OUKA
Osaka University Knowledge Archive

Title	栄養飢餓環境選択的がん細胞増殖阻害物質biakamide類の合成研究と作用メカニズム解析
Author(s)	石田, 良典
Citation	大阪大学, 2017, 博士論文
Version Type	VoR
URL	https://doi.org/10.18910/61696
rights	
Note	

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

https://ir.library.osaka-u.ac.jp/

Osaka University

栄養飢餓環境選択的がん細胞増殖阻害物質
biakamide 類の合成研究と作用メカニズム解析

2017 年

石田　良典

目次

緒論 ……1

本論
第一章　Biakamide 類の絶対立体配置の決定 ……8
　第一節　Biakamide 類の 4 位および 6 位の全立体異性体の合成 ……11
　第二節　Biakamide 類の絶対立体配置の決定 ……15

第二章　Biakamide 類の構造活性相関研究 ……19
　第一節　大量供給を想定した dedimethyl-biakamide C, D (**28**, **29**)の合成と活性評価 ‥19
　第二節　官能基を変換した構造類縁体の合成と活性評価 ……20

第三章　Bikamide 類の作用メカニズム解析 ……27
　第一節　Biakamide 類による
　　栄養飢餓マーカーの変化とミトコンドリア呼吸鎖阻害活性 ……27
　第二節　蛍光イメージングによる biakamide 類の標的分子探索 ……35

結論 ……39

謝辞 ……40

実験項 ……41

参考文献 …… 102

本文中は以下の略語とタンパク質の通称を用いた。

Boc_2O	di-*tert*-butyl dicarbonate
COSY	correlation spectroscopy
DAPI	4',6-diamidino-2-phenylindole
DIBAL-H	diisobutylaluminium hydride
DIEPA	*N*,*N*-diisopropylethylamine
DMF	*N*,*N*-dimethylformamide
EDCI・HCl	1-(3-dimethylaminopropyl)-3-ethylcarbodiimide hydrochloride
ER	endoplasmic reticulum
HMBC	hetero-nuclear multiple-bond connectivity
HOBt	1-hydroxybenzotriazole
IBX	2-iodoxybenzoic acid
LiHMDS	lithium bis(trimethylsilyl)amide
MALDI-TOF-MS	matrix assisted laser desorption/ionization-time of flight-mass spectrometry
MS4A	molecular sieve 4A
MTPA	α-methoxy-α-(trifluoromethyl)phenylacetyl
NMO	*N*-methylmorpholine *N*-oxide
NMR	nuclear magnetic resonance
NOESY	nuclear overhauser effect correlated spectroscopy
PGME	phenylglycine methyl ester
TBAF	tetra-*n*-butylammonium fluoride
TBDPSCl	*tert*-butyldiphenylchlorosilane
TBSCl	*tert*-butylchlorodimethylsilane
TEMPO	2,2,6,6-tetramethylpiperidine 1-oxyl
TFA	trifluoroacetic acid
THF	tetrahydrofuran
TMSOK	potassium trimethylsilanolate
TOCSY	totally correlated spectroscopy
TPAP	tetrapropylammonium perruthenate
TTFA	thenoyltrifluoroacetone
WST-8	water soluble tetrazolium salts - 8

タンパク質

Akt	protein kinase B
COX IX	cytochrome c oxidase
GRP78	glucose regulated protein 78

緒論

人間は古来より、天然から得られる生薬成分を、経験的に医薬効果を有する薬として使用してきた。近代になり、長井長義による麻黄からのエフェドリン単離に代表されるように生薬の医薬活性成分の探索研究をはじめとする天然化合物の単離構造解析研究が始まり、核磁気共鳴スペクトル(NMR)をはじめとする分析機器の進歩によってその構造決定研究が精力的に行われるようになった[1]。その結果、薬用有効成分の探索研究から、多くの活性天然物が単離・構造決定され、医薬品あるいは生物活性物質として医療・研究両面に大きく

code	brief definition
B	Biological macromolecule
N	Unaltered natural product
NB	Botanical drug (defined mixture)
ND	Natural product derivative
S	Synthetic drug
S*	Synthetic drug (Natural product pharamacophore)
V	Vaccine
/NM	Mimic of natural product

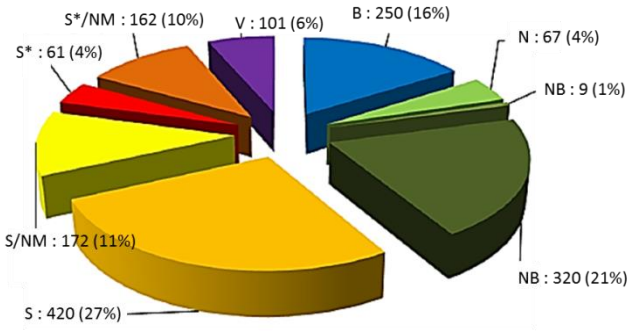


Figure 1： 1984 年から 2014 年の間に新規承認された 1,562 種の薬剤の分類
括弧内は分類薬剤の比率を百分率で示した(参考文献 2 の図より改変)

貢献している。1981 年から 2014 年までの 34 年間で承認された薬剤 1,562 種のうち、生薬や天然物を軸として開発されたものは約 51%にのぼり(Figure 1)[2]、2015 年にノーベル生理学・医学賞の対象となった寄生虫感染治療薬 avermectin や抗マラリア薬 artemisinin に代表されるように重要な役割を果たしてきた(Figure 2)。加えて、例えばポリ環状エーテルであるシガトキシンなどのように、天然物は合成品と異なり人間の想像を凌駕した多種多様な骨格構造をもち、それらの複雑性が全合成のターゲットとして有機合成化学者の興味を惹くことで有機合成化学の進歩にも貢献してきた[3]。このように天然物は科学の発展に大きく寄与しており、その重要性は明らかである。しかし、容易に収集できる天然資源からの天然

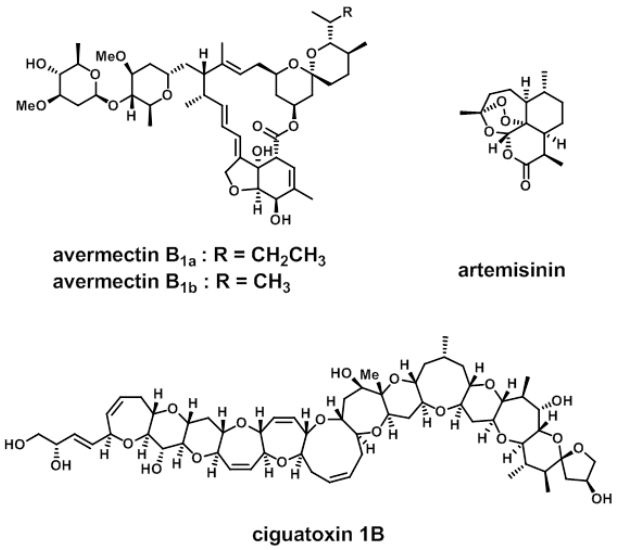


Figure 2： 寄生虫感染治療薬 avermectin B_{1a}, B_{1b}、抗マラリア薬 artemisinin、 シガテラ毒 ciguatoxin 1B

物の探索研究が網羅的に進められた結果、ユニークな新規構造を有する化合物や、新たな生物活性を示す天然化合物の探索研究は難しくなっており、これを打ち破る新たな探索資源の開発やスクリーニング方法の構築が喫緊の課題である。このような背景のもと、著者の所属する研究室では探索資源として海洋底生生物に重点を置いている。特に海洋底生生物の一種である海綿は、陸生生物には見られない特異な化学構造と顕著な生物活性を有する二次代謝産物の報告例が多数あることから、天然物探索資源として魅力であり [4]、これまでに、インドネシア産海綿 *Corticium simplex* よりヒト臍帯静脈内皮細胞(HUVECs)増殖阻害活性物質 cortistatin A や、沖縄産海綿よりヒト口腔類表皮がん細胞(KBs)増殖阻害活性物質 arenastatin A をはじめとする様々な活性物質を見出し [5,6]、海綿がユニークな化合物資源であることを示してきた (Figure 3)。

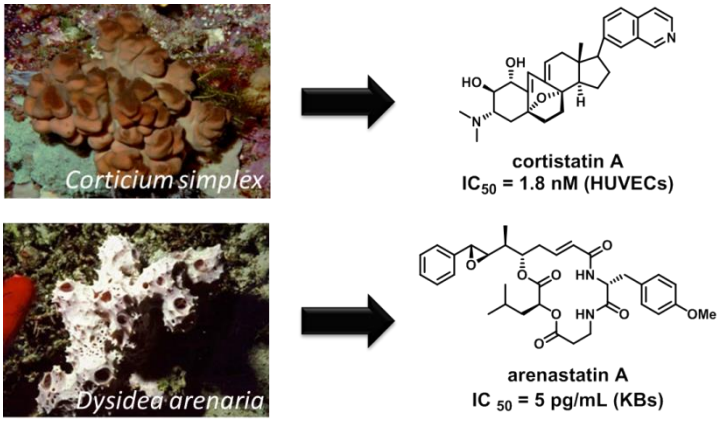


Figure 3：海綿から単離されたユニークな構造をもつ化合物

このような天然資源の医薬シーズとしての活用法の一つとして、抗がん剤リード化合物創出が挙げられる。実際に、平田、上村によってクロイソカイメン *Halicondria okadai* より単離された halicondrin B は、岸らによる全合成達成後にアナログ化合物への誘導化が行われ、エーザイ株式会社から乳癌に対する抗がん剤 eribulin(商品名 Haraven)として実用化されており、天然物単離から合成研究を経て抗がん治療薬へと展開される理想的なモデルケースとなっている(Figure 4) [7,8]。

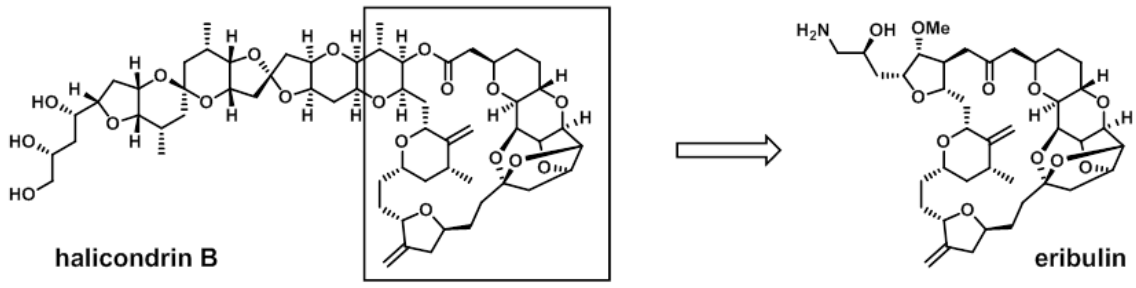


Figure 4： Haicondrin B の部分構造を模して創出された乳癌治療薬 eribulin

がんという疾患は現在の日本人の死因第一位であり、2012 年の予測データによれば、生涯のがん罹患率は約 2 人に 1 人と言われている [9]。がんの治療法研究は世界的に精力的に行われており、外科的療法による患部除去のみならず、放射線療法や化学療法など様々なアプローチによる治癒療法が探されている。外科療法や放射線療法は、完全に腫瘍を除ききき

らなければ常に再発の可能性が残る問題点があるが、体内で確実にがん細胞を殺す作用をもつ抗がん剤を使用した化学療法は強力な抗がん治療法の一つである。近年では、従来の低分子化合物のみならず、遺伝工学、分子生物学研究の進歩によって抗体療法を含む免疫療法が開発されるなど、化学療法の基礎研究に注目が集まっている。Taxol(商品名paclitaxel)のように、天然物をはじめとする低分子薬は化学療法の中で目覚ましい活躍を見せてきたが、現在の抗がん剤売上の上位を見てみると低分子ではなくこれら抗体医薬品を含むバイオ医薬品が主流となっており、天然物を含む低分子医薬品は売上で苦戦していることがわかる[10]。これら抗体医薬品は低分子と比べ規格外の価格や耐性株の出現など、その絶大な効果と対照に問題点も存在する[11,12]。一方で、天然物が有する多様な骨格やユニークな活性は、抗体医薬にカバーできないところも補完できる低分子抗がん治療薬として重要な研究領域である。加えて、近年盛んにおこなわれている有機合成を軸にした活性天然物の特異な活性発現機構の解明研究は、新たな薬剤標的の発見のみならずがん病態の機構解明にもつながる社会的、学問的に魅力的な分野であり、これらを含めた低分子創薬の重要性は明らかである。

近年までの低分子抗がん剤に着目してみると、それは基本的に非特異的に細胞を殺す薬剤であった。例えばタキソールは tubulin の脱重合を阻害することでがん細胞の apoptosis を促す[13,14]。このシステムの細胞選択性は十分とは言えず、より活動が活発ながん細胞に多く取り込まれることによって抗がん作用を示すため、細胞分裂の激しい毛根や血球系細胞に対しても増殖阻害活性を示し、副作用の原因としても問題視されている。これらの低分子による抗がん療法に比べ、選択性の高い抗体医薬品が重用されている状況をかんがみれ

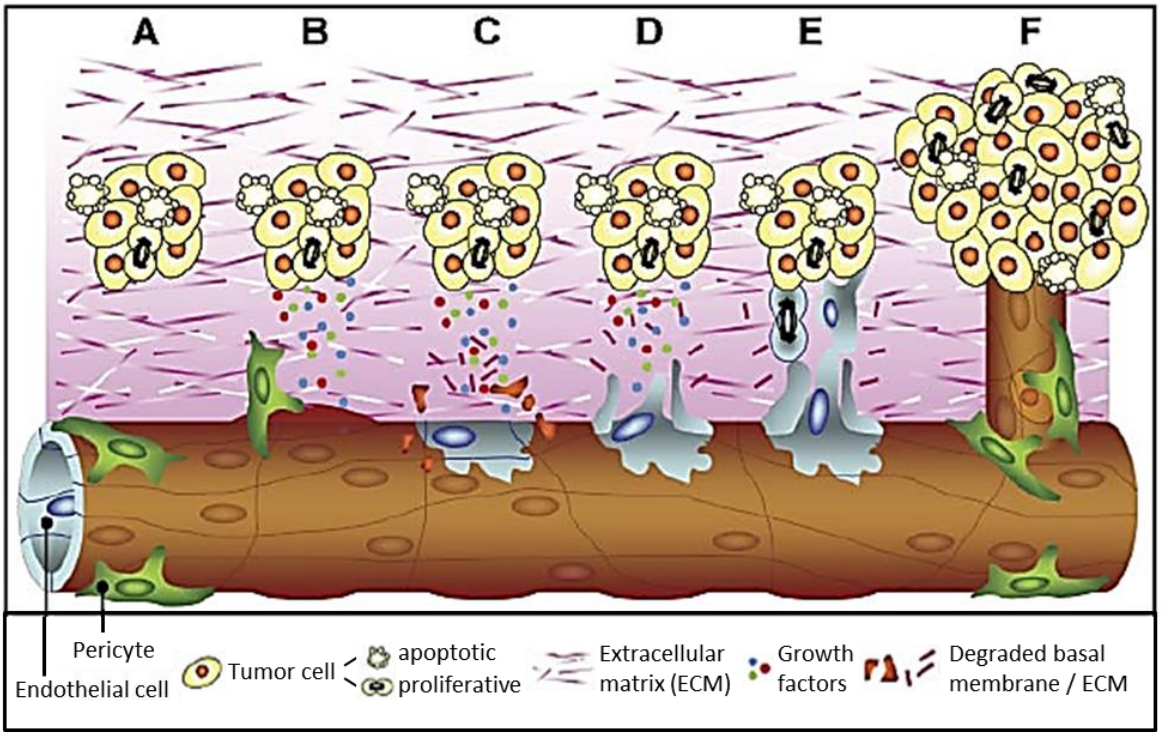


Figure 5：がん細胞による血管新生[17]

ば、これからの新しい低分子化学療法としては、高選択的な細胞毒性を有する、あるいはがん細胞を正常細胞に治す、というこれまでとは大きく異なる活性が一つの解決であり、次世代の低分子医薬品に求められる。

以上のことから、著者の所属する研究室では、近年重要視されているがん組織特有にみられるがん微小環境に着目し、通常細胞との選択性をもつ抗がんシーズであれば問題となる副作用が軽減できると考え、スクリーニング系の構築を行っている。がん組織中では、がん細胞は増殖を活発に続けるために通常細胞に比べ血管から大量の酸素や栄養を確保する必要がある。そこで angiopoietin 2 (Ang2)や vascular endothelial growth factors (VEGFs)をはじめとする血管新生誘導物質を放出することで組織に届くような新生血管を構築することが知られている(Figure 5) [15-17] が、近年では細胞増殖の速さに対して無秩序に構築される新生血管が追い付かず、血管から離れた位置で局所的に低酸素、低栄養といった環境に晒されていることが明らかになっている(Figure 6) [18,19]。以前よりこのような低酸素性ががん腫瘍の悪性化に寄与することが言及されてきた [20] が、その原因として小胞体ストレス応答(unfolded protein response = UPR)を始めとした代謝系の変化によるがん細胞の抵抗性獲得が挙げられる。すなわち、低酸素や低栄養といった高ストレス環境下では、細胞は翻訳後にフォールディングされなかった、あるいは正しくフォールディングされなかったタンパク質群を多く抱えた小胞体ストレス状態に陥るが、がん細胞は自身の代謝系を変化させることでタンパク質の再構築や分解を促し、このストレス環境下においても生存、増殖を続けることが出来る [21]。このような過酷な環境に適応したがん細胞は同時に、化学療法や放射線療法といった抗がん治療法に対しても抵抗性を獲得することから、がん病態の悪性化に寄与することが問題視されている。しかし、低酸素、低栄養環境はがん組織特有にみられる現象であり、がん細胞独自の代謝や応答をもつことから、がん細胞が正常細胞より活発に細胞分裂する性質を利用した従来の低分子抗がん剤のメカニズムと異なる、副作用の小さい抗がん剤に向けた新たな薬剤標的が見出されることが期待される。

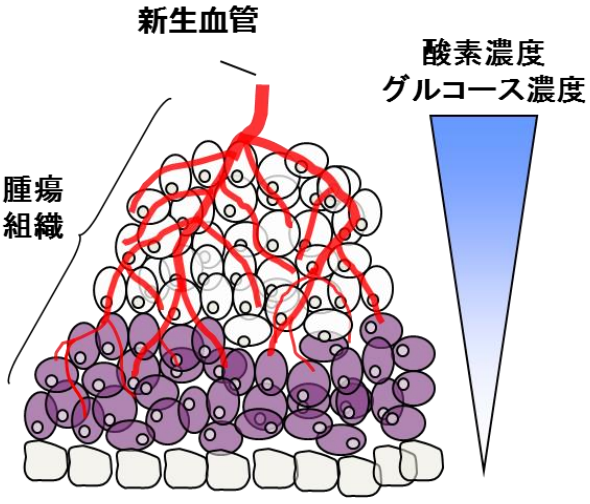


Figure 6：増殖の活発ながん組織の微小環境

がん細胞の低酸素環境適応については精力的に研究が進められており、その中心分子である hypoxia inducible factors (HIFs) [22] は新たな薬剤標的として注目され、その阻害剤が臨床試験に進んでいる [23,24]。また、著者の所属する研究室において、低酸素環境選択的ながん細胞増殖阻害活性物質としてインドネシア産海綿由来のフラノセスタテルペン furospinosulin-1 を見出しているが、その後の作用メカニズム解析の結果、本化合物が

p54nrb および LEDGF という、低酸素環境に関わる新たな責任分子に結合することが明らかになるなど、興味深い知見を得ている (Figure 7)[25,26]。一方で、低酸素と同時に発生するはずの低栄養状態に関しては今まであまり注目されておらず、医薬品開発への応用例も少ない。しかしながら過去の研究例では、グルコース飢餓環境選択的ながん細胞増殖阻害活性化合物として放線菌 *Actinomycetes* の二次代謝産物である kigamicin D や、生薬として知られる牛蒡子抽出物由来の arctigenin などが単離、同定されており[27,28]、特に arctigenin はその選択的がん細胞増殖阻害活性が期待され、成分として含有している牛蒡子エキス GBS-01 が臨床試験に進んでいる[29,30]ことから、創薬研究において非常に魅力的である(Figure 8)。

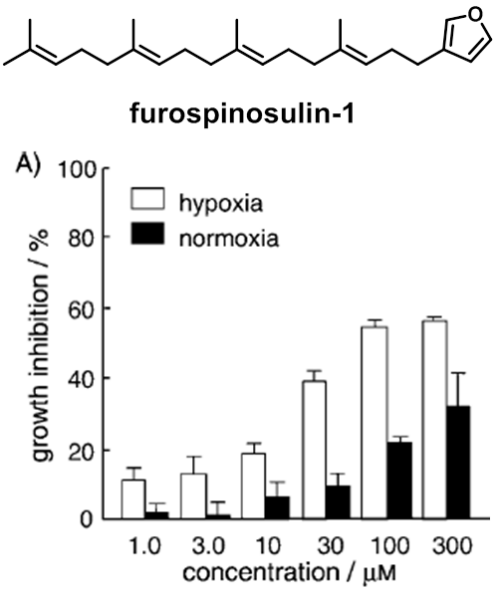


Figure 7： Furospiosulin-1 の DU145 細胞に対する低酸素選択的増殖阻害活性[23]

このような背景のもと著者の所属する研究室では、主な栄養源であるグルコール飢餓培養条件に適応したがん細胞のみに増殖阻害活性を示す化合物の探索研究を行い、副作用の少ない抗がんリード化合物の創出やがん細胞の低栄養環境適応機構の解明を目指している。アッセイ方法としては、ヒト膵臓がん細胞 PANC-1 を播種し前培養した後、培地をグルコース含有培地(Glc 25 mM 培地)、グルコース非含有培地(Glc 0 mM 培地)にそれぞれ培地交換を行い、12 時間培

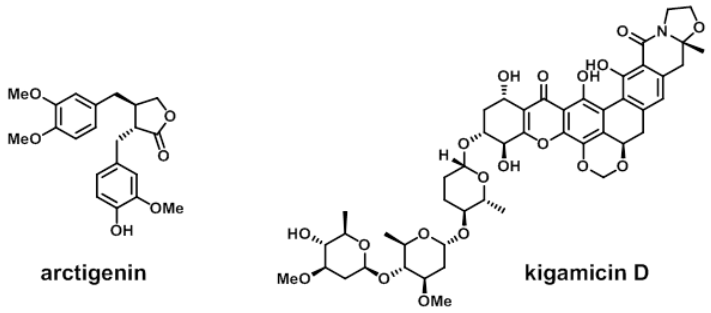


Figure 8： 栄養飢餓環境選択的がん細胞増殖阻害活性物質

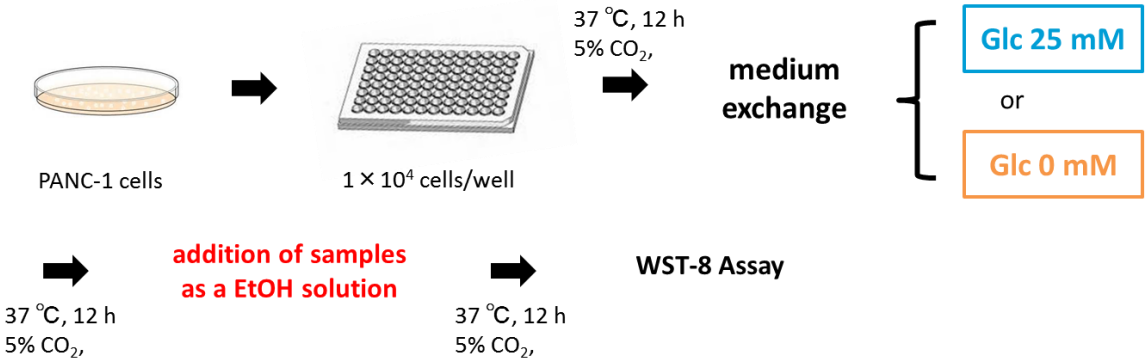


Figure 9： グルコース飢餓環境選択的がん細胞増殖阻害活性物質のスクリーニング法

養することで各環境に細胞を適応させた。その後被験サンプルのエタノール溶液をそれぞれに添加し、12 時間後の細胞生存率を、WST-8 を用いた比色定量法により算出した(Figure 9)。Glc 0 mM 培地での増殖阻害率が Glc 25 mM 培地での増殖阻害率を上回ったものをヒットサンプルとして、含有される活性成分を分離精製し、構造決定を行った結果、新規な活性物質として *Dysidea* sp. 海綿より polybrominated diphenyl ethers (Glc 0 mM：IC_{50} 2.1 μM ~ 3.8 μM)や、*Xestospongia* sp. 海綿より *N*-methylniphatyne A (Glc 0 mM：IC_{50} 16 μM)を見出している [31,32]。

さらに、同スクリーニング系を用い、2005 年にインドネシアの Biak 島付近で採集された海綿 *Petrosaspongia* sp. より biakamide A-D と名付けた新規ポリケチド構造を有する微量活性物質が単離され、それらの平面構造が明らかにされた。最も活性の強かった biakamide C は、通常の PANC-1 細胞培養条件である Glc 25 mM 培地での細胞増殖阻害率が IC_{50} > 30 μM であるのに対し、Glc 0 mM 培地では IC_{50} 0.6 μM の増殖阻害率を示し、これまでに当研究室で報告されている化合物に比べ最も強い活性と選択性を有していた。Biakamide 類は 2 つの *N*-メチルアミドに由来する回転異性体の存在から複雑な NMR スペクトルを与えたが、最終的に 50 ℃での温度可変 NMR 測定にてその平面構造を決定された。また、biakamide A, B は第二級水酸基を有していたことから、MTPA エステル化を行う改良 Mosher 法によりその絶対配置を *S* 配置と決定された。しかし、4 位および 6 位のメチル基の立体配置に関しては、その絶対配置を決定することが出来なかった(Figure 10) [33]。

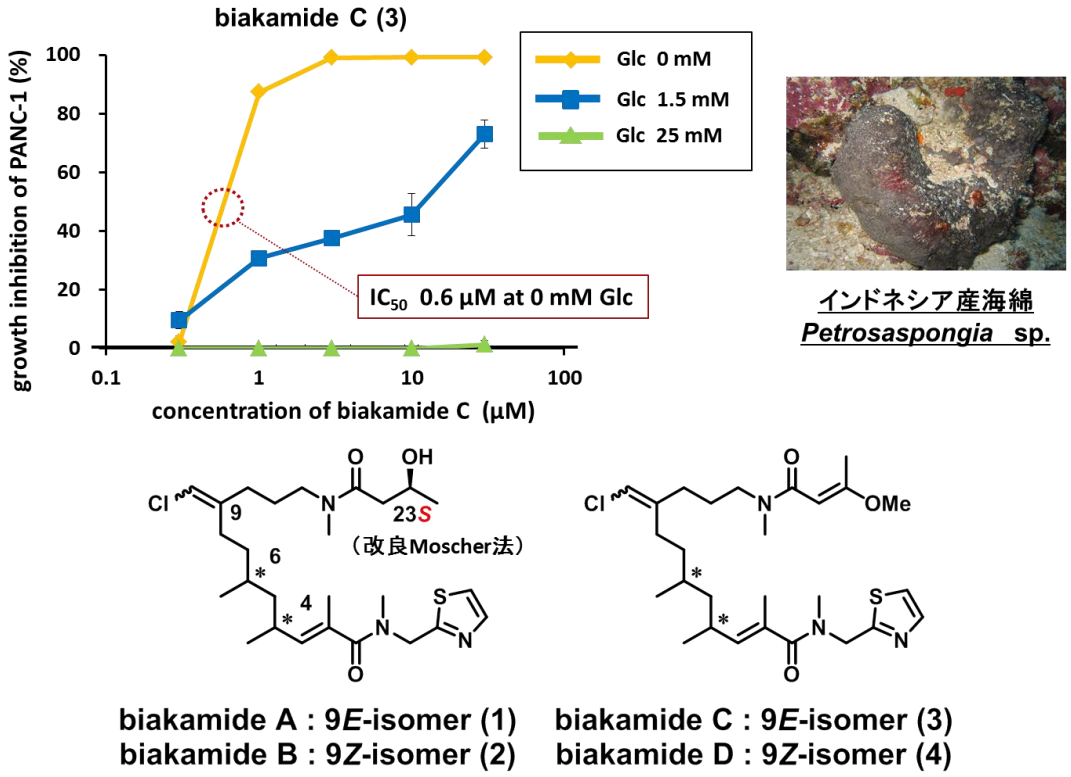


Figure 10： Biakamide 類の活性と単離時に決定した構造

今回著者は、biakamide 類の 4 位および 6 位の全立体異性体を合成し、各種スペクトルデータおよび旋光度を天然物と比較することでその全立体配置の決定を試みた。また、biakamide 類の活性発現に対する構造上の影響を調べるため、各官能基を変換した化合物を合成し、構造と活性の相関を解析した。最後に、biakamide 類が持つグルコース飢餓環境選択的がん細胞増殖阻害活性というユニークな活性が、なぜ発現するのか調べるために、biakamide 類の標的分子の探索研究を行った。すなわち、biakamide 類の絶対構造の決定および微量成分の合成的供給を目指して biakamide A-D の 4 位および 6 位の各立体異性体計 16 種類を網羅的に合成し、各種スペクトル、旋光度を精査することで、その絶対配置を(4*R*,6*S*)配置と決定した(第一章)。その後、biakamide 類の構造上、グルコース飢餓環境選択的がん細胞増殖阻害活性に重要な部位を特定する目的で、biakamide 類の各官能基を変換した化合物を合成し、構造活性相関を精査した。その結果、活性発現には biakamide 類の全体的な構造が必須であるが、チアゾール含有アミド部位は検出タグ等を導入できる空間的許容性が高く、逆に末端アシル側鎖は活性発現に強く影響を与える可能性が示唆された(第二章)。最後に、biakamide 類が有する細胞増殖阻害活性のメカニズムを解析するために、biakamide C を添加した細胞のライセートを用いたウエスタンブロッティングを行い、低栄養マーカーの挙動を確認したところ、ミトコンドリア呼吸鎖阻害剤である antimycin A や rotenone と同様の性状を示した。そこで、biakamide C の各種ミトコンドリア呼吸鎖複合体阻害活性を調査したところ、複合体 I に対して選択的に活性を示した。また、構造活性相関で得られた情報をもとに biakamide 類の標的分子探索プローブを創出し、光親和性ラベル化とクリック反応を軸とした細胞内蛍光イメージングを行った結果、プローブがミトコンドリアに集積する様子をとらえることが出来たので、最終的に biakamide 類はミトコンドリアに集積し、呼吸鎖複合体 I の機能を阻害することによってそのがん細胞増殖阻害作用を示すと結論付けることができた(第三章)。

本論

第一章 Biakamide 類の絶対立体配置の決定

著者の所属する研究室で見出した、グルコース飢餓環境選択的ながん細胞増殖阻害活性物質 biakamide 類について、それらの平面構造は以下のように決定されている[33]。Biakamide A の構造決定を例に説明すると、MALDI-TOF-MS の *m/z* が 534 : 536 = 3 : 1 というスペクトルを与えたことから塩素原子を含むことが推定され、さらに高分解能 mass 測定により硫黄原子を含む $C_{26}H_{42}N_3O_3SCl$ という組成式であることが明らかとなった。この組成式を踏まえ各種 NMR スペクトルを解析したところ、HH COSY および HMBC で見られた相関から、チアゾール環や 2 つの *N*-メチルアミド基を含む A-G の 7 個の部分構造の存在が示唆され、さらに HMBC 相関から、A-B-C ユニットの連結、E-F-G ユニットの連結を行うことが出来た(Figure 11)。しかし、部分構造 D の前後では全く相関がみられず、部分構造がつながらなかった。分子組成から考えると A-B-C ユニットと E-F-G ユニットは D を介して連結されるはずであるが、この付近のプロトン

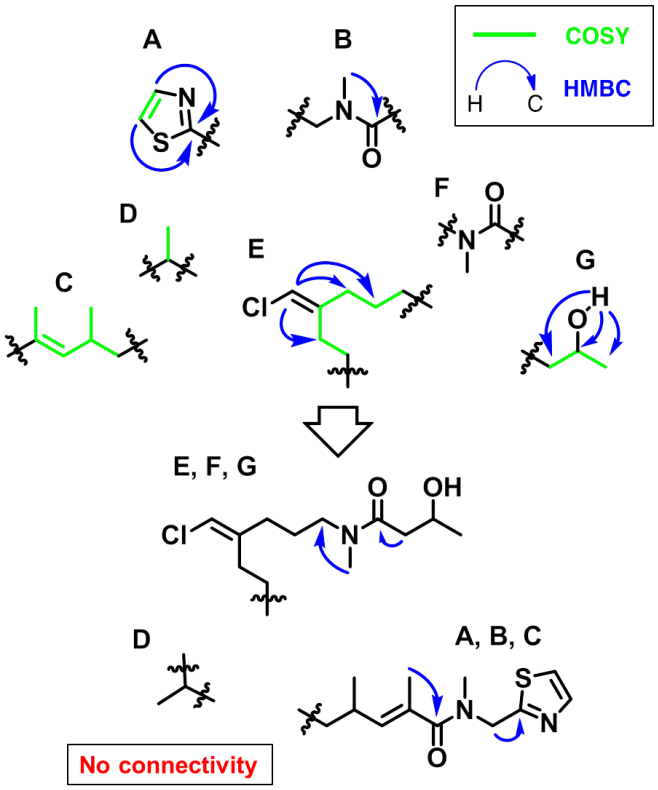


Figure 11： HH COSY および HMBC から推定された biakamide 類の部分構造

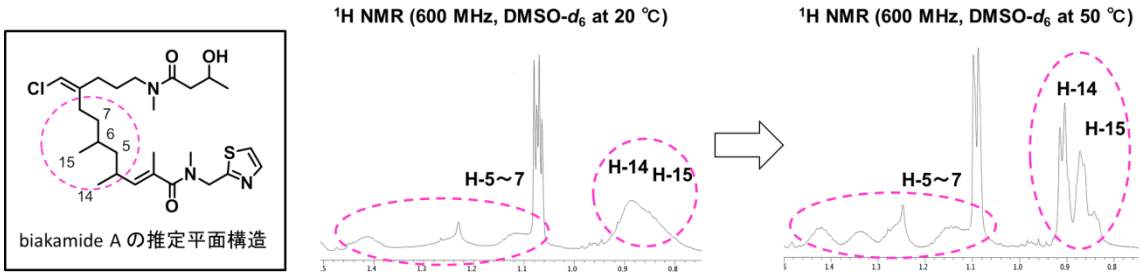


Figure 12： Biakamide A の推定構造と温度可変 NMR 測定によるスペクトル変化

NMR スペクトルでは異常にブロードなシグナルしか得られず、各二次元スペクトルにおいても全く相関がみられなかった。この原因として、立体的に込み合った部位に存在する部分構造 B の *N*-メチルアミド基によって自由回転が制御されているためと考え、温度可変測定を行った。その結果、20 ℃ではブロードだった 6 位周辺のシグナルが 50 ℃では解析可能なスペクトルが得られ、TOCSY および HMBC 相関から、biakamide A の平面構造が決定された(Figure 12)。また、2 ヶ所存在する二重結合の幾何異性に関しては NOESY スペクトルによって決定しており、23 位水酸基の立体は、MTPA エステルへと導き、改良 Mosher 法を適用することで *S* 配置と決定された(Figure 13)。同様にして biakamide B-D に関しても平面構造等を決定しているが、4 位および 6 位の不斉炭素の相対および絶対配置についてはスペクトルデータから決定するに至らなかった。

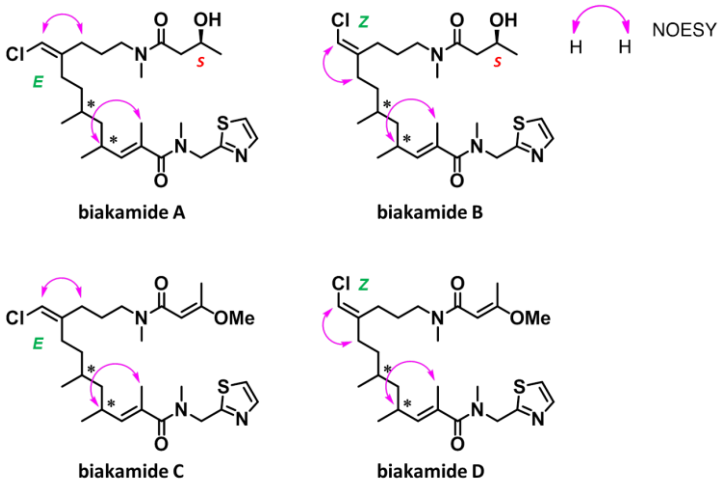


Figure 13： 4 位および 6 位の立体化学を除く biakamide 類の構造

ポリケチド系天然物によく見られるこのような 1,3-ジメチルユニットの相対立体配置は、両メチル基の中間にあるメチレンプロトンのケミカルシフト値の差Δ*δ* から *syn* 配置か *anti*

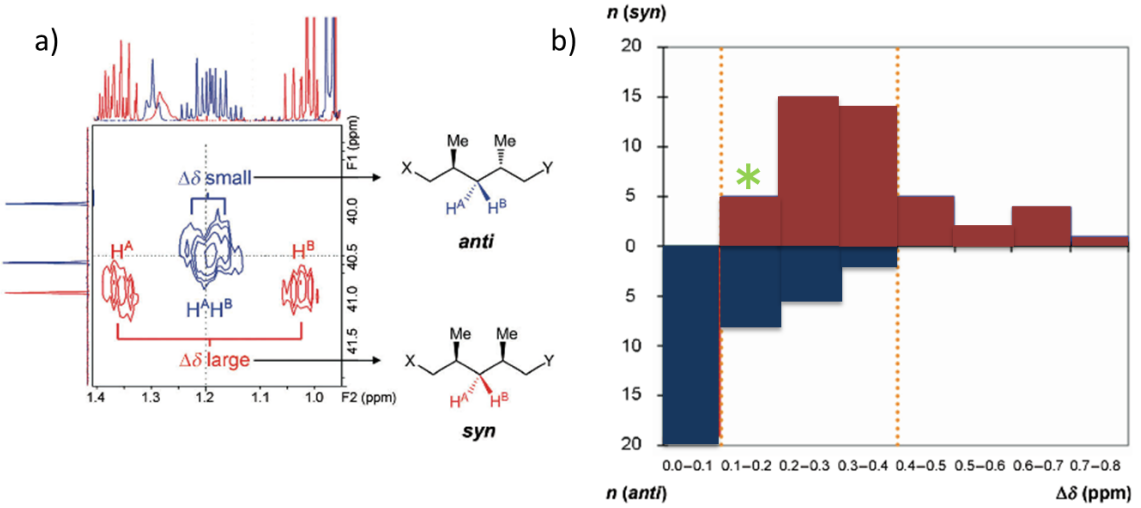


Figure 14： NMR 解析による 1,3-ジメチルユニットの相対立体配置の決定法 a) 1,3-ジメチルユニットの相対立体配置は、両メチル基の間のメチレンプロトンのカップリングパターンから推定でき、Δ*δ* が小さければ *anti* 配置、大きければ *syn* 配置をとる b) Δ*δ* の数値ごとの *syn* 配置、*anti* 配置の化合物数 [34]

配置かを経験則的に判断する方法が存在し[34]、$\Delta\delta$ < 0.1 ppm の場合 *anti* 配置をとり、$\Delta\delta$ > 0.4 ppm の場合 *syn* 配置をとることが知られている(Figure 13)。実際に tumescenamide C の末端脂肪鎖における 1,3-ジメチルユニットの相対配置を、合成した類縁体の$\Delta\delta$と比較することで *syn* 配置と同定している。また verucopeptin は、天然物から誘導化した末端アルキル鎖において、$\Delta\delta_{AB}$ = 0.49 ppm であったことから、1 位と 3 位のメチル基の相対配置が *syn* 配置であり、$\Delta\delta_{CD}$ = 0 ppm であったことから 3 位と 5 位のメチル基の相対配置が *anti*

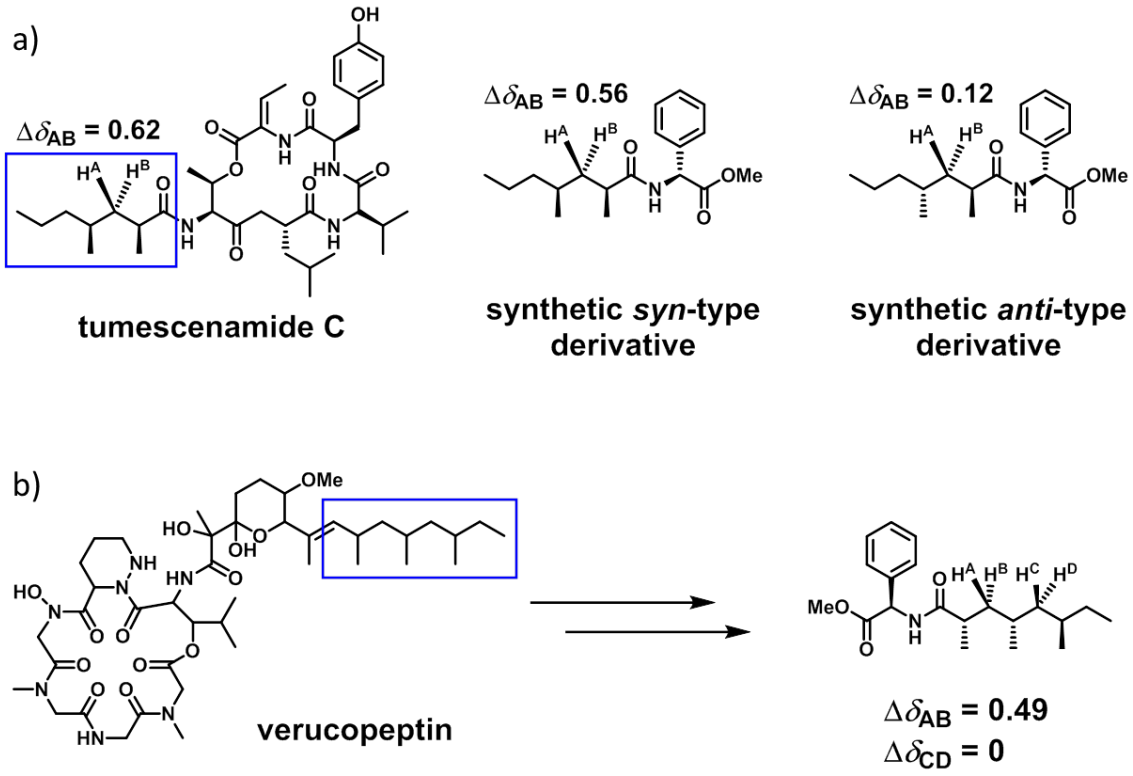
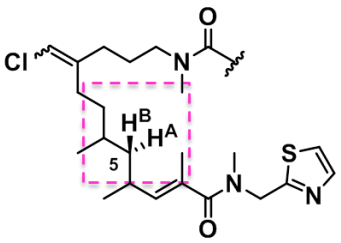


Figure 15： NMR 解析による 1,3-ジメチルユニットの相対立体配置の決定例

a) Tumescenamide C の末端脂肪鎖の$\Delta\delta$値と合成した部分構造の$\Delta\delta$値

b) Varucopeptin の構造と誘導化した化合物の$\Delta\delta$値および立体を決定した部分構造

配置であると推測し、さらに PGME 法を適用することで誘導体の絶対立体化学を (1*S*,3*S*,5*R*) 配置であると推定している。さらにその後、合成した推定構造化合物とのスペ



biakamides A-D: $\Delta\delta_{AB}$ = 0.13 ~ 0.15 ppm(*)

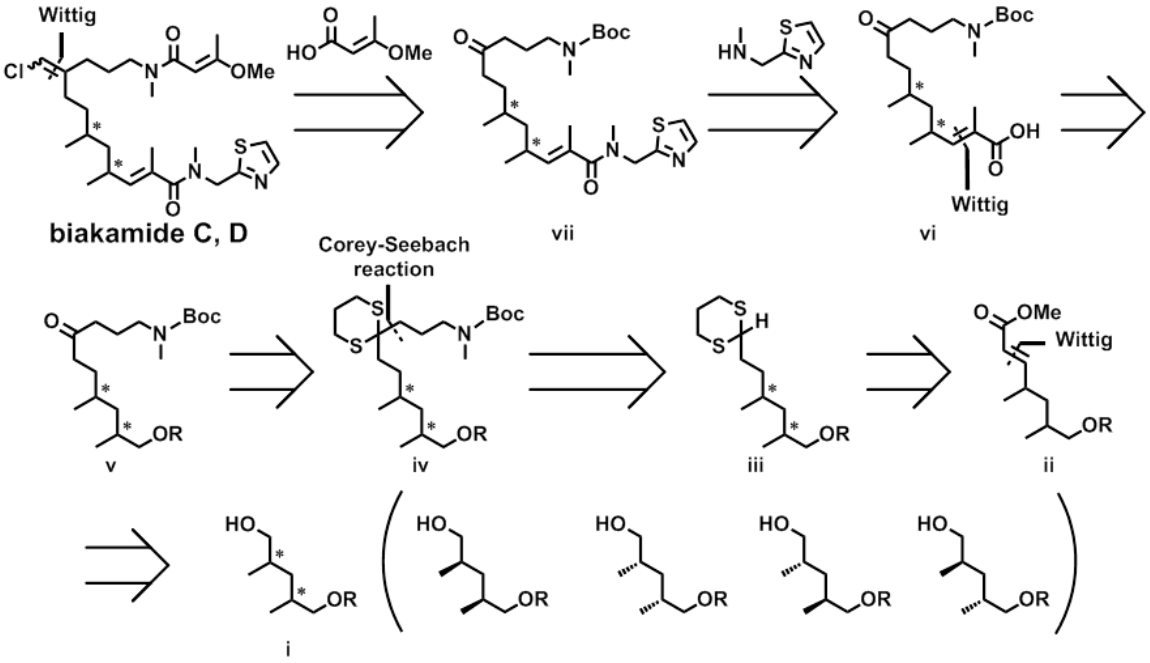
Figure 16： Biakamide 類の 1,3-ジメチル部位メチレンの$\Delta\delta$値

