = 8.1$ Hz, 2H), 6.72 (d, $J = 8.4$ Hz, 2H), 5.86 (dt, $J = 14.6, 7.1$ Hz, 1H), 5.44 (dt, $J = 14.8, 7.3$ Hz, 1H), 4.71 (t, $J = 10.1$ Hz, 1H), 4.54 (t, $J = 5.3$ Hz, 1H), 4.14–4.04 (m, 4H), 3.75–3.59 (m, 2H), 3.48–3.45 (m, 1H), 3.38 (dd, $J = 13.5, 5.1$ Hz, 1H), 3.21 (dd, $J = 13.2, 6.9$ Hz, 1H), 2.50 (dd, $J = 7.5, 6.6$ Hz, 2H), 2.34–2.28 (m, 2H), 2.22 (s, 3H), 2.19–2.09 (m, 4H), 2.06–1.99 (m, 2H), 1.79 (dd, $J = 15.5, 7.7$ Hz, 2H), 1.50–1.29 (m, 3H), 0.95 (t, $J = 7.4$ Hz, 3H); $^{13}\text{C NMR}$ (75 MHz, CD_3OD) δ 175.5, 174.9, 173.6, 170.3, 145.1, 142.5, 130.9 (2C), 128.0 (br), 120.6, 116.0 (2C), 67.0, 60.8, 55.3, 54.7 (2C), 53.9, 47.5 (2C), 33.4, 30.4, 30.1, 28.8, 27.6, 27.5, 20.6, 20.2, 13.9; HRMS (FAB) m/z calcd for $\text{C}_{29}\text{H}_{46}\text{N}_5\text{O}_7$ ($[\text{M}+\text{H}]^+$) 576.3397, found 576.3411.

化合物 **59b**: $[\alpha]_{\text{D}}^{23} -48.0$ (c 0.23, MeOH); $^1\text{H NMR}$ (300 MHz, CD_3OD) δ 7.02 (dd, $J = 8.4, 5.7$ Hz, 2H), 6.77 (d, $J = 8.4$ Hz, 1H), 6.70 (d, $J = 8.7$ Hz, 1H), 5.86 (dt, $J = 14.4, 7.0$ Hz, 2H), 5.57–5.42 (m, 2H), 4.72 (t, $J = 10.1$ Hz, 1H), 4.57–4.46 (m, 1H), 4.39–4.34 (m, 1H), 4.27 (dd, $J = 8.4, 6.3$ Hz, 1H), 4.16–4.11 (m, 2H), 3.93 (t, $J = 6.2$ Hz, 1H), 3.81–3.57 (m, 2H), 3.42–3.36 (m, 1H), 3.26–3.18 (m, 1H), 2.49–2.39 (m, 3H), 2.23 (s, 4H), 2.17–1.99 (m, 5H), 1.94–1.81 (m, 2H), 1.79–1.65 (m, 2H), 1.54–1.29 (m, 2H), 0.95 (t, $J = 7.4$ Hz, 3H); $^{13}\text{C NMR}$ (75 MHz, CD_3OD) δ 175.6, 175.0, 172.8, 169.1, 145.8 (br), 142.2, 130.8 (2C), 129.1 (br), 120.5, 115.5 (2C), 67.1, 61.2, 54.6, 54.5, 54.3, 53.4, 47.2, 47.1, 34.1, 30.2, 30.0, 29.0, 27.8, 27.3, 20.5, 20.1, 13.8; HRMS (FAB) m/z calcd for $\text{C}_{29}\text{H}_{46}\text{N}_5\text{O}_7$ ($[\text{M}+\text{H}]^+$) 576.3397, found 576.3391.

Compound 19

化合物 **16** の合成と同様の操作により反応を行い、化合物 **23** (52.7 mg, 60.3 μmol) から白色

凍結乾燥粉末の化合物 **19** (3.1 mg, 6.4%, over 3 steps) を得た。[α]²²_D -19.7 (*c* 0.13, MeOH); ¹H NMR (500 MHz, CD₃OD) δ 6.96 (d, *J* = 8.0 Hz, 2H), 6.65 (d, *J* = 8.5 Hz, 2H), 4.58–4.53 (m, 1H), 4.45 (dd, *J* = 7.0, 3.5 Hz, 1H), 4.28–4.24 (m, 1H), 4.17–4.12 (m, 1H), 4.01 (t, *J* = 6.3 Hz, 1H), 3.65 (s, 1H), 3.49–3.44 (m, 1H), 3.26–3.20 (m, 1H), 3.11–3.01 (m, 2H), 2.51–5.42 (m, 2H), 2.30–2.23 (m, 1H), 2.20 (s, 3H), 2.17–2.05 (m, 3H), 2.01–1.96 (m, 1H), 1.86–1.74 (m, 3H), 1.70–1.63 (m, 1H), 1.60–1.53 (m, 1H), 1.47–1.29 (m, 7H), 0.95 (t, *J* = 7.5 Hz, 3H); ¹³C NMR (75 MHz, CD₃OD) δ 175.8, 174.4, 173.7, 169.3, 147.0, 130.7 (2C), 128.2, 114.7 (2C), 68.8, 62.4, 58.6, 54.5, 54.0, 53.4, 47.5, 46.4, 34.6, 31.1, 30.1, 27.9, 26.7, 25.3, 24.5, 23.8, 20.5, 19.9, 13.9; HRMS (FAB) *m/z* calcd for C₂₉H₄₈N₅O₇ ([M+H]⁺) 578.3554, found 578.3557.

(2*S*,3*R*)-2-{{(9*H*-Fluoren-9-yl)methoxy}carbonyl}amino-3-(prop-2-enoxy)butanoic acid (**66**)

アルゴン雰囲気下、Boc-Thr-OH **70** (302 mg, 1.38 mmol) を DMF (4.9 mL) に溶解し、-15 °C に冷却後、水素化ナトリウム (60% dispersion in oil, 121 mg, 3.03 mmol) を加え、2 時間攪拌した。この溶液に臭化アリル (131 μ L, 1.51 mmol) を滴下し、室温で終夜攪拌した。反応液を水で抽出後、水層をジエチルエーテルで洗浄し、1 M 塩酸水溶液で中和した。混合液を酢酸エチルで抽出後、有機層を水、飽和塩化ナトリウム水溶液で洗浄し、無水硫酸ナトリウムで乾燥させた。濾過後、減圧下で溶媒を留去し、側鎖 *O*-アリル体を得た。得られた生成物は精製を行わず次の反応に供した。

側鎖 *O*-アリル体をジクロロメタン (11.0 mL) に溶解し、TFA (2.8 mL) を加え、室温で 30 分間攪拌した。減圧下で溶媒を留去し、脱保護体を得た。得られた生成物は精製を行わず次の反応に供した。

脱保護体を水 (6.9 mL) に溶解し、0 °C に冷却後、炭酸水素ナトリウム (348 mg, 4.14 mmol)、アセトニトリル (6.9 mL) に溶解した FmocOSu (698 mg, 2.07 mmol) を加え、室温で終夜攪拌した。反応液を水で抽出後、水層をジエチルエーテルで洗浄し、1 M 塩酸水溶液で中和した。混合液を酢酸エチルで抽出後、有機層を飽和塩化ナトリウム水溶液で洗浄し、無水硫酸ナトリウムで乾燥させた。濾過後、減圧下で溶媒を留去し、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) で精製を行い、白色固体の化合物 **66** (353 mg, 67%, over 3 steps) を得た。融点 89–92 °C; [α]²³_D +11.7 (*c* 0.96, CHCl₃); ¹H NMR (500 MHz, CDCl₃) δ 7.76 (d, *J* = 7.5 Hz, 2H), 7.62 (t, *J* = 6.8 Hz, 2H), 7.40 (t, *J* = 7.3 Hz, 2H), 7.32 (t, *J* = 7.5 Hz, 2H), 5.89–5.81 (m, 1H), 5.58 (d, *J* = 8.5 Hz, 1H), 5.27 (d, *J* = 17.5 Hz, 1H), 5.19 (d, *J* = 10.5 Hz, 1H), 4.46–4.38 (m, 3H), 4.25 (t, *J* = 7.0 Hz, 1H), 4.18 (dd, *J* = 6.3, 2.3 Hz, 1H), 4.11 (dd, *J* = 13.0, 5.5 Hz, 1H), 3.96 (dd, *J* = 12.5, 5.5 Hz, 1H), 1.23 (d, *J* = 6.0 Hz, 3H); ¹³C NMR (125 MHz, CDCl₃) δ 174.7, 156.7, 143.9, 143.7, 141.3 (2C), 134.0, 127.8 (2C), 127.1 (2C), 125.2, 125.1, 120.0 (2C), 117.8, 74.0, 70.3, 67.3, 58.2, 47.2, 16.0; HRMS (EI) *m/z* calcd for C₂₂H₂₃NO₅ ([M]⁺) 381.1576, found 381.1574.

(2*S*,3*S*)-2-{{(9*H*-Fluoren-9-yl)methoxy}carbonyl}amino-3-(prop-2-enoxy)butanoic acid (**67**)

化合物 **66** の合成と同様の操作により反応を行い、Boc-*allo*-Thr-OH **71** (300 mg, 1.37 mmol) から白色固体の化合物 **67** (376 mg, 72%, over 3 steps) を得た。融点 88–90 °C; [α]²⁴_D +9.68 (*c* 1.01,

CHCl₃); ¹H NMR (500 MHz, CDCl₃) δ 7.78 (d, *J* = 5.0 Hz, 2H), 7.60 (d, *J* = 4.0 Hz, 2H), 7.40 (t, *J* = 7.3 Hz, 2H), 7.31 (t, *J* = 7.3 Hz, 2H), 5.92–5.84 (m, 1H), 5.59 (d, *J* = 7.0 Hz, 1H), 5.28 (d, *J* = 17.5 Hz, 1H), 5.19 (d, *J* = 10.5 Hz, 1H), 4.53 (d, *J* = 4.5 Hz, 1H), 4.41 (d, *J* = 7.0 Hz, 2H), 4.24 (t, *J* = 7.0 Hz, 1H), 4.09 (dd, *J* = 12.0, 5.0 Hz, 1H), 4.01 (dd, *J* = 12.5, 5.5 Hz, 1H), 3.89 (t, *J* = 5.0 Hz, 1H), 1.29 (d, *J* = 6.0 Hz, 3H); ¹³C NMR (125 MHz, CDCl₃) δ 174.2, 156.2, 143.8, 143.7, 141.3 (2C), 134.1, 127.8 (2C), 127.1 (2C), 125.1 (2C), 120.0 (2C), 117.7, 74.9, 70.2, 67.3, 57.3, 47.1, 16.2; HRMS (EI) *m/z* calcd for C₂₂H₂₃NO₅ ([M]⁺) 381.1576, found 381.1575.

