



Title	スファエリミシン類コア骨格の合成研究
Author(s)	仲谷, 岳志
Citation	北海道大学. 博士(薬科学) 甲第13177号
Issue Date	2018-03-22
DOI	10.14943/doctoral.k13177
Doc URL	http://hdl.handle.net/2115/88129
Type	theses (doctoral)
File Information	Takeshi_Nakaya.pdf



[Instructions for use](#)

博士学位論文

スファエリミシン類コア骨格の合成研究

仲谷 岳志

北海道大学大学院生命科学院

生命科学専攻 生命医薬科学コース

創薬科学研究教育センター 有機合成医薬学部門

2018年3月

略語表

本論文中において、以下の略語を用いた。

Ac	acetyl
AcOH	acetic acid
Ala	alanine
Asp	aspartic acid
<i>aq.</i>	aqueous
Bn	benzyl
Boc	<i>tert</i> -butoxycarbonyl
<i>t</i> Bu	<i>tert</i> -butyl
Cbz	benzyloxycarbonyl
DABCO	1,4-diazabicyclo[2,2,2]octane
DACH	diaminocyclohexyl
DAST	<i>N,N</i> -diethylaminosulfur trifluoride
dba	dibenzylideneacetone
DBU	1,8-diazabicyclo[5.4.0]undec-7-ene
1,2-DCE	1,2-dichloroethane
DIPEA	<i>N,N</i> -diisopropylethylamine
DMAP	4-dimethylaminopyridine
DMEAD	di-2-methoxyethyl azodicarboxylate
DMF	<i>N,N</i> -dimethylformamide
DMSO	dimethyl sulfoxide
ED ₅₀	effective dose 50
EDCI	1-ethyl-3-(dimethylaminopropyl)-carbodiimide hydrochloride
ESI	electrospray ionization
Glc	glucosamine
Glu	glutamic acid
His	histidine
HMBC	heteronuclear multiple bond coherence
IC ₅₀	half maximal inhibitory concentration
LTA	L-threonine:uridine-5'-aldehyde transaldolase
Lys	lysine
Me	methyl
MIC	minimum inhibitory concentration
MOM	methoxymethyl
MraY	phospho- <i>N</i> -acetylmuramyl-pentapeptide translocase
MRSA	methicillin-resistant <i>Staphylococcus aureus</i>

MS	molecular sieve
Mur	muramic acid
NADPH	nicotinamide adenine dinucleotide phosphate
NMO	4-methylmorpholine <i>N</i> -oxide
NMR	nuclear magnetic resonance
NOE	nuclear Overhauser effect
Ns	2-nitrobenzenesulfonyl
PDB	protein data bank
Pg	protecting group
Ph	phenyl
Phe	phenylalanine
Pic	picoline
ROE	rotating frame nuclear Overhauser effect
SHMT	serine hydroxymethyltransferase
TBS	<i>tert</i> -butyldimethylsilyl
TFA	trifluoroacetic acid
THF	tetrahydrofuran
TLC	thin-layer chromatography
TMS	trimethylsilyl
Ts	<i>p</i> -toluenesulfonyl
UDP	uridine 5'-diphosphate
UMP	uridine 5'-monophosphate
UTP	uridine 5'-triphosphate

目次

序論	5
本論	
第 1 章 標的コア骨格の設定および Macromodel を用いた標的コア骨格の配座探索	
第 1 節 標的コア骨格の設定	13
第 2 節 標的コア骨格の配座探索	16
第 2 章 11 員環形成による架橋環構築経路を用いたスファエリミシンコア骨格合成の検討	
第 1 節 逆合成解析	19
第 2 節 ウリジンユニットの合成	22
第 3 節 シクロペンテンユニットの合成	25
第 4 節 ピペリジン環の構築および 11 員環形成の検討	28
第 3 章 連続還元的アミノ化によるピペリジン環と 11 員環の一挙構築によるコア骨格合成	
第 1 節 逆合成解析	31
第 2 節 モデル基質による連続環化反応の検討	33
第 3 節 不斉アリル位アルキル化による立体異性体の合成 および (3'' <i>R</i> ,4'' <i>S</i> ,5'' <i>R</i>)-スファエリミシンコア骨格 (core A) の合成	36
第 4 章 パルミトイル化コア骨格の合成および <i>MraY</i> 阻害活性の測定	
第 1 節 パルミトイル化コア骨格と標的タンパク <i>MraY</i> の <i>Glide</i> によるドッキングスタディ	43
第 2 節 パルミトイル化コア骨格の合成	49
第 3 節 パルミトイル化コア骨格の <i>MraY</i> 阻害活性の測定	56

結語	59
謝辞	60
実験の部	61
引用文献	95

序論

近年、従来の抗菌薬に対して耐性を有する薬剤耐性菌の増加から、新たな抗菌薬の開発が求められている。Flemingらが1920年代にペニシリンを発見して以来、抗菌薬は‘wonder drugs’として人への治療だけでなく、農薬や動物薬としても使用されてきた¹⁾。それと同時に、抗菌薬の使用量や使用する期間が適正でなければ、細菌が薬剤耐性を獲得する可能性が高くなる危険性についても警告されていた。しかし、これまで様々な抗菌薬が開発されるとともに無秩序に使用されており、薬剤耐性菌の増加を引き起こしている。ペニシリンが発見された約20年後にはペニシリン耐性菌が出現しており、標的分子や薬剤の系統によらず、多くの抗菌薬に対して細菌は耐性を獲得してきた (Figure 0-1a)。例えば、薬剤耐性獲得のメカニズムとして、抗菌薬不活性化酵素遺伝子の獲得、抗菌薬作用点の遺伝的变化、薬剤排出蛋白質の発現などによる抗菌薬の菌体内作用点への到達阻害があげられる²⁾。これらの多様な遺伝的变化と、極めて短い世代時間による増殖能によって、細菌は新規耐性機構を獲得してきた。特に1960年代からは薬剤耐性菌の増加が顕著になっており、ペニシリン耐性菌を標的としたメチシリンが1960年に開発されたが細菌は同時期に耐性を獲得した。また、メチシリン耐性菌に対してフルオロキノロン系抗菌薬も開発されたが酵素変異による耐性を獲得されるなどいたちごっこの様相を呈している。

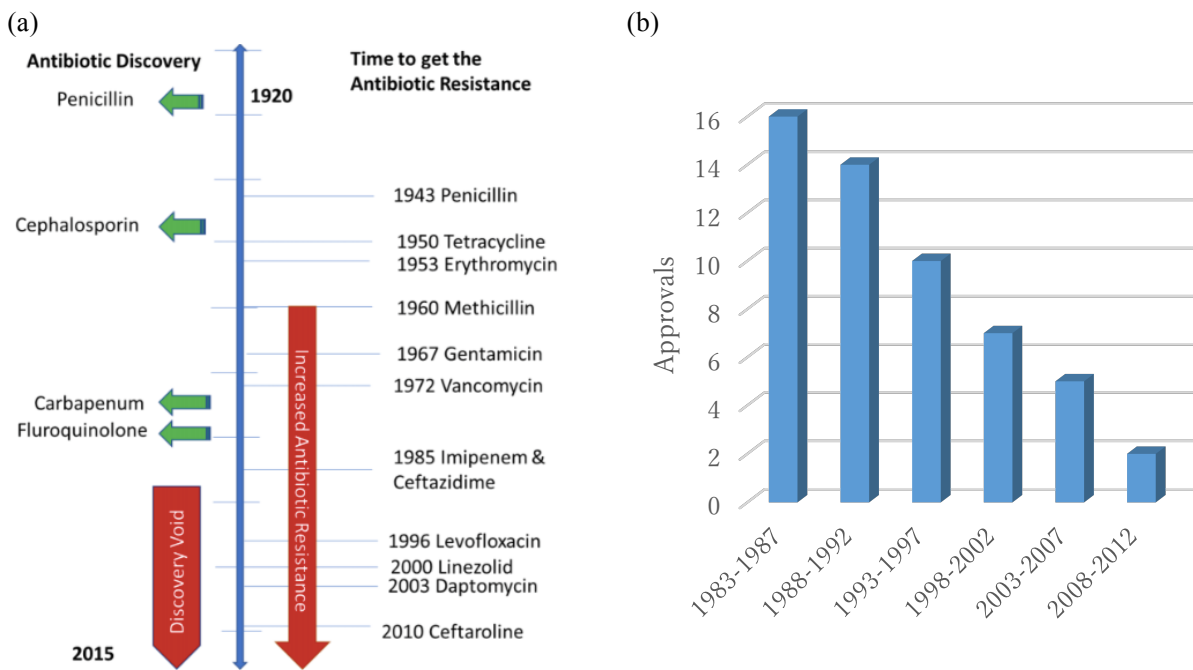


Figure 0-1. (a) 抗菌薬開発と薬剤耐性菌出現の歴史¹⁾, (b) 米国FDAにより承認された5年毎の抗菌薬数⁴⁾

この問題を深刻化しているのは、新規抗菌薬の開発数が少ないことである。1980年代から抗菌薬開発が行われなくなり、‘Discovery Void’と呼ばれる新たな作用機序を有する新規抗菌薬が開発されない期間が生じている³⁾。またアメリカ食品医薬品局は、1983年から1987年に16個の新規抗菌薬を承認しているが、その数は年々減っており、2008年から2012年にはわずか2個のみだった (Figure 0-1b)⁴⁾。上市される抗菌薬の数が減少している現状は、製薬企業が抗菌薬開発に消極的であることが原因の一つにな

っている。ビッグファーマと呼ばれる巨大製薬企業の抗菌薬パイプラインを示した (Table 0-1)⁴⁾。これによると1998年から新たにパイプラインに追加された開発候補品やphase 2もしくは3に位置するものを、どの製薬会社もほとんど有していないことがわかる。このことは今後上市される予定の抗菌薬数も少ないことを示しており、感染症医療にとって危機的状況である。

Table 0-1. Antibacterial pipeline, Big pharma⁴⁾

Company	Since 1998	Phase 2/3
Abbott Laboratories	0	0
AstraZeneca	0	2
Bayer	0	0
GlaxoSmithKline	0	1
Lilly	0	0
Merck/Schering-Plough	1	1
Novartis	0	0
Ortho McNeil/Johnson&Johnson	1	0
Pfizer/Wyeth	2	0
Roche	0	0
Sanofi	0	0

製薬会社が抗菌薬開発に対して消極的な理由として、収益性が低いことがある。Figure 0-2は抗菌薬開発の各フェーズにかかる時間とその成功率 (%)を示している⁵⁾。リード化合物の最適化がもっとも難しく時間のかかる段階であり、この段階の成功率はそのプロジェクトに対する人的資源、資金の規模に大きく左右される。一般に新薬の開発には多大な時間と莫大な経費が必要であるが、抗菌薬は慢性疾患に比べ投与期間が短いこと、および耐性菌を発生させないように投与には制限があることなどから、生活習慣病治療薬などに比べて収益性は低い。そのため製薬企業の興味は、感染症治療薬からより収益性の高い分野へと移っている。

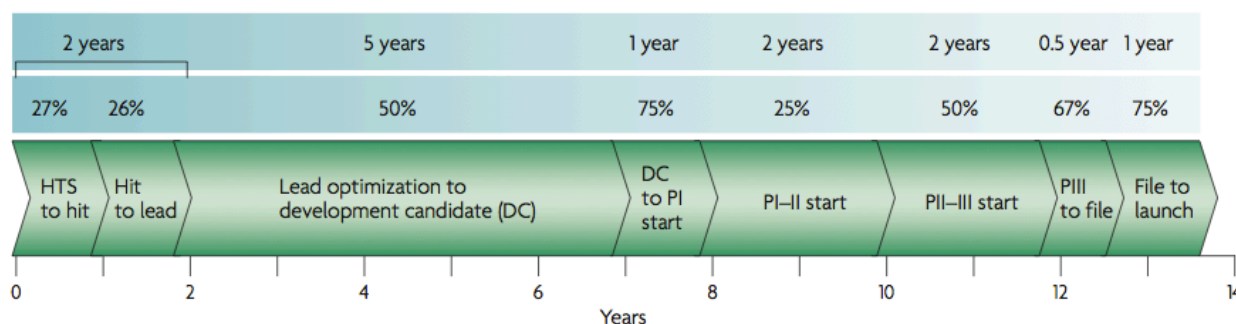


Figure 0-2. 製薬会社の抗菌薬開発において予想される段階ごとの開発年月および成功率⁵⁾

しかし、このまま薬剤耐性菌に対して何も対策を取らなければその危険性は高くなる一方である。イギリスのreview on antimicrobial resistanceは、2014年に世界の主な死因別に分けた死者数を報告している (Figure 0-3)⁶⁾。その中で薬剤耐性菌による死者数は現在約70万人とされているが、2050年にはその死者数は約1000万人と現在の癌に並ぶ死因になると予想されている。薬剤耐性菌に対する有効な対策は、従来とは異なる標的を持つ抗菌薬開発であり、その研究開発の必要性について取り上げられている。日本では、2014年5月に日本化学療法学会を初めとした感染症関連6団体による「新規抗菌薬の開発に向けた6学会提言」を発表しており、抗薬剤耐性菌治療薬の必要性を訴えている。その中で、行政

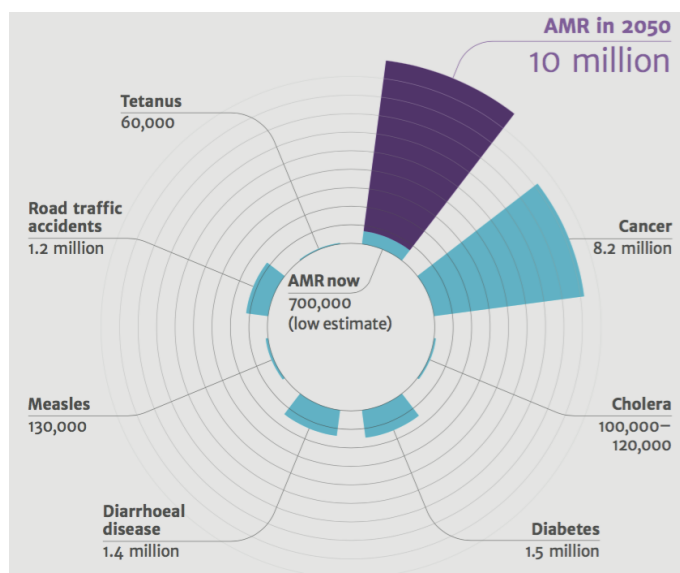


Figure 0-3. 世界の主要な死因と薬剤耐性菌による死者数の比較⁶⁾

や企業、大学などの研究機関に対して“創薬コンソーシアム構想”に基づく協力体制を提案している⁷⁾。

これらのことから活発な抗菌薬開発が期待されており、特に収益性に左右されない大学などの研究機関において適した研究課題である。実際に新規抗菌薬リードについての研究報告がいくつも行われている。2014年にはMRSAを含む一部のグラム陽性菌に対して抗菌活性 (MIC 1-4 $\mu\text{g/mL}$) を有する天然物ライソシン Eが東京大学の関水、浜本らによって単離された⁸⁾。ライソシン Eは環状リポペプチドであり、その作用機序として、電子伝達体として機能するメナキノンと相互作用すること、メナキノンを含むリポソームを選択的に破壊することから細菌細胞膜中のメナキノンと相互作用し細胞膜を破壊することが報告されている。この作用機序は既存の抗菌薬には無い初めての例であり、細菌感染したマウスを用いた哺乳動物モデルにおいても優れた治療効果と低い毒性を示したことから、多剤耐性黄色ブドウ球菌の新しい治療薬としての応用が期待されている。また2015年に耐性菌が出現しにくい新規作用機序を有する天然物テイクソバクチンが、ノースイースタン大学のKimらによって β -プロテオバクテリア綱に属する*Eleftheria terrae*から単離された⁹⁾。LingらはiChipとよばれる装置を使い、人工的な環境では培養が難しい土壌中の細菌を増殖させることでこの新規天然物を発見した。バンコマイシン耐性菌を含むグラム陽性菌に対して強力な抗菌活性を示し (MIC 0.03-0.5 $\mu\text{g/mL}$)、ペプチドグリカン前駆体であるリポドIIおよびタイコ酸前駆体であるリポドIIIに結合することで細胞壁合成を阻害する。この作用機序は、保存性が高い細胞壁構成分子に直接結合するものであり、30年間耐性菌が出現しなかったバンコマイシンと作用機序が似ていることから、テイクソバクチン耐性菌も出現しづらいと期待されている。実際にKimらは黄色ブドウ球菌をsub-MIC濃度で27日間テイクソバクチンに曝露させたが耐性菌が出現しなかったと報告している。

抗菌薬を開発する上で細菌にのみ選択毒性を有することが理想であり、宿主である人間が持たず細菌のみが有する細菌細胞壁の合成を阻害することは副作用が出づらく優れた創薬標的である。細胞壁の主要成分であるペプチドグリカンは、グリカン鎖 (糖鎖) が短鎖のペプチド鎖によって架橋されることで構築されている。このペプチドグリカンの生合成経路は大きく2つに分けられており、細胞質経路¹⁰⁾と細胞膜経路^{11), 12)}がある。

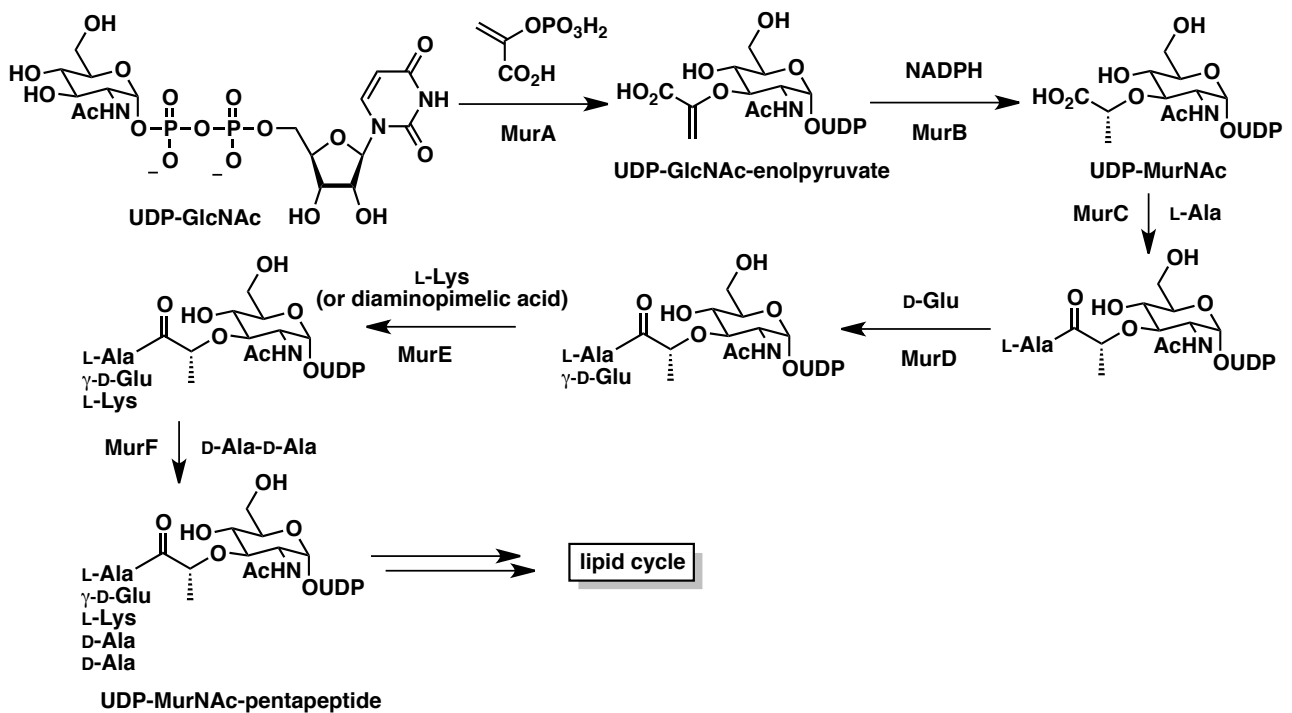


Figure 0-4. ペプチドグリカン生合成における細胞質経路

細胞質経路ではUDP-*N*-アセチルムラミルペンタペプチドの生合成が行われる (Figure 0-4)。まずUDP-*N*-アセチルグルコサミン*がMurAによってホスホエノールピルビン酸を付加される。次にMurBによって還元されUDP-*N*-アセチルムラミン酸となった後、MurC、D、E、FによってL-Ala、D-Glu、L-Lys**、D-Ala、D-Alaを順次縮合することで、UDP-*N*-アセチルムラミン酸が生合成される。合成されたUDP-*N*-アセチルムラミン酸はその後細胞膜経路 (リピドサイクル) でペプチドグリカンへと変換される。

リピドサイクルは細菌細胞膜上の酵素MraY (トランスロカーゼ I) によってUDP-*N*-アセチルムラミルペンタペプチドからリン脂質ウンデカプレニルリン酸 (C₅₅-P) へのホスホ-*N*-アセチルムラミルペンタペプチドの転移を触媒することで始まる (Figure 0-5)。この生成されたウンデカプレニルピロホスホリル-*N*-アセチルムラミルペンタペプチドはリピドIと呼ばれ、MurGによって*N*-アセチルグルコサミンが転移されリピドIIが形成される。リピドIIはMurJ***によって細胞膜の外側に転移され、グリコシルトランスフェラーゼによって*N*-アセチルグルコサミン (GlcNAc) と*N*-アセチルムラミン酸 (MurNAc) が交互にβ(1→4)結合することで長い糖鎖を形成する。さらにペンタペプチドがトランスペプチダーゼによってペプチド間で架橋されることで網目状構造を形成しペプチドグリカンとなる。このリピドサイクルの上流に位置する酵素MraYは多くの細菌間で高度に保存されており、その欠損は細菌にとって致命的である。また、従来の抗菌薬でMraY阻害を作用機序とするものは無いことから、抗薬剤耐性菌薬の標的として魅力的である。

* UDP-*N*-アセチルグルコサミンは細胞内において、生合成酵素 GlmS, M, U によりフルクトース-6-リン酸と UTP から生合成される⁷⁾。

**多くのグラム陽性菌では L-Lys、グラム陰性菌や桿菌では *meso*-ジアミノピメリン酸が結合するとされるが他のアミノ酸が用いられる場合もある⁷⁾。

***近年、リピド II のフリッパーゼとして MurJ が新たに報告され、その X 線結晶構造が解かれた^{13), 14)}

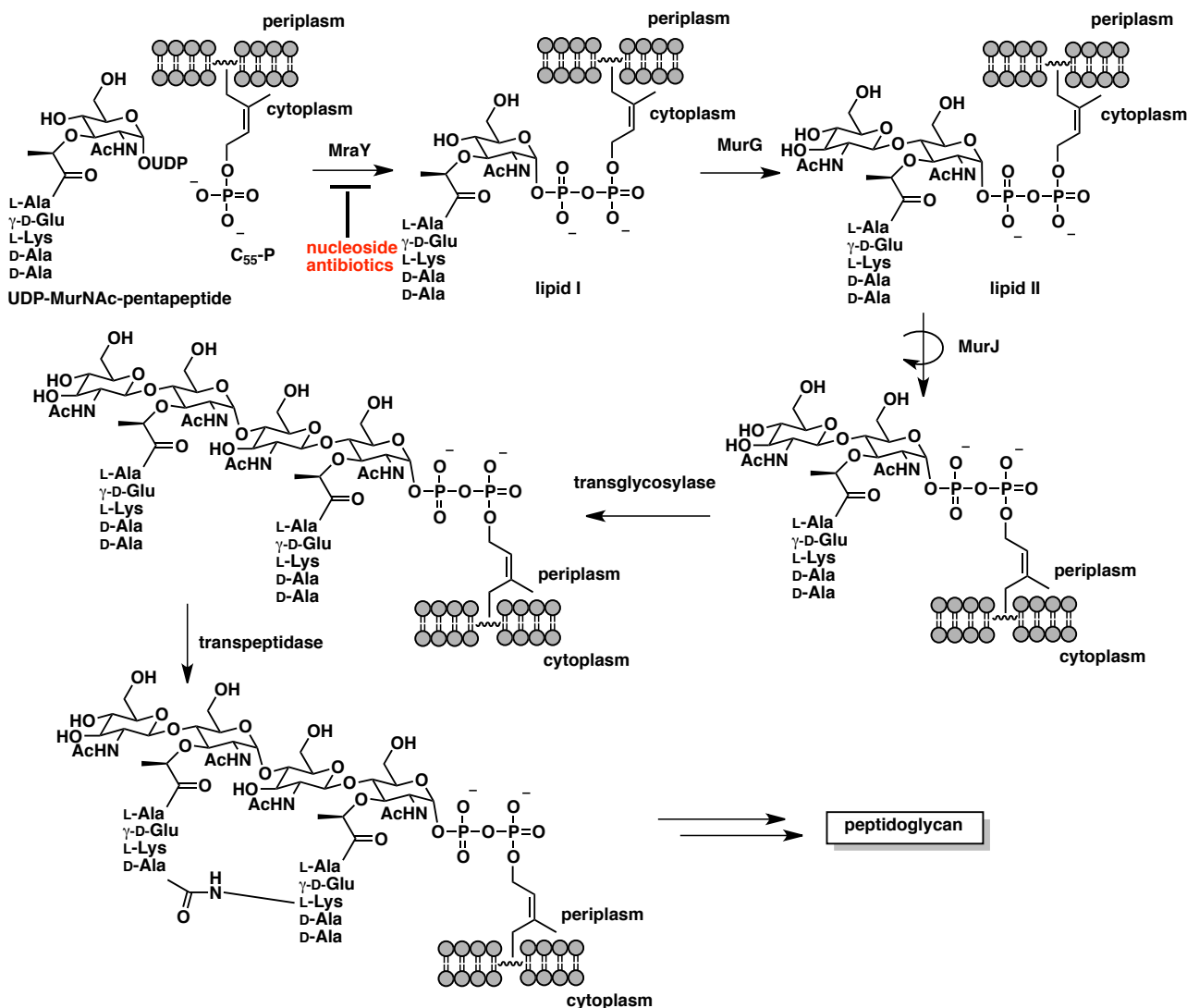


Figure 0-5. リピドサイクル

このMraYの基質であるUDP-N-アセチルムラミルペンタペプチドはジリン酸部位を有することから、基質をそのまま模倣した阻害剤では細菌細胞膜透過性が低いという問題がある¹⁵⁾。阻害剤が結合するMraYの触媒活性部位は細胞質側に位置しており、結合部位に到達するには疎水性の細菌細胞膜を透過する必要がある。そこでMraYを阻害する化合物としてヌクレオシド系天然物が注目されている。ヌクレオシド系天然物は高いMraY阻害活性を持ちながら、細菌細胞膜を透過するものが報告されており、その一部を示す* (Figure 0-6)。五十嵐らによって放線菌*Streptomyces sp.* MK730-62F2から2003年に単離されたカプラザマイシン Bは、*in vitro*実験において多剤耐性株を含む結核菌に対して抗菌活性 (MIC 3.13 $\mu\text{g}/\text{mL}$) を示す¹⁶⁾。また肺結核感染マウスを用いた*in vivo*実験において治療効果を示し、毒性を示さないことから新規抗菌剤の有用なリード化合物として注目されている。このカプラザマイシン類と同様の構造的特徴を有する天然物として、リポシドマイシン類が報告されている¹⁷⁾。これらリポシドマイシン類は強力なMraY阻害活性 (IC_{50} 0.03 $\mu\text{g}/\text{mL}$ for MraY) を有することから¹⁸⁾、カプラザマイシン類も同様にMraYを阻害することで抗菌活性を示すと考えられている。しかしリポシドマイシン類はMraY

*他の MraY 阻害剤としてアミノリボースを有さないヌクレオシド系天然物や ϕ X-174 lysis protein E が報告されている¹²⁾

阻害活性を示すにも関わらず抗菌活性を示さない。これはリポシドマイシン類のアミノリボースが親水性の高い硫酸基で修飾されており、細菌細胞膜透過性が制限されているためと考えられている。実際に硫酸基を有さないリポシドマイシン類も報告されており、*Mycobacterium*属に対して抗菌活性を示すことが確かめられている¹⁹⁾。一方、立体化学が決定されていないがリポシドマイシン類縁体の2'位水酸基硫酸化体であるA-90289 A, Bが新たに2011年に単離された²⁰⁾。A-90289 Aは高いMraY阻害活性 (IC₅₀ 36.5 ng/mL for MraY) を示すと同時に黄色ブドウ球菌などに対して抗菌活性を示すことが確認されている (MIC 4-16 µg/mL)*。ムライマイシン類はMcDonaldらによって2002年に単離、報告された²¹⁾。側鎖の構造によって*in vitro*試験での活性が異なり、その中でムライマイシン A1はMraYに対して強力な阻害活性 (IC₅₀ 0.027 µg/mL for MraY) と黄色ブドウ球菌 (MIC 2-16 µg/mL) および陰性細菌 (MIC 8->64 µg/mL) に対して抗菌活性を示すと共に、黄色ブドウ球菌感染マウスに対する*in vivo*試験においても治療効果を示すことが報告されている (ED₅₀ 1.1 mg/kg)**。これらヌクレオシド系天然物はウリジンおよびアミノリボースを共通構造として持つ一方で、ウリジンの糖部5'位からはジアゼパノン環や脂溶性の側鎖、ペプチド鎖など多様な構造が見られる。

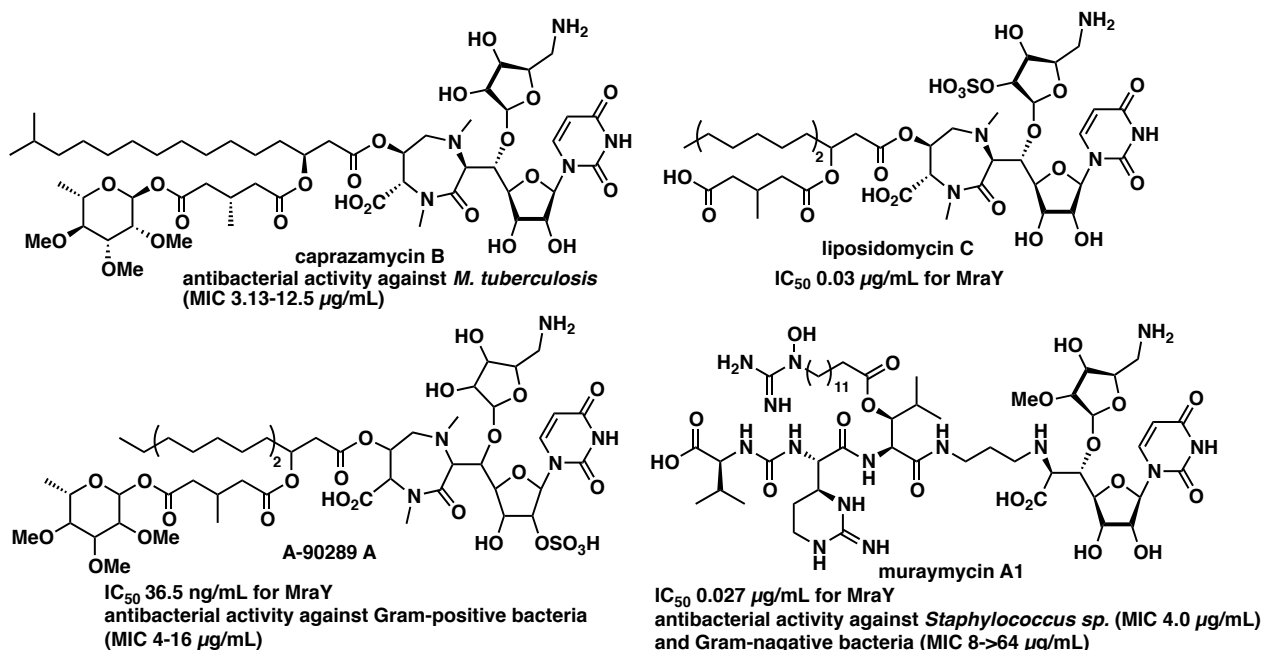


Figure 0-6. MraY阻害作用を示すヌクレオシド系天然物

*硫酸化部位による細胞膜透過性の違いについて筆者の知る限り明らかではないが、硫酸基は抗菌活性に必須ではない。

** グラム陰性菌は細菌細胞壁の外側に厚い外膜を持っているため、一般にグラム陽性菌に比べ、抗菌薬の膜透過性が低い²²⁾。当研究室とシオノギ製薬株式会社との共同研究において、ムライマイシン誘導体にカチオニックなグアニジノ基を側鎖に導入することでグラム陰性菌の中でも膜透過性の低い緑膿菌に対して、抗菌活性を示すことを見出している²³⁾。

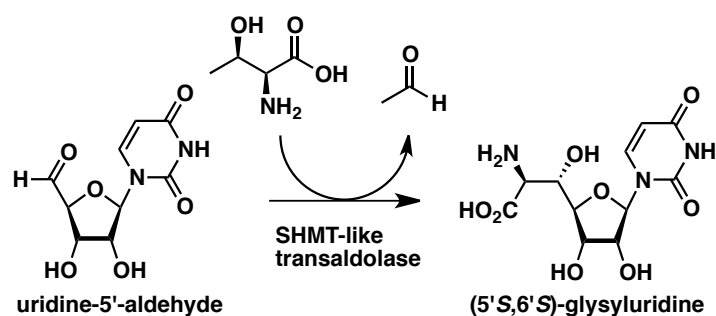


Figure 0-7. SHMT-like transaldolase による酵素反応

LanenらはこのようなMraY阻害活性を示す新たなヌクレオシド系天然物を得るため、共通構造である(5'S,6'S)-グリシルウリジン構造に着目した (Figure 0-7)。彼らはこの(5'S,6'S)-グリシルウリジン構造の生合成酵素としてL-Thr:ウリジン-5'-アルデヒドトランスアルドラーゼ (LTA) が関与していることを明らかにしている²⁴⁾。LTAはセリンヒドロキシメチルトランスフェラーゼ (SHMT)* によく似た機能を持っており、ウリジン-5'-アルデヒドに対してL-Thrから生じるグリシンをアルドール反応によって付加させ、(5'S,6'S)-グリシルウリジン合成する (Figure 0-7)。彼らは、LTAのうち高度に保存されているアミノ酸配列を解析し、そのアミノ酸配列をコードするゲノム配列を利用した。すなわち、これらゲノム配列を有する菌株を、PCR法によって放線菌ライブラリーをスクリーニングすることで新たに見出した。こうして得られた細菌株*Sphaerisporangium* sp. SANK60911を培養することで、望みどおり(5'S,6'S)-グリシルウリジン構造を有する新規ヌクレオシド系天然物スファエリミシンA-Dを単離している (Figure 0-8)²⁵⁾。これらスファエリミシン類のうちスファエリミシン Aについて構造決定および生物活性試験を行っており、強力なMraY阻害活性を有し (IC₅₀ 13.5 ng/mL for MraY)、グラム陽性菌に対して抗菌活性を示すことが明らかになっている (MIC 1-16 μg/mL)。構造的な特徴として、ウリジンの3'位が硫酸化され、ピペリジン環の4'''位に分岐したアシル側鎖が結合している。さらにD-リボースとピペリジン環を含む高度に架橋された化学構造は、MraY阻害作用を有するヌクレオシド系天然物において珍しく、合成化学的にも興味深い。なお本論文では説明の都合上、この架橋環の最も大きい環を11員環として表記する。さらに筆者はこのスファエリミシン骨格の架橋環に着目した。アミノリボースから6'位に炭素鎖が伸び、環を形成しているだけでなくさらに架橋されていることから、その配座は強く固定されている。

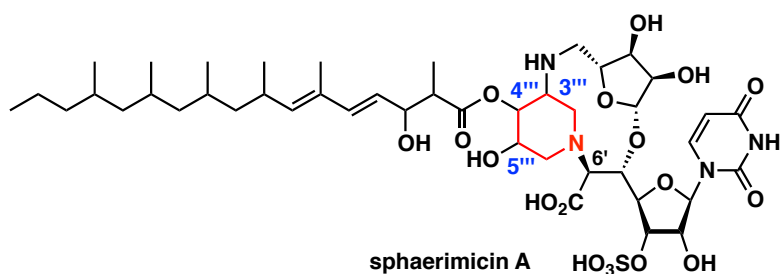


Figure 0-8. スファエリミシン A

* SHMTs は *N*⁵,*N*¹⁰-methylene tetrahydrofolate を一炭素供給源とし、pyridoxal-5'-phosphate をコファクターとしてグリシンからセリンへの可逆的変換を触媒する。LanenらはMraY阻害作用を示すヌクレオシド系天然物の生合成遺伝子を解析し、共通してSHMT様酵素をコードするopen reading frameがあることに着目した。

このアミノリボース部位の構造活性相関研究をDiniらは行っており、リポシドマイシン類の単純化誘導体として*O*-β-D-リボフラノシルウリジンを合成し、そのMraY阻害活性を測定した^{26a, b)}。アミノリボース部のアミノ基を水酸基に置換した化合物2や、3'位の水酸基を欠損した化合物3のMraY阻害活性は化合物1に比べて大幅に減弱しており、アミノリボース部位がMraY阻害活性に重要であることが明らかになっている。そのため、アミノリボース部位の配座を固定することはMraY阻害活性に大きな影響を与えることが推測される。そこで筆者は、スファエリミシン骨格がその架橋環構造によって配座を固定されることで、天然物骨格でありながら新規抗菌薬の配座制御型リードになると考えた*。配座を固定しその結合能を保持することができれば、天然物創薬において問題点の一つである複雑な骨格をより単純化できる²⁷⁾。さらにスファエリミシン類が有する極性官能基を減らすことで、その膜透過性をより向上させれば、その抗菌活性を増大できると考えられ、より有用な創薬リードとして発展できる。しかし、単離論文においてスファエリミシンコア骨格のペペリジン環3'', 4'', 5''位の相対および絶対立体配置が決定されておらず、これまでに合成研究の報告もされていない。そこで筆者は、天然物の立体化学の決定およびスファエリミシン骨格を用いた新規抗菌薬リードの獲得を目指し、合成研究を行うこととした。

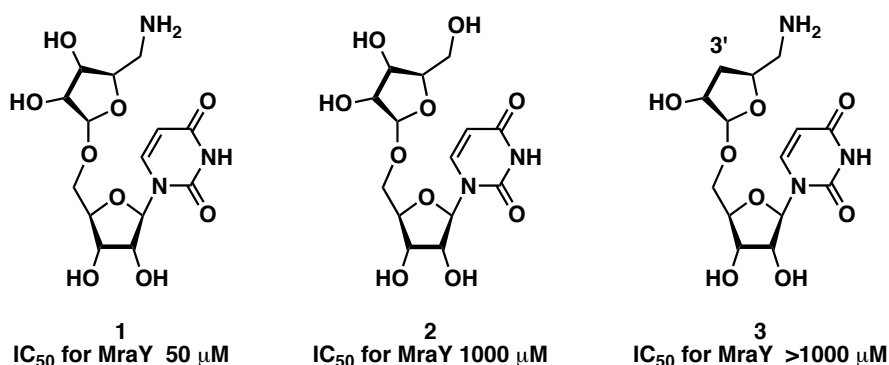


Figure 0-9. リポシドマイシン誘導体を用いたアミノリボース部位の構造活性相関

* 配座制御は創薬化学においてよく用いられる手法である²⁸⁾。化合物の溶液中での最安定配座は標的酵素と結合する時の活性配座と異なる場合がある。化合物の最安定配座をあらかじめ活性配座へと配座制御することで、標的酵素への結合自由エネルギー ($\Delta G = \Delta H - T\Delta S$) におけるエントロピー項に寄与し、その結合能を増大させる。

本論

第1章 標的コア骨格の設定およびMacromodelを用いた標的コア骨格の配座探索

第1節 標的コア骨格の設定

スファエリミシン Aの構造において決定されていない不斉点の数は、アシル側鎖を含めると9つ存在する。当研究室の平野は、天然物カプラザマイシン Bの複雑なアシル側鎖を単純なパルミチン酸へと置き換えた誘導体パルミトイルカプラゾールを合成し、その抗菌活性が天然物と変わらないことを見出している (Figure 1-1)²⁹。そのためアシル側鎖の立体化学は生物活性に大きな影響を及ぼさないと推測した。

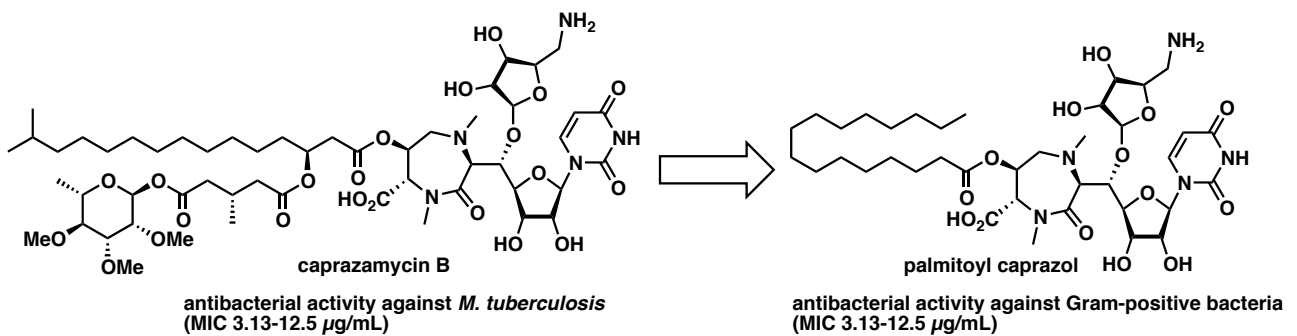
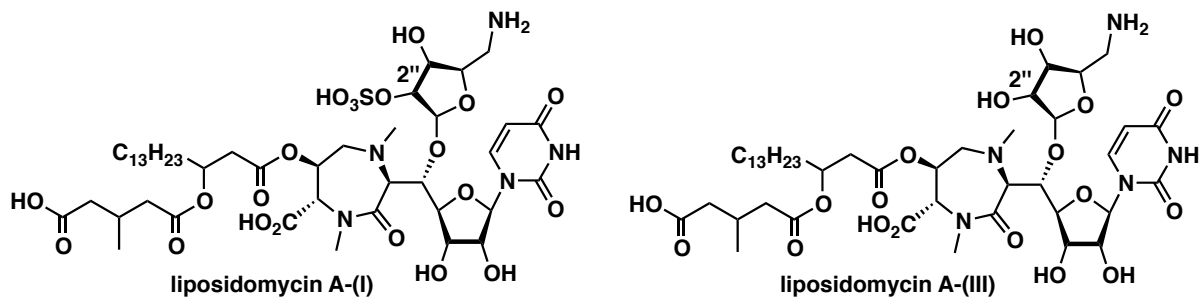


Figure 1-1. カプラザマイシン Bおよびパルミトイルカプラゾール

また、同様に硫酸基を有するヌクレオシド系天然物リポシドマイシン類において、その2''位における水酸基の硫酸化の有無はMraY阻害活性に大きく影響しないことが報告されている (Figure 1-2)¹⁹。



	Conc. (µg/mL)	inhibition of peptidoglycan biosynthesis (%)
liposidomycin A-(I)	0.01	59
	0.1	77
	1	80
liposidomycin A-(III)	0.01	47
	0.1	71
	1	76

Figure 1-2. リポシドマイシン類における硫酸基のMraY阻害活性に対する影響

これらから活性に重要と考えられるファーマコフォアとして、アシル側鎖および硫酸基を除いたコア骨格の立体化学について考察することとした。スファエリミシンコア骨格において未決定の不斉点は3つ存在することから、考える立体異性体は全8種類存在する (Figure 1-3)。しかし、これら8種類全てを網羅的に合成することは多大な労力が必要となるため、合成標的化合物をまず、core Aとcore Bの2つに絞ることとした (Figure 1-4)。このcore Aとcore Bはピペリジン環の立体化学が全く逆であり、3'''位アミノ基と4'''位水酸基が*trans*配置、ジオールが*cis*配置である。この2種のコア構造を設定した理由について第2節で述べる。

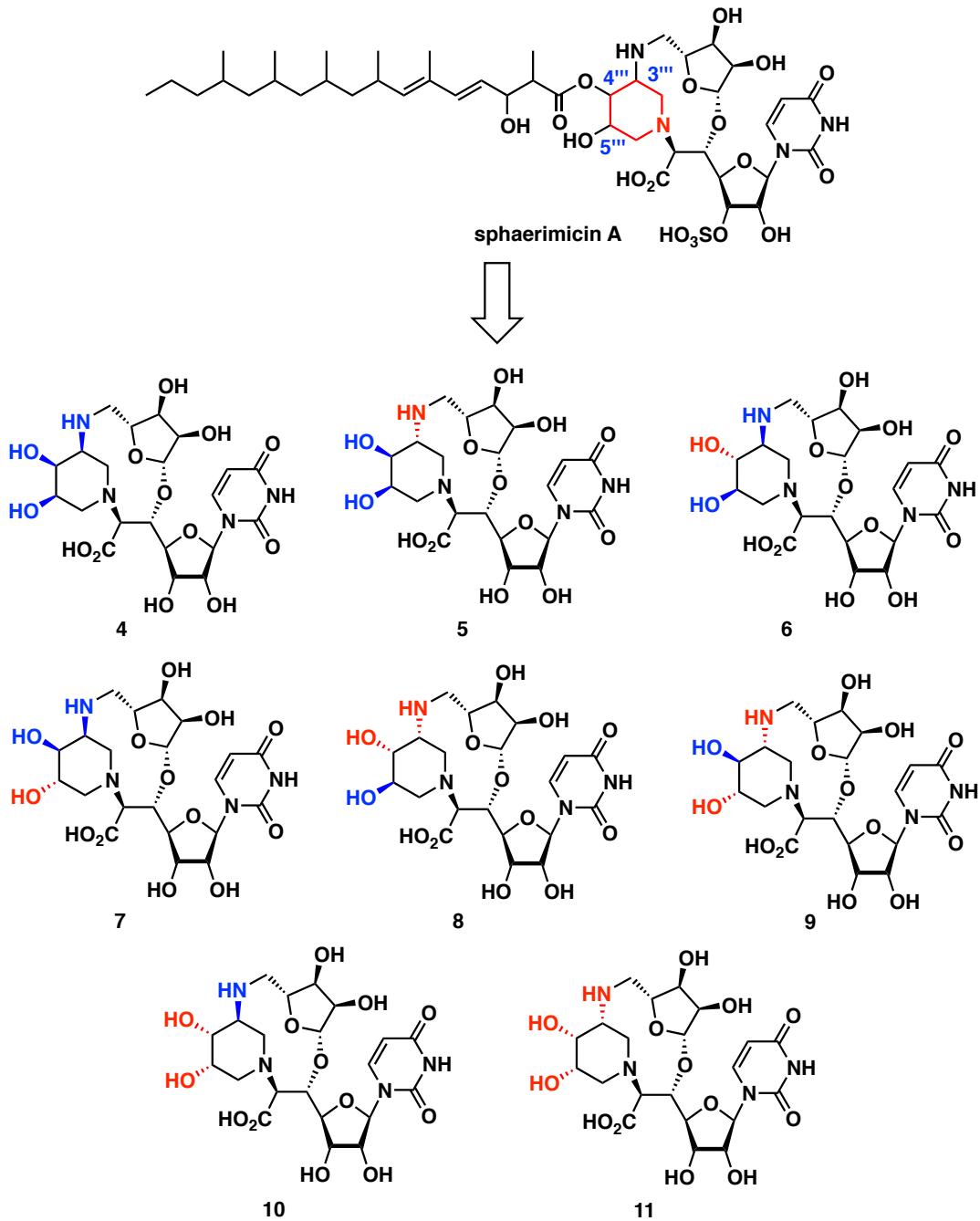


Figure 1-3. スファエリミシン類コア骨格の考える8種類の立体異性体

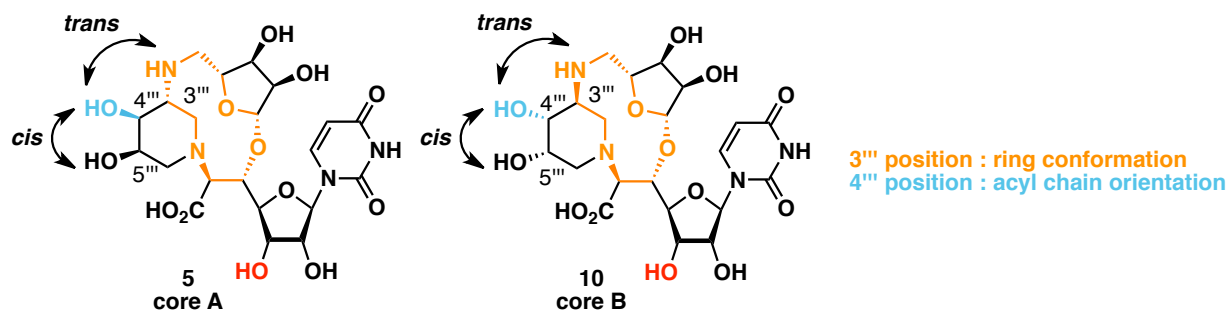


Figure 1-4. 標的化合物core Aおよびcore B

第2節 標的コア骨格の配座探索

まずアミノリボースとピペリジン環をつなぐ3'''位アミノ基に着目した。この3'''位アミノ基は架橋環の中央に位置する11員環に含まれていることから、この立体化学によって架橋環全体の形が変わることが予想される。そのため3'''位の立体化学が異なれば、どちらかが天然物に近い形をとると予想した。また大きく形が変わることでNMR実験から天然物のNMRチャートと比較できることが期待できる。1つの不斉点の立体が異なるだけでは、¹H NMRや¹³C NMRのケミカルシフトに大きく影響しないと思われるが、スファエリミンコア骨格においてはその3次元的な空間配置に違いが生じることで、大きなケミカルシフトの変化が見られると考えた。天然物がcore Aとcore Bのどちらかと近いことが分かれば、天然物の構造は考えられる8種の立体異性体から4種に絞ることができる。

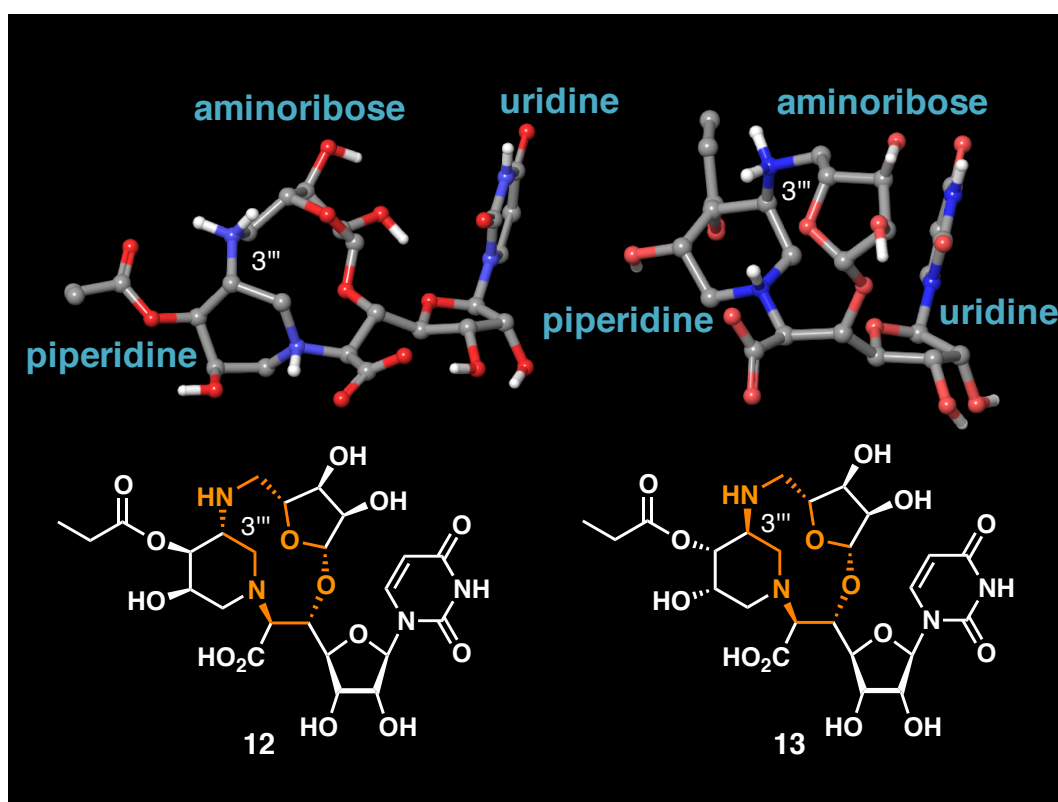


Figure 1-5. Calculated global energy-minimum conformers of **12** and **13**; Macro-Model program was used for conformational search. Conformational searching was carried out using MCMC method, followed by PRCG minimization with OPLS 2005 force field.

この仮説を確かめるため、MacroModelを用いた配座探索によって、core Aおよびcore Bにプロピオン酸が結合した**12**と**13**の最安定配座を得た (Figure 1-5)。これらを比較するとウリジンの配座はほぼ同じだがアミノリボース、ピペリジンの相対配置が大きく異なることが示唆された。すなわち、**12**ではアミノリボースがウリジンの紙面奥側に位置しているのに対し、**13**ではアミノリボースがウリジンの手前側に位置する配座となっていた。またピペリジン環は、どちらも椅子型配座を取っているものの、配座が異なり、**12**では3'''位アミノ基がエクソトリアル位に位置するのに対して、**13**ではアキシアル位に位置し、それに伴いアシル側鎖の配向する向きが異なっていた。このことから最安定配座ではcore A、core Bの配座は大きく異なり、仮説を支持する計算結果となった。

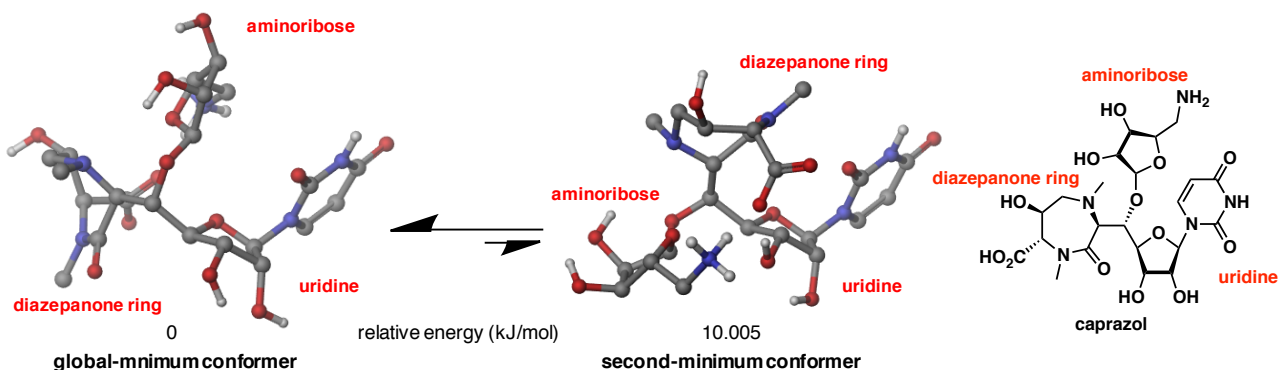


Figure 1-6. カプラゾールの最安定配座および第2安定配座³⁰⁾

当研究室の伊井は、MraY阻害活性を示す天然物カプラザマイシンのコア骨格であるカプラゾールの配座を解析し、カプラゾールに含まれる3つの構造であるウリジン、アミノリボース、ジアゼパノン環の3次元配置がMraY阻害活性に与える影響について考察している (Figure 1-6)³⁰⁾。カプラゾールの配座計算を行うことで、最安定配座と第2安定配座を得たところ、最安定配座はアミノリボースがウリジンの紙面手前に位置した配座をとっており、第2安定配座はアミノリボースがウリジンの紙面奥側に位置していることがわかった。また、D₂O中におけるカプラゾールのROE相関から推測された三次元配置は、最安定配座とよく似たものだった。さらに、カプラザマイシンの単純化誘導体14-16を設計しており、それら最安定配座はカプラゾールの最安定配座によく似たclass Iとカプラゾールの最安定配座とは異なるclass IIに分けられた (Figure 1-7)。これら誘導体のうち、最安定配座がclass Iである誘導体14が、最も良いMraY阻害活性を示し、最安定配座がclass IIをとる誘導体15、16はそれよりも弱い阻害活性を示したことを報告している。

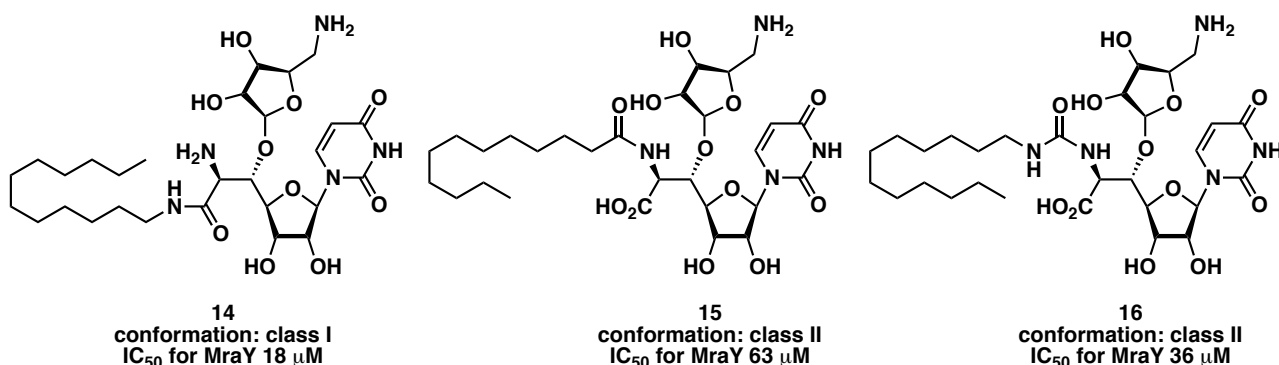


Figure 1-7. カプラザマイシン単純化誘導体14-16

このことから、高いMraY阻害活性の発現にはclass Iの配座をとることが重要であることが示唆された。さらに、化合物13の最安定配座はclass Iであり、化合物12の最安定配座がclass IIであることから、core Bはcore Aよりも高いMraY阻害活性を示すと考えられる。

化合物12、13の配座探索において得られた配座のうち、最安定配座から10 kJ/mol以内のものを、ペペリジン環部位のそれぞれで重ねあわせた (Figure 1-8)。その結果、化合物12、13ともに架橋環部位の配座はほとんど変わらず剛直であり、架橋環形成後の配座の自由度は低いことがわかった。有機合成化学的な視点からは、環化に適した配座が限られ、この架橋環構造の構築が合成における課題の一つとなることが予想された。

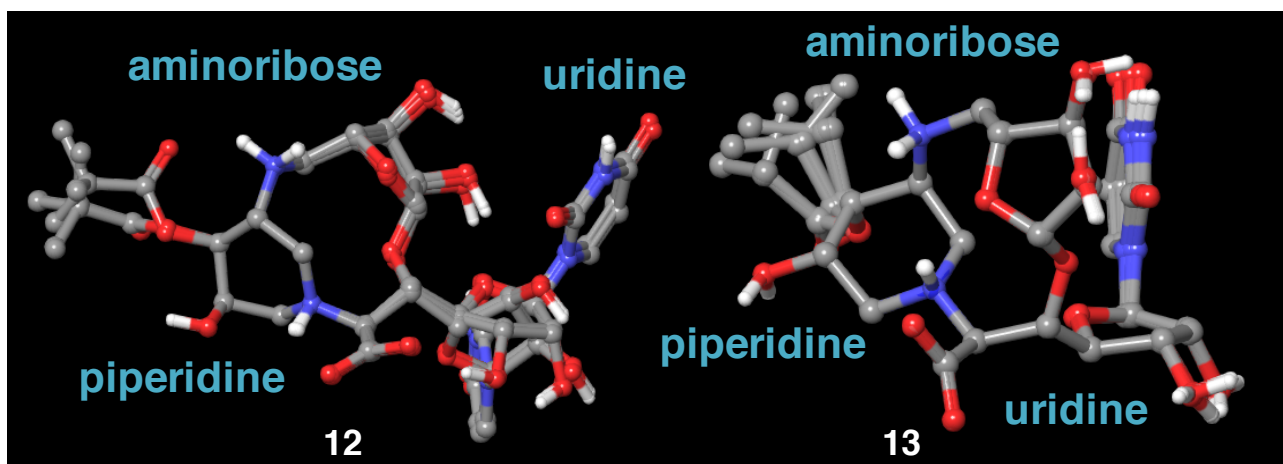


Figure 1-8. Conformational analysis of **12** and **13**; >10kJ/mol energy-minimum from global minimum conformers were calculated. Macro-Model program was used for conformational search. Conformational searching was carried out using MCMM method, followed by PRCG minimization with OPLS 2005 force field.

