

抗腫瘍活性天然物 curcumin, fusarisetin A をリードとする
創薬化学研究

東北大学大学院薬学研究科

分子薬科学専攻

高山 亜紀

本学位論文は、下記の原著論文を基に作成され、東北大学大学院薬学研究科に提出されたものである。

原著論文

1. Structure-Activity Relationships of the Antitumor C₅-Curcuminoid GO-Y030

A. Kohyama, H. Yamakoshi, S. Hongo, N. Kanoh, H. Shibata, Y. Iwabuchi
Molecules, **2015**, *20*, 15374-15391.

2. An enantiocontrolled entry to the tricyclic polar segment of (+)-fusarisetin A

A. Kohyama, N. Kanoh, E. Kwon, Y. Iwabuchi
Tetrahedron Letters, **2016**, *57*, 517-519

3. Structure-Reversibility Relationship of thia-Michael reaction of C₅-curcuminoids

A. Kohyama, M. Fukuda, S. Sugiyama, H. Yamakoshi, N. Kanoh, C. Ishioka, H. Shibata, Y. Iwabuchi
Submitted for preparation

参考論文

A Curcumin Analog, GO-Y078, Effectively Inhibits Angiogenesis through Actin Disorganization.

S. Sugiyama, Y. Yoshino, S. Kuriyama, M. Inoue, K. Komine, K. Otsuka, A. Kohyama, H. Yamakoshi, C. Ishioka,
M. Tanaka, Y. Iwabuchi, H. Shibata
Anticancer Agents Med. Chem. **2015**, *submitted*.

略語表

本論文中においての用語および反応剤は下記のように略記した.

Ac	acetyl
<i>Anal.</i>	elemental analysis
aq.	aqueous
AZADO	2-azaadamantane <i>N</i> -oxyl
BF ₃ •OEt ₂	borontrifluoride diethyl ether complex
BHA	bishydroxamic acid
Boc	<i>tert</i> -butoxycarbonyl
<i>n</i> -Bu	<i>normal</i> -butyl
<i>t</i> -Bu	<i>tert</i> -butyl
br	broad (spectral)
Bz	benzoyl
<i>c</i>	concentration
°C	degree Celsius
calcd.	calculated
cat.	catalytic amount or catalyzed
CDDO	2-cyano-3,12-dioxooleana-1,9(11)-dien-28-oic acid
CHP	cumene hydroperoxide
<i>c-myc</i>	myelocytomatosis
conc.	concentrated
CTABr	cetyltrimethylammonium bromide
Cys	cysteine
d	doublet (spectral)
dec.	decomposition
DIBAL-H	diisobutylaluminum hydride
DMAP	4-(dimethylamino)pyridine
DMF	<i>N,N'</i> -dimethylformamide
DMN-AZADO	1,5-dimethyl-9-azanoradamantane <i>N</i> -oxyl
DMPU	<i>N,N'</i> -dimethylpropyleneurea
DMSO	dimethyl sulfoxide
DTT	dithiothreitol
dr	diastereomeric ratio

ee	enantiomeric excess
EF24	(3 <i>E</i> , 5 <i>E</i>)-3, 5-bis [(2-fluorophenyl)methylene]-4-piperidinone
EGFR	epidermal growth factor receptor
eq.	equivalent
Et	ethyl
Et ₃ N	triethylamine
EWG	electron withdrawing group
FUBP	far upstream element-binding protein
GS-X pump	glutathione <i>S</i> -conjugate export pump
GSH	glutathione
GI ₅₀	50% growth Inhibition concentration
h	hour (s)
HDAC	histone deacetylase
HER2	human epidermal growth factor receptor 2
HPLC	high-performance liquid chromatography
Hz	herz
IC ₅₀	50%-inhibitory concentration
imid.	imidazole
IR	infrared
<i>J</i>	coupling constant
LHMDS	lithium hexamethyldisilazide
lit.	literature
M	molar (mol/L) or molecular ion
mCPBA	3-chloroperbenzoic acid
Me	methyl
min	minute (s)
MOM	methoxymethyl
m.p.	melting point
MRP	multidrug resistance-associated protein
MS	mass spectrometry or molecular sieves
<i>m/z</i>	mass to charge ratio
NMO	<i>N</i> -methylmorpholine- <i>N</i> -oxide
NMR	nuclear magnetic resonance
N.R.	no reaction

NO	nitric oxide
Nu	nucleophile
<i>o</i> -	<i>ortho</i> -
<i>p</i> -	<i>para</i> -
P	protecting group
PCC	pyridinium chlorochromate
PGA ₁	prostaglandin A ₁
PPh ₃	triphenylphosphine
Ph	phenyl
<i>i</i> -Pr	isopropyl
quant.	quantitative
RCM	ring closing metathesis
RSK	ribosomal protein S6 kinase
rt	room temperature
SAR	structure activity relationship
sat.	saturated
TBS	<i>tert</i> -butyldimethylsilyl
TEMPO	2,2,6,6-tetramethyl-1-piperidinyloxy free radical
TES	triethylsilyl
temp.	temperature
THF	tetrahydrofuran
TLC	thin layer chromatography
TMS	trimethylsilyl
TPAP	tetra- <i>n</i> -propylammonium perruthenate
Ts	<i>p</i> -toluenesulfonyl
v/v	volume/volume

目次

総論	1
各論	
第1章 抗腫瘍活性天然物 curcumin をリードとする創薬化学研究	
第1節 抗腫瘍活性 C ₅ -curcuminoid の構造活性相関研究	23
第2節 ¹ H-NMR 分光法による C ₅ -curcuminoids の Michael 反応に関する調査	31
第3節 C ₅ -Curcuminoid 水溶性誘導体の創製	34
第4節 GO-Y030 チオール付加体の合成とがん細胞増殖阻害活性, 反応性の評価	35
第5節 小括	40
第2章 誘導体合成を指向したがん細胞遊走阻害活性天然物 fusarisetin A の合成研究	
第1節 光学活性なラクトン 43 の合成	42
第2節 ケトン 66 の合成	46
第3節 ラクタム化の検討	48
第4節 閉環エンインメタセシスの検討と分子間 Diels-Alder 反応	50
第5節 閉環メタセシスによる CDE 環誘導体の合成	55
第6節 小括	56
結論	57
実験の部	60
引用文献	109
謝辞	113

総論

“病気”，“死”，これはヒトが生きていく上で避けられない重要な問題であり，はるか昔から人類を苦しめてきた．その苦しみから逃れるため，ヒトは，病気を克服する術を次々に生み出し，病気に対する理解を深めてきた．

18 世紀，産業革命に伴い科学技術が急速に進歩していく中で近代薬学の礎が築かれ，有機化学の誕生によって，様々な有機分子が合成できるようになった．その後，有機化学が医薬領域に進出することで，数多くの合成薬品が開発され，それまで遅々としていた医薬研究を急速に発展させた．先進諸国によって薬の開発が進められることで，ヒトは様々な病気を克服していき，結果として平均寿命の延長がもたらされた．そのようにして築かれたのが，現在の長寿命先進国である．高齢化に伴って，数百年前から主な死亡原因となっていた肺炎や結核といった感染症に代わり，「がん」が難治性疾患として死者数を増やしてきた．「がん」は，現在，我が国の死亡原因の第 1 位であり，今後の超高齢化社会においても，「がん」による死亡者数は増加の一途をたどると予想されている．こういった現状から，今，「がん」の発症・進展の機序に対する理解とその完全な克服は社会的要請が強く，医学，薬学，生物学の多方面で活発な研究がなされている．

薬の創製には，新規なメカニズムで生物活性を示す医薬品シードの獲得と共に，候補化合物を物性・活性の面で迅速に最適化する方法が求められ，この 2 点は，今日のメディシナルケミストリーにおける重要な課題となっている．前者は，作用機序の全貌が未解明な疾病の研究に役立つだけでなく，その病気の治療におけるブレイクスルーとなる薬を生み出すきっかけとなる．後者の研究においては，例えば，薬としての潜在性を秘めながらも物性面で課題を抱えている **curcumin** のような天然物の物性を簡便に最適化できれば，**curcumin** に基づく創薬研究の飛躍的な進展が期待できる．著者は，医薬品候補化合物としての **curcumin** 誘導体の最適化を目的として，①**curcumin** をリードとする創薬化学研究を行うとともに，新規医薬シードの創製を目的として，②誘導体合成を指向したがん細胞遊走阻害活性天然物 **fusarisetin A** の合成研究を行った．

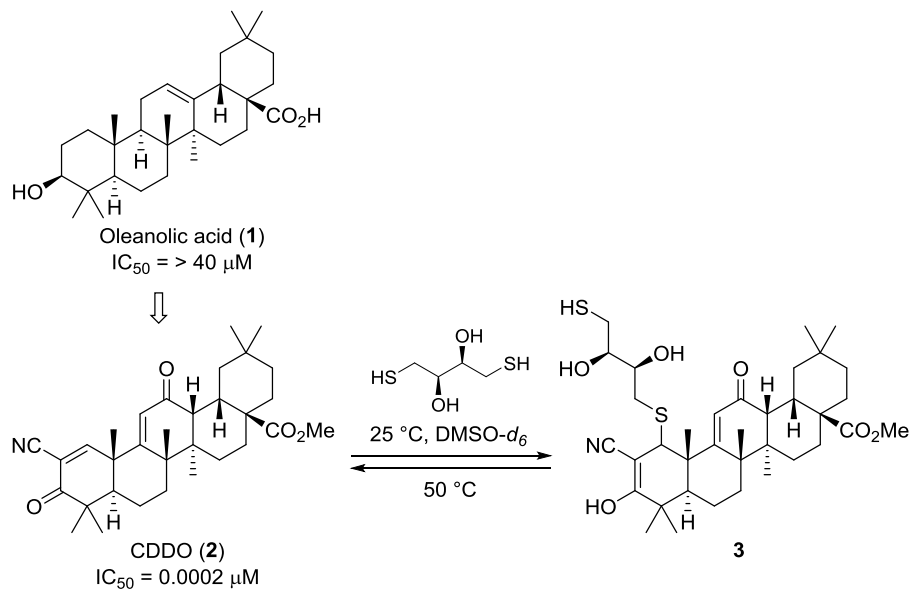


Figure 0-02. Oleanolic acid (1) and CDDO (2) as inhibitor of NO production

2012年, Tauntonらは, 可逆的 Michael 反応を企図して, 既存の不可逆的 RSK2 阻害剤 (4)⁴ の反応性部位にシアノアクリルアミド単位を導入した 6 を設計・創製した (Figure 0-03)⁵. 実際に 6 は, 可逆的 Michael 反応を介して RSK に共有結合していると証明された. 6 の可逆的反応性が, リン酸化酵素に対する選択性や活性の向上をもたらしたという結果は, 非常に興味深い.

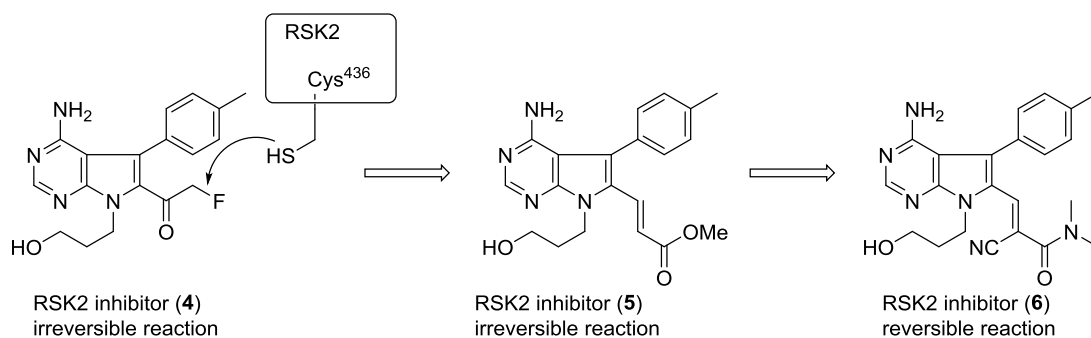


Figure 0-03. Development of RSK2 inhibitor ①

つづく 2014 年, Taunton らは, 可逆的 Michel acceptor の構造と反応性との相関関係について, より一般性の高い指標を作成する目的で, その序列付けを試みた⁶. 具体的には, シアノアクリルアミド単位のアミド基を様々なヘテロ環へと変換した誘導体を数種類合成し, それらの Michael 反応の可逆性を, 実験的

手法・計算化学の2つを用いてランク付けした。彼らの研究によって、計算値と実測値に相関関係があることが明らかとなり、計算化学による予測の有用性が証明された (Figure 0-04).

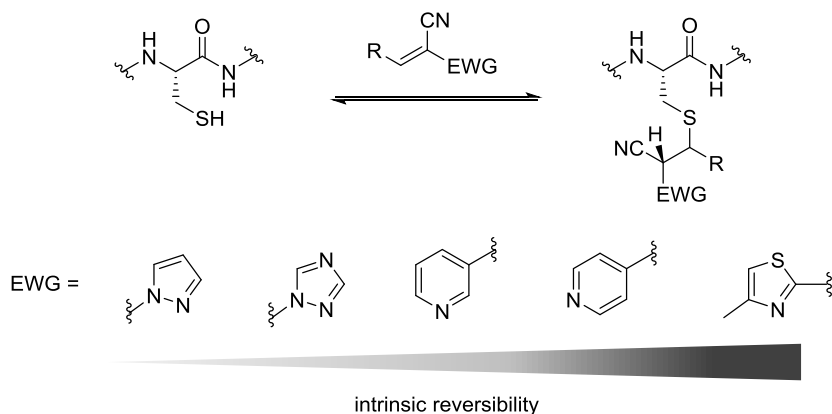


Figure 0-04. Development of RSK2 inhibitor ②

実際の医薬品において、Michael acceptor を導入した事例として afatinib (8) が知られている。Afatinib (8) は、EGFR および HER2 と共有結合を形成し、それらを不可逆的に阻害する抗がん剤の1つであり、共有結合を形成しない可逆的 EGFR/HER2 阻害剤である gefitinib (7) などの第2世代薬と位置付けられる (Figure 0-05) ⁷.

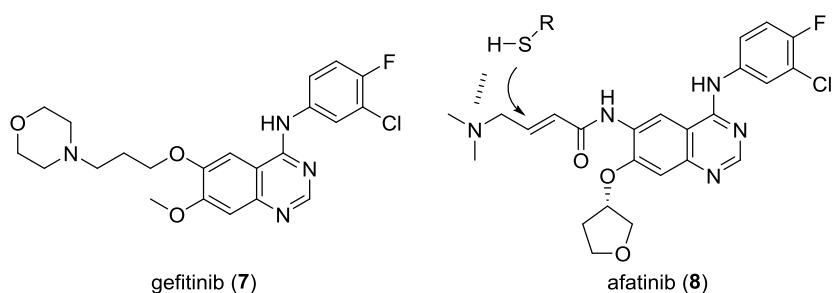


Figure 0-05. Gefitinib (7) and afatinib (8)

このように、Michael acceptor は、 α,β -不飽和カルボニル単位の周辺構造を変えることでその反応性を調節することが可能であり、上述した Taunton らの報告 ⁶ や、Amslinger らの報告 ⁸ を通じて、反応性の序列が少しずつ明らかとなってきた。しかし、それらの例は、医薬品候補化合物の活性本体の構造改変が必要

とされるため、適用できる医薬品には限りがある。

1-2 背景 — curcumin 誘導体 —

Curcumin は、古くから染料、香辛料、生薬として用いられてきたウコン (*Curcuma longa* L.) に含まれる活性成分の一つで、現代においても健康食品や食用として広く普及している。薬学分野においては、幅広い活性を示すことが知られており、現在までに抗酸化活性、抗炎症活性、抗 HIV 活性、抗腫瘍活性などが報告されている⁹。これらの多様な生物活性に加えて、食用植物由来の化合物であるという事実から低毒性が主張されてきた。特にその抗ガン作用については、数多くの研究グループによって構造活性相関研究や活性発現機構に関する研究がなされてきた^{9b, 9d, 9e, 9g, 9h, 9j}。

しかし、膨大な数の curcumin 関連論文が報告されている一方で、臨床試験まで進んだ例は非常に少なく、市場に上がっている商品も健康食品の領域を出ない。その理由として、以下の2つの問題点が挙げられる。

1つ目は、curcumin の bioavailability の低さである¹⁰。経口投与された curcumin は、溶解性が低いため消化管からの吸収量が低く、さらに吸収された一部の curcumin についてもほとんどがグルクロン酸抱合などの代謝によって体外へと排出される。例えば、Pan らによる報告では、1.0 g/kg の curcumin をマウスに経口投与したところ、その血中濃度は、0.13~0.22 µg/ml と非常に低く、静脈注射で投与した場合は、15分後に血中濃度のピークを迎え (2.25 µg/ml) 、その後速やかな血中濃度の減少がみられた¹¹。このような低い bioavailability の解決手段としては、アジュバンドの使用やリポソーム複合体の形成といった、製剤面での工夫が試みられてきた。誘導体合成による水溶性の向上は、構造変換により活性が低下する等の問題がしばしば生じるため課題を残している。

2つ目の問題点は、多数の分子標的に作用する点である。Curcumin は、上述したように多様な生物活性を示すが、それとともに、**Figure 0-06** に示すような多数の分子に作用することが知られている。例えば、転写因子 (NF-κB)¹²、細胞増殖経路 (cyclin D1, c-myc)¹³、細胞生存経路 (Bcl-2, Bcl-xL, cFLIP)¹⁴、カスパーゼ活性化経路 (caspase-8, caspase-3, caspase-9)¹⁵、腫瘍抑制経路 (p53, p21)¹⁶、細胞死受容体 (DR4, DR5)¹⁷、プロテインキナーゼ経路 (JNK, Akt, AMPK)¹⁸ など多くの細胞内情報伝達系の関与が報告されている。そのため、どれが特定の活性をもたらす主要メカニズムが断定できず、curcumin の創薬研究をより複雑で困難なものとしている。

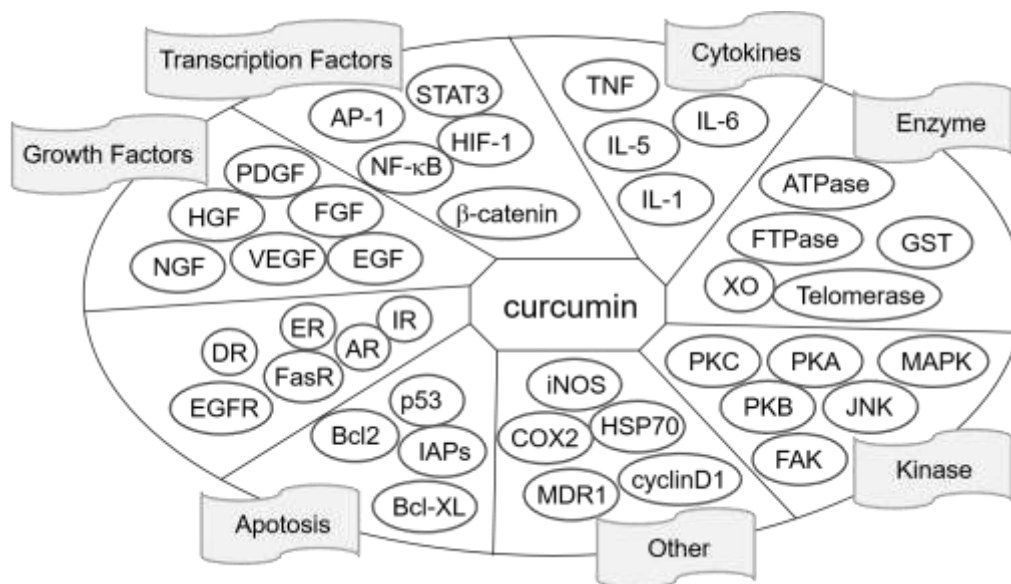
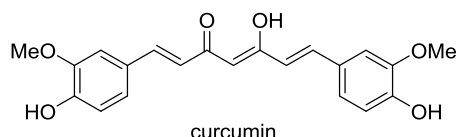


Figure 0-06. Curcumin and its molecular targets

1-3 背景 —当研究室における抗腫瘍活性に着目した C₅-curcuminoid の創薬化学研究—

当研究室においても、curcumin 誘導体の抗腫瘍活性に着目され、2つの芳香環部が5つの炭素で連結された bis(arylmethylidene)acetone 型誘導体 (以下 C₅-curcuminoid と称する) の構造活性相関研究と標的分子探索研究が前任者の山越博士によって行われてきた (**Figure 0-07**)。山越博士は、主に C₅-curcuminoid の芳香環上置換基に対する構造活性相関研究を行い、curcumin よりも10倍以上強いがん細胞増殖阻害活性を有する高活性誘導体 GO-Y030 の創製に成功した¹⁹。共同研究者の柴田博士らによって、GO-Y030 は家族性大腸腺種症モデルマウスに対する経口投与実験で腺腫形成やその大きさを抑制することが示され、一方で明らかな毒性は認められなかった²⁰。この実験では、経口投与された GO-Y030 は直接腸管の粘膜や腺腫に作用するので物性はそれ程問題とならなかったが、GO-Y030 も curcumin と同様に疎水性であり、臓器がんや白血病などに対する動物実験へ進むには課題を残していた。

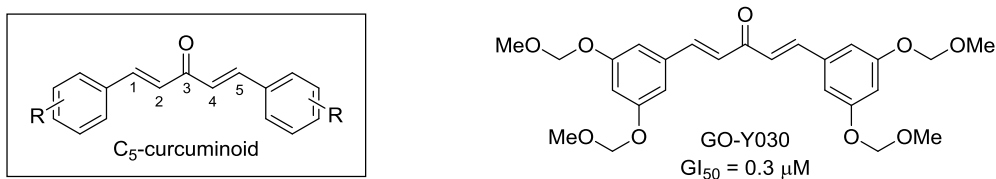


Figure 0-07. C₅-Curcuminoids

一方で、ビオチン化プローブ GO-Y086 を用いて大腸がん細胞 HCT116 に対する標的分子探索研究が行われた。プロテオミクス解析の結果、GO-Y086 結合タンパク質は、FUBP2 (Far upstream element-binding protein 2) という核内転写制御因子であり、500 番目のシステイン残基を介して共有結合していることが明らかとなった (Figure 0-08) ²¹。しかし、この結果は、従来からの「Michael acceptor は非特異的に生体内求核種と反応する」といった常識に矛盾する結果であった。また、C₅-curcuminoid が FUBP2 のみに作用しているかどうかについては未解明であった。過去に、GO-Y030 は Wnt/β-catenin シグナルにも作用していることが共同研究者の大堀・柴田博士によって明らかとなっている ²²。従って、上述した矛盾点について益々の疑問が高まり C₅-curcuminoid の細胞内挙動に関して更なる調査が必要であると考えられた。

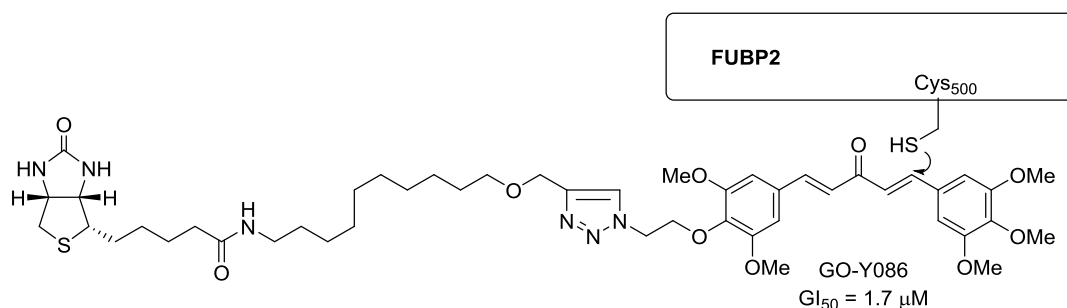


Figure 0-08. Biotinylated probe GO-Y086

1-4 研究目的 ① C₅-curcuminoid の細胞内挙動に関する調査

上述したように、C₅-curcuminoid は反応性の高い Michael acceptor を有している一方で、結合タンパク質として FUBP2 のみが検出されるという結果が得られていた。この矛盾点は、1-1 で述べたような“可逆的 Michael 反応”により説明できるのではないかと考え、特に C₅-curcuminoid の Michael 反応の“可逆性”に焦点を当てて研究を進めた。C₅-curcuminoid の細胞内挙動に関する何らかの情報が得られれば、今まで蓄積されてきた構造活性相関研究や標的分子探索研究の結果とを併せた“Michael acceptor を有する

医薬品候補化合物”としての結果を、創薬研究の発展に繋がるような新たな知見として提供できると考えた。

1-5 C₅-curcuminoid の構造活性相関研究

C₅-curcuminoid の細胞内挙動に関する調査に先駆けて、C₅-curcuminoid のジエノン構造に関する構造活性相関研究を行った。前任者らによって、C₅-curcuminoid のジエノン構造が、がん細胞増殖阻害活性に必須であると示されていたが、その役割については2つの可能性があった。すなわち、分子全体のコンホメーションを保持させる役割と、Michael acceptor としての役割である。そこで、C₅-curcuminoid の中でも高い活性を示す GO-Y030 をリード化合物として、シクロプロパン化体を含む種々の誘導体を合成し、大腸がん細胞 HCT116 の細胞増殖阻害活性評価を行った。その結果、ジシクロプロパン化体 GO-Y132 は還元体 GO-Y133 と同様に活性を消失していた (Figure 0-09)。したがって、C₅-curcuminoid のジエノン構造は、Michael acceptor として機能していると構造活性相関研究において示すことができた。尚、詳細な構造活性相関研究の結果については、各論第1章第1節で述べる。

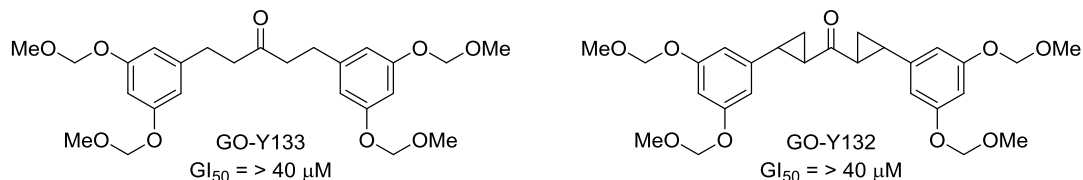


Figure 0-09. GO-Y133 and GO-Y132

1-6 GO-Y030 とシステアミンの可逆的 Michael 反応の観測

次に、GO-Y030 が可逆的 Michael acceptor となり得るかどうかを調査した。分析方法は、Appendino らによって報告された ¹H-NMR 分光法を用いるアッセイ法を参考にした²³。その分析方法についてまずは紹介する。

2011 年、Appendino は、Michael acceptor の発見と、その反応が可逆的か不可逆的かを分類する目的で、¹H-NMR 分光法を用いた簡便なアッセイ法を開発した。手順は、Procedure A (Figure 0-10) に示す通りで、まず、分析したい化合物とシステアミンを重 DMSO 中で混合し ¹H-NMR を測定することで、Michael 反

応を起こしているかを判定する。Michael 反応を起こした化合物は、この 1 度目の判定後、重クロロホルムで 20 倍に希釈され希釈後の適当な時間に $^1\text{H-NMR}$ で測定される。この時、逆 Michael 反応が起きた化合物は可逆的 Michael acceptor と判定される。彼らは、この方法を用いて天然物を含む 16 つの化合物の内、umbellulone (9), zerumbone (10) でのみ Michael 反応の可逆性を確認した。

著者は、まず Appendino らの条件を参考に、Procedure B (Figure 0-10) に示す条件で Michael 反応と続く逆 Michael 反応の観測を行ったところ、GO-Y030 とシステアミンの Michael 反応が速やかに起き、続く逆 Michael 反応が起きていることが観測された。この結果により、GO-Y030 は、重 DMSO 中でシステアミンと可逆的な Michael 反応を引き起こしていると分かり、GO-Y030 が化学的に可逆的 Michael 反応を起こすと示された。実験の詳細については、各論第 1 章第 2 節で説明する。

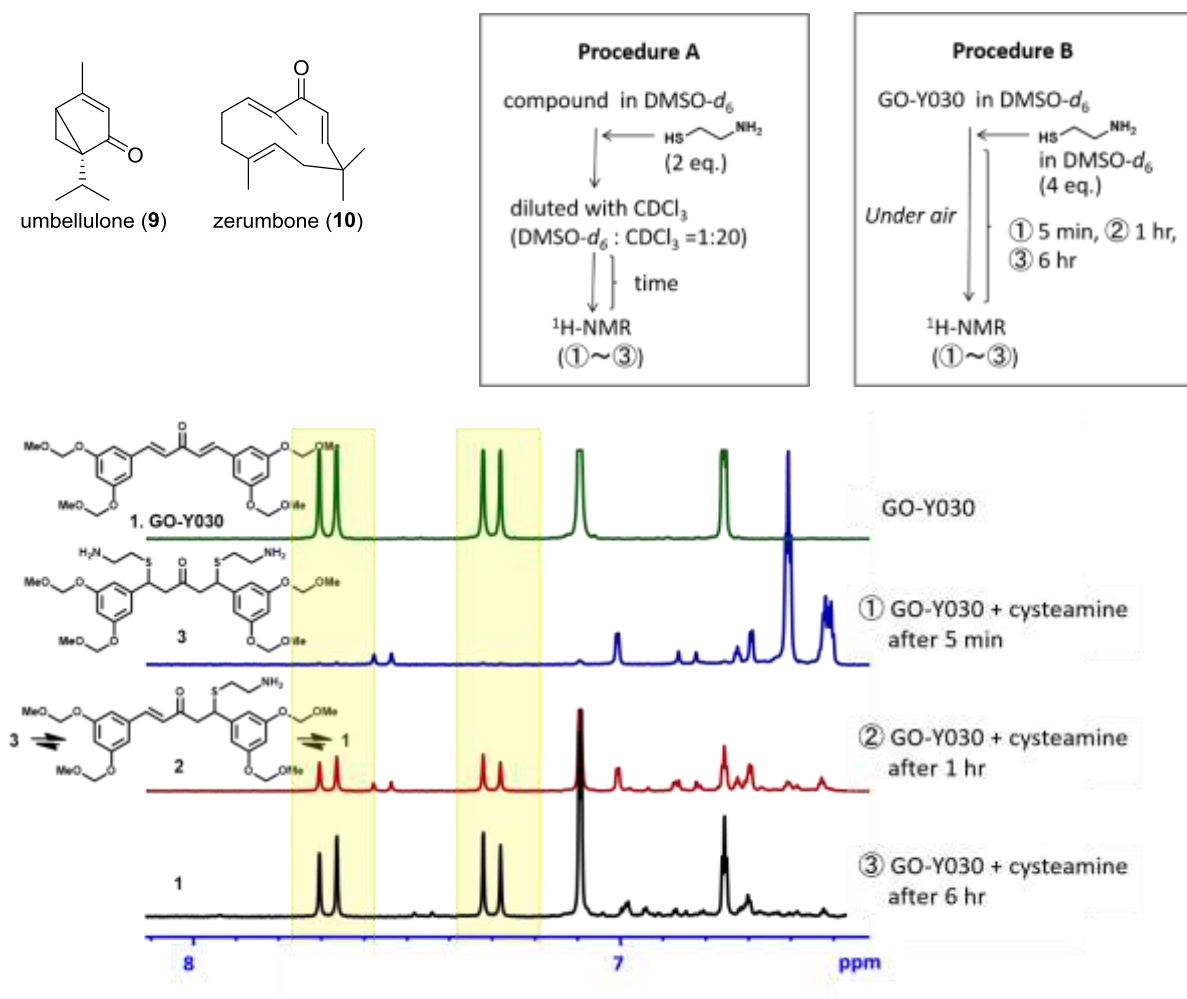


Figure 0-10. $^1\text{H-NMR}$ assay

1-7 研究目的 ② 簡便な C₅-curcuminoid 水溶性誘導体の獲得

1-3 で述べたように、C₅-curcuminoid は、創薬研究の後期段階にあり、臨床適用を考えた時、水溶性の低さが問題となっていた。前任者の C₅-curcuminoid 誘導体合成において、芳香環上置換基に極性官能基を導入するといった一般的な方法では、活性が低下したり、予想に反して水溶性を示さないという場合があった。さらに、水溶性誘導体を“簡便に”創製するといった観点からすると、C₅-curcuminoid の芳香環上置換基に極性官能基を導入するという方法は、保護・脱保護や煩雑な精製操作を含む上、実際に合成するまで、物性・活性に関する情報が不明であるといった問題点があった。そこで、著者は、C₅-curcuminoid の中でも高い抗腫瘍活性を示し、分子生物学実験のデータが最も蓄積された GO-Y030 をリード化合物として、そのプロドラッグ化による水溶性向上を企図した。

1-8 GO-Y030 水溶性誘導体の創製

C₅-curcuminoid の水溶性誘導体を簡便に獲得するために、水溶性チオールである glutathione (以下 GSH と略記する) を付加させた GO-Y030 チオール付加型プロドラッグの創製を行った。プロドラッグの創製を着想した経緯は以下の通りである。

C₅-curcuminoid は、off target との無秩序な反応性を示すと考えられている Michael acceptor の 1 つであるが、1-3 で示された過去の標的分子探索研究において、ビオチン化プローブ GO-Y086 は FUBP2 という単一のタンパク質とのみ結合が検出された。この“無秩序な反応性という前提”と“単一の結合タンパク質という実験結果”は、矛盾が生じる不可解な点であった。一方で、著者は、1-6 で示したように GO-Y030 がシステアミンと可逆的な Michael 反応を起こすという性質を見出した。この“可逆的反応性”という手がかりによって、C₅-curcuminoid の細胞内挙動について以下の仮説が導き出された (**Figure 0-11**)。すなわち、「C₅-curcuminoid は、細胞内で GSH をはじめとする様々な生体内求核種と可逆的な Michael 反応を起こしていく中で、FUBP2 とのみ不可逆的 Michael 反応をするので、FUBP2 のみが結合タンパク質として検出された」という仮説である。この仮説に基づくと、GO-Y030 の GSH 付加体は、細胞内で逆 Michael 反応が惹起されるはずである。そこで、細胞内に高濃度で存在する水溶性チオール GSH を高活性誘導体 GO-Y030 に付加させることで、GO-Y030 の活性を保持したまま水溶性の向上が期待できると考えた。

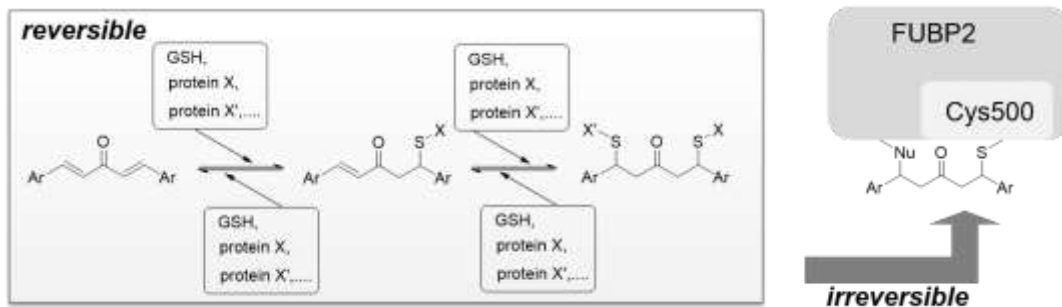


Figure 0-11. Thiol-shuttle hypothesis of C₅-curcuminoid as intracellular behavior

実際に、過去の文献調査を行うと、既に Michael acceptor の GSH 付加によるプロドラッグ化が報告されていた。以下にその例を示す。

2009 年、Snyder らは、がん細胞増殖阻害活性 C₅-curcuminoid の EF24 に対して GSH を付加させることで、活性を維持しながら、光安定性、水溶性を向上させた誘導体 **11** の創製に成功した (Figure 0-12) ²⁴。

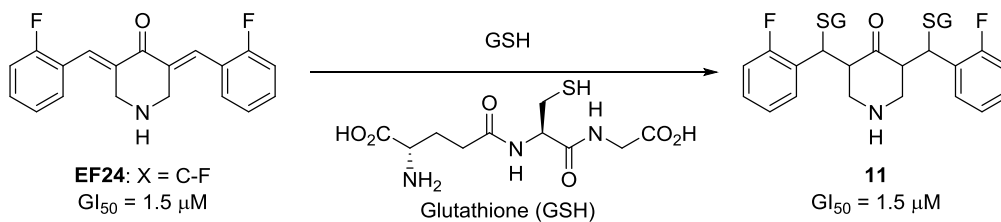


Figure 0-12. Antitumor EF24 and its glutathione adduct

一方、1997 年、野依・鈴木らの報告においては、抗腫瘍活性を有する Δ^7 -prostaglandin A₁ (PGA₁) メチルエステル **12** は、細胞内で一部が不活性な Δ^7 -PGA₁ GSH 付加体 **13** へと変換され、**12** と **13** は細胞内で平衡状態にあると推定がなされた (Figure 0-13) ²⁵。

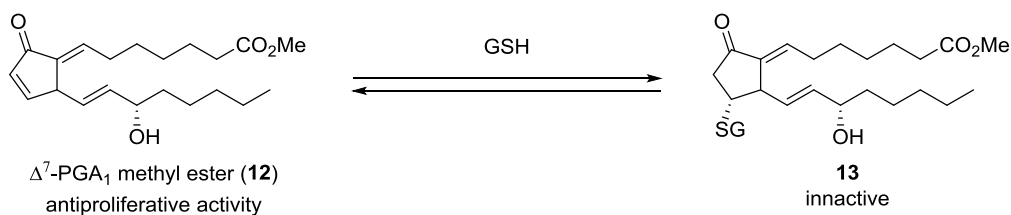


Figure 0-13. Antitumor Δ^7 -PGA₁ methyl ester and its glutathione adduct

著者は、これらの報告を受け、実際に GO-Y030 の GSH 付加体である GO-Y140 の合成・がん細胞増殖阻害活性評価を行った (Figure 0-14). その結果、GO-Y140 は高い水溶性が確認され、GO-Y030 に比べて中程度の増殖阻害活性を保持していることが分かった. 実験の詳細については、各論第 1 章第 3 節で説明する.

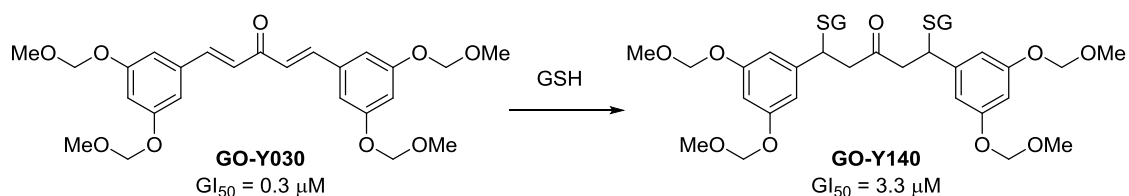
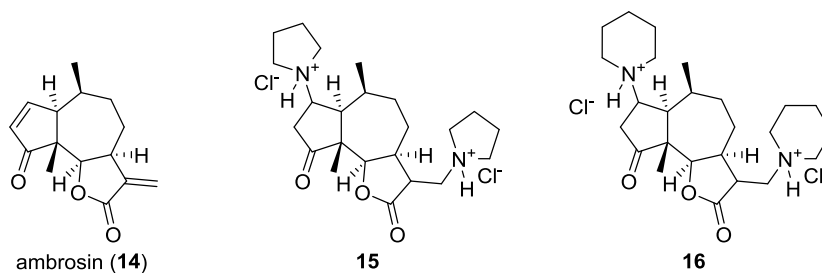


Figure 0-14. GO-Y030 glutathione adduct, GO-Y140

1-9 GO-Y030 チオール付加型プロドラッグの合成とがん細胞増殖阻害活性、反応性の評価

GSH 付加による GO-Y030 のプロドラッグ化に成功したので、著者は次に様々なチオール分子を付加させた GO-Y030 を創製し、そのプロドラッグとしてのがん細胞増殖阻害活性評価、逆 Michael 反応の反応速度の評価を行った.

一般的に、Michael acceptor への Michael 付加によるプロドラッグ誘導体は、少しずつ報告がなされているが、エステル型のプロドラッグ化と比べると未だ一般的な方法とはいえない^{24,26}. 以下に、逆 Michael 反応をトリガーとするプロドラッグ化の例を示す. 1995 年、Cushman らは、がん細胞増殖阻害活性を有するセスキテルペン ambrosin (14) の水溶性を向上させるために、15, 16 のようなアミン付加型プロドラッグを創製した (Figure 0-15)²⁷. 実際に、15, 16 は ambrosin (14) より高い水溶性を示し、活性は同程度であった.



Compd	GI ₅₀ (μM)		
	Lung NCI-H522	Melanoma LOX-IMN	Breast MCF7
ambrosin (14)	1.0	2.2	3.9
15	1.8	3.3	4.2
16	1.1	3.6	4.7

Figure 0-15. Ambrosin and its amino-derivatives

この前例からも分かるように、Michael 付加によるプロドラッグ化は、その目的のほとんどが水溶性向上であるため、付加させる分子は glutathione やアミン、アミノ酸といった極性分子に限られていた。著者は、付加させる分子に応じてプロドラッグの活性が保持されるか否かについて興味を持った。GO-Y030 に付加させるチオール分子に関して、その構造活性相関、逆 Michael 反応の反応性調査を包括的に行うことで、チオール付加型プロドラッグに関する知見を提供できると考えた。そこで、14 種類のチオール分子を用いて種々のプロドラッグを創製した。合成されたプロドラッグを用いて、大腸がん細胞 HCT116 に対してがん細胞増殖阻害活性評価を行い、96 well plate を用いた吸光度測定²⁸によって、酸性・中性・塩基性中での逆 Michael 反応の経時的な反応追跡を行った。その結果、ヘテロ原子や極性官能基を含むチオール分子を付加させた誘導体は、逆 Michael 反応が起こりやすく、がん細胞増殖阻害活性も保持しているという傾向がみられた。この実験で得られる知見は、今後 GO-Y030 のターゲティングや徐放剤への応用を狙っていく上で役立つものとして、Michael acceptor を有する分子の医薬品開発に有用な情報を提供してくれるものと期待される。詳細については、各論第 1 章第 4 節で述べる。

2. 誘導體合成を指向したがん細胞遊走阻害活性天然物 fusarisetin A の合成研究

2-1 背景

転移とは、がん細胞特有の細胞特性であり、原発巣のがん細胞が①血管新生、②原発巣から離脱、浸潤、③脈管系（血管など）への侵入、④脈管からの流出、⑤転移臓器への生着と増殖、を経て他の臓器に広がっていく一連の過程である (Figure 0-16). 転移したがんは、手術による治療（腫瘍部位の完全除去）が不可能であるため、がん患者の死亡原因の多くが“転移”にあるといわれている²⁹. したがって、がん細胞の転移を特異的に阻害する分子標的治療薬の開発が、強く求められている. 現在、転移阻害剤として、VEGF (vascular endothelial growth factor) に対するヒト型モノクローナル抗体 bevacizumab が上市されており、大腸がん、乳がん等に対して他剤併用として適用されている. Bevacizumab は、VEGF と VEGF 受容体の結合を阻害することで腫瘍内の血管新生を抑制し、腫瘍の増殖・転移を抑制するが、抗体医薬で非常に高価なため、確実な効果を持つ安価な新しい低分子転移阻害剤の開発が必要とされている.

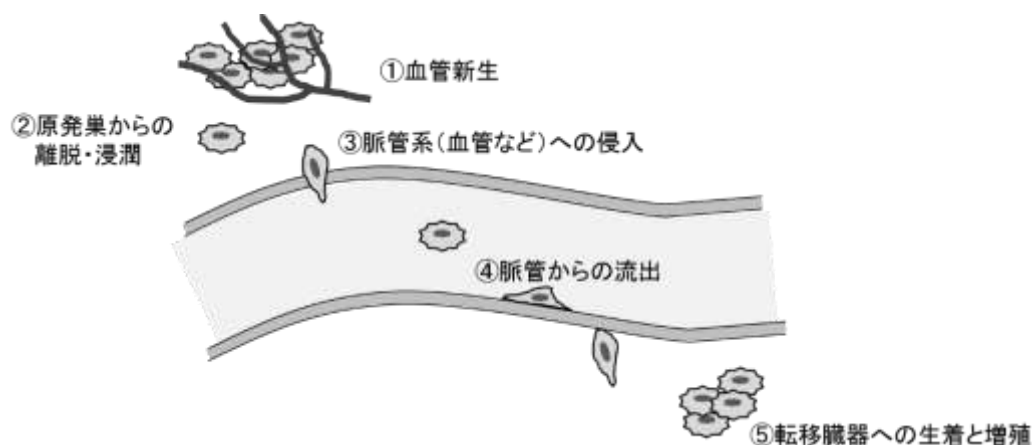


Figure 0-16. Mechanism of cancer metastasis

(+)-Fusarisetin A (**18**) は、2011 年、Korea Research Institute of Bioscience and Biotechnology (KRIBB) の Ahn らと理化学研究所の長田らのグループによって、真菌 *Fusarium* 種 FN080326 より単離・構造決定された天然物である (Figure 0-17)³⁰. この天然物は、ヒト乳がん細胞 MDA-MB-231 に対して、30 $\mu\text{g}/\text{mL}$ の濃度で腺房形成阻害、微小管形成抑制作用を、3 $\mu\text{g}/\text{mL}$ の濃度で細胞遊走阻害作用、10 $\mu\text{g}/\text{mL}$ の濃度で浸潤阻害作用を示すが、30 $\mu\text{g}/\text{mL}$ の濃度においては細胞毒性を示さないことが報告された. つまり、fusarisetin A は、がん細胞の転移における腺房形成や細胞遊走、浸潤といった過程を特異的に阻害する転移阻害剤リ

ード化合物と位置付けられる.



Figure 0-17. Structure of fusarisetin A

(+)-Fusarisetin A (**18**) は、単離者によって、cytochalasin D (**19**), geldanamycin (**20**), staurosporine (**21**) などのメカニズム既知の既存の抗腫瘍活性化合物や殺細胞性抗悪性腫瘍薬とプロテオーム解析による比較が行われ、EGF の下流シグナルとしての ERK1/2, AKT, p38, c-Jun のリン酸化を阻害しないことが示された (**Figure 0-18-a**). これらの結果は、fusarisetin A が従来とは異なるメカニズムでがん細胞遊走阻害等の生物活性を発現していることを意味するものであった. したがって、fusarisetin A は、新規標的分子に作用するがん細胞転移阻害剤の医薬リードとして期待を集めている. Fusarisetin A の構造上の特徴としては、疎水性のトランスデカリン骨格にあたる AB 環、極性官能基の密集したテトラミン酸単位を含む CDE 環部分に大きく分けられる. CDE 環部は、前例のない新規 3 環性骨格であり、fusarisetin A (**18**) の生合成中間体とされる equisetin (**22**) や fusarisetin A 類似化合物である phomopsichalasin (**23**) には含まれていない (**Figure 0-18-b**). したがって、CDE 環は、上述したような構造・生物活性の新規性から、pharmacophore としての潜在性を十分に有していると考えられるとともに、合成化学的にも魅力的な構造単位である. そこで著者は、fusarisetin A の CDE 環部分を新規メカニズムを惹起させる pharmacophore と期待し、本研究に着手した. すなわち、fusarisetin A の pharmacophore 探索と新規がん転移阻害剤創製に資する誘導体合成経路確立を目的として、合成研究を行った.

