



Title	GABAトランスポーターサブタイプ選択的阻害剤の創出を目的とするGABA配座制限誘導体の設計と合成
Author(s)	未政, 亮大
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(臨床薬学)
Dissertation Number	甲第13183号
Issue Date	2018-03-22
DOI	https://doi.org/10.14943/doctoral.k13183
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/69523
Type	doctoral thesis
File Information	Akihiro_Suemasa.pdf



博士学位論文

GABA トランスポーターサブタイプ選択的阻害剤の創出を目的とする

GABA 配座制限誘導体の設計と合成

末政 亮大

北海道大学大学院生命科学院

臨床薬学専攻

薬物動態解析学研究室・創薬有機化学研究室

2018年3月

謝辞

本研究を行うに際し、終始御懇篤なる御指導と御鞭撻を賜りました北海道大学大学院薬学研究院 周東 智教授に心より感謝致します。

本研究を行うにあたり、有益なる御助言、御討論をして頂きました名古屋大学大学院理学研究科 阿部 洋教授、長崎大学大学院医歯薬総合研究科 福田 隼 准教授、北海道大学大学院薬学研究院 菅原 満 教授、渡邊 瑞貴 講師に深く感謝致します。

本論文の審査をして頂き、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院 松永 茂樹 教授、南 雅文 教授に深く感謝致します。

薬理活性評価をして頂きました東京都医学総合研究所 井手 聡一郎 博士、北海道大学大学院薬学研究科 人羅 菜津子 助教に深く感謝致します。

BGT-1 ホモロジーモデリングとドッキングシミュレーションならびに薬理活性評価をして頂きましたコペンハーゲン大学 Petrine Wellendorph Associate Professor に深く感謝いたします。

各種機器分析を行って頂きました北海道大学機器分析センターの皆様に深く感謝いたします。

本研究を行うにあたり、日々活発な御討論をして頂きました星谷 尚亨 博士、一ノ瀬 亘 博士に深く感謝いたします。

本研究を行うにあたり、化学実験の基礎から丁寧に御指導して頂きました川村 周平 博士に深く感謝致します。

日々活発な御助言をして頂きました、水野 彰 博士、小林 嵩明 博士、佐藤 隆俊 修士をはじめとする北海道大学大学院薬学研究科創薬有機化学研究室に御関係する皆様に深く感謝致します。

共に励まし合い、心の支えとなってくださった北海道大学薬学部同期生をはじめとする友人達に深く感謝いたします。

最後に、著者の学生生活を経済的、精神的に支えてくださった両親に心より感謝いたします。

2018年 3月 末政 亮大

略語表

本論中、以下の略語を使用した。

Ac	acetyl
ATP	adenosine-5'-triphosphate
aq.	aqueous
Bn	benzyl
Boc	<i>tert</i> -butoxycarbonyl
Bu	butyl
calcd	calculated
cat.	catalyst
Cbz	benzyloxycarbonyl
conc.	concentrated
DIBAL	diisobutylaluminium hydride
DMAP	4-dimethylaminopyridine
DMF	<i>N,N</i> -dimethylformamide
DMP	Dess-Martin periodinane
DPPA	diphenylphosphoryl azide
EDC	1-ethyl-3-(3-dimethylaminopropyl)carbodiimide hydrochloride
Et	ethyl
eq.	equivalent
HOBt	1-hydroxybenzotriazole
HRMS	high-resolution mass spectrometry
5-HT	5-hydroxytryptamine (serotonin)
KHMDS	potassium hexamethyldisilazide
LHMDS	lithium hexamethyldisilazide
LRMS	low-resolution mass spectrometry
Me	methyl
mp	melting point
MS	mass spectrometry
MTPA	α -methoxy- α -(trifluoromethyl)phenylacetic acid
<i>n</i> -	normal
NaHMDS	sodium hexamethyldisilazide
NMR	nuclear magnetic resonance
NMM	<i>N</i> -methylmorpholine
NOE	nuclear Overhauser effect

PGME	phenylglycine methyl ester
Ph	phenyl
Piv	pivaloyl
ppm	parts per million
PyBOP	(benzotriazol-1-yloxy)tripyrrolidinophosphonium hexafluorophosphate
rt	room temperature
<i>t</i> -	tertialy-
sat.	saturated
TBAF	tetrabutylammonium fluoride
TBDPS	<i>tert</i> -butyldiphenylsilyl
THF	tetrahydrofuran
quant.	quantitative yield
VGAT	vesicular GABA transporter

目次

序論	1
本論	
第一章 シクロプロパン歪みの増強による GABA 配座制御	
第一節 シクロプロパンによる GABA 配座制限誘導体の設計	7
第二節 シクロプロパン歪み誘導体の設計と合成	9
第三節 <i>syn</i> 配座シクロプロパン歪み誘導体の設計と合成	18
第二章 二環性骨格による GABA 配座制御	
第一節 ビシクロ[3.1.0]ヘキサン骨格を利用した GABA 配座制限誘導体の設計	26
第二節 ビシクロ[3.1.0]ヘキサン骨格を利用した GABA 配座制限誘導体の合成	30
第三節 ビシクロ[3.1.0]ヘキサン骨格を利用した GABA 配座制限誘導体の生物活性	33
第四節 BGT-1 に対する活性配座	37
第三章 トランスポーター選択性向上を志向した二環性骨格 GABA 誘導体の設計と合成	
第一節 二環性骨格 GABA 誘導体の設計	38
第二節 二環性骨格 GABA 誘導体の合成	40
第四章 新たな選択性の発現を志向した三置換シクロプロパン GABA 誘導体の設計と合成	
第一節 三置換シクロプロパン GABA 誘導体の設計	42
第二節 三置換シクロプロパン GABA 誘導体の合成	44
第三節 二環性骨格 GABA 誘導体と三置換シクロプロパン GABA 誘導体の生物活性	46
結語	48
実験の部	49
参考文献	79

序論

1. はじめに

中枢神経系の疾患、すなわちうつ病、アルツハイマー病やパーキンソン病などの種々の精神疾患は社会問題となっており、その患者数は今後も増加すると予想されている^[1]。これら精神疾患、特にうつ病の治療薬として、神経伝達物質トランスポーター (NTTs : neurotransmitter transporters) を標的とした薬の開発研究が多くなされている。NTTs の機能を阻害すると、シナプス間隙の神経伝達物質濃度が上昇し、間接的に受容体が活性化される。有用な薬が上市されていることから示されるように、NTTs の薬物標的としての有用性は証明されている。

1950 年代に、第一世代の三環系抗うつ薬であるイミプラミンが開発された。元は抗ヒスタミン薬として開発されたイミプラミンは、シナプス間隙に放出されたモノアミン (神経伝達物質) の再取り込みを阻害するモノアミントランスポーター阻害剤であることが後に明らかとなった^[2]。イミプラミンをはじめとする三環系抗うつ薬の薬理作用機序の研究により、モノアミンの再取り込みを阻害しシナプス間隙のモノアミン濃度を上昇させることで抗うつ作用を示すというモノアミン仮説^[3] が提唱され、この仮説に沿って多くの抗うつ薬が開発されてきた。しかし、これら三環系抗うつ薬は選択性が乏しい。例えば、イミプラミンはセロトニントランスポーターやノルエピネフリントランスポーターだけでなく、ムスカリン受容体、ヒスタミン受容体、アドレナリン α 受容体といった G タンパク質共役型受容体にも作用する。そこで、この問題を回避した、トランスポーターにより選択的な阻害剤として、選択的セロトニン再取り込阻害剤 (SSRI) やセロトニン・ノルアドレナリン選択的阻害剤 (SNRI) が開発され、うつ病の第一選択薬として用いられている^[4]。

本論文では神経伝達物質の一つである GABA (γ -aminobutylic acid) に焦点をあて、選択的な GABA トランスポーター (GAT) 阻害剤の創成を目的とした構造活性相関研究について述べる。

2. 神経伝達物質トランスポーター

トランスポーターは、ABC (ATP-binding cassette) トランスポーターと SLC (solute carrier) トランスポーターの大きく 2 つのスーパーファミリーに分けられる。ABC トランスポーターは 1 機能ユニットあたり 2 つの ATP 結合部位をもつ膜タンパク質で、ATP の加水分解で得られるエネルギーを利用して物質の輸送を行う一次性能動輸送体である。ヒトでは 7 個のファミリー、49 種類が明らかとなっている。一方、SLC トランスポーターは ATP 加水分解エネルギーを利用せず、一次性能動輸送で生じた細胞膜内外のイオンの濃度勾配を利用する二次性能動輸送を行い、現在までに 52 ファミリー、約 380 種類が存在する。GABA やドパ

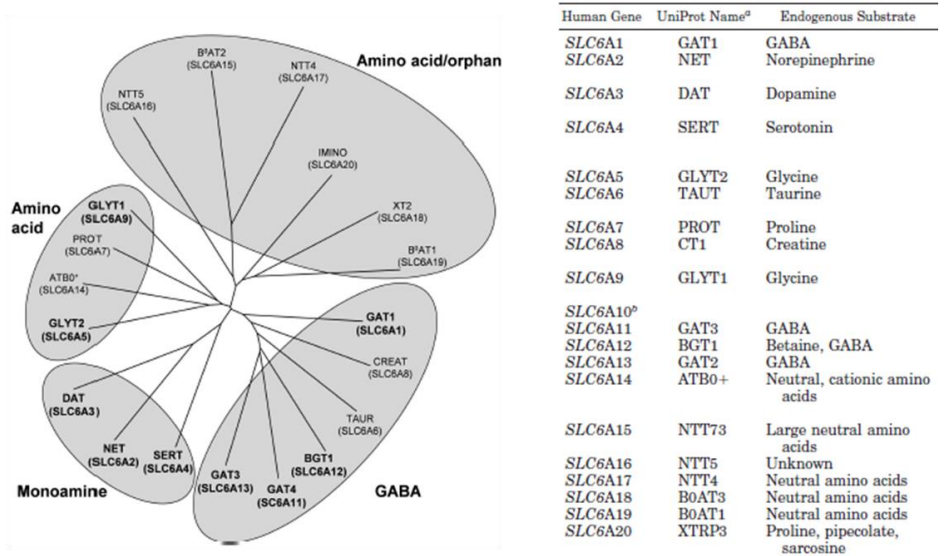


Figure 0-1. トランスポーターファミリー (SLCスーパーファミリーおよびSLC6ファミリー) の分類 (Mol. Aspects Med. 2013, 34, 197. より引用)

ミン、ノルアドレナリンをはじめとする神経伝達物質のトランスポーターは SLC トランスポーターの SLC6 ファミリーに属し、基質と Na⁺との共輸送型、もしくは Na⁺ / Cl⁻ 依存型のトランスポーターである。さらに SLC6 トランスポーターは Figure 0-1 に示すように大きく 4 つ (①セロトニンやノルエピネフリン、ドパミンなどのモノアミントランスポーター、②GABA トランスポーター、③グリシンなどのアミノ酸トランスポーター、④それ以外のオーファントランスポーター) に分類される。このオーファントランスポーターもアミノ酸トランスポーターではあるが、その機能の多くは未だ解明されていない^[5]。

トランスポーターは細胞膜に存在する膜タンパク質であり、膜タンパク質はタンパク質試料の発現・精製・結晶化のすべての過程で大きな困難が伴うため、その構造解析が難しいことが知られている。分子クローニング技術の進歩により、1990年代後半よりトランスポーター遺伝子の同定および構造解析が進み、2001年に ABC トランスポーターである MsbA の結晶構造がトランスポーターとして初めて報告された^[6]。このような歴史的な背景のため、医薬開発を考える上で、トランスポーターの構造および生理的役割を解明することは必須にもかかわらず、その研究は遅れているのが現状である。実際に、セロトニンやドパミン、GABA トランスポーターに代表される NTTs が属するトランスポーター群 (SLC-6 ファミリー) の三次元タンパク質構造は、ホモロジーモデリングを含め、ほとんど解明されていない。特に GAT*やグリシントランスポーターにおいて顕著であり^[7]、阻害剤創製、生理機能や組織分布に関する研究は不十分である。そのため GAT の構造については、コア構造においてアミノ酸配列の相同性 50~60%を示すロイシントランスポーター (LeuT) を基に考えられている。LeuT は山下らによりバクテリアから発見された Na⁺共役型トランスポーターで、2005年に X 線結晶構造が報告された^[8]。その構造は 12本の膜貫通ヘリックスからなり、N 末端側の 5本のヘリックスと、C 末端側の 5本のヘリックスが、逆向き対称の構造をとっている。またコア構造と呼ばれるこれら 10本の膜貫通ヘリックスが輸送に関与している。細胞膜の中央付近で 1番目と 6番目のヘリックスの構造がほどけている部分があり、そこに基質とイオンの結合部位が存在する (Figure 0-2)。

トランスポーターの輸送機構として交互アクセス機構 (Alternating Access 機構) が 1966年に Jardetzky により提唱され、2010年に島村らによりこの機構が解明された^[9]。トランスポーターは分子内部に基質の通る経路を持ち、その経路の途中にある基質結合部位を細胞膜の両側に交互に開閉させることで輸送を行う。そのため外向きの開いた構造 (outward-facing open)、外向きの閉じた構造 (outward-facing occluded)、内向きの閉じた構造 (inward-facing occluded)、内向きの開いた構造 (inward-facing open) の 4種類の構造が存在することが判明しており、SLC6 トランスポーターである GAT でも同様であると考えられる (Figure 0-3)。このようにトランスポーターは上記 4つのコンフォメーション変化を起こすことで交互アクセス機構に従い物質の輸送を行うが、阻害剤はこれら 4つの各構造段階の何れかで、トランスポーターと結合してその構造を安定化し、コンフォメーション変化すなわちトランスポーターによる輸送を阻害すると考えられる。

* GAT の内、GAT-1 のホモロジーモデリングは 2010年に Skovstrup らによって報告されている^[10]。

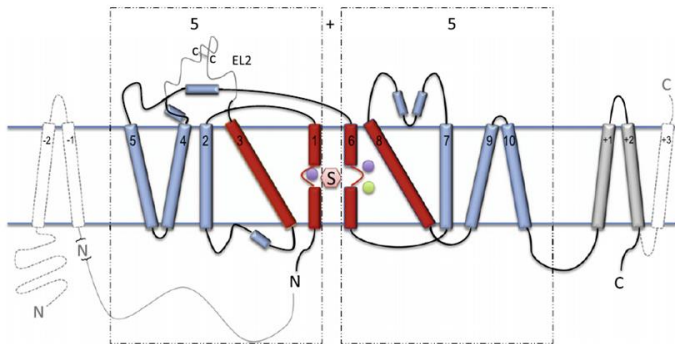


Figure 0-2. トランスポーターの構造
(*Mol. Aspects Med.* 2013, 34, 197. より引用)

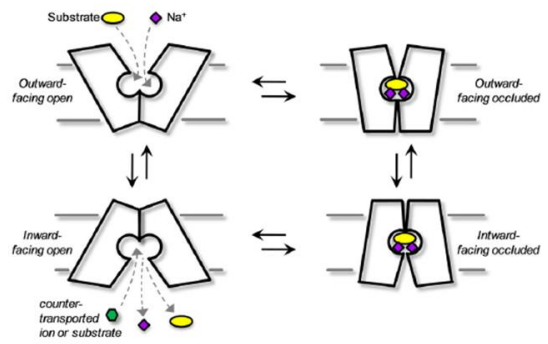


Figure 0-3. 交互アクセス機構 (Alternating Access機構)
(*Pharmacol. Rev.* 2011, 63, 585. より引用)

3. GABA と GAT

GABA は中枢抑制性の神経伝達物質で、中枢神経系に高濃度で、一部は肝臓や腎臓といった末梢組織にも存在し、うつ病、睡眠障害、てんかん等の疾患と深く関わっていると考えられている。

GABA は疎水性の低さから血液脳関門 (blood-brain barrier) を通過することができず、興奮性伝達物質である L-グルタミン

酸からグルタミン酸デカルボキシラーゼにより脳内で生合成される。合成された GABA は小胞 GABA トランスポーター (VGAT) によりシナプス小胞に貯蔵され、貯蔵された GABA は神経刺激によりシナプス間隙へと放出される。シナプス間隙へと放出された GABA が GABA 受容体と結合することでシナプス後部の神経細胞へ抑制性の情報伝達が行われ、その後 GAT により GABA が取り込まれると情報伝達が終了する。また、GAT により取り込まれた GABA は再びシナプス小胞に蓄えられ再利用されるか TCA 回路 (tricarboxylic acid cycle, クエン酸回路) により代謝される。細胞内に取り込まれた GABA は GABA トランスアミナーゼにより分解されコハク酸セミアルデヒドとなり TCA 回路により代謝される (Figure 0-4)^[11]。

GAT は現在までに GAT-1、GAT-2、GAT-3、BGT-1 (Betain-GABA transporter) の 4 つのサブタイプが同定されており、主な機能はシナプス終末から放出された GABA のシナプス間隙における濃度調整である^[12] (Figure 0-5)。以下に各トランスポーターサブタイプに関する特徴をまとめる。

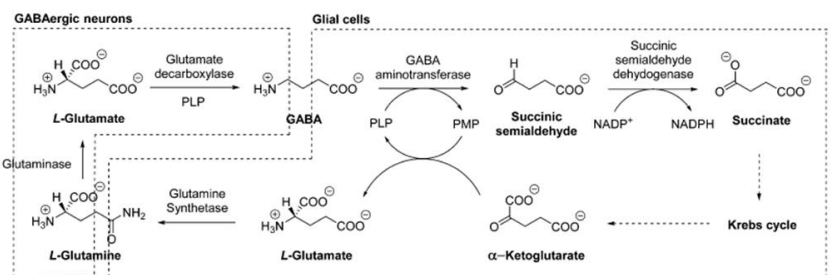


Figure 0-4. GABAの代謝経路
(*ACS Chem. Neurosci.* 2015, 6, 1591.)

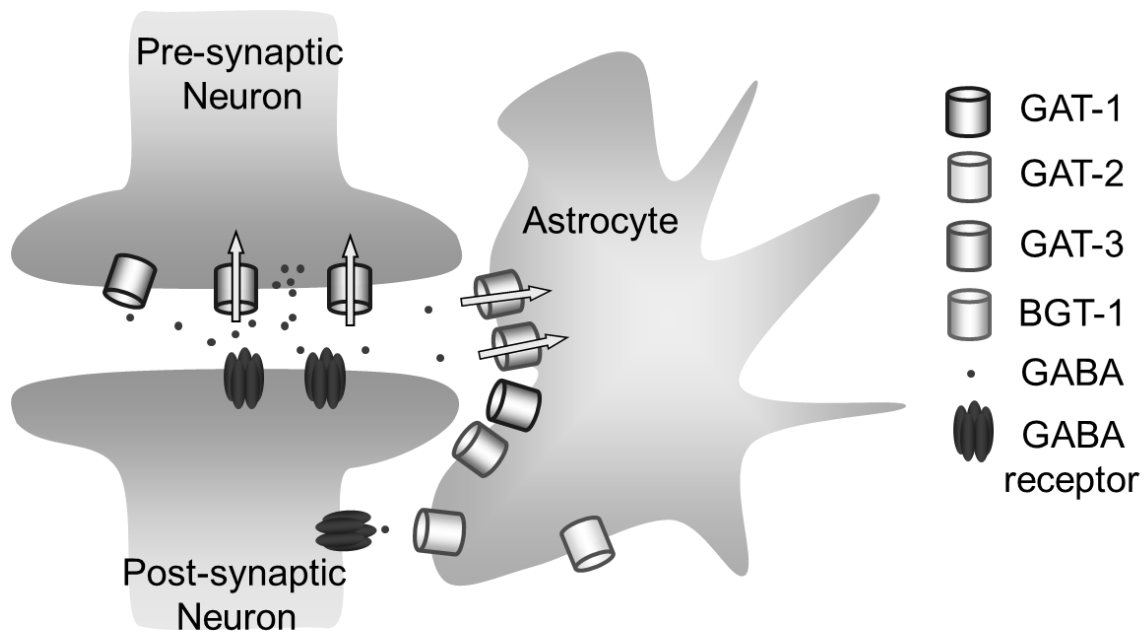


Figure 0-5. GABA神経伝達の模式図

GAT-1 は中枢神経に高発現しており、大脳皮質、海馬、小脳、線条体、脊髄や網膜に見られ、GABA シナプス近傍のアストログリアにも存在する。主な機能はシナプス間隙における GABA の濃度調整であり、シナプス間隙に放出された GABA を再取り込みしてシナプス小胞内に貯蔵する。また、細胞膜の脱分極がおこると GAT-1 の逆輸送が起こり、シナプス間隙へ GABA を放出する役割も担っている^[13]。

GAT-2 は、ヒトにおいて中枢神経および末梢組織ともに発現しており、中枢では軟髄膜や脳室上皮、末梢では腎臓や肝臓に発現している。当初、ヒトの GABA トランスポーターとして GAT-1、GAT-3、BGT-1 は見つかったものの、マウス GAT-3*とラット GAT-2 に相同するヒトの GABA トランスポーターは発見されていなかった。しかし 2001 年 Gong らにより SLC ファミリーの SLC6A13 がマウス GAT-3 とラット GAT-2 に相同する遺伝子配列をもつことを見出し、ヒト GAT-2 が発見された。生理機能としては GABA の濃度調整や細胞へのアミノ酸供給に関わっているとされているが、解明されていない部分が多い^[14]。

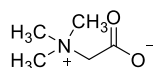
GAT-3 はその発現が中枢神経系に限定され、主にグリア細胞に発現しており、その他に嗅球、対角帯、視床にも存在する。GAT-1 とともに GABA の取り込みによるシナプス間隙における GABA の濃度調整に関わっていると考えられている^[15]。

BGT-1 は元々ベタイン[†]トランスポーターとして同定され、後に GABA も基質とすることが判明した。末梢

* ヒト、マウス、ラットの各 GAT サブタイプの相関を下図に示す。

Human	hGAT-1	hGAT-2	hGAT-3	hBGT-1
Rat	rGAT-1	rGAT-2	rGAT-3	rBGT-1
Mouse	mGAT-1	mGAT-3	mGAT-4	mGAT-3

[†] ベタインはグリシンのメチル誘導体で、グリシンのアミノ基にメチル基が 3 つ置換したトリメチルグリシン。現在では分子内に第四級アンモニウム陽イオン構造と酸性陰イオン構造を持つ双性イオン化合物の総称として用いられる^[16]。



組織では主に肝臓や腎臓に発現し、肝臓では唯一のベタインを基質とするトランスポーターである。中枢ではアストロサイト（グリア細胞）、海馬、大脳皮質、小脳、脳幹などさまざまな部位に発現しているが、その発現は GABA 作動神経系の分布と一致しておらず、GABA 作動神経シナプス領域にはほとんど局在せずシナプス外や神経樹状突起に存在する。他のサブタイプに比べ GABA への親和性が低いことから、BGT-1 は GABA の神経伝達ではなく、シナプス外に拡散した GABA の除去およびベタインの浸透圧調整に関する細胞内外への輸送と考えられている^[17]。

後述するが GAT-1 に関しては、有用な選択的阻害剤が知られているため、比較的生理的機能解明の研究が進んでいる。一方で他の3つのサブタイプについては、疾患との関係を含め、生理機能の多くは未解明である。

4. GABA 関連医薬と GAT 阻害剤

上述のように GABA の神経伝達に関与する GABA 受容体および GAT は、中枢神経疾患治療薬の標的となる。実際に GABA 受容体を標的とする薬は古くから利用され、GABA_A 受容体に作用するベンゾジアゼピン誘導体やバルビツール酸誘導体は催眠薬や抗不安薬、抗てんかん薬として、GABA_B アゴニストであるバクロフェンは抗痙攣薬として臨床で汎用されている (Figure 0-6)。一方、GAT を

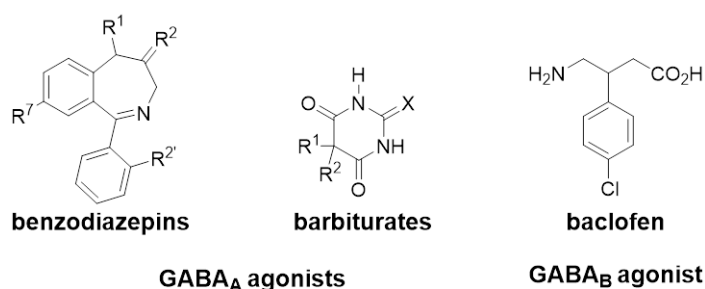
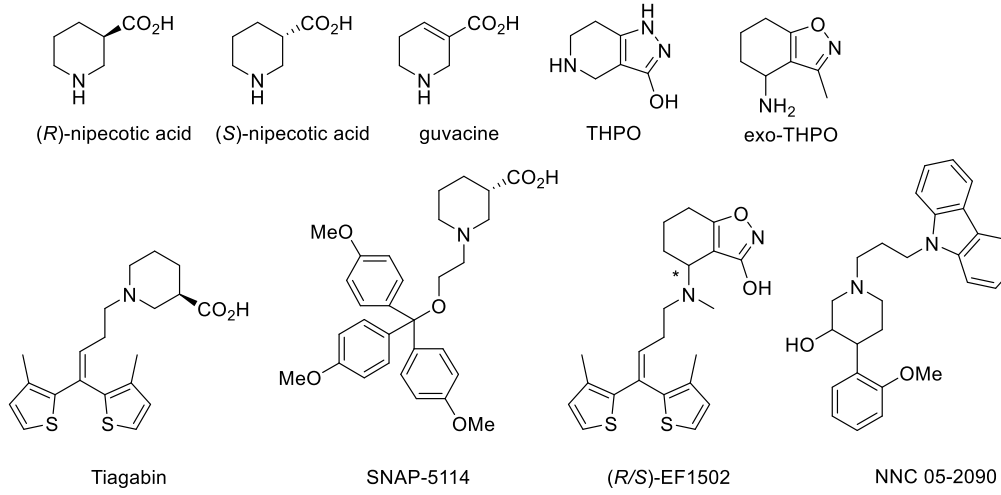


Figure 0-6. GABA受容体を標的とする医薬

標的とする臨床薬は、抗てんかん薬として承認されている GAT-1 選択的阻害剤チアガビン (Tiagabin, Gabitril[®], Figure 0-7) のみに留まっている。

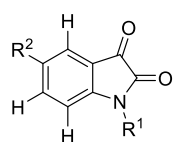
ニペコチン酸やグバシン、THPO などの高極性で分子量の小さい GABA 等価体をリードとして、疎水性官能基を導入したサブタイプ選択的 GAT 阻害剤の創製研究が行われてきた^[18]。Figure 0-7 に現在までに報告されている代表的な GAT 阻害剤を示す。SNAP-5114 は GAT-2/GAT-3 阻害剤、(R/S)-EF1502 は GAT-1/GAT-2 阻害剤、NNC 05-2090 は選択性が無いものの強力な BGT-1 阻害剤として知られている。サブタイプ選択的な GAT 阻害剤はチアガビンに代表される GAT-1 阻害剤に限られていたが、近年 GAT-1 以外のサブタイプについても選択的な阻害剤の報告がされてきた。例えば 2015 年に Clausen らは、ハイスループットスクリーニングにより発見したイサチン誘導体の構造活性相関研究により GAT-3 阻害剤を報告している (Figure 0-8)^[19]。しかし、このような GAT-1 以外のサブタイプに対する選択的阻害剤の報告例は少なく、既存の阻害剤はその多くが選択性に乏しいため、これらサブタイプの生理機能解明が遅れている要因となっている。したがって、GAT-1 以外のサブタイプ選択的阻害剤の開発は、新規医薬候補としてのみならず、GAT と疾患との関係や生理機能解明のバイオツールとしても有意義である。

そこで著者は、GAT の生理機能の解明および新規医薬リードの創出を目的として、GAT-1 以外のサブタイプ選択的 GAT 阻害剤の創製を目指すこととした。



Compound	IC ₅₀ (μM)			
	hGAT-1	rGAT-2	hGAT-3	hBGT-1
GABA	17	15	17	51
(R)-nipecotic acid	5.9	19	51	2310
(S)-nipecotic acid	116	763	2320	6410
guvacine	14	58	119	1870
THPO	1300	800	5000	3000
exo-THPO	1000	3000	3000	3000
Tiagabin	0.07 ± 0.0007	1410 ± 250	917 ± 193	1670 ± 722
SNAP-5114	233 ± 62	34 ± 8	10 ± 4	208 ± 65
(R/S)-EF1502	7	26	>300	>300
NNC 05-2090	19	41	15	1.4

Figure 0-7. GABA 等価体および GAT 阻害剤の構造と活性



Compound	R ¹	R ²	IC ₅₀ (μM)			
			hGAT-1	hGAT-2	hGAT-3	hBGT-1
a	H	Ph	876	63	8	314
b	H	thienyl	>1000	203	6	749
c	Bn	Cl	>1000	>1000	34	>1000

Figure 0-8. GAT-3 選択的阻害剤の構造活性相関研究

第一章 シクロプロパン歪みの増強による GABA 配座制御

第一節 シクロプロパンによる GABA 配座制限誘導体

標的との相互作用に関与するリガンドの官能基を三次元的に適切に配置することで、リガンドは標的分子と効果的な相互作用が得られる。リガンドが複数の標的タンパク質と結合する際にとり得る多様な配座を、合成化学的に制御することは、標的タンパク質への選択性や親和性の向上だけでなく、活性配座探索にも有用な方法論である。三次元多様な立体配座の模倣・制御による結合配座の解析を可能とする配座制御素子として、著者の所属する研究室ではシクロプロパンの有用性を示してきた。シクロプロパンは最小のシクロアルカンであり、標的分子と相互作用する際に立体障害となりにくく、分子の配座をシス/トランスに強固に制御できる (Figure 1-1)。また後述するシクロプロパン歪みにより隣接シス置換基の配座も制御できる有用な配座制御素子である^[20]。

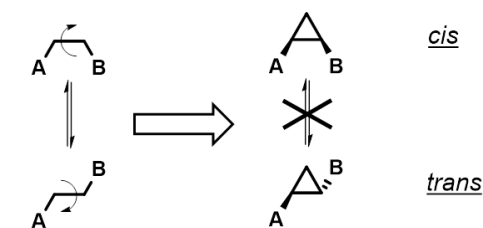


Figure 1-1. シス形・トランス形への置換基の制御

GABA の各トランスポーターへの認識には、アミンとカルボン酸の空間的配置が重要であると推定される。その高い配座的自由度から、各 GAT サブタイプに対する結合配座は異なる可能性がある。結合配座の解明は選択的阻害剤開発に有用な手段となるが、GABA 受容体については配座-活性相関研究の報告があるものの^[21]、膜タンパク質の発現や結晶化が困難なため、タンパク質構造の解明が遅れている GAT において、GAT に対する GABA の結合配座に関する知見はない。現在までに報告されている多くの GAT 阻害剤は、ニペコチン酸やグバシンをリードとする。ニペコチン酸やグバシンは、GABA と主鎖炭素数が異なる β -アミノ酸誘導体であり、それら自体の GAT への親和性および選択性は低く、好適なリード化合物とは言い難い^[22]。一方で、 γ -アミノ酸をリード化合物とした GAT 阻害剤の報告例はない。当研究室の中田は、GABA の主鎖に上述のシクロプロパンを導入し、三次元的に多様に配座を制御した GABA 誘導体群を設計・合成することで、GAT への活性配座の探索および、サブタイプ選択的な新規医薬リード化合物が創出できると考えた。すなわち GABA のカルボン酸 α 位及び β 位間を 1 炭素で架橋した 2,3-メタノ GABA (I)、 β 位及び γ 位間を 1 炭素で架橋した 3,4-メタノ GABA (II) を、それぞれシス型、トランス型、それらエナンチオマーを含め合計 8 種を設計・合成した。各 GAT サブタイプに対する GABA 取込み阻害活性を調べた結果、GAT-3、BGT-1 に阻害活性を示す 3*S*,4*R*-メタノ GABA (IIa) を見出した^[23]。しかし、両サブタイプ間の選択性は乏しく (selectivity index: GAT-3/BGT-1 = 2.54)、阻害活性も十分ではなかった (GAT-3: IC_{50} = 13.9 μ M, BGT-1: IC_{50} = 5.48 μ M) (Figure 1-2)。

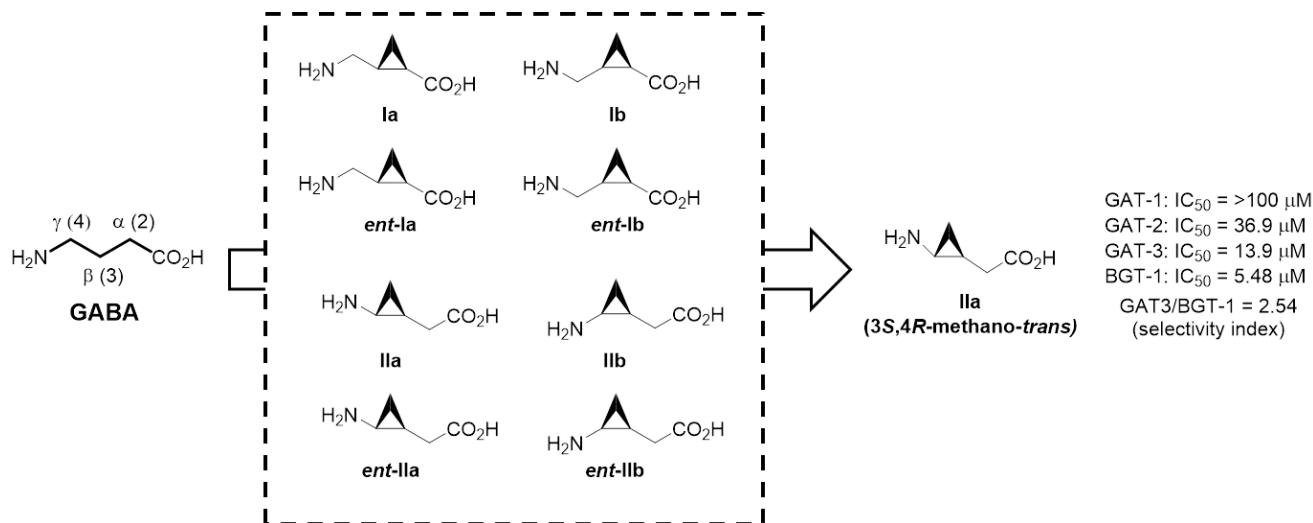


Figure 1-2. シクロプロパンを用いたGABA配座制限誘導体

Figure 1-3 に **IIa** と既知の各 GABA 等価体との、リガンド効率* (LE: ligand efficiency) および IC_{50} 値を示す。**IIa** は他の化合物と比較して、GAT-3 および BGT-1 のいずれにおいても高い LE (GAT-3: 0.83, BGT-1: 0.89) を示している。この結果は **IIa** が GAT-3 および BGT-1 阻害剤のリード化合物として優れていることを示唆している。

そこで、著者は GAT-3 および BGT-1 阻害剤創出を目指し、この **IIa** をリードとして、選択性および親和性の向上を研究課題とした。

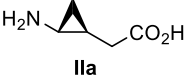
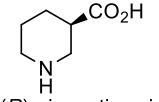
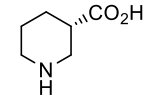
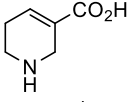
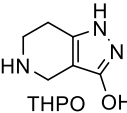
Compound	GAT-3		BGT-1		GAT-3 : BGT-1 (Ratio)
	LE	IC_{50} (μ M)	LE	IC_{50} (μ M)	
 IIa	0.83	13.9	0.89	5.48	2.5 : 1
 (R)-nipecotic acid	0.65	51	0.40	2310	1 : 45
 (S)-nipecotic acid	0.40	2320	0.33	6410	1 : 2.8
 guvacine	0.59	119	0.41	1870	1 : 16
 THPO	0.42	800	0.31	5000	1 : 6.3

Figure 1-3 LE と IC_{50} 値の比較

* LE は水素以外の重原子あたりの結合エネルギーとして下の式のように定義され、分子量が大きく異なる化合物同士の活性を比較する指標として用いられる。LE の値が高いほどリード化合物として優れたものとなる。 IC_{50} 値を用いて近似的に算出される場合が多い^[24]。

$$LE = (\Delta G) / N_{\text{non-hydrogen atoms}} \approx 1.36(-pIC_{50}) / N_{\text{non-hydrogen atoms}}$$

第二節 シクロプロパン歪み誘導体の設計と合成

1. シクロプロパン歪みに基づく配座制御

シクロプロパンには立体的自由度がないため、環状隣接位の置換基はエクリップス配座に固定され、隣接シス配置の置換基には1,3-アリル歪み様の大きな立体反発が生じる。隣接位が sp_3 炭素の場合には、Figure 1-4 のように歪みが最小となるよう、最も立体障害の小さい置換基がシクロプロパン環側に配向した配座が最安定となり、立体配置に依存して側鎖官能基の配向を制御可能である^[25]。

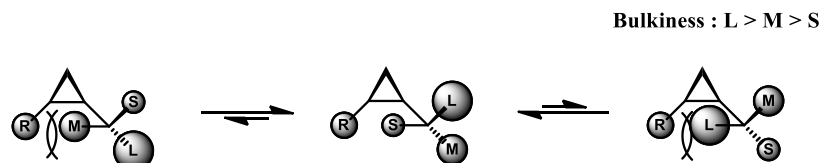


Figure 1-4. シクロプロパン歪み

当研究室の小野らは、シクロプロパン歪みによりシクロプロパン側鎖の官能基の三次元的な空間配置を制御することができると考えた。抗うつ薬ミルナシプランに対し、NMDA 受容体アンタゴニスト活性とセロトニントランスポーター阻害活性の活性配座の探索、および NMDA 受容体選択性の向上を目的として、シクロプロパン歪みによる配座制御をおこなった。すなわち、シクロプロパン隣接位にアルキル基を導入し、異なる4種の立体化学を持つミルナシプラン配座制限誘導体を合成した。これらの化合物の活性評価の結果、セロトニン阻害活性をほとんど示さず、NMDA 受容体アンタゴニスト活性が著しく増強した PPDC を見出すことに成功している^[26] (Figure 1-5)。

Compound	 (±)-Milnacipran	 PPDC (1S)	 1R	 <i>ent</i> - 1S	 <i>ent</i> - 1R
NMDA receptor binding (IC_{50} , μM) ^a	6.3 ± 0.3	0.20 ± 0.02	8.2 ± 2.1	8.2 ± 2.0	11 ± 0.05
5-HT uptake (K_i , μM) ^b	0.0085 ± 0.0006	24 ± 0.9	>100	>100	>100

^a Assay was done with cerebral cortical synaptic membrane of rats using [³H]MK-801.

^b Assay was done with cerebral cortical synaptic membrane of rats using [³H]paroxetine.

Figure 1-5. シクロプロパン歪みを用いたミルナシプラン誘導体と薬理活性

また当研究室の渡邊らはヒスタミン H_3 受容体アンタゴニストに対してシクロプロパン歪みを利用した配座制御を行うことで、ヒスタミン H_3 受容体に対する結合配座に関する知見を得ることに成功している^[27] (Figure 1-6)。すなわち、活性に重要なイミダゾール部と4-クロロベンジルアミノ部は、**3R** および *ent*-**3S** における位置関係となる場合にアンタゴニスト活性が向上した。したがって、化合物 **2** および化合物 *ent*-**2** の H_3 受容体に対する結合配座は、**3R** および *ent*-**3S** の配座と類似していることが推察された。さらに、水野・松井らは、シクロプロパン歪みに基づく分子設計を、ペプチドミメティクス創出へと展開している^[28]。

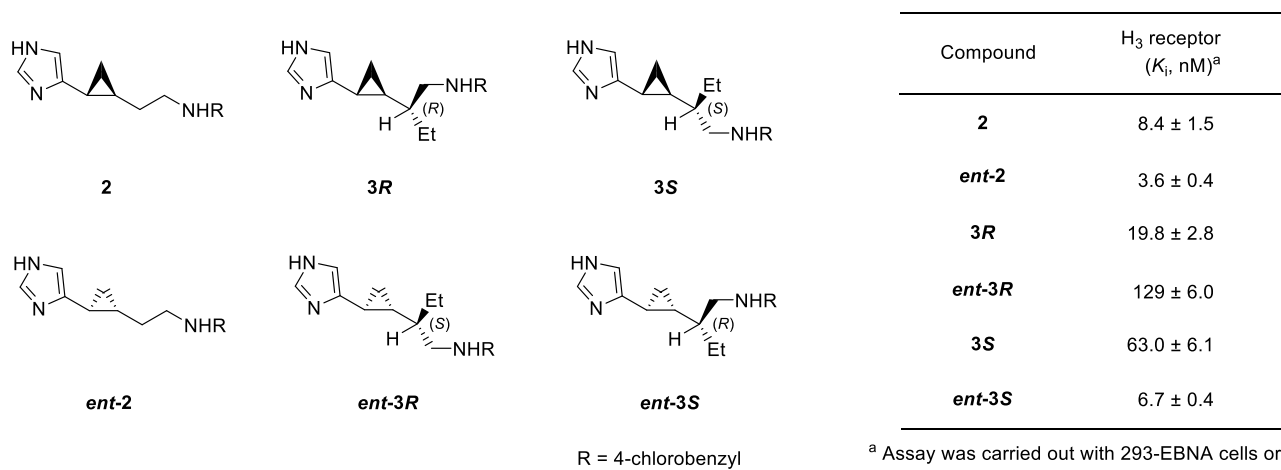


Figure 1-6. シクロプロパン歪みを用いたヒスタミン配座誘導体と薬理活性

以上のことからシクロプロパン歪みを利用した配座制御法は、シクロプロパン上の側鎖の配座制御に対し有効であり、本法は、シクロプロパン化合物の活性および選択性の向上、また活性配座の探索にも活用することができる。

2. シクロプロパン歪みに基づく GABA 配座制限誘導体の設計

著者はリード化合物である **IIa** のカルボン酸 α 位炭素に着目した。この α 炭素と隣接のシクロプロパン炭素の間の結合の回転は、シクロプロパン歪みによって制御されているものの、ある程度自由回転が可能である。MacroModel 10.9 を用いて計算化学的な配座解析をおこなったところ、エネルギー差が 1 kcal/mol 未満に *syn* 型、*anti* 型*の 2 つの極めて安定な配座を取り得ることが判明した (Figure 1-7)。そこで、自由度の高いカルボン酸側の側鎖部をさらに厳密に制御することで、活性および選択性の向上、さらに活性配座の解析が期待できると考えた。すなわち、カルボン酸隣接炭素上にアルキル基を導入すると、導入したアルキル基に起因する大きなシクロプロパン歪みにより、最小のプロトンが内側に配向し、その立体化学に依存して *anti* 配座、及び *syn* 配座が安定配座となる。そこで、カルボン酸 α 位炭素にメチル基を導入した **IIIS (Me-anti)**, **IIIR (Me-syn)**、及びエチル基を導入した **IVS (Et-anti)**, **IVR (Et-syn)** を設計した (Figure 1-8)。MacroModel 10.9 を用いた配座解析の結果、何れの化合物においても、最安定配座から 4 kcal/mol 以内のエネルギーを有する局所安定配座は存在しなかった。

* 本文における *anti* 配座, *syn* 配座は、シクロプロパンに対するカルボニル側鎖の配向で定義し、カルボニル側鎖がシクロプロパンと *syn* 方向のものを *syn* 配座、*anti* 方向のものを *anti* 配座とする。

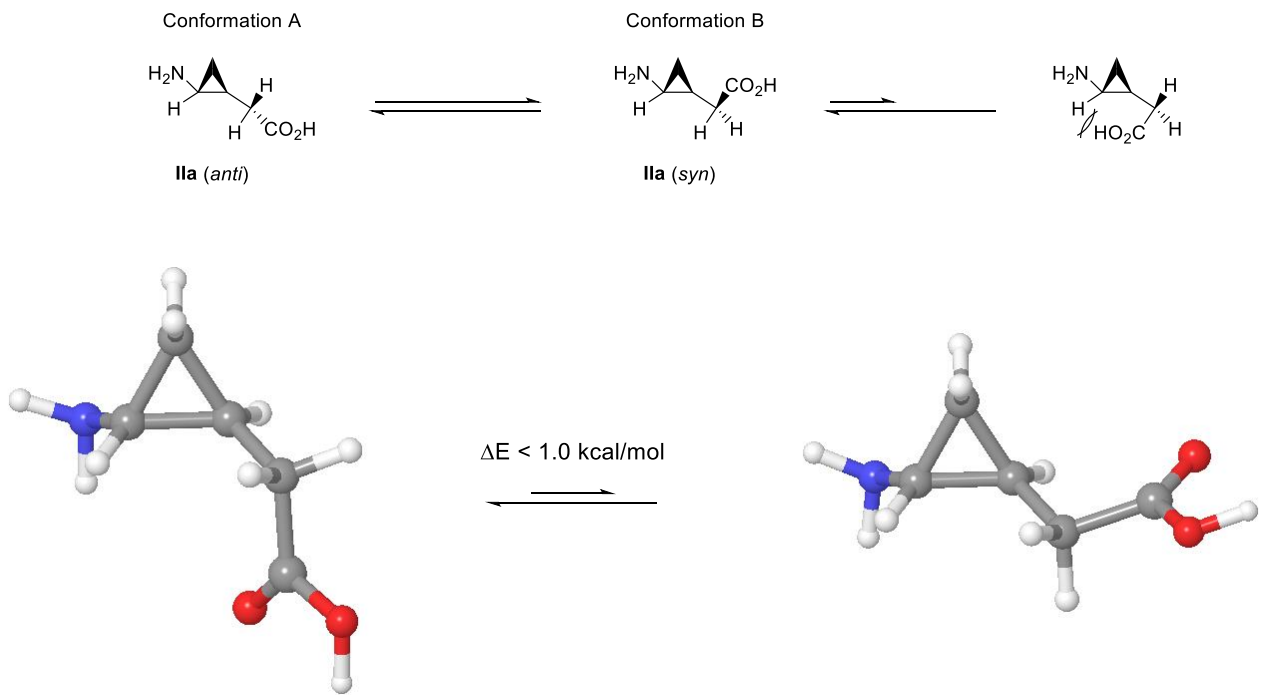


Figure 1-7. 化合物 **IIa** の配座解析 (MacroModel 10.9, solvent: H₂O, force field: MMFFs)

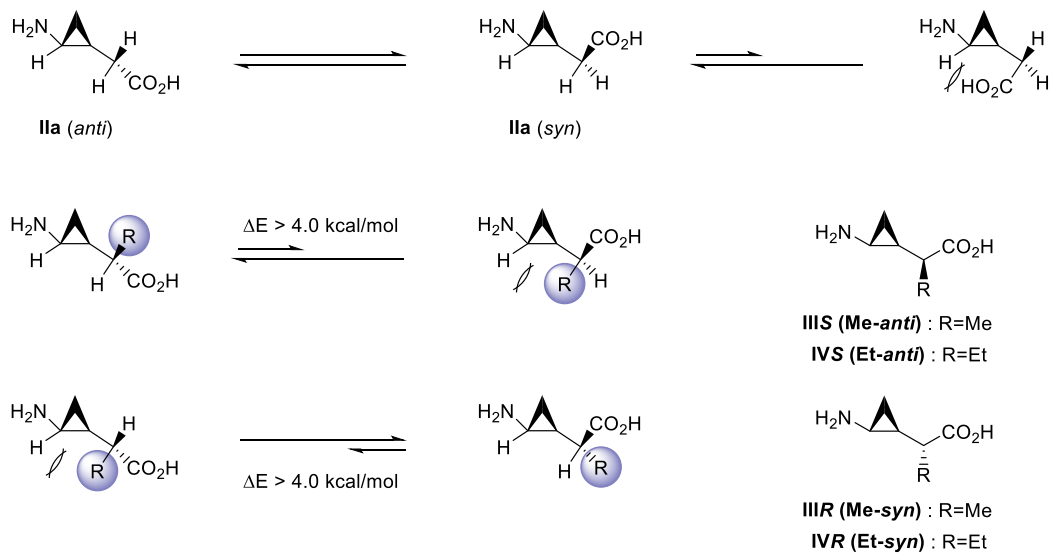
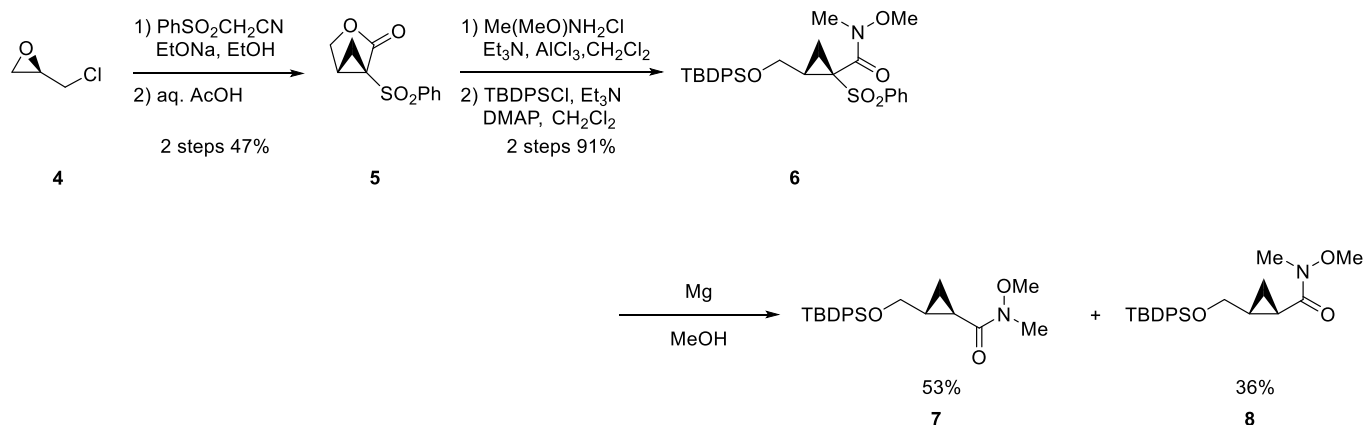