また、4''位水酸基および5''位水酸基の立体化学については合成の容易さから、3''位アミノ基と4''位水酸基を *trans* 配置に、4''位水酸基と5''位水酸基を *cis* 配置とした。

このようにして設定した標的化合物 core A、core B を合成し、三次元配座および生物活性の違いを解析することで天然物の立体化学の推定については良好な生物活性を示す立体異性体を得ることを目的とし、合成研究を行うこととした。

第2章 11員環形成による架橋環構築経路を用いたスファエリミシンコア骨格合成の検討

第1節 逆合成解析

本合成において多置換ピペリジン環の構築が一つの課題となる。これまで様々なピペリジン環の合成法が報告されており、その一部をFigure 2-1に示す^{31a, b, c)}。アミノ基のS_N2反応による環化³²⁾、マイケル受容体に対する分子内アミノ基の1,4-付加³³⁾、閉環メタセシス反応³⁴⁾、ルイス酸を用いたaza-Diels反応³⁵⁾、ピリジニウムカチオンに対する還元³⁶⁾、還元的アミノ化³⁷⁾、ラジカル反応による環化等³⁸⁾があげられる。合成する標的化合物core A、core Bは、酸および塩基に弱い官能基を有しているのと同時に、ピペリジン環に立体選択的に不斉点を導入する必要があるため、適用可能な反応条件が限られる。そこで筆者はあらかじめピペリジン環前駆体に不斉点を導入でき、かつ温和な条件で進行する還元的アミノ化反応が適していると考え、本合成に用いることとした。

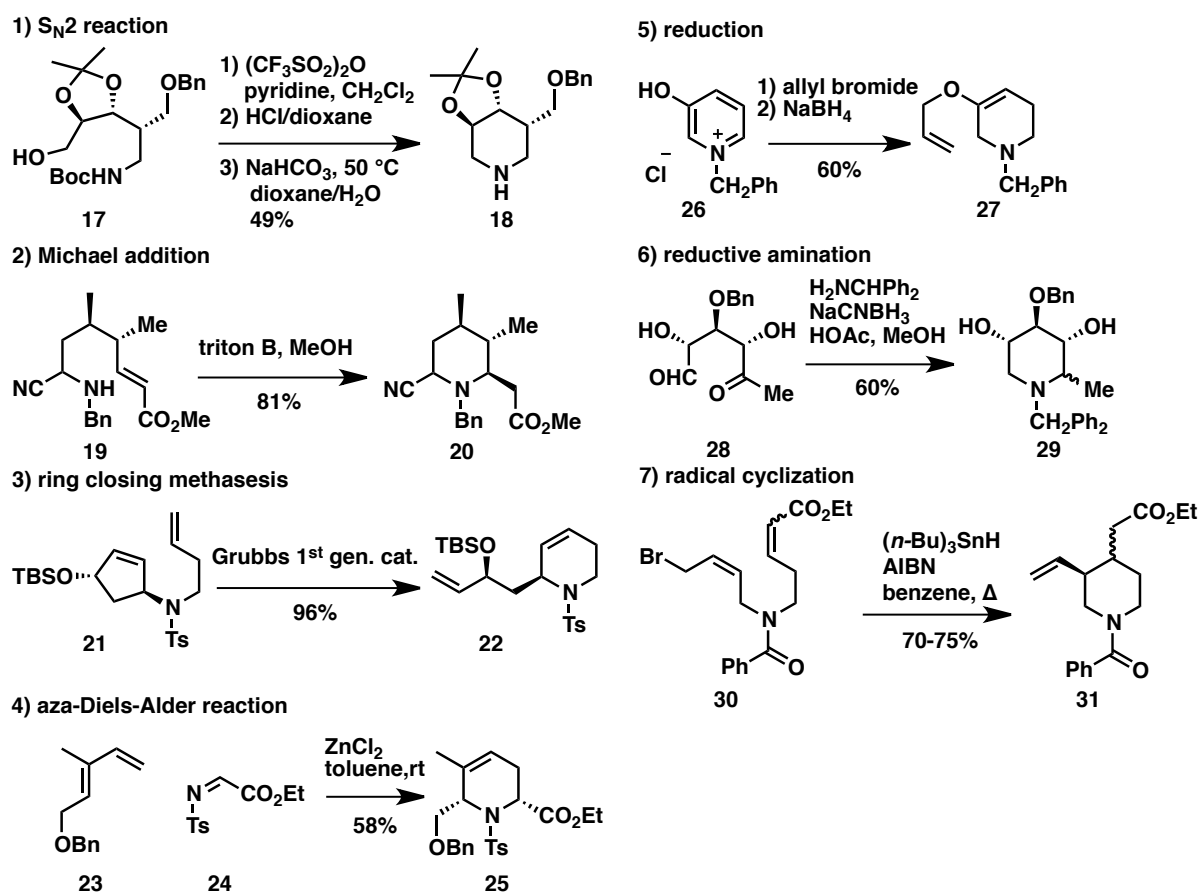
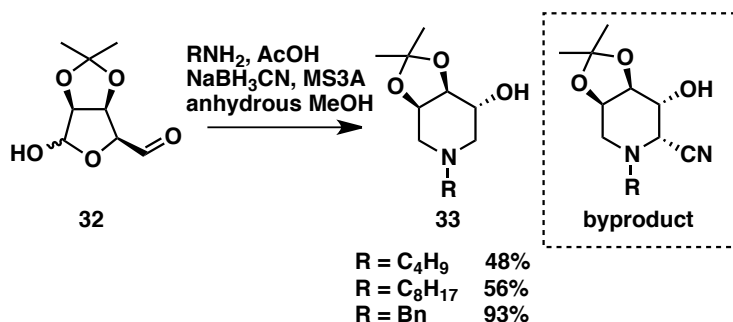


Figure 2-1. ピペリジン環の合成例

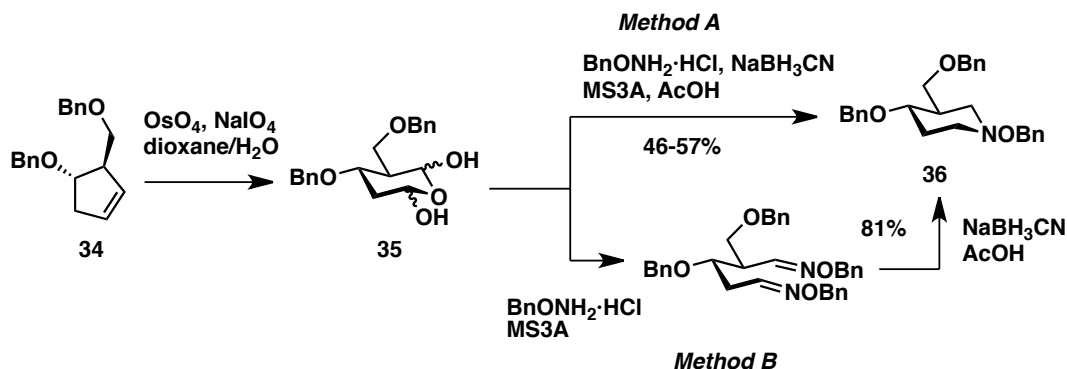
Cardonaらは、D-マンノースから合成したアルデヒド $\mathbf{32}$ と一置換アミンを用いて、還元的アミノ化によるピペリジン環合成を報告している (Scheme 2-1)³⁹⁾。アミンの置換基によって大きく収率が異なり、ベンジル基が最も良い収率を示した。また条件検討の結果、無水MeOH中、AcOHおよびMS3Aを添加することで収率が向上しており、無水MeOH、AcOHを用いない場合、シアノ基を有する副生成物が得られることを報告している。しかし、アルデヒドの α 位が異性化した副生成物は得られたという報告はされていない。

Scheme 2-1.



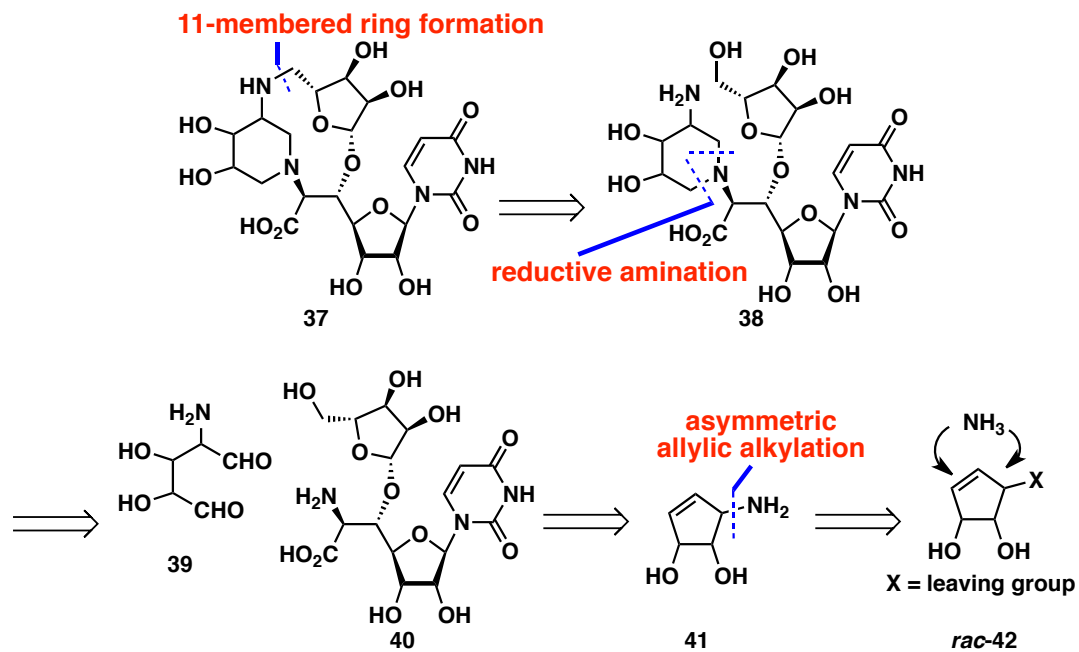
Cardonaらが用いたアルデヒド**32**はイソプロピリデン基によって配座を固定されているが、Crichらは水酸基を全てBnで保護した環状アセタール**35**を用いてピペリジン環を合成している (Scheme 2-2)⁴⁰。Crichらはシクロペンテン**34**に対してオレフィンの酸化的開裂を行うことでジアルデヒドとしたが、環状アセタール**35**の形をとっているとしている。また、環状アセタール**35**に対してヒドロキシベンジルアミンを用いて還元的アミノ化を行った結果、アミンと還元剤を同時に加えるmethod Aよりも、先にアミンを加えジオキシムにした後に還元剤を加えるmethod Bが良い収率を与えるると報告している。環状アセタール**35**を用いてもアルデヒド α 位の異性化が問題となっていないことから、水酸基の立体を固定しなくても還元的アミノ化の条件ならば異性化はしないと考えた。

Scheme 2-2.



上記を考慮した上で、筆者の逆合成解析を以下に示す (Scheme 2-3)。11員環形成はピペリジン体**38**から合成終盤に行くこととし、ピペリジン環を構築した後にD-リボースの第1級水酸基とピペリジン環のアミノ基を足がかりに合成することとした。ピペリジン環の構築は、ジアルデヒド**39**とウリジンユニット**40**から還元的アミノ化によって行う。またジアルデヒド**39**はアミノシクロペンテン**41**からオレフィンの酸化開裂によって得ることとした。アミノシクロペンテン**41**はラセミ体のシクロペンテン**42**から不斉アリル位アルキル化反応を用いて、立体選択的にアミノ基を導入し、合成することとした。

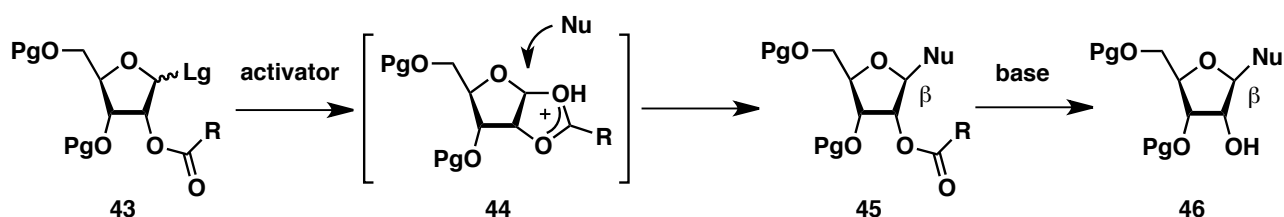
Scheme 2-3.



第2節 ウリジンユニットの合成

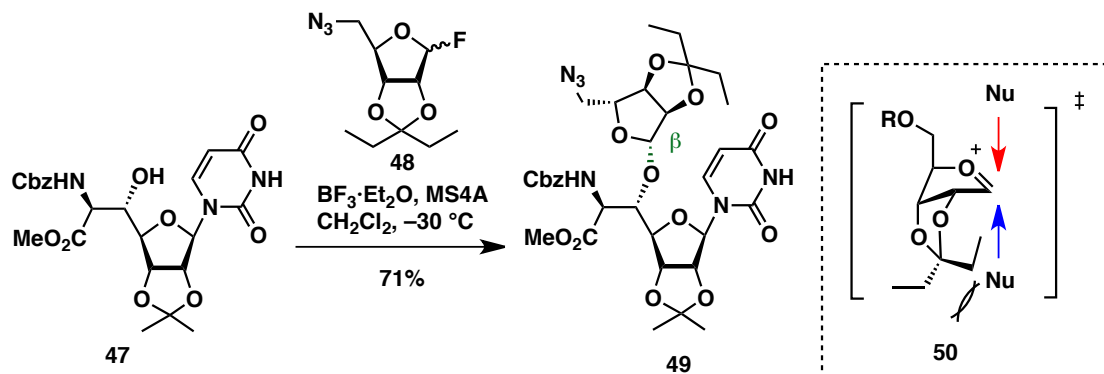
まずウリジンユニットを合成することとした。ウリジンユニットには5'-O-β-リボフラノシル構造が含まれる。5'-O-β-リボフラノシル構造の形成において、β選択的リボシル化反応を行うこととしたが、2位アシル基の隣接基関与を用いた反応条件では、その脱保護において一般に塩基性条件が必要になる(Scheme 2-4)。

Scheme 2-4.



当研究室の平野は、天然物カブラザマイシン類の母骨格であるカブラゾールの合成において、その塩基性条件下での不安定性を懸念し、酸性条件下で除去可能なペンチリデンアセタールによるβ選択的リボシル化反応を新たに開発した^{41)*}。糖供与体であるD-リボースの2および3位をペンチリデン基で保護し、リボシル化反応を行うことで、その立体障害から高いβ選択性でリボシル化体を得られる。この反応を用いて、ウリジンから合成した糖受容体**47**と、5位をアジド化し脱離基にフッ素を有する糖供与体**48**を、低温下、BF₃·Et₂Oを活性化剤とした温和な条件で反応させることで化合物**49**が得られることが報告されている(Scheme 2-5)²⁹⁾。

Scheme 2-5.

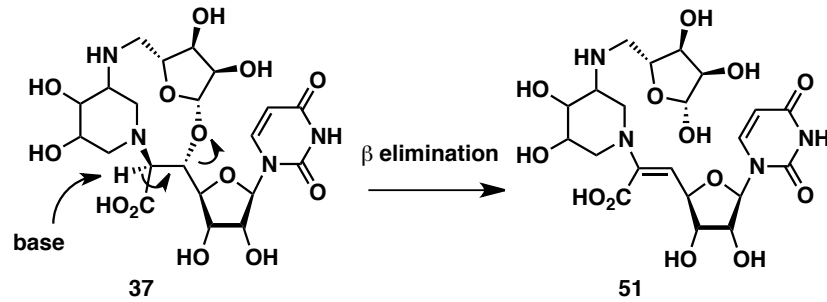


スファエリミシンコア骨格の合成においても、塩基性条件下でのアミノリボースのβ脱離が懸念されたため、筆者もまたペンチリデンリボースを糖供与体として用いることとした (Scheme 2-6)**。

* カブラザマイシン A の合成が竹本らにより⁴²⁾、カブラザマイシン B の合成が柴崎らによって達成されているが^{43a, b)}、ペンチリデンリボースによるβ選択的リボシル化を用いている。

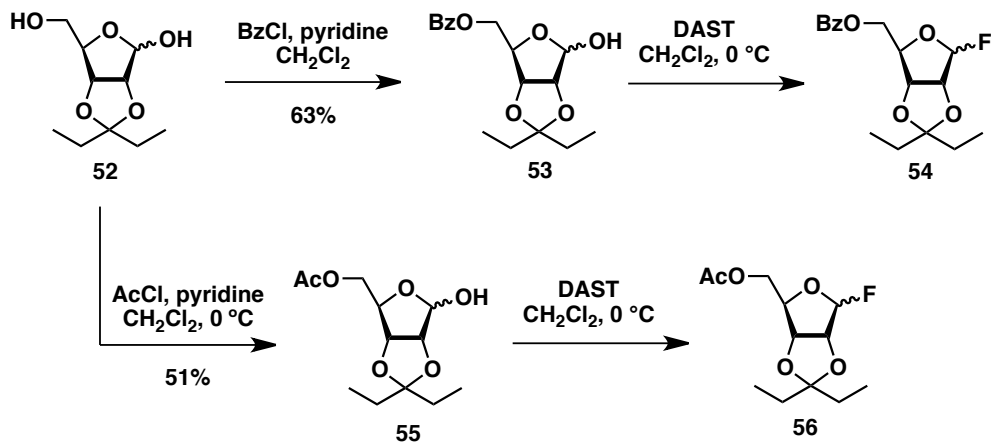
**第3章にて詳述するが架橋環を形成した後のスファエリミシンコア骨格は塩基性条件化において安定だった。

Scheme 2-6.

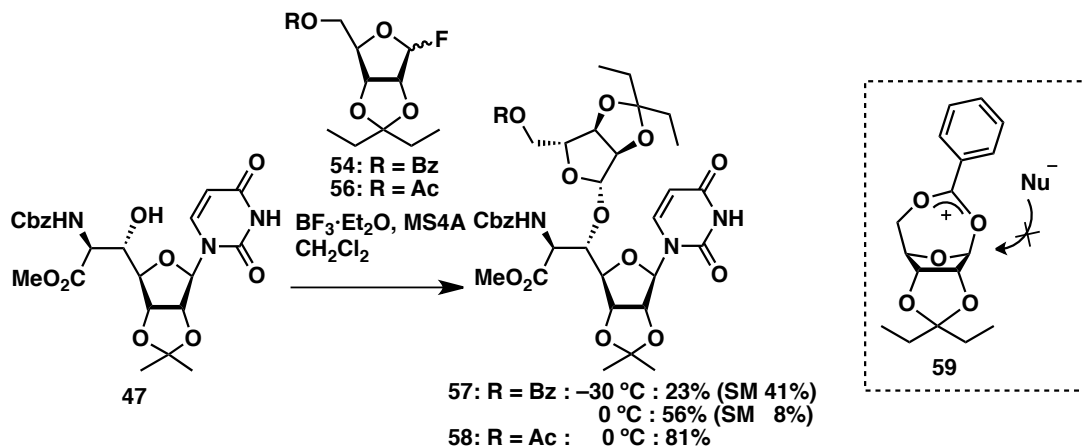


本合成ではD-リボース5位が水酸基である必要があるため、ベンゾイル基で保護した**54**を糖供与体とすることとした。D-リボースの2,3位をペンチリデン基で保護した**52**に対して、ベンゾイルクロリドを作用させ、5位選択的にベンゾイル化したのちに*N,N*-diethylaminosulfur trifluoride (DAST) で処理することで**54**を得た。なお**54**は後処理に分液のみを行い、特に精製を行わず次の反応に用いた (Scheme 2-7)。

Scheme 2-7.



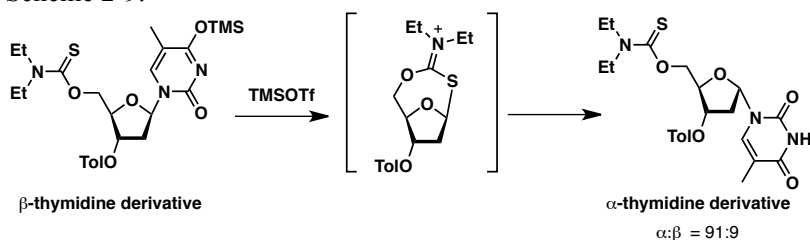
Scheme 2-8.



つづいて、Scheme 2-5と同様のウリジン誘導体**47**に対して**54**を糖供与体として、CH₂Cl₂中、MS4A存在下、BF₃·Et₂Oを活性化剤として用いて、-30 °Cで反応を行ったところ、化合物**57**を得たが収率23%にとどまり、原料を回収する結果となった (Scheme 2-8)。そこで反応温度を0 °Cまで昇温したところ、化合物**57**の収率は向上し、収率56%となったが、α体を含む複雑な混合物を副生成物として得た。糖供与体であるフラノースの2,3位をケタールで保護しているため、1位および4位が擬axial配向となっていると考えられる。そのため5位ベンゾイル基による隣接基関与が生じやすくなっており、中間体**59**をとることで、望みのβ面からの求核付加が進行しづらいと推測した*。そこで、共役によって中間体カチオンを安定化しないアセチル基で保護した**56**を糖供与体として反応を行うこととした。化合物**54**と同様に**56**を合成し、β選択的リボシル化を行ったところ、望みの化合物**58**を収率81%で得た。

* 関根らはシリル化されたチミジンの1'位の異性化を5'位の隣接基関与によって行っている (Scheme 2-9)⁴⁶。

Scheme 2-9.



第3節 シクロペンテンユニットの合成

次にシクロペンテンユニットの合成を行った。不斉アリル位アルキル化反応はTrostらによって1973年に初めて報告されており⁴⁴⁾、辻・Trost反応^{45a, b)}において、不斉配位子を用いることで立体選択的に求核剤を導入する反応である。その触媒サイクルを示す (Figure 2-2)。不斉配位子が配位したPd触媒は、アリル化合物の二重結合に配位し、脱離基が離れるとともにカチオン性 π -アリル錯体を形成する。求核剤がこのカチオン性 π -アリル錯体のアリル炭素に求核攻撃するが、不斉配位子によってその立体選択性が制御され、光学活性なアリル化合物を生成物として与える。その後、Pd触媒は生成物から離れ、再び触媒サイクルに入る。

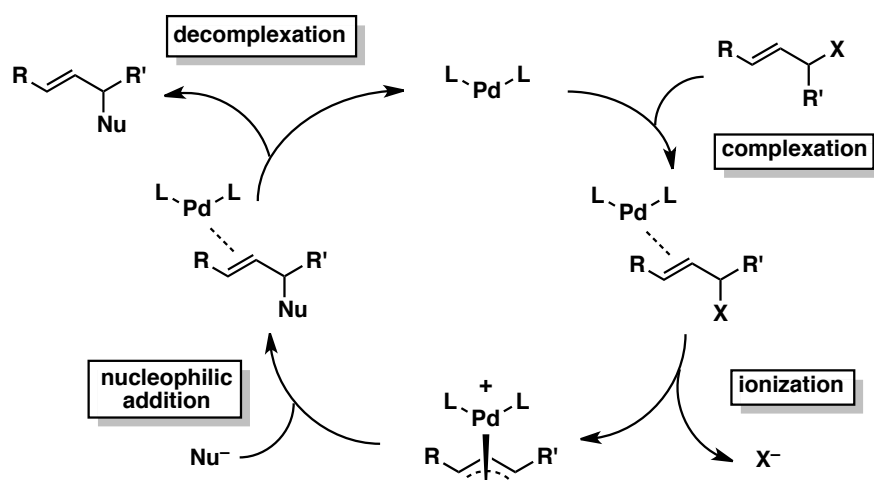


Figure 2-2. 不斉アリル位アルキル化の触媒サイクル

また、Trostらによって独自に開発されたTrost ligandと呼ばれる C_2 対照なキラル二座配位子は、その反応モデルおよび立体選択性について詳細に考察され、高エナンチオ選択的に反応が進行することが報告されている (Figure 2-3)⁴⁷⁾。さらに反応条件も温和であり、基質のアリル化合物として、炭酸アリルエステルを用いた場合には中性条件で反応が進行するため⁴⁸⁾、不斉アリル位アルキル化反応は天然物や生理活性物質の合成にも多く使用されてきた⁴⁹⁾。

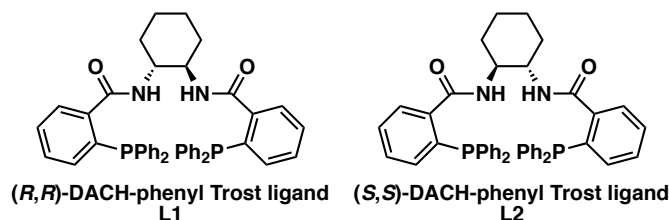
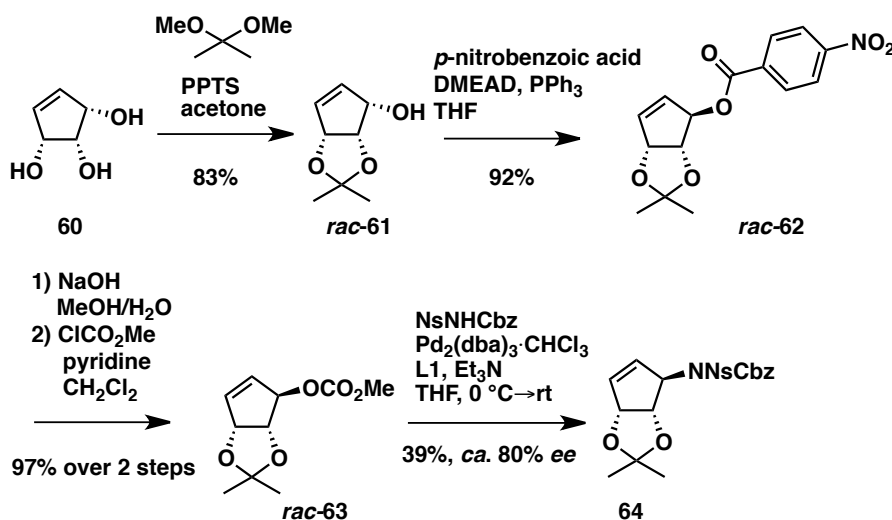


Figure 2-3. Trost ligand

筆者はこの不斉アリル位アルキル化を用いて、シクロペンテンユニットを合成することとした。基質となるアリル化合物は、既知化合物であるラセミ体のシクロペンテン $\mathbf{63}$ を用いることとし^{50a, b)}、既知化合物であるシクロペンテントリオール $\mathbf{60}$ ^{51a, b)}から既知法を参考に合成した⁵²⁾ (Scheme 2-10)。求核剤にはアミン上で2回目の不斉アリル位アルキル化が起こらないように、Ns基およびCbz基で保護したアミンを用いることとした。触媒に $\text{Pd}_2(\text{dba})_3 \cdot \text{CHCl}_3$ 、不斉配位子に(*R,R*)-DACH-phenyl Trost ligand (**L1**) を

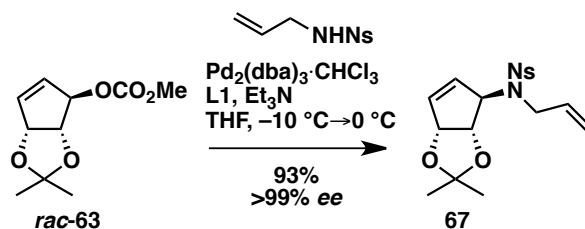
用いて、不斉アリル位アルキル化を行ったところ中程度の収率にとどまり、39%の収率で**64**を得た。なお、*ee*の算出および絶対立体配置の決定は旋光度から行っており、得られた**64**の立体化学はTrostらが提唱している立体選択性と一致した*。

Scheme 2-10.



Blechertらは同じシクロペンテン**63**を基質とし、求核剤にアリルノシルアミドを用いて、不斉アリル位アルキル化を行っており、95%収率、>99% *ee*で目的物の**67**が得られることを報告している (Scheme 2-12)^{50b}。

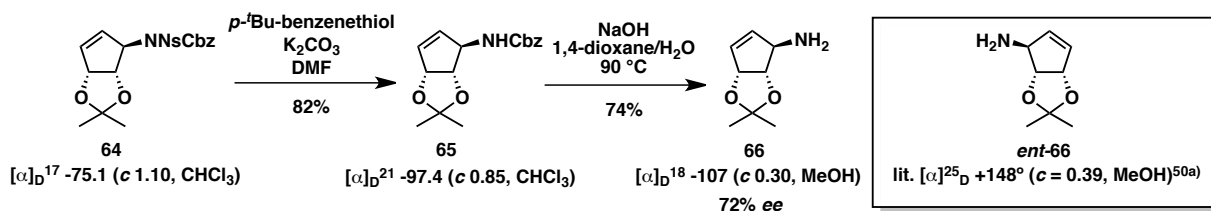
Scheme 2-12.



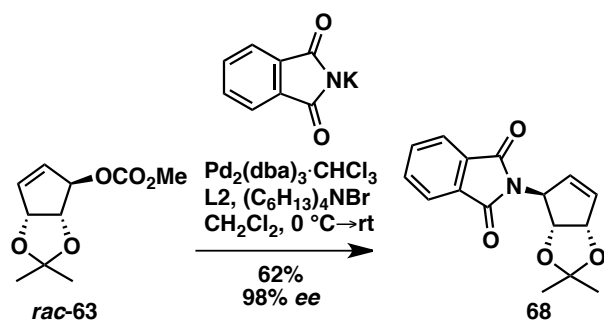
一方、Trostらもシクロペンテン**63**を基質として、不斉アリル位アルキル化を行っている (Scheme 2-13)。しかしながら、フタルイミドカリウムを求核剤として用いると、62%の収率でしか目的物**68**が得られないことを報告しており、Blechertらとの収率の差を求核剤によるものと述べている^{50a}。これらから、今回、筆者が行った不斉アリル位アルキル化が中程度の収率にとどまったのも、求核剤の反応性によるものと考えている。

* 別途合成した**64**から**66**へと導き、文献既知の単一のエナンチオマー体と旋光度を比較したところ、72% *ee*であり、絶対立体配置が逆であることがわかった (Scheme 2-11)。また本文中でペリリジン環合成に用いた**64**の旋光度は $[\alpha]_D^{21} -84.7$ (*c* 1.02, CHCl₃)であったことから約 80% *ee* と表記した。

Scheme 2-11.

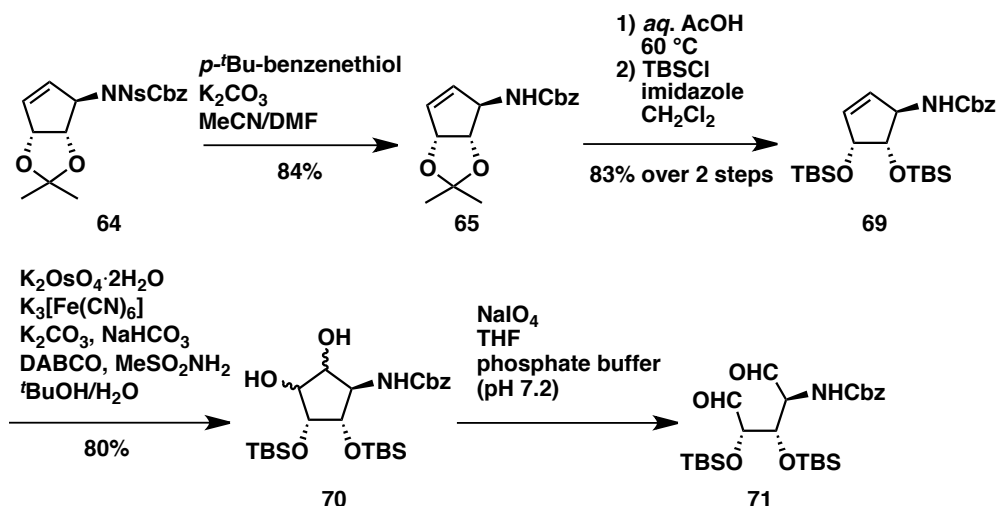


Scheme 2-13.



中程度の収率ながら、光学活性なアミノシクロペンテン**64**が得られたことから、合成を進めることとし、化合物**64**のNs基をチオールによって除去し、酸性条件によってイソプロピリデン基を除去、生じたジオールをTBS基で保護することによって**69**を得た (Scheme 2-14)。化合物**69**のオレフィンのジオール化を、まずNMOを酸化剤としたオスミウム酸化によって試みたが、反応は進行しなかった。オレフィンの上下の面にCbz基およびTBS基があるため、立体障害により進行しなかったと考えられる。福山らはエクテイナジジン 743の全合成において同様に二重結合付近の立体障害により進行しづらいオスミウム酸化を行っており、オスミウムの配位子としてキヌクリジンを追加している⁵³。また、辻らはオスミウム酸化における律速段階がオスメートエステルの加水分解であり、アミノ基を有する配位子によって加水分解が加速されると報告している⁵⁴。これらを参考に化合物**69**に対して、DABCOを配位子としたオスミウム酸化を行ったところ反応は円滑に進行し、ジオール体**70**を得た。得られたジオール体**70**を過ヨウ素酸ナトリウムによって酸化開裂を行うことでジアルデヒド**71**とした。ジアルデヒド**71**はアルデヒドの α 位に不斉点を有するため、精製操作を行わず続くピペリジン環合成に用いた。

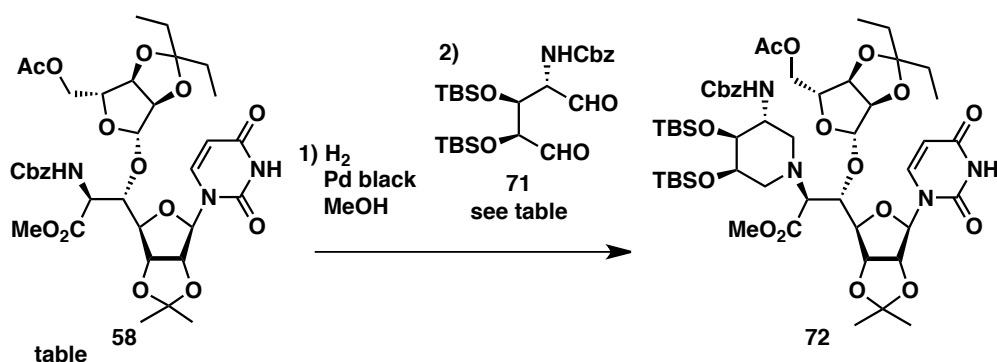
Scheme 2-14.



第4節 ピペリジン環の構築および11員環形成の検討

ウリジンユニット**58**とジアルデヒド**71**を合成できたことから還元的アミノ化によるピペリジン環構築を行った (Scheme 2-15)。化合物**58**のCbz基を接触水素還元によって除去し、ジアルデヒド**71**と還元剤としてNaBH(OAc)₃およびNaBH₃CNを用いて反応を行ったところ、ピペリジン体**72**を低収率ながら得ることができた (entry 1)。また、還元剤をピコリンボラン (pic-BH₃) に変更し、溶媒としてMeOHもしくは1,2-DCEを用いた場合には、1,2-DCEにおいて収率の向上が見られた (entry 2, 3)*。MeOHを溶媒として用いた場合には、アセタール形成がイミン形成と競合したため、収率が低くなったと考えられる。

Scheme 2-15.



entry	reagents	solvent (M)	temperature	yield (%)
1	dialdehyde 71 (1.1 eq) NaBH(OAc) ₃ , AcOH, MS4A then NaBH ₃ CN	1,2-DCE (0.03)	rt→60 °C	26
2	dialdehyde 71 (3 eq) pic-BH ₃ , AcOH	MeOH (0.1)	rt	25
3	dialdehyde 71 (3 eq) pic-BH ₃ , AcOH	1,2-DCE (0.1)	rt	44
4	dialdehyde 71 (1.5 eq) pic-BH ₃ , AcOH, MS4A	1,2-DCE (0.04)	rt	44
5	dialdehyde 71 (3 eq) pic-BH ₃ , AcOH	1,2-DCE (0.2)	rt	47

さらに分子間での反応が競合する可能性を考え、基質**58**の濃度を低くし、ジアルデヒドの等量を減らすとともに、系中で生じる水を除くためMS4Aを添加したが、収率は変わらなかった (entry 4)。一方、ジアルデヒド**71**の等量を増やし、基質**58**の濃度を高くしたところ、イミン形成が促進され、収率が向上したことからこの条件を最適とした (entry 5)。

得られたピペリジン体**72**の相対立体配置については、¹H NMRおよびNOE相関から決定した (Figure 2-4)。ピペリジン体**72**の6''位のアキシャル位プロトンから、2''位のプロトンおよび4''位のTBS基にNOE相関が見られたため、ピペリジン環は椅子型配座を取っていることがわかった。また6''位のアキシャル位プロトンと5''位のプロトンの*J*値が10.3 Hzであったことから、これらはアンチペリプラナーに位置

* ピコリンボランは水、MeOH 溶媒および neat 条件で還元的アミノ化を行うことができ、幅広い基質に対して有効である⁵⁵⁾。

している。さらに、3'''位プロトンと2'''位のプロトンにおいてビシナルカップリングが見られなかったことから、3'''位プロトンはエクソトリアル位に位置していると判断した。これらから、ピペリジン環の不斉点が還元的アミノ化の条件で異性化せず、Figure 2-4に示した望みの立体の化合物を与えたことを確認した。

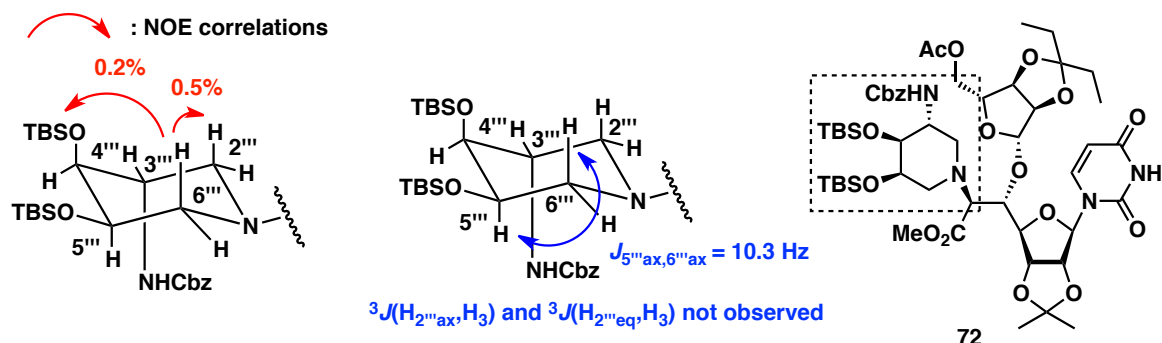
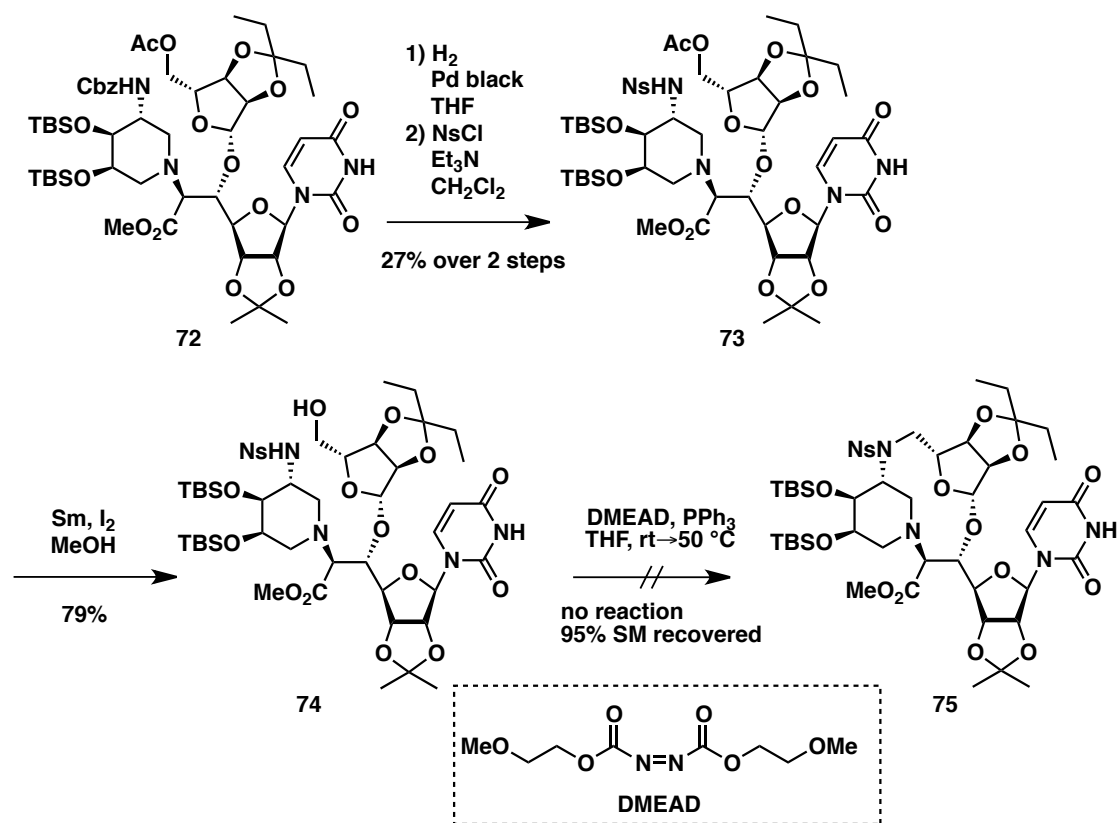


Figure 2-4. ピペリジン体72のNOE実験

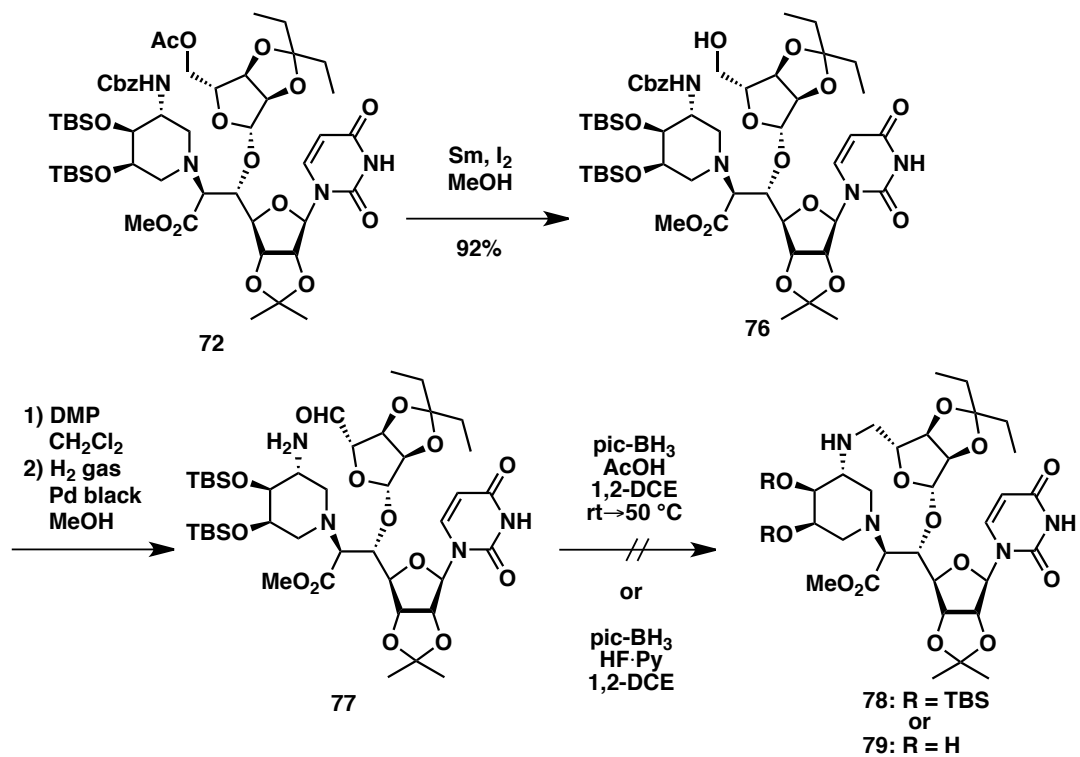
ピペリジン体72を得たことから11員環の構築を行うこととした。接触水素還元により72のCbz基を除去し、生じたアミノ基をNs基で保護することで73を得た (Scheme 2-16)。次に73のAc基の除去を行ったが、塩基性条件でのリボースのβ脱離を懸念し、中性条件である3価のSmを用いた加溶媒分解により、環化前駆体74を得た⁵⁶⁾。環化前駆体74に対して、DMEAD、PPh₃を用いて光延反応による環化を試みたが、反応は進行せず、原料を回収するのみだった。また、立体障害の少ないPhOPPh₂とDMEADを用いた条件も行ったが、反応は進行しなかった⁵⁷⁾。

そこで反応形式を変え、還元的アミノ化による環化を試みることにした (Scheme 2-17)。化合物72から3価のSmによってAc基を除去し、76を得た。次にDess-Martin酸化によって76の水酸基をアルデヒドへと酸化し、接触水素還元によってCbz基を除去することで77とした後、そのままピコリンボランを用いた還元的アミノ化を行ったが、複雑な混合物を与えるのみで環化体は得られなかった。またTBS基の立体障害によって反応が進行しなかったと考え、HF・Pyを用いることで、系中においてTBSを除去しながら還元的アミノ化による環化を試みたが、こちらも複雑な混合物を与えた。そこでピペリジン環構築後では化合物74や77の配座が制限され、環化に適した配座が取れないと考え、新たな合成経路を考案することとした。

Scheme 2-16.



Scheme 2-17.

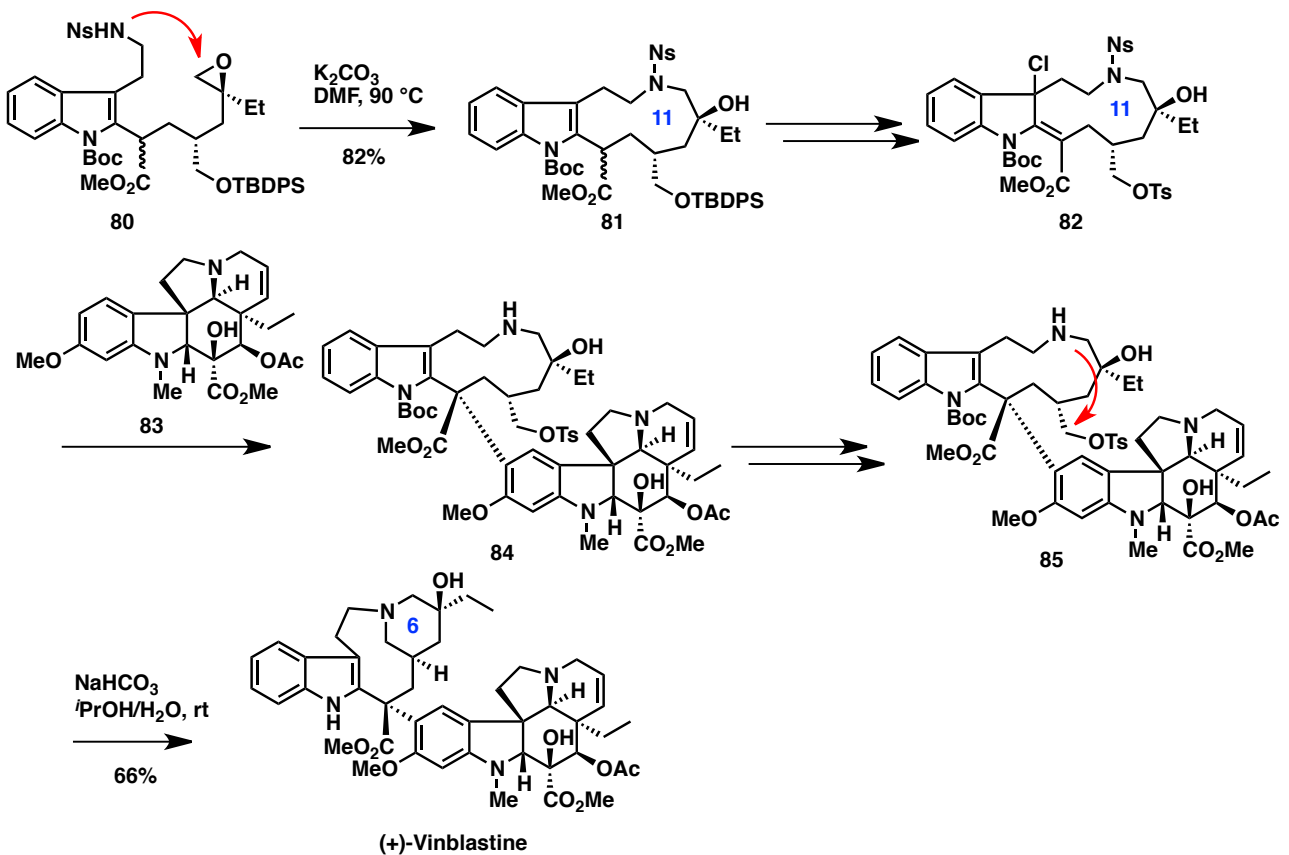


第3章 連続還元的アミノ化によるピペリジン環と11員環の一挙構築によるコア骨格合成

第1節 逆合成解析

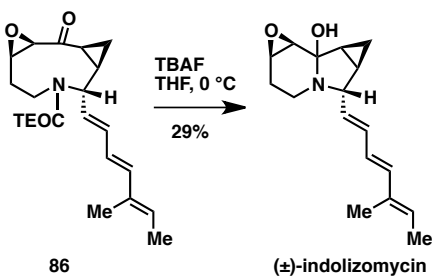
有機合成化学において、大きな環を構築した後に環構造に含まれるより小さな環を構築する手法はしばしば見られる手法である*。例として福山らによって達成されたビンブラスチンの全合成を示す (Scheme 3-1)⁵⁸。化合物**80**のノシルアミドからエポキシドの開環反応に伴う環化によって、まず11員環を形成し、化合物**81**を合成している。その後、官能基変換を行って得た化合物**82**ともう1つのユニットである**83**のカップリングによって得た化合物**84**から、化合物**85**とし、アミノ基のトシラートに対する求核置換によって6員環を構築し、ビンブラスチンの全合成を達成している。このように段階的に環骨格を構築することでインドール環を含む複雑な架橋環を構築している。

Scheme 3-1.

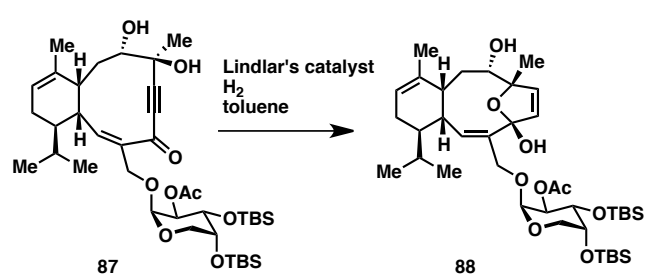


* 他にも Danishefsky によるインドリゾマイシンの全合成 (Scheme 3-2)⁵⁹や Nicolaou によるエルテロピンの全合成 (Scheme 3-3)⁶⁰があげられる。

Scheme 3-2.

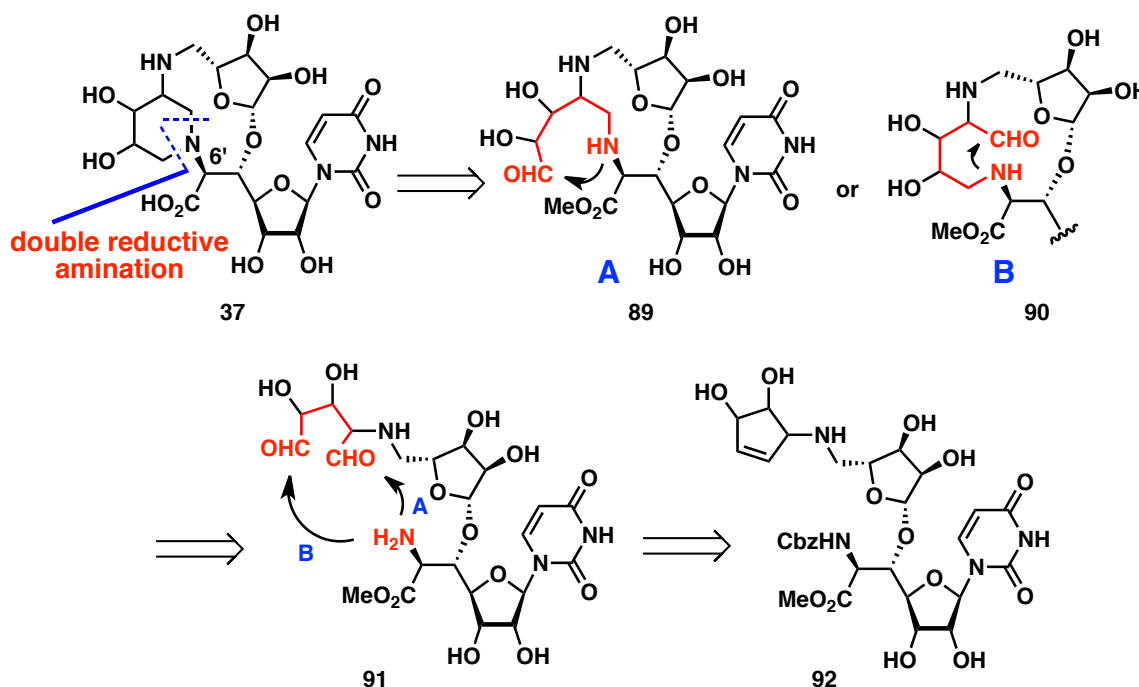


Scheme 3-3.