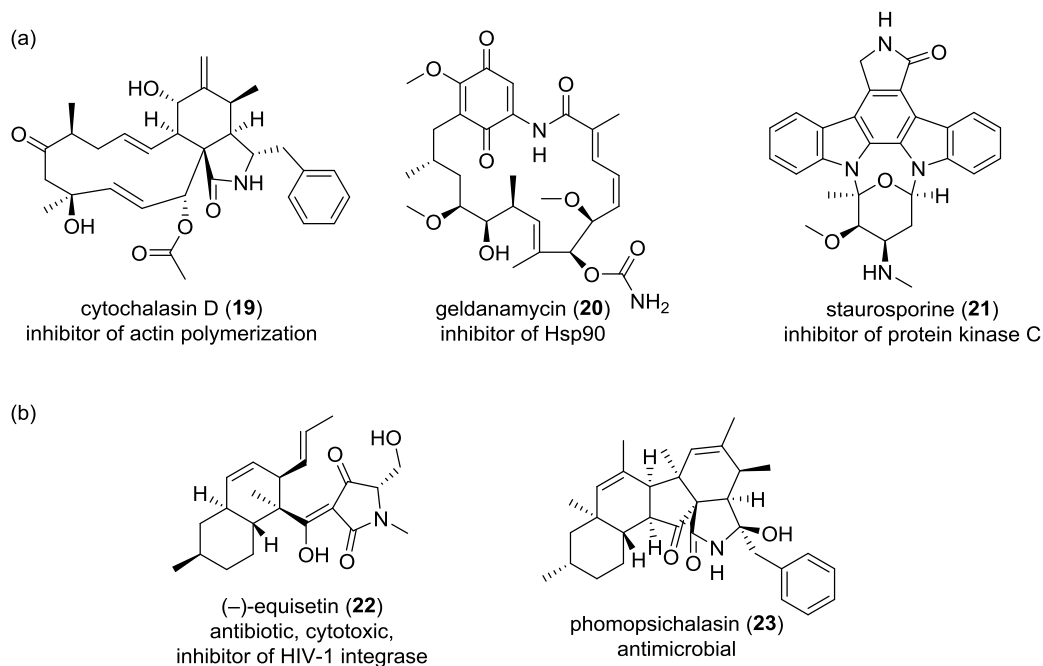


Figure 0-18. (a) Cytotoxic compounds used in proteome analysis

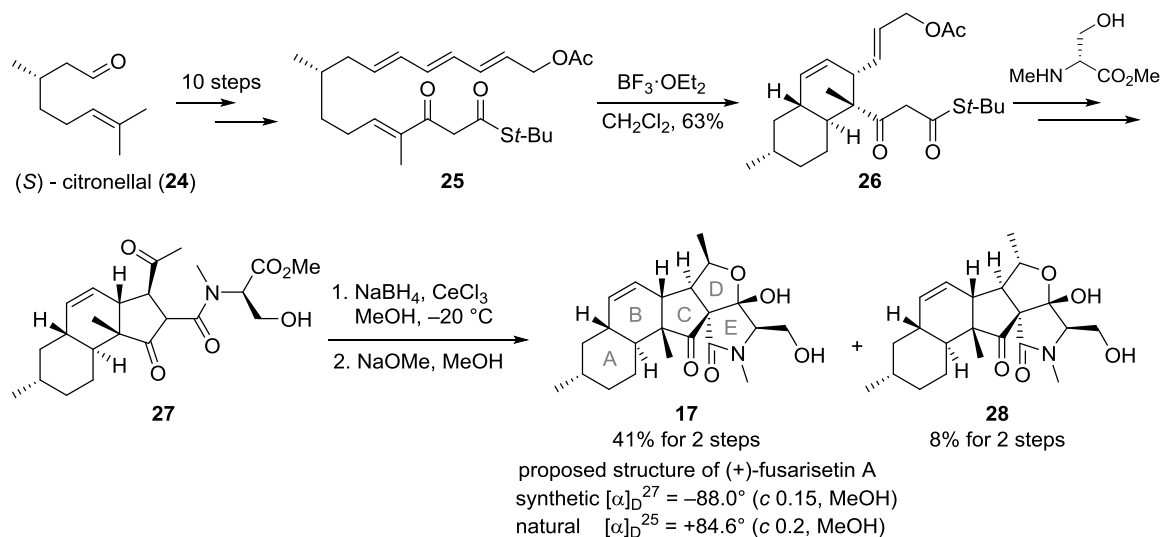
(b) Equisetin and phomopsichalasin and these biological activity

先に述べた通り，構造と生物活性の魅力をも併せ持つ fusarisetin A は，世界中の合成化学者を魅了し，現在までに，いくつかのグループによって全合成や構造活性相関研究が行われてきた³¹。以下に，代表的研究の一部を紹介する。

2-2 Liらによる (-)-fusarisetin A (**17**) の不斉全合成と構造改訂^{31c}

2012年，Liらは，提唱構造としての fusarisetin A (**17**) の初の不斉全合成を報告した (**Scheme 0-01**)。彼らは，天然の (-)-citronellal (**24**) 由来の不斉中心を利用し，トリエン **25** の分子内 Diels-Alder 反応によって，4つの不斉中心を一挙に導入することで AB 環部に当たるトランスデカリン骨格の構築を行った。その後，Pd 触媒による O→C アリル転位，化学選択的 Wacker 酸化，Dieckmann 縮合，ヘミケタール化を行うことで，段階的に化合物右側部分の CDE 環を構築し，fusarisetin A (**17**) を合成した。合成した **17** は，天然物と各種スペクトルデータは一致したが，旋光度は絶対値が逆の符号を示したことから，(+)-fusarisetin A の構造改訂が行われた。つまり，天然物の (+)-fusarisetin A の真の構造は，提唱構造の鏡像体

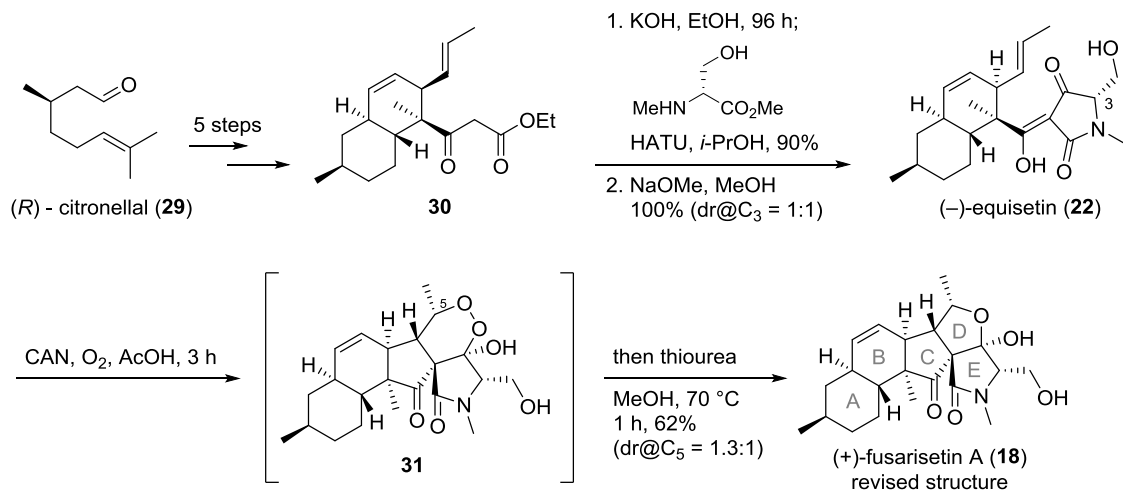
であると改定がなされた。単離文献において、絶対立体化学の決定は、E 環ジオールを *p*-BrBz 化させた誘導体を用いた励起子キラリティ法によって決定されていたが、その構造が誤りであったことが明らかとなった。



Scheme 0-01. Li's total synthesis (-)-fusarisetin A proposed structure (17)

2-3 Theodrakis らによる (-)および(+)-fusarisetin A (17), (18) の不斉全合成と構造活性相関研究^{31b, 31g, 31h}

2012 年, Theodrakis らは, (-)-fusarisetin A (17) の全合成を報告後, その構造活性相関研究を行った。彼らは, 真菌 *Fusarium* 種の二次代謝産物である equisetin (22) と(+)-fusarisetin A (18) の構造の類似性に着目し, equisetin (22) が酸化されることで(+)-fusarisetin A (18) が生合成されていると予測した。その生合成仮説から, oxidative radical cyclization (ORC) を鍵反応として(+)-fusarisetin A (18) を合成した (Scheme 0-02)。彼らの合成は, 保護基フリー, 短工程高収率 (8 工程 18%収率) と非常に効率的で, (+)-fusarisetin A (18) の量的供給を可能とした。さらに, 17, 18, 22 のがん細胞遊走阻害活性の比較から, 天然物のエナンチオマー (-)-fusarisetin A (17) や equisetin (22) は, 14 mg/ml でほとんど活性を示さないことが判明した。その後も, 彼らは CDE 環部分構造の合成, 各種誘導体合成を行い, MDA-MB-231 に対する遊走阻害活性評価を行った (Figure 0-19)。しかし, 彼らの合成は, AB 環に関する誘導体が天然物の構造変換によって導かれているため, AB 環部分の構造を多様化するのには不向きであるといえる。



Scheme 0-02. Theodrakis's total synthesis of (+)-fusarisetin A (18)

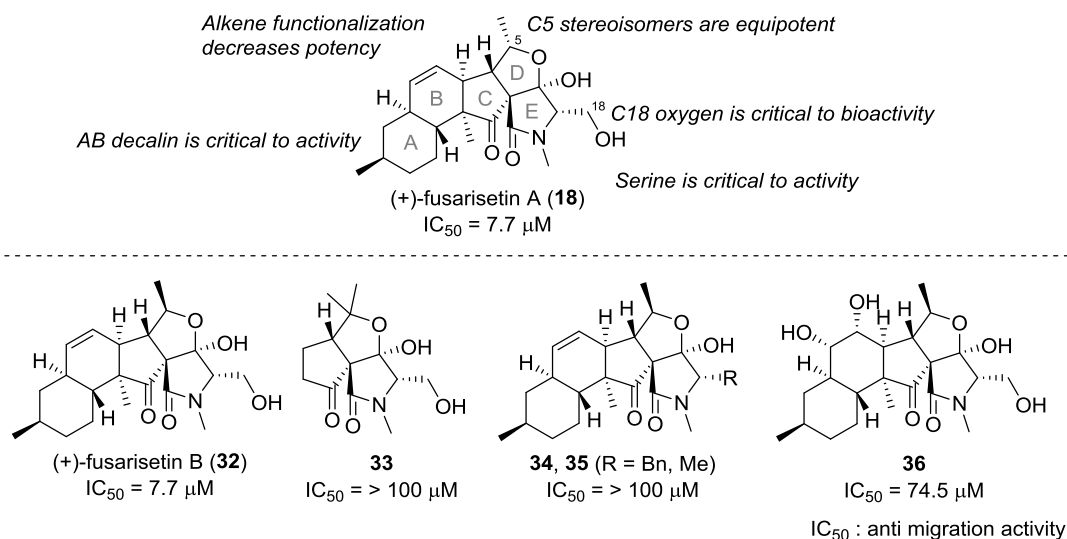


Figure 0-19. SAR study of (+)-fusarisetin A (18) by Theodrakis's group

2-4 Gao らによる (+)-fusarisetin A (18) の不斉全合成と構造活性相関研究^{31e, 31i, 31j}

2012年、Gao らも、Theodrakis と同様に equisetin (22) を中間体とする合成ルートで全合成を達成した。彼らは、equisetin (22) と fusarisetin A (18) との構造上の違いに着目し、①equisetin 誘導体、②fusarisetin A 誘導体のそれぞれを数種類ずつ合成し、MDA-MB-231 に対する細胞毒性と遊走阻害活性の比較を行った。その結果、ほとんどの fusarisetin A 誘導体は、equisetin 誘導体と比較して細胞毒性がなく、中程度のがん

細胞遊走阻害活性を示すことが明らかとなった (Figure 0-20).

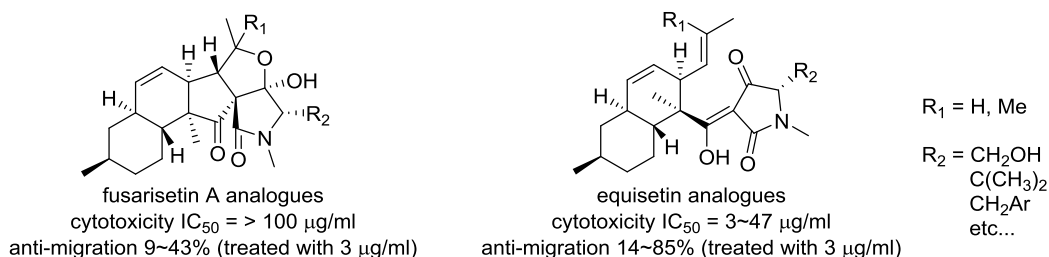
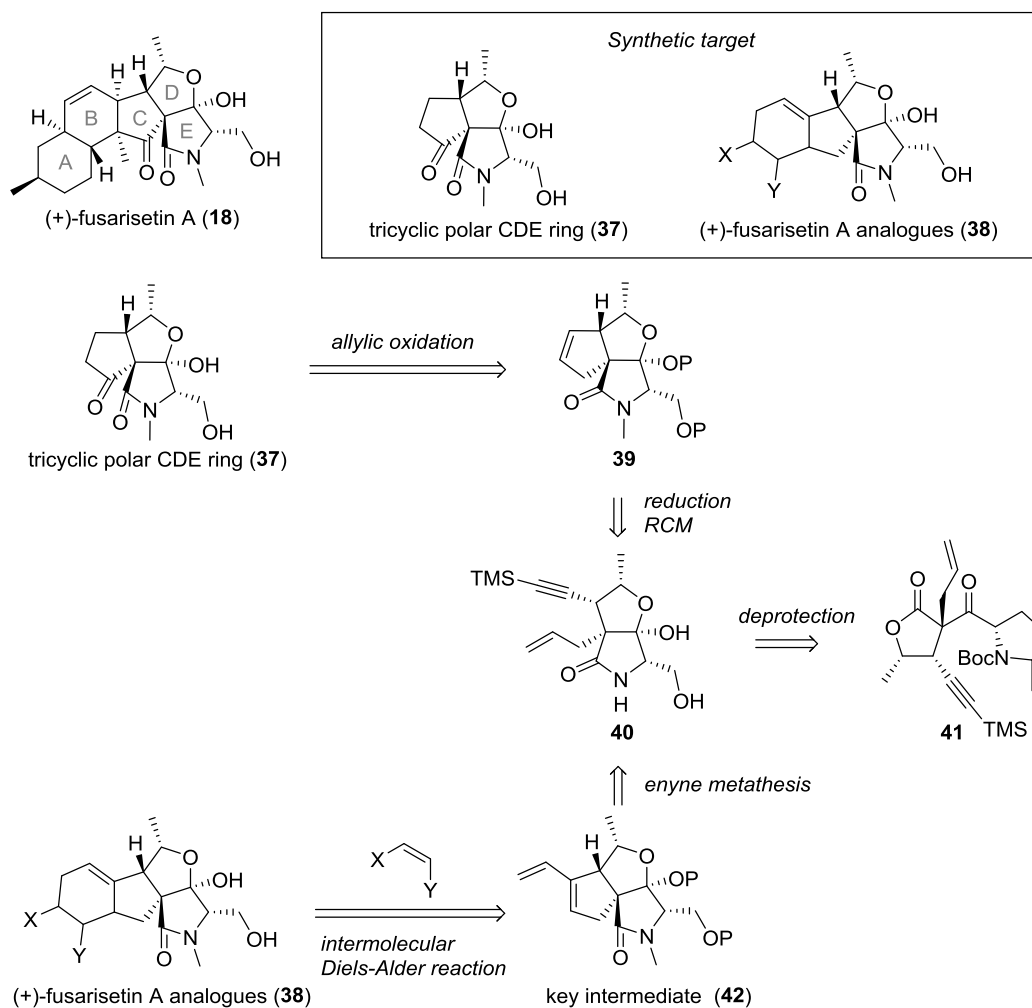


Figure 0-20. SAR study of (+)-fuserisetin A (18) by Gao's group

2-5 合成計画

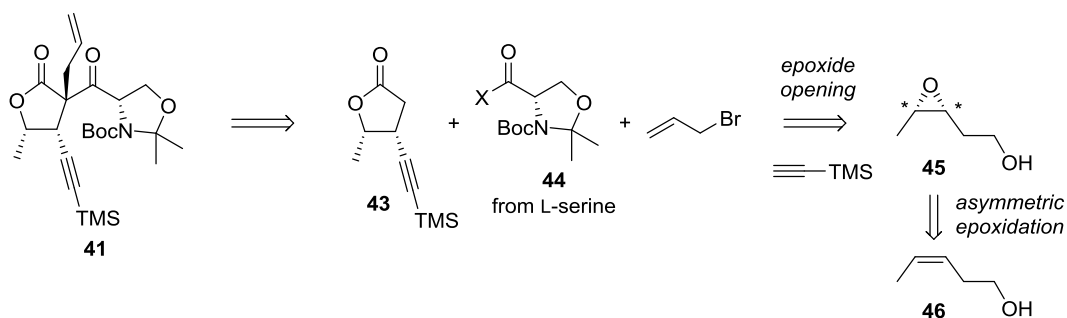
2-2~2-4で紹介した他に、2例の全合成^{31a, 31d, 32}と1例の合成研究^{31f}が報告されているが、いずれの合成例も、合成の序盤に分子内 Diels-Alder 反応によって、AB 環のトランスデカリン骨格を構築した後に、Dieckmann 縮合を組み込んで CDE 環部分を構築するという方法がとられている。しかし、それらは AB 環部分に多様性を持たせた誘導体の効率的合成という観点において課題を残していた。

Fuserisetin A の構造活性相関研究は、前述したように Theodorakis, Gao らのグループによって精力的に行われているが、未だ、天然物を凌駕する選択的がん細胞遊走阻害活性を示す誘導体の獲得や、標的分子の同定には至っていない。そこで著者は、本化合物の pharmacophore と予測した CDE 環部の合成、AB 環に多様性を持たせた誘導体の合成を可能とする合成ルート立案した (Scheme 0-03)。具体的には、C 環部分を、閉環メタセシスまたは閉環エンインメタセシスで構築することとした。閉環メタセシスで得られるシクロペンテン **39** は、その後のアリル位酸化によって、CDE 環部分構造の合成が可能となる。閉環エンインメタセシスで得られるジエン **42** は、種々のジエノフィルと反応させることで、AB 環部分に相当する構造を効率的に構築することができる。DE 環のラクタム、ヘミケタールの構築については、アミンとエステルによる分子内ラクタム化と続くヘミケタール化によって導けるものと考え、ケトン **41** をその前駆体として設定した。



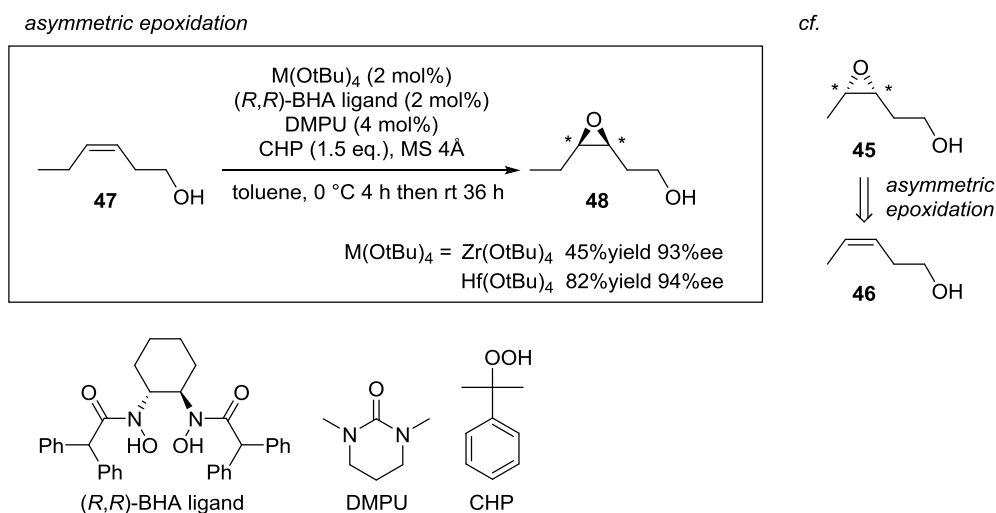
Scheme 0-03. Synthetic strategy of (+)-fusarisetin A CDE ring (37**) and its analogues (**38**)**

ケトン **41** は、ラクトン **43** と L-セリン誘導体 **44** を連結した後、アリル化を行うことで合成できるものと考えた (**Scheme 0-04**)。光学活性なラクトン **43** は、光学活性なエポキシド **45** の山口法³³による開環とつづく酸化的ラクトン化³⁴によって調製することにした。エポキシド **45** は、山本らによって報告されたホモアリルアルコールの触媒的不斉エポキシ化³⁵によって市販の *cis*-3-penten-1-ol (**46**) から合成できるものと考えた。



Scheme 0-04. Retrosynthetic analysis of ketone 41

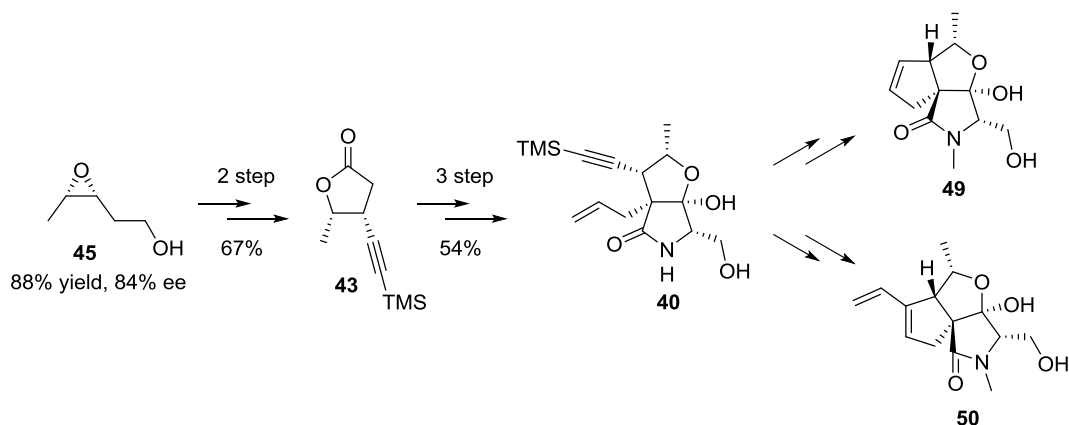
ここで、山本らの不斉エポキシ化反応について紹介する。2010年、山本らは、触媒量の *Bishydroxamic Acid* (BHA) ligand を不斉源としたホモアリルアルコールの不斉エポキシ化を報告した (**Scheme 0-05**)³⁵。本法は、触媒量の BHA ligand と Zr(IV) または Hf(IV) 存在下、酸化剤として Cumene hydroperoxide (CHP), 添加剤として触媒量の DMPU を用いることで、ホモアリルアルコール、ビスホモアリルアルコールを高エナンチオ選択的にエポキシ化することができる。光学活性な BHA リガンドを触媒量用いるという点で、大量合成に適した効果的な方法といえる。彼らの報告中で、*cis*-3-hepten-1-ol (**47**) の不斉エポキシ化が高エナンチオ選択的に進行していることを受け、著者は、*cis*-3-penten-1-ol (**45**) に関しても高いエナンチオ選択性が発現すると期待した。



Scheme 0-05. Yamamoto asymmetric epoxidation of homoallylic alcohol

実際に、山本不斉エポキシ化を行うと、88%収率、84% ee と高収率、良好なエナンチオ選択性で望みのエポキシド **45** が得られた (Scheme 0-06).

その後上述した逆合成解析に基づく合成変換を行い、所期の目的を達成した。すなわち、エポキシド **45** を2工程でラクトン **43** へと変換し、**44** との Claisen 縮合を含む3工程でラクタム **40** へと導いた。ラクタム **40** は、それぞれ、閉環メタセシス、閉環エンインメタセシスによって、シクロペンテン **47**、ジエン **48** へと変換することができた。実際の合成の詳細については、各論第2章で述べる。



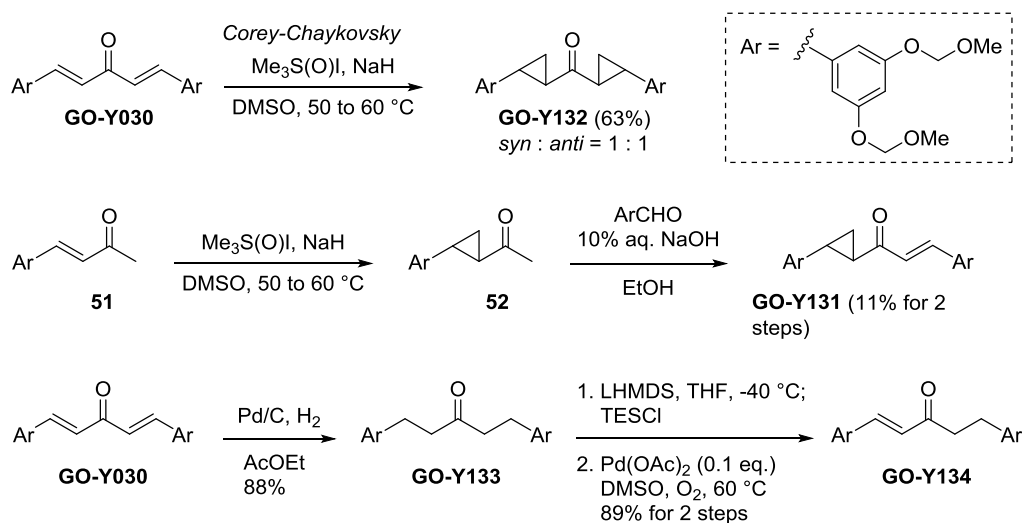
Scheme 0-06. Synthesis of cyclopentene **49** and diene **50**

第1章 抗腫瘍活性天然物 curcumin をリードとする創薬化学研究

第1節 抗腫瘍活性 C₅-curcuminoid の構造活性相関研究

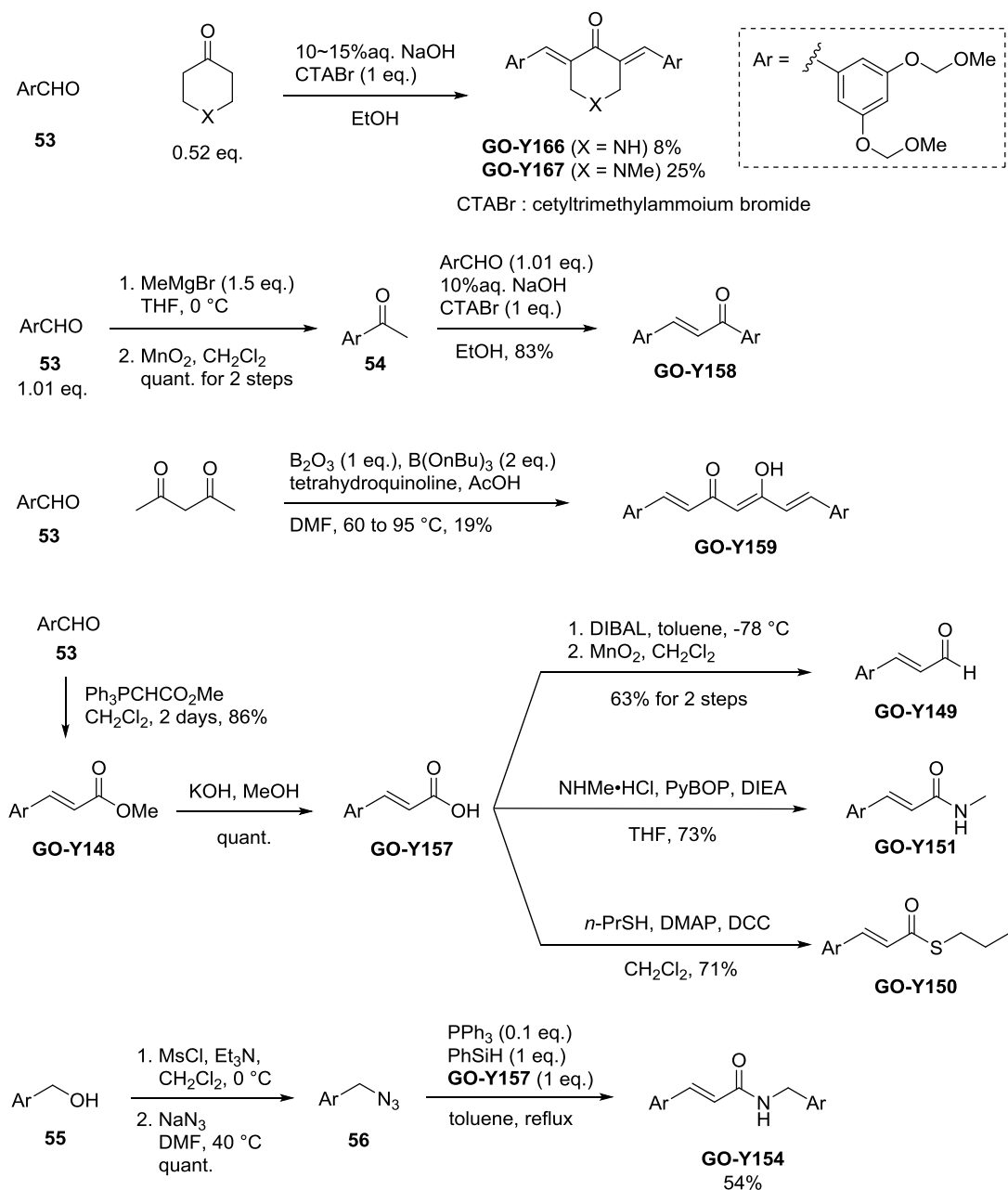
総論で述べたように、C₅-curcuminoid の細胞内挙動に関する調査に先駆け、高いがん細胞増殖阻害活性を有し、*in vivo* においても抗腫瘍活性を示した GO-Y030 をリード化合物として C₅-curcuminoid のジェノン構造に関する構造活性相関研究を行った。具体的には、GO-Y030 の「① methoxymethyl 置換基、② 交差共役ジェノン構造、③ 2つの芳香環」が、がん細胞増殖阻害活性発現に重要な役割を果たしているのかについて精査した。本節の序盤では、各種誘導体の合成法について述べる。

GO-Y131~134 は、いずれも GO-Y030 から導いた (Scheme 1-01)。GO-Y134 は、GO-Y030 の水素添加による還元によって得られる GO-Y133 の伊藤-三枝酸化によって合成した。GO-Y131, 132 は、それぞれ GO-Y030 の中間体である **51**, GO-Y030 の Corey-Chaykovsky 反応³⁵によって合成した。

Scheme 1-01. Synthesis of C₅-curcuminoids ①

GO-Y158, 166, 167 は、前任者の山越によって既に確立されている相関移動触媒 CTABr を添加剤としたアルドール反応によって合成した (Scheme 1-02)。GO-Y159 は、curcumin の誘導体合成で汎用される

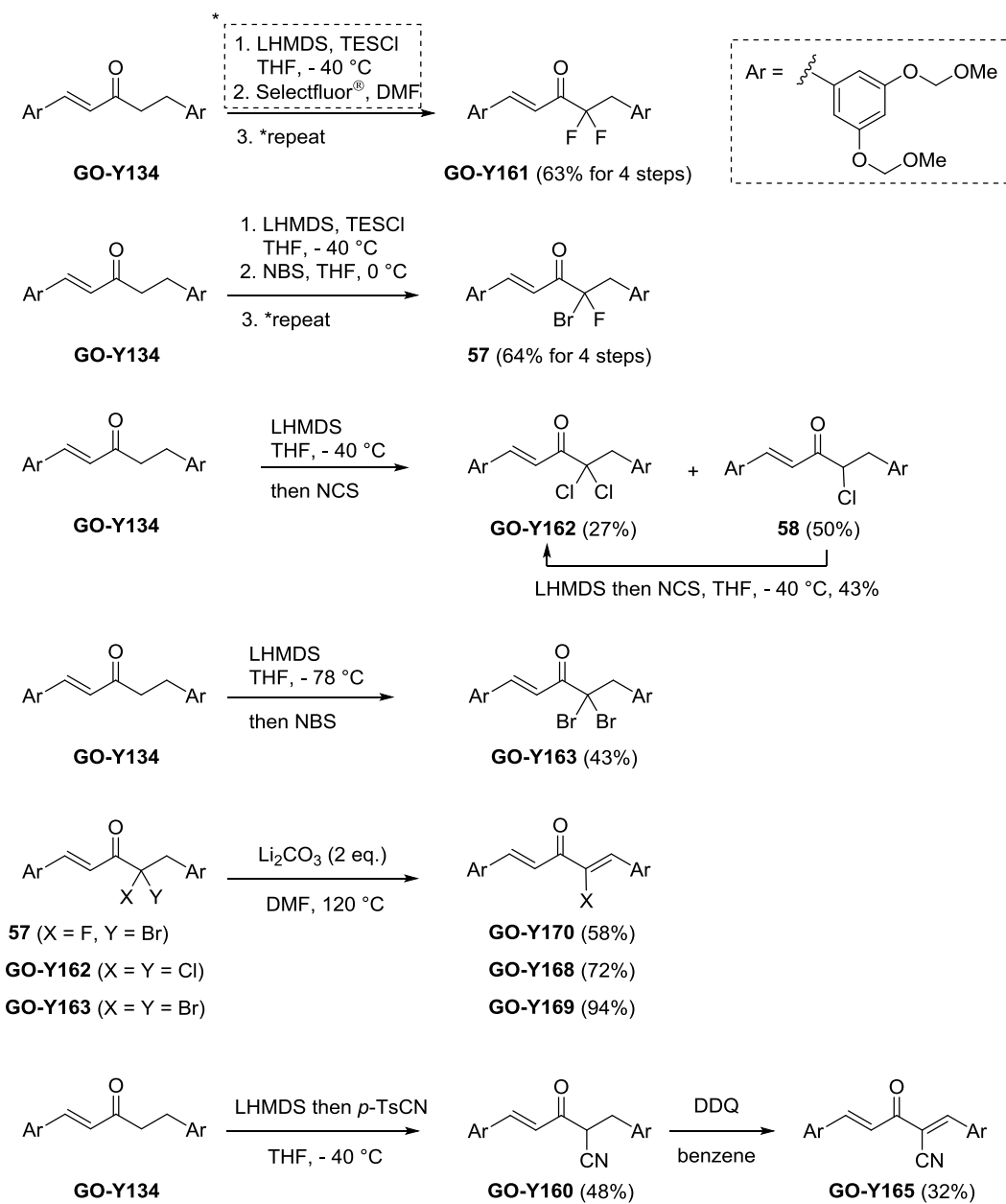
Pabon らの合成法³⁶をもとに合成した。GO-Y148~151, 157 は、ベンズアルデヒド **53** を種々変換することにより導いた。GO-Y154 は、GO-Y157 とアジド **56** との Staudinger ライゲーション³⁷で合成した。



Scheme 1-02. Synthesis of C₅-curcuminoids ②

GO-Y030 のカルボニルα位にハロゲンを導入した誘導体 GO-Y168~170 は、GO-Y134 から導かれたα-ジハロゲン化誘導体 **57**, GO-Y162, 163 のβ脱離によって合成した (Scheme 1-03)³⁸. GO-Y165 は、Honda ら

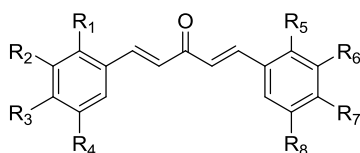
の合成法³⁹を参考に、GO-Y134 のカルボニルα位をシアノ化し GO-Y160 へと導いた後、DDQ での酸化を経て合成した。



Scheme 1-03. Synthesis of C₅-curcuminoids ③

上記により得られた誘導体の大腸がん細胞 HCT116 に対する増殖阻害活性試験を行った (Table 1-01~05).

Table 1-01 では、GO-Y030 の methoxymethyl 置換基の役割を精査した。Methoxymethyl 基は、酸性条件下で毒性のあるホルムアルデヒドを放出する可能性があるため、GO-Y030 がホルムアルデヒドを放出することでがん細胞増殖阻害活性を発現している可能性が懸念されていた。そこで、3,5-二置換型でホルムアルデヒド供与基を持たない GO-Y038, 067, 129, 130, 147 や、2,5-二置換型でホルムアルデヒド供与基を持つ GO-Y156, 164 のがん細胞増殖阻害活性を比較した。その結果、GO-Y130 は、他の誘導体と物性が異なるためか、大きく活性が低下した。ホルムアルデヒド供与体を持たない GO-Y038, 067, 129, 147 で高い活性が保持されていた一方で、ホルムアルデヒド供与基を持つ GO-Y156 では活性が大幅に低下した。したがって、methoxymethyl 基は、ホルムアルデヒド供与体としてではなく、C₅-curcuminoid の分子認識において重要な構造単位であることが示された。



Compound	R		GI ₅₀ (μM)
GO-949	R ₂ = R ₃ = OCH ₂ O, R ₆ = R ₇ = OCH ₂ O	R ₁ = R ₄ = R ₅ = R ₈ = H	>50
GO-Y030	R ₂ = R ₄ = R ₆ = R ₈ = OCH ₂ OMe	R ₁ = R ₃ = R ₅ = R ₇ = H	0.3
GO-Y038	R ₂ = R ₄ = R ₆ = R ₈ = OH	R ₁ = R ₃ = R ₅ = R ₇ = H	1.5
GO-Y067	R ₂ = R ₄ = R ₆ = R ₈ = OMe	R ₁ = R ₃ = R ₅ = R ₇ = H	2.0
GO-Y129	R ₂ = R ₄ = R ₆ = R ₈ = OCH ₂ CH ₂ OMe	R ₁ = R ₃ = R ₅ = R ₇ = H	0.2
GO-Y130	R ₂ = R ₄ = R ₆ = R ₈ = OCH ₂ CH ₂ OH	R ₁ = R ₃ = R ₅ = R ₇ = H	6.4
GO-Y147	R ₂ = R ₄ = R ₆ = R ₈ = OCH ₂ OCH ₂ CH ₂ OMe	R ₁ = R ₃ = R ₅ = R ₇ = H	2.0
GO-Y156	R ₂ = R ₄ = OCH ₂ OMe, R ₆ , R ₇ = OCH ₂ O	R ₁ = R ₃ = R ₅ = R ₈ = H	7.9
GO-Y164	R ₁ = R ₄ = R ₅ = R ₈ = OCH ₂ OMe	R ₂ = R ₃ = R ₆ = R ₇ = H	1.7

Table 1-01. SAR of 3,5-bis(methoxymethoxy)substitution

C₅-Curcuminoid のジエノン構造の役割を調査するために、高活性誘導体 GO-Y030 をリード化合物として、ジエノン構造に関する誘導体を合成し活性評価した (**Table 1-02**)。その結果、エノン構造の減少に伴い活性が低下していることが分かった。また、芳香環部位のコンホメーションを固定させるが Michael acceptor 能を持たないジシクロプロパン化体 GO-Y132 は、GO-Y133 と同様に活性が消失した。この2つ

の結果から、ジエノン構造は、分子全体のコンホメーションを固定させるためではなく、Michael acceptorとしての反応性のがん細胞増殖阻害活性発現に重要であると確認できた。一方で、GO-Y075, 077 は、ジエノン構造を有していないにもかかわらず、比較的高い活性を保持していた。これは、チオール付加体 GO-Y075, 077 が細胞内で逆 Michael 反応を起こし GO-Y030 に変換されたためではないかと考察した。

		X							
X					Compound	GO-Y030	GO-Y077	GO-Y131	GO-Y132
					GI ₅₀ (μM)	0.71	0.95	6.7	> 50
X					Compound	GO-Y095	GO-Y075	GO-Y134	GO-Y133
					GI ₅₀ (μM)	0.70	2.1	17	> 50

Table 1-02. SAR of central tether moiety

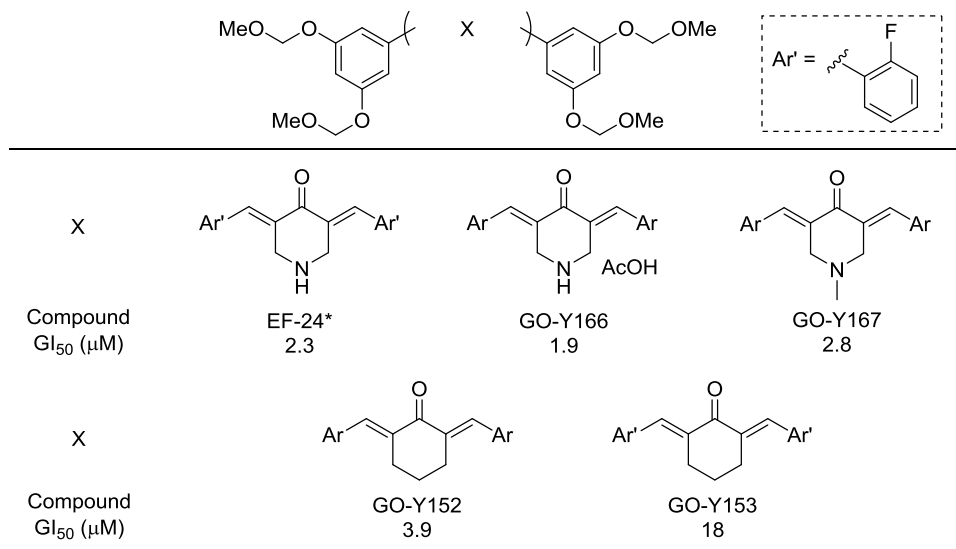
α,β -不飽和カルボニル構造の反応性、2つの芳香環の存在ががん細胞増殖阻害活性にどの程度影響を及ぼすかについて精査した (Table 1-03)。 (a) に示されるように、芳香環、 α,β -不飽和カルボニル構造がそれぞれ1つの場合は、全ての誘導体で活性が消失していた。 (b) に示される2つの芳香環を持つアミド誘導体 GO-Y154 は活性が消失していた。これらの結果により、活性発現には、2つの芳香環とジエノンの反応性の両方が必要であると示された。

(a)			(b)		
Compound	Y	GI ₅₀ (μM)	Compound	X	GI ₅₀ (μM)
GO-Y148	OMe	>50	GO-Y154		>50
GO-Y149	H	49	GO-Y158		7.3
GO-Y150	SCH ₂ CH ₂ CH ₃	>50	GO-Y159		>50
GO-Y151	NHMe	>50			
GO-Y157	OH	>50			
GO-Y171	C(CH ₃) ₃	36			

Table 1-03. SAR of α , β -unsaturated carbonyl: different reactivities and lengths

Table 1-04 においては、活性の向上を期待してカルボニル α 位のアミノメチレン導入した GO-Y166, 167 とネガティブコントロールとしての GO-Y152, 153 のがん細胞増殖阻害活性を比較した。本戦略に至った経緯について、以下に説明する。 α , β -不飽和カルボニル化合物について、過去に、Wissner らは、カルボニル γ 位に導入されたアミノ基が Michael 反応におけるチオール分子の脱プロトン化を担うため、標的タンパク質との結合に効果的であると報告した⁷。C₅-Curcumioid については、Snyder らによって、高いがん細胞増殖阻害活性を有する誘導体 EF-24 が報告されていた^{9b}。そこで、高活性な GO-Y030 のカルボニル α 位にアミノメチレン単位を導入すれば、更なる活性の向上が期待できると考えた。しかし、実際には、GO-Y166, 167 は、シクロヘキサノン誘導体 GO-Y152, 153 より強い活性を示したが、いずれも GO-Y030 の活性を上回ることはなかった。

次に、活性の向上を期待して、カルボニル α 位に電子求引性基を導入した誘導体 GO-Y165, 168~170 のがん細胞増殖阻害活性を評価した (**Table 1-05**)。その結果、 α -ハロゲン化誘導体 GO-Y168~170 はいずれも高い活性を示したが、GO-Y030 の活性を上回ることはなかった。また、 α -シアノ化体 GO-Y165 は大幅な活性の低下がみられた。 α -ハロゲン化誘導体で活性が保持され、 α -シアノ化体で活性が低下したという結果は、過去に Amslinger らによって報告された NO 産生阻害活性を示すカルコン誘導体の構造活性相関研究⁸と類似の結果であり、必ずしも求電子性の向上が活性の向上につながる訳ではないと示された。



Bioorg. Med. Chem.* **2004, *12*, 3871.

