

2019年9月

関西大学審査学位論文

創薬を志向した含ホウ素化合物の  
新規合成法開発と *in vitro* 薬物動態評価

関西大学

理工学研究科

総合理工学専攻

生命・医薬

16D6012 夏谷 格

創薬を志向した含ホウ素化合物の新規合成法開発と *in vitro* 薬物動態評価

ホウ素は周期表で炭素原子の左隣に位置する元素で、有機ホウ素化合物中では、炭素やその他のヘテロ元素と  $sp^2$  混成の  $\sigma$  結合を形成する。しかしながら、生体分子に多く含まれる炭素、窒素、酸素などと比較して、その電気陰性度は低く、また、空の  $2p$  軌道を有することからルイス酸性を有する。ヘテロ原子との結合においては、外部のアルコールやアミンなどと可逆的な置換反応を生じ、新たな共有結合を形成することができる。近年、このような有機ホウ素化合物の特性が、生体分子との相互作用の観点から注目されるようになり、医薬品開発の新たなツールとして、その応用が期待されている。更に、ホウ素は、放射熱中性子線を補足し、その近傍に  $\alpha$  線を放出することが知られており、この性質を利用した、がん中性子補足療法の増感剤として、がん細胞特異性の高い有機ホウ素化合物の創製が求められている。しかし、創薬を志向した含ホウ素有化合物の合成報告例は少なく、ドラッグライクな含ホウ素化合物の新規合成法が求められている。加えて、含ホウ素化合物の薬物動態プロファイルにも興味もたれている。

本研究では、創薬を志向した含ホウ素化合物新規合成法の開発と薬物動態プロファイルの解明を目的として、含ホウ素複素環であるオキサボリン骨格と薬理活性が期待できるオキシインドール骨格をオキシインドールの 3 位にスピロ環構造として組み込んだ、スピロ含ホウ素複素環化合物をデザインした。鍵工程として、酸性条件下、過ヨウ素酸ナトリウムを用いることで容易にオキシインドール 3 位の酸化反応が進行することを見出し、短工程かつ高収率でスピロ含ホウ素複素環化合物の合成に成功した。本合成法は種々の置換基を導入した化合物の合成に適用可能であり、スピロオキサボリン誘導体のライブラリー構築へと展開し、その有用性を示した。本合成法の特徴として、結晶化のみで精製可能であることから簡便かつスケールアップ可能であることがあげられる。さらに、合成したスピロオキサボリン誘導体の物性及び薬物動態プロファイルを確認したところ、経口剤として許容される脂溶性、膜透過性及び代謝安定性を示す興味深い知見を得た。

次に、アリアルボロン酸エステルが塩基性条件下または酸化条件下において速やかにフェノール性水酸基へ変換される点に着目し、吸収過程で制限を受けるフェノール誘導体のプロドラッグ化を考えた。そこで、肝障害回避の観点から低用量化と徐放化が望まれるアセトアミノフェンのフェノール性水酸基を置換した多様な含ホウ素プロドラッグをデザインした。酸化条件下、アセトアミノフェンの生成量を比較したところ、 $p$  位にボロン酸エステ

ルを有するベンジル型またはピリジル型プロドラッグにおいて、アセトアミノフェンが緩やかに生成することを見出した。

以上の結果から、著者は創薬に利用可能な新規スキファールドとして期待できる含ホウ素化合物の新規合成法および吸収過程で制限を受けることが多いフェノール性水酸基に対してアリアルボロン酸誘導体がプロドラッグとなることを報告する。以下に、各章の概略を述べる。

## 第一章 序論

含ホウ素化合物は、標的タンパクに含まれる酸素原子と可逆的共有結合を形成でき、他にも多様な結合様式をもつため、創薬研究の新しいツールとして注目を集めている。しかしながら、創薬を志向した含ホウ素化合物の合成法や薬物動態評価の報告例は限定的であり、その応用は十分でない。これまでの含ホウ素複素環の合成報告は、比較的単純な構造のものが多く、創薬研究で注目されているスピロ環などの三次元的立体構造を有する化合物の合成例は少ない。そこで、複雑な構造を有しドラッグライクな物性値が期待できる含ホウ素化合物の簡便な合成法を考察した。強力な薬理活性が期待できる含ホウ素化合物の新規合成法の開発は、今後の創薬研究に貢献することが期待できる。

## 第二章 Spiro-fused benzoxaborin 誘導体の新規合成法開発

本章では効率的かつ短工程のスピロベンゾオキサボリン誘導体の合成法を開発した。まず、含ホウ素ヘテロ環であるベンゾオキサボリン骨格とオキシインドール骨格を、創薬研究で注目されているスピロ構造として組みこんだハイブリッド化合物をデザインした。このハイブリッド化合物は、非平面的な構造を有し医薬品に適した物理化学的性質が期待できることから、次世代創薬のハイスループットスクリーニングに応用できると考えた。ハイブリッド化合物の合成法では、鍵工程であるスピロ環化反応において酸性条件下過ヨウ素酸ナトリウムを用いることで効率的にスピロ環が構築できた。

## 第三章 含ホウ素化合物の in vitro 薬物動態評価

本章ではスピロベンゾオキサボリン誘導体の良好な in vitro 薬物動態プロファイルを明らかにした。創薬初期の段階からヒトの血中曝露を予測するために、in vitro 薬物動態評価は重要な位置付けにある。しかしながら、含ホウ素化合物のこれら情報は不足している。そこで、スピロベンゾオキサボリン誘導体の in vitro 薬物動態プロファイルを評価したところ、経口医薬品として適した脂溶性、良好な膜透過性および代謝安定性を示した。この結果から、スピロベンゾオキサボリン誘導体は経口剤への応用が期待できる。

## 第四章 アセトアミノフェン新規含ホウ素プロドラッグの開発

本章では、徐放化が期待できる含ホウ素ベンジル型プロドラッグを開発した。フェノール

性水酸基を有する化合物の小腸膜透過性は、グルクロン酸抱合を受けるため制限される。また、アリールボロン酸は代謝を受けると、そのホウ素部位がフェノール性水酸基へ変換される。抱合反応を抑制し透過性を向上させる手段として含ホウ素プロドラッグが知られているが、各種ホウ素化合物の代謝速度の比較は十分でない。そこで、アセトアミノフェンの各種含ホウ素プロドラッグを合成し、酸化条件下でのアセトアミノフェンの生成を比較したところ、*p* 位にボロン酸エステルを有するベンジル型プロドラッグは過酸化酸素中アセトアミノフェンを徐々に放出した。この結果は、徐放型含ホウ素プロドラッグ研究への応用が期待できる。

以上

## 目次

第一章 序論.....	3
第一節 はじめに.....	3
第二節 ホウ素原子の特徴と医薬品への応用.....	6
第三節 含ホウ素化合物の合成研究と課題.....	10
第四節 化合物ライブラリーに適した化合物群.....	19
第五節 創薬における <i>in vitro</i> 薬物動態評価の役割.....	23
第六節 含ホウ素化合物の薬物動態評価.....	24
第七節 プロドラッグの応用例.....	26
第二章 Spiro-fused benzoxaborin 誘導体の新規合成法開発.....	31
第一節 緒言.....	31
第二節 スピロオキサボリン誘導体の逆合成.....	32
第三節 メチルエステル誘導体を用いた検討.....	33
第四節 酸化反応を用いたスピロ環構築検討.....	36
第五節 置換スピロオキサボリン誘導体の合成.....	40
第六節 小括.....	42
第三章 含ホウ素化合物の <i>in vitro</i> 薬物動態評価.....	43
第一節 緒言.....	43
第二節 スピロオキサボリン誘導体の物性値評価.....	44
第三節 スピロオキサボリン誘導体の膜透過性と代謝安定性評価.....	45
第四節 アミド体との相互作用.....	47
第五節 小括.....	48
第四章 アセトアミノフェン新規含ホウ素プロドラッグの開発.....	49
第一節 緒言.....	49
第二節 プロドラッグ体の合成.....	51
第三節 過酸化水素中安定性評価.....	52

第四節 置換誘導体のデザインと合成 .....	54
第五節 プロドラッグの置換基効果と溶解度 .....	55
第六節 小括 .....	57
総括.....	58
実験の部 .....	59
第二章に関する実験 .....	60
第三章に関する実験 .....	79
第四章に関する実験 .....	81
引用文献 .....	89
謝辞.....	95

## 第一章 序論

### 第一節 はじめに

近年、製薬企業を取り巻く環境は厳しくなり、その理由として①長い開発期間、②高い研究開発費用、③低い成功確率があげられる。DiMasi らは、新規有効成分が臨床入りしてから承認までおよそ6年の期間がかかり、1品目あたりの研究開発費は数千億円を超え、承認までの成功確率は約12%と見積もった<sup>1</sup>。これらに基礎研究と非臨床研究の期間と費用、成功確率を考慮すると、創薬発案から新薬創出までには膨大な期間と金額がかかることが推定できる。そのような苦しい状況の中、常に製薬企業は高い投資に見合った効率的な新薬創出の在り方を模索している。

医薬品モダリティに目を向けると DNA や RNA を利用した核酸医薬品や免疫システムを利用した抗体医薬品が注目されている<sup>2,3</sup>。一方で、依然として低分子医薬品は創出され続けており、1997年から2016年の期間において年間9-33個の低分子新規有効成分がFDAから承認されている<sup>3</sup>。低分子医薬品とバイオ医薬品を比較すると(Table 1)<sup>4</sup>、一般的な低分子医薬品は分子量が500以下であることから合成が容易であり製造コストが安く、消化管での膜透過性を示すことから簡便に経口投与が可能である。その反面、ターゲットタンパク質への特異性の低さから副作用が課題となる場合がある。それに対して、バイオ医薬品はターゲットタンパク質への特異性が高く、副作用が少ない利点がある<sup>5</sup>。その反面、生体由来であるためその製造コストは高く、投資リスクを伴う<sup>6</sup>。加えて、抗体医薬品の分子量は非常に大きく細胞膜透過性が極めて低いことから、経口投与が困難であることや脳移行性が低いといった課題が残る<sup>7</sup>。このように低分子医薬品とバイオ医薬品には一長一短あり、低分子医薬品の創薬研究では、課題である特異性と副作用を改善する新規アプローチが求められている。

Table 1. 医薬品の分類と特徴

	低分子医薬品	バイオ医薬品
分子量	100-500	>5,000
製造コスト	安い	高い
細胞膜透過性	可能	不可
経口投与	可能	不可
特異性	低い	高い
副作用	多い	少ない

次に、一般的な低分子医薬品が承認されるまでのプロセスを Figure1 に示す。非臨床研究では探索合成研究により候補化合物が見出され、非臨床毒性試験で安全性を確認後、各臨床試験によりヒトでの薬理作用と安全性を検証する<sup>8</sup>。創薬プロセスの起点となる探索合成を詳細に見ると、まず化合物ライブラリーを用いたハイスループットスクリーニング(HTS)によって標的タンパクへ作用するヒット化合物群を見出す。次に、親和性、選択性、特許性や合成難易度などの観点から有望なヒット化合物を選び、lead generation 研究で薬理活性の向上を目指し、続いて lead optimization 研究により薬物動態及び安全性プロファイルを指標とした最適化を行い、最終的に候補化合物が選定される。もし、ヒット化合物自体に薬物動態及び安全性の課題が多い場合には、その課題解決に多大な費用や時間が費やされるため、化合物ライブラリーには、医薬品として適した物性を示す化合物が求められる。このように効率的に新薬を開発するためには、スクリーニング段階で質の高い化合物をヒットさせる必要がある。そのため、どのような化合物をスクリーニングライブラリーに準備するのか、その戦略が重要になる。質の高い化合物群の例として、①医薬品に適した物性値を示すこと<sup>9</sup>、②特許性があること、③合成が容易であること、④置換基導入などの最適化の余地があること、⑤3次元性が高いことなどがあげられる<sup>10</sup>。

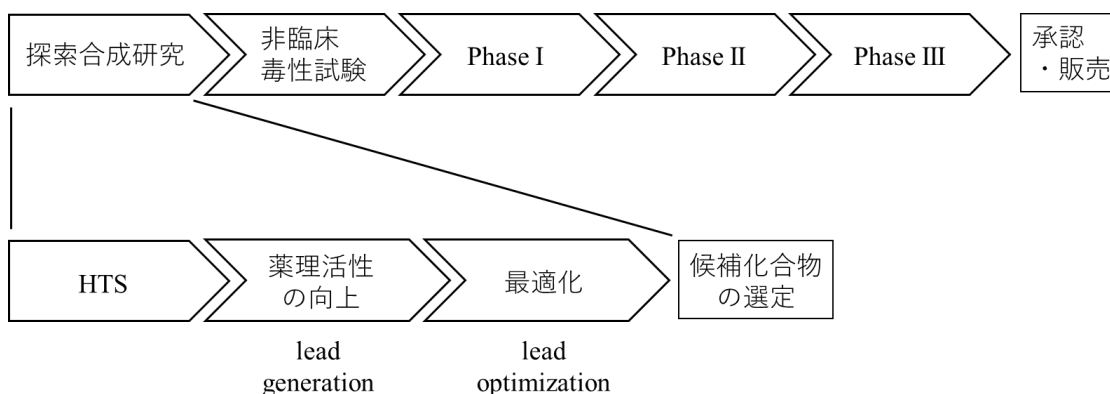
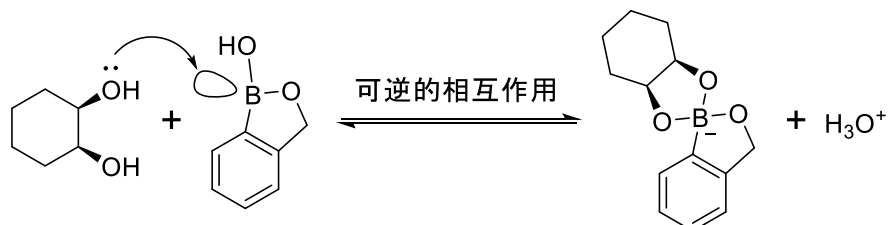


Figure 1. 創薬プロセス

次に、創薬研究におけるホウ素化合物の有用性を述べる。従来の低分子医薬品の多くは、炭素、水素に加えて、窒素、酸素、硫黄やリンなどのヘテロ原子を含む複素環から構成される<sup>11</sup>。経口吸収性を考慮すると、その分子量は500以下であることが重要である<sup>12</sup>。さらに、合成法と医薬品に適した物性値<sup>13</sup>を同時に考慮すると、医薬品候補化合物の構造多様性には限界がある。本研究では、低分子創薬における多様性の限界を克服する手段として「ホウ素」に着目した。含ホウ素化合物は、タンパク質の水酸基と可逆的な共有結合を形成することが可能であり<sup>14</sup>、従来の医薬品とは異なる強力な薬理活性が期待できる。さらに、含ホウ素化合物は *cis*-1,2-ジオール構造を有する糖と可逆的に結合しエステル構造を形成することができる(Figure 2)<sup>15</sup>。生体内には糖脂質や糖タンパクなど多様な糖が存在し、位置特異的に

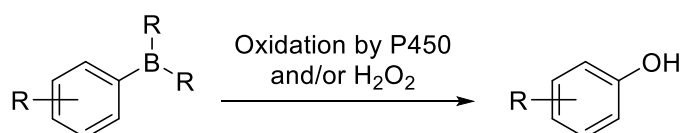


結合を形成できる含ホウ素化合物の創薬への応用は興味をもたれる。また、これらの結合様式は可逆的であるため、共有結合に起因する毒性は低いと考えた。



**Figure 2.** Reversible covalent binding of boron-containing compounds.

また、含ホウ素化合物の医薬品応用として、アリールボロン酸誘導体を用いたフェノール性水酸基を保護したプロドラッグがある。含ホウ素化合物は生体内で酸化され水酸体へ変換する (Figure 3)<sup>16</sup>。この性質を活用した含ホウ素プロドラッグによって、曝露向上による投与量の低減や、徐放化による副作用の低減が期待できる。しかしながら、その代謝速度や溶解度などと構造との相関は不明な点が多い。そこで、多様なベンジル型アリールボロン酸誘導体を合成し、その薬物動態評価を行った。体系的な含ホウ素プロドラッグ薬物動態プロファイルの解明は、十分な曝露を得ることができないフェノール誘導体の創薬に活用できる。



**Figure 3.** Hydrolysis of boron-containing compounds.

以上、低分子創薬研究の可能性を広げ、既存ライブラリー化合物にはない次世代創薬標的に対する薬理活性を有した医薬品を創製するために、含ホウ素化合物の創薬への応用は有望な手段である。

## 第二節 ホウ素原子の特徴と医薬品への応用

従来の低分子医薬品は、炭素、窒素、酸素、水素を中心に構成される<sup>17</sup>。また、医薬品の多くは受容体等の創薬標的タンパクに対し、水素結合や疎水性相互作用などの比較的弱い分子間相互作用を介して薬理作用を発揮しているため、標的によっては十分な薬理効果を得られない場合がある。これらの課題を解決する方策として、より強力な可逆的共有結合により薬理作用を発揮できる含ホウ素化合物が注目されている<sup>18</sup>。ホウ素原子は原子上に空の2p軌道をもっており、この空軌道に酸素原子等の非共有電子対が入ることで、可逆的共有結合を形成できる<sup>18</sup>。例えば、含ホウ素化合物はタンパクのトレオニン残基やセリン残基の水酸基と結合することができる(Figure 4)<sup>14</sup>。さらに、*cis*-1,2-ジオールまたは*cis*-1,3-ジオール構造を有する糖とエステル結合を形成することも可能であり<sup>19</sup>、RNAの糖鎖ユニットと相互作用が可能である<sup>20</sup>。これら可逆的相互作用に加えて、含ホウ素化合物は従来から創薬に活用されている水素結合<sup>21</sup>や金属への配位による相互作用<sup>22</sup>も可能であり、多様な結合様式をとることが可能である(Figure 5)。この特殊な性質のおかげで、含ホウ素化合物には既存の医薬品にはない特徴的な新規薬理が期待できる。

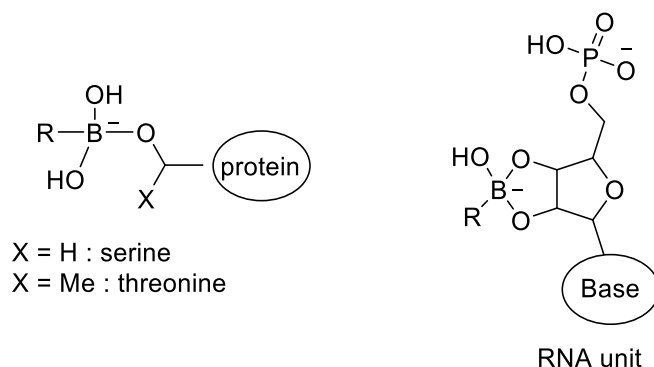


Figure 4. Reversible covalent binding of boron-containing compounds.

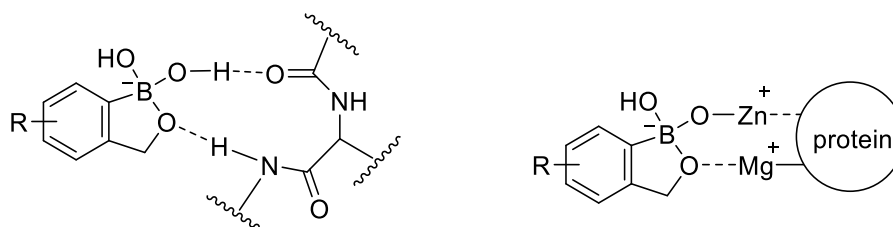
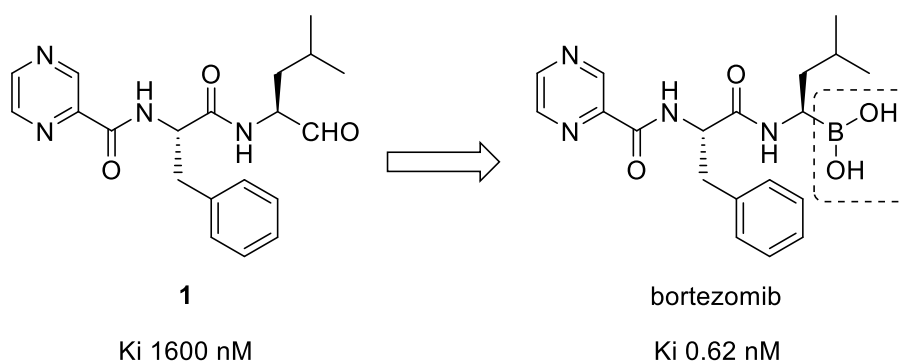
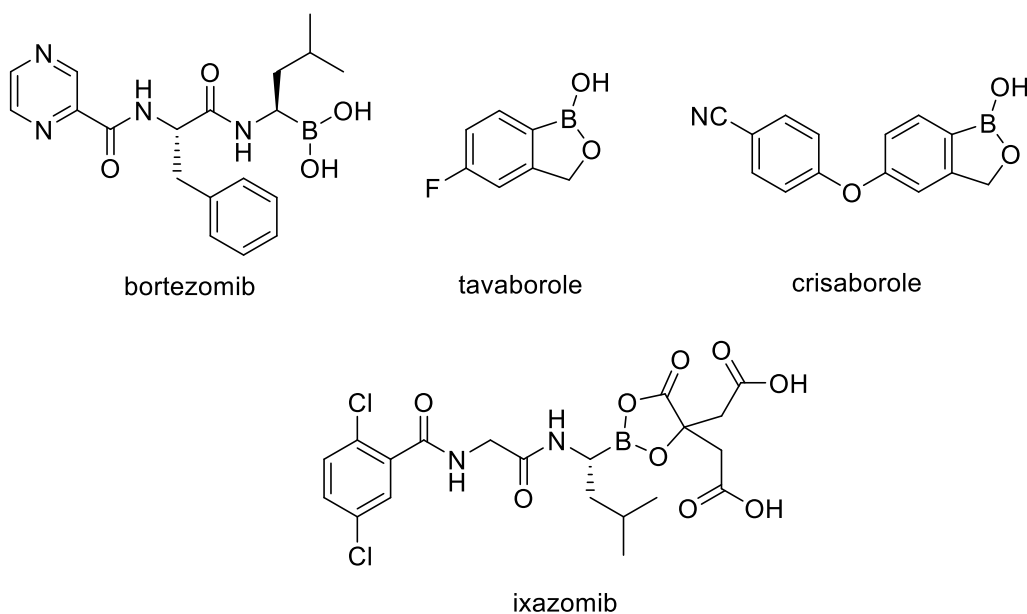


Figure 5. Possible chemical interactions of boron-containing compounds.

上記のようにホウ素原子の特殊な特徴を活かした創薬研究の成功例として、bortezomib (多発性骨髄腫治療薬)<sup>23</sup>が知られている。これは、2003年に世界初の含ホウ素医薬品としてFDAから承認された医薬品である。Bortezomibの探索研究では、化合物**1**のアルデヒド基をボロン酸へ変換することで1000倍以上のプロテアソーム阻害活性を示すことが見出された(Figure 6)<sup>24</sup>。その後、X線構造解析によってbortezomibのボロン酸部位が標的タンパク質である26Sプロテアソームのトレオニン残基と可逆的に共有結合していることが示された<sup>25</sup>。このようなホウ素原子の特徴を活用し、bortezomibは高い親和性と特異性を達成している。その後、tavaborole (爪白癬治療薬)<sup>26</sup>、crisaborole (アトピー性皮膚炎治療薬)<sup>27</sup>、ixazomib (多発性骨髄腫治療薬)<sup>28</sup>が上市された(Figure 7)。その中でも、ixazomibは初の経口投与可能な含ホウ素プロドラッグであることから、含ホウ素化合物の中にも良好な経口吸収性を示すものがあることが示された。

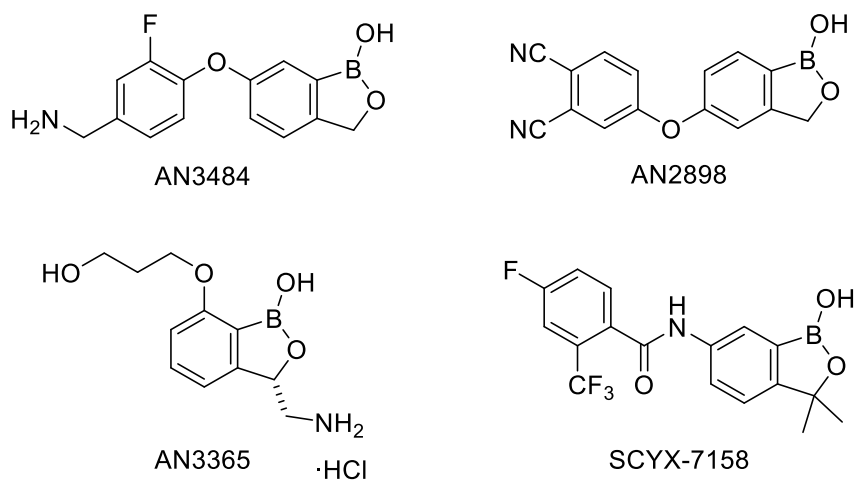


**Figure 6.** Proteasome inhibitory activity of **1** and bortezomib.

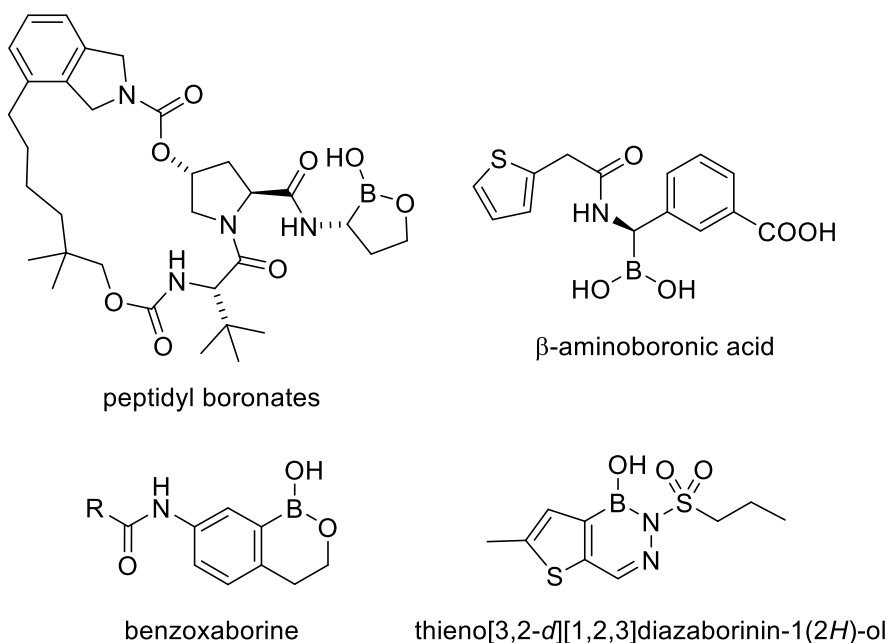


**Figure 7.** Drugs of boron-containing compounds.

ホウ素原子を含む医薬品候補化合物としては、tavaboroleと同様のベンゾオキサボロール骨格を有する化合物が抗菌作用を示したと報告されている(Figure 8)<sup>22,29</sup>。その他、肝炎ウイルスの増殖に関与するHCV NS3プロテアーゼ阻害活性を有するマクロライド誘導体<sup>30</sup>、 $\beta$ -lactamase阻害活性を有するボロン酸誘導体<sup>31</sup>、抗菌活性を有するオキサボリン誘導体<sup>32</sup>、チエノジアザボリン誘導体<sup>33</sup>等が報告されている(Figure 9)。



**Figure 8.** Drug-candidates of benzoxaboroles.



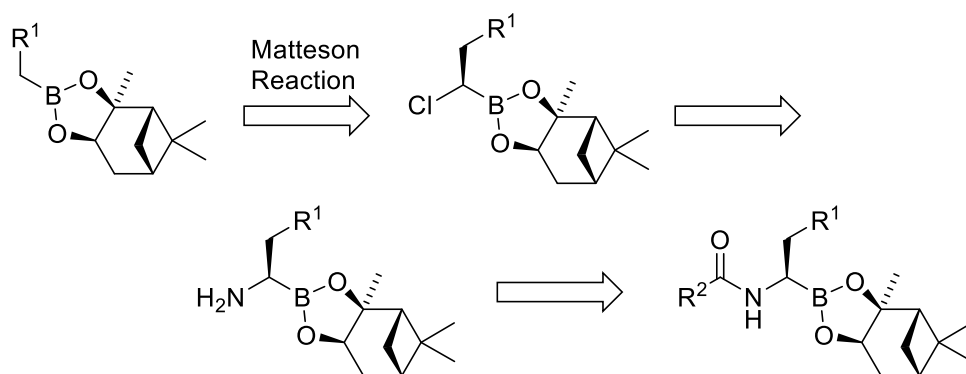
**Figure 9.** Drug-candidates of boron-containing compounds.

しかしながら、これらの医薬品及びその候補化合物の構造は単純であり、アミド結合を有するホウ酸誘導体または簡素な置換基を有したベンゼン環をもつ二環性誘導体である。次世代創薬では、ホウ素原子の特殊な相互作用を複雑な構造の化合物に組み込むことが求められる。特に、近年注目されている 3 次元立体的構造を有する分子にホウ素原子を組み込み、立体的または電子的に相互作用をコントロールした分子設計を可能する方法論が求められる。従って、簡便かつ効率的に複雑な含ホウ素化合物を供給できる新規合成法の開発は創薬に貢献できる。

### 第三節 含ホウ素化合物の合成研究と課題

前節で述べた通り、生理活性を有する含ホウ素化合物は、bortezomib に代表される含ホウ素ペプチド誘導体と tavorole に代表される 2 環性含ホウ素誘導体に大別される (Figure 10)。含ホウ素ペプチド誘導体は、ピナンジオール誘導体を足掛かりに、Matteson らにより報告された  $\alpha$ -ハロカルボアニオンを用いる不斉増炭反応<sup>34</sup>の後、窒素源の導入反応、アミノ基への還元反応と縮合反応を経由しペプチド誘導体へと導かれる。一方、二環性含ホウ素誘導体は分子内水酸基を利用した分子内環化反応によって合成される<sup>35</sup>。その合成報告例は 5 員環構造を有するベンゾオキサボロール骨格が中心であり、6 員環構造を有するベンゾオキサボリン骨格の合成例は僅かである。以下、具体的な合成事例と課題を述べる。

#### a) Synthesis of peptide derivatives



#### b) Synthesis of bicyclic derivatives

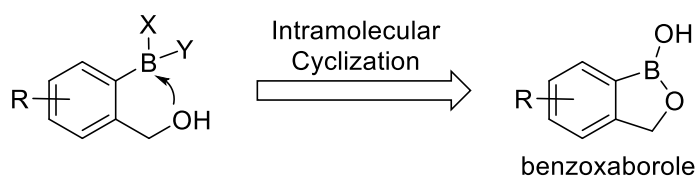
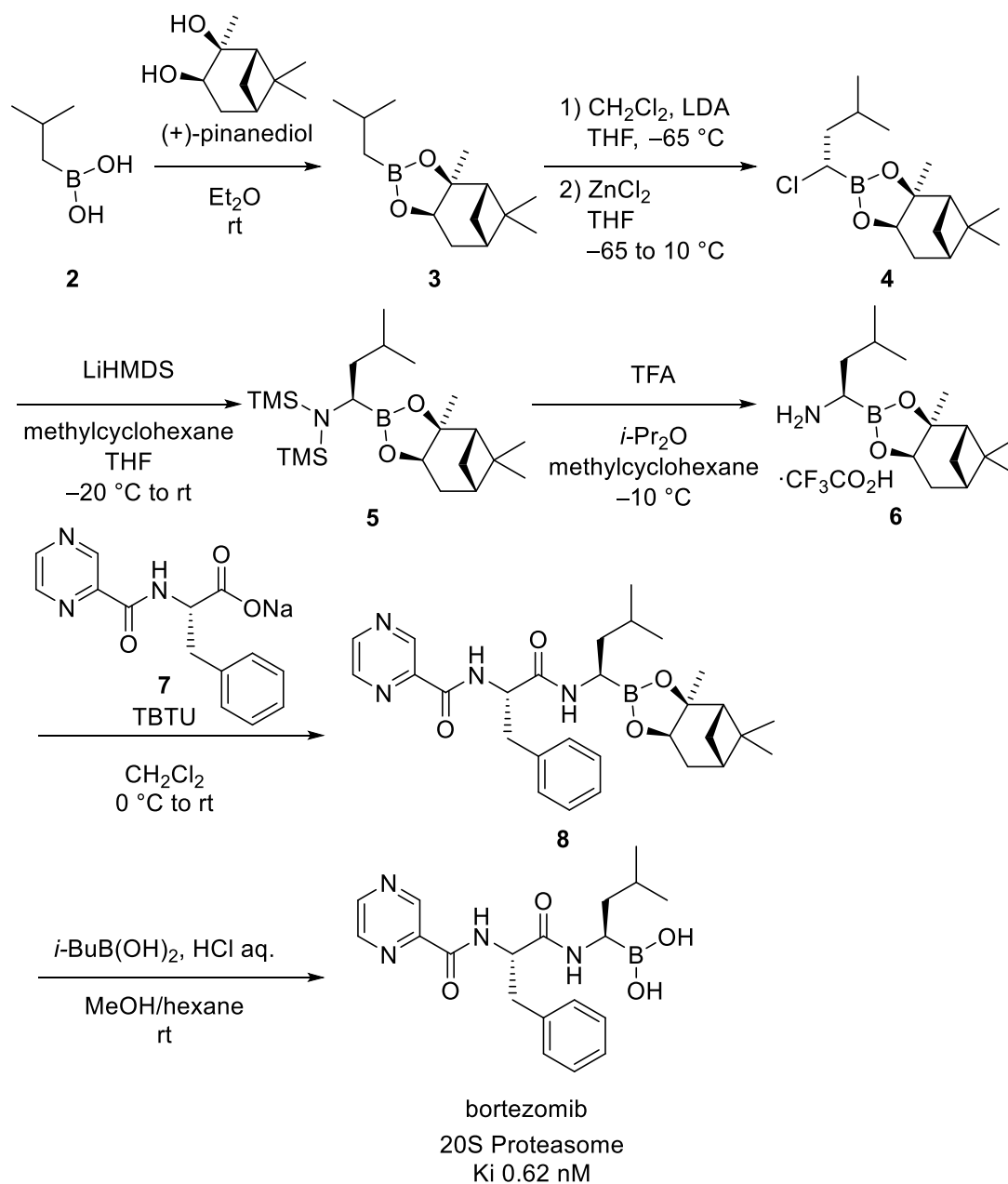


Figure 10. Synthetic methods of boron-containing compounds.

