

博士論文

論文題目 極性官能基としてのシラノール基の新たな医薬的  
有用性の検討

氏 名 外山 大純

## 博士論文

論文題目 極性官能基としてのシラノール基の新たな医薬的  
有用性の検討

氏 名 外山 大純

## 目次

### 略語集

#### 第1章 研究背景と目的

##### 第1節 創薬化学におけるケイ素

- 1.1 医薬品に使われている元素
- 1.2 ケイ素を含む医薬候補化合物
- 1.3 疎水性基としてのケイ素官能基（修士課程時の研究）
- 1.4 創薬化学分野でのシランジオールの利用例
- 1.5 創薬化学分野でのシラノールの利用例

##### 第2節 本研究の目的

#### 第2章 パーフルオロアルコール基の代替置換基としてのシラノール基の医薬的有用性の検討

##### 第1節 研究背景

- 1.1 T0901317 (T1317)
- 1.2 核内受容体
- 1.3 核内受容体のリガンド
- 1.4 LXR (Liver X receptor)
- 1.5 FXR (Farnesoid X receptor)
- 1.6 PXR (Pregnane X receptor)
- 1.7 ROR (Retinoic acid receptor-related orphan receptor)

##### 第2節 研究計画

##### 第3節 分子デザイン

##### 第4節 合成スキーム

- 4.1 合成に成功した化合物
- 4.2 その他合成を試みた化合物

##### 第5節 物性評価

##### 第6節 活性評価

##### 第7節 ドッキングシミュレーション

##### 第8節 本章のまとめ

#### 第3章 カルボキシル基の代替置換基としてのシラノール基の医薬的有用性の検討

##### 第1節 研究背景

##### 第2節 研究計画と分子デザイン

##### 第3節 合成スキーム

##### 第4節 活性評価

##### 第5節 本章のまとめ

#### 第4章 総括

### 実験項

### 謝辞

### 略語集

AcOH	acetic acid
Aq	aqueous solution
Ar	Argon
ATRA	all- <i>trans</i> retinoic acid
APL	acute promyelocytic leukemia
Bn	benzyl
BPTBP	(2-Biphenyl)di- <i>tert</i> -butylphosphine
Bu	butyl
cat.	catalyst
CYP	cytochrome P450
DMEM	dulbecco's modified eagle's medium
DMSO	dimethyl sulfoxide
DNA	deoxyribonucleic acid
EC <sub>50</sub>	half maximal (50%) effective concentration
EDC	1-ethyl-3-(3-dimethylaminopropyl) carbodiimide
EtOH	ethanol
FBS	fetal bovine serum
FDA	Food and Drug Administration
FXR	Farnesoid X receptor
h	hour
HIV	human immunodeficiency virus
HL-60	Human promyelocytic leukemia cells
HOBt	1-hydroxybenzotriazole
HPLC	high performance liquid chromatography
HRE	hormone response element
HRMS	high resolution mass spectrometry
<i>i</i>	iso
IC <sub>50</sub>	half maximal (50%) inhibitory concentration
LAH	lithium aluminium hydride
LTi	Lymphoid tissue inducer cells
LXR	Liver X receptor
M	molar (= mol/L)
<i>m</i>	meta
MDR	Multiple drug resistance
Me	methyl
MeCN	acetonitrile

MeOH	methanol
min	minute
mp	melting point
mRNA	messenger RNA
<i>n</i>	normal
NA	no activity
NMR	nuclear magnetic resonance
<i>o</i>	ortho
<i>p</i>	para
PDB ID	Protein Data Bank ID
Ph	Phenyl
Pr	propyl
r.t.	room temperature
RNA	ribonucleic acid
RAR	Retinoic acid receptor
ROR	RAR-related orphan receptor
RXR	Retinoid X receptor
SAR	structure-activity relationship
sat.	saturated
<i>t</i>	tertiary
<i>tert</i>	tertiary
THF	tetrahydrofuran
TLC	thin layer chromatography
TMN	tetramethyltetrahydronaphthalene
TMS	trimethylsilyl
Ts	tosyl
UV	ultraviolet
$\alpha$	alpha
$\beta$	beta
$\gamma$	gamma
$\delta$	delta
$\kappa$	kappa
$\mu$	micro

## 第1章 研究背景と目的

### 第1節 創薬化学におけるケイ素

#### 1.1 医薬品に使われている元素

歴史上初の合成医薬品であるアスピリンが1899年に開発されてから今に至るまで、様々な疾患に対して数多くの医薬品が開発されてきた。1900年代から2012年までに米FDAによって承認された医薬品は1994個であり、その中で低分子医薬品は1086個である<sup>1</sup>。医薬品の構成元素としてはC（炭素）、H（水素）、O（酸素）、N（窒素）が圧倒的に多いが、これら以外にも医薬品に含まれている元素がいくつかある。

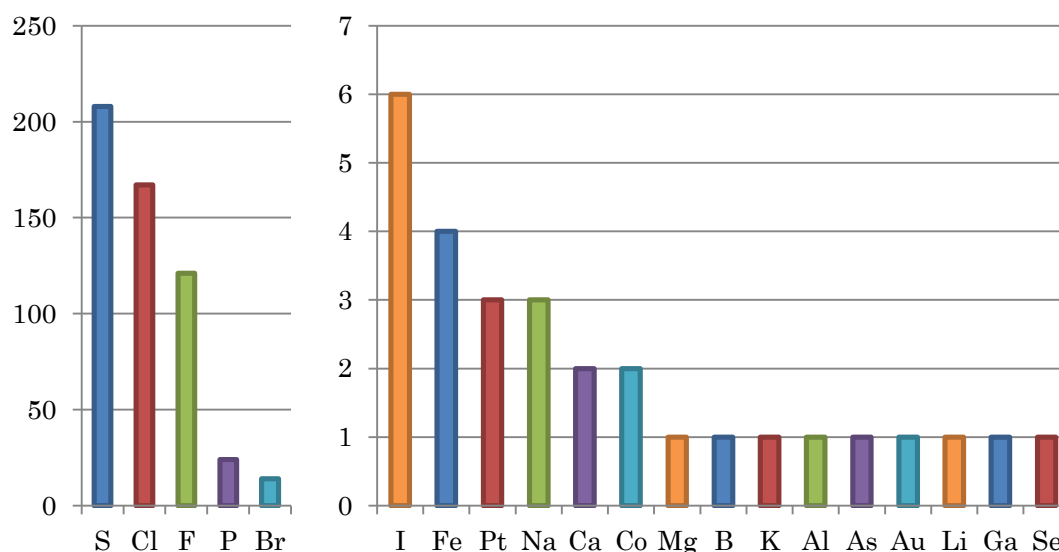


Figure 1. 1900年代から2012年までにFDAで承認された低分子医薬品の構成元素数<sup>1</sup>

Figure 1に1900年代から2012年までにFDAに承認された低分子医薬品のC, H, O, N以外の構成元素数を示した。医薬品の構成元素においては、C, H, O, N以外ではS（硫黄）やCl（塩素）、F（フッ素）が多く、P（リン）やハロゲンであるBr（臭素）、I（ヨウ素）もいくつか例がある。一方、B（ホウ素）やAs（ヒ素）、Se（セレン）といった元素を含む医薬品は、2012年の時点で1つずつしかなく、炭素の同族元素であるケイ素を含んだ医薬品にいたっては2017年の時点でも1つも報告例がない<sup>2</sup>。

1. Brandon R. Smith, Candice M. Eastman, Jon T. Njardarson. Beyond C, H, O, and N! Analysis of the Elemental Composition of U.S. FDA Approved Drug Architectures. *J. Med. Chem.* **2014**, *57*, 9764–9773.

## 1.2 ケイ素を含む医薬候補化合物

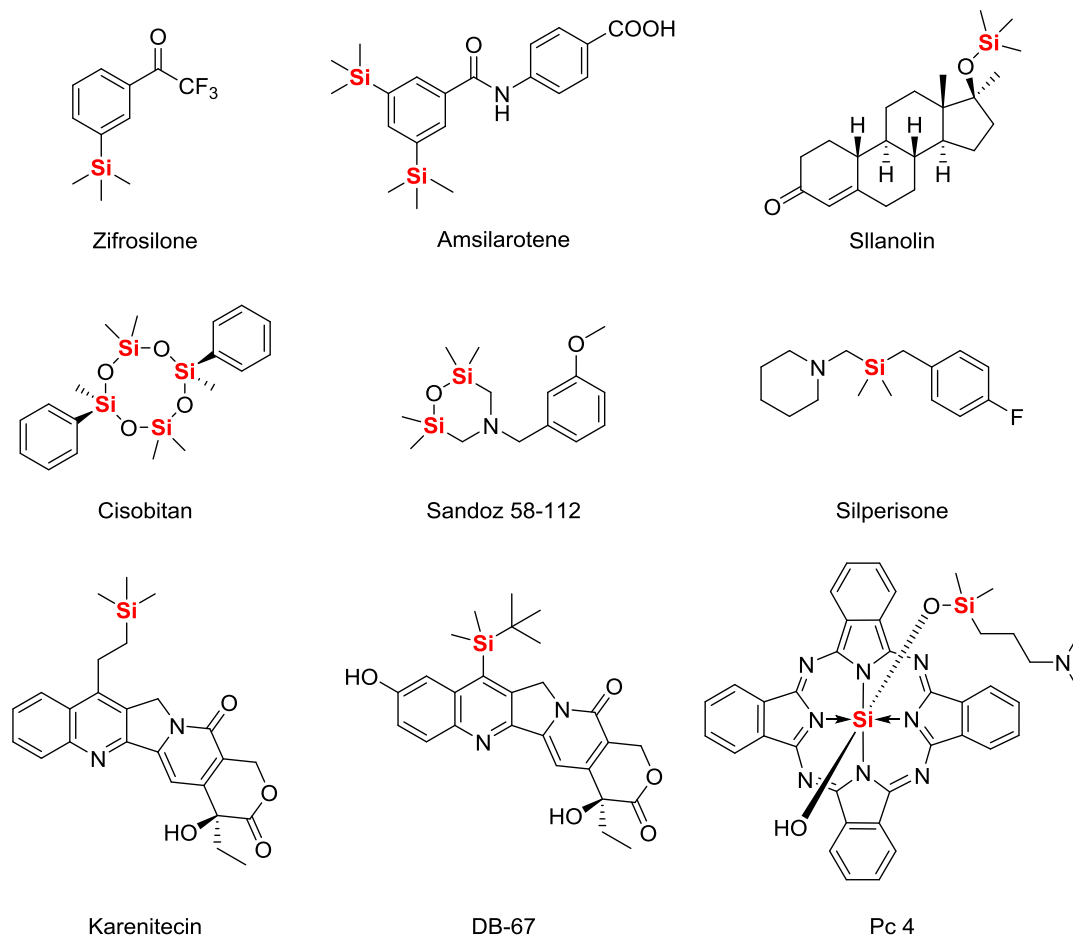


Figure 2. 2017年の時点で報告されているケイ素を含む医薬候補化合物<sup>2</sup>

2017年の時点で報告されているケイ素を含む臨床候補化合物は Figure 2 に示す 9 種である<sup>2</sup>。核内受容体 RAR のアゴニストとして作用し肝細胞ガンに対する医薬として開発されていた TAC-101 や、抗がん剤として現在臨床開発されている DNA トポイソメラーゼ阻害剤、カレニテシンやシラテカンなどがある。前述した通り、現時点でケイ素を含む医薬品は 1 つも報告されていないが、ケイ素の特異的な性質を用いた創薬化学研究がいくつか報告されている。

2. Remya Ramesh, D. Srinivasa Reddy. Quest for Novel Chemical Entities through Incorporation of Silicon in Drug Scaffolds. *J. Med. Chem.* **2017**, in press.

### 1.3 疎水性基としてのケイ素官能基（修士課程時の研究）

Figure 2 で示した現在報告されているケイ素を含む医薬候補化合物の構造を見ると分かる通り、これらで使われているケイ素官能基は疎水性基としてのアルキルシリル基やシリルエーテル構造を用いたものがほとんどである。私は修士過程時の研究において、疎水性構造としてのケイ素官能基に着目した研究を行った。例えば、化合物 **i** の環状アルキル構造の 4 級炭素をケイ素に置換し構造展開を行うことで、オーファン核内受容体的一种である ROR のインバーサゴニスト活性が向上した化合物 **iii** を創製することに成功した (Figure 上)。また、環状アミド構造をもつフェナンスリジノン骨格を題材に、シス型アミド結合が 4 級シリル基で等価置換できる可能性を検討し、新規骨格であるジベンゾシロールを用いた ROR インバーサゴニストの創製に成功した (Figure 3 下)。

私は博士課程で、ケイ素官能基の医薬応用をさらに発展させるため、極性官能基としてのケイ素官能基、シラノール基に着目した。

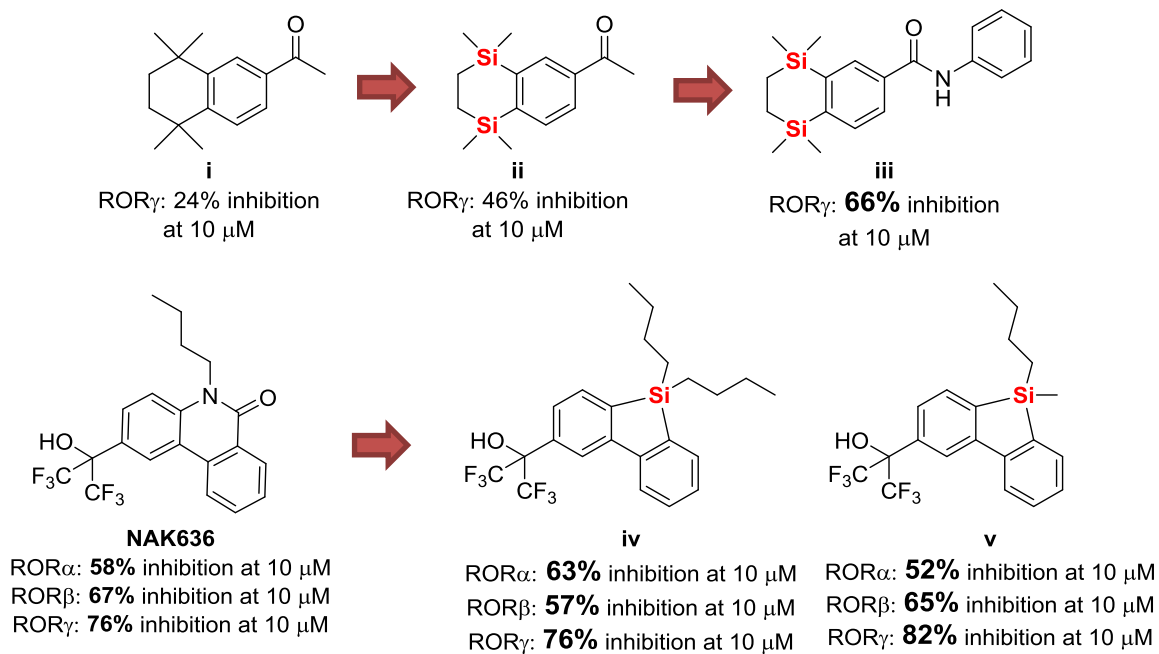


Figure 3. 修士課程時の研究の概略



#### 1.4 創薬化学分野でのシランジオールの利用例

シラノール、および、シランジオールを創薬化学の分野で応用した研究例が既にいくつか報告されている。シランジオールは加水分解酵素であるプロテアーゼの遷移状態ミミックとして利用可能であることが提唱されている<sup>3</sup>。プロテアーゼは基質のアミド結合に H<sub>2</sub>O が反応して生じたジオール構造を認識し加水分解するが、シランジオールはこの構造をミミックすることで阻害剤として作用することが示唆されている (Figure 4 上)。実際にシランジオール型プロテアーゼ阻害剤 **b** は抗 HIV 治療薬として利用されているインジナビルと同等の活性を示す (Figure 4 下)<sup>3</sup>。この研究はシランジオールを用いて創薬分野におけるケミカルスペースの拡大に貢献していると考えられる。

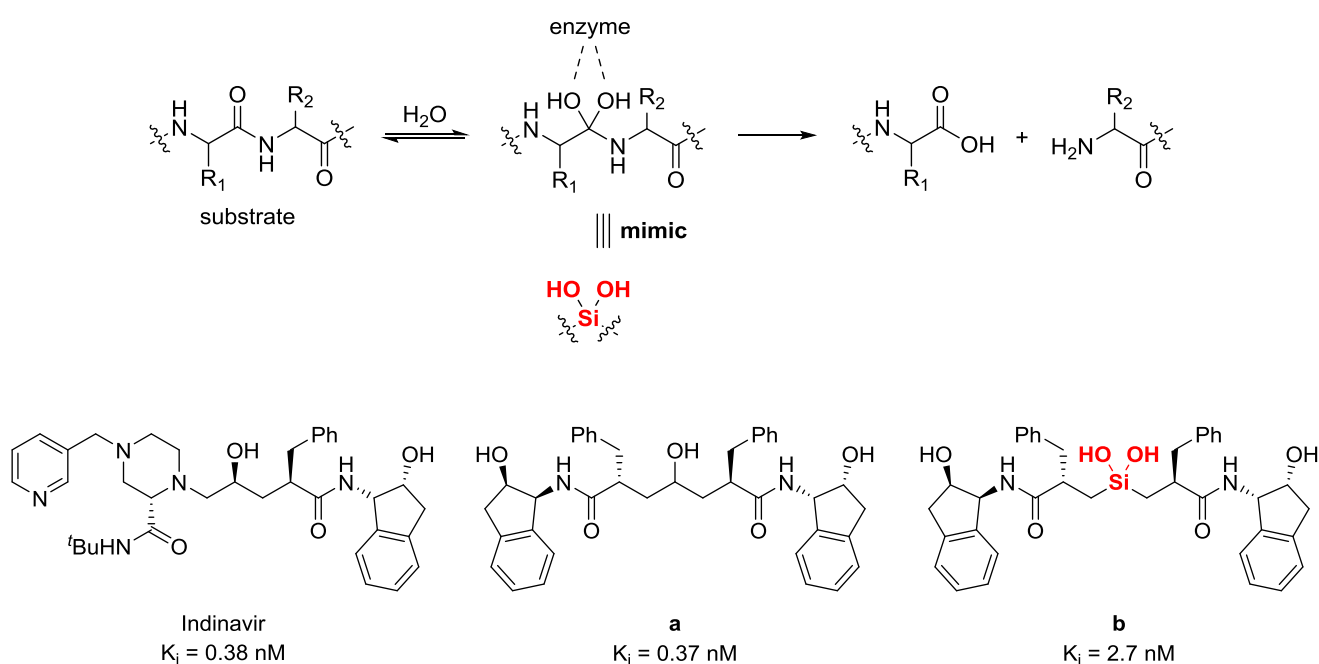


Figure 4. プロテアーゼの加水分解機構とシランジオールの遷移状態ミミック (上)

抗 HIV 治療薬インジナビルとシランジオール型阻害剤の構造 (下)

3. Chien-An Chen. Scott McN Sieburth. Athanasios Glekas. Gregory W Hewitt. George L Trainor. Susan Erickson-Viitanen. Sena S Garber. Beverly Cordova. Susan Jeffry. Ronald M K labelb. Drug design with a new transition state analog of the hydrated carbonyl: silicon-based inhibitors of the HIV protease. *Chem. Biol.* **2001**, *8*, 1161–1166.

## 1.5 創薬化学分野でのシラノールの利用例

シラノールの利用例としてはシラハロペリドールが知られている。統合失調症の治療薬として用いられているハロペリドールは、ドパミン  $D_2$  受容体を阻害することで強力な薬効を示す。しかし副作用として、生体内で生成する代謝物に由来する神経細胞毒性を示す (Figure 5 上)。一方、ハロペリドールのカルビノール部位をシラノールに置き換えた sila-ハロペリドールは、炭素-ケイ素二重結合が生成するような脱水反応が進行しないことから、毒性代謝物の生成を回避することができる (Figure 5 下)<sup>4</sup>。このように、シラノール基の導入により代謝特性を変化させられることが報告されている。これらは、ケイ素官能基の構造的な性質に着目したものであるが、その他のシラノール基の特性を利用した創薬化学研究は発展途上である。

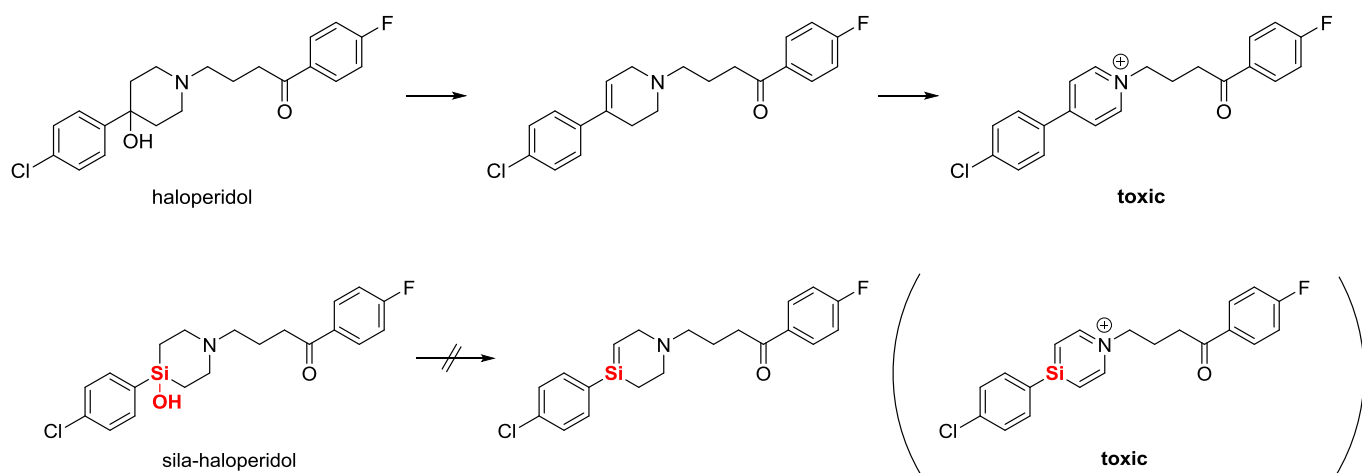


Figure 5. ハロペリドールの代謝経路 (上) とシラハロペリドールの代謝経路 (下)

4. Reinhold Tacke, Tilman Heinrich, Rüdiger Bertermann, Christian Burschka, Alexandra Hamacher, Matthias U. Kassack. Sila-haloperidol: A Silicon Analogue of the Dopamine ( $D_2$ ) Receptor Antagonist Haloperidol *Organometallics* **2004**, 23, 4468–4477.

## 第2節 本研究の目的

本研究では、シラノール基の新たな創薬応用の可能性の検討を目的として、シラノールの酸性度や疎水性に着目した生物活性化合物の創製を行った。具体的には、

- T1317 のヘキサフルオロヒドロキシプロピル基の代替置換基としての有用性の検討
- より一般的な酸性官能基であるカルボキシル基の代替置換基としての可能性を Am80 を基盤とした構造展開により検討

の2つを行った。

以下、第2章にて T1317 を基盤とした研究について、第3章にて Am80 を基盤とした研究について報告する。

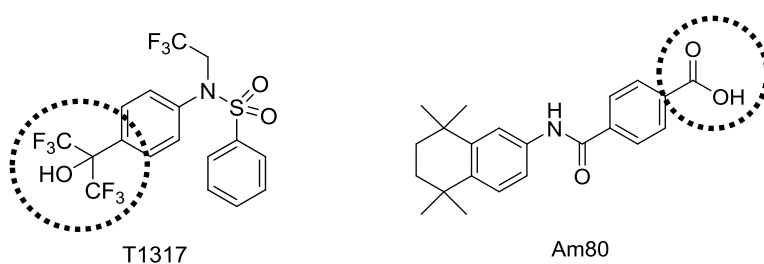


Figure 6. T1317 と Am80 の構造

## 第 2 章 パーフルオロアルコール基の代替置換基としてのシラノール基の医薬的有用性の検討

### 第 1 節 研究背景

#### 1.1 T0901317

T0901317 (T1317) は、核内受容体の一種である LXR (Liver X receptor) のアゴニストとして見出された合成低分子化合物である<sup>5</sup>。

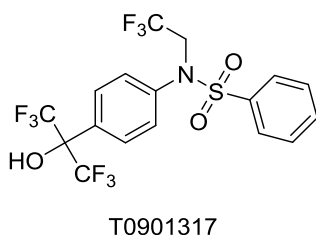


Figure 7. T0901317 の構造式

その後の研究により T1317 は LXR だけではなく、FXR (Farnesoid X receptor)、PXR (pregnane X receptor)、ROR (Retinoic acid receptor-related orphan receptor) 等の様々な核内受容体にも作用することが報告されている<sup>6</sup>。

---

5. Joshua R. Schultz.; Hua Tu.; Alvin Luk.; Joyce J. Repa.; Julio C. Medina.; Leping Li.; Susan Schwendner.; Shelley Wang.; Martin Thoolen.; David J. Mangelsdorf.; Kevin D. Lustig.; Bei Shan. Role of LXRs in control of lipogenesis. *GENES & DEVELOPMENT*. **2000**, *14*, 2831–2838.