Table 1-04. SAR of central tether moiety: introduction of amine

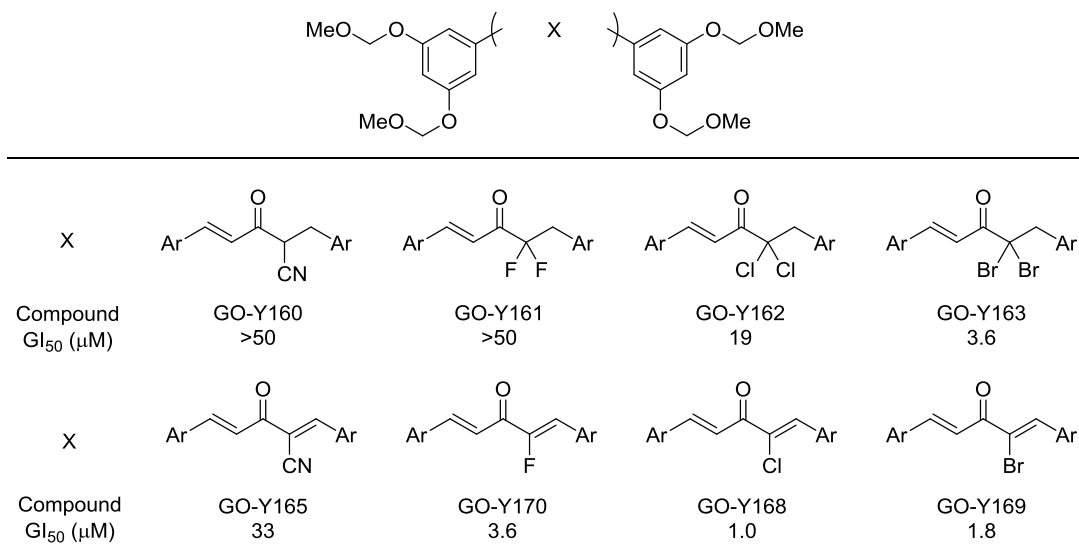


Table 1-05. SAR of central tether moiety: introduction of EWG

以上、著者らの行った大腸がん細胞の増殖阻害活性に関する構造活性相関研究についてを **Figure 1-01** にまとめた。

- Methoxymethyl 置換基は、ホルムアルデヒド供与体として働いているわけではなく、分子認識される時の構造単位として活性発現に重要である
- 交差共役ジエノン構造は、主に Michael 反応の反応性部位として活性発現に重要である
- 芳香環が1つのみだと、Michael acceptor があっても活性を示さない
- 交差共役ジエノン構造のカルボニル α 位に電子求引基やアミノメチレン単位を導入しても活性は向上しない

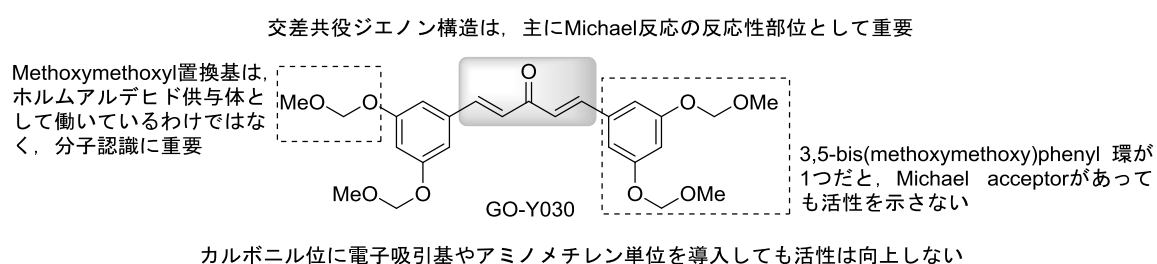


Figure 1-01. SAR of GO-Y030

さらに、ジエノン構造の Michael 反応に関しては、GO-Y075, 077 が比較的高い活性を示すという結果から、細胞内で可逆的 Michael 反応を起こしている可能性が示唆された。

第2節 ¹H-NMR 分光法による C₅-curcuminoids の Michael 反応に関する調査

総論で述べたように、C₅-curcuminoid が細胞内で可逆的 Michael 反応をしていることが示唆されていたため、¹H-NMR 分光法にて Michael 反応の追跡を行った。

まず、Appendino らのアッセイ方法^{23a} (Figure 1-02 Procedure A) を適用した (Figure 1-03)。その結果、GO-Y030 とシステアミンの混合によって GO-Y030 のピークが消失し Michael 反応が起き、2 分子のシステアミンが付加したピークがメジャーなピークとして観測された。その後、重クロロホルムで希釈すると、希釈後 24 時間で、ごくわずかに GO-Y030 のピークが再び現れるのを観測した (Figure 1-03)。ここで観測された逆 Michael 反応をより明確に観測するために、アッセイ条件の最適化を行ったところ、重 DMSO 溶液空気下という procedure B (Figure 1-02) で示す最適条件を見出した。最適化した条件は、“反応溶液を空気雰囲気下で放置する”という点が重要であり、空気にさらさないと逆 Michael 反応はほとんど観測されない。可逆的 Michael 反応の中で脱離したチオール分子を、空気中の酸素を含む重 DMSO が酸化し反応系を逆反応へと傾けているため、空気雰囲気下とそうでない場合とで反応性に違いが出たと考えられる (Figure 1-04)。

Procedure B から得られた Figure 1-05 の結果について説明する。反応時間 5 分の ¹H-NMR スペクトルでは、ほぼ定量的に GO-Y030 システアミン 2 分子付加体が生成したことがわかる。それを空気中に放置し、1 時間後、6 時間後の ¹H-NMR を測定したところ、GO-Y030 システアミン付加体が逆 Michael 反応を起こし、徐々に GO-Y030 を生成しているのが観測された。

さらに、チオール付加体 GO-Y075 についても、同条件に付すと逆 Michael 反応を起こすことが観測された (Figure 1-06)。この時、システアミン非存在下では、GO-Y075 の逆 Michael 反応は起きず、システアミンのアミノ基が逆 Michael 反応を惹起させるのに重要であると考察された。GO-Y075 がシステアミン存在下逆 Michael 反応を起こしたため、システアミンを生体内チオールミミックと考えると、GO-Y075、077 のがん細胞増殖阻害活性発現について以下のことが言える。すなわち、GO-Y075、077 が比較的高いがん細胞増殖阻害活性を発現するのは、これらの化合物が、細胞内で逆 Michael 反応を起こし活性本体の GO-Y030 となるからであると説明することができる。

一方、ネガティブコントロール実験として、マレイミドを基質とした条件を検討した。その結果、システアミン混合直後の Michael 反応は観測されるものの、その後の逆 Michael 反応は観測されなかった。

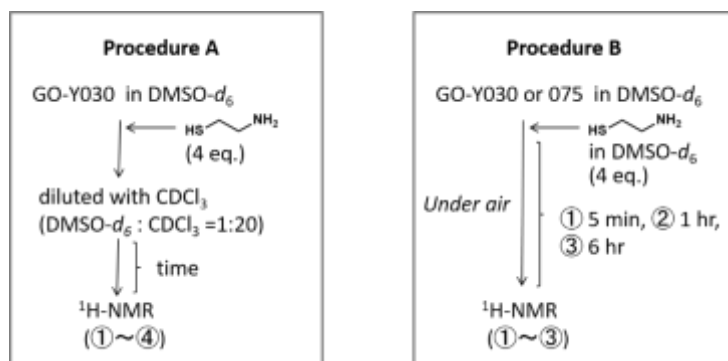


Figure 1-02. Procedures of NMR assay

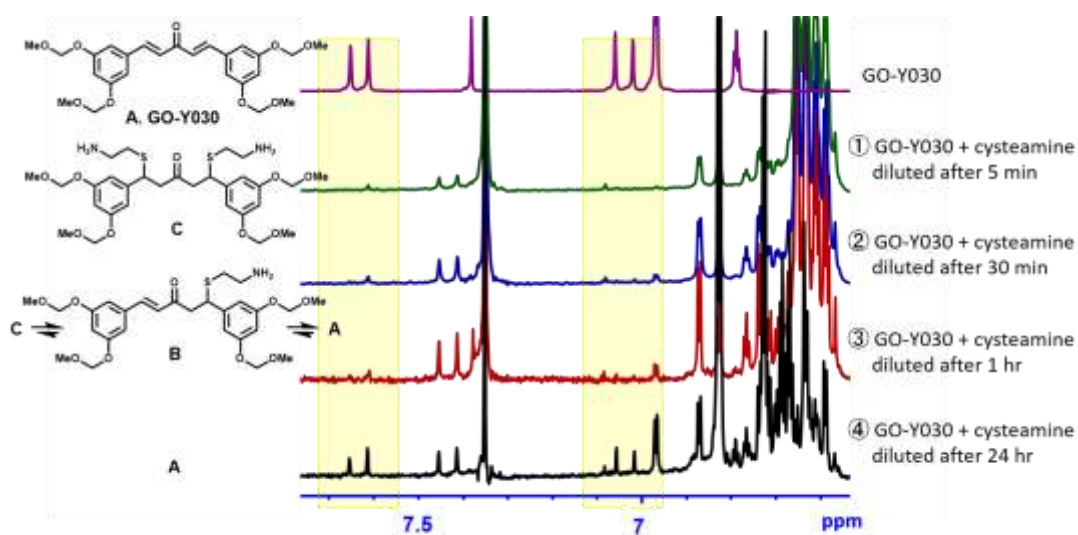


Figure 1-03. ¹H-NMR assay (Procedure A, GO-Y030)

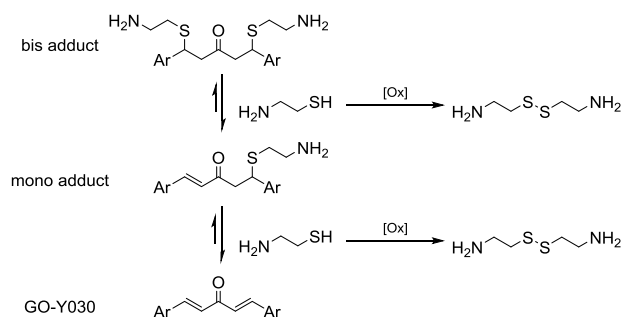


Figure 1-04. Reaction mechanism of retro-Michael reaction

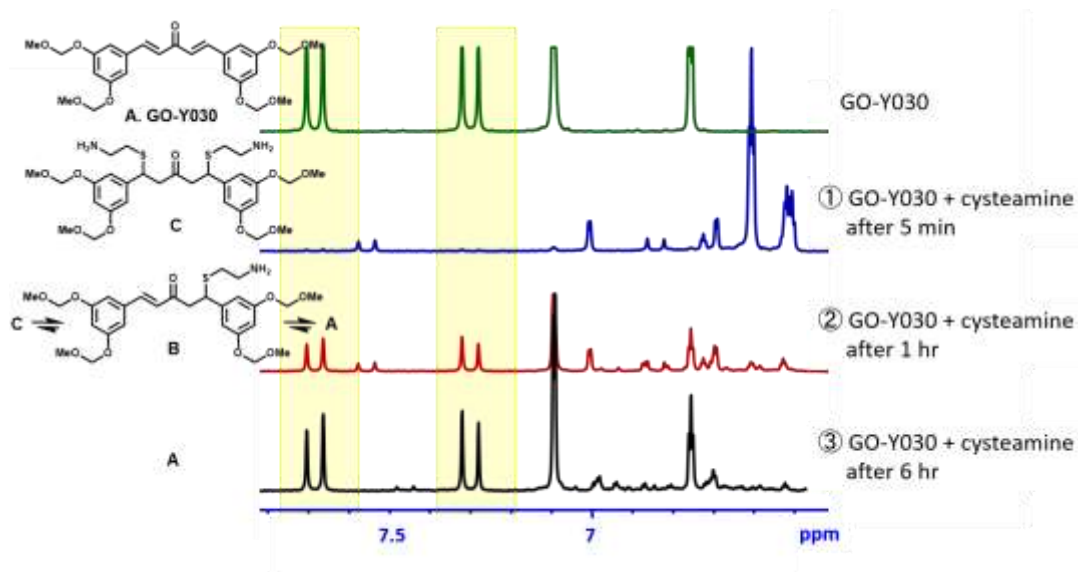


Figure 1-05. ¹H-NMR assay (Procedure B, GO-Y030)

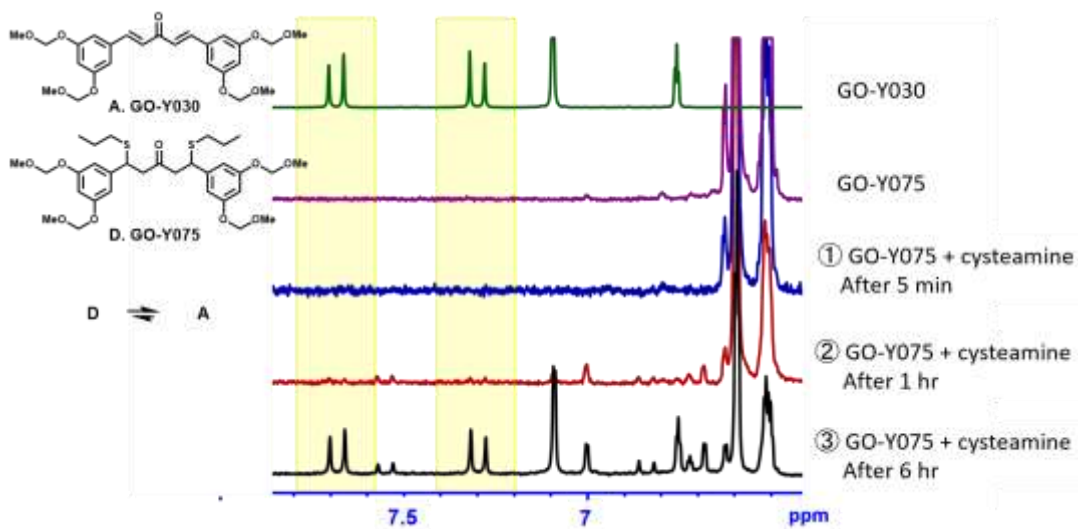


Figure 1-06. ¹H-NMR assay (Procedure B, GO-Y075)

これらの実験結果によって、C₅-curcuminoidに含まれるジエノン構造のMichael反応の可逆性が化学的に証明された。本実験結果は、総論 1-8, **Figure 0-11** で示す仮説を支持する結果と位置づけられる。

第3節 C₅-Curcuminoid 水溶性誘導体の創製

総論 1-8 で述べた考えのもと、GO-Y030 に glutathione (以下 GSH と略記する)を付加させた C₅-curcuminoid 水溶性誘導体の創製を試みた。GO-Y030 の GSH 付加体である GO-Y140 は、トリエチルアミン存在下、GO-Y030 と GSH を混合することで簡便に合成することができた (Figure 1-07)。大腸がん細胞 HCT116 に対する増殖阻害活性試験を行ったところ、やや活性は落ちるものの、GI₅₀=3.3 μM と GO-Y030 の活性を保持する結果であった。

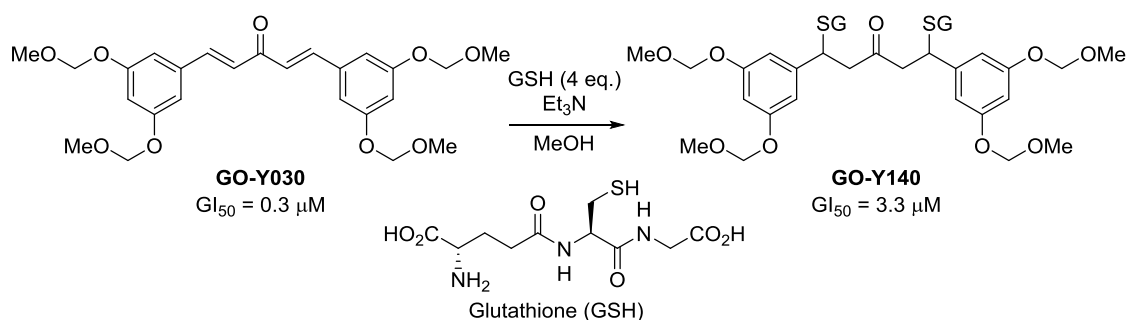


Figure 1-07. GO-Y030 glutathione adduct, GO-Y140

水溶性に関して、リン酸緩衝液に直接溶解させ GO-Y030 と水溶性の比較を行った。その結果、GO-Y030 は全く緩衝液に溶解しない一方で、GO-Y140 は、リン酸緩衝液 1 ml 中 30 mg 溶解するという高い水溶性が確認された (Figure 1-08)。



30 mg in pH 8 PBS buffer (1 mL)

GO-Y030 GO-Y140

Figure 1-08. Solubility of GO-Y030 and GO-Y140

第4節 GO-Y030 チオール付加体の合成とがん細胞増殖阻害活性、反応性の評価

第3節の結果より、GO-Y030 GSH 付加体がプロドラッグとして有用であると示されたので、次に様々なチオール分子を付加させた GO-Y030 を創製し、それらのがん細胞増殖阻害活性、逆 Michael 反応の反応速度の評価を行った。

アミン存在下 Michael 付加によって合成された各種誘導体について、大腸がん細胞 HCT116 に対してがん細胞増殖阻害活性評価を行った (Table 1-06)。その結果、長鎖脂肪鎖のチオール分子を付加させた GO-Y178, 143, 144, 189 では、阻害活性はみられなかった ($GI_{50} = > 40 \mu M$)。一方、それら4つを除く全ての誘導体は、GO-Y030 と同程度の高い活性を保持していることが分かった。

次に、GO-Y030 チオール付加体の安定性に関する更なるパラメータを得るために、酸性・塩基性・中性の各緩衝液中での14種類の各チオールビス付加体の逆 Michael 反応を追跡した。方法としては、Amslinger らによって報告された 96 well plate を用いる吸光度測定を適用した²⁸。以下に、Amslinger らの報告を紹介する。

2013年、Amslinger らは、96 well plate を用いる吸光度測定によって、芳香環上の置換基が異なる種々のカルコン誘導体のシステアミンとの反応速度を求めた (Figure 1-09)。カルコン誘導体はそれぞれ 350 nm 付近に吸収極大を持つため、各々適切な波長で吸光度を測定することで、簡便にカルコン誘導体の相対的な存在量を求めることができる。手順としては、各カルコン誘導体を 96 well plate の各 well に添加後、それぞれにシステアミンを添加し 350 nm 付近の適当な波長で吸光度を測定し、その経時変化を追跡する。各カルコン誘導体がシステアミンと反応すれば、吸光度の減衰が観測されるという原理である。

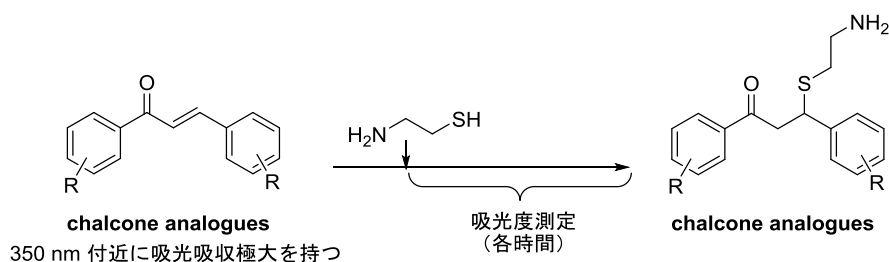


Figure 1-09. Amslinger's report (reactivity assessment)

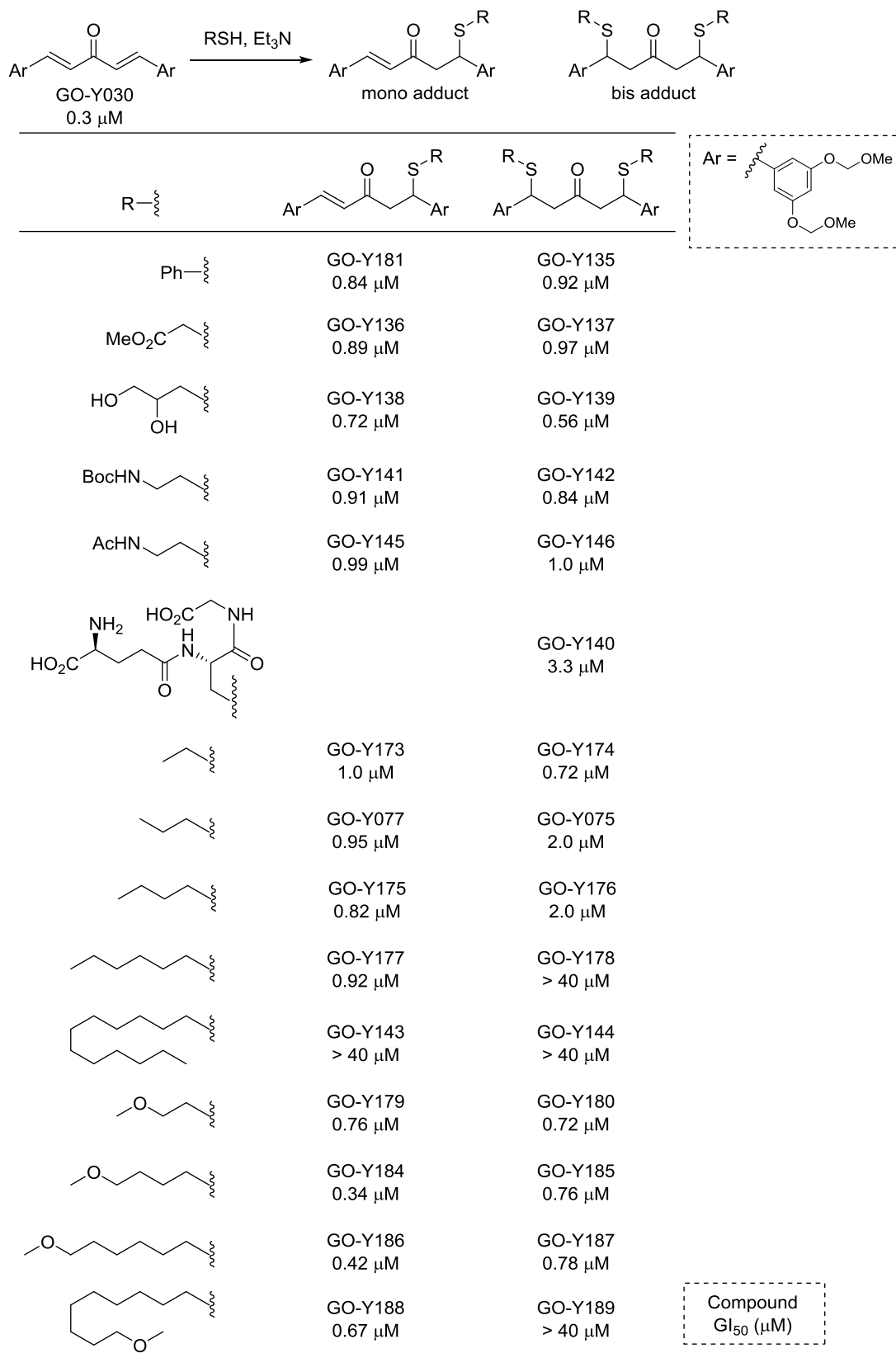


Table 1-06. SAR of GO-Y030 thiol adducts

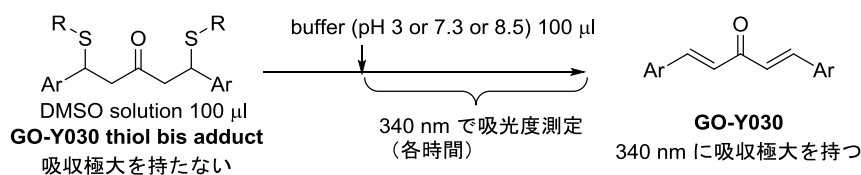


Figure 1-10. Our procedure to monitor retro-Michael reaction

著者の合成したチオール付加体は、340 nm に吸収極大を持つ GO-Y030 を親化合物とするため、Amslingerらと同様に吸光度測定によってGO-Y030の生成を追跡することが可能であった。そこで、**Figure 1-10** に示す手順で GO-Y030 チオール付加体の逆 Michael 反応を追跡した。すなわち、GO-Y030 チオール付加体、比較対照としての GO-Y030 を 96 well plate の各 well に添加した後、それぞれの well を酸性緩衝液 (pH 3 Glycine-HCl)、中性緩衝液 (pH 7.3 PBS)、塩基性緩衝液 (pH 8.5 Tris-HCl) で希釈し、希釈後、適当な時間に吸光度を測定した。その結果、**Figure 1-11** に示すような結果を得た。なお、グラフの吸光度の値が大きくなり 0.7 に近づくほど、逆 Michael 反応が起きていることを表し、対照的に、吸光度の値が 0 付近で変化がないものは、逆 Michael 反応が起きていないことを表す。

Figure 1-11 (a) 酸性条件下で、全ての誘導体は、吸光度が 0 付近でほぼ変わらず、逆 Michael 反応がほとんど起きていないことが示された。

Figure 1-11 (b) 中性条件下では、興味深いことに、親水性の高い GO-Y139, 140 のみが逆 Michael 反応を起こしていることが示された。

Figure 1-11 (c) 塩基性条件下では、チオールのアルキル鎖の構造に応じて逆 Michael 反応を起こす誘導体と起こさない誘導体があることが分かった。すなわち、**(c1)** における、GO-Y144 と、**(c2)** における GO-Y174, 176, 178, 183, 187, 189 のような、長鎖脂肪鎖を含むチオール誘導体では、逆 Michael 反応がほとんど起きていなかった。一方、それらを除く全ての誘導体は、反応速度やその割合に違いはあるものの、逆 Michael 反応を起こすことが分かった。

以上の構造・活性・安定性に関する結果をまとめると、GO-Y030 チオール付加体は、ヘテロ原子や極性官能基を含むのチオール分子を付加させた誘導体ほど、中性～塩基性下で逆 Michael 反応が起こりやすく、がん細胞増殖阻害活性を保持する傾向にあるということが示された。また、GO-Y174 や 185 のように、高い阻害活性を保持しているが、酸性～塩基性条件下で逆 Michael 反応をほとんど起こさない誘導体

も見出された。今回の実験結果は、今後、チオール付加型誘導体の創製する際、基礎的データとしてプロドラッグ設計の一助となることが期待される。

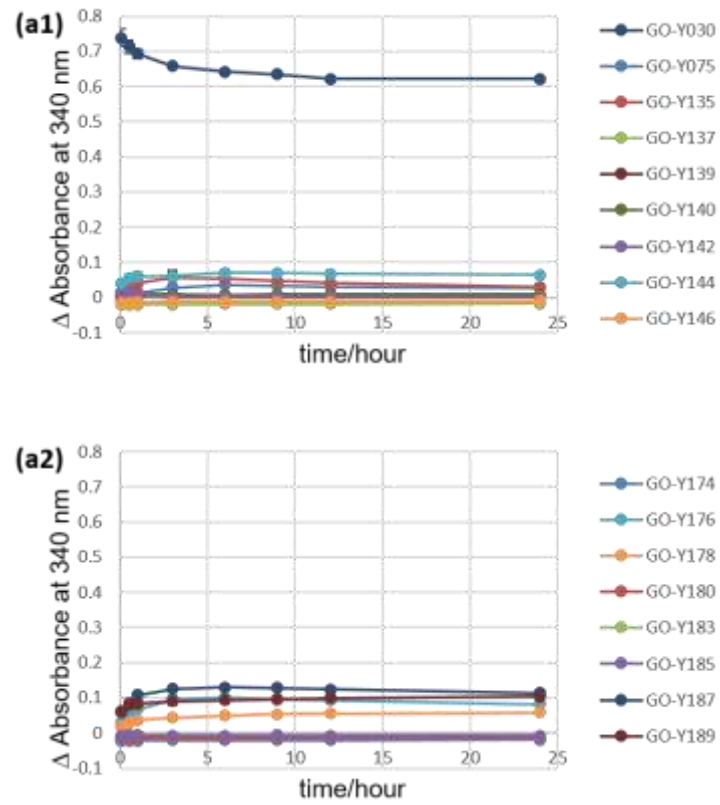


Figure 1-11-1. Time dependent change of retro-Michael reaction after diluted with (a) pH 3 glycine-HCl buffer

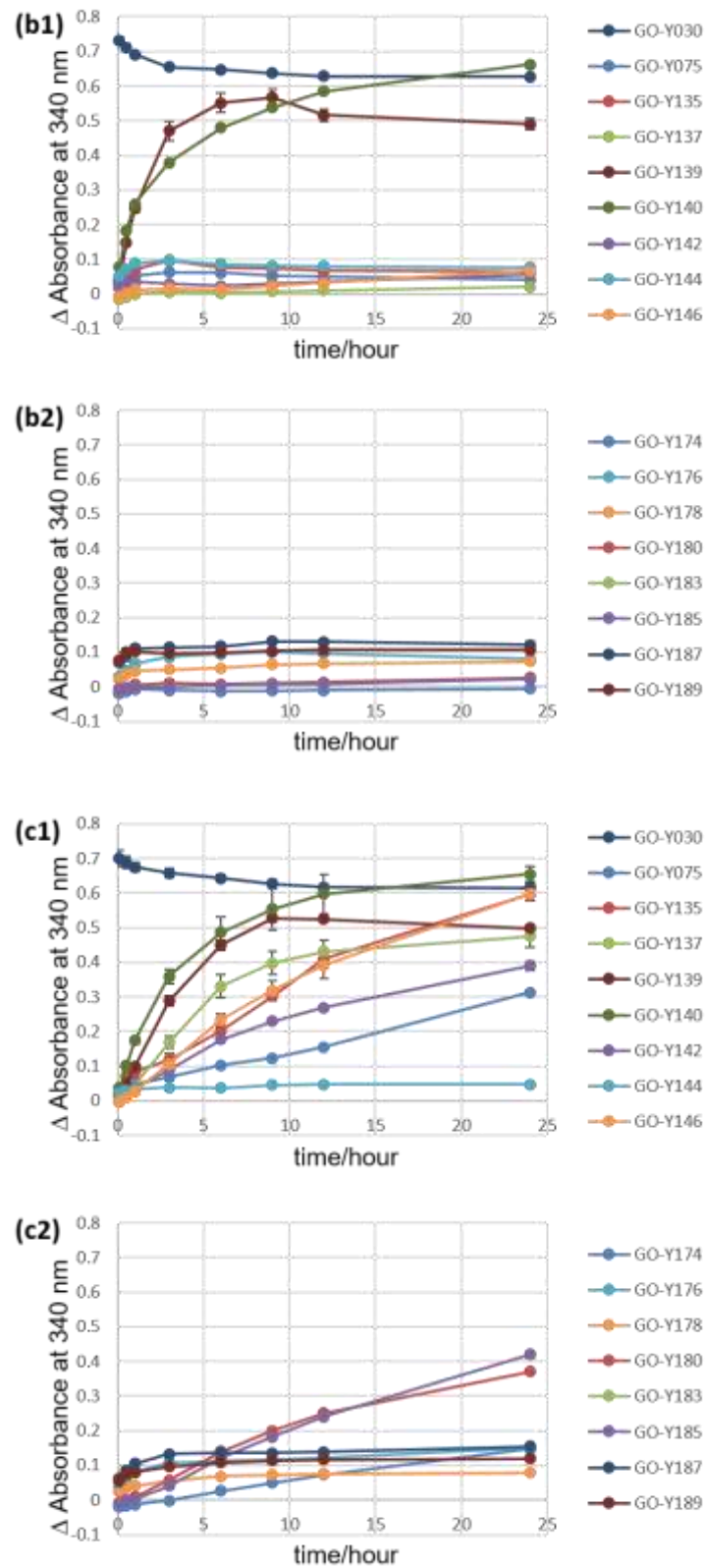


Figure 1-11-2. Time dependent change of retro-Michael reaction after diluted with (b) pH 7.3 PBS buffer (c) pH 8.5 Tris-HCl buffer

第5節 小括

GO-Y030 をリードとした構造活性研究では、GO-Y030 とがん細胞増殖阻害活性について、主に以下に示す3つの知見が得られた。

- Methoxymethyl 置換基は、ホルムアルデヒド供与体として活性に働いているわけではなく、分子認識のために重要な構造単位である。
- 交差共役ジェノン構造は、その Michael acceptor としての役割が活性発現に重要である。
- GO-Y030 の2つの芳香環部はがん細胞増殖阻害活性発現に必須である

C₅-Curcuminoid の細胞内挙動調査のための実験では、¹H-NMR 分光法によって、重 DMSO 中における GO-Y030 とシステアミンとの可逆的な Michael 反応を観測した。

構造活性相関、NMR 実験による結果から、C₅-curcuminoid が細胞内で多様なチオール分子と可逆的な Michael 反応を起こしている可能性が示唆された (Figure 1-12)。そこで、その可逆的な反応性を利用して GO-Y030 グルタチオン付加体を C₅-curcuminoid 水溶性プロドラッグとして設計したところ、望み通り水溶性プロドラッグ GO-Y140 を創製することができた。

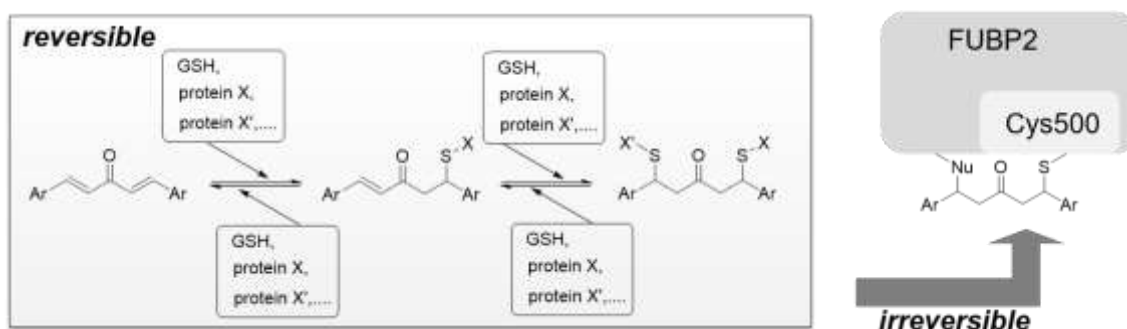
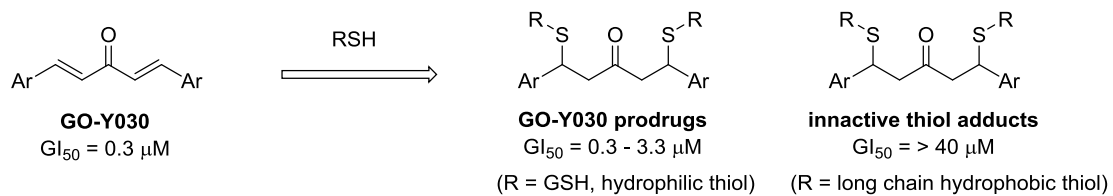


Figure 1-12. Thiol-shuttle hypothesis of C₅-curcuminoid as intracellular behavior

さらに、数 10 種類のチオール付加型誘導体を合成し、大腸がん細胞 HCT116 に対する増殖阻害活性、逆 Michael 反応の反応性に関する調査を行った。その結果、付加させるチオールの構造に依存して、抗腫瘍活性を保持する誘導体と活性の消失した誘導体があることが示された。特に、長鎖脂肪鎖を含むチオー

ル分子の付加体は、がん細胞増殖阻害活性が消失し、pH 8.5 の塩基性条件下においても逆 Michael 反応を
起こしにくい傾向があった (Figure 1-13).



retro-Michael reaction

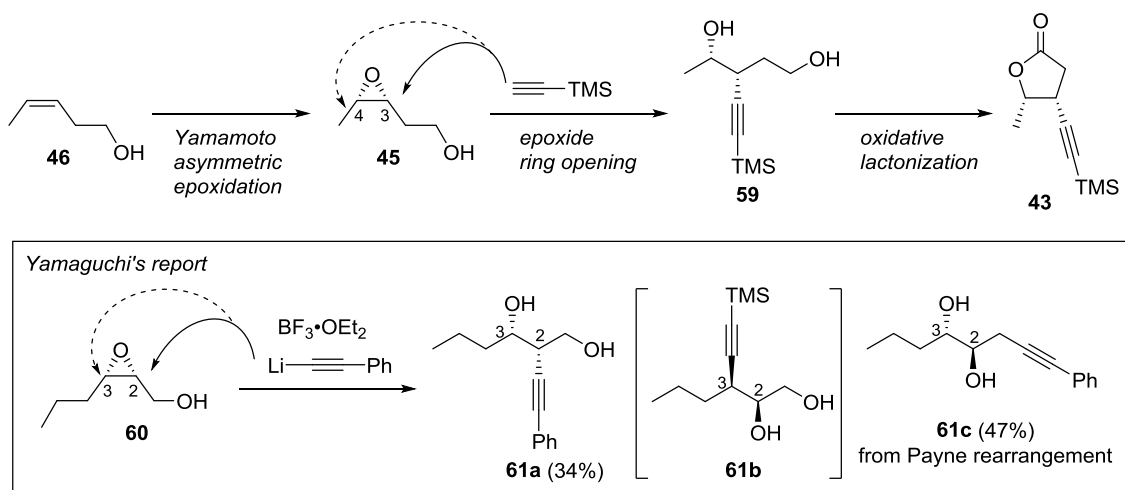
in pH 3 buffer	×	×
in pH 7.3 buffer	○ or ×	×
in pH 8.5 buffer	○ or ×	×

Figure 1-13. Results about GO-Y030 thiol adduct

第2章 誘導体合成を指向した、がん細胞遊走阻害活性天然物 fusarisetin A の合成研究

第1節 光学活性なラクトン **43** の合成

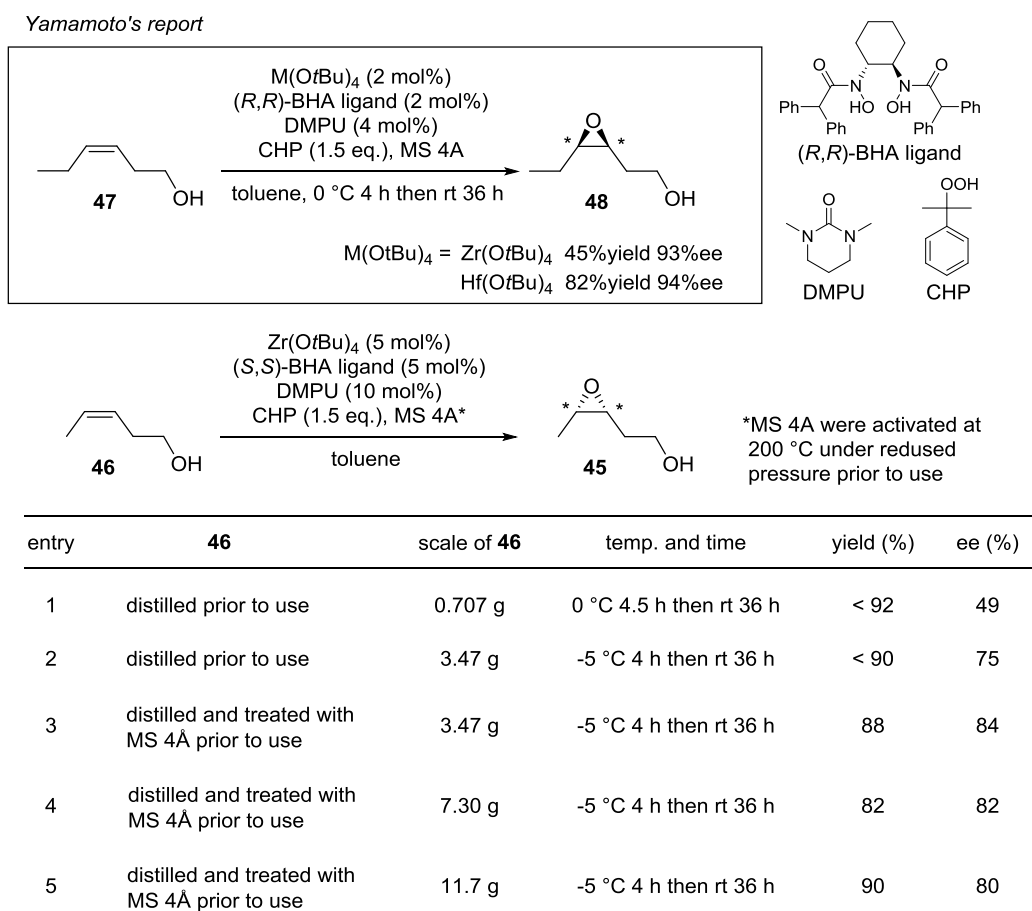
総論で述べた逆合成計画に基づき、山本不斉エポキシ化を起点とする光学活性なラクトン **43** の合成計画を立案した (Scheme 2-01). 今までに、山本不斉エポキシ化を複雑な天然物またはその類縁体の原料合成に適用した例は、著者の知る限りない。したがって、(Z)-3-penten-1-ol (**46**) からの山本不斉エポキシ化を合成の初期段階、大量スケールで適用できるかについても調査した。エポキシド **45** の山口法による開環では、C-3 位選択的に開環反応が起きるか否かが課題となる。山口らによる報告^{32b}の中で、水酸基に近い側の C-2 位の炭素が優先的に反応するという例もあったものの、エポキシド **45** で選択性が出るかどうかは不明であった。これらの課題に焦点を当てて **43** の合成を行ったので、以下詳細な検討を述べる。



Scheme 2-01. Synthetic plan of chiral lactone **43**

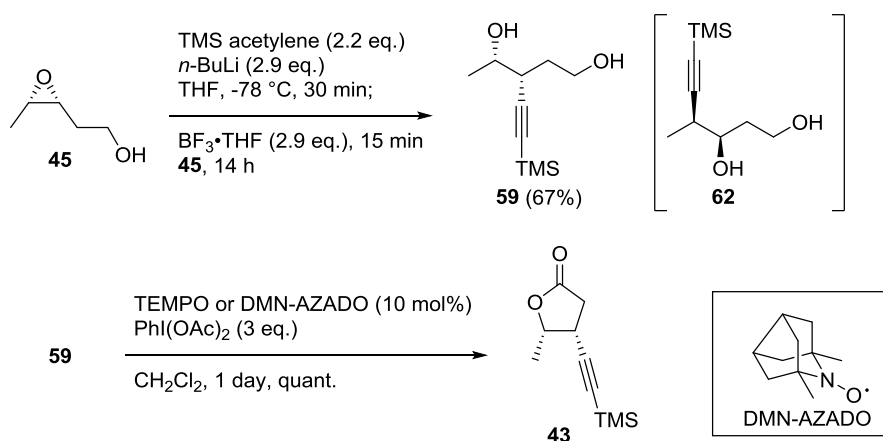
まず、(Z)-3-penten-1-ol (**46**) の山本不斉エポキシ化を検討した (Scheme 2-02). 山本らの論文では、Hf(O*t*Bu)₄ と Zr(O*t*Bu)₄ のそれぞれが用いられていたが、原料合成の初期に用いる関係から、Hf(O*t*Bu)₄ (13,500 円/g) より 6 倍安価な Zr(O*t*Bu)₄ (2,200 円/g) を用い、反応条件の検討を行った。(S,S)-BHA リガンドは、山本らの報告に従って合成したものを用いた⁴⁰. 山本らの報告では、無水のトルエン溶媒中、BHA リガンド、DMPU, Zr(O*t*Bu)₄ を室温で 1 時間攪拌後、0 °C に反応温度を下げ、基質のホモアリルアルコール、CHP を加えた後、0 °C で 4 時間攪拌し、室温に昇温し 36 時間攪拌するという手順がとられている。著者も山本らと同様に、反応初期 0~4 時間の反応温度を 0 °C に設定したところ、49% ee とエナンチオ選択性が十分ではなかった (entry 1). なお、エポキシド **45** の光学純度は、水酸基をベンゾイル化後、

キラルカラム (CHIRALPAK IC) を用いる HPLC により決定した. Entry 1 では, TLC による反応追跡で, 0 ~ 4 時間での反応が速かったことから, 反応速度を低下させればエナンチオ選択性の向上が期待できるのではないかと考えた. 反応初期 0 ~ 4 時間の反応温度を 0 °C から -5 °C に下げたところ, エナンチオ選択性は期待通り 75% ee まで向上した (entry 2). さらに, 基質に含まれる水を除く目的で, 蒸留後 MS 4A で処理した (Z)-3-Penten-1-ol (**46**) を反応に用いたところ, エナンチオ選択性は 84% ee に向上した. エナンチオ選択性に改善の余地は残すものの, その後の工程で光学活性な L-セリン誘導体 **44** との連結を経ることで minor エポキシド由来のものはジアステレオマーとして分離できると考え, 本条件を最適条件とし合成を進めることとした. 実際に entry 3 の条件を用いると, entry 3~5 に示されるように, 数グラムスケールでも再現性良く 80% ee 以上の高いエナンチオ選択性, 高収率で反応が進行した.



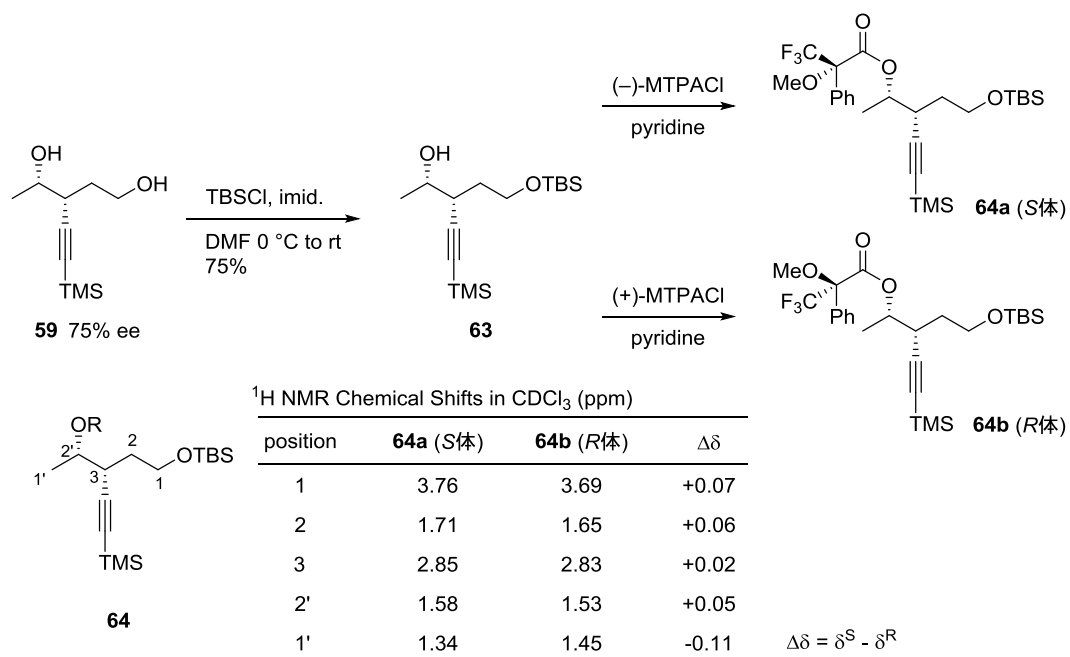
Scheme 2-02. Yamamoto asymmetric epoxidation (**46**→**45**)

つづいて、得られたエポキシド **45** からラクトン **43** への変換を検討した (Scheme 2-03). まず、エポキシド **45** を山口法にて TMS アセチリドと反応させることで、ジオール **59** へと変換した³². エポキシド **45** の反応点は 2 か所あったものの、**59** : **62** = 4 : 1 と中程度の選択性で、期待通り水酸基に近い C3 位での開環が優先的に進行した. さらに、二つのジオール **59**, **62** は、カラムクロマトグラフィーでの分離が容易ではなかったが、幸いなことに、後述する酸化的ラクトン化の段階で簡便に分離できた. ジオール **59** からラクトン **43** への 2 段階の酸化は、Forsyth らによって報告された TEMPO 酸化条件³³ を適用したところ、首尾良く 2 段階の酸化が進行し、定量的にラクトン **43** を得ることができた. なお、岩淵、澁谷らによって開発された DMN-AZADO⁴¹ を TEMPO の代わりに用いた場合も同様に、定量的に反応が進行した.



Scheme 2-03. Synthesis of chiral lactone 43

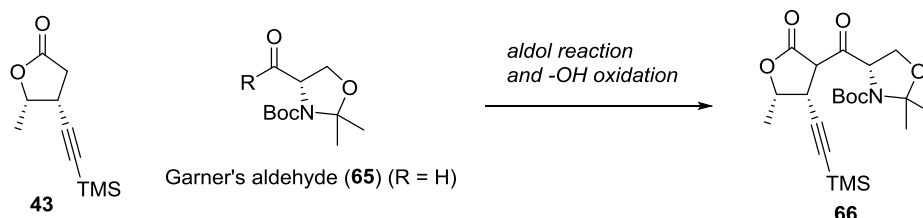
エポキシド **45** の絶対立体化学については、2 級アルコール **63** へと誘導化し、その 2 級水酸基の絶対立体化学を改良 Mosher 法⁴² によって *S* と決定することで確認した (Scheme 2-04). すなわち、2 級アルコール **63** から導いた MTPA エステルの ¹H-NMR シフト値の差から経験則に従って、**63** の 2 級水酸基の絶対立体化学は *S* と決定した. 後に中間体の X 線結晶構造解析によってもアルコール **63** の絶対立体化学は正しいものであったことが確認された (Figure 2-01).



Scheme 2-04. Determination of absolute stereochemistry

第2節 ケトン **66** の合成

光学活性なラクトン **43** が調製できたので、L-セリン誘導体との連結によるケトン **66** の合成を行った。まず、ラクトン **43** と Garner's aldehyde (**65**) とのアルドール反応、つづくアルコールの酸化反応での検討を行った (Scheme 2-05)。以下に検討の詳細を述べる。



Scheme 2-05. Construction of ketone **66**

ラクトン **43** と Garner's aldehyde (**65**) とのアルドール反応を行うと、分離困難なジアステレオマー混合物としてアルドール付加体 **67** が得られた (Scheme 2-06)。一部分離した2級アルコール **67a**, **67b** をそれぞれ酸化条件に付したところ、得られるケトン **66** は同一のものであることが、¹H-NMR 解析により判明した (table 2-1)。なお、ケトン **66** の NMR は、室温ではロータマーに起因するブロードのピークを与えるが、温度を上げると単一のピークに収束した。したがって、ケトン **66** は単一のジアステレオマーであると決定した。ケトン **66** の相対立体化学については、アルドール反応において、Garner's aldehyde (**65**) がラクトン **43** のどちらの面から接近するかを考察した。すなわち、ラクトン **43** のメチル基、TMS アルキンの2つの置換基とは逆側のβ面から **65** が接近すると考えられるので、Scheme 2-06 に示す立体化学であると推定した。2級アルコール **67** の酸化は、table 2-1 に示す条件を検討したが、いずれも中～低収率であった。さらに、比較的収率の良かった PCC 酸化条件は、スケールを上げると収率の大幅な低下がみられ、再現性に乏しかった (entry 1, 2)。

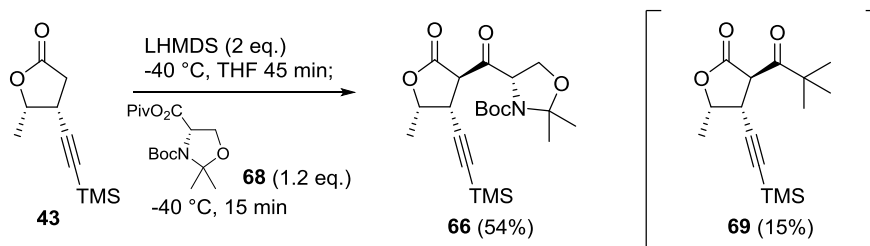
table 2-1

entry	SM	reagent	solvent	temp.	time (h)	yield (%)
1	67a	PCC (17 eq.), NaOAc (17 eq.), Celite, MS 4Å	CH ₂ Cl ₂	rt	2	61
2	67b	PCC (6 eq.), NaOAc (6 eq.), Celite, MS 4Å	CH ₂ Cl ₂	rt	8.6	42
3	67a	TPAP (10 mol%), NMO (3 eq.), MS 4Å	CH ₂ Cl ₂ : MeCN (9 : 1)	rt	12	0
4	67a	(COCl) ₂ (30 eq.), DMSO (60 eq.), Et ₃ N (90 eq.)	CH ₂ Cl ₂	-78 °C	1	trace
5	43 : 67b (1 : 3)	IBX (3 eq.)	DMSO	40 °C	0.83	52%*
6	43 : 67b (1 : 3)	IBX (3 eq.)	DMSO	40 to 75 °C	2	dec.
7	67a	IBX (2.5 eq.)	AcOEt	reflux	19	71

*SM (21%) was recovered.

