

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	
Туре	theses (doctoral)	
File Information	Takeshi_Nakaya.pdf	



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
aq.	aqueous
Bn	benzyl
Boc	<i>tert</i> -butoxycarbonyl
^t Bu	<i>tert</i> -butyl
Cbz	benzyloxycarbonyl
DABCO	1,4-diazabicyclo[2,2,2]octane
DACH	diaminocyclohexyl
DAST	N,N-diethylaminosulfur trifluoride
dba	dibenzylideneacetone
DBU	1,8-diazabicyclo[5.4.0]undec-7-ene
1,2-DCE	1,2-dichloroethane
DIPEA	N,N-diisopropylethylamine
DMAP	4-dimethylaminopyridine
DMEAD	di-2-methoxyethyl azodicarboxylate
DMF	N,N-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
НМВС	heteronuclear multiple bond coherence
IC ₅₀	half maximal inhibitory concentration
LTA	L-threonine:uridine-5'-aldehyde transaldolase
Lys	lysine
Me	methyl
MIC	minimum inihibitory concentration
MOM	methoxymethyl
MraY	phosho-N-acetylmuramyl-pentapeptide translocase
MRSA	methicillin-resistant Staphylococcus aureus

MS	molecular sieve
Mur	muramic acid
NADPH	nicotinamide adenine dinucleotide phosphate
NMO	4-methylmorpholine N-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	tert-butyldimetylsilyl
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

本論

	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
皆り	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
合う	育3章 連	ā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""R,4""S,5""R)-スファエリミシンコア骨格 (core A) の合成	36
섬카	第4章 ノ	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	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 MraY 阻害活性の測定	56

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

5

3

結語	59
謝辞	60
実験の部	61
引用文献	95

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変化、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 伝的変化と、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て。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

5

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。

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 McNeli/Johnson&Johnson	1	0
Pfizer/Wyeth	2	0
Roche	0	0
Sanofi	0	0

Table 0-1. Antibacterial pipeline, Big pharma⁴⁾

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 µg/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 クテリア網に属する*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 μg/mL)、ペプチドグリカン 前駆体であるリピドⅡおよびタイコ酸前駆体であるリピド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。

7



UDP-MurNAc-pentapeptide

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 $\beta(1\rightarrow 4)$ 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 死的である。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、 基質をそのまま摸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 µg/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 (IC₅₀ 0.03 µg/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φX-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/nL 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/nL)^{*}。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/nL for MraY)と黄色ブドウ球菌 (MIC 2-16 µg/nL) および陰性細菌 (MIC 8->64 µg/nL) 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。







IC₅₀ 0.027 μ g/mL for MraY antibacterial activity against *Staphylococcus sp.* (MIC 4.0 μ g/mL) and Gram-nagative bacteria (MIC 8->64 μ g/mL)

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)-グリシルウリジンを合成する (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だし 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 N⁵,N¹⁰-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、リボ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ピペリジン環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 (*Δ***G** = *Δ***H**-**T***Δ***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、考えうる立体異性体は全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うる8種類の立体異性体



Figure 1-4. 標的化合物core Aおよびcore B

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、どちらかが天然物と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、スファエリミシ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のどちらかと近しいことが分かれ 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 MCMM 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にプロピロン 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^{""}位アミノ基がエカ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をあることから、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10kJ/mol以内のものを、ピペ 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ひ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 (Shceme 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 ら合成終盤に行うこととし、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.



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、天然物カプラザマイシン類の母骨格であるカプ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が得られる。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)**。

^{*} カプラザマイシン A の合成が竹本らにより⁴²⁾、カプラザマイシン 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 ℃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 ℃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。

Scheme 2-9.



^{*} 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。

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C₂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⁾。





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Pd₂(dba)₃・CHCl₃、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)。また本文中でピペリジン環合 成に用いた 64 の旋光度は[α]_D²¹-84.7 (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 山らはエクテイナシジン 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添加している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.



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.



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"位のアキシアル位プロトンから、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"位のアキシア 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とビシナルカップリングが見られなかっ たことから、3""位プロトンはエカ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とした (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。 Sheme 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。



* 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 によるエルテロビ ンの全合成 (Scheme 3-3)⁶⁰⁾があげられる。



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.



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、オスミウム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およびアミナール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.



entry	reagents	solvent (M)	temperature	yield (%) ^a
1	Pic-BH ₃ , AcOH	CH ₂ Cl ₂ (0.01)	40 °C	14
2	Pic-BH ₃ , AcOH	MeOH (0.05)	50 °C	32
3	Pic-BH ₃ , AcOH, MS3A	MeOH (0.05)	rt	32
4	Pic-BH ₃ , AcOH, MS3A	MeOH (0.05)	50 °C	28
5	Pic-BH ₃ , AcOH	MeOH (0.01)	50 °C	44

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 みることとし、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.



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.



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DACHphenyl 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、 CH₂Cl₂、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 (Shcme 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ス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うる立 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個の膜貫通型へリックス (TM) と界面へリックス、ペリプラズ ム-β-ヘアピン、ペリプラズムへ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)。





undecaprenyl phosphate

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, IC₅₀ for MraY 0.01 µM)⁶⁹⁾と超高熱性真性細菌 (*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 かった。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とした (Figure 4-5)。



Figure 4-5. palmitoyl core A & 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、シュレーディンガー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 タディを行うこととした。Glideはリガンドの結合エネルギーを最小化するよう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とした (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MraY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O₄-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。 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。

Shcme 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MOMCI、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^{III}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"Bu₂SnOやジアリルボロン酸⁷³⁾、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。その後に、133に対してオスミウム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

49

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カト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Ph₃SiSH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 (Shceme 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 ℃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 ℃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.



Scheme 4-7.



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、Ph₃SiSH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.



palmitoyl core A

Scheme 4-9.



palmitoyl core合成において、シクロペンテン部位の3[™]位のアリル位水酸基を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 格の考えうる全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。 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ル 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とパ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、他の立体の異なるパ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うる8つの立体異性体のうち、4種の中間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二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 µm)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 µm)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 µm)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 CH_2Cl_2 (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 H_2O , and extracted with AcOEt. The organic phase was washed with 1M aq. HCl, H_2O , 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, *O<u>H</u>-1)*, 3.21-3.06 (m, 0.6H, O<u>H</u>-1), 1.86-1.57 (m, 4H, C<u>H</u>₂CH₃×2), 1.02-0.87 (m, 6H, CH₂C<u>H</u>₃×2);