(*)は Figure 14 の$\Delta\delta$値分布の対応範囲を示す

クトル比較を行うことでその推定立体配置が正しかったことを確認することで、天然物の立体化学を決定している(Figure 15) [35,36]。しかしながら本手法を適用すべく biakamide 類の 5 位のメチレンプロトンのケミカルシフト値を確認したが、全て$\Delta\delta$ = 0.13 ~ 0.15 ppm というどちらも取り得る$\Delta\delta$値を与え、相対立体配置を推測できなかった(Figure 14, 16)。そこで、4 位および 6 位の立体異性体をすべて全合成し、各種スペクトルおよび旋光度を比較することでその絶対立体配置を決定する方法をとることとした。

第一節 Biakamide 類の 4 位および 6 位の全立体異性体の合成

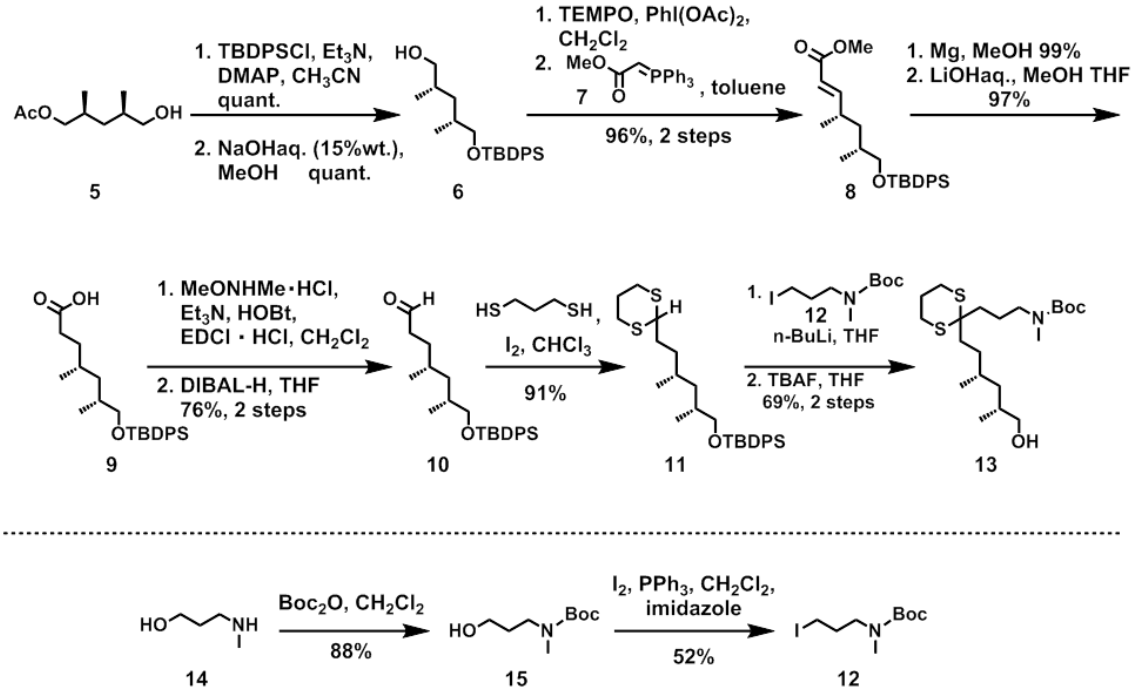
Biakamide 類の全合成研究を始めるに当たり、まず不斉炭素の少ない biakamide C、biakamide D から着手することとし、逆合成解析を行った(Scheme 1)。末端のアシル側鎖は酸に弱いことが分かっていたことから、合成の終盤に導入することとした。化合物 **vii** の不飽和アミド部位を Wittig 反応と続く縮合反応で構築できると考えると、中心部分の炭



Scheme 1： Biakamide C, D の全立体異性体合成を目的とした逆合成解析

素鎖を有する化合物 **v** を前駆体とすることが出来る。中心骨格の形成は、Corey-Seebach 反応による炭素鎖伸長により合成できると考えると、目的のジチアン **iii** は 2,4-ジメチル-1,5-ペンタンジオールの保護体 **i** から誘導される不飽和エステル **ii** を用いることで合成できる。化合物 **i** は、supellapyrone とその立体異性体の合成において東京大学の森らによって報告された、酵素的非対称化および光学分割によって全異性体を純粋な形で得ることが可能な化合物であり [37]、**i** を用いることで同一のルートにて biakamide 類の全異性体を合成

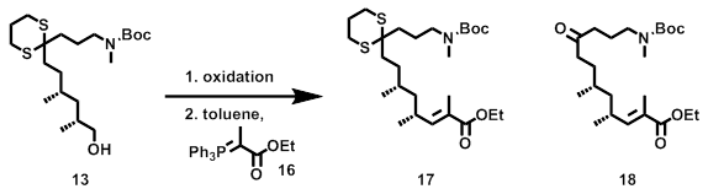
できると考えた。以下に、最初に合成を達成した(4*R*,6*R*)-biakamide C, D の合成ルートについて述べる。



Scheme 2： Corey-Seebach 反応による炭素鎖伸長を行う **12** の合成プロセス

文献既知の光学活性ジオールモノアセチル保護体 **5** [37] に TBDPS 保護、アセチル基の加水分解を行い、得られたモノアルコール体 **6** をワンポットでの TEMPO 酸化に続く Wittig 反応 [38] に付すことで炭素鎖を伸長した **8** へと導いた。Mg を用いた一電子還元により不飽和エステルの還元を行ったのち、加水分解によってカルボン酸 **9** を得た。Weinreb アミドを経由した DIBAL-H 還元によりアルデヒド **10** としたのち、ヨウ素存在下 1,3-プロパンジチオールを作用させることで 1,3-ジチアン **11** へと導いた。**14** から別途調製したハロゲン化アルキル **12** [39] を **11** と Corey-Seebach 反応させることによってカップリング体を得たのち、脱保護により biakamide 類の中心炭素骨格をもつアルコール **13** を調製した(Scheme 2)。

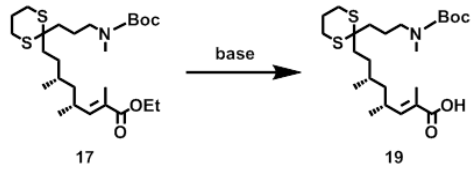
Table 1： ジチアン基を残したままアルコールを酸化し、Wittig 反応を行う検討



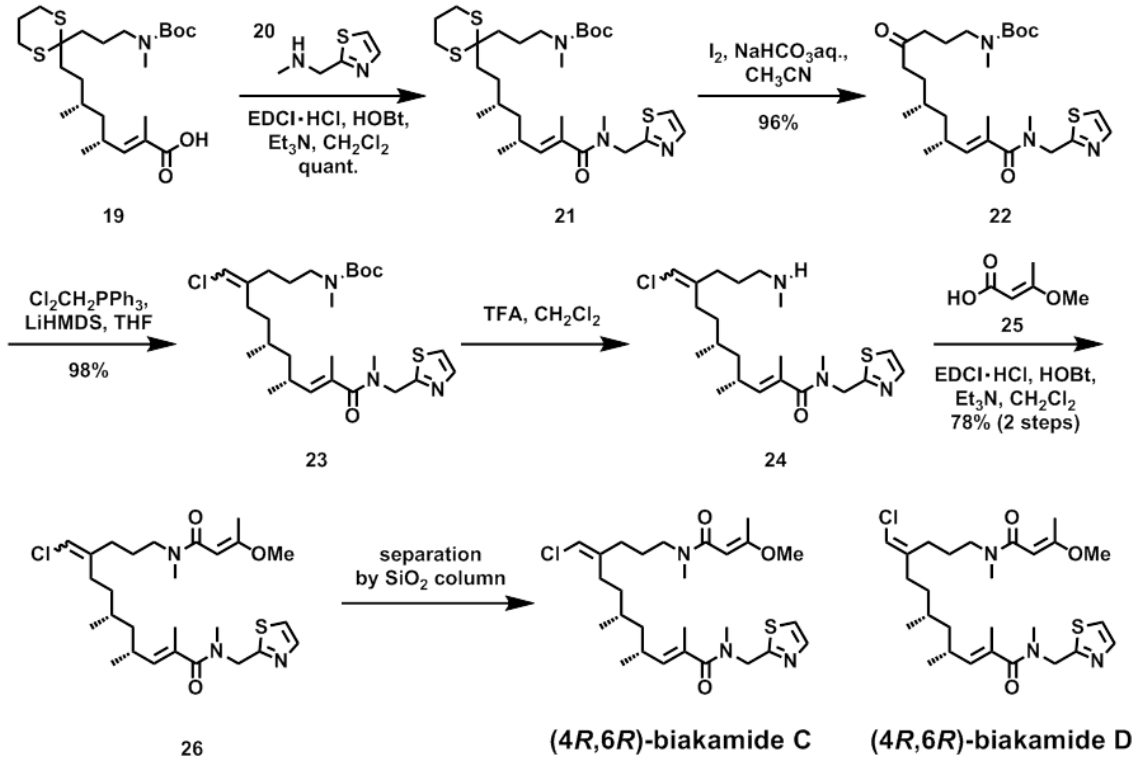
Entry	oxidant	reoxidant	time	major product
1	TEMPO	$PhI(OAc)_2$	12 h	18 ; 65% (2 steps)
2	IBX	-	1h	16
3	IBX	-	2.5 h	17
4	TPAP	NMO	1h	17 ; 84% (2 steps)

続く酸化反応および Wittig 反応では、まず TEMPO 酸化に付したところジチアンが加水分解された **18** が得られたため、加水分解の起きない酸化条件の検討を行った(Table 1)。短時間の IBX 処理ではジチアンが残存した目的物 **17** が主生成物として得られたが、反応時間を延ばすと直ちに **18** が主生成物となり、大量合成時の反応コントロールが難しいと予想された。ジチアンの除去として塩基性溶液中でヨウ素を作用させる方法[40]があることから、超原子価ヨウ素を用いない TPAP 酸化を行ったところ(Table 2, Entry 4)、予想通りジチアン構造を有した不飽和エステル **17** を、続く Wittig 反応も含め良好な収率で得ることが出来た。続いて **17** のエチルエステル部に対し水酸化ナトリウムを用いて加水分解を行おうとしたが、反応の進行がきわめて遅かった。そこで不飽和エステルの加水分解条件を種々検討したところ、H_2O / MeOH / THF 中で水酸

Table 2： α,β-不飽和エチルエステル加水分解条件の検討

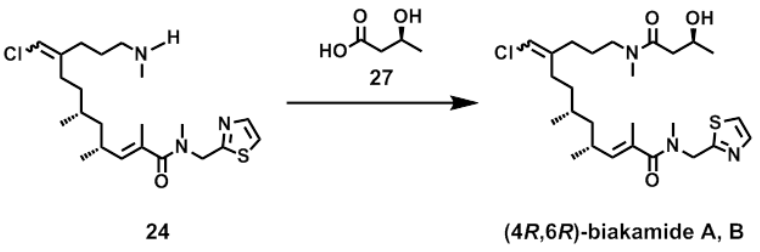


Entry	base	solvent	time	yield
1	NaOH aq. (5% wt.)	H_2O, THF (1:3)	7 days	49%
2	KOH aq. (5% wt.)	H_2O, THF (1:3)	-	no reaction
3	TMSOK	H_2O, THF (1:3)	-	decomposed
4	LiOH (10 eq)	MeOH, H_2O, THF (1:1:1)	11 h	91%



Scheme 3： (4*R*,6*R*)-Biakamide C, D の合成

化リチウムを作用させることで、反応時間、収率ともに劇的な改善が見られた(Table 2)。カルボン酸 **19** に対し、別途合成した第二級アミン **20** [41] を縮合し **21** とした後、ヨウ素存在下塩基性条件に付すことでジチアンを加水分解し、ケトン **22** へと導いた。Wittig 反応によってビニルクロリド部位を導入した後、Boc 基を除去し、文献既知のカルボン酸 **25** [42] を縮合し、最後にシリカゲルカラムクロマトグラフィーで精製することにより、(4*R*,6*R*)-biakamide C および D の合成を達成した (Scheme 3)。異なる立体異性体を出発物質として、同様のルートによって biakamide C, D の(4*S*,6*S*)体、(4*R*,6*S*)体、(4*S*,6*R*)体という全立体異性体の合成を問題なく達成することができた。また、最終段階において縮合に使用するカルボン酸を市販の **27** に変更することで、biakamide A, B についても構造決定に必要な 4 位および 6 位における立体異性体(4*R*,6*R*,23*S*)体、(4*S*,6*S*,23*S*)体、(4*R*,6*S*,23*S*)体、(4*S*,6*R*,23*S*)体の合成を達成した(Scheme 4, Figure 17)。



Scheme 4： (4*R*,6*R*,23*S*)-Biakamide A, B の合成

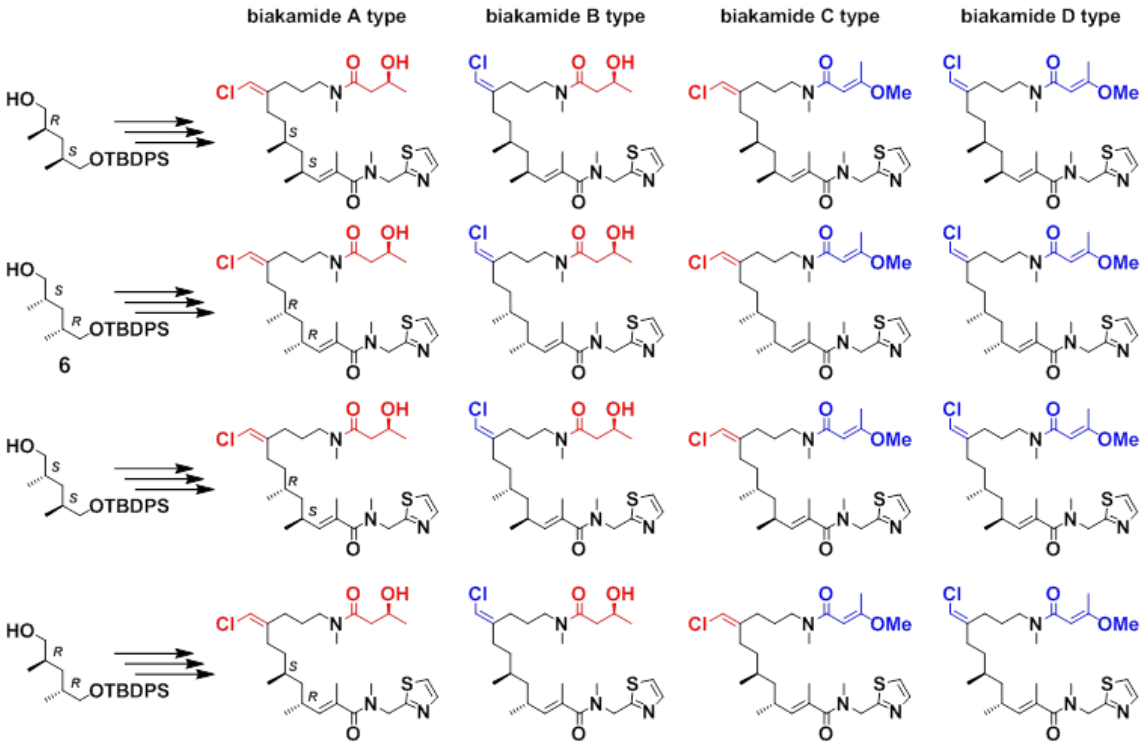


Figure 17： 化合物 **6** およびその立体異性体から合成した biakamide 類の 4 位および 6 位立体異性体

第二節 Biakamide 類の絶対立体配置の決定

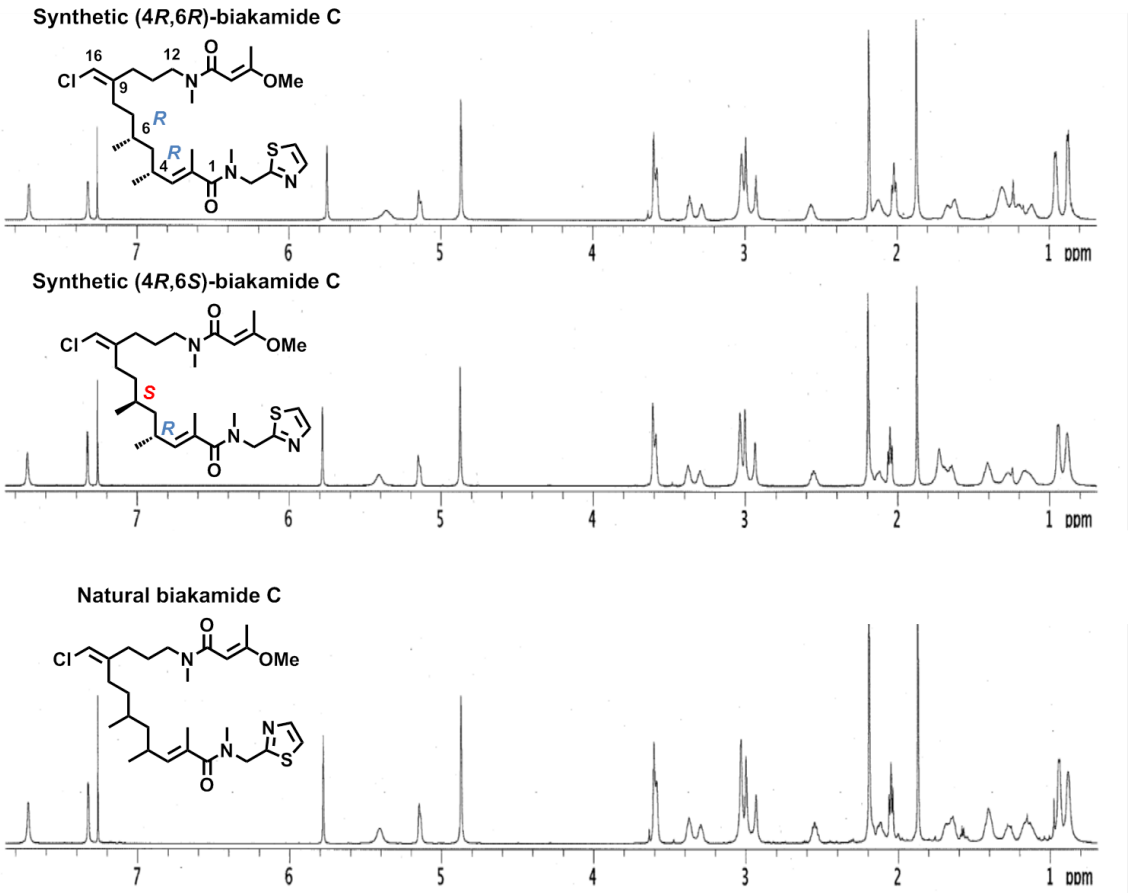


Figure 18： (4*R*,6*R*)-Biakamide C、(4*R*,6*S*)-biakamide C
および天然物 biakamide C の ^{1}H-NMR スペクトルの全体比較

Biakamide 類の全立体異性体を合成したので、天然物の biakamide 類の絶対立体配置の決定に着手した。まず不斉炭素の少ない biakamide C について述べる。Biakamide C の場合、(4*R*,6*R*)体と(4*S*,6*S*)体、(4*R*,6*S*)体と(4*S*,6*R*)体がそれぞれエナンチオマーの関係にあることから、(4*R*,6*R*)体、(4*R*,6*S*)体および天然物の ^{1}H-NMR スペクトルを比較解析することで両メチル基の相対配置を決定し、その後に旋光度を比較することで絶対配置を決定できると考えた。まず ^{1}H-NMR スペクトルを比較したところ、全体的によく似ていた(Figure 18)が、不斉炭素付近である 6 位および 7 位のプロトンのケミカルシフトに注視してみると、*syn* 体は 6 位および 7 位のプロトンの一部がδ 1.31 であるのに対し、*anti* 体はδ 1.4 と$\Delta\delta$ = 0.1 程度異なっていた。天然物の biakamide C の場合にはδ 1.41 に観測され、*anti* 体とほぼ一致していた(Figure 19)。また、(4*S*,6*R*)体の旋光度が$[\alpha]_D$ +17.9 であったのに対し、(4*R*,6*S*) 体の旋光度は$[\alpha]_D$ −17.2 であった。天然物の biakamide C の旋光度が$[\alpha]_D$ −18.0 であり、(4*R*,6*S*) 体とほぼ同様の数値を示した。以上のことから、biakamide C の絶対立体配置を(4*R*,6*S*)と決定した。Biakamide D に関しても *syn* 体、*anti* 体、天然物で biakamide

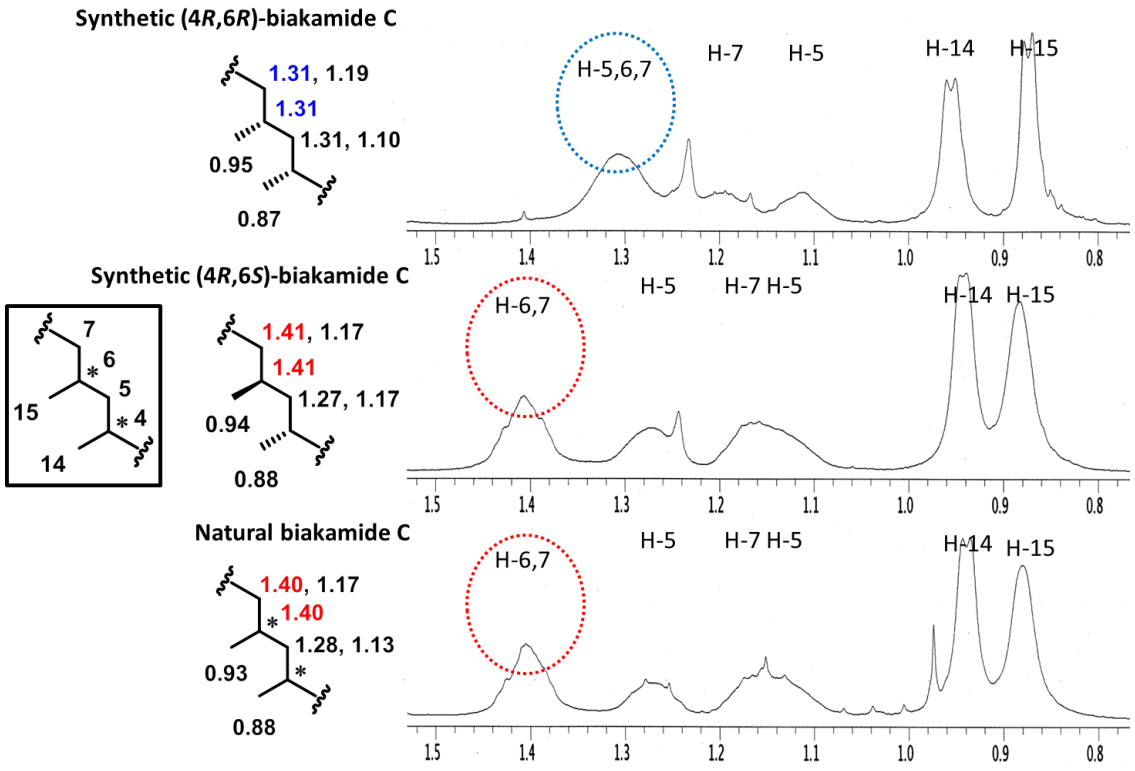


Figure 19：(4*R*,6*R*)-Biakamide C、(4*R*,6*S*)-biakamide C および天然物 biakamide C の ^{1}H-NMR スペクトルの部分比較（HMBC、HSQC より各プロトンの帰属を行っている）

C と同パターンの ^{1}H-NMR スペクトルを与え、(4*R*,6*S*)-biakamide D の旋光度が$[\alpha]_D$ −11.4 であり、天然の biakamide D の旋光度が$[\alpha]_D$ −18.4 と同符号を示したことから、天然物の絶対立体配置を(4*R*,6*S*)配置と決定した。このように、NMR スペクトルおよび旋光度によって biakamide C、D の絶対配置を決定することが出来たが、不斉炭素を 3 ヶ所有する biakamide A, B の場合は構造決定が難航した。Biakamide A, B の 23 位水酸基は改良 Mosher 法によって *S* 配置と決定されていたことから、考えられる立体異性体は(4*R*,6*R*,23*S*)体、(4*S*,6*S*,23*S*)体、(4*R*,6*S*,23*S*)体、(4*S*,6*R*,23*S*)体の 4 種類である。これら立体異性体は全てジアステレオマーの関係であり、不斉全合成したそれぞれの旋光度を比較したところ、(4*R*,6*R*,23*S*)体：$[\alpha]_D$ +5.7、(4*S*,6*S*,23*S*)体：$[\alpha]_D$ +32.5、(4*R*,6*S*,23*S*)体：$[\alpha]_D$ +1.2、(4*S*,6*R*,23*S*)体：$[\alpha]_D$ +34.0 とすべて正の値を示したため、立体配置の絞り込みはできなかった。一方 ^{1}H-NMR スペクトルについては、4 位および 6 位の両メチル基が *syn* 配置である(4*R*,6*R*,23*S*)体および(4*S*,6*S*,23*S*)体において biakamide C, D の場合と同様、天然物と 6 位および 7 位プロトンのケミカルシフトが異なっていたことから *anti* 配置であることが推察された（Figure 20）。*Anti* 配置を有する（4*R*,6*S*,23*S*)体と(4*S*,6*R*,23*S*)体は、非常に類似した NMR スペクトルを与えたが、幸運なことに 12 位のメチレンプロトンのカップリングパターンが唯一異なっており、biakamide C, D と同様の立体配置である（4*R*,6*S*,23*S*)体の

NMR スペクトルが天然物と完全に一致した（Figure 21）。しかしながら、天然物の旋光度が$[\alpha]_D$ +6.3 と合成したものと異なっており ^{1}H-NMR の差異が非常に微細であること

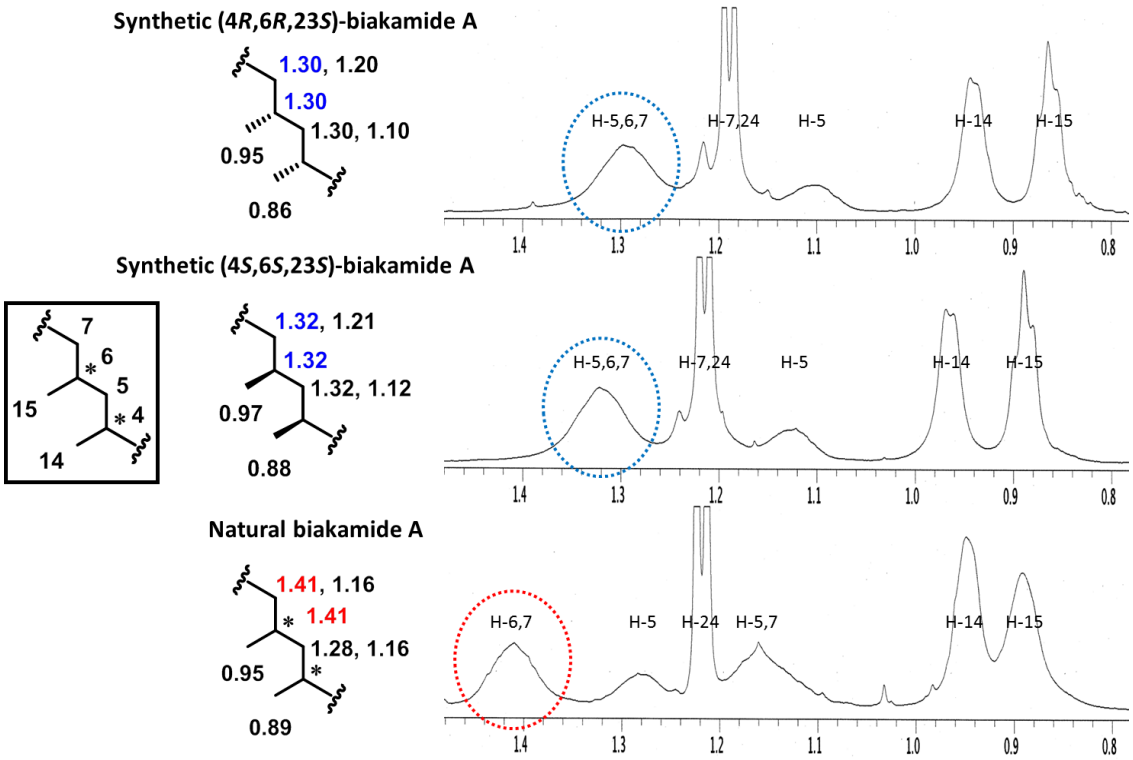


Figure 20: (4*R*,6*R*,23*S*)-Biakamide A、(4*S*,6*S*,23*S*)-biakamide A および天然物 biakamide A の ^{1}H-NMR スペクトル比較

から、確信が得られなかった。そこで、4 位が不飽和アミドのアリル位にあたることから、その立体化学がα, β-不飽和アミドに由来する円二色性スペクトル(CD)に影響を与えると予想し、6, 7 位プロトンのケミカルシフト値が同じである *anti* 配置の異性体について CD スペクトルを天然物と比較することとした。測定の結果、やはり(4*R*,6*S*,23*S*)体が天然物と同様の負の極大を示し、(4*S*,6*R*,23*S*)体は正の極大を示した（Figure 22）。Biakamide B においても同様の結果が得られた。以上の結果より、biakamide A および B の絶対立体配置を(4*R*,6*S*,23*S*)配置と決定することができた。

以上のように、biakamide A-D の 4 位および 6 位の全立体異性体 16 種類の化合物をすべて不斉全合成し、NMR スペクトル、旋光度、CD スペクトルを天然物と比較することで、biakamide 類の 4 位および 6 位の絶対立体配置をそれぞれ(4*R*,6*S*)配置と決定し、biakamide A-D の絶対立体配置を明らかにした。

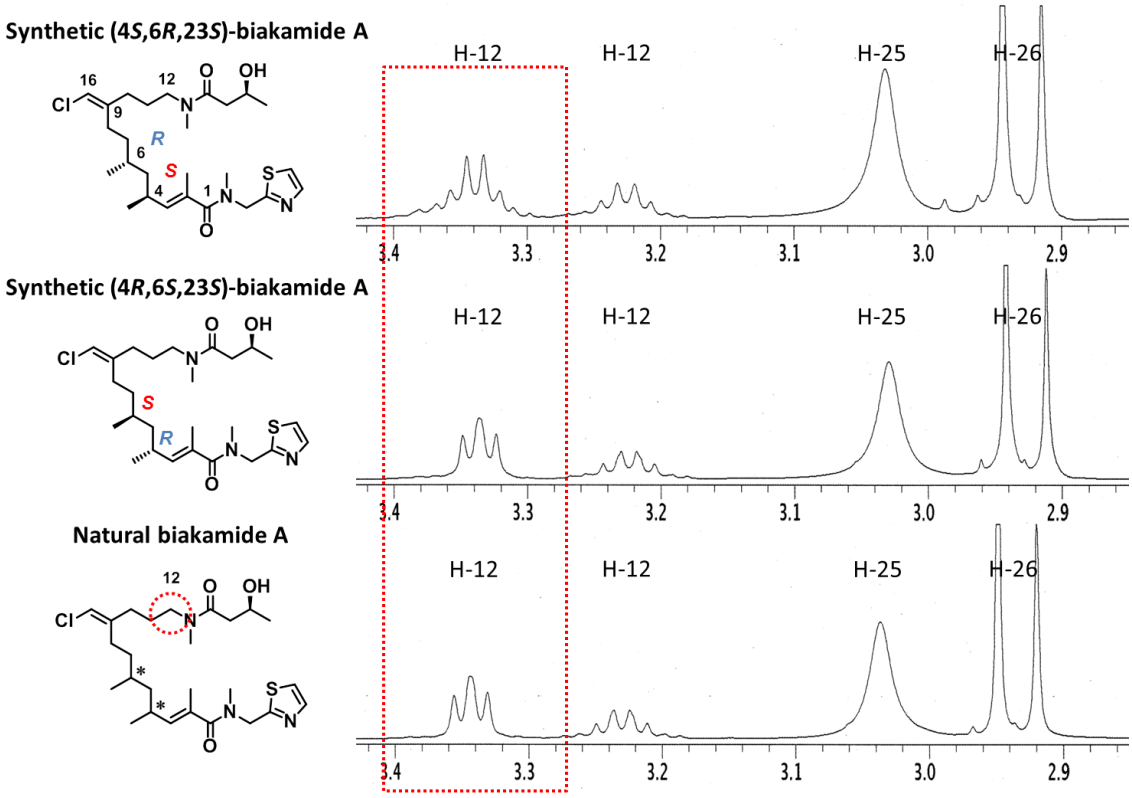


Figure 21： (4*S*,6*R*,23*S*)-Biakamide A、(4*R*,6*S*,23*S*)-biakamide A
および天然物 biakamide A の ^{1}H-NMR スペクトル比較

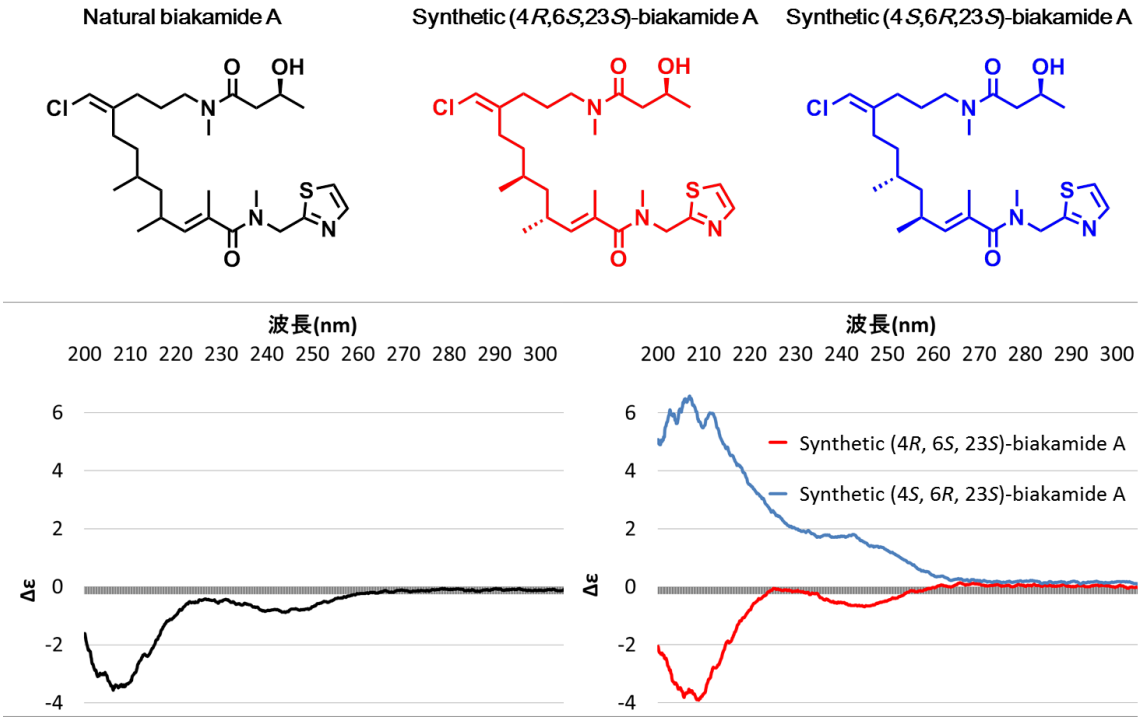


Figure 22： (4*S*,6*R*,23*S*)-Biakamide A、(4*R*,6*S*,23*S*)-biakamide A
および天然物 biakamide A の CD スペクトル比較

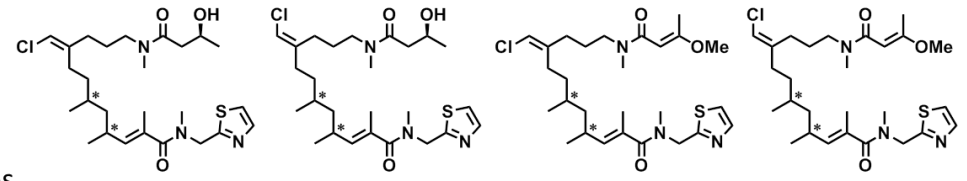
第二章　Biakamide 類の構造活性相関研究

不斉全合成によって天然物 biakamide A-D の絶対立体配置を決定することができたので、続いてその化学構造がグルコース飢餓環境選択的がん細胞増殖阻害活性にどのような影響を及ぼすのかを調べるために、構造活性相関研究を展開することとした。

第一節　大量供給を想定した dedimethyl-biakamide C, D (28, 29)の合成と活性評価

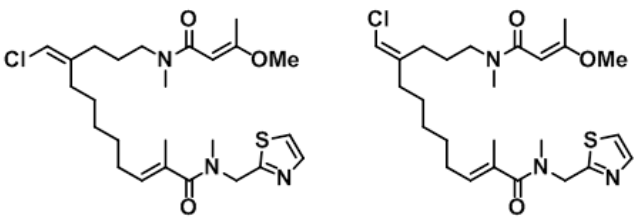
Biakamide 類の絶対配置を決定するにあたり、計 16 種類の立体異性体を合成したので、立体構造の違いが活性発現に与える影響を調べるために、各化合物の PANC-1 細胞に対する増殖阻害活性試験を行った。Table 3 には Glc 0 mM 培地における IC_{50} 値を示すが、Glc 25 mM 培地では全ての化合物で IC_{50} > 30 μM となり、各異性体が天然物と同様の選択性を有していた他、天然型と同様に、biakamide A, B に比べ biakamide C, D の方が強い活性を有している傾向をもち、さらに意外なことに各立体異性体間において明らかな活性の差は

Table 3：　Biakamide A-D とその 4 位および 6 位の各立体異性体の Glc 0 mM 培養時の増殖阻害活性



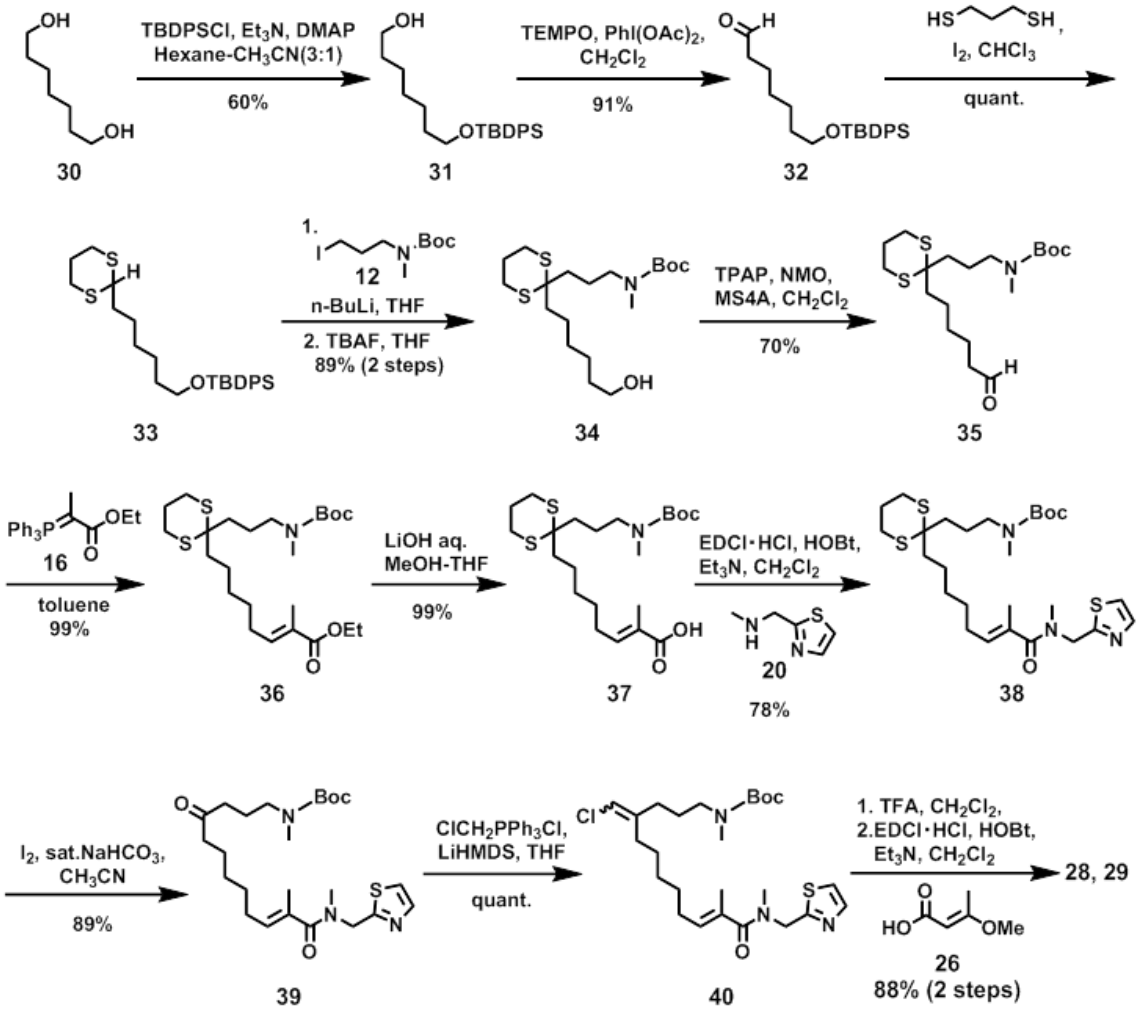
IC_{50} values (Glc 0 mM)	A-type	B-type	C-type	D-type
4*R*, 6*S* (nat.)	1.0 μM	4.0 μM	0.5 μM	0.5 μM
4*S*, 6*R*	1.8 μM	2.0 μM	0.2 μM	0.5 μM
4*R*, 6*R*	2.2 μM	1.5 μM	0.5 μM	2.0 μM
4*S*, 6*S*	2.8 μM	4.0 μM	0.5 μM	1.5 μM

見られなかった。これらのことから、4 位および 6 位の両メチル基は活性発現に関与しないと考え、大量合成が容易な dedimethyl-biakamide C, D (Figure 22) を合成し、活性を調べることにした。合成ルートは官能基を終盤に導入することが可能である全合成のルートを基盤とし、1,7-ヘプタンジオールを出発物質とすることで、13 工程にて問題なく合成することができた (Scheme 5)。合成した dedimethyl-biakamide C (**28**)および dedimethyl-biakamide D (**29**)の活性を評価したところ、Glc 0 mM 培養条



28　　**29**

Figure 22：大量合成容易なアナログ **28**, **29**



Scheme 5： 1,7-ヘプタンジオール（**30**）を出発物質とした **28**, **29** の 13 工程合成

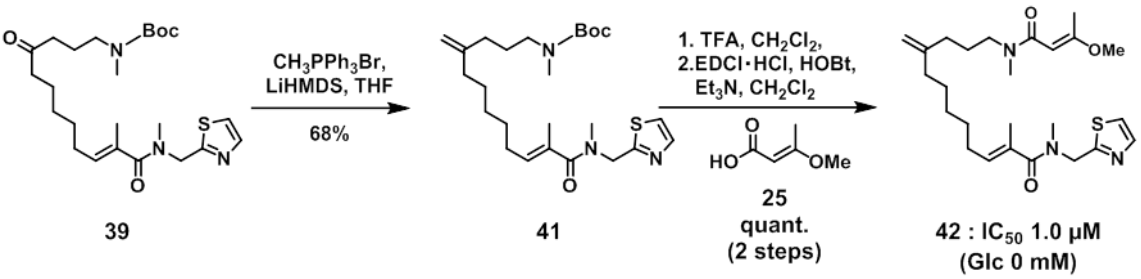
件下での IC_{50} 値が **28** は 0.6 μM、**29** は 1.5 μM と、アナログ **28** が天然物とほぼ同等の活性を示した。天然物の合成は構造決定を目標として 4 位および 6 位の全立体異性体を網羅的に合成するルートであったことから、目的の最終生成物の収量が著しく低く、大量合成に向かないため、同程度の生物活性を有する大量合成容易な本アナログ **28** を基軸として詳細な構造活性相関を展開することとした。

第二節　官能基を変換した構造異性体の合成と活性評価

Biakamide 類の官能基は、末端アシル側鎖、ビニルクロリド部位、チアゾール環含有アミド部位と大きく 3 つに分けられるが、**28** の合成が全 13 工程と短工程であること、3 つの部位がどれも 9 工程目以降の合成終盤に組み込まれることから、基本的に **28** の合成ルートと同様のルートで合成を行うこととした。