Scheme 2-06. Aldol reaction and alcohol oxidation

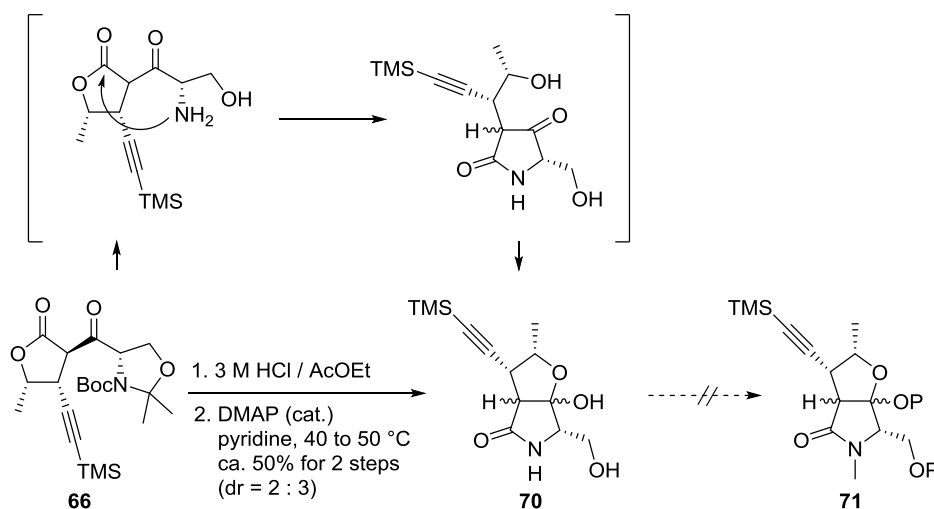
そこで、工程数を減らしラクトン **43** からケトン **66** への変換効率を向上させるために、ラクトン **43** と既知の混合酸無水物 **68** との Claisen 縮合を検討した (Scheme 2-07)。その結果、54%の収率でケトン **66** が、副生成物として **68** の Piv 基が反応したケトン **69** が 15%得られた。アルドール、アルコール酸化では、2 工程 50%程度の収率でスケールアップに難があったが、Claisen 縮合を用いることで、若干の収率向上、工程数削減が可能となった。



Scheme 1-07. Claisen condensation

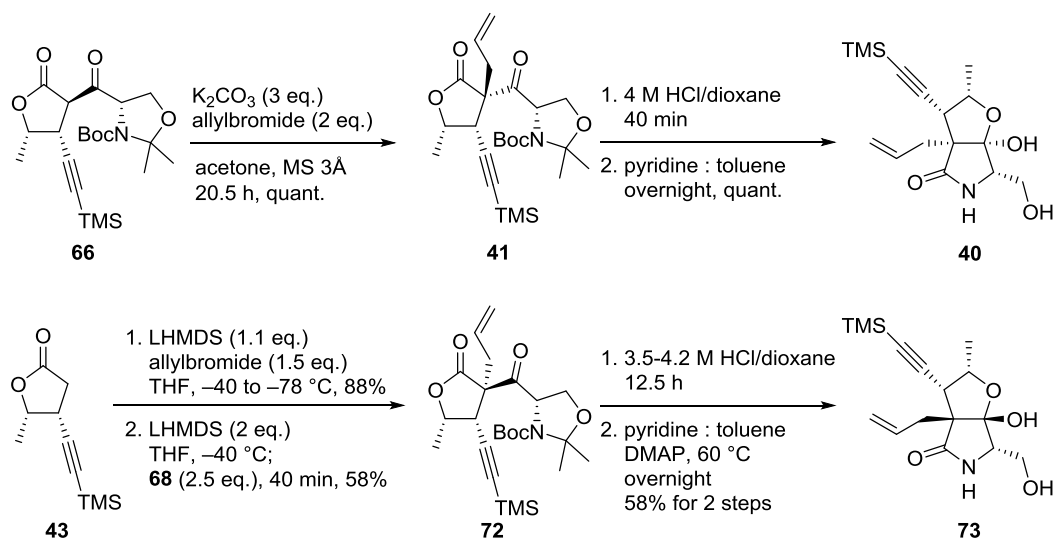
第3節 ラクタム化の検討

アシル化体 **66** は、DE 環形成に必要な官能基を備えていたことから、予備的検討として、このものからラクタム環形成を検討することとした (Scheme 2-08). すなわち、酸でアシル化体 **66** の Boc 基、アセトナイド基を脱保護した後、つづく塩基処理によってラクトンの開環、ラクタム環、ヘミケタール形成を惹起させ、ラクタム **70** を分離できないジアステレオマー混合物として得た. しかし、ラクタム **70** は、種々の反応条件に対する不安定性から、その後の変換 (アルコール保護, *N*-Me 化) が困難であった.



Scheme 2-08. Lactamisation of **66**

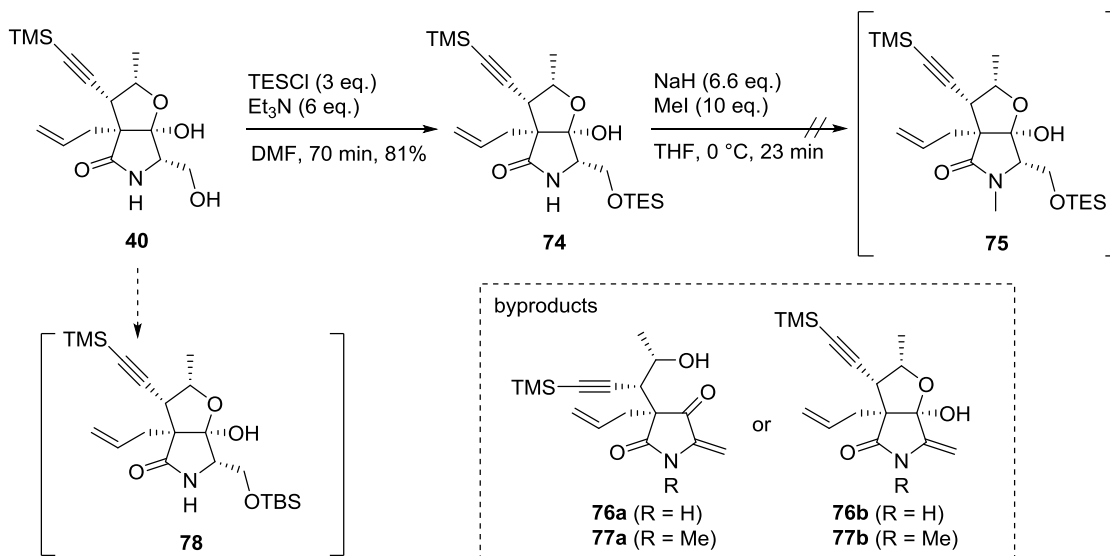
次に、ケトン **66** の活性メチン部位をアリル化した後、ラクタム化を行うこととした (Scheme 2-09). その結果、アリル化、ラクタム化が定量的に進行し、単一のジアステレオマーでラクタム **41** が得られた. この時、アリル化後の生成物 **41** は、回転異性体を持つため NMR スペクトルからジアステレオ比を決定するのは困難であった. したがって、ラクタム **40** へと導くことで、**41** が単一のジアステレオマーであると確認した. なお、Claisen 縮合、アリル化の順番を逆にすると、ラクタム **40** とは異なるジアステレオマー **73** が単一で得られた. したがって、**66** から **41** のアリル化では、ラクトンのメチル基、TMS アルキンの 2 つの置換基の立体障害を避けるように、 β 面から allyl bromide が接近することで、立体選択的に反応が進行したものと考察された.



Scheme 2-09. Lactamisation of 41 and 72

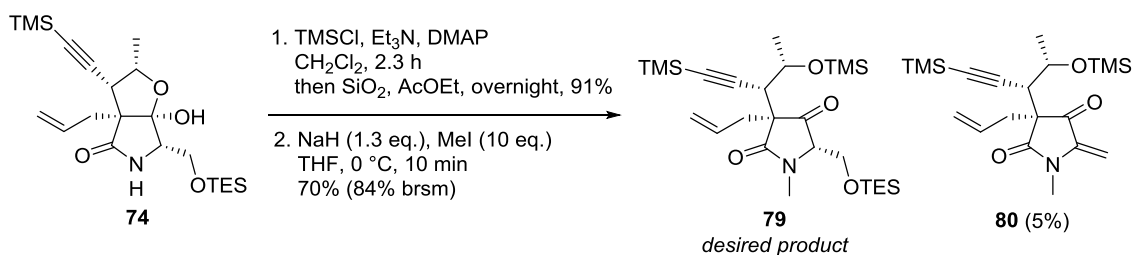
第4節 閉環エンインメタセシスの検討と分子間 Diels-Alder 反応

エンインメタセシスの検討に先駆けて、ラクタム **40** の *N*-Me 化を検討した。まず、ジオール **40** の 1 級水酸基を TES 基で保護した後、塩基性条件での *N*-Me 化を試みたが、所望の *N*-Me 化体 **75** は全く得られず、**76**、**77** のようなシリルエーテルが脱離した副生成物が得られた。ヘミケタールに隣り合う TES 基の不安定性に副反応の原因があると考え、TBS 基によるジオール **40** の 1 級水酸基の保護を試みたが、TBS 保護体 **78** へと高い収率で変換することができなかった。



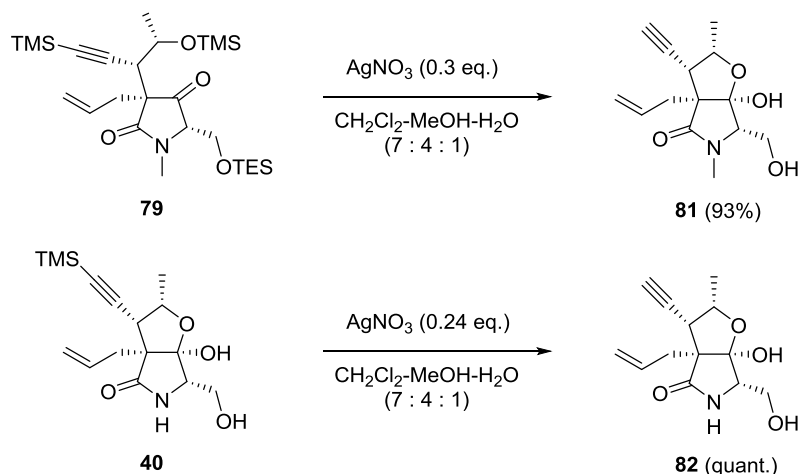
Scheme 2-10. *N*-Methylation of lactam **74**

そこで、ヘミケタール基を保護した後、*N*-Me 化を行うこととした。ヘミケタールの保護を企図して **74** に TMSCl を作用させたが、開環し 2 級水酸基が TMS 基で保護された成績体を得られた。その後、塩基性条件下 *N*-Me 化を行うと望みの *N*-Me 化体 **79** が良好な収率で得られた (Scheme 2-11)。しかし、先ほどと同様にシリルエーテルが脱離した副生成物 **80** の生成もみられた。



Scheme 2-11. Synthesis of **79**

Scheme 2-10 に示された塩基性条件での *N*-Me 化の検討の中で、**76** や **77** のような脱離による副生成物が得られたことから、ラクタム中間体の 1 級水酸基は塩基性条件下、副反応として脱水反応が進行すると予想された。そこで、アルキン TMS 基の脱保護は、Pale らによって報告された硝酸銀を用いる温和な条件⁴³を適用した。その結果、TMS アルキン **79** は、シリルエーテルの脱保護を伴って、末端アルキン **81** へと高収率にて変換された (**Scheme 2-12**)。また、*N*-Me 化前の無保護のラクタム **40** を基質とした場合、定量的に反応が進行した。



Scheme 2-12. Deprotection of TMS-alkyne 79 and 40

基質としてのエンイン **81**, **82** が調製できたので、Grubbs 第 2 世代触媒を用いてエンイン閉環メタセシス反応の検討を行った (**Scheme 2-13, table 2-2**)。エンイン **82** を基質とした場合、エチレンガスによって反応が促進、収率が向上し、高収率で環化体 **83** を与えた。エンイン **81** を基質とした場合も、entry 2 と同様の条件下、良好な収率で環化体 **50** を与えた。

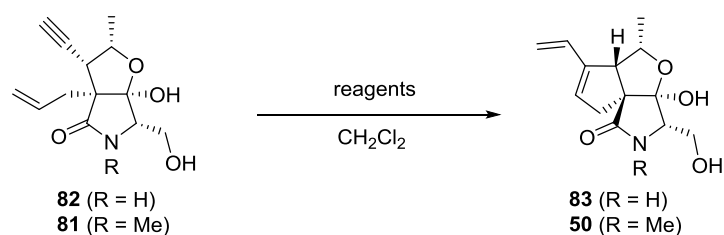


table 2-2

entry	SM	R	reagents	temp.	time (h)	results
1	82	H	Grubbs 2nd (10 mol%)	reflux	7	83 (55%)
2	82	H	Grubbs 2nd (7.5 mol%) ethylene gas	rt	3	83 (84%)
3	81	Me	Grubbs 2nd (7.5 mol%) ethylene gas	rt	1	50 (78%)

Scheme 2-13. Enyne ring closing metathesis

ジエン **83** の相対立体化学は X 線結晶構造解析によって決定した (Figure 2-01). 尚, **83** の絶対立体化学については, X 線結晶構造解析で得られた Flack absolute structure parameter の値から, 合成中間体から予想された構造で正しいものと確認している.

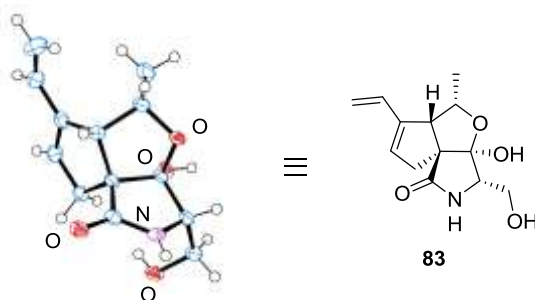
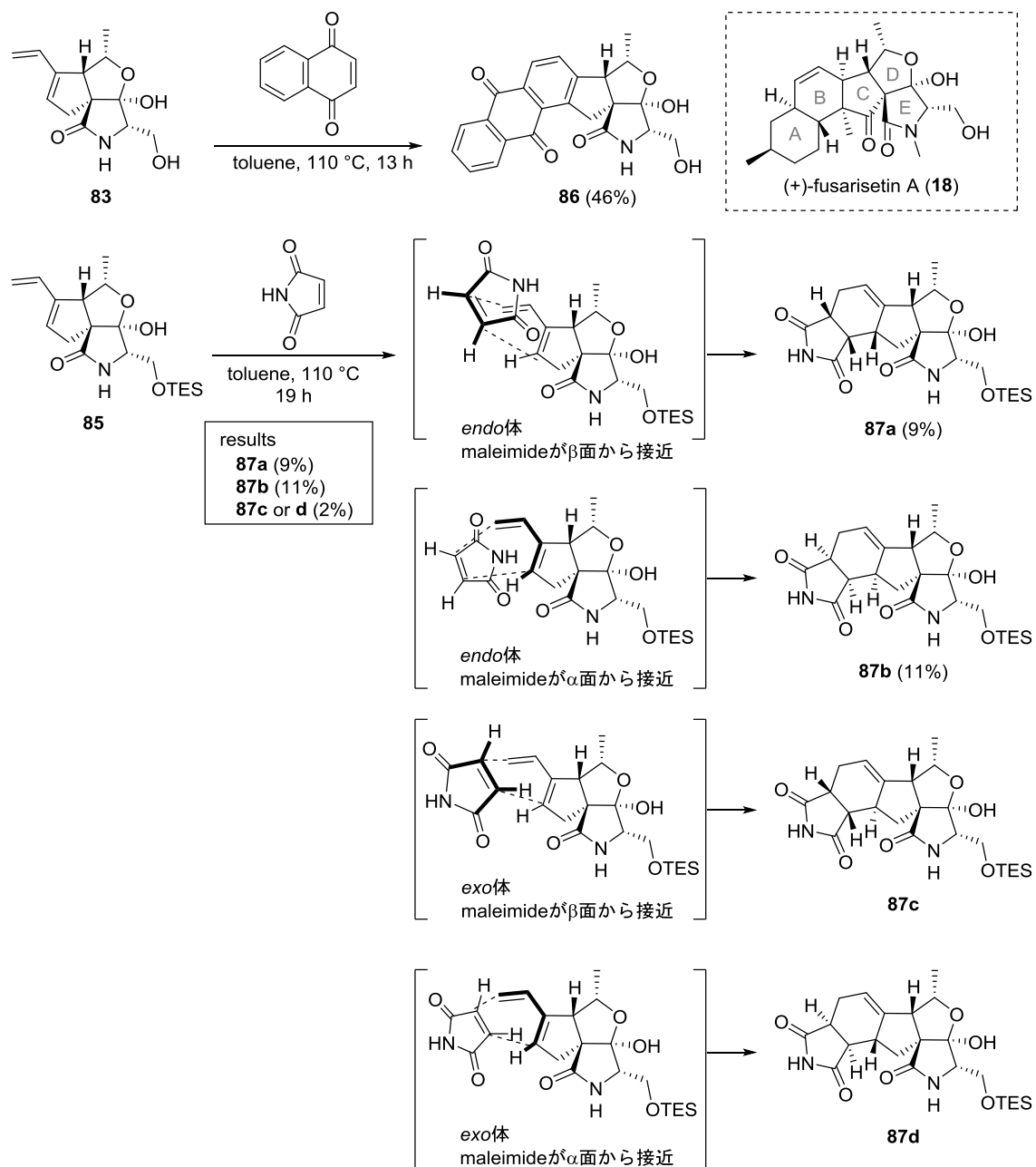


Figure 2-01. X-ray structure of diene **83**

総論で述べたような AB 環に関する各種誘導体合成に向けて, 得られたジエン体の分子間 Diels-Alder 反応を検討した (Scheme 2-14). ジエン **83** とキノンを加熱条件下反応させると, 環化体が酸化されたアントラキノン体 **86** が 46% の収率で得られた. ジエン **85** とマレイミドを加熱条件下で反応させると環化体 **87** が 3 つの異なるジアステレオマーとして得られた. エンイン **85** とマレイミドとの Diels-Alder 反応は, *endo/exo*, maleimide の接近面を考えると, 生成し得るジアステレオマーが **87a** ~ **87d** の 4 種類ある.

本反応で得られた主生成物は、それぞれ、下記のような NOESY 相関が観測されたことから、*endo* 体 **85a**, **85b** と推定した (Figure 2-02). 本実験結果より、エンインメタセシスで得られるジエン体は fusarisetin A の誘導体合成の鍵中間体と位置付けることができた。



Scheme 2-14. Intermolecular Diels-Alder reaction

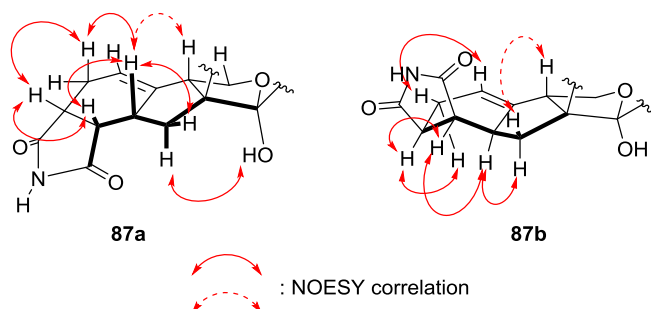
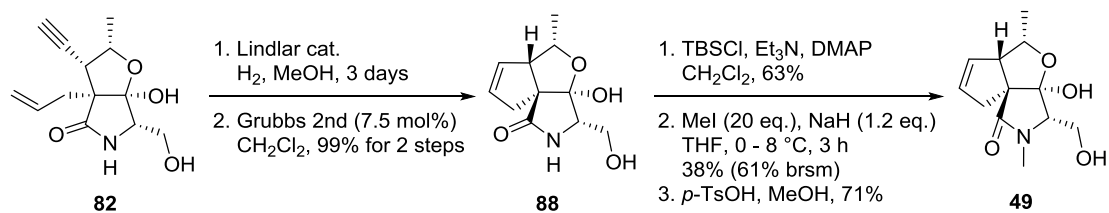


Figure 2-02. NOESY correlation of 87a and 87b

第5節 閉環メタセシスによる CDE 環誘導体の合成

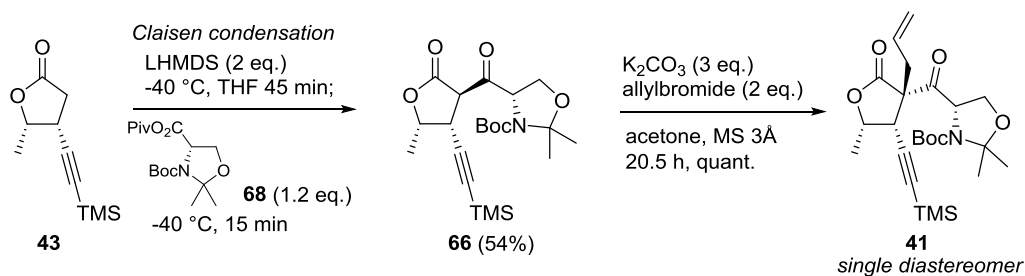
エンインメタセシスでの検討で、ヘミケタール基は無保護の方が、環化反応が進行しやすいと分かったので、閉環メタセシス反応においても無保護のヘミケタール基質を用いて検討した (Scheme 2-15)。その結果、エンイン **82** から 2 工程でほぼ定量的にシクロペンテン **88** へと導くことができた。1 級水酸基の保護基は、*N*-Me 化の条件に耐えうる保護基として、Scheme 2-10 で用いていた TES 基から TBS 基へと変更した。ジオール **88** は、1 級水酸基の TBS 基による保護、*N*-Me 化、TBS 基の脱保護を経て、CDE 環誘導体 **49** へと 3 工程 27% で変換した。



Scheme 2-15. Synthesis of CDE analogue **49**

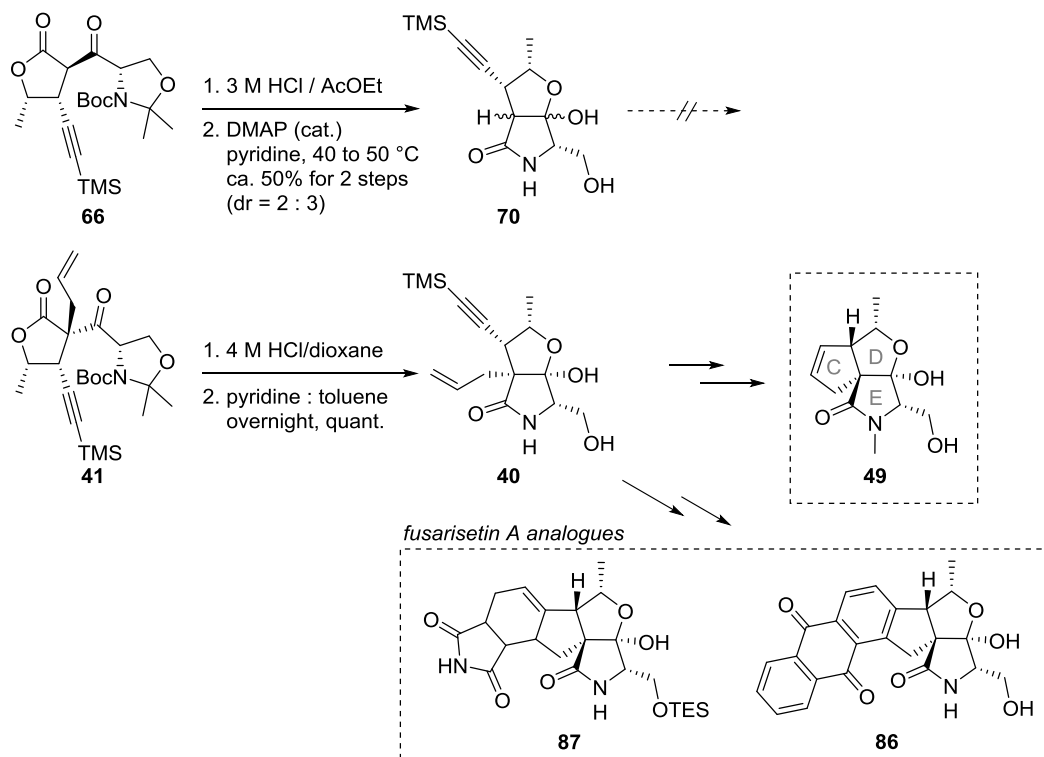
第6節 小括

著者は、fusarisetin Aの極性官能基の密集したCDE環誘導体**47**、AB環部分が異なる2つの誘導体**86**、**87**を不斉合成した。隣り合う4つの不斉点を有するケトン**41**は、ラクトン**43**とL-セリン誘導体**68**との連結における収率に課題を残すものの、ラクトン**66**の立体化学を利用した基質制御で、立体選択的に合成することができた。



Scheme 2-16. Synthesis of intermediate **41**

また、不安定なラクタム**70**を避けることで、高収率・短工程でC環部分を構築することができ、各種誘導体**49**、**86**、**87**へと導くことができた (Scheme 2-17).



Scheme 2-17. Synthesis of lactam **40** and analogues **49**, **86**, and **87**

結論

著者は、「抗腫瘍活性天然物 curcumin をリードとする創薬化学研究」と「誘導体合成を指向したがん細胞遊走阻害活性天然物 fusarisetin A の合成研究」を行い、以下の成果を得た。

第 1 章

高活性誘導体 GO-Y030 をリード化合物として、構造活性相関を行うことで、各構造の活性発現における以下の役割が明らかとなった。

- Methoxymethyl 置換基は、ホルムアルデヒド供与体としてがん細胞増殖阻害活性に働いているわけではなく分子認識のために重要な構造単位である
- 交差共役ジエノン構造は、その Michael acceptor としての役割ががん細胞増殖阻害活性に重要である
- GO-Y030 の 2 つの芳香環部はがん細胞増殖阻害活性に必須である

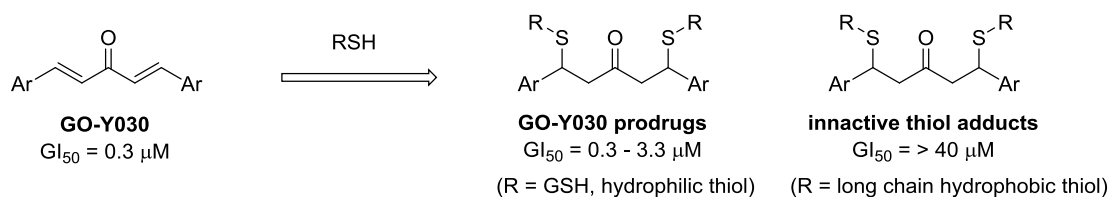
¹H-NMR 実験では、GO-Y030 とシステアミンとの重 DMSO 中での“可逆的な Michael 反応”を観測し、C₅-curcuminoid の可逆的な反応性を実際に示すことができた。

可逆的な反応性を利用して GO-Y030 グルタチオン付加体を C₅-curcuminoid 水溶性プロドラッグとして設計したところ、望み通り GO-Y140 が水溶性プロドラッグとして機能することを確認した。GO-Y140 は、今後、様々な動物実験へと適用され、GO-Y030 の抗がん剤としての有用性をより一層高めてくれるものと期待される。

GO-Y140 につづいて、数 10 種類のチオール付加型誘導体を合成し、そのがん細胞増殖阻害活性、逆 Michael 反応の反応性に関する包括的な調査を行った。その結果、活性を保持するか保持しないかは、各誘導体のチオール由来の構造に依存することを見出した。特に、長鎖脂肪鎖を含むチオール分子の付加体は、がん細胞増殖阻害活性を消失し、pH 8.5 の塩基性条件下においても逆 Michael 反応を起こしにくい傾向が分かった (Figure 3-01)。本評価結果は、今後、同様なチオール付加型プロドラッグを設計・合成する時の基礎的知見として活用されるものと期待される。

また、グルタチオンをはじめとする多様なチオール分子の付加体がプロドラッグとして機能したとい

う結果は，“細胞内における多様な求核種と C₅-curcuminoid との可逆的 Michael 反応”を強く支持した。
 今後，総論で述べたような細胞内挙動仮説 (**Figure 0-11**) の更なる検証と立証が望まれる。



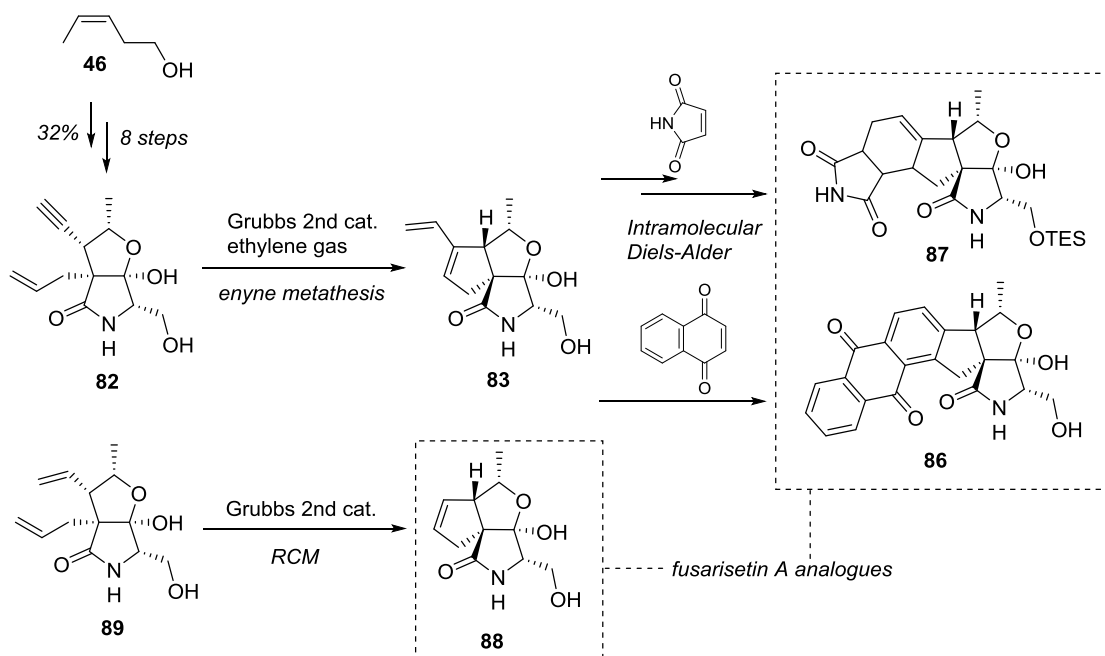
retro-Michael reaction

in pH 3 buffer	×	×
in pH 7.3 buffer	○ or ×	×
in pH 8.5 buffer	○ or ×	×

Figure 3-01. Results about GO-Y030 thiol adduct

第2章

特異な構造と生物活性を有する fusarisetin A の新規 CDE 環部分に着目し、各種誘導体を効率的に合成できる経路の開発を目指して fusarisetin A 誘導体の不斉合成を行った (Scheme 3-02). その結果、市販の *cis*-3-penten-1-ol (46) から山本不斉エポキシ化、エポキシドの位置選択的開環を含む 8 工程 32% で DE 環を含む光学活性ラクタム中間体 82 を合成することができた. その後、閉環エンインメタセシス、閉環メタセシスによって、高収率で C 環を構築し CDE 環部分骨格 83, 88 をそれぞれ合成した. 閉環エンインメタセシスで得られたジエン 83 は、ジエノフィルとの分子間 Diels-Alder 反応を経て fusarisetin A の AB 環部分に多様性を持たせた誘導体 86, 87 へと導くことができ、誘導体合成に向けた本合成経路の有用性が実証された.



Scheme 3-02. Synthetic route of fusarisetin A analogues

著者らが開発した合成経路と、合成された各種誘導体は、今後、がん細胞転移阻害剤の有望なシードを創出するための研究基盤となっていくことが期待される.

以上、著者は、創薬の初期・後期研究の異なる段階で“がん”に焦点を当てた創薬化学研究に取り組み、curcumin, fusarisetin A という天然物をリードとした各々のテーマで、薬学的に有用な知見や薬のシードを得ることができた. それらの有用な薬学的知見、医薬品シードは、今後の創薬化学研究に貢献していくものと考えられる.

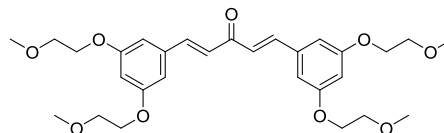
Experimental Section

General Procedure: All reactions were carried out under an argon atmosphere with dehydrated solvents under anhydrous conditions, unless otherwise noted. Dehydrated THF and CH₂Cl₂ were purchased from Kanto Chemical Co., Inc. Other solvents were dehydrated and distilled according to standard protocols. Reagents were obtained from commercial suppliers and used without further purification, unless otherwise noted. Reactions were monitored by thin-layer chromatography (TLC) carried out on silica gel plates (Merck Kieselgel 60F₂₅₄) or NH-silica gel plates (Fuji Silysia Chemical, Ltd.). Column chromatography was performed on Silica gel 60N (Kanto Chemical Co., Inc., spherical, neutral, 63-210 μm) and flash column chromatography was performed on Silica gel 60N (Kanto Chemical Co., Inc., spherical, neutral, 40-50 μm). Optical rotations were measured on a JASCO P-2200 Digital Polarimeter at room temperature, using the sodium D line. Infrared spectra were obtained on a JASCO FT/IR-410 Fourier Transform Infrared Spectrophotometer at a 4.0 cm⁻¹ resolution and reported in wave numbers. Proton nuclear magnetic resonance (¹H NMR) spectra were recorded using JEOL JNM-AL-400 (400 MHz), and JEOL JNM-ECA-600 (600 MHz) spectrometers. The chemical shifts (δ) are given from TMS (0.00 ppm) in CDCl₃ or CDCl₃:CD₃OD (10:1) as internal standards. Coupling constant (*J*) is reported in hertz. Multiplicities are reported using the following abbreviations: s, singlet; d, doublet; t, triplet; q, quartet; br, broad. Carbon-13 nuclear magnetic resonance (¹³C NMR) spectra were recorded using JEOL JNM-AL-400 (100 MHz) and JEOL JNM-ECA-600 (150 MHz) spectrometers. The chemical shifts (δ) are given from CDCl₃ (77.0 ppm) as internal standards. Mass spectra were recorded on a JEOL JMS-DX303, JEOL JNM-AL500 and JEOL JMS-700.

Chapter 1 - Section 1

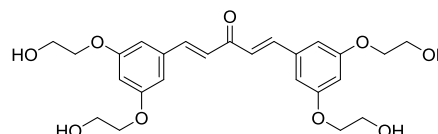
Data of GO-Yxxx compounds

GO-Y129



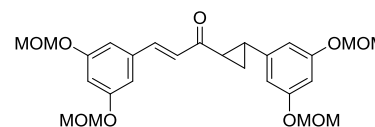
Yellow solid; mp 85–87 °C. IR (CHCl₃): 2927, 1652, 1590, 1441 cm⁻¹; ¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 7.61 (2H, d, *J* = 15.9 Hz), 7.00 (2H, d, *J* = 15.9 Hz), 6.79 (4H, d, *J* = 1.9 Hz), 6.60 (2H, t, *J* = 1.9 Hz), 4.14 (8H, t, *J* = 4.6 Hz), 3.76 (8H, t, *J* = 4.6 Hz), 3.46 (12H, s); ¹³C-NMR (100 MHz, CDCl₃) δ 188.8, 160.2, 143.3, 136.6, 125.8, 107.2, 104.0, 70.9, 67.5, 59.2; LR-MS (EI) *m/z* 530 (M⁺, 100%); HR-MS (EI) Calcd. for C₂₉H₃₈O₉: 530.2516, found: 530.2517.

GO-Y130



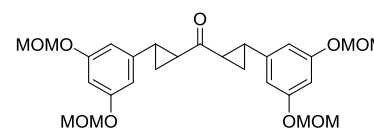
Yellow solid (AcOEt:hexane = 1:1) mp 171–173 °C. IR (solid): 3235, 1647, 1622, 1597, 1441 cm⁻¹; ¹H-NMR (600 MHz, DMSO-*d*₆) δ 7.68 (2H, d, *J* = 15.7 Hz), 7.32 (2H, d, *J* = 15.7 Hz), 6.95 (4H, d, *J* = 1.9 Hz), 6.59–6.56 (2H, m), 4.86 (4H, t, *J* = 5.5 Hz), 4.03 (8H, t, *J* = 5.0 Hz), 3.72 (8H, dt, *J* = 5.5, 5.0 Hz); ¹³C-NMR (150 MHz, DMSO-*d*₆) δ 188.5, 160.1, 142.8, 136.6, 126.1, 106.9, 103.6, 69.7, 59.5; LR-MS (FAB) *m/z* 475 ([M + H]⁺), 136.1 (100%), 137.1 (100%), 154.1 (100%); HR-MS (FAB) Calcd. for C₂₅H₃₀O₉: 474.1887, found: 475.1990.

GO-Y131



Yellow oil; IR (CHCl₃): 2955, 2826, 1674, 1647, 1592, 1453 cm⁻¹; ¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 7.51 (1H, d, *J* = 16.4 Hz), 6.91 (2H, d, *J* = 2.3 Hz), 6.85 (1H, d, *J* = 16.4 Hz), 6.76 (1H, t, *J* = 2.3 Hz), 6.61 (1H, t, *J* = 2.0 Hz), 6.49 (2H, d, *J* = 2.0 Hz), 5.17 (4H, s), 5.15 (4H, s), 3.50 (12H, s), 2.60–2.55 (1H, m), 2.50–2.45 (1H, m), 1.80–1.76 (1H, m), 1.48–1.43 (1H, m); ¹³C-NMR (100 MHz, CDCl₃) δ 197.8, 158.6, 158.5, 143.2, 142.2, 136.7, 127.2, 109.6, 107.7, 107.2, 103.0, 94.6, 56.12, 56.09, 31.7, 29.8, 19.3; LR-MS (EI) *m/z* 488.1 (M⁺, 100%); HR-MS (EI) Calcd. for C₂₆H₃₂O₉: 488.2046, found: 488.2047.

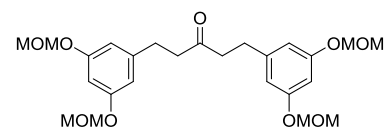
GO-Y132 (diastereo mixture)



To a solution of $\text{Me}_3\text{S}(\text{O})\text{I}$ (185 mg, 0.842 mmol) in DMSO (1.05 mL) was added NaH (20 mg, 0.84 mmol) washed with hexane. After stirring for 1 hour at room temperature, to the reaction mixture was added **GO-Y030** (100 mg, 0.842 mmol). After stirring for 16 min at 50–60 °C, the mixture was quenched with H_2O . The organic layer was separated and the aqueous layer was extracted with Et_2O (20 mL \times 3). The combined organic phases were washed with brine (5 mL), dried over MgSO_4 , and evaporated *in vacuo*. The residue was purified direct by silica gel chromatography (Hexanes/ EtOAc = 2/1) to give **GO-Y132** (66.2 mg, 0.132 mmol, 63%) as a colourless oil.

Colorless oil; IR (CHCl_3): 2955, 2903, 2826, 2360, 1680, 1594, 1463, 1439 cm^{-1} ; $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ 6.60 (1H, t, J = 2.3 Hz), 6.58 (1H, t, J = 2.3 Hz), 6.45 (4H, d, J = 2.3 Hz), 5.14 (4H, s), 5.12 (4H, s), 3.47 (6H, s), 3.46 (6H, s), 2.56–2.47 (2H, m), 2.38–2.33 (2H, m), 1.73–1.65 (2H, m), 1.41–1.35 (2H, m); $^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, CDCl_3) δ 206.7 (206.6), 158.41 (158.38), 143.03 (142.95), 107.52 (107.50), 102.91 (102.85), 94.5 (94.4), 56.03 (56.00), 33.2 (33.1), 29.4 (29.1), 19.5 (19.3); LR-MS (EI) m/z 502.1 (M^+), 278.1 (100%); HR-MS (EI) Calcd. for $\text{C}_{27}\text{H}_{34}\text{O}_9$: 502.2203, found: 502.2214.

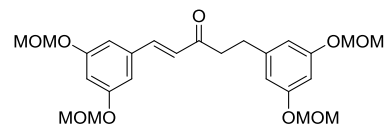
GO-Y133



A mixture of **GO-Y030** (780 mg, 1.64 mmol) and Pd/C (1.8 mg, 0.016 mmol) in EtOAc (16 mL) was stirred under hydrogen atmosphere for 18 h at room temperature. Additional Pd/C (2.6 mg, 0.024 mmol) was added to the reaction mixture. After 12 h, the reaction was sparged with nitrogen, filtered through Celite, and concentrated *in vacuo*. The residue was purified by flash column chromatography (2.5/1 to 2/1 Hexanes: EtOAc) to give **GO-Y133** (694 mg, 1.45 mmol, 88%) as a white solid.

White solid; mp 31–32 °C. IR (CHCl_3): 1714, 1595, 1460, 1440 cm^{-1} ; $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ 6.58 (2H, t, J = 2.3 Hz), 6.51 (4H, d, J = 2.3 Hz), 5.13 (8H, s), 3.46 (12H, s), 2.84 (4H, t, J = 7.5 Hz), 2.70 (4H, t, J = 7.5 Hz); $^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, CDCl_3) δ 208.6, 158.3, 143.5, 109.6, 102.6, 94.4, 56.0, 44.1, 29.8; LR-MS (EI) m/z 478 (M^+), 370 (100%); HR-MS (EI) Calcd. for $\text{C}_{25}\text{H}_{34}\text{O}_9$: 478.2203, found: 478.2217.

GO-Y134

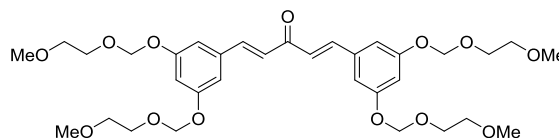


To a solution of **GO-Y133** (426 mg, 0.890 mmol) in dry THF (17.8 mL) was added LHMDS (0.92 mL of 1.3 M solution in THF, 1.20 mmol) at –40 °C. After 15 min, to the reaction mixture was added TESCOI (0.194 mL, 1.15 mmol) and the solution was warmed up to 0 °C over 15 min. After 45 min, the mixture was quenched with Et_3N (Pasteur pipette 16 drops) and saturated aqueous NaHCO_3 . The resulting solution was extracted with AcOEt . The combined organic extracts were washed with brine, dried over MgSO_4 and concentrated *in vacuo*. The residue was

purified by silica gel column chromatography (EtOAc/Hexane = 1/5 to 1/2) to give crude silyl enol ether (536 mg, 0.904 mmol). The crude was dissolved in DMSO (3 mL), to the solution was added Pd(OAc)₂ (39.9 mg, 0.178 mmol) and purged with oxygen. After being stirred for 9.5 h under oxygen atmosphere, the reaction mixture was quenched with NaHCO₃ (37.4 mg, 0.444 mmol) and filtered through Celite, and extracted with EtOAc. The combined organic extracts were washed with brine, dried over MgSO₄ and concentrated *in vacuo*. The residue was purified by column chromatography (EtOAc/Hexane = 1/3) to give **GO-Y134** (382 mg, 0.0801 mmol, 89%).

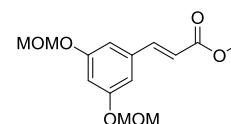
Colorless oil; IR (CHCl₃): 1691, 1662, 1589, 1457 cm⁻¹; ¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 7.45 (1H, d, *J* = 16.0 Hz), 6.88 (2H, d, *J* = 2.4 Hz), 6.77 (1H, t, *J* = 2.4 Hz), 6.69 (1H, d, *J* = 16.0 Hz), 6.59 (1H, t, *J* = 2.0 Hz), 6.58 (2H, d, *J* = 2.0 Hz), 5.17 (4H, s), 5.14 (4H, s), 3.48 (6H, s), 3.47 (6H, s), 3.00–2.91 (4H, m); ¹³C-NMR (100 MHz, CDCl₃) δ 199.1, 158.6, 158.4, 143.7, 142.4, 136.6, 126.8, 109.8, 109.5, 107.1, 102.7, 94.5, 56.12, 56.06, 42.1, 30.3; LR-MS (EI) *m/z* 476 (M⁺), (100%); HR-MS (EI) Calcd. for C₂₅H₃₂O₉: 476.2036, found: 478.2046.

GO-Y147



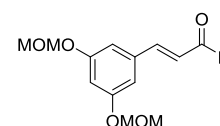
Colorless oil; IR (CHCl₃): 2923, 1654, 1598, 1449 cm⁻¹; ¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 7.64 (2H, d, *J* = 16.0 Hz), 7.04 (2H, d, *J* = 16.0 Hz), 6.99 (4H, d, *J* = 2.2 Hz), 6.81 (2H, t, *J* = 2.2 Hz), 5.30 (8H, s), 3.84 (8H, t, *J* = 4.6 Hz), 3.58 (8H, t, *J* = 4.6 Hz), 3.39 (12H, s); ¹³C-NMR (100 MHz, CDCl₃) δ 188.7, 158.5, 143.0, 136.8, 126.0, 109.7, 107.2, 93.5, 71.5, 67.8, 67.7, 59.01, 58.95; LR-MS (EI) *m/z* 650 (M⁺), 89 (100%); HR-MS (EI) Calcd. for C₃₃H₄₆O₁₃: 650.2938, found: 650.2933.

GO-Y148



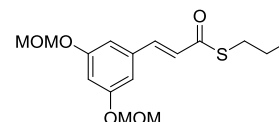
Colorless oil; IR (CHCl₃): 2952, 1719, 1640, 1591, 1438, 1277 cm⁻¹; ¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 7.60 (1H, d, *J* = 16.2 Hz), 6.87 (2H, d, *J* = 2.3 Hz), 6.77 (1H, t, *J* = 2.3 Hz), 6.41 (1H, d, *J* = 16.2 Hz), 5.16 (4H, s), 3.80 (3H, s), 3.48 (6H, s); ¹³C-NMR (100 MHz, CDCl₃) δ 167.2, 158.6, 144.5, 136.5, 118.6, 109.4, 106.9, 94.5, 56.1, 51.7; LR-MS (EI) *m/z* 282 (M⁺), 45 (100%); HR-MS (EI) Calcd. for C₁₄H₁₈O₆: 282.1103, found: 282.1098.

GO-Y149



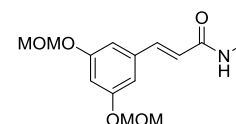
Colorless oil; IR (CHCl₃): 1678, 1590, 1451, 1295 cm⁻¹; ¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 9.69 (1H, d, *J* = 7.7 Hz), 7.40 (1H, d, *J* = 15.9 Hz), 6.92 (2H, d, *J* = 2.1 Hz), 6.82 (1H, t, *J* = 2.1 Hz), 6.69 (1H, dd, *J* = 15.9, 7.7 Hz), 5.18 (4H, s), 3.49 (6H, s); ¹³C-NMR (100 MHz, CDCl₃) δ 193.6, 158.7, 152.3, 136.0, 129.2, 109.7, 107.8, 94.5, 56.1; LR-MS (EI) *m/z* 252 (M⁺), 45 (100%); HR-MS (EI) Calcd. for C₁₃H₁₆O₅: 252.0998, found: 252.0989.

GO-Y150



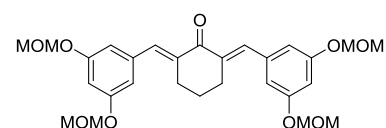
Colorless oil; IR (CHCl₃): 2961, 2931, 1664, 1616, 1590, 1450, 1399, 1271 cm⁻¹; ¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 7.51 (1H, d, *J* = 15.7 Hz), 6.88 (2H, d, *J* = 2.3 Hz), 6.77 (1H, t, *J* = 2.3 Hz), 6.67 (1H, d, *J* = 15.7 Hz), 5.17 (4H, s), 3.48 (6H, s), 2.99 (2H, t, *J* = 7.3 Hz), 1.67 (2H, quin, *J* = 7.3 Hz), 1.01 (3H, t, *J* = 7.3 Hz); ¹³C-NMR (100 MHz, CDCl₃) δ 189.7, 158.50, 158.48, 139.8, 136.2, 125.7, 109.4, 107.0, 94.4, 56.0, 30.8, 22.9, 13.3; LR-MS (EI) *m/z* 326 (M⁺), 45 (100%); HR-MS (EI) Calcd. for C₁₆H₂₂O₅S: 326.1185, found: 326.1194.

GO-Y151



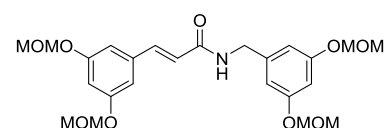
Colorless solid; mp 98–100 °C; IR (CHCl₃): 3235, 1658, 1606, 1590 cm⁻¹; ¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 7.53 (1H, d, *J* = 15.7 Hz), 6.85 (2H, d, *J* = 2.1 Hz), 6.73 (1H, t, *J* = 2.1 Hz), 6.34 (1H, d, *J* = 15.7 Hz), 5.59 (1H, brs), 5.16 (4H, s), 3.48 (6H, s), 2.94 (3H, d, *J* = 4.9 Hz); ¹³C-NMR (100 MHz, CDCl₃) δ 166.4, 158.6, 140.6, 137.0, 121.3, 109.1, 106.3, 94.6, 56.1, 26.5; LR-MS (EI) *m/z* 281 (M⁺), 45 (100%); HR-MS (EI) Calcd. for C₁₄H₁₉NO₅: 281.1263, found: 281.1291.

GO-Y152



Yellow oil; IR (CHCl₃): 2952, 2826, 1668, 1590, 1436, 1400 cm⁻¹; ¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 7.69 (2H, s), 6.81 (4H, d, *J* = 2.1 Hz), 6.74 (2H, t, *J* = 2.1 Hz), 5.17 (8H, s), 3.48 (12H, s), 2.91 (4H, t, *J* = 5.9 Hz), 1.79 (2H, quint, *J* = 5.9 Hz); ¹³C-NMR (100 MHz, CDCl₃) δ 190.2, 158.1, 137.9, 136.68, 136.62, 111.8, 105.3, 94.6, 56.1, 28.4, 22.9; LR-MS (EI) *m/z* 514 (M⁺), 469 (100%); HR-MS (EI) Calcd. for C₂₈H₃₄O₉: 514.2203, found: 514.2218.

