令和２年　２月　21 日提出

令和元年度　学　位　論　文

論　文　題　目

〈邦　文〉

アミド近傍水酸基選択的アシル化反応の開発とセリン選択的糖ペプチド修飾反応への応用

〈欧　文〉

Site-selective acylation of polyols assisted by a neighboring amide group and applications to serine-selective glycopeptide modification.

名城大学大学院　　薬学研究科　薬学専攻　博士課程

氏　名	竹本　昂平

薬学研究科　竹本　昂平

目次

略語表

第一章　緒言 1

第二章　*N*-グリコリルノイラミン酸誘導体の位置選択的アシル化反応の開発 11
　第一節　研究背景と著者の研究方針 11
　第二節　*N*-グリコリルノイラミン酸誘導体の合成 12
　第三節　*N*-グリコリルノイラミン酸誘導体位置選択的アシル化反応の条件最適化 13
　第四節　結論 16

第三章　β-ヒドロキシアミド構造を持つポリオール化合物に対する
　　アミドカルボニル基β位炭素上水酸基選択的アシル化反応の開発 17
　第一節　研究背景と著者の研究方針 17
　第二節　β-ヒドロキシアミド位置選択的アシル化反応の条件最適化 21
　第三節　基質一般性の検討 29
　　第一項　β-ヒドロキシアミド基質一般性の検討 29
　　第二項　ピリジンケトキシムエステル基質一般性の検討 31
　第四節　糖ペプチド内セリン選択的アシル化反応への応用 34
　　第一項　糖ペプチド Cbz-Ser-Ser(β-D-Glc)-OMe の合成 34
　　第二項　糖ペプチド Cbz-Ser-Ser(β-D-Glc)-OMe 内セリン選択的
　　アシル化反応の条件最適化 36
　　第三項　糖ペプチド Cbz-Ser-Gly-Ser(β-D-Glc)-OMe の合成 40
　　第四項　糖ペプチド Cbz-Ser-Gly-Ser(β-D-Glc)-OMe 内セリン選択的アシル化反応 41
　第五節　結論 47

第四章　結語及び要約 48

実験の部 50
　第二章付属実験 51
　第三章付属実験 53

参考文献 103

謝辞 106

（名城大学大学院）

薬学研究科　竹本　昂平

略語表

Ac	acetyl
aq.	aqueous
Bn	benzyl
BRSM	based on recovered starting material
Cbz	benzyloxycarbonyl
CMP	cytidine-5'-monophosphate
COSY	correlation spectroscopy
Cys	cysteine
DBU	1,8-diazabicyclo[5.4.0]undec-7-ene
DIEA	*N,N*-diisopropylethylamine
DMAP	*N,N*-dimethyl-4-aminopyridine
DMA	*N,N*-dimethylacetamide
DME	1,2-dimethoxyethane
DMF	*N,N*-dimethylformamide
DMSO	dimethyl sulfoxide
EDAC (EDCI)	1-ethyl-3-(3-dimethylaminopropyl)carbodiimide
ee	enantiomeric excess
ESI	electrospray ionization
Et	ethyl
EWG	electron withdrawing group
Glc	glucose
Gly	glycine
h	hours
HMBC	heteronuclear multiple bond correlation
HOBt	1-hydroxybenzotriazole
HPLC	high performance liquid chromatography
HRMS	high resolution mass spectrometry
HSQC	heteronuclear single quantum correlation
i-Pr	isopropyl
LC-MS	liquid chromatography/mass spectrometry
Lys	lysine
mAb	monoclonal antibodies
Me	methyl
m.p.	melting point
n-Hex	normal hexane
Ph	phenyl
rt	room temperature

（名城大学大学院）

Ser	serine
SMCC	*N*-succinimidyl 4-(*N*-maleimidomethyl)cyclohexanecarboxylate
TBAF	tetrabutylammonium fluoride
TBS	*tert*-butyldimethylsilyl
THF	tetrahydrofuran
TMSCl	trimethylchlorosilane
tR	retention time

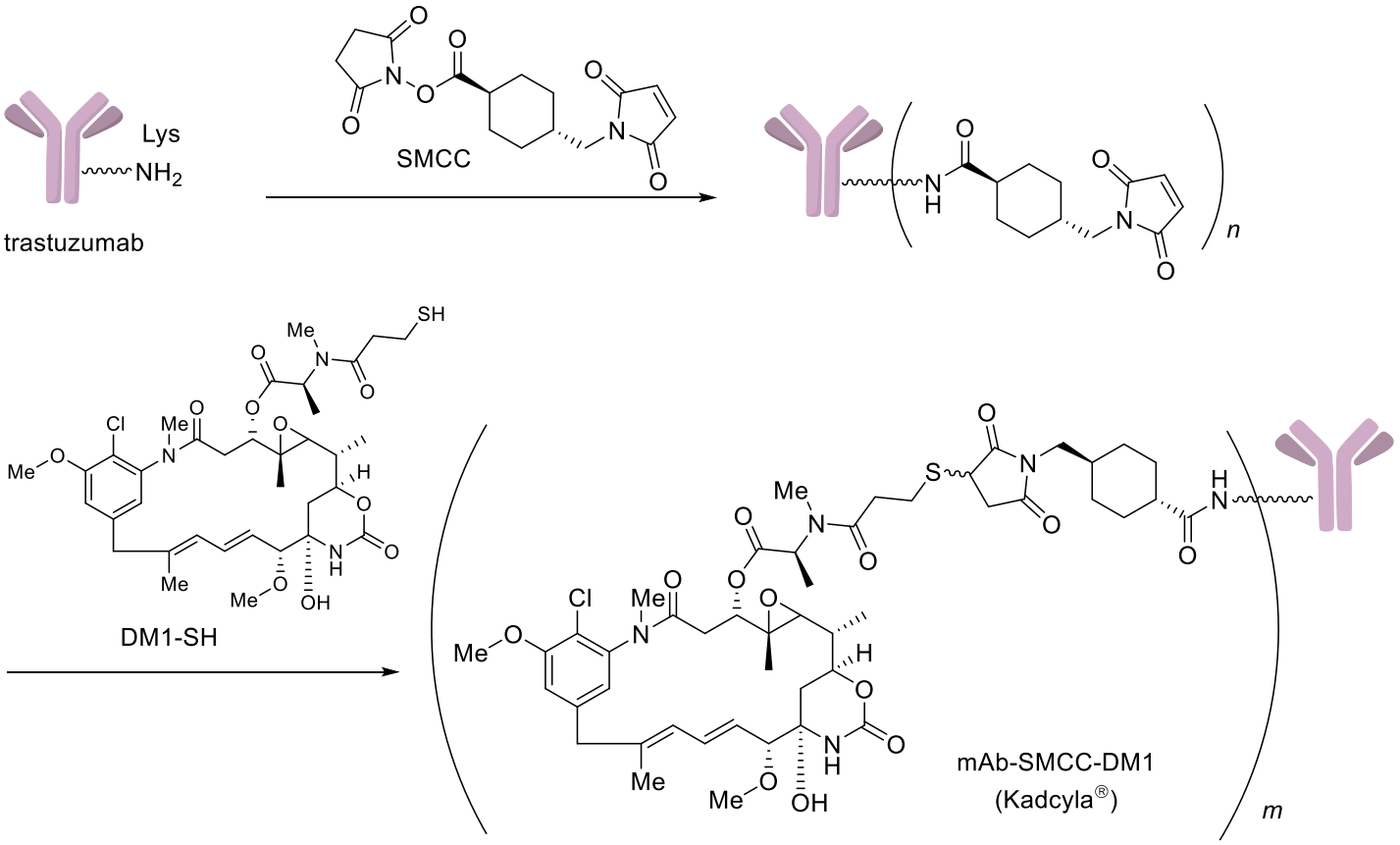
薬学研究科　竹本　昂平

第一章　緒言

生理活性物質や生体由来分子への化学修飾反応は、基質分子の機能解明や、基質に対して新たな機能付与を行うための、有用なケミカルツールとして注目を集めている。特に、近年の創薬の世界では、抗体薬物複合体（antibody-drug conjugate：ADC）の開発研究において、本技術が重要な方法論として位置付けられている[1]。抗体薬物複合体は、モノクローナル抗体と低分子医薬品（ペイロード）を、リンカーを介して結合させた化合物であり、がん治療における次世代の創薬クラスとして期待されている。この種の医薬品は現在までに、Adcetris®、Kadcyla®、Besponsa®、Mylotarg®の 4 つが米国食品医薬品局 （FDA）の認可を受けており、また 2019 年時点で 60 種類以上の新規 ADC 候補分子が臨床試験段階にある[1a]。

抗体に低分子化合物を結合させる一般的な手法として、抗体内の天然アミノ酸が持つ官能基を反応点として利用する方法がある。例えば Kadcyla® は HER2 ドメイン IV に特異的に結合するトラスツズマブをベースの抗体部位として有しており、抗体内に存在する Lys 残基のアミノ基を介して、強力な微小管重合阻害作用を持つ maytansine の誘導体 DM1（derivative of maytansine 1）を結合させることで製造される ADC である（**Scheme 1-1**）[2]。

Scheme 1-1



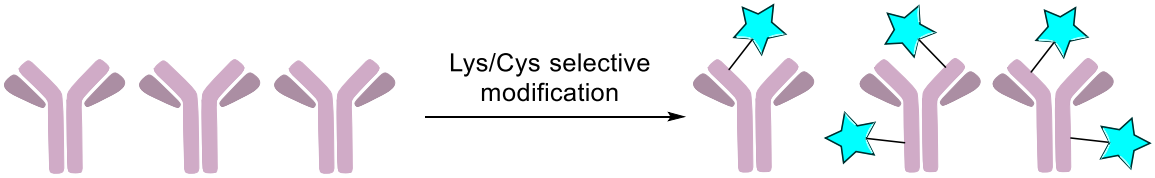
Angew. Chem. Int. Ed. **2014**, *53*, 3796-3827.

（名城大学大学院）

天然アミノ酸の官能基を利用して抗体と低分子医薬品を結合させる手法は、連結点としての役割を担う人工官能基（非天然アミノ酸[3]や酵素／試薬認識用タグ[4]）を予め抗体内に導入しておく必要がないことから、医薬品製造にかかる期間やコストの面で優れた合成法となる。しかしながら、本製造法は抗体分子内に存在する複数の Lys 残基を正確に識別して反応を行うことが技術的に困難であるという理由から、各抗体に結合する薬物の数、および結合位置に対する精密な制御が不可能という問題を有している。実際に Kadcyla®は多数の異性体混合物のままで市販・投与されているが、こうした薬剤のコンジュゲーションサイト、結合数が異なる不均質な ADC は、ペイロードの放出速度、安定性が一定に保たれないことによる、薬効発現や合成面での再現性の低下が問題となる[1]。こうした事情から近年では、均質な ADC を効率的に製造するための次世代型手法として、反応性の似通った同種の官能基を周囲の電子的環境および立体的環境の相違を利用しながら正確に識別し、特定の部位を選択的に官能基化させる、site-selective (位置選択的)な化学修飾法の開発が盛んに行われている（**Figure 1-1**）[5]。

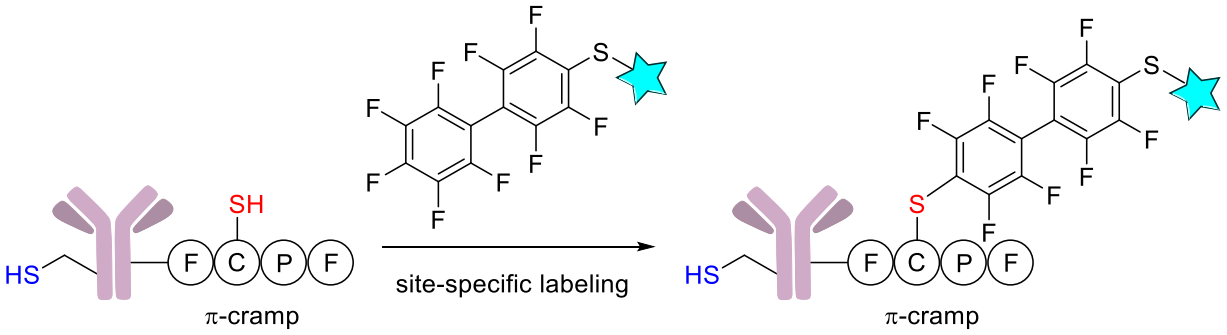
Figure 1-1

Previous work



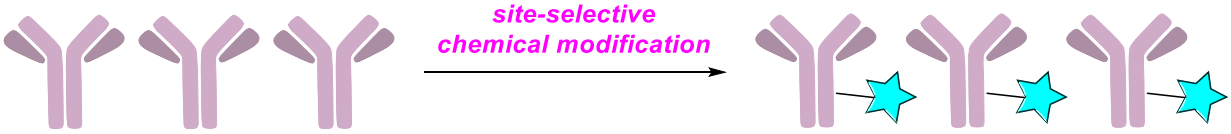
修飾の位置・数が異なる混合物の生成が問題となる。

Recent work



抗体への特殊配列の組み込みにより当該配列内 Cys 残基の選択的修飾が可能。
しかしながら医薬品製造までにかかる期間の長大化、コストの肥大化が問題となる。

Future outlook



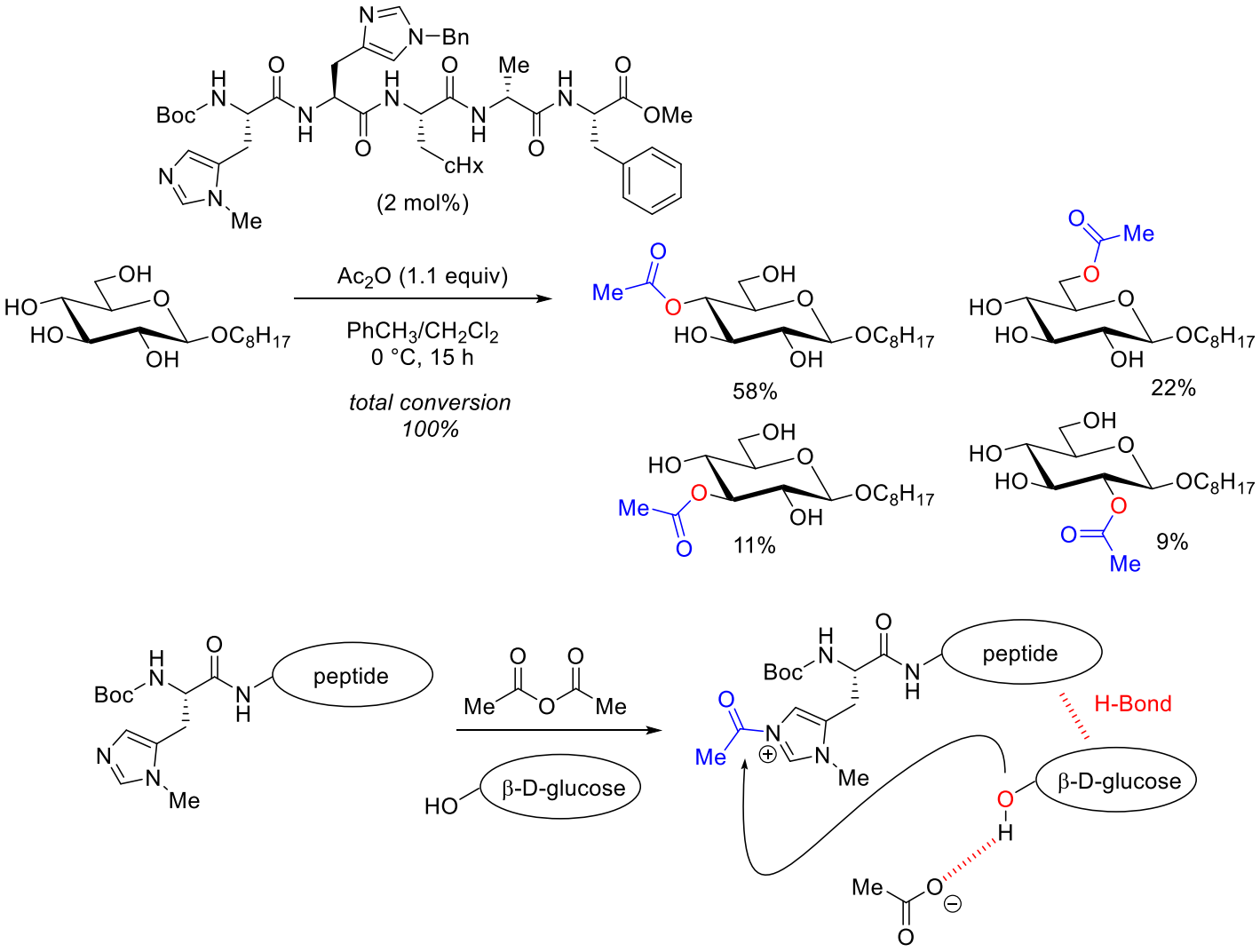
天然型抗体への位置選択的化学修飾により単一生成物の効率的な合成が可能となる。

（名城大学大学院）

同じく site-selective な反応手法が重要となる研究領域として糖鎖科学の分野がある。糖鎖もアミノ酸と並ぶ生体高分子の重要な構成成分の一つであり、癌や感染症など、広範な生体反応に関わる分子群である[6]。その性質から糖鎖は、医薬品のターゲットとしての魅力を古くから認知されてはいたものの、実際の医薬品としての応用例に関しては、その生物学的・医学的重要性とは裏腹に極めて少ないのが現状である。これは糖類が、反応性の類似した複数の水酸基を有する多官能基性の化合物であり、糖含有化合物の効率的な合成法の確立が、化学選択性の制御だけでは困難であることに起因している。このことから、糖類が有する多数の水酸基を識別しながら、特定の位置に適切な化学修飾を施す位置選択的反応手法の開発は、糖鎖医薬研究の発展にとって重要な役割を果たすと言える。

糖類に対する位置選択的な反応を実現させた近年の研究成果として、2003 年に Griswold と Miller らは、イミダゾールを反応点とするキラルなペプチド触媒を用いる、β-D-グルコース誘導体の位置選択的アシル化反応を報告した（**Scheme 1-2**）[7]。

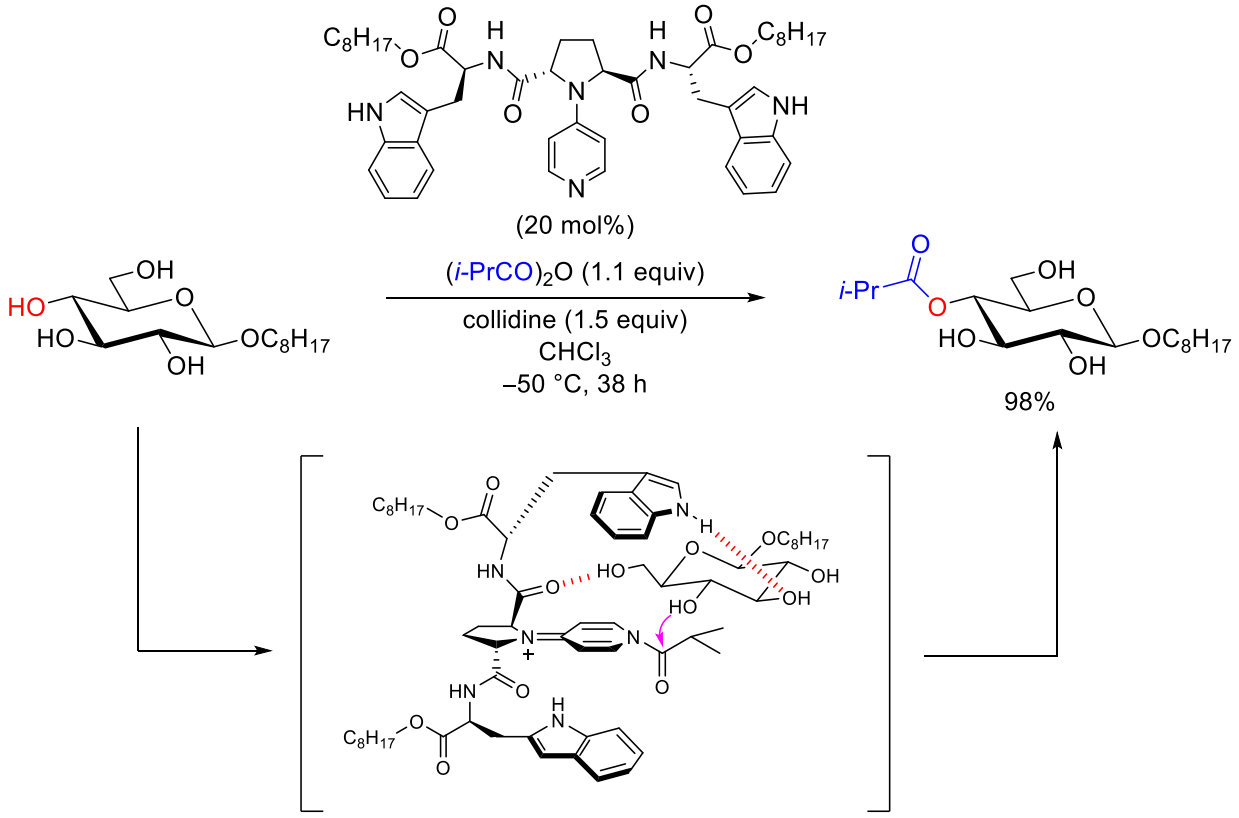
Scheme 1-2



無保護の第一級水酸基存在下、反応性に乏しい第二級水酸基を優先的にアシル化することに成功した本反応の結果は大変に興味深いものである。しかしながら本反応では、最終的に 4 種のモノアシル化体が混合物として得られており、その選択性に改善の余地を残していた。本反応は、触媒のペプチド部位と糖水酸基間に働く水素結合の影響により、第二級水酸基が優先的にアシル化反応点と接近することで、中程度の位置選択性が発現したものと推察される。

同様のグルコース誘導体に対する位置選択的反応の新たなアプローチとして、2007 年に川端らは、アシル化の求核触媒として汎用される 4-ピロリジノピリジンを基本骨格とする基質認識型有機求核触媒を開発し、本触媒を用いたグルコース 4 位水酸基選択的アシル化反応を報告した(**Scheme 1-3**)[8]。

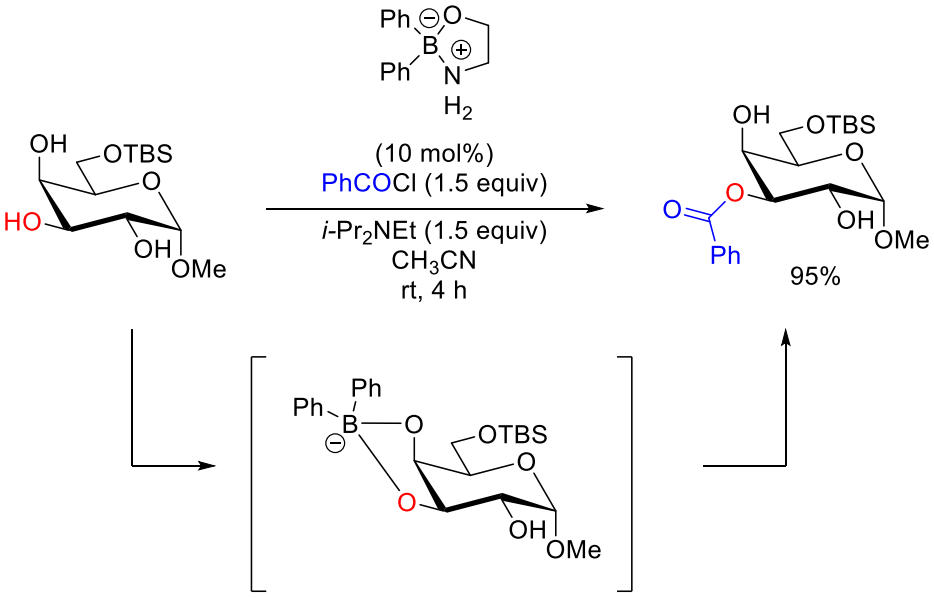
Scheme 1-3



本反応では、触媒がグルコース 6 位水酸基、および 3 位水酸基と水素結合を形成し、これにより糖内の 4 位水酸基を優先的にアシル化反応点に接近させることで、当該部位への高い位置選択性を発現することに成功している。

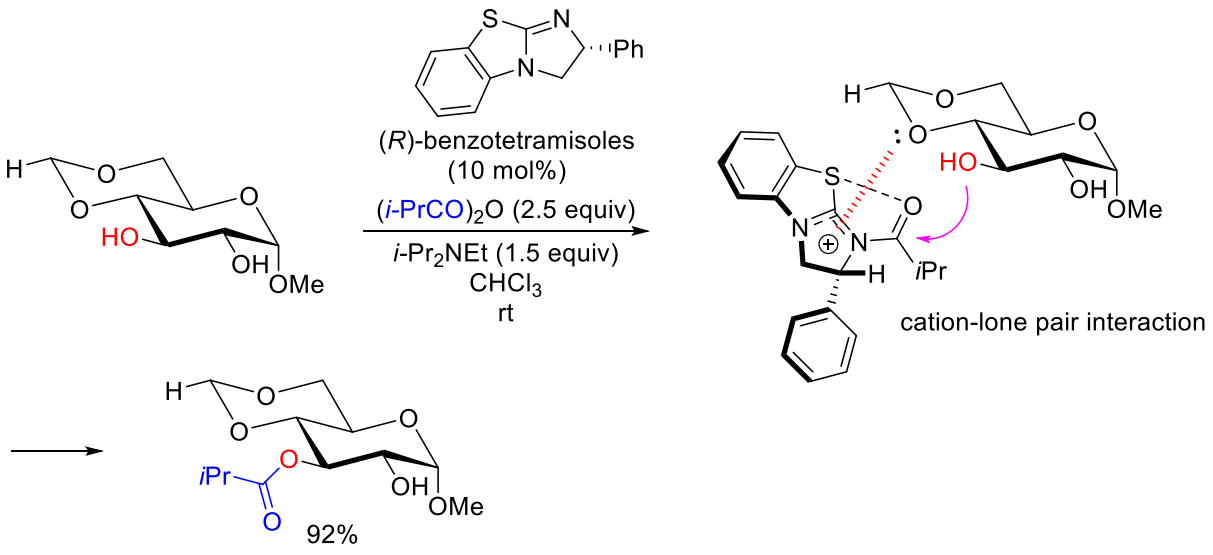
続いて 2011 年に Lee と Taylor らは、ジフェニルボリン酸触媒を用いて、糖内 *cis*-1,2-ジオールのエクアトリアル位に存在する水酸基を選択的にアシル化する手法を開発した（**Scheme 1-4**）[9]。本反応ではジフェニルボリン酸がピラン環上の 1,2-*cis*-ジオールと選択的に結合し、電子豊富な 4 配位錯体を形成する。これにより水酸基の求核性が大きく向上し、さらに立体的に空いているエクアトリアルの水酸基が優先的にアシル化剤と反応することで、当該部位の選択的アシル化を実現している。

Scheme 1-4



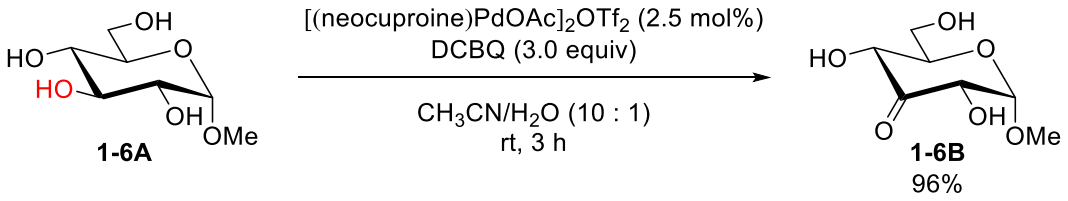
さらに 2017 年には Tang らにより、*trans*-1,2-ジオール部位への位置選択的アシル化反応の例が報告された。この反応は、基質に含まれる酸素原子上の非共有電子対と、アシル化された触媒中間体との間に働くカチオン-ローンペア相互作用による遷移状態の安定化が鍵となり、高い位置選択性を実現している（**Scheme 1-5**）[10]。

Scheme 1-5



アシル化反応以外の糖水酸基位置選択的官能基化の例として、2013 年に Minnaard と Vries らは、パラジウム触媒を用いるグルコース誘導体位置選択的酸化反応を報告した（**Scheme 1-6**）[11]。

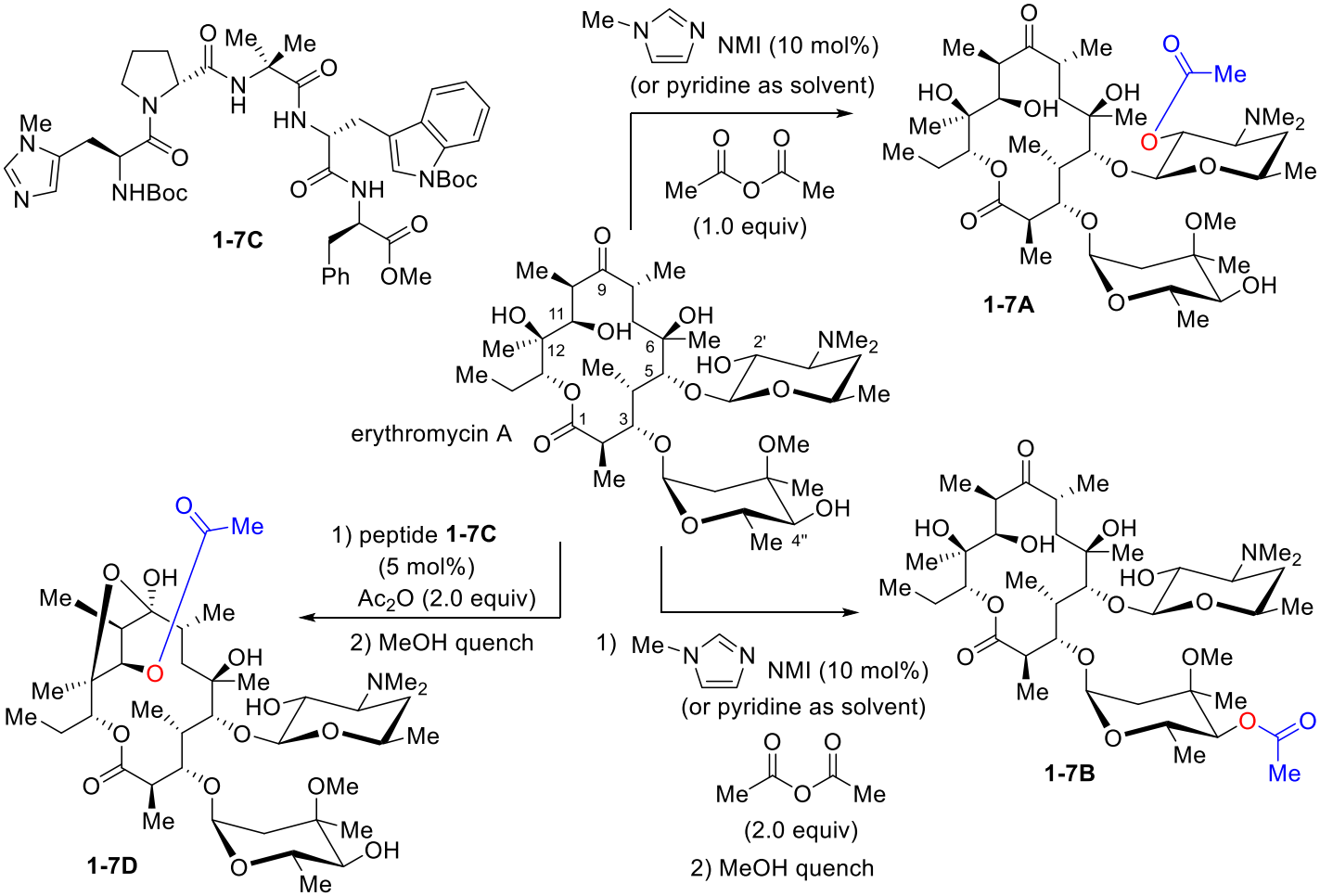
Scheme 1-6



本反応では 2 mol%の[(neocuproine)PdOAc]$_2$OTf$_2$ 存在下、2,6-dichloro-1,4-benzoquinone (DCBQ)を用いて α-D-グルコース誘導体 **1-6A** の酸化を行うことで、糖内 3 位水酸基が選択的に酸化されたケトン体 **1-6B** が 96%という高収率で得られる。この反応で位置選択性が発現する詳細なメカニズムは現在まで明らかでないが、本論文著者らは、速度論的支配に基づく 3 位水酸基のパラジウムへの選択的配位が主要因であると推測している。

さらに、より複雑な配糖体を基質とする水酸基位置選択的反応の例として、2006 年に Lewis と Miller らが報告したエリスロマイシン A の位置選択的アシル化がある（**Scheme 1-7**）[12]。

Scheme 1-7

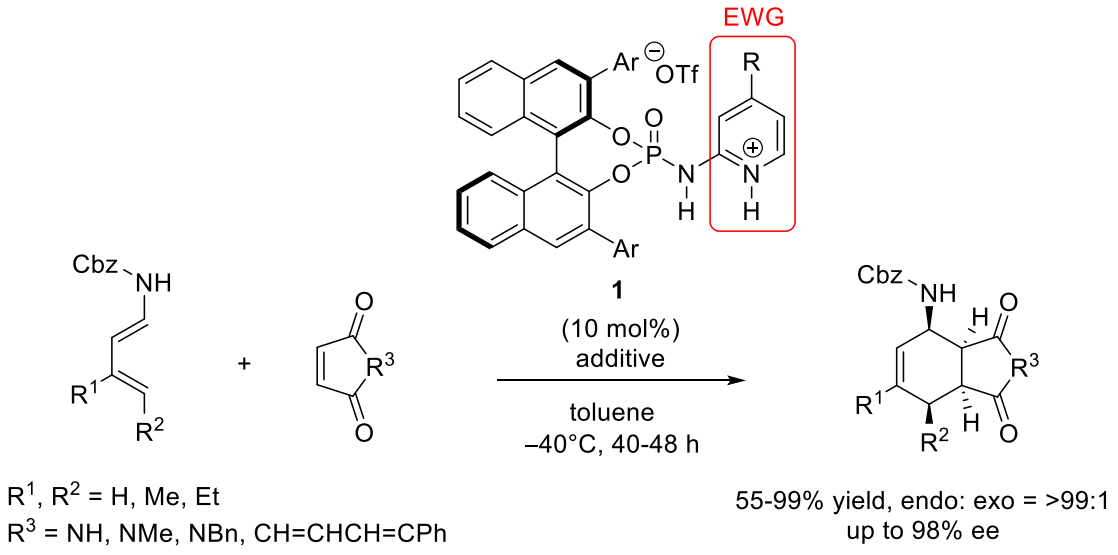


触媒量の *N*-メチルイミダゾール(NMI)を使用する、もしくは溶媒としてピリジンを使用しながら、1 当量の無水酢酸と反応させることで、C2'-OH の選択的モノアシル化体 **1-7A** が得られる。同様に NMI 存在下、あるいはピリジン溶媒中において、2 当量の無水酢酸を用いて反応を行った場合には、C2'-OH へのアシル化が起こった後、次いで C4"-OH がアシル化を受ける。ここで無水酢酸が完全に消費された後、メタノールを加えて反応を停止させることで、C2'-OAc の脱アセチル化が起こり、最終的に C4"-OH のモノアシル化体 **1-7B** が高選択的に得られる。このように Miller らは、クエンチ操作の仕方によって、別々のエリスロマイシン A 誘導体を作り分ける手法の開発に成功した。さらに、触媒にペプチド化合物 **1-7C** を使用して 2 当量の無水酢酸と反応させた場合では、C2'-OH へのアシル化の後、今度は C11-OH が 2 番目に優先的にアシル化されるようになり、基質の水酸基固有の反応性に逆転が生じることを明らかとした。本手法は、エリスロマイシンの抗菌力増強や抗菌スペクトルの拡大、並びに副作用の軽減などを志向した、新規エリスロマイシン誘導体の合成研究における重要な一助となる。

以上のように、種々の糖水酸基識別反応の例が現在までに報告されており、各手法を使い分けることでポリオール内の様々な位置に存在する水酸基の選択的官能基化が可能となる。しかしながら、それぞれの手法の基質適用範囲には当然ながら制限があり [12]、あらゆるポリオール化合物に対して自由自在な位置選択的反応を行うためには、用いることのできる方法論の数が、未だ圧倒的に不足しているのが現状である。そのため、既存の報告例とは異なるメカニズムに基づき、これまでの手法ではターゲットとして利用不可能であった水酸基を官能基化することのできる、新規反応手法の開発が常に望まれている。

一方、著者の所属する研究室では近年、複素環へのプロトンの配位により生じるカチオン性有機分子の電子求引性を利用するという発想に基づき、キラルピリジニウムリン酸アミド型の化合物 **1** を、ピリジニウムプロトンとイミド型酸性プロトンを有する二座配位型酸触媒としてデザイン、合成し、さらに本触媒を利用した不斉 Diels–Alder 反応の開発を報告した (**Scheme 1-8**)[14]。

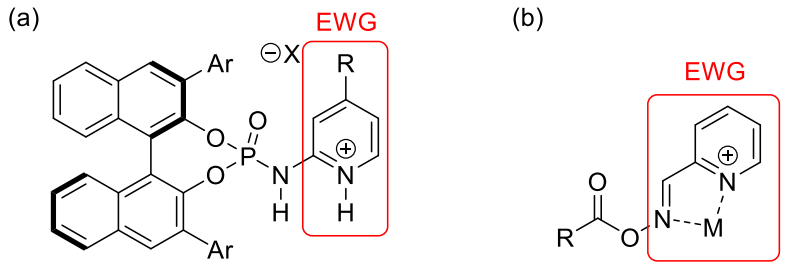
Scheme 1-8



本反応において触媒 **1** は、二つの酸性プロトンを介してマレイミド基質のカルボニル基と配位結合を形成し、これにより基質を不斉空間に剛直に固定させることで、高い反応性、立体選択性を実現したと考えている。

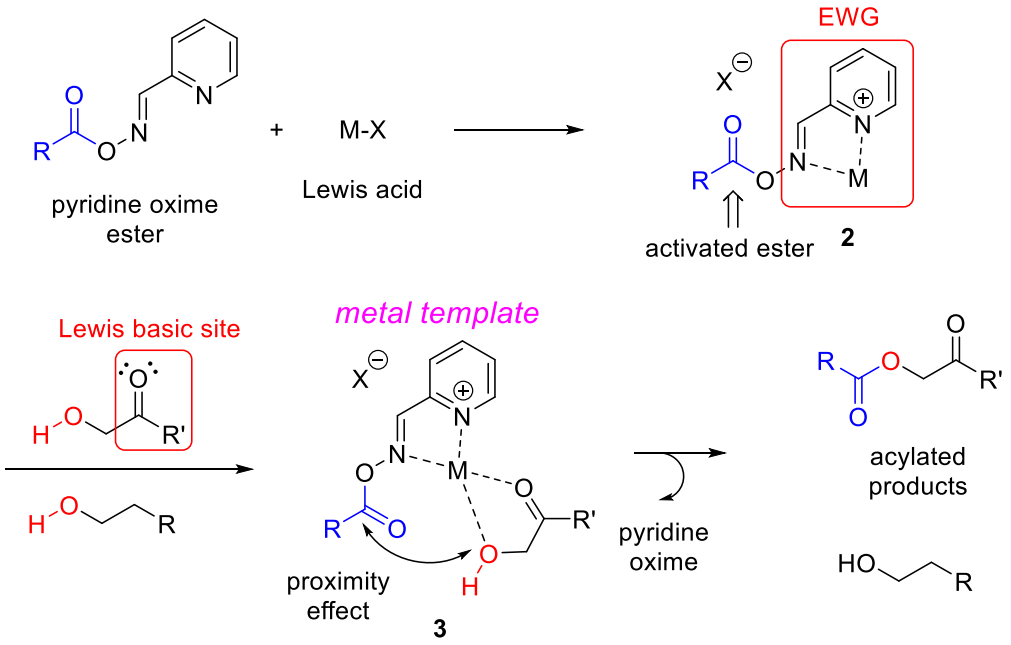
著者らは、本研究課題で得られた、カチオン性ヘテロ環錯体を電子求引性基として利用することによる隣接官能基の活性化、および基質の剛直な固定による適切な反応制御に関する知見を応用し、**Figure 1-2 (b)**で示したピリジンオキシム-金属複合体型の化合物が、多官能基性化合物に対する位置選択的な化学反応において、有用な反応剤として利用できるのではないかと予想した。

Figure 1-2



すなわち、ピリジン環に金属が配位する際に生じるカチオン性ヘテロ環の電子求引性を利用し、適度に活性化されたピリジンオキシムエステルをアシル化剤とする、ポリオールの位置選択的アシル化反応の開発を計画した。想定する位置選択性発現のメカニズムを **Scheme 1-9** に示す。

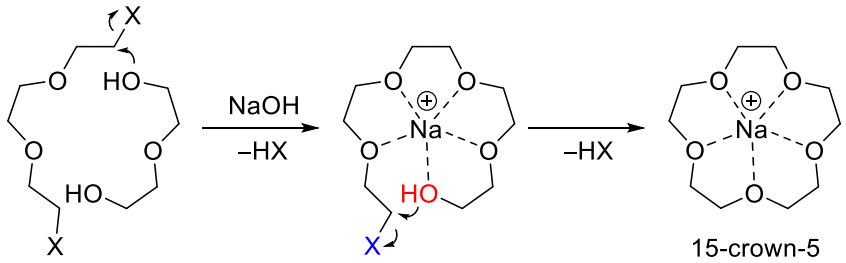
Scheme 1-9



初めにピリジンオキシムエステルのピリジン環上窒素、およびオキシム窒素が Lewis 酸金属に配位することで、ピリジン環部位が電子求引基として作動し、エステルカルボニル基の求電子性を向上させる。次いで、錯体 **2** の金属に対して、基質が有する Lewis 塩基性部位、およびその近傍に存

在する官能基が同様に配位することで、二種の分子が同じ金属イオンに配位した錯体**3**を形成する。この活性錯体の生成が本反応コンセプトの鍵となる。すなわち、錯体 **3** の形成により、ピリジンオキシムエステル内の活性化されたカルボニル基と、基質内の Lewis 塩基性部位近傍の官能基とが、互いに空間的に近い距離に配置された状態となり、これにより当該官能基はアシル化反応を優先的に受けやすくなると考えられる。金属イオンとの錯体形成を利用し、二種の分子間における特定の反応点同士を近づけることで単一の化合物を効率的に得やすくする効果のことをテンプレート効果と呼び、また、本効果を利用した合成法を鋳型合成法（templated synthesis）と呼ぶ[15]。この手法は従来、クラウンエーテルの効率的な合成に応用されてきた方法である（**Scheme 1-10**）。

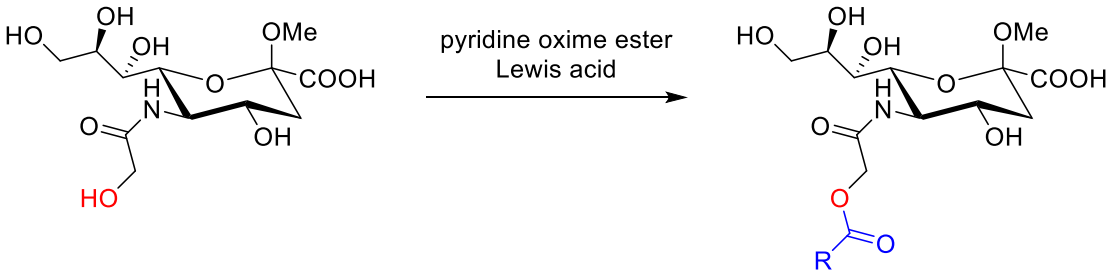
Scheme 1-10



このテンプレート効果の影響により、Lewis 塩基性部位の近傍に存在する水酸基のアシル化が促進される一方で、本効果は Lewis 塩基性部位から離れた位置に存在する官能基には影響を及ぼさない。そのため、標的とする水酸基以外へのアシル化反応は抑制された状態となる。以上のように、官能基ごとに異なる周囲の電子的環境の差を利用しながら、Lewis 塩基性部位近傍の水酸基への位置選択性アシル化を狙うのが、本手法のメカニズムである。

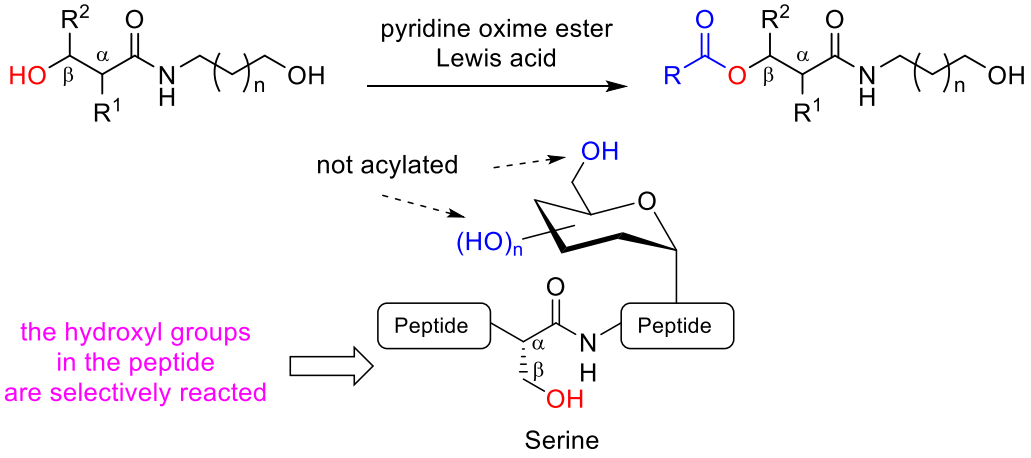
本作業仮説に基づき著者らは、アミド結合隣接位への新規位置選択的化学反応による以下の 2 種反応の開発に挑戦した。

① *N*-グリコリルノイラミン酸誘導体のアミドカルボニル基 α 位炭素上水酸基選択的アシル化反応



Nishikawa, Y.; Takemoto, K.; Matsuda, K.; Tanaka, R.; Arashima, A.; Ito, K.; Kamezawa, Y.; Hori, Y.; Hara, O. *Org. Lett*. **2018**, *20*, 3367–3371.

② β-ヒドロキシアミド構造を持つポリオール化合物に対するアミドカルボニル基β位炭素上水酸基選択的アシル化反応、および本反応を基盤とするセリン残基選択的な糖ペプチド修飾反応



Takemoto, K.; Nishikawa, Y.; Moriguchi, S.; Hori, Y.; Kamezawa, Y.; Matsui, T.; Hara, O. *Org. Lett*. **2019**. *21*. 7534–7538.