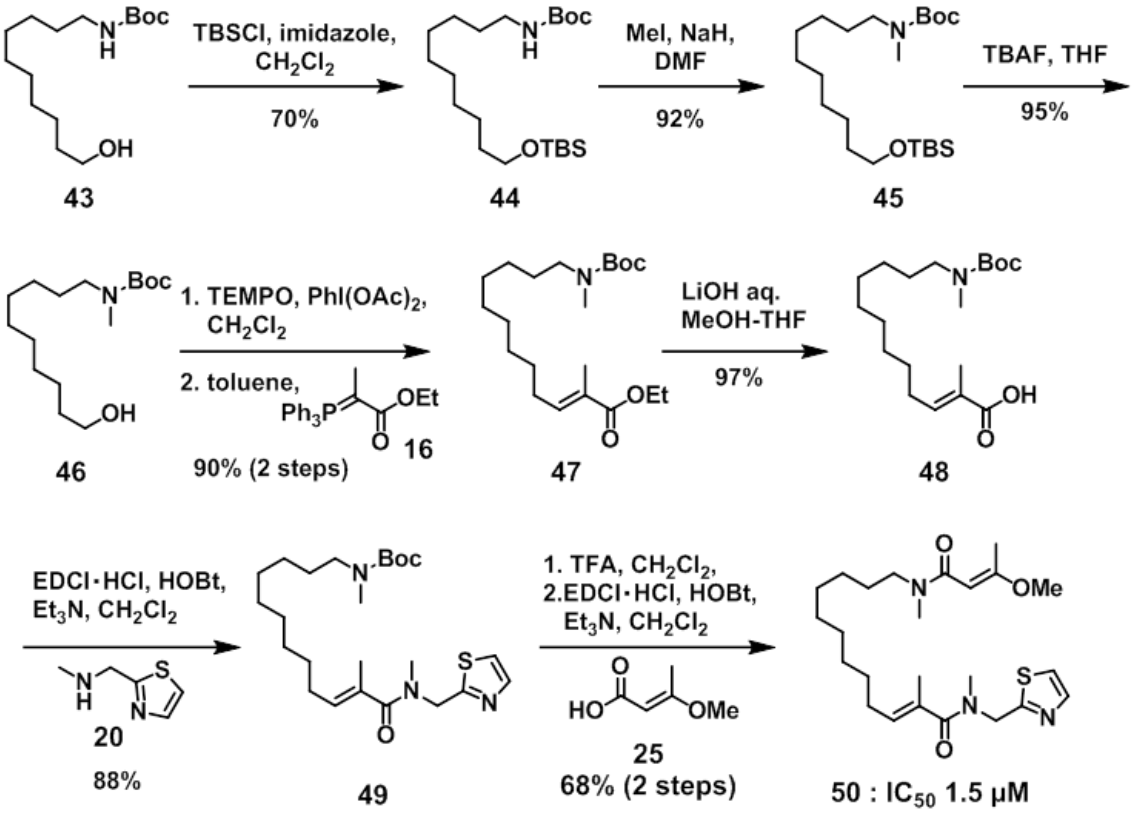
第一項　ビニルクロリド部位変換化合物

まず、ビニルクロリド部位に関して **28** の類縁体を合成し、活性を比較することとした。最初にクロライド基のみを取り除いたエキソメチレンアナログ **42** の合成に着手し、**28** の合成中間体 **39** から Wittig 試薬を変更することで問題なく合成できた(Scheme 6)。活性を評



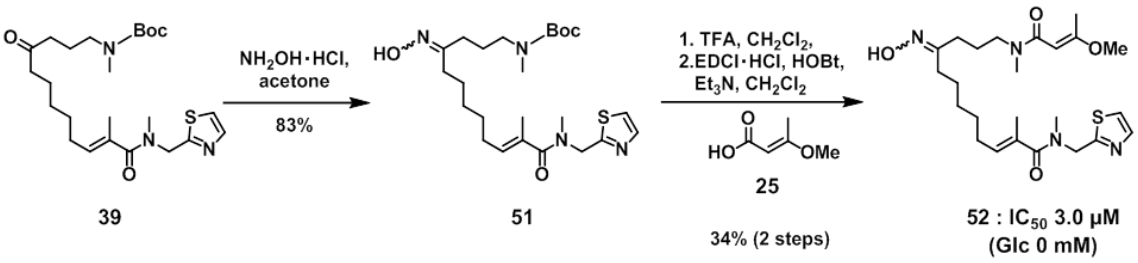
Scheme 6：エキソメチレンアナログ **42** の合成と活性評価

価したところ、**28** とほぼ変わらない IC_{50} 1.0 μM を示したことから、完全にビニルクロリド部位を取り除き、ただのメチレンとしたアナログ **50** を合成し、活性を比較することとした。ビニルクロリド部位をもたないアナログ **50** は、文献既知の *N*-Boc-10-amino-1-decanol (**43**) [43] を出発物質として以下のように合成を行った(Scheme 7)。**43** のアルコールに TBS 保護を行った後、アミノ基をメチル化し **45** を得た。TBS 基を脱保護した **46** に対して TEMPO



Scheme 7：ビニルクロリド部位をもたないアナログ **50** の合成と活性評価

酸化を行いアルデヒドとし、**28** の合成ルートと同様 **18** との Wittig 反応にて不飽和エチルエステル **47** へと導いた。エステルの加水分解によって得られたカルボン酸 **48** に第二級アミン **21** を縮合させ、Boc 基を除去後カルボン酸 **26** との縮合反応を行うことで目的のアナログ **50** を得た。**50** の活性を評価したところ、IC_{50} 1.5 μM と、**28** と比べ大きな変化は見られなかった。この結果は、天然の biakamide A と B、あるいは C と D で大きな活性差が見られないことと一致するとともに、ビニルクロリド部位が活性発現に必須でないことを示しており、プローブ分子への変換など、後に様々な官能基を導入する展開が期待できる。



Scheme 8： オキシムアナログ **52** の合成と活性評価

そこで **39** から、官能基導入容易なオキシムを導入したアナログ **52** を合成した(Scheme 8)が、IC_{50} 3.0 μM と **28** の 5 分の 1 程度の活性に低下し、オキシムの先端への他の官能基導入は難しいことが推察される結果となった。以上のことから、ビニルクロリド部位は活性発現において重要ではないが、オキシムのような極性官能基の導入をきらう傾向があることが分かった(Figure 23)。

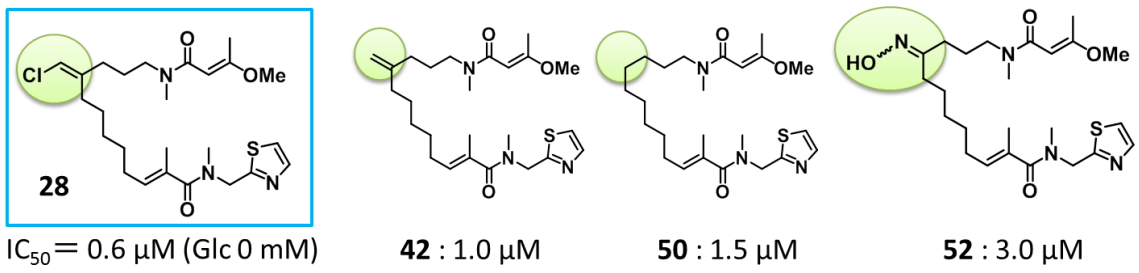
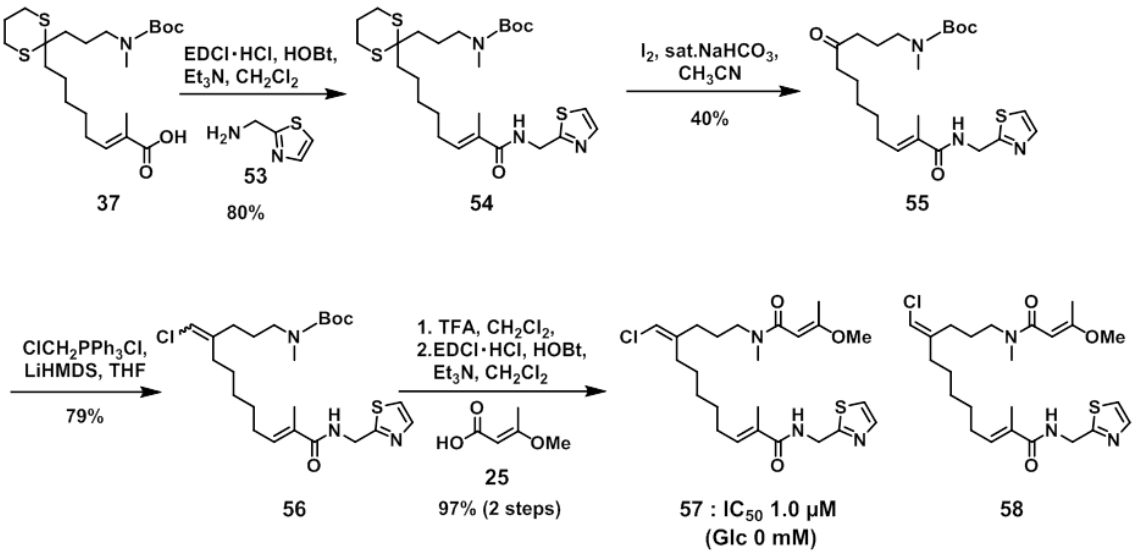


Figure 23： ビニルクロリド部位を変換した誘導体とその活性まとめ

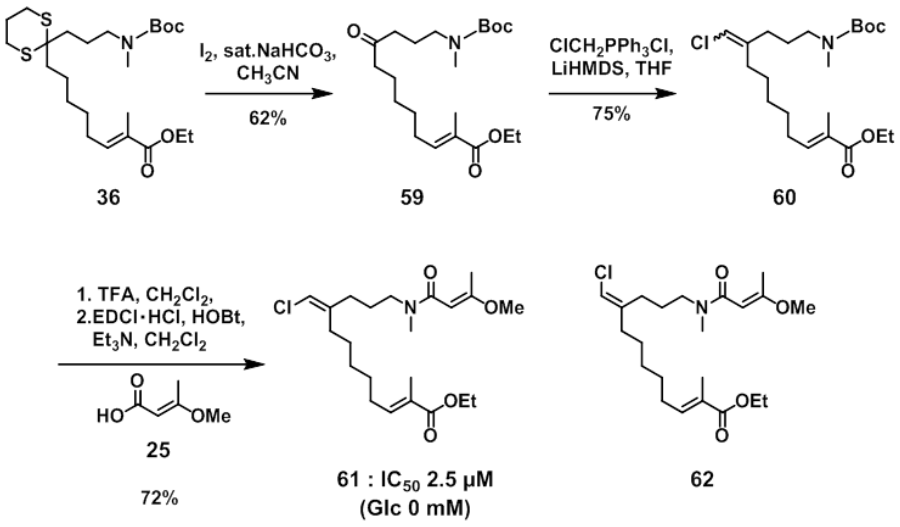
第二項　チアゾール含有アミド部位変換化合物

続いて、チアゾール環含有アミド部位についても変換を行った。第一章で説明したように、biakamide 類はチアゾール含有アミド基が立体的に込み合った第三級アミドであることから、その自由回転が非常に遅く標的分子に結合する最適な配座をとりにくいことが考えられるため、この部分を第二級アミド基へと変換することで、標的分子への結合力を向上させ、活性を強めたアナログを創出できることが期待される。そこで、**28** の合成ルート

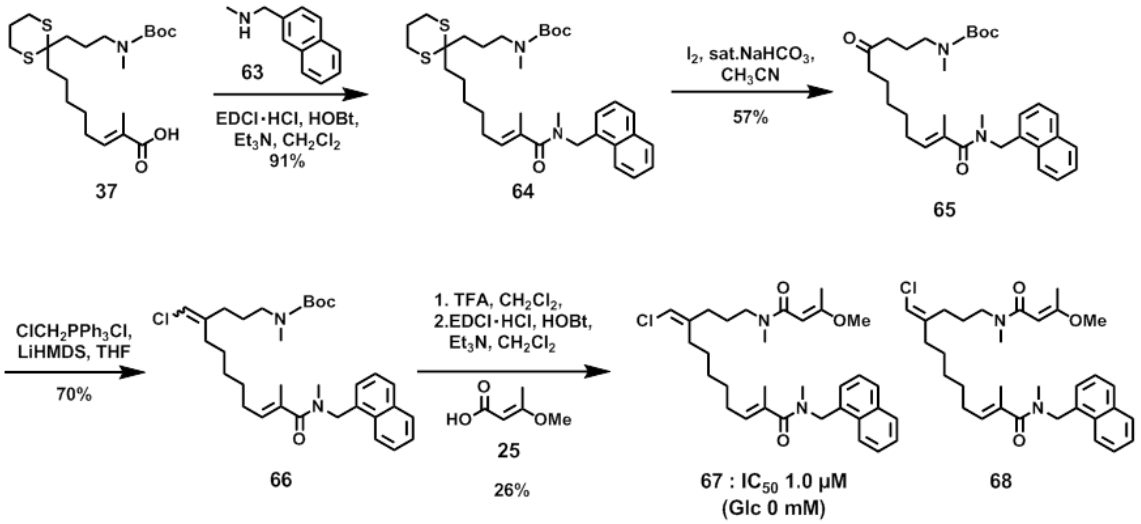


Scheme 9：チアゾール含有アミド部位を第二級アミドとしたアナログ **57** の合成と活性評価

においてカルボン酸 **37** の縮合対象を第二級アミン **21** から *N*- メチル基をもたない第一級アミン **53** へと変更し、自由回転可能な第二級アミドとした **57** を合成し活性を評価したところ、IC_{50} 1.0 μM を示した（Scheme 9)。期待と異なり **57** と **28** はほとんど同程度の IC_{50} 値を示したことから、チアゾール含有 *N*-メチルアミドの配座は活性発現に影響しないと考えられる。そこで、アミド部位自体をもたない化合物の活性を調べる目的で、エチルエステル **36** からアミドへの変換を行わずにビニルクロリド部位、末端アシル側鎖を導入したエチルエステル体 **61** を合成し、活性を測定したところ、この化合物も IC_{50} 2.5 μM と、劇的な活性の低下は見られなかった（Scheme 10)。この 2 つのアナログ化合物の活性評価から、本アミド部位は構造許容性が高く、サイズの大小を含めた様々な官能基を導入しても活性を保持することが期待された。そこで、カルボン酸 **37** から、チアゾール環をより大きな芳香環であるナフタレンに変換したアナログ **67** を合成し、活性を評価した（Scheme 11)。すると、予想通り **67** でも IC_{50} 1.0 μM と **28** とほぼ同程度の IC_{50} 値を示し、このチアゾール環含有アミド部位



Scheme 10：エチルエステルアナログ **61** の合成と活性評価



Scheme 11：ナフタレンアナログ **67** の合成と活性評価

が高い構造許容性を有していることを示唆する結果を得られた。以上のことから、チアゾール環含有アミド部位を変換した化合物は全体的に活性の顕著な低下が見られず、標的分子に認識されている可能性が低く、構造的な許容性が大きいことが明らかになった（Figure 24)。

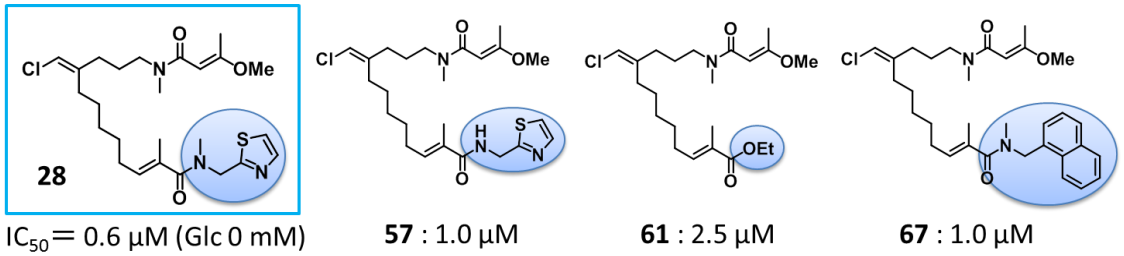
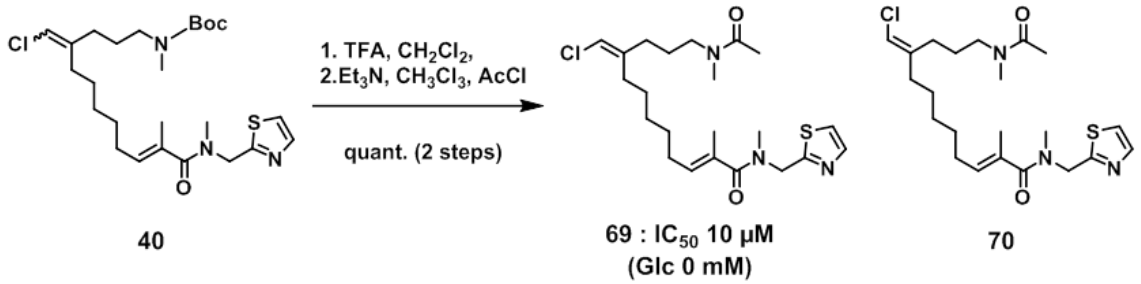


Figure 24：チアゾール含有部位を変換した誘導体とその活性まとめ

第三項　末端アシル側鎖変換化合物

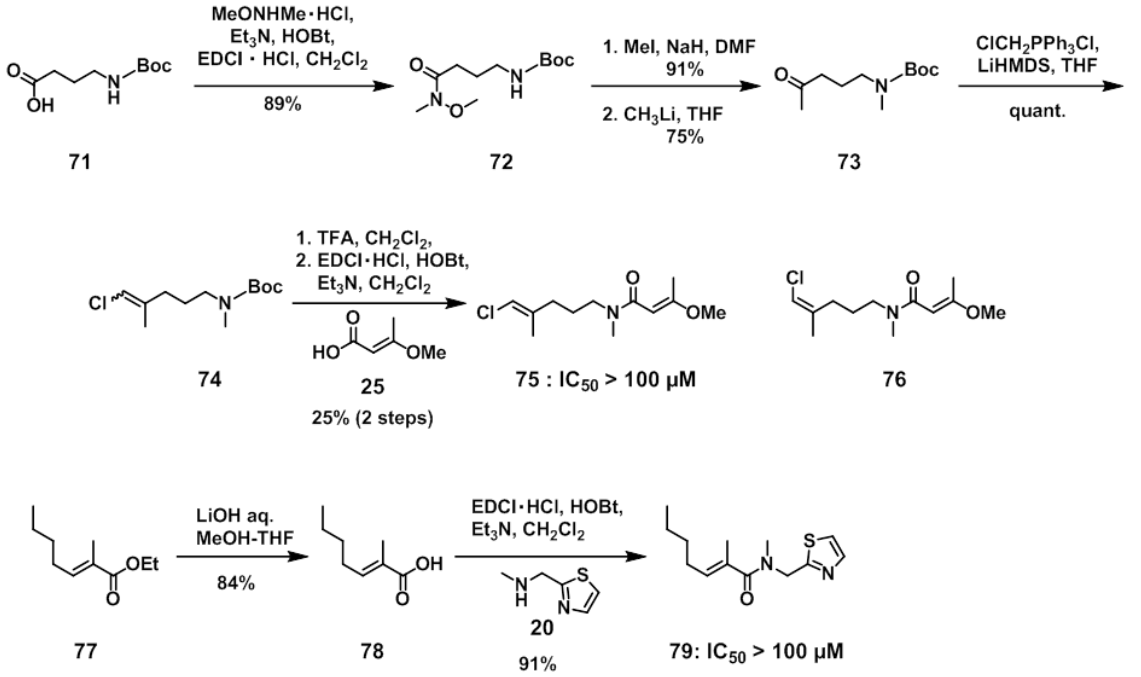
最後に末端アシル側鎖部位に関しても調査を行った。末端アシル側鎖は biakamide A, B と C, D で構造が異なるが、天然物の立体異性体の活性比較の結果（Table 3)を見ると、biakamide C, D のタイプが A, B のタイプより若干高い活性を示す傾向があることから、末端アシル側鎖は活性発現に影響を与える可能性が高い。そこで **40** の脱保護の後にアセチルクロリドを用いて縮合を行い、もっとも単純なアセチル基に変換した **69** を合成した。**69** (IC_{50} 10 μM)は、**28** と比べ 15 分の 1 以上の顕著な活性の低下を示し、末端アシル側鎖が活性発現に強く影響を与えるという結果を得た（Scheme 12)。



Scheme 12: アセチル化アナログ **69** の合成と活性評価

第四項　Biakamide の炭素骨格変換化合物

以上の事実から、3 つの部位についてそれぞれの特性を把握することができ、また官能基変換による活性の減弱について調べることができたが、活性の消失や向上は確認できなかった。つまり、化合物は特定の官能基さえ存在すれば、減弱しつつも活性を保持することが考えられる。そこで、化合物全体の構造が活性発現に重要なのか調べるために、**71** を出発物質としてアナログ **28** の末端アシル側鎖およびビニルクロリド部位を有する **75**、文献既知の化合物 **77** [44] を出発物質として **28** のチアゾール環含有アミド部位を有する **79** をそれぞれ合成し、活性を調べたところ、どちらも完全に活性が消失してしまい、biakamide 類は部分構造ではなく、全体の構造が活性発現に重要なことが確認された (Scheme 13)。



Scheme 13：**28** の部分構造 **75** および **79** の合成と活性評価

以上のように著者は、biakamide 類の構造活性相関を解析した結果、天然物とほぼ同等のがん細胞増殖阻害活性を示す大量合成容易な **28** を創出することができた。また、**28** を基軸として様々な官能基を変換することで構造活性相関を解析した結果、末端アシル側鎖が標的分子に認識され活性発現に影響を及ぼすとともに、チアゾール環含有アミド部位が大きな官能基を導入しても活性発現に影響しにくい構造許容性をもつ可能性があることが明らかになった。さらに、個々の官能基変換に対する活性変化においては許容性が高いことが示されたが、部分構造のみでは活性を有さず、アルキル鎖の両端に極性官能基が付加している biakamide 類の全体構造が活性を発現するのに重要であることが明らかになった。

第三章　Biakamide 類の作用メカニズム解析

Biakamide 類は前述のように、ヒト膵臓がん細胞 PANC-1 に対してグルコース飢餓環境選択的に増殖を阻害するというユニークな活性を有する。がん細胞の栄養飢餓環境への適応は前述のとおり未知な点が多いことから、biakamide 類などの栄養飢餓環境選択的増殖阻害物質の標的分子を科学的に探索し作用メカニズムを明らかにすることで、がん細胞の栄養飢餓適応メカニズムの一端を明らかにできる可能性がある。そこで、biakamide 類による細胞内マーカーの変化や酵素活性の解析、また第二章での構造活性相関のデータをもとに創成した biakamide プローブによる標的分子探索を展開することとした。

第一節　Biakamide 類による栄養飢餓マーカーの変化とミトコンドリア呼吸鎖阻害活性

第一項　低栄養マーカーのウエスタンブロッティング

がん細胞はグルコースが枯渇した際に、ER ストレス応答の一種として分子シャペロン GRP78 の発現を上昇させ、また、インスリンシグナル伝達の一部である Akt の 473 Ser 残基のリン酸化を亢進させることが知られており[45,31]、本スクリーニング系でも栄養飢餓マーカーとしてこれらタンパク質の挙動を確認している(Figure 25)。グルコース飢餓環境選択的にがん細胞増殖阻害活性を示す化合物に関する研究において、rotenone が GRP78 の発現量を低下させること[45]や、arctigenin が Akt(473Ser)のリン酸化亢進を抑えること[46]が報告されているため、類似の活性を持つ biakamide 類に関しても栄養飢餓マーカーに対して同様の影響を与えるのか解析することとした。比較対象となるグルコース飢餓環境選択的ながん細胞増殖阻害活性物質として、rotenone と、スクリーニング系のポジティブコントロールとして用いた antimycin A を使い、biakamide C と比較解析することにした (Figure 27)。実験操作としては、PANC-1 細胞の培養培地を各グルコース濃度の培地へと交換し、12 時間後に antimycin A：3 nM、rotenone：10 nM、biakamide C：500 nM の終濃度となるよう加えて、さらに 12 時間培養後に細胞を破砕して lysate とした。調製した lysate のタンパク質を SDS-PAGE で分離し、ウエ

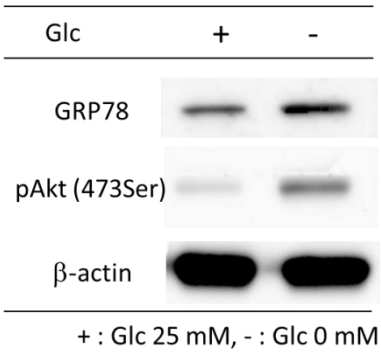


Figure 25：培地交換後 24 時間経過時のマーカー変化

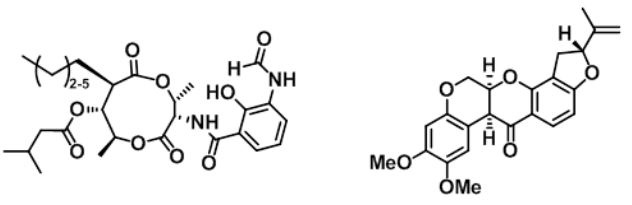


Figure 27：グルコース飢餓環境選択的 PANC-1 細胞増殖阻害活性物質の構造と活性

スタンブロッティングで検出したところ、GRP78 では 3 種類の化合物を投与することにより 30~47%程度の、また pAkt(473Ser)では 50~63%程度のバンド強度の減少が確認され、biakamide 類は antimycin A や rotenone と同様に、がん細胞のグルコース飢餓環境への適応のためのシャペロン発現やシグナル伝達を阻害することが明らかになった（Figure 28)。

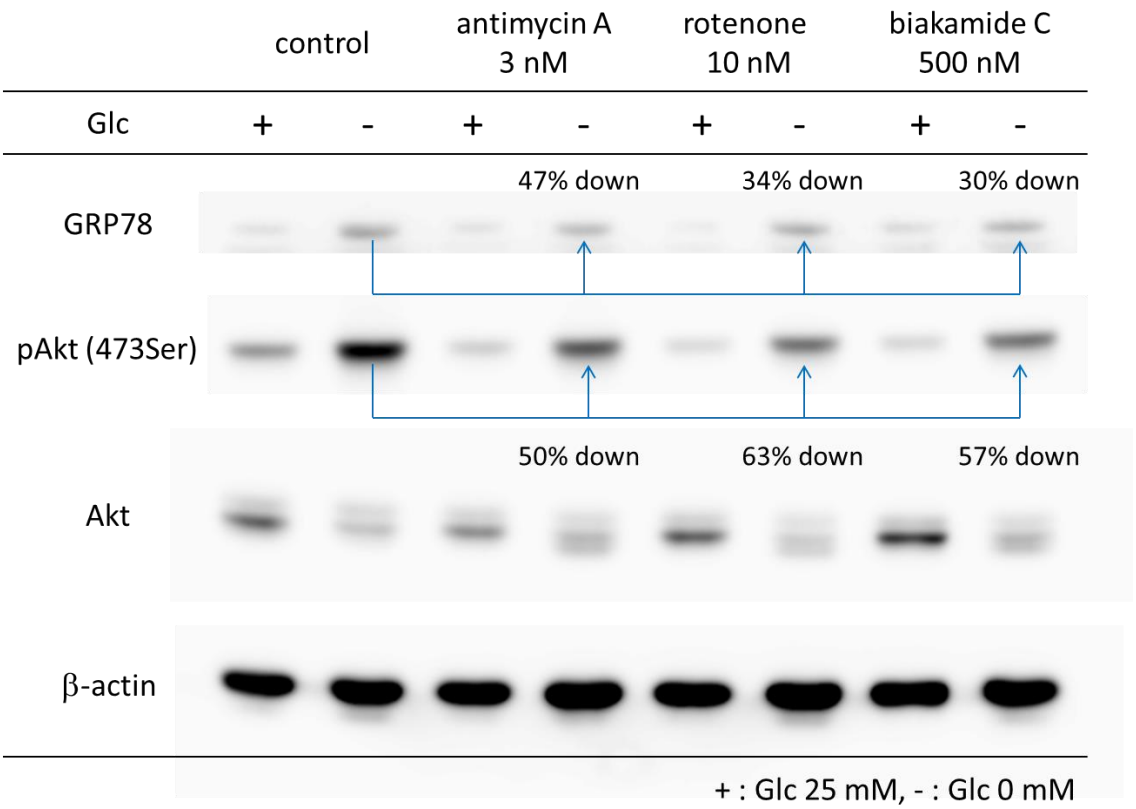


Figure.28：化合物添加後の各栄養飢餓マーカー、コントロールタンパク質のウエスタンブロッティング

第二項　ミトコンドリア呼吸鎖阻害活性

Antimycin A や rotenone の細胞毒性は、電子伝達系のミトコンドリア呼吸鎖の機能阻害に起因することが知られている [47,48]。第一項の結果より、biakamide C も低栄養マーカーに対してこれらの化合物と同様の影響を与えることが示唆されており、biakamide C の活性標的分子がミトコンドリア呼吸鎖複合体であることが考えられる。そこで、Cayman 社の酵素アッセイキットを用いて、ウシの心臓から抽出したミトコンドリアの各呼吸鎖複合体に対する阻害活性を測定した。その結果、biakamide C は呼吸鎖複合体 II~V に対しては弱い阻害活性を示すか、あるいはまったく阻害活性を示さないのに対し、呼吸鎖複合体 I にのみ IC_{50} 0.45 μM という阻害活性を示した(Table 4)。このことから、biakamide 類は、

ミトコンドリア呼吸鎖複合体Ⅰの活性を阻害することで、そのがん細胞増殖阻害活性を有する可能性が示唆された。

Table 4：Biakamide C によるミトコンドリア呼吸鎖複合体阻害活性。Positive control は、I – rotenone、II – TTFA、III – antimycin A、IV – KCN、V – oligomycin A。

IC_{50}	ETC complex				
	I	II	II / III	IV	V
biakamide C	0.45 μM	> 100 μM	> 100 μM	> 100 μM	37 μM
positive control	0.113 μM	18 μM	3.3 nM	7.7 μM	0.36 μM

以上の結果より、biakamide 類はミトコンドリア呼吸鎖複合体 I を阻害することで、antimycin A や rotenone と同様、電子伝達系を阻害し、GRP78 の発現低下や Akt のリン酸化を減少させ、細胞死を誘導することが予想された。

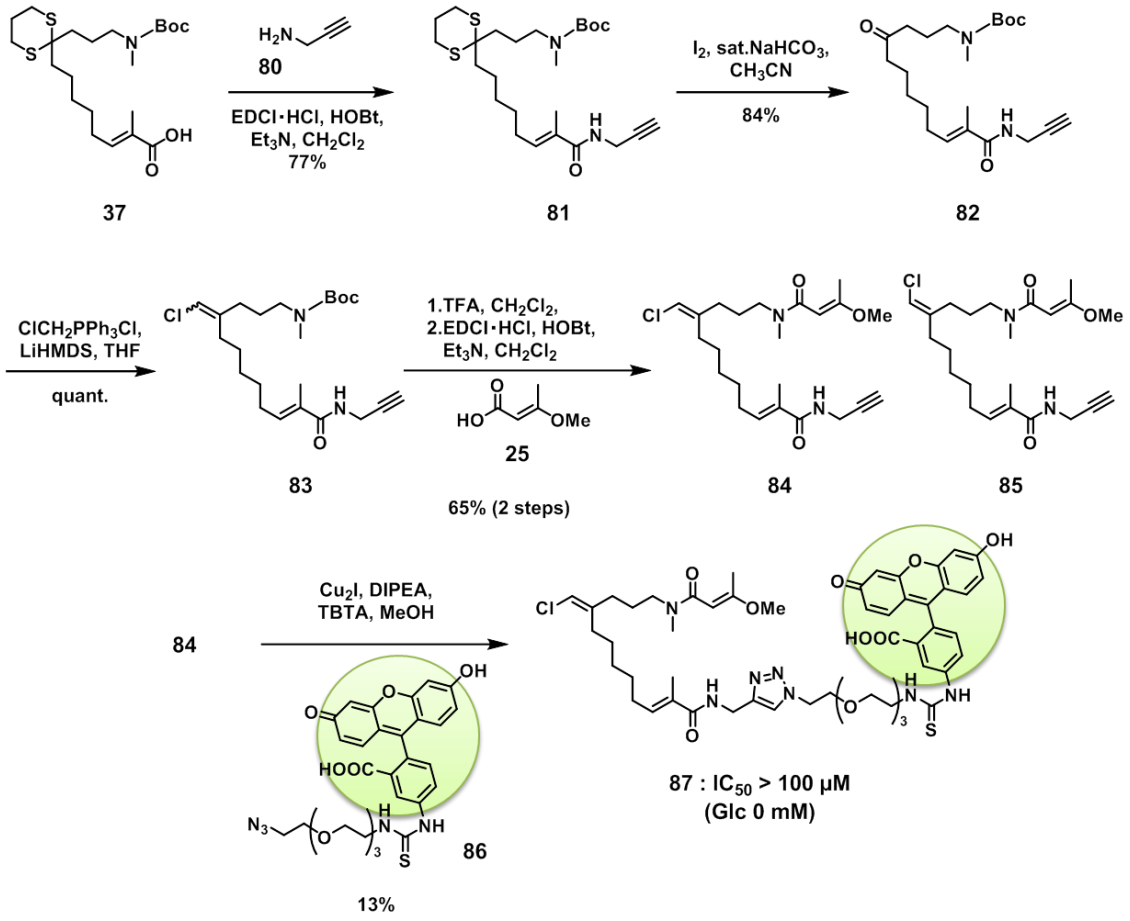
第二節　蛍光イメージングによる biakamide 類の標的分子探索

第一節の結果より、biakamide C がミトコンドリア内にて作用することでその活性を発現する可能性が示唆された。そこで、biakamide 類のグルコース飢餓環境選択的がん細胞増殖阻害活性の作用メカニズムを詳細に解明するにあたり、第二章で得られた構造活性相関の情報をもとに biakamide 類の活性プローブ分子を創出し、そのプローブを用いて生化学的な手法にて標的分子探索研究を行うこととした。具体的には、蛍光プローブを用いたイメージング技術を用いプローブ分子の局在を可視化することで、直接的に細胞内挙動を明らかにし、標的分子の決定に繋げることを目指して、イメージングプローブの創出と検出方法の確立に取り組んだ。

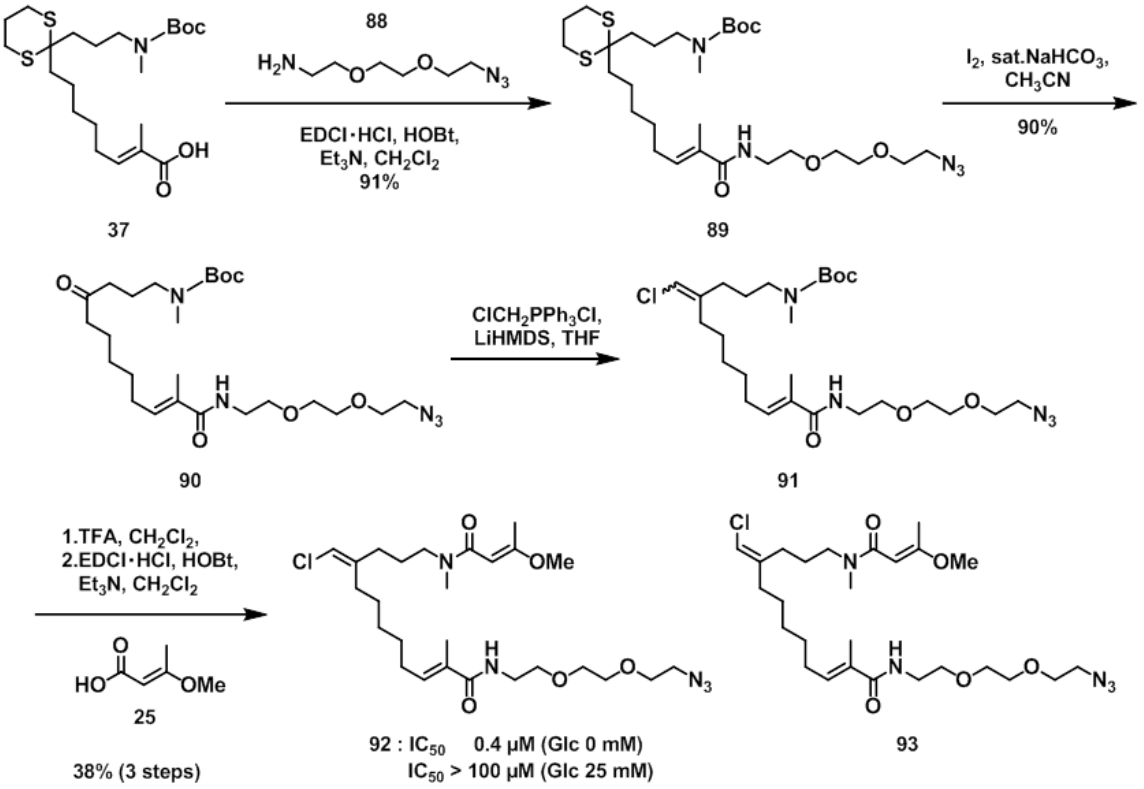
第一項　Biakamide 類の蛍光イメージングプローブ創出

化合物の細胞内局在をイメージングによって可視化することでその低分子の標的分子を解析する例として、蛍光イメージングが挙げられる。例えば、taxol から誘導化し、rhodamine 類縁体を接続したイメージングプローブを用いて taxol 類の標的分子の tubulin-microtubule を蛍光標識する実験などが古くから行われている [49]。そこで、biakamide 類についても蛍光基を導入することでイメージングプローブを創出することとした。蛍光基を導入するにあたり、活性発現への影響が小さい部分を構造変換させる必要があるが、第二章で展開した構造活性相関解析の知見から、構造的許容性の高いチアゾー

ル含有アミド部位が最適であると考えた。そこで、カルボン酸 **37** から合成したアルキン誘導体 **84** とのクリック反応によって fluorescein を導入した biakamide 蛍光プローブ **87** を合成し、**87** を用いて蛍光イメージングを試みようとしたが、**87** は全く活性を示さなかった (Scheme 14)。一方で、同じくカルボン酸 **37** から合成した誘導体 **92** は、活性、選択性共に十分保持していた (Scheme 15)ことから、**87** が活性を示さないのは、fluorescein を導入したことに原因があると考えられる。予想される問題点として、以下の二つが挙げられる。一つ目は fluorescein に代表される蛍光基は極性が高いために、導入した化合物全体の水溶性が上昇し、細胞外膜である脂質二重膜を透過できず、プローブの細胞内導入がうまくいかないことである。二つ目は蛍光基を導入することで細胞内の活性標的分子以外のタンパク質と非特異的に結合してしまい、本来の機能を示さなくなることである。



Scheme 14： 蛍光プローブ **87** の合成と活性



Scheme 15： 誘導体 **92** の合成と活性評価

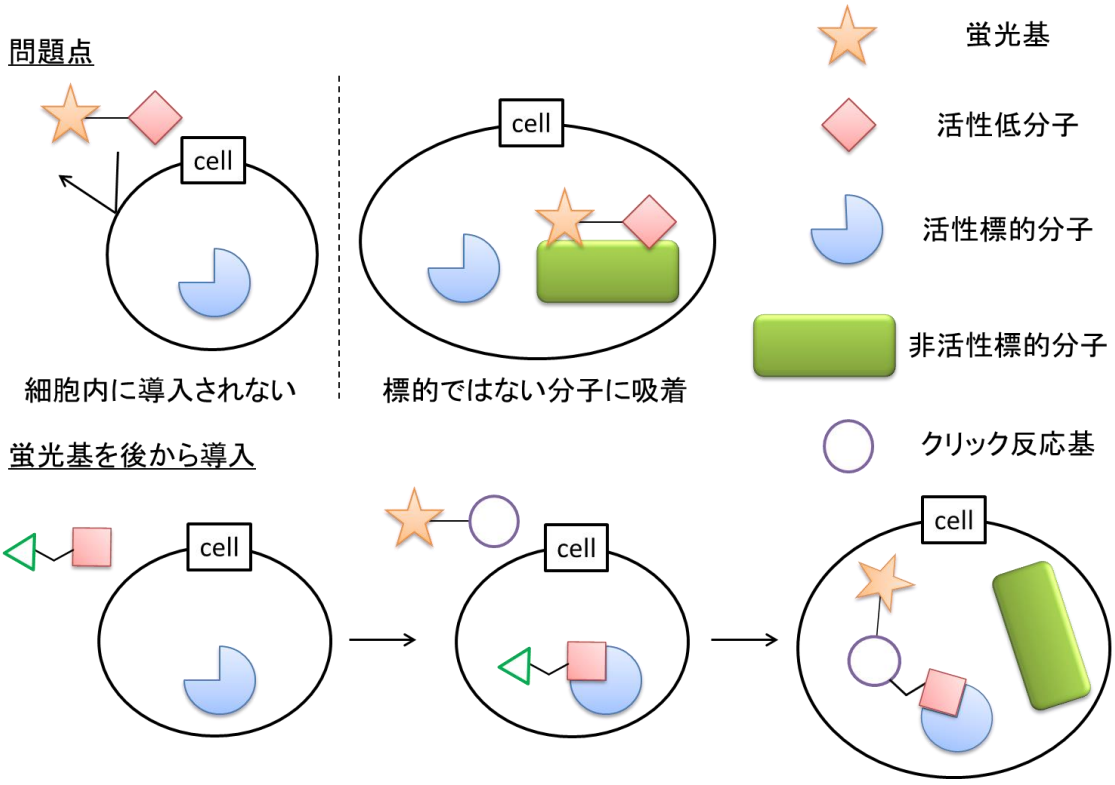
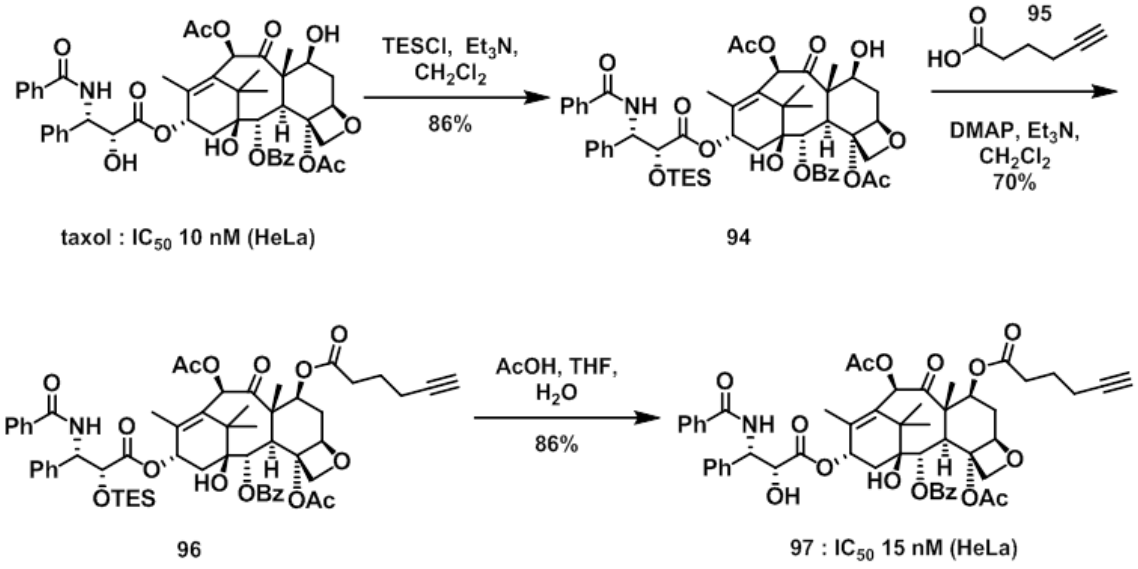


Figure 29： 蛍光プローブ **87** の問題点と新たな蛍光イメージングコンセプト

これらの問題点を解決するために、クリック反応によって蛍光基を後から化合物に導入する方法を適用することとした。すなわち、クリック反応に適用でき、かつ物性の変化を最小限にとどめることが出来る最小タグをプローブに導入し、細胞に投与することで、プローブを細胞内部へ透過させて、活性標的分子と結合させ、その後のクリック反応によって蛍光基を導入することで、確実にプローブ分子と標的分子を結合させることが出来ると考えた (Figure 29)。クリック反応としては、もっとも反応性が高く、またタグとして最小で極性変化の小さいプロパルギル基を適用できることから、Huisgen 反応を採用することとし、プロパルギルタグをもつ新たな biakamide プローブを創出することとした。以上のことを考えれば、biakamide のチアゾール含有アミド部位にプロパルギル基を導入した化合物を設計すればよいが、別の予試験にて新たな問題が生じた。

それは、イメージングのテクニック習得のために行った taxol 誘導体による tubulin の蛍光イメージングの際に、taxol から合成したアルキンタグを有する化合物 **97** を使用し、市販の Huisgen 反応キットである click-iT EdU imaging kit を用いて Alexa Fluor® 488 蛍光標識化を行ったところ、ほとんど蛍光検出されなかったという問題である(Scheme 16, Figure 30)。Nicolau らによって報告されている taxol イメージングプローブの構造[49] やプローブ **97** の活性から推察するに、**97** は活性標的分子と一度は結合しているが、Huisgen



Scheme 16： Taxol probe **97** の合成と HeLa 細胞に対する細胞毒性

反応や細胞処理などで洗浄操作を繰り返すうちに化合物が洗い流され、化合物の細胞内局在が確認できなかったことが予想される。そこで、プローブ分子と活性標的分子をより強力に結合させるため、可逆的な結合だけでなく、プローブ分子と標的分子の間で共有結合を形成させることとでこの問題を解決できると考え、共有結合形成可能な新たなプローブ分子として、プロパルギルタグ、反応性の高い光親和性官能基である diazirine 基を化合物

内に持つ biakamide プローブを設計、合成することとした。

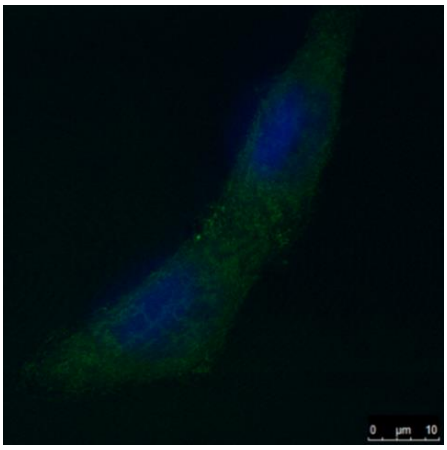


Figure 30： Taxol probe **97** を 100 μL 投与した際の HeLa 細胞イメージング図。青：DAPI による核染色、緑：化合物に導入した Alexa Fluor® 488

