

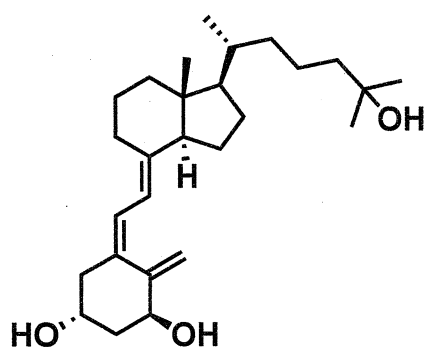
## 目次

第一章 緒論 .....	1
第二章 新規ビタミンD誘導体ライブラリー構築に向けた共通A環部ユニット の合成とA-C,Dカップリング反応の検討 .....	22
2-1. 天然型C,D環部ユニットの合成 .....	25
2-2. A環部ユニット合成 .....	28
2-2-1. (R)-Epichlorohydrinを原料とするA環部ユニット合成 .....	29
2-2-2. (S)-Epichlorohydrin, D-(-)-quinic acidを原料とする19-nor型A環部ユニット 合成 .....	31
2-2-3. D-(-)-Lyxoseを原料とするA環部ユニットの合成 .....	35
2-3. A-C,Dカップリング反応の検討 .....	42
2-3-1. Suzuki-Miyaura CouplingによるA-C,Dカップリングの検討 .....	43
2-3-2. Horner-Wadsworth-Emmons ReactionによるA-C,Dカップリングの検討 .....	49
2-3-3. Julia-Lythgoe OlefinationによるA-C,Dカップリングの検討 .....	50
2-3-4. 2位水酸基変換反応によるビタミンD誘導体ライブラリー構築手法の拡張 .....	54
2-4. 結論 .....	57
Experimental Section (Chapter 2) .....	60
第三章 16-Oxa vitamin D <sub>3</sub> 誘導体の合成 .....	76
3-1. ドッキングシミュレーションを用いた16-oxa型ビタミンD誘導体の設計 .....	78
3-2. 16-oxa-C,D環部ユニットの合成 .....	83
3-3. 16-oxa型ビタミンD誘導体の合成 .....	93
3-3-1. Suzuki-Miyaura Couplingによる16-oxa型ビタミンD誘導体の合成検討 .....	94
3-3-2. Horner-Wadsworth-Emmons Reactionによる16-oxa型ビタミンD誘導体の 合成検討 .....	96
3-3-3. Julia-Lythgoe Olefinationによる16-oxa型ビタミンD誘導体の合成検討 .....	101
3-4. 16-oxa-1a,25(OH) <sub>2</sub> VD <sub>3</sub> の安定性試験 .....	103
3-5. 結論 .....	106
Experimental Section (Chapter 3) .....	108

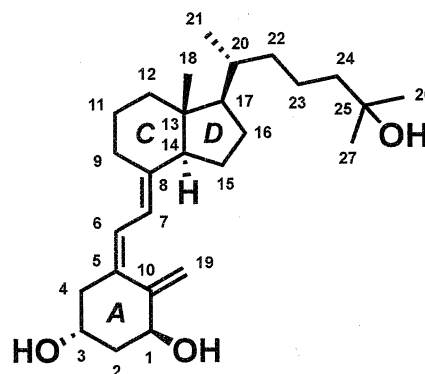
第四章	<i>des</i> -D 型ビタミン D 誘導体の合成.....	135
4-1.	ドッキングシミュレーションを用いた <i>des</i> -D 型ビタミン D 誘導体の設計 .....	132
4-2.	<i>des</i> -D 型 C 環部ユニットの合成.....	146
4-3.	<i>des</i> -D 型ビタミン D 誘導体の合成 .....	162
4-4.	結論.....	168
	Experimental Section (Chapter 4) .....	169
第五章	VDR 結合能評価.....	186
5-1.	VDR 結合能の初期評価 .....	187
5-1-1.	蛍光偏光ビタミン D 受容体競合アッセイ.....	187
5-1-2.	時間分解蛍光共鳴エネルギー転移ビタミン D 受容体コアクチベーター アッセイ .....	190
5-2.	新規ビタミン D 誘導体の VDR 結合能評価.....	192
5-2-1.	16-oxa 型ビタミン D 誘導体の VDR 結合能評価.....	192
5-2-2.	<i>des</i> -D 型ビタミン D 誘導体の VDR 結合能評価.....	203
5-3.	結論.....	210
	Experimental Section (Chapter 5) .....	212
第六章	総括と展望 .....	214



## 第一章 緒論



**1 $\alpha$ ,25-dihydroxy vitaminD<sub>3</sub>**  
**[1 $\alpha$ ,25(OH)<sub>2</sub> VD<sub>3</sub>]**



**steroid numbering**

核内受容体の一種であるビタミンD受容体 (Vitamin D Receptor (VDR))リガンドとして、1971年に発見された活性型ビタミンD<sub>3</sub> (1 $\alpha$ ,25-(OH)<sub>2</sub>-VD<sub>3</sub>)は、カルシウム代謝の主要ホルモンとして、副甲状腺ホルモンとともに血清カルシウムの恒常性維持や骨形成に重要な役割を果たしている。他にも、ホルモンの生産・分泌、免疫調節、細胞内シグナル伝達、さらには、前立腺がん、大腸がん、乳がん、血液系腫瘍細胞などのがん細胞に対する増殖抑制、分化誘導、アポトーシス誘導作用などを示すことが解明されている。しかしながら、これをがん細胞に対して治療効果を発揮する量投与すると、必ず副作用として高カルシウム血症が惹起されることが知られており、がん治療への応用は困難とされてきた。そのため非カルシウム作用 (増殖抑制・分化誘導作用) のみを発揮する新しいビタミンD誘導體創成が望まれている。

1

<sup>1</sup> (a) G. Jones, S. A. Strugnell and H. F. DeLuca, *Physiol. Rev.*, **1998**, *78*, 1193–1231; (b) M. R. Haussler, G. K. Whitfield, C. A. Haussler, J. C. Hsieh, P. D. Thompson, S. H. Selznick, C. E. Dominguez and P. W. Jurutka, *J. Bone Miner. Res.*, **1998**, *13*, 325–349; (c) D. L. Andress, *Kidney Int.*, **2006**, *69*, 33–43; (d) A. Levin, G. L. Bakris, M. Molitch, M. Smulders, J. Tian, L. A. Williams and D. L. Andress, *Kidney Int.*, **2007**, *71*, 31–38. (e) V. Dormoy, C. Beraud, V. Lindner, C. Coquard, M. Barthelmebs, D. Brasse, D. Jacqmin, H. Lang and T. Massfelder, *Carcinogenesis*, **2012**, *33*, 2084–2093; (f) M. Guzey, J. Luo and R. H. Getzenberg, *J. Cell. Biochem.*, **2004**, *93*, 271–285; (g) R. Salehi-Tabar, B. Memari, H. Wong, V. Dimitrov, N. Rochel and J. H. White, *Mol. Cancer Res.*, **2019**, *17*, 709–719; (h) S. A. Lamprecht and M. Lipkin, *Nat. Rev. Cancer*, **2003**, *3*, 601–614; (i) K. Dalhoff, J. Dancey, L. Astrup, T. Skovsgaard, K. Hamberg, F. J. Lofts, O. Rosmorduc, S. Erlinger, J. B. Hansen, W. P. Steward, T. Skov, F. Burcharth and T. Evans, *Br. J. Cancer*,

ビタミンDの始まりは、19世紀後半から20世紀初頭にかけて工業汚染された北ヨーロッパや北アメリカで流行したくる病に対する治療薬としての実験的証明である。くる病はビタミンD不足で生じる小児の骨変形や石灰化の難病として知られている。

1919年にイギリスのSir Edward Mellanby, ウィーン大学医学部のHuldshinskyにより、紫外線照射でくる病が治癒することが実験的に証明され、1922年にアメリカのMcCollumによって、抗くる病作用を持つ物質がビタミンDと命名された。<sup>2</sup> その後、魚の肝臓にビタミンDが存在し、植物ステロールあるいはコレステロール中に紫外線照射でビタミンDに変化する前駆体物質が含まれていることが解明されていき、1931年には、WindausらのグループとイギリスのAskewらのグループがエルゴステロール (previtamin D<sub>2</sub>)の光反応により、抗くる病因子となる結晶を得た。この時WindausらはビタミンD<sub>1</sub>, Askewらはcalciferolと命名したが、これら結晶は純度不十分であったため、後に純度改善した結晶をビタミンD<sub>2</sub>と命名し直している。<sup>3</sup>

1930年代には植物性プロビタミンDから生成するビタミンD<sub>2</sub>と動物性ビタミンDは生物活性が異なることが証明されつつあり、1936年に、Brockmannsにより動物性の抗くる病因子がクロマトグラフィーにより単離され、その結晶性誘導体からビタミンD<sub>2</sub>とは異なる構造であることが証明された。<sup>4</sup> これは、1935年にWindsausらがコレステロールを原料として合成したビタミンD<sub>3</sub>と同様の構造であった。<sup>5</sup> その後、鶏にビタミンD<sub>3</sub>とD<sub>2</sub>を投与した生物活性評価で、ビタミンD<sub>2</sub>の活性がD<sub>3</sub>の1~3%であることが証明された。<sup>6</sup> そして、ビタミンD<sub>3</sub>は動物体内で生産できる天然のビタミンDであることが証明されている。

---

2003, 89, 252–257; (j) R. Zineb, B. Zhor, W. Odile and R. R. Marthe, *Endo.*, **1998**, 139, 1844–1852; (k) P. E. Norman and J. T. Powell, *Circ. Res. Rev.*, 2014, **114**, 379–393; (l) R. J. Wu-Wong, *Br. J. Pharmacol.*, **2009**, 158, 395–412; (m) B. Gui, Q. Chen, C. Hu, C. Zhu and G. He, *Virol. J.*, **2017**, 14, 10; (n) K. S. M. Wong, R. Delansorne, K. Y. R. Man and M. P. Vanhoutte, *Am. J. Physiol. Heart. Circ. Physiol.*, **2008**, 295, H289–H296; (o) Z. Al-Jaderi and A. A. Maghazachi, *Toxins*, **2013**, 5, 1932–1947.

<sup>2</sup> (a) E. Mellanby, *Lancet.*, **1919**, 1, 407–412; (b) K. Huldshinsky., *Deutsch Med. Wochschr.*, **1919**, 45, 712 (c) E. V. McCollum, N. Simmonds, J. E. Becker, P. G. Shipley., *J. Biol. Chem.*, **1922**, 53, 293–312.

<sup>3</sup> (a) A. Windaus, A. Luttringhaus, M. Deppe., *Justus Liebig's Ann. Chem.*, **1931**, 489, 252–269; (b) T. C. Angus, F. A. Askew, R. B. Bourdillon, H. M. Bruce, R. K. Callow, C. Fischmann, J. St. L. Philpot, T. A. Webster, *Proc. Roy. Soc.*, **1931**, B108, 340.

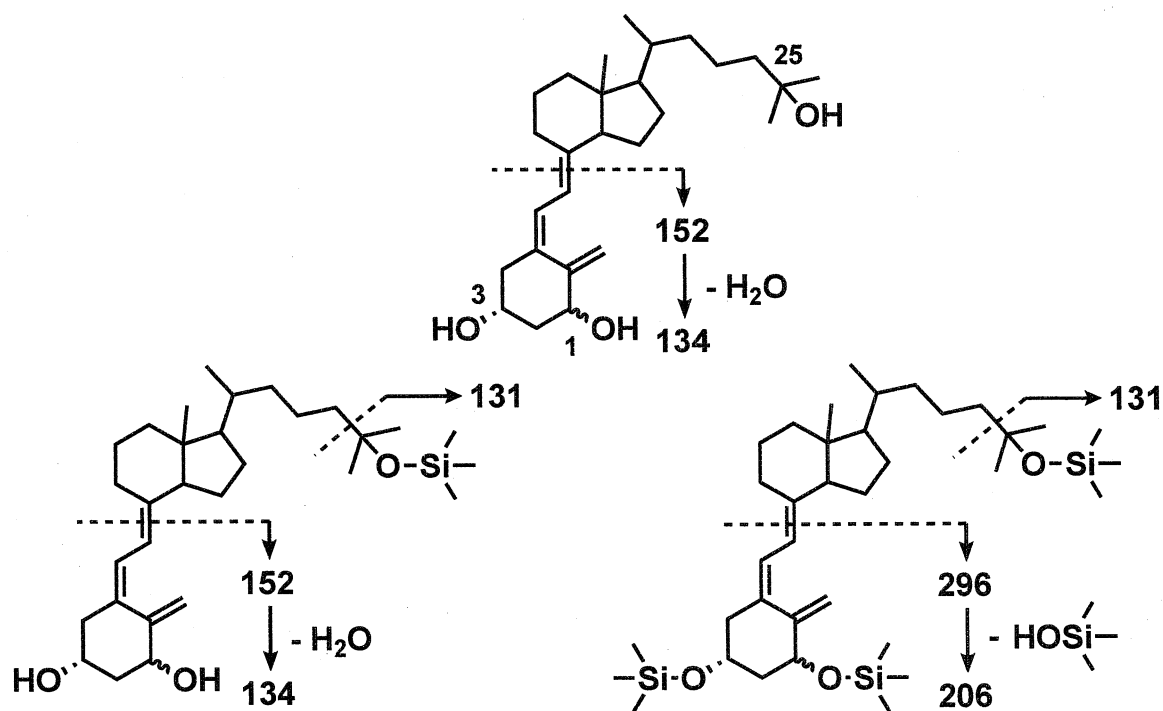
<sup>4</sup> H. Brockmann, *Z. Physiol.*, **1936**, 241, 104.

<sup>5</sup> A. Windaus, H. Lettr, Fr. Schenck, *Ann. Chem.*, **1935**, 520, 98–106.

<sup>6</sup> W. Grab, *Z. Physiol.*, **1936**, 243, 63.

その後30年ほど、ビタミン Dに関する研究報告は停滞するが、1966年にDeLucaらがトリチウム標識したビタミンD<sub>3</sub> ([1,2-<sup>3</sup>H]-VD<sub>3</sub>)を合成し、これを投与した4匹の豚の血液6.8Lから、代謝生成物1.3mgが単離され、これが、25位が酸化された25-ヒドロキシビタミンD<sub>3</sub> (25-OH-VD<sub>3</sub>)と同定された。<sup>7</sup> そして、1971年にDeLucaらとKodicekらにより活性型ビタミンD<sub>3</sub>の単離・同定が報告されるに至る。DeLucaらは、[1,2-<sup>3</sup>H]-VD<sub>3</sub>を投与した1500羽のD欠乏の鶏の小腸からの大規模な抽出作業により2 μgほど得られた代謝生成物のシリル誘導体から質量分析により活性型ビタミンD<sub>3</sub>としての構造決定を行っている。<sup>8</sup> (Figure 1-1, 1-2)

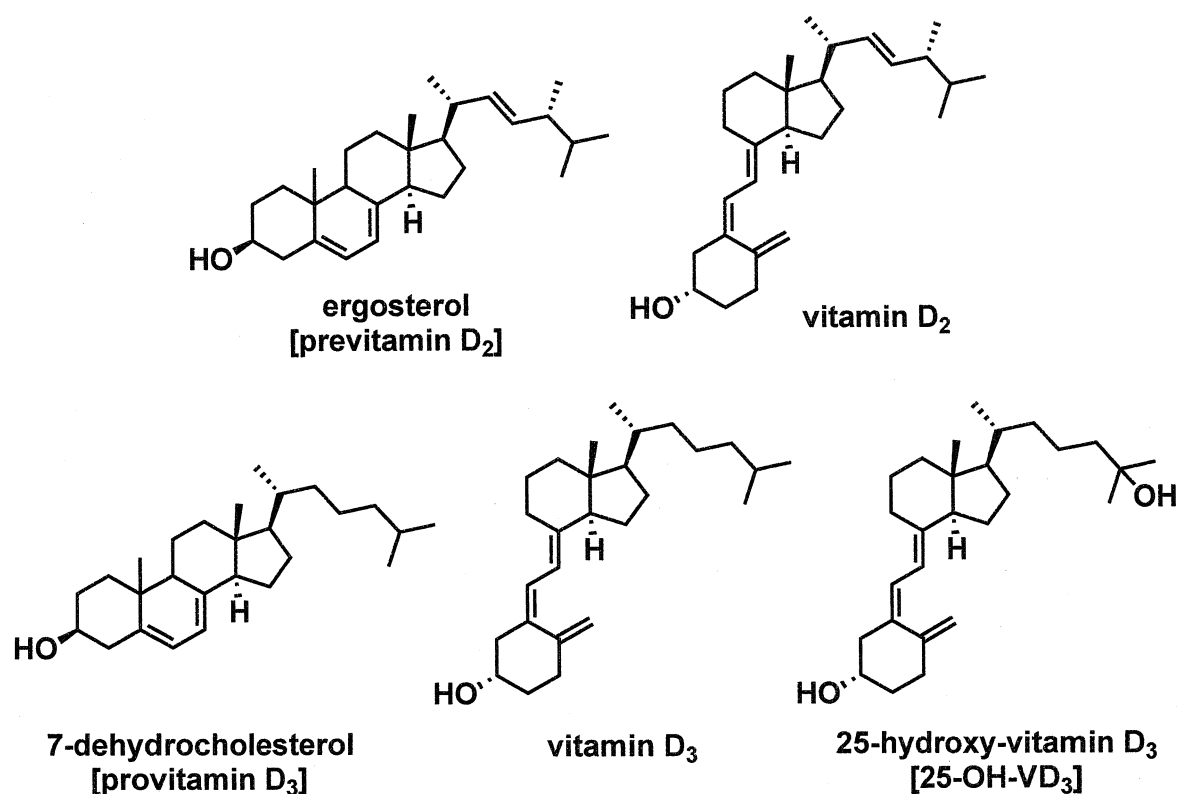
Figure 1-1



<sup>7</sup> (a) J. Lund, H. F. DeLuca, *J. Lipid Res.*, **1966**, *7*, 739-744; (b) P. F. Neville, H. F. DeLuca, *Biochemistry.*, **1966**, *5*, 2201-2207; (c) J. W. Blunt, H. F. DeLuca, H. K. Schnoes, *Biochemistry.*, **1968**, *7*, 3317-3322.

<sup>8</sup> (a) M. F. Holick, H. K. Schnoes, H. F. DeLuca, *Proc. Nat. Acad. Sci. USA.*, **1971**, *68*, 803-804; (b) M. F. Holick, H. K. Schnoes, H. F. DeLuca, T. Suda, R. J. Cousins., *Biochemistry.*, **1971**, *10*, 2799-2804; (c) D. E. M. Lawson, D. R. Fraser, E. Kodicek, R. H. Morris, D. H. Williams, *Nature.*, **1971**, *230*, 228-230.

Figure 1-2

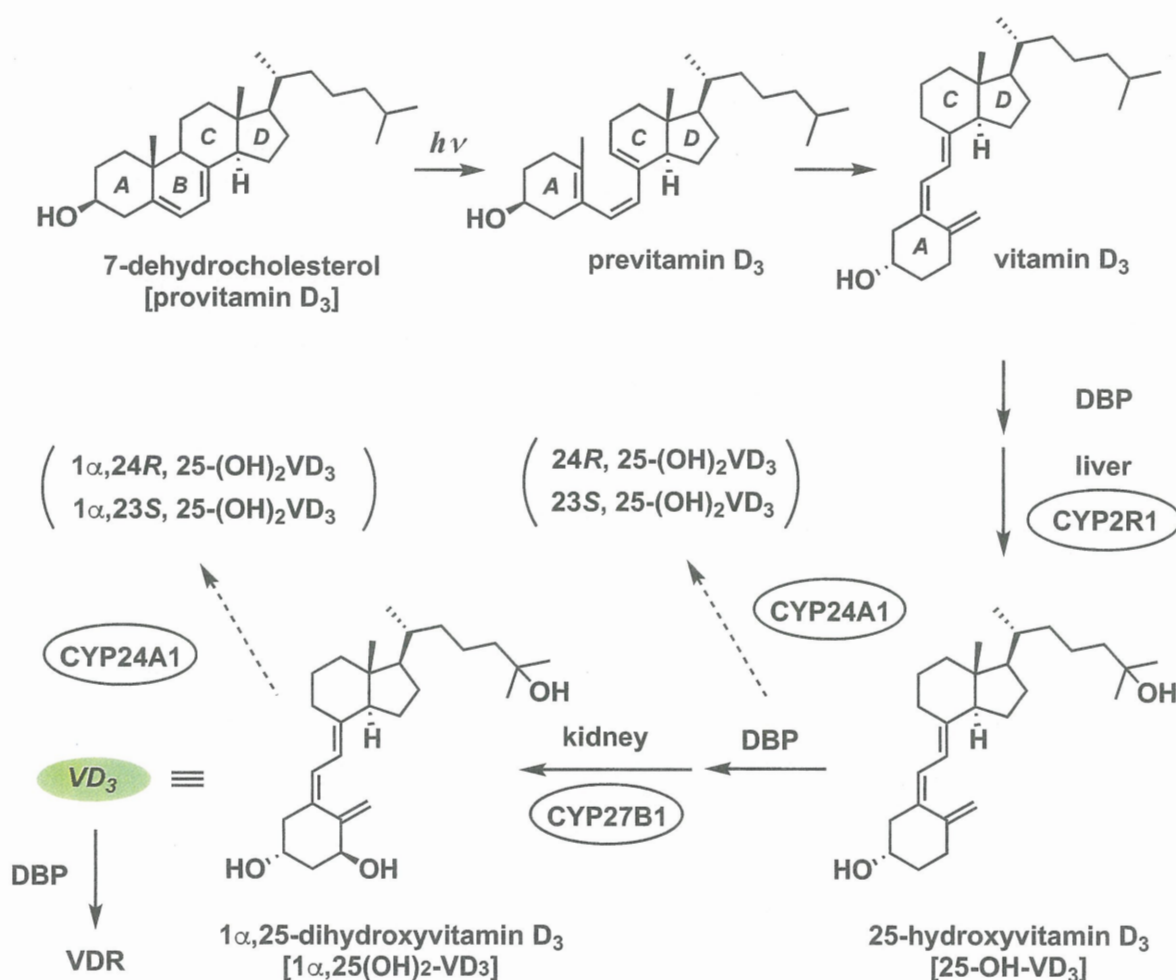


このようなビタミンDに関する研究の歴史から、現在では、ビタミンDの生体内での代謝経路が解明されてきている。即ち、血中に存在する7-dehydrocholesterolが皮下組織中で紫外線により、そのB環部が開裂し、previtamin D<sub>3</sub>が生成。続く、previtamin D<sub>3</sub>の転位反応によりvitamin D<sub>3</sub>が生成する。vitamin D<sub>3</sub>はvitamin D-binding protein (DBP) に結合して肝臓に運ばれる。

肝臓では肝細胞のミクロソームに存在するチトクロームP450酵素 (CYP2R1)によって25位が水酸化され、25-hydroxyvitamin D<sub>3</sub> (25-(OH)-VD<sub>3</sub>) が生成する。25-(OH)-VD<sub>3</sub>は再びDBPに結合して腎臓に運ばれ、DBPの受容体 (LRP2, Megalin)が豊富に存在する腎臓の近位尿細管細胞でエンドサイトーシスによって細胞内に取り込まれる。DBPから解離した25-(OH)-VD<sub>3</sub>はミトコンドリアに取り込まれ、1 $\alpha$ -水酸化酵素 (CYP27B1)によって1 $\alpha$ 位が水酸化され1 $\alpha$ ,25-dihydroxyvitamin D<sub>3</sub> (1 $\alpha$ ,25-(OH)<sub>2</sub>-VD<sub>3</sub>)となる。1 $\alpha$ ,25-(OH)<sub>2</sub>-VD<sub>3</sub>が血流を介して小腸、腎臓、骨などのビタミンDの標的臓器に運ばれると、細胞核内ビタミンD受容体タンパク (vitamin D receptor: VDR)に結合する。これに、ビタミンA受容体であるレチノイン酸受容体 (retinoid X receptor: RXR)とヘテロダイマーを形成して、その複合体がクロマチン上

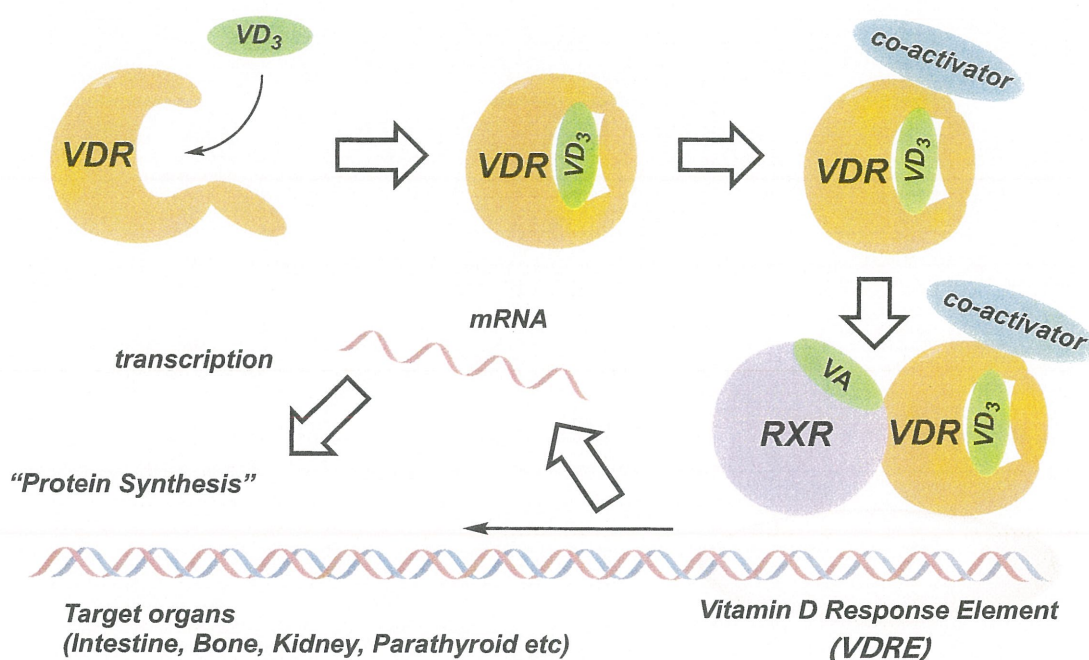
の特定部位と結合し、ビタミンDの標的遺伝子のvitamin D response element (VDRE)を介して転写 (transcription)を調節し、作用を発揮する。<sup>9</sup> (Figure 1-3-1, 1-3-2)

Figure 1-3-1



<sup>9</sup> (a) D. J. Mangelsdorf, C. Thummel, M. Beato, P. Herrlich, G. Schutz, K. Umesono, B. Blumberg, P. Kastner, M. Mark, P. Chambon and R. M. Evans, *Cell*, **1995**, 83, 835–839; (b) Y. Liu, C. Nguyen and S. Peleg, *Mol. Endocrinol.*, **2000**, 14, 1776–1787; (c) N. Rochel, J. M. Wurtz, A. Mitschler, B. Klaholz and D. Moras, *Mol. Cell*, **2000**, 5, 173–179; (d) W.-V. Tee, A. M. Ripen and S. B. Mohamad, *Sci. Rep.*, **2016**, 6, 35937; (e) C. Carlberg, *J. Cell. Biochem.*, **2003**, 88, 274–281; (f) A. Kato, T. Itoh, Y. Anami, D. Egawa and K. Yamamoto, *Bioconjugate Chem.*, **2016**, 27, 1750–1761; (g) Y. Anami, N. Shimizu, T. Ekimoto, D. Egawa, T. Itoh, M. Ikeguchi and K. Yamamoto, *J. Med. Chem.*, **2016**, 59, 7888–7900; (h) A. Kato, M. Yamao, Y. Hashihara, H. Ishida, T. Itoh and K. Yamamoto, *J. Med. Chem.*, **2017**, 60, 8394–8406.

Figure 1-3-2



これまでの活性型ビタミンD<sub>3</sub>を基盤とする薬剤開発は、主に天然物の構造を変化させる手法で行なわれてきているが、それらほとんどの場合、A環部誘導体および側鎖誘導体である。<sup>10</sup> これらと比較すると、化合物の中心部にある*trans*-ヒドロインダン構造から構築されたC,D環部誘導体の合成や活性評価は意外にも例が少ない。これは、C,D環部が比較的合成が容易でない*trans*-ヒドロインダン構造であり、<sup>11</sup> 天然型のC,D環部はビタミンD<sub>2</sub>の分解物から比較的容易に得られる事が原因である。これまでに数多くのC,D環部合成法が開発されてきているが、多段階・低効率であり、実際の医薬開発では実用されることは無かった。そのためC,D環部の骨格構造自体を変換した誘導体は数少なく、またその系統的な構造活性相関は明ら

<sup>10</sup> (a) G. T. Valentini, N. Rochel, J. M. Wurtz and D. Moras, *J. Med. Chem.*, **2004**, *47*, 1956-1961; (b) M. J. Pgeritsen, J. B. Mboezeman, I. M. J. J. Van. Vlijmen-willems and P. C. M. Van. De Kerkhof, *British Journal of Dermatology.*, **1994**, *131*, 57-63; (c) A. J. Brown, C. R. Ritter, J. L. Finch, J. Morrissey, K. J. Martin, E. Murayama, Y. Nishii and E. Slatopolsky, *J. Clin. Invest.*, **1989**, *84*, 728-732; (d) H. F. DeLuca, H. K. Schnoes, K. L. Perlman, R. R. Sicinski and J. M. Prahl, *Eur. Pat. Appl. EP.*, 387, 077; *Chem. Abstr.*, **1991**, *144*, 185853u; (e) E. Slatopolsky, J. Finch, C. Ritter, M. Denda, J. Morrissey, A. Brown and H. F. DeLuca, *American Journal of Kidney Diseases.*, **1995**, *26*, 852-860. (f) T. Okana, N. Tsugawa, S. Masuda, A. Takeuchi, T. Kobayashi, Y. Takita and Y. Nishii, *Biochemical and biophysical research communicateon.*, **1989**, *163*, 1444-1449.

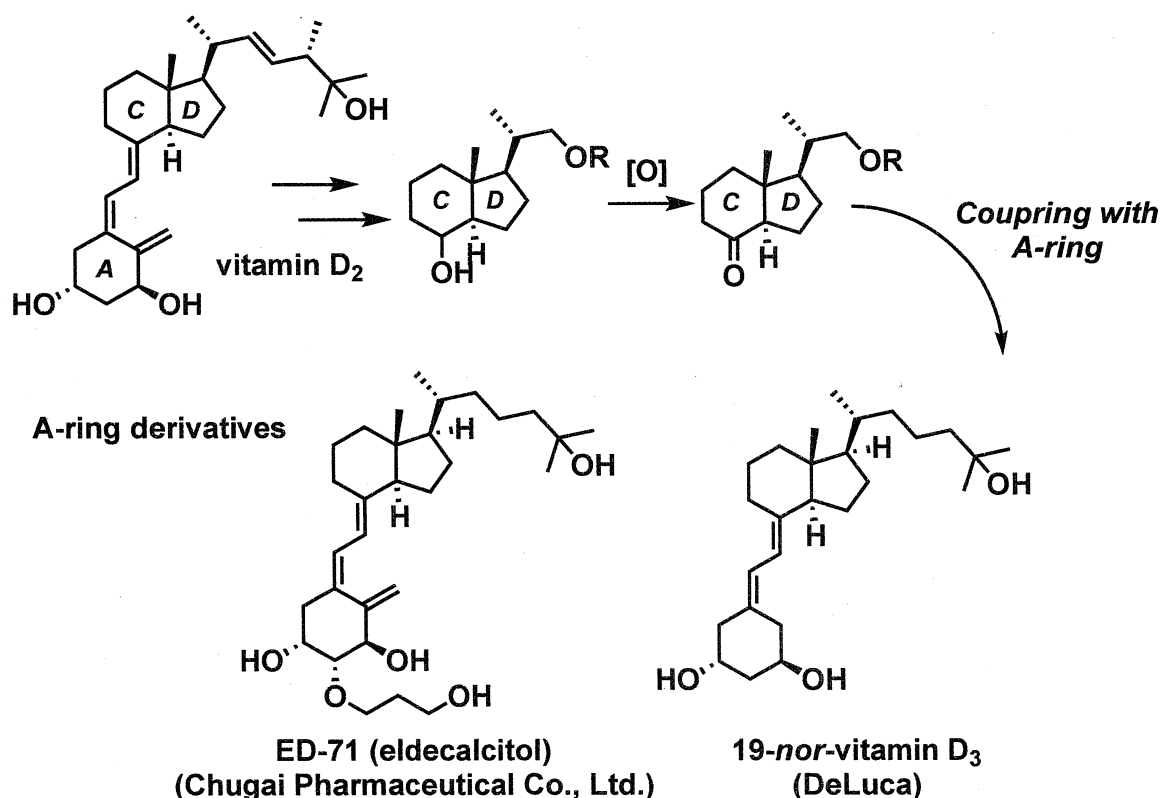
<sup>11</sup> (a) P. M. Wovkulich, F. Barcelos, A. D. Batcho, J. F. Sereno, E. G. Baggiolini, B. M. Hennessy and M. R. Uskokovic, *Tetrahedron*, **1984**, *40*, 2283.

かになっていない。<sup>12</sup>

即ち、従来の誘導体開発は、天然から得られるビタミンD<sub>2</sub>の酸化分解でC,D環部を調達し、これにA環部と側鎖を導入してビタミンD構造を再構築する方法で行われてきた。こうした中で、毒性と薬理作用の乖離を目的とした誘導体が多く合成され、実際に骨粗鬆症、乾癬症、副甲状腺機能亢進症などの治療薬として上市されている。最近では、大腸がん、直腸がんの治療にも使用されている。

一方で、非カルシウム作用型のものとして、19-*nor*体など一部の構造変換が、カルシウム作用を抑えて細胞分化誘導作用を残すことに成功しているが、作用強度や作用分離の点ではまだまだ充分ではない。それでも、新規外用薬として皮膚癌（乾癬）の治療薬が臨床応用に至っている事は特筆すべき事である。(Figure 1-4-1, 1-4-2)

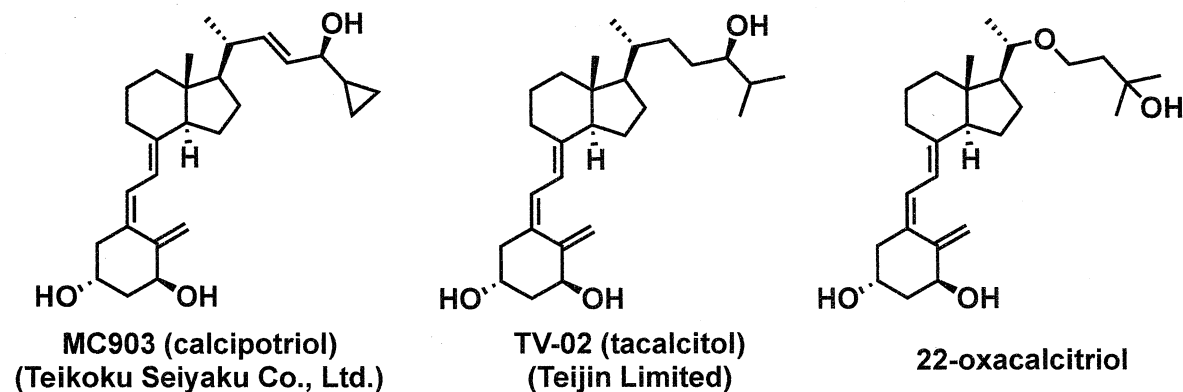
Figure 1-4-1



<sup>12</sup> (a) A. R. Daniewski and J. Kiegiel, *J. Org. Chem.*, **1988**, *53*, 5534-5535; (b) R. K. Haynes, S. C. Vonwiller and T. W. Hambley, *J. Org. Chem.*, **1989**, *54*, 5162-5170; (c) W. S. Johnson, J. D. Elliott and G. Hanson, *J. Am. Chem. Soc.*, **1984**, *106*, 1138-1139.

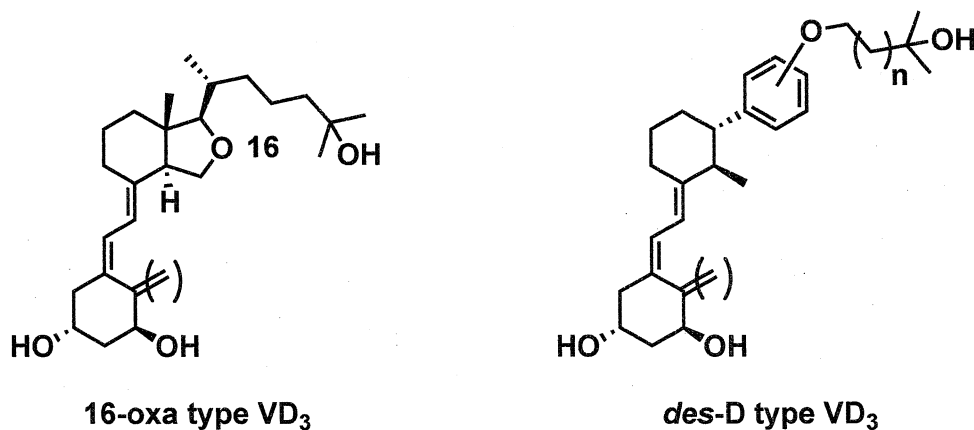
Figure 1-4-2

## sidechain derivatives



このような背景から、本研究では修飾C,D環部誘導体の開発に取り組み、16-oxa型ビタミンD誘導体と *des*-D型ビタミンD誘導体を基盤とした誘導体開発を行ってきた。<sup>13</sup> (Figure 1-5-1)

Figure 1-5-1



16-oxa型ビタミンD誘導体は、ビタミンD骨格16位の炭素原子を酸素原子に置換した誘導体である。16-oxa型ビタミンD誘導体は、それ自体大きな構造変化はないものの、1 $\alpha$ ,25-(OH)<sub>2</sub>-VD<sub>3</sub>と比較して、16位が酸素原子に置き変わったことで、これを起点として、主に側鎖末端25位水酸基部分が多少ずれた誘導体となることが予

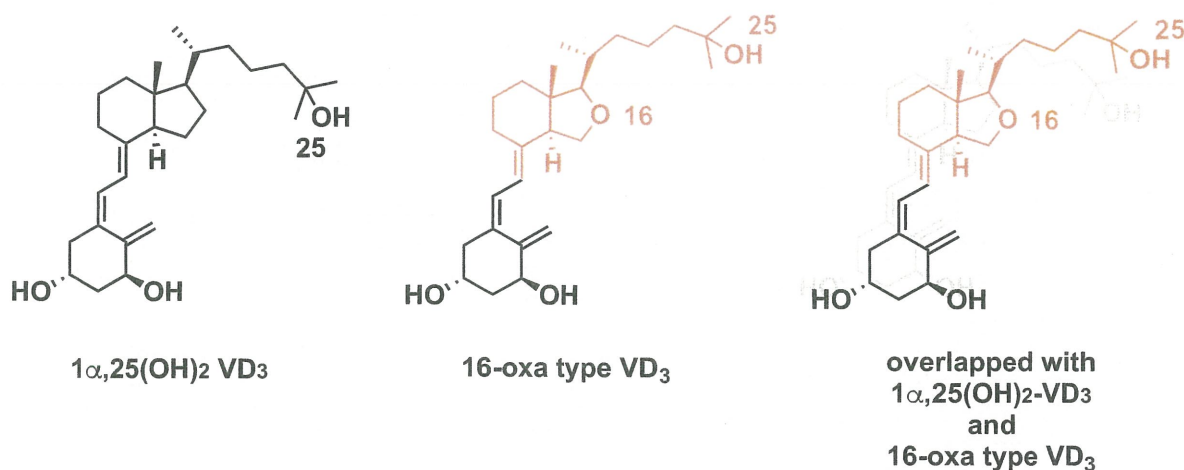
<sup>13</sup> これまでの当研究室での基礎研究; (a) 2008年度 津波古 亜希子 修士論文 (神奈川大学); (b) 2010年度 林 直人 修士論文 (神奈川大学); (c) 2011年度 長谷川 祐介 修士論文 (神奈川大学); (d) 2011年度 剣持 清秀 修士論文 (神奈川大学); (e) 2018年度 中田 春樹 修士論文 (神奈川大学).



測できる。この若干の構造変化が従来のビタミンD誘導体とは異なる生理活性作用を持つことに期待できる誘導体である。

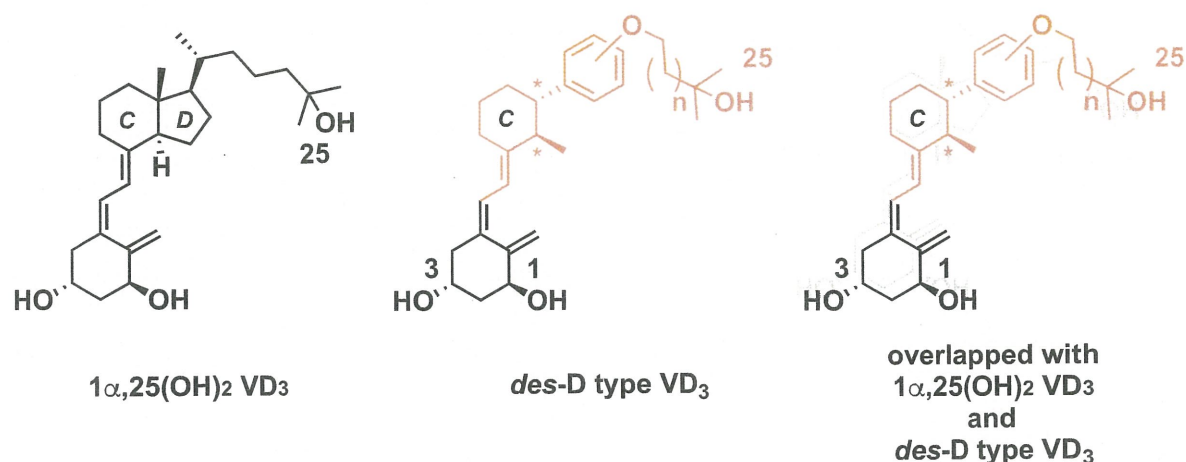
そして、16-oxa型ビタミンD誘導体に一定の生理活性作用を見い出せれば、これを基盤とした誘導体群の構築も有用となる。即ち、16-oxa型ビタミンD誘導体として、従来のビタミンD誘導体報告例にある、側鎖またはA環部を修飾した構造を組み込んだものは全て新規誘導体となり、その生理活性作用にも期待が持てる。このような理由から、16-oxa型ビタミン D<sub>3</sub>は新しい誘導体として合成的にも戦略的にも有用である。(Figure 1-5-2)

Figure 1-5-2



*des*-D型ビタミンD誘導体は、C,D 環部のD環部を廃し、側鎖として芳香環を導入した誘導体である。この*des*-D型ビタミンD誘導体はD環部を廃した構造であるが、活性型ビタミンD<sub>3</sub>がビタミンD受容体と水素結合を形成する3つの水酸基部分と同様の空間配置を持った誘導体設計が可能であり、新規ビタミンD誘導体として期待できる。このD環部を廃した誘導体は、その合成が比較的容易に行える可能性を持ち、C環部メチル基と側鎖部との立体異性体と芳香族部分に導入する側鎖の位置異性体を組み合わせた誘導体群の構築を可能とする。このため、この種の誘導体に一定の活性があれば、比較的広範囲なライブラリー構築を行い、且つ、作用分離を期待できる新規誘導体探索が可能となる。(Figure 1-5-3)

Figure 1-5-3



本研究では、この2種類の新規ビタミンD誘導体の構造設計と合成、そして活性評価により誘導体探索を行うことを計画した。これら誘導体ライブラリーの構築については、第三章、第四章にて詳細を記述する。

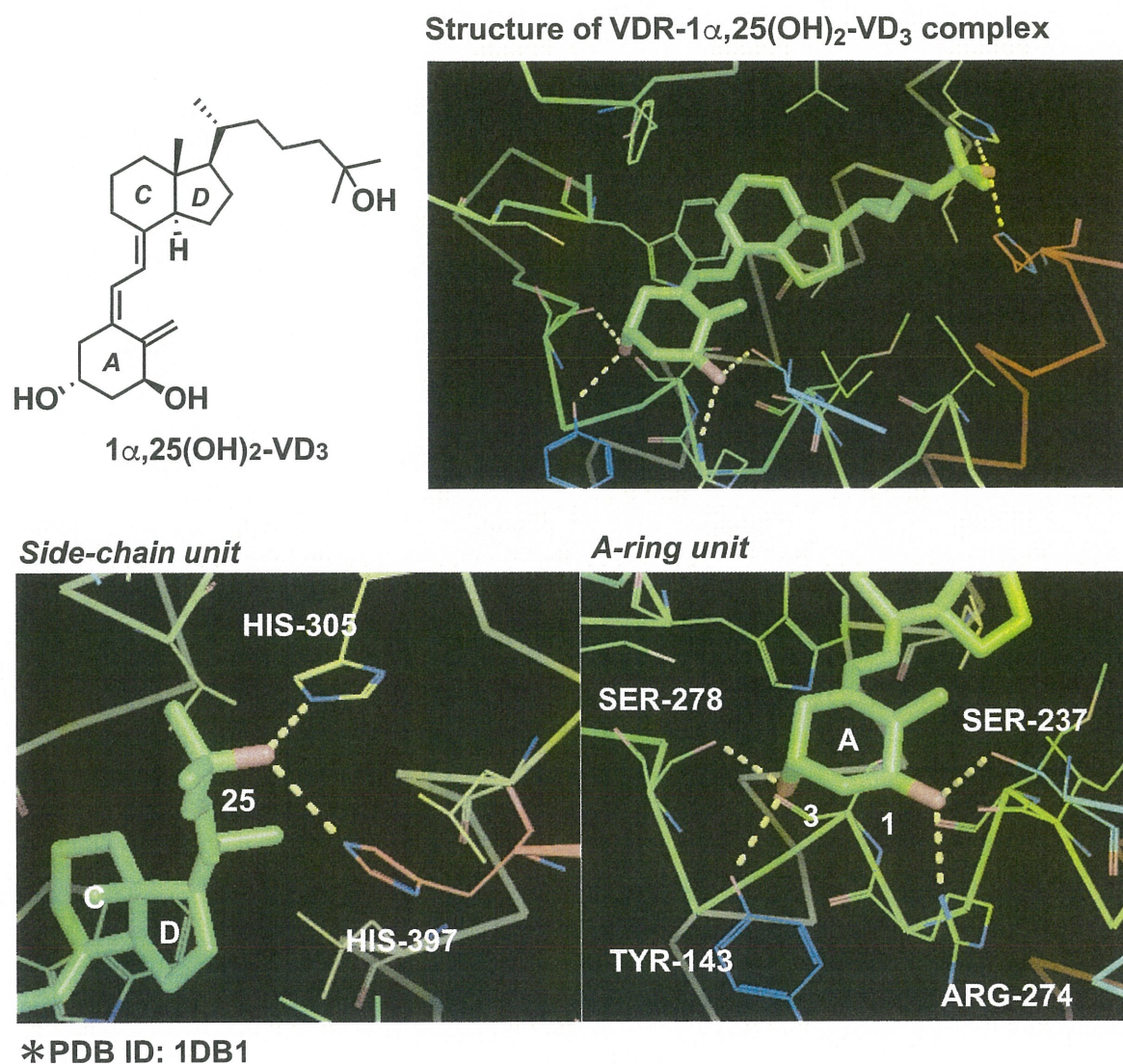
新規誘導体合成の有用性を考察するにあたり、その構造設計にビタミンD受容体タンパク質と新規誘導体の結合親和性を予測するドッキングシミュレーションを取り入れた。

このような誘導体設計は、20年ほど前から、標的タンパク質の立体構造に基づいた医薬品化合物設計の手法 (structure-based drug design, SBDD)として創薬研究分野に取り入れられており、その一つに標的タンパク質とリガンドの立体的な結合構造と結合親和性を予測するドッキング計算 (protein-ligand docking)が用いられている。

本研究のターゲットタンパク質であるVDRは $1\alpha,25(\text{OH})_2\text{-VD}_3$ との複合体結晶データが2000年に報告されており、その結合形式が明らかにされている。<sup>14</sup> 即ち、 $1\alpha,25(\text{OH})_2\text{-VD}_3$ はVDR内で、側鎖末端部分の25位水酸基がヒスチジン残基 (HIS-305, HIS-397)と水素結合し、A環部1, 3位の水酸基がセリン残基、アルギニン残基、チロシン残基 (1位: SER-237, ARG-274, 3位: SER-278, TYR: 143)と水素結合を形成する空間配置を取る結合形式である。(Figure 1-6-1)

<sup>14</sup> N. Rochel, J. M. Wurtz, A. Mitschler, B. Klaholz, D. Moras, *Mol. Cell.*, **2000**, 5, 173-179.

Figure 1-6



これを皮切りに、現在までに約100種類ほどのビタミンD誘導体とVDRの複合体結晶構造が解明されてきており、その結晶構造データは、オープンデータベースであるprotein data bank (PDB)に蓄積されている。このオープンソースとドッキングプログラムを併用することで、簡易的なVDRへの結合能ドッキングシミュレーションを行うことが可能である。

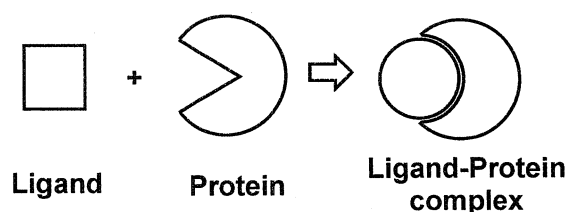
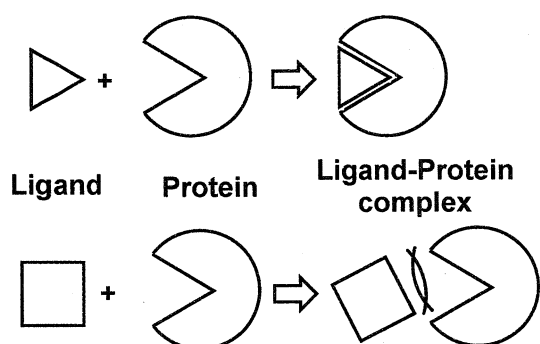
一般にドッキングシミュレーションの計算モデルは4種類に区分される。即ち、a) タンパク質とリガンドを剛体として取り扱う鍵と鍵穴モデル (lock-and-key model), b) タンパク質とリガンドの双方が結合に適した形状へ誘導最適化するモデル (induced-fit), c) リガンドの自由度と共にタンパク質の結合周辺のアミノ酸残基の



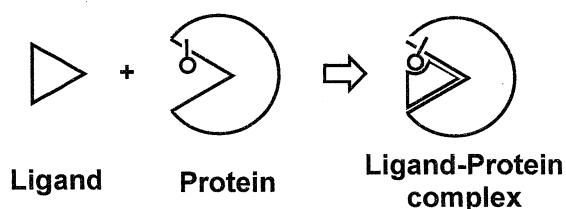
自由度を用いるモデル (partially flexible protein model), d) タンパク質を剛体として固定し, 結合ポケット内でのリガンド柔軟性を考慮した計算を行うフレキシブルドッキング (flexible docking)である。(Figure 1-7)

Figure 1-7

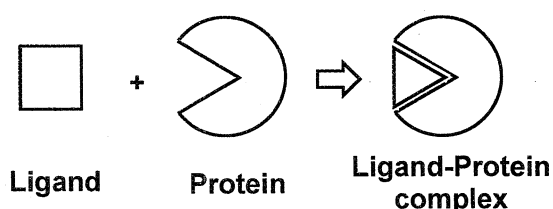
a) Lock and Key Model (Rigid Docking)    b) Induced Fit Mode (Flexible Protein Docking)



c) Partially Flexible Protein Model (Flexible Side-Chains Docking)



d) Flexible Ligand Model (Flexible Docking)



ドッキングプログラムは, 現在までに約50種類以上が多様なプラットフォームに提供されている。代表的なものとして, 有償ソフトには, Gold, Glid, Surflex, eHiTS, ASEDock, 無償ソフトには, DOCK, LigandFit, rDock, AutoDock Vinaなどがある。本研究では無償ソフトであるAutoDock<sup>TM</sup> Vina プログラムを用いた。<sup>15</sup> AutoDock<sup>TM</sup> Vinaプログラムはflexible dockingに位置するソフトウェアであり, これは, 分子力場に基づいて設計されたスコア関数 (force-field-based scoring function)として次式で表される。

<sup>15</sup> O. Trott and A. J. Olson, *J. Comput. Chem.*, **2010**, *31*, 455–461.

$$\Delta G = \Delta E_{\text{vdw}} + \Delta E_{\text{electrostatic}} + \Delta E_{\text{H-bond}} + \Delta E_{\text{desolvation}} + \Delta S_{\text{conf}}$$

$\Delta G$  : タンパク質とリガンド原子間の相互作用

$\Delta E_{\text{vdw}}$  : ファンデルワールス力

$\Delta E_{\text{electrostatic}}$  : 静電相互作用

$\Delta E_{\text{H-bond}}$  : 水素結合による相互作用

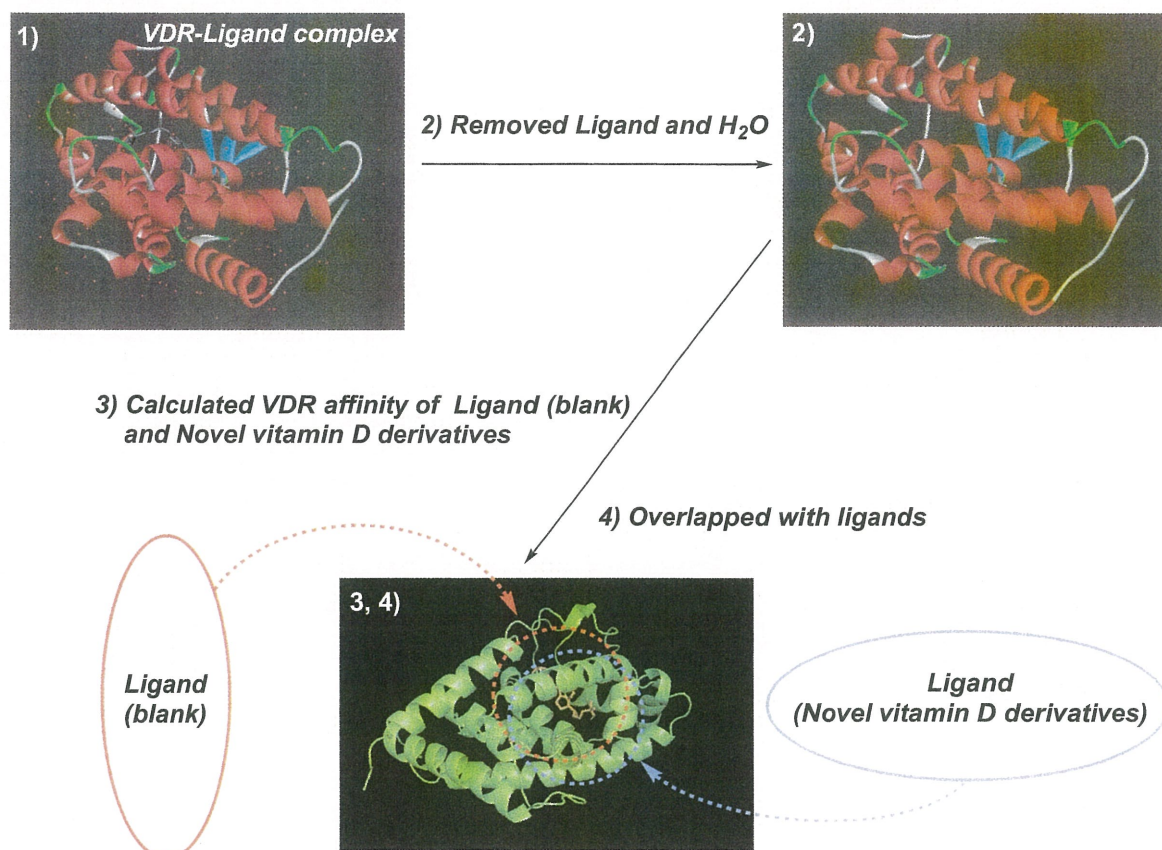
$\Delta E_{\text{desolvation}}$  : 脱溶媒効果

$\Delta S_{\text{conf}}$  : リガンドのエントロピー変化

ドッキングシミュレーションは、以下の手順により実施した。(Figure 1-8)

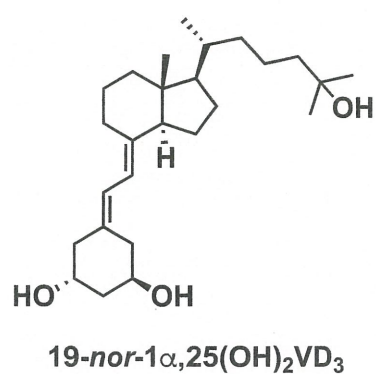
- 1) ビタミンD誘導体とVitamin D Receptor (VDR)との複合体結晶構造データが蓄積された、公共のデータベースであるProtein Data Bank (PDB)から、任意のリガンド-複合体結晶構造データを入手する。
- 2) リガンド-VDR複合体結晶データ中のリガンドと水分子をDiscovery studioにより取り除くことで、空のVDRデータとする。
- 3) 空のVDRデータに、事前にChem3Dの分子力場計算 (MM2)により構造最適化を行った、新規ビタミンD誘導体を新たなリガンドとして入れ込み、AutoDockToolによりVDRと新規誘導体との親和性を計算する。
- 4) 3)と同時に、空白となるリガンドも入れ込むことで、リガンド同士の重なり (overlap model)をPyMOLを用いて比較する。

Figure 1-8

**Molecular-Docking Study (AutoDock™ Vina program)**

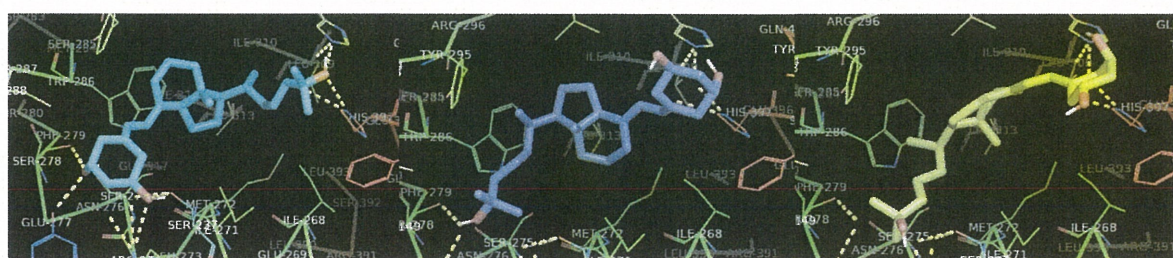
AutoDock™ Vinaを用いたドッキングシミュレーションの初期評価として、 $1\alpha,25\text{-(OH)}_2\text{-VD}_3$  と VDR との複合体結晶データ (PDB ID: 1DB1) に  $19\text{-nor-}1\alpha,25\text{(OH)}_2\text{-VD}_3$  を用いたシミュレーションを行った。 $19\text{-nor-}1\alpha,25\text{(OH)}_2\text{-VD}_3$  は  $1\alpha,25\text{-(OH)}_2\text{-VD}_3$  と比較して19位エキソメチレン基を廃した構造であり、基のリガンド構造と大きな変化はないため、これらのoverlap modelでも大きなズレはないと仮定したリガンドである。(Figure 1-9-1, 1-9-2, 1-9-3)

Figure 1-9-1



mode	affinity (kcal/mol)	dist from best mode	
		rmsd l.b.	rmsd u.b.
1	-11.5	0.000	0.000
2	-10.0	1.366	9.033
3	-9.1	1.788	9.218
4	-9.0	1.696	2.574
5	-8.9	2.333	9.683
6	-8.6	2.064	9.008