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-6deoxy-2,3-*O*-isopropylidene-1-(uracil-1-yl)-β-D-*glycelo*-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, N<u>H</u>-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, N<u>H</u>-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'',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, C<u>H</u>₂CH₃, *J* = 7.7 Hz), 1.52 (q, 2H, C<u>H</u>₂CH₃, *J* = 7.5 Hz), 1.48 (s, 3H,

acetonide), 1.30 (s, 3H, acetonide), 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; $[\alpha]_D^{17}$ –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 CH_2Cl_2 (20 mL) was treated with AcCl (179 μ L, 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 μ L, 0.52 mmol) was added to the reaction mixture, and stirred for 5 min. The reaction mixture was quenched by addition

of H_2O , and extracted with AcOEt. The organic phase was washed with 1M aq. HCl, H_2O , 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, O<u>H</u>-1), 2.11 (s, 3H, OAc), 1.71 (q, 2H, C<u>H</u>₂CH₃, J = 7.4 Hz), 1.59 (q, 2H, C<u>H</u>₂CH₃, J = 7.4 Hz), 0.92 (t, 3H, CH₂C<u>H</u>₃, J = 7.5 Hz), 0.89 (t, 3H, CH₂C<u>H</u>₃, 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-benzyloxycarbonylamino-6deoxy-2,3-*O*-isopropylidene-1-(uracil-1-yl)-β-D-*glycelo*-L-*talo*-heptofuranuronate (58)



A solution of **55** (65.0 mg, 250 μ mol) in CH₂Cl₂ (3 mL) was treated with diethylaminotrifluoride (66.1 μ L, 500 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 a crude fluoride **56**. A solution of the crude fluoride **56** and **47** (84.4 mg, 167 μ mol), MS4A (200 mg) in CH₂Cl₂ (2 mL) was treated with BF₃·Et₂O (9.2 μ L, 73 μ mol) three times at each hour at 0 °C. The reaction mixture was stirred for totally 8 hours. Et₃N (116 μ L,

835 μ mol) 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 μ mol, 81%) as a white foam.

¹H NMR (CDCl₃, 500 MHz) δ 8.41 (br s, 1H, N<u>H</u>-3), 7.37-7.30 (m, 6H, Ph, H-6), 5.73-5.66 (m, 3H, N<u>H</u>-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', $J_{6',\text{NH-6'}} = 9.7$ 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; $[\alpha]_D^{18}$ –7.34 (*c* 1.03, CHCl₃).

NKY 16-

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

'OH

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 μ L, 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, $J_{1,O\underline{H}-1} = 10.0$, $J_{1,2} = 5.4$ Hz), 2.71 (d, 1H, O<u>H</u>-1, $J_{O\underline{H}-1, 1} = 10.0$ Hz), 1.44 (s, 3H, CC<u>H</u>₃), 1.40 Hz), 1.44 (s, 3H, CC<u>H</u>₃), 1.40 Hz), 1.41 Hz) (s, 3H, CCH₃). This is a known compound.

NKY10-77

rac-(1R,2R,3R)-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-(1R,2R,3R)-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, CC<u>H</u>₃), 1.35 (s, 3H, CC<u>H</u>₃). 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 μ mol), NsNHCbz (86.1 mg, 256 μ mol) and Et₃N (97.4 μ L, 699 μ mol) were dissolved in THF (2 mL). Ligand L1 (25.8 mg, 37.3 μ mol) and [Pd₂(dba)₃]·CHCl₃ (9.6 mg, 9.3 μ mol) 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 mixuture was partitioned between AcOEt and 1M *aq*. HCl The organic phase was washed with H_2O , 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, CC<u>H_3</u>), 1.34 (s, 3H, CC<u>H_3</u>);

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 μ mol) and K₂CO₃ (49.5 mg, 358 μ mol) in MeCN-DMF (1:1, 4 mL) was treated with 4-^{*t*}Bu-benzenethiol (92.6 μ L, 537 μ mol) 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 μ mol, 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, N<u>H</u>-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; $[\alpha]_D^{22}$ –114.4 (*c* 0.81, CH₃Cl). (ca. 80% *ee*)

NKY12-65, 12-68

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

TBSO OTBS A solution of **65** (30.0 mg, 104 μ mol) in AcOH (1.6 mL) and H₂O (0.4 mL) was heated at 60 °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 μ mol) in DMF (1 mL) was treated with TBSCI (34.5 mg, 229 μ mol) 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 H₂O, brine and dried (Na₂SO₄), 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 μ mol, 83% over 2 steps) as a white solid.

¹H NMR (CDCl₃, 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, N<u>H</u>-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, $J_{2,1} = J_{2,1} = 5.1$ Hz), 0.89 (s, 9H, ^{*t*}Bu), 0.88 (s, 9H, ^{*t*}Bu), 0.06-0.05 (m, 12H, Me×4);

¹³C NMR (CDCl₃, 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 [(M + Na)⁺]; ESIMS-HR calcd for C₂₅H₄₃NNaO₄Si 500.2623, found 500.2624; $[\alpha]^{21}_{D}$ –152.6 (*c* 0.98, CH₃Cl). (ca. 80% *ee*)

NKY13-8

TBSO OTBS

HO

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), K_3 [Fe(CN)₆] (1.54 g, 4.68 mmol), K_2CO_3 **NHCbz** (647 mg, 4.68 mmol), NaHCO₃ (393 mg, 4.68 mmol), DABCO (175 mg, 1.56 mmol) and MeSO₂NH₂ (148 mg, 1.56 mmol) in ^tBuOH-H₂O (2:1, 24 mL) was treated with $K_2OsO_4 \cdot 2H_2O$ (57.5 mg, 156 µmol) 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 (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-d₆, 500 MHz) δ 7.37-7.30 (m, 5H, Ph), 6.69 (d, 1H, N<u>H</u>, $J_{NH,1}$ = 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, O<u>H</u>-4, $J_{OH-4,4}$ = 5.2 Hz), 4.57 (d, 1H, O<u>H</u>-5, $J_{OH-5,5}$ = 7.5 Hz), 3.98 (q, 1H, H-5, $J_{5,1}$ = $J_{5,4}$ = $J_{5,0H-5}$ = 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, $J_{1,2}$ = $J_{1,5}$ = $J_{1,NH}$ = 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, ^{*t*}Bu), 0.83 (s, 9H, ^{*t*}Bu), 0.07 (s, 3H, Me), 0.05 (s, 3H, Me), 0.01 (s, 3H, Me);

¹³C NMR (CDCl₃, 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 [(M + H)⁺]; ESIMS-HR calcd for C₂₅H₄₆O₆NSi₂ 512.2858, found 512.2882; [α]_D¹⁷ -17.5 (*c* 1.0, CHCl₃). (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*-butyldimethylsilyl)-piperid-1-yl]-1-(uracil-1-yl)- β -D-glycelo-L-talo-heptofuranuronate (72)



A solution of the compound **70** (253 mg, 494 μ mol) in THF-phosphate buffer (1:1, pH 7.2, 10 mL) was treated with NaIO₄ (211 mg, 988 μ mol) 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 μ mol) 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 (800μ L) was treated with AcOH (28μ L) and pic-BH₃ (35.3 mg, 330μ mol) 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, 78.1μ mol, 47% over 2 steps) as a white solid.