(1) 含ホウ素ペプチド誘導体

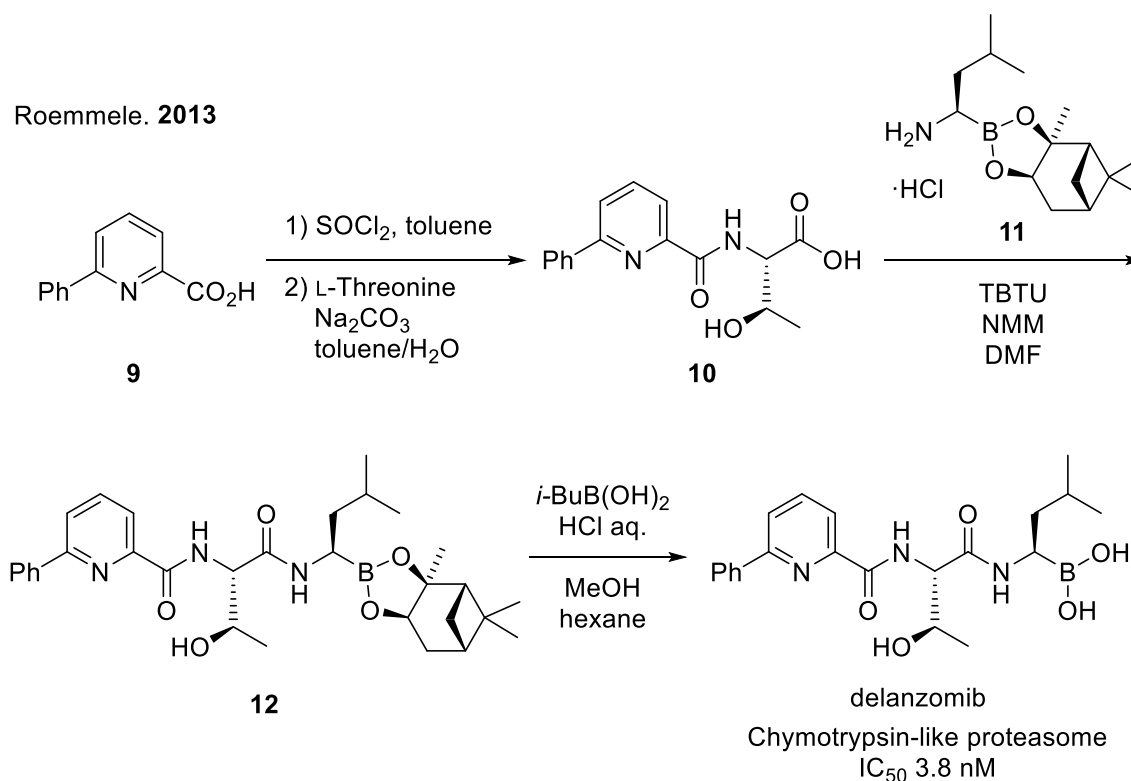
Rentsch らは bortezomib の合成法を報告した(Scheme 1)<sup>36</sup>。出発原料のイソブチルボロン酸 **2** を(+)-ピナンジオールで保護したボロン酸エステル体 **3** に対し、Matteson 反応により不斉炭素が導入された化合物 **4** を合成した。その後、LiHMDS (lithium hexamethyldisilazide)を用いた S<sub>N</sub>2 反応により窒素源を導入した化合物 **5** へ変換後、酸によって脱保護されたアミン体 **6** とピラジン体 **7** との縮合反応を経て化合物 **8** を合成した。最後にピナンジオールを除去し bortezomib を合成した。

Rentsch, 2013



Scheme 1. Synthesis of bortezomib<sup>36</sup>

Roemmele らは proteasome 阻害活性を示す delanzomib の合成法を報告した。(Scheme 2)<sup>37, 38</sup>。カルボン酸体 **9** へ L-トレオニン縮合反応により導入後、bortezomib の合成法と同様に Matteson 反応により合成できるアミン体 **11** と縮合させアミド体 **12** へ導いた。最後にピナジオールを除去し delanzomib を合成した。



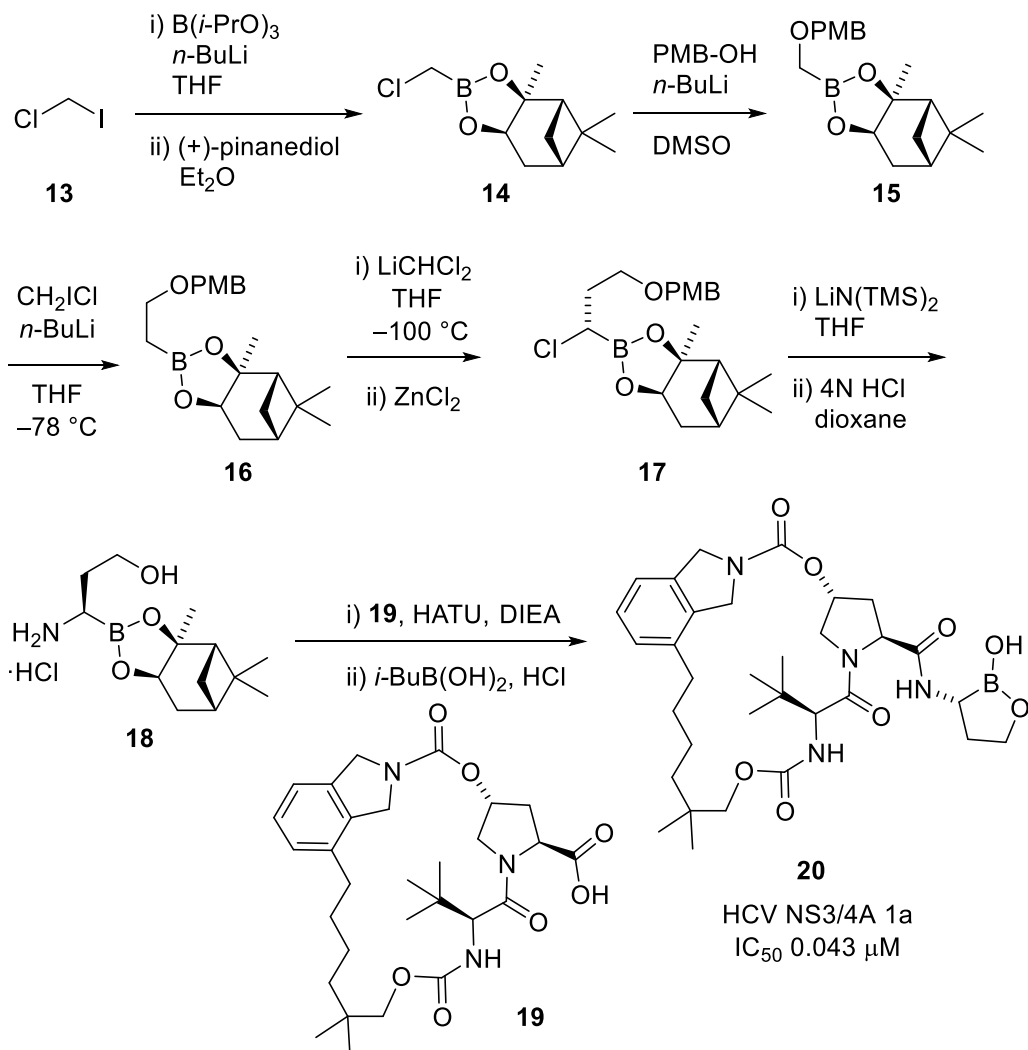
Scheme 2. Synthesis of delanzomib<sup>38</sup>

Li らは HCV NS3 プロテアーゼ阻害作用を示し C 型肝炎治療薬の候補化合物である含ホウ素マクロライド誘導体 **23** の合成法を報告した(Scheme 3)<sup>30</sup>。出発原料 **13** から 3 ステップで(+)-ピナジオールで保護されたボロン酸エステル体 **15** へ導き、Matteson 反応により増炭された化合物 **16** を合成した。この化合物 **16** に対し、2 回目の Matteson 反応を用い不斉炭素を有する化合物 **17** へ変換後、クロロ基をアミノ基へ変換し(**18**)、最後にマクロライドの縮合反応と脱保護反応により目的とする化合物 **20** を合成した。

Scheme 1-3 で示した通り、含ホウ素ペプチド誘導体の合成には Matteson 反応が汎用される。この反応はホウ素化合物に(+)-ピナジオール等のキラル補助基を導入しておくことで不斉炭素が導入でき、多様な誘導体を合成できる点で有用である。その反面、反応温度を低温に保つ必要があり、薬理活性や薬物動態プロファイルを改善するために小スケールで多くの誘導体合成を必要とする探索研究には不向きな反応である。従って、簡便な実験操作により多様な含ホウ素化合物を供給できる合成法が求められる。



Li, 2010

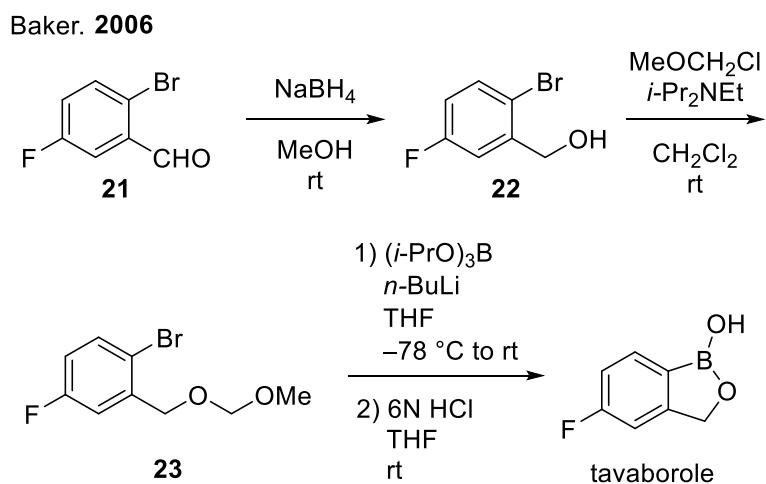


Scheme 3. Synthesis of macrolide 20<sup>30</sup>

## (2) 二環性含ホウ素誘導体

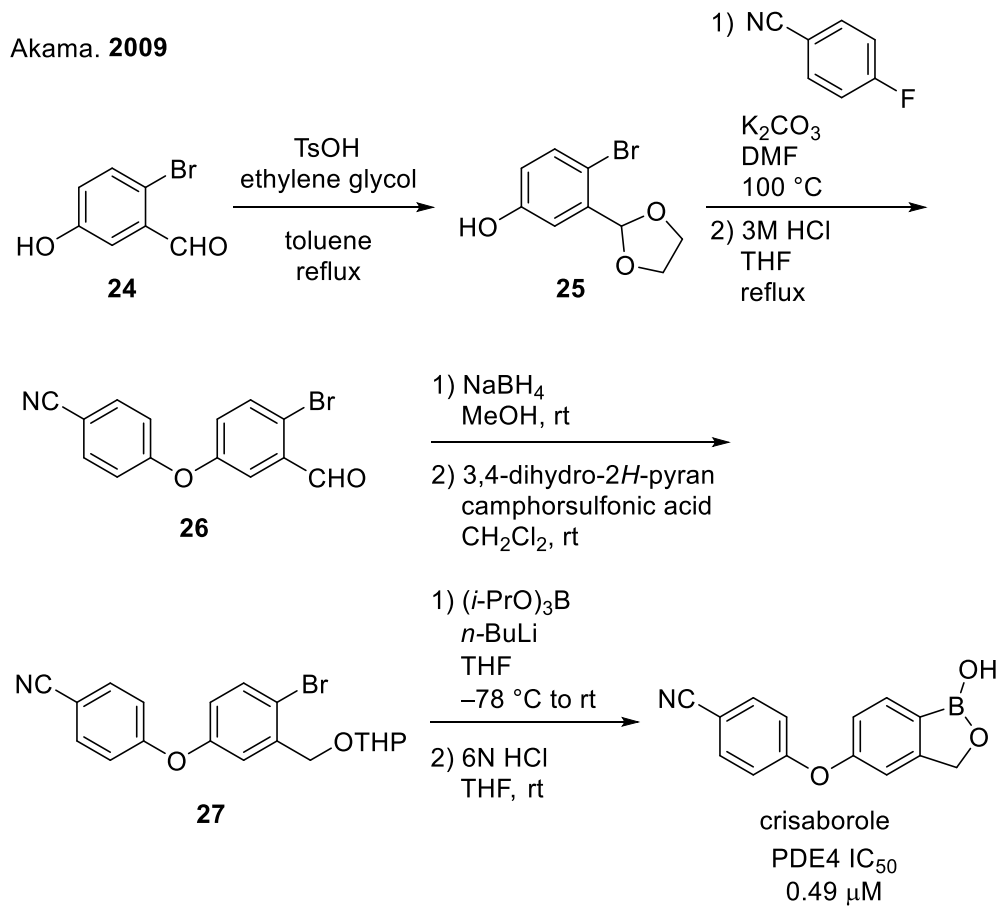
次に二環性含ホウ素誘導体の合成法について述べる。爪白癬治療薬である tavaborole はフッ素原子が置換した単純なオキサボロール誘導体である。Baker らはその合成法を報告した (Scheme 4)<sup>26a</sup>。ブロモベンゼン誘導体 **21** をベンジルアルコール体 **22** へ還元した後、水酸基を保護した化合物 **23** へ導いた。この化合物 **23** に対しカップリング反応を用いてホウ素原子を導入し、酸を用いた脱保護反応と分子内環化反応によって tavaborole を合成した。

Akama らは PDE4 阻害活性を示しアトピー性皮膚炎治療薬である crisaborole の合成法を報告した (Scheme 5)<sup>39</sup>。Tavaborole と同様にブロモベンゼン誘導体 **24** から合成し、アルコールを保護した化合物 **27** に対し、カップリング反応を用いたホウ素原子の導入と酸を用いた脱保護反応と分子内環化反応によって crisaborole を合成した。



T. rubrum and T. mentagrophytes  
MIC 1  $\mu\text{g/mL}$

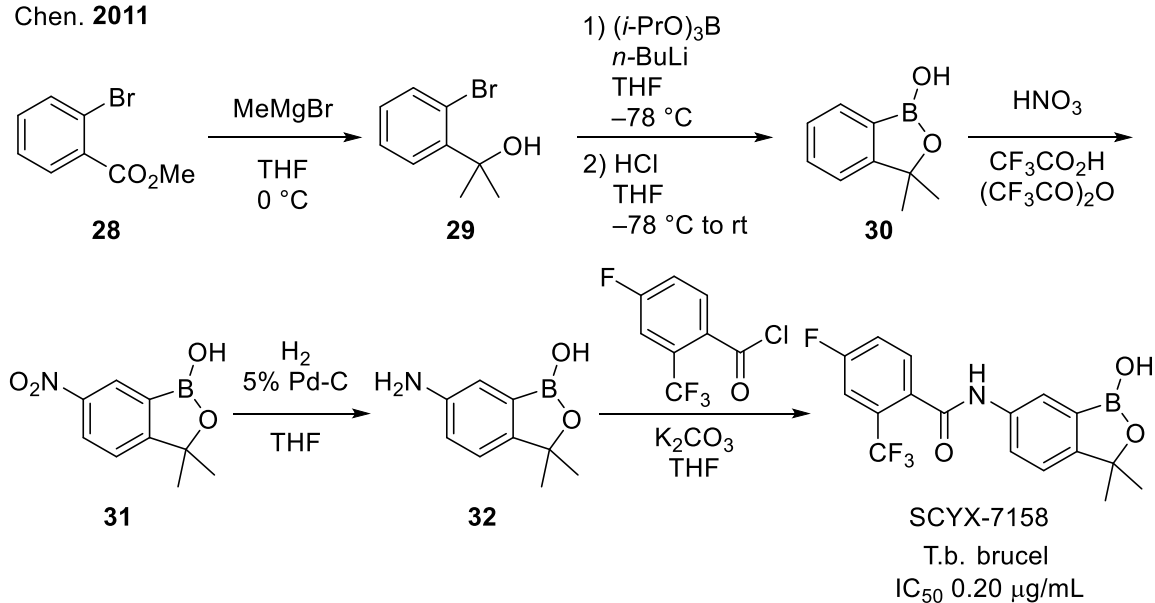
Scheme 4. Synthesis of tavaborole<sup>26a</sup>



Scheme 5. Synthesis of crisaborole<sup>39</sup>

Chen らは感染症治療薬として開発されている SCYX-7158 の合成法を報告した(Scheme 6)<sup>40</sup>。2-ブロモ安息香酸メチル **28** を出発原料とし、grignard 反応によりアルコール体 **29** とした後、カップリング反応と酸による分子内環化反応によってオキサボロール骨格を構築した。

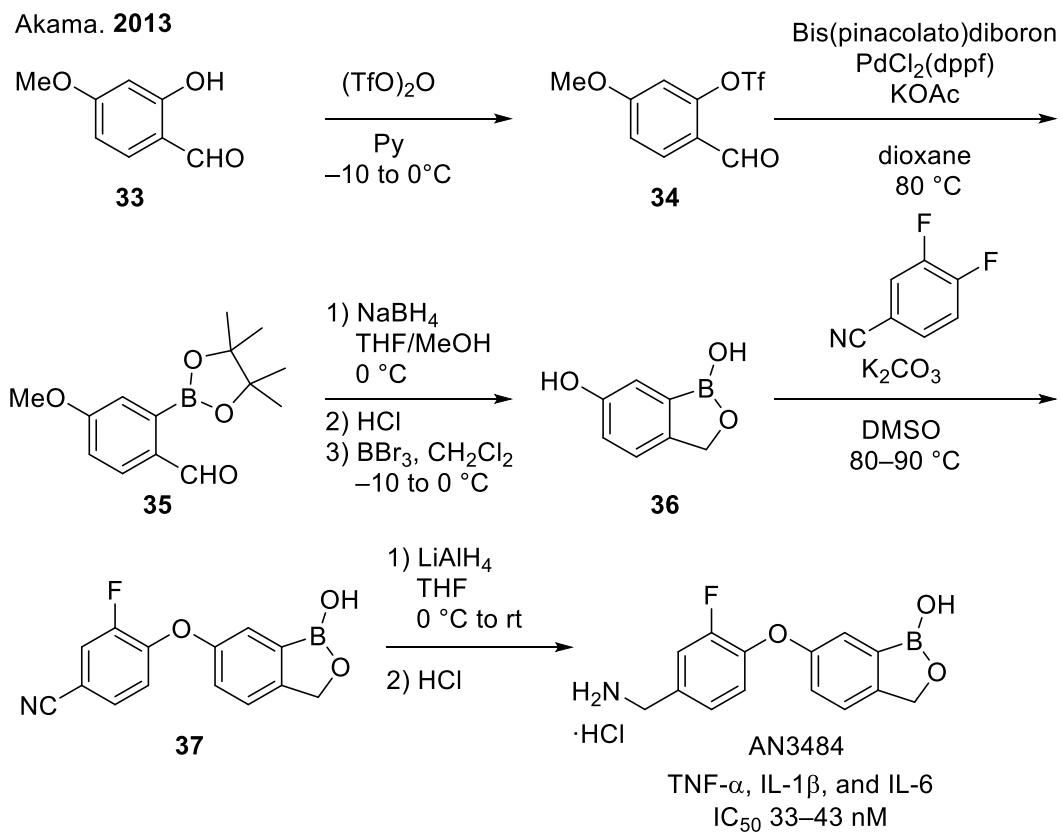
Chen. 2011



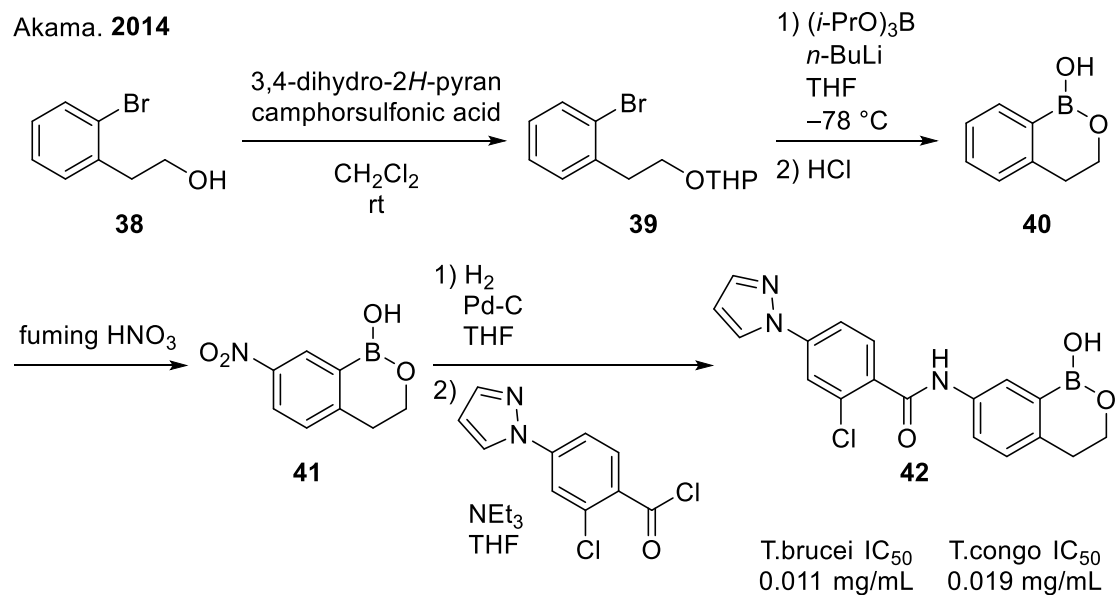
Scheme 6. Synthesis of SCYX-7158<sup>40</sup>

Akama らは抗炎症薬として開発されている AN3484 の合成法を報告した(Scheme 7)<sup>41</sup>。出発原料 **33** から 2 工程でボロン酸ピナコールエステル体 **35** を合成し、そのホルミル基を還元反応によりアルコールへ変換後、酸による分子内環化反応によってオキサボロール骨格を構築した。

ベンゼン環と 6 員環を構成するオキサボリン誘導体に目を向けると、その創薬への応用例と合成例は少ない。例えば、Akama らは抗原虫薬としてオキサボリン誘導体 **42** の合成法を報告した(Scheme 8)<sup>32, 35</sup>。出発原料フェネチルアルコール誘導体 **38** からエーテル体 **39** を合成し、5 員環と同様に分子内環化反応によってオキサボリン骨格を構築した。



Scheme 7. Synthesis of AN3484<sup>41</sup>



Scheme 8. Synthesis of benzoxaborin 42<sup>32, 35</sup>

Scheme 4-8 で示した通り、二環性含ホウ素誘導体の合成では、tavaborole に代表されるベンゼン環に 5 員環を組み込んだオキサボロール誘導体が広く研究されている。しかしながら、その骨格構築法の選択肢は少なく、分子内に酸素原子を有した前駆体に対しカップリング反応によりホウ素原子を導入後、酸による分子内環化反応を用いる方法が汎用される。また、6 員環構造を有するオキサボリン誘導体の合成には、化合物 **38** のようなハロゲンもしくは水酸基を有するフェネチルアルコール誘導体を前駆体として準備する必要があり、5 員環構造を有するオキサボロール誘導体合成と比較して、その供給に手間がかかるため創薬への応用例が限られている。

現状の含ホウ素化合物合成法をまとめると、Matteson 反応を使用したペプチド誘導体の合成法と分子内環化反応を使用した二環性オキサボロール誘導体の合成法が中心であり、より複雑な分子設計へ対応できていない。今後、含ホウ素化合物を活用した創薬研究を進展させるためには、複雑な構造を有する含ホウ素誘導体合成に対応できる新規合成法が不可欠であり、その中でも、創薬研究で汎用されるドラッグライクな複素環構造を組み合わせた含ホウ素化合物の合成法の開発は有用である。

#### 第四節 化合物ライブラリーに適した化合物群

本節では化合物ライブラリーに適した物性と構造的特徴について述べる。創薬研究において効率的に新薬候補化合物を見出すために質の高い化合物ライブラリーが求められている。膨大な化合物ライブラリーの中から質の高い化合物群を選別する手段として、化合物の客観的な構造的特徴に基づく分類が有効である。例えば、経口投与可能な医薬品の指標として Lipinski の rule of five が古くから知られている (Table 2)<sup>13</sup>。具体的には、分子量が 500 以下、LogP が 5 以下、プロトンドナー数が 5 個以下、プロトンアクセプター数が 10 個以下という指標である。その後、Hann らがリード化合物の適した物性値として、分子量が 460 以下、LogP が 4.2 以下、プロトンドナー数が 5 個以下、プロトンアクセプター数が 9 個以下、回転可能な結合数 10 個以下、環の数 4 個以下という基準を提唱した (Table 2)<sup>42</sup>。Rule of five と比較すると厳しい基準であるが、一般的に、リード化合物の最適化によって、分子量と脂溶性は増加する傾向にあるため合理的である<sup>43</sup>。このような基準を満たす化合物群は、高い創薬成功確度が期待できる貴重な種であり、新規性と多様性に富んだ多くの化合物が求められている。これと同時に、ヒット化合物が医薬品となるまで最適化されることを考慮すると、簡便に多様な置換基が導入できる合成法も必要である。

**Table 2.** Drug-like and lead-like properties.

	Drug-like	Lead-like
分子量	$\leq 500$	$\leq 460$
LogP	$\leq 5$	$\leq 4.2$
プロトンドナー数	$\leq 5$	$\leq 5$
プロトンアクセプター数	$\leq 10$	$\leq 9$
回転可能な結合数		$\leq 10$
環の数		$\leq 4$

## (1) スピロ化合物の有用性

スピロ化合物とは2つ環構造が1つの炭素原子で共有されている化合物であり、3次元の立体構造をもつ。従来の創薬研究では、クロスカップリングやパラレル合成の発展により、 $sp^2$ 炭素リッチな平面的化合物が数多く合成されてきた<sup>44</sup>。しかしながら、平面性の高い化合物は標的タンパクへの低い選択性や低い水溶性などの課題をもっている。Loveringらは $sp^3$ 炭素の割合が大きい化合物や不斉点の一つ以上ある化合物の医薬品成功確度は高いと報告した<sup>45</sup>。また、一般的にスピロ化合物は標的タンパクとの選択性、水溶性、代謝安定性および特許面の新規性の観点でメリットがある<sup>46</sup>。その一方で、一般的に4級炭素の構築は困難である。従って、スピロ化合物のライブラリーを充実させるために、簡便な4級炭素の構築法が求められている。

## (2) スピロオキシンドール誘導体の魅力

医薬品のおよそ90%はヘテロ環を有しており<sup>11</sup>、含窒素複素環を中心に様々なヘテロ環合成法が知られている<sup>47</sup>。中でもオキシンドール骨格を有する医薬品には、非定型抗精神病薬である ziprasidone、パーキンソン病治療薬である ropinirole および抗がん剤である sunitinib が知られている(Figure 11)。中枢薬から抗がん剤まで多様な創薬標的の部分構造に用いられていることから、オキシンドール骨格はドラッグライクな骨格である。

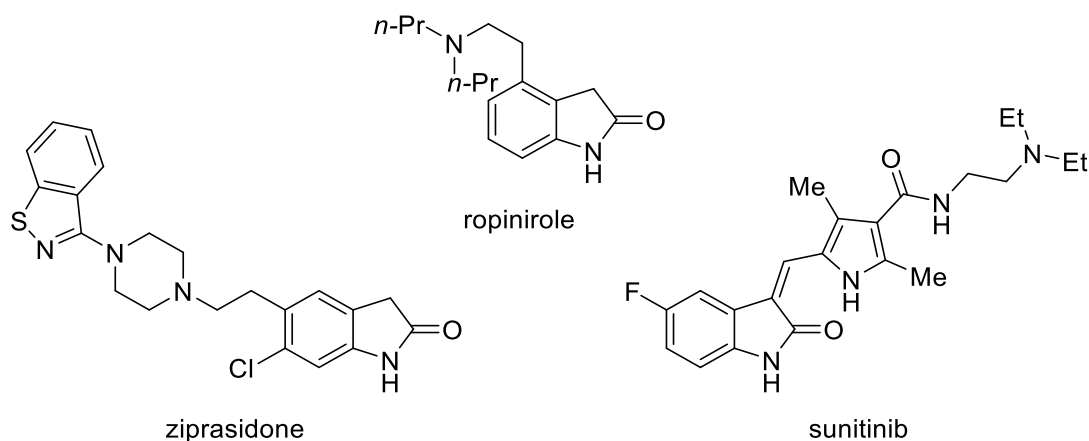
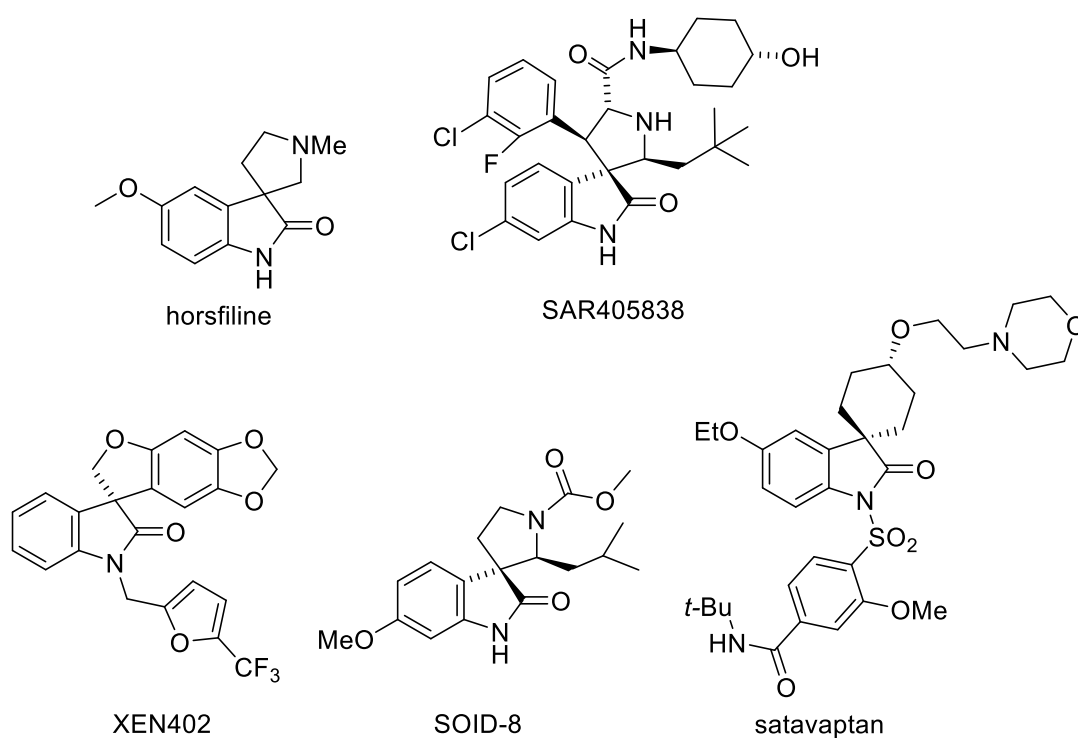


Figure 11. Drugs including oxindole scaffold

オキシンドール骨格を有する化合物の中でも、3-スピロオキシンドール骨格は天然物や医薬品候補化合物で頻繁に見られる構造であり、天然物である horsfiline<sup>48</sup>、Murine Double Minute 2 (MDM2)-p53 に阻害作用を示す SAR405838<sup>49</sup>、ナトリウムチャンネル 1.7 に対して阻害作用を示す XEN402<sup>50</sup>、JAK2/STAT 経路のシグナル伝達を抑制する SOID-8<sup>51</sup>、バソプレシ



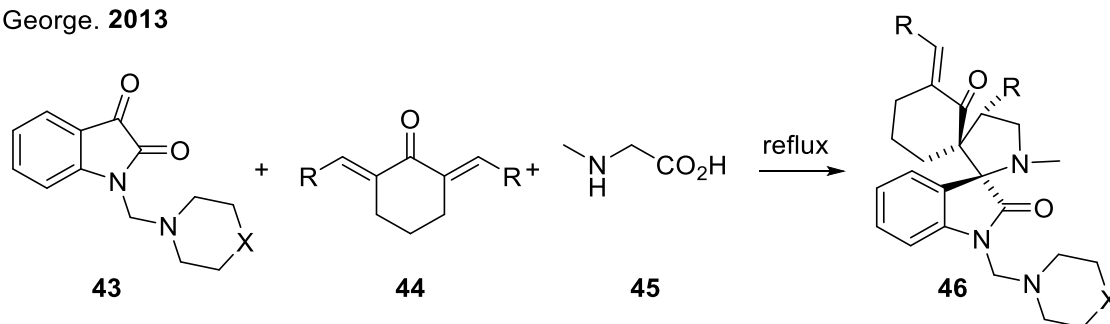
ン V2 受容体に対して拮抗作用を示す *satavaptan*<sup>52,53a</sup> 等が報告されている (Figure 12)。このように 3-スピロオキシインドール骨格は様々な生理活性を示し、創薬研究の中でも汎用されているスキヤフォールドの 1 つである。そのため、3-スピロオキシインドールの合成法も創薬研究者から注目されており効率的で簡便な不斉合成が報告されている<sup>53</sup>。



**Figure 12.** Natural products including spirooxindole scaffold.

例えば、George らはイサチン誘導体 **43** と不飽和ケトン誘導体 **44** と *N*-メチルグリシン **45** を反応させることにより 1 工程で複雑な 3-スピロオキシインドール誘導体 **46** の不斉合成を達成した<sup>54</sup>。

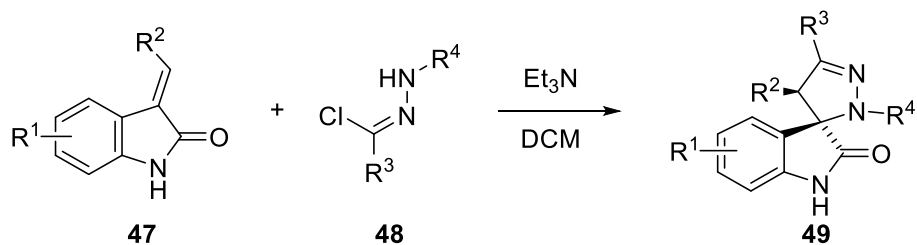
George. 2013



また、Monteiro らはオキシインドール **47** と hydrazonyl chlorides **48** を反応させることによ

り 3-スピロオキシインドール誘導体 **49** の不斉合成を報告した<sup>55</sup>。

Monteiro. 2014



このようにスピロオキシインドール誘導体は、様々な生理活性を示すドラッグライクで魅力的な構造であり、その合成研究も盛んであることから、創薬研究において有望な構造である。

多様な薬理活性を示すスピロオキシインドール骨格に、新規相互作用が期待できるホウ素原子を組み込むことで、既存の医薬品にはない特徴的な新規薬理活性が期待され興味もたれる。しかしながら、含ホウ素スピロオキシインドールの合成例はない。

## 第五節 創薬における *in vitro* 薬物動態評価の役割

一般的な経口医薬品の吸収から排泄までの過程を Figure 13 に示す。まず、服用した経口医薬品は消化管へ移行し溶解する。溶解した有効成分は小腸、門脈、肝臓を通過し全身循環血へ移行する（吸収過程）。全身循環血移行後は標的臓器へ分布し、主に肝臓で代謝を受け、尿中または胆汁中へ排泄される。この中でも吸収過程の評価は重要であり、ヒトでの血中曝露または半減期を予測するために、*in vitro* 試験を用いた方法論が報告されている。例えば、人工膜透過性を用いたヒト膜透過性予測法<sup>56</sup>、肝ミクロソーム代謝クリアランスと人工膜透過性を用いた CYP3A4 基質の小腸透過性予測法<sup>57</sup>、肝ミクロソームまたは肝細胞の代謝クリアランスを用いたヒト代謝クリアランス予測法<sup>58</sup> など、吸収過程だけでも様々な予測法が報告された。一方で、動物とヒトの間には代謝種差があり、動物とヒトの *bioavailability* は相関しないため<sup>59</sup>、動物実験からヒトの *bioavailability* を見積もることは困難である。薬物間相互作用の観点でも *in vitro* 試験は重要であり、FDA ガイドラインでは、肝ミクロソームや肝細胞を用いた CYP 阻害試験や肝細胞や HepaRG 細胞を用いた酵素誘導試験の実施を推奨している。実際に、ヒトの試料を用いた *in vitro* 薬物動態評価が可能になってから、薬物動態が原因で臨床開発を中断するケースは少なくなった<sup>60</sup>。このように経口投与された医薬品がヒトでどのような血中濃度推移を示すか予測するために、*in vitro* 薬物動態評価は重要な役割を持っている。

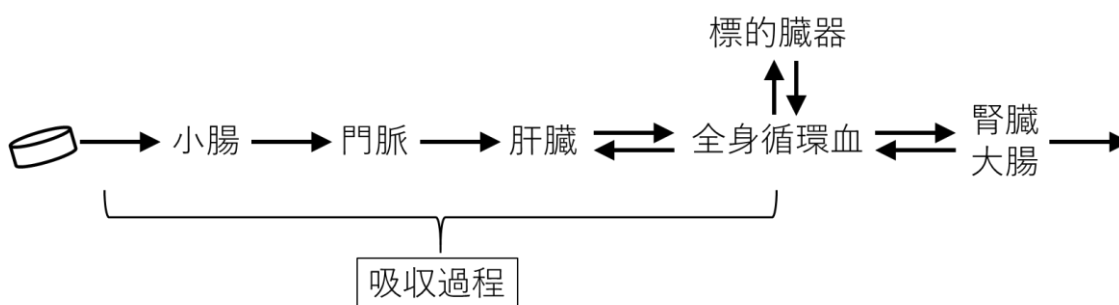
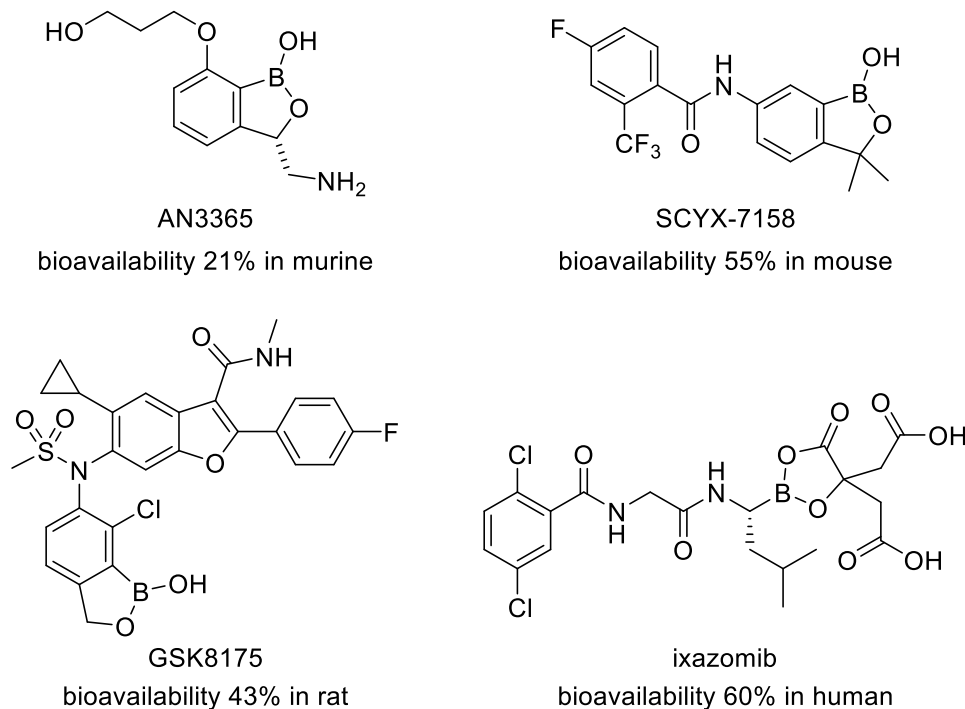


Figure 13. Fate of drugs.