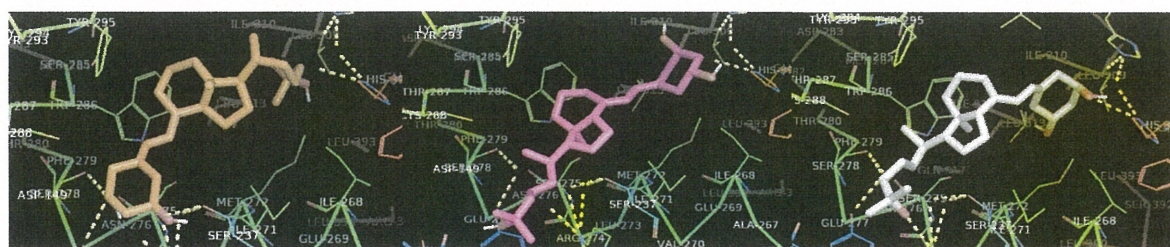
Figure 1-9-2



**mode 1**  
affinity: -11.5 kcal/mol  
rmsd l.b.: 0.000  
rmsd u.b.: 0.000

**mode 2**  
affinity: -10.0 kcal/mol  
rmsd l.b.: 1.366  
rmsd u.b.: 9.033

**mode 3**  
affinity: -9.1 kcal/mol  
rmsd l.b.: 1.788  
rmsd u.b.: 9.218



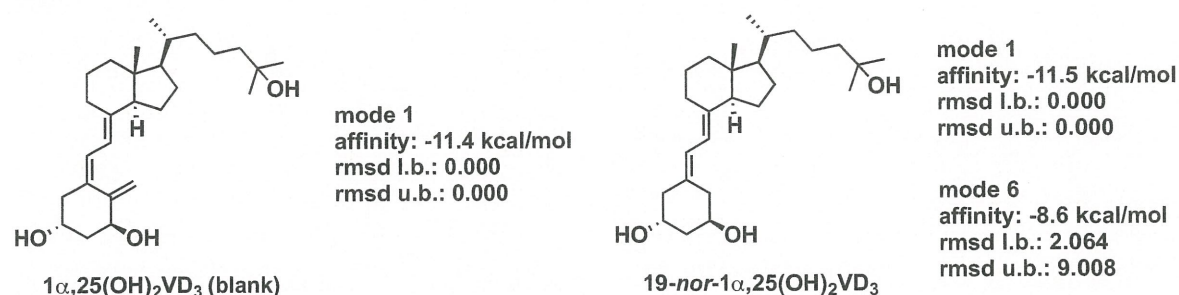
**mode 4**  
affinity: -9.0 kcal/mol  
rmsd l.b.: 1.696  
rmsd u.b.: 2.574

**mode 5**  
affinity: -8.9 kcal/mol  
rmsd l.b.: 2.333  
rmsd u.b.: 9.683

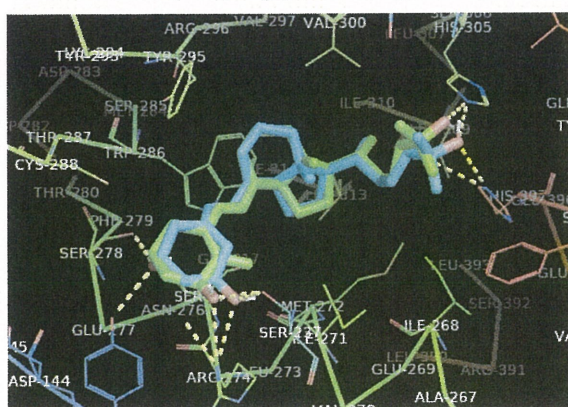
**mode 6**  
affinity: -8.6 kcal/mol  
rmsd l.b.: 2.064  
rmsd u.b.: 9.008



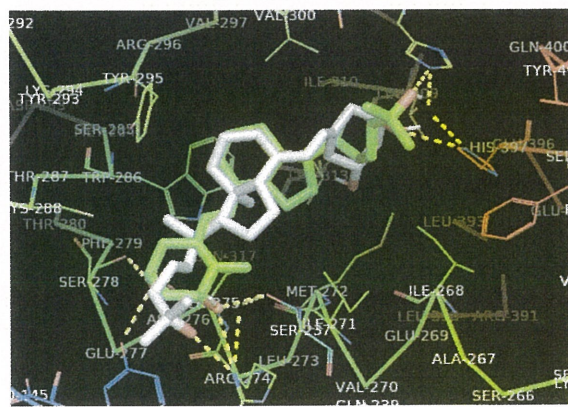
Figure 1-9-3



1) Overlapped with  $1\alpha,25(\text{OH})_2\text{VD}_3$  (green) and  $19\text{-nor-}1\alpha,25(\text{OH})_2\text{VD}_3$  (mode 1; light blue)



2) Overlapped with  $1\alpha,25(\text{OH})_2\text{VD}_3$  (green) and  $19\text{-nor-}1\alpha,25(\text{OH})_2\text{VD}_3$  (mode 6; white)



AutoDock<sup>TM</sup> Vinaによるシミュレーション結果は複数の結果が表示される。今回  $19\text{-nor-}1\alpha,25(\text{OH})_2\text{VD}_3$  を対象としたシミュレーションでは、6つの計算値が結果として得られた (Figure 1-9-1, mode 1~6)。この時、VDRとリガンドの親和性がaffinity (kcal/mol)として表示され、同時に、基のリガンド構造と新規リガンドの対応する原子同士のずれがrmsd (root mean square deviation, 平均二乗偏差)として表示される。そして、これら6種類のデータのVDR内での空間配置は全て異なる (Figure 1-9-2)。

空白である  $1\alpha,25(\text{OH})_2\text{VD}_3$  とのoverlapp modelとして  $19\text{-nor-}1\alpha,25(\text{OH})_2\text{VD}_3$  の mode 1, 6の結果を比べると、 $19\text{-nor-}1\alpha,25(\text{OH})_2\text{VD}_3$  の mode 1では空白のリガンド構造全体と良好な重なりが得られているが、mode 6の結果では、空白と比較して、C, D環部とA環部の位置が逆配置を取る結果が得られている (Figure 1-9-3)。

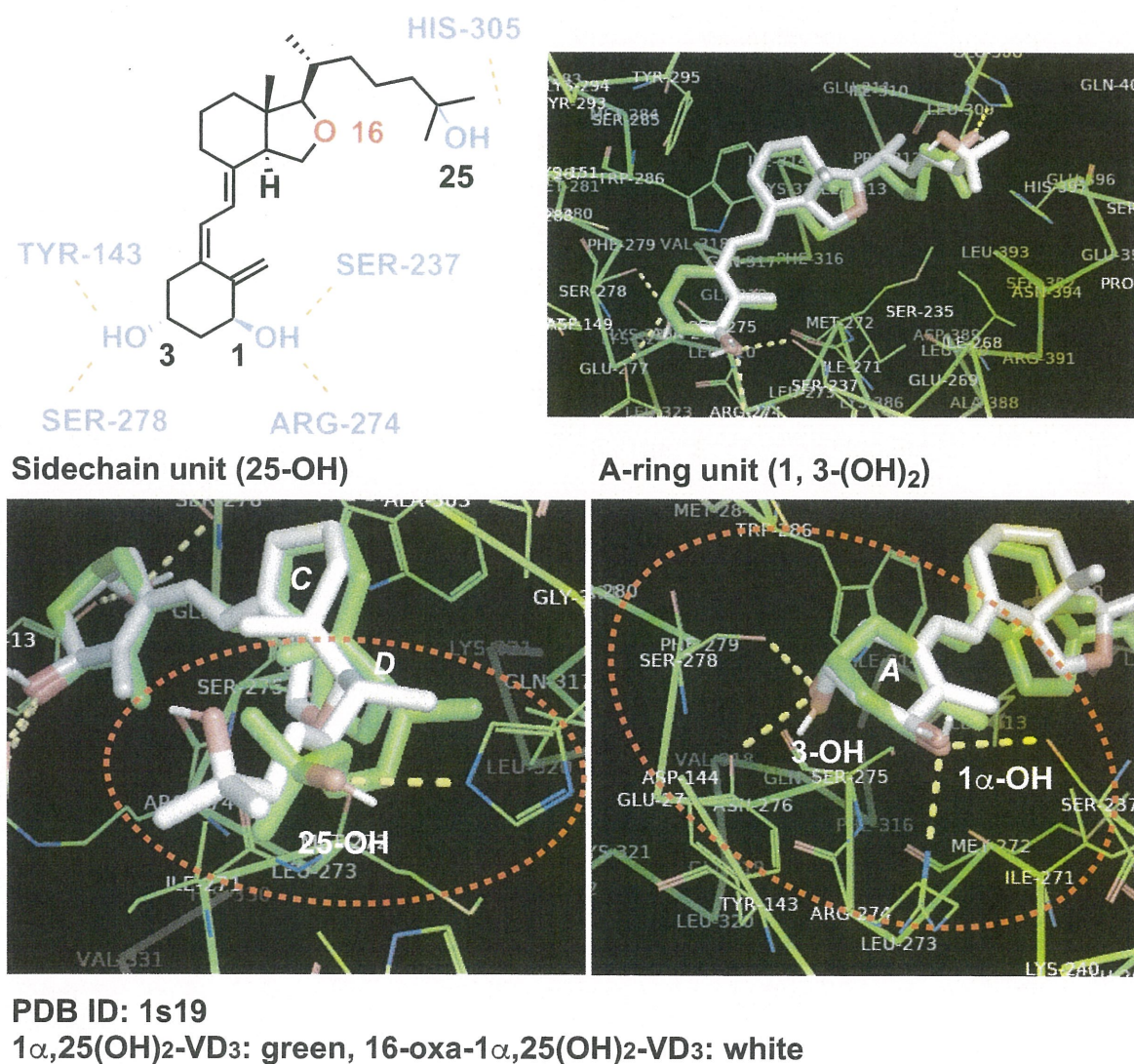
よって、本研究でAutoDockToolによる計算結果として採用するデータの条件は、rmsd l.b. (rmsd lower bound), rmsd u.b. (rmsd upper bound)が双方ともに0であり、空白として入れ込んだリガンドデータとのoverlapp modelにおいて、ビタミンD骨格の1, 3, 25位水酸基の位置が概ね一致することとした。即ち、今回



19-nor-1 $\alpha$ ,25(OH) $_2$ VD $_3$ を用いたシミュレーション結果ではmode 1の計算結果を採用することとなる。

次に、本研究でライブラリー構築を行う、16-oxa型ビタミンDと*des*-D型ビタミンDの一部誘導体のドッキングシミュレーションを用いた若干の考察を行った。シミュレーション結果として、16-oxa型ビタミンD誘導体は1 $\alpha$ ,25(OH) $_2$ VD $_3$ と比較して、その構造の空間配置はほとんど一致しているが、側鎖末端部分25位の水酸基の位置が若干ずれた位置を取ることが見て取れる。(Figure 1-10-1)

Figure 1-10-1

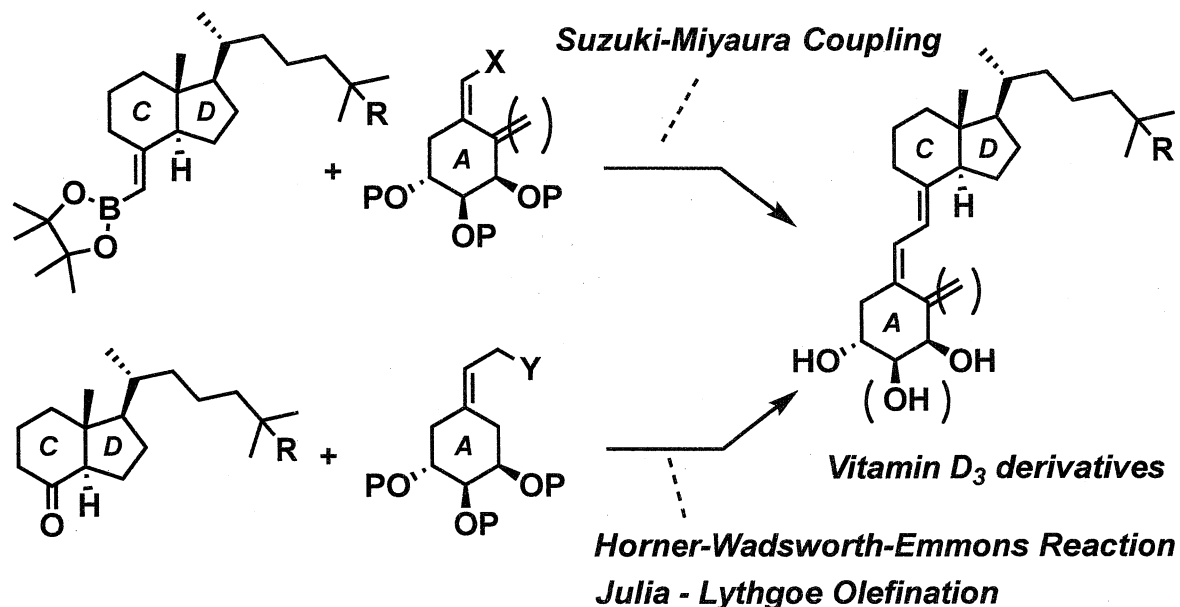






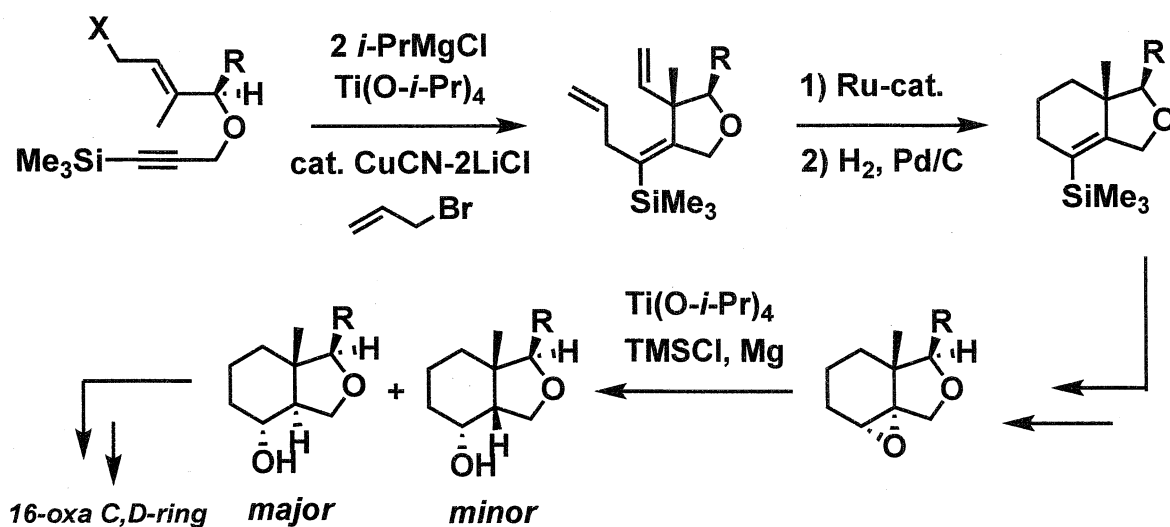
第二章では、新規ビタミンD誘導体のライブラリー構築に向けた、共通A環部ユニットの合成と天然型C,D環部とA環部ユニットとのA-C,Dカップリング反応の検討について論ずる。(Figure 1-11)

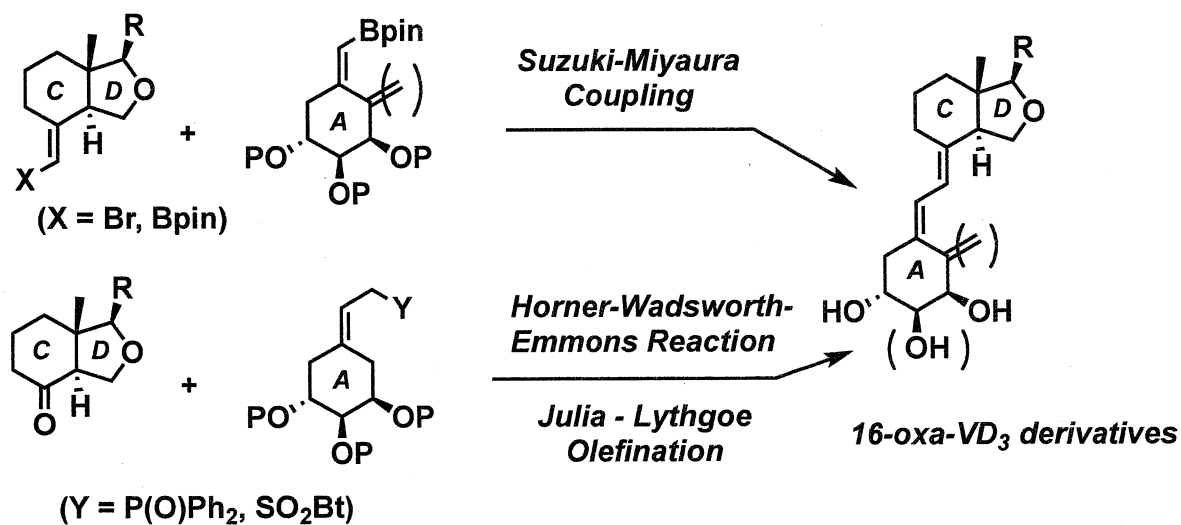
Figure 1-11



第三章では、C,D環部16位に酸素原子を導入した16-oxa型ビタミンD誘導体の合成について論ずる。(Figure 1-12-1)

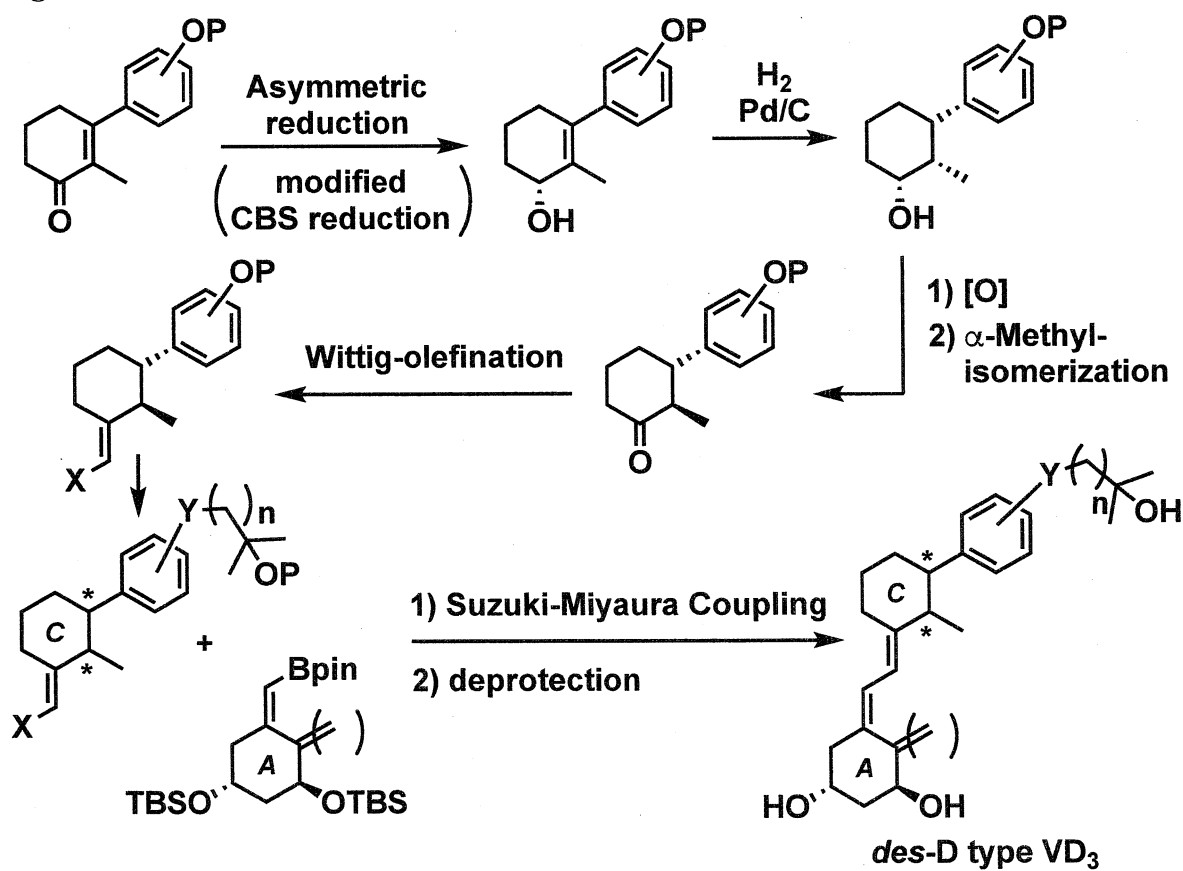
Figure 1-12-1





第四章では、D環部を廃した*des*-D型ビタミンD誘導体の合成について論ずる。  
 (Figure 1-13)

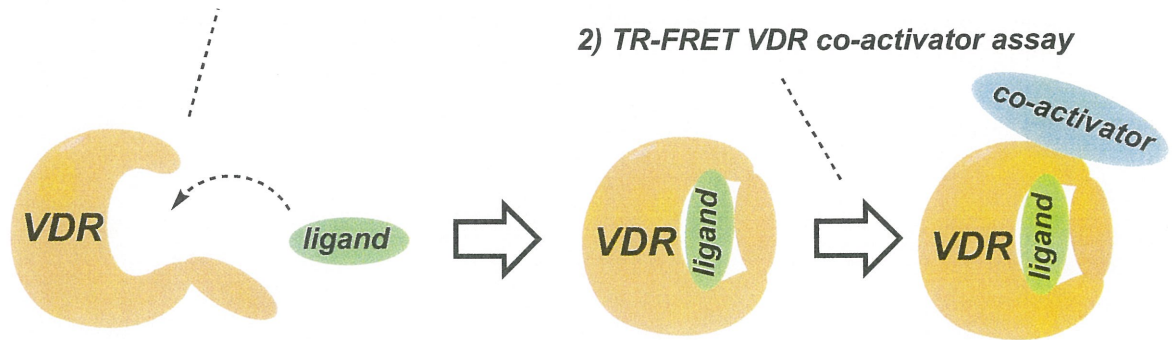
Figure 1-13



第五章では、新規ビタミンD誘導体である、16-oxa型, *des*-D型ビタミンD誘導体のVDRに対する親和性及び結合能評価について論ずる。(Figure 1-14)

Figure 1-14

1) Fluorescence Polarization VDR competitor assay



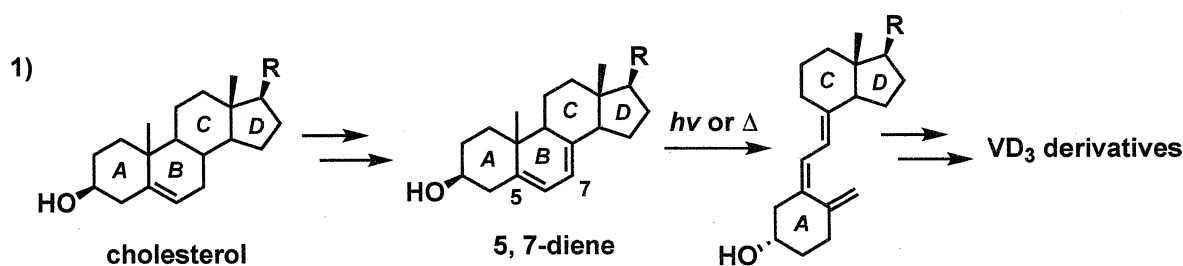
第六章では、総括と展望について述べる。

## 第二章 新規ビタミンD誘導体ライブラリー構築に向けた共通A環部ユニットの合成とA-C,Dカップリング反応の検討

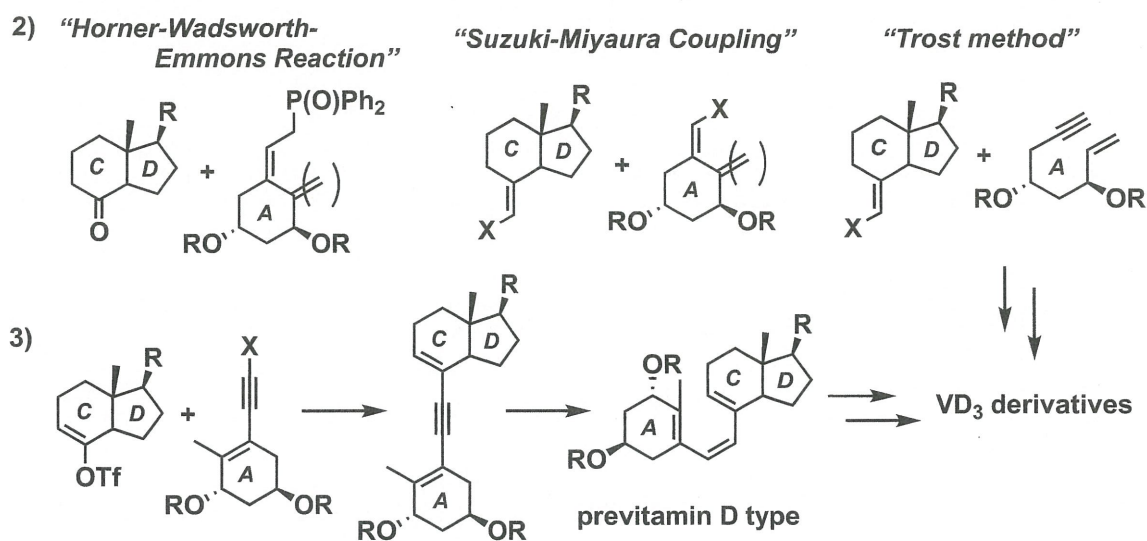
ビタミンD誘導体の主な合成法には、1) コレステロール骨格からB環部5, 7-diene体を経由して、熱または光異性化によりビタミンD骨格を構築する手法、2) A-C,D環部のカップリング反応を用いたコンバージェント法によりビタミンD骨格を構築する手法、3) コンバージェント法によるカップリング体の構築とプレビタミンD体の異性化を経由して、ビタミンD骨格を構築する手法が報告されている。<sup>16</sup> (Figure 2-1)

本研究で合成を計画している新規ビタミンD誘導体は、修飾C,D環部誘導体であることからコンバージェント法による誘導体の構築が必要であり、A環部は天然型及び19-*nor*型を必要とするため、Suzuki-Miyaura CouplingまたはHoner-Wadsworth-Emmons Reactionを用いる誘導体構築が望まれる。

Figure 2-1



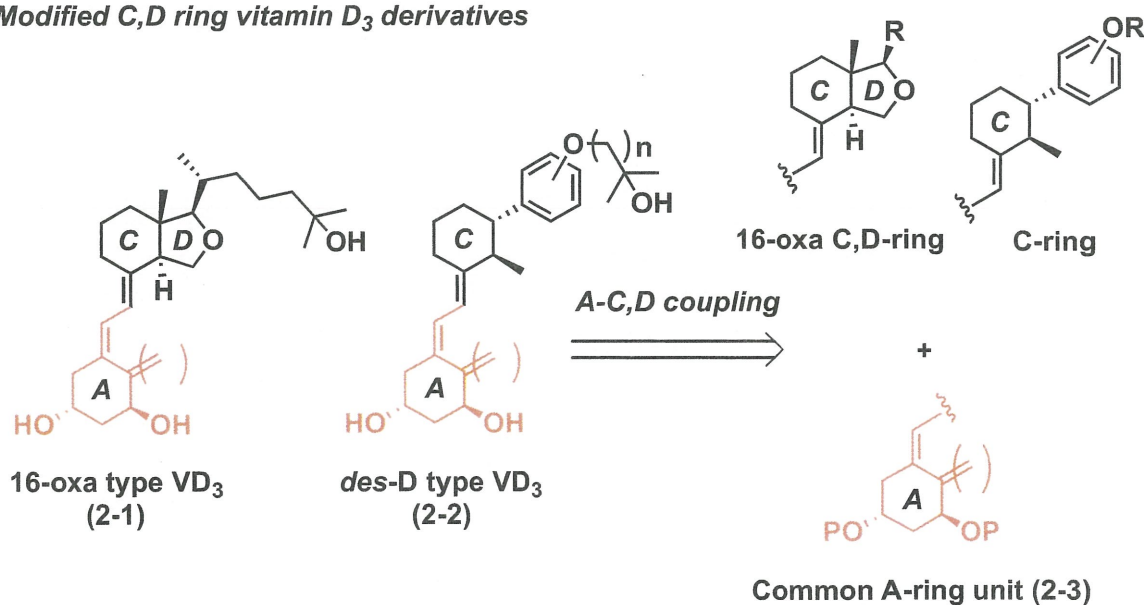
<sup>16</sup> (a) A. Windaus, H. Lettr and F. Schenck, *Justus Liebig's Ann. Chem.*, **1935**, 520, 98-106; (b) G. D. Zhu and W. H. Okamura, *Chem. Rev.*, **1995**, 95, 1877-1952; (c) E. G. Baggiolini, J. A. Iacobelli, B. M. Hennessy, A. D. Batcho, J. F. Sereno and M. R. Uskokovic, *J. Org. Chem.*, **1986**, 51, 3098-3108; (d) L. Castedo, A. Mourino and L. A. Sarandeses, *Tetrahedron Lett.*, **1986**, 27, 1523-1526; (e) B. M. Trost, J. Dumas and M. Villa, *J. Am. Chem. Soc.*, **1992**, 114, 9836-9845; (f) T. Hanazawa, A. Koyama, K. Nakata, S. Okamoto and F. Sato, *J. Org. Chem.*, **2003**, 68, 9767-9772; (g) T. Hanazawa, A. Koyama, T. Wada, E. Morishige, S. Okamoto and F. Sato, *Org. Lett.*, **2003**, 5, 523-525 and 3167.



新規ビタミンD誘導体となる、16-oxa型ビタミンD誘導体 **2-1**と *des*-D型ビタミンD誘導体 **2-2**のコンバージョン法による構築は、共通のA環部ユニット **2-3**と共通のA-C,Dカップリング反応を必要とする。

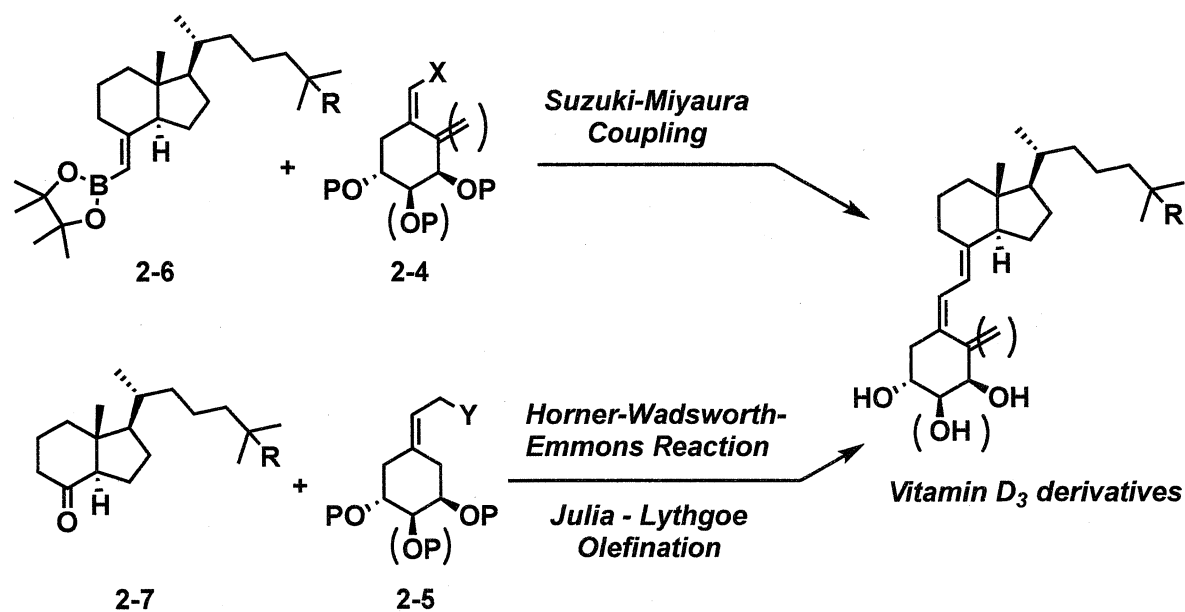
即ち、この2種類の新規ビタミンD誘導体を基盤とするライブラリー構築の事前試験として、共通A環部ユニット **2-3**の合成とA-C,D環部のカップリング反応条件の最適化を検討することが必要である。 (Figure 2-2)

Figure 2-2  
Modified C,D ring vitamin D<sub>3</sub> derivatives



このため本章では、共通A環部ユニット **2-4**, **2-5**の合成と別途調達した天然型C,D環部**2-6**, **2-7**とのA-C,Dカップリング反応検討を実施した。尚、本章で行った合成のほとんどは既存の手法に従っているが、合成過程の多くで条件検討等を必要としたので、その部分を重点的に記述する。(Figure 2-3)

Figure 2-3

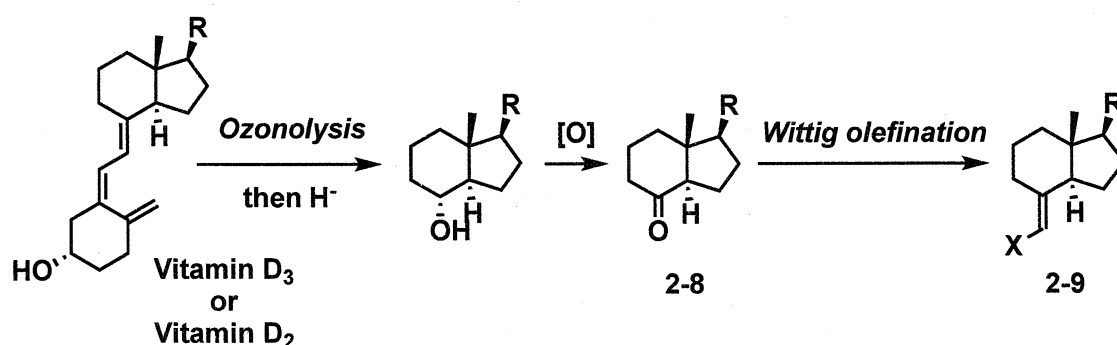




## 2-1. 天然型C,D環部ユニット合成

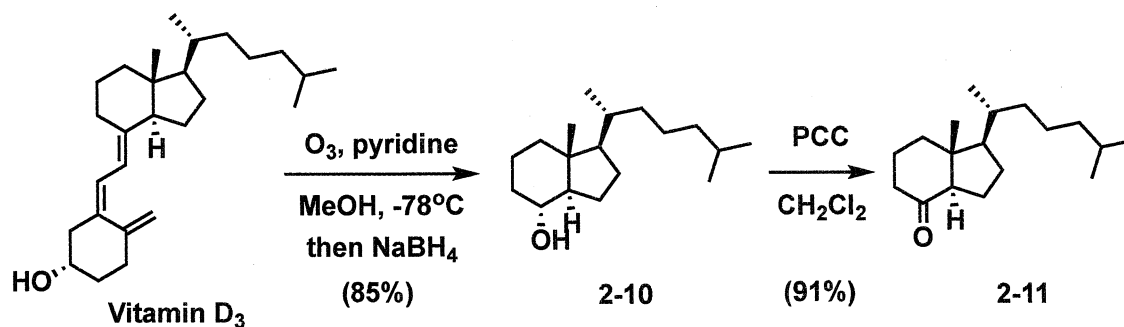
新規ビタミンD誘導体構築に向けた、A-C,Dカップリング反応の検討には天然型C,D環部ユニット **2-8**, **2-9**を必要とする。この合成は、市販のビタミンD<sub>2</sub>及びD<sub>3</sub>のオゾン酸化によるC,D環部の切り出しを行う手法を用いた。<sup>17</sup> (Figure 2-4)

Figure 2-4

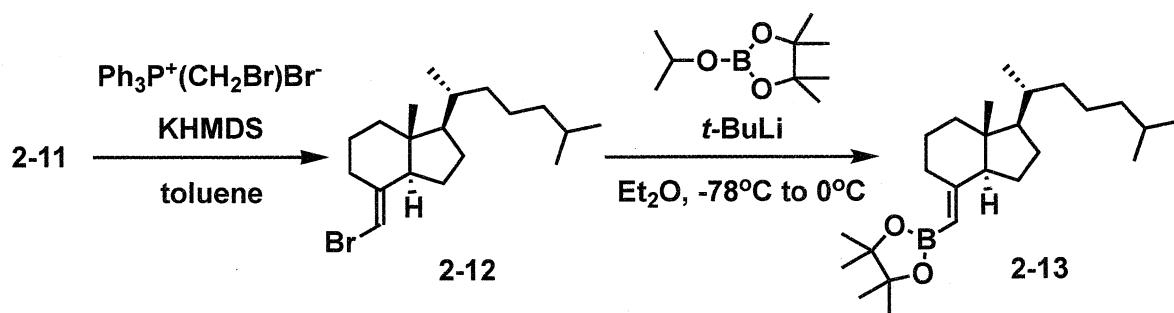


即ち、ビタミンD<sub>2</sub>またはビタミンD<sub>3</sub>のオゾン酸化とNaBH<sub>4</sub>を用いるヒドリド還元を行うことで、対応するC,D環部ユニットであるモノアルコール体 **2-10** (85%)とジオール体 **2-14** (86%)を得た。モノアルコール体 **2-10**はPCCを用いた2級アルコールの酸化反応 (**2-11**: 91%)とPh<sub>3</sub>P<sup>+</sup>(CH<sub>2</sub>B)rBr<sup>-</sup>とKHMDSを用いるWittig-olefinationによりE体選択的にブロモメチレン体 **2-12** を経由し、*t*-BuLiを用いてアルキルリチウムとしたC,D環部に、*i*-PrOBpinを加えることでボラン体 **2-13**を合成した。(Scheme 2-1-1, 2-1-2)

Scheme 2-1

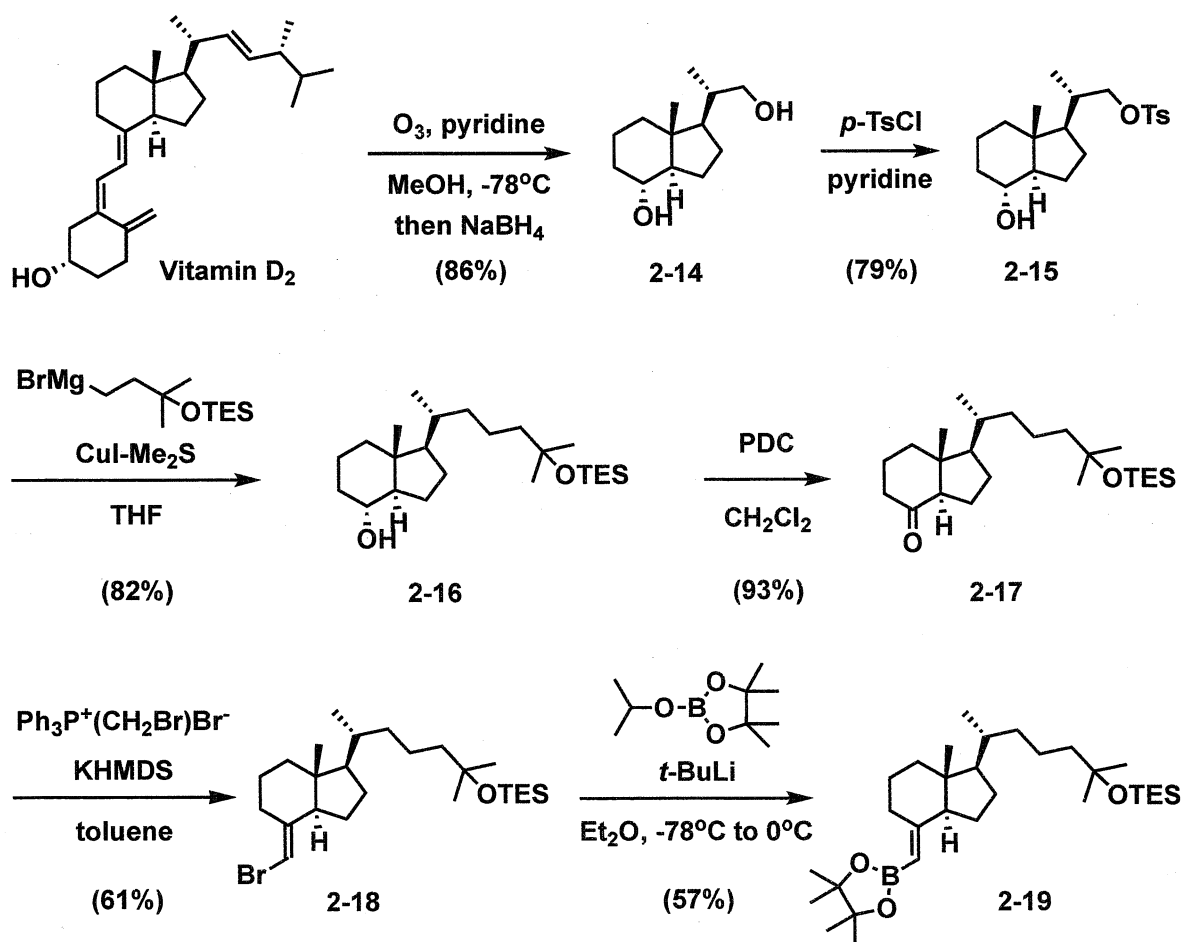


<sup>17</sup> E. Mincione, P. Bovicelli, M. L. Forcellese, *Synthetic Communications*, **1989**, *19*, 723-735.



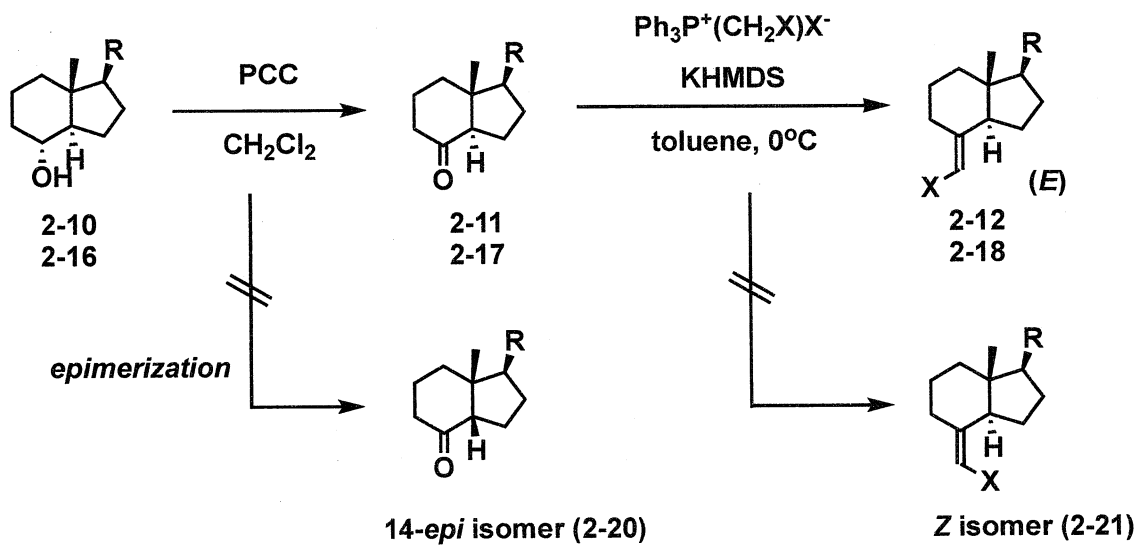
ジオール体 **2-14**は、一級アルコールの選択的トシル化と、側鎖ユニットの Grignard試薬と有機銅触媒を用いた側鎖の導入を行った (**2-15**: 79%, **2-16**: 82%)。その後は、先のC,D環部ユニットの合成法と同様の手法により目的のC,D環部ユニットを合成した。(**2-17**: 93%, **2-18**: 61%, **2-19**: 57%)。 (Scheme 2-2)

Scheme 2-2



天然型C,D環部を合成する上で、アルコール体 **2-10**, **2-11**の酸化反応時の14位プロトンのエピメリ化 (**2-20**)とケトン体 **2-11**, **2-17**の Wittig-olefinationによるZ体 (**2-21**)の生成が懸念されるが、この合成手法によるこれら副生成物の生成は見られなかった。(Figure 2-5)

Figure 2-5



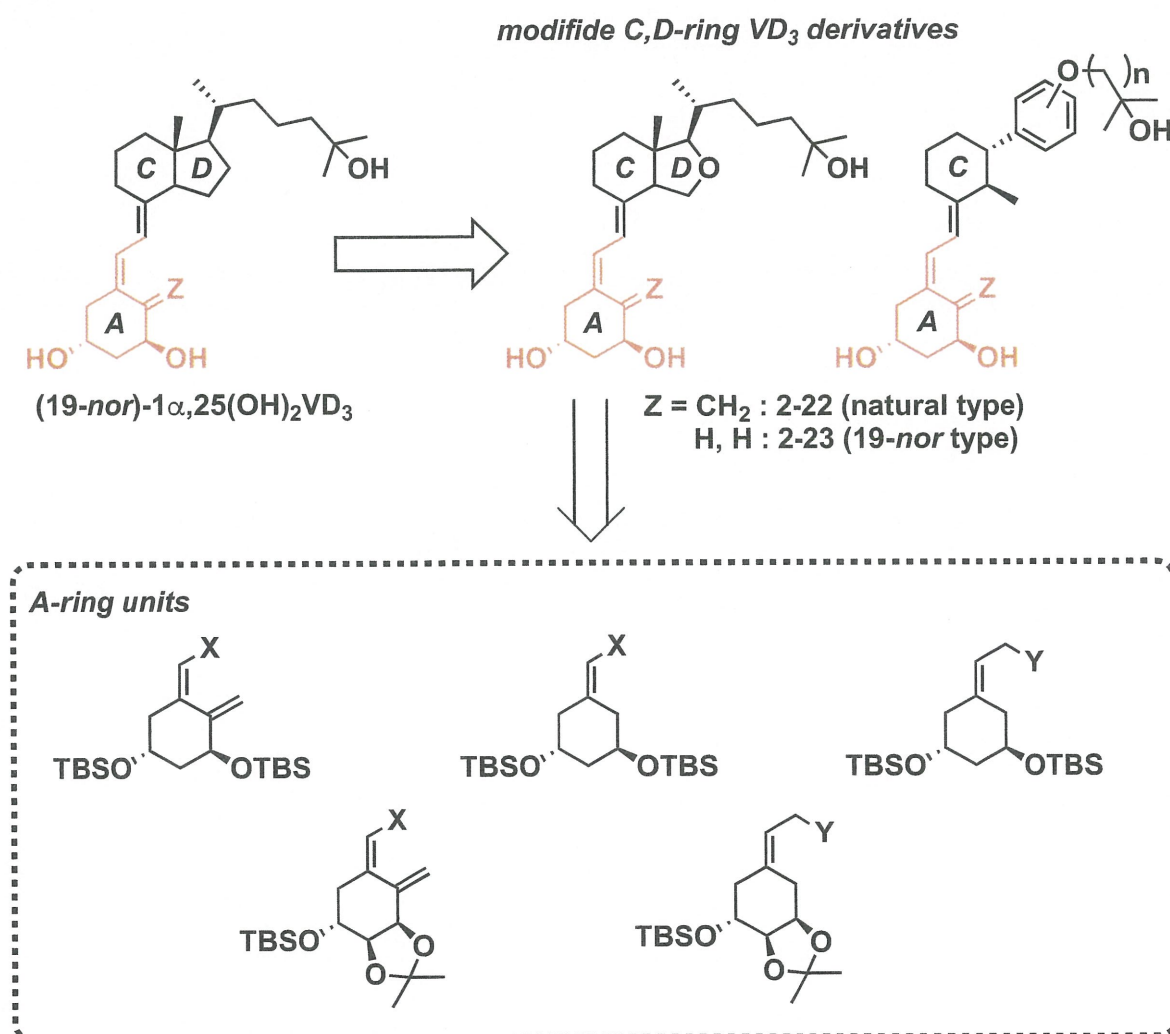
以上、合成した天然型C,D環部 **2-11**, **2-12**, **2-13**, **2-17**, **2-18**, **2-19**はA環部とのカップリング反応の検討に使用する。

## 2-2. A環部ユニット合成

修飾C,D環ビタミンD誘導体の構造活性相関を解明することを目的とした場合、そのA環部ユニットは天然型 **2-22**もしくは、DeLucaらによって報告されている19-nor型 **2-23**<sup>18</sup>を用いることが望ましく、これらA環部ユニットの継続的な供給が必要である。本研究では、4種類の原料体からのA環部ユニットの合成を実施した。

(Figure 2-6)

Figure 2-6

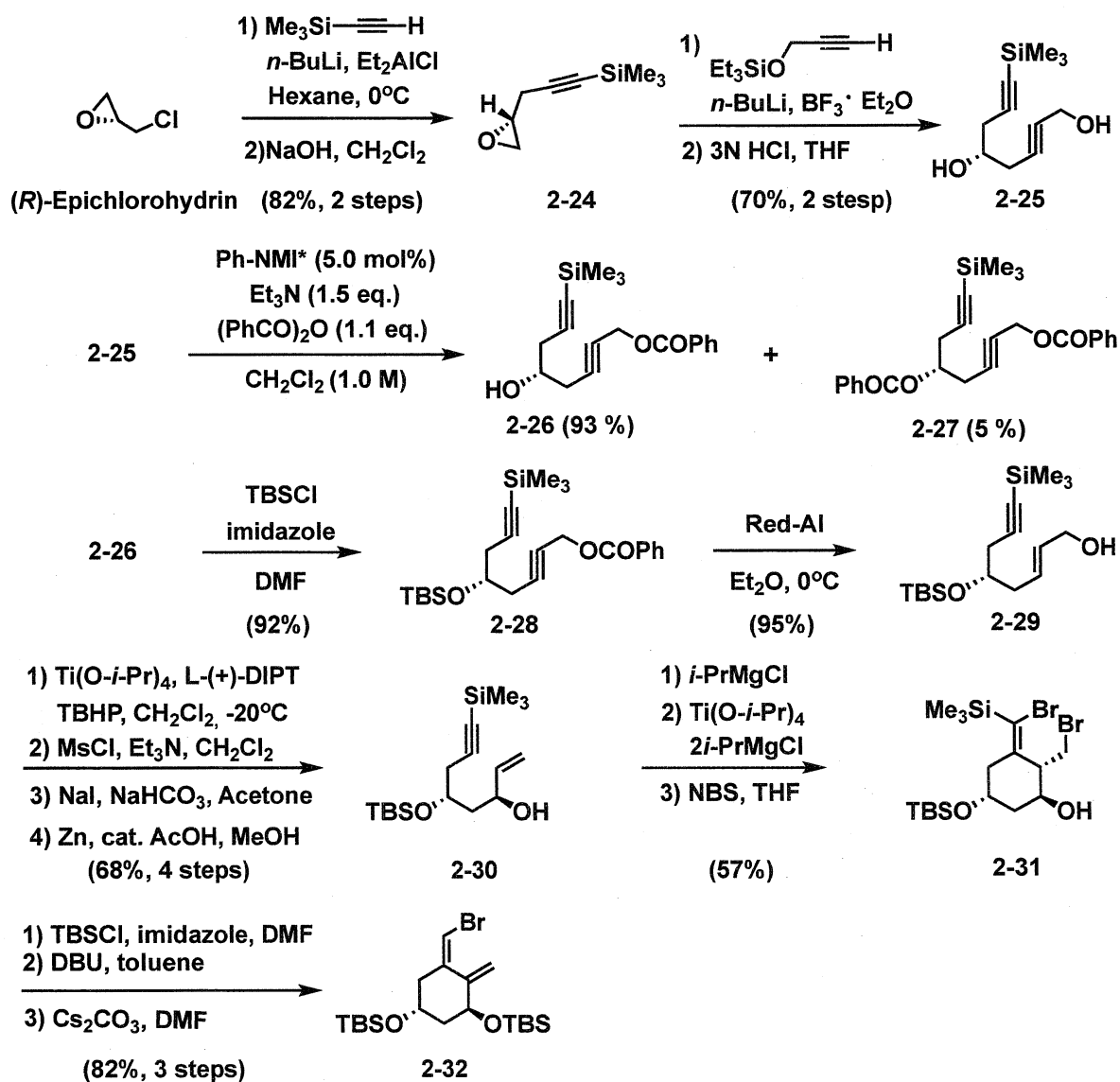


<sup>18</sup> (a) H. F. DeLuca, H. K. Schnoes, K. L. Perlman, R. R. Sicinski and J. M. Prahl, *Eur. Pat. Appl. EP.*, 387, 077; *Chem. Abstr.*, **1991**, 144, 185853u; (b) E. Slatoposky, J. Finch, C. Ritter, M. Denda, J. Morrissey, A. Brown and H. F. DeLuca, *American Journal of Kidney Diseases.*, **1995**, 26, 852-860.

## 2-2-1. (R)-Epichlorohydrinを原料とするA環部ユニット合成

天然型A環部ユニット **2-32**は, (R)-Epichlorohydrinを出発原料とし,本研究室で開発されている合成手法に従い,合成を行った。<sup>19</sup> (Scheme 2-3)

Scheme 2-3



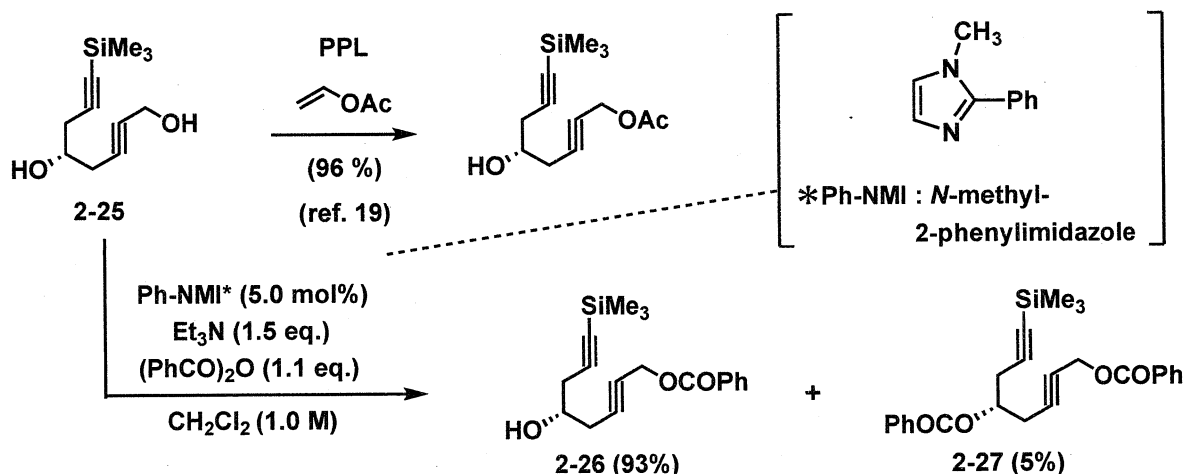
<sup>19</sup> (a) T. Hanazawa, A. Koyama, K. Nakata, S. Okamoto and F. Sato, *J. Org. Chem.*, **2003**, *68*, 9767-9772.

(b) T. Hanazawa, A. Koyama, T. Wada, E. Morishige, S. Okamoto and F. Sato, *Org. Lett.*, **2003**, *5*, 523-525 and 3167.

この合成のオリジナル法では、ジオール体 **2-25**の1級アルコールの選択的アシル化反応は、Porcine pancreas lipase (PPL)と vinyl acetateを用いた酵素反応が用いられているが、この代替法として、筆者が開発したアシル化触媒を用いる一級アルコールの選択的アシル化を行った。<sup>20</sup> 即ち、ジオール体 **2-25**のCH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>溶液 (1.0 M)に*N*-methyl 2-phenylimidazole (Ph-NMI, 5.0 mol%)と(PhCO)<sub>2</sub>O (1.1 eq.)を加え、室温で24時間攪拌を行い、通常の後処理によりモノアシル体 **2-26**を得た (93%)。

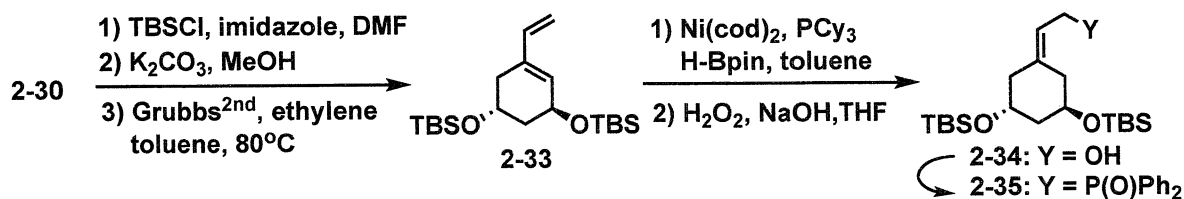
この反応で、効率的に1級アルコールの選択的アセチル化が進行し、且つ、副生成物である、ジアシル体 **2-27**は単離収率5%で得られた。これは脱保護を行うことで容易にジオール体 **2-25**として回収可能であった。(Scheme 2-4)

Scheme 2-4



続いて、エンイン体 **2-30**のGrubbs<sup>2nd</sup>を用いた閉環メタセシス反応 (RCM)と選択的1,4ヒドロホウ素化反応を経由する、19-*nor*型A環部ユニット **2-35**の合成を行った。この合成については、後のScheme 2-13にて詳しく述べる。(Scheme 2-5)

Scheme 2-5

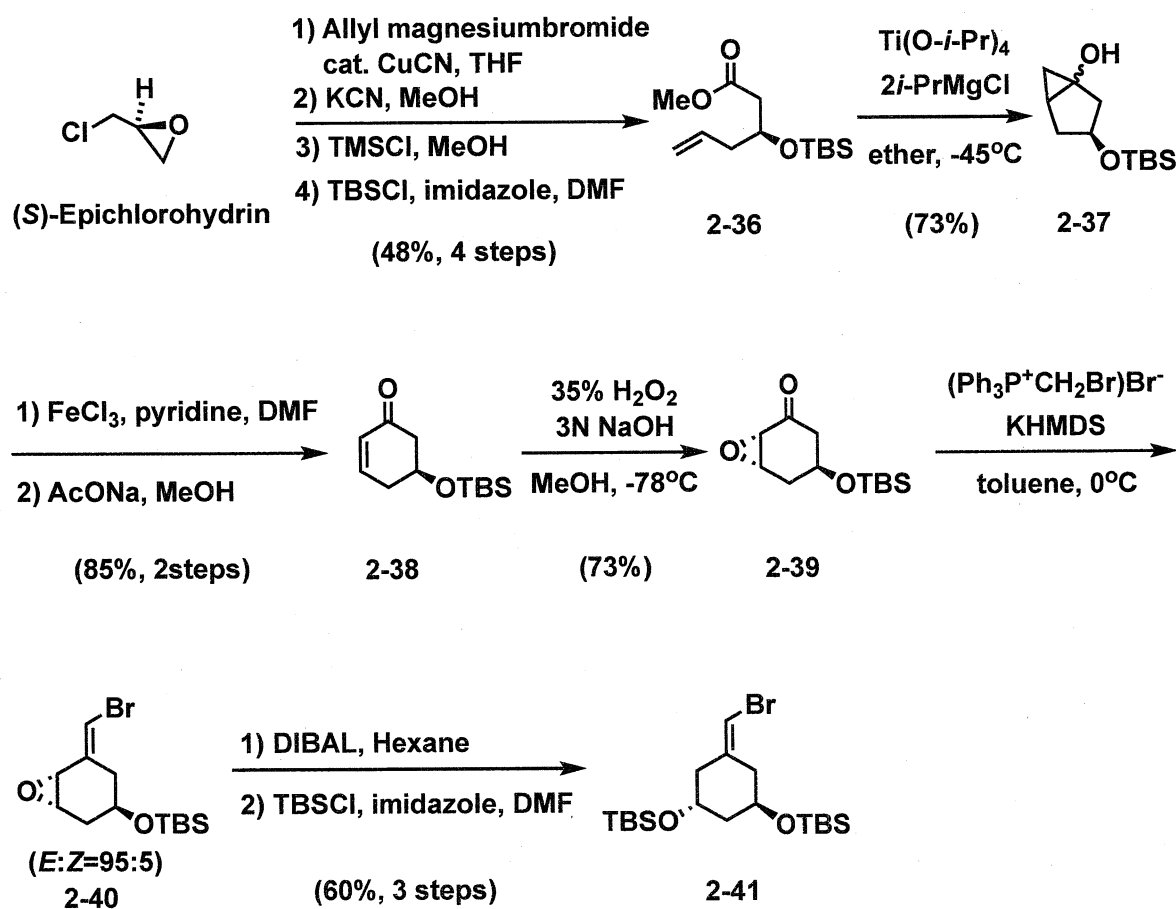


<sup>20</sup> K. Ibe, Y. Hasegawa, M. Shibuno, T. Shishido, Y. Sakai, Y. Kosaki, K. Susa and S. Okamoto, *Tetrahedron Lett.*, **2014**, *55*, 7039-7042.