***tert*-Butyl (S)-2-(*tert*-butoxycarbonyl)amino-3-hydroxy-3-methylbutanoate (73)**

アルゴン雰囲気下、DCC (1.24 g, 6.00 mmol)、塩化銅(I) (20.8 mg, 210 μmol) に *tert*-ブチルアルコール (1.20 mL, 12.6 mmol) を加え、室温、暗所で 3 日間攪拌した。混合物を脱水ジクロロメタン (5.8 mL) で希釈し、化合物 **72**²³ (700 mg, 3.00 mmol) を脱水ジクロロメタン (8.8 mL) に溶解した溶液を加え、室温で 2.5 時間攪拌した。反応液を濾過後、減圧下で溶媒を留去し、カラムクロマトグラフィー (ヘキサン : 酢酸エチル = 2 : 1) で精製を行い、白色固体の化合物 **73** (432 mg, 50%) を得た。融点 68–70 °C; [α]_D²² –4.37 (*c* 1.03, CHCl₃); ¹H NMR (500 MHz, CDCl₃) δ 5.35 (d, *J* = 6.0 Hz, 1H), 4.08 (d, *J* = 8.5 Hz, 1H), 2.79 (s, 1H), 1.50 (s, 9H), 1.45 (s, 9H), 1.26 (s, 3H), 1.25 (s, 3H); ¹³C NMR (125 MHz, CDCl₃) δ 171.1, 155.9, 82.8, 80.0, 72.1, 61.7, 28.3 (3C), 28.0 (3C), 26.7, 26.4; HRMS (FAB) *m/z* calcd for C₁₄H₂₈NO₅ ([M+H]⁺) 290.1967, found 290.1980.

***tert*-Butyl (S)-2-(*tert*-butoxycarbonyl)amino-3-methyl-3-(prop-2-enoxy)butanoate (74)**

アルゴン雰囲気下、化合物 **73** (130 mg, 450 μmol) を脱水 THF (4.1 mL) に溶解し、炭酸アリルエチル (296 μL, 2.25 mmol)、テトラキス(トリフェニルホスフィン)パラジウム(0) (10.4 mg, 9.00 μmol) を加え、60 °C で 3.5 時間攪拌した。酢酸エチルで希釈後、有機層を飽和炭酸水素ナトリウム水溶液、飽和塩化ナトリウム水溶液で洗浄し、無水硫酸ナトリウムで乾燥させた。濾過後、減圧下で溶媒を留去し、カラムクロマトグラフィー (ヘキサン : 酢酸エチル = 4 : 1) で精製を行い、無色油状の化合物 **74** (135 mg, 91%) を得た。[α]_D²² +11.8 (*c* 1.10, CHCl₃); ¹H NMR (500 MHz, CDCl₃) δ 5.91–5.83 (m, 1H), 5.30 (d, *J* = 9.0 Hz, 1H), 5.26 (dd, *J* = 17.3, 1.8 Hz, 1H), 5.10 (dd, *J* = 10.3, 1.3 Hz, 1H), 4.20 (d, *J* = 9.0 Hz, 1H), 3.96 (dd, *J* = 12.3, 4.8 Hz, 1H), 3.92 (dd, *J* = 12.5, 5.0 Hz, 1H), 1.47 (s, 9H), 1.45 (s, 9H), 1.30 (s, 3H), 1.26 (s, 3H); ¹³C NMR (125 MHz, CDCl₃) δ 169.9, 155.7, 135.4, 115.5, 81.7, 79.6, 76.4, 63.0, 60.7, 28.3 (3C), 28.0 (3C), 23.3, 23.2; HRMS (FAB) *m/z* calcd for C₁₇H₃₂NO₅ ([M+H]⁺) 330.2280, found 330.2282.

(S)-2-[(9*H*-Fluoren-9-yl)methoxy]carbonyl amino-3-methyl-3-(prop-2-enoxy)butanoic acid (68)

化合物 **24** の合成と同様の操作により反応を行い、化合物 **74** (233 mg, 706 μmol) から薄黄色油状の化合物 **68** (272 mg, 97%, over 2 steps) を得た。[α]_D²⁵ +19.3 (*c* 1.47, CHCl₃); ¹H NMR (500 MHz, CDCl₃) δ 7.76 (d, *J* = 7.5 Hz, 2H), 7.60 (t, *J* = 6.5 Hz, 2H), 7.42–7.38 (m, 2H), 7.31 (t, *J* = 7.5 Hz, 2H), 5.94–5.86 (m, 1H), 5.62 (d, *J* = 8.0 Hz, 1H), 5.31 (d, *J* = 17.0 Hz, 1H), 5.20 (d, *J* = 10.5 Hz, 1H), 4.45–4.41 (m, 3H), 4.23 (t, *J* = 7.0 Hz, 1H), 4.04 (dd, *J* = 16.8, 4.3 Hz, 1H), 1.36 (s, 3H), 1.26 (s,

3H); ^{13}C NMR (125 MHz, CDCl_3) δ 172.4, 156.7, 143.8, 143.6, 141.3 (2C), 134.0, 127.8 (2C), 127.1 (2C), 125.1 (2C), 120.1, 120.0, 117.5, 78.3, 67.3, 63.6, 60.9, 47.2, 22.7, 21.4; HRMS (EI) m/z calcd for $\text{C}_{23}\text{H}_{25}\text{NO}_5$ ($[\text{M}]^+$) 395.1733, found 395.1734.

(4S,5R)-5-[(4-Methylphenyl)(2-nitrophenyl)sulfonylamino]methyl-4-(prop-2-enyl)-1,3-oxazolidin-2-one (75)

アルゴン雰囲気下、化合物 **35** (739 mg, 1.64 mmol) を脱水 THF (7.9 mL) に溶解し、0 °C に冷却後、トリブチルホスフィン (446 μL , 1.81 mmol)、セレノシアン酸 2-ニトロフェニル (411 mg, 1.81 mmol) を加え、室温で 1 時間攪拌した。この溶液に 30%過酸化水素水 (904 μL) を加え、14 時間攪拌した。飽和塩化ナトリウム水溶液を加え、酢酸エチルで抽出後、有機層を飽和塩化ナトリウム水溶液で洗浄し、無水硫酸ナトリウムで乾燥させた。濾過後、減圧下で溶媒を留去し、カラムクロマトグラフィー (ヘキサン : 酢酸エチル = 1:2) で精製を行い、薄橙色固体の化合物 **75** (662 mg, 93%) を得た。融点 101–104 °C; $[\alpha]_D^{25} +65.0$ (c 1.03, CHCl_3); ^1H NMR (500 MHz, CDCl_3) δ 7.69–7.62 (m, 2H), 7.48 (d, $J = 4.0$ Hz, 2H), 7.14–7.10 (m, 4H), 5.74–5.65 (m, 1H), 5.55 (s, 1H), 5.21 (d, $J = 3.5$ Hz, 1H), 5.18 (d, $J = 11.0$ Hz, 1H), 4.71 (dt, $J = 12.2, 4.3$ Hz, 1H), 4.19 (dd, $J = 15.3, 4.0$ Hz, 1H), 4.02 (dd, $J = 14.8, 8.6$ Hz, 1H), 3.88–3.84 (m, 1H), 2.47–2.42 (m, 1H), 2.33 (s, 3H), 2.26–2.20 (m, 1H); ^{13}C NMR (125 MHz, CDCl_3) δ 158.1, 148.0, 139.3, 135.0, 133.9, 132.4, 132.3, 131.6, 131.2, 130.3 (2C), 129.4 (2C), 123.9, 119.9, 77.3 (overlapped with CHCl_3 peak), 53.6, 51.5, 34.2, 21.2; HRMS (EI) m/z calcd for $\text{C}_{20}\text{H}_{21}\text{N}_3\text{O}_6\text{S}$ ($[\text{M}]^+$) 431.1151, found 431.1149.

(4S,5R)-5-[(4-Methylphenyl)amino]methyl-4-(prop-2-enyl)-1,3-oxazolidin-2-one (76)

アルゴン雰囲気下、化合物 **75** (662 mg, 1.53 mmol) を DMF (7.7 mL) に溶解し、4-メルカプト安息香酸 (473 mg, 3.07 mmol)、炭酸カリウム (848 mg, 6.13 mmol) を加え、40 °C で終夜攪拌した。酢酸エチルで希釈後、有機層を飽和炭酸水素ナトリウム水溶液、飽和塩化ナトリウム水溶液で洗浄し、無水硫酸ナトリウムで乾燥させた。濾過後、減圧下で溶媒を留去し、カラムクロマトグラフィー (ヘキサン : 酢酸エチル = 1:2) で精製を行い、薄橙色固体の化合物 **76** (354 mg, 94%) を得た。融点 58–60 °C; $[\alpha]_D^{25} +19.5$ (c 1.08, CHCl_3); ^1H NMR (500 MHz, CDCl_3) δ 7.01 (d, $J = 8.0$ Hz, 2H), 6.56 (d, $J = 8.0$ Hz, 2H), 6.06 (br s, 1H), 5.78–5.70 (m, 1H), 5.23 (d, $J = 4.0$ Hz, 1H), 5.20 (d, $J = 11.0$ Hz, 1H), 4.83 (dt, $J = 12.5, 4.4$ Hz, 1H), 4.00–3.95 (m, 1H), 3.45 (dd, $J = 13.3, 3.8$ Hz, 1H), 3.35 (dd, $J = 13.5, 8.8$ Hz, 1H), 2.44–2.39 (m, 1H), 2.34–2.27 (m, 1H), 2.24 (s, 3H); ^{13}C NMR (125 MHz, CDCl_3) δ 158.6, 144.9, 132.8, 129.9 (2C), 127.9, 119.5, 113.7 (2C), 77.5, 53.9, 43.7, 34.4, 20.4; HRMS (EI) m/z calcd for $\text{C}_{14}\text{H}_{18}\text{N}_2\text{O}_2$ ($[\text{M}]^+$) 246.1368, found 246.1370.