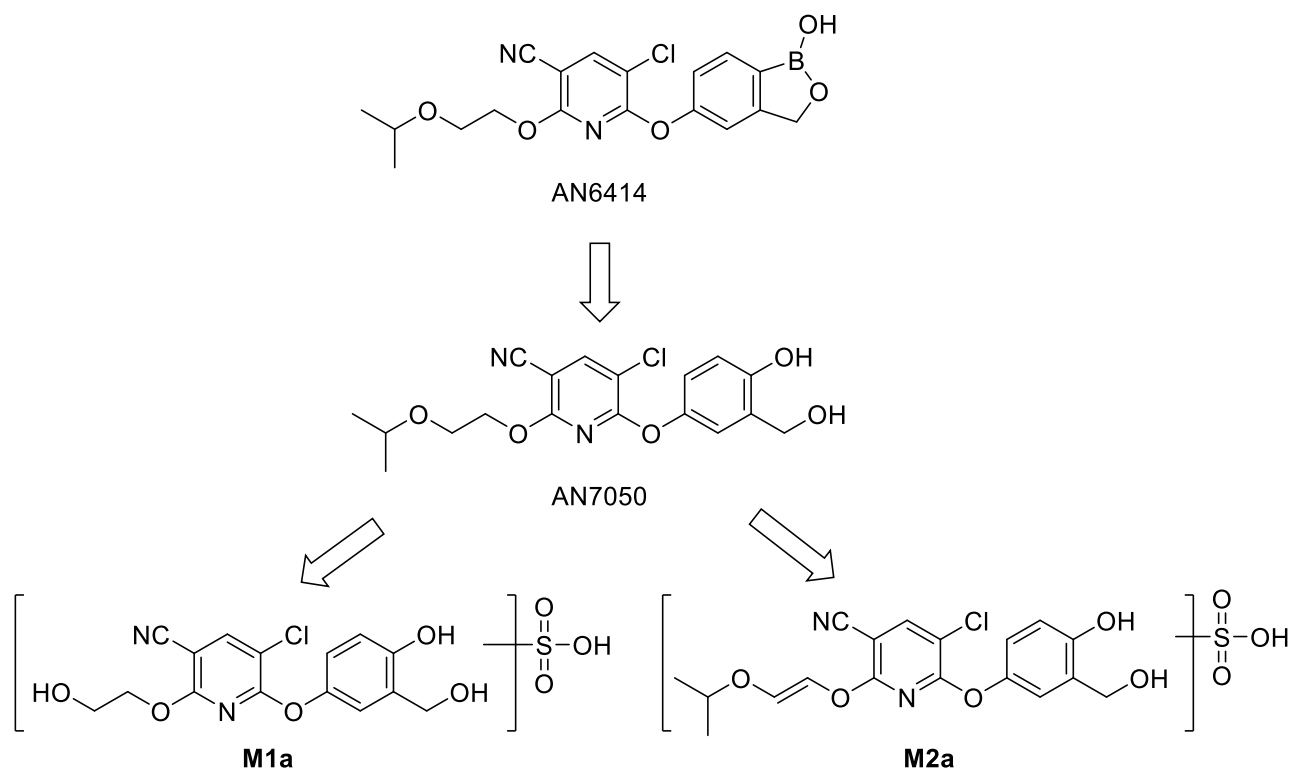
## 第六節 含ホウ素化合物の薬物動態評価

含ホウ素化合物の薬物動態評価について述べる。含ホウ素化合物の創薬研究報告例は少なく、特にその薬物動態プロファイルの報告例は限定的である。2環性オキサボロール誘導体の *in vivo* 薬物動態評価はいくつか報告されており、げっ歯類の *bioavailability* は、AN3365 の 21%<sup>29b</sup>、SCYX-7158 の 55%<sup>61</sup>、GSK8175 の 43%<sup>62</sup> が知られている (Figure 14)。また、ヒトで経口投与可能な含ホウ素医薬品である ixazomib のヒトでの *bioavailability* は 60% である<sup>63</sup>。これら報告例からその吸収過程 (消化管吸収率、消化管および肝臓アベイラビリティ) を考えてみると、十分な *bioavailability* を示すことから吸収過程における含ホウ素化合物特有の課題は少ないと考えられる。しかしながら、含ホウ素化合物の *in vitro* 薬物動態評価の報告数は乏しく、創薬初期に医薬品としての可能性を判断するための情報は少ない。

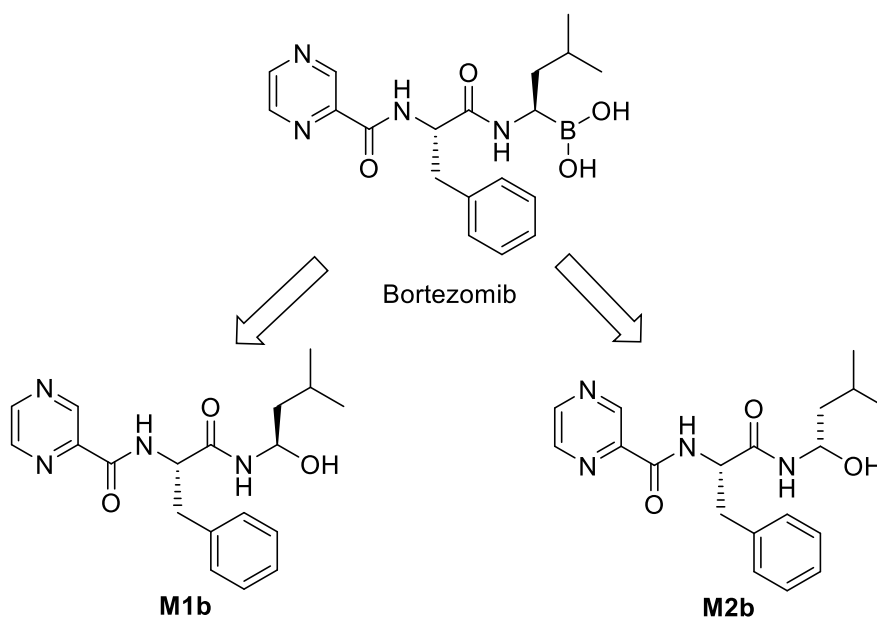


**Figure 14.** Bioavailability of boron-containing compounds.

次に含ホウ素化合物の代謝経路に目を向けると、含ホウ素化合物は生体内でそのホウ素部位が代謝され水酸化体へと変換される。例えば、ラットにおける AN6414 の代謝物は、酸化的脱ホウ素化反応が進行し水酸化体 AN7050 を経由した硫酸抱合体 **M1a** と **M2a** などが主である (Figure 15)<sup>64</sup>。また、bortezomib のヒト肝臓ミクロソーム代謝実験では、水酸化体 **M1b** と **M2b** が生成する (Figure 16)<sup>16</sup>。一般的な低分子の代謝反応である芳香族水酸化やヘテロ原子上の脱アルキル化反応と比較して、ホウ素部位の水酸化体への代謝速度の方が速いと推定され、水酸化体を活性本体とするプロドラッグ研究の足掛かりとなる知見である。



**Figure 15.** Metabolic pathway of AN6414 in rat<sup>64</sup>.



**Figure 16.** Metabolic pathway of bortezomib in human liver microsomes<sup>16</sup>.

## 第七節 プロドラッグの応用例

薬物を必要な臓器に必要な量を必要時間だけ曝露させるための工夫(drug delivery system)の一つとしてプロドラッグがある。プロドラッグとは生体内で代謝や化学的変換を受けた後に、活性本体となり薬理活性を発現する薬物のことである(Figure 17)。本アプローチは活性本体の低膜透過性や低溶解度などの低分子医薬品の課題を解決する有力な手段であり、これまでに様々なプロドラッグが開発されてきた。実際に 2006 年から 2016 年までに上市された経口医薬品の約 10%がプロドラッグであることから<sup>65</sup>、プロドラッグ研究は創薬において活発に取り組まれている。以下、代表的なプロドラッグについて述べる。

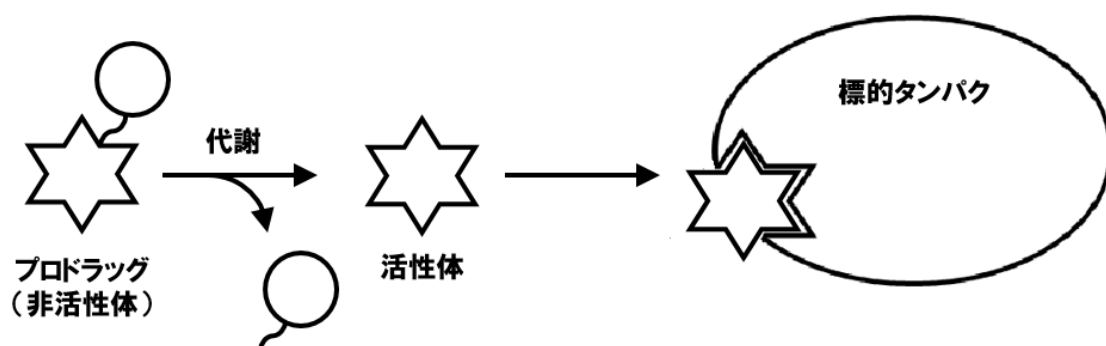
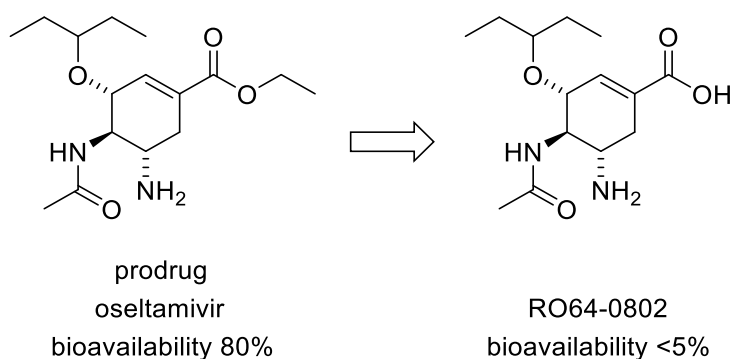


Figure 17. Concept of prodrugs.

### (1) 膜透過性の向上

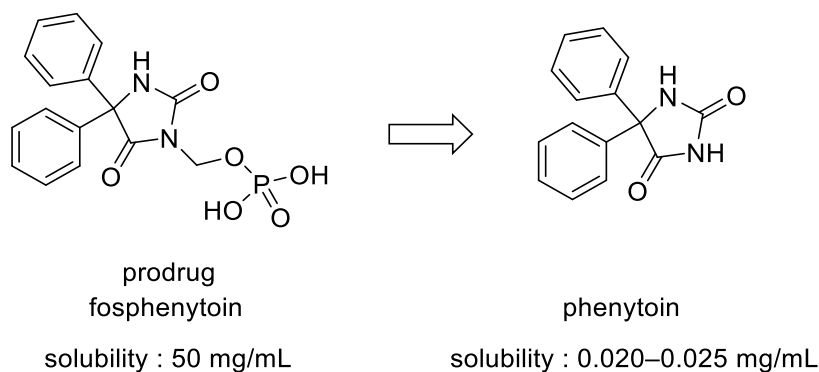
一般的にカルボン酸のような極性基を有する低分子の細胞膜透過性は低い。このような場合、エステル誘導体へと変換し脂溶性を向上させることによって、膜透過性を改善することが可能である。例えば、インフルエンザ治療薬 oseltamivir (商品名タミフル) は、活性本体 RO64-0802 のエチルエステル誘導体であり、エステル化によって bioavailability を 5%以下から 80%まで改善した(Figure 18)<sup>66</sup>。He らは、肝臓にあるカルボキシルエステラーゼにより oseltamivir が加水分解を受け活性本体 RO64-0802 を生成したと報告した<sup>67</sup>。



**Figure 18.** Prodrug to improve permeability.

### (2) 水溶性の向上

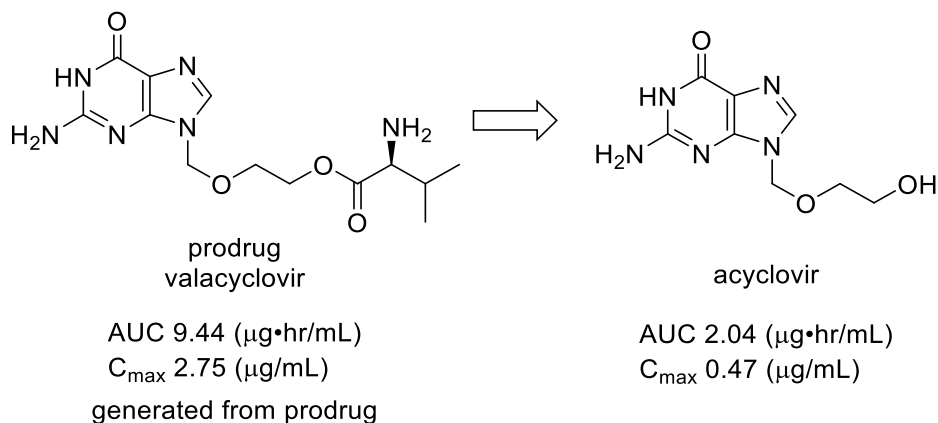
水系溶媒に対する溶解度は、経口剤における吸収性、注射剤における製剤化に関わる重要な指標である。溶解度を改善した成功事例として、リン酸エステルの極性官能基を導入した抗てんかん薬の fosphenytoin がある。Phenytoin の溶解度を 2000 倍以上の改善し、静脈内投与時の課題である局所刺激を軽減した(Figure 19)<sup>68</sup>。



**Figure 19.** Prodrug to improve solubility.

### (3) トランスポーターの利用

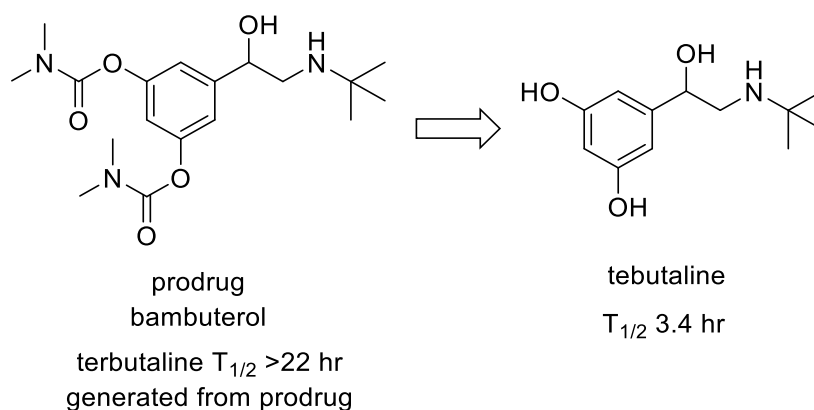
曝露を向上させる手段として小腸トランスポーターを利用することが可能である。例えば、Landowski らはヘルペスウイルス感染症治療薬である acyclovir の水酸基部位にバリンを導入することによって、活性本体 acyclovir の AUC (area under the concentration-time curve) と  $C_{max}$  が約 4–5 倍向上したと報告した(Figure 20)<sup>69</sup>。Yang らは、その曝露向上のメカニズムとして、吸収過程における小腸ペプチドトランスポーター(PEPT1) の関与を示唆した<sup>70</sup>。



**Figure 20.** Prodrug to improve exposure.

### (4) 徐放化

医薬品を徐放化することによって、投与回数の減少、薬効の持続化、副作用の低減が期待できる。例えば、気管支喘息治療薬である terbutaline の半減期は 3.4 時間と報告されている<sup>71</sup>。Rosenborg らはフェノール性水酸基へ置換基導入することで、緩やかに活性本体 tebutaline が放出したと報告した(Figure 21)<sup>72</sup>。

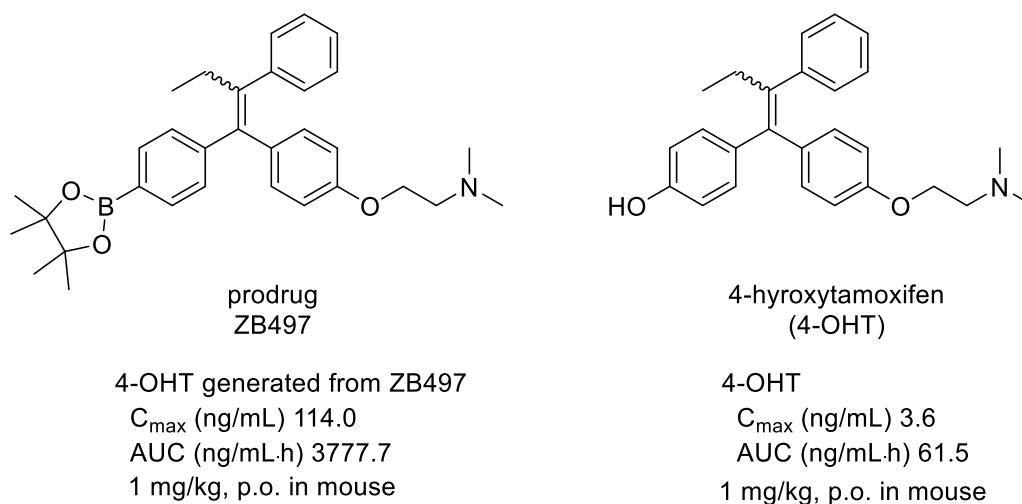


**Figure 21.** Prodrug to improve half-life.

上記のように、曝露の向上から副作用の低減といった幅広い目的で様々なプロドラッグが開発されている。

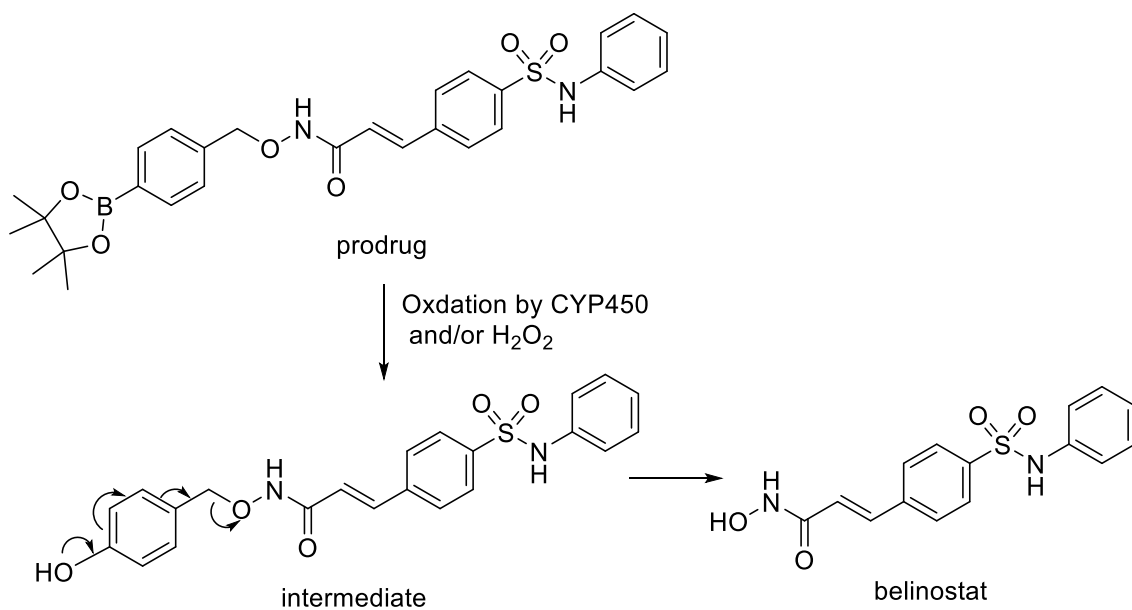


近年、ホウ素化合物の水酸基への代謝を利用したプロドラッグ化が報告されている。フェノール性水酸基を有する化合物の場合、生体内でグルクロナイド抱合や硫酸抱合等の抱合反応を受けるため、その抱合反応をプロドラッグ化によって抑制できれば薬物曝露の向上が期待できる。実際に、Zhong らは 4-hydroxytamoxifen (4-OHT)の含ホウ素プロドラッグ体 ZB497 をマウスに投与したところ、4-OHT の  $C_{max}$  は約 30 倍向上し、AUC は約 60 倍向上したと報告した(Figure 22)<sup>73</sup>。



**Figure 22.** Pharmacokinetic parameters for ZB497 and 4-OHT following oral administration<sup>73</sup>.

Zheng らは抗ガン剤である belinostat のプロドラッグ体をデザインし、マウスを用いた実験において、このプロドラッグ体は belinostat よりもがん細胞の成長を抑制したと報告した<sup>74</sup>。Belinostat の生成メカニズムとして、CYP 代謝もしくは過酸化水素もしくは両者によってフェノール中間体が生成後、活性本体が生成すると推定した(Figure 23)。



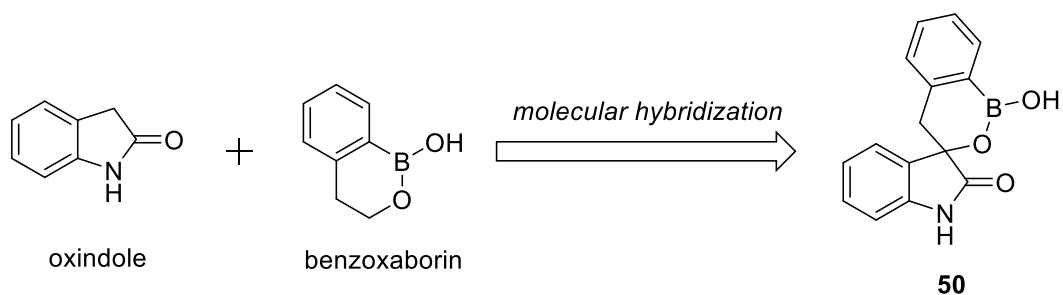
**Figure 23.** Putative metabolic pathway of belinostat<sup>74</sup>.

また、Wangらはフェノール性水酸基を持つ医薬品の含ホウ素プロドラッグ体に関する特許を開示した<sup>75</sup>。このように、ホウ素化合物の代謝を利用したプロドラッグは、曝露の向上や徐放化の目的で創薬研究が行われている。しかしながら、各プロドラッグからの生成量の比較や置換基効果の情報は不足しており、体系的な含ホウ素プロドラッグの比較が求められている。

## 第二章 Spiro-fused benzoxaborin 誘導体の新規合成法開発

### 第一節 緒言

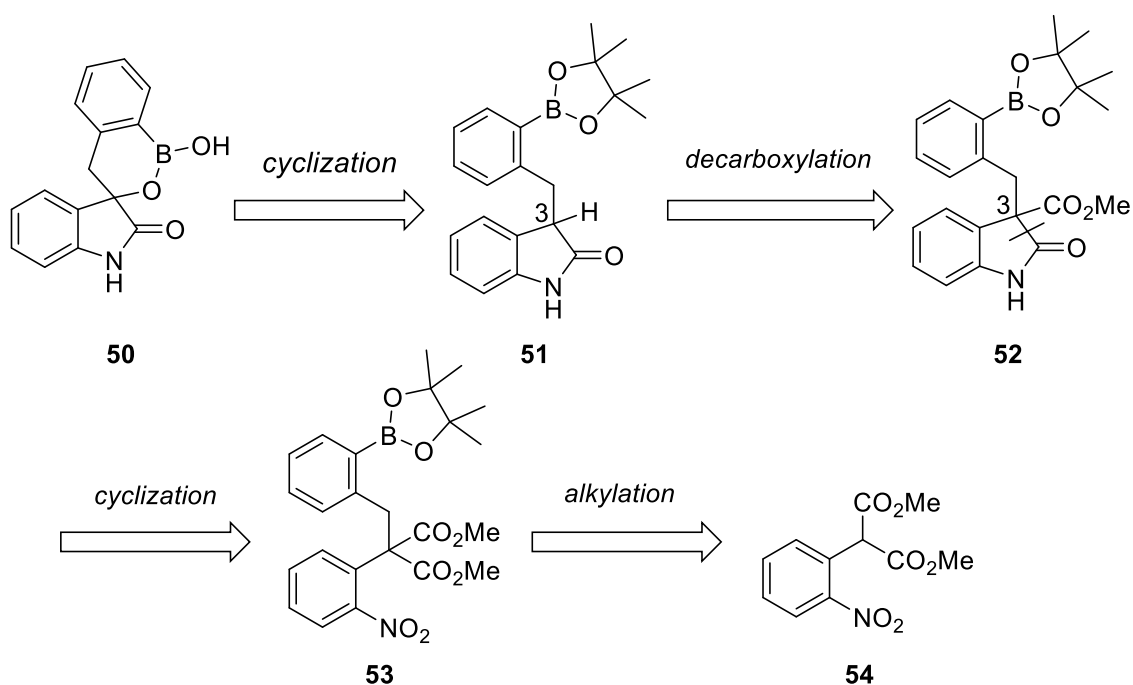
前章で述べた通り、含ホウ素化合物は従来にない相互作用が期待できるにも関わらず、創薬に応用するにはホウ素誘導体の合成例が少なく、特に含ホウ素複素環の合成例は限られている。さらに、注目度が高いスピロ構造への導入例はない。そこで、本章ではオキシインドール骨格とベンゾオキサボリン骨格をスピロ構造として組み込んだ化合物 **50** の合成法を開発した(Figure 24)<sup>76</sup>。



**Figure 24.** Chemical structure of hybrid compound **50**.

## 第二節 スピロオキサボリン誘導体の逆合成

化合物 **50** の合成計画を Scheme 9 に示す。本研究の鍵工程であるスピロ環構築反応に用いる前駆体として、オキシインドール 3 位の酸化反応及び分子内エステル交換反応が利用可能な化合物 **51** を設定した。この際必要となる化合物 **51** は化合物 **52** の 3 位脱炭酸反応と化合物 **53** のニトロ基の還元によるオキシインドール環形成を経て得られると考えた。さらに出発原料 **54** のアルキル化反応によりホウ素ユニットを導入することとした。本合成計画は短工程であり簡便な化学反応から構成されるため、置換基の多様性に対応でき、容易に創薬研究に応用できる。

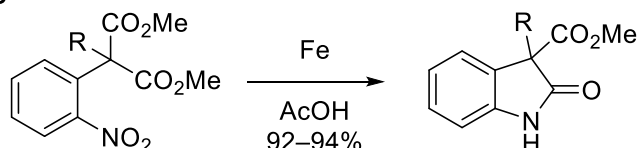


Scheme 9. Retrosynthesis of **50**.

### 第三節 メチルエステル誘導体を用いた検討

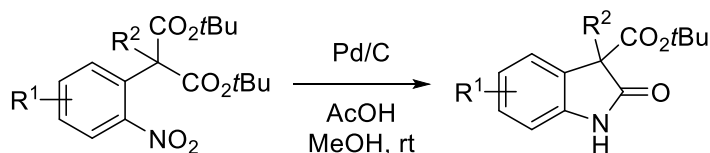
まず、マロン酸誘導体を用いたオキシインドール環構築法について以下に述べる。Nammalwar らは 2-ニトロフェニルマロン酸誘導体のニトロ基を鉄と酢酸を用いて還元することでオキシインドール誘導体を得た<sup>77</sup>。

Nammalwar, 2015

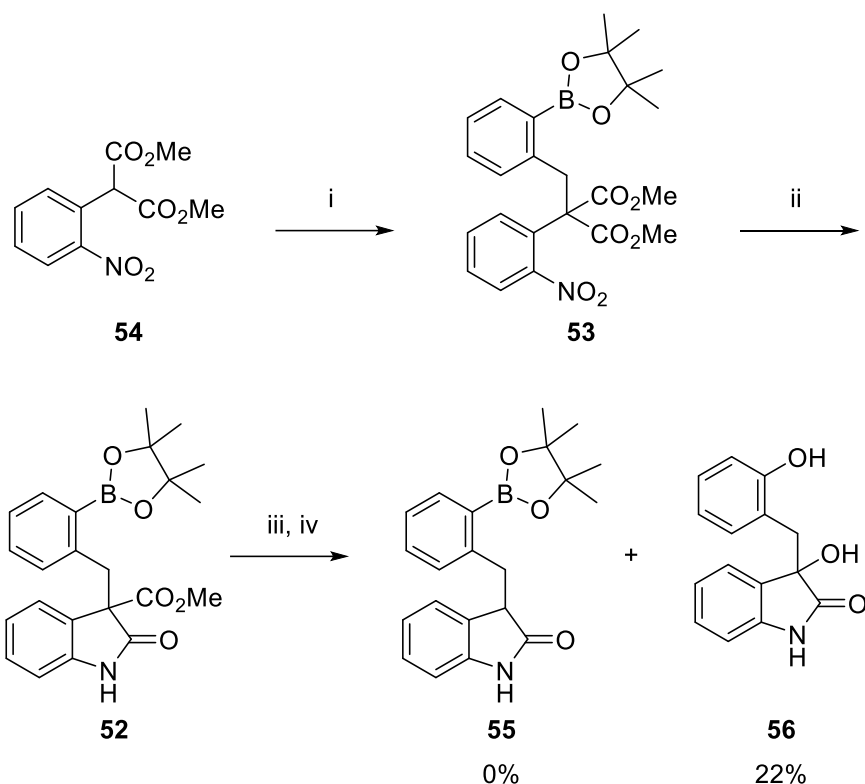


Yamai らは di-*t*-butyl-2-alkyl-2-(2-nitrophenyl)malonate 誘導体のニトロ基を酢酸と Pd/C を用いて還元することでオキシインドール誘導体を得た<sup>78</sup>。

Yamai, 2018

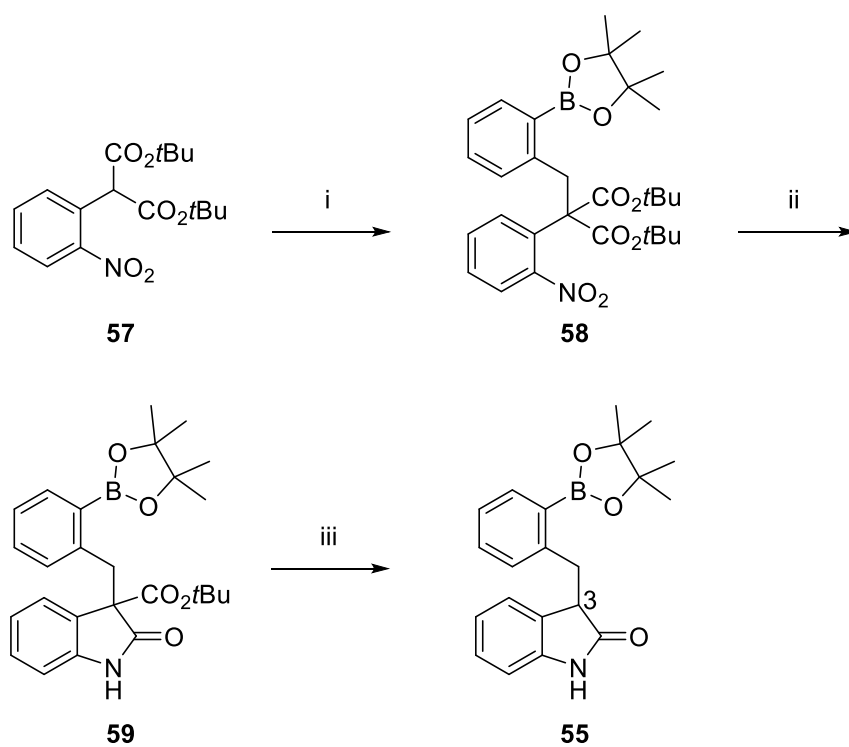


以上の背景を参考に、入手可能な dimethyl (2-nitrophenyl)propanedioate **54** を出発原料とし、3-モノ置換オキシインドールの酸化を鍵反応とした含ホウ素スピロオキシインドール誘導体の効率的合成方法の開発に着手した (Scheme 10)。入手可能な化合物 **54** から 2-bromomethylphenylboronic acid pinacol ester を用いたアルキル化反応により化合物 **53** とした後に、鉄を用いたニトロ基の還元によって化合物 **52** に導いた。化合物 **55** を得るために、化合物 **52** の 3 位エステル部位を加水分解後、酸による脱炭酸反応を試みたが、望む化合物 **55** は得られず、副生成物である化合物 **56** が生成した。塩基性条件下でオキシインドール 3 位の酸化反応が進行するとともに、ボロン酸ピナコールエステルが加水分解したため本合成ルートを断念した。



**Scheme 10.** Reagents and conditions: (i) 2-bromomethylphenylboronic acid pinacol ester,  $K_2CO_3$ , DMF, rt, 83%; (ii) Fe, AcOH/EtOH, 70 °C, 80%; (iii) NaOH aq. THF/MeOH, rt; (iv)  $H^+$ .

上記の結果を踏まえ、塩基性条件ではなく酸性条件でエステルを除去することで化合物 **55** が得られると考え、酸性条件で脱保護と脱炭酸反応が可能な *tert*-ブチルエステル基に着目した。オキシインドール 3 位のメチルエステル基を *tert*-ブチルエステル基へと変換した化合物 **59** は対応する化合物 **57**<sup>78</sup> から Scheme 10 と同様の手法で合成できた (Scheme 11)。化合物 **59** をトリフルオロ酢酸 (TFA) で処理したところ、期待通り加水分解反応による副生成物は生成せず高収率で目的化合物 **55** を得た。次に、得られた化合物 **55** を用いてオキシインドール 3 位の酸化反応を検討した。



**Scheme 11.** Reagents and conditions: (i) 2-bromomethylphenylboronic acid pinacol ester, K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>, DMF, room temperature, 63%; (ii) Fe, AcOH/EtOH, 70 °C, 90%; (iii) TFA, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, room temperature, quant.

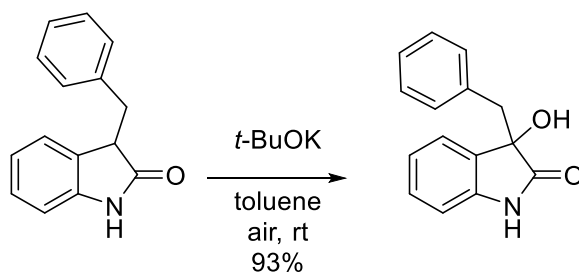
#### 第四節 酸化反応を用いたスピロ環構築検討

##### (1) オキシインドール誘導体の3位酸化反応

3-モノ置換オキシインドール誘導体の3位酸化反応は以下の報告がある。

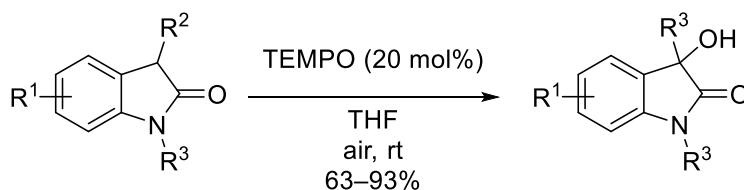
Chaudhari らは 3-benzylindolin-2-one を空気下トルエン中、*t*-BuOK を作用させることによってオキシインドール3位水酸化体を得た<sup>79</sup>。

Chaudhari. 2017



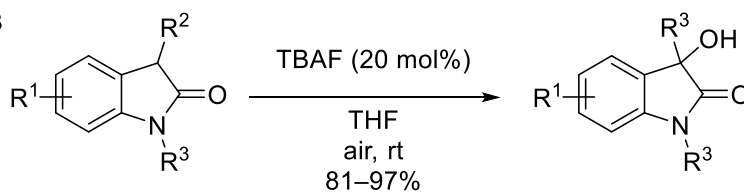
Zhu らは 3-モノ置換オキシインドール誘導体を空気下 THF 中、触媒量の 2,2,6,6-tetramethylpiperidine 1-oxyl (TEMPO) を作用させることによって3位水酸化体を得た<sup>80</sup>。

Zhu. 2018



Buckley らは 3-モノ置換オキシインドール誘導体を空気下 THF 中、tetrabutylammonium fluoride (TBAF) を作用させることによって3位水酸化体を得た<sup>81</sup>。

Buckley. 2013

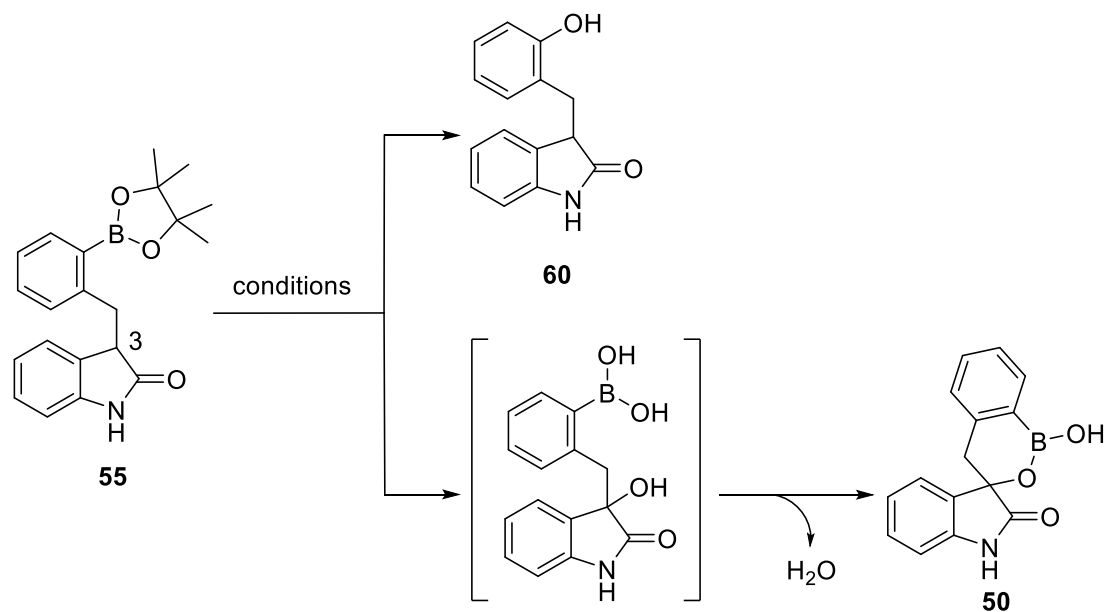




## (2) 3 位酸化反応の検討

上記の知見を踏まえ、化合物 **55** を基質とした種々の酸化反応を検討した (Table 3)。Chaudhari らの報告に従い *t*-BuOK を用いた場合および酸化剤として H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> または *m*-chloroperoxybenzoic acid (mCPBA) を用いた場合、オキシインドール 3 位の酸化反応は進行せず、副生成物としてボロン酸ピナコールエステル部位が加水分解もしくは酸化された化合物 **60** が生成した (entries 1–3)。更に、TEMPO および TBAF を用いた場合は、目的とする化合物 **50** は単離されず原料が回収された (entries 4 and 5)。以上の結果から、ホウ素原子が保存される酸化条件が必要であると考えた。Shaikh らは酸性加熱条件下、過ヨウ素酸ナトリウムを作用させることにより、トルエン誘導体の酸化反応が進行し、安息香酸誘導体が生成したと報告した<sup>82</sup>。また、本条件はボロン酸ピナコールエステルの脱ピナコール化反応に用いられるため<sup>83</sup>、ホウ素原子が保存されると考えた。そこで、化合物 **55** にこの酸化反応条件を適用したところ、驚くべきことに室温でオキシインドール 3 位の酸化およびボロン酸ピナコールエステルの開裂と分子内脱水環化反応が同時に進行し、目的とする化合物 **50** を 87% の収率で得ることに成功した (entry 6)。酸を添加せずに反応を行った場合には、化合物 **50** は単離されず原料が回収されたことから (entry 7)、酸は本反応の促進に必要である。本反応は室温で進行し、カラム精製を必要とせず化合物 **50** を単離精製できたことから、簡便で効率的なオキサボリン誘導体の合成法である。

**Table 3.** Screening of the reaction conditions of **55**.

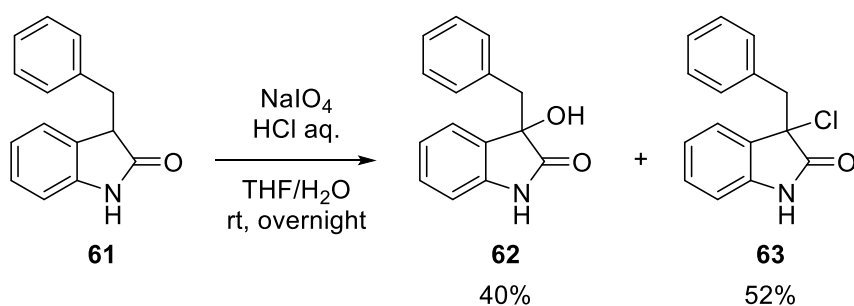


entry	reagents (eq.)	solvent	% yield of <b>60</b> <sup>a</sup>	% yield of <b>50</b> <sup>a</sup>
1	<i>t</i> -BuOK (1.0)	toluene	47	0
2	$\text{H}_2\text{O}_2$ (1.5)	DMSO/ $\text{H}_2\text{O}$	82	0
3	mCPBA (1.2)	MeCN	89	0
4	TEMPO (0.2)	THF	0	0
5	TBAF (1.1)	THF	0	0
6	$\text{NaIO}_4$ (5.0), HCl (6.0)	THF/ $\text{H}_2\text{O}$	0	87
7	$\text{NaIO}_4$ (5.0)	THF/ $\text{H}_2\text{O}$	0	0

<sup>a</sup> Isolated yield.