## 2-2-2. (S)-Epichlorohydrin, D-(-)-quinic acidを原料とする19-nor型A環部ユニット合成

初めに, 19-nor型A環部ユニットを(S)-Epichlorohydrinを原料として, 本研究室で開発されている合成手法に従い, 合成を行った。<sup>21</sup> (Scheme 2-6)

Scheme 2-6



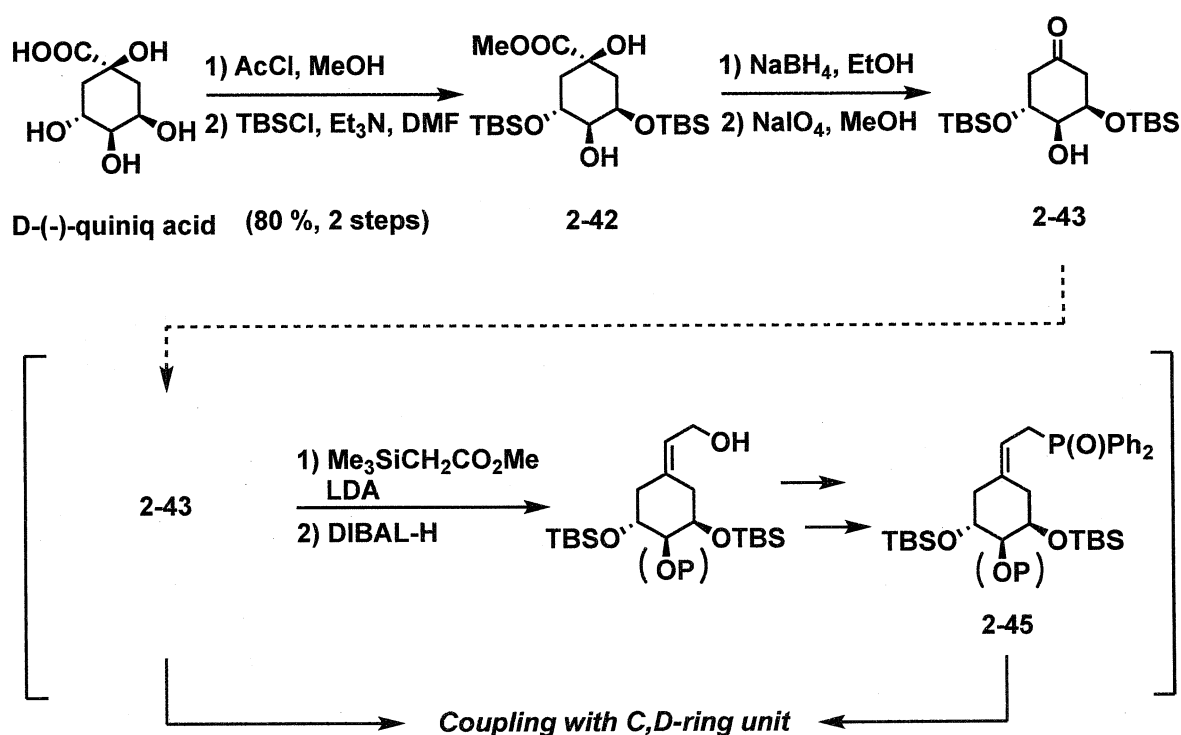
修飾C,D環ビタミンD誘導体ライブラリーを構築する上で, 特に, この19-nor型A環部ユニットを継続的に供給することを必要としている。しかしながら, 上記合成法では多段階合成となるため, 継続的にユニットを供給することは難しい。

そこで, より継続的に19-nor型A環部ユニットを供給することを目的として, DeLucaらの報告にあるD-(-)-quinic acidを原料とする19-nor型A環部合成法を基にしたユニットの合成検討を行った。

<sup>21</sup> T. Hanazawa, T. Wada, T. Masuda, S. Okamoto and F. Sato, *Org. Lett.*, **2001**, *3*, 3975-3977.

即ち, D-(-)-quiniq acidのメチルエステル化とジシリル化により得られるジオール体 **2-42**のメチルエステル部の還元反応, NaIO<sub>4</sub>による酸化反応 (Malaprade Glycol oxidative cleavage)により, 目的の中間体 **2-43**を定量的に得た。この合成手法を用いるビタミンD誘導体合成の報告例の多くは, このケトン体 **2-43**やジフェニルホスフィンオキシドを導入した **2-45**を対応するC,D環部とのHorner-Wadsworth-Emmons反応に用いることがほとんどである。<sup>22</sup> (Scheme 2-7)

Scheme 2-7



一方, 当研究室では以前からケトン体 **2-43**のWittig-olefinationによるプロモメチレン体 **2-44**への変換を検討している。しかしながら, TBS基の脱離によるエノン体 **2-47**やプロモメチレン部へのTMS基付加体**2-45**が同時に生成することを報告しており, この反応条件の最適化が難航している。<sup>23</sup>

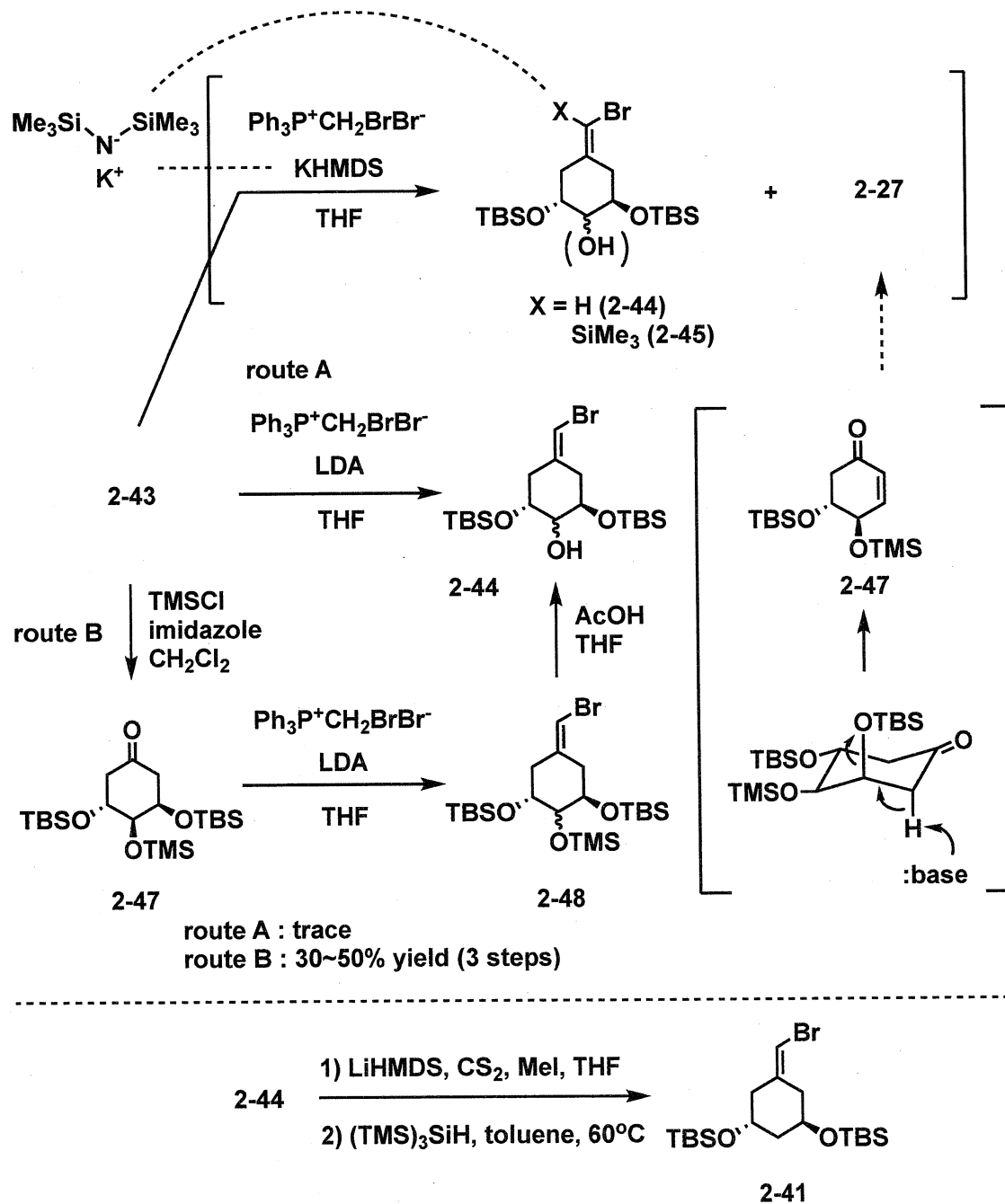
<sup>22</sup> (a) M. Shimizu, Y. Iwasaki, Y. Shibamoto, M. Sato, H. F. DeLuca and S. Yamada., *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **2003**, *13*, 809-812; (b) N. Yoshimoto, Y. Inaba, S. Yamada, M. Makishima, M. Shimizu and K. Yamamoto., *Bioorg. Med. Chem.* **2008**, *16*, 457-473; (c) S. Zhou, R. Zhu, J. Hu, L. Zhang, Q. Lu and X. Yu., *Org. Process Res Dev.*, **2019**, *23*, 1887-1891.

<sup>23</sup> 2019年度 大上 真由 卒業論文 (神奈川大学)



特に、TMS基付加体 **2-45**は、塩基として使用するヘキサメチルジシラザン (HMDS)由来であると推測しているため、塩基としてLDAを用いたWittig-olefinationの反応検討を計画し、ケトン体 **2-43**の直接の変換反応 (route A)と2級アルコールの保護を経由する手法 (route B)を検討した。(Scheme 2-8)

Scheme 2-8



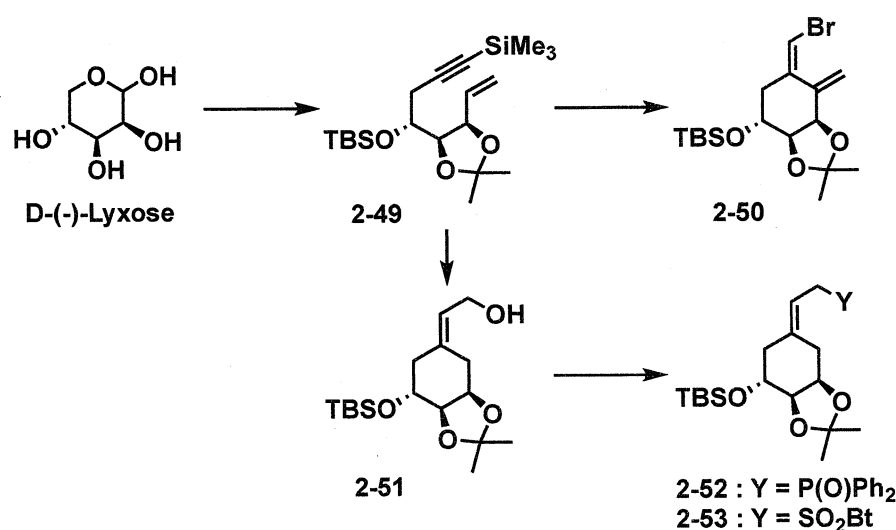
初めに、ケトン体 **2-43**に直接Wittig-olefinationを行う反応検討を実施した (**route A**)。即ち、 $\text{Ph}_3\text{P}^+(\text{CH}_2\text{Br})\text{Br}^-$  (3.0 eq.)のTHF溶液 (1.0 M)を $-78^\circ\text{C}$ に冷却し、別途調整したLDA (1.0 M in THF, 2.8 eq.)を加え、 $0^\circ\text{C}$ に昇温後1時間攪拌することでリンイリドを調整した。このリンイリド溶液を $-78^\circ\text{C}$ に冷却後、ケトン体 **2-43**のTHF溶液 (0.5 M)を加え、 $0^\circ\text{C}$ に昇温後1時間攪拌した。Hexaneを加え、濾過と濃縮を数回繰り返し、粗生成物を得た。この条件では、エノン体 **2-47**や1,3位TBS基の2位水酸基への転移反応によるものがほとんどであり、目的物 **2-44**の単離は困難であった。

次に、2級アルコールの保護を経由する条件検討を行った (**route B**)。即ち、ケトン体 **2-43**とimidazole (2.2 eq.)の $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ 溶液 (0.5 M)にTMSCl (1.5 eq.)を $0^\circ\text{C}$ で加え、2時間攪拌後、通常の後処理によりトリシリル体 **2-47**を得た。このトリシリル体 **2-47**を先と同様のWittig-olefinationを行い、得られた粗生成物をAcOH-THF- $\text{H}_2\text{O}$ の混合溶液により溶解し、室温で12時間攪拌を行い、通常の後処理を行った。検討の結果、目的物であるブロモメチレン体 **2-44**は約30~50%程度の収率で得られたが、やはりエノン体 **2-47**が主生成物として得られる結果であった。しかしながら、塩基にLDAを用いたことでTMS基付加体 **2-45**は双方の条件 (**route A**, **route B**)で生成していない。そしてブロモメチレン体 **2-44**は、2位水酸基の脱オキシ反応により**2-41**への変換を可能としている。

## 2-2-3. D-(-)-Lyxoseを原料とするA環部ユニットの合成

これまでに当研究室で合成法が構築されてきたD-(-)-Lyxoseを原料としたA環部ユニットの合成手法により2位に水酸基を有する天然型A環部ユニット **2-50**, 19-*nor*型A環部ユニット **2-52**, **2-53**を合成した。<sup>24</sup> (Figure 2-7)

Figure 2-7



即ち, D-(-)-LyxoseのBnOH溶液 (2.0 M)に, *p*-TsOH (5.0 mol %)を加え60°Cに加熱し, 2日間攪拌した。反応溶液の濃縮によりBnOHを除去し, HexaneとCH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>により再結晶を行った。これを濾取し, ベンジルアセタール体anomaer混合物を得た(84%)。得られたベンジルアセタール体のacetone溶液 (0.3 M)に, 2,2-dimethoxypropane (2.2 eq.)と*p*-TsOH (5.0 mol %)を加え, 室温で1日攪拌し, 通常の後処理によりアセトニドを得た (83%)。続いて, アセトニド体のDMF溶液 (1.0 M)にimidazole (2.2 eq.)とTBSCl (1.5 eq.)を加え, 室温で2時間攪拌し, 通常の後処理によりシリルエーテル体 **2-54**を合成した (99%)。<sup>25</sup>

次に, シリルエーテル体 **2-54**のTHF (0.1 M)とammonia (0.1 M)の混合溶液を-78°Cに冷却し, 金属リチウム (2.2 eq.)を少量ずつ加え, TLCにより反応が完結した

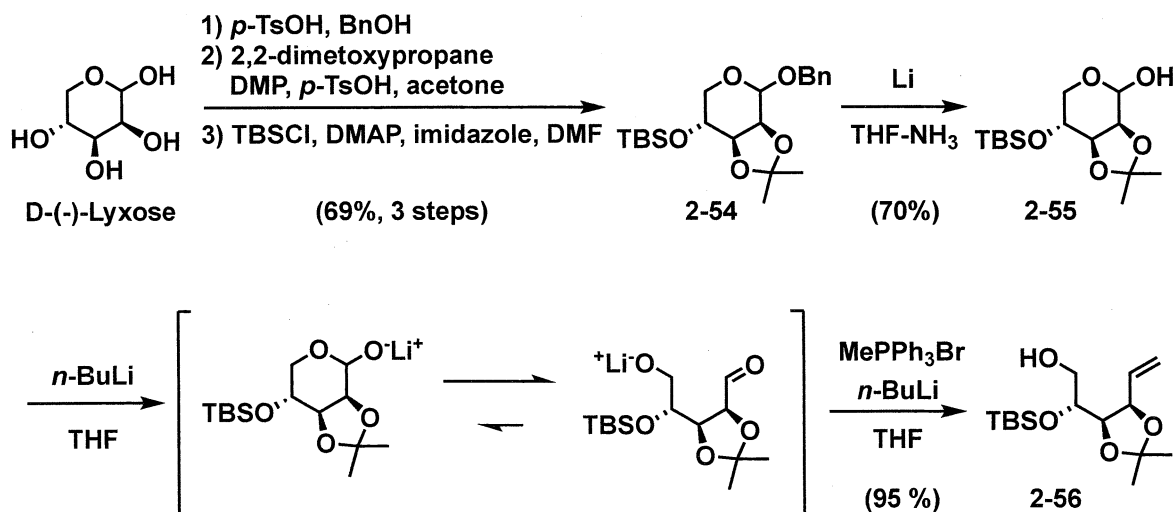
<sup>24</sup> (a) K. Ibe, H. Aoki, H. Takagi, K. Ken-mochi, Y. Hasegawa, N. Hayashi and S. Okamoto, *Tetrahedron Letters*, **2015**, 56, 2315-1318. (b) 2010年度 林 直斗 修士論文 (神奈川大学). (c) 2011年度 剣持 清秀 修士論文 (神奈川大学)

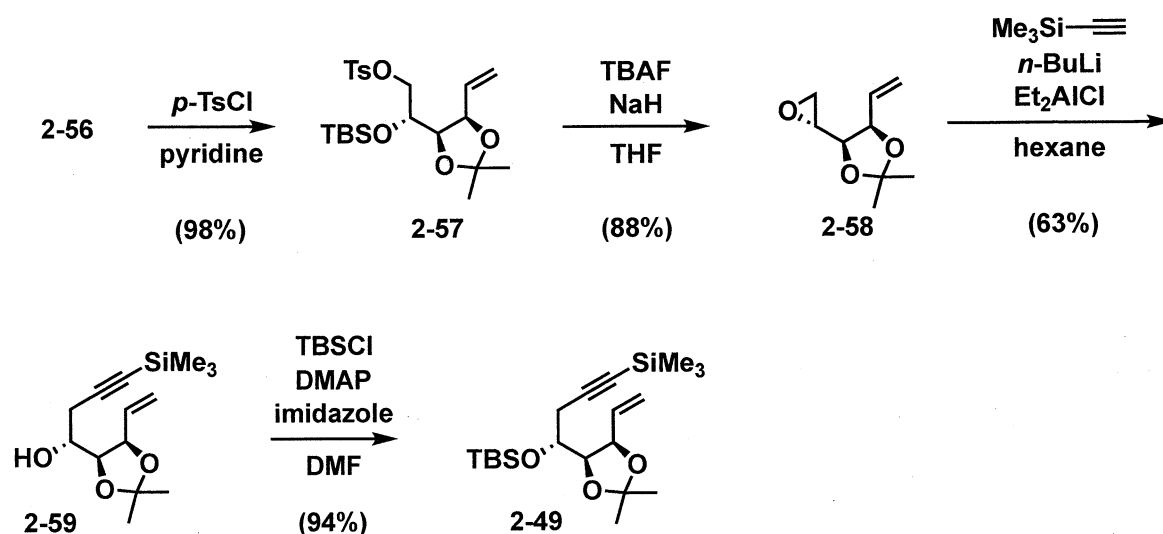
<sup>25</sup> G. E. Keck, T. T. Wager, *J. Org. Chem.*, **1996**, 61, 8366-8367.

ことを確認した後、2時間かけて室温に戻しながら ammonia を蒸発除去した。その後、通常の後処理によりヘミアセタール体 **2-55** を得た (70%)。このヘミアセタール体 **2-55** の THF 溶液 (0.14 M) を  $0^{\circ}\text{C}$  とした後、*n*-BuLi (1.0 eq.) の Hexane 溶液を加え、室温で40分攪拌することでアルコキシドを調整した。ここで別途に、MePPh<sub>3</sub>Br (3.0 eq.) の THF 溶液 (0.4 M) を  $0^{\circ}\text{C}$  にて、*n*-BuLi (3.0 eq.) の Hexane 溶液を加え、室温で40分間攪拌することでイリドを調節した。このイリド溶液にアルコキシド溶液を加え、 $60^{\circ}\text{C}$  で45分間加熱し、通常の後処理によりアルコール体 **2-56** を得た (95%)。アルコール体 **2-56** の pyridine 溶液 (0.2 M) を  $0^{\circ}\text{C}$  に冷却し、TsCl (3.0 eq.) を加え、室温で12時間攪拌を行った。AcOEt を加え、1N HCl による洗浄により pyridine を除去後、通常の後処理によりトシル体 **2-57** を得た (98%)。トシル体 **2-57** の THF 溶液 (0.2 M) を  $0^{\circ}\text{C}$  に冷却し、TBAF (3.0 eq.) を加え、室温で1時間攪拌した。その後再び  $0^{\circ}\text{C}$  に冷却し、NaH (3.0 eq.) を加え、室温で30分間攪拌した。通常の後処理によりエポキシ体 **2-58** を得た (88%)。

続けて、trimethylsilylacetylacetylene の hexane 溶液 (3.0 M) を  $0^{\circ}\text{C}$  に冷却し、*n*-BuLi の Hexane 溶液 (3.0 eq.) を加え、 $0^{\circ}\text{C}$  で1.5時間攪拌し、リチウムアセチリドを調整後に、Et<sub>2</sub>AlCl (3.0 eq.) を加えた。さらに、 $0^{\circ}\text{C}$  で1時間攪拌し、アルミニウムアセチリドを調整した。これにエポキシ体 **2-58** を加え、 $0^{\circ}\text{C}$  で1時間攪拌し、通常の後処理を行うことでシリアルキン体 **2-59** を得た (63%)。さらに、シリアルキン体 **2-59** の DMF 溶液 (0.5 M) に imidazole (2.2 eq.) と TBSCl (1.5 eq.) を加え、室温で2時間攪拌し、後処理によりエンイン型A環部中間体 **2-49** を得た (94%)。 (Scheme 2-9-1, 2-9-2)

Scheme 2-9-1





続いて、エンイン型A環部中間体 **2-49**の2価チタン反応剤を用いる天然型A環部ユニット **2-50**の合成を行った。即ち、エンイン型A環部中間体 **2-49**とTi(O-*i*-Pr)<sub>4</sub> (2.0 eq.)のEt<sub>2</sub>O溶液 (0.1 M)を-78°Cに冷却し、*i*-PrMgCl (4.0 eq.)のEt<sub>2</sub>O溶液を滴下し、同温で30分、-50°Cで3時間攪拌することで、チタナサイクル中間体を調整した。その後、-78°Cに冷却し、NBS (5.5 eq.)のTHF溶液 (1.0 M)を加え、室温で攪拌後、通常の後処理を行うことでジブロモ体 **2-60**を得た (80%)。得られたジブロモ体 **2-60**のtoluene溶液 (0.38 M)にDBU (5.2 eq.)を加え、70°Cで20時間攪拌後、通常の後処理を行った。続いて、DMF溶液 (0.36 M)、CsCO<sub>3</sub> (5.1 eq)を加え、室温で12時間攪拌を行い、通常の後処理により天然型A環部ユニット **2-50**を得た (80%)。

このA環部ユニット **2-50**はTBS、アセタール部の脱保護後、1,3位の水酸基の選択的ジシリル化を行い、2位水酸基の脱オキシ反応を行うことで、A環部ユニット **2-32**への変換を可能としている。(Scheme 2-10)

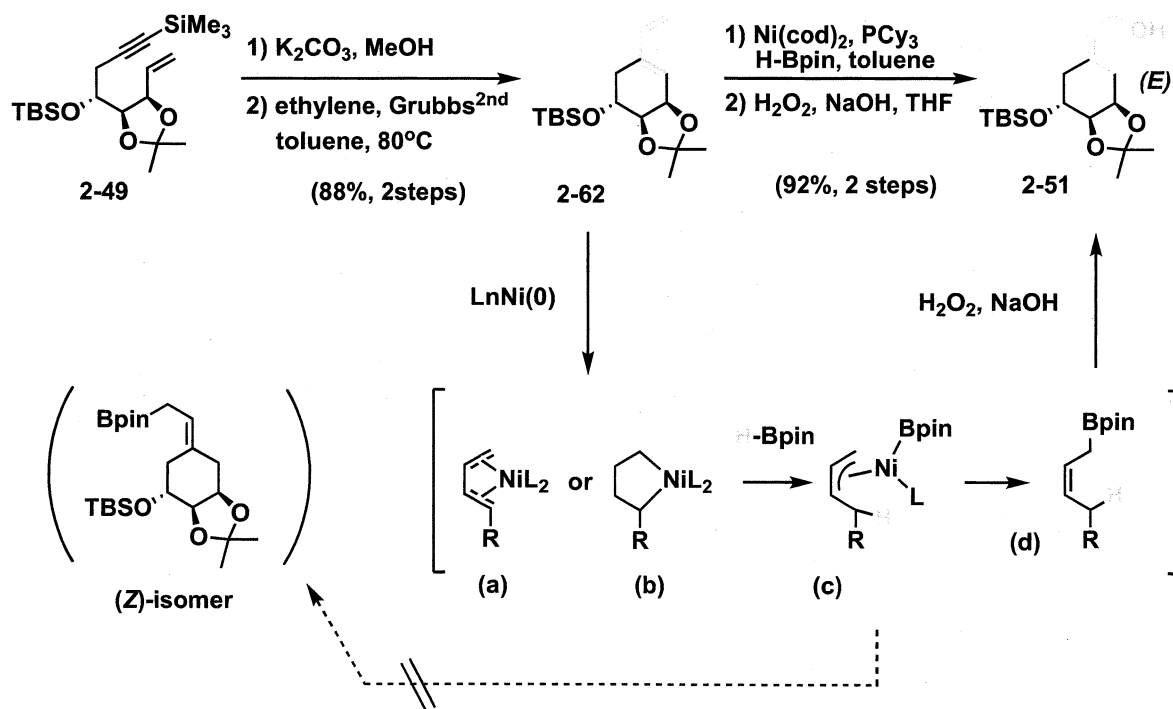


ローブボックス中, アルゴン雰囲気下でbis(1,5-cyclooctadiene)nickel(0) ( $\text{Ni}(\text{cod})_2$ , 5 mol%)を量りとり, これにtoluene溶液と $\text{PCy}_3$  (5 mol%)を加え, 均一溶媒とし,  $0^\circ\text{C}$ で4,4,5,5-tetramethyl-1,3,2-dioxaborolane (HBpin, 1.5 eq.)を加え, 室温で5分間攪拌した。これにジエン体 **2-62**のtoluene溶液 (0.33 M)を加え, 室温で3時間攪拌し, 生成したボラン体の反応溶液に,  $0^\circ\text{C}$ でTHF溶液, 3N NaOH溶液, 32%  $\text{H}_2\text{O}_2$  (0.2 M)を加え,  $0^\circ\text{C}$ で1時間攪拌を行い, 通常の後処理を行うことでアリルアルコール体 **2-51**を得た (92%)。

この反応は,  $\text{Ni}(0)$ -ジエン中間体 (a)または五員環ニッケラサイクル中間体 (b)を経由し, ピナコールボランの挿入反応と同時にNi触媒の還元的脱離 (c $\rightarrow$ d)を経由することで, *E*体選択的にアリルアルコール体が生成する反応系である。 $\text{Ni}$ 触媒の還元的脱離の過程で, *Z*体を生成する懸念があるものの, 生成物としては単一生成物として得られているため, *E*体選択的に目的物が得られていると判断している。

(Scheme 2-11)

Scheme 2-11



次に、アリルアルコール体 **2-51**からHorner-Wadsworth- Emmons Reaction, Julia - Lythgoe Olefinationのカップリング反応に対応した19-*nor*-A環部ユニット **2-52**, **2-53**の合成を行った。

初めに、Horner-Wadsworth- Emmons Reactionに対応する19-*nor*-A環部ユニット **2-52**の合成検討を行った。アリルアルコール体 **2-51**のTHF溶液 (0.15 M)を0°Cに冷却し、*n*-BuLi (1.05 eq.)のHexane溶液と

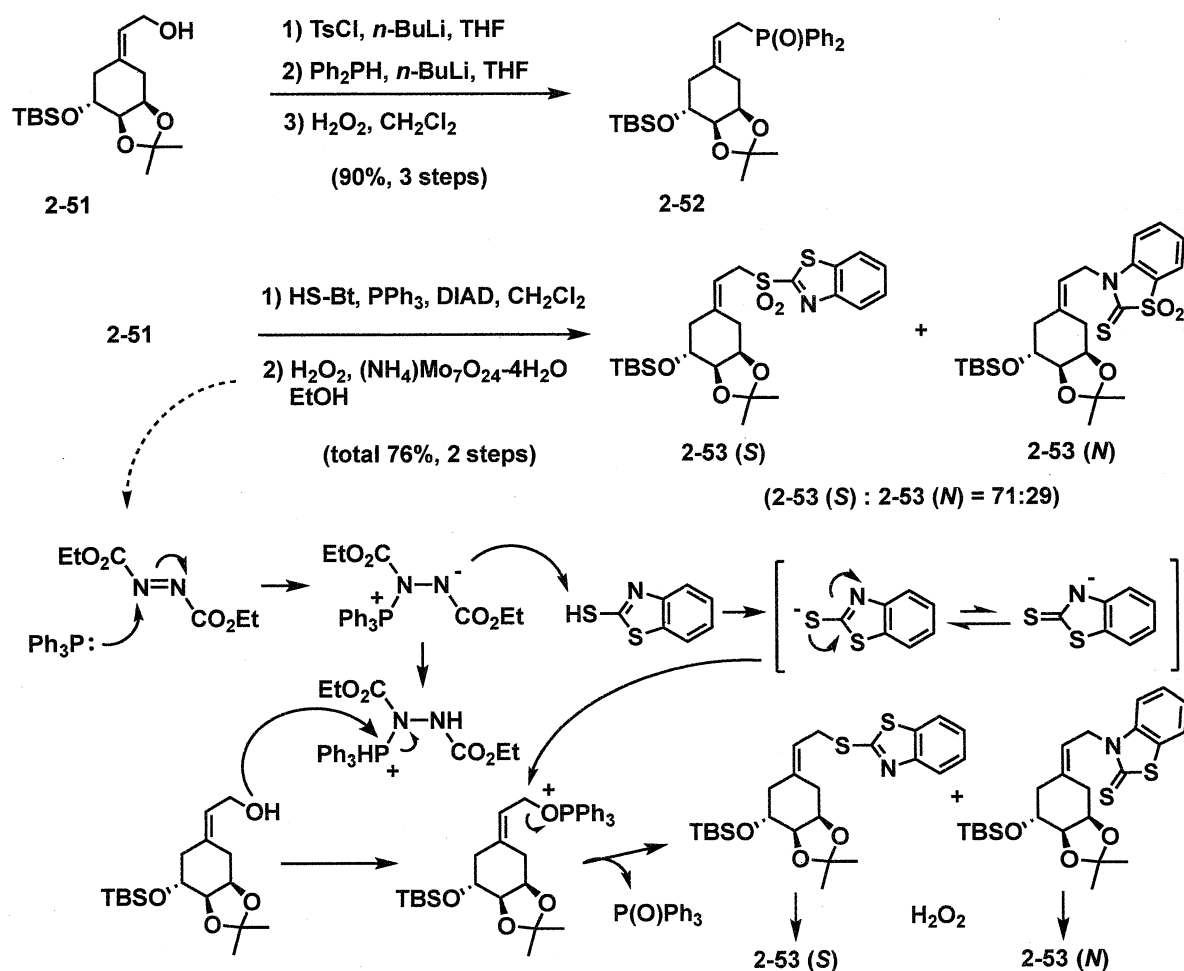
*p*-TsCl (1.05 eq.) のTHF溶液 (1.0 M)を加え、同温で5分間攪拌し、トシル体の調整を行った。ここで別途に、HPPH<sub>2</sub> (2.0 eq.)のTHF溶液 (1.0 M)を0°Cに冷却し、*n*-BuLi (2.1 eq.)のHexane溶液を加え、反応溶液が赤色を呈するまで攪拌した。調整したトシル体の溶液に、ジフェニルホスフィン溶液を0°Cで加え、30分攪拌後、通常の後処理を行った。得られたジフェニルホスフィン体にCH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (0.1 M)と0°Cで35% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (1.9 M)を加え、室温で1時間攪拌後、通常の後処理により19-*nor*-A環部ユニット **2-52**を得た (90%)。

次に、Julia - Lythgoe Olefinationに対応する19-*nor*-A環部ユニット **2-51**の合成検討を行った。即ち、PPh<sub>3</sub> (1.5 eq.)とHS-Bt (2-mercaptobenzothiazole, 1.5 eq.)のCH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>溶液 (0.5 M)にDIAD (1.5 eq.)を0°Cで加え、室温で30分攪拌した。そこにアリルアルコール体 **2-51**のCH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>溶液 (0.33 M)を0°Cで加え、室温で1時間攪拌後、通常の後処理を行った。続いて、得られたベンゾチアゾール体のEtOH溶液 (0.1 M)を0°Cに冷却し、35% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (2.0 M)と(NH<sub>4</sub>)<sub>6</sub>Mo<sub>7</sub>O<sub>24</sub>·4H<sub>2</sub>O (10 mol%)を加え、同温で1時間攪拌後、通常の後処理を行うことでJulia-Lythgoe Olefinationに対応した19-*nor*-A環部ユニット **2-53**を異性体混合物として得た (**25-3(S)** : **25-3(N)** = 71 : 29, total 76%)。他にも、トシル化を経由するベンゾチアゾールの導入を試みたが、収率及び置換基の選択性に改善は見られなかった。<sup>27</sup> (Scheme 2-12)

<sup>27</sup> P. Chochrek, J. Wicha, *Eur. J. Org. Chem.*, **2007**. 2534-2542.

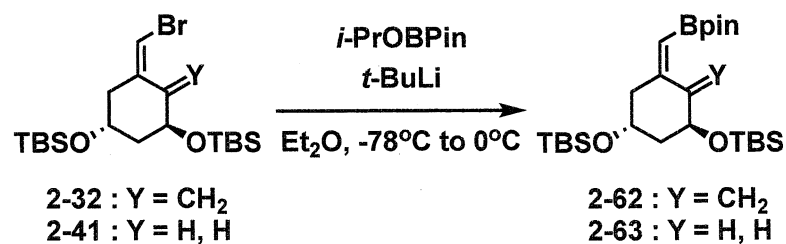


Scheme 2-12



以上, 合成したA環部 2-32, 2-35, 2-41, 2-50, 2-52, 2-53はC,D環部とのカップリング反応検討に使用する。2-32, 2-41はボラン体としてもカップリング反応に用いた。  
 (Scheme 2-13)

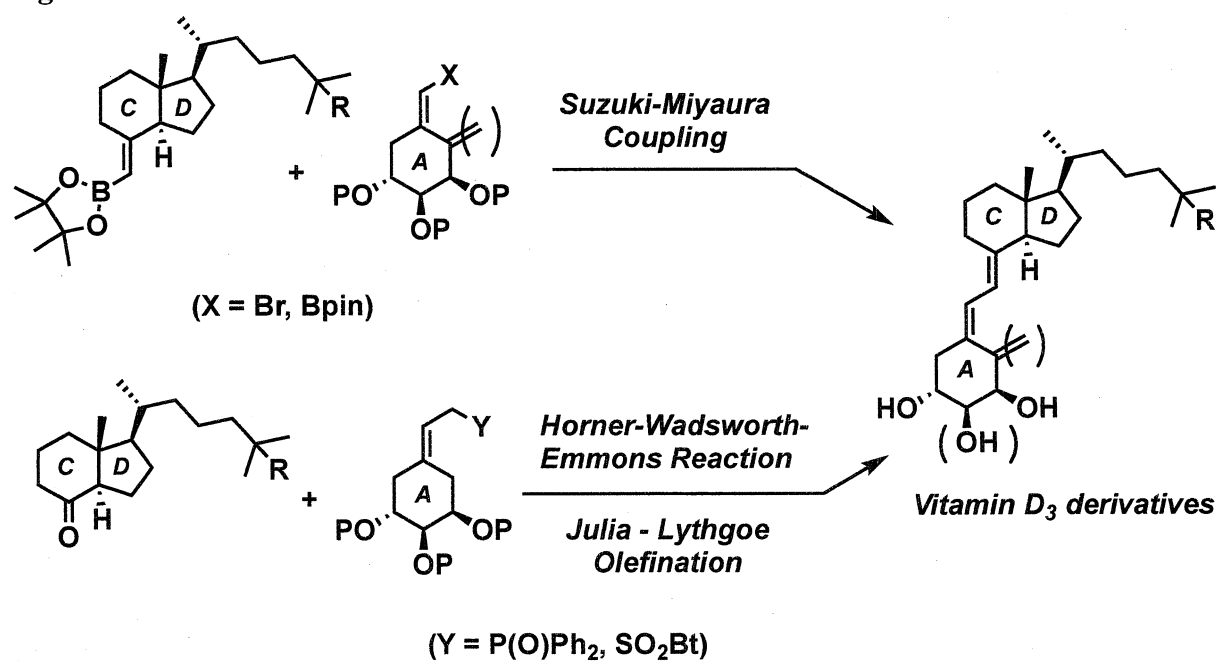
Scheme 2-13



## 2-3. A-C,Dカップリング反応の検討

合成を行った各種A-C,D環部ユニットを用いて, Suzuki-Miyaura Coupling, Horner-Wadsworth-Emmons Reaction, Julia-Lythgoe Olefinationの3種類のカップリング反応の検討を行った。(Figure 2-8)

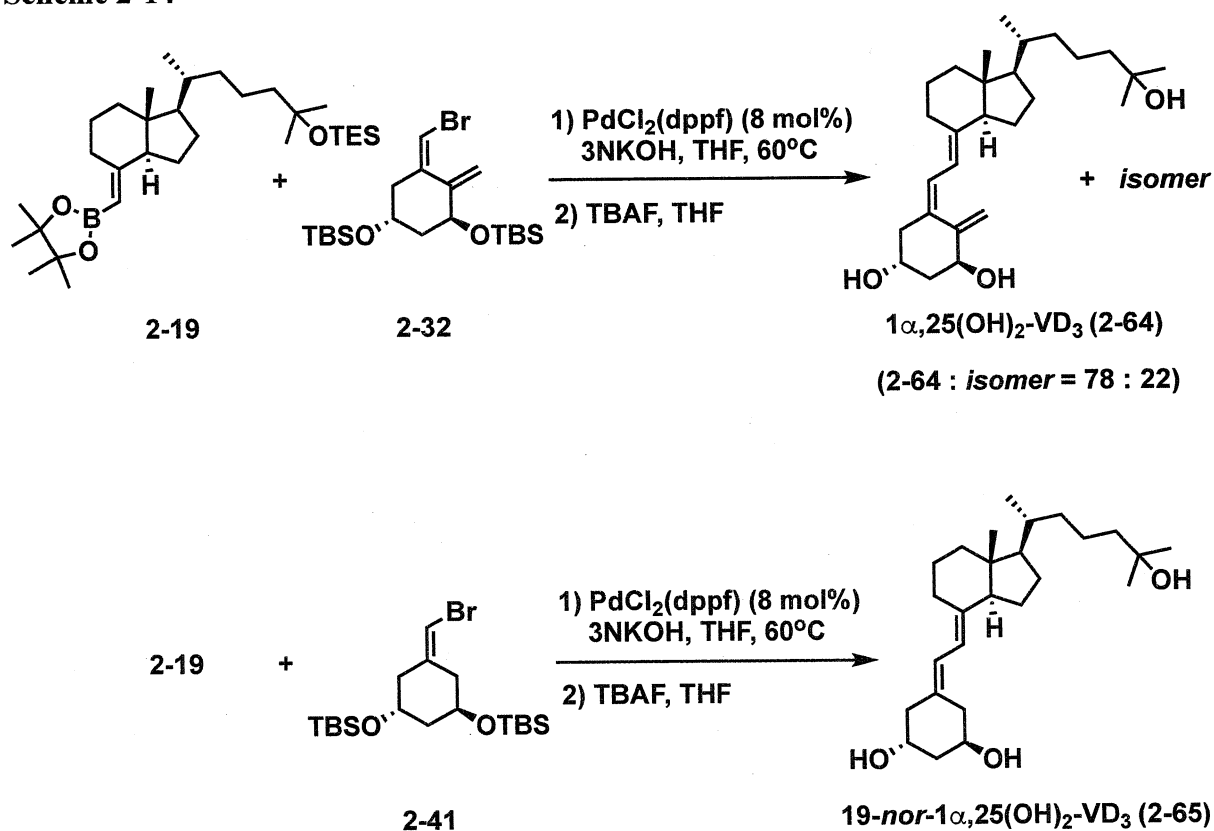
Figure 2-8



## 2-3-1. Suzuki-Miyaura CouplingによるA-C,Dカップリングの検討

初めに、C,D環部ユニット **2-19**とA環部ユニット **2-32**, **2-41**のSuzuki-Miyaura Couplingにより $1\alpha,25(\text{OH})_2\text{VD}_3$  **2-64**と $19\text{-nor-}1\alpha,25(\text{OH})_2\text{VD}_3$  **2-65**の合成検討を行った。即ち、A環部ユニット **2-32**または **2-41**と $\text{PdCl}_2(\text{dppf})$  (10 mol%)のTHF溶液 (1.0 M)にC,D環部ユニット **2-19**のTHF溶液 (1.0 M)と3M KOH水溶液 (3 M)を加え、 $60^\circ\text{C}$ で12時間攪拌後、通常の後処理を行うことで、カップリング体の粗生成物を得た。この粗生成物のTHF溶液 (1.0 M)にTBAF (5.0 eq.)を加え、室温で3時間攪拌後、通常の後処理を行うことで、目的の $1\alpha,25(\text{OH})_2\text{VD}_3$  **2-64**と $19\text{-nor-}1\alpha,25(\text{OH})_2\text{VD}_3$  **2-65**を得た。(Scheme 2-14)

Scheme 2-14



カップリング反応の結果として、19-*nor*-1 $\alpha$ ,25(OH) $_2$ VD $_3$  **2-65**は単体で得られたものの、1 $\alpha$ ,25(OH) $_2$ VD $_3$  **2-64**は約20 %程度の異性体を含む混合物であった。この結果から、異性体抑制を目的として、天然型A環部ユニット **2-32**とC,D環部ユニット **2-13**を基質とするカップリング反応検討を行った。(Scheme 2-15)

Scheme 2-15

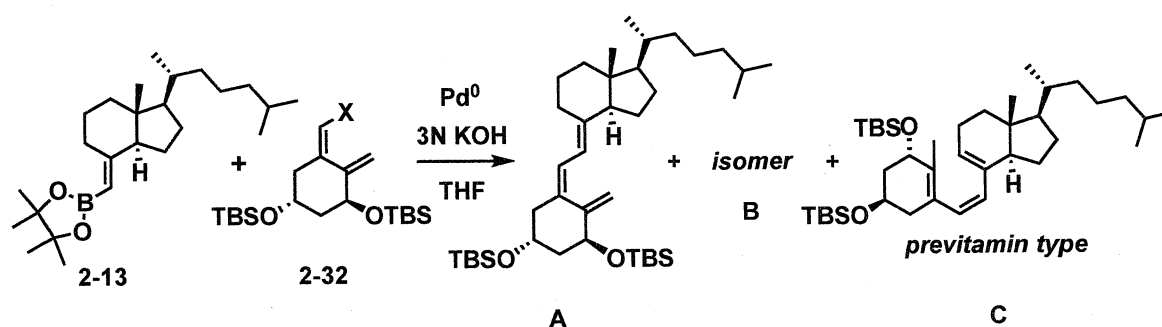


Table 2-1

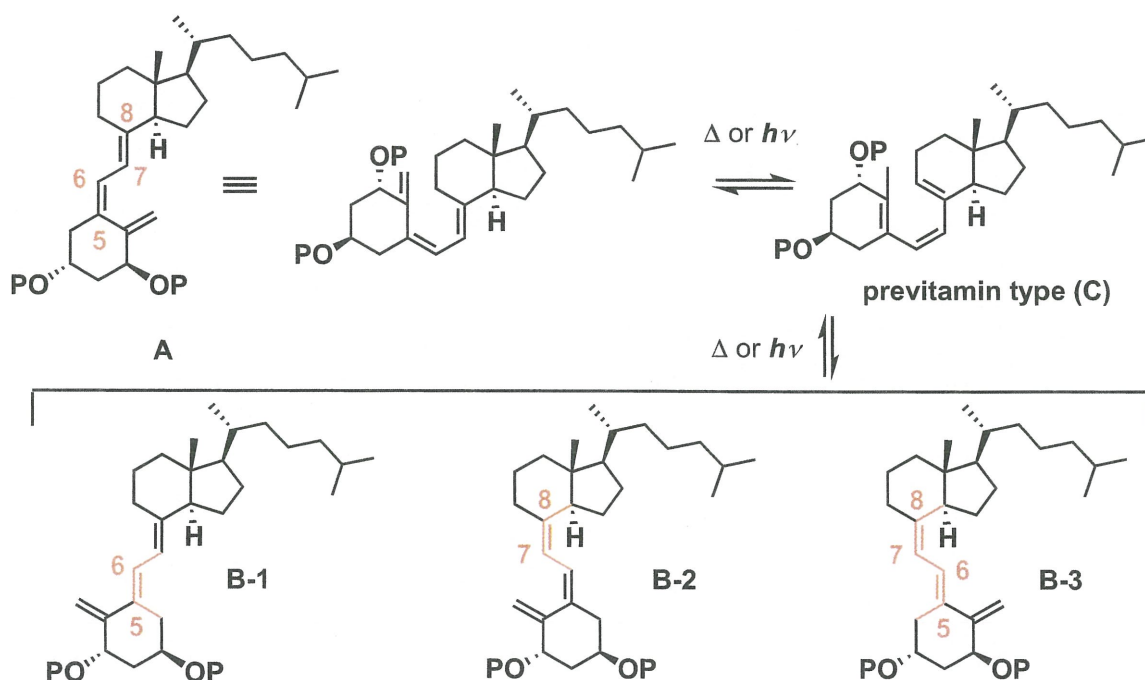
entry	Pd-Catalyst (8 mol%)	X	temp (°C)	time (h)	A : B : C	conversion (%)
1	PdCl <sub>2</sub> (dppf)	Br	60	20	42 : 38 : 20	73
2	↓	↓	50	↓	46 : 30 : 24	77
3			40		78 : 9 : 13	64
4			30		-	no reaction
5			r.t.		-	no reaction
6			Pd(PPh <sub>3</sub> ) <sub>4</sub>		Br	30
7	↓	↓	r.t.	72	100 : 0 : 0	54
8			I	48	30 : 70 : 0	-

determined by <sup>1</sup>H-NMR

反応検討は、Pd触媒、反応温度について行い、得られたカップリング体の一部は加熱攪拌による異性化の確認を行った。結果として、比較的高温の条件では、メチレン基を有するカップリング体を2種類 (A, B)、カップリング体ではあるがメチレン基を持たない生成物 (C)の3種類を<sup>1</sup>H-NMRにより確認した。(Table 1)

天然型A環部を有するビタミンD誘導体の異性化反応には幾つか報告例があり<sup>28</sup>, 今回のカップリング反応より生成した異性体は, カップリング体 (A)の熱または光反応による異性化, 即ち, [1,7]-シグマトロピック転移による生成するプレビタミン型 (C)とこれを経由して, 再びビタミンD骨格に転移反応が進行して生成する異性体 (B-1, B-2, B-3)として推測している。(Scheme 2-16)

Scheme 2-16



この仮説を基に, 一部のカップリング体の粗生成物をTHF中, 室温または60°C, そして塩基性条件下により攪拌を行うことで, 異性化の検討を行った。(Table 2, 3)

<sup>28</sup> (a) A. E. Gaston and F. A. Pedro, *Photochemistry and Photobiology.*, **2012**, 88, 769-773; (b) T. Doi, M. Yoshida, I. Hijikuro and T. Takahashi, *Tetrahedron Lett.*, **2004**, 45, 5727-5729; (c) Q. T. Xiao and F. H. Michael., *The Journal of Biological Chemistry.*, **1995**, 15, 8706-8711; (d) T. Koskinen and P. Valtonen., *Journal of Liquid Chromatography.*, **1985**, 8, 463-472; (e) S. S. Forrest and A. A. Marc., *J. Am. Chem. Soc.*, **1998**, 121, 4933-4940.

Table 2-2 (Table 2-1 - entry 1)

solvent	temp (°C)	time (h)	A : B : C
THF	r.t.	48h	44 : 32 : 24
↓	60°C	↓	44 : 32 : 24
THF-KOH	r.t.	↓	44 : 39 : 17
↓	60°C	↓	43 : 35 : 22

Table 2-3 (Table 2-1 - entry 6)

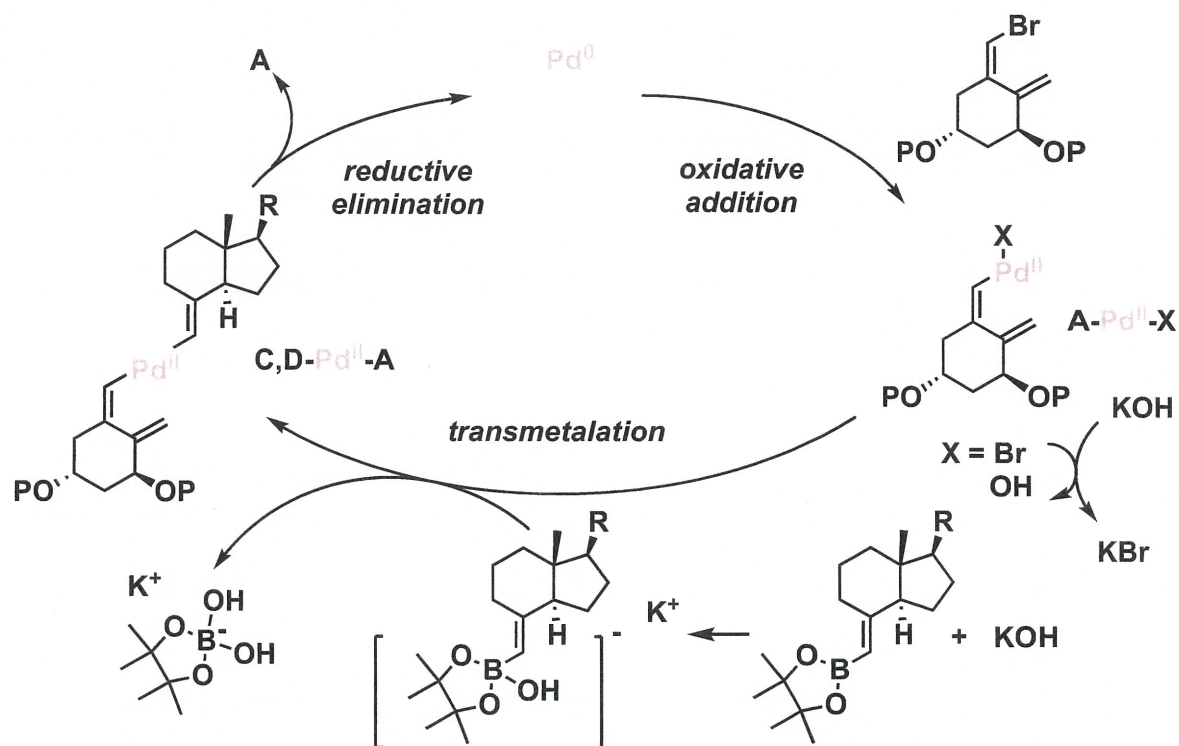
solvent	temp (°C)	time (h)	A : B : C
THF	r.t.	48h	86 : 14 : 0
↓	60°C	↓	90 : 10 : 0
THF-KOH	r.t.	↓	88 : 12 : 0
↓	60°C	↓	86 : 14 : 0

検討の結果、どの条件においても異性化の進行は確認されなかったため、カップリング体 (A, B, C) そのものは、今回使用した反応条件下では比較的安定な化合物であると判断した。

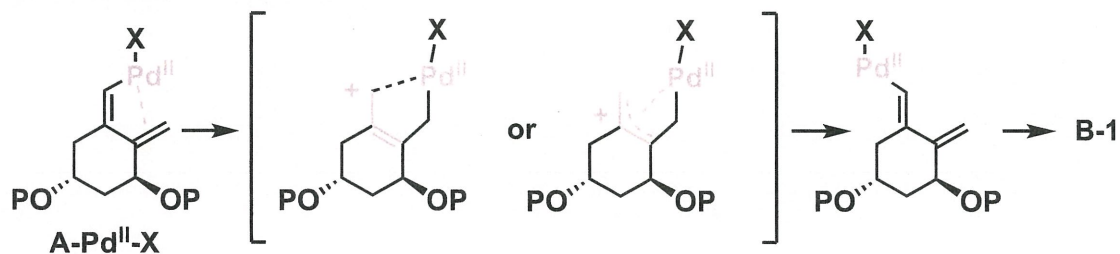
以上の結果から、カップリング体の異性化はSuzuki-Miyaura coupling反応系中で進行している可能性が濃厚であると判断した。あくまで仮説ではあるが、この反応系中で異性化に関与する段階としては、A環部ユニットにPd触媒が酸化的付加した中間体 (A-Pd<sup>II</sup>-X)の異性化 (1)や、カップリング体 (A)とPd触媒の共存下、またはPd触媒の還元的脱離後 (C,D-Pd<sup>II</sup>-A → A)に連続的に、A環部メチレン部位にPd触媒が配位することで、これを起点とした[1,7]-シグマトロピック転移反応、またはこれに類似する転移反応が促進された結果 (2)、異性体 (B-1, C)が生成したと予測している。(Figure 2-9)



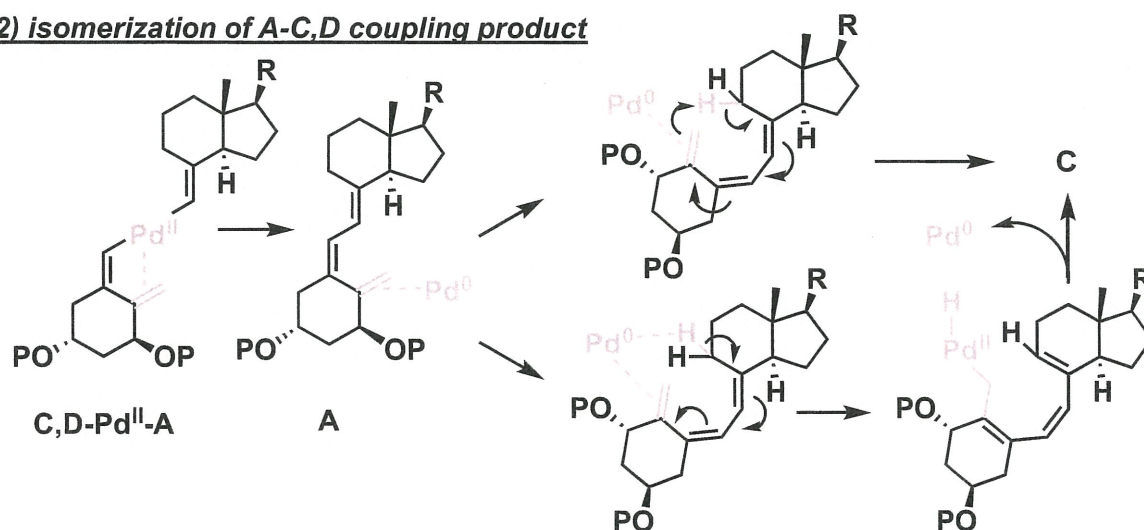
Figure 2-9



### 1) isomerization of A-ring unit

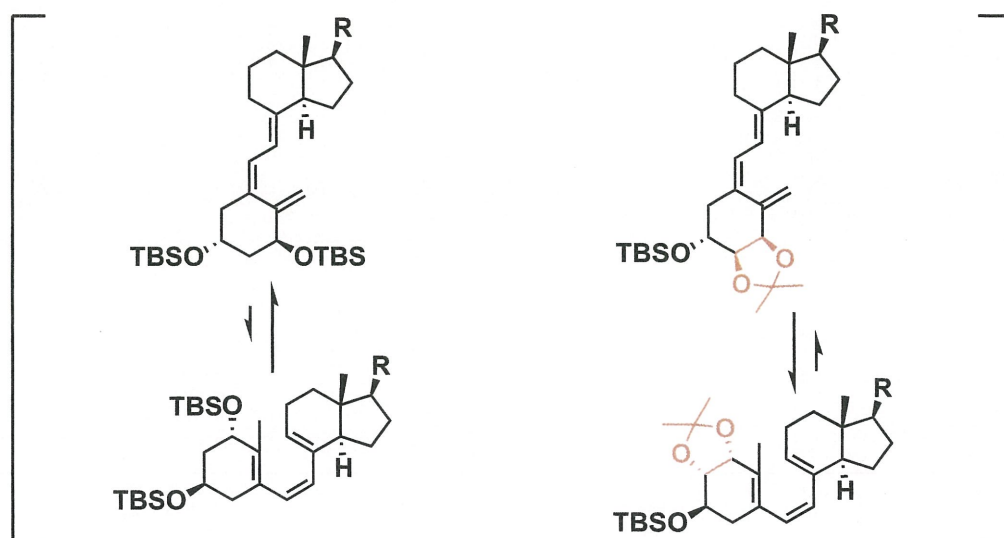
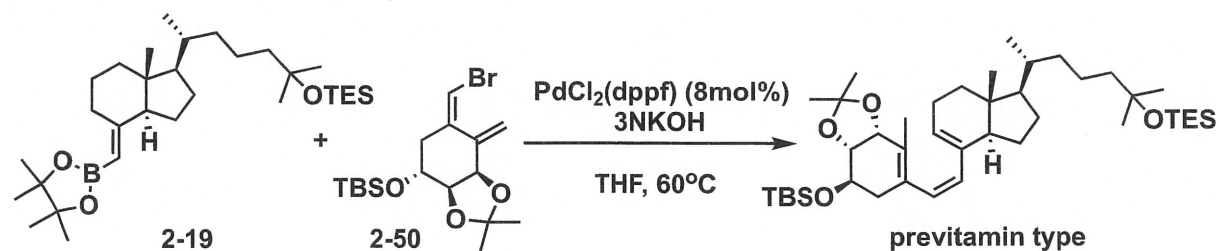


### 2) isomerization of A-C,D coupling product



続いて、2位に水酸基を有するA環部ユニット **2-50**とC,D環部ユニット **2-19**を用いた同様のカップリング反応検討を行った。(Scheme 2-17)

Scheme 2-17



結果としてカップリング体は得られるものの、プレビタミン型のカップリング体が優先して得られた。これは、先の検討と同様の仮説が原因であると考えられるが、別の因子として、今回使用したA環部の構造に着目すると、その2,3位がアセタール基で固定された構造であり、本来2位に置換基を持たないA環部と構造を比較すると環全体のひずみに差が生じることが予想できる。このA環部の環構造全体のひずみの差が転位反応を進行する原因の一つである可能性が示唆される。