Figure 1-8. シクロプロパン歪みを利用した誘導体の設計

3. シクロプロパン歪みに基づく GABA 配座制限誘導体 **IIIS (Me-anti)**, **IIIR (Me-syn)** の合成

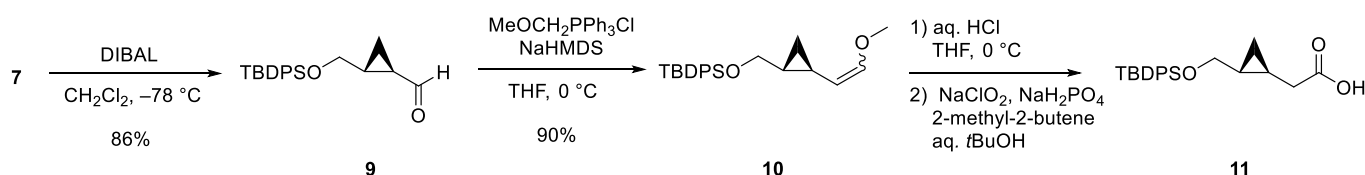
光学活性な *R* 体のエピクロロヒドリン **4** を出発原料として、当研究室で開発した方法^[29] を用いてトランス体、シス体のシクロプロパンユニット **7**, **8** を合成した (Scheme 1-3)。

Scheme 1-1



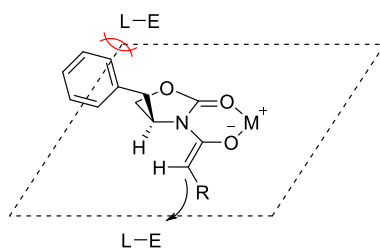
得られたトランス形のシクロプロパン Winereb アミド **7** を -78°C において DIBAL で還元してアルデヒド **9** とし、 $\text{MeOCH}_2\text{PPh}_3\text{Cl}$ を用いた Wittig 反応により 1 炭素を増炭しエノールエーテル **10** を得た。エーテル **10** の酸加水分解により得られたアルデヒドを Pinnick 酸化に付してカルボン酸 **11** とした。

Scheme 1-2

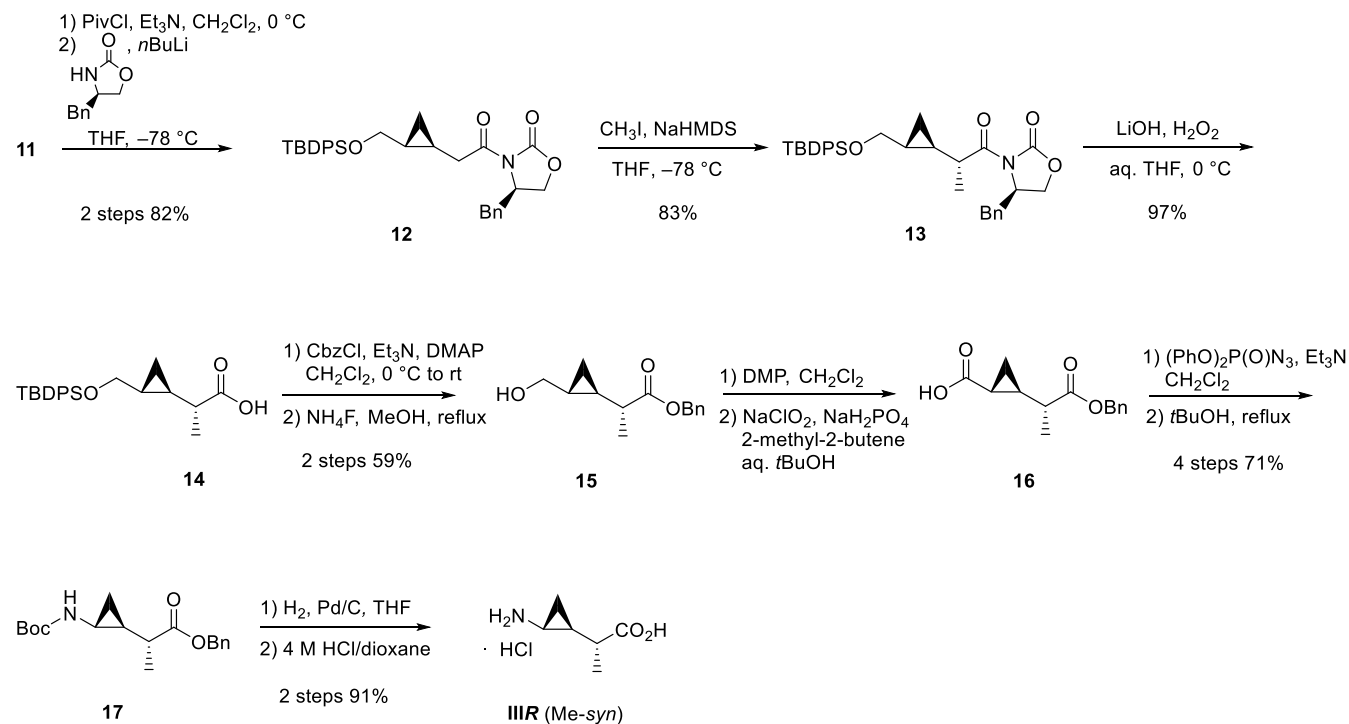


カルボン酸 **11** に対し混合酸無水物法により不斉補助基である (4*R*)-4-ベンジル-2-オキサゾリジノン を縮合し、これを THF 中 -78°C において NaHMDS および CH_3I で処理してジアステレオ選択的にカルボン酸 α 位にメチル基を導入した*。オキサゾリジノン を除去し、得られたカルボン酸 **14** をベンジルエステルとした後、 TBDPSCl を除去してアルコール **15** へと導いた。これを Dess-Martin 酸化および Pinnick 酸化により段階的に酸化した後、 DPPA で処理して酸アジドへと変換、さらに *t*-ブタノール中加熱還流して Crutius 転位による 1 炭素の減炭を経て **17** を得た。最後に Boc 基とベンジル基を除去して標的化合物 **IIIR (Me-syn)** を合成した (Scheme 1-3)。

* オキサゾリジノン を不斉補助基として用いることで、金属カチオンとの錯体形成によって配座が固定されたエノラートが生じる。このエノラートの 2 つの反応面の内、一方の面はオキサゾリジノン上のベンジル基によって立体的に遮蔽されるため、他方の面からの反応が優先的に進行する。これにより対応する立体配置を有す生成物が選択的に得られる^[30]。

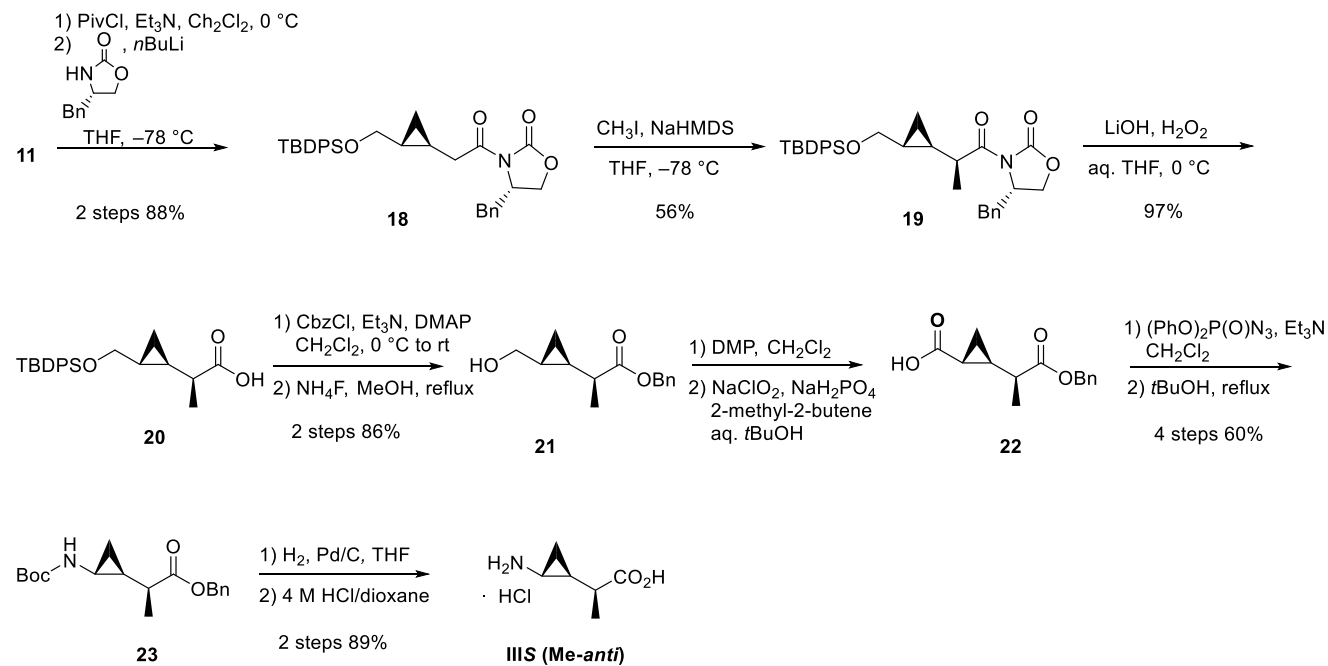


Scheme 1-3



標的化合物 **III S (Me-anti)** の合成経路を Scheme 1-4 に示す。カルボン酸 **11** に対し不斉補助基として、**III R (Me-syn)** の合成の際とは逆のエナンチオマーである (4*S*)-4-ベンジル-2-オキサゾリジノンを縮合した。以降は **III R (Me-syn)** と同様の経路で合成した。

Scheme 1-4



メチル基隣接炭素の絶対立体配置は PGME 法^[31] により決定した (Figure 1-9)。すなわち、Scheme 1-5 に示すようにカルボン酸 **14**, **20** に対し、(R) または (S)-PGME をそれぞれ縮合し、両ジアステレオマーの ¹H NMR のケミカルシフトの差を求めることで決定した。

Scheme 1-5

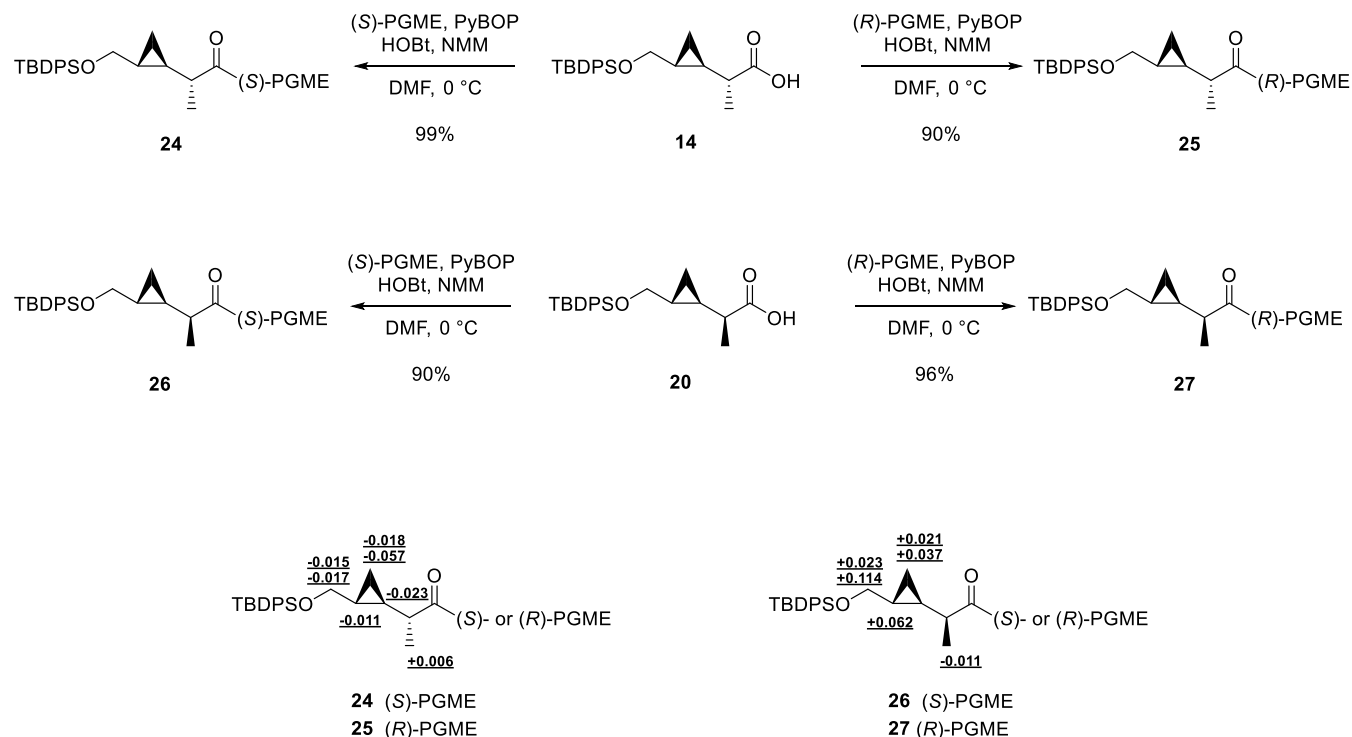


Figure 1-9. PGME 法による絶対立体配置の決定 $\Delta\delta = \delta_S - \delta_R$ (ppm; CDCl_3 , 500 MHz)

また **IIIS (Me-anti)** と **IIIR (Me-syn)** について重メタノール中における最安定配座を NOE 実験により調べた (Figure 1-10)。その結果、両化合物ともにシクロプロパン隣接位で最小の置換基である水素原子が、シクロプロパン環側に配向していることが確認された。この結果から、分子設計時に期待した通り、導入した置換基に起因するシクロプロパン歪みにより、**IIIS (Me-anti)** が *anti* 配座、**IIIR (Me-syn)** が *syn* 配座をそれぞれとっていることが示唆された。

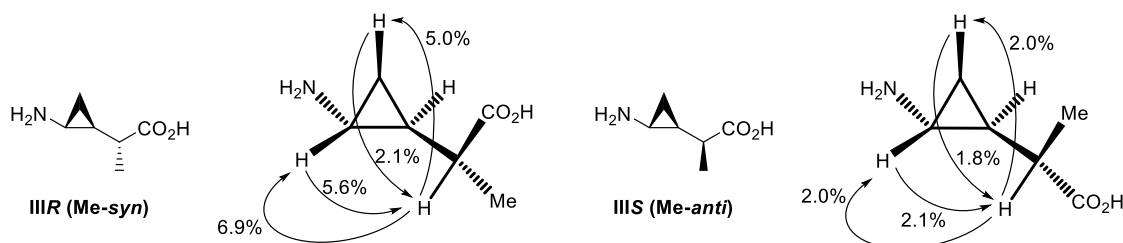
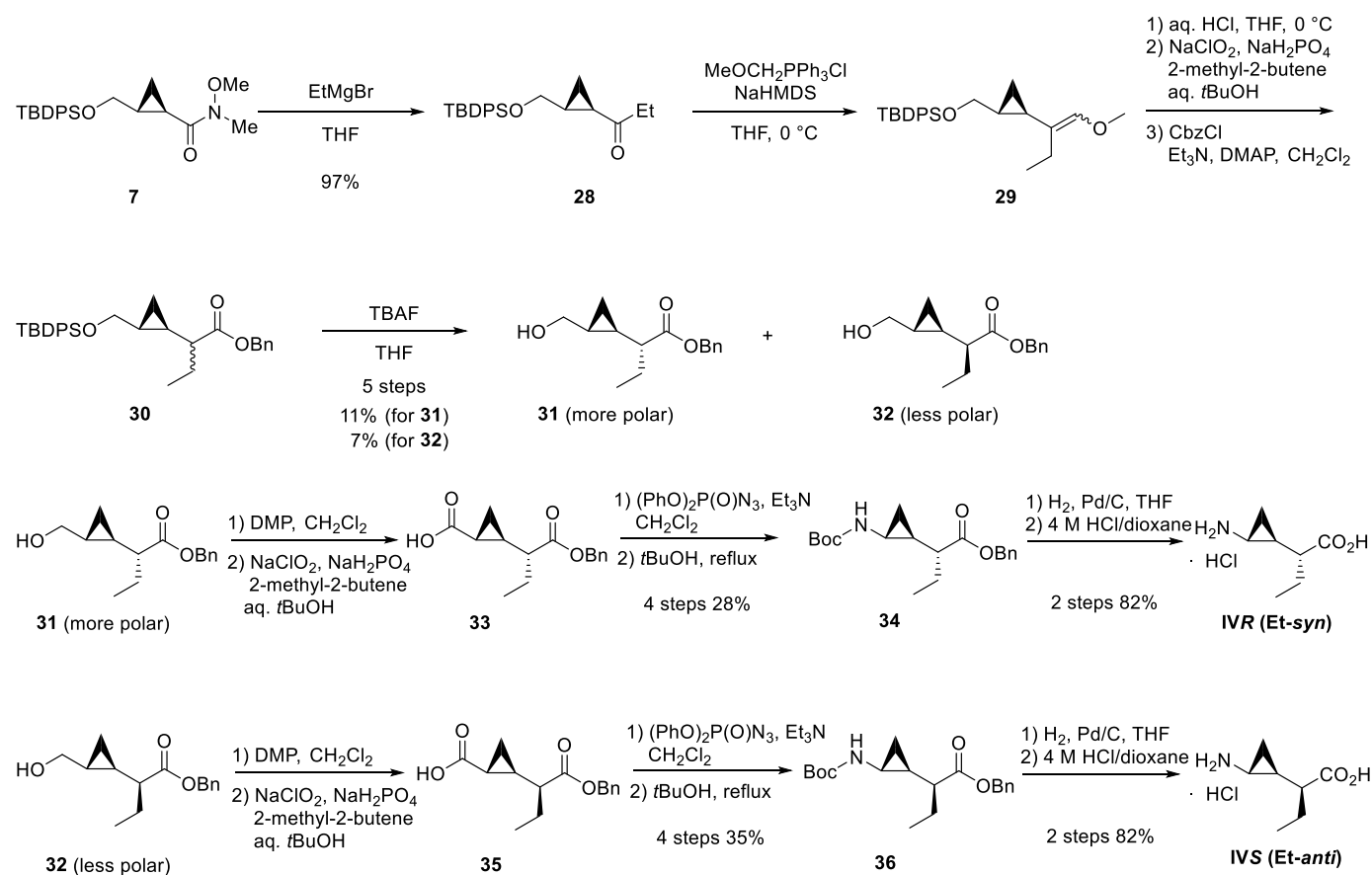


Figure 1-10. 標的化合物 **IIIS (Me-anti)** および **IIIR (Me-syn)** の NOE 実験 (CD_3OD , 500 MHz)

4. シクロプロパン歪みに基づく GABA 配座制限誘導体 **IVS (Et-anti)**, **IVR (Et-syn)** の合成

トランス形の Weinreb アミド **7** に対し Grignard 反応によりエチル基を導入し、得られたケトン体 **28** に対して、 $\text{MeOCH}_2\text{PPh}_3\text{Cl}$ を用いた Wittig 反応により 1 炭素増炭したエノールエーテル **29** とした。エーテル **29** の酸加水分解、Pinnick 酸化により得られたカルボン酸と CbzCl を用いてベンジルエステル **30** とし、TBDPS 基を除去した後にジアステレオマー **31**, **32** を分離精製した。得られた各ジアステレオマーから、メチル体と同様の合成経路、すなわちアルコールを二段階の酸化に付してカルボン酸 **33**, **35** へと導き、DPPA を用いて酸アジドへと変換した。さらに Crutius 転位による 1 炭素の減炭を経てそれぞれ化合物 **34**, **36** とし、最後にベンジル基および Boc 基を除去して標的化合物 **IVR (Et-syn)**, **IVS (Et-anti)** を合成した (Scheme 1-6)。

Schem 1-6.



導入したエチル基の隣接炭素の絶対立体配置は、先と同様に PGME 法で決定した (Scheme 1-7, Figure 1-11)。

Scheme 1-7.

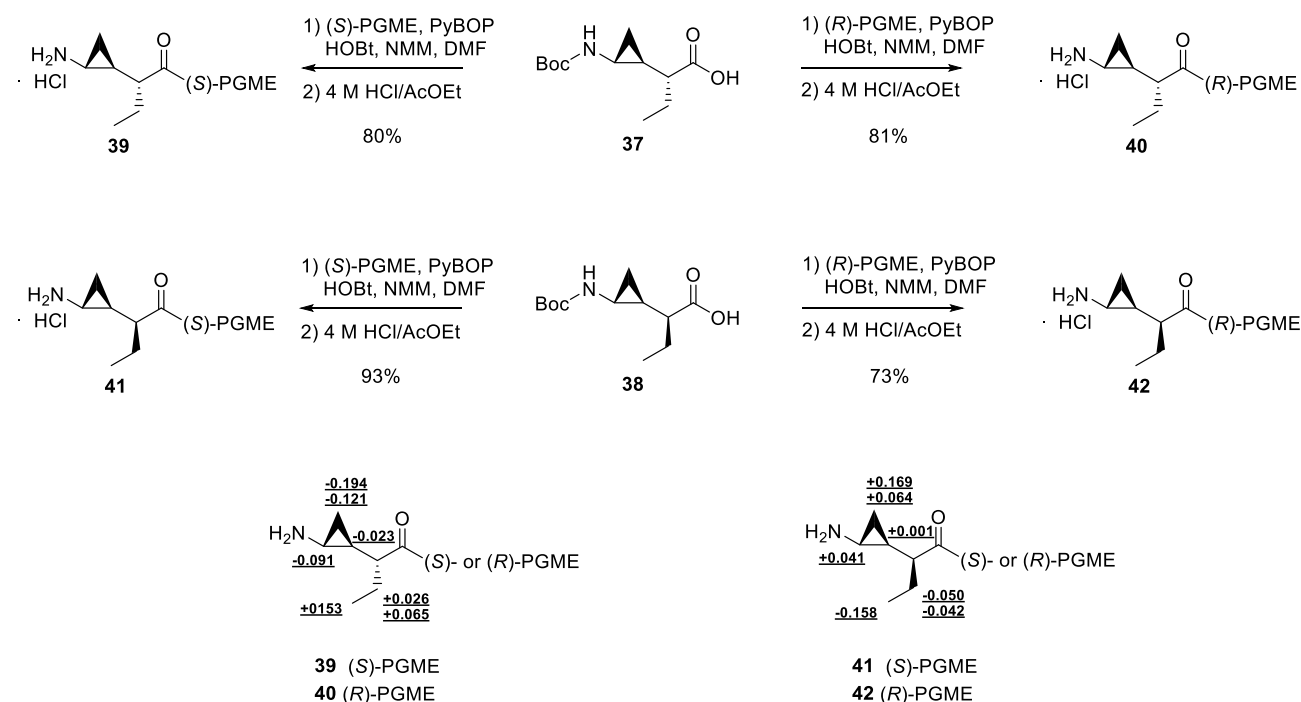


Figure 1-11. PGME 法による絶対立体配置の決定 $\Delta\delta = \delta_S - \delta_R$ (ppm; CD₃OD, 400 MHz)

重メタノール中での NOE 測定の結果、**IVS (Et-anti)** および **IVR (Et-syn)** もまた、**IIIS (Me-anti)**, **IIIR (Me-syn)** と同様に望み通りの配座を取っていることが示唆された (Figure 1-12)。

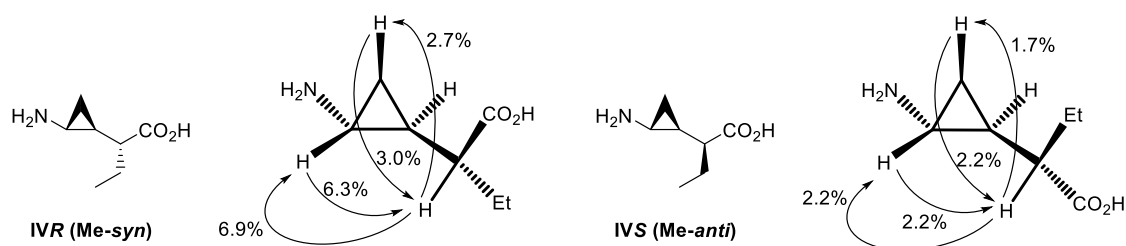
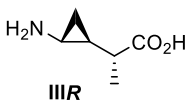
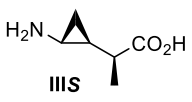
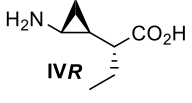
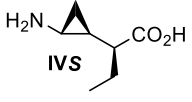


Figure 1-12. 標的化合物 **IVS (Me-anti)** および **IVR (Me-syn)** の NOE 実験 (CD₃OD, 500 MHz)

5. シクロプロパン歪み誘導体 **IIIS**, **IIIR**, **IVS**, **IVR** の³H]GABA 取り込み阻害活性*

合成したシクロプロパン歪み誘導体 **IIIS** (**Me-anti**), **IIIR** (**Me-syn**), **IVS** (**Et-anti**), **IVR** (**Et-syn**) について、各 GAT サブタイプに対する阻害活性を評価した結果を Table 1-1 に示す。ヒト GAT を発現させた CHO 細胞を用い、化合物非存在下において、各トランスポーターにより取り込まれる³H]GABA の量を 100% とし、各化合物 100 μM 存在下での³H]GABA の取り込み量を測定した。エチル基を導入した化合物 **IVR** (**Et-syn**) および **IVS** (**Et-anti**) では、いずれの GAT サブタイプに対しても阻害活性は見られなかった。一方でメチル基を導入した化合物では、*syn* 体の **IIIR** (**Me-syn**) (GAT-3 : BGT-1 = 1 : 6.8) が *anti* 体の **IIIS** (**Me-anti**) (GAT-3 : BGT-1 = 1 : 2.2) と比べ BGT-1 に対し選択的な阻害活性を示した。この結果からリード化合物である **IIa** は、*syn* 配座が BGT-1 に対する活性配座である可能性が示唆された。しかし、いずれの化合物においてもリード化合物よりも阻害活性が低下した。

Table 1-1. シクロプロパン歪み誘導体 **IIIS**, **IIIR**, **IVS**, **IVR** の³H]GABA 取り込み阻害活性

Compound	<i>syn/anti</i>	Inhibitory effects at 100 μM (%) ^a				GAT-3 : BGT-1 (Ratio)
		GAT-1	GAT-2	GAT-3	BGT-1	
	<i>syn</i>	4.27 ± 5.39	-5.15 ± 2.33	9.28 ± 12.7	62.7 ± 6.32	1 : 6.8
	<i>anti</i>	0.03 ± 0.89	-11.1 ± 0.78	25.6 ± 12.1	57.3 ± 11.7	1 : 2.2
	<i>syn</i>	8.57 ± 13.3	3.29 ± 4.23	-2.44 ± 4.73	13.4 ± 6.40	
	<i>anti</i>	12.2 ± 9.30	-2.40 ± 8.20	-14.6 ± 4.05	-1.33 ± 7.82	

^aData are expressed as means ± 1 SEM (n = 3)

* 本章および第二章の各生物活性評価は北海道大学大学院薬学研究院薬理学研究室の南雅文教授に行って頂いた。実験操作は参考文献^[32]を参照。

第三節 *syn* 配座シクロプロパン歪み誘導体の設計と合成

1. *syn* 配座シクロプロパン歪み誘導体の設計

各 GAT に対する [^3H]GABA 取り込み阻害活性において、同じ *syn* 配座を取るにもかかわらず、メチル基を有する **IIIR (Me-*syn*)** と比較してエチル基を有する **IVR (Et-*syn*)** の選択性・親和性が消失した。これは Figure 1-13 に示すような、カルボン酸 α 位に導入した置換基と標的タンパク質との結合部位における立体障害が原因であると推察した。

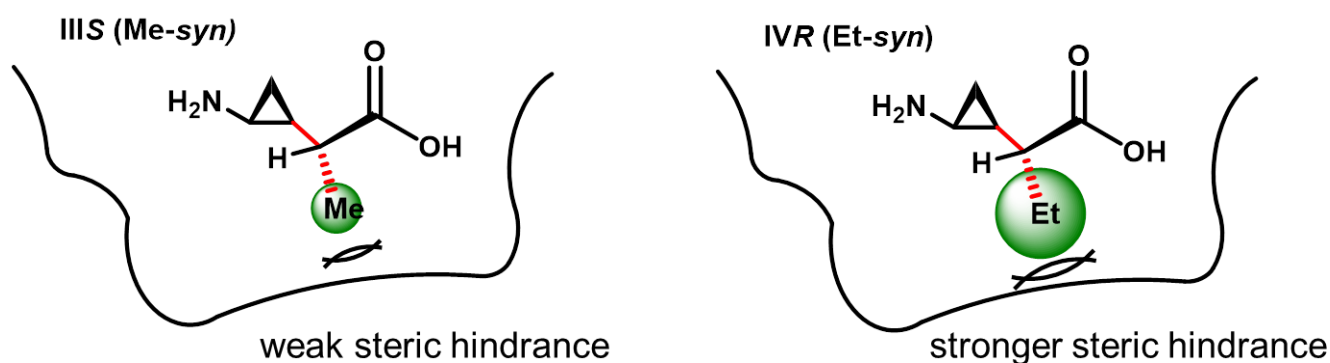


Figure 1-13. GAT-3 の GABA 結合部位へのメチル体 **IIIR (Me-*syn*)** とエチル体 **IVR (Et-*syn*)** の推定収容様式

そこで **IIa** のカルボン酸 α 位にエチル基以下の嵩高さを持つ様々な官能基を導入し、シクロプロパン歪みによって配座を *syn* 配座へと制御した 4 つの誘導体群 **V-1-4** を設計した (Figure 1-14)。これにより **BGT-1** に対する **IIa** の活性配座が *syn* 配座であることを根拠づけるとともに、より選択性・親和性向上に効果的な官能基を同定することを試みた。

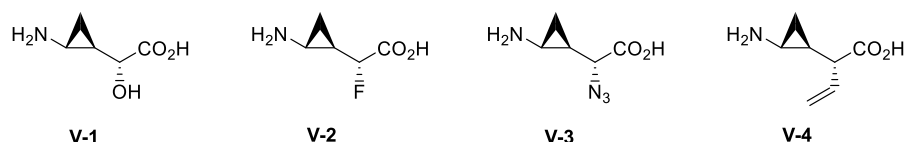


Figure 1-14. 設計した新規 *syn* 配座シクロプロパン歪み誘導体

各誘導体について MacroModel 10.9 を用いて計算化学的に配座を解析したところ、**V-2** 以外の 3 つの誘導体については望みとする *syn* 配座を最安定配座とする結果が得られた。しかし、カルボン酸 α 位にフッ素が導入された **V-2** については、最安定配座である *syn* 配座から 1.0 kcal/mol 以内に *anti* 配座が局所安定配座として存在することが判明した (Figure 1-15)。これは、フッ素が他の置換基に比較して立体的に小さく、かつ炭素—フッ素結合が短いために *cis* 位の水素との立体反発が十分ではなく、シクロプロパン歪みが十分に働かないためと推定される。

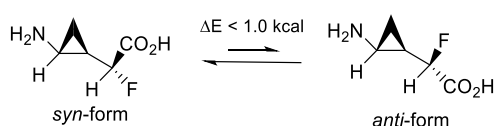
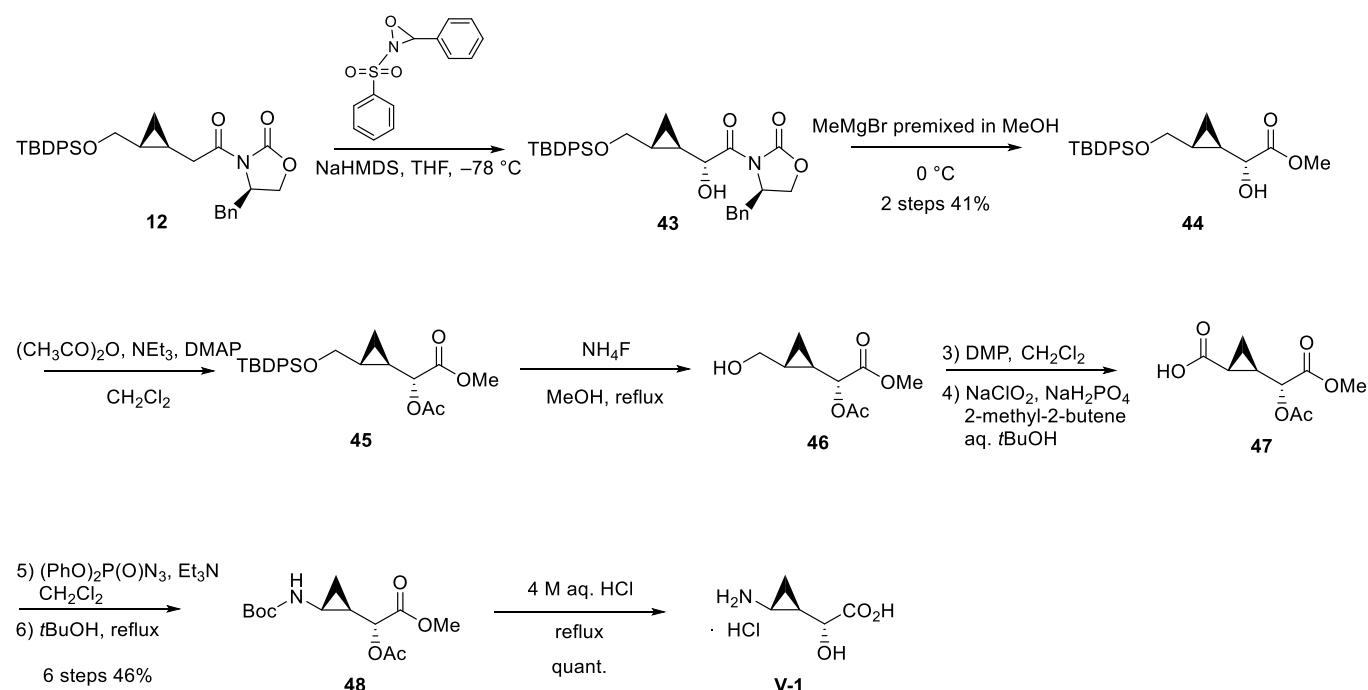


Figure 1-15. 標的化合物 **V-2** の配座解析 (MacroModel 10.9, solvent: H_2O , force field: MMFFs)

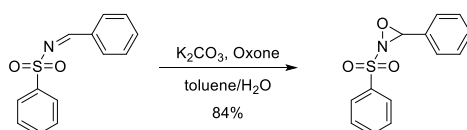
2. *syn* 配座シクロプロパン歪み誘導体の合成

標的化合物 **V-1** の合成を Scheme 1-8 に示す。光学活性トランスシクロプロパンカルボン酸に(4*R*)-4-ベンジル-2-オキサゾリジノン縮合した化合物 **12** を基質とし、THF 中 $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ において NaHMDS および Davis の水酸化試薬である *N*-フェニルスルフォニルオキサジリジン^{*[33]} を用いてジアステレオ選択的にカルボン酸 α 位に水酸基を導入し化合物 **43** を得た[†]。続いて $0\text{ }^{\circ}\text{C}$ において系中でマグネシウムメトキシドを調整し、**43** と反応させることでメチルエステル **44** とした。エステル **44** のカルボン酸 α 位の水酸基をアセチル基で保護し、TBDPS 基を除去して化合物 **46** を得た。化合物 **46** を Dess-Martin 酸化および Pinnick 酸化により段階的に酸化した後、DPPA で処理して酸アジドへと変換した。さらに Crutius 転位による 1 炭素の減炭を経て化合物 **48** とし、塩酸水溶液中加熱還流することで全ての保護基を除去して **V-1** を合成した。

Scheme 1-8



* *N*-フェニルスルフォニルオキサジリジンは市販の *N*-ベンジリデンベンゼンスルホンアミドより調整した^[33]。

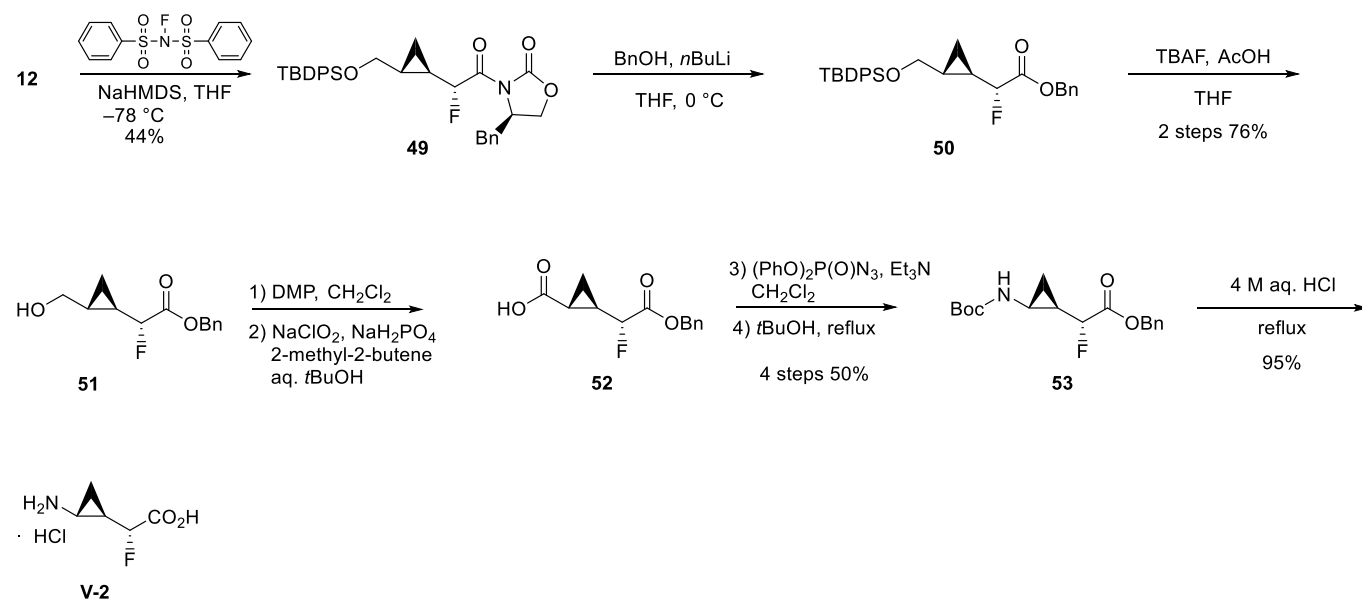


[†] 導入した水酸基の絶対立体配置は改良 Mosher 法^[34]により決定した (実験の部参照)。

[‡] 本反応において、*N*-フェニルスルフォニルオキサジリジン由来の副生成物を除けなかったため、エステル **44** で単離精製した。

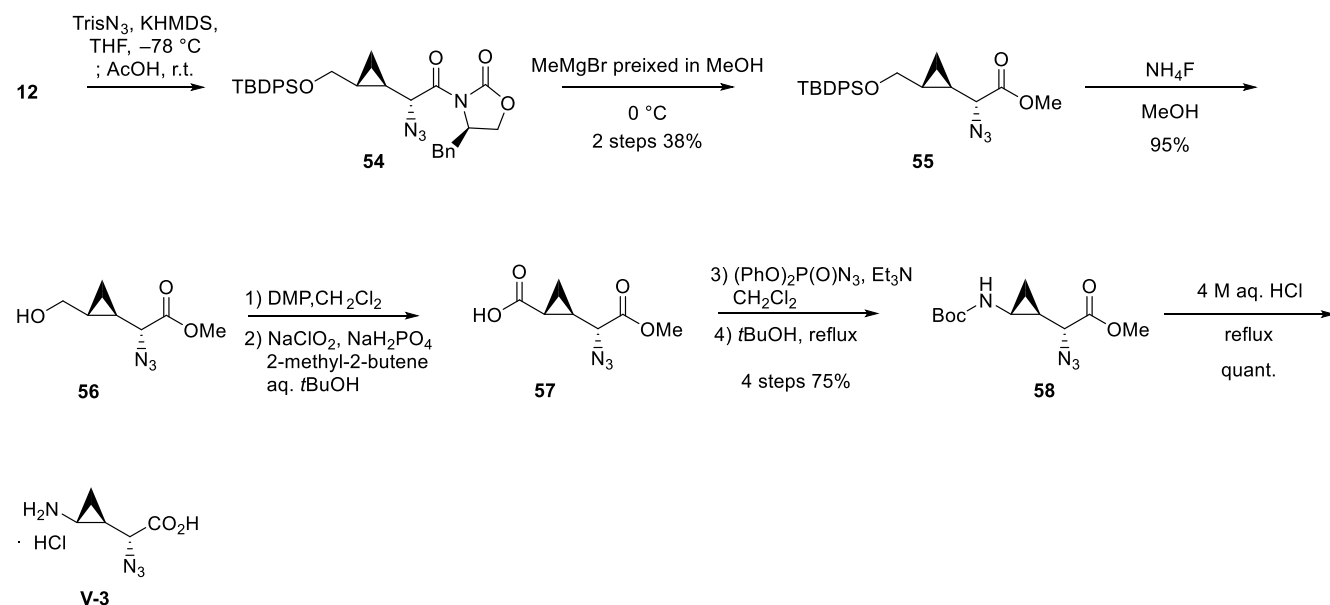
標的化合物 **V-2** の合成を Scheme 1-9 に示す。化合物 **12** を基質とし、THF 中 $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ において NaHMDS および求電子的フッ素化試薬である NFSI を用いてジアステレオ選択的にカルボン酸 α 位にフッ素基を導入した^[35]。続いて $0\text{ }^{\circ}\text{C}$ において系中でリチウムベンジルオキシドを調整し、**49** と反応させることでベンジルエステルとした。以降は **V-1** と同様の合成経路により、標的化合物 **V-2** を合成した。

Scheme 1-9



標的化合物 **V-3** の合成を Scheme 1-10 に示す。化合物 **12** を基質とし、THF 中 $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ において KHMDS およびトリスアジドを用いてジアステレオ選択的にカルボン酸 α 位にアジド基を導入した^{*[36]}。このジアステレオ選択的アジド化反応において原料である **12** と生成物 **54** との分離が困難であったため、メチルエステル化した化合物 **55** の段階で単離精製した。以降は **V-1**, **V-2** と同様に標的化合物 **V-3** を合成した。

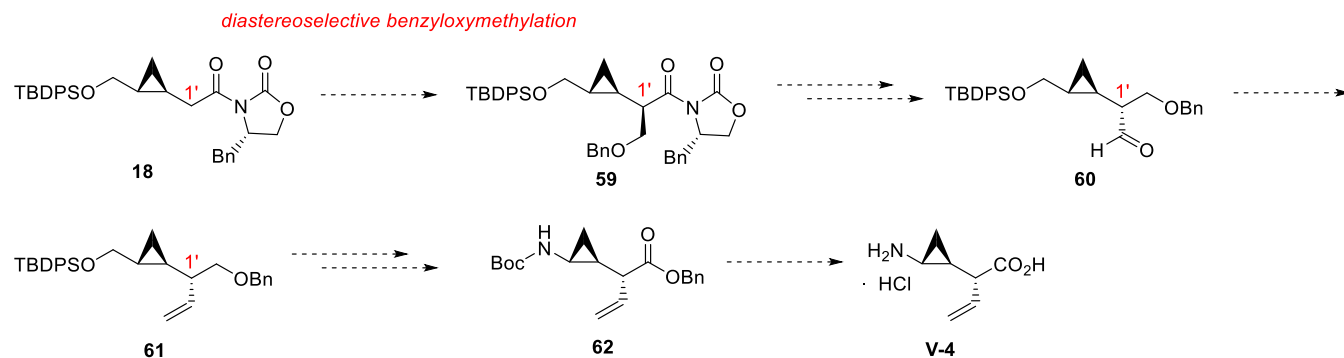
Scheme 1-10



* 導入したアジド基の絶対立体配置は改良 Mosher 法により決定した (実験の部参照)。

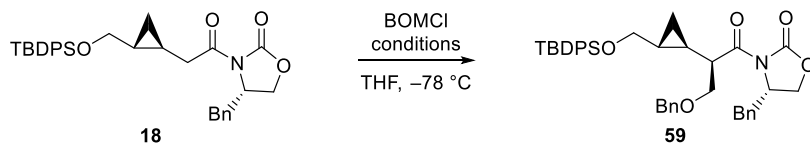
標的化合物 **V-4** の合成計画を Scheme 1-11 に示す。1'位の末端オレフィンシクロプロパンアルデヒド **60** に対し MePPh_3Br を用いた Wittig 反応により合成する。シクロプロパンアルデヒド **60** は化合物 **59** から合成することとし、この化合物 **59** の 1'位の不斉炭素は、不斉補助基として(4*S*)-4-ベンジル-2-オキサゾリジノンをもつ化合物 **18** に対する、ジアステレオ選択的ベンジルオキシメチル化により構築することとした。

Scheme 1-11 標的化合物 **V-4** の合成計画



不斉補助基として(4*S*)-4-ベンジル-2-オキサゾリジノンを有するシクロプロパンユニット **18** を基質として、ジアステレオ選択的ベンジルオキシメチル化した^[37]。この反応において、塩基として NaHMDS を用いた場合は反応が進行せず原料回収となったが、塩基を LHMDS へと変更しヨウ化リチウムを添加することで、高収率で目的の化合物 **59** を得た (Scheme 1-12)。

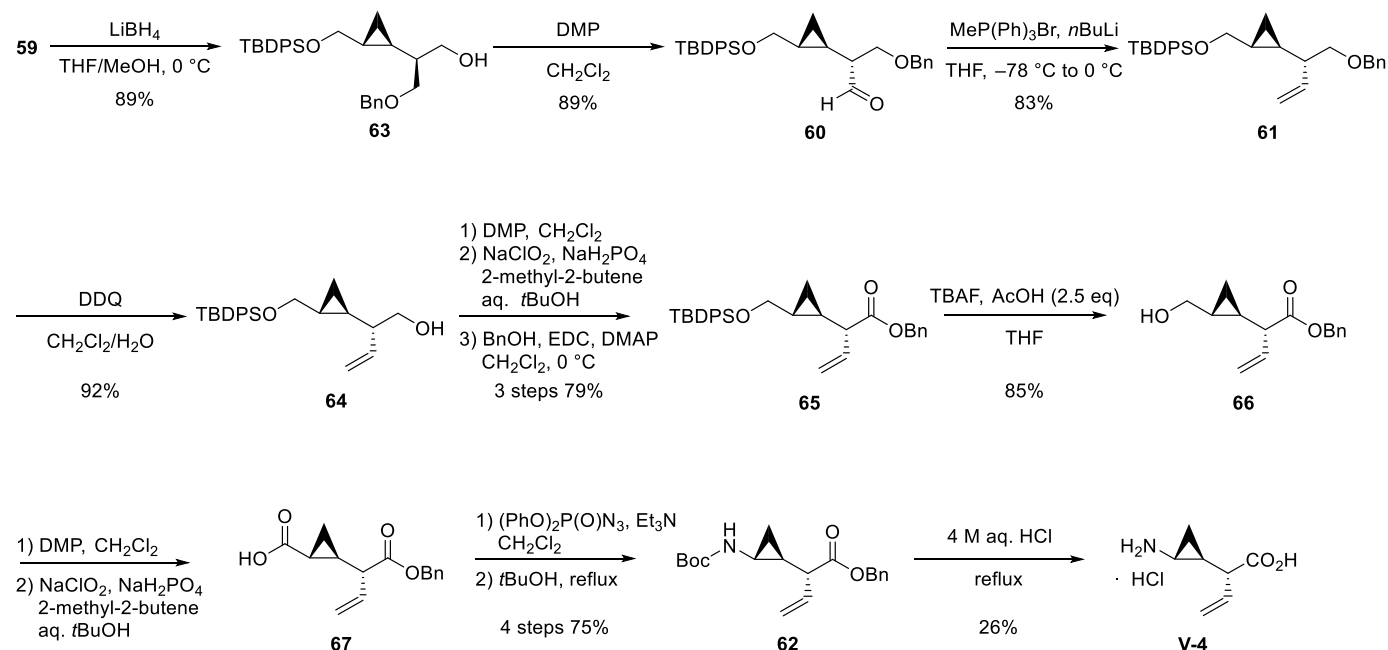
Scheme 1-12



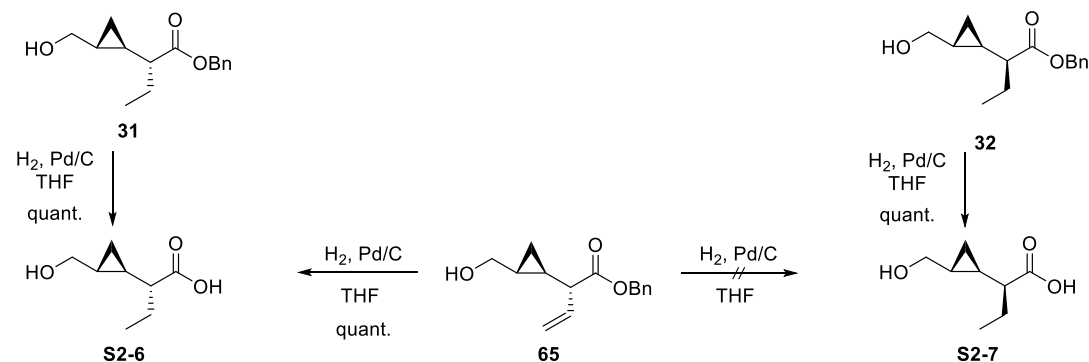
entry	conditions	yield (%)
1	NaHMDS	no reaction (SM recovery)
2	NaHMDS, NaI	34 %
3	LHMDS, LiI	91%