Compound 63

P3 フラグメントとして化合物 **66** (237 mg, 609 μmol) を用いて、化合物 **20** の合成と同様の操作により反応を行い、化合物 **76** (100 mg, 406 μmol) から白色凍結乾燥粉末の化合物 **63** (78.5 mg, 22%, over 6 steps) を得た。 $[\alpha]_D^{24} -10.6$ (c 0.84, CHCl_3); ^1H NMR (500 MHz, CDCl_3) δ 7.32 (d, $J = 8.0$ Hz, 1H), 7.14 (d, $J = 6.5$ Hz, 1H), 7.00 (d, $J = 8.0$ Hz, 2H), 6.73 (d, $J = 8.0$ Hz, 2H), 6.16 (s, 1H),

5.83–5.71 (m, 2H), 5.19 (d, $J = 17.5$ Hz, 1H), 5.14 (d, $J = 10.0$ Hz, 1H), 5.07 (d, $J = 17.0$ Hz, 1H), 5.00 (d, $J = 10.0$ Hz, 1H), 4.46–4.43 (m, 1H), 4.17 (d, $J = 6.5$ Hz, 1H), 4.10 (d, $J = 6.0$ Hz, 1H), 4.02–3.99 (m, 2H), 3.89–3.86 (m, 3H), 3.31–3.29 (m, 1H), 3.17–3.13 (m, 1H), 2.55–2.28 (m, 4H), 2.24 (s, 3H), 2.14–2.00 (m, 3H), 1.68–1.61 (m, 1H), 1.48–1.31 (m, 20H), 1.24 (d, $J = 6.5$ Hz, 3H), 0.90 (t, $J = 7.3$ Hz, 3H); ^{13}C NMR (125 MHz, CDCl_3) δ 173.8, 173.6, 172.7, 170.6, 157.1, 144.3, 135.1, 134.1, 129.8 (2C), 128.7, 117.6, 117.1, 115.1 (2C), 82.0, 81.4, 72.8, 72.2, 70.5, 59.8, 57.6, 54.4, 52.2, 48.7, 34.4, 33.5, 32.3, 28.2 (3C), 28.0 (3C), 25.8, 20.5, 19.6, 17.6, 13.5; HRMS (FAB) m/z calcd for $\text{C}_{39}\text{H}_{64}\text{N}_5\text{O}_9$ ($[\text{M}+\text{H}]^+$) 746.4704, found 746.4691.

Compound 60

化合物 **63** (30.2 mg, 35.1 μmol) をジクロロメタン (81.0 mL) に溶解し、第 2 世代 Hoveyda-Grubbs 触媒 (12.7 mg, 20.2 μmol) を加え、還流条件下で終夜撹拌した。減圧下で溶媒を留去し、環化体を得た。得られた生成物は精製を行わず次の反応に供した。

アルゴン雰囲気下、環化体をエタノール (1.0 mL) に溶解し、パラジウム/炭素 (Pd 10%, 11.6 mg) を加えた。アルゴン水を水素ガスに置換後、加圧下 (2280 mmHg)、室温で 2 時間撹拌した。反応液を濾過後、減圧下で溶媒を留去し、還元体を得た。得られた生成物は精製を行わず次の反応に供した。

還元体に TFA/ H_2O /TIS (1.0 mL, 95:2.5:2.5 (v/v/v)) を加え、室温で 2 時間撹拌した。減圧下で溶媒を留去した後、氷冷下でジエチルエーテルを加えて固体を沈殿させ、遠心分離した後、ジエチルエーテルをデカンテーションして除去し、残渣を HPLC にて精製し、白色凍結乾燥粉末の化合物 **60** (10.7 mg, 38%, over 3 steps) を得た。 $[\alpha]_{\text{D}}^{23} -55.2$ (c 1.03, MeOH); ^1H NMR (500 MHz, CD_3OD) δ 7.78 (d, $J = 9.5$ Hz, 1H), 6.93 (d, $J = 8.0$ Hz, 2H), 6.57 (d, $J = 8.5$ Hz, 2H), 4.59 (br s, 1H), 4.49 (d, $J = 1.5$ Hz, 1H), 4.42 (t, $J = 7.5$ Hz, 1H), 4.08 (t, $J = 6.0$ Hz, 1H), 3.94–3.90 (m, 1H), 3.86 (dd, $J = 12.0, 6.0$ Hz, 1H), 3.64–3.56 (m, 2H), 3.27 (d, $J = 3.0$ Hz, 1H), 2.95 (dd, $J = 12.8, 8.3$ Hz, 1H), 2.60–2.53 (m, 2H), 2.23–2.14 (m, 4H), 2.11–2.03 (m, 1H), 1.89–1.77 (m, 2H), 1.65–1.45 (m, 4H), 1.40–1.29 (m, 5H), 1.17 (d, $J = 6.0$ Hz, 3H), 0.95 (t, $J = 7.3$ Hz, 3H); ^{13}C NMR (125 MHz, CD_3OD) δ 176.1, 174.0, 171.5, 170.3, 141.3, 134.3, 131.2 (2C), 119.0 (2C), 75.7, 71.6, 68.2, 58.6, 53.9, 53.5, 52.0, 49.6 (overlapped with MeOH peak)[‡], 33.0, 30.1, 29.4, 28.5, 27.9, 22.1, 20.7, 20.2, 16.3, 14.0; HRMS (FAB) m/z calcd for $\text{C}_{28}\text{H}_{46}\text{N}_5\text{O}_7$ ($[\text{M}+\text{H}]^+$) 564.3397, found 564.3415.

Compounds 77a and 77b

化合物 **56a** および化合物 **56b** の合成と同様の操作により反応を行い、化合物 **63** (20.2 mg, 23.5 μmol) から白色凍結乾燥粉末の化合物 **77a** (3.2 mg, 17%, over 2 steps) および化合物 **77b** (9.2 mg, 50%, over 2 steps) を得た。

化合物 **77a**: $[\alpha]_{\text{D}}^{23} -7.08$ (c 0.32, MeOH); ^1H NMR (500 MHz, CD_3OD) δ 6.99 (d, $J = 8.0$ Hz, 2H), 6.66 (d, $J = 7.5$ Hz, 2H), 5.55–5.44 (m, 2H), 4.41–4.38 (m, 2H), 4.13–4.11 (m, 2H), 3.91 (ddd, $J = 11.0, 8.0, 2.8$ Hz, 1H), 3.72 (dd, $J = 12.0, 6.0$ Hz, 1H), 3.65–3.60 (m, 2H), 3.35 (s, 1H), 2.99 (dd, $J = 12.5, 8.5$ Hz, 1H), 2.60 (t, $J = 7.5$ Hz, 3H), 2.22 (s, 3H), 2.15 (ddd, $J = 21.0, 14.0, 7.3$ Hz, 2H), 1.99 (dd, $J =$

21.5, 12.5 Hz, 1H), 1.82–1.74 (m, 1H), 1.58–1.51 (m, 1H), 1.39–1.27 (m, 3H), 1.19 (d, $J = 6.5$ Hz, 3H), 0.94 (t, $J = 7.3$ Hz, 3H); ^{13}C NMR (125 MHz, CD_3OD) δ 176.1, 174.0, 171.6, 170.3, 146.6 (br), 131.8, 131.0, 130.8 (2C), 128.8 (br), 118.0 (2C), 75.7, 71.8, 70.3, 58.7, 54.0, 53.5, 53.1, 49.1 (overlapped with MeOH peak)[‡], 34.9, 34.1, 30.1, 27.9, 20.6, 20.2, 17.9, 14.0; HRMS (FAB) m/z calcd for $\text{C}_{28}\text{H}_{44}\text{N}_5\text{O}_7$ ($[\text{M}+\text{H}]^+$) 562.3241, found 562.3219.

化合物 **77b**: $[\alpha]^{23}_{\text{D}} -12.9$ (c 0.16, MeOH); ^1H NMR (500 MHz, CD_3OD) δ 8.49 (d, $J = 8.5$ Hz, 1H), 7.67 (d, $J = 6.0$ Hz, 1H), 7.15 (d, $J = 8.0$ Hz, 2H), 6.97 (d, $J = 7.0$ Hz, 2H), 5.96 (dd, $J = 17.5, 7.0$ Hz, 1H), 5.74 (td, $J = 10.9, 5.7$ Hz, 1H), 4.73 (d, $J = 4.5$ Hz, 1H), 4.36–4.36 (m, 2H), 4.08–4.05 (m, 3H), 3.81 (dd, $J = 10.0, 7.0$ Hz, 1H), 3.75–3.73 (m, 1H), 3.35 (s, 1H), 3.17 (t, $J = 10.8$ Hz, 1H), 2.64–2.59 (m, 1H), 2.54 (t, $J = 7.5$ Hz, 2H), 2.29 (s, 4H), 2.19–2.08 (m, 2H), 1.99–1.92 (m, 1H), 1.59–1.51 (m, 1H), 1.46–1.33 (m, 2H), 1.31 (d, $J = 6.0$ Hz, 3H), 0.93 (t, $J = 7.3$ Hz, 3H); ^{13}C NMR (125 MHz, CD_3OD) δ 175.9, 173.9, 171.3, 169.9, 138.4 (br), 137.6 (br), 134.3, 131.2 (2C), 128.7, 118.9 (2C), 74.9, 69.7, 63.1, 57.5, 54.3, 53.5 (2C), 53.2, 32.9, 30.1, 27.9, 27.6, 20.7, 20.3, 14.2, 13.8; HRMS (FAB) m/z calcd for $\text{C}_{28}\text{H}_{44}\text{N}_5\text{O}_7$ ($[\text{M}+\text{H}]^+$) 562.3241, found 562.3223.

Compound 64

P3 フラグメントとして化合物 **67** (160 mg, 423 μmol) を用いて、化合物 **20** の合成と同様の操作により反応を行い、化合物 **76** (69.4 mg, 282 μmol) から白色凍結乾燥粉末の化合物 **64** (42.8 mg, 18%, over 6 steps) を得た。 $[\alpha]^{24}_{\text{D}} -11.9$ (c 0.985, CHCl_3); ^1H NMR (500 MHz, CDCl_3) δ 7.10 (d, $J = 7.5$ Hz, 1H), 7.00 (d, $J = 8.0$ Hz, 3H), 6.89 (d, $J = 9.0$ Hz, 1H), 6.74 (d, $J = 8.0$ Hz, 2H), 6.14 (s, 1H), 5.91–5.75 (m, 2H), 5.28 (d, $J = 17.5$ Hz, 1H), 5.22 (d, $J = 10.5$ Hz, 1H), 5.06 (d, $J = 17.0$ Hz, 1H), 4.99 (d, $J = 10.0$ Hz, 1H), 4.34 (d, $J = 4.0$ Hz, 2H), 4.05–3.96 (m, 4H), 3.94 (br s, 2H), 3.33–3.31 (m, 1H), 3.18–3.14 (m, 1H), 2.55–2.29 (m, 4H), 2.24 (s, 3H), 2.09–1.96 (m, 3H), 1.66–1.56 (m, 1H), 1.48–1.30 (m, 20H), 1.19 (d, $J = 6.0$ Hz, 3H), 0.89 (t, $J = 7.3$ Hz, 3H); ^{13}C NMR (125 MHz, CDCl_3) δ 173.8, 173.4, 172.6, 169.0, 156.9, 144.3, 135.2, 133.9, 129.8 (2C), 128.6, 118.2, 117.0, 115.1 (2C), 81.9, 81.3, 72.4, 72.2, 69.6, 57.8, 57.5, 54.5, 52.3, 48.7, 34.4, 33.5, 32.3, 28.2 (3C), 28.0 (3C), 25.7, 20.5, 19.7, 15.6, 13.5; HRMS (FAB) m/z calcd for $\text{C}_{39}\text{H}_{64}\text{N}_5\text{O}_9$ ($[\text{M}+\text{H}]^+$) 746.4704, found 746.4697.