## 2-3-2. Horner-Wadsworth-Emmons ReactionによるA-C,Dカップリングの検討

19-*nor*型ビタミンD誘導体合成を目的として、Horner-Wadsworth-Emmons ReactionによるA-C,Dカップリング反応の検討を行った。(Scheme 2-18, Table 4)

Scheme 2-18

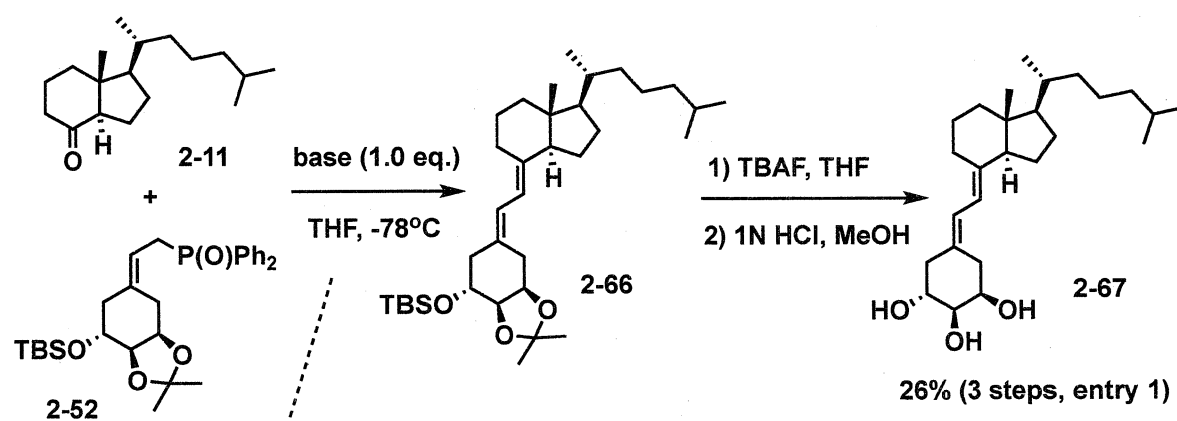


Table 2-4

entry	base	yield (%)	C, D-ring recover (%)	A-ring recover (%)
1	<i>n</i> -BuLi	52	46	33
2	LiHMDS	9	88	0

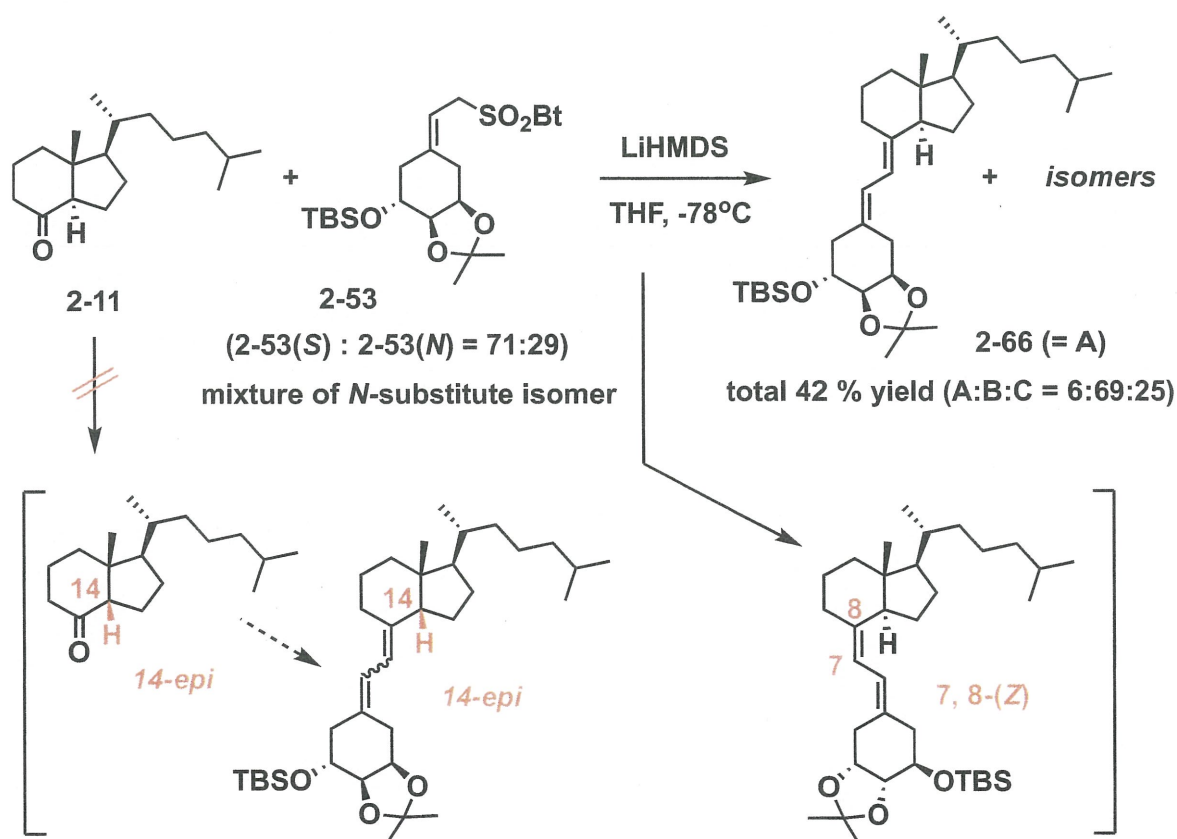
即ち、19-*nor*-A環部 **2-52**のTHF溶液 (0.1 M)を-78 °Cに冷却し、塩基 (1.0 eq.)を滴下し、同温で40分攪拌した。赤色を呈したA環部の反応溶液に、C,D環部ケトン体 **2-11**のTHF溶液 (0.5 M)を加え、2時間攪拌後、通常の後処理を行うことで、カップリング体 **2-66**を得た。検討の結果、収率と原料回収率の面、またカップリング体としての異性体が生成しないことから、*n*-BuLiをこの反応系に使用することを決定した。続けて、カップリング体 **2-66**のTHF溶液 (1.0 M)を0 °Cに冷却し、TBAF (2.5 eq.)を加え、室温で3時間攪拌した。反応停止後、減圧濃縮を行い、MeOH溶液 (0.1 M), 1N HCl水溶液 (2.0 M)を加え、室温で1時間攪拌後、通常の後処理を行うことで、2-alkoxy-19-*nor*-1 $\alpha$  (OH)vitamin D<sub>3</sub> **2-67**を得た (3 steps, 26%)。

## 2-3-3. Julia-Lythgoe OlefinationによるA-C,Dカップリングの検討

Horner-Wadsworth-Emmons Reaction によるカップリング反応では、カップリング体としての収率が50%程度に留まったため、収率改善を目的として、Julia-Lythgoe OlefinationによるA-C,Dカップリング反応の検討を行った。

即ち、19-*nor*-A環部 **2-53**のTHF溶液 (0.1 M)を-78 °Cに冷却し、LiHMDS (1.0 eq.)を加え、同温で1時間攪拌後、C,D環部ケトン体 **2-11**のTHF溶液 (0.5 M)を加え、反応温度を-78°Cから-20 °Cまで上昇させながら12時間攪拌し、通常の後処理を行った。反応検討の結果、目的のカップリング体 **2-66**は得られるが、これを含めた3種類のカップリング体が同時に生成した。その生成比は、**A (= 2-66) : B : C = 6 : 69 : 25**である。(Figure 2-10)

Figure 2-10



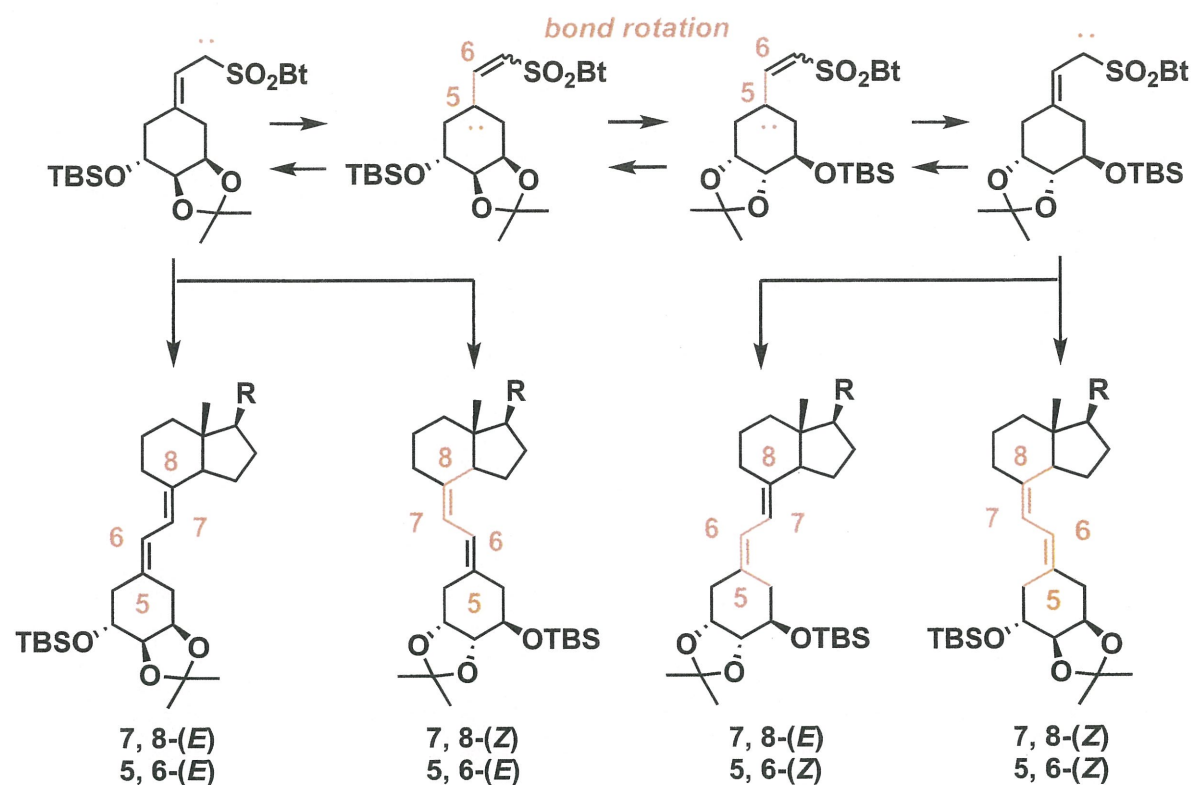
これらカップリング体の副生成物としては、7, 8位Z体のカップリング体 (7,

**8-(Z)**やC,D環部14位のエピメリ化を経由して生成するカップリング体 (**14-epi**)が推測される。この反応は、後の第三章にて14位エピ体が生成しないことを確認しているため、これとは別の異性体が生成していること予測している。

ここで、Horner-Wadsworth-Emmons Reactionで用いたA環部 **2-52**とJulia-Lythgoe Olefinationに使用したA環部 **2-53**をHSAB則の観点から比較すると、ホスフィンオキシドを有するA環部**2-52**はhardな求核剤であり、スルホキシドを有するA環部**2-53**はsoftな求核剤であると仮定できる。よってこの双方のA環部が、対応する塩基によってアニオンを生成した状態では、A環部 **2-52**に比較してA環部 **2-53**の分極率は大きく、この状態での異性化が進行することが予測できる。

即ち、このA環部の異性化によって、5,6位部分が単結合となる中間体が存在し、この部分の結合回転 (bond rotation)が生じるため、これによって新たなカップリング体が生成することが考えられる。そして、これに7,8位Z体を組み合わせたカップリング体が今回の条件で生成したカップリング体であると推測しているが、これら構造の同定には至っていない。(Figure 2-11-1)

Figure 2-11-2



この他, C,D環部とA環部が結合する過程の熱力学安定性による立体障害の選択性と二酸化硫黄とベンゾチアゾールの速度論的支配による脱離過程 (*anti*脱離過程 ((*A*)-*anti*, (*B*)-*anti*)または*syn*脱離 ((*A*)-*anti*, (*B*)-*anti*))が異性体の生成に影響していると推測している。(Figure 2-11-2)



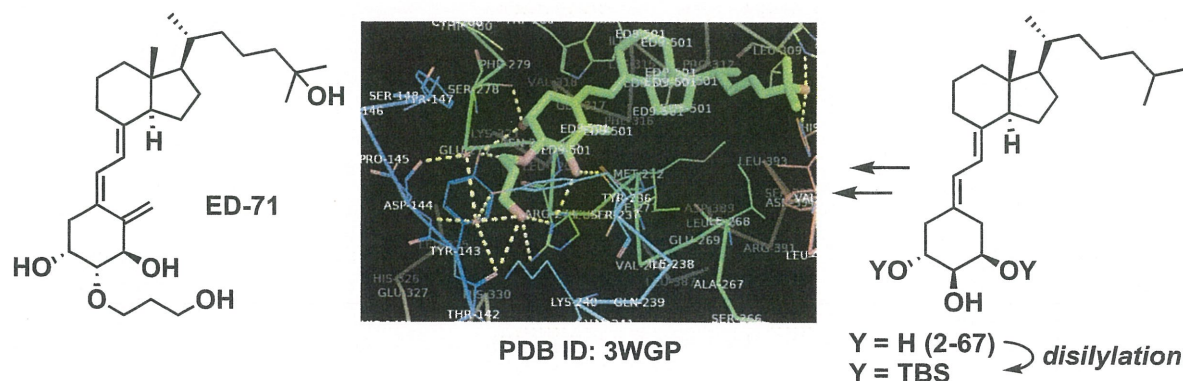


### 2-3-4. 2位水酸基変換反応によるビタミンD誘導体ライブラリー構築手法の拡張

2011年に骨粗鬆症治療薬として認可されたエディロール (ED-71)に見られるように、ビタミンD骨格のA環部2位水酸基に官能基を導入した誘導体の一部には、ビタミンD受容体タンパク質内で、この新たに導入した官能基特有の結合ドメインを持つことが知られており、2位に新たな官能基を導入することには大きな意義がある。<sup>29</sup>

そこで、Horner-Wadsworth-Emmons Reactionの検討で得られたカップリング体 **2-67**のジシリル化を経由して、2位水酸基の変換反応の検討を行い、ビタミンD誘導体ライブラリー構築手法としてさらなる拡張を図った。(Figure 2-12)

Figure 2-12



初めに、 $2\alpha$ -2-alkoxy-19-nor-vitamin D<sub>3</sub>誘導体 **2-67**とimidazole (5.0 equiv.) のDMF溶液を0 °Cに冷却し、TBSCl (2.1 eq.)を加え、同温で一晩攪拌し、通常の後処理を行うことでジシリル体 **2-68**を得た (97%)。

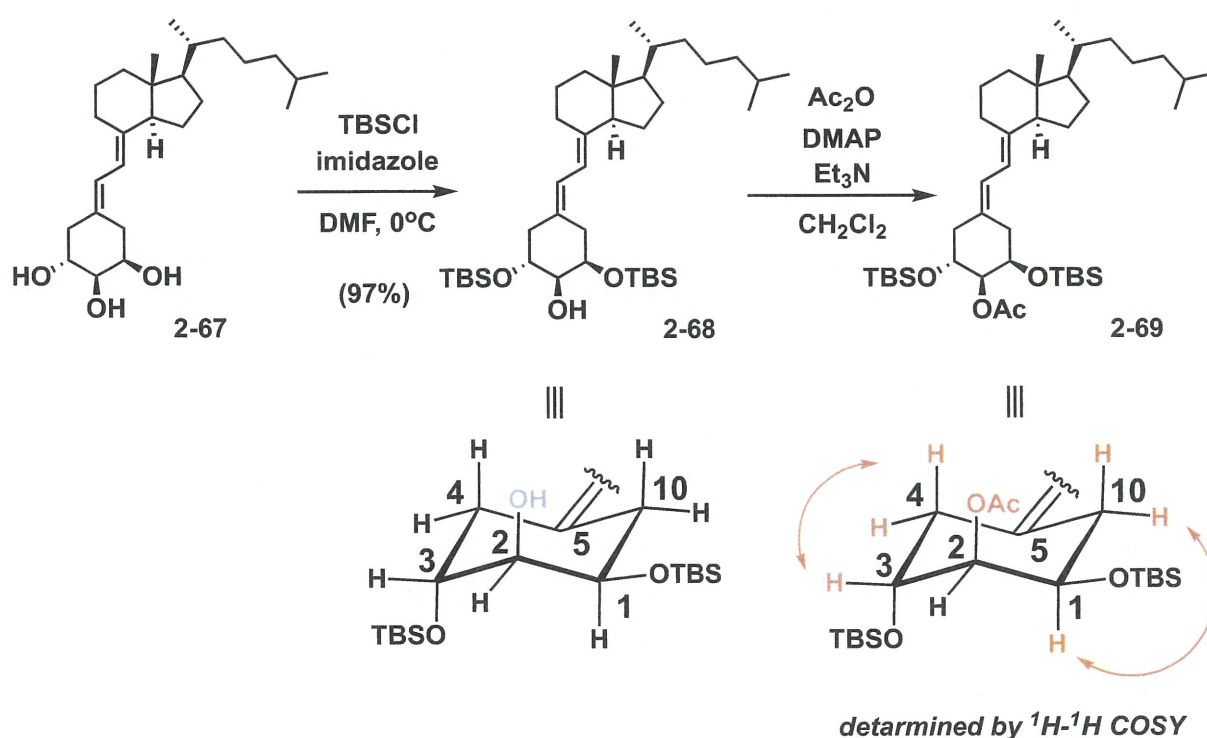
ジシリル体 **2-68**の1,3位の水酸基が選択的にシリル化されていることを確認するため、残る水酸基のアセチル化を行い、1次元<sup>1</sup>H-NMR, 2次元 (<sup>1</sup>H-<sup>1</sup>H COSY) NMRスペクトルの測定を行った。 $2\alpha$ -ジシリル体 **2-68**とアセチル体 **2-69**との<sup>1</sup>H-NMRのピークを比較し、優位の低磁場シフトしたピークをアセトキシ結合炭素上のプロトン

<sup>29</sup> Y. Cao, S. Mori, T. Mashiba, Y. Kaji, T. Manabe, K. Iwata, K. Miyamoto, S. Komatsubara and T. Yamamoto, Bone., 2007, 40, 132-139.

と帰属した。続けて、2次元 ( $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$  COSY) NMRにより、A環部の4, 10位のアリル位のプロトンと1,3位のプロトンとの相関を確認し、低磁場シフトした2位のプロトンと4, 10位のアリル位のプロトンとの相関がないことを確認した。以上の結果から、A環部の1,3位に選択的にジシリル化が行われていると判断した。

(Scheme 2-19)

Scheme 2-19



続いて、ジシリル体 **2-68**の2位の水酸基の変換反応は、1) Barton McCombie脱オキシ反応、2) 光延反応による2 $\beta$ アルコキシ型ビタミンD誘導体の合成、3) 2位の水酸基へのアルキル鎖の導入を検討してきたが、1, 3位の比較的高いTBS基の立体障害により反応性が低いことや、一部ラジカル反応の条件を用いていることから反応系が複雑化するなどの問題があり、反応条件の最適化には至っていない。

(Scheme 2-20)



## 2-4. 結論

本章では、A環部ユニットの合成とA-C,Dカップリング反応の検討を行い、以下の結果が得られた。(Figure 2-13)

- 1) (*R*)-Epichlorohydrin及びD-(-)-Lyxoseを原料としたA環部合成では、共通エンイン型中間体 **2-30**, **2-49**を経由して、Suzuki-Miyaura Couplingに対応した天然型A環部ユニット **2-32**, **2-62**, **2-50**とHorner-Wadsworth-Emmons Reactionに対応した19-*nor*型A環部ユニット **2-35**, **2-52**, **2-53**の構築が可能であった。
- 2) (*S*)-Epichlorohydrin及びD-(-)-quiniq acidを原料としたA環部合成では、それぞれエノン体 **2-38**, ケトン体 **2-43**を経由して、Suzuki-Miyaura Couplingに対応した19-*nor*型A環部ユニット **2-41**, **2-63**の構築が可能であった。D-(-)-quiniq acidを原料とするA環部合成に関しては、ブロモメチレン体への変換反応の収率向上が望まれる。
- 3) 天然型C,D環部ユニット **2-19**とA環部ユニット **2-32**, **2-41**のSuzuki-Miyaura CouplingではA環部を19-*nor*型 **2-41**とした条件では、目的のカップリング体が単一生成物として得られたものの、A環部を天然型 **2-32**とした場合には、異性体を20%ほど含むカップリング体を得られた。カップリング時の反応温度を下げることで、異性体の生成が抑えられる傾向が得られている。
- 4) 2位に水酸基を有する2,3位アセタール保護体としてのA環部ユニット **2-50**を用いたSuzuki-Miyaura Couplingではプレビタミン型のカップリン体が優先して得られる結果となった。
- 5) 19-*nor*型A環部ユニット **2-52**を用いるHorner-Wadsworth-Emmons Reactionでは目的のカップリング体が単一生成物として得られた。

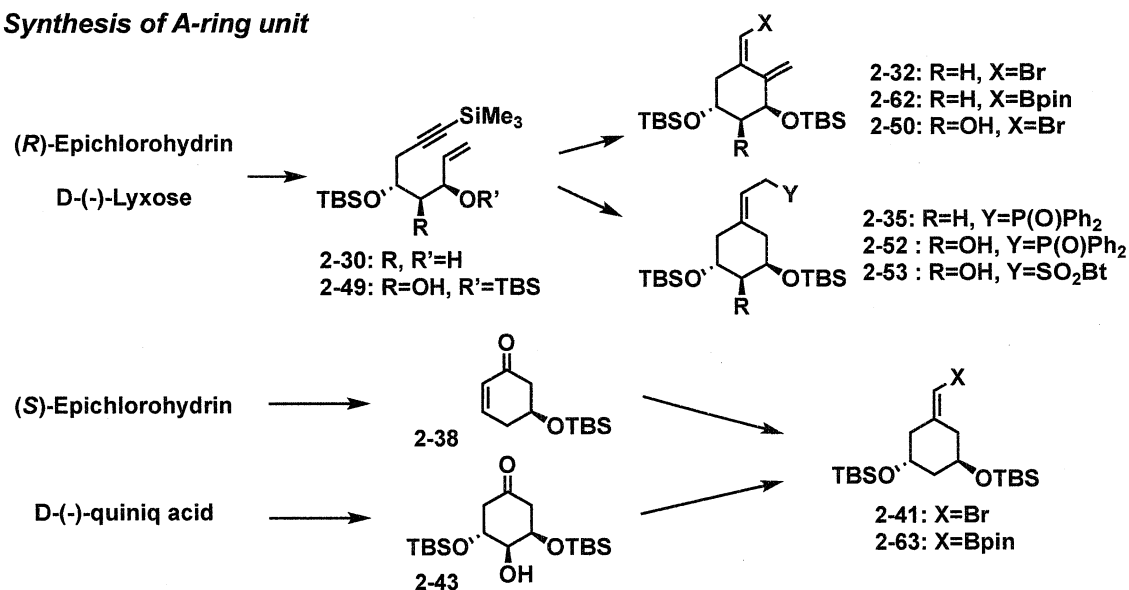
- 6) 19-*nor*型A環部ユニット **2-53**を用いる Julia-Lythgoe Olefination では、ビタミンD骨格5, 6または7, 8位幾何異性体を含む3種類のカップリング体が得られた。
- 7) 2位に水酸基を有する19-*no*型ビタミンD誘導体 **2-67**の, 1, 3位選択的ジシリル化反応は問題なく進行するものの, 得られたジシリル体 **2-68**の2位水酸基は立体障害の影響から反応性が低く, これを基盤とした誘導体の拡張には至らなかった。

以上の結果から, 第三章, 第四章では, 本章で合成した複数の共通A環部ユニットを用い, A-C,Dカップリング反応には, Suzuki-Miyaura Coupling と Horner-Wadsworth-Emmons Reactionを中心に用いることで新規ビタミンD誘導体の構築を行うことを計画した。



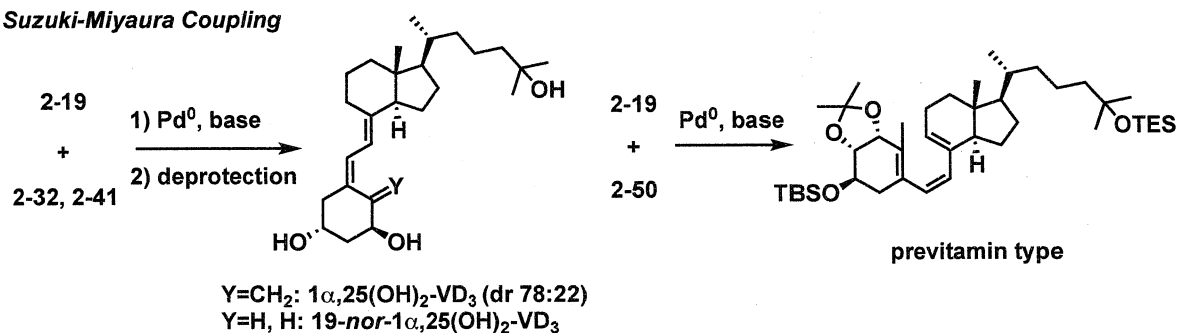
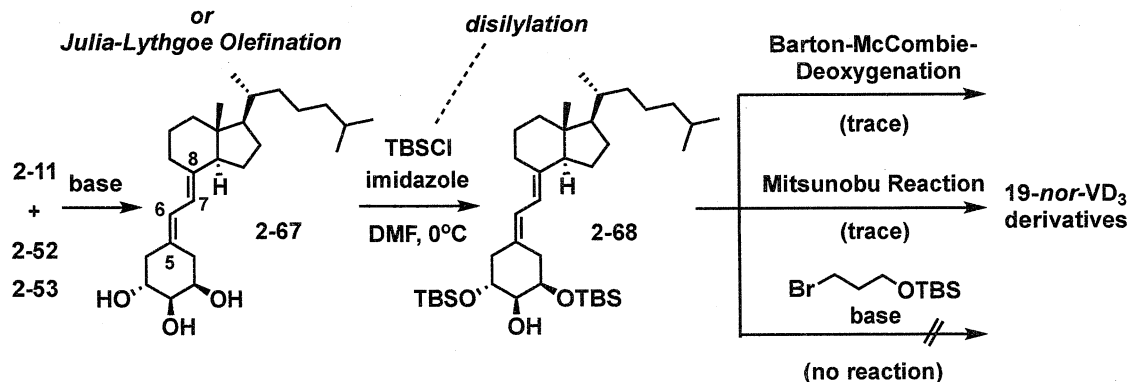
Figure. 2-13

## Synthesis of A-ring unit



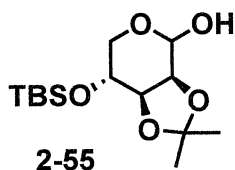
## A-C,D Coupling

## Suzuki-Miyaura Coupling

Horner-Wadsworth-Emmons Reaction  
or  
Julia-Lythgoe Olefination

**Experimental Sections (Chapter 2)**

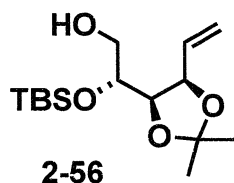
**General.** NMR spectra were recorded in CDCl<sub>3</sub> at 600, 500 MHz for <sup>1</sup>H and 150, 125 and 67.5 MHz for <sup>13</sup>C, respectively, on JEOL JNM-ECA600 and 500, JNM-EX270, and HITACHI R-1900 spectrometers. Chemical shifts are reported in parts per million (ppm, δ) relative to Me<sub>3</sub>Si (δ 0.00), residual CHCl<sub>3</sub> (δ 7.26 for <sup>1</sup>H NMR), or CDCl<sub>3</sub> (δ 77.0 for <sup>13</sup>C NMR). IR spectra were recorded on an FT/IR 4100 (JASCO) and are reported in wave numbers (cm<sup>-1</sup>). All air and/or moisture sensitive reactions were performed under an argon atmosphere. Dry solvents [THF (tetrahydrofuran), AcOEt, diethyl ether, and CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, EtOH, Toluene, CH<sub>3</sub>CN] were purchased from Kanto Chemicals. Ti(O-*i*-Pr)<sub>4</sub> was distilled under reduced pressure and was stored under argon. *i*-PrMgCl was prepared from magnesium turnings and *i*-PrCl in Et<sub>2</sub>O, titrated, and stored under argon. Other chemicals are commercially available and were used as received unless otherwise indicated.



**(3a*S*,7*R*,7a*R*)-7-((*tert*-Butyldimethylsilyl)oxy)-2,2-dimethyltetrahydro-3a*H*-[1,3]dioxolo[4,5-*c*]pyran-4-ol (2-55)**

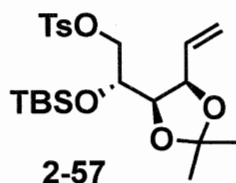
To a stirred suspension of D-lyxose (5.00 g, 33.3 mmol) in benzyl alcohol (16.7 mL) was added *p*-toluenesulfonic acid monohydrate (31.8 mg, 0.182 mmol), and this suspension was heated to 60 °C. After 48 h, the clear colorless solution was cooled to room temperature to precipitate a semi-solid white mass, which was suspended in 2:1 hexanes/CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> and filtered. The white solid was washed with ether and dried under reduced pressure to yield colorless crystals as a anomeric mixture of (3*S*,4*S*,5*R*)-2-(benzyloxy)tetrahydro-2*H*-pyran-3,4,5-triol (6.47 g) in 82% yield. To a stirred suspension of the product (6.47 g, 26.5 mmol) in acetone (80.5 mL) were added 2,2-dimethoxypropane (10.2 g, 92.7 mmol) and *p*-toluenesulfonic acid monohydrate (0.101 g, 0.530 mmol). After 24 h at room temperature, a 1:1 mixture of hexanes/ether (185 mL) was added. The solution was washed with saturated aqueous NaHCO<sub>3</sub> (50 mL). The

organic layer was dried over  $\text{MgSO}_4$ , filtered through a pad of Celite and concentrated under reduced pressure. Purification of this clear colorless oil was accomplished by flash column chromatography on silica gel (hexane/AcOEt) to give (3a*S*,7*R*,7a*S*)-4-(benzyloxy)-2,2-dimethyltetrahydro-3a*H*-[1,3]dioxolo[4,5-*c*]pyran-7-ol (5.65 g) in 76% yield. To a stirred solution of the product (5.49 g, 19.6 mmol) in DMF (175 mL) were added imidazole (3.06 g, 43.1 mmol) and then *tert*-butyldimethylsilyl chloride (5.07 g, 32.2 mmol) in one portion. After 2 h at room temperature, the reaction mixture was diluted with 185 mL of ether and washed with saturated aqueous  $\text{NaHCO}_3$  (50 mL) and 50 mL of water. The organic layer was dried over  $\text{MgSO}_4$ , filtered through a pad of Celite and concentrated under reduced pressure. Purification of this clear colorless oil was accomplished by flash column chromatography on silica gel (hexane/AcOEt) to give (((3a*S*,7*R*,7a*R*)-4-(benzyloxy)-2,2-dimethyltetrahydro-3a*H*-[1,3]dioxolo[4,5-*c*]pyran-7-yl)oxy)(*tert*-butyl)dimethylsilane **2-54** (7.12 g) in 92 % yield. To a stirred solution of the product (7.12 g, 18.0 mmol) in 200 mL of THF and 200 mL of liquid ammonia was added portionwise freshly cleaned lithium metal (excess) at  $-78\text{ }^\circ\text{C}$ . After 25 min at this temperature, the reaction was quenched by careful addition of solid  $\text{NH}_4\text{Cl}$  (10 g). After the reaction mixture turned from a blue to a cloudy colorless, it was allowed to warm to ambient temperature and stirred for 1 day before being diluted with 150 mL of ether. The resulting mixture was washed with 100 mL of saturated aqueous  $\text{NaHCO}_3$ , then dried over  $\text{MgSO}_4$ , filtered through a pad of Celite and concentrated under reduced pressure. Purification of this clear colorless solid was accomplished by column chromatography on silica gel (hexane/AcOEt) to give **2-55** (3.84 g) in 70% yield.  $^1\text{H}$  NMR (600 M Hz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  5.12 (dd,  $J = 2.1, 8.3$  Hz, 1H,  $\text{CHOH}$ ), 4.21 (dd,  $J = 2.1, 6.2$  Hz, 1H,  $\text{CHOC}$ ), 4.17 (dd,  $J = 4.8, 6.2$  Hz, 1H,  $\text{CHOC}$ ), 4.09 (d,  $J = 7.6$  Hz, 1H, OH), 3.85-3.82 (m, 1H,  $\text{CHOSi}$ ), 3.80-3.74 (m, 2H,  $\text{OCH}_2$ ), 1.51 (s, 3H,  $\text{CCH}_3$ ), 1.36 (s, 3H,  $\text{CCH}_3$ ), 0.91 (s, 9H,  $\text{SiC}(\text{CH}_3)_3$ ), 0.13 (s, 3H,  $\text{OSi}(\text{CH}_3)_2$ ), 0.12 (s, 3H,  $\text{OSi}(\text{CH}_3)_2$ );  $^{13}\text{C}$  NMR (150 M Hz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  109.2, 92.3, 75.8, 75.4, 68.5, 62.8, 27.3, 25.6, 25.4, 18.0, -4.9, -5.0; IR (KBr) 3393, 2928, 1462, 1249, 1120  $\text{cm}^{-1}$ ; HR-MS  $m/z = \text{calcd. For } \text{C}_{14}\text{H}_{28}\text{NaO}_5\text{Si } [\text{M}+\text{Na}]^+$ : 327.1604, found 327.1658.



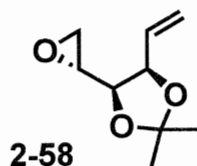
**(*R*)-2-((*tert*-Butyldimethylsilyl)oxy)-2-((4*R*,5*R*)-2,2-dimethyl-5-vinyl-1,3-dioxolan-4-yl)ethanol (2-56)**

To a stirred solution of MePPh<sub>3</sub>Br (9.26 g, 25.9 mmol) in toluene (65 mL) at 0 °C was added dropwise *n*-BuLi (1.6 M in hexane, 39.3 mL, 25.8 mmol). After 10 min at 0 °C the solution was warmed to room temperature and stirred for 40 min. The resulting yellow ylide solution was added dropwise to a solution of the lithium alkoxide of **2-55**, which was prepared by treatment of **2-55** (2.70 g, 8.87 mmol) with *n*-BuLi (1.6 M in hexane, 13.1 ml, 8.6 mmol) in THF (65 mL) for 10 min at 0 °C, and then for 40 min at room temperature. The mixture was stirred for 15 min at 0 °C and then at 65 °C for 45 min. Upon cooling to room temperature, saturated aqueous NH<sub>4</sub>Cl (40 mL) was added. The resulting mixture was extracted with ether and washed with brine, then dried over MgSO<sub>4</sub>, filtered through a pad of Celite and concentrated under reduced pressure. Purification of this clear colorless oil was accomplished by column chromatography on silica gel (hexane/AcOEt) to give **2-56** (2.39 g) in 89% yield. <sup>1</sup>H NMR (600 M Hz, CDCl<sub>3</sub>) δ 6.05 (ddd, *J* = 7.5, 10.5, 17.6 Hz, 1H, CH=CH<sub>2</sub>), 5.36 (d, *J* = 17.6 Hz, 1H, CH=CH<sub>2</sub>), 5.30 (d, *J* = 10.5 Hz, 1H, CH=CH<sub>2</sub>), 4.60 (t, *J* = 7.5 Hz, 1H, CH<sub>2</sub>OH), 4.24 (dd, *J* = 3.8, 7.5 Hz, CH<sub>2</sub>OH), 3.65-3.58 (m, 3H, HOCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>OH), 2.36 (d, *J* = 5.5 Hz, 1H, CH<sub>2</sub>OH) 1.53 (s, 3H, CH<sub>3</sub>CO), 1.40 (s, 3H, CH<sub>3</sub>CO), 0.90 (s, 9H, SiC(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 0.07 (s, 3H, Si(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>), 0.06 (s, 3H, Si(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>); <sup>13</sup>C NMR (150 M Hz, CDCl<sub>3</sub>) δ 134.5, 119.3, 108.6, 79.1, 77.1, 69.9, 64.1, 27.2, 25.9, 24.9, 18.3, -5.4; IR (KBr) 3499, 3083, 2930, 1644, 1255, 1116, 837, 778 cm<sup>-1</sup>; HR-MS *m/z* = calcd. For C<sub>15</sub>H<sub>30</sub>NaO<sub>4</sub>Si [M+Na]<sup>+</sup>: 325.1811, found 325.1859; [α]<sub>D</sub><sup>23</sup> -18.4 (*c* 1.32, CHCl<sub>3</sub>).



***tert*-Butyl(((*R*)-1-((4*R*,5*R*)-2,2-dimethyl-5-vinyl-1,3-dioxolan-4-yl)-4-(trimethylsilyl)but-3-yn-1-yl)oxy)dimethylsilane (2-57)**

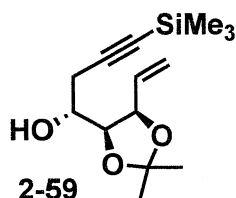
To a solution of **2-56** (647 mg, 2.14 mmol) in pyridine (11.1 mL) was added *p*-toluenesulfonyl chloride (1.28 g, 6.30 mmol). The reaction mixture was stirred at room temperature for 20 h and concentrated under reduced pressure. The residue was purified by column chromatography on silica gel (hexanes/EtOAc) to give (*R*)-2-((*tert*-butyldimethylsilyl)-oxy)-2-((4*R*,5*R*)-2,2-dimethyl-5-vinyl-1,3-dioxolan-4-yl)ethyl 4-methylbenzenesulfonate **2-57** (958 mg) in 98% yield as a viscous colorless oil.  $^1\text{H}$  NMR (600 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  7.81 (d,  $J = 8.3$  Hz, 2H, Ar-H), 7.30 (d,  $J = 8.3$  Hz, 2H, Ar-H), 5.79 (ddd,  $J = 8.3, 10.3, 17.2$ , 1H,  $\text{CH}=\text{CH}_2$ ), 5.31 (d,  $J = 17.2$  Hz, 1H,  $\text{CH}=\text{CH}_2$ ), 5.26 (d,  $J = 10.3$  Hz, 1H,  $\text{CH}=\text{CH}_2$ ), 4.55-4.51 (m, 2H,  $\text{CHO}$ ), 4.41 (t,  $J = 6.5$  Hz, 1H,  $\text{CHO}$ ), 3.86-3.81 (m, 2H,  $\text{SOCH}_2\text{CH}$ ), 2.43 (s, 3H, Ar- $\text{CH}_3$ ), 1.27 (s, 3H,  $\text{CH}_3\text{CO}$ ), 1.26 (s, 3H,  $\text{CH}_3\text{CO}$ ), 0.87 (s, 9H,  $\text{SiC}(\text{CH}_3)_3$ ), 0.04 (s, 3H  $\text{Si}(\text{CH}_3)_2$ ), 0.03 (s, 3H  $\text{Si}(\text{CH}_3)_2$ );  $^{13}\text{C}$  NMR (150 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  144.3, 134.6, 133.5, 129.3, 128.0, 119.8, 108.8, 80.7, 78.3, 75.7, 61.9, 27.3, 25.8, 25.3, 21.6, 18.2, -5.4, -5.6; IR (KBr) 2931, 1598, 1463, 1365, 1177, 839, 664  $\text{cm}^{-1}$ ; HR-MS  $m/z = \text{calcd.}$  For  $\text{C}_{22}\text{H}_{36}\text{NaO}_6\text{SSi}$   $[\text{M}+\text{Na}]^+$ : 479.1900, found 479.1947;  $[\alpha]_{\text{D}}^{23} -31.7$  ( $c$  0.70,  $\text{CHCl}_3$ .)



**(4*R*,5*R*)-2,2-dimethyl-4-((*R*)-oxiran-2-yl)-5-vinyl-1,3-dioxolane (2-58)**

To a solution of the resulting tosylate (923 mg 2.02 mmol) in THF (10 mL) was added *n*- $\text{Bu}_4\text{NF}$  (3 mL, 1.0 M in THF, 3 mmol). After stirring for 1 h at room temperature, to this was added NaH (72 mg, 50% in oil, 1.5 mmol). After stirring for 1 h at ambient

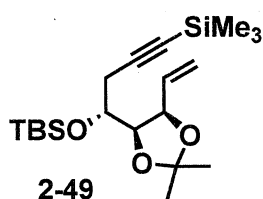
temperature. The resulting mixture was diluted with H<sub>2</sub>O (10 mL) and then extracted with ether (3 x 10 mL). The combined organic layers were dried over MgSO<sub>4</sub>, concentrated and purified by column chromatography on silica gel (hexanes/AcOEt) to give **2-58** (193 mg) in 56% yield. <sup>1</sup>H NMR (600 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 6.00 (ddd, *J* = 6.9, 10.7, 17.2 Hz, 1H, CH=CH<sub>2</sub>), 5.49 (d, *J* = 17.2 Hz, 1H CH=CH<sub>2</sub>), 5.36 (d, *J* = 10.7 Hz, 1H, CH=CH<sub>2</sub>), 4.75 (t, *J* = 6.9 Hz, 1H, CHO), 3.77 (t, *J* = 6.9 Hz, 1H, CHO), 2.97 (ddd, *J* = 2.7, 4.1, 6.9 Hz, 1H, CH<sub>2</sub>CHO), 2.84 (dd, *J* = 4.1, 5.1 Hz, 1H, CH<sub>2</sub>CHO), 2.69 (dd, *J* = 5.1, 2.7 Hz, 1H, CH<sub>2</sub>CHO), 1.53 (s, 3H, CCH<sub>3</sub>), 1.39 (s, 3H, CCH<sub>3</sub>); <sup>13</sup>C NMR (150 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 132.5, 118.8, 109.3, 79.0, 78.7, 49.8, 45.7, 27.7, 25.1; IR (neat) 2990, 1646, 1374, 1216, 1054, 873; [α]<sub>D</sub><sup>22</sup> -16.0 (*c* 1.03, CHCl<sub>3</sub>).



**(*R*)-1-((4*S*,5*R*)-2,2-dimethyl-5-vinyl-1,3-dioxolan-4-yl)-4-(trimethylsilyl)but-3-yn-1-ol (2-59)**

To a stirred solution of ethynyltrimethylsilane (0.13 mL, 0.93 mmol) in hexane (0.3 mL) was slowly added *n*-BuLi (0.6 mL, 1.57 M in hexane, 1.09 mmol) at 0 °C under argon and the mixture was stirred for 30 min. To the mixture was added Et<sub>2</sub>AlCl (1.0 mL, 0.93 M in hexane, 1.09 mmol) at 0 °C and the mixture was stirred for 30 min. To this mixture was added the epoxide obtained above (145 mg, 0.852 mmol) at 0 °C. The mixture was stirred for 1.5h. After careful addition of aqueous 1M HCl (5 mL) at 0 °C, the mixture was extracted with ether (15 mL). The organic layers were dried over MgSO<sub>4</sub>, filtered through a pad of Celite and concentrated under reduced pressure. Purification of this clear colorless oil was performed by column chromatography on silica gel (hexanes/EtOAc) to give **2-59** (160 mg) in 70% yield as a viscous colorless oil. <sup>1</sup>H NMR (600 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 6.03 (ddd, *J* = 6.9, 10.3, 17.2 Hz, 1H, CH=CH<sub>2</sub>), 5.44 (d, *J* = 17.2 Hz, 1H, CH=CH<sub>2</sub>), 5.31 (d, *J* = 10.3 Hz, CH=CH<sub>2</sub>), 4.70 (t, *J* = 6.9 Hz, 1H, CHO), 4.03 (dd, *J* = 6.9, 8.9 Hz, 1H, CHO), 3.74 (t, *J* = 7.6 Hz, 1H, CHO), 2.69 (dd, *J* = 4.1, 17.2 Hz, 1H, propargylic), 2.50 (dd, *J* =

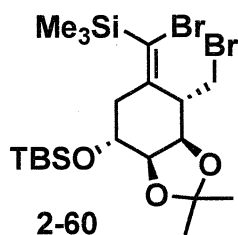
7.6, 17.2 Hz, 1H, propargylic), 2.11 (d,  $J = 2.1$  Hz, 1H,  $\text{CHOH}$ ), 1.46 (s, 3H,  $\text{CCH}_3$ ), 1.37 (s, 3H,  $\text{CCH}_3$ ), 0.17 (s, 9H,  $\text{Si}(\text{CH}_3)_3$ );  $^{13}\text{C}$  NMR (150 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  133.9, 117.9, 108.7, 102.3, 88.0, 79.4, 78.6, 67.9, 27.7, 25.9, 25.2, 0.02; IR (neat) 3470, 2987, 2175, 1644, 1251, 1063, 846, 646  $\text{cm}^{-1}$ ; HR-MS  $m/z = \text{calcd.}$  For  $\text{C}_{14}\text{H}_{24}\text{NaO}_3\text{Si}$   $[\text{M}+\text{Na}]^+$ : 291.1392, found 291.1417;  $[\alpha]_{\text{D}}^{24} -1.8$  ( $c$  1.05,  $\text{CHCl}_3$ ).



***tert*-butyl(((*R*)-1-(((*4R,5R*)-2,2-dimethyl-5-vinyl-1,3-dioxolan-4-yl)-4-(trimethylsilyl)but-3-yn-1-yl)oxy)dimethylsilane (2-49)**

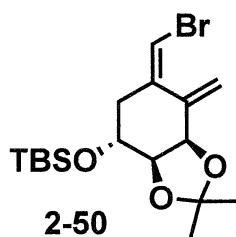
To a stirred solution of the resulting alcohol **2-59** (2.68 g, 10.0 mmol) in DMF (20 mL) were added imidazole (0.817 g, 12.0 mmol), DMAP (61.1 mg, 0.5 mmol), and *tert*-butyldimethylsilyl chloride (1.81 g, 12.0 mmol). After being stirred overnight at room temperature, the reaction mixture was diluted with 50 mL of ether and washed with saturated aqueous  $\text{NaHCO}_3$  (20 mL) and water (3 x 20 mL). The organic layers were dried over  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ , filtered through a pad of Celite and concentrated under reduced pressure. Purification of this clear colorless oil was accomplished by flash column chromatography on silica gel (hexane/AcOEt) to give **2-49** (3.56 g) in 93 % yield.  $^1\text{H}$  NMR (600 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  5.94 (ddd,  $J = 6.9, 10.3, 17.2$  Hz, 1H,  $\text{CH}=\text{CH}_2$ ), 5.35 (d,  $J = 17.2$  Hz, 1H,  $\text{CH}=\text{CH}_2$ ), 5.23 (d,  $J = 10.3$  Hz, 1H,  $\text{CH}=\text{CH}_2$ ), 4.60 (t,  $J = 6.9$  Hz, 1H,  $\text{CHO}$ ), 4.24 (t,  $J = 6.9$  Hz, 1H,  $\text{CHO}$ ), 3.87 (dt,  $J = 4.1, 6.9$  Hz, 1H,  $\text{CHO}$ ), 2.55 (d,  $J = 4.1$  Hz, 2H, propargylic), 1.47 (s, 3H,  $\text{CCH}_3$ ), 1.38 (s, 3H,  $\text{CCH}_3$ ), 0.89 (s, 9H,  $\text{Si}(\text{CH}_3)_3$ ), 0.14 (s, 9H,  $\text{Si}(\text{CH}_3)_3$ ), 0.13 (s, 3H,  $\text{Si}(\text{CH}_3)_2$ ), 0.07 (s, 3H,  $\text{Si}(\text{CH}_3)_2$ );  $^{13}\text{C}$  NMR (150 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  134.5, 118.0, 108.3, 103.5, 86.9, 79.2, 78.6, 69.3, 27.7, 26.0, 25.9, 25.3, 18.1, 0.04, -3.8, -4.5; IR (KBr) 2957, 2178, 1472, 1249, 1112, 839  $\text{cm}^{-1}$ ; HR-MS  $m/z = \text{calcd.}$  For  $\text{C}_{20}\text{H}_{38}\text{NaO}_3\text{Si}_2$   $[\text{M}+\text{Na}]^+$ : 405.2257, found 405.2311;  $[\alpha]_{\text{D}}^{24} +43.21$  ( $c$  1.14,  $\text{CHCl}_3$ ).





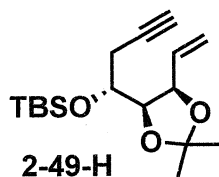
**((Z)-bromo((3aR,4S,7R,7aR)-4-(bromomethyl)-7-((tert-butyl)dimethylsilyloxy)-2,2-dimethyltetrahydrobenzo[d][1,3]dioxol-5(4H)-ylidene)methyl)trimethylsilane (2-60)**

To a solution of **2-49** (120 mg, 0.224 mmol) and  $\text{Ti}(\text{O}-i\text{-Pr})_4$  (0.134 mL, 0.45 mmol) in ether (2.27 mL) was added dropwise  $i\text{-PrMgCl}$  (0.57 mL, 1.55 M in ether, 0.89 mmol) at  $-78\text{ }^\circ\text{C}$ . After stirring for 30 min at  $-78\text{ }^\circ\text{C}$ , the resulting yellow mixture was warmed to at  $-50\text{ }^\circ\text{C}$  over 30 min and stirred for 3 h at this temperature. After cooling to at  $-78\text{ }^\circ\text{C}$ , to this was slowly added a solution of NBS (0.22 g, 1.23 mmol) in THF (1.36 mL) and the mixture was allowed to warm to room temperature over 2 h. After stirring for 1 h at room temperature, saturated aqueous  $\text{NH}_4\text{Cl}$  was added. The mixture was extracted with ether, washed with saturated aqueous  $\text{NaHCO}_3$  and  $\text{H}_2\text{O}$ , dried over  $\text{MgSO}_4$ , concentrated and chromatographed on silica gel (hexane/ether) to give **2-60** (97 mg) in 80% yield.  $^1\text{H}$  NMR (600 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  4.71 (d,  $J = 7.6$  Hz, 1H,  $\text{CHO}$ ), 4.03 (dd,  $J = 2.8, 7.6$  Hz, 1H,  $\text{CHO}$ ), 3.93 (ddd,  $J = 2.8, 4.8, 11.7$  Hz, 1H,  $\text{CHO}$ ), 3.57-3.53 (m, 2H,  $\text{CH}_2\text{Br}$ ), 3.07-3.03 (m, 1H,  $\text{CHCH}_2\text{Br}$ ), 2.60 (dd,  $J = 11.7, 16.2$  Hz, 1H, allylic  $\text{CH}_2$ ), 2.40 (dd,  $J = 4.8, 16.2$ , 1H, allylic  $\text{CH}_2$ ), 1.44 (s, 3H,  $\text{CCH}_3$ ), 1.36 (s, 3H,  $\text{CCH}_3$ ), 0.91 (s, 9H,  $\text{SiC}(\text{CH}_3)_3$ ), 0.29 (s, 9H,  $\text{Si}(\text{CH}_3)_3$ ), 0.11 (s, 3H,  $\text{Si}(\text{CH}_3)_2$ ), 0.10 (s, 3H,  $\text{Si}(\text{CH}_3)_2$ );  $^{13}\text{C}$  NMR (150 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  146.8, 129.9, 108.6, 75.3, 74.4, 67.4, 48.1, 33.3, 31.6, 26.3, 26.0, 24.3, 18.4, 0.57, -4.4, -4.5.



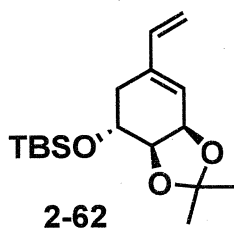
**(((3a*R*,4*R*,7a*R*,*Z*)-6-(Bromomethylene)-2,2-dimethyl-7-methylenehexahydrobenzo[*d*][1,3]dioxol-4-yl)oxy)(*tert*-butyl)dimethylsilane (2-50)**

To a solution of **2-60** (70 mg, 0.179 mmol) in toluene (0.47 mL) was added DBU (0.14 mL, 0.924 mmol) at 0 °C. The reaction mixture was stirred at 70 °C for 20 h. After addition of saturated aqueous NaHCO<sub>3</sub>, the mixture was extracted with hexane and the combined organic layers were dried over MgSO<sub>4</sub> and concentrated to give the crude diene product as a yellow oil. To a mixture of the crude residue thus obtained and DMF (0.50 mL) was added Cs<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (0.31 g, 0.92 mmol). The reaction mixture was stirred at room temperature for 12 h. After addition of saturated aqueous NaHCO<sub>3</sub>, the mixture was extracted with hexane and the combined organic layers were dried over MgSO<sub>4</sub>, concentrated and chromatographed on silica gel (hexane/Et<sub>2</sub>O) to give **2-59** (56 mg) in 80% yield. <sup>1</sup>H NMR (600 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 6.17 (s, 1H, C=CHBr), 5.69 (s, 1H, C=CH<sub>2</sub>), 5.61 (s, 1H, C=CH<sub>2</sub>), 4.59 (d, *J* = 6.9 Hz, 1H, CHO), 4.33 (dd, *J* = 2.8, 6.9 Hz, 1H, CHO), 3.80 (ddd, *J* = 2.8, 4.1, 11.7 Hz, 1H, CHO), 2.72 (ddd, *J* = 2.8, 11.7, 14.4 Hz, 1H, allylic CH<sub>2</sub>), 2.31 (dd, *J* = 4.1, 14.4 Hz, 1H, allylic CH<sub>2</sub>), 1.49 (s, 3H, CCH<sub>3</sub>), 1.38 (s, 3H, CCH<sub>3</sub>), 0.90 (s, 9H, SiC(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 0.10 (s, 3H, Si(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>), 0.09 (s, 3H, Si(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>); <sup>13</sup>C NMR (150 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 139.7, 137.5, 120.3, 109.8, 102.4, 78.1, 77.5, 68.9, 35.5, 26.7, 25.9, 25.0, 18.4, -4.5, -4.6; IR (neat) 2929, 2857, 1380, 1253, 1116, 873 cm<sup>-1</sup>; HR-MS *m/z* = calcd. For C<sub>17</sub>H<sub>29</sub>BrNaO<sub>3</sub>Si [M+Na]<sup>+</sup>: 411.0967, found 411.1010; [α]<sub>D</sub><sup>22</sup> +60.2 (*c* 0.93, CHCl<sub>3</sub>).



***tert*-Butyl(((*R*)-1-(((4*R*,5*R*)-2,2-dimethyl-5-vinyl-1,3-dioxolan-4-yl)but-3-yn-1-yl)oxy)dimethylsilane (2-49-H)**

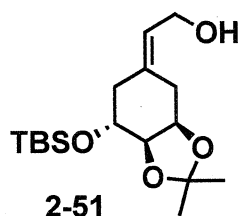
To a stirred solution of **2-49** (1.93 g, 5.0 mmol) in 10 mL of MeOH was added K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (2.07 g, 15.0 mmol). After stirring overnight at room temperature, the mixture was filtered through a pad of Celite and concentrated under reduced pressure. The residue was purified by flash column chromatography on silica gel (hexane/ether) to give **2-49-H** (1.55 g) in >99% yield. <sup>1</sup>H NMR (600 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 5.95 (ddd, *J* = 6.9, 10.3, 17.2 Hz, 1H, HC=CH<sub>2</sub>), 5.36 (d, *J* = 17.2 Hz, 1H, CH=CH<sub>2</sub>), 5.24 (d, *J* = 10.3 Hz, 1H, CH=CH<sub>2</sub>), 4.61 (t, *J* = 6.9 Hz, 1H, CHO), 4.27 (t, *J* = 6.9 Hz, 1H, CHO), 3.89 (dt, *J* = 4.1, 7.6 Hz, 1H, CHO), 2.57-2.48 (m, 2H, propargylic), 2.00 (t, *J* = 2.8 Hz, 1H, CCH), 1.47 (s, 3H, CCH<sub>3</sub>), 1.38 (s, 3H, CCH<sub>3</sub>), 0.90 (s, 9H, SiC(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 0.13 (s, 3H, Si(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>), 0.07 (s, 3H, Si(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>); <sup>13</sup>C NMR (150 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 134.4, 118.0, 108.2, 80.7, 79.1, 78.6, 70.5, 69.0, 27.7, 25.9, 25.4, 24.5, 18.1, -3.9, -4.5; IR (neat) 3313, 2930, 1472, 1255, 1112, 837, 643 cm<sup>-1</sup>; HR-MS *m/z* = calcd. For C<sub>17</sub>H<sub>30</sub>NaO<sub>3</sub>Si [M+Na]<sup>+</sup>: 333.1862, found 333.1882; [α]<sub>D</sub><sup>23</sup> +15.41 (*c* 1.27, CHCl<sub>3</sub>).



***tert*-Butyl(((3*aR*,4*R*,7*aR*)-2,2-dimethyl-6-vinyl-3*a*,4,5,7*a*-tetrahydrobenzo[*d*][1,3]dioxol-4-yl)oxy)dimethylsilane (2-62)**

To a solution of **2-49-H** (0.47 g, 1.5 mmol) in dry toluene (15 mL) was added Grubbs<sup>2nd</sup> catalyst (0.13 g, 10 mol%). Under an ethylene atmosphere (ballon), the mixture was stirred at 110 °C for 10 h. The mixture was filtered through a pad of SiO<sub>2</sub> and concentrated.

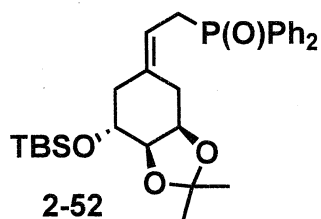
The residue was purified by column chromatography on silica gel (hexane/AcOEt) to give **2-62** (0.41 g) in 88% yield.  $^1\text{H}$  NMR (600 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  6.35 (dd,  $J = 10.3, 17.2$  Hz, 1H,  $\text{CH}=\text{CH}_2$ ), 5.52 (s, 1H,  $\text{C}=\text{CHCH}_2$ ), 5.27 (d,  $J = 17.2$  Hz, 1H,  $\text{CH}=\text{CH}_2$ ), 5.10 (d,  $J = 10.3$  Hz, 1H,  $\text{CH}=\text{CH}_2$ ), 4.67-4.65 (m, 1H,  $\text{CHO}$ ), 4.33-4.32 (m, 1H,  $\text{CHO}$ ), 3.97-3.94 (m, 1H,  $\text{CHO}$ ), 2.41-2.31 (m, 2H, allylic  $\text{CH}_2$ ), 1.38 (s, 3H,  $\text{CCH}_3$ ), 1.35 (s, 3H,  $\text{CCH}_3$ ), 0.93 (s, 9H,  $\text{SiC}(\text{CH}_3)_3$ ), 0.13 (s, 6H,  $\text{Si}(\text{CH}_3)_2$ );  $^{13}\text{C}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ , 150MHz)  $\delta$  138.2, 135.6, 126.1, 113.9, 109.7, 76.9, 74.5, 69.0, 27.8, 27.5, 26.8, 26.0, 18.4, -4.4, -4.6; IR (neat) 3090, 2957, 1607, 1379, 1236, 837, 776  $\text{cm}^{-1}$ ; HR-MS  $m/z = \text{calcd.}$  For  $\text{C}_{17}\text{H}_{30}\text{NaO}_3\text{Si}$   $[\text{M}+\text{Na}]^+$ : 333.1862, found 333.1878;  $[\alpha]_{\text{D}}^{24} +19.7$  ( $c$  1.09,  $\text{CHCl}_3$ ).