¹H NMR (CDCl₃, 500 MHz) δ 8.25 (br s, 1H, N<u>H</u>-3), 7.34-7.28 (m, 6H, Ph, H-6), 6.13 (d, N<u>H</u>-3''', J_{NH} -3''', J_{N

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). 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*-butyldimethylsilyl)-piperid-1-yl]-1-(uracil-1-yl)- β -D-glycelo-L-talo-heptofuranuronate (73)



A mixture of compound **72** (33.3 mg, 30.5 μ mol) 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 μ L, 91.5 μ mol) in CH₂Cl₂ was treated with NsCl (10.1 mg, 45.8 μ mol) 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 μ mol, 27% over 2 steps) as a white solid.

¹H NMR (CDCl₃, 500 MHz) δ 8.39 (s, 1H, N<u>H</u>-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, N<u>H</u>-3^{III}, $J_{N\underline{H}-3^{III}}$, $J_{N\underline{H}-3^{III}}$, J_{0} , $J_{2',3'} = 8.6$ Hz), 5.72 (dd, 1H, H-5, $J_{5,6} = 8.0$, $J_{5,N\underline{H}-3} = 2.3$ 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''', $J_{6'',5'''} = 10.3$ 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, CC<u>H</u>₃), 1.63-1.58 (m, 2H, C<u>H</u>₂CH₃), 1.53 (q, 2H, C<u>H</u>₂CH₃, J = 7.5 Hz), 1.39 (s, 3H, CC<u>H</u>₃), 0.87-0.83 (m, 24H, ^tBu×2, CH₂C<u>H</u>₃×2), -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 C₅₀H₈₀N₅ O₁₉SSi 1142.4701, found 1142.4690; $[\alpha]_D^{20}$ +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-[(3*R*,4*S*,5*R*)-3-(2-nitrobenzenesulfonylamino)-4,5-di-*O*-(*tert*-butyldimethylsilyl)-piperid-1-yl]-1-(uracil-1-yl)-β-D-*glycelo*-L*talo*-heptofuranuronate (74)



A mixture of metallic Sm (1.5 mg, 10.1 μ mol) and I₂ (2.6 mg, 10.1 μ mol) in MeOH (0.5 mL) was stirred at room temperature for 5 minutes. Compound **73** (11.5 mg, 10.1 μ mol) 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 (CDCl₃, 400 MHz) δ 8.50 (s, 1H, N<u>H</u>-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, N<u>H</u>-3''', $J_{N\underline{H}-3''', 3'''} = 8.2$ Hz), 5.73 (dd, 1H, H-5, $J_{5,6} = 8.2$, $J_{5,N\underline{H}-3} = 2.3$ 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''', $J_{5'',6'''} = 4.6$, $J_{5'',4'''} = 2.4$ 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, CC<u>H</u>₃, C<u>H</u>₂CH₃), 1.52 (q, 2H, C<u>H</u>₂CH₃, J = 7.5 Hz), 1.38 (s, 3H, CC<u>H</u>₃), 0.85-0.81 (m, 24H, ^tBu×2, CH₂C<u>H</u>₃×2), 0.02 (s, 3H, SiMe), -0.02 (s, 6H, SiMe×2), -0.03 (s, 3H, SiMe);

¹³C NMR (CDCl₃, 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 C₄₈H₇₈N₅O₁₈SSi₂ 1100.4596, found 1100.4637; [α]_D¹⁹ +16.6 (*c* 0.76, CHCl₃).

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-*talo*-heptofuranuronate (76)



A mixture of metallic Sm (4.0 mg, 26.5 μ mol) and I₂ (3.4 mg, 26.5 μ mol) in MeOH (1 mL) was stirred at room temperature for 5 minutes. Compound **72** (28.9 mg, 26.5 μ mol) 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 H₂O and brine, dried (Na₂SO₄), 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 μ mol,

92%) as a white solid.

¹H NMR (CDCl₃, 500 MHz) δ 8.87 (s, 1H, N<u>H</u>-3), 7.33-7.25 (m, 6H, Ph, H-6), 6.40 (d, N<u>H</u>-3''', J_{NH} -3''', $J_{2'',3''}$ = 7.5 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, O<u>H</u>-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, C<u>H</u>₂CH₃), 1.50 (q, 2H, C<u>H</u>₂CH₃, J = 7.3 Hz), 1.44 (s, 3H, CC<u>H</u>₃), 1.29 (s, 3H, CC<u>H</u>₃), 0.90 (s, 9H, 'Bu), 0.87 (s, 9H, 'Bu), 0.90-0.79 (m, 6H, CH₂C<u>H</u>₃×2), 0.14 (s, 3H, SiMe), 0.09 (s, 3H, SiMe), 0.04-0.04 (m, 6H, SiMe×2);

¹³C NMR (CDCl₃, 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 C₅₀H₈₁O₁₆N₄Si₂ 1049.5181, found 1049.5179; $[\alpha]_D^{22}$ +0.55 (*c* 1.20, CHCl₃).

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 PPh₃ (4.43 g, 16.9 mmol) and H₂O (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 (Na₂SO₄), filtered, and concentrated *in vacuo*. The residue was roughly purified for excluding PPh₃ by silica gel column chromatography (1-5% MeOH/CHCl₃), and the fractions containing amine were collected and concentrated in vacuo. A solution of the amine and Et₃N

(1.57 mL, 11.3mmol) in CH₂Cl₂ (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. NaHCO₃ and extracted with AcOEt. 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 (30-50% AcOEt/hexane) to afford 94 (2.92 g, 4.48 mmol, 79% over 2 steps) as a yellow foam.

¹H NMR (CDCl₃, 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, N<u>H</u>-5', $J_{\text{NH-5},5'}$ = 6.4 Hz), 5.52 (d, 1H, N<u>H</u>-2, $J_{\text{NH-2},2}$ = 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', $J_{4',5'} = 3.4$ 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, CH₂CH₃, J = 7.6 Hz), 3H, CH_2CH_3 , J = 7.6 Hz);

¹³C NMR (CDCl₃, 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 C₂₉H₃₇O₁₂N₃NaS 674.1990, found 674.1992; $[\alpha]_{D}^{25}$ +3.85 (*c* 0.77, CHCl₃).