そこでスファエリミシンコア骨格においても、ピペリジン環を構築する前に、リボースとウリジンの6'位アミノ基をつなぐ環を形成することとした。先の合成法と異なり、ピペリジン環とリボース環の環同士を結合させるよりも配座が柔軟になり、環化が進行すると考えた。新たな逆合成解析を示す (Scheme 3-4)。コア骨格における架橋環構築をジアルデヒド**91**から連続還元的アミノ化によって行うことで、11員環および6員環を一挙に構築することとした。初めの11員環もしくは13員環形成は、環化前駆体の配座が柔軟でありかつ分子内反応であるため、反応が進行しやすいと考えた。また2回目の環化も6員環形成なので進行しやすいと考えられる。さらに、1工程で2つの環を構築できるため効率的であるとともに、反応点であるアルデヒドが2つ存在することで、1回目の還元的アミノ化の反応性が上がると期待した。先に11員環を形成し中間体**89**を与える経路A、もしくは13員環を形成し中間体**90**を与える経路Bがあるが、どちらで進行しても同一の生成物**37**を与える。環化前駆体であるジアルデヒド**91**はシクロペンテン体**92**から、オレフィンの酸化開裂により合成することとした。

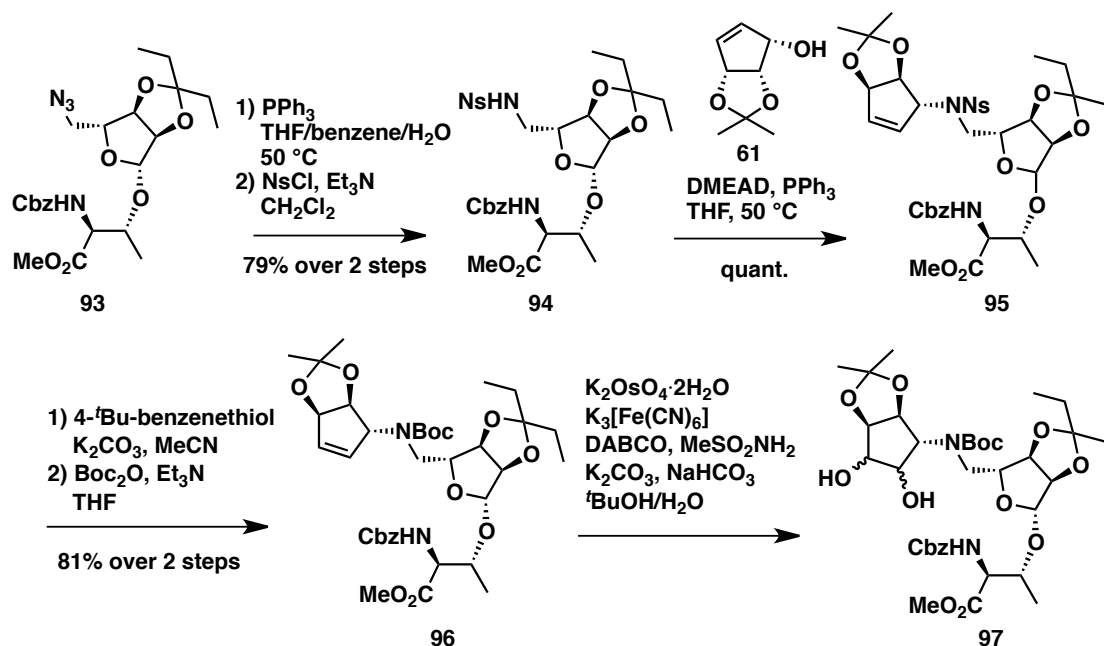
Scheme 3-4.



第2節 モデル基質による連続環化反応の検討

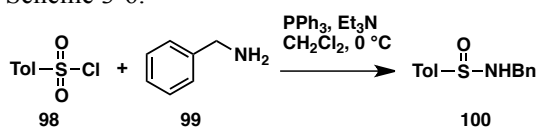
まず連続環化反応が進行するかを、モデル基質を用いて検討することとした。L-スレオニンから合成した既知化合物**93**のアジド基をStaudinger還元によりアミノ基へと変換し、Ns基で保護することにより、**94**を得た (Scheme 3-5)^{*61)}。次に既知化合物であり、単一のエナンチオマーである**61**を用いて光延反応を行うことで**95**を定量的に得た^{62a, b)}。Ns基の除去^{**}と生じたアミノ基のBoc保護を行い**96**とした後に、オスmium酸化によりジオール体**97**とした^{***}。

Scheme 3-5.



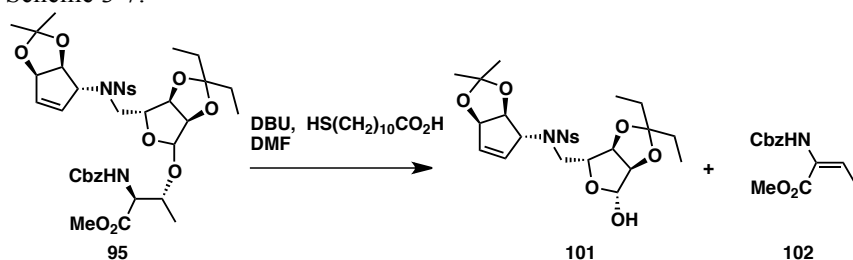
* PPh₃によってスルホニルクロリドが還元されることが報告されているため、Staudinger還元後に残ったPPh₃をシリカゲルカラムクロマトグラフィーにより除いている (Scheme 3-6)⁶³⁾。

Scheme 3-6.



** Ns基の除去の際に塩基としてDBUを用いた場合にはリボースのβ脱離が見られた。(Scheme 3-7)。

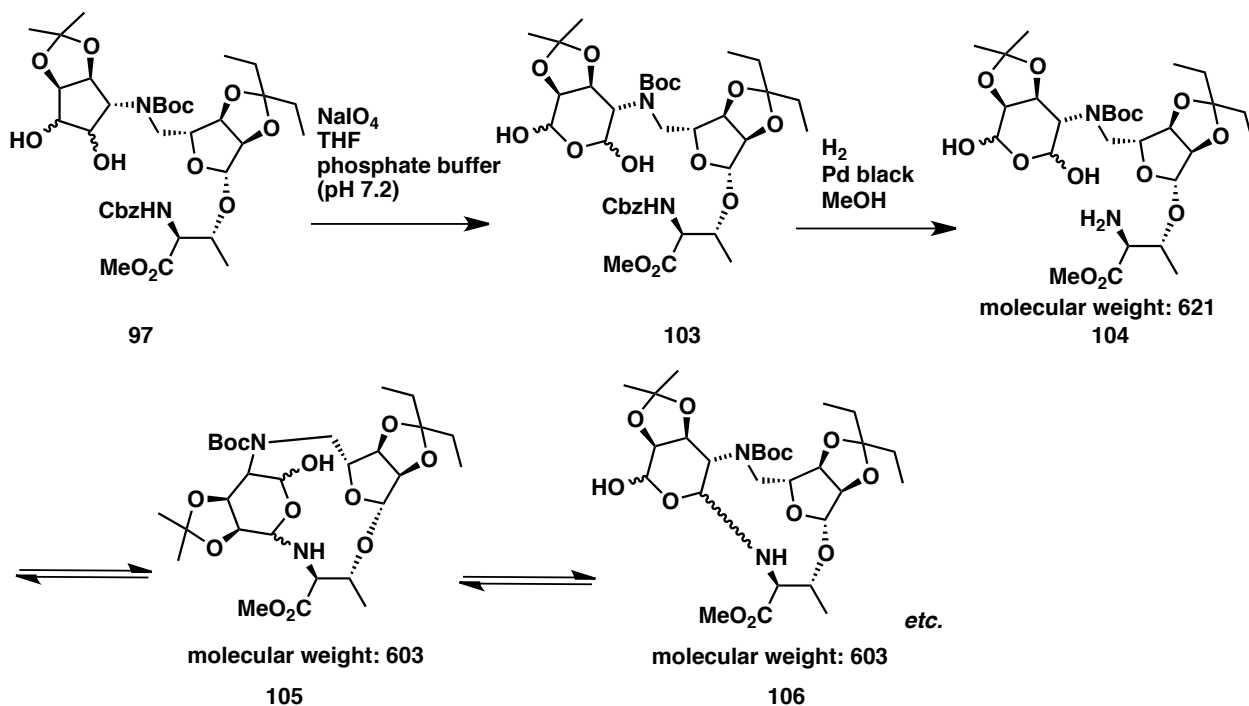
Scheme 3-7.



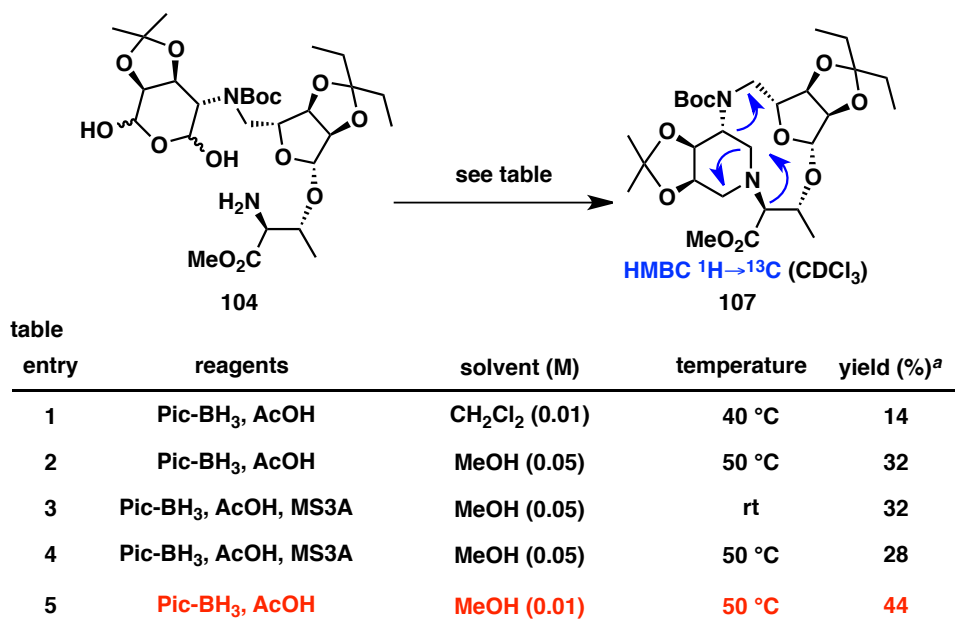
*** このジオール化においても K₂OsO₄·2H₂O と NMO を用いた条件で種々溶媒を検討したが、反応は進行しなかった。

ジオール体**97**に対して過ヨウ素酸ナトリウムによる酸化開裂を行ったところ、¹H NMRでアルデヒドのピークが見られなかったことから水1分子がジアルデヒドと反応した環状アセタール**103**として存在していると考えた (Scheme 3-8)。さらに**103**を接触水素還元によってCbz基を除去すると、¹H NMRおよびTLCから複雑な混合物となった。ESI-MSによる質量分析を行ったところその分子量から、環状アセタール**104**およびアминаール**105**, **106**の混合物になったことがわかり、環化反応の進行が期待できた。

Scheme 3-8.



Scheme 3-9.

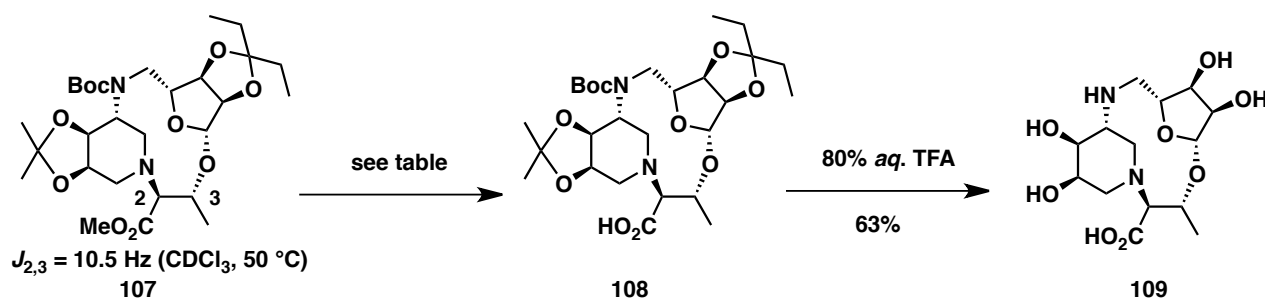


^aYield was calculated over 4 steps from **96**

これらの混合物をそのまま用いて、還元的アミノ化による連続環化反応を行った (Scheme 3-9)。なお収率は**96**のジオール化から4工程の収率で示している。還元剤としてPic-BH₃を用いてジクロロメタン溶媒、40 °Cで反応を行ったところ、低収率ながら環化体**107**が得られた (entry 1)。また、環化体**107**を用いてNMR実験を行ったところ、矢印で示したHMBC相関が見られたことから、環化体**107**は望み通り環化したことを確認した。また、環状アセタールの分解を狙い、MeOH溶媒を用いて反応を行ったところ収率は向上した (entry 2)。しかし、反応系中で生じる水分子を捕捉するため、MS3Aを添加したが収率に変化はなく室温では反応速度の低下が見られたのみだった (entries 3, 4)。そこで分子間反応の競合により収率が低下していると考え、0.01 Mに基質濃度を希釈して反応を行ったところ収率が向上し、この条件を最適条件とした (entry 5)。

環化体**107**が得られたことから脱保護の検討を行うこととし、メチルエステルのカルボン酸への変換を試みた。塩基性条件としてLiOH、Ba(OH)₂·8H₂O、KOTMS、KOHを試薬として用いて反応を行ったが、加水分解は進行せず、懸念されたβ脱離もおこらなかった (Scheme 3-10, entries 1-4)。化合物**107**の¹H NMRの*J*値から2位プロトンと3位プロトンがアンチペリプラナーの配座になっており、2位プロトンとリボースはゴーシュ配座に位置していることがわかった。環化したことにより配座が固定され、β脱離に必要なアンチペリプラナー配座をとれないため、塩基性条件でも分解しないものと考察した。次にNicolauらによって報告されているMe₃SnOHを用いた条件も試みたが、これも反応は進行しなかった (entry 5)⁶⁴。これらの条件で反応が進行しない理由として、立体障害のため反応点のカルボニル基に試薬が近づけないためと推測した。そこでメチルエステルの外側からのS_N2反応による脱メチル化を試みることにし、伊藤らによって報告されているPh₃SiSHを用いた条件を試みたところ⁶⁵、定量的に反応は進行した。最後に80% TFA水溶液によって、カルボン酸体**108**の全ての保護基を除去することで、脱保護体**109**を得た。これによって架橋環の構築および脱保護条件が確立できたので実際のスファエリミシンコア骨格の合成を行うこととした。

Scheme 3-10.

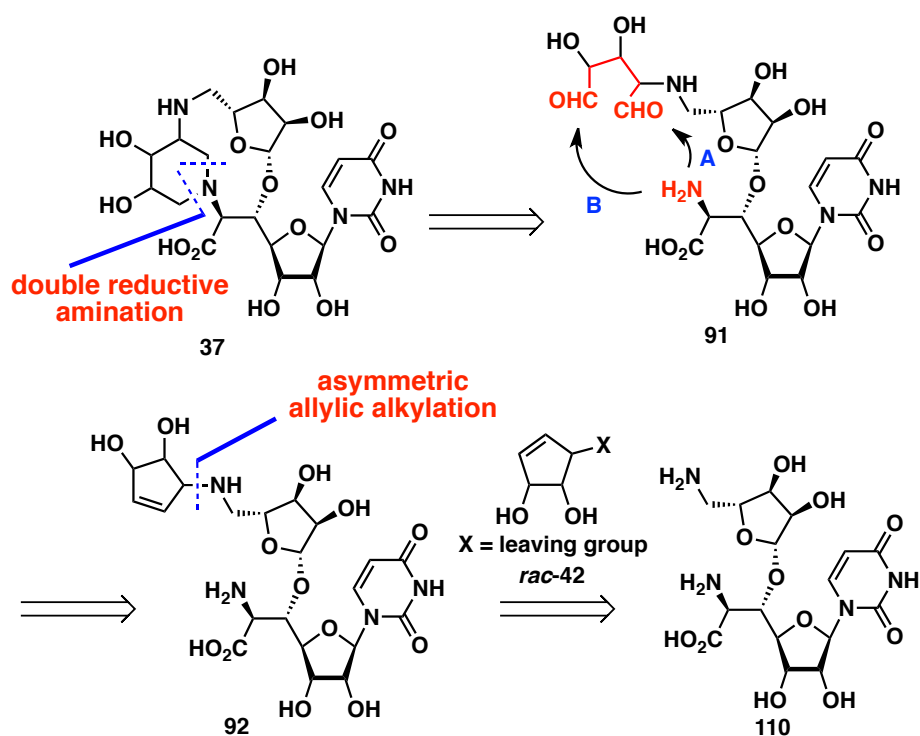


entry	reagents	solvent	temperature	yield
1	LiOH	THF/H ₂ O	0 °C	no reaction
2	Ba(OH) ₂ ·8H ₂ O	THF/H ₂ O	rt	no reaction
3	KOTMS	THF	rt→reflux	no reaction
4	KOH	THF/H ₂ O	rt→reflux	no reaction
5	Me ₃ SnOH	1,2-DCE	reflux	no reaction
6	Ph ₃ SiSH, Cs ₂ CO ₃ 2,6-di- <i>t</i> Bu- <i>p</i> -cresol	DMF	90 °C	quant.

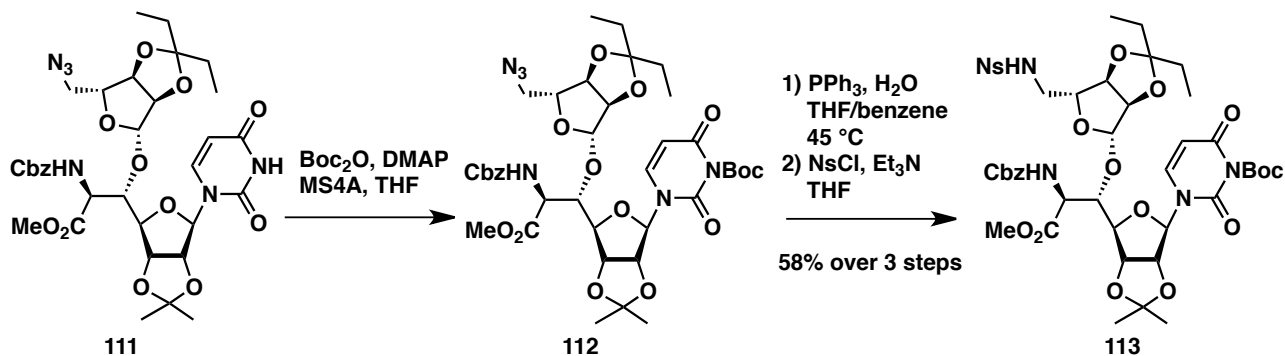
第3節 不斉アリル位アルキル化による立体異性体の合成および (3''R, 4''S, 5''R)-スファエリミシンコア骨格 (core A) の合成

先のモデル基質では光延反応によってピペリジン環となるシクロペンテニル基を導入した。より効率的に多様な立体異性体を得るべく、シクロペンテニル基を不斉アリル位アルキル化反応によって導入することとした (Scheme 3-11)。化合物**110**に対してラセミ体のシクロペンテン**42**を、不斉アリル位アルキル化反応を用いて導入する。不斉配位子の立体を変えることで1つのシクロペンテンから2種の立体異性体を効率的に合成でき、さらにシクロペンテン**42**の立体を変えることで網羅的に立体異性体を得ることができる。

Scheme 3-11.



Scheme 3-12.



まず、求核剤である**113**の合成を行うこととし、ウラシルのN-3位は強い求核性を持ち、不斉アリル位アルキル化で反応する可能性があったことからBoc基による保護を行った。既知化合物**111**から²⁹⁾、ウラシルN-3位のBoc基での保護をBoc₂O, DMAPの条件で試みたところ、低極性の副生成物がTLCにより見られた。おそらく6'位のCbz基で保護されたアミノ基が反応したと考え、Boc₂Oの等量を制限することで**112**を得た。続いてStaudinger還元、生じたアミノ基のNs基での保護により**113**を得た (Scheme 3-12)。続いて、不斉アリル位アルキル化の検討を行うこととしたが、第2章 (Scheme 2-10) においてラセミ体のシクロペンテン**63**を用いた場合に中程度の収率にとどまったことから、本反応について考察を行うこととした。

TrostらはTrost ligandが配位した π -アリル中間体**I**を**II**のように模式的に表した反応モデルを提唱している (Figure 3-1)⁴⁷⁾。このモデルではアリル位末端の炭素1位側は、リン原子に結合したPh基が壁となることで塞がれており、もう一方の炭素3位側はPh基が持ち上がることで立体障害が小さい。そのため、脱離基および求核剤は立体障害の小さい炭素3位側から反応する。

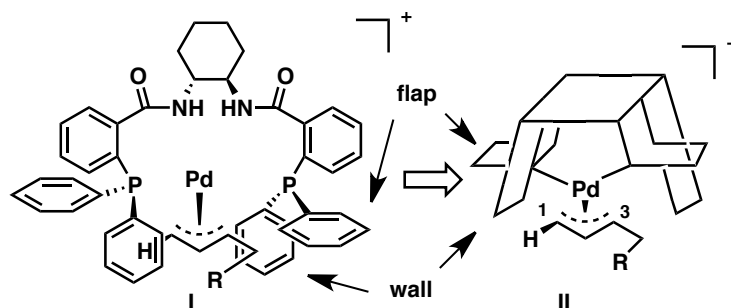


Figure 3-1. Pd-Trost ligand 錯体の模式図

この不斉配位子の立体障害が、反応の立体選択性に関与する中間体は2つあり、脱離基が脱離する中間体 (A) と求核種が反応する中間体 (B) が存在する (Figure 3-2)。どちらの中間体でも立体障害の小さい炭素3位側から反応しやすく、炭素1位側からは反応しづらいとされている。このことから、Scheme 2-10において収率が低くなったのは、求核剤の問題だけではないと考えた。すなわち、ラセミ体のシクロペンテンを用いたため、不斉配位子とマッチの立体を持つシクロペンテンのみが反応し、ミスマッチとなる立体のシクロペンテンが中間体Aにおいて反応しづらく、 π -アリル中間体を形成しなかったと推測した (Figure 3-3)。

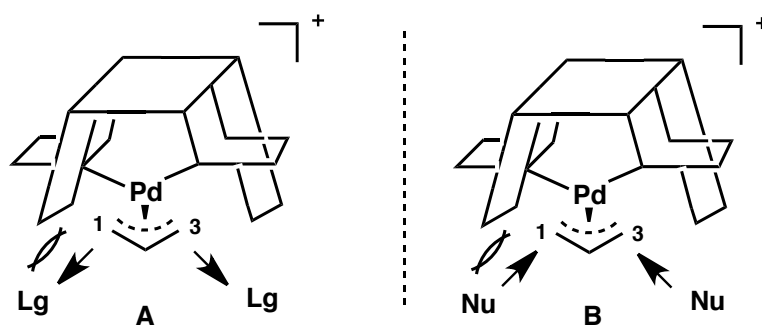


Figure 3-2. Trostらによって提唱されているPd-ligand complexの模式図

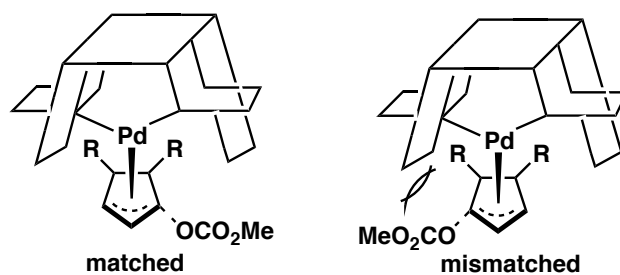
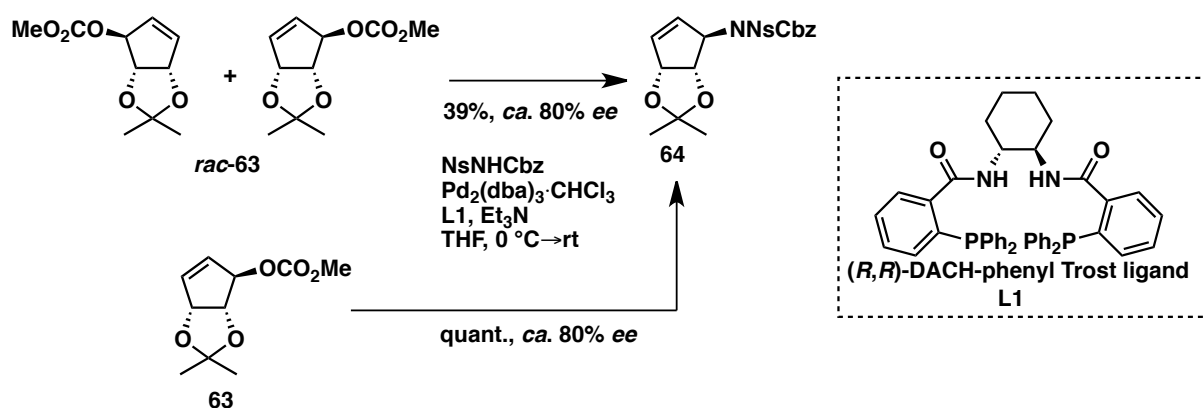


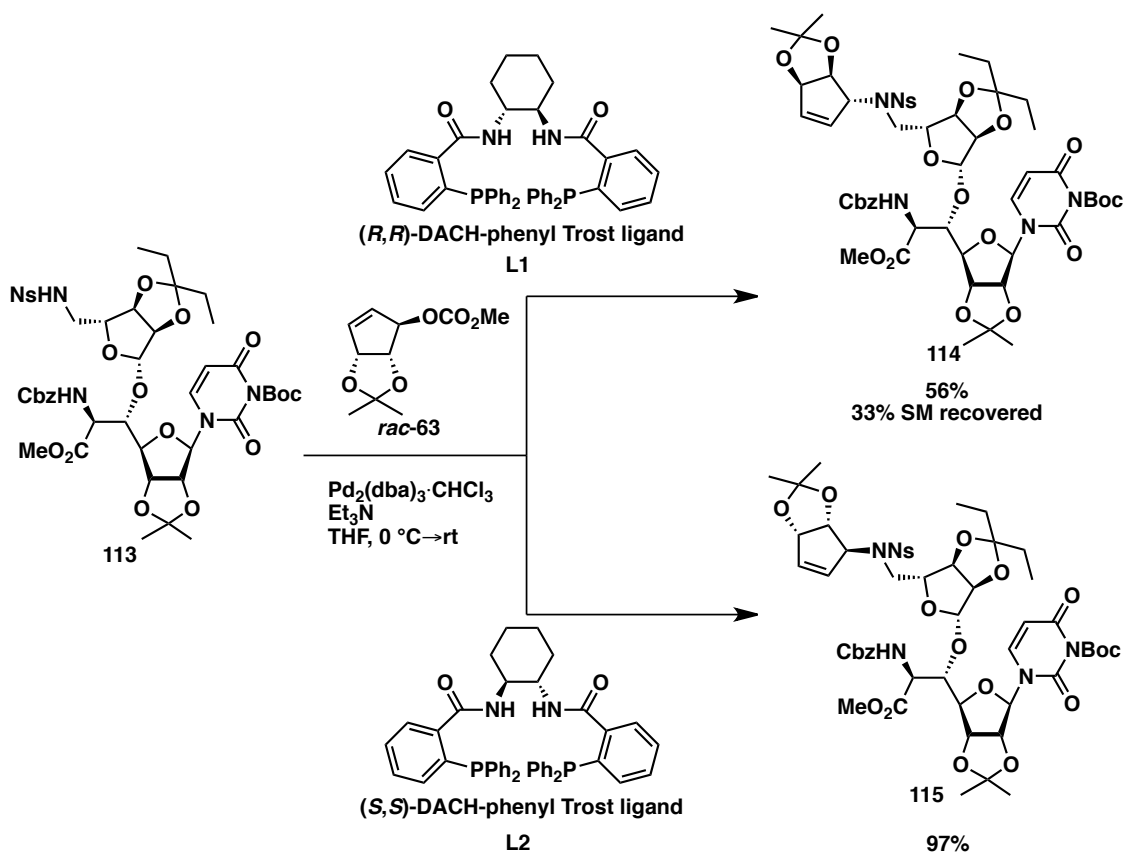
Figure 3-3. *rac*-63とPd-Trost ligand の中間体 Aにおける模式図

実際に、今回用いた立体が(*R,R*)の不斉配位子L1と、マッチの立体を有する単一のエナンチオマー体63を既知法によって合成し⁵²⁾、不斉アリル位アルキル化を行ったところ、反応は定量的に進行した(Scheme 3-13)。

Scheme 3-13.



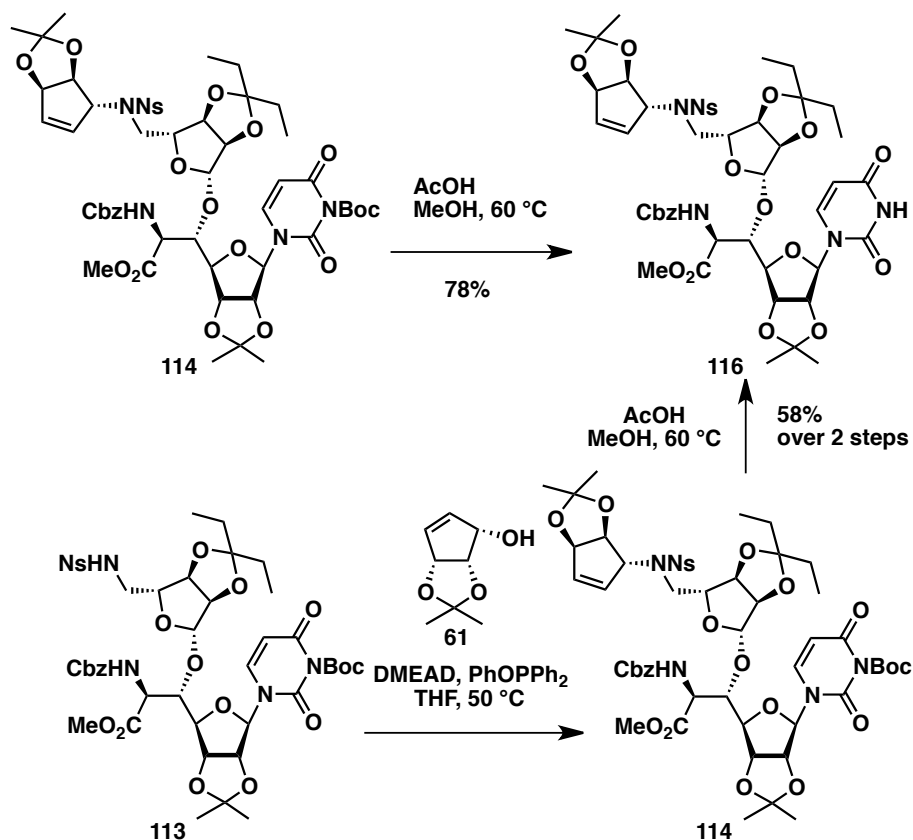
Scheme 3-14.



これらのことから、化合物**113**を求核剤として不斉アリル位アルキル化を行う際に、ラセミ体のシクロペンテン**63**を**113**に対して2.3等量用いることとした。触媒としてPd₂(dba)₃、不斉配位子としてDACH-phenyl Trost ligandの両立体**L1**および**L2**を用いてそれぞれ反応を行ったところ、**114**および**115**を得た。不斉配位子**L1**を用いた場合には、化合物**114**の収率は56%と中程度にとどまり原料を回収したが、**L2**を用いた場合には速やかに反応は進行し、97%の収率で**115**を得た。この収率の違いは中間体B (Figure 3-2) における求核剤**113**と不斉配位子**L1**のミスマッチによるものと推測した。詳細な遷移状態における立体配座は不明だが、 π -アリル中間体に対する求核剤の付加は、立体選択性を決める段階の一つであるため、その立体障害は収率に大きく影響すると考えられる。本手法により不斉配位子の立体を変更することで、1つの求核種から3つの不斉中心が逆のものを、効率的に得ることができた。

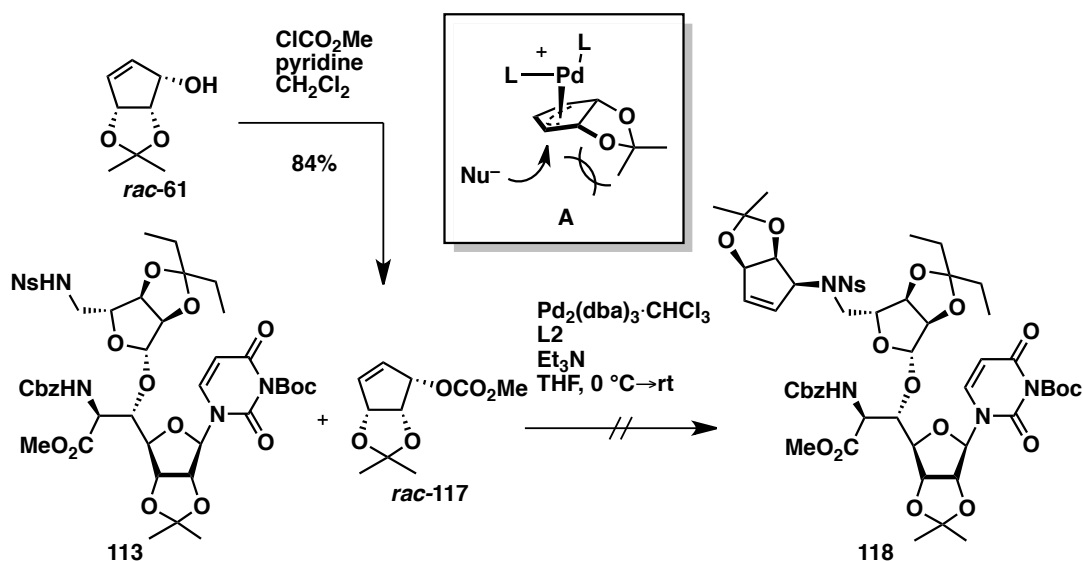
続いて、不斉アリル位アルキル化で得られた**114**のBoc基を酢酸により除去し**116**を得た (Scheme 3-15)。また、単一のエナンチオマー体であるシクロペンテン**61**を合成し⁵²⁾、求核剤**113**を用いて光延反応を行うことにより、別途**114**を合成し、そのまま酢酸によってBoc基を除去することで**116**を得た。光延反応により合成した**116**と不斉アリル位アルキル化によって得た**116**の¹H NMRが一致したことから、不斉アリル位アルキル化で合成した**116**の立体化学が正しいことを確認した。なお、この不斉配位子の立体選択性はTrostらが報告しているものと一致している⁴⁷⁾。

Scheme 3-15.



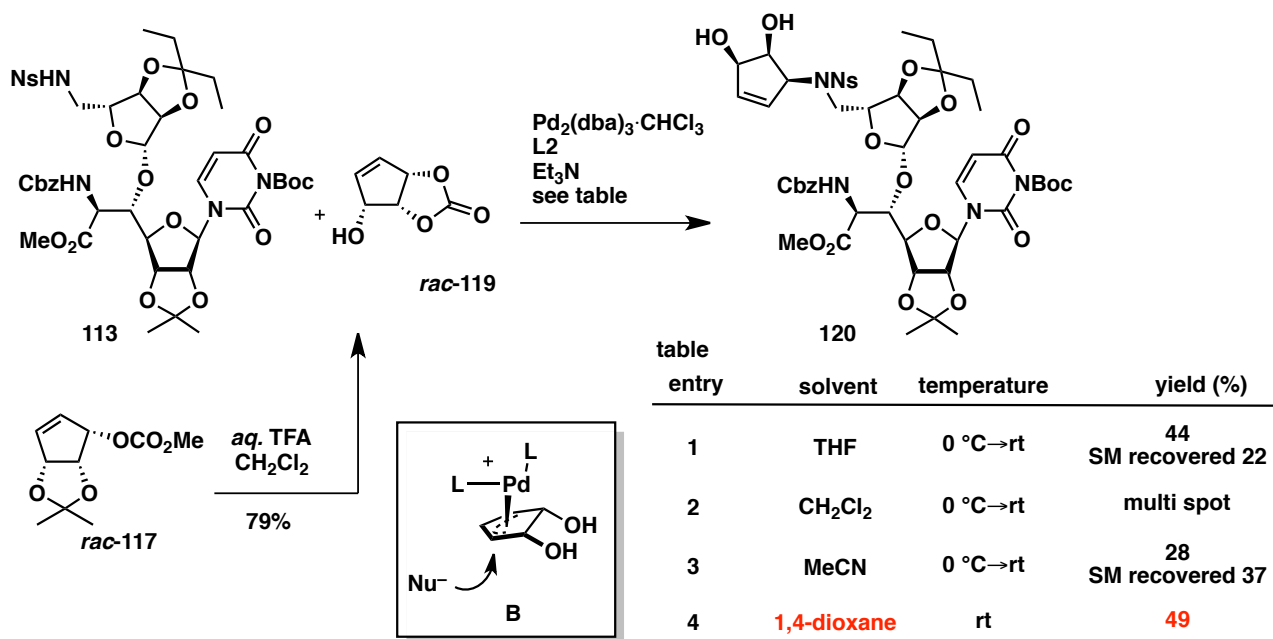
不斉アリル位アルキル化によって、標的化合物core Aとcore Bの前駆体となる**114**と**115**が得られたが、さらに本手法の有用性を高めるため、シクロペンテンの立体化学を変えても反応が進行するかの検討を行った。ラセミ体のシクロペンテン**61**をメチルカーボネート化した**117**と、求核剤**113**を用いて、不斉配位子**L2**による不斉アリル位アルキル化を行ったところ、反応は進行しなかった (Scheme 3-16)。この理

Scheme 3-16.



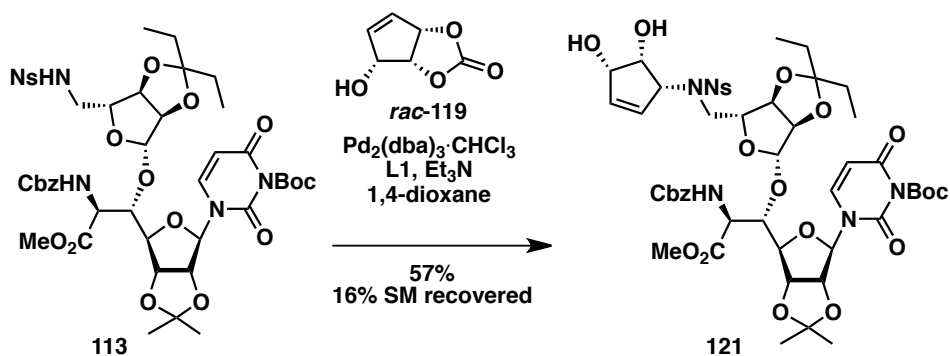
由として、Pdとの π -アリル中間体**A**が形成されるが、求核剤がconcave面から接近するためイソプロピリデン基との立体障害により反応しないと考えた。そこで縮環構造をとらない π -アリル中間体**B**を用いることを考えた (Scheme 3-17)。この π -アリル中間体**B**は環状カーボネート**119**から生成でき、**119**は先ほどのメチルカーボネート体**117**のイソプロピリデン基を除去することにより、1工程で合成した。

Scheme 3-17.



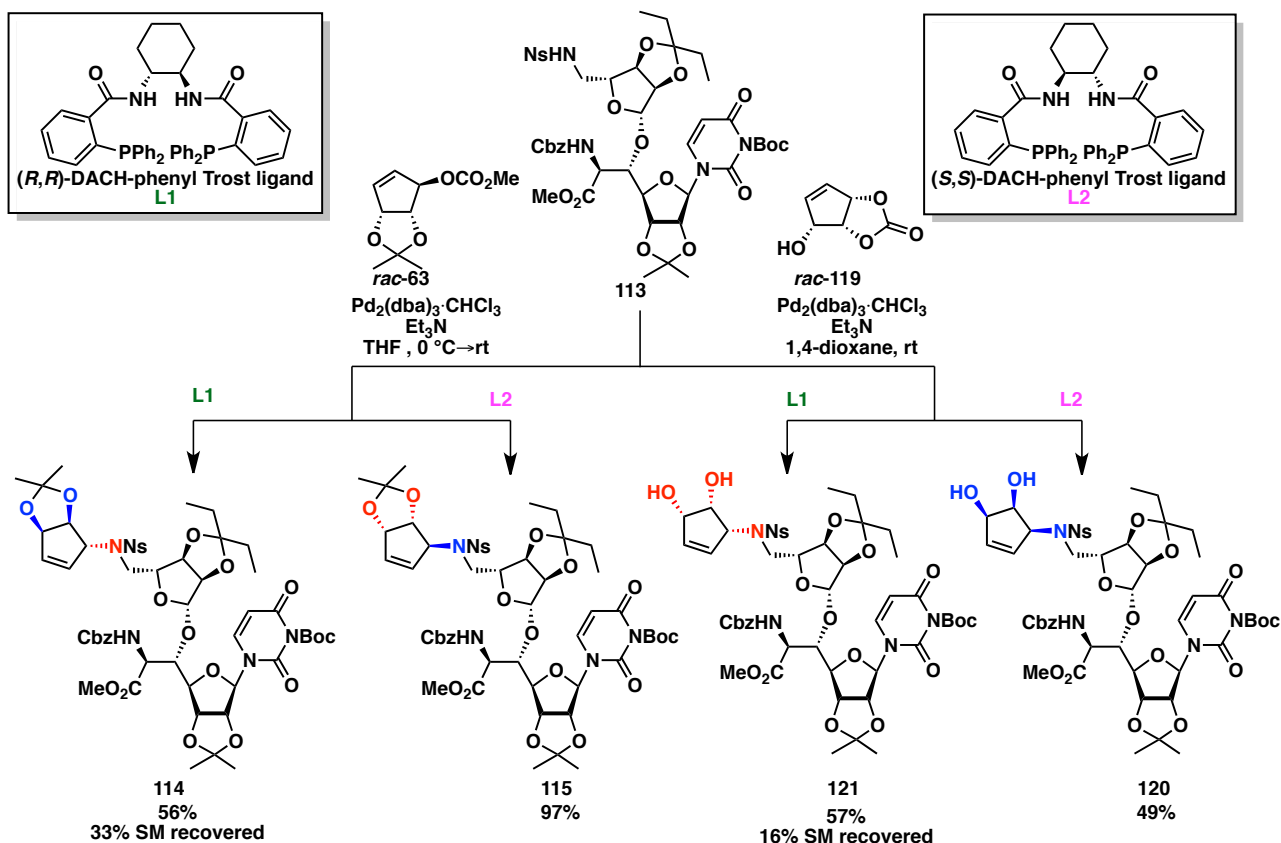
環状カーボネート**119**を用いて、THF溶媒中、求核剤**113**との不斉アリル位アルキル化を行ったところ反応は進行し、シクロペンテンの相対立体配置が全てcisの**120**を得た (entry 1)。また溶媒の検討を行い、 CH_2Cl_2 、MeCNを用いた場合には、収率はTHFを用いた場合よりも低い結果となった (entries 2, 3)。そこで溶媒に1,4-dioxaneを用いたところ、僅かながら収率が向上したことから、この条件を最適とした (entry 4)。

Scheme 3-18.



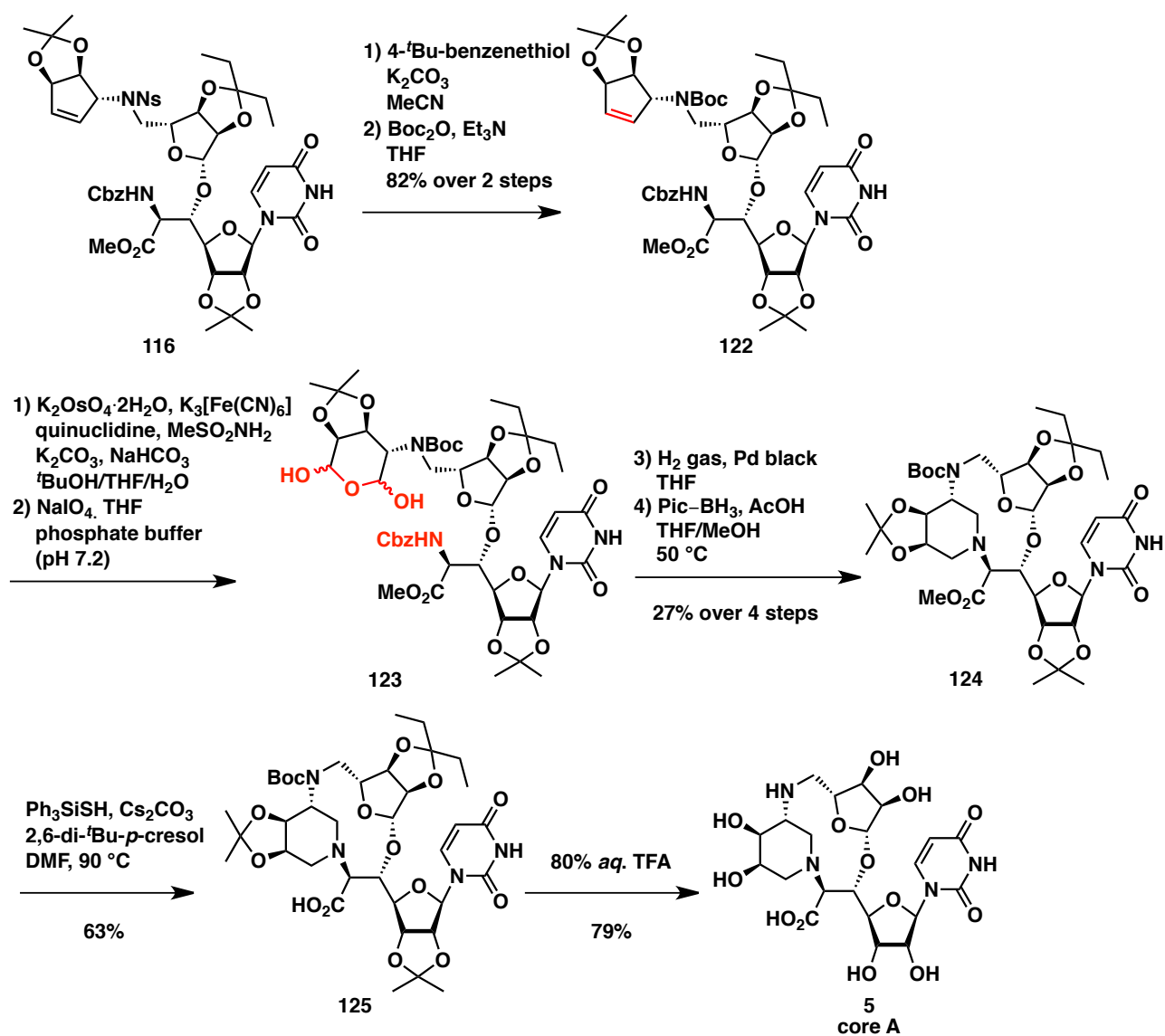
次に最も収率の良かった条件で (Scheme 3-17, entry 4)、不斉配位子**L1**を用いて反応を行ったところ、化合物**121**を得た (Scheme 3-18)。これら検討の結果をまとめて示した (Scheme 3-19)。同一の求核剤**113**から、1つのシクロペンテンに対して不斉配位子の立体を変えることで、2種の立体異性体を合成できる。また、シクロペンテンの立体を変更しても反応は進行し、計4種の立体異性体を効率的に合成した。基質と不斉配位子の立体化学のマッチ、ミスマッチから、収率に関して課題は残るものの、多様な立体異性体群の合成において本手法が有用であることが示された。

Scheme 3-19.



次に標的化合物core Aの合成を行うため、前駆体となる**116**を用いて合成を行った。モデル基質と同様にNs基の除去およびBoc基での保護を行い、化合物**122**を得た (Scheme 3-20)。つづいてオスミウム酸化によるジオール化を行った。まずモデル基質と同様に添加剤にDABCOを用いて反応を行ったが反応に長時間を要し、原料が消失しなかった。そこでより反応速度を加速するキヌクリジンを用いて反応を行うことで原料は消失した。しかし、TLCによる解析からウラシルのオレフィンがジオール化されたと思われるものも一部見られたことから、モデル基質よりも収率が低下したと考えられる。そのまま過ヨウ素酸ナトリウムによる酸化開裂を行い、環状アセタール**123**とし、接触水素還元によるCbz基の除去とピコリンボランによる連続還元的アミノ化により連続環化を行うことで、4工程収率27%で環化体**124**を得た。なお溶媒には基質の溶解度の問題からTHFとMeOHの混合溶媒とした。続いてトリフェニルシランチオールによるメチルエステルの除去を行い、カルボン酸**125**を得た。その後**125**のBoc基およびアセタール基を80% TFA水溶液によって除去することで、スファエリミシンコア骨格の考える立体異性体の一つである(3''*R*, 4''*S*, 5''*R*)-スファエリミシンコア骨格 (core A) の合成を達成した。

Scheme 3-20.



第4章 パルミトイル化コア骨格の合成およびMraY阻害活性の測定

第1節 パルミトイル化コア骨格と標的タンパクMraYのGlideによるドッキングスタディ

第3章においてスファエリミシンコア骨格の合成経路を確立し、その前駆体となる4種の立体異性体の合成を行った。これらのcore A、core Bを含む4種のコア骨格を合成することで、天然物の立体化学を推測することもできるが、第1章で述べたようにcore A、core Bの3次元的な形が異なるならば、標的酵素となるMraYの阻害活性にも有意な差が出ると考えられる。そこでcore Aおよびcore BのMraY阻害活性から、天然物の立体を推測することとした。

まず、標的酵素MraYについて述べる。近年、Leeらによって超高熱性真性細菌 (*Aquifex aeolicus*) 由来MraYのX線結晶構造解析が報告されており、その詳細な構造が明らかとなった (Figure 4-1)⁶⁶⁾。MraYは二量体を形成しており、その構造は10個の膜貫通型ヘリックス (TM) と界面ヘリックス、ペリプラズム- β -ヘアピン、ペリプラズムヘリックスで構成され、N-, C-末端共にペリプラズム側に位置している (Figures 4-1)。なお、Figure 4-1では簡単のため、単量体の図を示している。これはBouhssらによって提唱されたMraYの2次元構造モデルと一致している⁶⁷⁾。また、9番目のTM (TM9) は二つのフラグメントTM9a, TM9bに分かれ、TM9bは膜内で大きく曲がっている。MraYのアミノ酸配列のうち、Bouhssらによって行われた点変異実験により見出された、MraYの酵素反応に重要と考えられる14個のアミノ酸残基が細胞質側のくぼみに集まっている⁶⁸⁾。これらアミノ酸残基は細菌間で高度に保存されており、このくぼみが、MraYの活性部位だと推測されている。

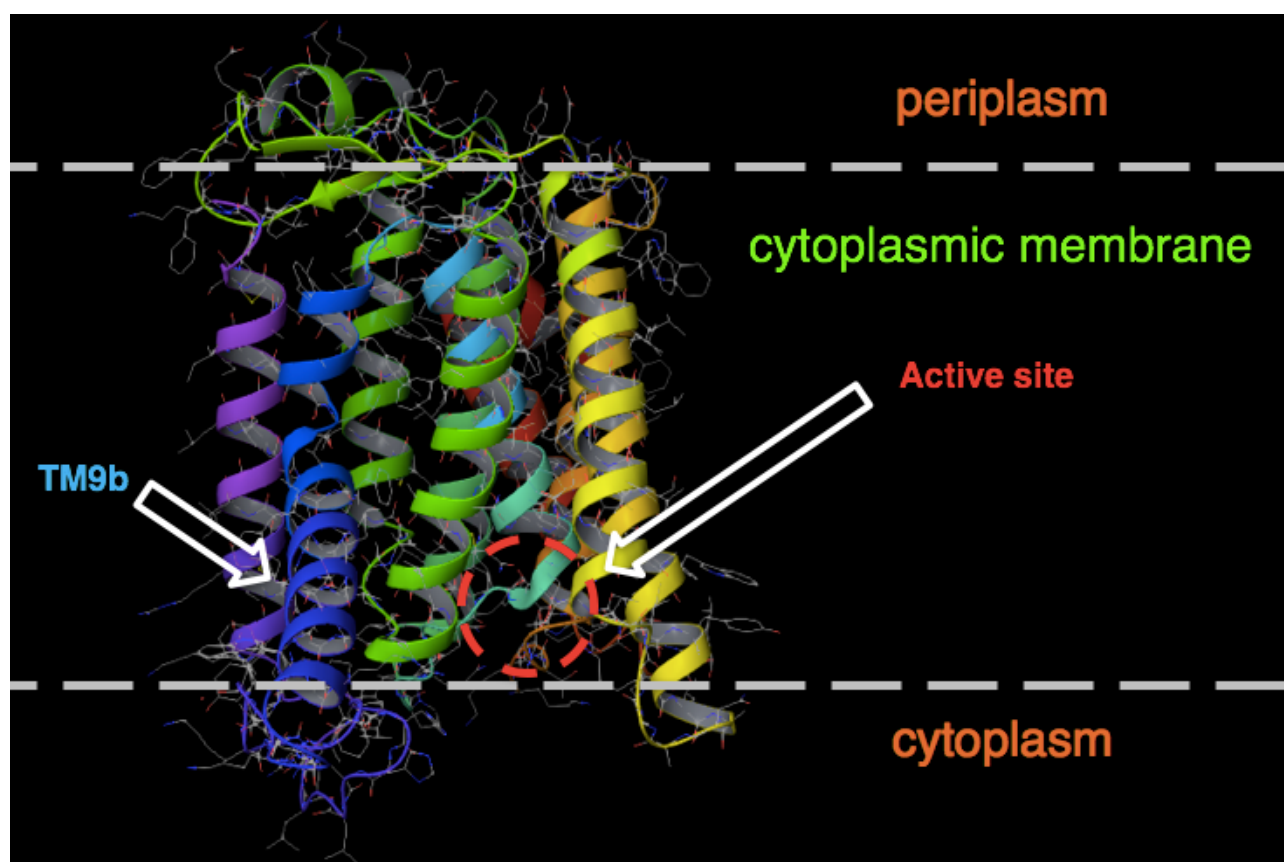


Figure 4-1. 細胞膜内におけるMraYの構造 (PDB: 4J72)

また、Leeらはこの活性部位に位置するアミノ酸の中でも、3つのアスパラギン酸残基 (Asp¹¹⁷, Asp¹¹⁸, Asp²⁶⁵) およびヒスチジン残基 (His³²⁴)が、点変異実験によってアラニンに変異させるとMraYの酵素活性が消失することから、その機能に必須であることを示している⁶⁶)。なお、MraYが属するpolyprenyl-phosphate *N*-acetyl hexosamine 1-phosphate transferase (PNPT) ファミリーにおいて、これらアミノ酸残基 (Asp¹¹⁷, Asp¹¹⁸, Asp²⁶⁵, His³²⁴) は高度に保存されている。

Bouhssらはその酵素反応モデルについて考察しており、MraYのAsp¹¹⁷をAlaへと変異させた際に、pHを塩基性に変化させていくことでその酵素活性が上昇したことから、Asp¹¹⁷がMraYの基質であるウンデカプレニルリン酸の脱プロトン化を行うことで、もう1つの基質であるUDP-*N*-アセチルムラミルペンタペプチドに直接付加する反応モデルを提唱している。(Figure 4-2)⁶⁸)。

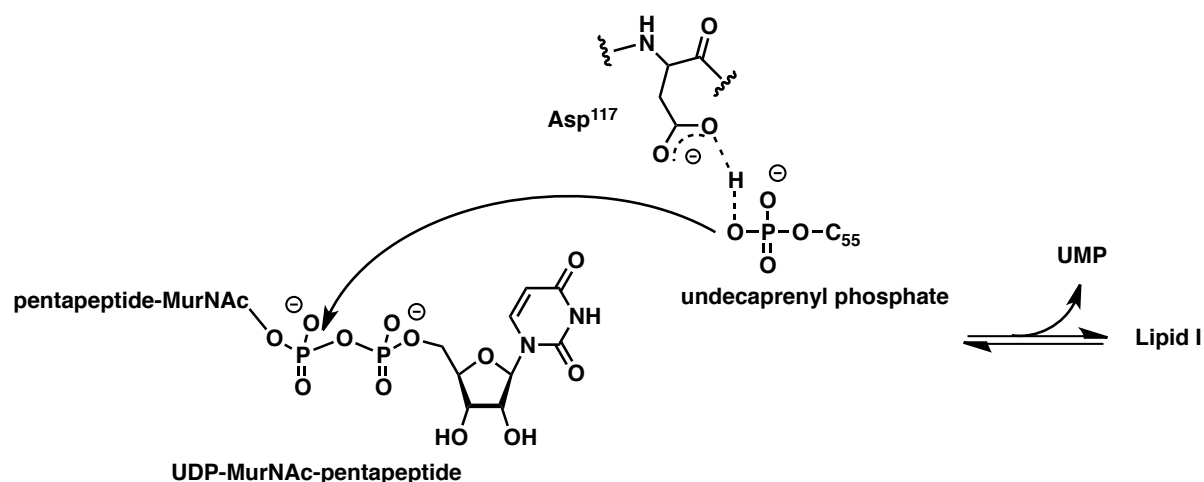


Figure 4-2. MraYの酵素反応モデル

Asp¹¹⁷、Asp²⁶⁵が位置する触媒活性部位からは、疎水性のアミノ酸が集まった長い疎水性の溝が伸びており、折れ曲がったTM9bの周りを逆U字型に囲んでいる。MraYの基質であるウンデカプレニルリン酸は細胞膜よりも長く、この溝に長い脂溶性のアルキル鎖が結合すると考えられる (Figure 4-3)。

