平成 25 年度 海外留学補助金による研究経過・成果報告書

新規プレニルインドールアルカロイドであるシトリナリン類の生合成を模倣した合成研究

関西学院大学　理工学部
池内　和忠

1. 序論

シトリナリン A (**1**) 及び B (**3**) は二つの真菌 *Penicillium oxalium* と *Penicillium citrinum* の二次代謝物から単離・構造決定された化合物である [1]。これらシトリナリン類は従来のプレニルインドールアルカロイドに含まれている [2.2.2]-アザビシクロ骨格を有さず、さらに天然物には珍しいニトロ基を官能基として有していることから興味深い化合物である。なお、シトリナリン B (**3**) は 2014 年に Martin と Reynaga のグループにより全合成が報告されたとともに **2** のように相対立体配置の訂正がなされた (Figure 1)。

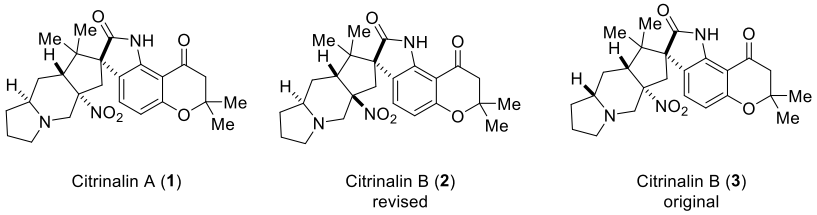


Figure 1.

一方で、同様な骨格を有した数種類の類縁体も知られており、**1**, **2** のオキシインドール部位の官能基が異なったシクロプラミン A (**4**), B (**5**) [3]、またピペリジン環を有し、より酸化度を増したシトリナジン A (**6**), B (**7**) [4]、及び PF1270 A-C (**8-10**) [5] がこれまで単離されている (Figure 2)。

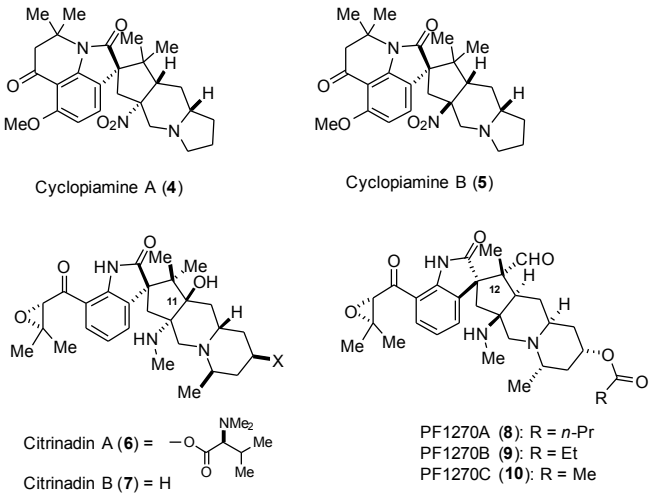


Figure 2

最近になりシトリナリン類及びシトリナジン類の全合成例は報告されたが、これら天然物の真菌内での生成機構は明らかにされていない [2, 6]。また、これらの化合物には従来のプレニルイドールアルカロイドに有している抗腫瘍活性を示すことが明らかになっている [3, 5]。著者はこの特異的な骨格の生合成機構及び生物活性に興味を持ち、ニトロ基を有したシトリナリン類を標的化合物として設定し、その生合成経路を模倣した合成を目指し研究に着手した。

2. 生合成仮説の提唱

コロラド州立大学 Robert M. Williams 教授はプレニルインドールアルカロイドの遺伝子レベルまでの生合成経路の解明を目指した合成研究を精力的に行ってきており、これまでステファシジン A (**11**), ノトアミド A (**12**), ベルシコラミド B (**13**) のようなプレニルインドールアルカロイドの生合成経路の解明に成功している(Figure 3)[7, 8].

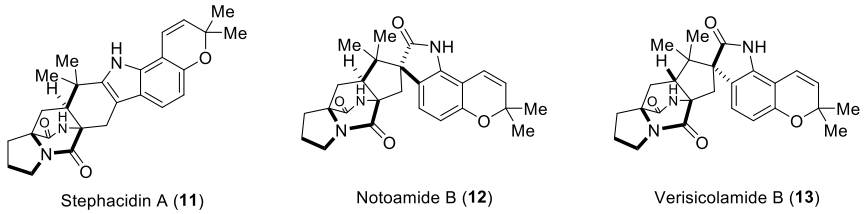
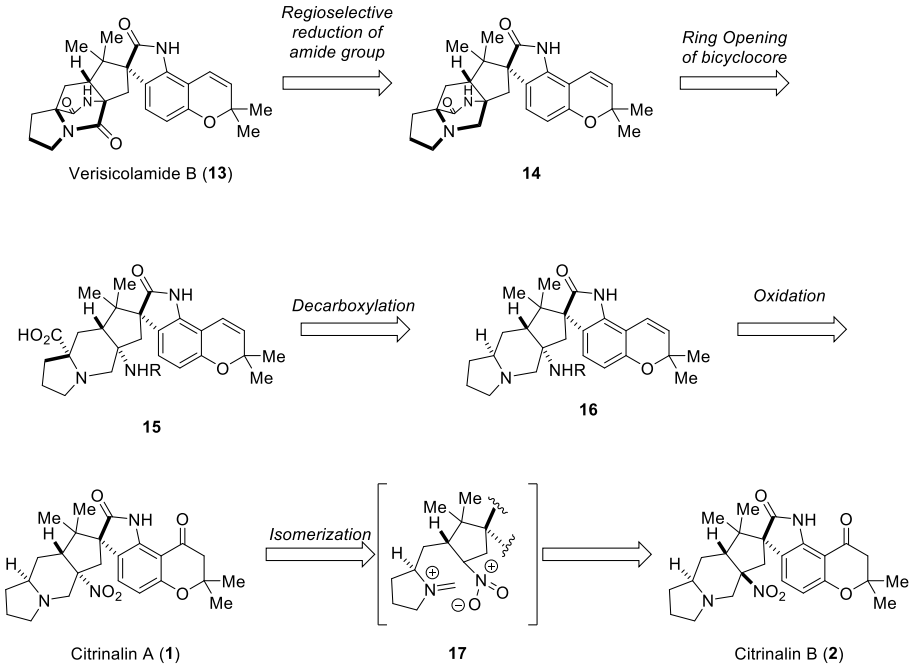