NKY7-34

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



A mixture of 94 (299 mg, 459 µmol), 61 (93.2 mg, 597 µmol) and PPh₃ (181 mg, 689 µmol) in THF (5 mL) was treated with DMEAD (161 mg, 689 µmol) at 50 °C for 1 hours. The reaction mixture was cooled to room temperature, then partitioned between AcOEt and H₂O. The organic phase was washed with brine, dried (Na₂SO₄), 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 µmol, quant.) as a

white foam.
¹H NMR (CDCl₃, 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, N<u>H</u>-2, *J*_{NH-2,2} = 9.6 Hz), 5.72 (dd, 1H, H-5", *J*_{5",4"} = 6.0, *J*_{5",1"} = 2.3Hz), 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, C<u>H</u>₂CH₃, *J* = 7.7 Hz), 1.54 (q, 2H, C<u>H</u>₂CH₃, *J* = 7.5 Hz), 1.36 (s, 3H, CC<u>H</u>₃), 1.28 (d, 3H, Me-4, *J*_{Me-4,3} = 6.4 Hz), 1.19 (s, 3H, CC<u>H</u>₃), 0.90-0.83 (m, 6H, CH₂C<u>H</u>₃×2);

¹³C NMR (CDCl₃, 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 [(M + Na)⁺]; ESIMS-HR calcd for C₃₇H₄₇O₁₄N₃NaS 812.2671, found 812.2679; $[\alpha]^{26}_{D}$ +32.7 (*c* 1.02, CHCl₃).

NKY8-81, 8-82

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



A mixture of **95** (520 mg, 658 μ mol) and K₂CO₃ (118 mg, 855 μ mol) in MeCN (7 mL) was treated with 4-^{*t*}Bu-benzenethiol (170 μ L, 987 μ mol) at 0 °C and stirred for 10 hours at room temperature. The reaction mixture was added 4-^{*t*}Bu-benzenethiol (170 μ L, 987 μ mol) and K₂CO₃ (118 mg, 855 μ mol) and stirred for 24 hours. The reaction mixture was partitioned between AcOEt and 1M *aq*. HCl. The organic phase was washed with sat. *aq*. NaHCO₃, brine, dried (Na₂SO₄), 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 Boc₂O (303 µL, 1.32 mmol) at room temperature and stirred for 20 hours. The reaction 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 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 (CDCl₃, 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, CH₂CH₃, J = 7.5 Hz), 1.54 (q, 2H, CH₂CH₃, J = 7.6 Hz), 1.46 (s, 9H, ^{*i*}Bu), 1.41 (s, 3H, CCH₃), 1.34 (s, 3H, CCH₃), 1.24 (d, 3H, H-4, $J_{4,3}$ = 6.4 Hz), 0.91-0.83 (m, 6H, CH₂CH₃×2);

¹³C NMR (CDCl₃, 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 [(M + Na)⁺]; ESIMS-HR calcd for C₃₆H₅₃N₂O₁₂ 705.3593, found 705.3589;

 $[\alpha]_{D}^{17}$ –71.9 (*c* 0.95, CHCl₃).

NKY8-100

Compound 107



A solution of compound **96** (30.7 mg, 43.6 μ mol), K₃[Fe(CN)₆] (43.2 mg, 131 μ mol), K₂CO₃ (18.1 mg, 131 μ mol), NaHCO₃ (11.0 mg, 131 μ mol), DABCO (4.9 mg, 43.6 μ mol) and MeSO₂NH₂ (4.1 mg, 43.6 μ mol) in ^{*t*}BuOH-H₂O (1:1, 0.8 mL) was treated with K₂OsO₄·2H₂O (1.6 mg, 4.4 μ mol) at room temperature for 27 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 (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 NaIO₄ (21.8 mg, 102 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*. A mixture of the residue and Pd black (3.0 mg) in MeOH (1 mL) was vigorously stirred under H₂ 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.* NaHCO₃ and brine, dried (Na₂SO₄), 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 (CDCl₃, 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, CH₂CH₃, J = 7.5 Hz), 1.57-1.44 (m, 14H, CH₂CH₃, ^{*t*}Bu, CCH₃), 1.32 (s, 3H, CCH₃), 1.11 (d, 3H, H-4, $J_{4,3} = 5.9$ Hz), 0.92 (t, 3H, CH₂CH₃, J = 7.3 Hz), 0.86 (t, 3H, CH₂CH₃, J = 7.6 Hz);

¹³C NMR (CDCl₃, 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 C₂₈H₄₆O₁₀N₂Na 593.3045, found 593.3059; $[\alpha]_D^{26}$ +31.5 (*c* 0.65, CHCl₃).

NKY9-37

Compound 108



To a solution of compound **107** (11.0 mg, 19.3 μ mol), 2,6-di-^{*t*}Bu-*p*-cresol (0.9 mg, 4.08 μ mol) and Ph₃SiSH (16.9 mg, 57.9 μ mol) in DMF (1 mL) was added Cs₂CO₃ (18.9 mg, 57.9 μ mol) and the mixture was stirred at 90 °C for 12 hours. Ph₃SiSH (16.9 mg, 57.9 μ mol) and Cs₂CO₃ (18.9 mg, 57.9 μ mol) 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 (Na₂SO₄), 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, ^{*t*}Bu), 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; $[\alpha]_D^{20}$ +31.5 (*c* 1.09, CHCl₃).

NKY9-43

Compound 109



Compound **108** (10.9 mg, 19.6 μ mol) 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 aquious 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]-6benzyloxycarbonylamino-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 μ mol), DMAP (16.7 mg, 137 μ mol) and MS4A (300 mg) in THF (3 mL) was treated with Boc₂O (62.9 μ L, 274 mmol) at room temperature, and stirred for 1 hour. An Additional portion of Boc₂O (12.6 μ L, 54.8 μ mol) 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 μ L, 1.42 mmol) in THF (3 mL) was treated with NsCl (39.4 mg, 178 μ mol) at 0 °C. After stirring for 20 minutes at roose was washed with brine and dried (Na₂SO₄), filtered, and concentrated *in vacuo*. The residue was purified m temperature, the reaction mixture was partitioned between AcOEt and *sat. aq*. NaHCO₃. The organic phaby high-flash silica gel column chromatography (40-70% AcOEt/hexane) to afford **113** (158 mg, 160 μ mol, 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, N<u>H</u>-5", $J_{NH-5",5"} = 6.7$ Hz), 5.77 (d, 1H, N<u>H</u>-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, ^{*t*}Bu), 1.60-1.47 (m, 4H, C<u>H</u>₂CH₃×2), 1.48 (s, 3H, CC<u>H</u>₃), 1.31 (s, 3H, CC<u>H</u>₃), 0.81-0.77 (m, 6H, CH₂C<u>H</u>₃×2);

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

 $\label{eq:solution} Methyl 5-O-\{5-deoxy-N-[(1R,2S,3R)-2,3-O-isopropylidene-4-cyclopentenyl]-5-(2-nitrobenzene-sulfonylamino)-2,3-O-(3-pentylidene)-\beta-D-ribo-pentofuranosyl\}-6-benzyloxycarbonylamino-6-deoxy-2,3-O-isopropylidene-1-(3-tert-butoxycarbonyluracil-1-yl)-\beta-D-glycelo-L-talo-heptofuranuronate (114)$