プロパルギルタグは最終的に蛍光基を導入させることから、やはり構造許容性の高いチアゾール含有アミド部位に持たせることとしたが、diazirine 基の導入場所についてはいくつか想定すべき点がある。標的分子探索に用いられる光親和性官能基は、元のリガンドから活性の影響を及ぼさない部位にリンカーを介して結合されることが一般的である(Figure 31) [50]。リガンドとラベル化官能基の間にリンカーを挟んでいる理由は、リンカー長を長くすることで標的分子に認識されない部分から回り込んで標的分子に結合することが出来るためであり、またサイズや芳香環の関係で構造上活性に大きく影響与える可能性を持つ親和性官能基を標的認識部位から遠ざけるためである。しかし、リンカー長が長すぎた場合、自由運動できるリンカーが原因で標的分子以外のタンパク質等に非特異に結合する懸念があり、リンカー長の最適化は、標的分子探索プローブにおいて煩雑ながら重要な意味を持つ。また、リンカーをプローブに導入することによって化合物の構造は天然物と大きく異なり、活性や化合物全体の物性に与える影響が大きくなる。実際に著者の研究室で前述した furospinosulin-1 の標的分子同定に用いたプローブ分子(Figure 31) [26] のようにリンカー、光親和性官能基、検出タグといった特徴的な感応基をもつ多くのプローブ分子は、天然物と異なり細胞外膜を透過できないことが多く、細胞膜を破砕し lysate の状態にした細胞サンプルに対して使用されている。標的分子探索を目指した蛍光イメージングに適用するプローブとしては、生きている細胞内での化合物の局在を検出することが重要であるため、このような修飾を施すことでプローブの性質を著しく変化させないことが望ましい。そこで、著者は光親和性基を標的分子に認識される部位に導入し、活性ポケット内

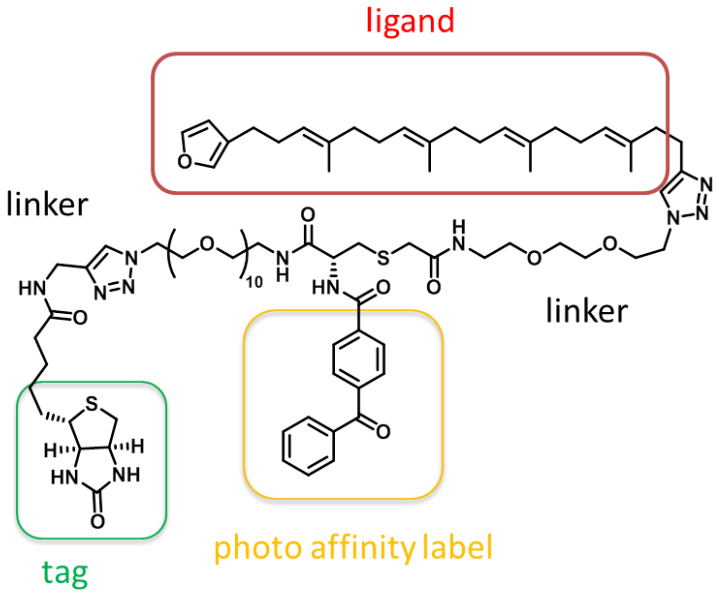
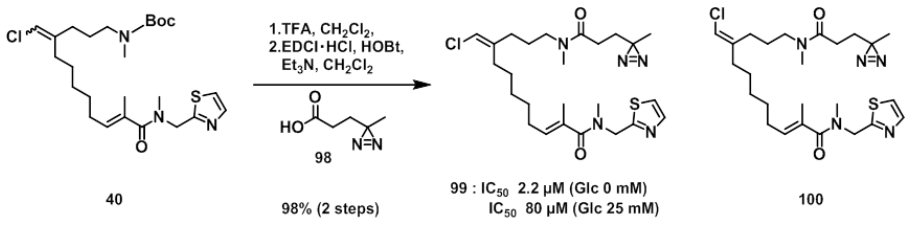
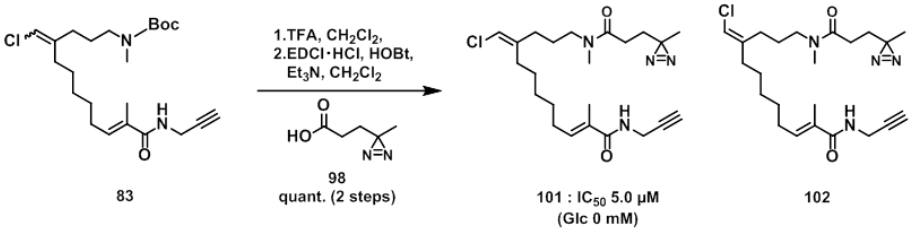


Figure 31： Furospinosulin-1 標的探索に用いられたプローブ分子 [26]

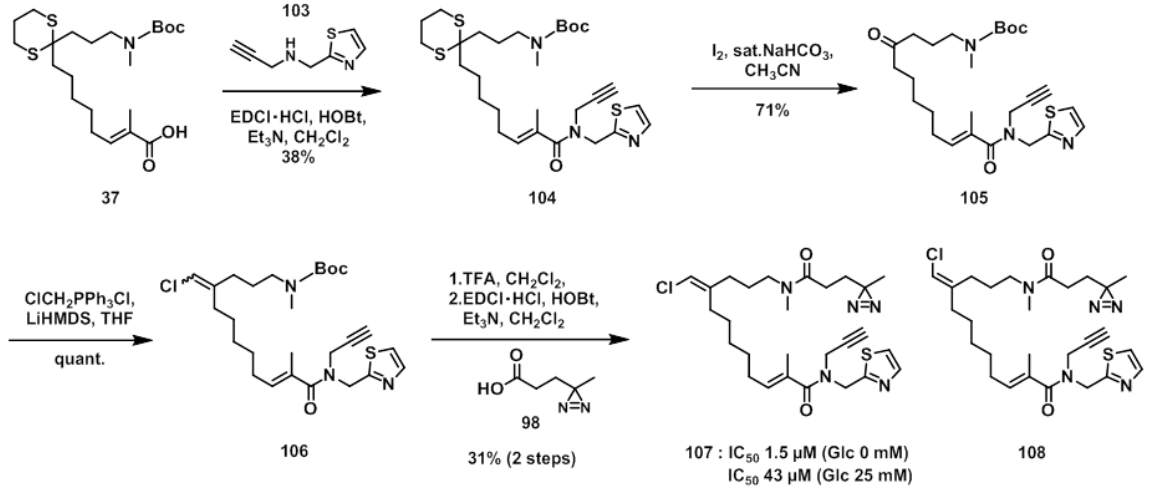
で diazirine 基からカルベンを生じさせることで、リンカー等を挟まず、確実かつ選択的に標的分子を捕捉できると考えた。第二章の構造活性相関の結果より、biakamide 類の構造の中で標的分子に認識されていることが予想される末端アシル側鎖に diazirine 基を導入したプローブ分子を創出し、活性の測定を試みることとした。**28** の合成最終中間体である **40** に対し、脱保護の後に文献既知の diazirine 基含有カルボン酸 **98** [51] を縮合させ **99** を合成し、PANC-1 に対する活性を測定したところ IC_{50} 2.2 μM (Glc 0 mM)と、若干減弱したものの活性を保持していた(Scheme 17)ことから、**98** を用いて末端アシル側鎖に diazirine 基をもち、チアゾール含有アミド部位にプロパルギル基をもつプローブ分子を合成することとした。まず、もっとも単純なプロパルギルアミン (**80**)を導入した **101** の活性を調べたところ、IC_{50} 5.0 μM (Glc 0 mM)と、**99** よりさらに減弱し、天然物の 10 倍程度活性が低下した (Scheme 18)。そこで、より天然物に構造の近い *N*-メチレンチアゾール-プロパルギルアミン (**103**)を用いて合成した **107** の活性を評価したところ、IC_{50} 1.5 μM (Glc 0 mM)と、天然物と比べ 3 倍程度の活性の低下しか見られず、活性を保持したプローブを創出することができた(Scheme 19)。



Scheme 17： Biakamide diazirine probe **99** の合成と活性評価



Scheme 18： Biakamide diazirine probe **101** の合成と活性評価



Scheme 19： Biakamide diazirine probe **107** の合成と活性評価

第二項　蛍光イメージング

活性プローブの創出が出来たので、biakamide 類の標的分子を探索するために、PANC-1 細胞中でのプローブ **107** の蛍光イメージングに着手することとした。第一項で述べたようにプローブに検出タグを導入する方法として Huisgen 反応を用いることとしたが、反応に必要な Cu(I)が有毒であることから、クリック反応を生細胞中で行うことはできない。そこで、UV 照射によって in situ で標的分子とプローブを共有結合で結んだ後、固定化処理を行い、その固定化細胞中にて Huisgen 反応を行うことで、biakamide の PANC-1 中での標的分子を正しく蛍光イメージングできると考えた。さらに都合の良いことに、固定化処理を施した細胞では抗体を用いた免疫染色によって細胞内器官を同時染色も行えることから、Huisgen 反応を行った後に免疫染色を行いミトコンドリアのイメージング図を取得し、プローブ由来の蛍光イメージングと比較することで、プローブ分子がミトコンドリアに集積するか解析することとした。

PANC-1 細胞にプローブ（5 μM）投与後 2 時間インキュベーションし、UV 照射を行うことで標的分子とプローブを結合させ、4%パラホルムアルデヒド処理を行うことで細胞を固定化した。その後抗体や蛍光基が通過できるよう細胞の透過処理を行い、click-iT® EdU imaging kit を用いて Huisgen 反応によって Alexa Fluor® 488 蛍光標識をプローブへと導入した。さらに、COX IV 抗体によりミトコンドリアを Alexa Fluor® 555 で免疫染色した後、共焦点顕微鏡でその蛍光イメージングを撮影した。

その結果、プローブ **107** を投与した際には明らかにミトコンドリアが染色され、またプローブの代わりに EtOH を同量投与したサンプルでは蛍光が検出されなかった(Figure 32, 最上段、上二段目)。また、光親和性基の効果を確認するため、UV 照射のみを省略し同様の実験を行った結果、プローブは予想通り洗い流され、蛍光が検出されなかった(Figure 32, 上三段目)。最後に結合特異性についても検証を行った。すなわち、プローブ投与の前に競合剤として天然の biakamide C（50 μM)を 2 時間処理し、同様の実験を行ったところ、プローブが標的分子に結合できず、細胞内全体に拡散したイメージング図が得られた（Figure 32, 最下段)。以上の結果より、プローブ **107** は biakamide C と同様の場所に結合し、それはミトコンドリアであることが示唆された。また、in situ での光照射によって確実に標的分子を捕捉し、そののちに細胞固定化に続くクリック反応、免疫染色を行う、抗体免疫染色を併用したプローブ分子の細胞内イメージング手法が実現可能であることを示した。

以上の酵素アッセイキット、ウエスタンブロッティングおよび蛍光イメージングの結果より、biakamide 類がミトコンドリア呼吸鎖複合体 I の機能を阻害することで GRP78 の発現や Akt(473Ser)のリン酸化を低下させ、グルコース飢餓環境選択的ながん細胞増殖阻害活性を示していると想定され、これを確認する目的で、構造活性相関から得られた情報をもとに創出したプローブ分子を用い、新たに確立したイメージング法で解析した結果、biakamide 類がミトコンドリアに集積する様子を捉えることができ、biakamide 類はミト

コンドリアの電子伝達系の機能を阻害することでがん細胞増殖阻害活性を発現していることを明らかにした。

哺乳類のミトコンドリア呼吸鎖複合体 I は、独立した 45 本のペプチド鎖からなり [52]、これまで見出されている化合物ごとにその結合部位は異なることが分かっている [53]。このことから、イメージングプローブ **107** を利用して、蛍光基のかわりにビオチンタグを導入し、アフィニティープルダウンによる精製後に mass 解析を行うことで、標的分子の同定および biakamide 類の結合部位特定といったさらなる展開も期待できる。

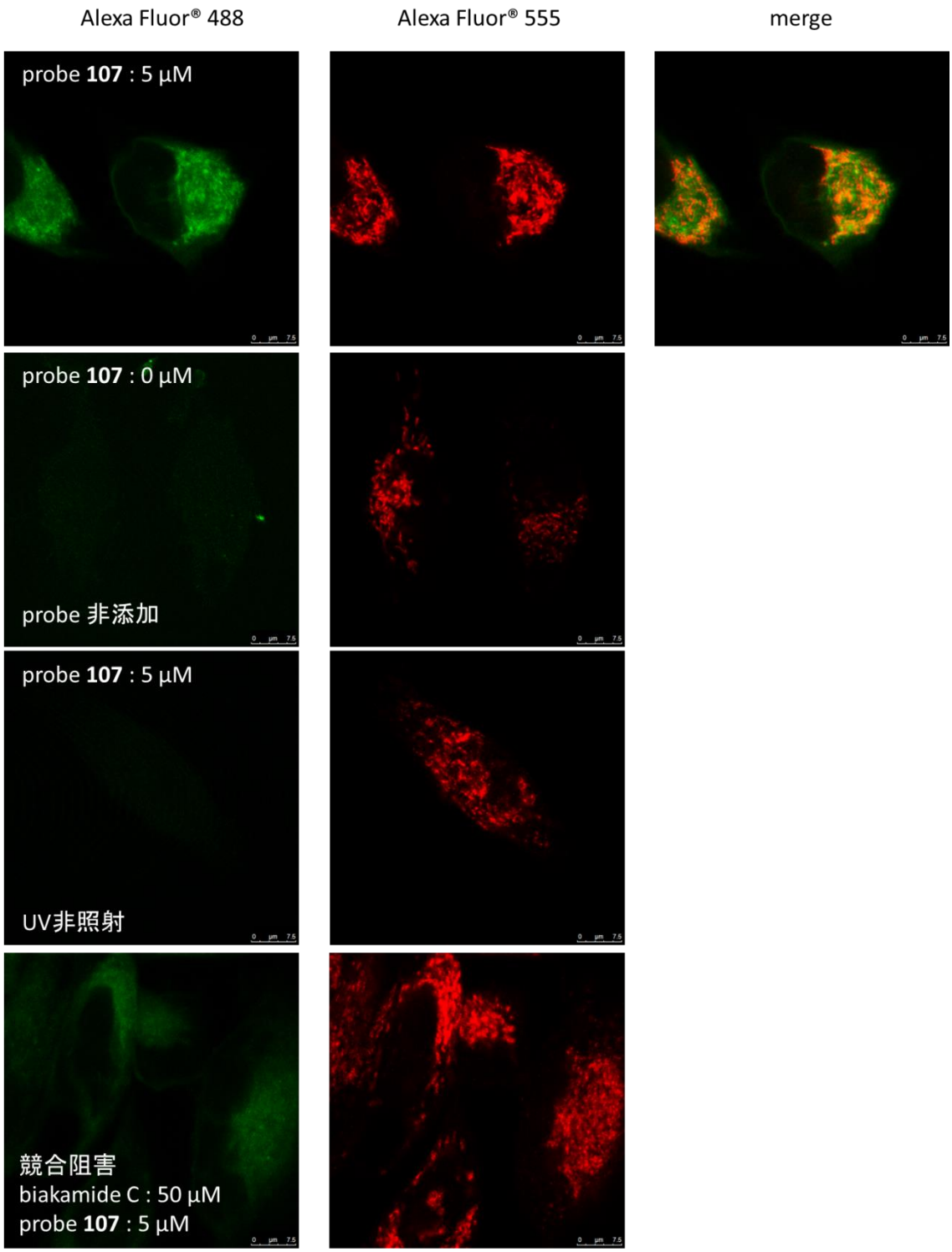


Figure 32：プローブ **107** による蛍光イメージングと、Alexa Fluor® 555 によるミトコンドリア免疫染色図。

結論

1) インドネシア産海綿より見出され、グルコース飢餓環境選択的に膵臓がん細胞 PANC-1 に対して増殖阻害活性を示す新規ポリケチド biakamide A-D として考えられる全ての立体異性体を合成し、各種スペクトルデータを天然物と比較することで、未決定であった 4 位および 6 位の立体配置が、4*R*, 6*S* 配置であることを決定した。これによって、4 種の biakamide 類の絶対立体構造を決定した。

2) Biakamide 類の各種類縁体を合成して、各官能基に関する構造活性相関研究を展開し、活性発現に重要な部位や影響を及ぼさない部位を特定するとともに、活性発現機構解明に向けたプローブ分子を創出した。

3) ウエスタンブロッティングと酵素アッセイによって、biakamide 類の活性発現が、同じくグルコース飢餓環境選択的にがん細胞増殖阻害活性を示す antimycin A や rotenone と同様にミトコンドリア呼吸鎖複合体 I を阻害することによって起こることを示唆する知見を得た。

4) 光親和性ラベリングと Huisgen 反応を活用するプローブ分子を調製し、そのプローブ分子を用いて一細胞中における高効率的かつ高精度の低分子イメージング法を確立することで、biakamide 類が確かにミトコンドリア呼吸鎖に局在していることを確認した。

謝辞

本研究の遂行に際し、終始ご指導ご鞭撻を賜りました大阪大学薬学研究科恩師 小林 資正 教授に謹んで感謝の意を表します。また実験やディスカッションなど、本研究すべてにおいてご懇篤なるご指導いただきました 古徳 直之 助教に心より御礼申し上げます。さらに、細胞実験や研究のディスカッションにて温かくご指導賜りました 荒井 雅吉 准教授に深く感謝いたします。

本研究の基盤となる biakamide 類を見出された戸田 和成 修士ならびに biakamide 類の全合成および構造活性相関研究でご協力いただいた 松本 紘和 学士に深く感謝いたします。また、生化学実験においてご指導、ご助言をいただきました 河内 崇志 博士に感謝いたします。

イメージング実験において有用な助言を賜りました大阪大学薬学研究科神経薬理学分野 笠井 淳司 助教に感謝いたします。

研究室での研究生活でご助力いただくとともに有益な討論をしていただいた 伊藤 葵 修士、神谷 謙太朗 修士、水野 華奈子 学士、中村 健彦 学士、伊藤 みなみ 学士、野中 宏紀 学士、久 智也 学士、神野 佑司 学士、城森 啓宏 学士、田中 駿 学士、田中 健太 学士、孫 暁 学士、野形 真樹 氏、木村 出海 氏、萩原 颯 氏、一井 さやか 氏、山口 亞由太 氏、佐藤 寛真 氏に感謝いたします。有益な討論をしていただきました大阪大学薬学研究科天然物化学分野の皆様に感謝いたします。

経済面において、研究奨励金をご支援くださいました公益財団法人 東京生化学研究会に感謝いたします。

最後に、終始心の支えとなった母と弟、他界した父をはじめとする家族に対して感謝いたします。

実験項

使用試薬・機器

・細胞培養

ウェル：ThermoFisher 製 96, 12, 6 well Multidish 12-9985, 12-9982, 12-9981

培養ディッシュ：接着細胞 ThremoFisher 製 ϕ 100 細胞培養ディッシュ 12-9973

浮遊細胞 グライナー製 CELLSTAR 100×20 mm シャーレ 664161

CO_2 インキュベーター：TABAI ESPEC CORP. 製 BNA-111 型炭酸ガス培養器

液体窒素凍結保存チャンバー：ダイヤ冷凍工業製 DR22

低速冷却遠心機：トミー精工製 LX-120

高圧蒸気滅菌(オートクレーブ)：平山製作所株式会社製　HA-240M

・電気泳動、ウエスタンブロッティング、蛍光イメージング

小型冷却遠心機：トミー精工製 MX-105

位相差顕微鏡：Olympus 製倒立型システム IMT2 顕微鏡

蛍光顕微鏡：Leica 製 Leica TCS SP5

吸光プレートリーダー：Molecular Devices 製 Spectra Max 190 および Bio Rad 製 iMark microplate reader

SDS ポリアクリルアミドゲル電気泳動用の泳動槽：日本エイドー製 NA-1011

ゲル転写装置：日本エイドー製 NA-1510

ウエスタンブロッティング検出装置：GE Healthcare 製 LAS-4010

超低温フリーザ：三洋電機株式会社製 MDF-U537 および MDF-U33V

・有機合成

MS 測定：ESI-TOF-MS は、Waters 製 Q-Tof Ultima (溶媒：MeOH)にて測定

NMR：バリアン テクノロジーズ ジャパン リミテッド製 Varian unity inova 600 (^{1}H：600 MHz および ^{13}C：150 MHz)、内部標準は $CDCl_3$ とし、chemical shift はδ (ppm)、結合定数は J = (Hz)で表示。^{1}H-NMR における分裂様式は、singlet、doublet、triplet、doubledoublet、multiplet をそれぞれ s、d、t、dd、m に、broad は br と略して記載。

赤外吸収スペクトル(IR spectrum)：日本分光製 FT / IR -4600 (溶媒 $CHCl_3$)

比旋光度(specific rotation)：日本分光製 P-2200 (L = 50 mm)

カラムクロマトグラフィーの担体：関東化学株式会社製 Silica Gel 60N (63-210 mm)および Nacalai tesque 製 Cosmosil 75C_{18}-OPN

高速液体クロマトグラフィー(HPLC)：日立製作所製 L-2130 (UV-detector：L-2400H)

逆相カラム：Nacalai tesque 製 Cosmosil 5C_{18}-MS-Ⅱ（10 mm i.d. × 250 mm）
薄相クロマトグラフィー（TLC）：Merck 製 TLC Silica gel 60 F_{254} および HPTLC Silica gel 60 RP-18 $WF_{254}S$

有機化学実験

特に表記がない場合、全ての反応は窒素雰囲気化で行った。また、biakamide 類およびその構造類縁体はシリカゲルクロマトグラフィーによる精製では、ビニルクロリド部位の幾何異性体の完全な分離が難しかった。精製に成功した純粋な化合物についてフィジカルデータを測定するとともに、活性試験を行った。収率はそれぞれの純品および幾何異性体混合物の収量を合算したものを表記した。また、第三級アミド構造を有する化合物は回転異性体が存在したため、^{13}C-NMR において、化合物の組成式で記した炭素数より多数のシグナルが観測された。本項では、観測された全てのシグナルを表記した。

第一章の実験

(2*S*,4*R*)-5-((*tert*-Butyldiphenylsilyl)oxy)-2,4-dimethylpentan-1-ol (6) の合成

5 (478 mg, 2.7 mmol) の CH_2Cl_2 (10 mL) 溶液に DMAP (168 mg, 1.4 mmol, 0.5 equiv.)、Et_3N (1.15 mL, 8.2 mmol, 3 equiv.)、TBDPSCl (1.07 mL, 4.1 mmol, 1.5 equiv.) を加え、室温で 1 時間撹拌した。その後、飽和 NH_4Cl 水溶液を加え、EtOAc で抽出し、有機層を飽和 NH_4Cl 水溶液、食塩水で洗浄後、Na_2SO_4 で乾燥させた。溶媒を減圧留去して得られた粗生成物を、シリカゲルカラムクロマトグラフィー (Hex : AcOEt = 10 : 1) で精製し、(2*S*,4*R*)-5-((*tert*-butyldiphenylsilyl)oxy)-2,4-dimethylpentyl acetate (1.13 g, quant.)を得た。得られた(2S,4R)-5-((*tert*-butyldiphenylsilyl)oxy)-2,4-dimethylpentyl acetate (1.13 g, 2.7 mmol)に対して、MeOH (14 mL)、NaOH 水溶液(15% wt., 7 mL)を加え、開放系、室温で 2.5 時間撹拌した。その後、飽和 NH_4Cl 水溶液を加え、EtOAc で抽出し、有機層を飽和 NH_4Cl 水溶液、食塩水で洗浄後、Na_2SO_4 で乾燥させた。溶媒を減圧留去して得られた粗生成物を、シリカゲルカ

ラムクロマトグラフィー(Hex：AcOEt = 4：1) で精製し、無色の粘性液体として **6** (1.12 g, quant.)を得た。

スペクトルデータは既存のものと一致した[54]。

Methyl (4*S*,6*R*,*E*)-7-((*tert*-butyldiphenylsilyl)oxy)-4,6-dimethylhept-2-enoate (**8**) の合成

6 (382 mg, 1.0 mmol) の CH_2Cl_2 (10 mL) 溶液に $PhI(OAc)_2$ (365 mg, 1.1 mmol, 1.1 equiv.)、TEMPO (16.1 mg, 0.10 mmol, 0.1 equiv.)を加え、開放系、室温で 4 時間撹拌した。その後、toluene (10 mL)、**7** (517 mg, 1.5 mmol, 1.5 equiv.) を加え、70 ℃で 13.5 時間撹拌し、飽和 $Na_2S_2O_3$ / $NaHCO_3$ 水溶液を加え、EtOAc で抽出し、有機層を飽和 $Na_2S_2O_3$ / $NaHCO_3$ 水溶液、食塩水で洗浄後、Na_2SO_4 で乾燥させた。溶媒を減圧留去して得られた粗生成物を、シリカゲルカラムクロマトグラフィー(Hex：AcOEt = 15：1) で精製し、無色の粘性液体として **8** (418 mg, 96%) を得た。

$[\alpha]_D^{27}$ +18.7 (*c* 3.19, $CHCl_3$). ^{1}H-NMR (600 MHz, $CDCl_3$) δ: 7.68 (4H, d, *J* = 7.7 Hz), 7.45-7.38 (6H, m), 6.84 (1H, dd, *J* = 15.8, 8.4 Hz), 5.81 (1H, d, *J* = 15.8 Hz), 3.75 (3H, s), 3.50-3.43 (2H, m), 2.42 (1H, quint, *J* = 6.5 Hz), 1.70-1.65 (1H, m), 1.59-1.53 (1H, m), 1.16-1.11 (1H, m), 1.08 (9H, s), 1.04 (3H, d, *J* = 6.4 Hz), 0.92 (3H, d, *J* = 6.4 Hz). ^{13}C-NMR (150 MHz, $CDCl_3$) δ: 167.3, 154.8, 135.644 (2C), 135.637 (2C), 133.90, 133.86, 129.6 (2C), 127.6 (4C), 119.4, 69.0, 51.4, 39.8, 34.2, 33.4, 26.9 (3C), 20.5, 19.3, 16.7. IR (KBr): 2958, 1725, 1626, 1273, 1112 cm^{-1}. MS (ESI-TOF) *m/z*: 447 $[M+Na]^+$. HRMS (ESI-TOF) *m/z*: 447.2331 calcd for $C_{26}H_{36}O_3SiNa$; Found: 447.2323.

(4*R*,6*R*)-7-((*tert*-Butyldiphenylsilyl)oxy)-4,6-dimethylheptanoic acid (**9**) の合成

8 (300 mg, 1.5 mmol) の MeOH (10 mL) 溶液に Mg (360 mg, 15 mmol, 10 equiv.)、を加え、開放系、室温で 1 時間撹拌した。その後、飽和 NH_4Cl 水溶液を加え、EtOAc で抽出し、有機層を飽和 NH_4Cl 水溶液、食塩水で洗浄後、Na_2SO_4 で乾燥させた。溶媒を減圧留去して得

られた粗生成物を、シリカゲルカラムクロマトグラフィー(Hex : AcOEt = 15 : 1) で精製し、methyl (4*R*,6*R*)-7-((*tert*-butyldiphenylsilyl)oxy)-4,6-dimethylheptanoate (300 mg, 99%)を得た。

$[\alpha]_D^{27}$ +18.7 (*c* 3.19, $CHCl_3$). ^{1}H-NMR (600 MHz, $CDCl_3$) δ: 7.68 (4H, d, *J* = 7.7 Hz), 7.45-7.38 (6H, m), 6.84 (1H, dd, *J* = 15.8, 8.4 Hz), 5.81 (1H, d, *J* = 15.8 Hz), 3.75 (3H, s), 3.50-3.43 (2H, m), 2.42 (1H, quint, *J* = 6.5 Hz), 1.70-1.65 (1H, m), 1.59-1.53 (1H, m), 1.16-1.11 (1H, m), 1.08 (9H, s), 1.04 (3H, d, *J* = 6.4 Hz), 0.92 (3H, d, *J* = 6.4 Hz). ^{13}C-NMR (150 MHz, $CDCl_3$) δ: 167.3, 154.8, 135.644 (2C), 135.637 (2C), 133.90, 133.86, 129.6 (2C), 127.6 (4C), 119.4, 69.0, 51.4, 39.8, 34.2, 33.4, 26.9 (3C), 20.5, 19.3, 16.7. IR (KBr): 2958, 1725, 1626, 1273, 1112 cm^{-1}. MS (ESI-TOF) *m/z*: 447 $[M+Na]^+$. HRMS (ESI-TOF) *m/z*: 447.2331 calcd for $C_{26}H_{36}O_3SiNa$; Found: 447.2323.

得られた methyl (4*R*,6*R*)-7-((*tert*-butyldiphenylsilyl)oxy)-4,6-dimethylheptanoate (105 mg, 0.25 mmol) に対し、H_2O / MeOH / THF (1 / 1 / 1, 6 mL)、LiOH (59.0 mg, 2.5 mmol, 10 equiv.) を加え、開放系、室温で 6　時間撹拌した。その後、HCl 水溶液 (5%) を加え、EtOAc で抽出し、有機層を食塩水で洗浄後、Na_2SO_4 で乾燥させた。溶媒を減圧留去して得られた粗生成物を、シリカゲルカラムクロマトグラフィー(Hex : AcOEt = 3 : 1) で精製し、無色の粘性液体として **9** (97.8 mg, 97%) を得た。

$[\alpha]_D^{26}$ +6.8 (*c* 1.06, $CHCl_3$). ^{1}H-NMR (600 MHz, $CDCl_3$) δ: 7.67 (4H, d, *J* = 6.7 Hz), 7.44-7.36 (6H, m), 3.49 (1H, dd, *J* = 9.7, 5.3 Hz), 3.42 (1H, dd, *J* = 9.7, 6.4 Hz), 2.37 (1H, ddd, *J* = 15.9, 10.0, 5.6 Hz), 2.29 (1H, ddd, *J* = 15.9, 9.7, 6.5 Hz), 1.77-1.65 (2H, m), 1.53-1.47 (1H, m), 1.41-1.33 (2H, m), 1.06 (9H, s), 0.96-0.92 (1H, m), 0.93 (3H, d, *J* = 6.8 Hz), 0.85 (3H, d, *J* = 6.5 Hz). ^{13}C-NMR (150 MHz, $CDCl_3$) δ: 180.3, 135.64 (2C), 135.63 (2C), 134.0 (2C), 129.5 (2C), 127.6 (4C), 68.8, 40.7, 33.0, 31.6, 31.3, 29.6, 26.9 (3C), 19.8, 19.3, 17.6.　IR (KBr): 3100 (br), 2957, 1709, 1427, 1112 cm^{-1}. MS (ESI-TOF) *m/z*: 435 $[M+Na]^+$. HRMS (ESI-TOF) *m/z*: 435.2331 calcd for $C_{25}H_{36}OSiNa$; Found: 435.2317.

(4*R*,6*R*)-7-((*tert*-Butyldiphenylsilyl)oxy)-4,6-dimethylheptanal (**10**) の合成

9 (85.8 mg, 0.25 mmol) の CH_2Cl_2 (4 mL) 溶液に MeONHMe・HCl (33.4 mg, 0.34 mmol, 1.4 equiv.)、HOBt (46.5 mg, 0.34 mmol, 1.4 equiv.)、Et_3N (192 µL, 1.4 mmol, 4 equiv.)、EDCI・HCl (66.0 mg, 0.34 mmol, 1.4 equiv.)を加え、室温で 7 時間撹拌した。その後、飽和 $NaHCO_3$ 水溶液を加え、EtOAc で抽出し、有機層を飽和 $NaHCO_3$ 水溶液、食塩水で洗浄後、Na_2SO_4 で乾燥させた。溶媒を減圧留去して得られた粗生成物を、シリカゲルカラムクロマトグラフィー(Hex : AcOEt = 5 : 1) で精製した後、その生成物 (88.6 mg) に対し、THF (5 mL)、DIBAL-H (THF 1 M solution, 235 µL)を加え、氷冷下で 2 時間撹拌した。その後、飽和 NH_4Cl 水溶液を加え、EtOAc で抽出し、有機層を飽和 NH_4Cl 水溶液、食塩水で洗浄後、Na_2SO_4 で乾燥させた。溶媒を減圧留去して得られた粗生成物を、シリカゲルカラムクロマトグラフィー (Hex : AcOEt = 10 : 1) で精製し、無色の粘性液体として **10** (64.8 mg, 76%, 2 steps)を得た。 $[\alpha]_D^{26}$ +6.3 (*c* 2.03, $CHCl_3$). ^{1}H-NMR (600 MHz, $CDCl_3$) δ: 9.76 (1H, s), 7.68 (4H, d, *J* = 6.7 Hz), 7.44-7.38 (6H, m), 3.50 (1H, dd, *J* = 9.9, 5.4 Hz), 3.44 (1H, dd, *J* = 9.9, 6.3 Hz), 2.45-2.33 (2H, m), 1.76-1.71 (1H, m), 1.68-1.63 (1H, m), 1.53-1.47 (1H, m), 1.42-1.33 (2H, m), 1.07 (9H, s), 0.97-0.92 (1H, m), 0.94 (3H, d, *J* = 6.7 Hz), 0.85 (3H, d, *J* = 6.8 Hz). ^{13}C-NMR (150 MHz, $CDCl_3$) δ: 202.9, 135.58 (2C), 135.56 (2C), 133.9 (2C), 129.5 (2C), 127.5 (4C), 68.7, 41.4, 40.6, 33.0, 29.6, 28.5, 26.8 (3C), 19.9, 19.3, 17.6. IR (KBr): 2957, 1726, 1471, 1427, 1111 cm^{-1}. MS (ESI-TOF) *m/z*: 419 $[M+Na]^+$. HRMS (ESI-TOF) *m/z*: 419.2382 calcd for $C_{25}H_{36}O_2SiNa$; Found: 419.2383.

(((2*R*,4*R*)-6-(1,3-Dithian-2-yl)-2,4-dimethylhexyl)oxy)(*tert*-butyl)diphenylsilane (**11**) の合成

10 (350 mg, 0.88 mmol) の CH_3Cl (4 mL) 溶液に I_2 (22.4 mg, 0.088 mmol, 0.1 equiv.)、1,3-propanedithiol (117 µL, 1.15 mmol, 1.3 equiv.)を加え、室温で 7 時間撹拌した。その後、飽和 $Na_2S_2O_3$ / $NaHCO_3$ 水溶液を加え、EtOAc で抽出し、有機層を飽和 $Na_2S_2O_3$ / $NaHCO_3$ 水溶液、食塩水で洗浄後、Na_2SO_4 で乾燥させた。溶媒を減圧留去して得られた粗生成物を、

シリカゲルカラムクロマトグラフィー(Hex : AcOEt = 50 : 1) で精製し、無色の粘性液体として **11** (391 mg, 91%) を得た。

$[\alpha]_D^{27}$ +7.1 (*c* 1.12, $CHCl_3$). ^{1}H-NMR (600 MHz, $CDCl_3$) δ: 7.67 (4H, d, *J* = 7.6 Hz), 7.45-7.37 (6H, m), 3.99 (1H, t, *J* = 6.9 Hz), 3.50 (1H, dd, *J* = 9.9, 5.2 Hz), 3.40 (1H, dd, *J* = 9.9, 6.6 Hz), 2.90-2.80 (4H, m), 2.13-2.10 (1H, m), 1.90-1.82 (1H, m), 1.80-1.65 (3H, m), 1.55-1.43 (2H, m), 1.38-1.33 (1H, m), 1.28-1.22 (1H, m), 1.06 (9H, s), 0.93-0.88 (1H, m), 0.93 (3H, d, *J* = 6.8 Hz), 0.83 (3H, d, *J* = 6.7 Hz). ^{13}C-NMR (150 MHz, $CDCl_3$) δ: 135.6 (4C), 134.0 (2C), 129.5 (2C), 127.6 (4C), 68.8, 48.0, 40.9, 33.6, 33.0, 32.9, 30.55, 30.47, 29.9, 26.9 (3C), 26.1, 20.1, 19.3, 17.8. IR (KBr): 2930, 1470, 1427, 1111 cm^{-1}. MS (ESI-TOF) *m/z*: 509 $[M+Na]^+$. HRMS (ESI-TOF) *m/z*: 509.2344 calcd for $C_{28}H_{42}OSiS_2Na$; Found: 509.2332.

***tert*-Butyl (3-hydroxypropyl)(methyl)carbamate (15)** の合成

Boc_2O (5.07 g, 23 mmol, 1.1 equiv.) の CH_2Cl_2 (30 mL) 溶液に **14** (1.88 g, 21 mmol) を加え、室温で 3.5 時間撹拌した。その後、飽和 $NaHCO_3$ 水溶液を加え、EtOAc で抽出し、有機層を飽和 $NaHCO_3$ 水溶液、食塩水で洗浄後、Na_2SO_4 で乾燥させた。溶媒を減圧留去して得られた粗生成物を、シリカゲルカラムクロマトグラフィー(Hex : AcOEt = 2 : 1) で精製し、無色の粘性液体として **15** (3.50 g, 88%) を得た。

スペクトルデータは既存のものと一致した[55]。

***tert*-Butyl (3-iodopropyl)(methyl)carbamate (12)** の合成

15 (497.6 mg, 2.6 mmol) の CH_2Cl_2 (20 mL) 溶液に PPh_3 (1.04 g, 3.9 mmol, 1.5 equiv.)、imidazole (358 mg, 5.3 mmol, 2 equiv.)、 I_2 (735 mg, 2.9 mmol, 1.1 equiv.)を加え、室温で 1 時間撹拌した。その後、n-hexane で希釈、綿でろ過し、ろ液の溶媒を減圧留去して得られた粗生成物に対して、シリカゲルカラムクロマトグラフィー(Hex : AcOEt = 2 : 1) で精製し、無色

の粘性液体として **12** (557 mg, 52%) を得た。

スペクトルデータは既存のものと一致した[39]。

***tert*-Butyl 3-(2-((3*R*,5*R*)-6-hydroxy-3,5-dimethylhexyl)-1,3-dithian-2-yl)propyl)(methyl)-carbamate (13)** の合成

11 (1.40 g, 2.9 mmol) の THF (15 mL) 溶液に n-BuLi (n-hexane 1.59 M solution, 3.62 mL, 5.8 mmol, 2 equiv.) を加え、室温で 20 分間撹拌した。その後、**12** (1.20 g, 4.0 mmol, 1.4 equiv.) の THF (5 mL) 溶液を加え、さらに室温で 0.5 時間撹拌した。その後、H_2O を加え、EtOAc で抽出し、有機層を飽和食塩水で洗浄後、Na_2SO_4 で乾燥させた。溶媒を減圧留去して得られた粗生成物に対し、THF (10 mL)、TBAF (THF 1 M solution, 5.7 mL)を加え、開放系、室温で 7 時間撹拌した。その後、飽和 NH_4Cl 水溶液を加え、EtOAc で抽出し、有機層を飽和 NH_4Cl 水溶液、食塩水で洗浄後、Na_2SO_4 で乾燥させた。溶媒を減圧留去して得られた粗生成物を、シリカゲルカラムクロマトグラフィー(Hex : AcOEt = 3 : 1) で精製し、無色の粘性液体として **13** (831 mg, 69%, 2 steps) を得た。

$[\alpha]_D^{27}$ –0.1 (*c* 2.06, $CHCl_3$). Mixture of rotamers. ^{1}H-NMR (600 MHz, $CDCl_3$) δ: 9.56 (1H, d, *J* = 2.0 Hz), 3.20 (2H, br), 2.83 (3H, br s), 2.77 (4H, br), 2.41 (1H, q-like, *J* = 6.4 Hz), 1.95-1.70 (6H, m), 1.64-1.59 (2H, m), 1.47-1.42 (1H, m), 1.43 (9H, s), 1.25-1.20 (1H, m), 1.13 (1H, quint, *J* = 7.0 Hz), 1.07 (3H, d, *J* = 7.1 Hz), 0.90 (3H, d, *J* = 6.4 Hz). ^{13}C-NMR (150 MHz, $CDCl_3$) δ: 205.1, 155.7, 79.2, 52.8, 48.6, 47.8, 43.9, 37.9, 35.4, 34.9, 34.6, 34.0, 30.6, 30.5, 28.4 (3C), 25.8, 25.3, 22.7, 22.3, 19.7, 14.0. IR (KBr): 2932, 1723, 1693, 1393, 1149 cm^{-1}. MS (ESI-TOF) *m/z*: 440 $[M+Na]^+$. HRMS (ESI-TOF) *m/z*: 440.2269 calcd for $C_{21}H_{39}NO_3S_2Na$; Found: 440.2277.

Ethyl (4*R*,6*R*,*E*)-8-(2-(3-((*tert*-butoxycarbonyl)(methyl)amino)propyl)-1,3-dithian-2-yl)-2,4,6-trimethyloct-2-enoate (17) の合成

13 (37.2 mg, 0.089 mmol) の CH_2Cl_2 (1 mL) 溶液に NMO (15.6 mg, 0.13 mmol, 1.5 equiv.)、MS4A (82.0 mg) を加え、室温で 20 分間撹拌し、さらに、TPAP (1.6 mg, 0.0046 mmol, 0.05 equiv.) を加え 1 時間撹拌した。その後、飽和 $Na_2S_2O_3$ / $NaHCO_3$ 水溶液を加え、EtOAc で抽出し、有機層を飽和 $Na_2S_2O_3$ / $NaHCO_3$ 水溶液、食塩水で洗浄後、Na_2SO_4 で乾燥させた。溶媒を減圧留去して得られた粗生成物に対して、toluene (1 mL)、**16** (48.1 mg, 0.13 mmol, 1.5 equiv.) を加え、100 ℃で 24 時間撹拌した。その後、飽和 NH_4Cl 水溶液を加え、EtOAc で抽出し、有機層を飽和 NH_4Cl 水溶液、食塩水で洗浄後、Na_2SO_4 で乾燥させた。溶媒を減圧留去して得られた粗生成物を、シリカゲルカラムクロマトグラフィー(Hex : AcOEt = 5 : 1) で精製し、無色の粘性液体として **17** (37.4 mg, 84%, 2 steps) を得た。

$[\alpha]_D^{27}$ –8.0 (*c* 2.45, $CHCl_3$). ^{1}H-NMR (600 MHz, $CDCl_3$) δ: 6.45 (1H, d, *J* = 10.3 Hz), 4.18-4.13 (2H, m), 3.20 (2H, br), 2.82 (3H, br s), 2.80-2.70 (4H, br), 2.62-2.55 (1H, m), 1.91 (2H, br s), 1.85-1.75 (3H, m), 1.81 (3H, s), 1.65-1.58 (2H, m), 1.43 (9H, s), 1.40-1.32 (2H, m), 1.31-1.12 (5H, m), 1.27 (3H, t, *J* = 7.0 Hz), 0.95 (3H, d, *J* = 6.4 Hz), 0.83 (3H, d, *J* = 6.4 Hz). ^{13}C-NMR (150 MHz, $CDCl_3$) δ: 168.3, 155.7, 147.7, 126.3, 79.2, 60.3, 52.9, 48.7, 47.9, 44.2, 35.6, 34.8, 34.0, 31.5, 30.9, 30.7, 28.4 (3C), 25.9, 25.4, 22.6, 20.6, 19.4, 14.2, 12.4. IR (KBr): 2930, 1698, 1392, 1263, 1150 cm^{-1}. MS (ESI-TOF) *m/z*: 524 $[M+Na]^+$. HRMS (ESI-TOF) *m/z*: 524.2844 calcd for $C_{26}H_{47}NO_4S_2Na$; Found: 524.2842.

(4*R*,6*R*,*E*)-8-(2-(3-((*tert*-Butoxycarbonyl)(methyl)amino)propyl)-1,3-dithian-2-yl)-2,4,6-trimethyloct-2-enoic acid (**19**) の合成

17 (35.1 mg, 0.070 mmol) に対し、H_2O / MeOH / THF (1 / 1 / 1, 2 mL)、LiOH (16.8 mg, 0.70 mmol, 10 equiv.) を加え、開放系、室温で 11 時間撹拌した。その後、HCl 水溶液 (5%) を加え、EtOAc で抽出し、有機層を食塩水で洗浄後、Na_2SO_4 で乾燥させた。溶媒を減圧留去して得られた粗生成物を、シリカゲルカラムクロマトグラフィー(Hex : AcOEt = 1 : 1) で精

製し、無色の粘性液体として **19** (30.1 mg, 91%) を得た。

^{1}H-NMR (600 MHz, $CDCl_3$) δ: 6.57 (1H, d, *J* = 8.9 Hz), 3.17 (2H, br), 2.80-2.72 (7H, br), 2.62-2.54 (1H, m), 1.90-1.83 (2H, br), 1.80-1.70 (4H, m), 1.79 (3H, s), 1.60-1.55 (2H, m), 1.39 (9H, s), 1.38-1.10 (5H, m), 0.93 (3H, d, *J* = 6.8 Hz), 0.80 (3H, d, *J* = 7.6 Hz). IR (KBr): 3100 (br), 2930, 1690, 1395, 1276, 1152 cm^{-1}. MS (ESI-TOF) *m/z*: 496 $[M+Na]^+$. HRMS (ESI-TOF) *m/z*: 496.2531 calcd for $C_{24}H_{43}NO_4S_2Na$; Found: 496.2531.

***tert*-Butyl methyl(3-(2-((3*R*,5*R*,*E*)-3,5,7-trimethyl-8-(methyl(thiazol-2-ylmethyl)amino)-8-oxooct-6-en-1-yl)-1,3-dithian-2-yl)propyl)carbamate (21)** の合成

19 (22.4 mg, 0.047 mmol) の CH_2Cl_2 (2 mL) 溶液に **20** (9.1 mg, 0.071 mmol, 1.5 equiv.)、HOBt (9.0 mg, 0.066 mmol, 1.4 equiv.)、Et_3N (37 μL, 0.27 mmol, 4 equiv.)、EDCI・HCl (12.7 mg, 0.066 mmol, 1.4 equiv.)を加え、室温で 16 時間撹拌した。その後、飽和 $NaHCO_3$ 水溶液を加え、EtOAc で抽出し、有機層を飽和 $NaHCO_3$ 水溶液、食塩水で洗浄後、Na_2SO_4 で乾燥させた。溶媒を減圧留去して得られた粗生成物を、シリカゲルカラムクロマトグラフィー(Hex : AcOEt = 1 : 1) で精製し、無色の粘性液体として **21** (24.0 mg, quant.) を得た。

$[\alpha]_D^{27}$ –6.2 (*c* 1.57, $CHCl_3$). Mixture of rotamers. ^{1}H-NMR (600 MHz, $CDCl_3$) δ: 7.71 (1H, br s), 7.32 (1H, d, *J* = 2.4 Hz), 5.35 (1H, br), 4.86 (2H, s), 3.20 (2H, br), 3.02 (3H, br s), 2.85-2.70 (7H, br), 2.56 (1H, br), 1.95-1.65 (6H, m), 1.87 (3H, s), 1.63-1.58 (2H, m), 1.43 (9H, s), 1.38-1.10 (5H, m), 0.94 (3H, br), 0.86 (3H, br). ^{13}C-NMR (150 MHz, $CDCl_3$) δ: 173.7, 166.8, 155.8, 142.3, 138.2, 129.3, 120.1, 79.3, 60.2, 53.0, 52.9, 48.7, 47.9, 44.4, 37.0, 35.6, 34.9, 34.6, 34.0, 31.5, 30.9, 29.9, 28.5 (3C), 25.9 (2C?), 25.4, 22.8, 22.5, 20.9, 19.5, 14.3. IR (KBr): 2927, 1692, 1631, 1393, 1149 cm^{-1}. MS (ESI-TOF) *m/z*: 606 $[M+Na]^+$. HRMS (ESI-TOF) *m/z*: 606.2834 calcd for $C_{29}H_{49}N_3O_3S_3Na$; Found: 606.2855.