6. Naresh Kumar.; Laura A. Solt.; Juliana J. Conkright.; Yongjun Wang.; Monica A. Istrate.; Scott A. Busby.; Ruben D. Garcia-Ordenez.; Thomas P. Burris.; Patrick R. Griffin. The Benzenesulfoamide T0901317

[*N*-(2,2,2-Trifluoroethyl)-*N*-[4-[2,2,2-trifluoro-1-hydroxy-1-(trifluoromethyl)ethyl]phenyl]-benzenesulfonamide] Is a Novel Retinoic Acid Receptor-Related Orphan Receptor-/Inverse Agonist. *Mol Pharmacol*. **2010**, *77*, 228–236

## 1.2 核内受容体

核内受容体は細胞核内で DNA の転写を調節する受容体型タンパク質であり、転写因子として機能することで様々な生理機能や疾患に関与している。核内受容体の転写メカニズムを Figure 8 に示す<sup>7</sup>。核内受容体の LBD (ligand binding domain) にホルモンが結合すると、核内受容体は dimer (二量体) を形成し、核内に移行して該当する遺伝子の応答領域 (response element、Figure 8 中では HRE 【hormone response element、ホルモン応答領域】と称している) に結合する。続いて、核内受容体から co-repressor が外れ、代わりに co-activator が結合し、その後、転写因子である coactivator、RNA 合成酵素である RNA polymerase も結合する。これにより標的遺伝子が mRNA として転写され、この mRNA が ribosome によってタンパク質として翻訳される。また、核内受容体においてホルモンの代わりに結合する低分子化合物を「リガンド」と呼ぶ。

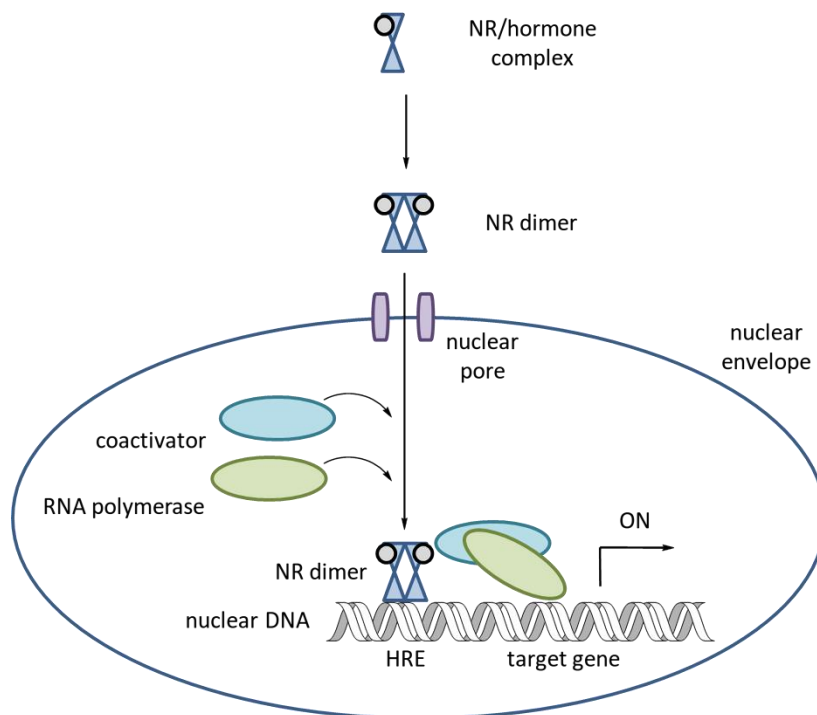


Figure 8. 核内受容体の転写メカニズム<sup>7</sup>

7. Sever R, Glass CK. Signaling by nuclear receptors. *Cold Spring Harb Perspect Biol.* **2013**, 5, a016709.

### 1.3 核内受容体のリガンド

核内受容体のリガンドにはアゴニスト (agonist)、アンタゴニスト (antagonist)、インバースアゴニスト (inverse agonist) の3種類がある。Figure 9 にその作用様式を示す。アゴニストは核内受容体に結合し、その転写を活性化する分子であり、対応するタンパク質の発現量を増加させる。一方、アンタゴニストはアゴニストと拮抗して転写活性化を抑制する分子である。生体内に存在するホルモンの中にはアゴニストとしてはたらくもの(これを内在性アゴニストと呼ぶ)があり、これに対してアンタゴニストを競合させると、相対的に受容体の転写活性化を弱めることができる。また、核内受容体の中にはアゴニストが結合していても恒常的に転写活性化しているものがあり、このような受容体に対してその転写を抑制する化合物はインバースアゴニストと呼ばれる。十分な濃度のリガンドを処理し、活性がプラトー (水平状態) に達した時の活性値を  $E_{max}$  (最大活性)、最大活性の50%の活性を示す濃度を  $EC_{50}$  (50%効果濃度) と呼ぶ。例としてアゴニストの  $E_{max}$  と  $EC_{50}$  を Figure 9 に示す。

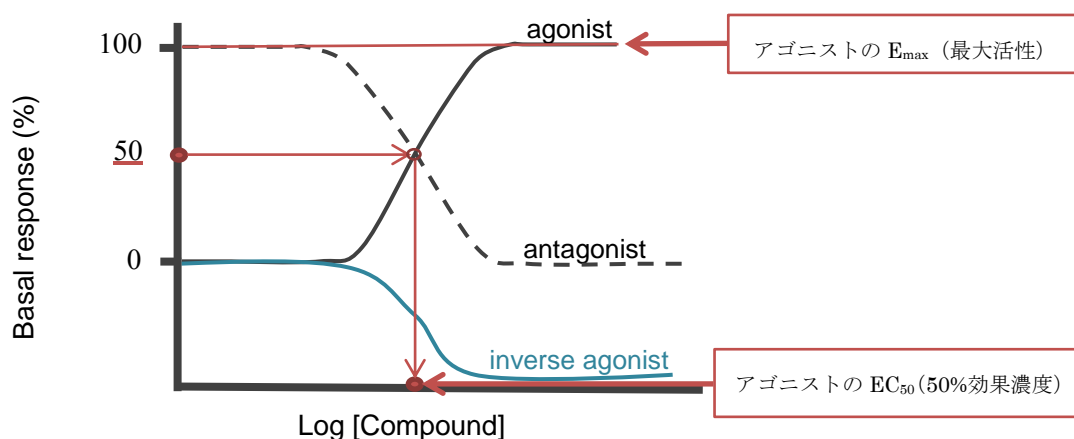


Figure 9. 核内受容体リガンドの作用様式

Basal response (0%) : (内在性アゴニストも含めて) アゴニスト不在時の転写活性度合い

Basal response (100%) : 内在性アゴニスト (フルアゴニスト) の  $E_{max}$  横軸は化合物濃度の常用対数値

#### 1.4 LXR (Liver X receptor)

LXR は核内受容体の一種である。LXR の内因性リガンドとしてはオキシステロール類が知られており、合成リガンドとしては T1317<sup>8</sup> の他、GW3965<sup>9</sup> がアゴニストとして知られている。また 5CPPSS-50 が LXR $\alpha/\beta$  に対するアンタゴニストとして報告されている<sup>10</sup>。LXR には $\alpha$ と $\beta$ の2つのサブタイプがある。LXR $\alpha$ は主に肝臓に多く発現しており、LXR $\beta$ は全身に発現している。LXR はコレステロールの分解やコレステロール逆輸送などに関与している。LXR アゴニストである T1317 は、高コレステロール血症や動脈硬化症の治療薬としての有用性が報告されている。しかし、LXR アゴニストがトリアシルグリセロールの合成を促進することから、T1317 の使用により高トリアシルグリセリド血症を発症させる可能性が示唆されている。

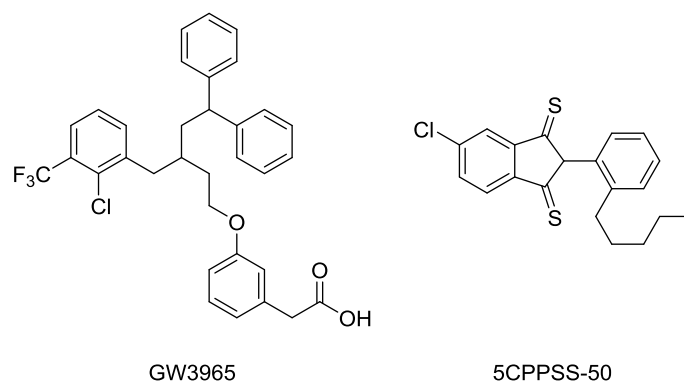


Figure 10. GW3965 と 5CPPSS-50 の構造式

8. Leping Lia, Jiwen Liu, Liusheng Zhu, Serena Cutler, Hirohiko Hasegawa, Bei Shan, Julio C. Medina. Discovery and optimization of a novel series of liver X receptor- $\alpha$  agonists. *J. Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2006**, *16*, 1638-1642.
9. Collins JL, Fivush AM, Watson MA, Galardi CM, Lewis MC, Moore LB, Parks DJ, Wilson JG, Tippin TK, Binz JG, Plunket KD, Morgan DG, Beaudet EJ, Whitney KD, Kliewer SA, Willson TM. Identification of a nonsteroidal liver X receptor agonist through parallel array synthesis of tertiary amines. *J. Med. Chem.* **2002**, *45*, 1963-1966.
10. Noguchi-Yachide, T., Miyachi, H., Aoyama, H., Aoyama, A., Makishima, M. and Hashimoto, Y. Structural development of liver X receptor (LXR) antagonists derived from thalidomide-related glucosidase inhibitors. *Chem. Pharm. Bull.* **2007**, *55*, 1750-1754.

### 1.5 FXR (Farnesoid X receptor)

FXR は核内受容体の一種である。FXR は胆汁酸を内因性のリガンドとし、合成リガンドとしては T1317 の他<sup>11</sup>、GW4064<sup>12</sup> がアゴニストとして知られている。FXR は小腸や肝臓に主に発現しており、胆汁酸の合成や排出、抱合、輸送等に関わる遺伝子を直接あるいは間接的に制御し、胆汁酸の恒常性を保っている。また FXR は、コレステロールや脂質の代謝のみならず、糖代謝にも深く関与しており、動脈硬化やその他の代謝性疾患の治療薬ターゲットとして期待されている。

- 
- 11 Joshua R. Schultz. Hua Tu. Alvin Luk. Joyce J. Repa. Julio C. Medina. Leping Li. Susan Schwendner. Shelley Wang. Martin Thoolen. David J. Mangelsdorf Kevin D. Lustig. Bei Shan. Role of LXRs in control of lipogenesis. *Genes Dev.* **2000**, 14, 2831–2838.
  - 12 Carmela Gnerre. Sharon Blättler. Michel R Kaufmann. Renate Looser. Urs A Meyer. Regulation of CYP3A4 by the bile acid receptor FXR: evidence for functional binding sites in the CYP3A4 gene. *Pharmacogenetics.* **2004**, 14, 635-645.



## 1.6 PXR (Pregnane X receptor)

PXR は核内受容体の 1 種であり、SXR (steroid and xenobiotic receptor、ステロイド生体異物受容体) とも呼ばれる。PXR は肝臓や小腸の他、卵巣や子宮にも発現しており、生殖機能において何らかの役割を果たしていると考えられている<sup>13</sup>。PXR の標的遺伝子としては、ステロイドや生体異物の代謝に深く関与している CYP3A4 (cytochrome P450 代謝酵素) や、薬物耐性因子である MDR1 (P 糖蛋白質の一種) が知られており、PXR はステロイドホルモン代謝や薬物耐性機構においても何らかの役割を果たしていると考えられる<sup>14, 15</sup>。PXR のリガンドとしては、合成リガンドとしてリファンピシン (Rifampicin) や T1317 などが知られており<sup>16</sup>、ステロイドホルモンであるプロゲステロン (Progesterone) やエストラジオール (Estradiol) なども PXR のリガンドである (Figure 12)<sup>17</sup>。また、これらの化合物は全てアゴニストとして作用するが、ケトコナゾール (ketoconazole) は数少ない PXR アンタゴニストとして報告されている<sup>18</sup>。

- 
- 13 Masuyama H, Hiramatsu Y, Mizutani Y, Inoshita H, Kudo T. The expression of pregnane X receptor and its target gene, cytochrome P450 3A1, in perinatal mouse. *Mol. Cell. Endocrinol.* **2001**, *172*, 47-56.
  - 14 J M Lehmann, D D McKee, M A Watson, T M Willson, J T Moore, S A Kliewer. The human orphan nuclear receptor PXR is activated by compounds that regulate CYP3A4 gene expression and cause drug interactions. *J.Clin. Invest.* **1998**, *102*, 1016-1023.
  - 15 Göran Bertilsson, Jessica Heidrich, Kristian Svensson, Michael Åsman, Lena Jendeberg, Mona Sydow-Bäckman, Rolf Ohlsson, Hans Postlind, Patrik Blomquist, Anders Berkenstam. Identification of a human nuclear receptor defines a new signaling pathway for CYP3A induction. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* **1998**, *95*, 12208-12213.
  - 16 NicoMitro, LeoVargas, RussellRomeo, AlanKoder, EnriqueSaez. T0901317 is a potent PXR ligand: Implications for the biology ascribed to LXR. *FEBS Lett.* **2007**, *581*, 1721-1726.
  - 17 Bruce Blumberg, Walid Sabbagh, Jr., Henry Juguilon, Jack Bolado, Jr., Casey M. van Meter, Estelita S. Ong, Ronald M. Evans. SXR, a novel steroid and xenobioticsensing nuclear receptor. *Cell* **1998**, *12*, 3195-3205.
  - 18 Hongwei Wang, Haiyan Huang, Hao Li, Denise G. Teotico, Michael Sinz, Sharyn D. Baker, Jeffrey Staudinger, Ganjam Kalpana, Matthew R. Redinbo, Sridhar Mani. Activated Pregnenolone X-Receptor Is a Target for Ketoconazole and Its Analogs. *Clin. Cancer Res.* **2007**, *13*, 2488-2495.

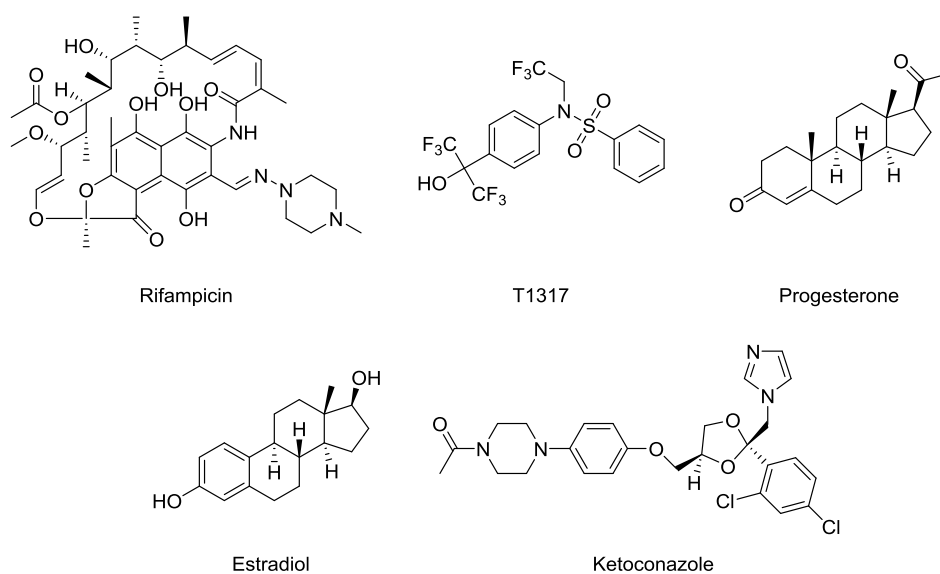


Figure 11. 既知 PXR リガンドの構造

### 1.3 ROR (Retinoic acid receptor - related orphan receptor)

ROR は、核内受容体に属する受容体群である。ROR の既知のリガンドは、天然物リガンドとして ATRA (all-*trans* retinoic acid) やコレステロール類などが、合成リガンドとして T1317 や SR1001 などが ROR インバーシアゴニストとして報告されている<sup>19</sup>。

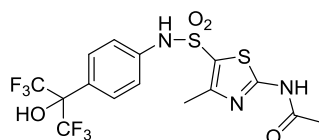


Figure 12. SR1001 の構造

19 Solt, L.; Kumar, N.; Nuhant, P.; Wang, Y.; Lauer, J.; Liu, J.; Istrate, M.; Kamenecka, T.; Roush, W.; Vidović, D.; Schürer, S.; Xu, J.; Wagoner, G.; Drew, P.; Griffin, P.; Burris, T. Suppression of T<sub>H</sub>17 differentiation and autoimmunity by a synthetic ROR ligand. *Nature* **2011**, *472*, 491-494.

RORには $\alpha$ 、 $\beta$ 、 $\gamma$ の3種類のサブタイプが存在し、 $\gamma$ には更にROR $\gamma$  (ROR $\gamma$ 1とも言う)とROR $\gamma$ 2 (ROR $\gamma$ tとも言う)の2種類が存在する。

ROR $\alpha$ は、肝臓、筋組織、皮膚、肺、脂肪組織、腎臓など様々な組織に発現しているが、特に小脳や視床において高頻度に発現している<sup>20,21</sup>。ROR $\beta$ は、視床下部や脳下垂体、網膜に発現していると報告されているが詳細な機能は不明である。またROR $\beta$ は錐体細胞や桿体細胞の成熟に関与しているとの報告もある<sup>22,23</sup>。ROR $\gamma$ 1は骨格筋、胸腺、腸、膵臓、前立腺、心臓、肝臓などで発現が報告されている<sup>24</sup>。一方、アイソフォームであるROR $\gamma$ tは、免疫に関連する特定の細胞で強く発現しており、リンパ器官形成に必須なLTi (Lymphoid tissue inducer cells) 細胞の成熟やTh17細胞の分化に関与しているとの報告がある<sup>25,26,27</sup>。

- 
- 20 Nakagawa, Y.; O'Leary, D. Dynamic patterned expression of orphan nuclear receptor genes ROR $\alpha$  and ROR $\beta$  in developing mouse forebrain. *Developmental neuroscience* **2003**, *25*, 234-244.
  - 21 Masana, M.; Sumaya, I.; Becker-Andre, M.; Dubocovich, M. Behavioral characterization and modulation of circadian rhythms by light and melatonin in C3H/HeN mice homozygous for the ROR $\beta$  knockout. *American journal of physiology. Regulatory, integrative and comparative physiology* **2007**, *292*, R2357-R2367.
  - 22 Srinivas, M.; Ng, L.; Liu, H.; Jia, L.; Forrest, D. Activation of the blue opsin gene in cone photoreceptor development by retinoid-related orphan receptor  $\beta$ . *Molecular endocrinology (Baltimore, Md.)* **2006**, *20*, 1728-1741.
  - 23 Benoit, G.; Cooney, A.; Giguere, V.; Ingraham, H.; Lazar, M.; Muscat, G.; Perlmann, T.; Renaud, J.-P.; Schwabe, J.; Sladek, F.; Tsai, M.-J.; Laudet, V. *International Union of Pharmacology. LXVI. Orphan nuclear receptors. Pharmacological reviews* **2006**, *58*, 798-836.
  - 24 Eberl G, Littman DR. The role of the nuclear hormone receptor ROR $\gamma$ t in the development of lymph nodes and Peyer's patches. *Immunol Rev.* **2003**, *195*, 81-90.
  - 25 Ivanov II, McKenzie BS, Zhou L, Tadokoro CE, Lepelley A, Lafaille JJ, Cua DJ, Littman DR. The orphan nuclear receptor ROR $\gamma$  directs the differentiation program of proinflammatory IL-17+ T helper cells. *Cell*, **2006**, *126*, 1121-1133.
  - 26 Nicolas Manel.; Derya Unutmaz.; Dan R Littman. The differentiation of human T<sub>H</sub>-17 cells requires transforming growth factor- $\beta$  and induction of the nuclear receptor ROR $\gamma$ t. *Nature Immunology* **2008**, *9*, 641- 649.
  - 27 Eberl, G.; Littman, D. The role of the nuclear hormone receptor ROR $\gamma$ t in the development of lymph nodes and Peyer's patches. *Immunological reviews* **2003**, *195*, 81-90.

## 第2節 研究計画

本研究ではシラノールに焦点を当て、シラノールの創薬化学での利用法を検討するため、シラノールとパーフルオロアルコールの類似性に着目した。パーフルオロアルコールは対応する炭化水素アルコールに比べ、高い酸性度や脂溶性を有しており、これはパーフルオロアルキル基と対応するアルキル基の電気陰性度や分子サイズの差異に起因している。同様に、シラノールも対応するアルコールに比べ、高い酸性度や脂溶性を有しており、これもシラノールと対応するアルコールの電気陰性度や分子サイズの差異に起因している。パーフルオロアルコール基の一つとしてヘキサフルオロヒドロキシプロピル基があり、これは様々な核内受容体のリガンドとして機能する T0901317 (T1317) の重要な部分構造である (Figure 14)。T1317 はベンゼンスルホンアミド構造をもつ低分子化合物であり、LXR、FXR、PXR などに対しアゴニストとして機能し、ROR などに対しインバースアゴニストとして機能する。また、T0901317 のヒドロキシ基周辺の置換基が生物活性や選択性に大きく影響していることが報告されている<sup>28, 29</sup>。そこで本研究では、T1317 のヘキサフルオロヒドロキシプロピル基をシラノール基に変換した化合物、および、その N 上の置換基を検討した化合物の設計・合成を行い、核内受容体に対する活性を精査することで、核内受容体リガンド創製におけるシラノール基の有用性の検討を試みた。またフルオロアルコールとシラノールで物性の差異が認められた場合は、その物性の違いから受容体選択性が変化する可能性も検討できると考えた。

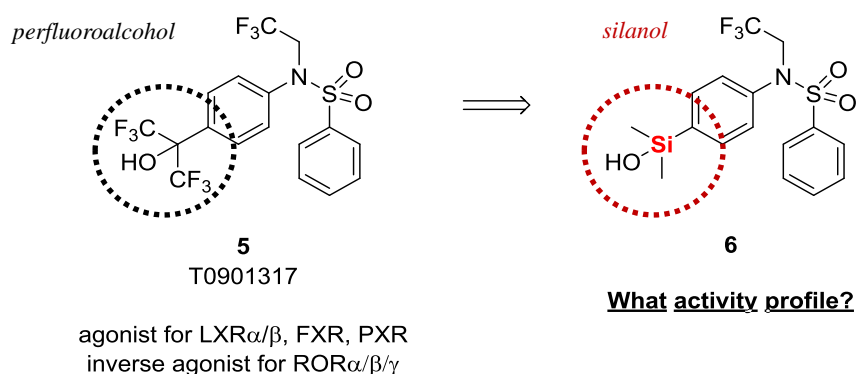


Figure 13. T1317 の構造と LXR のアミノ酸残基との相互作用の模式図

- 28 Xue Y, C.E., Zuercher WJ, Willson TM, Collins JL, Redinbo MR. Crystal structure of the PXR-T1317 complex provides a scaffold to examine the potential for receptor antagonism. *Bioorg. Med. Chem.* **2007**, *15*, 2156-2166.
- 29 S Fauber BP, de Leon Boenig G, Burton B, Eidenschenk C, Everett C, Gobbi A, Hymowitz SG, Johnson AR, Liimatta M, Lockey P, Norman M, Ouyang W, René O, Wong H. Structure-based design of substituted hexafluoroisopropanol-arylsulfonamides as modulators of ROR $\gamma$ . *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2013**, *23*, 6604-6609.