Compound **113** (40.0 mg, 40.4 μ mol), *rac*-**63** (19.9 mg, 92.9 μ mol) and Et₃N (16.9 μ L, 121 μ mol) were dissolved in THF (0.5 mL). Ligand L1 (4.5 mg, 6.5 μ mol) and Pd₂(dba)₃·CHCl₃ (1.7 mg, 1.6 μ mol) 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 mixuture 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 μ mol, 56%) as a white foam and **113** (13.3 mg, 13.4 μ mol, 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", N<u>H</u>-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"', $J_{2",3"} = 6.0 \text{ Hz}$, 4.08 (dd, 1H, H-4", $J_{4",5"} = 11.2$, $J_{4",5"} = 3.0 \text{ Hz}$), 3.70 (s, 3H, OMe), 3.64 (dd, 1H, H-5", $J_{5",5"} = 15.6$, $J_{5",4"} = 11.5 \text{ Hz}$, 2.62 (dd, 1H, H-5", $J_{5",5"} = 17.0$, $J_{5",4"} = 3.2 \text{ Hz}$), 1.66-1.48 (m, 16H, ^tBu, CH₂CH₃×2, CCH₃), 1.35 (s, 3H, CC<u>H</u>₃), 1.33 (s, 3H, CC<u>H</u>₃), 1.16 (s, 3H, CC<u>H</u>₃), 0.81 (t, 6H, CH₂C<u>H</u>₃×2, *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-(2nitrobenzenesulfonylamino)-2,3-O-(3-pentylidene)- β -D-*ribo*-pentofuranosyl}-6-benzyloxycarbonylamino-6deoxy-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 mixuture 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, 4H), 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; $[\alpha]^{23}_{D}$ +81.4 (*c* 0.88, CHCl₃).

NKY10-84,

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



A solution of **114** (25.6 mg, 22.7 μ mol) in MeOH (1 mL) was treated with AcOH (100 μ L) 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 μ mol, 78%) as a white solid.

¹H NMR (CDCl₃, 400 MHz) δ 8.83 (s, 1H, N<u>H</u>-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, N<u>H</u>-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'', $J_{4'',5''} = 3.2$ 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, ^{*t*}Bu, CC<u>H</u>₃, C<u>H</u>₂CH₃×2), 0.80 (t, 6H, CH₂C<u>H</u>₃×2, 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; $[\alpha]^{20}{}_{D}$ +78.9 (c 1.12, CHCl₃).

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

To a solution of **113** (393 mg, 393 μ mol), **61** (124 mg, 794 μ mol) and PhOPPh₂ (221 mg, 794 μ mol) in THF (4 mL) was added a solution of DMEAD (186 mg, 794 μ mol) in THF (1 mL) at 50 °C, and the reaction mixture was stirred for 1 hour. The mixuture 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 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-(1S,2R,3R)-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 CH_2Cl_2 (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 copound 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, CC<u>H</u>₃), 1.38 (s, 3H, CC<u>H</u>₃). 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 CH_2Cl_2 (60 mL) and H_2O (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, $J_{3,0\underline{H}-3}$ = 11.0 Hz, $J_{3,2}$ = 5.5 Hz), 2.49 (d, 1H, O<u>H</u>-3, $J_{0\underline{H}-3,3}$ = 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-[(1S,2S,3R)-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 mixuture 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 (CDCl₃, 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, N<u>H</u>-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, O<u>H</u>-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, 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, ^tBu), 1.42-1.34 (m, 7H, acetonide, C<u>H</u>₂CH₃ × 2), 1.27 (s, 3H, acetonide), 0.71 (t, 3H, CH₂C<u>H</u>₃, J = 7.6 Hz);

¹³C NMR (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 C₄₉H₆₂N₅O₂₁S 1088.3653, found 1088.3621; $[\alpha]_D^{21}$ +60.2 (*c* 0.95, CHCl₃).

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 Et₃N (127 µL, 909 µmol) were dissolved in 1,4-dioxane (3 mL). Ligand L1 (34 mg, 48.5 µmol) and Pd₂(dba)₃·CHCl₃ (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 mixuture 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 (50-100% AcOEt/hexane) to afford **121** (187 mg, 172 μ mol, 57%) as a white foam and **113** (49 mg, 49.5 μ mol, 16%) as a white foam.

¹H NMR (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, N<u>H</u>-6', *J*_{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', O<u>H</u>-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", O<u>H</u>-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"} = 3.2Hz), 1.50 (s, 9H, ^{*t*}Bu), 1.42-1.37 (m, 7H, acetonide, C<u>H</u>₂CH₃×2), 1.26 (s, 3H, acetonide), 0.73 (t, 3H, CH₂C<u>H</u>₃, *J* = 7.6 Hz), 0.64 (t, 3H, CH₂C<u>H</u>₃, *J* = 7.6 Hz);

¹³C NMR (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 C₄₉H₆₂N₅O₂₁S 1088.3653, found 1088.3621; $[\alpha]_D^{18}$ +4.85 (*c* 0.61, CHCl₃).

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-*glycelo*-L-*talo*-heptofuranuronate (122)



A mixture of **116** (236 mg, 230 µmol) and K₂CO₃ (41.3 mg, 299 µmol) in MeCN (3 mL) was treated with 4-^{*t*}Bu-benzenethiol (59.5 µL, 345 µmol) at room temperature and stirred for 16 hours. The reaction mixture was added 4-^{*t*}Bubenzenethiol (29.8 µL, 173 µmol) and K₂CO₃ (20.7 mg, 150 µmol) and stirred for 20 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 solution of the crude amine and Et₃N (192 µL, 1.38 mmol) in THF (3 mL) was treated with Boc₂O (476 µL,

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 H₂O, brine and dried (Na₂SO₄), 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 (CD₃OD, 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, ^{*t*}Bu, CH₂CH₃×2, CCH₃), 1.37 (s, 3H, CCH₃), 1.32 (s, 6H, CCH₃×2), 0.83-0.78 (m, 6H, CH₂CH₃×2);

¹³C NMR (CD₃OD, 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 C₄₆H₆₂O₁₇N₄Na 965.4002, found 965.4000; [α]_D¹⁸ –49.9 (*c* 1.07, CHCl₃).