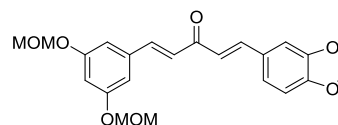
GO-Y154



To a solution of **GO-Y157** (36.6 mg, 0.136 mmol) and PPh_3 (3.7 mg, 0.0136 mmol) and PhSiH (16.7 μL , 0.136 mmol) in dry toluene (0.23 mL) was added azide **56** (261 μL , 0.73 M toluene solution, 0.19 mmol). After refluxed for 1 day, the reaction mixture was purified by silica gel column chromatography (EtOAc/Hexane = 1/1.5 to EtOAc) to give **GO-Y154** (35 mg, 0.073 mmol, 54%).

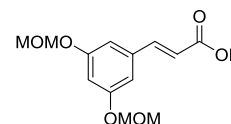
Colorless solid; mp 89–90 °C; IR (CHCl_3): 3282, 2955, 1659, 1597, 1546, 1455 cm^{-1} ; $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ 7.56 (1H, d, $J = 15.5$ Hz), 6.84 (2H, d, $J = 2.3$ Hz), 6.73 (1H, t, $J = 2.3$ Hz), 6.65 (3H, s), 6.39 (1H, d, $J = 15.5$ Hz), 6.05 (1H, brs), 5.15 (4H, s), 5.14 (4H, s), 4.49 (2H, d, $J = 5.3$ Hz), 3.47 (6H, s), 3.46 (6H, s); $^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, CDCl_3) δ 165.5, 158.51, 158.49, 141.0, 140.5, 136.8, 121.1, 109.1, 106.3, 103.8, 94.5, 94.4, 56.04, 56.03, 43.8; LR-MS (EI) m/z 478 ($[\text{M} + \text{H}]^+$), 69 (100%); HR-MS (EI) Calcd. for $\text{C}_{24}\text{H}_{32}\text{NO}_9$: 478.2077, found: 478.2077.

GO-Y156



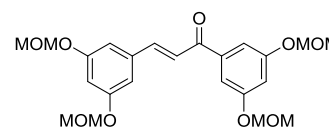
Yellow plate (EtOAc:hexane = 1.5:1) mp 104–108 °C; IR (CHCl_3): 1650, 1590, 1502, 1489, 1447 cm^{-1} ; $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ 7.65 (1H, d, $J = 16.1$ Hz), 7.62 (1H, d, $J = 16.1$ Hz), 7.13 (1H, d, $J = 1.8$ Hz), 7.10 (1H, dd, $J = 8.0, 1.8$ Hz), 7.00 (1H, d, $J = 16.1$ Hz), 6.96 (2H, d, $J = 2.3$ Hz), 6.92 (1H, d, $J = 16.1$ Hz), 6.84 (1H, d, $J = 7.9$ Hz), 6.79 (1H, t, $J = 2.3$ Hz), 6.02 (2H, s), 5.19 (4H, s), 3.50 (6H, s); $^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, CDCl_3) δ 188.6, 158.5, 149.9, 148.4, 143.2, 142.6, 136.9, 129.2, 126.3, 125.1, 123.3, 109.5, 108.6, 107.0, 106.6, 101.6, 94.5, 56.1; LR-MS (EI) m/z 398 (M^+ , 100%); HR-MS (EI) Calcd. for $\text{C}_{22}\text{H}_{22}\text{O}_7$: 398.1366, found: 398.1392.

GO-Y157



Colorless needle (EtOAc:hexane = 1.5:1) mp 126–128 °C; IR (CHCl_3): 2946, 2904, 1688, 1634, 1598, 1279 cm^{-1} ; $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ 7.70 (1H, d, $J = 15.9$ Hz), 6.90 (2H, d, $J = 2.1$ Hz), 6.79 (1H, t, $J = 2.1$ Hz), 6.43 (1H, d, $J = 15.9$ Hz), 5.18 (4H, s), 3.49 (6H, s); $^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, CDCl_3) δ 172.0, 158.6, 146.7, 136.1, 118.1, 109.6, 107.3, 94.5, 56.1; LR-MS (EI) m/z 268 (M^+), 45 (100%); HR-MS (EI) Calcd. for $\text{C}_{13}\text{H}_{16}\text{O}_6$: 268.0947, found: 268.9824.

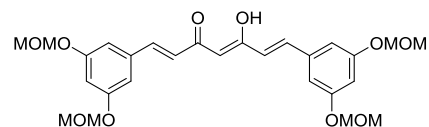
GO-Y158



Yellow solid (EtOAc:hexane = 1:2) mp 82–83 °C; IR (CHCl_3): 2955, 1665, 1590, 1450, 1400 cm^{-1} ; $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ 7.69 (1H, d, $J = 15.7$ Hz), 7.37 (1H, d, $J = 15.7$ Hz), 7.30 (2H, d, $J = 1.9$ Hz), 6.98–6.96 (3H, m),

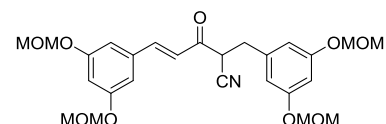
6.81 (1H, t, $J = 2.1$ Hz), 5.21 (4H, s), 5.19 (4H, s), 3.503 (6H, s), 3.496 (6H, s); $^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, CDCl_3) δ 189.9, 158.6, 158.4, 144.7, 140.2, 136.9, 122.8, 109.8, 109.7, 109.1, 107.0, 94.54, 94.51, 56.2, 56.1; LR-MS (EI) m/z 448 (M^+), 45 (100%); HR-MS (EI) Calcd. for $\text{C}_{23}\text{H}_{28}\text{O}_9$: 448.1733, found: 448.1736.

GO-Y159



Yellow needle (EtOAc:hexane = 1:2) mp 200–201 °C; IR (CHCl_3): 1631, 1591, 1146 cm^{-1} ; $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ 7.57 (2H, d, $J = 15.7$ Hz), 6.91 (4H, d, $J = 2.2$ Hz), 6.77 (2H, t, $J = 2.2$ Hz), 6.59 (2H, d, $J = 15.7$ Hz), 5.86 (1H, s), 5.19 (8H, s), 3.50 (12H, s); $^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, CDCl_3) δ 183.2, 158.6, 140.3, 137.1, 124.8, 109.4, 106.7, 101.9, 94.5, 56.1; LR-MS (FAB) m/z 517 ($[\text{M}+\text{H}]^+$), 154 (100%); HR-MS (FAB) Calcd. for $\text{C}_{27}\text{H}_{33}\text{O}_{10}$: 517.2074, found: 517.2074.

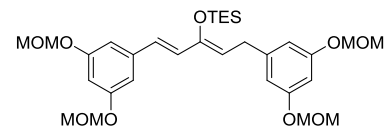
GO-Y160



To a solution of **GO-Y134** (82 mg, 0.172 mmol) in dry THF (5 ml) was added LHMDS (0.39 mL of 1.3 M solution in THF, 0.52 mmol) at -40 °C. After 35 min, to the reaction mixture was added TsCN (124 mg, 0.688 mmol) in dry THF (1 ml) at -40 °C. After 20 min, the mixture was quenched with saturated aqueous NH_4Cl . The resulting solution was extracted with AcOEt. The combined organic extracts were washed with brine, dried over MgSO_4 and concentrated *in vacuo*. The residue was purified by flash silica gel column chromatography (EtOAc/Hexane = 1/4 to 1/2) to give **GO-Y160** (41.8 mg, 0.0832 mmol, 48%) as a colorless oil.

Colorless oil; IR (CHCl_3): 2926, 2201, 1697, 1595 cm^{-1} ; $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ 7.64 (1H, d, $J = 15.9$ Hz), 6.90 (2H, d, $J = 1.8$ Hz), 6.88 (1H, d, $J = 15.9$ Hz), 6.83 (1H, t, $J = 1.8$ Hz), 6.66 (1H, t, $J = 1.9$ Hz), 6.63 (2H, d, $J = 1.9$ Hz), 5.18 (4H, s), 5.14 (4H, s), 3.91 (1H, dd, $J = 8.9, 5.8$ Hz), 3.49 (6H, s), 3.46 (6H, s), 3.24 (1H, dd, $J = 14.0, 5.8$ Hz), 3.10 (1H, dd, $J = 14.0, 8.9$ Hz); $^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, CDCl_3) δ 188.9, 158.63, 158.59, 146.4, 138.1, 135.6, 122.1, 117.0, 110.3, 110.0, 108.0, 104.0, 94.5, 56.1, 56.0, 44.7, 35.3; LR-MS (EI) m/z 501 (M^+), 45 (100%); HR-MS (EI) Calcd. for $\text{C}_{26}\text{H}_{31}\text{NO}_9$: 501.1999, found: 501.1975.

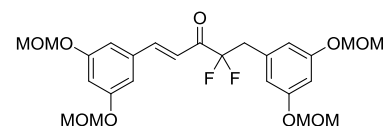
{{(1E,3Z)-1,5-Bis[3,5-bis(methoxymethoxy)phenyl]penta-1,3-dien-3-yl}oxy} triethylsilane (S1-1)



To a solution of **GO-Y134** (188 mg, 0.393 mmol) in dry THF (16 ml) was added LHMDS (0.81 mL of 1.3 M solution in THF, 1.05 mmol) at -40 °C. After 7 min, to the reaction mixture was added TESCOI (171 μL , 1.02 mmol) at -40 °C.

After 1 h, the mixture was quenched with Et₃N (Pasteur pipette 14 drops) and saturated aqueous NaHCO₃. The resulting solution was extracted with EtOAc. The combined organic extracts were washed with brine, dried over MgSO₄ and concentrated *in vacuo*. The residue was purified by flash silica gel column chromatography (EtOAc/Hexane = 1/4 to 1/2) to give silyl enol ether **S1-1** (208 mg, 0.0350 mmol, 89%) that was used in the next reaction without further purification.

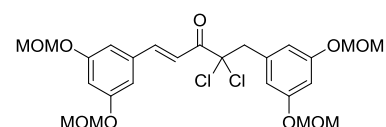
GO-Y161



To a Selectfluor[®] (113 mg, 0.32 mmol) was added resultant crude silyl enol ether **S5** (47.4 mg, 0.802 mmol) in dry DMF (8 ml) at 0 °C. After being stirred for 29 h at room temperature, the reaction mixture was quenched with saturated aqueous NaHCO₃. The resulting solution was extracted with AcOEt. The combined organic extracts were washed with brine, dried over MgSO₄ and concentrated *in vacuo*. The residue was purified by flash silica gel column chromatography (EtOAc/Hexane = 1/4 to 1/2) to give α -fluoro enone **8** (26.6 mg, 0.0536 mmol, 67%) as a colorless oil. After same procedure was repeated, **GO-Y161** (9.85 mg, 0.0192 mmol, 94% for 2 steps) was given.

Colorless oil; IR (CHCl₃): 2956, 2904, 1704, 1609, 1455, 1440 cm⁻¹; ¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 7.72 (1H, d, J = 15.7 Hz), 6.95 (1H, d, J = 15.7 Hz), 6.89 (2H, d, J = 2.3 Hz), 6.81 (1H, t, J = 2.3 Hz), 6.67 (1H, t, J = 2.0 Hz), 6.63 (2H, d, J = 2.0 Hz), 5.17 (4H, s), 5.13 (4H, s), 3.48 (6H, s), 3.45 (6H, s), 3.32 (2H, t, ³ J_{HF} = 17.1 Hz); ¹³C-NMR (100 MHz, CDCl₃) δ 189.1 (t, ² J_{CF} = 30.3 Hz), 158.6, 158.2, 147.2, 135.9, 133.2 (t, ³ J_{CF} = 4.1 Hz), 118.7, 117.4 (t, ¹ J_{CF} = 253.9 Hz), 112.2, 110.0, 108.0, 104.1, 94.47, 94.45, 56.1, 56.0, 39.7 (t, ² J_{CF} = 23.7 Hz); LR-MS (EI) m/z 512 (M⁺), 45 (100%); HR-MS (EI) Calcd. for C₂₅H₃₀O₉F₂: 512.1858, found: 512.1855.

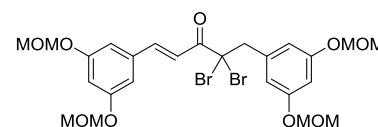
GO-Y162



To a solution of **GO-Y134** (45.0 mg, 0.0944 mmol) in dry THF (1 mL) was added LHMDs (0.10 mL of 1.3 M solution in THF, 0.141 mmol) at -40 °C. After 20 min, to the reaction mixture was added NCS (37.8 mg, 0.283 mmol) in dry THF (0.8 mL). After being stirred for 30 min at -40 °C, the reaction mixture was quenched with saturated aqueous NaHCO₃. The resulting solution was extracted with EtOAc. The combined organic extracts were washed with brine, dried over MgSO₄ and concentrated *in vacuo*. The residue was purified by flash silica gel column chromatography (EtOAc/Hexane = 1/5 to 1/2) to give α -chloro enone **58** (24.1 mg, 0.0471 mmol, 50%) and **GO-Y162** (14.0 mg, 0.0257 mmol, 27%). α -Chloro enone **58** was converted to **GO-Y162** (11.1 mg, 0.0204 mmol, 43%) with repeated procedure.

Colorless oil; IR (CHCl₃): 2955, 1725, 1698, 1610, 1595, 1456, 1439, 1400 cm⁻¹; ¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 7.78 (1H, d, *J* = 15.5 Hz), 7.38 (1H, d, *J* = 15.5 Hz), 6.95 (2H, d, *J* = 1.9 Hz), 6.82 (1H, t, *J* = 1.9 Hz), 6.75 (2H, d, *J* = 1.9 Hz), 6.72 (1H, m), 5.19 (4H, s), 5.15 (4H, s), 3.64 (2H, s), 3.49 (6H, s), 3.47 (6H, s); ¹³C-NMR (100 MHz, CDCl₃) δ 186.8, 158.6, 157.8, 146.8, 136.2, 135.9, 119.5, 113.3, 110.0, 107.5, 104.1, 94.6, 94.5, 87.8, 56.15, 56.05, 47.7; LR-MS (EI) *m/z* 544 (M⁺), 45 (100%); HR-MS (EI) Calcd. for C₂₅H₃₀O₉Cl₂: 544.1267, found: 544.1265.

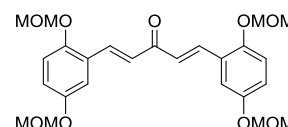
GO-Y163



To a solution of **GO-Y134** (25.5 mg, 0.0534 mmol) in dry THF (1 mL) was added LHMDS (0.08 mL of 1.3 M solution in THF, 0.11 mmol) at -40 °C. After 30 min, to the reaction mixture was added NBS (23.7 mg, 0.133 mmol) in dry THF (1.5 ml) at -40 °C. After 30 min, the mixture was quenched with saturated aqueous NaHCO₃. The resulting solution was extracted with AcOEt. The combined organic extracts were washed with brine, dried over MgSO₄ and concentrated *in vacuo*. The residue was purified by flash silica gel column chromatography (EtOAc/Hexane = 1/4) to give **GO-Y163** (14.7 mg, 0.0232 mmol, 43%) as a colorless oil.

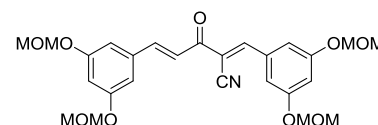
Colorless oil; IR (CHCl₃): 2954, 1688, 1610, 1593, 1455 cm⁻¹; ¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 7.76 (1H, d, *J* = 15.5 Hz), 7.55 (1H, d, *J* = 15.5 Hz), 6.96 (2H, d, *J* = 2.3 Hz), 6.83 (1H, t, *J* = 2.3 Hz), 6.80 (2H, d, *J* = 2.3 Hz), 6.73 (1H, t, *J* = 2.3 Hz), 5.19 (4H, s), 5.16 (4H, s), 3.83 (2H, s), 3.49 (6H, s), 3.48 (6H, s); ¹³C-NMR (100 MHz, CDCl₃) δ 186.7, 158.6, 157.7, 146.1, 137.6, 136.2, 120.7, 113.3, 110.0, 107.4, 104.1, 94.7, 94.5, 69.1, 56.2, 56.1, 49.2; LR-MS (EI) *m/z* 634 (M⁺), 45 (100%); HR-MS (EI) Calcd. for C₂₅H₃₀O₉⁷⁹Br⁸¹Br: 634.0237, found: 634.0220.

GO-Y164



Yellow solid (EtOAc:hexane = 1:6) mp 64–66 °C; IR (CHCl₃): 2954, 1688, 1610, 1593, 1455 cm⁻¹; ¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 8.07 (2H, d, *J* = 16.1 Hz), 7.33 (2H, d, *J* = 2.9 Hz), 7.11 (2H, d, *J* = 16.1 Hz), 7.11 (2H, s), 7.05 (2H, dd, *J* = 9.3, 2.9 Hz), 5.22 (4H, s), 5.16 (4H, s), 3.51 (6H, s), 3.50 (6H, s); ¹³C-NMR (100 MHz, CDCl₃) δ 189.3, 152.0, 151.5, 137.7, 126.4, 125.5, 119.8, 116.4, 115.2, 95.2, 95.0, 56.2, 55.9; LR-MS (EI) *m/z* 474 (M⁺), 45 (100%); HR-MS (EI) Calcd. for C₂₅H₃₀O₉: 474.1890, found: 474.1895.

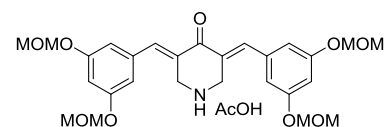
GO-Y165



To a solution of **GO-Y160** (4.25 mg, 0.00847 mmol) in dry benzene (0.8 mL) was added DDQ (2.47 mg, 0.0108 mmol). After 23 h, to the reaction mixture was added DDQ (4.8 mg, 15 mmol). After being stirred for 7 h at room temperature, the reaction was diluted with Et₂O, quenched with saturated aqueous NaHCO₃, and extracted with Et₂O. The combined organic layers were washed with saturated aqueous NaHCO₃, dried over MgSO₄, and concentrated *in vacuo*. The residue was purified by flash silica gel column chromatography (EtOAc/Hexane = 1/3 to 1/1) to give **GO-Y165** (1.28 mg, 0.00272 mmol, 32%) and **GO-Y160** (1.36 mg, 0.00271 mmol, 32%).

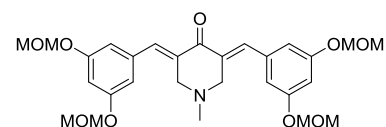
Yellow solid; mp: 107–108 °C; IR (CHCl₃): 2923, 2216, 1676, 1590, 1438 cm⁻¹; ¹H-NMR (600 MHz, CDCl₃) δ 8.23 (1H, s), 7.83 (1H, d, *J* = 15.4 Hz), 7.46 (1H, d, *J* = 15.4 Hz), 7.40 (2H, d, *J* = 2.1 Hz), 7.00 (2H, d, *J* = 2.4 Hz), 6.95 (1H, t, *J* = 2.1 Hz), 6.85 (1H, t, *J* = 2.4 Hz), 5.22 (4H, s), 5.20 (4H, s), 3.51 (6H, s), 3.50 (6H, s); ¹³C-NMR (150 MHz, CDCl₃) δ 181.9, 158.6, 153.8, 146.9, 136.1, 133.6, 121.1, 117.2, 112.2, 110.8, 110.3, 110.1, 107.8, 94.6, 94.5, 56.23, 56.18; LR-MS (EI) *m/z* 499 (M⁺), 45 (100%); HR-MS (EI) Calcd. for C₂₆H₂₉NO₉: 499.1842, found: 499.1849.

GO-Y166



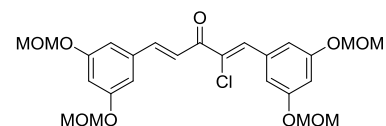
Yellow oil; IR (CHCl₃): 2954, 1590, 1438, 1400 cm⁻¹; ¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 7.83 (2H, brs), 7.74 (2H, s), 6.76 (2H, t, *J* = 1.9 Hz), 6.72 (4H, d, *J* = 1.9 Hz), 5.17 (8H, s), 4.17 (4H, s), 3.48 (12H, s), 1.96 (3H, s); ¹³C-NMR (100 MHz, CDCl₃) δ 186.8, 176.0, 158.2, 136.8, 136.7, 133.9, 111.7, 105.8, 94.5, 56.0, 47.0, 21.4; LR-MS (EI) *m/z* 515 (M⁺-HOAc, 100%); HR-MS (EI) Calcd. for C₂₇H₃₃NO₉: 515.2155, found: 515.2132.

GO-Y167



Yellow oil; IR (CHCl₃): 2951, 1674, 1591, 1448 cm⁻¹; ¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 7.71 (2H, s), 6.76–6.75 (6H, m), 5.17 (8H, s), 3.75 (4H, s), 3.49 (12H, s), 2.45 (3H, s); ¹³C-NMR (150 MHz, CDCl₃) δ 186.6, 158.1, 137.0, 135.9, 133.5, 111.6, 105.4, 94.5, 56.8, 55.9, 45.6; LR-MS (EI) *m/z* 529 (M⁺, 100%); HR-MS (EI) Calcd. for C₂₈H₃₅NO₉: 529.2312, found: 529.2294.

GO-Y168

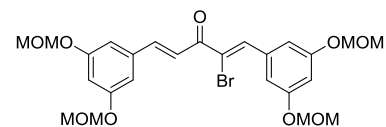


To a solution of **GO-Y162** (10.1 mg, 0.0184 mmol) in dry DMF (1.8 mL) was added Li₂CO₃ (2.7 mg, 0.0369 mmol). After being stirred for 8 h at 120 °C, the reaction was quenched with saturated aqueous NH₄Cl, and extracted with Et₂O. The combined organic layers were dried over MgSO₄, and concentrated *in vacuo*. The residue was purified by

flash silica gel column chromatography (EtOAc/Hexane = 1/4) to give **GO-Y168** (6.76 mg, 0.0132 mmol, 72%) as a yellow amorphous.

Yellow amorphous (AcOEt:hexane = 1:6) mp 85–89 °C; IR (CHCl₃): 2955, 1664, 1590, 1466 cm⁻¹; ¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 7.77 (1H, s), 7.73 (1H, d, *J* = 15.6 Hz), 7.50 (1H, d, *J* = 15.6 Hz), 7.25 (2H, d, *J* = 2.0 Hz), 6.98 (2H, d, *J* = 2.0 Hz), 6.83–6.81 (2H, m), 5.20, (8H, s), 3.50 (12H, s); ¹³C-NMR (100 MHz, CDCl₃) δ 185.1, 158.6, 158.2, 145.7, 136.6, 135.3, 134.9, 131.1, 121.0, 112.2, 109.9, 107.3, 107.0, 94.6, 94.5, 56.18, 56.16; LR-MS (FAB) *m/z* 508 (M⁺), 45 (100%); HR-MS (FAB) Calcd. for C₂₅H₂₉O₉Cl: 508.1500, found: 508.1504.

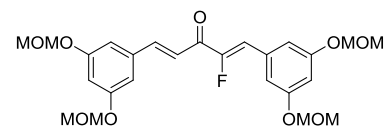
GO-Y169



To a solution of **GO-Y163** (3.66 mg, 0.00577 mmol) in dry DMF (0.57 mL) was added Li₂CO₃ (0.9 mg, 0.01 mmol). After being stirred for 1.75 h at 120 °C, the reaction was quenched with saturated aqueous NH₄Cl, and extracted with Et₂O. The combined organic layers were dried over MgSO₄, and concentrated *in vacuo*. The residue was purified by silica gel column chromatography (EtOAc/Hexane = 1/3 to 1/2) to give **GO-Y169** (3.01 mg, 0.00543 mmol, 94%) as a yellow amorphous.

Yellow amorphous (AcOEt:hexane = 1:6) mp 79–82 °C; IR (CHCl₃): 2954, 1662, 1589, 1448 cm⁻¹; ¹H-NMR (600 MHz, CDCl₃) δ 7.99 (1H, s), 7.70 (1H, d, *J* = 15.7 Hz), 7.47 (1H, d, *J* = 15.7 Hz), 7.25 (2H, d, *J* = 2.1 Hz), 6.97 (2H, d, *J* = 2.1 Hz), 6.828 (1H, t, *J* = 2.1 Hz), 6.821 (1H, t, *J* = 2.1 Hz), 5.20 (8H, s), 3.50 (12H, s); ¹³C-NMR (150 MHz, CDCl₃) δ 185.5, 158.6, 158.1, 145.6, 138.9, 136.6, 135.7, 123.8, 121.7, 111.6, 109.9, 107.3, 107.0, 94.6, 94.5, 56.2, 56.1; LR-MS (EI) *m/z* 552 (M⁺), 45 (100%); HR-MS (EI) Calcd. for C₂₅H₂₉O₉Br: 552.0995, found: 552.0957.

GO-Y170

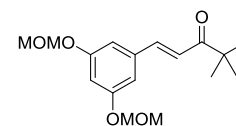


To a solution of silyl enol ether **S1-1** (0.01 M in THF, 8 mL, 0.080 mmol) was added NBS (17.6 mg, 0.0992 mmol) at 0 °C. After being stirred for 20 min at 0 °C, the mixture was quenched with saturated aqueous NaHCO₃. The resulting solution was extracted with AcOEt. The combined organic extracts were washed with brine, dried over MgSO₄ and concentrated *in vacuo*. The residue was purified by flash silica gel column chromatography (EtOAc/Hexane = 1/4) to give bromoketone (43.0 mg, 0.0776 mmol) as a crude oil. To a solution of bromoketone (0.0776 mmol) in dry THF (3 mL) was added TESCOI (0.13 mL, 0.776 mmol) and LHMDS (0.59 mL of 1.3 M solution in THF, 0.776 mmol) at -40 °C. After 30 min, the mixture was quenched with Et₃N (Pasteur pipette 6 drops) and saturated aqueous NaHCO₃. The resulting solution was extracted with AcOEt. The combined organic extracts were washed with brine, dried over MgSO₄ and concentrated *in vacuo*. The residue was purified by flash silica gel column

chromatography (EtOAc/Hexane = 1/6 to 1/4) to give α -bromo silyl enol ether (41.6 mg, 0.0621 mmol). To a Selectfluor[®] (87.9 mg, 0.248 mmol) was added resultant α -bromo silyl enol ether (41.6 mg, 0.0621 mmol) in dry DMF (5 mL) at 0 °C. After being stirred for 5 h at room temperature, the reaction mixture was quenched with saturated aqueous NaHCO₃. The resulting solution was extracted with AcOEt. The combined organic extracts were washed with brine, dried over MgSO₄ and concentrated *in vacuo*. The residue was purified by flash silica gel column chromatography (EtOAc/Hexane = 1/4 to 1/2) to give α -bromo α -fluoro enone **57** (29.5 mg, 0.0514 mmol). To a solution of resultant α -bromo α -fluoro enone **57** (29.5 mg, 0.0514 mmol) in dry DMF (5 mL) was added Li₂CO₃ (7.6 mg, 0.102 mmol). After being stirred for 1.75 h at 120 °C, the reaction mixture was quenched with saturated aqueous NH₄Cl. The resulting solution was extracted with AcOEt. The combined organic extracts were washed with brine, dried over MgSO₄ and concentrated *in vacuo*. The residue was purified by preparative TLC (EtOAc/toluene = 1/17, thrice) to give **GO-Y170** (14.6 mg, 0.0296 mmol, 64% for 4 steps) as a yellow amorphous.

Yellow amorphous; mp 80–83 °C; IR (CHCl₃): 2956, 1680, 1590, 1440 cm⁻¹; ¹H-NMR (600 MHz, CDCl₃) δ 7.78 (1H, d, *J* = 15.7 Hz), 7.33 (1H, dd, *J* = 15.7, 2.7 Hz), 7.08 (2H, d, *J* = 2.2 Hz), 6.98 (2H, d, *J* = 2.1 Hz), 6.89 (1H, d, ³*J*_{HF} = 36.2 Hz), 6.82 (1H, t, *J* = 2.2 Hz), 6.79 (1H, t, *J* = 2.1 Hz), 5.20 (4H, s), 5.19 (4H, s), 3.50 (12H, s); ¹³C-NMR (150 MHz, CDCl₃) δ 183.1 (d, ²*J*_{CF} = 31.5 Hz), 158.6, 158.4, 155.0 (d, ¹*J*_{CF} = 275.1 Hz), 145.5, 136.5, 133.1 (³*J*_{CF} = 3.0 Hz), 120.1, 115.9 (²*J*_{CF} = 4.3 Hz), 112.0 (d, ⁴*J*_{CF} = 8.6 Hz), 110.0, 107.6, 106.8, 94.6, 94.5, 56.18, 56.16; LR-MS (FAB) *m/z* 492 (M⁺), 45 (100%); HR-MS (FAB) Calcd. for C₂₅H₂₉O₉F: 492.1796, found: 492.1800.

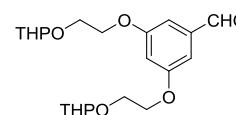
GO-Y171



Colorless oil; IR (CHCl₃): 2965, 1684, 1610, 1589, 1477, 1283 cm⁻¹; ¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 7.58 (1H, *J* = 15.6 Hz), 7.06 (1H, d, *J* = 15.6 Hz), 6.90 (2H, d, *J* = 2.0 Hz), 6.79–6.77 (1H, m), 5.18 (4H, s), 3.49 (6H, s), 1.22 (9H, s); ¹³C-NMR (100 MHz, CDCl₃) δ 203.9, 158.4, 142.5, 136.9, 121.3, 109.5, 106.5, 94.4, 56.0, 43.1, 26.2; LR-MS (EI) *m/z* 308 (M⁺), 45 (100%); HR-MS (EI) Calcd. for C₁₇H₂₄O₅: 308.1624, found: 308.1610.

Compound Data (Other)

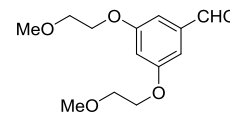
3,5-Bis-[2-(tetrahydro-pyran-2-yloxy)-ethoxy]-benzaldehyde (S1-2)



Colorless oil; IR (neat): 2941, 2872, 1698, 1593, 1449 cm⁻¹; ¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 9.89 (1H, s), 7.05 (2H, d, *J* = 2 Hz), 6.80 (1H, t, *J* = 2.2 Hz), 4.71 (2H, t, *J* = 3.4 Hz), 4.21–4.18 (4H, m), 4.06 (2H, dt, *J* = 11.2, 5.1 Hz), 3.89–3.87 (2H, m), 3.85–3.81 (2H, m), 3.55–3.52 (2H, m), 1.87–1.79 (2H, m), 1.78–1.71 (2H, m), 1.67–1.51 (8H,

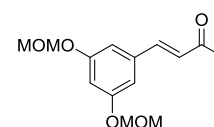
m); $^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, CDCl_3) δ 191.9, 160.5, 138.2, 108.5, 108.0, 99.0, 67.8, 65.6, 62.2, 30.5, 25.4, 19.3; LR-MS (EI) m/z 394 (M^+), 85 (100%); HR-MS (EI) Calcd. for $\text{C}_{22}\text{H}_{30}\text{O}_2$: 394.1992, found: 394.1971.

3,5-Bis-(2-methoxyethoxy)-benzaldehyde (S1-3)



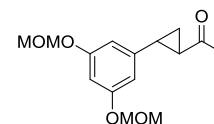
Colorless oil; IR (CHCl_3): 2930, 2730, 1697, 1593, 1448 cm^{-1} ; $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ 9.88 (1H, s), 7.04 (2H, d, $J = 2.4$ Hz), 6.79 (1H, t, $J = 1.8$ Hz), 4.15 (4H, t, $J = 4.6$ Hz), 3.76 (4H, t, $J = 4.6$ Hz), 3.45 (6H, s); $^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, CDCl_3) δ 191.8, 160.3, 138.3, 77.0, 70.7, 67.6, 59.2; LR-MS (EI) m/z 254 (M^+), 58 (100%); HR-MS (EI) Calcd. for $\text{C}_{13}\text{H}_{18}\text{O}_5$: 254.1154, found: 254.1172.

4-(3,5-Bis-methoxymethoxy-phenyl)-but-3-en-2-one (51)



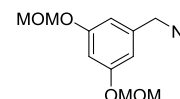
Colourless oil; IR (CHCl_3): 2927, 1652, 1590, 1441 cm^{-1} ; $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ 7.42 (1H, d, $J = 16.8$ Hz), 6.90 (2H, d, $J = 2.4$ Hz), 6.77 (1H, t, $J = 2.2$ Hz), 6.67 (1H, $J = 16$ Hz), 5.18 (4H, s), 3.49 (6H, s), 2.37 (3H, s); $^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, CDCl_3) δ 198.3, 158.6, 143.1, 136.5, 127.7, 109.4, 107.1, 94.5, 56.1, 27.4; LR-MS (EI) m/z 266 (M^+ , 100%); HR-MS (EI) Calcd. for $\text{C}_{14}\text{H}_{18}\text{O}_5$: 266.1153 found: 266.1154.

1-[2-(3,5-Bis-methoxymethoxy-phenyl)-cyclopropyl]-ethanone (52)



Colorless oil; IR (CHCl_3): 2998, 2955, 2904, 2827, 1698, 1594, 1463, 1439 cm^{-1} ; $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ 6.60–6.59 (1H, t, $J = 2.0$ Hz), 6.43 (2H, d, $J = 2.0$ Hz), 5.13 (4H, s), 3.47 (6H, s), 2.48–2.43 (1H, m), 2.29 (3H, s), 2.22–2.18 (1H, m), 1.66–1.61 (1H, m), 1.37–1.32 (1H, m); $^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, CDCl_3) δ 206.5, 158.4, 142.9, 107.5, 102.9, 94.4, 56.0, 32.7, 30.7, 28.9, 19.0; LR-MS (EI) m/z 280 (M^+), 235 (100%); HR-MS (EI) Calcd. for $\text{C}_{15}\text{H}_{20}\text{O}_5$: 266.1311 found: 266.1287.

1-(Azidomethyl)-3,5-bis(methoxymethoxy)benzene (56)



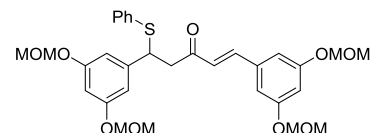
Colorless oil; IR (CHCl_3): 2956, 2827, 2102, 1598, 1460 cm^{-1} ; $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ 6.70 (1H, t, $J = 2.1$ Hz), 6.66 (2H, d, $J = 2.1$ Hz), 5.16 (4H, s), 4.27 (2H, s), 3.48 (6H, s); $^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, CDCl_3) δ 158.6, 137.7,

109.3, 104.6, 94.5, 56.0, 54.6; LR-MS (EI) m/z 253 (M^+), 45 (100%); HR-MS (EI) Calcd. for $C_{11}H_{15}N_3O_4$: 253.1063
found: 253.1067.

Chapter 1 - Section 2

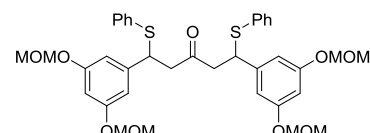
Data of GO-Yxxx compounds

GO-Y181



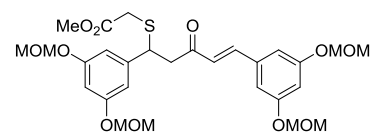
Colourless oil; IR (neat): 1689, 1662, 1593, 1439, 1400 cm^{-1} ; $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ 7.39 (1H, d, $J = 15.9$ Hz), 7.36-7.33 (2H, m), 7.25-7.22 (3H, m), 6.85 (2H, d, $J = 2.2$ Hz), 6.77 (1H, t, $J = 2.2$ Hz), 6.65 (2H, d, $J = 2.2$ Hz), 6.62 (1H, d, $J = 15.9$ Hz), 6.57 (1H, t, $J = 2.2$ Hz), 5.16 (4H, s), 5.11-5.06 (4H, m), 4.76 (1H, dd, $J = 6.9, 6.9$ Hz), 3.48 (6H, s), 3.44 (6H, s), 3.25 (1H, d, $J = 6.9$ Hz), 3.23 (1H, d, $J = 6.9$ Hz); $^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, CDCl_3) δ 196.7, 158.6, 158.2, 143.6, 142.9, 136.4, 134.2, 133.0, 128.8, 127.6, 126.8, 109.6, 109.3, 107.3, 103.8, 94.6, 94.5, 56.1, 56.0, 48.4, 46.5; LR-MS (FAB) m/z 584 (M^+), 45 (100%); HR-MS (FAB) Calcd. for $\text{C}_{31}\text{H}_{36}\text{O}_9\text{S}$: 584.2080, found: 584.2061.

GO-Y135

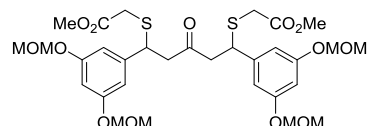


Colorless oil (diastereo mixture); IR (neat): 1714, 1593, 1438, 1400 cm^{-1} ; $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ 7.39-6.98 (10H, m), 6.77-6.68 (1H, m), 6.57-6.50 (4H, m), 6.41-6.29 (1H, m), 5.10-5.02 (8H, m), 4.97-4.79 (0.33H, m), 4.59-4.53 (1.66H, m), 3.44-3.42 (12H, m), 3.35-3.32 (1.33H, m), 3.02-2.85 (2.66H, m); $^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, CDCl_3) δ 166.8, (158.2, 158.1), (143.3, 143.3), 133.8, (133.1, 133.0), (128.8, 128.7, 128.6), (127.6, 127.6), (109.1, 109.0), (103.8, 103.8), (94.5, 94.4), (56.0, 56.0), 49.1, (47.8, 47.7); LR-MS (EI) m/z 694 (M^+), 110 (100%); HR-MS (EI) Calcd. for $\text{C}_{37}\text{H}_{42}\text{O}_9\text{S}_2$: 694.2270, found: 694.2276.

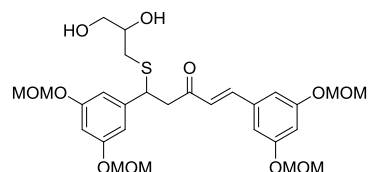
GO-Y136



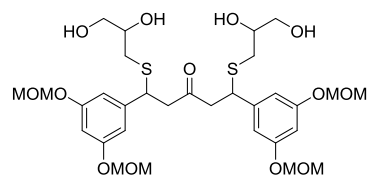
Colorless oil; IR (CDCl_3): 1736, 1592, 1438, 1213 cm^{-1} ; $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ 7.43 (1H, d, $J = 16.1$ Hz), 6.87 (2H, d, $J = 2.5$ Hz), 6.77 (1H, t, $J = 2.5$ Hz), 6.74 (1H, d, $J = 16.1$ Hz), 6.73 (2H, d, $J = 2.1$ Hz), 6.63 (1H, t, $J = 2.1$ Hz), 5.16-5.12 (8H, m), 4.56 (1H, d, $J = 6.9$ Hz), 3.69 (3H, s), 3.48 (6H, s), 3.47 (6H, s), 3.21 (2H, d, $J = 6.9$ Hz), 3.10 (2H, d, $J = 8.8$ Hz); $^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, CDCl_3) δ 196.0, 170.5, 158.6, 158.4, 143.1, 143.0, 136.4, 126.6, 109.55, 109.48, 107.2, 103.8, 94.55, 94.48, 56.1, 52.4, 46.6, 44.8, 33.0; LR-MS (EI) m/z 581 ($[\text{M}+\text{H}]^+$), 251 (100%); HR-MS (EI) Calcd. for $\text{C}_{28}\text{H}_{37}\text{O}_{11}\text{S}$: 581.2057, found: 581.2075.

GO-Y137

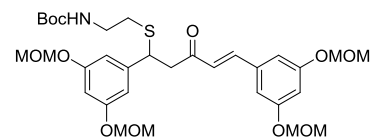
Colorless oil (diastereo mixture); IR (CHCl₃): 1736, 1592, 1438, 1213 cm⁻¹; ¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 6.64 (2H, d, *J* = 2.0 Hz), 6.62 (2H, d, *J* = 2.0 Hz), 6.60, (2H, t, *J* = 2.0 Hz), 5.16-5.07 (8H, m), 4.44-4.38 (2H, m), 3.68 (3H, s), 3.67 (3H, s), 3.47 (6H, s), 3.46 (6H, s), 3.10-2.85 (8H, m); ¹³C-NMR (100 MHz, CDCl₃) δ 202.9, (170.5, 170.4), (158.4, 158.3), (142.83, 142.81), (109.33, 109.30), (103.9, 103.8), (94.54, 94.52), (56.10, 56.09), (52.35, 52.32), 49.0, 44.1, (32.9, 32.8); LR-MS (FAB) *m/z* 686 (M⁺); HR-MS (FAB) Calcd. for C₃₁H₄₂O₁₃S₂: 686.2067, found: 686.2050.

GO-Y138

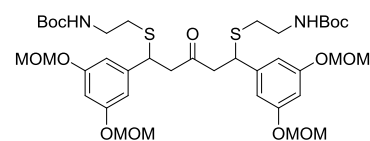
Colorless oil (diastereo mixture); IR (CDCl₃): 3450, 1658, 1593, 1453 cm⁻¹; ¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 7.46 (0.5H, d, *J* = 15.9 Hz), 7.46 (0.5H, d, *J* = 16.4 Hz), 6.88 (2H, d, *J* = 2.1 Hz), 6.77 (1H, t, *J* = 2.1 Hz), 6.74 (1H, d, *J* = 1.9 Hz), 6.73 (1H, d, *J* = 2.4 Hz), 6.68 (0.5H, d, *J* = 15.9 Hz), 6.67 (0.5H, d, *J* = 16.4 Hz), 6.64-6.62 (1H, m), 5.20-5.12 (8H, m), 4.45 (0.5H, dd, *J* = 6.1, 8.3 Hz), 4.41 (0.5H, dd, *J* = 6.1, 8.3 Hz), 3.84-3.79 (0.5H, m), 3.74-3.68 (0.5H, m), 3.70-3.56 (2H, m), 3.483 (6H, s), 3.476 (6H, s), 3.23 (0.5H, dd, *J* = 8.3, 17.0 Hz), 3.22 (0.5H, dd, *J* = 8.3, 17.0 Hz), 3.14 (1H, dd, *J* = 6.1, 17.0 Hz), 2.60-2.46 (2H, m), 1.71 (2H, brs); ¹³C-NMR (100 MHz, CDCl₃) δ (196.8, 196.6), 158.6, 158.4, 144.1, (143.3, 143.2), 136.2, 126.4, 109.5, (109.2, 109.1), 107.4, 103.9, (94.5, 94.4, 94.4, two carbon), 71.1, 69.4, 65.3, (56.1, 56.1), (47.3, 47.0), 45.2, 43.9, (35.2, 34.8); LR-MS (FAB) *m/z* 583 ([M+H]⁺); HR-MS (FAB) Calcd. for C₂₉H₃₉O₁₁S: 583.2213, found: 583.2214.

GO-Y139

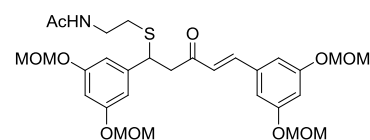
Yellow oil (diastereo mixture); IR (neat): 3420, 2925, 1715, 1597, 1460 cm⁻¹; ¹H-NMR (400 MHz, CD₃OD) δ 6.67-6.65 (2H, m), 6.64-6.62 (2H, m), 6.58-6.57 (1H, m), 6.55-6.53 (1H, m), 5.15-5.10 (8H, m), 4.27-4.22 (2H, m), 3.65-3.56 (2H, m), 3.55-3.42 (4H, m), 3.44 (6H, s), 3.42 (6H, s), 3.05-2.84 (4H, m), 2.54-2.33 (4H, m); ¹³C-NMR (100 MHz, CDCl₃) δ (206.8, 206.7), (159.7, 159.6), (145.6, 145.6, 145.6), (110.4, 110.4, 110.3, 110.3), 104.7, (95.5, 95.5), (72.7, 72.2), 65.9, (56.3, 56.3), (50.5, 50.4, 50.4), (45.7, 45.7, 45.6, 45.6), (35.5, 35.5, 35.3, 35.2); LR-MS (FAB) *m/z* 713 ([M+Na]⁺), 45 (100%); HR-MS (FAB) Calcd. for C₃₁H₄₆O₁₃S₂Ns: 713.2278, found: 713.2278.

GO-Y141

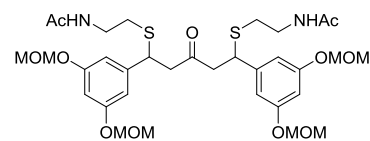
Colorless oil; IR (neat): 3377, 1711, 1663, 1593, 1509, 1454 cm^{-1} ; $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ 7.43 (1H, d, $J = 16.4$ Hz), 6.87 (2H, d, $J = 1.9$ Hz), 6.77 (1H, t, $J = 1.9$ Hz), 6.73 (2H, d, $J = 2.2$ Hz), 6.64 (1H, d, $J = 16.4$ Hz), 6.62 (1H, t, $J = 2.2$ Hz), 5.16-5.14 (8H, m), 4.96 (1H, brs), 4.39 (1H, dd, $J = 7.1, 7.1$ Hz), 3.48 (6H, s), 3.47 (6H, s), 3.30-3.11 (4H, m), 2.55-2.50 (2H, m), 1.43 (9H, s); LR-MS (FAB) m/z 652 ($[\text{M}+\text{H}]^+$); HR-MS (FAB) Calcd. for $\text{C}_{32}\text{H}_{46}\text{NO}_{11}\text{S}$: 652.2792, found: 652.2817.

GO-Y142

Colorless oil (diastereo mixture); IR (CHCl_3): 3370, 1713, 1595, 1512 cm^{-1} ; $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ 6.60 (2H, d, $J = 1.9$ Hz), 6.27-6.60 (3H, m), 6.59 (1H, t, $J = 1.9$ Hz), 5.16-5.10 (8H, m), 4.25-4.20 (2H, m), 3.47-3.46 (12H, m), 3.40-3.22 (4H, m), 2.98-2.79 (4H, m), 2.50-2.43 (4H, m), 1.40 (18H, s); $^{13}\text{C-NMR}$ (150 MHz, CDCl_3) δ 203.7, (158.49, 158.46), 155.7, (144.2, 144.1), (109.1, 109.0), (103.9, 103.8), 94.5, 79.3, 56.2, 49.9, (43.78, 43.73), 39.4, (32.03, 31.96), 28.5; LR-MS (FAB) m/z 829 ($[\text{M}+\text{H}]^+$), 57 (100%); HR-MS (FAB) Calcd. for $\text{C}_{39}\text{H}_{61}\text{N}_2\text{O}_{13}\text{S}_2$: 829.3615, found: 829.3631.

GO-Y145

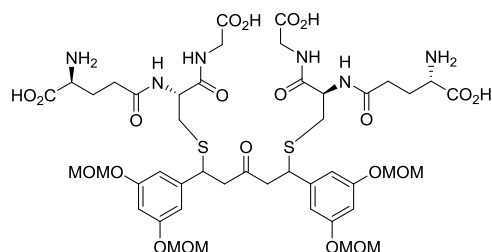
Colorless oil; IR (CHCl_3): 1659, 1593, 1453 cm^{-1} ; $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ 7.46 (1H, d, $J = 16.1$ Hz), 6.88 (2H, d, $J = 2.1$ Hz), 6.77 (1H, t, $J = 2.1$ Hz), 6.73 (2H, d, $J = 2.3$ Hz), 6.67 (1H, d, $J = 16.1$ Hz), 6.63 (1H, t, $J = 2.3$ Hz), 6.19 (1H, brs), 5.17 (4H, s), 5.15 (4H, s), 4.36 (1H, dd, $J = 8.5, 5.8$ Hz), 3.48 (6H, s), 3.47 (6H, s), 3.48-3.30 (2H, m), 3.22 (1H, dd, $J = 16.9, 8.5$ Hz), 3.11 (1H, dd, $J = 16.9, 5.8$ Hz), 2.62-2.50 (2H, m), 1.99 (3H, s); $^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, CDCl_3) δ 196.7, 170.1, 158.6, 158.5, 144.5, 143.2, 136.3, 126.6, 109.5, 109.1, 107.4, 103.8, 74.5, 56.1, 56.1, 47.1, 44.1, 38.1, 31.5, 23.2; LR-MS (FAB) m/z 594 ($[\text{M}+\text{H}]^+$); HR-MS (FAB) Calcd. for $\text{C}_{29}\text{H}_{40}\text{NO}_{10}\text{S}$: 594.2295, found: 594.2366.