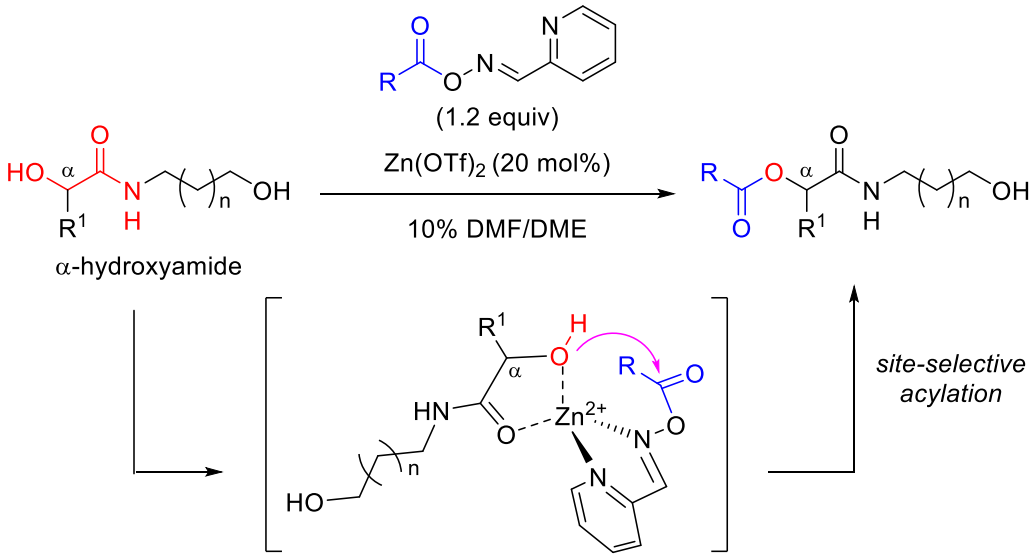
次章より各研究課題の詳細について述べる。

第二章　*N*-グリコリルノイラミン酸誘導体の位置選択的アシル化反応の開発

第一節　研究背景と著者の研究方針

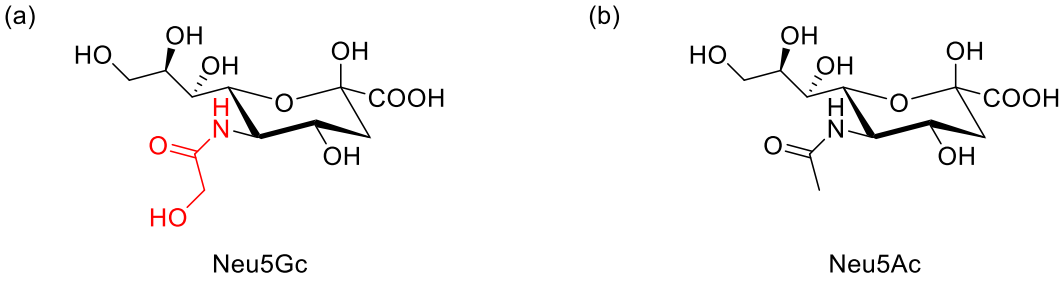
著者所属の研究室では、前述したテンプレート効果を利用する位置選択的アシル化反応の研究を進める中で、α-ヒドロキシアミド構造を持つ直鎖状ポリオール化合物に対する、アミドカルボニル基 α 位炭素上水酸基への高選択的アシル化反応の開発に成功した（**Scheme 2-1**）。

Scheme 2-1



鋳型となる金属イオンには Zn(II)を使用し、DMF/DME 混合溶媒中で反応を行うことにより、目的のモノアシル化生成物を高い収率・選択性で得ることができた。また、本手法は様々な直鎖状ポリオールに適用可能であり、幅広い基質一般性を示すことに成功した。著者らは次なる試みとして、本反応を、より生物学的に重要な基質に対して適用することを計画した。著者が標的の基質としたのは、*N*-グリコリルアミノ糖である。*N*-グリコリル構造は種々の生物活性配糖体に広く見られる構造であり、その代表的な例として *N*-グリコリルノイラミン酸（Neu5Gc）がある（**Figure 2-1a**）。

Figure 2-1



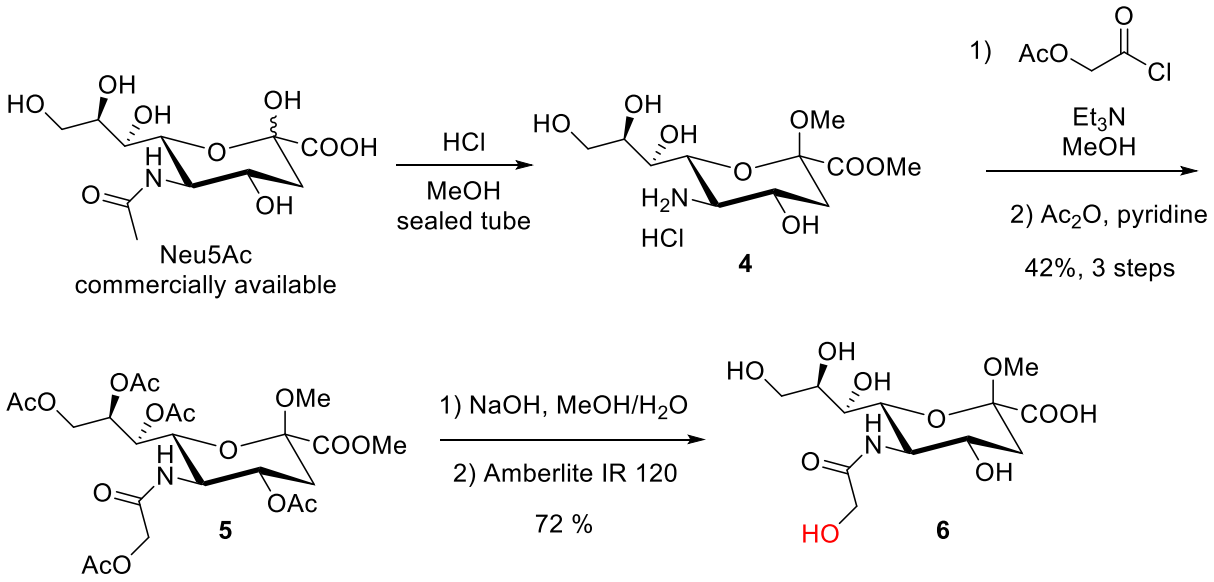
Neu5Gc はシアル酸ファミリーの中で、*N*-アセチルノイラミン酸（Neu5Ac：**Figure 2-1b**）に次いで天然に多く存在する分子種であり、ブタ、ラットといった哺乳動物細胞表面の複合糖質の非還元末端部位に存在している [16]。Neu5Gc は通常、CMP-Neu5Ac 水酸化酵素によって、Neu5Ac か

ら生成されるが、ヒトではこの酵素が欠損しているため、ヒト正常組織の糖脂質や糖タンパク質には Neu5Gc が存在していない[17]。そのため、ヒト体内において Neu5Gc を含む糖鎖は異質な糖鎖として強い免疫原性を有することが知られている。両者の構造上の違いは 5 位アミノ基がアセチル化されているか、グリコール酸で修飾されているかという点のみである。このただ一つの水酸基の有無が、化合物の生物学的特性に大きな変化をもたらすという事実は、非常に興味深い現象である。著者は、当該部位の水酸基を標的とする新規位置選択的化学修飾法の開発が、Neu5Gc 誘導体の効率的な合成方法の確立や機能解明研究において重要な役割を果たすと考え、研究に着手した。

第二節　*N*-グリコリルノイラミン酸誘導体の合成

N-グリコリルノイラミン酸基質の合成法を示す（**Scheme 2-2**）。

Scheme 2-2

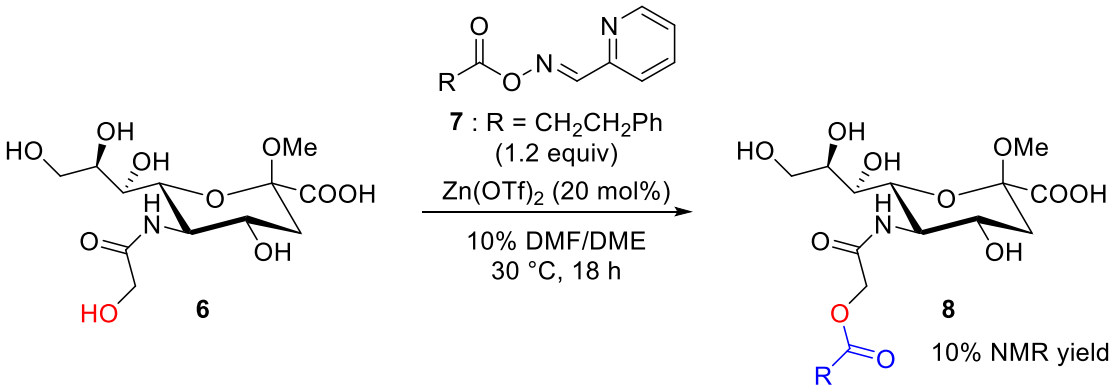


市販品として入手可能な Neu5Ac のアセトアミド部分を、強酸性条件下で加メタノール分解するとともに、ヘミアセタールのアセタール化、カルボン酸部分のエステル化を行い **4** へと変換した[18]。次いで 5 位アミノ基にアセトキシアセチル基を導入後、シリカゲルクロマトグラフィーにて精製を行うために、一度全ての水酸基をアセチル化することで化合物 **5** を純品として得た。その後アセチル体 **5** を塩基性条件下で加水分解することで、目的の基質 **6** のナトリウム塩へと変換した。これを、陽イオン交換樹脂（Amberlite IR 120)を充填したカラムに通すことで、**6** の分子形へと導き、さらに逆相 HPLC にて精製することで目的物を得た。

第三節　*N*-グリコリルノイラミン酸誘導体位置選択的アシル化反応の条件最適化

化合物 **6** に対して、**Scheme 2-1** で示した、α-ヒドロキシアミド選択的アシル化反応の最適条件を用いてアシル化を試みたところ、目的のモノアシル化体 **8** の ^{1}H-NMR 収率は 10%と低い結果にとどまった（**Scheme 2-3**）。

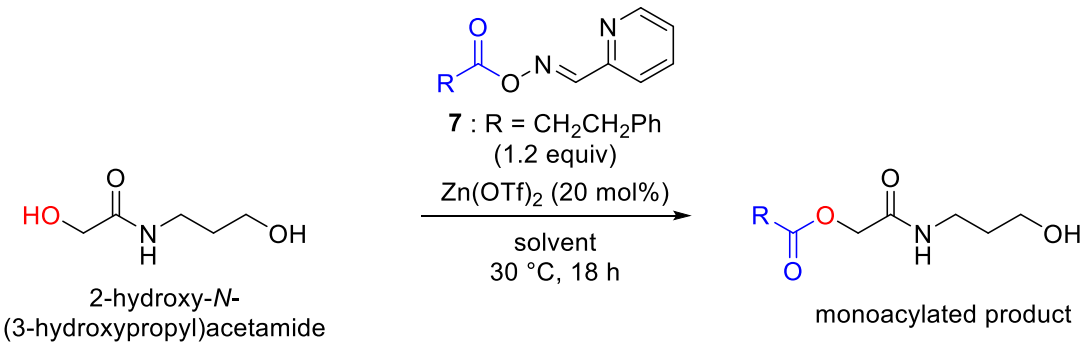
Scheme 2-3



この低収率に関して、基質 **6** が 10%DMF/DME 混合溶媒に完全に溶解しておらず、一部懸濁した状態で反応が進行していたことが原因であると考えられた。そこでまず初めに、溶媒の最適化検討を行うこととした。

Neu5Gc 誘導体 **6** の溶解性に関する情報として、100%の DMF を溶媒として使用した場合には、本基質を完全に溶解させることが可能であるものの、100%DME を用いた場合では、基質の一部が溶け残るということが、予備の実験結果より明らかとなっていた。一方で、これまでの α-ヒドロキシアミド選択的アシル化反応の研究の中で、DMF/DME 混合溶媒中における DMF 組成比の増加は、目的のモノアシル化体の収率を低下させる反応阻害要因として働く可能性を示唆する結果を得ていた(**Table 2-1**)。

Table 2-1

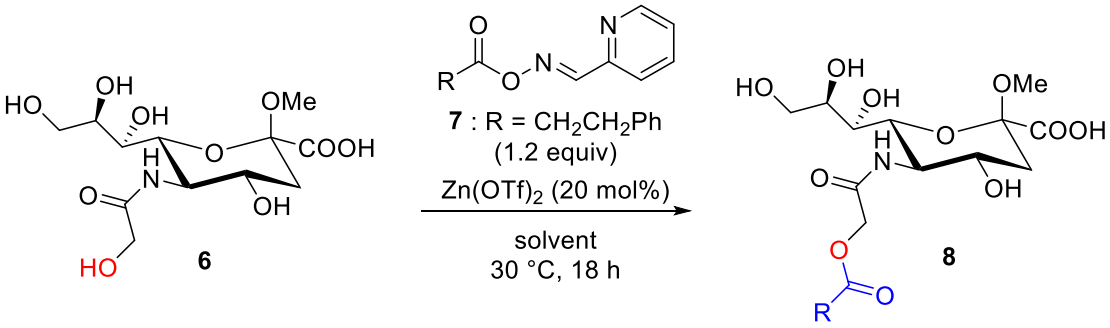


entry	solvent	NMR yield (%)
1	10% DMF/DME	82
2	DMF	50

この原因は、DMF の Zn(II)に対する配位能が DME よりも高く、従って DMF の過剰な使用が、Zn(II)を鋳型としたポリオール基質とピリジンオキシムエステル **7** の金属テンプレート形成効率を低下させたためであると考えている。

以上のことから、溶媒の最適化検討の方針として、基質の溶解性向上のために DMF をある程度使用しながらも、その量を最小限に留めることで収率への負の影響を抑制できるような、適切な組成比の混合溶媒の探索に取り組むこととした（**Table 2-2**）。

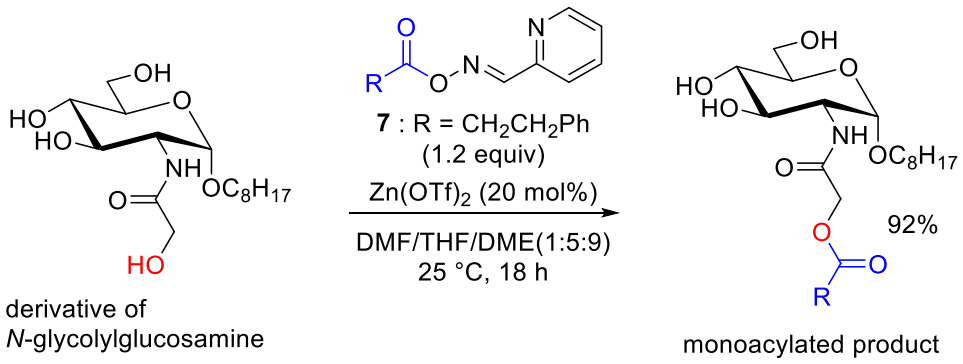
Table 2-2



entry	solvent	NMR yield (%)
1	10% DMF/DME	10
2	30% DMF/DME	11
3	50% DMF/DME	23
4	70% DMF/DME	12
5	DMF	8
6	DMF/THF/DME (1:5:9)	12

混合溶媒中の DMF の割合を 30%、50%、70%、100%と変化させたところ、50% DMF/DME が最も優れた収率を与えることが明らかとなった（entry 2-5）。また、当研究室における先の研究結果より、*N*-グリコリルグルコサミン誘導体に対して、DMF/THF/DME 混合溶媒中で本手法によるアシル化を行うことで、目的のモノアシル化体を良好な収率・選択性で与えるという結果を得ていた（**Scheme 2-5**）。

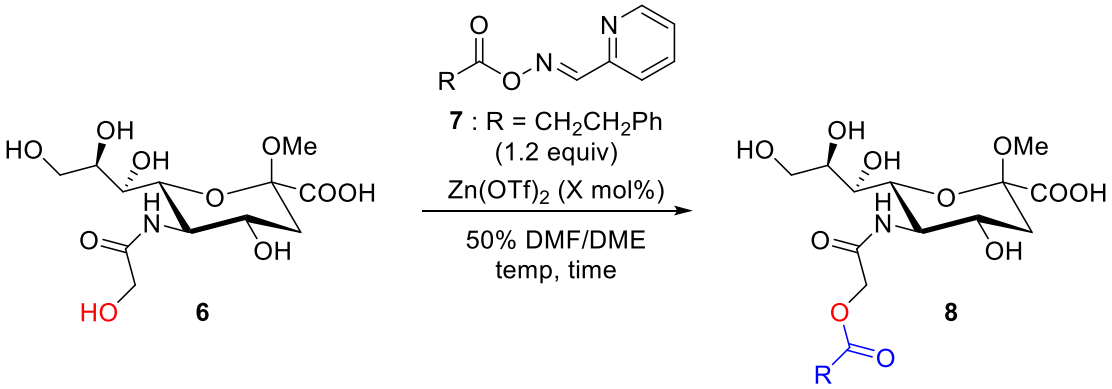
Scheme 2-5



そこで同溶媒を用いて Neu5Gc 誘導体 **6** のアシル化を試みたが、その収率は entry3 に劣る結果となった（entry 6)。以上の検討から、本反応における最適な混合溶媒の組成比を entry3 の条件に決定した。

続いて、溶媒を 50%DMF/DME に固定し、本反応の Lewis 酸添加量、反応温度、反応時間について種々検討を行った（**Table 2-3**)。

Table 2-3

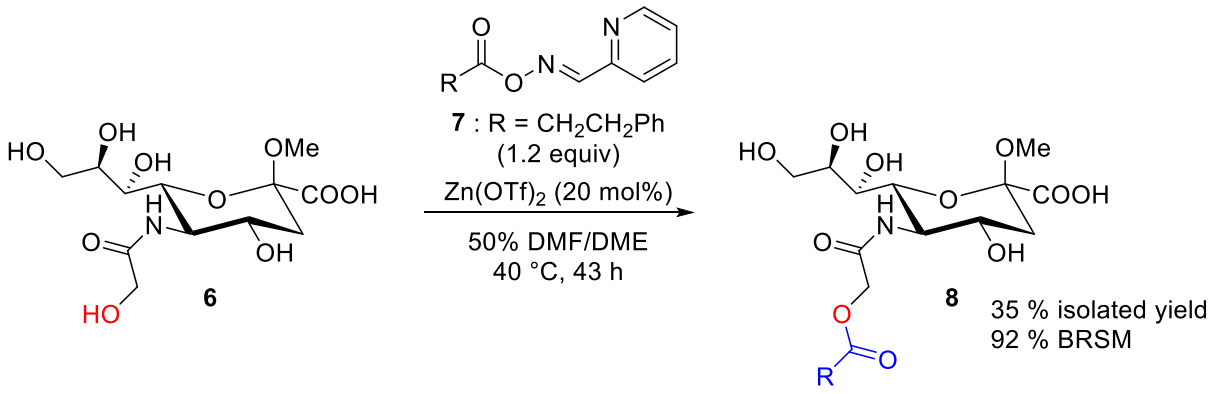


entry	$Zn(OTf)_2$ (X mol%)	temperature (℃)	time(h)	NMR yield (%)
1	20	30	18	23
2	40	30	18	26
3	20	40	18	42
4	20	40	43	53

添加する亜鉛を倍量に増やしたが、収率に大きな変化は見られなかった（entry 2)。一方、反応温度を 30 ℃から 40 ℃へ変化させたところ、収率が改善した（entry 3)。反応温度の上昇による基質の溶解性向上が、この要因であると推測している。また、昇温による副生成物増加の可能性を危惧していたが、得られた粗生成物の ^{1}H-NMR スペクトル上において、副生成物と思しき化合物の生成は確認されなかった。最終的に、反応時間を 43 時間へと延長したところ、目的物の収率は 53%にまで向上し、これを Neu5Gc 誘導体 **6** のアシル化における最適条件に決定した（entry 4)。

最終的に本最適条件を用いて反応を行った時の目的物の単離収率は 35%であり、また、原料回収量を考慮した計算収率は 92%となった（**Scheme 2-6**）[19]。

Scheme 2-6



第四節　結論

著者は種々の検討を行い、Neu5Gc 酸誘導体に対する、アミドカルボニル基 α 位炭素上水酸基への位置選択的アシル化反応の開発を達成した。本反応は高い選択性で目的のモノアシル化生成物を与える優れた反応である。また、原料 **6** の回収は HPLC 分取法を用いることにより簡便かつほぼ定量的に行うことができるため、原料の製造コスト低減にもメリットがある手法と言える。本反応は、Neu5Gc 誘導体の効率的な合成法の確立、および機能解明研究の進展における大きな一助となることが期待される。

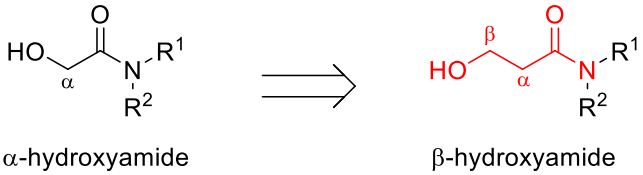
一方で、本反応の収率には改善の余地を残している。目的の化合物 **8** の単離収率は 35%と低い結果にとどまっており、これは、**Scheme 2-5** で示した、*N*-グリコリルグルコサミン誘導体に対するアシル化反応の結果と比較すると、その差が顕著である。本アシル化反応が低い収率にとどまった要因として、ノイラミン酸誘導体 **6** が有するいくつかの構造的特徴が考えられる。具体的には、分子内にカルボキシル基、およびグリセロール様構造を含んでいる点である。これらの構造はアミド構造と同様、配位性部位として作用する可能性があると考えられ、これらの部位が金属へ配位することで、Zn(II)イオンを鋳型としたテンプレート効果を減弱させ、目的の化合物 **8** の生成を阻害したものと推察している。

第三章　β-ヒドロキシアミド構造を持つポリオール化合物に対する アミドカルボニル基β位炭素上水酸基選択的アシル化反応の開発

第一節　研究背景と著者の研究方針

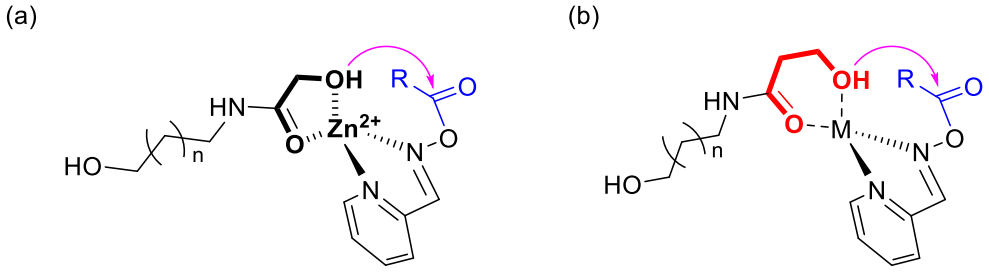
前章までの研究成果より、α-ヒドロキシアミド構造を標的とした位置選択的アシル化反応の開発、またその生体分子への応用例を示すことができた。次なる挑戦として著者らは、β-ヒドロキシアミド構造に対する位置選択的アシル化反応の開発を計画した（**Figure 3-1**）。

Figure 3-1



アミドカルボニル基β位炭素上水酸基への位置選択的アシル化反応は、α 位水酸基を標的とする場合と比較して、難度が高いと考えられる点が複数存在する。例えば、本アシル化手法において重要なのは、前述のように、金属イオンを鋳型として二種の分子がテンプレートを形成し、その際に互いの反応点同士が近接に配置された状態となることであるが、β-ヒドロキシアミドへのアシル化反応では、この錯体形成がより困難になると予想される。すなわち、α-ヒドロキシアミドが金属に配位する場合、**Figure 3-2a** で示すような 5 員環の錯体構造を形成していたのに対して、β-ヒドロキシアミドの場合は、よりフレキシブルな 6 員環を形成する必要があり、従って錯体の形成速度が低下する可能性が考えられる（**Figure 3-2b**）。

Figure 3-2



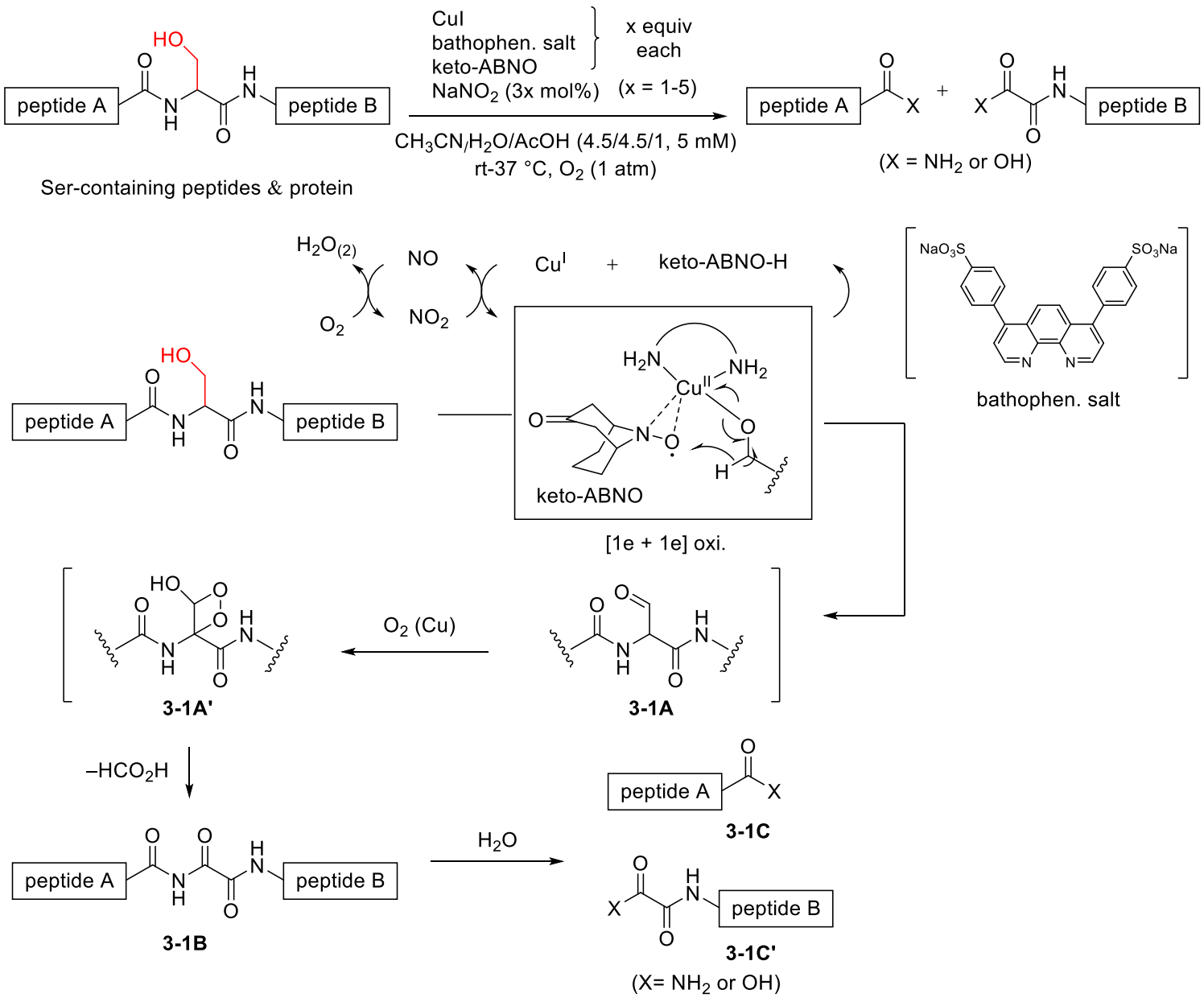
鍵となる錯体構造形成の困難さはそのまま、標的官能基の反応性の低さとなる。化学反応の反応性向上のための最も簡単なアプローチ法は、反応温度を上げることであるが、位置選択的反応の開発研究においては、昇温による副生成物の増加が懸念事項として存在するため、温度パラメータの上昇は極力避けるべきである。従って、この反応を実現させるためには、これまでと同じ室温条件下において、従来よりも強力なテンプレート効果を発現させるための工夫が必要となる。

また、ターゲット水酸基の位置がアミドカルボニル基β位炭素上となったことで、標的水酸基と競合相手との間における電子的・立体的環境の差異が、α 位炭素上水酸基の場合と比べて小さいことも、両者の識別をより困難にする要因となり得る。

以上のような課題が本研究における障害となる一方で、アミドカルボニル基β位炭素上水酸基が持つ、化学修飾のターゲットとしての魅力は非常に優れていると言える。すなわち、アミドカルボニル基β位炭素上の水酸基は、天然アミノ酸のセリンやトレオニンの側鎖に存在する水酸基に相当し、従ってそれらを標的とする位置選択的な反応は、様々なタンパク質類に対する化学修飾に応用できる可能性がある。

セリン選択的に行うタンパク質化学修飾の近年の報告例として、生長らが報告した酸化的ペプチド鎖切断反応がある(**Scheme 3-1**)[20]。

Scheme 3-1

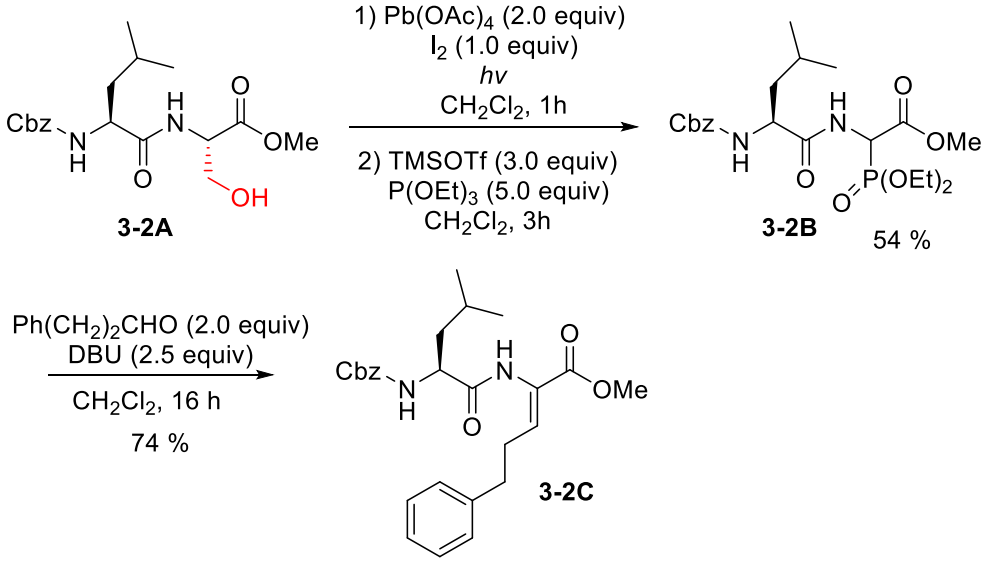


本反応ではまず、酸素雰囲気下において Cu(I)と keto-ABNO が反応し、Cu(II)と keto-ABNO の酸化活性複合体が生成する。セリン残基の酸化は、Cu(II)-アルコキシド種の形成と、それに続く Cu(II)によるアルコキシド種の一電子酸化、さらに同時に起こる keto-ABNO によるβ-炭素からの

水素ラジカル引き抜きによって進行する。これによりα-ホルミルグリシンアミド中間体 **3-1A** が生成し、また、還元された Cu(I)と keto-ABNO が得られる。酸化活性複合体 Cu(II)＋keto-ABNO の再生は、系中に存在する $NaNO_2$ と酢酸から生成される NO_2 によって促進される。得られた NO は好気的酸化により NO_2 へと再変換される。α-ホルミルグリシンアミド **3-1A** の酸化的脱ホルミル化は中間体 **3-1A'**を経てオキサルアミド **3-1B** を生成する。このプロセスも銅触媒によって促進されていると考えられている。オキサルアミド **3-1B** 内に存在するアミドカルボニル基は求電子性が高く、穏和な条件下で加水分解を受けてペプチドフラグメント **3-1C** と **3-1C'**を生成する。本反応は高いセリン選択性を示し、かつ生理的条件下において行うことのできる、優れたペプチド修飾の手法である。

また 2012 年に Boto と Hernandez らは、セリン/トレオニン選択的な酸化的切断反応と Hornere-Wadsworthe- Emmons 反応を組み合わせることにより、α,β-デヒドロアミノ酸を含むペプチド鎖を合成する手法を報告した（**Scheme 3-2**）[21]。

Scheme 3-2



本反応ではまず、光分解条件下、ジペプチド **3-2A** を $Pb(OAc)_4$ および I_2 で処理した後、TMSOTf および $P(OEt)_3$ と反応させることで、1 : 1 のジアステレオマー混合物としてホスホネート **3-2B** が得られる。続く、3-フェニルプロピオンアルデヒドとの Hornere-Wadsworthe-Emmons 反応は Z 選択的に進行し、デヒドロアミノ酸 **3-2C** を高収率で生成する。この酸化的切断反応はトレオニン残基に対しても適用可能であり、Hornere-Wadsworthe-Emmons 反応をアセトンで行うことで、デヒドロバリン含有ペプチドを生成することも可能である。

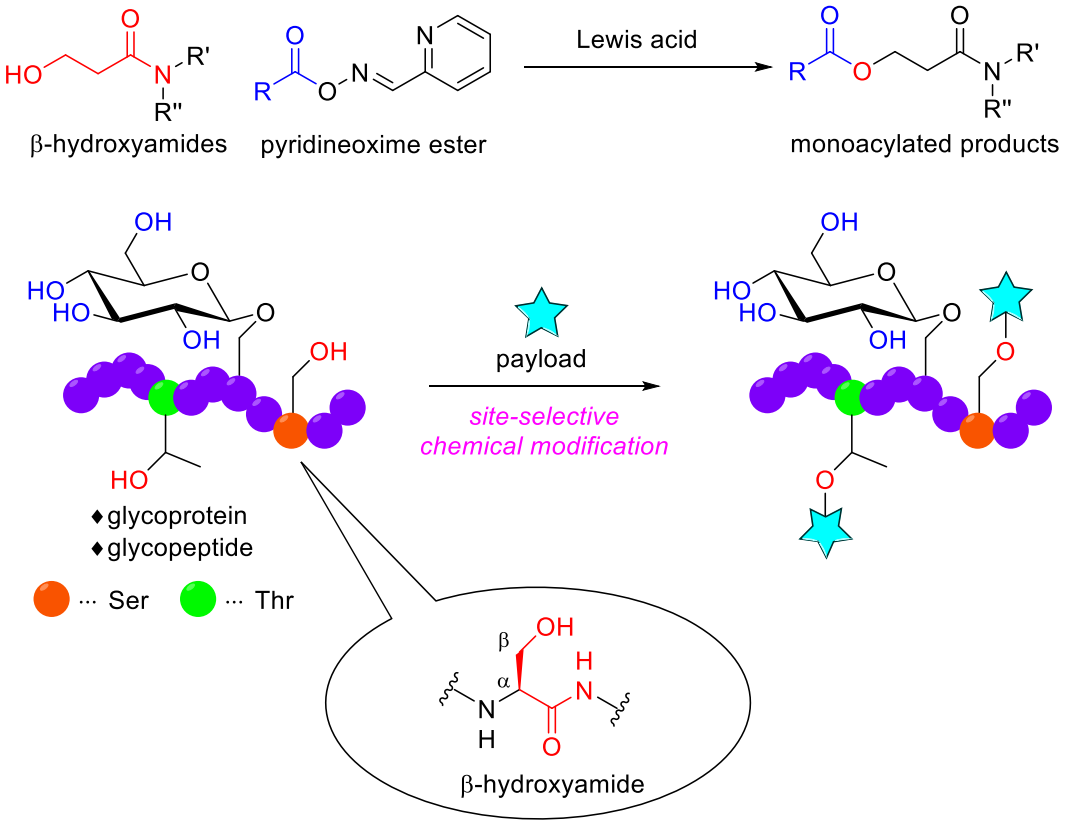
こうした報告がある中で、著者は前述したβ-ヒドロキシアミド選択的アシル化反応を、セリン/トレオニン選択的なペプチド修飾に応用することを計画した。その中でも特に本反応の有用性を示すための重要な例として、糖ペプチド化合物に対する本手法の適用があると考え、その開発研究に着手することとした。

糖ペプチドや糖タンパク質は、様々な生体現象に関与する重要な構造である。第一章にて薬物の運搬役としての機能を説明した抗体も、その本質は糖タンパク分子である。そのため、抗体に対して化学修飾を行う際には、糖が有する多数の水酸基との反応を抑制しながら、タンパク質内の標的のアミノ酸部位を狙う必要がある。従来はリシンやシステインなど、水酸基よりも反応性の高い求核性官能基を有するアミノ酸を標的とすることにより、望まない副反応を回避する方法が主流となっていたが、著者が開発を目指す、ポリオール内アミドカルボニル基β位炭素上水酸基選択的アシル化反応を利用することにより、新たにセリンやトレオニンを、抗体の修飾部位として使用できるようになる可能性がある。これは、第一章で述べた ADC の創製を始めとする、糖タンパク質化合物の応用利用に関する研究を拡張させるための、重要な一助となると考えられる。

また近年では、糖タンパク質よりも分子量の小さい糖ペプチドを医薬品の候補分子とする中分子創薬研究も盛んに行われており [22]、それら中分子化合物への新たな機能の付与、および機能増強の手段としても、本化学修飾反応の利用可能性が大いに期待できる。

以上より、本研究課題は種々の困難を有する達成の難しい挑戦であると考えられる一方で、生体分子への化学修飾における新規手法を提供し、今後の創薬研究の進展に繋がる可能性を秘めた重要なテーマであると言える（**Figure 3-3**）。

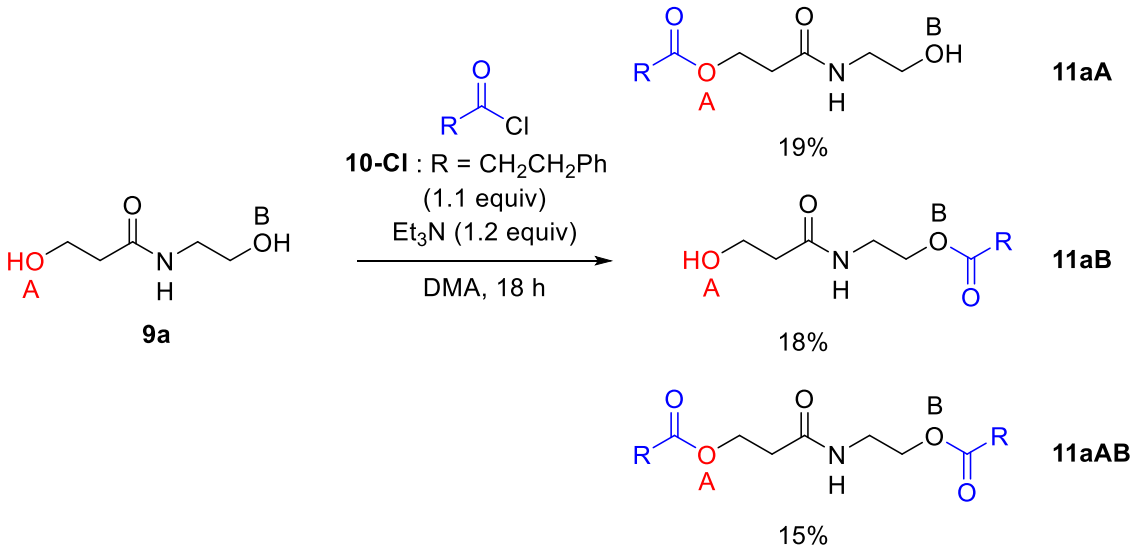
Figure 3-3



第二節　β-ヒドロキシアミド位置選択的アシル化反応の条件最適化

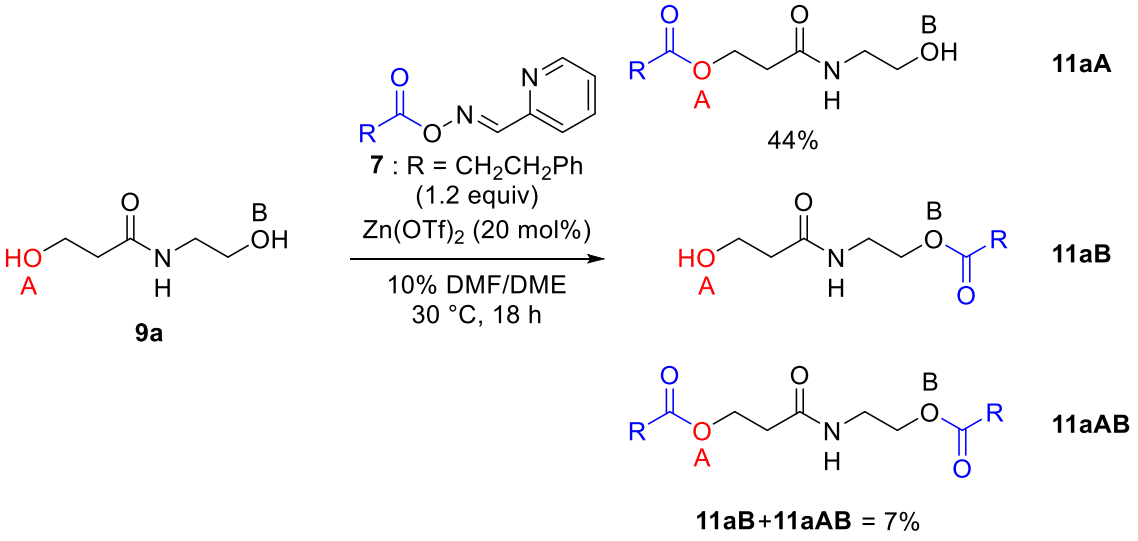
著者はβ-ヒドロキシアミド構造を持つジオール **9a** を基質とし、反応条件の最適化検討を開始した。初めに、基質自身の反応性に依存する位置選択性の発現が起こらないことを確認すべく、酸塩化物 **10-Cl** を用いる一般的なアシル化条件で反応を行った（**Scheme 3-3**）。その結果、目的のモノアシル化体 **11aA** が ^{1}H-NMR 収率 19%で得られたほか、副生成物として **11aB**、**11aAB** がそれぞれ同 18%、15%で得られた。本反応条件において、基質 **9a** が有する 2 つの水酸基への非選択的なアシル化が同程度の割合で進行したという結果から、それぞれの水酸基が持つ固有の反応性は同等であることが示唆された。

Scheme 3-3



続いて、前節までの研究により得られていた、α-ヒドロキシアミド選択的アシル化反応における最適条件をそのまま踏襲して、基質 **9a** のアシル化を試みた。その結果、目的のモノアシル化体 **11aA** が優先的に得られはしたものの、その収率、および位置選択性は低い結果にとどまった（**Scheme 3-4, 11aA**：**11aB+11aAB** = 44：7）。

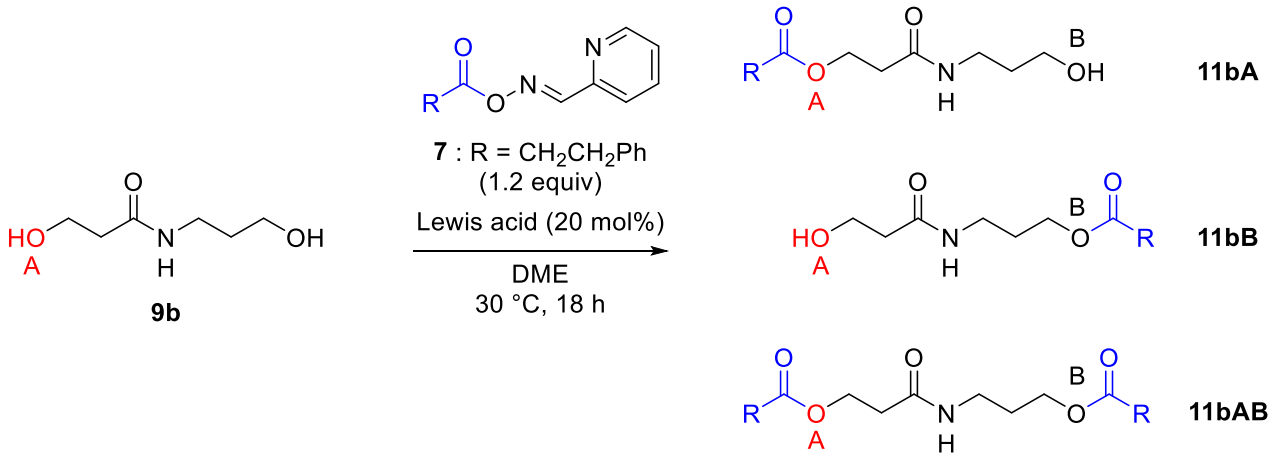
Scheme 3-4



Scheme 3-4 の結果は、前節にて予想していた、アシル化反応の標的部位をα-ヒドロキシアミドからβ-ヒドロキシアミドに変えたことに付随する種々の問題が、実験的結果として現れたものと考えられる。この結果を受けて著者らは、新たにアミドカルボニル基β位炭素上水酸基に対して高い位置選択性を発現するための、適切な反応条件の探索を行う必要に迫られた。

一方、著者の所属する研究室における過去の研究の中で、**9a** と類似のβ-ヒドロキシアミド化合物 **9b** に対して、同様に金属イオンのテンプレート効果を利用するアミドカルボニル基β位炭素上水酸基への選択的アシル化反応を試みた検討結果を得ていた（**Table 3-1**）。

Table 3-1



entry	Lewis acid	^{1}H-NMR yield (%)		
		11bA	**11bB**	**11bAB**
1	$Zn(OTf)_2$	41	12	
2	$In(OTf)_2$	48	10	
3	$Sc(OTf)_2$	46	27	
4	$Ga(OTf)_2$	5	13	
5	$Ag(OTf)_2$	10	11	
6	$Cu(OTf)_2$	27	11	
7	CuOTf・½toluene	20	less than 5%	

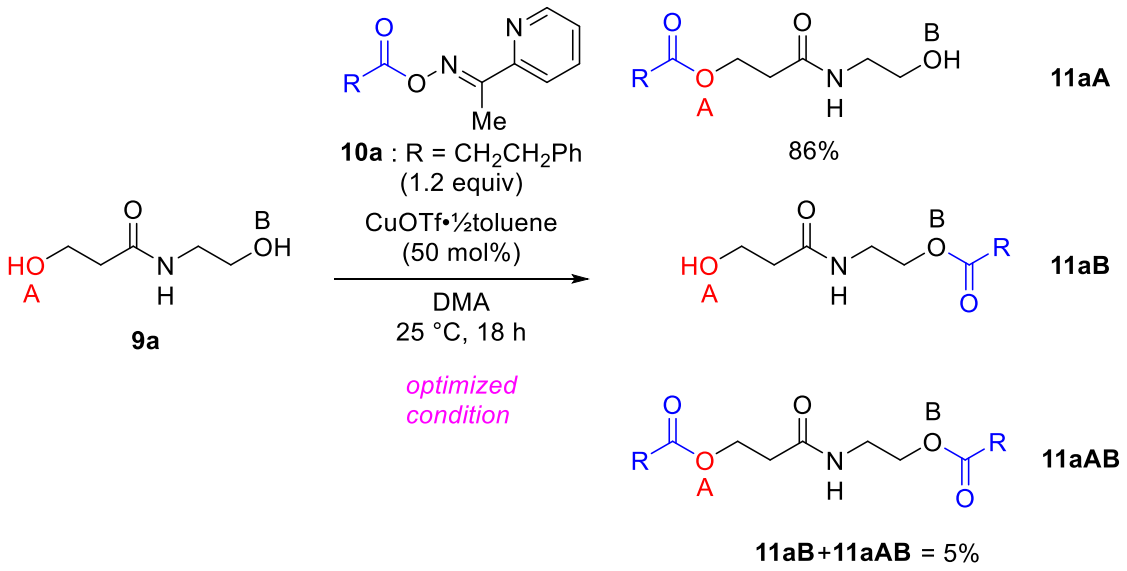
本検討の中でも **Scheme 3-4** の結果と同様、$Zn(OTf)_2$ を用いて行うアシル化反応においては、その収率・選択性が低い結果にとどまっていた（entry 1）。また、entry 2 以降では亜鉛以外の金属種を用いて種々検討を行っていたものの、いずれも目的のモノアシル化体 **11bA** を高い収率・選択性で得るには至らず、最終的に本課題は未達成のままとなっていた。

本検討の entry 1-6 において、特に位置選択性という面で良好な結果が得られていなかった一方、entry 7 に示した一価銅トリフラートトルエン錯体を用いた反応において、目的の生成物 **11bA** を収率 20%で与え、さらに副生成物 **11bB**, **11bAB** の割合をごく少量にとどめるという、比較的良好な選択性を示す結果を得たことは、注目に値するものであった。そこで著者は、この一価銅トリフラートトルエン錯体が、β-ヒドロキシアミドを基質とする位置選択的アシル化反応において、効果

的に機能するルイス酸金属種になり得ると予想し、他の反応条件を微調整していくことで、基質 **9a** に対するアシル化反応の検討を進めていく方針を立てた。

種々検討の結果、最終的に基質 **9a** に対して 50 mol%の CuOTf・½toluene を添加し、アシル化剤としてピリジンケトキシム構造を有する **10a** を用いて、DMA 溶媒中 25 ℃にて反応を行った時、目的とするモノアシル化体 **11aA** の ^{1}H-NMR 収率が 86%にまで向上し、一方で副生成物の比率は **11aB**、**11aAB** 合わせて 5%にとどまるという結果を得た(**Scheme 3-5**)。この条件を本反応における最適条件に決定した。

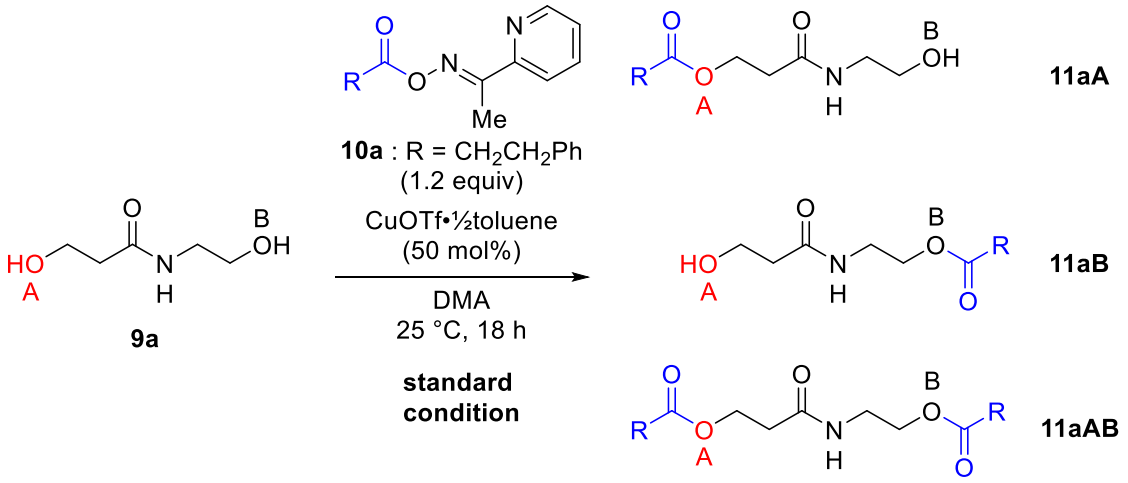
Scheme 3-5



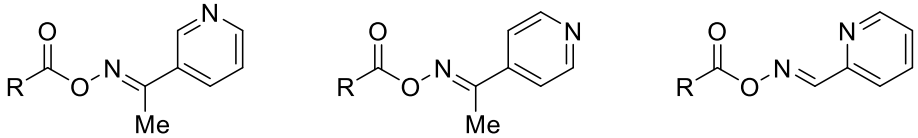
各種条件検討の詳細について **Table 3-2** に示す。銅の添加量を 50 mol%から 20 mol%に減らしたところ、目的のモノアシル化体 **11aA** の収率は 53%にまで低下した（entry 2)。また、銅を添加しない場合においては、反応が全く進行しなかった（entry 3)。二価の銅や亜鉛など、種々のルイス酸金属種を用いた場合との比較を行ったが、その中でやはり一価銅が最も優れた結果を与えた(entry 4-5)。反応時間を 3 時間に短縮させた場合には、その時点における選択性は高かったものの、反応途中の状態であった（entry 6)。このことから、本反応では反応初期において、高い選択性で目的のモノアシル化体が生成するものの、反応の進行に伴って標的水酸基が反応済みの基質の量が増えていき、反応終盤では相対的に多く存在している競合水酸基へのアシル化が起こっていることが推察される。アシル化剤の構造について種々検討した結果、メチル 2-ピリジルケトキシム構造が、本反応の収率、および選択性の向上に、重要な役割を持つことを明らかとした（entry 7-9)。また、基質濃度の変化による収率への影響を調査したところ、0.2 M から 0.4 M へ濃度を高くした場合においては、収率の軽微な低下が観測された（entry 10)。溶媒に関して、種々配位性溶媒をスクリーニングした中で、DMA が最も良い収率を与えた（entry 11-13)。また、本反応は含水条件において収率の低下が観測された（entry 14)。entry 15 ではアシル化剤 **10a** の量を 1.2 当量から 2 当量に増やすことで収率の改善を期待したが、逆に収率が低下する結果を与えた。

（名城大学大学院）

Table 3-2



entry	variations from standard conditions	^{1}H-NMR yield (%)		
		11aA	**11aB**	**11aAB**
1	none	86	5	-
2	CuOTf•½toluene (20 mol %)	53	0	-
3	without CuOTf•½toluene	0	0	-
4	$Cu(OTf)_2$ instead of CuOTf•½toluene	44	5	-
5	$Zn(OTf)_2$ instead of CuOTf•½toluene	39	24	-
6	3 h reaction time	50	0	-
7	***iso*-10a** instead of **10a**	34	10	8
8	***iso*-10a'** instead of **10a**	38	17	11
9	**7** instead of **10a**	50	0	0
10	[**9a**] = 0.4 M instead of 0.2 M	76	5	-
11	DME as the solvent	42	10	-
12	CH_3CN as the solvent	69	8	-
13	DMF as the solvent	69	8	-
14	10% H_2O/DMA as the solvent	26	3	-
15	**10a** (2 equiv)	68	6	-

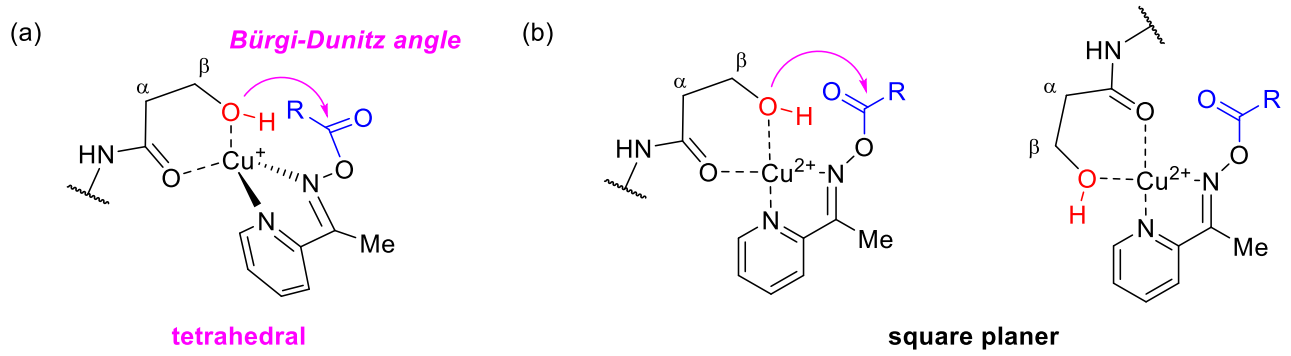


***iso*-10a**　　***iso*-10a'**　　**7**

以上の検討の結果、**Table 3-2** の entry 1 を本反応の最適条件に決定した。これらの実験結果から、本反応において目的のモノアシル化生成物 **11aA** を良好な収率・選択性で得るためには、用いる金属の種類、アシル化剤の構造、そして適切な溶媒選択の 3 点が重要であると考察される。

本反応において一価銅が良好な結果を与えた理由は、基質、およびアシル化剤が金属イオンに配位することで形成される錯体の立体構造が、金属種ごとに異なることと関連していると推察する。通常、一価銅錯体は **Figure 3-4a** に示すような四面体配位構造をなすが [23]、一方で二価銅イオンを中心とした錯体は **Figure 3-4b** で示した平面四角形構造を好むことが知られている [24]。

Figure 3-4

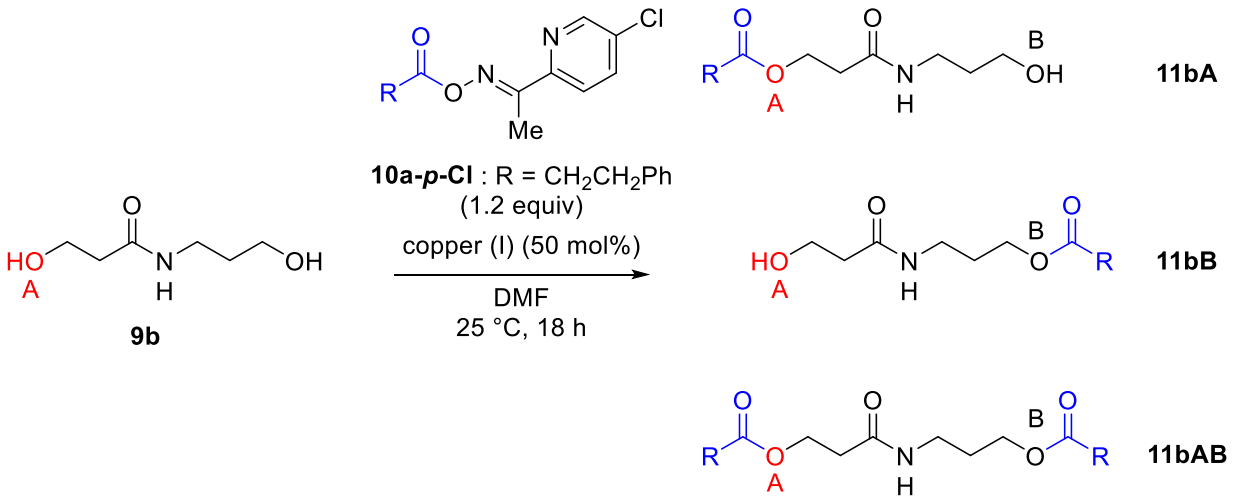


(a)と(b)それぞれの構造を比較したとき、四面体錯体 **Figure 3-4a** においては、基質およびアシル化剤がどのような配位の仕方をした場合でも、標的水酸基とエステルカルボニル炭素との距離が一定に保たれており、したがって反応点同士の近接効果を常に発現することが可能であると考えられる。一方で、平面四角形錯体では、**Figure 3-4b** で示した二種の配位構造を形成する可能性があり、このうちの一つは反応点同士が空間的に離れた距離に配置された状態となる。従って、近接効果を受ける機会が四面体錯体の場合と比べて減少することが予想される。さらに四面体錯体においては、標的水酸基とエステルカルボニル炭素の位置関係が、求核剤による C=O への攻撃が起こりやすい角度（Bürgi-Dunitz 角: C＝O から約 107°の方向)に近い状態に置かれていると考えられるが、平面四角形錯体では、互いの反応点がその角度から大きく逸脱した位置に配置されている。以上二点から、錯体形成時の求核攻撃の起こりやすさの違いが生じ、一価銅と二価銅を用いた場合の収率・選択性の結果の差として現れたものと考えている。

ただし一価銅と亜鉛の違いに関してはこの類ではない。**Table 3-2** entry 5 で検討した亜鉛イオンも、四面体配位をなす金属種であることが知られている [25]。一価銅と亜鉛の差を議論するための有用な知見は現在までに得られていないが、HSAB 則におけるソフトな酸（一価銅)と中間の酸（亜鉛)という性質の違いが、収率・選択性に影響しているものと推測している。

さらに金属種の検討に関する補足として、一価銅試薬の対アニオン、および配位子の比較を行った結果を **Table 3-3** に示す。

Table 3-3

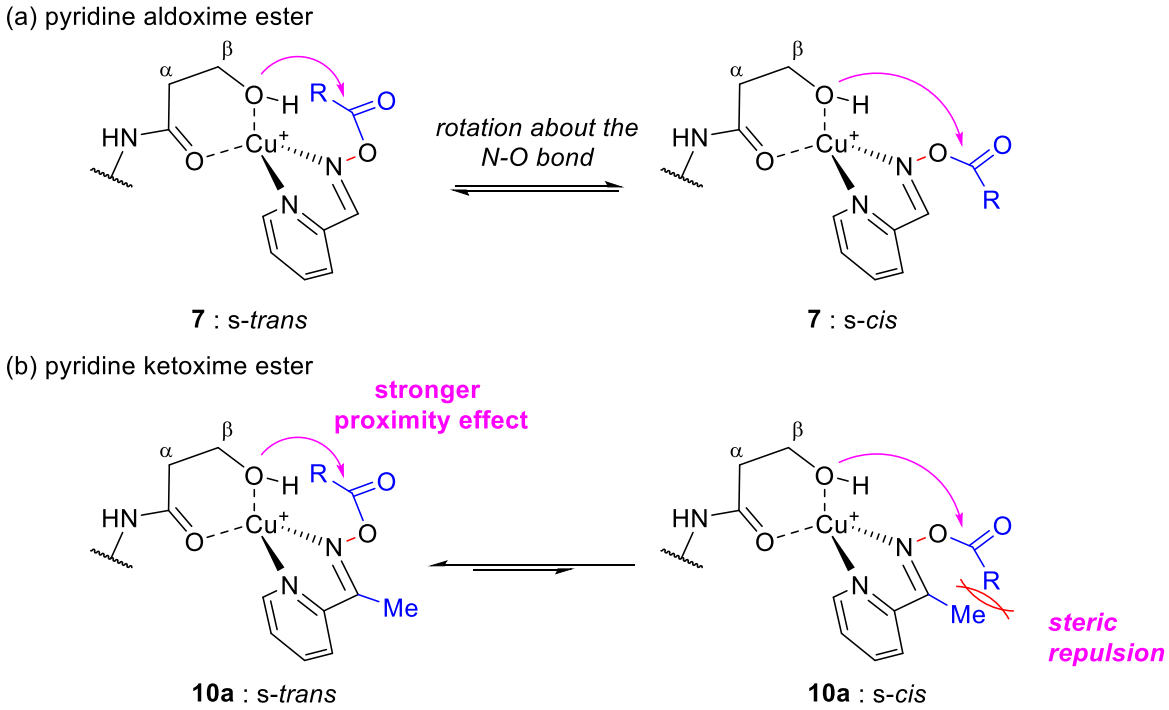


entry	copper (I)	^{1}H-NMR yield (%)		
		11bA	**11bB**	**11bAB**
1	CuOTf•½benzene	62	ND	
2	CuCl	32	2	
3	CuBr	54	ND	
4	CuI	30	ND	
5	$(CH_3CN)_4CuOTf$	44	ND	