Compound 61

化合物 **60** の合成と同様の操作により反応を行い、化合物 **64** (10.8 mg, 12.6 μmol) から白色凍結乾燥粉末の化合物 **61** (1.4 mg, 14%, over 3 steps) を得た。 $[\alpha]^{23}_{\text{D}} -81.3$ (c 0.13, MeOH); ^1H NMR (500 MHz, CD_3OD) δ 6.97 (d, $J = 8.0$ Hz, 2H), 6.64 (d, $J = 8.5$ Hz, 2H), 4.38 (dd, $J = 8.5, 7.0$ Hz, 1H), 4.28 (d, $J = 10.0$ Hz, 1H), 3.93 (t, $J = 6.3$ Hz, 1H), 3.86 (ddd, $J = 11.1, 6.9, 2.1$ Hz, 1H), 3.71 (dt, $J = 9.0, 3.8$ Hz, 1H), 3.67–3.62 (m, 2H), 3.35 (s, 1H), 3.18–3.14 (m, 1H), 3.00 (dd, $J = 12.5, 8.5$ Hz, 1H), 2.41 (td, $J = 7.6, 2.2$ Hz, 1H), 2.21 (s, 3H), 2.12–2.07 (m, 2H), 1.80–1.73 (m, 2H), 1.66–1.59 (m, 2H), 1.46–1.29 (m, 7H), 1.21 (d, $J = 6.0$ Hz, 3H), 0.92 (t, $J = 7.3$ Hz, 3H); ^{13}C NMR (125 MHz, CD_3OD) δ 175.7, 173.6, 173.2, 169.4, 147.6 (br), 130.7 (2C), 129.2 (br), 116.2 (2C), 76.7, 73.0, 68.1, 59.8, 54.0, 53.5, 52.8, 50.2, 32.4, 30.1, 29.4, 29.1, 27.8, 22.0, 20.6, 20.1, 16.8, 14.0; HRMS (FAB) m/z calcd for

C₂₈H₄₆N₅O₇ ([M+H]⁺) 564.3397, found 564.3403.

Compounds 78a and 78b

化合物 **56a** および化合物 **56b** の合成と同様の操作により反応を行い、化合物 **76** (10.6 mg, 12.3 μmol) から白色凍結乾燥粉末の化合物 **78a** (1.8 mg, 18%, over 2 steps) および化合物 **78b** (3.1 mg, 32%, over 2 steps) を得た。

化合物 **78a**: [α]²⁴_D -38.1 (*c* 0.04, MeOH); ¹H NMR (500 MHz, CD₃OD) δ 6.98 (d, *J* = 8.0 Hz, 2H), 6.65 (d, *J* = 8.0 Hz, 2H), 5.63–5.52 (m, 2H), 4.36 (dd, *J* = 14.5, 7.5 Hz, 1H), 4.20 (d, *J* = 10.0 Hz, 1H), 3.95–3.86 (m, 3H), 3.78 (dd, *J* = 12.5, 4.0 Hz, 1H), 3.72–3.63 (m, 2H), 2.99 (dd, *J* = 12.8, 8.3 Hz, 1H), 2.61 (d, *J* = 13.5 Hz, 1H), 2.50–2.39 (m, 2H), 2.21 (s, 3H), 2.10 (dd, *J* = 14.3, 7.3 Hz, 2H), 1.98–1.91 (m, 1H), 1.76–1.69 (m, 1H), 1.61–1.54 (m, 1H), 1.39–1.24 (m, 3H), 1.18 (d, *J* = 6.0 Hz, 3H), 0.91 (t, *J* = 7.3 Hz, 3H); ¹³C NMR (125 MHz, CD₃OD) δ 175.8, 173.1, 172.5, 169.4, 144.8 (br), 132.8, 132.2 (br), 130.7 (2C), 129.6, 115.8 (2C), 76.0, 72.6, 70.3, 59.7, 54.2, 53.5, 52.5, 49.3 (overlapped with MeOH peak)[‡], 35.0, 33.7, 30.0, 27.8, 20.5, 20.1, 17.7, 14.0; HRMS (FAB) *m/z* calcd for C₂₈H₄₄N₅O₇ ([M+H]⁺) 562.3241, found 562.3238.

化合物 **78b**: [α]²³_D -22.4 (*c* 0.31, MeOH); ¹H NMR (500 MHz, CD₃OD) δ 8.67 (d, *J* = 7.5 Hz, 1H), 7.16 (d, *J* = 6.5 Hz, 1H), 7.05 (d, *J* = 8.0 Hz, 2H), 6.79 (d, *J* = 7.5 Hz, 2H), 5.79 (td, *J* = 10.1, 5.7 Hz, 1H), 5.70 (td, *J* = 11.1, 5.3 Hz, 1H), 4.36 (d, *J* = 10.0 Hz, 1H), 4.27–4.23 (m, 1H), 4.07–4.04 (m, 2H), 3.99–3.95 (m, 2H), 3.79–3.71 (m, 2H), 3.27 (d, *J* = 4.0 Hz, 1H), 3.10 (dd, *J* = 13.0, 8.5 Hz, 1H), 2.57–2.52 (m, 1H), 2.51–2.42 (m, 2H), 2.26 (br s, 1H), 2.24 (s, 3H), 2.12 (dd, *J* = 14.0, 7.5 Hz, 2H), 1.87–1.81 (m, 1H), 1.63–1.56 (m, 1H), 1.45–1.38 (m, 2H), 1.33 (d, *J* = 6.0 Hz, 3H), 0.91 (t, *J* = 7.5 Hz, 3H); ¹³C NMR (125 MHz, CD₃OD) δ 175.7, 173.6, 173.5, 169.6, 147.2 (br), 133.3, 131.1 (2C), 128.8, 128.0, 118.6 (2C), 76.0, 70.3, 63.2, 59.8, 54.9, 53.5, 53.2, 48.6 (overlapped with MeOH peak)[‡], 32.5, 29.9, 27.7, 27.5, 20.7, 20.1, 17.2, 13.8; HRMS (FAB) *m/z* calcd for C₂₈H₄₄N₅O₇ ([M+H]⁺) 562.3241, found 562.3223.

Compound 65

P3 フラグメントとして化合物 **68** (245 mg, 610 μmol) を用いて、化合物 **20** の合成と同様の操作により反応を行い、化合物 **76** (100 mg, 407 μmol) から白色凍結乾燥粉末の化合物 **65** (106 mg, 30%, over 6 steps) を得た。[α]²⁵_D -20.1 (*c* 0.96, CHCl₃); ¹H NMR (500 MHz, CDCl₃) δ 7.39 (d, *J* = 7.0 Hz, 3H), 7.21 (d, *J* = 7.5 Hz, 2H), 6.89 (d, *J* = 9.5 Hz, 1H), 6.73 (d, *J* = 5.5 Hz, 1H), 6.36 (s, 1H), 5.90–5.83 (m, 1H), 5.79–5.71 (m, 1H), 5.28 (d, *J* = 17.0 Hz, 1H), 5.20 (d, *J* = 10.5 Hz, 1H), 5.07 (d, *J* = 17.0 Hz, 1H), 4.99 (d, *J* = 10.5 Hz, 1H), 4.23–4.19 (m, 1H), 4.08 (d, *J* = 6.0 Hz, 1H), 4.02–3.82 (m, 5H), 3.49 (d, *J* = 13.0 Hz, 1H), 3.24–3.21 (m, 1H), 2.83 (br d, *J* = 13.5 Hz, 1H), 2.54–2.42 (m, 2H), 2.34 (s, 3H), 2.26–2.18 (m, 1H), 2.08–2.04 (m, 1H), 2.00–1.93 (m, 1H), 1.85–1.80 (m, 1H), 1.61–1.53 (m, 1H), 1.47–1.41 (m, 19H), 1.39–1.32 (m, 4H), 1.29 (s, 3H), 0.89 (t, *J* = 7.3 Hz, 3H); ¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃) δ 173.8, 173.7, 173.1, 169.6, 157.0, 139.1, 135.0, 134.6, 134.0, 130.2 (2C), 119.0 (2C), 117.1, 117.0, 81.9, 81.2, 74.8, 71.3, 63.3, 62.9, 57.7, 55.1, 53.7, 51.4, 34.7, 33.5, 32.4, 28.2 (3C), 28.0 (3C),

25.7, 23.4, 22.9, 20.8, 19.6, 13.4; HRMS (FAB) m/z calcd for $C_{40}H_{66}N_5O_9$ ($[M+H]^+$) 760.4861, found 760.4856.

Compound 62

化合物 **60** の合成と同様の操作により反応を行い、化合物 **65** (11.0 mg, 12.6 μ mol) から白色凍結乾燥粉末の化合物 **62** (5.4 mg, 53%, over 3 steps) を得た。 $[\alpha]^{23}_D$ -34.2 (c 0.52, MeOH); 1H NMR (500 MHz, CD_3OD) δ 6.97 (d, J = 8.0 Hz, 2H), 6.65 (d, J = 7.5 Hz, 2H), 4.52 (s, 1H), 4.45 (t, J = 7.5 Hz, 1H), 4.04 (t, J = 6.3 Hz, 1H), 3.95 (t, J = 8.0 Hz, 1H), 3.63 (t, J = 7.0 Hz, 1H), 3.51 (d, J = 8.5 Hz, 1H), 3.35 (s, 1H), 3.28 (br s, 1H), 2.98 (dd, J = 12.8, 8.3 Hz, 1H), 2.45 (t, J = 7.5 Hz, 2H), 2.21 (s, 3H), 2.10 (dd, J = 14.0, 7.5 Hz, 2H), 1.80–1.73 (m, 2H), 1.59–1.50 (m, 4H), 1.37–1.32 (m, 4H), 1.29 (s, 3H), 1.24 (s, 3H), 0.92 (t, J = 7.5 Hz, 3H); ^{13}C NMR (125 MHz, CD_3OD) δ 175.7, 174.3, 171.7, 169.6, 139.2, 136.4, 131.7 (2C), 122.2 (2C), 78.0, 70.8, 61.9, 60.9, 55.4, 53.9, 53.5, 51.9, 33.6, 30.1, 28.6, 28.5, 27.9, 24.3, 22.2, 20.9, 20.1, 18.8, 14.0; HRMS (FAB) m/z calcd for $C_{29}H_{48}N_5O_7$ ($[M+H]^+$) 578.3554, found 578.3571.