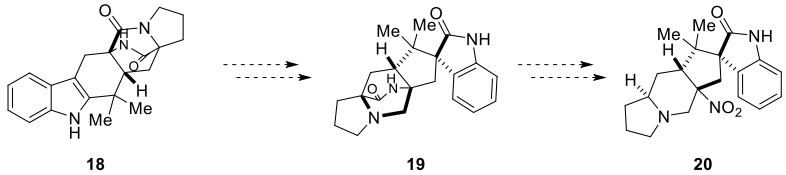
Figure 3

これらの天然物は [2.2.2]-アザビシクロ骨格を除いて考えた場合、シトリナリン類と基本骨格が類似しており、特にベルシコラミド B (**13**) はシトリナリン A (**1**) と相対立体配置が全て同じである。また、ビシクロ骨格を形成しているアミド結合を開環することで生じるアミノ基を利用することでニトロ基に変換できることが予測される。そこで、以下のような生合成仮説を提案した (Scheme 1)。すなわち、ベルシコラミド B (**13**) の 19 位のカルボニル基が選択的に還元されモノケトピペラジン **14** となった後、アミド部位の加水分解が進行しカルボン酸 **15** が得られる。その後、ラジカル反応などを介した脱カルボキシル化が進行しアミン **16** が生じる。最後に、アミノ基とベンゾピラン環が酸化されることでシトリナリン A (**1**) が生成し、中間体 **17** を経由した Retro aza-Henry 反応により異性体であるシトリナリン B (**2**) が生合成される。



Scheme 1

本仮説を立証するためには、提案した生合成中間体のラベル体を化学的に合成し真菌内に取り込み実験を行う必要がある。そのため、著者はアザビシクロ骨格の開環と脱カルボキシル化反応を駆使した **13** から **16** への効率的な合成法の確立を目指し、最初にモデル化合物 **20** の合成に取り組んだ。 **20** は Williams 教授らにより報告された既知法[9]を基に合成可能な **18** から **19** を経由することで合成できると考えられる (Scheme 2)。



Scheme 2

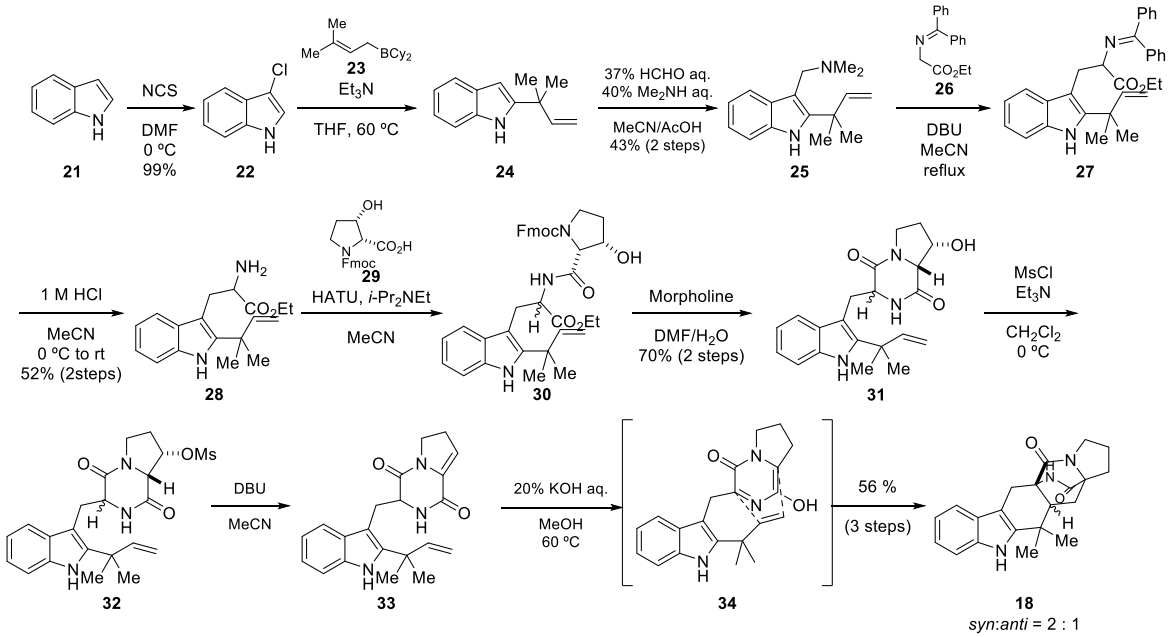
以下、**20** の詳細な合成研究について記す。

3. Diels-Alder 成績体 **18** の改良合成

Diels-Alder 成績体 **18** の合成はすでに Williams 教授らにより報告されているが[9]、ほぼすべての操作でカラム精製を行う必要があり大量合成には不向きな合成経路であった。そこで、**18** の改良合成を最初に検討した (Scheme 3)。

まず、インドール (**21**) から誘導したクロロインドール **22** の逆プレニル化について検討した。従来法では市販品である 9-BBN から調製した prenyl-9-BBN 溶液を用いて行っていたが、9-BBN は高価であり 1 M 溶液を使用するため大量の溶媒を用いる必要があった。そこで、反応系中で容易に調製可能な Cy_2BH を用いて反応を試みた。すなわち、最初に合成した Cy_2BH と 3-methylbuta-1,2-diene を作用させ prenyl-Cy_2B **23** に変換した後、加熱条件下、**22** を Et_3N 存在下で反応させたところ、望みの **24** を問題なく得ることができた。また精製することなく Mannich 型の反応を行うことで、アミノメチル基を導入した **25** を二段階収率 43%で合成した。続いて、トリプトファン誘導体 **28** に変換すべくグリシン誘導体 **26** とのアルキル化を行った。従来法では触媒量の *n*-Bu_3P を用いてアルキル化を行っていたが、*n*-Bu_3P をカラムによる精製操作により取り除く必要があった。そこで、塩基の検討を行った所、分液操作で簡単に除ける DBU を加熱条件下で作用させることで目的の **27** が得られることが分かった。その後、塩酸処理によりイミンの加水分解を行い **26** を二段階収率 52%で合成した。次に、HATU を縮合剤としてプロリン誘導体 **29** を連結させ、Fmoc 基をモルホリンにより脱保護を行うことで環化反応まで進行したジケトピペラジン **31** に誘導した。最後に脱水反応について検討した。従来法では、DEAD を用いて Diels-Alder 前駆体 **33** まで直接的に誘導していたが、DEAD の除去にカラム精製が必要でありまた分離が困難であった。検討の結果、段階的な脱水条件が効果的であった。すなわち、 **31** の水酸基をメシル化した後、DBU で処理することで β-脱離反応が容易に進行し **33** を高収率で得ることができた。最後に、水酸化カリウム水溶液を作用させることで、エノール **34** を系中で発生後、直ちに Diels-Alder 反応が進行した目的の **18** を *syn* : *anti* = 2 : 1 の生成比で得た。**31** から **18** までの三段階はカラム精製を必要とせず、**18** の Et_2O を用いたトリチレーション操作により容易に精製可能であった。なお、syn, anti 体はこの段階での分離は非常に困難であったため、混合物のまま次の反応に用いることとした。