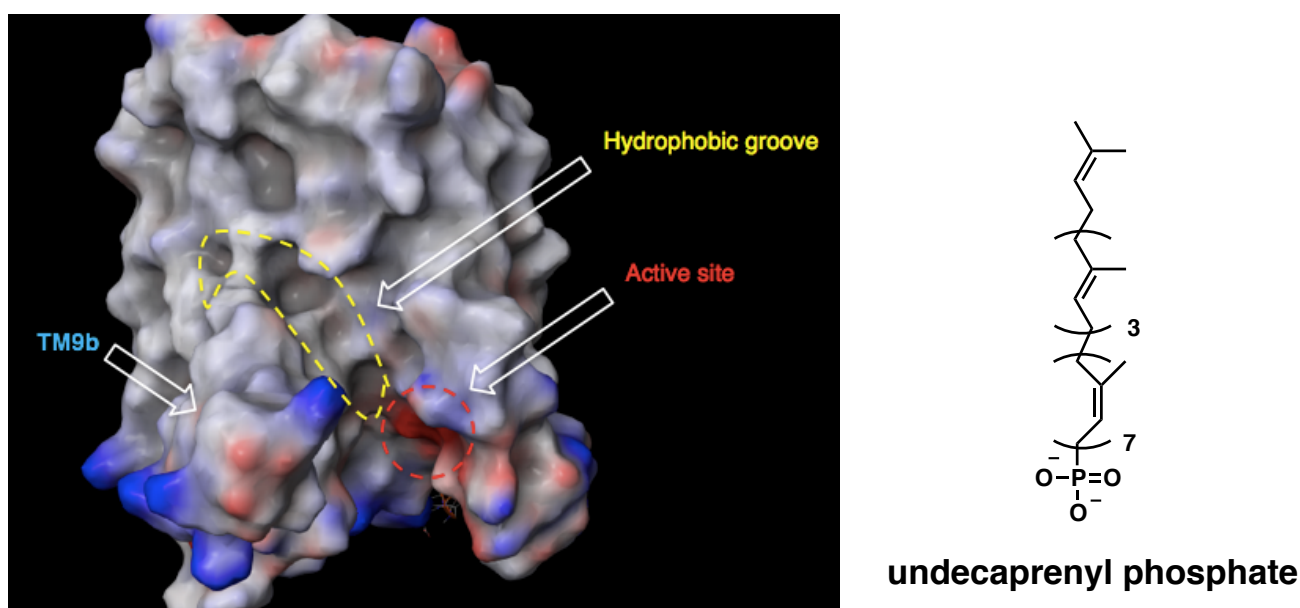


Figure 4-3. apo MraYおよび基質ウンデカプレニルリン酸 (PDB: 4J72)

また、当研究室とLeeらとの共同研究によって天然物ムライマイシン D2 (Figure 4-6a, IC_{50} for *MraY* 0.01 μ M)⁶⁹と超高温性真性細菌 (*aquifex aeolicus*) 由来*MraY*の共結晶構造が初めて解かれており、その詳細な阻害様式が明らかとなった⁷⁰。ムライマイシン D2が*MraY*の活性部位に結合しており、それに伴い、*MraY*の活性部位周辺の構造は大きく変化している。結合部位周辺のループが大きく活性化部位から離れることで、結合ポケット周辺の空間が広がるとともに、ウラシルおよびアミノリボースを認識するアミノ酸残基が集まることで結合部位を形成する。

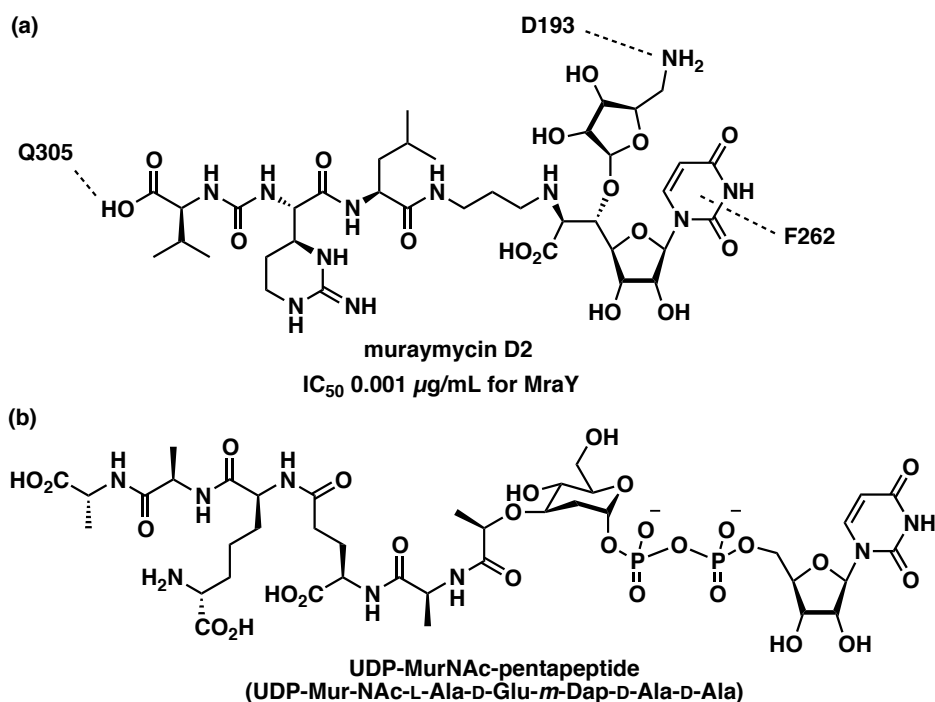


Figure 4.4. (a) ムライマイシンD2と*MraY*の重要な相互作用、(b) UDP-*N*-アセチルムラミルペンタペプチド

さらに、ムライマイシン D2と*MraY*の結合に重要なアミノ酸残基が点変異実験により確かめられている。*MraY*のアミノ酸配列のうち、ムライマイシン D2のウラシルと π - π 相互作用をするPhe262をAlaに、またアミノリボースを認識するAsp193をAsnに変異させるとその阻害活性はほぼ消失したことから、Asp193、Phe262がその認識に必須であることがわかった (Figure 4-4a)。また、Phe262をTrpに変異させるとムライマイシン D2の阻害活性は残ったことから、*MraY*のムライマイシン D2に対する認識には、ウラシルとの π - π 相互作用が重要であることが示された。さらにムライマイシン D2のペプチド鎖の末端カルボン酸を認識しているGln305を変異させても大きく阻害活性が減弱しており、ムライマイシン D2ペプチド鎖もまたその阻害活性に寄与している。これら*MraY*のムライマイシン D2の認識には、*MraY*の酵素反応に重要と示唆されたアミノ酸残基 (Asp¹¹⁷, Asp¹¹⁸, Asp²⁶⁵, His³²⁴) は関わっていない。このムライマイシンD2はその構造的特徴から*MraY*の基質であるUDP-*N*-アセチルムラミルペンタペプチドのミミックであると考えられてきた (Figure 4-4b)。しかし、ムライマイシン D2とUDP-*N*-アセチルムラミルペンタペプチドは*MraY*の同様の部位に結合するものの、アミノ酸点変異実験によって、その結合様式は異なることが確かめられている。

*MraY*阻害活性を有する天然物リポシドマイシン類 (Figure 0-6) は*MraY*の酵素反応における競合実験において、長鎖のリン脂質と競合し、UDP-*N*-アセチルムラミルペンタペプチドと非競合であることが

Buggらによって報告されている⁷¹⁾。リポシドマイシン類は長鎖の脂溶性側鎖を有しており、その構造的な特徴から脂溶性側鎖が疎水性の溝に結合すると考えられる。同様に長鎖の脂溶性側鎖を持つ天然物スファエリミシン Aも、この疎水性の溝に結合することで、その阻害活性を向上させると推測される。しかしスファエリミシンAのアシル側鎖は立体化学が未決定の不斉点が6つあり、その合成は容易でない。そこで第1章 (Figure 1-1) で述べたように天然物カプラザマイシン類の脂溶性側鎖をパルミチン酸に変更したパルミトイルカプラゾールが天然物と同様の抗菌活性を示すことから、筆者もまたパルミチン酸を有する core A **126** および core B **127** を合成し、その阻害活性を調べることにした (Figure 4-5)。

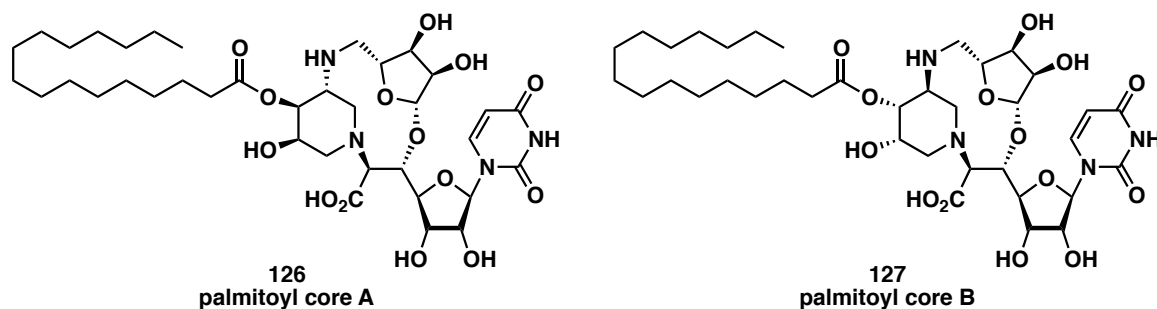


Figure 4-5. palmitoyl core A と palmitoyl core B

まず core A および core B の立体化学の違いが、MraY 阻害活性にどのような影響を与えるか知見を得るため、シュレーディング社によって開発されたドッキングプログラム Glide を用いて、ドッキングスタディを行うことにした。Glide はリガンドの結合エネルギーを最小化するようにリガンドを配座変化させるとともに、その結合親和性を疎水性相互作用、水素結合、分子間力、静電相互作用などのスコア関数からドッキングスコアを算出する⁷²⁾。またドッキングスコアは結合自由エネルギー ΔG を示しており、負に大きいほど良い結合親和性を示す。ドッキングに使用する MraY の構造データはムライマイシン D2 との共結晶構造を用いることにした (PDB: 5CKR)。なお、この MraY は超高熱性真性細菌 (*aquifex aeolicus*) 由来であるため、ドッキングスタディには大腸菌の MraY 配列を用いてホモロジーモデリングを行ったものを用いた。また、計算を簡略化するためにパルミチン酸ではなく、プロパン酸を結合した core A **12** および core B **13** を用いてドッキングを行った。ドッキングの結果、**12** と **13** の docking score はそれぞれ -7.711 と -8.722 であり、**13** が **12** よりも良い値を示した (Figure 4-6)。また、MraY との共結晶構造中のムライマイシン D2 と **12** および **13** を重ね合わせたところ、どちらもムライマイシンとウリジンおよびアミノリボースの位置が良い一致を示したことから、スファエリミシンはムライマイシンの配座制御型化合物と考えられる (Figure 4-7)。

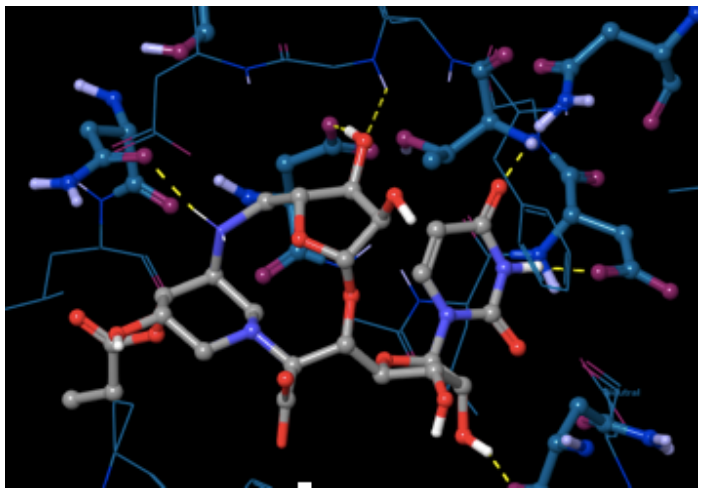
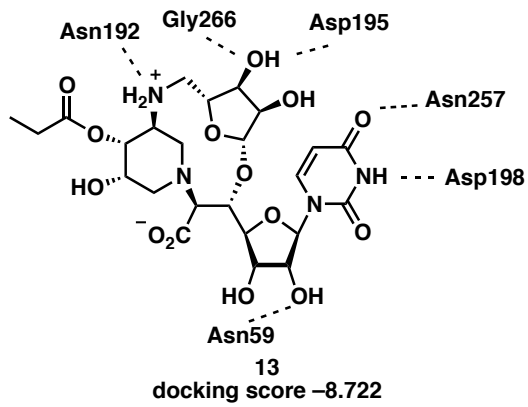
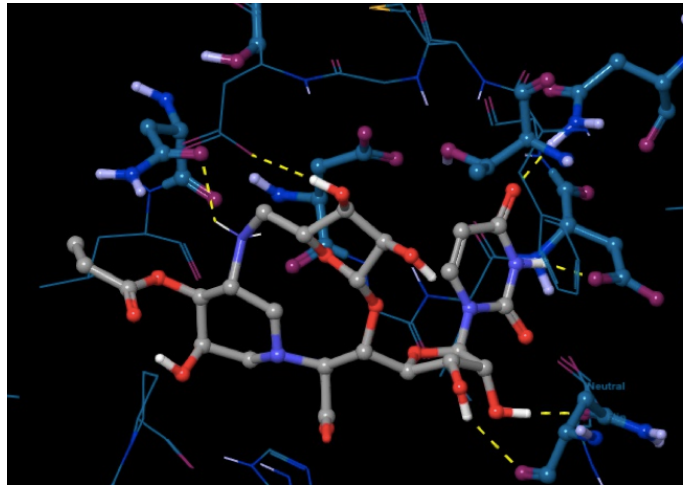
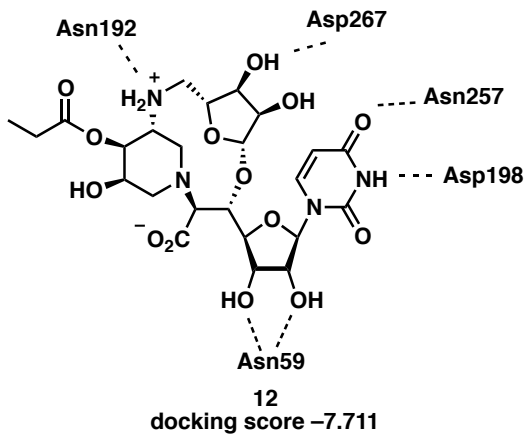


Figure 4-6. 化合物12と化合物13のMrA Yとのドッキングスタディ

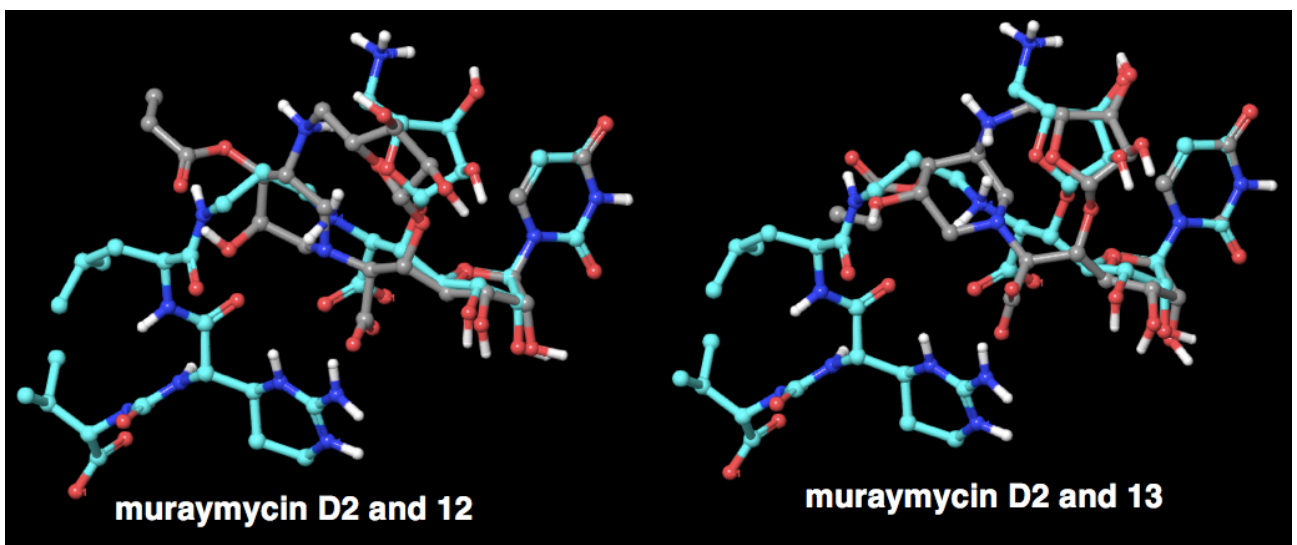


Figure 4-7. ムライマイシン D2 (水色)と化合物12および化合物13 (灰色)の重ね合わせ

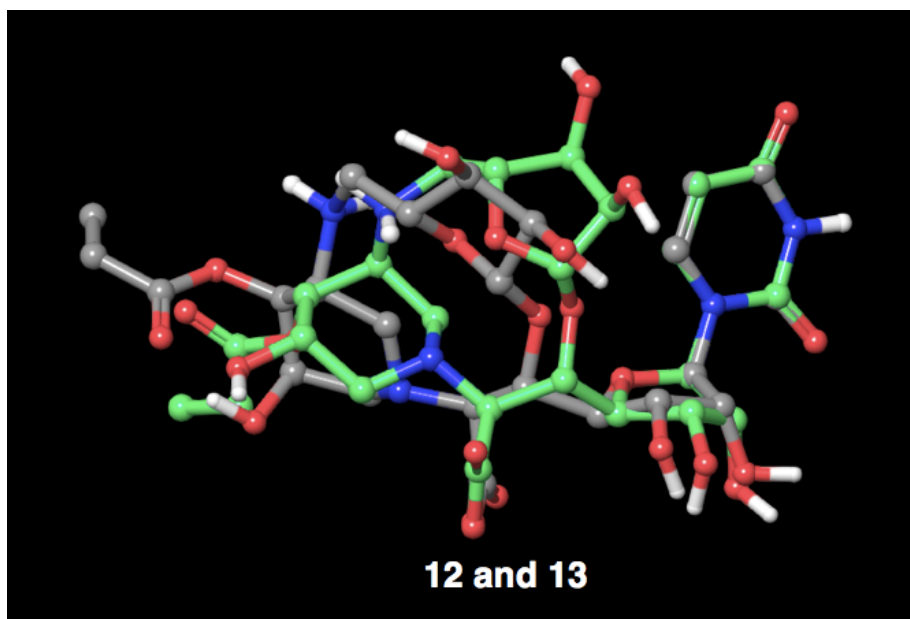


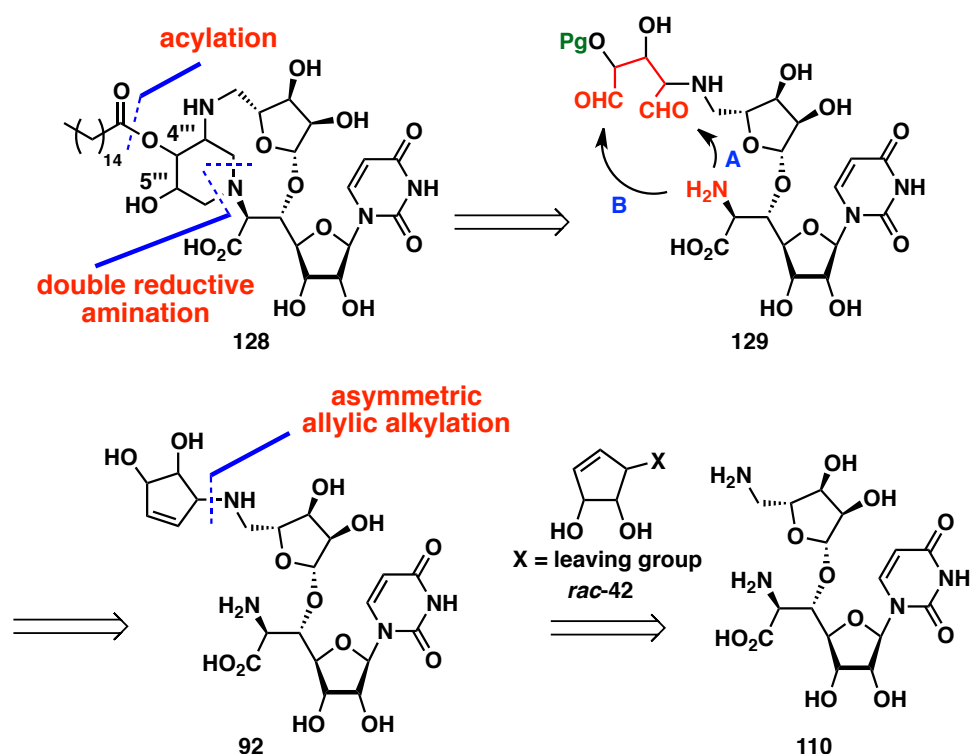
Figure 4-8. **12** (灰色)と**13** (緑色) の重ね合わせ

さらに**12**と**13**を重ね合わせたところ、ウリジン部位は良い一致を示したが、リボースとピペリジン環の配座が異なっていた (Figure 4-8)。これにより疎水性相互作用すると考えられるアシル側鎖の配向が異なる。またcore Aではリボースの配座が大きくゆがみ O_4 -*endo*型をとっており、結合する際にエントロピーロスが生じると考えられる。これらドッキングスコアと配座の違いからpalmitoyl core Aとpalmitoyl core Bの阻害活性に有意な差が出ると考え、実際にパルミトイル化コア骨格の合成および阻害測定を行うこととした。

第2節 パルミトイル化コア骨格の合成

パルミトイル化コア骨格の合成において、ピペリジン環の4'''位水酸基を選択的にパルミトイル化する必要がある。第3章におけるコア骨格の合成においては、4'''位および5'''位の水酸基をイソプロピリデン基によって保護したため、選択的にパルミトイル化することは困難である。そこで保護基を変更することとした。パルミトイル化コア骨格の逆合成解析を示す (Scheme 4-1)。パルミトイル化は環化後に選択的なアシル化によって行うこととし、環化は先と同様に連続還元的アミノ化によって**129**から11員環、6員環を同時に構築する。環化前駆体**129**はシクロペンテン体**92**から合成することとし、シクロペンテンのアリル位水酸基を選択的に保護することとした。シクロペンテン体**92**は先と同様に不斉アリル位アルキル化によって化合物**110**とラセミ体のシクロペンテン**42**から立体選択的に合成する。

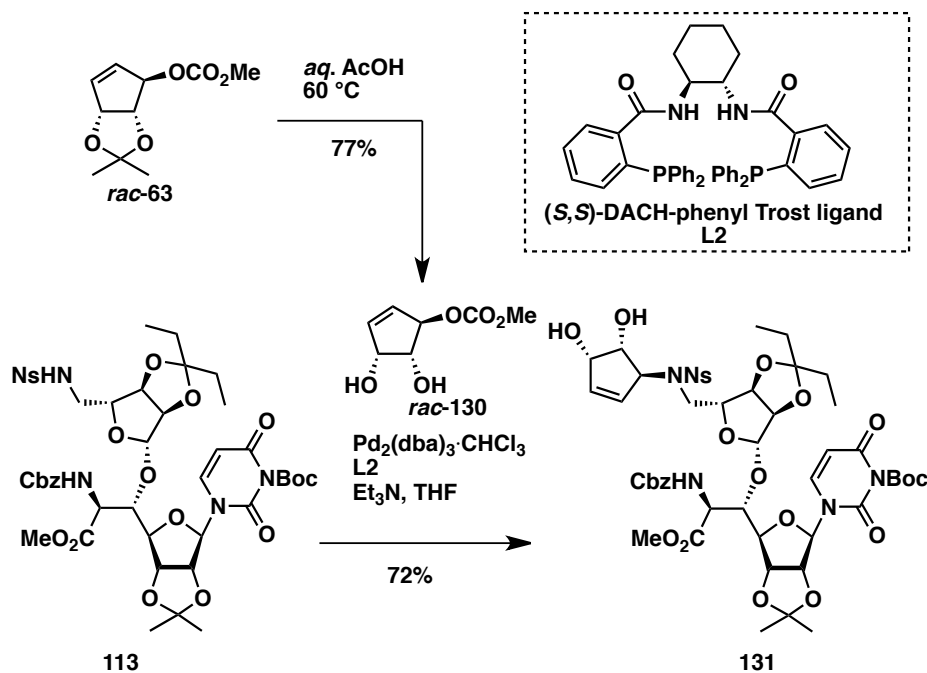
Scheme 4-1.



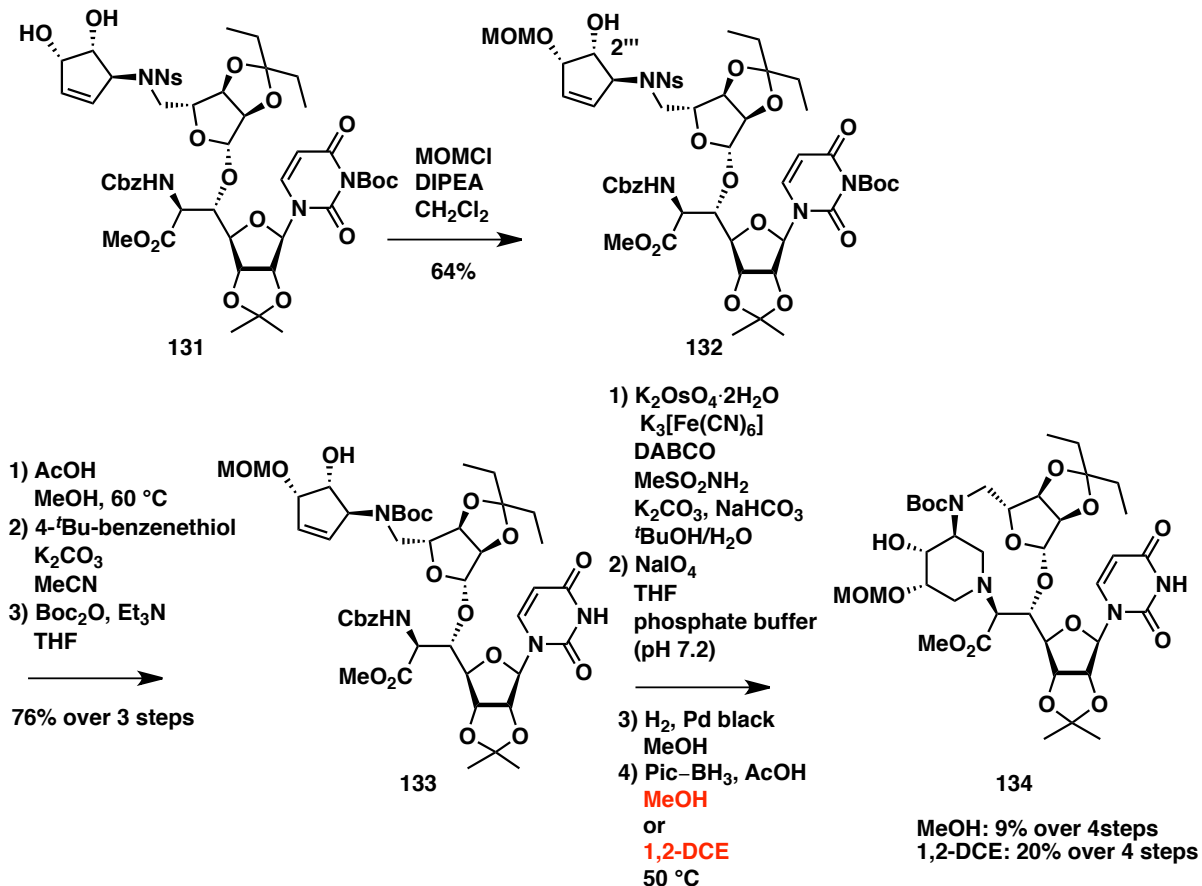
まず palmitoyl core B **127**の合成を行った。先ほど用いたラセミ体のシクロペンテン**63**を酸性条件下、イソプロピリデン基を除去し、シクロペンテン**130**を得た (Scheme 4-2)。化合物**113**とラセミ体のシクロペンテン**130**を基質として、不斉配位子に(*S,S*)の立体の不斉配位子**L2**を用いて不斉アリル位アルキル化を行い、化合物**131**を得た。その後、化合物**131**のアリル位水酸基をMOMCl、DIPEAを用いて選択的に保護することで**132**を得た (Scheme 4-3)。副生成物として**132**の2'''位がMOM化されたものが得られたため、1,2-ジオールの選択的保護に用いられる⁷³⁾ $^n\text{Bu}_2\text{SnO}$ やジアリルボロン酸、また溶媒の検討を行ったが、選択性の向上は見られなかった。続いて、化合物**132**のウラシルN-3位のBoc基の除去、Ns基の除去と生じたアミノ基をBoc基で保護し、**133**を得た。その後、**133**に対してオスmium酸化によるジオール化を行った。ウラシルのオレフィンの酸化を懸念し、添加剤にキヌクリジンではなくDABCOを用いたが、先と異なりイソプロピリデン基による立体障害がなくなったため、円滑に反応は進行した。その後、過ヨウ素酸ナトリウムによるジアルデヒド化、接触水素還元によるCbz基の除去と連続還元的アミノ化を行

った。連続還元的アミノ化において溶媒にMeOHを用いた際には、極めて低収率で目的物**134**が得られたが、1,2-DCEを用いることで未だ低収率ではあるが収率の向上が見られた。

Scheme 4-2.



Scheme 4-3.



環化体**134**のピペリジン環における立体は¹H NMRおよびROE相関から決定した (Figure 4-9)。ROE相関からピペリジン環は椅子型配座をとっているのがわかり、5'''位のプロトンは6'''位のアキシアル位プロトンと J 値が10.4 Hzでカップリングしていることからアキシアル位に位置している。また、3'''位は2'''位とカップリングしていないことからエクソリアル位に位置していると判断し、連続還元的アミノ化によって、アルデヒドの α 位が異性化していないことを確認した。

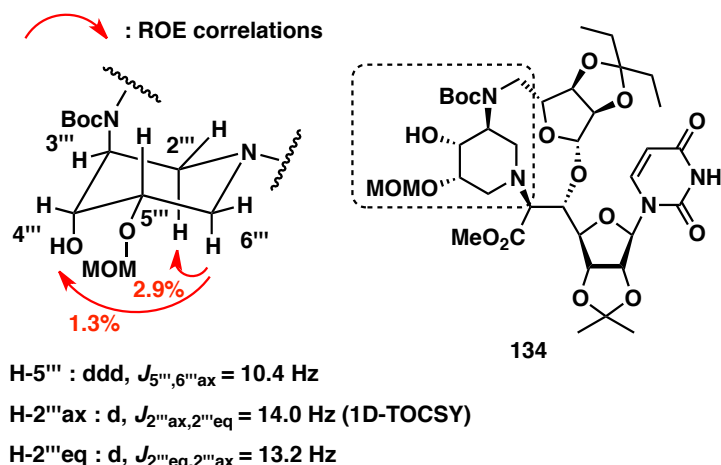
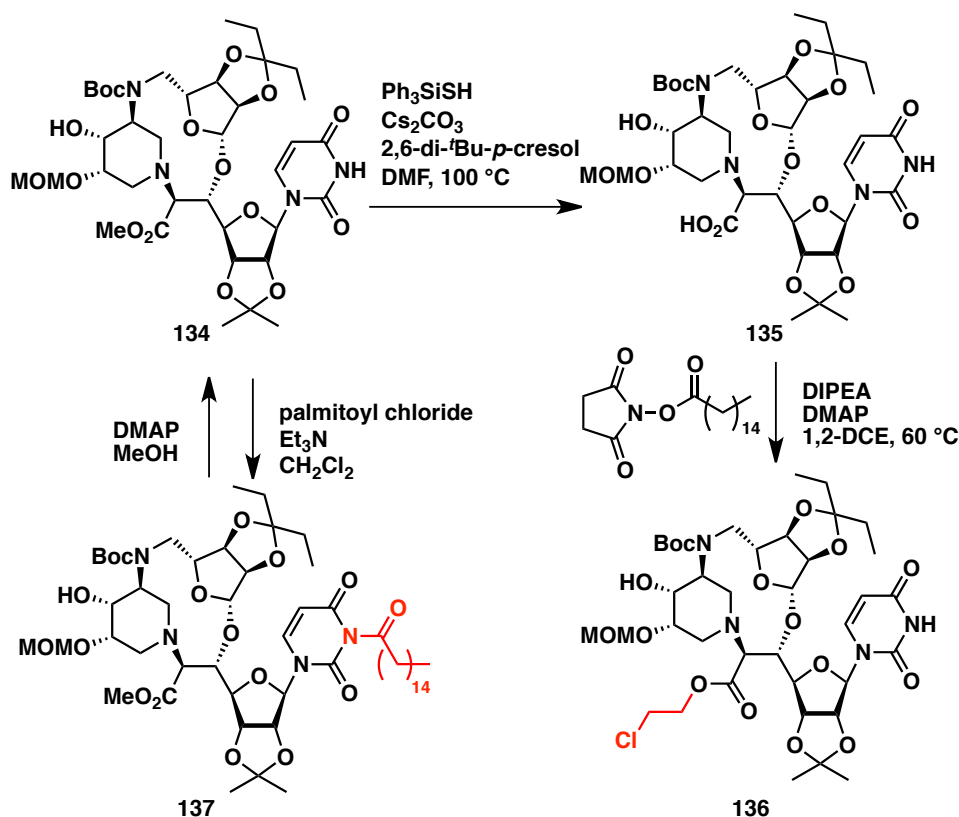


Figure 4-9. 化合物**134**のROE相関および¹H NMRのカップリング定数

Scheme 4-4.

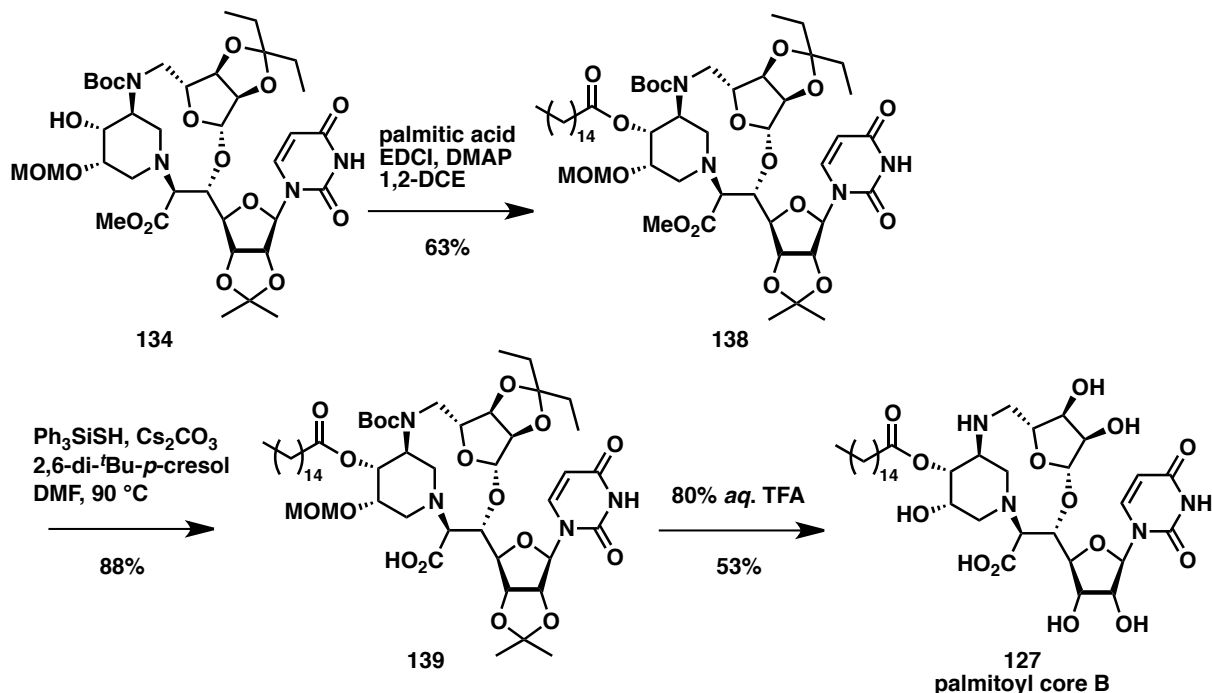


環化体**134**に対して Ph_3SiSH を用いた脱メチル化後、続いてパルミトイル化を行ったが、カルボン酸が溶媒として使用した1,2-DCEに求核攻撃したと考えられる**136**が得られたのみだった (Scheme 4-4)。また、脱メチル体の極性が高く後処理が煩雑だったため、脱メチル化前にパルミトイル化を行うこと

とした。しかし、環化体**134**に対し、パルミトイルクロリドを作用させるとウラシルN-3位がパルミトイル化された**137**が得られた。そこで、化合物**137**に対してMeOH溶媒中、DMAPを作用させたところ、パルミトイル基が除去されることがわかった。

これらから、1,2-DCE中、EDCI、DMAPの条件で反応を行ったところ、環化体**134**の水酸基選択的にパルミトイル化が進行し、化合物**138**を得た (Scheme 4-5)。続いて**138**のメチルエステルの除去をPh₃SiSHを用いて行ったところ、望みのカルボン酸体**139**が得られた。最後に80% TFA水溶液によって全ての保護基を除去し、palmitoyl core B **127**を得た。

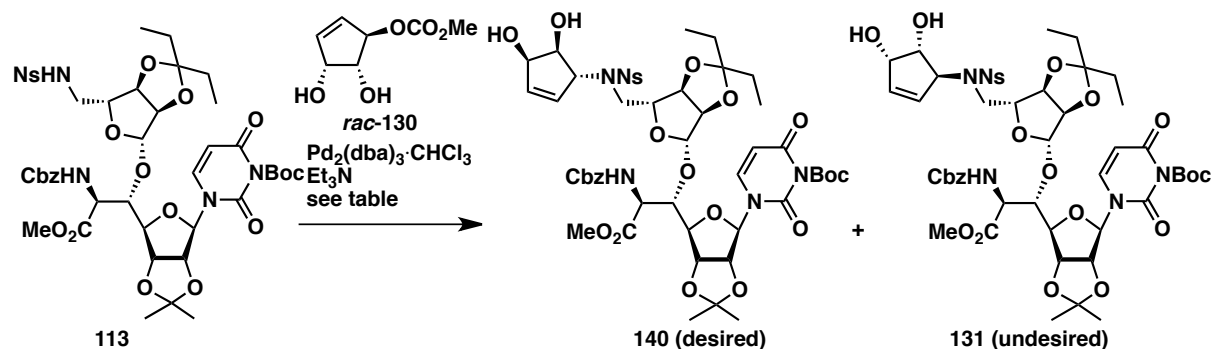
Scheme 4-5.



次にpalmitoyl core Aの合成を行った。求核剤に**134**を、不斉配位子に**L1**を用いて、ラセミ体**130**との不斉アリル位アルキル化を行ったところ、**140**と**131**のジアステレオ混合物となった (Scheme 4-6, entry 1)。不斉配位子**L1**は第3章 (Scheme 3-14) においても、求核剤**113**との立体化学のミスマッチによる収率の低下が見られたことから、今回の反応でも立体化学のミスマッチのため、ジアステレオ混合物になったと考えられる。そこで反応条件の検討を行うこととし、まず0 °Cで反応を行ったところ、生成物の収率およびジアステレオ比は室温よりも低い結果となった (entry 2)。また溶媒をDMFに変更すると、生成物のジアステレオ比は低下し (entry 3)、配位子をより嵩高いnaphtyl基を有する**L3**へ変更して反応を行うと、反応はほぼ進行しなかった (entry 4)。そこで反応温度を上げることで、求核剤**113**の配座を変化させ、不斉π-アリル錯体への**113**の求核攻撃を進行しやすくすることを考え、反応温度を50 °Cまで上げると生成物のジアステレオ比は向上した (entry 5)。さらに、加熱還流条件下で反応を行うと最も良いジアステレオ比となり、収率61%で**140**と**131**のジアステレオ比が6:1のジアステレオ混合物となった (entry 6)。なおこのジアステレオ混合物はシリカゲルカラムクロマトグラフィーによって>11:1まで分離可能だった。

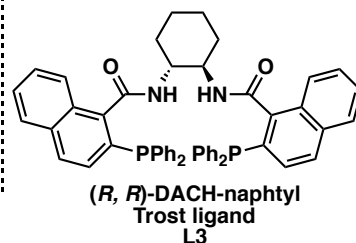
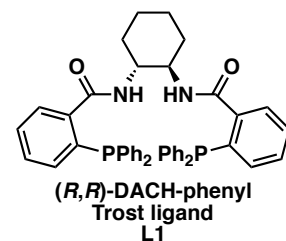
化合物**140**に対して、アリル位水酸基の選択的MOM化を行い、得られた**141**のウラシルN-3位のBoc基の除去、Ns基の除去と生じたアミノ基をBoc基で保護し、**142**を得た (Scheme 4-7)。その後に**142**のオスミウム酸化によるジオール化、過ヨウ素酸ナトリウムによるジオールの酸化開裂、接触水素還元によるCbz基の除去と連続還元的アミノ化を行うことで環化体**143**を4工程収率34%で得た。

Scheme 4-6.

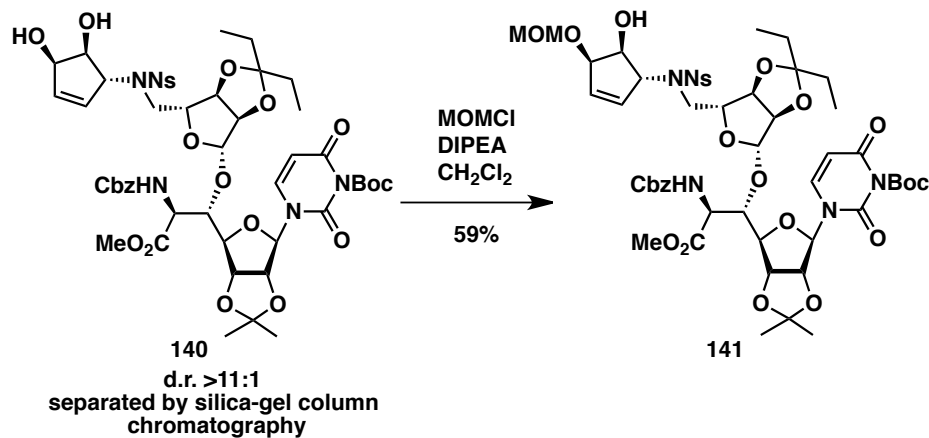


table

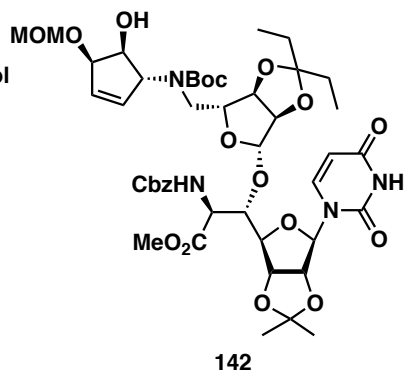
entry	solvent	ligand	temperature	yield (%)	yield of SM (%) ^a	ratio (140:131)
1	THF	L1	rt	53	29	2:1
2	THF	L1	0 °C	26	57	1:1
3	DMF	L1	rt	48	31	1.2:1
4	THF	L3	rt	trace	—	—
5	THF	L1	50 °C	51	—	5:1
6	THF	L1	reflux	61	—	6:1

^a NMR yield.

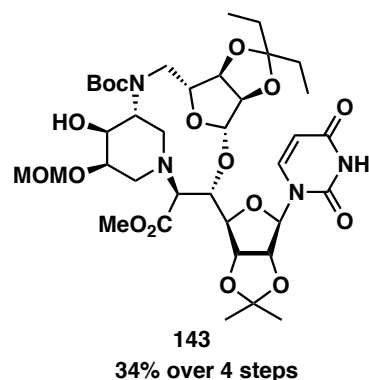
Scheme 4-7.



- 1) AcOH
MeOH, 60 °C
 - 2) 4-*t*Bu-benzenethiol
 K_2CO_3
MeCN
 - 3) Boc_2O , Et_3N
THF
- 71% over 3 steps

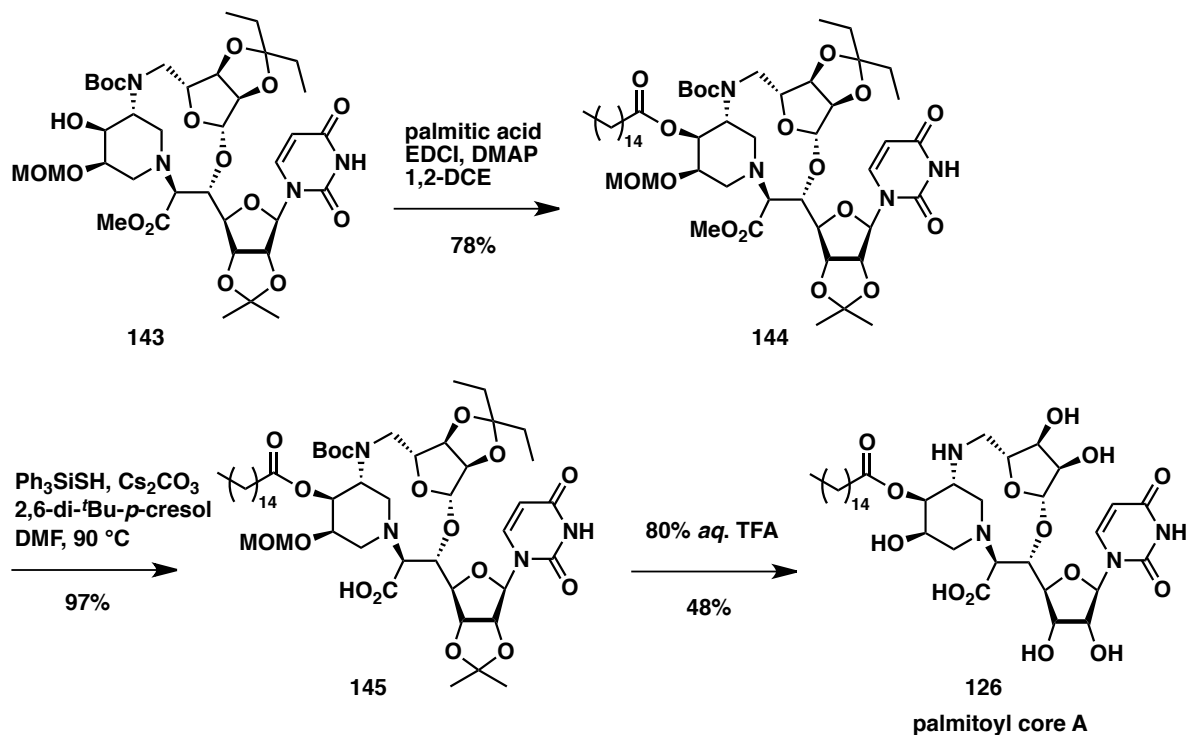


- 1) $\text{K}_2\text{OsO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$
 $\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]$
DABCO
 MeSO_2NH_2
 K_2CO_3 , NaHCO_3
*t*BuOH/ H_2O
- 2) NaIO_4
THF
phosphate buffer
(pH 7.2)
- 3) H_2 , Pd black
MeOH
- 4) Pic-BH₃, AcOH
1,2-DCE
50 °C

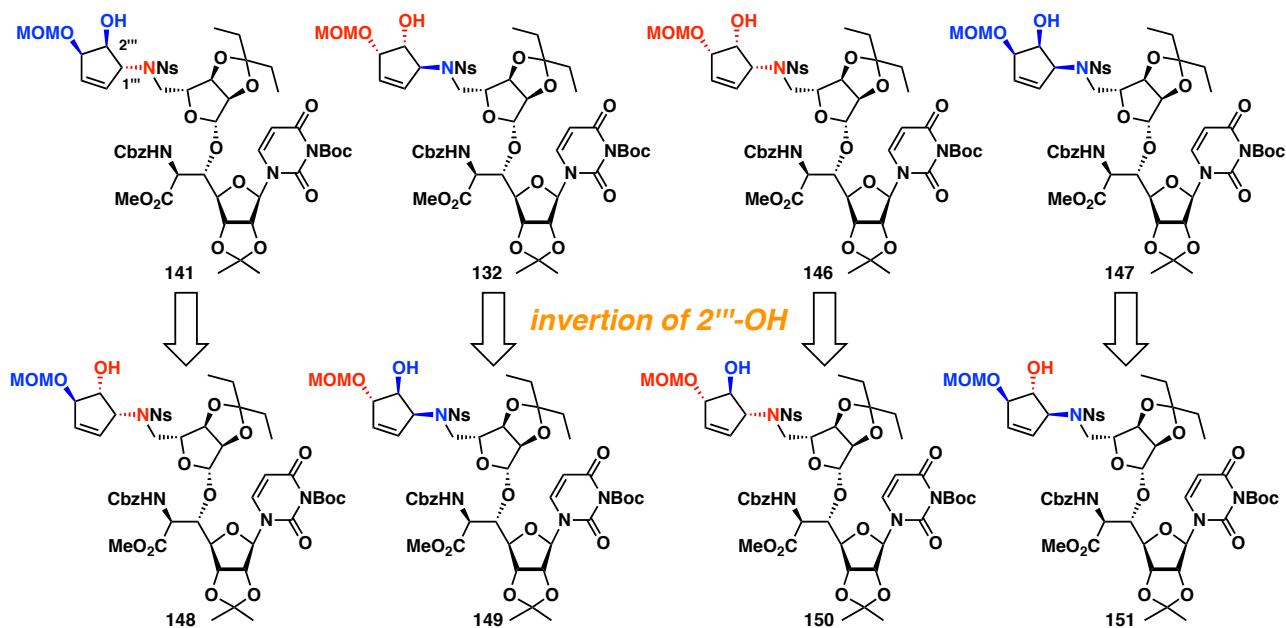


環化体**143**の水酸基に対して、パルミチン酸、EDCI、DMAPを用いてパルミトイル化を行い、**144**を得た (Scheme 4-8)。最後に**145**に対して、 Ph_3SiSH による脱メチル化と80% TFA水溶液による全ての保護基の除去を行い、palmitoyl core A **126**を得た。

Scheme 4-8.