### (3) 酸化反応の汎用性

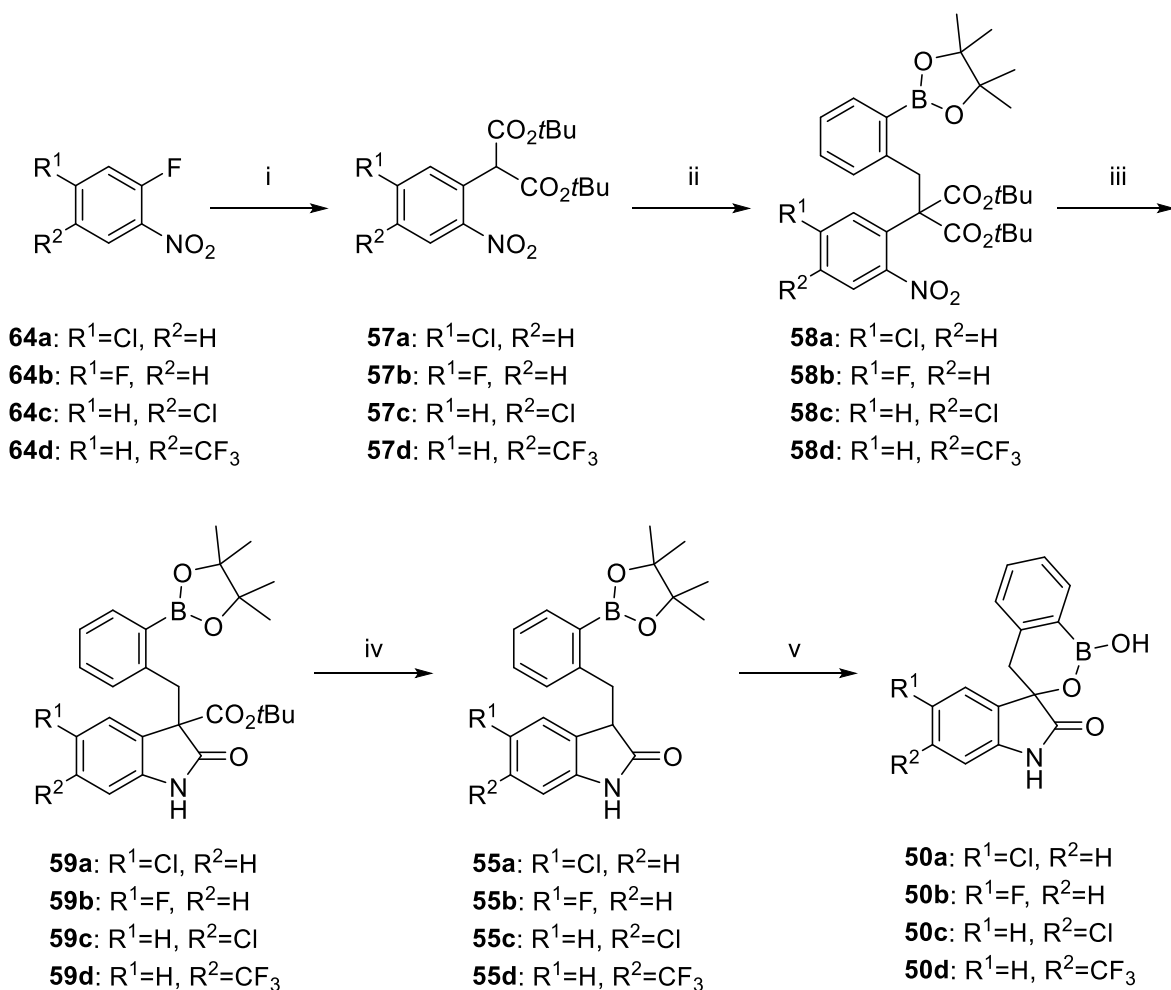
この酸化反応の汎用性を確認する目的で、ホウ素を含まない化合物 **61**<sup>84</sup> を用いて、酸性条件下、過ヨウ素酸ナトリウムで処理したところ、化合物 **62**<sup>79</sup> と化合物 **63**<sup>85</sup> がそれぞれ 40% と 52% の収率で得られた (Scheme 12)。この結果から、本反応条件は簡便かつ温和な新規オキシインドールの 3 位酸化法および 3 位ハロゲン化法として有機合成化学上興味深く、インドール骨格を有する天然物または医薬品候補化合物の新しい合成法を提示した有益な知見である。



**Scheme 12.** Oxidation reaction of oxindole **61** using NaIO<sub>4</sub>.

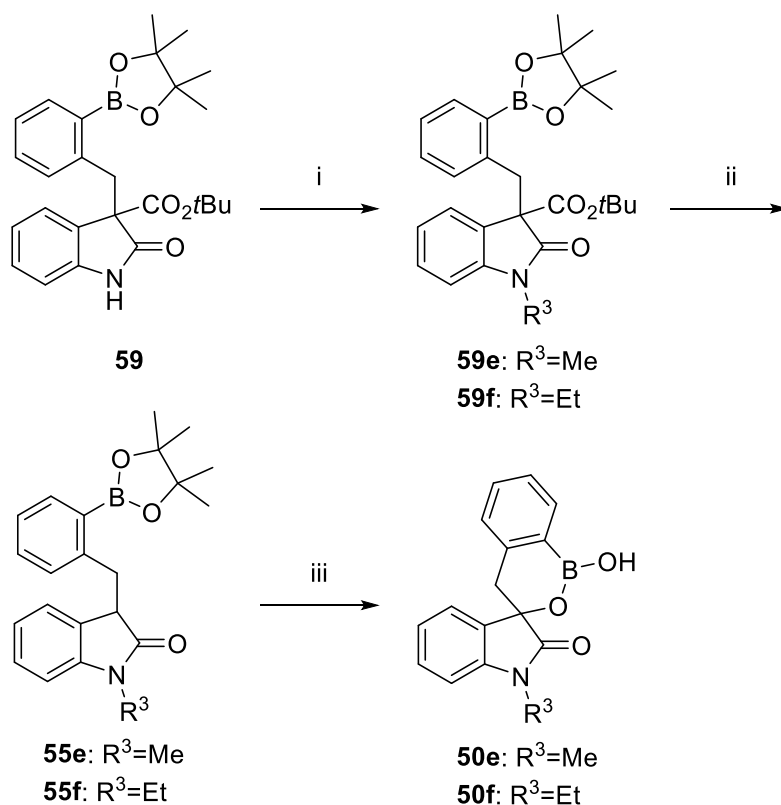
## 第五節 置換スピロオキサボリン誘導体の合成

前節で化合物 **50** の合成を達成し、スピロオキサボリン骨格を構築する方法を確立した。本法を応用し、含ホウ素スピロ環化合物ライブラリー構築を試みた。まずオキシインドールのベンゼン環上に種々の置換基を導入した置換スピロ誘導体の合成に着手した(Scheme 13)。置換を有する化合物 **50a–50d** は、対応する置換フルオロニトロベンゼン **64a–64d** を出発原料として用い、同様の合成法によりそれぞれ目的化合物を得た。



**Scheme 13.** (i) di-*tert*-butyl malonate, NaH, DMF, 0 °C to rt; (ii) 2-bromomethylphenylboronic acid pinacol ester, K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>, DMF, rt, 38–70% in two steps; (iii) Fe, AcOH/EtOH, 70 °C, 74–86%; (iv) TFA, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, rt; (v) NaIO<sub>4</sub>, THF, HCl aq., rt, 71–86% in two steps.

次に、オキシインドール 1 位窒素原子への置換導入を検討した(Scheme 14)。アルキル化により、化合物 **59** の窒素原子上に置換基を導入した。目的とする化合物 **50e** と **50f** は、合成された *N* 置換体(**59e** and **59f**)から、それぞれ化合物 **55e** と化合物 **59f** を経て同様に合成した。



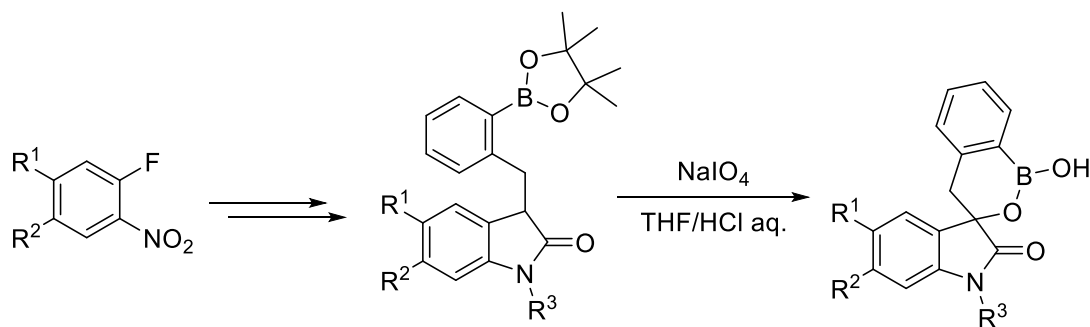
**Scheme 14.** Reagents and conditions: (i) MeI or EtI, K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>, DMF, room temperature (ii) TFA, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, room temperature, (iii) NaIO<sub>4</sub>, THF, HCl aq., room temperature, 61–69% in three steps.

以上のことから、本手法は多様な含ホウ素スピロ誘導体合成に対応できることが実証された。本合成法において、いずれも温和な反応条件であり、全工程でカラム精製が不要である点が特徴である。

## 第六節 小括

本章では次世代創薬への応用が期待できるスピロオキサボリン誘導体の短工程かつ簡便な合成法を見出した。特に、鍵工程として、酸性条件下過ヨウ素酸ナトリウムを用いることで、効率的にオキシインドール3位の酸化反応、ピナコールの開環反応およびそれに続く環化反応が進行することを見出した。また、本合成法は様々な置換スピロオキサボリン誘導体の合成にも適用可能であり、そのライブラリー化を達成した。さらに、本合成法は全ての工程においてカラム精製が不要であるため、スケールアップ可能である点も魅力である。

(Scheme 15)



**Scheme 15.** Summary of this chapter.

### 第三章 含ホウ素化合物の *in vitro* 薬物動態評価

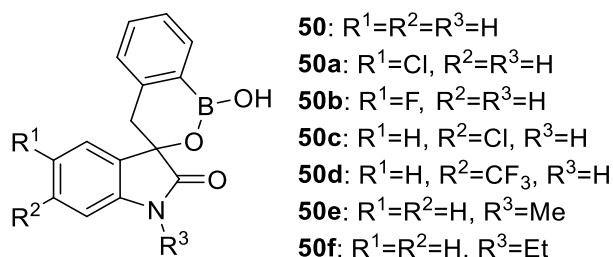
#### 第一節 緒言

臨床試験での成功確度向上のために、創薬初期段階から薬物動態の課題を抽出し、合成展開により克服する必要がある。薬物動態評価の中でも、十分な血中曝露を得るために吸収過程の評価は重要であり、その評価法として人工膜を用いた透過性評価やヒト肝ミクロソームを用いた代謝安定性評価がある<sup>56,86</sup>。また、脂溶性の指標となる  $\text{LogP}$  は創薬研究の中で医薬品候補化合物の毒性や生体内分布を予測するための重要な物性値である<sup>87</sup>。例えば、Chen らは投与量が 100 mg/day 以上かつ  $\text{logP}$  が 3 以上の医薬品は DDLI のリスクが高いと報告した<sup>88</sup>。また、Hughes らは、 $\text{clogP}$  が 3 より高く  $\text{tPSA}$  が 75 未満の化合物は非臨床試験で毒性がでやすいと報告した<sup>89</sup>。しかしながら、創薬初期に実施される含ホウ素化合物の *in vitro* 評価の報告例は少なく、そのプロファイルに興味をもたれる。そこで、前章で合成したスピロオキサボリン誘導体の薬物動態プロファイルを検証した。

## 第二節 スピロオキサボリン誘導体の物性値評価

スピロオキサボリン誘導体の物性化学的性質を示した(Table 4)。これら誘導体(**50**, **50a–50c** and **50e**)の分子量は 265–300、プロトンアクセプター数(HBA)<sup>13</sup> は 4、プロトンドナー数(HBD)<sup>13</sup> は 1–2 であり、脂溶性の指標となる logP 値は 2.98–3.68 であった(Table 4, entries 1–4 and 6)。この結果は、Lipinski らによって提唱された経口医薬品の指標である「rule of five」(Mw ≤ 500 Da, logP ≤ 5, HBA ≤ 10, HBD ≤ 5)を満たす<sup>13</sup>。また、スピロオキサボリン誘導体の logP 値は計算値である clogP 値と大きな差があった。創薬を志向した含ホウ素化合物の物理化学的特性を実測した例は限定的であることから、得られた知見は含ホウ素化合物の logP 値予測精度の向上に貢献できる。

**Table 4.** Physical properties of the spiro-fused benzoxaborin.



entry	compound	Mw	HBA <sup>a</sup>	HBD <sup>b</sup>	clog P <sup>c</sup>	log P
1	<b>50</b>	265	4	2	1.71	2.98
2	<b>50a</b>	299	4	2	2.68	3.61
3	<b>50b</b>	283	4	2	2.11	3.14
4	<b>50c</b>	299	4	2	2.68	3.68
5	<b>50d</b>	333	4	2	3.05	NT
6	<b>50e</b>	279	4	1	2.19	3.52
7	<b>50f</b>	293	4	1	2.72	NT

NT: Not tested

<sup>a</sup> expressed as the sum of Ns and Os.

<sup>b</sup> expressed as the sum of OHs and NHs.

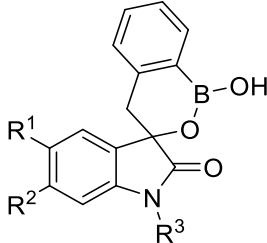
<sup>c</sup> calculated by ChemDraw professional 15.01.



### 第三節 スピロオキサボリン誘導体の膜透過性と代謝安定性評価

スピロオキサボリン誘導体の人工脂質膜を用いた膜透過性実験(PAMPA)とヒト肝ミクロソームを用いた代謝安定性評価を示す(Table 5)。化合物 **50** は pH5.0 と pH7.4 において  $10 \times 10^{-6} \text{cm}$ /以上の良好な膜透過係数を示した(entry 1)。一般的に、 $10 \times 10^{-6} \text{cm}$ /以上の透過性を示す化合物はヒトで良好な膜透過が期待できる<sup>90</sup>。また、人工脂質膜透過性と脂溶性は相関関係があることから<sup>91</sup>、置換体 **50a–50e** も同様に良好な膜透過性を示すことが期待される。次に、ヒト肝ミクロソーム中(0.1 mg/mL, 37 °C)の安定性を評価した (Figure 25)。市販されている向精神薬 buspirone と比較して良好な残存率を示したことから、経口剤としての許容される肝臓中代謝安定性が期待できる(entries 1–6)。

**Table 5.** In vitro studies of the spiro-fused benzoxaborin.



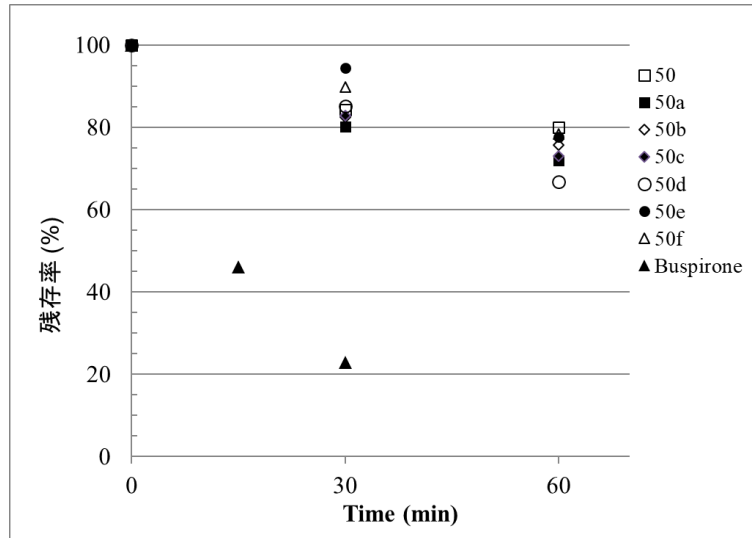
**50:** R<sup>1</sup>=R<sup>2</sup>=R<sup>3</sup>=H  
**50a:** R<sup>1</sup>=Cl, R<sup>2</sup>=R<sup>3</sup>=H  
**50b:** R<sup>1</sup>=F, R<sup>2</sup>=R<sup>3</sup>=H  
**50c:** R<sup>1</sup>=H, R<sup>2</sup>=Cl, R<sup>3</sup>=H  
**50d:** R<sup>1</sup>=H, R<sup>2</sup>=CF<sub>3</sub>, R<sup>3</sup>=H  
**50e:** R<sup>1</sup>=R<sup>2</sup>=H, R<sup>3</sup>=Me  
**50f:** R<sup>1</sup>=R<sup>2</sup>=H, R<sup>3</sup>=Et

entry	compound	remaining % <sup>a</sup>	P <sub>e</sub> (10 <sup>-6</sup> cm/s) pH 5.0 / 7.4
1	<b>50</b>	84	26.7 / 34.9
2	<b>50a</b>	80	NT
3	<b>50b</b>	82	NT
4	<b>50c</b>	83	NT
5	<b>50d</b>	85	NT
6	<b>50e</b>	94	NT
7	<b>50f</b>	90	NT
8	<b>Buspirone<sup>b</sup></b>	23	

NT: Not tested

<sup>a</sup> Metabolic stability was evaluated as remaining % after incubation with 0.1 mg/mL human liver microsomes in NADPH for 30 min.

<sup>b</sup> Reference compound for metabolic stability assay.



**Figure 25.** Metabolic stability of spiro-fused benzoxaborin in human liver microsomes.

#### 第四節 アミド体との相互作用

スピロオキサボリン誘導体は従来の含ホウ素医薬品候補化合物とは異なり、その分子の中央部にスピロ環構造を有していることが特徴である。その複雑な立体構造のために、標的タンパク質とホウ酸部位との相互作用が困難になる可能性がある。そこで、化合物 **50e** とタンパク質を模倣したアミド体 **64**<sup>92</sup>を用いて、その水素結合による相互作用を <sup>1</sup>H NMR(CDCl<sub>3</sub>)を用いて解析した。アミド体 A の濃度を 0 mM から 75 mM まで変化させたところ、濃度依存的に化合物 **50e** のホウ酸に対応するプロトンピークのケミカルシフトが低磁場へシフトした(Figure 26)。この結果から、立体的に込み合ったスピロオキサボリン誘導体はアミド体と分子間水素結合を形成することがわかった。

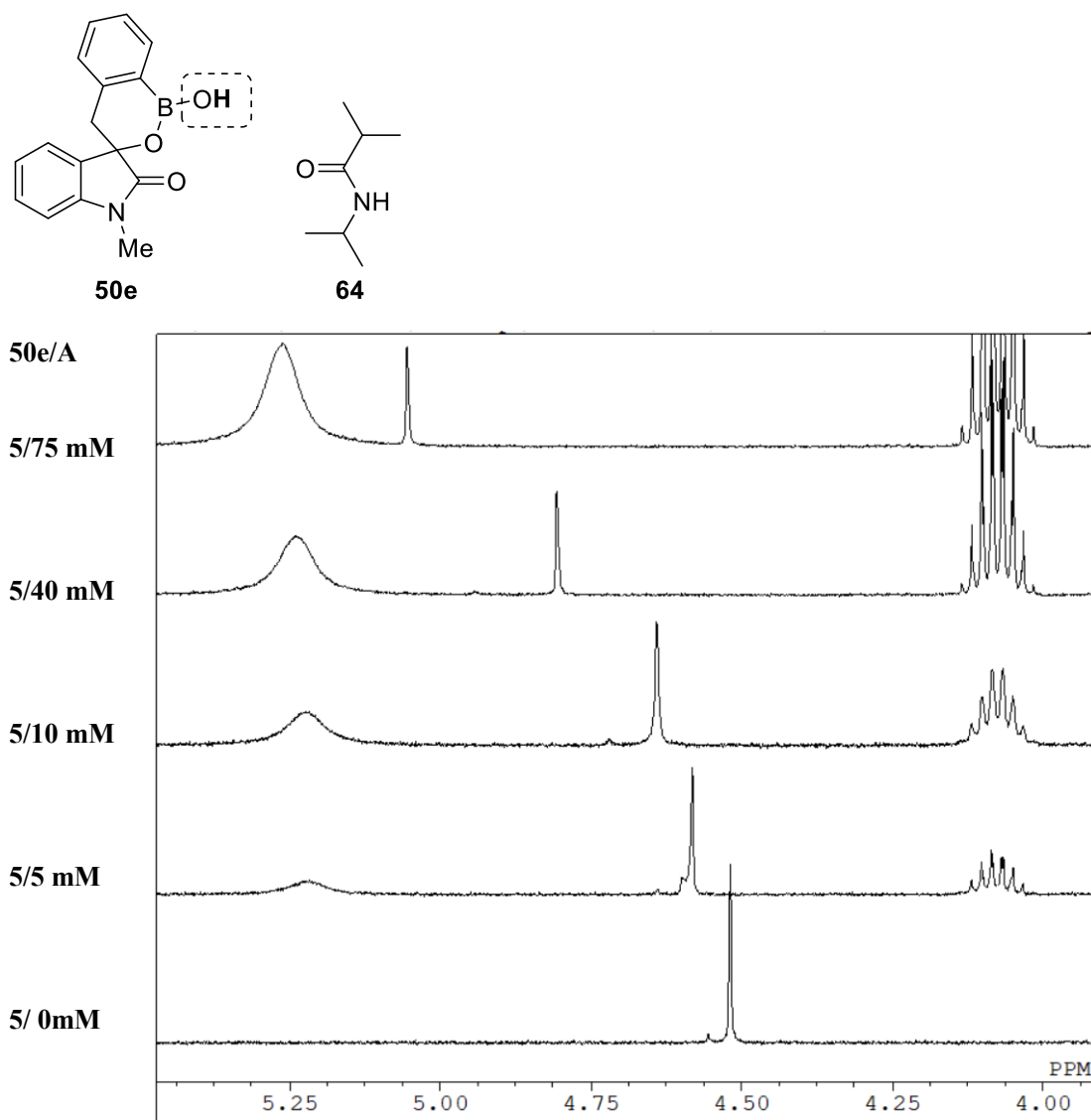
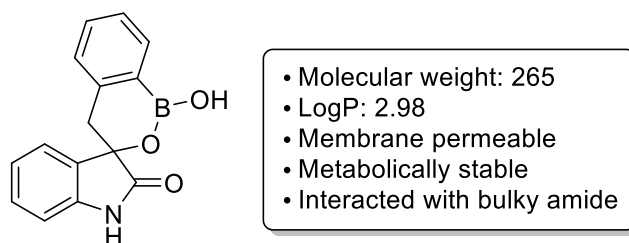


Figure 26. Hydrogen bonding ability of **50e**.

## 第五節 小括

本章ではスピロオキサボリン誘導体の *in vitro* 薬物動態プロファイルを明らかにした。これらのスピロオキサボリン誘導体は経口剤に適した物理化学的性質と *in vitro* 薬物動態プロファイルを示した。さらに、スピロオキサボリン誘導体はアミド体と分子間水素結合を形成することがわかった (Figure 27)。これらプロファイルはライブラリー化合物として適している。



**Figure 27.** Summary of this chapter.

## 第四章 アセトアミノフェン新規含ホウ素プロドラッグの開発

### 第一節 緒言

ホウ素化合物の水酸基への代謝を利用したプロドラッグ化が報告されているものの、その医薬品への応用例は少なく、実用化したものは ixazomib のみである。そこで、ホウ素の酸化代謝を利用した新規プロドラッグの開発を試みた。解熱鎮痛薬の 1 つであるアセトアミノフェンは生体内で *N*-acetyl-*p*-benzoquinone imine (NAPQI) へ代謝された後、肝臓のグルタチオンによって抱合を受け、排泄される (Figure 28)<sup>93</sup>。しかし、グルタチオンが枯渇すると反応性の高い NAPQI が細胞内高分子と共有結合し、結果として細胞壊死や肝障害を引き起こす<sup>94</sup>。通常、アセトアミノフェンは成人で 1 回 600~1000mg を経口投与され、その解熱剤としての有効血中濃度は 5~20  $\mu\text{g/mL}$  である<sup>95</sup>。副作用の観点では、血中濃度が 150  $\mu\text{g/mL}$  を超えない場合に肝毒性は発現しない<sup>95</sup>。しかし、アセトアミノフェンの半減期は 2~3 時間と短く<sup>96</sup>、有効血中濃度を維持するためには 1 日に数回服用することになる。従って、アセトアミノフェンの徐放化により、有効血中濃度を維持することが求められている。

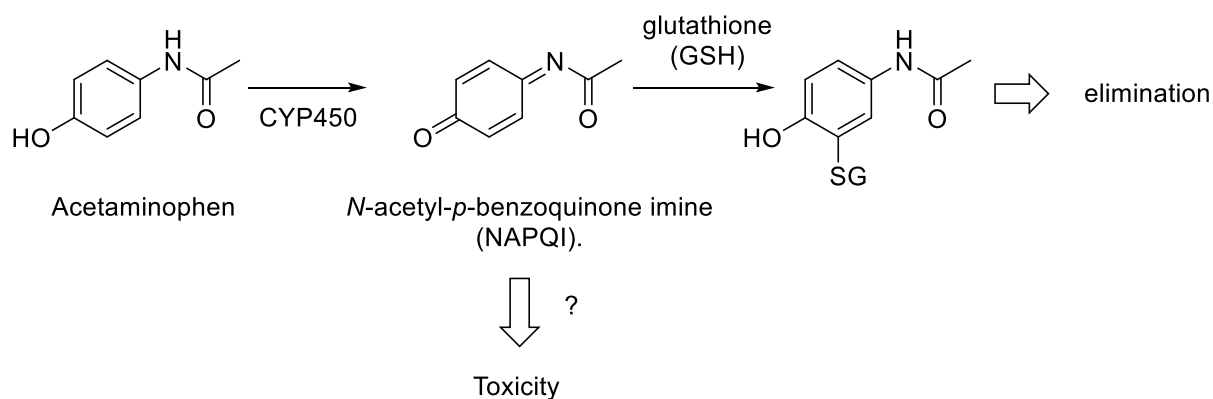
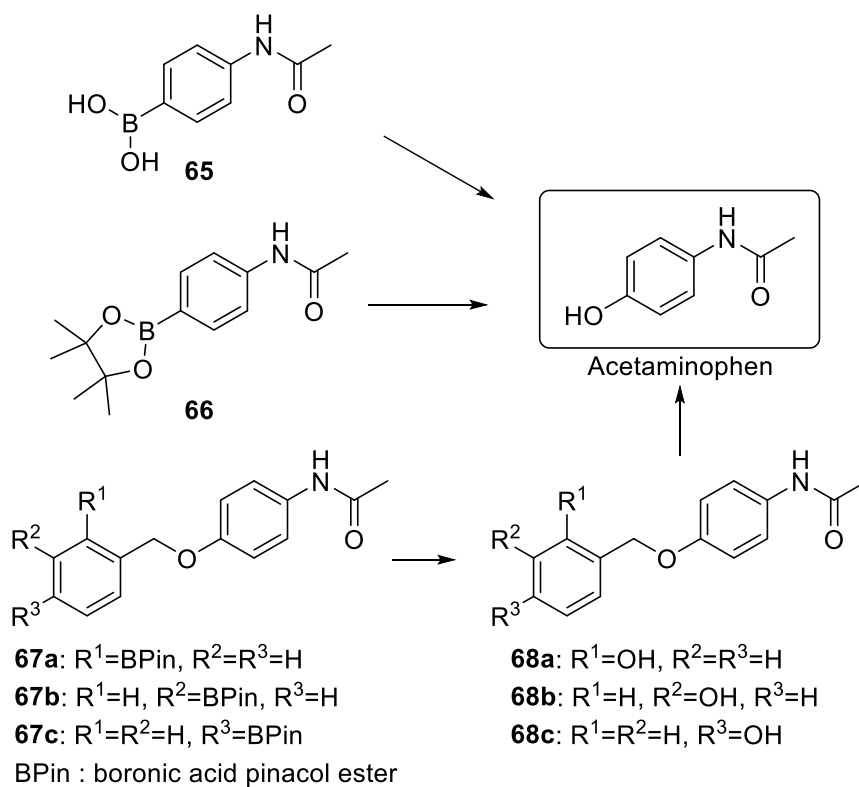


Figure 28. Metabolic pathway of acetaminophen.

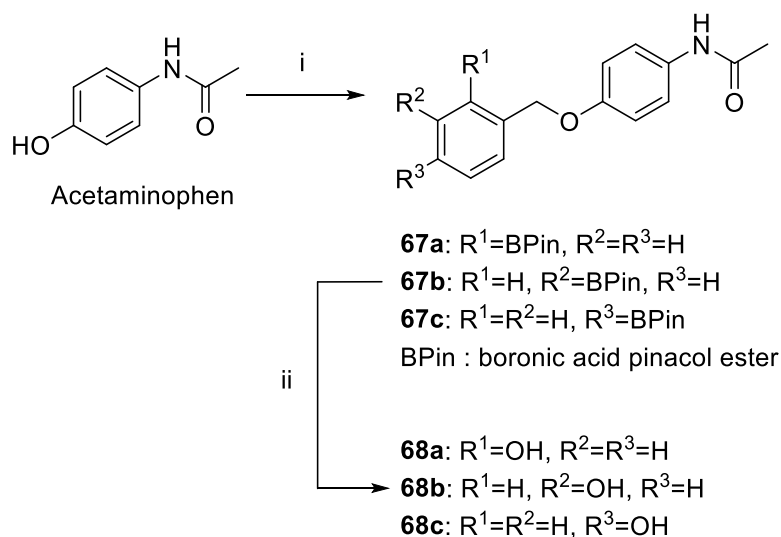
本章ではアセトアミノフェンの徐放型含ホウ素プロドラッグを開発することを目的とし、まず、直接水酸基に変換されるボロン酸とボロン酸エステル、そして水酸基のベンジル保護基にボロン酸エステルを導入した 3 つのタイプ化合物(65, 66 and 67a–67c)の過酸化水素中アセトアミノフェン生成量を比較した (Figure 29)。



**Figure 29.** Prodrugs of acetaminophen.

## 第二節 プロドラッグ体の合成

化合物 **67a–67c** と化合物 **68a–68c** の合成法を以下に述べる。入手可能なアセトアミノフェンを bromomethylphenylboronic acid pinacol ester と反応させ、化合物 **67a–67c** を合成した。これを mPCBA で酸化することにより化合物 **68a–68c** を合成した(Scheme 16)。



**Scheme 16.** Reagents and conditions: (i) 2-, 3- or 4-bromomethylphenylboronic acid pinacol ester, K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>, DMF, room temperature, 43–88%; (ii) mCPBA, MeCN, room temperature 73–84%.