GO-Y146

Colorless oil; IR (CHCl_3): 3314, 1719, 1656, 1595, 1460 cm^{-1} ; $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ 6.65 (4H, d, $J = 2.0$ Hz), 6.63 (2H, d, $J = 2.0$ Hz), 5.98 (2H, brs), 5.15 (8H, s), 4.22 (2H, t, $J = 7.1$ Hz), 3.48 (12H, s), 3.40-3.21 (4H, m),

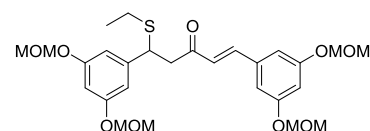
2.94-2.85 (4H, m), 2.57-2.43 (4H, m), 1.96 (6H, s); ^{13}C -NMR (100 MHz, CDCl_3) δ 204.3, (170.2, 170.1), (158.5, 158.4), (144.0, 144.0), (109.0, 108.9), (104.0, 103.9) (94.5, 94.4), (56.2, 56.1), (49.8, 49.8), (43.8, 43.7), (38.2, 38.1), (31.5, 31.4), (23.1, 23.1); LR-MS (FAB) m/z 713 ($[\text{M}+\text{H}]^+$), 45 (100%) ; HR-MS (FAB) Calcd. for $\text{C}_{33}\text{H}_{49}\text{N}_2\text{O}_{11}\text{S}_2$: 713.2778, found: 713.2795.

GO-Y140



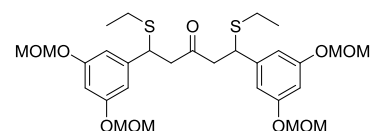
White solid; IR (solid): 3419, 1652, 1558, 1456 cm^{-1} ; ^1H -NMR (400 MHz, D_2O) δ 6.66-6.54 (6H, m), 5.21-5.18 (8H, m), 4.40-4.36 (2H, m), 4.24-4.13 (4H, m), 3.93-3.84 (4H, m), 3.79-3.73 (2H, m), 3.47 (12H, s), 3.20-2.61 (6H, m), 2.49-2.38 (4H, m), 2.20-2.06 (4H, m), 1.27 (1.16H, t, $J = 7.0$ Hz, from Et_3N); ^{13}C -NMR (100 MHz, pH 8.0 PBS buffer D_2O) δ (211.2, 211.1) (179.1, 178.94, 178.92, 178.89), (177.8, 177.5, 177.3), (176.9, 176.8, 176.7), (174.5, 174.5, 174.3), (160.4, 160.3), (146.7, 146.3), (112.7, 112.50, 112.44), (107.5, 107.3, 102.8), (97.3, 97.2), (58.8, 58.5), 57.2, 57.0), (55.7, 55.6), 49.5, 46.2 (from Et_3N), (34.3, 34.2), 29.1, 29.0, 28.3, 11.1 (from Et_3N) ; LR-MS (FAB) m/z 1089 ($[\text{M}+\text{H}]^+$), 154 (100%); HR-MS (FAB) Calcd. for $\text{C}_{45}\text{H}_{65}\text{O}_{21}\text{S}_2$: 1089.3644, found: 1089.3687.

GO-Y173



Pale yellow oil; IR (neat): 2956, 2826, 1659, 1593, 1453 cm^{-1} ; ^1H -NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 7.42 (1H, d, $J = 16.0$ Hz), 6.87 (2H, d, $J = 2.0$ Hz), 6.77 (1H, t, $J = 2.0$ Hz), 6.74 (2H, d, $J = 2.4$ Hz), 6.64 (1H, d, $J = 16.4$ Hz), 6.62 (1H, t, $J = 2.0$ Hz), 5.16-5.12 (8H, m), 4.40 (1H, t, $J = 7.2$ Hz), 3.48 (6H, s), 3.47 (6H, s), 3.16 (2H, d, $J = 6.8$ Hz), 2.41 (2H, m), 1.19 (3H, t, $J = 7.6$ Hz); ^{13}C -NMR (100 MHz, CDCl_3) δ 196.8, 158.6, 158.3, 144.7, 142.8, 136.5, 126.8, 109.5, 109.3, 107.2, 103.5, 94.6, 94.5, 56.1, 56.0, 47.2, 44.3, 25.6, 14.3; LR-MS (EI) m/z 536 $[\text{M}]^+$, 62 (100%); HR-MS (EI) Calcd. for $\text{C}_{27}\text{H}_{36}\text{O}_9\text{S}$: 536.2080, found: 536.2034.

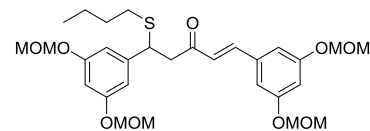
GO-Y174



Pale yellow oil (diastereo mixture); IR (neat) : 2958, 1720, 1596, 1453 cm^{-1} ; ^1H -NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 6.65 (2H, d, $J = 2.4\text{Hz}$), 6.63 (2H, d, $J = 2.8$ Hz), 6.61 (1H, t, $J = 2.2\text{Hz}$), 6.58 (1H, t, $J = 2.2$ Hz), 5.16-5.09 (8H, m), 4.27-4.22 (2H, m), 3.47 (6H, s), 3.45 (6H, s), 2.97-2.90 (2H, m), 2.88-2.79 (2H, m), 2.39-2.28 (4H, m), 1.15 (3H, t, $J =$

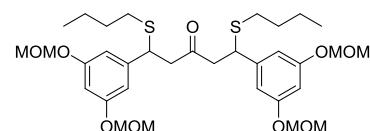
7.6 Hz), 1.13 (3H, t, 7.6 Hz); $^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, CDCl_3) δ (204.1, 204.0), (158.2, 158.1), (144.3, 144.2), (109.0, 108.9), (103.3, 103.2), 94.4, (55.90, 55.89), 49.8, (43.50, 43.48), (25.32, 25.27), (14.14, 14.12); LR-MS (EI) m/z 598 $[\text{M}]^+$, 45 (100%); HR-MS (EI) Calcd. for $\text{C}_{29}\text{H}_{42}\text{O}_9\text{S}_2$: 598.2270, found: 598.2272.

GO-Y175



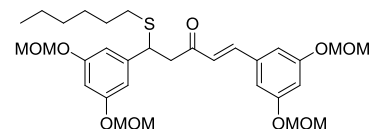
Pale yellow oil; IR (neat) : 2956, 1664, 1594, 1454 cm^{-1} ; $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ 7.42 (1H, d, $J = 15.8$ Hz), 6.86 (2H, d, $J = 2.1$ Hz), 6.78 (1H, t, $J = 2.1$ Hz), 6.74 (2H, d, $J = 2.6$ Hz), 6.64 (1H, d, $J = 15.8$ Hz), 6.61 (1H, t, $J = 2.6$ Hz), 5.16-5.11 (8H, m), 4.37 (1H, t, $J = 7.2$ Hz), 3.48 (6H, s), 3.46 (6H, s), 3.16 (2H, d, $J = 7.2$ Hz), 2.45-2.30 (2H, m), 1.54-1.45 (2H, m), 1.37-1.27 (2H, m), 0.85 (3H, t, $J = 7.2$ Hz); $^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, CDCl_3) δ 196.8, 158.6, 158.3, 144.8, 142.8, 136.5, 126.9, 109.5, 109.3, 107.2, 103.5, 94.55, 94.49, 56.09, 56.06, 47.3, 44.6, 31.3, 21.9, 13.6; LR-MS (EI) m/z 564 $[\text{M}]^+$, 474 (100%); HR-MS (EI) Calcd. for $\text{C}_{29}\text{H}_{40}\text{O}_9\text{S}$: 564.2393, found: 564.2380.

GO-Y176

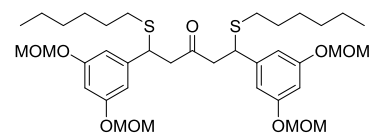


Pale yellow oil (diastereo mixture); IR (neat): 2956, 1720, 1596, 1462 cm^{-1} ; $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ 6.65 (2H, d, $J = 2.4$ Hz), 6.63 (2H, d, $J = 2.4$ Hz), 6.61 (1H, t, $J = 2.2$ Hz), 6.58 (1H, t, $J = 2.2$ Hz), 5.16-5.09 (8H, m), 4.24-4.18 (2H, m), 3.47 (6H, s), 3.45 (6H, s), 2.96-2.90 (2H, m), 2.87-2.79 (2H, m), 2.36-2.25 (4H, m), 1.45 (4H, m), 1.30 (4H, m), 0.84 (3H, t, $J = 7.2$ Hz), 0.83 (3H, t, $J = 7.6$ Hz); $^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, CDCl_3) δ (204.1, 204.0), (158.21, 158.18), (144.46, 144.41), (109.1, 109.0), 103.4, (94.43, 94.42), (56.0, 55.9), (49.90, 49.88), 43.9, (31.13, 31.11, 31.10, 31.0, two carbon), (21.82, 21.79) 13.5; LR-MS (EI) m/z 654 $[\text{M}]^+$, 56 (100%); HR-MS (EI) Calcd. for $\text{C}_{33}\text{H}_{50}\text{O}_9\text{S}_2$: 654.2896, found: 654.2852.

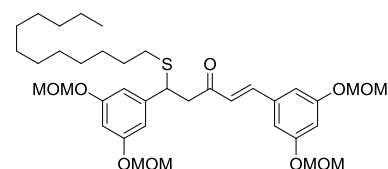
GO-Y177



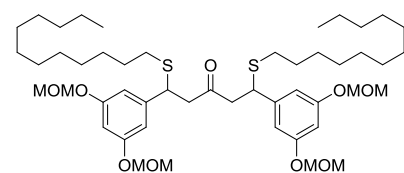
pale yellow oil; IR (neat) : 2928, 1664, 1593, 1454 cm^{-1} ; $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ 7.42 (1H, d, $J = 16.4$ Hz), 6.86 (2H, d, $J = 2.4$ Hz), 6.76 (1H, t, $J = 2.4$ Hz), 6.74 (2H, d, $J = 2.0$ Hz), 6.64 (1H, d, $J = 16.4$ Hz), 6.61 (1H, t, $J = 2.4$ Hz), 5.16-5.12 (8H, m), 4.37 (1H, t, $J = 7.4$ Hz), 3.48 (6H, s), 3.46 (6H, s), 3.16 (2H, d, $J = 7.4$ Hz), 2.43-2.30 (2H, m), 1.55-1.46 (2H, m), 1.32-1.20 (6H, m), 0.85 (3H, t, $J = 6.8$ Hz); $^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, CDCl_3) δ 196.8, 158.6, 158.3, 144.8, 142.8, 136.5, 126.8, 109.5, 109.3, 107.2, 103.5, 94.5, 56.0, 47.3, 44.6, 31.6, 31.3, 29.1, 28.5, 22.5, 13.9; LR-MS (EI) m/z 592 $[\text{M}]^+$, 56 (100%); HR-MS (EI) Calcd. for $\text{C}_{31}\text{H}_{44}\text{O}_9\text{S}$: 592.2706, found: 592.2690.

GO-Y178

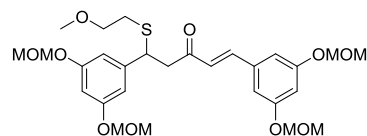
Pale yellow oil (diastereo mixture); IR (neat): 2927, 1719, 1596, 1457 cm^{-1} ; $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ 6.65 (2H, d, $J = 2.0$ Hz), 6.63 (2H, d, $J = 2.0$ Hz), 6.61 (1H, t, $J = 2.2$ Hz), 6.58 (1H, t, $J = 2.2$ Hz), 5.16-5.09 (8H, m), 4.24-4.18 (2H, m), 3.47 (6H, s), 3.45 (6H, s), 2.96-2.90 (2H, m), 2.86-2.79 (2H, m), 2.36-2.24 (4H, m), 1.46 (4H, m), 1.31-1.18 (12H, m), 0.86 (3H, t, $J = 7.2$ Hz), 0.85 (3H, t, $J = 7.2$ Hz); $^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, CDCl_3) δ 204.1, (158.22, 158.19), (144.5, 144.4), (109.1, 109.0), (103.41, 103.37), (94.43, 94.42), (56.0, 55.9), (49.91, 49.87), (43.88, 43.87), (31.44, 31.38, 31.2, two carbon), (29.03, 29.02), (28.41, 28.39), 22.4, 13.9; LR-MS (EI) m/z 710 $[\text{M}]^+$, 56 (100%); HR-MS (EI) Calcd. for $\text{C}_{37}\text{H}_{58}\text{O}_9\text{S}_2$: 710.3522, found: 710.3505.

GO-Y143

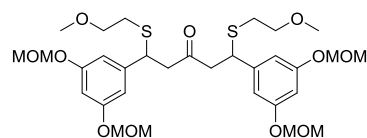
Colorless oil; IR (CHCl_3): 1692, 1666, 1592, 1454 cm^{-1} ; $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ 7.42 (1H, d, $J = 16.2$ Hz), 6.86 (2H, d, $J = 2.3$ Hz), 6.76 (1H, t, $J = 2.3$ Hz), 6.73 (2H, d, $J = 2.4$ Hz), 6.64 (1H, d, $J = 16.2$ Hz), 6.61 (1H, t, $J = 2.4$ Hz), 5.15-5.11 (8H, m), 4.36 (1H, t, $J = 7.2$ Hz), 3.48 (6H, s), 3.46 (6H, s), 3.16 (2H, d, $J = 7.2$ Hz), 2.41-2.29 (2H, m), 1.54-1.47 (2H, m), 1.32-1.22 (18H, m), 0.87 (3H, t, $J = 7.0$ Hz); $^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, CDCl_3) δ 196.8, 158.6, 158.3, 144.8, 142.8, 136.5, 126.9, 109.5, 109.3, 107.2, 103.5, 94.6, 94.5, 56.11, 56.08, 47.2, 44.6, 31.9, 31.6, (29.63, 29.61, 29.58, 29.50, 29.3, 29.2, 28.9, eight carbon), 22.7, 14.1; LR-MS (EI) m/z 676 (M^+), 474 (100%); HR-MS (EI) Calcd. for $\text{C}_{37}\text{H}_{56}\text{O}_9\text{S}$: 676.3645, found : 676.3654.

GO-Y144

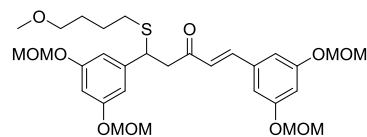
Colorless oil (diastereo mixture); IR (CHCl_3): 1720, 1595, 1462 cm^{-1} ; $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ 6.64 (2H, d, $J = 2.1$ Hz), 6.62 (2H, d, $J = 2.1$ Hz), 6.60 (1H, t, $J = 2.1$ Hz), 6.58 (1H, t, $J = 2.1$ Hz), 5.12 (8H, m), 4.23-4.18 (2H, m), 3.48 (6H, s), 3.47 (6H, s), 2.96-2.90 (2H, m), 2.85-2.78 (2H, m), 2.38-2.21 (4H, m), 1.50-1.42 (4H, m), 1.32-1.27 (36H, m), 0.87 (6H, t, $J = 6.76$ Hz); $^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, CDCl_3) δ 204.1, (158.2, 158.2), (144.5, 144.4), (109.1, 109.0), (103.4, 103.4), (94.5, 94.5), (56.0, 56.0), (49.9, 49.9), (43.9, 43.9), (31.8, 31.5, 31.4), 29.6, 29.6, 29.5, 29.4, 29.3, 29.1, 29.1, 28.8, 28.8, 22.6, 14.0; LR-MS (ESI) m/z 901 ($[\text{M}+\text{Na}]^+$), (100%), 917 ($[\text{M}+\text{K}]^+$); HR-MS (ESI) Calcd. for $\text{C}_{49}\text{H}_{82}\text{O}_9\text{S}_2\text{Na}$: 901.5292, found: 901.5260.

GO-Y179

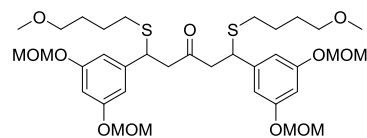
Pale yellow oil; IR (neat): 2927, 1663, 1593, 1453 cm^{-1} ; $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ 7.42 (1H, d, $J = 16.0$ Hz), 6.86 (2H, d, $J = 2.0$ Hz), 6.77 (1H, t, $J = 2.2$ Hz), 6.74 (2H, d, $J = 2.0$ Hz), 6.64 (1H, d, $J = 16.0$ Hz), 6.62 (1H, t, $J = 2.2$ Hz), 5.17-5.11 (8H, m), 4.44 (1H, t, $J = 7.2$ Hz), 3.48 (6H, s), 3.46 (6H, s), 3.45 (2H, t, $J = 5.2$ Hz), 3.30 (3H, s), 3.17 (2H, d, $J = 6.8$ Hz), 2.58 (2H, q, $J = 6.8$ Hz); $^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, CDCl_3) δ 196.8, 158.6, 158.4, 144.8, 142.9, 136.4, 126.8, 109.5, 109.3, 107.2, 103.6, 94.54, 94.48, 71.6, 58.6, 56.09, 56.08, 47.2, 44.8, 30.9; LR-MS (EI) m/z 566 $[\text{M}]^+$, 474 (100%); HR-MS (EI) Calcd. for $\text{C}_{28}\text{H}_{38}\text{O}_{10}\text{S}$: 566.2186, found: 564.2179.

GO-Y180

Pale yellow oil (diastereo mixture); IR (neat): 2926, 1718, 1596, 1458 cm^{-1} ; $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ 6.65-6.58 (6H, m), 5.16-5.09 (8H, m), 4.30-4.25 (2H, m), 3.47 (6H, s), 3.45 (6H, s), 3.44-3.36 (4H, m), 3.29 (3H, s), 3.28 (3H, s), 2.96-2.91 (2H, m), 2.87-2.80 (2H, m), 2.57-2.47 (4H, m); $^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, CDCl_3) δ 203.8, 158.4, 144.2, (109.22, 109.17), 103.6, 94.5, 71.7, 58.6, 56.1, 49.9, 44.1, 30.8; LR-MS (FAB) m/z 658 $[\text{M}]^+$, 45 (100%); HR-MS (FAB) Calcd. for $\text{C}_{31}\text{H}_{46}\text{O}_{11}\text{S}_2$: 658.2482, found: 658.2448.

GO-Y184

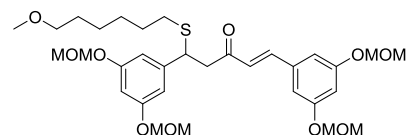
Colorless oil; IR (CHCl_3): 2933, 1663, 1593, 1452 cm^{-1} ; $^1\text{H-NMR}$ (600 MHz, CDCl_3) δ 7.42 (1H, d, $J = 16.4$ Hz), 6.87 (2H, d, $J = 2.1$ Hz), 6.77 (1H, t, $J = 2.1$ Hz), 6.74 (1H, d, $J = 2.6$ Hz), 6.64 (1H, d, $J = 16.4$ Hz), 6.61 (2H, t, $J = 2.6$ Hz), 5.17-5.12 (8H, m), 4.37 (1H, t, $J = 7.3$ Hz), 3.48 (6H, s), 3.47 (6H, s), 3.31 (2H, t, $J = 5.8$ Hz), 3.29 (3H, s), 3.16 (2H, d, $J = 7.3$ Hz), 2.46-2.41 (1H, m), 2.38-2.34 (1H, m), 1.63-1.56 (4H, m); $^{13}\text{C-NMR}$ (150 MHz, CDCl_3) δ 196.8, 158.6, 158.3, 144.7, 142.9, 136.5, 126.8, 109.5, 109.3, 107.2, 103.5, 94.6, 94.5, 72.2, 58.5, 56.11, 56.09, 47.2, 44.5, 31.4, 28.7, 25.8; LR-MS (FAB) m/z 594 $[\text{M}]^+$, 45 (100%); HR-MS (FAB) Calcd. for $\text{C}_{30}\text{H}_{42}\text{O}_{10}\text{S}$: 714.3108, found: 714.3113.

GO-Y185

Colorless oil (diastereo mixture); IR (CHCl_3): 2931, 1719, 1595, 1456 cm^{-1} ; $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ 6.65 (2H, d, $J = 2.1$ Hz), 6.63 (2H, d, $J = 2.1$ Hz), 6.61 (1H, t, $J = 2.1$ Hz), 6.58 (1H, t, $J = 2.1$ Hz), 5.16-5.09 (8H, m), 4.23-

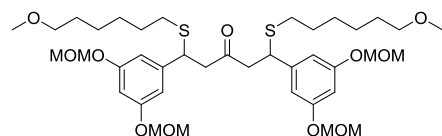
4.18 (2H, m), 3.47 (6H, s), 3.46 (6H, s), 3.29-3.31 (4H, m), 3.29 (3H, s), 3.28 (3H, s), 2.96-2.90 (2H, m), 2.85-2.78 (2H, m), 2.49-2.25 (4H, m), 1.60-1.48 (8H, m); $^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, CDCl_3) δ (204.1, 204.0), (158.3, 158.3), (144.4, 144.4), (109.11, 109.05), (103.50, 103.46), (94.50, 94.48), (72.10, 72.08), 58.4, (56.1, 56.0), (49.93, 48.89), 43.9, (31.24, 31.18), (28.62, 28.59), (25.72, 25.71); LR-MS (FAB) m/z 714 $[\text{M}]^+$, 45 (100%); HR-MS (FAB) Calcd. for $\text{C}_{35}\text{H}_{54}\text{O}_{11}\text{S}_2$: 594.2499, found: 594.2507.

GO-Y186



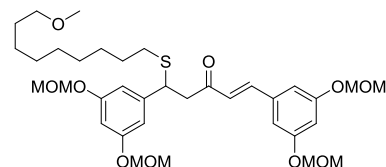
Colorless oil; IR (CHCl_3): 2932, 1664, 1593, 1453 cm^{-1} ; $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ 7.42 (1H, d, $J = 16.2$ Hz), 6.86 (2H, d, $J = 2.2$ Hz), 6.77 (1H, t, $J = 2.2$ Hz), 6.73 (2H, d, $J = 2.2$ Hz), 6.64 (1H, d, $J = 16.2$ Hz), 6.62-6.60 (1H, m), 5.16-5.12 (8H, m), 4.35 (1H, t, $J = 7.1$ Hz), 3.48 (6H, s), 3.46 (6H, s), 3.35-3.27 (5H, m), 3.15 (2H, d, $J = 7.1$ Hz), 2.45-2.31 (2H, m), 1.46-1.57 (4H, m), 1.37-1.24 (4H, m); $^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, CDCl_3) δ 196.7, 158.5, 158.3, 144.7, 142.8, 136.4, 126.8, 109.5, 109.2, 107.1, 103.4, 94.5, 94.4, 72.6, 58.4, 56.00, 55.98, 47.2, 44.6, 31.5, 29.4, 29.0, 28.6, 25.6; LR-MS (FAB) m/z 622 $[\text{M}]^+$, 251 (100%); HR-MS (FAB) Calcd. for $\text{C}_{32}\text{H}_{46}\text{O}_{10}\text{S}$: 622.2812, found: 622.2820.

GO-Y187



Colorless oil (diastereo mixture); IR (CHCl_3): 2931, 1719, 1595, 1456 cm^{-1} ; $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ 6.64 (2H, d, $J = 2.2$ Hz), 6.62 (2H, d, $J = 2.2$ Hz), 6.60 (1H, t, $J = 2.2$ Hz), 6.58 (1H, t, $J = 2.2$ Hz), 5.16-5.09 (8H, m), 4.23-4.17 (2H, m), 3.47 (6H, s), 3.45 (6H, s), 3.35-3.32 (4H, m), 3.311 (3H, s), 3.306 (3H, s), 2.95-2.89 (2H, m), 2.85-2.78 (2H, m), 2.39-2.22 (4H, m), 1.54-1.43 (8H, m), 1.32-1.25 (8H, m); $^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, CDCl_3) δ (204.2, 204.1), (158.30, 158.26), (144.51, 144.46), (109.11, 109.05), (103.5, 103.4), 94.5, 72.7, 58.5, (56.10, 56.07), (49.98, 48.95), (43.94, 43.92), (31.5, 31.4), 29.5, 29.1, (28.7, 28.6), 25.7; LR-MS (FAB) m/z 783 $[\text{M}+\text{Na}]^+$, 45 (100%); HR-MS (FAB) Calcd. for $\text{C}_{39}\text{H}_{62}\text{O}_{11}\text{S}_2\text{Na}$: 783.3816, found: 783.3812.

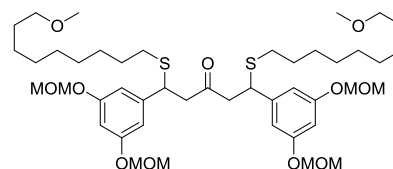
GO-Y188



Colorless oil; IR (CHCl_3): 2928, 1664, 1593, 1453 cm^{-1} ; $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ 7.42 (1H, d, $J = 16.2$ Hz), 6.86 (2H, d, $J = 2.1$ Hz), 6.77 (1H, t, $J = 2.1$ Hz), 6.73 (2H, d, $J = 2.1$ Hz), 6.64 (1H, d, $J = 16.2$ Hz), 6.61 (1H, t, $J =$

2.1 Hz), 5.16-5.11 (8H, m), 4.36 (1H, t, $J = 7.2$ Hz), 3.48 (6H, s), 3.46 (6H, s), 3.35 (2H, t, $J = 6.5$ Hz), 3.32 (3H, s), 3.16 (2H, d, $J = 7.2$ Hz), 2.44-2.30 (2H, m), 1.60-1.48 (6H, m), 1.33-1.23 (8H, m); $^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, CDCl_3) δ 196.8, 158.5, 158.3, 144.7, 142.8, 136.4, 126.8, 109.5, 109.2, 107.1, 103.4, 94.5, 94.4, 72.9, 58.5, 56.1, 56.0, 47.2, 44.6, 31.6, 29.6, 29.37, 29.35, 29.14, 29.06, 28.8, 26.0; LR-MS (FAB) m/z 664 $[\text{M}]^+$, 251 (100%); HR-MS (FAB) Calcd. for $\text{C}_{35}\text{H}_{52}\text{O}_{10}\text{S}$: 664.3281, found: 664.3277.

GO-Y189



Colorless oil (diastereo mixture); IR (CHCl_3): 2927, 2854, 1720, 1596, 1460 cm^{-1} ; $^1\text{H-NMR}$ (600 MHz, CDCl_3) δ 6.64 (2H, d, $J = 2.1$ Hz), 6.62 (2H, d, $J = 2.1$ Hz), 6.60 (1H, t, $J = 2.1$ Hz), 6.58 (1H, t, $J = 2.1$ Hz), 5.16-5.10 (8H, m), 4.22-4.18 (2H, m), 3.47 (6H, s), 3.46 (6H, s), 3.354 (2H, t, $J = 6.5$ Hz), 3.351 (2H, t, $J = 6.8$ Hz), 3.33 (3H, s), 3.32 (3H, s), 2.94-2.90 (2H, m), 2.85-2.78 (2H, m), 2.37-2.23 (4H, m), 1.57-1.50 (4H, m), 1.49-1.40 (4H, m), 1.30-1.23 (20H, m); $^{13}\text{C-NMR}$ (150 MHz, CDCl_3) δ (204.24, 204.18), (158.32, 158.28), (144.6, 144.5), (109.14, 109.09), (103.50, 103.46), 94.6, 72.9, 58.5, (56.12, 56.10), (50.10, 49.97), (44.0, 43.9), (31.6, 31.5), (29.6, 29.4, 29.18, 29.16, 29.13, 28.88, 28.86, 26.1, seven carbon); LR-MS (FAB) m/z 823 $[\text{M-OMe}]^+$, 251 (100%); HR-MS (FAB) Calcd. for $\text{C}_{44}\text{H}_{71}\text{O}_{10}\text{S}_2$: 823.4489, found: 823.4495.

Experimental Procedure for $^1\text{H-NMR}$ studies (Section 1, Chapter 2)

$^1\text{H-NMR}$ study to monitor Michael reaction between GO-Y030 and cysteamine (Figure 1-05)

GO-Y030 (5.27 mg, 0.011 mmol) was dissolved with DMSO- d_6 (0.55 ml) and cysteamine (5.84 mg, 0.075 mmol) was dissolved with DMSO- d_6 (0.95 ml) in screw vial prior to use. The resulting cysteamine solution (0.55 ml of 0.08 M solution in DMSO- d_6 , 0.044 mmol) was added to GO-Y030 solution (0.55 ml of 0.02 M in DMSO- d_6 , 0.11 mmol). After 5 min, a proton NMR spectrum of the resulting solution was measured. Then, the solution was got back to screw vial and it stand under air. After 1 h the addition of cysteamine, a proton NMR spectrum of the resulting solution was measured. Then, the solution was got back to screw vial and it stand under air. After 6 h the addition of cysteamine, a proton NMR spectrum of the resulting solution was measured.

$^1\text{H-NMR}$ study to monitor Michael reaction between GO-Y075 and cysteamine (Figure 1-06)

GO-Y075 (4.56 mg, 0.0727 mmol) was dissolved with DMSO- d_6 (0.36 ml) and cysteamine (5.68 mg, 0.073 mmol) was dissolved with DMSO- d_6 (0.92 ml) in screw vial prior to use. The resulting cysteamine solution (0.36 ml of 0.08 M solution in DMSO- d_6 , 0.029 mmol) was added to GO-Y030 solution (0.36 ml of 0.02 M in DMSO- d_6 , 0.0727 mmol). After 5 min, a proton NMR spectrum of the resulting solution was measured. Then, the solution was got back to screw vial and it stand under air. After 1 h the addition of cysteamine, a proton NMR spectrum of the resulting solution was measured. Then, the solution was got back to screw vial and it stand under air. After 6 h the addition of cysteamine, a proton NMR spectrum of the resulting solution was measured.

Experimental Procedure for Biological Analysis (Section 1, Chapter 1, 3, 4)

Cell culture

Cells of the colorectal carcinoma line HCT116 were cultured in RPMI1640 supplemented with 10% fetal bovine serum (FBS).

Cell growth suppression analysis

HCT116 was obtained from the Cell Resource Center for Biomedical Research (Institute of Development, Aging and Cancer, Tohoku University, Sendai, Japan). The growth-suppressive effects of the compounds were measured for 48 h. Cell viability was assayed by quantitation of the uptake and digestion of 2-(2-methoxy-4-nitrophenyl)-3-(4-nitrophenyl)-5-(2,4-disulfophenyl)-2*H*- tetrazolium monosodium salt (WST-8) according to the manufacturer's instructions (Dojindo Laboratories, Kumamoto, Japan) by using a 96-well plate reader, SpectraMax M2e (Molecular Devices). The percentage cell growth of the control, which was treated with 0.5% DMSO alone, was calculated and plotted, and then the mean growth inhibitory concentration (GI₅₀) value was determined.

Experimental Procedure for Analysis to Monitor retro-Michael reaction

(Section 1, Chapter 5)

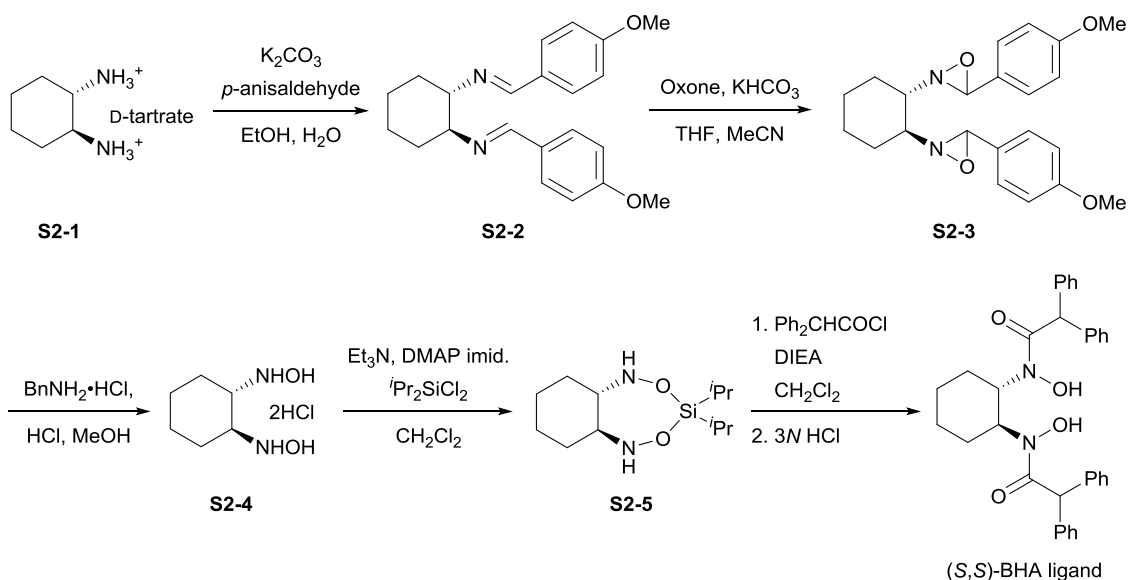
The assay was performed in 96 well plates and alumifoils were used to cover the plate during the measurements. All measurements were done in a Multiscan Spectrum Photometer (Thermo, Finland) at 25 °C. Before the assay, 10 mM stock solutions of GO-Y030 and GO-Y030 thiol bis adducts in DMSO were diluted with DMSO to give a concentration of 83 μ M. The resultant 83 μ M compounds DMSO solution (100 μ l) were added to each well in 96 well plate. Setted well were diluted with (a) 100 mM Glycine-HCl buffer (100 μ l), (b) PBS buffer (100 μ l), (c) 100 mM Tris-HCl buffer (100 μ l).

Then, the kinetic measurement is started immediately. The wells were covered with foil and measurements were done in duplicates.

Chapter 2

(S,S)-*N*-[2-(Diphenylacetylhydroxyamino)-cyclohexyl]-*N*-hydroxy-2,2-diphenyl-acetamide⁴⁰

[(*S,S*)-BHA ligand]



A mixture of (*1S,2S*)-(-)-1,2-cyclohexanediamine D-tartrate (25.0 g, 94.5 mmol), K_2CO_3 (26.1 g, 189 mmol), and de-ionized water (125 mL) was stirred until dissolution was achieved, and then ethanol (400 mL) was added. The resulting cloudy mixture was heated to reflux, and a solution of *p*-anisaldehyde (26.1 g, 189 mmol) in ethanol (40 mL) was added in a steady stream over 40 min. The yellow slurry was stirred at reflux for 5 h before heating was discontinued. The reaction mixture was cooled to room temperature, and the water phase was separated and discarded. The organic phase was concentrated and dissolved in CH_2Cl_2 . It was then removed any trace of water, dried over $MgSO_4$ and filtered. The filtrate was removed solvent to provide crude diamine **S2-2** as light yellow solid, which was used in the following step without further purification.

To a stirred solution of diimine **S2-2** (47.3 mmol) in MeCN (280 mL) and THF (570 mL), at room temperature, was added an aqueous solution (470 mL) of $KHCO_3$ (79.4 g, 793 mmol) followed by an aqueous solution (470 mL) of Oxone (69.7 g, 113 mmol). After stirring for 3 h, the reaction mixture was diluted with CH_2Cl_2 (800 mL). The biphasic mixture was separated and the aqueous portion was extracted with CH_2Cl_2 (2 x 400 mL) and the combined organic extracts was dried over $MgSO_4$ and filtered. The filtrate was concentrated under reduced pressure to provide crude dioxaziridine **S2-3** (17.0 g, 44.5 mmol, 94% yield) as light yellow solid, which was used in the following step without further purification.

To a mixture of the unpurified product **S2-3** (23.3 g) obtained from the previous oxidation reaction and benzyloxyhydroxyl amine hydrochloride (18.9 g, 120 mmol) was treated with anhydrous MeOH (600 mL), and then 1 M HCl in MeOH (205ml), which is prepared from AcCl (18.1 ml, 255 mmol) and anhydrous MeOH (237 ml), was added immediately. The resulting mixture was stirred for 20 minutes. The reaction mixture was then concentrated under reduced pressure to dryness. Et₂O (400 mL) and de-ionized water (200 mL) was added. The bi-layer was separated and the organic part was extracted with de-ionized water (2 x 150 ml). Combined aqueous portion was washed with Et₂O (2 x 200 mL). The aqueous portion was concentrated to 70-100 mL and the resulting was freeze dried under reduced pressure to provide bis-hydroxylamine dihydrochloride **S2-4** (15.2 g) as brown solid, which contained 25% of BnONH₂.HCl. This material was utilized in the next step without any purification.

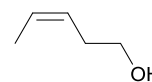
To a stirred suspension of bis-hydroxylamine dihydrochloride **S2-4** (8.65 g, ca. 33.4 mmol) in CH₂Cl₂ (40 mL) under nitrogen at room temperature was added Et₃N (dist. 13.0 mL, 25.6 mmol). After 1 h, to the resulting cloudy white suspension, DMAP (220 mg, 1.80 mmol), imidazole (2.50 g, 36.7 mmol) followed by ⁱPr₂SiCl₂ (6.14 mL, 34.0 mmol) were added and stirring was continued 3.25 h, and then poured into an aqueous solution of NaHCO₃ (6.0 g, 71.4 mmol) and extracted with EtOAc. The combined organic extracts was dried over MgSO₄, filtered and concentrated under reduced pressure. The residue was filtered through a small plug of silica gel by washing with the mixture of EtOAc/hexanes (5:95) to provide **S2-5** (7.40 g), which contained diethylsilyl ether as about 7:1 mixture and was used in the following step without further purification.

To a stirred solution of **S2-5** (22.8 mmol) and DIEA (dist. 11.9 mL, 68.4 mmol) in CH₂Cl₂ (228 mL) was added diphenylacetyl chloride (obtained from ALDRICH, 15.8 g, 68.4 mmol, dissolved in 22.8 mL CH₂Cl₂) under nitrogen. After 3 days, the reaction mixture was treated with 3N HCl. After stirring for 30 min the reaction mixture was extracted with CH₂Cl₂, washed with brine, dried over MgSO₄ and filtered. The filtrate was concentrated under reduced pressure and the residue was purified by silica gel column chromatography (Silica gel 60N, Kanto Chemical Co., Inc., spherical, neutral, 63-210 μm) to provide (*S,S*)-BHA ligand (6.46 g, 12.1 mmol, 53%).

Literature^{40a}: (*R,R*)-BHA ligand [α]_D^{28.4} +93.5° (*c* 1.00, CHCl₃)

(*S,S*)-BHA ligand: [α]_D²² -90.8° (*c* 0.518, CHCl₃); IR (CDCl₃): 3163, 2940, 1622, 1496, 1452, 1412, 1238, 1165, 754, 700 cm⁻¹; ¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 9.24 (2H, s), 7.32-6.93 (20H, m), 5.50-5.42 (2H, m), 4.67-4.58 (2H, m), 1.80-1.65 (6H, m), 1.29-1.18 (2H, m); ¹³C-NMR (100 MHz, CDCl₃) δ 174.9, 139.3, 138.8, 129.2, 128.8, 128.6, 128.3, 127.0, 126.7, 56.8, 52.8, 27.6, 24.5; LR-MS (ESI) *m/z* 557 ([M+Na]⁺); HR-MS (ESI) Calcd. for C₃₄H₃₄N₂O₄Na: 557.2411, found: 557.2396.

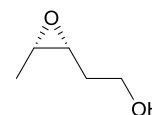
***cis*-3-Penten-1-ol (46)**



A mixture of 3-pentyn-1-ol (25.0 g, 297 mmol), quinoline (1.40 ml, 12.0 mmol) and Lindlar catalyst (450 mg) in Et₂O (distilled prior to use, 300 mL) was stirred under hydrogen atmosphere at room temperature for 5 days. The reaction mixture was sparged with nitrogen, filtered through Celite, and concentrated *in vacuo* at 0 °C. The resulting residue was distilled under atmospheric pressure at 138-140°C to give *cis*-3-pentenol **46** (23.0 g, 267 mmol, 90%) as a colorless oil.

46: IR (CDCl₃): 3354, 3017, 2926 cm⁻¹; ¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 5.69-5.60 (1H, m), 5.44-5.36 (1H, m), 3.66 (2H, dt, *J* = 6.3, 5.8 Hz), 2.34 (2H, dtd, *J* = 7.2, 5.8, 1.0 Hz), 1.65 (3H, dd, *J* = 6.3, 1.0 Hz), 1.52-1.49 (1H, m); ¹³C-NMR (100 MHz, CDCl₃) δ 127.3, 126.0, 62.2, 30.4, 12.9; LR-MS (EI) *m/z* 86 (M⁺), 68 (100%); HR-MS (EI) Calcd. for C₅H₁₀O: 86.0732, found: 86.0711.

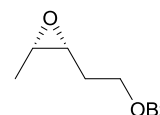
2-[(2*R*,3*S*)-3-Methyloxiran-2-yl]ethanol (45)



Zr(*O**t*-BuO)₄ (0.486 mmol, 1.25 mmol) was added to a mixture of (*S,S*)-BHA ligand (668 mg, 1.25 mmol), DMPU (distilled from CaH₂, 0.300 ml, 2.50 mmol), and 4A molecular sieves powder (freshly activated, 5 g) in dry toluene (25 ml) in a glovebox. The catalyst mixture was stirred for 1 h at room temperature. The resulting solution was cooled to -5 °C, and *cis*-3-pentenol **46** (distilled and added 4A molecular sieves prior to use, 2.95 ml, 25.0 mmol) and cumene hydroperoxide (5.87 *N*, 6.38 ml, 37.5 mmol, slowly dropwisely) were added sequentially. The mixture was stirred at -5 °C for 4 h, then warmed to room temperature, and stirred for 36 h. Methanol (1.5 ml) was then added, and the reaction mixture was stirred for 10 min at room temperature, filtered through Celite, and concentrated *in vacuo* at 0 °C. The resulting solution was purified by short packed silica gel column chromatography (2:1 Pentane:Et₂O to Et₂O) to provide the crude of the epoxy alcohol **45**, which was distilled under reduced pressure (120 °C / 2.3 kPa [lit.^b 101 °C / 25 mmHg]) to give the epoxy alcohol (2.24 g, 21.9 mmol, 88%, 84% ee) as a colorless oil. The enantiomeric excess of **45** was determined by chiral HPLC analysis of epoxide derivative **S2-6**.

45: [α]_D²⁹ +20° (*c* 0.81, CHCl₃); IR (CDCl₃): 3420 cm⁻¹; ¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 3.93-3.79 (2H, m), 3.12-3.07 (2H, m), 1.91-1.83 (1H, m), 1.77-1.68 (2H, m), 1.30 (3H, d, *J* = 5.3 Hz); ¹³C-NMR (100 MHz, CDCl₃) δ 60.5, 55.0, 52.3, 30.3, 13.3; LR-MS (ESI) *m/z* 125 ([M+Na]⁺); HR-MS (ESI) Calcd. for C₅H₁₀O₂Na: 125.0573, found: 125.0573.

2-[(2*R*,3*S*)-3-Methyloxiran-2-yl]ethyl benzoate (S2-6)



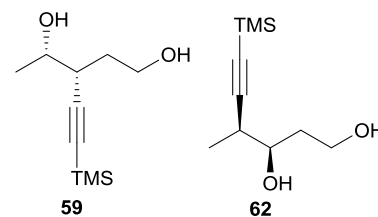
BzCl (75.0 μ l, 0.650 mmol) was added to a mixture of epoxy alcohol **45** (25.5 mg, 0.249 mmol), pyridine (0.120 ml, 1.49 mmol), and DMAP (6.00 mg, 0.0491 mmol) in CH_2Cl_2 at 0 $^\circ\text{C}$. The resulting solution was warmed up to room temperature, stirred for 40 min, and quenched with saturated aqueous NaHCO_3 . The resultant was extracted with AcOEt and the extract was washed with brine, dried over MgSO_4 , and concentrated *in vacuo*. The crude mixture was purified by flash silica gel column chromatography (8:1 to 4:1 Hexanes:EtOAc) to provide the benzoate **S2-6** (43.5 mg, 0.211 mmol, 85%) as a colorless oil.

S2-6: $[\alpha]_D^{27} +9.92^\circ$ (*c* 1.08, CHCl_3); IR (CDCl_3): 2966, 1722, 1601, 1452, 1274 cm^{-1} ; $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ 8.06 (2H, d, $J = 7.7$ Hz), 7.57 (1H, t, $J = 7.7$ Hz), 7.45 (2H, t, $J = 7.7$ Hz), 4.55-4.45 (2H, m), 3.14-3.08 (2H, m), 2.09-1.94 (2H, m), 1.32-1.30 (3H, m); $^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, CDCl_3) δ 166.4, 132.9, 130.0, 129.5, 128.3, 62.2, 54.2, 52.3, 27.3, 13.2; LR-MS (EI) m/z 206 (M^+); HR-MS (EI) Calcd. for $\text{C}_{12}\text{H}_{14}\text{O}_3$: 206.0943, found: 206.0916.

The enantiomeric excess of **S2-6** was determined by chiral HPLC analysis using CHIRALPACK-IC (3:7 *i*-PrOH:Hexane, 0.5 ml/min): 16.2 min (minor enantiomer), 18.1 min (major enantiomer)

(3R,4S)-3-[(Trimethylsilyl)ethynyl]pentane-1,4-diol (59)

(3R,4S)-4-Methyl-6-(trimethylsilyl)hex-5-yne-1,3-diol (62)

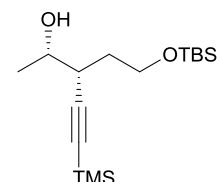


To a cooled (-78 $^\circ\text{C}$) solution of TMS acetylene (11.8 ml, 83.8 mmol) in dry THF (540 ml) was added *n*-BuLi (1.56 M hexane solution, 69.8 ml, 109 mmol) dropwise over 30 min at -78 $^\circ\text{C}$. After 30 min, to the reaction mixture was added $\text{BF}_3 \cdot \text{THF}$ (11.9 ml, 109 mmol) at -78 $^\circ\text{C}$. After 15 min, to the resulting solution was added a solution of epoxide **45** (distilled prior to use, 3.89 g, 38.1 mmol) in THF (4 ml) *via* cannula slowly at -78 $^\circ\text{C}$. After being stirred for 14 h at -78 $^\circ\text{C}$, the resulting solution was quenched with saturated aqueous NH_4Cl and warmed up to room temperature. The resultant was extracted with Et_2O and the extract was washed with brine, dried over MgSO_4 , and concentrated *in vacuo*. The crude mixture was purified by column chromatography (2:1 Hexanes: Et_2O to Et_2O) to provide the diol **59** (5.08 g, 25.4 mmol, 67%) as a colorless oil.

59: $[\alpha]_D^{24} -17.3^\circ$ (*c* 0.602, CHCl_3); IR (CDCl_3): 3335, 2959, 2166 cm^{-1} ; $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ 3.86 (1H, dq, $J = 5.9, 5.4$ Hz), 3.79-3.72 (2H, m), 2.64 (1H, ddd, $J = 8.7, 5.4, 3.7$ Hz), 2.27 (2H, brs), 1.86-1.73 (2H, m), 1.28 (3H, d, $J = 5.9$ Hz), 0.16 (9H, s); $^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, CDCl_3) δ 105.3, 89.7, 69.2, 60.6, 38.8, 34.4, 21.3, 0.1; LR-MS (FAB) m/z 201 ($[\text{M}+\text{H}]^+$); HR-MS (FAB) Calcd. for $\text{C}_{10}\text{H}_{21}\text{O}_2\text{Si}$: 201.1311, found: 201.1315.

62^{4a}: colorless solid: $[\alpha]_D^{16} -66.2^\circ$ (*c* 1.23, CHCl₃); IR (CDCl₃): 3457, 2174 cm⁻¹; ¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 3.89-3.82 (2H, m), 3.70-3.64 (1H, m), 2.59 (1H, qd, *J* = 7.1, 5.6 Hz), 2.38 (1H, brs), 1.81-1.74 (2H, m), 1.21 (3H, d, *J* = 7.1 Hz), 0.16 (9H, s); ¹³C-NMR (100 MHz, CDCl₃) δ 107.2, 87.9, 74.2, 61.4, 36.1, 34.6, 16.9, 0.1; LR-MS (FAB) *m/z* 201 ([M+H]⁺); HR-MS (FAB) Calcd. for C₁₀H₂₁O₂Si: 201.1311, found: 201.1302.

(2*S*,3*R*)-3-{2-[(*tert*-Butyldimethylsilyl)oxy]ethyl}-5-(trimethylsilyl)pent-4-yn-2-ol (63**)**

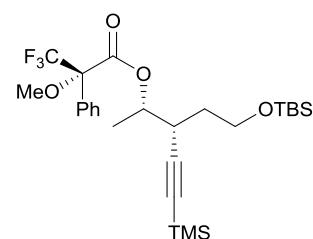


To a solution of diol **59** (46.5 mg, 0.232 mmol) in dry DMF was added imidazole (18.4 mg, 0.268 mmol) and TBSCl (35.5 mg, 0.232 mmol) at 0 °C. The reaction mixture was stirred for 35 min and warmed up to room temperature. After 1 h, the resulting solution was quenched with H₂O and extracted with Et₂O and the extract was washed with brine, dried over MgSO₄, and concentrated *in vacuo*. The crude mixture was purified by flash silica gel column chromatography (8:1 Hexane:EtOAc) to provide the silyl ether **63** (54.5 mg, 0.173 mmol, 75%) as a colorless solid.