**(E)-2-((3aR,7R,7aR)-7-((tert-Butyldimethylsilyl)oxy)-2,2-dimethyltetrahydrobenzo[d][1,3]dioxol-5(6H)-ylidene)ethanol (2-51)**

The solution of  $\text{Ni}(\text{cod})_2$  (28 mg, 0.1 mmol) and  $\text{PCy}_3$  (ca.15 % in toluene) was added H-Bpin (4,4,5,5-tetramethyl-1,3,2-dioxaborolane, 0.15 mL, 1.05 mmol) and the reaction mixture was stirred for 5 min at room temperature. To the reaction mixture was added a solution of **2-62** (0.311 g, 1.0 mmol) in toluene (3.0 mL) and this mixture was stirred for 3 h at room temperature. To the mixture was sequentially added THF (3.5 mL), aqueous 3M NaOH (2.3 mL),  $\text{H}_2\text{O}_2$  (2 mL, ca. 35 % in  $\text{H}_2\text{O}$ ) at 0 °C. After being stirred for 12 h at room temperature, aqueous  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$  was added. The mixture was extracted with AcOEt, and the combined extracts were dried over  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  and concentrated. The residue was purified by column chromatography on silica gel (hexane/AcOEt) to afford **2-51** (0.30 g) in 92% yield.  $^1\text{H}$  NMR (600 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  5.62 (t,  $J = 7.6$  Hz, 1H,  $\text{C}=\text{CH}$ ), 4.30 (dd,  $J = 5.5, 11.7$  Hz, 1H,  $\text{CHO}$ ), 4.25 (dd,  $J = 3.4, 6.9$  Hz, 1H,  $\text{CHO}$ ), 4.16 (dd,  $J = 7.6, 12.4$  Hz, 1H,  $\text{CH}_2\text{OH}$ ), 4.06 (dd,  $J = 7.6, 12.4$  Hz, 1H,  $\text{CH}_2\text{OH}$ ), 3.93-3.90 (m, 1H,  $\text{CHO}$ ), 2.53 (dd,  $J = 11.0, 14.4$  Hz, 1H, allylic  $\text{CH}_2$ ), 2.43 (dd,  $J = 5.5, 14.4$  Hz, 1H, allylic  $\text{CH}_2$ ), 2.40-2.31 (m, 2H, allylic  $\text{CH}_2$ ), 1.54 (bs, 1H, OH), 1.50 (s, 3H,  $\text{CCH}_3$ ), 1.34 (s, 3H,  $\text{CCH}_3$ ), 0.91 (s, 9H,

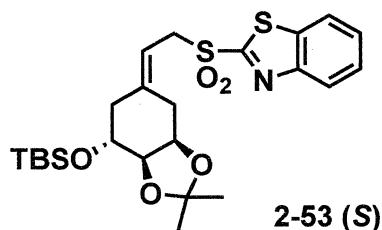
SiC(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 0.11 (s, 3H, Si(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>), 0.10 (s, 3H, Si(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>); <sup>13</sup>C NMR (150 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 135.9, 125.6, 108.7, 76.6, 73.7, 69.0, 58.3, 36.4, 29.9, 26.9, 26.0, 24.8, 18.4, -4.5, -4.6; IR (neat) 3416, 2930, 1668, 1472, 1380, 1253, 1116, 837, 776 cm<sup>-1</sup>; HR-MS *m/z* = calcd. For C<sub>17</sub>H<sub>32</sub>NaO<sub>4</sub>Si [M+Na]<sup>+</sup>: 351.1968, found 351.1975; [α]<sub>D</sub><sup>23</sup> +37.91 (*c* 0.55, CHCl<sub>3</sub>).



**((*E*)-2-((3*aR*,7*R*,7*aR*)-7-((*tert*-Butyldimethylsilyl)oxy)-2,2-dimethyltetrahydrobenzo[*d*][1,3]dioxol-5(6*H*)-ylidene)ethyl)diphenylphosphine oxide (2-52).**

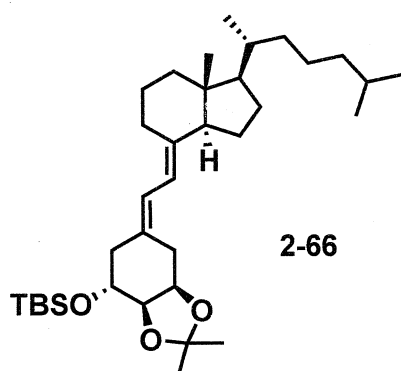
To a solution of **2-51** (1.0 mmol, 0.33 g) in THF (7.1 mL) was added *n*-BuLi (1.6 M in hexane 0.7 mL, 1.1 mmol) at 0 °C. A solution of *p*-TsCl (0.21 g, 1.1 mmol) in THF (1.1 mL) was added. After being stirred for 5 min at 0 °C, the solution was added dropwise to a solution of LiPPh<sub>2</sub>, which was prepared by treatment of HPPH<sub>2</sub> (0.35 mL, 2.0 mmol) with *n*-BuLi (1.6 M in hexane, 1.3 mL, 2.1 mmol) in THF (2.0 mL) for 30 min at 0 °C. After stirring for 30 min at this temperature, H<sub>2</sub>O (1 mL) was added and the mixture was concentrated. To the residue were added CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (10 mL) and H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (ca. 35 % in H<sub>2</sub>O, 0.53 mL) at 0 °C. After being stirred for 1 h at 0 °C, aqueous Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>3</sub> was added and the mixture was washed with H<sub>2</sub>O. The organic layer was separated, dried over MgSO<sub>4</sub>, filtered and concentrated. The residue was purified by column chromatography on silica gel (hexane/AcOEt) to afford **2-52** (0.46 g) in 90% yield. <sup>1</sup>H NMR (600 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 7.75-7.69 (m, 4H, Ar-H), 7.55-7.45 (m, 6H, Ar-H), 5.39 (q, *J* = 6.9 Hz, 1H, C=CH), 4.06 (dd, *J* = 6.2, 3.4 Hz, 1H, CHO), 3.76 (q, *J* = 6.2 Hz, 1H, CHO), 3.69 (dt, *J* = 10.3, 3.4 Hz, 1H, CHO), 3.15-3.03 (m, 2H, P(O)CH<sub>2</sub>C), 2.49-2.44 (m, 1H, allylic CH<sub>2</sub>), 2.19 (dd, *J* = 4.1, 14.1 Hz, 2H, allylic CH<sub>2</sub>), 2.08-2.05 (m, 1H, allylic CH<sub>2</sub>), 1.45 (s, 3H, CCH<sub>3</sub>), 1.30 (s, 3H, CCH<sub>3</sub>), 0.88 (s, 9H, SiC(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 0.07 (s, 3H, Si(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>), 0.06 (s, 3H, Si(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>); <sup>13</sup>C NMR (150 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 137.4, 137.3, 131.9, 131.8, 131.2, 131.1, 128.7, 128.5, 114.2, 108.7, 76.7, 73.7, 69.4, 37.3, 30.6, 30.4, 30.1, 27.5, 25.9, 25.3, 18.3, -4.57, -4.65; IR (neat) 3057, 2929, 2856, 1437, 1119, 836, 732 cm<sup>-1</sup>; HR-MS *m/z* = calcd. For C<sub>29</sub>H<sub>41</sub>NaO<sub>4</sub>PSi

$[M+Na]^+$ : 535.2409, found 535.2436;  $[\alpha]_D^{24} +10.8$  ( $c$  1.39,  $CHCl_3$ ).



**2-(((E)-2-((3aR,7R,7aR)-7-((tert-Butyldimethylsilyloxy)-2,2-dimethyltetrahydrobenzo[d][1,3]dioxol-5(6H)-ylidene)ethyl)sulfonyl)benzo[d]thiazole (2-53-(S)).**

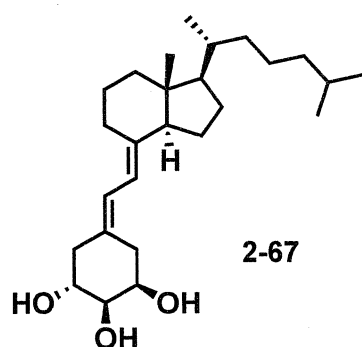
To a solution of  $PPh_3$  (0.40 g, 1.5 mmol) and 2-mercaptobenzothiazole (0.25 g, 1.5 mmol) in  $CH_2Cl_2$  (3.0 mL) was added Diisopropyl azodicarboxylate (DIAD, 1.9 M in toluene, 0.79 mL, 1.5 mmol) at  $0^\circ C$ . After stirring for 30min at room temperature, the mixture was added a solution of **2-51** (0.33 g, 1.0 mmol) in  $CH_2Cl_2$  (3.0 mL) at  $0^\circ C$ . After stirring for 1 h, the mixture was concentrated. To the residue were added EtOH (10 mL),  $H_2O_2$  (35 % in  $H_2O$ , 1.4 mL), and  $(NH_4)_6Mo_7O_{24} \cdot 4H_2O$  (0.12 g, 0.1 mmol) at  $0^\circ C$ . After stirring for 1 h at  $0^\circ C$ , aqueous 2M  $Na_2S_2O_3$  was added and the mixture was extracted with AcOEt. The combined extracts were washed with brine, dried over  $MgSO_4$  and concentrated. The residue was purified by column chromatography on silica gel (hexane/AcOEt) to afford a 71:29 mixture of **2-53 (S)**, **2-53 (R)** (0.39 g) in total 76% yield. **2-53 (S)**:  $^1H$  NMR (600 MHz,  $CDCl_3$ )  $\delta$  8.23 (d,  $J = 8.3$  Hz, 1H, Ar), 8.01 (d,  $J = 8.3$  Hz, 1H, Ar), 7.64 (t,  $J = 7.6$  Hz, 1H, Ar) 7.60 (t,  $J = 7.6$  Hz, 1H, Ar), 5.39 (t,  $J = 8.3$  Hz, 1H, C=CH), 4.30 (dd,  $J = 14.4$ , 7.6 Hz, 1H, SCH<sub>2</sub>), 4.19 (dd,  $J = 14.4$ , 7.6 Hz, 1H, SCH<sub>2</sub>), 4.08 (dd,  $J = 2.8$ , 6.2 Hz, 1H, CHO), 4.04 (dd,  $J = 11.4$ , 6.2 Hz, 1H, CHO), 3.74-3.71 (m, 1H, CHO), 2.53 (dd,  $J = 14.4$ , 11.4 Hz, 1H, allylic CH<sub>2</sub>), 2.36-2.30 (m, 1H, allylic CH<sub>2</sub>), 2.28-2.23 (m, 2H, allylic CH<sub>2</sub>), 1.36 (s, 3H, CCH<sub>3</sub>), 1.25 (s, 3H, CCH<sub>3</sub>), 0.86 (s, 9H, SiC(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 0.06 (s, 3H, Si(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>), 0.05 (s, 3H, Si(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>);  $^{13}C$  NMR (150 MHz,  $CDCl_3$ )  $\delta$  165.7, 152.7, 144.7, 128.0, 127.7, 125.3, 122.3, 110.2, 108.7, 76.3, 73.3, 68.8, 54.0, 36.9, 30.4, 27.0, 25.9, 24.9, 22.0, 18.3, -4.6, -4.7; IR (neat) 2929, 2856, 1472, 1331, 1149, 837  $cm^{-1}$ ; HR-MS  $m/z$  = calcd. For  $C_{24}H_{35}NNaO_5S_2Si$   $[M+Na]^+$ : 532.1634, found 532.1674.



***tert*-butyl(((3*aR*,4*R*,7*aR*,*E*)-2,2-dimethyl-6-(2-((1*R*,3*aS*,7*aR*,*E*)-7*a*-methyl-1-((*R*)-6-methylheptan-2-yl)octahydro-4*H*-inden-4-ylidene)ethylidene)hexahydrobenzo[*d*][1,3]dioxol-4-yl)oxy)dimethylsilane (2-66)**

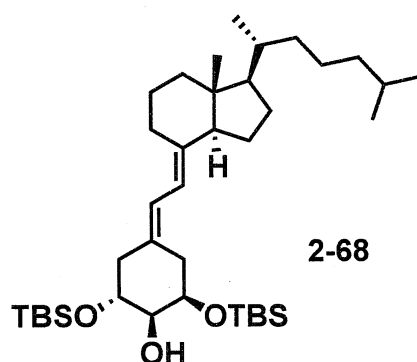
To a solution of 19-*nor*-Aring unit **2-52** (0.26 g, 0.51 mmol) in THF (4.3 mL) was added *n*-BuLi (1.6 M in hexane, 0.32 mL, 0.51 mmol) at -78 °C. The mixture was stirred for 40 min at the same temperature, added C,D-ring unit **2-11** (0.13 g, 0.50 mmol) in THF (10.0 mL) at -78 °C. After the mixture was stirred for 3 h at the same temperature, saturated aqueous NH<sub>4</sub>Cl aq was added. The mixture was extracted with AcOEt and the combined extracts were washed with brine, dried over MgSO<sub>4</sub> and concentrated with in vacuo. The residue was purified by column chromatography on silica gel (hexane/AcOEt) to afford **2-66** (0.14 g, 0.26 mmol) in 52% yield. <sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>, 600 MHz) δ 6.23 (d, *J* = 10.8, 1H, CH=CH), 5.74 (d, *J* = 12.0, 1H, CH=CH), 4.23-4.20 (m, 2H, CHCHCH), 3.88-3.85 (m, 1H, CHCHCH), 2.79 (d, *J* = 13.2, 1H, CCHCH<sub>2</sub>), 2.67-2.58 (m, 2H, CH<sub>2</sub>C=C), 2.37 (dd, *J* = 7.2, 15.6, 1H, CH<sub>2</sub>C=C), 2.26 (dd, *J* = 4.2, 13.8, 1H, CH<sub>2</sub>C=C), 2.00-1.97 (m, 2H, CH<sub>2</sub>C=C), 1.91-1.85 (m, 1H, CH<sub>3</sub>CHCH), 1.69-1.64 (m, 2H, CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>), 1.54-1.47 (m, 4H, CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>), 1.53 (s, 3H, CH<sub>3</sub>CO), 1.34-1.25 (m, 9H, CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub> and CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>), 1.35 (s, 3H, CH<sub>3</sub>CO), 0.91 (s, 9H, Si(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>C(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 0.87 (d, *J* = 2.4, 3H, CH<sub>3</sub>CCH<sub>3</sub>), 0.86 (d, *J* = 3.6, CH<sub>3</sub>CCH<sub>3</sub>), 0.53 (s, 3H, CH<sub>3</sub>CCH), 0.10 (d, *J* = 4.2, Si(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>C(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>); <sup>13</sup>C-NMR (CDCl<sub>3</sub>, 150 MHz) δ 142.3, 131.3, 122.0, 115.5, 108.8, 74.4, 69.9, 56.6, 56.3, 45.8, 40.5, 39.5, 38.2, 36.1, 31.6, 30.6, 28.9, 28.0, 27.6, 26.0, 25.4, 23.8, 23.5, 22.8, 22.6, 22.5, 22.2, 18.8, 18.4, 14.1, 12.0, -4.50, -4.61; IR (neat): 2950, 2866, 1380, 1253, 1114, 1038, 836 cm<sup>-1</sup>.





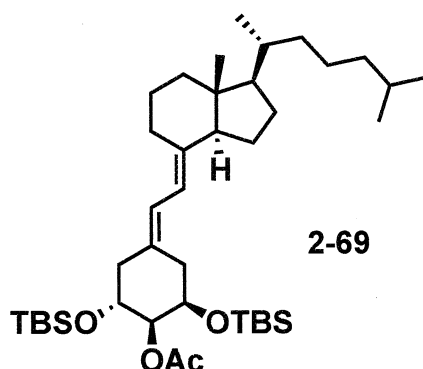
**(1*R*,2*S*,3*R*,*E*)-5-(2-((1*R*,3*aS*,7*aR*,*E*)-7*a*-methyl-1-((*R*)-6-methylheptan-2-yl)octahydro-4-*H*-inden-4-ylidene)ethylidene)cyclohexane-1,2,3-triol (2-67)**

To a solution of **2-66** (0.34 g, 0.6 mmol) in THF (0.6 mL) was added TBAF (1.0 M in THF, 0.72 mL, 0.72 mmol) at 0 °C. After the reaction mixture was stirred for 1 h at the same temperature, saturated aqueous NH<sub>4</sub>Cl aq was added. The mixture was extracted with AcOEt, dried over Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> and concentrated in vacuo. The residue was diluted with MeOH (6.0 mL) and 1NHCl (3.0 mL) was added at 0 °C. After the reaction mixture was stirred for 12 h at room temperature, saturated aqueous NaHCO<sub>3</sub> was added. The mixture was extracted with AcOEt, and the combined extracts were washed with brine, dried over Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> and concentrated in vacuo. The residue was purified by column chromatography on silica gel (hexane/AcOEt) to afford **28** (0.23 g, 0.56 mmol) in 93 % yield. <sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>, 600 MHz) δ 6.35 (d, *J* = 12.0, 1H, CH=CH), 5.84 (d, *J* = 11.4, 1H, CH=CH), 3.87 (bs, 2H, CHCHCH), 3.81 (s, 1H, CHCHCH), 2.82-2.80 (m, 1H, CCHCH<sub>2</sub>), 2.71-2.68 (m, 2H, CH<sub>2</sub>C=C), 2.49 (dd, *J* = 6.6, 13.8, 1H, CH<sub>2</sub>C=C), 2.41 (dd, *J* = 3.6, 13.8, 2H, CH<sub>2</sub>C=C), 2.36 (dd, *J* = 3.0, 12.6, 2H, CH<sub>2</sub>C=C), 2.02-1.87 (m, 2H, CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>), 1.92-1.87 (m, 1H, CH<sub>3</sub>CHCH), 1.67-1.65 (m, 2H, CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>), 1.55-1.50 (m, 4H, CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>), 1.38-1.28 (m, 6H, CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>C), 1.02 (t, *J* = 9.6, 1H, ), 0.92 (d, *J* = 6.0, 3H, CH<sub>3</sub>CHCH<sub>2</sub>), 0.88 (d, *J* = 2.4, 3H, CH<sub>3</sub>CHCH<sub>3</sub>), 0.86 (d, *J* = 3.6, 3H, CH<sub>3</sub>CHCH<sub>3</sub>), 0.55 (s, 3H, CH<sub>3</sub>CCH); <sup>13</sup>C-NMR (CDCl<sub>3</sub>, 150 MHz) δ 128.0, 124.5, 115.4, 94.0, 72.0, 71.6, 71.3, 56.6, 56.3, 45.8, 40.7, 40.5, 40.0, 36.1, 32.5, 28.9, 28.0, 27.6, 23.8, 23.5, 22.8, 22.6, 22.3, 18.8, 12.1, -0.01; IR (film): 3398, 2950, 1467, 1377, 1023 cm<sup>-1</sup>; HR-MS *m/z* = calcd. For C<sub>26</sub>H<sub>44</sub>NaO<sub>3</sub> [M+Na]<sup>+</sup>: 427.3188, found 427.31928.



**(1*S*,2*R*,6*R*,*E*)-2,6-bis((*tert*-butyldimethylsilyl)oxy)-4-(2-((1*R*,3*aS*,7*aR*,*E*)-7*a*-methyl-1-((*R*)-6-methylheptan-2-yl)octahydro-4*H*-inden-4-ylidene)ethylidene)cyclohexan-1-ol (2-68)**

To a solution of **2-67** (0.23 g, 0.56 mmol) and imidazole (0.19 g, 2.8 mmol) in DMF (5.6 mL) was added TBSCl (0.19 g, 1.2 mmol) at 0 °C. After the reaction mixture was stirred for 12 h at the same temperature, Et<sub>2</sub>O was added. The mixture was washed with saturated aqueous NaHCO<sub>3</sub>, brine, dried over MgSO<sub>4</sub> and concentrated in vacuo. The residue was purified by column chromatography on silica gel (hexane/AcOEt) to afford **29** (0.34 g, 0.54 mmol) in 97 % yield. <sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>, 600 MHz) δ 6.22 (d, *J* = 11.4, 1H, CH=CH), 5.83 (d, *J* = 11.4, 1H, CH=CH), 3.86 (s, 1H, CHCHCH), 3.58-3.56 (m, 1H, CHCHCH), 3.55-3.51 (m, 1H, CHCHCH), 2.81 (d, *J* = 13.2, 1H, CCHCH<sub>2</sub>), 2.62 (dd, *J* = 4.8, 12.6, 1H, C=CCH<sub>2</sub>), 2.51 (t, *J* = 11.4, C=CCH<sub>2</sub>), 2.27 (t, *J* = 12.0, C=CCH<sub>2</sub>), 2.08 (dd, *J* = 5.4, 13.2, 1H, C=CCH<sub>2</sub>), 2.02-1.98 (m, 1H, C=CCH<sub>2</sub>), CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub> and CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH), 1.17-1.10 (m, 3H, CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH), 1.03 (t, 1.72-1.65 (m, 2H, CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>), 1.58-1.48 (m, 1H, CH<sub>3</sub>CHCH), 1.38-1.26 (m, 9H, *J* = 7.8, 1H, CH<sub>3</sub>CCHCH<sub>3</sub>), 0.92 (s, 9H, Si(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>C(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 0.91 (s, 9H, Si(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>C(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 0.88 (d, *J* = 2.4, 3H, CH<sub>3</sub>CHCH<sub>3</sub>), 0.86 (d, *J* = 3.0, 3H, CH<sub>3</sub>CHCH<sub>3</sub>), 0.56 (s, 3H, CH<sub>3</sub>CCH), 0.10 (d, *J* = 2.4, 6H, Si(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>C(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 0.09 (s, 6H, Si(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>C(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>); <sup>13</sup>C-NMR (CDCl<sub>3</sub>, 150 MHz) δ 142.6, 131.7, 121.5, 115.5, 74.3, 71.9, 71.4, 56.6, 56.3, 45.7, 40.5, 39.5, 39.4, 36.1, 31.0, 28.9, 28.0, 27.7, 25.9, 25.8, 25.7, 23.8, 23.5, 22.8, 22.5, 22.1, 18.8, 18.3, 18.2, 12.0, -4.63, -4.70, -4.77; IR (neat): 3382, 2952, 2857, 1470, 1255, 1069, 836 cm<sup>-1</sup>.



**(1*S*,2*R*,6*R*,*E*)-2,6-bis(*tert*-butyldimethylsilyloxy)-4-(2-((1*R*,3*aS*,7*aR*,*E*)-7*a*-methyl-1-((*R*)-6-methylheptan-2-yl)octahydro-4*H*-inden-4-ylidene)ethyldiene)cyclohexyl acetate (2-69)**

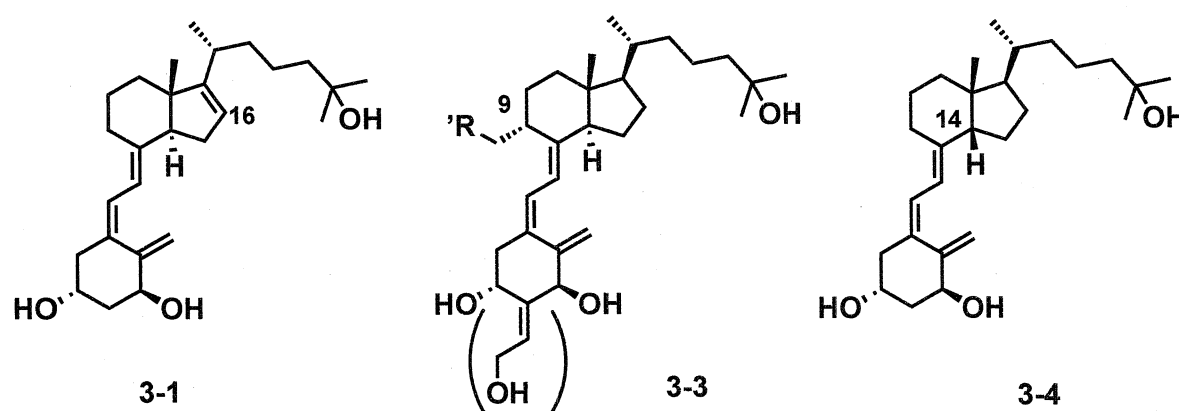
To a solution of **2-68** (63 mg, 0.1 mmol) and DMAP (6.3 mg, 0.01 mmol) in CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (0.5 mL) was added Et<sub>3</sub>N (0.03 mL, 0.2 mmol) and Ac<sub>2</sub>O (0.01 mL, 0.12 mmol) at 0 °C. After the reaction mixture was stirred for 12 h at room temperature, diluted with H<sub>2</sub>O. The mixture was extracted with CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, dried over MgSO<sub>4</sub> and concentrated in vacuo. The residue was purified by column chromatography on silica gel (hexane/AcOEt) to afford **2-69** (10.7 mg, 16 μmol) in 16 % yield. <sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>, 600 MHz) δ 6.24 (d, *J* = 12.0, 1H, CH=CH), 5.83 (d, *J* = 11.4, 1H, CH=CH), 5.31 (s, 1H, CHC(O)OCCH<sub>3</sub>), 3.62-3.58 (m, 1H, CHCHCH), 3.56-3.53 (m, 1H, CHCHCH), 2.83-2.81 (m, 1H, CCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>), 2.68 (dd, *J* = 4.2, 12.0, 1H, CCH<sub>2</sub>CH), 2.46 (t, *J* = 12.6, 1H, CCH<sub>2</sub>CH), 2.81-2.12 (m, 2H, CCH<sub>2</sub>CH), 2.10 (s, 3H, CHC(O)OCCH<sub>3</sub>), 1.08-2.01 (m, 18H), 0.93 (d, *J* = 6.0, 3H, CH<sub>3</sub>CHCH<sub>2</sub>), 0.87 (d, *J* = 3.0, 3H, CH<sub>3</sub>CHCH<sub>3</sub>), 0.86 (d, *J* = 3.0, 3H, CH<sub>3</sub>CHCH<sub>3</sub>), 0.86 (s, 9H, Si(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>C(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 0.85 (s, 9H, Si(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>C(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 0.56 (s, 3H, CH<sub>3</sub>C), 0.07 (s, 3H, Si(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>C(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 0.06 (s, 3H, Si(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>C(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 0.05 (s, 3H, Si(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>C(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 0.04 (s, 3H, Si(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>C(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>); <sup>13</sup>C-NMR (CDCl<sub>3</sub>, 150 MHz) δ 170.3, 142.9, 131.4, 121.9, 115.4, 74.8, 70.1, 69.5, 56.6, 56.3, 45.7, 40.6, 40.5, 39.5, 36.1, 32.2, 28.9, 28.0, 27.7, 25.8, 25.7, 23.8, 23.5, 22.8, 22.6, 22.1, 21.0, 18.8, 18.2, 18.1, 12.0, -4.8, -4.9, -5.0; IR (neat): 2951, 2857, 1748, 1237, 1086, 835, 776.

### 第三章 16-Oxa vitamin D誘導体の合成

ビタミンD誘導体開発は、その側鎖とA環部誘導体としての報告例がその多くを占め、これと比較すると*trans*ヒドロインダン骨格を基盤とした修飾C,D環部ビタミンD誘導体としての報告例は数少ない。この理由としては、*trans*-ヒドロインダン骨格であるC,D環部の合成は容易ではないことと、市販のビタミンD<sub>2</sub>、D<sub>3</sub>のオゾン分解により容易に、その天然型C,D環部を調達できるためである。

修飾C,D環部ビタミンD誘導体の一部例としては、抗白血病作用を持つことが知られている16-ene型ビタミンD誘導体 **3-1**<sup>30</sup>や、くる病発症の要因とされる、変異型ビタミンD受容体 (Vitamin D Receptor : VDR (R270L, W282R))に対する作用発現が報告されている誘導体**3-3**<sup>31</sup>、*cis*-ヒドロインダン骨格を基盤とした、14-*epi*型ビタミンD誘導体**3-4**<sup>32</sup>などが報告されている。(Figure 3-1)

Figure 3-1



これら誘導体に見られように、報告例の少ない修飾C,D環部誘導体にも一定の成果が得られており、これを基盤としたビタミンD誘導体の構築には意義がある。

そこで本研究では、新規修飾C,D環部ビタミンD誘導体として、C,D環部上の炭素原子一つをヘテロ原子 (N,O,S)に置き換えた新規ビタミンD誘導体合成を行うこと

<sup>30</sup> S. J. Jung, Y. Y. Lee, S. Pakkala, S. Vos, E. Elstner, A. W. Norman, J. Green, M. Uskokovic and H. P. Koeffler, *Leukemia Reserch.*, **1994**, *18*, 453-463.

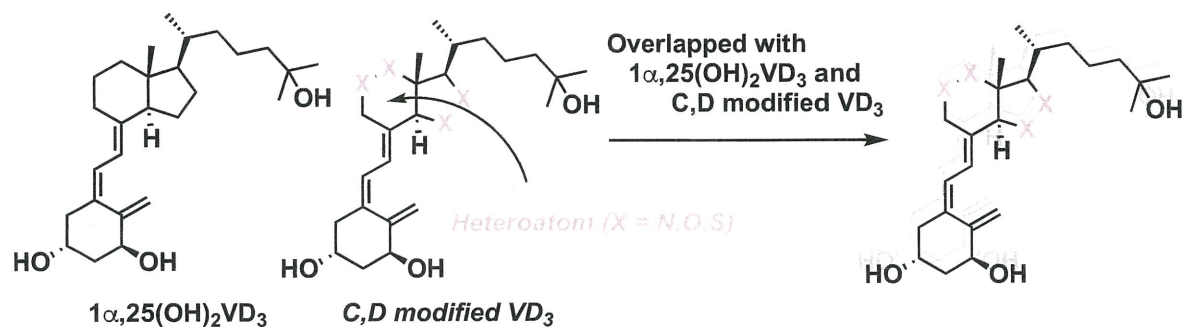
<sup>31</sup> M. Nakabayashi, Y. Tsukahara, Y. Iwasali, Y. Miyamoto, M. Mihori, M. Shimazaki, S. Yamada, S. Inaba, M. Oda, M. Shimizu, M. Makishita, H. Tokiwa, T. Ikura and N Ito, *J. Med. Chem.*, **2013**, *56*, 6745-6760.

<sup>32</sup> D. F. Maynard, W. G. Trankle, A. W. Norman and W. H. Okamura, *J. Med. Chem.*, **1994**, *37*, 2387-2393.

を考案した。このような、C,D環部上の炭素原子をヘテロ原子に置き換えた誘導体の報告例はなく、これに伴う結合長・結合角の変化によって、C,D環部を中心とした若干の構造変化が起こることが容易に予測できる。

一見この構造変化は、天然物骨格と比較しても大きな違いはないようだが、このような若干の構造の違いは、16-ene型ビタミンD誘導体にも見られるように、生理活性作用を調査する面では重要な因子である。そして、この種の誘導体には一定のVDR結合能が得られる可能性が高く、これを基盤としたビタミンD誘導体ライブラリーの構築に期待が出来る。本研究では、C,D環部上に導入するヘテロ原子を酸素原子とした誘導体構築を実施した。(Figure 3-2)

Figure 3-2

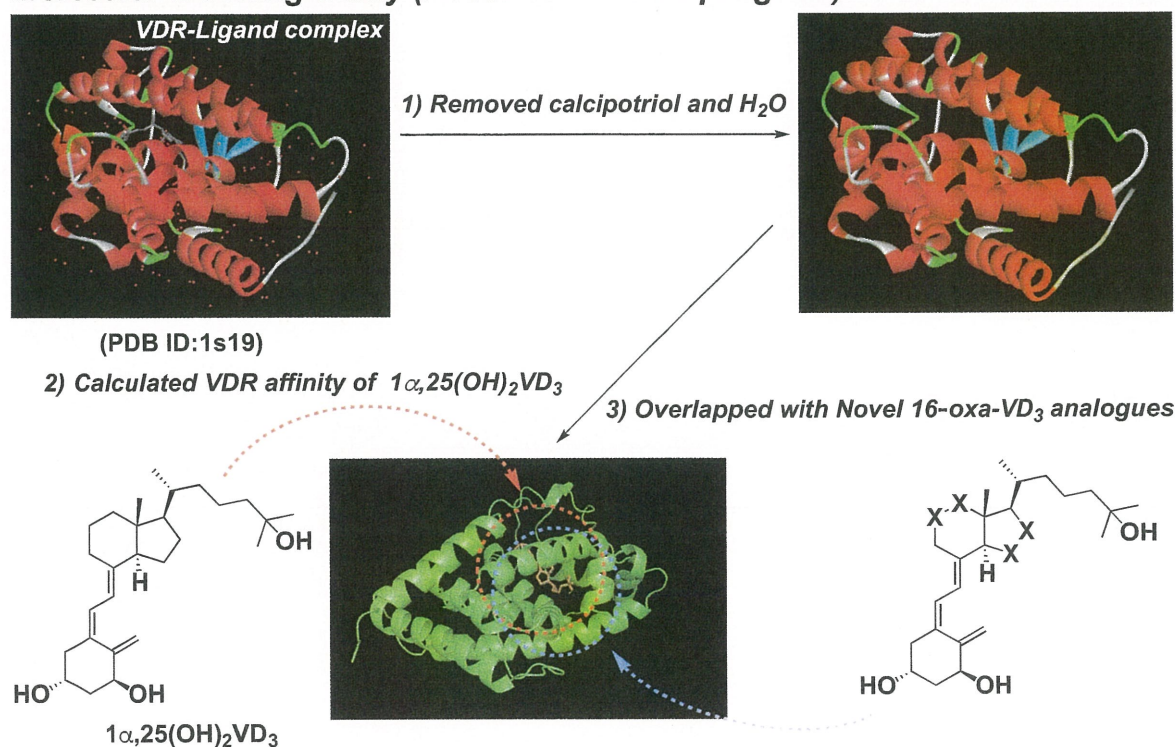


### 3-1. ドッキングシミュレーションを用いた16-oxa型ビタミンD誘導体の設計

C,D環部に酸素原子を導入した、修飾C,D環部誘導体の構造設計をAutoDock Vina™ programを用いるドッキングシミュレーションにより行った。このシミュレーションでは、VDR複合体結晶構造データは1S19<sup>33</sup>、ブランクとなるリガンドには1 $\alpha$ ,25(OH)<sub>2</sub>VD<sub>3</sub>を用いた。(Figure 3-3)

Figure 3-3

#### Molecular-Docking Study (AutoDock™ Vina program)



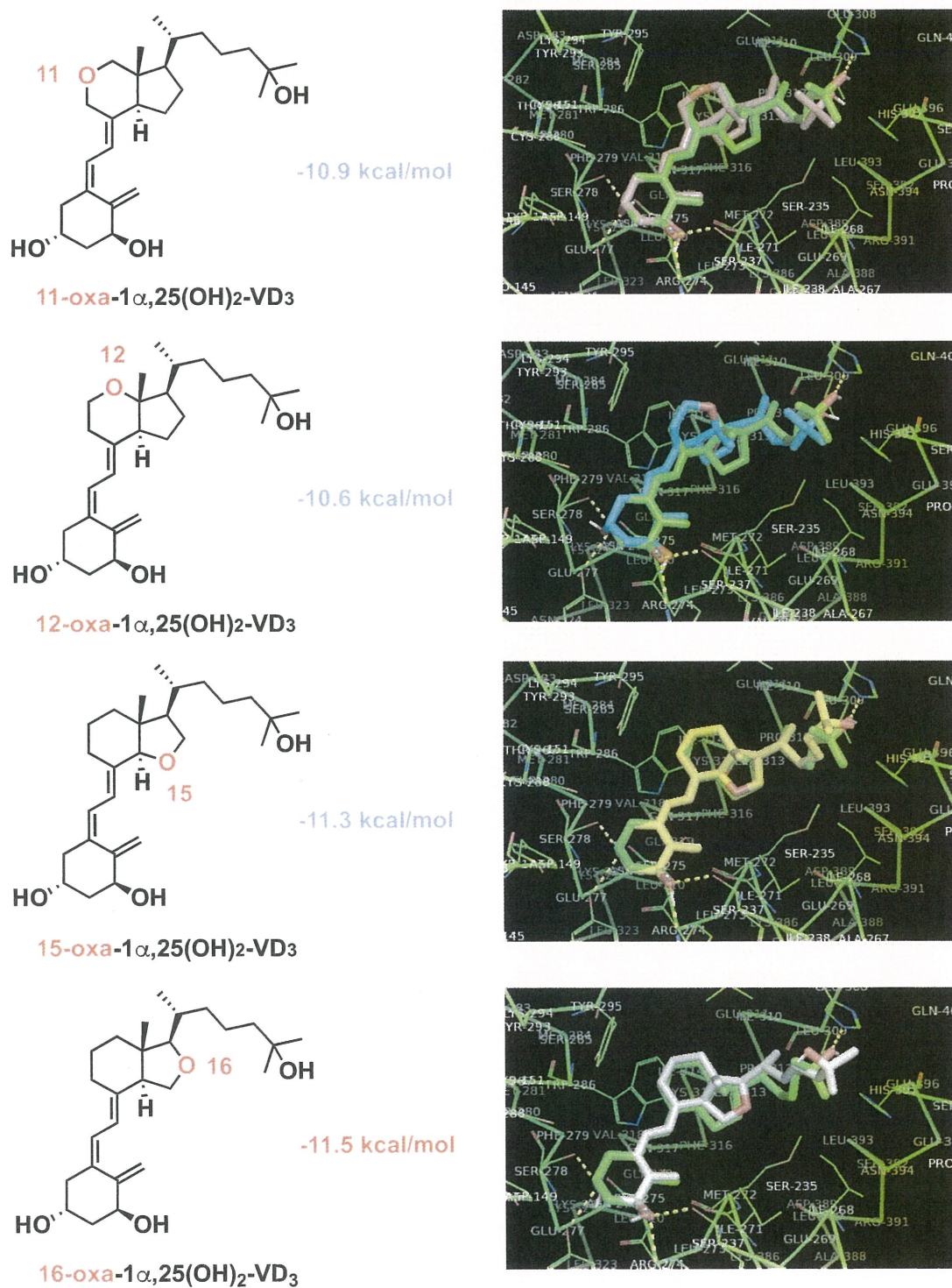
実際に、Oxa型誘導体として合成可能な、C,D環部11, 12, 15, 16位を酸素原子に置き換えた誘導体のシミュレーションを行った。結果として、15, 16位を酸素原子に置換した誘導体のVDRに対する親和性が、-11.3 kcal/mol, -11.5 kcal/molの数値を示し、これは1 $\alpha$ ,25(OH)<sub>2</sub>VD<sub>3</sub>の親和性 (-11.3 kcal/mol)と同等であった。そして、合成手法の観点から16位に酸素原子を導入した16-oxa-1 $\alpha$ ,25(OH)<sub>2</sub>VD<sub>3</sub>を合成ターゲットとし、これを基盤とした16-oxa型ビタミンD誘導体の合成に着手することを計画した。(Figure 3-4-1, 3-4-2)

<sup>33</sup> G. Tocchini-Valentini, N. Rochel, J.-M. Wurtz and D. Moras, *J. Med. Chem.*, **2004**, *47*, 1956–1961.



Figure 3-4-1

Molecular-docking study based on a crystal structure of VDR in complex with calcipotriol (PDB:1S19,  $1\alpha,25(\text{OH})_2\text{VD}_3$  : -11.3 kcal/mol)

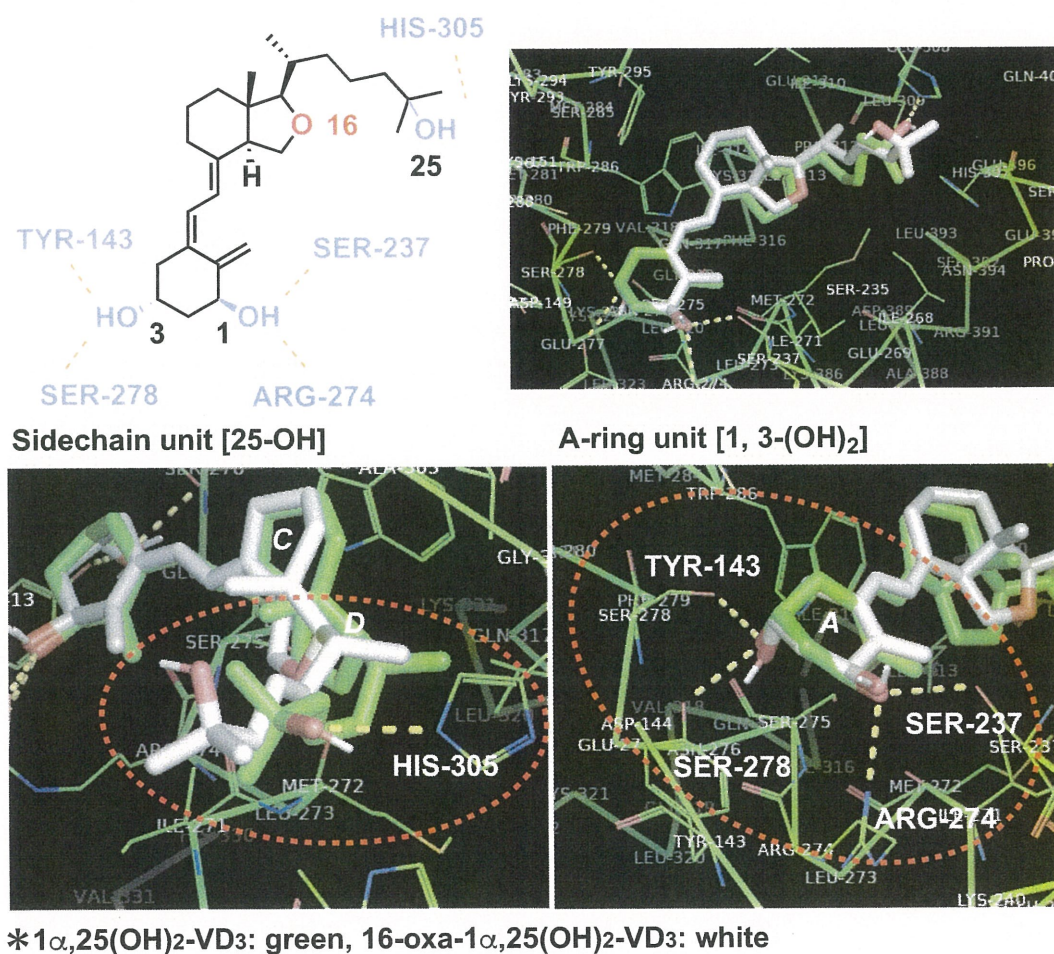


16-oxa型ビタミンD誘導体と天然型ビタミンD<sub>3</sub>のoverlap modelを比較すると、構造全体の大きなズレはなく、特に、A環部1,3位水酸基部分が対応するアミノ酸残基



(SER-237, ARG-274, TYR-143, SER-278)との水素結合位置は一致していることが見て取れる。一方で、側鎖部分の25位水酸基部分は、天然型ビタミンD<sub>3</sub>のヒスチジン残基 (HIS-305)との水素結合位置とは若干のズレが生じている。これは当初の目的通り、C,D環部16位を酸素原子に置換したことが要因であり、このシミュレーション結果からはVDRに対する一定の親和性が期待できる。(Figure 3-4-2)

Figure 3-4-2



16-oxa型ビタミンD誘導体は、A-C,D環部のカップリング反応を用いるコンバージェント法による構築を計画している。そのため、前章にて合成した各種A環部ユニットと16-oxa型C,D環部との組み合わせにより合成可能な誘導体についても同様のシミュレーションを行った。(Figure 3-5)

Figure 3-5-1

**Molecular-docking study based on a crystal structure of VDR in complex with calcipotriol (PDB:1S19,  $1\alpha,25(\text{OH})_2\text{VD}_3$  : -11.3 kcal/mol)**

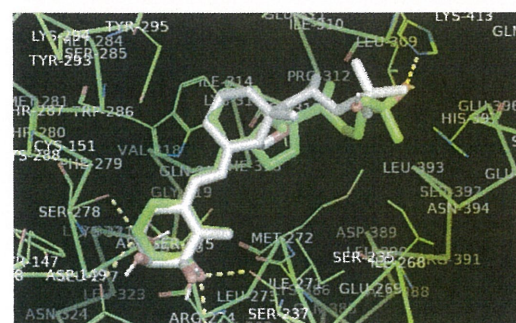
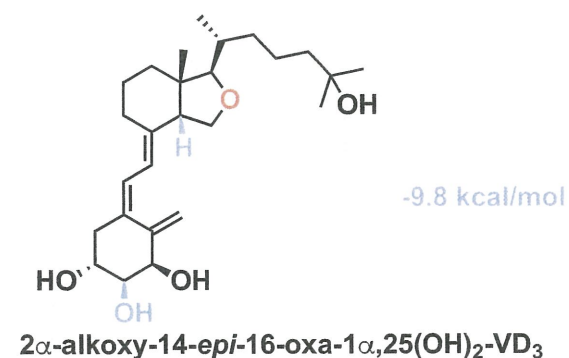
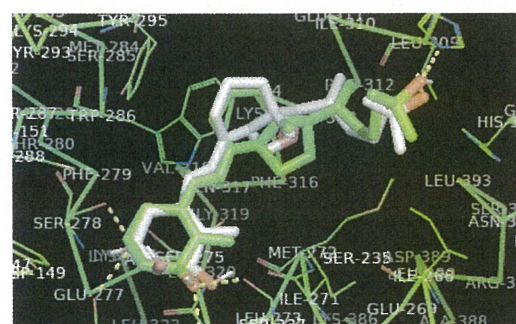
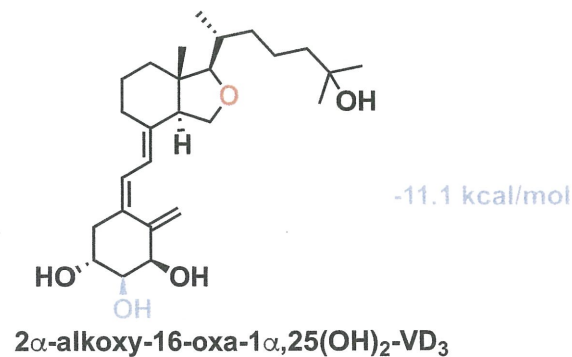
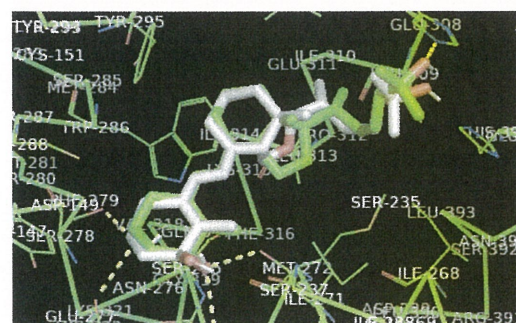
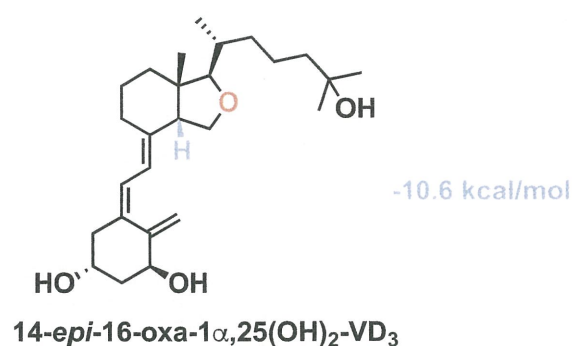
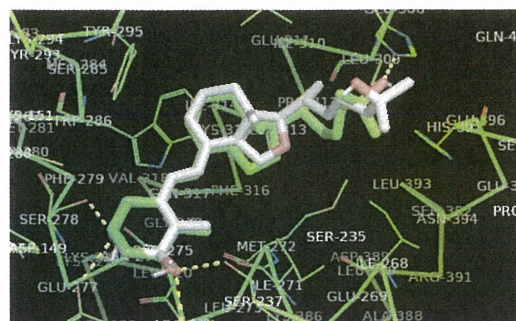
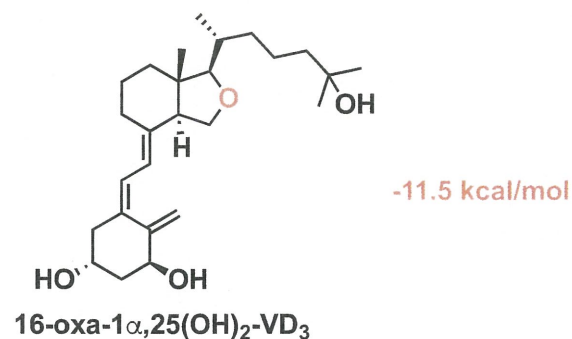
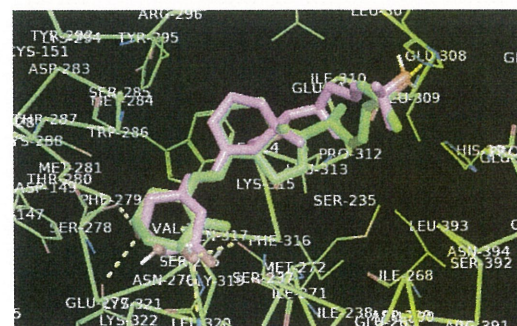
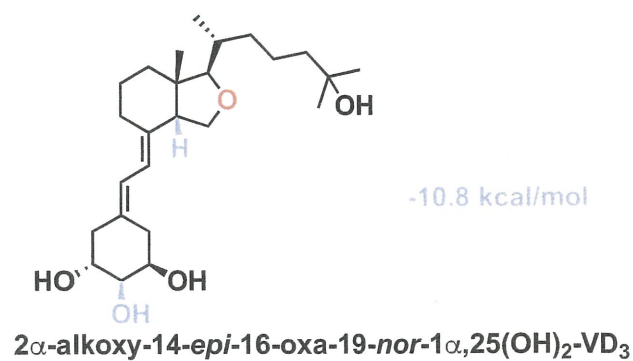
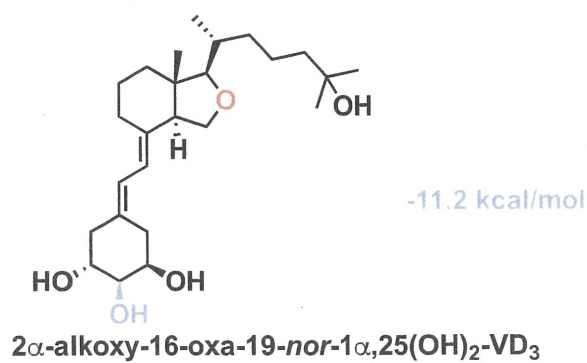
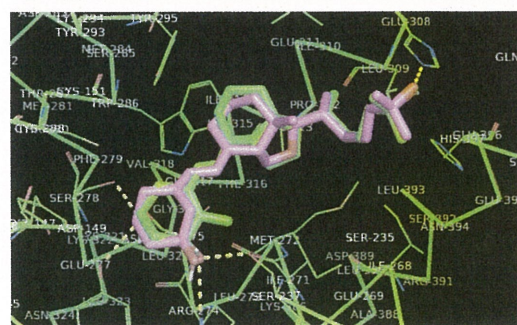
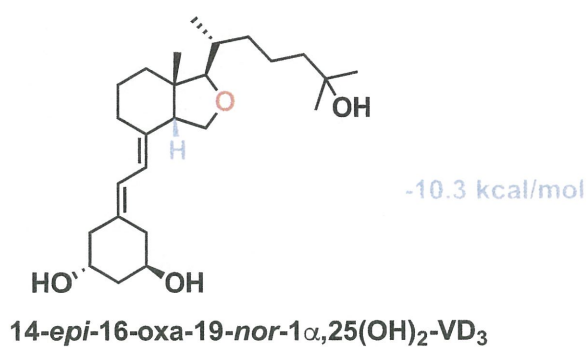
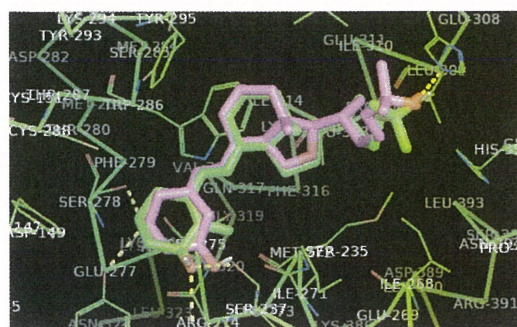
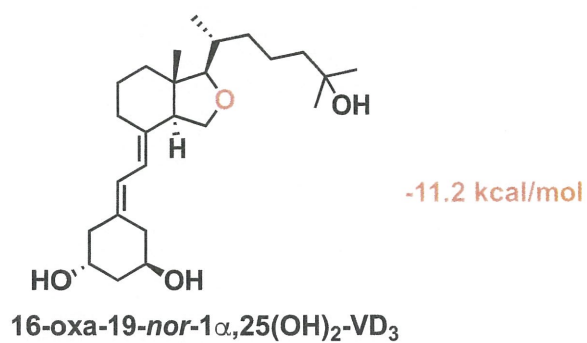




Figure 3-5-2

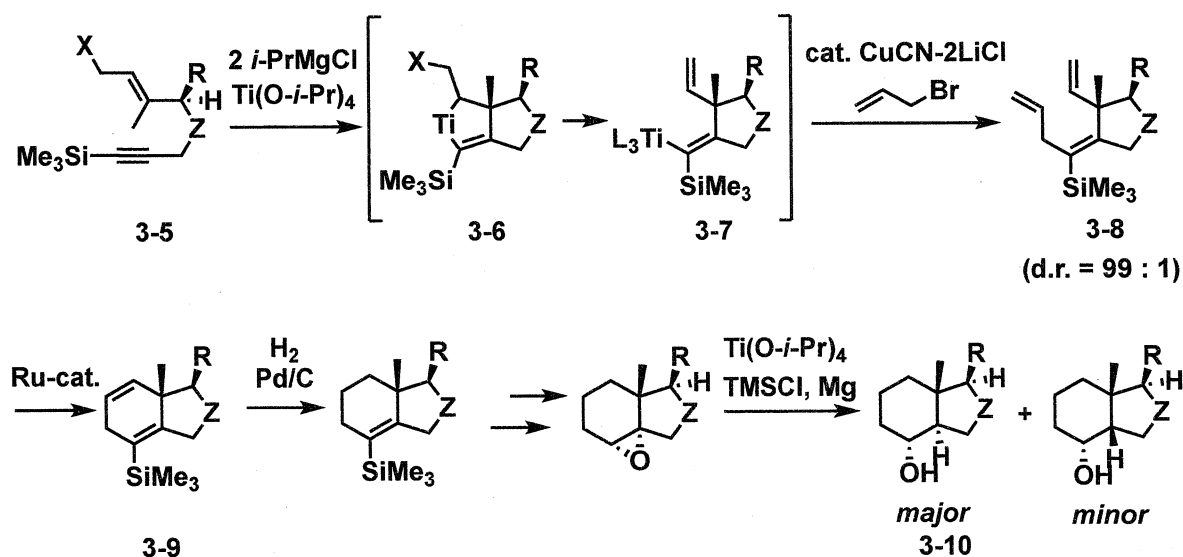
**Molecular-docking study based on a crystal structure of VDR in complex with calcipotriol (PDB:1S19,  $1\alpha,25(\text{OH})_2\text{VD}_3$  : -11.3 kcal/mol)**



## 3-2. 16-oxa-C,D環部ユニットの合成

16-oxa型ビタミンD誘導体の構築には、16-oxa型C,D環部ユニットの合成が必要であり、この16-oxa-C,D環部は当研究室で、その合成法を確立している。<sup>34</sup> 即ち、エンイン型中間体 **3-5**と四価のチタンアルコキシドの2当量のGrignard反応剤から発生する二価チタン反応剤との反応による、チタナサイクル中間体 **3-6**を経由したXのβ脱離によるアルケニルチタン **3-7**の生成と、CuCNを触媒としたアリルブロミドとの反応によるアリル化反応によるトリエン化合物 **3-8**の合成を行い、さらに閉環メタセシス反応 (RCM) により、C,D環に対応する双環状化合物 **3-9**を合成し、その後、部分接触水素化と低原子価チタン種による立体選択的なエポキシドのラジカル還元反応により、*trans*ヒドロインダン骨格を有する16-oxa-C,D環部 **3-10**の構築を行う。(Scheme 3-1)

Scheme 3-1



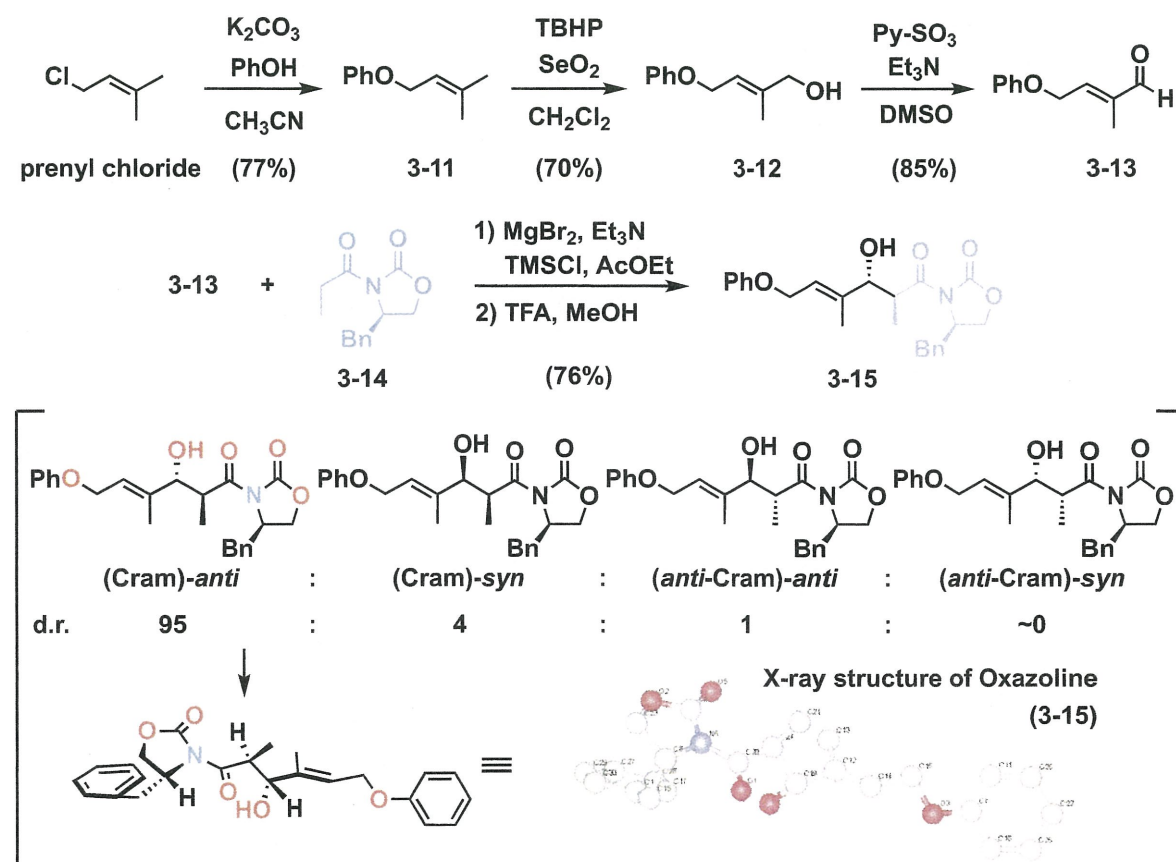
以下、16-oxa-C,D環部ユニットの合成手法を記す。即ち、1-chloro-3-methyl-2-buteneのCH<sub>3</sub>CN溶液 (2.0 M)にK<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (2.0 eq.), phenol (1.1 eq.)を加え、室温で2日間攪拌した。ろ過によりK<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>を除去し、濃縮してフェニルエーテル体 **3-11**を得た

<sup>34</sup> (a) K. Ibe, T. Yamada and S. Okamoto, *Org. Biomol. Chem.*, **2019**, *17*, 10188-10200; (b) 2011年度 長谷川 祐介 修士論文 (神奈川大学); (c) 2008年度 津波古 亜希子 修士論文 (神奈川大学)

(77%)。続いて、得られたフェニルエーテル体 **3-11**のCH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>溶液 (0.3 M)に、TBHP (2.5 eq.)とSeO<sub>2</sub> (0.2 eq.)を加え、室温で2日間攪拌したのち、通常の後処理によりアルコール体 **3-12**を得た (70%)。このアルコール体 **3-12**のDMSO溶液 (0.4 M)にEt<sub>3</sub>N (3.0 eq.)を加えた後、0°Cに冷却し、Py-SO<sub>3</sub> (2.0 eq.)を加え、室温で30分攪拌後、通常の後処理によりアルデヒド体 **3-13**を得た (85%)。

続いて、N-acyloxazolidinone **3-14**とMgBr<sub>2</sub> (1.2 eq.)のAcOEt溶液 (0.5 M)に、Et<sub>3</sub>N (2.0 eq.)とMe<sub>3</sub>SiCl (1.5 eq.)、アルデヒド体 **3-13** (1.2 eq.)を加え、室温で24時間攪拌した。反応溶液のろ過によりMgBr<sub>2</sub>を除去し、濃縮してMeOH (0.2 M), TFA (0.77 eq.)を加え、室温で30分攪拌した。その後再び濃縮し、通常の後処理により、オキサゾリン体 **3-15**を得た (76%)。このEvans aldol反応条件下で得られた主生成物の立体構造は(Cram)-*anti*型であることがX線結晶構造解析により証明されている。その他、立体選択性は、(Cram)-*anti* : (Cram)-*syn* : (*anti*-Cram)-*anti* : (*anti*-Cram)-*syn* = 95 : 4 : 1 : ~0であると報告している。<sup>35</sup> (Scheme 3-2)

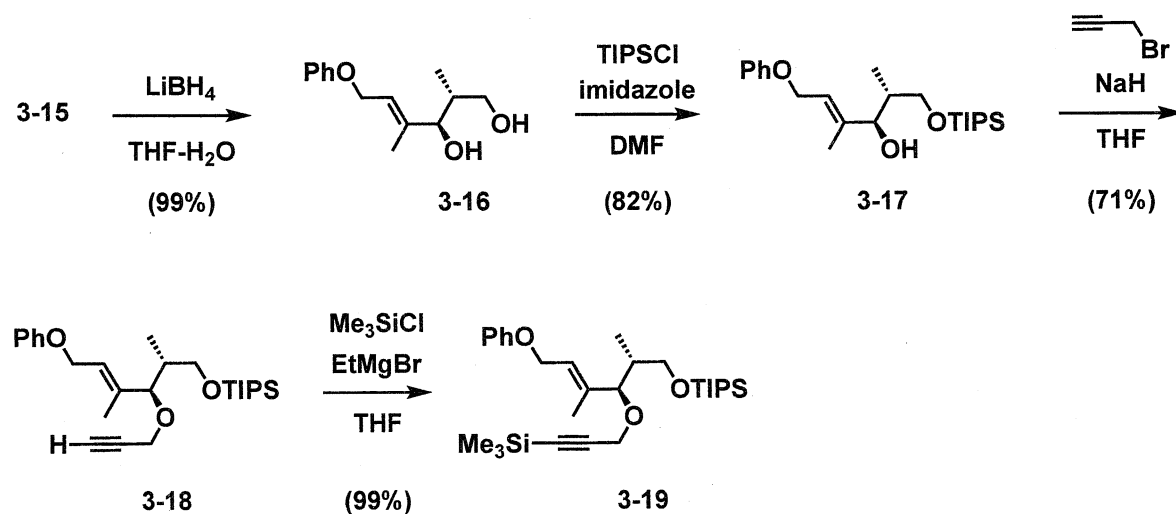
Scheme 3-2



<sup>35</sup> D. A. Evans, J. S. Tedrow, J. T. Shaw and C. Wade Downey, *J. Am. Chem. Soc.*, **2002**, *124*, 392–393.