### 第3節 分子デザイン

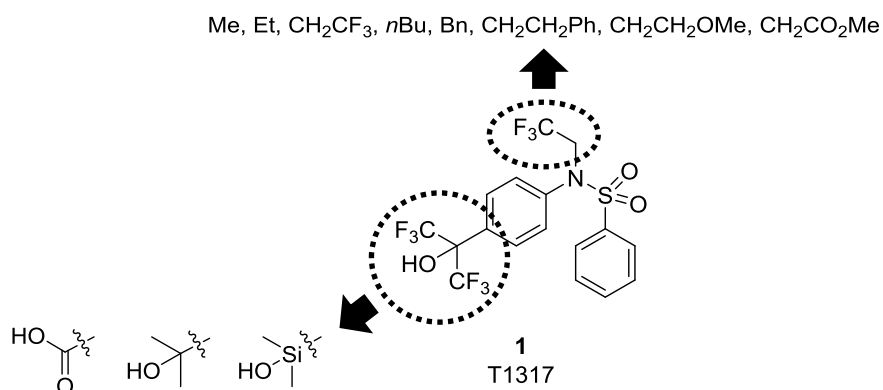
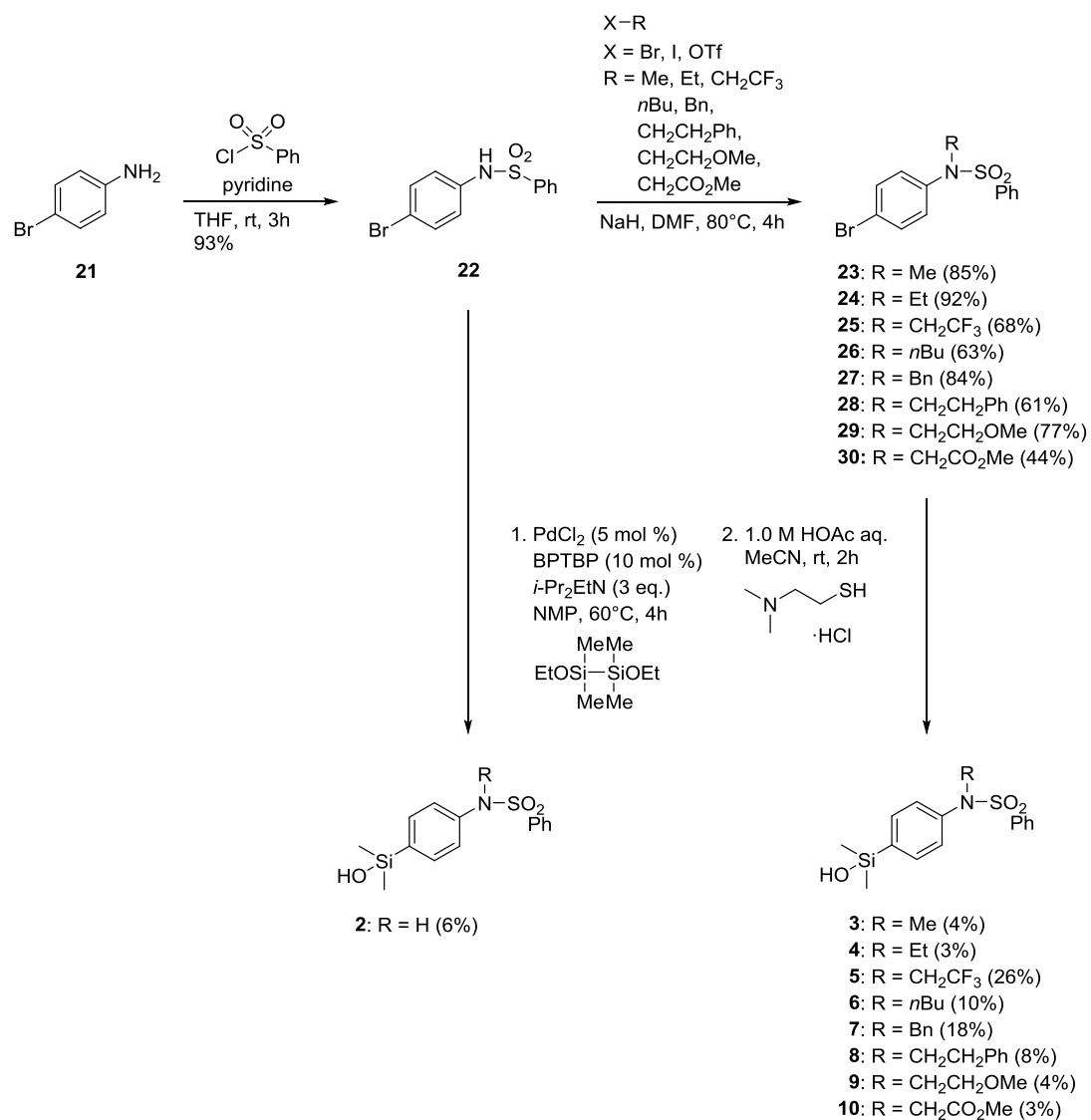


Figure 14. 分子デザインの概略図

炭素とケイ素の原子的な性質の違いから、一般的に分子内の炭素原子をケイ素原子に交換することにより疎水性が増大することや、シラノール基はカルビノール基と比較して高い酸性度をもつことが知られている。そこで、T1317 のヘキサフルオロヒドロキシプロピル基をシラノール基やカルビノール基へと変換した化合物を合成し、活性評価を行うことで、シラノール基がヘキサフルオロヒドロキシプロピル基の代替構造として機能する可能性を検討できると考えた。また、これらの置換基の物性の違いから、T1317 関連の受容体に対する選択性が変化する可能性を検討できると考えた。比較対象として、典型的な極性官能基であるカルボキシル基へと変換した化合物も合成した。さらに、T1317 の N 上の置換基を種々のアルキル基へと変換し、N 上置換基の活性や選択性に対する影響を検討した。

## 第4節 合成スキーム

### 4.1 合成に成功した化合物



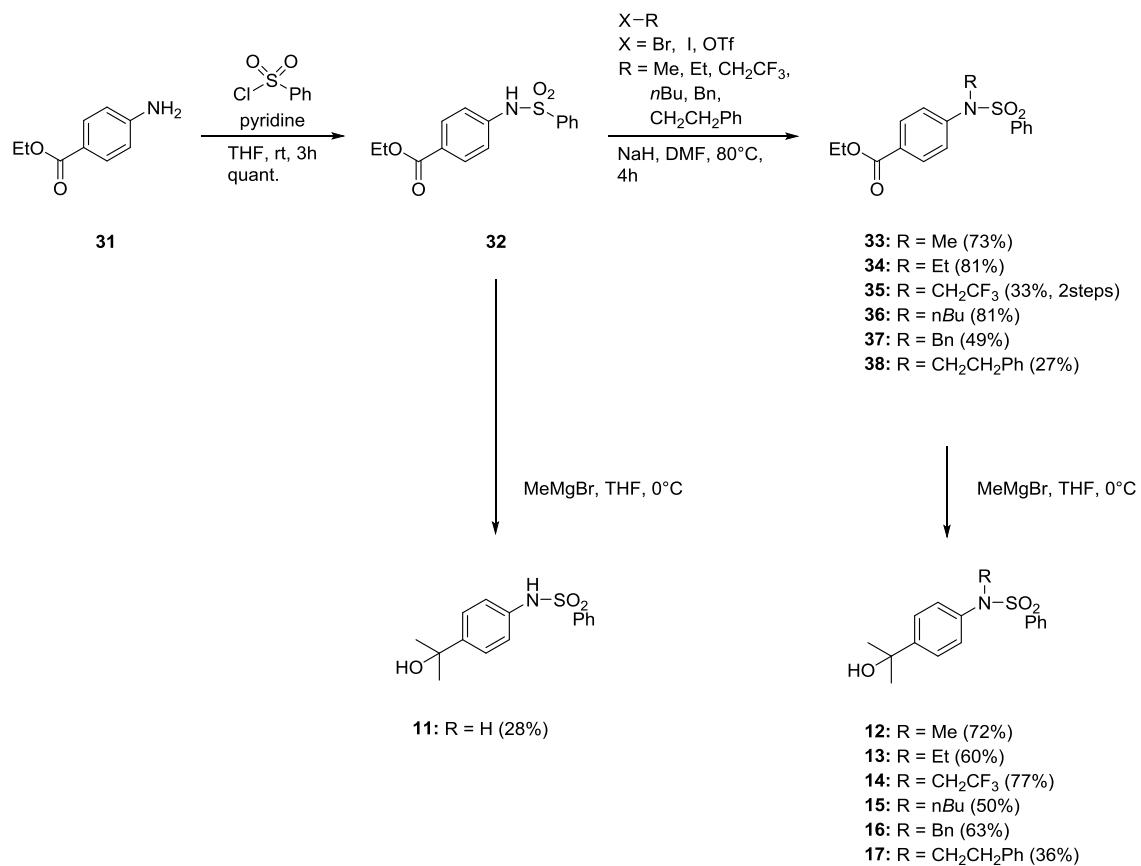
Scheme 1. シラノール 5 とその誘導体の合成スキーム

T1317 シラノール誘導体の合成スキームを Scheme 1 に示す。4-ブロモアニリン (**21**) とベンゼンスルホニルクロリドを反応させ、スルホンアミド **22** とした後、**22** と種々のハロゲン化アルキルを反応させ、**23-30** を得た。その後、既知反応に従い、PdCl<sub>2</sub> と BPTBP 存在下、**23-30** とジエトキシテトラメチルジシランを反応させ、加水分解することで、シラノール **3-10** を得た<sup>30</sup>。また、**22** を同様の条件に付すことで、N 上が水素原子のものであるシラノール **2** を得た。

シラノール (Si-OH) は酸性条件下でシロキサン (Si-O-Si) になりやすいことが知られているが、合成した全ての化合物について、重 DMSO を溶媒とした <sup>1</sup>H-NMR にてシラノールの OH のピークが確認でき、また、シラノールのマススペクトルも得られたため、目的物が合成できたと判断している。

---

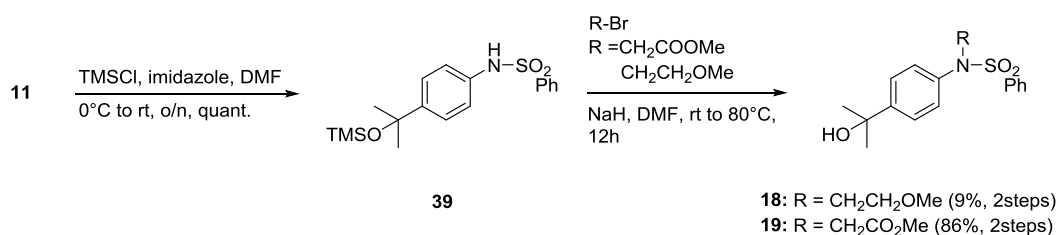
30 Scott E. Denmark.; Jeffrey M. Kallemeyn. Palladium-Catalyzed Silylation of Aryl Bromides Leading to Functionalized Aryldimethylsilanols *Org. Lett.* **2003**, *5*, 3483-3486.



Scheme 2. カルビノール **14** とその誘導体の合成スキーム

T1317 カルビノール誘導体の合成スキームを Scheme 2 に示す。4-アミノ安息香酸エチル (**31**) とベンゼンスルホニルクロリドを反応させ、スルホンアミド **32** を得た。**32** と種々のハロゲン化アルキルを反応させ、**33-38** を得た。**33-38** とメチルマグネシウムブロミドを反応させることで、カルビノール **12-17** を得た。また、**32** を同様の条件に付すことで、N 上が水素原子のものであるカルビノール **11** を得た。

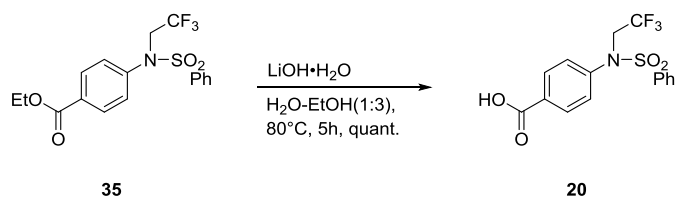




Scheme 3. カルビノール **18** と **19** の合成スキーム

N 上にメチルエステル基を有するカルビノール **19** は Scheme 2 では合成できない (MeMgBr がメチルエステルと反応する) と思われたので、Scheme 3 に従って合成した。

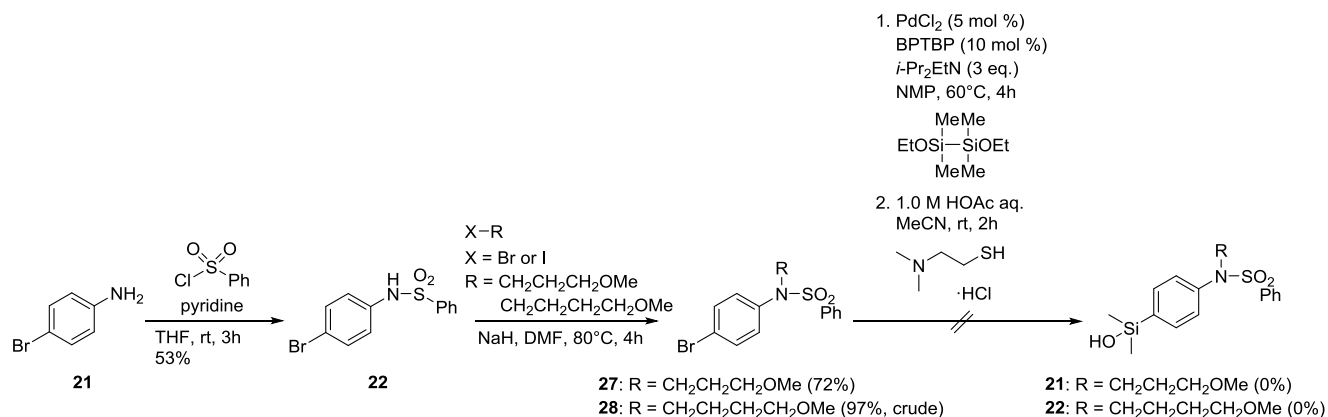
Scheme 2 に従ってカルビノール **11** を合成し、カルビノール **11** の OH 基を TMSCl で保護し **39** を得た。その後、**39** に N アルキル化反応を行ったところ、N 上がアルキル化され、かつ、TMS 基が外れた最終目的物 **18, 19** を得ることに成功した。なお、カルビノール **18** は Scheme 2 ではきれいな状態で単離することができなかつたので Scheme 3 で合成している。また、カルビノール **18** の収率が低いのは、N 上はアルキル化されたが TMS 基は外れていない本来の生成物が major で取れたためである。



Scheme 4. カルボン酸 **20** の合成スキーム

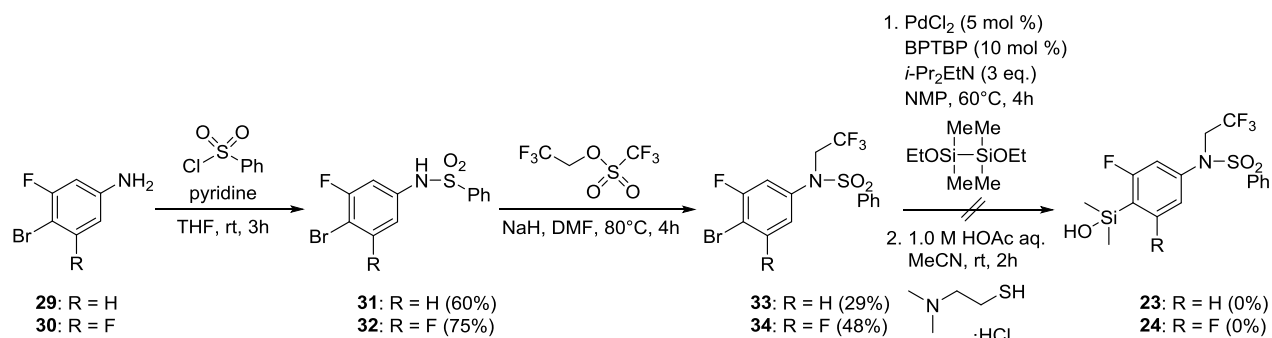
また、**35** のエステル部位を塩基性条件下で加水分解することで、カルボン酸 **20** を得た。

## 4.2 その他合成を試みた化合物



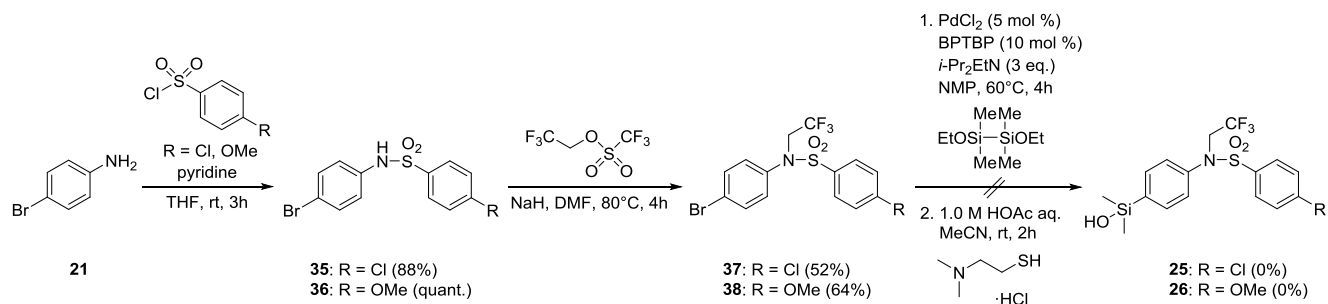
Scheme 5. シラノール **21**, **22** の合成スキーム

窒素原子上にメトキシエチル基を有するシラノール **9** の誘導体として、メトキシプロピル基を有する **21**、メトキシブチル基を有する **22** の合成を試みた。しかしながら、どちらのシラノールも単離することができず、対応するシロキササンが得られてしまった。シロキササンは得られているためシラノールを得る反応の 1 段階目は進行していると考え、2 段階目の加水分解の際の AcOH の濃度や、反応をクエンチする際の塩基の種類などを変更してみたが、目的のシラノールを得ることはできなかった。



Scheme 6. シラノール **23**, **24** の合成スキーム

シラノールの酸性度と生物活性の相関を検討するため、左側芳香環に F 原子を有するシラノール **23**, **24** の合成を試みた (近傍に電気陰性度の高い F 原子があればシラノールの OH の酸性度が上がると考えた) が、どちらの場合も目的のシラノールを得ることはできなかった。



Scheme 7. シラノール **25**, **26** の合成スキーム

右側芳香環の置換基と生物活性の相関を検討するため、右側芳香環に Cl、または、OMe 基を導入したシラノール **25**, **26** の合成も試みたが、目的のシラノールを得ることはできなかった。

またケイ素上にジメチル基ではなくジエチル基やジノルマルブチル基を導入したシラノールの合成も検討したが、既知反応では合成できず断念した。

## 第5節 物性評価

### ・LogP（オクタノール/水分配係数 LogP<sub>ow</sub>）の測定

合成した化合物の脂溶性を評価するため、HPLC を用いて LogP の測定を行った。測定は OECD テストガイドライン（TG）117 に則って行った<sup>31</sup>。

逆相 HPLC での保持係数  $k$  の常用対数  $\log k$  と  $\log P$  の間には相関がある。 $k$  は以下の式で表される。

$$k = \frac{t_R - t_0}{t_0} \quad \dots i$$

$t_R$ : 測定化合物の保持時間 (s)

$t_0$ : チオ尿素の保持時間 (s)

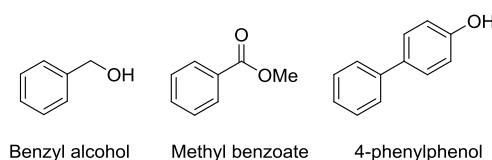
ここで  $t_0$  は、カラムとほとんど相互作用しない化合物であるチオ尿素の保持時間である。

よって、 $\log P$  が既知の化合物 (=標準物質) から  $\log k$  と  $\log P$  の一次相関を求め、評価化合物の  $\log k$  を代入することで  $\log P$  を算出することができる。以下に具体的な手法を示す。

#### ① 保持時間 $t_R$ の測定

逆相 HPLC を用いてチオ尿素、標準物質、化合物の  $t_R$  を測定した。標準物質は以下の 5 種類 (できるだけ  $\log P$  に差があるもの。  $\log P$  は文献値) を使用した。

- ベンジルアルコール ( $\log P = 1.1$ )
- 安息香酸メチル ( $\log P = 2.1$ )
- 4-フェニルフェノール ( $\log P = 3.2$ )
- 安息香酸ベンジル ( $\log P = 4.0$ )
- ジベンジル ( $\log P = 4.8$ )



また、測定条件は以下の通りである。

カラム : Inertsil ODS-4 (5  $\mu$ M, 4.6  $\times$  150 mm)

移動相 : アセトニトリル : 水 = 1 : 1

流速 : 1 mL/min

測定波長 : 254 nm, 210 nm

試料濃度 : 約 100  $\mu$ g/mL

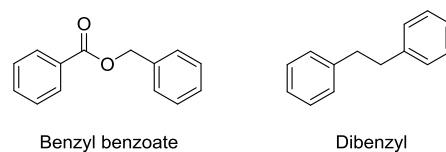


Figure 15. 標準物質の構造式

31 OECD Guideline for Testing of Chemicals 117, Partition Coefficient (n-octanol/water), High Performance Liquid Chromatography (HPLC) Method; March 1989.

## ② 検量線 ( $\log k - \log P$ ) の作成

測定した  $t_R$  と  $i$  式を用いて保持係数  $k$  を求め、その常用対数  $\log k$  を算出する。その後、 $\log P$  が既知である標準物質について、 $\log k$  と  $\log P$  をプロットし検量線を作成する。

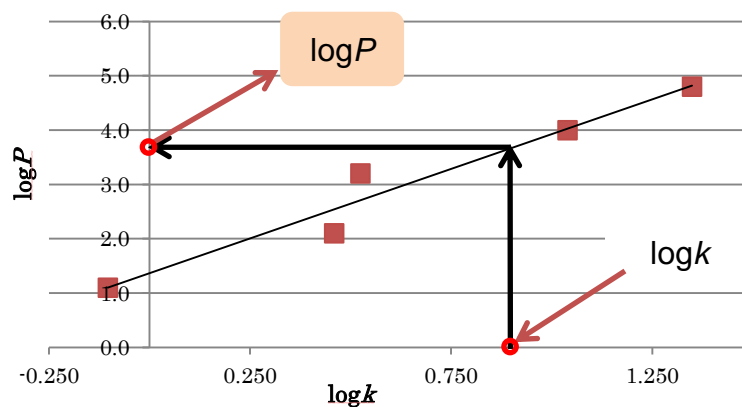


Figure 16. HPLC を用いた  $\log P$  算出の概要

## ③ $\log P$ の算出

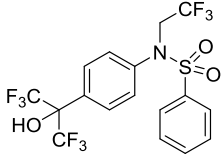
得られた検量線に対して同様にして求めた化合物の  $\log k$  を代入し、化合物の  $\log P$  を決定する。

以上の手法に基づき、合成した化合物の  $\log P$  の算出を行った。なお、ここで算出した  $\log P$  値は Table 2 にて核内受容体に対する活性値と合わせて示す。

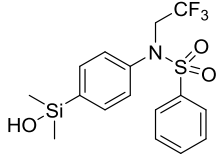
・分子サイズと  $pK_a$  の計算

T1317 とシラノール **5**、および、カルビノール **14** については、 $\log P$  の実測に加え、分子サイズと  $pK_a$  の計算を行った。これらの結果を Table 1 に示す。

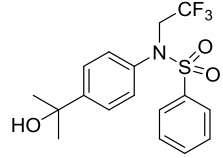
Table 1. 測定・計算した T1317 とシラノール **5**、カルビノール **14** の物性値



T1317



**5**



**14**

Compd.	T1317	<b>5</b> (silanol)	<b>14</b> (carbinol)
$\log P_{o/w}^a$	5.38	4.23	3.70
Partial volume (PhXR <sub>2</sub> OH) <sup>b</sup>	170.3	154.4	141.3
$pK_a^c$	7.5	12.5	14.6

<sup>a</sup> Determined by HPLC method <sup>31</sup>. <sup>b</sup> Calculated by MOPAC software (methods: PM3 EF) <sup>32</sup>.