Scheme 4-9.



palmitoyl core合成において、シクロペンテン部位の3'''位のアルル位水酸基をMOM基によって選択的に保護することができた。また、還元的アミノ化による連続環化反応において、大きな影響を及ぼす

と思われる1^{'''}位の立体によらず、反応が進行することを見出した。このことから、第3章 (scheme 3-19) で不斉アリル位アルキル化によって合成した化合物**121**および**120**から、同様にMOM化を行うことで化合物**146**、**147**を合成できると考えられる (Scheme 4-9)。さらに、これら**141**、**132**、**146**、**147**の2^{'''}位の立体を反転することで**148-151**を合成できれば、同様の連続環化反応によってスファエリミシンコア骨格の考える全8種の立体異性体を網羅的に合成することが可能であると考えている。

第3節 パルミトイル化コア骨格のMraY阻害活性の測定

得られたpalmitoyl core A **126**およびcore B **127**の阻害活性の測定を行った。MraY阻害活性の測定には、蛍光色素であるDansyl基をLys残基に有するUDP-N-アセチルムラミルペンタペプチドを用いた蛍光アッセイを行った⁷⁴⁾。MraYによってUMP-N-アセチルペンタペプチドが膜脂質であるウンデカプレニリン酸へと転位されるとダンシル基による535 nmでの蛍光が増大する。一方、MraY阻害剤が酵素反応を阻害するとその蛍光強度は低下し、阻害率を算出できる。まず、コントロールとして市販のツニカマイシン類を用いることとした。ツニカマイシン類は*Streptomyces lysosuperficus*から単離されたヌクレオシド系天然物であり、グラム陽性菌に対して抗菌活性を示すとともに⁷⁵⁾、MraY阻害活性を示すことが報告されている (IC₅₀ for MraY 2 μM from *E. coli.*)⁷¹⁾。実際に阻害活性を測定したところ、IC₅₀値は100 nMから6.25 μMとなり文献値と矛盾しなかった (Figure 4-10)。

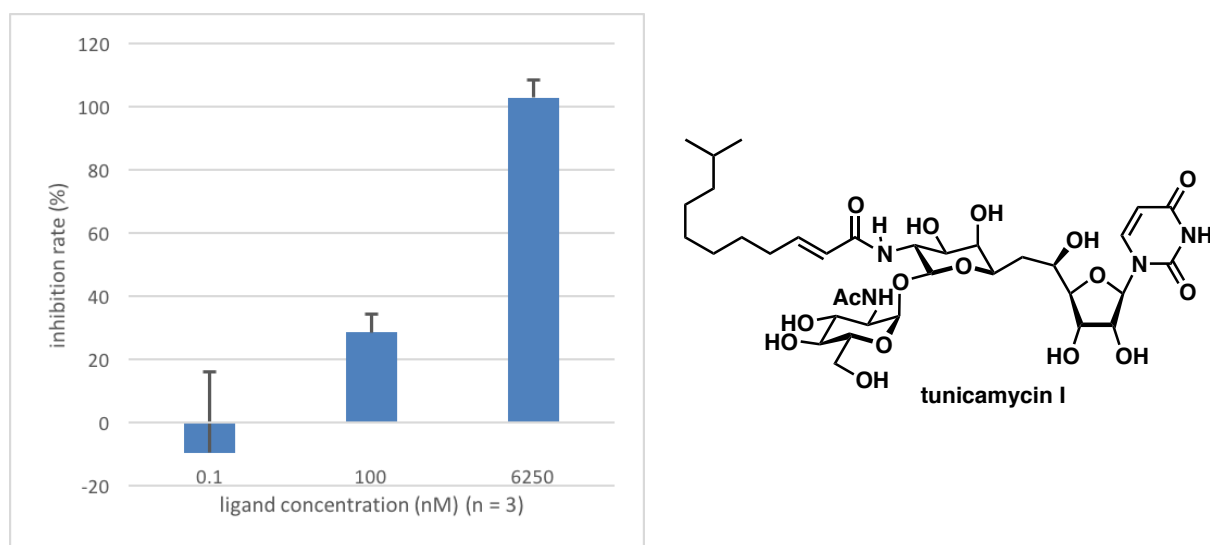


Figure 4-10. ツニカマイシン類のMraY阻害活性 (コントロール)

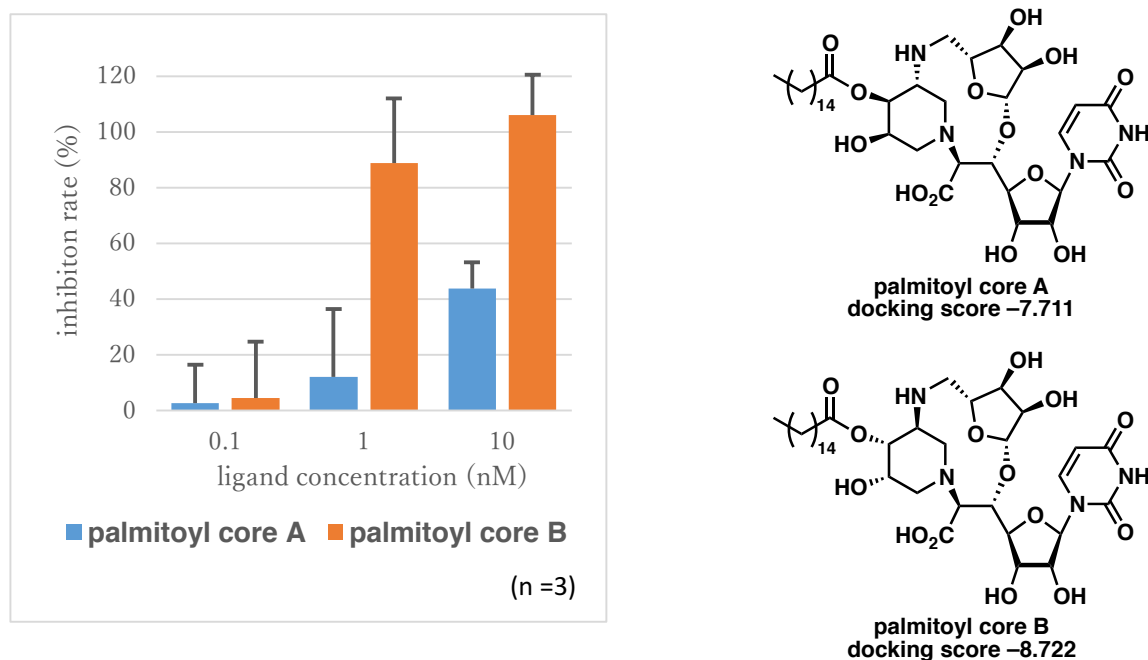


Figure 4-11. Palmitoyl core A、palmitoyl core BのMraY阻害活性

Palmitoyl core Aおよびcore BのMraY阻害活性を同条件で測定したところ、palmitoyl core AはそのIC₅₀値が>10 nMであったのに対し、palmitoyl core BのIC₅₀値が0.1-1 nMとpMの濃度域であることが示され、ピペリジン環の立体の違いによって活性が大きく異なることがわかった (Figure 4-11)。単離論文において報告されている天然物スファエリミシン AのMraY阻害活性と比較すると、スファエリミシン AのMraYの阻害活性はIC₅₀ 13.8 nM であり、palmitoyl core Aは天然物に近い阻害活性を示している。一方で、palmitoyl core Bは天然物の活性を大きく上回っていた。

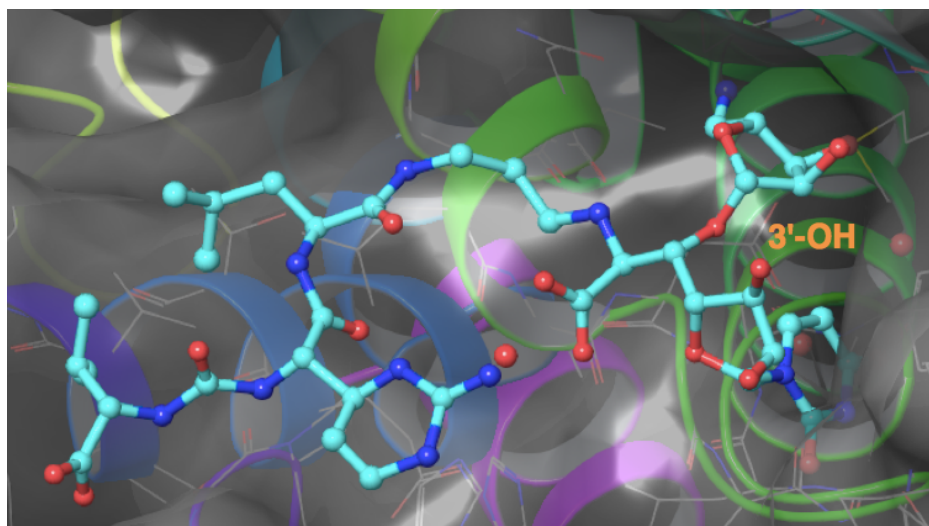


Figure 4-12. ムライマイシン D2とMraYの共結晶構造 (PDB: 5CKR)⁷⁰⁾

スファエリミシン Aとバルミトイル化コア骨格の構造を比較すると、大きく異なるのはその3'位水酸基を修飾している硫酸基である。しかし、Leeらによって報告されているムライマイシンD2とMraYの共結晶構造では、ウリジンの3'位水酸基は溶媒接触面に位置し、MraYとの結合に関与していない (Figure 4-12)⁷⁰⁾。このことから、スファエリミシンAとpalmitoyl core A、palmitoyl core BのMraY阻害活性を直接比較すると、core Aの有するピペリジン環の立体化学がスファエリミシン Aと近いと推測される。

また、NMRスペクトルにおけるスファエリミシンAとの比較を行うため、palmitoyl core A、palmitoyl core Bの¹H-NMRを、測定溶媒にDMSO-*d*₆を用いて測定した。Palmitoyl core A、palmitoyl core BはDMSO-*d*₆を用いた場合、ピークのブロードおよび回転異性体の存在によって、解析困難であった。このことから、現段階ではスファエリミシン Aの立体化学について、さらに詳しく考察することはできない。今後、他の立体の異なるバルミトイル化コア骨格を合成し、そのMraY阻害活性を比較していくことで、スファエリミシン Aの立体化学について、考察していく予定である。

また、合成したpalmitoyl core Aとpalmitoyl core Bの阻害活性の優劣はGlideを用いたMraYとのドッキングスコアの優劣 (core B -8.722 > core A -7.711, Figure 4-6) と相関していた。そこで、他の立体異性体についても、同様にGlideによるドッキングを行った (Figure 4-13)。その結果、化合物**152**が最も良いドッキングスコア-9.281を示した。このことから、化合物**152**は今回合成したpalmitoyl core Bよりも良いMraY阻害活性を示すと考えられ、新規抗菌薬リードとしてのスファエリミシンコア骨格のさらなる有用性が期待できる。

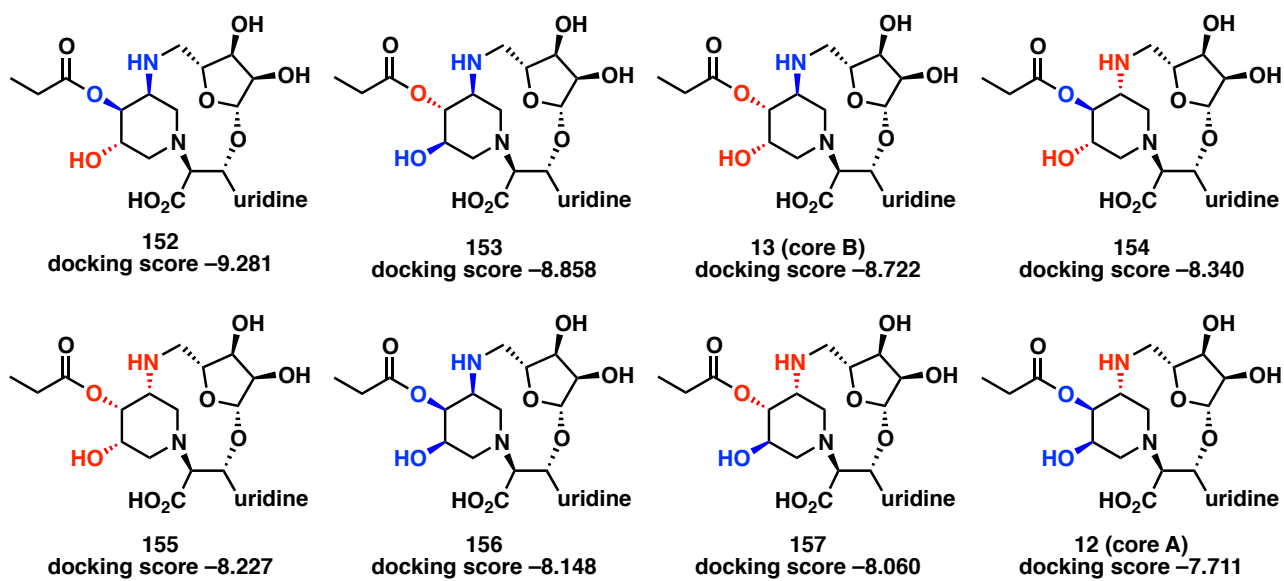
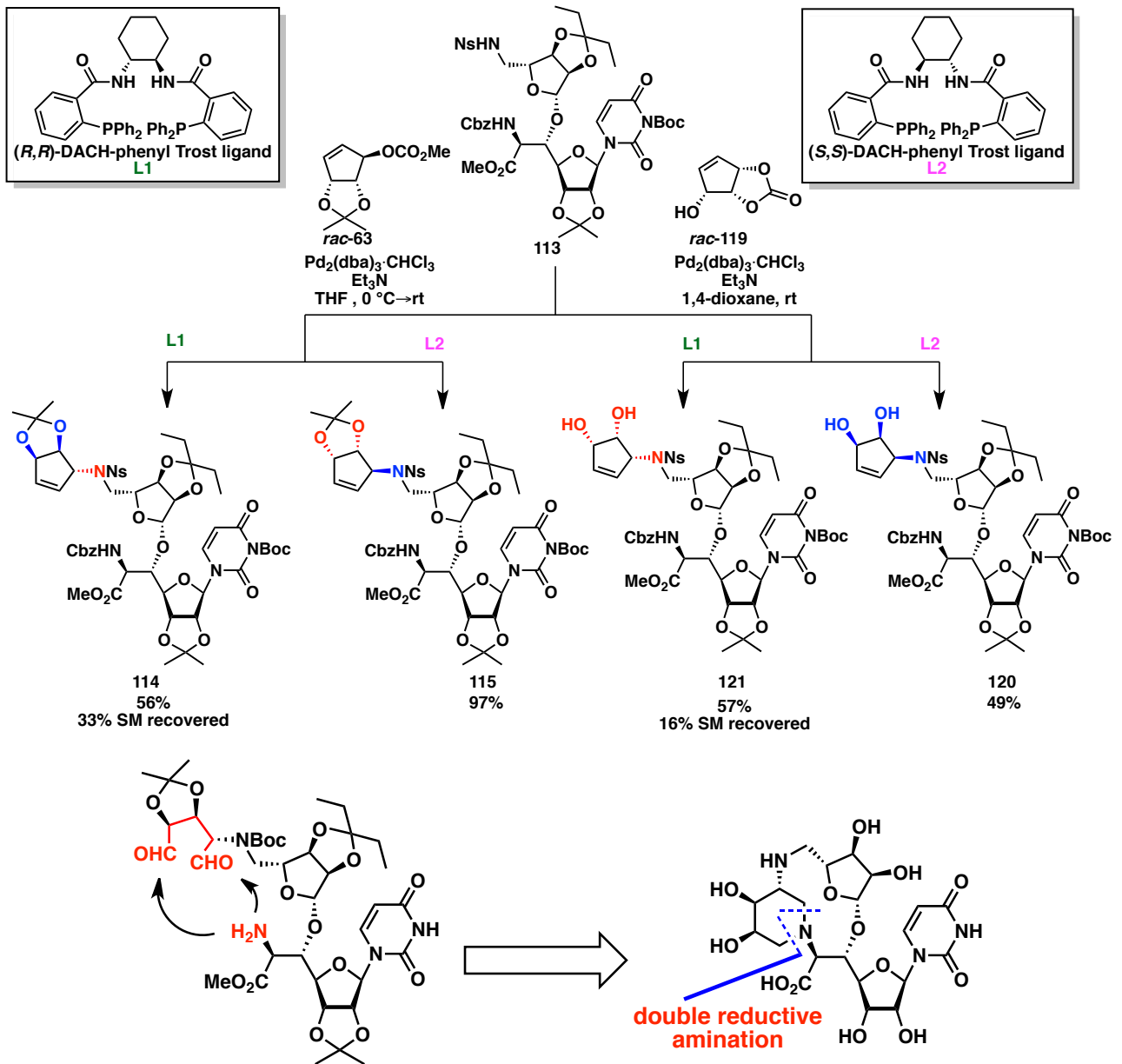


Figure 4-13. スファエリミシンコア骨格における立体異性体のMraYに対するドッキングスコア

結語

1. 不斉アリル位アルキル化反応を用いて、スファエリミシンコア骨格において考える8つの立体異性体のうち、4種の間接体の合成を行うとともに、連続還元的アミノ化反応によって11員環、6員環の連続環化を行うことでスファエリミシンコア骨格の1種の立体異性体の合成を行った。



2. スファエリミシンコア骨格を用いたpalmitoyl core Aおよびpalmitoyl core Bを合成し、そのMraY阻害活性を測定することで、MraY阻害作用を有する新規抗菌薬リードとして、スファエリミシンコア骨格が有用であることを示した。

謝辞

本研究の遂行に際し、終始ご懇意なるご指導、ご鞭撻を賜りました北海道大学大学院薬学研究科 市川 聡 教授に心より感謝致します。

本研究の遂行にあたり、日々有益な御助言、御指導を賜りました北海道大学大学院薬学研究科 薬師 寺 文華 講師に心より感謝致します。

本論文を審査して頂き、有益なる御助言を賜りました北海道大学大学院薬学研究科 脇本 敏幸 教授、倉永 健史 講師に心より感謝致します。

本研究を進めるにあたり、有益なるご助言を賜りました北海道大学大学院薬学研究科 松田 彰 特任教授に心より感謝致します。

北海道医療大学薬学部薬学科 佐藤 浩輔 講師、慶應義塾大学理工学部化学科 松丸 尊紀 助教に心より感謝致します。

化合物の NMR 測定をして頂きました北海道大学大学院農学院 福士 江里 博士、高田 祐輔 氏に心より感謝致します。

スファエリミシン A の機器データを御供与頂いた第一三共株式会社の方々に心より感謝致します。

各種機器分析を行って頂きました北海道大学機器分析受託部門のオペレーターの皆様に心より感謝致します。

日々活発な御討論、御助言を頂きました北海道大学大学院 生命科学院 生命医薬科学コース 創薬科学研究教育センター 有機合成医薬学部門の皆様に心より感謝致します。

最後に、筆者の学生生活を経済的、精神的に支えてくれた両親、姉に感謝致します。

2018年 3月 仲谷 岳志

実験の部

NMR スペクトルは、JEOL JNM-ECA-500、JEOL JNM-ECS-400、JEOL JNM-ECX-400P スペクトロメーターを用いて測定した。¹H NMR および ¹³C NMR の化学シフトは、テトラメチルシランを内部標準としたときの δ 値を ppm で、スピン結合定数 J 値を Hz で表示した。

シグナルの多重度は、s: singlet、d: doublet、t: triplet、q: quartet、quint: quintet、m: multiplet、br: broad、o: overlapping signals の略号を用いて示した。また、シグナル伝達は ¹H-¹H COSY スペクトルに基づいて行った。

質量分析は、Thermo Scientific Exactive、Waters MICRO MASS LCT-premier を用いて測定した。

HPLC は以下のシステムを用いた。JASCO PU-2089 Plus (pump)、UV-2075 Plus (detector)、ChromNAV Control Center (system controller)、カラムとして J'sphere ODS-M80、展開溶媒として市販の高速液体クロマトグラフィー用 MeOH を用いた。

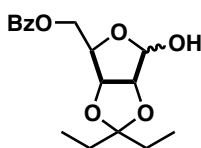
反応溶媒として用いたジクロロメタン、1,2-ジクロロエタン、アセトニトリルは五酸化ニリンより蒸留したものを用いた。水は脱イオン水を Millipore Milla-Q Advantage A10 超純粋製造装置で精製したものを用いた。その他の試薬および溶媒については特に記載のない限り市販のものを用いた。

TLC は Merck silica gel 60 F₂₅₄ を用いた。順相シリカゲルカラムクロマトグラフィーは、充填剤として Merck silica gel 60 (0.063-0.200)、Kanto Chemical Silica Gel 60N (spherical, neutral, 63-210 μ m) を用いた。フラッシュシリカゲルカラムクロマトグラフィーには充填剤として Kanto Chemical Silica Gel 60N (spherical, neutral, 40-50 μ m) を用いた。ハイフラッシュシリカゲルカラムクロマトグラフィーには充填剤として Fuji Silysia silica gel PSQ 60B (spherical, neutral, 60 μ m) を用いた。

セライト濾過には nacalai tesque Celite 545 を用いた。

NKY12-41

5-O-Benzoyl-2,3-O-(3-pentylidene)-D-ribo-pentofuranose (53)



A solution of **52** (500 mg, 2.29 mmol) and pyridine (1.8 mL) in CH₂Cl₂ (20 mL) was treated with BzCl (293 μ L, 2.52 mmol) at 0 °C, and the mixture was allowed to room temperature and stirred for 24 hours. An additional portion of BzCl (79.8 μ L, 687 μ mol) was added to the reaction mixture, and stirred for 20 minutes. The reaction mixture was quenched by addition

of H₂O, and extracted with AcOEt. The organic phase was washed with 1M *aq.* HCl, H₂O, brine and dried (Na₂SO₄), filtered, and concentrated *in vacuo*. The residue was purified by high-flash silica gel column chromatography (5-20% AcOEt/hexane) to afford **53** (463 mg, 1.44 mmol, 63%) as a colorless oil.

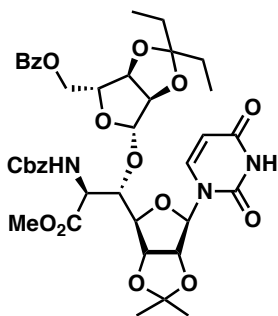
¹H NMR (CDCl₃, 400 MHz, a 2:1 mixture of the anomers) δ 8.07 (d, 1.4H, Ph, J = 8.7 Hz), 7.99 (d, 0.6 Hz, Ph, J = 7.3 Hz), 7.62-7.56 (m, 1H, Ph), 7.48-7.44 (m, 2H, Ph), 5.52 (d, 0.8H, H-1, $J_{1,2}$ = 1.8 Hz), 5.49 (d, 0.2H, H-1, $J_{1,2}$ = 3.6 Hz), 4.81 (d, 0.6H, H-3, $J_{3,4}$ = 6.0 Hz), 4.77 (d, 0.4H, H-3, $J_{3,4}$ = 5.9 Hz), 4.72-4.54 (m, 2.3H, H-2, H-4, H-4, H-5, H-5), 4.45 (br s, 0.6H, H-2), 4.41-4.32 (m, 1H, H-5, H-5), 4.08-4.05 (m, 0.4H, OH-1), 3.21-3.06 (m, 0.6H, OH-1), 1.86-1.57 (m, 4H, CH₂CH₃ \times 2), 1.02-0.87 (m, 6H, CH₂CH₃ \times 2);

¹³C NMR (CDCl₃, 100 MHz, a mixture of the anomers) δ 166.7, 166.2, 133.6, 133.4, 129.9, 129.8, 129.7, 128.7, 128.6, 118.4, 117.1, 103.5, 98.1, 86.4, 85.3, 82.3, 81.8, 79.5, 78.9, 66.1, 65.9, 29.6, 29.0, 29.0, 28.8, 8.61, 8.55, 8.00, 7.52;

ESIMS-LR m/z 345 [(M + Na)⁺]; ESIMS-HR calcd for C₁₇H₂₂O₆Na 345.1309, found 345.1310.

NKY12-72, NKY12-73

Methyl 5-O-[5-O-benzoyl-2,3-O-(3-pentylidene)- β -D-ribo-pentofuranosyl]-6-benzyloxycarbonylamino-6-deoxy-2,3-O-isopropylidene-1-(uracil-1-yl)- β -D-glycero-L-talo-heptofuranuronate (57)



A solution of **53** (47.1 mg, 146 μ mol) in CH₂Cl₂ (1.5 mL) was treated with diethylaminotrifluoride (38.6 μ L, 292 μ mol) at 0 °C for 10 min. The reaction was quenched by addition of sat. *aq.* NaHCO₃, and extracted with AcOEt. The organic phase was washed with brine, dried (Na₂SO₄), filtered, and concentrated *in vacuo* to afford the crude fluoride **54**. A solution of the crude fluoride **54** and **47** (49.2 mg, 97.3 μ mol), MS4A (100 mg) in CH₂Cl₂ (1 mL) was treated with BF₃·Et₂O (9.2 μ L, 73 μ mol) at 0 °C for 1 hour. The additional portion of BF₃·Et₂O (9.2 μ L, 73 μ mol) was added to the

reaction mixture at 0 °C, and stirred for 12 hours. Et₃N (68 μ L, 0.49 mmol) was added to the reaction mixture and filtered through a Celite pad. The solution was partitioned between AcOEt and saturated aqueous NaHCO₃, and the organic phase was washed with brine and dried (Na₂SO₄), filtered, and concentrated *in vacuo*. The residue was purified by high-flash silica gel column chromatography (30-100% AcOEt/hexane) to afford **57** (44.4 mg, 54.8 μ mol, 56%) as a white foam, and **47** (4.1 mg, 8.1 μ mol, 8%) as a white foam.

¹H NMR (CDCl₃, 500 MHz) δ 8.63 (br s, 1H, NH-3), 8.07 (d, 2H, Ph, J = 7.5 Hz), 7.54 (m, 9H, Ph, H-6), 5.72 (d, 1H, H-5, $J_{5,6}$ = 8.1 Hz), 5.66 (d, 1H, H-1', $J_{1',2'}$ = 2.3 Hz), 5.59 (d, 1H, NH-6', $J_{NH-6',6'}$ = 9.8 Hz), 5.21 (s, 1H, H-1''), 5.12 (d, 1H, benzyl, J = 12.6 Hz), 4.96 (d, 1H, benzyl, J = 12.6 Hz), 4.82 (dd, 1H, $J_{2',3'}$ = 6.9, $J_{2',1'}$ = 2.3 Hz), 4.71-4.65 (m, 3H, H-6', H-2'', H-3''), 4.52 (t, 1H, H-4'', $J_{4'',5''}$ = $J_{4'',5''}$ = 5.8 Hz), 4.48 (d, 1H, H-5', $J_{5',4'}$ = 7.5 Hz), 4.37 (dd, 1H, H-5'', $J_{5'',5''}$ = 11.8, $J_{5'',4''}$ = 5.5 Hz), 4.27 (dd, 1H, H-5'', $J_{5'',5''}$ = 11.8, $J_{5'',4''}$ = 6.1 Hz), 4.19 (dd, 1H, H-4', $J_{4',5'}$ = 7.5, $J_{4',3'}$ = 4.0 Hz), 3.70 (s, 3H, OMe), 1.64 (q, 2H, CH₂CH₃, J = 7.7 Hz), 1.52 (q, 2H, CH₂CH₃, J = 7.5 Hz), 1.48 (s, 3H,

acetone), 1.30 (s, 3H, acetone), 0.87-0.81 (m, 6H, CH₂CH₃×2);

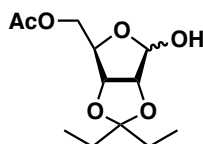
¹³C NMR (CDCl₃, 100 MHz) δ 170.4, 166.1, 163.3, 156.3, 150.1, 142.3, 136.4, 133.4, 129.9, 129.7, 128.6, 128.2, 117.2, 115.1, 112.2, 102.9, 93.6, 86.3, 85.8, 85.0, 83.8, 82.0, 80.7, 79.2, 67.1, 65.0, 54.5, 53.0, 29.5, 29.0, 27.2, 25.5, 8.51, 7.48;

ESIMS-LR *m/z* 811 [(M + H)⁺]; ESIMS-HR calcd for C₄₀H₄₈N₃O₁₅ 810.3080, found 810.3084;

[α]_D¹⁷ -5.78 (*c* 0.92, CHCl₃).

NKY12-76

5-O-Acetyl-2,3-O-(3-pentylidene)-D-ribo-pentofuranose (**55**)



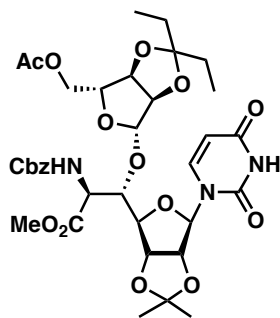
A solution of **52** (500 mg, 2.29 mmol) and pyridine (1.8 mL) in CH₂Cl₂ (20 mL) was treated with AcCl (179 μL, 2.52 mmol) at 0 °C, and the mixture was allowed to warm to room temperature and stirred for 30 min. Additional portion of AcCl (37 μL, 0.52 mmol) was added to the reaction mixture, and stirred for 5 min. The reaction mixture was quenched by addition

of H₂O, and extracted with AcOEt. The organic phase was washed with 1M *aq.* HCl, H₂O, brine and dried (Na₂SO₄), filtered, and concentrated *in vacuo*. The residue was purified by high-flash silica gel column chromatography (10-30% AcOEt/hexane) to afford **55** (302 mg, 1.16 mmol, 51%) as a colorless oil.

¹H NMR (CDCl₃, 400 MHz) δ 5.48 (d, 1H, H-1, *J* = 2.7 Hz), 4.71 (d, 1H, H-2, *J*_{2,3} = 6.3 Hz), 4.65 (d, 1H, H-3, *J*_{3,2} = 6.3 Hz), 4.25-4.32 (m, 2H, H-4, H-5), 4.11 (dd, 1H, H-5, *J* = 11.1, *J* = 5.7 Hz), 3.04 (br s, 1H, OH-1), 2.11 (s, 3H, OAc), 1.71 (q, 2H, CH₂CH₃, *J* = 7.4 Hz), 1.59 (q, 2H, CH₂CH₃, *J* = 7.4 Hz), 0.92 (t, 3H, CH₂CH₃, *J* = 7.5 Hz), 0.89 (t, 3H, CH₂CH₃, *J* = 7.5 Hz). This is a known compound.

NKY12-81, NKY12-82

Methyl 5-O-[5-O-acetyl-2,3-O-(3-pentylidene)-β-D-ribo-pentofuranosyl]-6-benzoyloxycarbonylamino-6-deoxy-2,3-O-isopropylidene-1-(uracil-1-yl)-β-D-glycero-L-talo-heptofuranuronate (**58**)



A solution of **55** (65.0 mg, 250 μmol) in CH₂Cl₂ (3 mL) was treated with diethylaminotrifluoride (66.1 μL, 500 μmol) at 0 °C for 10 min. The reaction was quenched by addition of sat. *aq.* NaHCO₃, and extracted with AcOEt. The organic phase was washed with brine, dried (Na₂SO₄), filtered, and concentrated *in vacuo* to afford a crude fluoride **56**. A solution of the crude fluoride **56** and **47** (84.4 mg, 167 μmol), MS4A (200 mg) in CH₂Cl₂ (2 mL) was treated with BF₃·Et₂O (9.2 μL, 73 μmol) three times at each hour at 0 °C. The reaction mixture was stirred for totally 8 hours. Et₃N (116 μL,

835 μmol) was added to the reaction mixture and filtered through Celite pad. The solution was partitioned between AcOEt and saturated aqueous NaHCO₃, and the organic phase was washed with brine and dried (Na₂SO₄), filtered, and concentrated *in vacuo*. The residue was purified by high-flash silica gel column chromatography (30-100% AcOEt/hexane) to afford **58** (101 mg, 135 μmol, 81%) as a white foam.

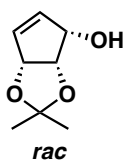
¹H NMR (CDCl₃, 500 MHz) δ 8.41 (br s, 1H, NH-3), 7.37-7.30 (m, 6H, Ph, H-6), 5.73-5.66 (m, 3H, NH-6', H-5, H-1'), 5.21 (d, 1H, benzyl, *J* = 12.1 Hz), 5.16 (s, H-1, H-1''), 5.07 (d, 1H, benzyl, *J* = 12.0 Hz), 4.83-4.79 (m, 2H, H-2', H-3'), 4.67 (d, 1H, H-6', *J*_{6',NH-6'} = 9.7 Hz), 4.60 (d, 1H, H-2'', *J*_{2'',3''} = 5.8 Hz), 4.56 (d, 1H, H-3'', *J*_{3'',2''} = 5.7 Hz), 4.47 (d, 1H, H-5', *J*_{5',4'} = 7.4 Hz), 4.36 (t, 1H, H-4'', *J*_{4'',5''} = *J*_{4'',5''} = 5.8 Hz), 4.22 (dd, 1H, H-4', *J*_{4',5'} = 7.5, *J*_{4',3'} = 4 Hz), 4.12 (dd, 1H, H-5'', *J*_{5'',5''} = 12.0, *J*_{5'',4''} = 6.1 Hz), 3.99 (dd, 1H, H-5'', *J*_{5'',5''} = 11.5, *J*_{5'',4''} = 6.3 Hz), 3.77 (s, 3H, OMe),

2.06 (s, 3H, OAc), 1.65-1.60 (m, 2H, CH₂CH₃), 1.54-1.50 (m, 5H, acetonide, CH₂CH₃), 1.30 (s, 3H, acetonide), 0.86-0.81 (m, 6H, CH₂CH₃×2);

¹³C NMR (CDCl₃, 100 MHz) δ 170.7, 170.4, 163.4, 156.4, 150.1, 142.3, 136.3, 128.6, 128.3, 128.3, 117.1, 115.1, 102.8, 93.4, 86.2, 85.8, 84.8, 83.6, 81.8, 80.6, 78.9, 67.3, 64.4, 54.5, 53.0, 29.5, 28.9, 27.2, 25.4, 20.9, 8.45, 7.41; ESIMS-LR *m/z* 748 [(M + Na)⁺]; ESIMS-HR calcd for C₃₅H₄₆N₃O₁₅ 748.2923, found 748.2930; [α]_D¹⁸ -7.34 (c 1.03, CHCl₃).

NKY 16-

***rac*-(1*S*,2*S*,3*R*)-2,3-*O*-Isopropylidene-4-cyclopenten-1-ol (61)**

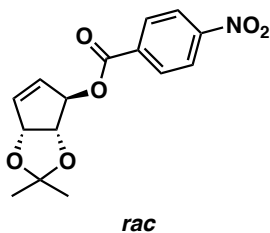


A solution of **60** (193 mg, 1.66 mmol) and 2,2-dimethoxypropane (1.02 mL, 8.30 mmol) in acetone (16 mL) was treated with pyridinium *p*-toluenesulfonate (20.9 mg, 83.0 μmol) at room temperature for 16 hours. The reaction was quenched by addition of Et₃N (46 μL, 0.33 mmol), and concentrated *in vacuo*. The residue was purified by silica gel column chromatography (20% AcOEt/hexane) to afford *rac*-**61** (216 mg, 1.38 mmol, 83%) as a colorless oil.

¹H NMR (CDCl₃, 400 MHz) δ 5.89 (s, 2H, H-4, H-5), 5.02 (d, H-3, *J*_{3,2} = 5.0 Hz), 4.75 (t, 1H, H-2, *J*_{2,1} = *J*_{2,3} = 5.7 Hz), 4.56 (dd, 1H, H-1, *J*_{1,OH-1} = 10.0, *J*_{1,2} = 5.4 Hz), 2.71 (d, 1H, OH-1, *J*_{OH-1,1} = 10.0 Hz), 1.44 (s, 3H, CCH₃), 1.40 (s, 3H, CCH₃). This is a known compound.

NKY10-77

***rac*-(1*R*,2*R*,3*R*)-2,3-*O*-Isopropylidene-4-cyclopentenyl *p*-nitrobenzoate (62)**

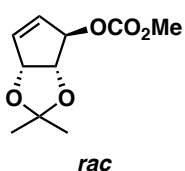


A solution of *rac*-**61** (891 mg, 5.70 mmol), *p*-nitrobenzoic acid (1.91 g, 11.4 mmol) and PPh₃ (2.24 g, 8.55 mmol) in THF (50 mL) was treated with DMEAD (2.0 g, 8.55 mmol) at room temperature for 12 hours. The reaction mixture was concentrated *in vacuo*. The residue was purified by silica gel column chromatography (10% AcOEt/hexane) to afford *rac*-**62** (1.60 g, 5.24 mmol, 92%) as a white solid.

¹H NMR (CDCl₃, 400 MHz) δ 8.31-8.28 (m, 2H, aromatic), 8.22-8.18 (m, 2H, aromatic), 6.23 (d, 1H, H-4, *J*_{4,5} = 5.9 Hz), 6.03 (dd, 1H, H-5, *J*_{5,4} = 5.5, *J* = 2.3 Hz), 5.87 (s, 1H, H-1), 5.35 (d, 1H, H-3, *J*_{3,2} = 5.5 Hz), 4.76 (d, 1H, H-2, *J*_{2,3} = 5.9 Hz), 1.47 (s, 3H, CCH₃), 1.39 (s, 3H, CCH₃). This is a known compound.

NKY10-79, 10-80

***rac*-(1*R*,2*R*,3*R*)-2,3-*O*-Isopropylidene-4-cyclopentenyl methyl carbonate (63)**



A solution of *rac*-**62** (1.60 g, 5.24 mmol) in MeOH (50 mL) and H₂O (10 mL) was treated with NaOH (1.30 g, 31.4 mmol) at room temperature for 20 min. The reaction mixture was concentrated *in vacuo*. The residue was diluted with brine and extracted with Ether, and the organic phase was dried (Na₂SO₄), filtered, and concentrated *in vacuo* to afford a crude alcohol.

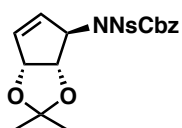
A solution of the crude alcohol in CH₂Cl₂ (50 mL) and pyridine (5 mL) was treated with ClCO₂Me (1.6 mL, 21 mmol) at 0 °C. The reaction mixture was stirred at room temperature for 18 hours. Additional portion of ClCO₂Me (2.4 mL, 31 mmol) and pyridine (5 mL) was added to the reaction mixture, and stirred for 10 min. The reaction was quenched by addition of H₂O, and extracted with AcOEt. The organic phase was washed with 1M *aq.* HCl, H₂O, brine and dried (Na₂SO₄), filtered, and concentrated *in vacuo*. The residue was purified by

silica gel column chromatography (10% AcOEt/hexane) to afford *rac*-**63** (1.09 g, 5.09 mmol, 97% over 2 steps) as a colorless oil.

¹H NMR (CDCl₃, 500 MHz) δ 6.16 (d, 1H, H-4, *J*_{4,5} = 5.7 Hz), 5.93 (dt, 1H, H-5, *J*_{5,4} = 5.8, *J* = 1.2 Hz), 5.52 (s, 1H, H-1), 5.27 (d, 1H, H-3, *J*_{3,2} = 5.7 Hz), 4.65 (d, 1H, H-2, *J*_{2,3} = 5.8 Hz), 3.81 (s, 3H, Me), 1.42 (s, 3H, CCH₃), 1.35 (s, 3H, CCH₃). This is a known compound.

NKY13-65

***N*-Benzyloxycarbonyl-*N*-[(1*R*,2*R*,3*R*)-2,3-*O*-isopropylidene-4-cyclopentenyl]-2-nitrobenzenesulfonamide (64)**



Compound *rac*-**63** (50.0 mg, 233 μmol), NsNHCBz (86.1 mg, 256 μmol) and Et₃N (97.4 μL, 699 μmol) were dissolved in THF (2 mL). Ligand **L1** (25.8 mg, 37.3 μmol) and [Pd₂(dba)₃]·CHCl₃ (9.6 mg, 9.3 μmol) were dissolved in THF (2 mL) and stirred for 15 minutes, then this solution was slowly added to the mixture at 0 °C. The mixture was stirred for 17 hours

at room temperature. The reaction mixture was partitioned between AcOEt and 1M *aq.* HCl. The organic phase was washed with H₂O, brine and dried (Na₂SO₄), filtered, and concentrated *in vacuo*. The residue was purified by flash silica gel column chromatography (20-30% AcOEt/hexane) to afford **64** (42.6 mg, 89.8 μmol, 39%) as a white solid.

¹H NMR (CDCl₃, 400 MHz) δ 8.03 (dd, 1H, Ns, *J* = 8.2, *J* = 1.4 Hz), 7.77 (dd, 1H, Ns, *J* = 8.2, *J* = 1.2 Hz), 7.67 (td, 1H, Ns, *J* = 7.8, *J* = 1.4 Hz), 7.41-7.34 (m, 4H, Ns, Ph), 7.24-7.22 (m, 2H, Ph), 5.99 (dt, 1H, H-4, *J*_{4,5} = 5.5, *J*_{4,1} = *J*_{4,3} = 1.8 Hz), 5.87 (dd, 1H, H-5, *J*_{5,4} = 6.0, *J*_{5,1} = 2.7 Hz), 5.45 (s, 1H, H-1), 5.12 (d, H-3, *J*_{3,2} = 6.0 Hz), 5.07 (d, 1H, benzyl, *J* = 11.4 Hz), 5.03 (d, 1H, benzyl, *J* = 11.5 Hz), 4.83 (d, 1H, H-2, *J*_{3,2} = 6.0 Hz), 1.44 (s, 3H, CCH₃), 1.34 (s, 3H, CCH₃);

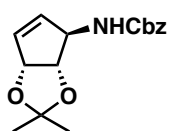
¹³C NMR (CDCl₃, 100 MHz) δ 151.3, 147.9, 136.5, 134.5, 134.4, 133.5, 133.1, 131.9, 130.1, 129.4, 129.4, 128.9, 124.7, 111.7, 85.5, 83.7, 70.0, 69.9, 27.5, 25.8;

ESIMS-LR *m/z* 497 [(M + Na)⁺]; ESIMS-HR calcd for C₂₂H₂₂N₂O₈NaS 497.0989, found 497.1011;

[α]_D²¹ -84.7 (*c* 1.02, CHCl₃).

NKY12-56

***N*-[(1*R*,2*R*,3*R*)-2,3-*O*-Isopropylidene-4-cyclopentenyl]-benzyloxycarbamate (65)**



A mixture of **64** (85.1 mg, 179 μmol) and K₂CO₃ (49.5 mg, 358 μmol) in MeCN-DMF (1:1, 4 mL) was treated with 4-^tBu-benzenethiol (92.6 μL, 537 μmol) at room temperature and stirred for 16 hours. The reaction mixture was partitioned between AcOEt and sat. *aq.* NH₄Cl, and the organic phase was washed with brine and dried (Na₂SO₄), filtered, and concentrated *in vacuo*. The residue

was purified by high-flash silica gel column chromatography (10-30% AcOEt/hexane) to afford **65** (43.8 mg, 151 μmol, 84%) as a white solid.

¹H NMR (CDCl₃, 400 MHz) δ 7.35-7.29 (m, 5H, Ph), 6.00 (d, 1H, H-4, *J*_{4,5} = 5.5 Hz), 5.76 (d, 1H, H-5, *J*_{5,4} = 4.1 Hz), 5.23 (br s, 1H, H-3), 5.11 (br s, 2H, benzyl), 4.77 (br s, 1H, NH-1), 4.67 (d, 1H, H-1, *J* = 7.3 Hz), 4.52 (d, 1H, H-2, *J*_{2,3} = 5.0 Hz), 1.41 (s, 3H, acetonide), 1.34 (s, 3H, acetonide);

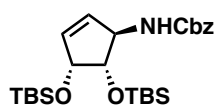
¹³C NMR (CDCl₃, 100 MHz) δ 155.7, 136.4, 135.7, 132.2, 128.7, 128.4, 111.7, 84.8, 84.4, 67.1, 62.8, 27.5, 25.8;

ESIMS-LR *m/z* 312 [(M + Na)⁺]; ESIMS-HR calcd for C₁₆H₂₀NO₄ 290.1387, found 290.1391;

$[\alpha]_{\text{D}}^{22} -114.4$ (c 0.81, CH_3Cl). (ca. 80% *ee*)

NKY12-65, 12-68

***N*-[(1*R*,2*R*,3*R*)-2,3-Di-*O*-(*tert*-Butyldimethylsilyl)-4-cyclopentenyl]-benzyloxycarbamate (69)**



A solution of **65** (30.0 mg, 104 μmol) in AcOH (1.6 mL) and H_2O (0.4 mL) was heated at 60 $^\circ\text{C}$ for 4 hours. The reaction mixture was concentrated *in vacuo* to afford a crude diol. A solution of crude diol and imidazole (28.3 mg, 416 μmol) in DMF (1 mL) was treated with TBSCl (34.5 mg, 229 μmol) at room temperature for 2 hours. MeOH was added to the reaction mixture, and partitioned between AcOEt and 1M *aq.* HCl . The organic phase was washed with H_2O , brine and dried (Na_2SO_4), filtered, and concentrated *in vacuo*. The residue was purified by high-flash silica gel column chromatography (3-10% AcOEt /hexane) to afford **69** (41.1 mg, 86.0 μmol , 83% over 2 steps) as a white solid.

^1H NMR (CDCl_3 , 400 MHz) δ 7.36-7.31 (m, 5H Ph), 5.90 (d, 1H, H-4, $J_{4,5} = 6.0$ Hz), 5.84 (d, 1H, H-5, $J_{5,4} = 6.0$ Hz), 5.10 (br s, 1H, benzyl), 4.67 (m, 2H, NH -1, H-1), 4.46 (dd, 1H, H-3, $J_{3,2} = 5.0$, $J_{3,4} = 2.3$ Hz), 3.86 (t, 1H, H-2, $J_{2,1} = J_{2,3} = 5.1$ Hz), 0.89 (s, 9H, ^tBu), 0.88 (s, 9H, ^tBu), 0.06-0.05 (m, 12H, $\text{Me}\times 4$);

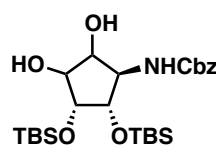
^{13}C NMR (CDCl_3 , 100 MHz) δ 155.9, 136.6, 135.0, 134.1, 128.6, 128.4, 128.3, 78.9, 74.5, 66.8, 61.3, 26.0, 26.0, 18.4, 0.14, -4.05, -4.24, -4.75;

ESIMS-LR m/z 500 [$(\text{M} + \text{Na})^+$]; ESIMS-HR calcd for $\text{C}_{25}\text{H}_{43}\text{NNaO}_4\text{Si}$ 500.2623, found 500.2624;

$[\alpha]_{\text{D}}^{21} -152.6$ (c 0.98, CH_3Cl). (ca. 80% *ee*)

NKY13-8

***N*-[(1*R*,2*R*,3*R*)-2,3-di-*O*-(*tert*-Butyldimethylsilyl)-4,5-dihydroxycyclopentenyl]-benzyloxycarbamate (70)**



A solution of compound **69** (743 mg, 1.56 mmol), $\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]$ (1.54 g, 4.68 mmol), K_2CO_3 (647 mg, 4.68 mmol), NaHCO_3 (393 mg, 4.68 mmol), DABCO (175 mg, 1.56 mmol) and MeSO_2NH_2 (148 mg, 1.56 mmol) in $^t\text{BuOH-H}_2\text{O}$ (2:1, 24 mL) was treated with $\text{K}_2\text{OsO}_4\cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (57.5 mg, 156 μmol) at room temperature for 24 hours. After *sat. aq.* $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ was added, the mixture was extracted with AcOEt . The organic phase was washed with brine and dried (Na_2SO_4), filtered, and concentrated *in vacuo*. The residue was purified by silica gel column chromatography (10-50% AcOEt /hexane) to afford **70** (638 mg, 1.25 mmol, 80%) as a white solid.

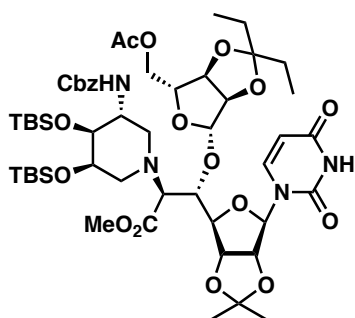
^1H NMR (DMSO-d_6 , 500 MHz) δ 7.37-7.30 (m, 5H, Ph), 6.69 (d, 1H, NH , $J_{\text{NH},1} = 9.8$ Hz), 5.05 (d, 1H, benzyl, $J = 12.6$ Hz), 4.98 (d, 1H, benzyl, $J = 12.6$ Hz), 4.75 (d, 1H, OH -4, $J_{\text{OH},4,4} = 5.2$ Hz), 4.57 (d, 1H, OH -5, $J_{\text{OH},5,5} = 7.5$ Hz), 3.98 (q, 1H, H-5, $J_{5,1} = J_{5,4} = J_{5,\text{OH},5} = 6.9$ Hz), 3.95 (dd, 1H, H-2, $J_{2,1} = 6.3$ Hz, $J_{2,3} = 4.6$ Hz), 3.80 (q, 1H, H-1, $J_{1,2} = J_{1,5} = J_{1,\text{NH}} = 7.9$ Hz), 3.75 (t, 1H, H-3, $J_{3,2} = J_{3,4} = 4.1$ Hz), 3.68 (dd, 1H, H-4, $J_{4,5} = 8.6$, $J_{4,3} = 5.2$ Hz), 0.87 (s, 9H, ^tBu), 0.83 (s, 9H, ^tBu), 0.07 (s, 3H, Me), 0.05 (s, 3H, Me), 0.01 (s, 3H, Me);

^{13}C NMR (CDCl_3 , 100 MHz) δ 156.0, 137.3, 128.3, 127.7, 127.6, 76.7, 76.1, 74.7, 67.3, 65.1, 57.3, 25.8, 17.9, 17.8, -4.55, -4.64, -4.78;

ESIMS-LR m/z 512 [$(\text{M} + \text{H})^+$]; ESIMS-HR calcd for $\text{C}_{25}\text{H}_{46}\text{O}_6\text{NSi}_2$ 512.2858, found 512.2882;

$[\alpha]_{\text{D}}^{17} -17.5$ (c 1.0, CHCl_3). (80% *ee*)

Methyl 5-O-[5-O-acetyl-2,3-O-(3-pentylidene)-β-D-ribo-pentofuranosyl]-6-deoxy-2,3-O-isopropylidene-6-[(3R,4S,5R)-3-benzyloxycarbonylamino-4,5-di-O-(tert-butylidimethylsilyl)-piperid-1-yl]-1-(uracil-1-yl)-β-D-glycelo-L-talo-heptofuranuronate (72)



A solution of the compound **70** (253 mg, 494 μmol) in THF-phosphate buffer (1:1, pH 7.2, 10 mL) was treated with NaIO₄ (211 mg, 988 μmol) at room temperature for 2 hours. After sat. aq. Na₂S₂O₃ was added, the mixture was extracted with AcOEt. The organic phase was washed with brine and dried (Na₂SO₄), filtered, and concentrated *in vacuo* to afford a crude dialdehyde **71**. A mixture of compound **58** (123 mg, 165 μmol) and Pd black (120 mg) in MeOH was vigorously stirred under H₂ atmosphere at room temperature for 30 min. The

catalyst was filtered off through a Celite pad, and the filtrate was concentrated *in vacuo* to afford a crude amine. The mixture of the crude amine and the crude dialdehyde **71** in 1,2-DCE (800 μL) was treated with AcOH (28 μL) and pic-BH₃ (35.3 mg, 330 μmol) at room temperature for 90 hours. The reaction mixture was partitioned between AcOEt and 1M aq. HCl. The organic phase was washed with sat. aq. NaHCO₃ and brine, dried (Na₂SO₄), filtered, and concentrated *in vacuo*. The residue was purified by high-flash silica gel column chromatography (20-70% AcOEt/hexane) to afford **72** (85.2 mg, 78.1 μmol, 47% over 2 steps) as a white solid.

¹H NMR (CDCl₃, 500 MHz) δ 8.25 (br s, 1H, NH-3), 7.34-7.28 (m, 6H, Ph, H-6), 6.13 (d, NH-3'', J_{NH-3'',3'''} = 8.6 Hz), 5.70 (dd, 1H, H-5, J_{5,6} = 8.0, J_{5,NH-3} = 1.7 Hz), 5.49 (s, 1H, H-1'), 5.11 (s, 2H, benzyl), 5.04-5.03 (m, 2H, H-2', H-1''), 4.81 (dd, 1H, H-3', J_{3',2'} = 6.6, J_{3',4'} = 3.8 Hz), 4.60 (d, 1H, H-2'', J_{2'',3''} = 6.3 Hz), 4.50 (d, 1H, H-3'', J_{3'',2''} = 6.3 Hz), 4.42 (dd, 1H, H-4', J_{4',5'} = 6.9, J_{4',3'} = 2.9 Hz), 4.31-4.28 (m, 2H, H-5'', H-4''), 4.00 (dd, 1H, H-5'', J_{5'',5'''} = 11.5, J_{5'',4''} = 7.5 Hz), 3.81-3.73 (m, 6H, OMe, H-3''', H-4''', H-5'''), 3.56 (d, 1H, H-6', J_{6',5'} = 5.7 Hz), 3.27 (d, 1H, H-2''', J_{2''',2''} = 10.9 Hz), 2.97 (t, 1H, H-6''', J_{6''',5'''} = J_{6''',6'''} = 10.3 Hz), 2.67 (d, 1H, H-2''', J_{2''',2''} = 11.2 Hz), 2.35 (br s, 1H, H-6'''), 2.06 (s, 3H, OAc), 1.61 (m, 2H, CH₂CH₃), 1.48 (q, 2H, CH₂CH₃, J = 7.5 Hz), 1.41 (s, 3H, CCH₃), 1.26 (s, 3H, CCH₃), 0.92 (s, 9H, ^tBu), 0.87 (s, 9H, ^tBu), 0.89-0.79 (m, 6H, CH₂CH₃×2), 0.14 (s, 3H, SiMe), 0.09 (s, 3H, SiMe), 0.03 (s, 3H, SiMe), 0.02 (s, 3H, SiMe);

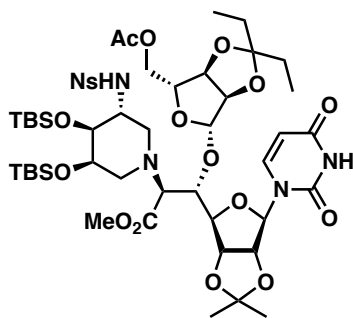
¹³C NMR (CHCl₃, 100 MHz) δ 170.5, 169.5, 163.2, 156.1, 150.2, 143.1, 136.8, 128.6, 128.4, 128.2, 116.9, 114.6, 112.3, 102.8, 95.7, 89.7, 86.4, 84.3, 84.2, 82.0, 81.8, 80.7, 80.7, 70.6, 68.3, 68.1, 66.6, 64.5, 54.6, 52.4, 51.6, 45.6, 29.8, 29.6, 28.9, 26.6, 26.2, 25.9, 24.9, 20.9, 18.4, 18.2, 8.56, 7.46, -4.44, -4.57, -4.68;

ESIMS-LR *m/z* 1092 [(M + H)⁺]; ESIMS-HR calcd for C₅₂H₈₃O₁₇N₄Si₂ 1091.5286, found 1091.5333;

[α]_D¹⁹ +3.66 (*c* 1.10, CHCl₃).

NKY16-79, NKY16-80

Methyl 5-O-[5-O-acetyl-2,3-O-(3-pentylidene)-β-D-ribo-pentofuranosyl]-6-deoxy-2,3-O-isopropylidene-6-[(3R,4S,5R)-3-(2-nitrobenzenesulfonylamino)-4,5-di-O-(tert-butylidimethylsilyl)-piperid-1-yl]-1-(uracil-1-yl)-β-D-glycelo-L-talo-heptofuranuronate (73)



A mixture of compound **72** (33.3 mg, 30.5 μmol) and Pd black (30 mg) in MeOH (1 mL) was vigorously stirred under H₂ atmosphere at room temperature for 2 hours. The catalyst was filtered off through a Celite pad, and the filtrate was concentrated *in vacuo* to afford a crude amine. A solution of the crude amine and Et₃N (12.8 μL, 91.5 μmol) in CH₂Cl₂ was treated with NsCl (10.1 mg, 45.8 μmol) at room temperature for 14 hours. The reaction mixture was partitioned between AcOEt and sat. *aq.* NaHCO₃, and the organic phase was washed with H₂O and brine, dried (Na₂SO₄), filtered, and concentrated *in vacuo*. The residue was purified by preparative TLC (5% MeOH/CHCl₃) to afford **73** (9.2 mg, 8.1 μmol, 27% over 2 steps) as a white solid.

¹H NMR (CDCl₃, 500 MHz) δ 8.39 (s, 1H, NH-3), 8.16-8.15 (m, 1H, Ns), 7.81-7.80 (m, 1H, Ns), 7.74-7.72 (m, 2H, Ns), 7.39 (d, 1H, H-6, *J*_{6,5} = 8.0 Hz), 6.39 (d, 1H, NH-3'', *J*_{NH-3'', 3''} = 8.6 Hz), 5.72 (dd, 1H, H-5, *J*_{5,6} = 8.0, *J*_{5,NH-3} = 2.3 Hz), 5.61 (d, 1H, H-1', *J*_{1',2'} = 2.3 Hz), 5.11 (dd, 1H, H-2', *J*_{2',3'} = 6.9, *J*_{2',1'} = 2.3 Hz), 5.07 (s, 1H, H-1''), 4.83 (dd, 1H, H-3', *J*_{3',2'} = 6.9, *J*_{3',2''} = 3.5 Hz), 4.62 (d, 1H, H-2'', *J*_{2'',3''} = 6.3 Hz), 4.55-4.52 (m, 2H, H-4', H-3''), 4.34 (t, 1H, H-4'', *J*_{4'',5''} = *J*_{4',5''} = 6.9 Hz), 4.29 (t, 1H, H-5', *J*_{5',4'} = *J*_{5',6'} = 6.3 Hz), 4.01-3.91 (m, 3H, H-5''×2, H-5'''), 3.71 (s, 3H, OMe), 3.60 (br s, 1H, H-4'''), 3.56 (d, 1H, H-6', *J*_{6',5'} = 5.7 Hz), 3.38 (d, 1H, H-3''', *J* = 5.7 Hz), 3.24 (d, 1H, H-2''', *J*_{2''',2''} = 11.5 Hz), 2.96 (t, 1H, H-6''', *J*_{6''',5''} = *J*_{6'',6''} = 10.3 Hz), 2.69 (d, 1H, H-2'', *J*_{2'',2''} = 12.1 Hz), 2.35 (dd, 1H, H-6'', *J*_{6'',6''} = 10.3, *J*_{6'',5''} = 4.6 Hz), 2.07 (s, 3H, OAc), 1.63 (s, 3H, CCH₃), 1.63-1.58 (m, 2H, CH₂CH₃), 1.53 (q, 2H, CH₂CH₃, *J* = 7.5 Hz), 1.39 (s, 3H, CCH₃), 0.87-0.83 (m, 24H, ^tBu×2, CH₂CH₃×2), -0.01 (s, 3H, SiMe), -0.03 (s, 6H, SiMe), -0.06 (s, 3H, SiMe);

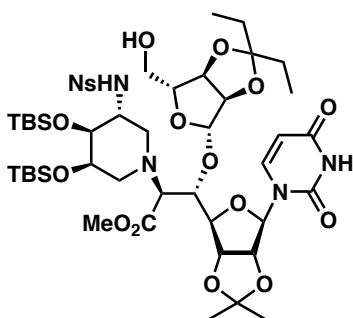
¹³C NMR (CDCl₃, 125 MHz) δ 170.6, 169.5, 162.8, 150.2, 148.1, 143.4, 134.6, 133.6, 132.7, 131.4, 125.2, 117.0, 115.1, 112.3, 102.8, 96.0, 89.0, 86.3, 84.2, 84.0, 81.9, 81.0, 70.9, 68.0, 67.7, 64.6, 55.1, 54.7, 51.7, 46.2, 29.8, 29.7, 29.1, 26.8, 26.0, 25.9, 25.1, 21.0, 18.2, 18.2, 8.62, 7.56, 0.15, -4.49, -4.63, -4.81;

ESIMS-LR *m/z* 1143 [(M + H)⁺]; ESIMS-HR calcd for C₅₀H₈₀N₅O₁₉SSi 1142.4701, found 1142.4690;

[α]_D²⁰ +25.1 (*c* 0.92, CHCl₃).

NKY13-40

Methyl 5-O-[2,3-O-(3-pentylidene)-β-D-ribo-pentofuranosyl]-6-deoxy-2,3-O-isopropylidene-6-[(3R,4S,5R)-3-(2-nitrobenzenesulfonylamino)-4,5-di-O-(tert-butylidimethylsilyl)-piperid-1-yl]-1-(uracil-1-yl)-β-D-glycelo-L-talo-heptofuranuronate (74)



A mixture of metallic Sm (1.5 mg, 10.1 μmol) and I₂ (2.6 mg, 10.1 μmol) in MeOH (0.5 mL) was stirred at room temperature for 5 minutes. Compound **73** (11.5 mg, 10.1 μmol) was added to the mixture and stirred at room temperature for 22 hours. The reaction mixture was partitioned between AcOEt and 1M *aq.* HCl, and the organic phase was washed with H₂O and brine, dried (Na₂SO₄), filtered, and concentrated *in vacuo*. The residue was purified by high-flash silica gel column chromatography (20-70% AcOEt/hexane) to afford **74** (8.8 mg, 8.0

μmol , 79%) as a white solid.

^1H NMR (CDCl_3 , 400 MHz) δ 8.50 (s, 1H, NH -3), 8.16-8.14 (m, 1H, Ns), 7.79-7.71 (m, 3H, Ns), 7.31 (d, 1H, H-6, $J_{6,5} = 7.8$ Hz), 6.66 (d, 1H, NH -3''', $J_{\text{NH}-3''', 3''} = 8.2$ Hz), 5.73 (dd, 1H, H-5, $J_{5,6} = 8.2$, $J_{5,\text{NH}-3} = 2.3$ Hz), 5.59 (d, 1H, H-1', $J_{1',2'} = 1.8$ Hz), 5.11 (br s, 2H, H-2', H-1''), 4.81 (dd, 1H, H-3', $J_{3',2'} = 6.7$, $J_{3',4'} = 3.5$ Hz), 4.63 (d, 1H, H-2'', $J_{2'',3''} = 6.0$ Hz), 4.57 (d, 1H, H-3'', $J_{3'',2''} = 6.0$ Hz), 4.49 (dd, 1H, H-4', $J_{4',5'} = 7.6$, $J_{4',3'} = 3.5$ Hz), 4.40 (br s, 1H, H-4''), 4.28 (t, 1H, H-5', $J_{5',4'} = J_{5',6'} = 6.9$ Hz), 3.96 (ddd, 1H, H-5''', $J_{5''',6''} = 10.4$, $J_{5''',6''} = 4.6$, $J_{5''',4''} = 2.4$ Hz), 3.72 (s, 3H, OMe), 3.70 (t, 1H, H-5'', $J = 3.6$ Hz), 3.66 (s, 1H, H-4'''), 3.55-3.47 (m, 2H, H-6', H-5''), 3.35 (br d, 1H, H-3''', $J = 4.1$ Hz), 3.20 (d, 1H, H-2''', $J_{2''',2''} = 11.4$ Hz), 3.03 (dd, 1H, OH-5'', $J = 9.2$, $J = 4.6$ Hz), 2.86 (t, 1H, H-6''', $J_{6''',5''} = J_{6''',6''} = 10.5$ Hz), 2.74 (d, 1H, H-2''', $J_{2''',2''} = 12.4$ Hz), 2.38 (dd, 1H, H-6''', $J_{6''',6''} = 10.3$, $J_{6''',5''} = 4.8$ Hz), 1.63-1.60 (m, 5H, CCH_3 , CH_2CH_3), 1.52 (q, 2H, CH_2CH_3 , $J = 7.5$ Hz), 1.38 (s, 3H, CCH_3), 0.85-0.81 (m, 24H, $^t\text{Bu} \times 2$, $\text{CH}_2\text{CH}_3 \times 2$), 0.02 (s, 3H, SiMe), -0.02 (s, 6H, SiMe $\times 2$), -0.03 (s, 3H, SiMe);

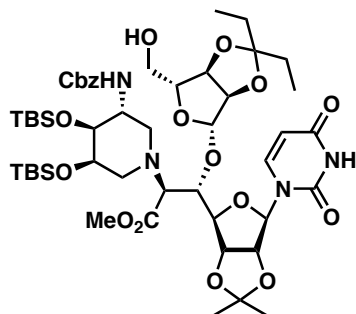
^{13}C NMR (CDCl_3 , 100 MHz) δ 170.3, 162.8, 150.1, 148.2, 143.4, 143.3, 133.7, 132.5, 131.5, 125.1, 116.7, 115.1, 113.4, 102.8, 96.4, 89.1, 88.9, 87.0, 84.2, 82.0, 81.1, 70.9, 68.5, 67.6, 63.7, 54.8, 54.6, 51.9, 46.3, 29.9, 29.7, 29.1, 26.8, 26.1, 25.9, 25.1, 18.3, 18.2, 8.58, 7.57, 0.14, -4.43, -4.65, -4.81;

ESIMS-LR m/z 1101 [(M + H) $^+$]; ESIMS-HR calcd for $\text{C}_{48}\text{H}_{78}\text{N}_5\text{O}_{18}\text{SSi}_2$ 1100.4596, found 1100.4637;

$[\alpha]_{\text{D}}^{19} +16.6$ (c 0.76, CHCl_3).