続いて、得られたオキサゾリン体 **3-15**のTHF-MeOH (40:1 v/v)溶液 (0.6 M)にLiBH<sub>4</sub> (1.2 eq.)を加え、室温で3時間攪拌した。通常の後処理をした後、ジオール体 **3-16**を得た (99%)。ジオール体 **3-16**のDMF溶液 (0.4 M)にimidazole (2.2 eq.)とTIPSCl (1.2 eq.)を加えて、室温で3時間攪拌後、通常の後処理をして第一級水酸基の選択的シリル化による、シリルエーテル体 **3-17**を得た (82%)。続いて NaH (3.0 eq.)のTHF懸濁液 (0.4 M)を0°Cに冷却し、シリルエーテル **3-17**を滴下して室温で1時間攪拌後、0°Cでpropargyl bromide (3.0 eq.)を加え、室温で3時間攪拌し、通常の後処理によりプロパルギルエーテル体 **3-18**を得た (71%)。得られたプロパルギルエーテル体 **3-18**のTHF溶液 (0.5 M)にEtMgBrのTHF溶液 (1.5 eq)を0°Cに加えて、アセチリドとした後、Me<sub>3</sub>SiCl (1.5 eq.)を滴下した。室温で2時間攪拌後、通常の後処理を行い、エンイン型中間体 **3-19**を得た (99%)。 (Scheme 3-3)

Scheme 3-3

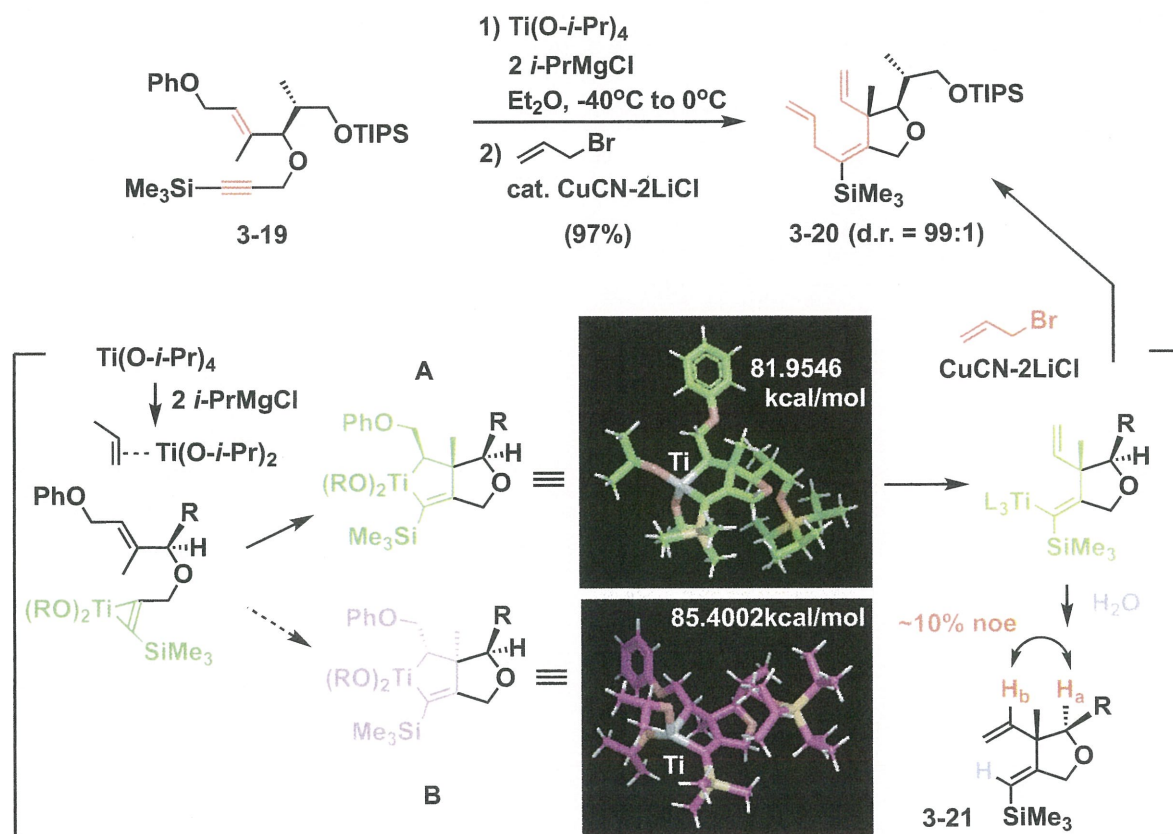


次に、エンイン型中間体 **3-19**とTi(O-*i*-Pr)<sub>4</sub> (1.3 eq.)のEt<sub>2</sub>O溶液 (0.2 M)に、-40 °Cで*i*-PrMgCl (2.6 eq.)のEt<sub>2</sub>O溶液を滴下し、同温度で30分攪拌した。その後0 °Cで1.5時間攪拌し、CuCN·2LiClのTHF溶液 (20 mol %)とallyl bromide (2.0 eq.)を加えて、室温で3時間攪拌を行い、反応停止後にセライトとフッ化ナトリウムを1:1の割合で加え、30分間攪拌し、濾過処理を行うことで、環化前駆体であるトリエン体 **3-20**を得た (95%)。トリエン体 **3-20**の立体構造の決定は、チタナサイクル中間体 **A**, **B**を比較した際に、**A**の立体配座が3.5 kcal/mol程度安定であることが分子力場計算 (MM2)から得られていることと、続くフェノキシのβ脱離後のアルケニルチタンを



水で反応停止した環化体 **3-21**のNOEDF測定により,  $H_a$ - $H_b$ 間に10 %程度のNOEが観測されたため, トリエン体 **3-20**の縮環部のメチル基と側鎖部アルキル基 (**R**)は $syn$ 配置であると報告している。<sup>36</sup> (Scheme 3-4)

Scheme 3-4



続いて, Grubbs第一世代触媒 (5.0 mol %)に $CH_2Cl_2$ 溶液 (0.2 M)を加えて均一溶液とした。これをトリエン体 **3-20**の入ったフラスコに加え, 室温で24時間攪拌し, ろ過処理後, シクロヘキサジエン体 **3-22**を得た (99 %)<sup>37</sup> 続いて, 10 % Pd/C (5.0

<sup>36</sup> (a) F. Sato, H. Urabe and S. Okamoto, *Pure Appl. Chem.*, **1999**, *71*, 1511–1519; (b) F. Sato, H. Urabe and S. Okamoto, *Chem. Rev.*, **2000**, *100*, 2835–2886; (c) F. Sato, H. Urabe and S. Okamoto, *Synlett*, **2000**, 753–775; (d) F. Sato and S. Okamoto, *Adv. Synth. Catal.*, **2001**, *343*, 759–784; (e) F. Sato and H. Urabe, in *Titanium and Zirconium in Organic Synthesis*; (Ed.: I. Marek), Wiley, Weinheim, **2002**, pp. 319–354; (f) A. Wolan and Y. Six, *Tetrahedron*, **2010**, *66*, 15–61 and **2010**, *66*, 3097–3183.

<sup>37</sup> (a) A. Fürstner, *Angew. Chem., Int. Ed.*, **2000**, *39*, 3012–3043; (b) T. M. Trnka and R. H. Grubbs, *Acc. Chem. Res.* **2001**, *34*, 18–29; (c) R. R. Schrock and A. H. Hoveyda, *Angew. Chem., Int. Ed.*, **2003**, *42*, 4592–4555; (d) S. J. Connon and S. Blechert, *Angew. Chem., Int. Ed.*, **2003**, *42*, 1900–1923.



wt%)とシクロヘキサジエン体のMeOH懸濁液 (0.1 M)を、水素雰囲気下 (1 atm), 室温で24時間攪拌し、濾過処理後、減圧濃縮を行い、部分水素化によるシクロヘキセン体 **3-23**を得た (99 %)。シクロヘキセン体 **3-23**のCHCl<sub>3</sub>溶液 (0.2 M)にTFA (5.0 eq.)を加え、50°Cで3時間攪拌後、減圧濃縮を行った。次に、THF溶液中で、TBAF (1.2 eq.)加え、室温で1時間攪拌後、通常の後処理により、アルコール体 **3-24**を得た (59 %, 2 steps)。アルコール体 **3-24**のpyridine溶液 (0.2 M)に*p*-TsCl (1.5 eq.)を0°Cで加え、室温で12時間攪拌し、通常の後処理によりトシル体 **3-25**を得た (74 %)。

ここで、トシル体 **3-25**のエポキシ化、低原子価Ti反応剤を用いたラジカル開環反応、2級アルコールの酸化、Wittig-olefination, またはA環部とのカップリング反応により得られる各化合物 (**A**~**E**)にビタミンD誘導体の側鎖となるユニットを導入することが可能ではあるが、それぞれ懸念点が挙げられる。即ち、**A**はエポキシ基の開裂、**B**は側鎖ユニットを2当量以上必要とする点、**C**は14位プロトンのエピメリ化、**D**はブロモ基への側鎖ユニットの付加、**E**は19位メチレン基を起点とした異性化の進行である。これらの理由からトシル体 **3-25**への側鎖の導入を検討した。

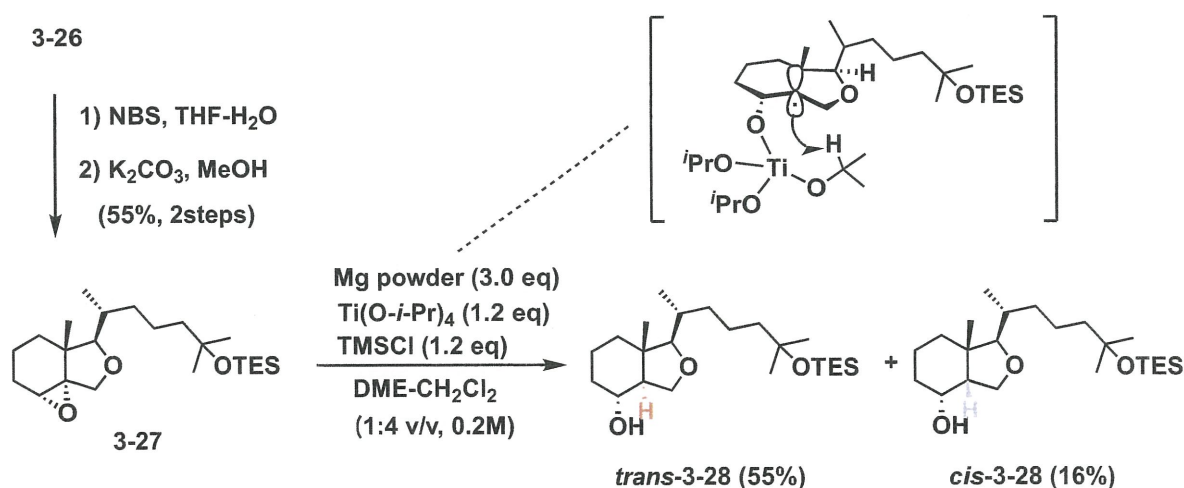
即ち、Mg powder (5.0 eq.)のTHF溶液 (1.0 M)に、側鎖ユニットとなる1-bromo-3-methyl-3-triethylsilyloxybutane (3.0 eq.)のTHF溶液 (1.0 M)を加え、室温で5分間攪拌後、-10°CでCuBr-Me<sub>2</sub>S (1.1 eq.)のTHF溶液 (0.65 M)を加え、-10°Cで30分攪拌後、トシル体 **3-25**のTHF溶液 (0.1 M)を加え、同温で一晩攪拌後、通常の後処理によりC,D環部に側鎖を導入したシクロヘキセン体 **3-26**を得た (87 %)。(Scheme 3-5)

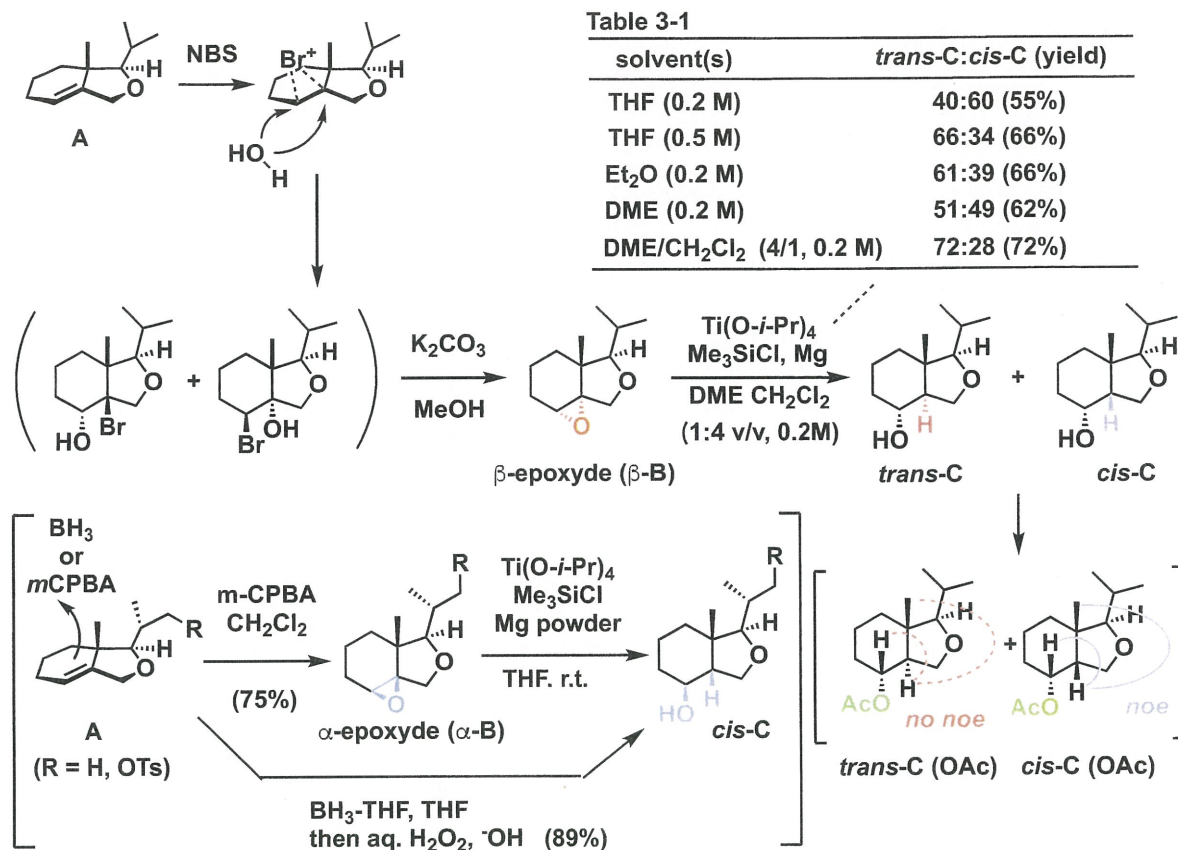


このエポキシ化と低原子価Ti反応剤のラジカル開環反応により得られる化合物の立体構造は、当研究室にてモデル化合物を用いた反応検討により証明されている。即ち、側鎖を*i*-Pr基とした16-oxa型C,D環部ユニット **A**のBH<sub>3</sub>-THFによる還元反応及び*m*-CPBAの酸化反応によりαエポキシド体 **α-B**を経由する低原子価Ti反応剤の還元反応では、*cis*ヒドロインダン骨格であるアルコール体 **cis-C**が得られる得られることを確認している。この立体構造を基に、βエポキシド体 **β-B**の還元反応による*trans*ヒドロインダン骨格のアルコール体 **trans-C**の合成検討が行われた。

まず、**A**のNBSを用いたブROMOヒドリ化反応によりβエポキシド体 **β-B**を合成した。これは、**A**とNBSとの反応がBH<sub>3</sub>-THF/*m*-CPBAと同様のα面から反応が進行することで、αエポキシド型のブROMOカチオン中間体が生成する。そして、これのH<sub>2</sub>Oとの反応で得られるブROMOヒドリン体をK<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>-MeOHで処理することにより、目的のβエポキシド体 **β-B**が得られる。このβエポキシド体 **β-B**の低原子価Ti反応剤による還元反応は溶媒効果の検討 (Table. 1)が行われ、溶媒をDME/CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>の混合溶媒とすることで、目的の*trans*-ヒドロインダン構造を有するアルコール体 **trans-C**が優先的に得られている。その立体構造は、反応検討により得られたアルコール体の<sup>1</sup>H-NMRスペクトルの比較と、アルコール体 **trans-C**, **cis-C** から誘導したアシル体 **trans-C** (OAc), **cis-C** (OAc)のNOEDF測定により決定している。(Scheme 3-6)

Scheme 3-6





続いて、PCC (1.5 eq.)のCH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>溶液 (2.0 M)にpyridine (1.5 eq.)を加え、室温で30分間攪拌を行った。この反応溶液を0°Cに冷却し、C,D環部アルコール体 *trans*-3-28のCH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>溶液 (1.0 M)を加え、室温で3時間攪拌後、濾過によるPCCの除去と通常の後処理によりケトン体 *trans*-3-29を得た (93%)。これの14位エピ体にあたるアルコール体 *cis*-3-28についても同様の反応を行うことで対応するケトン体 *cis*-3-29を得た (93%)。これら得られたケトン体は、Horner-Wadsworth-Emmons Reaction及びJulia-Lythgoe Olefinationのカップリング反応に対応したユニットである。

次に、ケトン体 *trans*-3-29, *cis*-3-29のWittig-olefinationによるハロメチレン体への合成検討を行った。即ち、Ph<sub>3</sub>P<sup>+</sup>(CH<sub>2</sub>Br)Br<sup>-</sup>またはPh<sub>3</sub>P<sup>+</sup>(CH<sub>2</sub>I)I<sup>-</sup> (3.0 eq.)のtoluene溶液 (0.5 M)を0°Cに冷却し、KHMDS (2.5 eq.)を加え、室温で1時間攪拌後、ケトン体 *trans*-3-29のtoluene溶液を0°Cで加え、室温で30分攪拌後、Hexaneによる濾過と減圧濃縮により、対応するハロメチレン体 *trans*-3-30を得た。

検討の結果、ブロモメチレン体 *trans*-3-30-Brは*E,Z* = 79:21 (total 62%)、ヨードメチレン体 *trans*-3-30-Iは*E,Z* = 82:18とメチレン体の混合物として得られた。メチレン体はリンイリド調整時に使用した塩基 (KHMDS)がプロトンではなくヨウ素に作

用したことで生成すると予測される。ブromoメチレン体 **trans-3-30-Br**は比較的安定な化合物であるため、これを直接Suzuki-Miyaura Couplingに用いることとしたが、ヨードメチレン体 **trans-3-30-I**は、不安定なため、ホウ素体 **trans-3-31**への変換を行った。

即ち、ヨードメチレン体 **trans-3-30-I**のEt<sub>2</sub>O溶液 (0.1 M)を-78°Cに冷却し、*t*-BuLi (3.0 eq.)のpentan溶液を滴下し、同温で1時間攪拌後、*i*-PrOBpin (2-isopropoxy-4,4,5,5-tetramethyl-1,3,2-dioxaborolane, 2.0 eq.)を加え、徐々に0°Cまで昇温しながら3時間攪拌後、通常の後処理を行うことで、ボラン体 **trans-3-31** (*E*:*Z* = 82:18)を得た (20%, 2 steps)。ここで、メチレン体**trans-3-30-C**の単離は可能であったが、ヨウ素よりも嵩高いピナコールボランの立体障害による*E*体選択的なボラン体の合成には至らなかった。(Scheme 3-7)

Scheme 3-7

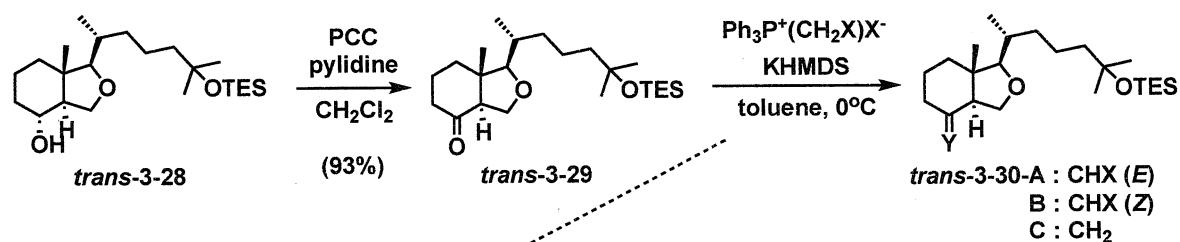
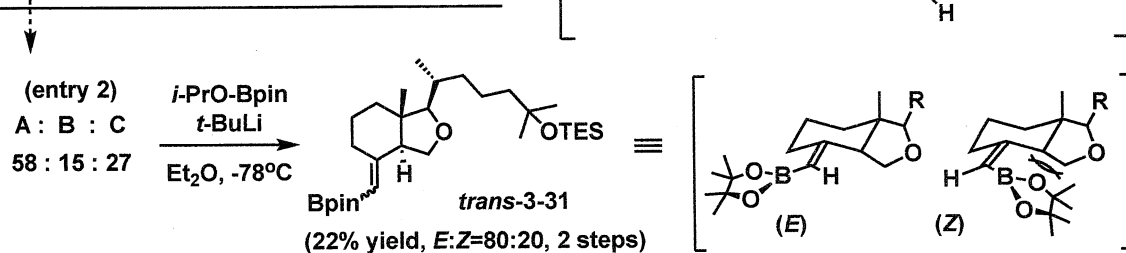


Table 3-2

entry	X	A : B : C	yield (%)
1	Br	78 : 22 : 0	62
2	I	58 : 15 : 27	-

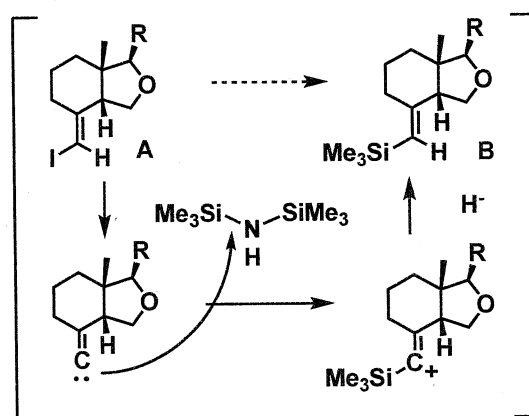
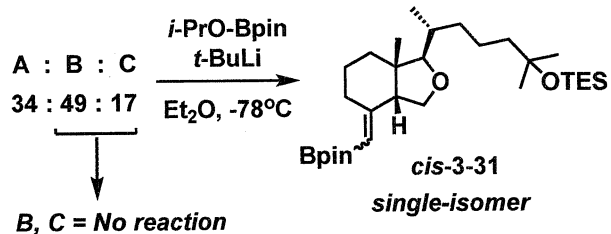
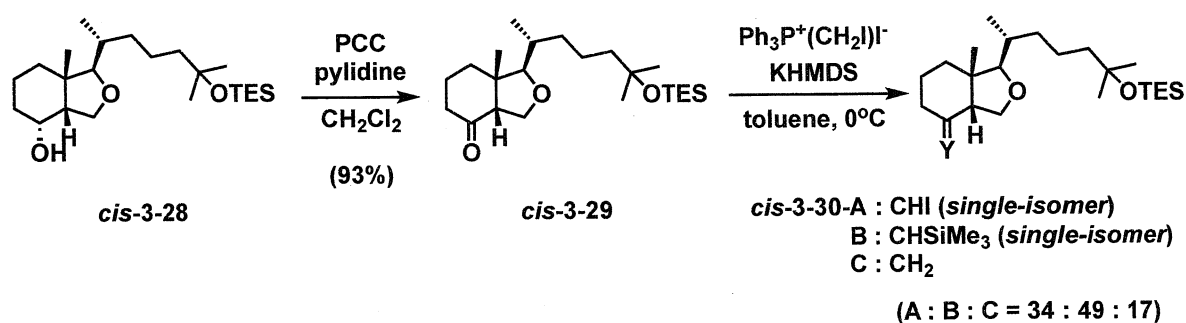


先と同様に、ケトン体 **cis-3-29**のWittig-olefinationをPh<sub>3</sub>P<sup>+</sup>(CH<sub>2</sub>I)I<sup>-</sup>を用いて同様の操作を行ったが、先ほどと同様3種類の生成物を確認したため、続けてホウ素化を行った。しかしながらホウ素化が進行した化合物は1種類のみであり、残り2種は未反応であった。この未反応分的一方はメチレン体 **cis-3-30-C**であり、もう一方は、

HS-MSスペクトルから, TMS基が付加した *cis*-3-30-Bであると判断した。

即ち, この一連の反応で得られた化合物は, 単一異性体としてのボラン体 *cis*-3-31, シリル体 *cis*-3-30-Bとメチレン体 *cis*-3-30-Cである。このシリル体 *cis*-3-30-Bはwittig olefination反応系中で, ヨウ素メチレン体 *cis*-3-30-Aを経由して発生したオレフィン炭素上のカルベン種とヘキサメチルジシラザンが反応することで生成したと考えられる。(Scheme 3-8)

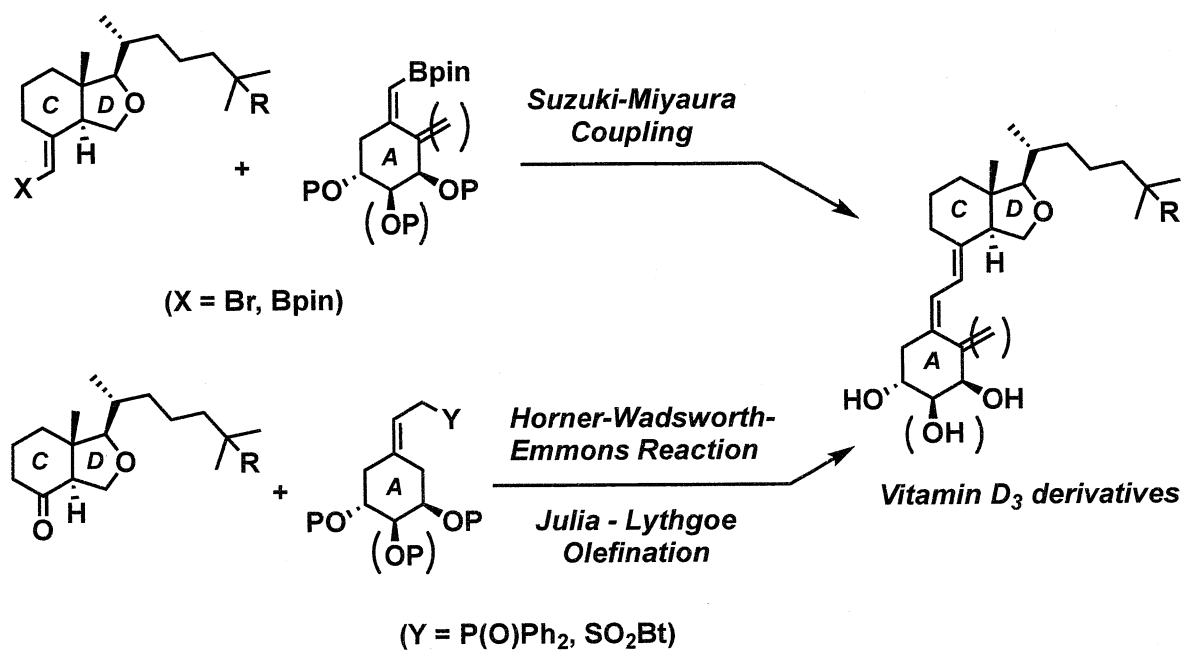
Scheme 3-8



## 3-3. 16-oxa型ビタミンD誘導体の合成

16-oxa型C,D環部とA環部とのカップリング反応による, 16-oxa-型ビタミンD誘導体ライブラリーの構築を検討した。(Figure 3-6)

Figure 3-6

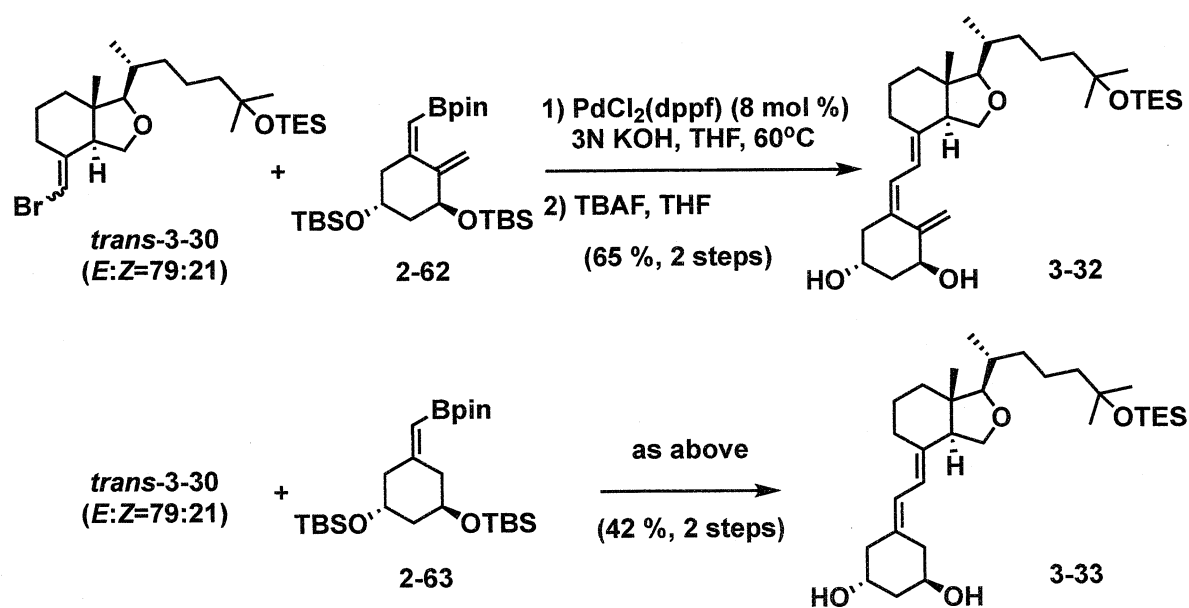


### 3-3-1. Suzuki-Miyaura Couplingによる16-oxa型ビタミンD誘導体の合成検討

初めに, Suzuki-Miyaura Coupling反応による16-oxaビタミンD誘導体合成の検討を行った。

即ち, 16-oxa-C,D環部 *trans*-**3-30**とPdCl<sub>2</sub>(dppf) (10 mol%)のTHF溶液 (0.1 M)にA環部ユニット**2-62**または **2-63**のTHF溶液と3M KOH水溶液 (3.0 M)を加え, 60°Cで12時間攪拌後, 通常の後処理を行うことで, カップリング体の粗生成物を得た。この粗生成物のTHF溶液 (1.0 M)にTBAF (5.0 eq.)を加え, 室温で3時間攪拌後, 通常の後処理を行うことで, 目的の16-oxa型ビタミンD誘導体を得た (**3-32** : 65 %, **3-33** : 42 %, 2 steps)。(Scheme 3-9)

Scheme 3-9



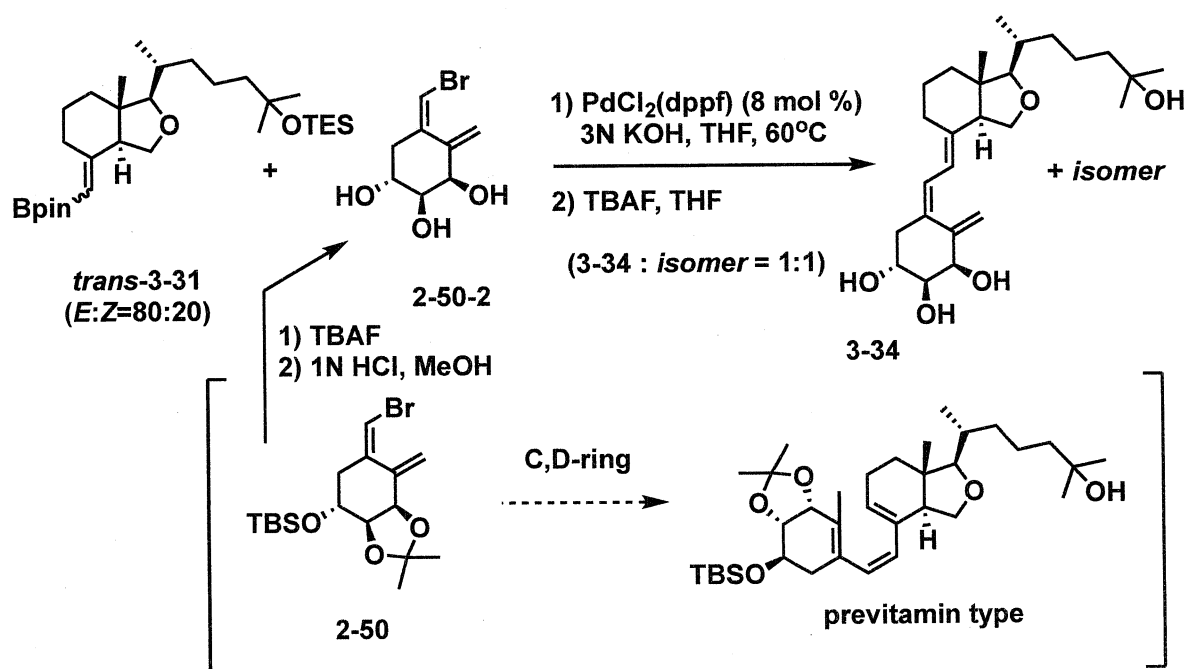
結果として, 16-oxa型C,D環部を用いたカップリング反応では, 20%程度の異性体が生成するが, これは16-oxa C,D環部に含まれるZ体由来のカップリング体であると推測されるため, この条件での新たな異性体の生成は見られなかった。

続いて, 16-oxa C,D環部 *trans*-**3-31**と2位に水酸基を有するA環部 **2-50**とのカップリング反応の検討を行った。ここで, 第2章でのカップリング反応検討の知見から, A環部**2-50**のアセタール部位によるA環部の歪みを解消することを目的として, そ



の脱保護体**2-50-2**を用いて、先と同様の反応条件にて検討を行った。しかしながら、得られたカップリング体は異性体を含む2種類の生成物であり、脱保護まで行った結果、誘導体**3-34**と異性体の比率は約1:1であり、カップリング反応時に異性化が進行していることが示唆される。(Scheme 3-10)

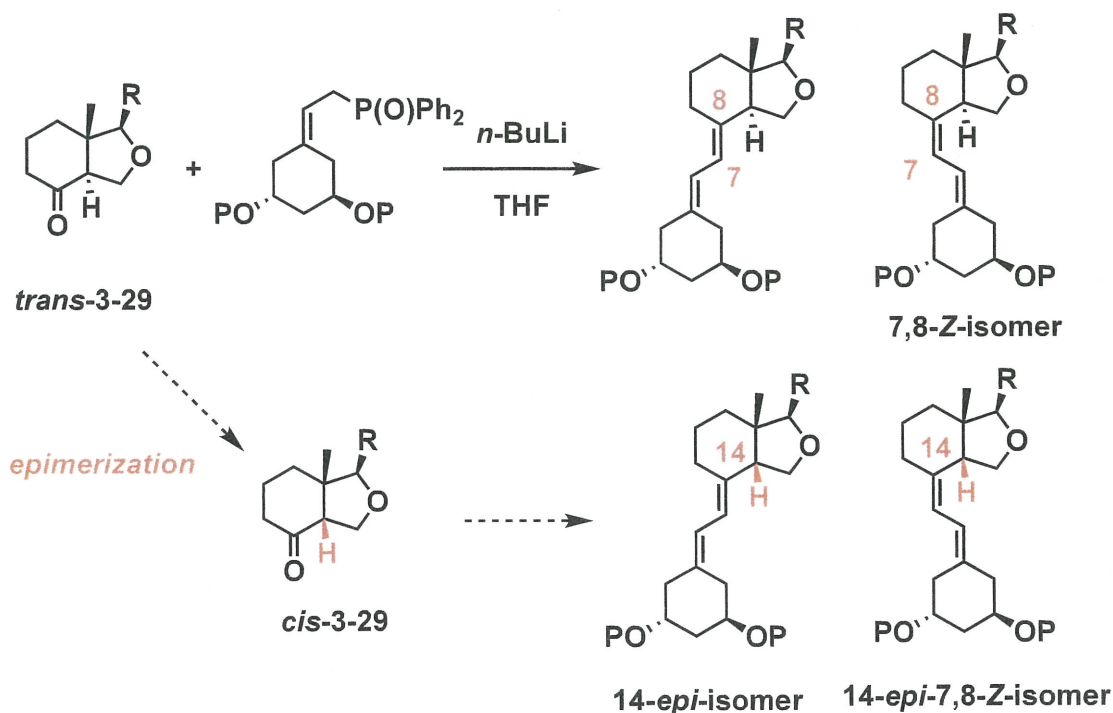
Scheme 3-10



## 3-3-2. Horner-Wadsworth-Emmons Reactionによる16-oxa型ビタミンD誘導体の合成検討

Horner-Wadsworth-Emmons Reactionのカップリング反応による16-oxa-ビタミンD誘導体合成を検討した。この反応系では、目的のカップリング体とは別に、7,8位Z体とケトン体のエピメリ化により生成する14位エピ体が異性体として生成する懸念があるため、事前にcis-ヒドロインダン骨格である14位epi体C,D環部についても同様の反応検討を行うことで、E,Zまた14位エピ体としての判別を行うこととした。(Figure 3-7)

Figure 3-7



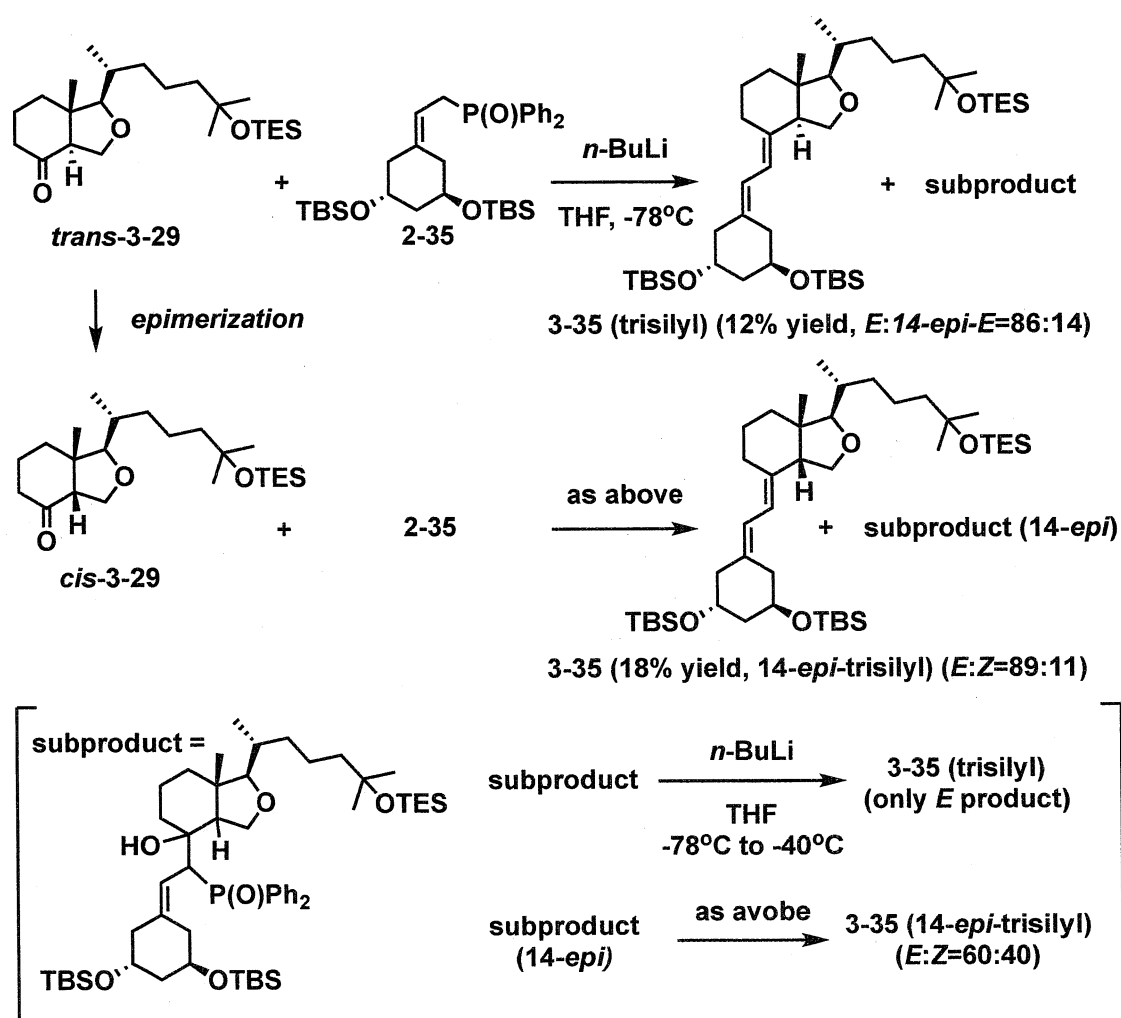
即ち、19-*nor*-A環部 2-35のTHF溶液 (1.0 M)を-78 °Cに冷却し、*n*-BuLi (1.05 eq.)を滴下し、同温で40分攪拌した。赤色を呈したA環部の反応溶液に、16-oxa-C,D環部ケトン体 *trans*-3-29または *cis*-3-29のTHF溶液 (0.1 M)を加え、2時間攪拌後、通常の後処理を行うことで、対応するカップリング体3-35 (trisilyl)を得た。

検討の結果、双方の条件で各々2種類のカップリング体を得られた。得られたカップリング体の<sup>1</sup>H-NMRを比較した結果、*trans*-3-29を原料とした条件では、目的のカップリング体と14位epi体が86:14の生成比で得られた (3-35 (trisilyl):3-35

(14-*epi*-trisilyl)=86:14, 12% yield)。 *cis*-3-29を原料とした条件では、7,8位*E,Z*異性体の混合物として生成していると判断した (3-35 (14-*epi*-trisilyl): 18% yield (*E:Z*=89:11))。これら目的のカップリング体とは別に、ホスフィンオキシドの付加体のような化合物 **subproduct** (推定構造)が得られた。これについては、THF溶液中、*n*-BuLiを-78°Cで加え、-40°Cで3時間攪拌後、通常の後処理により、目的のカップリング体 3-35が得られている。

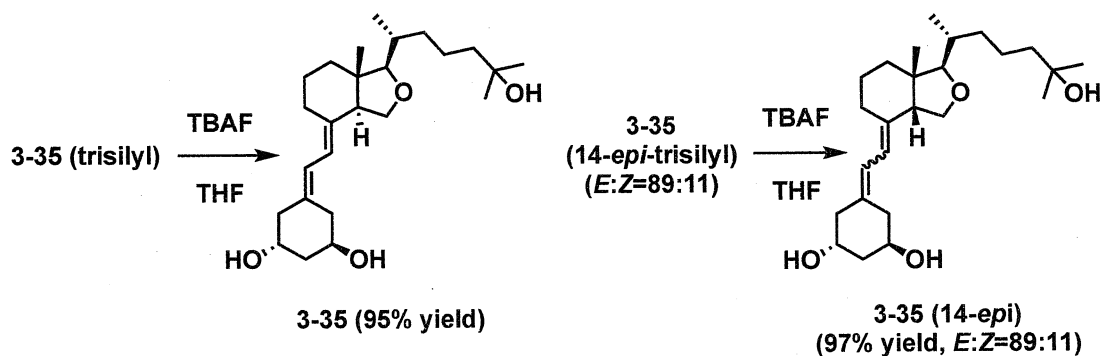
この他、ホスフィンオキシドの付加体の生成を抑制する目的で、反応温度を-40°Cまたは0°C付近まで昇温した条件を実施しているが、これら条件では、*Z*体や14位エピ体の生成比が増加する傾向が得られている。(Scheme 3-11)

Scheme 3-11



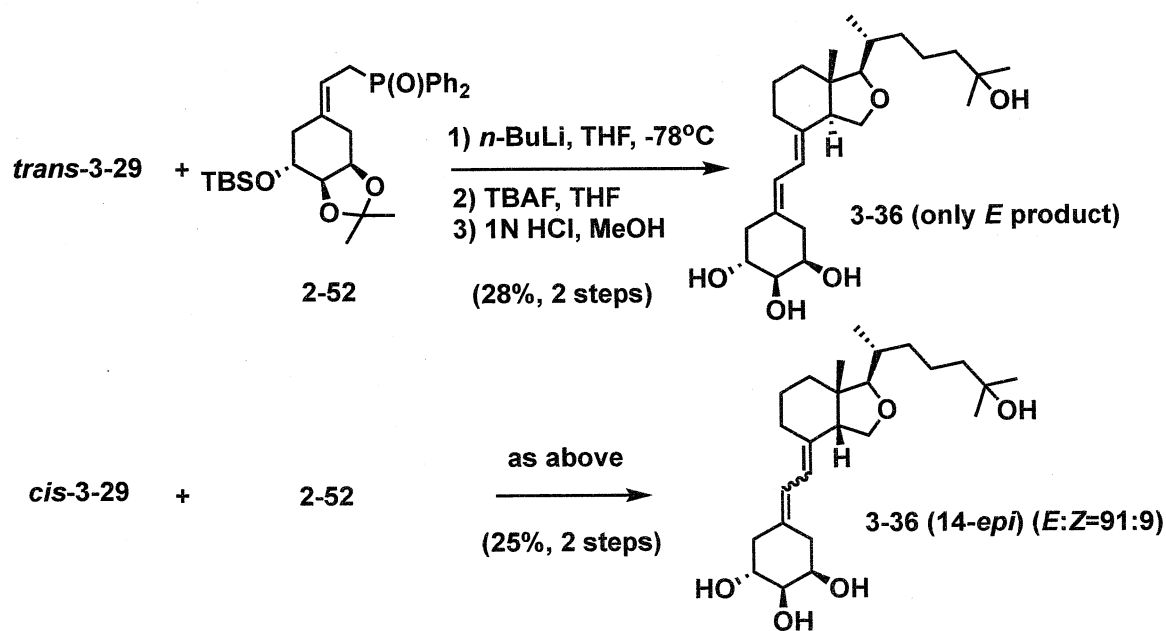
カップリング体 **3-35**は、そのTHF溶液 (1.0 M)にTBAF (5.0 eq.)を加え室温で12時間攪拌後、通常の後処理を行うことで、目的の16-oxa型ビタミンD誘導体 **3-35**を得た (**3-3**: 95 %, **3-35 (14-*epi*)**: 97 %)。(Scheme 3-12)

Scheme 3-12



引き続き、2位に水酸基を有するA環部ユニット **2-52**を用いた同様の反応検討を行った。結果として、*trans*-**3-29**を原料とした反応では、目的のカップリング体のみが得られ (**3-36-disilyl**: 28% yield (2 steps)), *cis*-**3-29**を原料とした反応では、7,8位*E,Z*異性体の混合物が生成する結果であった (**3-36-14-*epi*-disilyl**: 25% yield (E:Z=91:9, 2 steps))。(Scheme 3-13)

Scheme 3-13



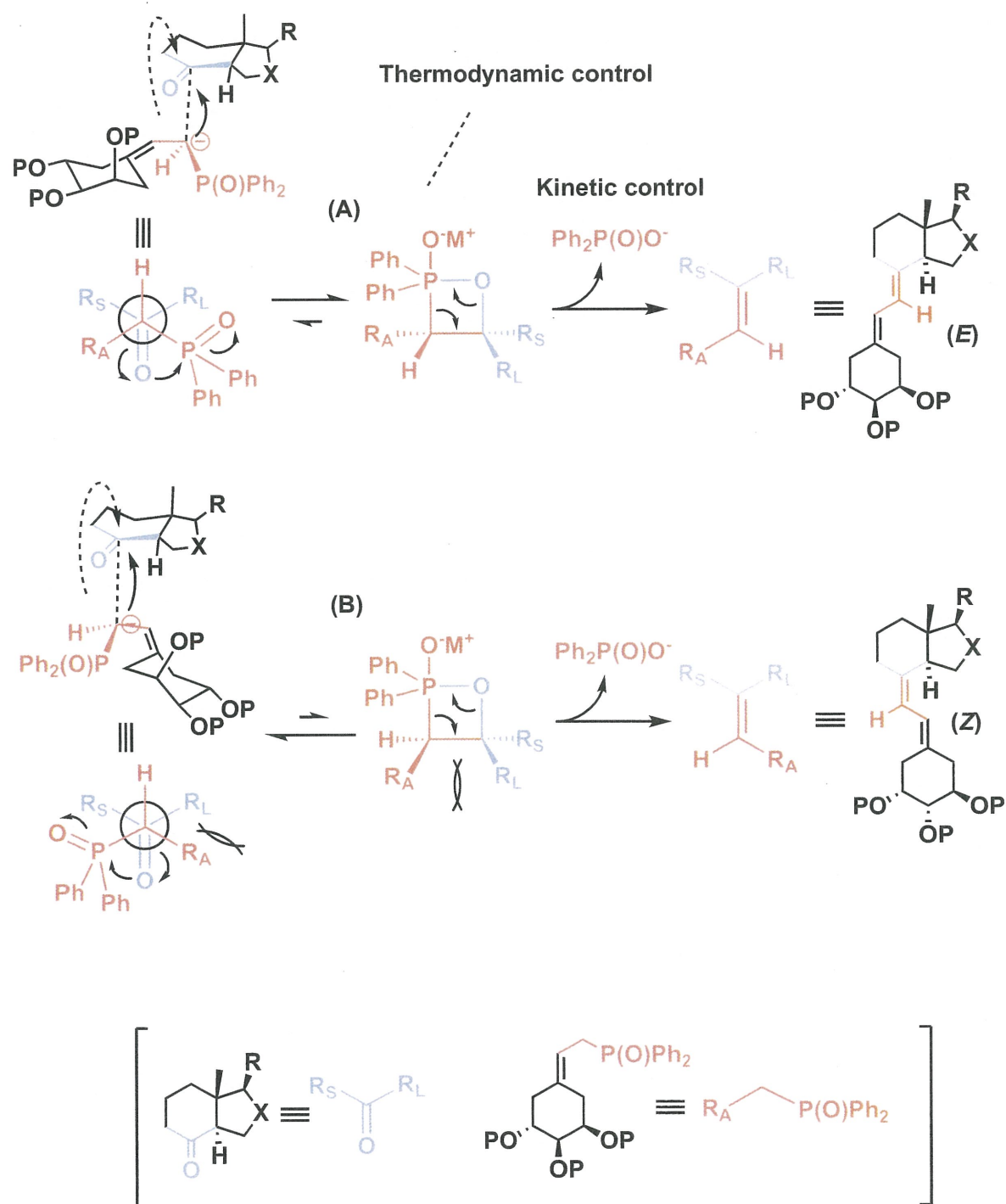
これら16-oxa型C,D環部を用いたカップリング反応により、Z体異性体が生成した理由として、反応中間体であるベタイン中間体もしくはオキサホスフェタン中間体 **A**, **B**の熱力学的支配 (thermodynamic control) による安定性とホスフィンオキシドが脱離する際の速度論的支配 (kinetic control) による寄与が、天然型C,D環部を用いた条件とは異なっていると予測できる。

特に、オキサホスフェタン中間体の熱力学的支配による寄与が大きいと予測している。即ち、オキサホスフェタン中間体 **B**を経由するZ体の生成は、天然型のC,D環部を用いる条件では、C,D環部 $R_L$ とA環部 $R_A$ との立体障害が大きく、このルートを経由する反応の進行は起こらない。これは第二章の同様のカップリング反応から得られる結果である。

しかしながら、C,D環部を16-oxa型とした場合には、このオキサホスフェタン中間体 **B**を経由したカップリング体が生成している。これは、C,D環部を16位に導入したことで、炭素同士の結合角と比較して、広い結合角をとる炭素-酸素結合が形成されたことで、D環部部分の環構造が多少縮小していることが予測できる。これによる環構造の違いにより、16-oxa-C,D環部  $R_L$ とA環部 $R_A$ の立体障害が十分に得られず、Z体の生成に繋がったと予測している。

但し、Z体の生成比は10%程度に留まっていることや、用いるユニットによっては、E体のみが生成する条件も得られていることから、天然型のC,D環部と16-oxa型C,D環部の立体構造にそれほど大きな違いはないと言える。この結果は当初の目的通り、天然型ビタミンD<sub>3</sub>と比較しても大きく構造が変わらない16-oxa型ビタミンD誘導体が合成できている証明でもある。(Figure 3-8)

Figure 3-8



### 3-3-3. Julia-Lythgoe Olefinationによる16-oxa型ビタミンD誘導体の合成検討

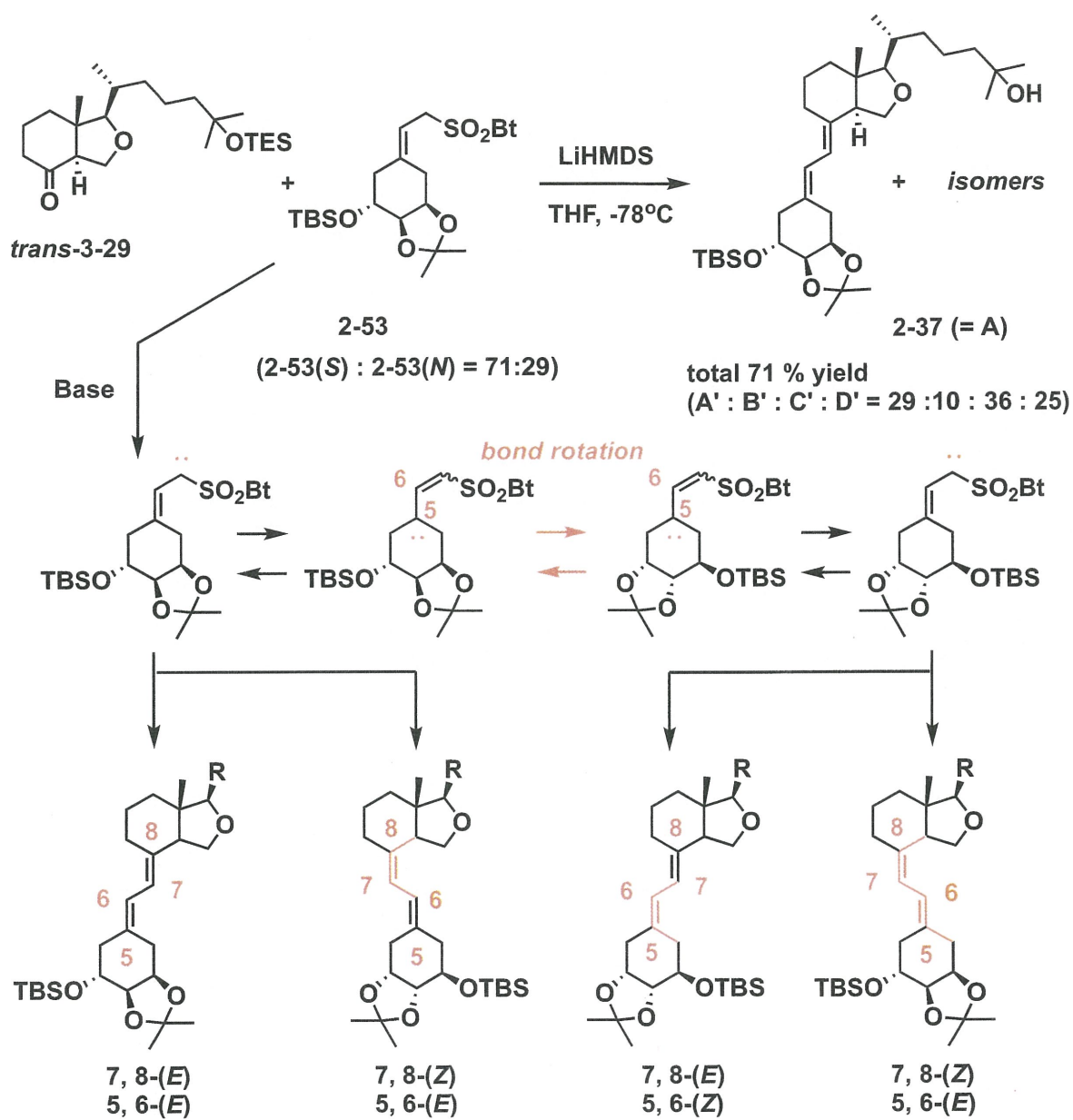
16-oxa-型ビタミンD誘導体の構築にHorner-Wadsworth-Emmons Reactionを用いた結果、天然型C,D環部を用いる同様の反応検討とは異なり、7,8-Z体異性体が生成する結果が得られた。このため、第二章では複数の異性体が生成したが、Julia-Lythgoe Olefinationを用いるカップリング反応についても検討を行った。