Compound 79b

化合物 **56a** および化合物 **56b** の合成と同様の操作により反応を行い、化合物 **65** (12.0 mg, 13.7 μ mol) から白色凍結乾燥粉末の化合物 **79b** (6.4 mg, 58%, over 2 steps) を得た。 $[\alpha]^{23}_D$ -3.87 (c 0.74, MeOH); 1H NMR (500 MHz, CD_3OD) δ 8.52 (d, J = 8.0 Hz, 1H), 7.47 (d, J = 5.0 Hz, 1H), 7.06 (d, J = 8.0 Hz, 2H), 6.82 (d, J = 8.0 Hz, 2H), 5.96 (dd, J = 17.5, 8.0 Hz, 1H), 5.74 (td, J = 11.3, 4.8 Hz, 1H), 4.66 (s, 1H), 4.30–4.26 (m, 1H), 4.22–4.16 (m, 2H), 4.07 (t, J = 6.3 Hz, 1H), 3.89 (dd, J = 8.8, 7.3 Hz, 1H), 3.67 (dt, J = 12.2, 2.9 Hz, 1H), 3.27 (dd, J = 13.0, 3.5 Hz, 1H), 3.09 (dd, J = 12.5, 9.0 Hz, 1H), 2.69–2.62 (m, 1H), 2.48 (t, J = 7.8 Hz, 2H), 2.25 (s, 3H), 2.22 (br s, 1H), 2.11 (dd, J = 14.0, 7.0 Hz, 2H), 1.95–1.88 (m, 1H), 1.60–1.53 (m, 1H), 1.47–1.29 (m, 8H), 0.92 (t, J = 7.5 Hz, 3H); ^{13}C NMR (125 MHz, CD_3OD) δ 175.9, 174.0, 172.0, 169.9, 141.1 (br), 134.9, 134.4, 131.2 (2C), 128.8, 119.2 (2C), 79.2, 69.7, 61.5, 56.3, 55.0, 53.5, 53.2, 51.8, 33.0, 30.2, 27.9, 26.5, 23.8, 20.7, 20.2, 19.0, 13.7; HRMS (FAB) m/z calcd for $C_{29}H_{46}N_5O_7$ ($[M+H]^+$) 576.3397, found 576.3416.

tert-Butyl 2-(4-nitrophenyl)acetate (**84**)³⁰

アルゴン雰囲気下、4-ニトロフェニル酢酸 **83** (5.01 g, 27.6 mmol)、*tert*-ブチルアルコール (7.86 mL, 82.8 mmol)、DMAP (2.70 g, 22.1 mmol) をジクロロメタン (50.2 mL) に溶解し、0 °C に冷却後、DCC (8.54 g, 41.4 mmol) を3回に分けて加えた。0 °C で15分間攪拌し、室温に昇温後、34時間攪拌した。混合液をセライトで濾過し、セライトをジクロロメタンで洗浄した後、減圧下で溶媒を留去した。残渣に酢酸エチルを加え、有機層を飽和クエン酸水溶液、飽和炭酸水素ナトリウム水溶液、飽和塩化ナトリウム水溶液で洗浄し、無水硫酸ナトリウムで乾燥させた。濾過後、減圧下で溶媒を留去し、カラムクロマトグラフィー (ヘキサン : 酢酸エチル = 10 : 1) で精製を行い、薄黄色油状の化合物 **84** (5.34 g, 82%) を得た。 1H NMR (500 MHz, CD_3OD) δ 8.19 (dt, J = 9.2, 2.1 Hz, 2H), 7.45 (d, J = 9.0 Hz, 2H), 3.65 (s, 2H), 1.45 (s, 9H).

***tert*-Butyl 2-(4-{{(2-nitrophenyl)sulfonyl}amino}phenyl)acetate (85)**

アルゴン雰囲気下、化合物 **84** (5.34 g, 22.5 mmol) を酢酸エチル (75.1 mL) に溶解し、パラジウム/炭素 (Pd 10%, 1.07 g) を加えた。アルゴン水を水素ガスに置換後、室温で 2 時間攪拌した。反応液を濾過後、減圧下で溶媒を留去し、還元体を得た。得られた生成物は精製を行わず次の反応に供した。

アルゴン雰囲気下、還元体を脱水 THF (26.5 mL) に溶解し、0 °C に冷却後、TEA (3.13 mL, 22.5 mmol) を加え、15 分間攪拌した。この溶液に脱水 THF (11.3 mL) に溶解した NaCl (5.00 g, 22.5 mmol) を滴下し、室温で終夜攪拌した。酢酸エチルで希釈後、有機層を水、1 M 塩酸水溶液、水、飽和塩化ナトリウム水溶液で洗浄し、無水硫酸ナトリウムで乾燥させた。濾過後、減圧下で溶媒を留去し、再結晶 (エタノール) を行い、薄橙色固体の化合物 **85** (6.12 g, 69%, over 2 steps) を得た。融点 111–113 °C; $[\alpha]_D^{23} +0.169$ (*c* 1.02, CHCl₃); ¹H NMR (500 MHz, CDCl₃) δ 7.85 (dd, *J* = 8.0, 1.0 Hz, 1H), 7.83 (dd, *J* = 8.0, 1.5 Hz, 1H), 7.68 (td, *J* = 7.8, 1.3 Hz, 1H), 7.57 (td, *J* = 7.8, 1.2 Hz, 1H), 7.23 (s, 1H), 7.18–7.14 (m, 4H), 3.46 (s, 2H), 1.41 (s, 9H); ¹³C NMR (125 MHz, CDCl₃) δ 170.5, 148.3, 134.2, 133.9, 133.3, 132.5, 132.3, 131.9, 130.3 (2C), 125.3, 123.3 (2C), 81.1, 41.9, 28.0 (3C); HRMS (ESI) *m/z* calcd for C₁₈H₂₀N₂O₆SNa ([M+Na]⁺) 415.0934, found 415.0940.

***tert*-Butyl *N*-{{(*S*)-3-hydroxy-1-[(*R*)-oxiran-2-yl]propyl}carbamate (86)**

アルゴン雰囲気下、化合物 **42** (388 mg, 1.17 mmol) を脱水 THF (23.4 mL) に溶解し、0 °C に冷却後、TBAF (1.0 M THF 溶液, 1.40 mL, 1.40 mmol) を滴下し、0 °C で 1 時間攪拌した。酢酸エチルで希釈後、有機層を飽和塩化ナトリウム水溶液で洗浄し、無水硫酸ナトリウムで乾燥させた。濾過後、減圧下で溶媒を留去し、カラムクロマトグラフィー (ヘキサン : 酢酸エチル = 1 : 3) で精製を行い、無色油状の化合物 **86** (204 mg, 80%) を得た。 $[\alpha]_D^{23} +2.14$ (*c* 1.08, CHCl₃); ¹H NMR (500 MHz, CDCl₃) δ 4.74 (d, *J* = 6.5 Hz, 1H), 4.09 (t, *J* = 9.3 Hz, 1H), 3.72–3.64 (m, 2H), 3.44 (br s, 1H), 3.07–3.06 (m, 1H), 2.78 (t, *J* = 4.3 Hz, 1H), 2.69–2.68 (m, 1H), 1.97–1.92 (m, 1H), 1.66–1.61 (m, 1H), 1.44 (s, 9H); ¹³C NMR (125 MHz, CDCl₃) δ 156.9, 80.1, 58.4, 53.7, 46.0, 44.3, 36.6, 28.2 (3C); HRMS (FAB) *m/z* calcd for C₁₀H₂₀NO₄ ([M+H]⁺) 218.1392, found 218.1385.

***tert*-Butyl *N*-{{(*S*)-1-[(*R*)-oxiran-2-yl]but-3-en-1-yl}carbamate (87)**

アルゴン雰囲気下、化合物 **86** (242 mg, 1.11 mmol) をジクロロメタン (22.3 mL) に溶解し、DMP (850 mg, 2.00 mmol) を加え、室温で 10 分間攪拌した。その反応液をカラムクロマトグラフィー (ヘキサン : 酢酸エチル = 1 : 1) で粗精製し、アルデヒド体を得た。

アルゴン雰囲気下、メチルトリフェニルホスホニウムブロミド (595 mg, 1.67 mmol) を脱水 THF (6.0 mL) に溶解し、0 °C に冷却後、KHMDs (0.5 M トルエン溶液; 3.34 mL, 1.67 mmol) を滴下し、10 分間攪拌した。この溶液にアルデヒド体を脱水 THF (5.1 mL) に溶解した溶液を滴下し、室温で 30 分間攪拌した。飽和塩化アンモニウム水溶液で反応を停止させ、酢酸エチルで抽出した。有機層を飽和塩化ナトリウム水溶液で洗浄し、無水硫酸ナトリウムで乾燥させた。濾過後、減圧下で溶媒を留去し、カラムクロマトグラフィー (ヘキサン : 酢酸エチル =

4:1) で精製を行い、無色固体の化合物 **87** (162 mg, 69%, over 2 steps) を得た。[α]²³_D +15.3 (*c* 1.00, CHCl₃); ¹H NMR (500 MHz, CDCl₃) δ 5.85 (ddd, *J* = 24.1, 9.9, 7.1 Hz, 1H), 5.17–5.12 (m, 2H), 4.44 (br s, 1H), 3.98 (d, *J* = 7.0 Hz, 1H), 3.07 (s, 1H), 2.74 (t, *J* = 4.5 Hz, 1H), 2.61 (s, 1H), 2.44–2.35 (m, 2H), 1.43 (s, 9H); ¹³C NMR (125 MHz, CDCl₃) δ 155.6, 133.7, 118.4, 79.6, 53.1, 48.4, 44.2, 38.1, 28.3 (3C); HRMS (FAB) *m/z* calcd for C₁₁H₂₀NO₃ ([M+H]⁺) 214.1443, found 214.1434.