NKY13-9

Methyl 5-*O*-[2,3-*O*-(3-pentylidene)- β -*D*-ribo-pentofuranosyl]-6-deoxy-2,3-*O*-isopropylidene-6-[(3*R*,4*S*,5*R*)-3-benzyloxycarbonylamino-4,5-di-*O*-(*tert*-butyldimethylsilyl)-piperid-1-yl]-1-(uracil-1-yl)- β -*D*-glycelo-*L*-talohexofuranuronate (76)



A mixture of metallic Sm (4.0 mg, 26.5 μmol) and I_2 (3.4 mg, 26.5 μmol) in MeOH (1 mL) was stirred at room temperature for 5 minutes. Compound **72** (28.9 mg, 26.5 μmol) was added to the mixture and stirred at room temperature for 24 hours. The reaction mixture was partitioned between AcOEt and 1M *aq.* HCl, and the organic phase was washed with H_2O and brine, dried (Na_2SO_4), filtered, and concentrated *in vacuo*. The residue was purified by high-flash silica gel column chromatography (10-50% AcOEt/hexane) to afford **76** (25.7 mg, 24.5 μmol ,

92%) as a white solid.

^1H NMR (CDCl_3 , 500 MHz) δ 8.87 (s, 1H, NH -3), 7.33-7.25 (m, 6H, Ph, H-6), 6.40 (d, NH -3''', $J_{\text{NH}-3''', 3''} = 7.5$ Hz), 5.72 (d, 1H, H-5, $J_{5,6} = 8.0$ Hz), 5.54 (s, 1H, H-1'), 5.15-5.02 (m, 4H, benzyl, H-2', H-1''), 4.80 (br d, 1H, H-3', $J = 3.5$ Hz), 4.62 (d, 1H, H-2'', $J_{2'',3''} = 5.8$ Hz), 4.59 (d, 1H, H-3'', $J_{2'',3''} = 5.8$ Hz), 4.31-4.25 (m, 3H, H-4', H-5', H-4''), 3.88 (s, 1H, H-4'''), 3.83 (br d, 1H, H-5''', $J_{5''',6''} = 7.5$ Hz), 3.73 (s, 4H, OMe, H-3'''), 3.66 (d, 1H, H-5'', $J_{5'',5''} = 12.0$ Hz), 3.51 (d, 1H, H-6', $J_{6',5'} = 6.3$ Hz), 3.42 (br s, 1H, H-5''), 3.28 (br s, 1H, OH-5''), 3.16 (d, 1H, H-2''', $J_{2''',2''} = 12.1$ Hz), 2.87 (t, 1H, H-6''', $J_{6''',5''} = J_{6''',6''} = 10.1$ Hz), 2.71 (d, 1H, H-2''', $J_{2''',2''} = 12.1$ Hz), 2.36 (br s, 1H, H-6'''), 1.61-1.55 (m, 2H, CH_2CH_3), 1.50 (q, 2H, CH_2CH_3 , $J = 7.3$ Hz), 1.44 (s, 3H, CCH_3), 1.29 (s, 3H, CCH_3), 0.90 (s, 9H, ^tBu), 0.87 (s, 9H, ^tBu), 0.90-0.79 (m, 6H, $\text{CH}_2\text{CH}_3 \times 2$), 0.14 (s, 3H, SiMe), 0.09 (s, 3H, SiMe), 0.04-0.04 (m, 6H, SiMe $\times 2$);

^{13}C NMR (CDCl_3 , 100 MHz) δ 169.9, 163.0, 156.2, 150.1, 142.9, 136.8, 128.6, 128.2, 128.1, 116.6, 114.7, 113.3, 102.8, 95.5, 89.3, 88.8, 87.0, 84.6, 82.0, 81.6, 80.5, 70.3, 68.6, 68.1, 66.5, 63.4, 54.5, 52.3, 51.8, 45.5, 29.8, 29.0,

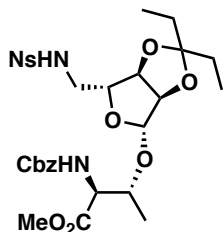
26.8, 26.2, 25.9, 25.0, 18.4, 18.2, 8.57, 7.51, -4.45, -4.56, -4.70;

ESIMS-LR m/z 1050 $[(M + H)^+]$; ESIMS-HR calcd for $C_{50}H_{81}O_{16}N_4Si_2$ 1049.5181, found 1049.5179;

$[\alpha]_D^{22} +0.55$ (c 1.20, $CHCl_3$).

NKY7-8

Methyl (2S,3R)-3-O-[5-deoxy-5-(2-nitrobenzenesulfonylamino)-2,3-O-(3-pentylidene)- β -D-ribo-pentofuranosyl]-2-benzyloxycarbonylamino-3-hydroxybutanoate (94)



A solution of **93** (2.78 g, 5.64 mmol) in benzene-THF (1:1, 50 mL) was treated with PPh_3 (4.43 g, 16.9 mmol) and H_2O (5 mL), and the resulting mixture was heated at 50 °C for 8 hours. The reaction mixture was partitioned between AcOEt and brine. The organic phase was dried (Na_2SO_4), filtered, and concentrated *in vacuo*. The residue was roughly purified for excluding PPh_3 by silica gel column chromatography (1-5% MeOH/ $CHCl_3$), and the fractions containing amine were collected and concentrated *in vacuo*. A solution of the amine and Et_3N

(1.57 mL, 11.3 mmol) in CH_2Cl_2 (60 mL) was treated with $NsCl$ (1.62 g, 7.33 mmol) at 0 °C, then warmed to room temperature and stirred for 7 hours. The reaction mixture was quenched with sat. *aq.* $NaHCO_3$ and extracted with AcOEt. The organic phase was washed with brine and dried (Na_2SO_4), filtered, and concentrated *in vacuo*. The residue was purified by high-flash silica gel column chromatography (30-50% AcOEt/hexane) to afford **94** (2.92 g, 4.48 mmol, 79% over 2 steps) as a yellow foam.

1H NMR ($CDCl_3$, 400 MHz) δ 8.17-8.15 (m, 1H, Ns), 7.79-7.77 (m, 1H, Ns), 7.68-7.66 (m, 2H, Ns), 7.38-7.30 (m, 5H, Ph), 6.13 (t, 1H, NH -5', $J_{NH-5',5''} = 6.4$ Hz), 5.52 (d, 1H, NH -2, $J_{NH-2,2} = 9.2$ Hz), 5.12 (m, 3H, H-1', benzyl), 4.62 (m, 2H, H-2', H-3'), 4.40 (dd, 1H, H-2, $J_{2,NH-2} = 9.4$, $J_{2,3} = 2.1$ Hz), 4.35-4.31 (m, 1H, H-3), 4.25 (t, 1H, H-4', $J_{4',5'} = 6.0$ Hz), 3.70 (s, 3H, OMe), 3.28-3.21 (m, 1H, H-5'), 3.15-3.08 (m, 1H, H-5'), 1.64 (q, 2H, CH_2CH_3 , $J = 7.6$ Hz), 1.57 (q, 2H, CH_2CH_3 , $J = 7.5$ Hz), 1.27 (d, 3H, Me-4, $J_{Me-4,3} = 6.4$ Hz), 0.84 (t, 3H, CH_2CH_3 , $J = 7.6$ Hz), 0.84 (t, 3H, CH_2CH_3 , $J = 7.6$ Hz);

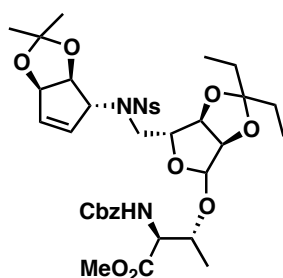
^{13}C NMR ($CDCl_3$, 100 MHz) δ 171.5, 156.7, 148.1, 136.3, 134.5, 133.6, 132.9, 130.9, 128.7, 128.4, 128.2, 125.4, 117.2, 107.8, 86.3, 86.2, 82.2, 74.0, 67.4, 58.7, 52.9, 46.5, 29.4, 28.9, 16.6, 8.53, 7.50;

ESIMS-LR m/z 674 $[(M + Na)^+]$; ESIMS-HR calcd for $C_{29}H_{37}O_{12}N_3NaS$ 674.1990, found 674.1992;

$[\alpha]_D^{25} +3.85$ (c 0.77, $CHCl_3$).

NKY7-34

Methyl (2S,3R)-3-O-{5-deoxy-N-[(1R,2S,3R)-2,3-O-isopropylidene-4-cyclopentenyl]-5-(2-nitrobenzenesulfonylamino)-2,3-O-(3-pentylidene)- β -D-ribo-pentofuranosyl]-2-benzyloxycarbonylamino-3-hydroxybutanoate (95)



A mixture of **94** (299 mg, 459 μ mol), **61** (93.2 mg, 597 μ mol) and PPh_3 (181 mg, 689 μ mol) in THF (5 mL) was treated with DMEAD (161 mg, 689 μ mol) at 50 °C for 1 hours. The reaction mixture was cooled to room temperature, then partitioned between AcOEt and H_2O . The organic phase was washed with brine, dried (Na_2SO_4), filtered, and concentrated *in vacuo*. The residue was purified by high-flash silica gel column chromatography (20-40% AcOEt/hexane) to afford **95** (377 mg, 477 μ mol, quant.) as a

white foam.

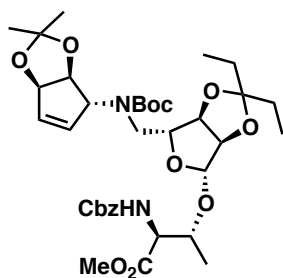
^1H NMR (CDCl_3 , 400 MHz) δ 8.09 (d, 1H, Ns, $J = 7.8$ Hz), 7.63 (d, 1H, Ns, $J = 8.0$ Hz), 7.52 (td, 1H, Ns, $J = 8.1$, $J = 1.4$ Hz), 7.40 (m, 5H, Ph), 6.04 (dt, 1H, H-4'', $J_{4'',5''} = 5.5$, $J_{4'',3''} = 1.8$ Hz), 5.75 (d, 1H, NH-2, $J_{\text{NH-2,2}} = 9.6$ Hz), 5.72 (dd, 1H, H-5'', $J_{5'',4''} = 6.0$, $J_{5'',1''} = 2.3$ Hz), 5.34 (d, 1H, H-3'', $J_{3'',2''} = 5.5$ Hz), 5.10 (d, 2H, benzyl, $J = 3.2$ Hz), 5.04 (s, 1H, H-1'), 5.00 (d, 1H, H-2', $J_{2',3'} = 6.0$ Hz), 4.92 (br s, 1H, H-1''), 4.61 (d, 1H, H-3', $J_{3',2'} = 6.0$ Hz), 4.36-4.30 (m, 3H, H-2, H-3, H-2''), 4.13 (dd, 1H, H-4', $J_{4',5'} = 11.0$, $J_{4',5'} = 3.2$ Hz), 3.71-3.58 (m, 4H, H-5'a, OMe), 2.66 (dd, 1H, H-5'), 1.66 (q, 2H, CH_2CH_3 , $J = 7.7$ Hz), 1.54 (q, 2H, CH_2CH_3 , $J = 7.5$ Hz), 1.36 (s, 3H, CCH_3), 1.28 (d, 3H, Me-4, $J_{\text{Me-4,3}} = 6.4$ Hz), 1.19 (s, 3H, CCH_3), 0.90-0.83 (m, 6H, $\text{CH}_2\text{CH}_3 \times 2$);

^{13}C NMR (CDCl_3 , 100 MHz) δ 171.2, 156.9, 148.3, 137.2, 136.5, 133.8, 132.9, 131.8, 131.6, 131.0, 128.7, 128.3, 128.1, 123.9, 116.7, 111.4, 108.8, 86.0, 85.5, 84.5, 82.1, 81.9, 75.0, 71.2, 67.1, 58.8, 58.8, 52.5, 49.1, 29.3, 28.9, 27.2, 25.5, 17.5, 8.58, 7.55;

ESIMS-LR m/z 812 [$(\text{M} + \text{Na})^+$]; ESIMS-HR calcd for $\text{C}_{37}\text{H}_{47}\text{O}_{14}\text{N}_3\text{NaS}$ 812.2671, found 812.2679; $[\alpha]_{\text{D}}^{26} +32.7$ (c 1.02, CHCl_3).

NKY8-81, 8-82

Methyl (2S,3R)-3-O-{5-tert-butoxycarbonylamino-5-deoxy-N-[(1R,2S,3R)-2,3-O-isopropylidene-4-cyclopentenyl]-2,3-O-(3-pentylidene)- β -D-ribo-pentofuranosyl}-2-benzyloxycarbonylamino-3-hydroxybutanoate (96)



A mixture of **95** (520 mg, 658 μmol) and K_2CO_3 (118 mg, 855 μmol) in MeCN (7 mL) was treated with 4- t Bu-benzenethiol (170 μL , 987 μmol) at 0 $^\circ\text{C}$ and stirred for 10 hours at room temperature. The reaction mixture was added 4- t Bu-benzenethiol (170 μL , 987 μmol) and K_2CO_3 (118 mg, 855 μmol) and stirred for 24 hours. The reaction mixture was partitioned between AcOEt and 1M *aq.* HCl. The organic phase was washed with sat. *aq.* NaHCO_3 , brine, dried (Na_2SO_4), filtered, and concentrated *in vacuo* to afford a crude amine. A solution of the crude amine and Et_3N (184 μL , 1.32 mmol) in THF (7 mL) was treated with Boc_2O (303 μL , 1.32 mmol) at room temperature and stirred for 20 hours. The reaction mixture was partitioned between AcOEt and H_2O , and the organic phase was washed with brine and dried (Na_2SO_4), filtered, and concentrated *in vacuo*. The residue was purified by high-flash silica gel column chromatography (20-40% AcOEt/hexane) to afford **96** (375 mg, 532 μmol , 81% over 2 steps) as a white foam.

^1H NMR (CDCl_3 , 400 MHz) δ 7.38-7.31 (m, 5H, Ph), 6.01 (br s, 1H, H-4'''), 5.76 (d, 1H, H-5'', $J = 3.7$ Hz), 5.32 (br s, 1H, H-3''), 5.13-5.10 (m, 3H, H-1', benzyl), 4.80 (d, 1H, H-2', $J_{2',3'} = 6.4$ Hz), 4.70 (br s, 1H, H-1''), 4.57 (br s, 1H, H-3'), 4.52 (d, 1H, H-2'', $J_{2'',3''} = 6.0$ Hz), 4.37-4.35 (m, 2H, H-2, H-3), 4.13 (dd, 1H, H-4', $J = 10.8$, $J_{4',5'} = 3.9$ Hz), 3.70 (s, 3H, OMe), 3.44 (br s, 1H, H-5'), 2.71 (dd, 1H, H-5', $J_{5',5'} = 14.6$, $J_{5',4'} = 4.1$ Hz), 1.67 (q, 2H, CH_2CH_3 , $J = 7.5$ Hz), 1.54 (q, 2H, CH_2CH_3 , $J = 7.6$ Hz), 1.46 (s, 9H, t Bu), 1.41 (s, 3H, CCH_3), 1.34 (s, 3H, CCH_3), 1.24 (d, 3H, H-4, $J_{4,3} = 6.4$ Hz), 0.91-0.83 (m, 6H, $\text{CH}_2\text{CH}_3 \times 2$);

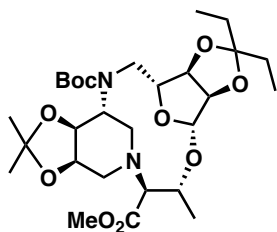
^{13}C NMR (CDCl_3 , 100 MHz) δ 170.9, 156.7, 136.3, 128.7, 128.3, 128.2, 116.7, 111.3, 105.5, 86.3, 84.8, 84.5, 82.4, 81.0, 71.6, 70.2, 67.3, 58.8, 52.5, 49.0, 29.5, 29.1, 28.4, 27.4, 25.7, 15.6, 8.45;

ESIMS-LR m/z 728 [$(\text{M} + \text{Na})^+$]; ESIMS-HR calcd for $\text{C}_{36}\text{H}_{53}\text{N}_2\text{O}_{12}$ 705.3593, found 705.3589;

$[\alpha]_{\text{D}}^{17} -71.9$ (c 0.95, CHCl_3).

NKY8-100

Compound 107



A solution of compound **96** (30.7 mg, 43.6 μmol), $\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]$ (43.2 mg, 131 μmol), K_2CO_3 (18.1 mg, 131 μmol), NaHCO_3 (11.0 mg, 131 μmol), DABCO (4.9 mg, 43.6 μmol) and MeSO_2NH_2 (4.1 mg, 43.6 μmol) in $t\text{BuOH-H}_2\text{O}$ (1:1, 0.8 mL) was treated with $\text{K}_2\text{OsO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (1.6 mg, 4.4 μmol) at room temperature for 27 hours. After *sat. aq.* $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ was added, the mixture was extracted with AcOEt. The organic phase was washed with brine and dried (Na_2SO_4), filtered, and concentrated *in vacuo*. The residue

was purified by short silica gel column chromatography (30-50% AcOEt/hexane), and the fractions containing diol were collected and concentrated *in vacuo*. A solution of the diol in THF-phosphate buffer (2:1, pH 7.2, 1.2 mL) was treated with NaIO_4 (21.8 mg, 102 μmol) at room temperature for 2 hours. After *sat. aq.* $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ was added, the mixture was extracted with AcOEt. The organic phase was washed with brine and dried (Na_2SO_4), filtered, and concentrated *in vacuo*. A mixture of the residue and Pd black (3.0 mg) in MeOH (1 mL) was vigorously stirred under H_2 atmosphere at room temperature for 4 hours. The catalyst was filtered off through Celite pad, and the filtrate was concentrated *in vacuo*. The residue in MeOH (4 mL) was treated with AcOH (24 μL) and Pic-BH₃ (8.7 mg, 81.2 μmol) at room temperature. The resulting mixture was heated at 50 °C for 20 hour. Pic-BH₃ (4.4 mg, 41.1 μmol) was added to the reaction mixture and the solution was stirred at 50 °C for 3 hours. The reaction mixture was partitioned between AcOEt and 1M *aq.* HCl. The organic phase was washed with *sat. aq.* NaHCO_3 and brine, dried (Na_2SO_4), filtered, and concentrated *in vacuo*. The residue was purified by silica gel column chromatography (10-20% AcOEt/hexane) to afford **107** (11.0 mg, 19.3 μmol , 44% over 4 steps) as a white solid.

^1H NMR (CDCl_3 , 400 MHz, 50 °C) δ 5.18 (s, 1H, H-1'), 4.65-4.50 (m, 5H, H-2', H-3', H-4', H-5', H-3''), 4.16-4.11 (m, 2H, H-3, H-5''), 3.87 (d, 1H, H-4'', $J_{4'',5''} = 4.6$ Hz), 3.69 (s, 3H, OMe), 3.42-3.31 (m, 2H, H-5', H-2''), 3.12 (d, 1H, H-2, $J_{2,3} = 10.5$ Hz), 2.78 (m, 1H, H-6'''), 2.62 (dd, 1H, H-2'', $J_{2'',2'''} = 13.3$, $J_{2'',3''} = 4.6$ Hz), 2.15 (br s, 1H, H-6''), 1.69 (q, 2H, CH_2CH_3 , $J = 7.5$ Hz), 1.57-1.44 (m, 14H, CH_2CH_3 , $t\text{Bu}$, CCH_3), 1.32 (s, 3H, CCH_3), 1.11 (d, 3H, H-4, $J_{4,3} = 5.9$ Hz), 0.92 (t, 3H, CH_2CH_3 , $J = 7.3$ Hz), 0.86 (t, 3H, CH_2CH_3 , $J = 7.6$ Hz);

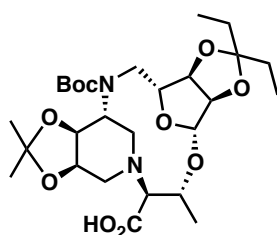
^{13}C NMR (CDCl_3 , 100 MHz, a mixture of rotamers) δ 169.2, 169.1, 155.7, 155.5, 116.8, 116.6, 108.0, 107.8, 107.5, 107.0, 87.6, 87.3, 85.4, 83.1, 83.1, 80.5, 80.4, 76.5, 72.3, 72.2, 71.6, 71.5, 68.9, 54.9, 54.6, 51.2, 50.6, 49.8, 49.1, 48.6, 45.4, 45.0, 29.9, 29.8, 29.7, 29.4, 28.8, 28.5, 28.4, 28.3, 26.6, 26.3, 17.4, 8.56, 8.42, 7.58, 7.37;

ESIMS-LR m/z 593 [(M + H)⁺]; ESIMS-HR calcd for $\text{C}_{28}\text{H}_{46}\text{O}_{10}\text{N}_2\text{Na}$ 593.3045, found 593.3059;

$[\alpha]_{\text{D}}^{26} +31.5$ (c 0.65, CHCl_3).

NKY9-37

Compound 108



To a solution of compound **107** (11.0 mg, 19.3 μmol), 2,6-di- $t\text{Bu-p-cresol}$ (0.9 mg, 4.08 μmol) and Ph_3SiSH (16.9 mg, 57.9 μmol) in DMF (1 mL) was added Cs_2CO_3 (18.9 mg, 57.9 μmol) and the mixture was stirred at 90 °C for 12 hours. Ph_3SiSH (16.9 mg, 57.9 μmol) and Cs_2CO_3 (18.9 mg, 57.9 μmol) were added to the reaction mixture, and the solution was stirred at 90 °C for 24 hours. After cooling down to room temperature, the reaction mixture was partitioned between AcOEt and 1 M *aq.* HCl. The organic phase

was washed with brine and dried (Na_2SO_4), filtered, and concentrated *in vacuo*. The residue was purified by silica

gel column chromatography (1-10% MeOH/CHCl₃) to afford **108** (10.9 mg, 19.6 μmol, quant.) as a white solid.

¹H NMR (CDCl₃, 400 MHz, a mixture of rotamers) δ 5.20 (s, 1H, H-1'), 4.66-4.49 (m, 5H, H-2', H-3', H-4', H-5', H-3''), 4.23-4.10 (m, 2H, H-3, H-5''), 3.88 (d, 1H, H-4'', *J*_{4'',5''} = 4.6 Hz), 3.45-3.29 (m, 2H, H-5', H-2''), 3.13 (t, 1H, H-2, *J*_{2,3} = 11.0 Hz), 2.80 (dd, 1H, H-6'', *J*_{6'',6''} = 10.1, *J*_{6'',6''} = 7.4 Hz), 2.67 (td, 1H, H-2'', *J*_{2'',2''} = 13.4, *J*_{2'',3''} = 5.3 Hz), 2.30-2.19 (m, 1H, H-6''), 1.71-1.65 (m, 2H, CH₂CH₃), 1.60-1.45 (m, 14H, CH₂CH₃, CCH₃, ^tBu), 1.33-1.32 (m, 3H, CCH₃), 1.18 (d, 3H, H-4, *J*_{4,3} = 5.5 Hz), 0.94-0.84 (m, 6H, CH₂CH₃);

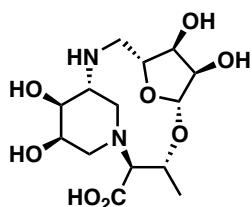
¹³C NMR (CDCl₃, 100 MHz, a mixture of rotamers) δ 172.2, 172.2, 155.7, 155.6, 116.9, 116.6, 108.2, 107.9, 107.5, 107.0, 87.6, 87.2, 85.5, 85.4, 83.1, 83.1, 80.7, 80.6, 72.0, 71.9, 71.6, 71.5, 68.6, 54.8, 54.5, 50.6, 49.8, 49.2, 48.7, 45.3, 44.9, 29.9, 29.7, 29.4, 28.8, 28.6, 28.4, 28.3, 26.6, 26.3, 17.5, 8.59, 8.45, 7.61, 7.39;

ESIMS-LR *m/z* 555 [(M - H)⁻]; ESIMS-HR calcd for C₂₇H₄₃O₁₀N₂ 555.2923, found 555.2926;

[α]_D²⁰ +31.5 (*c* 1.09, CHCl₃).

NKY9-43

Compound 109



Compound **108** (10.9 mg, 19.6 μmol) was treated with *aq.* 80% TFA (1 mL) at room temperature for 24 hours. The mixture was concentrated *in vacuo*, the residue was purified by C18 reverse phase column chromatography (100% H₂O, 0.1% TFA), and the fractions containing compound **109** were collected and concentrated *in vacuo*. The residue was partitioned between AcOEt and H₂O. The aqueous phase was concentrated *in vacuo* to afford **109** (7.1 mg, 12.3 μmol, 63%) as a white solid.

¹H NMR (D₂O, 500 MHz) δ 5.09 (s, 1H, H-1'), 4.45 (dd, 1H, H-3', *J* = 8.9, 4.3 Hz), 4.13-4.04 (m, 5H, H-3, H-2', H-4', H-4'', H-5''), 3.64 (d, 1H, H-5', *J*_{5',5'} = 14.9 Hz), 3.42 (d, 1H, H-2, *J*_{2,3} = 10.3 Hz), 3.37-3.32 (m, 2H, H-2'', H-3''), 3.14 (d, 1H, H-2'', *J*_{2'',3''} = 11.5 Hz), 3.07-2.97 (m, 3H, H-5', H-6''×2), 1.23 (d, 3H, H-4, *J*_{4,3} = 5.7 Hz);

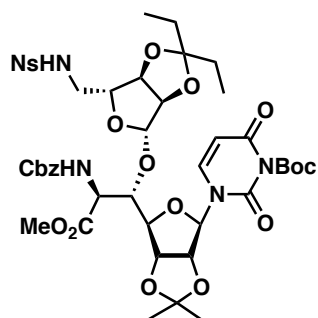
¹³C NMR (D₂O, 1% CD₃OD, 100 MHz) δ 164.0, 104.3, 82.0, 75.4, 70.1, 69.5, 68.4, 64.7, 60.6, 53.4, 50.0, 49.8, 46.0, 16.8;

ESIMS-LR *m/z* 349 [(M + H)⁺]; ESIMS-HR calcd for C₁₄H₂₅O₈N₂ 349.1605, found 349.1610

[α]_D¹⁶ -18.3 (*c* 0.71, DMSO).

NKY8-36, 8-37, 8-39

Methyl 5-*O*-[5-deoxy-5-(2-nitrobenzenesulfonylamino)-2,3-*O*-(3-pentylidene)-β-D-ribo-pentofuranosyl]-6-benzyloxycarbonylamino-6-deoxy-2,3-*O*-isopropylidene-1-(3-*tert*-butoxycarbonyluracil-1-yl)-β-D-glycelo-L-talo-heptofuranuronate (**113**)



A mixture of **111** (200 mg, 274 μmol), DMAP (16.7 mg, 137 μmol) and MS4A (300 mg) in THF (3 mL) was treated with Boc₂O (62.9 μL, 274 μmol) at room temperature, and stirred for 1 hour. An Additional portion of Boc₂O (12.6 μL, 54.8 μmol) was added to the reaction mixture, and stirred for 20 minutes. The reaction was quenched with MeOH, then filtered through a Celite pad. The solution was partitioned between AcOEt and sat. *aq.* NH₄Cl. The organic phase was washed with H₂O, brine and dried (Na₂SO₄), filtered, and concentrated *in vacuo*. The residue was dissolved in benzene-THF (1:1, 4 mL) and added PPh₃ (144 mg, 548 μmol) and H₂O (1 mL) at room temperature.

The resulting mixture was heated at 45 °C for 16 hours. The reaction mixture was partitioned between AcOEt and 1M *aq.* HCl. The organic phase was washed with H₂O, brine and dried (Na₂SO₄), filtered, and concentrated *in vacuo*. The residue was roughly purified for excluding PPh₃ by silica gel column chromatography (1-20% MeOH/CHCl₃), and the fractions containing the amine were collected and concentrated *in vacuo*. A solution of the amine and Et₃N (198 μL, 1.42 mmol) in THF (3 mL) was treated with NsCl (39.4 mg, 178 μmol) at 0 °C. After stirring for 20 minutes at room temperature was washed with brine and dried (Na₂SO₄), filtered, and concentrated *in vacuo*. The residue was purified at room temperature, the reaction mixture was partitioned between AcOEt and sat. *aq.* NaHCO₃. The organic phase was purified by high-flash silica gel column chromatography (40-70% AcOEt/hexane) to afford **113** (158 mg, 160 μmol, 58% over 3 steps) as a white foam.

¹H NMR (CDCl₃, 400 MHz) δ 8.10 (dd, 1H, Ns), 7.70-7.59 (m, 3H, Ns), 7.37-7.30 (m, 5H, Ph), 7.27-7.25 (m, 1H, H-6), 6.27 (t, 1H, NH-5", *J*_{NH-5",5"} = 6.7 Hz), 5.77 (d, 1H, NH-6', *J*_{NH-6',6'} = 9.6 Hz), 5.73 (d, 1H, H-5, *J*_{5,6} = 8.2 Hz), 5.54 (d, 1H, H-1', *J*_{1',2'} = 1.8 Hz), 5.19-5.07 (m, 2H, benzyl), 5.04 (s, 1H, H-1"), 5.00 (dd, 1H, H-2', *J*_{2',3'} = 6.6, *J*_{2',1'} = 1.6 Hz), 4.83 (dd, 1H, H-3', *J*_{3',2'} = 6.4, *J*_{3',4'} = 4.6 Hz), 4.70 (dd, 1H, H-6', *J*_{6',NH-6'} = 10.1, *J*_{6',5'} = 1.8 Hz), 4.67 (m, 2H, H-2", H-3"), 4.42 (dd, 1H, H-5', *J*_{5',4'} = 8.2, *J*_{5',6'} = 1.8 Hz), 4.29-4.24 (m, 2H, H-4', H-4"), 3.76 (s, 3H, OMe), 3.24-3.19 (m, 2H, H-5"×2), 1.60 (s, 9H, ^tBu), 1.60-1.47 (m, 4H, CH₂CH₃×2), 1.48 (s, 3H, CCH₃), 1.31 (s, 3H, CCH₃), 0.81-0.77 (m, 6H, CH₂CH₃×2);

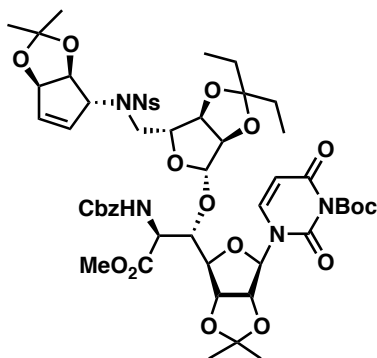
¹³C NMR (CDCl₃, 100 MHz) δ 171.5, 160.2, 156.3, 148.6, 148.0, 147.4, 142.2, 136.4, 134.2, 133.5, 132.7, 130.7, 128.6, 128.3, 128.1, 125.1, 117.0, 115.0, 113.0, 102.5, 95.7, 87.3, 87.2, 86.7, 86.3, 84.4, 82.1, 81.0, 80.2, 67.3, 55.1, 53.2, 46.1, 29.3, 28.9, 27.5, 27.1, 25.4, 8.54, 7.54;

ESIMS-LR *m/z* 1012 [(M + Na)⁺]; ESIMS-HR calcd for C₄₄H₅₅N₅O₁₉NaS 1012.3104, found 1012.3104;

[α]_D¹⁵ +56.7 (*c* 0.76, CHCl₃).

NKY10-78

Methyl 5-O-{5-deoxy-N-[(1*R*,2*S*,3*R*)-2,3-*O*-isopropylidene-4-cyclopentenyl]-5-(2-nitrobenzenesulfonylamino)-2,3-*O*-(3-pentylidene)-β-D-ribo-pentofuranosyl}-6-benzoyloxycarbonylamino-6-deoxy-2,3-*O*-isopropylidene-1-(3-*tert*-butoxycarbonyluracil-1-yl)-β-D-glycelo-L-talo-heptofuranuronate (114**)**



Compound **113** (40.0 mg, 40.4 μmol), *rac*-**63** (19.9 mg, 92.9 μmol) and Et₃N (16.9 μL, 121 μmol) were dissolved in THF (0.5 mL). Ligand **L1** (4.5 mg, 6.5 μmol) and Pd₂(dba)₃·CHCl₃ (1.7 mg, 1.6 μmol) were dissolved in THF (0.5 mL) and stirred for 30 minutes, then this solution was slowly added to the mixture at 0 °C. The mixture was stirred for 6 hours at room temperature. The reaction mixture was partitioned between AcOEt and sat. *aq.* NH₄Cl. The organic phase was washed with H₂O, brine and dried (Na₂SO₄), filtered, and concentrated *in vacuo*. The residue was purified by flash silica gel column

chromatography (20-30% acetone/hexane) to afford **114** (25.6 mg, 22.7 μmol, 56%) as a white foam and **113** (13.3 mg, 13.4 μmol, 33%) as a white foam.

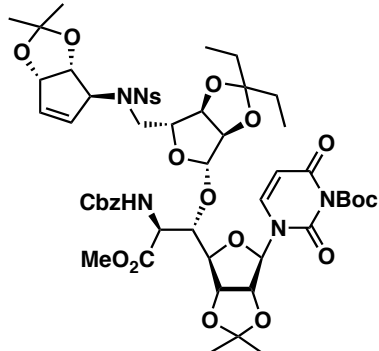
¹H NMR (CDCl₃, 400 MHz) δ 8.10 (d, 1H, Ns, *J* = 8.2 Hz), 7.62 (td, 1H, Ns, *J* = 7.8, 1.3 Hz), 7.46 (td, 1H, Ns, *J* = 7.8, *J* = 0.9 Hz), 7.35-7.34 (m, 6H, H-6, Ph), 6.96 (d, 1H, Ns, *J* = 8.2 Hz), 6.05-6.03 (m, 2H, H-4"', NH-6'), 5.78-5.76 (m, 2H, H-5, H-5'''), 5.59 (d, 1H, H-1', *J*_{1',2'} = 2.3 Hz), 5.38 (d, 1H, H-3''', *J*_{3''',2'''} = 5.0 Hz), 5.14-5.01 (m, 3H, H-2'', benzyl), 4.96-4.94 (m, 2H, H-1'', H-1'''), 4.90 (dd, 1H, H-2', *J*_{2',3'} = 6.7, *J*_{2',1'} = 2.2 Hz), 4.67-4.65 (m, 2H, H-6',

H-3"), 4.45 (dd, 1H, H-5', $J_{5',4'} = 7.6$, $J_{5',6'} = 1.6$ Hz), 4.26 (dd, 1H, H-4', $J_{4',5'} = 7.6$, $J_{4',3'} = 4.4$ Hz), 4.16 (d, 1H, H-2"', $J_{2'',3''} = 6.0$ Hz), 4.08 (dd, 1H, H-4"', $J_{4'',5''} = 11.2$, $J_{4'',5''} = 3.0$ Hz), 3.70 (s, 3H, OMe), 3.64 (dd, 1H, H-5"', $J_{5'',5''} = 15.6$, $J_{5'',4''} = 11.5$ Hz), 2.62 (dd, 1H, H-5"', $J_{5'',5''} = 17.0$, $J_{5'',4''} = 3.2$ Hz), 1.66-1.48 (m, 16H, ^tBu, CH₂CH₃×2, CCH₃), 1.35 (s, 3H, CCH₃), 1.33 (s, 3H, CCH₃), 1.16 (s, 3H, CCH₃), 0.81 (t, 6H, CH₂CH₃×2, $J = 7.1$ Hz);
¹³C NMR (CDCl₃, 100 MHz) δ 170.8, 160.3, 156.7, 148.6, 148.0, 147.5, 141.5, 137.2, 136.6, 133.8, 132.6, 132.5, 131.6, 131.4, 128.7, 128.3, 128.1, 123.7, 116.6, 115.1, 113.4, 111.4, 102.5, 94.5, 87.2, 87.1, 85.8, 85.3, 84.5, 84.3, 81.7, 81.5, 80.6, 80.4, 70.9, 67.1, 55.4, 52.8, 48.2, 29.2, 28.9, 27.6, 27.3, 27.2, 25.5, 25.5, 8.66, 7.63;
 ESIMS-LR m/z 1151 [(M + Na)⁺]; ESIMS-HR calcd for C₅₂H₆₅N₅O₂₁NaS 1150.3785, found 1150.3770;
 $[\alpha]_D^{23} +69.4$ (c 0.85, CHCl₃).

NKY10-81

Methyl

5-O-**{5-deoxy-N-[(1S,2R,3S)-2,3-O-isopropylidene-4-cyclopentenyl]-5-(2-nitrobenzenesulfonylamino)-2,3-O-(3-pentylidene)-β-D-ribo-pentofuranosyl}**-6-benzyloxycarbonylamino-6-deoxy-2,3-O-isopropylidene-1-(3-*tert*-butoxycarbonyluracil-1-yl)-β-D-glycelo-L-talo-heptofuranuronate (**115**)



Compound **113** (60.0 mg, 60.6 μmol), carbonate *rac*-**63** (29.8 mg, 139 μmol) and Et₃N (25.4 μL, 182 μmol) were dissolved in THF (0.5 mL). Ligand **L2** (6.7 mg, 9.7 μmol) and Pd₂(dba)₃·CHCl₃ (2.5 mg, 2.4 μmol) were dissolved in THF (0.5 mL) and stirred for 30 minutes, after which this solution was slowly added to the mixture at 0 °C. The mixture was stirred for 1 hour at room temperature. The reaction mixture was partitioned between AcOEt and sat. *aq.* NH₄Cl. The organic phase was washed with H₂O, brine and dried (Na₂SO₄), filtered, and concentrated *in vacuo*. The residue was purified by silica gel column

chromatography (20-30% acetone/hexane) to afford **115** (66.3 mg, 58.8 μmol, 97%) as a white foam.

¹H NMR (CDCl₃, 400 MHz) δ 8.07 (dd, 1H, Ns, $J = 7.8$, $J = 1.4$ Hz), 7.66-7.56 (m, 2H, Ns), 7.34-7.31 (m, 7H, H-6, Ns, Ph), 6.09 (d, 1H, H-4"', $J_{4'',5''} = 6.0$ Hz), 5.79 (d, 1H, NH-6', $J_{NH-6',6'} = 10.1$ Hz), 5.76 (d, 1H, H-5, $J_{5,6} = 8.2$ Hz), 5.59 (br s, 2H, H-1', H-5'''), 5.22 (d, 1H, H-3''', $J = 6.0$ Hz), 5.16-5.01 (m, 3H, H-1'', benzyl), 4.91-4.87 (m, 2H, H-2', H-2''), 4.80-4.77 (m, 2H, H-3', H-1'''), 4.66-4.64 (m, 3H, H-6', H-3'', H-2'''), 4.44 (d, 1H, H-5', $J_{5',4'} = 9.2$ Hz), 4.25-4.22 (m, 1H, H-4'), 3.91 (dd, 1H, H-4'', $J_{4'',5''} = 11.7$, $J_{4'',5''} = 3.9$ Hz), 3.71 (s, 3H, OMe), 3.44 (dd, 1H, H-5'', $J_{5'',5''} = 15.1$, $J_{5'',4''} = 11.5$ Hz), 3.07 (dd, 1H, H-5'', $J_{5'',5''} = 15.1$, $J_{5'',4''} = 4.6$ Hz), 1.60 (s, 9H, ^tBu), 1.60-1.49 (m, 4H, CH₂CH₃×2), 1.40 (s, 3H, CCH₃), 1.32 (s, 3H, CCH₃), 0.83-0.79 (m, 6H, CH₂CH₃×2);

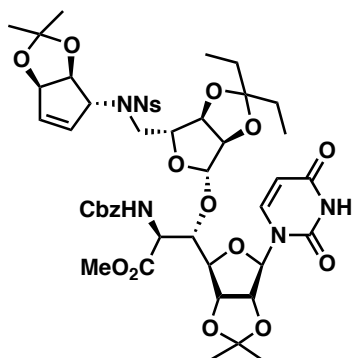
¹³C NMR (CDCl₃, 100 MHz) δ 170.5, 160.3, 156.5, 148.6, 148.1, 147.5, 141.5, 137.8, 136.5, 133.9, 132.9, 132.0, 131.5, 129.7, 128.6, 128.3, 128.3, 124.3, 117.0, 115.1, 112.6, 111.9, 102.6, 94.5, 87.2, 87.0, 85.9, 84.8, 84.5, 84.2, 83.9, 81.1, 80.7, 79.9, 70.4, 67.2, 55.1, 52.9, 48.3, 29.4, 29.0, 27.6, 27.2, 27.2, 25.5, 25.4, 8.62, 7.63;

ESIMS-LR m/z 1150 [(M + Na)⁺]; ESIMS-HR calcd for C₅₂H₆₅N₅O₂₁NaS 1150.3785, found 1150.3779;

$[\alpha]_D^{23} +81.4$ (c 0.88, CHCl₃).

NKY10-84,

Methyl 5-O-{5-deoxy-N-[(1R,2S,3R)-2,3-O-isopropylidene-4-cyclopentenyl]-5-(2-nitrobenzenesulfonylamino)-2,3-O-(3-pentylidene)-β-D-ribo-pentofuranosyl}-6-benzyloxycarbonylamino-6-deoxy-2,3-O-isopropylidene-1-(uracil-1-yl)-β-D-glycelo-L-talo-heptofuranuronate (116)



A solution of **114** (25.6 mg, 22.7 μmol) in MeOH (1 mL) was treated with AcOH (100 μL) at 60 °C and stirred for 10 hours. The reaction mixture was partitioned between AcOEt and *sat. aq.* NaHCO₃. The organic phase was washed with brine and dried (Na₂SO₄), filtered, and concentrated *in vacuo*. The residue was purified by silica gel column chromatography (60-70% AcOEt/hexane) to afford **116** (18.1 mg, 17.6 μmol, 78%) as a white solid.

¹H NMR (CDCl₃, 400 MHz) δ 8.83 (s, 1H, NH-3), 8.10 (d, 1H, Ns, *J* = 7.8 Hz), 7.62 (t, 1H, Ns, *J* = 7.8 Hz), 7.44 (t, 1H, Ns, *J* = 7.8 Hz), 7.35-7.33 (m, 6H, H-6,

Ph), 6.91 (d, 1H, Ns, *J* = 7.8 Hz), 6.06-6.03 (m, 2H, NH-6', H-4''), 5.79 (d, 1H, H-5''', *J* = 3.2 Hz), 5.74 (dd, 1H, H-5, *J*_{5,6} = 8.2, *J*_{5,NH-3} = 1.8 Hz), 5.59 (d, 1H, H-1', *J* = 1.8 Hz), 5.37 (d, 1H, H-3''', *J*_{3''',2''} = 5.0 Hz), 5.13 (m, 6H, H-2', H-2'', H-1'', H-1''', benzyl), 4.82 (t, 1H, H-3', *J*_{3',2'} = *J*_{3',4'} = 5.5 Hz), 4.68 (d, 1H, H-3'', *J*_{3'',2''} = 5.5 Hz), 4.64 (d, 1H, H-6', *J*_{6',NH-6'} = 10.0 Hz), 4.42 (d, 1H, H-5', *J*_{5',4'} = 8.2 Hz), 4.26 (dd, 1H, H-4', *J*_{4',5'} = 8.0, *J*_{4',3'} = 4.4 Hz), 4.14 (d, 1H, H-2''', *J*_{2''',3'''} = 6.0 Hz), 4.07 (dd, 1H, H-4'', *J*_{4'',5''} = 11.4, *J*_{4'',5''} = 3.2 Hz), 3.71 (s, 3H, OMe), 3.64 (dd, 1H, H-5'', *J*_{5'',5'''} = 15.4, *J*_{5'',4''} = 11.7 Hz), 2.58 (dd, 1H, *J*_{5'',5'''} = 15.6, *J*_{5'',4''} = 3.2 Hz), 1.59-1.16 (m, 16H, ^tBu, CCH₃, CH₂CH₃×2), 0.80 (t, 6H, CH₂CH₃×2, *J* = 7.4 Hz);

¹³C NMR (CDCl₃, 100 MHz) δ 170.8, 163.2, 156.7, 150.1, 148.0, 143.0, 137.3, 136.6, 133.8, 132.6, 132.4, 131.5, 131.4, 128.7, 128.3, 128.1, 123.7, 116.4, 115.1, 113.3, 111.4, 102.7, 94.9, 86.6, 85.8, 85.3, 84.5, 84.1, 81.6, 81.5, 81.0, 80.7, 70.9, 67.1, 55.2, 52.8, 48.2, 29.4, 28.8, 27.3, 27.2, 25.5, 8.66, 7.46;

ESIMS-LR *m/z* 1050 [(M + Na)⁺]; ESIMS-HR calcd for C₄₇H₅₇N₅O₁₉NaS 1050.3261, found 1050.3253;

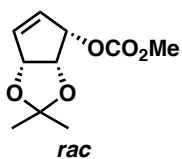
[α]_D²⁰ +78.9 (*c* 1.12, CHCl₃).

Prepared by Mitsunobu reaction (NKY9-48, 9-49)

To a solution of **113** (393 mg, 393 μmol), **61** (124 mg, 794 μmol) and PhOPPh₂ (221 mg, 794 μmol) in THF (4 mL) was added a solution of DMEAD (186 mg, 794 μmol) in THF (1 mL) at 50 °C, and the reaction mixture was stirred for 1 hour. The mixture was partitioned between AcOEt and H₂O, and the organic phase was washed with brine and dried (Na₂SO₄), filtered, and concentrated *in vacuo*. The residue was dissolved with MeOH (4 mL) and AcOH (0.4 mL), then heated at 60 °C for 46 hours. After cooling to room temperature, the mixture was partitioned between AcOEt and *sat. aq.* NaHCO₃, and the organic phase was washed with brine and dried (Na₂SO₄), filtered, and concentrated *in vacuo*. The residue was high-flash silica gel column chromatography (20-50% acetone/hexane) to afford **116** (236 mg, 230 μmol, 58% over 2 steps) as a white foam.

NKY 12-7

***rac*-(1*S*,2*R*,3*R*)-2,3-*O*-Isopropylidene-4-cyclopentenyl methyl carbonate (117)**



A solution of compound *rac*-**61** (1.37 g, 8.77 mmol) in pyridine (4.3 mL) and CH₂Cl₂ (40 mL) was treated with ClCO₂Me (2.49 g, 26.3 mmol) at 0 °C for 2 hours. The reaction was quenched with H₂O, and the resulting mixture was partitioned between AcOEt and 1M *aq.* HCl. The organic phase was washed H₂O, brine and dried (Na₂SO₄), filtered, and concentrated *in vacuo* to afford **117** (1.58 g, 7.38 mmol, 84%) as a colorless oil. This compound was used to the next reaction without further purification.

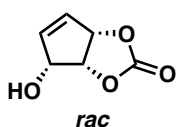
¹H NMR (CDCl₃, 400 MHz) δ 6.10 (dt, 1H, H-4, *J*_{4,5} = 6.0 Hz, *J*_{4,1} = 1.8 Hz), 5.91 (dd, 1H, H-5, *J*_{5,4} = 6.0 Hz, *J*_{5,1} = 1.8 Hz), 5.30 (dt, 1H, H-1, *J*_{1,2} = 5.5 Hz, *J*_{1,4} = *J*_{1,5} = 1.6 Hz), 5.03 (dd, 1H, H-3, *J*_{3,2} = 5.8 Hz, *J*_{3,4} = 1.6 Hz), 4.92 (dd, 1H, H-2, *J*_{2,1} = *J*_{2,3} = 5.5 Hz), 3.83 (s, 3H, OMe), 1.40 (s, 3H, CCH₃), 1.38 (s, 3H, CCH₃).

¹³C NMR (CDCl₃, 100 MHz) δ 155.3, 135.4, 131.5, 113.2, 83.4, 78.7, 76.8, 55.0, 27.5, 26.9;

ESIMS-LR *m/z* 237 [(M + Na)⁺]; ESIMS-HR calcd for C₁₀H₁₄O₅Na 237.0733, found 237.0729;

NKY 12-9

***rac*-Cyclic carbonate (119)**



A solution of compound *rac*-**117** (1.58 g, 7.38 mmol) in CH₂Cl₂ (60 mL) and H₂O (5 mL) was treated with TFA (10 mL) at room temperature for 4 hours. The reaction was quenched with NaHCO₃, and the resulting mixture was extracted with AcOEt. The organic phase was dried (Na₂SO₄), filtered, and concentrated *in vacuo*. The residue was purified by silica gel column chromatography (30-50% AcOEt/hexane) to afford *rac*-**119** (833 mg, 5.86 mmol, 79%) as a colorless oil.

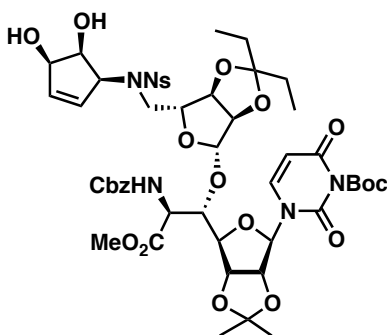
¹H NMR (CDCl₃, 400 MHz) δ 6.25 (d, 1H, H-4, *J*_{4,5} = 6.0 Hz), 6.03 (dt, 1H H-5, *J*_{5,4} = 6.0 Hz, *J* = 1.6 Hz), 5.41 (d, 1H, H-1, *J*_{1,2} = 6.4 Hz), 5.15 (t, 1H, H-2, *J*_{2,1} = 6.0 Hz, *J*_{2,3} = 6.0 Hz), 4.90 (dd, 1H, H-3, *J*_{3,OH-3} = 11.0 Hz, *J*_{3,2} = 5.5 Hz), 2.49 (d, 1H, OH-3, *J*_{OH-3,3} = 11.0 Hz);

¹³C NMR (CDCl₃, 100 MHz) δ 154.1, 140.0, 128.7, 82.4, 75.4;

ESIMS-LR *m/z* 143 [(M + Na)⁺]; ESIMS-HR calcd for C₆H₇O₄ 143.0339, found 143.0343.

NKY11-24

Methyl 5-*O*-{5-deoxy-*N*-[(1*S*,2*S*,3*R*)-2,3-dihydroxy-4-cyclopentenyl]-5-(2-nitrobenzene-sulfonylamino)-2,3-*O*-(3-pentylidene)-β-*D*-ribo-pentofuranosyl}-6-benzyloxycarbonylamino-6-deoxy-2,3-*O*-isopropylidene-1-(3-*tert*-butoxycarbonyluracil-1-yl)-β-*D*-glycelo-*L*-talo-heptofuranuronate (120)



Compound **113** (30.0 mg, 30.3 μmol), carbonate *rac*-**119** (9.9 mg, 69.7 μmol) and Et₃N (12.7 μL, 90.9 μmol) were dissolved in 1,4-dioxane (0.5 mL). Ligand **L2** (3.4 mg, 4.9 μmol) and Pd₂(dba)₃·CHCl₃ (1.3 mg, 1.21 μmol) were dissolved in 1,4-dioxane (0.5 mL) and stirred for 30 minutes, then this solution was slowly added to the mixture at room temperature. The mixture was stirred for 9 hours at room temperature. The reaction mixture was partitioned between AcOEt and sat. *aq.* NH₄Cl. The organic phase was washed with H₂O, brine and dried (Na₂SO₄), filtered, and concentrated *in vacuo*. The residue was

purified by flash silica gel column chromatography (66-100% AcOEt/hexane) to afford **120** (17.0 mg, 15.6 μmol,

49%) as a white solid.

^1H NMR (CDCl_3 , 400 MHz) δ 8.12 (d, 1H, Ns, $J = 7.3$ Hz), 7.95-7.76 (m, 4H, Ns, H-6), 7.35-7.29 (m, 5H, Ph), 7.17 (d, 1H, $\text{NH-6}'$, $J_{\text{NH-6}',6''} = 9.1$ Hz), 5.90 (dt, 1H, H-4''', $J_{4''',5''} = 6.0$ Hz, $J = 1.8$ Hz), 5.85-5.83, (m, 2H, H-5, H-1') 5.49 (d, 1H, H-5''', $J_{5''',4''} = 6.0$ Hz), 5.22 (d, 1H, $\text{OH-3}''$, $J_{\text{OH-3}'',3'''} = 5.0$ Hz), 5.12-5.08 (m, 4H, benzyl, H-2', H-2''), 4.90 (s, 1H, H-1''), 4.85 (d, 1H, $\text{OH-2}''$, $J_{\text{OH-2}'',2'''} = 5.5$ Hz), 4.77 (dd, 1H, H-3', $J = 6.4$ Hz, $J = 4.6$ Hz), 4.69 (d, 1H, H-1''', $J_{1''',2''} = 6.9$ Hz), 4.56 (d, 1H, H-3'', $J_{3'',2''} = 5.9$ Hz), 4.43-4.34 (m, 3H, H-5', H-6', H-4''), 4.23 (br s, 1H, H-3'''), 4.15-4.09 (m, 2H, H-4', H-2'''), 3.56 (s, 3H, OMe), 3.34 (o, 1H, H-5''), 2.99 (dd, 1H, H-5'', $J_{5'',5''} = 15.1$ Hz $J_{5''b,4''} = 4.6$ Hz), 1.51 (s, 9H, $t\text{Bu}$), 1.42-1.34 (m, 7H, acetonide, $\text{CH}_2\text{CH}_3 \times 2$), 1.27 (s, 3H, acetonide), 0.71 (t, 3H, CH_2CH_3 , $J = 7.6$ Hz), 0.65 (t, 3H, CH_2CH_3 , $J = 7.6$ Hz);

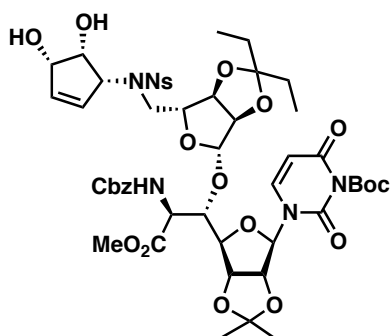
^{13}C NMR ($\text{DMSO-}d_6$, 100 MHz) δ 170.1, 160.0, 156.3, 148.2, 147.8, 147.5, 143.9, 136.8, 136.6, 134.6, 132.2, 131.2, 130.2, 129.6, 128.3, 127.8, 127.5, 124.0, 114.8, 113.5, 111.4, 101.1, 93.1, 86.8, 86.2, 85.6, 84.7, 83.7, 83.7, 81.0, 80.8, 79.2, 78.5, 71.9, 70.7, 65.7, 64.1, 54.9, 52.3, 47.7, 29.0, 28.4, 27.0, 27.0, 25.1, 8.35, 7.26;

ESIMS-LR m/z 1088 [(M + H) $^+$]; ESIMS-HR calcd for $\text{C}_{49}\text{H}_{62}\text{N}_5\text{O}_{21}\text{S}$ 1088.3653, found 1088.3621;

$[\alpha]_D^{21} +60.2$ (c 0.95, CHCl_3).

NKY11-51

Methyl 5-O-{{5-deoxy-N-[(1R,2R,3S)-2,3-dihydroxy-4-cyclopentenyl]-5-(2-nitrobenzene-sulfonylamino)-2,3-O-(3-pentylidene)- β -D-ribo-pentofuranosyl}-6-benzyloxycarbonylamino-6-deoxy-2,3-O-isopropylidene-1-(3-tert-butoxycarbonyluracil-1-yl)- β -D-glycelo-L-talo-heptofuranuronate (121)



Compound **113** (300 mg, 303 μmol), carbonate *rac*-**119** (99.1 mg, 697 μmol) and Et_3N (127 μL , 909 μmol) were dissolved in 1,4-dioxane (3 mL). Ligand **L1** (34 mg, 48.5 μmol) and $\text{Pd}_2(\text{dba})_3 \cdot \text{CHCl}_3$ (13 mg, 12.1 μmol) were dissolved in 1,4-dioxane (3 mL) and stirred for 30 minutes, then this solution was slowly added to the mixture at room temperature. The mixture was stirred for 12 hours at room temperature. The reaction mixture was partitioned between AcOEt and sat. *aq.* NH_4Cl . The organic phase was washed with H_2O , brine and dried (Na_2SO_4), filtered, and concentrated *in vacuo*. The residue was

purified by flash silica gel column chromatography (50-100% AcOEt/hexane) to afford **121** (187 mg, 172 μmol , 57%) as a white foam and **113** (49 mg, 49.5 μmol , 16%) as a white foam.