Table 3-2 で検討していたアシル化反応から、用いる基質やアシル化剤の構造、および溶媒などの条件が一部異なってはいるものの、種々の一価銅塩を用いたアシル化検討の中で、トリフラート塩のベンゼン錯体を用いる場合に、最も優れた収率で目的のモノアシル化体 **11bA** を与える結果を得た（entry 1)。塩化銅(I)、臭化銅(I)、ヨウ化銅(I)を用いた entry 2-4 との比較から、本反応では一価銅ハロゲン化物よりも、トリフラートを用いた場合において、収率が高くなることが明らかとなった。これは、トリフルオロメタンスルホニルオキシ基の強力な電子求引性によるルイス酸性の増強が、金属テンプレート形成効率の向上に寄与したためであると考えられる。一方で、同じくトリフラートを用いた entry 5 において収率が低下した理由として、試薬の潮解性の高さが要因であると考えられる。entry 5 で使用した一価銅トリフラートアセトニトリル錯体は、秤量時に空気中の水分を強く吸収する様子が、実験中に観測された。反応系中への水分の混入が、entry 5 における収率の低下をもたらしたものと考えている。

アシル化剤の構造に関して、**Table 3-2** の Entry 7-9 の結果より、**10a** が最適であると決定した。ピリジン環上窒素原子の位置を検討した Entry7-8 の結果は、ピリジンオキシムエステルの有する二座配位性が、本反応の選択性発現において重要な役割を持つことを示唆している。また、Entry 9 のようなピリジンアルドキシム構造を持つアシル化剤 **7** を用いた場合に収率が中程度にとどまった要因として、N-O 結合の回転によるテンプレート効果減弱の可能性を考えている(**Figure 3-5**)。

Figure 3-5



すなわち、ピリジンオキシムエステルの N-O 結合は自由に回転できることから、s-*trans* 配座と s-*cis* 配座の 2 種のコンフォメーションをとり得る可能性がある。このうち、s-*trans* 配座では、ターゲット水酸基とエステルカルボニル基とが空間的に近い距離にあるため、アシル化反応が起こりやすい状態であると考えられる。一方で、配座が s-*cis* 型へ変わった場合、互いの反応点同士の距離がより大きくなり、従って、求核攻撃が起こりにくくなると予想される。**Figure 3-5a** で示したように、ピリジンアルドキシムエステル型のアシル化剤 **7** では、この二種の配座の変換が、金属テンプレート形成時の近接効果を弱める要因として働いていると推察する。一方、今回の検討で良好な結果を与えたメチル 2-ピリジルケトキシム型のアシル化剤 **10a** では、s-*cis* 配座において、アルドキシム型には起こらなかったメチル基とエステル置換基 R の立体反発の影響を受けると考えられる (**Figure 3-5b**)。これによりアシル化剤 **10a** では、s-*trans* 型が優先的に生じやすくなっているものと予想できる。そのため、**10a** を用いたアシル化反応では二か所の反応点間の近接効果を強力に維持したままアシル化反応を進行させることができ、これが収率の向上に寄与したものと考えている。

また、当該部位へのメチル基の導入は、その電子供与性によりピリジンオキシムエステル **10a** の金属イオンへの配位能を **7** に比べて高めており、これが金属テンプレートの形成効率を向上させる

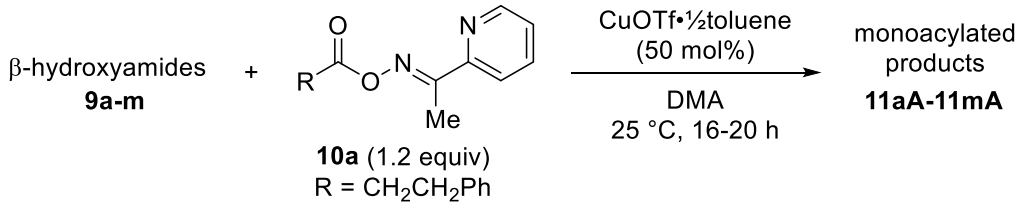
ことで収率が向上した可能性も考えられる。また、電子供与基の導入によりアシル化剤 **10a** の脱離能が低下することから、**10a** の反応性自体は低下していると考えられる。以上のようなテンプレート効果増強と反応性低下への寄与から、バックグラウンドでの非選択的な反応を抑制しつつ、β-ヒドロキシアミドへの選択的なアシル化が可能になったと予想した。ただし、アシル化剤の配位能を高めることはアシル化終了後に脱離したピリジンオキシムと金属イオンの解離を遅らせる要因にもなり得る。従って、**10a** のメチル基部位をより強い電子供与性基に置換し、金属イオンへの配位能を高めることが、必ずしも本反応において良好な結果を与えるとは限らないと考察する。

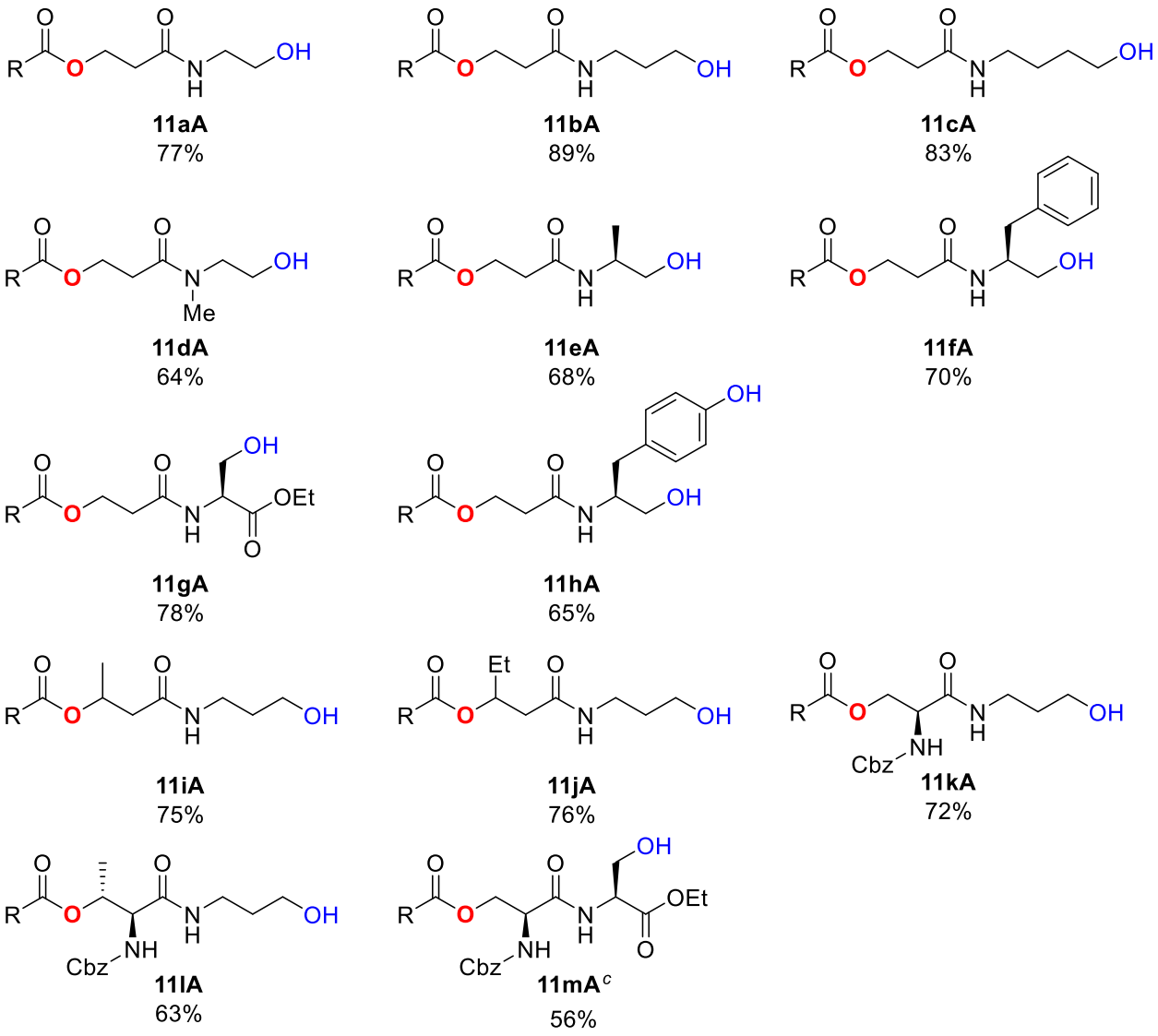
第三節　基質一般性の検討

第一項　β-ヒドロキシアミド基質一般性の検討

前節で見出した最適条件を用いてβ-ヒドロキシアミドの基質適用範囲を精査した（**Table 3-4**）。

Table 3-4[a, b, d]

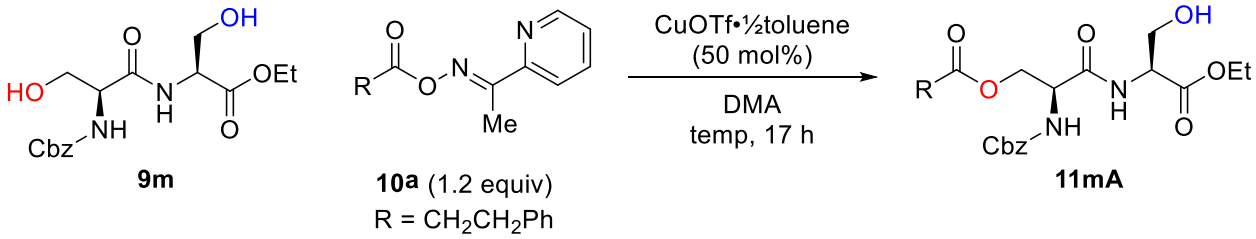




a) Standard reaction conditions: A mixture of **9a-m** (0.2 mmol), **10a** (0.24 mmol), and CuOTf•½toluene (0.1 mmol) in DMA was stirred at 25 °C for 16-20 h. b) Yields are for the isolated products. c) The reaction was performed at 40 °C. d) Less than 5% of byproduct were detected in ^{1}H-NMR of the crude product.

本検討のいずれの反応においても、粗生成物の ^{1}H-NMR 測定を行い、副生成物となる位置異性体の概算収率が 5 %以下となっていることを確認している。初めにアミド窒素上のアルキル鎖長の影響を調査した。アミドに近い位置に競合相手の水酸基を有する **9a** から、離れた位置に競合相手が存在する **9c** まではいずれも、高い収率で目的のモノアシル化生成物を与えた（**11aA-11cA**）。また、アミド窒素上に置換基を有する **9d** のアシル化も同様に良好な収率で進行したことから、アミド窒素上の置換基の存在が本反応の阻害要因として働かないことが示唆された。アミド窒素に隣接する炭素上に種々の置換基を有する **9e-9h** も、本手法を用いて中程度から良好な収率でアシル化を行うことができた。フェノール性の水酸基を分子内に有するトリオール **9h** や、β-ヒドロキシエステル構造が共存する基質 **9g** を用いた場合でも、β-ヒドロキシアミド選択的にアシル化することが可能であると判明した。続いて、アミドカルボニル基β位炭素上に置換基を有する基質 **9i-9j** を用いて検討を行った。驚くべきことに、本反応では標的とする水酸基が第二級であっても、立体障害の差を超えて選択的にアシル化することが可能であった（**11iA-11jA**）。さらに、Cbz-セリンや Cbz-トレオニン誘導体のジオール **9k-9l** を合成し、それらの側鎖上に存在する水酸基へのアシル化を試みたところ、それぞれ目的のモノアシル化生成物を中程度から良好な収率で得ることができた（**11kA-11lA**）。最後に、より挑戦的な基質として、ジペプチド **9m** に対する本手法の適用可能性を検討した。はじめに本反応の最適条件を用いて行った **9m** のアシル化では、目的のモノアシル化体 **11mA** の生成は 35%という低収率にとどまった（**Table 3-5** entry 1）。

Table 3-5



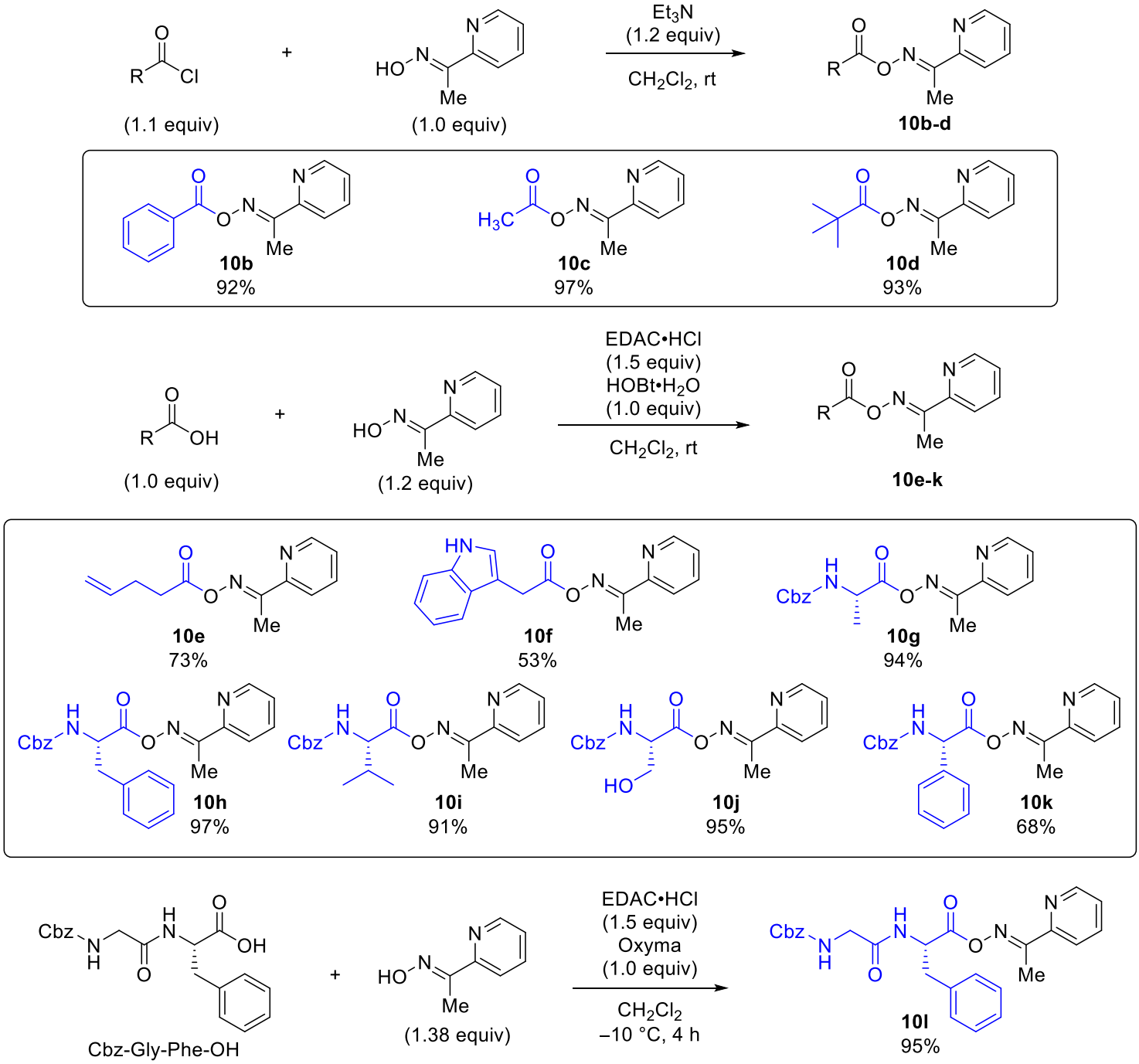
entry	temperature (°C)	**11mA** isolated yield (%)
1	25	35
2	40	56

このときの収率が他の基質へのアシル化反応と比べて低かった要因として、基質 **9m** が本条件下で完全に溶解していないことが原因であると考えられた。そこで、反応温度を 40 ℃にし、基質を完全に溶解させた状態で反応を行ったところ、モノアシル化生成物 **11mA** の収率が 56%にまで向上した（**Table 3-5** entry 2）。このとき得られた反応混合物の ^{1}H-NMR スペクトル上で、副生成物のモノアシル化体およびジアシル化体の存在は観測されず、加温条件においても本反応が良好な位置選択性で進行することが確認できた。

第二項　ピリジンケトキシムエステル基質一般性の検討

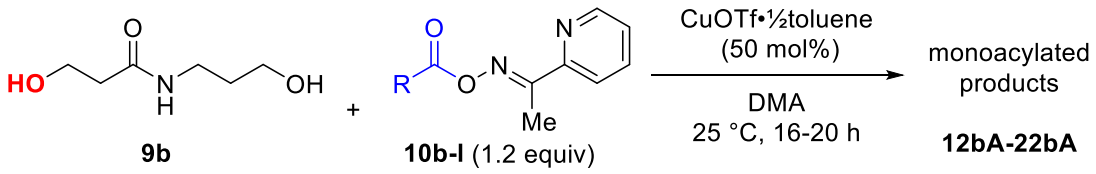
β-ヒドロキシアミドの基質適用範囲に関する調査を終え、続いて著者は、アシル化剤であるピリジンケトキシムエステルの基質一般性について検討を開始することとした。本手法では、アシル化剤のエステル置換基を変えることで、様々な構造をアルコールに導入することが可能となる。著者は初めに、以下に示す種々のピリジンケトキシムエステル **10b-10l** を合成した（**Scheme 3-6**）。

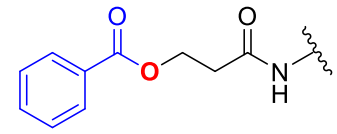
Scheme 3-6



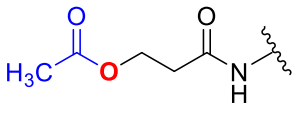
続いて、これら **10b-10l** を用いてβ-ヒドロキシアミド **9b** のアシル化を行った（**Table 3-6**）。

Table 3-6 [a, b, c]

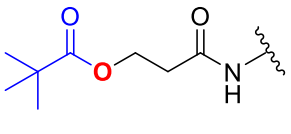




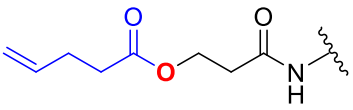
12bA
73%



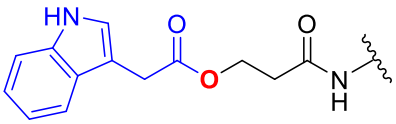
13bA
78%



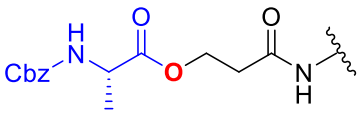
14bA
38%



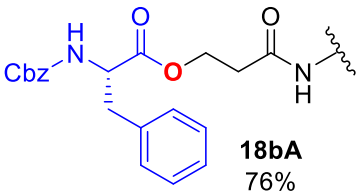
15bA
87%



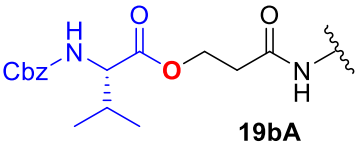
16bA
69%



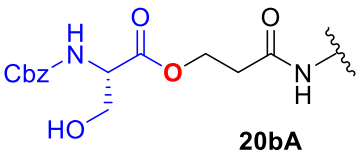
17bA
76%



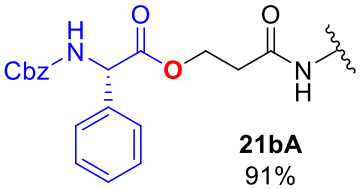
18bA
76%



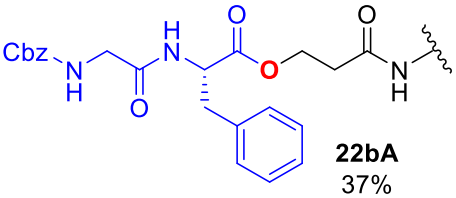
19bA
64%



20bA
68%



21bA
91%



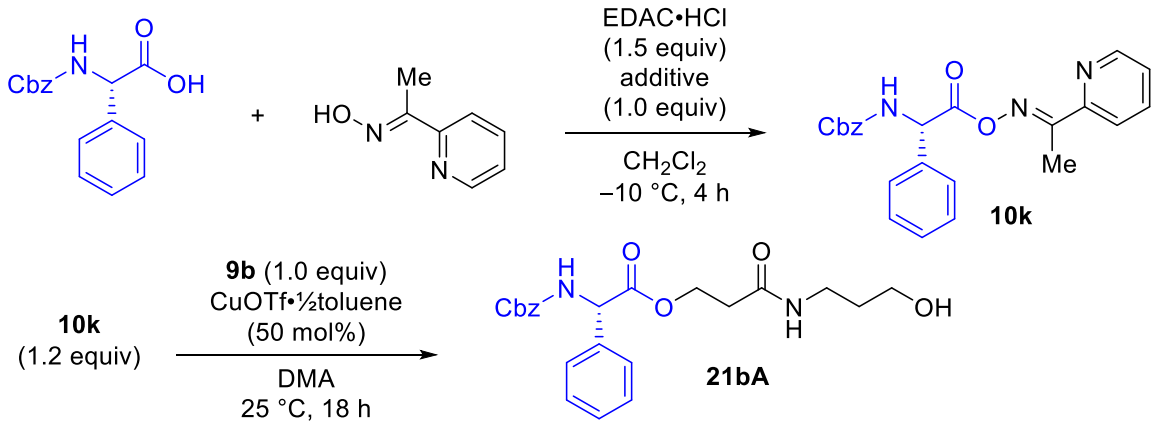
22bA
37%

a) Standard reaction conditions: A mixture of **9b** (0.2 mmol), **10b-l** (0.24 mmol), and CuOTf•½toluene (0.1 mmol) in DMA was stirred at 25 °C for 16-20 h. b) Yields are for the isolated products.
c) Less than 5% of byproduct were detected in ^{1}H-NMR of the crude product.

先の検討と同様、粗生成物の ^{1}H-NMR の結果から、いずれの反応においても副生成物となる位置異性体の概算収率が 5 %以下であることを確認している。水酸基の保護基として一般的なベンゾイル基、およびアセチル基の導入は、それぞれ高い収率で目的のモノアシル化生成物を与えた(**12bA**-**13bA**)。反応点の立体障害の大きいピバロイル基の導入は、目的物の収率がやや低下した(**14bA**)。分子内に炭素-炭素二重結合を有するものや、電子豊富な無保護インドールを有するアシルドナーを用いて反応を行ったが、いずれも問題なく目的のモノアシル化体を得ることができた(**15bA**-**16bA**)。Cbz-アラニン、Cbz-フェニルアラニン、Cbz-バリン、Cbz-セリン、それぞれの誘導体をアシル化剤に用いて本反応を行ったところ、いずれも目的のモノアシル化生成物を中程度から良好な収率で得ることができた（**17bA**-**20bA**)。Cbz-セリンをアシルドナーとして用いた検討結果から、アシル化剤側に無保護の水酸基が存在しても、本手法による位置選択的アシル化が可能であることが判明した。また、この時の生成物 **17bA**-**20bA** の光学純度を HPLC 法で測定したところ、いずれも光学純度の低下は観測されなかった。さらに、より挑戦的な基質として、ラセミ化が起こりやすい Cbz-フェニルグリシン誘導体 **10k** やジペプチド (Cbz-Gly-Phe)由来のアシル化剤 **10l** を合成し、本反応に適用した。その結果、Cbz-Gly-Phe を導入する **22bA** の合成においては、ラセミ化を起こすことなく目的の化合物を中程度の収率で得ることができたものの、一方でフェニルグリシンを導入する反応においては、最終生成物 **21bA** の光学純度の軽微な低下が観測された。

このラセミ化に関して、ピリジンオキシムエステル **10k** の合成段階に問題がある可能性を考え、条件検討を行うこととした。その結果、本縮合反応のラセミ化防止剤として HOBt・H_2O を用いた場合、得られた **10k** を使用して行ったアシル化反応においては、目的のモノアシル化体 **21bA** の鏡像体過剰率が 80%にまで低下していたものの、HOBt・H_2O の代わりに Oxyma[26] を用いて合成した **10k** を使用することにより、**21bA** の光学純度の低下を完全に抑制できることが明らかとなった(**Table 3-7** entry 2)。

Table 3-7



	additive	**10k** isolated yield (%)	**21bA** % ee
1	HOBt・H_2O	68	80
2	Oxyma	85	99

第四節　糖ペプチド内セリン選択的アシル化反応への応用

第一項　Cbz-Ser-Ser(β-D-Glc)–OMe の合成

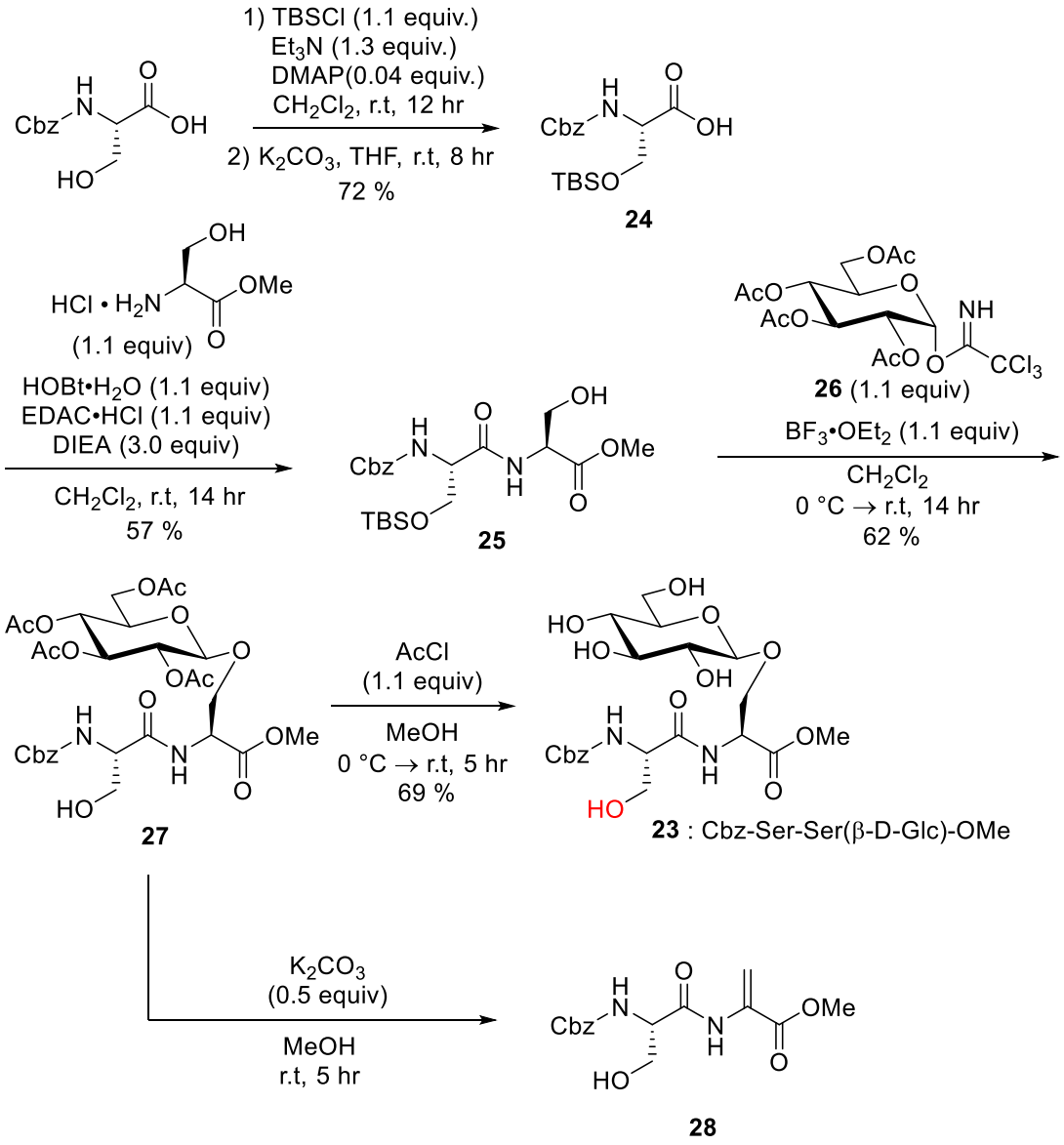
続いて著者は、本反応の糖ペプチド基質への適用を試みることとした（**Scheme 3-7**）。著者が合成を計画した基質は、ジペプチド Cbz-Ser-Ser-OMe に対してβ-D-グルコースが *O*-グリコシド結合している糖ペプチド **23** である。*O*-グルコース型の糖ペプチドは、血液凝固・線溶に関連するいくつかのタンパク質、および Notch 受容体の様なシグナリング分子に存在することが知られており、その機能解明研究も熱心に行われている、生物学的に重要な構造である [27]。

Scheme 3-7



市販品として容易に入手可能な *N*-Cbz-L-セリンを出発原料とし、糖ペプチド **23** の合成を行った。各反応工程の詳細を **Scheme 3-8** に示す。

Scheme 3-8



初めに *N*-Cbz-L-セリンの側鎖水酸基を TBS 基で保護し **24** とした後、L-セリンメチルエステル塩酸塩と縮合させ、ジペプチド **25** へと導いた。次いで、別途合成したグルコーストリクロロアセトイミデート **26** [28] を糖供与体とする Schmidt グリコシル化反応により、糖ペプチド **27** を合成した [29]。本反応ではβ体が主生成物として得られており、その収率は 62%であった。またこの時、同反応条件下において、ペプチド *N* 末端セリン側鎖水酸基の脱保護も同時に起こっており、得られた糖ペプチド **27** の TBS 基は完全に除去された状態であった。この予期せぬ脱保護反応の影響により、*N* 末端セリン側鎖水酸基に対するグリコシル化反応が進行する可能性を危惧していたが、2D-NMR を用いた構造解析の結果、本反応で得られたのは目的の糖ペプチド **27** のみであるということを確認した。

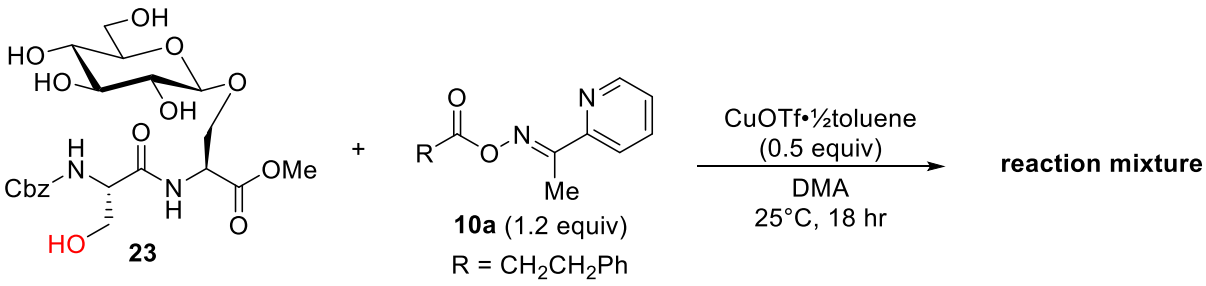
続く合成の最終段階である **27** の糖水酸基脱保護反応において、初めに塩基性条件下での加メタノール分解による脱保護を試みたところ、目的の脱保護体 **23** は全く得られず、代わりに *C*末端セリン側鎖上のグルコースが脱離したジペプチド化合物が主生成物として得られた。このジペプチド

の詳細な構造解析は現在までに行っていないが、^{1}H-NMR スペクトルの結果より、本化合物がデヒドロアラニン構造を有するジペプチド **28** であることが推測されている。ジペプチド **28** は、塩基性条件下にて、糖ペプチド **27** の *C* 末端側セリンα位水素が塩基で引き抜かれることにより始まる E1cB 脱離機構にて生成したものと考えられる。そこで、本脱保護反応を塩基性条件下で行うことをやめ、酸性条件に変更して行ったところ、目的の脱保護体 **23** を中程度の収率で得ることに成功した。

第二項　糖ペプチド Cbz-Ser-Ser(β-D-Glc)-OMe 内セリン選択的アシル化反応の条件最適化

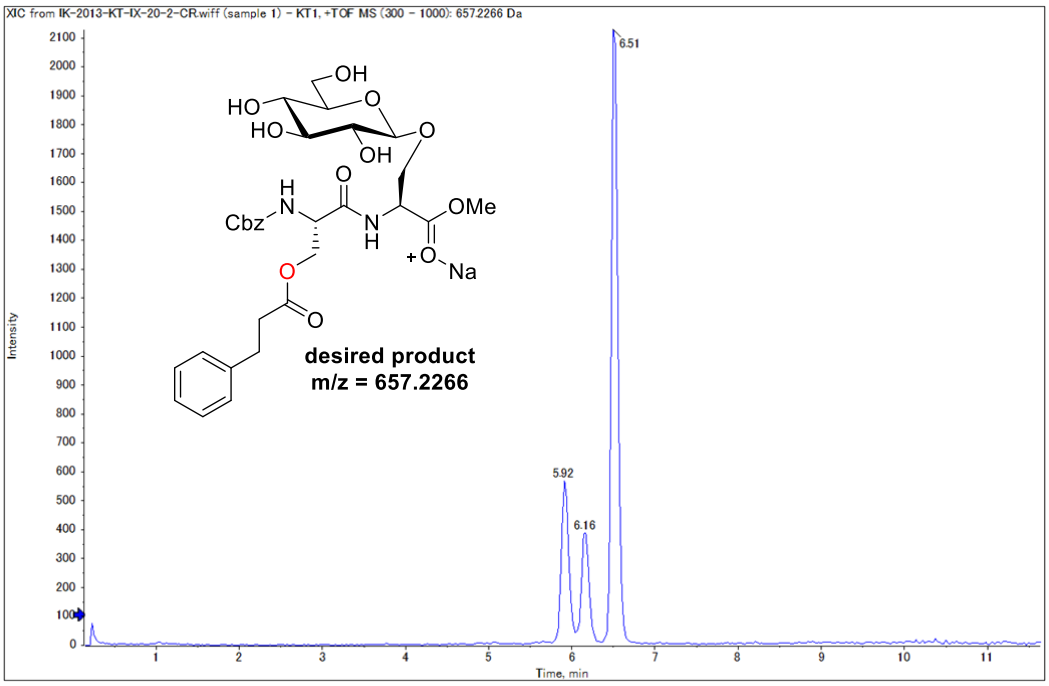
合成した糖ペプチド Cbz-Ser-Ser(β-D-Glc)-OMe (**23**)を基質とし、本最適条件によるアシル化を行った (**Scheme 3-9**)。

Scheme 3-9



はじめに本反応で生成した全てのモノアシル化体分子を逃さず検出するために、反応混合物の LC/MS による分析を行い、目的のモノアシル化体生成物の分子量 ([M+Na]$^+$ m/z 657.2266)の抽出イオンクロマトグラム (**Figure 3-6**)を得た。

Figure 3-6



この結果から、本反応混合物中には目的のモノアシル化体と同じ分子量を持つ化合物が、合計で 3 種類存在していることが明らかとなった。また、同反応混合物について、UV 検出器（λ = 210 nm）を用いた HPLC 分析を行い得たクロマトグラムを **Figure 3-7** に示す。

Figure 3-7

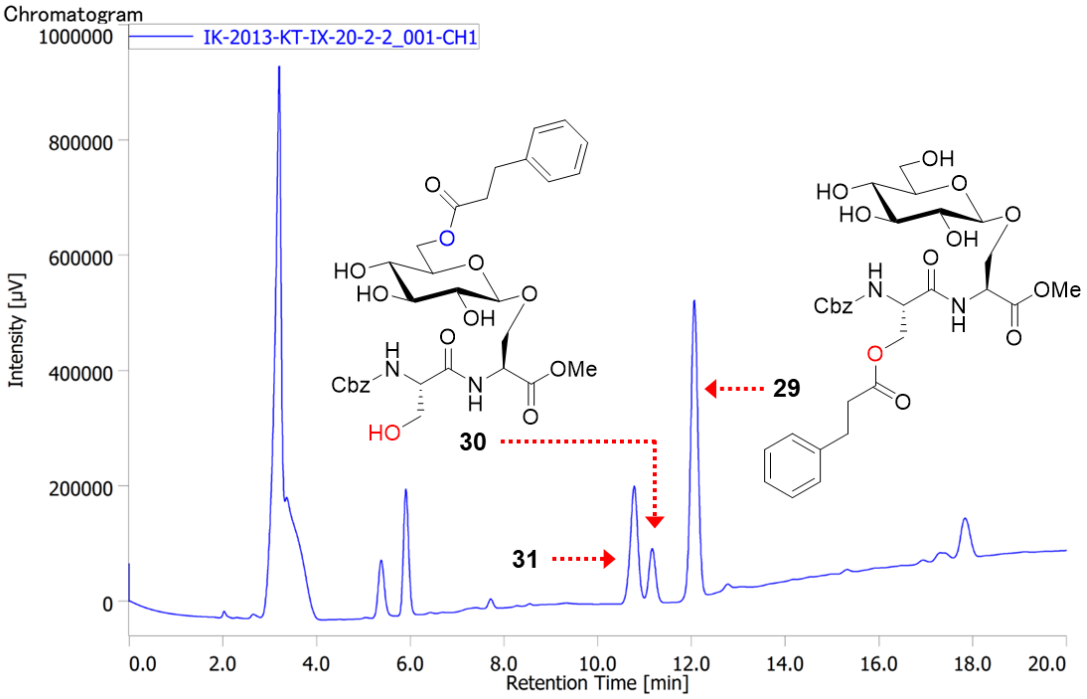


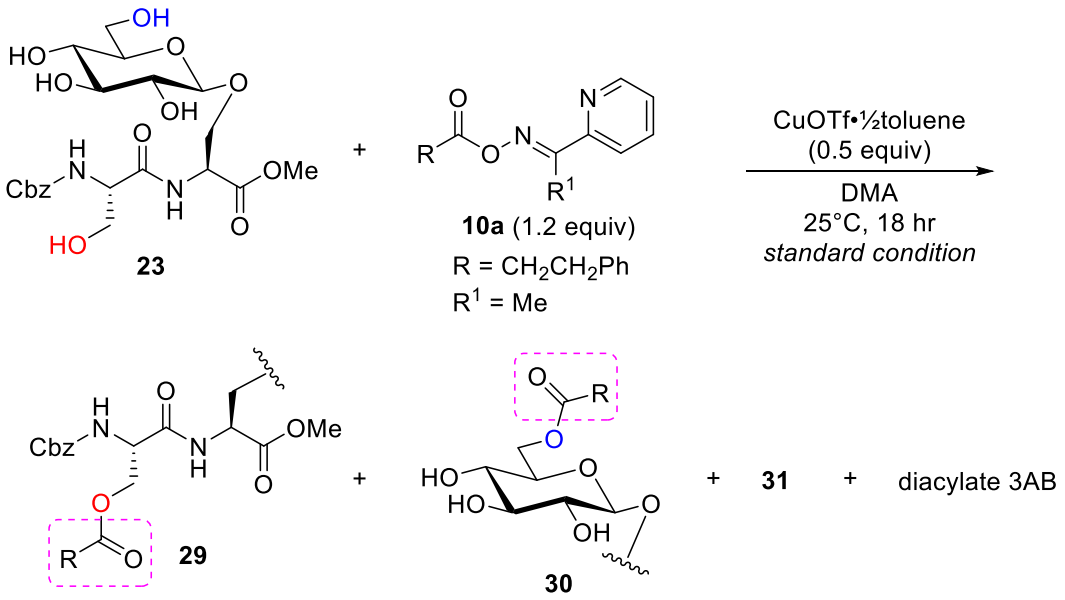
Figure 3-7 において、**Figure 3-6** で確認された 3 つのピークと類似の形状を持つピークが観測されたことから、これらを **23** のモノアシル化体化合物群であると予想し、HPLC 分取法による当該ピークの単離を試みた。その結果、3 つのピーク全てを単離することはできなかったものの、主生成物である **29** のピークと、副生成物の一つである **30** のピークの単離に成功した。2D-NMR による各化合物の構造解析の結果、主生成物 **29** が今回の目的化合物であるペプチド内セリン選択的修飾体であることが明らかとなり、また **30** には、糖 6 位水酸基アシル化体が検出されていることが判明した。**31** のピークは、単離した量が少なく構造不明のままであるが、目的物と全く同一の分子量を持つことが **Figure 3-6** の結果から明らかとなっているため、6 位以外の糖水酸基が反応した何らかのモノアシル化生成物である可能性が高いと考えている。

210 nm の光を吸収する主な官能基について、3 種のモノアシル化体 **29-31** においてはフェニル基がそれに相当し、その数は **29-31** 間にて同じであることから、HPLC クロマトグラム内の各化合物のピーク面積の比は、反応混合物中に含まれるモノアシル化体の、おおよその物質量比を表すものと仮定した。この仮定を基に 3 種の化合物それぞれのピーク面積比を求めたところ、**29** と **30**、および構造不明なモノアシル化体 **31** の比率は **29** : **30** : **31** = 64 : 11 : 25 となり、最終的な生成物の物質量比もこの値に決定した。

本反応結果の考察として、目的のセリン選択的修飾体 **29** が主生成物として高い割合で得られてはいるものの、前節のβ-ヒドロキシアミド基質一般性の検討で得られていた種々のモノアシル化生

成物の選択性の高さと比較すると、本反応の結果が優れているとは言い難い。そこで著者は、基質 **23** に対する反応条件の最適化を行うことで、モノアシル化体 **29** の収率および選択性の向上を図ることとした（**Table 3-8**）。

Table 3-8



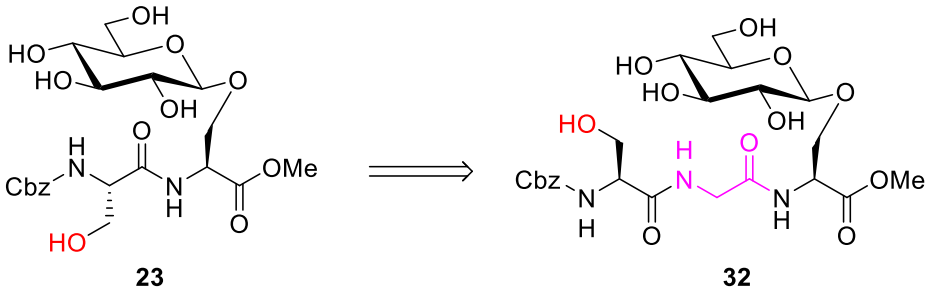
entry	variations from standard conditions	^{1}H-NMR yield for **29**(%)	selectivity **29** / **29**+**30**+**31**
1	none	33	0.64
2	1.0 equiv of CuOTf•½toluene	30	0.65
3	$Cu(OTf)_2$ instead of CuOTf•½toluene	19	0.60
4	$Zn(OTf)_2$ instead of CuOTf•½toluene	22	0.55
5	reaction was run at 40 °C	32	0.64
6	R^1 = H instead of R^1 = Me	27	0.62

初めに銅の量を倍量に増やして反応を行ったが、収率に大きな変化は見られなかった（entry 2）。続いて、金属種を変えることによる収率や選択性への影響を観察したが、いずれの場合も良好な結果を与えなかった（entry 3-4）。entry 5 では温度を 40 ℃にして反応を行ったが、収率は向上しなかった。また entry 6 ではアシル化剤の構造を変え検討を行ったが、これも収率の改善には寄与しなかった。

以上の検討を終え、著者は、本反応の低収率・低位置選択性の原因が、基質の構造的要因にあると考察した。すなわち、糖ペプチド **23** 内のセリン側鎖水酸基が、周囲に存在するかさ高い置換基の立体障害の影響により、反応性に乏しい状態にあると予想した。基質 **23** 内でセリン側鎖水酸基の立体障害として働く可能性のある構造として、*C*末端側セリン側鎖に結合しているグルコースの

影響が考えられる。この仮説を検証するために、ジペプチド Ser-Ser の間に、新たに Gly 残基を導入し、標的のセリン側鎖水酸基をグルコースから離れた位置に配置した糖ペプチド **32** の合成を計画した（**Figure 3-8**）。

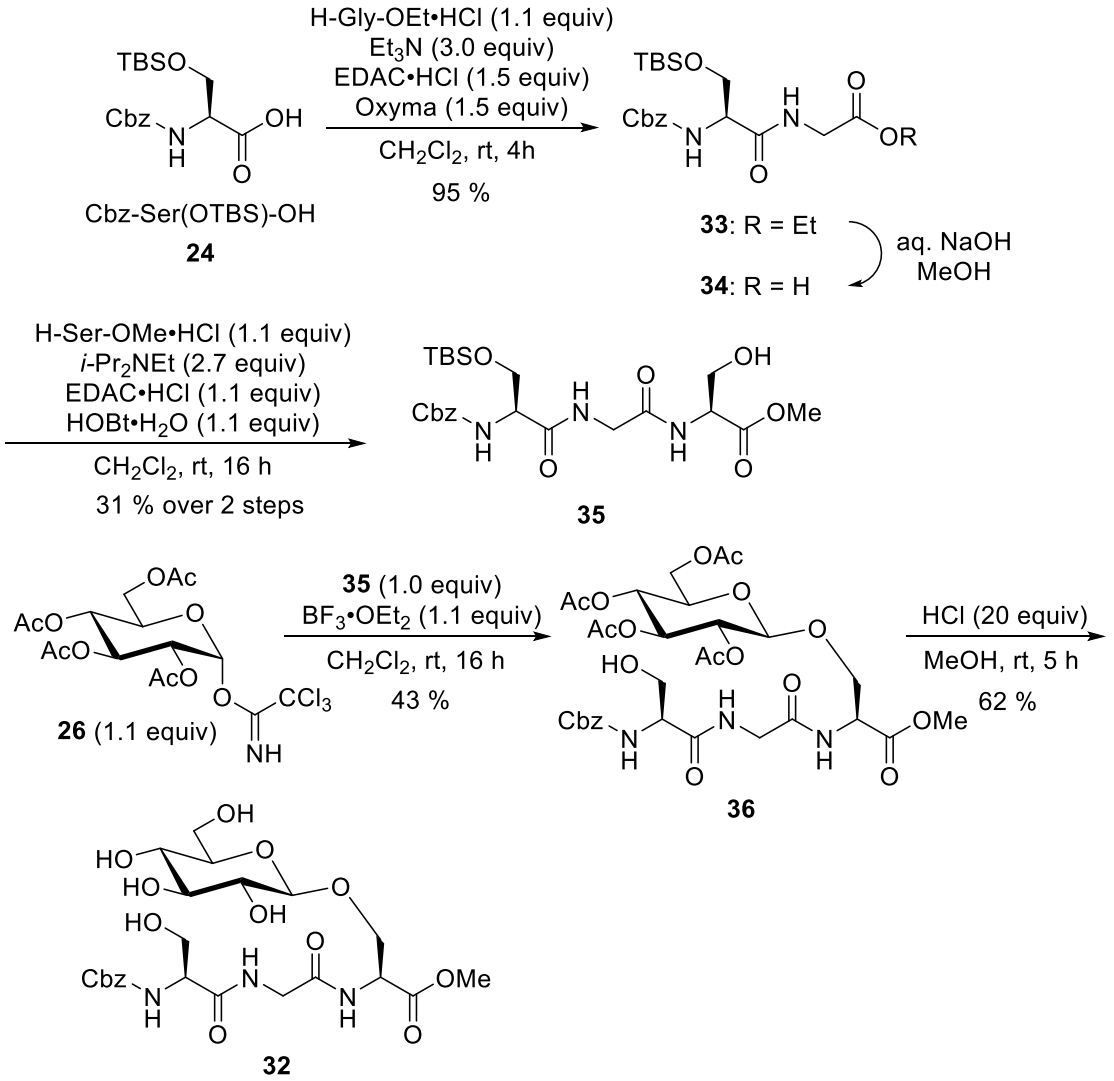
Figure 3-8



第三項　Cbz-Ser-Gly-Ser(β-D-Glc)–OMe の合成

Cbz-Ser(OTBS)-OH (**24**)を出発原料とし、Cbz-Ser-Gly-Ser(β-D-Glc)–OMe (**32**)を合成した(**Scheme 3-10**)。

Scheme 3-10

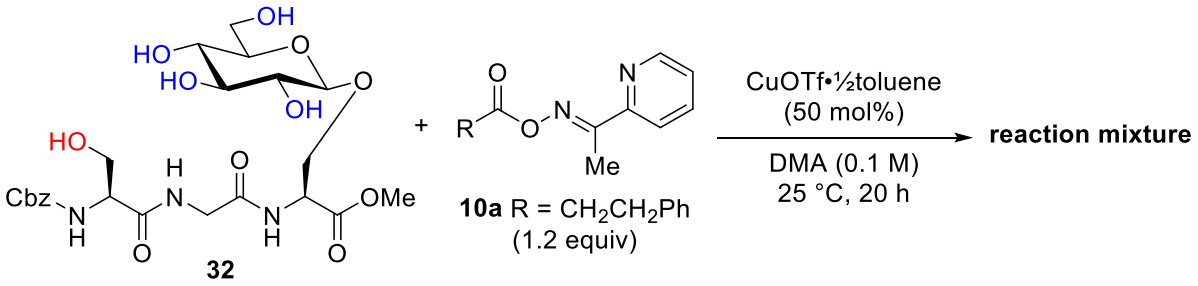


Cbz-Ser(OTBS)-OH (**24**)とグリシンエチルエステル塩酸塩を縮合してジペプチド **33** とした後、塩基性条件下で加水分解してカルボン酸 **34** を得た。次いで **34** をセリンメチルエステル塩酸塩と縮合させ、トリペプチド **35** を合成した。さらに、別途合成したグルコーストリクロロアセトイミデート **26** を糖供与体とする Schmidt グリコシル化により、糖ペプチド **36** を合成した。前項で合成した基質と同様、ここでもβ体が主生成物として得られた。最終的に、前項と同様の酸性条件下で糖水酸基の脱保護を行い、目的の生成物 **32** へと導いた。

第四項　糖ペプチド Cbz-Ser-Gly-Ser(β-D-Glc)-OMe 内セリン選択的アシル化反応

合成した **32** を基質として本手法によるアシル化を行った（**Scheme 3-11**）。

Scheme 3-11



前項と同様に、反応混合物の LC/MS による分析を行い、目的のモノアシル化体分子([M+Na]⁺ m/z 714.2481)の抽出イオンクロマトグラム（**Figure 3-9**)を得た。

Figure 3-9

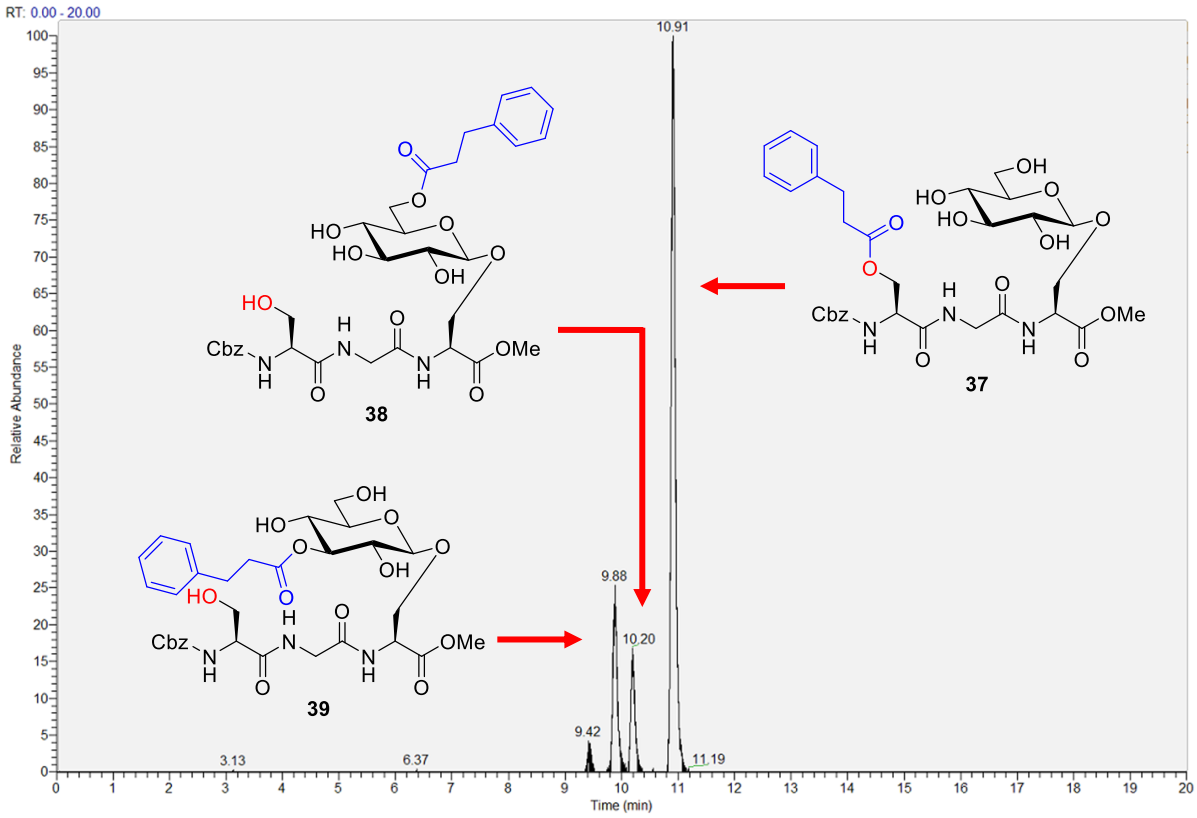
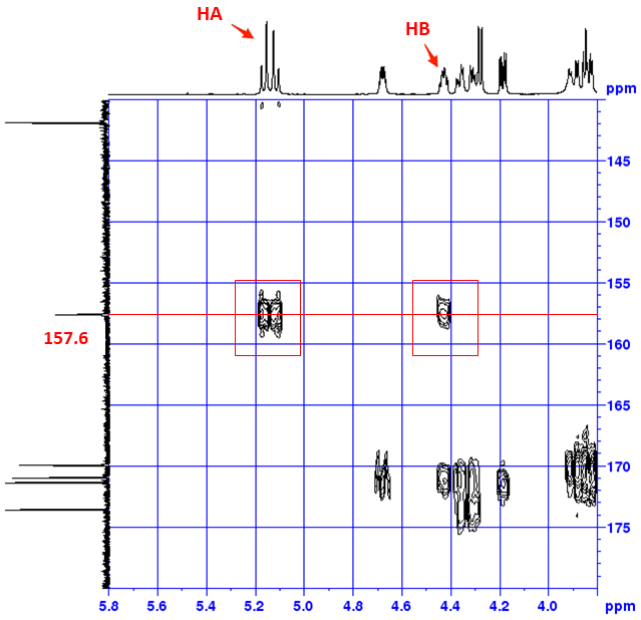