即ち、19-nor-A環部 **2-53 (2-53(S) : 2-53(N) = 71:29)**のTHF溶液 (0.1 M)を-78 °Cに冷却し、LiHMDS (1.0 eq.)を加え、同温で1時間攪拌後、16-oxa-C,D環部ケトン体 **trans-3-29**のTHF溶液 (0.5 M)を加え、反応温度を-78°Cから-20 °Cまで上昇させながら一晩攪拌し、通常の後処理を行った。

検討の結果、4種類のカップリング体を得られた (**A:B:C:D=29:10:36:25**)。ここで得られたカップリング体の異性体については、同様の基質を用いたHorner-Wadsworth-Emmons Reactionの検討 (**Scheme 3-13**)で、これに対応するE,Z異性体とその14-*epi*体の<sup>1</sup>H-NMRデータが得られているため、これらの<sup>1</sup>H-NMRデータとの比較を行った。結果として、E,Z異性体としては一致するピークが見られるものの、14-*epi*体と一致するピークは見られなかった。

即ち、Julia-Lythgoe Olefinationによるカップリング反応では、7,8-E/Z異性体とA環部の異性化を経由して得られる5, 6-E/Z異性体を組み合わせた4種類のカップリング体が見られると判断した。これは、先の第二章の天然型C,D環部を用いる同様の反応結果にも適用可能であると考えられる。(**Scheme 3-14**)

Scheme 3-14



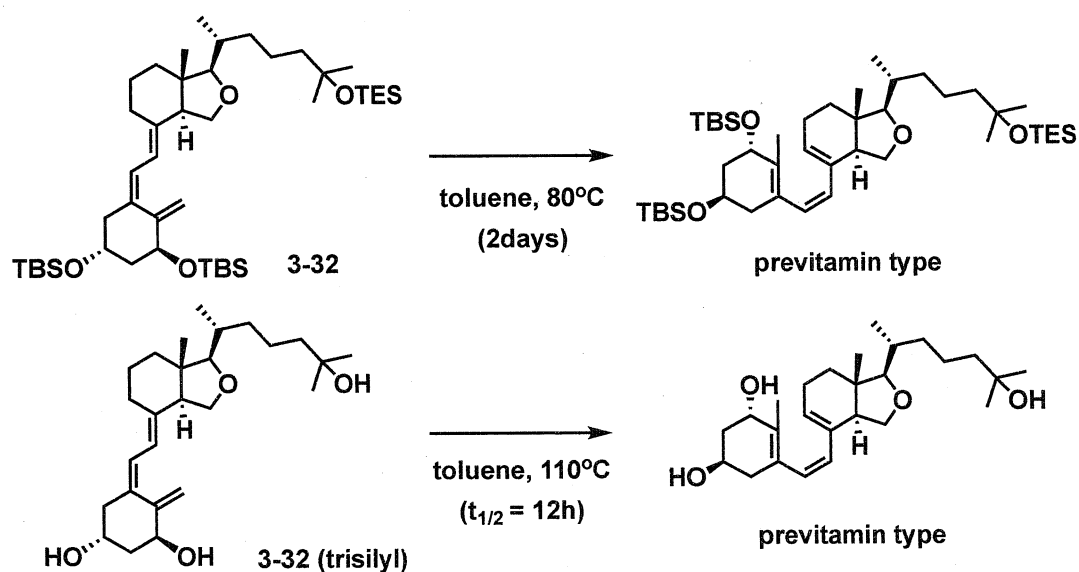


### 3-4. 16-oxa-1 $\alpha$ ,25(OH)<sub>2</sub> VD<sub>3</sub>の安定性試験

一部カップリング反応の検討でも見られたように、19位にメチレン基を有する天然型ビタミンD誘導体は、そのメチレン基を起点とする異性化の進行が問題視されてきた。実際に、16-oxa-1 $\alpha$ ,25(OH)<sub>2</sub> VD<sub>3</sub> **3-32**の脱保護前のトリシリル体**3-32(trisilyl)**では、これを数日間保管していた際に、その異性化が進行していた知見がある。そしてこの異性化が容易に進行するのであれば、後の*in vitro*で行う活性評価に影響を及ぼすことは明白である。

以上の理由から、16-oxa-1 $\alpha$ ,25(OH)<sub>2</sub> VD<sub>3</sub> **3-32**とそのトリシリル体**3-32(trisilyl)**の構造安定性評価を行った。この安定性評価は、toluene溶液で希釈した16-oxa-1 $\alpha$ ,25(OH)<sub>2</sub> VD<sub>3</sub> (**3-32**)とそのシリル体 **3-32 (trisilyl)**を加熱攪拌し、一定時間ごとに<sup>1</sup>H-NMRを測定することで評価した。(Scheme 3-15)

Scheme 3-15



評価の結果、加熱温度60°Cの条件、即ちカップリング反応で用いた温度では異性化の進行は見られなかった。しかしながら、シリル体 **3-32(trisilyl)**は80°Cで異性化が進行し、2日間で全ての原料体が消失した。16-oxa-1 $\alpha$ ,25(OH)<sub>2</sub> VD<sub>3</sub> **3-32**は110°Cの条件でその原料体の異性化が徐々に進行し、1週間の加熱攪拌により全ての原料体が消失した。

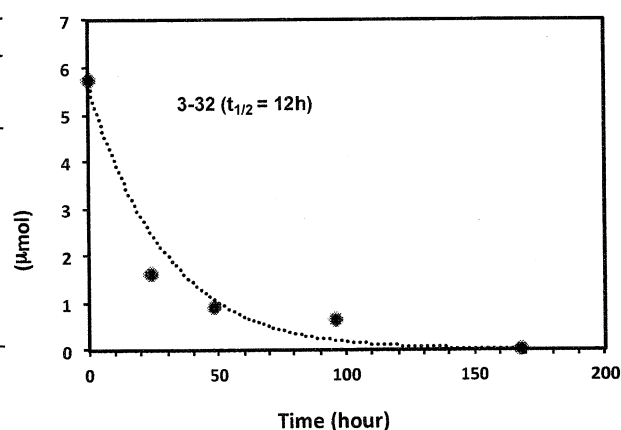
以上の結果から、シリル体 **3-32(trisilyl)**よりも16-oxa-1 $\alpha$ ,25(OH) $_2$ -VD $_3$  **3-32**が、その安定性が高く、概算での半減期 ( $t_{1/2}$ )は110 $^{\circ}$ Cの条件下、12時間であったため、室温条件化で行う *in vitro*での活性評価に影響はないと判断した。(Table 3, Figure 3-9)

Table 3-3

Compound	temp. ( $^{\circ}$ C)	hour (h)	conversion (%)	$\mu$ mol
3-32 (trisilyl)	60	12	0	-
	80	48	100	-
-----				
3-32	60	12	0	5.73
	80	12	0	5.73
	110	24	72	1.60
		48	85	0.89
		96	89	0.63
		168	100	0

determined by  $^1$ H-NMR

Figure 3-9



ここで、16-oxa-1 $\alpha$ ,25(OH) $_2$  VD $_3$  **3-32**の加熱攪拌の時間ごとの $^1$ H-NMRスペクトルを比較すると、時間経過ごとにアルケン部分の4つのピーク、4.96, 5.32, 5.84, 6.34 ppmとは別のアルケン由来のピークが増加していることが見てとれる。これは previtamin型の誘導体や、これを経由して生成する異性体**A**, **B**, **C**由来のピークであることが示唆される。さらに加熱攪拌1週間後には、アルケン由来のピークは消失するものの、芳香族部分のピーク (6.71-7.11 ppm)が新たに見られており、これは previtamin型の誘導体A-C環部の閉環によりB環部を持つステロイド型の誘導体、またはこれの脱水素化反応による**D**様な構造体に変化したことが推測される。いずれにしても、16-oxa-1 $\alpha$ ,25(OH) $_2$  VD $_3$  **3-32**は110 $^{\circ}$ C、一週間でその骨格由来のピークは消失している。(Figure 3-10)



### 3-5. 結論

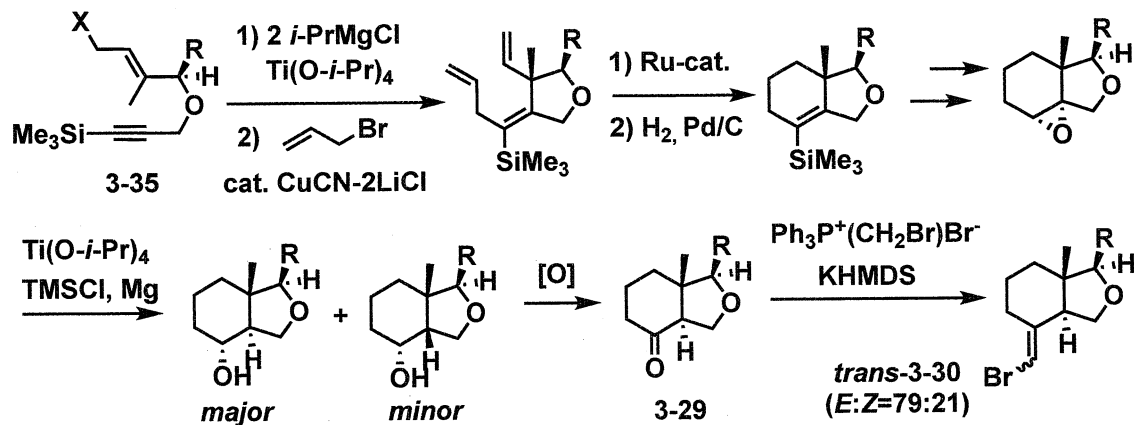
本章では、16-oxa型ビタミンD誘導体の検討を行い、以下の結果が得られた。

(Figure 3-11)

- 1) エンイン型中間体 (3-5)の四価のチタンアルコキシドの2当量のGrignard反応剤から発生する二価チタン反応剤との反応と、続くCuCNを触媒としたアリルブロミドとのアリル化反応、低原子価チタン種による立体選択的なエポキシドのラジカル還元反応を鍵反応として16-oxa型C,D環部ユニットの合成が可能であった。16-oxa-C,D環部ケトン体ユニット (3-19)のwittig-olefinationによるブロモメチレン体 (3-30)の合成では、E/Z混合物として得られ、天然型C,D環部を用いる同様の反応とは異なる結果が得られたが、これは16-oxa型C,D環部とは若干異なる構造であることを裏付ける結果であった。
- 2) 16-oxa-C,D環部ユニット (*trans*-3-30)とA環部ユニット (2-62, 2-63)とのSuzuki-Miyaura Coupling 反応により 16-oxa-1 $\alpha$ ,25(OH)<sub>2</sub>VD<sub>3</sub> (3-32)と16-oxa-19-*nor*-1 $\alpha$ ,25(OH)<sub>2</sub>VD<sub>3</sub> (3-33)を合成した。このカップリング反応で生成する異性体は16-oxa型C,D環部Z体由来の生成物であると判断している。
- 3) 16-oxa-C,D環部ユニット (*trans*-3-30)とA環部ユニット (2-35, 2-52)とのHorner-Wadsworth-Emmons Reactionでは、望む19-*nor*型のカップリング体は得られるものの、14位エピ体やZ体の副生成物が同時に生成する結果であった。一部、単一生成物として得られた条件はあるが、その収率は10%程度と低い結果である。このことから、16-oxa型ビタミンD誘導体の構築にはSuzuki-Miyaura Coupling反応を用いることが望ましいと言える。
- 4) 19位にメチレン基を有する誘導体は、これを起点とする異性化が進行する可能性があるため、16-oxa-1 $\alpha$ ,25(OH)<sub>2</sub>VD<sub>3</sub> (3-32)の熱安定性評価を実施した。結果として、toluen溶媒中80°Cでの異性化の進行は見られず、110°C下で半減期 ( $t_{1/2}$ ) 12時間の結果が得られた。そのため、この構造体は比較的安定であり、後の*in vitro*での活性評価への適用に問題はないとの結果を得た。

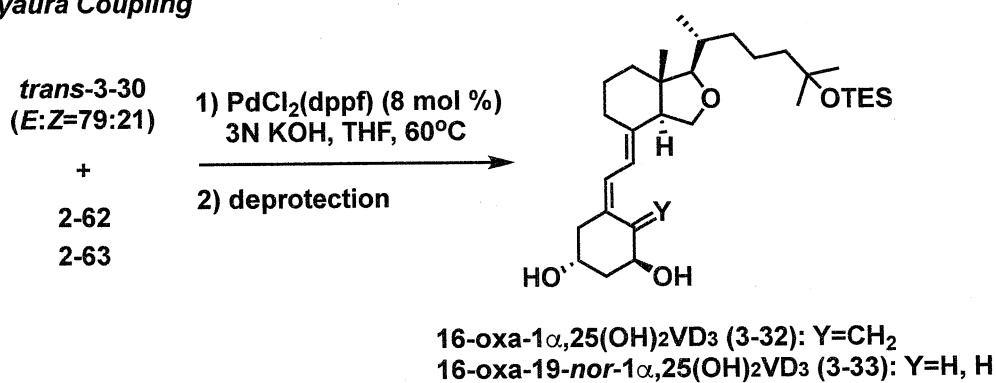
Figure 3-11

## Synthesis of 16-oxa-C,D-ring

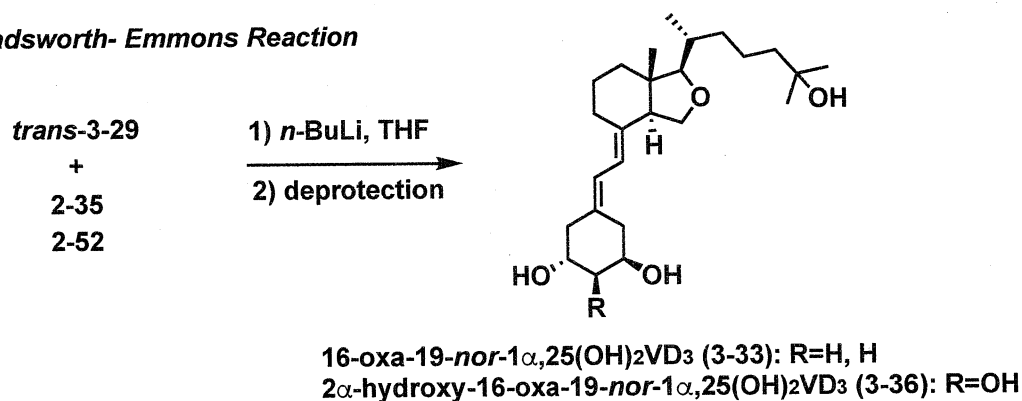


## A-C,D Coupling

## Suzuki-Miyaura Coupling

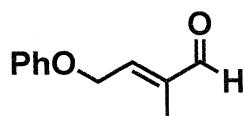


## Horner-Wadsworth-Emmons Reaction



### Experimental section (Chapter 3)

**General Procedures.** NMR spectra were recorded in CDCl<sub>3</sub> at 600 and 500 MHz for <sup>1</sup>H and 150 and 125 MHz for <sup>13</sup>C on JEOL JNM-ECA600 and -ECA500 spectrometers, respectively. Chemical shifts are reported in parts per million (ppm, δ) relative to Me<sub>4</sub>Si (δ 0.00) or residual CHCl<sub>3</sub> (δ 7.26 for <sup>1</sup>H NMR) and CDCl<sub>3</sub> (δ 77.0 for <sup>13</sup>C NMR). IR spectra were recorded on a JASCO IR FT/IR 4100 spectrometer. High-resolution mass spectra (HR-MS) were measured on a JEOL Accu TOF T-100 equipped with an ESI ionization unit. All reactions sensitive to oxygen and/or moisture were performed under an argon atmosphere. Dry solvents [tetrahydrofuran (THF), *N,N*-dimethylformamide (DMF), dichloromethane (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>), toluene, and diethyl ether (ether)] were purchased from Kanto Chemicals. Ti(*O-i*-Pr)<sub>4</sub> was distilled and stored under Ar. A solution of CuCN·2LiCl in THF was prepared by mixing CuCN (10 mmol) and LiCl (20 mmol) in THF (20 mL) and stored under Ar. Grubbs' catalyst 1st generation (PhCH= RuCl<sub>2</sub>(PCy<sub>3</sub>)<sub>2</sub>) and PdCl<sub>2</sub>(dppf) were purchased from Sigma-Aldrich and used as received. BrMgCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CMe<sub>2</sub>OTES and EtMgBr were prepared from Mg turnings and the corresponding bromide in THF. *i*-PrMgCl was prepared from *i*-PrCl and Mg turnings in ether and stored under Ar.

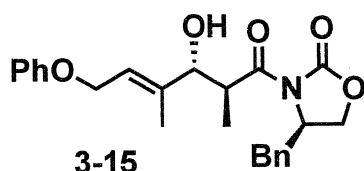


**3-13**

#### (*E*)-2-Methyl-4-phenoxybut-2-enal (3-13)

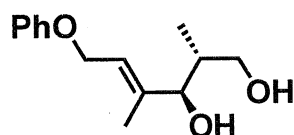
To a mixture of 1-chloro-3-methylbut-2-ene (112 mL, 1.0 mol) and K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (277 g, 2.0 mol) in CH<sub>3</sub>CN (500 mL) was slowly added phenol (97 mL, 1.1 mol) at 0 °C. The resulting mixture was stirred for 12 h at room temperature. After removal of the solvent under reduced pressure, aqueous 1M NaOH (200 mL) was added. The mixture was extracted with hexane, washed with aqueous 1M NaOH, dried over

MgSO<sub>4</sub>, and filtered through a pad of Celite. The filtrate was concentrated and chromatographed on silica gel to give ((3-methylbut-2-en-1-yl)oxy)benzene (**3-11**) (130 g) in 80% yield. To a solution of **3-11** (32.4 g, 200 mmol) in CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (650 mL) was sequentially added an aqueous solution of *tert*-butylhydroperoxide (68 wt% in water, 72 mL, 576 mmol) and SeO<sub>2</sub> (4.44 g, 40 mmol) at 0 °C. The resulting biphasic mixture was stirred for 48 h at ambient temperature. Then, methanol (400 mL) and NaBH<sub>4</sub> were added until foaming cease and the reaction was checked by KI/starch paper. After an addition of water (1.0 L), the mixture was extracted with CHCl<sub>3</sub>. The combined organic layers were washed with water and brine, dried over MgSO<sub>4</sub>, filtered, and concentrated under reduced pressure. The residue was chromatographed on silica gel to give (*E*)-2-methyl-4-phenoxybut-2-en-1-ol (**3-12**) (30.7 g) in 86% yield. To a mixture of **3-12** (28.5 g, 160 mmol) and Et<sub>3</sub>N (67 mL, 480 mmol) in DMSO (160 mL) was slowly added a pyridine-sulfur trioxide complex (51.0 g, 320 mmol) at 0 °C. After stirring for 30 min at room temperature and then cooling to 0 °C, saturated aqueous NaHCO<sub>3</sub> was added. The mixture was extracted with ether, washed with saturated aqueous NaHCO<sub>3</sub>, aqueous 1M HCl, and brine, dried over MgSO<sub>4</sub>, filtered, and concentrated. The residue was purified by column chromatography on silica gel, (hexane/AcOEt) to give **3-13** (26.5 g) in 94% yield. <sup>1</sup>H NMR (600 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 9.49 (s, 1H, CHO), 7.32 (t, *J* = 7.6 Hz, 2H, Ar), 7.00 (t, *J* = 7.6 Hz, 1H, Ar), 6.92 (d, *J* = 7.6 Hz, 2H, Ar), 6.70 (t, *J* = 5.5 Hz, 1H, olefinic), 4.88 (d, *J* = 5.5 Hz, 2H, allylic CH<sub>2</sub>), 1.84 (s, 3H, CCH<sub>3</sub>); <sup>13</sup>C NMR (150 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 194.1, 158.0, 147.8, 139.8, 129.7, 121.5, 114.6, 64.6, 9.7; IR (neat) 1686, 1597, 1493, 1237, 1016, 753, 690 cm<sup>-1</sup>; HRMS *m/z* = calcd. For C<sub>11</sub>H<sub>12</sub>NaO<sub>2</sub> [M+Na]<sup>+</sup>: 119.0735, found 199.0750.



**(*R*)-4-Benzyl-3-((*2S,3R,E*)-3-hydroxy-2,4-dimethyl-6-phenoxyhex-4-enoyl)oxazolidin-2-one (**3-15**)**

To a mixture of oxazolidinone **3-14** (28.5 g, 122 mmol), MgBr<sub>2</sub> (26.8 g, 122 mmol), Et<sub>3</sub>N (34 mL, 244 mmol), Me<sub>3</sub>SiCl (23 mL, 183 mmol), and aldehyde **3-13** (25.8 g, 146 mmol) in AcOEt (300 mL) was stirred for 48 h at room temperature. The slurry was passed through a plug of silica gel with ether. The solution was concentrated *in vacuo* and MeOH (600 mL) was added along with CF<sub>3</sub>COOH (7 mL). The solution was stirred for 30 min at room temperature and concentrated. The residue was purified by column chromatography on silica gel (hexane/AcOEt) to give **3-15** (38.0 g) in 76% yield. <sup>1</sup>H NMR (600 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 7.33 (t, *J* = 7.2 Hz, 2H, Ar), 7.29-7.23 (m, 5H, Ar), 6.94 (t, *J* = 7.2 Hz, 1H, Ar), 6.88 (d, *J* = 7.8 Hz, 2H, Ar), 5.80 (t, *J* = 6.3 Hz, 1H, olefinic), 4.71-4.68 (m, 1H, NCH), 4.61 (d, *J* = 6.0 Hz, 2H, allylic CH<sub>2</sub>), 4.25 (d, *J* = 8.4 Hz, 1H, CHOH), 4.22-4.15 (m, 3H, C(O)OCH<sub>2</sub> and CHOH), 3.32 (dd, *J* = 3.0, 13.8 Hz, 1H, benzyl), 2.88-2.73 (m, 1H, NC(O)CHCH<sub>3</sub>), 2.76 (dd, *J* = 9.6, 13.8 Hz, 1H, benzyl), 1.81 (s, 3H, allylic CH<sub>3</sub>), 1.12 (d, *J* = 7.2 Hz, 3H, CHCH<sub>3</sub>); <sup>13</sup>C NMR (150 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 176.4, 158.5, 153.7, 139.1, 135.3, 129.4, 128.9, 127.3, 124.3, 120.8, 114.6, 80.3, 66.1, 64.2, 55.6, 40.3, 37.7, 14.8, 11.7; IR (KBr) 3493, 2977, 1778, 1697, 1598, 1494, 1385, 1215 cm<sup>-1</sup>; HR-MS *m/z* = calcd. For C<sub>24</sub>H<sub>27</sub>NNaO<sub>5</sub> [M+Na]<sup>+</sup>: 432.1787, found 432.1766; [α]<sub>D</sub><sup>25</sup> -35.8 (*c* 0.55, CHCl<sub>3</sub>).

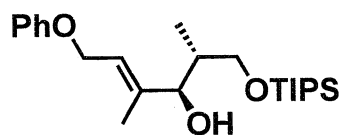
**3-16**

**(2*R*,3*R*,*E*)-2,4-Dimethyl-6-phenoxyhex-4-ene-1,3-diol (3-16)**

To a solution of **3-15** (30.6 g, 74.6 mmol) in THF-MeOH (40:1 v/v, 124 mL) was added in small portions a solution of LiBH<sub>4</sub> (1.9 g, 90 mmol) in THF (90 mL) at 0 °C. After 5 h of stirring at room temperature, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (100 mL) was added. The mixture was washed with 5% aqueous citric acid and brine. The combined organic layers were dried over Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, filtered, and concentrated. The residue was purified by column chromatography on silica gel (hexane/AcOEt) to give **3-16** (17.5 g) in 99% yield. <sup>1</sup>H NMR (600 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 7.27 (t, *J* = 8.3 Hz, 2H, Ar), 6.95 (t, *J* =



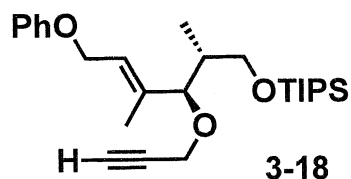
7.2 Hz, 1H, Ar), 6.90 (d,  $J = 7.8$  Hz, 2H, Ar), 5.70 (t,  $J = 5.9$  Hz, 1H, olefinic), 4.61 (dd,  $J = 6.6, 12.6$  Hz, 1H, allylic CH<sub>2</sub>), 4.57 (dd,  $J = 6.0, 12.6$  Hz, 1H, allylic CH<sub>2</sub>), 3.95 (d,  $J = 8.4$  Hz, 1H, CHOH), 3.73-3.71 (m, 1H, CH<sub>2</sub>OH), 3.66-3.62 (m, 1H, CH<sub>2</sub>OH), 3.21 (brs, 1H, OH), 3.15 (s, 1H, OH), 1.96-1.89 (m, 1H, CHCH<sub>3</sub>), 1.74 (s, 3H, allylic CH<sub>3</sub>), 0.74 (d,  $J = 7.2$  Hz, 3H, CH<sub>3</sub>CH); <sup>13</sup>C NMR (150 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 158.5, 140.5, 129.4, 123.4, 120.8, 114.7, 83.8, 67.9, 64.3, 37.1, 13.7, 11.5; IR (KBr) 3367, 2941, 1751, 1596, 1496, 1240, 1012 cm<sup>-1</sup>; HR-MS  $m/z = \text{calcd.}$  For C<sub>14</sub>H<sub>20</sub>NaO<sub>3</sub> [M+Na]<sup>+</sup>: 259.1310, found 259.1287; [α]<sub>D</sub><sup>25</sup> -18.4 (*c* 0.80, CHCl<sub>3</sub>).



3-17

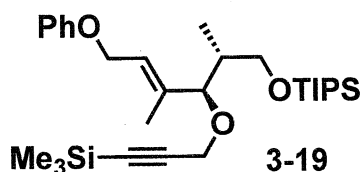
**(2*R*,3*R*,*E*)-2,4-Dimethyl-6-phenoxy-1-((triisopropylsilyl)oxy)hex-4-en-3-ol**  
(3-17)

To a mixture of diol **3-16** (13.2 g, 56.0 mmol) and imidazole (8.4 g, 123 mmol) in DMF (140 mL) was added *i*-Pr<sub>3</sub>SiCl (11.8 mL, 56.0 mmol) at room temperature. After stirring for 3 h, to this was added saturated aqueous NaHCO<sub>3</sub> at 0 °C. The mixture was extracted with ether, dried over MgSO<sub>4</sub>, filtered, and concentrated. The residue was chromatographed on silica gel (hexane/AcOEt) to give **3-17** (18.9 g) in 86% yield. <sup>1</sup>H NMR (600 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 7.27 (dd,  $J = 7.8, 9.0$  Hz, 2H, Ar), 6.93 (t,  $J = 7.6$  Hz, 1H, Ar), 6.90 (d,  $J = 7.6$  Hz, 2H, Ar), 5.73 (t,  $J = 6.0$  Hz, 1H, olefinic), 4.63 (dd,  $J = 6.0, 12.6$  Hz, 1H, allylic CH<sub>2</sub>), 4.60 (dd,  $J = 6.0, 12.6$  Hz, 1H, allylic CH<sub>2</sub>), 4.32 (d,  $J = 2.4$  Hz, 1H, OH), 3.96 (dd,  $J = 2.4, 8.4$  Hz, 1H, CHOH), 3.90 (dd,  $J = 3.9, 10.2$  Hz, 1H, CH<sub>2</sub>OSi), 3.69 (dd,  $J = 7.8, 10.2$  Hz, 1H, CH<sub>2</sub>OSi), 1.95-1.88 (m, 1H, CHCH<sub>3</sub>), 1.72 (s, 3H, allylic CH<sub>3</sub>), 1.16-1.05 (m, 21H, *i*-Pr), 0.76 (d,  $J = 7.2$  Hz, 3H, CH<sub>3</sub>CH); <sup>13</sup>C NMR (150 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 158.7, 140.3, 129.4, 123.1, 120.6, 114.7, 83.4, 69.2, 64.4, 37.3, 17.9, 17.8, 13.6, 11.7; IR (neat) 3443, 2943, 1560, 1496, 1462, 1239 cm<sup>-1</sup>; HR-MS  $m/z = \text{calcd.}$  For C<sub>23</sub>H<sub>40</sub>NaOSi [M+Na]<sup>+</sup>: 415.2644, found 415.2621.



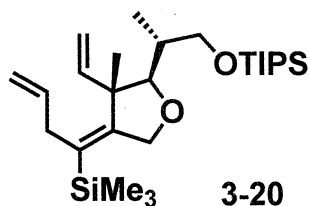
**(((2*R*,3*R*,*E*)-2,4-Dimethyl-6-phenoxy-3-(prop-2-yn-1-yloxy)hex-4-en-1-yl)oxy)triisopropylsilane (3-18)**

To a mixture of NaH (7.5 g, 60 wt% in oil, 186 mmol) and *n*-Bu<sub>4</sub>NI (TBAI, 1.1 g, 3.1 mmol) in THF (150 mL) was added a solution of **3-17** (23.6 g, 60 mmol) in THF (50 mL) at 0 °C. After stirring for 1 h at room temperature and then cooling to 0 °C, propargyl bromide (14.0 mL, 186 mmol) was added dropwise. The mixture was allowed to warm to room temperature and stirred for 3 h. Water (200 mL) was slowly added and the mixture was extracted with ether. The organic layer was washed with brine, dried over MgSO<sub>4</sub>, filtered, and concentrated. The residue was purified by column chromatography on silica gel (hexane/ether) to give **3-18** (19.9 g) in 77% yield. <sup>1</sup>H NMR (600 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 7.28 (dd, *J* = 7.8, 8.4 Hz, 2H, Ar), 6.95 (t, *J* = 7.8 Hz, 1H, Ar), 6.91 (d, *J* = 8.4 Hz, 2H, Ar), 5.69 (t, *J* = 6.0 Hz, 1H, olefinic), 4.66 (dd, *J* = 6.0, 12.6 Hz, 1H, allylic CH<sub>2</sub>), 4.61 (dd, *J* = 5.4, 12.6 Hz, 1H, allylic CH<sub>2</sub>), 4.05 (dd, *J* = 2.4, 15.6 Hz, 1H, propargylic CH<sub>2</sub>), 3.87 (dd, *J* = 2.4, 15.6 Hz, 1H, propargylic CH<sub>2</sub>), 3.80 (dd, *J* = 5.4, 9.6 Hz, 1H, CH<sub>2</sub>OSi), 3.77 (dd, *J* = 3.0, 9.6 Hz, 1H, CH<sub>2</sub>OSi), 3.70 (d, *J* = 9.6 Hz, 1H, CH<sub>2</sub>OCH), 2.34 (t, *J* = 2.1 Hz, 1H, alkyne H), 1.85-1.80 (m, 1H, CH<sub>3</sub>CH), 1.65 (s, 3H, allylic CH<sub>3</sub>), 1.12-1.03 (m, 21H, *i*-Pr), 0.82 (d, *J* = 7.2 Hz, 3H, CH<sub>3</sub>CH); <sup>13</sup>C NMR (150 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 158.6, 136.8, 129.4, 126.4, 120.8, 114.7, 85.4, 80.2, 73.6, 64.6, 64.4, 55.5, 37.9, 18.2, 13.8, 12.6, 11.2; IR (neat) 3309, 2942, 1600, 1496, 1462, 1239, 1070 cm<sup>-1</sup>; HR-MS *m/z* = calcd. For C<sub>26</sub>H<sub>42</sub>NaO<sub>3</sub>Si [M+Na]<sup>+</sup>: 453.2801, found 453.2801.



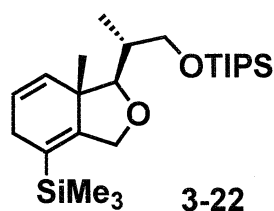
**(7*R*,8*R*)-11,11-Diisopropyl-2,2,8,12-tetramethyl-7-((*E*)-4-phenoxybut-2-en-2-yl)-6,10-dioxo-2,11-disilatridec-3-yne (3-19)**

To a solution of **3-18** (20.6 g, 47.7 mmol) in THF (95 mL) was added EtMgBr (48 mL, 1.48 M in THF, 71.5 mmol) at 0 °C. After being stirred for 1 h at room temperature, Me<sub>3</sub>SiCl (9.0 mL, 71.5 mmol) was added and the mixture was gradually warmed to room temperature over 2 h. Water (200 mL) was added and the organic layer was separated. The aqueous layer was extracted with ether. The combined organic layers were washed with brine, dried over MgSO<sub>4</sub>, filtered, and concentrated. The residue was chromatographed on silica gel (hexane/ether) to give **3-19** (23.7 g) in 99% yield. <sup>1</sup>H NMR (600 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 7.28 (t, *J* = 7.6 Hz, 2H, Ar), 6.95 (t, *J* = 7.6 Hz, 1H, Ar), 6.91 (d, *J* = 7.6 Hz, 2H, Ar), 5.66 (t, *J* = 6.0 Hz, 1H, olefinic), 4.65 (dd, *J* = 6.0, 12.6 Hz, 1H, allylic CH<sub>2</sub>), 4.61 (dd, *J* = 5.4, 12.6 Hz, 1H, allylic CH<sub>2</sub>), 4.04 (d, *J* = 15.8 Hz, 1H, propagylc CH<sub>2</sub>), 3.89 (d, *J* = 15.8 Hz, 1H, propagylc CH<sub>2</sub>), 3.81 (dd, *J* = 3.0, 9.6 Hz, 1H, CH<sub>2</sub>OSi), 3.74 (dd, *J* = 6.0, 9.6 Hz, 1H, CH<sub>2</sub>OSi), 3.62 (d, *J* = 9.6 Hz, 1H, CH<sub>2</sub>OCH), 1.87-1.81 (m, 1H, CH<sub>3</sub>CH), 1.65 (s, 3H, allylic CH<sub>3</sub>), 1.13-1.03 (m, 21H, *i*-Pr), 0.82 (d, *J* = 6.6 Hz, 3H, CH<sub>3</sub>CH), 0.16 (s, 9H, SiCH<sub>3</sub>); <sup>13</sup>C NMR (150 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 158.7, 136.9, 129.6, 126.3, 120.9, 114.8, 102.3, 90.3, 86.0, 64.9, 64.5, 56.6, 38.0, 18.2, 13.9, 12.0, 11.3, -0.16; IR (neat) 2959, 2336, 1560, 1495, 1250 cm<sup>-1</sup>; HR-MS *m/z* = calcd. For C<sub>29</sub>H<sub>50</sub>NaO<sub>3</sub>Si<sub>2</sub> [M+Na]<sup>+</sup>: 525.3196, found 525.3198.



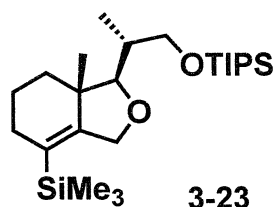
**Triisopropyl((*R*)-2-((2*R*,3*S*,*Z*)-3-methyl-4-(1-(trimethylsilyl)but-3-en-1-ylidene)-3-vinyltetrahydrofuran-2-yl)propoxy)silane (3-20)**

To a mixture of **3-19** (6.8 g, 13.5 mmol) and  $\text{Ti}(\text{O-}i\text{-Pr})_4$  (5.2 mL, 17.6 mmol) in ether (67 mL) was added dropwise  $i\text{-PrMgCl}$  (22.0 mL, 1.62 M in ether, 35.2 mmol) at  $-40\text{ }^\circ\text{C}$ . The reaction mixture was stirred for 30 min at this temperature and then allowed to warm to  $0\text{ }^\circ\text{C}$  over 1.5 h. Allyl bromide (13.5 mL, 2.0 M in THF, 27.0 mmol) and  $\text{CuCN}\cdot 2\text{LiCl}$  (5.4 mL, 0.5 M in THF, 2.7 mmol) were added at  $0\text{ }^\circ\text{C}$  and the mixture was stirred for 3 h. After an addition of water (0.5 mL), Celite (5 g), and NaF (5 g), the mixture was stirred for 30 min at room temperature, and then filtered through a pad of Celite with ether. The filtrate was concentrated and the residue was purified by column chromatography on silica gel (hexane/ether) to give **3-20** (5.9 g) in 97% yield.  $^1\text{H}$  NMR (600 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  5.95 (dd,  $J = 10.8, 17.4$  Hz, 1H,  $\text{CH}_2=\text{CHC}$ ), 5.77-5.71 (m, 1H,  $\text{CH}_2=\text{CHCH}_2$ ), 5.13 (d,  $J = 18.6$  Hz, 1H,  $\text{CH}_2=\text{CHCH}_2$ ), 5.10 (d,  $J = 11.7$  Hz, 1H,  $\text{CH}_2=\text{CHCH}_2$ ), 4.98 (dd,  $J = 1.8, 10.2$  Hz, 1H,  $\text{CH}_2=\text{CHC}$ ), 4.92 (dd,  $J = 1.8, 17.4$  Hz, 1H,  $\text{CH}_2=\text{CHC}$ ), 4.50 (d,  $J = 13.2$  Hz, 1H,  $\text{CH}_2\text{OCH}$ ), 4.17 (d,  $J = 12.6$  Hz, 1H,  $\text{CH}_2\text{OCH}$ ), 3.81 (dd,  $J = 3.0, 9.0$  Hz, 1H,  $\text{CH}_2\text{OSi}$ ), 3.69 (dd,  $J = 6.6, 9.6$  Hz, 1H,  $\text{CH}_2\text{OSi}$ ), 3.37 (d,  $J = 9.6$  Hz, 1H,  $\text{CH}_2\text{OCH}$ ), 3.21 (dd,  $J = 3.0, 16.2$  Hz, 1H, allylic  $\text{CH}_2$ ), 2.92 (dd,  $J = 5.4, 16.2$  Hz, 1H, allylic  $\text{CH}_2$ ), 1.89-1.84 (m, 1H,  $\text{CH}_3\text{CHCH}_2$ ), 1.24 (s, 3H,  $\text{CH}_3\text{C}$ ), 1.22-1.05 (m, 21H,  $i\text{-Pr}$ ), 0.90 (d,  $J = 6.6$  Hz, 3H,  $\text{CH}_3\text{CH}$ ), 0.08 (s, 9H,  $\text{Si}(\text{CH}_3)_3$ );  $^{13}\text{C}$  NMR (150 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  158.0, 144.5, 138.4, 128.4, 115.2, 113.7, 88.5, 71.2, 66.1, 52.3, 37.1, 34.7, 18.0, 17.0, 14.2, 12.0,  $-0.06$ ; IR (neat) 2942, 1635, 1463, 1249, 1071  $\text{cm}^{-1}$ ; HR-MS  $m/z = \text{calcd.}$  For  $\text{C}_{26}\text{H}_{50}\text{NaO}_2\text{Si}_2$   $[\text{M}+\text{Na}]^+$ : 473.3247, found 473.3239;  $[\alpha]_{\text{D}}^{25} +14.8$  ( $c$  0.97,  $\text{CHCl}_3$ ).



**Triisopropyl((*R*)-2-((1*R*,7*aS*)-7*a*-methyl-4-(trimethylsilyl)-1,3,5,7*a*-tetrahydroisobenzofuran-1-yl)propoxy)silane (3-22)**

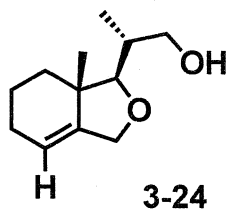
A mixture of **3-21** (10.5 g, 23.3 mmol) and Grubbs' 1st generation Ru-catalyst [(benzylidene)bis(tricyclohexylphosphine)]ruthenium(IV) dichloride, (0.575 g, 0.70 mmol) in dry CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (120 mL) was stirred for 12 h at room temperature. The mixture was filtered through a pad of silica gel and concentrated. The residue was purified by column chromatography on silica gel (hexane/ether) to give **3-22** (9.7 g) in 98% yield. <sup>1</sup>H NMR (600 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 6.00 (dd, *J* = 3.0, 9.6 Hz, 1H, olefinic), 5.86 (ddd, *J* = 1.8, 5.4, 9.6 Hz, 1H, olefinic), 4.50 (dd, *J* = 3.6, 13.8 Hz, 1H, CH<sub>2</sub>OCH), 4.22 (dd, *J* = 3.0, 13.8 Hz, 1H, CH<sub>2</sub>OCH), 3.90 (dd, *J* = 3.0, 9.0 Hz, 1H, CH<sub>2</sub>OSi), 3.67 (dd, *J* = 6.6, 9.0 Hz, 1H, CH<sub>2</sub>OSi), 3.31 (d, *J* = 10.2 Hz, 1H, CH<sub>2</sub>OCH), 2.72 (dd, *J* = 5.4, 21.0 Hz, 1H, allylic CH<sub>2</sub>), 2.62 (dq, *J* = 21.0, 2.8 Hz, 1H, allylic CH<sub>2</sub>), 1.92-1.87 (m, 1H, CH<sub>3</sub>CHCH<sub>2</sub>), 1.10-1.05 (m, 24H, *i*-Pr and CH<sub>3</sub>CH), 0.99 (s, 3H, CH<sub>3</sub>C), 0.09 (s, 9H, Si(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>); <sup>13</sup>C NMR (150 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 154.9, 132.0, 126.9, 123.2, 84.3, 68.2, 66.1, 44.6, 37.7, 29.2, 19.1, 18.0, 13.4, 12.0, -1.3; IR (neat) 2960, 1731, 1627, 1463, 1249, 1012 cm<sup>-1</sup>; HR-MS *m/z* = calcd. For C<sub>24</sub>H<sub>46</sub>NaO<sub>2</sub>Si<sub>2</sub> [M+Na]<sup>+</sup>: 445.2934, found 445.2945; [α]<sub>D</sub><sup>25</sup> -26.3 (*c* 1.43, CHCl<sub>3</sub>).



**Triisopropyl((*R*)-2-((1*R*,7*aS*)-7*a*-methyl-4-(trimethylsilyl)-1,3,5,6,7,7*a*-hexahydroisobenzofuran-1-yl)propoxy)silane (3-23)**

To a solution of **3-22** (3.8 g, 9.0 mmol) in MeOH (90 mL) was added 5% Pd/C

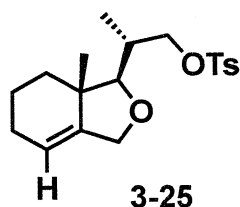
(383 mg). Under H<sub>2</sub> atmosphere (1atm) the suspension was stirred for 12 h at room temperature and filtered through a pad of Celite. The filtrate was concentrated. The residue was purified by column chromatography on silica gel (hexane/AcOEt) to give **2-23** (3.79 g) in 99% yield. <sup>1</sup>H NMR (600 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 4.37 (dt, *J* = 12.6, 3.3 Hz, 1H, CH<sub>2</sub>OCH), 4.18 (dt, *J* = 12.6, 2.4 Hz, 1H, CH<sub>2</sub>OCH), 3.89 (dd, *J* = 3.6, 9.0 Hz, 1H, CH<sub>2</sub>OSi), 3.64 (dd, *J* = 7.2, 9.6 Hz, 1H, CH<sub>2</sub>OSi), 3.02 (d, *J* = 9.6 Hz, 1H, CH<sub>2</sub>OCH), 2.11 (app d, *J* = 17.4 Hz, 1H, CH<sub>2</sub>CSi), 1.99-1.92 (m, 1H, CH<sub>2</sub>CSi), 1.90-1.83 (m, 1H, CH<sub>3</sub>CHCH<sub>2</sub>), 1.79 (dt, *J* = 12.6, 3.6 Hz, 1H, CH<sub>2</sub>CCH<sub>3</sub>), 1.71-1.60 (m, 1H, CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>C), 1.21 (dt, *J* = 5.4, 12.6 Hz, 1H, CH<sub>2</sub>CCH<sub>3</sub>), 1.23-1.02 (m, 21H, *i*-Pr), 1.00 (s, 3H, CH<sub>3</sub>C), 0.98 (d, *J* = 7.2 Hz, 3H, CH<sub>3</sub>CH), 0.06 (s, 9H, Si(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>); <sup>13</sup>C NMR (150 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 153.9, 125.3, 88.4, 68.4, 66.4, 42.7, 37.5, 32.7, 27.1, 18.5, 18.1, 18.0, 13.1, 12.0, -1.0; IR (neat) 2942, 1463, 1384, 1259, 1052, 837 cm<sup>-1</sup>; HR-MS *m/z* = calcd. For C<sub>24</sub>H<sub>48</sub>NaO<sub>2</sub>Si<sub>2</sub> [M+Na]: 447.3091, found 447.3099.



**(*R*)-2-((1*R*,7*aS*)-7*a*-Methyl-1,3,5,6,7,7*a*-hexahydroisobenzofuran-1-yl)propan-1-ol (3-24)**

A mixture of **3-23** (5.2 g, 12.2 mmol) and CF<sub>3</sub>COOH (4.7 mL, 61.0 mmol) in CHCl<sub>3</sub> (61 mL) was stirred for 3 h at 50 °C, and then cooled to room temperature and concentrated. To a solution of the residue in THF (12 mL) was added *n*-Bu<sub>4</sub>NF (15.0 mL, 1.0 M in THF, 15.0 mmol). After stirring for 1 h at room temperature, saturated aqueous NH<sub>4</sub>Cl (15 mL) was added, and then the mixture was extracted with ether. The organic layer was dried over MgSO<sub>4</sub>, filtered, concentrated and chromatographed on silica gel (hexane/ether) to give **3-24** (1.41 g) in 59% yield. <sup>1</sup>H NMR (600 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 5.45 (brs, 1H, olefinic), 4.32 (dq, *J* = 12.0, 3.0 Hz, 1H, CH<sub>2</sub>OCH), 4.16 (dq, *J* = 12.0, 1.8 Hz, 1H, CH<sub>2</sub>OCH), 3.63 (dd, *J* = 9.0, 10.8 Hz, 1H,

CHCH<sub>2</sub>OH), 3.56 (dd,  $J = 3.0, 10.8$  Hz, 1H, CHCH<sub>2</sub>OH), 3.23 (bs, 1H, OH), 3.17 (d,  $J = 9.6$  Hz, 1H, CH<sub>2</sub>OCH<sub>2</sub>), 2.08-1.96 (m, 3H, allylic CH<sub>2</sub> and CH<sub>3</sub>CHCH<sub>2</sub>), 1.76 (dt,  $J = 12.6, 3.6$  Hz, 1H, CH<sub>2</sub>CCH<sub>3</sub>), 1.72-1.64 (m, 2H, CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>C), 1.24 (dt,  $J = 4.2, 12.6$  Hz, 1H, CH<sub>2</sub>CCH<sub>3</sub>), 1.04 (s, 3H, CH<sub>3</sub>C), 0.83 (d,  $J = 7.2$  Hz, 3H, CH<sub>3</sub>CH); <sup>13</sup>C NMR (150 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  143.5, 117.5, 94.5, 69.5, 68.7, 42.5, 36.2, 32.9, 24.3, 18.4, 17.7, 12.7; IR (neat) 3439, 2934, 1462, 1378, 1248, 1040 cm<sup>-1</sup>; HR-MS  $m/z$  = calcd. For C<sub>12</sub>H<sub>20</sub>NaO<sub>2</sub> [M+Na]<sup>+</sup>: 219.1361, found 219.1363; [ $\alpha$ ]<sub>D</sub><sup>25</sup> +8.6 ( $c$  1.01, CHCl<sub>3</sub>).

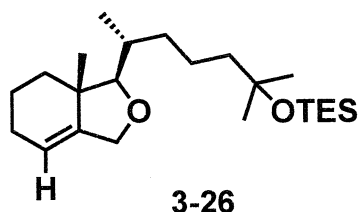


**(*R*)-2-((1*R*,7*aS*)-7*a*-methyl-1,3,5,6,7,7*a*-hexahydroisobenzofuran-1-yl)propyl 4-methylbenzenesulfonate (3-25)**

To a solution of **3-24** (0.84 g, 4.3 mmol) in pyridine (21 mL) was added *p*-TsCl (1.2 g, 6.4 mmol) at 0 °C. The mixture was stirred for 24 h at room temperature and then AcOEt (30 mL) was added. The resulting suspension was washed with aqueous 1M HCl, water, and saturated aqueous NaHCO<sub>3</sub>. The organic layer was dried over MgSO<sub>4</sub>, filtered and concentrated. The residue was chromatographed on silica gel (hexane/ether) to give **3-25** (1.17 g) in 78% yield. <sup>1</sup>H NMR (600 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  7.79 (d,  $J = 7.8$  Hz, 2H, Ar), 7.33 (d,  $J = 7.8$  Hz, 2H, Ar), 5.39 (s, 1H, olefinic), 4.28 (dq,  $J = 12.6, 3.0$  Hz, 1H, CH<sub>2</sub>OCH), 4.20 (dd,  $J = 3.0, 9.0$  Hz, 1H, CH<sub>2</sub>OS), 4.02 (dd,  $J = 6.6, 9.0$  Hz, 1H, CH<sub>2</sub>OS), 3.70 (d,  $J = 12.0$  Hz, CH<sub>2</sub>OCH), 2.97 (d,  $J = 9.6$  Hz, 1H, CH<sub>2</sub>OCH), 2.44 (s, 3H, Ar-CH<sub>3</sub>), 2.06-1.94 (m, 3H, allylic CH<sub>2</sub> and CH<sub>3</sub>CHCH<sub>2</sub>), 1.74-1.62 (m, 3H, CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CCH<sub>3</sub>), 1.21 (dt,  $J = 3.6, 12.0$  Hz, 1H, CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CCH<sub>3</sub>), 0.96 (s, 3H, CH<sub>3</sub>C), 0.95 (d,  $J = 7.2$  Hz, 3H, CH<sub>3</sub>CH); <sup>13</sup>C NMR (125 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  144.4, 144.1, 133.1, 129.7, 128.0, 117.2, 88.0, 74.0, 68.3, 42.0, 34.8, 32.9, 24.2, 21.6, 18.4, 17.4, 12.9; IR (neat) 2937, 1598, 1359, 1189, 949, 847, 664 cm<sup>-1</sup>; HR-MS  $m/z$  = calcd. For C<sub>19</sub>H<sub>26</sub>NaO<sub>4</sub>S [M+Na]<sup>+</sup>: 373.1450, found

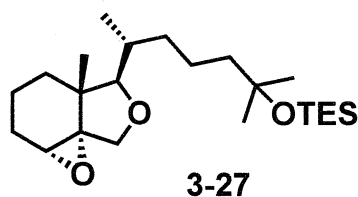


373.1426;  $[\alpha]_D^{25} +9.3$  ( $c$  1.36,  $\text{CHCl}_3$ ).



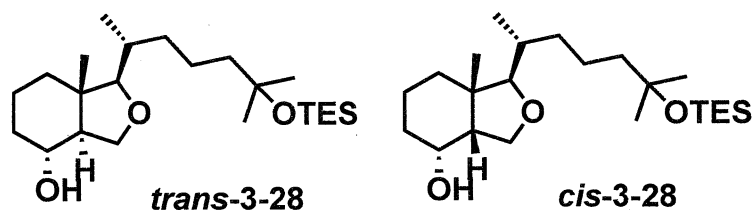
**Triethyl(((*R*)-2-methyl-6-((1*R*,7*aS*)-7*a*-methyl-1,3,5,6,7,7*a*-hexahydroisobenzofuran-1-yl)heptan-2-yl)oxy)silane (3-26)**

To a solution of 4-bromo-2-methyl-2-triethylsiloxybutane (1.4 g, 5.0 mmol) in THF (5.0 mL) was added Mg turning (0.36 g, 15 mmol) at room temperature. After stirring for 30 min at this temperature, a solution of **3-25** (0.27 g, 1.3 mmol) in THF (2.0 mL) was added. To this was added a solution of **3-25** (0.35 g, 1.0 mmol) in THF (10 mL) at  $-10$  °C. After being stirred for 1 h at this temperature, aqueous  $\text{NH}_4\text{Cl}/\text{NH}_4\text{OH}$  buffer (pH 7~8, 20 mL) was added. The mixture was extracted with AcOEt, and the combined extracts were washed with saturated aqueous  $\text{NaHCO}_3$ , brine, dried over  $\text{MgSO}_4$  and concentrated. The residue was purified by column chromatography on silica gel (hexane/AcOEt) to give **3-26** (0.33 g) in 87 % yield.  $^1\text{H}$  NMR (600 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  5.39 (s, 1H, olefinic), 4.39 (dq,  $J = 12.0, 3.6$  Hz, 1H,  $\text{CH}_2\text{OCH}$ ), 4.11 (dq,  $J = 12.0, 1.8$  Hz, 1H,  $\text{CH}_2\text{OCH}$ ), 2.92 (d,  $J = 9.6$  Hz, 1H,  $\text{CH}_2\text{OCH}$ ), 2.06-1.95 (m, 2H, allylic  $\text{CH}_2$ ), 1.80 (dt,  $J = 12.6, 3.6$  Hz, 1H,  $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CCH}_3$ ), 1.74-1.65 (m, 4H,  $\text{CHCH}_2\text{CH}_2$  and  $\text{CH}_2\text{C}(\text{CH}_3)_2$ ), 1.50-1.33 (m, 3H,  $\text{CH}_3\text{CHCH}_2$  and  $\text{CH}_3\text{CHCH}_2\text{CH}_2$ ), 1.29-1.20 (m, 2H,  $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CCH}_3$  and  $\text{CH}_3\text{CHCH}_2$ ), 1.18 (s, 3H,  $\text{CH}_3\text{COSi}$ ), 1.17 (s, 3H,  $\text{CH}_3\text{COSi}$ ), 1.13-1.05 (m, 1H,  $\text{CH}_3\text{CHCH}_2$ ), 1.02 (s, 3H,  $\text{CH}_3\text{C}$ ), 0.93 (t,  $J = 7.8$  Hz, 9H,  $\text{Si}(\text{CH}_2\text{CH}_3)_3$ ), 0.86 (d,  $J = 6.6$  Hz, 3H,  $\text{CH}_3\text{CH}$ ), 0.55 (q,  $J = 7.8$  Hz, 6H,  $\text{Si}(\text{CH}_2\text{CH}_3)_3$ );  $^{13}\text{C}$  NMR (150 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  145.3, 116.6, 92.6, 73.5, 68.2, 45.4, 42.1, 34.8, 34.6, 33.2, 30.0, 29.7, 24.3, 21.1, 18.5, 17.4, 14.8, 7.1, 6.8; IR (neat) 2950, 1460, 1235, 1044, 1016, 742, 723  $\text{cm}^{-1}$ ; HR-MS  $m/z$  = calcd. For  $\text{C}_{23}\text{H}_{44}\text{NaO}_2\text{Si}$   $[\text{M}+\text{Na}]^+$ : 403.3008, found 403.3029;  $[\alpha]_D^{23} +20.9$  ( $c$  1.00,  $\text{CHCl}_3$ ).



**Triethyl(((*R*)-2-methyl-6-((1*aR*,4*aR*,5*R*,7*aR*)-4*a*-methylhexahydro-1*aH*-oxireno[2,3-*d*]isobenzofuran-5-yl)heptan-2-yl)oxy)silane (3-27)**

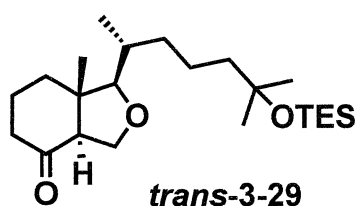
To a solution of **3-26** (0.48 g, 1.25 mmol) in THF (3.8 mL) and water (0.8 mL) was added NBS (0.49 g, 2.75 mmol) at 0 °C. The reaction mixture was slowly warmed to 10 °C. After being stirred for 3 h, the mixture was cooled to 0 °C and saturated aqueous NaHCO<sub>3</sub> was added. The mixture was extracted with AcOEt, washed with brine, dried over MgSO<sub>4</sub>, filtered, and concentrated under reduced pressure. A mixture of the residue and K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (0.48 g, 3.5 mmol) in MeOH (14 mL) was stirred for 3 h at room temperature and extracted with AcOEt. The organic layer was washed with brine, dried over MgSO<sub>4</sub>, filtered, and concentrated under reduced pressure. The residue was purified by column chromatography on silica gel (hexane/AcOEt) to give **3-27** (0.27 g) in 55 % yield. <sup>1</sup>H NMR (600 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 4.16 (d, *J* = 10.2 Hz, 1H, CH<sub>2</sub>OCH), 3.53 (d, *J* = 10.2 Hz, 1H, CH<sub>2</sub>OCH), 3.43 (t, *J* = 1.8 Hz, 1H, CH<sub>2</sub>CHOC), 3.35 (d, *J* = 9.6 Hz, 1H, CH<sub>2</sub>OCH), 2.05-1.98 (m, 1H, OCHCH<sub>2</sub>), 1.88-1.83 (m, 1H, OCHCH<sub>2</sub>), 1.76-1.69 (m, 3H, OCHCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>, and CH<sub>2</sub>CCH<sub>3</sub>), 1.60-1.36 (m, 6H, CH<sub>2</sub>CCH<sub>3</sub> and CH<sub>3</sub>CHCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>), 1.32-1.10 (m, 2H, CH<sub>3</sub>CHCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>), 1.19 (s, 3H, CH<sub>3</sub>COSi), 1.18 (s, 3H, CH<sub>3</sub>COSi), 1.06 (s, 3H, CH<sub>3</sub>C), 0.94 (t, *J* = 7.8 Hz, 9H, OSi(CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 0.84 (d, *J* = 6.6 Hz, 3H, CH<sub>3</sub>CH) 0.56 (q, *J* = 7.8 Hz, 6H, OSi(CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>); <sup>13</sup>C NMR (150 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 89.6, 73.5, 71.6, 68.1, 55.3, 45.3, 41.4, 34.8, 34.4, 30.0, 29.8, 27.8, 21.1, 20.6, 15.2, 14.9, 14.8, 7.1, 6.8; IR (neat) 2954, 1459, 1380, 1235, 1042, 741 cm<sup>-1</sup>; HR-MS *m/z* = calcd. For C<sub>23</sub>H<sub>44</sub>NaO<sub>3</sub>Si [M+Na]<sup>+</sup>: 419.2957, found 419.2984; [α]<sub>D</sub><sup>22</sup> +29.4 (*c* 1.00, CHCl<sub>3</sub>).