### 第三節 過酸化水素中安定性評価

プロドラッグ体 **65**, **66**, **67a–67c** (30  $\mu\text{M}$ )の過酸化水素水中(600  $\mu\text{M}$ )、室温でのアセトアミノフェン生成量を  $^1\text{H NMR}$  を用いて比較した。その結果、化合物 **65** と **66** からは、速やかにアセトアミノフェンが生成した(Figure 30)。一方で、化合物 **67a–67c** は速やかに化合物 **68a–68c** へ変換したが、120分までアセトアミノフェンの生成は確認できなかった(Figure 30 and 31)。その後、反応を継続し観察したところ、6日後に化合物 **68c** の9%がアセトアミノフェンに変換した。

化合物 **68c** からアセトアミノフェンへの変換反応はホウ素原子の置換反応より遅かったため、置換基導入によってその生成速度が調整できると考えた。その一方で、化合物 **68c** からアセトアミノフェンが生成する際に生じるキノン体 **69** は、NAPQI と同様に反応性高く、細胞内高分子との共有結合による毒性が危惧された(Figure 32)。そこで、化合物 **67c** と同様にアセトアミノフェンを放出し、かつ、副生成物であるキノン体の反応性を低減させることを目的に置換基導入を検討した。

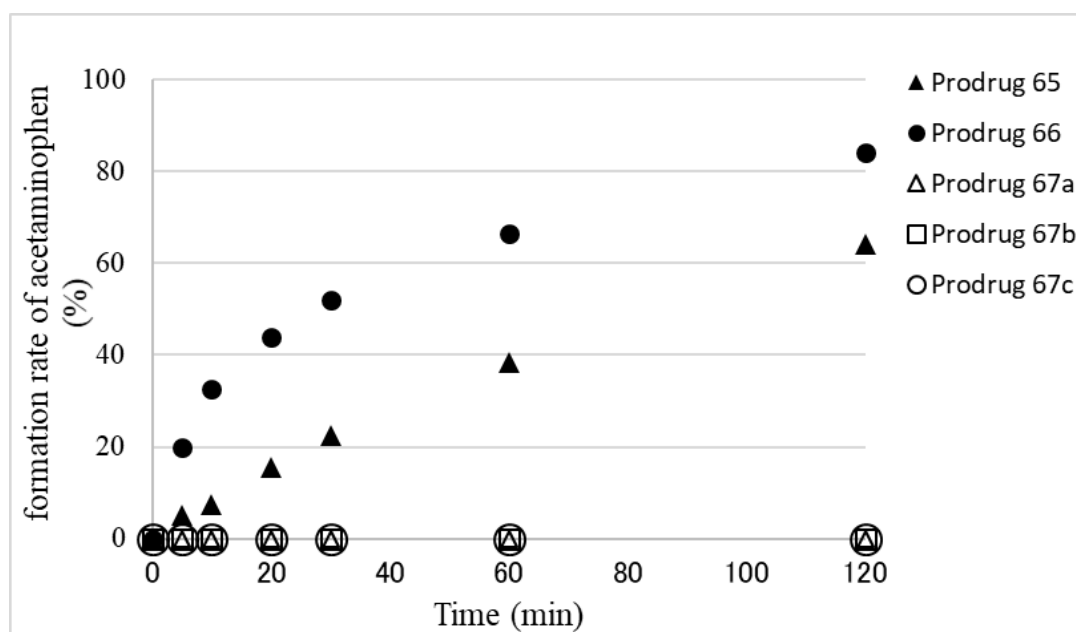
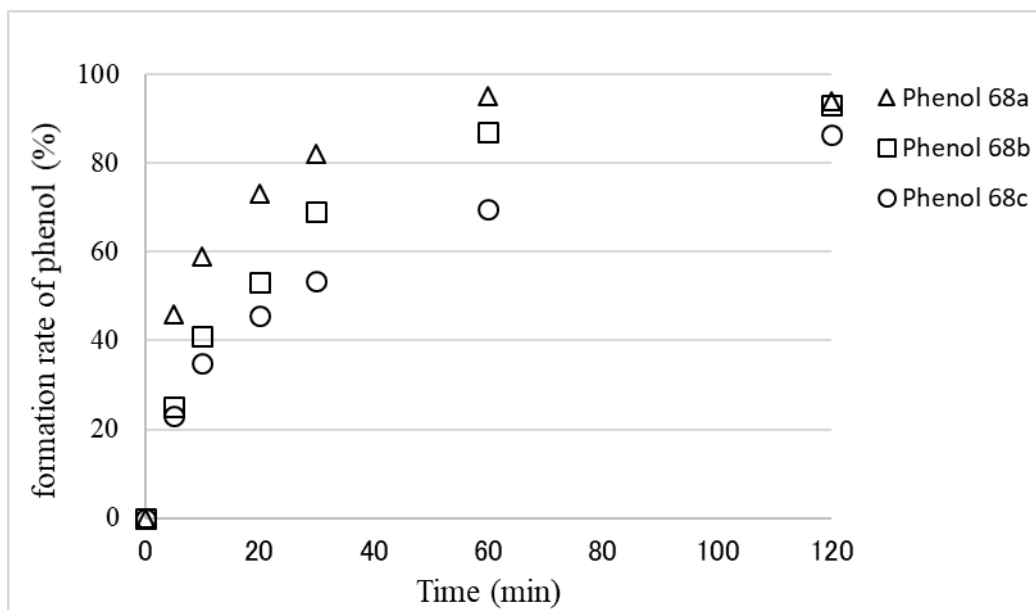
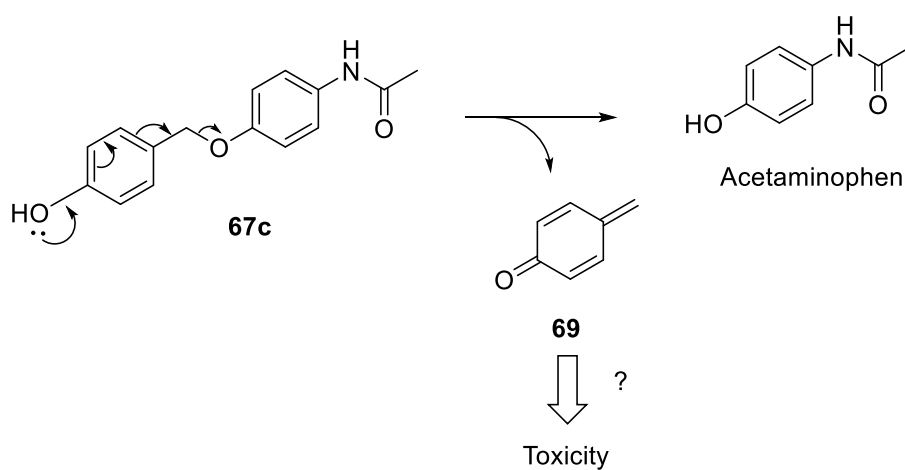


Figure 30. Formation of acetaminophen.





**Figure 31.** formation of phenol intermediate.

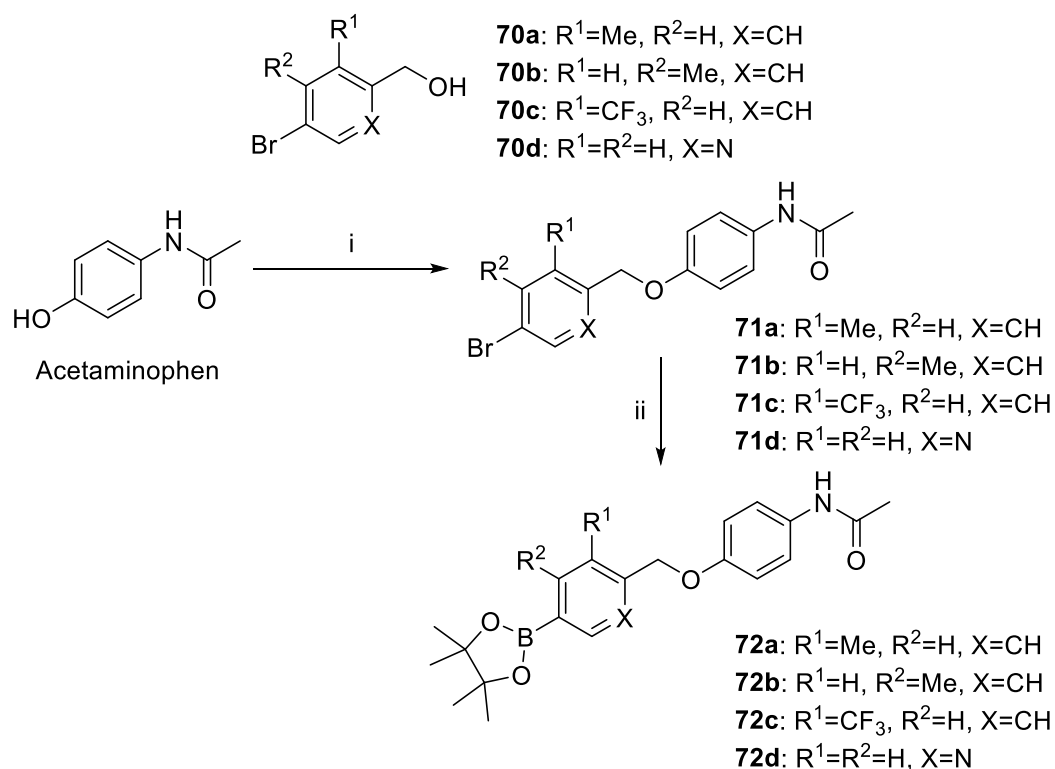


**Figure 32.** Formation of quinone.

#### 第四節 置換誘導体のデザインと合成

立体障害または電子密度の向上によって、副生成物キノン体の反応性を低減できると考え、化合物 **67c** のベンジル部位に置換基または窒素原子を導入した化合物 **72a–72d** をデザインし、その置換基効果を検討した。例えば、メチル基の導入はその立体障害に加え、二重結合の電子密度を上げるため、タンパク質などの生体成分の求核付加反応を妨げることが期待できる。トリフルオロメチル基の導入は二重結合の電子密度を下げるためキノン体の反応性は向上するが、その一方で徐放化が期待できる。窒素原子を導入したピリジン誘導体 **72d** は、1,4-付加部位に窒素原子があるため求核付加反応を妨げること、さらに、溶解度の改善が期待できるが、過酸化酸素中でアセトアミノフェンが生成するかは不明である。また、置換基効果によってアセトアミノフェンの生成速度が変化すれば、血中濃度推移も変化することが期待できる。

化合物 **72a–72d** を入手可能な対応するアルコール誘導体 **70a–70d**<sup>97, 98, 99</sup> から光延反応と Pd カップリング反応を用いて合成した(Scheme 17)。



**Scheme 17.** Reagents and conditions: (i) alcohol derivatives **70a–70d**, diethyl azodicarboxylate, triphenylphosphine, THF, 0 °C to rt, 30–52%; (ii) Pd(dppf)Cl<sub>2</sub>·CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, bis(pinacolato)diboron, AcOK, toluene, 100 °C, 33–78%.

## 第五節 プロドラッグの置換基効果と溶解度

化合物 **72a–72d** (30  $\mu$ M)を前節と同様に過酸化水素水中(600  $\mu$ M)でのアセトアミノフェン生成を確認したところ、メチル基を有する化合物 **72a** と化合物 **72b** から化合物 **67c** と同程度のアセトアミノフェンが生成した(Table 6, entries 1–3)。興味深いことに、化合物 **72d** から僅かにアセトアミノフェンが生成した(entry 5)。さらに溶解度を確認したところ、化合物 **72d** は酸性条件下で 4.0 mg/mL 以上の高い溶解性を示した(Table 6)。

**Table 6.** Effects of substituents on formation of acetaminophen.

**67c:** R<sup>1</sup>=H, R<sup>2</sup>=H, X=CH  
**72a:** R<sup>1</sup>=Me, R<sup>2</sup>=H, X=CH  
**72b:** R<sup>1</sup>=H, R<sup>2</sup>=Me, X=CH  
**72c:** R<sup>1</sup>=CF<sub>3</sub>, R<sup>2</sup>=H, X=CH  
**72d:** R<sup>1</sup>=R<sup>2</sup>=H, X=N

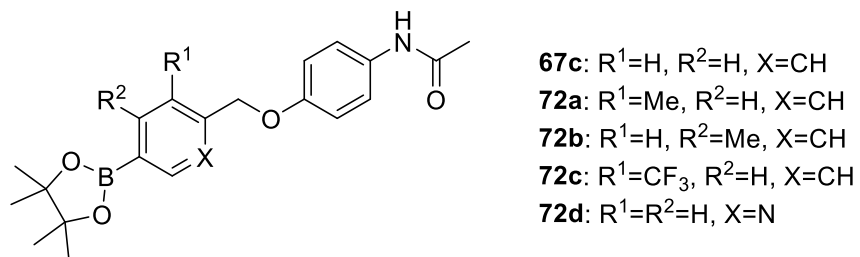
entry	prodrug	アセトアミノフェン生成率*	
		2day	6day
1	<b>67c</b>	5%	9%
2	<b>72a</b>	3%	6%
3	<b>72b</b>	1%	4%
4	<b>72c</b>	<1%	<1%
5	<b>72d</b>	<1%	1%

\* <sup>1</sup>H NMR を用いて、総アセチル基(1.95–2.25 ppm)に対応するプロトンとアセトアミノフェンの芳香環に対応するプロトン(7.29 or 6.73ppm)の比率より算出した。

得られた置換基効果は、Hammett 則<sup>100</sup>を用いて考察することができる。Me 基置換基定数  $\sigma_m$  と  $\sigma_p$  値は−0.07 と−0.17 であり弱い電子供与性を示し、CF<sub>3</sub> 基の置換基定数  $\sigma_m$  と  $\sigma_p$  値は 0.43 と 0.54 であり強い電子吸引性を示す。ベンジル基の電子密度とアセトアミノフェンの生成量は良好な関係にあり、電子密度を下げることによりアセトアミノフェンの生成速度を低減できる(Table 6, entries 1 and 4)。また、窒素原子導入によってベンゼン環の電子密度を低下させることでも、アセトアミノフェンの生成速度を低減できる。また、Me 基などの電子供与基の導入は、徐放化と同時に課題であるキノン体の反応性を低減することが期待できる。また、 $\pi$  電子不足系ヘテロ環を適応しアセトアミノフェンが放出された知見は興味深く、副生成物キノン体の反応性を低減させ、溶解度の改善と徐放化を両立した新規含ホウ素

プロドラッグへの発展が期待できる。

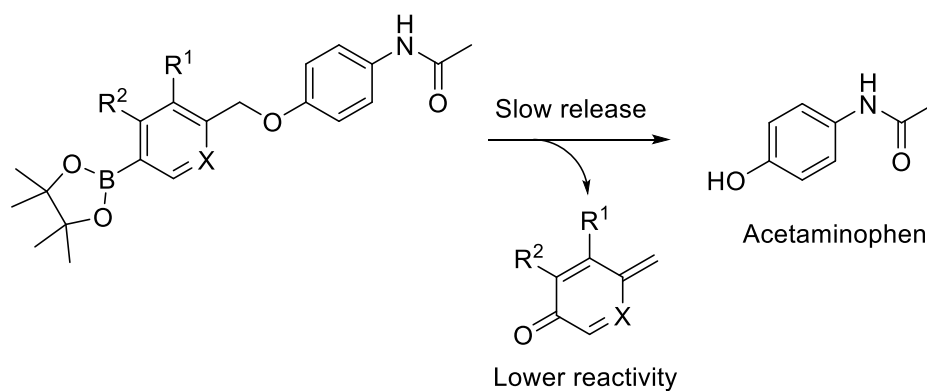
**Table 6.** Solubility of prodrugs.



entry	Prodrug	Solubility in 1N HCl aq. at rt (mg/mL)
1	<b>67c</b>	<0.1
2	<b>72a</b>	<0.1
3	<b>72b</b>	<0.1
4	<b>72c</b>	<0.1
5	<b>72d</b>	>4.0

## 第六節 小括

本章では *p* 位にボロン酸エステルを有するプロドラッグ体がアセトアミノフェンを緩やかに放出することを明らかにした(Scheme 18)。また、ベンジル基へ電子供与基を導入した誘導体においても無置換体と同様にアセトアミノフェンが放出されることを実証した。電子供与基または窒素原子の導入によって、副生成物キノンの細胞内高分子に対する反応性の低減が期待できる。また、ベンジル基をヘテロ環へ変換することで溶解度が改善したプロドラッグになることを示した。これらの結果は徐放型含ホウ素プロドラッグ研究への応用が期待できる。



**Scheme 18.** Summary of this chapter.

## 総括

本研究では含ホウ素化合物の創薬応用に挑戦し、以下の知見を得た。

- ・第二章では、複雑な構造を有する含ホウ素化合物の簡便な合成法に取り組み、短工程のスピロオキサボリン誘導体の新規合成法を開発した。鍵工程であるスピロ環構築反応では、酸性条件下、過ヨウ素酸ナトリウムを用いることで、効率的にオキシインドール3位の酸化反応とそれに続く環化反応が進行することを見出した。本反応はオキシインドール3位の簡便な酸化法として有機化学上興味深い。本合成法は様々な置換スピロオキサボリン誘導体合成に対応可能であり、そのライブラリー化を達成した。全工程においてカラム精製が不要であるためスケールアップ可能であり、創薬研究に適した方法である。
- ・第三章では、スピロオキサボリン誘導体の *in vitro* 薬物動態プロファイルを明らかにした。スピロオキサボリン誘導体は経口剤に適した物理化学的性質と薬物動態プロファイルを有していた。これらプロファイルはライブラリー化合物として適している。
- ・第四章では、各種ホウ素化合物の酸化条件下でのアセトアミノフェン生成速度を比較した。*p* 位にボロン酸エステルを有するベンジル基を導入することで、過酸化酸素中アセトアミノフェンが徐々に放出されることを見出した。ベンジル基へ電位供与基または窒素原子を導入したプロドラッグは、徐放性を維持したまま副生成物の反応性を低減させることが期待できる。これらの結果は、新規含ホウ素プロドラッグ研究の足掛かりとなる興味深い知見である。

以上、本研究で見出した知見は、これまでに報告例のない含ホウ素化合物の創薬応用の基盤となることが期待できる。

## 実験の部

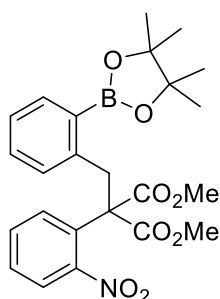
### General remarks

Unless otherwise noted, reagents were obtained from commercial suppliers and used without further purification. Melting points (mp) were measured using Yanaco MP-500D and are uncorrected. Infrared (IR) spectra were recorded on SHIMADZU FT-IR-8400 or SHIMADZU IRPrestige-21. Nuclear magnetic resonance (NMR) spectra were recorded JEOL AL-400 or JEOL ECS-400 spectrometer at room temperature (rt), operating at 400 MHz for  $^1\text{H}$  NMR and 100 MHz for  $^{13}\text{C}$  NMR. Chemical shifts are given in  $\delta$  (ppm) relative to tetramethylsilane (TMS) or residual solvent ( $^1\text{H}$  NMR: TMS  $\delta$  0.00, DMSO- $d_6$   $\delta$  2.50;  $^{13}\text{C}$  NMR:  $\text{CDCl}_3$   $\delta$  77.0, DMSO- $d_6$   $\delta$  39.5) as internal standard; multiplicities were recorded as s (singlet), br s (broad singlet), d (doublet), dd (double doublet), ddd (double double doublet), t (triplet), td (triplet double), q (quartet) or m (multiplet). Mass spectra (MS) were measured using an UFLC-MS/MS system consisting of a Q Exactive orbitrap Mass Spectrometer (Thermo Fisher Scientific Inc., Waltham, MA) with a Shimadzu 20A series UFLC system (Shimadzu Corporation, Kyoto, Japan) or Orbitrap Elite (Thermo Fisher Scientific Inc., Waltham, MA) under electrospray ionization (ESI) condition. Silica gel column chromatography was performed on silica gel (70–230 mesh). Column chromatography was carried out on a Yamazen W-prep system using prepacked silica gel.

## 第二章に関する実験

### General procedure for the synthesis of dimethyl (2-nitrophenyl)[2-(4,4,5,5-tetramethyl-1,3,2-dioxaborolan-2-yl)benzyl]propanedioate (**53**)

Dimethyl (2-nitrophenyl)propanedioate **54** was dissolved in DMF (1 M).  $K_2CO_3$  (2.0 eq.) and 2-bromomethylphenylboronic acid pinacol ester (1.1 eq.) were added to the reaction mixture. After stirring at rt overnight,  $K_2CO_3$  (0.4 eq.) and 2-bromomethylphenylboronic acid pinacol ester (0.2 eq.) were added to the reaction mixture. After stirring for 4 hr, the mixture was diluted with EtOAc and water was added. The organic phase was washed with water and brine, dried over anhydrous magnesium sulfate and evaporated *in vacuo*. The residue was reprecipitated with /hexane to provide the target compounds.

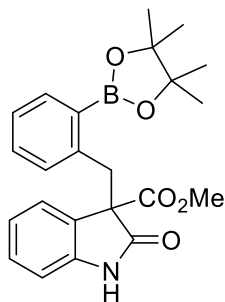


Yield: 83% as a colorless solid; mp 142.5–143.5 °C;  $^1H$ -NMR ( $CDCl_3$ )  $\delta$ : 7.93 (1H, d,  $J = 7.5$  Hz), 7.67 (1H, d,  $J = 7.5$  Hz), 7.39 (1H, t,  $J = 7.5$  Hz), 7.29 (1H, t,  $J = 7.5$  Hz), 7.13 (1H, t,  $J = 7.5$  Hz), 7.07 (1H, t,  $J = 7.5$  Hz), 6.83 (1H, d,  $J = 7.5$  Hz), 6.77 (1H, d,  $J = 7.5$  Hz), 4.31 (2H, s), 3.37 (6H, s), 1.26 (12H, s);  $^{13}C$  NMR ( $CDCl_3$ )  $\delta$ : 169.3, 149.6, 141.9, 135.1, 132.5, 132.0, 131.5, 130.1, 129.6, 128.2, 125.9, 125.1, 83.5, 64.2, 52.9, 39.4, 24.8; HRMS (ESI;  $m/z$ ):  $[M+H]^+$  calcd for  $C_{24}H_{29}BNO_8$ , 470.1981; found 470.1987; IR ( $CHCl_3$ ) 2980, 1740, 1599, 1533, 1435, 1352, 1261, 1146, 1072  $cm^{-1}$ .

### General procedure for the synthesis of methyl 2-oxo-3-[2-(4,4,5,5-tetramethyl-1,3,2-dioxaborolan-2-yl)benzyl]-2,3-dihydro-1H-indole-3-carboxylate (**52**)

Compound **53** was dissolved in AcOH/EtOH ( $v/v = 2/1$ , 0.1 M). Fe (20 eq.) was added to the reaction mixture. After stirring for 2 hr at 70 °C, the reaction mixture was cooled to rt, diluted with EtOAc and filtered through celite. The filtrate was washed successively with water and brine. The organic phase was dried over anhydrous magnesium sulfate and evaporated *in vacuo*. The crude mixture was purified by column chromatography (silica gel, EtOAc/hexane = 1/10 to 2/1) and reprecipitated with EtOAc/hexane to give the target compound.

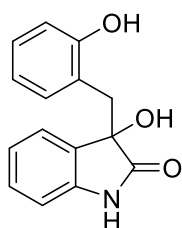




Yield: 80% as a colorless solid; mp 169–170 °C;  $^1\text{H NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 8.71 (1H, br s), 7.65 (1H, d,  $J = 7.1$  Hz), 7.15–7.12 (4H, m), 6.93 (1H, t,  $J = 7.1$  Hz), 6.89 (1H, t,  $J = 7.7$  Hz), 6.78 (1H, d,  $J = 7.7$  Hz), 4.08 (1H, d,  $J = 13.4$  Hz), 3.95 (1H, d,  $J = 13.4$  Hz), 3.68 (3H, s), 1.27 (6H, s), 1.25 (6H, s);  $^{13}\text{C NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 176.2, 169.7, 141.4, 141.2, 135.7, 130.3, 129.6, 128.7, 128.1, 126.1, 125.4, 122.0, 109.8, 83.4, 61.2, 53.0, 37.9, 24.9, 24.7; HRMS (ESI;  $m/z$ ):  $[\text{M}+\text{H}]^+$  calcd for  $\text{C}_{23}\text{H}_{27}\text{BNO}_5$ , 408.1977; found 408.1981; IR ( $\text{CHCl}_3$ ) 3437, 2982, 1744, 1620, 1599, 1474, 1441, 1381, 1348, 1313, 1240, 1146, 1072  $\text{cm}^{-1}$ .

#### General procedure for the synthesis of 3-hydroxy-3-(2-hydroxybenzyl)-1,3-dihydro-2H-indol-2-one (56)

Compound **52** (300 mg, 0.74 mmol) was dissolved in THF/MeOH ( $v/v = 1/1$ , 8.0 mL). 2M NaOH aq. (3.7 mL, 7.4 mmol) was added to the reaction mixture. After stirring for 6 hr at rt, the reaction mixture was diluted with water and washed with toluene. The water phase was acidified with 10%  $\text{KHSO}_4$  aq. to pH 4 and extracted with EtOAc. The organic phase was washed with brine, dried over anhydrous magnesium sulfate and evaporated *in vacuo*. The crude mixture was purified by column chromatography (silica gel,  $\text{CHCl}_3$  to  $\text{CHCl}_3/\text{MeOH} = 97/3$ ) and reprecipitated with  $\text{CHCl}_3$  to give the phenol **56**.



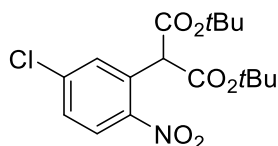
Yield: 22% as a colorless solid; mp 182–183 °C;  $^1\text{H NMR}$  ( $\text{DMSO}-d_6$ )  $\delta$ : 10.13 (1H, br s), 8.96 (1H, br), 7.08 (1H, td,  $J = 7.5, 1.4$  Hz), 6.97 (1H, dd,  $J = 7.5, 1.4$  Hz), 6.93 (1H, td,  $J = 7.5, 1.4$  Hz), 6.88 (1H, dd,  $J = 7.5, 1.4$  Hz), 6.79 (1H, td,  $J = 7.5, 1.4$  Hz), 6.66 (1H, dd,  $J = 7.5, 1.4$  Hz), 6.63 (1H, dd,  $J = 7.5, 1.4$  Hz), 6.59 (1H, td,  $J = 7.5, 1.4$  Hz), 3.19 (1H, d,  $J = 13.4$  Hz), 2.91 (1H, d,  $J = 13.4$  Hz);  $^{13}\text{C NMR}$  ( $\text{DMSO}-d_6$ )  $\delta$ : 179.2, 155.5, 141.5, 131.3, 131.2, 128.6, 127.4, 124.7, 121.8, 120.9, 118.3, 114.9, 109.1, 76.2, 35.9; HRMS (ESI;  $m/z$ ):  $[\text{M}+\text{Na}]^+$  calcd for  $\text{C}_{15}\text{H}_{13}\text{NNaO}_3$ , 278.0788; found 278.0787:

$[M-H]^-$  calcd for  $C_{15}H_{12}NO_3$ , 254.0823; found 254.0819; IR ( $CHCl_3$ ) 3429, 3263, 3024, 1726, 1624, 1489, 1472, 1335, 1234  $cm^{-1}$ .

### General procedure for the synthesis of di-*tert*-butyl (2-nitrophenyl)propanedioate derivatives (57a, 57b<sup>78</sup>, 57c, and 57d<sup>78</sup>)

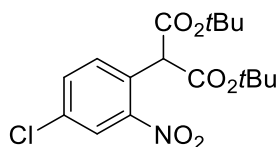
The mixture of di-*tert*-butyl malonate (1.1 eq.) and NaH (2.2 eq.) in DMF (0.5 M) was cooled to 0 °C. After stirring for 10 minutes, compound **64a**, **64b**, **64c** or **64d** in DMF was added to the reaction mixture at 0 °C. After stirring at rt for 3 hr to overnight, the mixture was diluted with EtOAc/hexane and 0.1 N HCl aq. was added. The organic phase was washed with water and brine, dried over anhydrous magnesium sulfate and evaporated *in vacuo*. The residue was reprecipitated with EtOAc/hexane to provide the target compounds except for **57c** and **57d**. The crude **57c** or **57d** was used for the next step without further purifications.

#### Di-*tert*-butyl (5-chloro-2-nitrophenyl)propanedioate (57a)



a colorless solid; mp 110–112 °C;  $^1H$  NMR ( $CDCl_3$ )  $\delta$ : 8.02 (1H, d,  $J = 8.4$  Hz), 7.54 (1H, d,  $J = 2.4$  Hz), 7.46 (1H, dd,  $J = 8.4, 2.4$  Hz), 5.11 (1H, s), 1.50 (18H, s);  $^{13}C$  NMR ( $CDCl_3$ )  $\delta$ : 166.0, 147.2, 139.8, 131.2, 131.0, 128.9, 126.5, 83.3, 56.3, 27.8; HRMS (ESI;  $m/z$ ):  $[M+Na]^+$  calcd for  $C_{17}H_{22}ClNO_6Na$ , 394.1028; found 394.1028; IR ( $CHCl_3$ ) 1728, 1529, 1138  $cm^{-1}$ .

#### Di-*tert*-butyl (4-chloro-2-nitrophenyl)propanedioate (57c)



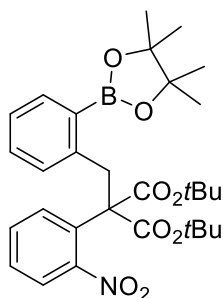
a yellow oil;  $^1H$  NMR ( $CDCl_3$ )  $\delta$ : 8.03 (1H, d,  $J = 2.4$  Hz), 7.61 (1H, dd,  $J = 8.0, 2.4$  Hz), 7.52 (1H, d,  $J = 8.0$  Hz), 5.07 (1H, s), 1.49 (18H, s);  $^{13}C$  NMR ( $CDCl_3$ )  $\delta$ : 166.1, 149.3, 134.7, 133.3, 132.2, 127.5, 125.1, 83.2, 55.8, 27.8; HRMS (ESI;  $m/z$ ):  $[M+Na]^+$  calcd for  $C_{17}H_{22}ClNO_6Na$ , 394.1028; found 394.1027; IR ( $CHCl_3$ ) 1728, 1537, 1138  $cm^{-1}$ .

### General procedure for the synthesis of $\alpha$ -alkylated of malonate derivatives (58, 58a–58d)

Compound **57**, **57a**, **57b**, **57c** or **57d** was dissolved in DMF (1 M).  $K_2CO_3$  (3.0 eq.) and 2-bromomethylphenylboronic acid pinacol ester (2.0 eq.) were added to the reaction mixture. After

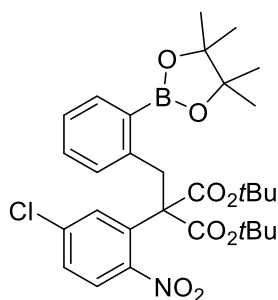
stirring at rt overnight, the mixture was diluted with EtOAc/hexane and water was added. The organic phase was washed with water and brine, dried over anhydrous magnesium sulfate and evaporated *in vacuo*. The residue was reprecipitated with EtOAc/hexane to provide the target compounds.

**Di-*tert*-butyl (2-nitrophenyl)[2-(4,4,5,5-tetramethyl-1,3,2-dioxaborolan-2-yl)benzyl]propanedioate (58)**



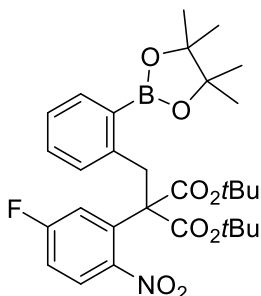
Yield: 63% as a colorless solid; mp 116–117 °C;  $^1\text{H NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 7.96 (1H, dd,  $J = 7.7, 1.4$  Hz), 7.68 (1H, dd,  $J = 7.7, 1.4$  Hz), 7.36 (1H, td,  $J = 7.7, 1.4$  Hz), 7.25 (1H, td,  $J = 7.7, 1.4$  Hz), 7.07 (1H, td,  $J = 7.7, 1.4$  Hz), 6.96 (1H, td,  $J = 7.7, 1.4$  Hz), 6.87 (1H, dd,  $J = 7.7, 1.4$  Hz), 6.65 (1H, dd,  $J = 7.7, 1.4$  Hz), 4.27 (2H, s), 1.39 (18H, s), 1.33 (12H, s);  $^{13}\text{C NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 168.1, 150.0, 142.8, 135.1, 132.8, 132.4, 131.3, 129.7, 129.3, 127.9, 125.4, 125.1, 83.5, 82.6, 65.2, 39.3, 27.6, 25.0; HRMS (ESI;  $m/z$ ):  $[\text{M}+\text{Na}]^+$  calcd for  $\text{C}_{30}\text{H}_{40}\text{BNNaO}_8$ , 576.2739; found 576.2738; IR ( $\text{CHCl}_3$ ) 2980, 1728, 1599, 1578, 1533, 1369, 1350, 1281, 1259, 1144  $\text{cm}^{-1}$ .

**Di-*tert*-butyl (5-chloro-2-nitrophenyl)[2-(4,4,5,5-tetramethyl-1,3,2-dioxaborolan-2-yl)benzyl]propanedioate (58a)**



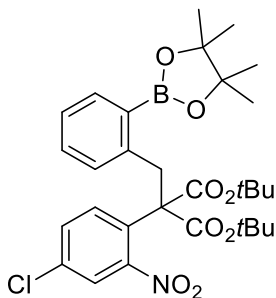
Yield: 70% in 2 steps as a colorless solid; mp 110–111 °C;  $^1\text{H NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 7.92 (1H, d,  $J = 7.6$  Hz), 7.71 (1H, d,  $J = 7.6$  Hz), 7.34 (1H, d,  $J = 7.6$  Hz), 7.12 (1H, t,  $J = 7.6$  Hz), 7.04 (1H, t,  $J = 7.6$  Hz), 6.81 (1H, s), 6.68 (1H, d,  $J = 7.6$  Hz), 4.26 (2H, s), 1.39 (18H, s), 1.33 (12H, s);  $^{13}\text{C NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 167.6, 148.3, 142.3, 137.7, 135.4, 134.9, 132.8, 129.6, 129.5, 127.8, 126.4, 125.7, 83.5, 83.0, 65.4, 39.1, 27.6, 25.0; HRMS (ESI;  $m/z$ ):  $[\text{M}+\text{Na}]^+$  calcd for  $\text{C}_{30}\text{H}_{39}\text{BClNNaO}_8$ , 610.2349; found 610.2356; IR ( $\text{CHCl}_3$ ) 2982, 1730, 1601, 1570, 1531, 1475, 1439, 1369, 1350, 1313, 1259, 1144  $\text{cm}^{-1}$ .

**Di-*tert*-butyl (5-fluoro-2-nitrophenyl)[2-(4,4,5,5-tetramethyl-1,3,2-dioxaborolan-2-yl)benzyl]propanedioate (58b)**



Yield: 38% in 2 steps as a yellow solid; mp 109–110 °C;  $^1\text{H NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 8.02 (1H, dd,  $J = 9.0, 5.4$  Hz), 7.72 (1H, d,  $J = 7.5$  Hz), 7.12 (1H, t,  $J = 7.5$  Hz), 7.06–7.04 (2H, m), 6.74 (1H, d,  $J = 7.5$  Hz), 6.65 (1H, dd,  $J = 10.4, 2.6$  Hz), 4.26 (2H, s), 1.39 (18H, s), 1.33 (12H, s);  $^{13}\text{C NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 167.6, 163.4 (d,  $J = 254.9$  Hz), 146.2 (d,  $J = 3.3$  Hz), 142.3, 136.4 (d,  $J = 9.1$  Hz), 135.5, 129.6, 129.3, 127.6 (d,  $J = 9.9$  Hz), 125.7, 119.8 (d,  $J = 25.7$  Hz), 114.6 (d,  $J = 23.2$  Hz), 83.5, 83.0, 65.2, 39.3, 27.6, 25.0; HRMS (ESI;  $m/z$ ):  $[\text{M}+\text{Na}]^+$  calcd for  $\text{C}_{30}\text{H}_{39}\text{BFNNaO}_8$   $[\text{M}+\text{Na}]^+$  594.2645; found 594.2645; IR ( $\text{CHCl}_3$ ) 2982, 1730, 1620, 1587, 1535, 1481, 1439, 1369, 1350, 1275, 1250, 1146  $\text{cm}^{-1}$ .

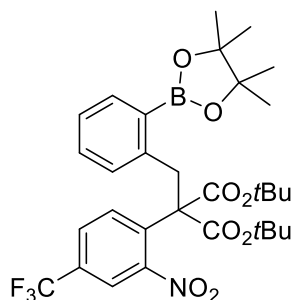
**Di-*tert*-butyl (4-chloro-2-nitrophenyl)[2-(4,4,5,5-tetramethyl-1,3,2-dioxaborolan-2-yl)benzyl]propanedioate (58c)**



Yield: 66% in 2 steps as a colorless solid; mp 101–102 °C;  $^1\text{H NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 7.96 (1H, d,  $J = 2.3$  Hz), 7.70 (1H, dd,  $J = 7.6, 1.6$  Hz), 7.22 (1H, dd,  $J = 8.6, 2.3$  Hz), 7.11 (1H, td,  $J = 7.6, 1.6$  Hz), 7.04 (1H, td,  $J = 7.6, 1.6$  Hz), 6.79 (1H, d,  $J = 8.6$  Hz), 6.72 (1H, dd,  $J = 7.6, 1.6$  Hz), 4.24 (2H, s), 1.39 (18H, s), 1.31 (12H, s);  $^{13}\text{C NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 167.7, 150.4, 142.5, 135.4, 133.8, 133.7, 131.2, 131.1, 129.6, 129.5, 125.6, 125.2, 83.5, 83.0, 65.0, 39.2, 27.6, 24.9; HRMS (ESI;  $m/z$ ):  $[\text{M}+\text{Na}]^+$  calcd for  $\text{C}_{30}\text{H}_{39}\text{BClNNaO}_8$ , 610.2349; found 610.2348; IR ( $\text{CHCl}_3$ ) 2982, 1744, 1616, 1599, 1485, 1443, 1371, 1348, 1315, 1256, 1151  $\text{cm}^{-1}$ .

**Di-*tert*-butyl [2-nitro-4-(trifluoromethyl)phenyl][2-(4,4,5,5-tetramethyl-1,3,2-**

### dioxaborolan-2-yl)benzyl]propanedioate (58d)

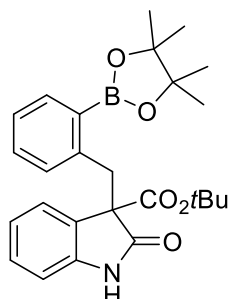


Yield: 46% in 2 steps as a colorless solid; mp 116–117 °C;  $^1\text{H NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 8.22 (1H, s), 7.71 (1H, d,  $J = 7.7$  Hz), 7.49 (1H, d,  $J = 7.7$  Hz), 7.13 (1H, t,  $J = 7.7$  Hz), 7.05 (1H, t,  $J = 7.7$  Hz), 7.01 (1H, d,  $J = 7.7$  Hz), 6.77 (1H, d,  $J = 7.7$  Hz), 4.28 (2H, s), 1.40 (18H, s), 1.29 (12H, s);  $^{13}\text{C NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 167.5, 150.1, 142.3, 136.6, 135.7, 133.7, 130.4 (q,  $J = 34.2$  Hz), 129.8, 129.4, 127.3 (q,  $J = 3.6$  Hz), 125.8, 122.8 (q,  $J = 272.5$  Hz,  $-\text{CF}_3$ ), 122.3 (q,  $J = 3.9$  Hz), 83.5, 83.3, 65.4, 39.3, 27.6, 24.9; HRMS (ESI;  $m/z$ ):  $[\text{M}+\text{Na}]^+$  calcd for  $\text{C}_{31}\text{H}_{39}\text{BF}_3\text{NNaO}_8$ , 644.2613; found 644.2620; IR ( $\text{CHCl}_3$ ) 2981, 1730, 1636, 1599, 1543, 1369, 1348, 1331, 1273, 1234, 1144  $\text{cm}^{-1}$ .