Figure 3-9 より、基質 **32** を用いたアシル化反応においても、目的のモノアシル化体と同じ分子量を持つ化合物が合計で 3 種類生成することが明らかとなった。さらに前項と同様に、反応混合物を HPLC で分析後、分取 HPLC により 3 種のピークと対応すると考えられる部分を単離し、構造解析を行った結果、**Figure 3-9** 内の tR=10.91 のピークが目的の化合物であるセリン水酸基修飾体 **37** であることが判明し、また、それ以外の副生成物は、tR=10.20 のピークが糖 6 位水酸基修飾体 **38**、tR=9.88 のピークが糖 3 位水酸基修飾体 **39** であることがそれぞれ明らかとなった。

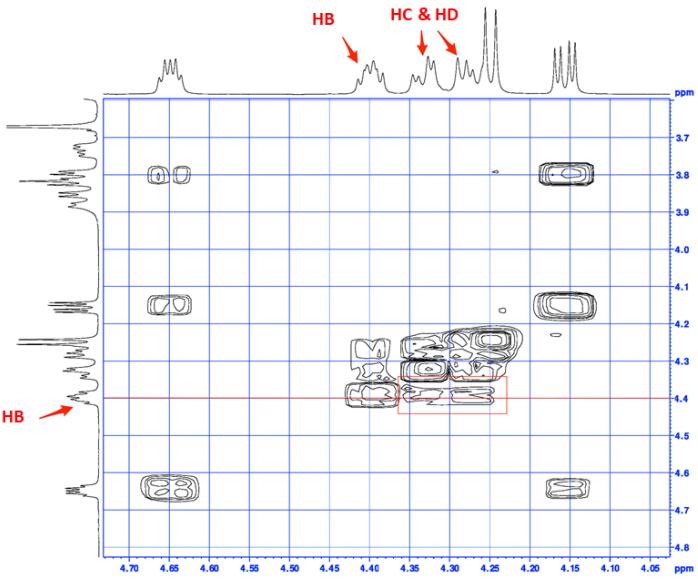
各化合物の構造同定は 2 次元 NMR の測定結果を基に、以下の通り行った。まず化合物 **37** の ^{1}H-NMR スペクトルにおいて、δ_H 5.13 に Cbz 基のベンジル水素に由来する 2H 分のシグナルを観測した（H_A）。次いで HMBC スペクトルを測定し、H_A と Cbz 基内のカルボニル炭素 δ_C 157.6 との相関、および同炭素とセリン α 位水素 H_B との相関を確認した（**Figure 3-10a**）。H_B はさらに 2 つのプロトンとの COSY 相関が観測され、これらをセリン側鎖上メチレン水素（H_C, H_D）と帰属した（**Figure 3-10b**）。H_C, H_D の 2 つのプロトンは、δ_C 173.4 のカルボニル炭素との HMBC 相関があり、さらにこの炭素はフェニルプロピオニル基メチレン水素 H_E との相関を示した（**Figure 3-10c**）。以上のことから、化合物 **37** を目的のセリン側鎖水酸基モノアシル化体であると決定した。

Figure 3-10

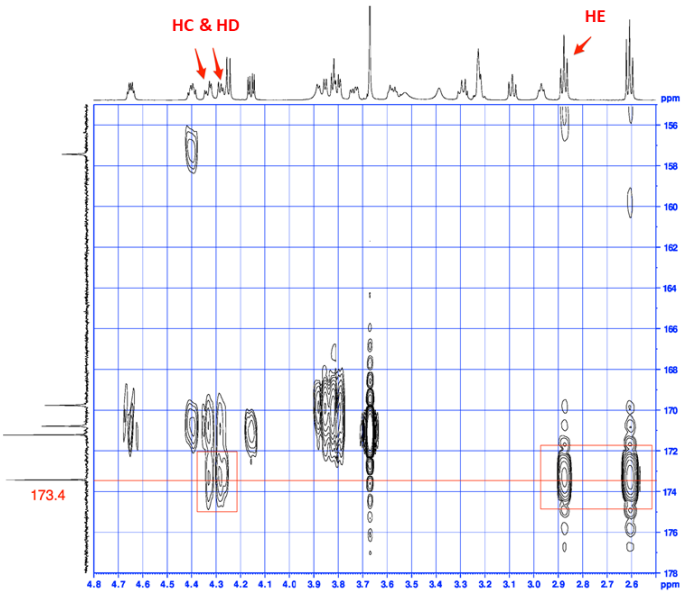
(a) HMBC

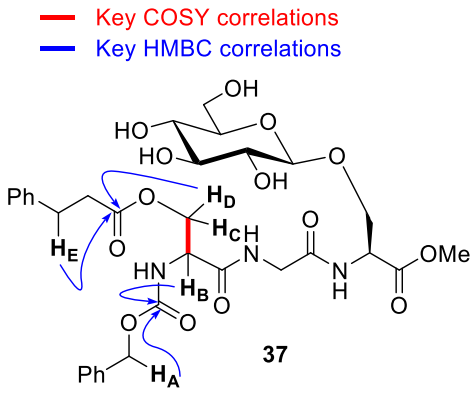


(b) COSY



(c) HMBC

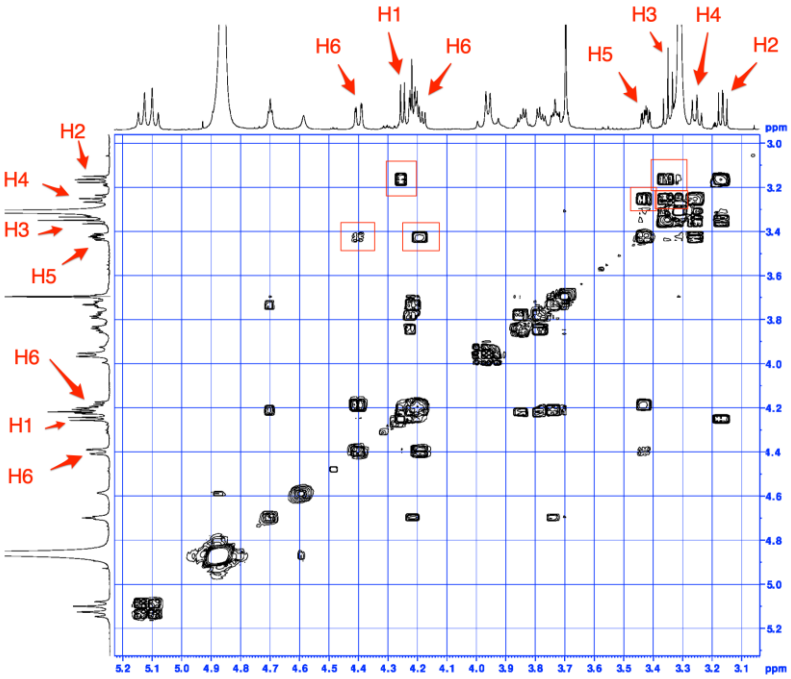


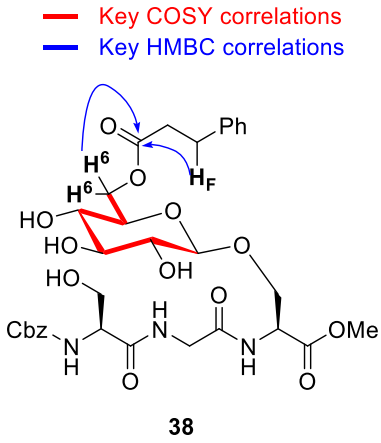


続いて化合物 **38** について、^{1}H-^{13}C HSQC 測定の結果、アノマー炭素（δ_C 104.3)とδ_H4.25（1H, d, J=7.7 Hz）との相関が観測され、これをアノメリックプロトン H_1 と帰属した。次いで COSY 法でグルコース由来のプロトンを全て帰属した後（**Figure 3-11a**)、糖 6 位水酸基 H_6 とフェニルプロピオニル基カルボニル炭素（δ_C 174.6)との HMBC 相関を確認し（**Figure 3-11b**)、化合物 **38** が糖 6 位水酸基モノアシル化体であると決定した。

Figure 3-11

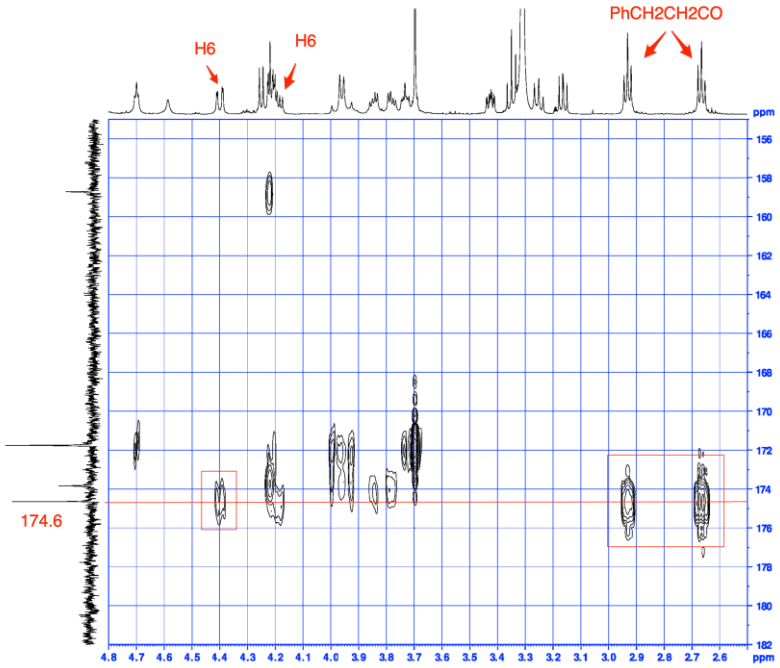
(a) COSY





38

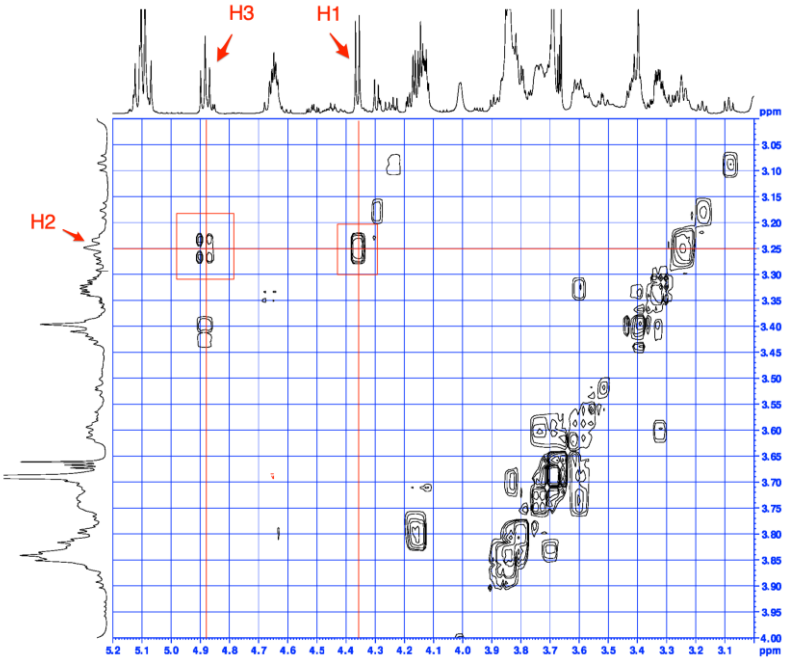
(b) HMBC



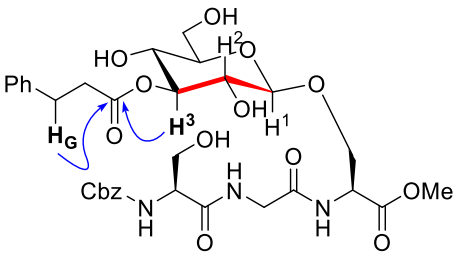
同様に、化合物 **39** の ^{1}H-^{13}C HSQC 測定の結果からδ_H4.36 (1H, d, J=7.7 Hz)をアノメリックプロトン H_1 と帰属し、続く COSY 測定の結果から糖 2 位、3 位のプロトンをそれぞれ **Figure 3-12a** の通りに決定した。^{1}H-^{13}C HMBC 測定により、H_3 とフェニルプロピオニル基カルボニル炭素(δ_C 173.6)の相関が確認されたことから、化合物**39**が糖3位水酸基モノアシル化体であると判明した。

Figure 3-12

(a) COSY

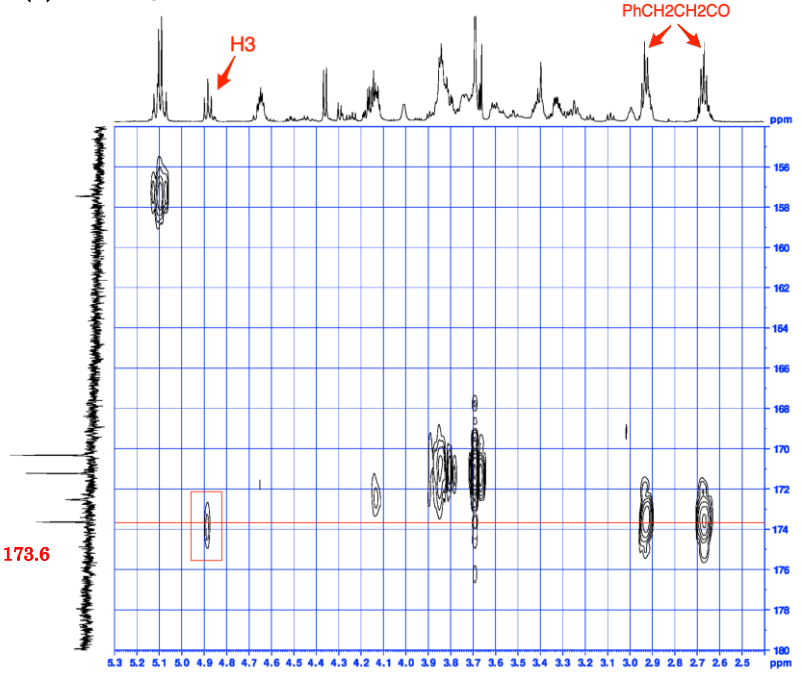


Key COSY correlations
Key HMBC correlations



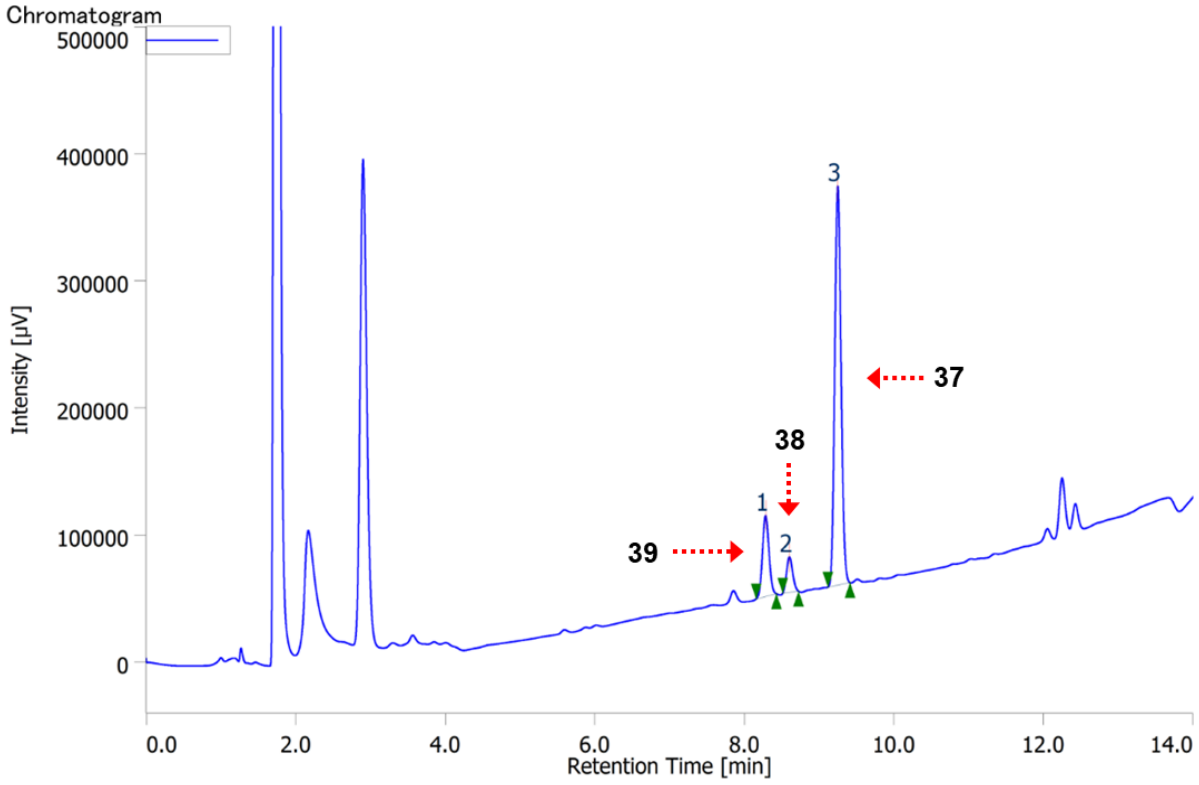
39

(b) HMBC



続いて、本反応混合物の HPLC 分析により得られたクロマトグラムを **Figure 3-13** に示す。

Figure 3-13



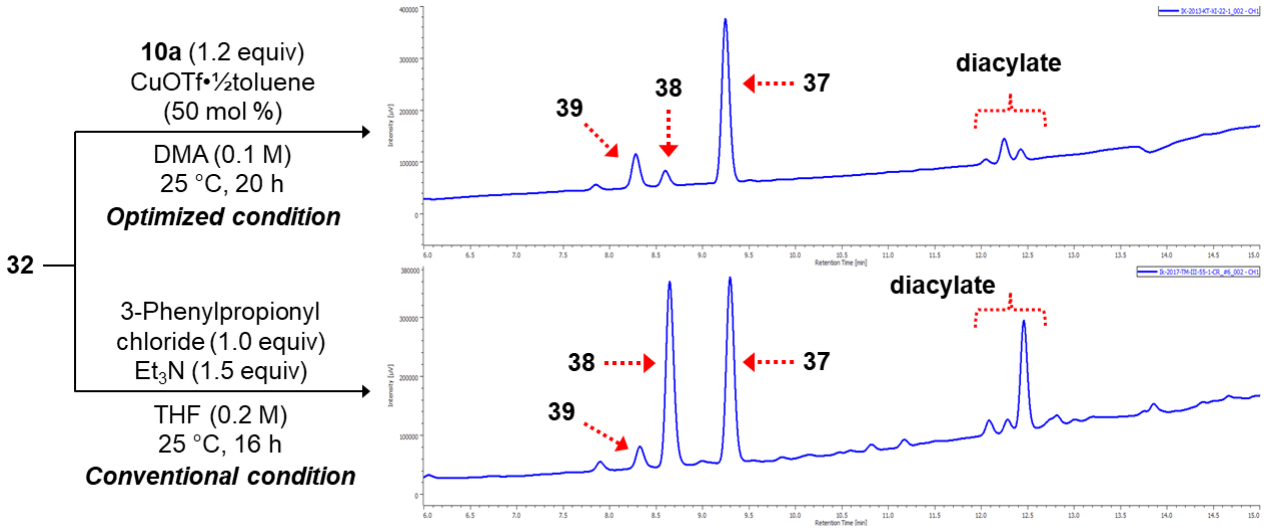
Peak information

Peak#	CH	tR [min]	Area [μV·sec]	Height [μV]	Area%
1	1	8.280	383755	63485	16.110
2	1	8.599	157771	27900	6.623
3	1	9.245	1840584	313820	77.267

構造を同定した 3 種の化合物 **37-39** の、それぞれのピーク面積比を求めたところ、**37**：**38**：**39** = 77：7: 16 であった（**Figure 3-13**）。糖ペプチド **23** を基質とした前項のアシル化反応の結果と比較すると、基質 **32** への反応では、より高い選択性で標的のセリン水酸基のアシル化を行うことができており、これはペプチド内に Gly 残基を導入したことで、反応点となるセリン水酸基の立体障害要因を減らす試みが成功した結果であると言える。

さらに、糖ペプチド **32** に対して酸塩化物を用いる非選択的アシル化条件で反応を行って得た HPLC クロマトグラムと、本反応のクロマトグラムを比較した結果を **Figure 3-14** に示す。

Figure 3-14

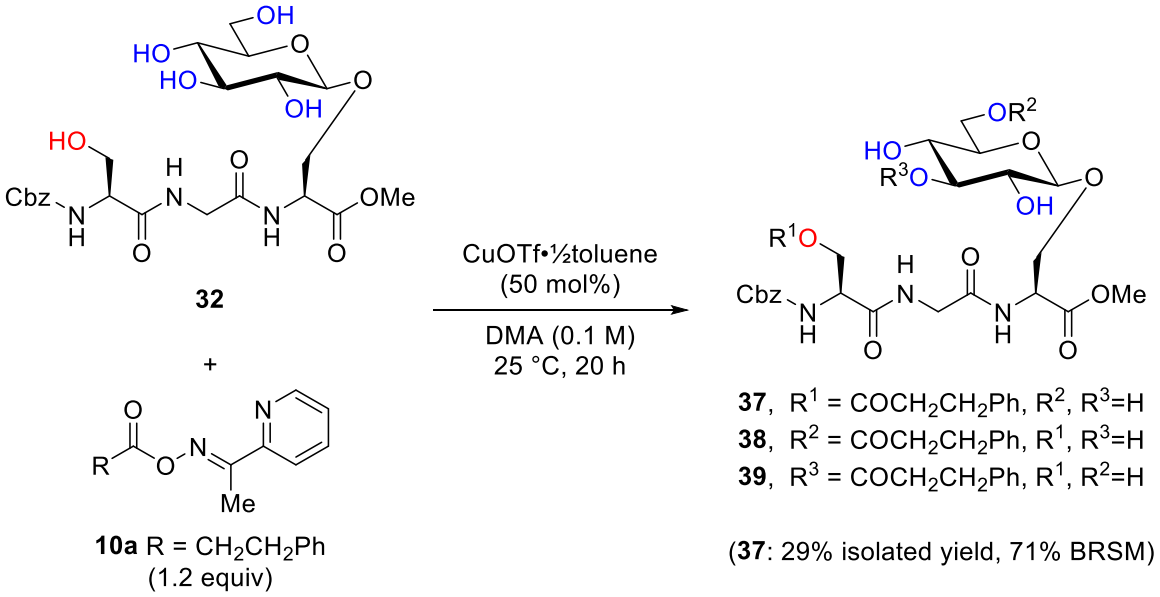


酸塩化物を用いた非選択的アシル化条件（**Figure 3-14 bottom**）においても、目的のセリン修飾体 **37** の他に、**38**、**39** がモノアシル化副生成物として得られており、それぞれのピークの面積比は **37**：**38**：**39** = 47：47：6 であった。酸塩化物によるアシル化反応では、セリン側鎖水酸基と同等の割合で、糖 6 位水酸基がアシル化されており、またジアシル化体の生成量も多いことが観測される。一方で、本位置選択的アシル化手法（**Figure 3-14 top**）においては、糖 6 位水酸基への反応、およびジアシル化体の生成のいずれも抑制することに成功しており、高い選択性でセリン水酸基修飾体 **37** を得ている。

反応点の立体障害を軽減させる基質構造の改変が、予想通り選択性の向上という結果を与えた一方、本反応にて得られたモノアシル化副生成物の中で、3 位水酸基アシル化体が最も多い化合物であったという事実は注目に値する点である。糖水酸基が有する本来の反応性について、第一級である 6 位水酸基が最も高く、第二級である 3 位水酸基の反応性が乏しいことは、酸塩化物を用いたアシル化反応の結果から明らかである（**Figure 3-14 bottom**）。本手法によるアシル化反応で、3 位水酸基にわずかながらの選択性が発現した原因として、基質 **32** とアシル化剤 **10a** が金属テンプレートを形成する際に、分子内水素結合など、分子の構造に影響を与え得る何らかの要因により、糖 3 位水酸基とアシル化剤のカルボニル基の間で近接効果が生まれたことで、当該部位への反応が加速されたためであると推察している。

最終的に、本アシル化反応におけるセリン選択的修飾体 **37** の単離収率は 29%であり、また、原料回収量を考慮した計算収率は 71%となった（**Scheme 3-12**）。

Scheme 3-12



第五節　結論

著者は、Cu(I)を鋳型金属とするテンプレート効果を利用し、アミドカルボニルβ位炭素上水酸基に対する選択的アシル化反応の開発を達成した。基質一般性の検討においては、分子内に様々な競合水酸基を有する種々のポリオール化合物に対して本反応が適用可能であることを示した。特に、競合する水酸基が第一級であり、標的とする水酸基が第二級である場合においても、立体障害の差を超えて、標的水酸基のみを高収率・高選択的にアシル化可能であった事実は、本手法の有用性を示す重要な結果である。また、アシル化剤であるピリジンオキシムエステルの基質一般性についても種々検討し、様々な構造をβ-ヒドロキシアミド部位選択的に導入することを達成した。さらに本反応の生体分子への応用例として、水酸基無保護糖ペプチド化合物に対するセリン選択的アシル化反応の開発に挑戦し、低収率ながら高い選択性でセリン水酸基への選択的化学修飾を行うことに成功した。今後も種々の複雑化合物に対する本反応の適用可能性を検討していく予定である。

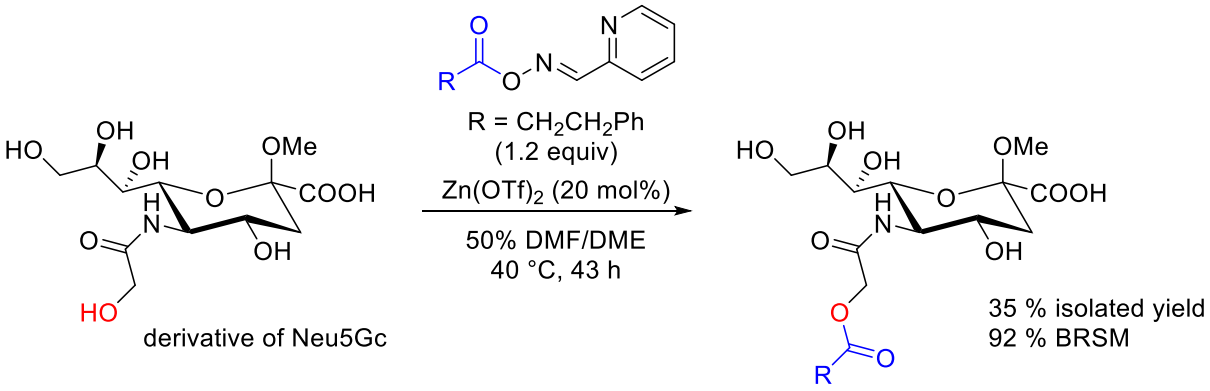
第四章　結語および要約

著者は金属イオンを鋳型とするテンプレート効果を利用し、種々の位置選択的アシル化反応の開発を達成した。

1. *N*-グリコリルノイラミン酸（Neu5Gc)の位置選択的アシル化

著者所属の研究室における先行結果として得られていた、Zn(II)を鋳型金属に使用するα-ヒドロキシアミド選択的アシル化反応を、生体分子の化学修飾に応用する例を示した。著者が基質として用いた Neu5Gc 誘導体は、シアル酸ファミリーの中で *N*-アセチルノイラミン酸（Neu5Ac)に次いで天然に多く存在する重要な分子種であり、本化合物に対する位置選択的化学修飾法の開発は、Neu5Gc 誘導体の効率的な合成法の確立、および機能解明研究の進展における大きな一助となることが期待される（**Scheme 4-1**)。

Scheme 4-1



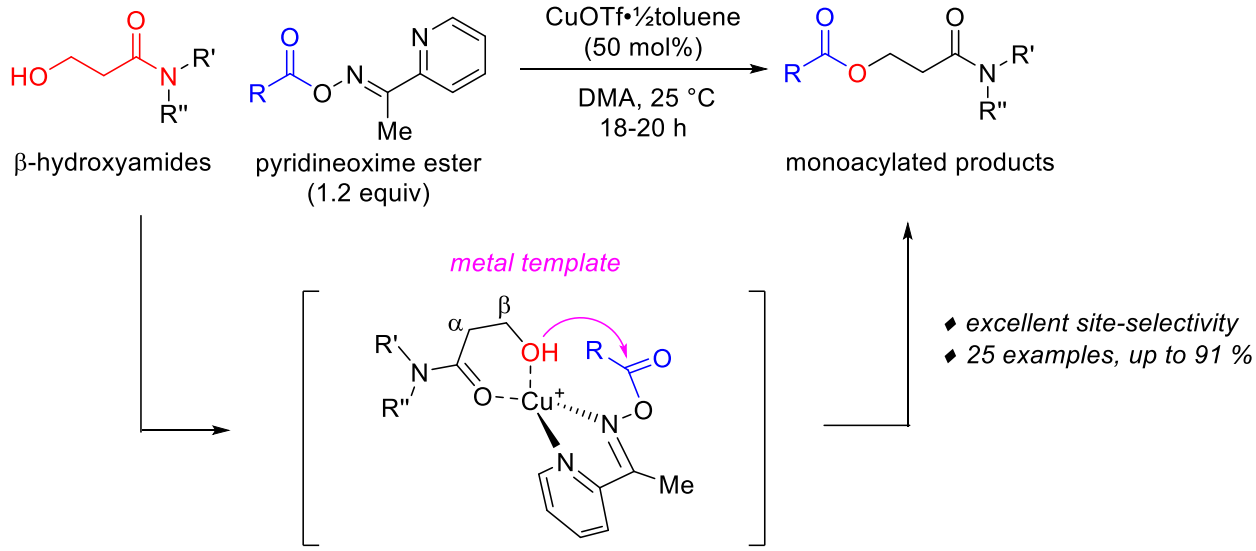
2. β-ヒドロキシアミド構造を持つポリオール化合物に対するアミドカルボニル基β位炭素上水酸基選択的アシル化

天然アミノ酸のセリンやトレオニン側鎖上水酸基に相当する、アミドカルボニル基β位炭素上水酸基への高位置選択的アシル化反応の開発を達成した。種々検討の結果、テンプレート効果を利用する本アシル化手法において、Cu(I)が鋳型金属として優れた効果を発揮することを明らかとした。また、25 例の新規化合物の合成を通して、本方法論が様々なβ-ヒドロキシアミド構造を持つポリオール化合物に適用可能であることを示した（**Scheme 4-2a**)。

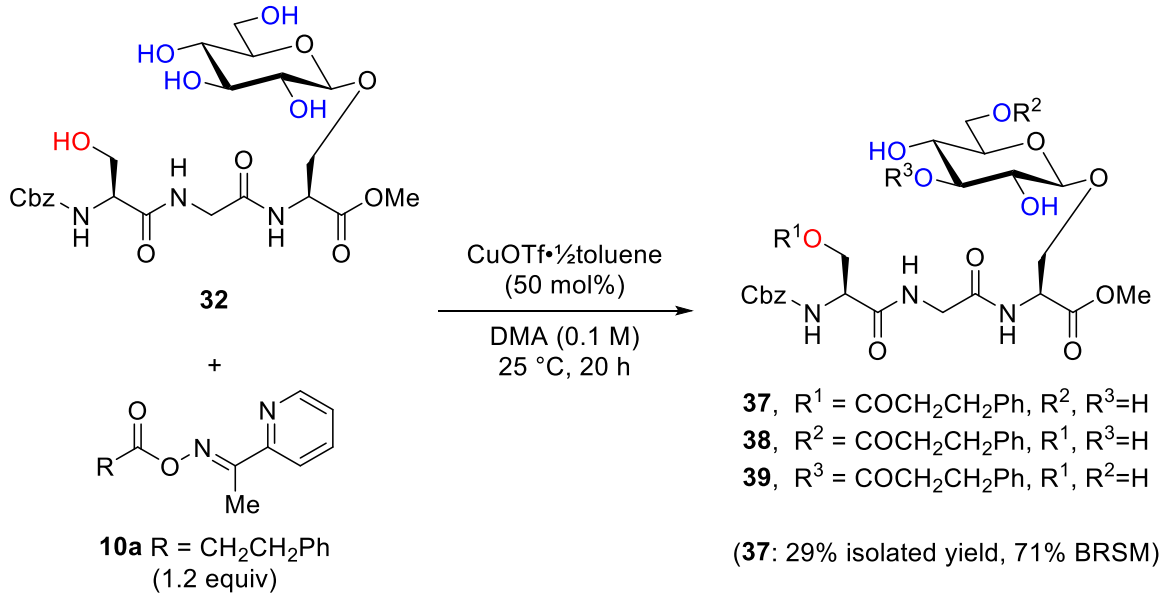
さらに、本反応を生体分子の化学修飾に応用することを想定し、糖ペプチド **32** に対するセリン選択的なアシル化反応に取り組んだ。種々検討の結果、低収率ながら高選択的に、セリン側鎖水酸基のモノアシル化生成物を与える結果を得た（**Scheme 4-2b**)。

Scheme 4-2

(a)


CuOTf•½toluene
(50 mol%)
DMA, 25 °C
18-20 h
β-hydroxyamides
pyridineoxime ester
(1.2 equiv)
monoacylated products
metal template
excellent site-selectivity
25 examples, up to 91 %

(b)


32
+
10a R = CH2CH2Ph
(1.2 equiv)
CuOTf•½toluene
(50 mol%)
DMA (0.1 M)
25 °C, 20 h
37, R1 = COCH2CH2Ph, R2, R3=H
38, R2 = COCH2CH2Ph, R1, R3=H
39, R3 = COCH2CH2Ph, R1, R2=H
(37: 29% isolated yield, 71% BRSM)

実験の部

各章を通して、以下の機器等を使用した。

^{1}H-NMR	:	日本電子 (JEOL)	ECA-500 (500 MHz)
	:	日本電子 (JEOL)	ECP-500 (500 MHz)
	:	Bruker	AVANCE III HD (600 MHz)
^{13}C-NMR	:	日本電子 (JEOL)	ECA-500 (125 MHz)
	:	日本電子 (JEOL)	ECP-500 (125 MHz)
	:	Bruker	AVANCE III HD (150 MHz)
HR-ESIMS	:	Thermo Scientific	Exactive Plus system with Ultimate 3000 HPLC
	:	AB Sciex	TripleTOF 6600
比旋光度	:	日本分光 (JASCO)	P-1020
m.p.	:	YANACO	微量融点測定装置　MP-J3
HPLC			
System 1	:	日本分光 (JASCO)	MD-2018 plus (PDA detector)
	:	日本分光 (JASCO)	PU-2018 plus (pump)
System 2	:	日本分光 (JASCO)	UV-2075 plus (UV detector)
	:	日本分光 (JASCO)	PU-4086-Binary (pump)
System 3	:	日本分光 (JASCO)	UV-2075 plus (UV detector)
	:	日本分光 (JASCO)	PU-2089 plus (pump)
System 4	:	日本分光 (JASCO)	MD-4010 (PDA detector)
	:	日本分光 (JASCO)	PU-4185 (pump)
	:	日本分光 (JASCO)	PU-4180 (pump)
	:	日本分光 (JASCO)	AS-4150 (autosampler)

各種 NMR 測定溶媒の内部標準を以下のように定めた。

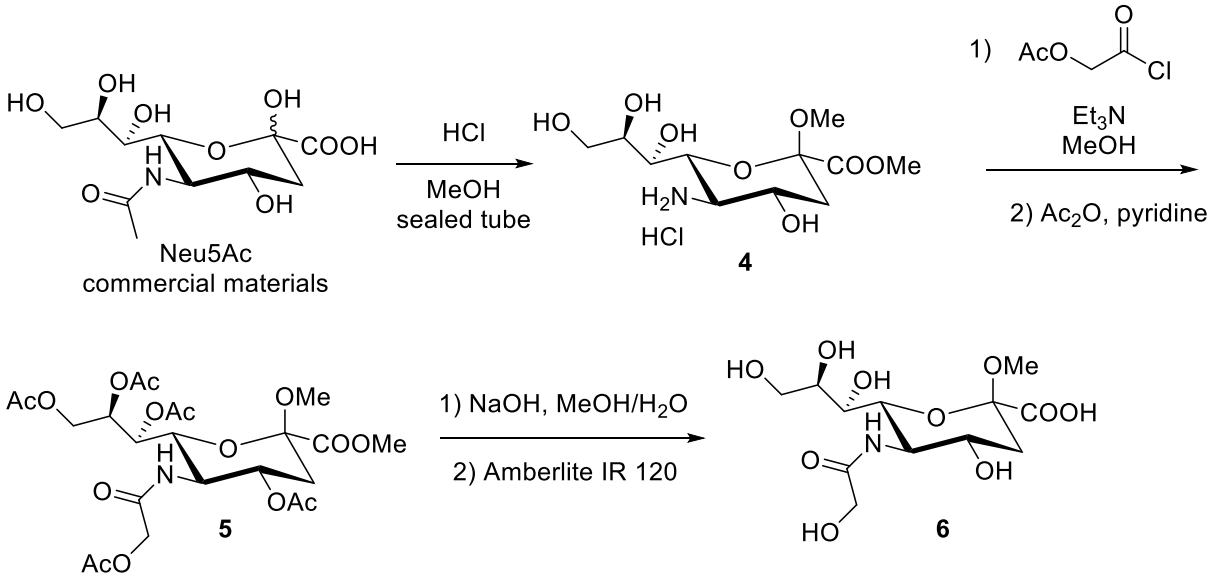
$CDCl_3$	:	tetramethylsilane (δ_H 0.00)	$CDCl_3$ (δ_C 77.00)
CD_3OD	:	residual CD_2HOD (δ_H 3.31)	CD_3OD (δ_C 49.15)
CD_3CN	:	residual CHD_2CN (δ_H 1.94)	CD_3CN (δ_C 1.39)
DMSO-*d*$_6$	:	residual DMSO-*d*$_5$ (δ_H 2.49)	DMSO-*d*$_6$ (δ_C 39.51)
Acetone-*d*$_6$	:	residual Acetone-*d*$_5$ (δ_H 2.05)	Acetone-*d*$_6$ (δ_C 29.92)

ピーク多重度を以下のように略記した。

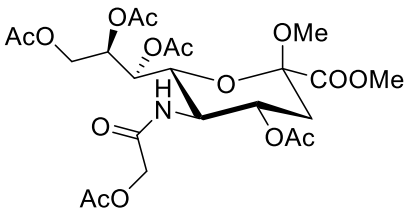
singlet	:	s
doublet	:	d
triplet	:	t
quartet	:	q
broadened	:	br

第二章付属実験

Summary for the preparation of *N*-glycolyl-1*O*-methylneuraminic acid 6



To an ice-cooled solution of *N*-acetylneuraminic acid (618 mg, 2.08 mmol) in MeOH (10 mL) in a sealed tube was added 10% HCl in MeOH (10 mL). After being heated at 100 ºC overnight, the reaction mixture was cooled to room temperature and then evaporated to afford a crude product of **4**, which was used without further purification. To an ice-cooled solution of the crude product **4** and triethylamine (0.34 mL, 2.2 mmol) in MeOH (10 mL) was added 28% NaOMe in MeOH (0.39 mL, 2.0 mmol) and then acetoxyacetyl chloride (0.24 mL, 2.2 mmol). After being stirred at room temperature for 5 h, the reaction was concentrated and then treated with acetic acnhydride (12 mL) in pyridine (12 mL) to furnish a crude product, which was purified by silica gel chromatography (EtOAc/n-Hex: 70/30) to give **5** as colorless oil (493 mg, 0.875 mmol, 42% yield over 3 steps).

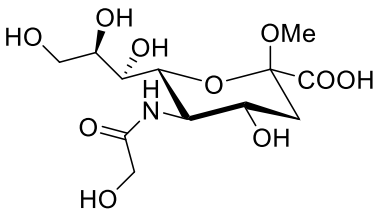


5: **^{1}H-NMR** (600 MHz, $CDCl_3$): δ 6.35 (1H, d, *J*=9.9 Hz), 5.35 (1H, dd, *J*=3.8, 2.3 Hz), 5.30 (1H,ddd, *J*=11.4, 10.5, 4.9 Hz), 5.22 (1H, ddd, *J*=7.8, 3.8, 2.6 Hz), 4.82 (1H, dd, *J*=12.4, 2.5 Hz), 4.57(1H, d, *J*=15.2 Hz), 4.31 (1H, d, *J*=15.2 Hz), 4.10-4.16 (2H, m), 4.02 (1H, dd, *J*=10.5, 2.2 Hz), 3.82 (3H, s), 3.29 (3H, s), 2.45 (1H, dd, *J*=12.9, 4.9 Hz), 2.18 (3H, s), 2.15 (3H, s), 2.08 (3H, s), 2.04 (3H, s), 2.01 (4H, s), 1.88(1H, dd, *J*=12.9, 11.6 Hz);

^{13}C-NMR (151 MHz, $CDCl_3$): δ 171.2, 170.9, 170.7, 170.3, 169.8, 167.82, 167.76, 167.3, 98.8, 72.1, 71.50, 71.48, 68.4, 68.07,68.04, 62.63, 62.61, 62.3, 52.7, 51.3, 49.0, 48.9, 37.3, 21.0, 20.73, 20.72, 20.71, 20.5;

HRMS (ESI$^+$) m/z: calcd for $C_{23}H_{33}NO_{15}Na$ $[M+Na]^+$: 586.1742, found: 586.1763.

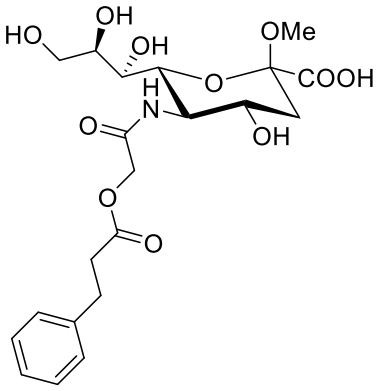
To a solution of **5** (341 mg, 0.605 mmol) in MeOH (5 mL) was added 1 M aqueous NaOH (1.8 mL). After being stirred at room temperature for 17 h, the reaction mixture was evaporated to afford a mixture of the sodium salt of **6**, which was dissolved in water. The resulting solution was passed through Amberlite IR 120 (H^+ form) to give the solution of **6**, which was purified by reverse phase HPLC (0.05% formic acid in water) to give **6** as colorless oil (149 mg, 0.439 mmol, 73% yield) as a pure form.



6: **^{1}H-NMR** (600 MHz, CD_3OD): δ 4.08-4.14 (1H, m), 4.04 (2H, s), 3.96 (1H, dd, *J*=10.6, 1.1),3.89-3.94 (1H, m), 3.76-3.83 (2H, m), 3.65 (1H, dd, *J*=11.2, 5.1 Hz), 3.53 (1H, dd, *J*=9.3, 1.2),3.29 (3H, s), 2.35 (1H, dd, *J*=12.8, 5.0), 1.64 (1H, dd, *J*=12.9, 11.3);
^{13}C-NMR (151 MHz, CD_3OD): δ 176.7, 172.5, 100.7, 72.3, 71.6, 70.1, 67.6, 65.3, 62.8, 53.6, 51.7, 41.9;
HRMS (ESI$^-$) *m/z*: calcd for $C_{12}H_{20}NO_{10}$ $[M-H]^-$: 338.1093, found: 338.1099.
HPLC: InertSustain AQ-C18 (20*250 mm), Flow rate 10 mL/min, 0.05% formic acid in water, tR = 5.3 min.

Procedure for site-selective acylation of 6 and characterization data of 8.

To a mixture of **6** (31.3 mg, 0.0922 mmol), $Zn(OTf)_2$ (6.7 mg, 0.018 mmol) and pyridine aldoxime ester **7** (28.1 mg, 0.111 mmol) was added DMF/DME (1:1, 0.46 mL) under nitrogen atmosphere. After being stirred at 40 ºC for 43 h, the reaction mixture was evaporated to afford a crude product of **8**, which was purified by reverse phase HPLC (10% MeOH/water to 100% MeOH after 35 min, linear gradient) to give **8** (15.3 mg, 0.0325 mmol, 35% yield, 92% yield based on recovered starting material) and **6** (19.2 mg) as pure forms.

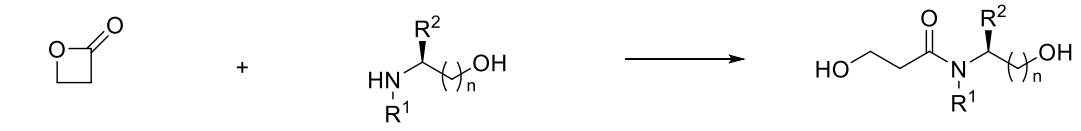


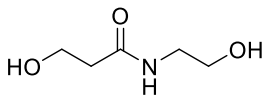
8: Some signals show multiple resonance for the presence of different rotational isomers;
^{1}H-NMR (600 MHz, CD_3OD): δ 7.21-7.30 (4H, m), 7.15-7.20 (1H, m), 4.60, 4.57 (2H, ABq, *J*=15.8), 3.96-4.09 (3H, m), 3.75-3.85 (2H, m), 3.57-3.68 (2H, m), 3.29 (3H, s), 2.95 (2H, t, *J*=7.7), 2.77 (2H, t, *J*=7.9), 2.37 (1H, d, *J*=12.5), 1.72 (2H, br-s);
^{13}C-NMR (151 MHz, CD_3OD+CH_3COOH): δ 173.2, 172.6, 169.7, 140.5, 128.1, 127.9, 125.9, 100.2, 70.4, 70.2, 68.6, 66.3, 63.7, 62.3, 52.0, 50.3, 40.1, 35.0, 30.3; $[a]_D$ 26 -33 (MeOH, c 0.29);
HRMS (ESI-) m/z: calcd for $C_{21}H_{28}NO_{11}$ $[M-H]^-$: 470.1668, found: 470.1684.
HPLC: InertSustain AQ-C18 (20*250 mm), Flow rate 10 mL/min, 10% MeOH/water (0-5 min) to 100% MeOH (35 min, linear gradient), tR = 21.2 min.

第三章付属実験

General procedure (GP1) for the preparation of β-hydroxyamides (9a-g).

To a solution of β-propiolactone in solvent (typically, 0.2~0.5 M) was added an amino alcohol at room temperature under nitrogen atmosphere. After being stirred for overnight, the crude product was concentrated in vacuo. Purification by silica gel chromatography to give a corresponding β-hydroxyamide **9a-9g**.





9a

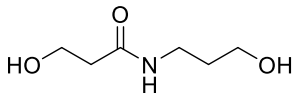
9a: Following the general procedure (**GP1**); β-propiolactone (0.940 mL, 14.9 mmol) was treated with ethanolamine (1.87 mL, 31.1 mmol, 2.08 equiv) in benzene (31 mL) and the mixture was stirred at room temperature for 14 h. The crude product was purified by silica gel column chromatography (MeOH/AcOEt: 20/80) to give **9a** as a white solid (1.24 g, 9.34 mmol, 62% yield).

m.p. 78-82 °C

^{1}H-NMR (600 MHz, CD_3OD): δ 3.77 (2H, t, *J*=6.2), 3.56 (2H, t, *J*=5.8), 3.27 (2H, t, *J*=5.8), 2.37 (2H, t, *J*=6.2);

^{13}C-NMR (151 MHz, CD_3OD): δ 174.6, 61.7, 59.5, 43.1, 40.2;

HRMS (ESI$^+$) *m/z*: calcd for $C_5H_{12}NO_3$ $[M+H]^+$: 134.0812, found: 134.0813.



9b

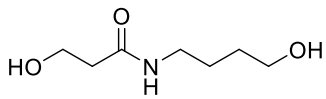
9b: Following the general procedure (**GP1**); β-propiolactone (1.25 mL, 19.9 mmol) was treated with propanolamine (3.06 mL, 40.0 mmol, 2.01 equiv) in benzene (40 mL) and the mixture was stirred at room temperature for 20 h. The crude product was purified by silica gel column chromatography (MeOH/AcOEt: 20/80) to give **9b** as a white solid (1.80 g, 12.2 mmol, 62% yield).

m.p. 48-50 °C

^{1}H-NMR (600 MHz, CD_3OD): δ 3.80 (2H, t, *J*=6.2), 3.59 (2H, t, *J*=6.3), 3.28 (2H, t, *J*=6.9), 2.39 (2H, t, *J*=6.3), 1.71 (2H, quin, *J*=6.6);

^{13}C-NMR (151 MHz, CD_3OD): δ 174.4, 60.5, 59.5, 40.3, 37.5, 33.3;

HRMS (ESI$^+$) *m/z*: calcd for $C_6H_{13}NNaO_3$ $[M+Na]^+$: 170.0788, found: 170.0791.



9c

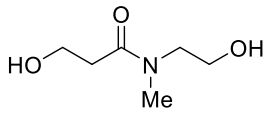
9c: Following the general procedure (**GP1**); β-propiolactone (0.126 mL, 2.00 mmol) was treated with 4-amino-1-butanol (0.368 mL, 3.96 mmol, 1.98 equiv) in benzene (10 mL) and the mixture was stirred at room temperature for 14 h. The crude product was purified by silica gel column chromatography (MeOH/CH_2Cl_2: 20/80) to give **9c** as a white solid (243 mg, 1.51 mmol, 75% yield).

m.p. 69-73 ºC

^{1}H-NMR (600 MHz, CD_3OD): δ 3.79 (2H, t, *J*=6.3), 3.57 (2H, t, *J*=6.1), 3.21 (2H, t, *J*=5.9), 2.38 (2H, t, *J*=6.3), 1.52-1.61 (4H, m);

^{13}C-NMR (151 MHz, CD_3OD): δ 174.2, 62.7, 59.6, 40.3, 40.3, 31.0, 27.0;

HRMS (ESI$^+$) *m/z*: calcd for $C_7H_{15}NNaO_3$ $[M+Na]^+$: 184.0944, found: 184.0943.



9d

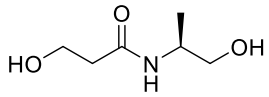
9d: Following the general procedure (**GP1**); β-propiolactone (0.627 mL, 9.97 mmol) was treated with *N*-methylethanolamine (1.61 mL, 20.1 mmol, 2.02 equiv) in benzene (20 mL) and the mixture was stirred at room temperature for 16 h. The crude product was purified by silica gel column chromatography (MeOH/AcOEt: 20/80) to give **9d** as colorless oil (80.9 mg, 0.55 mmol, 6% yield).

Some signals show multiple resonance for the presence of different rotational isomers:

^{1}H-NMR (600 MHz, ACETONE-*d*$_6$): δ 3.69-3.75 (3H, m), 3.63 (1H, t, *J*=5.7), 3.47 (2H, q, *J*=5.9), 3.09, 2.89 (3H, s), 2.60 (1H, t, *J*=6.0), 2.53 (1H, t, *J*=6.0);

^{13}C-NMR (151 MHz, ACETONE-*d*$_6$): δ 173.5, 173.3, 60.9, 60.2, 59.4, 59.1, 52.5, 51.2, 37.0, 36.4, 36.0, 33.4;

HRMS (ESI$^+$) *m/z*: calcd for $C_6H_{13}NNaO_3$ $[M+Na]^+$: 170.0788 found: 170.0786.



9e

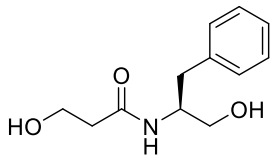
9e: Following the general procedure (**GP1**); β-propiolactone (0.125 mL, 1.99 mmol) was treated with L-alaninol (0.312 mL, 4.00 mmol, 2.01 equiv) in benzene (4 mL) and the mixture was stirred at room temperature for 19 h. The crude product was purified by silica gel column chromatography (MeOH/AcOEt: 20/80) to give **9e** as yellow oil (83.2 mg, 0.565 mmol, 28% yield).

^{1}H-NMR (600 MHz, CD_3OD): δ 3.90-3.99 (1H, m), 3.80 (2H, t, *J*=5.8), 3.43-3.51 (2H, m), 2.40 (2H, t, *J*=6.0), 1.08-1.17 (3H, m);

^{13}C-NMR (151 MHz, CD_3OD): δ 173.9, 66.3, 59.6, 48.5, 40.3, 17.3;

$[\alpha]_D^{25}$ +16 (CH_3OH, *c* 0.5);

HRMS (ESI$^+$) *m/z*: calcd for $C_6H_{13}NNaO_3$ $[M+Na]^+$: 170.0788, found: 170.0786.