63: $[\alpha]_D^{23} -29.7^\circ$ (*c* 0.214, CHCl₃); IR (CDCl₃): 3423, 2957, 2166 cm⁻¹; ¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 3.83 (1H, qd, *J* = 5.7, 4.9 Hz), 3.77-3.69 (1H, m), 2.62 (1H, ddd, *J* = 8.2, 4.9, 4.7 Hz), 2.37 (1H, d, *J* = 6.8 Hz), 1.83-1.65 (2H, m), 1.27 (3H, d, *J* = 5.7 Hz), 0.90 (9H, s), 0.16 (9H, s), 0.07 (6H, s); ¹³C-NMR (100 MHz, CDCl₃) δ 105.7, 88.9, 69.1, 60.8, 38.6, 34.6, 25.9, 21.2, 18.3, 0.1, -5.38, -5.41; LR-MS (FAB) *m/z* 315 ([M+H]⁺), 73 (100%); HR-MS (FAB) Calcd. for C₁₆H₃₅O₂Si₂: 315.2176, found: 315.2166.

(2*S*,3*R*)-3-{2-[(*tert*-Butyldimethylsilyl)oxy]ethyl}-5-(trimethylsilyl)pent-4-yn-2-yl

(*S*)-3,3,3-trifluoro-2-methoxy-2-phenylpropanoate (64a**)**



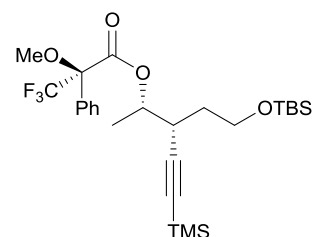
To a solution of alcohol **63** (31.2 mg, 0.0991 mmol) in dry pyridine (0.33 ml) was added (-)-MTPACl (37.0 μ l, 0.198 mmol) at 0 °C. The reaction mixture was warmed up to room temperature and stirred for 17.5 h. The resulting solution was deluted with Et₂O, quenched with saturated aqueous NaHCO₃, and extracted with Et₂O. The extract was washed with brine, dried over MgSO₄, and concentrated *in vacuo*. The crude mixture was purified by flash silica gel column chromatography (16:1 to 8:1 Hexane:EtOAc) to provide the MTPA ester **64a** (29.8 mg, 0.0561 mmol, 54%) as a colorless oil.

64a: $[\alpha]_D^{23} -93.6^\circ$ (*c* 0.775, CHCl₃); IR (CDCl₃): 2956, 2173, 1748, 1472, 1251 cm⁻¹; ¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 7.56 (2H, t, *J* = 3.6 Hz), 7.42-7.38 (3H, m), 5.23 (1H, qd, *J* = 6.3, 4.4 Hz), 3.79-3.74 (2H, m), 3.57 (3H, s), 2.86

(1H, ddd, $J = 10.1, 4.5, 4.4$ Hz), 1.76-1.69 (1H, m), 1.63-1.55 (1H, m), 1.35 (3H, d, $J = 6.3$ Hz), 0.89 (9H, s), 0.11 (9H, s), 0.058 (3H, s), 0.054 (3H, s); ^{13}C -NMR (100 MHz, CDCl_3) δ 166.0, 132.2, 129.5, 128.3, 127.5, 123.3 (q, $^1J_{\text{CF}} = 288.9$), 104.6, 88.1, 84.7 (q, $^2J_{\text{CF}} = 27.6$ Hz), 74.5, 60.3, 55.5 (t, $^4J_{\text{CF}} = 1.6$ Hz), 34.6, 33.6, 25.9, 18.3, 17.2, -0.1, -5.4, -5.5; LR-MS (FAB) m/z 531 ($[\text{M}+\text{H}]^+$), 73 (100%); HR-MS (FAB) Calcd. for $\text{C}_{26}\text{H}_{42}\text{F}_3\text{O}_4\text{Si}_2$: 531.2574, found: 531.2563.

(2S,3R)-3-[2-[(*tert*-Butyldimethylsilyl)oxy]ethyl]-5-(trimethylsilyl)pent-4-yn-2-yl

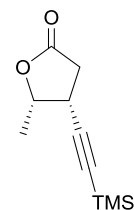
(*R*)-3,3,3-trifluoro-2-methoxy-2-phenylpropanoate (64b**)**



To a solution of alcohol **63** (23 mg, 0.073 mmol) in dry pyridine (0.25 ml) was added (+)-MTPACl (70 μl , 0.37 mmol) at 0 °C. After being stirred for 30 min at at 0 °C, the resulting solution was deluted with Et_2O , quenched with saturated aqueous NaHCO_3 , and extracted with Et_2O . The combined organic layers were washed with brine, dried over MgSO_4 , and concentrated *in vacuo*. The crude mixture was purified by flash silica gel column chromatography (10:1 Hexane:EtOAc) to provide the MTPA ester **64b** (33.6 mg, 0.0633 mmol, 87%) as a colorless oil.

64b: $[\alpha]_{\text{D}}^{26} -2.21^\circ$ (c 0.601, CHCl_3); IR (CDCl_3): 2956, 2173, 1749, 1471, 1252 cm^{-1} ; ^1H -NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 7.56 (2H, t, $J = 3.2$ Hz), 7.40-7.37 (3H, m), 5.17 (1H, dq, $J = 8.0, 6.3$ Hz), 3.72-3.68 (2H, m), 3.56 (3H, s), 2.83 (1H, ddd, $J = 11.0, 4.0, 4.0$ Hz), 1.65-1.60 (1H, m), 1.57-1.51 (1H, m), 1.45 (3H, d, $J = 6.3$ Hz), 0.89 (9H, s), 0.11 (9H, s), 0.058 (3H, s), 0.054 (3H, s); ^{13}C -NMR (100 MHz, CDCl_3) δ 166.0, 132.3, 129.5, 128.3, 127.5, 126.3, 123.3 (q, $^1J_{\text{CF}} = 288.4$), 104.6, 88.1, 84.4 (q, $^2J_{\text{CF}} = 28.9$ Hz), 74.5, 60.3, 55.4, 34.5, 33.5, 25.9, 18.3, 17.4, -0.1, -5.4, -5.5; LR-MS (FAB) m/z 531 ($[\text{M}+\text{H}]^+$), 73 (100%); HR-MS (FAB) Calcd. for $\text{C}_{26}\text{H}_{42}\text{F}_3\text{O}_4\text{Si}_2$: 531.2574, found: 531.2535.

(4R,5S)-5-Methyl-4-[(trimethylsilyl)ethynyl]-dihydrofuran-2(3H)-one (43**)**

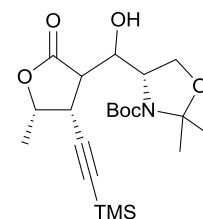


To a mixture of diol **59** and diol **63** (**59:63** = 4.7:1, 81.4 mg, 0.335 mmol) in CH_2Cl_2 (1.6 ml) was added DMN-AZADO (5.54 mg, 0.0333 mmol), $\text{PhI}(\text{OAc})_2$ (309 mg, 0.959 mmol) at 0 °C. The reaction mixture was stirred for 15 min and warmed up to room temperature. After 19 h, the resulting solution was quenched with saturated aqueous $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ and saturated aqueous NaHCO_3 at 0 °C and stirred for 30 min. The resulting solution was extracted with Et_2O and the extract was washed with brine, dried over MgSO_4 , and concentrated *in vacuo*. The crude mixture was

purified by flash silica gel column chromatography (4:1 to 2:1 pentane:Et₂O) to provide the lactone **43** (68.7 mg, 0.335 mmol, quant.) as a colorless oil.

43: [α]_D²⁰ -42.7° (*c* 0.510, CHCl₃); IR (CDCl₃): 2173, 1783, 1250, 1169 cm⁻¹; ¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 4.62 (1H, dq, *J* = 6.5, 6.3 Hz), 3.37 (1H, ddd, *J* = 8.5, 6.5, 6.3 Hz), 2.77 (1H, dd, *J* = 17.4, 8.5 Hz), 2.63 (1H, dd, *J* = 17.4, 6.3 Hz), 1.44 (3H, d, *J* = 6.3 Hz), 0.13 (9H, s); ¹³C-NMR (100 MHz, CDCl₃) δ 174.8, 101.6, 90.3, 77.4, 35.7, 32.9, 17.1, -0.3; LR-MS (FAB) *m/z* 197 ([M+H]⁺); HR-MS (FAB) Calcd. for C₁₀H₁₇O₂Si: 197.0998, found: 197.0998

(S)-tert-Butyl-4-{hydroxyl{(4*R*,5*S*)-5-methyl-2-oxo-4-[(trimethylsilyl)-ethynyl]-tetrahydrofuran-3-yl)methyl}-2,2-dimethyloxazolidine-3-carboxylate (67a), (67b)

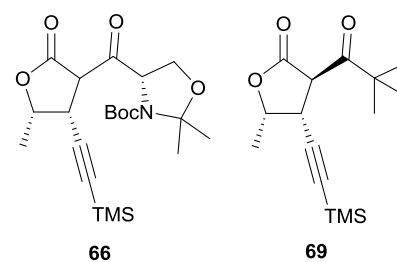


To a cooled (-40 °C) solution of lactone **43** (75% ee, 36.7 mg, 0.187 mmol) in THF (0.6 ml) was added LHMDs (1.0 M THF solution, 0.37 ml, 0.37 mmol) slowly. The resulting mixture was stirred at -40 °C for 30 min. Garner's aldehyde **65** (61 ml, 0.28 mmol, distilled prior to use) was added quickly. Stirring was continued for 30 min at -40 °C and then the reaction mixture was quenched with a solution of AcOH:H₂O 1:1 (21 ml, 0.28 mmol) at -40 °C. The resulting solution was warmed up to room temperature, stirred for 30 min, and extracted with AcOEt. The extracts were washed with brine, dried over MgSO₄, and concentrated *in vacuo*. The crude mixture was purified by flash silica gel column chromatography (99:1 to 19:1 CHCl₃:MeOH) to provide the crude (85 mg). The crude was repurified by flash column chromatography (6:1 to 5:1 to 1:1 hexanes:EtOAc) to provide major diastereomer **67a** (27 mg, 0.063 mmol, 34%) and minor diastereomer **67b** (10.6 mg, 0.025 mmol, 13%).

67a: White solid; IR (CDCl₃): 3339, 2175, 1777, 1697, 1250 cm⁻¹; ¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 4.74 (1H, qd, *J* = 6.4, 6.6 Hz), 4.50-4.31 (1H, m), 4.29-3.89 (4H, m), 3.71-3.43 (1H, m), 2.87-2.46 (1H, m), 1.65-1.43 (15H, m), 1.43 (3H, d, *J* = 6.4 Hz), 0.14 (9H, s); LR-MS (FAB) *m/z* 426.25 ([M+H]⁺)

67b: White solid; IR (CDCl₃): 3340, 2173, 1771, 1705, 1660, 1251 cm⁻¹; ¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 5.58 (1H, brs), 4.84 (1H, dq, *J* = 6.9, 6.5 Hz), 4.67 (1H, dd, *J* = 8.9, 5.5 Hz), 4.14-4.02 (1H, m), 3.98 (1H, d, *J* = 9.7 Hz), 3.87 (1H, d, *J* = 9.7 Hz), 3.60 (1H, dd, *J* = 6.9, 6.6 Hz), 2.76 (1H, d, *J* = 6.6 Hz), 1.67-1.47 (15H, m), 1.43 (3H, d, *J* = 6.5 Hz), 0.16 (9H, s); LR-MS (FAB) *m/z* 426.23 ([M+H]⁺)

tert-Butyl (4*S*)-2,2-dimethyl-4-[(4*R*,5*S*)-5-methyl-2-oxo-4-[(trimethylsilyl)ethynyl]-tetrahydrofuran-3-carbonyl]oxazolidine-3-carboxylate (66)
(3*R*,4*R*,5*S*)-5-Methyl-3-pivaloyl-4-[(trimethylsilyl)-ethynyl]dihydrofuran-2(3*H*)-one (69)



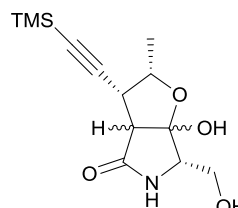
To a cooled ($-40\text{ }^{\circ}\text{C}$) solution of lactone **43** (distilled prior to use, 609 mg, 3.10 mmol) in THF (10 ml) was added LHMDS (1.3 M THF solution, 4.75 ml, 6.20 mmol). After 45 min, mixed anhydride **68** (3.7 mmol, 0.7 ml THF solution) was added to the reaction mixture at $-40\text{ }^{\circ}\text{C}$. After being stirred for 15 min at $-40\text{ }^{\circ}\text{C}$, the resulting solution was quenched by saturated aqueous NH_4Cl and warmed up to room temperature. The resulting solution was extracted with AcOEt and the extracts was washed with brine, dried over MgSO_4 , and concentrated *in vacuo*. The crude mixture was purified by flash silica gel column chromatography (10:1 to 6:1 Hexanes:EtOAc) to provide ketone **66** (713 mg, 1.68 mmol, 54%) as a white solid.

66: $[\alpha]_{\text{D}}^{20} -118^{\circ}$ (*c* 0.560, CHCl_3); IR (CDCl_3): 2177, 1772, 1731, 1708, 1252 cm^{-1} ; $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ (rotamer) 4.92 (0.6H, dd, $J = 7.5, 2.2$ Hz), 4.82-4.71 (1.4H, m), 4.27-4.11 (2H, m), 3.95 (1H, d, $J = 3.1$ Hz), 3.84 (0.6H, dd, $J = 6.8, 3.9$ Hz), 3.73 (0.4H, dd, $J = 6.3, 3.1$ Hz), 1.70 (1.8H, s), 1.68 (1.2H, s), 1.57-1.48 (9H, m), 1.37 (6H, s), 0.16 (5.4H, s), 0.15H (3.6H, s); $^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, CDCl_3) δ (199.0, 196.8), (171.2, 169.8), (152.2, 151.2), (100.7, 100.1), (95.5, 94.7), (92.0, 91.3), (81.5, 81.0), (77.8, 77.6), (64.6, 64.3, 64.2, 64.1, two carbon), (58.1, 57.9), (36.8, 35.9), (28.3, 28.2), (26.1, 25.3), (25.1, 23.8), (17.5, 17.1), (-0.2, -0.3); LR-MS (ESI) m/z 446 ($[\text{M}+\text{Na}]^+$); HR-MS (ESI) Calcd. for $\text{C}_{21}\text{H}_{33}\text{NO}_6\text{SiNa}$: 446.1969, found: 446.1947.

69: IR (CDCl_3): 2965, 2177, 1781, 1710, 1251 cm^{-1} ; $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ 4.86 (1H, dq, $J = 7.1, 6.5$ Hz), 4.23 (1H, d, $J = 7.6$ Hz), 3.74 (1H, dd, $J = 7.6, 7.1$ Hz), 1.47 (3H, d, $J = 6.5$ Hz), 1.24 (9H, s), 0.15H (9H, s); LR-MS (EI) m/z 280 (M^+), 205 (100%); HR-MS (EI) Calcd. for $\text{C}_{15}\text{H}_{24}\text{O}_3\text{Si}$: 280.1495, found: 280.1510.

(2S,3R,6S)-6a-Hydroxy-6-(hydroxymethyl)-2-methyl-3-[(trimethylsilyl)ethynyl]

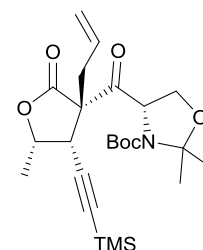
hexahydro-4H-furo[2,3-c]pyrrol-4-one (70)



After a solution of boc amide **66** (66.1 mg, 0.156 mmol) in 3 M HCl in AcOEt (1.5 ml) was stirred for 1 h., it was concentrated *in vacuo*. The residue was dissolved in pyridine (15.6 ml) and added DMAP (6.47 mg, 0.0530 mmol). After being stirred overnight at $50\text{--}60\text{ }^{\circ}\text{C}$, the resulting solution was concentrated *in vacuo*. The residue was purified by silica gel column chromatography (5:95 MeOH: CHCl_3) to give lactam **70** (25.2 mg, 0.0890 mmol, 57%) as a colorless solid.

70: IR (CDCl_3): 3289, 2959, 2172, 1689 cm^{-1} ; $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ 6.86 (1H, brs), 4.01-4.07 (1H, m), 3.95-3.92 (0.5H, m), 3.86-3.68 (2.5H, m), 3.30-3.27 (1H, m), 3.19 (0.5H, s), 3.14 (0.5 H, s), 1.48-1.43 (3H, m), 0.17 (9H, s); $^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, CDCl_3) δ (173.8, 173.2), 108.9, (102.9, 102.6), (91.5, 91.4), (78.4, 77.8), (63.3, 62.5, 62.1, 60.9, two carbon), (59.6, 58.1), (37.6, 37.2), (17.6, 17.5), 0; LR-MS (ESI) m/z 446 ($[\text{M}+\text{Na}]^+$); HR-MS (ESI) Calcd. for $\text{C}_{13}\text{H}_{21}\text{NO}_4\text{SiNa}$: 306.1132, found: 306.1126.

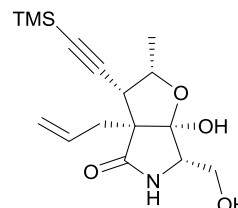
***tert*-Butyl (*S*)-4-[(3*S*,4*R*,5*S*)-3-allyl-5-methyl-2-oxo-4-[(trimethylsilyl)ethynyl]-tetrahydrofuran-3-carbonyl]-2,2-dimethyloxazolidine-3-carboxylate (**41**)**



To a solution of K_2CO_3 (85.8 mg, 0.621 mmol) and 3A molecular sieves powder (52 mg) in dry acetone (0.70 ml) was added lactone **66** (87.5 mmol, 0.207 mmol). After 30 min, to the resulting solution was added allyl bromide (21.0 μ l, 0.248 mmol) at 0 °C. The resulting solution was warmed up to room temperature. After 10 h, additional allyl bromide (15.0 μ l, 0.178 mmol) was added to the reaction mixture. After 10.5 h, the resulting solution was filtered, and saturated aqueous NH_4Cl and AcOEt were added to the mixture. The resulting solution was extracted with AcOEt and the extract was washed with brine, dried over $MgSO_4$, and concentrated *in vacuo*. The residue was purified by flash silica gel column chromatography (1:8 Hexane:EtOAc) to give allylated product **41** (131 mg, 0.207 mmol, quant.) as a colorless solid.

41: $[\alpha]_D^{23} -169^\circ$ (*c* 1.50, $CHCl_3$); IR ($CDCl_3$): 2973, 2175, 1753, 1726, 1687, 1250 cm^{-1} ; 1H -NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ (rotamer) 5.81-5.68 (1H, m), 5.51 (0.5H, d, $J = 7.7$ Hz), 5.33 (0.5H, d, $J = 7.7$ Hz), 5.29-5.14 (2H, m), 4.64-4.56 (1H, m), 4.12 (0.5H, d, $J = 9.5$ Hz), 4.09 (0.5H, d, $J = 9.5$ Hz), 3.97 (0.5H, dd, $J = 9.5, 1.9$ Hz), 3.88 (0.5H, dd, $J = 9.5, 2.4$ Hz), 3.44 (0.5H, d, $J = 5.3$ Hz), 3.40 (0.5H, d, $J = 5.3$ Hz), 2.88 (0.5H, dd, $J = 14.1, 6.3$ Hz), 2.68 (0.5H, dd, $J = 14.5, 5.8$ Hz), 2.60-2.51 (1H, m), 1.68 (1.5H, s), 1.65 (1.5H, s), 1.60-1.40 (15H, m), 0.11 (4.5H, s), 0.10 (4.5H, s); ^{13}C -NMR (100 MHz, $CDCl_3$) δ (198.8, 198.5), (174.3, 173.9), (151.7, 151.1), (130.8, 130.4), (121.2, 120.8), (99.3, 98.6), (95.3, 94.4), (93.6, 93.1), 80.2, (73.9, 73.5), (64.9, 63.9), (63.7, 63.4), (62.75, 62.73), (40.7, 40.6), (38.3, 38.1), (28.3, 28.2), (25.9, 25.3, 25.2, 23.9, two carbon), (17.0, 16.9), (-0.50, -0.54); LR-MS (FAB) m/z 464 ($[M+H]^+$), 350 (100%); HR-MS (FAB) Calcd. for $C_{24}H_{38}NO_6Si$: 464.2468, found: 464.2457.

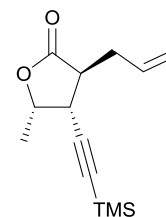
(2*S*,3*R*,3*aS*,6*S*,6*aR*)-3*a*-Allyl-6*a*-hydroxy-6-(hydroxymethyl)-2-methyl-3-[(trimethylsilyl)ethynyl]hexahydro-4*H*-furo-[2,3-*c*]pyrrol-4-one (40**)**



To a solution of boc amide **41** (15.4 mg, 0.0234 mmol) in dioxane (1.8 ml) was added *c*.HCl (0.6 ml) at room temperature. After 30 min, additional *c*.HCl (0.3 ml) was added to the reaction mixture. After 40 min, the resulting solution was concentrated *in vacuo*. The residue was dissolved in toluene-pyridine (1:2, 0.3 ml). After being stirred overnight, the resulting solution was concentrated *in vacuo*. The residue was purified by silica gel column chromatography (1:2 Hexane:EtOAc to EtOAc) to give lactam **40** (10.3 mg, 0.0234 mmol, quant.) as a colorless solid.

40: $[\alpha]_D^{23} -17.0^\circ$ (*c* 1.15, CHCl_3); IR (CHCl_3): 3311, 2959, 2173, 1689, 1250 cm^{-1} ; $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ 6.53 (1H, brs), 6.02-5.92 (1H, m), 5.20 (1H, d, $J = 17.4$ Hz), 5.15 (1H, d, $J = 10.1$ Hz), 3.95 (1H, dq, $J = 4.3$, 6.2 Hz), 3.84-3.75 (2H, m), 3.63-3.57 (1H, m), 3.19 (1H, d, $J = 4.3$ Hz), 3.04 (1H, s), 2.80 (1H, dd, $J = 14.5$, 8.2 Hz), 2.71 (1H, dd, $J = 8.0$, 4.1 Hz), 2.45 (1H, dd, $J = 14.5$, 6.3 Hz), 1.38 (3H, d, $J = 6.2$ Hz), 0.19 (9H, s); $^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, CDCl_3) δ 175.7, 132.6, 118.7, 108.7, 100.6, 93.7, 75.8, 63.1, 62.8, 59.2, 42.0, 35.4, 17.3, -0.1; LR-MS (FAB) m/z 324 ($[\text{M}+\text{H}]^+$), 73 (100%); HR-MS (FAB) Calcd. for $\text{C}_{16}\text{H}_{26}\text{NO}_4\text{Si}$: 324.1631, found: 324.1630.

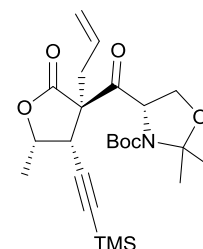
***tert*-Butyl (S)-4-((3*R*,4*R*,5*S*)-3-allyl-5-methyl-2-oxo-4-((trimethylsilyl)ethynyl)tetrahydrofuran-3-carbonyl)-2,2-dimethyloxazolidine-3-carboxylate (S2-7)**



To a cooled (-40°C) solution of lactone **43** (distilled prior to use, 400 mg, 2.03 mmol) in THF (6.8 ml) was added LHMDS (1.3 M THF solution, 1.70 ml, 2.23 mmol). After the reaction mixture was cooled to -78°C for 78 min, allyl bromide (0.18 ml, 2.13 mmol) in THF (0.67 ml) was added to the mixture at -78°C . After being stirred for 22 min at -78°C , the reaction mixture was warmed up to -15°C for 20 min, and then quenched by saturated aqueous NH_4Cl and warmed up to room temperature. The resulting solution was extracted with AcOEt and the extracts was washed with brine, dried over MgSO_4 , and concentrated *in vacuo*. The crude mixture was purified by flash silica gel column chromatography (6:1 Hexanes:EtOAc) to provide allylated product **S2-7** (421 mg, 1.78 mmol, 88%) as a colorless oil.

S2-7: $[\alpha]_D^{23} -108^\circ$ (*c* 1.05, CHCl_3); IR (CHCl_3): 2960, 2175, 1783, 1251 cm^{-1} ; $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ 5.83 (1H, dddd, $J = 17.3$, 10.7, 7.1, 7.1 Hz), 5.19 (1H, d, $J = 17.3$ Hz), 5.15 (1H, d, $J = 10.7$ Hz), 4.67 (1H, dq, $J = 7.2$, 6.5 Hz), 3.20 (1H, dd, $J = 9.5$, 7.2 Hz), 2.80 (1H, ddd, $J = 9.5$, 7.1, 5.2 Hz), 2.58-2.44 (2H, m), 1.43 (3H, d, $J = 6.5$ Hz), 0.16 (9H, s); $^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, CDCl_3) δ 176.0, 133.4, 118.6, 101.7, 90.1, 75.4, 45.0, 36.9, 32.8, 17.3, -0.3; LR-MS (FAB) m/z 236 (M^+), 164 (100%); HR-MS (FAB) Calcd. for $\text{C}_{13}\text{H}_{20}\text{O}_2\text{Si}$: 236.1233, found: 236.1226.

***tert*-Butyl (S)-4-((3*R*,4*R*,5*S*)-3-allyl-5-methyl-2-oxo-4-((trimethylsilyl)ethynyl)tetrahydrofuran-3-carbonyl)-2,2-dimethyloxazolidine-3-carboxylate (72)**

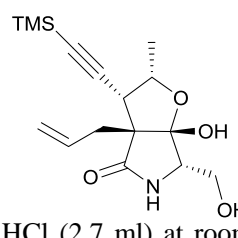


To a cooled (-40°C) solution of lactone **S2-7** (118 mg, 0.498 mmol) in THF (6.8 ml) was added LHMDS (1.3 M THF solution, 0.767 ml, 0.997 mmol). After 30 min, mix anhydride **68** (1.25 mmol) in dry THF (1.0 ml) was added to the mixture at -40°C . After being stirred for 40 min at -40°C , the reaction mixture was quenched by saturated

aqueous NH_4Cl and warmed up to room temperature. The resulting solution was extracted with AcOEt and the extracts was washed with brine, dried over MgSO_4 , and concentrated *in vacuo*. The crude mixture was purified by flash silica gel column chromatography (10:1 to 8:1 Hexanes:EtOAc) to provide ketone **72** (68.7 mg, 0.287 mmol, 58%) as a white amorphous.

72: IR (CHCl_3): 2981, 2174, 1773, 1724, 1681, 1403, 1251 cm^{-1} ; $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ 5.54-5.44 (1H, m), 5.14-5.08 (3H, m), 4.53 (1H, dq, $J = 5.4, 6.2$ Hz), 4.13 (1H, dd, $J = 6.8, 8.8$ Hz), 4.05 (1H, d, $J = 5.4$ Hz), 3.76 (1H, dd, $J = 7.3, 8.8$ Hz), 2.96 (1H, dd, $J = 15.8, 5.9$ Hz), 2.75 (1H, dd, $J = 15.8, 8.0$ Hz), 1.56 (3H, s), 1.50 (3H, d, $J = 6.2$ Hz), 1.48 (3H, s), 1.40 (9H, s), 0.15 (9H, s); LR-MS (FAB) m/z 464 ($[\text{M}+\text{H}]^+$), 350 (100%); HR-MS (FAB) Calcd. for $\text{C}_{24}\text{H}_{37}\text{NO}_6\text{Si}$: 464.2468, found: 464.2457.

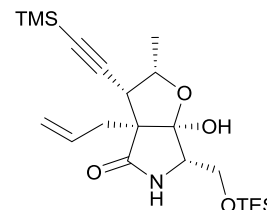
(2S,3R,3aR,6S,6aS)-3a-Allyl-6a-hydroxy-6-(hydroxymethyl)-2-methyl-3-[(trimethylsilyl)ethynyl]hexahydro-4H-furo[2,3-c]pyrrol-4-one (73)



To a solution of boc amide **72** (31.7 mg, 0.0683 mmol) in dioxane (6.8 ml) was added *c.HCl* (2.7 ml) at room temperature. After 12 h, additional *c.HCl* (1 ml) was added to the reaction mixture. After 30 min, the resulting solution was concentrated *in vacuo*. The residue was dissolved in toluene-pyridine (19:1, 6.0 ml) and added DMAP (4.2 mg, 0.0341 mmol). After being stirred overnight at 60 °C, the resulting solution was concentrated *in vacuo*. The residue was purified by silica gel column chromatography (1:1 to 1:2 Hexane:EtOAc) to give lactam **73** (18.1 mg, 0.0399 mmol, 58%) as a colorless solid.

73: $[\alpha]_{\text{D}}^{24} -62.3^\circ$ (*c* 0.893, CHCl_3); IR (CHCl_3): 3298, 2959, 2173, 1693, 1251 cm^{-1} ; $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ 6.67-6.64 (1H, m), 6.04-5.94 (1H, m), 5.20 (1H, d, $J = 17.1$ Hz), 5.12 (1H, d, $J = 9.8$ Hz), 4.61-4.52 (1H, m), 4.24 (1H, dq, $J = 6.2, 6.3$ Hz), 3.95-3.89 (1H, m), 3.75-3.69 (1H, m), 3.59 (1H, dd, $J = 5.9, 5.9$ Hz), 3.09 (1H, brs), 3.09 (1H, d, $J = 6.2$ Hz), 2.64 (1H, dd, $J = 13.9, 7.3$ Hz), 2.71 (1H, dd, $J = 13.9, 7.3$ Hz), 1.30 (3H, d, $J = 6.3$ Hz), 0.15 (9H, s); $^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, CDCl_3) δ 175.1, 133.4, 119.6, 109.1, 100.8, 92.1, 76.5, 62.7, 62.5, 61.3, 44.7, 36.3, 17.4, -0.1; LR-MS (FAB) m/z 224 ($[\text{M}+\text{H}]^+$, 100%); HR-MS (FAB) Calcd. for $\text{C}_{16}\text{H}_{27}\text{NO}_4\text{Si}$: 324.1631, found: 324.1642.

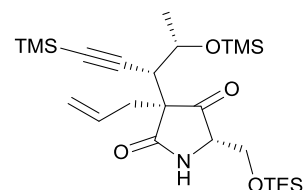
(2S,3R,3aS,6S,6aR)-3a-Allyl-6a-hydroxy-2-methyl-6-[(triethylsilyloxy)methyl]-3-[(trimethylsilyl)ethynyl]hexahydro-4H-furo[2,3-c]pyrrol-4-one (74)



To a solution of diol **40** (52.6 mg, 0.162 mmol) in dry DMF (3 ml) was added Et₃N (68.0 μl, 0.0488 mmol), DMAP (9.89 mg, 0.0810 mmol), and TESCl (40.7 μl, 0.242 mmol) at 0 °C. The reaction mixture was stirred for 1 h at room temperature, and additional Et₃N (68.0 μl, 0.0488 mmol) and TESCl (40.7 μl, 0.242 mmol) were added at 0 °C. After 10 min at 0 °C, the resulting mixture was quenched by MeOH (120 μl) and saturated aqueous NaHCO₃ and warmed up to room temperature. The resulting solution was extracted with Et₂O and the extracts was washed with brine, dried over MgSO₄, and concentrated *in vacuo*. The residue was purified by flash silica gel column chromatography (4:1 to 3:1 Hexane:EtOAc) to give silyl ether **74** (57.6 mg, 0.131 mmol, 81%) as a white solid.

74: [α]_D²³ -36.23° (*c* 0.6715, CHCl₃); IR (CHCl₃): 3285, 2956, 2174, 1701, 1250 cm⁻¹; ¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 6.04-5.93 (1H, m), 5.89 (1H, brs), 5.20 (1H, d, *J* = 16.9 Hz), 5.14 (1H, d, *J* = 10.1 Hz), 3.97 (1H, qd, *J* = 5.7, 4.8 Hz), 3.82-3.74 (2H, m), 3.58 (1H, dd, *J* = 8.7, 8.7 Hz), 3.20 (1H, d, *J* = 4.8 Hz), 3.17 (1H, s), 2.78 (1H, dd, *J* = 14.2, 7.7 Hz), 2.44 (1H, dd, *J* = 14.2, 6.8 Hz), 1.38 (3H, d, *J* = 5.7 Hz), 0.95 (9H, t, *J* = 7.9 Hz), 0.61 (6H, q, *J* = 7.9 Hz), 0.19 (9H, s); ¹³C-NMR (100 MHz, CDCl₃) δ 175.3, 132.9, 118.5, 108.2, 100.7, 93.3, 75.5, 63.4, 63.0, 59.5, 42.3, 35.2, 17.4, 6.6, 4.2, -0.1; LR-MS (ESI) *m/z* 460 ([M+Na]⁺); HR-MS (ESI) Calcd. for C₂₂H₃₉NO₄Si₂Na: 460.2310, found: 460.2294.

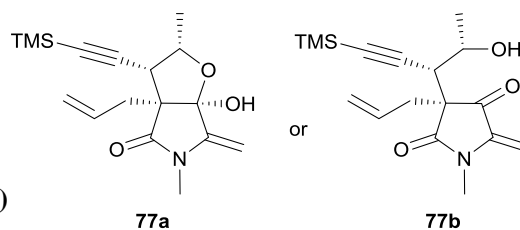
(3*S*,5*S*)-3-Allyl-5-[(triethylsilyl)oxy]methyl-3-[(3*R*,4*S*)-1-(trimethylsilyl)-4-[(trimethylsilyl)oxy]pent-1-yn-3-yl]pyrrolidine-2,4-dione (S2-8**)**



To a solution of hemiketal **74** (37.2 mg, 0.0849 mmol) in CH₂Cl₂ (1.7 ml) was added Et₃N (189 μl, 1.35 mmol), DMAP (5.10 mg, 0.0424 mmol), and TMSCl (86.0 μl, 0.679 mmol) at 0 °C. After being stirred for 2.3 h at room temperature, the reaction mixture was quenched by saturated aqueous NaHCO₃. The resulting solution was extracted with AcOEt and the extracts was washed with brine, dried over MgSO₄, and concentrated *in vacuo*. The residue was dissolved in AcOEt (1 ml) and to the resulting solution was added SiO₂. After being stirred overnight, the resulting solution was filtered and concentrated *in vacuo*. The residue was purified by flash silica gel column chromatography (5.5:1 to 4:1 Hexane:AcOEt) to give silyl ether **S2-8** (39.4 mg, 0.0773 mmol, 91%) as a white solid.

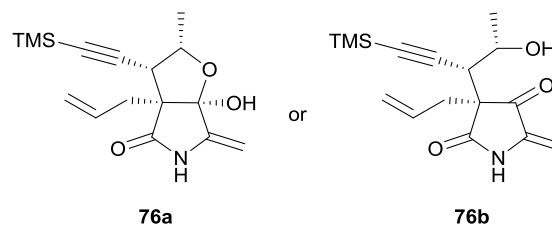
S2-8: [α]_D²⁰ +46.2° (*c* 1.40, CHCl₃); IR (CHCl₃): 2955, 2173, 1774, 1698, 1250 cm⁻¹; ¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 6.31 (1H, brs), 5.73-5.62 (1H, m), 5.15 (1H, dd, *J* = 17.1, 1.3 Hz), 5.08 (1H, dd, *J* = 10.1, 1.3 Hz), 4.14-4.09 (2H, m), 3.84 (1H, dd, *J* = 10.3, 3.6 Hz), 3.53 (1H, dd, *J* = 10.3, 9.2 Hz), 2.87 (1H, d, *J* = 3.2 Hz), 2.75 (1H, dd, *J* = 13.4, 7.5 Hz), 2.49 (1H, dd, *J* = 13.4, 7.7 Hz), 1.31 (3H, d, *J* = 6.3 Hz), 0.94 (9H, t, *J* = 7.9 Hz), 0.59 (6H, q, *J* = 7.9 Hz), 0.21 (9H, s), 0.09 (9H, s); ¹³C-NMR (100 MHz, CDCl₃) δ 205.9, 174.9, 132.1, 120.0, 100.6, 91.9, 68.6, 64.0, 62.6, 55.2, 48.6, 38.7, 21.8, 6.6, 4.2, 1.4, 0.0; LR-MS (ESI) *m/z* 532 ([M+Na]⁺, 100%); HR-MS (ESI) Calcd. for C₂₅H₄₇NO₄Si₃Na: 532.2705, found: 532.2684.

(2*S*,3*R*,3*aS*,6*aR*)-3*a*-Allyl-6*a*-hydroxy-2,5-dimethyl-6-methylene-3-[(trimethylsilyl)ethynyl]hexahydro-4*H*-furo[2,3-*c*]pyrrol-4-one (77a) or (S)-3-Allyl-3-[(3*R*,4*S*)-4-hydroxy-1-(trimethylsilyl)pent-1-yn-3-yl]-1-methyl-5-methylenepyrrolidine-2,4-dione (77b)



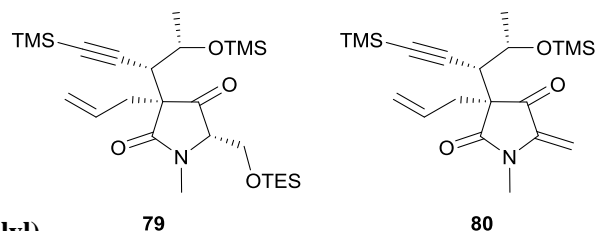
77: IR (CHCl₃): 3390, 2925, 2173, 1722, 1653, 1251 cm⁻¹; ¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 5.83-5.73 (1H, m), 5.15 (1H, d, *J* = 16.9 Hz), 5.05 (1H, d, *J* = 9.2 Hz), 4.76 (1H, d, *J* = 2.4 Hz), 4.39 (1H, d, *J* = 2.4 Hz), 3.88 (1H, qd, *J* = 5.9, 4.5 Hz), 3.27 (1H, d, *J* = 4.5 Hz), 2.98 (3H, s), 2.69 (1H, s), 2.69-2.62 (2H, m), 1.38 (3H, d, *J* = 5.9 Hz), 0.20 (9H, s); LR-MS (ESI) *m/z* 342 ([M+Na]⁺, 100%); HR-MS (ESI) Calcd. for C₁₇H₂₅NO₃SiNa: 342.1496, found: 342.1481.

(2*S*,3*R*,3*aS*,6*aR*)-3*a*-Allyl-6*a*-hydroxy-2-methyl-6-methylene-3-[(trimethylsilyl)ethynyl]hexahydro-4*H*-furo[2,3-*c*]pyrrol-4-one (76a) or (S)-3-Allyl-3-[(3*R*,4*S*)-4-hydroxy-1-(trimethylsilyl)pent-1-yn-3-yl]-5-methylenepyrrolidine-2,4-dione (76b)



76: IR (CHCl₃): 3278, 2927, 2174, 1774, 1713, 1676, 1252 cm⁻¹; ¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 7.03 (1H, brs), 5.91-5.80 (1H, m), 5.20 (1H, d, *J* = 16.9 Hz), 5.11 (1H, d, *J* = 9.7 Hz), 4.74 (1H, d, *J* = 1.9 Hz), 4.48 (1H, d, *J* = 1.9 Hz), 3.99 (1H, qd, *J* = 5.7, 4.8 Hz), 3.26 (1H, d, *J* = 4.8 Hz), 2.69-2.60 (3H, s), 1.41 (3H, d, *J* = 5.7 Hz), 0.20 (9H, s); LR-MS (ESI) *m/z* 328 ([M+Na]⁺, 100%); HR-MS (ESI) Calcd. for C₁₆H₂₃NO₃SiNa: 328.1339, found: 328.1329.

(3*S*,5*S*)-3-Allyl-1-methyl-5-[[triethylsilyloxy]methyl]-3-[(3*R*,4*S*)-1-(trimethylsilyl)-4-[(trimethylsilyloxy)pent-1-yn-3-yl]pyrrolidine-2,4-dione (79)



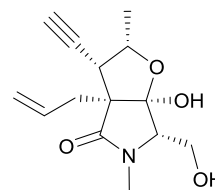
(S)-3-Allyl-1-methyl-5-methylene-3-[(3*R*,4*S*)-1-(trimethylsilyl)-4-[(trimethylsilyloxy)pent-1-yn-3-yl]pyrrolidine-2,4-dione (80)

To a solution of NaH (5.30 mg, 0.176 mmol) in THF (0.7 ml) was cannulated a THF solution of MeI (85.7 μl, 1.37 mmol) and **S2-8** (69.8 mg, 0.137 mmol) at 0 °C. After being stirred for 10 min, the reaction mixture was quenched with PBS buffer. The resulting solution was extracted with EtOAc and the extracts were washed with brine, dried over MgSO₄, and concentrated *in vacuo*. The residue was purified by flash silica gel column chromatography (1:0 to 10:1 Hexane:EtOAc) to give *N*-Me lactam **79** (50.4 mg, 0.0961 mmol, 70%), substrate **S2-8** (14.0 mg, 0.0274 mmol, 20%), byproduct **80** (2.61 mg, 0.00669 mmol, 4.8%).

79: $[\alpha]_D^{24} +62.7^\circ$ (*c* 0.922, CHCl₃); IR (CHCl₃): 2957, 2175, 1770, 1694, 1251, 842 cm⁻¹; ¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 5.86-5.76 (1H, m), 5.16 (1H, dd, *J* = 17.0, 2.1 Hz), 5.07 (1H, dd, *J* = 10.0, 2.1 Hz), 3.96 (1H, qd, *J* = 6.3, 2.6 Hz), 3.91-3.83 (3H, m), 3.04 (3H, s), 2.90 (1H, d, *J* = 2.6 Hz), 2.60 (1H, dd, *J* = 13.8, 6.3 Hz), 2.51 (1H, dd, *J* = 13.8, 8.3 Hz), 1.28 (3H, d, *J* = 6.3 Hz), 0.92 (9H, t, *J* = 8.0 Hz), 0.57 (6H, q, *J* = 8.0 Hz), 0.20 (9H, s), 0.06 (9H, s); ¹³C-NMR (100 MHz, CDCl₃) δ 205.7, 173.4, 132.4, 119.1, 101.0, 91.5, 68.8, 68.5, 60.6, 53.5, 47.7, 38.0, 27.8, 21.9, 6.6, 4.1, 1.4, 0.0; LR-MS (ESI) *m/z* 524 ([M+H]⁺, 100%); HR-MS (ESI) Calcd. for C₂₆H₅₀NO₄Si₃: 524.3042, found: 524.3022.

80: IR (CHCl₃): 2958, 2175, 1762, 1719, 1638, 1251, 843 cm⁻¹; ¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 5.58-5.47 (1H, m), 5.12 (1H, d, *J* = 14.0 Hz), 5.10 (1H, s), 5.02 (1H, d, *J* = 10.1 Hz), 4.41 (1H, s), 3.94-3.88 (1H, m), 3.10 (3H, s), 2.97 (1H, d, *J* = 2.9 Hz), 2.84 (1H, dd, *J* = 13.2, 6.5 Hz), 2.51 (1H, dd, *J* = 13.2, 8.7 Hz), 1.23 (3H, d, *J* = 6.3 Hz), 0.22 (9H, s), 0.00 (9H, s); ¹³C-NMR (150 MHz, CDCl₃) δ 194.7, 173.0, 143.0, 130.7, 120.2, 100.9, 91.8, 89.8, 68.1, 53.3, 47.3, 39.8, 26.1, 21.8, 0.7, 0.0; LR-MS (ESI) *m/z* 414 ([M+Na]⁺, 100%); HR-MS (ESI) Calcd. for C₂₀H₃₃NO₄Si₂Na: 414.1897, found: 414.1881.

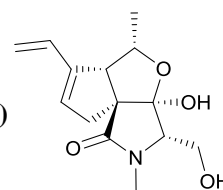
(2*S*,3*S*,3*aS*,6*S*,6*aR*)-3*a*-Allyl-3-ethynyl-6*a*-hydroxy-6-(hydroxymethyl)-2,5-dimethylhexahydro-4*H*-furo[2,3-*c*]pyrrol-4-one (81**)**



To a solution of TMS-alkyne **79** (44.5 mg, 0.0849 mmol) in CH₂Cl₂-MeOH-H₂O (7:4:1, 3.4 ml) was added AgNO₃ (5.10 mg, 0.0300 mmol) at room temperature. After 2 h, the resulting mixture was filtered through Celite, and concentrated *in vacuo*. The residue was purified by silica gel column chromatography (100:1 to 20:1 CHCl₃:MeOH) to give crude eneyne **81** (22.0 mg, 0.0829 mmol, 98%) as a colorless solid.

81: $[\alpha]_D^{24} +32.0^\circ$ (*c* 0.412, CHCl₃); IR (CHCl₃): 3294, 2360, 1671, 1117 cm⁻¹; ¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 6.01-5.91 (1H, m), 5.20 (1H, d, *J* = 16.9 Hz), 5.14 (1H, d, *J* = 10.1 Hz), 3.86 (1H, qd, *J* = 6.2, 4.3 Hz), 3.80 (1H, dd, *J* = 5.8, 5.8 Hz), 3.59 (1H, dd, *J* = 5.8, 5.8 Hz), 3.25-3.78 (1H, m), 3.23 (1H, s), 2.91 (3H, s), 2.81 (1H, dd, *J* = 14.5, 7.7 Hz), 2.64-2.60 (1H, m), 2.49 (1H, dd, *J* = 14.5, 6.8 Hz), 2.40 (1H, d, *J* = 2.4 Hz), 1.39 (3H, d, *J* = 6.2 Hz); ¹³C-NMR (100 MHz, CDCl₃) δ 172.9, 132.8, 118.6, 107.5, 78.7, 76.2, 75.6, 69.0, 60.1, 59.7, 41.4, 35.3, 28.7, 17.1; LR-MS (ESI) *m/z* 288 ([M+Na]⁺, 100%); HR-MS (ESI-MS) Calcd. for C₁₄H₁₉NO₄Na: 288.1206, found: 288.1202.

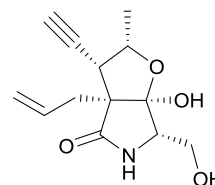
(3*S*,3*aR*,5*S*,5*aS*,8*aS*)-3*a*-Hydroxy-3-(hydroxymethyl)-2,5-dimethyl-6-vinyl-3,3*a*,5*a*,8-tetrahydro-5*H*-cyclopenta[3,4]furo[2,3-*c*]pyrrol-1(2*H*)-one (50**)**



A solution of eneyne **81** (20.1 mg, 0.0756 mmol) in dry CH₂Cl₂ (8.9 mL) was degassed by two freeze-pump-thaw cycles on a vacuum line. To the resulting solution was added Grubbs 2nd catalyst (4.70 mg, 0.00567 mmol) and stirred under ethylene atmosphere for 2 h at room temperature. The resulting mixture was sparged with air, quenched with ethyl vinyl ether (7.2 μL, 0.0753 mmol) at room temperature, and concentrated *in vacuo*. The residue was purified by silica gel column chromatography (100:1 to 10:1 CHCl₃:MeOH) to give diene **50** (15.6 mg, 0.0587 mmol, 78%) as a colorless solid.

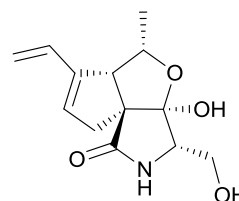
50: [α]_D²⁴ -32.5° (*c* 0.767, CHCl₃:MeOH 10:1); IR (CHCl₃): 3248, 1660, 1157 cm⁻¹; ¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃:CD₃OD 10:1) δ 6.46 (1H, dd, *J* = 17.7, 11.0 Hz), 5.78 (1H, s), 5.07 (1H, d, *J* = 11.0 Hz), 4.94 (1H, d, *J* = 17.7 Hz), 4.62 (1H, dq, *J* = 7.5, 6.9 Hz), 3.86-3.79 (2H, m), 3.65 (1H, dd, *J* = 12.1, 4.3 Hz), 3.52-3.49 (1H, m), 2.87 (3H, s), 2.87 (1H, d, *J* = 18.4 Hz), 2.53 (1H, d, *J* = 18.4 Hz), 1.21 (3H, d, *J* = 6.9 Hz); ¹³C-NMR (100 MHz, CDCl₃:CD₃OD 10:1) δ 177.7, 140.2, 132.7, 132.2, 114.7, 107.1, 78.8, 68.5, 64.9, 60.3, 58.3, 35.9, 28.3, 18.7; LR-MS (ESI) *m/z* 288 ([M+Na]⁺, 100%); HR-MS (ESI-MS) Calcd. for C₁₄H₁₉NO₄Na: 288.1206, found: 288.1201.