### General procedure for the synthesis of 3,3'-disubstituted oxindole derivatives (59, 59a–59d)

Compound **58**, **58a**, **58b**, **58c** or **58d** was dissolved in AcOH/EtOH (v/v = 2/1, 0.1 M). Fe (20 eq.) was added to the reaction mixture. After stirring for 3 hr at 70 °C, the reaction mixture was cooled to rt, diluted with EtOAc and filtered through celite. The filtrate was washed successively with water, saturated (sat.)  $\text{NaHCO}_3$  aq. and brine. The organic phase was dried over anhydrous magnesium sulfate and evaporated *in vacuo*. The residue was reprecipitated with EtOAc/hexane to provide the target compounds.

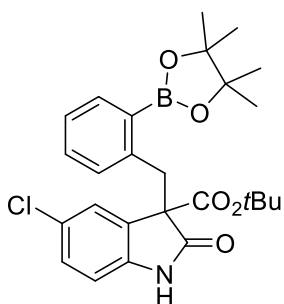
### *tert*-Butyl 2-oxo-3-[2-(4,4,5,5-tetramethyl-1,3,2-dioxaborolan-2-yl)benzyl]-2,3-dihydro-1H-indole-3-carboxylate (59)



Yield: 90% as a colorless solid; mp 191–193 °C;  $^1\text{H NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 7.88 (1H, br s), 7.64 (1H, d,  $J = 7.1$  Hz), 7.11–7.10 (4H, m), 7.02 (1H, d,  $J = 7.6$  Hz), 6.89 (1H, t,  $J = 7.6$  Hz), 6.70 (1H, d,  $J = 7.6$  Hz), 3.98 (1H, d,  $J = 13.7$  Hz), 3.94 (1H, d,  $J = 13.7$  Hz), 1.38 (9H, s), 1.30 (6H, s), 1.28 (6H, s);  $^{13}\text{C}$

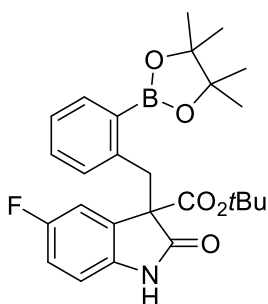
NMR (CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$ : 176.0, 168.0, 141.8, 141.2, 135.6, 130.1, 129.7, 128.8, 128.4, 125.9, 125.0, 121.9, 109.4, 83.4, 82.2, 62.1, 37.6, 27.8, 25.1, 24.7; HRMS (ESI; *m/z*): [M+H]<sup>+</sup> calcd for C<sub>26</sub>H<sub>33</sub>BNO<sub>5</sub>, 450.2446; found 450.2444; IR (CHCl<sub>3</sub>) 2982, 1740, 1620, 1599, 1472, 1371, 1348, 1313, 1250, 1153, 1072 cm<sup>-1</sup>.

***tert*-Butyl 5-chloro-2-oxo-3-[2-(4,4,5,5-tetramethyl-1,3,2-dioxaborolan-2-yl)benzyl]-2,3-dihydro-1*H*-indole-3-carboxylate (59a)**



Yield: 86% as a colorless solid; mp 211–212 °C; <sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$ : 8.26 (1H, br s), 7.67 (1H, d, *J* = 7.3 Hz), 7.16–7.07 (5H, m), 6.66 (1H, d, *J* = 8.3 Hz), 4.05 (1H, d, *J* = 13.6 Hz), 3.88 (1H, d, *J* = 13.6 Hz), 1.40 (9H, s), 1.34 (6H, s), 1.31 (6H, s); <sup>13</sup>C NMR (CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$ : 176.0, 167.4, 141.4, 139.7, 136.0, 130.4, 129.5, 128.4, 127.2, 126.1, 125.5, 110.4, 83.6, 82.7, 62.5, 37.5, 27.8, 25.2, 24.7; HRMS (ESI; *m/z*): [M+H]<sup>+</sup> calcd for C<sub>26</sub>H<sub>32</sub>BClNO<sub>5</sub>, 484.2057; found 484.2060; IR (CHCl<sub>3</sub>) 2984, 1742, 1620, 1599, 1479, 1371, 1348, 1313, 1271, 1151, 1072 cm<sup>-1</sup>.

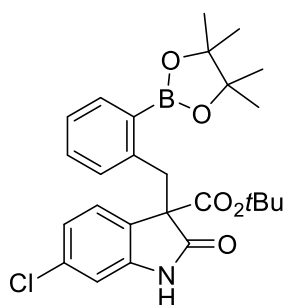
***tert*-Butyl 5-fluoro-2-oxo-3-[2-(4,4,5,5-tetramethyl-1,3,2-dioxaborolan-2-yl)benzyl]-2,3-dihydro-1*H*-indole-3-carboxylate (59b)**



Yield: 77% as a pale yellow solid; mp 196–198 °C; <sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$ : 8.17 (1H, br s), 7.66 (1H, d, *J* = 7.1 Hz), 7.16 (2H, m), 7.10 (1H, m), 6.88 (1H, dd, *J* = 8.2, 2.7 Hz), 6.81 (1H, td, *J* = 8.2, 2.7 Hz), 6.64 (1H, dd, *J* = 8.2, 4.1 Hz), 4.06 (1H, d, *J* = 13.6 Hz), 3.87 (1H, d, *J* = 13.6 Hz), 1.40 (9H, s), 1.33 (6H, s), 1.30 (6H, s); <sup>13</sup>C NMR (CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$ : 176.2, 167.4, 158.5 (d, *J* = 240.0 Hz), 141.5, 137.1 (d, *J* = 2.5 Hz), 136.0, 130.4, 130.3 (d, *J* = 8.3 Hz), 129.6, 126.1, 114.8 (d, *J* = 24.0 Hz), 113.1 (d, *J* = 24.8 Hz), 109.8 (d, *J* = 8.3 Hz), 83.6, 82.7, 62.8 (d, *J* = 2.0 Hz), 37.6, 27.8, 25.1, 24.7; HRMS (ESI; *m/z*):

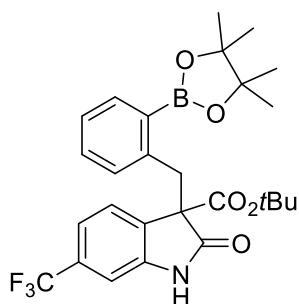
$[M+H]^+$  calcd for  $C_{26}H_{32}BFNO_5$ , 468.2352; found 468.2352; IR ( $CHCl_3$ ) 2984, 1741, 1634, 1599, 1489, 1371, 1346, 1313, 1256, 1211, 1151, 1072  $cm^{-1}$ .

***tert*-Butyl 6-chloro-2-oxo-3-[2-(4,4,5,5-tetramethyl-1,3,2-dioxaborolan-2-yl)benzyl]-2,3-dihydro-1*H*-indole-3-carboxylate (59c)**



Yield: 74% as a colorless solid; mp 181–182 °C;  $^1H$  NMR ( $CDCl_3$ )  $\delta$ : 8.18 (1H, br s), 7.66 (1H, d,  $J$  = 7.4 Hz), 7.18 (1H, t,  $J$  = 7.4 Hz), 7.14–7.12 (2H, m), 6.89–6.82 (3H, m), 3.93 (2H, s), 1.39 (9H, s), 1.28 (12H, s);  $^{13}C$  NMR ( $CDCl_3$ )  $\delta$ : 176.0, 167.5, 142.3, 141.5, 135.7, 134.1, 130.4, 129.7, 127.2, 126.14, 126.11, 121.8, 110.1, 83.5, 82.6, 61.7, 37.6, 27.7, 25.0, 24.7; HRMS (ESI;  $m/z$ ):  $[M+H]^+$  calcd for  $C_{26}H_{32}BClNO_5$ , 484.2057; found 484.2057; IR ( $CHCl_3$ ) 2982, 1744, 1616, 1599, 1485, 1447, 1371, 1348, 1315, 1256, 1151, 1072  $cm^{-1}$ .

***tert*-Butyl 2-oxo-3-[2-(4,4,5,5-tetramethyl-1,3,2-dioxaborolan-2-yl)benzyl]-6-(trifluoromethyl)-2,3-dihydro-1*H*-indole-3-carboxylate (59d)**

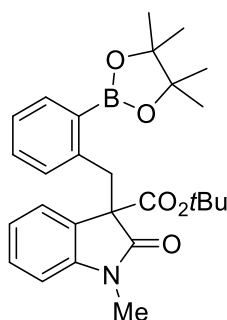


Yield: 80% as a colorless solid; mp 101–102 °C;  $^1H$  NMR ( $CDCl_3$ )  $\delta$ : 9.22 (1H, br s), 7.66 (1H, d,  $J$  = 7.6 Hz), 7.18–7.12 (5H, m), 6.92 (1H, d,  $J$  = 7.8 Hz), 4.01 (1H, d,  $J$  = 13.6 Hz), 3.93 (1H, d,  $J$  = 13.6 Hz), 1.38 (9H, s), 1.23 (12H, s);  $^{13}C$  NMR ( $CDCl_3$ )  $\delta$ : 176.5, 167.1, 142.1, 141.4, 135.7, 132.6 (d,  $J$  = 1.7 Hz), 130.7 (q,  $J$  = 32.3 Hz), 130.5, 129.7, 126.3, 125.4, 123.9 (q,  $J$  = 272.3 Hz,  $-CF_3$ ), 118.7 (q,  $J$  = 3.9 Hz), 106.8 (q,  $J$  = 3.9 Hz), 83.5, 82.9, 62.1, 37.7, 27.7, 24.8, 24.7; HRMS (ESI;  $m/z$ ):  $[M+H]^+$  calcd for  $C_{27}H_{32}BF_3NO_5$ , 518.2320; found 518.2321; IR ( $CHCl_3$ ) 2982, 1746, 1636, 1599, 1460, 1371, 1348, 1319, 1258, 1169, 1151, 1070  $cm^{-1}$ .

### General procedure for the synthesis of *N*-alkylated oxindole derivatives (59e and 59f)

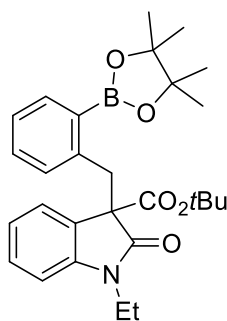
Compound **59** was dissolved in DMF (0.1 M).  $K_2CO_3$  (10 eq.) and alkyl iodide (5.0 eq.) were added to the reaction mixture. After stirring for 3 to 15 hr at rt, the mixture was diluted with EtOAc/hexane and water was added. The organic phase was washed with water and brine, dried over anhydrous magnesium sulfate and evaporated *in vacuo* to provide the target compounds.

#### *tert*-Butyl 1-methyl-2-oxo-3-[2-(4,4,5,5-tetramethyl-1,3,2-dioxaborolan-2-yl)benzyl]-2,3-dihydro-1*H*-indole-3-carboxylate (59e)



Yield: quant. as a colorless oil;  $^1H$  NMR ( $CDCl_3$ )  $\delta$ : 7.61 (1H, d,  $J = 7.5$  Hz), 7.16 (1H, t,  $J = 7.5$  Hz), 7.14 (1H, t,  $J = 7.5$  Hz), 7.08 (1H, d,  $J = 7.5$  Hz), 7.07 (1H, t,  $J = 7.5$  Hz), 7.01 (1H, d,  $J = 7.5$  Hz), 6.90 (1H, t,  $J = 7.5$  Hz), 6.59 (1H, d,  $J = 7.5$  Hz), 4.03 (1H, d,  $J = 13.4$  Hz), 3.87 (1H, d,  $J = 13.4$  Hz), 3.03 (3H, s), 1.39 (9H, s), 1.29 (6H, s), 1.27 (6H, s);  $^{13}C$  NMR ( $CDCl_3$ )  $\delta$ : 174.2, 168.2, 144.0, 141.9, 135.6, 129.9, 129.6, 128.3, 128.1, 125.8, 124.7, 121.8, 107.6, 83.4, 82.1, 61.8, 37.7, 27.8, 26.1, 25.1, 24.8; HRMS (ESI;  $m/z$ ):  $[M+H]^+$  calcd for  $C_{27}H_{35}BNO_5$ , 464.2603; found 464.2609; IR ( $CHCl_3$ ) 2981, 1736, 1713, 1612, 1599, 1493, 1472, 1441, 1371, 1348, 1254, 1153  $cm^{-1}$ .

#### *tert*-Butyl 1-ethyl-2-oxo-3-[2-(4,4,5,5-tetramethyl-1,3,2-dioxaborolan-2-yl)benzyl]-2,3-dihydro-1*H*-indole-3-carboxylate (59f)



Yield: quant. as a colorless oil;  $^1H$  NMR ( $CDCl_3$ )  $\delta$ : 7.61 (1H, d,  $J = 7.5$  Hz), 7.15–7.06 (4H, m), 6.99 (1H, d,  $J = 7.5$  Hz), 6.91 (1H, t,  $J = 7.5$  Hz), 6.60 (1H, d,  $J = 7.5$  Hz), 3.99 (1H, d,  $J = 13.4$  Hz), 3.94 (1H, d,  $J = 13.4$  Hz), 3.58 (2H, dq,  $J = 28.7, 7.1$  Hz), 1.38 (9H, s), 1.33 (6H, s), 1.31 (6H, s), 0.98 (3H, t,  $J = 7.1$  Hz);  $^{13}C$  NMR ( $CDCl_3$ )  $\delta$ : 173.7, 168.4, 143.2, 141.8, 135.6, 129.9, 129.7, 128.5, 128.3,

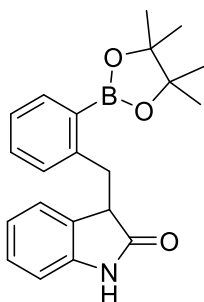


125.7, 124.6, 121.7, 107.8, 83.4, 82.0, 61.7, 37.4, 34.4, 27.8, 25.2, 24.7, 12.1; HRMS (ESI; m/z): [M+H]<sup>+</sup> calcd for C<sub>28</sub>H<sub>37</sub>BNO<sub>5</sub>, 478.2759; found 478.2763; IR (neat) 2977, 1736, 1711, 1610, 1599, 1489, 1467, 1442, 1367, 1344, 1146 cm<sup>-1</sup>.

### General procedure for the synthesis of 3-monosubstituted oxindole derivatives (55, 55a–55f)

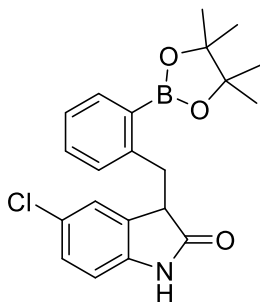
Compound **59**, **59a**, **59b**, **59c**, **59d**, **59e** or **59f** was dissolved in CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/TFA (v/v = 1/1, 0.1 M) at 0 °C. After stirring at rt overnight, the reaction mixture was diluted with CHCl<sub>3</sub> and washed successively with sat. NaHCO<sub>3</sub> aq. and brine. The organic phase was dried over anhydrous magnesium sulfate and evaporated *in vacuo*. The crude 3-monosubstituted oxindole derivative was used for the next step without further purifications.

### 3-[2-(4,4,5,5-Tetramethyl-1,3,2-dioxaborolan-2-yl)benzyl]-1,3-dihydro-2H-indol-2-one (55)



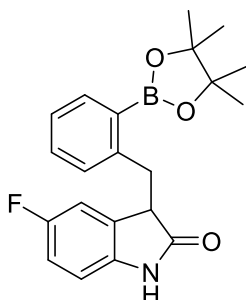
Yield: quant. as a colorless oil; <sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>) δ: 8.77 (1H, br s), 7.86 (1H, d, *J* = 7.6 Hz), 7.41 (1H, t, *J* = 7.6 Hz), 7.28 (1H, t, *J* = 7.6 Hz), 7.27 (1H, d, *J* = 7.6 Hz), 7.14 (1H, t, *J* = 7.6 Hz), 6.87 (1H, d, *J* = 7.6 Hz), 6.82 (1H, t, *J* = 7.6 Hz), 6.45 (1H, d, *J* = 7.6 Hz), 3.76 (1H, dd, *J* = 10.1, 5.9 Hz), 3.66 (1H, dd, *J* = 13.1, 5.9 Hz), 3.32 (1H, dd, *J* = 13.1, 10.1 Hz), 1.27 (6H, s), 1.20 (6H, s); <sup>13</sup>C NMR (CDCl<sub>3</sub>) δ: 180.0, 145.1, 141.4, 136.3, 130.9, 130.5, 129.5, 127.6, 126.0, 125.2, 121.7, 109.4, 83.5, 48.1, 36.4, 24.7, 24.7; HRMS (ESI; m/z): [M+H]<sup>+</sup> calcd for C<sub>21</sub>H<sub>25</sub>BNO<sub>3</sub>, 350.1922; found 350.1929; IR (CHCl<sub>3</sub>) 3439, 3203, 2982, 1707, 1622, 1599, 1485, 1470, 1443, 1381, 1350, 1313, 1144, 1113, 1069 cm<sup>-1</sup>.

### 5-Chloro-3-[2-(4,4,5,5-tetramethyl-1,3,2-dioxaborolan-2-yl)benzyl]-1,3-dihydro-2H-indol-2-one (55a)



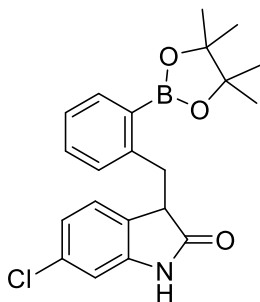
Yield: quant. as a colorless oil;  $^1\text{H NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 8.85 (1H, br s), 7.89 (1H, dd,  $J = 7.5, 1.3$  Hz), 7.42 (1H, td,  $J = 7.5, 1.3$  Hz), 7.29 (1H, td,  $J = 7.5, 1.3$  Hz), 7.26 (1H, dd,  $J = 7.5, 1.3$  Hz), 7.12 (1H, d,  $J = 8.3$  Hz), 6.78 (1H, d,  $J = 8.3$  Hz), 6.53 (1H, s), 3.74 (1H, dd,  $J = 9.5, 6.2$  Hz), 3.62 (1H, dd,  $J = 13.2, 6.2$  Hz), 3.33 (1H, dd,  $J = 13.2, 9.5$  Hz), 1.30 (6H, s), 1.24 (6H, s);  $^{13}\text{C NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 179.7, 144.6, 139.9, 136.5, 131.2, 131.1, 130.4, 127.5, 127.1, 126.2, 125.7, 110.3, 83.6, 48.2, 36.2, 24.79, 24.75; HRMS (ESI;  $m/z$ ):  $[\text{M}+\text{H}]^+$  calcd for  $\text{C}_{21}\text{H}_{24}\text{BClNO}_3$ , 384.1532; found 384.1536; IR ( $\text{CHCl}_3$ ) 3437, 3204, 2982, 1713, 1618, 1599, 1477, 1441, 1381, 1348, 1313, 1271, 1144, 1113, 1070  $\text{cm}^{-1}$ .

**5-Fluoro-3-[2-(4,4,5,5-tetramethyl-1,3,2-dioxaborolan-2-yl)benzyl]-1,3-dihydro-2H-indol-2-one (55b)**



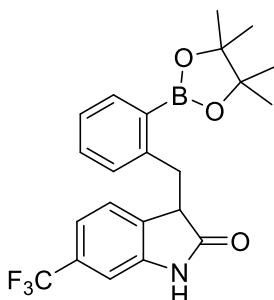
Yield: quant. as a colorless oil;  $^1\text{H NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 9.14 (1H, br s), 7.88 (1H, d,  $J = 7.4$  Hz), 7.41 (1H, t,  $J = 7.4$  Hz), 7.29 (1H, t,  $J = 7.4$  Hz), 7.26 (1H, d,  $J = 7.4$  Hz), 6.85 (1H, ddd,  $J = 8.6, 8.4, 2.3$  Hz), 6.79 (1H, dd,  $J = 8.6, 4.5$  Hz), 6.27 (1H, dd,  $J = 8.4, 2.3$  Hz), 3.76 (1H, dd,  $J = 9.9, 6.1$  Hz), 3.66 (1H, dd,  $J = 13.0, 6.1$  Hz), 3.31 (1H, dd,  $J = 13.0, 9.9$  Hz), 1.29 (6H, s), 1.23 (6H, s);  $^{13}\text{C NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 180.2, 158.5 (d,  $J = 239.2$  Hz), 144.6, 137.3 (d,  $J = 2.5$  Hz), 136.5, 131.13 (d,  $J = 8.3$  Hz), 131.06, 130.4, 126.2, 113.8 (d,  $J = 23.2$  Hz), 113.1 (d,  $J = 25.7$  Hz), 109.8 (d,  $J = 8.2$  Hz), 83.6, 48.6 (d,  $J = 1.6$  Hz), 36.2, 24.75, 24.71; HRMS (ESI;  $m/z$ ):  $[\text{M}+\text{H}]^+$  calcd for  $\text{C}_{21}\text{H}_{24}\text{BFNO}_3$ , 368.1828; found 368.1830; IR ( $\text{CHCl}_3$ ) 3439, 3204, 2981, 1709, 1630, 1601, 1485, 1458, 1443, 1381, 1348, 1315, 1273, 1144, 1115, 1069  $\text{cm}^{-1}$ .

**6-Chloro-3-[2-(4,4,5,5-tetramethyl-1,3,2-dioxaborolan-2-yl)benzyl]-1,3-dihydro-2H-indol-2-one (55c)**



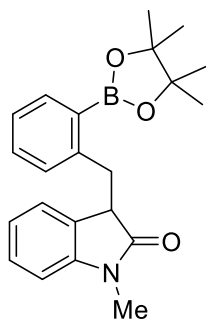
Yield: quant. as a colorless oil;  $^1\text{H NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 8.68 (1H, br s), 7.86 (1H, dd,  $J = 7.6, 1.5$  Hz), 7.41 (1H, td,  $J = 7.6, 1.5$  Hz), 7.29 (1H, td,  $J = 7.6, 1.5$  Hz), 7.24 (1H, dd,  $J = 7.6, 1.5$  Hz), 6.88 (1H, d,  $J = 1.5$  Hz), 6.79 (1H, dd,  $J = 7.9, 1.5$  Hz), 6.30 (1H, d,  $J = 7.9$  Hz), 3.72 (1H, dd,  $J = 10.2, 5.8$  Hz), 3.65 (1H, dd,  $J = 12.9, 5.8$  Hz), 3.25 (1H, dd,  $J = 12.9, 10.2$  Hz), 1.27 (6H, s), 1.22 (6H, s);  $^{13}\text{C NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 179.8, 144.6, 142.4, 136.4, 133.3, 131.1, 130.4, 127.8, 126.2, 121.6, 110.0, 83.6, 47.7, 36.4, 24.7; HRMS (ESI;  $m/z$ ):  $[\text{M}+\text{H}]^+$  calcd for  $\text{C}_{21}\text{H}_{24}\text{BClNO}_3$ , 384.1532; found 384.1537; IR ( $\text{CHCl}_3$ ) 3435, 3204, 2982, 1713, 1616, 1601, 1485, 1443, 1315, 1240, 1209, 1144, 1113, 1070, 1043  $\text{cm}^{-1}$ .

**3-[2-(4,4,5,5-Tetramethyl-1,3,2-dioxaborolan-2-yl)benzyl]-6-(trifluoromethyl)-1,3-dihydro-2H-indol-2-one (55d)**



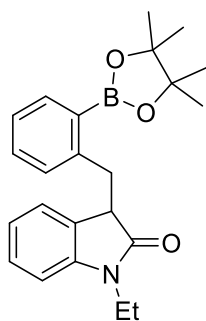
Yield: quant. as a colorless oil;  $^1\text{H NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 9.37 (1H, br s), 7.87 (1H, dd,  $J = 7.4, 1.3$  Hz), 7.44 (1H, td,  $J = 7.4, 1.3$  Hz), 7.31 (1H, td,  $J = 7.4, 1.3$  Hz), 7.28 (1H, dd,  $J = 7.4, 1.3$  Hz), 7.14 (1H, s), 7.10 (1H, d,  $J = 7.8$  Hz), 6.46 (1H, d,  $J = 7.8$  Hz), 3.81 (1H, dd,  $J = 10.5, 5.9$  Hz), 3.68 (1H, dd,  $J = 13.2, 5.9$  Hz), 3.34 (1H, dd,  $J = 13.2, 10.5$  Hz), 1.24 (6H, s), 1.18 (6H, s);  $^{13}\text{C NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 180.0, 144.4, 142.0, 136.4, 133.3, 131.2, 130.4, 130.1 (q,  $J = 32.3$  Hz), 126.3, 125.4, 124.0 (q,  $J = 271.5$  Hz,  $-\text{CF}_3$ ), 118.7 (q,  $J = 4.1$  Hz), 106.3 (q,  $J = 4.1$  Hz), 83.6, 48.1, 36.1, 24.7, 24.6; HRMS (ESI;  $m/z$ ):  $[\text{M}+\text{H}]^+$  calcd for  $\text{C}_{22}\text{H}_{24}\text{BF}_3\text{NO}_3$ , 418.1796; found 418.1794; IR ( $\text{CHCl}_3$ ) 3435, 3207, 2982, 1713, 1636, 1601, 1460, 1381, 1348, 1323, 1246, 1169, 1130, 1059  $\text{cm}^{-1}$ .

**1-Methyl-3-[2-(4,4,5,5-tetramethyl-1,3,2-dioxaborolan-2-yl)benzyl]-1,3-dihydro-2H-indol-2-one (55e)**



Yield: quant. as a colorless oil;  $^1\text{H NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 7.84 (1H, d,  $J = 7.5$  Hz), 7.40 (1H, t,  $J = 7.5$  Hz), 7.28 (1H, t,  $J = 7.5$  Hz), 7.24 (1H, d,  $J = 7.5$  Hz), 7.20 (1H, t,  $J = 7.5$  Hz), 6.84 (1H, t,  $J = 7.5$  Hz), 6.78 (1H, d,  $J = 7.5$  Hz), 6.44 (1H, d,  $J = 7.5$  Hz), 3.73 (1H, dd,  $J = 9.9, 5.8$  Hz), 3.67 (1H, dd,  $J = 12.4, 5.8$  Hz), 3.22 (3H, s), 3.20 (1H, dd,  $J = 12.4, 9.9$  Hz), 1.26 (6H, s), 1.20 (6H, s);  $^{13}\text{C NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 177.6, 145.2, 144.1, 136.3, 130.9, 130.6, 128.9, 127.6, 126.0, 125.0, 121.8, 107.7, 83.5, 47.6, 36.6, 26.1, 24.75, 24.72; HRMS (ESI;  $m/z$ ):  $[\text{M}+\text{H}]^+$  calcd for  $\text{C}_{22}\text{H}_{27}\text{BNO}_3$ , 364.2079; found 364.2085; IR ( $\text{CHCl}_3$ ) 3024, 1701, 1612, 1601, 1493, 1472, 1449, 1379, 1350, 1317, 1146  $\text{cm}^{-1}$ .

**1-Ethyl-3-[2-(4,4,5,5-tetramethyl-1,3,2-dioxaborolan-2-yl)benzyl]-1,3-dihydro-2H-indol-2-one (55f)**



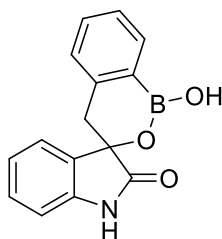
Yield: quant. as a colorless oil;  $^1\text{H NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 7.83 (1H, d,  $J = 7.5$  Hz), 7.40 (1H, t,  $J = 7.5$  Hz), 7.26 (1H, t,  $J = 7.5$  Hz), 7.26 (1H, d,  $J = 7.5$  Hz), 7.19 (1H, t,  $J = 7.5$  Hz), 6.82 (1H, t,  $J = 7.5$  Hz), 6.80 (1H, d,  $J = 7.5$  Hz), 6.44 (1H, d,  $J = 7.5$  Hz), 3.87–3.62 (4H, m), 3.24 (1H, dd,  $J = 12.4, 9.8$  Hz), 1.26 (3H, t,  $J = 7.3$  Hz), 1.25 (6H, s), 1.18 (6H, s);  $^{13}\text{C NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 177.1, 145.2, 143.2, 136.2, 130.9, 130.5, 129.1, 127.5, 125.9, 125.2, 121.5, 107.8, 83.5, 47.7, 36.5, 34.5, 24.8, 24.7, 12.7; HRMS (ESI;  $m/z$ ):  $[\text{M}+\text{H}]^+$  calcd for  $\text{C}_{23}\text{H}_{29}\text{BNO}_3$ , 378.2235; found 378.2234; IR (neat) 2977, 1708, 1611, 1600, 1488, 1466, 1442, 1372, 1345, 1314, 1143  $\text{cm}^{-1}$ .

**General procedure for the synthesis of spiro-fused benzoxaborin derivatives (50, 50a, 50b and 50d–50f)**

Compound **55**, **55a**, **55b**, **55d**, **55e** or **55f** was dissolved in THF/ $\text{H}_2\text{O}$  ( $v/v = 1/1$ , 0.1 M).  $\text{NaIO}_4$  (5.0 eq.) and 1N HCl aq. (6.0 eq.) were added to the reaction mixture at 0 °C. After stirring at rt overnight,

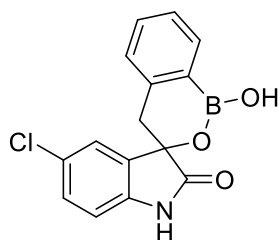
the mixture was diluted with toluene and washed successively with sat. NaHCO<sub>3</sub> aq., 10% Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>3</sub> aq. and water. The organic phase was extracted with 1% NaOH aq. and the water phase was poured into concentrated HCl aq. at 0 °C. The precipitation was collected, washed with water and dried *in vacuo* to provide the target compounds.

### 1-Hydroxy-1,4-dihydrospiro[2,1-benzoxaborinine-3,3'-indol]-2'(1'H)-one (50)



Yield: 87% in 2 steps as a colorless solid; mp 149–150 °C; <sup>1</sup>H NMR (DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ: 10.52 (1H, br s), 8.89 (1H, br s), 7.77 (1H, d, *J* = 7.4 Hz), 7.42 (1H, t, *J* = 7.4 Hz), 7.31 (1H, t, *J* = 7.4 Hz), 7.22 (1H, t, *J* = 7.4 Hz), 7.17 (1H, d, *J* = 7.4 Hz), 6.86 (1H, d, *J* = 7.4 Hz), 6.83 (1H, t, *J* = 7.4 Hz), 6.75 (1H, d, *J* = 7.4 Hz), 3.23 (1H, d, *J* = 16.2 Hz), 3.08 (1H, d, *J* = 16.2 Hz); <sup>1</sup>H NMR (CD<sub>3</sub>OD) δ: 7.74 (1H, d, *J* = 7.5 Hz), 7.41 (1H, t, *J* = 7.5 Hz), 7.31 (1H, t, *J* = 7.5 Hz), 7.23 (1H, t, *J* = 7.5 Hz), 7.13 (1H, d, *J* = 7.5 Hz), 6.91 (1H, d, *J* = 7.5 Hz), 6.81 (1H, t, *J* = 7.5 Hz), 6.68 (1H, d, *J* = 7.5 Hz), 3.42 (1H, d, *J* = 16.0 Hz), 2.97 (1H, d, *J* = 16.0 Hz); <sup>13</sup>C NMR (DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ: 176.6, 141.9, 141.2, 132.4, 131.4, 130.9, 129.7, 127.4, 126.4, 123.4, 121.8, 110.1, 77.1, 38.0; HRMS (ESI; *m/z*): [M+H]<sup>+</sup> calcd for C<sub>15</sub>H<sub>13</sub>BNO<sub>3</sub>, 266.0983; found 266.0979; [M+Na]<sup>+</sup> calcd for C<sub>15</sub>H<sub>12</sub>BNNaO<sub>3</sub>, 288.0802; found 288.0798; [M-H]<sup>-</sup> calcd for C<sub>15</sub>H<sub>11</sub>BNO<sub>3</sub>, 264.0837; found 264.0838; IR (CHCl<sub>3</sub>) 3433, 3215, 1734, 1622, 1603, 1489, 1472, 1452, 1414, 1377, 1344, 1312, 1136, 1101 cm<sup>-1</sup>.

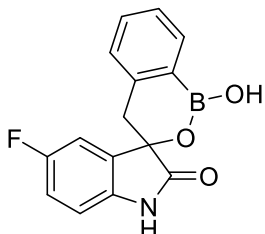
### 5'-Chloro-1-hydroxy-1,4-dihydrospiro[2,1-benzoxaborinine-3,3'-indol]-2'(1'H)-one (50a)



Yield: 86% in 2 steps as a colorless solid; mp 214–215 °C; <sup>1</sup>H NMR (DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ: 10.65 (1H, br s), 8.97 (1H, br s), 7.77 (1H, d, *J* = 7.5 Hz), 7.44 (1H, t, *J* = 7.5 Hz), 7.33 (1H, t, *J* = 7.5 Hz), 7.30 (1H, d, *J* = 8.2 Hz), 7.17 (1H, d, *J* = 7.5 Hz), 6.89 (1H, d, *J* = 8.2 Hz), 6.81 (1H, s), 3.20 (2H, s); <sup>13</sup>C NMR (DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ: 176.3, 141.6, 140.2, 132.8, 132.5, 131.5, 129.6, 127.5, 126.5, 125.7, 123.6, 111.7, 77.2, 37.7; HRMS (ESI; *m/z*): [M+H]<sup>+</sup> calcd for C<sub>15</sub>H<sub>12</sub>BClNO<sub>3</sub>, 300.0593; found 300.0594; [M-H]<sup>-</sup> calcd

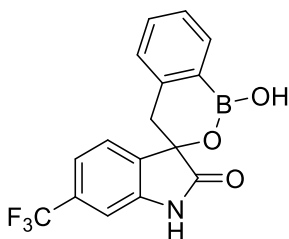
for C<sub>15</sub>H<sub>10</sub>BCINO<sub>3</sub>, 298.0448; found 298.0446; IR (CHCl<sub>3</sub>) 3433, 3202, 1744, 1618, 1607, 1474, 1420, 1377, 1346, 1306 cm<sup>-1</sup>.

**5'-Fluoro-1-hydroxy-1,4-dihydrospiro[2,1-benzoxaborinine-3,3'-indol]-2'(1'H)-one (50b)**



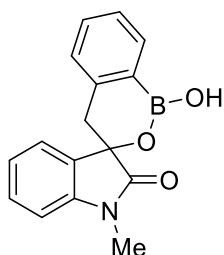
Yield: 77% in 2 steps as a colorless solid; mp 152–153 °C; <sup>1</sup>H NMR (DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ: 10.54 (1H, br s), 8.96 (1H, br s), 7.77 (1H, d, *J* = 7.4 Hz), 7.43 (1H, t, *J* = 7.4 Hz), 7.32 (1H, t, *J* = 7.4 Hz), 7.17 (1H, d, *J* = 7.4 Hz), 7.09 (1H, ddd, *J* = 9.8, 8.5, 2.7 Hz), 6.87 (1H, dd, *J* = 8.5, 4.4 Hz), 6.66 (1H, dd, *J* = 8.0, 2.7 Hz), 3.19 (2H, s); <sup>13</sup>C NMR (DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ: 176.6, 157.7 (d, *J* = 237.5 Hz), 141.6, 137.4 (d, *J* = 1.7 Hz), 132.4 (d, *J* = 3.3 Hz), 132.4 (d, *J* = 4.1 Hz), 131.4, 127.4, 126.4, 116.0 (d, *J* = 23.2 Hz), 111.2 (d, *J* = 32.3 Hz), 111.1, 77.3 (d, *J* = 1.6 Hz), 37.8; HRMS (ESI; *m/z*): [M+H]<sup>+</sup> calcd for C<sub>15</sub>H<sub>12</sub>BFNO<sub>3</sub>, 284.0889; found 284.0890; [M-H]<sup>-</sup> calcd for C<sub>15</sub>H<sub>10</sub>BFNO<sub>3</sub>, 282.0743; found 282.0743; IR (CHCl<sub>3</sub>) 3433, 3223, 1742, 1632, 1605, 1483, 1452, 1416, 1377, 1346, 1308, 1285, 1182, 1136, 1080 cm<sup>-1</sup>.

**1-Hydroxy-6'-(trifluoromethyl)-1,4-dihydrospiro[2,1-benzoxaborinine-3,3'-indol]-2'(1'H)-one (50d)**



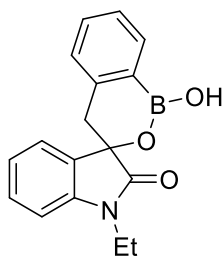
Yield: 71% in 2 steps as a colorless solid; mp 146–147 °C; <sup>1</sup>H NMR (DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ: 10.83 (1H, br s), 9.02 (1H, br s), 7.79 (1H, dd, *J* = 7.5, 1.1 Hz), 7.43 (1H, td, *J* = 7.5, 1.1 Hz), 7.33 (1H, td, *J* = 7.5, 1.1 Hz), 7.25 (1H, dd, *J* = 7.5, 1.1 Hz), 7.17 (1H, d, *J* = 7.5 Hz), 7.10 (1H, s), 7.00 (1H, d, *J* = 7.5 Hz), 3.26 (1H, d, *J* = 16.2 Hz), 3.18 (1H, d, *J* = 16.2 Hz); <sup>13</sup>C NMR (DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ: 176.3, 142.1, 141.4, 135.1, 132.5, 131.5, 130.2 (q, *J* = 31.4 Hz), 127.5, 126.5, 124.2, 123.8 (q, *J* = 272.5 Hz, -CF<sub>3</sub>), 119.0 (q, *J* = 4.1 Hz), 106.3 (q, *J* = 4.1 Hz), 76.9, 37.6; HRMS (ESI; *m/z*): [M+H]<sup>+</sup> calcd for C<sub>16</sub>H<sub>12</sub>BF<sub>3</sub>NO<sub>3</sub>, 334.0857; found 334.0858; [M-H]<sup>-</sup> calcd for C<sub>16</sub>H<sub>10</sub>BF<sub>3</sub>NO<sub>3</sub>, 332.0711; found 332.0710; IR (CHCl<sub>3</sub>) 3429, 3213, 1747, 1636, 1603, 1456, 1489, 1456, 1416, 1346, 1319, 1234, 1173, 1136, 1059 cm<sup>-1</sup>.