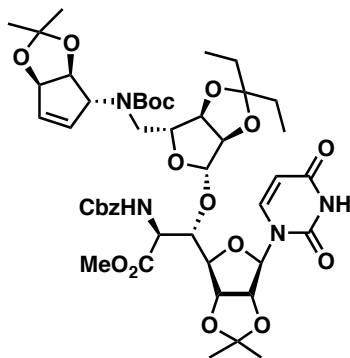
^1H NMR ($\text{DMSO-}d_6$, 400 MHz) δ 8.11 (d, 1H, Ns, $J = 8.2$ Hz), 7.93 (d, H-6, $J_{6,5} = 8.2$ Hz), 7.86 (dd, 1H, Ns, $J = 8.0$ Hz, $J = 1.2$ Hz), 7.79 (t, 1H, Ns, $J = 7.1$ Hz), 7.72 (t, 1H, Ns, $J = 7.8$ Hz), 7.36-7.31 (m, Ph, 5H), 7.15 (d, 1H, $\text{NH-6}'$, $J_{\text{NH-6}',6''} = 9.2$ Hz), 6.03-6.02 (m, 1H, H-4'''), 5.85 (s, 1H, H-1'), 5.83 (d, 1H, H-5, $J_{5,6} = 8.2$ Hz), 5.69 (d, 1H, H-5''', $J_{5''',4''} = 6.4$ Hz), 5.13-5.01 (m, 4H, benzyl, H-2', $\text{OH-3}''$), 4.91 (s, 1H, H-1''), 4.79-4.76 (m, 2H, H-3', H-2''), 4.64 (d, 1H, H-1''', $J_{1''',2''} = 6.0$ Hz), 4.58-4.54 (m, 2H, H-3'', $\text{OH-2}''$), 4.43-4.40 (m, H-5', H-6', H-4''), 4.30 (t, 1H, H-3''', $J_{3''',2''} = 6.0$ Hz), 4.17-4.12 (m, 2H, H-4', H-2'''), 3.59 (s, 3H, OMe), 3.33 (o, 1H, H-5''), 3.13 (dd, 1H, H-5'', $J_{5'',5''} = 15.6$ Hz, $J_{5'',4''} = 3.2$ Hz), 1.50 (s, 9H, $t\text{Bu}$), 1.42-1.37 (m, 7H, acetonide, $\text{CH}_2\text{CH}_3 \times 2$), 1.26 (s, 3H, acetonide), 0.73 (t, 3H, CH_2CH_3 , $J = 7.6$ Hz), 0.64 (t, 3H, CH_2CH_3 , $J = 7.6$ Hz);

^{13}C NMR ($\text{DMSO-}d_6$, 125 MHz) δ 170.3, 160.0, 156.2, 148.2, 147.8, 147.5, 143.8, 137.3, 136.9, 134.3, 132.3, 131.9, 130.0, 128.3, 127.8, 127.6, 124.0, 115.1, 113.4, 111.5, 101.1, 93.1, 86.7, 86.2, 85.3, 83.9, 83.7, 81.6, 80.7, 79.2, 79.0, 72.2, 70.7, 65.7, 64.3, 55.0, 52.4, 47.6, 29.0, 28.5, 27.0, 26.9, 25.2, 8.36, 7.25;

ESIMS-LR m/z 1088 $[(M + H)^+]$; ESIMS-HR calcd for $C_{49}H_{62}N_5O_{21}S$ 1088.3653, found 1088.3621;
[α]_D¹⁸ +4.85 (c 0.61, $CHCl_3$).

NKY9-52, 9-54

Methyl 5-*O*-{5-*tert*-butoxycarbonyl-5-deoxy-*N*-[(1*R*,2*S*,3*R*)-2,3-*O*-isopropylidene-4-cyclopentenyl]-2,3-*O*-(3-pentylidene)- β -D-ribo-pentofuranosyl]-6-benzyloxycarbonylamino-6-deoxy-2,3-*O*-isopropylidene-1-(uracil-1-yl)- β -D-glycero-L-talo-heptofuranuronate (122)



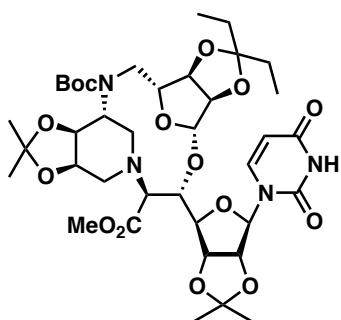
A mixture of **116** (236 mg, 230 μ mol) and K_2CO_3 (41.3 mg, 299 μ mol) in MeCN (3 mL) was treated with 4-^tBu-benzenethiol (59.5 μ L, 345 μ mol) at room temperature and stirred for 16 hours. The reaction mixture was added 4-^tBu-benzenethiol (29.8 μ L, 173 μ mol) and K_2CO_3 (20.7 mg, 150 μ mol) and stirred for 20 hours. The reaction mixture was partitioned between AcOEt and *sat. aq.* NH_4Cl , and the organic phase was washed with brine and dried (Na_2SO_4), filtered, and concentrated *in vacuo* to afford a crude amine. A solution of the crude amine and Et_3N (192 μ L, 1.38 mmol) in THF (3 mL) was treated with Boc_2O (476 μ L,

2.07 mmol) at room temperature and stirred for 30 hours. The reaction mixture was partitioned between AcOEt and 1M *aq.* HCl, and the organic phase was washed with H_2O , brine and dried (Na_2SO_4), filtered, and concentrated *in vacuo*. The residue was purified by high-flash silica gel column chromatography (40-70% AcOEt/hexane) to afford **122** (177 mg, 188 μ mol, 82% over 2 steps) as a white foam.

¹H NMR (CD_3OD , 400 MHz) δ 7.66 (d, 1H, H-6, $J_{6,5} = 8.2$ Hz), 7.39-7.28 (m, 5H, phenyl), 5.99 (d, 1H, H-4''', $J_{4''',5''} = 6.0$ Hz), 5.79 (br s, 1H, H-5'''), 5.70 (d, 1H, H-1', $J_{1',2'} = 1.8$ Hz), 5.66 (d, 1H, H-5, $J_{5,6} = 8.2$ Hz), 5.35 (d, 1H, H-3''', $J_{3''',2''} = 3.6$ Hz), 5.18 (d, 1H, benzyl, $J = 12.8$ Hz), 5.11-5.08 (m, 2H, H-2', benzyl), 5.05 (s, 1H, H-1''), 4.86-4.84 (m, 1H, H-3'), 4.72-4.67 (m, 3H, H-2'', H-3'', H-1'''), 4.57 (d, 1H, H-6', $J_{6',5'} = 2.3$ Hz), 4.52-4.48 (m, 2H, H-5', H-2'''), 4.21 (dd, 1H, H-4', $J = 9.0, J = 4.4$ Hz), 4.03 (dd, 1H, H-4'', $J = 11.0, 4.1$ Hz), 3.75 (s, 3H, OMe), 3.48 (br s, 1H, H-5''), 2.74 (d, 1H, H-5'', $J = 13.6$ Hz), 1.62-1.45 (m, 16H, ^tBu, $CH_2CH_3 \times 2$, CCH_3), 1.37 (s, 3H, CCH_3), 1.32 (s, 6H, $CCH_3 \times 2$), 0.83-0.78 (m, 6H, $CH_2CH_3 \times 2$);

¹³C NMR (CD_3OD , 100 MHz) δ 172.1, 166.3, 158.7, 152.0, 145.7, 138.1, 129.5, 129.1, 129.0, 128.8, 117.5, 115.5, 113.1, 112.4, 102.9, 96.5, 88.7, 87.3, 86.1, 85.7, 83.4, 82.9, 82.4, 81.1, 71.6, 67.9, 56.4, 53.3, 30.6, 30.0, 28.6, 27.6, 27.5, 25.7, 25.6, 8.74, 7.74;

ESIMS-LR m/z 965 $[(M + Na)^+]$; ESIMS-HR calcd for $C_{46}H_{62}O_{17}N_4Na$ 965.4002, found 965.4000;
[α]_D¹⁸ -49.9 (c 1.07, $CHCl_3$).

Compound 124

A solution of compound **122** (53.6 mg, 56.8 μmol), $\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]$ (112 mg, 341 μmol), K_2CO_3 (23.5 mg, 170 μmol), NaHCO_3 (14.3 mg, 170 μmol), quinuclidine (6.3 mg, 56.8 μmol) and MeSO_2NH_2 (5.4 mg, 56.8 μmol) in $^t\text{BuOH-THF-H}_2\text{O}$ (1:1:1, 1.5 mL) was treated with $\text{K}_2\text{OsO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (6.3 mg, 17.0 μmol) at room temperature for 16 hours. After *sat. aq.* $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ was added, the mixture was extracted with AcOEt. The organic phase was washed with brine and dried (Na_2SO_4), filtered, and concentrated *in vacuo*. The residue was purified by short silica gel column chromatography (100 % AcOEt), and the fractions containing the diol were collected and concentrated *in vacuo*.

A solution of the diol in THF-phosphate buffer (2:1, pH 7.2, 1.2 mL) was treated with NaIO_4 (30.4 mg, 142 μmol) at room temperature for 2 hours. After *sat. aq.* $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ was added, the mixture was extracted with AcOEt. The organic phase was washed with brine and dried (Na_2SO_4), filtered, and concentrated *in vacuo*. The residue was purified by short silicagel column chromatography (50%-100 % AcOEt/hexane), and the fractions containing dialdehyde were collected and concentrated *in vacuo*. A mixture of the dialdehyde and Pd black (6.0 mg) in THF (1 mL) was vigorously stirred under H_2 atmosphere at room temperature for 1 hour. The catalyst was filtered off through a Celite pad, and the filtrate was concentrated *in vacuo*. The residue in THF-MeOH (1:1, 6 mL) was treated with AcOH (97 μL) and pic-BH₃ (24.3 mg, 227 μmol) at room temperature. The resulting mixture was heated at 50 °C for 1 hour. The reaction mixture was partitioned between AcOEt and 1M *aq.* HCl. The organic phase was washed with *sat. aq.* NaHCO_3 and brine, dried (Na_2SO_4), filtered, and concentrated *in vacuo*. The residue was purified by silica gel column chromatography (40-50% AcOEt/hexane) to afford **124** (12.5 mg, 15.5 μmol , 27% over 4 steps) as a white solid.

^1H NMR (CDCl_3 , 500 MHz, a mixture of rotamers) δ 8.17 (s, 1H, NH-3), 7.29 (d, 1H, H-6, $J_{6,5} = 8.0$ Hz), 5.74 (d, 1H, H-5, $J_{5,6} = 8.1$ Hz), 5.69 (s, 1H, H-1'), 5.32 (d, 1H, H-1'', $J = 8.0$ Hz), 4.86-4.84 (m, 2H, H-2', H-3'), 4.64-4.36 (m, 6H, H-5', H-2'', H-3'', H-4'', H-5'', H-3'''), 4.18 (br s, 1H, H-5'''), 3.95 (dt, 1H, H-4', $J = 14.9$, $J = 4.3$ Hz), 3.87 (s, 1H, H-4'''), 3.66 (d, 3H, OMe, $J = 6.3$ Hz), 3.47-3.33 (m, 3H, H-6', H-5'', H-2'''), 2.78 (t, 1H, H-6''', $J_{6''',6''} = J_{6''',5''} = 8.9$ Hz), 2.50 (td, 1H, H-2''', $J = 13.8$, $J = 5.8$ Hz), 2.17 (dt, 1H, H-6''', $J = 32.1$, $J = 10.9$ Hz), 1.69-1.25 (m, 25H, $\text{CH}_2\text{CH}_3 \times 2$, $\text{CCH}_3 \times 4$, ^tBu), 0.92-0.84 (m, 6H, $\text{CH}_2\text{CH}_3 \times 2$);

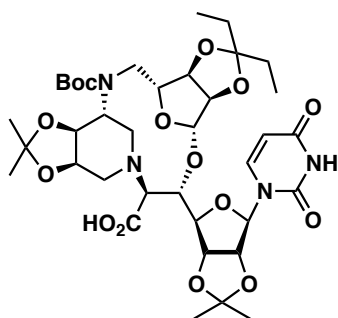
^{13}C NMR (CDCl_3 , 100 MHz) δ 168.0, 167.9, 162.4, 155.5, 155.3, 149.6, 141.7, 117.2, 116.8, 115.4, 110.2, 109.6, 108.2, 107.9, 102.8, 91.7, 91.6, 88.0, 87.7, 85.6, 85.5, 85.5, 83.9, 82.7, 80.7, 80.6, 79.5, 79.3, 71.6, 71.5, 71.4, 67.9, 67.7, 55.0, 54.7, 51.4, 50.5, 49.7, 49.2, 48.7, 45.7, 45.3, 30.1, 29.9, 29.8, 29.6, 29.5, 29.0, 28.6, 28.5, 28.3, 27.6, 26.7, 26.3, 25.8, 8.55, 8.40, 7.65, 7.41;

ESIMS-LR m/z 807 [$(\text{M} - \text{Na})^-$]; ESIMS-HR calcd for $\text{C}_{38}\text{H}_{55}\text{O}_{15}\text{N}_4$ 807.3669, found 807.3681;

$[\alpha]_{\text{D}}^{19} +25.5$ (c 0.47, CHCl_3).

NKY9-42

Compound 125



To the solution of compound **124** (5.5 mg, 6.8 μmol), 2,6-di-*t*-Bu-*p*-cresol (0.3 mg, 1.36 μmol) and Ph_3SiSH (11.9 mg, 40.8 μmol) in DMF (400 μL) was added Cs_2CO_3 (13.3 mg, 40.8 μmol) and the mixture was stirred at 90 $^\circ\text{C}$ for 26 hours. After cooling down to room temperature, the reaction mixture was partitioned between AcOEt and 0.3 M *aq.* HCl. The organic phase was washed with brine and dried (Na_2SO_4), filtered, and concentrated *in vacuo*. The residue was purified by silica gel column chromatography (1-5% MeOH/ CHCl_3) to afford **125** (3.4 mg,

4.28 μmol , 63%) as a white solid.

^1H NMR (CDCl_3 , 500 MHz, a mixture of rotamers) δ 9.62 (br s, 1H, NH-3), 7.24 (d, 1H, H-6, $J_{6,5} = 9.2$ Hz), 5.76 (br s, 1H, H-5), 5.66 (s, 1H, H-1'), 5.25 (s, 1H, H-1''), 4.95 (br d, 1H, H-3', $J_{3',2'} = 5.7$), 4.89 (br s, 1H, H-2'), 4.68-4.35 (m, 6H, H-5', H-2'', H-3'', H-4'', H-5'', H-3'''), 4.22-4.14 (m, 2H, H-4', H-5'''), 3.88 (br s, 1H, H-4'''), 3.48-3.33 (m, 3H, H-6', H-5'', H-2'''), 2.80-2.77 (m, 1H, H-6'''), 2.58 (br s, 1H, H-2''), 2.29-2.21 (m, 1H, H-6'''), 1.70-1.67 (m, 2H, CH_2CH_3), 1.61-1.25 (m, 23H, CH_2CH_3 , $\text{CCH}_3 \times 4$, *t*Bu), 0.93-0.84 (m, 6H, $\text{CH}_2\text{CH}_3 \times 2$);

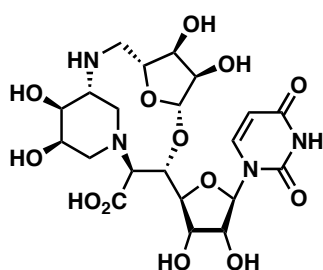
^{13}C NMR (CDCl_3 , 125 MHz) δ 170.3, 164.1, 164.1, 155.6, 155.4, 150.0, 149.9, 142.6, 117.0, 116.6, 115.6, 115.6, 109.4, 108.9, 108.2, 108.0, 102.8, 91.6, 87.8, 87.5, 85.3, 85.2, 83.9, 83.8, 82.8, 82.7, 82.6, 82.5, 80.7, 80.6, 79.3, 79.2, 71.6, 71.6, 71.4, 66.4, 66.1, 54.7, 50.7, 49.9, 49.2, 48.8, 45.6, 45.3, 30.0, 29.8, 29.7, 29.5, 28.9, 28.6, 28.4, 28.3, 27.6, 26.6, 26.2, 25.8, 22.8, 8.55, 8.40, 7.64, 7.43;

ESIMS-LR m/z 793 [(M - H) $^-$]; ESIMS-HR calcd for $\text{C}_{37}\text{H}_{53}\text{O}_{15}\text{N}_4$ 793.3513, found 793.3529;

$[\alpha]_D^{23} +28.6$ (c 0.23, CHCl_3).

NKY11-99

Compound 5



Compound **125** (6.1 mg, 7.7 μmol) was treated with *aq.* 80% TFA (1 mL) at room temperature for 48 hours. The mixture was concentrated *in vacuo*, and then the residue was partitioned between AcOEt and H_2O . The aqueous phase was concentrated *in vacuo* to afford **5** (4.7mg, 6.1 μmol , 79%) as a white solid.

^1H NMR (CD_3OD , 0.5% TFA, 500 MHz) δ 7.82 (d, 1H, H-6, $J_{6,5} = 8.1$ Hz), 5.67 (d, 1H, H-5, $J_{5,6} = 8.0$ Hz), 5.65 (s, 1H, H-1'), 5.20 (s, 1H, H-1''), 4.37 (dd, 1H, H-3'', $J_{3'',2''} = 6.9$ Hz, $J_{3'',4''} = 3.1$ Hz), 4.31 (d, 1H, H-5', $J_{5',6'} = 10.3$ Hz), 4.15-4.13 (m, 3H, H-2', H-4', H-2''), 4.07 (br s, 1H, H-4'''), 4.04 (d, 1H, H-4'', $J_{4'',3''} = 4.0$ Hz), 3.99 (d, 1H, H-3', $J = 8.0$ Hz), 3.96 (br s, 1H, H-5'''), 3.87 (br s, 1H, H-5''), 3.75 (d, 1H, H-6', $J_{6',5'} = 10.3$ Hz), 3.44-3.36 (m, 3H, H-5'', H-2''', H-3'''), 2.84-2.81 (m, H-2''', H-6''' $\times 2$).

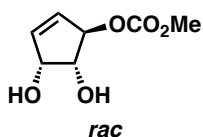
^{13}C NMR (CD_3OD , 0.5% TFA, 125 MHz) δ 170.4, 158.7, 151.8, 142.0, 109.4, 102.1, 92.7, 83.0, 80.2, 75.7, 75.4, 72.8, 70.9, 70.0, 68.2, 67.9, 65.9, 63.1, 55.8, 51.1, 42.3.

ESIMS-LR m/z 547 [(M + H) $^+$]; ESIMS-HR calcd for $\text{C}_{21}\text{H}_{31}\text{N}_4\text{O}_{13}$ 547.1882, found 547.19023;

$[\alpha]_D^{20} -1.51$ (c 0.59, MeOH).

NKY15-73

***rac*-(1*R*,2*R*,3*R*)-2,3-dihydroxy-4-cyclopentenyl methyl carbonate (130)**



A solution of *rac*-**63** (892 mg, 4.16 mmol) in AcOH (40 mL) and H₂O (10 mL) was heated at 60 °C for 28 hours. The reaction mixture was concentrated *in vacuo*. The residue was purified by high-flash silica gel column chromatography (10-60% AcOEt/hexane) to afford *rac*-**130** (561 mg, 3.22 mmol, 77%) as a pale yellow oil.

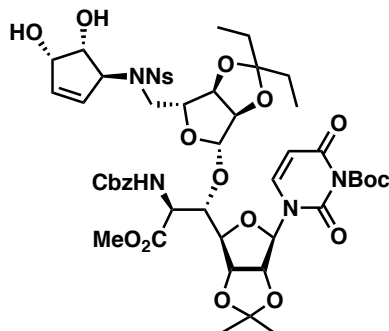
¹H NMR (CDCl₃, 500 MHz) δ 6.16 (ddd, 1H, H-4, *J*_{4,5} = 6.1, *J*_{4,3} = 2.3, *J* = 1.2 Hz), 6.01 (dd, 1H, H-5, *J*_{5,4} = 5.7, *J* = 1.7 Hz), 5.45 (dd, 1H, H-1, *J*_{1,2} = 3.5, *J*_{1,5} = 1.7 Hz), 4.74 (dt, 1H, H-3, *J*_{3,2} = 5.7 Hz, *J*_{3,4} = 2.0 Hz), 4.14 (dd, 1H, H-2, *J*_{2,3} = 5.8, *J*_{2,1} = 3.5 Hz), 3.83 (s, 3H, Me), 3.66 (br s, 1H, OH), 2.85 (br s, 1H, OH);

¹³C NMR (CDCl₃, 100 MHz) δ 156.6, 136.9, 132.6, 87.9, 76.1, 73.8, 55.3;

ESIMS-LR *m/z* 197 [(M + Na)⁺]; ESIMS-HR calcd for C₇H₁₁O₅ 175.0601, found 175.0602.

NKY15-35

Methyl 5-*O*-{5-deoxy-*N*-[(1*S*,2*R*,3*S*)-2,3-dihydroxy-4-cyclopentenyl]-5-(2-nitrobenzene-sulfonylamino)-2,3-*O*-(3-pentylidene)-β-*D*-ribo-pentofuranosyl}-6-benzyloxycarbonylamino-6-deoxy-2,3-*O*-isopropylidene-1-(3-*tert*-butoxycarbonyluracil-1-yl)-β-*D*-glycelo-*L*-talo-heptofuranuronate (131)



Compound **113** (279 mg, 282 μmol), carbonate *rac*-**130** (98.2 mg, 564 μmol) and Et₃N (118 μL, 846 μmol) were dissolved in THF (3 mL). Ligand **L2** (31.2 mg, 45.1 μmol) and Pd₂(dba)₃·CHCl₃ (11.7 mg, 11.3 μmol) were dissolved in THF (3 mL) and stirred for 30 minutes, then this solution was slowly added three times at each 30 min to the mixture at room temperature. The mixture was stirred for totally 16 hours. The reaction mixture was partitioned between AcOEt and *sat. aq.* NaHCO₃. The organic phase was washed with brine and dried (Na₂SO₄), filtered, and concentrated *in vacuo*. The residue was purified

by high-flash silica gel column chromatography (50-100% AcOEt/hexane) to afford **131** (225 mg, 207 μmol, 73%) as a white foam.

¹H NMR (DMSO-*d*₆, 500 MHz) δ 8.21 (d, 1H, Ns, *J* = 7.5 Hz), 7.93 (d, 1H, H-6, *J*_{6,5} = 8.0 Hz), 7.89 (d, 1H, Ns, *J* = 6.9 Hz), 7.81 (t, 1H, Ns, *J* = 7.5 Hz), 7.71 (t, 1H, Ns, *J* = 6.9 Hz), 7.39-7.31 (m, 6H, Ph, NH-6'), 6.01 (dt, 1H, H-4''', *J*_{4''',5'''} = 6.3, *J* = 2.3 Hz), 5.86 (d, 1H, H-1', *J*_{1',2'} = 1.7 Hz), 5.84 (d, 1H, H-5, *J*_{5,6} = 8.0 Hz), 5.36 (d, 1H, H-5''', *J*_{5''',4'''} = 7.5 Hz), 5.13-5.05 (m, 3H, benzyl, H-2'), 5.02 (d, 1H, OH-2''', *J*_{OH-2''',2'''} = 7.5 Hz), 4.80 (s, 1H, H-1''), 4.93 (d, 1H, OH-2''', *J*_{OH-3''',3'''} = 5.8 Hz), 4.80-4.78 (m, 2H, H-3', H-2''), 4.74 (d, 1H, H-1''', *J*_{1''',2'''} = 5.2 Hz), 4.62 (d, 1H, H-3''), 4.42 (d, 1H, H-5', *J*_{5',4'} = 8.6 Hz), 4.38 (d, 1H, H-6', *J*_{6',NH-6} = 9.2 Hz), 4.32 (br s, 1H, H-3'''), 4.18 (dd, 1H, H-4', *J*_{4',5'} = 8.9, *J*_{4',3'} = 4.3 Hz), 4.08 (dd, 1H, H-4'', *J*_{4'',5''} = 10.3 Hz, *J*_{4'',5''} = 2.3 Hz), 3.80 (q, 1H, H-2''', *J*_{2''',2'''-OH} = *J*_{2''',1'''} = *J*_{2''',3'''} = 6.3 Hz), 3.52 (s, 3H, CO₂Me), 3.46 (dd, 1H, H-5'', *J*_{5'',5'''} = 16.4, *J*_{5'',4'''} = 11.8 Hz), 2.79 (dd, 1H, H-5'', *J*_{5'',5'''} = 15.8, *J*_{5'',4'''} = 2.6 Hz), 1.50 (s, 9H, ^tBu), 1.46-1.36 (m, 7H, acetonide, CH₂CH₃ × 2), 1.27 (s, 3H, acetonide), 0.71 (t, 3H, CH₂CH₃, *J* = 7.4 Hz), 0.67 (t, 3H, CH₂CH₃, *J* = 7.4 Hz);

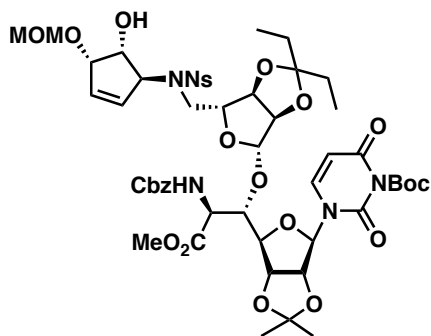
¹³C NMR (DMSO-*d*₆, 125 MHz) δ 170.1, 159.9, 156.3, 148.2, 147.7, 147.5, 143.9, 137.0, 136.9, 134.6, 132.4, 131.7, 131.5, 130.0, 128.4, 127.9, 127.7, 124.1, 115.3, 113.4, 110.6, 101.1, 93.3, 86.9, 86.2, 85.3, 83.6, 81.7, 80.8, 78.4, 73.8, 71.6, 69.3, 65.7, 54.9, 52.2, 47.5, 29.0, 28.4, 26.9, 25.2, 8.26, 7.19;

ESIMS-LR *m/z* 1110 [(M + Na)⁺]; ESIMS-HR calcd for C₄₉H₆₂N₅O₂₁S 1088.3653, found 1088.3689;

$[\alpha]_D^{19} +86.2$ (c 0.92, CHCl_3).

NKY15-10

Methyl 5-O-{5-deoxy-N-[(1S,2R,3S)-2-hydroxy-3-methoxymethoxy-4-cyclopentenyl]-5-(2-nitrobenzenesulfonylamino)-2,3-O-(3-pentylidene)- β -D-ribo-pentofuranosyl}-6-benzyloxycarbonylamino-6-deoxy-2,3-O-isopropylidene-1-(3-tert-butoxycarbonyluracil-1-yl)- β -D-glycelo-L-talo-heptofuranuronate (132)



A solution of **131** (181 mg, 166 μmol) and DIPEA (116 μL , 664 μmol) in CH_2Cl_2 (2 mL) was treated with MOMCl (25.2 μL , 332 μmol) at room temperature and stirred for 18 hours. The reaction mixture was added MOMCl (12.5 μL , 165 μmol) and stirred for 24 hours. The mixture was partitioned between AcOEt and *sat. aq.* NaHCO_3 . The organic phase was washed with brine and dried (Na_2SO_4), filtered, and concentrated *in vacuo*. The residue was purified by high-flash silica gel column chromatography (40-100% AcOEt/hexane) to afford **132** (121 mg, 107 μmol , 64%) as a

white foam.

^1H NMR ($\text{DMSO}-d_6$, 500 MHz) δ 8.25 (d, 1H, Ns, $J=7.5$ Hz), 7.93 (d, 1H, H-6, $J_{6,5}=8.0$ Hz), 7.89 (d, 1H, Ns, $J=8.0$ Hz), 7.81 (t, 1H, Ns, $J=7.7$ Hz), 7.69 (t, 1H, Ns, $J=7.7$ Hz), 7.42 (d, 1H, NH-6', $J_{\text{NH-6}',6'}=9.2$ Hz), 7.37-7.31 (m, 5H, Ph), 6.07-6.05 (m, 1H, H-4'''), 5.86 (d, 1H, H-1', $J_{1',2'}=1.7$ Hz), 5.84 (d, 1H, H-5, $J_{5,6}=8.0$ Hz), 5.37 (d, 1H, H-5''', $J_{5'',4''}=7.5$ Hz), 5.31 (d, 1H, OH-2''', $J_{\text{OH-2''},2''}=8.0$ Hz), 5.14-5.06 (m, 3H, benzyl, H-2'), 4.97 (s, 1H, H-1''), 4.83 (d, 1H, H-2'', $J_{2'',3''}=6.3$ Hz), 4.79 (t, 1H, H-3', 5.5 Hz), 4.75 (d, 1H, H-1''', $J_{1'',2''}=6.3$ Hz), 4.67 (d, 1H, OCH₂OMe, $J=6.9$ Hz), 4.64 (d, 1H, H-3'', $J_{3'',2''}=5.7$ Hz), 4.60 (d, 1H, OCH₂OMe, $J=6.3$ Hz), 4.42 (d, 1H, H-5', $J_{5',4'}=9.2$ Hz), 4.38 (d, 1H, H-6', $J_{6',\text{NH-6}}=9.2$ Hz), 4.29 (dd, 1H, H-3''', $J_{3'',2''}=5.5$, $J_{3'',4''}=2.6$ Hz), 4.18 (dd, 1H, H-4', $J_{4',5'}=8.6$, $J_{4',3'}=4.6$ Hz), 4.11 (d, 1H, H-4'', $J_{4'',5''}=10.7$, $J_{4'',5''}=2.6$ Hz), 3.89 (q, 1H, H-2''', $J_{2'',1''}=J_{2'',3''}=J_{2'',\text{OH-2''}}=6.7$ Hz), 3.56-3.46 (m, 1H, H-5''), 3.52 (s, 3H, CO_2Me), 3.23 (s, 3H, OCH₂OMe), 2.75 (d, 1H, H-5'', $J_{5'',5''}=13.2$ Hz), 1.50 (s, 9H, $t\text{Bu}$), 1.47-1.37 (m, 7H, acetonide, $\text{CH}_2\text{CH}_3 \times 2$), 1.27 (s, 3H, acetonide), 0.72 (t, 3H, CH_2CH_3 , $J=7.5$ Hz), 0.67 (t, 3H, CH_2CH_3 , $J=7.4$ Hz);

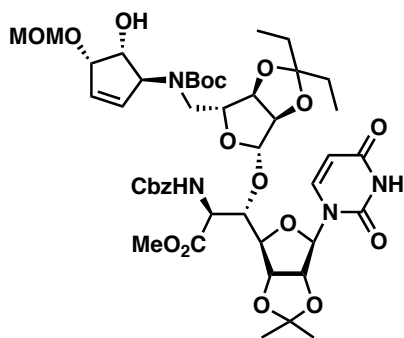
^{13}C NMR ($\text{DMSO}-d_6$, 125 MHz) δ 170.1, 160.0, 156.3, 148.2, 147.7, 147.5, 143.9, 136.9, 134.7, 134.4, 133.4, 132.4, 131.6, 130.2, 128.4, 127.9, 127.8, 124.0, 115.2, 113.4, 110.6, 101.1, 95.5, 93.2, 86.8, 86.2, 85.6, 85.4, 83.6, 81.8, 80.8, 79.2, 78.5, 77.2, 73.8, 68.3, 65.7, 55.0, 54.7, 52.2, 47.5, 29.0, 28.4, 27.0, 25.2, 8.26, 7.18;

ESIMS-LR m/z 1155 [$(\text{M} + \text{Na})^+$]; ESIMS-HR calcd for $\text{C}_{51}\text{H}_{65}\text{O}_{22}\text{N}_5\text{S}$ 1132.3915, found 1132.3944;

$[\alpha]_D^{18} +80.3$ (c 0.64, CHCl_3).

NKY15-16, 15-18, 15-21

Methyl 5-O-{5-*tert*-butoxycarbonyl-5-deoxy-N-[(1*S*,2*R*,3*S*)-2-hydroxy-3-methoxymethoxy-4-cyclopentenyl]-2,3-O-(3-pentylidene)- β -D-ribo-pentofuranosyl]-6-benzyloxycarbonylamino-6-deoxy-2,3-O-isopropylidene-1-(3-*tert*-butoxycarbonyluracil-1-yl)- β -D-glycelo-L-talo-heptofuranuronate (133)



A solution of **132** (121 mg, 111 μ mol) in MeOH (2 mL) was treated with AcOH (0.2 mL) at 60 °C and stirred for 40 hours. The reaction mixture was partitioned between AcOEt and *sat. aq.* NaHCO₃. The organic phase was washed with brine and dried (Na₂SO₄), filtered, and concentrated *in vacuo*. A mixture of the residue and K₂CO₃ (30.7 mg, 222 μ mol) in MeCN (2 mL) was treated with 4-^tBu-benzenethiol (57.5 μ L, 333 μ mol) at room temperature and stirred for 24 hours. The reaction mixture was partitioned between AcOEt and *sat. aq.* NH₄Cl, and the organic phase was washed with

brine and dried (Na₂SO₄), filtered, and concentrated *in vacuo* to afford a crude amine. A mixture of the crude amine and Et₃N (46.4 μ L, 333 μ mol) in THF (2 mL) was treated with Boc₂O (156 μ L, 666 μ mol) at room temperature and stirred for 24 hours. The reaction mixture was partitioned between AcOEt and 1M *aq.* HCl, and the organic phase was washed with H₂O, brine and dried (Na₂SO₄), filtered, and concentrated *in vacuo*. The residue was purified by high-flash silica gel column chromatography (40-100% AcOEt/hexane) to afford **133** (79.7 mg, 84.2 μ mol, 76% over 3 steps) as a white foam.

¹H NMR (DMSO-*d*₆, 500 MHz) δ 11.4(br s, 1H, NH-3), 7.77 (d, 1H, H-6, $J_{6,5}$ = 8.0 Hz), 7.36-7.32 (m, 5H, Ph), 5.93 (br s, 1H, H-4'''), 5.79 (s, 1H, H-1'), 5.77 (br s, 1H, H-5'''), 5.63 (d, 1H, H-5, $J_{5,6}$ = 6.3 Hz), 5.14-5.01 (m, 4H, benzyl, H-2', H-1''), 4.92 (d, 1H, H-1''', $J_{1''',2''}$ = 6.9 Hz), 4.83 (d, 1H, H-2'', $J_{2'',3''}$ = 5.7 Hz), 4.78 (t, 1H, H-3', $J_{3',2'} = J_{3',4'} = 5.7$ Hz), 4.68-4.60 (m, 3H, OCH₂OMe, H-3''), 4.41 (d, 1H, H-6', $J_{6',5'}$ = 9.2 Hz), 4.37 (d, 1H, H-5', $J_{5',4'}$ = 8.6 Hz), 4.29 (br s, 1H, H-3'''), 4.13-4.11 (m, 2H, H-4', H-4''), 4.05 (br s, 1H, H-2'''), 3.63 (s, 3H, CO₂Me), 3.24 (s, 4H, OCH₂OMe, H-5''), 2.85 (d, 1H, H-5'', $J_{5'',5''}$ = 9.8 Hz), 1.48-1.38 (m, 16H, CH₂CH₃×2, acetonide, ^tBu), 1.26 (s, 3H, acetonide), 0.74 (t, 3H, CH₂CH₃, J = 7.2 Hz), 0.70 (t, 3H, CH₂CH₃, J = 7.2 Hz);

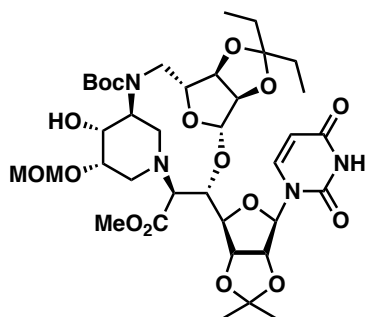
¹³C NMR (DMSO-*d*₆, 125 MHz) δ 170.2, 163.3, 156.2, 150.5, 143.4, 136.9, 128.3, 127.8, 127.6, 127.1, 115.1, 113.3, 110.2, 101.9, 95.4, 92.6, 86.4, 85.4, 83.5, 81.8, 81.0, 79.5, 79.2, 78.1, 77.9, 65.7, 55.0, 54.6, 52.3, 29.2, 28.5, 27.9, 26.9, 25.3, 8.22, 7.15

ESIMS-LR m/z 948 [(M + H)⁺]; ESIMS-HR calcd for C₄₅H₆₃O₁₈N₄ 947.4132, found 947.4135;

$[\alpha]_D^{20}$ +53.5 (*c* 0.55, CHCl₃).

NKY15-56, 15-60, 15-61, 15-62

Compound 134



A solution of compound **133** (149 mg, 157 μ mol), K₃[Fe(CN)₆] (155 mg, 471 μ mol), K₂CO₃ (65.1 mg, 471 μ mol), NaHCO₃ (39.6 mg, 471 μ mol), DABCO (17.6 mg, 157 μ mol) and MeSO₂NH₂ (14.9 mg, 157 μ mol) in ^tBuOH-H₂O (1:1, 4 mL) was treated with K₂OsO₄·2H₂O (5.8 mg, 15.7 μ mol) at room temperature for 24 hours. After *sat. aq.* Na₂S₂O₃ was added, the mixture was extracted with AcOEt. The organic phase was washed with brine and dried (Na₂SO₄), filtered, and concentrated *in vacuo*. The residue was purified by short silica gel column

chromatography (100 % AcOEt), and the fractions containing a diol were collected and concentrated *in vacuo*. A solution of the diol in THF-phosphate buffer (1:1, pH 7.2, 4 mL) was treated with NaIO₄ (84.1 mg, 393 μmol) at room temperature for 1 hours. After *sat. aq.* Na₂S₂O₃ was added, the mixture was extracted with AcOEt. The organic phase was washed with brine and dried (Na₂SO₄), filtered, and concentrated *in vacuo*. A mixture of the residue and Pd black (80.0 mg) in MeOH (3 mL) was vigorously stirred under H₂ atmosphere at room temperature for 1 hour. The catalyst was filtered off through a Celite pad, and the filtrate was concentrated *in vacuo*. The residue in 1,2-dichloroethane (16 mL) was treated with AcOH (90 μL) and pic-BH₃ (33.6 mg, 314 μmol) at room temperature. The resulting mixture was heated at 50 °C for 6 hours. The reaction mixture was added Pic-BH₃ (16.8 mg, 157 μmol) and stirred for 10 hours. The reaction mixture was partitioned between AcOEt and 1M *aq.* HCl. The organic phase was washed with *sat. aq.* NaHCO₃ and brine, dried (Na₂SO₄), filtered, and concentrated *in vacuo*. The residue was purified by high-flash silica gel column chromatography (50-100% AcOEt/hexane) to afford **134** (25.0 mg, 30.8 μmol, 20% over 4 steps) as a white solid.

¹H NMR (DMSO-*d*₆, 500 MHz, 60 °C) δ 11.2 (br s, 1H, NH-3), 7.59 (d, 1H, H-6, *J*_{6,5} = 7.9 Hz), 5.89 (d, 1H, H-1', *J*_{1',2'} = 2.8 Hz), 5.76 (d, 1H, H-5, *J*_{5,6} = 7.6 Hz), 5.35 (s, 1H, H-1''), 4.91 (dd, 1H, H-2', *J*_{2',3'} = 6.0, *J*_{2',1'} = 2.8 Hz), 4.80 (dd, 1H, H-3', *J*_{3',2'} = 6.0, *J*_{3',4'} = 3.2 Hz), 4.66 (d, 1H, H-2'', *J*_{2'',3''} = 5.7 Hz), 4.60-4.56 (m, 3H, OCH₂OMe, H-3''), 4.49 (d, 1H, OH-4''', *J*_{OH-4''',4'''} = 3.8 Hz), 4.28-4.24 (m, 3H, H-4', H-5', H-4''), 4.17 (ddd, 1H, H-5''', *J*_{5''',6'''} = 10.4, *J*_{5''',6'''} = 5.0, *J*_{5''',4'''} = 2.8 Hz), 4.07 (br s, 1H, H-4'''), 3.68 (s, 3H, CO₂Me), 3.59 (br s, 2H, H-5'', H-3'''), 3.41 (d, 1H, H-5'', *J*_{5'',5''} = 13.9 Hz), 3.26 (s, 3H, OCO₂Me), 3.26-3.22 (m, 1H, H-2'''), 3.19 (d, 1H, H-6', *J*_{6',5'} = 10.1 Hz), 2.74 (dd, 1H, H-6''', *J*_{6''',6'''} = 9.8, *J*_{6''',5'''} = 5.0 Hz), 2.58 (d, 1H, H-2''', *J*_{2''',2'''} = 13.2 Hz), 2.16 (t, 1H, H-6''', *J*_{6''',6'''} = *J*_{6''',5'''} = 10.4 Hz), 1.62 (q, 2H, CH₂CH₃, *J* = 7.4 Hz), 1.58-1.53 (m, 2H, CH₂CH₃), 1.50 (s, 3H, CCH₃), 1.44 (s, 9H, ^tBu), 1.34 (s, 3H, CCH₃), 0.84 (t, 3H, CH₂CH₃, *J* = 7.1 Hz), 0.83 (t, 3H, CH₂CH₃, *J* = 7.3 Hz);

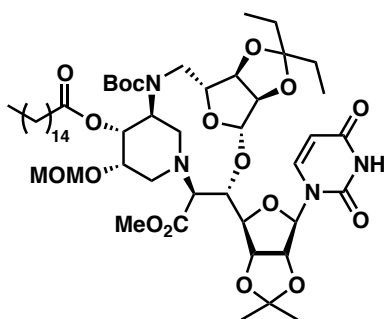
¹³C NMR (DMSO-*d*₆, 100 MHz) δ 169.0, 163.2, 150.4, 140.4, 115.5, 112.9, 110.3, 102.0, 94.7, 94.3, 90.1, 84.9, 84.5, 83.3, 80.2, 79.2, 79.0, 71.1, 66.9, 56.8, 54.9, 51.2, 48.9, 44.1, 29.0, 28.8, 28.0, 28.0, 27.3, 25.4, 8.55, 8.44, 7.31;

ESIMS-LR *m/z* 814 [(M + H)⁺]; ESIMS-HR calcd for C₃₇H₅₇O₁₆N₄ 813.3764, found 813.3774;

[α]_D¹⁹ -32.6 (*c* 0.64, CHCl₃).

NKY16-53

Compound 138



A solution of **134** (11.4 mg, 14.0 μmol), palmitic acid (10.8 mg, 14.0 μmol) and DMAP (1.6 mg, 14.0 μmol) in 1,2-DCE (400 μL) was treated with EDCI (10.7 mg, 56.0 μmol) at room temperature and stirred for 24 hours. Palmitic acid (5.4 mg, 21 μmol) and EDCI (10.7 mg, 56.0 μmol) was added to the reaction mixture and stirred for 72 hours. After MeOH was added, the reaction mixture was partitioned between AcOEt and 1M *aq.* HCl. The organic phase was washed with *sat. aq.* NaHCO₃, brine and dried (Na₂SO₄), filtered,

and concentrated *in vacuo*. The residue was purified by silica gel column chromatography (30-50% AcOEt/hexane) to afford **138** (11.5 mg, 10.9 μmol, 78%) as a white solid.

¹H NMR (DMSO-*d*₆, 500 MHz, 60 °C) δ 11.2 (br s, 1H, NH-3), 7.59 (d, 1H, H-6, *J*_{6,5} = 8.0 Hz), 5.89 (s, 1H, H-1'), 5.76 (d, 1H, H-5, *J*_{5,6} = 8.0 Hz), 5.49 (s, 1H, H-4'''), 5.37 (s, 1H, H-1''), 4.93 (dd, 1H, H-2', *J*_{2',3'} = 6.3 Hz, *J*_{2',1'} = 3.5

Hz), 4.80 (dd, 1H, H-3', $J_{3',2'} = 5.8$, $J_{3',4'} = 2.9$ Hz), 4.68 (d, 1H, H-2'', $J_{2'',3''} = 5.2$ Hz), 4.60 (d, 1H, H-3'', $J_{3'',2''} = 5.2$ Hz), 4.54 (d, 1H, OCH₂OMe, $J = 6.3$ Hz), 4.48 (d, 1H, OCH₂OMe, $J = 6.3$ Hz), 4.38 (br s, 1H, H-5'''), 4.34 (d, 1H, H-5', $J_{5',6'} = 9.8$ Hz), 4.27-4.25 (m, 2H, H-4', H-4''), 3.70 (s, 3H, CO₂Me), 3.60-3.54 (m, 2H, H-5'', H-3'''), 3.46 (d, 1H, H-5'', $J_{5'',5'''} = 14.9$ Hz), 3.28 (d, 1H, H-6', $J_{6',5'} = 9.7$ Hz), 3.23 (s, 3H, OCH₂OMe), 3.13 (o, 1H, H-2'''), 2.88-2.87 (m, 1H, H-6'''), 2.80 (d, 1H, H-2''', $J_{2''',2''''} = 13.8$ Hz), 2.30 (t, 2H, palmitoyl, $J = 6.9$ Hz), 2.07 (t, 1H, H-6''', $J_{6''',6''''} = J_{6''',6'''} = 10.3$ Hz), 1.62 (q, 2H, CH₂CH₃, $J = 7.3$ Hz), 1.57-1.50 (m, 7H, CH₂CH₃, CCH₃, palmitoyl), 1.44 (s, 9H, ^tBu), 1.34 (s, 3H, CCH₃), 1.25 (s, 24H, palmitoyl), 0.87-0.82 (m, 9H, CH₂CH₃×2, palmitoyl);

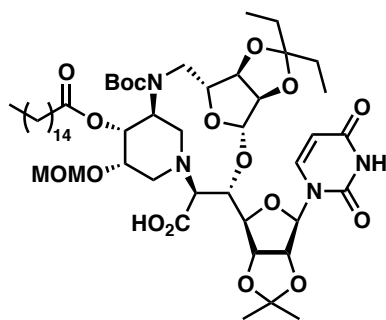
¹³C NMR (DMSO-*d*₆, 100 MHz, a mixture of rotamers) δ 171.2, 168.9, 163.2, 155.2, 154.8, 150.4, 140.6, 140.4, 115.6, 115.5, 113.0, 110.7, 102.0, 94.0, 93.9, 90.0, 89.4, 84.8, 84.7, 83.3, 83.2, 80.1, 80.0, 76.2, 76.1, 68.0, 67.9, 66.7, 54.8, 54.4, 51.1, 49.6, 48.9, 45.0, 33.8, 31.3, 29.0, 28.9, 28.8, 28.4, 28.3, 28.2, 27.9, 27.8, 27.3, 25.5, 24.7, 22.1, 14.0, 8.57, 8.47, 7.30;

ESIMS-LR m/z 1052 [(M + H)⁺]; ESIMS-HR calcd for C₅₃H₈₇N₄O₁₇ 1051.6061, found 1051.6068;

[α]_D¹⁷ -28.7 (*c* 0.69, CHCl₃).

NKY16-69

Compound 139



To the mixture of compound **138** (12.5 mg, 11.9 μmol), 2,6-di-^tBu-*p*-cresol (1.3 mg, 5.9 μmol) and Cs₂CO₃ (11.6 mg, 35.7 μmol) in DMF (200 μL) was added Ph₃SiSH (10.4 mg, 35.7 μmol) and the mixture was stirred at 90 °C for 20 hours. After cooling down to room temperature, the reaction mixture was partitioned between AcOEt and sat. *aq.* NH₄Cl. The organic phase was washed with H₂O, brine and dried (Na₂SO₄), filtered, and concentrated *in vacuo*. The residue was purified by silica gel column chromatography (1-5%

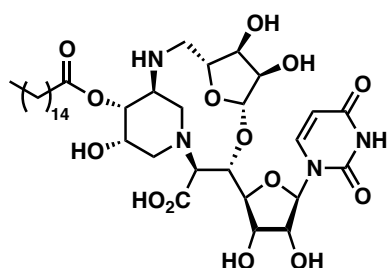
MeOH/CHCl₃) to afford **139** (10.9 mg, 10.5 μmol, 88%) as a white solid.

¹H NMR (DMSO-*d*₆, 500 MHz, 60 °C) δ 11.2 (br s, 1H, NH-3), 7.61 (d, 1H, H-6, $J_{6,5} = 8.1$ Hz), 5.90 (s, 1H, H-1'), 5.76 (d, 1H, H-5, $J_{5,6} = 6.3$ Hz), 5.49 (br s, 1H, H-4'''), 5.35 (s, 1H, H-1''), 4.92-4.90 (m, 1H, H-2'), 4.80 (dd, 1H, H-3', $J_{3',2'} = 6.3$, $J_{3',4'} = 3.2$ Hz), 4.68 (d, 1H, H-2'', $J_{2'',3''} = 4.6$ Hz), 4.58 (d, 1H, H-3'', $J_{3'',2''} = 5.2$ Hz), 4.54 (d, 1H, OCH₂OMe, $J = 6.3$ Hz), 4.48 (d, 1H, OCH₂OMe, $J = 6.3$ Hz), 4.38 (br s, 1H, H-4', H-5'''), 4.26 (d, 1H, H-4'', $J_{4'',5''} = 8.0$ Hz), 4.21 (d, 1H, H-5', $J_{5',6'} = 9.8$ Hz), 3.59 (br s, 2H, H-5'', H-3'''), 3.45 (d, 1H, H-5'', $J_{5'',5'''} = 14.9$ Hz), 3.31-3.23 (m, 1H, H-2'''), 3.23 (s, 1H, OCH₂OMe), 3.14-3.12 (m, 1H, H-6'), 2.87 (dd, 1H, H-6''', $J_{6''',6''''} = 9.8$, $J_{6''',5'''} = 5.2$ Hz), 2.74 (d, 1H, H-2''', $J_{2''',2''''} = 12.6$ Hz), 2.89 (t, 3H, palmitoyl, $J = 6.9$ Hz), 2.20 (t, 1H, H-6''', $J_{6''',6''''} = 10.0$ Hz), 1.62 (q, 2H, CH₂CH₃, $J = 7.5$ Hz), 1.56-1.53 (m, 4H, CH₂CH₃, palmitoyl), 1.50 (s, 3H, CCH₃), 1.44 (s, 9H, ^tBu), 1.34 (s, 3H, CCH₃), 1.25 (s, 24H, palmitoyl), 0.88-0.84 (m, 9H, CH₂CH₃×2, palmitoyl);

¹³C NMR (DMSO-*d*₆, 100 MHz, a mixture of rotamers) δ 171.3, 169.8, 163.2, 155.2, 150.4, 140.6, 140.4, 115.6, 115.5, 112.8, 110.6, 110.2, 101.8, 94.0, 93.9, 90.3, 89.4, 85.2, 84.7, 83.5, 83.3, 80.3, 80.0, 79.4, 76.7, 69.8, 68.2, 68.0, 67.3, 54.8, 54.5, 49.9, 48.9, 45.1, 33.7, 31.3, 29.1, 29.0, 28.7, 28.2, 27.9, 27.8, 27.2, 25.5, 24.7, 22.1, 14.0, 8.55, 8.45, 7.29;

ESIMS-LR m/z 1038 [(M + H)⁺]; ESIMS-HR calcd for C₅₂H₈₅N₄O₁₇ 1037.5904, found 1073.5889;

[α]_D¹⁶ -15.9 (*c* 0.54, CHCl₃).

Compound 127

Compound **139** (26.7 mg, 25.7 μmol) was treated with *aq.* 80% TFA (1 mL) at room temperature for 36 hours. The mixture was concentrated *in vacuo*. The residue was purified by high-flash C18 reverse phase column chromatography (70-90% MeOH/H₂O, 0.1% TFA) to afford **127** (13.7 mg, 13.5 μmol , 53%) as a white solid.

¹H NMR (DMSO-*d*₆, 500 MHz, a mixture of rotamers) δ 11.4 (s, 1H, NH-3), 9.89 (br s, 0.4H), 9.66 (br s, 0.4H), 7.76 (d, 1H, H-6, $J_{6,5} = 8.1$ Hz), 7.16 (br s, 0.6H), 5.69 (d, 1H, H-5, $J_{5,6} = 7.8$ Hz), 5.63 (s, 1H, H-1'), 5.34 (br s, 2H), 5.19-5.17 (m, 1.6H), 5.09 (br s, 0.4H), 4.23-3.97 (m, 8H), 3.37-3.32 (m, 3H), 3.20 (d, 0.4H, $J = 8.6$ Hz), 3.04 (br s, 0.6H), 2.86-2.81 (m, 1H), 2.66 (d, 0.4H, $J = 13.2$ Hz), 2.45 (t, 0.4H, 10.1 Hz), 2.36-2.29 (m, 2.4H), 1.51 (q, 2H, palmitoyl, $J = 6.3$ Hz), 1.23-1.22 (m, 24H, palmitoyl), 0.85 (t, 3H, palmitoyl, $J = 6.9$ Hz);

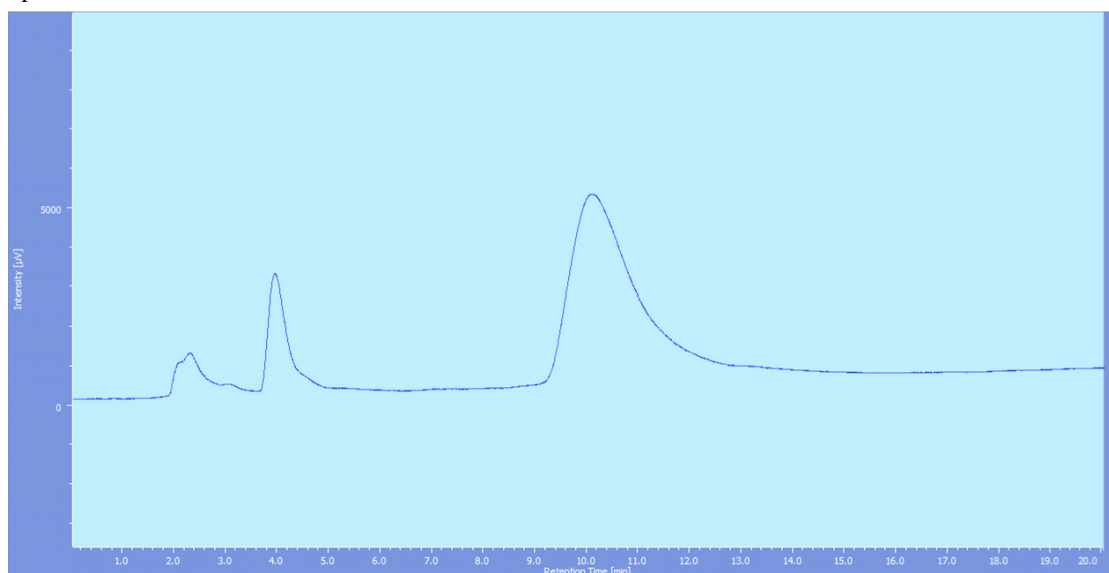
¹³C NMR (DMSO-*d*₆, 125 MHz, a mixture of rotamers) δ 172.3, 171.9, 169.9, 169.8, 163.3, 150.4, 139.8, 118.1, 115.7, 110.0, 101.6, 101.5, 89.2, 82.4, 82.3, 80.5, 80.3, 78.7, 76.8, 76.7, 74.0, 72.6, 72.6, 69.8, 68.5, 68.5, 68.2, 68.2, 67.9, 67.0, 63.2, 62.7, 57.8, 55.0, 51.9, 48.5, 47.8, 47.6, 46.6, 46.5, 33.5, 31.3, 29.1, 29.0, 28.8, 28.4, 28.4, 24.4, 22.1, 14.0;

ESIMS-LR m/z 785 [(M + H)⁺]; ESIMS-HR calcd for C₃₇H₆₁N₄O₁₄ 785.4179, found 785.4197;

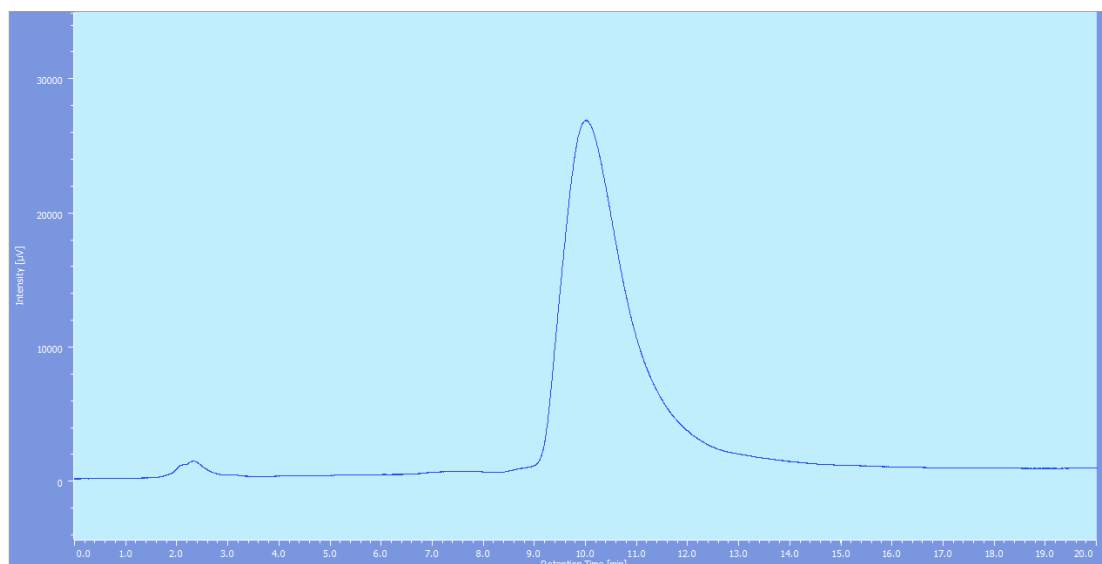
$[\alpha]_D^{20} -0.24$ (0.96, MeOH).