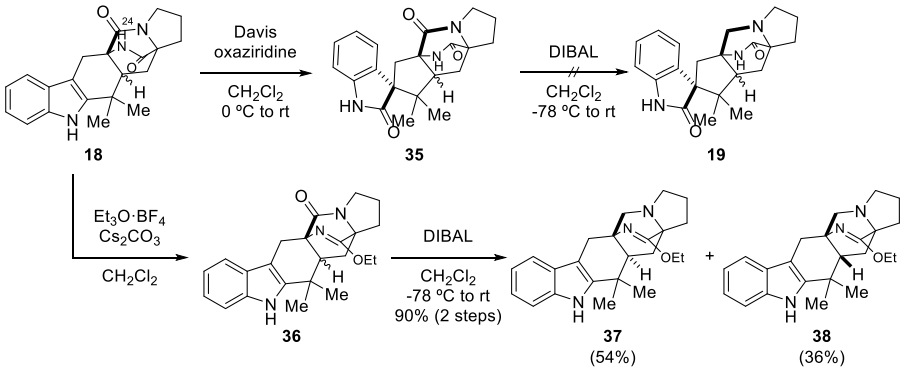
以上の改良合成法により、煩雑な精製操作を必要最低限に抑えることができ大量合成が可能となった。実際に、著者はこの合成経路により **19** を 5.0 g 合成することに成功した。


NCS
DMF
0 ºC
99%
23
Et3N
THF, 60 ºC
37% HCHO aq.
40% Me2NH aq.
MeCN/AcOH
43% (2 steps)
26
DBU
MeCN
reflux
1 M HCl
MeCN
0 ºC to rt
52% (2steps)
29
HATU, i-Pr2NEt
MeCN
Morpholine
DMF/H2O
70% (2 steps)
MsCl
Et3N
CH2Cl2
0 ºC
DBU
MeCN
20% KOH aq.
MeOH
60 ºC
56 %
(3 steps)
21
22
24
25
27
28
30
31
32
33
34
18
syn:anti = 2 : 1

Scheme 3

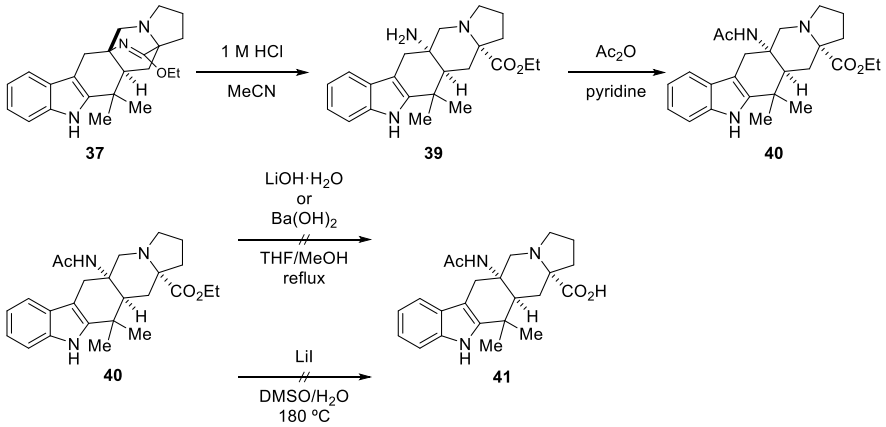
4. **37** と **38** のビシクロ骨格の開環反応の検討

18 を大量に合成したので、鍵反応であるアザビシクロ [2.2.2] 骨格の開環及び 26 位のカルボニル基の選択的還元の検討を行った。まず、Davis 試薬を用いてインドールの酸化を行い **35** に誘導し、24 位のカルボニル基の選択的除去を試みた。DIBAL を作用させた所、複雑な混合物を与える結果となった。この原因としてオキシインドールの開環が進行しているためと考え、オキシインドールへの変換は合成の終盤に行うこととした。そこで、開環反応の検討を種々試みた所、Meerwein 試薬を用いてイミノエーテル **36** に変換できることが分かった。また、次に DIBAL 処理を行った所、望みの 24 位のみを選択的に還元することができ、さらにカラム精製により *syn* 体 **37** 及び *anti* 体 **38** を容易に分離することができた (Scheme 4)。ジアステレオマーを分離することができたので、それぞれについて開環反応の検討を行うこととした。



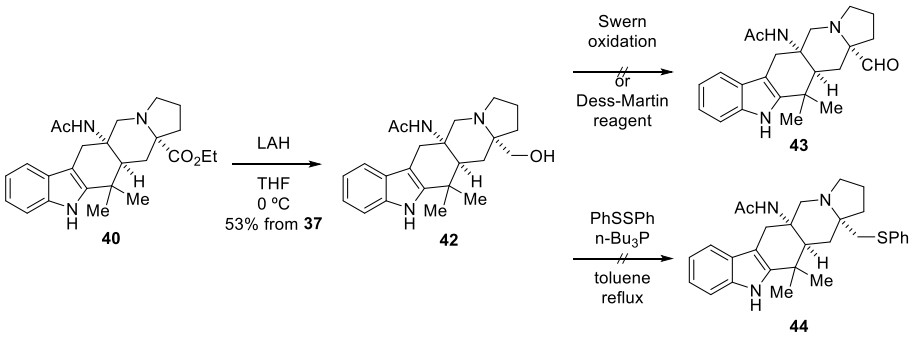
Scheme 4

まず、 syn 体 **37** を用いて検討を開始した。まず、イミノエーテルを塩酸により加水分解を行った所、望みの開環反応が進行した **39** を得ることができた。そこで、次に生じたエステルをカルボン酸に変換し脱カルボキシル化の検討に展開することとした。まず、アミノ基を Ac 基で保護し **40** とし、様々な条件で加水分解反応を試みた。しかし、目的のカルボン酸 **41** を得ることができず、原料回収に終わった。また、LiI を用いた Krapcho 反応も試みたが、目的物は得られなかった (Scheme 5)。



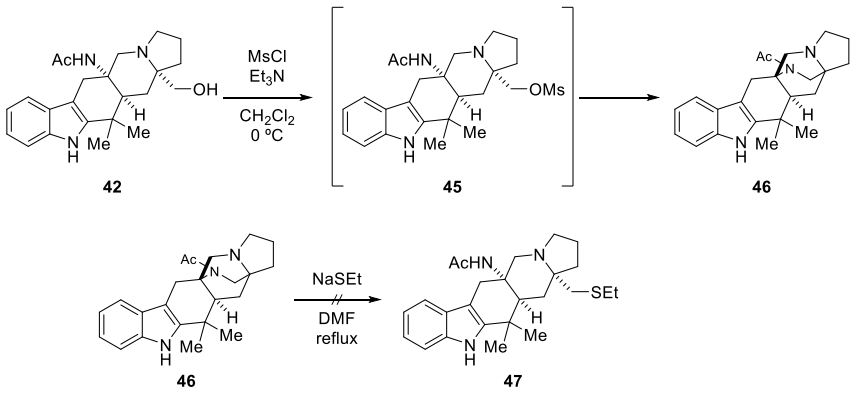
Scheme 5

加水分解が困難であったため、次にアルコール **42** へ変換し、酸化反応を用いて **41** に導く戦略に変更した。LAH 処理によるエステルの還元は容易に進行し **42** を得ることができた。しかしながら、続く酸化反応は Dess-Martin 試薬や Swern 酸化反応を用いて反応を試みたが原料の消失は確認できたものの、目的のアルデヒド **43** を得ることができなかった。インドールの酸化や三級アミンの酸化により反応が複雑化したものと考えている。そこで、より温和な条件で酸化反応が進行する Pummerer 反応を行うこととした。しかし、*n*-Bu_3P 存在下、 **42** と PhSSPh の反応はまったく進行せず、スルフィド **44** を得ることはできなかった (Scheme 6)。