**1-Hydroxy-1'-methyl-1,4-dihydrospiro[2,1-benzoxaborinine-3,3'-indol]-2'(1'H)-one (50e)**



Yield: 69% in 3 steps as a colorless solid; mp 178–179 °C;  $^1\text{H}$  NMR (DMSO- $d_6$ )  $\delta$ : 8.90 (1H, br s), 7.78 (1H, d,  $J = 7.4$  Hz), 7.42 (1H, t,  $J = 7.4$  Hz), 7.33 (1H, t,  $J = 7.4$  Hz), 7.32 (1H, t,  $J = 7.4$  Hz), 7.16 (1H, d,  $J = 7.4$  Hz), 7.06 (1H, d,  $J = 7.4$  Hz), 6.92 (1H, t,  $J = 7.4$  Hz), 6.81 (1H, d,  $J = 7.4$  Hz), 3.25 (1H, d,  $J = 16.3$  Hz), 3.14 (1H, d,  $J = 16.3$  Hz), 3.14 (3H, s);  $^1\text{H}$  NMR (CDCl $_3$ )  $\delta$ : 7.88 (1H, d,  $J = 7.5$  Hz), 7.46 (1H, t,  $J = 7.5$  Hz), 7.38 (1H, t,  $J = 7.5$  Hz), 7.30 (1H, t,  $J = 7.5$  Hz), 7.12 (1H, d,  $J = 7.5$  Hz), 6.87 (1H, t,  $J = 7.5$  Hz), 6.85 (1H, d,  $J = 7.5$  Hz), 6.75 (1H, d,  $J = 7.5$  Hz), 4.52 (1H, brs), 3.61 (1H, d,  $J = 16.1$  Hz), 3.24 (3H, s), 2.94 (1H, d,  $J = 16.1$  Hz);  $^{13}\text{C}$  NMR (DMSO- $d_6$ )  $\delta$ : 174.7, 142.7, 141.8, 132.4, 131.4, 130.2, 129.8, 127.4, 126.4, 123.0, 122.4, 109.0, 76.8, 37.9, 26.0; HRMS (ESI;  $m/z$ ):  $[\text{M}+\text{H}]^+$  calcd for C $_{16}$ H $_{15}$ BNO $_3$ , 280.1140; found 280.1140;  $[\text{M}+\text{Na}]^+$  calcd for C $_{16}$ H $_{14}$ BNNaO $_3$ , 302.0959; found 302.0958; IR (CHCl $_3$ ) 3013, 1722, 1614, 1605, 1493, 1472, 1452, 1414, 1377, 1344, 1312, 1254, 1128, 1101  $\text{cm}^{-1}$ .

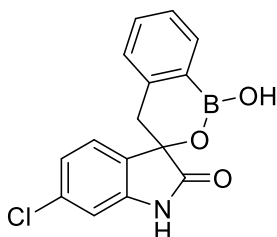
**1'-Ethyl-1-hydroxy-1,4-dihydrospiro[2,1-benzoxaborinine-3,3'-indol]-2'(1'H)-one (50f)**



Yield: 61% in 3 steps as a colorless solid; mp 125–126 °C;  $^1\text{H}$  NMR (DMSO- $d_6$ )  $\delta$ : 8.93 (1H, br s), 7.78 (1H, d,  $J = 7.5$  Hz), 7.43 (1H, t,  $J = 7.5$  Hz), 7.32 (2H, t,  $J = 7.5$  Hz), 7.17 (1H, d,  $J = 7.5$  Hz), 7.11 (1H, d,  $J = 7.5$  Hz), 6.90 (1H, t,  $J = 7.5$  Hz), 6.80 (1H, d,  $J = 7.5$  Hz), 3.72–3.69 (2H, m), 3.26 (1H, d,  $J = 16.2$  Hz), 3.08 (1H, d,  $J = 16.2$  Hz), 1.16 (3H, t,  $J = 7.2$  Hz);  $^{13}\text{C}$  NMR (DMSO- $d_6$ )  $\delta$ : 174.4, 141.8, 141.5, 132.4, 131.4, 130.4, 129.8, 127.4, 126.4, 123.2, 122.3, 109.1, 76.8, 37.9, 34.1, 12.3; HRMS (ESI;  $m/z$ ):  $[\text{M}+\text{H}]^+$  calcd for C $_{17}$ H $_{17}$ BNO $_3$ , 294.1296; found 294.1294;  $[\text{M}-\text{H}]^-$  calcd for C $_{17}$ H $_{15}$ BNO $_3$ , 292.1150; found 292.1153; IR (neat) 3328, 1696, 1609, 1486, 1464, 1452, 1376, 1349, 1318, 1256, 1227, 1134, 1102  $\text{cm}^{-1}$ .

### General procedure for the synthesis of 6'-chloro-1-hydroxy-1,4-dihydrospiro[2,1-benzoxaborinine-3,3'-indol]-2'(1'H)-one (50c)

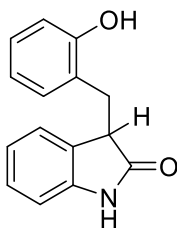
Compound **55c** was dissolved in THF/H<sub>2</sub>O (v/v = 1/1, 0.1 M). NaIO<sub>4</sub> (5.0 eq.) and 1N HCl aq. (6.0 eq.) were added to the reaction mixture at 0 °C. After stirring at rt overnight, the mixture was diluted with toluene and washed successively with sat. NaHCO<sub>3</sub> aq., 10% Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>3</sub> aq. and water. The organic phase was extracted with 1% NaOH aq. and the water phase was poured into concentrated HCl aq. at 0 °C. The water phase was extracted with toluene. The organic phase washed with brine, dried over anhydrous magnesium sulfate and evaporated *in vacuo* to provide the target compound.



Yield: 82% in 2 steps as a pale yellow amorphous; <sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>) δ: 8.16 (1H, br s), 7.88 (1H, d, *J* = 7.3 Hz), 7.46 (1H, t, *J* = 7.3 Hz), 7.38 (1H, t, *J* = 7.3 Hz), 7.12 (1H, d, *J* = 7.3 Hz), 6.92 (1H, s), 6.79 (1H, d, *J* = 8.0 Hz), 6.60 (1H, d, *J* = 8.0 Hz), 5.18 (1H, br s), 3.58 (1H, d, *J* = 16.0 Hz), 2.93 (1H, d, *J* = 16.0 Hz); <sup>13</sup>C NMR (CDCl<sub>3</sub>) δ: 178.2, 141.0, 140.8, 135.6, 133.1, 132.2, 128.7, 127.7, 127.1, 124.7, 123.0, 111.5, 78.1, 38.7; HRMS (ESI; *m/z*): [M+H]<sup>+</sup> calcd for C<sub>15</sub>H<sub>12</sub>BClNO<sub>3</sub>, 300.0593; found 300.0594; [M-H]<sup>-</sup> calcd for C<sub>15</sub>H<sub>10</sub>BClNO<sub>3</sub>, 298.0448; found 298.0448; IR (CHCl<sub>3</sub>) 3431, 3200, 1736, 1616, 1605, 1487, 1452, 1414, 1346, 1310, 1252, 1229, 1136, 1070 cm<sup>-1</sup>.

### General procedure for the synthesis of 3-[(2-hydroxyphenyl)methyl]-1,3-dihydro-2H-indol-2-one (60) (Table 3, Entry 1)

Compound **55** was dissolved in toluene (0.25 M). *t*-BuOK (1.0 eq.) was added to the reaction mixture. After stirring at rt overnight, the mixture was diluted with EtOAc and washed with 10% KHSO<sub>4</sub> aq. to pH 4 and brine. The organic phase was dried over anhydrous magnesium sulfate and evaporated *in vacuo*. The crude mixture was purified by column chromatography (silica gel, EtOAc/hexane = 1/10 to 1/1) to give the phenol **60**.



Yield: 47% as a colorless solid; mp 164–166 °C; <sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>) δ: 7.71 (1H, br s), 7.21 (1H, t, *J* = 7.5 Hz), 7.17 (1H, d, *J* = 7.5 Hz), 7.11 (1H, t, *J* = 7.5 Hz), 7.05 (1H, t, *J* = 7.5 Hz), 7.00 (1H, s), 6.95



(1H, d,  $J = 7.5$  Hz), 6.89 (1H, d,  $J = 7.5$  Hz), 6.84 (1H, d,  $J = 7.5$  Hz), 6.76 (1H, t,  $J = 7.5$  Hz), 3.88 (1H, t,  $J = 6.0$  Hz), 3.33 (1H, dd,  $J = 14.4, 6.0$  Hz), 3.24 (1H, dd,  $J = 14.4, 6.0$  Hz);  $^{13}\text{C}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 181.3, 154.5, 140.8, 131.4, 129.1, 128.5, 128.2, 124.9, 124.6, 122.8, 120.5, 117.7, 109.9, 47.2, 30.6; HRMS (ESI;  $m/z$ ):  $[\text{M}+\text{H}]^+$  calcd for  $\text{C}_{15}\text{H}_{14}\text{NO}_2$ , 240.1019; found 240.1017;  $[\text{M}-\text{H}]^-$  calcd for  $\text{C}_{15}\text{H}_{12}\text{NO}_2$ , 238.0874; found 238.0870; IR (neat) 3174, 1682, 1648, 1620, 1472, 1457, 1343, 1245, 1220, 1187, 1153, 1099  $\text{cm}^{-1}$ .

#### General procedure for the oxidation reaction (Table 3, Entry 2)

Compound **55** was dissolved in DMSO (0.2 M). 6%  $\text{H}_2\text{O}_2$  aq. (1.5 eq.) was added to the reaction mixture. After stirring at rt overnight, the mixture was diluted with EtOAc and washed successively with water, 10%  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$  aq. and brine. The organic phase was dried over anhydrous magnesium sulfate and evaporated *in vacuo*. The residue was reprecipitated with hexane to provide the phenol **60** (yield: 82%).

#### General procedure for the oxidation reaction (Table 3, Entry 3)

Compound **55** was dissolved in MeCN (0.15 M). mCPBA (1.2 eq.) was added to the reaction mixture. After stirring for 2 hr at rt, the mixture was diluted with EtOAc and washed successively with 10%  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$  aq., water and brine. The organic phase was dried over anhydrous magnesium sulfate and evaporated *in vacuo*. The residue was reprecipitated with hexane to provide the phenol **60** (yield: 89%).

#### General procedure for the oxidation reaction (Table 3, Entry 4)

Compound **55** was dissolved in THF (0.15 M). TEMPO (0.2 eq.) was added to the reaction mixture. After stirring at rt overnight, the mixture was diluted with EtOAc and washed successively with water, 10%  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$  aq. and brine. The organic phase was dried over anhydrous magnesium sulfate and evaporated *in vacuo*. The crude mixture was purified by column chromatography (silica gel, EtOAc/hexane = 1/10 to 1/1) to recover the raw material **55** (recovery 93%).

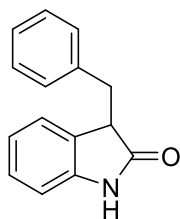
#### General procedure for the oxidation reaction (Table 3, Entry 5)

Compound **55** was dissolved in THF (0.1 M). TBAF (1.1 eq.) was added to the reaction mixture at 0 °C. After stirring for 1 hr at rt, the mixture was diluted with EtOAc and washed successively with water and brine. The organic phase was dried over anhydrous magnesium sulfate and evaporated *in vacuo*. The crude mixture was purified by column chromatography (silica gel, EtOAc/hexane = 1/20 to 1/1) to recover the raw material **55** (recovery 86%).

#### General procedure for the oxidation reaction (Table 3, Entry 7)

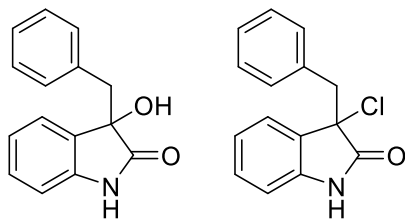
Compound **55** was dissolved in THF/H<sub>2</sub>O (v/v = 1/1, 0.1 M). NaIO<sub>4</sub> (5.0 eq.) was added to the reaction mixture at 0 °C. After stirring at rt overnight, the mixture was diluted with EtOAc and washed successively with 10% Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>3</sub> aq. and brine. The organic phase was dried over anhydrous magnesium sulfate and evaporated *in vacuo*. The crude mixture was purified by column chromatography (silica gel, EtOAc/hexane = 1/5 to EtOAc) to recover the raw material **55** (recovery 80%).

#### General procedure for the synthesis of 3-benzyl-1,3-dihydro-2H-indol-2-one (**61**)<sup>84</sup>



3-Benzyl-1,3-dihydro-2H-indol-2-one (**61**) was synthesized by similar procedure for  $\alpha$ -alkylated of malonate derivatives (**58**, **58a–58d**) and 3-monosubstituted oxindole derivatives (**55**, **55a–55f**) using di-*tert*-butyl malonate **54** and benzyl bromide instead of 2-bromomethylphenylboronic acid pinacol ester. <sup>1</sup>H NMR spectrum of the compound **61** was consistent with literature values<sup>84</sup>.

#### General procedure for the synthesis of 3-benzyl-3-hydroxy-1,3-dihydro-2H-indol-2-one (**62**)<sup>79</sup> and 3-benzyl-3-chloro-1,3-dihydro-2H-indol-2-one (**63**)<sup>85</sup>



3-Benzyl-1,3-dihydro-2H-indol-2-one (**61**) was dissolved in THF/H<sub>2</sub>O (v/v = 1/1, 0.1 M). NaIO<sub>4</sub> (5.0 eq.) and 1N HCl aq. (10 eq.) were added to the reaction mixture at 0 °C. After stirring at rt overnight, the mixture was diluted with EtOAc and washed successively with 10% Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>3</sub> aq. and brine. The organic phase was dried over anhydrous magnesium sulfate and evaporated *in vacuo*. The crude mixture was purified by column chromatography (silica gel, EtOAc/hexane = 1/10 to 2/1) to give the compound **62** (yield: 40%) and **63** (yield: 52%). <sup>1</sup>H NMR spectra of **62** and **63** were consistent with literature values<sup>79, 85</sup>.

### 第三章に関する実験

#### **Analytical procedure**

Concentrations of test compounds in samples were measured using an UFLC-MS/MS system consisting of a Quadrupole-Orbitrap Mass Spectrometer (Thermo Fisher Scientific Inc., Waltham, MA) with a Shimadzu 20A series UFLC system (Shimadzu Corporation, Kyoto, Japan). Chromatography was performed using a Cadenza CD-C18 column (3  $\mu$ m particle size, 2 $\times$ 50 mm, Imtakt Corporation, Kyoto, Japan) warmed to 40 °C. The mobile phase consisted of 0.1% formic acid aq. (A) and 0.1% formic acid methanol (B). The flow rate was 0.2 mL/min, and the gradient conditions for elution were as follows: gradient [min, B%] = [0, 5]–[2.5, 95]–[4, 95]–[4.1, 5]–[5.5, 5]. Mass spectrometric detection was performed using positive ionization electrospray. The selected reaction monitoring (SRM) mode quantification was performed using the following MS/MS transitions [precursor mass / product m/z]: compound **50**, 266.1/222.1; compounds **50a** and **50c**, 300.1/256.1; compound **50b**, 284.1/240.1; compound **50d**, 334.1/122.1; compound **50e**, 280.1/262.0; compound **50f**, 294.1/276.1; bezafibrate (internal standard), 362.1/139.0.

#### **Octanol–water partition coefficients.**

The partition coefficients (log P) were measured by adapting the shake-flask method.<sup>101</sup>

A solution of test compound in water-saturated 1-octanol (100  $\mu$ M, 3 mL) was placed in a test tube. Then, 1-octanol-saturated distilled water (3 mL) was added. The mixture was intensively vortexed for more than 10 min at rt. After separation of the two phases, the each of solutions were measured using an LC-MS/MS system. The peak areas obtained in the measurement were used to calculate the log P values. The results given are averages of duplicate independent analyses.

#### **Metabolic stabilities in human liver microsomes and calculation.**

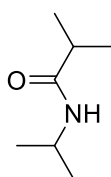
100 nM test compounds were incubated for 30 min at 37 °C in 100  $\mu$ L of a reaction mixture consisting of 50 mM phosphate buffer (pH 7.4), 3 mM nicotinamide adenine dinucleotide phosphate (NADPH) with 0.1 mg/mL human microsomes (Xenotech LLC). After the incubation, 50 nM internal standard (bezafibrate) in MeOH (600  $\mu$ L) was added to the reaction solution. The mixture was vortexed and centrifuged for protein precipitation. Then, the supernatant was measured using an LC-MS/MS system. The peak area ratios of test compounds to internal standard (bezafibrate) were used for the calculation. The results given are averages of triplicate independent analyses.

#### **Permeability evaluation using parallel artificial membrane permeability assay (PAMPA)<sup>102</sup>**

The test compound in DMSO (10 mM) was diluted 200-fold in 5% DMSO system solution (pH 7.4 and pH 5.0, Pion Inc). After centrifugation (4000 rpm, 10 min, 25 °C), the supernatant was added to

the donor well. The acceptor filter plate was prepared by adding 4  $\mu\text{L}$  of artificial membrane material (Gastrointestinaltract-0 Lipid, PION) on top of the filter and ASB-7.4 Acceptor Sink Buffer (Pion Inc) was added to the acceptor well. The acceptor filter plate was placed on the donor plate to form a sandwich construction. After incubation for 4 hr at room temperature, the concentration of the test compound was recorded by using the UV plate reader (190–500 nm, SpectraMax190 spectrophotometer, Molecular Devices). The permeability ( $P_e$ ) of the test compound was calculated by using the pION software. The results given are averages of triplicate independent analyses.

#### General procedure for the synthesis of 2-methyl-*N*-(propan-2-yl)propanamide (**64**)<sup>92</sup>



Isopropylamine hydrochloride was dissolved in DMF (1.0 M). Isobutyryl chloride (1.0 eq.) and triethylamine (3.0 eq.) were added to the reaction mixture at 0 °C. After stirring for 3 hr at rt, the mixture was diluted with EtOAc/toluene (v/v = 1/1) and washed with water and brine. The organic phase was dried over anhydrous magnesium sulfate and evaporated *in vacuo*. The residue was reprecipitated with hexane to provide the amide **64** (yield: 33%). <sup>1</sup>H NMR spectrum of amide **64** was consistent with literature values<sup>92</sup>.

#### <sup>1</sup>H NMR study for hydrogen binding ability

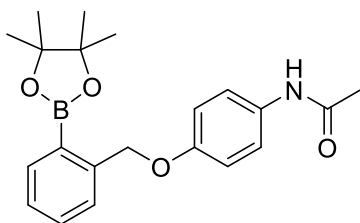
<sup>1</sup>H NMR spectra of **50e** (5 mM) in the presence of different amounts of 2-methyl-*N*-(propan-2-yl)propanamide **64** (0, 5, 10, 40 and 75 mM) in CDCl<sub>3</sub> were recorded at room temperature.

## 第四章に関する実験

### Synthesis

#### General procedure for the synthesis of *N*-(4-{[2-(4,4,5,5-tetramethyl-1,3,2-dioxaborolan-2-yl)phenyl]methoxy}phenyl) acetamide(67a)

*N*-(4-hydroxyphenyl)acetamide (acetaminophen) was dissolved in DMF (0.5 M).  $K_2CO_3$  (2.0 eq.) and 2-bromomethylphenylboronic acid pinacol ester (1.2 eq.) were added to the reaction mixture. After stirring at rt overnight,  $K_2CO_3$  (1.0 eq.) and 2-bromomethylphenylboronic acid pinacol ester (0.6 eq.) were added to the reaction mixture. After stirring for 4 hr at rt, the mixture was diluted with EtOAc and washed with 10%  $KHSO_4$  aq. to pH 4 and brine. The organic phase was dried over anhydrous magnesium sulfate and evaporated *in vacuo*. The crude mixture was purified by column chromatography (silica gel, EtOAc/hexane = 1/10 to EtOAc) and reprecipitated with EtOAc/hexane to give the target compound.

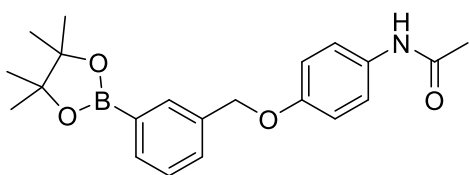


Yield: 77% as a colorless solid; mp 140–142 °C;  $^1H$  NMR ( $CDCl_3$ )  $\delta$ : 7.85 (1H, d,  $J = 7.5$  Hz), 7.51 (1H, d,  $J = 7.5$  Hz), 7.44 (1H, t,  $J = 7.5$  Hz), 7.37 (2H, d,  $J = 9.0$  Hz), 7.31 (1H, t,  $J = 7.5$  Hz), 7.06 (1H, s), 6.94 (2H, d,  $J = 9.0$  Hz), 5.32 (2H, s), 2.15 (3H, s), 1.29 (12H, s);  $^{13}C$  NMR ( $DMSO-D_6$ )  $\delta$ : 167.7, 154.3, 142.7, 135.3, 132.5, 130.9, 128.2, 127.2, 120.4, 114.5, 83.5, 69.0, 24.5, 23.8; HRMS (ESI;  $m/z$ ):  $[M+H]^+$  calcd for  $C_{21}H_{27}BNO_4$ , 368.2028; found 368.2029; IR (neat) 3299, 2979, 1664, 1552, 1508, 1345, 1244, 1233, 1441, 1021  $cm^{-1}$ .

#### General procedure for the synthesis of *O*-alkylated acetaminophen derivatives (67b and 67c)

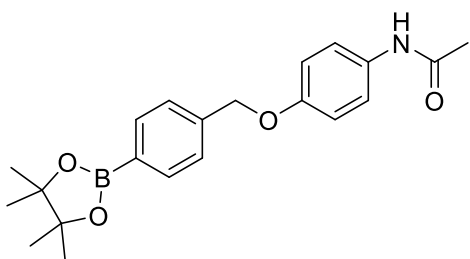
*N*-(4-hydroxyphenyl)acetamide was dissolved in DMF (0.5 M).  $K_2CO_3$  (2.0 eq.) and 3-bromomethylphenylboronic acid pinacol ester or 4-bromomethylphenylboronic acid pinacol ester (1.2 eq.) were added to the reaction mixture. After stirring at rt overnight, the mixture was diluted with EtOAc and washed with 10%  $KHSO_4$  aq. to pH 4 and brine. The organic phase was dried over anhydrous magnesium sulfate and evaporated *in vacuo*. The residue was reprecipitated with EtOAc/hexane to provide the target compound.

#### *N*-(4-{[3-(4,4,5,5-Tetramethyl-1,3,2-dioxaborolan-2-yl)phenyl]methoxy}phenyl) acetamide (67b)



Yield: 88% as a colorless solid; mp 123–124 °C;  $^1\text{H NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 7.86 (1H, s), 7.77 (1H, d,  $J = 7.5$  Hz), 7.53 (1H, d,  $J = 7.5$  Hz), 7.39 (1H, t,  $J = 7.5$  Hz), 7.38 (2H, d,  $J = 9.0$  Hz), 7.07 (1H, s), 6.93 (2H, d,  $J = 9.0$  Hz), 5.03 (2H, s), 2.15 (3H, s), 1.35 (12H, s);  $^{13}\text{C NMR}$  ( $\text{DMSO-D}_6$ )  $\delta$ : 167.4, 153.9, 136.5, 133.4, 133.2, 132.6, 130.2, 127.5, 120.4, 114.7, 83.4, 69.3, 24.4, 23.4; HRMS (ESI;  $m/z$ ):  $[\text{M}+\text{H}]^+$  calcd for  $\text{C}_{21}\text{H}_{27}\text{BNO}_4$ , 368.2028; found 368.2031; IR (neat) 3292, 2981, 1659, 1556, 1509, 1352, 1224, 1142, 1021  $\text{cm}^{-1}$ .

***N*-(4-([4-(4,4,5,5-Tetramethyl-1,3,2-dioxaborolan-2-yl)phenyl]methoxy)phenyl) acetamide (67c)**

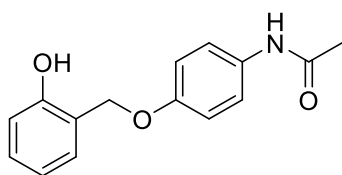


Yield: 43% as a colorless solid; mp 179–181 °C;  $^1\text{H NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 7.81 (2H, d,  $J = 8.0$  Hz), 7.41 (2H, d,  $J = 8.0$  Hz), 7.37 (2H, d,  $J = 9.0$  Hz), 7.04 (1H, s), 6.91 (2H, d,  $J = 9.0$  Hz), 5.06 (2H, s), 2.15 (3H, s), 1.34 (12H, s);  $^{13}\text{C NMR}$  ( $\text{DMSO-D}_6$ )  $\delta$ : 167.7, 153.9, 140.6, 134.5, 132.8, 126.7, 120.4, 114.8, 83.6, 69.1, 24.6, 23.8; HRMS (ESI;  $m/z$ ):  $[\text{M}+\text{H}]^+$  calcd for  $\text{C}_{21}\text{H}_{27}\text{BNO}_4$ , 368.2028; found 368.2030; IR (neat) 3249, 2972, 1658, 1600, 1547, 1509, 1355, 1318, 1240, 1143, 1085, 1044  $\text{cm}^{-1}$ .

**General procedure for the synthesis of phenol derivatives (68a–68c)**

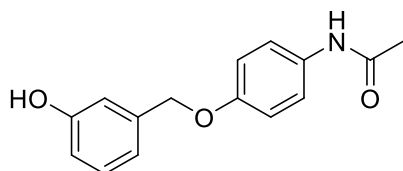
Compound **67a**, **67b** or **67c** was dissolved in MeCN (0.15 M). mCPBA (1.2–1.5 eq.) was added to the reaction. After stirring for 1 to 3 hr at rt, the mixture was diluted with EtOAc and washed successively with 10%  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$  aq. and sat.  $\text{NaHCO}_3$  aq., water and brine. The organic phase was dried over anhydrous magnesium sulfate and evaporated *in vacuo*. The residue was reprecipitated with EtOAc/hexane to provide the target compound.

***N*-(4-[(2-Hydroxyphenyl)methoxy]phenyl)acetamide (68a)**



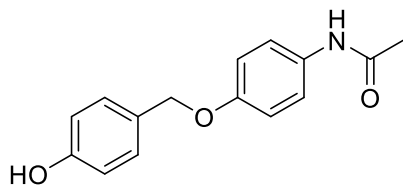
Yield: 73% as a colorless solid; mp 150–152 °C;  $^1\text{H NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 7.40 (2H, d,  $J = 9.8$  Hz), 7.22 (2H, t,  $J = 7.4$  Hz), 7.15 (1H, br s), 6.96 (2H, d,  $J = 9.8$  Hz), 6.92 (1H, d,  $J = 7.4$  Hz), 6.91 (1H, d,  $J = 7.4$  Hz), 6.55 (1H, s), 5.17 (2H, s), 2.16 (3H, s);  $^{13}\text{C NMR}$  ( $\text{DMSO-D}_6$ )  $\delta$ : 167.7, 155.1, 154.3, 132.5, 129.4, 128.9, 123.1, 120.5, 118.8, 115.1, 114.5, 64.7, 23.8; HRMS (ESI;  $m/z$ ):  $[\text{M}+\text{H}]^+$  calcd for  $\text{C}_{15}\text{H}_{16}\text{NO}_3$ , 258.1125; found 258.1124; IR (neat) 3338, 3141, 1616, 1597, 1545, 1508, 1456, 1413, 1273, 1243, 1002  $\text{cm}^{-1}$ .

***N*-{4-[(3-Hydroxyphenyl)methoxy]phenyl}acetamide (68b)**



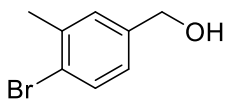
Yield: 76% as a colorless solid; mp 183–185 °C;  $^1\text{H NMR}$  ( $\text{DMSO-D}_6$ )  $\delta$ : 9.78 (1H, br s), 9.44 (1H, br s), 7.46 (2H, d,  $J = 9.0$  Hz), 7.16 (1H, t,  $J = 7.6$  Hz), 6.91 (2H, d,  $J = 9.0$  Hz), 6.82 (1H, d,  $J = 7.6$  Hz), 6.81 (1H, s), 6.69 (1H, d,  $J = 7.6$  Hz), 4.97 (2H, s), 1.99 (3H, s);  $^{13}\text{C NMR}$  ( $\text{DMSO-D}_6$ )  $\delta$ : 167.7, 157.4, 154.1, 138.7, 132.7, 129.4, 120.5, 118.0, 114.7, 114.6, 114.2, 69.2, 23.8; HRMS (ESI;  $m/z$ ):  $[\text{M}+\text{H}]^+$  calcd for  $\text{C}_{15}\text{H}_{16}\text{NO}_3$ , 258.1125; found 258.1126; IR (neat) 3381, 3151, 1630, 1599, 1514, 1457, 1414, 1369, 1249, 1160  $\text{cm}^{-1}$ .

***N*-{4-[(4-Hydroxyphenyl)methoxy]phenyl}acetamide (68c)**



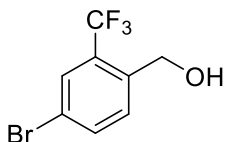
Yield: 84% as a colorless solid; mp 151–153 °C;  $^1\text{H NMR}$  ( $\text{DMSO-D}_6$ )  $\delta$ : 9.74 (1H, s), 9.43 (1H, br), 7.45 (2H, d,  $J = 9.0$  Hz), 7.23 (2H, d,  $J = 8.3$  Hz), 6.90 (2H, d,  $J = 9.0$  Hz), 6.75 (2H, d,  $J = 8.3$  Hz), 4.89 (2H, s), 1.99 (3H, s);  $^{13}\text{C NMR}$  ( $\text{DMSO-D}_6$ )  $\delta$ : 167.7, 157.1, 154.2, 132.6, 129.6, 127.2, 120.4, 115.1, 114.7, 69.4, 23.8; HRMS (ESI;  $m/z$ ):  $[\text{M}+\text{H}]^+$  calcd for  $\text{C}_{15}\text{H}_{16}\text{NO}_3$ , 258.1125; found 258.1127; IR (neat) 3339, 3249, 1632, 1520, 1505, 1445, 1375, 1231, 1211, 1174, 1107, 996  $\text{cm}^{-1}$ .

**General procedure for the synthesis of (4-bromo-3-methylphenyl)methanol (70b)<sup>97</sup>**



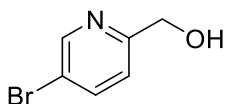
To a suspension of  $\text{LiAlH}_4$  (385 mg, 10 mmol) in THF (34 mL) was added methyl 4-bromo-3-methylbenzoate (1550 mg, 6.8 mmol) in THF (10 mL) dropwise at 0 °C. After stirring for 3 hr at rt, the reaction mixture was slowly quenched with  $\text{H}_2\text{O}$  (0.4 mL), followed by 15% NaOH aq. (0.4 mL) and  $\text{H}_2\text{O}$  (1.2 mL) at 0 °C. After stirring for 30 min at rt, the reaction mixture was filtered through celite and evaporated *in vacuo*. The crude mixture was purified by column chromatography (silica gel, EtOAc/hexane = 1/20 to 2/1) to give **70b** as a brown oil (yield: 66%).  $^1\text{H}$  NMR spectrum of **70b** was consistent with literature values<sup>97</sup>.

#### General procedure for the synthesis of [4-bromo-2-(trifluoromethyl)phenyl]methanol (**70c**)<sup>98</sup>



To a solution of 4-bromo-2-(trifluoromethyl)benzoic acid in THF (0.3 M) was added borane tetrahydrofuran complex solution in THF (0.9 M, 2.0 eq.) dropwise at 0 °C. After stirring for 2 hr at rt, the reaction mixture was slowly quenched with MeOH and evaporated *in vacuo*. The crude mixture was purified by column chromatography (silica gel, EtOAc/hexane = 1/20 to EtOAc) to give **70c** as a colorless oil (yield: 59%).  $^1\text{H}$  NMR spectrum of **70c** was consistent with literature values<sup>98</sup>.

#### General procedure for the synthesis of (5-bromopyridin-2-yl)methanol (**70d**)<sup>99</sup>



The mixture of methyl 5-bromopyridine-2-carboxylate and  $\text{NaBH}_4$  (3.0 eq.) in EtOH (0.5 M) was cooled to 0 °C. After stirring for 3 hr at rt, the reaction mixture was quenched with 1N HCl aq. at 0 °C, neutralized with sat.  $\text{NaHCO}_3$  aq. and extracted with EtOAc. The organic phase was washed with brine, dried over anhydrous magnesium sulfate and evaporated *in vacuo*. The crude mixture was purified by column chromatography (silica gel, EtOAc/hexane = 1/10 to 2/1) to give **70d** as a colorless solid (yield: 88%).  $^1\text{H}$  NMR spectrum of **70d** was consistent with literature values<sup>99</sup>.

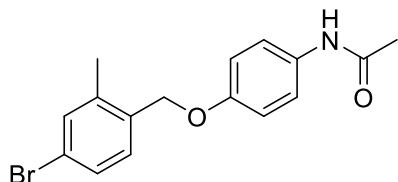
#### General procedure for the synthesis of bromo-substituted ether derivatives (**71a–71d**)

*N*-(4-hydroxyphenyl)acetamide was dissolved in THF (0.2 M). Alcohol derivatives **70a**, **70b**, **70c** or **70d** (1.0 eq.), diethyl azodicarboxylate (DEAD, 1.1 eq.) and triphenylphosphine (1.2 eq.) were



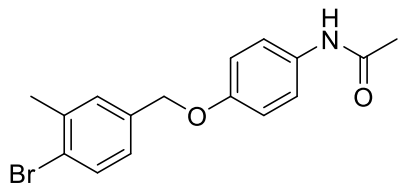
added to the reaction mixture at 0 °C under Ar atmosphere. After stirring at rt overnight, water was added to the reaction mixture and evaporated *in vacuo*. The crude mixture was purified by column chromatography (silica gel, EtOAc/hexane = 1/20 to EtOAc) or reprecipitated with EtOAc/hexane to give the target compound.

***N*-{4-[(4-Bromo-2-methylphenyl)methoxy]phenyl}acetamide (71a)**



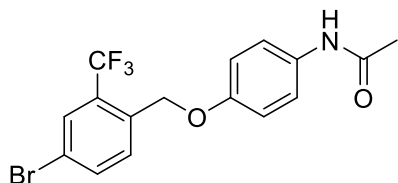
Yield: 52% as a colorless solid; mp 158–159 °C; <sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>) δ: 7.40 (2H, d, *J* = 9.0 Hz), 7.37 (1H, s), 7.34 (1H, d, *J* = 7.8 Hz), 7.26 (1H, d, *J* = 7.8 Hz), 7.09 (1H, br s), 6.92 (2H, d, *J* = 9.0 Hz), 4.95 (2H, s), 2.34 (3H, s), 2.16 (3H, s); <sup>13</sup>C NMR (DMSO-*D*<sub>6</sub>) δ: 167.7, 153.9, 139.3, 134.7, 132.9, 132.5, 130.2, 128.5, 120.9, 120.5, 114.8, 67.3, 23.8, 18.1; HRMS (ESI; *m/z*): [M+H]<sup>+</sup> calcd for C<sub>16</sub>H<sub>17</sub>BrNO<sub>2</sub>, 334.0437; found 334.0440; IR (neat) 3278, 1651, 1539, 1510, 1408, 1371, 1272, 1236, 1000 cm<sup>-1</sup>.

***N*-{4-[(4-Bromo-3-methylphenyl)methoxy]phenyl}acetamide(71b)**



Yield: 50% as a colorless solid; mp 183–185 °C; <sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>) δ: 7.52 (1H, d, *J* = 7.8 Hz), 7.39 (2H, d, *J* = 9.0 Hz), 7.29 (1H, s), 7.09 (1H, d, *J* = 7.8 Hz), 7.08 (1H, br s), 6.90 (2H, d, *J* = 9.0 Hz), 4.96 (2H, s), 2.41 (3H, s), 2.16 (3H, s); <sup>13</sup>C NMR (DMSO-*D*<sub>6</sub>) δ: 167.7, 153.9, 137.3, 136.9, 132.8, 132.1, 130.3, 127.0, 123.3, 120.4, 114.8, 68.5, 23.8, 22.4; HRMS (ESI; *m/z*): [M+H]<sup>+</sup> calcd for C<sub>16</sub>H<sub>17</sub>BrNO<sub>2</sub>, 334.0437; found 334.0441; IR (neat) 3295, 1653, 1530, 1510, 1408, 1368, 1237, 1025, 1005 cm<sup>-1</sup>.