***tert*-Butyl methyl((7*R*,9*R*,*E*)-7,9,11-trimethyl-12-(methyl(thiazol-2-ylmethyl)amino)-4,12-dioxododec-10-en-1-yl)carbamate (22)** の合成

21 (24.0 mg, 0.041 mmol) に対して CH_3CN (2 mL)、飽和 $NaHCO_3$ 水溶液 (1 mL)、I_2 (41.9 mg, 0.17 mmol, 4 equiv.) を加え、開放系、氷冷下で 40 分間撹拌した。その後、飽和 $Na_2S_2O_3$ / $NaHCO_3$ 水溶液を加え、EtOAc で抽出し、有機層を飽和 $Na_2S_2O_3$ / $NaHCO_3$ 水溶液、食塩水で洗浄後、Na_2SO_4 で乾燥させた。溶媒を減圧留去して得られた粗生成物を、シリカゲルカラムクロマトグラフィー(Hex : AcOEt = 1 : 2) で精製し、無色の粘性液体として **22** (19.5 mg, 96%) を得た。

$[\alpha]_D^{26}$ –12.2 (*c* 1.72, $CHCl_3$). Mixture of rotamers. ^{1}H-NMR (600 MHz, $CDCl_3$) δ: 7.49 (1H, br s), 7.15 (1H, br s), 5.14 (1H, br), 4.65 (2H, s), 2.98 (2H, t-like), 2.81 (3H, br s), 2.59 (3H, br s), 2.35 (1H, br), 2.20-2.10 (2H, m), 2.16 (2H, t, *J* = 7.0 Hz), 1.65 (3H, s), 1.53 (2H, quint, *J* = 7.0 Hz), 1.35-1.25 (1H, br), 1.22 (9H, s), 1.15-0.95 (3H, m), 0.90 (1H, br), 0.74 (3H, br), 0.62 (3H, br). ^{13}C-NMR (150 MHz, $CDCl_3$) δ: 209.7, 209.4, 172.9, 166.2, 155.2, 155.1, 141.6, 137.3, 128.8, 119.6, 78.6, 78.5, 52.2, 47.8, 47.5, 46.9, 43.9, 39.8, 38.8, 37.7, 36.5, 33.4, 32.7, 30.6, 29.9, 29.3, 27.9, 21.3, 20.9, 20.3, 18.7, 13.8. IR (KBr): 2927, 1693, 1632, 1393, 1169 cm^{-1}. MS (ESI-TOF) *m/z*: 516 $[M+Na]^+$. HRMS (ESI-TOF) *m/z*: 516.2872 calcd for $C_{26}H_{43}N_3O_4SNa$; Found: 516.2856.

***tert*-Butyl ((4*EZ*, 7*R*,9*R*,10*E*)-4-(chloromethylene)-7,9,11-trimethyl-12-(methyl(thiazol-2-ylmethyl)amino)-12-oxododec-10-en-1-yl)(methyl)carbamate (23)** の合成

$PPh_3PCH_2Cl_2$ (195 mg, 0.56 mmol, 4 equiv.) の THF (4 mL) 溶液に LiHMDS (THF 1 M solution, 535 µL, 0.53 mmol, 3.8 equiv.) を加え、室温で 15 分間撹拌した。その後、**22** (69.5 mg, 0.14 mmol) の THF (1 mL) 溶液を加え、さらに 2 回 THF (1 mL) で洗いこんだ後、室温で 0.5 時間撹拌した。その後、飽和 NH_4Cl 水溶液を加え、EtOAc で抽出し、有機層を飽和 NH_4Cl 水溶液、食塩水で洗浄後、Na_2SO_4 で乾燥させた。溶媒を減圧留去して得られた粗生成物を、

シリカゲルカラムクロマトグラフィー(Hex : AcOEt = 1 : 1) で精製し、無色の粘性液体として **23** (72.3 mg, 98%)を得た。

E/*Z* mixture (*E*/*Z* = 3:2). ^{1}H-NMR (600 MHz, $CDCl_3$) δ: 7.60 (1H, br s), 7.23 (1H, br s), 5.64 (1H, br s), 5.26 (1H, br), 4.76 (2H, s), 3.06 (2H, br), 2.92 (3H, br s), 2.71 (3H, br), 2.50-2.40 (1H, m), 2.05-1.95 (2H, m), 1.89 (2H, t, *J* = 7.4 Hz), 1.77 (3H, s), 1.50-1.42 (2H, m), 1.33 (9H, s), 1.25-0.95 (5H, m), 0.85 (3H, br), 0.78 (0.6x3H, br), 0.74 (0.4x3H, br). ^{13}C-NMR (150 MHz, $CDCl_3$) δ: 173.3, 166.5, 155.38, 155.37, 141.8, 137.7, 129.1, 129.0, 119.8, 111.8, 78.9, 78.8, 52.4, 48.5, 48.1, 47.9, 47.7, 44.1, 44.0, 36.7, 35.2, 34.3, 33.9, 31.9, 31.5, 30.5, 30.2, 29.64, 29.58, 28.2, 27.3, 27.1, 25.5, 25.3, 25.2, 24.7, 20.65, 20.61, 19.1, 19.0, 14.0. IR (KBr): 2926, 1694, 1633, 1393, 1168 cm^{-1}. MS (ESI-TOF) *m/z*: 548/550 (3:1) $[M+Na]^+$. HRMS (ESI-TOF) *m/z*: 548.2690 calcd for $C_{27}H_{44}N_3O_3S^{35}ClNa$; Found: 548.2701.

(4*R*,6*R*)-Biakamide C, D の合成

23 (61.5 mg, 0.12 mmol) の CH_2Cl_2 (1 mL) 溶液に TFA (130 µL, 1.6 mmol, 15 equiv.) を加え、開放系、室温で 1 時間撹拌した。その後、飽和 $NaHCO_3$ 水溶液を加え、EtOAc で抽出し、有機層を飽和 $NaHCO_3$ 水溶液、食塩水で洗浄後、Na_2SO_4 で乾燥させた。溶媒を減圧留去して得られた粗生成物の CH_2Cl_2 (1.2 mL) 溶液に **25** (21.0 mg, 0.18 mmol, 1.5 equiv.)、HOBt (22.1 mg, 0.16 mmol, 1.4 equiv.)、Et_3N (98 µL, 0.70 mmol, 6 equiv.)、EDCI・HCl (31.3 mg, 0.16 mmol, 1.4 equiv.) を加え、室温で 2.5 時間撹拌した。その後、飽和 $NaHCO_3$ 水溶液を加え、EtOAc で抽出し、有機層を飽和 $NaHCO_3$ 水溶液、食塩水で洗浄後、Na_2SO_4 で乾燥させた。溶媒を減圧留去して得られた粗生成物を、シリカゲルカラムクロマトグラフィー(AcOEt : MeOH = 50 : 1) で精製し、白色固体として(4*R*,6*R*)-biakamide C, D (46.8 mg, 76%) を得た。

(4*R*,6*R*)-Biakamide C : $[\alpha]_D^{27}$ –11.9 (*c* 1.32, $CHCl_3$). Mixture of rotamers. ^{1}H-NMR (600 MHz, $CDCl_3$) δ: 7.71 (1H, d, *J* = 1.9 Hz), 7.32 (1H, d, *J* = 1.9 Hz), 5.75 (1H, s), 5.36 (1H, br), 5.14

(0.6x1H, s), 5.13 (0.4x1H, s), 4.86 (2H, s), 3.60 (0.6x3H, s), 3.58 (0.4x3H, s), 3.40-3.30 (0.6x2H, br), 3.32-3.15 (0.4x2H, br), 3.02 (3H, s), 2.99 (0.6x3H, br s), 2.92 (0.4x3H, s), 2.56 (1H, br), 2.18 (3H, s), 2.12 (2H, br), 2.02 (2H, t, *J* = 7.5 Hz), 1.87 (3H, s), 1.67-1.60 (2H, m), 1.40-1.05 (6H, m), 0.95 (3H, d, *J* = 5.5 Hz), 0.86 (3H, d, *J* = 5.2 Hz). ^{13}C-NMR (150 MHz, $CDCl_3$) δ: 173.6, 168.6, 168.5, 168.1, 168.0, 166.8, 142.3, 142.2, 141.6, 138.1, 129.3, 129.2, 120.0, 112.6, 112.1, 91.2, 90.9, 54.8, 52.6, 49.6, 48.4, 47.2, 44.2, 36.9, 36.0, 34.6, 33.4, 32.1, 31.6, 30.8, 29.7, 29.6, 27.6, 27.5, 26.0, 25.5, 20.9, 19.4, 18.7, 14.1. IR (KBr): 2924, 1638, 1450, 1380, 1239 cm^{-1}. MS (ESI-TOF) *m/z*: 546/548 (3:1) $[M+Na]^+$. HRMS (ESI-TOF) *m/z*: 546.2533 calcd for $C_{27}H_{42}N_3O_3S^{35}ClNa$; Found: 546.2511.

(4*R*,6*R*)-Biakamide D : $[\alpha]_D^{26}$ –6.8 (*c* 0.69, $CHCl_3$). Mixture of rotamers. ^{1}H-NMR (600 MHz, $CDCl_3$) δ: 7.71 (1H, br s), 7.32 (1H, br s), 5.79 (0.5x1H, br s), 5.74 (0.5x1H, br s), 5.33 (1H, b), 5.16 (1H, s), 4.86 (2H, s), 3.60 (0.5x3H, s), 3.59 (0.5x3H, s), 3.41 (0.5x2H, t-like), 3.31 (0.5x2H, t-like), 3.01 (3H+0.5x3H, br s), 2.95 (0.5x3H, br s), 2.55 (1H, br), 2.19 (3H, s), 2.20-2.10 (2H, m), 2.08-1.90 (2H, m), 1.86 (3H, s), 1.69-1.60 (2H, m), 1.38-1.05 (6H, m), 0.95 (3H, d, *J* = 5.3 Hz), 0.83 (3H, br). ^{13}C-NMR (150 MHz, $CDCl_3$) δ: 173.6, 168.4, 168.2, 168.1, 167.8, 166.8, 142.4, 142.2, 141.8, 137.9, 129.5, 129.4, 120.1, 112.8, 112.2, 91.3, 91.0, 54.9, 54.8, 53.0, 50.3, 48.4, 47.3, 44.5, 37.0, 35.9, 35.7, 33.5, 32.33, 32.27, 30.5, 29.9, 29.7, 27.6, 27.5, 26.0, 24.9, 21.0, 19.3, 18.7, 14.3. IR (KBr): 2925, 1644, 1380, 1072 cm^{-1}. MS (ESI-TOF) *m/z*: 546/548 (3:1) $[M+Na]^+$. HRMS (ESI-TOF) *m/z*: 546.2533 calcd for $C_{27}H_{42}N_3O_3S^{35}ClNa$; Found: 546.2543.

(4*R*,6*R*)-Biakamide A and B の合成

23 (57.8 mg, 0.11 mmol) の CH_2Cl_2 (1 mL) 溶液に TFA (120 µL, 1.6 mmol, 15 equiv.) を加え、開放系、室温で 1 時間撹拌した。その後、飽和 $NaHCO_3$ 水溶液を加え、EtOAc で抽出し、有機層を飽和 $NaHCO_3$ 水溶液、食塩水で洗浄後、Na_2SO_4 で乾燥させた。溶媒を減圧留去して得られた粗生成物の CH_2Cl_2 (1.2 mL) 溶液に **25** (19.5 mg, 0.18 mmol, 1.5 equiv.)、HOBt (22.1

mg, 0.16 mmol, 1.4 equiv.)、Et_3N (95 μL, 0.68 mmol, 6 equiv.)、EDCI・HCl (31.3 mg, 0.16 mmol, 1.4 equiv.)を加え、室温で 2.5 時間撹拌した。その後、飽和 $NaHCO_3$ 水溶液を加え、EtOAc で抽出し、有機層を飽和 $NaHCO_3$ 水溶液、食塩水で洗浄後、Na_2SO_4 で乾燥させた。溶媒を減圧留去して得られた粗生成物を、シリカゲルカラムクロマトグラフィー (AcOEt : MeOH = 20 : 1) で精製し、白色固体として(4*R*,6*R*)-biakamide A and B (49.0 mg, 85%) を得た。

(4*R*,6*R*)-Biakamide A : $[\alpha]_D^{26}$ +5.7 (*c* 2.50, $CHCl_3$). Mixture of rotamers. ^{1}H-NMR (600 MHz, $CDCl_3$) δ: 7.69 (1H, br s), 7.31 (1H, br s), 5.75 (0.4x1H, s), 5.73 (0.6x1H, s), 5.34 (1H, br), 4.85 (2H, s), 4.39 (1H, br), 4.20-4.13 (1H, m), 3.35-3.27 (0.6x2H, m), 3.25-3.15 (0.4x2H, m), 3.00 (3H, br s), 2.92 (0.6x3H, s), 2.89 (0.4x3H, s), 2.55 (1H, br), 2.43 (1H, dd, *J* = 16.5, 2.2 Hz), 2.26 (1H, ddd, *J* = 16.5, 9.6, 2.2 Hz), 2.11 (2H, br), 2.04-1.97 (2H, m), 1.85 (3H, s), 1.65-1.53 (2H, m), 1.40-1.05 (5H, m), 1.19 (3H, d, *J* = 6.2 Hz), 0.94 (3H, br), 0.86 (3H, br). ^{13}C-NMR (150 MHz, $CDCl_3$) δ: 173.5, 172.5, 172.3, 166.8, 142.1, 141.9, 141.3, 138.1, 129.3, 129.2, 120.0, 112.8, 112.3, 64.2, 64.0, 52.6, 48.9, 48.3, 47.1, 44.2, 41.1, 40.5, 37.0, 35.1, 34.61, 34.57, 33.0, 31.9, 31.6, 30.8, 29.91, 29.88, 27.5, 27.4, 26.0, 25.1, 22.2, 22.1, 20.9, 20.8, 19.3, 14.2. IR (KBr): 3434, 2925, 1627, 1454, 1396 cm^{-1}. MS (ESI-TOF) *m/z*: 534/536 (3:1) $[M+Na]^+$. HRMS (ESI-TOF) *m/z*: 534.2533 calcd for $C_{26}H_{42}N_3O_3S^{35}ClNa$; Found: 534.2541.

(4*R*,6*R*)-Biakamide B : $[\alpha]_D^{26}$ +11.1 (*c* 0.81, $CHCl_3$). Mixture of rotamers. ^{1}H-NMR (600 MHz, $CDCl_3$) δ: 7.71 (1H, br s), 7.32 (1H, br s), 5.81 (0.4x1H, s), 5.76 (0.6x1H, s), 5.33 (1H, br), 4.86 (2H, s), 4.45 (1H, br), 4.20-4.14 (1H, m), 3.37 (0.6x2H, t, *J* = 7.4 Hz), 3.29-3.20 (0.4x2H, m), 3.02 (3H, br s), 2.96 (0.6x3H, s), 2.92 (0.4x3H, s), 2.55 (1H, br), 2.46 (1H, dd, *J* = 16.1, 7.6 Hz), 2.28 (1H, dt?, *J* = 16.1, 2.2 Hz), 2.20-2.10 (2H, m), 2.09-1.90 (2H, br), 1.86 (3H, s), 1.69-1.58 (2H, m), 1.35-1.05 (5H, m), 1.21 (3H, d, *J* = 6.2 Hz), 0.95 (3H, br), 0.84 (3H, br). ^{13}C-NMR (150 MHz, $CDCl_3$) δ: 173.5, 172.5, 172.4, 166.7, 142.1, 142.0, 141.3, 137.9, 129.4, 129.3, 120.1, 113.0, 112.4, 64.2, 64.1, 52.7, 49.2, 48.3, 47.1, 44.44, 44.38, 41.1, 40.4, 37.0, 35.6, 35.5, 35.0, 33.0, 32.2, 32.1, 30.5, 29.9,

29.8, 27.4, 27.3, 26.0, 24.6, 22.2, 22.1, 20.94, 20.89, 19.22, 19.21, 14.2. IR (KBr): 3435, 2925, 1628, 1395, 1258 cm^{-1}. MS (ESI-TOF) *m/z*: 534/536 (3:1) $[M+Na]^+$. HRMS (ESI-TOF) *m/z*: 534.2533 calcd for $C_{26}H_{42}N_3O_3S^{35}ClNa$; Found: 534.2529.

同様の合成ルートにて biakamide 類の 4 位および 6 位の立体異性体についても合成した。(4*R*,6*S*) 体は (2*R*,4*R*)-2,4-dimethylpentane-1,5-diol を、(4*S*,6*R*) 体は (2*S*,4*S*)-2,4-dimethylpentane-1,5-diyl diacetate を、(4*S*,6*S*) 体は (2*R*,4*S*)-5-((*tert*-butyldiphenylsilyl)oxy)-2,4-dimethylpentan-1-ol をそれぞれ出発物質とすることで合成した。天然物である(4*R*,6*S*)-biakamide A (**1**)、(4*R*,6*S*)-biakamide **B** (**2**)、(4*R*,6*S*)-biakamide **C** (**3**)、(4*R*,6*S*)-biakamide **D** (**4**)、上述していない立体異性体である (4*S*,6*S*)-biakamide A、(4*S*,6*R*)-biakamide A のスペクトルデータを以下に示す。

(4*R*,6*S*)-Biakamide A (**1**) : $[\alpha]_D^{28}$ +1.2 (*c* 0.57, $CHCl_3$). Mixture of rotamers. ^{1}H-NMR (600 MHz, $CDCl_3$) δ: 7.72 (1H, br s), 7.32 (1H, br s), 5.79 (0.4x1H, s), 5.78 (0.6x1H, s), 5.41 (1H, br), 4.87 (2H, s), 4.40 (0.4x1H, s), 4.38 (0.6x1H, s), 4.20-4.16 (1H, m), 3.36-3.30 (0.6x2H, t-like), 3.27-3.18 (0.4x2H, m), 3.03 (3H, br s), 2.94 (0.6x3H, s), 2.91 (0.4x3H, s), 2.55 (1H, br), 2.45 (1H, dd, *J* = 16.5, 2.1 Hz), 2.27 (1H, dd, *J* = 16.5, 9.6 Hz), 2.23-2.15 (1H, m), 2.15-2.08 (1H, m), 2.07-2.05 (2H, m), 1.87 (3H, s), 1.80 (1H, br), 1.70-1.59 (2H, m), 1.45-1.35 (2H, br), 1.33-1.08 (3H, m), 1.21 (3H, d, *J* = 6.6 Hz), 0.94 (3H, br), 0.88 (3H, br). ^{13}C-NMR (150 MHz, $CDCl_3$) δ: 173.6, 172.5, 172.4, 166.9, 142.2, 142.0, 141.4, 138.0, 128.87, 128.82, 120.0, 112.9, 112.4, 64.2, 64.1, 52.8, 49.0, 48.3, 47.2, 44.1, 41.1, 40.5, 37.0, 35.2, 33.9, 33.8, 33.0, 32.1, 31.7, 30.5, 29.78, 29.75, 29.6, 27.54, 27.50, 26.0, 25.1, 22.2, 22.1, 20.04, 20.01, 19.3, 14.1. IR (KBr): 3434, 2925, 1631, 1394 cm^{-1}. MS (ESI-TOF) *m/z*: 534/536 (3:1) $[M+Na]^+$. HRMS (ESI-TOF) *m/z*: 534.2533 calcd for $C_{26}H_{42}N_3O_3S^{35}ClNa$; Found: 534.2513.

(4*R*,6*S*)-Biakamide B (**2**) : $[\alpha]_D^{26}$ +4.1 (*c* 0.42, $CHCl_3$). Mixture of rotamers. ^{1}H-NMR (600 MHz, $CDCl_3$) δ: 7.72 (1H, br s), 7.33 (1H, d, *J* = 2.4 Hz), 5.84 (0.4x1H, s), 5.78 (0.6x1H, s), 5.41 (1H, br), 4.87 (2H, s), 4.45 (1H, br), 4.22-4.15 (1H, m), 3.38 (0.6x2H, t-like), 3.30-3.22 (0.4x2H, m), 3.03 (3H, br s), 2.96 (0.6x3H, s), 2.93 (0.4x3H, s), 2.52 (1H, br), 2.46 (1H, ddd, *J* = 16.2, 9.0, 1.8 Hz), 2.29 (1H, ddd, *J* = 16.2, 9.6, 6.6 Hz), 2.23-2.14 (2H, m), 2.13-2.07 (1H, br), 2.02-1.94 (1H, br), 1.86 (3H, s), 1.71-1.60 (2H, m), 1.44-1.35 (1H, br), 1.25-1.08 (3H, m), 1.22 (3H, d, *J* = 6.6 Hz), 0.94 (3H, br), 0.85 (3H, br). ^{13}C-NMR (150 MHz, $CDCl_3$) δ: 173.5, 172.5, 172.4, 166.8, 142.0 (br), 142.0, 141.4, 138.4, 128.84, 128.77, 120.0, 113.1, 112.5, 64.3, 64.1, 52.6, 49.3, 48.4, 47.2, 44.1, 41.1, 40.4, 36.9, 35.1, 34.9, 33.1, 32.5, 32.2, 30.2, 30.1, 29.74, 29.71, 27.4, 27.3, 25.6, 24.6, 22.2, 22.1, 19.92, 19.89, 19.6, 14.2. IR (KBr): 3435, 2962, 1628, 1398, 1261 cm^{-1}. MS (ESI-TOF) *m/z*: 534/536 (3:1) $[M+Na]^+$. HRMS (ESI-TOF) *m/z*: 534.2533 calcd for $C_{26}H_{42}N_3O_3S^{35}ClNa$; Found: 534.2525.

(4*R*,6*S*)-Biakamide **C** (**3**) : $[\alpha]_D^{27}$ –17.3 (*c* 0.48, $CHCl_3$). Mixture of rotamers. ^{1}H-NMR (600 MHz, $CDCl_3$) δ: 7.72 (1H, br s), 7.33 (1H, d, *J* = 3.0 Hz), 5.78 (1H, s), 5.41 (1H, br), 5.15 (1H, s), 4.87 (2H, s), 3.61 (0.6x3H, s), 3.59 (0.4x3H, s), 3.40-3.34 (0.6x2H, br), 3.32-3.25 (0.4x2H, br), 3.03 (3H, br s), 3.00 (0.6x3H, s), 2.94 (0.4x3H, s), 2.59-2.51 (1H, br), 2.19 (3H, s), 2.20-2.08 (2H, m), 2.05 (2H, t, *J* = 7.5 Hz), 1.87 (3H, s), 1.76-1.62 (2H, m), 1.45-1.36 (2H, m), 1.30-1.25 (1H, m), 1.20-1.10 (2H, m), 0.94 (3H, d, *J* = 3.6 Hz), 0.88 (3H, br). ^{13}C-NMR (150 MHz, $CDCl_3$) δ: 173.7, 168.6, 168.2, 168.0, 166.9, 142.3, 142.2, 141.7, 138.4, 128.8, 120.0, 112.7, 112.2, 91.2, 90.9, 54.8, 52.6, 49.7, 48.3, 47.2, 44.1, 37.1, 36.0, 33.9, 33.4, 32.2, 31.6, 30.5, 29.8, 29.7, 27.6, 26.0, 25.5, 20.0, 19.8, 18.7, 14.2. IR (KBr): 2924, 1639, 1453, 1379, 1239 cm^{-1}. MS (ESI-TOF) *m/z*: 546/548 (3:1) $[M+Na]^+$. HRMS (ESI-TOF) *m/z*: 546.2533 calcd for $C_{27}H_{42}N_3O_3S^{35}ClNa$; Found: 546.2512.

(4*R*,6*S*)-Biakamide **D** (**4**) : $[\alpha]_D^{29}$ –11.4 (*c* 0.35, $CHCl_3$). Mixture of rotamers. ^{1}H-NMR (600 MHz,

$CDCl_3$) δ: 7.72 (1H, br s), 7.32 (1H, d, *J* = 3.0 Hz), 5.81 (0.5x1H, br s), 5.77 (0.5x1H, br s), 5.40 (1H, br), 5.17 (1H, s), 4.87 (2H, s), 3.60 (3H, s), 3.42 (0.5x2H, t-like), 3.33 (0.5x2H, t-like), 3.02 (3H+0.5x3H, br s), 2.95 (0.5x 3H, br s), 2.52 (1H, br), 2.19 (3H, s), 2.20-2.16 (2H, m), 2.14-2.06 (1H, m), 2.02-1.96 (1H, m), 1.86 (3H, s), 1.77-1.60 (4H, m), 1.42-1.05 (4H, m), 0.93 (3H, br), 0.85 (3H, br). ^{13}C-NMR (150 MHz, $CDCl_3$) δ: 173.6, 168.4, 168.1, 168.0, 166.8, 142.4, 142.1, 141.8, 138.4, 128.8, 120.0, 112.8, 112.2, 91.3, 91.0, 54.84, 54.78, 52.8, 50.2, 48.4, 47.3, 44.1, 36.9, 35.9, 34.9, 33.5, 32.32, 32.25, 30.1, 29.8, 27.6, 27.5, 26.0, 24.9, 19.9, 19.6, 18.7, 14.2. IR (KBr): 2962, 1645, 1261, 1102 cm^{-1}. MS (ESI-TOF) *m/z*: 546/548 (3:1) $[M+Na]^+$. HRMS (ESI-TOF) *m/z*: 546.2533 calcd for $C_{27}H_{42}N_3O_3S^{35}ClNa$; Found: 546.2513.

(4*S*,6*R*)-Biakamide A : $[\alpha]_D^{28}$ +34.0 (*c* 0.70, $CHCl_3$). Mixture of rotamers. ^{1}H-NMR (600 MHz, $CDCl_3$) δ: 7.71 (1H, br s), 7.32 (1H, d, *J* = 2.4 Hz), 5.79 (0.4x1H, s), 5.77 (0.6x1H, s), 5.40 (1H, br), 4.86 (2H, s), 4.39 (0.4x1H, s), 4.38 (0.6x1H, s), 4.20-4.15 (1H, m), 3.35-3.27 (0.6x2H, m), 3.25-3.17 (0.4x2H, m), 3.02 (3H, br s), 2.94 (0.6x3H, s), 2.91 (0.4x3H, s), 2.55 (1H, br), 2.44 (1H, d, *J* = 16.8 Hz), 2.27 (1H, dd, *J* = 16.8, 9.6 Hz), 2.22-2.08 (2H, m), 2.06-2.00 (2H, m), 1.86 (3H, s), 1.70-1.58 (3H, m), 1.40 (2H, br), 1.34-1.10 (3H, m), 1.21 (3H, d, *J* = 6.0 Hz), 0.94 (3H, br), 0.88 (3H, br). ^{13}C-NMR (150 MHz, $CDCl_3$) δ: 173.6, 172.5, 172.4, 166.9, 142.2, 142.0, 141.4, 138.4, 128.9, 128.8, 120.1, 112.9, 112.4, 64.2, 64.1, 52.6, 49.0, 48.4, 47.2, 44.1, 41.1, 40.5, 37.0, 35.2, 33.86, 33.83, 33.0, 32.1, 31.7, 30.5, 29.78, 29.76, 27.54, 27.49, 26.0, 25.1, 22.2, 22.1, 20.03, 20.00, 19.8, 14.2. IR (KBr): 3409, 2961, 1626, 1454, 1397 cm^{-1}. MS (ESI-TOF) *m/z*: 534/536 (3:1) $[M+Na]^+$. HRMS (ESI-TOF) *m/z*: 534.2533 calcd for $C_{26}H_{42}N_3O_3S^{35}ClNa$; Found: 534.2533.

(4*S*,6*S*)-Biakamide A : $[\alpha]_D^{28}$ +32.5 (*c* 0.80, $CHCl_3$). Mixture of rotamers. ^{1}H-NMR (600 MHz, $CDCl_3$) δ: 7.72 (1H, br s), 7.32 (1H, br s), 5.77 (0.4x1H, s), 5.76 (0.6x1H, s), 5.37 (1H, br), 4.87 (2H,

s), 4.40 (1H, br), 4.20-4.15 (1H, m), 3.35-3.30 (0.6x2H, m), 3.25-3.15 (0.4x2H, m), 3.03 (3H, br s), 2.94 (0.6x3H, s), 2.91 (0.4x3H, s), 2.57 (1H, br), 2.45 (1H, dd, *J* = 16.8, 2.4 Hz), 2.28 (1H, ddd, *J* = 16.8, 9.6, 2.4 Hz), 2.13 (2H, br), 2.06-1.97 (2H, m), 1.88 (3H, s), 1.70-1.58 (2H, m), 1.40-1.08 (5H, m), 1.19 (3H, d, *J* = 6.0 Hz), 0.97 (3H, d, *J* = 4.8 Hz), 0.89 (3H, br). ^{13}C-NMR (150 MHz, $CDCl_3$) δ: 173.6, 172.6, 172.4, 166.9, 142.2, 141.9, 141.4, 138.1, 129.4, 129.3, 120.1, 112.9, 112.4, 64.2, 64.1, 52.6, 49.0, 48.3, 47.2, 44.3, 41.1, 40.5, 37.0, 35.2, 34.7, 34.6, 33.1, 32.0, 31.7, 30.8, 29.99, 29.96, 27.6, 27.5, 26.0, 25.2, 22.3, 22.2, 21.0, 20.9, 19.4, 14.3. IR (KBr): 3435, 2925, 1627, 1454, 1396 cm^{-1}. MS (ESI-TOF) *m/z*: 534/536 (3:1) $[M+Na]^+$. HRMS (ESI-TOF) *m/z*: 534.2533 calcd for $C_{26}H_{42}N_3O_3S^{35}ClNa$; Found: 534.2548.

第二章の実験

7-((*tert*-Butyldiphenylsilyl)oxy)heptan-1-ol (31) の合成

30 (1.24 g, 9.4 mmol) の Hexane / CH_3CN (3 / 1, 28 mL) 溶液に Et_3N (1.6 mL, 11 mmol, 1.2 equiv.)、TBDPSCl (2.5 mL, 11 mmol, 1.2 equiv.)、DMAP (230 mg, 1.9 mmol, 0.2 equiv.) を加え、室温で 8 時間撹拌した。その後、飽和 NH_4Cl 水溶液を加え、EtOAc で抽出し、有機層を飽和 NH_4Cl 水溶液、食塩水で洗浄後、Na_2SO_4 で乾燥させた。溶媒を減圧留去して得られた粗生成物を、シリカゲルカラムクロマトグラフィー(Hex : AcOEt = 5 : 1 → 1 : 1) で精製し、無色の粘性液体として **31** (1.92 g, 60%) を得た。

スペクトルデータは既存のものと一致した [56]。

7-((*tert*-Butyldiphenylsilyl)oxy)heptanal (32) の合成

31 (1.75 g, 4.7 mmol) の CH_2Cl_2 (30 mL) 溶液に $PhI(OAc)_2$ (1.75 g, 5.4 mmol, 1.15 equiv.)、

TEMPO (73.8 mg, 0.47 mmol, 0.1 equiv.)を加え、開放系、室温で 3.5 時間撹拌した。その後、飽和 $Na_2S_2O_3$ / $NaHCO_3$ 水溶液を加え、EtOAc で抽出し、有機層を飽和 $Na_2S_2O_3$ / $NaHCO_3$ 水溶液、食塩水で洗浄後、Na_2SO_4 で乾燥させた。溶媒を減圧留去して得られた粗生成物を、シリカゲルカラムクロマトグラフィー(Hex : AcOEt = 6 : 1) で精製し、無色の粘性液体として **32** (1.59 g, 91%) を得た。

スペクトルデータは既存のものと一致した [57]。

((6-(1,3-Dithian-2-yl)hexyl)oxy)(*tert*-butyl)diphenylsilane (33) の合成

32 (226 mg, 0.67 mmol) の CH_3Cl (10 mL) 溶液に 1,3-propanedithiol (89 µL, 0.87 mmol, 1.3 equiv.)、I_2 (17.0 mg, 0.067 mmol, 0.1 equiv.)を加え、室温で 0.5 時間撹拌した。その後、飽和 $Na_2S_2O_3$ / $NaHCO_3$ 水溶液を加え、EtOAc で抽出し、有機層を飽和 $Na_2S_2O_3$ / $NaHCO_3$ 水溶液、食塩水で洗浄後、Na_2SO_4 で乾燥させた。溶媒を減圧留去して得られた粗生成物を、シリカゲルカラムクロマトグラフィー(Hex : AcOEt = 50 : 1) で精製し、無色の粘性液体として **33** (311 mg, quant.) を得た。

^{1}H-NMR (600 MHz, $CDCl_3$) δ: 7.67 (4H, d, *J* = 6.7 Hz), 7.40 (6H, m), 4.04 (1H, t, *J* = 6.9 Hz), 3.65 (2H, t, *J* = 6.5 Hz), 2.93 – 2.77 (4H, m), 2.20 – 2.05 (1H, m), 1.86 (1H, ddd, *J* = 14.3, 11.6, 8.3 Hz), 1.73 (2H, dd, *J* = 15.5, 7.1 Hz), 1.66 – 1.43 (4H, m), 1.43 – 1.13 (4H, m), 1.05 (9H, s). ^{13}C-NMR (150 MHz, $CDCl_3$) δ: 135.7 (4C), 134.2 (2C), 129.6 (2C), 127.7 (4C), 64.0, 47.8, 35.6, 32.6, 30.7, 30.6, 29.1, 27.0, 26.8, 26.2, 25.7, 19.4. IR (KBr): 3070, 2931, 1427, 1109 cm^{-1}. MS (ESI-TOF) *m/z*: 481 $[M+Na]^+$. HRMS (ESI-TOF) *m/z*: 481.2031 calcd for $C_{26}H_{38}OSiS_2Na$; Found: 481.2020.

***tert*-Butyl (3-(2-(6-hydroxyhexyl)-1,3-dithian-2-yl)propyl)(methyl)carbamate (34)** の合成

33 (745 mg, 1.5 mmol) の THF (20 mL) 溶液に n-BuLi (n-hexane 1.59 M solution, 1.45 mL, 2.3 mmol, 1.55 equiv.) を加え、室温で 20 分間撹拌した。その後、**12** (710 mg, 2.4 mmol, 1.5 equiv.)

の THF (5 mL) 溶液を加え、さらに室温で 0.5 時間撹拌した。その後、H_2O を加え、EtOAc で抽出し、有機層を飽和食塩水で洗浄後、Na_2SO_4 で乾燥させた。溶媒を減圧留去して得られた粗生成物に対し、THF (10 mL)、TBAF (THF 1 M solution, 2.6 mL)を加え、開放系、室温で 7 時間撹拌した。その後、飽和 NH_4Cl 水溶液を加え、EtOAc で抽出し、有機層を飽和 NH_4Cl 水溶液、食塩水で洗浄後、Na_2SO_4 で乾燥させた。溶媒を減圧留去して得られた粗生成物を、シリカゲルカラムクロマトグラフィー(Hex : AcOEt = 3 : 1) で精製し、無色の粘性液体として **34** (533 mg, 69%, 2 steps) を得た。

^{1}H-NMR (600 MHz, $CDCl_3$) δ: 3.44 (2H, dd, *J* = 11.5, 4.9 Hz), 3.07 (2H, br s), 2.95 – 2.80 (1H, br), 2.69 (3H, br s), 2.63 (4H, br s), 1.78 (2H, br s), 1.68 (4H, br s), 1.48 (2H, br s), 1.40 (2H, br s), 1.36 – 1.02 (15H, m). ^{13}C-NMR (150 MHz, $CDCl_3$) δ: 155.6, 79.1, 62.1, 52.7, 48.6, 47.8, 38.0, 34.7, 34.5, 33.9, 32.4, 29.3, 28.2, 25.7, 25.4, 25.2, 23.7, 23.6, 22.6, 22.2. IR (KBr): 3442 (br), 2935, 1679, 1397, 1153, 756 cm^{-1}. MS (ESI-TOF) *m/z*: 414 $[M+Na]^+$. HRMS (ESI-TOF) *m/z*: 414.2113 calcd for $C_{19}H_{37}NO_3S_2Na$; Found: 414.2113.

***tert*-Butyl methyl(3-(2-(6-oxohexyl)-1,3-dithian-2-yl)propyl)carbamate (35)** の合成

34 (112.7 mg, 0.27 mmol) の CH_2Cl_2 (4 mL) 溶液に NMO (47.2 mg, 0.40 mmol, 1.5 equiv.)、MS4A (100 mg) を加え、室温で 20 分間撹拌し、さらに、TPAP (4.7 mg, 0.013 mmol, 0.05 equiv.) を加え 40 分間撹拌した。その後、飽和 $Na_2S_2O_3$ / $NaHCO_3$ 水溶液を加え、EtOAc で抽出し、有機層を飽和 $Na_2S_2O_3$ / $NaHCO_3$ 水溶液、食塩水で洗浄後、Na_2SO_4 で乾燥させた。溶媒を減圧留去して得られた粗生成物を、シリカゲルカラムクロマトグラフィー(Hex : AcOEt = 5 : 1) で精製し、無色の粘性液体として **35** (78.4 mg, 70%) を得た。

^{1}H-NMR (600 MHz, $CDCl_3$) δ: 9.69 (1H, s), 3.15 (2H, br s), 2.74 (7H, m), 2.37 (2H, t, *J* = 7.2 Hz), 1.86 (2H, br), 1.76 (4H, br s), 1.57 (4H, m), 1.38 (11H, m), 1.28 (2H, m). ^{13}C-NMR (150 MHz, $CDCl_3$) δ: 167.2, 155.0, 141.3, 127.2, 78.4, 60.3, 59.7, 52.3, 48.2, 47.4, 37.8, 34.5, 33.5, 28.9, 28.0,

27.9, 25.37, 24.9, 23.2, 22.3, 20.1, 15.1, 13.8, 13.5, 11.9. IR (KBr): 2934, 1692, 1393, 1148 cm^{-1}. MS (ESI-TOF) *m/z*: 412 $[M+Na]^+$. HRMS (ESI-TOF) *m/z*: 412.1956 calcd for $C_{19}H_{35}NO_3S_2Na$; Found: 412.1938.

Ethyl (*E*)-8-(2-(3-((*tert*-butoxycarbonyl)(methyl)amino)propyl)-1,3-dithian-2-yl)-2-methyloct-2-enoate (**36**)

35 (107 mg, 0.27 mmol) の toluene (8 mL)溶液に、**16** (298 mg, 0.82 mmol, 3 equiv.) を加え、100 ℃で 10 時間撹拌した。その後、飽和 NH_4Cl 水溶液を加え、EtOAc で抽出し、有機層を飽和 NH_4Cl 水溶液、食塩水で洗浄後、Na_2SO_4 で乾燥させた。溶媒を減圧留去して得られた粗生成物を、シリカゲルカラムクロマトグラフィー(Hex : AcOEt = 4 : 1) で精製し、無色の粘性液体として **36** (128 mg, 99%) を得た。

^{1}H-NMR (600 MHz, $CDCl_3$) δ: 6.45 (1H, br s), 3.96 – 3.77 (2H, dd, *J* = 15.5, 6.5 Hz), 2.95 (2H, br s), 2.60 – 2.42 (7H, m), 1.90 (2H, br s), 1.72 – 1.45 (9H, m), 1.36 (2H, br s), 1.17 (11H, m), 1.09 – 0.85 (5H, m). ^{13}C-NMR (150 MHz, $CDCl_3$) δ: 167.2, 155.0, 142.2, 141.3, 141.0, 132.6, 127.2, 78.4, 60.3, 59.7, 59.3, 52.3, 48.2, 47.5, 37.8, 34.5, 33.5, 28.9, 28.8, 28.7, 28.0, 27.9, 27.1, 25.4, 24.9, 23.3, 22.3, 20.1, 15.1, 13.8, 13.5, 11.8. IR (KBr): 2935, 1698, 1393, 1274, 1150 cm^{-1}. MS (ESI-TOF) *m/z*: 496 $[M+Na]^+$. HRMS (ESI-TOF) *m/z*: 496.2531 calcd for $C_{24}H_{43}NO_4S_2Na$; Found: 496.2554.

(*E*)-8-(2-(3-((*tert*-Butoxycarbonyl)(methyl)amino)propyl)-1,3-dithian-2-yl)-2-methyloct-2-enoic acid (**37**) の合成

36 (89.9 mg, 0.19 mmol) に対し、H_2O / MeOH / THF (1 / 1 / 1, 6 mL)、LiOH (22.7 mg, 0.95 mmol, 5 equiv.) を加え、開放系、室温で13 時間撹拌した。その後、HCl 水溶液 (5%) を加え、EtOAcで抽出し、有機層を食塩水で洗浄後、Na_2SO_4で乾燥させた。溶媒を減圧留去して

得られた粗生成物を、シリカゲルカラムクロマトグラフィー(Hex : AcOEt = 1 : 1) で精製し、無色の粘性液体として**37** (83.9 mg, 99%) を得た。

^{1}H-NMR (600 MHz, $CDCl_3$) δ: 10.22 (1H, br), 6.84 (1H, t, *J* = 7.3 Hz), 3.19 (2H, br s), 2.87 – 2.64 (7H, m), 2.16 (2H, dd, *J* = 14.7, 7.3 Hz), 1.89 (2H, br s), 1.83 – 1.76 (7H, m), 1.60 (2H, m), 1.48 – 1.33 (13H, m), 1.33 – 1.24 (2H, m). ^{13}C-NMR (150 MHz, $CDCl_3$) δ: 173.4, 155.9, 144.8, 127.2, 79.4, 53.0, 48.6, 38.4, 35.0, 34.2, 29.5, 28.8, 28.5, 28.3, 26.0, 25.4, 23.9, 22.7, 12.1. IR (KBr): 2933, 1691, 1394, 1152 cm^{-1}. MS (ESI-TOF) *m/z*: 468 $[M+Na]^+$. HRMS (ESI-TOF) *m/z*: 468.2218 calcd for $C_{22}H_{39}NO_4S_2Na$; Found: 468.2197.

***tert*-Butyl (*E*)-methyl(3-(2-(7-methyl-8-(methyl(thiazol-2-ylmethyl)amino)-8-oxooct-6-en-1- yl)-1,3-dithian-2-yl)propyl)carbamate (38)** の合成

37 (83.9 mg, 0.19 mmol) のCH_2Cl_2 (5 mL) 溶液に**20** (36.2 mg, 0.28 mmol, 1.5 equiv.)、HOBt (35.6 mg, 0.26 mmol, 1.4 equiv.)、Et_3N (150 µL, 1.1 mmol, 4 equiv.)、EDCI・HCl (50.5 mg, 0.26 mmol, 1.4 equiv.)を加え、室温で10 時間撹拌した。その後、飽和$NaHCO_3$ 水溶液を加え、EtOAcで抽出し、有機層を飽和$NaHCO_3$ 水溶液、食塩水で洗浄後、Na_2SO_4で乾燥させた。溶媒を減圧留去して得られた粗生成物を、シリカゲルカラムクロマトグラフィー(Hex : AcOEt = 1 : 2) で精製し、無色の粘性液体として**38** (81.7 mg, 78%) を得た。

^{1}H-NMR (600 MHz, $CDCl_3$) δ: 7.59 (1H, br s), 7.22 (1H, br s), 5.51 (1H, br s), 4.75 (2H, s), 3.09 (2H, br s), 2.91 (3H, s), 2.79 – 2.56 (7H, m), 2.05 – 1.94 (2H, m), 1.87 – 1.59 (9H, m), 1.58 – 1.46 (2H, m), 1.41 – 1.06 (15H, m). ^{13}C-NMR (150 MHz, $CDCl_3$) δ: 173.5, 172.0, 166.6, 166.1, 155.5, 142.7, 142.0, 141.9, 131.9, 130.6, 129.5, 120.1, 119.9, 79.0, 52.8, 52.7, 48.6, 48.2, 47.8, 47.4, 38.1, 36.8, 35.4, 34.8, 34.6, 33.9, 33.1, 31.9, 29.3, 28.8, 28.5, 28.3, 27.4, 25.8, 25.2, 23.6, 22.6, 22.3, 19.9, 14.0. IR (KBr): 3019, 1682, 1216, 909, 756 cm^{-1}. MS (ESI-TOF) *m/z*: 578 $[M+Na]^+$. HRMS (ESI-TOF) *m/z*: 578.2521 calcd for $C_{27}H_{45}N_3O_3S_3Na$; Found: 578.2543.