化合物 **59** を LiBH_4 で処理してオキサゾリジノン部を還元的に除去し、得られたアルコール **63** を Dess-Martin 酸化に付してシクロプロパンアルデヒド **60** とした。アルデヒド **60** に対し $\text{MeP(Ph)}_3\text{Br}$ を用いた Wittig 反応により 1'位に末端オレフィンを構築した。オレフィン **61** のベンジル基を DDQ を用いて除去し、生じたアルコールを Dess-Martin 酸化および Pinnick 酸化により段階的に酸化した後、ベンジルアルコールと縮合してエステル **65** とした。以降はこれまでと同様の合成経路で標的化合物 **V-4** を合成した*。

Scheme 1-13



* カルボン酸 α 位のエチル基隣接炭素の絶対立体配置の決定について述べる。化合物 **65** のエチル基を接触水素還元した化合物と、エチル体 **IVS (Et-anti)**, **IVR (Et-syn)** の合成中間体である化合物 **31**, **32** から導いた **S2-6**, **S2-7** との $^1\text{H NMR}$ スペクトルを比較した。その結果、化合物 **S2-6** と化合物 **65** の $^1\text{H NMR}$ スペクトルが一致し、望みとする立体であることを確認した。



標的化合物 **V-1-4** の重メタノール中における最安定配座を NOE 実験により調べた (Figure 1-16)。標的化合物 **V-1**, **V-3** および **V-4** の 3 つの化合物は、これまでと同様に望み通りの配座を取っていることが示唆された。化合物 **V-2** においても、カルボン酸 α 位水素の H-1' はシクロプロパン炭素上の H-3b 及び、H-2 と関連した。しかし、**III S (Me-anti)**, **III R (Me-syn)**, **IV S (Et-anti)**, **IV R (Et-syn)** には見られなかった、H-1' と H-1 との相関が確認された。この実験結果は、計算化学的解析結果から予想されたように、**V-2** ではシクロプロパン歪みによる配座制御が十分ではなく、シクロプロパン隣接位の水素がシクロプロパン環側へと配向していない可能性が示唆された。

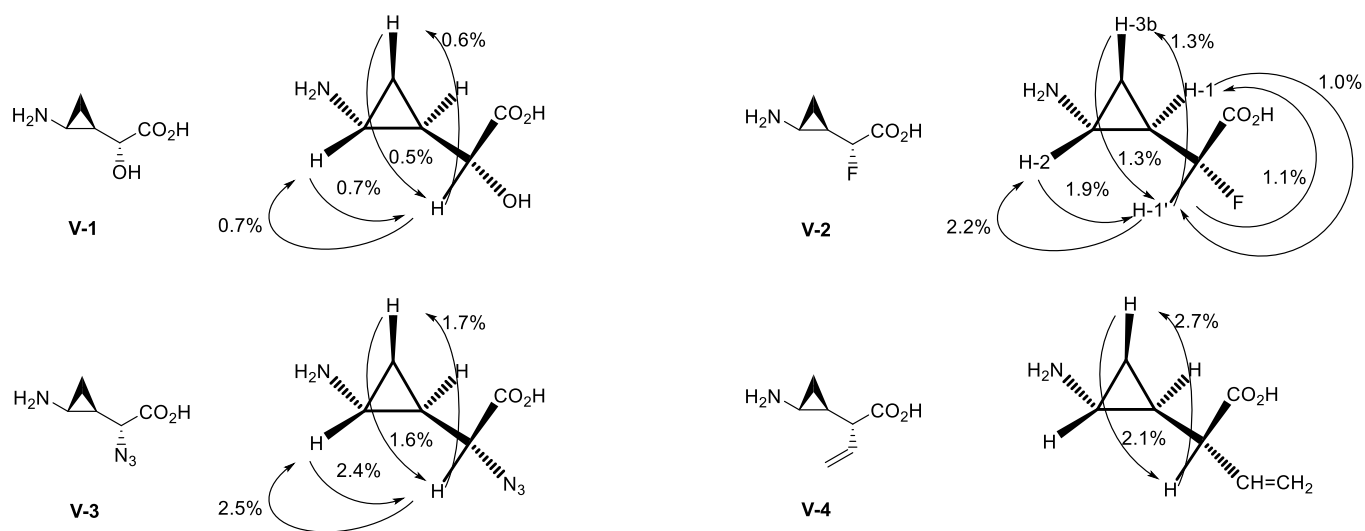


Figure 1-16. 標的化合物 **V-1-4** の NOE 実験 (CD_3OD , 400 MHz)

化合物 **V-2** のカルボン酸 α 位炭素の立体について考察する。Figure 1-17 に各誘導体の $^1\text{H NMR}$ スペクトルの比較を示す。シクロプロパンの頂点の2つのプロトンは0.7 ppm ~ 1.2 ppm の高磁場領域に存在する。ここで *anti* 配座の **IIIS**, **IVS** と比較して、*syn* 配座の **IIIR**, **IVR** では、この2つのプロトンのケミカルシフトの差が小さくなっていることが確認できる。この傾向は、カルボン酸 α 位炭素の立体化学および *syn* 配座であることが確認されている **V-1**, **V-3**, **V-4** の $^1\text{H NMR}$ においても見られる。**V-2** においても同様のケミカルシフトを示していることから、**V-2** のカルボン酸 α 位炭素は望みとする立体配置であると推察される。

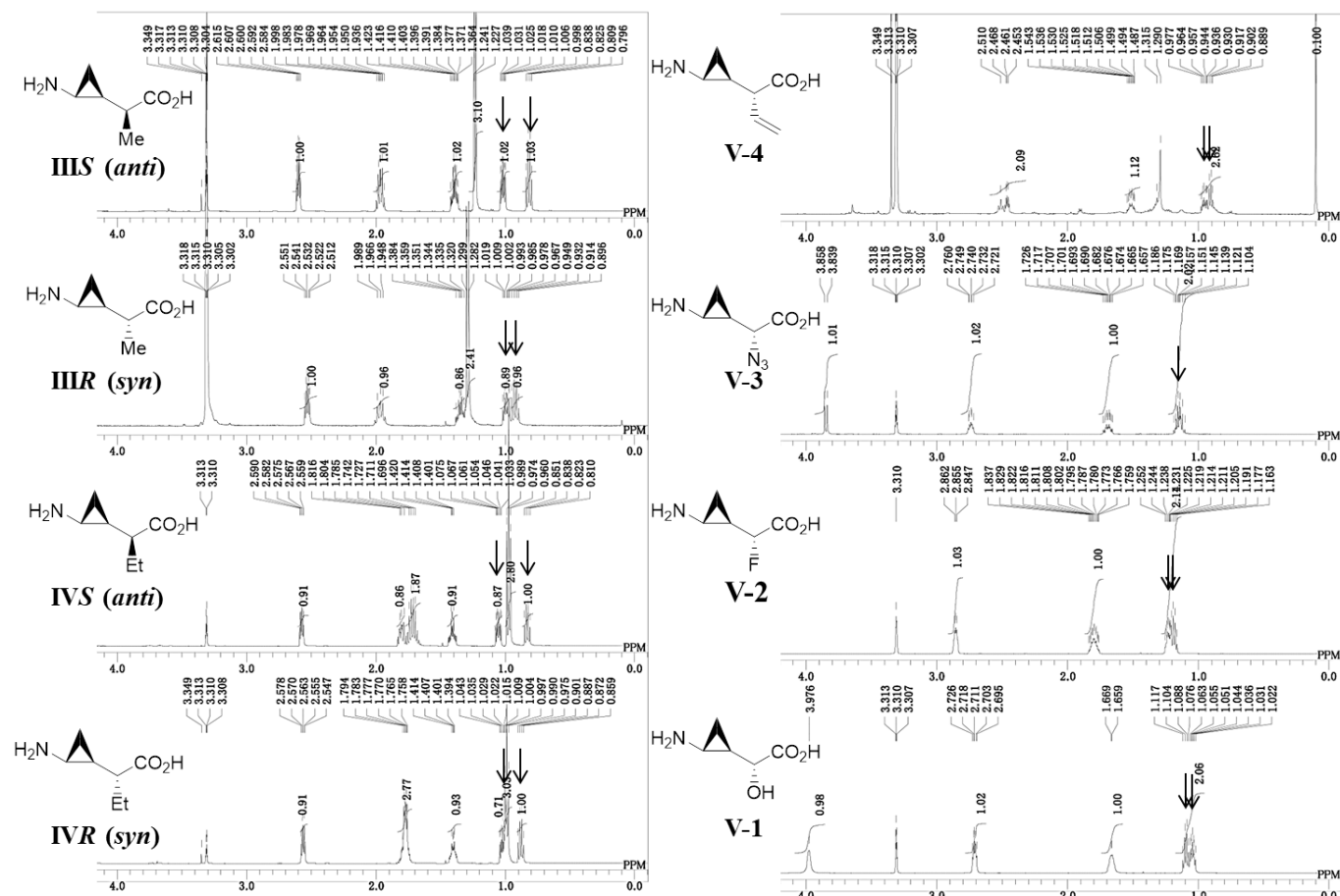
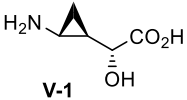
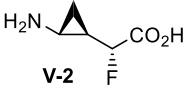
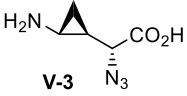
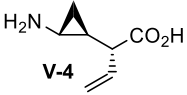


Figure 1-17. 各シクロプロパン歪み誘導体の $^1\text{H NMR}$ スペクトルの比較

3. *syn* 配座シクロプロパン歪み誘導体 **V-1-4** の GABA 取り込み阻害活性

合成した *syn* 配座シクロプロパン歪み誘導体 **V-1-4** について、GAT-2, GAT-3 及び BGT-1 の 3 つのサブタイプに対する [³H]GABA 取り込み阻害活性評価の結果を Table 1-2 に示す。アジド基を有する **V-3** に関しては、比較的 BGT-1 選択的な阻害活性を示した。フッ素体 **V-2** について、3 つのサブタイプの中で GAT-2 に最も強い阻害活性を示しており、BGT-1 に対する選択性・阻害活性が低下していた。これは計算化学的解析および NOE 実験の結果から予想されたように、シクロプロパン歪みによる配座制御が十分ではないことが示唆された。結論として、いずれの化合物においても望みとする選択性・親和性の向上は認められなかった。メチル基よりも嵩高いアジド基、エテニル基を導入した **V-3, V-4** だけでなく、メチル基よりも嵩高さの小さい水酸基を導入した **V-1** もリード化合物 **IIa** より阻害活性が低下しているため、タンパク質のリガンド結合部位において **IIa** のカルボン酸 α 位炭素近傍に置換基を導入可能なスペースがほとんどないことが推察される。

Table 1-2. *syn* 配座シクロプロパン歪み誘導体 **V-1-4** の GABA 取り込み阻害活性

Compound	<i>syn/anti</i>	Inhibitory effects at 100 μ M (%) ^a				GAT-3 : BGT-1 (Ratio)
		GAT-1	GAT-2	GAT-3	BGT-1	
 V-1	<i>syn</i>	N.D.	20.1 \pm 12.8	8.27 \pm 19.9	44.7 \pm 11.1	1 : 5.4
 V-2	<i>syn</i>	N.D.	45.3 \pm 21.1	5.23 \pm 24.3	22.2 \pm 33.7	1 : 4.2
 V-3	<i>syn</i>	N.D.	6.84 \pm 43.6	11.8 \pm 8.89	57.2 \pm 33.5	1 : 4.8
 V-4	<i>syn</i>	N.D.	-9.49 \pm 36.4	-3.61 \pm 25.1	-32.5 \pm 30.1	

^aData are expressed as means \pm 1 SEM (n = 2)

第二章 二環性骨格による配座制御

第一節 ビシクロ[3.1.0]ヘキサン骨格を利用した GABA 配座制限誘導体の設計

第一章で示したように、シクロプロパン歪みを利用した配座制御法は活性配座探索に有用な方法論である。しかし、配座制御のためシクロプロパン隣接位に導入した置換基が、標的タンパク質の結合部位と立体反発を生じ、生物活性が低下するという問題点がある。実際に、シクロプロパン歪みを利用した GABA 誘導体である **IIIR (Me-syn)** と **IVR (Et-syn)** において、**IIIR (Me-syn)** では BGT-1 に対し選択的な阻害活性を示したものの、**IVR (Et-syn)** は BGT-1 を含む何れのサブタイプにも阻害活性を示さなかった。上述したように、両化合物が同じ配座を取るにもかかわらず生物活性に差が生じたのは、カルボン酸 α 位に導入した置換基である、メチル基とエチル基の嵩高さの違いによる標的タンパク質との立体反発の影響であると推察される。

このシクロプロパン歪みの問題点の例として、前章でも触れた当研究室の小野らによる、ミルナシプラシ誘導体である PPDC が挙げられる (Figure 2-2)。抗うつ薬ミルナシプラシに対し、セロトニン (5-HT) トランスポーターに対する NMDA 受容体への選択性の向上を目的として、シクロプロパン歪みを利用し配座を制御した。この構造活性相関研究の中で、シクロプロパン隣接位の置換基をメチル基、エチニル基、エチル基と嵩高くすると、全ての化合物が同じ配座を取るにもかかわらず、導入した置換基の嵩高さが増大するのに応じて 5-HT トランスポーターへの阻害活性が減弱した。トランスポーター阻害活性の低下は、シクロプロパン隣接位置換基の嵩高さに比例していることから、立体障害の影響によるものと推察される。この場合には、エチル体において、目的の NMDA 受容体親和性が維持され、副作用である 5-HT トランスポーターへの阻害活性が減弱したために、エチル基の嵩高さが目的の選択性の向上に寄与した。

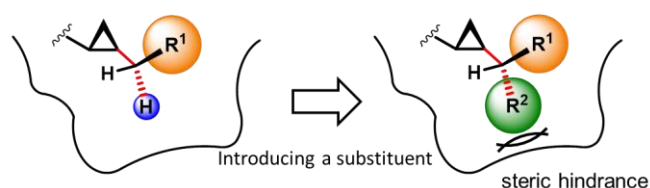


Figure 2-1. シクロプロパン歪みを利用した配座制御法の問題点

Compound	R	H	Me	ethynyl	Et
NMDA receptor binding (IC_{50} , μM) ^a		6.3 ± 0.3	0.35 ± 0.08	0.29 ± 0.2	0.20 ± 0.02
5-HT uptake (K_i , μM) ^b		0.0085 ± 0.0006	0.014 ± 0.002	0.19 ± 0.2	24 ± 0.9

^a Assay was done with cerebral cortical synaptic membrane of rats using [³H]MK-801.

^b Assay was done with cerebral cortical synaptic membrane of rats using [³H]paroxetine.

Figure 2-2. シクロプロパン隣接位の置換基の嵩高さと生物活性の関係

シクロプロパン歪みの問題点である導入した置換基による立体反発を回避しつつ、シクロプロパン歪みと同様に配座を制御することができれば、活性低下を起こさずシクロプロパン隣接置換基を三次元的空間に配置できると考え、二環性骨格で制御することを考案した。すなわち、三員環と五員環の縮環したビスクロ[3.1.0]ヘキサン骨格もつ化合物 **VIR (bicyclo-anti)**, **VIS (bicyclo-syn)** を設計した (Figure 2-3)。

Figure 2-4 にシクロプロパン歪みに基づく GABA 配座制限誘導体 **IIIR (Me-syn)**, **IIIS (Me-anti)** と二環性骨格に基づく GABA 配座制限誘導体 **VIR (bicyclo-anti)**, **VIS (bicyclo-syn)** の、MacroModel 10.9 を用いて計算した最安定配座の重ね合わせを示す。活性に重要と考えられるアミンとカルボン酸の、二つの配座制御法による空間的配置を比較するため、重ね合わせはシクロプロパンで行った。*syn* 配座と *anti* 配座いずれの配座においても、シクロプロパン歪みによる誘導体と二環性骨格による誘導体のアミンとカルボン酸の三次元配置が良く重なることが確認された。これは二環性骨格による配座制御が、シクロプロパン歪みによる配座制御と同様に、側鎖の配向を制御可能であることを示唆している。また、*syn* 配座に関しては、縮環ではない単環性のモデル化合物(1*S*,3*S*)-3-アミノシクロペンタン-1-カルボン酸の最安定配座を比較した。同様に MacroModel 10.9 を用いて計算した最安定配座の重ね合わせを Figure 2-5 に示す。重ね合わせはアミンとカルボン酸およびその根元の炭素で行った。両化合物の最安定配座におけるアミンとカルボン酸の三次元配置は非常に類似しているものの、その配座の安定性は大きく異なる。**VIS (bicyclo-syn)** は唯一つの配座を最安定配座としてとり、強固にアミンとカルボン酸の配向を制御する。一方、(1*S*,3*S*)-3-アミノシクロペンタン-1-カルボン酸は、骨格の自由度が高いことに起因して最安定配座から 4.0 kcal/mol 以内に 3 つの局所安定配座が存在する計算結果が得られた (Figure 2-6)。

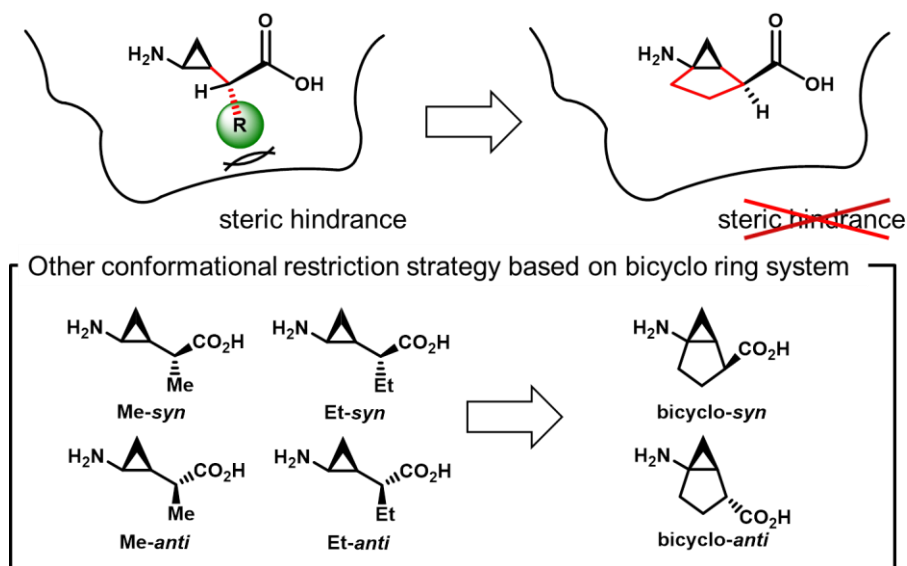


Figure 2-3. 二環性骨格による配座制御と設計した GABA 配座制限誘導体

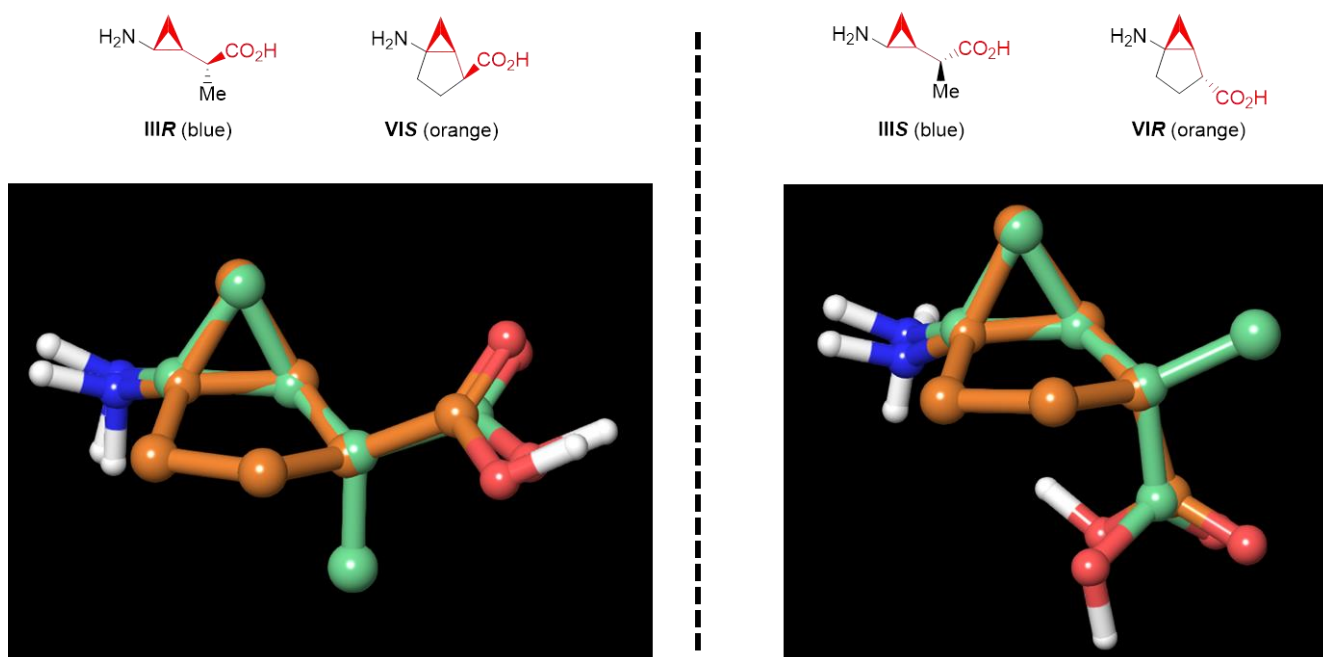


Figure 2-4. シクロプロパン歪みによる配座制限誘導体と二環性骨格による配座誘導体の最安定配座の重ね合わせ
(MacroModel 10.9, solvent: H₂O, force field: MMFFs)

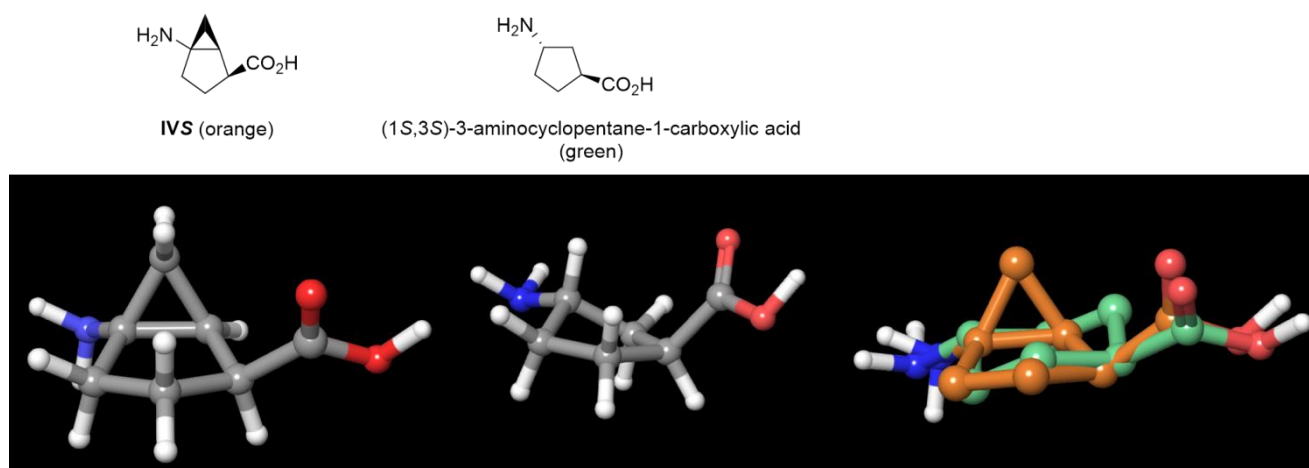


Figure 2-5. 二環性骨格による配座誘導体と単環性化合物の最安定配座の重ね合わせ
(MacroModel 10.9, solvent: H₂O, force field: MMFFs)

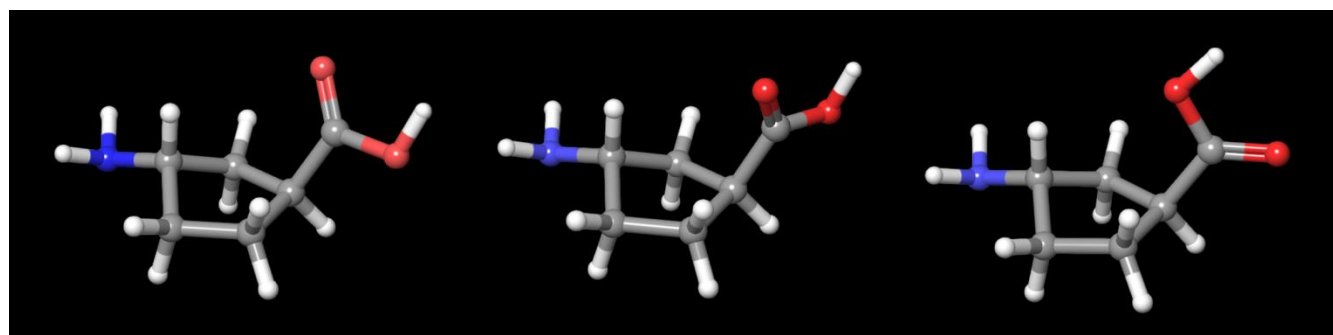


Figure 2-6. 単環性化合物の配座解析 (MacroModel 10.9, solvent: H₂O, force field: MMFFs)

著者の研究と並行して、当研究室では、シクロプロパン歪みに代わる配座制御法としての二環性骨格、ビスクロ[3.1.0]ヘキサン骨格による配座制御法を、ヒスタミン誘導体に対しても試みている。

当研究室の渡邊は、H₃およびH₄受容体におけるアミノアルキル側鎖の活性配座を探索した。Figure 2-6に示すようにシクロプロパンの立体化学に応じて活性配座が異なる結果となった。down-trans 骨格の ent-2 おいて、syn 配座の ent-3a より、anti 配座の ent-3b の活性が優れていた。これにより down-trans 骨格では anti 配座が活性配座と推察されたが、リード化合物の ent-2 よりもわずかに活性の低下が見られた。当研究室の小林は、この結果は、シクロプロパン歪みを利用して配座を制御するために導入したアルキル基の立体障害が原因であると考え、ビスクロ[3.1.0]ヘキサン骨格で配座を制御したヒスタミン配座制限誘導体を設計した^[38]。薬理活性評価の結果、anti 配座に比べ syn 配座の ent-3b' が高い H₃ 受容体親和性を示した。これは、anti 配座が活性配座と推察されたシクロプロパン歪みによる化合物群 (ent-3a, ent-3b) の結果と異なる。ただ、ent-3b' は H₃ 受容体と H₄ 受容体との活性の比が 108 倍という、高い H₃ 受容体選択性を示した。シクロプロパン歪みにより制御した化合物群には受容体選択性が発現しなかったため、この高い受容体選択性は、ビスクロ[3.1.0]ヘキサン骨格による配座制御法が有効に機能した結果と示唆される。

Compound	Configuration	H ₃ receptor (K _i , nM) ^a	H ₄ receptor (K _i , nM) ^a	H ₄ / H ₃
ent-2	down-trans	19.8	23.8	1.3
ent-3a	down-trans-syn	3.6	37.2	10.3
ent-3b	down-trans-anti	6.7	9.0	1.2
ent-3a'	down-trans-syn	5.6	602	108
ent-3b'	down-trans-anti	31.6	501	15.9

^a Assay was carried out with 293-EBNA cells or cell membranes expressing the human H₃ or H₄ receptor subtype.

R = 4-chlorobenzyl

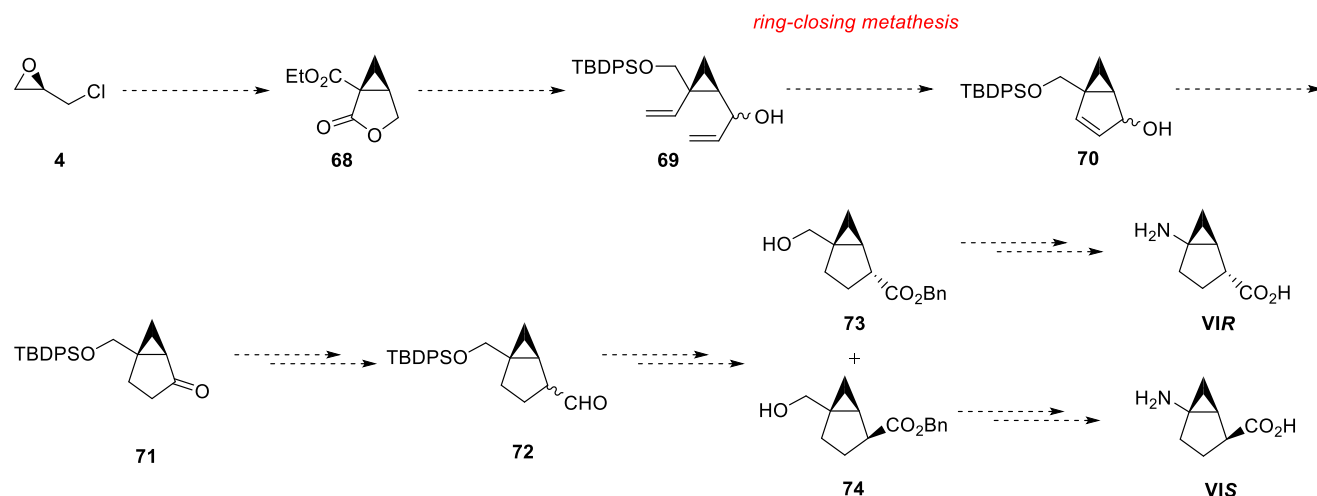
Figure 2-6. 各誘導体の H₃ および H₄ 受容体における結合親和性

第二節 ビシクロ[3.1.0]ヘキサン骨格を利用した GABA 配座制限誘導体の合成

1. 設計した誘導体の合成計画

設計した二環性骨格 GABA 誘導体の合成経路を Scheme 2-1 に示す。各標的化合物はジアステレオ混合物であるアルデヒド **72** から、ジアステレオマーの分離と各種官能基変換により合成する。アルデヒド **72** はビシクロ[3.1.0]ヘキサン骨格を有する鍵中間体 **71** に対する、 $\text{MeOCH}_2\text{PPh}_3\text{Cl}$ を用いた Wittig 反応と続く酸加水分解により導く。鍵中間体 **71** のビシクロ[3.1.0]ヘキサン骨格は、シクロプロパンジエン **69** から閉環メタセシス (RCM, ring-closing metathesis) とオレフィンの異性化により構築する。ジエン **69** は、光学活性エピクロロヒドリンを基質として辻らの報告に従い導いた光学活性シクロプロパンラクトン **68** から合成することとする。

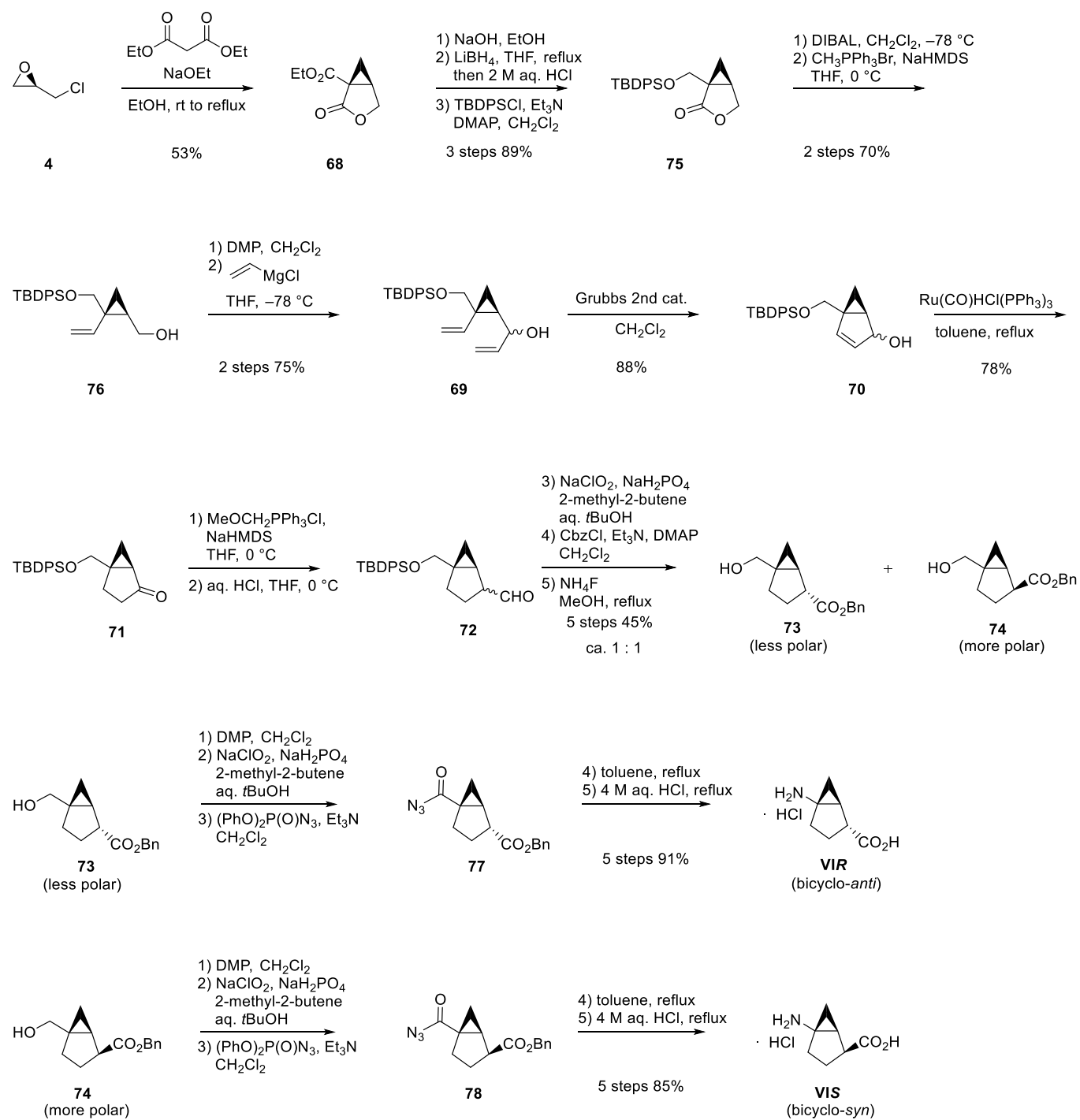
Scheme 2-1



2. 二環性骨格を利用した GABA 配座制限誘導体 **VIR (bicyclo-anti)**, **VIS (bicyclo-syn)** の合成

光学活性な *R* 体のエピクロロヒドリン **4** を出発原料として、辻らの報告^[39]に従いシクロプロパンラクトン **68** を合成した。続いて Park らの方法^[40]を参考にジエン **69** へと導いた後に、第二世代 Grubbs 触媒を用いた閉環メタセシスにより既知化合物であるアリルアルコール **70** を得た。アリルアルコール **70** に対し Ru 触媒を用いた異性化によりビシクロ[3.1.0]ヘキサン骨格を構築し、鍵中間体 **71** を合成した。鍵中間体 **71** から $\text{MeOCH}_2\text{PPh}_3\text{Cl}$ と NaHMDS を用いた Wittig 反応と続く酸加水分解により、ジアステレオ混合物であるアルデヒド **72** とした。アルデヒド **72** をジアステレオ混合物のまま Pinnick 酸化に付し、得られたカルボン酸と CbzCl を用いてベンジルエステルとし、TBDPS 基を除去した後にジアステレオマー **73**, **74** を分離精製した。各ジアステレオマーから、アルコールを Dess-Martin 酸化および Pinnick 酸化により段階的に酸化した後、DPPA で処理して酸アジド **77**, **78** とした。酸アジド **77**, **78** を、トルエン中加熱還流することで Crutius 転位によりイソシアネートへと変換し、酸加水分解することで、アミンへと変換すると同時にベンジル基を除去して標的化合物 **VIR (bicyclo-anti)**, **VIS (bicyclo-syn)** を合成した (Scheme 2-2)。

Scheme 2-2



二つの化合物、**VIR (bicyclo-anti)**, **VIS (bicyclo-syn)** の2位炭素の立体化学は、1位水素原子と2位水素原子の¹H NMRにおける結合定数を求めることで決定した。両化合物の結合定数はそれぞれ、 $J_{1,2} = 4.6 \text{ Hz}$ および $J_{1,2} = 0 \text{ Hz}$ であった。*anti* 体において1位と2位の2つの水素原子の二面角は90度に近い値をとるため、結合定数の値が小さい**VIR (bicyclo-anti)** を *anti* 体、**VIS (bicyclo-syn)** を *syn* 体と決定した (Figure 2-8)。

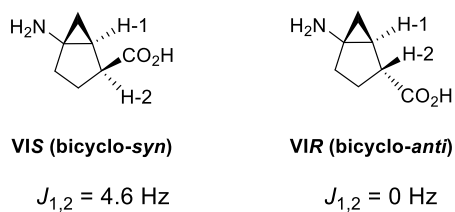


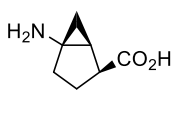
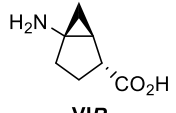
Figure 2-7. **VIR (bicyclo-anti)** および **VIS (bicyclo-syn)** の絶対立体配置の決定 (D₂O, 500MHz)

第三節 二環性骨格を利用した GABA 配座制限誘導体の生物活性

1. 各 GAT における³H]GABA 取り込み阻害実験及び結合阻害実験

二環性骨格を利用した GABA 配座制限誘導体 **VIR (bicyclo-anti)**, **VIS (bicyclo-syn)** の、各 GAT サブタイプに対する³H]GABA 取り込み阻害活性評価の結果を Table 2-1 に示す。*anti* 配座の **VIR (bicyclo-anti)** と比較して、*syn* 配座の **VIS (bicyclo-syn)** が高い阻害能を、特に BGT-1 に対して示した。これは第一章でシクロプロパン歪みを利用した誘導体の生物活性結果から、リード化合物である **IIa** の BGT-1 に対する活性配座が *syn* 配座であるという推察と一致する結果となった。

Table 2-1. 二環性骨格を利用した GABA 配座制限誘導体 **VIR**, **VIS** の GABA 取り込み阻害活性

Compound	<i>syn/anti</i>	Inhibitory effects at 100 μ M (%) ^a			
		GAT-1	GAT-2	GAT-3	BGT-1
 VIS	<i>syn</i>	12.2 \pm 10.9	29.0 \pm 3.87	48.2 \pm 0.91	97.6 \pm 1.14
 VIR	<i>anti</i>	0.03 \pm 0.89	-25.9 \pm 8.97	2.39 \pm 5.29	63.9 \pm 0.48

^aData are expressed as means \pm 1 SEM (n = 3)

活性の高かった **VIS (bicyclo-syn)** に関して、各 GAT サブタイプに対し³H]GABA を用いる競合的結合阻害実験を行い 50% 阻害濃度 (IC₅₀ 値) を測定した。比較対照として、既存の GAT 阻害剤で BGT-1 に選択性の高い NNC 05-2090 を用いた。阻害-濃度曲線を Figure 2-8 に、IC₅₀ 値を、リード化合物である **IIa** の値と共に Table 2-2 に示す。この結果、BGT-1 における **VIS (bicyclo-syn)** の IC₅₀ 値は 0.59 μ M であり、NNC 05-2090 および **IIa** と比べ 10 倍高い値を示した。さらに、GAT-3 に対する BGT-1 への選択性を表す選択指数 (selectivity index) は 129 となり、NNC 05-2090 および **IIa** と比べ約 40 倍向上した。以上の結果から、強力な阻害活性を示す初の高選択的 BGT-1 阻害剤の創製を達成した^[41]。

また、Table 2-2 には **IIa** と **VIS (bicyclo-syn)** の LE 値も示した。配座制御の利点は、通常の誘導体合成において汎用される疎水性官能基導入と異なり、分子量を大きく変化させることなく薬理活性を向上させられることであり、その結果、リード化合物と同等の LE 値を維持できる点である。**VIS (bicyclo-syn)** の LE 値 (LE = 0.85) は、リード化合物 **IIa** (LE = 0.89) と遜色ない値をとっており、**VIS (bicyclo-syn)** 自体も更なる BGT-1 阻害剤を創出する上で優れたリード化合物となることが示唆される。

なお、以降 **VIS (bicyclo-syn)** を BC-GABA と呼称する。BC-GABA は、GABA の構造を基に三次元多様な配座を 2 段階で制御 (1.シクロプロパンによる基本骨格制御, 2.ビスクロ[3.1.0]ヘキサン骨格による側鎖部制御) するという、合理的な分子設計により創製された点が大きな特色である。この結果は、シクロプロパンの構造特性を活用した分子設計が、構造未知の標的タンパク質に対するリガンドの創出に有用であることを示している。

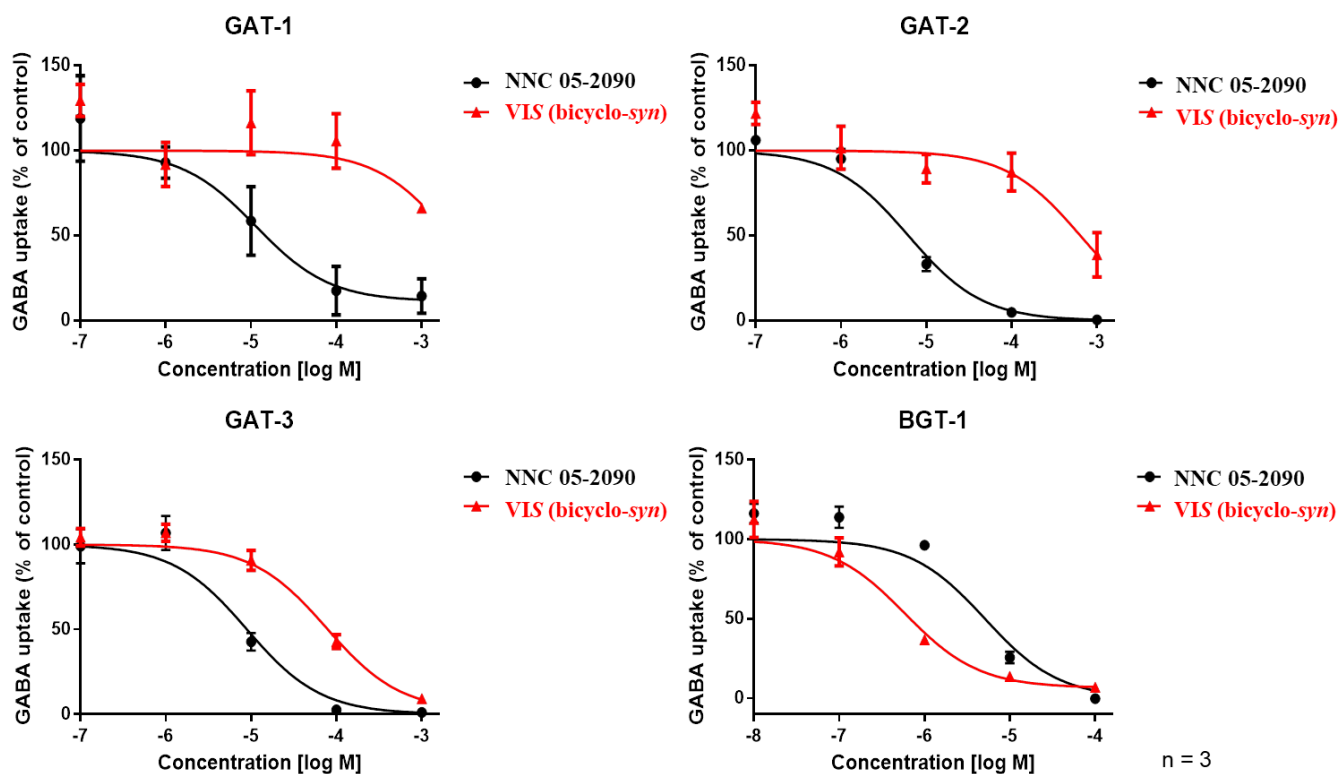
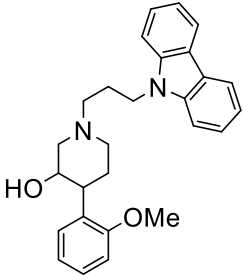
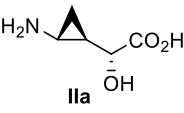
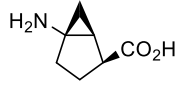


Figure 2-8. 各 GAT サブタイプにおける VIS 及び NNC 05-2090 の濃度-競合阻害曲線

Table 2-2. 各 GAT サブタイプにおける IIa, VIS 及び NNC 05-2090 の IC₅₀ 値

Compound	IC ₅₀ (μM)				GAT-3/BGT-1 (selectivity index)	LE
	hGAT-1	hGAT-2	hGAT-3	hBGT-1		
 NNC 05-2090	11.4	6.20	15	5.10	2.94	
 IIa	>100	36.9	13.9	5.48	2.54	0.89
 VIS	>1000	>100	76.3	0.59	129	0.85

2. 各 GABA 受容体に対する結合実験

マウスの脳粗膜標本を用いて、BC-GABA の各 GABA 受容体に対する結合実験をおこなった (Figure 2-9)。トリチウム標識された GABA 受容体リガンドおよび各濃度の BC-GABA を用いて、各受容体の $[^3\text{H}]$ リガンド量を測定し K_i 値を算出した。受容体リガンドとして GABA_A 受容体には $[^3\text{H}]$ ムシモール、 GABA_B 受容体には $[^3\text{H}]$ CGP-54626 を用いている*。この結果、BC-GABA は GABA_B 受容体には結合しなかったが、 GABA_A 受容体には高い結合親和性を示した。

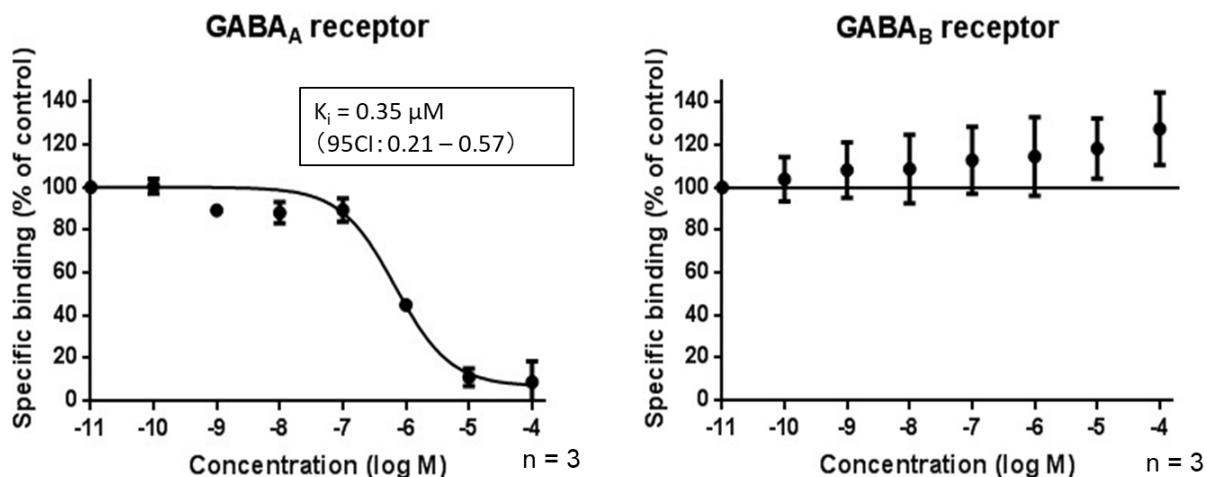


Figure 2-9. BC-GABA の各 GABA 受容体における結合実験の結果

結合親和性の高かった GABA_A 受容体に対する BC-GABA の作用を、ホールセルパッチクランプ法により評価した。分界条床核神経細胞に対し、膜電位を+10 mV に保持した後に GABA_A 受容体アゴニストであるムシモールあるいは BC-GABA を処置し、holding current の変化を観察した。その結果、ムシモールと同様に、BC-GABA を処置した際に、 GABA_A 受容体を介した Cl^- イオンの流入による抑制性シナプス後電流が観察されたことから、BC-GABA は GABA_A 受容体に対しアゴニストとして作用することが判明した (Figure 2-10)。

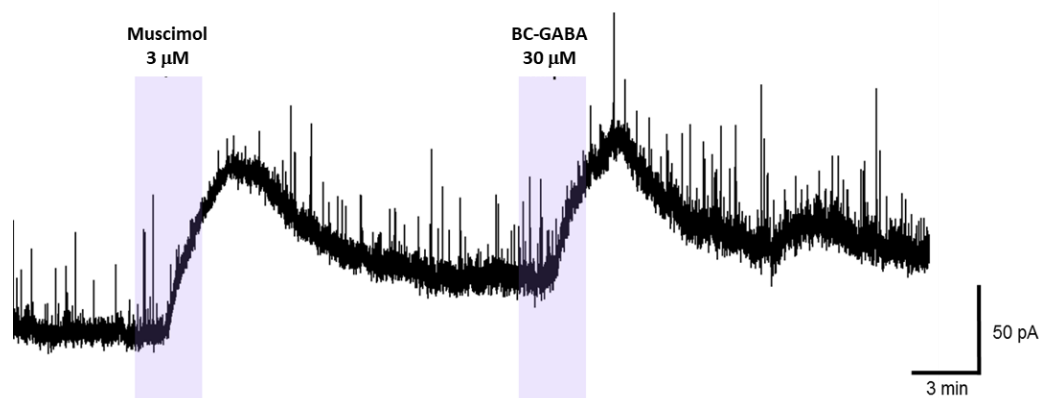
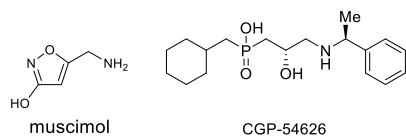