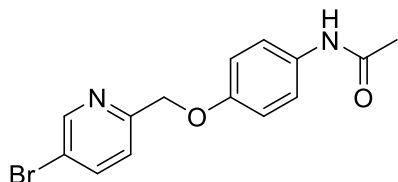
***N*-{4-[(4-Bromo-2-(trifluoromethyl)phenyl)methoxy]phenyl}acetamide (71c)**



Yield: 51% as a colorless solid; mp 179–181 °C; <sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>) δ: 7.82 (1H, s), 7.69 (1H, d, *J* = 8.2 Hz), 7.61 (1H, d, *J* = 8.2 Hz), 7.40 (2H, d, *J* = 8.9 Hz), 7.07 (1H, br s), 6.90 (2H, d, *J* = 8.9 Hz),

5.19 (2H, s), 2.16 (3H, s);  $^{13}\text{C}$  NMR (DMSO- $\text{D}_6$ )  $\delta$ : 167.8, 153.5, 135.7, 134.6 (d,  $J = 1.9$  Hz), 133.2, 132.4, 128.8 (q,  $J = 6.0$  Hz), 128.6 (q,  $J = 31.0$  Hz), 123.2 (q,  $J = 274.0$  Hz,  $-\text{CF}_3$ ), 121.4, 120.5, 114.8, 65.8 (d,  $J = 2.9$  Hz), 23.8; HRMS (ESI;  $m/z$ ):  $[\text{M}+\text{H}]^+$  calcd for  $\text{C}_{16}\text{H}_{14}\text{BrF}_3\text{NO}_2$ , 388.0155; found 388.0157; IR (neat) 3290, 1659, 1556, 1509, 1409, 1301, 1239, 1173, 1133, 1057, 1019  $\text{cm}^{-1}$ .

#### ***N*-{4-[(5-Bromopyridin-2-yl)methoxy]phenyl}acetamide (71d)**

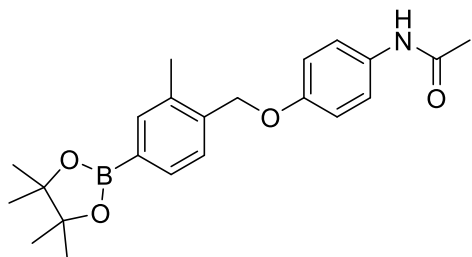


Yield: 30% as a colorless solid; mp 176–177 °C;  $^1\text{H}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 8.65 (1H, d,  $J = 2.1$  Hz), 7.83 (1H, dd,  $J = 8.2, 2.1$  Hz), 7.42 (1H, d,  $J = 8.2$  Hz), 7.39 (2H, d,  $J = 8.9$  Hz), 7.15 (1H, br s), 6.91 (2H, d,  $J = 8.9$  Hz), 5.13 (2H, s), 2.15 (3H, s);  $^{13}\text{C}$  NMR (DMSO- $\text{D}_6$ )  $\delta$ : 167.7, 155.9, 153.6, 149.8, 139.5, 133.0, 123.4, 120.5, 119.1, 114.8, 69.7, 23.8; HRMS (ESI;  $m/z$ ):  $[\text{M}+\text{H}]^+$  calcd for  $\text{C}_{14}\text{H}_{14}\text{BrN}_2\text{O}_2$ , 321.0233; found 321.0236; IR (neat) 3248, 1654, 1509, 1370, 1262, 1244, 1166, 1089, 1053, 1006  $\text{cm}^{-1}$ .

#### **General procedure for the synthesis of boronic acid pinacol ester derivatives (72a–72d)**

Bromo-substituted ether derivatives **71a**, **71b**, **71c** or **71d** was dissolved in toluene (0.1 M). [1,1'-Bis(diphenylphosphino)ferrocene]dichloropalladium(II) complex with dichloromethane (0.10 eq.), bis(pinacolato)diboron (1.2 eq.) and potassium acetate (4.0 eq.) were added to the reaction mixture under Ar atmosphere. After stirring at 100 °C for 15 to 19 hr, the reaction mixture was cooled to rt, diluted with EtOAc and filtered through celite. The filtrate was evaporated *in vacuo*. The crude mixture was purified by column chromatography (silica gel, EtOAc/hexane = 1/20 to EtOAc) and reprecipitated with EtOAc/hexane to give the target compound.

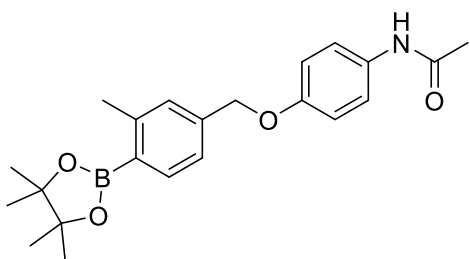
#### ***N*-{4-[(2-Methyl-4-(4,4,5,5-tetramethyl-1,3,2-dioxaborolan-2-yl)phenyl)methoxy]phenyl}acetamide (72a)**



Yield: 69% as a colorless solid; mp 147–149 °C;  $^1\text{H}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 7.66 (1H, s), 7.65 (1H, d,  $J = 7.6$  Hz), 7.41 (1H, d,  $J = 7.6$  Hz), 7.38 (2H, d,  $J = 8.9$  Hz), 7.08 (1H, br s), 6.92 (2H, d,  $J = 8.9$  Hz),

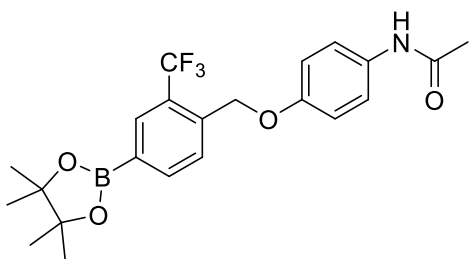
5.03 (2H, s), 2.36 (3H, s), 2.15 (3H, s), 1.35 (12H, s);  $^{13}\text{C}$  NMR (DMSO- $\text{D}_6$ )  $\delta$ : 167.7, 154.0, 138.5, 136.1, 135.6, 132.8, 131.9, 127.3, 120.5, 114.8, 83.6, 67.8, 24.6, 23.8, 18.2; HRMS (ESI;  $m/z$ ):  $[\text{M}+\text{H}]^+$  calcd for  $\text{C}_{22}\text{H}_{29}\text{BNO}_4$ , 382.2184; found 382.2185; IR (neat) 3246, 2972, 1659, 1603, 1552, 1509, 1373, 1355, 1315, 1242, 1146, 1040  $\text{cm}^{-1}$ .

***N*-(4-{{3-Methyl-4-(4,4,5,5-tetramethyl-1,3,2-dioxaborolan-2-yl)phenyl}methoxy}phenyl)acetamide (72b)**



Yield: 34% as a colorless solid; mp 171–173  $^{\circ}\text{C}$ ;  $^1\text{H}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 7.76 (1H, d,  $J = 7.9$  Hz), 7.37 (2H, d,  $J = 8.8$  Hz), 7.21 (1H, s), 7.20 (1H, d,  $J = 7.9$  Hz), 7.07 (1H, br s), 6.91 (2H, d,  $J = 8.8$  Hz), 5.01 (2H, s), 2.54 (3H, s), 2.15 (3H, s), 1.34 (12H, s);  $^{13}\text{C}$  NMR (DMSO- $\text{D}_6$ )  $\delta$ : 167.7, 154.0, 144.2, 140.0, 135.7, 132.8, 128.6, 123.8, 120.4, 114.8, 83.3, 69.1, 24.6, 23.8, 21.8; HRMS (ESI;  $m/z$ ):  $[\text{M}+\text{H}]^+$  calcd for  $\text{C}_{22}\text{H}_{29}\text{BNO}_4$ , 382.2184; found 382.2186; IR (neat) 3244, 2974, 1650, 1601, 1552, 1509, 1413, 1374, 1344, 1316, 1242, 1147, 1062, 1044  $\text{cm}^{-1}$ .

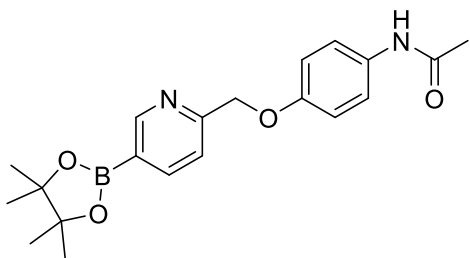
***N*-(4-{{4-(4,4,5,5-Tetramethyl-1,3,2-dioxaborolan-2-yl)-2-(trifluoromethyl)phenyl}methoxy}phenyl)acetamide (72c)**



Yield: 78% as a colorless solid; mp 140–142  $^{\circ}\text{C}$ ;  $^1\text{H}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 8.10 (1H, s), 7.96 (1H, d,  $J = 7.7$  Hz), 7.72 (1H, d,  $J = 7.7$  Hz), 7.38 (2H, d,  $J = 8.9$  Hz), 7.05 (1H, br s), 6.91 (2H, d,  $J = 8.9$  Hz), 5.27 (2H, s), 2.15 (3H, s), 1.35 (12H, s);  $^{13}\text{C}$  NMR (DMSO- $\text{D}_6$ )  $\delta$ : 167.8, 153.6, 138.5, 138.4, 133.2, 131.2 (q,  $J = 4.8$  Hz), 129.4, 126.2 (q,  $J = 30.0$  Hz), 124.2 (q,  $J = 274.0$  Hz,  $-\text{CF}_3$ ), 120.5, 114.8, 84.3, 66.2 (q,  $J = 2.0$  Hz), 24.6, 23.8; HRMS (ESI;  $m/z$ ):  $[\text{M}+\text{H}]^+$  calcd for  $\text{C}_{22}\text{H}_{26}\text{BF}_3\text{NO}_4$ , 436.1901; found 436.1903; IR (neat) 3040, 2976, 1646, 1619, 1564, 1509, 1363, 1300, 1275, 1242, 1115, 1044  $\text{cm}^{-1}$ .

***N*-(4-{{5-(4,4,5,5-Tetramethyl-1,3,2-dioxaborolan-2-yl)pyridin-2-yl}methoxy}phenyl)acetamide**

(72d)



Yield: 33% as a colorless solid; mp 159–162 °C;  $^1\text{H NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 8.91 (1H, s), 8.08 (1H, d,  $J = 7.2$  Hz), 7.50 (1H, d,  $J = 7.2$  Hz), 7.38 (2H, d,  $J = 8.9$  Hz), 7.28 (1H, br s), 6.91 (2H, d,  $J = 8.9$  Hz), 5.20 (2H, s), 2.14 (3H, s), 1.36 (12H, s);  $^{13}\text{C NMR}$  ( $\text{DMSO-D}_6$ )  $\delta$ : 167.7, 159.8, 154.1, 153.6, 142.7, 133.0, 120.8, 120.5, 114.7, 84.1, 70.2, 24.6, 23.8; HRMS (ESI;  $m/z$ ):  $[\text{M}+\text{H}]^+$  calcd for  $\text{C}_{20}\text{H}_{26}\text{BN}_2\text{O}_4$ , 369.1980; found 369.1981; IR (neat) 3289, 2981, 1661, 1599, 1543, 1505, 1362, 1311, 1203, 1148, 1101, 1057, 1025  $\text{cm}^{-1}$ .

#### $^1\text{H NMR}$ study for formation of acetaminophen

$^1\text{H NMR}$  spectra of **65**, **66**, **67a**, **67b**, **67c**, **72a**, **72b**, **72c** or **72d** (30  $\mu\text{M}$ ) in the presence of  $\text{H}_2\text{O}_2$  (600  $\mu\text{M}$ ) in  $\text{CD}_3\text{OD}/\text{H}_2\text{O}$  ( $v/v = 19/1$ ) were recorded at room temperature. The peak area ratio of the acetaminophen (2H, 7.29 or 6.73 ppm) to total peak area of methyl groups (3H, 1.95–2.25 ppm) was calculated.

## 引用文献

- (1) DiMasi, J. A.; Grabowski, H. G.; Hansen, R. W. *J. Health Econ.* **2016**, *47*, 20–33.
- (2) Lindsley, C. W. *ACS Chem. Neurosci.* **2017**, *8*, 1635–1636.
- (3) Strohl, W. R. *Protein Cell.* **2018**, *9*, 86–120.
- (4) Craik, D. J.; Fairlie, D. P.; Liras, S.; Price, D. *Chem Biol Drug Des.* **2013**, *81*, 136–147.
- (5) Booth, B.; Zimmel, R. *Nat Rev Drug Discov.* **2004**, *3*, 451–456.
- (6) Imai, K.; Takaoka, A. *Nat Rev Cancer.* **2006**, *6*, 714–727.
- (7) Frank, R. T.; Aboody, K. S.; Najbauer, J. *Biochim Biophys Acta.* **2011**, *1816*, 191–198.
- (8) Abou-Gharbia, M.; Childers, W. E. *J Med Chem.* **2014**, *57*, 5525–5553.
- (9) Nadin, A.; Hattotuwigama, C.; Churcher, I. *Angew. Chem., Int. Ed.* **2012**, *51*, 1114–1122.
- (10) Zheng, Y.; Tice, C. M. *Expert Opin Drug Discov.* **2016**, *11*, 831–834.
- (11) Taylor, R. D.; MacCoss, M.; Lawson A. D. *J Med Chem.* **2014**, *57*, 5845–5859.
- (12) Varma, M. V.; Obach, R. S.; Rotter, C.; Miller, H. R.; Chang, G.; Steyn, S. J.; El-Kattan, A.; Troutman, M. D. *J Med Chem.* **2010**, *53*, 1098–1108.
- (13) Lipinski, C. A.; Lombardo, F.; Dominy, B. W.; Feeney, P. J. *Adv. Drug Deliv. Rev.* **1997**, *23*, 3–25.
- (14) Morandi, S.; Morandi, F.; Caselli, E.; Shoichet, B. K.; Prati, F. *Bioorg Med Chem.* **2008**, *16*, 1195–1205.
- (15) a) Dowlut, M.; Hall, D. G. *J Am Chem Soc.* **2006**, *128*, 4226–4227. b) Springsteen, G.; Wang, B. *Tetrahedron.* **2002**, *58*, 5291–5300.
- (16) Labutti, J.; Parsons, I.; Huang, R.; Miwa, G.; Gan, L.; Daniels, J. S. *Chem. Res. Toxicol.* **2006**, *19*, 539–546.
- (17) Feher, M.; Schmidt, J. M. *J Chem Inf Comput Sci.* **2003**, *43*, 218–227.
- (18) Ban, H. S.; Nakamura, H. *Chem. Rec.* **2015**, *15*, 616–635.
- (19) Wu, X.; Li, Z.; Chen, X. X.; Fossey, J. S.; James, T. D.; Jiang, Y. B. *Chem Soc Rev.* **2013**, *42*, 8032–8048.
- (20) a) Qian, S.; Lin, M.; Ji, W.; Yuan, H.; Zhang, Y.; Jing, Z.; Zhao, J.; Masson, J. F.; Peng, W. *ACS Sens.* **2018**, *3*, 929–935. b) Seiradake, E.; Mao, W.; Hernandez, V.; Baker, S. J.; Plattner, J. J.; Alley, M. R.; Cusack, S. *J Mol Biol.* **2009**, *390*, 196–207.
- (21) Ban, H. S.; Usui, T.; Nabeyama, W.; Morita, H.; Fukuzawa, K.; Nakamura, H. *Org Biomol Chem.* **2009**, *7*, 4415–4427.
- (22) Freund, Y. R.; Akama, T.; Alley, M. R.; Antunes, J.; Dong, C.; Jarnagin, K.; Kimura, R.; Nieman, J. A.; Maples, K. R.; Plattner, J. J.; Rock, F.; Sharma, R.; Singh, R.; Sanders, V.; Zhou, Y. *FEBS Lett.* **2012**, *586*, 3410–3414.
- (23) a) Chen, D.; Frezza, M.; Schmitt, S.; Kanwar, J.; Dou, Q. P. *Curr Cancer Drug Targets.* **2011**,

- 11, 239–253. b) Rentsch, A.; Landsberg, D.; Brodmann, T.; Bülow, L.; Girbig, A. K.; Kalesse, M. *Angew. Chem., Int. Ed.* **2013**, *52*, 5450–5488.
- (24) Adams, J.; Behnke, M.; Chen S, Cruickshank, A. A.; Dick, L. R.; Grenier, L.; Klunder, J. M.; Ma, Y. T.; Plamondon, L.; Stein, R. L. *Bioorg Med Chem Lett.* **1998**, *8*, 333–338.
- (25) a) Groll, M.; Berkers, C. R.; Ploegh, H. L.; Ovaa, H. *Structure.* **2006**, *14*, 451–456. b) Bandyopadhyay, A.; Gao, J. *Curr Opin Chem Biol.* **2016**, *34*, 110–116.
- (26) a) Baker, S. J.; Zhang, Y. K.; Akama, T.; Lau, A.; Zhou, H.; Hernandez, V.; Mao, W.; Alley, M. R.; Sanders, V.; Plattner, J. J. *J Med Chem.* **2006**, *49*, 4447–4450. b) Markham, A. *Drugs.* **2014**, *74*, 1555–1558.
- (27) Jarnagin, K.; Chanda, S.; Coronado, D.; Ciaravino, V.; Zane, L. T.; Guttman-Yassky, E.; Lebwohl, M. G. *J Drugs Dermatol.* **2016**, *15*, 390–396.
- (28) Richardson, P. G.; Moreau, P.; Laubach, J. P.; Gupta, N.; Hui, A. M.; Anderson, K. C.; San Miguel, J. F.; Kumar, S. *Future Oncol.* **2015**, *11*, 1153–1168.
- (29) a) Akama, T.; Dong, C.; Virtucio, C.; Sullivan, D.; Zhou, Y.; Zhang, Y.; Rock, F.; Freund, Y.; Liu, L.; Bu, W.; Wu, A.; Fan, X.; Jarnaginet K. *J Pharmacol Exp Ther.* **2013**, *347*, 615–625. b) Hernandez, V.; Crépin, T.; Palencia, A.; Cusack, S.; Akama, T.; Baker, S. J.; Bu, W.; Feng, L.; Freund, Y. R.; Liu, L.; Meewan, M.; Mohan, M.; Mao, W.; Rock, F. L.; Sexton, H.; Sheoran, A.; Zhang, Y.; Zhang, Y. K.; Zhou, Y.; Nieman, J. A.; Anugula, M. R.; Keramane, E. M.; Savariraj, K.; Reddy, D. S.; Sharma, R.; Subedi, R.; Singh, R.; O’Leary, A.; Simon, N. L.; De Marsh, P. L.; Mushtaq, S.; Warner, M.; Livermore, D. M.; Alley, M. R.; Plattner, J. J. *Antimicrob Agents Chemother.* **2013**, *57*, 1394–1403. c) Qiao, Z.; Wang, Q.; Zhang, F.; Wang, Z.; Bowlingm, T.; Nare, B.; Jacobs, R. T.; Zhang, J.; Ding, D.; Liu, Y.; Zhou, H. *J Med Chem.* **2012**, *55*, 3553–3557.
- (30) Li, X.; Zhang, Y. K.; Liu, Y.; Ding, C. Z.; Zhou, Y.; Li, Q.; Plattner, J. J.; Baker, S. J.; Zhang, S.; Kazmierski, W. M.; Wright, L. L.; Smith, G. K.; Grimes, R. M.; Crosby, R. M.; Creech, K. L.; Carballo, L. H.; Slater, M. J.; Jarvest, R. L.; Thommes, P.; Hubbard, J. A.; Convery, M. A.; Nassau, P. M.; McDowell, W.; Skarzynski, T. J.; Qian, X.; Fan, D.; Liao, L.; Ni, Z. J.; Pennicott, L. E.; Zou, W.; Wright, J. *Bioorg Med Chem Lett.* **2010**, *20*, 5695–5700.
- (31) Eidam, O.; Romagnoli, C.; Caselli, E.; Babaoglu, K.; Pohlhaus, D. T.; Karpiak, J.; Bonnet, R.; Shoichet, B. K.; Prati, F. *J Med Chem.* **2010**, *53*, 7852–7863.
- (32) Akama, T.; Easom, E.; Freund, Y.; Plattner, J. J.; Sligar, J.; Chen, D.; Freeman, J.; Perales, J. Patent WO2014121124, August 7, 2014.
- (33) Grassberger, M. A.; Turnowsky, F.; Hildebrandt, J. *J Med Chem.* **1984**, *27*, 947–953.
- (34) a) Matteson, D. S.; Mah, R. W. H. *J. Am. Chem. Soc.* **1963**, *85*, 2599–2603. b) Matteson, D. S.; Man, H-W.; Ho, O. C. *J. Am. Chem. Soc.* **1996**, *118*, 4560–4566.
- (35) Yang, F.; Zhu, M.; Zhang, J.; Zhou, H. *Med. Chem. Commun.* **2017**, *9*, 201–211.

- (36) Rentsch, A.; Landsberg, D.; Brodman, T.; Bülow, L.; Girbig, A. K.; Kalesse, M. *Angew. Chem., Int. Ed.* **2013**, *52*, 5450–5488.
- (37) Piva, R.; Ruggeri, B.; Williams, M.; Costa, G.; Tamagno, I.; Ferrero, D.; Giai, V.; Coscia, M.; Peola, S.; Massaia, M.; Pezzoni, G.; Allievi, C.; Pescalli, N.; Cassin, M.; di Giovine, S.; Nicoli, P.; de Feudis, P.; Strepponi, I.; Roato, I.; Ferracini, R.; Bussolati, B.; Camussi, G.; Jones-Bolin, S.; Hunter, K.; Zhao, H.; Neri, A.; Palumbo, A.; Berkers, C.; Ova, H.; Bernareggi, A.; Inghirami, G. *Blood*, **2008**, *111*, 2765–2775.
- (38) Roemmele, R. C.; Christie, M. A. *Org. Process Res. Dev.* **2013**, *17*, 422–426.
- (39) Akama, T.; Baker, S. J.; Zhang, Y. K.; Hernandez, V.; Zhou, H.; Sanders, V.; Freund, Y.; Kimura, R.; Maples, K. R.; Plattner, J. J. *Bioorg Med Chem Lett.* **2009**, *19*, 2129–2132.
- (40) Chen, D.; Orr, M.; Sligar, J.; Jacobs, R.; Plattner, J. J. Patent WO 2011/019618 A1, February 17, 2011.
- (41) a) Akama, T.; Virtucio, C.; Dong, C.; Kimura, R.; Zhang, Y. K.; Nieman, J. A.; Sharma, R.; Lu, X.; Sales, M.; Singh, R.; Wu, A.; Fan, X. Q.; Liu, L.; Plattner, J. J.; Jarnagin, K.; Freund, Y. R. *Bioorg Med Chem Lett.* **2013**, *23*, 1680–1683. b) Xia, Y.; Cao, K.; Zhou, Y.; Alley, M. R.; Rock, F.; Mohan, M.; Meewan, M.; Baker, S. J.; Lux, S.; Ding, C. Z.; Jia, G.; Kully, M.; Plattner, J. J. *Bioorg Med Chem Lett.* **2011**, *21*, 2533–2536.
- (42) Hann, M. M.; Oprea, T. I. *Curr Opin Chem Biol.* **2004**, *8*, 255–263.
- (43) Keserü, G. M.; Makara, G. M. *Nature Reviews Drug Discovery.* **2009**, *8*, 203–212.
- (44) Kingwell, K. *Nat Rev Drug Discov.* **2009**, *8*, 931.
- (45) Lovering, F.; Bikker, J.; Humblet, C. *J Med Chem.* **2009**, *52*, 6752–6756.
- (46) a) Zheng, Y.; Tice, C. M. *Expert Opin Drug Discov.* **2016**, *11*, 831–834. b) Zheng, Y.; Tice, C. M.; Singh, S. B. *Bioorg Med Chem Lett.* **2014**, *24*, 3673–3682.
- (47) Joule, J. A.; Mills, K. *Heterocyclic Chemistry*, 5th ed. Hoboken, New Jersey: Wiley-Blackwell; 2010. ISBN: 978-1-405-13300-5.
- (48) Jossang, A.; Jossang, P.; Hadi, H. A.; Sévenet, T.; Bodo, B. *J. Org. Chem.* **1991**, *56*, 6527–6530.
- (49) Wang, S.; Sun, W.; Zhao, Y.; McEachern, D.; Meaux, I.; Barrière, C.; Stuckey, J. A.; Meagher, J. L.; Bai, L.; Liu, L.; Hoffman-Luca, C. G.; Lu, J.; Shangary, S.; Yu, S.; Bernard, D.; Aguilar, A.; Dos-Santos, O.; Besret, L.; Guerif, S.; Pannier, P.; Gorge-Bernat, D.; Debussche, L. *Cancer Res.* **2014**, *74*, 5855–5865.
- (50) Bagal, S. K.; Brown, A. D.; Cox, P. J.; Omoto, K.; Owen, R. M.; Pryde, D. C.; Sidders, B.; Skerratt, S. E.; Stevens, E. B.; Storer, R. I.; Swain, N. A. *J Med Chem.* **2013**, *56*, 593–624.
- (51) Tian, Y.; Nam, S.; Liu, L.; Yakushijin, F.; Yakushijin, K.; Buettner, R.; Liang, W.; Yang, F.; Ma, Y.; Horne, D.; Jove, R. *PLoS ONE.* **2012**, *7*, e49306.
- (52) Soupart, A.; Gross, P.; Legros, J.; Alföldi, S.; Annane, D.; Heshmati, H. M.; Decaux, G. *Clin J*

- Am Soc Nephrol.* **2006**, *1*, 1154–1160.
- (53) a) Santos, M. M. M. *Tetrahedron.* **2014**, *70*, 9735–9757. b) Kaur, M.; Singh, M.; Chadha, N.; Silakari, O. *Eur J Med Chem.* **2016**, *123*, 858–894. c) Gasperi, T.; Miceli, M.; Campagne, J. M.; Marcia de Figueiredo, R. *Molecules*, **2017**, *22*, 1636.
- (54) George, R. F.; Ismail, N. S. M.; Stawinski, J.; Girgis, A. S. *Eur J Med Chem.* **2013**, *68*, 339–351.
- (55) Monteiro, Â.; Gonçalves, L. M.; Santos, M. M. M. *Eur J Med Chem.* **2014**, *79*, 266–272.
- (56) Kansy, M.; Senner, F.; Gubernator, K. *J Med Chem.* **1998**, *41*, 1007–1010.
- (57) Nishimuta, H.; Sato, K.; Yabuki, M.; Komuro, S. *Drug Metab. Pharmacokinet.* **2011**, *26*, 592–601.
- (58) a) Houston, J. B.; Carlile, D. J. *Drug Metab Rev.* **1997**, *29*, 891–922. b) Obach, R. S. *Drug Metab Dispos.* **1999**, *27*, 1350–1359. c) Wood, F. L.; Houston, J. B.; Hallifax, D. *Drug Metab Dispos.* **2017**, *45*, 1178–1188.
- (59) Grass, G. M.; Sinko, P. J. *Adv Drug Deliv Rev.* **2002**, *54*, 433–451.
- (60) Kola, I.; Landis, J. *Nat Rev Drug Discov.* **2004**, *3*, 711–715.
- (61) Jacobs, R. T.; Nare, B.; Wring, S. A.; Orr, M. D.; Chen, D.; Sligar, J. M.; Jenks, M. X.; Noe, R. A.; Bowling, T. S.; Mercer, L. T.; Rewerts, C.; Gaukel, E.; Owens, J.; Parham, R.; Randolph, R.; Beaudet, B.; Bacchi, C. J.; Yarlett, N.; Plattner, J. J.; Freund, Y.; Ding, C.; Akama, T.; Zhang, Y. K.; Brun, R.; Kaiser, M.; Scandale, I.; Don, R. *PLoS Negl Trop Dis.* **2011**, *5*, e1151.
- (62) Chong, P. Y.; Shotwell, J. B.; Miller, J.; Price, D. J.; Maynard, A.; Voitenleitner, C.; Mathis, A.; Williams, S.; Pouliot, J. J.; Creech, K.; Wang, F.; Fang, J.; Zhang, H.; Tai, V. W.; Turner, E.; Kahler, K. M.; Crosby, R.; Peat, A. J. *J Med Chem.* **2019**, *62*, 3254–3267.
- (63) Gupta, N.; Hanley, M. J.; Venkatakrisnan, K.; Wang, B.; Sharma, S.; Bessudo, A.; Hui, A. M.; Nemunaitis, J. *J Clin Pharmacol.* **2016**, *56*, 1288–1295.
- (64) Bu, W.; Akama, T.; Chanda, S.; Sullivan, D.; Ciaravino, V.; Jarnagin, K.; Freund, Y.; Sanders, V.; Chen, C. W.; Fan, X.; Heyman, I.; Liu, L. *J Pharm Biomed Anal.* **2012**, *70*, 344–353.
- (65) Cerny, M. A. *Drug Metab Dispos.* **2016**, *44*, 1246–1252.
- (66) a) Doucette, K. E.; Aoki, F. Y. *Expert Opin Pharmacotherapy.* **2001**, *2*, 1671–1683. b) Davies, B. E. **2010**, *65*, Suppl 2: ii5–10.
- (67) He, G.; Massarella, J.; Ward, P. *Clinical Pharmacokinetics.* **1999**, *37*, 471–484.
- (68) a) Luer, M. *Neurological Research.* **1998**, *20*, 178–182. b) Stella, V. J. *Advanced Drug Delivery Reviews.* **1996**, *19*, 311–330.
- (69) Landowski, C. P.; Sun, D.; Foster, D. R.; Menon, S. S.; Barnett, J. L.; Welage, L. S.; Ramachandran, C.; Amidon, G. L. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics.* **2003**, *306*, 778–786.
- (70) Yang, B.; Hu, Y.; Smith, D. E. *Drug Metab Dispos.* **2013**, *41*, 1867–1874.



- (71) Hörnblad, Y.; Ripe, E.; Magnusson, P. O.; Tegnér, K. *Europ. J.clin. Pharmacolo.* **1976**, *10*, 9–18.
- (72) a) Rosenborg, J.; Larsson, P.; Nyberg, L. *J Clin Pharmacol.* **2000**, *49*, 199–206. b) Tunek, A.; Svensson, L. A. *Drug Metab Dispos.* **1988**, *16*, 759–764.
- (73) Zhong, Q.; Zhang, C.; Zhang, Q.; Miele, L.; Zheng, S.; Wang, G. *BMC Cancer.* **2015**, *15*, 625.
- (74) Zheng, S.; Guo, S.; Zhong, Q.; Zhang, C.; Liu, J.; Yang, L.; Zhang, Q.; Wang, G. *ACS Med. Chem. Lett.* **2018**, *9*, 149–154.
- (75) Wang, G.; Zhong, Q.; Zheng, S. Patent US20170137443A1, May 18, 2017.
- (76) Natsutani, I.; Iwata, R.; Yamai, Y.; Ishida, K.; Nagaoka, Y.; Sumiyoshi, T. *Chem Biol Drug Des.* **2019**, *93*, 657–665.
- (77) Nammalwar, B.; Bunce, R. A.; Hiatt, J. T. *Org. Prep. Proced. Int.* **2015**, *47*, 338–355.
- (78) Yamai, Y.; Tanaka, A.; Yajima, T.; Ishida, K.; Natsutani, I.; Uesato, S.; Nagaoka, Y.; Sumiyoshi, T. *Heterocycles.* **2018**, *97*, 192–210.
- (79) Chaudhari, M. B.; Sutar, Y.; Malpathak, S.; Hazra, A.; Gnanaprakasam, B. *Org. Lett.* **2017**, *19*, 3628–3631.
- (80) Zhu, W.; Bao, W.; Ying, W.; Chen, W.; Huang, Y.; Ge, G.; Chen, G.; Wei, W. *Asian J. Org. Chem.* **2018**, *7*, 337–340.
- (81) Buckley, B. R.; D.-R., B. F. *Tetrahedron Lett.* **2013**, *54*, 843–846.
- (82) Shaikh, T. M. A.; Emmanuvel, L.; Sudalai, A. *J Org Chem.* **2006**, *71*, 5043–5046.
- (83) Tzschucke, C. C.; Murphy, J. M.; Hartwig, J. F. *Org. Lett.* **2007**, *9*, 761–764.
- (84) Bisht, G. S.; Chaudhari, M. B.; Gupte, V. S.; Gnanaprakasam, B. *ACS Omega*, **2017**, *2*, 8234–8252.
- (85) Liao, Y.; Wu, Z.; Han, W.; Zhang, X.; Yuan, W. *Chem. Eur. J.* **2012**, *18*, 8916–8920.
- (86) Di, L.; Kerns, E. H.; Hong, Y.; Kleintop, T. A.; McConnell, O. J.; Huryrn, D. M. *J Biomol Screen.* **2003**, *8*, 453–462.
- (87) Palm, K.; Stenberg, P.; Luthman, K.; Artursson, P. *Pharm Res.* **1997**, *14*, 568–571.
- (88) Chen, M.; Borlak, J.; Tong, W. *Hepatology.* **2013**, *58*, 388–396.
- (89) Hughes, J. D.; Blagg, J.; Price, D. A.; Bailey, S.; Decrescenzo, G. A.; Devraj, R. V.; Ellsworth, E.; Fobian, Y. M.; Gibbs, M. E.; Gilles, R. W.; Greene, N.; Huang, E.; Krieger-Burke, T.; Loesel, J.; Wager, T.; Whiteley, L.; Zhang, Y. *Bioorg Med Chem Lett.* **2008**, *18*, 4872–4875.
- (90) Lee, J. B.; Son, S. H.; Park, M. C.; Kim, T. H.; Kim, M. G.; Yoo, S. D.; Kim, S. *J Biotechnol.* **2015**, *205*, 93–100.
- (91) Galinis-Luciani, D.; Nguyen, L.; Yazdanian, M. *J. Pharm. Sci.* **2007**, *96*, 2886–2892.
- (92) Hashimoto, M.; Obora, Y.; Sakaguchi, S.; Ishii, Y. *J. Org. Chem.* **2008**, *73*, 2894–2897.
- (93) James, L. P.; Mayeux, P. R.; Hinson, J. A. *Drug Metab Dispos.* **2003**, *31*, 1499–1506.
- (94) a) Rumack, B. H.; Matthew, H. *Pediatrics.* **1975**, *55*, 871–876. b) James, L.; Sullivan, J. E.;

- Roberts, D. *Paediatr Child Health*. **2011**, *16*, 544–547.
- (95) Jackson, C. H.; Macdonald, N. C.; Cornett, J. W. D. *Can Med Assoc J*. **1984**, *131*, 25–32, 37.
- (96) Sahajwalla, C. G.; Ayres, J. W. *J Pharm Sci*. **1991**, *80*, 855–860.
- (97) Adams, N. D.; Adams, J. L.; Burgess, J. L.; Chaudhari, A. M.; Copeland, R. A.; Donatelli, C. A.; Drewry, D. H.; Fisher, K. E.; Hamajima, T.; Hardwicke, M. A.; Huffman, W. F.; Koretke-Brown, K. K.; Lai, Z. V.; McDonald, O. B.; Nakamura, H.; Newlander, K. A.; Oleykowski, C. A.; Parrish, C. A.; Patrick, D. R.; Plant, R.; Sarpong, M. A.; Sasaki, K.; Schmidt, S. J.; Silva, D. J.; Sutton, D.; Tang, J.; Thompson, C. S.; Tummino, P. J.; Wang, J. C.; Xiang, H.; Yang, J.; Dhanak, D. *J Med Chem*. **2010**, *53*, 3973–4001.
- (98) Hattori, Y.; Yamamoto, H.; Ando, H.; Kondoh, H.; Asano, T.; Kirihata, M.; Yamaguchi, Y.; Wakamiya, T. *Bioorg. Med. Chem*. **2007**, *15*, 2198–2205.
- (99) Roelfes, G.; Vrajmasu, V.; Chen, K.; Ho, R. Y.; Rohde, J. U.; Zondervan, C.; La Crois, R. M.; Schudde, E. P.; Lutz, M.; Spek, A. L.; Hage, R.; Feringa, B. L.; Münck, E.; Que, L. Jr. *Inorg. Chem*. **2003**, *42*, 2639–2653.
- (100) Hansch, C.; Leo, A.; Taft, R. W. *Chem. Rev*. **1991**, *91*, 165–195.
- (101) OECD Guideline 107.
- (102) Avdeef, A. *Absorption and Drug Development*; Wiley & Sons: Hoboken, NJ, 2003.

## 謝辞

本研究の遂行ならびに本博士論文の執筆にあたり御指導、御鞭撻を賜りました関西大学化学生命工学部生命・生物工学科 長岡康夫教授に深甚なる感謝の意を表します。

本研究の実施に当たり終始、御指導と御鞭撻を賜りました関西大学化学生命工学部生命・生物工学科 住吉孝明准教授に甚大なる謝意を申し上げます。

筆者と共に研究し、切磋琢磨した関西大学化学生命工学部生命・生物工学科 医薬品工学研究室の山井悠介博士、石田恭次博士、深田尚文氏、橋本公佑氏をはじめ、研究室の皆様  
に厚く御礼申し上げます。

筆者が社会人博士課程に挑戦することを快諾し、応援してくださった大日本住友製薬株式会社 リサーチディビジョンの皆様  
に感謝いたします。

最後になりましたが、本研究を遂行することができましたのも妻と息子の献身的な支えと  
激励があつてのものであり、2人に深く感謝いたします。

2019年5月