***tert*-Butyl (*E*)-methyl(11-methyl-12-(methyl(thiazol-2-ylmethyl)amino)-4,12-dioxododec-10-en-1-yl)carbamate (39) の合成**

38 (81.7 mg, 0.15 mmol) に対してCH_3CN (4 mL)、飽和$NaHCO_3$水溶液 (2 mL)、I_2 (149 mg, 0.59 mmol, 4 equiv.) を加え、開放系、氷冷下で30 分間撹拌した。その後、飽和$Na_2S_2O_3$ / $NaHCO_3$ 水溶液を加え、EtOAcで抽出し、有機層を飽和$Na_2S_2O_3$ / $NaHCO_3$ 水溶液、食塩水で洗浄後、Na_2SO_4で乾燥させた。溶媒を減圧留去して得られた粗生成物を、シリカゲルカラムクロマトグラフィー(Hex : AcOEt = 1 : 3) で精製し、無色の粘性液体として**39** (60.6 mg, 89%) を得た。

^{1}H-NMR (600 MHz, $CDCl_3$) δ: 7.66 (1H, br s), 7.28 (1H, d, *J* = 2.8 Hz), 5.57 (1H, br s), 4.81 (2H, s), 3.14 (2H, br s), 2.97 (3H, s), 2.76 (3H, s), 2.32 (4H, t, *J* = 7.0 Hz), 2.04 (2H, br d, *J* = 7.1 Hz), 1.81 (3H, s), 1.76 – 1.66 (2H, m), 1.49 (2H, br s), 1.42 – 1.29 (11H, m), 1.20 (2H, br s).^{13}C-NMR (150 MHz, $CDCl_3$) δ: 210.4, 210.1, 173, 172.2, 166.9, 166.31, 155.8, 142.9, 142.1, 132.1, 130.8, 129.6, 120.3, 120.1, 79.3, 79.2, 51.8, 48.4, 48.1, 47.6, 42.7, 39.5, 39.4, 37.0, 35.6, 34.0, 29.7, 29.2, 28.9, 28.7, 28.5, 27.4, 23.5, 21.9, 21.5, 20.1, 14.2. IR (KBr): 2931, 1692, 1394, 1170 cm^{-1}. MS (ESI-TOF) *m/z*: 488 $[M+Na]^+$. HRMS (ESI-TOF) *m/z*: 488.2559 calcd for $C_{24}H_{39}N_3O_4SNa$; Found: 488.2559.

***tert*-Butyl ((4*EZ*, 10*E*)-4-(chloromethylene)-11-methyl-12-(methyl(thiazol-2-ylmethyl)amino)-12-oxododec-10-en-1-yl)(methyl)carbamate (40) の合成**

$PPh_3PCH_2Cl_2$ (185 mg, 0.51 mmol, 5 equiv.) のTHF (3 mL) 溶液にLiHMDS (THF 1 M solution, 515 µL, 0.53 mmol, 4.8 equiv.) を加え、室温で10 分間撹拌した。その後、**39** (49.8 mg, 0.11 mmol) のTHF (1 mL) 溶液を加え、さらに2回THF (1 mL) で洗いこんだ後、室温で1 時間撹拌した。その後、飽和NH_4Cl 水溶液を加え、EtOAcで抽出し、有機層を飽和NH_4Cl 水溶液、食塩水で洗浄後、Na_2SO_4で乾燥させた。溶媒を減圧留去して得られた粗生成物を、シリカ

ゲルカラムクロマトグラフィー(Hex : AcOEt = 1 : 2) で精製し、無色の粘性液体として**40** (56.9 mg, quant.)を得た。

^{1}H-NMR (600 MHz, $CDCl_3$) δ: 7.73 (1H, d, *J* = 3.2 Hz), 7.34 (1H, d, *J* = 3.3 Hz), 5.81 – 5.72 (1H, m), 5.65 (1H, br s), 4.89 (2H, s), 3.19 (2H, br s), 3.04 (3H, s), 2.88 – 2.77 (3H, m), 2.23 – 2.06 (4H, m), 2.03 – 1.97 (2H, t, *J* = 8.0 Hz), 1.86 (3H, s), 1.66 – 1.56 (2H, m), 1.48 – 1.21 (15H, m). IR (KBr): 3020, 1216, 771 cm^{-1}. MS (ESI-TOF) *m/z*: 520 $[M+Na]^+$. HRMS (ESI-TOF) *m/z*: 520.2377 calcd for $C_{25}H_{40}N_3O_3S^{35}ClNa$; Found: 520.2368.

Dedimethyl-biakamide C, D (**28**, **29**) の合成

40 (56.9 mg, 0.11 mmol) のCH_2Cl_2 (2 mL) 溶液に TFA (255 µL, 3.4 mmol, 30 equiv.) を加え、開放系、室温で1 時間撹拌した。その後、飽和$NaHCO_3$ 水溶液を加え、EtOAcで抽出し、有機層を飽和$NaHCO_3$ 水溶液、食塩水で洗浄後、Na_2SO_4で乾燥させた。溶媒を減圧留去して得られた粗生成物のCH_2Cl_2 (2 mL) 溶液に**25** (11.9 mg, 0.11 mmol, 1 equiv.)、HOBt (14.4 mg, 0.11 mmol, 1 equiv.)、Et_3N (90 µL, 0.65 mmol, 6 equiv.)、EDCI・HCl (20.4 mg, 0.11 mmol, 1 equiv.) を加え、室温で15 時間撹拌した。その後、飽和$NaHCO_3$ 水溶液を加え、EtOAcで抽出し、有機層を飽和$NaHCO_3$ 水溶液、食塩水で洗浄後、Na_2SO_4で乾燥させた。溶媒を減圧留去して得られた粗生成物を、シリカゲルカラムクロマトグラフィー (AcOEt : MeOH = 50 : 1) で精製し、無色の粘性液体として**28**, **29** (49.9 mg, 88%, 2 steps) を得た。

28 : ^{1}H-NMR (600 MHz, $CDCl_3$) δ: 7.72 (1H, br s), 7.33 (1H, d, *J* = 2.8 Hz), 5.80 (1H, s), 5.64 (1H, br s), 5.17 – 5.11 (1H, br s), 4.88 (2H, s), 3.60 (3H, br s), 3.40 – 3.24 (2H, m), 3.10 – 2.87 (6H, m), 2.23 – 2.14 (5H, m), 2.14 – 1.99 (4H, m), 1.86 (3H, s), 1.77 – 1.58 (4H, m), 1.47 – 1.16 (4H, m). ^{13}C-NMR (150 MHz, $CDCl_3$) δ: 173.9, 168.5, 168.3, 166.9, 146.4, 146.3, 142.2, 142.1, 142.0, 141.4, 132.3, 130.9, 130.8, 120.1, 118.4, 118.3, 118.1, 118.0, 112.9, 112.5, 112.4, 91.3, 54.9, 50.1, 49.7, 48.5, 47.4, 46.9, 46.8, 37.0, 36.1, 35. 9, 35.8, 34.8, 32.8, 32.7, 32.1, 32.0, 31.6, 30.0, 29.9, 29.8, 29.6,

29.4, 29.1, 29.9, 28.7, 27.6, 27.5, 27.5, 27.3, 26. 9, 26.4, 26.3, 26.2, 25.9, 25.6, 25.3, 24.7, 22.8, 20.3, 20.2, 18.8, 14.2. IR (KBr): 2927, 1644, 1381, 1239, 1072 cm^{-1}. MS (ESI-TOF) *m/z*: 518 $[M+Na]^+$. HRMS (ESI-TOF) *m/z*: 518.2220 calcd for $C_{25}H_{38}N_3O_3S^{35}ClNa$; Found: 518.2212.

29 : ^{1}H-NMR (600 MHz, $CDCl_3$) δ: 7.72 (1H, br s), 7.33 (1H, s), 5.85 – 5.73 (1H, m), 5.63 (1H, s), 5.17 (2H, s), 4.87 (2H, s), 3.61 (3H, s), 3.46 – 3.24 (2H, m), 3.08 – 2.89 (6H, m), 2.24 – 2.13 (5H, m), 2.13 – 2.00 (4H, m), 1.86 (3H, s), 1.77 – 1.58 (4H, m), 1.47 – 1.16 (4H, m). ^{13}C-NMR (150 MHz, $CDCl_3$) δ: 174.4, 168.5, 168.2, 166.9, 142.3, 141.6, 132.2, 130.9, 120.2, 113.1, 112.4, 91.5, 91.1, 55.0, 50.4, 48.8, 47.7, 47.5, 37.1, 36.1, 34.8, 33.7, 30.1, 29.0, 28.8, 27.7, 27.6, 27.0, 26.1, 25.1, 18.9, 14.4. IR (KBr): 3019, 1643, 1216, 756 cm^{-1}. MS (ESI-TOF) *m/z*: 518 $[M+Na]^+$. HRMS (ESI-TOF) *m/z*: 518.2220 calcd for $C_{25}H_{38}N_3O_3S^{35}ClNa$; Found: 518.2205.

***tert*-Butyl (*E*)-methyl(11-methyl-12-(methyl(thiazol-2-ylmethyl)amino)-4-methylene-12-oxododec-10-en-1-yl)carbamate (41)** の合成

PPh_3PCH_3Br (30.2 mg, 0.084 mmol, 6 equiv.) のTHF (0.5 mL) 溶液にLiHMDS (THF 1 M solution, 80 µL, 0.080 mmol, 5.7 equiv.) を加え、室温で30 分間撹拌した。その後、**39** (5.4 mg, 0.14 mmol) のTHF (0.5 mL) 溶液を加え、さらに2回THF (0.5 mL) で洗いこんだ後、室温で2時間撹拌した。その後、飽和NH_4Cl 水溶液を加え、EtOAcで抽出し、有機層を飽和NH_4Cl 水溶液、食塩水で洗浄後、Na_2SO_4で乾燥させた。溶媒を減圧留去して得られた粗生成物を、シリカゲルカラムクロマトグラフィー(Hex : AcOEt = 1 : 1) で精製し、無色の粘性液体として**41** (4.0 mg, 68%)を得た。

^{1}H-NMR (600 MHz, $CDCl_3$) δ: 7.70 (1H, br s), 7.31 (1H, br s), 5.62 (1H, s), 4.86 (2H, s), 4.68 (2H, s), 3.16 (2H, br s), 3.01 (3H, s), 2.81 (3H, br s), 2.08 (2H, br s), 2.01 – 1.89 (4H, br s), 1.84 (3H, s), 1.61 (2H, br s), 1.46 – 1.16 (15H, m). ^{13}C-NMR (150 MHz, $CDCl_3$) δ: 173.9, 166.9, 155.9, 149.0, 142.3, 142.18, 136.1, 132.5, 130.8, 120.2, 119.9, 109.1, 79.2, 52.9, 48.9, 48.4, 37.2, 36.1, 34.3, 33.1,

29.2, 28.8, 28.8, 28.6, 28.3, 27.7, 27.6, 26.6, 26.0, 25.8, 14.3, 12.8. IR (KBr): 2930, 1694, 1394, 1170 cm^{-1}. MS (ESI-TOF) *m/z*: 486 $[M+Na]^+$. HRMS (ESI-TOF) *m/z*: 486.2766 calcd for $C_{25}H_{41}N_3O_3SNa$; Found: 486.2746.

(*E*)-12-((*E*)-3-Methoxy-*N*-methylbut-2-enamido)-*N*,2-dimethyl-9-methylene-*N*-(thiazol-2-ylmethyl)dodec-2-enamide (**42**) の合成

41 (4.0 mg, 0.010 mmol) のCH_2Cl_2 (1 mL) 溶液に TFA (31 µL, 0.42 mmol, 40 equiv.) を加え、開放系、室温で2 時間撹拌した。その後、飽和$NaHCO_3$ 水溶液を加え、EtOAcで抽出し、有機層を飽和$NaHCO_3$ 水溶液、食塩水で洗浄後、Na_2SO_4で乾燥させた。溶媒を減圧留去して得られた粗生成物のCH_2Cl_2 (1 mL) 溶液に**25** (1.6 mg, 0.016 mmol, 1.5 equiv.)、HOBt (2.0 mg, 0.015 mmol, 1.4 equiv.)、Et_3N (12 µL, 0.088 mmol, 6 equiv.)、EDCI・HCl (2.8 mg, 0.11 mmol, 1.4 equiv.)を加え、室温で24 時間撹拌した。その後、飽和$NaHCO_3$ 水溶液を加え、EtOAcで抽出し、有機層を飽和$NaHCO_3$ 水溶液、食塩水で洗浄後、Na_2SO_4で乾燥させた。溶媒を減圧留去して得られた粗生成物を、シリカゲルカラムクロマトグラフィー (AcOEt : MeOH = 50 : 1) で精製し、無色の粘性液体として**42** (4.9 mg, quant.) を得た。

^{1}H-NMR (600 MHz, $CDCl_3$) δ: 7.70 (1H, d, *J* = 3.0 Hz), 7.30 (1H, d, *J* = 3.0 Hz), 6.30 (1H, s), 5.83 (1H, br s), 4.86 (2H, s), 4.67 (2H, s), 3.08 (4H, m), 2.96 (1H, s), 2.86 – 2.72 (3H, m), 2.31 – 1.86 (6H, m), 1.86 – 1.40 (8H, m), 1.40 – 1.24 (6H, m). ^{13}C-NMR (150 MHz, $CDCl_3$) δ: 173.9, 168.3, 168.2, 167.0, 166.9, 156.8, 142.3, 142.2, 136.1, 136.1, 132.4, 130.8, 130.8, 125.2, 124.6, 120.2, 119.8, 117.6, 117.5, 91.5, 91.3, 72.3, 72.1, 54.9, 54.9, 50.3, 49.9, 47.7, 42.1, 42.1 39.7, 38.2, 38.2 38.1 37.1 36.7, 36.1, 34.9, 34.4, 33.6, 33.6, 33.3, 32.8, 29.9, 29.6, 29.8, 29.6, 29.2, 28.8, 28.6, 28.2, 27.8, 27.7, 27.6, 27.2, 26.9, 26.9, 26.8, 26.6, 26.5, 25.9, 23.8, 23.8, 23.4, 22.8, 21.1, 18.8, 16.1, 14.3, 12.8. IR (KBr): 2932, 1620, 1145, 753 cm^{-1}. MS (ESI-TOF) *m/z*: 484 $[M+Na]^+$. HRMS (ESI-TOF) *m/z*: 484.2610 calcd for $C_{25}H_{39}N_3O_3SNa$; Found: 484.2628.

***tert*-Butyl (10-((*tert*-butyldimethylsilyl)oxy)decyl)carbamate (44)** の合成

43 (789 mg, 2.9 mmol) のCH_2Cl_2 (15 mL) 溶液にEt_3N (1.8 mL, 13 mmol, 4.4 equiv.)、TBSCl (759 mg, 5.0 mmol, 1.8 equiv.) を加え、室温で40 時間撹拌した。その後、飽和NH_4Cl 水溶液を加え、EtOAcで抽出し、有機層を飽和NH_4Cl 水溶液、食塩水で洗浄後、Na_2SO_4で乾燥させた。溶媒を減圧留去して得られた粗生成物を、シリカゲルカラムクロマトグラフィー (Hex : AcOEt = 10 : 1) で精製し、無色の粘性液体として**44** (787 mg, 70%) を得た。

^{1}H-NMR (600 MHz, $CDCl_3$) δ: 4.65 (1H, br), 3.52 (2H, td, *J* = 6.4, 3.4 Hz), 3.02 (2H, br s), 1.57 – 1.29 (13H, m), 1.20 (12H, br s), 0.82 (9H, d, *J* = 3.9 Hz), -0.027 (3H, s), -0.033 (3H, s). ^{13}C-NMR (150 MHz, $CDCl_3$) δ: 156.0, 78.8, 63.3, 40.6, 32.9, 30.1, 29.6, 29.5, 29.4, 29.3, 29.1, 28.4, 27.8, 27.4, 26.8, 26.6, 26.2, 26.0, 25.9, 25.8, 25.3, 18.4, -5.2, -5.4. IR (KBr): 3356 (br), 2929, 1702, 1514, 1253, 1100, 837 cm^{-1}. MS (ESI-TOF) *m/z*: 410 $[M+Na]^+$. HRMS (ESI-TOF) *m/z*: 410.3066 calcd for $C_{21}H_{45}NO_3SiNa$; Found: 410.3082.

***tert*-Butyl (10-((*tert*-butyldimethylsilyl)oxy)decyl)(methyl)carbamate (45)** の合成

44 (707 mg, 1.8 mmol) のDMF (15 mL) 溶液にNaH (80.2 mg, 2.0 mmol, 1.1 equiv.) を加え、氷冷下で1 時間撹拌した後、MeI (250 μL, 4.0 mmol, 2.2 equiv.) を加え、さらに12 時間撹拌した。その後、飽和NH_4Cl 水溶液を加え、EtOAcで抽出し、有機層を飽和NH_4Cl 水溶液、食塩水で洗浄後、Na_2SO_4で乾燥させた。溶媒を減圧留去して得られた粗生成物を、シリカゲルカラムクロマトグラフィー(Hex：AcOEt = 10：1) で精製し、無色の粘性液体として**45** (676 mg, 92%) を得た。

^{1}H-NMR (600 MHz, $CDCl_3$) δ: 3.54 (2H, t, *J* = 6.6 Hz), 3.13 (2H, br s), 2.78 (3H, s), 1.61 – 1.38 (13H, m), 1.23 (12H, br s), 0.84 (9H, s), 0.00 (6H, s). ^{13}C-NMR (150 MHz, $CDCl_3$) δ: 155.7, 78.9, 63.2, 48.7, 48.4, 33.9, 32.8, 29.5, 29.3, 29.3, 28.4, 27.8, 27.5, 26.6, 25.9, 25.7, 18.3, -5.4. IR (KBr):

2929, 1686, 1394, 1168, 758 cm^{-1}. MS (ESI-TOF) *m/z*: 424 $[M+Na]^+$. HRMS (ESI-TOF) *m/z*: 424.3223 calcd for $C_{22}H_{47}NO_3SiNa$; Found: 424.3225.

***tert*-Butyl (10-hydroxydecyl)(methyl)carbamate (46)** の合成

45 (676 mg, 1.7 mmol) のTHF (15 mL) 溶液にTBAF (THF 1 M solution, 4.4 mL)を加え、開放系、室温で8 時間撹拌した。その後、飽和NH_4Cl水溶液を加え、EtOAcで抽出し、有機層を飽和NH_4Cl 水溶液、食塩水で洗浄後、Na_2SO_4で乾燥させた。溶媒を減圧留去して得られた粗生成物を、シリカゲルカラムクロマトグラフィー(Hex : AcOEt = 3 : 1) で精製し、無色の粘性液体として**45** (461 mg, 95%) を得た。

^{1}H-NMR (600 MHz, $CDCl_3$) δ: 3.49 (2H, td, *J* = 6.7, 3.1 Hz), 3.07 (2H, br s), 2.84 (1H, br), 2.71 (3H, s), 1.44 (2H, m), 1.41 – 1.29 (11H, m), 1.26 – 1.02 (12H, m). ^{13}C-NMR (150 MHz, $CDCl_3$) δ: 155.8, 79.0, 67.8, 62.5, 48.7, 48.4, 33.9, 32.7, 29.5, 29.4, 29.3, 28.4, 28.0, 27.8, 27.5, 26.6, 25.7, 25.5. IR (KBr): 3448 (br), 2927, 1697, 1397, 1165 cm^{-1}. MS (ESI-TOF) *m/z*: 310 $[M+Na]^+$. HRMS (ESI-TOF) *m/z*: 310.2358 calcd for $C_{16}H_{33}NO_3Na$; Found: 310.2371.

Ethyl (*E*)-12-((*tert*-butoxycarbonyl)(methyl)amino)-2-methyldodec-2-enoate (47) の合成

46 (251 mg, 0.87 mmol) のCH_2Cl_2 (10 mL) 溶液に$PhI(OAc)_2$ (562 mg, 1.7 mmol, 2 equiv.)、TEMPO (13.6 mg, 0.087 mmol, 0.1 equiv.)を加え、室温で13 時間撹拌した。その後、toluene (10 mL)、**7** (1.26 g, 3.5 mmol, 4 equiv.) を加え、100 ℃で12 時間撹拌し、飽和$Na_2S_2O_3$ / $NaHCO_3$ 水溶液を加え、EtOAcで抽出し、有機層を飽和$Na_2S_2O_3$ / $NaHCO_3$ 水溶液、食塩水で洗浄後、Na_2SO_4で乾燥させた。溶媒を減圧留去して得られた粗生成物を、シリカゲルカラムクロマトグラフィー(Hex : AcOEt = 10 : 1) で精製し、無色の粘性液体として**47** (291 mg, 90%) を得た。

^{1}H-NMR (600 MHz, $CDCl_3$) δ: 6.64 – 6.46 (1H, br s), 4.20 – 3.82 (2H, m), 2.99 (2H, br s), 2.73 – 2.52 (3H, br s), 2.15 – 1.52 (5H, m), 1.38 – 0.58 (26H, m). ^{13}C-NMR (150 MHz, $CDCl_3$) δ: 167.6, 155.4, 142.8, 141.9, 133.1, 127.4, 78.6, 77.4, 77.2, 76.9, 60.6, 59.9, 48.5, 48.1, 33.7, 29.3, 29.2, 29.1, 28.4, 28.2, 28.2, 27.6, 27.3, 26.4, 20.4, 17.0, 14.1, 14.0, 13.9, 12.1. IR (KBr): 2928, 1699, 1365, 1249, 1166 cm^{-1}. MS (ESI-TOF) *m/z*: 392 $[M+Na]^+$. HRMS (ESI-TOF) *m/z*: 392.2777 calcd for $C_{21}H_{39}NO_4Na$; Found: 392.2787.

(*E*)-12-((*tert*-Butoxycarbonyl)(methyl)amino)-2-methyldodec-2-enoic acid (**48**) の合成

47 (291 mg, 0.79 mmol) に対し、H_2O / MeOH / THF (1 / 1 / 1, 10 mL)、LiOH (94.4 mg, 3.9 mmol, 5 equiv.) を加え、開放系、室温で24 時間撹拌した。その後、HCl 水溶液 (5%) を加え、EtOAcで抽出し、有機層を食塩水で洗浄後、Na_2SO_4で乾燥させた。溶媒を減圧留去して得られた粗生成物を、シリカゲルカラムクロマトグラフィー(Hex : AcOEt = 1 : 1) で精製し、無色の粘性液体として**48** (260 mg, 97%) を得た。

^{1}H-NMR (600 MHz, $CDCl_3$) δ: 11.62 (1H, br), 6.80 (1H, t, *J* = 7.3 Hz), 3.09 (2H, s), 2.74 (2H, s), 2.09 (2H, q, *J* = 7.3 Hz), 1.82 – 1.27 (13H, m), 1.22 (10H, br). ^{13}C-NMR (150 MHz, $CDCl_3$) δ: 172.9, 155.7, 145.8, 144.6, 126.9, 126.1, 78.9, 48.6, 48.2, 33.8, 29.5, 29.2, 29.1, 29.1, 28.6, 28.3, 28.2, 27.6, 27.3, 26.4, 20.3, 11.7. IR (KBr): 2927, 1693, 1394, 1166 cm^{-1}. MS (ESI-TOF) *m/z*: 364 $[M+Na]^+$. HRMS (ESI-TOF) *m/z*: 364.2464 calcd for $C_{19}H_{35}NO_4Na$; Found: 364.2452.

***tert*-Butyl (*E*)-methyl(11-methyl-12-(methyl(thiazol-2-ylmethyl)amino)-12-oxododec-10-en-1-yl)carbamate** (**49**) の合成

48 (48.0 mg, 0.14 mmol) のCH_2Cl_2 (5 mL) 溶液に**20** (27.0 mg, 0.21 mmol, 1.5 equiv.)、HOBt (28.5 mg, 0.21 mmol, 1.5 equiv.)、Et_3N (180 μL, 1.3 mmol, 6 equiv.)、EDCI・HCl (40.4 mg, 0.21 mmol, 1.5 equiv.)を加え、室温で12 時間撹拌した。その後、飽和$NaHCO_3$ 水溶液を加え、EtOAc

で抽出し、有機層を飽和$NaHCO_3$ 水溶液、食塩水で洗浄後、Na_2SO_4で乾燥させた。溶媒を減圧留去して得られた粗生成物を、シリカゲルカラムクロマトグラフィー(Hex : AcOEt = 1 : 1) で精製し、無色の粘性液体として**49** (55.7 mg, 88%) を得た。

^{1}H-NMR (600 MHz, $CDCl_3$) δ: 7.62 (1h, br s), 7.24 (1H, br s), 5.55 (1H, br s), 4.78 (2H, s), 3.08 (2H, s), 2.94 (3H, s), 2.72 (3H, s), 2.00 (2H, br s), 1.76 (3H, s), 1.36 (11H, m), 1.28 (2H, br s), 1.16 (10H, m). ^{13}C-NMR (150 MHz, $CDCl_3$) δ: 173.7, 172.1, 166.8, 166.2, 155.7, 142.8, 142.0, 132.4, 130.8, 130.5, 129.9, 120.1, 119.9, 119.7, 78.9, 52.8, 51.8, 48.7, 48.3, 47.5, 36.9, 35.5, 33.9, 32.3, 29.7, 29.6, 29.4, 29.3, 29.2, 29.1, 29.0, 28.7, 28.5, 28.4, 28.2, 27.8, 27.5, 26.6, 20.8, 20.0, 14.1. IR (KBr): 2929, 1683, 1398, 1216, 755 cm^{-1}. MS (ESI-TOF) *m/z*: 474 $[M+Na]^+$. HRMS (ESI-TOF) *m/z*: 474.2766 calcd for $C_{24}H_{41}N_3O_3SNa$; Found: 474.2763.

(*E*)-12-((*E*)-3-Methoxy-*N*-methylbut-2-enamido)-*N*,2-dimethyl-*N*-(thiazol-2-ylmethyl)dodec-2-enamide (**50**) の合成

49 (20.0 mg, 0.044 mmol) のCH_2Cl_2 (2 mL) 溶液に TFA (165 μL, 2.2 mmol, 50 equiv.) を加え、開放系、室温で1 時間撹拌した。その後、飽和$NaHCO_3$ 水溶液を加え、EtOAcで抽出し、有機層を飽和$NaHCO_3$ 水溶液、食塩水で洗浄後、Na_2SO_4で乾燥させた。溶媒を減圧留去して得られた粗生成物のCH_2Cl_2 (1 mL) 溶液に**25** (22.7 mg, 0.18 mmol, 4 equiv.)、HOBt (9.5 mg, 0.062 mmol, 1.4 equiv.)、Et_3N (52 μL, 0.37 mmol, 6 equiv.)、EDCI・HCl (11.9 mg, 0.062 mmol, 1.4 equiv.)を加え、室温で12 時間撹拌した。その後、飽和$NaHCO_3$ 水溶液を加え、EtOAcで抽出し、有機層を飽和$NaHCO_3$ 水溶液、食塩水で洗浄後、Na_2SO_4で乾燥させた。溶媒を減圧留去して得られた粗生成物を、シリカゲルカラムクロマトグラフィー (Hexane : AcOEt = 1 : 3) で精製し、無色の粘性液体として**50** (13.6 mg, 69%) を得た。

^{1}H-NMR (600 MHz, $CDCl_3$) δ: 7.69 (1H, br s), 7.30 (1H, br s), 5.62 (1H, br s), 5.14 (1H, d, *J* = 9.9 Hz), 4.85 (2H, s), 3.57 (3H, s), 3.35 (1H, br s), 3.27 (1H, br s), 3.08 – 2.81 (6H, m), 2.23 – 2.11 (3H,

m), 2.10 – 2.01 (2H, m), 1.83 (3H, s), 1.57 – 1.44 (2H, m), 1.42 – 1.08 (12H, m). ^{13}C-NMR (150 MHz, $CDCl_3$) δ: 173.8, 172.3, 168.2, 168.1, 168.0, 167.8, 166.9, 166.4, 142.2, 132.6, 132.5, 131.0, 130.7, 130.6, 128.9, 120.1, 91.5, 91.4, 68.2, 54.9, 54.9, 50.6, 47.7, 38.8, 36.0, 35.7, 33.6, 31.0, 30.4, 29.6, 29.5, 29.4, 28.9, 28.5, 27.7, 27.6, 27.0, 26.8, 23.8, 23.1, 18.8, 14.8. IR (KBr): 2926, 1648, 1381, 1238, 1140, 1073 cm^{-1}. MS (ESI-TOF) *m/z*: 472 $[M+Na]^+$. HRMS (ESI-TOF) *m/z*: 472.2610 calcd for $C_{24}H_{39}N_3O_3SNa$; Found: 472.2600.

***tert*-Butyl ((10*E*)-4-(hydroxyimino)-11-methyl-12-(methyl(thiazol-2-ylmethyl)amino)-12-oxododec-10-en-1-yl)(methyl)carbamate (51)** の合成

39 (12.2 mg, 0.026 mmol) のMeOH (0.5 mL) 溶液にAcONa (3.2 mg, 0.039 mmol, 1.5 equiv.)、NH_2OH・HCl (2.7 mg, 0.039 mmol, 1.5 equiv.)を加え、室温で1 時間撹拌した。その後、溶媒を減圧留去して得られた粗生成物を、シリカゲルカラムクロマトグラフィー(Hex : AcOEt = 1 : 3) で精製し、無色の粘性液体として**51** (10.4 mg, 83%) を得た。

^{1}H-NMR (600 MHz, $CDCl_3$) δ: 8.78 (1H, br), 7.71 (1H, br s), 7.31 (1H, br s), 5.62 (1H, d, *J* = 6.2 Hz), 4.87 (2H, d, *J* = 4.8 Hz), 3.20 (2H, br s), 3.02 (3H, br s), 2.82 (3H, br s), 2.41 – 2.22 (2H, m), 2.22 – 2.03 (4H, m), 1.83 (3H, s), 1.77 – 1.64 (2H, m), 1.51 – 1.18 (15H, m). ^{13}C-NMR (150 MHz, $CDCl_3$) δ: 174.1, 167.0, 160.7, 155.9, 142.2, 132.3, 130.9, 120.2, 79.4, 53.0, 49.1, 48.7, 48.5, 48.2, 37.1, 34.3, 34.0, 31.7, 29.8, 29.6, 29.4, 28.8, 28.6, 28.6, 28.6, 27.6, 27.5, 27.5, 26.0, 25.6, 25.0, 24.6, 24.3, 24.1, 23.7, 22.8, 20.1, 20.0, 14.2. IR (KBr): 3332 (br), 2929, 1692, 1396, 1169, 755 cm^{-1}. MS (ESI-TOF) *m/z*: 503 $[M+Na]^+$. HRMS (ESI-TOF) *m/z*: 503.2668 calcd for $C_{24}H_{40}N_4O_4SNa$; Found: 503.2669.

(2*E*)-9-(Hydroxyimino)-12-((*E*)-3-methoxy-*N*-methylbut-2-enamido)-*N*,2-dimethyl-*N*-(thiazol-2-ylmethyl)dodec-2-enamide (52) の合成

51 (10.4 mg, 0.022 mmol) のCH_2Cl_2 (1 mL) 溶液に TFA (49 μL, 0.43 mmol, 20 equiv.) を加え、開放系、室温で3 時間撹拌した。その後、飽和$NaHCO_3$ 水溶液を加え、EtOAcで抽出し、有機層を飽和$NaHCO_3$ 水溶液、食塩水で洗浄後、Na_2SO_4で乾燥させた。溶媒を減圧留去して得られた粗生成物のCH_2Cl_2 (1 mL) 溶液に**25** (2.2 mg, 0.019 mmol, 0.9 equiv.)、HOBt (4.3 mg, 0.029 mmol, 1.3 equiv.)、Et_3N (12 μL, 0.85 mmol, 3.9 equiv.)、EDCI・HCl (6.1 mg, 0.029 mmol, 1.3 equiv.)を加え、室温で9 時間撹拌した。その後、飽和$NaHCO_3$ 水溶液を加え、EtOAcで抽出し、有機層を飽和$NaHCO_3$ 水溶液、食塩水で洗浄後、Na_2SO_4で乾燥させた。溶媒を減圧留去して得られた粗生成物を、シリカゲルカラムクロマトグラフィー (AcOEt : MeOH = 30 : 1) で精製し、無色の粘性液体として**52** (3.5 mg, 34%) を得た。

^{1}H-NMR (600 MHz, $CDCl_3$) δ: 8.42 (1H, br), 7.72 (1H, br s), 7.32 (1H, br s), 5.63 (1H, br s), 5.16 (1H, br s), 4.94 – 4.83 (2H, m), 3.64 – 3.53 (3H, m), 3.47 – 3.30 (2H, m), 3.10 – 2.86 (6H, m), 2.46 – 1.96 (9H, m), 1.93 – 1.69 (5H, m), 1.55 – 1.12 (6H, m). ^{13}C-NMR (150 MHz, $CDCl_3$) δ: 174.1, 168.6, 168.2, 161.1, 160.3, 142.4, 142.2, 132.4, 130.9, 120.2, 91.4, 91.2, 55.0, 50.6, 49.9, 48.5, 47.7, 47.4, 37.1, 36.1, 36.1, 34.0, 33.6, 31.6, 30.9, 29.8, 29.3, 29.2, 28.6, 27.6, 27.5, 25.9, 25.6, 25.2, 25.0, 24.6, 24.3, 23.6, 18.9, 14.3. IR (KBr): 3306 (br), 2925, 1641, 1384, 1240 cm^{-1}. MS (ESI-TOF) *m/z*: 501 $[M+Na]^+$. HRMS (ESI-TOF) *m/z*: 501.2511 calcd for $C_{24}H_{38}N_4O_4SNa$; Found: 501.2503.

***tert*-Butyl (*E*)-methyl(3-(2-(7-methyl-8-oxo-8-((thiazol-2-ylmethyl)amino)oct-6-en-1-yl)-1,3-dithian-2-yl)propyl)carbamate (54)** の合成

37 (90.0 mg, 0.20 mmol) の CH_2Cl_2 (5 mL) 溶液に **53** (34.6 mg, 0.30 mmol, 1.5 equiv.)、HOBt (38.2 mg, 0.28 mmol, 1.4 equiv.)、Et_3N (160 μL, 1.1 mmol, 4 equiv.)、EDCI・HCl (54.2 mg, 0.28 mmol, 1.4 equiv.)を加え、室温で 10 時間撹拌した。その後、飽和 $NaHCO_3$ 水溶液を加え、EtOAc で抽出し、有機層を飽和 $NaHCO_3$ 水溶液、食塩水で洗浄後、Na_2SO_4 で乾燥させた。溶媒を減圧留去して得られた粗生成物を、シリカゲルカラムクロマトグラフィー(Hexane :

AcOEt = 1 : 3) で精製し、無色の粘性液体として **54** (87.1 mg, 80%) を得た。

^{1}H-NMR (500 MHz, $CDCl_3$) δ: 7.60 (1H, d, *J* = 3.1 Hz), 7.20 (1H, d, *J* = 3.2 Hz), 7.00 (1H, br s), 6.35 (1H, t, *J* = 7.1 Hz), 4.70 (2H, d, *J* = 5.7 Hz), 3.13 (2H, br s), 2.75 (3H, s), 2.69 (4H, d, *J* = 4.7 Hz), 2.06 (2H, q, *J* = 7.2 Hz), 1.84 (2H, d, *J* = 4.6 Hz), 1.76 (3H, s), 1.76 – 1.49 (7H, m), 1.38 – 1.31 (13H, m), 1.24 (2H, d, *J* = 7.1 Hz). ^{13}C-NMR (150 MHz, $CDCl_3$) δ: 169.2, 167.9, 155.6, 142.1, 142.0, 137.0, 130.2, 119.5, 79.1, 60.3, 52.8, 48.7, 47.9, 41.0, 38.2, 35.0, 34.1, 34.0, 29.3, 29.1, 28.4, 28.2, 28.0, 27.7, 26.0, 25.9, 25.7, 25.3, 23.8, 22.7, 22.4, 12.6. IR (KBr): 3330 (br), 2933, 1692, 1523, 1394, 1150 cm^{-1}. MS (ESI-TOF) *m/z*: 564 $[M+Na]^+$. HRMS (ESI-TOF) *m/z*: 564.2364 calcd for $C_{26}H_{43}N_3O_3S_3Na$; Found: 564.2391.

***tert*-Butyl (*E*)-methyl(11-methyl-4,12-dioxo-12-((thiazol-2-ylmethyl)amino)dodec-10-en-1-yl)carbamate (55)** の合成

54 (81.7 mg, 0.15 mmol) に対して CH_3CN (6 mL)、飽和 $NaHCO_3$ 水溶液 (3 mL)、I_2 (76.5 mg, 0.30 mmol, 2 equiv.) を加え、開放系、氷冷下で 3 時間撹拌した。その後、飽和 $Na_2S_2O_3$ / $NaHCO_3$ 水溶液を加え、EtOAc で抽出し、有機層を飽和 $Na_2S_2O_3$ / $NaHCO_3$ 水溶液、食塩水で洗浄後、Na_2SO_4 で乾燥させた。溶媒を減圧留去して得られた粗生成物を、シリカゲルカラムクロマトグラフィー(Hex : AcOEt = 1 : 4) で精製し、無色の粘性液体として **55** (27.2 mg, 40%) を得た。

^{1}H-NMR (600 MHz, $CDCl_3$) δ: 7.63 (1H, br s), 7.24 (1H, br s), 7.02 – 6.90 (1H, br), 6.36 (1H, br s), 4.74 (2H, br), 3.13 (2H, br s), 2.74 (3H, s), 2.45 – 2.20 (4H, br), 2.08 (2H, br s), 1.80 (3H, s), 1.71 (2H, br), 1.49 (2H, br s), 1.37 (11H, m), 1.23 (2H, br). ^{13}C-NMR (150 MHz, $CDCl_3$) δ: 210.4, 210.1, 169.3, 168.1, 155.9, 141.9, 137.1, 130.3, 119.7, 79.2, 63.4, 48.1, 47.5, 42.6, 41.0, 39.5, 38.3, 34.0, 29.9, 28.8, 28.5, 28.4, 28.1, 23.5, 21.8, 21.5, 12.7. IR (KBr): 3341 (br), 2931, 1692, 1523, 1395,

1168 cm^{-1}. MS (ESI-TOF) *m/z*: 474 $[M+Na]^+$. HRMS (ESI-TOF) *m/z*: 474.2402 calcd for $C_{23}H_{37}N_3O_4SNa$; Found: 474.2403.

***tert*-Butyl ((10*E*)-4-(chloromethylene)-11-methyl-12-oxo-12-((thiazol-2-ylmethyl)amino)dodec-10-en-1-yl)(methyl)carbamate (56) の合成**

$PPh_3PCH_2Cl_2$ (62.5 mg, 0.18 mmol, 3 equiv.) の THF (3 mL) 溶液に LiHMDS (THF 1 M solution, 170 µL, 0.17 mmol, 2.8 equiv.) を加え、室温で 1 時間撹拌した。その後、**55** (27.2 mg, 0.060 mmol) の THF (0.5 mL) 溶液を加え、さらに 2 回 THF (0.5 mL) で洗いこんだ後、室温で 4 時間撹拌した。その後、飽和 NH_4Cl 水溶液を加え、EtOAc で抽出し、有機層を飽和 NH_4Cl 水溶液、食塩水で洗浄後、Na_2SO_4 で乾燥させた。溶媒を減圧留去して得られた粗生成物を、シリカゲルカラムクロマトグラフィー(Hex : AcOEt = 1 : 3) で精製し、無色の粘性液体として **56** (22.9 mg, 79%)を得た。

^{1}H-NMR (600 MHz, $CDCl_3$) δ: 7.67 (1H, br s), 7.26 (1H, d, *J* = 2.4 Hz), 6.81 (1H, br s), 6.44 – 6.37 (1H, br), 5.76 (1H, br s), 4.77 (2H, d, *J* = 5.5 Hz), 3.15 (2H, br s), 2.80 (3H, m), 2.19 – 2.08 (4H, m), 2.04 – 1.96 (2H, m), 1.84 (3H, s), 1.58 (2H, br), 1.44 – 1.20 (15H, m). ^{13}C-NMR (150 MHz, $CDCl_3$) δ: 169.3, 169.2, 167.8, 155.8, 155.8, 142.2, 141.9, 137.4, 137.3, 132.1, 132.1, 132.0, 130.3, 130.2, 128.6, 128.5, 119.7, 112.4, 79.4, 79.3, 48.9, 48.5, 48.2, 41.2, 34.8, 34.3, 31.9, 30.0, 29.2, 29.0, 28.5, 28.5, 28.4, 28.3, 27.5, 27.4, 26.9, 25.9, 25.5, 25.1, 12.7. IR (KBr): 3331 (br), 2930, 1693, 1523, 1394, 1166 cm^{-1}. MS (ESI-TOF) *m/z*: 506 $[M+Na]^+$. HRMS (ESI-TOF) *m/z*: 506.2220 calcd for $C_{24}H_{38}N_3O_3S^{35}ClNa$; Found: 506.2195.

***tert*-Butyl ((10*E*)-4-(chloromethylene)-11-methyl-12-oxo-12-((thiazol-2-ylmethyl)amino)dodec-10-en-1-yl)(methyl)carbamate (57) の合成**

56 (21.2 mg, 0.044 mmol) のCH_2Cl_2 (1 mL) 溶液に TFA (65 μL, 0.87 mmol, 20 equiv.) を加え、開放系、室温で1 時間撹拌した。その後、飽和$NaHCO_3$ 水溶液を加え、EtOAcで抽出し、有機層を飽和$NaHCO_3$ 水溶液、食塩水で洗浄後、Na_2SO_4で乾燥させた。溶媒を減圧留去して得られた粗生成物のCH_2Cl_2 (1 mL) 溶液に**25** (9.0 mg, 0.078 mmol, 1.8 equiv.)、HOBt (10.5 mg, 0.0078 mmol, 1.8 equiv.)、Et_3N (29 μL, 0.21 mmol, 4.8 equiv.)、EDCI・HCl (14.9 mg, 0.078 mmol, 1.8 equiv.)を加え、室温で24 時間撹拌した。その後、飽和$NaHCO_3$ 水溶液を加え、EtOAcで抽出し、有機層を飽和$NaHCO_3$ 水溶液、食塩水で洗浄後、Na_2SO_4で乾燥させた。溶媒を減圧留去して得られた粗生成物を、シリカゲルカラムクロマトグラフィー (Hexane: AcOEt = 1 : 5) で精製し、無色の粘性液体として**57**, **58** (23.0 mg, 97%, 2steps) を得た。

57 : ^{1}H-NMR (500 MHz, $CDCl_3$) δ: 7.71 (1H, d, *J* = 3.3 Hz), 7.29 (1H, d, *J* = 3.3 Hz), 6.69 (1H, br s), 6.44 (1H, t, *J* = 7.4 Hz), 5.81 (1H, s), 5.14 (1H, s), 4.82 (2H, d, *J* = 5.7 Hz), 3.60 (3H, s), 3.44 – 3.20 (2H, br), 2.97 (3H, br), 2.27 – 2.10 (6H, br), 2.06 (3H, dd, *J* = 10.0, 5.1 Hz), 1.87 (3H, s), 1.70 – 1.02 (8H, br). ^{13}C-NMR (150 MHz, $CDCl_3$) δ: 169.4, 168.7, 165.6, 142.4, 137.5, 130.3, 119.6, 112.5, 91.3, 77.4, 55.0, 49.9, 47.5, 41.3, 36.2, 32.3, 30.0, 29.2, 28.6, 28.4, 27.0, 18.9, 12.8. IR (KBr): 3326 (br), 2931, 1635, 1522, 1360, 1139 cm^{-1}. MS測定においては、末端アシル側鎖のメチルエノールエーテルが酸により3-オキソブタンアミドへと分解した化合物のスペクトルが得られた。 MS (ESI-TOF) *m/z*: 490 $[M+Na]^+$. HRMS (ESI-TOF) *m/z*: 490.1910 calcd for $C_{23}H_{34}N_3O_3S^{35}ClNa$; Found: 490.1910.

Ethyl (*E*)-12-((*tert*-butoxycarbonyl)(methyl)amino)-2-methyl-9-oxododec-2-enoate (**59**) の合成

36 (26.9 mg, 0.057 mmol) に対してCH_3CN (2 mL)、飽和$NaHCO_3$ 水溶液 (1 mL)、I_2 (49.1 mg, 0.19 mmol, 3.4 equiv.) を加え、開放系、氷冷下で 1 時間撹拌した。その後、飽和 $Na_2S_2O_3$ / $NaHCO_3$ 水溶液を加え、EtOAc で抽出し、有機層を飽和 $Na_2S_2O_3$ / $NaHCO_3$ 水溶液、食塩水で洗浄後、Na_2SO_4 で乾燥させた。溶媒を減圧留去して得られた粗生成物を、シリカゲルカ

ラムクロマトグラフィー(Hex : AcOEt = 3 : 1) で精製し、無色の粘性液体として **59** (13.5 mg, 62%) を得た。

^{1}H-NMR (600 MHz, $CDCl_3$) δ: 6.71 (1H, t, *J* = 7.3 Hz), 4.16 (2H, q, *J* = 7.1 Hz), 3.19 (2H, s), 2.80 (3H, s), 2.42 – 2.34 (4H, m), 2.17 – 2.10 (2H, m), 1.82 – 1.67 (5H, m), 1.60 – 1.52 (2H, m), 1.43 (11H, s), 1.32 – 1.21 (5H, m). ^{13}C-NMR (150 MHz, $CDCl_3$) δ: 210.6, 210.2, 168.4, 155.9, 142.8, 142.1, 128.0, 79.4, 60.5 60.1, 48.2, 47.7, 42.8, 39.6, 34.1, 29.5, 29.0, 28.7, 28.6, 28.5, 26.1, 23.6, 21.9, 21.6, 14.5, 14.4, 12.5. IR (KBr): 2932, 1697, 1365, 1171 cm^{-1}. MS (ESI-TOF) *m/z*: 406 $[M+Na]^+$. HRMS (ESI-TOF) *m/z*: 406.2569 calcd for $C_{21}H_{37}NO_5Na$; Found: 406.2566.