Figure 2-10. BC-GABA の GABA_A 受容体に対する作用の評価

*



3. BC-GABA の薬理作用評価

BC-GABA の抗うつ作用を尾懸垂試験* (Tail Suspension Test) により評価した。BC-GABA および GABA_A 受容体アゴニストのムシモールをマウスの側脳室内に投与し、マウスの無動時間を測定した。各化合物の投与量は GABA_A 受容体に対する K_i 値の比 (BC-GABA: K_i = 0.35 μM, ムシモール: K_i = 0.026 μM) より決定した。Figure 2-11 に示すように、BC-GABA を投与したマウスでは、無動時間を優位に減少させた。これは BC-GABA がマウスに対し抗うつ作用を示すことを示唆している。一方、ムシモールでは無動時間の減少は観察されなかった。上述の GABA 受容体に対する結合実験結果より、BC-GABA は BGT-1 阻害活性だけでなく GABA_A 受容体アゴニスト活性を有している。これらの結果を踏まえ、BC-GABA の抗うつ作用は、BGT-1 阻害活性、あるいは BGT-1 阻害活性と GABA_A 受容体アゴニスト活性の複合的な作用に起因する可能性が示唆された。この尾懸垂試験において、5 ng/5 μL (5.6 μM) 以上の濃度の BC-GABA をマウスに側脳室内投与しても、濃度依存的な無動時間の短縮は見られなかった。5 ng/5 μL の濃度で 100% の薬効を示す濃度に達した可能性もあるが、大きな要因として動物モデルにおける抗うつ作用の薬効評価の難しさが影響していると考えられる。うつ病などの精神疾患の診断は、患者自身の主観ならびに行動観察により行われる。そのため客観的な診断方法が欠如しており、最適な動物モデルが確立していない。このモデル動物の行動表現に対する評価の難しさが、精神疾患治療薬の創薬における障害となっている [42]。本実験においてもその影響を受けていると推察される。

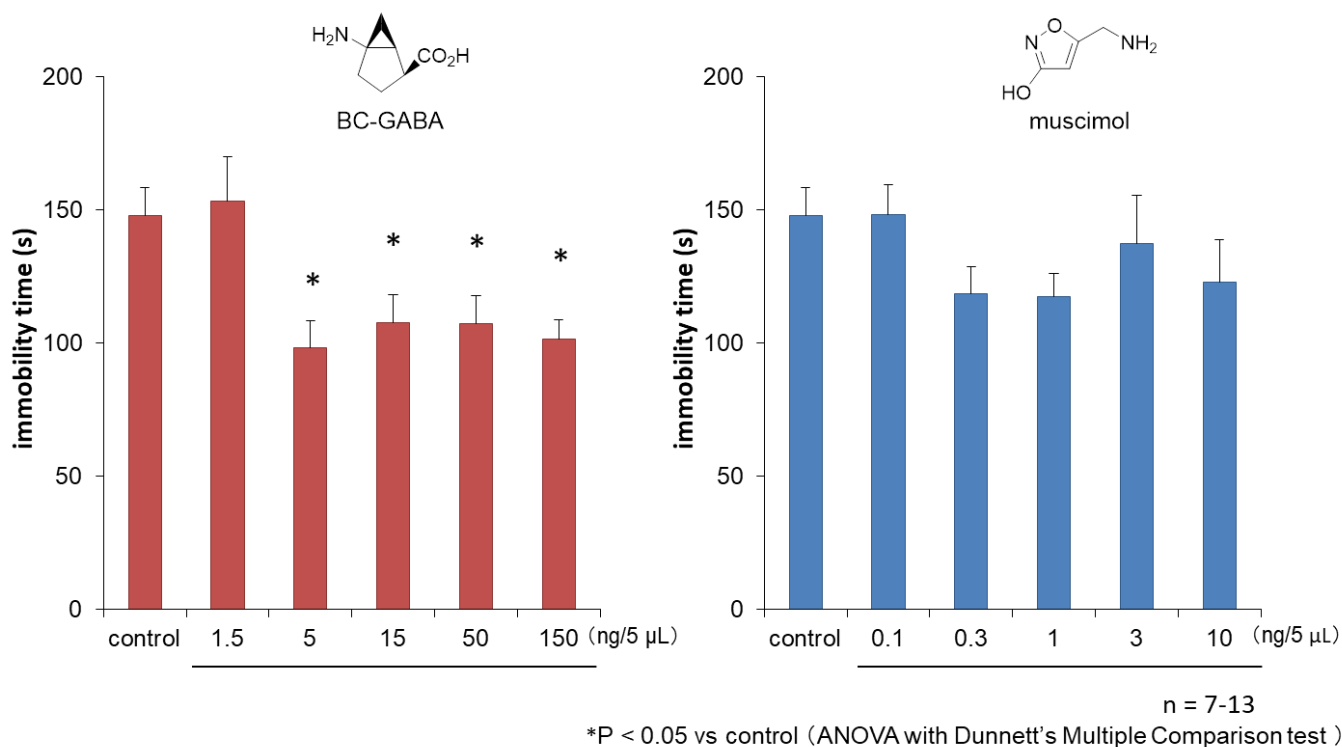
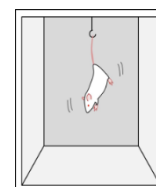


Figure 2-11. Tail Suspension Test による抗うつ作用の評価

* 尾懸垂試験 (Tail Suspension Test)

マウスの尾をテープで試験装置天井のフックに固定してマウスを逆さ吊りにする。マウスは最初逃避行動をとるが、しばらくした後、無動状態が認められるようになるため、その無動時間を測定する。無動時間が長いほど抑うつ傾向が強いことを示す。



第四節 BGT-1 に対する活性配座

GABA の活性配座について考察する。Figure 2-12 に MacroModel 10.9 で計算したリード化合物 **IIa** の *syn* 配座 (a) と *anti* 配座 (b)、**IIIR (Me-syn)** (c) および BC-GABA (d) の各最安定配座を示す。化合物 **IIa** の *syn* 配座 (blue)、**IIIR (Me-syn)** (green)、BC-GABA (orange) の配座を重ねたところ、活性に重要なアミンとカルボン酸の三次元的配置が良く重なることが確認された (Figure 2-12-e)。この結果から、GABA の BGT-1 に対する活性配座が *trans-syn* 配座であることが示唆された (Figure 2-12-f)。

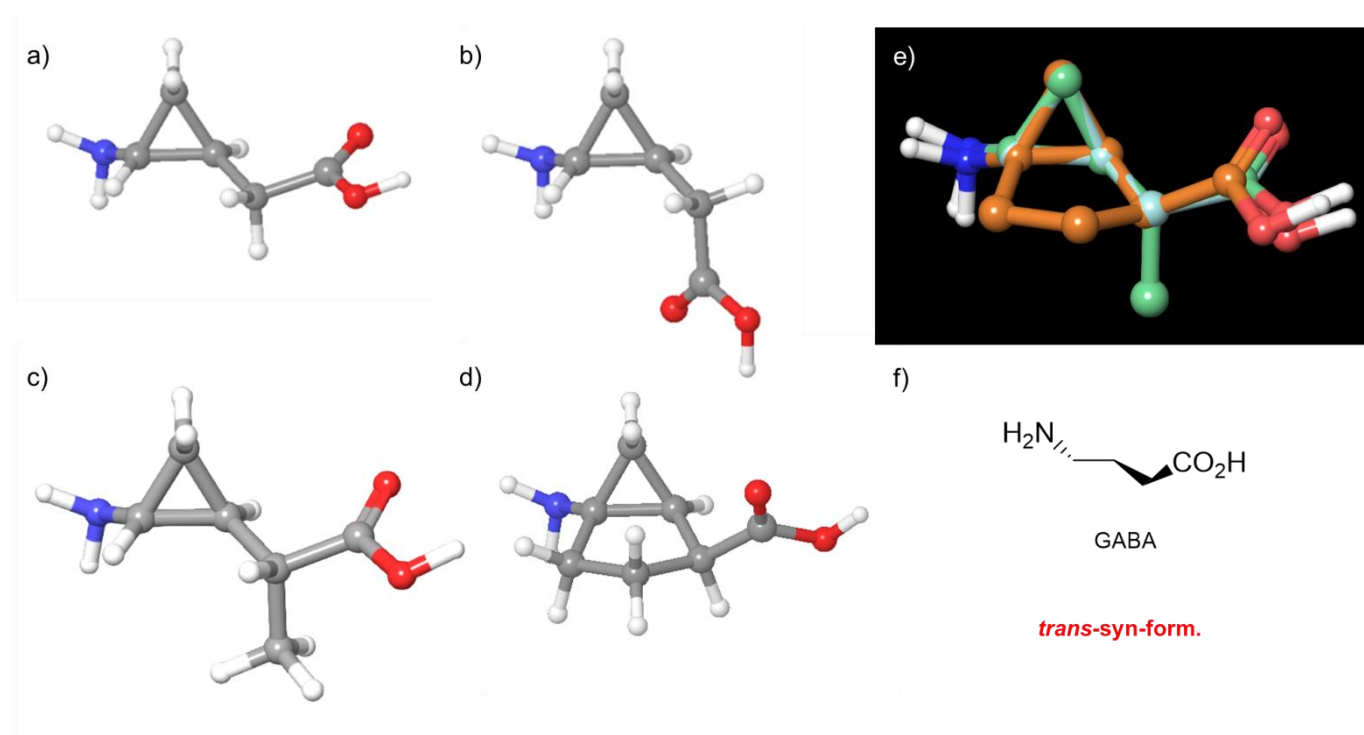


Figure 2-12. 各化合物の最安定配座と重ね合わせ及び予想される GABA の活性配座 (MacroModel 10.9, solvent: H₂O, force field: MMFFs)

第三章 トランスポーター選択性向上を志向した二環性骨格 GABA 誘導体の設計と合成

第一節 トランスポーター選択性向上を志向した二環性骨格 GABA 誘導体の設計

BC-GABA は強力な阻害活性を有する初の BGT-1 高選択的阻害剤である。しかし、GAT に関しては BGT-1 サブタイプ選択的ではあるものの、GABA_A 受容体に対しても高い親和性を示した。前章で述べたマウスを用いた *in vivo* 試験において BC-GABA は抗うつ作用を示した。GABA_A 受容体アゴニストのムッシモールには抗うつ作用が見られなかったことから、抗うつ作用の発現に BGT-1 の阻害が関わっていることが推察されるものの、GABA_A 受容体アゴニスト活性が関与している可能性は否定できない。したがって、BGT-1 の詳細な生理機能解明には、GABA_A 受容体への親和性を持たない真の BGT-1 選択的阻害剤が求められる。そこで、著者は GABA 受容体への親和性を持たない、GABA トランスポーター選択的な阻害剤の創製を目指すこととした。

GABA_A 受容体は 5 つのサブユニットから構成されるイオンチャネル型受容体で、各サブユニットはそれぞれ 4 本の膜貫通ヘリックスを有する。サブユニットは現在までに $\alpha 1-6$, $\beta 1-3$, $\gamma 1-3$, δ , ϵ , θ , π , $\rho 1-3$ の 19 個が同定されている。GABA_A 受容体はこれらサブユニットの様々な組み合わせによる 5 量体で機能し、構成するサブユニットの違いにより発現部位や生理的役割、薬に対する感受性が異なる。脳内では $\alpha 1\beta 2\gamma 2$ の組み合わせが最も多い。2014 年に Miller らにより $\beta 3$ ホモ 5 量体の X 線単結晶構造が報告されているが、 $\alpha 1\beta 2\gamma 2$ を含め他のサブユニットの組み合わせによる GABA_A 受容体の構造およびリガンドの結合様式など、多くは未だに解明されていない^[43]。

このように GABA_A 受容体におけるリガンドの結合様式が不明であることを踏まえ、BC-GABA に疎水性官能基を導入することで、GABA_A 受容体のリガンド結合部位における立体障害により、BGT-1 への阻害活性を維持しつつ、GABA_A 受容体に対する親和性を低下することができると考えた。また、導入する官能基を疎水性としたのは、GABA は疎水性が低く血液脳関門を通過できないという問題を改善するためである。そこで、適切な疎水性官能基導入部位を検討するため、コンピューターシミュレーションによる解析を活用することとした。BC-GABA とその標的タンパク質である BGT-1 のホモロジーモデルとのドッキングにより予想される結合様式を Figure 3-1 に示す。なお、BGT-1 のホモロジーモデルは Modeller 9.14 を用いて LeuT を鋳型として構築し、ドッキング等各種計算は Schrödinger Suit 2015-2 に含まれる各ソフトを用いた。シミュレーションの結果、アミンにはメチル基やジメチル基、およびイソプロピル基などの立体的に小さな官能基が、3 位炭素には比較的高い官能基を導入するスペースがあることが示唆された。一方、シクロプロパンの頭頂部の 6 位炭素には官能基を導入するスペースがないことが判明した。この結果を踏まえ、BGT-1 に対し疎水性官能基を導入可能なスペースの探索を目的として、3 位およびアミンにメチル基を導入した二環性骨格 GABA 誘導体 VII-1-3 を設計した (Figure 3-2)。

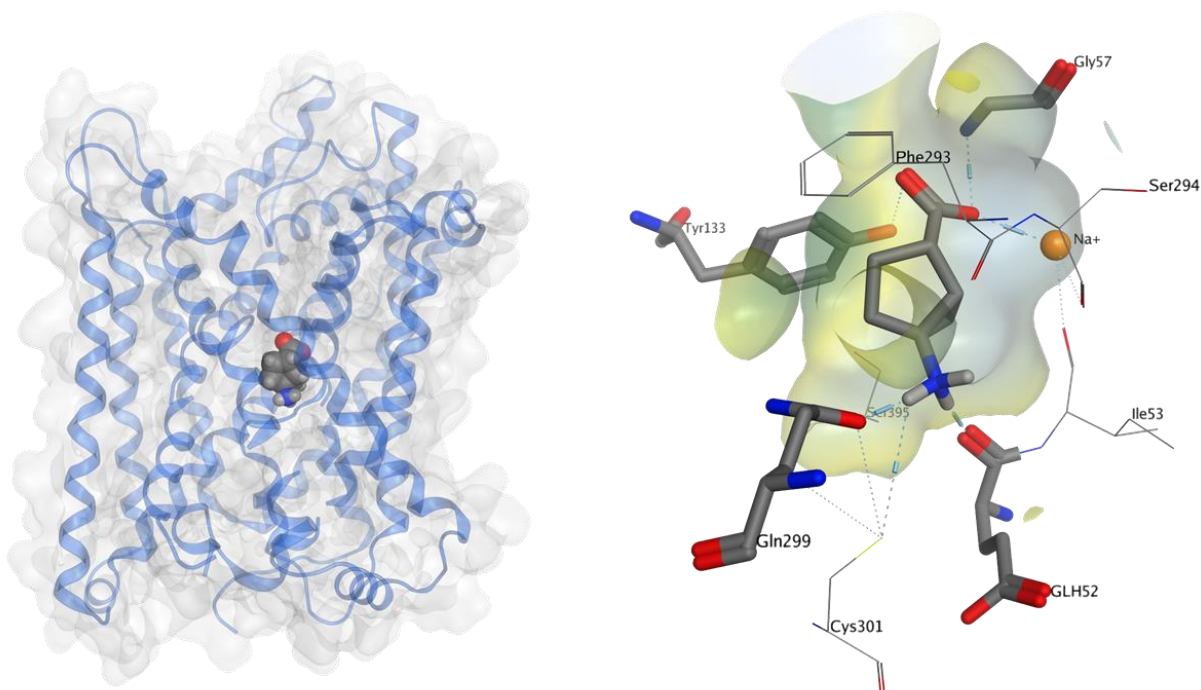


Figure 3-1. ドッキングシミュレーションにより予測された BC-GABA の BGT-1 モデルにおける結合様式

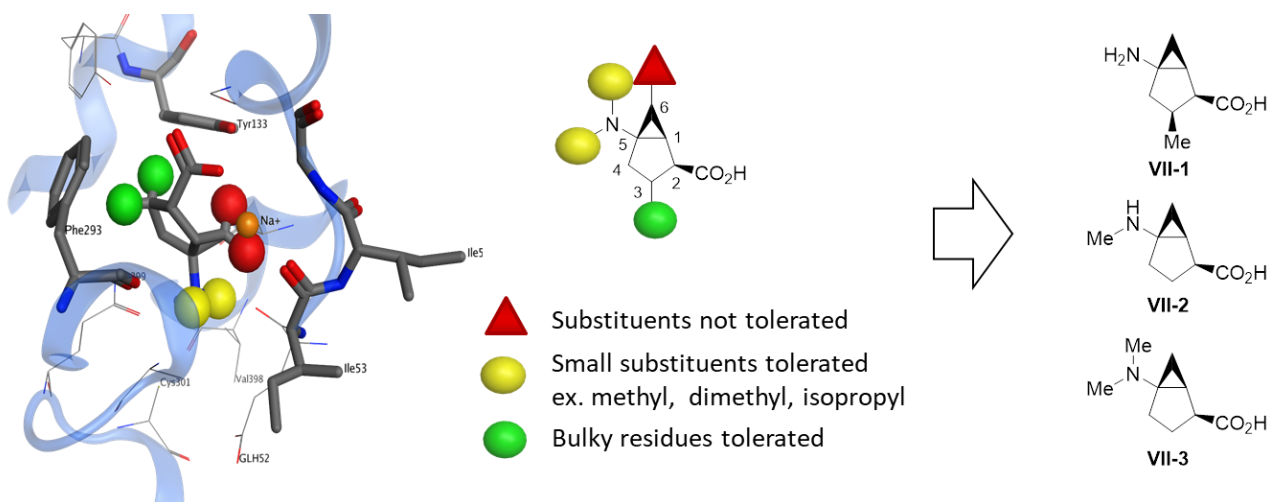
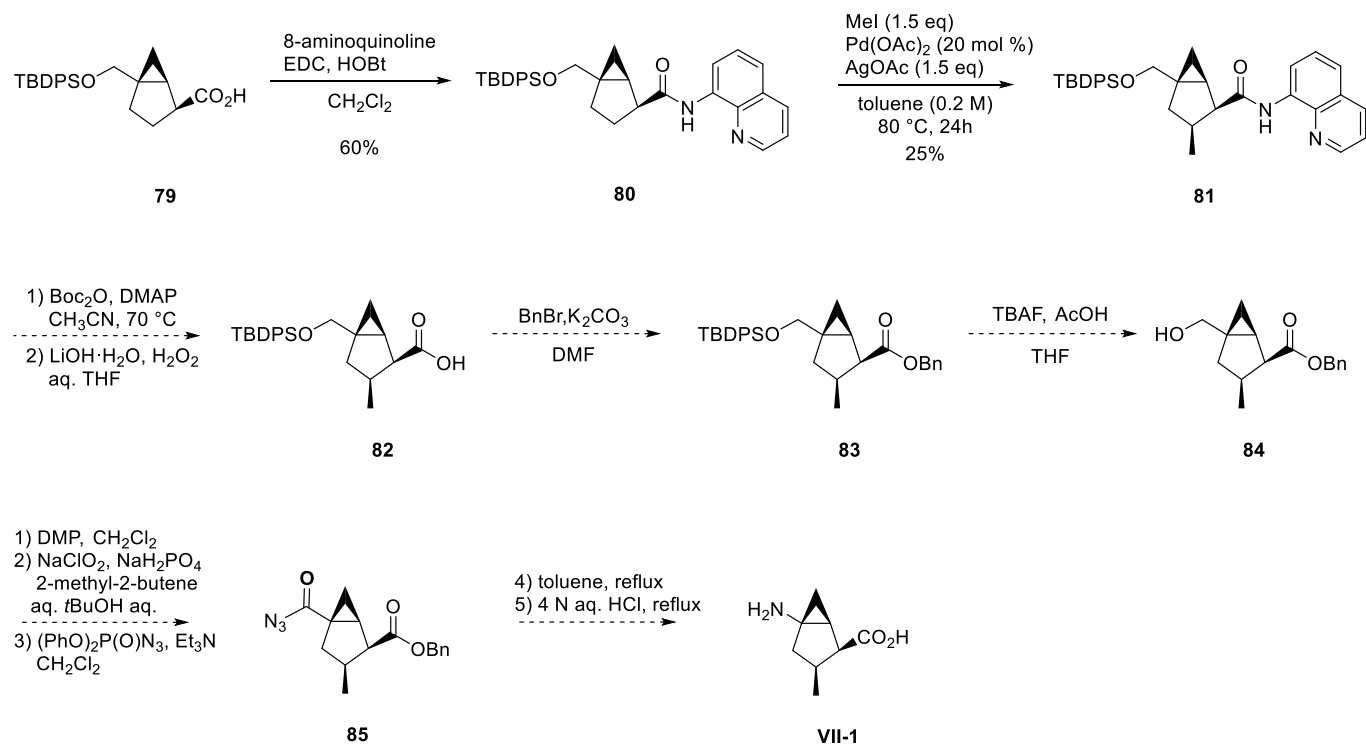


Figure 3-2. 予測された官能基導入可能な部位と設計した二環性 GABA 誘導体 VII-1-3

第二節 トランスポーター選択性向上を志向した二環性骨格 GABA 誘導体の合成

設計した二環性骨格 GABA 誘導体 **VII-1-3** の合成をそれぞれ以下に示す。カルボン酸 **79** に対し 8-アミノキノリンを縮合し、Pd を触媒とする C-H 活性化*によりメチル基を 3 位炭素に導入し化合物 **81** を得た。今後、種々官能基変換を行い、目的の標的化合物を合成する予定である。

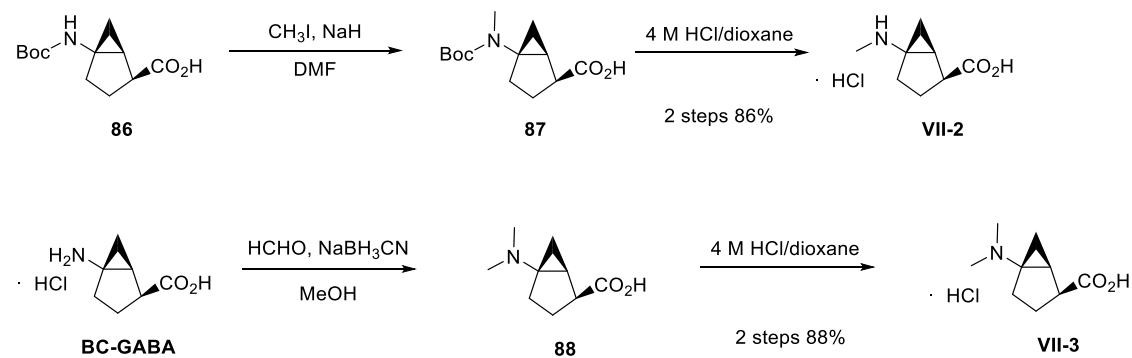
Scheme 3-1



* 鍵反応である C-H 活性化反応については第四章にて記述する。

化合物 **86** を NaH と CH₃I で処理してアミノ基をモノメチル化し、Boc 基を除去して標的化合物 **VII-2** を合成した。また、BC-GABA をホルムアルデヒドおよび NaBH₃CN を用いて還元的アミノ化に付してアミノ基をジメチル化し、標的化合物 **VII-3** を合成した (Scheme 3-2)。尚、合成した各化合物の生物活性と考察については第四章にて述べる。

Scheme 3-2



第四章 新たな選択性の発現を志向した三置換シクロプロパン GABA 誘導体の設計と合成

第一節 三置換シクロプロパン GABA 誘導体の設計

BC-GABA の創製により BGT-1 選択性は向上したが、リード化合物である **IIa** は BGT-1 だけでなく GAT-3 に対しても阻害活性を有する。GAT-3 への選択性および親和性の向上を目的として、**IIa** に疎水性官能基を導入することとした。Figure 4-1 に示すように、著者は以前にリード化合物のアミン部およびカルボン酸部に対し疎水性官能基を導入した種々の誘導体を合成し、これら二つの部位における構造活性相関を調べたが、いずれの化合物においても GAT-3 に対する親和性や選択性の向上は認められなかった^[44]。

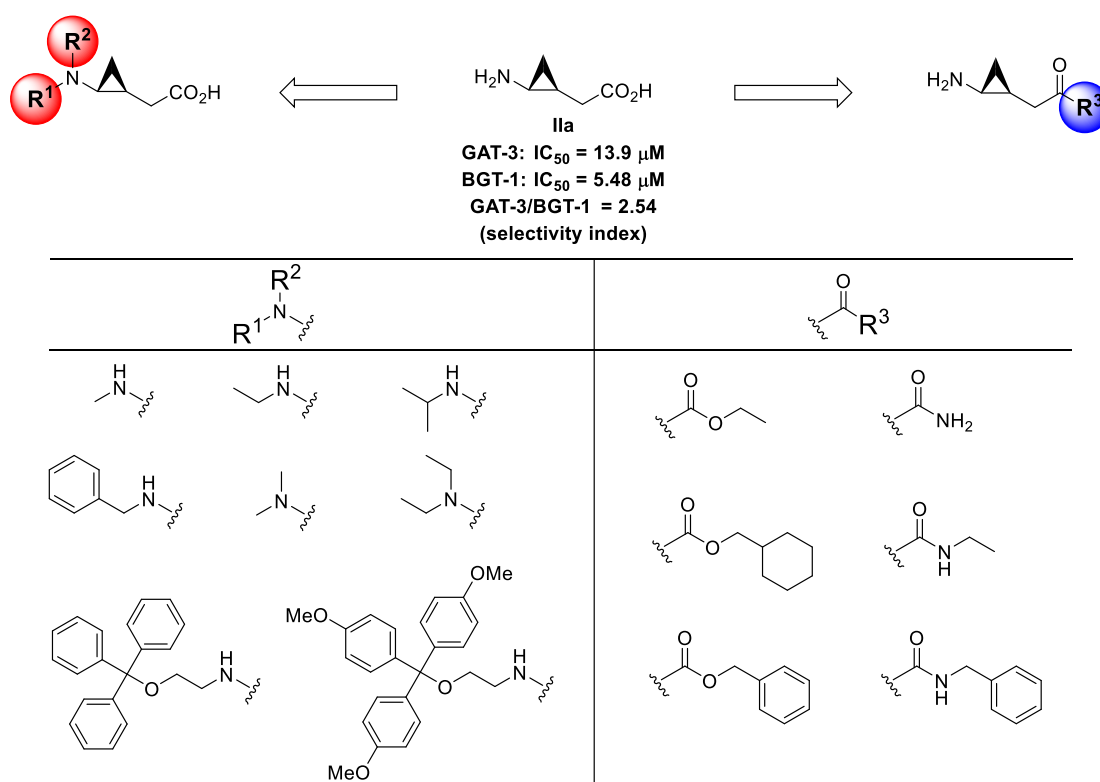


Figure 4-1. アミン部およびカルボン酸部の構造活性相関研究

新たな疎水性官能基導入部位として、**IIa** のシクロプロパンの第三級炭素に着目した。リード化合物の **IIa** は、3 位と 4 位の 2 つのシクロプロパン第三級炭素を有している。この内、BC-GABA 等の二環性骨格誘導体が 4 位に置換基を導入した化合物と考えられる。しかし、3 位シクロプロパン第三級炭素に置換基を導入した GABA 誘導体はこれまで合成されたことがない。そこで、親和性向上の足掛かりとなる官能基の許容性や新たな選択性の発現の可能性を探索するため、3 位シクロプロパン第三級炭素に置換基を導入した三置換シクロプロパン GABA 誘導体 **VIII-1-3** を設計した (Figure 4-2)。

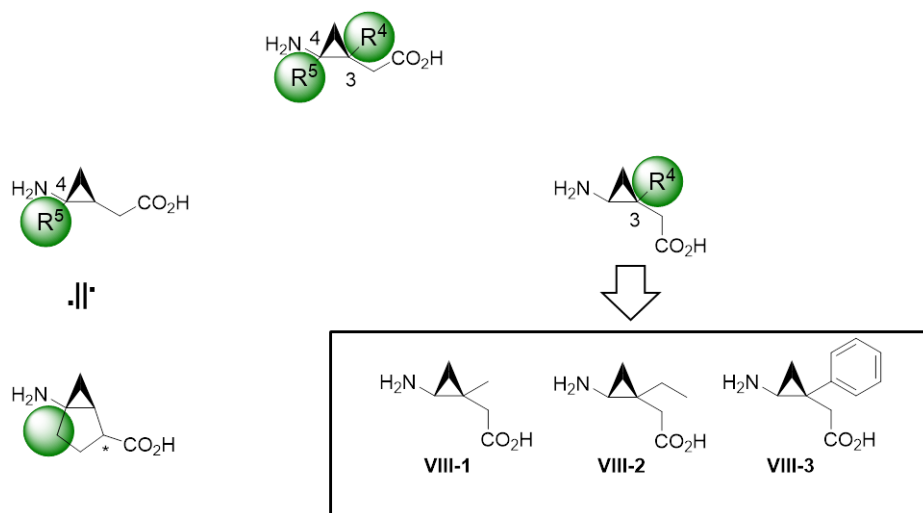


Figure 4-2. 設計した三置換シクロプロパン GABA 誘導体 VIII-1-3

第二節 三置換シクロプロパン GABA 誘導体の合成

1. 三置換シクロプロパン GABA 誘導体の合成計画

本合成において鍵となるシクロプロパン 3 位第三級炭素への置換基の導入は、Pd を触媒とする C-H 活性化反応を利用することとした。当研究室の星谷は、シス形のシクロプロパンに対し 8-アミノキノリンを配向基として、Pd を触媒とする C-H 活性化を経るアリール化反応によりシクロプロパン上の炭素-水素結合に直接アリール基を導入することを報告している^[45]。この反応は、従来困難であった第三級飽和炭素-水素結合を活性化して炭素上へ置換基を導入した初の例である。さらに星谷は、同様の方法でアルキル基の導入についても報告している^[46] (Figure 4-3)。

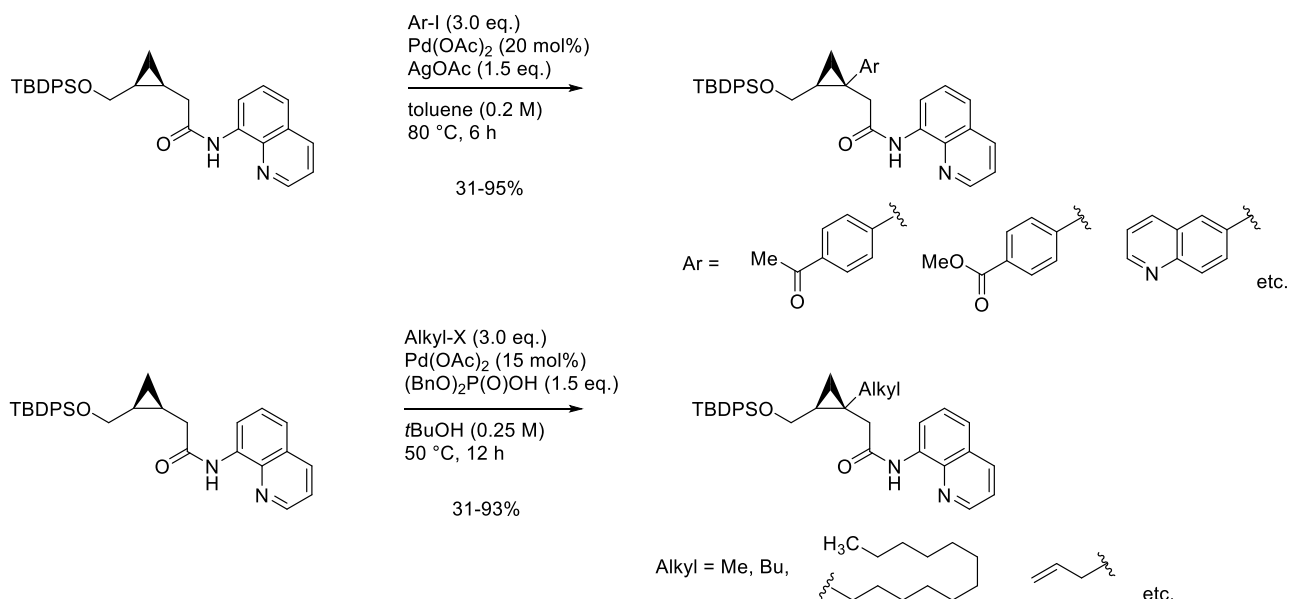
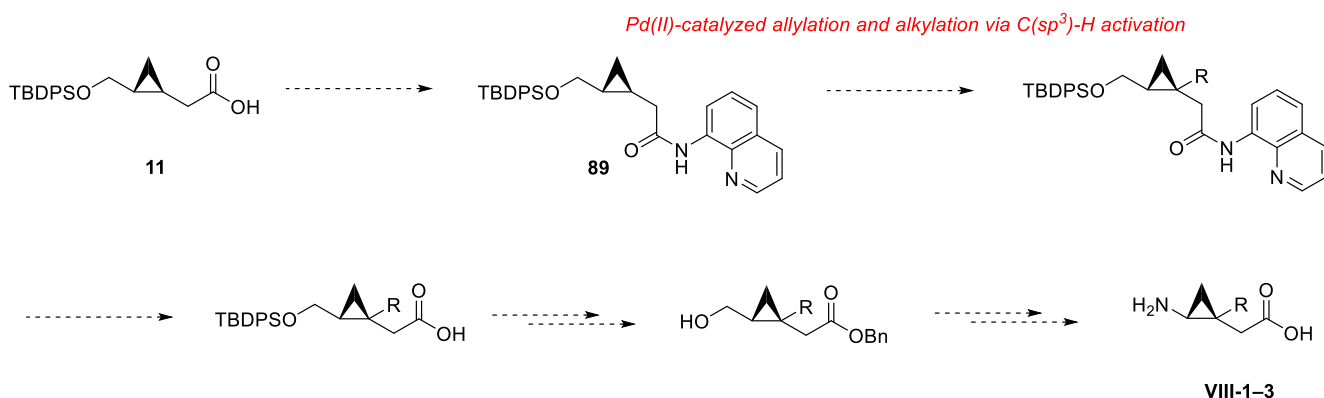


Figure 4-3. Pd を触媒とする C-H 活性化によるシクロプロパン第三級飽和炭素のアリール化およびアルキル化

三置換シクロプロパン GABA 誘導体 **VIII-1-3** の合成計画を Scheme 4-1 に示す。カルボン酸 **11** に 8-アミノキノリンを縮合したトランス形のシクロプロパン化合物 **84** に対し、上述の鍵反応によりシクロプロパンに直接アリール基もしくはアルキル基を導入する。トランス形のシクロプロパンに対する反応に関しては、エチル基についてのみ星谷は報告している。以降はこれまでの化合物と同様の経路で標的化合物 **VIII-1-3** を合成する。

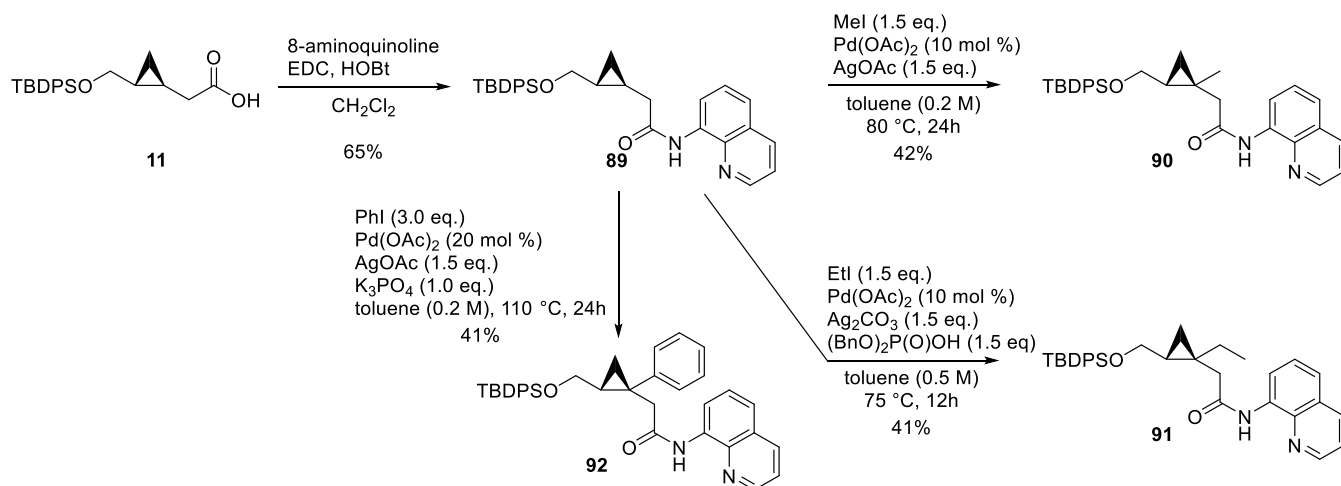
Scheme 4-1



2. 三置換シクロプロパン GABA 誘導体の合成

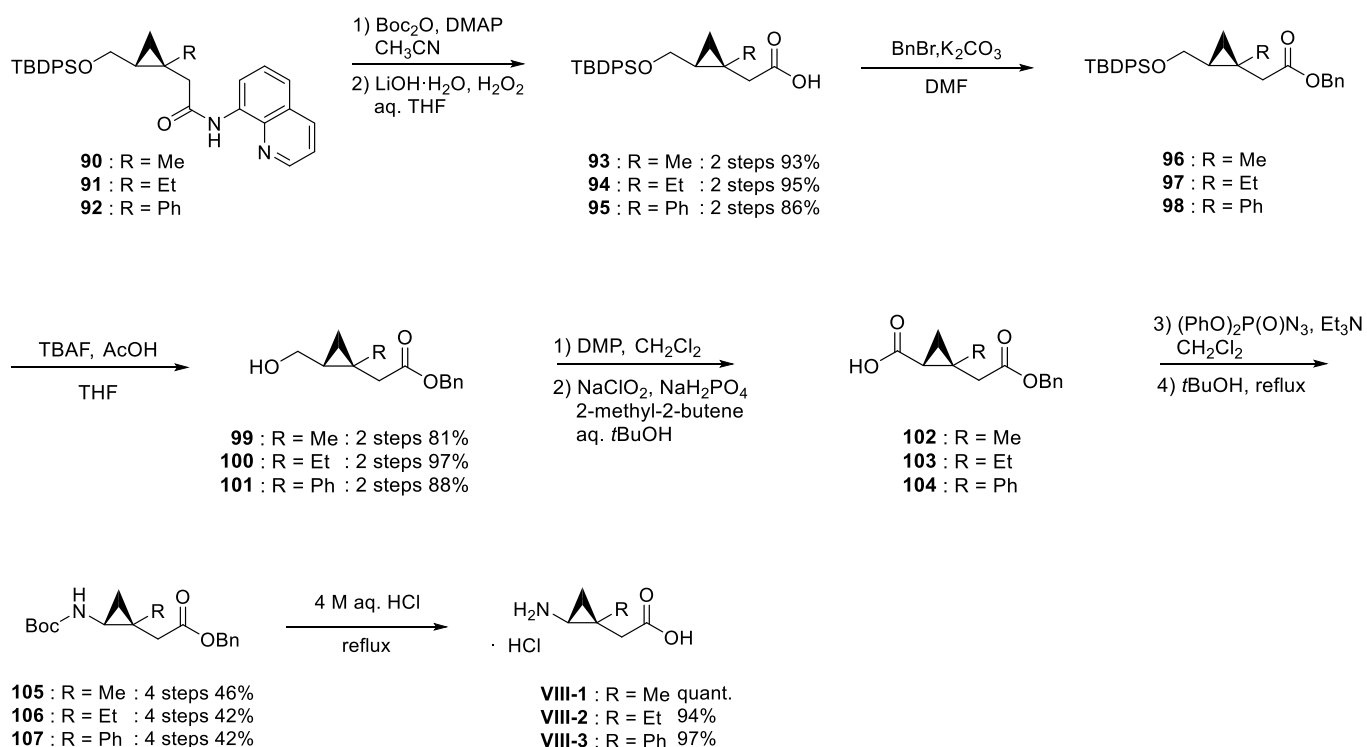
カルボン酸 **11** と 8-アミノキノリンを縮合して化合物 **89** とした。このトランス形のシクロプロパン化合物 **89** に対して、8-アミノキノリンを配向基として、Pd を触媒とする C-H 活性化を経るアリアル化またはアルキル化反応によりシクロプロパン上の炭素原子に直接官能基を導入し、化合物 **90–92** を得た (scheme 4-2)。

Scheme 4-2



化合物 **90–92** のアミドを Boc 化し、続く加水分解により 8-アミノキノリンを除去した。得られたカルボン酸 **93–95** をベンジルエステルとした後、TBDPS 基を除去してアルコール **99–101** へと導いた。その後、これまでの化合物と同様に種々官能基変換を行い、標的化合物 **VIII-1–3** を合成した (Scheme 4-3)。

Scheme 4-3



第三節 二環性骨格 GABA 誘導体 VII-2-3 および三置換シクロプロパン GABA 誘導体 VIII-1-3 の生物活性*

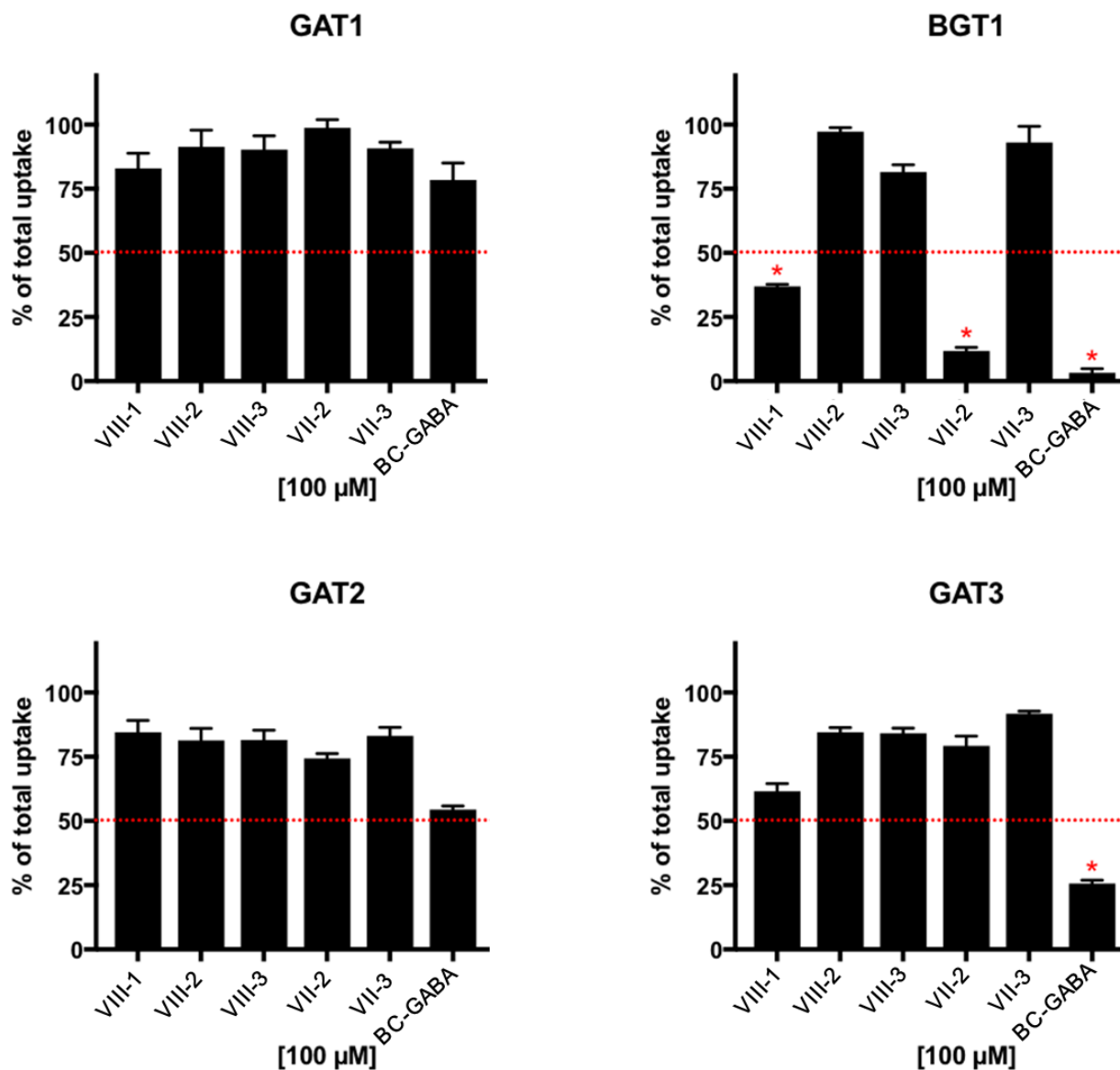


Figure 4-3. 二環性骨格 GABA 誘導体 VII-2-3 および三置換シクロプロパン GABA 誘導体 VIII-1-3 の GABA 取り込み阻害活性

* 本節の³H]GABA 取り込み阻害実験およびFMPアッセイはコペンハーゲン大学 Assoc. Prof. Petrine Wellendorph に行って頂いた。実験操作は Wellendorph らの報告^[47]を参照。

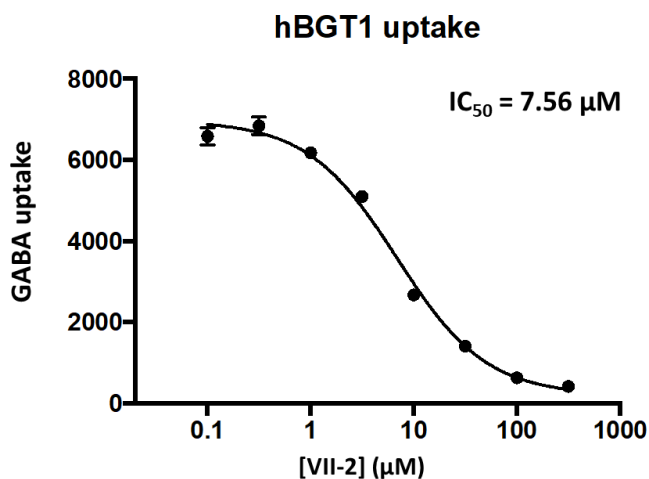


Figure 4-4. BGT-1 における VII-2 の濃度-阻害曲線

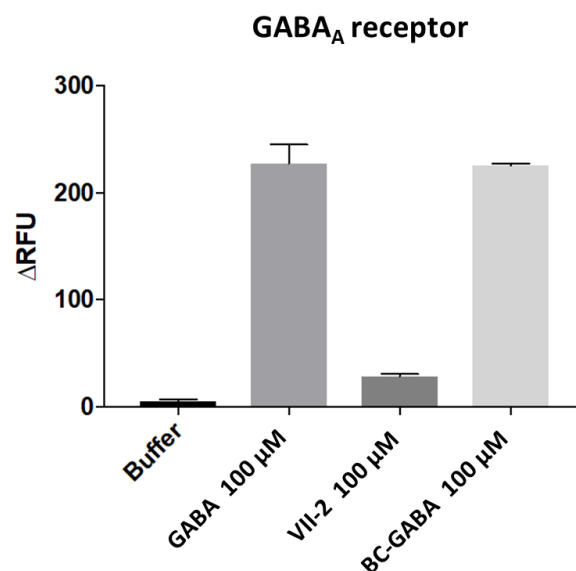


Figure 4-5. GABA_A 受容体に対する FMP アッセイの結果

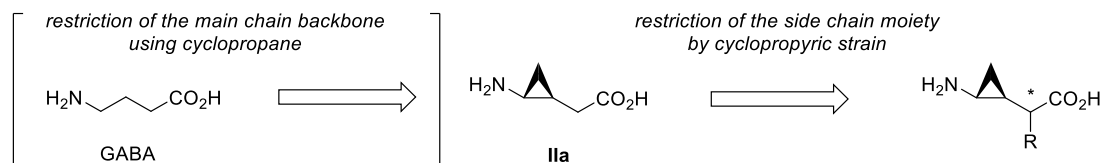
Figure 4-3 に、二環性骨格 GABA 誘導体 VII-2-3 および三置換シクロプロパン GABA 誘導体 VIII-1-3 の各 GAT サブタイプに対する [³H]GABA 取り込み阻害活性評価の結果を、Figure 4-4 に、この実験の結果から算出した BGT-1 に対する VII-2 の IC₅₀ 値を示す。

二環性骨格 GABA 誘導体について、*N*-モノメチル体 VII-2 (IC₅₀ = 7.56 μM) は BC-GABA (IC₅₀ = 0.59 μM) に比べて BGT-1 に対する阻害活性が若干低下したものの、他の 3 つのサブタイプに対しては阻害活性を示さず BGT-1 への選択性が向上した。一方、興味深いことに VII-2 にもう一つメチル基を導入した *N,N*-ジメチル体 VII-3 は BGT-1 を含む全てのサブタイプに対して阻害活性を示さなかった。この阻害活性が消失した理由の一つとして、BGT-1 の結合ポケットにおける BC-GABA のアミンの近傍に二つ目のメチル基が入るスペースが無かったことが考えられる。その他、VII-3 には無い VII-2 の窒素上の水素が、水素結合ドナーとして標的タンパク質との相互作用に関与している可能性も考えられる。また、HEK 細胞を用いた BC-GABA および VII-2 の GABA_A 受容体に対する FMP (FLIPR membrane potential) アッセイの結果を Figure 4-5 に示す。VII-2 は BC-GABA と比較して GABA_A 受容体に対するアゴニスト活性が大きく減弱した。すなわち、GABA_A 受容体親和性の低い、GABA トランスポーターに対して選択的な化合物を見出した。この結果は、先の BGT-1 のホモロジーモデルが BGT-1 阻害剤の設計に有用であることを示唆している。

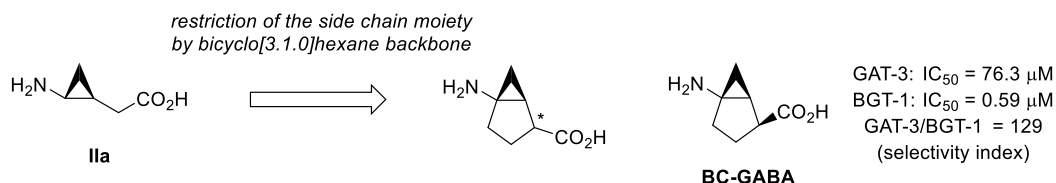
三置換シクロプロパン誘導体に関しては、メチル体である VIII-1 が強くはないものの BGT-1 選択的な阻害活性を示した。しかし、残念ながらいずれの化合物についても望みとする GAT-3 への選択性および親和性の向上は認められなかった。これまでの結果と合わせて、IIa をリードとする構造活性相関では GAT-3 選択性を発現させるのは困難であると予想される。序章で述べた、唯一報告されている GAT-3 選択的阻害剤のリード化合物は、GABA 等価体ではなくイサチン誘導体であるため、GAT-3 選択的阻害剤の創製には新たなリード化合物の創出が必要であると考えられる。

結語

1. 配座的自由度の高いリード化合物 **IIa** の側鎖カルボン酸部に着目し、シクロプロパン歪みを増強して側鎖の配向を制御した、シクロプロパン歪みに基づく **GABA** 配座制限誘導体を設計・合成した。

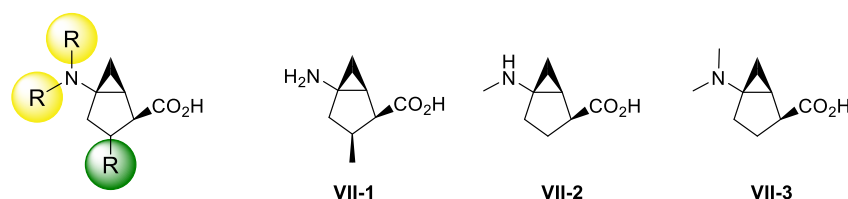


2. シクロプロパン歪みの代わりに二環性骨格により側鎖カルボン酸部の配座を制御した、ビスクロ[3.1.0]ヘキサン骨格を利用した **GABA** 配座制限誘導体を設計・合成し、強力な阻害活性を有する初の **BGT-1** 選択的阻害剤 **BC-GABA** を見出した。また、マウスを用いた *in vivo* 試験により、**BGT-1** がうつ病に関与している可能性を示唆する有用な知見を得た。

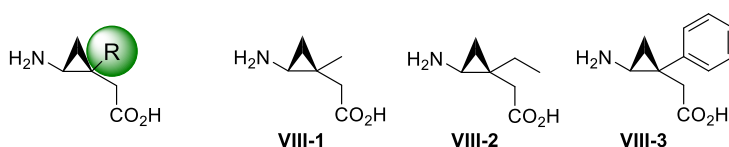


3. 上記 1 および 2 の配座制限誘導体の評価結果より、**BGT-1** に対する **GABA** の活性配座が *trans-syn* 配座であることを示唆する有用な知見を得た。

4. トランスポーター選択的な **BGT-1** 阻害剤の創製を志向した、二環性 **GABA** 誘導体 **VII-1-3** を設計し、**VII-2**、**VII-3** を合成した。*N*-モノメチル体 **VII-2** は **BC-GABA** より高い **BGT-1** 選択性を示し、**GABA_A** 受容体に対するアゴニスト活性は大きく減弱した。



5. **GAT-3** 選択的阻害剤の創製を志向した、三置換シクロプロパン **GABA** 誘導体 **VIII-1-3** を合成した。薬理活性評価では、望みとする選択性は認められなかった。



実験の部

General Procedure

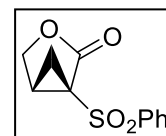
All ^1H NMR and ^{13}C NMR spectra were recorded on a JEOL JNM-AL-400, JEOL JMM-ECX-400P or JEOL JMM-ECA-500 spectrometer. ^1H NMR chemical shifts are reported as δ values in ppm relative to tetramethylsilane (0.00 ppm) when CDCl_3 was used as the solvent, or a solvent residual peak ($\text{CD}_2\text{H-OD}$: 3.31 ppm) when CD_3OD was used as the solvent. Coupling constants (J) are reported in Hz and multiplicity is indicated as follows: s (singlet), d (doublet), dd (double doublet), t (triplet), q (quartet), brs (broad singlet). ^{13}C NMR chemical shifts are reported as δ values in ppm relative to deuterated solvent (CDCl_3 : 77.0 ppm or CD_3OD : 49.0 ppm). All mass spectra were obtained on a JEOL JMS-700TZ, JMS-HX11 or JEOL JMS-FABmate spectrometer. Elemental analysis was performed with a Yanaco CHN Corder MT-6 or J-Science MICRO CODER JM10 analyzer. Optical rotations were measured with a JASCO P-1030 digital polarimeter. All non-aqueous reactions were carried out under argon atmosphere in anhydrous grade solvents. Silica gel column chromatography was performed using Merck Silica Gel 60 or Kanto Silica Gel 60. TLC was performed using glass-backed silica gel 60F254.