9f

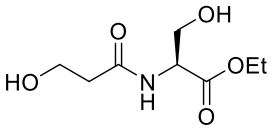
9f: Following the general procedure (**GP1**); β-propiolactone (0.126 mL, 2.00 mmol) was treated with L-phenylalaninol (605 mg, 4.00 mmol, 2.00 equiv) in THF (10 mL) and the mixture was stirred at room temperature for 17 h. The crude product was purified by silica gel column chromatography (MeOH/AcOEt: 10/90) to give **9f** as yellowish oil (82.2 mg, 0.368 mmol, 18% yield).

^{1}H-NMR (600 MHz, ACETONE-*d*$_6$): δ 7.24-7.29 (4H, m), 7.16-7.21 (1H, m), 7.09 (1H, br-s), 4.07-4.15 (1H, m), 3.70 (2H, t, *J*=6.0), 3.51 (2H, d, *J*=5.0), 2.91 (1H, dd, *J*=13.7, 6.7), 2.79 (1H, dd, *J*=13.7, 7.6), 2.33 (2H, td, *J*=6.0, 2.5);

^{13}C-NMR (151 MHz, ACETONE-*d*$_6$): δ 172.5, 140.1, 130.2, 129.1, 127.0, 63.9, 59.4, 53.7, 39.5, 37.8;

[α]$_D^{24}$ -9.0 (CH_3OH, *c* 0.44);

HRMS (ESI$^+$) *m/z*: calcd for $C_{12}H_{17}NNaO_3$ $[M+Na]^+$: 246.1101, found: 246.1103.



9g

9g: Following the general procedure (**GP1**); β-propiolactone (0.126 mL, 2.00 mmol) was treated with ethyl L-serinate hydrochloride (678 mg, 4.00 mmol, 2.00 equiv), triethylamine (0.613 mL, 4.40 mmol, 2.20 equiv), in THF (10 mL) and the mixture was stirred at room temperature for 16 h. The crude product was purified by silica gel column chromatography (MeOH/AcOEt : 10/90) to give **9g** as a white solid (197 mg, 0.960 mmol, 48% yield).

m.p. 94-97 °C

^{1}H-NMR (600 MHz, CD_3OD): δ 4.51 (1H, t, *J*=4.4), 4.20 (2H, qd, *J*=7.1, 1.0), 3.86-3.91 (1H, m), 3.78-3.86 (3H, m), 2.49 (2H, td, *J*=6.3, 1.7), 1.28 (3H, t, *J*=7.2);

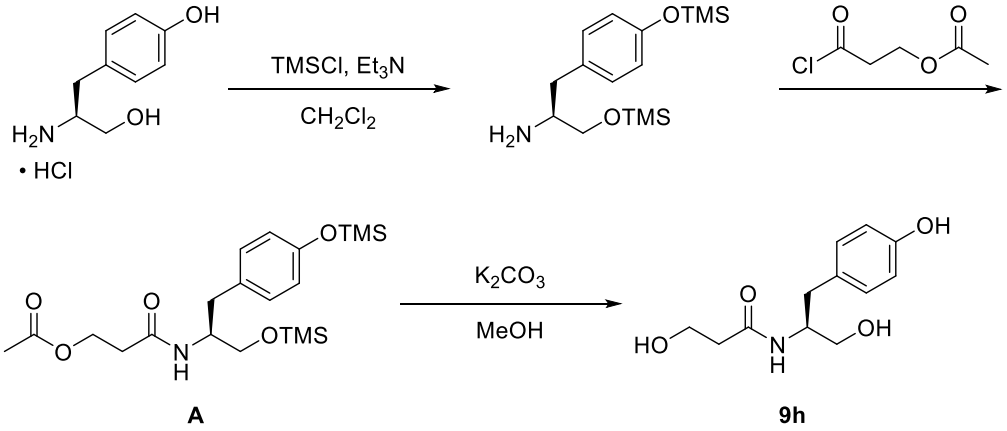
^{13}C-NMR (151 MHz, CD_3OD): δ 174.5, 172.0, 63.0, 62.7, 59.4, 56.4, 39.9, 14.6;

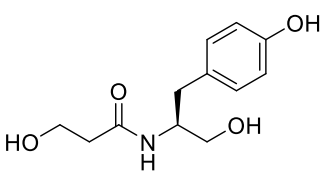
[α]$_D^{26}$ -12 (CH_3OH, *c* 0.35);

HRMS (ESI$^+$) *m/z*: calcd for $C_8H_{16}NO_5$ $[M+H]^+$: 206.1023, found: 206.1020.

Procedure for the preparation and characterization data of 9h.

To a stirred and ice-cooled solution of L-tyrosinol hydrochloride (509 mg, 2.50 mmol) and triethylamine (1.22 mL, 8.75 mmol, 3.50 equiv) in CH_2Cl_2 (13 mL) was added chlorotrimethylsilane (0.698 mL, 5.50 mmol, 2.20 equiv) under nitrogen atmosphere. After being stirred at room temperature for 1 h, the reaction mixture was cooled in ice bath. 3-acetoxypropionyl chloride[1] (376 mg, 2.50 mmol, 1.00 equiv) was added dropwise in the reaction mixture. After being stirred at room temperature for 18 h, the reaction mixture was evaporated to give a crude product, which was purified by silica gel chromatography (MeOH/AcOEt：10/90) to give **A** (414 mg, 0.973 mmol, 39% yield). To a stirred solution of **A** (414 mg, 0.973 mmol) in MeOH (5 mL) was added K_2CO_3 (1.34 g, 9.70 mmol, 10.0 equiv). After being stirred at room temperature for 18 h, the reaction mixture was filtered through a pad of celite. The filtrate was evaporated to afford a crude product, which was purified by silica gel chromatography (MeOH/AcOEt：10/90) to give a **9h** as colorless oil (97 mg, 0.41 mmol, 42% yield).





9h

9h: **^{1}H-NMR** (600 MHz, CD_3OD): δ 7.04 (2H, d, *J*=8.5), 6.70 (2H, d, *J*=8.5), 4.06 (1H, quin, *J*=6.3), 3.69-3.79 (2H, m), 3.51 (2H, qd, *J*=11.3, 5.4), 2.79 (1H, dd, *J*=13.9, 6.5), 2.65 (1H, dd, *J*=13.7, 7.8), 2.30-2.42 (2H, m), 1.98 (1H, s);

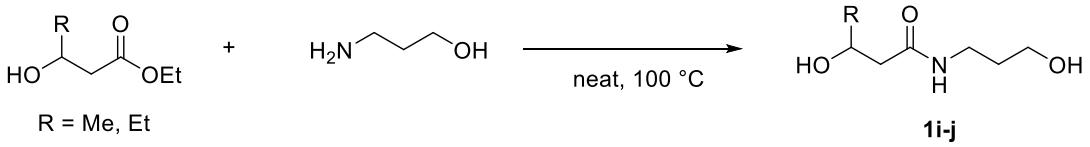
^{13}C-NMR (151 MHz, CD_3OD): δ 172.6, 155.5, 129.9, 129.0, 114.7, 62.6, 58.0, 53.0, 38.7, 35.7;

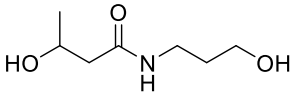
$[\alpha]_D^{25}$ -11 (CH_3OH, *c* 0.26);

HRMS (ESI$^+$) *m/z*: calcd for $C_{12}H_{18}NO_4$ $[M+H]^+$：240.1230, found: 240.1229.

General procedure (GP2) for the preparation and characterization data of β-hydroxyamides (9i-j).

A mixture of a corresponding β-hydroxy ethyl ester and aminoalcohol was heated at 100 ºC for 4-6 h under nitrogen atmosphere. After being cooled to room temperature, the reaction mixture was evaporated to dryness. The resulting crude product was purified by silica gel chromatography to give a corresponding β-hydroxyamide **9i-j**.





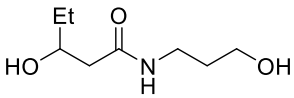
9i

9i: Following the general procedure (**GP2**); A mixture of ethyl DL-3-hydroxybutyrate (0.390 mL, 2.99 mmol) and 3-amino-1-propanol (0.690 mL, 9.08 mmol, 3.04 equiv) was heated at 100 ºC for 4 h. The crude product was purified by silica gel column chromatography (MeOH/EtOAc: 10/90) to give **9i** as colorless oil (451 mg, 2.80 mmol, 94% yield)

^{1}H-NMR (600 MHz, ACETONE-d_6): δ 7.28 (1H, br-s), 4.26-4.30 (1H, m), 4.06 (1H, dqt, *J*=8.1, 6.2, 6.2, 6.2, 4.0, 4.0), 3.76 (1H, q, *J*=5.8), 3.54 (2H, q, *J*=5.8), 3.30 (2H, q, *J*=6.4), 2.27-2.32 (1H, m), 2.20-2.25 (1H, m), 1.63 (2H, quin, *J*=6.3), 1.12 (3H, d, *J*=6.2);

^{13}C-NMR (151 MHz, ACETONE-d_6): δ 172.3, 64.5, 58.7, 44.2, 35.6, 32.6, 22.6;

HRMS (ESI$^+$) *m/z*: calcd for $C_7H_{16}NO_3$ $[M+H]^+$: 162.1125, found: 162.1129.



9j

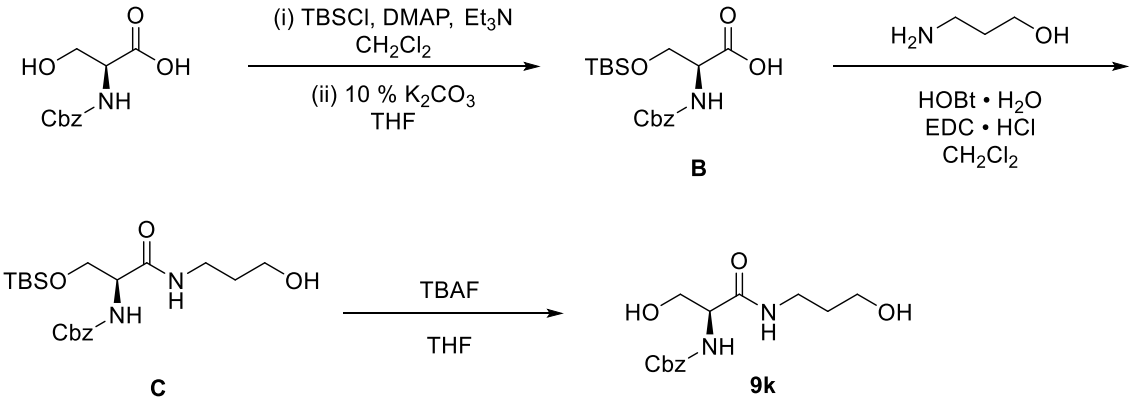
9j: Following the general procedure (**GP2**); A mixture of DL-ethyl 3-hydroxyvalerate (218 mg, 1.49 mmol) and 3-amino-1-propanol (342 μL, 4.50 mmol, 3.02 equiv) was heated at 100 ºC for 6 h. The crude product was purified by silica gel column chromatography (MeOH/EtOAc: 15/85) to give **9j** as colorless oil (204 mg, 1.16 mmol, 78% yield)

^{1}H-NMR (600 MHz, CD_3OD): δ 3.84-3.90 (1H, m), 3.59 (2H, t, *J*=6.3), 3.35 (1H, s), 3.27 (2H, t, *J*=6.9), 2.24-2.35 (2H, m), 1.71 (2H, quin, *J*=6.6), 1.42-1.55 (2H, m), 0.96 (3H, t, *J*=7.5);

^{13}C-NMR (151 MHz, CD_3OD): δ 174.6, 71.3, 60.5, 44.5, 37.5, 33.3, 31.2, 10.4;

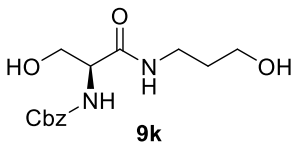
HRMS (ESI$^+$) *m/z*: calcd for $C_8H_{18}NO_3$ $[M+H]^+$: 176.1281, found: 176.1278

Procedure for the preparation of 9k and its characterization data.



To a stirred solution of *N*-Cbz-serine (718 mg, 3.00 mmol), DMAP (15 mg, 0.12 mmol, 0.041 equiv) and triethylamine (544 μL, 3.90 mmol, 1.30 equiv) in CH_2Cl_2 (15 mL) was added *tert*-butyldimethylchlorosilane (497 mg, 3.30 mmol, 1.10 equiv) under nitrogen atmosphere. After being stirred at room temperature for 12 h, the reaction was quenched by adding water. The mixture was extracted with CH_2Cl_2. The organic layer was washed with water and brine, dried over Na_2SO_4 and evaporated to give a crude product, which was used immediately without further purification. To a solution of the crude product in THF (5.0 mL) was added a solution of 10% K_2CO_3 (3.0 mL) in water at room temperature under nitrogen atmosphere. After being stirred at the same temperature for 3 h, the mixture was concentrated in vacuo and the residue was then partitioned between dichloromethane and 10 % aqueous citric acid. The separated organic extract was dried and then evaporated. The resulting crude product was purified by silica gel chromatography to give **B** as a white solid (1.06 g, 3.00 mmol, quantitative).

To a stirred and ice-cooled solution of **B** (1.06 g, 3.00 mmol), 3-amino-1-propanol (0.250 mL, 3.29 mmol, 1.10 equiv), HOBt・H_2O (505 mg, 3.30 mmol, 1.10 equiv) in CH_2Cl_2 (8.0 mL) was added *N*-ethyl *N*'-(3-dimethylaminopropyl)carbodiimide hydrochloride (EDC・HCl, 633 mg, 3.30 mmol, 1.10 equiv) under nitrogen atmosphere. After being stirred at room temperature for 20 h, the reaction was quenched by adding sat NH_4Cl. The mixture was washed with sat NH_4Cl, sat $NaHCO_3$, and brine. The organic extract was dried over Na_2SO_4 and evaporated. The resulting crude product was purified by silica gel chromatography (EtOAc/n-Hex: 70/30) to give **C** (921 mg, 2.24 mmol, 75% yield, 2 steps). To a stirred solution of **C** in THF (10 mL) was added 1.0 M tetrabutylammonium fluoride solution in THF (2.5 mL, 2.5 mmol, 1.1 equiv). After being stirred 3 h at room temperature, the reaction mixture was concentrated in vacuo. The residue purified by silica gel chromatography (MeOH/AcOEt：10/90) to give **9k** as a white solid (464 mg, 1.57 mmol, 70% yield)



9k

9k: **m.p.** 138-141 °C

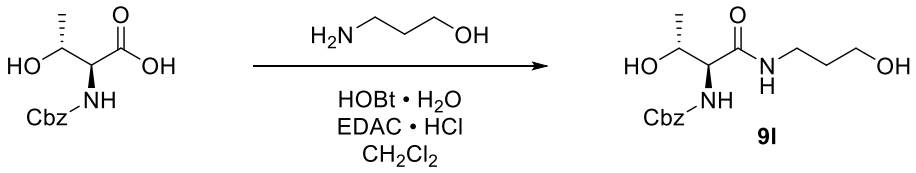
^{1}H-NMR (600 MHz, CD_3OD): δ 7.27-7.40 (5H, m), 5.07-5.15 (2H, m), 4.86 (2H, s), 4.16 (1H, t, *J*=5.1), 3.76 (2H, d, *J*=5.1), 3.58 (2H, t, *J*=6.1), 1.71 (2H, quin, *J*=6.4);

^{13}C-NMR (151 MHz, CD_3OD): δ 173.2, 158.6, 138.2, 129.6, 129.2, 129.1, 68.0, 63.4, 60.6, 58.8, 37.7, 33.2;

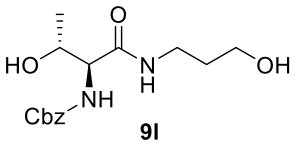
$[\alpha]_D^{25}$ -8.7 (CH_3OH, *c* 0.51);

HRMS (ESI$^+$) *m/z*: calcd for $C_{14}H_{20}N_2NaO_5$ $[M+Na]^+$: 319.1264, found: 319.1263.

Procedure for the preparation of 9l and its characterization data.



To a stirred and ice-cooled solution of *N*-Cbz-L-threonine (127 mg, 0.501 mmol), 3-amino-1-propanol (42 μL, 0.55 mmol, 1.1 equiv), HOBt・H_2O (84.2 mg, 0.550 mmol, 1.10 equiv) and in CH_2Cl_2 (4.0 mL) was added EDAC・HCl (105 mg, 0.548 mmol, 1.09 equiv) under nitrogen atmosphere. After being stirred at room temperature for 16 h, the reaction was quenched by adding water. The mixture was washed with water and brine. The organic extract was dried over Na_2SO_4 and evaporated. The resulting crude product was purified by silica gel chromatography (EtOAc/*n*-Hex: 70/30) followed by recrystallization (EtOAc/*n*-Hex) to give **9l** as a white solid (140 mg, 0.451 mmol, 90 % yield).



9l

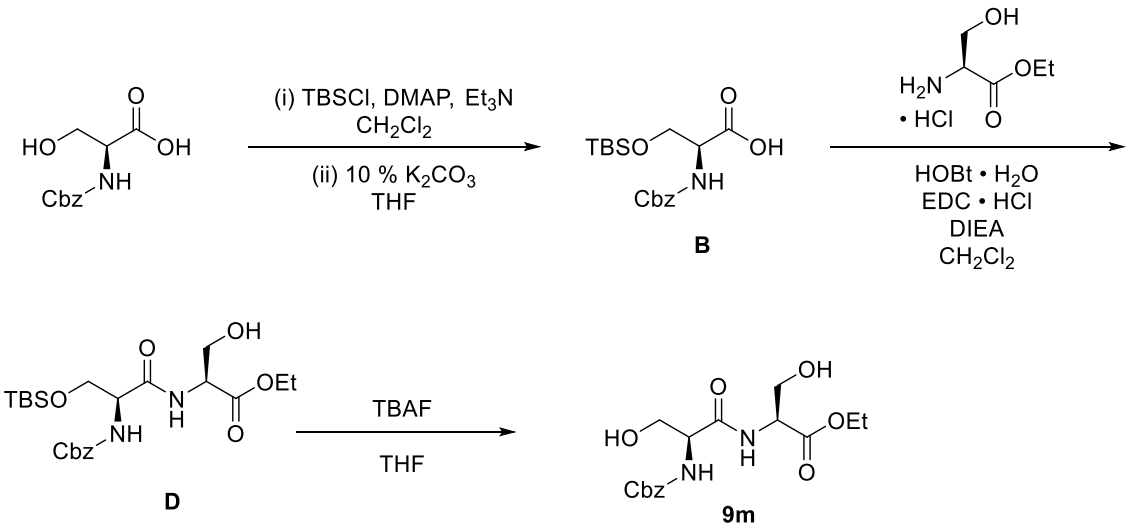
9l: **m.p.** 104-107 °C

^{1}H-NMR (600 MHz, ACETONE-*d6*) δ 7.44 (1H, br-s), 7.34-7.41 (3H, m), 7.28-7.33 (1H, m), 6.20 (1H, br-s), 5.03-5.17 (2H, m), 4.22 (2H, br-s), 4.07 (1H, d, *J*=7.7), 3.67-3.76 (1H, m), 3.51-3.59 (2H, m), 3.34 (2H, q, *J*=6.4), 2.77-2.78 (1H, m), 1.64 (1H, dt, *J*=12.0, 5.9), 1.14 (3H, d, *J*=5.7)

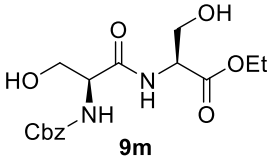
^{13}C-NMR (151 MHz, $CDCl_3$): δ 172.0, 157.0, 136.0, 128.6, 128.4, 128.1, 67.4, 66.6, 59.7, 58.6, 36.6, 31.8, 18.5;

HRMS (ESI$^+$) *m/z*: calcd for $C_{15}H_{22}N_2O_5$ $[M+H]^+$: 311.1601, found: 311.1603.

Procedure for the preparation of 9m and its characterization data.



To a stirred and ice-cooled solution of **B** (1.02 g, 2.89 mmol), ethyl L-serinate hydrochloride (560 mg, 3.30 mmol, 1.14 equiv), HOBt・H_2O (505 mg, 3.30 mmol, 1.14 equiv) and diisopropylethylamine (1.6 mL, 9.2 mmol, 3.2 equiv) in CH_2Cl_2 (15 mL) was added EDC・HCl (633 mg, 3.30 mmol, 1.14 equiv) under nitrogen atmosphere. After being stirred at room temperature for 20 h, the reaction was quenched by adding sat NH_4Cl. The mixture was washed with sat NH_4Cl, saturated aqueous $NaHCO_3$, and brine. The organic extract was dried over Na_2SO_4 and evaporated. The resulting crude product was purified by silica gel chromatography (EtOAc/*n*-Hex: 60/40) to give **D** (1.34 g, 2.86 mmol, 99% yield). To a stirred solution of **D** in THF (15 mL) was added 1.0 M tetrabutylammonium fluoride solution in THF (3.3 mL, 3.3 mmol, 1.2 equiv). After being stirred 4 h at room temperature, the reaction mixture was concentrated in vacuo. The residue purified by silica gel chromatography AcOEt to give **9m** as a white solid (227 mg, 0.641 mmol, 22% yield).



9m: **m.p.** 123-126 °C

^{1}H-NMR (600 MHz, CD_3OD): δ 7.25-7.41 (5H, m), 5.12 (2H, s), 4.52 (1H, t, *J*=3.8), 4.29 (1H, t, *J*=5.2), 4.20 (2H, q, *J*=7.0), 3.87-3.94 (1H, m), 3.76-3.85 (3H, m), 1.27 (3H, t, *J*=7.1);

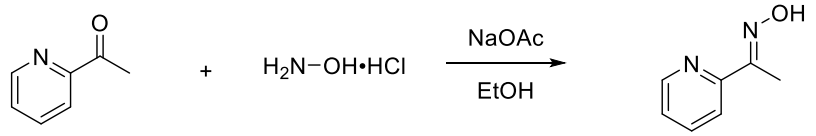
^{13}C-NMR (151 MHz, CD_3OD): δ 173.1, 171.8, 158.7, 138.2, 129.7, 129.2, 129.1, 68.0, 63.4, 63.0, 62.8, 58.5, 56.5, 14.6;

HRMS (ESI$^+$) *m/z*: calcd for $C_{16}H_{22}N_2NaO_7$ $[M+Na]^+$: 377.1319, found: 377.1314.

Synthesis of pyridine ketoxime and pyridine ketoxime ester (10a-l).

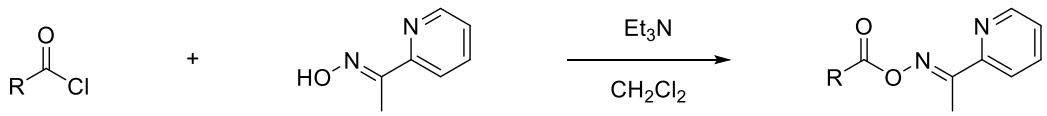
Representative procedure for the preparation of pyridine ketoxime.

To a stirred solution of 2-Acetylpyridine in EtOH (typically, 0.2 M) were added hydroxylamine hydrochloride (1.5 equiv), sodium acetate (1.5 equiv) under nitrogen atmosphere. After being stirred overnight at room temperature, the reaction mixture was concentrated under reduced pressure, and the residue was diluted with EtOAc. The separated organic layer was washed with water and brine, dried over Na_2SO_4 and evaporated to give the crude product. The residue purified by recrystallization from EtOAc/Hexane to afford 2-pyridine ketoxime as white solid. The analytical data were identical to those reported previously [30].

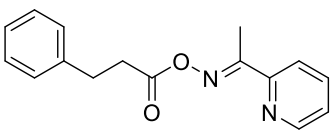


General procedure (GP3) for the preparation and characterization data of pyridine ketoxime esters (10a-d).

To a stirred and ice-cooled solution of a corresponding ketoxime in CH_2Cl_2 was added dropwise triethylamine and a corresponding acyl chloride under nitrogen atmosphere. After being stirred at room temperature for 4 h, the reaction mixture was evaporated and then diluted with EtOAc. The solution was washed with 1 M aqueous $KHSO_4$, H_2O and brine. The organic layer was dried over Na_2SO_4 and evaporated to give a crude product, which was purified by recrystallization or silica gel chromatography to give a corresponding aldoxime ester.



10a-d



10a

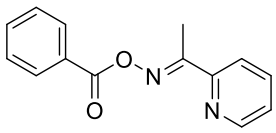
10a: Following the general procedure (**GP3**); Pyridine 2-ketoxime (2.72 g, 20.0 mmol) was treated with 3-phenylpropionyl chloride (3.27 mL, 22.0 mmol, 1.10 equiv) and triethylamine (3.35 mL, 24.0 mmol, 1.20 equiv) in CH_2Cl_2 (100 mL) and the mixture was stirred at room temperature for 12 h. The crude product was purified by recrystallization (EtOAc/*n*-Hex) to give **10a** as a white solid (2.05 g, 7.64 mmol, 38% yield).

m.p. 45-47 °C;

^{1}H-NMR (600 MHz, $CDCl_3$): δ 8.62-8.65 (1H, m), 8.08 (1H, dt, *J*=7.9, 1.1), 7.72 (1H, td, *J*=7.7, 1.7), 7.25-7.35 (5H, m), 7.20-7.24 (1H, m), 3.08 (2H, t, *J*=7.8), 2.87 (2H, t, *J*=8.1) 2.43 (3H, s);

^{13}C-NMR (151 MHz, $CDCl_3$): δ 170.3, 163.6, 152.7, 149.1, 140.2, 136.5, 128.6, 128.4, 126.4, 124.9, 121.9, 34.7, 30.9, 12.8;

HRMS (ESI$^+$) *m/z*: calcd for $C_{16}H_{17}N_2O_2$ $[M+H]^+$: 269.1285, found: 269.1286.



10b

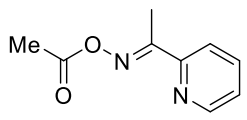
10b: Following the general procedure (**GP3**); Pyridine 2-ketoxime (300 mg, 2.20 mmol) was treated with benzoyl chloride (256 μL, 2.20 mmol, 1.00 equiv) and triethylamine (306 μL, 2.20 mmol, 1.00 equiv) in CH_2Cl_2 (11 mL) and the mixture was stirred at room temperature for 4 h. The crude product was purified by silica gel chromatography (AcOEt/CH_2Cl_2: 20/80) to give **10b** as a white solid (486 mg, 2.02 mmol, 92% yield).

m.p. 114-118 ºC;

^{1}H-NMR (600 MHz, $CDCl_3$): δ 8.67 (1H, ddd, *J*=4.8, 1.8, 0.9), 8.21 (1H, dt, *J*=7.9, 1.1), 8.14-8.18 (2H, m), 7.75-7.78 (1H, m), 7.61-7.65 (1H, m), 7.50-7.54 (2H, m), 7.37 (1H, ddd, *J*=7.5, 4.8, 1.3), 2.65 (3H, s);

^{13}C-NMR (151 MHz, $CDCl_3$): δ 164.3, 163.7, 152.7, 149.1, 136.6, 133.5, 129.7, 129.0, 128.6, 125.0, 122.1, 13.0;

HRMS (ESI$^+$) *m/z*: calcd for $C_{14}H_{12}N_2NaO_2$ $[M+Na]^+$: 263.0791, found: 263.0798.



10c

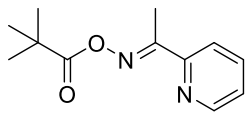
10c: Following the general procedure (**GP3**); Pyridine 2-ketoxime (300 mg, 2.20 mmol, 1.10 equiv) was treated with acetyl chloride (142 μL, 2.00 mmol) and triethylamine (306 μL, 2.20 mmol, 1.10 equiv) in CH_2Cl_2 (11 mL) and the mixture was stirred at room temperature for 4 h. The crude product was purified by silica gel chromatography (AcOEt/CH_2Cl_2: 20/80) to give **2c** as a white solid (345 mg, 1.94 mmol, 97% yield).

m.p. 33-38 ºC;

^{1}H-NMR (600 MHz, $CDCl_3$): δ 8.63-8.66 (1H, m), 8.08 (1H, dt, *J*=8.0, 1.1), 7.73 (1H, td, *J*=7.8, 1.8), 7.34 (1H, ddd, *J*=7.5, 4.8, 1.1), 2.50 (3H, s), 2.29 (3H, s);

^{13}C-NMR (151 MHz, $CDCl_3$): δ 168.6, 163.3, 152.7, 149.1, 136.5, 124.9, 121.8, 19.7, 12.8;

HRMS (ESI$^+$) *m/z*: calcd for $C_9H_{11}N_2O_2$ $[M+H]^+$ 179.0815, found: 179.0810.



10d

10d: Following the general procedure (**GP3**); Pyridine 2-ketoxime (300 mg, 2.20 mmol, 1.10 equiv) was treated with pivaloyl chloride (246 μL, 2.00 mmol) and triethylamine (306 μL, 2.20 mmol, 1.10 equiv) in CH_2Cl_2 (11mL) and the mixture was stirred at room temperature for 4 h. The crude product was purified by silica gel chromatography (AcOEt/CH_2Cl_2: 10/90) to give **10d** as a white solid (410 mg, 1.86 mmol, 93% yield).

m.p. 66-71 ºC;

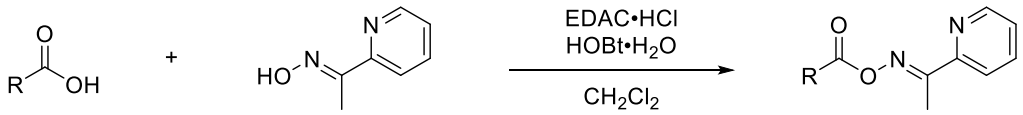
^{1}H-NMR (600 MHz, $CDCl_3$): δ 8.63-8.65 (1H, m), 8.12 (1H, dt, *J*=8.0, 1.0), 7.70-7.74 (1H, m), 7.33 (1H, ddd, *J*=7.5, 4.8, 1.3), 2.50 (3H, s), 1.36 (9H, s);

^{13}C-NMR (151 MHz, $CDCl_3$): δ 175.0, 163.8, 152.8, 149.0, 136.5, 124.9, 122.0, 38.9, 27.3, 12.7;

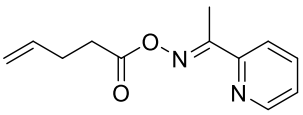
HRMS (ESI$^+$) *m/z*: calcd for $C_{12}H_{16}N_2NaO_2$ $[M+Na]^+$: 243.1104, found: 243.1112.

General procedure (GP4) for the preparation and characterization data of pyridine ketoxime esters (10e-j).

To a stirred and ice-cooled solution of pyridine 2-ketoxime, a corresponding carboxylic acid and HOBt・H_2O in CH_2Cl_2 was added 1-ethyl-3-(3-dimethylaminopropyl) carbodiimide hydrochloride under nitrogen atmosphere. After being stirred at room temperature for 4 h, the reaction mixture was diluted with EtOAc. The mixture was washed with H_2O, saturated aqueous $NaHCO_3$ and brine. The organic layer was dried over Na_2SO_4 and evaporated to give a crude product, which was purified by recrystallization or silica gel chromatography to give a corresponding aldoxime ester.



10e-j



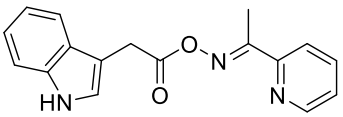
10e

10e: Following the general procedure (**GP4**); Pyridine 2-ketoxime (163 mg, 1.20 mmol, 1.20 equiv) and 4-pentenoic acid (102 μL, 0.997 mmol) was treated with HOBt・H_2O (27 mg, 0.18 mmol, 0.18 equiv) and 1-ethyl-3-(3-dimethylaminopropyl) carbodiimide hydrochloride (EDAC・HCl, 288 mg, 1.50 mmol, 1.51 equiv) in CH_2Cl_2 (10 mL) and the mixture was stirred at room temperature for 23 h. The crude product was purified by silica gel column chromatography (EtOAc/CH_2Cl_2: 15/85) to give **10e** as yellow oil (159 mg, 0.729 mmol, 73% yield).

^{1}H-NMR (600 MHz, $CDCl_3$): δ 8.63-8.66 (1H, m), 8.09 (1H, d, *J*=8.0), 7.73 (1H, td, *J*=7.7, 1.7), 7.35 (1H, ddd, *J*=7.6, 4.8, 1.1), 5.90 (1H, ddt, *J*=17.0, 10.4, 6.5, 6.5), 5.13 (1H, dq, *J*=17.1, 1.6), 5.06 (1H, dq, *J*=10.2, 1.3), 2.63-2.67 (2H, m), 2.50-2.54 (2H, m), 2.50 (3H, s);

^{13}C-NMR (151 MHz, $CDCl_3$): δ 170.4, 163.5, 152.7, 149.1, 136.5, 136.3, 124.9, 121.9, 115.9, 32.4, 28.7, 12.8;

HRMS (ESI$^+$) *m/z*: calcd for $C_{12}H_{15}N_2O_2$ $[M+H]^+$: 219.1128, found: 219.1126.



10f

10f: Following the general procedure (**GP4**); Pyridine 2-ketoxime (163 mg, 1.20 mmol, 1.20 equiv) and 3-indoleacetic acid (175 mg, 0.999 mmol) was treated with HOBt・H_2O (27 mg, 0.18 mmol, 0.18 equiv) and 1-ethyl-3-(3-dimethylaminopropyl) carbodiimide hydrochloride (EDAC・HCl, 288 mg, 1.50 mmol, 1.50 equiv) in CH_2Cl_2 (10 mL) and the mixture was stirred at room temperature for 22 h. The crude product was purified by silica gel column chromatography (EtOAc/Hexane: 50/50) to give **10f** as a white solid (156 mg, 0.532 mmol, 53% yield).

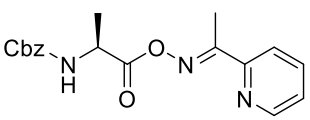
m.p. 123-126 °C;

^{1}H-NMR (600 MHz, $CDCl_3$): δ 8.60-8.64 (1H, m), 8.17 (1H, br-s), 8.06 (1H, dt, *J*=8.0, 1.1),

7.67-7.72 (2H, m), 7.36-7.40 (1H, m), 7.32 (1H, ddd, *J*=7.5, 4.9, 1.2), 7.26-7.28 (1H, m), 7.22 (1H, td, *J*=7.5, 1.1), 7.14-7.18 (1H, m), 4.01 (2H, d, *J*=0.7), 2.42 (3H, s);

^{13}C-NMR (151 MHz, $CDCl_3$): δ 169.1, 163.7, 152.7, 149.0, 136.5, 136.1, 127.2, 124.9, 123.2, 122.3, 121.9, 119.8, 118.8, 111.2, 107.7, 30.2, 12.9;

HRMS (ESI$^+$) *m/z*: calcd for $C_{17}H_{16}N_3O_2$ $[M+H]^+$: 294.1237, found: 294.1235.



10g

10g: Following the general procedure (**GP4**); Pyridine 2-ketoxime (300 mg, 2.20 mmol, 1.10 equiv) and *N*-Cbz-L-alanine (447 mg, 2.00 mmol) was treated with HOBt・H_2O (54 mg, 0.35 mmol, 0.18 equiv) and 1-ethyl-3-(3-dimethylaminopropyl) carbodiimide hydrochloride (EDAC・HCl, 575 mg, 3.00 mmol, 1.50 equiv) in CH_2Cl_2 (22 mL) and the mixture was stirred at room temperature for 4 h. The crude product was purified by silica gel column chromatography (AcOEt/CH_2Cl_2: 20/80) to give **10g** as a white solid (642 mg, 1.88 mmol, 94% yield).

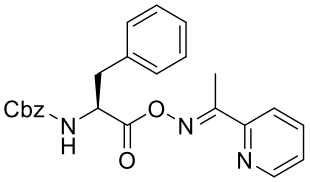
m.p. 90-96 ºC;

^{1}H-NMR (600 MHz, $CDCl_3$): δ 8.61-8.68 (1H, m), 8.07 (1H, d, *J*=8.1), 7.73 (1H, td, *J*=7.7, 1.7), 7.28-7.44 (6H, m), 5.42 (1H, d, *J*=7.3), 5.14 (2H, s), 4.67 (1H, quin, *J*=7.3), 2.49 (3H, s), 1.55 (3H, d, *J*=7.2);

^{13}C-NMR (151 MHz, $CDCl_3$): δ 170.6, 164.8, 155.6, 152.2, 149.1, 136.5, 136.1, 128.5, 128.2, 128.1, 125.1, 122.0, 67.1, 48.9, 18.9, 12.9;

$[\alpha]_D^{23}$ -6.7 ($CHCl_3$, *c* 0.67);

HRMS (ESI$^+$) *m/z*: calcd for $C_{18}H_{19}N_3NaO_4$ $[M+Na]^+$: 364.1268, found: 364.1285.



10h

10h: Following the general procedure (**GP4**); Pyridine 2-ketoxime (300 mg, 2.20 mmol, 1.10 equiv) and *N*-Cbz-L-phenylalanine (599 mg, 2.00 mmol) was treated with HOBt・H_2O (54 mg, 0.35 mmol, 0.18 equiv) and 1-ethyl-3-(3-dimethylaminopropyl) carbodiimide hydrochloride (EDAC・HCl, 575 mg, 3.00 mmol, 1.50 equiv) in CH_2Cl_2 (22 mL) and the mixture was stirred at room temperature for 2 h. The crude product was purified by silica gel column chromatography (AcOEt/CH_2Cl_2: 20/80) to give **10h** as a white solid (813 mg, 1.95 mmol, 97% yield).

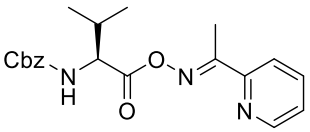
m.p. 72-82 ºC;

^{1}H-NMR (600 MHz, $CDCl_3$): δ 8.63-8.65 (1H, m), 8.06 (1H, dt, *J*=8.0, 1.1), 7.73 (1H, td, *J*=7.7, 1.7), 7.27-7.39 (8H, m), 7.22-7.26 (1H, m), 7.16-7.21 (2H, m), 5.34 (1H, d, *J*=8.3), 5.12 (2H, s), 4.86-4.92 (1H, m), 3.15-3.25 (2H, m), 2.29 (3H, s);

^{13}C-NMR (151 MHz, $CDCl_3$): δ 169.3, 164.8, 155.6, 152.2, 149.1, 136.5, 136.1, 135.4, 129.3, 128.7, 128.5, 128.2, 128.1, 127.3, 125.1, 122.1, 67.1, 54.3, 38.8, 12.8;

$[\alpha]_D^{27}$ -1.9 ($CHCl_3$, *c* 0.57);

HRMS (ESI$^+$) *m/z*: calcd for $C_{24}H_{24}N_3O_4$ $[M+H]^+$: 418.1761, found: .418.1767.



10i

10i: Following the general procedure (**GP4**); Pyridine 2-ketoxime (300 mg, 2.20 mmol, 1.10 equiv) and *N*-Cbz-L-valine (502 mg, 2.00 mmol) was treated with HOBt・H_2O (54 mg, 0.35 mmol, 0.18 equiv) and 1-ethyl-3-(3-dimethylaminopropyl) carbodiimide hydrochloride (EDAC・HCl, 575 mg, 3.00 mmol, 1.50 equiv) in CH_2Cl_2 (22 mL) and the mixture was stirred at room temperature for 4 h. The crude product was purified by silica gel column chromatography (AcOEt/CH_2Cl_2: 20/80) to give **10i** as a white solid (674mg, 1.82 mmol, 91% yield).

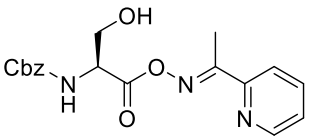
m.p. 78-80 ºC;

^{1}H-NMR (600 MHz, $CDCl_3$): δ 8.63-8.66 (1H, m), 8.08 (1H, dt, *J*=8.0, 1.0), 7.73 (1H, td, *J*=7.8, 1.8), 7.30-7.39 (6H, m), 5.37 (1H, d, *J*=9.2), 5.14 (2H, s), 4.53 (1H, dd, *J*=9.2, 5.1), 2.50 (3H, s), 2.22-2.29 (1H, m), 1.06 (3H, d, *J*=6.8), 1.01 (3H, d, *J*=7.0);

^{13}C-NMR (151 MHz, $CDCl_3$): δ 169.5, 164.7, 156.2, 152.3, 149.1, 136.5, 136.1, 128.6, 128.2, 128.1, 125.1, 122.1, 67.2, 58.3, 31.5, 19.0, 17.7, 13.1;

$[\alpha]_D^{25}$ -34 (MeOH, *c* 0.51);

HRMS (ESI$^+$) *m/z*: calcd for $C_{20}H_{23}N_3NaO_4$ $[M+Na]^+$: 392.1581, found: 392.1580.



10j

10j: Following the general procedure (**GP4**); Pyridine 2-ketoxime (300 mg, 2.20 mmol, 1.00 equiv) and *N*-Cbz-L-serine (526 mg, 2.20 mmol) was treated with HOBt・H_2O (54 mg, 0.35 mmol, 0.16 equiv) and 1-ethyl-3-(3-dimethylaminopropyl) carbodiimide hydrochloride (EDAC・HCl, 575 mg, 3.00 mmol, 1.36 equiv) in CH_2Cl_2 (22 mL) and the mixture was stirred at room temperature for 4 h. The crude product was purified by silica gel column chromatography (AcOEt/CH_2Cl_2: 50/50) to give **10j** as a white solid (749 mg, 2.10 mmol, 95% yield).

m.p. 112-115 ºC;

^{1}H-NMR (600 MHz, $CDCl_3$): δ 8.62-8.68 (1H, m), 8.07 (1H, d, *J*=7.9), 7.74 (1H, td, *J*=7.7, 1.7), 7.30-7.41 (6H, m), 5.84 (1H, br-s), 5.12-5.20 (2H, m), 4.68-4.75 (1H, m), 4.09-4.17 (1H, m), 4.03 (1H, dd, *J*=11.2, 2.9), 2.48 (3H, s);

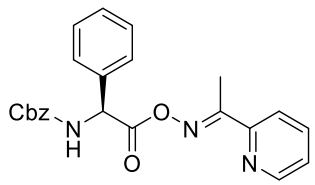
^{13}C-NMR (151 MHz, $CDCl_3$): δ 168.2, 165.1, 156.2, 152.1, 149.2, 136.6, 136.0, 128.6, 128.3, 128.2, 125.2, 122.1, 67.4, 63.4, 55.4, 13.1;

$[\alpha]_D^{26}$ -15 (CH_2Cl_2, *c* 0.51);

HRMS (ESI$^+$) *m/z*: calcd for $C_{18}H_{19}N_3NaO_5$ $[M+Na]^+$: 380.1217, found: 380.1218.

Procedure for the preparation of 10k and its characterization data.

To a stirred solution of pyridine 2-ketoxime (300 mg, 2.20 mmol, 1.10 equiv), Cbz-L-phenylglycine (570 mg, 2.00 mmol) and Oxyma (284 mg, 2.00 mmol, 1.00 equiv) in CH_2Cl_2 (22 mL) was added 1-ethyl-3-(3-dimethylaminopropyl)carbodiimide hydrochloride (EDAC・HCl, 575 mg, 3.00 mmol, 1.50 equiv) at -10 ºC under nitrogen atmosphere. After being stirred at the same temperature for 4 h, the reaction mixture was diluted with EtOAc. The mixture was washed with H_2O, saturated aqueous $NaHCO_3$ and brine. The organic layer was dried over Na_2SO_4 and evaporated to give a crude product, which was purified by silica gel chromatography (AcOEt /CH_2Cl_2: 10/90) to give **10k** as a white solid (716 mg, 1.78 mmol, 89% yield).



10k

10k: **m.p.** 113-115 ºC;

^{1}H-NMR (600 MHz, $CDCl_3$): δ 8.59-8.64 (1H, m), 8.01 (1H, dt, *J*=8.0, 1.1), 7.70 (1H, td, *J*=7.7, 1.7), 7.46 (2H, d, *J*=7.3), 7.28-7.42 (9H, m), 5.95 (1H, d, *J*=7.2), 5.65 (1H, d, *J*=7.5), 5.06-5.19 (2H, m), 2.37 (3H, s);

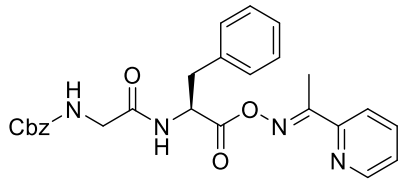
^{13}C-NMR (151 MHz, $CDCl_3$): δ 168.5, 165.0, 155.4, 152.1, 149.1, 136.5, 136.2, 136.0, 129.1, 128.8, 128.5, 128.3, 128.2, 127.3, 125.1, 122.0, 67.3, 67.1, 57.2, 52.8, 12.9;

$[\alpha]_D^{26}$ +71 ($CHCl_3$, *c* 0.49)

HRMS (ESI$^+$) *m/z*: calcd for $C_{23}H_{21}N_3NaO_4$ $[M+Na]^+$: 426.1424, found: 426.1419.

Procedure for the preparation of 10l and its characterization data.

To a stirred solution of pyridine 2-ketoxime (150 mg, 1.10 mmol, 1.38 equiv), Cbz-Gly-Phe-OH (285 mg, 0.800 mmol) and Oxyma (142 mg, 1.00 mmol, 1.25 equiv) in CH_2Cl_2 (11 mL) was added 1-ethyl-3-(3-dimethylaminopropyl) carbodiimide hydrochloride (EDAC・HCl, 288 mg, 1.50 mmol, 1.88 equiv) at -10 ºC under nitrogen atmosphere. After being stirred at the same temperature for 13 h, the reaction mixture was diluted with EtOAc. The mixture was washed with H_2O, saturated aqueous $NaHCO_3$ and brine. The organic layer was dried over Na_2SO_4 and evaporated to give a crude product, which was purified by silica gel chromatography (AcOEt /CH_2Cl_2: 70/30) to give **10l** as yellow oil (359 mg, 0.757 mmol, 95% yield).



10l

10l: Some signals show multiple resonance for the presence of different rotational isomers

^{1}H-NMR (600 MHz, $CDCl_3$): δ 8.57-8.70 (1H, m), 7.77-8.07 (1H, m), 7.60-7.75 (1H, m), 7.06-7.40 (10H, m), 6.60-6.78 (1H, m), 5.41-5.71 (1H, m), 5.07-5.15 (2H, m), 3.90 (2H, qd, *J*=16.7, 5.2), 3.02-3.27 (2H, m), 2.29, 2.38 (3H, s);

^{13}C-NMR (151 MHz, $CDCl_3$): δ 169.1, 168.8, 168.8, 164.9, 156.5, 154.2, 152.1, 149.2, 148.9, 136.6, 136.4, 136.0, 135.2, 129.3, 128.7, 128.6, 128.5, 128.3, 128.1, 127.3, 125.2, 123.7, 122.1, 120.6, 67.3, 52.5, 44.4, 38.5, 12.8;

$[\alpha]_D^{26}$ +3.2 ($CHCl_3$, *c* 0.68);

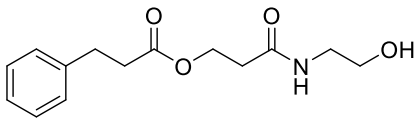
HRMS (ESI$^+$) *m/z*: calcd for $C_{26}H_{26}N_4NaO_5$ $[M+Na]^+$: 497.1782, found: 497.1799.

Experimental procedure for site-selective esterification of β-hydroxyamides (9a-m) and characterization data of the corresponding monoacylated products (11aA-11mA, 12bA-22bA).

General procedure (GP5) for site-selective esterification of β-hydroxyamides (9a-m) with pyridine 2-ketoxime ester (10a-l).

To a stirred solution of a β-hydroxyamide (0.2 mmol) in *N,N*-dimethylacetamide (DMA, typically, 0.2 M) were added pyridine 2-ketoxime ester (1.2 equiv), CuOTf・½toluene (50 mol%) under nitrogen atmosphere. The reaction mixture was stirred at 25 °C for 16-20 h. The reaction was quenched by adding water. The mixture was extracted with EtOAc. The organic layer was washed with water and brine. The organic layer was dried over Na_2SO_4 and evaporated to give a crude product. The sample was analyzed by ^{1}H-NMR (ACETONE-d_6 or $CDCl_3$, 600 MHz) to obtain selectivity and yield using dimethyl fumarate as an internal standard (see section 4.2 for details). The resulting crude product was purified by silica gel chromatography to give a corresponding monoacylated product in 37-91% yield.

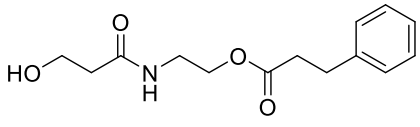
Procedure for preparation and characterization data of monoacylated products (11aA-11mA, 12bA-22bA).



11aA

11aA: Following the general procedure (**GP5**); β-hydroxyamide **9a** (26.6 mg, 0.200 mmol) was treated with pyridine 2-ketoxime ester **10a** (64.3 mg, 0.240 mmol, 1.20 equiv) and CuOTf・½toluene (25.9 mg, 0.100 mmol, 0.500 equiv) in DMA (1.0 mL). The mixture was stirred at 25 °C for 18 h. The crude product was purified by silica gel chromatography (MeOH/EtOAc: 5/95) to give **11aA** as colorless oil (41.0 mg, 0.155 mmol, 77% yield).

^{1}H-NMR (600 MHz, ACETONE-d_6): δ 7.14-7.30 (5H, m), 4.29 (2H, t, *J*=6.4), 3.82-3.90 (1H, m), 3.57 (2H, q, *J*=5.6), 3.30 (2H, q, *J*=5.7), 2.90 (2H, t, *J*=7.7), 2.59 (2H, t, *J*=7.7), 2.48-2.52 (2H, m);
^{13}C-NMR (151 MHz, ACETONE-d_6): δ 173.0, 170.9, 141.8, 129.3, 129.2, 127.0, 62.0, 61.5, 43.0, 36.4, 36.0, 31.5;
HRMS (ESI$^+$) *m/z*: calcd for $C_{14}H_{20}NO_4$ $[M+H]^+$: 266.1387, found: 266.1393.



11aB

11aB: To a stirred solution of β-hydroxyamide **9a** (26.6 mg, 0.200 mmol) and triethylamine (27.9 μL, 0.201 mmol, 1.01 equiv) in CH_3CN (1.0 ml) were added dropwise 3-phenylpropionyl choloride (33.6 μL, 0.199 mmol, 0.995 equiv) under nitrogen atmosphere. The reaction mixture was stirred at room temperture for 18 h. The reaction was quenched adding water. The mixture was extracted with EtOAc. The

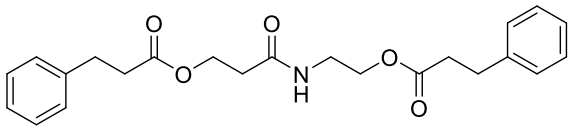
organic layer was washed with 1M aqueous $KHSO_4$, saturated aqueous $NaHCO_3$, and brine. The organic extract was dried over Na_2SO_4 and evaporated. The resulting crude product was purified by normal phase HPLC to give **11aB** as colorless oil (5.0 mg, 0.0188 mmol, 9% yield).

^{1}H-NMR (600 MHz, ACETONE-d_6): δ 7.22-7.30 (4H, m), 7.17-7.21 (1H, m), 4.10 (2H, t, J=5.7), 3.84 (1H, t, J=5.5), 3.74 (2H, q, J=5.8), 3.42 (2H, q, J=5.7), 2.91 (2H, t, J=7.7), 2.62 (2H, t, J=7.8), 2.34 (2H, t, J=6.1);

^{13}C-NMR (151 MHz, ACETONE-d_6): δ 173.1, 172.7, 141.9, 129.3, 129.2, 127.0, 63.8, 59.3, 39.5, 38.9, 36.3, 31.5;

HRMS (ESI$^+$) *m/z*: calcd for $C_{14}H_{20}NO_4$ $[M+H]^+$: 266.1387, found: 266.1391.

HPLC: COSMOSIL 5SL-II Packed Column (4.6*250 mm, particle size: 5 μm), Flow rate 3.2 mL/min, 40% *i*PrOH/*n*-Hexane (0-2 min) to 100% *i*PrOH (30 min, linear gradient), t_R = 7.6 min.



11aAB

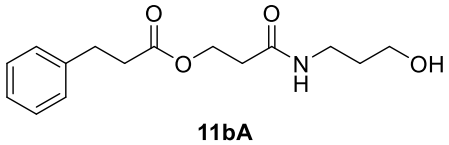
11aAB: To a stirred solution of ß-hydroxyamide **9a** (26.6 mg, 0.200 mmol) and triethylamine (70.3 μL, 0.500 mmol, 2.50 equiv) in 50% DME/CH_3CN were added dropwise 3-phenylpropionyl choloride (73.6 μL, 0.500 mmol, 2.50 equiv) under nitrogen atmosphere. The reaction mixture was stirred at room temperture for 18 h. The reaction was quenched adding water. The mixture was extracted with EtOAc. The organic layer was washed with 1M aqueous $KHSO_4$, saturated aqueous $NaHCO_3$, and brine. The organic extract was dried over Na_2SO_4 and evaporated. The resulting crude product was purified by silica gel chromatography (EtOAc/CH_2Cl_2: 20/80) to give **11aAB** as white solid (32.0 mg, 0.0805 mmol, 40% yield).

m.p. 45-48 ºC

^{1}H-NMR (600 MHz, ACETONE-d_6): δ 7.12-7.32 (10H, m), 4.28 (2H, t, J=6.4), 4.10 (2H, t, J=5.7), 3.42 (2H, q, J=5.8), 2.86-2.92 (4H, m), 2.56-2.63 (4H, m), 2.46 (2H, t, J=6.5);

^{13}C-NMR (151 MHz, ACETONE-d_6): δ 172.0, 171.9, 169.4, 140.9, 140.9, 128.4, 128.3, 128.3, 128.2, 126.1, 126.0, 62.8, 60.4, 38.1, 35.4, 35.3, 35.0, 30.6, 30.5;

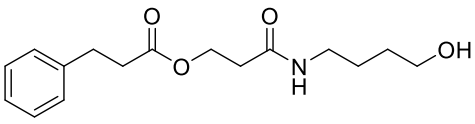
HRMS (ESI$^+$) *m/z*: calcd for $C_{23}H_{28}NO_5$ $[M+H]^+$: 398.1962, found: 398.1965.