Ethyl (2*E*)-12-((*tert*-butoxycarbonyl)(methyl)amino)-9-(chloromethylene)-2-methyldodec-2-enoate (**60**) の合成

$PPh_3PCH_2Cl_2$ (60.9 mg, 0.18 mmol, 5 equiv.) の THF (2 mL) 溶液に LiHMDS (THF 1 M solution, 170 µL, 0.17 mmol, 4.8 equiv.) を加え、室温で 1 時間撹拌した。その後、**59** (13.5 mg, 0.035 mmol) の THF (0.5 mL) 溶液を加え、さらに 2 回 THF (0.5 mL) で洗いこんだ後、室温で 1 時間撹拌した。その後、飽和 NH_4Cl 水溶液を加え、EtOAc で抽出し、有機層を飽和 NH_4Cl 水溶液、食塩水で洗浄後、Na_2SO_4 で乾燥させた。溶媒を減圧留去して得られた粗生成物を、シリカゲルカラムクロマトグラフィー(Hex : AcOEt = 5 : 1) で精製し、無色の粘性液体として **60** (11.0 mg, 75%)を得た。

^{1}H-NMR (600 MHz, $CDCl_3$) δ: 6.63 (1H, br s), 5.70 (1H, s), 4.15 – 4.00 (2H, m), 3.08 (2H, br s), 2.73 (3H, s), 2.17 – 2.01 (4H, m), 2.00 – 1.88 (2H, m), 1.71 (3H, s), 1.52 (2H, br s), 1.46 – 1.05 (18H, m). ^{13}C-NMR (150 MHz, $CDCl_3$) δ: 168.03, 167.99, 155.6, 142.0, 141.8, 141.7, 127.7, 127.7, 112.3, 79.1, 60.2, 48.8, 48.3, 48.1, 48.0, 34.6, 34.1, 31.8, 29.8, 29.1, 29.0, 28.8, 28.5, 28.3, 28.3, 27.4, 27.3, 26.7, 25.7, 25.6, 25.4, 14.2, 12.2. IR (KBr): 2930, 1672, 1428, 1113, 704 cm^{-1}. MS (ESI-TOF) *m/z*: 438 $[M+Na]^+$. HRMS (ESI-TOF) *m/z*: 438.2387 calcd for $C_{22}H_{38}NO_4{}^{35}ClNa$; Found: 438.2389.

Ethyl (2*E*,9*E*)-9-(chloromethylene)-12-((*E*)-3-methoxy-*N*-methylbut-2-enamido)-2-methyldodec-2-enoate (61) の合成

60 (11.0 mg, 0.026 mmol) のCH_2Cl_2 (1 mL) 溶液に TFA (80 µL, 1.1 mmol, 47 equiv.) を加え、開放系、室温で1.5 時間撹拌した。その後、飽和$NaHCO_3$ 水溶液を加え、EtOAcで抽出し、有機層を飽和$NaHCO_3$ 水溶液、食塩水で洗浄後、Na_2SO_4で乾燥させた。溶媒を減圧留去して得られた粗生成物のCH_2Cl_2 (1 mL) 溶液に**25** (4.1 mg, 0.035 mmol, 1.6 equiv.)、HOBt (5.0 mg, 0.037 mmol, 1.6 equiv.)、Et_3N (31 µL, 0.22 mmol, 9.8 equiv.)、EDCI・HCl (7.1 mg, 0.037 mmol, 1.6 equiv.)を加え、室温で7 時間撹拌した。その後、飽和$NaHCO_3$ 水溶液を加え、EtOAcで抽出し、有機層を飽和$NaHCO_3$ 水溶液、食塩水で洗浄後、Na_2SO_4で乾燥させた。溶媒を減圧留去して得られた粗生成物を、シリカゲルカラムクロマトグラフィー (Hexane: AcOEt = 3 : 1) で精製し、無色の粘性液体として**61**, **62** (6.8 mg, 72%, 2 steps) を得た。

61 : ^{1}H-NMR (600 MHz, $CDCl_3$) δ: 6.73 (1H, t, *J* = 7.1 Hz), 5.80 (1H, s), 5.14 (1H, s), 4.16 (2H, q, *J* = 7.1 Hz), 3.59 (3H, br s), 3.40 – 3.23 (2H, m), 3.03 - 2.88 (3H, m), 2.27 – 2.10 (7H, m), 2.05(2H, t, *J* = 7.4 Hz), 1.80(3H, s), 1.73 – 1.59 (2H, m), 1.52 – 1.08 (9H, m).

^{13}C-NMR (150 MHz, $CDCl_3$) δ: 168.7, 168.4, 142.3, 142.1, 141.4, 127.9, 113.0, 112.5, 91.3, 91.0, 60.5, 55.0, 49.8, 47.4, 36.1, 33.5, 32.3, 31.7, 30.0, 29.2, 28.7, 28.4, 26.9, 26.2, 25.7, 18.9, 14.4, 12.5. IR (KBr): 2929, 1651, 1442, 1241, 1119 cm^{-1}. MS (ESI-TOF) *m/z*: 436 $[M+Na]^+$. HRMS (ESI-TOF) *m/z*: 436.2231 calcd for $C_{22}H_{36}NO_4{}^{35}ClNa$; Found: 436.2214.

***tert*-Butyl (*E*)-methyl(3-(2-(7-methyl-8-(methyl(naphthalen-1-ylmethyl)amino)-8-oxooct-6-en-1-yl)-1,3-dithian-2-yl)propyl)carbamate (64)** の合成

37 (101 mg, 0.23 mmol) のCH_2Cl_2 (5 mL) 溶液に**63** (77.5 mg, 0.45 mmol, 2 equiv.)、HOBt (42.8 mg, 0.32 mmol, 1.4 equiv.)、Et_3N (265 µL, 1.9 mmol, 8.4 equiv.)、EDCI・HCl (60.7 mg, 0.32

mmol, 1.4 equiv.)を加え、室温で8 時間撹拌した。その後、飽和$NaHCO_3$ 水溶液を加え、EtOAcで抽出し、有機層を飽和$NaHCO_3$ 水溶液、食塩水で洗浄後、Na_2SO_4で乾燥させた。溶媒を減圧留去して得られた粗生成物を、シリカゲルカラムクロマトグラフィー(Hexane : AcOEt = 3 : 1) で精製し、無色の粘性液体として**64** (124 mg, 91%) を得た。

^{1}H-NMR (600 MHz, $CDCl_3$) δ: 8.01 – 7.72 (3H, m), 7.55 – 7.35 (3H, m), 7.35 – 7.24 (1H, br s), 5.51 (1H, br s), 5.02 (2H, s), 3.16 (2H, br s), 2.74 – 2.60 (10H, br), 2.08 – 1.93 (2H, br s), 1.92 – 1.65 (9H, m), 1.62 – 1.51 (2H, br s), 1.48 – 0.73 (15H, m). ^{13}C-NMR (150 MHz, $CDCl_3$) δ: 173.3, 155.6, 133.7, 132.4, 131.1, 128.5, 126.4, 126.3, 125.9, 125.8, 125.1, 123.8 104.9, 79.1, 52.8, 48.7, 38.2, 35.8, 34.8, 34.0, 29.3, 28.5, 28.4, 27.3, 25.8, 25.4, 25.3, 25.2, 23.7, 22.7, 14.2. IR (KBr): 2936, 1685, 1616, 1398, 1216, 1153, 755 cm^{-1}. MS (ESI-TOF) *m/z*: 621 $[M+Na]^+$. HRMS (ESI-TOF) *m/z*: 621.3161 calcd for $C_{34}H_{50}N_2O_3S_2Na$; Found: 621.3172.

***tert*-Butyl (*E*)-methyl(11-methyl-12-(methyl(naphthalen-1-ylmethyl)amino)-4,12-dioxododec-10-en-1-yl)carbamate (65)** の合成

64 (124 mg, 0.21 mmol) に対してCH_3CN (6 mL)、飽和$NaHCO_3$ 水溶液 (3 mL)、I_2 (105 mg, 0.41 mmol, 2 equiv.) を加え、開放系、室温で1 時間撹拌した。その後、飽和$Na_2S_2O_3$ / $NaHCO_3$ 水溶液を加え、EtOAcで抽出し、有機層を飽和$Na_2S_2O_3$ / $NaHCO_3$ 水溶液、食塩水で洗浄後、Na_2SO_4で乾燥させた。溶媒を減圧留去して得られた粗生成物を、シリカゲルカラムクロマトグラフィー(Hex : AcOEt = 1 : 1) で精製し、無色の粘性液体として**65** (59.5 mg, 57%) を得た。

^{1}H-NMR (600 MHz, $CDCl_3$) δ: 8.03 (1H, br s), 7.84 (1H, d, *J* = 7.2 Hz), 7.77 (1H, d, *J* = 8.2 Hz), 7.56 – 7.44 (2H, m), 7.41 (1H, br s), 7.32 (1H, br s), 5.51 (1H, br s), 5.03 (2H, s), 3.16 (2H, br s), 3.09 – 2.56 (6H, m), 2.31 (4H, br s), 1.97 (2H, m), 1.83 (3H, s), 1.78 – 1.63 (2H, m), 1.63 – 0.61 (15H, m). ^{13}C-NMR (150 MHz, $CDCl_3$) δ: 210.1, 173.4, 155.8, 133.8, 132.5, 131.5, 131.1, 128.7,

128.3, 127.14, 126.4, 126.0, 125.3, 123.9, 122.8, 122.3, 79.3, 52.6, 48.0, 47.76, 42.6, 39.4, 35.9, 34.0, 29.7, 28.8, 28.6, 28.4, 27.3, 23.4, 21.7, 14.3. IR (KBr): 2930, 1692, 1622, 1396, 1168 cm^{-1}. MS (ESI-TOF) *m/z*: 531 $[M+Na]^+$. HRMS (ESI-TOF) *m/z*: 531.3199 calcd for $C_{31}H_{44}N_2O_4Na$; Found: 531.3174.

***tert*-Butyl ((10*E*)-4-(chloromethylene)-11-methyl-12-(methyl(naphthalen-1-ylmethyl)amino)-12-oxododec-10-en-1-yl)(methyl)carbamate (66)** の合成

$PPh_3PCH_2Cl_2$ (79.6 mg, 0.23 mmol, 3 equiv.) のTHF (2 mL) 溶液にLiHMDS (THF 1 M solution, 230 µL, 0.23 mmol, 3 equiv.) を加え、室温で0.5 時間撹拌した。その後、**59** (39.0 mg, 0.077 mmol) のTHF (1 mL) 溶液を加え、さらに2回THF (1 mL) で洗いこんだ後、室温で2 時間撹拌した。その後、飽和NH_4Cl 水溶液を加え、EtOAcで抽出し、有機層を飽和NH_4Cl 水溶液、食塩水で洗浄後、Na_2SO_4で乾燥させた。溶媒を減圧留去して得られた粗生成物を、シリカゲルカラムクロマトグラフィー(Hex : AcOEt = 1 : 1) で精製し、無色の粘性液体として**66** (28.9 mg, 70%)を得た。

^{1}H-NMR (600 MHz, $CDCl_3$) δ: 8.06 (1H, br s), 7.90 – 7.75 (2H, m), 7.54 – 7.29 (4H, m), 5.83 – 5.42 (2H, m), 5.07 (2H, s), 3.26 – 2.60 (8H, m), 2.24 – 1.71 (9H, m), 1.56 (2H, br s), 1.50 – 0.74 (15H, m). ^{13}C-NMR (150 MHz, $CDCl_3$) δ: 173.5, 155.82, 155.80, 142.0, 133.9, 132.6, 131.3, 128.8, 128.4, 127.3, 126.5, 126.1, 125.3, 124.0, 112.4, 79.4, 79.3, 52.7, 48.4, 36.0, 34.7, 34.3, 31.9, 30.0, 29.1, 28.7, 28.6, 28.5, 28.4, 27.5, 27.4, 26.8, 25.8, 25.3, 14.4. IR (KBr): 2931, 1686, 1616, 1397, 1216, 754 cm^{-1}. MS (ESI-TOF) *m/z*: 563 $[M+Na]^+$. HRMS (ESI-TOF) *m/z*: 563.3016 calcd for $C_{32}H_{45}N_2O_3{}^{35}ClNa$; Found: 563.3020.

(2*E*,9*E*)-9-(Chloromethylene)-12-((*E*)-3-methoxy-*N*-methylbut-2-enamido)-*N*,2-dimethyl-*N*-(naphthalen-1-ylmethyl)dodec-2-enamide (67) の合成

66 (29.0 mg, 0.057 mmol) のCH_2Cl_2 (1 mL) 溶液に TFA (83 µL, 1.1 mmol, 20 equiv.) を加え、開放系、室温で1 時間撹拌した。その後、飽和$NaHCO_3$ 水溶液を加え、EtOAcで抽出し、有機層を飽和$NaHCO_3$ 水溶液、食塩水で洗浄後、Na_2SO_4で乾燥させた。溶媒を減圧留去して得られた粗生成物のCH_2Cl_2 (1 mL) 溶液に**25** (9.3 mg, 0.080 mmol, 1.4 equiv.)、HOBt (10.8 mg, 0.080 mmol, 1.4 equiv.)、Et_3N (32 µL, 0.23 mmol, 4 equiv.)、EDCI・HCl (15.4 mg, 0.080 mmol, 1.4 equiv.)を加え、室温で2.5 時間撹拌した。その後、飽和$NaHCO_3$ 水溶液を加え、EtOAcで抽出し、有機層を飽和$NaHCO_3$ 水溶液、食塩水で洗浄後、Na_2SO_4で乾燥させた。溶媒を減圧留去して得られた粗生成物を、シリカゲルカラムクロマトグラフィー (Hexane: AcOEt = 1 : 2) で精製し、無色の粘性液体として**67**, **68** (8.0 mg, 26%, 2 steps) を得た。

67 : ^{1}H-NMR (600 MHz, $CDCl_3$) δ: 7.96 – 7.32 (7H, m), 5.77 (1H, s), 5.57 (1H, br), 5.15 (1H, m), 5.07 (2H, s), 3.61 (3H, s), 3.32 (2H, br), 3.12 – 2.58 (6H, br), 2.18 (3H, s), 2.03 (6H, br), 1.86 (3H, s), 1.66 – 1.25 (8H, br). ^{13}C-NMR (150 MHz, $CDCl_3$) δ: 174.1, 167.9, 164.0, 133.9, 132.5, 131.9, 131.4, 131.0, 128.9, 128.5, 127.2, 126.6, 126.1, 125.4, 124.0, 113.0, 112.4, 91.3, 91.0, 68.3, 55.0, 49.8, 47.4, 38.8, 36.1, 33.5, 32.2, 31.6, 30.5, 30.0, 29.8, 29.0, 28.7, 27.6, 26.9, 26.2, 25.7, 23.8, 23.7, 23.1, 18.9, 14.4, 14.2, 11.1. IR (KBr): 2930, 1728, 1275, 1123 cm^{-1}. MS (ESI-TOF) *m/z*: 561 $[M+Na]^+$. HRMS (ESI-TOF) *m/z*: 561.2860 calcd for $C_{32}H_{43}N_2O_3{}^{35}ClNa$; Found: 561.2850.

(2*E*,9*E*)-9-(Chloromethylene)-*N*,2-dimethyl-12-(*N*-methylacetamido)-*N*-(thiazol-2-ylmethyl)dodec-2-enamide (**69**) の合成

40 (10.2 mg, 0.020 mmol) のCH_2Cl_2 (1 mL) 溶液に TFA (46 µL, 0.62 mmol, 30 equiv.) を加え、開放系、室温で1 時間撹拌した。その後、飽和$NaHCO_3$ 水溶液を加え、EtOAcで抽出し、有機層を飽和$NaHCO_3$ 水溶液、食塩水で洗浄後、Na_2SO_4で乾燥させた。溶媒を減圧留去して得られた粗生成物のCH_2Cl_2 (1 mL) 溶液に、DMAP (3.8 mg, 0.031 mmol, 1.5 equiv.)、Et_3N (60 µL, 0.43 mmol, 21 equiv.)、AcCl (10 µL, 0.14 mmol, 6.9 equiv.) を加え、室温で1 時間撹拌した。

その後、飽和$NaHCO_3$ 水溶液を加え、EtOAcで抽出し、有機層を飽和$NaHCO_3$ 水溶液、食塩水で洗浄後、Na_2SO_4で乾燥させた。溶媒を減圧留去して得られた粗生成物を、シリカゲルカラムクロマトグラフィー (Hexane: AcOEt = 1 : 5) で精製し、無色の粘性液体として**69**, **70** (9.1 mg, quant., 2 steps) を得た。

69 : ^{1}H NMR (600 MHz, $CDCl_3$) δ: 7.71 (1H, br s), 7.32 (1H, br s), 5.83 – 5.74 (1H, m), 5.63 (1H, br s), 4.86 (2H, s), 3.38 – 3.18 (2H, m), 3.09 – 2.93 (3H, m), 2.92 – 2.86 (3H, m), 2.24 – 1.97 (9H, m), 1.85 (3H, s), 1.72 – 1.53 (2H, m), 1.46 – 1.110 (6H, m). ^{13}C-NMR (150 MHz, $CDCl_3$) δ: 173.9, 170.6, 170.4, 166.9, 142.4, 142.0, 141.3, 132.4, 131.0, 130.8, 120.2, 113.2, 113.1, 112.6, 50.3, 48.6, 47.3, 37.1, 36.3, 34.8, 33.3, 32.1, 31.8, 30.0, 30.0, 29.8, 29.2, 29.0, 28.7, 28.7, 27.7, 27.7, 27.5, 27.5, 27.4, 27.0, 26.9, 26.3, 25.9, 25.4, 24.8, 22.1, 21.4, 14.4. IR (KBr): 2928, 2857, 1635, 1395 cm^{-1}. MS (ESI-TOF) *m/z*: 462 $[M+Na]^+$. HRMS (ESI-TOF) *m/z*: 462.1958 calcd for $C_{22}H_{34}N_3O_2S^{35}ClNa$; Found: 462.1936.

***tert*-Butyl (4-(methoxy(methyl)amino)-4-oxobutyl)carbamate (72)** の合成

71 (200 mg, 0.98 mmol) のCH_2Cl_2 (5 mL) 溶液にMeONHMe・HCl (137 mg, 1.4 mmol, 1.1 equiv.)、HOBt (186 mg, 1.4 mmol, 1.4 equiv.)、Et_3N (548 μL, 3.9 mmol, 4 equiv.)、EDCI・HCl (264 mg, 1.4 mmol, 1.4 equiv.)を加え、室温で12 時間撹拌した。その後、飽和$NaHCO_3$ 水溶液を加え、EtOAcで抽出し、有機層を飽和$NaHCO_3$ 水溶液、食塩水で洗浄後、Na_2SO_4で乾燥させた。溶媒を減圧留去して得られた粗生成物を、シリカゲルカラムクロマトグラフィー(Hex : AcOEt = 1 : 1) で精製し、無色の粘性液体として**72** (216 mg, 89%)を得た。

^{1}H NMR (600 MHz, $CDCl_3$) δ: 4.76 (1H, br), 3.65 (3H, s), 3.30 – 2.95 (5H, m), 2.44 (2H, s), 1.79 (2H, m), 1.40 (3H, s). ^{13}C-NMR (150 MHz, $CDCl_3$) δ: 174.2, 156.1, 79.2, 61.3, 40.4, 32.3, 29.3, 28.5, 24.9. IR (KBr): 3347 (br), 2975, 1711, 1523, 1173 cm^{-1}. MS (ESI-TOF) *m/z*: 269 $[M+Na]^+$. HRMS (ESI-TOF) *m/z*: 269.1477 calcd for $C_{11}H_{22}N_2O_4Na$; Found: 269.1464.

***tert*-Butyl methyl(4-oxopentyl)carbamate (73)** の合成

72 (154 mg, 0.62 mmol) のDMF (3 mL) 溶液にNaH (60% in oil, 37.4 mg, 0.93 mmol, 1.5 equiv.) を加え、氷冷下で15 分間撹拌した後、MeI (388 µL, 6.2 mmol, 10 equiv.) を加え、さらに室温で12 時間撹拌した。その後、飽和NH_4Cl 水溶液を加え、EtOAcで抽出し、有機層を飽和NH_4Cl 水溶液、食塩水で洗浄後、Na_2SO_4で乾燥させた。溶媒を減圧留去して得られた粗生成物を、シリカゲルカラムクロマトグラフィー(Hex : AcOEt = 1 : 1) で精製し、***tert*-butyl (4-(methoxy(methyl)amino)-4-oxobutyl)(methyl)carbamate** (148 mg, 91%) を得た。

^{1}H NMR (600 MHz, $CDCl_3$) δ: 3.63 (3H, s), 3.23 (2H, t, *J* = 6.9 Hz), 3.13 (3H, s), 2.81 (3H, s), 2.38 (2H, s), 1.87 – 1.71 (2H, m), 1.41 (9H, s). ^{13}C-NMR (150 MHz, $CDCl_3$) δ: 174.1, 155.9, 79.3, 61.2, 48.3, 34.1, 32.2, 28.9, 28.5, 22.7. IR (KBr): 2974, 1693, 1392, 1172 cm^{-1}. MS (ESI-TOF) *m/z*: 283 $[M+Na]^+$. HRMS (ESI-TOF) *m/z*: 283.1634 calcd for $C_{12}H_{24}N_2O_4Na$; Found: 283.1631.

***tert*-Butyl (4-(methoxy(methyl)amino)-4-oxobutyl)(methyl)carbamate** (90.9 mg, 0.35 mmol) のEt_2O (1 mL) 溶液にCH_3Li (Et_2O 3.0 M solution, 128 µL, 0.38 mmol, 1.1 equiv.) を加え、氷冷下で0.5 時間撹拌した。その後、飽和NH_4Cl 水溶液を加え、EtOAcで抽出し、有機層を飽和NH_4Cl 水溶液、食塩水で洗浄後、Na_2SO_4で乾燥させた。溶媒を減圧留去して得られた粗生成物を、シリカゲルカラムクロマトグラフィー(Hex : AcOEt = 3 : 1) で精製し、無色の粘性液体として**73** (56.4 mg, 75%) を得た。

スペクトルデータは既存のものと一致した[58]。

***tert*-Butyl (5-chloro-4-methylpent-4-en-1-yl)(methyl)carbamate (74)** の合成

$PPh_3PCH_2Cl_2$ (156 mg, 0.45 mmol, 3 equiv.) のTHF (1 mL) 溶液にLiHMDS (THF 1 M solution, 436 µL, 0.44 mmol, 2.9 equiv.) を加え、室温で15 分間撹拌した。その後、**73** (32.4 mg, 0.15

mmol) のTHF (0.5 mL) 溶液を加え、さらに2回THF (0.5 mL) で洗いこんだ後、室温で0.5 時間撹拌した。その後、飽和NH_4Cl 水溶液を加え、EtOAcで抽出し、有機層を飽和NH_4Cl 水溶液、食塩水で洗浄後、Na_2SO_4で乾燥させた。溶媒を減圧留去して得られた粗生成物を、シリカゲルカラムクロマトグラフィー(Hex : AcOEt = 8 : 1) で精製し、無色の粘性液体として**74** (39.7 mg, quant.)を得た。

^{1}H NMR (600 MHz, $CDCl_3$) δ: 5.80 – 5.68 (1H, m), 3.13 (2H, br s), 2.79 (3H, br s), 2.20 – 2.09 (1H, t, *J* = 7.6 Hz), 1.99 (1H, t, *J* = 7.6 Hz), 1.77 – 1.67 (3H, m), 1.63 – 1.53 (2H, quint, *J* = 7.6 Hz), 1.40 (9H, s). ^{13}C-NMR (150 MHz, $CDCl_3$) δ: 155.7, 137.9, 112.3, 112.0, 79.3, 79.2, 48.8, 48.4, 48.2, 48.1, 34.2, 29.1, 28.5, 28.3, 25.7, 25.6, 25.1, 24.7, 20.8, 16.4. IR (KBr): 2975, 1696, 1393, 1166 cm^{-1}. MS (ESI-TOF) *m/z*: 270 $[M+Na]^+$. HRMS (ESI-TOF) *m/z*: 270.1237 calcd for $C_{12}H_{22}NO_2{}^{35}ClNa$; Found: 270.1249.

(*E*)-*N*-((*E*)-5-Chloro-4-methylpent-4-en-1-yl)-3-methoxy-*N*-methylbut-2-enamide (**75**) の合成

74 (39.7 mg, 0.16 mmol) のCH_2Cl_2 (1 mL) 溶液に TFA (120 µL, 1.6 mmol, 10 equiv.) を加え、開放系、室温で2.5 時間撹拌した。その後、飽和$NaHCO_3$ 水溶液を加え、EtOAcで抽出し、有機層を飽和$NaHCO_3$ 水溶液、食塩水で洗浄後、Na_2SO_4で乾燥させた。溶媒を減圧留去して得られた粗生成物のCH_2Cl_2 (1 mL) 溶液に**25** (27.9 mg, 0.24 mmol, 1.5 equiv.)、HOBt (32.4 mg, 0.24 mmol, 1.5 equiv.)、Et_3N (180 µL, 1.3 mmol, 8 equiv.)、EDCI・HCl (45.8 mg, 0.24 mmol, 1.5 equiv.)を加え、室温で1 時間撹拌した。その後、飽和$NaHCO_3$ 水溶液を加え、EtOAcで抽出し、有機層を飽和$NaHCO_3$ 水溶液、食塩水で洗浄後、Na_2SO_4で乾燥させた。溶媒を減圧留去して得られた粗生成物を、シリカゲルカラムクロマトグラフィー (Hexane: AcOEt = 2 : 1) で精製し、無色の粘性液体として**75**, **76** (9.7 mg, 25%, 2 steps) を得た。

75 : ^{1}H NMR (600 MHz, $CDCl_3$) δ: 5.81 (1H, s), 5.14 (1H, s), 3.59 (3H, s), 3.32 (2H, m), 2.99 – 2.85 (3H, m), 2.18 (3H, s), 2.06 (2H, t, *J* = 7.6 Hz), 1.77 (3H, s), 1.68 (2H, m). ^{13}C-NMR (150 MHz,

$CDCl_3$) δ: 168.7, 168.3, 168.2, 138.2, 137.5, 112.9, 112.3, 91.3, 91.0, 55.0, 49.7, 47.4, 36.1, 34.6, 34.0, 33.5, 26.0, 25.5, 18.9, 16.5. IR (KBr): 2932, 1650, 1380, 1240, 1158 cm^{-1}. MS (ESI-TOF) *m/z*: 268 $[M+Na]^+$. HRMS (ESI-TOF) *m/z*: 268.1080 calcd for $C_{12}H_{20}NO_2{}^{35}ClNa$; Found: 268.1088.

(*E*)-2-Methylhept-2-enoic acid (**78**) の合成

77 (295 mg, 1.7 mmol) に対し、H_2O / MeOH / THF (1 / 1 / 1, 9 mL)、LiOH (83.1 mg, 3.5 mmol, 2 equiv.) を加え、開放系、室温で20 時間撹拌した。その後、HCl 水溶液 (5%) を加え、EtOAcで抽出し、有機層を食塩水で洗浄後、Na_2SO_4で乾燥させた。溶媒を減圧留去して得られた粗生成物を、シリカゲルカラムクロマトグラフィー(Hex : AcOEt = 5 : 1) で精製し、無色の粘性液体として**78** (208 mg, 84%) を得た。

^{1}H NMR (600 MHz, $CDCl_3$) δ: 12.62 (1H, s), 6.89 (1H, t, *J* = 7.6 Hz), 2.20 – 2.11 (2H, m), 1.79 (3H, s), 1.44 – 1.25 (4H, m), 0.87 (3H, t, *J* = 7.3 Hz). ^{13}C-NMR (150 MHz, $CDCl_3$) δ: 174.1, 145.3, 127.1, 30.6, 28.6, 22.5, 13.7, 11.8. IR (KBr): 2959 (br), 1686, 1281 cm^{-1}. MS測定においては、カルボン酸のNa塩のスペクトルが得られた。MS (ESI-TOF) *m/z*: 187 $[M+Na]^+$. HRMS (ESI-TOF) *m/z*: 187.0711 calcd for $C_8H_{13}O_2Na_2$; Found: 187.0715.

(*E*)-*N*,2-Dimethyl-*N*-(thiazol-2-ylmethyl)hept-2-enamide (**79**) の合成

78 (63.5 mg, 0.45 mmol) のCH_2Cl_2 (5 mL) 溶液に**20** (114 mg, 0.89 mmol, 2 equiv.)、HOBt (84.5 mg, 0.63 mmol, 1.4 equiv.)、Et_3N (523 µL, 3.8 mmol, 6 equiv.)、EDCI・HCl (120 mg, 0.63 mmol, 1.4 equiv.)を加え、室温で24 時間撹拌した。その後、飽和$NaHCO_3$ 水溶液を加え、EtOAcで抽出し、有機層を飽和$NaHCO_3$ 水溶液、食塩水で洗浄後、Na_2SO_4で乾燥させた。溶媒を減圧留去して得られた粗生成物を、シリカゲルカラムクロマトグラフィー(Hex : AcOEt = 1 : 1) で精製し、無色の粘性液体として**79** (103 mg, 91%) を得た。

^{1}H-NMR (600 MHz, $CDCl_3$) δ: 7.64 (1H, br s), 7.26 (1H, br s), 5.58 (1H, s), 4.81 (2H, br s), 2.97 (3H, s), 2.03 (2H, q, *J* = 6.9 Hz), 1.79 (3H, s), 1.30 (2H, br s), 1.24 (2H, br s), 0.81 (3H, t, *J* = 6.8 Hz). ^{13}C-NMR (150 MHz, $CDCl_3$) δ: 173.6, 166.6, 141.9, 132.2, 130.3, 129.8, 119.9, 47.8, 36.1, 30.74, 27.1, 22.1, 14.0, 13.7. IR (KBr): 2927, 1631, 1393, 1074 cm^{-1}. MS (ESI-TOF) *m/z*: 275 $[M+Na]^+$. HRMS (ESI-TOF) *m/z*: 275.1194 calcd for $C_{13}H_{20}N_2OSNa$; Found: 275.1201.

第三章の実験

***tert*-Butyl (*E*)-methyl(3-(2-(7-methyl-8-oxo-8-(prop-2-yn-1-ylamino)oct-6-en-1-yl)-1,3-dithian-2-yl)propyl)carbamate (81)** の合成

37 (85.4 mg, 0.19 mmol) のCH_2Cl_2 (2 mL) 溶液に**80** (18 μL, 0.28 mmol, 1.5 equiv.)、HOBt (39.3 mg, 0.29 mmol, 1.5 equiv.)、Et_3N (160 μL, 1.1 mmol, 6 equiv.)、EDCI・HCl (55.2 mg, 0.29 mmol, 1.5 equiv.)を加え、室温で8 時間撹拌した。その後、飽和$NaHCO_3$ 水溶液を加え、EtOAcで抽出し、有機層を飽和$NaHCO_3$ 水溶液、食塩水で洗浄後、Na_2SO_4で乾燥させた。溶媒を減圧留去して得られた粗生成物を、シリカゲルカラムクロマトグラフィー(Hex : AcOEt = 2 : 1) で精製し、無色の粘性液体として**81** (71.0 mg, 77%) を得た。

^{1}H-NMR (600 MHz, $CDCl_3$) δ: 6.35 (1H, t, *J* = 7.0 Hz), 6.00 (1H, s), 4.07 (2H, br s), 3.20 (2H, br s), 2.88 – 2.67 (7H, m), 2.22 (1H, br s), 2.15 – 2.07 (2H, m), 1.91 (2H, br s), 1.84 – 1.74 (7H, m), 1.65 – 1.57 (2H, m), 1.47 – 1.34 (13H, m), 1.34 – 1.19 (2H, m). ^{13}C-NMR (150 MHz, $CDCl_3$) δ: 171.4, 169.0, 155.9, 144.0, 137.1, 130.2, 127.3, 79.9, 79.4, 71.6, 53.0, 48.8, 38.4, 35.1, 34.2, 29.5, 29.5, 28.8, 28.7, 28.6, 28.5, 28.4, 28.3, 27.8, 26.0, 25.5, 23.9, 22.8, 12.7, 12.3. IR (KBr): 3304 (br), 2933, 1692, 1394, 1151 cm^{-1}. MS (ESI-TOF) *m/z*: 505 $[M+Na]^+$. HRMS (ESI-TOF) *m/z*: 505.2535 calcd for $C_{25}H_{42}N_2O_3S_2Na$; Found: 505.2514.

***tert*-Butyl (*E*)-methyl(11-methyl-4,12-dioxo-12-(prop-2-yn-1-ylamino)dodec-10-en-1-yl)carbamate (82)** の合成

81 (71.0 mg, 0.15 mmol) に対してCH_3CN (2 mL)、飽和$NaHCO_3$ 水溶液 (1 mL)、I_2 (112 mg, 0.51 mmol, 3 equiv.) を加え、開放系、室温で15 分間撹拌した。その後、飽和$Na_2S_2O_3$ / $NaHCO_3$ 水溶液を加え、EtOAcで抽出し、有機層を飽和$Na_2S_2O_3$ / $NaHCO_3$ 水溶液、食塩水で洗浄後、Na_2SO_4で乾燥させた。溶媒を減圧留去して得られた粗生成物を、シリカゲルカラムクロマトグラフィー(Hex : AcOEt = 1 : 1) で精製し、無色の粘性液体として**82** (48.6 mg, 84%) を得た。

^{1}H-NMR (600 MHz, $CDCl_3$) δ: 6.50 – 6.21 (2H, m), 3.97 (2H, br s), 3.09 (2H, br s), 2.70 (3H, s), 2.29 (4H, br s), 2.14 (1H, br s), 2.03 (2H, br s), 1.85 – 1.59 (5H, m), 1.46 (2H, br s), 1.40 – 1.25 (11H, m), 1.19 (2H, br s). ^{13}C-NMR (150 MHz, $CDCl_3$) δ: 210.4, 210.1, 168.9, 155.8, 155.6, 136.6, 130.2, 79.9, 79.1, 71.1, 48.0, 47.4, 42.5, 39.3, 33.9, 29.2, 29.1, 28.8, 28.7, 28.3, 28.0, 23.4, 21.7, 21.3, 12.5. IR (KBr): 3310 (br), 2931, 1691, 1395, 1152 cm^{-1}. MS (ESI-TOF) *m/z*: 415 $[M+Na]^+$. HRMS (ESI-TOF) *m/z*: 415.2573 calcd for $C_{22}H_{36}N_2O_4Na$; Found: 415.2559.

***tert*-Butyl ((10*E*)-4-(chloromethylene)-11-methyl-12-oxo-12-(prop-2-yn-1-ylamino)dodec-10-en-1-yl)(methyl)carbamate (83)** の合成

$PPh_3PCH_2Cl_2$ (129 mg, 0.37 mmol, 3 equiv.) のTHF (2 mL) 溶液にLiHMDS (THF 1 M solution, 370 µL, 0.37 mmol, 3 equiv.) を加え、室温で15 分間撹拌した。その後、**82** (48.6 mg, 0.12 mmol) のTHF (1 mL) 溶液を加え、さらに2回THF (1 mL) で洗いこんだ後、室温で2 時間撹拌した。その後、飽和NH_4Cl 水溶液を加え、EtOAcで抽出し、有機層を飽和NH_4Cl 水溶液、食塩水で洗浄後、Na_2SO_4で乾燥させた。溶媒を減圧留去して得られた粗生成物を、

シリカゲルカラムクロマトグラフィー(Hex : AcOEt = 1 : 1) で精製し、無色の粘性液体として**83** (55.1 mg, quant.)を得た。

^{1}H-NMR (600 MHz, $CDCl_3$) δ: 6.37 (1H, br s), 6.00 (1H, br s), 5.78 (1H, br s), 4.12 – 3.91 (2H, m), 3.16 (2H, br s), 2.81 (3H, br s), 2.27 – 1.90 (7H, m), 1.83 (3H, br s), 1.65 – 1.48 (2H, m), 1.48 – 1.05 (15H, m). ^{13}C-NMR (150 MHz, $CDCl_3$) δ: 169.0, 155.8, 141.9, 137.1, 132.3, 131.6, 130.2, 128.6, 128.6, 112.47, 79.9, 79.4, 79.3, 71.6, 49.0, 48.5, 48.2, 34.8, 34.3, 32.0, 30.4, 30.0, 29.8, 29.5, 29.2, 29.0, 28.6, 28.3, 28.3, 27.5, 27.4, 26.9, 25.9, 25.5, 25.1, 12.7. IR (KBr): 3308 (br), 2929, 1691, 1519, 1394, 1165 cm^{-1}. MS (ESI-TOF) *m/z*: 447 $[M+Na]^+$. HRMS (ESI-TOF) *m/z*: 447.2390 calcd for $C_{23}H_{37}N_2O_3{}^{35}ClNa$; Found: 447.2372.

(2*E*,9*E*)-9-(Chloromethylene)-12-((*E*)-3-methoxy-*N*-methylbut-2-enamido)-2-methyl-*N*-(prop-2-yn-1-yl)dodec-2-enamide (**84**) の合成

83 (23.4 mg, 0.055 mmol) のCH_2Cl_2 (1 mL) 溶液に TFA (83 µL, 1.1 mmol, 20 equiv.) を加え、開放系、室温で2.5 時間撹拌した。その後、飽和$NaHCO_3$ 水溶液を加え、EtOAcで抽出し、有機層を飽和$NaHCO_3$ 水溶液、食塩水で洗浄後、Na_2SO_4で乾燥させた。溶媒を減圧留去して得られた粗生成物のCH_2Cl_2 (1 mL) 溶液に**25** (9.6 mg, 0.083 mmol, 1.5 equiv.)、HOBt (11.1 mg, 0.082 mmol, 1.5 equiv.)、Et_3N (31 µL, 0.22 mmol, 4 equiv.)、EDCI・HCl (15.8 mg, 0.082 mmol, 1.5 equiv.)を加え、室温で11 時間撹拌した。その後、飽和$NaHCO_3$ 水溶液を加え、EtOAcで抽出し、有機層を飽和$NaHCO_3$ 水溶液、食塩水で洗浄後、Na_2SO_4で乾燥させた。溶媒を減圧留去して得られた粗生成物を、シリカゲルカラムクロマトグラフィー (Hexane: AcOEt = 3 : 1) で精製し、無色の粘性液体として**84**, **85** (17.2 mg, 74%, 2 steps) を得た。

84 : ^{1}H-NMR (600 MHz, $CDCl_3$) δ: 6.37 (1H, s), 6.03 (1H, br s), 5.79 (1H, s), 5.14 (1H, s), 4.08 (2H, s), 3.69 – 3.47 (3H, m), 3.44 – 3.15 (2H, m), 3.08 – 2.85 (3H, m), 2.33 – 1.96 (10H, m), 1.83 (3H, s), 1.64 (2H, br s), 1.47 – 1.13 (6H, m). ^{13}C-NMR (150 MHz, $CDCl_3$) δ: 169.0, 168.6, 168.2, 142.1,

141.8, 141.2, 137.2, 137.1, 130.2, 113.3, 113.0, 112.7, 112.5, 91.3, 91.0, 79.9, 71.6, 55.0, 50.4, 50.1, 49.8, 47.6, 47.4, 36.1, 33.5, 33.4, 32.2, 32.0, 31.7, 30.4, 30.0, 29.9, 29.9, 29.8, 29. 6, 29.1, 28.9, 28.6, 28.3, 26.9, 26.9, 26.3, 26.2, 25.6, 25.2, 18.9, 12.7. IR (KBr): 3302 (br), 2930, 1639, 1240, 1162 cm^{-1}. MS (ESI-TOF) *m/z*: 445 $[M+Na]^+$. HRMS (ESI-TOF) *m/z*: 445.2234 calcd for $C_{23}H_{35}N_2O_3{}^{35}ClNa$; Found: 445.2212.

5-(3-(2-(2-(4-(((2*E*,9*E*)-9-(Chloromethylene)-12-((*E*)-3-methoxy-N-methylbut-2-enamido)-2-methyldodec-2-enamido)methyl)-1*H*-1,2,3-triazol-1-yl)ethoxy)ethyl)thioureido)-2-(6-hydroxy-3-oxo-3*H*-xanthen-9-yl)benzoic acid (**87**) の合成

84 (3.0 mg, 6.3 μmol) のMeOH (0.5 mL) 溶液に**86** (6.5 mg, 9.9 μmol, 1.6 equiv.)、CuI (0.4 mg, 2.1 μmol, 0.34 equiv.)、DIEPA (13 μL, 75 μmol, 12 equiv.)、TBTA (1.5 mg, 2.7 μmol, 0.43 equiv.)、sodium ascorbate (6.2 mg, 0.031 mmol, 5 equiv.)を加え、室温で2.5 時間撹拌した。その後、溶媒を減圧留去して得られた粗生成物を、シリカゲルカラムクロマトグラフィー (CH_3Cl : MeOH : H_2O = 100 : 3 : 1) で精製し、さらにHPLC (CH_3CN : H_2O = 3 : 2) で精製することで、黄色の粘性液体として**87** (0.9 mg, 13%) を得た。

^{1}H-NMR (600 MHz, $CDCl_3$) δ: 8.01 (1H, s), 6.67 - 6.4 (10H, m), 5.80 (1H, br), 5.19 (1H, br), 4.28 (1H, s), 4.44 – 3.37 (11H, m), 2.92 (1H, s), 2.81 (1H, s), 2.18 – 1.96 (8H, m), 1.72 (2H, br), 1.65 – 1.16 (8H, m).

***tert*-Butyl (*E*)-(3-(2-(8-((2-(2-(2-azidoethoxy)ethoxy)ethyl)amino)-7-methyl-8-oxooct-6-en-1-yl)-1,3-dithian-2-yl)propyl)(methyl)carbamate** (**89**) の合成

37 (36.1 mg, 0.081 mmol) の CH_2Cl_2 (1 mL) 溶液に **88** (21.0 mg, 0.12 mmol, 1.5 equiv.)、HOBt (16.5 mg, 0.12 mmol, 1.5 equiv.)、Et_3N (45 μL, 4.0 mmol, 4 equiv.)、EDCI・HCl (23.0 mg, 0.12 mmol, 1.5 equiv.)を加え、室温で 16.5 時間撹拌した。その後、飽和 $NaHCO_3$ 水溶液を加

え、EtOAc で抽出し、有機層を飽和 $NaHCO_3$ 水溶液、食塩水で洗浄後、Na_2SO_4 で乾燥させた。溶媒を減圧留去して得られた粗生成物を、シリカゲルカラムクロマトグラフィー (Hexane : AcOEt = 1 : 2) で精製し、無色の粘性液体として **89** (44.3 mg, 91%) を得た。

^{1}H-NMR (600 MHz, $CDCl_3$) δ: 6.35 (1H, t, *J* = 7.2 Hz), 6.20 (1H, br s), 3.68 – 3.52 (8H, m), 3.38 (2H, t, *J* = 4.8 Hz), 3.22 (2H, t, *J* = 6.3 Hz), 2.84 (3H, s), 2.79 (4H, m), 2.17 – 2.08 (2H, m), 1.97 – 1.73 (8H, m), 1.67 – 1.60 (2H, m), 1.48 – 1.36 (11H, m), 1.35 – 1.26 (6H, m). ^{13}C-NMR (150 MHz, $CDCl_3$) δ: 169.4, 155.8, 136.2, 130.6, 79.2, 70.5, 70.2, 70.0 (2C), 52.9, 50.6, 39.4, 38.3, 35.0, 34.1, 29.5, 28.6, 28.4, 28.2, 27.7, 25.9, 25.4, 24.1, 23.8, 22.7, 12.7. IR (KBr): 3451 (br), 2935, 2108, 1687, 1395, 1147, 755 cm^{-1}. MS (ESI-TOF) *m/z*: 624 $[M+Na]^+$. HRMS (ESI-TOF) *m/z*: 624.3229 calcd for $C_{28}H_{51}N_5O_5S_2Na$; Found: 624.3255.

***tert*-Butyl (*E*)-(12-((2-(2-(2-azidoethoxy)ethoxy)ethyl)amino)-11-methyl-4,12-dioxododec-10-en-1-yl)(methyl)carbamate (90)** の合成

89 (44.3 mg, 0.074 mmol) に対して CH_3CN (1.4 mL)、飽和 $NaHCO_3$ 水溶液 (0.7 mL)、I_2 (55.6 mg, 0.22 mmol, 3 equiv.) を加え、開放系、室温で 1.5 時間撹拌した。その後、飽和 $Na_2S_2O_3$ / $NaHCO_3$ 水溶液を加え、EtOAc で抽出し、有機層を飽和 $Na_2S_2O_3$ / $NaHCO_3$ 水溶液、食塩水で洗浄後、Na_2SO_4 で乾燥させた。溶媒を減圧留去して得られた粗生成物を、シリカゲルカラムクロマトグラフィー(AcOEt) で精製し、無色の粘性液体として **90** (33.8 mg, 90%) を得た。

^{1}H-NMR (600 MHz, $CDCl_3$) δ: 6.29 (1H, t, *J* = 6.9 Hz), 6.19 (1H, s), 3.67 – 3.57 (6H, m), 3.55 (2H, t, *J* = 4.9 Hz), 3.47 (2H, dd, *J* = 9.9, 4.8 Hz), 3.38 – 3.30 (2H, m), 3.16 (2H, br s), 2.77 (3H, s), 2.35 (4H, dd, *J* = 8.4, 5.8 Hz), 2.08 (2H, q, *J* = 7.2 Hz), 1.78 (3H, s), 1.76 – 1.68 (2H, m), 1.56 – 1.48 (2H, m), 1.44 – 1.32 (11H, m), 1.26 (2H, m). ^{13}C-NMR (150 MHz, $CDCl_3$) δ: 210.0, 169.3, 155.9, 135.9, 133.1, 132.0, 131.9, 131.8, 130.6, 128.4, 128.3, 81.6, 79.1, 70.4, 70.1, 69.9, 69.8, 50.5, 47.9, 47.5,

42.6, 42.4, 39.4, 39.3, 33.9, 28.8, 28.6, 28.4, 28.3, 28.0, 23.4, 21.5, 12.5. IR (KBr): 3361 (br), 2931, 2107, 1693, 1394, 1146 cm^{-1}. MS (ESI-TOF) *m/z*: 534 $[M+Na]^+$. HRMS (ESI-TOF) *m/z*: 534.3268 calcd for $C_{25}H_{45}N_5O_6Na$; Found: 534.3285.