<sup>c</sup> Estimated by ACD/Chemsketch software <sup>33</sup>.

シラノール **5** の  $\log P$  は 4.23 であり、これは対応するカルビノール **14** の  $\log P$  (3.70) より高いものであった。また、T1317 の  $\log P$  は 5.38 であり、これはシラノール **5** やカルビノール **14** の  $\log P$  より高いものであった。化合物の脂溶性はその分子体積に大きく依存しているため、化合物の部分体積 (PhXR<sub>2</sub>OH) を計算したところ、分子体積の順列は  $\log P$  の順列と一致した。さらに化合物の  $pK_a$  を計算したところ、シラノール **5** の  $pK_a$  (12.5) はカルビノール **14** の  $pK_a$  (14.6) よりも高いものであった。また、T1317 の  $pK_a$  は 7.5 であり、これはシラノール **5** やカルビノール **14** の  $pK_a$  より高いものであった。以上の結果から、脂溶性・酸性度共に、T1317 > シラノール **5** > カルビノール **14** の順に高いことが示唆された。

32 <http://openmopac.net/>

33 ACD/chemsketch (Freeware) 2012, version 14.01, Advanced Chemistry Development Inc, Toronto, ON, Canada, www.acdlabs.com, 2015.

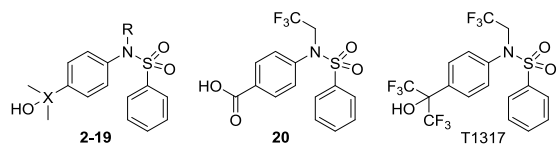


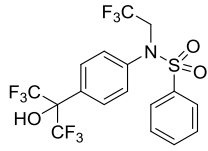
Table 2. 合成した化合物の核内受容体に対する活性

No	X	R	Log <i>P</i>	Clog <i>P</i>	hPXR	hROR $\alpha$	hROR $\beta$	hROR $\gamma$	hLXR $\alpha$		hLXR $\beta$		hFXR
						EC <sub>50</sub> ( $\mu$ M)			IC <sub>50</sub> ( $\mu$ M)			EC <sub>50</sub> ( $\mu$ M)	IC <sub>50</sub> ( $\mu$ M)
<b>1</b>	-	-	5.38	4.197	3.4	N.A.	N.A.	3.0	0.40	-	0.23	-	3.4
Rifampicin	-	-	-	-	2.0	-	-	-	-	-	-	-	-
KZ11	-	-	-	-	-	-	-	-	-	9.4	-	0.28	-
<b>20</b>	-	-	-	3.527	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.	-	N.A.	-	N.A.
<b>2</b>	Si	H	2.22	2.075	2.4	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.
<b>3</b>	Si	Me	2.90	2.291	3.4	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.
<b>4</b>	Si	Et	3.20	2.820	1.9	34% at 30 $\mu$ M	34% at 30 $\mu$ M	31% at 30 $\mu$ M	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.
<b>5</b>	Si	CH <sub>2</sub> CF <sub>3</sub>	4.23	3.084	0.63	53	60	43	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.	11
<b>6</b>	Si	<i>m</i> -Bu	4.05	3.878	6.5	31% at 30 $\mu$ M	N.A.	37% at 30 $\mu$ M	N.A.	14	N.A.	29	N.A.
<b>7</b>	Si	Bn	3.92	4.059	3.2	47% at 30 $\mu$ M	34% at 30 $\mu$ M	41% at 30 $\mu$ M	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.
<b>8</b>	Si	CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> Ph	4.32	4.388	14	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.
<b>9</b>	Si	CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> OMe	2.81	2.456	4.2	67% at 30 $\mu$ M	22	40	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.
<b>10</b>	Si	CH <sub>2</sub> COOMe	2.79	2.248	1.4	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.
<b>11</b>	C	H	1.79	2.250	4.6	46% at 30 $\mu$ M	42% at 30 $\mu$ M	37% at 30 $\mu$ M	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.
<b>12</b>	C	Me	2.45	2.466	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.
<b>13</b>	C	Et	2.75	1.103	N.A.	48% at 30 $\mu$ M	45	51% at 30mM	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.
<b>14</b>	C	CH <sub>2</sub> CF <sub>3</sub>	3.70	3.259	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.
<b>15</b>	C	<i>m</i> -Bu	3.60	4.053	1.1	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.	38	N.A.	30	N.A.
<b>16</b>	C	Bn	3.52	4.234	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.	13	N.A.	14	N.A.
<b>17</b>	C	CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> Ph	3.88	4.563	N.A.	17	31	28	N.A.	10	N.A.	12	N.A.
<b>18</b>	C	CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> OMe	2.35	2.631	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.
<b>19</b>	C	CH <sub>2</sub> COOMe	2.35	1.103	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.

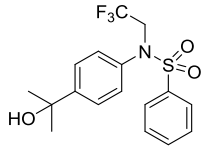
## 第6節 活性評価

HEK293 細胞を用いたルシフェラーゼレポータージーンアッセイにて、化合物の核内受容体に対する活性を評価した。評価した核内受容体は、T1317 が活性を有する LXR、FXR、PXR、ROR の 4 種類である。活性評価の結果、および、第 5 節で算出した  $\log P$  値を Table 2 に示す。

Table 3. T1317 とカルビノール **14** の活性値の比較



T1317 (1)

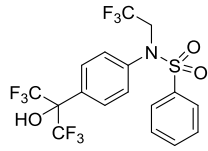


**14**

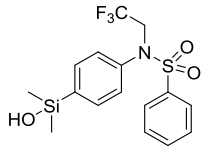
No.	Log <i>P</i>	hPXR	hROR $\alpha$	hROR $\beta$	hROR $\gamma$	hLXR $\alpha$		hLXR $\beta$		hFXR
		EC <sub>50</sub> ( $\mu$ M)	IC <sub>50</sub> ( $\mu$ M)			EC <sub>50</sub> ( $\mu$ M)	IC <sub>50</sub> ( $\mu$ M)	EC <sub>50</sub> ( $\mu$ M)	IC <sub>50</sub> ( $\mu$ M)	EC <sub>50</sub> ( $\mu$ M)
T1317 (1)	5.38	3.4	N.A.	N.A.	3.0	0.40	-	0.23	-	3.4
<b>14</b>	3.70	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.

T1317 は LXR $\alpha/\beta$ 、FXR、PXR に対してアゴニスト活性を、ROR $\gamma$  に対してインバースアゴニスト活性を示した。一方、T1317 のパーフルオロアルコール部位をイソプロピルアルコールへと変換したカルビノール **14** は、いずれの核内受容体にも有意な活性を示さなかった。以上の結果から、T1317 の高い酸性度や脂溶性がこれらの核内受容体に対する活性に重要である可能性が示唆された。

Table 4. T1317 とシラノール **5**、リファンピシンの活性値の比較



T1317 (1)



**5**

No.	Log <i>P</i>	hPXR	hROR $\alpha$	hROR $\beta$	hROR $\gamma$	hLXR $\alpha$		hLXR $\beta$		hFXR
		EC <sub>50</sub> ( $\mu$ M)	IC <sub>50</sub> ( $\mu$ M)			EC <sub>50</sub> ( $\mu$ M)	IC <sub>50</sub> ( $\mu$ M)	EC <sub>50</sub> ( $\mu$ M)	IC <sub>50</sub> ( $\mu$ M)	EC <sub>50</sub> ( $\mu$ M)
T1317 (1)	5.38	3.4	N.A.	N.A.	3.0	0.40	-	0.23	-	3.4
<b>5</b>	4.23	0.63	53	60	43	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.	11
Rifampicin	-	2.0	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.

シラノール **5** は、LXR $\alpha/\beta$  に対しアゴニスト活性もアンタゴニスト活性も示さなかったが、FXR に対しては弱いアゴニスト活性を示し、ROR $\alpha/\beta/\gamma$  に対してはインバースアゴニスト活性を示した。また、PXR に対しては比較的強いアゴニスト活性 (EC<sub>50</sub>=0.88  $\mu$ M、最大活性 61%) を示し、この活性は既知の PXR アゴニストであるリファンピシンのもの (EC<sub>50</sub>=1.1  $\mu$ M、最大活性 75%)



と同等であった。以上の結果は、PXR リガンドにおいては、シラノール基はパーフルオロアルキル基の代替構造として機能する可能性を示唆するものである。

Table 5. T1317 とシラノール/カルビノール誘導体の LXR アゴニスト/アンタゴニスト活性の比較

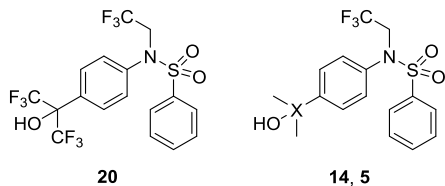
T1317 (1)

2-19

No.	X	R	Log <i>P</i>	hLXR $\alpha$		hLXR $\beta$	
				EC <sub>50</sub> ( $\mu$ M)	IC <sub>50</sub> ( $\mu$ M)	EC <sub>50</sub> ( $\mu$ M)	IC <sub>50</sub> ( $\mu$ M)
T1317 (1)	-	-	5.38	0.40	-	0.23	-
2	Si	H	2.22	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.
3	Si	Me	2.90	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.
4	Si	Et	3.20	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.
5	Si	CH <sub>2</sub> CF <sub>3</sub>	4.23	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.
6	Si	<i>n</i> -Bu	4.05	N.A.	14	N.A.	29
7	Si	Bn	3.92	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.
8	Si	CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> Ph	4.32	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.
9	Si	CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> OMe	2.81	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.
10	Si	CH <sub>2</sub> COOMe	2.79	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.
11	C	H	1.79	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.
12	C	Me	2.45	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.
13	C	Et	2.75	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.
14	C	CH <sub>2</sub> CF <sub>3</sub>	3.70	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.
15	C	<i>n</i> -Bu	3.60	N.A.	38	N.A.	30
16	C	Bn	3.52	N.A.	13	N.A.	14
17	C	CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> Ph	3.88	N.A.	10	N.A.	12
18	C	CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> OMe	2.35	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.
19	C	CH <sub>2</sub> COOMe	2.35	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.

N 上の置換基を変換した誘導体についても活性評価を行ったところ、T1317 は LXR $\alpha/\beta$  に対し強いアゴニストとして作用するが、シラノール/カルビノール誘導体のいずれも LXR $\alpha/\beta$  アゴニスト活性を有していないことが明らかとなった。これは、左側芳香環 *p* 位のヘキサフルオロヒドロキシプロピル基 (-C(CF<sub>3</sub>)<sub>2</sub>OH) は LXR アゴニスト活性の発現に重要であることを示唆するものである。

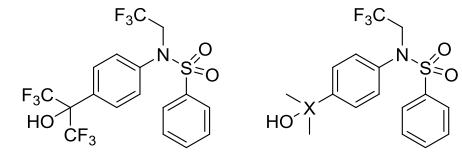
Table 6. カルボン酸 **20** とカルビノール **14**、シラノール **5** の活性値の比較



No.	X	Log <i>P</i>	hPXR	hROR $\alpha$	hROR $\beta$	hROR $\gamma$	hLXR $\alpha$		hLXR $\beta$		hFXR
			EC <sub>50</sub> ( $\mu$ M)	IC <sub>50</sub> ( $\mu$ M)			EC <sub>50</sub> ( $\mu$ M)	IC <sub>50</sub> ( $\mu$ M)	EC <sub>50</sub> ( $\mu$ M)	IC <sub>50</sub> ( $\mu$ M)	EC <sub>50</sub> ( $\mu$ M)
<b>20</b>	-	3.53	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.	-	N.A.	-	N.A.
<b>14</b>	C	3.70	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.
<b>5</b>	Si	4.23	0.63	53	60	43	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.	11

また、N 上がトリフルオロエチル基 (-CH<sub>2</sub>CF<sub>3</sub>) のものにおいて、カルボン酸 **20** やカルビノール **14** には、今回評価したいずれの核内受容体に対しても活性が認められなかったが、シラノール **5** には、PXR、ROR、FXR に対して活性が認められた。これは、シラノール基はこれら核内受容体リガンドの置換基として有用である可能性を示唆するものである。

Table 7. カルビノール／シラノール誘導体の PXR アゴニスト活性の比較



No.	20		14, 5	
	X	R	Log <i>P</i>	hPXR EC <sub>50</sub> (μM)
2	Si	H	2.22	2.4
3	Si	Me	2.90	3.4
4	Si	Et	3.20	1.9
5	Si	CH <sub>2</sub> CF <sub>3</sub>	4.23	0.63
6	Si	<i>n</i> -Bu	4.05	6.5
7	Si	Bn	3.92	3.2
8	Si	CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> Ph	4.32	14
9	Si	CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> OMe	2.81	4.2
10	Si	CH <sub>2</sub> COOMe	2.79	1.4
11	C	H	1.79	4.6
12	C	Me	2.45	N.A.
13	C	Et	2.75	N.A.
14	C	CH <sub>2</sub> CF <sub>3</sub>	3.70	N.A.
15	C	<i>n</i> -Bu	3.60	1.1
16	C	Bn	3.52	N.A.
17	C	CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> Ph	3.88	N.A.
18	C	CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> OMe	2.35	N.A.
19	C	CH <sub>2</sub> COOMe	2.35	N.A.

さらに、カルビノール誘導体は PXR アゴニスト活性がないものが多いが、シラノールは全て同活性を有していることから、三級炭素原子をケイ素原子に置換（カルビノールからシラノールに変換）することで、PXR アゴニスト活性が発現する傾向があることが明らかとなり、また、置換基が同一の場合、全てのシラノールは対応するカルビノールより Log*P* 値が（平均 0.44）高いことから、三級炭素原子をケイ素原子に置換（カルビノールからシラノールに変換）することで、化合物の脂溶性が増加することが明らかとなった。以上の結果から、化合物の脂溶性が増加すると PXR アゴニスト活性が発現すると思われるが、Log*P* 値が近いカルビノールとシラノールを比較すると、シラノールのみ PXR アゴニスト活性を有する場合はほとんどであるので、ケイ素を導入したことで PXR の活性を発現させる要因が脂溶性の増加以外にあると考えられる。

Table 8. カルピノール／シラノール誘導体の PXR アゴニスト活性の比較

No.	R	Log <i>P</i>	T1317 (1)				2, 3, 8, 10		hLXR β		hFXR EC <sub>50</sub> (μM)
			hPXR	hRORα	hRORβ	hRORγ	hLXR α		EC <sub>50</sub> (μM)	IC <sub>50</sub> (μM)	
			EC <sub>50</sub> (μM)	IC <sub>50</sub> (μM)			EC <sub>50</sub> (μM)	IC <sub>50</sub> (μM)	EC <sub>50</sub> (μM)	IC <sub>50</sub> (μM)	
T1317 (1)	-	5.38	3.4	N.A.	N.A.	3.0	0.40	-	0.23	-	3.4
<b>2</b>	H	2.22	2.4	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.
<b>3</b>	Me	2.90	3.4	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.
<b>8</b>	CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> Ph	4.32	14	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.
<b>10</b>	CH <sub>2</sub> COOMe	2.79	1.4	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.

構造展開の結果、N上に水素原子を有するシラノール**2**、メチル基を有するシラノール**3**、フェネチル基を有するシラノール**8**、メチルエステル基を有するシラノール**10**は、他の核内受容体に対しては活性を示さず、PXR 選択的なアゴニストとして作用することが明らかとなった。

## 第7節 ドッキングシミュレーション

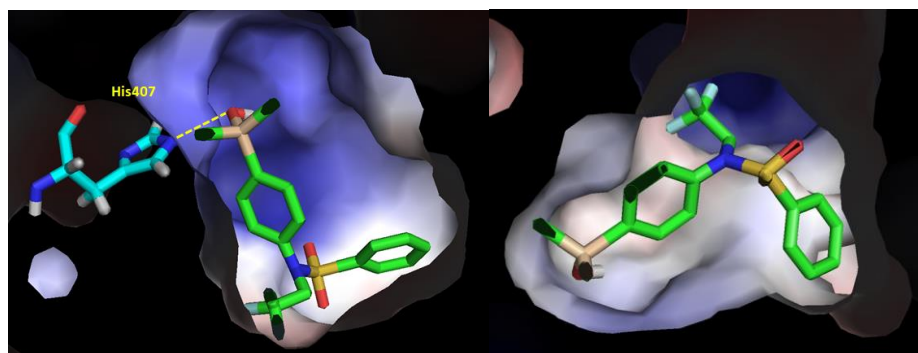


Figure 17. シラノール**5**とhPXR (左)、および、hRORγ (右) のドッキングシミュレーション

T1317 と hLXR $\alpha$ <sup>34</sup>、hLXR $\beta$ <sup>35</sup>、hPXR<sup>36</sup>、hROR $\gamma$ <sup>37</sup> との X 線共結晶構造が報告されているため、これらの結晶構造を用いてシラノール **5** のドッキングシミュレーションを行った。ROR $\gamma$  との共結晶構造では、T1317 のヘキサフルオロヒドロキシプロピル基はどのアミノ酸とも水素結合をしていない。シラノール **5** と ROR $\gamma$  とのドッキングでも同様に、シラノール **5** の OH 基はどのアミノ酸とも水素結合をしていなかった (Figure 17 左)。これらの結果から、ROR $\gamma$  の活性には水素結合のような極性相互作用よりも、化合物の脂溶性に起因する疎水性相互作用の方が重要である可能性がある。カルビノール **14** に ROR $\gamma$  に対する活性が無く、シラノール **5** に活性が認められたのは、化合物の疎水性の差異によるものかもしれない。

LXR $\alpha$ 、LXR $\beta$ 、PXR との共結晶構造では、T1317 のヘキサフルオロヒドロキシプロピル基はそれぞれ His 421、His 435、His 407 と水素結合をしていた。シラノール **5** と PXR とのドッキングでも同様に、シラノール **5** の OH 基は His 407 と水素結合をしていた (Figure 17 右)。T1317 には PXR と LXR の両方に対する活性があり、シラノール **5** には PXR のみに活性があり、カルビノール **14** には両者の活性が認められなかったことを踏まえると、PXR の活性には OH 基周辺の疎水性が重要であるが、LXR の活性には疎水性と OH 基の高い酸性度の両方が重要であることが示唆された。

- 
- 34 Stefan Svensson.; Tove Östberg.; Micael Jacobsson.; Carina Norström.; Karin Stefansson.; Dan Hallén.; Isabel Climent Johansson.; Kristina Zachrisson.; Derek Ogg.; Lena Jendeberg. Crystal structure of the heterodimeric complex of LXR $\alpha$  and RXR $\beta$  ligand-binding domains in a fully agonistic conformation. *EMBO J.* **2003**, 22, 4625-4633.
- 35 Hoerer S.; Schmid A.; Heckel A.; Budzinski RM.; Nar H. Crystal structure of the human liver X receptor beta ligand-binding domain in complex with a synthetic agonist. *J. Mol. Biol.* **2003**, 334, 853-861.
- 36 Yu Xue.; Esther Chao.; William J. Zuercher.; Timothy M. Willson.; Jon L. Collins.; Matthew R. Redinbo. Crystal Structure of the PXR-T1317 Complex Provides a Scaffold to Examine the Potential for Receptor Antagonism. *Bioorg. Med. Chem.* **2007**, 15, 2156-2166.
- 37 Fauber BP.; de Leon Boenig G.; Burton B.; Eidenschenk C.; Everett C.; Gobbi A.; Hymowitz SG.; Johnson AR.; Liimatta M.; Lockey P.; Norman M.; Ouyang W.; René O.; Wong H. Structure-based design of substituted hexafluoroisopropanol-arylsulfonamides as modulators of RORc. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2013**, 23, 6604-6609.