NKY11-33,11-36,11-37, 11-38

Compound 124



A solution of compound **122** (53.6 mg, 56.8 μ mol), K₃[Fe(CN)₆] (112 mg, 341 μ mol), K₂CO₃ (23.5 mg, 170 μ mol), NaHCO₃ (14.3 mg, 170 μ mol), quinuclidine (6.3 mg, 56.8 μ mol) and MeSO₂NH₂ (5.4 mg, 56.8 μ mol) in ^{*t*}BuOH-THF-H₂O (1:1:1, 1.5 mL) was treated with K₂OsO₄·2H₂O (6.3 mg, 17.0 μ mol) at room temperature for 16 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 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 NaIO₄ (30.4 mg, 142 µmol) at room temperature for 2 hours. After *sat. aq.* Na₂So₂O₃ 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 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 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 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 11M *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 (40-50% AcOEt/hexane) to afford **124** (12.5 mg, 15.5 µmol, 27% over 4 steps) as a white solid.

¹H NMR (CDCl₃, 500 MHz, a mixture of rotamars) 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, C<u>H₂</u>CH₃×2, CC<u>H₃×4</u>, ^{*t*}Bu), 0.92-0.84 (m, 6H, CH₂C<u>H₃×2</u>);

¹³C NMR (CDCl₃, 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 [(M – Na)[–]]; ESIMS-HR calcd for $C_{38}H_{55}O_{15}N_4$ 807.3669, found 807.3681; [α]_D¹⁹ +25.5 (*c* 0.47, CHCl₃).

NKY9-42

Compound 125



To the solution of compound **124** (5.5 mg, 6.8 μ mol), 2,6-di-^{*t*}Bu-*p*-cresol (0.3 mg, 1.36 μ mol) and Ph₃SiSH (11.9 mg, 40.8 μ mol) in DMF (400 μ L) was added Cs₂CO₃ (13.3 mg, 40.8 μ mol) and the mixture was stirred at 90 °C for 26 hours. After cooling down to room temperature, the reaction mixuture was partitioned between AcOEt and 0.3 M *aq*. HCl The organic phase was washed with brine and dried (Na₂SO₄), filtered, and concentrated *in vacuo*. The residue was purified by silica gel column chromatography (1-5% MeOH/CHCl₃) to afford **125** (3.4 mg,

4.28 µmol, 63%) as a white solid.

¹H NMR (CDCl₃, 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, C<u>H</u>₂CH₃), 1.61-1.25 (m, 23H, C<u>H</u>₂CH₃, CCH₃×4, ^{*t*}Bu), 0.93-0.84 (m, 6H, CH₂C<u>H</u>₃×2);

¹³C NMR (CDCl₃, 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 $C_{37}H_{53}O_{15}N_4$ 793.3513, found 793.3529; $[\alpha]_D^{23}$ +28.6 (*c* 0.23, CHCl₃).

NKY11-99

Compound 5



Compound 125 (6.1 mg, 7.7 μ mol) 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 H₂O. The aquious phase was concentrated *in vacuo* to afford 5 (4.7mg, 6.1 μ mol, 79%) as a white solid.

 $HO_{2}C \longrightarrow OH \xrightarrow{1} H NMR (CD_{3}OD, 0.5\% TFA, 500 MHz) \delta 7.82 (d, 1H, H-6, J_{6,5} = 8.1 Hz), 5.67 (d, 1H, H-5, J_{5,6} = 8.0 Hz), 5.65 (s, 1H, H-1'), 5.20 (s, 1H, H-1''), 4.37 (dd, 1H, H-3'', J_{3'',2''} = 6.9 Hz, J_{3'',4''} = 3.1 Hz), 4.31 (d, 1H, H-5', J_{5',6'} = 10.3 Hz), 4.15-4.13 (m, 3H, H-2', H-4', H-2''), 4.07 (br s, 1H, H-4'''), 4.04 (d, 1H, H-4'', J_{4'',3''} = 4.0 Hz), 3.99 (d, 1H, H-3', J = 8.0 Hz), 3.96 (br s, 1H, H-5''), 3.87 (br s, 1H, H-5'$

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"'×2).

¹³C NMR (CD₃OD, 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 C₂₁H₃₁N₄O₁₃ 547.1882, found 547.19023; $[\alpha]_D^{20}$ –1.51 (*c* 0.59, MeOH).

NKY15-73

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



A solution of *rac*-**63** (892 mg, 4.16 mmol) in AcOH (40 mL) and $H_2O(10 \text{ mL})$ 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-[(1S,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 (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 mixuture 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, N<u>H</u>-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, O<u>H</u>-2''', *J*_{O<u>H</u>-2''',2'''} = 7.5 Hz), 4.80 (s, 1H, H-1''), 4.93 (d, 1H, O<u>H</u>-2''', *J*_{O<u>H</u>-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',N<u>H</u>-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''} = 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, ^{*l*}Bu), 1.46-1.36 (m, 7H, acetonide, C<u>H</u>₂CH₃×2), 1.27 (s, 3H, acetonide), 0.71 (t, 3H, CH₂C<u>H</u>₃, *J* = 7.4 Hz), 0.67 (t, 3H, CH₂C<u>H</u>₃, *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;

NKY15-10

Methyl 5-O-{5-deoxy-N-[(1S,2R,3S)-2-hydroxy-3-methoxymethyloxy-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 (132)



A solution of **131** (181 mg, 166 μ mol) and DIPEA (116 μ L, 664 μ mol) in CH₂Cl₂ (2 mL) was treated with MOMCl (25.2 μ L, 332 μ mol) at room temperature and stirred for 18 hours. The reaction mixture was added MOMCl (12.5 μ L, 165 μ mol) and stirred for 24 hours. The 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 (40-100% AcOEt/hexane) to afford **132** (121 mg, 107 μ mol, 64%) as a

white foam.

¹H NMR (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, N<u>H</u>-6', *J*_{N<u>H</u>-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, O<u>H</u>-2''', *J*_{O<u>H</u>-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, OC<u>H</u>₂OMe, *J* = 6.9 Hz), 4.64 (d, 1H, H-3'', *J*_{3'',2''} = 5.7 Hz), 4.60 (d, 1H, OC<u>H</u>₂OMe, *J* = 6.3 Hz), 4.42 (d, 1H, H-5', *J*_{5',4'} = 9.2 Hz), 4.38 (d, 1H, H-6', *J*_{6',N<u>H</u>-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''} = 10.7, *J*_{4'',5''} = 2.6 Hz), 3.89 (q, 1H, H-2''', *J*_{2''',3'''} = *J*_{2''',3'''} = *J*_{2''',3'''} = *J*_{2''',3'''} = 10.7, *J*_{4'',5''} = 2.6 Hz), 3.89 (q, 1H, H-2''', *J*_{2''',1'''} = *J*_{2''',3'''} = *J*_{2''',3'''} = 13.2 Hz), 1.50 (s, 9H, ^tBu), 1.47-1.37 (m, 7H, acetonide, C<u>H</u>₂CH₃×2), 1.27 (s, 3H, acetonide), 0.72 (t, 3H, CH₂C<u>H</u>₃, *J* = 7.5 Hz), 0.67 (t, 3H, CH₂C<u>H</u>₃, *J* = 7.4 Hz);

¹³C NMR (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 [(M + Na)⁺]; ESIMS-HR calcd for C₅₁H₆₅O₂₂N₅S 1132.3915, found 1132.3944; $[\alpha]_D^{-18}$ +80.3 (*c* 0.64, CHCl₃).