第一章 シクロプロパン歪の増強による配座制御

第二節

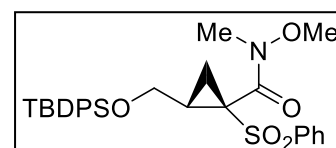
(1R,5S)-1-(phenylsulfonyl)-3-oxabicyclo[3.1.0]hexan-2-one (5)

To a solution of phenylsulfonylacetonitrile (18.1 g, 100 mmol) in EtOH (350 mL) was added 20% NaOEt in EtOH (78.4 mmol, 200 mmol), and the mixture was stirred at rt for 1.5 h. And then (*R*)-epichlorohydrin was added to the mixture. After being stirred at rt for 20 h, the resulting mixture was concentrated *in vacuo* and poured into H₂O. After adjusting pH to 4 with AcOH, the mixture was stirred for 22 h. After addition of sat. NaHCO₃, the mixture was partitioned between AcOEt and sat. NaHCO₃. The organic layer was washed with brine, dried (Na₂SO₄), and evaporated. The residue was purified by silica gel column chromatography (hexane/AcOEt 1:1) to give **5** (11.2 g, 47.1 mmol, 2 steps 47%) as a white solid. ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 8.08-7.59 (5H, m, aromatic), 4.41 (1H, dd, *J* = 9.6, 4.8 Hz, H-4b), 4.20 (1H, d, *J* = 9.6 Hz, H-4a), 3.21-3.17 (1H, m, H-5), 2.20 (1H, dd, *J* = 8.8, 5.2 Hz, H-6b), 1.47 (1H, dd, *J* = 5.2, 5.2 Hz, H-6a). ¹H NMR is in agreement with that reported previously [26].



(1R,2S)-2-(*t*-Butyldiphenylsilyloxy)methyl-1-(*N*-methoxy-*N*-methyl)carbamoyl-1-phenylsulfonylcyclopropane (6)

To a suspension of *N,O*-dimethylhydroxyamine hydrochloride (390 mg, 4.00 mmol) in CH₂Cl₂ (2.5 mL) was added Et₃N (562 μL, 4.00 mmol), and the mixture was stirred at rt for 40 min, and then the resulting mixture were filtered off. To a solution of **5** (238 mg, 1.00 mmol) and AlCl₃ (266 mg, 2.00 mmol) in CH₂Cl₂ (2.5 mL) was added the filtrate *via cannula* at 0 °C, and the reaction mixture was stirred at rt for 2 h. The resulting mixture was diluted with AcOEt, washed with 1 M aq. HCl, sat. NaCO₃ and brine, dried (Na₂SO₄), and evaporated to give the corresponding alcohol as a pale yellow oil.



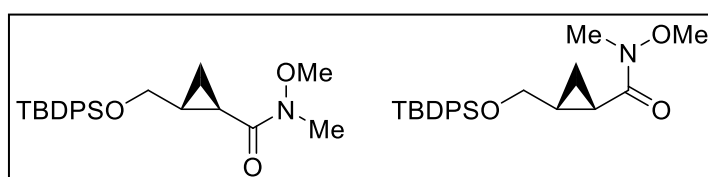
To a solution of the aforementioned alcohol in CH₂Cl₂ (5 mL) was added Et₃N (211 μL, 1.50 mmol), 4-dimethylaminopyridine (18.3 mg, 0.150 mmol), and TBDPSCl (390 μL, 1.50 mmol), and the reaction mixture was stirred at rt for 11 h. After addition MeOH, the reaction mixture was diluted with CHCl₃, washed with 1 M aq. HCl, sat. NaCO₃ and brine, dried (Na₂SO₄), and evaporated. The residue was purified by silica gel column chromatography (hexane/AcOEt 10:1 - 3:1) to give **6** (487 mg, 0.906 mmol, 2 steps 91%) as a colorless amorphous. ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃, 60 °C) δ 7.82-7.33 (20H, m, aromatic), 3.84 (1H, dd, *J* = 11.6, 5.6 Hz, -CH_aH_bOTBDPS), 3.70 (3H, s, -NOCH₃), 3.53 (1H, dd, *J* = 11.6, 6.0 Hz, -CH_aH_bOTBDPS), 3.25 (3H, s, -NCH₃), 2.12 (1H, brs, H-2), 1.92 (1H, brs, H-3a), 1.56 (1H, brs, H-3a), 1.00 (9H, s, *t*Bu). ¹H NMR is in agreement with that reported previously [26].

(1R,2R)-2-(*t*-Butyldiphenylsilyloxymethyl)cyclopropane-1-(*N*-methoxy-*N*-methyl)carboxamide (*trans*) (7)

and

(1S,2R)-2-(*t*-Butyldiphenylsilyloxymethyl)cyclopropane-1-(*N*-methoxy-*N*-methyl)carboxamide (*cis*) (8)

To a solution **6** (15.9 g, 29.6 mmol) in MeOH (100 mL) was added Mg powder (10.8 g, 444 mmol) at 0 °C and stirred at rt for 1.5 h. The reaction mixture was diluted with AcOEt, washed with 1 M aq. HCl, sat.

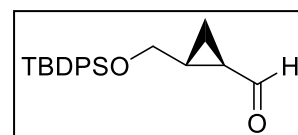


NaCO₃ and brine, dried (Na₂SO₄), and evaporated. The residue was purified by silica gel column chromatography

(hexane/AcOEt 4:1) to give **18** (6.19 g, 15.6 mmol, 53%) as a colorless oil and **19** (4.17 g, 10.5 mmol, 36%) as a colorless oil. *cis*: $^1\text{H NMR}$ (500 MHz, CDCl_3) δ 7.69-7.63 (4H, m, aromatic), 7.43-7.35 (6H, m, aromatic), 3.92 (1H, dd, $J = 10.0, 5.5$ Hz, $-\text{CH}_a\text{H}_b\text{OTBDPS}$), 3.79 (3H, s, $-\text{OMe}$), 3.70 (1H, dd, $J = 10.0, 10.0$ Hz, $-\text{CH}_a\text{H}_b\text{OTBDPS}$), 3.24 (3H, s, $-\text{Me}$), 2.35-2.33 (1H, m, H-2), 1.63-1.59 (1H, m, H-1), 1.09-1.07 (1H, m, H-3a), 1.02 (9H, s, *t*Bu), 0.94-0.89 (1H, m, H-3b). *trans*: $^1\text{H NMR}$ (500 MHz, CDCl_3) δ 7.67-7.64 (4H, m, aromatic), 7.44-7.36 (6H, m, aromatic), 3.77 (1H, dd, $J = 11.0, 4.5$ Hz, $-\text{CH}_a\text{H}_b\text{OTBDPS}$), 3.73 (3H, s, $-\text{OMe}$), 3.58 (1H, dd, $J = 11.0, 5.5$ Hz, $-\text{CH}_a\text{H}_b\text{OTBDPS}$), 3.21 (3H, s, $-\text{Me}$), 2.20-2.18 (1H, m, H-2), 1.70-1.64 (1H, m, H-1), 1.20-1.16 (1H, m, H-3a), 1.03 (9H, s, *t*Bu), 0.88-0.84 (1H, m, H-3b). $^1\text{H NMR}$ is in agreement with that reported previously^[26].

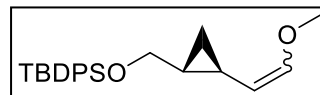
(1R,2R)-2-*t*-Butyldiphenylsilyloxymethyl-1-formylcyclopropane (9)

To a solution of **7** (13.8 g, 34.7 mmol) in CH_2Cl_2 (350 mL) was added DIBAL-H (0.99 M in toluene, 51 mL, 52.1 mmol) at -78 °C, and the reaction mixture was stirred at same temperature for 2 h. After addition of MeOH and brine, the reaction mixture was stirred at 1 h and filtered with a Celite pad. The filtrate was concentrated *in vacuo* and the residue was purified by silica gel column chromatography (hexane/AcOEt 20:1) to give **9** (10.1 g, 29.8 mmol, 86%) as a colorless oil. $^1\text{H NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ 9.06 (1H, d, $J = 5.6$ Hz, $-\text{CHO}$), 7.65-7.63 (4H, m, aromatic), 7.46-7.37 (6H, m, aromatic), 3.76 (1H, dd, $J = 7.6, 4.8$ Hz, $-\text{CH}_a\text{H}_b\text{OTBDPS}$), 3.63 (1H, dd, $J = 7.6, 5.2$ Hz, $-\text{CH}_a\text{H}_b\text{OTBDPS}$), 1.86-1.81 (1H, m, H-2), 1.77-1.70 (1H, m, H-1), 1.27-1.22 (1H, m, H-3a), 1.12-1.07 (1H, m, H-3b), 1.04 (9H, s, *t*Bu). $^1\text{H NMR}$ is in agreement with that reported previously^[26].



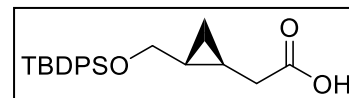
(1R,2R)-2-*t*-Butyldiphenylsilyloxymethyl-1-((*E,Z*)-2-methoxyvinyl)cyclopropane (10)

To a suspension of $\text{MeOCH}_3\text{PPh}_3\text{Cl}$ (25.5 g, 74.5 mmol) in THF (260 mL) was added NaHMDS (1.9 M in THF, 47 mL, 300 mmol) at 0 °C, and the mixture was stirred at same temperature. After 1 h, a solution of **9** (10.1 g, 29.8 mmol) in THF (40 mL) was added *via cannula*, and the reaction mixture was stirred at 0 °C. After 2 h, the reaction was quenched with sat. NH_4Cl and concentrated *in vacuo* to remove THF. The residue was diluted with AcOEt, washed with H_2O and brine, dried (Na_2SO_4), and evaporated. The residue was purified by silica gel column chromatography (hexane/AcOEt 8:1) to give **10** (9.86 g, 26.9 mmol, 90%, diastereo mixture, 1:0.7) as a colorless oil. **major diastereomer (E)**: $^1\text{H NMR}$ (500 MHz, CDCl_3) δ 7.68-7.66 (4H, m, aromatic), 7.42-7.31 (6H, m, aromatic), 6.32 (1H, d, $J = 12.7$ Hz, $-\text{CH}=\text{CH}\text{OMe}$), 4.49 (1H, dd, $J = 12.7, 7.2$ Hz, $-\text{CH}=\text{CH}\text{OMe}$), 3.72-3.67 (1H, m, $-\text{CH}_a\text{H}_b\text{OTBDPS}$), 3.56-3.52 (1H, m, $-\text{CH}_a\text{H}_b\text{OTBDPS}$), 3.47 (3H, s, OMe), 1.04 (9H, m, *t*Bu), 1.00-0.95 (1H, m, H-2), 0.65-0.60 (1H, m, H-1), 0.54-0.41 (2H, m, H-3). **minor diastereomer (Z)**: $^1\text{H NMR}$ (500 MHz, CDCl_3) δ 7.68-7.66 (4H, m, aromatic), 7.42-7.31 (6H, m, aromatic), 5.88 (1H, d, $J = 6.3$ Hz, $-\text{CH}=\text{CH}\text{OMe}$), 3.90 (1H, dd, $J = 6.3, 3.2$ Hz, $-\text{CH}=\text{CH}\text{OMe}$), 3.65-3.59 (1H, m, $-\text{CH}_a\text{H}_b\text{OTBDPS}$), 3.59 (3H, s, OMe), 3.49-3.45 (1H, m, $-\text{CH}_a\text{H}_b\text{OTBDPS}$), 1.10-1.04 (1H, m, H-2), 1.04 (9H, m, *t*Bu), 0.54-0.41 (3H, m, H-1 and H-3). $^1\text{H NMR}$ is in agreement with that reported previously^[20].



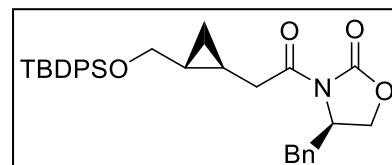
Carboxylic acid (**11**)

To a solution of **10** (4.64 g, 12.7 mmol) in THF (330 mL) was added aq. HCl (12 M, 30 mL) at 0 °C, and the mixture was stirred at the same temperature for 3 h. After addition of sat. aq. NaHCO₃ and removal of THF *in vacuo*, the residue was extracted with AcOEt. The organic layer was washed with sat. aq. NaHCO₃ and brine, dried (Na₂SO₄), and evaporated to give the crude product of corresponding aldehyde as a colorless oil. To a suspension of the aldehyde in aq. *t*BuOH (80%, 125 mL) were added 2-methyl-2-butene (11.0 mL, 101 mmol), sodium dihydrogenphosphate dihydrate (3.95 g, 25.3 mmol) and sodium chlorite (4.58 g, 50.6 mmol) at 0 °C, and the mixture was stirred at rt for 3 h. The resulting mixture was partitioned between CHCl₃ and aq. HCl (1 M). The organic layer was washed with brine, dried (Na₂SO₄), and evaporated. The residue was purified by silica gel column chromatography (hexane/AcOEt = 10/1–2/1) to give **11** (4.14 g, 11.8 mmol, 2 steps 93%) as a colorless oil. ¹H NMR (500 MHz, CDCl₃) δ 7.68-7.66 (4 H, m, aromatic), 7.43-7.35 (6 H, m, aromatic), 3.64 (1 H, dd, *J* = 10.5, 5.5 Hz, -CH_aH_bOTBDPS), 3.50 (1 H, dd, *J* = 10.5, 6.5 Hz, -CH_aH_bOTBDPS), 2.27 (2 H, d, *J* = 4.5 Hz, H-1'), 1.04 (9 H, s, *t*Bu), 0.97-0.91 (2 H, m, H-1 and H-2), 0.50-0.49 (1 H, m, H-3a), 0.39-0.35 (1 H, m, H-3b). ¹H NMR is in agreement with that reported previously^[40].



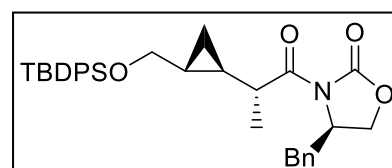
Compound (**12**)

To a solution of **11** (1.60 g, 4.34 mmol) in CH₂Cl₂ (40 mL) were added Et₃N (666 μL, 4.78 mmol) and pivaloyl chloride (588 μL, 4.78 mmol) at 0 °C, and the mixture was stirred at 0 °C for 1 h. After dilution with CH₂Cl₂, the mixture was washed with H₂O and brine, dried (Na₂SO₄), and evaporated to give the corresponding acid anhydride as a pale yellow oil. To a solution of (4*R*)-4-benzyl-2-oxazolidinone (2.46 g, 13.9 mmol) in THF (35 mL) was added *n*BuLi (1.6 M in THF, 8.10 mL, 13.0 mmol) at -78 °C, and the mixture was stirred for 1 h. To the mixture was added a solution of the aforementioned acid anhydride in THF (7.0 mL) *via cannula* at -78 °C, and the resulting mixture was stirred at -78 °C for 1 h. After addition of AcOH and removal of THF *in vacuo*, the residue was partitioned between AcOEt and H₂O. The organic layer was washed with brine, dried (Na₂SO₄), and evaporated. The residue was purified by flash silica gel column chromatography (hexane/AcOEt = 12/1) to give **12** (1.87 g, 3.54 mmol, 2 steps 82%) as a colorless viscous oil. [α]_D²⁷ = -45.3° (*c* 1.09, CHCl₃); ¹H NMR (500 MHz, CDCl₃) δ 7.68-7.66 (4 H, m, aromatic), 7.42-7.19 (11 H, m, aromatic), 4.67-4.62 (1 H, m, -NCH(Bn)CH₂O-), 4.15 (2 H, d, *J* = 5.0 Hz, -NCH(Bn)CH₂O-), 3.60 (2 H, d, *J* = 6.0 Hz, -CH₂OTBDPS), 3.29 (1 H, dd, *J* = 9.0, 3.5 Hz, -NCH(CH_aH_bPh)CH₂O-), 2.96 (1 H, dd, *J* = 17.0, 6.5 Hz, H-1'a), 2.79 (1 H, dd, *J* = 17.0, 7.5 Hz, H-1'b), 2.75 (1 H, dd, *J* = 9.0, 9.0 Hz, -NCH(CH_aH_bPh)CH₂O-), 1.05 (9 H, s, *t*Bu), 1.03-0.98 (2 H, m, H-1 and H-2), 0.52-0.49 (1 H, m, H-3a), 0.42-0.38 (1 H, m, H-3b); ¹³C NMR (125 MHz, CDCl₃) δ 172.6, 153.5, 135.6, 135.3, 134.0, 133.9, 129.5, 129.5, 129.4, 128.9, 127.6, 127.3, 66.8, 66.2, 55.1, 39.8, 37.9, 26.8, 20.3, 19.2, 11.8, 9.5; HRMS (ESI) calcd for C₃₂H₃₇O₄NNaSi 550.2384, found 550.2390 [(M+Na)⁺].



Compound (**13**)

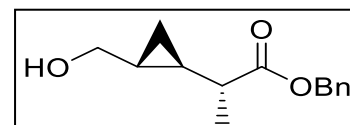
To a solution of **12** (1.25 g, 2.37 mmol) in THF (20 mL) was added NaHMDS (1.9 M in THF, 2.5 mL, 1.1 mmol) at -78 °C, and the mixture was stirred at -78 °C for 1 h. To the mixture was added CH₃I (1.2 mL, 24 mmol), the resulting mixture was stirred at -78 °C for 30 h. After addition of AcOH and removal of THF *in vacuo*, the residue was partitioned between CHCl₃ and H₂O. The organic layer was washed with brine, dried (Na₂SO₄), and evaporated. The residue was



purified by flash silica gel column chromatography (hexane/AcOEt = 10/1) to give **13** (1.06 mg, 1.96 mmol, 83%) as a colorless viscous oil. $[\alpha]_D^{28} = -42.7^\circ$ (*c* 1.33, CHCl₃); ¹H NMR (500 MHz, CDCl₃) δ 7.69-7.66 (4 H, m, aromatic), 7.42-7.20 (11 H, m, aromatic), 4.71-4.66 (1 H, m, -NCH(Bn)CH₂O-), 4.17-4.15 (2 H, m, -NCH(Bn)CH₂O-), 3.60 (1 H, dd, *J* = 10.5, 5.5 Hz, -CH_aH_bOTBDPS), 3.29 (1 H, dd, *J* = 10.5, 7.0 Hz, -CH_aH_bOTBDPS), 3.27 (1 H, dd, *J* = 13.5, 3.0 Hz, -NCH(CH_aH_bPh)CH₂O-), 3.15 (1 H, m, H-1'), 2.75 (1 H, dd, *J* = 13.5, 9.5 Hz, -NCH(CH_aH_bPh)CH₂O-), 1.36 (3 H, d, *J* = 7.0 Hz, CH₃), 1.09-0.94 (11 H, m, *t*Bu, H-1 and H-2), 0.45-0.41 (1 H, m, H-3a), 0.40-0.36 (1 H, m, H-3b); ¹³C NMR (125 MHz, CDCl₃) δ 176.8, 153.1, 135.5, 135.2, 133.9, 129.5, 129.5, 129.4, 128.9, 128.8, 127.6, 127.3, 67.0, 66.0, 55.3, 41.6, 37.8, 26.8, 20.2, 19.9, 19.2, 17.7, 8.9; HRMS (ESI) calcd for C₃₃H₃₉O₄NNaSi 564.2541, found 564.2546 [(M+Na)⁺].

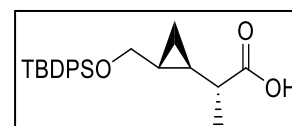
Carboxylic acid (14)

The mixture of **13** (2.05 g, 3.78 mmol) in THF/H₂O (5/1, 18 mL) were added aq. H₂O₂ (30 wt%, 2.1 mL, 19 mmol) and aq. LiOH (1 M, 7.6 mL, 7.6 mmol) at 0 °C, and the mixture was stirred at 0 °C for 1 h. After addition of sat. aq. Na₂SO₄, the resulting mixture was extracted with CH₂Cl₂. The organic layer was washed with aq. HCl (1 M), H₂O and brine, dried (Na₂SO₄), and evaporated. The residue was purified by flash silica gel column chromatography (hexane/AcOEt = 10/1) to give **14** (1.40 g, 3.68 mmol, 97%) as a colorless viscous oil. $[\alpha]_D^{28} = -24.5^\circ$ (*c* 1.54, CHCl₃); ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 7.68-7.65 (4 H, m, aromatic), 7.42-7.36 (6 H, m, aromatic), 3.71 (1 H, dd, *J* = 10.4, 5.6 Hz, -CH_aH_bOTBDPS), 3.35 (1 H, dd, *J* = 10.4, 7.2 Hz, -CH_aH_bOTBDPS), 1.82-1.74 (1 H, m, H-1'), 1.29 (3 H, d, *J* = 7.0 Hz, CH₃), 1.05 (9 H, s, *t*Bu), 0.93-0.81 (2 H, m, H-1 and H-2), 0.55-0.50 (1 H, m, H-3a), 0.45-0.40 (1 H, m, H-3b); ¹³C NMR (125 MHz, CDCl₃) δ 182.6, 135.6, 133.8, 129.6, 127.6, 66.8, 43.7, 26.8, 20.4, 20.2, 19.2, 16.8, 9.2; HRMS (ESI) calcd for C₂₃H₃₀O₃NaSi 405.1856, found 405.1862 [(M+Na)⁺].



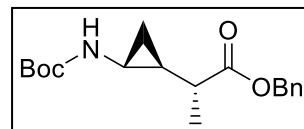
Alcohol (15)

A mixture of **14** (50.0 mg, 136 μ mol), Et₃N (57 μ L, 0.41 mmol), DMAP (1.66 mg, 13.6 μ mol) and benzyl chloroformate (29 μ L, 0.20 mmol) in CH₂Cl₂ (1.5 mL) was stirred at rt for 6 h. The mixture was partitioned between AcOEt and aq. HCl (1 M), and the organic layer was washed with brine, dried (Na₂SO₄) and evaporated. The residue was passed through a silica gel pad (hexane/AcOEt 15:1) to give a crude product of corresponding ester (44.0 mg) as a colorless oil. A mixture of the aforementioned ester and NH₄F (34.4 mg, 931 μ mol) in MeOH (1.0 mL) was stirred under reflux conditions for 11 h. After removal of the solvent *in vacuo*, the residue was partitioned between CHCl₃ and H₂O. The organic layer was dried (Na₂SO₄) and evaporated. The residue was purified by silica gel column chromatography (hexane/AcOEt = 4/1-1/1) to give **15** (18.8 mg, 80.2 μ mol, 2 steps 59%) as a colorless oil. $[\alpha]_D^{16} = -28.0^\circ$ (*c* 0.44, CHCl₃); ¹H NMR (500 MHz, CDCl₃) δ 7.38-7.26 (5 H, m, aromatic), 5.14 (2 H, s, -CH₂Ph), 3.54 (1 H, dd, *J* = 11.5, 7.0 Hz, -CH_aH_bOH), 3.36 (1 H, dd, *J* = 11.0, 7.5 Hz, -CH_aH_bOH), 2.03-1.97 (1 H, m, H-1'), 1.23 (3 H, d, *J* = 6.5 Hz, CH₃), 0.99-0.88 (2 H, m, H-1 and H-2), 0.62-0.58 (1 H, m, H-3a), 0.50-0.46 (1 H, m, H-3b); ¹³C NMR (125 MHz, CDCl₃) δ 175.9, 136.1, 128.5, 128.2, 128.0, 66.6, 66.2, 42.7, 20.5, 19.9, 16.3, 9.0; LRMS (ESI) *m/z* 257 [(M+Na)⁺]; Anal. calcd for C₁₄H₁₈O₃•0.1 H₂O: C, 71.22; H, 7.77. Found: C, 71.27; H, 7.69.



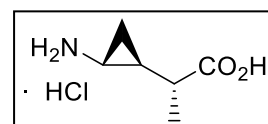
Precursor compound (17)

To a solution of **15** (300 mg, 1.28 mmol) in CH₂Cl₂ (13 mL) was added Dess–Martin periodinane (1.36 g, 3.20 mmol) at 0 °C, and the mixture was stirred at rt for 3 h. After addition of a mixture of sat. aq. Na₂S₂O₃ and sat. aq. NaHCO₃ (1:1), the resulting mixture was stirred vigorously and extracted with CHCl₃. The organic layer was washed H₂O, dried (Na₂SO₄), and evaporated to give the crude product of corresponding aldehyde as a colorless oil. To a suspension of the aforementioned aldehyde in aq. *t*BuOH (80%, 15 mL) were added 2-methyl-2-butene (1.10 mL, 10.2 mmol), sodium dihydrogenphosphate dehydrate (399 mg, 2.56 mmol) and sodium chlorite (463 mg, 5.12 mmol) at 0 °C, and the mixture was stirred at rt for 5 h. The resulting mixture was partitioned between CHCl₃ and aq. HCl (1 M), and the organic layer was washed with brine, dried (Na₂SO₄), and evaporated. The residue was passed through a short silica gel pad (hexane/AcOEt = 4/1) to give the corresponding carboxylic acid as a colorless oil. To a solution of the aforementioned carboxylic acid in CH₂Cl₂ (12 mL) were added Et₃N (1.80 mL, 12.8 mmol) and DPPA (820 μL, 3.84 mmol), and the mixture was stirred at rt for 5 h. The reaction mixture was partitioned between AcOEt and H₂O. The organic layer was washed with brine, dried (Na₂SO₄), and evaporated. The residue was passed through a silica gel pad (hexane/AcOEt = 20/1) to give the corresponding acyl azide (299 mg) as a colorless oil. A solution of the aforementioned acyl azide in *t*BuOH (20 mL) was stirred under reflux conditions for 19 h. After removal of the solvent *in vacuo*, the residue was purified by silica gel column chromatography (hexane/AcOEt = 8/1) to give **17** (290 mg, 0.908 mmol, 4 steps 71%) as a white solid. $[\alpha]_D^{25} = -22.6^\circ$ (*c* 0.91, CHCl₃); m.p. 66.5–68.0 °C; ¹H NMR (500 MHz, CDCl₃) δ 7.37-7.30 (5 H, m, aromatic), 5.13 (2 H, s, -CH₂Ph), 4.76 (1 H, s, -NH₂Boc), 2.36-2.31 (1 H, m, H-2), 1.89-1.84 (1 H, m, H-1'), 1.44 (9 H, s, *t*Bu), 1.36 (3 H, d, *J* = 7.5 Hz, CH₃), 1.11-1.05 (1 H, m, H-1), 0.78-0.71 (2 H, m, H-3a and H-3b); ¹³C NMR (125 MHz, CDCl₃) δ 175.2, 156.2, 136.0, 128.5, 128.1, 127.9, 79.3, 66.1, 42.7, 28.8, 28.3, 23.9, 16.6, 12.9; LRMS (ESI) *m/z* 342 [(M+Na)⁺]; Anal. calcd for C₁₈H₂₅NO₄: C, 67.69; H, 7.89; N, 4.39. Found: C, 67.48; H, 7.77; N, 4.34.



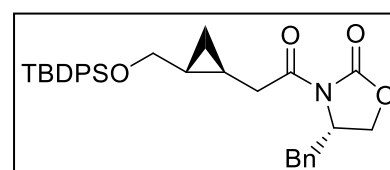
Target compound (IIIR)

A mixture of **17** (95.3 mg, 0.298 mmol) and Pd/C (5% on carbon, 48.0 mg) in THF (3 mL) was stirred vigorously under an H₂ atmosphere for 1 h. The resulting mixture was filtered through a Celite pad and the filtrate was concentrated *in vacuo* to give the crude product of corresponding carboxylic acid (74.0 mg) as a white solid. The aforementioned carboxylic acid was dissolved in HCl solution (4 M in dioxane, 2.0 mL) and the mixture was stirred at rt for 1 h. The resulting mixture was partitioned between AcOEt and H₂O. H₂O layer was evaporated to give **IIIR** (45.0 mg, 0.272 mmol, 2 steps 91%) as a white solid. $[\alpha]_D^{18} = -40.9^\circ$ (*c* 2.43, CH₃OH); ¹H NMR (500 MHz, CD₃OD) δ 2.55-2.51 (1 H, m, H-1'), 1.82-1.73 (1 H, m, H-2), 1.38-1.31 (1 H, m, H-1), 1.29 (3 H, d, *J* = 8.5 Hz, CH₃), 1.01-0.97 (1 H, m, H-3a), 0.95-0.90 (1 H, m, H-3b); ¹³C NMR (100 MHz, CD₃OD) δ 178.4, 42.8, 28.6, 21.9, 17.0, 10.8; LRMS (ESI) *m/z* 130 [(M+H)⁺]; Anal. calcd for C₆H₁₁NO₂·1 HCl·0.3 H₂O: C, 42.14; H, 7.43; N, 8.19. Found: C, 41.85; H, 7.07; N, 8.18.



Compound (18)

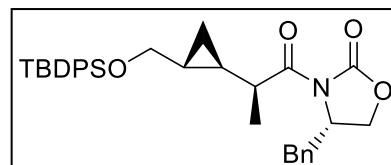
18 (5.46 g, 10.3 mmol, 2 steps 88%, a colorless viscous oil) was prepared from **11** (4.14 g, 11.8 mmol) as described for the preparation of compound **12**. $[\alpha]_D^{25} = 14.6^\circ$ (*c* 1.90, CHCl₃); ¹H NMR (500 MHz, CDCl₃) δ 7.69-7.67 (4 H, m, aromatic), 7.41-7.18 (11 H, m, aromatic), 4.68-4.63 (1 H, m, -NCH(Bn)CH₂O-), 4.18-4.13 (2 H, m, -NCH(Bn)CH₂O-), 3.64 (1 H,



dd, $J = 10.5, 6.0$ Hz, -CH_aH_bOTBDPS), 3.58 (1 H, dd, $J = 10.5, 6.0$ Hz, -CH_aH_bOTBDPS), 3.29 (1 H, dd, $J = 13.0, 3.0$ Hz, -NCH(CH_aH_bPh)CH₂O-), 2.92 (1 H, dd, $J = 17.0, 6.5$ Hz, H-1'a), 2.86 (1 H, dd, $J = 17.0, 7.5$ Hz, H-1'b), 2.74 (1 H, dd, $J = 14.0, 10.0$ Hz, -NCH(CH_aH_bPh)CH₂O-), 1.07-1.03 (10 H, m, *t*Bu and H-2), 1.00-0.96 (1 H, m, H-1), 0.55-0.51 (1 H, m, H-3a), 0.44-0.40 (1 H, m, H-3b); ¹³C NMR (125 MHz, CDCl₃) δ 172.6, 153.5, 135.6, 135.3, 133.9, 129.5, 129.4, 128.9, 127.6, 127.3, 66.7, 66.2, 55.1, 39.6, 37.9, 26.8, 20.3, 19.2, 11.7, 9.53; HRMS (ESI) calcd for C₃₂H₃₇O₄NNaSi 550.2384, found 550.2390 [(M+Na)⁺].

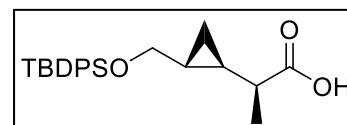
Compound (19)

19 (2.78 mg, 5.13 mmol, 56%, a colorless viscous oil) was prepared from **18** (4.80 g, 9.09 mmol) as described for the preparation of compound **13**. [α]_D²⁵ = 28.1° (*c* 2.30, CHCl₃); ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 7.67-7.63 (4 H, m, aromatic), 7.41-7.18 (11 H, m, aromatic), 4.62-4.57 (1 H, m, -NCH(Bn)CH₂O-), 4.09-4.3.98 (2 H, m, -NCH(Bn)CH₂O-), 3.59 (1 H, dd, $J = 10.4, 5.6$ Hz, -CH_aH_bOTBDPS), 3.45 (1 H, dd, $J = 10.4, 6.0$ Hz, -CH_aH_bOTBDPS), 3.28-3.22 (2 H, m, -NCH(CH_aH_bPh)CH₂O- and H-1'), 2.75 (1 H, dd, $J = 13.6, 9.6$ Hz, -NCH(CH_aH_bPh)CH₂O-), 1.29 (3 H, d, $J = 7.0$ Hz, CH₃), 1.09-0.98 (11 H, m, *t*Bu, H-1 and H-2), 0.46-0.36 (2 H, m, H-3a and H-3b); ¹³C NMR (125 MHz, CDCl₃) δ 176.6, 153.2, 135.5, 135.3, 134.0, 129.5, 129.5, 129.4, 128.9, 127.6, 127.6, 127.3, 66.9, 65.9, 55.4, 40.9, 37.8, 26.8, 20.5, 19.8, 19.2, 17.1, 8.5; HRMS (ESI) calcd for C₃₃H₃₉O₄NNaSi 564.2541, found 564.2546 [(M+Na)⁺].



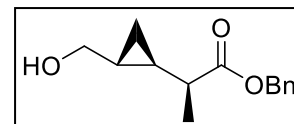
Carboxylic acid (20)

20 (1.69 g, 4.41 mmol, 97%, a colorless viscous oil) was prepared from **19** (2.46 g, 4.54 mmol) as described for the preparation of carboxylic acid **14**. [α]_D²⁵ = 0.86° (*c* 1.04, CHCl₃); ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 7.67-7.64 (4 H, m, aromatic), 7.41-7.35 (6 H, m, aromatic), 3.60 (1 H, dd, $J = 10.5, 6.0$ Hz, -CH_aH_bOTBDPS), 3.47 (1 H, dd, $J = 10.5, 6.5$ Hz, -CH_aH_bOTBDPS), 1.86-1.80 (1 H, m, H-1'), 1.23 (3 H, d, $J = 6.5$ Hz, CH₃), 1.13-1.07 (1 H, m, H-2), 1.03 (9 H, s, *t*Bu), 0.90-0.84 (1 H, m, H-1), 0.47-0.44 (1 H, m, H-3a), 0.36-0.32 (1 H, m, H-3b); ¹³C NMR (125 MHz, CDCl₃) δ 181.5, 135.6, 133.7, 129.5, 127.6, 66.4, 43.5, 26.8, 20.1, 19.8, 19.1, 16.4, 8.7; HRMS (ESI) calcd for C₂₃H₃₀O₃NaSi 405.1856, found 405.1862 [(M+Na)⁺].



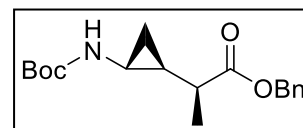
Alcohol (21)

21 (876 mg, 3.74 mmol, 2 steps 86%, a colorless oil) was prepared from **20** (1.67 mg, 4.36 mmol) as described for the preparation of alcohol **15**. [α]_D²⁴ = 32.3° (*c* 2.00, CHCl₃); ¹H NMR (500 MHz, CDCl₃) δ 7.39-7.26 (5 H, m, aromatic), 5.14 (2 H, s, -CH₂Ph), 3.63 (1 H, dd, $J = 9.0, 9.0$ Hz, -CH_aH_bOH), 3.14 (1 H, dd, $J = 9.0, 9.0$ Hz, -CH_aH_bOH), 1.86-1.1.80 (1 H, m, H-1'), 1.28 (3 H, d, $J = 7.0$ Hz, CH₃), 1.06-0.99 (1 H, m, H-2), 0.84-0.79 (1 H, m, H-1), 0.53-0.50 (1 H, m, H-3a), 0.44-0.40 (1 H, m, H-3b); ¹³C NMR (125 MHz, CDCl₃) δ 176.2, 135.9, 128.5, 128.2, 128.1, 66.5, 66.3, 43.6, 20.8, 20.6, 16.8, 9.1; LRMS (ESI) *m/z* 257.12 [(M+Na)⁺]; Anal. calcd for C₁₄H₁₈O₃•0.2 H₂O: C, 70.68; H, 7.80. Found: C, 70.69; H, 7.64.



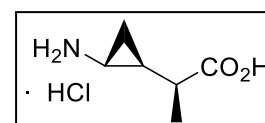
Precursor compound (23)

23 (676 mg, 2.12 mmol, 4 steps 60%, as a white solid) was prepared from **21** (833 mg, 3.56 mmol) as described for the preparation of precursor compound **17**. $[\alpha]_D^{25} = -35.0^\circ$ (c 1.07, CHCl_3); m.p. 68.0–69.0 °C; $^1\text{H NMR}$ (500 MHz, CDCl_3) δ 7.37-7.27 (5 H, m, aromatic), 5.16 (2 H, d, $J = 5.5$ Hz, $-\text{CH}_2\text{Ph}$), 4.62 (1 H, s, $-\text{NH}\text{Boc}$), 2.47-2.44 (1 H, m, H-2), 1.96-1.93 (1 H, m, H-1'), 1.43 (9 H, s, $t\text{Bu}$), 1.21 (3 H, d, $J = 7.0$ Hz, CH_3), 1.09-1.04 (1 H, brs, H-1), 0.76 (1 H, brs, H-3a), 0.64-0.60 (1 H, m, H-3b); $^{13}\text{C NMR}$ (125 MHz, CDCl_3) δ 175.3, 156.2, 136.2, 128.6, 128.2, 128.2, 79.3, 66.3, 42.2, 28.6, 28.4, 23.3, 15.9, 13.1; LRMS (ESI) m/z 342 $[(\text{M}+\text{Na})^+]$; Anal. calcd for $\text{C}_{18}\text{H}_{25}\text{NO}_4$: C, 67.69; H, 7.89; N, 4.39. Found: C, 67.39; H, 7.76; N, 4.45.



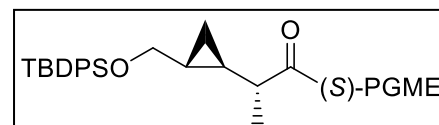
Target compound (III)

III (26.0 mg, 0.157 mmol, 2 steps 89%, as a white solid) was prepared from **23** (56.2 mg, 0.176 mmol) as described for the preparation of target compound **III**. $[\alpha]_D^{18} = -11.3^\circ$ (c 0.23, CH_3OH); $^1\text{H NMR}$ (500 MHz, CD_3OD) δ 2.62-2.58 (1 H, m, H-1'), 2.00-1.94 (1 H, m, H-2), 1.42-1.36 (1 H, m, H-1), 1.23 (3 H, d, $J = 7.0$ Hz, CH_3), 1.04-1.00 (1 H, m, H-3a), 0.84-0.80 (1 H, m, H-3b); $^{13}\text{C NMR}$ (125 MHz, CD_3OD) δ 178.4, 42.5, 28.9, 21.8, 16.5, 9.9; LRMS (ESI) m/z 130 $[(\text{M}+\text{H})^+]$; Anal. calcd for $\text{C}_6\text{H}_{11}\text{NO}_2 \cdot 1 \text{HCl} \cdot 0.1 \text{H}_2\text{O}$: C, 43.0; H, 7.34; N, 8.37. Found: C, 42.76; H, 7.02; N, 8.27.



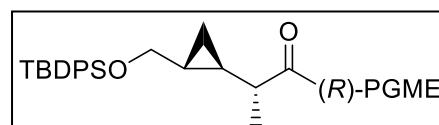
(S)-PGME amide (24)

To a solution of **14** (23.7 mg, 62.0 μmol) in DMF (0.50 mL) were added (*S*)-PGME $\cdot\text{HCl}$ (16.2 mg, 80.5 μmol), PyBOP (41.9 mg, 80.5 μmol), HOBT (10.8 mg, 80.5 μmol) and *N*-methyl morpholine (41 μL , 0.37 mmol) at 0 °C, and the mixture was stirred at rt for 3 h. The reaction mixture was partitioned between AcOEt and aq. HCl (1 M), and the organic layer was washed with sat. aq. NaHCO_3 and brine, dried (Na_2SO_4), and evaporated. The residue was purified by flash silica gel column chromatography (hexane/AcOEt = 6:1) to give **24** (32.5 mg, 61.3 μmol , 99%) as a white solid. $^1\text{H NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ 7.67-7.25 (15 H, m, aromatic), 6.77 (1 H, d, $J = 7.2$ Hz, NH), 5.58 (1 H, d, $J = 7.2$ Hz, NCH), 3.72-3.68 (4 H, m, OCH_3 and $-\text{CH}_a\text{HbOTBDPS}$), 3.36 (1 H, dd, $J = 11.2, 3.6$ Hz, $-\text{CH}_a\text{HbOTBDPS}$), 1.66-1.58 (1 H, m, H-1'), 1.28 (3 H, d, $J = 6.8$ Hz, CH_3), 1.05 (9 H, s, $t\text{Bu}$), 0.94-0.88 (1 H, m, H-2), 0.80-0.73 (1 H, m, H-1), 0.52-0.48 (2 H, m, H-3).



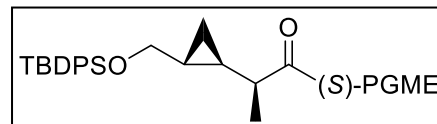
(R)-PGME amide (25)

25 (32.7 mg, 61.7 μmol , 90%, a colorless oil) was prepared from **14** (26.3 mg, 68.7 μmol) as described for the preparation of (*S*)-PGME amide **24** using (*R*)-PGME $\cdot\text{HCl}$ instead of (*S*)-PGME $\cdot\text{HCl}$. $^1\text{H NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ 7.68-7.31 (15 H, m, aromatic), 6.76 (1 H, d, $J = 6.8$ Hz, NH), 5.58 (1 H, d, $J = 6.8$ Hz, NCH), 3.73-3.69 (4 H, m, OCH_3 and $-\text{CH}_a\text{HbOTBDPS}$), 3.38 (1 H, dd, $J = 10.8, 3.6$ Hz, $-\text{CH}_a\text{HbOTBDPS}$), 1.63-1.56 (1 H, m, H-2'), 1.27 (3 H, d, $J = 6.8$ Hz, CH_3), 1.05 (9 H, s, $t\text{Bu}$), 0.96-0.89 (1 H, m, H-1), 0.86-0.79 (1 H, m, H-2), 0.56-0.48 (2 H, m, H-3).



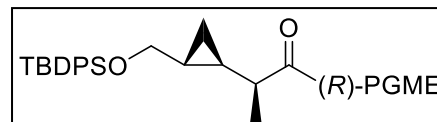
(S)-PGME amide (26)

26 (31.4 mg, 59.3 μmol , 91%, a white solid) was prepared from **20** (30.0 mg, 78.4 μmol) as described for the preparation of (S)-PGME amide **24**. ^1H NMR (500 MHz, CDCl_3) δ 7.66-7.28 (15 H, m, aromatic), 6.68 (1 H, d, $J = 7.0$ Hz, NH), 5.54 (1 H, d, $J = 7.0$ Hz, NCH), 3.77 (1 H, dd, $J = 11.0, 6.5$ Hz, $-\text{CH}_a\text{H}_b\text{OTBDPS}$), 3.66 (3 H, s, OCH_3), 3.48 (1 H, dd, $J = 11.0, 4.0$ Hz, $-\text{CH}_a\text{H}_b\text{OTBDPS}$), 1.80-1.74 (1 H, m, H-1'), 1.17 (3 H, d, $J = 7.0$ Hz, CH_3), 1.10-1.03 (10 H, m, H-2 and *t*Bu), 0.89-0.84 (1 H, m, H-1), 0.55-0.52 (1 H, m, H-3a), 0.40-0.37 (1 H, m, H-3b).



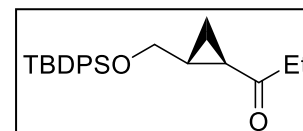
(R)-PGME amide (27)

27 (35.9 mg, 67.7 μmol , 96%, a colorless oil) was prepared from **14** (27.0 mg, 70.6 μmol) as described for the preparation of (R)-PGME amide **25**. ^1H NMR (500 MHz, CDCl_3) δ 7.65-7.24 (15 H, m, aromatic), 6.64 (1 H, d, $J = 7.0$ Hz, NH), 5.53 (1 H, d, $J = 7.0$ Hz, NCH), 3.74 (1 H, dd, $J = 11.0, 6.5$ Hz, $-\text{CH}_a\text{H}_b\text{OTBDPS}$), 3.70 (3 H, s, OCH_3), 3.36 (1 H, dd, $J = 11.0, 4.0$ Hz, $-\text{CH}_a\text{H}_b\text{OTBDPS}$), 1.78-1.72 (1 H, m, H-1'), 1.18 (3 H, d, $J = 7.0$ Hz, CH_3), 1.07-1.02 (10 H, m, H-2 and *t*Bu), 0.83-0.78 (1 H, m, H-1), 0.53-0.50 (1 H, m, H-3a), 0.37-0.33 (1 H, m, H-3b).