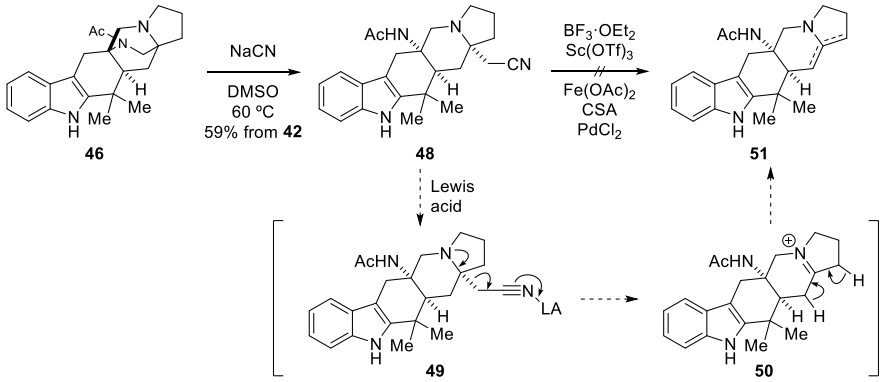
Scheme 6

そこで、S_N2 反応を用いてスルフィドに変換する戦略に変更することとした。アルコール **42** をメシル化の条件に付した所、予期せぬことに望みのメシル体 **45** は得られず、アミノ基からの分子内 S_N2 反応が進行したビシクロ化合物 **46** が得られることが分かった。再度 S_N２反応が進行することを期待し、NaSEt を作用させたが、目的の **47** を得ることができなかった (Scheme 7)。



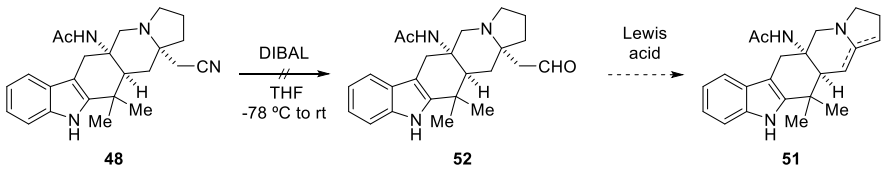
Scheme 7

さらなる検討を行ったところ、**46** は NaCN と反応し、ニトリル **48** が得られることを明らかにした。そこで、著者は レトロ Mannich 型の反応が進行するのではないかと考えた。すなわい、 ルイス酸を作用させることで三級アミンの非共有電子対からの電子の流れによりアセトニトリルが脱離し **50** が得られ、脱プロトン化によりエナミン **51** が生成するのではないかと仮定した。そこで、様々なルイス酸の検討を行った。しかしながら、 $BF_3{\cdot}OEt$、$Sc(OTf)_3$、$Fe(OAc)_2$ などのルイス酸を作用させたが反応はまったく進行せず原料回収に終わった。唯一、$PdCl_2$ を用いた場合、新たな生成物を TLC 上で確認できたが、目的の **51** は得られていなかった (Scheme 8)。



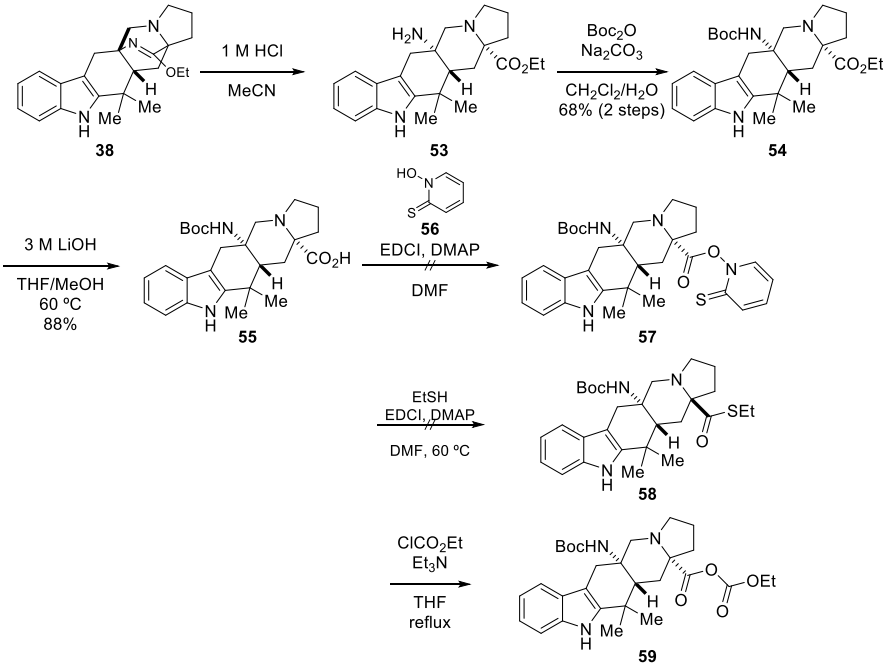
Scheme 8

この理由として、ニトリルの場合だとルイス酸による活性化が不十分であると考え、ニトリルからアルデヒドへの変換を試みることとした。**48** に対し DIBAL を作用させたが、目的のアルデヒド **52** を得ることができなかった (Scheme 9)。近接部の立体障害が原因だと考えている。以上の結果より、*syn* 体を用いた脱カルボキシル化反応の検討を断念し、次に *anti* 体 **38** の検討を行うこととした。.



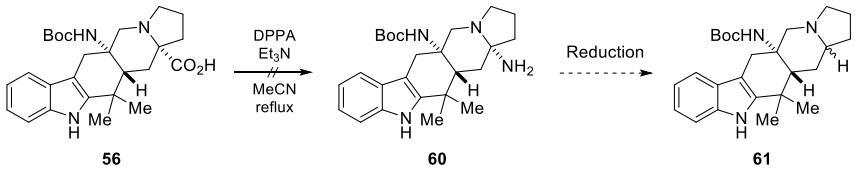
Scheme 9

先ほど得られた **38** に対し、塩酸処理により **53** とした後、生じたアミノ基を Boc 基で保護した。幸運なことに、エステル **54** の加水分解は 3 M LiOH により問題なく進行しカルボン酸 **55** を得ることができた。そこで、カルボン酸の脱カルボキシル化の検討を種々行った。しかしながら、カルボン酸 **55** は非常に極性が高く立体障害が大きいため、縮合条件により Barton エステル **57** やチオエステル **58** に変換することができなかった。また、クロロギ酸エチルを用いた酸無水物 **59** も得ることができなかった (Scheme 10)。