NKY15-16, 15-18, 15-21

Methyl $5-O-\{5-tert-butoxycarbonyl-5-deoxy-N-[(1S,2R,3S)-2-hydroxy-3-methoxymethyloxy-4-cyclopentenyl]-2,3-O-(3-pentylidene)-\beta-D-$ *ribo* $-pentofuranosyl}-6-benzyloxycarbonylamino-6-deoxy-2,3-O-isopropylidene-1-(3-$ *tert* $-butoxycarbonyluracil-1-yl)-\beta-D-$ *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-^{*t*}Bu-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, OC<u>H</u>₂OMe, 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, OCH₂O<u>Me</u>, H-5"), 2.85 (d, 1H, H-5", *J*_{5",5"} = 9.8 Hz), 1.48-1.38 (m, 16H, C<u>H</u>₂CH₃×2, acetonide, ^{*t*}Bu), 1.26 (s, 3H, acetonide), 0.74 (t, 3H, CH₂C<u>H</u>₃, *J* = 7.2 Hz), 0.70 (t, 3H, CH₂C<u>H</u>₃, *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 ^{*t*}BuOH-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, OC<u>H</u>₂OMe, H-3"), 4.49 (d, 1H, O<u>H</u>-4"', *J*_{O<u>H</u>-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, OCO₂<u>Me</u>), 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'''} = 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, C<u>H</u>₂CH₃, *J* = 7.4 Hz), 1.58-1.53 (m, 2H, C<u>H</u>₂CH₃), 1.50 (s, 3H, CC<u>H</u>₃), 1.44 (s, 9H, ^tBu), 1.34 (s, 3H, CC<u>H</u>₃), 0.84 (t, 3H, CH₂C<u>H</u>₃, *J* = 7.1 Hz), 0.83 (t, 3H, CH₂C<u>H</u>₃, *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 μ mol), palmitic acid (10.8 mg, 14.0 μ mol) and DMAP (1.6 mg, 14.0 μ mol) in 1,2-DCE (400 μ L) was treated with EDCI (10.7 mg, 56.0 μ mol) at room temperature and stirred for 24 hours. Palmitic acid (5.4 mg, 21 μ mol) and EDCI (10.7 mg, 56.0 μ mol) 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, OC<u>H</u>₂OMe, J = 6.3 Hz), 4.48 (d, 1H, OC<u>H</u>₂OMe, 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, OCH₂O<u>Me</u>), 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", $J_{6",2"} = J_{6",6"} = 10.3$ Hz), 1.62 (q, 2H, C<u>H</u>₂CH₃, J = 7.3 Hz), 1.57-1.50 (m, 7H, C<u>H</u>₂CH₃, CCH₃, palmitoyl), 1.44 (s, 9H, ^tBu), 1.34 (s, 3H, CCH₃), 1.25 (s, 24H, palmitoyl), 0.87-0.82 (m, 9H, C<u>H</u>₂CH₃×2, 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; $[\alpha]_D^{17}$ –28.7 (*c* 0.69, CHCl₃).

NKY16-69

Compound 139



To the mixture of compound **138** (12.5 mg, 11.9 μ mol), 2,6-di-^{*t*}Bu-*p*-cresol (1.3 mg, 5.9 μ mol) and Cs₂CO₃ (11.6 mg, 35.7 μ mol) in DMF (200 μ L) was added Ph₃SiSH (10.4 mg, 35.7 μ mol) and the mixture was stirred at 90 °C for 20 hours. After cooling down to room temperature, the reaction mixuture 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, N<u>H</u>-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, OC<u>H</u>₂OMe, *J* = 6.3 Hz), 4.48 (d, 1H, OC<u>H</u>₂OMe, *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, C<u>H</u>₂CH₃, *J* = 7.5 Hz), 1.56-1.53 (m, 4H, C<u>H</u>₂CH₃, palmitoyl), 1.50 (s, 3H, CCH₃), 1.44 (s, 9H, ^{*t*}Bu), 1.34 (s, 3H, CCH₃), 1.25 (s, 24H, palmitoyl), 0.88-0.84 (m, 9H, CH₂C<u>H</u>₃×2, 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; $[\alpha]_D^{16}$ –15.9 (*c* 0.54, CHCl₃).

NKY 17-2

Compound 127



Compound **139** (26.7 mg, 25.7 μ mol) 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 μ mol, 53%) as a white solid.

HÓ OH 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 $C_{37}H_{61}N_4O_{14}$ 785.4179, found 785.4197; [α]_D²⁰ –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)



b) after purification



NKY16-36

Methyl 5-O-{5-deoxy-N-[(1R,2S,3R)-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 (140)



Compound **113** (1.00 g, 1.01 mmol), carbonate *rac*-**130** (352 mg, 2.02 mg) 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 mixuture 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 µmol, 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 µmol, 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, N<u>H</u>-6', *J*_{N<u>H</u>-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, O<u>H</u>-3'''), 4.84 (d, 1H, O<u>H</u>-2''', *J*_{O<u>H</u>-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''',3'''} = *G*.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, ^{*t*}Bu), 1.51-1.39 (m, 4H, C<u>H</u>₂CH₃×2), 1.41 (s, 3H, CCH₃), 0.73 (t, 3H, CH₂C<u>H</u>₃, *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-[(1R,2S,3R)-2-hydroxy-3-methoxymethyloxy-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 (141)



A solution of **140** (187 mg, 172 μ mol) and DIPEA (150 μ L, 860 μ mol) in CH₂Cl₂ (3 mL) was treated with MOMCl (26 μ L, 0.34 mmol) at room temperature and stirred for 24 hours. To the reaction mixture was added MOMCl (26 μ L, 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 $\mu mol,$ 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, N<u>H</u>-6', *J*_{N<u>H</u>-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, O<u>H</u>-2"', *J*_{0<u>H</u>-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, OC<u>H</u>₂OMe, *J* = 6.9 Hz), 4.60 (d, 1H, H-3", *J*_{3",2"} = 5.7 Hz), 4.57 (d, 1H, OC<u>H</u>₂OMe, *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",OH-2"} = 6.7 Hz), 3.56 (s, 3H, CO₂Me), 3.24-3.20 (m, 4H, H-5'', OCH₂O<u>Me</u>), 3.05 (dd, 1H, H-5'', *J*_{5",5"} = 15.5, *J*_{5",4"} = 3.4 Hz), 1.51 (s, 9H, *'*Bu), 1.46-1.41 (m, 7H, CC<u>H</u>₃, C<u>H</u>₂CH₃×2), 1.27 (s, 3H, CC<u>H</u>₃), 0.73 (t, 3H, CH₂C<u>H</u>₃, *J* = 7.2 Hz), 0.67 (t, 3H, CH₂C<u>H</u>₃, *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

Methyl5-O-{5-tert-butoxycarbonyl-5-deoxy-N-[(1R,2S,3R)-2-hydroxy-3-methoxymethyloxy-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 μ mol) in MeOH (5 mL) was treated with AcOH (0.5 mL) at 60 °C and stirred for 3 days. 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 (30.4 mg, 220 μ mol) in MeCN (2 mL) was treated with 4-^{*t*}Bu-benzenethiol (57 μ L, 0.33 mmol) at room temperature and stirred for 36 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 μ L, 0.33 mmol) in THF (1 mL) was treated with Boc₂O (155 μ L, 660 μ mol) 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 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 **142** (73.6 mg, 77.7 μ mol, 71% over 3 steps) as a white foam.