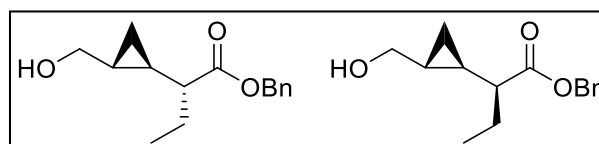
Ketone (28)

To a solution of **7** (1.10 g, 3.01 mmol) in THF (30 mL) was added EtMgBr (3.0 M soln. in THF, 1.67 mL, 5.02 mmol) at -78 $^\circ\text{C}$, and the mixture was stirred at same temperature for 4 h. After addition of sat. aq. NH_4Cl and removal of THF *in vacuo*, the residue was partitioned between AcOEt and H_2O . The organic layer was washed with brine, dried (Na_2SO_4), and evaporated. The residue was purified by silica gel column chromatography (hexane/AcOEt = 20/1) to give **28** (1.07 mg, 2.92 mmol, 97%) as a colorless oil. $[\alpha]_D^{19} = 72.9^\circ$ (c 0.81, CHCl_3); ^1H NMR (500 MHz, CDCl_3) δ 7.66-7.64 (4 H, m, aromatic), 7.45-7.37 (6 H, m, aromatic), 3.77 (1 H, dd, $J = 7.5, 6.0$ Hz, $-\text{CH}_a\text{H}_b\text{OH}$), 3.50 (1 H, dd, $J = 16.0, 6.0$ Hz, $-\text{CH}_a\text{H}_b\text{OH}$), 2.51 (2 H, q, $J = 9.0$ Hz, $-\text{CH}_2\text{CH}_3$), 1.84 (1 H, m, H-2), 1.67 (1 H, m, H-1), 1.18 (1 H, m, H-3a), 1.07 (3H, t, $J = 9.0$ Hz, CH_3), 1.083 (9 H, s, *t*Bu), 0.85 (1 H, m, H-3b); ^{13}C NMR (125 MHz, CDCl_3) δ 210.7, 135.5, 133.5, 129.7, 127.7, 64.7, 36.8, 26.8, 26.7, 25.3, 19.2, 14.4, 8.0; LRMS (ESI) m/z 389 $[(\text{M}+\text{Na})^+]$; Anal. calcd for $\text{C}_{23}\text{H}_{30}\text{O}_2\text{Si}$: C, 75.36; H, 8.25. Found: C, 75.24; H, 8.27.



Alcohol (31) and alcohol (32)

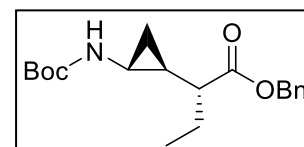
To a suspension of $\text{MeOCH}_3\text{PPh}_3\text{Cl}$ (2.33 g, 6.82 mmol) in THF (20 mL) was added NaHMDS (1.9 M soln. in THF, 4.3 mL, 8.2 mmol) at 0 $^\circ\text{C}$, and the mixture was stirred at same temperature for 1 h. To the mixture was added a solution of **28** (1.00 g, 2.73 mmol) in THF (5.0 mL) *via cannula*, and the resulting mixture was stirred at 0 $^\circ\text{C}$ for 3 h. After addition of AcOH and removal of THF *in vacuo*, the residue was partitioned between AcOEt and H_2O . The organic layer was washed with brine, dried (Na_2SO_4), and evaporated. The residue was passed through silica gel pad (hexane/AcOEt = 8:1) to give a crude product of a diastereomixture of olefin **29** as a colorless oil. To a solution of **29** in THF (37 mL) was added aq. HCl (12 M, 3.4 mL) at 0 $^\circ\text{C}$, and the mixture was stirred at the same temperature for 5 h. After addition of sat. aq. NaHCO_3 and removal of THF *in vacuo*, the residue was extracted with AcOEt. The organic layer was washed with sat. aq. NaHCO_3 and brine, dried (Na_2SO_4), and evaporated to



give the crude product of corresponding aldehyde as a colorless oil. To a suspension of the aforementioned aldehyde in aq. *t*BuOH (80%, 30 mL) was added 2-methyl-2-butene (2.3 mL, 22 mmol), sodium dihydrogenphosphate dehydrate (851 mg, 5.46 mmol) and sodium chlorite (987 mg, 10.9 mmol) at 0 °C, and the mixture was stirred at rt for 2.5 h. The reaction mixture was partitioned between CHCl₃ and aq. HCl (1 M). The organic layer was washed with brine, dried (Na₂SO₄), and evaporated to give the crude product of corresponding carboxylic acid as a colorless oil. To a solution of the aforementioned carboxylic acid in CH₂Cl₂ (25 mL) were added Et₃N (1.2 mL, 8.2 mmol), DMAP (33.3 mg, 273 μmol) and benzyl chloroformate (584 μL, 4.09 mmol), and the mixture was stirred at rt for 10 h. The reaction mixture was partitioned between AcOEt and aq. HCl (1 M). The organic layer was washed with brine, dried (Na₂SO₄), and evaporated. The residue was passed through silica gel pad (hexane/AcOEt = 10:1) to give the crude product of ester **30** (330 mg) as a colorless oil. To a solution of **30** in THF (20 mL) was added TBAF (1.0 M soln. in THF, 5.46 mL, 5.46 mmol), and the mixture was stirred at rt for 2 h. After removal of the solvent *in vacuo*, the residue was purified by silica gel column chromatography (hexane/AcOEt = 8:1–2:1) to give **31** (75.7 mg, 0.305 mmol, 5 steps 11%, more polar) as a colorless oil and **32** (50.5 mg, 0.203 mmol, 5 steps 7%, less polar) as a colorless oil. **31**: [α]_D²⁰ = 27.0° (*c* 0.81, CHCl₃); ¹H NMR (500 MHz, CDCl₃) δ 7.39-7.32 (5 H, m, aromatic), 5.15 (2 H, d, *J* = 12.0 Hz, -CH₂Ph), 3.65 (1 H, dd, *J* = 5.0, 5.0 Hz, -CHaHbOH), 3.12 (1 H, dd, *J* = 5.0, 5.0 Hz, -CHaHbOH), 2.00 (1 H, s, OH), 1.83-1.75 (1 H, m, H-1'), 1.00-0.93 (4 H, m, H-2 and -CH₂CH₃), 0.84-0.79 (1H, m, H-1), 0.57-0.54 (1H, m, H-3a), 0.47-0.44 (1H, m, H-3b); ¹³C NMR (125 MHz, CD₃OD) δ 175.9, 135.9, 128.6, 128.3, 66.6, 66.3, 50.7, 25.4, 19.9, 18.7, 11.5, 9.9; LRMS (ESI) *m/z* 271 [(M+Na)⁺]; Anal. calcd for C₁₅H₂₀O₃•0.24H₂O: C, 71.31; H, 8.17. Found: C, 71.38; H, 8.08. **32**: [α]_D²⁰ = -31.6° (*c* 1.42, CHCl₃); ¹H NMR (500 MHz, CDCl₃) δ 7.38-7.32 (5 H, m, aromatic), 5.14 (2 H, s, -CH₂Ph), 3.48-3.45 (2 H, m, -CH₂OH), 1.82-1.74 (1 H, m, H-1'), 1.72-1.63 (2 H, m, -CH₂CH₃), 0.99-0.90 (4 H, m, H-2 and -CH₂CH₃), 0.90-0.85 (1 H, m, H-1), 0.56-0.52 (1 H, m, H-3a), 0.46-0.43 (1 H, m, H-3b); ¹³C NMR (125 MHz, CD₃OD) δ 175.3, 136.0, 128.5, 128.1, 128.0, 66.4, 66.1, 51.0, 25.6, 21.0, 19.2, 11.8, 8.6; LRMS (ESI) *m/z* 271 [(M+Na)⁺]; Anal. calcd for C₁₅H₂₀O₃•0.2H₂O: C, 71.52; H, 8.16. Found: C, 71.50; H, 8.07.

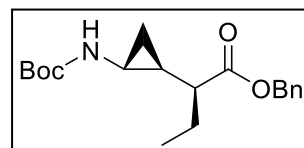
Precursor compound (34)

34 (307 mg, 0.921 mmol, 4 steps 28%, a white solid) was prepared from alcohol **31** (810 mg, 3.26 mmol) as described for the preparation of precursor compound **17**. [α]_D²⁰ = -23.8° (*c* 1.21, CHCl₃); m.p. 46.0–47.2 °C; ¹H NMR (500 MHz, CDCl₃) δ 7.37-7.30 (5 H, m, aromatic), 5.14 (2 H, s, -CH₂Ph), 4.70 (1 H, s, -NH₂Boc), 2.37-2.35 (1 H, m, H-1'), 1.89-1.81 (1 H, m, -CH₂CH₃), 1.70-1.65 (1 H, m, H-2), 1.44 (9 H, s, *t*Bu), 1.11-1.05 (1 H, m, H-1), 0.92 (3 H, t, *J* = 7.5 Hz, -CH₂CH₃), 0.79-0.66 (2 H, m, H-3a and H-3b); ¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃) δ 174.8, 156.2, 136.1, 128.5, 128.1, 128.0, 79.5, 66.1, 50.4, 29.4, 28.3, 25.3, 22.8, 12.5, 11.9; LRMS (ESI) *m/z* 356 [(M+Na)⁺]; Anal. calcd for C₁₉H₂₇NO₄: C, 68.44; H, 8.16; N, 4.20. Found: C, 68.30; H, 8.13; N, 4.18.



Precursor compound (36)

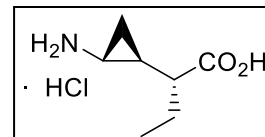
36 (270 mg, 0.809 mmol, 4 steps 35%, as a white solid) was prepared from **32** (570 mg, 2.29 mmol) as described for the preparation of precursor compound **17**. [α]_D²¹ = -40.6° (*c* 0.57, CHCl₃); m.p. 51.2–52.2 °C; ¹H NMR (500 MHz, CDCl₃) δ 7.38-7.33 (5 H, m, aromatic), 5.17 (2 H, s, -CH₂Ph), 4.58 (1 H, s, -NH₂Boc), 2.43-2.40 (1 H, m, H-1'), 1.77-1.68 (1 H, m, -CH₂CH₃), 1.65-1.62 (1 H, m, H-2), 1.43 (9 H, s, *t*Bu), 1.08-1.01 (1 H, m, H-1), 0.90 (3 H, t, *J* = 7.5 Hz, -CH₂CH₃), 0.82-0.77 (1 H,



m, H-3a), 0.65-0.61 (1 H, m, H-3a); ^{13}C NMR (100 MHz, CD_3OD) δ 174.7, 156.1, 136.2, 128.5, 128.2, 128.2, 79.3, 66.2, 49.9, 28.3, 28.0, 24.8, 21.9, 13.9; LRMS (ESI) m/z 356 $[(\text{M}+\text{Na})^+]$; Anal. calcd for $\text{C}_{19}\text{H}_{27}\text{NO}_4 \cdot 0.1\text{H}_2\text{O}$: C, 68.08; H, 8.18; N, 4.18. Found: C, 68.08; H, 8.14; N, 4.20.

Target compound (IVR)

IVR (22.0 mg, 0.123 mmol, 2 steps 82%, a white solid) was prepared from **34** (50.0 mg, 0.150 mmol) as described for the preparation of target compound **III R**. $[\alpha]_{\text{D}}^{23} = -40.3^\circ$ (c 1.07, CH_3OH); ^1H NMR (500 MHz, CD_3OD) δ 2.58-2.55 (1 H, m, H-1'), 1.82-1.73 (3 H, m, H-2 and $-\text{CH}_2\text{CH}_3$), 1.43-1.38 (1 H, m, H-1), 1.04-1.00 (1 H, m, H-3b), 0.99 (3 H, t, $J = 7.5$ Hz, $-\text{CH}_2\text{CH}_3$), 0.90-0.86 (1 H, m, H-3a); ^{13}C NMR (100 MHz, CD_3OD) δ 177.9, 50.5, 29.1, 26.3, 20.6, 12.0, 10.3; LRMS (ESI) m/z 144 $[(\text{M}+\text{H})^+]$; Anal. calcd for $\text{C}_7\text{H}_{14}\text{ClNO}_2 \cdot 0.1\text{H}_2\text{O}$: C, 46.34; H, 7.89; N, 7.72. Found: C, 46.16; H, 7.86; N, 7.62.



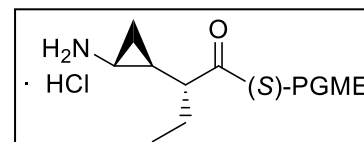
Target compound (IVS)

IVS (29.0 mg, 0.161 mmol, 2 steps quant., a white solid) was prepared from **36** (50.0 mg, 0.150 mmol) as described for the preparation of target compound **IV R**. $[\alpha]_{\text{D}}^{23} = -19.9^\circ$ (c 0.52, CH_3OH); ^1H NMR (500 MHz, CD_3OD) δ 2.58-2.55 (1 H, m, H-1'), 1.82-1.77 (1 H, m, H-2), 1.75-1.66 (2 H, m, $-\text{CH}_2\text{CH}_3$), 1.43-1.37 (1 H, m, H-1), 1.07-1.02 (1 H, m, H-3b), 0.96 (3 H, t, $J = 7.5$ Hz, $-\text{CH}_2\text{CH}_3$), 0.84-0.80 (1 H, m, H-3a); ^{13}C NMR (100 MHz, CD_3OD) δ 178.1, 50.0, 28.5, 25.9, 20.4, 11.7, 10.5; LRMS (ESI) m/z 144 $[(\text{M}+\text{H})^+]$; Anal. calcd for $\text{C}_7\text{H}_{14}\text{ClNO}_2 \cdot 0.2\text{H}_2\text{O}$: C, 45.88; H, 7.92; N, 7.64. Found: C, 45.78; H, 7.89; N, 7.53.



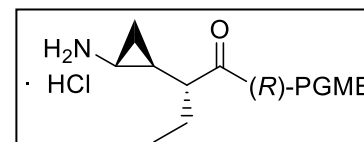
(S)-PGME (39)

39 (24.7 mg, 75.6 μmol , 80%, a white solid) was prepared from **37** (23.0 mg, 94.6 μmol) as described for the preparation of (S)-PGME amide **24**. $[\alpha]_{\text{D}}^{19} = -91.4^\circ$ (c 1.34, CH_3OH); ^1H NMR (400 MHz, CD_3OD) δ 8.77 (1 H, d, $J = 7.6$ Hz, NH), 7.38-7.34 (5 H, m, aromatic), 5.49 (1 H, d, $J = 7.6$ Hz, NCH), 3.71 (3 H, s, CH_3), 2.60-2.57 (1 H, m, H-2), 1.90-1.85 (1 H, m, H-1'), 1.79-1.72 (1 H, m, $-\text{CH}_a\text{H}_b\text{CH}_3$), 1.72-1.65 (1 H, m, $-\text{CH}_a\text{H}_b\text{CH}_3$), 1.40-1.32 (1 H, m, H-1), 1.00-0.95 (2 H, m, H-3a and H-3b), 0.86 (3 H, t, $J = 7.2$ Hz, $-\text{CH}_2\text{CH}_3$); ^{13}C NMR (100 MHz, CD_3OD) δ 176.2, 172.5, 137.2, 130.0, 129.7, 128.9, 58.3, 53.0, 50.4, 29.2, 26.3, 21.2, 12.1, 9.8; LRMS (ESI) m/z 291 $[(\text{M}+\text{H})^+]$; HRMS (ESI) calcd for $\text{C}_{16}\text{H}_{22}\text{N}_2\text{O}_3$: 291.1709, found 291.1703 $[(\text{M}+\text{H})^+]$.



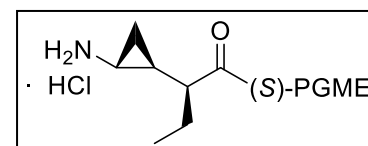
(R)-PGME (40)

40 (26.6 mg, 81.4 μmol , 81%, a white solid) was prepared from **37** (24.6 mg, 0.101 mmol) as described for the preparation of (R)-PGME amide **25**. $[\alpha]_{\text{D}}^{20} = 57.2^\circ$ (c 1.23, CH_3OH); ^1H NMR (400 MHz, CD_3OD) δ 8.76 (1 H, d, $J = 7.6$ Hz, NH), 7.40-7.35 (5 H, m, aromatic), 5.47 (1 H, d, $J = 7.2$ Hz, NCH), 3.70 (3 H, s, CH_3), 2.51-2.47 (1 H, m, H-2), 1.81 (1 H, m, $-\text{CH}_a\text{H}_b\text{CH}_3$), 1.85-1.76 (1 H, m, H-1'), 1.76-1.69 (1 H, m, $-\text{CH}_a\text{H}_b\text{CH}_3$), 1.38-1.30 (1 H, m, H-1), 1.01 (3 H, t, $J = 7.2$ Hz, $-\text{CH}_2\text{CH}_3$), 0.89-0.83 (1 H, m, H-3b), 0.81-0.76 (1 H, m, H-3a); ^{13}C NMR (100 MHz, CD_3OD) δ 176.3, 172.4, 137.2, 130.0, 129.7, 128.9, 58.3, 52.9, 50.8, 29.1, 26.5, 21.2, 12.1, 9.9; LRMS (ESI) m/z 291 $[(\text{M}+\text{Na})^+]$; HRMS (ESI) calcd for $\text{C}_{16}\text{H}_{22}\text{N}_2\text{O}_3$: 291.1709, found 291.1703 $[(\text{M}+\text{H})^+]$.



(S)-PGME (41)

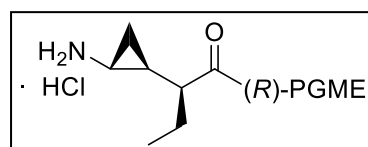
41 (32.0 mg, 97.9 μmol , 98%, a white solid) was prepared from **38** (24.3 mg, 0.100 mmol) as described for the preparation of (S)-PGME amide **24**. $[\alpha]_{\text{D}}^{18} = 86.8^{\circ}$ (*c* 1.25, CH_3OH); $^1\text{H NMR}$ (400 MHz, CD_3OD) δ 8.75 (1 H, d, $J = 7.2$ Hz, NH), 7.50–7.35 (5



H, m, aromatic), 5.51 (1 H, d, $J = 6.5$ Hz, NCH), 3.73 (3 H, s, CH_3), 2.66–2.63 (1 H, m, H-2), 1.92–1.86 (1 H, m, H-1'), 1.74–1.63 (1 H, m, $-\text{CH}_a\text{H}_b\text{CH}_3$), 1.62–1.52 (1 H, m, $-\text{CH}_a\text{H}_b\text{CH}_3$), 1.36–1.29 (1 H, m, H-1), 1.05–1.00 (1 H, m, H-3b), 0.90–0.85 (1 H, m, H-3a), 0.81 (3 H, t, $J = 7.6$ Hz, $-\text{CH}_2\text{CH}_3$); $^{13}\text{C NMR}$ (100 MHz, CD_3OD) δ 176.4, 173.0, 137.0, 130.0, 129.8, 128.9, 58.2, 53.2, 50.0, 27.8, 26.1, 21.1, 12.0, 10.9; LRMS (ESI) m/z 291 $[(\text{M}+\text{H})^+]$; HRMS (ESI) calcd for $\text{C}_{16}\text{H}_{22}\text{N}_2\text{O}_3$: 291.1709, found 291.1703 $[(\text{M}+\text{H})^+]$.

(R)-PGME (42)

42 (24.0 mg, 73.4 μmol , 73%, a white solid) was prepared from **38** (24.3 mg, 0.100 mmol) as described for the preparation of (R)-PGME amide **25**. $[\alpha]_{\text{D}}^{19} = -100.5^{\circ}$ (*c* 1.17, CH_3OH); $^1\text{H NMR}$ (400 MHz, CD_3OD) δ 8.76 (1 H, d, $J = 7.2$ Hz, NH),

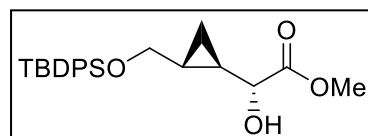


7.41–7.38 (5 H, m, aromatic), 5.45 (1 H, d, $J = 7.2$ Hz, NCH), 3.70 (3 H, s, CH_3), 2.48–2.45 (1 H, m, H-2), 1.92–1.86 (1 H, m, H-1'), 1.85–1.73 (1 H, m, $-\text{CH}_a\text{H}_b\text{CH}_3$), 1.74–1.62 (1 H, m, $-\text{CH}_a\text{H}_b\text{CH}_3$), 1.43–1.36 (1 H, m, H-1), 1.03–0.98 (4 H, m, H-3b and $-\text{CH}_2\text{CH}_3$), 0.77–0.71 (1 H, m, H-3a); $^{13}\text{C NMR}$ (100 MHz, CD_3OD) δ 176.6, 172.5, 136.9, 130.0, 129.8, 129.0, 58.5, 52.9, 50.2, 27.8, 26.6, 20.8, 11.9, 10.6; LRMS (ESI) m/z 291 $[(\text{M}+\text{H})^+]$; HRMS (ESI) calcd for $\text{C}_{16}\text{H}_{22}\text{N}_2\text{O}_3$: 291.1709, found 291.1703 $[(\text{M}+\text{H})^+]$.

第四節

Compound (44)

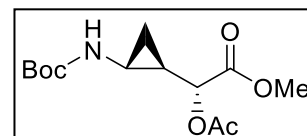
To a solution of **12** (1.93 g, 3.66 mmol) in THF (30 mL) was added NaHMDS (1.9 M soln. in THF, 3.9 mL, 7.3 mmol) at -78°C and the mixture was stirred at -78°C for 1 h. To the mixture was added Davis oxaziridine (1.43 g, 5.49 mmol) and the



resulting mixture was stirred at -78°C for 25 h. After addition of AcOH (1.2 mL) and removal of THF *in vacuo*, the residue was partitioned with AcOEt and H_2O . The organic layer was washed with brine, dried (Na_2SO_4), and evaporated. The residue was passed through a silica gel pad (hexane/AcOEt = 20:1) to give the crude product of **43** (920 mg) as a colorless viscous oil. A solution of MeMgBr (3.0 M, 2.3 mL, 6.8 mmol) in Et_2O was added to MeOH (12 mL) at 0°C , and the suspension was stirred at 0°C for 10 min. To the suspension was added a solution of **43** in MeOH (5.0 mL) *via cannula*, and the resulting mixture was stirred at 0°C for 2 h. After addition of sat. aq. NH_4Cl , the mixture was extracted with CHCl_3 . The organic layer was washed with H_2O , dried (Na_2SO_4), and evaporated. The residue was purified by flash silica gel column chromatography (hexane/AcOEt = 12:1) to give **44** (550 mg, 1.38 mmol, 2 steps 41%) as a colorless oil. $[\alpha]_{\text{D}}^{16} = -30.0^{\circ}$ (*c* 0.98, CHCl_3); $^1\text{H NMR}$ (500 MHz, CDCl_3) δ 7.66–7.64 (4 H, m, aromatic), 7.43–7.36 (6 H, m, aromatic), 3.89 (1 H, dd, $J = 6.0, 6.0$ Hz, H-1'), 3.77 (3 H, s, OCH_3), 3.65 (1 H, dd, $J = 10.5, 5.0$ Hz, $-\text{CH}_a\text{H}_b\text{OTBDPS}$), 3.49 (1 H, dd, $J = 10.5, 6.5$ Hz, $-\text{CH}_a\text{H}_b\text{OTBDPS}$), 2.59 (1 H, d, OH), 1.18–1.14 (1 H, m, H-2), 1.08–1.04 (10 H, m, H-1 and *t*Bu), 0.72–0.68 (1 H, m, H-3a), 0.50–0.46 (1 H, m, H-3b); $^{13}\text{C NMR}$ (125 MHz, CDCl_3) δ 175.0, 135.6, 135.5, 133.8, 133.8, 129.6, 127.6, 71.3, 65.8, 52.5, 26.8, 19.8, 19.2, 17.3, 6.5; HRMS (ESI) calcd for $\text{C}_{23}\text{H}_{30}\text{O}_4\text{SiNa}$: 421.1811, found 421.1819 $[(\text{M}+\text{Na})^+]$.

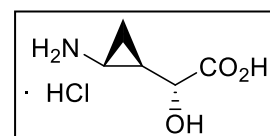
Precursor compound (48)

A mixture of **44** (238 mg, 0.597 mmol), Et₃N (250 μL, 1.79 mmol), DMAP (7.30 mg, 0.0597 mmol) and acetic anhydride (110 μL, 1.19 mmol) in CH₂Cl₂ (6.0 mL) was stirred at 0 °C for 1 h. The reaction mixture was partitioned between AcOEt and HCl (1 M), and the organic layer was washed with sat. aq. NaHCO₃ and brine, dried (Na₂SO₄), and evaporated. The residue was passed through a silica gel pad (hexane/AcOEt = 15:1) to give the crude product of **45** (243 mg) as a colorless oil. A mixture of **45** and NH₄F (204 mg, 5.52 mmol) in MeOH (5.0 mL) was stirred at rt for 12 h and under reflux conditions for 2 h. After removal of the solvent *in vacuo*, the residue was partitioned between CHCl₃ and H₂O. The organic layer was dried (Na₂SO₄) and evaporated. The residue was passed through a silica gel pad (hexane/AcOEt = 2:1) to give the crude product of the corresponding alcohol (91.0 mg) as a colorless oil. To a solution of the aforementioned alcohol in CH₂Cl₂ (4.0 mL) was added Dess–Martin periodinane (477 g, 1.13 mmol) at 0 °C, and the mixture was stirred at rt for 3 h. After addition of a mixture of sat. aq. Na₂S₂O₃ and sat. aq. NaHCO₃ (1:1), the resulting mixture was stirred vigorously and extracted with CHCl₃. The organic layer was washed H₂O, dried (Na₂SO₄), and evaporated to give the crude product of corresponding aldehyde as a colorless oil. To a suspension of the aforementioned aldehyde in aq. *t*BuOH (80%, 5 mL) were added 2-methyl-2-butene (380 μL, 3.60 mmol), sodium dihydrogenphosphate dehydrate (140 mg, 0.900 mmol) and sodium chlorite (163 mg, 1.80 mmol) at 0 °C, and the mixture was stirred at rt for 2 h. The resulting mixture was partitioned between CHCl₃ and aq. HCl (1 M), and the organic layer was washed with brine, dried (Na₂SO₄), and evaporated. The residue was passed through a short silica gel pad (hexane/AcOEt = 2/1) to give the corresponding carboxylic acid (82.0 mg) as a colorless oil. To a solution of the aforementioned carboxylic acid in CH₂Cl₂ (4.0 mL) were added Et₃N (530 μL, 3.79 mmol) and DPPA (250 μL, 1.14 mmol), and the mixture was stirred at rt for 5 h. The reaction mixture was partitioned between AcOEt and H₂O. The organic layer was washed with brine, dried (Na₂SO₄), and evaporated. The residue was passed through a silica gel pad (hexane/AcOEt = 20/1) to give the corresponding acyl azide (83.8 mg) as a colorless oil. A solution of the aforementioned acyl azide in *t*BuOH (4.0 mL) was stirred under reflux conditions for 21 h. After removal of the solvent *in vacuo*, the residue was purified by silica gel column chromatography (hexane/AcOEt = 8/1) to give **48** (78.0 mg, 0.272 mmol, 6 steps 46%) as a white solid. $[\alpha]_D^{16} = -51.1^\circ$ (*c* 0.23, CHCl₃); m.p. 93.0–94.0 °C; ¹H NMR (500 MHz, CDCl₃) δ 4.77 (1 H, s, -NH₂Boc), 4.56 (1 H, brs, H-1'), 3.77 (3 H, s, OCH₃), 2.63-1.99 (1 H, m, H-2), 2.15 (3 H, s, COCH₃), 1.44 (9 H, s, *t*Bu), 1.40-1.35 (1 H, m, H-1), 1.01-0.97 (1 H, m, H-3a), 0.92-0.88 (1 H, m, H-3a); ¹³C NMR (125 MHz, CDCl₃) δ 170.4, 169.6, 156.0, 79.7, 73.1, 52.4, 28.4, 20.9, 20.7, 11.6; HRMS (ESI) calcd for C₁₃H₂₁NO₆Na: 310.1267, found 310.1261 [(M+Na)⁺].



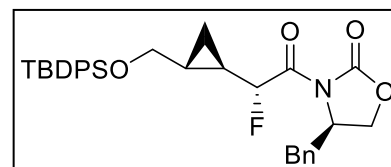
Target compound (V-1)

A solution of **42** (25.7 mg, 89.5 μmol) in aq. HCl (4 M, 1.0 mL) was stirred under reflux conditions for 5 h. The resulting mixture was evaporated and the residue was partitioned between H₂O and CHCl₃. The water layer was evaporated to give **V-1** (15.1 mg, 90.1 μmol, quant.) as a white solid. $[\alpha]_D^{16} = -25.5^\circ$ (*c* 0.55, CH₃OH); ¹H NMR (500 MHz, CD₃OD) δ 3.98 (1 H, brs, H-1'), 2.73-2.70 (1 H, m, H-2), 1.70-1.62 (1 H, m, H-1), 1.18-1.02 (2 H, m, H-3a and H-3b); ¹³C NMR (125 MHz, CD₃OD) δ 176.2, 69.6, 26.5, 21.5, 8.2; LRMS (ESI) *m/z* 132 [(M+H)⁺]; Anal. calcd for C₅H₉NO₃•1 HCl•0.2 H₂O: C, 35.08; H, 6.12; N, 8.18. Found: C, 34.80; H, 5.96; N, 8.02.



Compound (49)

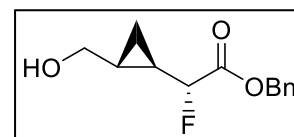
To a solution of **12** (1.06 g, 2.00 mmol) in THF (15 mL) was added NaHMDS (1.9 M soln. in THF, 1.60 mL, 3.00 mmol) at $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$, and the mixture was stirred at $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ for 1 h. To the mixture was added a solution of *N*-fluorobenzenesulfonimide



(946 mg, 3.00 mmol) in THF (5.0 mL) *via cannula*, and the resulting mixture was stirred at $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ for 2 h. After addition of AcOH and removal of THF *in vacuo*, the residue was partitioned between CHCl_3 and sat. aq. NH_4Cl . The organic layer was dried (Na_2SO_4) and evaporated. The residue was purified by flash silica gel column chromatography (hexane/AcOEt = 10:1) to give **49** (484 mg, 0.887 mmol, 44%) as a colorless oil. $[\alpha]_{\text{D}}^{16} = -36.9^{\circ}$ (c 0.89, CHCl_3); ^1H NMR (500 MHz, CDCl_3) δ 7.64-7.62 (4 H, m, aromatic), 7.41-7.19 (11 H, m, aromatic), 5.83 (1 H, dd, $J = 49.0, 6.0$ Hz, H-1'), 4.67-4.62 (1 H, m, $-\text{NCH}(\text{Bn})\text{CH}_2\text{O}-$), 4.16 (1 H, dd, $J = 9.0, 3.0$ Hz, $-\text{NCH}(\text{Bn})\text{CH}_a\text{H}_b\text{O}-$), 4.05 (1 H, dd, $J = 9.0, 9.0$ Hz, $-\text{NCH}(\text{Bn})\text{CH}_a\text{H}_b\text{O}-$), 3.74 (1 H, dd, $J = 11.0, 5.0$ Hz, $-\text{CH}_a\text{H}_b\text{OTBDPS}$), 3.44 (1 H, dd, $J = 11.0, 6.0$ Hz, $-\text{CH}_a\text{H}_b\text{OTBDPS}$), 3.36 (1 H, dd, $J = 13.0, 3.0$ Hz, $-\text{NCH}(\text{CH}_a\text{H}_b\text{Ph})\text{CH}_2\text{O}-$), 1.43-1.33 (2 H, m, H-1 and H-2), 1.04 (9 H, s, *t*Bu), 0.92-0.87 (1 H, m, H-3a), 0.58-0.54 (1 H, m, H-3b); ^{13}C NMR (125 MHz, CDCl_3) δ 152.9, 135.5, 134.9, 133.8, 129.7, 129.6, 129.4, 129.0, 127.7, 127.6, 127.5, 66.8, 65.6, 56.4, 37.5, 26.8, 19.2, 17.8, 17.8, 17.6; ^{19}F NMR (376 MHz, CDCl_3) δ -195.3 (1 F, d, $J = 49.0$ Hz); HRMS (ESI) calcd for $\text{C}_{32}\text{H}_{36}\text{NFO}_4\text{SiNa}$: 568.2295, found 568.2291 $[(\text{M}+\text{Na})^+]$.

Alcohol (51)

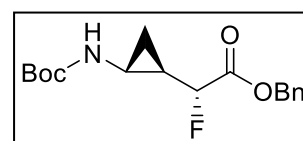
To a solution of BnOH (190 μL , 1.80 mmol) in THF (5.0 mL) was added *n*BuLi (1.6 M soln. in THF, 0.520 mL, 1.35 mmol) at $0\text{ }^{\circ}\text{C}$, and the suspension was stirred at $0\text{ }^{\circ}\text{C}$ for 30 min. To the mixture was added a solution of **49** (474 mg, 0.869 mmol) in THF (4.0 mL) *via*



cannula, and the resulting mixture was stirred at $0\text{ }^{\circ}\text{C}$ for 2 h. After addition of sat. aq. NH_4Cl , the resulting mixture was extracted with AcOEt. The organic layer was washed with H_2O and brine, dried (Na_2SO_4), and evaporated. The residue was passed through a silica gel pad (hexane/AcOEt = 15:1) to give the crude product of **51** (351 mg) as a colorless oil. A mixture of **50**, TBAF (1.0 M soln. in THF, 1.00 mL, 1.00 mmol) and AcOH (40 μL , 0.702 mmol) in THF (7.0 mL) was stirred at rt for 5 h. After removal of the solvent *in vacuo*, the residue was purified by silica column chromatography (hexane/AcOEt = 10:1) to give **51** (158 mg, 0.663 mmol, 2 steps 76%) as a colorless oil. $[\alpha]_{\text{D}}^{17} = -21.1^{\circ}$ (c 1.02, CHCl_3); ^1H NMR (500 MHz, CDCl_3) δ 7.38-7.35 (5 H, m, aromatic), 5.24 (2 H, s, $-\text{CH}_2\text{Ph}$), 4.47 (1 H, dd, $J = 49.0, 6.0$ Hz, H-1'), 3.53 (1 H, dd, $J = 14.0, 8.0$ Hz, $-\text{CH}_a\text{H}_b\text{OH}$), 3.42 (1 H, dd, $J = 14.0, 9.0$ Hz, $-\text{CH}_a\text{H}_b\text{OH}$), 1.65 (1 H, s, OH), 1.36-1.18 (2 H, m, H-1 and H-2), 0.86-0.80 (1 H, m, H-3a), 0.70-0.64 (1 H, m, H-3b); ^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3) δ 169.9, 135.0, 128.7, 128.6, 128.5, 128.4, 90.5, 67.1, 65.2, 19.2, 18.2, 7.3; ^{19}F NMR (376 MHz, CDCl_3) δ -189.3 (1 F, d, $J = 49.0$ Hz); HRMS (ESI) calcd for $\text{C}_{13}\text{H}_{15}\text{FO}_3\text{Na}$: 261.0903, found 261.0897 $[(\text{M}+\text{Na})^+]$.

Precursor compound (53)

53 (106 mg, 0.327 mmol, 4 steps 50%, as a white solid) was prepared from **51** (158 mg, 0.663 mmol) as described for the preparation of precursor compound **17**. $[\alpha]_{\text{D}}^{23} = -18.7^{\circ}$ (c 0.35, CHCl_3); m.p. $93.5\text{--}94.0\text{ }^{\circ}\text{C}$; ^1H NMR (500 MHz, CDCl_3) δ 7.38-7.34 (5 H, m,

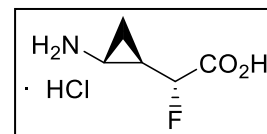


aromatic), 5.25 (2 H, d, $J = 5.5$ Hz, $-\text{CH}_2\text{Ph}$), 4.68 (1 H, s, $-\text{NH}\text{Boc}$), 4.52 (1 H, brs, H-1'), 2.67 (1 H, brs, H-2), 1.48-1.39 (10 H, m, *t*Bu and H-1), 1.00 (1 H, mrs, H-3a), 0.92 (1 H, brs, H-3b); ^{13}C NMR (125 MHz, CDCl_3) δ 168.5, 156.0, 135.1, 128.6, 128.6, 128.4, 89.0, 79.8, 67.2, 28.3, 27.2, 21.7, 11.1; ^{19}F NMR (470 MHz, CDCl_3) δ -192.3 (1 F, d,

$J = 46.5$ Hz); HRMS (ESI) calcd for $C_{17}H_{22}FNO_4Na$: 346.1431, found 436.1425 $[(M+Na)^+]$.

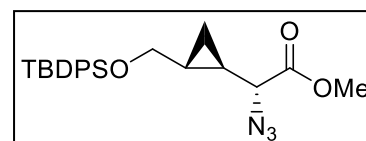
Target compound (V-2)

V-2 (16.6 mg, 97.9 μ mol, 98%, a white solid) was prepared from **53** (32.6 mg, 100 μ mol) as described for the preparation of target compound (**V-1**). $[\alpha]_D^{14} = -50.7^\circ$ (c 0.59, CH_3OH); 1H NMR (500 MHz, CD_3OD) δ 4.65 (1 H, dd, $J = 47.5, 7.5$ Hz, H-1'), 2.87-2.84 (1 H, m, H-2), 1.84-1.76 (1 H, m, H-1), 1.25-1.16 (2 H, m, H-3a and H-3b); ^{13}C NMR (125 MHz, CD_3OD) δ 171.5, 89.0, 27.3, 19.9, 8.76; ^{19}F NMR (470 MHz, CD_3OD) δ -190.1 (1 F, d, $J = 47.5$ Hz); LRMS (ESI) m/z 134 $[(M+H)^+]$; Anal. calcd for $C_5H_9NO_3 \cdot 1 HCl \cdot 0.3 H_2O$: C, 34.32; H, 5.53; N, 8.00. Found: C, 34.27; H, 5.30; N, 7.87.



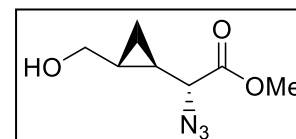
Compound (55)

To a solution of **12** (560 mg, 1.06 mmol) in THF (7.0 mL) was added KHMDS (0.5 M in toluene, 3.20 mL, 1.59 mmol) at $-78^\circ C$ and the mixture was stirred at $-78^\circ C$ for 2h. To the mixture was added a cooled solution ($-78^\circ C$) of 2,4,6-triisopropylbenzenesulfonyl azide (491 mg, 1.59 mmol) in THF (3.0 mL) *via cannula*, and the resulting mixture was stirred at $-78^\circ C$ for 30 min. After addition of glacial AcOH (255 μ L, 4.45 mmol), the mixture was warmed slowly to rt over 8 h and stirred at rt for 42 h. After addition of sat. aq. $NaHCO_3$ and removal of THF *in vacuo*, the residue was extracted with $CHCl_3$. The organic layer was washed with H_2O and brine, dried (Na_2SO_4), and evaporated. The residue was passed through a silica gel pad (hexane/AcOEt = 20:1) to give the crude product of **54** (260 mg) as a colorless oil. A solution of MeMgBr (3.0 M, 1.3 mL, 4.0 mmol) in Et_2O was added to MeOH (7.0 mL) at $0^\circ C$, and the suspension was stirred at $0^\circ C$ for 10 min. To the suspension was added a solution of **54** in MeOH (3.0 mL) *via cannula*, and the resulting mixture was stirred at $0^\circ C$ for 1 h. After addition of sat. aq. NH_4Cl , the mixture was extracted with $CHCl_3$. The organic layer was washed with H_2O , dried (Na_2SO_4), and evaporated. The residue was purified by flash silica gel column chromatography (hexane/AcOEt = 10:1) to give **55** (171 mg, 0.403 mmol, 2steps 38%) as a colorless oil. $[\alpha]_D^{16} = -21.9^\circ$ (c 1.37, $CHCl_3$); 1H NMR (500 MHz, $CDCl_3$) δ 7.70-7.65 (4 H, m, aromatic), 7.44-7.26 (6 H, m, aromatic), 3.79 (3 H, s, OCH_3), 3.66 (1 H, dd, $J = 11.0, 5.5$ Hz, - CH_aH_b OTBDPS), 3.58 (1 H, dd, $J = 11.0, 6.5$ Hz, - CH_aH_b OTBDPS), 3.28 (1 H, d, $J = 10.0$ Hz, H-1'), 1.28-1.23 (1 H, m, H-2), 1.20-1.16 (1 H, m, H-1), 1.05 (9 H, s, tBu), 0.70-0.63 (2 H, m, H-3a and H-3b); ^{13}C NMR (125 MHz, $CDCl_3$) δ 170.4, 135.6, 135.6, 133.6, 129.6, 127.7, 65.1, 65.0, 52.6, 26.8, 19.6, 19.2, 17.1, 7.8; HRMS (ESI) calcd for $C_{23}H_{29}N_3O_3SiNa$: 446.1876, found 446.1870 $[(M+Na)^+]$.



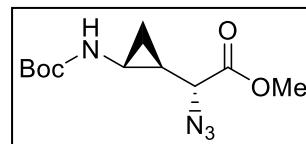
Alcohol (56)

A mixture of **55** (323 mg, 0.763 mmol) and NH_4F (282 mg, 7.63 mmol) in MeOH (7.0 mL) was stirred at rt for 25 h. After removal of the solvent *in vacuo*, the residue was partitioned between AcOEt and H_2O . The organic layer was dried (Na_2SO_4) and evaporated. The residue was purified by silica gel column chromatography (hexane/AcOEt = 3:1) to give **56** (135 mg, 0.726 mmol, 2 steps 95%) as a colorless oil. $[\alpha]_D^{17} = 11.2^\circ$ (c 0.41, $CHCl_3$); 1H NMR (500 MHz, $CDCl_3$) δ 3.82 (3 H, s, OCH_3), 3.59 (1 H, dd, $J = 14.0, 6.5$ Hz, - CH_aH_b OH), 3.42 (1 H, dd, $J = 14.0, 6.5$ Hz, - CH_aH_b OH), 3.42 (1 H, d, $J = 8.0$ Hz, H-1'), 1.97 (1 H, s, OH), 1.27-1.18 (2 H, m, H-1 and H-2), 0.82-0.78 (1 H, m, H-3a), 0.71-0.68 (1 H, m, H-3b); ^{13}C NMR (125 MHz, $CDCl_3$) δ 170.2, 65.2, 64.5, 52.7, 19.7, 17.6, 8.1; HRMS (ESI) calcd for $C_7H_{11}N_3O_3Na$: 208.0698, found 208.0700 $[(M+Na)^+]$.



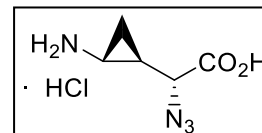
Precursor compound (58)

58 (84.3 mg, 0.312 mmol, 4 steps 75%, as a white solid) was prepared from **56** (76.5 mg, 0.413 mmol) as described for the preparation of precursor compound **17**. $[\alpha]_D^{17} = -3.28^\circ$ (c 0.20, CHCl_3); m.p. 75.0–76.0 °C; ^1H NMR (500 MHz, CDCl_3) δ 4.81 (1 H, s, $-\text{NH}\text{Boc}$), 3.81 (3 H, s, OCH_3), 3.38 (1 H, brs, H-1'), 2.61 (1 H, brs, H-2), 1.45-1.36 (11 H, m, $t\text{Bu}$, H-1 and H-2), 0.99-0.92 (2 H, brs, H-3a and H-3b); ^{13}C NMR (125 MHz, CDCl_3) δ 169.8, 155.9, 79.7, 63.3, 52.6, 28.2, 20.9, 21.7, 12.0, 11.7; HRMS (ESI) calcd for $\text{C}_{11}\text{H}_{18}\text{N}_4\text{O}_4\text{Na}$ 293.1220, found 293.1226 $[(\text{M}+\text{Na})^+]$.



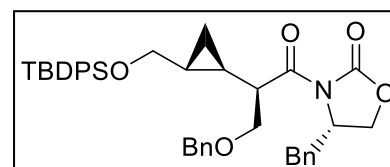
Target compound (V-3)

V-3 (18.7 mg, 96.2 μmol , quant., a brown solid) was prepared from **58** (26.0 mg, 96.2 μmol) as described for the preparation of target compound (**V-1**). $[\alpha]_D^{16} = 29.9^\circ$ (c 0.14, CH_3OH); ^1H NMR (500 MHz, CD_3OD) δ 3.85 (1 H, d, $J = 10.0$ Hz, H-1'), 2.76-2.72 (1 H, m, H-2), 1.73-1.66 (1 H, m, H-1), 1.19-1.10 (2 H, m, H-3a and H-3b); ^{13}C NMR (125 MHz, CD_3OD) δ 172.2, 63.1, 27.4, 19.4, 9.5; LRMS (ESI) m/z 157 $[(\text{M}+\text{H})^+]$; HRMS (ESI) calcd for $\text{C}_5\text{H}_9\text{N}_4\text{O}_2$ 157.0726, found 157.0724 $[(\text{M}+\text{H})^+]$.



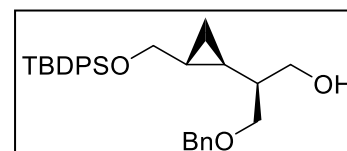
Compound (59)

To a solution of **18** (1.05 g, 2.00 mmol) in THF (15 mL) was added LHMDS (1.3 M soln. in THF, 2.30 mL, 3.00 mmol) at -78°C , and the mixture was stirred at -78°C for 1 h. To the mixture was added a solution of benzyl chloromethyl ether (550 μL , 4.00 mmol) and LiI (535 mg, 4.00 mmol) in THF (5.0 mL) *via cannula* and the resulting mixture was stirred at -78°C for 48 h. After addition of AcOH and removal of THF *in vacuo*, the residue was partitioned between CHCl_3 , and sat. aq. NH_4Cl . The organic layer was washed with H_2O , dried (Na_2SO_4), and evaporated. The residue was purified by flash silica gel column chromatography (hexane/AcOEt = 15:1) to give **59** (1.18 g, 1.82 mmol, 91%) as a colorless oil. $[\alpha]_D^{17} = 14.6^\circ$ (c 1.29, CHCl_3); ^1H NMR (500 MHz, CDCl_3) δ 7.64-7.62 (4 H, m, aromatic), 7.42-7.16 (11 H, m, aromatic), 4.66-4.62 (1 H, m, $-\text{NCH}(\text{Bn})\text{CH}_2\text{O}-$), 4.54 (2 H, d, $J = 3.0$ Hz, OCH_2Ph), 4.03-3.92 (3 H, m, $-\text{NCH}(\text{CH}_2\text{Ph})\text{CH}_2\text{O}-$ and $-\text{CHaHbOBn}$), 3.83-3.78 (1 H, m, H-1'), 3.72-3.66 (2 H, m, $-\text{CHaHbOTBDPS}$ and $-\text{CHaHbOBn}$), 3.29 (1 H, dd, $J = 11.0, 7.5$ Hz, $-\text{CHaHbOTBDPS}$), 3.18 (1 H, dd, $J = 13.5, 3.0$ Hz, $-\text{NCH}(\text{Bn})\text{CHaHbO}-$), 2.72 (1 H, dd, $J = 13.5, 4.5$ Hz, $-\text{NCH}(\text{Bn})\text{CHaHbO}-$), 1.23-1.17 (1 H, m, H-2), 1.02 (9 H, s, $t\text{Bu}$), 0.98-0.92 (1 H, m, H-1), 0.45-0.41 (2 H, m, H-3a and H-3b); ^{13}C NMR (125 MHz, CDCl_3) δ 174.5, 153.3, 138.2, 135.5, 135.2, 133.9, 133.8, 129.6, 128.8, 128.3, 127.6, 127.6, 127.5, 127.1, 73.1, 71.7, 66.8, 65.5, 55.2, 46.3, 37.5, 26.8, 19.2, 18.7, 16.5, 8.6; HRMS (ESI) calcd for $\text{C}_{40}\text{H}_{45}\text{NO}_5\text{SiNa}$: 670.2965, found 670.2953 $[(\text{M}+\text{Na})^+]$.



Alcohol (63)

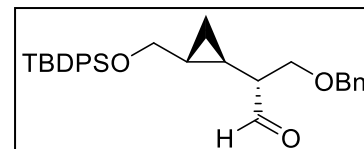
To a solution of **59** (68.0 mg, 0.105 mmol) in THF (0.50 mL) were added MeOH (4 μL) and LiBH_4 (1.0 M soln. in THF, 260 μL , 0.260 mmol) at 0°C , and the mixture was stirred at 0°C for 2 h. After addition of MeOH and sat. aq. NH_4Cl , the mixture was extracted with AcOEt. The organic layer was washed with H_2O and brine, dried (Na_2SO_4), and evaporated. The residue was purified by flash silica gel column chromatography (hexane/AcOEt = 10:1) to give **63** (44.5 mg, 0.0937 mmol, 89%) as a colorless oil. $[\alpha]_D^{17} = -28.1^\circ$ (c 0.55, CHCl_3); ^1H NMR (500 MHz, CDCl_3) δ 7.68-7.64 (4 H, m, aromatic), 7.44-7.26 (11 H, m, aromatic), 4.51 (2 H, d, $J = 7.0$ Hz, OCH_2Ph), 3.92-3.77 (3 H, m, $-\text{CH}_2\text{OH}$ and $-\text{CHaHbOBn}$), 3.60 (1 H, dd, J



= 9.0, 4.0 Hz, -CHaHbOBn), 3.48 (1 H, dd, $J = 9.0, 9.0$ Hz, -CHaHbOTBDPS), 3.17-3.15 (1 H, m, H-1'), 3.02 (1 H, dd, $J = 9.0, 9.0$ Hz, -CHaHbOTBDPS), 1.90-1.85 (1 H, m, H-1'), 1.09-1.02 (10 H, m, *t*Bu and H-2), 0.80-0.75 (1 H, m, H-1), 0.52-0.48 (1 H, m, H-3a), 0.44-0.40 (1 H, m, H-3b); ^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3) δ 138.2, 135.6, 133.4, 129.7, 128.4, 127.7, 127.6, 127.5, 73.3, 72.9, 68.1, 66.5, 45.5, 26.8, 20.0, 19.1, 16.8, 7.7; HRMS (ESI) calcd for $\text{C}_{30}\text{H}_{36}\text{O}_3\text{SiNa}$: 497.2488, found 497.2488 [(M+Na) $^+$].