## 第8節 本章のまとめ

本研究では、創薬化学分野におけるシラノールの有用性を拡大するため、パーフルオロアルコールの代替構造としてのシラノールに着目し、T1317 シラノール誘導体の設計・合成を行い、物性・生物活性を比較した。報告の通り、T1317 には LXR $\alpha/\beta$ 、FXR、PXR、ROR $\gamma$  に対し活性が認められたが、シラノール**5**には FXR パーシャルアゴニスト活性、PXR アゴニスト活性、ROR インバースアゴニスト活性のみが認められた。一方、カルビノール **14** には LXR $\alpha/\beta$ 、FXR、PXR、ROR のいずれに対しても活性が認められなかった。活性の違いは、シラノールとパーフルオロアルコールにおける脂溶性の類似性と、酸性度の相違性によるものと考えられる。また構造展開の結果、PXR 選択的なアゴニストを創製することに成功した。このような化合物は PXR の更なる生理機能解明や PXR を標的とした医薬研究に貢献できる可能性がある。本研究の結果は、シラノールが生物活性化合物の創製において、活性・選択性を向上させる際の有用なオプションとなることを示唆するものである。

### 第3章 カルボキシル基の代替置換基としてのシラノール基の医薬的有用性の検討

#### 第1節 研究背景

Am80 (化合物名: タミバロテン、薬品名: アムノレイク) は 90 年代後半、首藤らによって創製された合成レチノイドであり、ATRA の合成アナログである (Figure 18)<sup>38</sup>。Am80 は、左側のテトラメチルテトラヒドロナフタレン骨格で ATRA の左側の構造を模倣し、アミド結合とベンゼン環で ATRA のカルボキシル基にいたる共役二重結合を模倣している。ATRA はビタミン A の一種であるレチノイン酸のうち、全ての二重結合が *trans* 型をとった *all-trans* 異性体である (Figure 18)。ATRA は 1960 年代、スイスのロシュ社によってビタミン A からスクリーニング・合成され、現在ではニキピヤシミ等の治療医薬品として広く用いられている。Am80 は、急性前骨髄球性白血病 (APL, acute promyelocytic leukemia) の治療薬として用いられている。APL では遺伝子異常により RAR $\alpha$  (retinoic acid receptor  $\alpha$ , レチノイン酸受容体 $\alpha$ ) の機能が抑えられており、その結果、細胞が正常に分化・成熟できず、がん化 (白血病細胞化) する<sup>39</sup>。Am80 は RAR $\alpha$  のアゴニストとして作用し RAR $\alpha$  を活性化することで、細胞の分化・成熟を促進させ、計画細胞死 (アポトーシス) により白血病細胞を死滅させるといわれている<sup>39</sup>。

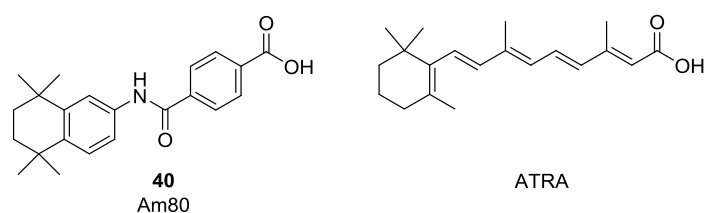


Figure 18. Am80 と ATRA の構造

38 Hiroyuki Kagechika, Emiko Kawachi, Yuichi Hashimoto, Koichi Shudo, Toshiyuki Himi. Retinobenzoic acids. 1. Structure-activity relationships of aromatic amides with retinoidal activity. *J. Med. Chem.* **1988**, *31*, 2182

39 日本成人白血病治療共同研究グループ (JALSG)、ホームページ「2. 白血病の原因」  
<http://www.jalsg.jp/leukemia/cause.html>

## 第2節 研究計画と分子デザイン

合成レチノイドの創製研究において極性ファーマコフォアとしてのカルボキシル基は必須とされており、安息香酸部位を持たない合成レチノイドの報告例はほとんどなされていない。私は、第一章にて説明した研究で、シラノール基が酸性水酸基の代替置換基として有用であることを示した。そこで、Am80のカルボキシル基をシラノール基やヘキサフルオロヒドロキシプロピル基へと変換した化合物を合成し、活性評価を行うことで、シラノール基がカルボキシル基の代替構造として機能する可能性を検討できると考えた。また比較対象として、水酸基を持たないシラン誘導体と無置換体の合成も行った。シラノール基がカルボキシル基の代替置換基として利用できるのであれば、カルボキシル基を持つ他の生物活性化合物の構造展開において、酸性度を維持しつつ脂溶性を向上させたい際などにシラノール基が応用できる可能性が考えられ、今後の創薬研究における構造展開の幅を広げることにも貢献できると考えられる。

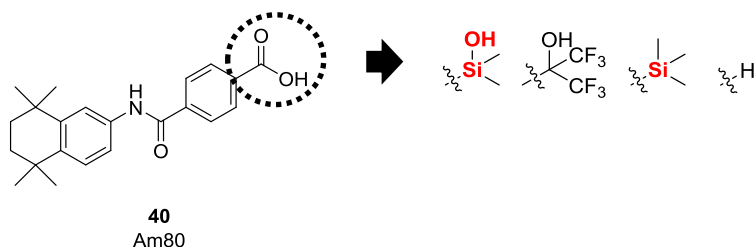
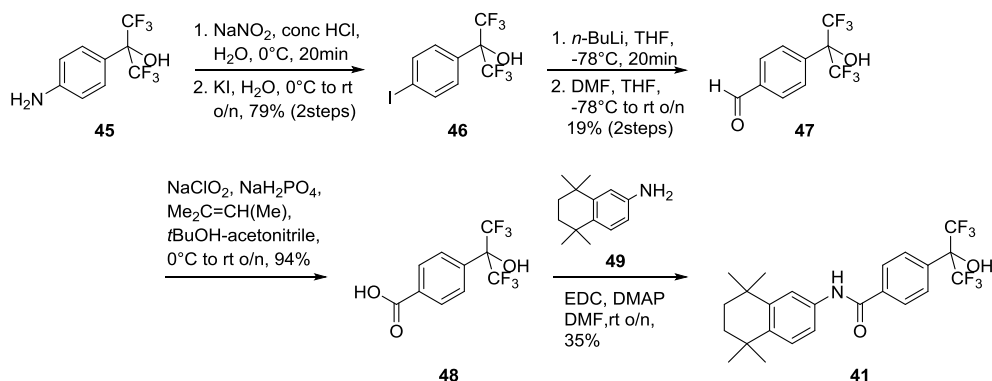


Figure 19. 分子デザインの概略図

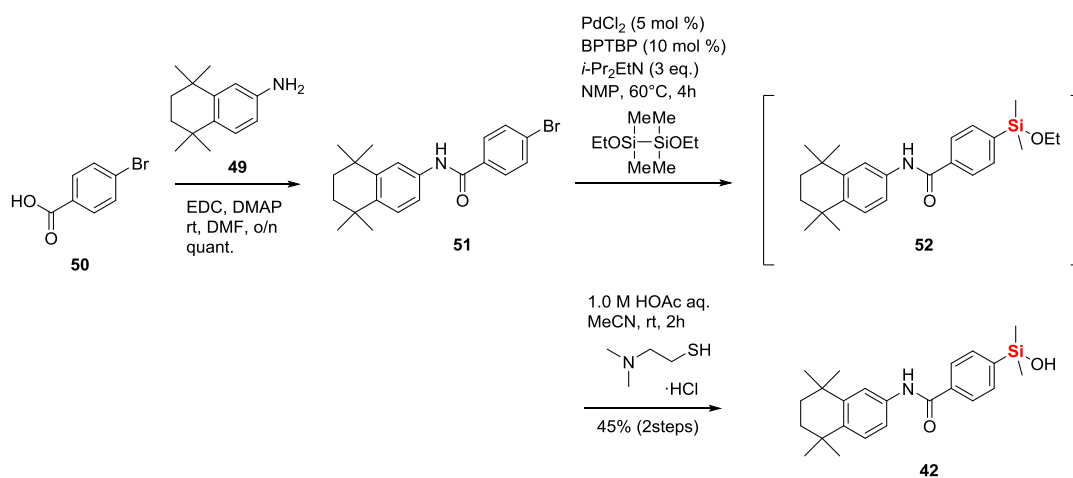


### 第3節 合成スキーム



Scheme 8. フルオロアルコール **41** の合成スキーム

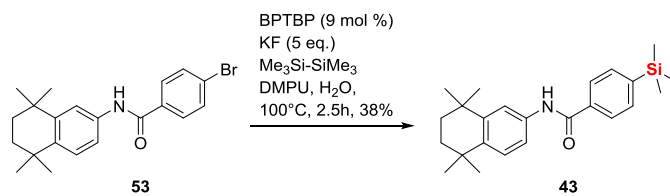
4-ヘキサフルオロ-2-ヒドロキシプロピルアニリン **45** を出発原料とし、ジアゾ化後 KI を処理することでヨード体 **46** を得た。**46** をリチオ化し DMF を処理することでアルデヒド **47** とした後、ピニック酸化によりカルボン酸 **48** とした。カルボン酸 **48** とアミン **49** を縮合させることで、目的とするフルオロアルコール **41** を得た。



Scheme 9. シラノール **42** の合成スキーム

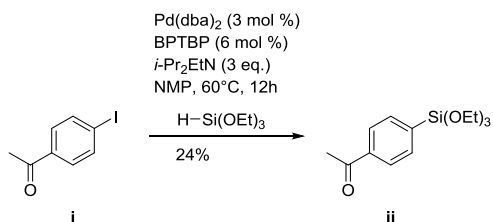
カルボン酸 **50** を出発原料とし、アニリン **49** と縮合させることで、アミド **51** を得た。その後既知反応<sup>40</sup>に従い、PdCl<sub>2</sub>と BPTBP 存在下、**51** とジエトキシテトラメチルジシランを反応させシルルエステル **52** とした後、加水分解することでシラノール **42** を得た。

40 Denmark, S. E.; Kallemejn, J. M. *Org. Lett.* **2003**, *5*, 3483.



Scheme 10. TMS 体 **43** の合成スキーム

既知反応<sup>41</sup>に従い、前述のスキームにて合成したブロモ体 **53** に KF と BPTBP 存在下、ヘキサメチルジシランを反応させることで TMS 体 **43** を得た。

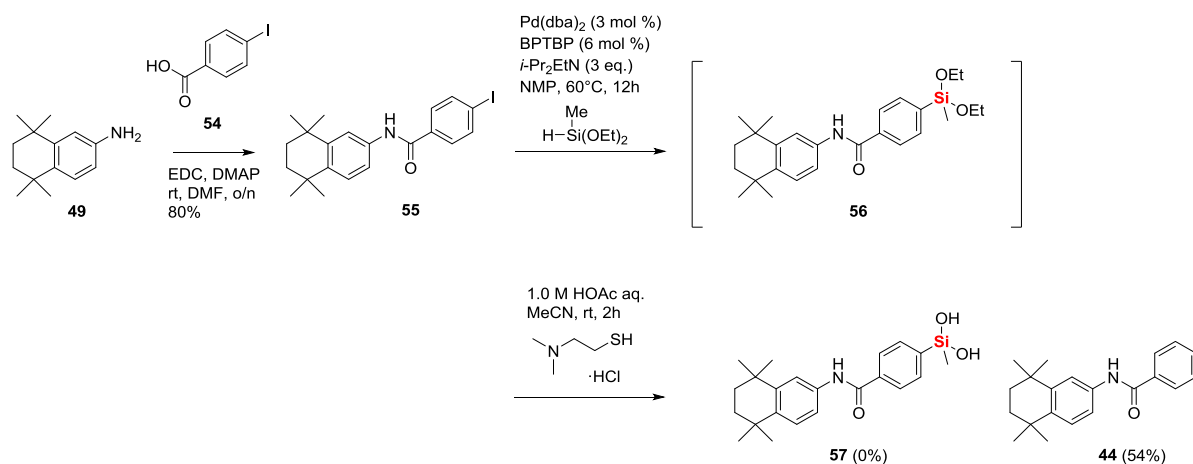


Scheme 11. ヨードベンゼン誘導体とトリエトキシシランのカップリング反応

既知反応<sup>42</sup>で、前述のシラノールを合成した際の 1 段階目のものとほぼ同じ条件で、芳香環に直結した I にトリエトキシシランを Pd 触媒存在下カップリングさせ、シリルエステルを合成するものがあつた (Scheme 8)。

41 Lukas J. Gooßen, Abdel-Rahman S. Ferwanah. *Synlett* **2000**, 12, 1801.

42 Amy S. Manoso, Philip DeShong. *J. Org. Chem.* **2001**, 66, 7449.



Scheme 12. シランジオール **57** の合成スキーム

そこで、トリエトキシシランをジエトキシメチルシランに代え、**55** のような化合物を同様の条件で反応させシリルエステル **56** とした後、シラノールを合成した際の 2 段階目の条件で加水分解することで、シランジオール **57** が合成できるのではないかと考えた (Scheme 9)。アニリン **49** を出発原料とし、カルボン酸 **54** と縮合させることで、アミド **55** を得た。Pd(dba)<sub>2</sub> と BPTBP 存在下、**55** とジエトキシメチルシランを反応させた後、加水分解することでシランジオール **57** を得ようとしたが目的物は得られず、代わりに **55** の I が外れた化合物 **44** が主生成物として得られた。

シランジオール **55** の合成は一時中断し、ここまでで合成できたフルオロアルコール **41**、シラノール **42**、TMS 体 **43**、無置換体 **44**、4 種の Am80 関連の生物活性評価を行った。

## 第4節 活性評価

### レポータージーンアッセイ

Am80 とその誘導体 **41**, **42** のレチノイド関連核内受容体 (RAR $\alpha/\beta/\gamma$ , RXR $\alpha/\beta/\gamma$ , ROR $\alpha/\beta/\gamma$ ) に対する活性をルシフェラーゼレポータージーンアッセイにより評価した。RAR と RXR についてはアゴニスト活性を、ROR についてはインバースアゴニスト活性を評価した (**43**, **44** は未評価)。

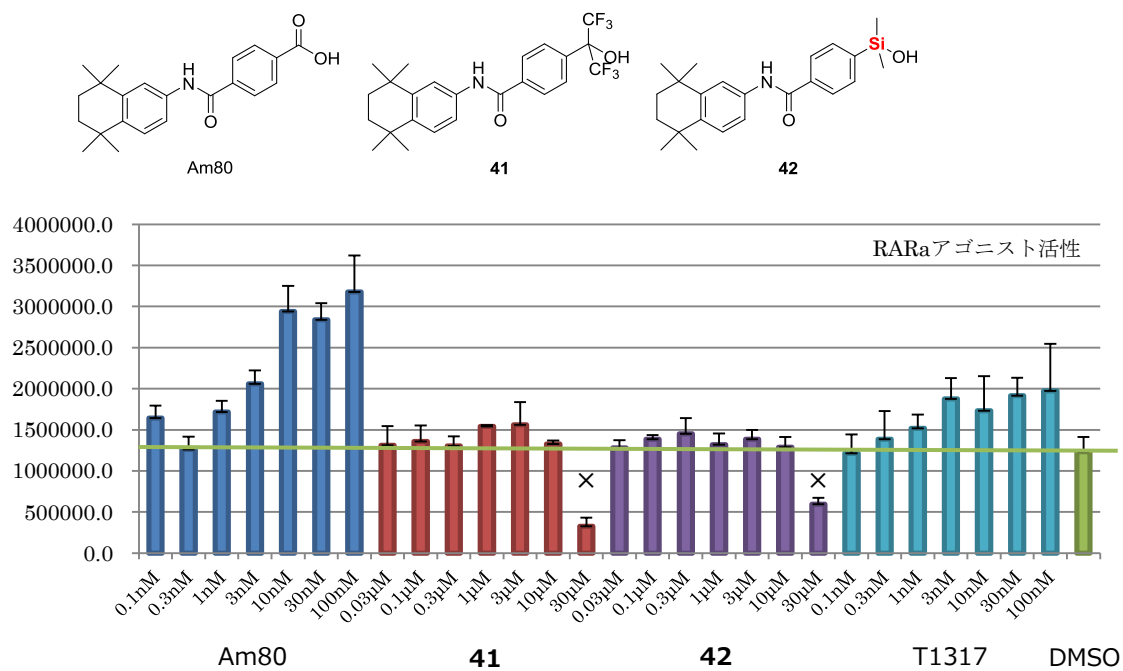


Figure 20. Am80 とその誘導体 **41**, **42** の RAR $\alpha$ アゴニスト活性評価

Am80 誘導体 **41**, **42** には今回評価したいずれの核内受容体に対しても有意な活性が認められなかった (Figure 20 には代表として RAR $\alpha$ の結果を示した)。

## HL-60 分化誘導活性評価

ヒト骨髄性白血病細胞 HL-60 を用いて、合成した化合物と Am80 の分化誘導活性を評価した。プロトコールは以下の通りである。

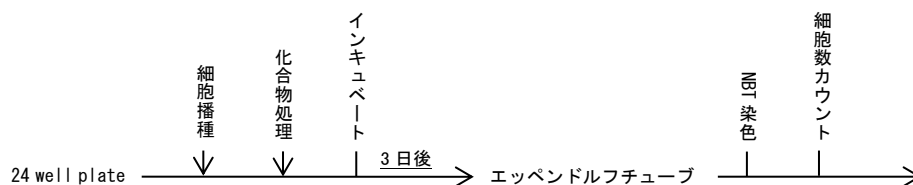


Figure 21. HL-60 分化誘導活性のプロトコール

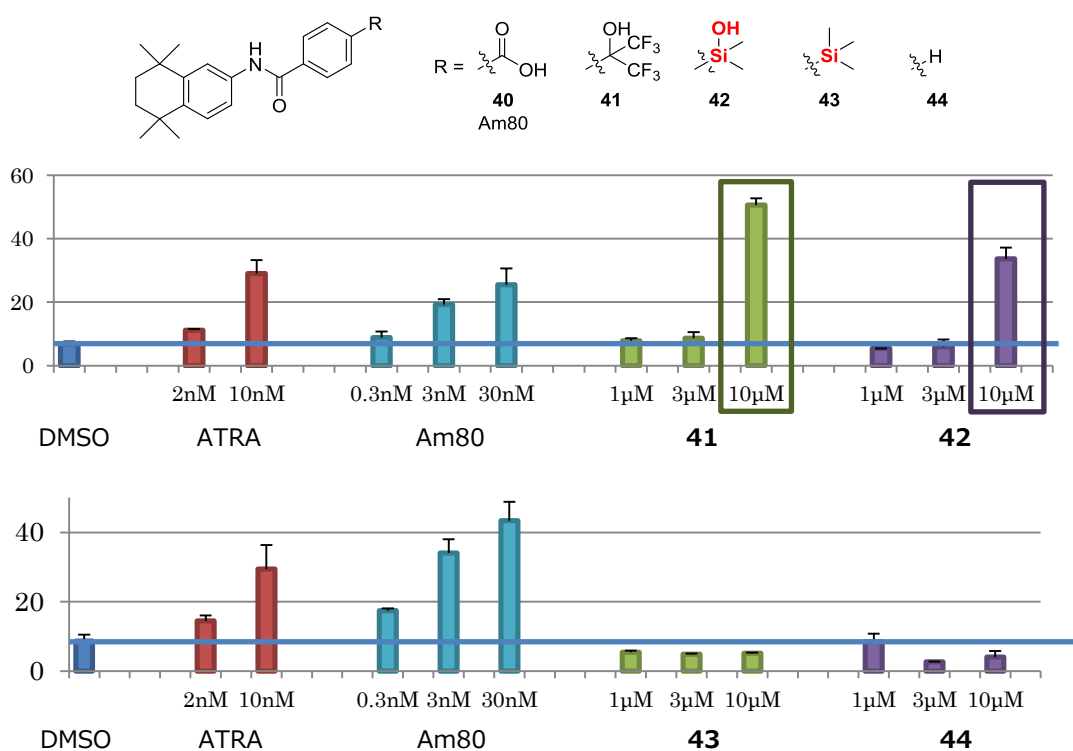


Figure 22. Am80 誘導体の HL-60 分化誘導活性

フルオロアルコール **41**、および、シラノール **42** は、リードである Am80 に比べ高い濃度を必要とするものの、分化誘導剤である ATRA を併用することなく HL-60 に対して 10μM で分化誘導活性を示すことが分かった。一方、水酸基を持たないシラン誘導体 **43** や無置換体 **44** は 10μM でも同活性を全く示さなかった。以上の結果から、シラノール、および、フルオロアルコールは HL-60 分化誘導活性に重要であることが明らかとなった。フルオロアルコール **41** とシラノール **42** が RARα を介して分化誘導活性を示しているのかを含め、これらの発現機序について現在検討しており、シラノール基が HL-60 分化誘導剤において有用であることを示したいと考えている。

## 第5節 本章のまとめ

シラノール基の代替置換基としての更なる可能性を検討すべく、より一般的な極性官能基であるカルボキシル基をもつ Am80 を題材に構造展開を行った。Am80 のカルボキシル基をフルオロアルコール基やシラノール基へと変換し、HL-60 細胞を用いて分化誘導活性の評価を行った。その結果、フルオロアルコール **41**、シラノール **42** は 10 $\mu$ M で分化誘導活性を示すことが明らかとなった。一方、ケイ素上に水酸基を持たないシラン誘導体 **43** や無置換体 **44** は 10 $\mu$ M でも同活性を全く示さなかった。この結果は、シラノール基がカルボキシル基の代替置換基として利用できる可能性を示したものである。シラノール基がカルボキシル基の代替置換基として利用できるのであれば、カルボキシル基を持つ他の生物活性化合物の構造展開において、酸性度を維持しつつ脂溶性を向上させたい際などにシラノール基が応用できる可能性がある。現在、フルオロアルコール **41**、シラノール **42** の分化誘導活性発現機序について検討中である。

#### 第4章 総括

私は博士課程の研究において、ケイ素の創薬化学への応用拡大を目的として、T1317 と Am80 の2つを題材に、シラノール基の特性を活かした新規生物活性化合物の創製を行った。T1317 誘導体では、シラノールとフルオロアルコールの物性、および、生物活性の違いを明らかにし、シラノール基がヘキサフルオロヒドロキシプロピル基の代替置換基として利用できることを示した。また、構造展開の結果、PXR 選択的ナリガンドの創製に成功し、このような化合物は PXR の更なる生理機能解明や PXR を標的とした医薬研究に貢献できるものと考えている。Am80 誘導体では、シラノールとフルオロアルコールが特異的に HL-60 分化誘導活性を示すことを明らかにし、これらの置換基が HL-60 分化誘導剤に利用できる可能性を示した。本研究の結果は、創薬化学におけるシラノール基の応用可能性を拡大することに貢献したと考えている。

## 実験項

### 1. General

Melting points were determined by using a Yanagimoto hot-stage melting point apparatus and are uncorrected. <sup>1</sup>H-NMR and <sup>13</sup>C-NMR spectra were recorded on a JEOL JNM-GX500 (500 MHz) spectrometer. Chemical shifts are expressed in  $\delta$  (ppm) values with tetramethylsilane (TMS) as an internal reference. The following abbreviations are used: s = singlet, d = doublet, t = triplet, q = quartet, m = multiplet, br = broad. Electrospray ionization mass spectra (ESI-MS) and high resolution mass spectra (HRMS) were recorded on a BRUKER micrOTOF spectrometer with Low Concentration Tuning mix (G1969-85000). Flash column chromatography was performed on silica gel 60 Kanto Kagaku (40-100  $\mu$ m).

### 2. Synthesis of T1317 derivatives

#### 2.1. *N*-(4-Bromophenyl)benzenesulfonamide (**22**)

To a solution of **21** (1.00 g, 5.81 mmol) in tetrahydrofuran (58.1 mL) was added benzenesulfonylchloride (1.49 mL, 11.6 mmol) and pyridine (4.68 mL, 58.1 mmol) and the mixture was stirred room temperature for 1.5 h. The reaction was then quenched with H<sub>2</sub>O, and the whole was extracted with EtOAc. The organic layer was washed with brine and H<sub>2</sub>O, dried over anhydrous MgSO<sub>4</sub> and evaporated. The residue was purified by silica gel column chromatography (*n*-hexane/EtOAc = 3:1) to give **22** as a white solid (1.53 g, 84%). <sup>1</sup>H-NMR (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  7.79-7.77 (m, 2H), 7.56 (tt, 1H, *J* = 7.4, 1.3 Hz), 7.46 (t, 2H, *J* = 8.0 Hz), 7.35 (dt, 2H, *J* = 9.4, 2.3 Hz), 6.98-6.94 (m, 3H). MS (TOF, [M-H]<sup>-</sup>) *m/z* 311, 309.

#### 2.2. *N*-(4-bromophenyl)-*N*-methylbenzenesulfonamide (**23**)

To a solution of **22** (302 mg, 0.966 mmol) in dimethylformamide (9.66 mL) was added sodium hydride (27.8 mg, 1.16 mmol) and the mixture was stirred room temperature for 30 min. Iodomethane (72.2  $\mu$ L, 1.16 mmol) was added, and the mixture was stirred at 80°C. The reaction was then quenched with H<sub>2</sub>O, and the whole was extracted with EtOAc. The organic layer was washed with brine and H<sub>2</sub>O, dried over anhydrous MgSO<sub>4</sub> and evaporated. The residue was purified by silica gel column chromatography (*n*-hexane/EtOAc = 5:1) to give **23** as a pale-yellow oil (267 mg, 85%). <sup>1</sup>H-NMR (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  7.59 (dq, 1H, *J* = 11.5, 2.6 Hz), 7.54 (dd, 2H, *J* = 8.6, 1.1 Hz), 7.49-7.45 (m, 2H), 7.42 (td, 2H, *J* = 6.0, 3.4 Hz), 6.97 (td, 2H, *J* = 5.9, 3.6 Hz), 3.15 (s, 3H). MS (TOF, [M+Na]) *m/z* 348, 350.

#### 2.3. *N*-(4-bromophenyl)-*N*-ethylbenzenesulfonamide (**24**)

To a solution of **22** (312 mg, 1.00 mmol) in dimethylformamide (9.90 mL) was added sodium hydride (28.8 mg, 1.20 mmol) and the mixture was stirred room temperature for 30 min. Iodoethane (124  $\mu$ L, 1.20 mmol) was added, and the mixture was stirred at 80°C. The reaction was then quenched with H<sub>2</sub>O, and



the whole was extracted with EtOAc. The organic layer was washed with brine and H<sub>2</sub>O, dried over anhydrous MgSO<sub>4</sub> and evaporated. The residue was purified by silica gel column chromatography (*n*-hexane/EtOAc = 5:1) to give **24** as a pale-yellow oil (312 mg, 92%). <sup>1</sup>H-NMR (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 7.58 (dd, 3H, *J* = 9.2, 7.4 Hz), 7.48-7.43 (m, 4H), 6.91 (td, 2H, *J* = 5.9, 3.6 Hz), 3.58 (q, 2H, *J* = 7.1 Hz), 1.07 (t, 3H, *J* = 7.2 Hz). MS (TOF, [M+Na]) *m/z* 362, 364.