(4S,5S)-5-(Hydroxymethyl)-4-(prop-2-enyl)-1,3-oxazolidin-2-one (88)

化合物 **36** の合成と同様の操作により反応を行い、化合物 **87** (104 mg, 489 μ mol) から白色固体の化合物 **88** (53.7 mg, 70%) を得た。融点 57–59 °C; [α]²³_D –30.5 (*c* 1.04, MeOH); ¹H NMR (500 MHz, CDCl₃) δ 5.57–5.69 (m, 1H), 5.41 (br s, 1H), 4.74–4.71 (m, 1H), 4.02–3.98 (m, 1H), 3.93–3.84 (m, 2H), 2.46–2.40 (m, 1H), 2.38–2.30 (m, 1H), 2.23–2.22 (m, 1H); ¹³C NMR (125 MHz, CDCl₃) δ 158.3, 133.0, 119.5, 79.0, 60.7, 53.6, 34.4; HRMS (FAB) *m/z* calcd for C₇H₁₂NO₃ ([M+H]⁺) 158.0817, found 158.0821.

***tert*-Butyl 2-[4-({[(4S,5R)-2-oxo-4-(prop-2-enyl)-1,3-oxazolidin-5-yl]methyl}[(2-nitrophenyl)sulfonyl]amino)phenyl]acetate (89)**

アルゴン雰囲気下、化合物 **88** (49.7 mg, 316 μ mol)、化合物 **85** (248 mg, 632 μ mol)、トリフェニルホスフィン (166 mg, 632 μ mol) を脱水 THF (3.2 mL) に溶解し、0 °C に冷却後、DIAD (245 μ L, 1.26 mmol) を滴下し、室温で 3 時間攪拌した。1 M 塩酸水溶液で反応を停止させ、酢酸エチルで抽出後、有機層を 1 M 塩酸水溶液、飽和塩化ナトリウム水溶液で洗浄し、無水硫酸ナトリウムで乾燥させた。濾過後、減圧下で溶媒を留去し、カラムクロマトグラフィー (ヘキサン : 酢酸エチル = 1:2) で精製を行い、橙色固体の化合物 **89** (159 mg, 93%) を得た。融点 54–56 °C; [α]²⁴_D +33.8 (*c* 1.12, CHCl₃); ¹H NMR (500 MHz, CDCl₃) δ 7.69–7.62 (m, 2H), 7.47–7.43 (m, 2H), 7.25–7.19 (m, 4H), 5.93–5.87 (m, 1H), 5.74–5.66 (m, 1H), 5.20–5.17 (m, 2H), 4.69 (s, 1H), 4.17–4.13 (m, 1H), 4.11–4.04 (m, 1H), 3.89–3.84 (m, 1H), 3.52 (s, 2H), 2.43–2.40 (m, 1H), 2.28–2.21 (m, 1H), 1.44 (s, 9H); ¹³C NMR (125 MHz, CDCl₃) δ 170.3, 158.3, 148.0, 136.4, 135.9, 134.0, 132.4, 132.3, 131.5, 131.3, 130.6 (2C), 129.6 (2C), 123.9, 119.8, 81.2, 77.0 (overlapped with CHCl₃ peak), 53.6, 51.5, 42.1, 34.3, 28.0 (3C); HRMS (FAB) *m/z* calcd for C₂₅H₃₀N₃O₈S ([M+H]⁺) 532.1754, found 532.1755.

***tert*-Butyl 2-[4-({[(4S,5R)-3-(2-nitrophenyl)sulfonyl-2-oxo-4-(prop-2-enyl)-1,3-oxazolidin-5-yl]methyl}[(2-nitrophenyl)sulfonyl]amino)phenyl]acetate (90)**

アルゴン雰囲気下、化合物 **89** (169 mg, 318 μ mol) を脱水 THF (6.9 mL) に溶解し、0 °C に冷却後、水素化ナトリウム (60% dispersion in oil, 38.2 mg, 955 μ mol) を加え、5 分間攪拌した。この溶液に NsCl (212 mg, 955 μ mol) を加え、5 分間攪拌した。そこに水素化ナトリウム (60% dispersion in oil, 38.2 mg, 955 μ mol) を加え、0 °C で 2 時間攪拌後、再度水素化ナトリウム (60% dispersion in oil, 38.2 mg, 955 μ mol)、NsCl (106 mg, 478 μ mol) を加え、さらに 0 °C で 5 時間攪拌した。飽和塩化アンモニウム水溶液で反応を停止させ、酢酸エチルで抽出後、有機層を飽和塩化ナトリウム水溶液で洗浄し、無水硫酸ナトリウムで乾燥させた。濾過後、減圧下で溶

媒を留去し、カラムクロマトグラフィー（ヘキサン：酢酸エチル＝1:1）で精製を行い、薄橙色固体の化合物 **90** (204 mg, 89%) を得た。融点 50–52 °C; $[\alpha]_D^{24} +220$ (*c* 1.06, CHCl₃); ¹H NMR (500 MHz, CDCl₃) δ 8.39 (d, *J* = 7.5 Hz, 1H), 7.83–7.74 (m, 3H), 7.67–7.64 (m, 2H), 7.44–7.43 (m, 2H), 7.22 (d, *J* = 8.0 Hz, 2H), 7.17 (d, *J* = 8.0 Hz, 2H), 5.92–5.85 (m, 1H), 5.39 (d, *J* = 17.0 Hz, 1H), 5.32 (d, *J* = 10.0 Hz, 1H), 4.84 (dd, *J* = 12.0, 7.5 Hz, 1H), 4.70 (dd, *J* = 11.3, 5.8 Hz, 1H), 4.32–4.22 (m, 1H), 3.50 (s, 2H), 2.80–2.76 (m, 1H), 2.69–2.63 (m, 1H), 1.42 (s, 9H); ¹³C NMR (125 MHz, CDCl₃) δ 170.1, 150.6, 148.0, 147.9, 136.2, 136.0, 135.5, 134.9, 134.1, 132.5, 132.2, 131.4, 131.3, 130.7 (2C), 130.6, 130.5, 129.5 (2C), 124.6, 124.1, 121.5, 81.2, 78.0, 59.9, 50.9, 42.1, 34.8, 28.0 (3C); HRMS (ESI) *m/z* calcd for C₃₁H₃₂N₄O₁₂S₂Na ([M+Na]⁺) 739.1350, found 739.1347.

tert-Butyl 2-[4-({(2*R*,3*S*)-2-hydroxy-3-[(2-nitrophenyl)sulfonylamino]hex-5-enyl}[(2-nitrophenyl)sulfonyl]amino)phenyl]acetate (91**)**

アルゴン雰囲気下、化合物 **90** (204 mg, 285 μmol) を THF (2.8 mL)、アセトニトリル (284 μL) に溶解し、1 M 水酸化カリウム水溶液 (2.8 mL) を加え、室温で 4 時間攪拌した。1 M 塩酸水溶液で反応を停止させ、酢酸エチルで抽出後、有機層を飽和塩化ナトリウム水溶液で洗浄し、無水硫酸ナトリウムで乾燥させた。濾過後、減圧下で溶媒を留去し、カラムクロマトグラフィー（ヘキサン：酢酸エチル＝1:1）で精製を行い、白色固体の化合物 **91** (179 mg, 92%) を得た。融点 157–160 °C; $[\alpha]_D^{23} +5.03$ (*c* 1.03, MeOH); ¹H NMR (500 MHz, CDCl₃) δ 8.11–8.09 (m, 1H), 7.88–7.84 (m, 1H), 7.80–7.70 (m, 2H), 7.68–7.65 (m, 1H), 7.61–7.57 (m, 1H), 7.51–7.44 (m, 2H), 7.25 (d, *J* = 8.5 Hz, 2H), 7.19 (d, *J* = 8.5 Hz, 2H), 5.57–5.54 (m, 1H), 5.48–5.39 (m, 1H), 4.92 (d, *J* = 17.5 Hz, 1H), 4.78 (d, *J* = 10.0 Hz, 1H), 3.94 (dd, *J* = 14.5, 5.0 Hz, 1H), 3.86 (dd, *J* = 14.5, 8.0 Hz, 1H), 3.73–3.69 (m, 1H), 3.65–3.60 (m, 1H), 3.53 (s, 2H), 2.46 (d, *J* = 5.0 Hz, 1H), 2.28 (t, *J* = 6.8 Hz, 1H), 1.45 (s, 9H); ¹³C NMR (125 MHz, CDCl₃) δ 170.3, 148.1, 147.7, 136.8, 135.7, 134.5, 134.0, 133.6, 133.1, 132.9, 132.1, 131.3, 131.2, 130.8 (2C), 130.6, 129.2 (2C), 125.4, 123.9, 119.1, 81.3, 71.3, 57.0, 55.2, 42.1, 33.9, 28.0 (3C); HRMS (ESI) *m/z* calcd for C₃₀H₃₄N₄O₁₁S₂Na ([M+Na]⁺) 713.1558, found 713.1562.

Compound 81

アルゴン雰囲気下、化合物 **91** (96.0 mg, 139 μmol) をアセトニトリル (1.4 mL) に溶解し、炭酸カリウム (76.8 mg, 556 μmol)、チオフェノール (42.6 μL, 417 μmol) を加え、室温で終夜攪拌した。この溶液に炭酸カリウム (76.8 mg, 556 μmol)、チオフェノール (42.6 μL, 417 μmol) を加え、さらに終夜攪拌した。1 M 塩酸水溶液で反応を停止させ、水層をジエチルエーテルで洗浄し、飽和炭酸水素ナトリウム水溶液で中和した。混合液を酢酸エチルで抽出後、有機層を飽和塩化ナトリウム水溶液で洗浄し、無水硫酸ナトリウムで乾燥させた。濾過後、減圧下で溶媒を留去し、脱保護体を得た。得られた生成物は精製を行わず次の反応に供した。

アルゴン雰囲気下、Fmoc-Nva-OH (55.0 mg, 162 μmol)、HOBt 一水和物 (24.8 mg, 162 μmol)、EDC 塩酸塩 (31.0 mg, 162 μmol) を DMF (500 μL) に溶解し、NMM (59.3 μL, 540 μmol) を加え、5 分間攪拌した。混合液を、DMF (600 μL) に溶解した脱保護体の溶液に 0 °C で滴下し、