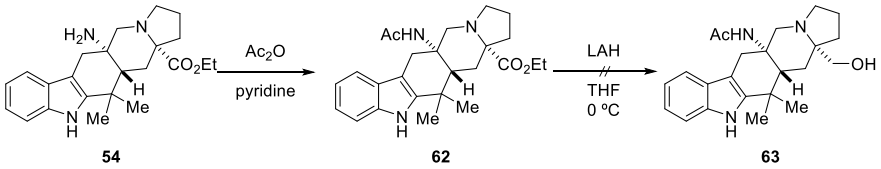
Scheme 10

そこで､立体障害が大きい部位でも反応が進行する Curtius 転位反応[10] を利用しアミン **60** に誘導し[11]、還元条件にて **61** を得ることを発想した。そこで、カルボン酸 **56** に対し DPPA を作用させたが、望みの反応はまったく進行せず原料回収に終わった (Scheme 11)。



Scheme 11

また、 syn 体の検討のときの同様な戦略であるレトロ Mannich 型反応を試みようと、エステル **62** の還元反応を行ったが、目的の **63** を得ることはできず反応が複雑化した (Scheme 12)。

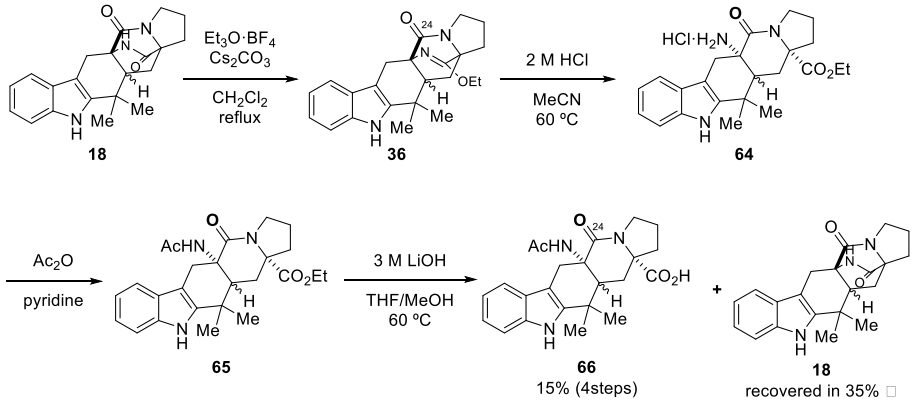


Scheme 12

以上の結果から、**37** 及び **38** からのさらなる変換の検討を断念した。

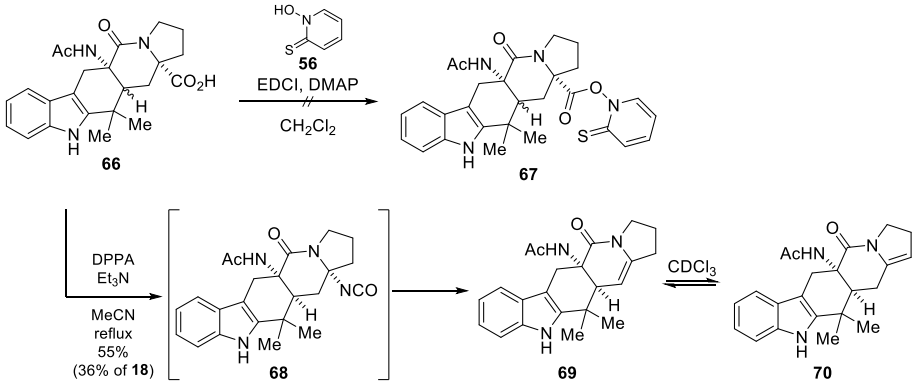
5. **36** のビシクロ骨格開環の試み

37 と **38** のさらなる変換が困難であったため、次に 24 位にカルボニル基を保持した **36** を用いて変換反応を試みることとした。**36** のイミノエーテルの加水分解は問題なく進行し、**64** を得ることを確認した。しかしながら、生じたカルボン酸は容易に環化反応が進行し **18** に戻ることが明らかになった。塩酸塩として単離した場合は比較的安定であったが、直ちに Ac 化を行い **65** に誘導した。幸運なことに、エステル **65** においても加水分解反応は円滑に進行し目的のカルボン酸 **66** を得ることができた。しかし、本反応中においても **18** の生成を確認したため、**66** の収率が非常に低い結果となった (Scheme 13)。



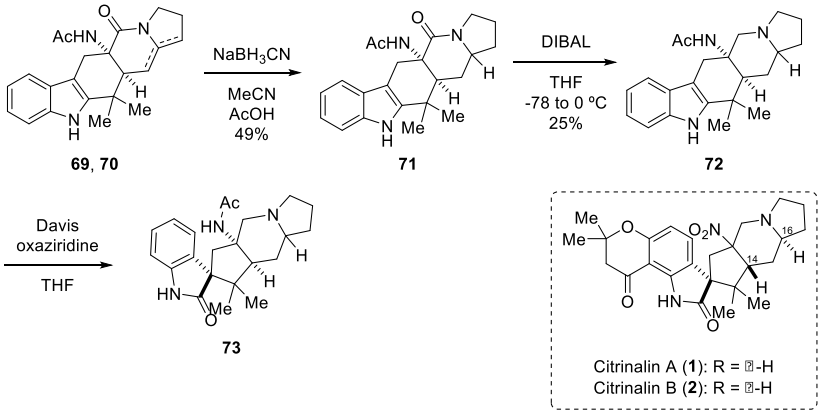
Scheme 13

66 が合成できたので、鍵反応である脱カルボキシル化の検討を試みた。まず、Barton 法を用いるべくチオピリドン **56** との縮合条件に付したが、望みの反応は進行しなかった。一方で、MeCN 中、DPPA を加熱条件下作用させたところ、Curtius 転位反応が速やかに進行しイソシアネート **68** が系中で発生しさらに脱離反応まで進行したエナミド **69** 及び **70** を 55% の収率で得ることができた。エナミド **69** と **70** はカラムで分離可能であったが、$CDCl_3$ 中に容易に異性化することも明らかになった。また、本反応は *syn* 体が優先的に反応し、*anti* 体は望みの反応は進行せず、分子内環化反応により **18** に変換されたため、この段階で *anti* 体の異性体を分離することができた (Scheme 14)。