#### 2.4. *N*-(4-Bromophenyl)-*N*-(2,2,2-trifluoroethyl)benzenesulfonamide (**25**)

To a solution of **22** (766 mg, 2.46 mmol) in dimethylformamide (25.0 mL) was added sodium hydride (88.4 mg, 3.68 mmol) and the mixture was stirred room temperature for 30 min. 2, 2, 2-trifluoroethyl triflate (0.531 mL, 3.68 mmol) was added, and the mixture was refluxed for 1h. The reaction was then quenched with H<sub>2</sub>O, and the whole was extracted with EtOAc. The organic layer was washed with brine and H<sub>2</sub>O, dried over anhydrous MgSO<sub>4</sub> and evaporated. The residue was purified by silica gel column chromatography (*n*-hexane/EtOAc = 5:1) to give **25** as a white solid (659 mg, 68%). <sup>1</sup>H-NMR (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 7.62-7.60 (m, 3H), 7.49 (t, 2H, *J* = 7.7 Hz), 7.45 (d, 2H, *J* = 8.6 Hz), 6.92 (d, 2H, *J* = 8.6 Hz), 4.20 (q, 2H, *J* = 8.2 Hz). MS (TOF, [M+Na]) *m/z* 417, 415.

#### 2.5. *N*-(4-bromophenyl)-*N*-butylbenzenesulfonamide (**26**)

To a solution of **22** (367 mg, 1.18 mmol) in dimethylformamide (11.8 mL) was added sodium hydride (33.9 mg, 1.41 mmol) and the mixture was stirred room temperature for 30 min. 1-iodobutane (162 μL, 1.41 mmol) was added, and the mixture was stirred at 80°C. The reaction was then quenched with H<sub>2</sub>O, and the whole was extracted with EtOAc. The organic layer was washed with brine and H<sub>2</sub>O, dried over anhydrous MgSO<sub>4</sub> and evaporated. The residue was purified by silica gel column chromatography (*n*-hexane/EtOAc = 5:1) to give **26** as a pale-yellow oil (273 mg, 63%). <sup>1</sup>H-NMR (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 7.60-7.56 (m, 3H), 7.49-7.42 (m, 4H), 6.91 (dt, 2H, *J* = 9.2, 2.4 Hz), 3.50 (t, 2H, *J* = 6.9 Hz), 1.40-1.24 (m, 4H), 0.86 (3H, t, *J* = 7.4 Hz). MS (TOF, [M+Na]) *m/z* 390, 392.

#### 2.6. *N*-benzyl-*N*-(4-bromophenyl)benzenesulfonamide (**27**)

To a solution of **22** (429 mg, 1.37 mmol) in dimethylformamide (13.7 mL) was added sodium hydride (39.5 mg, 1.65 mmol) and the mixture was stirred room temperature for 30 min. Benzyl bromide (189 μL, 1.65 mmol) was added, and the mixture was stirred at 80°C. The reaction was then quenched with H<sub>2</sub>O, and the whole was extracted with EtOAc. The organic layer was washed with brine and H<sub>2</sub>O, dried over anhydrous MgSO<sub>4</sub> and evaporated. The residue was purified by silica gel column chromatography (*n*-hexane/EtOAc = 5:1) to give **27** as a pale-yellow oil (465 mg, 84%). <sup>1</sup>H-NMR (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 7.66 (dd, 2H, *J* = 8.6, 1.1 Hz), 7.62 (dq, 1H, *J* = 11.6, 2.6 Hz), 7.51 (dt, 2H, *J* = 12.4, 2.7 Hz), 7.32 (td, 2H, *J* = 5.9, 3.6 Hz), 7.21 (dtd, 5H, *J* = 20.0, 6.2, 3.0 Hz), 6.84 (td, 2H, *J* = 6.0, 3.4 Hz), 4.70 (s, 2H). MS (TOF, [M+Na]) *m/z* 424, 426.

### 2.7. *N*-(4-bromophenyl)-*N*-phenethylbenzenesulfonamide (**28**)

To a solution of **22** (327 mg, 1.05 mmol) in dimethylformamide (10.5 mL) was added sodium hydride (43.1 mg, 1.26 mmol) and the mixture was stirred room temperature for 30 min. (2-bromoethyl)benzene (170  $\mu$ L, 1.26 mmol) was added, and the mixture was stirred at 80°C. The reaction was then quenched with H<sub>2</sub>O, and the whole was extracted with EtOAc. The organic layer was washed with brine and H<sub>2</sub>O, dried over anhydrous MgSO<sub>4</sub> and evaporated. The residue was purified by silica gel column chromatography (*n*-hexane/EtOAc = 5:1) to give **28** as a pale-yellow oil (265 mg, 61%). <sup>1</sup>H-NMR (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  7.56 (tdd, 3H, *J* = 8.5, 3.8, 2.3 Hz), 7.44 (dq, 4H, *J* = 7.4, 2.4 Hz), 7.26 (dq, 2H, *J* = 11.3, 2.7 Hz), 7.21 (dq, 1H, *J* = 10.0, 2.3 Hz), 7.10 (t, 2H, *J* = 4.3 Hz), 6.89 (td, 2H, *J* = 6.0, 3.4 Hz), 3.76-3.73 (m, 2H), 2.76 (dd, 2H, *J* = 8.9, 7.2 Hz). MS (TOF, [M+Na]) *m/z* 438, 440.

### 2.8. *N*-(4-bromophenyl)-*N*-(2-methoxyethyl)benzenesulfonamide (**29**)

To a solution of **22** (415 mg, 1.33 mmol) in dimethylformamide (13.3 mL) was added sodium hydride (38.3 mg, 1.59 mmol) and the mixture was stirred room temperature for 30 min. 2-bromoethylmethylether (150  $\mu$ L, 1.59 mmol) was added, and the mixture was stirred at 80°C. The reaction was then quenched with H<sub>2</sub>O, and the whole was extracted with EtOAc. The organic layer was washed with brine and H<sub>2</sub>O, dried over anhydrous MgSO<sub>4</sub> and evaporated. The residue was purified by silica gel column chromatography (*n*-hexane/EtOAc = 5:1) to give **29** as a crude oil (377 mg, 77%). This material was used in the next step without further purification.

### 2.9. Methyl-*N*-(4-bromophenyl)-*N*-(phenylsulfonyl)glycinate (**30**)

To a solution of **22** (304 mg, 0.972 mmol) in dimethylformamide (9.72 mL) was added sodium hydride (40.0 mg, 1.17 mmol) and the mixture was stirred room temperature for 30 min. Methyl bromoacetate (108  $\mu$ L, 1.17 mmol) was added, and the mixture was stirred at 80°C. The reaction was then quenched with H<sub>2</sub>O, and the whole was extracted with EtOAc. The organic layer was washed with brine and H<sub>2</sub>O, dried over anhydrous MgSO<sub>4</sub> and evaporated. The residue was purified by silica gel column chromatography (*n*-hexane/EtOAc = 5:1) to give **30** as a crude oil (165 mg, 44%). This material was used in the next step without further purification. MS (TOF, [M+Na]) *m/z* 405, 407.

### 2.10. *N*-(4-(hydroxydimethylsilyl)phenyl)benzenesulfonamide (**2**)

To a solution of palladium chloride (7.1 mg, 40.1  $\mu$ mol), 2-(di-*t*-butylphosphino)biphenyl (23.9 mg, 80.2  $\mu$ mol) and **22** (250 mg, 0.801 mmol) in 1-methyl-2-pyrrolidinone (8.00 mL) was added diisopropylethylamine (411  $\mu$ L) and the mixture was stirred at 60 °C under an argon atmosphere. 1,2-diethoxy-1,1,2,2-tetramethyldisilane (238  $\mu$ L, 0.961 mmol) was added to the mixture and the mixture was stirred at 60 °C for 4h. The reaction mixture was cooled to rt and CH<sub>3</sub>CN (17.7 mL), 2-

(dimethylamino)ethanethiol hydrochloride (28.4 mg, 0.200 mmol) and 0.1 M acetic acid (23.1 mL) were added and the resulting mixture was stirred at rt for 2h. The reaction was then quenched with H<sub>2</sub>O, and the whole was extracted with EtOAc. The organic layer was washed with brine and H<sub>2</sub>O, dried over anhydrous MgSO<sub>4</sub> and evaporated. The residue was purified by silica gel column chromatography (*n*-hexane/EtOAc = 2:1) to give **2** as a colorless oil (14.2 mg, 6%). <sup>1</sup>H-NMR (500 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ 10.38 (s, 1H), 7.79-7.77 (m, 2H), 7.62-7.58 (m, 1H), 7.57-7.53 (m, 2H), 7.37 (2H, d, *J* = 8.6 Hz), 7.08 (2H, d, *J* = 8.6 Hz), 5.76 (s, 1H), 0.16 (6H, s). <sup>13</sup>C-NMR (500 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ 134.47, 133.41, 129.83, 127.16, 119.18, 1.09. HRMS (TOF) calcd for C<sub>14</sub>H<sub>16</sub>NO<sub>3</sub>SSi 306.0615; found: *m/z* 306.0642 (M-H).

### 2.11. *N*-(4-(hydroxydimethylsilyl)phenyl)-*N*-methylbenzenesulfonamide (**3**)

To a solution of palladium chloride (8.2 mg, 46.2 μmol), 2-(*di-t*-butylphosphino)biphenyl (27.6 mg, 92.4 μmol) and **23** (302 mg, 0.924 mmol) in 1-methyl-2-pyrrolidinone (9.20 mL) was added diisopropylethylamine (474 μL) and the mixture was stirred at 60 °C under an argon atmosphere. 1,2-diethoxy-1,1,2,2-tetramethyldisilane (274 μL, 1.11 mmol) was added to the mixture and the mixture was stirred at 60 °C for 4h. The reaction mixture was cooled to rt and CH<sub>3</sub>CN (20.5 mL), 2-(dimethylamino)ethanethiol hydrochloride (32.7 mg, 0.231 mmol) and 0.1 M acetic acid (26.7 mL) were added and the resulting mixture was stirred at rt for 2h. The reaction was then quenched with H<sub>2</sub>O, and the whole was extracted with EtOAc. The organic layer was washed with brine and H<sub>2</sub>O, dried over anhydrous MgSO<sub>4</sub> and evaporated. The residue was purified by silica gel column chromatography (*n*-hexane/EtOAc = 2:1) to give **3** as a colorless oil (11.3 mg, 4%). <sup>1</sup>H-NMR (500 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ 7.71 (tt, 1H, *J* = 7.2, 1.6 Hz), 7.59 (dt, 2H, *J* = 12.4, 2.7 Hz), 7.52 (tdd, 4H, *J* = 10.6, 5.3, 3.0 Hz), 7.09 (dt, 2H, *J* = 8.4, 2.0 Hz), 5.93 (1H, s), 3.13 (3H, s), 0.23 (s, 6H). <sup>13</sup>C-NMR (500 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ 142.38, 139.98, 136.78, 134.12, 133.82, 129.82, 127.86, 125.73, 38.35, 1.09. HRMS (TOF) calcd for C<sub>15</sub>H<sub>19</sub>NO<sub>3</sub>SSiNa 344.0747; found: *m/z* 344.0758 (M+Na).

### 2.12. *N*-ethyl-*N*-(4-(hydroxydimethylsilyl)phenyl)benzenesulfonamide (**4**)

To a solution of palladium chloride (8.8 mg, 49.9 μmol), 2-(*di-t*-butylphosphino)biphenyl (29.8 mg, 99.8 μmol) and **24** (340 mg, 1.00 mmol) in 1-methyl-2-pyrrolidinone (9.90 mL) was added diisopropylethylamine (512 μL) and the mixture was stirred at 60 °C under an argon atmosphere. 1,2-diethoxy-1,1,2,2-tetramethyldisilane (296 μL, 1.20 mmol) was added to the mixture and the mixture was stirred at 60 °C for 4h. The reaction mixture was cooled to rt and CH<sub>3</sub>CN (22.1 mL), 2-(dimethylamino)ethanethiol hydrochloride (35.3 mg, 0.250 mmol) and 0.1 M acetic acid (28.8 mL) were added and the resulting mixture was stirred at rt for 2h. The reaction was then quenched with H<sub>2</sub>O, and the whole was extracted with EtOAc. The organic layer was washed with brine and H<sub>2</sub>O, dried over anhydrous MgSO<sub>4</sub> and evaporated. The residue was purified by silica gel column chromatography

(*n*-hexane/EtOAc = 2:1) to give **4** as a colorless oil (8.5 mg, 3%). <sup>1</sup>H-NMR (500 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ 7.69 (ddd, 1H, *J* = 12.7, 5.0, 3.9 Hz), 7.35 (d, 4H, *J* = 4.6 Hz), 7.28 (dt, 2H, *J* = 8.2, 1.9 Hz), 6.81-6.78 (m, 2H), 5.70 (1H, s), 3.41-3.32 (m, 2H), 0.77-0.70 (m, 3H), 0.00 (s, 6H). <sup>13</sup>C-NMR (500 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ 140.78, 139.69, 138.66, 134.26, 133.68, 133.59, 129.84, 129.36, 128.10, 127.74, 127.68, 45.60, 14.44, 1.05. HRMS (TOF) calcd for C<sub>16</sub>H<sub>21</sub>NO<sub>3</sub>SSiNa 358.0904; found: *m/z* 358.0886 (M+Na).

### 2.13. *N*-(4-(Hydroxydimethylsilyl)phenyl)-*N*-(2,2,2-trifluoroethyl)benzenesulfonamide (**5**)

To a solution of palladium chloride (7.1 mg, 0.0401 mmol), 2-(di-*t*-butylphosphino)biphenyl (23.9 mg, 0.0802 mmol) and **25** (142 mg, 0.802 mmol) in 1-methyl-2-pyrrolidinone (8.00 mL) was added diisopropylethylamine (0.411 mL) and the mixture was stirred at 60 °C under an argon atmosphere. 1,2-diethoxy-1,1,2,2-tetramethyldisilane (0.238 mL, 0.962 mmol) was added to the mixture and the mixture was stirred at 60 °C for 4h. The reaction mixture was cooled to rt and CH<sub>3</sub>CN (8 mL), 2-(dimethylamino)ethanethiol hydrochloride (28.4 mg, 0.201 mmol) and 1.0 M acetic acid (10.4 mL) were added and the resulting mixture was stirred at rt for 2h. The reaction was then quenched with H<sub>2</sub>O, and the whole was extracted with EtOAc. The organic layer was washed with brine and H<sub>2</sub>O, dried over anhydrous MgSO<sub>4</sub> and evaporated. The residue was purified by silica gel column chromatography (*n*-hexane/EtOAc = 1:1) to give **5** as a colorless oil (36.1 mg, 26%). <sup>1</sup>H-NMR (500 MHz, DMSO) δ 7.72 (t, 1H, *J* = 7.4 Hz), 7.65 (dd, 2H, *J* = 8.3, 1.4 Hz), 7.62-7.56 (m, 2H), 7.51 (d, 2H, *J* = 8.6 Hz), 7.08 (2H, d, *J* = 8.6 Hz), 5.95 (1H, s), 4.57 (q, 2H, *J* = 8.8 Hz), 0.23 (6H, s). <sup>13</sup>C-NMR (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 140.4, 140.2, 138.4, 134.3, 134.1, 133.4, 129.1, 128.6, 128.4, 127.8, 52.3, 52.1, 0.8, 0.1. HRMS (TOF) calcd for C<sub>16</sub>H<sub>18</sub>F<sub>3</sub>NNaO<sub>3</sub>SSi 412.0621; found: *m/z* 412.0622 (M+Na).

### 2.14. *N*-butyl-*N*-(4-(hydroxydimethylsilyl)phenyl)benzenesulfonamide (**6**)

To a solution of palladium chloride (4.0 mg, 22.5 μmol), 2-(di-*t*-butylphosphino)biphenyl (13.4 mg, 45.0 μmol) and **26** (166 mg, 0.45 mmol) in 1-methyl-2-pyrrolidinone (4.50 mL) was added diisopropylethylamine (231 μL) and the mixture was stirred at 60 °C under an argon atmosphere. 1,2-diethoxy-1,1,2,2-tetramethyldisilane (133 μL, 0.540 mmol) was added to the mixture and the mixture was stirred at 60 °C for 4h. The reaction mixture was cooled to rt and CH<sub>3</sub>CN (10.0 mL), 2-(dimethylamino)ethanethiol hydrochloride (16.0 mg, 0.113 mmol) and 0.1 M acetic acid (13.0 mL) were added and the resulting mixture was stirred at rt for 2h. The reaction was then quenched with H<sub>2</sub>O, and the whole was extracted with EtOAc. The organic layer was washed with brine and H<sub>2</sub>O, dried over anhydrous MgSO<sub>4</sub> and evaporated. The residue was purified by silica gel column chromatography (*n*-hexane/EtOAc = 2:1) to give **6** as a colorless oil (15.8 mg, 10%). <sup>1</sup>H-NMR (500 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ 7.71-7.68 (m, 1H), 7.59 (dq, 4H, *J* = 12.3, 2.8 Hz), 7.52 (dt, 2H, *J* = 8.2, 1.9 Hz), 7.04 (dd, 2H, *J* = 10.3, 1.7 Hz), 5.93 (s, 1H), 3.53 (t, 2H, *J* = 6.6 Hz), 1.28-1.25 (m, 4H), 0.81 (t, 3H, *J* = 7.2 Hz), 0.25 (s, 6H). <sup>13</sup>C-NMR (500 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ 140.73, 139.89, 138.48, 134.24, 133.58, 129.82, 128.00, 127.70,

49.94, 30.22, 19.41, 13.91, 1.04. HRMS (TOF) calcd for C<sub>18</sub>H<sub>25</sub>NO<sub>3</sub>SSiNa 386.1217; found: m/z 386.1206 (M+Na).

### 2.15. *N*-benzyl-*N*-(4-(hydroxydimethylsilyl)phenyl)benzenesulfonamide (**7**)

To a solution of palladium chloride (10.3 mg, 57.8 μmol), 2-(di-*t*-butylphosphino)biphenyl (34.5 mg, 116 μmol) and **27** (465 mg, 1.16 mmol) in 1-methyl-2-pyrrolidinone (11.6 mL) was added diisopropylethylamine (593 μL) and the mixture was stirred at 60 °C under an argon atmosphere. 1,2-diethoxy-1,1,2,2-tetramethyldisilane (342 μL, 1.39 mmol) was added to the mixture and the mixture was stirred at 60 °C for 4h. The reaction mixture was cooled to rt and CH<sub>3</sub>CN (25.5 mL), 2-(dimethylamino)ethanethiol hydrochloride (40.9 mg, 0.289 mmol) and 0.1 M acetic acid (33.2 mL) were added and the resulting mixture was stirred at rt for 2h. The reaction was then quenched with H<sub>2</sub>O, and the whole was extracted with EtOAc. The organic layer was washed with brine and H<sub>2</sub>O, dried over anhydrous MgSO<sub>4</sub> and evaporated. The residue was purified by silica gel column chromatography (*n*-hexane/EtOAc = 2:1) to give **7** as a colorless oil (84.5 mg, 18%). <sup>1</sup>H-NMR (500 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ 7.75-7.72 (m, 1H), 7.67 (dd, 2H, *J* = 5.4, 3.2 Hz), 7.64-7.61 (m, 2H), 7.42 (dd, 2H, *J* = 6.3, 1.7 Hz), 7.26 (t, 4H, *J* = 2.3 Hz), 7.20-7.17 (m, 1H), 7.07 (d, 2H, *J* = 8.6 Hz), 5.86 (s, 1H), 4.81 (s, 2H), 0.19 (s, 6H). <sup>13</sup>C-NMR (500 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ 140.48, 139.91, 138.58, 136.84, 134.06, 133.78, 130.00, 128.89, 128.41, 127.96, 127.85, 127.79, 53.85, 0.98. HRMS (TOF) calcd for C<sub>21</sub>H<sub>23</sub>NO<sub>3</sub>SSiNa 420.1060; found: m/z 420.1083 (M+Na).

### 2.16. *N*-(4-(hydroxydimethylsilyl)phenyl)-*N*-phenethylbenzenesulfonamide (**8**)

To a solution of palladium chloride (5.6 mg, 31.8 μmol), 2-(di-*t*-butylphosphino)biphenyl (19.0 mg, 63.6 μmol) and **28** (265 mg, 0.636 mmol) in 1-methyl-2-pyrrolidinone (6.36 mL) was added diisopropylethylamine (0.326 mL) and the mixture was stirred at 60 °C under an argon atmosphere. 1,2-diethoxy-1,1,2,2-tetramethyldisilane (0.188 mL, 0.763 mmol) was added to the mixture and the mixture was stirred at 60 °C for 4h. The reaction mixture was cooled to rt and CH<sub>3</sub>CN (14.1 mL), 2-(dimethylamino)ethanethiol hydrochloride (22.5 mg, 0.159 mmol) and 1.0 M acetic acid (18.4 mL) were added and the resulting mixture was stirred at rt for 2h. The reaction was then quenched with H<sub>2</sub>O, and the whole was extracted with EtOAc. The organic layer was washed with brine and H<sub>2</sub>O, dried over anhydrous MgSO<sub>4</sub> and evaporated. The residue was purified by silica gel column chromatography (*n*-hexane/EtOAc = 2:1) to give **8** as a colorless oil (22.0 mg, 8%). <sup>1</sup>H-NMR (500 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ 7.68 (tt, 1H, *J* = 6.9, 1.9 Hz), 7.58-7.52 (m, 6H), 7.26 (dd, 2H, *J* = 9.7, 4.6 Hz), 7.20 (dt, 1H, *J* = 10.5, 2.6 Hz), 7.13 (2H, t, *J* = 4.0 Hz), 7.05 (2H, d, *J* = 8.6 Hz) 5.96 (1H, s), 3.79 (t, 2H, *J* = 7.4 Hz), 2.64 (t, 2H, *J* = 7.4 Hz), 0.26 (6H, s). <sup>13</sup>C-NMR (500 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ 140.84, 139.83, 138.59, 138.30, 134.27, 133.64, 129.82, 129.25, 128.87, 128.05, 127.73, 126.89, 51.73, 1.07. HRMS (TOF) calcd for C<sub>22</sub>H<sub>25</sub>NO<sub>3</sub>SSiNa 434.1217; found: m/z 434.1187 (M+Na).

### 2.17. *N*-(4-(hydroxydimethylsilyl)phenyl)-*N*-(2-methoxyethyl)benzenesulfonamide (**9**)

To a solution of palladium chloride (9.0 mg, 51.0  $\mu\text{mol}$ ), 2-(di-*t*-butylphosphino)biphenyl (30.4 mg, 0.102 mmol) and **29** (377 mg, 1.02 mmol) in 1-methyl-2-pyrrolidinone (10.2 mL) was added diisopropylethylamine (0.523 mL) and the mixture was stirred at 60 °C under an argon atmosphere. 1,2-diethoxy-1,1,2,2-tetramethyldisilane (0.302 mL, 1.22 mmol) was added to the mixture and the mixture was stirred at 60 °C for 4h. The reaction mixture was cooled to rt and CH<sub>3</sub>CN (22.5 mL), 2-(dimethylamino)ethanethiol hydrochloride (36.1 mg, 0.255 mmol) and 0.1 M acetic acid (29.3 mL) were added and the resulting mixture was stirred at rt for 2h. The reaction was then quenched with H<sub>2</sub>O, and the whole was extracted with EtOAc. The organic layer was washed with brine and H<sub>2</sub>O, dried over anhydrous MgSO<sub>4</sub> and evaporated. The residue was purified by silica gel column chromatography (*n*-hexane/EtOAc = 2:1) to give **9** as a colorless oil (14.0 mg, 4%). <sup>1</sup>H-NMR (500 MHz, DMSO-*d*6)  $\delta$  7.69 (dq, 1H, *J* = 10.3, 2.4 Hz), 7.60-7.58 (m, 4H), 7.52-7.50 (m, 2H), 7.05-7.03 (m, 2H), 5.95 (1H, s), 3.74-3.70 (m, 2H), 3.29 (t, 2H, *J* = 5.7 Hz), 3.15 (s, 3H), 0.24 (6H, s). <sup>13</sup>C-NMR (500 MHz, DMSO-*d*6)  $\delta$  140.87, 140.15, 138.75, 134.24, 134.13, 133.62, 129.80, 128.27, 128.20, 127.72, 69.73, 58.37, 50.25, 1.04. HRMS (TOF) calcd for C<sub>17</sub>H<sub>23</sub>NO<sub>4</sub>SSiNa 388.1009; found: *m/z* 388.0994 (M+Na).