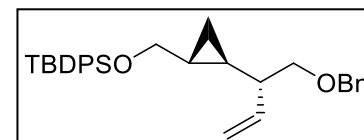
Aldehyde (60)

To a solution of **63** (215 mg, 0.453 mmol) in CH_2Cl_2 (5.0 mL) was added Dess–Martin periodinane (530 mg, 1.25 mmol) at 0 °C and the mixture was stirred at rt for 6 h. After addition of a mixture of sat. aq. $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ and sat. aq. NaHCO_3 (1:1), the resulting mixture was extracted with CHCl_3 . The organic layer was washed with H_2O , dried (Na_2SO_4), and evaporated. The residue was purified by flash silica gel column chromatography (hexane/AcOEt = 20:1) to give the **60** (190 mg, 0.402 mmol, 89%) as a colorless oil. $[\alpha]_{\text{D}}^{25} = 2.44^\circ$ (c 0.68, CHCl_3); ^1H NMR (500 MHz, CDCl_3) δ 9.75 (1 H, s, CHO), 7.65-7.63 (4 H, m, aromatic), 7.41-7.27 (11 H, m, aromatic), 4.51 (2 H, d, $J = 3.0$ Hz, OCH_2Ph), 3.75 (1 H, dd, $J = 9.0, 7.5$ Hz, H-1'), -CHaHbOBn), 3.70-3.65 (2 H, m, -CHaHbOBn and -CHaHbOTBDPS), 3.48 (1 H, dd, $J = 11.0, 6.5$ Hz, -CHaHbOTBDPS), 1.90-1.85 (1 H, m, H-1'), 1.09-1.02 (10 H, m, *t*Bu and H-2), 0.80-0.75 (1 H, m, H-1), 0.52-0.48 (1 H, m, H-3a), 0.44-0.40 (1 H, m, H-3b); ^{13}C NMR (125 MHz, CDCl_3) δ 202.8, 138.0, 135.5, 133.7, 129.6, 128.4, 127.6, 127.5, 68.9, 66.2, 56.0, 26.8, 19.5, 19.2, 13.5, 8.4; HRMS (ESI) calcd for $\text{C}_{31}\text{H}_{36}\text{O}_3\text{NaSi}$ 507.2326, found 507.2331 [(M+Na) $^+$].



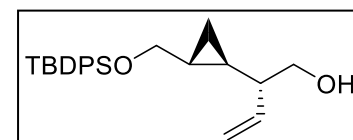
Olefin (61)

To a suspension of $\text{MeP}(\text{Ph})_3\text{Cl}$ (160 mg, 0.450 mmol) in THF (2.0 mL) was added *n*BuLi (1.54 M in hexane, 270 μL , 0.418 mmol) at 0 °C, and the mixture was stirred at same temperature for 1 h. To the mixture was added a solution of **60** (132 mg, 0.279 mmol) in THF (1.0 mL) *via cannula* at -78 °C, the resulting mixture was stirred at -78 °C for 7 h and warmed to 0 °C for 30 min. After addition of sat. aq. NH_4Cl and removal of THF *in vacuo*, the residue was extracted with AcOEt. The organic layer was washed brine, dried (Na_2SO_4), and evaporated. The residue was purified by flash silica gel column chromatography (hexane/AcOEt = 30:1) to give **61** (109 mg, 232 μmol , 83%) as a colorless viscous oil. $[\alpha]_{\text{D}}^{23} = -18.3^\circ$ (c 0.32, CHCl_3); ^1H NMR (500 MHz, CDCl_3) δ 7.68-7.65 (4 H, m, aromatic), 7.40-7.25 (11 H, m, aromatic), 5.87-5.80 (1 H, m, -CH=CH₂), 5.22 (1 H, d, $J = 17.5$ Hz, -CH=CHaHb), 5.07 (1 H, d, $J = 10.0$ Hz, -CH=CHaHb), 4.52 (2 H, d, $J = 3.0$ Hz, OCH_2Ph), 3.63 (1 H, dd, $J = 11.0, 6.0$ Hz, -CHaHbOTBDPS), 3.54 (1 H, dd, $J = 9.5, 5.0$ Hz, -CHaHbOBn), 3.48-3.43 (2 H, m, -CHaHbOBn and -CHaHbOTBDPS), 1.79-1.74 (1 H, m, H-1'), 1.04 (9 H, s, *t*Bu), 0.92-0.86 (1 H, m, H-2), 0.67-0.62 (1 H, m, H-1), 0.38-0.33 (2 H, m, H-3a and H-3b); ^{13}C NMR (125 MHz, CDCl_3) δ 139.1, 138.6, 135.6, 134.0, 129.5, 128.3, 127.6, 127.5, 127.4, 115.3, 73.7, 73.0, 67.2, 47.2, 26.8, 19.2, 19.2, 18.1, 8.7; HRMS (ESI) calcd for $\text{C}_{31}\text{H}_{36}\text{O}_2\text{SiNa}$: 493.2539, found 493.2540 [(M+Na) $^+$].



Alcohol (64)

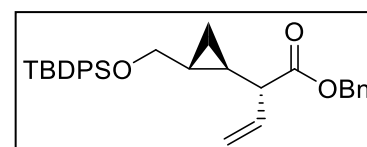
To a solution of **63** (23.5 mg, 0.0500 mmol) in $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{H}_2\text{O}$ (20/1, 1.05 mL) was added DDQ (45.4 mg, 0.200 mmol), and the mixture was stirred at 40 °C for 5 h. The mixture was partitioned between CHCl_3 and sat. aq. NaHCO_3 . The organic layer was



washed with brine, dried (Na_2SO_4), and evaporated. The residue was purified by flash silica gel column chromatography (hexane/AcOEt = 10:1) to give **64** (17.6 mg, 0.0462 mmol, 92%) as a colorless oil. $[\alpha]_{\text{D}}^{23} = -19.7^\circ$ (c 1.08, CHCl_3); ^1H NMR (500 MHz, CDCl_3) δ 7.68-7.65 (4 H, m, aromatic), 7.44-7.36 (6 H, m, aromatic), 5.75-5.68 (1 H, m, $-\text{CH}=\text{CH}_2$), 5.21 (1 H, d, $J = 17.0$ Hz, $-\text{CH}=\text{CH}_a\text{H}_b$), 5.14 (1 H, d, $J = 10.5$ Hz, $-\text{CH}=\text{CH}_a\text{H}_b$), 3.75-3.62 (3 H, m, $-\text{CH}_a\text{H}_b\text{OTBDPS}$ and $-\text{CH}_2\text{OBn}$), 3.33 (1 H, dd, $J = 10.5, 7.5$ Hz, $-\text{CH}_a\text{H}_b\text{OTBDPS}$), 1.84-1.78 (1 H, m, H-1'), 1.05 (9 H, s, $t\text{Bu}$), 0.97-0.90 (1 H, m, H-2), 0.65-0.60 (1 H, m, H-1), 0.40-0.34 (2 H, m, H-3a and H-3b); ^{13}C NMR (125 MHz, CDCl_3) δ 137.9, 135.6, 135.6, 133.8, 133.8, 129.6, 127.6, 117.1, 67.4, 66.0, 49.0, 26.8, 19.2, 18.1, 17.7, 8.1; HRMS (ESI) calcd for $\text{C}_{24}\text{H}_{32}\text{O}_2\text{NaSi}$ 403.2064, found 403.2070 $[(\text{M}+\text{Na})^+]$.

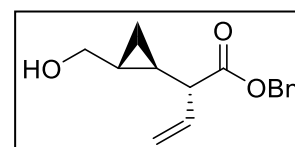
Ester (65)

To a solution of **64** (320 mg, 0.841 mmol) in CH_2Cl_2 (8.0 mL) was added Dess–Martin periodinane (890 mg, 2.10 mmol) at 0°C and the mixture was stirred at rt for 5 h. After addition of a solution of sat. aq. $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ and sat. aq. NaHCO_3 (1:1), the mixture was extracted with CHCl_3 . The organic layer washed with H_2O and brine, dried (Na_2SO_4), and evaporated. The residue was dissolved in aq. $t\text{BuOH}$ (80%, 8.0 mL), and to the solution were added 2-methyl-2-butene (710 μL , 6.72 mmol), sodium dihydrogenphosphate dehydrate (262 mg, 1.68 mmol) and sodium chlorite (303 mg, 3.36 mmol) at 0°C . After the mixture was stirred at rt for 12 h, the mixture was partitioned between CHCl_3 and aq. HCl (1 M). The organic layer was washed with brine, dried (Na_2SO_4), and evaporated. The residue was passed through a silica gel pad (hexane/AcOEt = 2:1) to give the crude product of corresponding carboxylic acid (286 mg) as a colorless oil. To a solution of the aforementioned carboxylic acid in CH_2Cl_2 (8.0 mL) were added BnOH (220 μL , 2.10 mmol), EDC (265 mg, 2.10 mmol) and DMAP (10.3 mg, 0.0840 mmol), and the mixture was stirred at rt for 16 h. The mixture was partitioned between CHCl_3 and sat. aq. NaHCO_3 . The organic layer was washed with H_2O , dried (Na_2SO_4), and evaporated. The residue was purified by silica gel column chromatography (hexane/AcOEt = 30:1) to give **65** (320 mg, 0.660 mmol, 3 steps 79%) as a colorless viscous oil. $[\alpha]_{\text{D}}^{20} = -10.7^\circ$ (c 0.60, CHCl_3); ^1H NMR (500 MHz, CDCl_3) δ 7.66-7.64 (4 H, m, aromatic), 7.43-7.31 (11 H, m, aromatic), 5.98-5.91 (1 H, m, $-\text{CH}=\text{CH}_2$), 5.26 (1 H, d, $J = 17.0$ Hz, $-\text{CH}=\text{CH}_a\text{H}_b$), 5.14 (1 H, d, $J = 10.5$ Hz, $-\text{CH}=\text{CH}_a\text{H}_b$), 5.14 (2 H, s, CH_2Ph), 3.64 (1 H, dd, $J = 10.5, 5.5$ Hz, $-\text{CH}_a\text{H}_b\text{OTBDPS}$), 3.44 (1 H, dd, $J = 10.5, 7.0$ Hz, $-\text{CH}_a\text{H}_b\text{OTBDPS}$), 2.46-2.43 (1 H, m, H-1'), 1.08-1.03 (10 H, s, $t\text{Bu}$ and H-2), 0.95-0.89 (1 H, m, H-1), 0.52-0.43 (2 H, m, H-3a and H-3b); ^{13}C NMR (125 MHz, CDCl_3) δ 173.4, 136.0, 135.6, 135.6, 134.8, 133.8, 129.6, 128.5, 128.1, 127.9, 127.6, 117.1, 66.6, 66.3, 53.6, 26.8, 19.9, 19.2, 18.4, 8.8; HRMS (ESI) calcd for $\text{C}_{31}\text{H}_{36}\text{O}_3\text{NaSi}$ 507.2326, found 507.2320 $[(\text{M}+\text{Na})^+]$.



Alcohol (66)

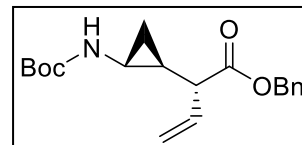
To a solution of **65** (40.8 mg, 0.0842 mmol) in THF (1.0 mL) were added TBAF (1.0 M in THF, 130 μL , 0.13 mmol) and AcOH (12 μL , 0.21 mmol), and the mixture was stirred at rt for 40 h. After the removal of THF *in vacuo*, the residue was purified by silica column chromatography (hexane/AcOEt = 8:1) to give **66** (17.5 mg, 0.0710 mmol, 85%) as a colorless oil. $[\alpha]_{\text{D}}^{24} = -1.18^\circ$ (c 0.25, CHCl_3); ^1H NMR (500 MHz, CDCl_3) δ 7.38-7.31 (5 H, m, aromatic), 5.90-5.83 (1 H, m, $-\text{CH}=\text{CH}_2$), 5.20-5.13 (4 H, m, $-\text{CH}=\text{CH}_2$ and CH_2Ph), 3.55 (1 H, dd, $J = 11.0, 6.0$ Hz, $-\text{CH}_a\text{H}_b\text{OH}$), 3.36 (1 H, dd, $J = 11.0, 7.5$ Hz, $-\text{CH}_a\text{H}_b\text{OH}$), 2.65-2.61 (1 H, m, H-1'), 1.09-1.02 (1 H, m, H-2), 1.01-0.96 (1 H, m, H-1), 0.62-0.58 (1 H, m, H-3a), 0.54-0.50 (1 H, m, H-3b); ^{13}C NMR (125 MHz, CDCl_3) δ 173.3, 135.8, 134.1, 128.5, 128.2, 128.0, 117.9, 66.5, 66.3, 52.6, 19.6, 18.9, 8.7;



HRMS (ESI) calcd for C₁₅H₁₈O₃Na 269.1148, found 269.1149 [(M+Na)⁺].

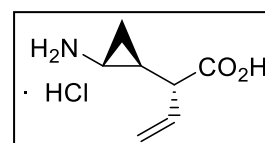
Precursor compound (62)

62 (16.0 mg, 59.5 μmol, 4 steps 60%, as a white solid) was prepared from **66** (20.0 mg, 81.2 μmol) as described for the preparation of precursor compound **17**. $[\alpha]_D^{20} = -15.5^\circ$ (*c* 0.65, CHCl₃); m.p. 91.5–92.5 °C; ¹H NMR (500 MHz, CDCl₃) δ 7.38-7.32 (5 H, m, aromatic), 5.90-5.83 (1 H, m, -CH=CH₂), 5.20-5.13 (4 H, m, -CH=CH₂ and CH₂Ph), 2.57-2.54 (1 H, m, H-2), 2.44-2.38 (1 H, m, H-1'), 1.43 (9 H, s, *t*Bu), 1.28-1.24 (1 H, m, H-1), 0.79 (1 H, brs, H-3a and H-3b); ¹³C NMR (125 MHz, CDCl₃) δ 172.7, 135.9, 134.1, 128.8, 128.5, 128.4, 128.2, 128.0, 117.9, 79.6, 66.5, 52.3, 28.4, 13.1; HRMS (ESI) calcd for C₁₉H₂₅O₄NNa 354.1676, found 354.1677 [(M+Na)⁺].



Target compound (V-4)

V-4 (2.1 mg, 11.8 μmol, 26%, a brown solid) was prepared from **62** (15 mg, 46 μmol) as described for the preparation of target compound (**V-1**). $[\alpha]_D^{16} = -14.6^\circ$ (*c* 0.090, CH₃OH); ¹H NMR (400 MHz, CD₃OD) δ 6.00-5.91 (1 H, m, -CH=CH₂), 5.26 (1 H, d, *J* = 14.5 Hz, -CH=CH_aH_b), 5.22 (1 H, d, *J* = 6.0 Hz, -CH=CH_aH_b), 2.65-2.60 (1 H, m, H-1'), 2.55-2.52 (1 H, m, H-2), 1.58-1.51 (1 H, m, H-1), 1.05-0.93 (2 H, m, H-3a and H-3b); ¹³C NMR (500MHz, CD₃OD) δ 176.1, 135.7, 118.5, 52.9, 28.2, 20.4, 10.4; LRMS (ESI) *m/z* 142 [(M+H)⁺]; Anal. calcd for C₇H₁₁NO₂•2.2 HCl: C, 37.98; H, 6.01; N, 6.33. Found: C, 37.85; H, 5.73; N, 5.98.



Determination of the absolute configuration of stereocenters by chiral auxiliary mediated enolate reactions

Scheme S2-1.

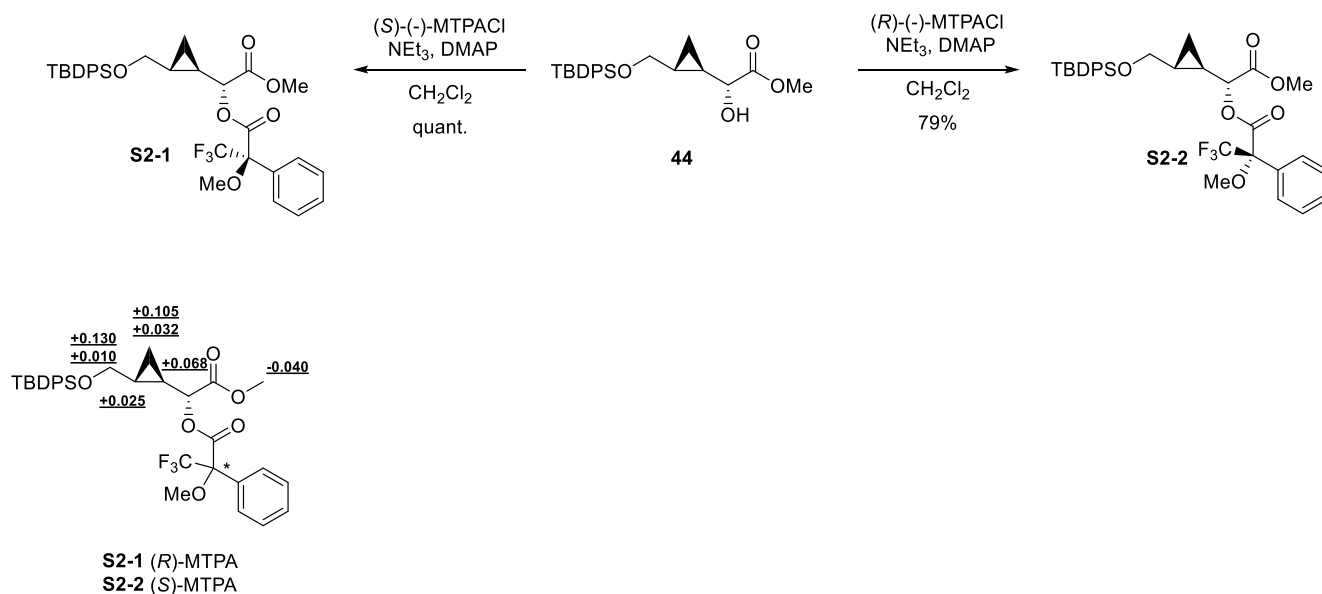
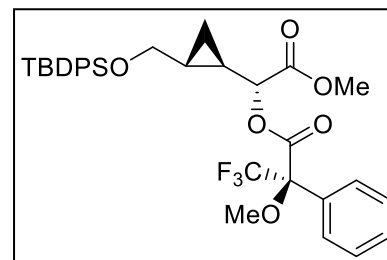


Figure S2-1. Determination of the absolute configuration by the modified Mosher's method; $\Delta\delta = \delta_S - \delta_R$ (ppm; CDCl_3 , 500 MHz)

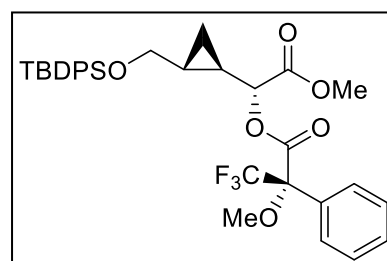
(R)-MTPA ester (S2-1)

A mixture of **44** (9.00 mg, 22.6 μmol), Et_3N (16 μL , 0.11 mmol), DMAP (0.30 mg, 0.023 mmol) and (*S*)-(-)-MTPACl (8.5 μL , 0.045 mmol) in CH_2Cl_2 was stirred at 0 $^\circ\text{C}$ for 1 h. After addition of sat. aq. NaHCO_3 , the mixture was extracted with AcOEt. The organic layer was washed with H_2O , dried (Na_2SO_4), and evaporated. The residue was purified by flash silica gel column chromatography (hexane/AcOEt = 12:1) to give **S2-1** (15.0 mg, 22.6 μmol , quant.) as a colorless oil. ^1H NMR (500 MHz, CDCl_3) δ 7.63-7.59 (6 H, m, aromatic), 7.42-7.33 (9 H, m, aromatic), 4.78 (1H, d, $J = 8.0$ Hz, H-1'), 3.79 (3 H, s, $-\text{OCH}_3$), 3.61 (3 H, s, $-\text{CH}_3$), 3.55 (1 H, dd, $J = 11.0, 5.0$ Hz, $-\text{CHaHbOTBDPS}$), 3.43 (1 H, dd, $J = 11.0, 5.0$ Hz, $-\text{CHaHbOTBDPS}$), 1.27-1.21 (1 H, m, H-2), 1.14-1.08 (1 H, m, H-1), 1.00 (9 H, s, *t*Bu), 0.68-0.62 (2 H, m, H-3a and H-3b); LRMS (ESI) m/z 615 [(M+H) $^+$].



(S)-MTPA ester (S2-2)

S2-2 (11.0 mg, 17.9 μmol 79%, a colorless oil) was prepared from **44** (9.00 mg, 22.6 μmol) as described for the preparation of (*R*)-MTPA ester **S2-1** using (*R*)-(+)-MTPACl instead of (*S*)-(-)-MTPACl. ^1H NMR (500 MHz, CDCl_3) δ 7.62 (4 H, m, aromatic), 7.57-7.55 (2 H, m, aromatic), 7.42-7.33 (9 H, m, aromatic), 4.70 (1 H, d, $J = 8.0$ Hz, H-1'), 3.75 (3 H, s, $-\text{OCH}_3$), 3.56 (2 H, d, $J = 5.0$ Hz, $-\text{CH}_2\text{OTBDPS}$), 3.52 (3 H, s, $-\text{CH}_3$), 1.29-1.24 (1 H, m, H-2), 1.21-1.14 (1 H, m, H-1), 1.02 (9 H, s, *t*Bu), 0.78-0.74 (1 H, m, H-3a), 0.70-0.66 (1 H, m, H-3b); LRMS (ESI) m/z 615 [(M+H) $^+$].



Scheme S2-2.

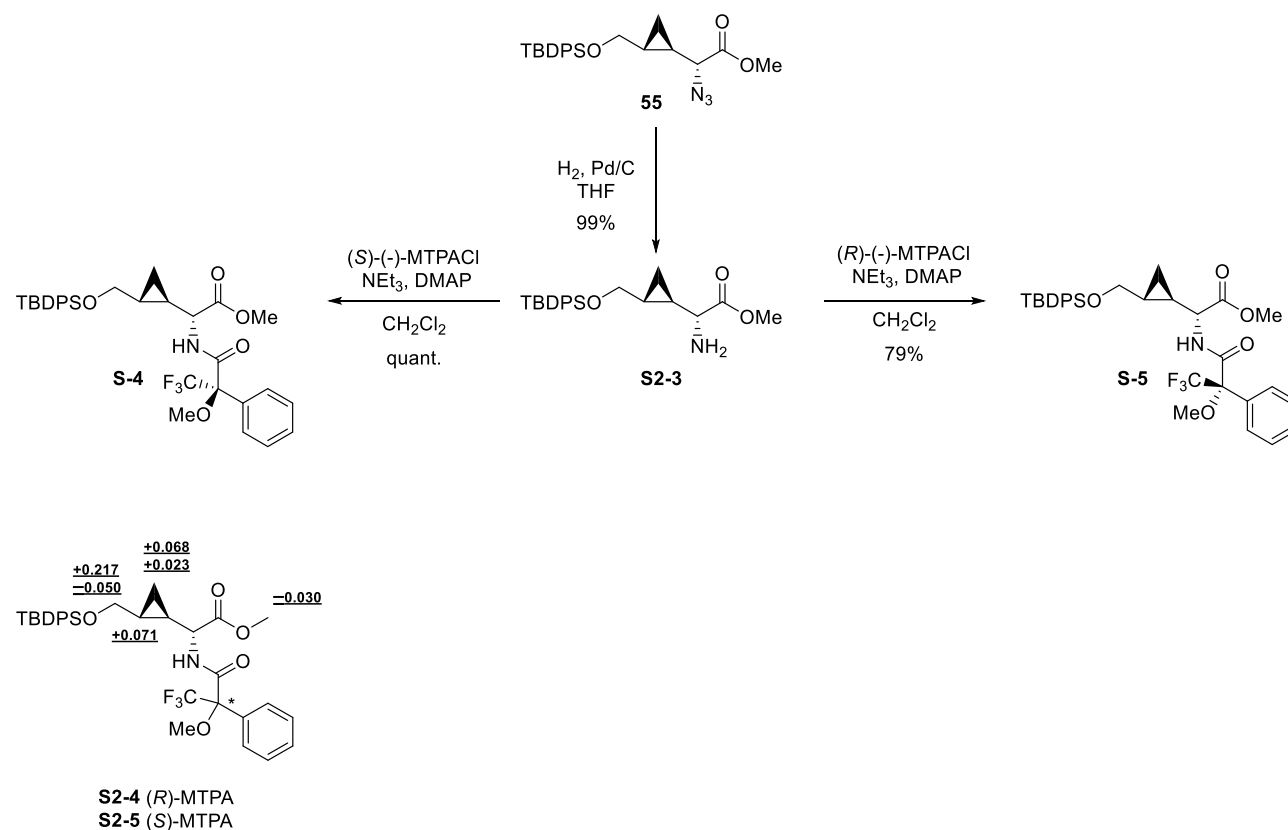
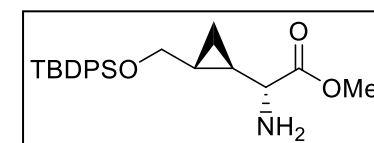


Figure S2-2. Determination of the absolute configuration by the modified Mosher's method; $\Delta\delta = \delta_S - \delta_R$ (ppm; CDCl_3 , 500 MHz)

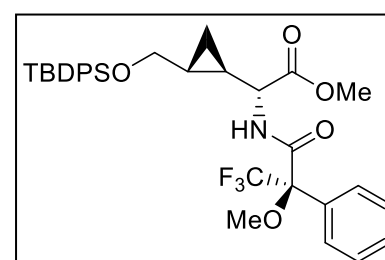
Amine (S2-3)

To a solution of **55** (20.6 mg, 48.6 μmol) in THF (1.0 mL) was added Pd (10% on carbon, 12.0 mg), the mixture was stirred under an H_2 atmosphere for 1.5 h. The resulting mixture was filtered through a Celite pad and the filtrate was concentrated *in vacuo*. The residue was purified by silica column chromatography (hexane/AcOEt = 2:1–1:1) to give **S2-3** (19.1 mg, 48.0 μmol , 99%) as a colorless oil. $[\alpha]_D^{20} = -37.6^\circ$ (*c* 0.54, CHCl_3); ^1H NMR (500 MHz, CDCl_3) δ 7.67–7.64 (4 H, m, aromatic), 7.44–7.37 (6 H, m, aromatic), 3.72 (3 H, s, OCH_3), 3.69 (1 H, dd, $J = 11.0, 7.0$ Hz, $-\text{CH}_a\text{HbOTBDPS}$), 3.58 (1 H, dd, $J = 11.0, 7.0$ Hz, $-\text{CH}_a\text{HbOTBDPS}$), 2.94 (1 H, d, $J = 8.0$ Hz, $\text{H-1}'$), 1.09–1.01 (10 H, s, *t*Bu and H-2), 0.96–0.91 (1 H, m, H-1), 0.65–0.61 (1 H, m, H-3a), 0.48–0.44 (2 H, m, H-3b); ^{13}C NMR (125 MHz, CDCl_3) δ 175.5, 135.6, 133.7, 129.6, 127.6, 66.2, 57.5, 52.0, 26.8, 21.9, 19.2, 7.8; HRMS (ESI) calcd for $\text{C}_{23}\text{H}_{32}\text{O}_3\text{NSi}$ 398.2146, found 398.2151 $[(\text{M}+\text{H})^+]$.



(R)-MTPA ester (S2-4)

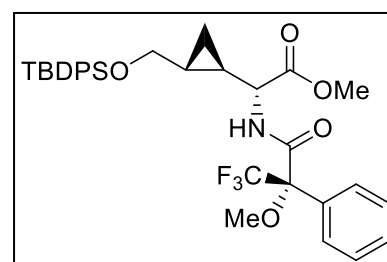
S2-4 (22.5 mg, 35.2 μmol , quant., a colorless oil) was prepared from **S2-3** (14.0 mg, 35.2 μmol) as described for the preparation of (*R*)-MTPA ester (**S2-1**). ^1H NMR (500 MHz, CDCl_3) δ 7.63–7.59 (6 H, m, aromatic), 7.42–7.33 (9 H, m, aromatic), 4.09 (1 H, d, $J = 8.0$ Hz, $\text{H-1}'$), 3.76 (3H, s, $-\text{OCH}_3$), 3.49 (3 H, s, $-\text{CH}_3$), 3.51 (1 H, dd, $J = 11.0, 5.0$ Hz, $-\text{CH}_a\text{HbOTBDPS}$), 3.41 (1 H, dd, $J = 11.0, 5.0$ Hz, $-\text{CH}_a\text{HbOTBDPS}$), 1.27–1.21 (1 H, m, H-2), 1.14–1.08 (1 H, m, H-1), 1.00 (9 H, s, *t*Bu), 0.68–0.62 (2 H, m, H-3a and



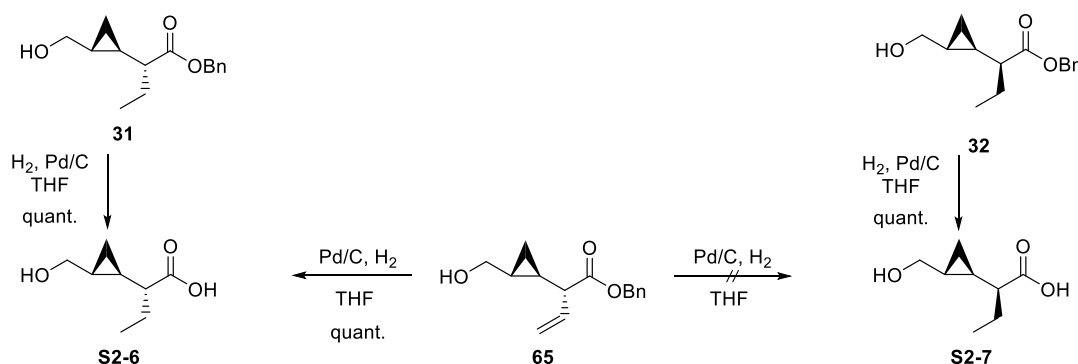
H-3b); LRMS (ESI) m/z 614 [(M+H)⁺].

(S)-MTPA ester (S2-5)

S2-5 (15.5 mg, 25.3 μ mol 90%, a colorless oil) was prepared from **S2-3** (11.2 mg, 28.2 μ mol) as described for the preparation of (S)-MTPA ester (**S2-2**). ¹H NMR (500 MHz, CDCl₃) δ 7.66-7.63 (4 H, m, aromatic), 7.57-7.55 (2 H, m, aromatic), 7.42-7.33 (9 H, m, aromatic), 4.03 (1 H, d, J = 8.0 Hz, H-1'), 3.73 (3 H, s, -OCH₃), 3.727 (1 H, d, J = 5.0 Hz, -CHaHbOTBDPS), 3.36 (1 H, dd, J = 11.0, 5.0 Hz, -CHaHbOTBDPS), 3.31 (3 H, s, -CH₃), 1.29-1.24 (1 H, m, H-2), 1.21-1.14 (1 H, m, H-1), 1.02 (9 H, s, *t*Bu), 0.78-0.74 (1 H, m, H-3a), 0.70-0.66 (1 H, m, H-3b); LRMS (ESI) m/z 614 [(M+H)⁺].

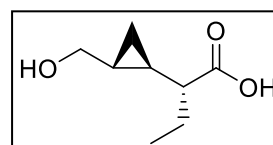


Scheme S2-3.



Alcohol (S2-6)

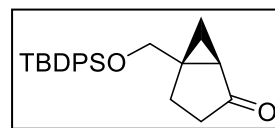
To a solution of **65** (12.0 mg, 48.7 μ mol) in THF (1.0 mL) was added Pd (10% on carbon, 6.0 mg), and the mixture was stirred under an H₂ atmosphere for 1.5 h. The resulting mixture was filtered through a Celite pad and the filtrate was concentrated *in vacuo*. The residue was purified by silica column chromatography (CHCl₃/MeOH = 20:1) to give **S2-6** (9.7 mg, 61 μ mol, quant.) as a colorless oil. [α]_D¹⁷ = -40.6° (*c* 0.48, CHCl₃); ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 3.54-3.46 (2 H, m, -CH₂OH), 1.81-1.74 (1 H, m, H-1'), 1.73-1.64 (2 H, m, -CH₂CH₃), 1.00-0.98 (4 H, m, H-2 and -CH₂CH₃), 0.91-0.86 (1 H, m, H-1), 0.61-0.58 (1 H, m, H-3a), 0.52-0.48 (1 H, m, H-3b); ¹³C NMR (125 MHz, CDCl₃) δ 181.3, 66.5, 50.8, 25.4, 20.9, 19.1, 11.8, 8.7; HRMS (ESI) calcd for C₈H₁₄O₃Na: 181.0841, found 181.0859 [(M+Na)⁺].



第二章 二環性骨格による配座制御

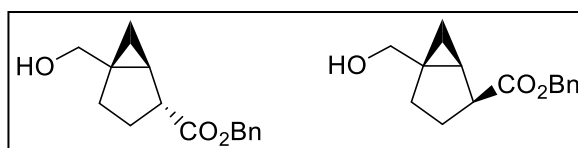
Ketone (71)

To a solution of **70** ^[36] (3.35 g, 9.19 mmol) in toluene (90 mL) was added Ru(CO)HCl(PPh₃)₃ (438 mg, 0.460 mmol) and stirred at 90 °C for 1 h. The reaction mixture was concentrated *in vacuo* to remove toluene. The residue was purified by silica column chromatography (hexane/AcOEt = 15:1) to give **71** (2.63 g, 7.21 mmol, 78%) as a yellow oil. ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 7.64-7.62 (4 H, m, aromatic), 7.46-7.37 (6 H, m, aromatic), 3.83 (1 H, d, *J* = 10.9 Hz, -CH_aH_bOTBDPS), 3.69 (1 H, d, *J* = 10.9 Hz, -CCH_aH_bOTBDPS), 2.21-2.00 (4 H, m, H-3, H-4), 1.72 (1 H, dd, *J* = 9.1, 3.2 Hz, H-1), 1.30 (1 H, dd, *J* = 9.1, 4.5 Hz, H-6a), 1.08 (1 H, dd, *J* = 4.5, 3.2 Hz, H-6b), 1.04 (9 H, s, *t*Bu). ¹H NMR is in agreement with that reported previously ^[34].



Alcohol (73) and Alcohol (74)

To a suspension of MeOCH₃PPh₃Cl (7.54 g, 22.0 mmol) in THF (60 mL) was added NaHMDS (1.9 M soln. in THF, 14 mL, 27 mmol) at 0 °C, and the mixture was stirred at same temperature for 1 h. To the mixture was added a solution of **71** (2.63 g, 7.21 mmol) in THF (10 mL) *via cannula*, and the reaction mixture was stirred at 0 °C for 4 h. After addition of sat. aq. NH₄Cl and removal of THF *in vacuo*, the residue was extracted with AcOEt. The organic layer was washed with H₂O and brine, dried (Na₂SO₄), and evaporated. The residue was passed through a short silica gel pad (hexane/AcOEt = 20:1) to give the crude product of corresponding enol ether (2.46 g) as a colorless oil. To a solution of the aforementioned enol ether in THF (110 mL) was added aq. HCl (12 M, 10 mL) at 0 °C, and the mixture was stirred at the same temperature for 3 h. After addition of sat. aq. NaHCO₃ and removal of THF *in vacuo*, the residue was extracted with AcOEt. The organic layer was washed with sat. aq. NaHCO₃ and brine, dried (Na₂SO₄), and evaporated to give the crude product of corresponding aldehyde as a colorless oil. To a suspension of the aforementioned aldehyde in aq. *t*BuOH (80%, 50 mL) were added 2-methyl-2-butene (5.3 mL, 50 mmol), sodium dihydrogenphosphate dihydrate (1.96 g, 12.5 mmol) and sodium chlorite (2.27 g, 25.1 mmol) at 0 °C, and the mixture was stirred at rt for 13 h. The resulting mixture was partitioned between CHCl₃ and aq. HCl (1 M), and the organic layer was washed with brine, dried (Na₂SO₄), and evaporated. The residue was passed through a silica gel pad (hexane/AcOEt = 8:1-4:1) to give the crude product of corresponding carboxylic acid (2.00 g) as a colorless oil. To a solution of the aforementioned carboxylic acid in CH₂Cl₂ (50 mL) were added BnOH (1.30 mL, 12.7 mmol), EDC (1.60 g, 12.7 mmol) and DMAP (61.9 mg, 0.507 mmol), and the mixture was stirred at rt for 1 h. The resulting mixture was partitioned between CHCl₃ and H₂O, and the organic layer was dried (Na₂SO₄) and evaporated. The residue was passed through a silica gel pad (hexane/AcOEt = 12:1) to give the crude product of corresponding ester (1.88 g) as a colorless oil. A solution of the aforementioned ester and NH₄F (1.44 g, 38.8 mmol) in MeOH (40 mL) was stirred under reflux conditions for 15 h. After removal of the solvent *in vacuo*, the residue was partitioned between CHCl₃ and H₂O. The organic layer was dried (Na₂SO₄) and evaporated. The residue was purified by silica gel column chromatography (hexane/AcOEt = 6:1-4:1-2:1) to give **73** (320 mg, 1.30 mmol, 5 steps 18%) as a colorless oil and **74** (485 mg, 1.97 mmol, 5 steps 27%) as a colorless oil. **73** (*anti*): [α]_D²² = 14.7° (*c* 0.81, CHCl₃); ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 7.40-7.32 (5 H, m, aromatic), 5.14 (2 H, s, -OCH₂Bn), 3.85 (1 H, dd, *J* = 10.9, 7.7 Hz, -CH_aH_bOH), 3.38 (1 H, d, *J* = 10.9 Hz, -CH_aH_bOH), 2.88 (1 H, d, *J* = 8.2 Hz, H-2), 2.12 (1 H, d, *J* = 7.7 Hz, -OH), 2.08-2.00 (1 H, m, H-3a), 1.87-1.81 (1 H, m, H-4a), 1.73-1.67 (1 H, m, H-4b), 1.60-1.49 (1 H, m, H-3b), 1.34-1.31

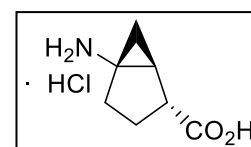


(1 H, dd, $J = 8.1, 4.5$ Hz, H-1), 0.62-0.55 (2H, m, H-6); ^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3) δ 176.46, 135.79, 128.61, 128.33, 128.21, 66.93, 66.49, 44.70, 31.26, 26.86, 26.34, 24.46, 11.77; LRMS (ESI) m/z 269 [(M+Na) $^+$]; HRMS (ESI) calcd for $\text{C}_{15}\text{H}_{18}\text{O}_3\text{Na}$ 269.1148, found 269.1147 [(M+Na) $^+$].

74 (*syn*): $[\alpha]_{\text{D}}^{19} = -79.3^\circ$ (c 1.02, CHCl_3); ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 7.37-7.29 (5 H, m, aromatic), 5.13 (2 H, s, $-\text{OCH}_2\text{Bn}$), 3.61 (1 H, d, $J = 11.7$ Hz, $-\text{CH}_a\text{HbOH}$), 3.57 (1H, d, $J = 11.7$ Hz, $-\text{CH}_a\text{HbOH}$), 3.10-3.05 (1 H, m, H-2), 2.14 (1 H, brs, $-\text{OH}$), 1.90-1.84 (3 H, m, H-3a and H-4), 1.66-1.56 (1 H, m, H-3b), 1.48-1.44 (1 H, m, H-1), 0.78 (1 H, dd, $J = 9.0, 5.8$ Hz, H-6a), 0.49 (1 H, dd, $J = 8.1, 5.8$ Hz, H-6b); ^{13}C NMR (125 MHz, CDCl_3) δ 174.81, 136.05, 128.38, 127.94, 127.73, 67.06, 65.96, 44.59, 31.11, 28.78, 24.44, 24.23, 9.50; LRMS (ESI) m/z 269 [(M+Na) $^+$]; HRMS (ESI) calcd for $\text{C}_{15}\text{H}_{18}\text{O}_3\text{Na}$ 269.1148, found 269.1149 [(M+Na) $^+$].

Target compound (VIR)

To a solution of **73** (270 mg, 1.10 mmol) in CH_2Cl_2 (11 mL) was added Dess–Martin periodinane (929 mg, 2.19 mmol) at 0 °C, and the mixture was stirred at rt for 3 h. After addition of a mixture of sat. aq. $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ and sat. aq. NaHCO_3 (1:1), the resulting mixture was partitioned between CHCl_3 and H_2O . The organic layer was dried (Na_2SO_4) and evaporated. The residue was suspended in aq. *t*BuOH (80%, 10 mL), and to the mixture were added 2-methyl-2-butene (930 μL , 8.76 mmol), sodium dihydrogenphosphate dehydrate (342 mg, 2.19 mmol) and sodium chlorite (396 mg, 4.38 mmol) at 0 °C. After stirring at rt for 2 h, the mixture was partitioned between CHCl_3 and aq. HCl (1 M). The organic layer was washed with brine, dried (Na_2SO_4), and evaporated. The residue was passed through a silica gel pad (hexane/AcOEt = 4:1-2:1) to give the crude product of corresponding carboxylic acid (270 mg) as a colorless oil. To a solution of the aforementioned carboxylic acid in CH_2Cl_2 (10 mL) were added Et_3N (1.40 mL, 10.4 mmol) and DPPA (670 μL , 3.11 mmol), and the mixture was stirred at rt for 5 h. The resulting mixture was partitioned between AcOEt and H_2O , and the organic layer was washed with brine, dried (Na_2SO_4), and evaporated. The residue was passed through a silica gel pad (hexane/AcOEt = 30:1) to give the crude product of corresponding acyl azide (295 mg) as a colorless oil. A solution of the aforementioned acyl azide in toluene (10 mL) was stirred under reflux conditions for 2 h. After removal of the solvent *in vacuo*, the residue was dissolved in aq. HCl (4 M, 10 mL) and the solution was sited under reflux conditions for 17 h. After removal of the solvent *in vacuo*, the residue was partitioned between H_2O and CHCl_3 . The aqueous layer was evaporated to give **VIR** (168 mg, 0.946 mmol, 5 steps 91%) as a white solid. $[\alpha]_{\text{D}}^{21} = 8.6^\circ$ (c 0.35, H_2O); ^1H NMR (500 MHz, D_2O) δ 2.86 (1 H, d, $J = 8.6$ Hz, H-2), 2.12-2.03 (2 H, m, H-3a, H-4a), 1.99-1.91 (2 H, m, H-4b, H-1), 1.65-1.57 (1 H, m, H-3b), 1.10 (1 H, dd, $J = 9.2, 7.4$ Hz, H-6a), 0.94 (1 H, dd, $J = 7.4, 4.6$ Hz, H-6b); ^{13}C NMR (125 MHz, D_2O) δ 179.28, 43.93, 40.48, 28.03, 24.72, 23.75, 10.70; LRMS (ESI) m/z 142 [(M+H) $^+$]; Anal. calcd for $\text{C}_7\text{H}_{11}\text{NO}_2 \cdot 1 \text{ HCl} \cdot 0.12 \text{ H}_2\text{O}$: C, 46.76; H, 6.87; N, 7.79. Found: C, 47.42; H, 6.96; N, 7.19.



Target compound (VIS, BC-GABA)

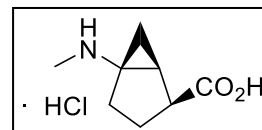
VIS (303 mg, 1.70 mmol, 5 steps 91%) was prepared from **74** (485 mg, 1.97 mmol) as described for the preparation of target compound (**VIR**). $[\alpha]_{\text{D}}^{21} = -67.3^\circ$ (c 0.55, H_2O): ^1H NMR (500 MHz, D_2O) δ 3.30-3.25 (1 H, m, H-2), 2.21-2.17 (1 H, m, H-3a), 2.07-1.97 (2 H, m, H-4), 1.96-1.92 (1 H, m, H-1), 1.52-1.43 (1 H, m, H-3b), 1.11-1.03 (2 H, m, H-6); ^{13}C NMR (125 MHz, D_2O) δ 178.26, 43.09, 40.10, 29.09, 23.57, 23.05, 9.21; LRMS (ESI) m/z 142 [(M+H) $^+$]; Anal. calcd for $\text{C}_7\text{H}_{11}\text{NO}_2 \cdot 1 \text{ HCl} \cdot 0.2 \text{ H}_2\text{O}$: C, 46.39; H, 6.90; N, 7.73. Found: C, 46.51; H, 6.68; N, 7.65.



第三章 トランスポーター選択性向上を志向した二環性骨格 GABA 誘導体の設計と合成

Target compound (VII-2)

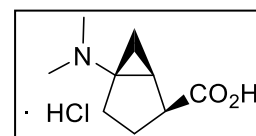
To a solution of **42** (24.1 mg, 0.100 mmol) and CH₃I (19.0 μL, 0.300 mmol) in THF (1.0 mL) was added NaH (60% dispersion in Paraffin Liquid, 12.0 mg, 0.275 mmol) at 0 °C, and the mixture was stirred at rt for 24 h. The resulting mixture was partitioned between CHCl₃ and aq.



HCl (1 M). The organic layer was dried (Na₂SO₄) and evaporated. The residue was passed through a silica gel pad (hexane/AcOEt = 1:1) to give the corresponding *N*-methyl amine. The aforementioned *N*-methyl amine was dissolved in HCl solution (4 M in dioxane, 1.0 mL), and the mixture was stirred at rt for 1 h. After removal of the solvent *in vacuo*, the residue was triturated with dry Et₂O. The precipitation was filtered off and dried to give **VII-2** (16.5 mg, 86.4 μmol, 2 steps 86%) as a white solid. $[\alpha]_D^{16} = -64.2^\circ$ (*c* 0.65, CH₃OH); ¹H NMR (500 MHz, CD₃OD) δ 3.25-3.20 (1 H, m, H-2), 2.75 (3 H, s, NMe), 2.25-2.21 (1 H, m, H-3a), 2.16-1.98 (3 H, m, H-4 and H-1), 1.63-1.54 (1 H, m, H-3b), 1.15-1.13 (2 H, m, H-6); ¹³C NMR (125 MHz, CD₃OD) δ 176.7, 48.7, 44.4, 31.8, 28.3, 25.9, 24.8, 10.5; LRMS (ESI) *m/z* 156 [(M+H)⁺]; Anal. calcd for C₅H₉NO₃•1 HCl•0.1 H₂O: C, 49.67; H, 7.40; N, 7.24. Found: C, 49.40; H, 7.31; N, 7.10.

Target compound (VII-3)

To a solution of **BC-GABA (VS)** (12.0 mg, 0.0678 mmol) and aq. HCHO (36.5%, 13 μL, 0.17 mmol) in MeOH (1.0 mL) was added NaBH₃CN (12.6 mg, 0.200 mmol) and the mixture was stirred at rt for 7 h. After removal of the solvent *in vacuo*, the residue was passed through a

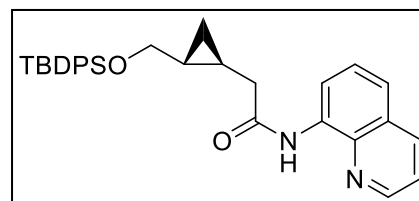


silica gel pad (CHCl₃/MeOH = 4:1–1:1) to give the crude product of corresponding *N,N*-dimethyl amine (15.4 mg). The aforementioned *N,N*-dimethyl amine was dissolved in HCl solution (4 M in dioxane, 1.0 mL) and the mixture was stirred at rt for 1.5 h. After removal of the solvent *in vacuo*, the residue was triturated with dry Et₂O. The precipitation was filtered off and dried to give **VII-3** (12.3 mg, 60.0 μmol, 2 steps 88%) as a white solid. $[\alpha]_D^{16} = -44.3^\circ$ (*c* 0.37, CH₃OH); ¹H NMR (500 MHz, CD₃OD) δ 3.35-3.23 (1 H, m, H-2), 2.95 (6 H, s, NMeMe), 2.30-2.13 (3 H, m, H-3a and H-4), 2.06-2.00 (1 H, m, H-1), 1.64-1.55 (1 H, m, H-3b), 1.33-1.30 (1 H, m, H-6a), 1.24-1.21 (1 H, m, H-6b); ¹³C NMR (125 MHz, CD₃OD) δ 176.5, 55.7, 44.3, 41.7, 27.0, 24.8, 24.4, 12.1; LRMS (ESI) *m/z* 170 [(M+H)⁺]; Anal. calcd for C₅H₉NO₃•2 HCl: C, 44.64; H, 7.08; N, 5.78. Found: C, 44.24; H, 6.69; N, 5.82.