11bA

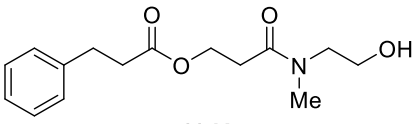
11bA: Following the general procedure (**GP5**); ß-hydroxyamide **9b** (29.4 mg, 0.200 mmol) was treated with pyridine 2-ketoxime ester **10a** (63.5 mg, 0.237 mmol, 1.19 equiv) and CuOTf•½toluene (25.9 mg, 0.100 mmol, 0.500 equiv) in DMA (1.0 mL). The mixture was stirred at 25 ºC for 18 h. The crude product was purified by silica gel chromatography (MeOH/EtOAc: 10/90) to give **11bA** as colorless oil (49.5 mg, 0.177 mmol, 89% yield).

^{1}H-NMR (600 MHz, ACETONE-d_6): δ 7.22-7.29 (4H, m), 7.15-7.20 (1H, m), 4.29 (2H, t, J=6.4), 3.75 (1H, br-s), 3.54 (2H, t, J=5.7), 3.31 (2H, q, J=6.4), 2.90 (2H, t, J=7.7), 2.59 (2H, t, J=7.8), 2.49 (2H, t, J=6.4), 1.62 (2H, quin, J=6.3);
^{13}C-NMR (151 MHz, ACETONE-d_6): δ 172.9, 171.0, 141.8, 129.3, 129.2, 127.0, 61.5, 59.6, 36.7, 36.4, 36.1, 33.6, 31.6;
HRMS (ESI$^+$) *m/z*: calcd for $C_{15}H_{22}NO_4$ $[M+H]^+$: 280.1543, found: 280.1548.



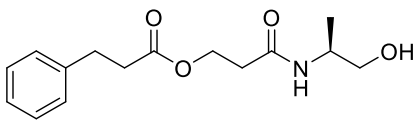
11cA

11cA: Following the general procedure (**GP5**); β-hydroxyamide **9c** (32.1 mg, 0.199 mmol) was treated with pyridine 2-ketoxime ester **10a** (63.5 mg, 0.237 mmol, 1.19 equiv) and CuOTf•½toluene (25.9 mg, 0.100 mmol, 0.503 equiv) in DMA (1.0 mL). The mixture was stirred at 25 °C for 18 h. The crude product was purified by silica gel chromatography (MeOH/CH_2Cl_2: 20/80) to give **11cA** as a white solid (48.3 mg, 0.165 mmol, 83% yield).
m.p. 69-72 °C
^{1}H-NMR (600 MHz, ACETONE-d_6): δ 7.05-7.36 (5H, m), 4.25-4.32 (2H, m), 3.46-3.69 (3H, m), 3.16-3.25 (2H, m), 2.82-2.95 (2H, m), 2.54-2.62 (2H, m), 2.43-2.50 (2H, m), 1.53 (4H, m);
^{13}C-NMR (151 MHz, ACETONE-d_6): δ 172.9, 170.0, 141.9, 129.3, 129.2, 127.0, 62.2, 61.6, 39.7, 36.4, 36.1, 31.6, 31.0, 27.1;
HRMS (ESI$^+$) *m/z*: calcd for $C_{16}H_{24}NO_4$ $[M+H]^+$: 294.1700, found: 294.1706.



11dA

11dA: Following the general procedure (**GP5**); β-hydroxyamide **9d** (32.1 mg, 0.218 mmol) was treated with pyridine 2-ketoxime ester **10a** (63.5 mg, 0.237 mmol, 1.09 equiv) and CuOTf•½toluene (25.9 mg, 0.100 mmol, 0.459 equiv) in DMA (1.0 mL). The mixture was stirred at 25 °C for 18 h. The crude product was purified by silica gel chromatography (MeOH/EtOAc: 10/90) to give **11dA** as yellow oil (39.1 mg, 0.140 mmol, 64% yield).
Some signals show multiple resonance for the presence of different rotational isomers:
^{1}H-NMR (600 MHz, ACETONE-d_6): δ 7.21-7.30 (4H, m), 7.15-7.20 (1H, m), 4.29 (2H, td, J=6.8, 0.6), 4.00-4.11 (1H, m), 3.77-3.86 (1H, m), 3.70 (1H, t, J=4.8), 3.63 (1H, t, J=5.4), 3.45 (2H, td, J=5.6, 2.8), 3.31, 3.08 (3H, s), 2.73 (1H, t, J=6.9), 2.65 (1H, t, J=6.9), 2.56-2.62 (2H, m);
^{13}C-NMR (151 MHz, ACETONE-d_6): δ 173.0, 170.9, 170.6, 141.9, 129.3 129.3, 127.0, 61.7, 61.4, 61.0, 60.1, 52.4, 51.3, 36.9, 36.4, 36.4, 33.4, 33.1, 32.7, 31.6, 30.4;
HRMS (ESI$^+$) *m/z*: calcd for $C_{15}H_{22}NO_4$ $[M+H]^+$: 280.1543, found: 280.1542.



11eA

11eA: Following the general procedure (**GP5**); β-hydroxyamide **9e** (26.0 mg, 0.177 mmol) was treated with pyridine 2-ketoxime ester **10a** (56.2 mg, 0.209 mmol, 1.18 equiv) and CuOTf•½toluene (22.9 mg, 0.0890 mmol, 0.503 equiv) in DMA (1.0 mL). The mixture was stirred at 25 ºC for 18 h. The crude product was purified by silica gel chromatography (MeOH/EtOAc: 10/90) to give **11eA** as a white solid (33.4 mg, 0.120 mmol, 68% yield).

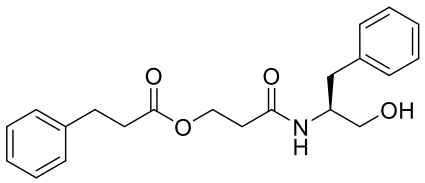
m.p. 65-67 ºC

^{1}H-NMR (600 MHz, ACETONE-d_6): δ 7.14-7.30 (5H, m), 7.01 (1H, br-s), 4.25-4.32 (2H, m), 3.91-3.99 (1H, m), 3.40-3.53 (2H, m), 2.86-2.93 (2H, m), 2.59 (2H, t, J=7.7), 2.45-2.51 (2H, m), 1.07-1.13 (3H, m);

^{13}C-NMR (151 MHz, ACETONE-d_6): δ 172.9, 170.1, 141.9, 129.3, 129.2, 127.0, 66.4, 61.6, 48.1, 36.4, 36.1, 31.6, 17.4;

$[\alpha]_D^{27}$ -9.9 (MeOH, c 0.43)

HRMS (ESI$^+$) *m/z*: calcd for $C_{15}H_{22}NO_4$ $[M+H]^+$: 280.1543, found: 280.1543.



11fA

11fA: Following the general procedure (**GP5**); β-hydroxyamide **9f** (37.1 mg, 0.166 mmol) was treated with pyridine 2-ketoxime ester **10a** (52.6 mg, 0.196 mmol, 1.18 equiv) and CuOTf•½toluene (21.5 mg, 0.0830 mmol, 0.500 equiv) in DMA (1.0 mL). The mixture was stirred at 25 ºC for 20 h. The crude product was purified by silica gel chromatography (MeOH/EtOAc: 10/90) to give **11fA** as a white solid (41.5 mg, 0.117 mmol, 70% yield).

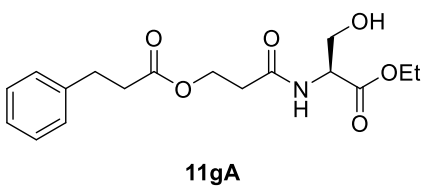
m.p. 72-74 ºC

^{1}H-NMR (600 MHz, ACETONE-d_6): δ 7.20-7.29 (7H, m), 7.13-7.20 (2H, m), 7.06 (1H, br-s), 4.24 (2H, t, J=6.4), 4.12 (1H, br-s), 3.89-4.02 (1H, m), 3.52 (2H, br-s), 2.74-2.96 (4H, m), 2.56 (2H, t, J=7.7), 2.45 (2H, td, J=6.4, 2.8);

^{13}C-NMR (151 MHz, ACETONE-d_6): δ 172.9, 170.2, 141.9, 140.1, 130.2, 129.3, 129.3, 129.1, 127.0, 127.0, 64.0, 61.5, 53.8, 37.7, 36.4, 36.2, 31.6;

$[\alpha]_D^{27}$ -11 (MeOH, c 0.5)

HRMS (ESI$^+$) *m/z*: calcd for $C_{21}H_{26}NO_4$ $[M+H]^+$: 356.1856, found: 356.1860.



11gA

11gA: Following the general procedure (**GP5**); β-hydroxyamide **9g** (41.0 mg, 0.200 mmol) was treated with pyridine 2-ketoxime ester **10a** (63.5 mg, 0.237 mmol, 1.19 equiv) and CuOTf•½toluene (25.9 mg, 0.100 mmol, 0.500 equiv) in DMA (1.0 mL). The mixture was stirred at 25 ºC for 18 h. The crude product was purified by silica gel chromatography (EtOAc /Hexane: 90/10) to

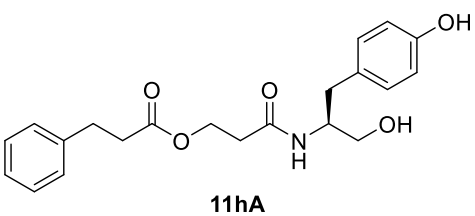
give **11gA** as colorless oil (52.3 mg, 0.155 mmol, 78% yield).

^{1}H-NMR (600 MHz, ACETONE-*d*$_6$): δ 7.35-7.42 (1H, m), 7.21-7.30 (4H, m), 7.15-7.20 (1H, m), 4.53 (1H, dt, *J*=8.1, 4.1), 4.31 (2H, td, *J*=6.5, 2.1), 4.14 (2H, q, *J*=7.2), 3.90 (1H, dd, *J*=11.0, 4.4), 3.79 (1H, dd, *J*=10.8, 3.9), 2.91 (2H, t, *J*=7.7), 2.57-2.63 (4H, m), 1.22 (3H, t, *J*=7.2);

^{13}C-NMR (151 MHz, ACETONE-*d*$_6$): δ 172.9, 171.3, 170.5, 141.9, 129.3, 129.2, 127.0, 63.1, 61.6, 61.3, 55.8, 36.4, 35.8, 31.5, 14.5;

[α]$_D^{26}$ +23 ($CHCl_3$, *c* 0.29)

HRMS (ESI$^+$) *m/z*: calcd for $C_{17}H_{24}NO_6$ $[M+H]^+$: 338.1598, found: 338.1598.



11hA

11hA: Following the general procedure (**GP5**); ß-hydroxyamide **9h** (45.0mg, 0.188 mmol) was treated with pyridine 2-ketoxime ester **10a** (59.6 mg, 0.222 mmol, 1.18 equiv) and CuOTf•½toluene (20.2 mg, 0.0780 mmol, 0.415 equiv) in DMA (1.0 mL). The mixture was stirred at 25 ºC for 17 h. The crude product was purified by silica gel chromatography (MeOH/EtOAc: 10/90) to give **11hA** as a white solid (45.3 mg, 0.122 mmol, 65% yield).

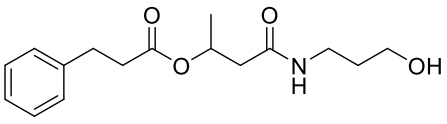
m.p. 107-109 ºC

^{1}H-NMR (600 MHz, ACETONE-*d*$_6$): δ 8.05-8.17 (1H, m), 7.20-7.29 (4H, m), 7.15-7.20 (1H, m), 7.07 (2H, d, *J*=8.4), 6.99 (1H, br- s), 6.74 (2H, d, *J*=8.4), 4.25 (2H, t, *J*=6.5), 4.00-4.08 (1H, m), 3.84-3.94 (1H, m), 3.50 (2H, t, *J*=5.1), 2.85-2.91 (2H, m), 2.77-2.84 (2H, m), 2.69 (1H, dd, *J*=13.8, 7.3), 2.58 (2H, t, *J*=7.7), 2.46 (2H, td, *J*=6.4, 2.0);

^{13}C-NMR (151 MHz, ACETONE-*d*$_6$): δ 172.9, 170.2, 156.7, 141.9, 131.1, 130.5, 129.3, 129.2, 127.0, 116.0, 63.8, 61.5, 54.1, 36.9, 36.3, 36.1, 31.5;

[α]$_D^{27}$ -8.5 (MeOH, *c* 0.41)

HRMS (ESI$^+$) *m/z*: calcd for $C_{21}H_{26}NO_5$ $[M+H]^+$: 372.1805, found: 372.1806.



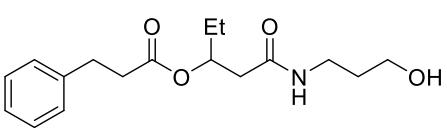
11iA

11iA: Following the general procedure (**GP5**); ß-hydroxyamide **9i** (32.2 mg, 0.200 mmol) was treated with pyridine 2-ketoxime ester **10a** (64.3 mg, 0.240 mmol, 1.20 equiv) and CuOTf•½toluene (25.9 mg, 0.100 mmol, 0.500 equiv) in DMA (1.0 mL). The mixture was stirred at 25 ºC for 18 h. The crude product was purified by silica gel chromatography (MeOH/EtOAc: 10/90) to give **11iA** as colorless oil (44.1 mg, 0.150 mmol, 75% yield).

^{1}H-NMR (600 MHz, ACETONE-*d*$_6$): δ 7.14-7.31 (6H, m), 5.23 (1H, sxt, *J*=6.5), 3.78 (1H, br-s), 3.52 (2H, t, *J*=5.8), 3.23-3.35 (2H, m), 2.78-2.94 (4H, m), 2.56 (2H, t, *J*=7.5), 2.48 (1H, dd, *J*=14.3, 7.3), 2.36 (1H, dd, *J*=14.3, 6.1), 1.61 (2H, quin, *J*=6.3), 1.20 (3H, d, *J*=6.4);

^{13}C-NMR (151 MHz, ACETONE-*d*$_6$): δ 172.4, 170.7, 141.9, 129.3, 129.2, 127.0, 69.0, 59.6, 43.1, 36.7, 36.7, 33.6, 31.6, 20.2;

HRMS (ESI+) *m/z*: calcd for $C_{16}H_{24}NO_4$ $[M+H]^+$: 294.1700, found: 294.1717



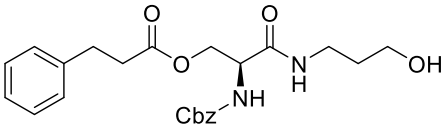
11jA

11jA: Following the general procedure (**GP5**); β-hydroxyamide **9j** (41.7 mg, 0.238 mmol) was treated with pyridine 2-ketoxime ester **10a** (75.4 mg, 0.281 mmol, 1.18 equiv) and CuOTf•½toluene (30.8 mg, 0.119 mmol, 0.500 equiv) in DMA (1.0 mL). The mixture was stirred at 25 ºC for 18 h. The crude product was purified by silica gel chromatography (MeOH/EtOAc: 10/90) to give **11jA** as colorless oil (55.9 mg, 0.182 mmol, 76% yield).

^{1}H-NMR (600 MHz, ACETONE-*d*$_6$): δ 7.22-7.29 (4H, m), 7.21 (1H, br-s), 7.15-7.20 (1H, m), 5.12-5.18 (1H, m), 3.73-3.79 (1H, m), 3.49-3.55 (2H, m), 3.23-3.33 (2H, m), 2.90 (2H, t, *J*=7.8), 2.60 (2H, t, *J*=7.7), 2.37-2.47 (2H, m), 1.51-1.68 (4H, m), 0.79-0.85 (3H, m);

^{13}C-NMR (151 MHz, ACETONE-*d*$_6$): δ 172.6, 170.9, 141.9, 129.3, 129.2, 127.0, 73.3, 59.7, 41.2, 36.8, 36.6, 33.6, 31.7, 27.7, 9.8;

HRMS (ESI+) *m/z*: calcd for $C_{17}H_{26}NO_4$ $[M+H]^+$: 308.1856, found: 308.1861.



11kA

11kA: Following the general procedure (**GP5**); β-hydroxyamide **9k** (59.2 mg, 0.200 mmol) was treated with pyridine 2-ketoxime ester **10a** (63.5 mg, 0.237 mmol, 1.19 equiv) and CuOTf•½toluene (25.9 mg, 0.100 mmol, 0.500 equiv) in DMA (1.0 mL). The mixture was stirred at 25 ºC for 20 h. The crude product was purified by silica gel chromatography (EtOAc/Hexane: 80/20) to give **11kA** as a white solid (61.5 mg, 0.144 mmol, 72% yield).

m.p. 94-96 ºC

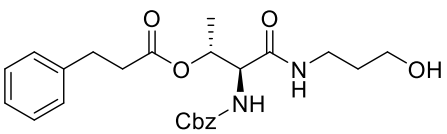
Some signals show multiple resonance for the presence of different rotational isomers:

^{1}H-NMR (600 MHz, ACETONE-*d*$_6$): δ 7.58 (1H, br-s), 7.08-7.42 (10H, m), 6.62 (1H, br-s), 5.01-5.16 (2H, m), 4.45 (1H, dd, *J*=5.7, 4.6), 4.34-4.40 (1H, m), 4.27-4.33 (1H, m), 3.67 (1H, br-s), 3.55 (2H, br-s), 3.33 (2H, q, *J*=6.0), 2.89 (2H, t, *J*=7.7), 2.60 (2H, t, *J*=7.8), 1.65 (2H, t, *J*=6.1);

^{13}C-NMR (151 MHz, ACETONE-*d*$_6$): δ 172.9, 170.1, 170.0, 157.0, 141.8, 138.1, 129.3, 129.3, 129.2, 128.8, 127.0, 67.1, 64.9, 59.7, 55.2, 55.1, 37.2, 37.1, 36.2, 33.3, 31.4;

$[\alpha]_D^{27}$ +8.0 ($CHCl_3$, *c* 0.41)

HRMS (ESI+) *m/z*: calcd for $C_{23}H_{29}N_2O_6$ $[M+H]^+$: 429.2020, found: 429.2019.



11lA

11lA: Following the general procedure (**GP5**); β-hydroxyamide **9l** (62.1 mg, 0.200 mmol) was treated with pyridine 2-ketoxime ester **10a** (64.3 mg, 0.240 mmol, 1.20 equiv) and CuOTf•½toluene (25.9 mg, 0.100 mmol, 0.500 equiv) in DMA (1.0 mL). The mixture was stirred at 25 ºC

for 18 h. The crude product was purified by silica gel chromatography (EtOAc/Hexane: 80/20) to give **11lA** as a white solid (55.9 mg, 0.126 mmol, 63% yield).

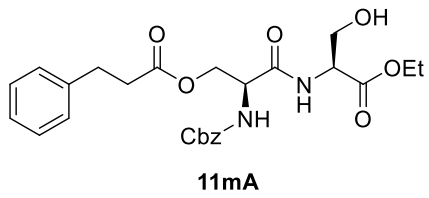
m.p. 103-105 °C

^{1}H-NMR (600 MHz, ACETONE-*d*$_6$): δ 7.51 (1H, br-s), 7.12-7.43 (10H, m), 6.48 (1H, br-s), 5.30-5.38 (1H, m), 5.03-5.16 (2H, m), 4.31 (1H, dd, *J*=8.7, 3.2), 3.64-3.71 (1H, m), 3.54 (2H, d, *J*=5.7), 3.31 (2H, q, *J*=6.2), 2.78-2.93 (3H, m), 2.57 (2H, t, *J*=7.7), 1.63 (2H, quin, *J*=6.1), 1.20 (3H, d, *J*=6.4);

^{13}C-NMR (151 MHz, ACETONE-*d*$_6$): δ 172.2, 170.3, 157.3, 141.8, 138.1, 129.3, 129.3, 129.2, 128.8, 128.8, 127.0, 71.1, 67.2, 59.8, 59.5, 37.2, 36.5, 33.3, 31.5, 17.1;

[α]$_D^{28}$ +17 ($CHCl_3$, *c* 0.46)

HRMS (ESI$^+$) *m/z*: calcd for $C_{24}H_{31}N_2O_6$ $[M+H]^+$: 443.2177, found: 443.2182.



11mA

11mA: Following the general procedure (**GP5**); β-hydroxyamide **9m** (32.7 mg, 0.0920 mmol) was treated with pyridine 2-ketoxime ester **10a** (29.1 mg, 0.108 mmol, 1.17 equiv) and CuOTf•½toluene (11.9 mg, 0.0460 mmol, 0.500 equiv) in DMA (0.5 mL). The mixture was stirred at 40 °C for 20 h. The crude product was purified by silica gel chromatography (AcOEt/Hexane: 80/20) to give **11mA** as a white solid (25.1 mg, 0.052 mmol, 56% yield).

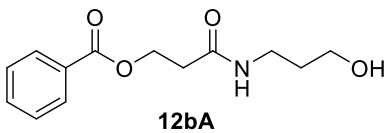
m.p. 96-99 °C

^{1}H-NMR (600 MHz, $CDCl_3$): δ 7.24-7.43 (6H, m), 7.14-7.23 (4H, m), 5.58 (1H, br-s), 5.06-5.17 (2H, m), 4.56-4.62 (1H, m), 4.49 (1H, br-s), 4.37-4.43 (1H, m), 4.30 (2H, dd, *J*=11.5, 5.2), 4.19-4.27 (2H, m), 3.88-3.98 (2H, m), 2.92 (2H, t, *J*=7.8), 2.65 (2H, t, *J*=8.1), 1.28 (3H, m);

^{13}C-NMR (151 MHz, $CDCl_3$): δ 172.6, 169.8, 168.9, 156.1, 140.2, 135.8, 128.6, 128.6, 128.4, 128.2, 128.2, 126.4, 67.5, 63.8, 62.9, 62.1, 55.0, 54.1, 35.5, 30.7, 14.1;

[α]$_D^{24}$ +18 ($CHCl_3$, *c* 0.22)

HRMS (ESI$^+$) *m/z*: calcd for $C_{25}H_{30}N_2NaO_8$ $[M+Na]^+$: 509.1894, found: 509.1907.

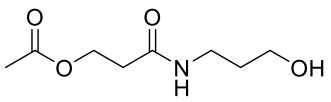


12bA

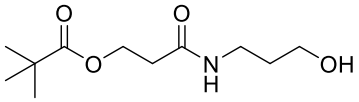
12bA: Following the general procedure (**GP5**); β-hydroxyamide **9b** (29.4 mg, 0.200 mmol) was treated with pyridine 2-ketoxime ester **10b** (57.7 mg, 0.240 mmol, 1.20 equiv) and CuOTf•½toluene (25.9 mg, 0.100 mmol, 0.500 equiv) in DMA (1.0 mL). The mixture was stirred at 25 °C for 18 h. The crude product was purified by silica gel chromatography (MeOH/EtOAc: 5/95) to give **12bA** as colorless oil (36.5 mg, 0.145 mmol, 73% yield).

^{1}H-NMR (600 MHz, ACETONE-*d*$_6$): δ 8.00 (2H, dd, *J*=8.2, 1.0), 7.60-7.64 (1H, m), 7.50 (2H, t, *J*=7.8), 7.35 (1H, br-s), 4.56 (2H, t, *J*=6.3), 3.68-3.76 (1H, m), 3.54 (2H, q, *J*=6.0), 3.33 (2H, q, *J*=6.4), 2.66 (2H, t, *J*=6.2), 1.64 (2H, quin, *J*=6.3);

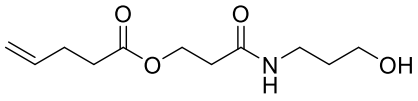
^{13}C-NMR (151 MHz, ACETONE-*d*$_6$): δ 171.0, 166.7, 134.0, 131.4, 130.3, 129.5, 62.3, 59.7, 36.8, 36.2, 33.7;
HRMS (ESI$^+$) *m/z*: calcd for $C_{13}H_{17}NNaO_4$ $[M+Na]^+$: 274.1061, found: 274.1063.


13bA

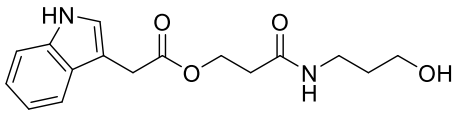
13bA: Following the general procedure (**GP5**); β-hydroxyamide **9b** (29.4 mg, 0.200 mmol) was treated with pyridine 2-ketoxime ester **10c** (42.8 mg, 0.240 mmol, 1.2 equiv) and CuOTf・½toluene (25.9 mg, 0.100 mmol, 0.500 equiv) in DMA (1.0 mL). The mixture was stirred at 25 ºC for 18 h. The crude product was purified by silica gel chromatography (MeOH/EtOAc: 5/95) to give **13bA** as colorless oil (29.5 mg, 0.156 mmol, 78% yield).
^{1}H-NMR (600 MHz, ACETONE-*d*$_6$): δ 7.28 (1H, br-s), 4.27 (2H, t, *J*=6.4), 3.70-3.78 (1H, m), 3.54 (2H, q, *J*=5.9), 3.31 (2H, q, *J*=6.3), 2.49 (2H, t, *J*=6.4), 1.96 (3H, s), 1.63 (2H, quin, *J*=6.3);
^{13}C-NMR (151 MHz, ACETONE-*d*$_6$): δ 170.9, 170.9, 61.5, 59.6, 36.7, 36.0, 33.6, 20.8;
HRMS (ESI$^+$) *m/z*: calcd for $C_8H_{15}NNaO_4$ $[M+Na]^+$: 212.0893, found: 212.0896.


14bA

14bA: Following the general procedure (**GP5**); β-hydroxyamide **9b** (29.4 mg, 0.200 mmol) was treated with pyridine 2-ketoxime ester **10d** (52.9 mg, 0.240 mmol, 1.20 equiv) and CuOTf・½toluene (25.9 mg, 0.100 mmol, 0.500 equiv) in DMA (1.0 mL). The mixture was stirred at 25 ºC for 18 h. The crude product was purified by silica gel chromatography (MeOH/EtOAc: 5/95) to give **14bA** as colorless oil (17.5 mg, 0.0760 mmol, 38% yield).
^{1}H-NMR (600 MHz, ACETONE-*d*$_6$): δ 7.32 (1H, br-s), 4.28 (2H, t, *J*=6.3), 3.82 (1H, br-s), 3.54 (2H, t, *J*=5.8), 3.32 (2H, q, *J*=6.4), 2.50 (2H, t, *J*=6.3), 1.63 (2H, quin, *J*=6.3), 1.14 (9H, s);
^{13}C-NMR (151 MHz, ACETONE-*d*$_6$): δ 178.3, 171.1, 61.6, 59.6, 39.2, 36.7, 36.2, 33.7, 27.5;
HRMS (ESI$^+$) *m/z*: calcd for $C_{11}H_{21}NNaO_4$ $[M+Na]^+$: 254.1363, found: 254.1368.

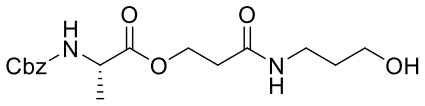

15bA

15bA: Following the general procedure (**GP5**);
β-hydroxyamide **9b** (29.4 mg, 0.200 mmol) was treated with pyridine 2-ketoxime ester **10e** (52.5 mg, 0.240 mmol, 1.21 equiv) and CuOTf・½toluene (25.9 mg, 0.100 mmol, 0.500 equiv) in DMA (1.0 mL). The mixture was stirred at 25 ºC for 18 h. The crude product was purified by silica gel chromatography (MeOH/EtOAc: 5/95) to give **15bA** as colorless oil (39.9 mg, 0.174 mmol, 87% yield).
^{1}H-NMR (600 MHz, ACETONE-*d*$_6$): δ 7.29 (1H, br-s), 5.83 (1H, dd, *J*=17.2, 10.3), 5.04 (1H, dq, *J*=17.2, 1.7), 4.91-4.98 (1H, m), 4.29 (2H, t, *J*=6.3), 3.77 (1H, br-s), 3.54 (2H, d, *J*=4.2), 3.31 (2H, q, *J*=6.4), 2.50 (2H, t, *J*=6.3), 2.34-2.38 (2H, m), 2.28-2.34 (2H, m), 1.63 (2 H, quin, *J*=6.3);
^{13}C-NMR (151 MHz, CD_3CN): δ 173.6, 171.5, 138.2, 115.9, 61.5, 59.7, 36.7, 36.2, 34.1, 33.3, 29.6;
HRMS (ESI$^+$) *m/z*: calcd for $C_{11}H_{20}NO_4$ $[M+H]^+$: 230.1387, found: 230.1385.



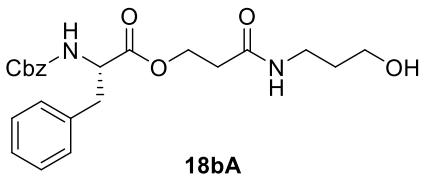
16bA

16bA: Following the general procedure (**GP5**);
β-hydroxyamide **9b** (29.4 mg, 0.200 mmol) was treated with pyridine 2-ketoxime ester **10f** (70.3 mg, 0.240 mmol, 1.20 equiv) and CuOTf•½toluene (25.9 mg, 0.100 mmol, 0.500 equiv) in DMA (1.0 mL). The mixture was stirred at 25 ºC for 20 h. The crude product was purified by silica gel chromatography (MeOH/EtOAc: 5/95) to give **16bA** as colorless oil (42.0 mg, 0.138 mmol, 69% yield).
^{1}H-NMR (600 MHz, ACETONE-d_6): δ 10.15 (1H, br-s), 7.57 (1H, dt, *J*=7.9, 0.9), 7.37-7.41 (1H, m), 7.27 (1H, s), 7.21 (1H, br-s), 7.10 (1H, ddd, *J*=8.0, 7.1, 1.0), 7.02 (1H, ddd, *J*=7.9, 7.0, 1.0), 4.33 (2H, t, *J*=6.3), 3.80 (1H, br-s), 3.74 (2H, s), 3.53 (2H, t, *J*=6.1), 3.28 (2H, q, *J*=6.4), 2.50 (2H, t, *J*=6.3), 1.61 (2H, quin, *J*=6.3);
^{13}C-NMR (151 MHz, ACETONE-d_6): δ 172.2, 171.0, 137.6, 128.5, 124.7, 122.3, 119.8, 119.6, 112.2, 108.7, 61.8, 59.6, 36.7, 36.1, 33.5, 31.8;
HRMS (ESI$^+$) *m/z*: calcd for $C_{16}H_{20}N_2NaO_4$ $[M+Na]^+$: 327.1315, found: 327.1314.



17bA

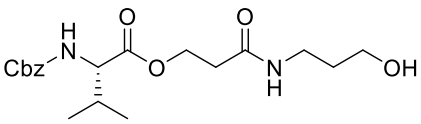
17bA: Following the general procedure (**GP5**);
β-hydroxyamide **9b** (29.4 mg, 0.200 mmol) was treated with pyridine 2-ketoxime ester **10g** (70.3 mg, 0.240 mmol, 1.20 equiv) and CuOTf•½toluene (25.9 mg, 0.100 mmol, 0.500 equiv) in DMA (1.0 mL). The mixture was stirred at 25 ºC for 19 h. The crude product was purified by silica gel chromatography (MeOH/EtOAc: 5/95) to give **17bA** as colorless oil (53.6 mg, 0.152 mmol, 76% yield).
^{1}H-NMR (600 MHz, $CDCl_3$): δ 7.31-7.39 (5H, m), 6.44 (1H, br-s), 5.35 (1H, d, *J*=6.2), 5.06-5.14 (2H, m), 4.51 (1H, dt, *J*=10.8, 5.3), 4.32-4.38 (1H, m), 4.28 (1H, quin, *J*=7.3), 3.65 (2H, t, *J*=5.6), 3.42-3.48 (1H, m), 3.35-3.41 (1H, m), 2.46-2.56 (2H, m), 1.62-1.73 (2H, m), 1.40 (3H, d, *J*=7.2);
^{13}C-NMR (151 MHz, $CDCl_3$): δ 173.0, 171.3, 156.2, 136.0, 128.6, 128.3, 128.1, 67.2, 64.5, 61.7, 59.8, 49.8, 36.9, 36.0, 31.6, 25.2, 17.8;
$[\alpha]_D^{27}$ +11 ($CHCl_3$, *c* 0.53);
HRMS (ESI$^+$) *m/z*: calcd for $C_{17}H_{24}N_2NaO_6$ $[M+Na]^+$: 375.1527, found: 375.1525.
Chiral HPLC analysis (Chiralpak AD-H, *i*PrOH:*n*-Hex=30/70, flow rate = 0.75 mL/min, λ = 210 nm), t_r (minor) = 10.4 min, t_r (major) = 7.8 min.



18bA

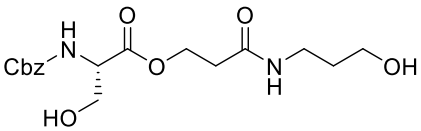
18bA: Following the general procedure (**GP5**);
β-hydroxyamide **9b** (29.4 mg, 0.200 mmol) was treated with pyridine 2-ketoxime ester **10h** (100 mg, 0.248 mmol, 1.24 equiv) and CuOTf•½toluene (25.9 mg, 0.100 mmol, 0.500 equiv) in DMA (1.0 mL). The mixture was stirred at 25 ºC for 20 h. The crude product was purified by silica gel chromatography (MeOH/EtOAc: 5/95) to give

18bA as colorless oil (64.7 mg, 0.151 mmol, 76% yield).
^{1}H-NMR (600 MHz, $CDCl_3$): δ 7.24-7.38 (8H, m), 7.13 (2H, d, *J*=7.2), 6.18 (1H, br-s), 5.26 (1H, d, *J*=6.4), 5.08 (2H, s), 4.54 (1H, q, *J*=7.0), 4.44-4.50 (1H, m), 4.29-4.35 (1H, m), 3.63 (2H, t, *J*=5.5), 3.31-3.44 (2H, m), 3.08-3.13 (1H, m), 3.02-3.07 (1H, m), 2.37-2.49 (2H, m), 1.62-1.68 (2H, m);
^{13}C-NMR (151 MHz, $CDCl_3$): δ 171.4, 170.8, 156.0, 136.0, 135.5, 129.2, 128.8, 128.6, 128.3, 128.1, 127.3, 67.2, 61.8, 59.8, 55.1, 37.9, 36.9, 36.1, 31.8;
$[\alpha]_D^{26}$ +23.5 ($CHCl_3$, *c* 0.63);
HRMS (ESI$^+$) *m/z*: calcd for $C_{23}H_{29}N_2O_6$ $[M+H]^+$: 429.2020, found: .429.2030
Chiral HPLC analysis (Chiralpak AD-H, *i*PrOH:*n*-Hex=30/70, flow rate = 0.75 mL/min, λ = 210 nm), t_r (minor) = 12.3 min, t_r (major) = 9.9 min.



19bA

19bA: Following the general procedure (**GP5**); β-hydroxyamide **9b** (29.4 mg, 0.200 mmol) was treated with pyridine 2-ketoxime ester **10i** (73.9 mg, 0.200 mmol, 1.00 equiv) and CuOTf•½toluene (25.9 mg, 0.100 mmol, 0.500 equiv) in DMA (1.0 mL). The mixture was stirred at 25 °C for 20 h. The crude product was purified by silica gel chromatography (MeOH/EtOAc: 5/95) to give **19bA** as colorless oil (48.3 mg, 0.127 mmol, 64% yield).
^{1}H-NMR (600 MHz, $CDCl_3$): δ 7.31-7.40 (5H, m), 6.37 (1H, br-s), 5.29 (1H, d, *J*=8.6), 5.10 (2H, s), 4.53 (1H, dt, *J*=11.2, 5.4), 4.32-4.37 (1H, m), 4.15 (1H, dd, *J*=8.6, 5.3), 3.66 (2H, t, *J*=5.7), 3.35-3.49 (2H, m), 2.46-2.56 (2H, m), 2.07-2.16 (1H, m), 1.63-1.74 (2H, m), 0.85-1.02 (6H, m);
^{13}C-NMR (151 MHz, $CDCl_3$): δ 172.0, 171.0, 156.6, 135.9, 128.5, 128.3, 128.0, 67.2, 64.4, 61.5, 59.8, 59.4, 36.9, 36.0, 31.6, 30.7, 25.2, 19.0, 17.7; Some signals show multiple resonance for the presence of different rotational isomers
$[\alpha]_D^{26}$ +13 ($CHCl_3$, *c* 0.57);
HRMS (ESI$^+$) *m/z*: calcd for $C_{19}H_{29}N_2O_6$ $[M+H]^+$: 381.2020, found: 381.2025.
Chiral HPLC analysis (Chiralpak AD-H, *i*PrOH:*n*-Hex=25/75, flow rate = 0.65 mL/min, λ = 210 nm), t_r (minor) = 10.2 min, t_r (major) = 7.3 min.



20bA

20bA: Following the general procedure (**GP5**); β-hydroxyamide **9b** (29.4 mg, 0.200 mmol) was treated with pyridine 2-ketoxime ester **10j** (85.7mg, 0.240 mmol, 1.20 equiv) and CuOTf•½toluene (25.9 mg, 0.100 mmol, 0.500 equiv) in DMA (1.0 mL). The mixture was stirred at 25 °C for 20 h. The crude product was purified by silica gel chromatography (MeOH/EtOAc: 5/95) to give **20bA** as colorless oil (50.4 mg, 0.137 mmol, 68% yield).
^{1}H-NMR (600 MHz, $CDCl_3$): δ 7.29-7.40 (5H, m), 6.44-6.61 (1H, m), 5.90-6.03 (1H, m), 5.11 (2H, s), 4.59 (1H, br-s), 4.38 (1H, d, *J*=4.0), 4.30 (1H, dd, *J*=10.8, 5.3), 4.02 (1H, d, *J*=9.9), 3.83 (1H, d,

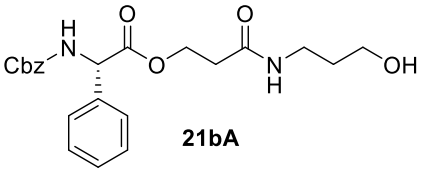
J=11.4), 3.60-3.69 (2H, m), 3.32-3.41 (2H, m), 2.40-2.55 (2H, m), 1.64-1.71 (2H, m);

^{13}C-NMR (151 MHz, $CDCl_3$): δ 171.2, 170.6, 156.4, 136.1, 128.5, 128.3, 128.1, 67.1, 62.9, 61.7, 60.1, 56.3, 37.1, 35.8, 31.6

$[\alpha]_D^{26}$ −0.7 ($CHCl_3$, *c* 0.3);

HRMS (ESI$^+$) *m/z*: calcd for $C_{17}H_{25}N_2O_7$ $[M+H]^+$: 369.1656, found: 369.1658

Chiral HPLC analysis (Chiralpak AD-H, *i*PrOH:*n*-Hex=30/70, flow rate = 0.75 mL/min, λ = 210 nm), t_r (minor) = 9.6 min, t_r (major) = 12.5 min.



21bA

21bA: Following the general procedure (**GP5**); ß-hydroxyamide **9b** (29.4 mg, 0.200 mmol) was treated with pyridine 2-ketoxime ester **10k** (96.8mg, 0.240 mmol, 1.20 equiv) and CuOTf•½toluene (25.9 mg, 0.100 mmol, 0.500 equiv) in DMA (1.0 mL). The mixture was stirred at 25 ºC for 20 h. The crude product was purified by silica gel chromatography (MeOH/EtOAc: 5/95) to give **21bA** as white solid (75.0 mg, 0.181 mmol, 91% yield).

m.p. 65-67 ºC

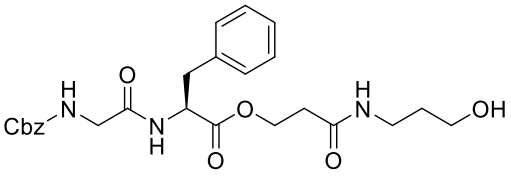
^{1}H-NMR (600 MHz, $CDCl_3$): δ 7.28-7.43 (10H, m), 6.19 (1H, br-s), 5.77 (1H, br-s), 5.28 (1H, d, *J*=7.0), 5.07-5.13 (2H, m), 4.47-4.54 (1H, m), 4.29-4.37 (1H, m), 3.59 (2H, t, *J*=5.0), 3.25-3.40 (2H, m), 2.47-2.55 (1H, m), 2.37-2.44 (1H, m), 1.61 (2H, br-s);

^{13}C-NMR (151 MHz, $CDCl_3$): δ 170.8, 170.6, 155.7, 135.9, 135.6, 129.1, 128.9, 128.6, 128.3, 128.1, 127.3, 67.3, 62.2, 59.6, 58.3, 36.7, 36.1, 31.8;

$[\alpha]_D^{26}$ +60 ($CHCl_3$, *c* 0.42)

HRMS (ESI$^+$) *m/z*: calcd for $C_{22}H_{27}N_2O_6$ $[M+H]^+$: 415.1864, found: 415.1860.

Chiral HPLC analysis (Chiralpak AD-H, *i*PrOH:*n*-Hex=30/70, flow rate = 0.75 mL/min, λ = 210 nm), t_r (minor) = 9.5 min, t_r (major) = 7.4 min.



22bA

22bA: Following the general procedure (**GP5**); ß-hydroxyamide **9b** (29.4 mg, 0.200 mmol) was treated with pyridine 2-ketoxime ester **10l** (113.9 mg, 0.240 mmol, 1.20 equiv) and CuOTf•½toluene (25.9 mg, 0.100 mmol, 0.500 equiv) in DMA (1.0 mL). The mixture was stirred at 25 ºC for 16 h. The crude product was purified by silica gel chromatography (MeOH/EtOAc: 5/95) to give **22bA** as colorless oil (35.8 mg, 0.074 mmol, 37% yield).

^{1}H-NMR (600 MHz, $CDCl_3$): δ 7.31-7.39 (4H, m), 7.27-7.30 (2H, m), 7.22-7.26 (1H, m), 7.12 (2H, d, *J*=6.8), 6.64 (1H, br-s), 6.43 (1H, br-s), 5.54 (1H, br-s), 5.11 (2H, s), 4.72 (1H, q, *J*=6.8), 4.44 (1H, dt, *J*=10.8, 5.2), 4.30 (1H,m), 3.87 (1H, dd, *J*=16.8, 5.8), 3.76 (1H, dd, *J*=16.9, 5.5), 3.63 (2H, t, *J*=5.3), 3.34-3.41 (2H, m), 3.00-3.13 (2H, m), 2.35-2.48 (2H, m), 1.66 (2H, dt, *J*=10.5, 5.4);

^{13}C-NMR (151 MHz, $CDCl_3$): δ 170.9, 170.8, 169.4, 156.7, 136.0, 135.5, 129.2, 128.8, 128.6, 128.3, 128.1, 127.3, 67.3, 61.9, 60.0, 53.5, 44.4, 37.4, 37.0, 35.9, 31.8;

$[\alpha]_D^{27}$ −18 ($CHCl_3$, *c* 0.26);

HRMS (ESI$^+$) *m/z*: calcd for $C_{25}H_{32}N_3O_7$ $[M+H]^+$: 486.2235, found: 486.2237.

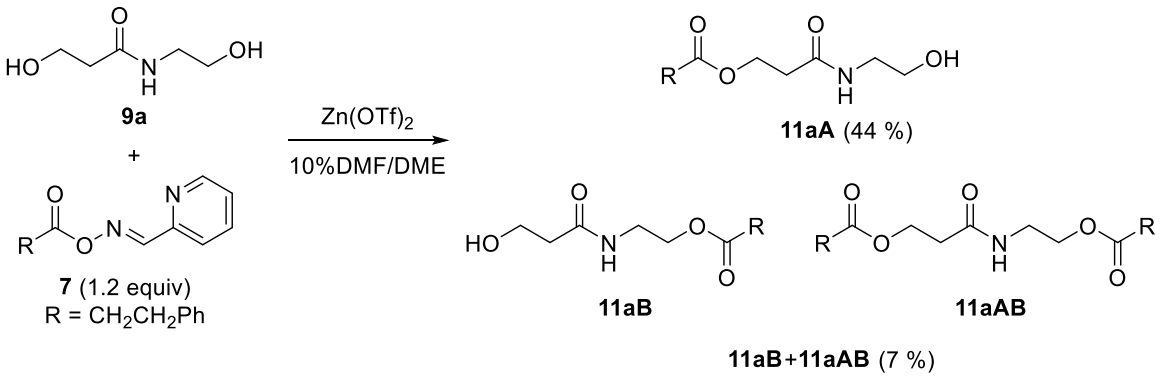
Chiral HPLC analysis (Chiralpak AD-H, *i*PrOH:*n*-Hex=30/70, flow rate = 0.75 mL/min, λ = 210 nm), t_r (minor) = 10.8 min, t_r (major) = 16.1 min.

Procedure for 1.0 mmol scale experiment.

To a stirred solution of a β-hydroxyamide **9b** (147 mg, 1.00 mmol) in DMA (5.0 mL) were added pyridine 2-ketoxime ester **10a** (322 mg, 1.20 mmol), CuOTf・½toluene (129 mg, 0.500 mmol) under nitrogen atmosphere. The reaction mixture was stirred at room temperature for 18 h. The reaction mixture was diluted with EtOAc. The organic layer was washed with water and brine. The aqueous layer was extracted once with EtOAc. The combined organic layer was dried over Na_2SO_4 and evaporated to give a crude product. The sample was analyzed by ^{1}H-NMR ($CDCl_3$, 600 MHz) to obtain selectivity and yield using dimethyl fumarate (72.0 mg, 0.0500 mmol) as an internal standard, showing ^{1}H-NMR yield as 80% for monoacylate **11bA**. The resulting crude product was purified by silica gel chromatography (10% MeOH/EtOAc) to afford **11bA** as colorless oil (210 mg, 0.752 mmol, 75% yield).

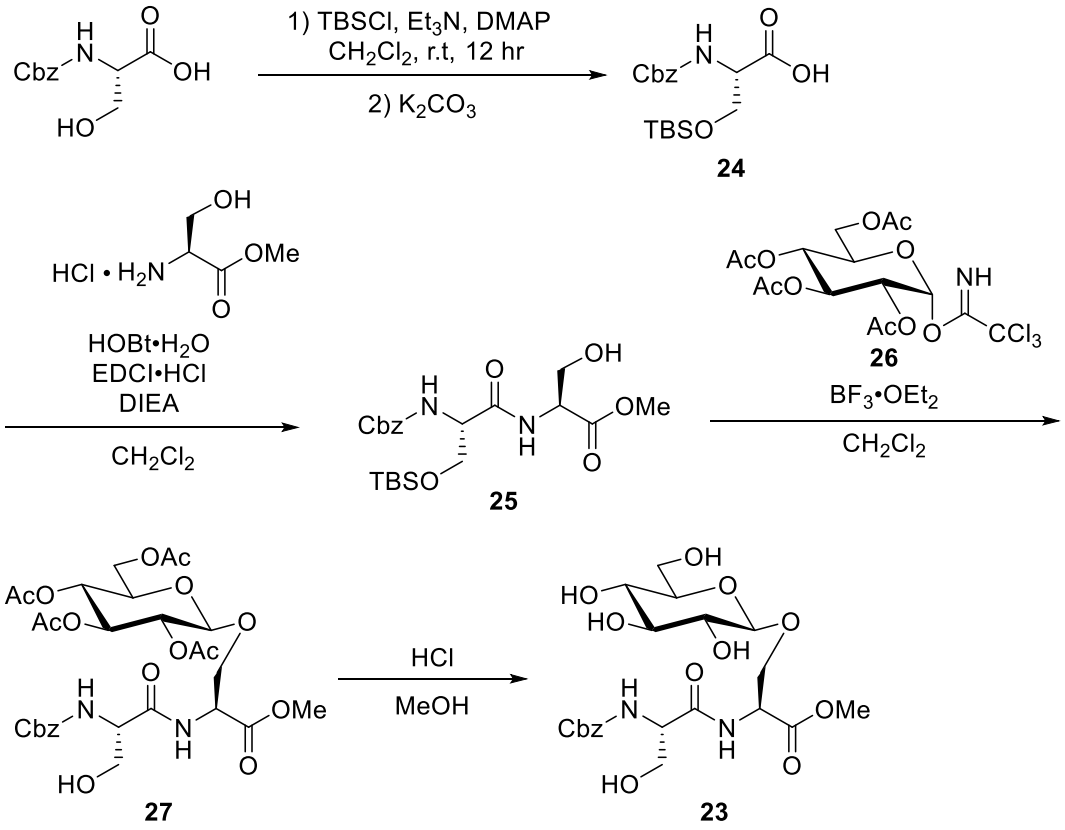
The acylation of 9a using the best condition for site-selective monoacylation of α-hydroxyamides.

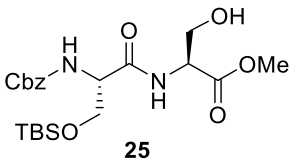
To a stirred solution of a β-hydroxyamide **9a** (26.6 mg, 0.2 mmol) in 10% DMF/DME (1.0 mL) were added pyridine 2-aldoxime ester **7** (61.0 mg, 1.20 mmol), $Zn(OTf)_2$ (14.5 mg, 0.200 mmol) under nitrogen atmosphere. The reaction mixture was stirred at 30 °C temperature for 18 h. The reaction mixture was diluted with EtOAc. The organic layer was washed with water and brine. The aqueous layer was extracted once with EtOAc. The combined organic layer was dried over Na_2SO_4 and evaporated to give a crude product. The sample was analyzed by ^{1}H-NMR ($CDCl_3$, 600 MHz) to obtain selectivity and yield using dimethyl fumarate (14.4 mg, 0.0100 mmol) as an internal standard, showing ^{1}H-NMR yield as 44 % for monoacylate **11aA** and 7 % for byproducts **11aB**+**11aAB**.



Experimental procedure for site-selective acylation of glycopeptide 23

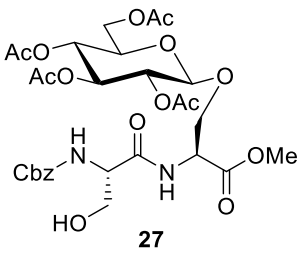
Summary for the preparation of glycopeptide 23




25

To ice-cooled solution of **24** (2955 mg, 8.360 mmol), HOBt· H_2O (1408 mg, 9.194 mmol), in CH_2Cl_2 (42 mL) was added EDCI・HCl (1763 mg, 9.197 mmol). After being stirred at room temperature for 30 min, H-Ser-OMe·HCl (1432 mg, 9.203 mmol) and DIEA (4.299 mL, 25.08mmol) were added. The reaction mixture was stirred at room temperature for 14 h and then quenched by adding saturated aqueous NH_4Cl. The mixture was extracted with CH_2Cl_2. The organic extract was washed with saturated aqueous $NaHCO_3$, dried over Na_2SO_4, and evaporated to give a crude product, which was purified by silica gel chromatography to afford tripeptide **25** (2.149 g, 4.728 mmol, 57% yield colorless oil).

^{1}H-NMR (600 MHz, $CDCl_3$): δ 7.29-7.43 (5H, m), 5.66 (1H, br-s), 5.13 (2H, s), 4.65 (1H, dt, *J*=7.2, 3.6), 4.26 (1H, br-s), 4.06 (1H, d, *J*=6.2), 3.88-4.00 (2H, m), 3.78 (3H, s), 3.72 (1H, dd, *J*=9.8, 6.7), 2.55 (1H, br-s), 0.89 (9H, s), 0.09 (6H, d, *J*=4.0)

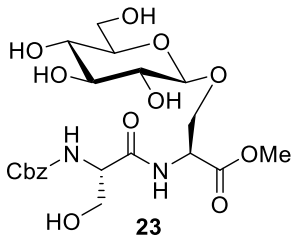


27

An ice-cooled suspension of 2,3,4,6-tetra-*O*-acetyl-α-D-glucopyranosyl-2,2,2-trichloroacetimidate (750 mg, 1.52 mmol) and molecular sieves 4A in CH_2Cl_2 (15 mL) were stirred at 0 ˚C for 10 min before adding dipeptide **25** (534 mg, 1.67 mmol). To the mixture was added dropwise $BF_3 \cdot OEt_2$ (202 μL, 1.60 mmol). After being stirred at room temperature for 16 h, the reaction was filtered through a pad of celite and evaporated. The resulting crude product was purified by silica gel chromatography to give acetylated glycopeptide **27** (629 mg, 0.938 mmol, white solid, 62% yield).

^{1}H-NMR (600 MHz, $CDCl_3$): δ 7.37 (5H, d, *J*=5.0), 7.16 (1H, d, *J*=6.6), 5.87 (1H, d, *J*=8.4), 5.21 (1H, t, *J*=9.4), 5.10-5.18 (2H, m), 5.03 (1H, t, *J*=9.7), 4.92 (1H, dd, *J*=9.5, 7.9), 4.68-4.73 (1H, m), 4.61 (1H, d, *J*=7.9),4.39-4.54 (1H, m) 4.33 (1H, br-s), 4.22 (2H, m, *J*=4.8), 3.93 (1H, m, *J*=11.0, 3.3), 3.76 (3H, s), 3.69 (1H, m, *J*=5.0, 5.0, 2.4), 2.09 (3H, s), 2.07 (3H, s), 2.01 (3H, s), 2.00 (3H, s)

^{13}C-NMR (151 MHz, CD_3CN): δ 170.4, 170.3, 170.0, 169.9, 169.6, 169.5, 137.0, 128.5, 128.0, 127.8, 100.4, 72.2, 71.5, 71.0, 68.5, 68.3, 66.4, 63.0, 62.0, 61.6, 56.6, 52.9, 52.30, 52.28, 51.6, 20.0, 19.91, 19.88



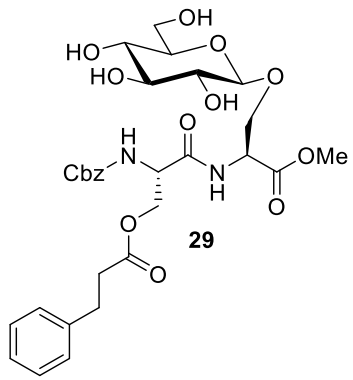
23

To an ice-cooled methanol (10 mL) was added dropwise acetyl chloride (1.50 mL, 21.0 mmol). After being stirred for 10 min in ice bath to afford methanolic HCl, the solution of the acetylated glycopeptide **27** (629 mg, 0.94 mmol) in methanol (10 mL) was added. The reaction mixture was stirred at room temperature for 5 h and then evaporated. The resulting crude product was purified by reverse phase HPLC to give **23** (324 mg, 0.645 mmol, 69% yield, white solid).