### 2.18. Methyl-*N*-(4-(hydroxydimethylsilyl)phenyl)-*N*-(phenylsulfonyl)glycinate (**10**)

To a solution of palladium chloride (3.5 mg, 0.0401 mmol), 2-(di-*t*-butylphosphino)biphenyl (11.8 mg, 39.5  $\mu\text{mol}$ ) and **30** (165 mg, 0.395 mmol) in 1-methyl-2-pyrrolidinone (3.95 mL) was added diisopropylethylamine (203  $\mu\text{L}$ ) and the mixture was stirred at 60 °C under an argon atmosphere. 1,2-diethoxy-1,1,2,2-tetramethyldisilane (117  $\mu\text{L}$ , 0.474 mmol) was added to the mixture and the mixture was stirred at 60 °C for 4h. The reaction mixture was cooled to rt and CH<sub>3</sub>CN (8.78 mL), 2-(dimethylamino)ethanethiol hydrochloride (14.0 mg, 98.8  $\mu\text{mol}$ ) and 1.0 M acetic acid (11.4 mL) were added and the resulting mixture was stirred at rt for 2h. The reaction was then quenched with H<sub>2</sub>O, and the whole was extracted with EtOAc. The organic layer was washed with brine and H<sub>2</sub>O, dried over anhydrous MgSO<sub>4</sub> and evaporated. The residue was purified by silica gel column chromatography (*n*-hexane/EtOAc = 2:1) to give **10** as a colorless oil (4.3 mg, 3%). <sup>1</sup>H-NMR (500 MHz, DMSO-*d*6)  $\delta$  7.68 (ddd, 3H, *J* = 16.2, 10.7, 2.1 Hz), 7.58 (ddd, 2H, *J* = 10.6, 5.7, 2.0 Hz), 7.49 (dd, 2H, *J* = 8.3, 2.0 Hz), 7.15 (td, 2H, *J* = 4.6, 2.9 Hz), 5.93 (1H, s), 4.56 (d, 2H, *J* = 5.2 Hz), 3.61 (d, 3H, *J* = 1.7 Hz), 0.22 (6H, s). <sup>13</sup>C-NMR (500 MHz, DMSO-*d*6)  $\delta$  134.26, 133.85, 129.86, 127.71, 127.39, 52.62, 1.03. HRMS (TOF) calcd for C<sub>17</sub>H<sub>21</sub>NO<sub>5</sub>SSiNa 402.0802; found: *m/z* 402.0822 (M+Na).

### 2.19. Ethyl-4-(phenylsulfonamido)benzoate (**32**)

To a solution of **31** (2.00 g, 12.1 mmol) in tetrahydrofuran (121 mL) was added benzenesulfonylchloride (4.65 mL, 36.3 mmol) and pyridine (9.76 mL, 121 mmol) and the mixture was stirred room temperature

for 1.5 h. The reaction was then quenched with H<sub>2</sub>O, and the whole was extracted with EtOAc. The organic layer was washed with brine and H<sub>2</sub>O, dried over anhydrous MgSO<sub>4</sub> and evaporated. The residue was purified by silica gel column chromatography (*n*-hexane/EtOAc = 3:1) to give **32** as a white solid (6.38 g, quant.). <sup>1</sup>H-NMR (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 7.92 (td, 2H, *J* = 5.6, 3.2 Hz), 7.84-7.82 (m, 2H), 7.56 (tt, 1H, *J* = 7.4, 1.3 Hz), 7.46 (td, 2H, *J* = 7.7, 3.1 Hz), 7.13 (dt, 2H, *J* = 9.0, 2.3 Hz), 7.08 (1H, s), 4.33 (q, 2H, *J* = 7.3 Hz), 1.36 (t, 3H, *J* = 7.2). MS (TOF, [M+Na]) *m/z* 328.

#### 2.20. Ethyl-4-(*N*-methylphenylsulfonamido)benzoate (**33**)

To a solution of **32** (211 mg, 0.693 mmol) in dimethylformamide (6.93 mL) was added sodium hydride (28.5 mg, 0.832 mmol) and the mixture was stirred room temperature for 30 min. Methyl iodide (51.8 μL, 0.832 mmol) was added, and the mixture was refluxed for 1h. The reaction was then quenched with H<sub>2</sub>O, and the whole was extracted with EtOAc. The organic layer was washed with brine and H<sub>2</sub>O, dried over anhydrous MgSO<sub>4</sub> and evaporated. The residue was purified by silica gel column chromatography (*n*-hexane/EtOAc = 5:1) to give **33** as a yellow oil (161 mg, 73%). <sup>1</sup>H-NMR (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 7.97 (dt, 2H, *J* = 9.2, 2.3 Hz), 7.60-7.56 (m, 1H), 7.54-7.51 (m, 2H), 7.46-7.43 (m, 2H), 7.19 (dt, 2H, *J* = 9.2, 2.3 Hz), 4.37 (q, 2H, *J* = 7.3 Hz), 3.20 (s, 3H), 1.39 (t, 3H, *J* = 7.2 Hz). MS (TOF, [M+Na]) *m/z* 342.

#### 2.21. Ethyl-4-(*N*-ethylphenylsulfonamido)benzoate (**34**)

To a solution of **32** (206 mg, 0.673 mmol) in dimethylformamide (6.70 mL) was added sodium hydride (27.7 mg, 0.808 mmol) and the mixture was stirred room temperature for 30 min. Ethyl iodide (83.2 μL, 0.808 mmol) was added, and the mixture was refluxed for 1h. The reaction was then quenched with H<sub>2</sub>O, and the whole was extracted with EtOAc. The organic layer was washed with brine and H<sub>2</sub>O, dried over anhydrous MgSO<sub>4</sub> and evaporated. The residue was purified by silica gel column chromatography (*n*-hexane/EtOAc = 5:1) to give **34** as a yellow oil (181 mg, 81%). <sup>1</sup>H-NMR (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 8.00-7.97 (m, 2H), 7.58 (dq, 3H, *J* = 9.0, 2.5 Hz), 7.47-7.44 (m, 2H), 7.13 (dt, 2H, *J* = 9.0, 2.3 Hz), 4.38 (q, 2H, *J* = 7.3 Hz), 3.64 (q, 2H, *J* = 7.1 Hz), 1.39 (t, 3H, *J* = 7.2 Hz), 1.08 (t, 3H, *J* = 6.9 Hz). MS (TOF, [M+Na]) *m/z* 356.

#### 2.22. Ethyl-4-(phenylsulfonamido)benzoate (**35**)

To a solution of **32** (1.20 g, 3.92 mmol) in dimethylformamide (18.0 mL) was added sodium hydride (188 mg, 7.84 mmol) and the mixture was stirred room temperature for 30 min. 2, 2, 2-trifluoroethyl triflate (1.70 mL, 11.8 mmol) was added, and the mixture was refluxed for 1h. The reaction was then quenched with H<sub>2</sub>O, and the whole was extracted with EtOAc. The organic layer was washed with brine and H<sub>2</sub>O, dried over anhydrous MgSO<sub>4</sub> and evaporated. The residue was purified by silica gel column chromatography (*n*-hexane/EtOAc = 5:1) to give **35** as a yellow solid (767 mg, 33% (2 steps)). <sup>1</sup>H-NMR (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 8.00 (dt, 2H, *J* = 9.0, 2.3 Hz), 7.63-7.58 (m, 3H), 7.48 (dt, 2H, *J* = 12.2, 2.9 Hz),



7.13 (dt, 2H,  $J = 9.0, 2.0$  Hz), 4.38 (q, 2H,  $J = 7.3$  Hz), 4.25 (q, 2H,  $J = 8.2$  Hz), 1.39 (t, 3H,  $J = 7.2$  Hz). MS (TOF, [M+Na])  $m/z$  410.

### 2.23. Ethyl-4-(*N*-butylphenylsulfonamido)benzoate (**36**)

To a solution of **32** (206 mg, 0.673 mmol) in dimethylformamide (6.70 mL) was added sodium hydride (27.7 mg, 0.808 mmol) and the mixture was stirred room temperature for 30 min. Ethyl iodide (83.2  $\mu$ L, 0.808 mmol) was added, and the mixture was refluxed for 1h. The reaction was then quenched with H<sub>2</sub>O, and the whole was extracted with EtOAc. The organic layer was washed with brine and H<sub>2</sub>O, dried over anhydrous MgSO<sub>4</sub> and evaporated. The residue was purified by silica gel column chromatography (*n*-hexane/EtOAc = 5:1) to give **36** as a yellow oil (181 mg, 81%). <sup>1</sup>H-NMR (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  8.00-7.97 (m, 2H), 7.58 (dq, 3H,  $J = 9.0, 2.5$  Hz), 7.47-7.44 (m, 2H), 7.13 (dt, 2H,  $J = 9.0, 2.3$  Hz), 4.38 (q, 2H,  $J = 7.3$  Hz), 3.64 (q, 2H,  $J = 7.1$  Hz), 1.39 (t, 3H,  $J = 7.2$  Hz), 1.08 (t, 3H,  $J = 6.9$  Hz). MS (TOF, [M+Na])  $m/z$  356.

### 2.24. Ethyl-4-(*N*-benzylphenylsulfonamido)benzoate (**37**)

To a solution of **32** (206 mg, 0.675 mmol) in dimethylformamide (6.75 mL) was added sodium hydride (27.8 mg, 0.810 mmol) and the mixture was stirred room temperature for 30 min. Benzyl bromide (93.0  $\mu$ L, 0.810 mmol) was added, and the mixture was refluxed for 1h. The reaction was then quenched with H<sub>2</sub>O, and the whole was extracted with EtOAc. The organic layer was washed with brine and H<sub>2</sub>O, dried over anhydrous MgSO<sub>4</sub> and evaporated. The residue was purified by silica gel column chromatography (*n*-hexane/EtOAc = 5:1) to give **37** as a yellow solid (129 mg, 49%). <sup>1</sup>H-NMR (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  7.88 (dt, 2H,  $J = 9.0, 2.0$  Hz), 7.65-7.60 (m, 3H), 7.52-7.48 (m, 2H), 7.21 (q, 5H,  $J = 2.5$  Hz), 7.07 (dt, 2H,  $J = 9.0, 2.0$  Hz), 4.77 (s, 2H), 4.33 (q, 2H,  $J = 7.1$  Hz), 1.35 (t, 3H,  $J = 7.2$  Hz). MS (TOF, [M+Na])  $m/z$  418.

### 2.25. Ethyl-4-(*N*-phenethylphenylsulfonamido)benzoate (**38**)

To a solution of **32** (201 mg, 0.658 mmol) in dimethylformamide (6.58 mL) was added sodium hydride (27.1 mg, 0.790 mmol) and the mixture was stirred room temperature for 30 min. (2-Bromoethyl)benzene (107  $\mu$ L, 0.790 mmol) was added, and the mixture was refluxed for 1h. The reaction was then quenched with H<sub>2</sub>O, and the whole was extracted with EtOAc. The organic layer was washed with brine and H<sub>2</sub>O, dried over anhydrous MgSO<sub>4</sub> and evaporated. The residue was purified by silica gel column chromatography (*n*-hexane/EtOAc = 5:1) to give **38** as a pale-yellow oil (73.8 mg, 27%). <sup>1</sup>H-NMR (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  8.00 (dt, 2H,  $J = 8.8, 2.1$  Hz), 7.55 (tdd, 3H,  $J = 11.4, 5.1, 3.7$  Hz), 7.43 (td, 2H,  $J = 7.0, 1.7$  Hz), 7.28-7.24 (m, 2H), 7.21 (dq, 1H,  $J = 10.0, 2.3$  Hz), 7.11 (dq, 4H,  $J = 12.2, 3.4$  Hz), 4.39 (q, 2H,  $J = 7.3$  Hz), 3.82-3.79 (m, 2H), 2.77 (dd, 2H,  $J = 8.9, 6.6$  Hz), 1.40 (t, 3H,  $J = 7.2$  Hz). MS (TOF, [M+Na])  $m/z$  432.



### 2.26. *N*-(4-(2-hydroxypropan-2-yl)phenyl)benzenesulfonamide (**11**)

To a solution of **32** (329 mg, 1.08 mmol) in dry tetrahydrofuran was added methyl magnesium bromide (2.60 mL, 2.37 mmol) under an Ar atmosphere at 0°C and the mixture was stirred same temperature for 3h. The reaction was then quenched with H<sub>2</sub>O, and the whole was extracted with EtOAc. The organic layer was washed with brine and H<sub>2</sub>O, dried over anhydrous MgSO<sub>4</sub> and evaporated. The residue was purified by silica gel column chromatography (*n*-hexane/EtOAc = 3:1) to give **11** as a orange solid (87.3 mg, 28%). <sup>1</sup>H-NMR (500MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ7.78 (t, 2H, *J* = 4.3 Hz), 7.54 (tt, 1H, *J* = 7.4, 1.3 Hz), 7.44 (t, 2H, *J* = 7.7 Hz), 7.35 (td, 2H, *J* = 5.6, 3.2 Hz), 7.02 (dt, 2H, *J* = 9.0, 2.3 Hz), 6.76 (s, 1H), 1.52 (s, 6H). <sup>13</sup>C-NMR (500MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ146.50, 142.17, 139.25, 139.15, 138.46, 135.50, 134.87, 133.14, 133.11, 129.14, 127.30, 126.48, 125.60, 121.71, 121.57, 112.51, 72.34, 31.80; HRMS (TOF) calcd for C<sub>15</sub>H<sub>16</sub>NO<sub>3</sub>S 290.0845; found: *m/z* 290.0851 (M-H).

### 2.27. *N*-(4-(2-hydroxypropan-2-yl)phenyl)-*N*-methylbenzenesulfonamide (**12**)

To a solution of **33** (161 mg, 0.503 mmol) in dry tetrahydrofuran was added methyl magnesium bromide (1.22 mL, 1.11 mmol) under an Ar atmosphere at 0°C and the mixture was stirred same temperature for 3h. The reaction was then quenched with H<sub>2</sub>O, and the whole was extracted with EtOAc. The organic layer was washed with brine and H<sub>2</sub>O, dried over anhydrous MgSO<sub>4</sub> and evaporated. The residue was purified by silica gel column chromatography (*n*-hexane/EtOAc = 3:1) to give **12** as a yellow oil (115 mg, 72%). <sup>1</sup>H-NMR (500MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ7.58 (dt, 3H, *J* = 11.3, 2.7 Hz), 7.46 (dq, 2H, *J* = 10.2, 2.6 Hz), 7.42 (td, 2H, *J* = 5.7, 3.2 Hz), 7.05 (dt, 2H, *J* = 9.2, 2.4 Hz), 3.16 (s, 3H), 1.57 (s, 6H). <sup>13</sup>C-NMR (500MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ148.36, 140.05, 136.69, 132.84, 128.84, 127.95, 126.47, 125.13, 72.44, 38.28, 31.88; HRMS (TOF) calcd for C<sub>16</sub>H<sub>19</sub>NO<sub>3</sub>SNa 328.0978; found: *m/z* 328.0960 (M+Na).

### 2.28. *N*-(4-(2-hydroxypropan-2-yl)phenyl)-*N*-ethylbenzenesulfonamide (**13**)

To a solution of **34** (181 mg, 0.542 mmol) in dry tetrahydrofuran was added methyl magnesium bromide (1.31 mL, 1.12 mmol) under an Ar atmosphere at 0°C and the mixture was stirred same temperature for 3h. The reaction was then quenched with H<sub>2</sub>O, and the whole was extracted with EtOAc. The organic layer was washed with brine and H<sub>2</sub>O, dried over anhydrous MgSO<sub>4</sub> and evaporated. The residue was purified by silica gel column chromatography (*n*-hexane/EtOAc = 3:1) to give **13** as a yellow oil (104 mg, 60%). <sup>1</sup>H-NMR (500MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ7.63 (dt, 2H, *J* = 8.2, 1.6 Hz), 7.57 (tt, 1H, *J* = 7.4, 1.6 Hz), 7.45 (ddt, 4H, *J* = 17.1, 10.2, 2.8 Hz), 7.00 (dt, 2H, *J* = 9.0, 2.3 Hz), 3.59 (q, 2H, *J* = 7.1 Hz), 1.58 (s, 6H), 1.07 (t, 3H, *J* = 7.2 Hz). <sup>13</sup>C-NMR (500MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ148.90, 138.66, 137.29, 132.60, 128.86, 128.70, 127.72, 125.27, 72.47, 45.79, 31.86, 14.17; HRMS (TOF) calcd for C<sub>17</sub>H<sub>21</sub>NO<sub>3</sub>SNa 342.1134; found: *m/z* 342.1122 (M+Na).

### 2.29. *N*-(4-(2-Hydroxypropan-2-yl)phenyl)-*N*-(2,2,2-trifluoroethyl)benzenesulfonamide (**14**)

To a solution of **35** (156 mg, 0.402 mmol) in dry tetrahydrofuran was added methylmagnesium bromide (0.971 mL, 0.884 mmol) under an Ar atmosphere at 0 °C and the mixture was stirred same temperature for 3h. The reaction was then quenched with H<sub>2</sub>O, and the whole was extracted with EtOAc. The organic layer was washed with brine and H<sub>2</sub>O, dried over anhydrous MgSO<sub>4</sub> and evaporated. The residue was purified by silica gel column chromatography (*n*-hexane/EtOAc = 3:1) to give **14** as a white solid (115 mg, 77%). <sup>1</sup>H-NMR (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 7.63-7.59 (m, 3H), 7.48 (t, 2H, *J* = 8.0 Hz), 7.43 (d, 2H, *J* = 8.6 Hz), 7.01 (d, 2H, *J* = 8.6 Hz), 4.21 (q, 2H, *J* = 8.2 Hz), 1.72 (s, 1H), 1.57 (s, 6H). MS (TOF, [M+Na]) *m/z* 417, 415. <sup>13</sup>C-NMR (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 150.0, 138.4, 137.5, 133.3, 129.08, 127.9, 125.7, 72.5, 52.4, 31.9. HRMS (TOF) calcd for C<sub>17</sub>H<sub>18</sub>F<sub>3</sub>NNaO<sub>3</sub>S 396.0852; found: *m/z* 396.0824 (M+Na).

### 2.30. *N*-(4-(2-hydroxypropan-2-yl)phenyl)-*N*-butylbenzenesulfonamide (**15**)

To a solution of **36** (194 mg, 0.538 mmol) in dry tetrahydrofuran was added methyl magnesium bromide (1.29 mL, 1.18 mmol) under an Ar atmosphere at 0°C and the mixture was stirred same temperature for 3h. The reaction was then quenched with H<sub>2</sub>O, and the whole was extracted with EtOAc. The organic layer was washed with brine and H<sub>2</sub>O, dried over anhydrous MgSO<sub>4</sub> and evaporated. The residue was purified by silica gel column chromatography (*n*-hexane/EtOAc = 3:1) to give **15** as a yellow oil (93.3 mg, 50%). <sup>1</sup>H-NMR (500MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 7.58 (ddd, 3H, *J* = 16.2, 9.0, 5.0 Hz), 7.44 (dq, 4H, *J* = 18.8, 5.3 Hz), 6.99 (dt, 2H, *J* = 9.0, 2.3 Hz), 3.51 (t, 2H, *J* = 6.9 Hz), 1.58 (s, 6H), 1.40-1.27 (m, 4H), 0.86 (t, 3H, *J* = 7.2 Hz). <sup>13</sup>C-NMR (500MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 148.79, 138.53, 137.58, 132.57, 128.83, 128.54, 127.74, 125.24, 72.47, 50.45, 31.86, 30.33, 19.67, 13.69; HRMS (TOF) calcd for C<sub>19</sub>H<sub>25</sub>NO<sub>3</sub>SNa 370.1447; found: *m/z* 370.1470 (M+Na).

### 2.31. *N*-benzyl-*N*-(4-(2-hydroxypropan-2-yl)phenyl)benzenesulfonamide (**16**)

To a solution of **37** (129 mg, 0.327 mmol) in dry tetrahydrofuran was added methyl magnesium bromide (0.791 mL, 0.720 mmol) under an Ar atmosphere at 0°C and the mixture was stirred same temperature for 3h. The reaction was then quenched with H<sub>2</sub>O, and the whole was extracted with EtOAc. The organic layer was washed with brine and H<sub>2</sub>O, dried over anhydrous MgSO<sub>4</sub> and evaporated. The residue was purified by silica gel column chromatography (*n*-hexane/EtOAc = 3:1) to give **16** as a yellow oil (79.2 mg, 63%). <sup>1</sup>H-NMR (500MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 7.68 (dd, 2H, *J* = 8.3, 1.4 Hz), 7.61 (dq, 1H, *J* = 11.9, 2.6 Hz), 7.52-7.48 (m, 2H), 7.32 (td, 2H, *J* = 5.7, 3.4 Hz), 7.21 (tdd, 5H, *J* = 10.2, 6.0, 2.8 Hz), 6.94 (dt, 2H, *J* = 9.2, 2.3 Hz), 4.72 (s, 2H), 1.51 (s, 6H). <sup>13</sup>C-NMR (500MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 148.76, 138.85, 137.51, 136.05, 132.79, 129.00, 128.64, 128.51, 128.45, 127.78, 127.69, 125.17, 72.41, 54.94, 31.76; HRMS (TOF) calcd for C<sub>22</sub>H<sub>23</sub>NO<sub>3</sub>SNa 404.1291; found: *m/z* 404.1298 (M+Na).

### 2.32. *N*-(4-(2-hydroxypropan-2-yl)phenyl)-*N*-phenethylbenzenesulfonamide (**17**)

To a solution of **38** (73.8 mg, 0.180 mmol) in dry tetrahydrofuran was added methyl magnesium

bromide (0.436 mL, 0.397 mmol) under an Ar atmosphere at 0°C and the mixture was stirred same temperature for 3h. The reaction was then quenched with H<sub>2</sub>O, and the whole was extracted with EtOAc. The organic layer was washed with brine and H<sub>2</sub>O, dried over anhydrous MgSO<sub>4</sub> and evaporated. The residue was purified by silica gel column chromatography (*n*-hexane/EtOAc = 3:1) to give **17** as a yellow oil (25.8 mg, 36%). <sup>1</sup>H-NMR (500MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 7.56 (tdd, 3H, *J* = 10.3, 5.0, 2.7 Hz), 7.46-7.42 (m, 4H), 7.27-7.24 (m, 2H), 7.19 (ddd, 1H, *J* = 10.6, 5.4, 2.0 Hz), 7.11 (t, 2H, *J* = 3.4 Hz), 7.01 (dt, 2H, *J* = 9.0, 2.3 Hz), 3.77-3.74 (m, 2H), 2.79-2.76 (m, 2H), 1.59 (s, 6H). <sup>13</sup>C-NMR (500MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 149.03, 138.41, 138.18, 137.56, 132.70, 128.90, 128.59, 127.74, 126.62, 125.38, 72.48, 52.33, 35.27, 31.89; HRMS (TOF) calcd for C<sub>23</sub>H<sub>25</sub>NO<sub>3</sub>Na 418.1447; found: *m/z* 418.1425 (M+Na).

### 2.33. *N*-(4-(2-((trimethylsilyl)oxy)propan-2-yl)phenyl)benzenesulfonamide (**39**)

A solution of **11** (275 mg, 0.943 mmol) in dimethylformamide (9.40 mL) was stirred 0°C, and imidazole (257 mg, 3.77 mmol) was added to this solution, then was stirred 0°C. Trimethylsilyl chloride (239 μL, 1.89 mmol) was added, and the mixture was stirred 0°C for 1h. The reaction was then quenched with H<sub>2</sub>O, and the whole was extracted with EtOAc. The organic layer was washed with brine and H<sub>2</sub>O, dried over anhydrous MgSO<sub>4</sub> and evaporated. This material was used in the next step without further purification. <sup>1</sup>H-NMR (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 7.81 (s, 1H), 7.75 (d, 2H, *J* = 8.0 Hz), 7.48 (t, 1H, *J* = 7.4 Hz), 7.38 (t, 2H, *J* = 7.7 Hz), 7.26 (t, 2H, *J* = 4.3 Hz), 7.03 (d, 2H, *J* = 8.6 Hz), 1.48 (s, 6H), 0.00 (s, 9H). MS (TOF, [M+Na]) *m/z* 386.