Figure S-1. Chromatogram of HPLC, compound **127** (J'sphere ODS-M80, 150×4.6 mm; 75% MeOH/H₂O, 0.1% TFA)

a) crude product

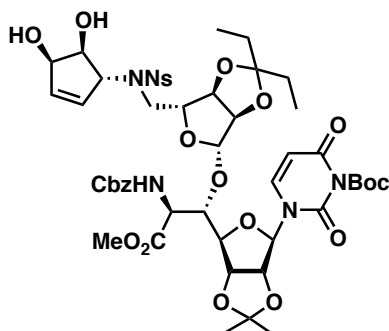


b) after purification



NKY16-36

Methyl 5-*O*-{5-deoxy-*N*-[(1*R*,2*S*,3*R*)-2,3-dihydroxy-4-cyclopentenyl]-5-(2-nitrobenzene-sulfonylamino)-2,3-*O*-(3-pentylidene)- β -D-ribo-pentofuranosyl}-6-benzyloxycarbonylamino-6-deoxy-2,3-*O*-isopropylidene-1-(3-*tert*-butoxycarbonyluracil-1-yl)- β -D-glycero-L-talo-heptofuranuronate (140**)**



Compound **113** (1.00 g, 1.01 mmol), carbonate *rac*-**130** (352 mg, 2.02 mmol) and Et₃N (423 μ L, 3.03 mmol) were dissolved in THF (10 mL). Ligand **L1** (112 mg, 162 μ mol) and Pd₂(dba)₃·CHCl₃ (41.8 mg, 40.4 μ mol) were dissolved in THF (10 mL) and the mixture stirred for 30 minutes. The solution of the Pd catalyst and the ligand was slowly added to the mixture at 70 °C. The mixture was stirred for 2 hours. The reaction mixture was partitioned between AcOEt and H₂O. The organic phase was washed with brine and dried (Na₂SO₄), filtered, and concentrated *in vacuo*. The residue was purified by

high-flash silica gel column chromatography (50-100% AcOEt/hexane) to afford **140** (657 mg, 604 μ mol, 60%, diastereo ratio **140**:**131** = 6:1). The diastereo mixture was separated by high-flash silica gel column chromatography (50-100% AcOEt/hexane) to give **140** (429 mg, 394 μ mol, 39%, diastereo ratio **140**:**131** = >11:1) as a white foam
¹H NMR (DMSO-*d*₆, 400 MHz) δ 8.10 (d, 1H, Ns, J = 7.8 Hz), 7.93 (d, 1H, H-6, $J_{6,5}$ = 8.2 Hz), 7.87-7.74 (m, 4H, Ns), 7.37-7.34 (m, 5H, Ph), 7.03 (d, 1H, NH-6', $J_{\text{NH-6',6'}}$ = 9.2 Hz), 5.93-5.92 (m, 1H, H-4'''), 5.84 (s, 1H, H-1'), 5.83 (d, 1H, H-5, $J_{5,6}$ = 8.2 Hz), 5.59 (dd, 1H, H-5''', $J_{5'',4''}$ = 6.0, $J_{5'',1''}$ = 1.6 Hz), 5.12 (d, 1H, H-2', $J_{2',3'}$ = 6.9 Hz), 5.08-5.02 (m, 2H, benzyl), 4.99 (s, 1H, H-1''), 4.93 (d, 1H, OH-3'''), 4.84 (d, 1H, OH-2''', $J_{\text{OH-2''',2''}}$ = 7.3 Hz), 4.80-4.79 (m, 2H, H-3', H-2''), 4.74 (d, 1H, H-1''', $J_{1'',2''}$ = 4.6 Hz), 4.60 (d, 1H, H-3'', $J_{3'',2''}$ = 6.0 Hz), 4.43-4.39 (m, 3H, H-5', H-6', H-3'''), 4.18 (dd, 1H, H-4', J = 8.7, J = 4.1 Hz), 4.13 (dd, 1H, H-4'', J = 11.4, J = 3.6 Hz), 3.84 (q, 1H, H-2''', $J_{2'',3''} = J_{2'',3''} = J_{2'',\text{OH-2''}}$ = 6.4 Hz), 3.56 (s, 3H, CO₂Me), 3.41-3.37 (m, 1H, H-5''), 3.03 (dd, 1H, H-5'', $J_{5'',5''}$ = 15.1, $J_{5'',4''}$ = 3.2 Hz), 1.51 (s, 9H, ^tBu), 1.51-1.39 (m, 4H, CH₂CH₃×2), 1.41 (s, 3H, CCH₃), 0.73 (t, 3H, CH₂CH₃, J = 7.8 Hz), 0.67 (t, 3H, CH₂CH₃, J = 7.6 Hz);

¹³C NMR (DMSO-*d*₆, 125 MHz) δ 170.2, 160.0, 156.2, 148.2, 147.9, 147.5, 143.8, 136.8, 135.9, 134.5, 133.0, 132.4, 131.6, 128.4, 127.9, 127.8, 127.6, 127.2, 124.2, 115.4, 113.4, 111.1, 101.1, 93.4, 86.8, 86.2, 85.3, 84.4, 83.7, 81.1,

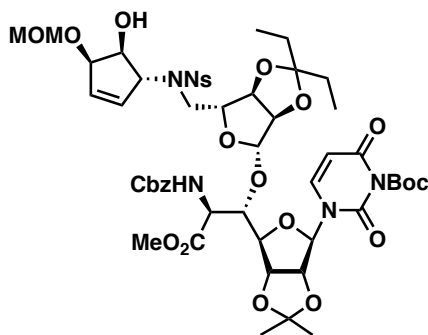
80.8, 79.2, 78.8, 72.7, 71.1, 68.9, 65.7, 54.9, 52.3, 47.4, 29.0, 28.4, 27.0, 25.2, 8.33, 7.20;

ESIMS-LR m/z 1111 [(M + Na)⁺]; ESIMS-HR calcd for C₄₉H₆₂N₅O₂₁S 1088.3653, found 1088.3621;

$[\alpha]_D^{23} +51.9$ (c 1.02, CHCl₃).

NKY16-40

Methyl 5-*O*-{5-deoxy-*N*-[(1*R*,2*S*,3*R*)-2-hydroxy-3-methoxymethoxy-4-cyclopentenyl]-5-(2-nitrobenzenesulfonylamino)-2,3-*O*-(3-pentylidene)-β-*D*-ribo-pentofuranosyl}-6-benzyloxycarbonylamino-6-deoxy-2,3-*O*-isopropylidene-1-(3-*tert*-butoxycarbonyluracil-1-yl)-β-*D*-glycelo-*L*-talo-heptofuranuronate (141)



A solution of **140** (187 mg, 172 μmol) and DIPEA (150 μL, 860 μmol) in CH₂Cl₂ (3 mL) was treated with MOMCl (26 μL, 0.34 mmol) at room temperature and stirred for 24 hours. To the reaction mixture was added MOMCl (26 μL, 0.34 mmol) and stirred for 15 hours. After MeOH was added, the reaction mixture was partitioned between AcOEt and sat. *aq.* NaHCO₃. The organic phase was washed with brine and dried (Na₂SO₄), filtered, and concentrated *in vacuo*. The residue was purified by high-flash silica gel column chromatography (50-100% AcOEt/hexane) to afford **141**

(114 mg, 101 μmol, 59%) as a white foam.

¹H NMR (DMSO-*d*₆, 500 MHz) δ 8.10 (d, 1H, Ns, J = 8.0 Hz), 7.94-7.77 (m, 4H, H-6, Ns), 7.36-7.31 (m, 5H, Ph), 6.95 (d, 1H, NH-6', $J_{\text{NH-6',6''}}$ = 9.2 Hz), 5.95 (m, 1H, H-4'''), 5.84-5.82 (m, 2H, H-5, H-1'), 5.57 (d, 1H, H-5''', $J_{5'',4''}$ = 6.3 Hz), 5.20 (d, 1H, OH-2'', $J_{\text{OH-2'',2'''}}$ = 7.5 Hz), 5.12 (d, 1H, H-2', $J_{2',3'}$ = 6.9 Hz), 5.08 (d, 1H, benzyl, J = 12.6 Hz), 5.03 (d, 1H, benzyl, J = 12.6), 4.98 (s, 1H, H-1''), 4.80-4.74 (m, 3H, H-3', H-2'', H-1'''), 4.66 (d, 1H, OCH₂OMe, J = 6.9 Hz), 4.60 (d, 1H, H-3'', $J_{3'',2''}$ = 5.7 Hz), 4.57 (d, 1H, OCH₂OMe, J = 6.9 Hz), 4.42 (d, 1H, H-5', J = 8.0 Hz), 4.38-4.36 (m, 2H, H-6', H-3'''), 4.20-4.17 (m, 2H, H-4', H-4'''), 3.91 (q, 1H, H-2''', $J_{2'',1''}$ = $J_{2'',3''}$ = $J_{2'',\text{OH-2''}}$ = 6.7 Hz), 3.56 (s, 3H, CO₂Me), 3.24-3.20 (m, 4H, H-5'', OCH₂OMe), 3.05 (dd, 1H, H-5'', $J_{5'',5''}$ = 15.5, $J_{5'',4''}$ = 3.4 Hz), 1.51 (s, 9H, ^tBu), 1.46-1.41 (m, 7H, CCH₃, CH₂CH₃ × 2), 1.27 (s, 3H, CCH₃), 0.73 (t, 3H, CH₂CH₃, J = 7.2 Hz), 0.67 (t, 3H, CH₂CH₃, J = 7.2 Hz);

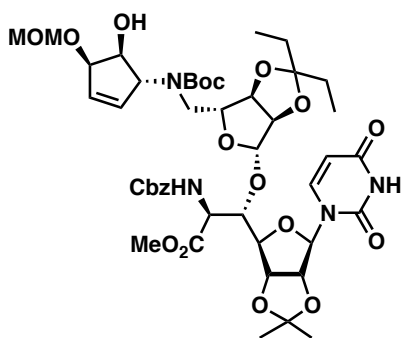
¹³C NMR (DMSO-*d*₆, 100 MHz) δ 170.1, 159.9, 156.1, 148.2, 147.9, 147.5, 143.9, 136.8, 134.7, 134.3, 133.5, 132.5, 131.1, 129.8, 128.3, 127.9, 127.6, 124.1, 115.3, 113.4, 111.1, 101.1, 95.4, 93.4, 86.8, 86.2, 85.3, 84.4, 83.7, 80.9, 80.8, 78.7, 77.2, 73.0, 68.3, 65.8, 54.9, 54.7, 52.3, 46.8, 28.9, 28.3, 27.0, 26.9, 25.1, 8.35, 7.18;

ESIMS-LR m/z 1155 [(M + Na)⁺]; ESIMS-HR calcd for C₅₁H₆₆N₅O₂₂S 1132.3915, found 1132.3876;

$[\alpha]_D^{24} +41.6$ (c 0.82, CHCl₃).

NKY16-1,16-8,16-15

Methyl 5-*O*-{5-*tert*-butoxycarbonyl-5-deoxy-*N*-[(1*R*,2*S*,3*R*)-2-hydroxy-3-methoxymethoxy-4-cyclopentenyl]-2,3-*O*-(3-pentylidene)-β-*D*-ribo-pentofuranosyl}-6-benzyloxycarbonylamino-6-deoxy-2,3-*O*-isopropylidene-1-(3-*tert*-butoxycarbonyluracil-1-yl)-β-*D*-glycelo-*L*-talo-heptofuranuronate (142)



A solution of **141** (124 mg, 110 μmol) in MeOH (5 mL) was treated with AcOH (0.5 mL) at 60 $^{\circ}\text{C}$ and stirred for 3 days. The reaction mixture was partitioned between AcOEt and *sat. aq.* NaHCO_3 . The organic phase was washed with brine and dried (Na_2SO_4), filtered, and concentrated *in vacuo*. A mixture of the residue and K_2CO_3 (30.4 mg, 220 μmol) in MeCN (2 mL) was treated with 4-*t*-Bu-benzenethiol (57 μL , 0.33 mmol) at room temperature and stirred for 36 hours. The reaction mixture was partitioned between AcOEt and *sat. aq.* NH_4Cl , and the organic phase was washed with brine and dried

(Na_2SO_4), filtered, and concentrated *in vacuo* to afford a crude amine. A mixture of the crude amine and Et_3N (46 μL , 0.33 mmol) in THF (1 mL) was treated with Boc_2O (155 μL , 660 μmol) at room temperature and stirred for 20 hours. The reaction mixture was partitioned between AcOEt and 1M *aq.* HCl, and the organic phase was washed with H_2O , brine and dried (Na_2SO_4), filtered, and concentrated *in vacuo*. The residue was purified by high-flash silica gel column chromatography (40-100% AcOEt/hexane) to afford **142** (73.6 mg, 77.7 μmol , 71% over 3 steps) as a white foam.

^1H NMR (DMSO-*d*₆, 400 MHz) δ 11.5 (br s, 1H, NH -3), 7.78 (d, 1H, H-6, $J_{6,5} = 7.7$ Hz), 7.37-7.31 (m, 5H, Ph), 5.89 (br s, 1H, H-4''', H-5'''), 5.79 (s, 1H, H-1'), 5.63 (br s, 1H, H-5, $J_{5,6} = 8.2$ Hz), 5.13 (d, 1H, benzyl, $J_{5,6} = 12.7$ Hz), 5.06-5.01 (m, 3H, benzyl, H-2', H-1''), 4.86 (d, 1H, OH -2'''), 4.78 (dd, 1H, H-3', $J = 5.9$, $J = 4.5$ Hz), 4.73-4.60 (m, 4H, H-2'', H-3'', OCH_2OMe), 4.42-4.33 (m, 3H, H-5', H-6', H-3'''), 4.14-4.11 (m, 2H, H-4', H-4''), 3.99 (br d, 1H, H-2''', $J = 6.3$ Hz), 3.63 (s, 3H, CO_2Me), 3.33 (o, 1H, H-5''), 3.24 (s, 3H, OCH_2OMe), 2.80 (d, 1H, H-5'', $J_{5'',5'''} = 10.9$ Hz), 1.47-1.38 (m, 16H, *t*-Bu, $\text{CH}_2\text{CH}_3 \times 2$, CCH_3), 1.26 (s, 3H, CCH_3), 0.73 (t, 3H, CH_2CH_3 , $J = 7.5$ Hz), 0.69 (t, 3H, CH_2CH_3 , $J = 7.5$ Hz);

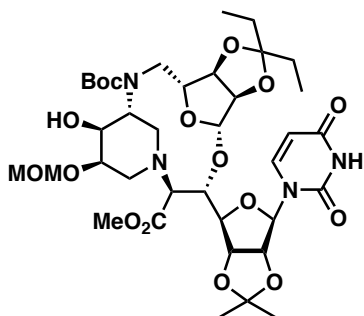
^{13}C NMR (DMSO-*d*₆, 100 MHz) δ 170.2, 163.3, 156.2, 150.5, 143.5, 136.9, 128.3, 127.9, 127.6, 127.1, 115.2, 113.3, 110.4, 101.8, 95.4, 92.9, 86.3, 85.4, 83.6, 81.8, 81.0, 79.5, 79.2, 78.1, 74.1, 67.0, 65.7, 55.0, 54.6, 52.3, 29.2, 28.5, 27.9, 27.0, 25.3, 8.24, 7.16;

ESIMS-LR m/z 947 [(M + H)⁺]; ESIMS-HR calcd for $\text{C}_{45}\text{H}_{63}\text{N}_4\text{O}_{18}$ 947.4132, found 947.4135;

$[\alpha]_{\text{D}}^{20} -33.8$ (*c* 0.83, CHCl_3).

NKY16-19,16-21,16-22,16-23

Compound 143



A solution of **142** (213 mg, 301 μmol), $\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]$ (297 mg, 903 μmol), K_2CO_3 (125 mg, 903 μmol), NaHCO_3 (75.9 mg, 903 μmol), DABCO (33.8 mg, 301 μmol) and MeSO_2NH_2 (28.6 mg, 301 μmol) in *t*-BuOH- H_2O (1:1, 6 mL) was treated with $\text{K}_2\text{OsO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (11.1 mg, 30.1 μmol) at room temperature for 13 hours. After *sat. aq.* $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ was added, the mixture was extracted with AcOEt. The organic phase was washed with brine and dried (Na_2SO_4), filtered, and concentrated *in vacuo*. The residue was purified by short silica gel column chromatography (100 % AcOEt), and the fractions containing the diol were collected and concentrated *in vacuo*.

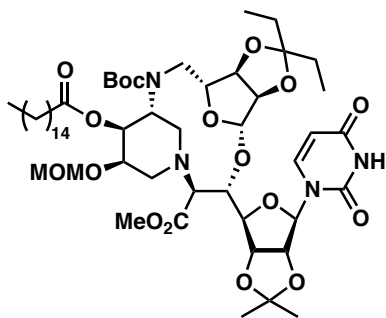
A solution of the diol in THF-phosphate buffer (1:1, pH 7.2, 2 mL) was treated with NaIO_4 (33.2 mg, 155 μmol) at room temperature for 30 min. After *sat. aq.* $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ was added, the mixture was extracted with AcOEt. The organic phase was washed with brine and dried (Na_2SO_4), filtered, and concentrated *in vacuo*. A mixture of the residue and

Pd black (73.0 mg) in MeOH (2 mL) was vigorously stirred under H₂ atmosphere at room temperature for 1 hour. The catalyst was filtered off through a Celite pad, and the filtrate was concentrated *in vacuo*. The residue in 1,2-dichloroethane (8 mL) was treated with AcOH (45 μ L) and pic-BH₃ (16.6 mg, 155 μ mol) at room temperature. The resulting mixture was heated at 50 °C for 16 hours. The reaction mixture was partitioned between AcOEt and 1M *aq.* HCl. The organic phase was washed with *sat. aq.* NaHCO₃ and brine, dried (Na₂SO₄), filtered, and concentrated *in vacuo*. The residue was purified by silica gel column chromatography (40-60% AcOEt/hexane) to afford **143** (21.7 mg, 26.7 μ mol, 34% over 4 steps) as a white solid.

¹H NMR (DMSO-*d*₆, 500 MHz, a mixture of rotamers) δ 11.5 (br s, 1H, NH-3), 7.68 (dd, 1H, H-6, $J = 8.0, J = 5.7$ Hz), 5.76 (t, H-6, $J = 2.0$ Hz), 5.67 (td, 1H, H-5, $J = 7.5, J = 2.0$ Hz), 5.24 (d, 1H, H-1", 14.3 Hz), 5.00 (m, 1H, H-2'), 4.89 (d, 1H, OH-4"', $J_{\text{OH-4''',4''}} = 3.4$ Hz), 4.80-4.67 (m, 2H, H-3', H-5"), 4.63-4.54 (m, 4H, H-2", H-3", OCH₂OMe), 4.35-4.31 (m, 1H, H-5'), 4.22 (dd, 1H, H-4", $J = 26.7, J = 10.0$ Hz), 3.94-3.91 (m, 1H, H-4'), 3.87 (br s, 0.6H, H-5'''), 3.76 (br s, 0.4H, H-5'''), 3.70 (m, 0.4H, H-4'''), 3.63-3.62 (m, 0.6H, H-4'''), 3.51-3.48 (m, 1H, H-3'''), 3.39-3.36 (m, 1H, H-6', H-5'''), 3.17 (t, 1H, H-6''', $J = 10.9$ Hz), 2.60-2.51 (m, 3H, H-6''', H-2''' \times 2), 1.57-1.45 (m, 4H, CH₂CH₃ \times 2), 1.46 (s, 3H, CCH₃), 1.41 (d, 9H, ^tBu, $J = 3.4$ H), 1.27 (s, 3H, CCH₃), 0.79-0.76 (m, 6H, CH₂CCH₃ \times 2); ¹³C NMR (DMSO-*d*₆, 125 MHz) δ 167.4, 163.1, 154.6, 154.4, 150.2, 142.9, 142.8, 115.4, 115.2, 113.7, 109.4, 109.1, 102.0, 94.3, 94.2, 90.5, 90.3, 87.6, 86.7, 85.5, 85.2, 84.7, 84.5, 83.2, 83.1, 82.0, 79.7, 79.5, 79.2, 79.1, 72.3, 72.2, 72.2, 72.1, 68.4, 67.5, 66.2, 66.1, 54.8, 54.8, 54.5, 53.9, 51.0, 50.0, 49.7, 48.7, 48.3, 41.5, 41.4, 29.3, 28.9, 28.6, 28.2, 28.0, 27.1, 25.3, 25.3, 8.37, 8.22, 7.27, 7.19; ESIMS-LR m/z 814 [(M + H)⁺]; ESIMS-HR calcd for C₃₇H₅₇N₄O₁₆ 813.3764, found 813.3774; $[\alpha]_D^{20} +13.5$ (c 0.54, CHCl₃).

NKY16-52

Compound 144



A solution of **143** (3.9 mg, 4.8 μ mol), palmitic acid (3.9 mg, 14.4 μ mol) and DMAP (0.6 mg, 4.8 μ mol) in 1,2-DCE (200 μ L) was treated with EDCI (3.7 mg, 19.2 μ mol) at room temperature and stirred for 12 hours. After MeOH was added, the reaction mixture was partitioned between AcOEt and 1M *aq.* HCl. The organic phase was washed with *sat. aq.* NaHCO₃, brine and dried (Na₂SO₄), filtered, and concentrated *in vacuo*. The residue was purified by silica gel column chromatography (30-50% AcOEt/hexane) to afford **144** (3.2

mg, 3.0 μ mol, 63%) as a white solid.

¹H NMR (DMSO-*d*₆, 500 MHz, 60 °C) δ 11.3 (br s, 1H, NH-3), 7.64 (d, 1H, H-6, $J_{6,5} = 8.6$ Hz), 5.77 (d, 1H, H-1', $J_{1',2'} = 2.3$ Hz), 5.64 (d, 1H, H-5, $J_{5,6} = 8.0$ Hz), 5.26 (s, 1H, H-1''), 5.15 (s, 1H, H-4'''), 4.96 (dd, 1H, H-2', $J_{2',3'} = 6.3, J_{2',1'} = 2.3$ Hz), 4.80 (t, 1H, H-3', $J_{3',2'} = J_{3',4'} = 6.3$ Hz), 4.64-4.57 (m, 4H, H-3'', H-5'', OCH₂OMe), 4.51 (d, 1H, H-2'', $J_{2'',3''} = 6.3$ Hz), 4.35 (dd, 1H, H-5', $J_{5',6'} = 10.6, J_{5',4'} = 6.0$ Hz), 4.25 (d, 1H, H-4'', $J_{4'',3''} = 9.2$ Hz), 3.96 (t, 1H, H-4', $J_{4',3'} = J_{4',5'} = 6.02$ Hz), 3.83 (br s, 1H, H-5'''), 3.74-3.70 (m, 1H, H-3'''), 3.59 (s, 3H, CO₂M), 3.48-3.44 (m, 2H, H-6', H-5'''), 3.35 (d, 1H, H-6''', $J_{6''',6''} = 12.6$ Hz), 2.79 (dd, 1H, H-2''', $J_{2''',2''} = 10.9, J_{2''',3''} = 4.0$ Hz), 2.53-2.43 (m, 2H, H-2''', H-6'''), 2.29 (t, 2H, palmitoyl, $J = 6.9$ Hz), 1.56-1.48 (m, 8H, CH₂CH₃, CCH₃, palmitoyl), 1.41 (s, 9H, ^tBu), 1.30-1.25 (m, 27H, CCH₃, palmitoyl), 0.86 (t, 3H, palmitoyl, $J = 7.2$ Hz), 0.82-0.75 (m, 6H, CH₂CCH₃ \times 2); ¹³C NMR (DMSO-*d*₆, 100 MHz, a mixture of rotamers) δ 171.0, 167.2, 163.2, 154.3, 154.2, 150.3, 142.9, 115.5,

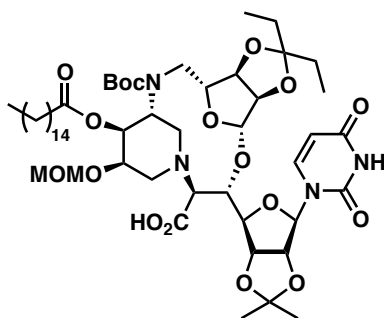
115.3, 113.8, 109.4, 109.1, 102.0, 94.2, 90.4, 87.4, 86.6, 85.1, 84.9, 84.7, 84.5, 83.1, 81.9, 79.9, 79.6, 79.5, 72.1, 72.0, 69.8, 69.6, 68.8, 68.1, 65.9, 65.7, 54.9, 52.5, 51.7, 50.9, 48.2, 42.6, 33.8, 33.7, 31.3, 29.3, 29.1, 29.0, 28.9, 28.9, 28.8, 28.7, 28.2, 28.1, 28.0, 27.7, 27.2, 25.3, 24.7, 24.6, 22.1, 14.0, 8.40, 8.25, 7.27, 7.22.;

ESIMS-LR m/z 1052 $[(M + H)^+]$; ESIMS-HR calcd for $C_{53}H_{86}N_4NaO_{17}$ 1073.5880, found 1073.5896;

$[\alpha]_D^{15} +24.0$ (c 0.66, $CHCl_3$).

NKY16-64

Compound 145



To the mixture of compound **144** (12.3 mg, 11.7 μ mol), 2,6-di-*t*Bu-*p*-cresol (1.3 mg, 5.9 μ mol) and Cs_2CO_3 (11.4 mg, 35.1 μ mol) in DMF (200 μ L) was added Ph_3SiSH (10.3 mg, 35.1 μ mol) and the mixture was stirred at 90 $^\circ C$ for 20 hours. After cooling down to room temperature, the reaction mixture was partitioned between AcOEt and sat. *aq.* NH_4Cl . The organic phase was washed with H_2O , brine and dried (Na_2SO_4), filtered, and concentrated *in vacuo*. The residue was purified by silica gel column chromatography (1-5%

MeOH/ $CHCl_3$) to afford **145** (11.8 mg, 11.4 μ mol, 97%) as a white solid.

1H NMR (DMSO- d_6 , 500 MHz, 60 $^\circ C$) δ 11.3 (br s, 1H, NH-3), 7.62 (d, 1H, H-6, $J_{6,5} = 8.0$ Hz), 5.79 (d, 1H, H-1', $J_{1',2'} = 2.3$ Hz), 5.64 (d, 1H, H-5, $J_{5,6} = 8.0$ Hz), 5.26 (s, 1H, H-1''), 5.16 (s, 1H, H-4'''), 4.96 (dd, 1H, H-2', $J_{2',3'} = 6.6$, $J_{2',1'} = 2.0$ Hz), 4.89 (t, 1H, H-3', $J_{3',2'} = J_{3',4'} = 6.3$ Hz), 4.71-4.58 (m, 5H, H-2'', H-3'', H-5'', OCH_2OMe), 4.34-4.25 (m, 2H, H-5', H-4''), 3.96 (t, 1H, H-4', $J_{4',3'} = J_{4',5'} = 5.2$ Hz), 3.83 (s, 1H, H-5'''), 3.74 (br s, 1H, H-3'''), 3.53-3.45 (m, 1H, H-5''), 3.36-3.27 (m, 2H, H-6', H-6'''), 3.17 (s, 3H, OCH_2OMe), 2.77 (dd, 1H, H-2''', $J_{2''',2''} = 10.3$, $J_{2''',3''} = 4.6$ Hz), 2.29 (t, H-3, palmitoyl, $J = 6.9$ Hz), 1.59-1.49 (m, 7H, $CH_2CH_3 \times 2$, CCH_3 , palmitoyl), 1.41 (s, 9H, *t*Bu), 1.31-1.25 (m, 27H, CCH_3 , palmitoyl), 0.88-0.78 (m, 7H, $CH_2CH_3 \times 2$, palmitoyl);

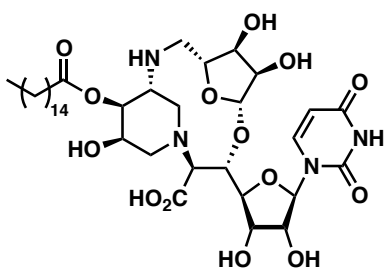
^{13}C NMR (DMSO- d_6 , 100 MHz, a mixture of rotamers) δ 171.1, 168.1, 163.2, 154.3, 150.2, 142.6, 115.6, 115.3, 113.9, 109.6, 102.1, 94.2, 89.7, 87.5, 86.8, 84.7, 83.1, 81.9, 79.9, 79.5, 78.8, 72.0, 69.7, 69.0, 68.3, 66.4, 54.9, 52.6, 51.2, 48.3, 42.7, 33.7, 31.3, 29.1, 29.0, 28.9, 28.8, 28.6, 28.2, 28.0, 27.7, 27.3, 25.6, 24.7, 24.6, 22.1, 14.0, 8.45, 8.29, 7.35, 7.27;

ESIMS-LR m/z 1038 $[(M + H)^+]$; ESIMS-HR calcd for $C_{52}H_{85}N_4O_{17}$ 1037.5904, found 1073.5955;

$[\alpha]_D^{16} +12.5$ (c 0.59, $CHCl_3$).

NKY16-68

Compound 126



Compound **145** (11.8 mg, 11.4 μ mol) was treated with *aq.* 80% TFA (1 mL) at room temperature for 12 hours. The mixture was concentrated *in vacuo*. The residue was purified by high-flash C18 reverse phase column chromatography (60-90% MeOH/ H_2O , 0.1% TFA) to afford **126** (5.6 mg, 5.5 μ mol, 48%) as a white solid.

1H NMR (CD_3OD , 400 MHz) δ 7.85 (d, 1H, H-6, $J_{6,5} = 8.2$ Hz), 5.69 (d, 1H, H-5, $J_{5,6} = 8.2$ Hz), 5.67 (s, 1H, H-1'), 5.37 (s, H-4'''), 5.21 (s, 1H, H-1''), 4.44 (dd, 1H, H-3'', $J_{3'',2''} = 8.6$, $J_{3'',4''} = 4.5$ Hz), 4.33 (d, 1H, H-5', $J_{5',6'} = 10.9$ Hz), 4.23 (br s, 1H, H-5'''), 4.19-4.12 (m, 3H, H-2', H-3', H-2''), 4.06 (d, 1H, H-

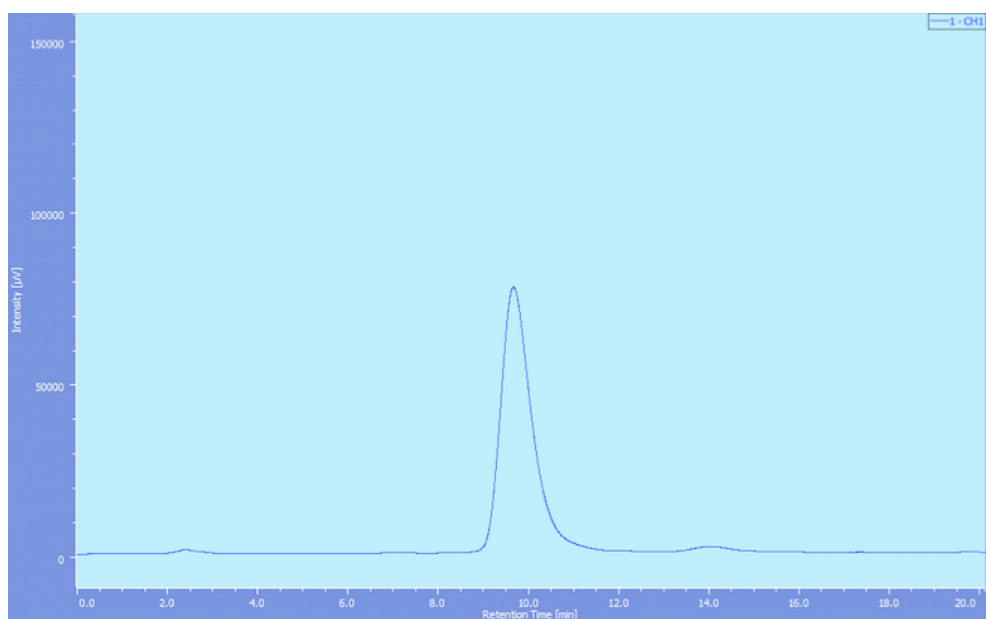
4", $J_{4'',3''}=4.1$ Hz), 4.03 (dd, 1H, H-4', $J_{4',3'}=8.2$, $J_{4',5'}=1.4$ Hz), 3.82 (d, 1H, H-6', $J_{6',5'}=10.4$ Hz), 3.65-3.61 (m, 1H, H-5"), 3.50 (br s, 2H, H-2"', H-3'''), 3.01 (dd, 1H, H-6''', $J_{6''',6''}=10.4$, $J_{6''',5''}=4.5$ Hz), 2.89-2.78 (m, 3H, H-5", H-2''', H-6'''), 2.43 (td, 2H, palmitoyl, $J=7.5$, $J=1.7$ Hz), 1.64 (t, 2H, palmitoyl, $J=7.0$ Hz), 1.29 (br s, 24H, palmitoyl), 0.90 (t, 3H, palmitoyl, $J=6.8$ Hz);

^{13}C NMR (CD_3OD , 125 MHz) δ 174.0, 166.2, 151.9, 142.2, 109.5, 102.1, 92.8, 83.0, 80.5, 75.7, 75.5, 72.9, 71.3, 70.1, 69.3, 68.5, 64.3, 56.4, 51.2, 43.6, 34.8, 33.1, 30.8, 30.8, 30.6, 30.5, 30.5, 30.2, 25.9, 23.7, 14.5;

ESIMS-LR m/z 785 [$(\text{M} + \text{H})^+$]; ESIMS-HR calcd for $\text{C}_{37}\text{H}_{61}\text{N}_4\text{O}_{14}$ 785.4179, found 785.4197;

$[\alpha]_{\text{D}}^{23} +6.62$ (c 0.56, CH_3OH).

Figure S-2. Chromatogram of HPLC, compound **126** (J'sphere ODS-M80, 150×4.6 mm; 75% MeOH/H₂O, 0.1% TFA)



Conformational analysis

Conformational analysis of compound **12** and **13** was performed by MacroModel 10.2 (Schrödinger LLC) using OPLS-2005 as a force field. “Conformational search” of these compounds was performed with “Torsional sampling (MCMM)” method (Maximum iterations, 500; Maximum number of steps, 1000; Energy window for saving structures, 50 kJ/mol), followed by “Minimization” of generated conformers was performed “Polak-Ribiere conjugate gradient (PRCG)” method with (Maximum iterations, 5000; Convergence threshold, 0.05). Default values were used for all other parameters.

Docking simulation

Ligand preparation

Global energy-minimum conformers of all compounds generated by “Conformational search” were used as initial 3D structures. These structures were optimized by “LigPrep” using OPLS-3 as a force field. The resulting structures were used in docking simulations. Default values were used for all compounds.

Grid generation for docking simulation

The grids used for docking simulation were generated by “Receptor Grid Generation” of Glide (Schrödinger LLC). The X-ray crystal structure of *MraY* complexed with muraymycin D2 (PDB code: 5CKR) was refined for docking simulations using the “Homology modeling” (*Escherichia coli* strain K12; Uniprot ID: P0A6W3). As a center of the grid, centroid of the residues thr73, Asn192, asp195, asn257, ser270, Gln 307 were selected.

Grid generation for docking simulation

The docking simulations were performed by “Ligand Docking” of Glide (Schrödinger LLC), using sp mode as a precision and aforementioned prepared structures as ligands.

Fluorescence-Based *MraY* Assay.

Reactions were carried out in 384-well microplate. Reaction mixtures contained, in a final volume of 20 μ L, 50 mM Tris-HCl (pH 7.6), 50 mM KCl, 25 mM MgCl₂, 0.2% Triton X-100, 8% glycerol, 100 μ M C₅₅-P, and 20 μ M UDP-MurNAc-dansylpentapeptide. The reaction was initiated by the addition of *MraY* enzyme (11 ng/5 mL/well). After 1h of incubation at 37 °C, the formation of dansylated lipid I was monitored by fluorescence enhancement (excitation at 355 nm, emission at 535 nm) by using the Tecan infinite 200 microplate reader.

引用文献

1. Zaman, S. B.; Hussain, M. A.; Nye, R.; Mehta, V.; Mamun, K. T.; Hossain, N. *Cureus* **2017**, *9*, e1403. A review on antibiotic resistance: alarm bells are ringing.
2. Tenover, F. C.; Georgia, A. *Am. J. Infect. Control* **2006**, *34*, S3-S10. Mechanisms of antimicrobial resistance in bacteria.
3. Silver, L. L. *Clin. Microbiol. Rev.* **2011**, *24*, 71-109. Challenges of antibacterial discovery.
4. Boucher, H. W.; Talbot, G. H.; Benjamin Jr, D. K.; Bradley, J.; Guidos, R. J.; Jones, R. N.; Murray, B. E.; Bonomo, R. A.; Gilbert, D. *Clin. Infect. Dis.* **2013**, *56*, 1685-1694. 10×'20 Progress-development of new drugs active against Gram-negative Bacilli: an update from the infectious disease society of America.
5. Payne, D. J.; Gwynn, M. N.; Holmes, D. J.; Pompliano, D. L. *Nat. Rev. Drug Discov.* **2007**, *6*, 29-40. Drugs for bad drugs: confronting the challenges of antibacterial discovery.
6. O'Neill J. *The review on antimicrobial resistance* **2014**. Antimicrobial resistance: tackling a crisis for the health and wealth of nations.
7. Japanese Society of chemotherapy, 新規抗菌薬の開発に向けた6学会提言 [online], <<http://www.chemotherapy.or.jp/guideline/souyakusokusin.html>> (2017).
8. Hamamoto, H.; Urai, M.; Ishii, K.; Yasukawa, J.; Paudel, A.; Murai, M.; Kaji, T.; Kuranaga, T.; Hamase, K.; Katsu, T.; Su, J.; Adachi, T.; Uchida, R.; Tomoda, H.; Yamada, M.; Souma, M.; Kurihara, H.; Inoue, M.; Sekimizu, K. *Nat. Chem. Biol.* **2015**, *11*, 127-133. Lysocin E is a new antibiotic that targets menaquinone in the bacterial membrane.
9. Ling, L. L.; Schneider, T.; Peoples, A. J.; Spoering, A. L.; Engels, I.; Conlon, B. P.; Mueller, A.; Schäberle, T. F.; Hughes, D. E.; Epstein, S.; Jones, M.; Lazarides, L.; Steadman, V. A.; Cohen, D. R.; Felix, C. R.; Fetterman, K. A.; Millett, W. P.; Nitti, A. G.; Zullo, A. M.; Chen, C.; Lewis, K. *Nature* **2015**, *517*, 455-459. A new antibiotic kills pathogens without detectable resistance.
10. Barreteau, H.; Kovač, A.; Boniface, A.; Sova, M.; Gobec, S.; Blanot, D. *FMES Microbiol. Rev.* **2008**, *32*, 168-207. Cytoplasmic steps of peptidoglycan biosynthesis.
11. van Heijenoort, J. *Glycobiology* **2001**, *11*, 25R-36R. Formation of the glycan chains in the synthesis of bacterial peptidoglycan.
12. Kimura, K.; Bugg, T. D. H. *Nat. Prod. Rep.* **2003**, *20*, 252-273. Recent advances in antimicrobial nucleoside antibiotics targeting cell wall biosynthesis.
13. Ruiz, N. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2008**, *105*, 15553-15557. Bioinformatics identification of MurJ (MviN) as the peptidoglycan lipid II flippase in *Escherichia coli*.
14. Kuk, A. C Y; Mashalidis, E. H.; Lee, S.-Y. *Nat. Struct. Mol. Biol.* **2013**, *20*, 1310-1317.
15. Niewiadomski, S.; Beebeejaun, Z.; Denton, H.; Smith, T. K.; Morris, R. J.; Wagner, G. K. *Org. Biomol. Chem.* **2010**, *8*, 3488-3499.
16. Igarashi, M.; Nakagawa, N.; Doi, N.; Hatori, S.; Naganawa, H.; Hamada, M. *J. Antibiot.* **2003**, *56*, 580-583. Caprazamycin B, a Novel Anti-tuberculosis Antibiotic, from *Streptomyces* sp.
17. Isono, K.; Uramoto, M.; Kusakabe, H.; Kimura, K.; Izaki, K.; Nelson, C. C.; McCloskey, J. A. *J. Antibiot.* **1985**, *38*, 1617. Liposidomycins: novel nucleoside antibiotics which inhibit bacterial peptidoglycan synthesis.
18. Kimura, K.; Miyata, N.; Kawanishi, G.; Kamio, Y.; Izaki, K.; Isono, K. *Agric. Biol. Chem.* **1989**, *53*, 1811-

1815. Liposidomycin C inhibits phosphor-*N*-acetylmuramyl-pentapeptide transferase in peptidoglycan synthesis of *Escherichia coli* Y-10.
19. Kimura, K.; Ikeda, Y.; Kagami, S.; Yoshihama, M. *J. Antibiot.* **1988**, *51*, 1099-1104. Selective inhibition of the bacterial peptidoglycan biosynthesis by the new types of liposidomycins.
20. Fujita, Y.; Kizuka, M.; Funabashi, M.; Ogawa, Y.; Ishikawa, T.; Nonaka, K.; Takatsu, T. *J. Antibiot.* **2011**, *64*, 495-501. A-90289 A and B, new inhibitors of bacterial translocase I, produced by *Streptomyces* sp. SANK 60405.
21. McDonald, L. A.; Barbieri, L. R.; Charter, G. T.; Lenoy, E.; Lotvin, J.; Petersen, P. J.; Siegel, M. M.; Singh, G.; Williamson, R. T. *J. Am. Chem. Soc.* **2002**, *124*, 10260-10261. Structures of the muraymycins, novel peptidoglycan biosynthesis inhibitors.
22. Delcour, A. H. *Biochim. Biophys. Acta* **2009**, *1794*, 808-816. Outer membrane permeability and antibiotic resistance.
23. Takeoka, Y.; Tanino, T.; Sekiguchi, M.; Yonezawa, S.; Sakagami, M.; Takahashi, F.; Togame, H.; Tanaka, Y.; Takemoto, H.; Ichikawa, S.; Matsuda, A. *ACS Med. Chem. Lett.* **2014**, *5*, 556-560. Expansion of antibacterial spectrum of muraymycins toward *Pseudomonas aeruginosa*.
24. Barnard-Britson, S.; Chi, X.; Nonaka, K.; Spork, A. P.; Tibrewal, N.; Goswami, A.; Pahari, P.; Ducho, C.; Rohr, J.; Lanen, S. G. V. *J. Am. Chem. Soc.* **2012**, *134*, 18514-18517. Amalgamation of nucleosides and amino acids in antibiotic biosynthesis: discovery of an L-threonine:uridine-5'-aldehyde transaldolase.
25. Funabashi, M.; Baba, S.; Takatsu, T.; Kizuka, M.; Ohata, Y.; Tanaka, M.; Nonaka, K.; Spork, A. P.; Ducho, C.; Chen, W.-C. L.; Lanen, S. G. V. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2013**, *52*, 11607-11611. Structure-based gene targeting discovery of sphaerimicin, a bacterial translocase I inhibitor.
26. (a) Dini, C.; Drochon, N.; Feteanu, S.; Guillot, J. C.; Peixoto, C.; Aszodi, J. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2001**, *11*, 529-531. Synthesis of Analogues of the *O*- β -D-Ribofuranosyl Nucleoside Moiety of the Liposidomycins. Part 1: Contribution of the Amino Group and the Uracil Moiety upon the Inhibition of Mray. (b) Dini, C.; Drochon, N.; Guillot, J. C.; Mauvais, P.; Walter, P.; Aszodi, J. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2001**, *11*, 533-536. Synthesis of Analogues of the *O*- β -D-Ribofuranosyl Nucleoside Moiety of the Liposidomycins. Part 2: Role of the Hydroxyl Groups upon the Inhibition of Mray.
27. Rodrigues, T.; Reker, D.; Schneider, P.; Schneider, G. *Nat. chem.* **2016**, *8*, 531-541. Counting on natural products for drug design.
28. Zheng, Y.; Tice, C. M.; Singh, S. B. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2017**, *27*, 2825-2837. Conformational control in structure-based drug design.
29. Hirano, S.; Ichikawa, S.; Matsuda, A. *J. Org. Chem.* **2008**, *73*, 569-577. Synthesis of caprazamycin analogues and their structure-activity relationship for antibacterial activity.
30. Ii, K.; Ichikawa, S.; Al-Dabbagh, B.; Bouhss, A.; Matsuda, A. *J. Med. Chem.* **2010**, *53*, 3793-3813. Function-oriented synthesis of simplified caprazamycins: Discovery of oxazolidine-containing uridine derivatives as antibacterial agents against drug-resistant bacteria.
31. (a) Laschat, S.; Dickner, T. *Synthesis* **2000**, 1781-1813. Stereoselective synthesis of piperidine. (b) Weintraub, P. M.; Sabol, J. S.; Kane, J. M.; Borcharding, D. R. *Tetrahedron* **2003**, *59*, 2953-2989. (c) Buffat, M. G. P. *Tetrahedron* **2004**, *60*, 1701-1729. Synthesis of piperidine.
32. Kazmaier, U.; Schneider, C. *Tetrahedron Lett.* **1998**, *39*, 817-818. Application of the asymmetric chelate-enolate Claisen rearrangement to the synthesis of 5-*epi*-isofagomine.

33. Schneider, C.; Börner, C.; Schuffenhauer, A. *Eur. J. Org. Chem.* **1999**, 3353-3362. Stereoslective synthesis of highly substituted piperidine.
34. Stragies, R.; Blechert, S. *Tetrahedron* **1999**, *55*, 8179-8188. Total synthesis of (-)-halosaline by a ruthenium-catalyzed ring rearrangement.
35. Heintzelman, G. R.; Weinreb, S. M. *J. Org. Chem.* **1996**, *61*, 4594-4599. Imino Diels-Alder-based construction of a piperidine A-ring unit for total synthesis of the marine hepatotoxin cylindrospermospin.
36. Takeuchi, Y.; Hattori, M.; Abe, H.; Harayama, T. *Synthesis* **1999**, 1814-1818. Synthesis of D/L-Febrigugine and D/L-Isofebrifugine.
37. Dhavale, D. D.; Saha, N. N.; Desai, V. N. *J. Org. Chem.* **1997**, *62*, 7482-7484. A stereoselective synthesis of 1,6-dideoxunojirimycin by double-reductive amination of dicarbonyl sugar.
38. Yoo, S. E.; Yi, K. Y.; Lee, S. H.; Jeong, N. *Synlett* **1990**, 575-576. Synthesis of (±)-Meroquinene and its epimer via allylic radical cyclization.
39. Matassini, C.; Mirabella, S.; Goti, A.; Cardona, F. *Eur. J. Org. Chem.* **2012**, 3920-3924. Double reductive amination and selective strecker reaction of a D-Lyxaric aldehyde: Synthesis of diversely functionalized 3,4,5-trihydropiperidines.
40. Malik, G.; Guinchard, X.; Crich, D. *Org. Lett.* **2012**, *14*, 596-599. Asymmetric synthesis of polyhydroxylated *N*-alkoxy piperidines by ring-closing double reductive amination: facile preparation of isofagomine and analogues.
41. Hirano, S.; Ichikawa, S.; Matsuda, A. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2005**, *44*, 1854-1856. Total synthesis of caprazol, a core structure of the caprazamycin antituberculosis antibiotics.
42. Nakamura, H.; Tsukano, C.; Yasui, M.; Yokouchi, S.; Igarashi, M.; Takemoto, Y. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2015**, *54*, 1-5. Total Synthesis of (-)-Caprazamycin A.
43. (a) Gopinath, P.; Wang, L.; Abe, H.; Ravi, G.; Masuda, T.; Watanabe, T.; Shibasaki, M. *Org. Lett.* **2014**, *16*, 3364-3367. Catalyst Asymmetric Total Synthesis of (+)-Caprazol. (b) Abe, H.; Gopinath, P.; Ravi, G.; Wang, L.; Watanabe, T.; Shibasaki, M. *Tetrahedron Lett.* **2015**, *56*, 3782-3785. Synthesis of caprazamycin B.
44. Trost, B. M.; Dietsche, T. J. *J. Am. Chem. Soc.* **1973**, *95*, 8200-8201. New synthetic reactions. Asymmetric induction in allylic alkylation.
45. (a) Tsuji, J.; Takahashi, H.; Morikawa, M. *Tetrahedron Lett.* **1965**, 4387-4388. Organic syntheses by means of noble metal compounds XVII. Reaction of π -allylpalladium chloride with nucleophiles. (b) Trost, B. M.; Fullerton, T. J. *J. Am. Chem. Soc.* **1973**, *95*, 292-294. New synthetic reactions. Allylic alkylation.
46. Sato, Y.; Tateno, G.; Seio, K.; Sekine, M. *Eur. J. Org. Chem.* **2002**, 87-93. Substituent and solvent effects of TMS triflate mediated C1' epimerization of β -thymidine to α -thymidine.
47. Trost, B. M.; Machacek, M. R.; Aponick, A. *Acc. Chem. Res.* **2006**, *39*, 747-760. Predicting the stereochemistry of Diphenylphosphino benzoic acid (DPPBA)-based palladium-catalyzed asymmetric allylic alkylation reactions: A working model.
48. Tsuji, J.; Shimizu, I.; Minami, I.; Ohashi, Y. *Tetrahedron Lett.* **1982**, *23*, 4809-4812. Facile palladium catalyzed decarboxylative allylation of active methylene compounds under neutral conditions using allylic carbonates.
49. Trost, B. M.; Crawley, M. L. *Chem. Rev.* **2003**, *103*, 2921-2943. Asymmetric transitionmetal catalyzed allylic alkylations: Applications in total synthesis.

50. (a) Trost, B. M.; Sorum, M. T. *Org. Process Res. Dev.* **2003**, *7*, 432-435. The asymmetric synthesis of (3*S*, 4*R*, 5*S*)-3-amino-4,5-*O*-isopropylidenedioxycyclopentene. (b) Ovaas, H.; Stragies, R.; van der Marel, G. A.; van Boom, J. H.; Bleichert, S. *Chem. Commun.* **2000**, 1501-1502. Asymmetric synthesis of indolizidine alkaloids by ring-closing-ring-opening metathesis.
51. (a) Begley, M. J.; Madeley, J. P.; Pattenden, G.; Smith, G. F. *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 1* **1992**, 57-65. Synthesis of the unique all-*cis* cyclopentanetetraol moiety in funiculosin. (b) Hyldtoft, L.; Madsen, R. *J. Am. Chem. Soc.* **2000**, *122*, 8444-8452. Carbohydrate carbocyclization by a novel zinc-mediated domino reaction and ring-closing olefin metathesis.
52. Gerber, H.-D.; Klebe, G. *Org. Biomol. Chem.* **2012**, *10*, 8660-8668. Concise and efficient syntheses of preQ₁ base, Q base, and (*ent*)-Q base.
53. Kawagishi, F.; Toma, T.; Inui, T.; Yokoshima, S.; Fukuyama, T. *J. Am. Chem. Soc.* **2013**, *135*, 13684-13687. Total synthesis of Ecteinasidin 743.
54. Minato, M.; Yamamoto, K.; Tsuji, J. *J. Org. Chem.* **1990**, *55*, 766-768. Osmium tetroxide catalyzed vicinal hydroxylation of higher olefins by using hexacyanoferrate (III) ion as a cooxidant.
55. Sato, S.; Sakamoto, T.; Miyazawa, E.; Kikugawa, Y. *Tetrahedron* **2004**, *60*, 7899-7906. One-pot reductive amination of aldehydes and ketones with α -picoline-borane in methanol, in water, and in neat conditions.
56. Yanada, R.; Negoro, N.; Bessho, K.; Yanada, K. *Synlett* **1995**, 1261-1263. Metallic samarium and iodine in alcohol. Deacylation and decarbonylation of protected alcohols and lactams.
57. Mukaiyama, T.; Kuroda, K.; Maruyama, Y. *Heterocycles*, **2010**, *80*, 63-82. A new type of oxidation-reduction condensation by the combined use of phenyl diphenylphosphinite and oxidant.
58. Yokoshima, S.; Ueda, T.; Kobayashi, S.; Sato, A.; Kuboyama, T.; Tokuyama, H.; Fukuyama, T. *J. Am. Chem. Soc.* **2002**, *124*, 2137-2139. Stereocontrolled total synthesis of (+)-Vinblastine.
59. Kim, G.; Chu-Moyer, M. Y.; Danishefsky, S. J.; Schulte, G. K. *J. Am. Chem. Soc.* **1993**, *115*, 30-39. The total synthesis of indolizomycin.
60. Nicolaou, K. C.; van Delft, F.; Ohshima, T.; Vourloumis, D.; Xu, J.; Hosokawa, S.; Pfeifferkorn, J.; Kim, S.; Li, T. *Angew. Chem. Int. Ed.* **1997**, *36*, 2520-2524. Total synthesis of eleutherobin.
61. Hirano, S.; Ichikawa, S.; Matsuda, A. *J. Org. Chem.* **2007**, *72*, 9936-9946. Development of a highly β -selective ribosylation reaction without using neighboring group participation: Total synthesis of (+)-caprazol, a core structure of caprazamycins.
62. (a) Chandra, G.; Majik, M. S.; Lee, Y.; Jeong, L. S. *Org. Lett.* **2012**, *14*, 2134-2137. Stereoselective synthesis of fluoro-homoneplanocin A as a potential antiviral agent. (b) Choi, W. J.; Park, J. G.; Yoo, S. J.; Kim, H. O.; Moon, H. R.; Chun, M. W.; Jung, Y. H.; Jeong, L. S. *J. Org. Chem.* **2001**, *66*, 6490-6494. Syntheses of D- and L-cyclopentenone derivatives using ring-closing metathesis: Versatile intermediates for the synthesis of D- and L-Carbocyclic nucleosides.
63. Harmata, M.; Zheng, P.; Huang, C.; Gomes, M. G.; Ying, W.; Ranyanil, K.-O.; Balan, G.; Calkins, N. L. *J. Org. Chem.* **2007**, *72*, 683-685. Expedient synthesis of sulfinamides from sulfonyl chlorides.
64. Nicolaou, K. C.; Estrada, A. A.; Zak, M.; Lee, S. H.; Safina, B. S. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2005**, *44*, 1378-1382. A mild and selective method for the hydrolysis of esters with trimethyltin hydroxide.
65. Ishiwata, A.; Ito, Y. *Synlett* **2003**, 1339-1343. Preparation of sialyl donors carrying functionalized ester substituents: effects on the selectivity of glycosylation.

66. Chung, B. C.; Zhao, J.; Gillespie, R. A.; Kwon, D.-Y.; Guam, Z.; Hong, J.; Zhou, P.; Lee, S.-Y. *Science* **2013**, *341*, 1012-1016. Crystal Structure of MraY, an Essential Membrane Enzyme for Bacterial Cell Wall Synthesis.
67. Bouhss, A.; M.-Lecreulx, D.; Beller, D. L.; Heijenoort, J. V. *Mol. Microbiol.* **1999**, *34*, 576-585. Topological analysis of the MraY protein catalyzing the first membrane step of peptidoglycan synthesis.
68. Al-Dabbagh, B.; Henry, X.; Ghachi, M. E.; Auger, G.; Blanot, D.; Parquet, C.; M.-Lecreulx, D.; Bouhss, A. **2008**, *47*, 8919-8928. Active Site Mapping of MraY, a Member of the Polyprenyl-phosphate *N*-Acetylhexosamine 1-Phosphate Transferase Superfamily, Catalyzing the First Membrane Steps of Peptidoglycan Biosynthesis.
69. Tanino, T.; Al-Dabbagh, B.; Mengin-Lecreulx, D.; Bouhss, A.; Oyama, H.; Ichikawa, S.; Matsuda, A. *J. Med. Chem.* **2011**, *54*, 8421-8439. Mechanistic analysis of muraymycin analogues: A Guide to the design of MraY inhibitors
70. Chung, B. C.; Mashalidis, E. H.; Tanino, T.; Kim, M.; Matsuda, A.; Hong, J.; Ichikawa, S.; Lee, S.-Y. *Nature* **2016**, *533*, 557-560. Structural insights into inhibition of lipid I production in bacterial cell wall synthesis.
71. Barandish, P. E.; Kimura, K. I.; Inukai, M.; Southgate, R.; Lonsdale, J. T.; Bugg, T. D. H. *Antimicrob. Agents Chemother.* **1996**, *40*, 1640-1644. Modes of action of Tunicamycin, Liposidomycin B, and mureidomycin A: Inhibitor of Phospho-*N*-acetylmuramylpentapeptide translocase from *Escherichia coli*.
72. Friesner, R. A.; Banks, J. L.; Murphy, R. B.; Halgren, T. A.; Klicic, J. J.; Mainz, D. T.; Repasky, M. P. Knoll, E. H.; Shelley, M.; Perry, J. K.; Shaw, D. E.; Francis, P.; Shenkin, P. S. *J. Med. Chem.* **2004**, *47*, 1739-1749. Glide: A new approach for rapid, Accurate docking and scoring. 1. Method and assessment of docking accuracy.
73. Gouliaras, C.; Lee, D.; Chan, L.; Taylor, M. S. *J. Am. Chem. Soc.* **2011**, *133*, 13926-13929. Regioselective activation of glycosyl acceptors by a diarylboronic acid-derived catalyst.
74. Ichikawa, S.; Yamaguchi, M.; Hsuan, L. S.; Kato, Y.; Matsuda, A. *Acs Infect. Dis.* **2015**, *1*, 151-156. Carbacaprazamycins: Chemically stable analogues of the caprazamycin nucleoside antibiotics.
75. Takatsuki, A.; Arima, K.; Tamura, G. *J. Antibiot.* **1971**, *24*, 215-223. Tunicamycin, a new antibiotic. I. Isolation and characterization of tunicamycin.