Scheme 14

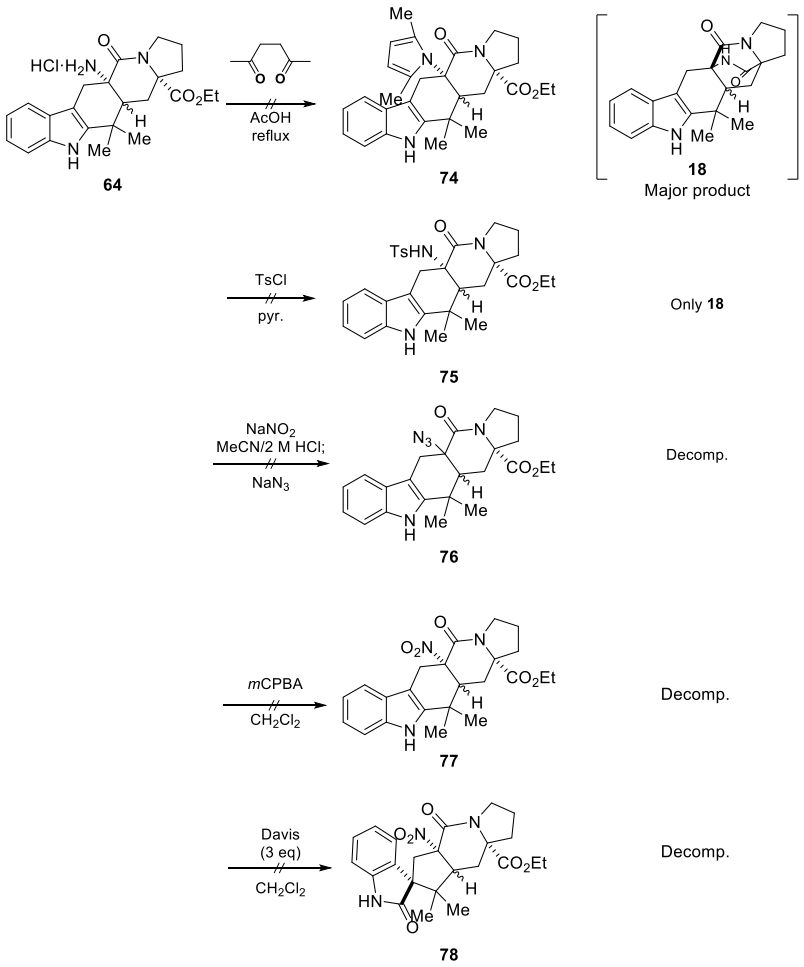
脱カルボキシル化に成功したので、シトリナリン類の主骨格の構築法の確立を目指しさらなる変換を試みた。まず、エナミド **69** と **70** の混合物に対し、酸性条件下 $NaBH_3CN$ を作用させたところ、目的の還元反応が速やかに進行し **71** を単一の異性体として得ることができた。生じた新しい立体化学は決定していないが、ヒドリドが立体障害の少ない β 面から攻撃しているものと考えている。この仮説は天然物の 14 位と 16 位の相対配置がトランスの関係であることからも支持される。続いて、カルボニル基を DIBAL により還元することで **72** を低収率ながら得ることができた。最後に、インドールの酸化を試みた。**72** に対し、Davis 試薬を作用させたところ、TLC 上で多数のスポットを確認した。preparative TLC により精製したところ、目的のオキシインドール **73** らしき化合物を HNMR で確認した。しかし、得られた量が非常に少なかったため、正確な構造決定は行えなかった。反応が複雑化した理由として、三級アミンが酸化されたことが考えられるため、一当量の酸を添加し反応を行うことで副反応が抑制できると想定している (Scheme 15)。



Scheme 15

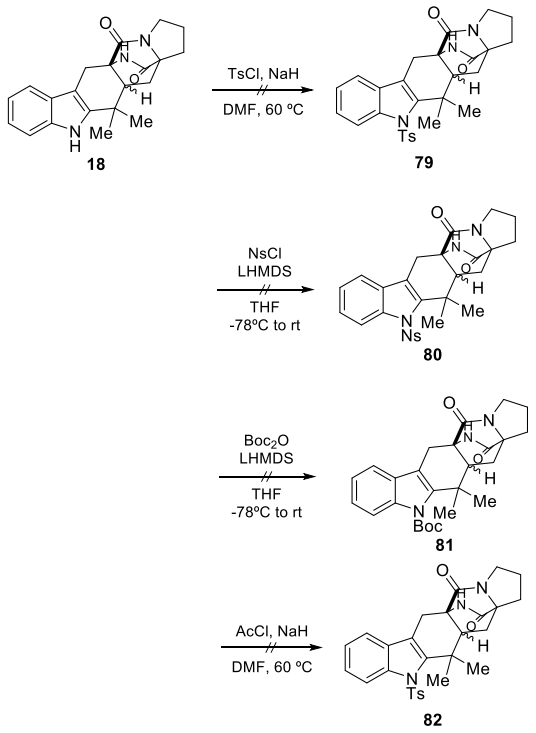
6. アミノ基からニトロ基への変換への検討

主要骨格の構築に成功したので、残す課題であるアミノ基の酸化反応を試みることとした。これまで、アミノ基の保護基として脱保護が困難な Ac 基を用いていたため、保護基の変更を行うこととした。そこで、**64** を用いて保護基の導入検討を行った。しかしながら、前述の通り 64 は塩基性条件下では速やかに分子内環化反応が進行し **18** が生じるため、本副反応と拮抗となる。また、アミノ基の近傍は非常に嵩高いため、反応が進行しにくいことも予測される。実際に、Ts 化やピロール保護などを試みたところ、望みの反応はまったく進行せず **18** が得られる結果に終わった。そこで、アミノ基への保護基の導入は断念し、他の置換基に変換することを試みた。まず、アミノ基が第三級炭素に結合していることに着目し、Sandmyer 反応が使えることを期待した。そこで、塩酸存在下 $NaNO_2$ 続く NaN_3 を作用させたところ、原料の消失を確認したが、目的のアジド **76** を得ることができなかった。続いて、この段階でのニトロ基への酸化を試みた。しかしながら、**64** の酸化反応を種々検討したが、目的のニトロ化合物 **77** が得られず複雑な混合物を与えた。インドールの酸化が優先しその後、分解反応が進行しているものと考えられる (Scheme 16)。



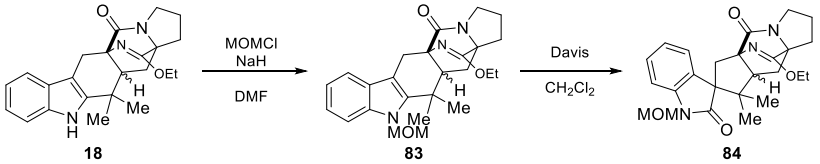
Scheme 16

以上の結果より、インドール窒素の保護基が必要不可欠であることが分かった。そこで、**18** の保護基の導入の検討を行った。しかしながら、インドール窒素の近接部は立体障害が非常に大きいため、電子吸引性基である Ts、Ns、Boc 基や Ac 基がまったく導入されなかった (Scheme 17)。



Scheme 17

唯一、MOM 基の導入に成功し保護体 **83** を得ることができたが、予備実験として酸化反応を試みたところ、オキシインドール **84** が得られることが分かった (Scheme 18)。