¹H NMR (DMSO-*d*₆, 400 MHz) δ 11.5 (br s, 1H, N<u>H</u>-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, O<u>H</u>-2'''), 4.78 (dd, 1H, H-3', *J* = 5.9, *J* = 4.5 Hz), 4.73-4.60 (m, 4H, H-2'', H-3'', OC<u>H</u>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, CO₂Me), 3.33 (o, 1H, H-5''), 3.24 (s, 3H, OCH₂O<u>Me</u>), 2.80 (d, 1H, H-5'', *J*_{5'',5''} = 10.9 Hz), 1.47-1.38 (m, 16H, ^{*t*}Bu, C<u>H</u>₂CH₃×2, CC<u>H</u>₃), 1.26 (s, 3H, CC<u>H</u>₃), 0.73 (t, 3H, CH₂C<u>H</u>₃, *J* = 7.5 Hz), 0.69 (t, 3H, CH₂C<u>H</u>₃, *J* = 7.5 Hz);

¹³C 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 C₄₅H₆₃ N₄O₁₈ 947.4132, found 947.4135; $[\alpha]_D^{20}$ –33.8 (*c* 0.83, CHCl₃).

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

Compound 143



A solution of **142** (213 mg, 301 μ mol), K₃[Fe(CN)₆] (297 mg, 903 μ mol), K₂CO₃ (125 mg, 903 μ mol), NaHCO₃ (75.9 mg, 903 μ mol), DABCO (33.8 mg, 301 μ mol) and MeSO₂NH₂ (28.6 mg, 301 μ mol) in ^{*t*}BuOH-H₂O (1:1, 6 mL) was treated with K₂OsO₄·2H₂O (11.1 mg, 30.1 μ mol) at room temperature for 13 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 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 NaIO₄ (33.2 mg, 155 µmol) at room temperature for 30 min. 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 (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 µmol, 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, O<u>H</u>-4"', J_{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", OC<u>H</u>₂OMe), 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 = 10.9Hz), 2.60-2.51 (m, 3H, H-6'', H-2'''×2), 1.57-1.45 (m, 4H, C<u>H</u>₂CH₃×2), 1.46 (s, 3H, CC<u>H</u>₃), 1.41 (d, 9H, ^{*t*}Bu, J = 3.4 H), 1.27 (s, 3H, CC<u>H</u>₃), 0.79-0.76 (m, 6H, CH₂C<u>H</u>₃×2); 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, 72.1, 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; [α]_D²⁰ +13.5 (*c* 0.54, CHCl₃).

NKY16-52

Compoud 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 µmol, 63%) as a white sold.

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", OC<u>H</u>₂OMe), 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'', $J_{4',3''} = 9.2$ Hz), 3.96 (t, 1H, H-4'', $J_{4',3''} = 9.2$ Hz), 3.96 (t, 1H, H-6'''), 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, C<u>H</u>₂CH₃, 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, CH₂C<u>H</u>₃×2); 1³C</sup> 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 C₅₃H₈₆N₄NaO₁₇ 1073.5880, found 1073.5896; [α]_D¹⁵ +24.0 (*c* 0.66, CHCl₃).

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 Cs₂CO₃ (11.4 mg, 35.1 μ mol) in DMF (200 μ L) was added Ph₃SiSH (10.3 mg, 35.1 μ mol) and the mixture was stirred at 90 °C for 20 hours. After cooling down to room temperature, the reaction mixuture 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 145 (11.8 mg, 11.4 μ mol, 97%) as a white solid.

¹H NMR (DMSO-*d*₆, 500 MHz, 60 °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", OC<u>H</u>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, OCH₂O<u>Me</u>), 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, C<u>H</u>₂CH₃×2, CCH₃, palmitoyl), 1.41 (s, 9H, ^{*t*}Bu), 1.31-1.25 (m, 27H, CCH₃, palmitoyl), 0.88-0.78 (m, 7H, CH₂C<u>H</u>₃×2, palmitoyl);

¹³C 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 C₅₂H₈₅N₄O₁₇ 1037.5904, found 1073.5955; $[\alpha]_D^{16}$ +12.5 (*c* 0.59, CHCl₃).

NKY16-68

Compound 126



Compound **145** (11.8 mg, 11.4 μ mol) ws 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/H₂O, 0.1% TFA) to afford **126** (5.6 mg, 5.5 μ mol, 48%) as a white solid.

H^{\circ} **O**⁺ **H** NMR (CD₃OD, 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-1")

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);

¹³C NMR (CD₃OD, 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 [(M + H)⁺]; ESIMS-HR calcd for C₃₇H₆₁N₄O₁₄ 785.4179, found 785.4197; $[\alpha]_{D}^{23}$ +6.62 (*c* 0.56, CH₃OH).

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 intiated 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 miciroplate reader.

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 antibicrobial 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 Microbial. 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. Functionoriented 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.; Borcherding, 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 chelateenolate 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 reaarangement.

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 hapatotoxin 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-trihydroxypiperidines.

40. Malik, G.; Guinchard, X.; Crich, D. *Org. Lett.* 2012, *14*, 596-599. Asymmetric synthesis of polyhydroxylated *N*-alkoxypiperidines 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. Allyllic 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) Ovaa, H.; Stragies, R.; van der Marel, G. A.; van Boom, J. H.; Blechert. 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 Ecteinascidin 743.

54. Minato, M.; Yamamoto, K.; Tsuji, J. *J. Org. Chem.* **1990**, *55*, 766-768. Osmium tetraoxide catalyzed vicinal hydroxylation of higher olefins by usin 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.; Pfefferkorn, 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 substitutuents: 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.

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: Inhibiton 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 diarylborrinic 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. Antbiot.* **1971**, *24*, 215-223. Tunicamycin, a new antibiotic. I. Isolation and characterization of tunicamycin.