室温で 2 時間攪拌した。水で反応を停止させ、酢酸エチルで抽出後、有機層を飽和炭酸水素ナトリウム水溶液、飽和塩化アンモニウム水溶液、飽和塩化ナトリウム水溶液で洗浄し、無水硫酸ナトリウムで乾燥させた。濾過後、減圧下で溶媒を留去した。得られた残渣にアセトニトリル (725 μ L)、ジエチルアミン (725 μ L) を加えて室温で 1 時間攪拌した後、減圧下で溶媒を留去し、Fmoc 基を除去したジペプチドイソスターの粗精製物を得た。得られた粗精製物に対して、同様の縮合反応と Fmoc 基の除去操作を用いて P3 フラグメント **68** (63.3 mg, 162 μ mol)、Boc-Glu(*Or*-Bu)-OH (48.5 mg, 162 μ mol) を順次縮合し、HPLC にて精製を行い、白色凍結乾燥粉末の化合物 **81** (32.9 mg, 24%, over 6 steps) を得た。 $[\alpha]_D^{25}$ -13.3 (*c* 1.00, CHCl₃); ¹H NMR (500 MHz, CDCl₃) δ 7.30 (d, *J* = 4.5 Hz, 1H), 7.16 (d, *J* = 7.5 Hz, 2H), 6.96 (d, *J* = 6.0 Hz, 2H), 6.91 (d, *J* = 6.5 Hz, 1H), 6.86 (d, *J* = 8.5 Hz, 1H), 6.17 (s, 1H), 5.90–5.82 (m, 1H), 5.80–5.73 (m, 1H), 5.26 (d, *J* = 17.0 Hz, 1H), 5.17 (d, *J* = 10.0 Hz, 1H), 5.06 (d, *J* = 17.0 Hz, 1H), 4.98 (d, *J* = 10.0 Hz, 1H), 4.54 (br s, 1H), 4.28 (s, 1H), 4.11 (d, *J* = 4.5 Hz, 1H), 4.02 (br s, 1H), 3.98–3.94 (m, 1H), 3.87 (d, *J* = 5.0 Hz, 3H), 3.43 (s, 2H), 3.38 (d, *J* = 13.0 Hz, 1H), 3.19 (t, *J* = 7.3 Hz, 1H), 2.60 (br d, *J* = 12.5 Hz, 1H), 2.52–2.40 (m, 2H), 2.32–2.25 (m, 1H), 2.10–2.04 (m, 1H), 2.01–1.95 (m, 1H), 1.92–1.86 (m, 1H), 1.66–1.55 (m, 1H), 1.47 (s, 9H), 1.45 (s, 9H), 1.43 (s, 9H), 1.37 (s, 3H), 1.33–1.30 (m, 1H), 1.27 (s, 3H), 1.23–1.14 (m, 1H), 0.89 (t, *J* = 7.3 Hz, 3H); ¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃) δ 173.7, 173.4, 172.7, 171.4, 169.5, 157.0, 144.8, 135.1, 134.7, 130.1 (2C), 126.1, 117.0, 116.9, 115.6 (2C), 81.8, 81.2, 80.6, 74.8, 72.0, 63.3, 62.4, 57.5, 54.8, 52.2, 49.2, 41.9, 34.3, 33.5, 32.3, 28.2 (3C), 28.0 (6C), 25.8, 23.5, 23.1, 19.7, 13.4; HRMS (FAB) *m/z* calcd for C₄₅H₇₄N₅O₁₁ ([M+H]⁺) 860.5385, found: 860.5377.

Compound 80

化合物 **60** の合成と同様の操作により反応を行い、化合物 **81** (9.8 mg, 10 μ mol) から白色凍結乾燥粉末の化合物 **80** (3.5 mg, 41%, over 3 steps) を得た。 $[\alpha]_D^{23}$ -22.2 (*c* 0.46, MeOH); ¹H NMR (500 MHz, CD₃OD) δ 8.18 (d, *J* = 9.5 Hz, 1H), 7.70 (d, *J* = 9.0 Hz, 1H), 7.15 (d, *J* = 8.0 Hz, 2H), 6.82 (d, *J* = 8.0 Hz, 2H), 4.52 (s, 1H), 4.46 (dd, *J* = 16.0, 8.0 Hz, 1H), 4.05 (t, *J* = 6.3 Hz, 1H), 3.95–3.92 (m, 1H), 3.65 (td, *J* = 7.5, 3.0 Hz, 1H), 3.52–5.50 (m, 3H), 3.35–3.33 (m, 2H), 3.07 (dd, *J* = 12.8, 8.3 Hz, 1H), 2.45 (t, *J* = 7.5 Hz, 2H), 2.11 (dd, *J* = 14.3, 7.3 Hz, 2H), 1.80–1.73 (m, 2H), 1.62–1.50 (m, 4H), 1.39–1.31 (m, 4H), 1.29 (s, 3H), 1.24 (s, 3H), 0.92 (t, *J* = 7.5 Hz, 3H); ¹³C NMR (125 MHz, CD₃OD) δ 176.4, 176.0, 173.6, 171.5, 169.6, 148.8, 131.0 (2C), 124.8, 114.6 (2C), 78.0, 73.6, 61.9, 60.9, 54.0, 53.6, 51.9, 48.8 (overlapped with MeOH peak)[‡], 41.1, 33.8, 30.7, 30.4, 28.6, 28.0, 24.4, 22.4, 20.1, 18.9, 14.0; HRMS (FAB) *m/z* calcd for C₃₀H₄₈N₅O₉ ([M+H]⁺) 622.3452, found 622.3441.

Compound 92b

化合物 **56a** および化合物 **56b** の合成と同様の操作により反応を行い、化合物 **81** (12.6 mg, 12.9 μ mol) から白色凍結乾燥粉末の化合物 **92b** (7.0 mg, 64%, over 2 steps) を得た。 $[\alpha]_D^{23}$ -7.41 (*c* 0.58, MeOH); ¹H NMR (500 MHz, CD₃OD) δ 8.55 (d, *J* = 8.0 Hz, 1H), 7.49 (d, *J* = 5.0 Hz, 1H), 7.20 (d, *J* = 8.0 Hz, 2H), 6.92 (d, *J* = 8.0 Hz, 2H), 5.97 (dd, *J* = 17.8, 8.3 Hz, 1H), 5.74 (td, *J* = 11.3, 4.8 Hz, 1H), 4.66 (s, 1H), 4.29–4.25 (m, 1H), 4.22–4.17 (m, 2H), 4.07 (t, *J* = 6.3 Hz, 1H), 3.89 (t, *J* = 7.8 Hz,

1H), 3.68–3.65 (m, 1H), 3.53 (s, 2H), 3.35 (s, 1H), 3.14 (dd, $J = 12.3, 9.3$ Hz, 1H), 2.69–2.61 (m, 1H), 2.48 (t, $J = 7.8$ Hz, 2H), 2.24 (dt, $J = 13.3, 3.9$ Hz, 1H), 2.11 (dd, $J = 14.3, 7.3$ Hz, 2H), 1.92 (ddt, $J = 16.8, 9.9, 3.4$ Hz, 1H), 1.57 (ddt, $J = 19.2, 9.8, 4.8$ Hz, 1H), 1.47–1.30 (m, 8H), 0.92 (t, $J = 7.3$ Hz, 3H); ^{13}C NMR (125 MHz, CD_3OD) δ 175.9, 174.0, 172.0 (2C), 169.9, 144.8, 135.1, 131.5 (2C), 129.9 (br), 128.7, 117.4 (2C), 79.2, 70.1, 61.5, 56.3, 55.1, 53.5, 53.3, 50.3, 41.1, 33.1, 30.1, 27.9, 26.4, 23.8, 20.3, 19.0, 13.8; HRMS (FAB) m/z calcd for $\text{C}_{30}\text{H}_{46}\text{N}_5\text{O}_9$ ($[\text{M}+\text{H}]^+$) 620.3296, found 620.3300.

酵素阻害活性試験

基質ペプチド [H-Ile-Lys-Thr-Glu-Glu-Ile-Ser-Glu-Val-Asn-Leu-Asp-Ala-Glu-Phe-Arg-His-Asp-Ser-Gly-NH₂]¹⁵ (175 μM) を反応液 (25 μL of 40 mM AcONa buffer, pH 4.5) 中に加え、37 °C で rBACE1 (272 nM) および合成阻害剤とともに 90 分間インキュベートした。反応混合物を分析用 HPLC [COSMOSIL 5C₁₈-ARII column (4.6 \times 150 mm); 濃度勾配 : B 液 10–25%/30 分 (A 液 : 0.1%TFA 水溶液、B 液 : 0.1%TFA アセトニトリル溶液)] で溶出し、基質エリア面積の減少から基質切断率を算出した。この切断率と阻害剤濃度をプロットすることでシグモイド曲線を描き、IC₅₀ 値を算出した。これらの試験を 3 回行い、平均値を取った。

ドッキングシミュレーション

MOE 2020.09 (力場 Amber10) を用いてドッキングシミュレーションを行った。化合物 **2b** と BACE1 との複合体構造 (PDB:4TRW) を読み込み、Structure Preparation パネルの Protonate3D を用い、水素原子を付加し部分電荷を割り付けた。Dock パネルの Template 法を用い、Ligand に別途用意した新規阻害剤の mdb ファイルを読み込み、Figure 30 に示す緑色の箇所 (主鎖および HEA 構造) をテンプレートとして指定した。続いて、Refinement を Rigid Receptor (タンパク質構造を固定した条件) に設定し、テンプレートドッキングを実行した。本文中の Figure には、ドッキングシミュレーションの結果から得られた構造のうち、ドッキングスコア (GBVI/WSA dG スコア) の最も良い構造を採用した。

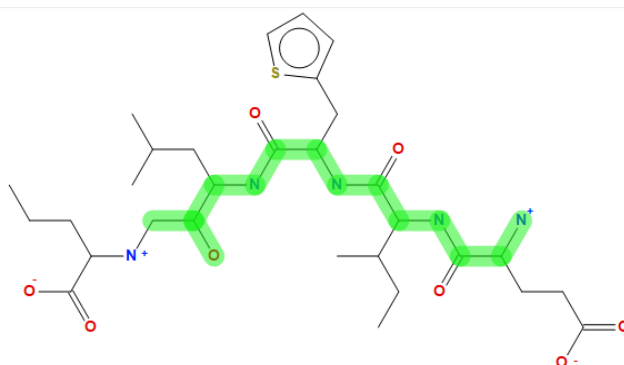


Figure 30. 指定したテンプレート構造

謝辞

本研究に際し、終始御指導、御鞭撻を賜りました京都薬科大学 赤路健一教授 (現：京都薬科大学 副学長)、薬品化学分野 小林数也准教授、並びに共同利用機器センター 服部恭尚講師に衷心より深甚なる敬意を表します。