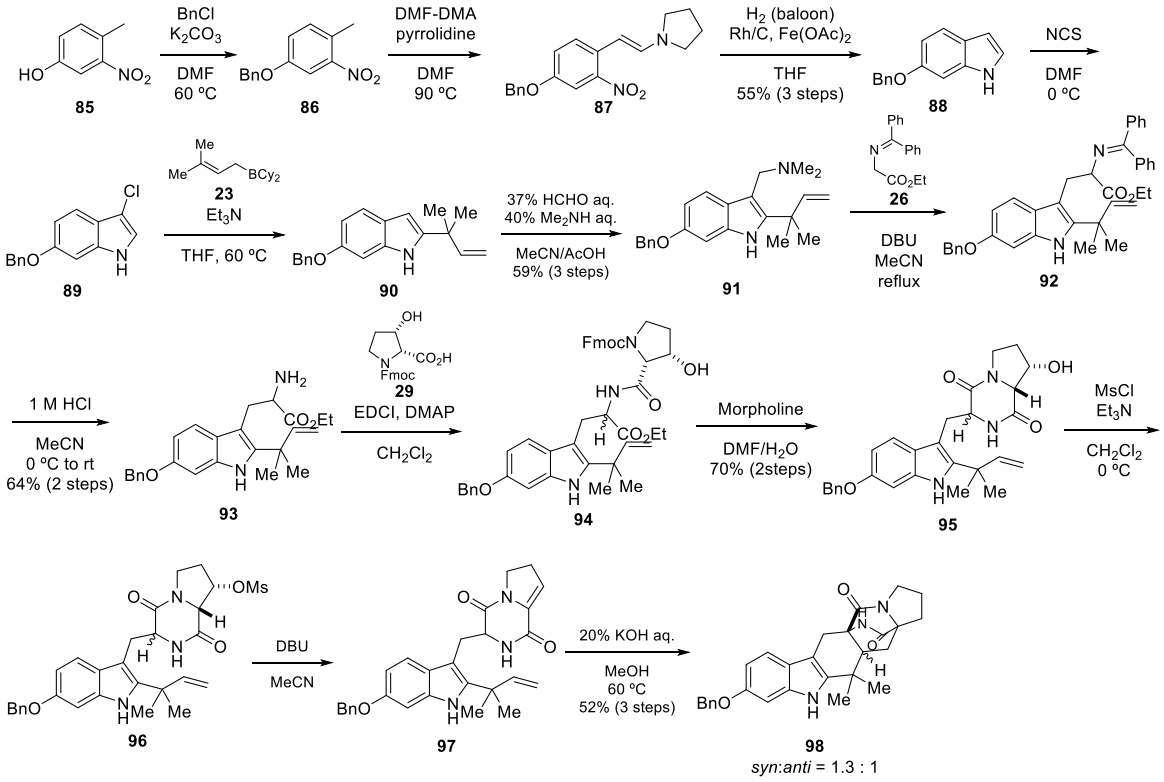


Scheme 18

様々な条件検討を行ったが、著者が帰国するまで打開策を得ることができなかった。今後のさらなる検討によりニトロ基への変換を成功できるような合成経路が確立できることを願っている。

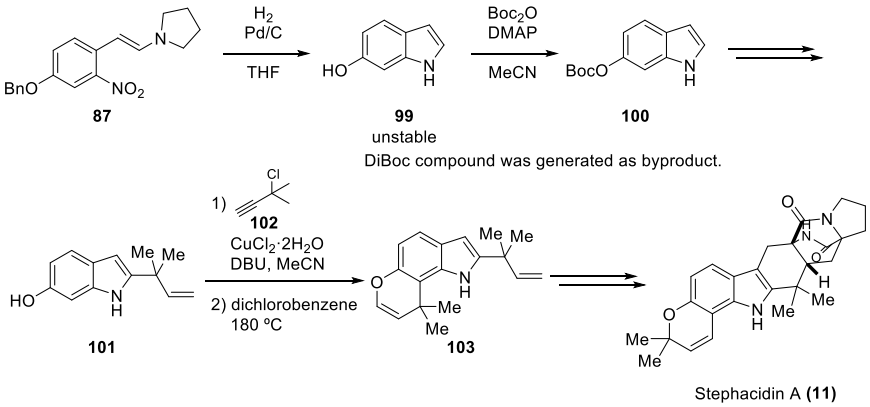
7. ヒドロキシル基を有した Diels-Alder 成績体 **98** の改良合成

モデル化合物を用いて、シトリナリン類の主要骨格の構築にほぼ成功したので、天然物に導くため、インドールに水酸基を有した **98** を **64** と同様な合成法で誘導することとした。ニトロフェノール (**85**) を出発原料として用い Bn 保護と Leimgruber-Batcho インドール合成法の条件にてエナミン **87** に変換した。続いて、メルク社の安田らが報告した条件、すなわち Rh/C と $Fe(OAc)_2$ 存在下での水素添加条件に伏すことで Bn 基を保持したインドール 88 を良好な収率で得ることができた[12]。その後、**18** と同様な変換反応を用いて Diels-Alder 反応成績物 **98** を合成した (Scheme 19)。



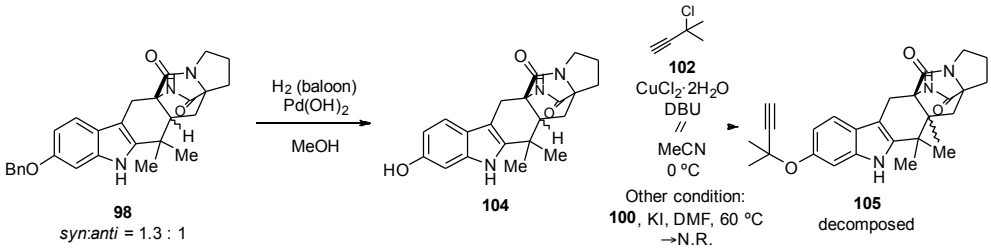
Scheme 19

Williams 教授らはすでに **87** からステファシジン A (**11**) の合成を報告しているが、いくつかの問題点が残されている[13]。まず、ヒドロキシインドール **99** は非常に不安定であり、水素添加条件で容易にポリマー化が進行し収率が低下する。また、続く **99** の Boc 化において、インドール窒素の保護も競合するため、カラム精製が必要であるとともに収率が中程度である。さらに、逆プレニル化を行った後、Boc 基の脱保護を直ちに行っているため効率的経路であるとは言えない (Scheme 20)。著者が改良した合成法は Bn 基を維持したまま **98** に変換したため、過去の合成法より効率的な経路であると考えられる。



Scheme 20

98 から **11** への変換が可能か確認するため、**98** の Bn 基の脱保護に続くプレニル化を検討した。水素添加条件による Bn 基の脱保護は問題なく反応が進行したが、続く **104** の $CuCl_2 \cdot 2H_2O$ とクロリド **102** を用いたプレニル化を試みたところ、反応が複雑化した。Cu を用いない他の条件も行ったが、**105** は得られず原料回収に終わった (Scheme 21)。