(2*E*,9*E*)-*N*-(2-(2-(2-Azidoethoxy)ethoxy)ethyl)-9-(chloromethylene)-12-((*E*)-3-methoxy-*N*-methylbut-2-enamido)-2-methyldodec-2-enamide (92) の合成

$PPh_3PCH_2Cl_2$ (67.5 mg, 0.20 mmol, 3 equiv.) の THF (1 mL) 溶液に LiHMDS (THF 1 M solution, 190 µL, 0.19 mmol, 2.9 equiv.) を加え、室温で 10 分間撹拌した。その後、**90** (33.0 mg, 0.064 mmol) の THF (0.5 mL) 溶液を加え、さらに 2 回 THF (0.5 mL) で洗いこんだ後、室温で 2.5 時間撹拌した。その後、飽和 NH_4Cl 水溶液を加え、EtOAc で抽出し、有機層を飽和 NH_4Cl 水溶液、食塩水で洗浄後、Na_2SO_4 で乾燥させた。溶媒を減圧留去して得られた粗生成物を、シリカゲルカラムクロマトグラフィー(Hex : AcOEt = 1 : 3) で精製した。得られた液体の CH_2Cl_2 (1 mL) 溶液に TFA (97 µL, 0.13 mmol, 20 equiv.) を加え、開放系、室温で 2 時間撹拌した。その後、飽和 $NaHCO_3$ 水溶液を加え、EtOAc で抽出し、有機層を飽和 $NaHCO_3$ 水溶液、食塩水で洗浄後、Na_2SO_4 で乾燥させた。溶媒を減圧留去して得られた粗生成物の CH_2Cl_2 (1 mL) 溶液に **25** (11.3 mg, 0.097 mmol, 1.5 equiv.)、HOBt (13.0 mg, 0.097 mmol, 1.5 equiv.)、Et_3N (36 µL, 0.26 mmol, 4 equiv.)、EDCI・HCl (18.5 mg, 0.097 mmol, 1.5 equiv.)を加え、室温で 24 時間撹拌した。その後、飽和 $NaHCO_3$ 水溶液を加え、EtOAc で抽出し、有機層を飽和 $NaHCO_3$ 水溶液、食塩水で洗浄後、Na_2SO_4 で乾燥させた。溶媒を減圧留去して得られた粗生成物を、シリカゲルカラムクロマトグラフィー (AcOEt : MeOH = 50 : 1) で精製し、無色の粘性液体として **92**, **93** (13.4 mg, 38%, 3 steps) を得た。

92 : ^1H NMR (600 MHz, $CDCl_3$) δ: 6.35 (1H, br s), 6.19 (1H, br s), 5.80 (1H, s), 5.15 (1H, br s), 3.72 – 3.48 (13H, m), 3.42 – 3.24 (4H, m), 3.41 – 3.24 (4H, m), 3.03 – 2.88 (3H, m), 2.28 – 2.09 (7H, m), 2.05 (2H, t, *J* = 7.6 Hz), 1.83 (3H, s), 1.74 – 1.56 (2H, m), 1.50 – 1.37 (4H, m), 1.36 – 1.14 (2H,

m). ^{13}C-NMR (150 MHz, $CDCl_3$) δ: 169.5, 168.7, 168.2, 142.2, 141.5, 136.4, 130.8, 113.0, 112.5, 91.3, 91.1, 70.7, 70.3, 70.2, 70.1, 55.0, 50.7, 49.8, 47.4, 39.5, 36.2, 33.5, 32.3, 31.7, 30.1, 29.3, 28.7, 28.4, 27.0, 26.2, 25.7, 18.9, 12.8. IR (KBr): 2924, 1649, 1119 cm^{-1}. MS (ESI-TOF) *m/z*: 564 $[M+Na]^+$. HRMS (ESI-TOF) *m/z*: 564.2929 calcd for $C_{26}H_{44}N_5O_5{}^{35}ClNa$; Found: 564.2924.

(2a*R*,4*S*,4a*S*,6*R*,9*S*,11*S*,12*S*,12a*R*,12b*S*)-9-(((2*R*,3*S*)-3-Benzamido-3-phenyl-2-((triethylsilyl)oxy)propanoyl)oxy)-12-(benzoyloxy)-4,11-dihydroxy-4a,8,13,13-tetramethyl-5-oxo-3,4,4a,5,6,9,10,11,12,12a-decahydro-1*H*-7,11-methanocyclodeca[3,4]benzo[1,2-b]oxete-6,12b(2a*H*)-diyl diacetate (94) の合成

Taxol (11.1 mg, 0.013 mmol) のCH_2Cl_2 (1 mL) 溶液にEt_3N (7 µL, 0.052 mmol, 4 equiv.)、TESCl (3 µg, 0.018 mmol, 1.4 equiv.) を加え、室温で5 時間撹拌した。その後、飽和NH_4Cl 水溶液を加え、EtOAcで抽出し、有機層を飽和NH_4Cl 水溶液、食塩水で洗浄後、Na_2SO_4で乾燥させた。溶媒を減圧留去して得られた粗生成物を、シリカゲルカラムクロマトグラフィー(Hex : AcOEt = 1 : 1) で精製し、**94**(10.8 mg, 86%) を得た。

スペクトルデータは既存のものと一致した[59]。

(2a*R*,4*S*,4a*S*,6*R*,9*S*,11*S*,12*S*,12a*R*,12b*S*)-9-(((2*R*,3*S*)-3-Benzamido-3-phenyl-2-((triethylsilyl)-oxy)propanoyl)oxy)-12-(benzoyloxy)-4-(hex-5-ynoyloxy)-11-hydroxy-4a,8,13,13-tetramethyl-5-oxo-3,4,4a,5,6,9,10,11,12,12a-decahydro-1*H*-7,11-methanocyclodeca[3,4]benzo[1,2-b]oxete-6,12b(2a*H*)-diyl diacetate (96) の合成

94 (13.4 mg, 0.052 mmol) のCH_2Cl_2 (1 mL) 溶液にDMAP (2.2 mg, 0.017 mmol, 1.2 equiv.)、EDCI・HCl (11.7 mg, 0.061 mmol, 4.4 equiv.)、**95** (1.9 mg, 0.017 mmol, 1.2 equiv.) を加え、室温で9 時間撹拌した。その後、飽和$NaHCO_3$ 水溶液を加え、EtOAcで抽出し、有機層を飽和$NaHCO_3$ 水溶液、食塩水で洗浄後、Na_2SO_4で乾燥させた。溶媒を減圧留去して得られた粗

生成物を、シリカゲルカラムクロマトグラフィー (Hexane : AcOEt = 3 : 1) で精製し、**96** (10.3 mg, 70%) を得た。

スペクトルデータは既存のものと一致した[60]。

(2a*R*,4*S*,4a*S*,6*R*,9*S*,11*S*,12*S*,12a*R*,12b*S*)-9-(((2*R*,3*S*)-3-Benzamido-2-hydroxy-3-phenylpropanoyl)oxy)-12-(benzoyloxy)-4-(hex-5-ynoyloxy)-11-hydroxy-4a,8,13,13-tetramethyl-5-oxo-3,4,4a,5,6,9,10,11,12,12a-decahydro-1*H*-7,11-methanocyclodeca[3,4]benzo[1,2-b]oxete-6,12b(2a*H*)-diyl diacetate (97) の合成

96 (10.3 mg, 0.025 mmol) に対し、AcOH / H_2O / THF (6 / 3 / 1, 2 mL) を加え、開放系、室温で2 時間撹拌した。その後、飽和$NaHCO_3$ 水溶液を加え、EtOAcで抽出し、有機層を飽和$NaHCO_3$ 水溶液、食塩水で洗浄後、Na_2SO_4で乾燥させた。溶媒を減圧留去して得られた粗生成物を、シリカゲルカラムクロマトグラフィー (Hexane : AcOEt = 1 : 1) で精製し、**97** (7.9 mg, 86%) を得た。

スペクトルデータは既存のものと一致した[60]。

(2*E*,9*E*)-9-(Chloromethylene)-*N*,2-dimethyl-12-(*N*-methyl-3-(3-methyl-3H-diazirin-3-yl)propanamido)-*N*-(thiazol-2-ylmethyl)dodec-2-enamide (99) の合成

40 (19.0 mg, 0.038 mmol) のCH_2Cl_2 (1 mL) 溶液に TFA (58 µL, 0.78 mmol, 20 equiv.) を加え、開放系、室温で1 時間撹拌した。その後、飽和$NaHCO_3$ 水溶液を加え、EtOAcで抽出し、有機層を飽和$NaHCO_3$ 水溶液、食塩水で洗浄後、Na_2SO_4で乾燥させた。溶媒を減圧留去して得られた粗生成物のCH_2Cl_2 (0.75 mL) 溶液に**98** (7.3 mg, 0.057 mmol, 1.5 equiv.)、HOBt (8.8 mg, 0.057 mmol, 1.5 equiv.)、Et_3N (32 µL, 0.23 mmol, 4 equiv.)、EDCI・HCl (11.0 mg, 0.057 mmol, 1.5 equiv.)を加え、室温で1 時間撹拌した。その後、飽和$NaHCO_3$ 水溶液を加え、EtOAcで抽出し、有機層を飽和$NaHCO_3$ 水溶液、食塩水で洗浄後、Na_2SO_4で乾燥させた。溶媒を減圧

留去して得られた粗生成物を、シリカゲルカラムクロマトグラフィー (Hexane: AcOEt = 2 : 1) で精製し、無色の粘性液体として**99**, **100** (18.9 mg, 98%, 2 steps) を得た。

99 : ^{1}H-NMR (500 MHz, $CDCl_3$) δ: 7.71 (1H, br s), 7.32 (1H, d, *J* = 2.4 Hz), 5.84 – 5.74 (1H, m), 5.63 (1H, br s), 4.87 (2H, br s), 3.38 – 3.16 (2H, m), 3.03 (3H, br s), 2.95 – 2.86 (3H, m), 2.23 – 1.98 (8H, m), 1.85 (3H, s), 1.81 – 1.73 (2H, m), 1.69 – 1.55 (2H, m), 1.45 – 1.15 (6H, m), 1.03 (3H, s). ^{13}C-NMR (150 MHz, $CDCl_3$) δ: 174.0, 171.1, 166.9, 141.9, 141.3, 132.3, 130.9, 120.2, 113.2, 112.6, 49.5, 49.3, 48.6, 47.7, 37.1, 35.4, 33.6, 32.1, 31.8, 30.0, 29.7, 29.5, 29.2, 28.7, 27.7, 27.6, 27.0, 26.9, 26.3, 25.7, 25.4, 20.2, 14.3. IR (KBr): 2928, 1641, 1395, 1293, 1074, 754 cm^{-1}. MS (ESI-TOF) *m/z*: 530 $[M+Na]^+$. HRMS (ESI-TOF) *m/z*: 530.2332 calcd for $C_{25}H_{38}N_5O_2S^{35}ClNa$; Found: 530.2317.

(2*E*,9*E*)-9-(Chloromethylene)-2-methyl-12-(*N*-methyl-3-(3-methyl-3*H*-diazirin-3-yl)propanamido)-*N*-(prop-2-yn-1-yl)dodec-2-enamide (**101**) の合成

40 (17.6 mg, 0.035 mmol) のCH_2Cl_2 (1 mL) 溶液に TFA (58 μL, 0.78 mmol, 22 equiv.) を加え、開放系、室温で1 時間撹拌した。その後、飽和$NaHCO_3$ 水溶液を加え、EtOAcで抽出し、有機層を飽和$NaHCO_3$ 水溶液、食塩水で洗浄後、Na_2SO_4で乾燥させた。溶媒を減圧留去して得られた粗生成物のCH_2Cl_2 (1 mL) 溶液に**98** (22.6 mg, 0.18 mmol, 5 equiv.)、HOBt (7.6 mg, 0.049 mmol, 1.4 equiv.)、Et_3N (41 μL, 0.49 mmol, 1.4 equiv.)、EDCI・HCl (9.5 mg, 0.049 mmol, 1.4 equiv.)を加え、室温で20 時間撹拌した。その後、飽和$NaHCO_3$ 水溶液を加え、EtOAcで抽出し、有機層を飽和$NaHCO_3$ 水溶液、食塩水で洗浄後、Na_2SO_4で乾燥させた。溶媒を減圧留去して得られた粗生成物を、シリカゲルカラムクロマトグラフィー (Hexane: AcOEt = 1 : 2) で精製し、無色の粘性液体として**101**, **102** (18.9 mg, 98%, 2 steps) を得た。

101 : ^{1}H-NMR (500 MHz, $CDCl_3$) δ: 6.34 (1H, br s), 6.14 (1H, br s), 5.84 – 5.69 (1H, m), 4.05 (2H, s), 3.39 – 3.08 (2H, m), 2.94 – 2.80 (3H, m), 2.24 – 1.94 (9H, m), 1.80 (3H, s), 1.78 – 1.68 (2H, m), 1.67 – 3.23 (2H, m), 1.46 – 1.14 (6H, m). 0.99 (3H, s). ^{13}C-NMR (150 MHz, $CDCl_3$) δ: 171.0, 170.9,

168.94, 168.89, 141.9, 141.8, 141.2, 137.1, 137.0, 130.2, 113.2, 113.1, 112.5, 112.4, 79.9, 71.4, 49.4, 49.2, 47.6, 35.3, 35.2, 34.7, 34.6, 33.5, 32.0, 31.7, 29.9, 29.7, 29.6, 29.5, 29.4, 29.1, 29.0, 28.9, 28.8, 28.5, 28.3, 27.5, 27.5, 27.4, 27.4, 27.3, 26.9, 26.9, 26.8, 26.2, 25.8, 25.6, 25.3, 24.7, 20.1, 12.6. IR (KBr): 3304 (br), 2929, 1634, 1521, 1297 cm^{-1}. MS (ESI-TOF) *m/z*: 457 $[M+Na]^+$. HRMS (ESI-TOF) *m/z*: 457.2346 calcd for $C_{23}H_{35}N_4O_2{}^{35}ClNa$; Found: 457.2335.

***tert*-Butyl (*E*)-methyl(3-(2-(7-methyl-8-oxo-8-(prop-2-yn-1-yl(thiazol-2-ylmethyl)amino)oct-6-en-1-yl)-1,3-dithian-2-yl)propyl)carbamate (104)** の合成

37 (178 mg, 0.36 mmol) の CH_2Cl_2 (5 mL) 溶液に **103** (68.3 mg, 0.45 mmol, 1.3 equiv.)、HOBt (72.8 mg, 0.54 mmol, 1.5 equiv.)、Et_3N (450 µL, 3.2 mmol, 6 equiv.)、EDCI・HCl (103 mg, 0.54 mmol, 1.5 equiv.)を加え、室温で 10 時間撹拌した。その後、飽和 $NaHCO_3$ 水溶液を加え、EtOAc で抽出し、有機層を飽和 $NaHCO_3$ 水溶液、食塩水で洗浄後、Na_2SO_4 で乾燥させた。溶媒を減圧留去して得られた粗生成物を、シリカゲルカラムクロマトグラフィー (Hexane : AcOEt = 1 : 2) で精製し、無色の粘性液体として **104** (78.6 mg, 38%) を得た。

^{1}H-NMR (600 MHz, $CDCl_3$) δ: 7.67 (1H, br s), 7.28 (1H, d, *J* = 3.0 Hz), 5.75 (1H, s), 4.93 (2H, s), 4.16 (2H, s), 3.17 (2H, br s), 2.85 – 2.65 (7H, m), 2.30 – 2.22 (2H, m), 2.14 – 2.03 (2H, m), 1.94 – 1.69 (9H, m), 1.64 – 1.53 (2H, m), 1.44 – 1.32 (13H, m), 1.31 – 1.15 (2H, m). ^{13}C-NMR (150 MHz, $CDCl_3$) δ: 173.4, 166.1, 155.8, 142.4, 133.0, 130.1, 120.1, 79.2, 78.4, 73.0, 52.9, 48.8, 48.0, 38.3, 35.0, 34.9, 34.1, 29.5, 28.6, 28.5, 28.4, 28.3, 27.7, 27.7, 26.0, 25.4, 23.9, 22.9, 22.5, 14.2. IR (KBr): 2934, 1690, 1398, 1151 cm^{-1}. MS (ESI-TOF) *m/z*: 602 $[M+Na]^+$. HRMS (ESI-TOF) *m/z*: 602.2521 calcd for $C_{29}H_{45}N_3O_3S_3Na$; Found: 602.2529.

***tert*-Butyl (*E*)-methyl(11-methyl-4,12-dioxo-12-(prop-2-yn-1-yl(thiazol-2-ylmethyl)amino)-dodec-10-en-1-yl)carbamate (105)** の合成

104 (78.6 mg, 0.14 mmol) に対して CH_3CN (4 mL)、飽和 $NaHCO_3$ 水溶液 (2 mL)、I_2 (120 mg, 0.47 mmol, 3.5 equiv.) を加え、開放系、氷冷下で 5 時間撹拌した。その後、飽和 $Na_2S_2O_3$ / $NaHCO_3$ 水溶液を加え、EtOAc で抽出し、有機層を飽和 $Na_2S_2O_3$ / $NaHCO_3$ 水溶液、食塩水で洗浄後、Na_2SO_4 で乾燥させた。溶媒を減圧留去して得られた粗生成物を、シリカゲルカラムクロマトグラフィー(Hex : AcOEt = 1 : 2) で精製し、無色の粘性液体として **105** (47.4 mg, 71%) を得た。

^{1}H-NMR (600 MHz, $CDCl_3$) δ: 7.71 (1H, br s), 7.30 (1H, d, *J* = 2.9 Hz), 5.78 (1H, s), 4.96 (2H, s), 4.19 (2H, br s), 3.18 (2H, s), 2.80 (3H, s), 2.36 (4H, m), 2.28 (1H, s), 2.10 (2H, m), 1.85 (3H, s), 1.78 – 1.70 (2H, m), 1.53 (2H, m), 1.48 – 1.34 (11H, m), 1.33 – 1.20 (4H, m). ^{13}C-NMR (150 MHz, $CDCl_3$) δ: 225.4, 210.2, 173.5, 166.2, 155.9, 142.5, 133.1, 131.0, 130.3, 128.9, 120.2, 79.4, 78.5, 73.7, 73.0, 71.8, 68.2, 57.8, 53.6, 51.0, 48.2, 47.7, 42.8, 39.7, 38.8, 34.1, 29.0, 28.7, 28.6, 28.5, 27.6, 26.1, 25.5, 23.6, 22.0, 21.6, 14.3. IR (KBr): 2931, 1689, 1398, 1167 cm^{-1}. MS (ESI-TOF) *m/z*: 512 $[M+Na]^+$. HRMS (ESI-TOF) *m/z*: 512.2559 calcd for $C_{26}H_{39}N_3O_4SNa$; Found: 512.2583.

***tert*-Butyl ((10*E*)-4-(chloromethylene)-11-methyl-12-oxo-12-(prop-2-yn-1-yl(thiazol-2-ylmethyl)amino)dodec-10-en-1-yl)(methyl)carbamate (106)** の合成

$PPh_3PCH_2Cl_2$ (67.0 mg, 0.19 mmol, 2 equiv.) の THF (2 mL) 溶液に LiHMDS (THF 1 M solution, 174 µL, 0.17 mmol, 1.8 equiv.) を加え、室温で 1 時間撹拌した。その後、**105** (47.4 mg, 0.097 mmol) の THF (1 mL) 溶液を加え、さらに 2 回 THF (1 mL) で洗いこんだ後、室温で 20 時間撹拌した。その後、飽和 NH_4Cl 水溶液を加え、EtOAc で抽出し、有機層を飽和 NH_4Cl 水溶液、食塩水で洗浄後、Na_2SO_4 で乾燥させた。溶媒を減圧留去して得られた粗生成物を、シリカゲルカラムクロマトグラフィー(Hex : AcOEt = 1 : 1) で精製し、無色の粘性液体として **106** (51.9 mg, quant.)を得た。

^{1}H-NMR (600 MHz, $CDCl_3$) δ: 7.67 (1H, br s), 7.28 (1H, br s), 5.74 (2H, m), 4.93 (2H, s), 4.17 (2H,

br s), 3.13 (2H, br s), 2.78 (3H, s), 2.26 (1H, s), 2.18 – 2.03 (4H, m), 2.03 – 1.93 (2H, m), 1.82 (3H, s), 1.56 (2H, br s), 1.46 – 1.14 (15H, m). ^{13}C-NMR (150 MHz, $CDCl_3$) δ: 173.4, 166.1, 155.7, 142.4, 141.8, 133.0, 130.1, 120.1, 112.4, 79.3, 79.2, 78.4, 73.0, 48.9, 48.4, 48.1, 46.5, 45.4, 38.5, 35.1, 34.7, 34.2, 31.9, 29.9, 29.5, 29.1, 28. 9, 28.6, 28.6, 28.5, 28.4, 28.3, 27.6, 27.5, 27.4, 26.8, 26.0, 25.8, 25.4, 25.0, 23.8, 22.8, 14.2. IR (KBr): 2931, 1692, 1399, 1168, 756 cm^{-1}. MS (ESI-TOF) *m/z*: 544 $[M+Na]^+$. HRMS (ESI-TOF) *m/z*: 544.2377 calcd for $C_{27}H_{40}N_3O_3S^{35}ClNa$; Found: 544.2369.

(2*E*,9*E*)-9-(Chloromethylene)-2-methyl-12-(*N*-methyl-3-(3-methyl-3*H*-diazirin-3-yl)propanamido)-*N*-(prop-2-yn-1-yl)-*N*-(thiazol-2-ylmethyl)dodec-2-enamide (**107**) の合成

106 (9.7 mg, 0.019 mmol) のCH_2Cl_2 (1 mL) 溶液に TFA (41 μL, 0.55 mmol, 30 equiv.) を加え、開放系、室温で0.5 時間撹拌した。その後、飽和$NaHCO_3$ 水溶液を加え、EtOAcで抽出し、有機層を飽和$NaHCO_3$ 水溶液、食塩水で洗浄後、Na_2SO_4で乾燥させた。溶媒を減圧留去して得られた粗生成物のCH_2Cl_2 (1 mL) 溶液に**98** (4.8 mg, 0.037 mmol, 2 equiv.)、HOBt (3.8 mg, 0.028 mmol, 1.5 equiv.)、Et_3N (23 μL, 0.17 mmol, 6 equiv.)、EDCI・HCl (5.3 mg, 0.028 mmol, 1.5 equiv.)を加え、室温で24 時間撹拌した。その後、飽和$NaHCO_3$ 水溶液を加え、EtOAcで抽出し、有機層を飽和$NaHCO_3$ 水溶液、食塩水で洗浄後、Na_2SO_4で乾燥させた。溶媒を減圧留去して得られた粗生成物を、シリカゲルカラムクロマトグラフィー (Hexane: AcOEt = 1 : 2) で精製し、無色の粘性液体として**107**, **108** (3.3 mg, 31%, 2 steps) を得た。

107 : ^{1}H-NMR (600 MHz, $CDCl_3$) δ: 7.71 (1H, br s), 7.31 (1H, br s), 5.84 – 5.73 (2H, m), 4.97 (2H, s), 4.20 (2H, br s), 3.42 – 3.13 (2H, m), 2.97 – 2.84 (3H, m), 2.78 (1H, br s), 2.28 (1H, s), 2.21 – 1.98 (6H, m), 1.86 (3H, s), 1.83 – 1.74 (4H, m), 1.70 – 1.48 (2H, m), 1.48 – 1.20 (6H, m), 1.03 (3H, s). ^{13}C-NMR (150 MHz, $CDCl_3$) δ: 173.6, 171.1, 171.0, 166.3, 142.5, 141.9, 141.3, 133.2, 130.3, 130.2, 120.2, 113.2, 112.6, 78.5, 73.0, 53.1, 49.7, 49.3, 47.7, 47.5, 45.7, 38.7, 38.6, 35.4, 35.2, 35.2, 35.1, 33.6, 32.1, 31.8, 30.0, 29.8, 29.7, 29.7, 29.6, 29.5, 29.5, 29.2, 28.7, 28.7, 27.8, 27.6, 27.1,

27.00, 26.98, 26.95, 26.3, 26.12, 26.09, 25.7, 25.5, 25.4, 24.2, 24.0, 23.4, 22.3, 20.3, 14.3. IR (KBr): 2931, 1636, 1452, 1216, 757 cm^{-1}. MS (ESI-TOF) *m/z*: 554 $[M+Na]^+$. HRMS (ESI-TOF) *m/z*: 554.2332 calcd for $C_{27}H_{38}N_5O_2S^{35}ClNa$; Found: 554.2339.

生化学実験

細胞培養用培地および試薬の調製

1）細胞培養培地

a) PANC-1 細胞、HeLa 細胞ともに以下の培地で培養した。

培地 A に非働化（56 ℃, 30 min）処理した血清 B および抗生物質 C を添加した。

A:	DMEM	500 mL	(ナカライテスク)
B:	Fetal bovine serum	50 mL	(invitrogen)
C:	Kanamycin	25 mg	(WAKO)

b）グルコース飢餓培養に用いたグルコース非添加培地

A～I および M を上記の組成になるよう MiliQ 水に溶解後、J, K, L を 1 x となるよう添加した。次に 10 % $NaHCO_3$ 水溶液を用いて pH を 7.4 に調整後、全溶液をフィルター滅菌した。そして非働化処理を行った N を終濃度 10 %となるよう添加し、これをグルコース非添加培地として使用した。

A:	$CaCl_2$・($2H_2O$)	265 mg/L	和光純薬
B:	$Fe(NO_3)(9H_2O)$	0.1 mg/L	キシダ化学
C:	KCl	400 mg/L	和光純薬
D	$MgSO_4(7H_2O)$	200 mg/L	半井化学薬品
E	NaCl	6400 mg/L	キシダ化学
F	$NaHCO_3$	700 mg/L	ナカライテスク
G	NaH_2PO_4	125 mg/L	和光純薬
H	Phenol red	0.3%	シグマ
I	HEPES buffer (pH 7.4)	25 mmol/L	キシダ化学
J	MEM vitamin solution (100 x)		シグマ
K	MEM amino acid solution (50 x)		シグマ
L	MEM non-essential amino acid solution (100 x)		シグマ
M	L-glutamine solution	200 mmol/L	シグマ

2)試薬の調製

a)ダルベッコ PBS(-) (以下、PBS と省略)

ダルベッコPBS(-)粉末（日水製薬､05913) 9.6 gをmilliQ水 1,000 mLに溶解し､121 ℃、2 気圧の条件下で 20 分間、高圧蒸気滅菌したものを使用した。

細胞数の計測（色素排除法）

細胞懸濁液 100 μL に対して同量の trypan blue の PBS 溶液（2.5 mg/mL）を添加し、ピペッティングにより懸濁させて均一な溶液を調製した。これを血球計算盤に塗布後、顕微鏡下で血球計算盤の枠内の未染色の細胞数を計数し、比例計算により生細胞密度を計算した。

細胞の継代培養法

1) PANC-1 細胞

細胞は、60~90%コンフルエントで継代培養した。継代操作としては、シャーレから培地を吸引除去した後、trypsin-EDTA solution（Invitrogen 社）を 3 mL 添加し、1 分間 CO_2 インキュベーター内（37 ℃、5% CO_2 雰囲気下）に静置した。次に培地（7 mL）を添加することにより trypsin の反応を停止し、ピペッティングにより細胞を剥離させた。細胞懸濁液を遠心分離し、上清を除去した後、4 mL の新鮮培地を加えピペッティングにより懸濁させた。そのうち 1 mL を 9 mL の新鮮培地で希釈し、CO_2インキュベーター内（37 ℃、5% CO_2 雰囲気下）で培養した。

2) HeLa 細胞

細胞は、60~90%コンフルエントで継代培養した。継代操作としては、シャーレから培地を吸引除去した後、trypsin-EDTA solution（Invitrogen 社）を 3 mL 添加し、1 分間 CO_2 インキュベーター内（37 ℃、5% CO_2 雰囲気下）に静置した。次に培地（7 mL）を添加することにより trypsin の反応を停止し、ピペッティングにより細胞を剥離させた。細胞懸濁液を遠心分離し、上清を除去した後、6 mL の新鮮培地を加えピペッティングにより懸濁させた。そのうち 1 mL を 9 mL の新鮮培地で希釈し、CO_2インキュベーター内（37 ℃、5% CO_2 雰囲気下）で培養した。

PANC-1 細胞に対する各グルコース濃度培地での増殖阻害活性の評価法

PANC-1 細胞浮遊液 100 μL (1×10^4 cells / well) を 96 穴マルチウェルプレートに播種し、5% CO_2、37 ℃の条件下で 12 時間前培養した。その後、96 穴マルチウェルプレートから

培地のみを除去し、100 μL の PBS で 2 回各 well を洗浄した。洗浄後、各グルコース濃度の培地を 100 μL 添加し、5% CO_2、37 ℃の条件下で 12 時間培養した。培養後、被検サンプルの EtOH 溶液を 1 μL 添加し、さらに 5% CO_2、37 ℃の条件下で 12 時間培養した。その後、96 穴マルチウェルプレートから培地を除去し、通常のグルコース添加培地で 10 %に希釈した WST-8 試薬を 100 μL 添加した。4 時間 5% CO_2、37 ℃の条件でインキュベーション後、生細胞が形成する水溶性 formazan を比色定量（450 nm）し、生存細胞数を算出した。

HeLa 細胞に対する増殖阻害活性の評価法

HeLa 細胞浮遊液 100 μL (5×10^3 cells / well）を 96 穴マルチウェルプレートに播種し、5% CO_2、37 ℃の条件下で 12 時間前培養した後、被検サンプルの EtOH 溶液を 1 μL 添加し、さらに 5% CO_2、37 ℃の条件下で 24 時間培養した。その後、96 穴マルチウェルプレートから培地を除去し、PBS 溶液（100 μL/well）で 2 回洗浄し、培地で 10 %に希釈した WST-8 試薬を 100 μL 添加した。2 時間 5% CO_2、37 ℃の条件でインキュベーション後、生細胞が形成する水溶性 formazan を比色定量（450 nm）し、生存細胞数を算出した。

Western Blotting 法による低栄養マーカー検出

1）試薬の調製

i) Lysis buffer

		最終濃度	
A:	Tris-HCl (pH 8.0)	50 mM	(和光純薬)
B:	NaCl	150 mM	(和光純薬)
C:	EDTA	5 mM	(同仁堂)
D:	NP-40	1%	(ナカライテスク)
E:	SDS	0.1%	(SERVA)
F:	Sodium deoxycholate	0.5%	(和光純薬)

ii) 5x SDS sample buffer

		最終濃度	
A:	Tris-HCl (pH 6.8)	50 mM	(和光純薬)
B:	SDS	1%	(SERVA)
C:	Glycerol	20%	(SIGMA)
D:	2-Mercaptoethanol	1%	(SIGMA)

E:	BPB	0.1%	(和光純薬)

iii) 泳動 Buffer

		最終濃度	
A:	Tris	30.4 g/L	(和光純薬)
B:	Glycine	144 g/L	(和光純薬)
C:	SDS	10 g/L	(SERVA)

iv) 10X 転写 Buffer

		最終濃度	
A:	Tris	18.75 g/L	(和光純薬)
B:	Glycine	90 g/L	(和光純薬)

v) 1X 転写 Buffer

		最終濃度	
A:	10X 転写 Buffer	10%	
B:	MeOH	20%	

vi) TBS-T

		最終濃度	
A:	Tris-HCl (pH 7.6)	20 mM	(和光純薬)
B:	NaCl	150 mM	(和光純薬)
C:	Tween-20	0.1%	(和光純薬)

2) PANC-1 細胞からのタンパク質抽出

PANC-1 細胞浮遊液 2 mL (3 $\times 10^5$ cells / mL) を 6 well plate に播種し、5% CO_2、37 ℃の条件下で 12 時間前培養し、各ウェルから培地のみを除去し 2 mL の PBS で 2 回洗浄した後、各グルコース濃度の培地を 2 mL 加えさらに 12 時間 5% CO_2、37 ℃の条件下で培養した。被験サンプルの EtOH 溶液を 20 μL 加え、5% CO_2、37 ℃の条件下で 12 時間培養した後、氷上で培地のみを除き、氷冷 PBS 1 mL で 2 回洗浄した後、lysis buffer に 1% protease inhibitor cocktail、1% phosphatase inhibitor cocktail を加えた溶液 100 μL を加え速やかに-80 ℃下で細胞を凍結させた。氷上で凍結させた溶液を融解させることで細胞を破砕し、小型遠心機で遠心 (4 ℃, 12,000 rpm, 15 min) 処理し、回収した上清をタンパク質溶液とした。

3) SDS-PAGE およびマーカーの Western Blotting

タンパク質溶液のタンパク量定量は Bradford 法（protein assay, Bio-Rad 社）で行った。5x の sample buffer と 4：1 で混合し、100 ℃で 5 分間煮沸した後に遠心分離（4 ℃, 12,000 rpm, 15 min）した上清を SDS-PAGE に用いるサンプルとした。ポリアクリルアミドゲル(10%) を用いて電気泳動を行って展開したタンパク質をタンク式の転写装置で PDVF 膜(Hybond-P, GE ヘルスケア社）に転写（0 ℃, 100 mA, 3 h）した。PVDF 膜を TBS-T でリンスした後、W.B.用ブロッキングバッファー中、室温で 1 時間振盪させることでブロッキング処理を行い、ブロッキングバッファーで 1 ： 1,000 に希釈した 1 次抗体に浸し 4 ℃で一晩振盪した。TBS-T を用いた振盪洗浄（r.t., 10 min）を 3 回行った後、ブロッキングバッファーで 1：10,000 に希釈した 2 次抗体に浸し室温で 1.5 時間振盪し、TBS-T を用いた振盪洗浄（r.t., 10 min）を 3 回行った。最後に、PVDF 膜を検出試薬で 5 分間処理し、化学発光をイメージングアナライザー（LAS-4010, GE ヘルスケア社）で検出・解析した。

ミトコンドリア呼吸鎖阻害活性試験

ミトコンドリア呼吸鎖阻害活性試験は、Cayman Chemical 社の MitoCheck Complex I Activity Assay Kit、MitoCheck Complex II Activity Assay Kit、MitoCheck Complex II / III Activity Assay Kit、MitoCheck Complex IV Activity Assay Kit、MitoCheck Complex V Activity Assay Kit をそれぞれ使用して行った。実験操作は、操作マニュアルであるデータシートに従った。全てのポジティブコントロールは EtOH 溶液として用いた。

Huisgen 反応により蛍光基を導入した低分子細胞内イメージング

基本的にインキュベーション、静地する際は遮光条件下で行っている。

滅菌済み丸型カバーガラス（松浪硝子工業株式会社、C018001、直径 18 mm, 厚み 1.1 mm）を 12 well plate に敷き、その上に PANC-1 細胞を 1 mL (5×10^4 cells / well) 播種した。37 ℃、5%CO_2 条件下にて 24 時間前培養を行った後、プローブ分子の EtOH 溶液を 10 μL 投与し、37 ℃、5%CO_2 条件下にて 2 時間インキュベーションした。PBS 1.0 mL で 1 回洗浄後、1 mL の PBS を加え、氷上で 5 分間 UV 照射（365 nm）した。PBS を除き、4% パラホルムアルデヒド / PBS (pH 6.9) 0.5 mL を加え 10 分間室温で静置した後、3% BSA / PBS 0.2 mL で 2 回洗浄した。1% triton X100 / PBS 0.2 mL を加え 20 分間 室温で静置し、3% BSA / PBS 0.2 mL で 2 回洗浄した後、click iT cocktail 0.2 mL を加え、30 分間静置した。3% BSA / PBS 0.2 mL で 1 回洗浄し、免疫染色用ブロッキングバッファー(0.1% triton X100、0.5% BSA / PBS) 0.5 mL を加え 1 時間室温で静置した後、ブロッキングバッファーで 500：1 に希釈した 1 次抗体を加え、4 ℃で一晩インキュベーションした。その後、PBS 0.5 mL で 5 分間洗浄を 3 回繰り返し、ブロッキングバッファーで 1000：1 に希釈した 2 次抗体に 10 μg / mL となるよう DAPI を添加した溶液を加え、1.5 時間室温で静置した後、PBS 0.5 mL で 5 分間洗浄を 3 回繰り返した。最後にスライドガラス(松浪

硝子工業株式会社、S9901)上にカバーガラスを移し、封入剤(Cell Signaling Technology, Prolong® Gold Antifade Reagent, #9071)を 1 滴垂らした後、角型スライドガラス(松浪硝子工業株式会社、C218181、18 mm 四方)をかぶせ、4 ℃で 20 時間以上インキュベーションし、共焦点蛍光顕微鏡でイメージング、撮影を行った。HeLa 細胞による実験および UV 非照射実験では、5 分間の UV 照射操作のみを省略し、同様の実験を行った。また競合実験では、PANC-1 細胞の前培養後に競合剤の EtOH 溶液を 5 μL 投与し、2 時間インキュベーションした後に、プローブ分子の EtOH 溶液 5 μL を投与し、2 時間インキュベーションした。その後、氷上での UV 照射以降、同様の実験を行った。

参考文献

1. R. C. Breton, W. F. Reynolds, *Nat. Prod. Rep.,* **2013,** *30*, 501-524.
2. D. J. Newman, Gordon M. Cragg, *J. Nat. Prod.*, **2016**, *79*, 629-661.
3. K. C. Nicolaou, *PNAS,* **2004**, *101*, 11928.
4. R. Montaser, H. Luesch, *Future Med. Chem.*, **2011**, *3*. 1475-1489.
5 S. Aoki, Y. Watanabe, M. Sanagawa, A. Setiawan, N. Kotoku, M. Kobayashi, *J. Am. Chem. Soc.*, **2006**, *128*, 3148-3149.
6. M. Kobayashi, S. Aoki, N. Ohyabu, M. Kurosu, W. Wang, *Tetrahedron Lett.*, **1994**, *43*, 7969-7972.
7. Y. Hirata, D. Uemura, *Pure & Appl. Chem.*, **1986**, *58*, 701-710.
8. H. Ledford, *Nature*, **2010**, *468*, 608-609.
9. 国立研究開発法人国立がん研究センター 国立がん研究センターがん情報サービス『がん登録・統計』 2016 年 7 月 15 日 http://ganjoho.jp/reg_stat/index.html
10. 永江研太郎, 新ファルマ・フューチャー, 2016 年 6-7 月号
11. 厚生労働省 中央社会保険医療協議会 総会(第 339 回)議事次第
12. S. C. Sekhar, T. Kasai, T. Shigehiro, A. Mizutani, H. Murakami, B. YA El-Aarag, D. S. Salomon, A. Massaguer, R. de Llorens, M. Seno, *J. Cancer*, **2013**, *4*, 391-401.
13. B. A. Weaver, *Mol. Biol. of the Cell*, **2014**, *25*, 2677-2681.
14. M. Papetti, I. M. Herman, *AJP- Cell Physiol.*, **2002**, *282*, C947-C970.
15. S. Hugbes, H. Yang, T Chan-Ling, *IOVS.*, **2000**, *41*, 1217-1228.
16. V. L. J. L. Thijssen, F. Poirier, L. G. Baum, A. W. Griffioen, *Blood*, **2007**, *110*, 2819-2827.
17. G. Helmlinger, F. Yuan, M. Dellian, R. K. Jain, *Nat. Med.*, **1997**, *3*, 177-182.
18. A. Hirayama, K. Kami, M. Sugimoto, M. Sugawara, N. Toki, H. Onozuka, T. Kinoshita, N. Saito, A. Ochiai, M. Tomita, H. Esumi, T. Soga, *Cancer Res.*, **2009**, *69*, 4918-4925.
19. P. Vaupel, A. Mayer, M. Hockel, *Methods in Enzymology*, **2004**, *381*, 335-354.
20. 齊藤さかえ、富田章弘、 *実験医学*, **2009,** *27*, 170-176.
21. G. M. Abu-Jawdeh, J. D. Faix, J. Niloff, K. Tognazzi, E. Manseau, H. F. Dvorak, L .F. Brown, *Lab. Invest.*, **1996**, *74,* 1105-1115.
22. Gregg L. Semenza, *Nat. Rev. Cancer*, **2003**, *3*, 721-732.
23. 水上民夫 がん分子標的薬開発状況に関する情報［オンライン］文部科学省新学術領域研究　化学療法基盤支援活動 - 2016 年 2 月 9 日 - http://scads.jfcr.or.jp.
24. M. Y. Koh, T. S. Kroizman, S. Venturini, S. Welsh, R. R. Williams, D. L. Kirkpatrick, G. Powis, *Mol. Cancer. Ther.*, **2008**, *7*, 90-100.
25. M. Arai, T. Kawachi, A. Setiawan, M. Kobayashi, *Chem. Med. Chem.*, **2010**, *5*, 1919-1926.

26. M. Arai, T. Kawachi, N. Kotoku, C. Nakata, H. Kamada, S. Tsunoda, Y. Tutusmi, H. Endo, M. Inoue, H. Sato, M. Kobayashi, *Chem. Bio. Chem.*, **2016**, *17*, 181-189.
27. J. Lu, S. Kunimoto, Y. Yamazaki, M. Kaminishi, H. Esumi, *Cancer Sci.*, **2004**, *95*, 547-552.
28. S. Awale, J. Liu, S. K. Kalauni, Y. Kurashima, Y. Tezuka, S. Kadota, H. Esumi, *Cancer Res.*, **2006**, *66*, 1751-1757.
29. A. S. Strimpakos, M. W. Saif, *J. Pancreas*, **2013**, *14*, 354-358.
30. M. Ikeda, A. Sato, N. Mochizuki, K. Toyosaki, C. Miyoshi, R. Fujioka, S. Mitsunaga, I. Ohno, Y. Hashimoto, H. Takahashi, H. Hasegawa, S. Nomura, R. Takahashi, S.Yomoda, K. Tsuchihara, S. Kishino, H. Esumi, *Cancer Sci.*, **2016**, in press.
31. M. Arai, D. Shin, K. Kamiya, R. Ishida, A. Setiawan, N. Kotoku, M. Kobayashi, *J. Nat. Med.*, **2016**, in press.
32. M. Arai, K. Kamiya, D. Shin, H. Matsumoto, T. Hisa, A. Setiawan, N. Kotoku, M. Kobayashi, *Chem. Pharm. Bull.*, **2016**, *64*, 766-771.
33. 戸田 和成, *修士論文*, 2014.
34. Y. Schmidt, K. Lehr, L. Colas, B. Breit, *Chem. Eur. J.* **2012**, *18*, 7071-7081.
35. S. Kishimoto, Y. Tsunematsu, S. Nishimura, Y. Hayashi, A. Hattori, H. Kakeya, *Tetrahedron* **2012**, *68*, 5572-5578.
36. A. Yoshimura, S. Kishimoto, S. Nishimura, S. Otsuka, Y. Sakai, A. Hattori, H. Kakeya, *J. Org. Chem.* **2014**, *79*, 6858-6867.
37. K. Fujita, K. Morita, *Eur. J. Org. Chem.*, **2001**, *3*, 493-502.
38. J. M. Vatele, *Tetrahedron Lett.*, **2006**, *47*, 715-718.
39. A. Baxter, S. Brough, T. McInally, M. Mortimore, **2001**, WO99/29660.
40. M. J. Gaunt, A. S. Jessiman, P. Orsini, H. R. Tanner, D. F. Hook, S. V. Ley, *Org. Lett.*, **2003**, *5*, 4819-4822.
41. J. Han, J. Lian, X. Tian, S. Zhou, X. Zhen, S. Liu, *Eur. J. Org. Chem.*, **2014**, *32*, 7232-7238.
42. O. Krebs, R. J. K. Taylor, *Org. Lett.*, **2005**, *7*, 1063-1066.
43. S. Nakanishi, H. Tanaka, K. Hioki, K. Yamada, M. Kunishima, *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **2010**, *20*, 7050-7053.
44. S. Munro, H. R. B. Pelham, *Cell*, **1986**, *46*, 291-300.
45. S. Thomas, N. Sharma, R. Gonzalez, P. W. Pao, F. M. Hofman, T. C. Chen, S. G. Louie, M. C. Pirrung, A. H. Schonthal, *PLoS ONE*, **2013**, *8*, e65695.
46. S. Awale, J. Liu, S. K. Kalauni, Y. Kurashima, Y. Tezuka, S. Kadota, H. Esumi, *Cancer Res.* **2006**, *66*, 1751-1757.
47. D. Xia, C. Yu, H. Kim, J. Xia, A. M. Kachurin, L. Zhang, L. Yu, J. Deisenhofer,

Science, **1997**, *277*, 60-66.

48. C. Chauvin, F. De Oliveira, X. Ronot, M. Mousseau, X. Leverve, E. Fontaine, *J. Biol. Chem.* **2001**, *276*, 41394-41398.

49. R. K. Guy, Z. A. Scott, R. D. Sloboda, K. C. Nicolau, *Chemistry & Biology* **1996**, *3*, 1021-1031.

50. E. Smith, I. Collins, *Future Med. Chem.* **2015**, *7*, 159-183.

51. A. M. Ahad, S. M. Jensen, J. C. Jewett, *Org. Lett.*, **2013**, *15*, 5060-5063.

52. J. Carroll, I. M. Fearnley, J. M. Skehel, R. J. Shannon, J. Hirst, J. E. Walker, *J. Biol. Chem.*, **2006**, *281*, 32724-32727.

53. M. D. Esposti, A. Ghelli, M. Ratta, D. Cortes, E. Estornell, *Biochem. J.* **1994**, *301*, 161-167.

54) J. Chen, C. J. Forsyth, *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2004**, *43*, 2148-2152.

55) S. Sunitha, S. Kanjilal, P. S. Reddy, R. B. N. Prasad, *Tetrahedron Lett.*, **2008**, *49*, 2527-2532.

56) C. Yu, B. Liu, L. Hu, *Tetrahedron Lett.*, **2000**, *41*, 4281-4285.

57) R. J. Comito, F. G. Finelli, D. W. C. MacMillan, *J. Am. Chem. Soc.*, **2013**, *135*, 9358-9361.

58) R. K. Dieter, C. W. Alexander, L. E. Nice, *Tetrahedron*, **2000**, *56*, 2767-2778.

59) C. S. Rao, J. J. Chu, R. S. Liu, Y. K. Lai, *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **1998**, *6*, 2193-2204.

60) V. Bevilacqua, M. King, M. Chaumontet, M. Nothisen, S. Gabillet, D. Buisson, C. Puente, A. Wagner, F. Taran, *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2014**, *53*, 5872-5876.