(2S,3S,3aS,6S,6aR)-3a-Allyl-3-ethynyl-6a-hydroxy-6-(hydroxymethyl)-2-methylhexahydro-4H-furo[2,3-c]pyrrol-4-one (82)



To a solution of TMS-alkyne **40** (57.3 mg, 0.176 mmol) in CH₂Cl₂-MeOH-H₂O (7:4:1, 7.2 ml) was added AgNO₃ (2.20 mg, 0.0130 mmol) at room temperature. After 7 h, additional AgNO₃ (5.0 mg, 0.0294 mmol) was added to the reaction mixture. After 5 h, the resulting mixture was filtered through Celite, and concentrated *in vacuo*. The residue was purified by silica gel column chromatography (20:1 to 10:1 CHCl₃:MeOH) to give crude eneyne **82** (52.5 mg, 0.176 mmol, quant.) as a colorless solid that was used in the next reaction without further purification.

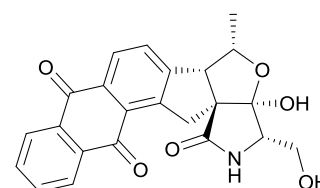
(3S,3aR,5S,5aS,8aS)-3a-Hydroxy-3-(hydroxymethyl)-5-methyl-6-vinyl-3,3a,5a,8-tetrahydro-5H-cyclopenta[3,4]furo[2,3-c]pyrrol-1(2H)-one (83)



A solution of crude eneyne **82** (46.07 mg, 0.154 mmol) in dry CH₂Cl₂ (18 mL) was degassed by two freeze-pump-thaw cycles on a vacuum line. To the resulting solution was added Grubbs 2nd catalyst (12.3 mg, 0.0137 mmol) and stirred under ethylene atmosphere for 2 h at room temperature. The resulting mixture was sparged with air and concentrated *in vacuo*. The residue was purified by silica gel column chromatography (100:1 to 10:1 CHCl₃:MeOH) to give diene **83** (32.7 mg, 0.130 mmol, 84% for 2 steps) as a colorless solid. Diene **83** was recrystallized from toluene/MeOH/CHCl₃.

83: mp 167-169 °C; $[\alpha]_D^{24} -74.3^\circ$ (*c* 0.154, CHCl₃:MeOH 1:1); IR (CHCl₃): 3282, 1671, 1105 cm⁻¹; ¹H-NMR (600 MHz, CDCl₃:CD₃OD 10:1) δ 6.47 (1H, dd, *J* = 17.3, 10.8 Hz), 5.78 (1H, s), 5.08 (1H, d, *J* = 10.8 Hz), 4.95 (1H, d, *J* = 17.3 Hz), 4.65 (1H, dq, *J* = 7.7, 6.9 Hz), 3.86 (1H, d, *J* = 7.7 Hz), 3.66-3.56 (3H, m), 3.27 (1H, s), 2.91 (1H, d, *J* = 18.8 Hz), 2.54 (1H, d, *J* = 18.8 Hz), 1.21 (3H, d, *J* = 6.9 Hz); ¹³C-NMR (150 MHz, CDCl₃:CD₃OD 10:1) δ 159.8, 127.5, 121.5, 121.1, 107.2, 102.4, 78.5, 66.8, 65.3, 65.1, 63.7, 43.9, 30.3; LR-MS (EI) *m/z* 251 (M⁺), 131 (100%); HR-MS (EI-MS) Calcd. for C₁₃H₁₇NO₄: 251.1158, found: 251.1148.

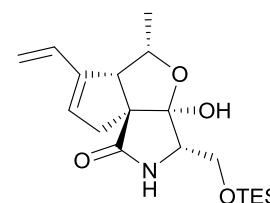
(3*S*,3*aR*,5*S*,5*aS*,14*aS*)-3*a*-Hydroxy-3-(hydroxymethyl)--5-methyl-3,3*a*,5*a*,14-tetrahydro-5*H*-naphtho[2'',3''':4',5']-indeno[2',1':3,4]furo[2,3-*c*]pyrrole-1,8,13(2*H*)-trione (86**)**



To a solution of diene **83** (2.16 mg, 0.00859 mmol) in toluene was added 1,4-naphthoquinone (1.67 mg, 0.0103 mmol). After refluxing for 12 h, the resultant solution was concentrated *in vacuo*. The residue was purified by preparative TLC (AcOEt \times 5) to give anthraquinone **86** (1.66 mg, 0.00392 mmol, 46%).

86: $[\alpha]_D^{24} -17.5^\circ$ (*c* 0.144, CHCl₃:MeOH 10:1); IR (CHCl₃): 3282, 1671, 1105 cm⁻¹; ¹H-NMR (600 MHz, CDCl₃:CD₃OD = 6:1) δ 8.29-8.24 (3H, m), 7.82-7.80 (2H, m), 7.62 (1H, d, *J* = 7.6 Hz), 4.69 (1H, dq, *J* = 7.7, 6.8 Hz), 4.21 (1H, d, *J* = 7.7 Hz), 4.16 (1H, d, *J* = 18.9 Hz), 3.76 (1H, dd, *J* = 6.2, 4.8 Hz), 3.75-3.72 (2H, m), 3.62 (1H, d, *J* = 18.9 Hz), 3.37 (1H, s), 1.34 (3H, d, *J* = 6.8 Hz), 1.26 (1H, brs); ¹³C-NMR (100 MHz, CDCl₃:CD₃OD = 10:1) (one carbon missing) δ 184.4, 183.3, 178.6, 148.4, 146.5, 134.1, 133.8, 133.5, 133.0, 130.8, 129.2, 126.87, 126.84, 126.7, 109.2, 77.1, 64.8, 62.9, 62.1, 58.6, 37.7, 18.9; LR-MS (ESI) *m/z* 428 (M+Na⁺); HR-MS (ESI-MS) Calcd. for C₂₃H₁₉NO₆Na: 428.1105, found: 428.1091.

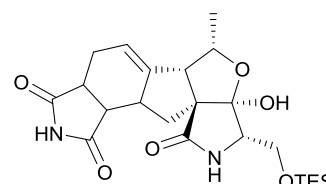
(3*S*,3*aR*,5*S*,5*aS*,8*aS*)-3*a*-Hydroxy-5-methyl-3-[[triethylsilyloxy]methyl]-6-vinyl-3,3*a*,5*a*,8-tetrahydro-5*H*-cyclopenta[3,4]furo[2,3-*c*]pyrrol-1(2*H*)-one (85**)**



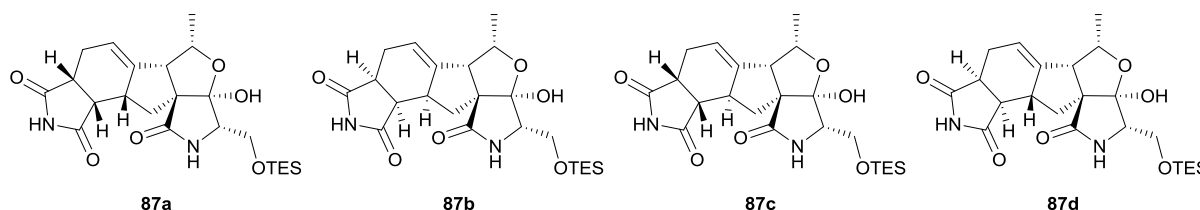
To a solution of diol **83** (32.7 mg, 0.130 mmol) in dry DMF (6.5 ml) was added Et₃N (109 μ l, 0.780 mmol), DMAP (7.94 mg, 0.0650 mmol), and TESCl (65.5 μ l, 0.390 mmol) at 0 °C. After being stirred for 7 h at room temperature, the resulting mixture was quenched by MeOH (65 μ l) and saturated aqueous NaHCO₃ at 0 °C and warmed up to room temperature. The resulting solution was extracted with Et₂O and the extracts was washed with brine, dried over MgSO₄, and concentrated *in vacuo*. The residue was purified by silica gel column chromatography (4:1 to 3:1 Hexane:EtOAc) to give silyl ether **85** (30.1 mg, 0.0824 mmol, 63%) as a colorless solid.

85: $[\alpha]_D^{21} -48.8^\circ$ (*c* 0.626, CHCl₃); IR (CHCl₃): 3290, 2954, 1685, 1077 cm⁻¹; ¹H-NMR (600 MHz, CDCl₃) δ 7.25 (1H, brs), 6.46 (1H, dd, *J* = 17.6, 10.8 Hz), 5.78 (1H, s), 5.07 (1H, d, *J* = 10.8 Hz), 4.95 (1H, d, *J* = 17.6 Hz), 4.68 (1H, s), 4.65 (1H, dq, *J* = 7.3, 6.6 Hz), 3.87 (1H, d, *J* = 7.3 Hz), 3.73-3.67 (2H, m), 3.57 (1H, dd, *J* = 9.9, 7.2 Hz), 2.92 (1H, d, *J* = 18.1 Hz), 2.57 (1H, d, *J* = 18.1 Hz), 1.20 (3H, d, *J* = 6.6 Hz), 0.96 (9H, t, *J* = 7.9 Hz), 0.62 (6H, q, *J* = 7.9 Hz); ¹³C-NMR (150 MHz, CDCl₃) δ 180.6, 140.4, 132.8, 132.1, 115.0, 109.5, 79.0, 64.4, 63.4, 61.7, 60.5, 36.1, 18.8, 6.6, 4.1; LR-MS (EI) *m/z* 365 (M⁺), 117 (100%); HR-MS (EI-MS) Calcd. for C₁₉H₃₁NO₄Si: 365.2022, found: 365.2013.

**(3*S*,3*aR*,5*S*,5*aS*,11*aS*)-3*a*-Hydroxy-5-methyl-3-[[triethylsilyl]oxy]methyl]-
**3,3*a*,5*a*,7,7*a*,10*a*,10*b*,11-octahydropyrrolo-[3'',4':4',5']furo[3',4':3,4]cyclopenta
 [1,2-*e*]isoindole-1,8,10(2*H*,5*H*,9*H*)-trione (**87**)****



To a solution of diene **85** (66.1 mg, 0.181 mmol) in toluene (3 ml) was added maleimide (19.3 mg, 0.199 mmol). After refluxing for 19 h, the resultant solution was concentrated *in vacuo*. The residue was purified by silica gel column chromatography (2:1 to 0:1 Hexane:EtOAc to CHCl₃:MeOH 8:1) to give crude cyclohexene **87** (30.4 mg), which was purified by preparative TLC (CHCl₃:MeOH 20:1) to give cyclohexene **87a** (7.87 mg, 0.0170 mmol, 9%),



87b (9.14 mg, 0.0198 mmol, 11%), and **87c** or **87d** (1.74 mg, 0.00376 mmol, 2%).

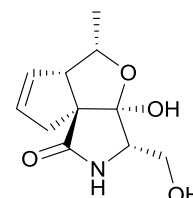
87a: $[\alpha]_D^{22} -126^\circ$ (*c* 0.446, CHCl₃); IR (CHCl₃): 3277, 2953, 1774, 1708 cm⁻¹; ¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 8.71 (1H, brs), 6.19 (1H, brs), 5.66-5.63 (1H, m), 5.14 (1H, s), 4.20 (1H, dq, *J* = 6.8, 6.7 Hz), 3.89 (1H, dd, *J* = 10.4, 4.1 Hz), 3.74 (1H, dd, *J* = 8.5, 4.1 Hz), 3.60 (1H, dd, 10.4, 8.5 Hz), 3.42-3.37 (1H, m), 3.32 (1H, dd, *J* = 8.7, 7.8 Hz), 3.17 (1H, ddd, *J* = 7.8, 7.7, 1.2 Hz), 3.12-3.04 (1H, m), 2.82 (1H, ddd, *J* = 15.0, 6.8, 1.2 Hz), 2.77 (1H, dd, *J* = 15.5, 6.8 Hz), 2.49 (1H, dd, *J* = 15.5, 11.6 Hz), 2.14-2.07 (1H, m), 1.19 (3H, d, *J* = 6.7 Hz), 0.95 (9H, t, *J* = 8.0 Hz), 0.61 (6H, q, *J* = 8.0 Hz); ¹³C-NMR (100 MHz, CDCl₃) δ 180.6, 179.5, 178.1, 144.9, 120.7, 108.9, 74.0, 66.1, 63.0, 62.9, 58.2, 43.8, 42.4, 41.5, 28.9, 25.5, 17.3, 6.7, 4.2; LR-MS (ESI) *m/z* 485 (M+Na⁺); HR-MS (ESI-MS) Calcd. for C₂₃H₃₄N₂O₆SiNa: 485.2078, found: 485.2057.

87b: $[\alpha]_D^{20} -61.3^\circ$ (*c* 0.518, CHCl₃); IR (CHCl₃): 3270, 2954, 1774, 1715 cm⁻¹; ¹H-NMR (600 MHz, CDCl₃) δ 8.61 (1H, brs), 6.65 (1H, brs), 5.71-5.68 (1H, m), 5.18 (1H, s), 4.23 (1H, dq, *J* = 6.5, 6.4 Hz), 3.76 (1H, dd, *J* = 8.2, 2.7 Hz), 3.70-3.64 (2H, m), 3.32 (1H, dd, *J* = 9.3, 8.4 Hz), 3.31-3.27 (1H, m), 3.15 (1H, dd, *J* = 8.4, 7.4 Hz), 2.95-2.89 (1H, m), 2.81 (1H, dd, *J* = 15.5, 7.4 Hz), 2.37 (1H, dd, *J* = 12.5, 12.0 Hz), 2.32 (1H, dd, *J* = 12.5, 7.6 Hz), 2.21-2.17

(1H, m), 1.30 (3H, d, $J = 6.4$ Hz), 0.97 (9H, t, $J = 8.0$ Hz), 0.65 (6H, q, $J = 8.0$ Hz); ^{13}C -NMR (150 MHz, CDCl_3) δ 179.9, 177.6, 177.5, 142.1, 120.3, 109.4, 76.2, 63.9, 63.6, 62.1, 55.1, 43.2, 41.1, 38.9, 33.3, 23.3, 17.4, 6.6, 4.1; LR-MS (ESI) m/z 501 ($\text{M}+\text{K}^+$); HR-MS (ESI-MS) Calcd. for $\text{C}_{23}\text{H}_{34}\text{N}_2\text{O}_6\text{SiK}$: 501.1818, found: 501.1798.

87c or **87d**: $[\alpha]_{\text{D}}^{24} -144^\circ$ (c 0.0870, CHCl_3); IR (CHCl_3): 3270, 2954, 1775, 1717 cm^{-1} ; ^1H -NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 8.10 (1H, brs), 6.14 (1H, brs), 5.72-5.68 (1H, m), 4.80 (1H, s), 4.31 (1H, dq, $J = 6.8, 6.6$ Hz), 3.75-3.67 (3H, m), 3.43-3.37 (1H, m), 2.97 (1H, dd, $J = 18.1, 8.9$ Hz), 2.75-2.66 (3H, m), 2.66-2.56 (1H, m), 2.20-2.11 (1H, m), 1.94 (1H, dd, $J = 12.3, 10.4$ Hz), 1.27 (3H, d, $J = 6.6$ Hz), 0.97 (9H, t, $J = 7.9$ Hz), 0.64 (6H, q, $J = 7.9$ Hz); ^{13}C -NMR (100 MHz, CDCl_3) δ 179.3, 179.0, 177.6, 142.2, 120.5, 109.3, 76.5, 64.5, 63.4, 62.2, 56.0, 47.9, 40.8, 39.6, 38.3, 23.6, 17.9, 6.6, 4.2; LR-MS (ESI) m/z 485 ($\text{M}+\text{Na}^+$); HR-MS (ESI-MS) Calcd. for $\text{C}_{23}\text{H}_{34}\text{N}_2\text{O}_6\text{SiNa}$: 485.2078, found: 485.2074.

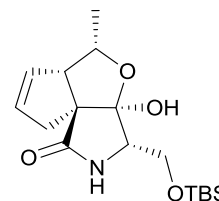
(3*S*,3*aR*,5*S*,5*aS*,8*aS*)-3*a*-Hydroxy-3-(hydroxymethyl)-5-methyl-3,3*a*,5*a*,8-tetrahydro-5*H*-cyclopenta[3,4]furo[2,3-*c*]pyrrol-1(2*H*)-one (88**)**



A mixture of crude alkyne **82** (191 mg, 0.608 mmol) and Lindlar catalyst (19.4 mg, 0.00911 mmol) in MeOH (30 ml) was stirred under hydrogen atmosphere for 28.5 h at room temperature. Additional Lindlar catalyst (19.4 mg, 0.00911 mmol) was added to the reaction mixture. After 2 days, the reaction was sparged with nitrogen, filtered through Celite, and concentrated *in vacuo*. The residue was purified by silica gel column chromatography (10:1 CHCl_3 :MeOH) to give crude diene **89** that was used in the next reaction without further purification. A solution of crude diene **89** (0.608 mmol) in dry CH_2Cl_2 (61 mL) was degassed by two freeze-pump-thaw cycles on a vacuum line. To the resulting solution was added Grubbs 2nd catalyst (40.9 mg, 0.0455 mmol) and stirred for 2 h at room temperature. After being stirred at 30 $^\circ\text{C}$ for 2 h, the resulting solution was added Ph_3PO (270 mg) and concentrated *in vacuo*. The residue was purified by silica column chromatography (100:1.5 CHCl_3 :MeOH) to give cyclopentene **88** (136 mg, 0.606 mmol, 99%) as a colorless solid.

88: $[\alpha]_{\text{D}}^{20} +39.5^\circ$ (c 0.822, CHCl_3); IR (CHCl_3): 3303, 2976, 2934, 1681, 1383 cm^{-1} ; ^1H -NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 6.84 (1H, brs), 5.84-5.81 (1H, m), 5.64-5.60 (1H, m), 4.25 (1H, dq, $J = 6.3, 6.3$ Hz), 3.75-3.56 (5H, m), 3.15 (1H, brs), 2.76 (2H, s), 1.31 (3H, d, $J = 6.3$ Hz); ^{13}C -NMR (100 MHz, CDCl_3) δ 178.5, 132.1, 127.5, 109.9, 76.2, 63.4, 63.3, 62.4, 60.4, 37.0, 17.9; LR-MS (EI) m/z 225 (M^+), 148 (100%); HR-MS (EI) Calcd. for $\text{C}_{11}\text{H}_{15}\text{NO}_4$: 225.1001, found: 225.0991.

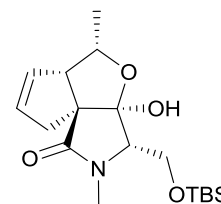
(3*S*,3*aR*,5*S*,5*aS*,8*aS*)-3-[[*tert*-Butyldimethylsilyl]oxy]methyl]-3*a*-hydroxy-5-methyl-3,3*a*,5*a*,8-tetrahydro-5*H*-cyclopenta[3,4]furo[2,3-*c*]pyrrol-1(2*H*)-one (S2-9)



To a solution of diol **88** (65.3 mg, 0.0289 mmol) and DMAP (17.7 mg, 0.144 mmol) in dry CH₂Cl₂ (2.8 mL) was added Et₃N (0.240 ml, 1.72 mmol) and TBSCl (131 mg, 0.867 mmol) at 0 °C. After being stirred at the 0 °C for 30 min, the resulting solution was quenched by MeOH (0.13 ml) and concentrated *in vacuo*. The crude mixture was purified by silica gel column chromatography (2:1 to 1:1 Hexanes:EtOAc) to silyl ether **S2-9** (61.8 mg, 0.0182 mmol, 63%) as a colorless solid.

S2-9: [α]_D²³ +8.04° (*c* 1.41, CHCl₃); IR (CHCl₃): 3289, 2930, 1694, 1256 cm⁻¹; ¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 6.70 (1H, brs), 5.79 (1H, dd, *J* = 5.5, 2.4 Hz), 5.58 (1H, dd, *J* = 5.5, 2.1 Hz), 4.25 (1H, dq, *J* = 6.6, 6.3 Hz), 4.02 (1H, s), 3.74-3.61 (3H, m), 3.56-3.54 (1H, m), 2.79 (1H, dd, *J* = 17.0, 2.1 Hz), 2.70 (1H, dd, *J* = 17.0, 2.1 Hz), 1.29 (3H, d, *J* = 6.3 Hz), 0.88 (9H, s), 0.08 (3H, s), 0.07 (3H, s) ¹³C-NMR (100 MHz, CDCl₃) δ 178.4, 132.1, 127.4, 109.5, 76.2, 63.7, 63.3, 63.0, 60.6, 37.1, 25.8, 18.2, 18.1, -5.4, -5.5; LR-MS (ESI) *m/z* 362 (M⁺); HR-MS (ESI) Calcd. for C₁₇H₂₉NO₄SiNa: 362.1758, found: 362.1741.

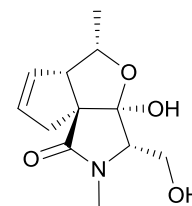
(3*S*,3*aR*,5*S*,5*aS*,8*aS*)-3-[[*tert*-Butyldimethylsilyl]oxy]methyl]-3*a*-hydroxy-2,5-dimethyl-3,3*a*,5*a*,8-tetrahydro-5*H*-cyclopenta[3,4]furo[2,3-*c*]pyrrol-1(2*H*)-one (S2-10)



To a solution of lactam **S2-9** (33.5 mg, 0.0987 mmol) in dry THF (2.0 mL) was added MeI (0.120 ml, 1.93 mmol) and NaH (4.70 mg, 0.118 mmol) at 0 °C. After being stirred at 0 ~ 8 °C for 3 h, the resulting solution was quenched by saturated aqueous NH₄Cl and the resultants was extracted with AcOEt and the extracts was washed with brine, dried over MgSO₄, and concentrated *in vacuo*. The crude mixture was purified by silica gel column chromatography (2:1 to 1:1 Hexanes:EtOAc) to provide **S2-10** (13.4 mg, 0.0380 mmol, 38%) as a colorless solid and **S2-3** (19.9 mg, 0.0585 mmol, 59%).

S2-10: [α]_D²⁴ +24.9° (*c* 0.512, CHCl₃); IR (CHCl₃): 3277, 2929, 1654, 1253 cm⁻¹; ¹H-NMR (600 MHz, CDCl₃) δ 5.81-5.79 (1H, m), 5.61-5.59 (1H, m), 4.23 (1H, dq, *J* = 6.8, 6.3 Hz), 3.88 (1H, dd, *J* = 10.6, 3.8 Hz), 3.80 (1H, s), 3.72 (1H, dd, *J* = 10.6, 5.8 Hz), 3.61-3.59 (1H, m), 3.55 (1H, dd, *J* = 5.8, 3.8 Hz), 2.88 (3H, s), 2.76 (1H, ddd, *J* = 16.9, 4.4, 2.1 Hz), 2.67 (1H, ddd, *J* = 16.9, 4.6, 2.6 Hz), 1.28 (3H, d, *J* = 6.3 Hz), 0.89 (9H, s), 0.09 (3H, s), 0.08 (3H, s); ¹³C-NMR (150 MHz, CDCl₃) δ 175.9, 132.1, 127.7, 107.8, 76.7, 68.5, 64.0, 60.5, 60.3, 37.6, 28.6, 25.8, 18.6, 18.2, -5.56, -5.59; LR-MS (ESI) *m/z* 354 ([M+H]⁺); HR-MS (ESI) Calcd. for C₁₈H₃₂NO₄Si: 354.2095, found: 354.2082.

(3*S*,3*aR*,5*S*,5*aS*,8*aS*)-3*a*-Hydroxy-3-(hydroxymethyl)-2,5-dimethyl-3,3*a*,5*a*,8-tetrahydro-5*H*-cyclopenta[3,4]furo[2,3-*c*]pyrrol-1(2*H*)-one (49)



To a solution of silyl ether **S2-10** (7.7 mg, 0.022 mmol) in MeOH (1.0 mL) was added *p*-TsOH•H₂O (2.0 mg, 0.011 mmol) at room temperature. After 1 h, the resulting solution was concentrated *in vacuo*. The crude mixture was purified by silica gel column chromatography (100:1 to 100:10 CHCl₃:MeOH) to provide the diol **49** (3.7 mg, 0.015 mmol, 71%) as a colorless solid.

49: [α]_D²³ +72.5° (*c* 0.137, CHCl₃); IR (CHCl₃): 3363, 2929, 1669, 1244 cm⁻¹; ¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 5.84-5.82 (1H, m), 5.68-5.65 (1H, m), 4.18 (1H, dq, *J* = 6.2, 6.4 Hz), 3.90 (1H, d, *J* = 11.9 Hz), 3.68 (1H, dd, *J* = 11.9, 5.8 Hz), 3.59 (1H, dd, *J* = 5.8, 2.5 Hz), 3.58-3.56 (1H, m), 2.91 (1H, s), 2.91 (3H, s), 2.81 (1H, ddd, *J* = 17.2, 4.6, 2.5 Hz), 2.71 (1H, d, *J* = 17.2 Hz), 2.41 (1H, brs), 1.31 (3H, d, *J* = 6.2 Hz); ¹³C-NMR (100 MHz, CDCl₃) δ 174.8, 132.1, 128.1, 108.4, 76.3, 69.0, 63.8, 59.9, 59.3, 37.5, 28.3, 18.1; LR-MS (EI) 239 (M⁺), 208 (100%); HR-MS (EI) Calcd. for C₁₂H₁₇NO₄: 239.1158, found: 239.1162.

Crystal Structure Report for 83*

*Electronic supplementary information (ESI) available. CCDC 1428343.

A specimen of C₁₃H₁₇NO₄, approximate dimensions 0.020 mm x 0.200 mm x 0.300 mm, was used for the X-ray crystallographic analysis. The X-ray intensity data were measured.

The total exposure time was 0.90 hours. The frames were integrated with the Bruker SAINT software package using a narrow-frame algorithm. The integration of the data using a monoclinic unit cell yielded a total of 4647 reflections to a maximum θ angle of 67.12° (0.84 Å resolution), of which 2106 were independent (average redundancy 2.207, completeness = 97.7%, Rint = 0.98%) and 2104 (99.91%) were greater than $2\sigma(F^2)$. The final cell constants of $a = 5.7189(3)$ Å, $b = 9.0362(4)$ Å, $c = 12.3522(6)$ Å, $\beta = 98.951(2)^\circ$, volume = 630.55(5) Å³, are based upon the refinement of the XYZ-centroids of 4586 reflections above $20\sigma(I)$ with $14.51^\circ < 2\theta < 134.2^\circ$. Data were corrected for absorption effects using the empirical method (SADABS). The ratio of minimum to maximum apparent transmission was 0.895. The calculated minimum and maximum transmission coefficients (based on crystal size) are 0.7920 and 0.9840.

The structure was solved and refined using the Bruker SHELXTL Software Package, using the space group P 1 21 1, with Z = 2 for the formula unit, C₁₃H₁₇NO₄. The final anisotropic full-matrix least-squares refinement on F² with 170 variables converged at R1 = 2.40%, for the observed data and wR2 = 6.33% for all data. The goodness-of-fit was 1.056. The largest peak in the final difference electron density synthesis was 0.198 e/Å³ and the largest hole was -0.187 e/Å³ with an RMS deviation of 0.031 e/Å³. On the basis of the final model, the calculated density was 1.323 g/cm³ and F(000), 268 e⁻.

Table 1. Sample and crystal data for 83.

Chemical formula	C ₁₃ H ₁₇ NO ₄	
Formula weight	251.27	
Temperature	90(2) K	
Wavelength	1.54178 Å	
Crystal size	0.020 x 0.200 x 0.300 mm	
Crystal system	monoclinic	
Space group	P 1 21 1	
Unit cell dimensions	$a = 5.7189(3)$ Å	$\alpha = 90^\circ$
	$b = 9.0362(4)$ Å	$\beta = 98.951(2)^\circ$
	$c = 12.3522(6)$ Å	$\gamma = 90^\circ$

Volume	630.55(5) Å ³
Z	2
Density (calculated)	1.323 g/cm ³
Absorption coefficient	0.815 mm ⁻¹
F(000)	268

Table 2. Data collection and structure refinement for 83

Theta range for data collection	7.26 to 67.12°	
Index ranges	-6<=h<=6, -10<=k<=10, -14<=l<=14	
Reflections collected	4647	
Independent reflections	2106 [R(int) = 0.0098]	
Coverage of independent reflections	97.7%	
Absorption correction	Empirical	
Max. and min. transmission	0.9840 and 0.7920	
Structure solution technique	direct methods	
Structure solution program	SHELXL-2013 (Sheldrick, 2013)	
Refinement method	Full-matrix least-squares on F ²	
Function minimized	$\Sigma w(F_o^2 - F_c^2)^2$	
Data / restraints / parameters	2106 / 1 / 170	
Goodness-of-fit on F ²	1.056	
Final R indices	2104 data; I>2 σ (I)	R1 = 0.0240, wR2 = 0.0633
	all data	R1 = 0.0240, wR2 = 0.0633
Weighting scheme	w=1/[$\sigma^2(F_o^2)+(0.0386P)^2+0.1374P$] where P=(F _o ² +2F _c ²)/3	
Absolute structure parameter	0.1(0)	
Largest diff. peak and hole	0.198 and -0.187 eÅ ⁻³	
R.M.S. deviation from mean	0.031 eÅ ⁻³	

Table 3. Atomic coordinates and equivalent isotropic atomic displacement parameters (Å²) for 83.

U(eq) is defined as one third of the trace of the orthogonalized U_{ij} tensor.

	x/a	y/b	z/c	U(eq)
O1	0.5606(2)	0.12628(14)	0.98494(10)	0.0167(3)
O2	0.1461(2)	0.12793(13)	0.83101(9)	0.0151(3)
O3	0.8619(2)	0.71415(13)	0.85773(9)	0.0147(3)
O4	0.4845(2)	0.81887(14)	0.84458(10)	0.0154(3)
N1	0.0049(2)	0.00063(17)	0.96728(11)	0.0128(3)
C1	0.9712(4)	0.7517(3)	0.46850(17)	0.0301(5)
C2	0.7954(3)	0.8380(2)	0.48825(15)	0.0219(4)
C3	0.7613(3)	0.8969(2)	0.59439(14)	0.0163(4)
C4	0.9146(3)	0.85718(19)	0.70176(13)	0.0137(4)
C5	0.8147(3)	0.95475(19)	0.78806(13)	0.0116(4)
C6	0.7267(3)	0.84479(19)	0.86787(13)	0.0126(4)
C7	0.8108(3)	0.90452(19)	0.98490(13)	0.0131(4)
C8	0.6251(3)	0.9881(2)	0.03714(14)	0.0153(4)
C9	0.0070(3)	0.03871(18)	0.86245(14)	0.0124(4)
C10	0.6280(3)	0.05874(19)	0.72358(14)	0.0136(4)
C11	0.6052(3)	0.0026(2)	0.60877(14)	0.0172(4)
C12	0.8993(3)	0.6965(2)	0.74483(14)	0.0168(4)
C13	0.7086(4)	0.5973(2)	0.68355(15)	0.0253(4)

引用文献

1. (a) Park, B. K.; Pirmohamed, M.; Kitteringham, N. R., *Chem. Res. Toxicol.* **1998**, *11*, 969; (b) Aptula, A. O.; Roberts, D. W., *Chem. Res. Toxicol.* **2006**, *19*, 1097; (c) Guengerich, F. P.; MacDonald, J. S., *Chem. Res. Toxicol.* **2007**, *20*, 344; (d) Park, B. K.; Boobis, A.; Clarke, S.; Goldring, C. E. P.; Jones, D.; Kenna, J. G.; Lambert, C.; Lavery, H. G.; Naisbitt, D. J.; Nelson, S.; Nicoll-Griffith, D. A.; Obach, R. S.; Routledge, P.; Smith, D. A.; Tweedie, D. J.; Vermeulen, N.; Williams, D. P.; Wilson, I. D.; Baillie, T. A., *Nat. Rev. Drug Discov.* **2011**, *10*, 292; (e) Baell, J.; Walters, M. A., *Nature* **2014**, *513*, 481.
2. (a) Potashman, M. H.; Duggan, M. E., *J. Med. Chem.* **2009**, *52*, 1231; (b) Singh, J.; Petter, R. C.; Baillie, T. A.; Whitty, A., *Nat. Rev. Drug Discov.* **2011**, *10*, 307.
3. (a) Honda, T.; Rounds, B. V.; Gribble, G. W.; Suh, N.; Wang, Y.; Sporn, M. B., *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **1998**, *8*, 2711; (b) Couch, R. D.; Browning, R. G.; Honda, T.; Gribble, G. W.; Wright, D. L.; Sporn, M. B.; Anderson, A. C., *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2005**, *15*, 2215.
4. Cohen, M. S.; Zhang, C.; Shokat, K. M.; Taunton, J., *Science* **2005**, *308*, 1318.
5. Serafimova, I. M.; Pufall, M. A.; Krishnan, S.; Duda, K.; Cohen, M. S.; Maglathlin, R. L.; McFarland, J. M.; Miller, R. M.; Frödin, M.; Taunton, J., *Nat. Chem. Biol.* **2012**, *8*, 471.
6. Krishnan, S.; Miller, R. M.; Tian, B.; Mullins, R. D.; Jacobson, M. P.; Taunton, J., *J Am Chem Soc* **2014**, *136*, 12624.
7. Wissner, A.; Mansour, T. S., *Arch. Pharm. (Weinheim)* **2008**, *341*, 465.
8. Al-Rifai, N.; Rücker, H.; Amslinger, S., *Chem. Eur. J.* **2013**, *19*, 15384.
9. (a) Sardjiman, S. S.; Reksohadiprodjo, M. S.; Hakim, L.; van der Goot, H.; Timmerman, H., *Eur. J. Med. Chem.* **1997**, *32*, 625; (b) Adams, B. K.; Ferstl, E. M.; Davis, M. C.; Herold, M.; Kurtkaya, S.; Camalier, R. F.; Hollingshead, M. G.; Kaur, G.; Sausville, E. A.; Rickles, F. R.; Snyder, J. P.; Liotta, D. C.; Shoji, M., *Bioorg. Med. Chem.* **2004**, *12*, 3871; (c) Youssef, K. M.; El-Sherbeny, M. A.; El-Shafie, F. S.; Farag, H. A.; Al-Deeb, O. A.; Awadalla, S. A. A., *Arch. Pharm. (Weinheim)* **2004**, *337*, 42; (d) Adams, B. K.; Cai, J.; Armstrong, J.; Herold, M.; Lu, Y. J.; Sun, A.; Snyder, J. P.; Liotta, D. C.; Jones, D. P.; Shoji, M., *Anticancer Drugs* **2005**, *16*, 263; (e) Anand, P.; Thomas, S. G.; Kunnumakkara, A. B.; Sundaram, C.; Harikumar, K. B.; Sung, B.; Tharakan, S. T.; Misra, K.; Priyadarsini, I. K.; Rajasekharan, K. N.; Aggarwal, B. B., *Biochem. Pharmacol.* **2008**, *76*, 1590; (f) Liang, G.; Li, X.; Chen, L.; Yang, S.; Wu, X.; Studer, E.; Gurley, E.; Hylemon, P. B.; Ye, F.; Li, Y.; Zhou, H., *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2008**, *18*, 1525; (g) Liang, G.; Shao, L.; Wang, Y.; Zhao, C.; Chu, Y.; Xiao, J.; Zhao, Y.; Li, X.; Yang, S., *Bioorg. Med. Chem.* **2009**, *17*, 2623; (h) Quincoces Suarez, J. A.; Rando, D. G.; Santos, R. P.; Gonçalves, C. P.; Ferreira, E.; de Carvalho, J. E.; Kohn, L.; Maria, D. A.; Faião-Flores, F.; Michalik, D.;

- Marcucci, M. C.; Vogel, C., *Bioorg. Med. Chem.* **2010**, *18*, 6275; (i) Esatbeyoglu, T.; Huebbe, P.; Ernst, I. M.; Chin, D.; Wagner, A. E.; Rimbach, G., *Angew. Chem. Int. Ed.* **2012**, *51*, 5308; (j) Tan, K.-L.; Ali, A.; Du, Y.; Fu, H.; Jin, H.-X.; Chin, T.-M.; Khan, M.; Go, M.-L., *J. Med. Chem.* **2014**, *57*, 5904.
10. Anand, P.; Kunnumakkara, A. B.; Newman, R. A.; Aggarwal, B. B., *Mol. Pharm.* **2007**, *4*, 807.
 11. Pan, M. H.; Huang, T. M.; Lin, J. K., *Drug Metab. Dispos.* **1999**, *27*, 486.
 12. Singh, S.; Aggarwal, B. B., *J. Biol. Chem.* **1995**, *270*, 24995.
 13. (a) Mukhopadhyay, A.; Banerjee, S.; Stafford, L. J.; Xia, C.; Liu, M.; Aggarwal, B. B., *Oncogene* **2002**, *21*, 8852; (b) Dorai, T.; Aggarwal, B. B., *Cancer Lett.* **2004**, *215*, 129.
 14. Aggarwal, S.; Ichikawa, H.; Takada, Y.; Sandur, S. K.; Shishodia, S.; Aggarwal, B. B., *Mol. Pharmacol.* **2006**, *69*, 195.
 15. Sikora, E.; Bielak-Zmijewska, A.; Magalska, A.; Piwocka, K.; Mosieniak, G.; Kalinowska, M.; Widlak, P.; Cymerman, I. A.; Bujnicki, J. M., *Mol. Cancer Ther.* **2006**, *5*, 927.
 16. Choudhuri, T.; Pal, S.; Agwarwal, M. L.; Das, T.; Sa, G., *FEBS Lett.* **2002**, *512*, 334.
 17. Jung, E. M.; Lim, J. H.; Lee, T. J.; Park, J. W.; Choi, K. S.; Kwon, T. K., *Carcinogenesis* **2005**, *26*, 1905.
 18. (a) Woo, J. H.; Kim, Y. H.; Choi, Y. J.; Kim, D. G.; Lee, K. S.; Bae, J. H.; Min, D. S.; Chang, J. S.; Jeong, Y. J.; Lee, Y. H.; Park, J. W.; Kwon, T. K., *Carcinogenesis* **2003**, *24*, 1199; (b) Siwak, D. R.; Shishodia, S.; Aggarwal, B. B.; Kurzrock, R., *Cancer* **2005**, *104*, 879.
 19. Yamakoshi, H.; Ohori, H.; Kudo, C.; Sato, A.; Kanoh, N.; Ishioka, C.; Shibata, H.; Iwabuchi, Y., *Bioorg. Med. Chem.* **2010**, *18*, 1083.
 20. Shibata, H.; Yamakoshi, H.; Sato, A.; Ohori, H.; Kakudo, Y.; Kudo, C.; Takahashi, Y.; Watanabe, M.; Takano, H.; Ishioka, C.; Noda, T.; Iwabuchi, Y., *Cancer Sci.* **2009**, *100*, 956.
 21. Yamakoshi, H.; Kanoh, N.; Kudo, C.; Sato, A.; Ueda, K.; Muroi, M.; Kon, S.; Satake, M.; Ohori, H.; Ishioka, C.; Oshima, Y.; Osada, H.; Chiba, N.; Shibata, H.; Iwabuchi, Y., *ACS Med. Chem. Lett.* **2010**, *1*, 273.
 22. Ohori, H.; Yamakoshi, H.; Tomizawa, M.; Shibuya, M.; Kakudo, Y.; Takahashi, A.; Takahashi, S.; Kato, S.; Suzuki, T.; Ishioka, C.; Iwabuchi, Y.; Shibata, H., *Mol. Cancer Ther.* **2006**, *5*, 2563.
 23. (a) Avonto, C.; Tagliatalata-Scafati, O.; Pollastro, F.; Minassi, A.; Di Marzo, V.; De Petrocellis, L.; Appendino, G., *Angew. Chem. Int. Ed.* **2011**, *50*, 467; (b) Appendino, G.; Minassi, A.; Collado, J. A.; Pollastro, F.; Chianese, G.; Tagliatalata-Scafati, O.; Ayyari, M.; Garcia, V.; Munoz, E., *Eur. J. Org. Chem.* **2015**, *2015*, 3721.
 24. Sun, A.; Lu, Y. J.; Hu, H.; Shoji, M.; Liotta, D. C.; Snyder, J. P., *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2009**, *19*, 6627.

25. Suzuki, M.; Mori, M.; Niwa, T.; Hirata, R.; Furuta, K.; Ishikawa, T.; Noyori, R., *J. Am. Chem. Soc.* **1997**, *119*, 2376.
26. Woods, J. R.; Mo, H.; Bieberich, A. A.; Alavanja, T.; Colby, D. A., *Med. Chem. Commun.* **2013**, *4*, 27.
27. Hejchman, E.; Haugwitz, R. D.; Cushman, M., *J. Med. Chem.* **1995**, *38*, 3407.
28. Amslinger, S.; Al-Rifai, N.; Winter, K.; Wormann, K.; Scholz, R.; Baumeister, P.; Wild, M., *Org. Biomol. Chem.* **2013**, *11*, 549.
29. 鶴尾隆, *がんの分子標的治療薬*. 南山堂: 2008.
30. Jang, J.-H.; Asami, Y.; Jang, J.-P.; Kim, S.-O.; Moon, D. O.; Shin, K.-S.; Hashizume, D.; Muroi, M.; Saito, T.; Oh, H.; Kim, B. Y.; Osada, H.; Ahn, J. S., *J. Am. Chem. Soc.* **2011**, *133*, 6865.
31. (a) Huang, J.; Fang, L.; Gong, J.; Li, C.; Yang, Z., *Tetrahedron* **2015**, *71*, 3720; (b) Caro-Diaz, E. J.; Aung, A.; Xu, J.; Varghese, S.; Theodorakis, E. A., *Org. Chem. Front.* **2014**, *1*, 135; (c) Deng, J.; Zhu, B.; Lu, Z.; Yu, H.; Li, A., *J. Am. Chem. Soc.* **2012**, *134*, 920; (d) Huang, J.; Fang, L.; Long, R.; Shi, L.-L.; Shen, H. J.; Li, C.; Yang, Z., *Org. Lett.* **2013**, *15*, 4018; (e) Kong, L.; Rao, M.; Ou, J.; Yin, J.; Lu, W.; Liu, M.; Pang, X.; Gao, S., *Org. Biomol. Chem.* **2014**, *12*, 7591; (f) Nagaraju, K.; Mainkar, P. S.; Chandrasekhar, S., *Tetrahedron Lett.* **2015**, *56*, 404; (g) Xu, J.; Caro-Diaz, E. J.; Lacoske, M. H.; Hung, C.-I.; Jamora, C.; Theodorakis, E. A., *Chem. Sci.* **2012**, *3*, 3378; (h) Xu, J.; Caro-Diaz, E. J.; Trzoss, L.; Theodorakis, E. A., *J. Am. Chem. Soc.* **2012**, *134*, 5072; (i) Yin, J.; Kong, L.; Wang, C.; Shi, Y.; Cai, S.; Gao, S., *Chemistry (Easton)* **2013**, *19*, 13040; (j) Yin, J.; Wang, C.; Kong, L.; Cai, S.; Gao, S., *Angew. Chem. Int. Ed.* **2012**, *51*, 7786.
32. (a) Evans, A. B.; Knight, D. W., *Tetrahedron Lett.* **2001**, *42*, 6947; (b) Yamaguchi, M.; Hirao, I., *J. Chem. Soc., Chem. Commun.* **1984**, 202.
33. Hansen, T. M.; Florence, G. J.; Lugo-Mas, P.; Chen, J.; Abrams, J. N.; Forsyth, C. J., *Tetrahedron Lett.* **2003**, *44*, 57.
34. Li, Z.; Yamamoto, H., *J. Am. Chem. Soc.* **2010**, *132*, 7878.
35. Ciaccio, J. A.; Aman, C. E., *Synth. Commun.* **2006**, *36*, 1333.
36. Kim, M. K.; Jeong, W.; Kang, J.; Chong, Y., *Bioorg. Med. Chem.* **2011**, *19*, 3793.
37. Kosal, A. D.; Wilson, E. E.; Ashfeld, B. L., *Angew. Chem. Int. Ed.* **2012**, *51*, 12036.
38. (a) Baskin, J. M.; Prescher, J. A.; Laughlin, S. T.; Agard, N. J.; Chang, P. V.; Miller, I. A.; Lo, A.; Codelli, J. A.; Bertozzi, C. R., *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **2007**, *104*, 16793; (b) Karimi, S.; Grohmann, K. G.; Todaro, L., *J. Org. Chem.* **1995**, *60*, 554.
39. Zheng, S.; Laxmi, Y. R. S.; David, E.; Dinkova-Kostova, A. T.; Shiovoni, K. H.; Ren, Y.; Zheng, Y.; Trevino, I.; Bumeister, R.; Ojima, I.; Wigley, W. C.; Bliska, J. B.; Mierke, D. F.; Honda, T. *J. Med. Chem.* **2012**, *55*, 4837.

40. (a) Zhang, W.; Basak, A.; Kosugi, Y.; Hoshino, Y.; Yamamoto, H. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2005**, *44*, 4389; (b) Zhang, W.; Yamamoto, H. *J. Am. Chem. Soc.* **2007**, *129*, 286.
41. Doi, R.; Shibuya, M.; Murayama, T.; Yamamoto, Y.; Iwabuchi, Y. *J. Org. Chem.* **2015**, *80*, 401.
42. Ohtani, I.; Kusumi, T.; Kashman, Y.; Kakisawa, H. *J. Am. Chem. Soc.* **2007**, *129*, 286.
43. Orsini, A.; Vitérisi, A.; Bodlenner, A.; Weibel, J.-M.; Pale, P. *Tetrahedron Lett.* **2005**, *46*, 2259.
44. Valot, G.; Regens, C. S.; O'Malley, D. P.; Godineau, E.; Takikawa, H.; Fürstner, A. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2013**, *52*, 9534.

謝辞

本研究に際し御懇意なる御指導と御鞭撻を賜りました東北大学大学院薬学研究科教授 岩渕 好治先生に謹んで深謝致します。また、本研究に際し、終始御指導および御助言を賜りました東北大学大学院薬学研究科准教授 叶 直樹 先生、助教 笹野 祐介 先生に深謝致します。

本論文の審査にあたり、有益な御助言を賜りました東北大学大学院薬学研究科教授 大島 吉輝 先生、東北大学大学院薬学研究科教授 土井 隆行 先生に厚く御礼申し上げます。

多大なる御指導、御協力頂きました元東北大学大学院薬学研究科 澁谷 正俊 先生、福田 隼 先生、濱 直人 先生をはじめとする東北大学大学院薬学研究科合成制御化学分野の諸先輩方、同輩、後輩諸氏、東北大学加齢医学研究所免疫遺伝子制御化学分野の諸先輩方、東北大学工学研究科タンパク質工学分野の諸先輩方、同輩、後輩諸氏に深く感謝致します。また、本研究の計画、実施、考察の細部にわたり有益な御助言を賜りました前任者の 山越 博幸 博士に深く感謝申し上げます。

本研究の遂行にあたり、下記の先生をはじめ多くの先生に多大なるご指導、ご協力、また有益な議論をしていただきました。ここに厚く御礼申し上げます。

第1章

柴田 浩行 先生（秋田大学医学系研究科臨床腫瘍学講座）
千葉 奈津子 先生（東北大学加齢医学研究所腫瘍生物学分野）
石岡 千加史 先生（東北大学加齢医学研究所癌化学療法研究分野）
杉山 俊輔 先生（元東北大学加齢医学研究所癌化学療法研究分野）
工藤 千枝子 先生（元東北大学加齢医学研究所癌化学療法研究分野）
小笠原 育子 先生（秋田大学医学系研究科臨床腫瘍学講座）
佐竹 正延 先生（元東北大学加齢医学研究所免疫遺伝子制御研究分野）
大島 吉輝 先生（東北大学薬学研究科医薬資源化学分野）
浅野 竜太郎 先生（元東北大学工学研究科タンパク質工学分野）
梅津 光央 先生（東北大学工学研究科タンパク質工学分野）
尾形 裕未 先生（東北大学工学研究科タンパク質工学分野）
大江 知行 先生（東北大学薬学研究科臨床分析化学分野）
李 宣和 先生（東北大学薬学研究科臨床分析化学分野）
福田 宙央 学士（東北大学薬学研究科合成制御化学分野）

第2章

権 根相 先生（東北大学巨大分子解析センター）

核磁気共鳴スペクトル，質量スペクトル，元素分析の測定に労をとられました東北大学大学院薬学研究所中央分析室 川村 一善 氏，鈴木 恵 氏に御礼申し上げます。

最後に，これまで様々な面で支援して頂き，いつも温かい目で見守って下さいました 父 高山 起敏，母 美奈子，兄 大地や，叔母 武者 めぐみをはじめとする親戚一同に心より感謝申し上げます。