分野主任並びに主査として本研究の実施にあたり有益な御指導、御助言を頂きました薬品化学分野 大石真也教授に深く感謝申し上げます。

副査として御助言を戴くとともに本論文の細部にわたり御指導を戴いた薬品分析学分野 武上茂彦教授、薬化学分野 古田巧教授に深く感謝申し上げます。

高分解能質量測定において、大変御世話になりました 共同利用機器センター長谷川功紀准教授 (現：福島県立医科大学 教授)、安東友繁助教に深く感謝申し上げます。

研究を進めるにあたって、多くの御助言を頂きました嶋本康広博士、大西康司博士、吉澤慎一郎博士、松本卓也博士に深く感謝致します。

P1'置換型阻害剤の合成に関して、多大な御協力を頂きました井尻咲学士、藤田 (旧姓：川崎) 友紀学士、松原弘樹学士、宮城崇滉学士、北嶋太志学士、井関梨紗学士、石沢克康学士、進藤尚加学士、大川晃汰学士、上田康太学士、安藤駿氏、川北百花氏に感謝致します。

大環状阻害剤の合成に関して、多大な御協力を頂きました竹中涼学士、吉岡沙織学士、佐田理紗学士、田窪万由子学士、川端真澄学士、木村明穂学士、内海慈乃学士に感謝致します。

学部、大学院での研究生活を送る上で、ともに研究に励み協力を頂きました越野裕貴学士、石原千裕学士並びに薬品化学分野に在籍した諸氏に感謝致します。

最後に、10年間と長い京都薬科大学での生活をサポートして頂いた家族に心より感謝申し上げます。

引用文献

1. For a review, see: Selkoe, D. J. Alzheimer's disease: genes, proteins, and therapy. *Physiol. Rev.* **2001**, *81*, 741–766.
2. The percentage of people with Alzheimer's disease is given at the Alzheimer's disease international website <https://www.alzint.org/about/> (accessed February 4, 2022).
3. Sinha, S.; Lieberburg, I. Cellular mechanisms of beta-amyloid production and secretion. *Proc. Natl. Acad. U.S.A.* **1999**, *96*, 11049–11053.
4. Ghosh, A. K.; Shin, D. W.; Downs, D.; Koelsch, G.; Lin, X. L.; Ermolieff, J.; Tang, J. Design of potent inhibitors for human brain Memapsin 2 (β -secretase). *J. Am. Chem. Soc.* **2000**, *122*, 3522–3523.
5. Kimura, T.; Hamada, Y.; Stochaj, M.; Ikari, H.; Nagamine, A.; Abdel-Rahman, H.; Igawa, N.; Hidaka, K.; Nguyen, J.-T.; Saito, K.; Hayashi, Y.; Kiso, Y. Design and synthesis of potent beta-secretase (BACE1) inhibitors with P1' carboxylic acid bioisosteres. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2006**, *16*, 2380–2386.
6. Ghosh, A. K.; Kumaragurubaran, N.; Hong, L.; Kulkarni, S.; Xu, X.; Miller, H. B.; Reddy, D. S.; Weerasena, V.; Turner, R.; Chang, W.; Koelsch, G.; Tang, J. Potent memapsin 2 (beta-secretase) inhibitors: design, synthesis, protein-ligand X-ray structure, and in vivo evaluation. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2008**, *18*, 1031–1036.
7. Hong, L.; Koelsch, G.; Lin, X.; Wu, S.; Terzyan, S.; Ghosh, A. K.; Zhang, X. C.; Tang, J. Structure of the protease domain of memapsin 2 (beta-secretase) complexed with inhibitor. *Science* **2000**, *290*, 150–153.
8. Turner 3rd, R. T.; Loy, J. A.; Nguyen, C.; Devasamudram, T.; Ghosh, A. K.; Koelsch, G.; Tang, J. Specificity of memapsin 1 and its implications on the design of memapsin 2 (beta-secretase) inhibitor selectivity. *Biochemistry* **2002**, *41*, 8742–8746.
9. Grüniger-Leitch, F.; Schlatter, D.; Küng, E.; Nelböck, P.; Döbeli, H. Substrate and inhibitor profile of BACE (beta-secretase) and comparison with other mammalian aspartic proteases. *J. Biol. Chem.* **2002**, *277*, 4687–4693.
10. Kimura, T.; Shuto, D.; Kasai, S.; Liu, P.; Hidaka, K.; Hamada, T.; Hayashi, Y.; Hattori, C.; Asai, M.; Kitazume, S.; Saido, T. C.; Ishiura, S.; Kiso, Y. KMI-358 and KMI-370, highly potent and small-sized BACE1 inhibitors containing phenylnorstatine. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2004**, *14*, 1527–1531.
11. Maillard, M. C.; Hom, R. K.; Benson, T. E.; Moon, J. B.; Mamo, S.; Bienkowski, M.; Tomasselli, A. G.; Woods, D. D.; Prince, D. B.; Paddock, D. J.; Emmons, T. L.; Tucker, J. A.; Dappen, M. S.; Brogley, L.; Thorsett, E. D.; Jewett, N.; Sinha, S.; John, V. Design, synthesis, and crystal structure of hydroxyethyl secondary amine-based peptidomimetic inhibitors of human beta-secretase. *J. Med. Chem.* **2007**, *50*, 776–781.
12. Giordanetto, F.; Kihlberg, J. Macrocyclic drugs and clinical candidates: what can medicinal

- chemists learn from their properties? *J. Med. Chem.* **2014**, *57*, 278–295.
13. Rojo, I.; Martín, J. A.; Broughton, H.; Timm, D.; Erickson, J.; Yang, H.-C.; McCarthy, J. R. Macrocyclic peptidomimetic inhibitors of beta-secretase (BACE): first X-ray structure of a macrocyclic peptidomimetic-BACE complex. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2006**, *16*, 191-195.
 14. Huber, T.; Manzenrieder, F.; Kuttruff, C. A.; Dorner-Ciossek, C.; Kessler, H. Prolonged stability by cyclization: Macrocyclic phosphino dipeptide isostere inhibitors of beta-secretase (BACE1). *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2009**, *19*, 4427–4431.
 15. Kakizawa, T.; Sanjoh, A.; Kobayashi, A.; Hattori, Y.; Teruya, K.; Akaji, K. Evaluation of superior BACE1 cleavage sequences containing unnatural amino acids. *Bioorg. Med. Chem.* **2011**, *19*, 2785–2789.
 16. Hattori, Y.; Kobayashi, K.; Deguchi, A.; Nohara, Y.; Akiyama, T.; Teruya, K.; Sanjoh, A.; Nakagawa, A.; Yamashita, E.; Akaji, K. Evaluation of transition-state mimics in a superior BACE1 cleavage sequence as peptide-mimetic BACE1 inhibitors. *Bioorg. Med. Chem.* **2015**, *23*, 5626–5640.
 17. Maxson, T.; Deane, C. D.; Molloy, E. M.; Cox, C. L.; Markley, A. L.; Lee, S. W.; Mitchell, D. A. HIV protease inhibitors block streptolysin S production. *ACS Chem Biol.* **2015**, *10*, 1217–1226.
 18. Eketjäll, S.; Janson, J.; Kaspersson, K.; Bogstedt, A.; Jeppsson, F.; Fälting, J.; Haerberlein, S. B.; Kugler, A. R.; Alexander, R. C.; Cebers, G. AZD3293: a novel, orally active BACE1 inhibitor with high potency and permeability and markedly slow off-rate kinetics. *J. Alzheimer's Dis.* **2016**, *50*, 1109–1123.
 19. For a review, see: Mallinson, J.; Collins, I. Macrocycles in new drug discovery. *Future Med. Chem.* **2012**, *4*, 1409–1438.
 20. Sandgren, V.; Belda, O.; Kvarnström, I.; Lindberg, J.; Samuelsson, B.; Dahlgren, A. Design and synthesis of novel arylketo-containing P1-P3 linked macro-cyclic BACE-1 inhibitors. *Open Med. Chem. J.* **2015**, *9*, 13-26.
 21. Pennington, L. D.; Whittington, D. A.; Bartberger, M. D.; Jordan, S. R.; Monenschein, H.; Nguyen, T. T.; Yang, B. H.; Xue, Q. M.; Vounatsos, F.; Wahl, R. C.; Chen, K.; Wood, S.; Citron, M.; Patel, V. F.; Hitchcock, S. A.; Zhong, W. Hydroxyethylamine-based inhibitors of BACE1: P₁-P₃ macrocyclization can improve potency, selectivity, and cell activity. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2013**, *23*, 4459-4464.
 22. Deruer, E.; Coulibali, S.; Boukercha, S.; Canesi, S. Carbon-phosphorus bond formation on anilines mediated by a hypervalent iodine reagent. *J. Org. Chem.* **2017**, *82*, 11884-11890.
 23. Meng, Z.; Souillart, L.; Monks, B.; Huwyler, N.; Herrmann, J.; Müller, R.; Fürstner, A. A "motif-oriented" total synthesis of nannocystin Ax. Preparation and biological assessment of analogues. *J. Org. Chem.* **2018**, *83*, 6977–6994.
 24. Koseki, Y.; Yamada, H.; Usuki, T. Efficient synthesis of benzyl 2-(S)-[(*tert*-butoxycarbonyl)amino]- ω -iodoalkanoates. *Tetrahedron: Asymmetry* **2011**, *22*, 580–586.
 25. Broadrup, R. L.; Wang, B.; Malachowski, W. P. A general strategy for the synthesis of

- azapeptidomimetic lactams. *Tetrahedron* **2005**, *61*, 10277–10284.
26. Arnaud, O.; Koubeissi, A.; Ettouati, L.; Terreux, R.; Alamé, G.; Grenot, C.; Dumontet, C.; Pietro, A. D.; Paris, J.; Falson P. Potent and fully noncompetitive peptidomimetic inhibitor of multidrug resistance P-glycoprotein. *J. Med. Chem.* **2010**, *53*, 6720–6729.
 27. Li, X.; Atkinson, R. N.; King, S. B. Preparation and evaluation of new l-canavanine derivatives as nitric oxide synthase inhibitors. *Tetrahedron* **2001**, *57*, 6557–6565.
 28. Kaul, R.; Surprenant, S.; Lubell, W. D. Systematic study of the synthesis of macrocyclic dipeptide beta-turn mimics possessing 8-, 9-, and 10- membered rings by ring-closing metathesis. *J. Org. Chem.* **2005**, *70*, 3838–3844.
 29. Peters, C.; Bacher, M.; Buenemann, C. L.; Kricek, F.; Rondeau, J.-M.; Weigand, K. Conformationally constrained mimics of the membrane-proximal domain of FcεRIα. *ChemBioChem* **2007**, *8*, 1785–1789.
 30. Claveau, R.; Twamley, B.; Connon, S. J. Dynamic kinetic resolution of bis-aryl succinic anhydrides: enantioselective synthesis of densely functionalised γ -butyrolactones. *Chem. Commun.* **2018**, *54*, 3231–3234.