^{1}H-NMR (600 MHz, CD_3OD): δ 7.26-7.42 (5H, m), 5.12 (2H, s), 4.72 (1H, br-s), 4.59 (2H, br-s), 4.24-4.36 (3H, m), 3.77-3.89 (4H, m), 3.74 (3H, s), 3.64-3.69 (1H, m), 3.33-3.39 (2H, m), 3.27 (2H, d, *J*=5.9), 3.18 (1H, t, *J*=8.4)

^{13}C-NMR (151 MHz, $CDCl_3$): δ 173.1, 171.9, 158.6, 138.3, 129.7, 129.2, 129.1, 104.8, 78.2, 78.1, 75.2, 71.6, 70.3, 68.0, 63.5, 62.8, 58.6, 54.3, 53.2, 50.0

HPLC: InertSustain AQ-C18 (20*250 mm, particle size: 5 μm), Flow rate 14 mL/min, 25% MeOH/water (0-5 min) to 100% MeOH (25 min, linear gradient), t_R = 16.6 min.



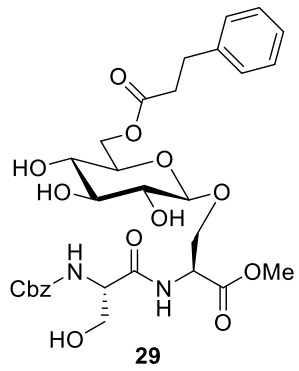
29

To a mixture of **23** (18.2 mg, 0.036 mmol), pyridine 2-ketoxime ester **10a** (11.4 mg, 0.043 mmol) and CuOTf･½toluene (4.7 mg, 0.018 mmol) was added DMA (0.45 mL) under nitrogen atmosphere. After being stirred at 25 ºC for 20 h, 10 μL of the reaction solution was taken out for HPLC and LCMS analysis and then the reaction was quenched adding water and then evaporated to dryness. The other crude product was purified by reverse phase HPLC to give **29** (4.8 mg, 0.0076 mmol, 21% yield, colorless oil).

^{1}H-NMR (600 MHz, CD_3CN): δ 7.12 - 7.55 (10H, m), 5.04-5.19 (2H, m), 4.63-4.68 (1H, m), 4.42-4.48 (1H, m), 4.23-4.33 (3H, m), 4.15-4.22 (1H, m), 4.18 (1H, dd, *J*=11.0, 4.2), 3.80-3.85 (1H, m), 3.66-3.77 (1 H, m), 3.58 (3H, s.), 3.55-3.66 (1H, m), 3.26-3.32 (1 H, m), 3.20-3.24 (2H, m), 3.05-3.11 (1H, m), 2.88 (2H, t, *J*=7.9), 2.61 (2H, t, *J*=7.9)

^{13}C-NMR (151 MHz, CD_3CN): δ 172.8, 170.1, 170.1, 156.9, 140.5, 136.6, 128.1, 127.9, 127.7, 127.5, 125.8, 103.1, 76.7, 76.5, 73.6, 70.0, 68.7, 66.5, 63.4, 61.2, 53.8, 52.7, 51.7, 35.2, 30.3

HPLC: InertSustain AQ-C18 (4.6*250 mm, particle size: 5 μm), Flow rate 1.0 mL/min, 40% MeOH/water (0-5 min) to 100% MeOH (20 min, linear gradient), t_R = 18.7 min.



29

To a mixture of **23** (18.2 mg, 0.036 mmol), pyridine 2-ketoxime ester **10a** (11.4 mg, 0.043 mmol) and CuOTf･½toluene (4.7 mg, 0.018 mmol) was added DMA (0.45 mL) under nitrogen atmosphere. After being stirred at 25 ºC for 20 h, 10 μL of the reaction solution was taken out for HPLC and LCMS analysis and then the reaction was quenched adding water and then evaporated to dryness. The other crude product was purified by reverse phase HPLC to give **30** (3.4 mg, 0.0054 mmol, 15% yield, colorless oil).

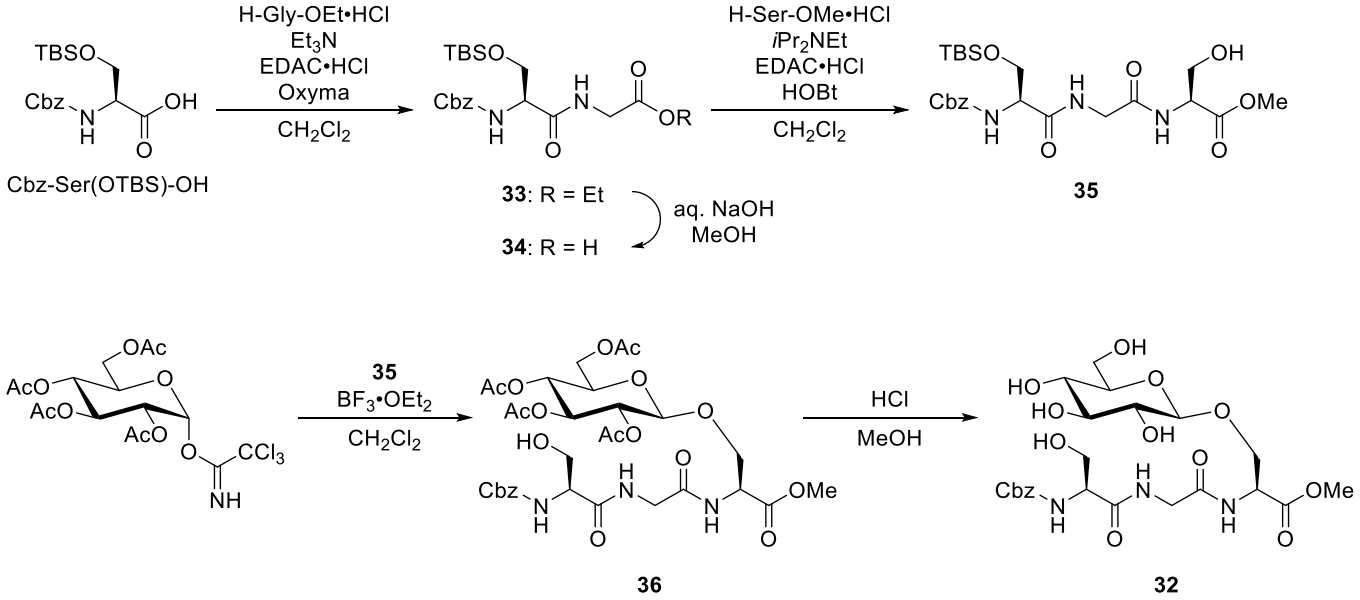
^{1}H-NMR (600 MHz, CD_3CN): δ 7.12-7.65 (10H, m), 5.10 (2H, s), 4.63-4.68 (1H, m), 4.30 (1H, dd, *J*=11.9, 2.2), 4.26 (1H, d, *J*=8.1), 4.16 (1H, m), 3.70-3.83 (1H, m), 3.69 (3H, s), 3.40-3.44 (1H, m), 3.34-3.40 (1H, m), 3.26-3.33 (1H, m), 3.18-3.25 (1H, m), 3.03-3.13 (1H, m), 2.92 (2H, t, *J*=7.6), 2.66 (2H, t, *J*=7.6)

^{13}C-NMR (151 MHz, CD_3CN): δ 170.3, 140.9, 137.1, 128.5, 128.4, 128.3, 128.2, 127.7, 126.2, 125.7, 103.6, 78.2, 78.0, 77.7, 76.2, 73.9, 73.6, 69.8, 63.1, 62.2, 52.6, 52.2, 35.3, 30.5

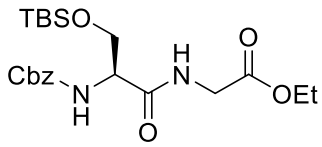
HPLC: InertSustain AQ-C18 (4.6*250 mm, particle size: 5 μm), Flow rate 1.0 mL/min, 40% MeOH/water (0-5 min) to 100% MeOH (20 min, linear gradient), t_R = 18.2 min.

Experimental procedure for site-selective acylation of glycopeptide 32.

Summary for the preparation of glycopeptide 32



Procedure for the preparation of dipeptide 33 and its characterization data.



33

To an ice-cooled solution of Cbz-Ser(OTBS)-OH (4.12 g, 11.7 mmol), Oxyma pure (2.49 g,17.5 mmol), EDAC· HCl (3.35 g, 17.5 mmol) in CH_2Cl_2 (58 mL) were added H-Gly-OEt (1.79 g, 12.8 mmol) and Et_3N (4.8 mL, 35 mmol). After being stirred for 30 min in ice bath and at room temperature for 4 h, the reaction mixture was diluted with EtOAc. The resulting organic layer was washed with 1 M aqueous $KHSO_4$, water, and brine. The organic extract was dried over Na_2SO_4 and then evaporated to give a crude product, which was purified by silica gel chromatography to afford dipeptide **33** (4.84 g, 11.0 mmol, 95% yield, yellow oil).

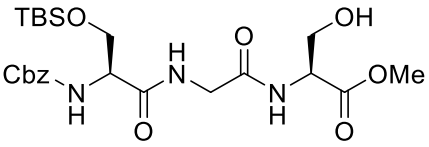
^{1}H-NMR (600 MHz, $CDCl_3$): δ 7.29-7.43 (5H, m), 7.03 (1H, br-s), 5.68 (1H, br-s), 5.13 (2H, s), 4.26 (1H, m), 4.21 (2H, q, *J*=7.2), 3.94-4.11 (3H, m), 3.68 (1H, dd, *J*=9.8, 7.1), 1.28 (3H, t, *J*=7.2), 0.88 (9H, s), 0.08 (6H, s);

^{13}C-NMR (151 MHz, $CDCl_3$): δ 170.3, 169.3, 156.1, 136.0, 128.5, 128.2, 128.1, 67.2, 63.1, 61.5, 55.8, 41.5, 25.7, 18.1, 14.1, -5.5;

$[\alpha]_D^{26}$ +16 ($CHCl_3$, *c* 0.43);

HRMS (ESI$^+$) *m/z*: calcd for $C_{21}H_{35}N_2O_6Si$ $[M+H]^+$: 439.2259, found: 439.2260.

Procedure for the preparation of dipeptide 35 and its characterization data.

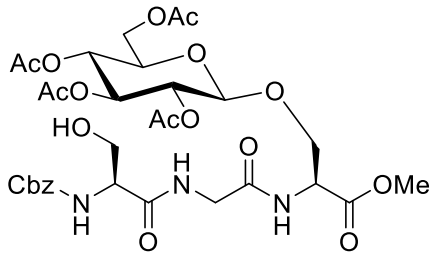


35

To an ice-cooled solution of **33** (1.95 g, 4.45 mmol) in MeOH (11 mL) was added 0.5 M aqueous NaOH (22 mL). After being stirred at room temperature for 3 h, the reaction mixture was acidified with 10 % aqueous citric acid and then extracted with CH_2Cl_2. The organic layer was washed with water, dried over Na_2SO_4 and evaporated to give a crude product of **34** (1.17 g), which was used without further purification. To ice-cooled solution of a part of the crude product **34** (833 mg, 2.03 mmol), HOBt· H_2O (342 mg, 2.23 mmol) in CH_2Cl_2 (34 mL) was added EDAC·HCl (428 mg, 2.23 mmol). After being stirred at room temperature for 30 min, H-Ser-OMe·HCl (347 mg, 2.23 mmol) and *i*Pr_2NEt (1.0 mL, 6.1 mmol) were added. The reaction mixture was stirred at room temperature for 16 h and then quenched by adding saturated aqueous NH_4Cl. The mixture was extracted with CH_2Cl_2. The organic extract was washed with saturated aqueous $NaHCO_3$, dried over Na_2SO_4, and evaporated to give a crude product, which was purified by silica gel chromatography to afford tripeptide **35** (498 mg, 0.973 mmol, 31% yield over 2 steps, colorless oil).

^{1}H-NMR (600 MHz, $CDCl_3$): δ 7.28-7.39 (5H, m), 5.76 (1H, d, *J*=6.2), 5.03-5.16 (2H, m), 4.59-4.66 (1H, m), 4.19-4.24 (1H, m), 4.04 (2H, d, *J*=5.3), 3.95-4.01 (2H, m), 3.85 (1H, d, *J*=11.4), 3.76-3.80 (1H, m), 3.75 (3H, s), 3.62 (1H, br-s), 0.87 (9H, s), 0.06 (6H, s);
^{13}C-NMR (151 MHz, $CDCl_3$): δ 170.8, 170.7, 168.8, 156.7, 135.7, 129.0, 128.6, 128.4, 128.2, 128.1, 125.3, 67.5, 62.8, 56.8, 54.8, 52.7, 43.1, 25.7, 21.4, 18.2, -5.6;
$[\alpha]_D^{25}$ +19 ($CHCl_3$, *c* 1.1);
HRMS (ESI$^+$) *m/z*: calcd for $C_{23}H_{37}N_3NaO_8Si$ $[M+Na]^+$: 534.2242, found: 534.2244.

Procedure for the preparation of acetylated glycopeptide 36 and its characterization data



36

An ice-cooled suspension of 2,3,4,6-tetra-*O*-acetyl-α-D-glucopyranosyl 2,2,2-trichloroacetimidate (907 mg, 1.84 mmol) and molecular sieves 4A (850 mg) in CH_2Cl_2 (17 mL) were stirred at 0 ˚C for 10 min before adding tripeptide **35** (855 mg, 1.67 mmol). To the mixture was added dropwise $BF_3 \cdot OEt_2$ (230 μL, 1.84 mmol). After being stirred at room temperature for 16 h, the reaction was filtered through a pad of celite and evaporated. The resulting crude product was purified by silica gel chromatography to give acetylated glycopeptide **36** (519 mg, 0.713 mmol, white solid, 43% yield).

m.p. 65-67 ºC

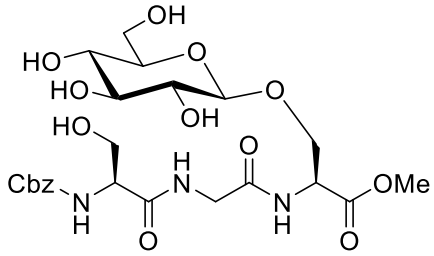
^{1}H-NMR (600 MHz, $CDCl_3$): δ 7.30-7.41 (4H, m), 7.09 (1H, d, *J*=7.2), 7.05 (1H, br-s), 5.83-5.88 (1H, m), 5.25 (1H, t, *J*=9.4), 5.11-5.18 (2H, m), 5.06 (1H, t, *J*=9.6), 4.91 (1H, dd, *J*=9.4, 7.8), 4.68-4.72 (1H, m), 4.58 (1H, d, *J*=7.9), 4.32-4.37 (1H, m), 4.25 (1H, dd, *J*=12.4, 4.7), 4.09-4.21 (3H, m), 3.95-4.09 (2H, m), 3.92 (1H, dd, *J*=10.6, 3.1), 3.71-3.76 (1H, m), 3.74(3H, s), 2.10 (3H, s), 2.09 (3H, s), 2.02 (3H, s), 2.00 (3H, s);

^{13}C-NMR (151 MHz, $CDCl_3$): δ 171.7, 170.7, 170.3, 169.9, 169.9, 169.4, 168.9, 156.4, 135.9, 128.6, 128.3, 128.2, 100.3, 72.4, 71.9, 71.3, 68.3, 68.2, 67.4, 62.8, 61.8, 56.0, 52.9, 52.9, 43.2, 20.8, 20.7, 20.7, 20.6, 20.6;

$[\alpha]_D^{26}$ +15 ($CHCl_3$, *c* 0.38);

HRMS (ESI$^+$) *m/z*: calcd for $C_{31}H_{41}N_3NaO_{17}$ $[M+Na]^+$: 750.2328, found: 750.2344.

Procedure for the preparation of glycopeptide 1n and its characterization data.



32

To an ice-cooled methanol (17 mL) was added dropwise acetyl chloride (0.94 mL, 13.2 mmol). After being stirred for 10 min in ice bath to afford methanolic HCl, the solution of the acetylated glycopeptide **36** (478 mg, 0.657 mmol) in methanol (16 mL) was added. The reaction mixture was stirred at room temperature for 5 h and then evaporated. The resulting crude product was purified by reverse phase HPLC to give **32** (227 mg, 0.406 mmol, 62% yield, white solid).

m.p.: 68-71 °C

^{1}H NMR (600 MHz, CD_3OD): δ ppm 7.32-7.41 (4H, m), 7.27-7.32 (1H, m), 5.14, 5.09 (2H, ABq, *J*=12.4 Hz), 4.71 (1H, t, *J*=3.8 Hz), 4.31 (1H, dd, *J*=10.4, 4.5 Hz), 4.27 (1H, d, *J*=7.7 Hz), 4.22 (1H, t, *J*=5.2 Hz), 3.96-4.00 (2H, m), 3.82-3.88 (2H, m), 3.75-3.81 (2H, m), 3.73 (3H, s), 3.63-3.69 (1H, m), 3.32-3.38 (1H, m), 3.23-3.28 (2 H, m), 3.17 (1H, dd, *J*=9.2, 7.9 Hz);

^{13}C NMR (151MHz, CD_3OD): δ ppm 173.8, 171.9, 171.8, 158.7, 138.2, 129.7, 129.2, 129.1, 104.5, 78.2, 78.0, 75.2, 71.6, 70.0, 68.1, 63.4, 62.8, 58.7, 54.2, 53.2, 43.6;

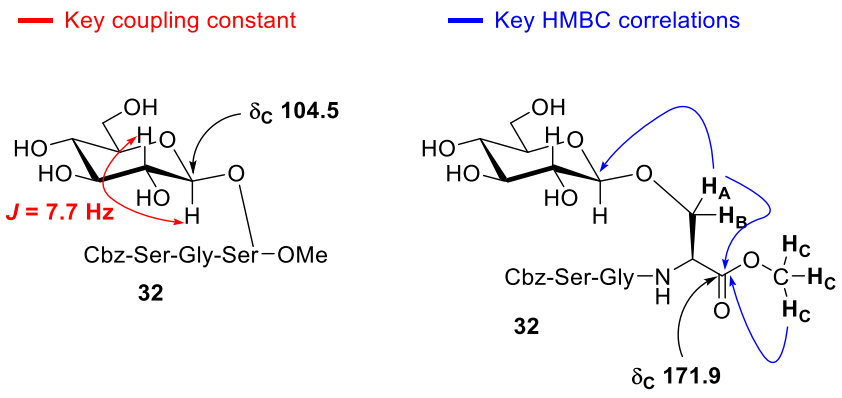
$[\alpha]_D^{26}$ −6.8 (MeOH, *c* 0.42);

HRMS (ESI$^+$) *m/z*: calcd for $C_{23}H_{33}N_3NaO_{13}$ $[M+Na]^+$: 582.1906, found: 582.1907.

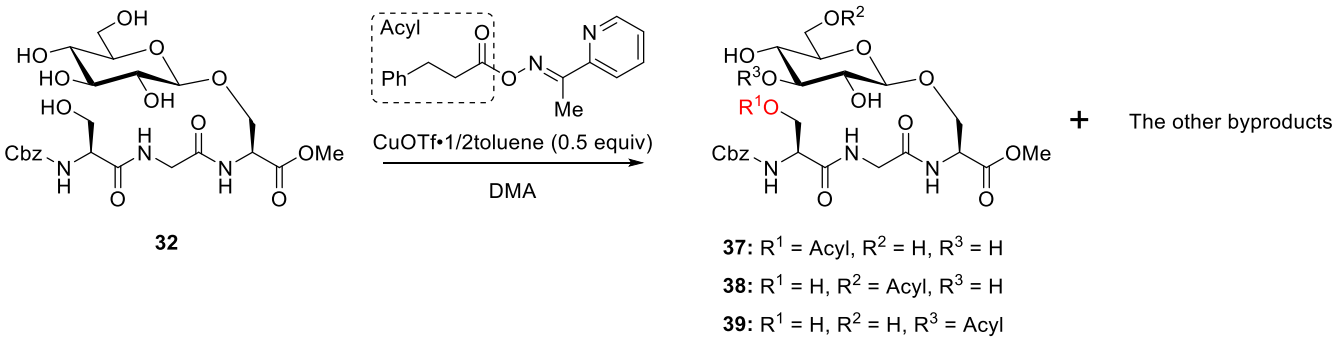
HPLC: InertSustain AQ-C18 (20*250 mm, particle size: 5 μm), Flow rate 17 mL/min, 40% MeOH/water (0-2 min) to 90% MeOH/water (20 min, linear gradient), t_R = 8.5 min.

Structure elucidation of **32**:

The stereochemistry at the anomeric position in **32** was determined as "β" by analysis of the coupling constant of anomeric proton whose position was elucidated by HSQC analysis (see figure below). In HMBC analysis, the correlation between one of the methylene protons (H_A) and the anomeric carbon was observed. In addition, the correlation between H_A and the carbon of the methyl ester which was elucidated by another HMBC correlation between the protons of the methyl ester (H_C) and the carbon, proving that the serine residue at the C-terminal of tripeptide was attached to the anomeric position.

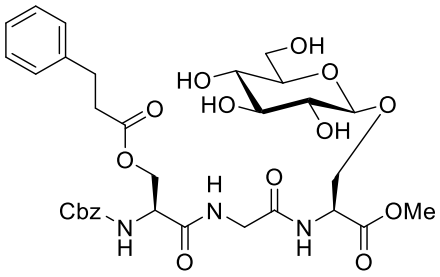


Procedure for site-selective acylation of glycopeptide 32 and characterization data of the products (37, 38, 39).



32

37: R^1 = Acyl, R^2 = H, R^3 = H
38: R^1 = H, R^2 = Acyl, R^3 = H
39: R^1 = H, R^2 = H, R^3 = Acyl

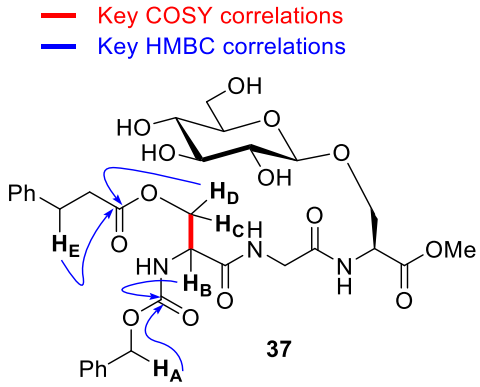


37

To a mixture of **32** (25.1 mg, 0.045 mmol), pyridine 2-ketoxime ester **10a** (14.4 mg, 0.054 mmol) and CuOTf・½toluene (11.6 mg, 0.022 mmol) was added DMA (0.45 mL) under nitrogen atmosphere. After being stirred at 25 ºC for 20 h, 10 μL of the reaction solution was taken out for HPLC and LCMS analysis and then the reaction was quenched adding water and then evaporated to dryness. The other crude product was purified by reverse phase HPLC to give **37** (8.9 mg, 0.013 mmol, 29% yield, 71% yield based on recovered starting material, colorless oil) and **32** (14.9 mg) as pure forms.

^{1}H NMR (600 MHz, CD_3CN) δ ppm 7.34-7.42 (4H, m), 7.25-7.34 (3H, m), 7.16-7.23 (3H, m), 6.26 (1H, br-d, *J*=7.5), 5.13, 5.08 (2H, ABq, *J*=12.5), 4.65 (1H, dt, *J*=8.2, 4.2), 4.40 (1H, td, *J*=7.0, 4.5), 4.33 (1H, dd, *J*=11.4, 4.2), 4.28 (1H, dd, *J*=11.3, 6.5), 4.25 (1H, d, *J*=7.7), 4.16 (1H, dd, *J*=10.8, 4.4 Hz), 3.84-3.93 (2H, m), 3.78-3.83 (2 H, m), 3.73 (1H, dd, *J*=11.6, 5.0), 3.68 (3H, s), 3.55-3.61 (1H, m), 3.53 (1H, br-s), 3.39 (1H, br-s), 3.26-3.32 (1H, m), 3.19-3.25 (2H, m), 3.09 (1H, t, *J*=8.4), 2.97 (1H, t, *J*=6.3), 2.88 (2H, t, *J*=7.7), 2.61 (2H, t, *J*=7.9);
^{13}C NMR (151MHz ,CD_3CN) δ ppm 173.4, 171.2, 170.8, 169.8, 157.4, 141.7, 137.7, 129.5, 129.4, 129.2, 129.0, 128.8, 127.1, 104.2, 77.33, 77.26, 74.6, 71.2, 69.9, 67.6, 64.2, 62.6, 55.1, 53.4, 53.1, 43.6, 36.1, 31.2;
$[\alpha]_D^{26}$ -4.1 (CH_3CN, *c* 0.29);
HRMS (ESI$^+$) *m/z*: calcd for $C_{32}H_{41}N_3NaO_{14}$ $[M+Na]^+$: 714.2481, found: 714.2475.
HPLC: InertSustain AQ-C18 (4.6*150 mm, particle size: 3 μm), Flow rate 1.2 mL/min, 50% MeOH/water to 100% MeOH (15 min, linear gradient), t_R = 9.2 min.

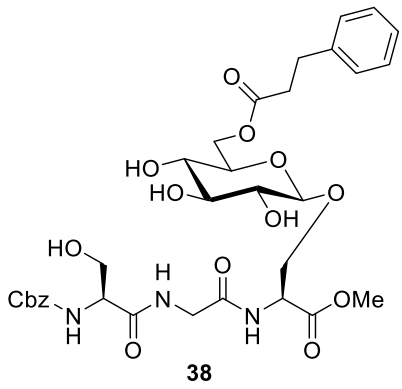
Structure elucidation of **37**:



The structure of the acylated alcohol in **37** was determined by combined NMR experiments. First, the ester carbonyl carbon derived from phenylpropionyl group was identified as the carbon at 173.4 ppm by HMBC correlations with the typical methylene protons (H_H, δ 3.09 ppm). The same carbonyl carbon had HMBC correlations with methylene protons (H_D and H_E, δ 4.33 and 4.28 ppm) which were confirmed to be vicinal protons to H_F (δ 4.40 ppm) by COSY experiment. The proton H_F was assigned as α-proton of the Cbz-Ser residue by HMBC correlations between H_F and the carbonyl carbon in the Cbz group. Overall, these experiments unambiguously showed that the alcohol in the serine residue in **37** was acylated.

Structre elucidation of **38** and **39**

LCMS analysis of the reaction solution (see below) indicated the presence of three compounds having the same exact mass as **37**, implying that monoacylated byproducts exist in the reaction mixture. After extensive purification of the crude product, two compounds **38** and **39** were obtained concomitant with some impurities. The structure of each compounds was determined by combined NMR experiments as the case of **37**.

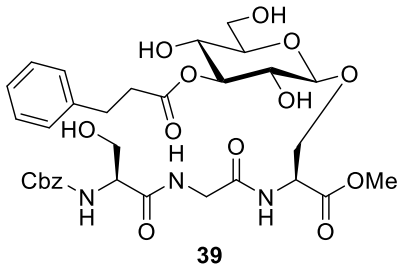


^{1}H NMR (600MHz, CD_3OD) δ ppm 7.13-7.43 (10H, m), 5.14, 5.09 (2H, ABq, *J*=12.5 Hz), 4.70 (1H, t, *J*=3.9 Hz), 4.59 (1 H, br-s), 4.40 (1H, dd, *J*=11.9, 2.0 Hz), 4.25 (1H, d, *J*=7.7 Hz), 4.16-4.23 (2H, m), 3.98, 3.94 (2H, ABq, *J*=16.9 Hz), 3.85 (1H, dd, *J*=10.9, 5.2 Hz), 3.78 (1H, dd, *J*=10.9, 5.2 Hz), 3.71- 3.75 (1H, m), 3.70 (3H, s), 3.43 (1H, ddd, *J*=9.8, 6.0, 2.2 Hz), 3.35 (1H, t, *J*=9.4 Hz), 3.25 (1H, t, *J*=9.5 Hz), 3.16 (1H, dd, *J*=9.3, 7.8 Hz), 2.93 (2H, t, *J*=7.6 Hz), 2.66 (2H, t, *J*=7.7 Hz);

^{13}C NMR (151MHz, CD_3OD) δ ppm 174.6, 173.8, 171.77, 171.75, 158.7, 142.1, 138.1, 129.7, 129.6, 129.5, 129.2, 129.1, 127.4, 104.3, 77.8, 75.6, 75.1, 71.7, 70.0, 68.2, 64.8, 63.3, 58.7, 54.1, 53.2, 43.6, 36.9, 32.0;

HRMS (ESI$^+$) *m/z*: calcd for $C_{32}H_{41}N_3NaO_{14}$ $[M+Na]^+$: 714.2481, found: 714.2487.

HPLC: InertSustain AQ-C18 (4.6*150 mm, particle size: 3 μm), Flow rate 1.2 mL/min, 50% MeOH/water to 100% MeOH (15 min, linear gradient), t_R = 8.6 min.



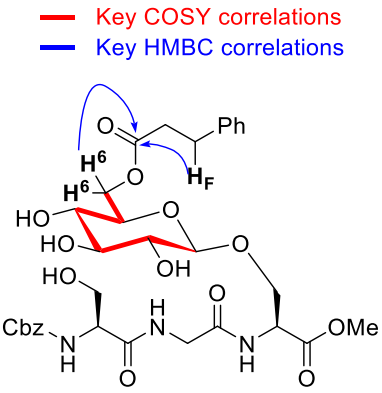
39

^{1}H NMR (600MHz, CD_3CN) δ ppm 7.22-7.42 (9H, m), 7.18-7.22 (1H, m), 6.16 (1H, br-s), 5.06-5.14 (2H, m), 4.88 (1H, t, *J*=9.3 Hz), 4.62-4.67 (1H, m), 4.36 (1H, d, *J*=7.7 Hz), 4.11- 4.20 (2H, m), 3.71-3.89 (5H, m), 3.68-3.70 (3H, m), 3.55-3.64 (2H, m), 3.37-3.45 (2H, m), 3.20-3.37 (3H, m), 2.89-2.96 (2H, m), 2.63-2.71 (2H, m);

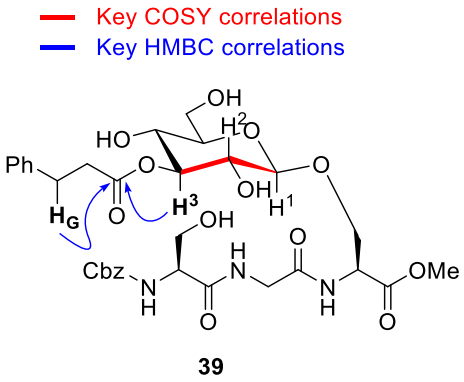
^{13}C NMR (151MHz, CD_3CN) δ ppm 173.6, 172.5, 171.2, 170.3, 157.5, 142.0, 138.0, 129.6, 129.5, 129.46, 129.42, 129.0, 128.9, 127.2, 103.8, 78.3, 77.3, 72.9, 69.9, 69.4, 67.5, 63.2, 62.4, 58.0, 53.5, 53.2, 43.7, 36.6, 31.5;

HRMS (ESI$^+$) *m/z*: calcd for $C_{32}H_{41}N_3NaO_{14}$ $[M+Na]^+$: 714.2481, found: 714.2484.

HPLC: InertSustain AQ-C18 (4.6*150 mm, particle size: 3 μm), Flow rate 1.2 mL/min, 50% MeOH/water to 100% MeOH (15 min, linear gradient), t_R = 8.3 min.

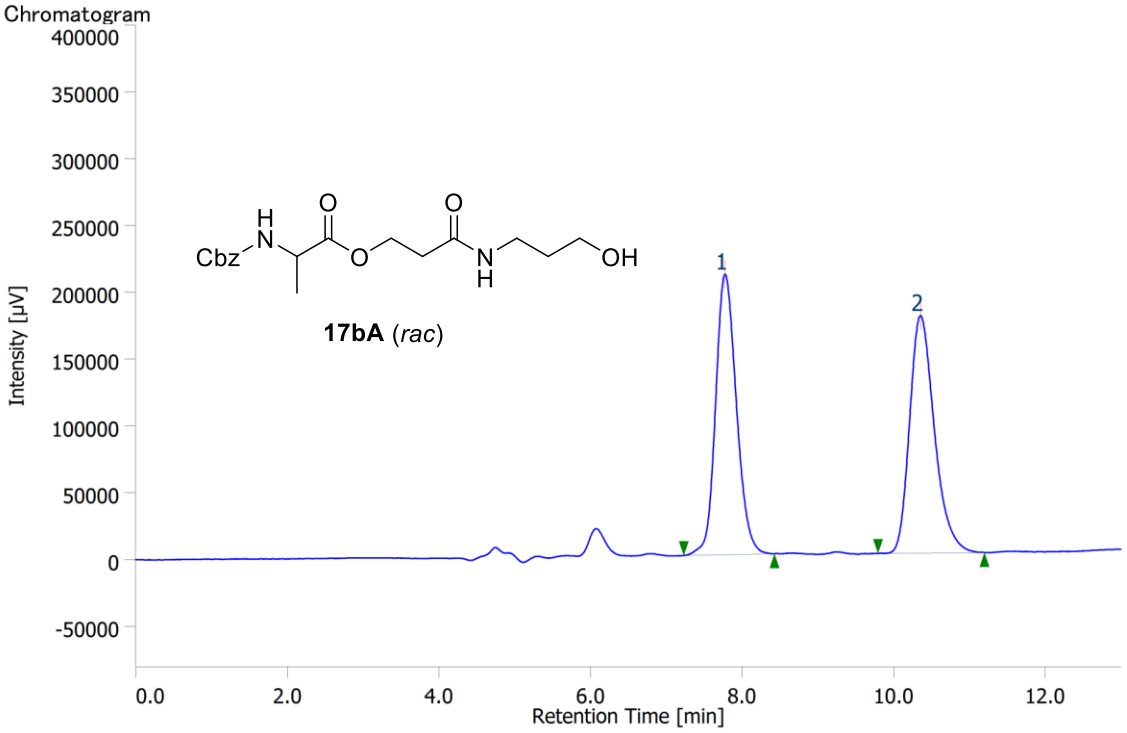


38



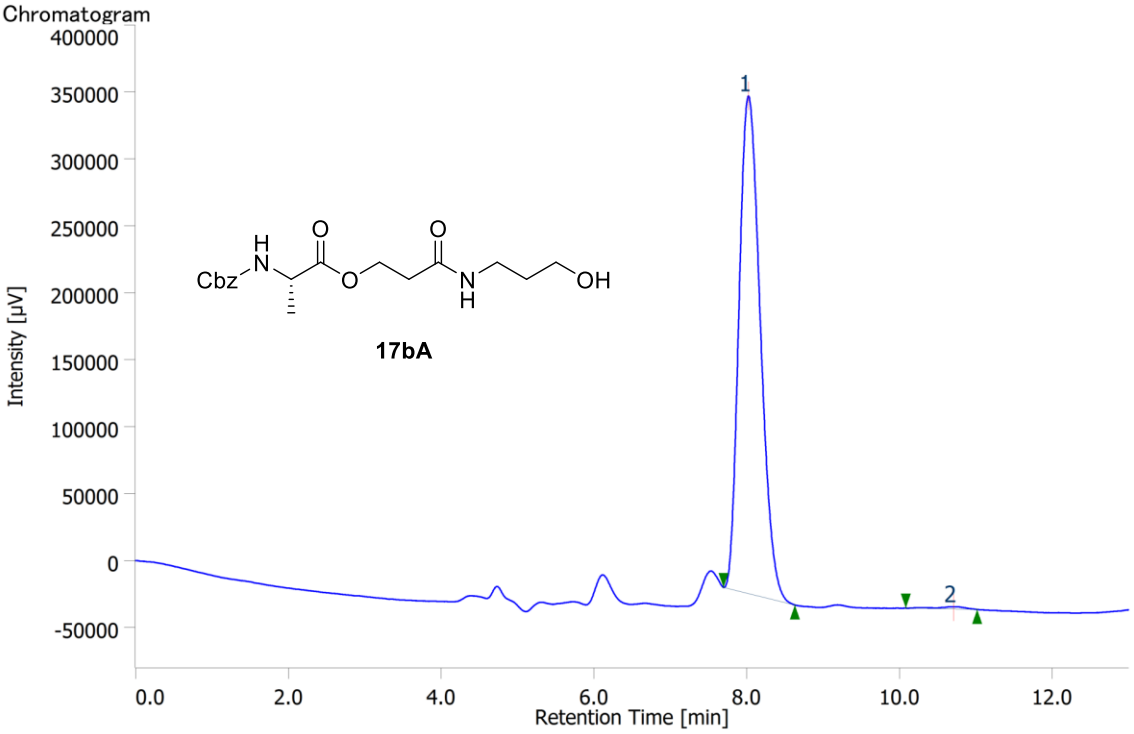
39

HPLC traces (17bA-22bA)



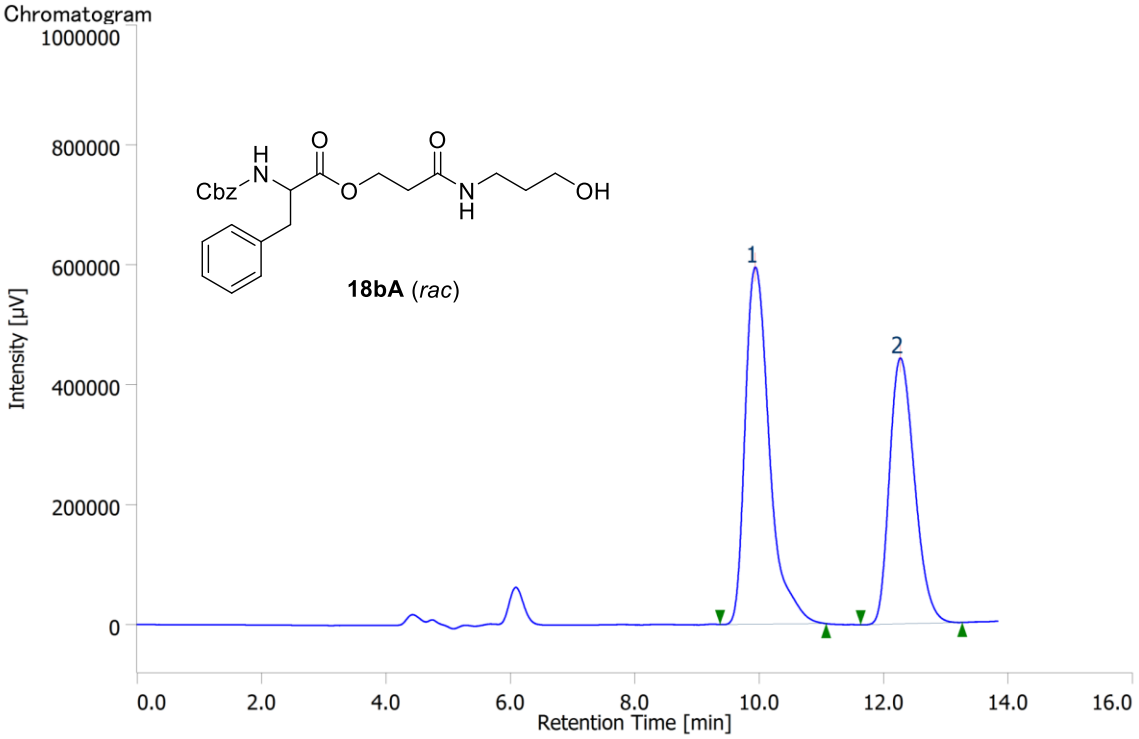
Peak information

Peak#	CH	tR [min]	Area [μV·sec]	Height [μV]	Area%
1	5	7.770	3995293	209817	49.818
2	5	10.350	4024541	177621	50.182



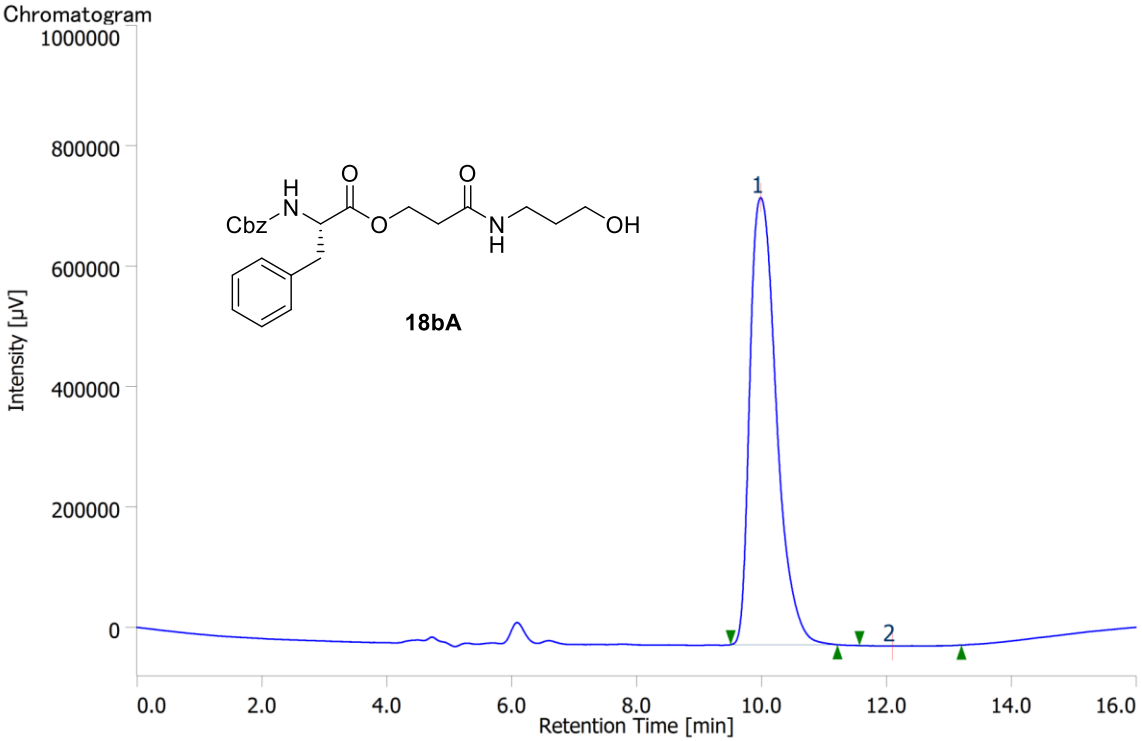
Peak information

Peak#	CH	tR [min]	Area [μV·sec]	Height [μV]	Area%
1	5	8.020	7180158	371375	99.375
2	5	10.700	45191	1757	0.625



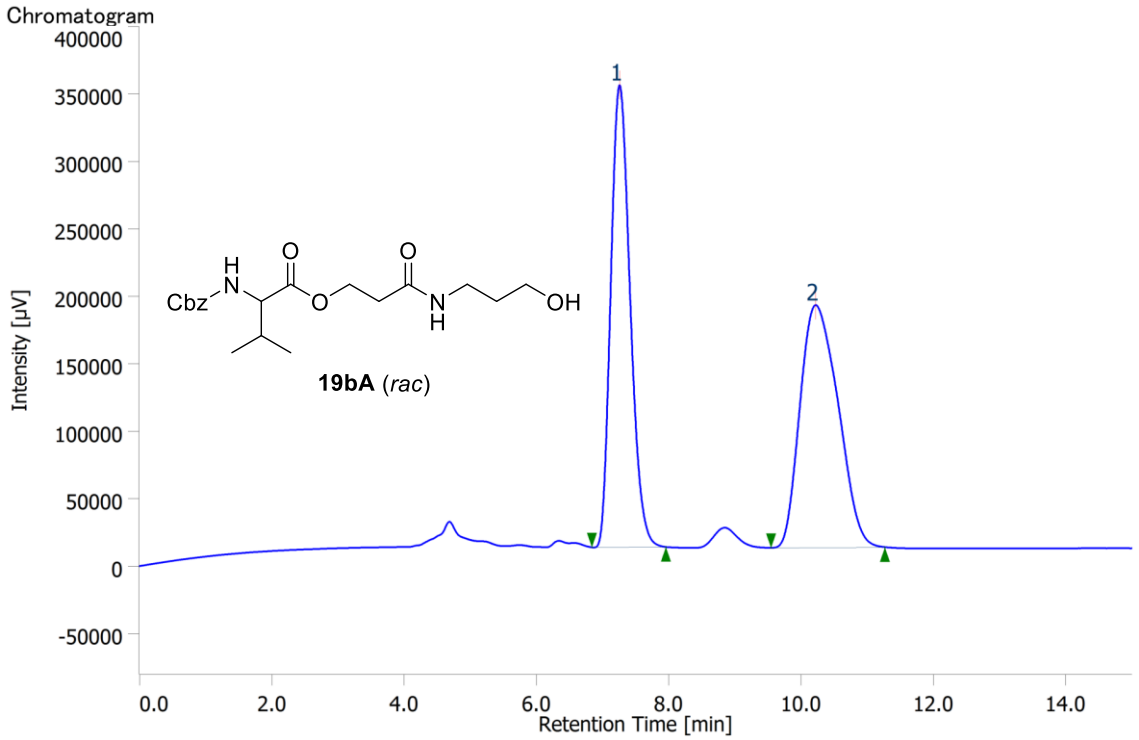
Peak information

Peak#	CH	tR [min]	Area [μV·sec]	Height [μV]	Area%
1	5	9.933	16123860	595387	56.552
2	5	12.263	12387460	443101	43.448



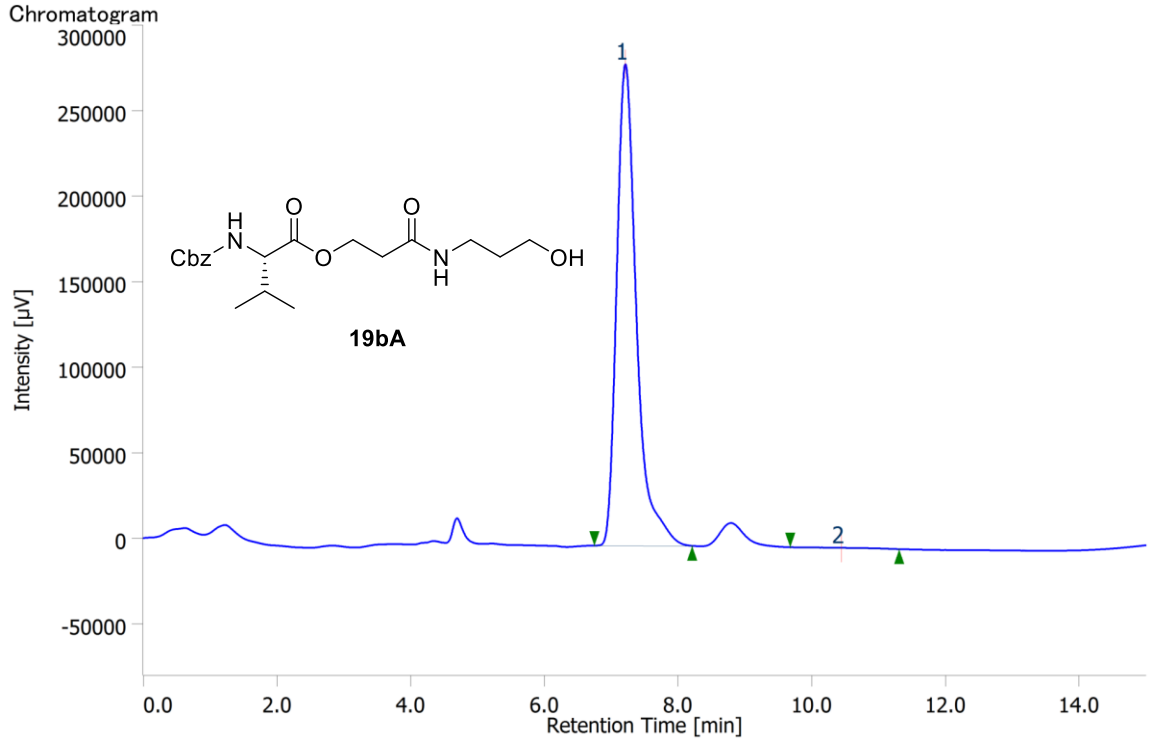
Peak information

Peak#	CH	tR [min]	Area [μV·sec]	Height [μV]	Area%
1	5	9.987	21904019	742211	99.622
2	5	12.090	83043	1121	0.378



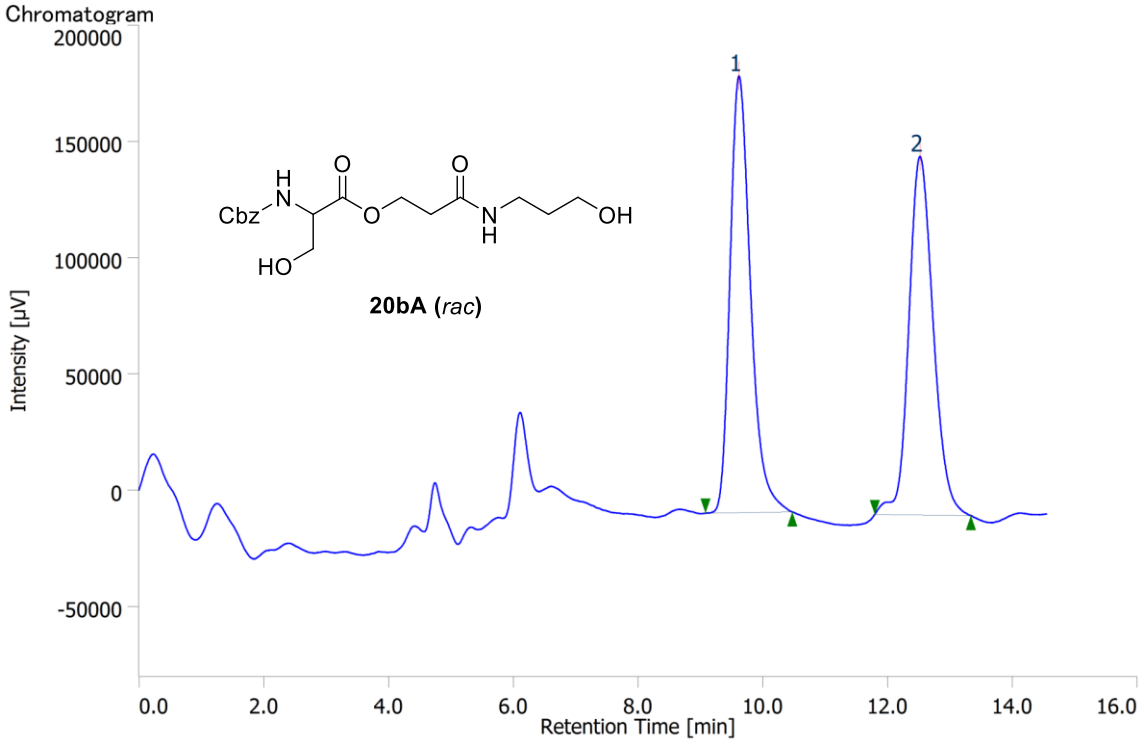
Peak information

Peak#	CH	tR [min]	Area [μV·sec]	Height [μV]	Area%
1	5	7.257	6949348	342493	49.200
2	5	10.217	7175230	179706	50.800



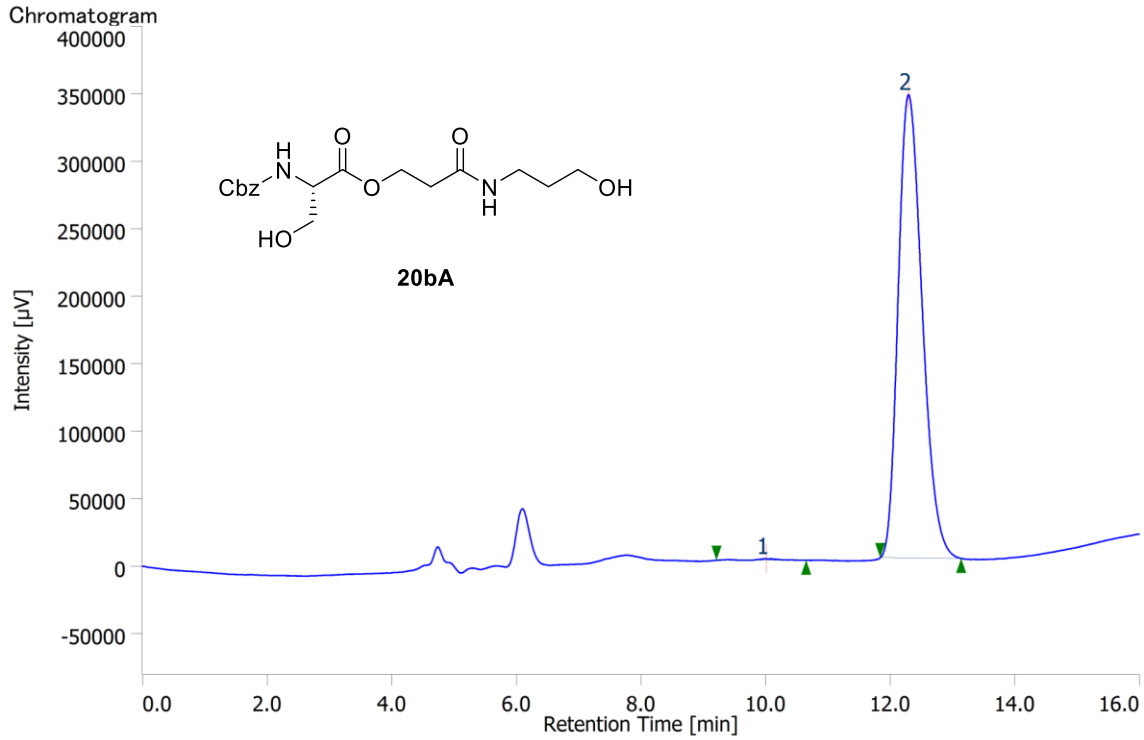
Peak information

Peak#	CH	tR [min]	Area [μV·sec]	Height [μV]	Area%
1	5	7.210	5781023	281387	99.768
2	5	10.440	13463	183	0.232