### 2.34. *N*-(4-(2-hydroxypropan-2-yl)phenyl)-*N*-(2-methoxyethyl)benzenesulfonamide (**18**)

To a solution of **39** in dimethylformamide (7.00 mL) was added sodium hydride (57.7 mg, 1.68 mmol) and the mixture was stirred room temperature for 30 min. 2-bromoethyl methyl ether (237 μL, 2.52 mmol) was added, and the mixture was stirred at 80°C. The reaction was then quenched with H<sub>2</sub>O, and the whole was extracted with EtOAc. The organic layer was washed with brine and H<sub>2</sub>O, dried over anhydrous MgSO<sub>4</sub> and evaporated. The residue was purified by silica gel column chromatography (*n*-hexane/EtOAc = 2:1), and trimethylsilyl group was removed, to give **18** as a pale-yellow oil (22.8 mg, 9%). <sup>1</sup>H-NMR (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 7.63 (dt, 2H, *J* = 8.2, 1.6 Hz), 7.57 (tt, 1H, *J* = 7.4, 1.3 Hz), 7.47-7.40 (m, 4H), 7.01 (td, 2H, *J* = 5.6, 3.2 Hz), 3.71 (t, 2H, *J* = 6.3 Hz), 3.43 (t, 2H, *J* = 6.3 Hz), 3.26 (s, 3H), 1.56 (s, 6H). <sup>13</sup>C-NMR (500MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 149.14, 138.70, 137.90, 132.73, 128.87, 128.74, 127.71, 125.37, 72.43, 70.12, 58.74, 50.42, 31.86. HRMS (TOF) calcd for C<sub>18</sub>H<sub>23</sub>NO<sub>4</sub>Na 372.1240; found: *m/z* 372.1230 (M+Na).

### 2.35. *N*-(4-(2-hydroxypropan-2-yl)phenyl)-*N*-(phenylsulfonyl)glycinate (**19**)

To a solution of **39** in dimethylformamide (9.40 mL) was added sodium hydride (77.6 mg, 2.26 mmol) and the mixture was stirred room temperature for 30 min. Methylbromoacetate (313 μL, 3.39 mmol) was

added, and the mixture was stirred at 80°C. The reaction was then quenched with H<sub>2</sub>O, and the whole was extracted with EtOAc. The organic layer was washed with brine and H<sub>2</sub>O, dried over anhydrous MgSO<sub>4</sub> and evaporated. The residue was purified by silica gel column chromatography (*n*-hexane/EtOAc = 2:1), and trimethylsilyl group was removed, to give **19** as a yellow solid (295 mg, 86%). <sup>1</sup>H-NMR (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 7.69 (t, 2H, *J* = 4.3 Hz), 7.58 (t, 1H, *J* = 7.4 Hz), 7.46 (dd, 2H, *J* = 10.6, 5.4 Hz), 7.41 (td, 2H, *J* = 5.7, 3.4 Hz), 7.17-7.14 (2H, m), 4.40 (2H, s), 3.70 (s, 3H), 1.55 (s, 6H). <sup>13</sup>C-NMR (500MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 169.35, 149.36, 139.14, 138.22, 132.95, 128.88, 128.65, 127.83, 125.53, 72.43, 52.82, 52.44, 31.83. HRMS (TOF) calcd for C<sub>18</sub>H<sub>21</sub>NO<sub>5</sub>SNa 386.1033; found: *m/z* 386.1026.

### 2.36. 4-(*N*-(2,2,2-trifluoroethyl)phenylsulfonamido)benzoic acid (**20**)

To a solution of **35** (213 mg, 0.550 mmol) in H<sub>2</sub>O-EtOH (H<sub>2</sub>O:EtOH = 1:3, 45.5 mL) was added LiOH·H<sub>2</sub>O (34.6 mg, 0.825 mmol) and the mixture was stirred at 80°C for 4h. The reaction was then quenched with HCl, and the whole was extracted with EtOAc. The organic layer was washed with brine and H<sub>2</sub>O, dried over anhydrous MgSO<sub>4</sub> and evaporated to give **20** as a white solid (529 mg, quant.). <sup>1</sup>H-NMR (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 8.06 (dt, 2H, *J* = 9.0, 2.0 Hz), 7.64-7.59 (m, 3H), 7.49 (t, 2H, *J* = 8.0 Hz), 7.19 (dt, 2H, *J* = 9.0, 2.3 Hz), 4.27 (q, 2H, *J* = 8.0 Hz). <sup>13</sup>C-NMR (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 169.86, 143.90, 137.91, 133.72, 131.50, 129.42, 129.31, 129.14, 127.76, 124.73, 122.51, 52.30, 52.02, 51.74, 51.46. HRMS (TOF) calcd for C<sub>15</sub>H<sub>11</sub>F<sub>3</sub>O<sub>4</sub>NS 358.0355; found: *m/z* 358.0374 (M-H).

### 3. Reporter gene assay

pcDNA3.1(-)-hRORα1, pcDNA3.1(-)-hRORβ1, pcDNA3.1(-)-hRORγ1 and RORE-TK-Luc were provided by Itsuu Laboratory. CMX-Gal4N-hLXRα-LBD, CMX-Gal4N-hLXRβ-LBD, CMX-Gal4N-hFXR-LBD, CMX-β-GAL, tk-MH100×4 was provided by Professor Dr. Makoto Makishima (Nihon University School of Medicine). pVP16-PXR was constructed by insertion of hPXR-ORF into the multiple cloning site of pVP16 plasmid (Clontech). HEK 293 cells were cultured in DMEM containing 5% FBS, penicillin and streptomycin mixture at 37 °C in a humidified atmosphere of 5% CO<sub>2</sub> in air. Cells were seeded at a density of 20% confluence/96-well plate 24 h prior to transfection. Cells in each well were cotransfected with 150 ng of a nuclear receptor expression plasmid, 500 ng of a luciferase reporter and 10 ng of CMX-β-GAL expression vector. Transfections were performed by the calcium phosphate co-precipitation method. After 24 h, transfected cells were treated with test compounds or DMSO for 24 h. Treated cells were assayed for luciferase activity with a Wallac ARVO SX 1420 Multilabel Counter (PerkinElmer). The luciferase activity of each sample was normalized by the level of β-galactosidase activity. Each transfection was carried out in triplicate.

### 4. Determination of log*P* value by a HPLC method

We calculated of log*P* value based on the OECD Guideline for Testing Chemicals 117.<sup>S1</sup> The

measurements were performed on a Inertsil ODS-4 (5  $\mu$ M, 4.6  $\times$  150 mm) (GL Science Inc., Japan) by using a HPLC instrument (detector (MD-2010, JASCO), pump (PU-2080, JASCO)). We used acetonitrile and H<sub>2</sub>O (50%:50%) as an organic modifier. As reference compounds, thiourea, benzyl alcohol, methyl benzoate, 4-phenyl phenol, benzyl benzoate and dibenzyl were used.

## 5. Synthesis of Am80 derivatives

### 5.1. 1,1,1,3,3,3-hexafluoro-2-(4-iodophenyl)propan-2-ol (**46**)

To a solution of sodium nitrite (293 mg, 4.25 mmol) in H<sub>2</sub>O (6.9 mL) was added dropwise conc. HCl aq (2.1 mL) at 0°C, and then 4-(Hexafluoro-2-hydroxyisopropyl)aniline (**45**) was added to the mixture and stirred at 0°C for 20 min. A solution of KI (7.05 g, 42.5 mmol) in H<sub>2</sub>O (17.2 mL) was added dropwise to the vigorously stirred above mixture at 0°C and stirring was continued room temperature overnight. The solution was extracted several times with EtOAc. The organic layer was washed with H<sub>2</sub>O and Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>3</sub>, and dried over anhydrous MgSO<sub>4</sub>, and evaporated. The residue was purified by silica gel column chromatography (*n*-hexane/EtOAc = 5:1) to give **46** as a colorless oil (560 mg, 79%). <sup>1</sup>H-NMR (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  7.81 (dt, 2H, *J* = 9.0, 2.0 Hz), 7.46 (d, 2H, *J* = 8.6 Hz), 3.71 (s, 1H). MS (TOF, [M-H]) *m/z* 369.

### 1.2. 4-(1,1,1,3,3,3-hexafluoro-2-hydroxypropan-2-yl)benzaldehyde (**47**)

To a solution of **46** (560 mg, 1.51 mmol) in THF (23.1 mL) at -78 °C was added dropwise *n*-BuLi in hexane (1.60 M, 1.73 mL, 2.77 mmol) under an Ar atmosphere. The resulting mixture was stirred for a further 30 min at the same temperature. *N,N*-dimethylformamide (214  $\mu$ L, 2.77 mmol) was added and the mixture was allowed to warm to room temperature and stirring was continued overnight. The reaction was then quenched with H<sub>2</sub>O and extraction with EtOAc afforded an organic layer, which was washed with brine and H<sub>2</sub>O, dried over anhydrous MgSO<sub>4</sub> and evaporated. The residue was purified by silica gel column chromatography (*n*-hexane/EtOAc = 5:1) to give **47** as a pale-yellow oil (29.4 mg, 11%). <sup>1</sup>H-NMR (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  10.08 (s, 1H), 7.98 (dt, 2H, *J* = 8.4, 1.9 Hz), 7.93 (d, 2H, *J* = 8.6 Hz), 5.14 (s, 1H). MS (TOF, [M-H]) *m/z* 271.

### 1.3. 4-(1,1,1,3,3,3-hexafluoro-2-hydroxypropan-2-yl)benzoic acid (**48**)

To a solution of **47** (66.2 mg, 0.243 mmol) in *t*BuOH-MeCN = 2:1 (2.4 mL) was added 2-methyl-1-butene (131  $\mu$ L, 1.22 mmol) and the solution was stirred at 0°C. NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> (102 mg, 0.851 mmol) and NaClO<sub>2</sub> (68.8 mg, 0.760 mmol) was added and the mixture was allowed to warm to room temperature and stirring was continued overnight. The reaction was then quenched with H<sub>2</sub>O and extraction with EtOAc afforded an organic layer, which was washed with brine and H<sub>2</sub>O, dried over anhydrous MgSO<sub>4</sub> and evaporated. The residue was purified by silica gel column chromatography (*n*-hexane/EtOAc = 1:1) to give **48** as a pale-yellow solid (66.0 mg, 94%). <sup>1</sup>H-NMR (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$

8.19 (dt, 2H,  $J = 8.8, 2.0$  Hz), 7.86 (d, 2H,  $J = 8.6$  Hz). MS (TOF, [M-H])  $m/z$  287.

#### 1.4.

##### **4-(1,1,1,3,3,3-hexafluoro-2-hydroxypropan-2-yl)-*N*-(5,5,8,8-tetramethyl-5,6,7,8-tetrahydronaphthalen-2-yl)benzamide (41)**

To a solution of **48** (66.0 mg, 0.229 mmol) in *N,N*-dimethylformamide (2.3 mL) was added 1-ethyl-3-(3-dimethylaminopropyl) carbodiimide hydrochloride (66.0 mg, 0.344 mmol) and *N,N*-dimethyl-4-aminopyridine (42.0 mg, 0.344 mmol) and the solution was stirred at room temperature. 5,5,8,8-tetramethyl-5,6,7,8-tetrahydronaphthalen-2-amine (**49**) was added and the mixture was stirred at room temperature. The reaction was then quenched with HCl, and the whole was extracted with EtOAc. The organic layer was washed with brine and H<sub>2</sub>O, dried over anhydrous MgSO<sub>4</sub> and evaporated to give **41** as a pale-yellow oil (38.1 mg, 35%). <sup>1</sup>H-NMR (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  7.89 (d, 2H,  $J = 8.0$  Hz), 7.84 (d, 2H,  $J = 8.6$  Hz), 7.76 (s, 1H), 7.51 (s, 1H), 7.42 (d, 1H,  $J = 8.6$  Hz), 7.32 (d, 1H,  $J = 8.6$  Hz), 1.69 (s, 4H), 1.30 (s, 6H), 1.28 (s, 6H). <sup>13</sup>C-NMR (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  165.36, 146.04, 142.09, 136.82, 134.90, 133.44, 127.44, 127.18, 123.76, 121.47, 118.39, 118.27, 35.09, 35.05, 34.53, 34.13, 32.08, 31.92, 31.84. HRMS (TOF) calcd for C<sub>24</sub>H<sub>25</sub>F<sub>6</sub>NO<sub>2</sub>Na 496.1682; found:  $m/z$  496.1680 (M+Na).

##### **1.5. 4-bromo-*N*-(5,5,8,8-tetramethyl-5,6,7,8-tetrahydronaphthalen-2-yl)benzamid (51)**

4-bromobenzoic acid **50** (989 mg, 4.92 mmol), 1-ethyl-3-(3-dimethylaminopropyl) carbodiimide hydrochloride (1.41 g, 7.38 mmol) and *N,N*-dimethyl-4-aminopyridine (901 mg, 7.38 mmol) was added to a eggplant flask, and *N,N*-dimethylformamide (49 mL) was added, and the mixture was stirred. To the solution 5,5,8,8-tetramethyl-5,6,7,8-tetrahydronaphthalen-2-amine (**49**) was added and stirred at room temperature overnight. The reaction was then quenched with 2N HCl aq., and the whole was extracted with EtOAc. The organic layer was washed with brine and H<sub>2</sub>O, dried over anhydrous MgSO<sub>4</sub> and evaporated to give **51** as a white solid (2.99 g, quant.). <sup>1</sup>H-NMR (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  7.73 (t, 3H,  $J = 9.7$  Hz), 7.61 (d, 2H,  $J = 8.6$  Hz), 7.50 (s, 1H), 7.41 (dd, 1H,  $J = 8.6, 1.7$  Hz), 7.31 (d, 1H,  $J = 8.6$  Hz), 1.69 (s, 4H), 1.29 (s, 6H), 1.28 (s, 6H). MS (TOF, [M+Na])  $m/z$  408, 410.

##### **1.6. 4-(hydroxydimethylsilyl)-*N*-(5,5,8,8-tetramethyl-5,6,7,8-tetrahydronaphthalen-2-yl)benzamide (42)**

To a solution of palladium chloride (4.1 mg, 0.0232 mmol), 2-(di-*t*-butylphosphino)biphenyl (13.9 mg, 0.0465 mmol) and **51** (201 mg, 0.465 mmol) in 1-methyl-2-pyrrolidinone (4.6 mL) was added diisopropylethylamine (238  $\mu$ L, 1.39 mmol) and the mixture was stirred at 60 °C under an argon atmosphere. 1,2-diethoxy-1,1,2,2-tetramethyldisilane (138  $\mu$ L, 0.558 mmol) was added to the mixture and the mixture was stirred at 60 °C for 4h. The reaction mixture was cooled to rt and CH<sub>3</sub>CN (10 mL), 2-(dimethylamino)ethanethiol hydrochloride (16.5 mg, 0.116 mmol) and 1.0 M acetic acid (13.4 mL)

were added and the resulting mixture was stirred at rt for 2h. The reaction was then quenched with H<sub>2</sub>O, and the whole was extracted with EtOAc. The organic layer was washed with brine and H<sub>2</sub>O, dried over anhydrous MgSO<sub>4</sub> and evaporated. The residue was purified by silica gel column chromatography (*n*-hexane/EtOAc = 3:1) to give **42** as a pale-yellow solid (80 mg, 45%). <sup>1</sup>H-NMR (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 10.08 (s, 1H), 7.89 (d, 2H, *J* = 8.0 Hz), 7.69-7.68 (m, 3H), 7.57 (dd, 1H, *J* = 8.6, 2.3 Hz), 7.28 (d, 1H, *J* = 8.6 Hz), 6.05 (s, 1H), 1.64 (s, 4H), 1.25 (s, 6H), 1.23 (s, 6H), 0.28 (s, 6H). <sup>13</sup>C-NMR (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 165.87, 145.13, 145.01, 140.30, 137.17, 136.05, 133.39, 127.10, 126.96, 118.76, 118.50, 34.53, 34.08, 32.20, 32.17, 1.08. HRMS (TOF) calcd for C<sub>23</sub>H<sub>30</sub>NO<sub>2</sub>Si 380.2040; found: *m/z* 380.2042 (M+Na).

#### 1.7. 4-(hydroxydimethylsilyl)-*N*-(5,5,8,8-tetramethyl-5,6,7,8-tetrahydronaphthalen-2-yl)benzamide (**43**)

To a solution of tris(dibenzylideneacetone)dipalladium(0) (7.6 mg, 8.31 μmol), 2-(di-*t*-butylphosphino)biphenyl (7.4 mg, 24.9 μmol), potassium fluoride (80 mg, 1.38 mmol) and **53** (120 mg, 0.277 mmol) in *N,N'*-dimethylpropyleneurea (8.3 mL) was added H<sub>2</sub>O (100 μL) and hexamethyldisilane (68.0 μL, 0.332 mmol), and the mixture was stirred at 100 °C for 2h under an argon atmosphere. The reaction mixture was cooled to rt and quenched with H<sub>2</sub>O, and the whole was extracted with EtOAc. The organic layer was washed with brine and H<sub>2</sub>O, dried over anhydrous MgSO<sub>4</sub> and evaporated. The residue was purified by silica gel column chromatography (*n*-hexane/EtOAc = 10:1) to give **43** as a white solid (40 mg, 38%). <sup>1</sup>H-NMR (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 7.83 (d, 2H, *J* = 8.0), 7.72 (s, 1H), 7.64 (d, 2H, *J* = 8.6 Hz), 7.55 (s, 1H), 7.41 (dd, 1H, *J* = 8.3, 2.6 Hz), 7.31 (d, 1H, *J* = 8.6 Hz), 1.69 (s, 4H), 1.31 (s, 6H), 1.28 (s, 6H), 0.30 (s, 9H). <sup>13</sup>C-NMR (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 133.79, 127.35, 126.06, 35.15, 34.09, 31.94, 31.90, -1.19. HRMS (TOF) calcd for C<sub>24</sub>H<sub>32</sub>NOSi 378.2248; found: *m/z* 378.2236 (M-H).

#### 1.8. 4-iodo-*N*-(5,5,8,8-tetramethyl-5,6,7,8-tetrahydronaphthalen-2-yl)benzamide (**55**)

4-iodobenzoic acid (1.22 g, 4.918 mmol), 1-ethyl-3-(3-dimethylaminopropyl) carbodiimide hydrochloride (1.414 g, 7.38 mmol) and *N,N*-dimethyl-4-aminopyridine (0.901 g, 7.38 mmol) was added to a eggplant flask, and *N,N*-dimethylformamide (49 mL) was added, and the mixture was stirred. To the solution 5,5,8,8-tetramethyl-5,6,7,8-tetrahydronaphthalen-2-amine **49** (1 g, 4.918 mmol) was added and stirred at room temperature overnight. The reaction was then quenched with 2N HCl aq., and the whole was extracted with EtOAc. The organic layer was washed with brine and H<sub>2</sub>O, dried over anhydrous MgSO<sub>4</sub> and evaporated to give **55** as a white solid (1.71 g, 80%). <sup>1</sup>H-NMR (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 7.83 (d, 2H, *J* = 8.6 Hz), 7.71 (s, 1H), 7.59 (d, 2H, *J* = 8.0 Hz), 7.51 (s, 1H), 7.41 (dd, 1H, *J* = 8.6, 2.3 Hz), 7.30 (d, 1H, *J* = 8.6 Hz), 1.69 (s, 4H), 1.29 (s, 6H), 1.27 (s, 6H). MS (TOF, [M-H]) *m/z* 432.

#### 1.9. *N*-(5,5,8,8-tetramethyl-5,6,7,8-tetrahydronaphthalen-2-yl)benzamide (**44**)

To a solution of Pd(dba)<sub>2</sub> (8.9 mg, 0.0154 mmol), 2-(di-*t*-butylphosphino)biphenyl (9.2 mg, 0.0309

mmol) and **55** (223 mg, 0.515 mmol) in 1-methyl-2-pyrrolidinone (5.1 mL) was added diisopropylethylamine (264  $\mu$ L, 1.54 mmol) and the mixture was stirred at 60 °C under an argon atmosphere. Diethoxymethylsilane (124  $\mu$ L, 0.772 mmol) was added to the mixture and the mixture was stirred at 60 °C for 4h. The reaction mixture was cooled to rt and CH<sub>3</sub>CN (11 mL), 2-(dimethylamino)ethanethiol hydrochloride (18.2 mg, 0.129 mmol) and 1.0 M acetic acid (14.8 mL) were added and the resulting mixture was stirred at rt for 2h. The reaction was then quenched with H<sub>2</sub>O, and the whole was extracted with EtOAc. The organic layer was washed with brine and H<sub>2</sub>O, dried over anhydrous MgSO<sub>4</sub> and evaporated. The residue was purified by silica gel column chromatography (*n*-hexane/EtOAc = 5:1) to not give **57** but give **44** as a pale-yellow solid (85.2 mg, 54%). <sup>1</sup>H-NMR (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  7.94 (s, 1H), 7.87 (d, 2H, *J* = 7.4 Hz), 7.56 (s, 1H), 7.52 (t, 1H, *J* = 7.4 Hz), 7.45 (t, 3H, *J* = 6.9 Hz), 7.30 (d, 1H, *J* = 8.6 Hz), 1.69 (s, 4H), 1.29 (s, 6H), 1.28 (s, 6H). <sup>13</sup>C-NMR (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  145.91, 141.56, 135.37, 131.82, 128.87, 127.37, 127.05, 35.14, 35.10, 34.53, 34.53, 34.09, 31.94, 31.91. HRMS (TOF) calcd for C<sub>21</sub>H<sub>24</sub>NO 306.1858; found: *m/z* 306.1856 (M-H).

#### 6. HL-60 cell differentiation-inducing activity assay

HL-60 cells were seeded at a density of  $1 \times 10^5$  or  $2 \times 10^5$  cells/mL in 24-well plates and treated with test compounds or the vehicle (0.5% DMSO) and incubated at 37°C under a 5% CO<sub>2</sub> atmosphere for 3 days. The cells were then added PBS containing 0.2% NBT and 400 nM TPA in a 1:1 (v/v) ratio and incubated at 37°C under a 5% CO<sub>2</sub> atmosphere for 30 min, and NBT positive cells were counted, and the cell differentiation was evaluated morphologically by microscopy.

#### 7. Reference

S1) *OECD Guideline for Testing of Chemicals 117, Partition Coefficient (n-octanol/water), High Performance Liquid Chromatography (HPLC) Method*; March 1989.



## 謝辞

本研究を遂行するにあたり、多大なるご指導、ご鞭撻を賜りました東京大学 分子細胞生物学研究所 生体有機化学研究分野 橋本 祐一 教授に心より感謝致します。

本研究の遂行にあたり、様々なご助言、および、実験のご指導を賜りました東京大学 分子細胞生物学研究所 生体有機化学研究分野 藤井 晋也 講師、大金 賢司 助教に深く感謝致します。

本研究の遂行にあたり、ご指導並びに数々の助言を賜りました東京大学 分子細胞生物学研究所 生体有機化学研究分野 石川 稔 准教授、谷内出 友美 助教、並びに、大阪大学 薬学研究科 山口 卓男 講師に深く感謝申し上げます。

本研究を遂行するにあたり、様々なご助言をくださり、また、日々の研究生活において親しくしてくださった東京大学 分子細胞生物学研究所 生体有機化学研究分野の先輩、同期、後輩の皆様感謝致します。

最後に、本学修士課程で研究する機会を与えてくださり、経済的、精神的に支えてくださった家族に深く感謝致します。