第四章 新たな選択性の発現を志向した三置換シクロプロパン GABA 誘導体の設計と合成

8-aminoquinoline amide (**89**)

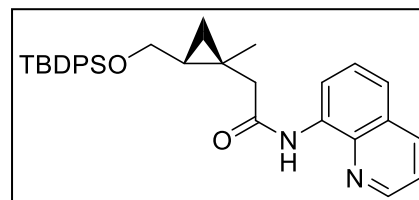
To a solution of carboxylic acid **11** (3.68 g, 10.0 mmol) in CH₂Cl₂ (100 mL) was added EDC (2.30 g, 12.0 mmol) and HOBT (1.35 mg, 10.0 mmol) at 0 °C. After 15 min, 8-aminoquinoline (1.73 mg, 12.0 mmol) was added and the reaction mixture was warmed to rt and stirred at rt for 22 hr. The resulting



mixture was diluted with CHCl₃, washed with 1 M aq. HCl, sat. NaCO₃ and H₂O, dried (Na₂SO₄), and evaporated. The residue was purified by silica gel column chromatography (hexane/AcOEt 6:1) to give **89** (3.19 mg, 64.5 μmol, 65%) as a pale yellow solid. ¹H NMR (500 MHz, CDCl₃): δ 10.2 (1 H, s, NH), 8.78-8.76 (1 H, m, aromatic), 8.55-8.53 (1 H, m, aromatic), 8.11-8.07 (1 H, m, aromatic), 7.68-7.66 (4 H, m, aromatic), 7.54-7.47 (2 H, m, aromatic), 7.40-7.31 (7 H, m, aromatic), 3.74-3.71 (2 H, m, -CH₂OTBDPS), 3.69 (1 H, dd, *J* = 10.5, 4.7 Hz, H-1'a), 2.52 (1 H, dd, *J* = 16.0, 6.0 Hz, H-1'b), 2.45 (1 H, dd, *J* = 16.0, 6.7 Hz, H-2), 1.15-1.08 (1 H, m, H-1), 1.03 (9 H, s, *t*Bu), 0.75 (1 H, dd, *J* = 12.5, 5.5 Hz, H-3a), 0.55 (1 H, dd, *J* = 12.5, 5.2 Hz, H-3b). ¹H NMR is in agreement with that reported previously^[40].

Compound (**90**)

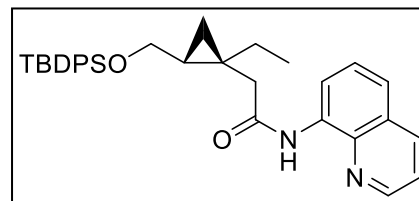
The mixture of **89** (494 mg, 1.00 mmol), CH₃I (93 μL, 1.50 mmol), AgOAc (250 mg, 1.50 mmol) and Pd(OAc)₂ (22.5 mg, 10 mol%) in dry toluene (5.0 mL) was heated at 80 °C for 24 h under Ar. The reaction mixture was cooled to rt and filtered through a Celite pad. The filtrate was concentrated *in vacuo* to remove



toluene. The residue was purified by flash silica gel column chromatography (hexane/AcOEt = 30:1) to give **90** (212 mg, 42%) as a colorless oil. [α]_D¹⁷ = -6.31° (*c* 1.32, CHCl₃); ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 10.2 (1 H, s, NH), 8.80-8.77 (1 H, m, aromatic), 8.62-8.60 (1 H, m, aromatic), 8.14-8.12 (1 H, m, aromatic), 7.70-7.67 (4 H, m, aromatic), 7.55-7.49 (2 H, m, aromatic), 7.43-7.26 (7 H, m, aromatic), 3.90-3.82 (2 H, m, -CH₂OTBDPS), 2.52 (1 H, d, *J* = 15.6 Hz, H-1'a), 2.42 (1 H, d, *J* = 15.6 Hz, H-1'b), 1.28-1.21 (4 H, m, H-2 and Me), 1.01 (9 H, s, *t*Bu), 0.88-0.85 (1 H, m, H-3a), 0.46-0.43 (1 H, m, H-3b); ¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃) δ 170.4, 148.2, 138.5, 136.2, 135.6, 134.6, 134.0, 133.9, 129.5, 127.9, 127.6, 127.6, 127.4, 121.5, 121.3, 116.4, 64.1, 49.7, 26.8, 25.7, 19.1, 18.0, 17.7, 17.4; HRMS (ESI) calcd for C₃₂H₃₇N₂O₂Si: 509.2624, found 509.2646 [(M+H)⁺].

Compound (**91**)

The mixture of **89** (1.48 g, 3.00 mmol), ethyl iodide (720 μL, 9.00 mmol), Ag₂CO₃ (1.08 g, 3.90 mmol), (BnO)₂PO₂H (1.08 g, 3.90 mmol) and Pd(OAc)₂ (135 mg, 20 mol%) in dry *t*BuOH (6.0 mL) was heated at 75 °C for 36 h under Ar. After the reaction mixture was cooled to rt and was filtered through a Celite pad.

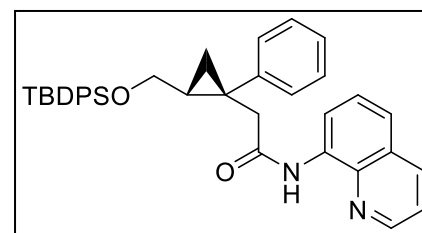


The filtrate was concentrated *in vacuo* to remove *t*BuOH. The residue was purified by flash silica gel column chromatography (hexane/AcOEt 30:1) to give **18** (634 mg, 41%) as a colorless oil. ¹H NMR (500 MHz, CDCl₃) δ 10.2 (1 H, s, NH), 8.78-8.76 (1 H, m, aromatic), 8.59-8.58 (1 H, m, aromatic), 8.11-8.09 (1 H, m, aromatic), 7.69-7.67 (4 H, m, aromatic), 7.53-7.46 (2 H, m, aromatic), 7.40-7.33 (7 H, m, aromatic), 3.95 (1 H, dd, *J* = 11.0, 7.0 Hz, -CH_aH_bOTBDPS), 3.80 (1 H, dd, *J* = 11.0, 7.0 Hz, -CH_aH_bOTBDPS), 2.54 (1 H, d, *J* = 15.5 Hz, H-1'a), 2.47 (1 H, d, *J* = 15.5 Hz, H-1'b), 1.56-1.51 (2 H, m, -CH₂CH₃) 1.29-1.26 (1 H, m, H-2), 1.14 (3 H, d, *J* = 7.5 Hz, -CH₂CH₃) 1.01 (9 H, s,

*t*Bu), 0.85-0.82 (1 H, m, H-3a), 0.43-0.40 (1 H, m, H-3b); ¹H NMR is in agreement with that reported previously^[41].

Compound (92)

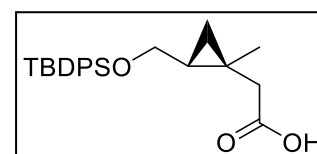
The mixture of **89** (24.7 g, 50.0 μmol), iodide benzene (11 μL, 100 μmol), AgOAc (12.5 mg, 75.0 μmol), K₃PO₄ (10.6 mg, 50.0 μmol) and Pd(OAc)₂ (2.2 mg, 20 mol%) in dry toluene (250 μL) was heated at 110 °C for 24 h under Ar. The reaction mixture was cooled to rt and was filtered through a Celite pad. The



filtrate was concentrated *in vacuo* to remove *t*BuOH. The residue was purified by flash silica gel column chromatography (hexane/AcOEt = 10:1) to give **92** (11.7 mg, 20.7 μmol, 41%) as a colorless oil. $[\alpha]_D^{17} = 2.31^\circ$ (*c* 0.82, CHCl₃); ¹H NMR (500 MHz, CDCl₃) δ 9.97 (1 H, s, NH), 8.70-8.69 (2 H, m, aromatic), 8.10-8.08 (1 H, m, aromatic), 7.63-7.15 (18 H, m, aromatic), 3.51 (1 H, dd, *J* = 11.0, 6.0 Hz, -CH_aH_bOTBDPS), 3.35 (1 H, d, *J* = 14.5 Hz, H-1'a), 3.15 (1 H, dd, *J* = 11.0, 6.0 Hz, -CH_aH_bOTBDPS), 2.47 (1 H, d, *J* = 14.5 Hz, H-1'b), 1.59-1.54 (1 H, m, H-2), 1.23-1.20 (1 H, m, H-3a), 1.12-1.09 (1 H, m, H-3b), 0.99 (9 H, s, *t*Bu); ¹³C NMR (125 MHz, CDCl₃) δ 169.6, 147.9, 139.5, 138.3, 136.1, 135.5, 134.5, 133.7, 133.6, 130.4, 129.5, 129.3, 128.2, 127.8, 127.5, 127.4, 127.3, 126.6, 121.4, 121.2, 116.3, 64.2, 50.2, 28.6, 27.1, 26.7, 19.0, 14.2; HRMS (ESI) calcd for C₃₇H₃₉N₂O₂Si: 571.2781, found 571.2765 [(M+H)⁺].

Carboxylic acid (93)

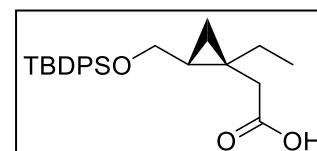
To a solution of **90** (200 mg, 0.393 mmol) in CH₃CN (4.0 mL) were added DMAP (96.0 mg, 0.786 mmol) and Boc₂O (270 μL, 1.18 mmol), and the mixture was stirred at 70 °C for 4 h. The reaction mixture was concentrated *in vacuo* to remove CH₃CN. The residue was



passed through a silica gel pad (hexane/AcOEt = 5:1) to give the crude product of corresponding amide. To a solution of the aforementioned amide in aq. THF (80%, 4.0 mL) were added aq. H₂O₂ (30 wt%, 220 μL, 22.7 mmol) and aq. LiOH·H₂O (1 M, 9.07 mL, 9.07 mmol) at 0 °C, and the mixture was stirred at rt for 5 h. After addition of sat. aq. Na₂SO₃, the resulting mixture was extracted with CH₂Cl₂. The organic layer was washed with aq. HCl (1 M), H₂O and brine, dried (Na₂SO₄), and evaporated. The residue was purified by flash silica gel column chromatography (hexane/AcOEt = 6:1–3:1) to give **3** (141 mg, 0.369 mmol, 2 steps 93%) as a colorless viscous oil. $[\alpha]_D^{17} = 7.03^\circ$ (*c* 1.14, CHCl₃); ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 7.70-7.66 (4 H, m, aromatic), 7.42-7.36 (6 H, m, aromatic), 3.83 (1 H, dd, *J* = 11.2, 5.6 Hz, -CH_aH_bOTBDPS), 3.51 (1 H, dd, *J* = 11.2, 8.8 Hz, -CH_aH_bOTBDPS), 2.29 (1 H, d, *J* = 15.6 Hz, H-1'a), 2.22 (1 H, d, *J* = 15.6 Hz, H-1'b), 1.17 (3 H, s, Me), 1.11-1.05 (10 H, m, H-2 and *t*Bu), 0.65-0.62 (1 H, m, H-3a), 0.22-0.19 (1 H, m, H-3b); ¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃) δ 177.8, 135.6, 133.8, 129.6, 127.6, 64.3, 45.5, 26.8, 25.6, 19.1, 17.6, 17.2, 17.1; HRMS (ESI) calcd for C₂₃H₃₀O₃SiNa: 405.1862, found 405.1857 [(M+Na)⁺].

Carboxylic acid (94)

94 (43.5 mg, 0.110 mmol, 2 steps 95%, a colorless viscous oil) was prepared from **91** (60.0 mg, 0.115 mmol) as described for the preparation of precursor compound (**93**). $[\alpha]_D^{17}$

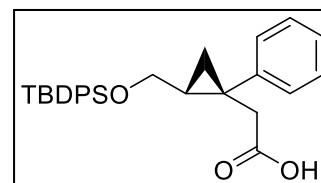


= 5.25° (*c* 1.38, CHCl₃); ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 7.70-7.66 (4 H, m, aromatic), 7.42-7.36 (6 H, m, aromatic), 3.80 (1 H, dd, *J* = 11.6, 6.0 Hz, -CH_aH_bOTBDPS), 3.55 (1 H, dd, *J* = 11.6, 6.8 Hz, -CH_aH_bOTBDPS), 2.37 (1 H, d, *J* = 15.6 Hz, H-1'a), 2.21 (1 H, d, *J* = 15.6 Hz, H-1'b), 1.51 (1 H, m, -CH_aH_bCH₃), 1.40 (1 H, m, -CH_aH_bCH₃), 1.17 (3 H, s, Me), 1.16-0.98 (13 H, m, H-2, -CH₂CH₃ and *t*Bu), 0.64-0.60 (1 H, m, H-3a), 0.20-0.17 (1 H, m, H-3b); ¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃) δ 177.6, 135.6, 133.7, 129.6, 127.6, 63.9, 41.7, 26.8, 26.4, 23.8,

22.6, 19.1, 16.2, 11.1; HRMS (ESI) calcd for $C_{24}H_{32}O_3SiNa$: 419.2018, found 419.2013 $[(M+Na)^+]$, calcd for $C_{24}H_{31}O_3Si$: 395.2042, found 395.2119 $[(M-H)^-]$.

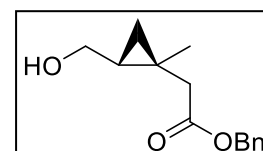
Carboxylic acid (**95**)

95 (63.1 mg, 0.142 mmol, 2 steps 94%, as a colorless viscous oil) was prepared from **92** (86.0 mg, 0.151 mmol) as described for the preparation of precursor compound (**93**). $[\alpha]_D^{17} = -35.1^\circ$ (c 0.94, $CHCl_3$); 1H NMR (500 MHz, $CDCl_3$) δ 7.62-7.61 (2 H, m, aromatic), 7.41-7.23 (13 H, m, aromatic), 3.47 (1 H, dd, $J = 11.0, 5.0$ Hz, $-CH_aH_bOTBDPS$), 3.05 (1 H, dd, $J = 11.0, 8.5$ Hz, $-CH_aH_bOTBDPS$), 2.95 (1 H, d, $J = 15.0$ Hz, H-1'a), 2.29 (1 H, d, $J = 15.0$ Hz, H-1'b), 1.43-1.38 (1H, m, H-2), 1.00 (9 H, s, *t*Bu), 0.98-0.95 (1 H, m, H-3a), 0.85-0.83 (1 H, m, H-3b); ^{13}C NMR (125 MHz, $CDCl_3$) δ 177.0, 139.7, 135.5, 135.4, 133.8, 133.6, 130.4, 129.5, 129.4, 128.1, 127.6, 127.5, 126.7, 64.3, 46.0, 27.8, 26.8, 26.7, 19.1, 14.5; HRMS (ESI) calcd for $C_{28}H_{32}O_3SiNa$: 467.2018, found 467.2004 $[(M+Na)^+]$, calcd for $C_{28}H_{31}O_3Si$: 443.2042, found 443.2096 $[(M-H)^-]$.



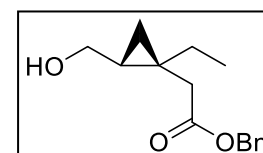
Alcohol (**99**)

To a solution of **93** (189 mg, 0.494 mmol) in DMF (5.0 mL) were added K_2CO_3 (102 mg, 0.741 mmol) and BnBr (90 μ L, 0.74 mmol) at 0 $^\circ C$, and the mixture was stirred at 0 $^\circ C$ for 5 h. The resulting mixture was partitioned between CH_2Cl_2 and H_2O , and the organic layer was dried (Na_2SO_4) and evaporated. The residue was passed through a silica gel pad (hexane/AcOEt = 8:1) to give the crude product of corresponding ester. To a solution of the aforementioned ester in THF (5.0 mL) were added AcOH (70.0 μ L, 1.25 mmol) and TBAF (1 M soln. in THF, 750 μ L, 0.750 mmol), and the mixture was stirred at rt for 36 h. After removal of THF *in vacuo*, the residue was purified by silica column chromatography (hexane/AcOEt = 8:1-1:1) to give **99** (93.5 mg, 0.399 mmol, 2 steps 81%) as a colorless oil. $[\alpha]_D^{14} = 37.4^\circ$ (c 0.44, $CHCl_3$); 1H NMR (500 MHz, $CDCl_3$) δ 7.39-7.33 (5 H, m, aromatic), 5.14 (2 H, d, $J = 4.0$ Hz, $-CH_2Ph$), 3.83 (1 H, dd, $J = 10.5, 6.0$ Hz, $-CH_aH_bOH$), 3.36 (1 H, dd, $J = 10.5, 10.5$ Hz, $-CH_aH_bOH$), 2.59 (1 H, d, $J = 16.0$ Hz, H-1'a), 2.02 (1 H, d, $J = 16.0$ Hz, H-1'b), 2.01 (1 H, s, OH), 1.18 (3 H, s, Me), 1.10-1.04 (1 H, m, H-2), 0.68-0.65 (1 H, m, H-3a), 0.30-0.28 (1 H, m, H-3b); ^{13}C NMR (100 MHz, $CDCl_3$) δ 172.7, 135.8, 134.8, 128.6, 128.4, 66.4, 63.3, 44.8, 25.8, 17.6, 17.4, 16.8; HRMS (ESI) calcd for $C_{14}H_{18}O_3Na$: 257.1154, found 257.1157 $[(M+Na)^+]$.



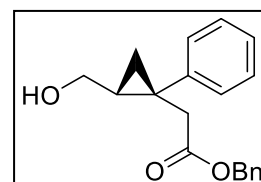
Alcohol (**100**)

100 (140 mg, 0.564 mmol, 2 steps 97%, a colorless oil) was prepared from **94** (230 mg, 0.580 mmol) as described for the preparation of alcohol (**99**). $[\alpha]_D^{24} = 45.8^\circ$ (c 0.17, $CHCl_3$); 1H NMR (500 MHz, $CDCl_3$) δ 7.40-7.31 (5 H, m, aromatic), 5.13 (2 H, d, $J = 6.5$ Hz, $-CH_2Ph$), 3.83 (1 H, dd, $J = 10.5, 5.5$ Hz, $-CH_aH_bOH$), 3.42 (1 H, dd, $J = 10.5, 10.5$ Hz, $-CH_aH_bOH$), 2.69 (1 H, d, $J = 17.0$ Hz, H-1'a), 2.01 (1 H, s, OH), 1.93 (1 H, d, $J = 17.0$ Hz, H-1'b), 1.66-1.59 (1 H, m, $-CH_aH_bCH_3$), 1.31-1.24 (1 H, m, $-CH_aH_bCH_3$), 1.15-1.07 (1 H, m, H-2), 0.95 (3 H, dd, $J = 10.0, 10.0$ Hz, $-CH_2CH_3$), 0.68-0.62 (1 H, m, H-3a), 0.28-0.25 (1 H, m, H-3b); ^{13}C NMR (100 MHz, $CDCl_3$) δ 172.7, 135.8, 134.8, 129.4, 128.6, 128.3, 127.6, 66.3, 62.7, 41.0, 26.7, 23.4, 22.4, 16.1, 11.0; HRMS (ESI) calcd for $C_{15}H_{20}O_3Na$: 271.1310, found 271.1315 $[(M+Na)^+]$.



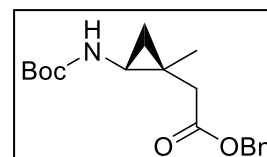
Alcohol (101)

101 (78.0 mg, 0.263 mmol, 2 steps 88%, a colorless oil) was prepared from **95** (114 mg, 0.300 mmol) as described for the preparation of alcohol (**99**). $[\alpha]_D^{26} = -30.6^\circ$ (*c* 1.03, CHCl₃); ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 7.32-7.17 (10 H, m, aromatic), 5.00 (2 H, s, -CH₂Ph), 3.32 (1 H, dd, *J* = 11.2, 5.6 Hz, -CH_aH_bOH), 3.18 (1 H, dd, *J* = 11.2, 7.6 Hz, -CH_aH_bOH), 2.90 (1 H, d, *J* = 15.6 Hz, H-1'a), 2.39 (1 H, d, *J* = 15.6 Hz, H-1'b), 1.67 (1 H, s, OH), 1.46-1.41 (1 H, m, H-2), 1.10-1.06 (1 H, m, H-3a), 1.00-0.98 (1 H, m, H-3b); ¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃) δ 171.4, 139.9, 135.7, 129.8, 128.4, 128.1, 128.1, 126.9, 66.1, 63.6, 46.1, 27.9, 26.5, 15.1; HRMS (ESI) calcd for C₁₉H₂₀O₃Na: 319.1310, found 319.1315 [(M+Na)⁺].



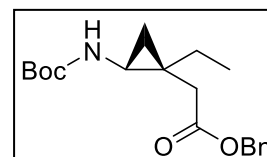
Precursor compound (105)

105 (59.0 mg, 0.185 mmol, 4 steps 46%, as a white solid) was prepared from **99** (93.5 mg, 0.399 mmol) as described for the preparation of precursor compound (**17**). $[\alpha]_D^{17} = -9.36^\circ$ (*c* 0.25, CHCl₃); m.p. 71.5–72.5 °C; ¹H NMR (500 MHz, CDCl₃) δ 7.36-7.30 (5 H, m, aromatic), 5.13 (2 H, s, -CH₂Ph), 4.70 (1 H, s, NH), 2.49 (1 H, d, *J* = 14.5 Hz, H-1'a), 2.43 (1 H, brs, H-2), 2.12 (1 H, d, *J* = 14.5 Hz, H-1'b), 1.44 (9 H, s, *t*Bu), 1.15 (3 H, s, Me), 0.94-0.92 (1 H, m, H-3a), 0.43 (1 H, brs, H-3b); ¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃) δ 171.7, 156.6, 136.0, 128.5, 128.3, 128.1, 79.3, 66.1, 43.3, 33.9, 28.3, 19.2, 18.9, 17.0; HRMS (ESI) calcd for C₁₈H₂₅NO₄Na: 342.1681, found 342.1682 [(M+Na)⁺].



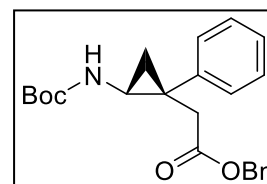
Precursor compound (106)

106 (75.5 mg, 0.227 mmol, 4 steps 42%, as a white solid) was prepared from **100** (135 mg, 0.544 mmol) as described for the preparation of precursor compound (**17**). $[\alpha]_D^{18} = -7.15^\circ$ (*c* 0.32, CHCl₃); m.p. 98.0–98.5 °C; ¹H NMR (500 MHz, CDCl₃) δ 7.36-7.31 (5 H, m, aromatic), 5.12 (2 H, s, -CH₂Ph), 4.65 (1 H, s, NH), 2.52 (1 H, brs, H-2), 2.44 (1 H, d, *J* = 154.5 Hz, H-1'a), 2.18 (1 H, d, *J* = 14.5 Hz, H-1'b), 1.49-1.44 (11 H, m, -CH₂CH₃ and *t*Bu), 0.97-0.92 (4 H, m, -CH₂CH₃ and H-3a), 0.42 (1 H, brs, H-3b); ¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃) δ 171.8, 156.6, 136.0, 128.5, 128.2, 79.4, 66.2, 39.7, 34.5, 28.3, 23.8, 23.6, 18.4, 10.7; HRMS (ESI) calcd for C₁₉H₂₇NO₄Na: 356.1838, found 356.1838 [(M+Na)⁺].



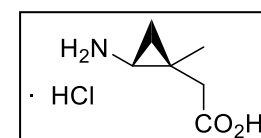
Precursor compound (107)

107 (49.3 mg, 0.129 mmol, 4 steps 42%, as a white solid) was prepared from **101** (91.2 mg, 0.308 mmol) as described for the preparation of precursor compound **17**. $[\alpha]_D^{17} = 43.3^\circ$ (*c* 0.20, CHCl₃); m.p. 81.0–81.5 °C; ¹H NMR (500 MHz, CDCl₃) δ 7.31-7.17 (10 H, m, aromatic), 5.00 (2 H, s, -CH₂Ph), 4.18 (1 H, s, NH), 3.07 (1 H, d, *J* = 14.5 Hz, H-1'a), 2.91 (1 H, brs, H-2), 2.23 (1 H, d, *J* = 14.5 Hz, H-1'b), 1.47 (1 H, brs, H-3a), 1.35 (9 H, s, *t*Bu), 1.14-1.12 (1 H, m, H-3b); ¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃) δ 171.0, 156.2, 138.5, 135.8, 130.2, 128.5, 128.4, 128.1, 128.1, 127.1, 79.4, 66.1, 43.5, 34.4, 28.3, 28.2, 17.8; HRMS (ESI) calcd for C₂₃H₂₇NO₄Na: 404.1838, found 404.1837 [(M+Na)⁺].



Target compound (VIII-1)

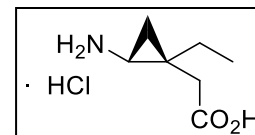
A solution of **25** (16.0 mg, 50.0 μ mol) in aq. HCl (4 M, 1.0 mL) was stirred under reflux conditions for 8 h. After removal of the solvent *in vacuo*, the residue was partitioned between H₂O and CHCl₃. The aqueous layer was evaporated to give **VIII-1** (9.00 mg, 50.0 μ mol, quant.) as a white solid. $[\alpha]_D^{16} =$



36.1° (*c* 0.22, CH₃OH); ¹H NMR (500 MHz, CD₃OD) δ 2.59-2.57 (1 H, m, H-2), 2.40 (1 H, d, *J* = 16.5 Hz, H-1'a), 2.24 (1 H, d, *J* = 16.5 Hz, H-1'b), 1.30 (3 H, d, *J* = 8.5 Hz, Me), 1.04-1.01 (1 H, m, H-3a), 0.76-0.74 (1 H, m, H-3b); ¹³C NMR (MHz, CD₃OD) δ 174.9, ; LRMS (ESI) *m/z* 130 [(M+H)⁺]; Anal. calcd for C₆H₁₁NO₂•1 HCl•0.3 H₂O: C, 42.14; H, 7.43; N, 7.94. Found: C, 41.95; H, 7.04; N, 7.94.

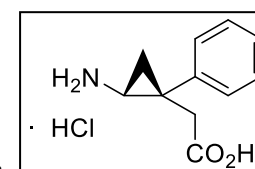
Target compound (VIII-2)

VII-2 (4.20 mg, 23.4 μmol, 94%, a white solid) was prepared from **26** (8.33 mg, 25.0 μmol) as described for the preparation of target compound (**VIII-1**). [α]_D¹⁶ = 6.76° (*c* 0.28, CH₃OH); ¹H NMR (500 MHz, CD₃OD) δ 2.66-2.63 (1 H, m, H-2), 2.57 (1 H, d, *J* = 20.5 Hz, H-1'a), 2.00 (1 H, d, *J* = 20.5 Hz, H-1'b), 1.79-1.70 (1 H, m, -CH_aH_bH₃), 1.43-1.33 (1 H, m, -CH_aH_bH₃), 1.08 (3 H, dd, *J* = 9.5, 9.5 Hz, -CH₂H₃), 1.00-0.97 (1 H, m, H-3a), 0.73-0.70 (1 H, m, H-3b); ¹³C NMR (125 MHz, CD₃OD) δ 174.9, 39.6, 34.5, 23.7, 23.5, 16.8, 10.9; LRMS (ESI) *m/z* 144 [(M+H)⁺]; Anal. calcd for C₇H₁₃NO₂•1 HCl•0.1 H₂O: C, 46.34; H, 7.89; N, 7.72. Found: C, 46.11; H, 7.74; N, 7.59.



Target compound (VIII-3)

VII-3 (11.0 mg, 48.4 μmol, 97%, a white solid) was prepared from **27** (26.0 mg, 96.2 μmol) as described for the preparation of target compound (**VIII-1**). [α]_D¹⁶ = 2.37° (*c* 0.38, CH₃OH); ¹H NMR (500 MHz, CD₃OD) δ 7.50-7.33 (5 H, m, aromatic), 2.98-2.95 (1 H, m, H-2), 2.79 (1 H, d, *J* = 16.0 Hz, H-1'a), 2.49 (1 H, d, *J* = 16.0 Hz, H-1'b), 1.51-1.48 (1 H, m, H-3a), 1.42-1.40 (1 H, m, H-3b); ¹³C NMR (125 MHz, CD₃OD) δ 174.1, 137.7, 131.7, 130.2, 129.4, 44.9, 33.2, 28.6, 16.9; LRMS (ESI) *m/z* 192 [(M+H)⁺]; Anal. calcd for C₇H₁₃NO₂•1 HCl•0.4 H₂O: C, 56.25; H, 6.35; N, 5.96. Found: C, 456.22; H, 6.03; N, 5.93.



参考文献

- (1) Kesselheim, A. S.; Hwang, T. J.; Franklin, J. M. Two decades of new drug development for central nervous system disorders. *Nat. Rev. Drug Discovery* **2015**, *14*, 815.
- (2) Richelson, E.; Pfenning, M. Blockade by antidepressants and related compounds of biogenic amine uptake into rat brain synaptosomes: most antidepressants selectively block norepinephrine uptake. *Eur. J. Pharmacol.* **1984**, *104*, 277.
- (3) (a) Schildkraut, J. J. The catecholamine hypothesis of affective disorders: a review of supporting evidence. *Am. J. Psychiatry* **1965**, *122*, 509. (b) Santarelli, L.; Saxe, M.; Gross, C.; Surget, A.; Battaglia, F.; Dulawa, S.; Weisstaub, N.; Lee, J.; Duman, R.; Arancio, O.; Belzung, C.; Hen, R. Requirement of hippocampal neurogenesis for the behavioral effects of antidepressants. *Science* **2003**, *301*, 805.
- (4) 日本うつ病学会治療ガイドライン II. うつ病 (DSM-5)/大うつ病, 日本うつ病学会, **2016**.
- (5) (a) Kristensen, A. S.; Andersen, J.; Jørgensen T. N.; Sørensen, L.; Eriksen, J.; Loland, C. J.; Strømgaard, K.; Gether, U. SLC6 neurotransmitter transporters: structure, function, and regulation. *Pharmacol. Rev.* **2011**, *63*, 585. (b) Pramod, A. B.; Foster, J.; Carvelli, L.; Henry, L. K. SLC6 transporters: structure, function, regulation, disease association and therapeutics. *Mol. Aspects Med.* **2013**, *34*, 197. (c) Bitoun, M.; Tappaz, M. Gene expression of the transporters and biosynthetic enzymes of the osmolytes in astrocyte primary. *Glia*. **2000**, *32*, 165.
- (6) Chang, G.; Roth, C.B. Structure of MsbA from *E. coli*: a homolog of the multidrug resistance ATP binding cassette (ABC) transporters. *Science* **2001**, *293*, 1793.
- (7) Zafra, F.; Giménez, C. Glycine transporters and synaptic function. *IUBMB Life* **2008**, *60*, 810.
- (8) (a) Yamashita, A.; Singh, S. K.; Kawate, T.; Jin, Y.; Gouaux, E. Crystal structure of a bacterial homologue of Na⁺/Cl⁻-dependent neurotransmitter transporters. *Nature* **2005**, *437*, 215. (b) Kanner, B. I.; Zomot, E. Sodium-coupled neurotransmitter transporters. *Chem. Rev.* **2008**, *108*, 1654. (c) Singh, S. K.; Piscitelli, CL.; Yamashita, A.; Gouaux, E. A competitive inhibitor traps LeuT in an open-to-out conformation. *Science* **2008**, *322*, 1655.
- (9) (a) Weyand, S.; Shimamura, T.; Yajima, S.; Suzuki, S.; Mirza, O.; Krusong, K.; Carpenter, E. P.; Rutherford, N. G.; Hadden, J. M.; O'Reilly, J.; Ma, P.; Saidijam, M.; Patching, S. G.; Hope, R. J.; Norbertczak, H. T.; Roach, P. C.; Iwata, S.; Henderson, P. J.; Cameron, A. D. Structure and molecular mechanism of a nucleobase-cation-symport-1 family transporter. *Science* **2008**, *322*, 709. (b) Shimamura, T.; Weyand, S.; Beckstein, O.; Rutherford, N. G.; Hadden, J. M.; Sharples, D.; Sansom, M. S.; Iwata, S.; Henderson, P. J.; Cameron, A. D. Molecular basis of alternating access membrane transport by the sodium-hydantoin transporter Mhp1. *Science* **2008**, *328*, 470.
- (10) Skovstrup, S.; Taboureau, O.; Bräuner-Osborne, H.; Jørgensen, F. S. Homology modelling of the GABA transporter and analysis of tiagabine binding. *ChemMedChem* **2010**, *5*, 986.
- (11) (a) Dalby, N. O. Inhibition of γ -aminobutyric acid uptake: anatomy, physiology and effects against epileptic seizures. *Eur. J. Pharmacol.* **2003**, *479*, 127. (b) Jin, X. T.; Paré, J. F.; Smith, Y. Differential localization and function of GABA transporters, GAT-1 and GAT-3, in the rat globus pallidus. *Eur. J. Neurosci.* **2011**, *33*, 1504. (c) Smith, M. D.; Saunders, G. W.; Clausen R. P.; Frolund, B.; Larsen, P. K.; Larsson, O. M.; Schousboe, A.; Wilcox, K. S.; White, H. S. Inhibition of the betaine-GABA transporter (mGAT2/BGT-1) modulates spontaneous electrographic bursting in the medial entorhinal cortex (mEC). *Epilepsy Res.* **2008**, *79*, 6. (d) 田中千賀子, 加藤隆一 編集. *New 薬理学 改定第4版*, 南江堂.
- (12) (a) Soudijn, W.; Wijngaarden, I. V. The GABA transporter and its inhibitors. *Curr. Med. Chem.* **2000**, *7*, 1063-1079. (b) Schousboe, A.; Sarup, A.; Larsson, O. M.; White, HS. GABA transporters as drug targets for modulation of GABAergic activity. *Biochem. Pharmacol.* **2004**, *68*, 1557-1563. (c) Galvan, A.; Kuwajima, M.; Smith, Y. Glutamate

- and GABA receptors and transporters in the basal ganglia: What does their subsynaptic localization reveal about their function? *Neuroscience* **2006**, *143*, 351-375. (d) Madsen, K. K.; White, H. S.; Schousboe, A. Neuronal and non-neuronal GABA transporters as targets for antiepileptic drugs. *Pharmacol. Ther.* **2010**, *125*, 394-401.
- (13) (a) Chen, N. H.; Reith, M. E.; Quick, M. W. Synaptic uptake and beyond: the sodium- and chloride-dependent neurotransmitter transporter family. *Eur. J. Physiol.* **2004**, *447*, 519. (b) Taylor, J.; Gordon-Weeks, P. R. Calcium-Independent γ -Aminobutyric Acid release from Growth Cones: Role of γ -Aminobutyric Transport. *J. Neurosci.* **1991**, *56*, 273.
- (14) Kilmse, K.; Kirischuk, S. Ambient GABA constrains the strength of GABAergic synapses at Cajal-Retzius cells in the developing visual cortex. *J. Neurosci.* **2006**, *26*, 4216.
- (15) Kilmse, K.; Kirischuk, S.; Grantyn, R. Role of GABA transporter 3 in GABAergic synaptic transmission at striatal output neurons. *Synapse* **2009**, *63*, 921.
- (16) (a) Gadea, A.; Lopez-Colome, A. M. Glial transporters for glutamate, glycine, and GABA: II. GABA transporters. *J. Neurosci. Res.* **2001**, *63*, 461. (b) Madsen, K. K.; White, H. S.; Schousboe, A. Neuronal and non-neuronal GABA transporters as targets for antiepileptic drugs. *Pharmacol. Ther.* **2010**, *125*, 394. (c) Bitoun, M.; Tappaz, M. Gene expression of the transporters and biosynthetic enzymes of the osmolytes in astrocyte primary cultures exposed to hyperosmotic conditions. *Glia* **2010**, *32*, 165.
- (17) (a) Kempson, S. A.; Zhou, Y.; Danbolt, N. C. The betaine/GABA transporter and betaine: roles in brain, kidney, and liver. *Front Physiol.* **2014**, *5*, 159. (b) Day, C. R.; Kempson, S. A. Betaine chemistry, roles, and potential use in liver disease. *Biochim. Biophys. Acta* **2016**, *1860*, 1098.
- (18) (a) Borden, L. A.; Murali, Dhar, T. G.; Smith, K. E.; Weinshank, R. L.; Branchek, T. A.; Gluchowski, C. Tiagabine, SK&F 89976-A, CI-966, and NNC-711 are selective for the cloned GABA transporter GAT-1. *Eur. J. Pharmacol.* **1994**, *269*, 219. (b) Dhar, T. G.; Borden, L. A.; Tyagarajan, S.; Smith, K. E.; Branchek, T. A.; Weinshank, R. L.; Gluchowski, C. Design, synthesis and evaluation of substituted triarylnipicotic acid derivatives as GABA uptake inhibitors: identification of a ligand with moderate affinity and selectivity for the cloned human GABA transporter GAT-3. *J. Med. Chem.* **1994**, *37*, 2334. (c) Clausen, R. P.; Moltzen, E. K.; Perregaard, J.; Lenz, S. M.; Sanchez, C.; Falch, E.; Frølund, B.; Bolvig, T.; Sarup, A. Selective inhibitors of GABA uptake: synthesis and molecular pharmacology of 4-N-methylamino-4,5,6,7-tetrahydrobenzo[d]isoxazol-3-ol analogues. *Bioorg. Med. Chem.* **2005**, *13*, 895. Vogensen, S. B.; Jørgensen, L.; Madsen, K. K.; Borkar, N.; Wellendorph, P.; Skovgaard-Petersen, J.; Schousboe, A.; White, H. S.; Krogsgaard-Larsen, P.; Clausen, R. P. Selective mGAT2 (BGT-1) GABA Uptake Inhibitors: Design, Synthesis, and Pharmacological Characterization. *J. Med. Chem.* **2013**, *56*, 2160.
- (19) Damgaard, M.; Al-Khawaja, A.; Vogensen, S. B.; Jurik, A.; Sijm, M.; Lie, M. E.; Bæk, M. I.; Rosenthal, E.; Jensen, A. A.; Ecker, G. F.; Frølund, B.; Wellendorph, P.; Clausen, R. P. Identification of the First Highly Subtype-Selective Inhibitor of Human GABA Transporter GAT3. *ACS Chem. Neurosci.* **2015**, *6*, 1591.
- (20) (a) Kazuta, Y.; Hirano, K.; Natsume, K.; Yamada, S.; Kimura, R.; Matsumoto, S.; Furuichi, K.; Matsuda, A.; Shuto, S. Cyclopropane-based conformational restriction of histamine. (1*S*,2*S*)-2-(2-aminoethyl)-1-(1*H*-imidazol-4-yl)cyclopropane, a highly selective agonist for the histamine H₃ receptor, having a cis-cyclopropane structure. *J. Med. Chem.* **2003**, *46*, 1980. (b) Yamaguchi, K.; Kazuta, Y.; Hirano, K.; Yamada, S.; Matsuda, A.; Shuto, S. Synthesis of 1-arylpiperazyl-2-phenylcyclopropanes designed as antidopaminergic agents: cyclopropane-based conformationally restricted analogs of haloperidol. *Bioorg. Med. Chem.* **2008**, *16*, 8875.
- (21) Levandovskiy, I. A.; Sharapa, D. I.; Shamota, T. V.; Rodionov, V. N.; Shubina, T. E. Conformationally restricted

GABA analogs: from rigid carbocycles to cage hydrocarbons. *Future Med. Chem.* **2011**, *3*, 223.

(22) Pavia, M. R.; Lobbstaël, S. J.; Nugiel, D.; Mayhugh, D. R.; Gregor, V. E.; Taylor, C. P.; Schwarz, R. D.; Brahce, L.; Vartanian, M. G. Structure-activity studies on benzhydrol-containing nipecotic acid and guvacine derivatives as potent, orally-active inhibitors of GABA uptake. *J. Med. Chem.* **1992**, *35*, 4238.

(23) Nakada, K.; Yoshikawa, M.; Ide, S.; Suemasa, A.; Kawamura, S.; Kobayashi, T.; Masuda, E.; Ito, Y.; Hayakawa, W.; Katayama, T.; Yamada, S.; Arisawa, M.; Minami, M.; Shuto, S. Cyclopropane-Based conformational restriction of GABA by a stereochemical diversity-oriented strategy: Identification of an efficient lead for potent inhibitors of GABA transports. *Bioorg. Med. Chem.* **2013**, *21*, 4938.

(24) Hopkins, A. L.; Groom, C. R.; Alex, A. Ligand efficiency: a useful metric for lead selection. *Drug. Discov. Today* **2004**, *9*, 430.

(25) (a) Shuto, S.; Ono, S.; Hase, Y.; Ueno, Y.; Noguchi, T.; Yoshii, K.; Matsuda, A. Synthesis and biological activity of conformationally restricted analogs of milnacipran: (1*S*,2*R*)-1-phenyl-2-[(*S*)-1-aminopropyl]-*N,N*-diethylcyclopropanecarboxamide, an efficient noncompetitive *N*-methyl-D-aspartic acid receptor antagonist. *J. Med. Chem.* **1996**, *39*, 4844. (b) Shuto, S.; Ono, S.; Imoto, H.; Yoshii, K.; Matsuda, A. Synthesis and biological activity of conformationally restricted analogues of milnacipran: (1*S*,2*R*)-1-phenyl-2-[(*R*)-1-amino-2-propynyl]-*N,N*-diethylcyclopropanecarboxamide is a novel class of NMDA receptor channel blocker. *J. Med. Chem.* **1998**, *41*, 3507.

(26) Ono, S.; Ogawa, K.; Yamashita, K.; Yamamoto, T.; Kazuta, Y.; Matsuda, A.; Shuto, S. Conformational analysis of the NMDA receptor antagonist (1*S*,2*R*)-1-phenyl-2-[(*S*)-1-aminopropyl]-*N,N*-diethylcyclopropanecarboxamide (PPDC) designed by a novel conformational restriction method based on the structural feature of cyclopropane ring. *Chem. Pharm. Bull.* **2002**, *50*, 966.

(27) (a) Watanabe, M.; Kazuta, Y.; Hayashi, H.; Yamada, S.; Matsuda, A.; Shuto, S. The stereochemical diversity-oriented conformational restriction strategy. Development of potent histamine H₃ and/or H₄ receptor antagonists with an imidazolylcyclopropane structure. *J. Med. Chem.* **2006**, *49*, 5787. (b) Watanabe, M.; Hirokawa, T.; Kobayashi, T.; Yoshida, A.; Ito, Y.; Yamada, S.; Orimoto, N.; Yamasaki, Y.; Arisawa, M.; Shuto, S. Investigation of the bioactive conformation of histamine H₃ receptor antagonists by the cyclopropyl strain-based conformational restriction strategy. *J. Med. Chem.* **2010**, *53*, 3585.

(28) Mizuno, A.; Matsui, K.; Shuto, S. From Peptides to Peptidomimetics: A Strategy Based on the Structural Features of Cyclopropane. *Chemistry* **2017**, *23*, 14394.

(29) (a) 渡辺瑞貴, 学位論文, **2008**, 北海道大学. (b) Kazuta, Y.; Hirano, K.; Natsume, K.; Yamada, S.; Kimura, R.; Matsumoto, S.; Furuichi, K.; Matsuda, A.; Shuto, S. (1*S*,2*S*)-2-(2-Aminoethyl)-1-(1*H*-imidazol-4-yl)cyclopropane, a highly selective agonist for the histamine H₃ receptor, having a *cis*-cyclopropane structure. *J. Med. Chem.* **2003**, *46*, 1980.

(30) (a) Evans, D. A.; Wu, L. D.; Wiener, J. J. M.; Johnson, J. S.; Ripin, D. H. B.; Tedrow, J. S. A General Method for the Synthesis of Enantiomerically Pure β -Substituted, β -Amino Acids through α -Substituted Succinic Acid Derivatives. *J. Org. Chem.* **1999**, *64*, 6411. (b) Arya, P.; Qin, H. Advances in asymmetric enolate methodology. *Tetrahedron* **2000**, *56*, 917. (c) Evans, D. A.; Britton, T. C.; Dorow, R. L.; Dellaria, J. F. The asymmetric synthesis of α -amino and α -hydrazino acid derivatives via the stereoselective amination of chiral enolates with azodicarboxylate esters.

(31) Yabuuchi, T.; Kusumi, T. Phenylglycine methyl ester, a useful tool for absolute configuration determination of various chiral carboxylic acids. *J. Org. Chem.* **2000**, *65*, 397. *Tetrahedron* **2000**, *17*, 5525.

- (32) (a) 吉河真美絵, 修士論文, **2011**, 北海道大学. (b) 早川航, 修士論文, **2012**, 北海道大学. (c) 井川ありさ, 卒業論文, **2015**, 北海道大学.
- (33) Davis, F. A.; Lamendola, J.; Nadir, U.; Kluger, E. W.; Sedergran, T.C.; Panunto, T. W.; Billmers, R.; Jenkins R.; Turchi, I. J. Chemistry of oxaziridines. 1. Synthesis and structure of 2-arenesulfonyl-3-aryloxaziridines. A new class of oxaziridines. *J. Am. Chem. Soc.* **1980**, *102*, 2000.
- (34) (a) Kusumi, T.; Fukushima, T.; Ohtani, I.; Kakisawa, H. Elucidation of the absolute configurations of amino acids and amines by the modified Mosher's method. *Tetrahedron Lett.* **1991**, *32*, 2939. (b) Ohtani, I.; Kusumi, T.; Kashman, Y.; Kakisawa, H. High-field FT NMR application of Mosher's method. The absolute configurations of marine terpenoids. *J. Am. Chem. Soc.* **1991**, *113*, 4092.
- (35) Kirk, K. L. Fluorination in Medicinal Chemistry: Methods, Strategies, and Recent Developments. *Org. Process Res. Dev.* **2008**, *12*, 305.
- (36) Evans, D. A.; Britton, T. C. Electrophilic azide transfer to chiral enolates. A general approach to the asymmetric synthesis of α -amino acids. *J. Am. Chem. Soc.* **1987**, *109*, 6881.
- (37) Soucy, F.; Grenier, L.; Behnke, M. L.; Destree, A. T.; McCormack, T. A.; Adams, J.; Plamondon, L. A Novel and Efficient Synthesis of a Highly Active Analogue of clasto-Lactacystin β -Lactone. *J. Am. Chem. Soc.* **1999**, *121*, 9967.
- (38) 小林嵩明, 学位論文, **2013**, 北海道大学.
- (39) Sekiyama, T.; Hatsuya, S.; Tanaka, Y.; Uchiyama, M.; Ono, N.; Iwayama, S.; Oikawa, M.; Suzuki, K.; Okunishi, M.; Tsuji, T.;
- (40) Park, A. Y.; Moon, H. R.; Kim, K. R.; Chun, M. W.; Jeong, L. S. Synthesis of novel L-N-MCd4T as a potent anti-HIV agent. *Org. Biomol. Chem.* **2006**, *4*, 4065.
- (41) Kobayashi, T.; Suemasa, A.; Igawa, A.; Ide, S.; Fukuda, H.; Abe, H.; Minami, M.; Shuto, S. Conformationally Restricted GABA with Bicyclo[3.1.0]hexane Backbone as the First Highly Selective BGT-1 Inhibitor. *ACS Med. Chem. Lett.* **2014**, *5*, 889.
- (42) Wahlsten, D.; Metten, P.; Phillips, T. J.; Boehm, S. L.; Burkhart-Kasch, S.; Dorow, J.; Doerksen, S.; Downing, C.; Fogarty, J.; Rodd-Henricks, K.; Hen, R.; McKinnon, C. S.; Merrill, C. M.; Nolte, C.; Schalomon, M.; Schlumbohm, J. P.; Sibert, JR.; Wenger, C. D.; Dudek, B. C.; Crabbe, J. C. Different data from different labs: lessons from studies of gene-environment interaction. *J. Neurobiol.* **2003**, *54*, 283.
- (43) (a) Miller, P.S.; Aricescu, A.R. Crystal structure of a human GABA_A receptor. *Nature* **2014**, *512*, 270. (b) Rabow, L. E.; Russek, S. J.; Farb, D. H. From ion currents to genomic analysis: recent advances in GABA_A receptor research. *Synapse* **1995**, *21*, 189. (c) Sigel, E.; Steinmann, M. E. Structure, function, and modulation of GABA(A) receptors. *J. Biol. Chem.* **2012**, *287*, 40224. (d) Belelli, D.; Lambert, J.J. Neurosteroids: endogenous regulators of the GABA(A) receptor. *Nat. Rev. Neurosci.* **2005**, *6*, 565.
- (44) 末政 亮大, 卒業論文, **2014**, 北海道大学.
- (45) Hoshiya, N.; Kobayashi, T.; Arisawa, M.; Shuto, S. Palladium-Catalyzed Arylation of Cyclopropanes via Directing Group-Mediated C(sp₃)-H Bond Activation To Construct Quaternary Carbon Centers: Synthesis of cis- and trans-1,1,2-Trisubstituted Chiral Cyclopropanes. *Org. Lett.* **2013**, *15*, 6202.
- (46) Hoshiya, N.; Takenaka, K.; Shuto, S.; Uenishi, J. Pd(II)-Catalyzed Alkylation of Tertiary Carbon via Directing-Group-Mediated C(sp₃)-H Activation: Synthesis of Chiral 1,1,2-Trialkyl Substituted Cyclopropanes. *Org. Lett.* **2016**, *18*, 48.
- (47) (a) Al-Khawaja, A.; Petersen, J. G.; Damgaard, M.; Jensen, M. H.; Vogensen, S. B.; Lie, M. E.; Kragholm, B.;

Bräuner-Osborne, H.; Clausen, R. P.; Frølund, B.; Wellendorph, P. Pharmacological Identification of a Guanidine-Containing β -Alanine Analogue with Low Micromolar Potency and Selectivity for the Betaine/GABA Transporter 1 (BGT1). *Neurochem. Res.* **2014**, *39*, 1988. (b) Falk-Petersen, C. B.; Søgaaard, R.; Madsen K. L.; Klein, A. B.; Frølund, B.; Wellendorph, P. Development of a Robust Mammalian Cell-based Assay for Studying Recombinant α 4 β 1/3d GABA_A Receptor Subtypes. *Basic & Clinical Pharmacology & Toxicology*