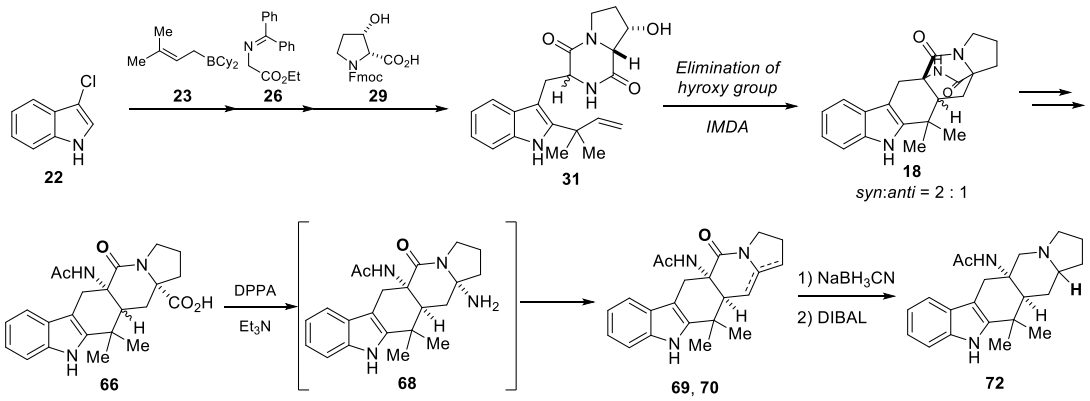


Scheme 21

本問題点はさらなる条件検討を行うことで、打開できると考えており、今後の展開に期待する。

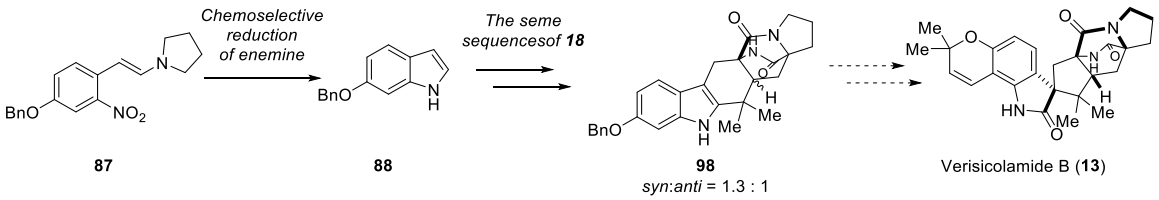
8. 結語

今回、著者はシトリナリン類の生合成経路を模倣した合成研究をモデル化合物 **18** を用いて行った。まず、**18** の大量合成可能な合成経路の確立を行い、**18** を 5 g スケールで得ることに成功した。次に、ジアザビシクロ [2.2.2] 骨格の開環反応及び脱カルボキシル化の検討を行った。その結果、アミド基をイミノエーテルに変換し、酸処理することでカルボン酸 **66** に誘導した後、Curitus 転位反応を行うことでエナミド **69** 及び **70** を得ることができた。また、イミニウムイオンの立体選択的還元とカルボニル基の還元を行い **72** を単一の異性体として誘導することができた (Scheme 22)。残す課題はアミノ基のニトロ基への酸化とインドールの酸化反応の効率的変換法の開発である。



Scheme 22

一方で、シトリナリン類の生合成前駆体であるベルシコラミド B (**13**) を含めたプレニルインオールアルカロイドの合成を見据え、これまで報告された合成法の改良化も行った。エナミン **87** に対し、$Fe(OAc)_2$ 存在下、Rh/C を用いた水素添加条件により Bn 基を保持した インドール **88** を選択的に合成することに成功し、**18** と同様な合成経路により Diels-Alder 反応生成物 **98** を **87** から 11 段階で誘導した (Scheme 23)。



Scheme 23

今後の Williams 研究室のさらなる研究の発展によりシトリナリン類の全合成が達成されることを切に願う。

9. 謝辞

海外研究留学を行うにあたり、留学補助金を与えてくれました　公益財団法人　アステラス病態代謝研究会　に深く感謝致します。また、私を博士研究員として受け入れてくれました　コロラド州立大学　化学科 Robert M. Williams 教授　に心より感謝の意を表します。

10. 参考文献

1. Pimenta, E. F.; Vita-Marques, A. M.; Tininis, A.; Seleghim, M. H. R.; Sette, L. D.; Veloso, K.; Ferreira, A. G.; Williams, D. E.; Patrick, B. O.; Dalisay. D. S.; Andersen, R. J.; Berlinck, R. G. S. *J. Nat. Prod.* **2010**, *73*, 1821–1832.
2. Mercado-Marin, E. V.; Garcia-Reynaga, P.; Romminger, S.; Pimenta, E. F.; Romney, D. K.; Lodewyk, M. W.; Williams, D. E.; Andersen, R. J.; Miller, S. J.; Tantillo, D. J.; Berlinck, R. G. S.; Sarpong, R. Nature, **2014**, *509*, 318-324.
3. Bond, R. F.; Boeyens, J. C. A.; Holzapfel, C. W.; Steyn, P. S. *J. Chem. Soc.*, *Perkin Trans. 1*, **1979**, 1751-1761.
4. a) Tsuda M.; Kasai, Y.; Komatsu, K.; Sone, T.; Tanaka, M.; Mikami, Y.; Kobayashi, J. *Org. Lett.* **2004**, *6*, 3087-3089. b) Mugishima, T.; Tsuda, M.; Kasai, Y.; Ishiyama, H.; Fukushi, E.; Kawabata, J.; Watanabe, M.; Akao, K.; Kobayashi, J. *J. Org. Chem.* **2005**, *70*, 9430-9435.
5. a) Bian, Z.; Marvin, C. C.; Pettersson, Martin; Martin, S. F. *J. Am. Chem. Soc.* **2014**, *136*, 14184-14192. b) Bian, Z.; Marvin, C. C.; Martin, S. F. *J. Am. Chem. Soc.* **2013**, *135*, 10886–10889.
6. Kushida, N.; Watanabe, N.; Okuda, T; Yokoyama, F.; Gyobu, Y.; Yaguchi, T. *J. Antibiot.* **2007**, *60*, 667–673.
7. Sunderhaus, J. D.; McAfoos, T. J.; Finefield, J. M.; Kato, H.; Li, S.; Tsukamoto, S.; Sherman, D. H.; Williams, R. M. *Org. Lett.* **2013**, *15*, 22.
8. Miller, K. A.; Tsukamoto, S.; Williams, R. M. *Nature Chemistry* **2009**, *1*, 63-68.
9. a) Stocking, E. M.; Sanz-Cervera, J. F.; Williams, R. M. *J. Am. Chem.* **2000**, *122*, 1675-1683. b) Sanz-Cervera, J. F.; Glinka, T.; Williams, R. M. *Tetrahedron* **1993**, *49*, 8471-8482.
10. Shioiri, T.; Ninomiya, K.; Yamada, S. *J. Am. Chem. Soc.* **1972**, *94*, 6203-6205.
11. Hirooka, Y.; Ikeuchi, K.; Kawamoto, Y.; Akao, Y.; Furuta, T.; Asakawa, T.; Inai, M.; Wakimoto, T.; Fukuyama, T.; Kan, T. *Org. Lett.* **2014**, *16*, 1646-1649.
12. Akao, A.; Nonoyama, N.; Maese, T.; Yasuda, N. *Organic Process Research & Development,* **2006**, 10, 1178-1183.
13. a) Greshock, T. J.; Grubbs, A. W.; Tsukamoto, S.; Williams, R.M. *Angewante. Chem. Int. Ed.* **2007**, 46, 2262-2265. b) Greshock, T. J.; Williams, R. M. Org. Lett. **2007**, *9*, 4255-4258.