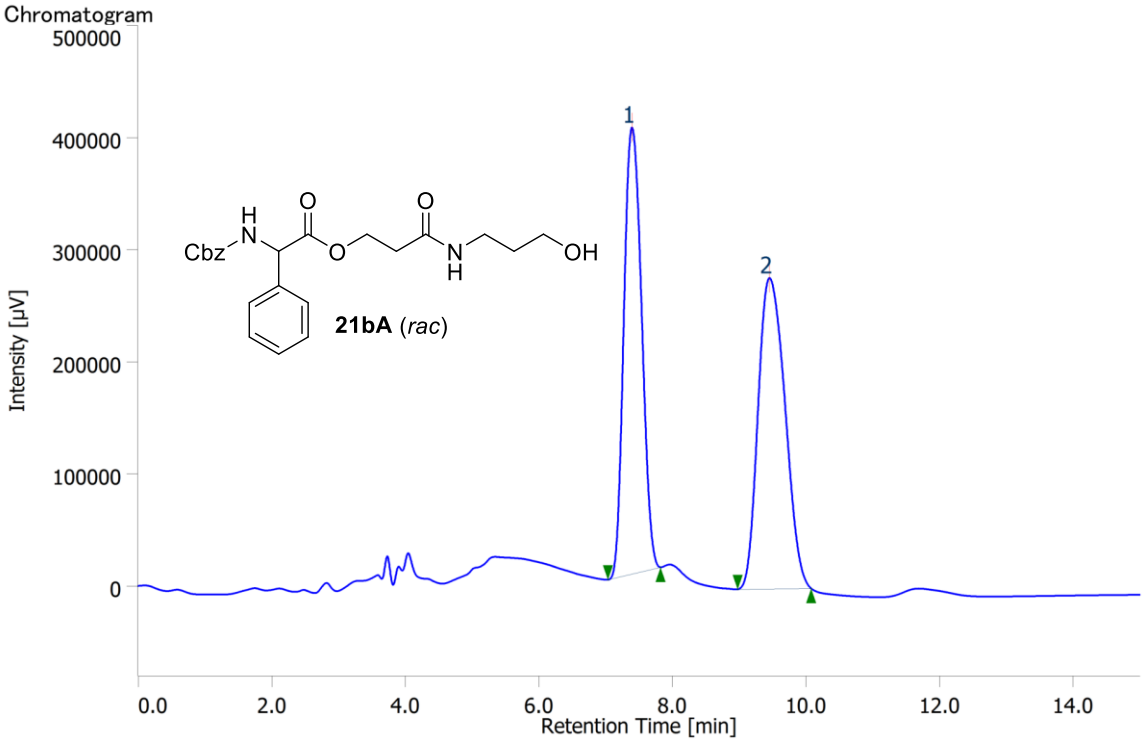
Peak information

Peak#	CH	tR [min]	Area [μV·sec]	Height [μV]	Area%
1	5	9.617	4285881	187668	50.571
2	5	12.517	4189156	154171	49.429



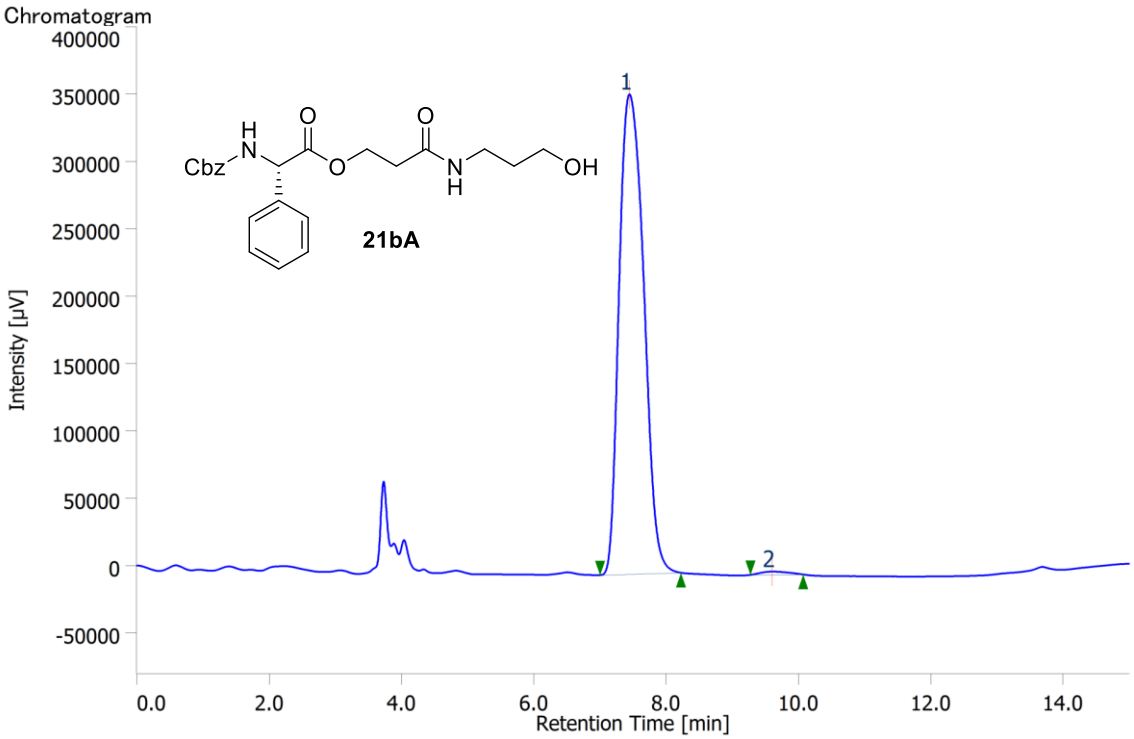
Peak information

Peak#	CH	tR [min]	Area [μV·sec]	Height [μV]	Area%
1	5	10.003	31164	1150	0.338
2	5	12.290	9183143	343201	99.662



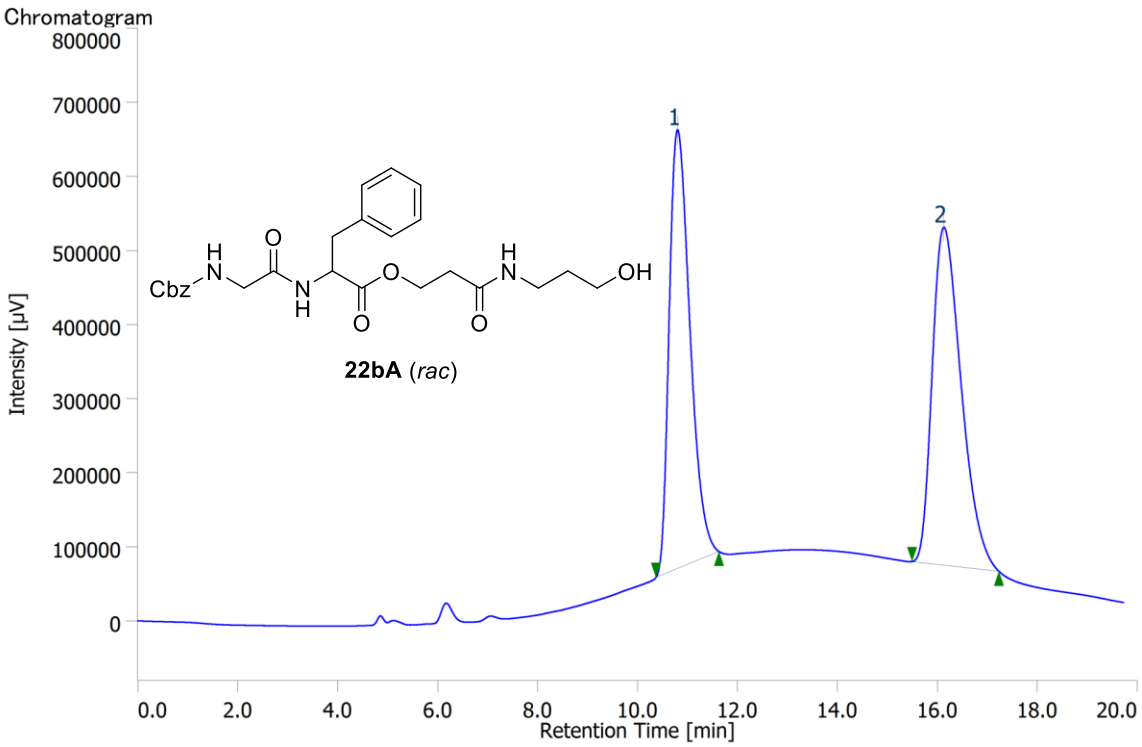
Peak information

Peak#	CH	tR [min]	Area [μV·sec]	Height [μV]	Area%
1	5	7.393	7343723	398110	48.628
2	5	9.450	7757989	277276	51.372



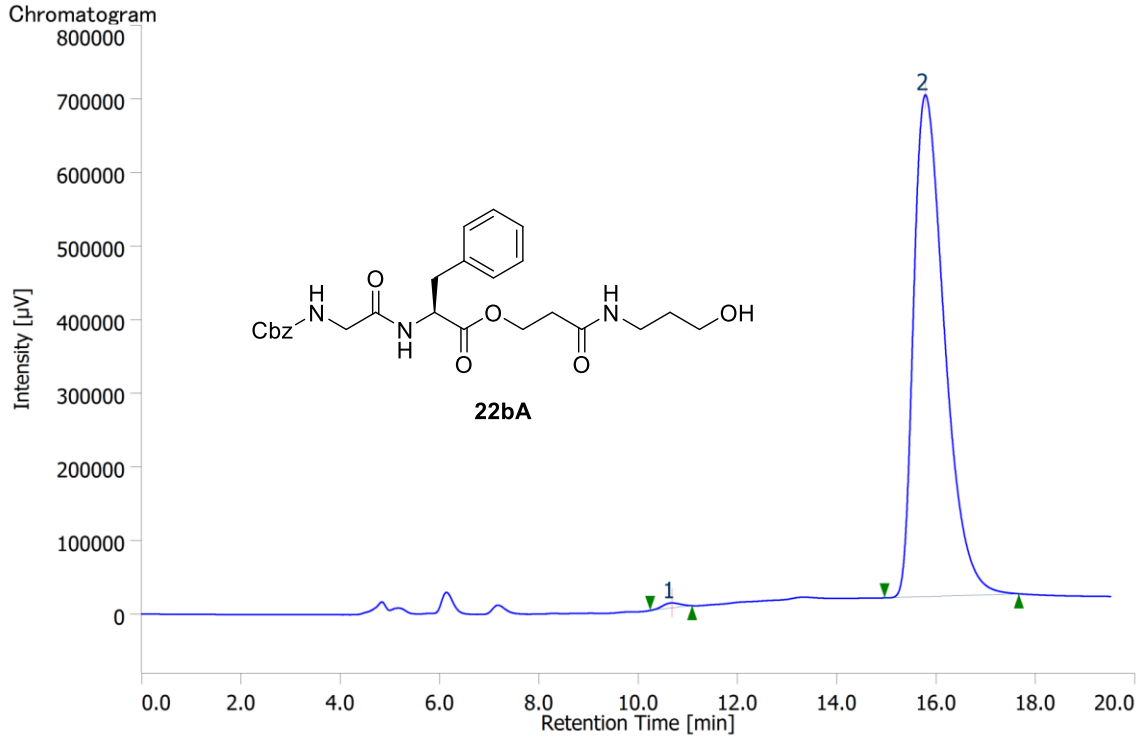
Peak information

Peak#	CH	tR [min]	Area [μV·sec]	Height [μV]	Area%
1	5	7.443	9209197	356276	99.274
2	5	9.597	67318	2285	0.726



Peak information

Peak#	CH	tR [min]	Area [μV·sec]	Height [μV]	Area%
1	5	10.797	17049199	591921	48.185
2	5	16.123	18333906	455677	51.815



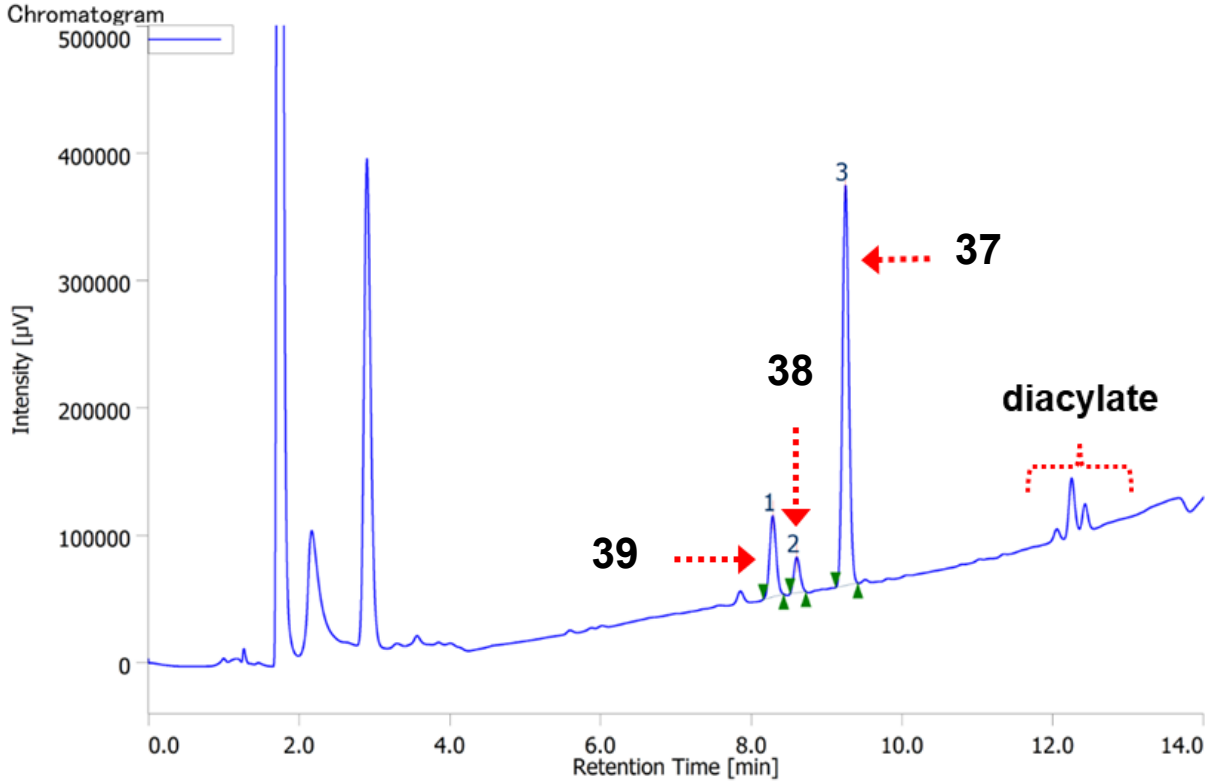
Peak information

Peak#	CH	tR [min]	Area [μV·sec]	Height [μV]	Area%
1	5	10.677	174472	6875	0.589
2	5	15.780	29437638	681343	99.411

HPLC and LCMS analysis of the mixture in the acylation of 32.

The analytical sample for HPLC was prepared by diluting 10 μL of the reaction solution in 990 μL of 50% MeOH/water followed by its filtration through a syringe filter (ϕ: 13 mm, pore size: 0.22 μm). 10 μL of the diluted solution was injected in JASCO HPLC
system and analyzed. The detailed condition for HPLC was as follows:
Pump: JASCO PU2089
Detector: JASCO UV-2075
Column: GL sciences, InertSustain AQ-C18 (4.6*150 mm, particle size: 3 μm)
Flow rate: 1.2 mL/min or 0.6 mL/min
Eluent: 50% MeOH/water to 100% MeOH (15 min, linear gradient)

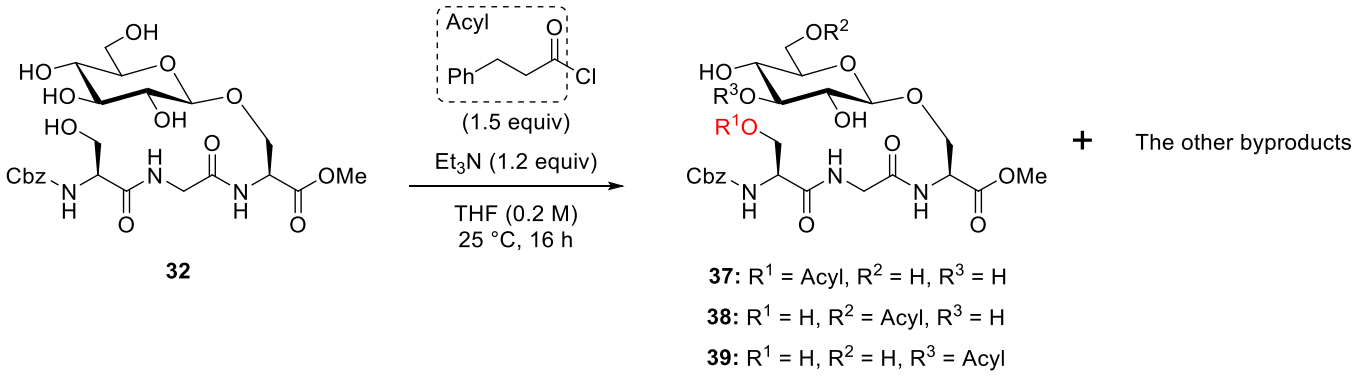
HPLC chromatogram for crude mixture in the optimized condition. (Flow rate 1.2 mL/min)



Peak information

Peak#	CH	tR [min]	Area [μV·sec]	Height [μV]	Area%
1	1	8.280	383755	63485	16.110
2	1	8.599	157771	27900	6.623
3	1	9.245	1840584	313820	77.267

HPLC chromatogram for crude mixture in the conventional condition (Flow rate 1.2 mL/min).

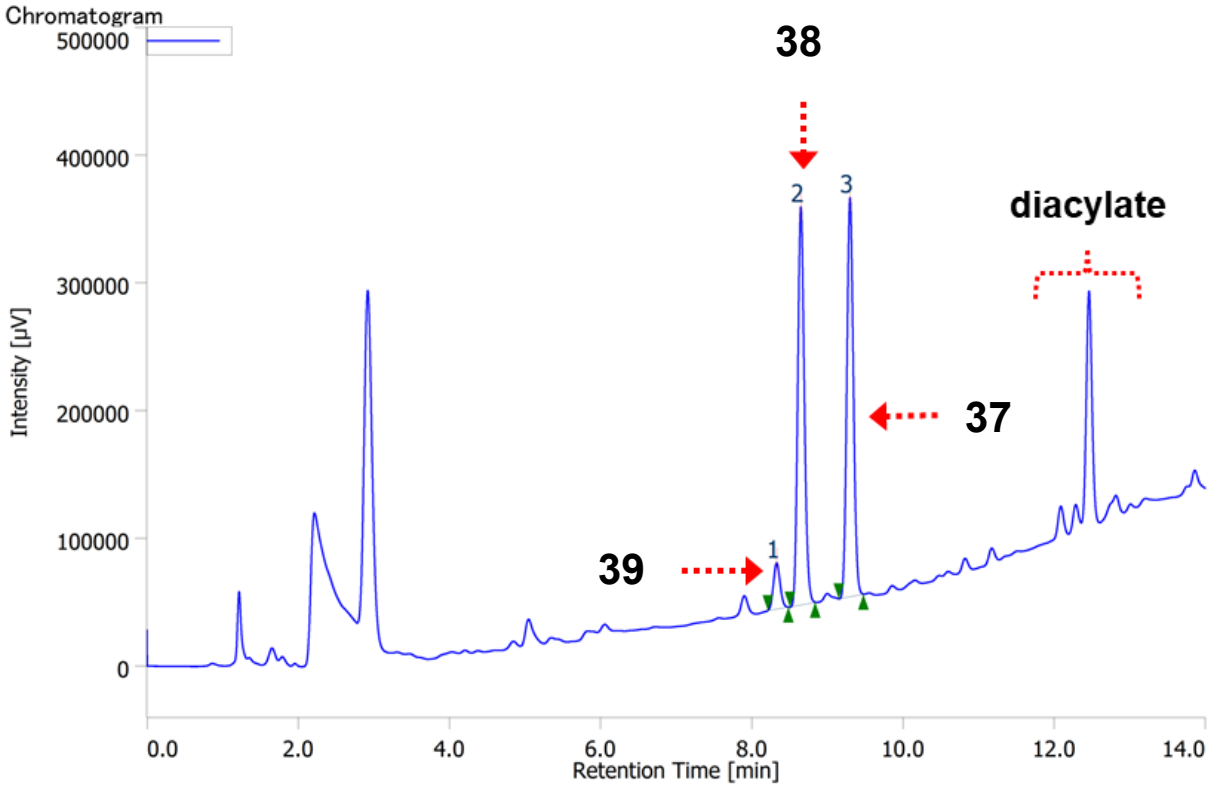


32

37: R^1 = Acyl, R^2 = H, R^3 = H

38: R^1 = H, R^2 = Acyl, R^3 = H

39: R^1 = H, R^2 = H, R^3 = Acyl

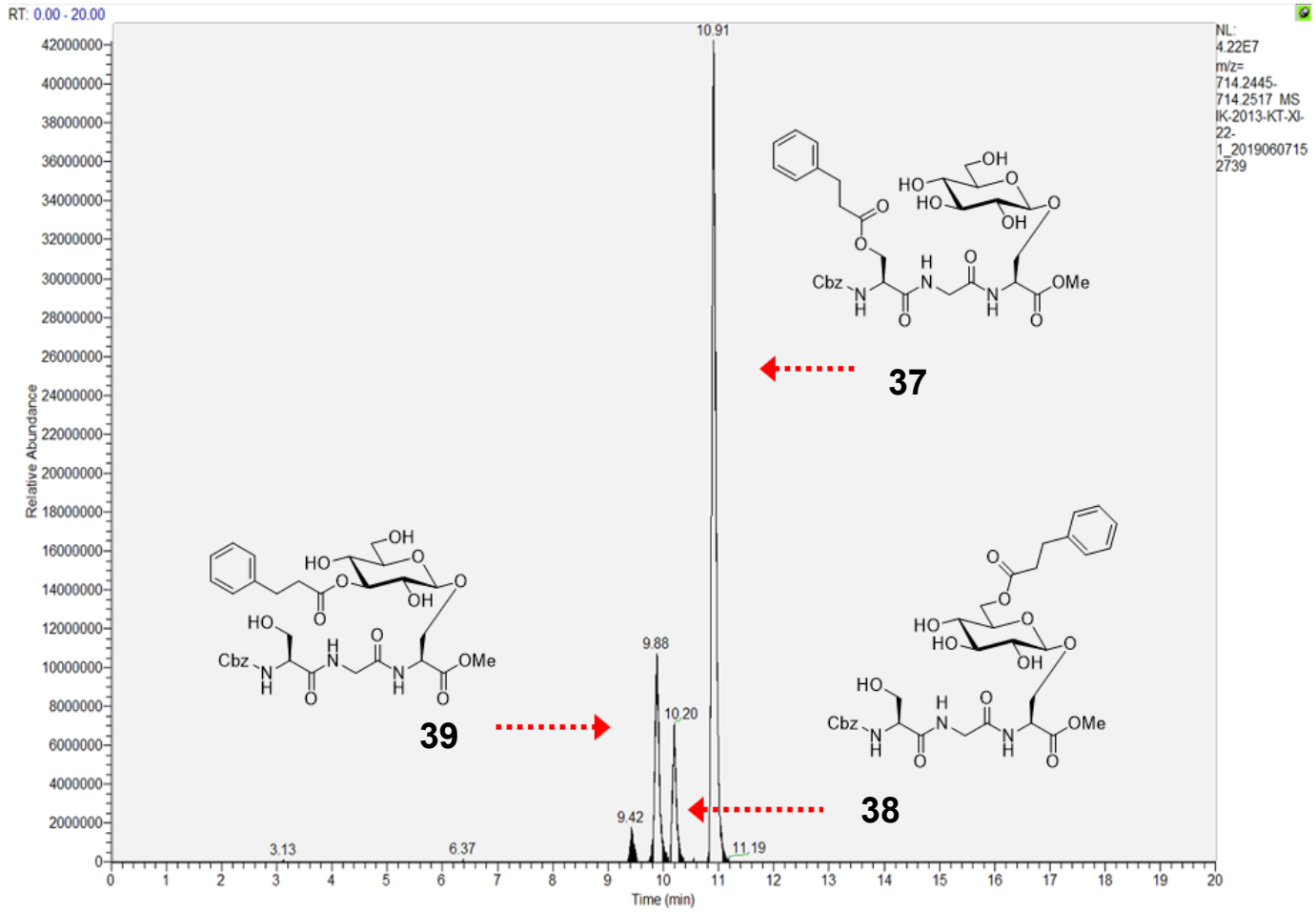


Peak information

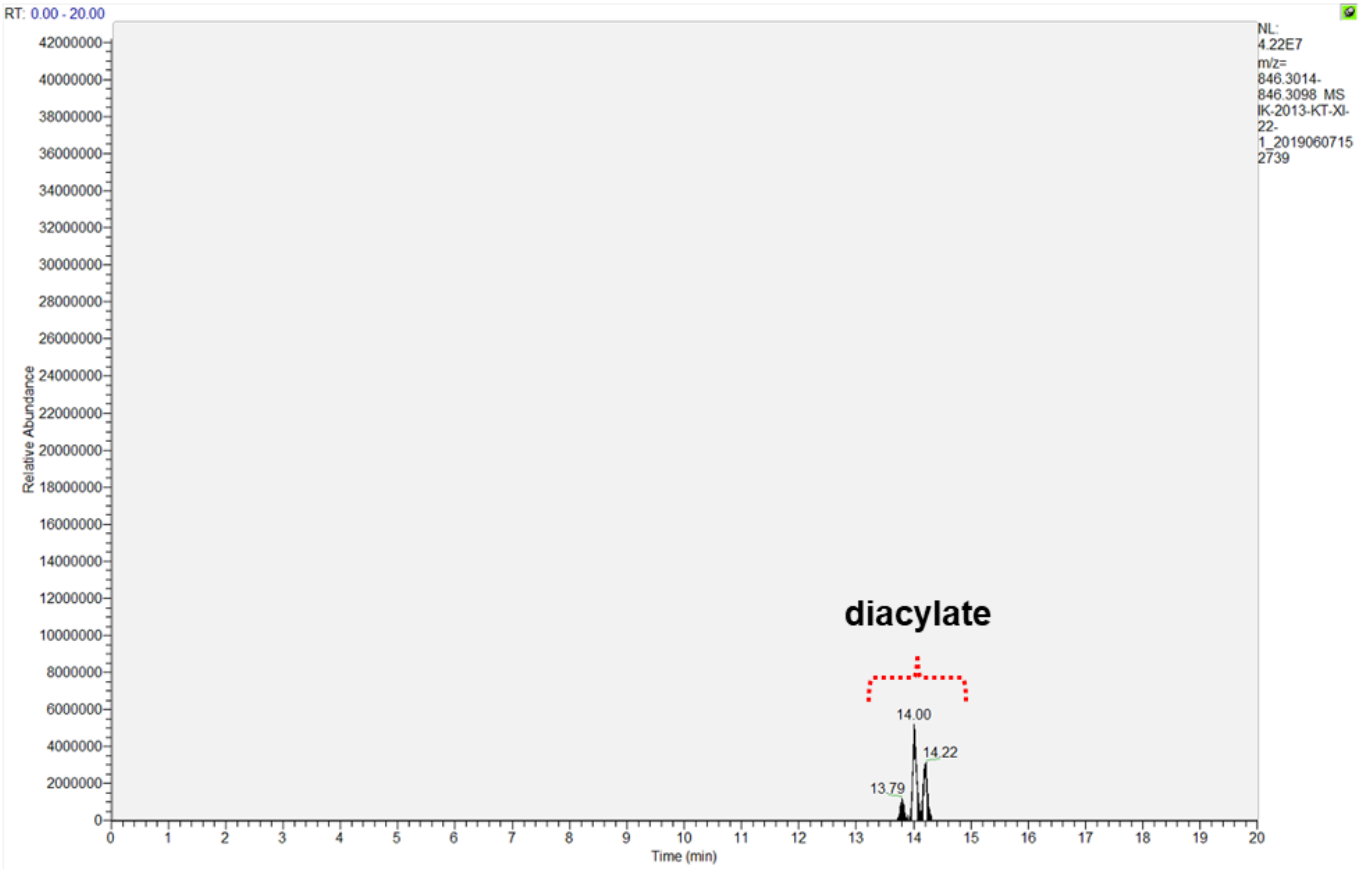
Peak#	CH	tR [min]	Area [μV·sec]	Height [μV]	Area%
1	1	8.325	221896	36150	5.596
2	1	8.645	1873465	311573	47.245
3	1	9.296	1870075	312133	47.159

The analytical sample for LCMS was prepared by diluting 10 μL of the solution for HPLC mentioned above in 490 μL of 50% MeOH/water. 1 μL of the diluted solution was injected in Thermo Scientific Exactive system and analyzed. The detailed condition for HPLC was as follows:
HPLC system: Thermo Scientific UltiMate 3000 HPLC system
MS: Thermo Scientific Exactive Plus (ESI ion source, positive ion mode, orbitrap analyzer)
Column: GL sciences, InertSustain AQ-C18 (4.6*150 mm, particle size: 3 μm)
Flow rate: 0.6 mL/min
Eluent: 50% MeOH/water to 100% MeOH (15 min, linear gradient)

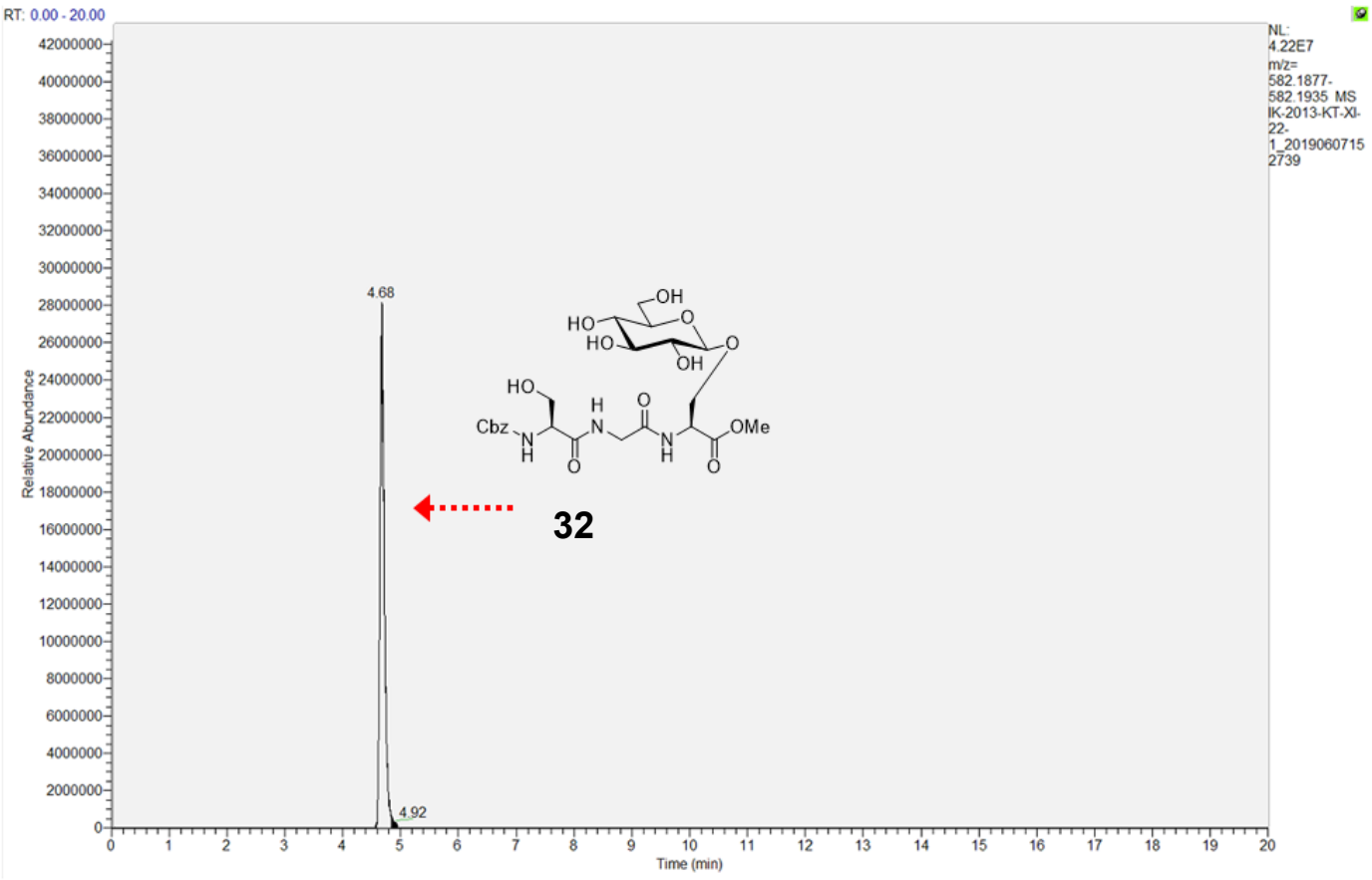
Extracted ion chromatogram (XIC) for monoacylated products ($[M+Na]^+$ m/z 714.2481) in the optimized conditions.



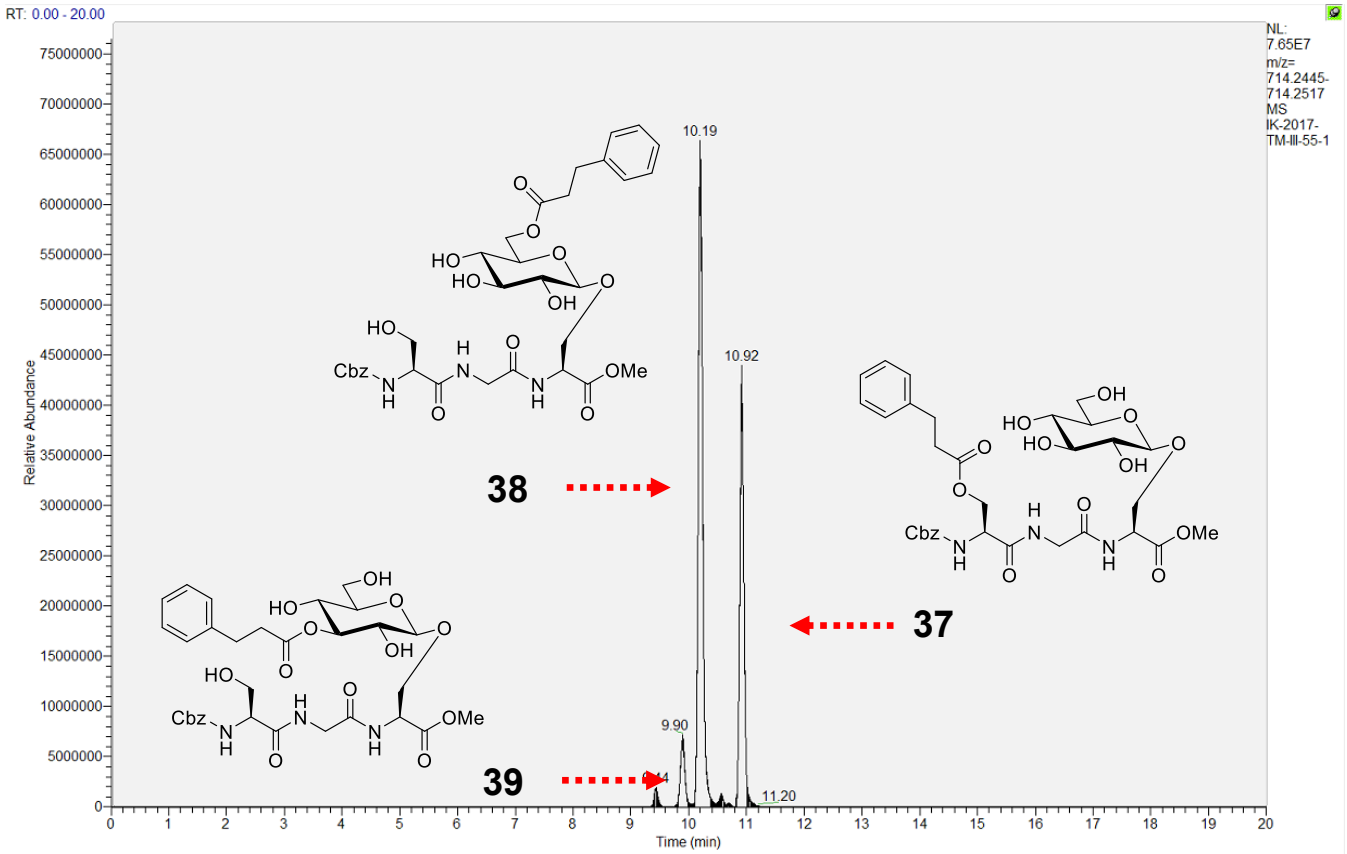
Extracted ion chromatogram (XIC) for diacylated products ([M+Na]+ m/z 846.3056) in the optimized conditions.



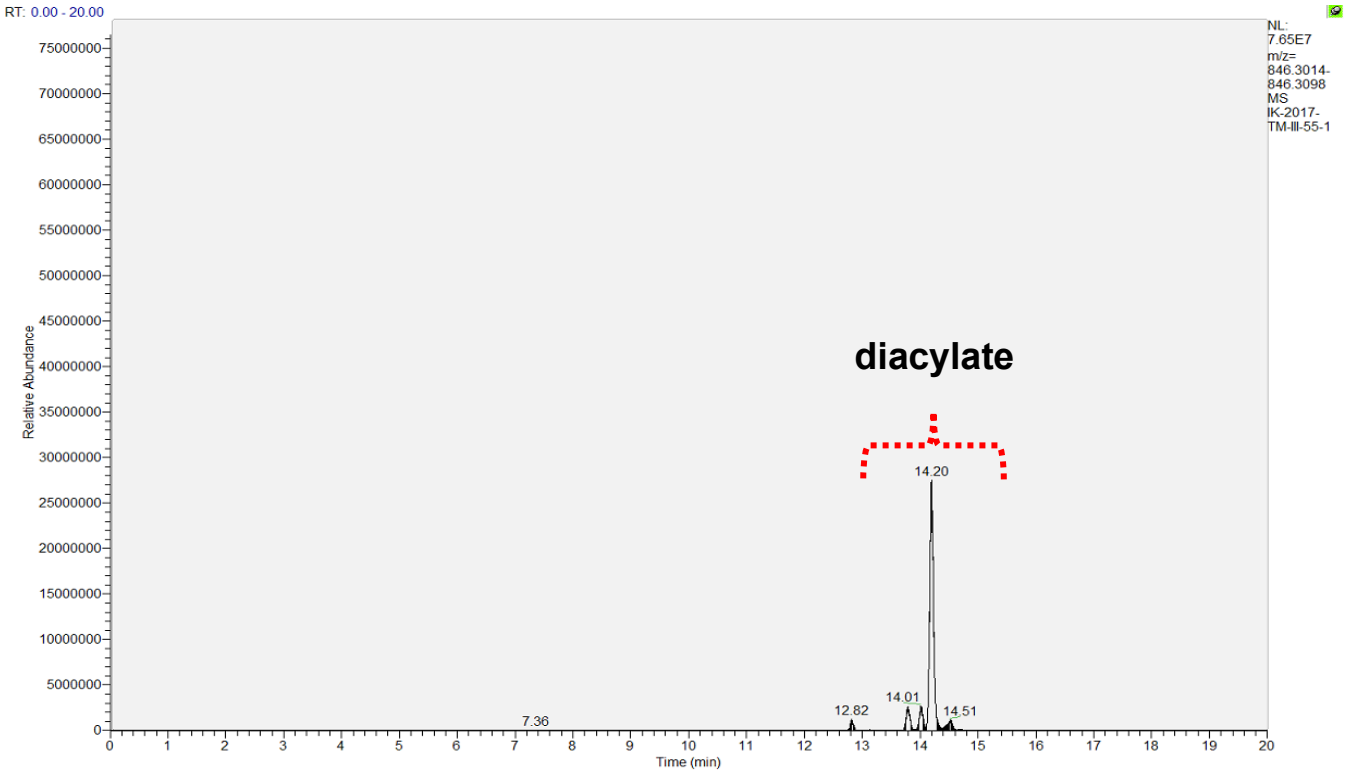
Extracted ion chromatogram (XIC) for **32** ([M+Na]+ m/z 582.1906) in the optimized conditions.



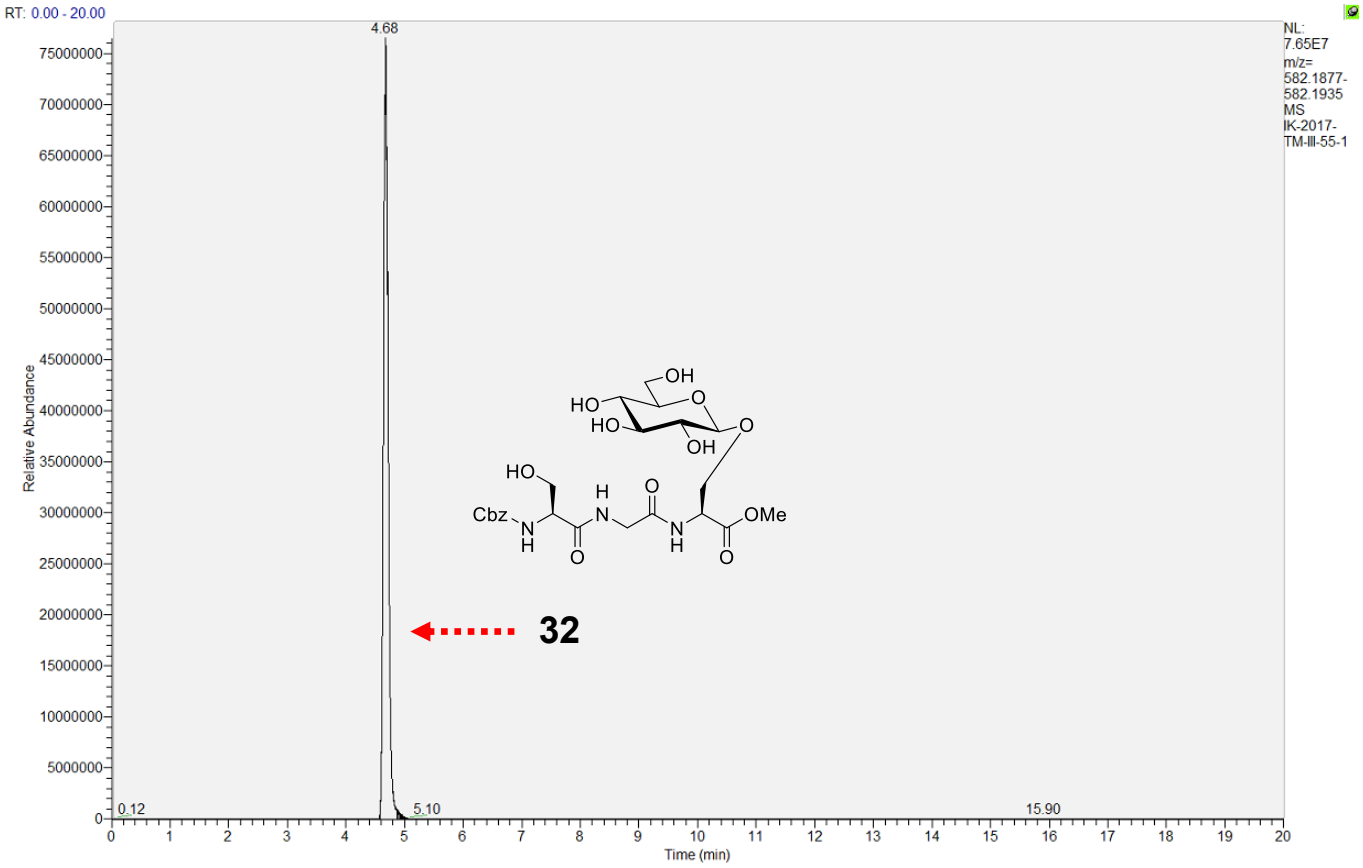
Extracted ion chromatogram (XIC) for monoacylated products ([M+Na]$^+$ m/z 714.2481) in the conventional conditions.



Extracted ion chromatogram (XIC) for diacylated products ([M+Na]$^+$ m/z 846.3056) in the conventional conditions.



Extracted ion chromatogram (XIC) for **32** ([M+Na]+ m/z 582.1906) in the conventional conditions.



参考文献

1. (a) Tsuchikama, K.; An, Z. *Protein and Cell*. **2018**, *9*, 33–46.
   (b) Diamantis, N.; Banerji, U. *British Journal of Cancer*. **2016**, *114*, 362–367.
2. (a) Lazar, A. C.; Wang, L.; Blättler, W. A.; Amphlett, G.; Lambert, J. M.; Zhang, W. *Rapid Commun. Mass Spectrom.* **2005**, *19*, 1806–1814.
   (b) Chari, R. V. J.; Miller, M. L.; Widdison, W. C. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2014**, *53*, 3796–3827.
3. Zimmerman, E. S.; Heibeck, T. H.; Gill, A.; Li, X.; Murray, C. J.; Madlansacay, M. R.; Tran, C.; Uter, N. T.; Yin, G.; Rivers, P. J.; Yam, A. Y.; Wang, W. D.; Steiner, A. R.; Bajad, S. U.; Penta, K.; Yang, W.; Hallam, Y. T.; Thanos, C. D.; Sato, A. K. *Bioconjugate Chem.* **2014**, *25*, 351–361.
4. (a) Rawale, D. G.; Thakur, K.; Adusumalli, S. R.; Rai, V. *Eur. J. Org. Chem.* **2019**, *40*, 6749–6763.
   (b) Dai, P.; Williams, J. K.; Zhang, C.; Welborn, M.; Shepherd, J. J.; Zhu, T.; Van Voorhis, T.; Hong, M.; Pentelute, B. L. *Sci. Rep.* **2017**, *7*, 1–11.
5. (a) Yamada, K.; Shikida, N.; Shimbo, K.; Ito, Y.; Khedri, Z.; Matsuda, Y.; Mendelsohn, B. A. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2019**, *58*, 5592–5597.
   (b) Matsuda, Y.; Malinao, M.-C.; Robles, V.; Song, J.; Yamada, K.; Mendelsohn, B. A. *J. Chromatogr. B* **2020**, *1140*, 121981.
6. (a) Hakomori, S. I. *Cancer Res.* **1996**, *56*, 5309–5318.
   (b) Fukuda, M. *Cancer Res.* **1996**, *56*, 2237–2244.
7. Griswold, K. S.; Miller, S. J. *Tetrahedron* **2003**, *59*, 8869–8875.
8. Kawabata, T.; Muramatsu, W.; Nishio, T.; Shibata, T.; Schedel, H. *J. Am. Chem. Soc.* **2007**, *129*, 12890–12895.
9. Lee, D.; Taylor, M. S. *J. Am. Chem. Soc.* **2011**, *133*, 3724–3727.
10. (a) Xiao, G.; Cintron-Rosado, G. A.; Glazier, D. A.; Xi, B. M.; Liu, C.; Liu, P.; Tang, W. *J. Am. Chem. Soc.* **2017**, *139*, 4346–4349.
    (b) Blaszczyk, S. A.; Xiao, G.; Wen, P.; Hao, H.; Wu, J.; Wang, B.; Carattino, F.; Li, Z.; Glazier, D. A.; McCarty, B. J.; Liu, P.; Tang, W. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2019**, *58*, 9542–9546.
11. Jäger, M.; Hartmann, M.; De Vries, J. G.; Minnaard, A. J. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2013**, *52*, 7809–7812.
12. (a) Lewis, C. A.; Miller, S. J. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2006**, *45*, 5616–5619.
    (b) Shugrue, C. R.; Miller, S. *J. Chem. Rev.* **2017**, *117*, 11894–11951.
13. For recent reviews of site-selective reaction of glycosides, see:
    (a) Dimakos, V.; Taylor, M. S. *Chem. Rev*. **2018**, *118*, 11457−11517.
    (b) Lawandi, J.; Rocheleau, S.; Moitessier, N. *Tetrahedron* **2016**, *72*, 6283−6319.
    (c) Wang, T.; Demchenko, A. V. *Org. Biomol. Chem*. **2019**, *17*, 4934−4950.

(d) Jager, M.; Minnaard, A. J. *Chem. Commun.* **2016**, *52*, 656−664.
For a recent review of site-selective alteration of natural products, see:
(e) Shugrue, C. R.; Miller, S. J. *Chem. Rev.* **2017**, *117*, 11894−11951.
(f) Robles, O.; Romo, D. *Nat. Prod. Rep.* **2014**, *31*, 318−334.
14. Nishikawa, Y.; Nakano, S.; Tahira, Y.; Terazawa, K.; Yamazaki, K.; Kitamura, C.; Hara, O. *Org. Lett.* **2016**, *18*, 2004–2007.
15. Brandshaw, J. S.; Stott, P. E. *Tetrahedron* **1980**, *36*, 461–510.
16. (a) Ghaderi, D.; Taylor, R. E.; Padler-Karavani, V.; Diaz, S.; Varki, A. *Nat. Biotechnol.* **2010**, *28*, 863–867.
(b) Angata, T.; Varki, A. *Chem. Rev.* **2002**, *102*, 439–469.
17. Hayakawa, T.; Aki, I.; Varki, A.; Satta, Y.; Takahata, N. *Genetics* **2006**, *172*, 1139–1146.
18. Byramova, N. E.; Tuzikov, A. B.; Bovin, N. V. *Carbohydr. Res.* **1992**, *237*, 161–175.
19. Nishikawa, Y.; Takemoto, K.; Matsuda, K.; Tanaka, R.; Arashima, A.; Ito, K.; Kamezawa, Y.; Hori, Y.; Hara, O. *Org. Lett.* **2018**, *20*, 3367–3371.
20. Oisaki, K. *Chem. Pharm. Bull.* **2018**, *66*, 907–919.
21. Saavedra, C. J.; Boto, A.; Hernández, R. *Org. Lett.* **2012**, *14*, 3788–3791.
22. (a) Craik, D. J.; Fairlie, D. P.; Liras, S.; Price, D. *Chem. Biol. Drug Des.* **2013**, *81*, 136−147.
(b) Fosgerau, K.; Hoffmann, T. *Drug Discovery Today* **2015**, *20*, 122−128.
(c) Kaspar, A. A.; Reichert, J. M. Drug *Discovery Today* **2013**, *18*, 807−817.
(d) Araste, F.; Abnous, K.; Hashemi, M.; Taghdisi, S. M.; Ramezani, M.; Alibolandi, M. J. *Controlled Release* **2018**, *292*, 141−162.
(e) Gaidzik, N.; Westerlind, U.; Kunz, H. *Chem. Soc. Rev.* **2013**, *42*, 4421−4442.
(f) Martínez-Saez, N.;́ Peregrina, J. M.; Corzana, F. *Chem. Soc. Rev.* **2017**, *46*, 7154−7175.
(g) Hossain, M. K.; Wall, K. A. *Vaccines* **2016**, *4*, 25.
(h) TaylorPapadimitriou, J.; Burchell, J. M.; Graham, R.; Beatson, R. *Biochem. Soc. Trans.***2018**, *46*, 659−668.
(i) Nativi, C.; Papi, F.; Roelens, S. *Chem. Commun.* **2019**, *55*, 7729−7736.
(j) Loureiro, L. R.; Carrascal, M. A.; Barbas, A.; Ramalho, J. S.; Novo, C.; Delannoy, P.; Videira, P. A. *Biomolecules* **2015**, *5*, 1783−1809.
23. Ohara, H.; Kobayashi, A.; Kato, M. *Dalt. Trans.* **2014**, *43*, 17317–17323.
24. Champness, N. R. *Dalt. Trans.* **2011**, *40*, 10311–10315.
25. Ablov, A. V.; Ruchkln, E. D. *J. Struct. Chem.* **1963**, *4*, 44-48.
26. Subirós-Funosas, R.; Prohens, R.; Barbas, R.; El-Faham, A.; Albericio, F. *Chem. Eur. J.* **2009**, *15*, 9394–9403.
27. (a) Harris, R. J.; Spellman, M. W. *Glycobiology* **1993**, *3*, 219−224.
(b) Shao, L.; Luo, Yi; Moloney, D. J.; Haltiwanger, R. S. *Glycobiology* **2002**, *12*, 763−770.
(c) Moloney, D. J.; Shair, L. H.; Lu, F. M.; Xia, J.; Locke, R.; Matta, K. L.; Haltiwanger, R. S. *J. Biol. Chem.* **2000**, *275*,9604−9611.

(d) Takeuchi, H.; Haltiwanger, R. S. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **2014**, *453*, 235−242.
(e) Yu, H.; Takeuchi, H. *Curr. Opin. Struct. Biol.* **2019**, *56*, 64−71.
28. Andersen, S. M.; Heuckendorff, M.; Jensen, H. H. *Org. Lett.* **2015**, *17*, 944–947.
29. Zhu, X.; Schmidt, R. R. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2009**, *48*, 1900–1934.
30. Abedi, S.; Karimi, B.; Kazemi, F.; Bostina, M.; Vali, H. *Org. Biomol. Chem.* **2013**, *11*, 416–419.

薬学研究科　竹本　昂平

謝辞

本学位論文は、著者が名城大学薬学部機能分子化学研究室において、大学院薬学研究科薬学専攻博士課程の研究として行った成果をまとめたものです。

本研究に際して終始暖かくご指導、ご鞭撻を賜りました名城大学薬学部教授 原　脩 先生に深甚なる感謝の意を申し上げます。

本研究の遂行、ならびに論文の執筆にあたって、終始ご懇篤なご指導とご鞭撻を賜りました名城大学薬学部助教 西川 泰弘 先生に心より厚く感謝申し上げます。

本研究に際し、有益なご助言とご指導を賜りました、副指導教員であります名城大学薬学部教授 北垣 伸治 先生に深く感謝申し上げます。

本研究の遂行における種々の有益なご助言、また本学位論文のご校閲をいただきました、名城大学薬学部教授 森 裕二 先生、同准教授 坂井 健男 先生、同助教 吉田 圭佑 先生に厚く感謝申し上げます。

本研究における各種データの測定・分析に多大なるご協力をいただきました、名城大学分析センター 酒井 達子 先生に深く感謝申し上げます。

本研究の全般に渡りご協力いただきました、名城大学薬学部機能分子化学研究室の出身者ならびに所属学生の皆様に心より感謝申し上げます。

最後に大学生活十年間を支え、見守り続けてくれた両親に深く感謝の意を表し、これをもって謝辞とさせて頂きます。