**(1*R*,3*aS*,4*R*,7*aS*)-7*a*-Methyl-1-((*R*)-6-methyl-6-((triethylsilyl)oxy)heptan-2-yl)octahydroisobenzofuran-4-ol (*trans*-3-28) and Its epimer *cis*-3-28**

To a mixture of epoxide **3-27** (376 mg, 0.95 mmol),  $\text{Ti}(\text{O}-i\text{-Pr})_4$  (0.34 mL, 1.14 mmol), and Mg powder (69 mg, 2.85 mmol) in DME- $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (1:4 v/v, 4.8 mL) was added  $\text{Me}_3\text{SiCl}$  (0.14 mL, 1.14 mmol) at room temperature. After being stirred for 24 h at room temperature, saturated aqueous  $\text{NaHCO}_3$  was added and the mixture was stirred for 30 min. After addition of Celite and NaF, the mixture was stirred for 30 min and filtered through a pad of Celite. The filtrate was concentrated and purified by column chromatography on silica gel (hexane/AcOEt) to provide *trans*-3-28 (210 mg) in 56% yield and *cis*-3-28 (71 mg) in 19% yield. Compound *trans*-3-28:  $^1\text{H}$  NMR (600 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  4.02 (t,  $J = 7.5$  Hz, 1H,  $\text{CH}_2\text{OCH}$ ), 3.76 (dt,  $J = 4.8, 10.8$  Hz, 1H,  $\text{CH}_2\text{CHOH}$ ), 3.61 (dd,  $J = 7.2, 11.4$  Hz, 1H,  $\text{CH}_2\text{OCH}$ ), 3.06 (d,  $J = 10.2$  Hz, 1H,  $\text{CH}_2\text{OCH}$ ), 2.07-2.03 (m, 1H,  $\text{CHCHOH}$ ), 1.78-1.60 (m, 7H,  $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CCH}_3$  and  $\text{CH}_2\text{COSi}$ ), 1.52-1.34 (m, 3H,  $\text{CH}_3\text{CHCH}_2\text{CH}_2$ ), 1.31-1.14 (m, 2H,  $\text{CH}_3\text{CHCH}_2$  and  $\text{CH}_2\text{COSi}$ ), 1.18 (s, 3H,  $\text{CH}_3\text{COSi}$ ), 1.17 (s, 3H,  $\text{CH}_3\text{COSi}$ ), 1.08-1.02 (m, 1H,  $\text{CH}_3\text{CHCH}_2$ ), 0.94 (t,  $J = 7.8$  Hz, 9H,  $\text{OSi}(\text{CH}_2\text{CH}_3)_3$ ), 0.84 (s, 3H,  $\text{CH}_3\text{CCH}$ ), 0.83 (d,  $J = 5.4$  Hz, 3H,  $\text{CH}_3\text{CH}$ ), 0.55 (q,  $J = 7.8$  Hz, 6H,  $\text{OSi}(\text{CH}_2\text{CH}_3)_3$ );  $^{13}\text{C}$  NMR (150 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  92.5, 73.5, 68.7, 67.0, 56.4, 45.3, 44.2, 36.1, 35.1, 35.0, 34.5, 30.0, 29.7, 21.7, 21.1, 14.5, 11.7, 7.1, 6.8; IR (neat) 3381, 2935, 2874, 1462, 1038, 1016, 742, 723  $\text{cm}^{-1}$ ; HR-MS  $m/z = \text{calcd.}$  For  $\text{C}_{23}\text{H}_{46}\text{NaO}_3\text{Si}$   $[\text{M}+\text{Na}]^+$ : 421.3114, found 421.3112;  $[\alpha]_{\text{D}}^{24}$  -9.9 ( $c$  1.01,  $\text{CHCl}_3$ ). Compound *cis*-3-28:  $^1\text{H}$  NMR (600 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  3.98 (quint,  $J = 4.8$  Hz, 1H,  $\text{CH}_2\text{CHOH}$ ), 3.95 (t,  $J = 8.9$  Hz, 1H,  $\text{CH}_2\text{OCH}$ ), 3.92 (t,  $J = 8.9$  Hz, 1H,  $\text{CH}_2\text{OCH}$ ), 3.43 (d,  $J = 6.0$  Hz, 1H,  $\text{CHOCH}_2$ ), 2.32 (dt,  $J = 5.4, 8.4$  Hz, 1H,  $\text{CH}_2\text{CHCHOH}$ ), 1.71-1.65 (m, 2H,  $\text{CH}(\text{OH})\text{CH}_2\text{CH}_2$ ), 1.64-1.34 (m, 8H,  $\text{CH}(\text{OH})\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$  and  $\text{CH}_3\text{CHCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$ ), 1.30 (dt,  $J = 13.2, 3.6$  Hz, 1H,  $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CCH}_3$ ), 1.25-1.11 (m,

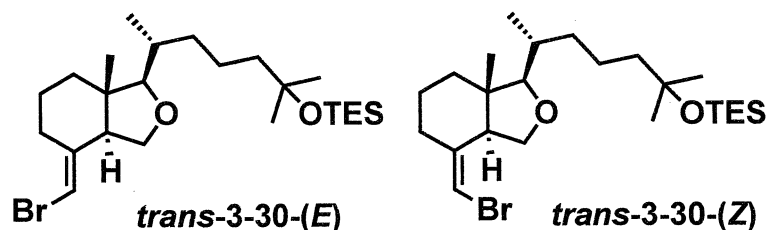
2H, CH<sub>3</sub>CHCH<sub>2</sub>), 1.19 (s, 6H, C(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>), 1.07 (s, 3H, CH<sub>3</sub>CCH), 0.94 (t,  $J = 7.8$  Hz, 9H, Si(CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 0.92 (d,  $J = 6.6$  Hz, 3H, CH<sub>3</sub>CHCH<sub>2</sub>), 0.56 (q,  $J = 7.8$  Hz, 6H, Si(CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>); <sup>13</sup>C NMR (150 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 92.7, 73.4, 68.9, 67.3, 49.8, 45.4, 44.7, 34.8, 34.7, 33.0, 30.1, 29.9, 29.8, 21.8, 20.1, 19.6, 17.7, 7.1, 6.8; IR (neat) 3409, 2955, 2875, 1459, 1044, 742, 723 cm<sup>-1</sup>; HR-MS  $m/z = \text{calcd.}$  For C<sub>23</sub>H<sub>46</sub>NaO<sub>3</sub>Si [M+Na]<sup>+</sup>: 421.3114, found 421.3140; [α]<sub>D</sub><sup>24</sup> +32.4 (*c* 1.03, CHCl<sub>3</sub>).



**(1*R*,3*aS*,7*aS*)-7*a*-Methyl-1-((*R*)-6-methyl-6-((triethylsilyl)oxy)heptan-2-yl)hexahydroisobenzofuran-4(1*H*)-one (*trans*-3-29)**

To a suspension of PCC (16 mg, 0.74 mmol) and Celite (16 mg) in CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (0.37 mL) was added pyridine (6.0 mL, 0.74 mmol) at room temperature. After being stirred for 30 min, the mixture was cooled 0 °C and a solution of *trans*-3-28 (14.6 mg, 0.37 mmol) in CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub> (0.37 mL) was added. After stirring for 3 h at room temperature, the solid material was filtered off. The solvent was removed under reduced pressure. The residue was purified by flash column chromatography on silica gel (hexane/AcOEt) to give *trans*-3-29 (13.6 mg) in 93% yield. <sup>1</sup>H NMR (600 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 3.87 (dd,  $J = 8.4, 10.2$  Hz, 1H, CHOCH<sub>2</sub>), 3.82 (t,  $J = 8.4$  Hz, 1H, CHOCH<sub>2</sub>), 3.24 (d,  $J = 10.2$  Hz, 1H, CHOCH<sub>2</sub>), 2.93 (dd,  $J = 7.8, 10.8$  Hz, 1H, C(O)CHCH<sub>2</sub>), 2.37-2.25 (m, 2H, C(O)CH<sub>2</sub>), 2.14-2.09 (m, 1H, C(O)CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>), 2.06-1.93 (m, 2H, C(O)CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>), 1.74-1.59 (m, 3H, CH<sub>2</sub>CCH<sub>3</sub> and CH<sub>2</sub>COSi), 1.52-1.34 (m, 3H, CH<sub>3</sub>CHCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>), 1.31-1.22 (m, 1H, CH<sub>3</sub>CHCH<sub>2</sub>), 1.19 (s, 3H, CH<sub>3</sub>COSi), 1.18 (s, 3H, CH<sub>3</sub>COSi), 1.11-1.03 (m, 1H, CH<sub>3</sub>CHCH<sub>2</sub>), 0.94 (t,  $J = 7.8$  Hz, 9H, Si(CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 0.87 (d,  $J = 6.6$  Hz, 3H, CH<sub>3</sub>CH), 0.82 (s, 3H, CH<sub>3</sub>CCH), 0.56 (q,  $J = 7.8$  Hz, 6H, Si(CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>); <sup>13</sup>C NMR (CDCl<sub>3</sub>, 150 MHz) δ 208.4, 91.9, 73.4, 62.8, 60.8, 49.0, 45.3, 40.6, 35.1, 34.8, 34.6, 30.0, 29.7, 24.0, 21.0, 14.7, 12.2, 7.1, 6.8; IR (neat) 2953, 2876, 1720, 1382, 1038, 742, 724 cm<sup>-1</sup>; HR-MS  $m/z = \text{calcd.}$

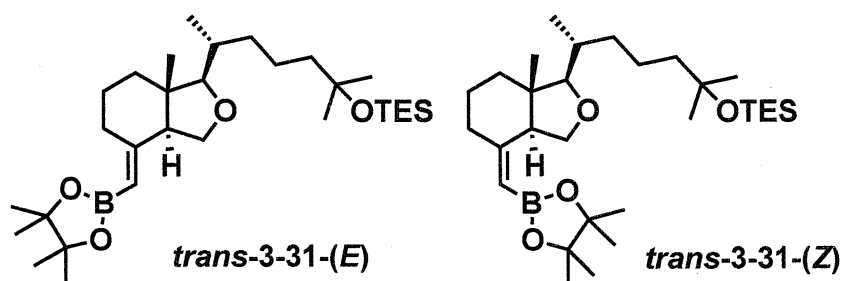
For  $C_{23}H_{44}NaO_3Si$   $[M+Na]^+$ : 419.2957, found 419.2975.



**Triethyl(((*R*)-6-((1*R*,3*aR*,7*aS*)-4(bromomethylene)-7*a*-methyloctahydroisobenzofuran-1-yl)-2-methylheptan-2-yl)oxy)silane (*trans-3-30*)**

To a mixture of  $Ph_3P^+(CH_2Br)Br^-$  (74 mg, 0.17 mmol) and dry toluene (0.34 mL) was added KHMDS (1.9 M in toluene, 81  $\mu$ L, 0.15 mmol) at room temperature and the resulting mixture was stirred for 1 h at this temperature. After cooling to 0 °C, to this was added a solution of *trans-3-29* (13.5 mg, 34  $\mu$ mol) and the mixture was stirred for 30 min at 0°C. The reaction mixture was quenched with saturated aqueous  $NH_4Cl$ . The mixture was filtered through a short pad of silica gel, washing with hexane. After concentration *in vacuo*, the residue was purified by column chromatography on silica gel (hexane/ether) to give a mixture of *trans-3-30 (E)* and *trans-3-30 (Z)* (10 mg, 21  $\mu$ mol, *E:Z* = 79:21) in total 62 % yield. *trans-3-30 (E)*:  $^1H$  NMR (600 MHz,  $CDCl_3$ )  $\delta$  5.54 (s, 1H, olefinic), 3.84 (t,  $J$  = 7.2 Hz, 1H,  $CHOCH_2$ ), 3.66 (dd,  $J$  = 7.2, 11.4 Hz, 1H,  $CHOCH_2$ ), 3.12 (d,  $J$  = 9.6 Hz, 1H,  $CHOCH_2$ ), 2.91-2.89 (m, 1H, allylic), 2.47 (dd,  $J$  = 7.8, 10.2 Hz, 1H, allylic), 1.86-1.84 (m, 1H,  $CHCH_2O$ ), 1.78-1.60 (m, 5H,  $CCH_2CH_2CH_2$ ,  $CH_2CO$ ), 1.50-1.33 (m, 5H,  $CH_3CHCH_2CH_2CH_2$ ), 1.18 (s, 3H,  $CH_3COSi$ ), 1.17 (s, 3H,  $CH_3COSi$ ), 1.09-1.02 (m, 1H,  $CH_3CHCH_2$ ), 0.94 (t,  $J$  = 7.8 Hz, 9H,  $Si(CH_2CH_3)_3$ ), 0.85 (d,  $J$  = 6.6 Hz, 3H,  $CH_3CH$ ), 0.73 (s, 3H,  $CH_3CCH$ ), 0.56 (q,  $J$  = 7.8 Hz, 6H,  $Si(CH_2CH_3)_3$ );  $^{13}C$  NMR (150 MHz,  $CDCl_3$ )  $\delta$  141.3, 97.9, 92.2, 73.4, 64.6, 55.0, 45.3, 44.9, 35.9, 35.1, 34.9, 30.5, 30.0, 29.7, 22.1, 21.1, 14.8, 11.5, 7.1, 6.8; IR (neat, ATR) 2929, 2855, 1459, 1363, 1219, 1038, 772, 743  $cm^{-1}$ ; HR-MS  $m/z$  = calcd. For  $C_{24}H_{45}BrNaO_2Si$   $[M+Na]^+$ : 495.2270, found 495.2251. *trans-3-30 (Z)*:  $^1H$  NMR (600 MHz,  $CDCl_3$ )  $\delta$  5.96 (brs, 1H, olefinic), 3.83 (t,  $J$  = 9.0 Hz, 1H,  $CHOCH_2$ ), 3.72 (t,  $J$  = 9.0 Hz, 1H,  $CHOCH_2$ ), 3.35 (d,  $J$  = 6.6 Hz, 1H,  $CHOCH_2$ ), 2.68-2.61 (m,

2H, allylic), 2.05-2.00 (m, 1H, CHCH<sub>2</sub>O), 1.74-1.22 (m, 11H, CCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>, CH<sub>3</sub>CHCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>), 1.19 (s, 6H, (CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>COSi), 1.16-1.11 (m, 1H, CH<sub>3</sub>CHCH<sub>2</sub>), 1.02 (s, 3H, CH<sub>3</sub>CCH), 0.94 (t, *J* = 7.8 Hz, 9H, Si(CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 0.91 (d, *J* = 6.6 Hz, 3H, CH<sub>3</sub>CH), 0.56 (q, *J* = 7.8 Hz, 6H, Si(CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>); <sup>13</sup>C NMR (CDCl<sub>3</sub>, 150 MHz) δ 141.2, 101.4, 92.4, 73.4, 69.0, 54.0, 45.4, 35.5, 34.6, 33.2, 30.0, 29.8, 27.1, 21.6, 21.2, 19.9, 17.4, 7.1, 6.8; IR (neat, ATR) 2931, 2873, 1459, 1380, 1219, 1040, 772, 722 cm<sup>-1</sup>; HR-MS *m/z* = calcd. For C<sub>24</sub>H<sub>45</sub>BrNaO<sub>2</sub>Si [M+Na]<sup>+</sup>: 495.2270, found 495.2295.

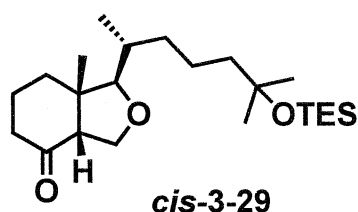


**triethyl(((*R*)-2-methyl-6-((1*R*,3*aS*,7*aS*,*E*)-7*a*-methyl-4-((4,4,5,5-tetramethyl-1,3,2-dioxaborolan-2-yl)methylene)octahydroisobenzofuran-1-yl)heptan-2-yl)oxy)silane (*trans*-3-31)**

To a mixture of Ph<sub>3</sub>P<sup>+</sup>(CH<sub>2</sub>I)I<sup>-</sup> (2.50 g, 4.80 mmol) and dry toluene (4.8 mL) was added KHMDS (0.50 M in toluene, 5.40 mL, 2.70 mmol) at room temperature and the resulting mixture was stirred for 1 h at this temperature. After cooling to 0 °C, to this was added a solution of *trans*-3-29 (0.54 g, 1.35 mmol) and the mixture was allowed to warm to room temperature over 30 min. The mixture was concentrated by rotary evaporation. To the resulting residue was added hexane. The mixture was filtered through a pad of Celite with hexane and the filtrate was concentrated. The residue was purified by column chromatography on silica gel (hexane/ether) to afford an iodo product mixture of *trans*-3-30 (*E*), *trans*-3-30 (*Z*) and *trans*-3-30 (*H*) (0.61 g, *E*:*Z*:*H* = 68:17:15).

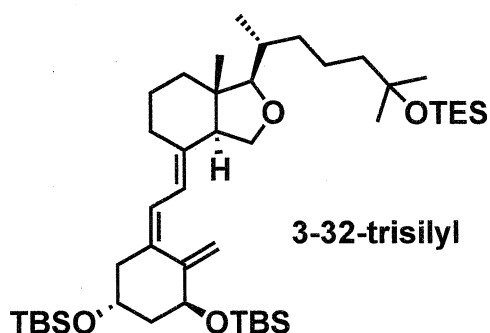
To a mixture of *trans*-3-30 (*E*), *trans*-3-30 (*Z*) and *trans*-3-30 (*H*) (0.39 g, *E*:*Z*:*H* = 68:17:15) in Et<sub>2</sub>O (7.5 mL) was added *t*-BuLi (1.34 M in pentane, 1.4 mL, 2.25 mmol) at -78 °C. After stirring for 1 h at -78 °C, to this was added

2-isopropoxy-4,4,5,5-tetramethyl-1,3,2-dioxaborolane (0.30 mL, 1.50 mmol) at  $-78$  °C. The resulting mixture was allowed to warm to room temperature over 4 h, and then saturated aqueous  $\text{NH}_4\text{Cl}$  and AcOEt were added. The mixture was extracted with AcOEt and the combined organic layers were dried over  $\text{MgSO}_4$ , concentrated *in vacuo* and chromatographed on silica gel (hexane/ether) to give **trans-3-31 (E)** and **trans-3-31 (Z)** (0.28 g, *E:Z* = 82:18) in 20% yield (2 steps). **trans-3-31 (E)**:  $^1\text{H}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ , 600 MHz)  $\delta$  4.76 (s, 1H,  $\text{C}=\underline{\text{C}}\text{H}$ ), 3.81 (t,  $J = 7.2$  Hz, 1H,  $\text{OCH}_2\text{CH}$ ), 3.74 (dd,  $J = 7.8, 11.4$  Hz, 1H,  $\text{OCH}_2\text{CH}$ ), 3.18 (dd,  $J = 3.0, 13.2$  Hz, 1H,  $\text{CH}_2\text{CCH}$ ), 3.15 (d,  $J = 9.6$  Hz, 1H,  $\text{CH}_3\text{CHCH}$ ), 2.52 (dd,  $J = 7.2, 10.8$  Hz, 1H,  $\text{CH}_2\text{CCH}$ ), 1.27 (s, 12H,  $(\text{OC}(\text{CH}_3)_2)_2$ ), 1.18 (s, 3H,  $\text{CH}_3\text{CCH}_3$ ), 1.17 (s, 3H,  $\text{CH}_3\text{CCH}_3$ ), 0.93 (t,  $J = 8.4$  Hz, 9H,  $\text{Si}(\text{CH}_2\text{CH}_3)_3$ ), 0.84 (d,  $J = 7.2$  Hz, 3H,  $\text{CH}_3\text{CH}$ ), 0.73 (s, 3H,  $\text{CH}_3\text{C}$ ), 0.55 (q,  $J = 8.4$  Hz, 6H,  $\text{Si}(\text{CH}_2\text{CH}_3)_3$ );  $^{13}\text{C}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ , 150 MHz)  $\delta$  161.4, 92.9, 82.8, 73.5, 65.3, 56.9, 45.5, 45.3, 36.4, 35.2, 34.9, 32.7, 30.1, 29.7, 24.9, 24.8, 23.8, 21.1, 14.7, 11.7, 7.1, 6.8; IR (neat) 2934, 1642, 1145, 1036, 722  $\text{cm}^{-1}$ ; HR-MS  $m/z$  = calcd. For  $\text{C}_{30}\text{H}_{57}\text{BNaO}_4\text{Si}$  [ $\text{M}+\text{Na}$ ] $^+$ : 543.4017, found 543.4069.; **trans-3-31 (Z)**:  $^1\text{H}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ , 600 MHz)  $\delta$  5.25 (s, 1H,  $\text{C}=\underline{\text{C}}\text{H}$ ), 4.02 (t,  $J = 7.8$  Hz, 1H,  $\text{OCH}_2\text{CH}$ ), 3.83 (dd,  $J = 8.4, 11.4$  Hz, 1H,  $\text{OCH}_2\text{CH}$ ), 3.11 (d,  $J = 9.6$  Hz, 1H,  $\text{CH}_3\text{CHCH}$ ), 2.57 (dd,  $J = 7.8, 10.8$  Hz, 1H,  $\text{CH}_2\text{CCH}$ ), 2.29 (dt,  $J = 3.6, 13.8$  Hz, 1H,  $\text{CH}_2\text{CCH}$ ), 2.14-2.09 (m, 1H), 1.26 (s, 6H,  $\text{OC}(\text{CH}_3)_2$ ), 1.25 (s, 6H,  $\text{OC}(\text{CH}_3)_2$ ), 1.18 (s, 3H,  $\text{CH}_3\text{CCH}_3$ ), 1.17 (s, 3H,  $\text{CH}_3\text{CCH}_3$ ), 0.93 (t,  $J = 8.4$  Hz, 9H,  $\text{Si}(\text{CH}_2\text{CH}_3)_3$ ), 0.84 (d,  $J = 7.2$  Hz, 3H,  $\text{CH}_3\text{CH}$ ), 0.75 (s, 3H,  $\text{CH}_3\text{C}$ ), 0.55 (q,  $J = 8.4$  Hz, 6H,  $\text{Si}(\text{CH}_2\text{CH}_3)_3$ );  $^{13}\text{C}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ , 150 MHz)  $\delta$  156.5, 91.7, 83.4, 67.0, 55.7, 45.6, 40.2, 36.2, 35.2, 35.0, 31.6, 30.1, 29.7, 25.3, 24.9, 24.8, 23.4, 14.9, 11.8, 7.1, 6.8



**(1R,3aR,7aS)-7a-methyl-1-((R)-6-methyl-6-((triethylsilyl)oxy)heptan-2-yl)hexahydroisobenzofuran-4(1H)-one (cis-3-29)**

To a suspension of PDC (105 mg, 0.28 mmol) and 4Å molecular sieve (105 mg) in CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (0.37 mL) was added a solution of **cis-3-28** (56.7 mg, 0.14 mmol) in CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (0.42 mL) at 0 °C. After stirring for 3 h at room temperature, the solid material was filtered off. The solvent was removed under reduced pressure. The residue was purified by flash column chromatography on silica gel (hexane/AcOEt) to afford **cis-3-29** (51.4 mg) 93 % yield. <sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>, 600 MHz) δ 4.00-3.95 (m, 1H, CCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>), 3.95-3.90 (m, 2H, CHOCH<sub>2</sub>), 3.43 (d, *J* = 6.0 Hz, 1H, CHOCH<sub>2</sub>), 2.35-2.31 (m, 1H, CH<sub>3</sub>CH<sub>2</sub>CH), 1.71-1.16 (m, 12H, CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>C=O, and CHCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>), 1.19 (s, 6H, C(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>), 1.07 (s, 3H, CH<sub>3</sub>CCH), 0.94 (t, *J* = 8.4 Hz, 9H, Si(CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 0.92 (d, *J* = 6.6 Hz, 3H, CH<sub>3</sub>CHCH<sub>2</sub>), 0.55 (q, *J* = 7.8 Hz, 6H, Si(CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>); <sup>13</sup>C NMR (CDCl<sub>3</sub>, 150 MHz) δ 92.7, 73.4, 68.9, 67.3, 49.8, 45.4, 44.7, 34.8, 34.8, 33.1, 30.2, 29.9, 29.8, 21.8, 20.1, 19.6, 17.7, 7.1, 6.8; IR (neat) 2956, 2875, 1714, 1462, 1381, 1043, 743 cm<sup>-1</sup>; HR-MS *m/z* = calcd. For C<sub>23</sub>H<sub>44</sub>Na<sub>3</sub>Si [M+Na]<sup>+</sup>: 419.2957, found 419.2994.

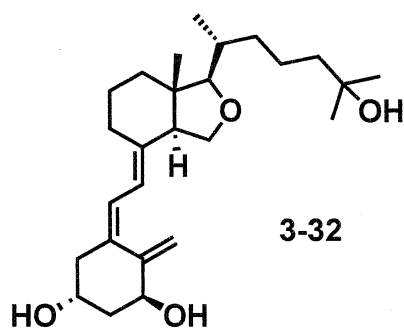


#### Bis-*tert*-butyldimethylsilyl ether of 16-oxa-1 $\alpha$ ,25-(OH)<sub>2</sub>VD<sub>3</sub> (**3-32-trisilyl**)

To a mixture of bromide C,D-ring (**trans-3-30**) (10 mg, 21  $\mu$ mol), aqueous 3M KOH (7  $\mu$ L) and THF (0.2 mL) was added dropwise a mixture of boronate A-ring (**2-62**) (13 mg, 25  $\mu$ mol), PdCl<sub>2</sub>(dppf) (1.2 mg, 1.7  $\mu$ mol) at room temperature. The resulting mixture was stirred for 37 h at 60 °C. After addition of ether, the mixture was washed with aqueous 1M HCl and brine, dried over MgSO<sub>4</sub>, concentrated *in vacuo*. The residue was purified by column chromatography on silica gel (hexane/AcOEt) to give **3-32-trisilyl** (9.6 mg) in 60% yield. <sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>, 600 MHz) δ 6.20 (d, *J* = 10.8 Hz, 1H, olefinic), 5.83 (d, *J* = 10.8 Hz, 1H, olefinic), 5.17 (s, 1H, CH<sub>2</sub>=C), 4.82 (s, 1H, CH<sub>2</sub>=C), 4.37-4.35 (m, 1H, CH<sub>2</sub>CH), 4.21-4.16 (m, 1H,



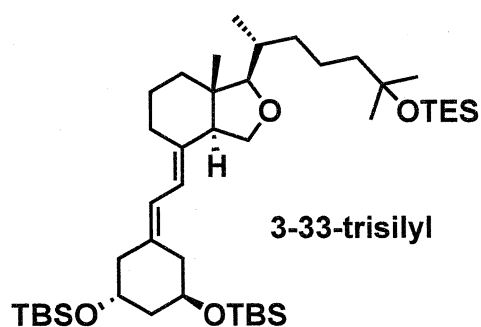
CH<sub>2</sub>CH), 3.80 (t,  $J = 7.5$  Hz, 1H, CHOCH<sub>2</sub>), 3.69 (dd,  $J = 7.2, 11.4$  Hz, 1H, CHOCH<sub>2</sub>), 3.13 (d,  $J = 9.6$  Hz, 1H, CHOCH<sub>2</sub>), 2.83 (dd,  $J = 4.2, 12.6$  Hz, 1H, allylic), 2.47-2.42 (m, 2H, allylic), 2.22 (dd,  $J = 7.2, 13.2$  Hz, 1H, allylic), 1.89-1.60 (m, 8H, CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CCHCH<sub>2</sub>O, CH<sub>2</sub>CO, and CHCH<sub>2</sub>CH), 1.50-1.20 (m, 5H, CH<sub>3</sub>CHCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>), 1.18 (s, 3H, C(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 1.17 (s, 3H, C(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 1.08-1.03 (m, 1H, CH<sub>3</sub>CHCH<sub>2</sub>), 0.94 (t,  $J = 7.8$ , 9H, Si(CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 0.873 (s, 9H, SiC(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 0.870 (s, 9H, SiC(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 0.84 (d,  $J = 6.6$  Hz, 3H, CH<sub>3</sub>CHCH<sub>2</sub>), 0.71 (s, 3H, CH<sub>3</sub>CCH), 0.56 (q,  $J = 7.8$  Hz, 6H, Si(CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 0.07 (s, 3H, Si(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>), 0.06 (s, 3H, Si(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>), 0.05 (s, 3H, Si(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>), 0.04 (s, 3H, Si(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>); <sup>13</sup>C NMR (CDCl<sub>3</sub>, 150 MHz)  $\delta$  148.3, 136.5, 133.1, 122.4, 118.9, 111.3, 107.0, 102.8, 92.8, 73.5, 71.8, 67.5, 65.2, 55.2, 45.9, 45.3, 45.2, 44.8, 36.6, 35.3, 35.0, 30.1, 29.7, 28.3, 25.8, 25.7, 22.9, 21.2, 18.2, 18.1, 14.8, 11.6, 7.1, 6.8, -4.7, -4.8, -5.1; IR (neat, ATR) 2954, 2875, 1471, 1380, 1256, 1085, 835, 775 cm<sup>-1</sup>; HR-MS  $m/z$  = calcd. For C<sub>44</sub>H<sub>84</sub>NaO<sub>4</sub>Si<sub>3</sub> [M+Na]<sup>+</sup>: 783.5575, found 783.5595.



### 16-oxa-1 $\alpha$ ,25-(OH)<sub>2</sub>VD<sub>3</sub> (3-32)

To a solution of **3-32-trisilyl** (13.7 mg, 18  $\mu$ mol) in THF (0.18 mL) was added *n*-Bu<sub>4</sub>NF (1.0 M in THF, 63  $\mu$ L, 63  $\mu$ mol). After stirring for 24 h at room temperature, the solvents were removed under reduced pressure. The residue was diluted with H<sub>2</sub>O (1 mL) and then extracted with AcOEt (4 x 1 mL). The combined organic layers were dried over MgSO<sub>4</sub>, concentrated and purified by column chromatography on silica gel (hexane/AcOEt) to give **3-32** (6.7 mg) in total 92% yield. <sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>, 600 MHz)  $\delta$  6.34 (d,  $J = 11.4$  Hz, 1H, olefinic), 5.84 (d,  $J = 10.8$  Hz, 1H, olefinic), 5.32 (s, 1H, CH<sub>2</sub>=C), 4.96 (s, 1H, CH<sub>2</sub>=C), 4.43 (dd,  $J = 4.2,$

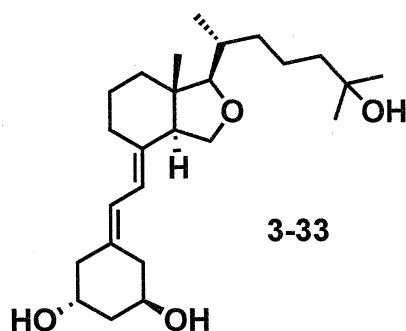
7.8 Hz, 1H,  $\text{CH}_2\text{CH}$ ), 4.26-4.22 (m, 1H,  $\text{CH}_2\text{CH}$ ), 3.79 (t,  $J = 7.5$  Hz, 1H,  $\text{CHOCH}_2$ ), 3.68 (dd,  $J = 7.8, 11.4$  Hz, 1H,  $\text{CHOCH}_2$ ), 3.15 (d,  $J = 9.6$  Hz, 1H,  $\text{CHOCH}_2$ ), 2.84 (dd,  $J = 4.2, 12.6$  Hz, 1H, allylic), 2.58 (dd,  $J = 3.0, 13.8$  Hz, 1H, allylic), 2.46 (dd,  $J = 7.2, 10.8$  Hz, 1H, allylic), 2.32 (dd,  $J = 6.0, 13.2$  Hz, 1H, allylic), 2.07-2.03 (m, 1H, allylic), 1.91-1.82 (m, 2H, allylic,  $\text{CCHCH}_2$ ), 1.77-1.61 (m, 6H,  $\text{CCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$ ,  $\text{CH}_2\text{CO}$ ), 1.51-1.25 (m, 5H,  $\text{CH}_3\text{CHCH}_2\text{CH}_2$ ), 1.21 (s, 3H,  $\text{C}(\text{CH}_3)_2$ ), 1.20 (s, 3H,  $\text{C}(\text{CH}_3)_2$ ), 1.15-1.06 (m, 1H,  $\text{CH}_3\text{CHCH}_2$ ), 0.85 (d,  $J = 6.6$  Hz, 3H,  $\text{CHCH}_3$ ), 0.72 (s, 3H,  $\text{CCH}_3$ );  $^{13}\text{C}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ , 150 MHz)  $\delta$  147.7, 138.4, 134.5, 124.1, 118.1, 111.6, 92.6, 71.1, 70.4, 66.8, 65.1, 55.2, 45.2, 45.1, 44.1, 42.8, 36.4, 35.0, 34.9, 29.4, 29.0, 28.5, 23.0, 21.0, 14.9, 11.7; IR (neat, ATR) 3366, 2927, 2854, 1746, 1648, 1457, 1376, 1065, 1026, 911, 740  $\text{cm}^{-1}$ ; HR-MS  $m/z = \text{calcd. For } \text{C}_{26}\text{H}_{42}\text{NaO}_4\text{Si } [\text{M}+\text{Na}]^+$ : 441.2981, found 441.2984.



**Bis-*tert*-butyldimethylsilyl ether of 16-oxa-19-*nor*-1 $\alpha$ ,25-(OH) $_2$ VD $_3$  (3-33-trisilyl)**

To a mixture of bromide C,D-ring (*trans*-**3-30**) (10 mg, 21  $\mu\text{mol}$ ), aqueous 3M KOH (7  $\mu\text{L}$ ) and THF (0.2 mL) was added dropwise a mixture of boronate A-ring (**2-63**) (13 mg, 25  $\mu\text{mol}$ ),  $\text{PdCl}_2(\text{dppf})$  (1.2 mg, 1.7  $\mu\text{mol}$ ) at room temperature. The resulting mixture was stirred for 37 h at 60  $^\circ\text{C}$ . After addition of ether, the mixture was washed with aqueous 1M HCl and brine, dried over  $\text{MgSO}_4$ , concentrated *in vacuo*. The residue was purified by column chromatography on silica gel (hexane/AcOEt) to give **3-33-trisilyl** (8.1 mg) in 52% yield.  $^1\text{H}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ , 600 MHz)  $\delta$  6.14 (d,  $J = 11.4$  Hz, 1H, olefinic), 5.63 (d,  $J = 11.4$  Hz, 1H, olefinic), 4.10-4.02 (m, 2H,  $\text{CHO}$ ), 3.85 (t,  $J = 7.5$  Hz, 1H,  $\text{CHOCH}_2$ ), 3.74 (dd,  $J = 7.2, 11.4$

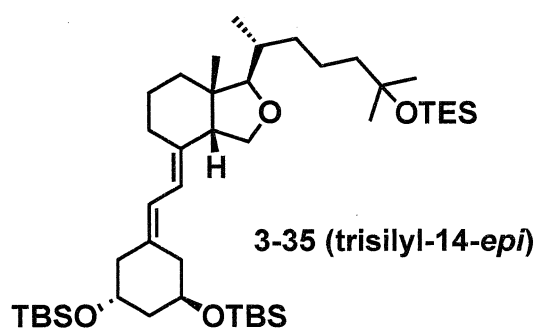
Hz, 1H, CHOCH<sub>2</sub>), 3.14 (d,  $J = 9.6$  Hz, 1H, CHCHO), 2.83 (dd,  $J = 3.6, 12.0$  Hz, 1H, allylic), 2.47 (dd,  $J = 7.8, 11.4$  Hz, 1H, allylic), 2.39-2.33 (m, 2H, allylic), 2.20 (dd,  $J = 1.8, 13.2$  Hz, 1H, allylic), 2.10 (dd,  $J = 8.4, 13.2$  Hz, 1H, allylic), 1.86-1.36 (m, 15H, CHCH<sub>2</sub>CH, C=CCH<sub>2</sub>, CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>C=C and CHCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>), 1.19 (s, 3H, C(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>), 1.18 (s, 3H, C(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>), 1.09-1.03 (m, 1H, CH<sub>3</sub>CHCH<sub>2</sub>), 0.94 (t,  $J = 7.8$  Hz, 9H, Si(CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 0.88 (s, 9H, Si(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 0.85 (s, 9H, Si(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 0.84 (d,  $J = 7.2$  Hz, 1H, CHCH<sub>3</sub>), 0.72 (s, 3H, CH<sub>3</sub>C), 0.56 (q,  $J = 8.4$  Hz, 6H, Si(CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 0.06 (s, 3H, Si(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>), 0.05 (s, 3H, Si(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>), 0.03 (s, 6H, Si(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>); <sup>13</sup>C NMR (CDCl<sub>3</sub>, 150 MHz)  $\delta$  136.2, 135.0, 121.1, 117.2, 92.8, 73.5, 68.1, 67.9, 65.2, 55.2, 46.1, 45.3, 45.0, 43.6, 36.8, 36.6, 35.3, 35.0, 30.1, 29.7, 28.1, 25.9, 25.8, 22.8, 21.2, 18.13, 18.07, 14.7, 11.7, 7.1, 6.8, -4.7, -4.8, -4.9, -4.9; IR (neat, ATR) 2954, 2856, 1462, 1252, 1085, 1028, 836 cm<sup>-1</sup>; HR-MS  $m/z$  = calcd. For C<sub>43</sub>H<sub>84</sub>NaO<sub>4</sub>Si<sub>3</sub>[M+Na]<sup>+</sup>: 771.5575, found 771.5546.



### 16-oxa-19-nor-1 $\alpha$ ,25-(OH)<sub>2</sub>VD<sub>3</sub> (3-33)

To a solution of **3-33-trisilyl** (10.3 mg, 14.0  $\mu$ mol) in THF (0.14 mL) was added *n*-Bu<sub>4</sub>NF (1.0 M in THF, 70.0  $\mu$ L, 70.0  $\mu$ mol) at 0 °C. After stirring for 48 h at room temperature, the solvent was removed under reduced pressure. The residue was diluted with H<sub>2</sub>O (1 mL) and then extracted with AcOEt (4 x 1 mL). The combined organic layers were dried over MgSO<sub>4</sub>, concentrated and chromatographed on silica gel (hexane/AcOEt) to give **3-33** (5.4 mg) in 95 % yield. <sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>, 600 MHz)  $\delta$  6.28 (d,  $J = 11.1$  Hz, 1H, olefinic), 5.67 (d,  $J = 11.1$  Hz, 1H, olefinic), 4.16-4.12 (m, 1H, CHOH), 4.05 (sep,  $J = 4.1$  Hz, 1H, CHOH), 3.86 (t,  $J = 7.2$  Hz, 1H, CH<sub>2</sub>OCH), 3.75 (dd,  $J = 7.8, 11.4$  Hz, 1H, CH<sub>2</sub>OCH), 3.16 (d,  $J = 9.6$  Hz, 1H,

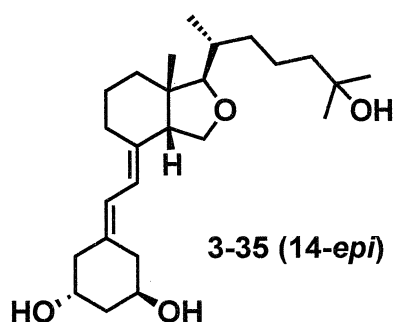
CH<sub>2</sub>OCH), 2.82 (dd,  $J = 4.2, 12.6$  Hz, 1H, allylic), 2.71 (dd,  $J = 3.6, 13.2$  Hz, 1H, allylic), 2.51-2.45 (m, 2H, allylic), 2.23-2.15 (m, 2H, allylic), 1.99-1.94 (m, 1H), 1.86-1.70 (m, 4H), 1.67-1.40 (m, 10H), 1.30-1.25 (m, 1H), 1.22 (s, 3H, CH<sub>3</sub>COH), 1.21 (s, 3H, CH<sub>3</sub>COH), 1.16-1.09 (m, 1H, CH<sub>3</sub>CHCH<sub>2</sub>), 0.86 (d,  $J = 6.6$  Hz, 3H, CH<sub>3</sub>CHCH<sub>2</sub>), 0.72 (s, 3H, CH<sub>3</sub>C); <sup>13</sup>C NMR (CDCl<sub>3</sub>, 150 MHz)  $\delta$  138.3, 132.6, 123.0, 116.4, 92.65, 71.1, 67.3, 67.1, 65.2, 55.2, 45.1, 44.5, 44.1, 42.1, 37.2, 36.4, 35.1, 34.9, 29.5, 29.1, 28.3, 22.9, 21.1, 14.9, 11.7; IR (neat, ATR) 3365, 2928, 2872, 1456, 1377, 1214, 1041, 938, 754 cm<sup>-1</sup>; HR-MS  $m/z$  = calcd. For C<sub>25</sub>H<sub>42</sub>NaO<sub>4</sub> [M+Na]<sup>+</sup>: 429.2981, found 429.3009.



**Bis-*tert*-butyldimethylsilyl ether of 14-*epi*-16-oxa-19-*nor*-1 $\alpha$ ,25-(OH)<sub>2</sub>VD<sub>3</sub> (3-35 (trisilyl-14-*epi*))**

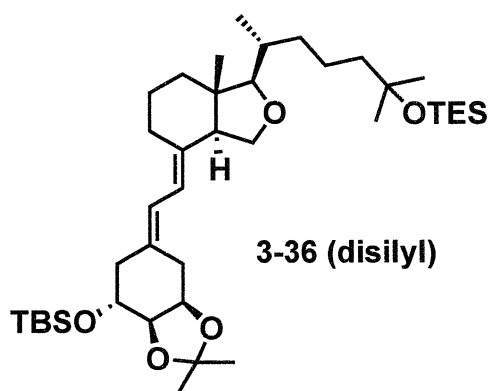
To a solution of A-ring phosphin oxide (**2-35**) (106 mg, 0.19 mmol) in THF (1 mL) was added *n*-BuLi (1.57 M in hexane, 0.12 mL, 0.19 mmol) at -78 °C. The mixture was stirred for 40 min at the same temperature, added C,D-ring ketone (**cis-3-29**) (51.4 mg, 0.13 mmol) in THF (2 mL) at -78 °C. After the mixture was stirred for 2 h at the same temperature, saturated aqueous NH<sub>4</sub>Cl was added. The mixture was extracted with AcOEt and the combined extracts were washed with brine, dried over MgSO<sub>4</sub> and concentrated with *in vacuo*. The residue was purified by column chromatography on silica gel (hexane/AcOEt) to afford mixture of **3-35 (trisilyl-14-*epi*)** (14.4 mg, *E:Z* = 89 : 11) in total 18 % yield.; <sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>, 600 MHz)  $\delta$  6.11 (d,  $J = 12.0$  Hz, 1H, C=CH), 6.03 (d,  $J = 10.8$  Hz, 1H, C=CH), 4.12-4.10 (m, 1H, CHCH<sub>2</sub>CH), 4.06-4.03 (m, 1H, CHCH<sub>2</sub>CH), 3.82 (t,  $J = 8.4$  Hz, 1H, CH<sub>2</sub>OCH), 3.76 (t,  $J = 8.4$  Hz, 1H, CH<sub>2</sub>OCH), 3.34 (d,  $J = 7.2$  Hz, 1H, CHOCH<sub>2</sub>), 2.63-2.56 (m, 1H, allylic), 2.52 (t,  $J = 9.6$  Hz, 1H, allylic), 2.43 (dd,  $J =$

13.8, 5.4 Hz, 1H, allylic), 2.38 (dd,  $J = 12.6, 3.6$  Hz, 1H, allylic), 2.22 (d,  $J = 12.0$  Hz, 1H, allylic), 2.10 (dd,  $J = 12.0, 7.8$  Hz, 1H, allylic), 2.02-1.97 (m, 1H, allylic), 1.82-1.79 (m, 1H, C=CCH), 1.75-1.37 (m, 14H, CHCH<sub>2</sub>CH, CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>C=C and CHCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>), 1.19 (s, 6H, C(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>), 1.17-1.12 (m, 1H, CH<sub>3</sub>CHCH<sub>2</sub>), 1.00 (s, 3H, CH<sub>3</sub>CCH), 0.95 (t,  $J = 8.4$  Hz, 9H, Si(CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 0.92 (d,  $J = 7.2$  Hz, 3H, CH<sub>3</sub>CHCH<sub>2</sub>), 0.88 (s, 9H, Si(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 0.87 (s, 9H, Si(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 0.56 (q,  $J = 8.4$  Hz, 6H, Si(CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 0.06 (s, 6H, Si(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>), 0.05 (s, 6H, Si(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>); <sup>13</sup>C NMR (CDCl<sub>3</sub>, 150 MHz)  $\delta$  135.6, 135.3, 122.2, 121.5, 93.1, 73.5, 69.9, 68.2, 67.9, 56.0, 46.1, 45.7, 45.5, 43.6, 36.8, 36.0, 34.8, 33.2, 29.9, 29.8, 25.9, 25.8, 24.4, 22.2, 21.8, 19.8, 18.14, 18.07, 17.7, 7.1, 6.8, -4.7, -4.76, -4.84, 4.87-; IR (neat) 2953, 2876, 1462, 1253, 1083, 1051, 835 cm<sup>-1</sup>; HR-MS  $m/z$  = calcd. For C<sub>43</sub>H<sub>84</sub>NaO<sub>4</sub>Si<sub>3</sub> [M+Na]<sup>+</sup>: 771.5575, found 771.5553.



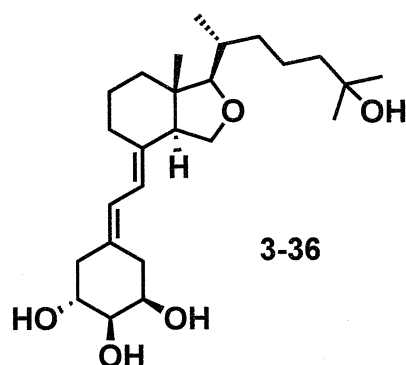
#### 14-*epi*-16-oxa-19-*nor*-1 $\alpha$ ,25-(OH)<sub>2</sub>VD<sub>3</sub> (**3-35 (14-epi)**)

To a mixture of **3-35 (trisilyl-14-epi)** (13.5 mg, 18.0  $\mu$ mol,  $E:Z = 89 : 11$ ) in THF (0.18 mL) was added *n*-BuNF (TBAF, 1.0 M in THF, 90.0  $\mu$ L, 90.0  $\mu$ mol) at 0 °C. After stirring for 3 h at room temperature, the solvents were removed under reduced pressure. The residue was diluted with H<sub>2</sub>O (1 mL) and then extracted with AcOEt (4 x 1 mL). The combined organic layers were dried over MgSO<sub>4</sub>, concentrated and chromatographed on silica gel (hexane/AcOEt) to give **3-35 (14-epi)** (7.10 mg,  $E:Z = 89 : 11$ ) in 97 % yield.



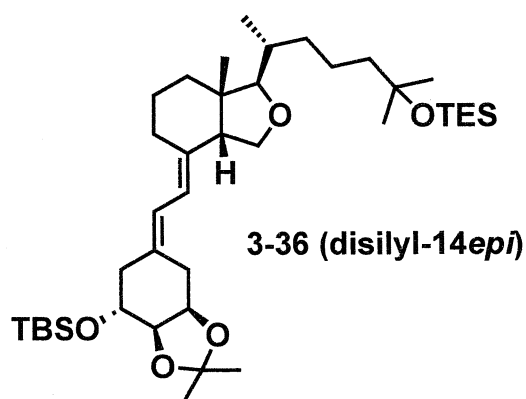
***tert*-butyldimethylsilyl ether of 2-alkoxy-16-oxa-19-*nor*-1 $\alpha$ ,25-(OH)<sub>2</sub>VD<sub>3</sub> (3-36 (disilyl))**

To a solution of phosphin oxide A-ring (**2-52**) (42.6 mg, 83.0  $\mu$ mol) in THF (0.7 mL) was added *n*-BuLi (1.57 M in hexane, 53.0  $\mu$ L, 83.0  $\mu$ mol) at -78  $^{\circ}$ C. The mixture was stirred for 40 min at the same temperature, added ketone C,D-ring (*trans*-**3-29**) (9.50 mg, 25.0  $\mu$ mol) in THF (0.52 mL) at -78  $^{\circ}$ C. After the mixture was stirred for 3 h at the same temperature, saturated aqueous NH<sub>4</sub>Cl was added. The mixture was extracted with AcOEt and the combined extracts were washed with brine, dried over MgSO<sub>4</sub> and concentrated with *in vacuo*. The residue was purified by column chromatography on silica gel (hexane/AcOEt) to afford **3-36 (disilyl)** (4.80 mg) in 28% yield. <sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>, 600 MHz)  $\delta$  6.20 (d, *J* = 10.8 Hz, 1H, C=CH), 5.60 (d, *J* = 10.8 Hz, 1H, C=CH), 4.23-4.19 (m, 2H, CH<sub>2</sub>CHCH), 3.88-3.84 (m, 1H, C=CCH<sub>2</sub>CH), 3.83 (t, *J* = 7.2 Hz, 1H, CHOCH<sub>2</sub>), 3.73 (dd, *J* = 11.4, 7.8 Hz, 1H, CHOCH<sub>2</sub>), 3.14 (d, *J* = 9.6 Hz, 1H, CHOCH<sub>2</sub>), 2.81 (dd, *J* = 12.6, 4.2 Hz, 1H, allylic), 2.64-2.56 (m, 1H, allylic), 2.47 (dd, *J* = 10.2, 8.4 Hz, 1H, allylic), 2.38 (dd, *J* = 14.4, 6.0 Hz, 1H, allylic), 2.25 (dd, *J* = 14.4, 4.2 Hz, 1H, allylic), 1.84-1.37 (m, 11H, CCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>, C=CHCH<sub>2</sub> and CCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>), 1.35 (s, 3H, OC(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>), 1.26 (s, 3H, OC(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>), 1.19 (s, 3H, C(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>), 1.18 (s, 3H, C(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>), 0.34 (t, *J* = 8.4 Hz, 9H, Si(CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 0.91 (s, 9H, SiC(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 0.84 (d, *J* = 6.6 Hz, 3H, CH<sub>3</sub>CH), 0.71 (s, 3H, CH<sub>3</sub>CCH), 0.56 (q, *J* = 8.4 Hz, 6H, Si(CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 0.11 (s, 3H, Si(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>), 0.10 (s, 3H, Si(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>); <sup>13</sup>C NMR (CDCl<sub>3</sub>, 150 MHz)  $\delta$  137.4, 132.7, 121.5, 116.7, 108.8, 92.8, 74.1, 73.5, 69.7, 65.1, 55.2, 45.3, 45.1, 38.0, 36.5, 35.2, 35.0, 30.5, 30.0, 29.8, 29.7, 28.3, 27.5, 26.0, 25.3, 22.9, 21.2, 18.4, 14.8, 11.7, 7.1, 6.8, -4.5, -4.6; IR (neat) 2928, 2874, 1462, 1379, 1252, 1212, 1038, 835 cm<sup>-1</sup>; HR-MS *m/z* = calcd. For C<sub>40</sub>H<sub>74</sub>NaO<sub>5</sub>Si<sub>2</sub> [M+Na]<sup>+</sup>: 713.4972, found 713.4927.



### 2-alkoxy-16-oxa-19-nor-1 $\alpha$ ,25-(OH)<sub>2</sub>VD<sub>3</sub> (3-36)

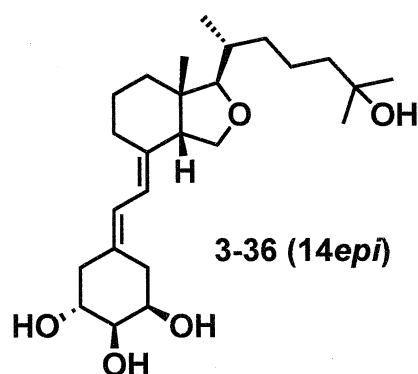
To a solution of **3-36 (disilyl)** (3.70 mg, 5.30  $\mu$ mol) in THF (0.53 mL) was added *n*-BuNF (TBAF, 1.0 M in THF, 13.0  $\mu$ L, 13.0  $\mu$ mol) at 0 °C. After the reaction mixture was stirred for 18 h at the same temperature, saturated aqueous NH<sub>4</sub>Cl was added. The mixture was extracted with AcOEt, dried over Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> and concentrated in vacuo. The residue was diluted with MeOH (0.53 mL) and 1M HCl (1drop) was added at 0 °C. After the reaction mixture was stirred for 2 h at room temperature, saturated aqueous NaHCO<sub>3</sub> was added. The mixture was extracted with AcOEt, and the combined extracts were washed with brine, dried over Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> and concentrated *in vacuo*. The residue was purified by column chromatography on silica gel (hexane/AcOEt) to afford **3-36** (1.20 mg) in 52% yield (2 steps). <sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>, 600 MHz)  $\delta$  6.33 (d, *J* = 11.0 Hz, 1H, C=CH), 5.66 (d, *J* = 11.0 Hz, 1H, C=CH), 3.87-3.82 (m, 4H), 3.75 (dd, *J* = 11.7, 7.6 Hz, 1H, CHOCH<sub>2</sub>), 3.16 (d, *J* = 9.6 Hz, 1H, CHOCH<sub>2</sub>), 2.84 (dd, *J* = 12.4, 4.1 Hz, 1H, allylic), 2.65 (dd, *J* = 13.8, 6.9 Hz, 1H, allylic), 2.51-2.47 (m, 2H, allylic), 2.39-2.35 (m, 2H, allylic), 1.86-1.83 (m, 1H), 1.78-1.70 (m, 3H), 1.68-1.40 (m, 6H), 1.15-1.09 (m, 1H), 1.26 (s, 1H, OH), 1.22 (s, 3H, OC(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>), 1.21 (s, 3H, OC(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>), 1.15-1.09 (m, 1H), 0.86 (d, *J* = 6.9 Hz, 3H, CH<sub>3</sub>CH), 0.73 (s, 3H, CH<sub>3</sub>CCH); <sup>13</sup>C NMR (CDCl<sub>3</sub>, 150 MHz)  $\delta$  138.4, 129.8, 123.9, 116.7, 92.7, 72.0, 71.6, 71.2, 70.7, 65.3, 55.3, 45.2, 44.3, 40.8, 36.5, 35.2, 32.6, 29.8, 29.6, 29.2, 28.4, 23.0, 21.2, 15.0, 11.8; IR (neat) 3362, 2923, 2852, 1716, 1457, 1375, 1259, 1089, 1021, 798 cm<sup>-1</sup>; HR-MS *m/z* = calcd. For C<sub>25</sub>H<sub>42</sub>NaO<sub>5</sub> [M+Na]<sup>+</sup>: 445.2930, found 445.2937.



***tert*-butyldimethylsilyl ether of 2-alkoxy-16-oxa-19-*nor*-1 $\alpha$ ,25-(OH)<sub>2</sub>VD<sub>3</sub> (3-36 (disilyl-14-*epi*))**

To a solution of phosphine oxide A-ring (**2-52**) (21.0mg, 41.0  $\mu$ mol) in THF (0.1 mL) was added *n*-BuLi (1.57 M in hexane, 26.0  $\mu$ L, 41.0  $\mu$ mol) at -78 °C. The mixture was stirred for 40 min at the same temperature, added ketone C,D-ring (*cis*-**3-29**) (12.0 mg, 30.0  $\mu$ mol) in THF (0.63 mL) at -78 °C. After the mixture was stirred for 3 h at the same temperature, saturated aqueous NH<sub>4</sub>Cl was added. The mixture was extracted with AcOEt and the combined extracts were washed with brine, dried over MgSO<sub>4</sub> and concentrated with *in vacuo*. The residue was purified by column chromatography on silica gel (hexane/AcOEt) to afford **3-36 (disilyl-14-*epi*)** (5.20 mg, *E:Z* = 91 : 9) in total 25% yield. <sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>, 600 MHz)  $\delta$  6.17 (d, *J* = 11.4 Hz, 1H, C=CH), 6.02 (d, *J* = 10.8 Hz, 1H, C=CH), 4.26-4.22 (m, 2H, CH<sub>2</sub>CHCH), 3.89-3.84 (m, 1H, C=CCH<sub>2</sub>CH), 3.82 (t, *J* = 7.8 Hz, 1H, CHOCH<sub>2</sub>), 3.76 (t, *J* = 9.0 Hz, 1H, CHOCH<sub>2</sub>), 3.35 (d, *J* = 7.2 Hz, 1H, CHOCH<sub>2</sub>), 2.64-2.53 (m, 4H, allylic), 2.45 (dd, *J* = 14.4, 5.4 Hz, 1H, allylic), 2.27 (dd, *J* = 14.4, 4.8 Hz, 1H, allylic), 2.03-1.98 (m, 1H, C=CCHCH<sub>2</sub>), 1.74-1.35 (m, 10H, CCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub> and CHCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>), 1.51 (s, 3H, OC(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>), 1.35 (s, 3H, OC(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>), 1.20 (s, 6H, C(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>), 1.00 (s, 3H, CH<sub>3</sub>CCH), 0.95 (t, *J* = 8.4 Hz, 9H, Si(CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 0.91 (d, *J* = 6.6 Hz, 3H, CH<sub>3</sub>CHCH<sub>2</sub>), 0.90 (s, 9H, SiC(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 0.57 (q, *J* = 8.4 Hz, 6H, C(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>), 0.10 (s, 3H, Si(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>), 0.09 (s, 3H, Si(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>); <sup>13</sup>C NMR (CDCl<sub>3</sub>, 150 MHz)  $\delta$  136.9, 133.0, 121.9, 121.6, 108.8, 93.2, 74.1, 73.5, 69.9, 69.6, 55.9, 45.8, 45.4, 37.7, 36.0, 34.8, 33.1, 30.4, 30.0, 29.9, 27.4, 26.0, 25.3, 24.5, 22.3, 21.8, 19.7, 18.4, 17.7, 7.1, 6.8, -4.5, -4.6; IR (neat) 2930, 2874, 1462, 1379, 1252, 1213, 1039, 836 cm<sup>-1</sup>; HR-MS *m/z* = calcd. For C<sub>40</sub>H<sub>74</sub>NaO<sub>5</sub>Si<sub>2</sub> [M+Na]<sup>+</sup>: 713.4972, found 713.4974.





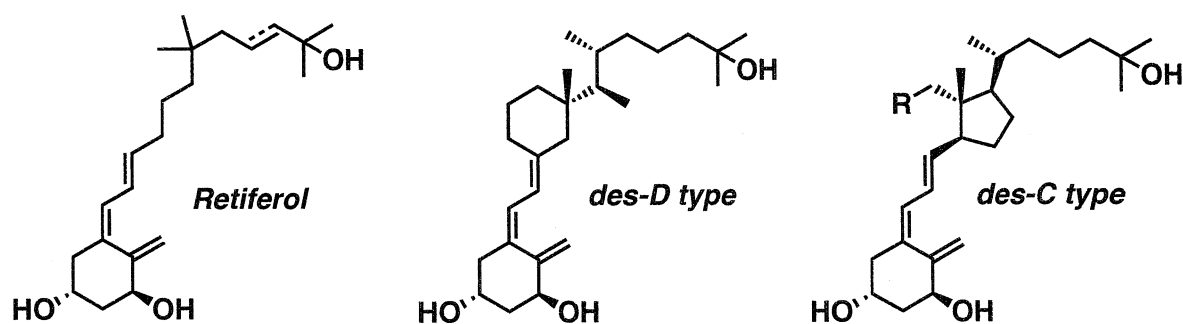
**14-*epi*-2-alkoxy-16-oxa-19-nor-1 $\alpha$ ,25-(OH) $_2$ VD $_3$  (3-36 (14-*epi*))**

To a mixture of **3-36 (disilyl-14-*epi*)** (5.10 mg, 7.30  $\mu$ mol, *E:Z* = 91 : 9) in THF (0.73 mL) was added *n*-BuNF (TBAF, 1.0 M in THF, 18.0  $\mu$ L, 18.0  $\mu$ mol) at 0 °C. After the reaction mixture was stirred for 18h at the same temperature, saturated aqueous NH $_4$ Cl was added. The mixture was extracted with AcOEt, dried over Na $_2$ SO $_4$  and concentrated *in vacuo*. The residue was diluted with MeOH (0.73 mL) and 1M HCl (1drop) was added at 0 °C. After the reaction mixture was stirred for 2 h at room temperature, saturated aqueous NaHCO $_3$  was added. The mixture was extracted with AcOEt, and the combined extracts were washed with brine, dried over Na $_2$ SO $_4$  and concentrated *in vacuo*. The residue was purified by column chromatography on silica gel (hexane/AcOEt) to afford **3-36 (14-*epi*)** (1.90 mg, *E:Z* = 91 : 9) in 60% yield (2 steps).  $^1\text{H}$  NMR (CDCl $_3$ , 600 MHz)  $\delta$  6.30 (d, *J* = 11.4, 1H, CH=CH), 6.10 (d, *J* = 10.8, 1H, CH=CH), 3.92 (bs, 2H, CHCHCH), 3.83 (t, *J* = 8.4, 1H, CHCH $_2$ O), 3.79 (bs, 1H, CHCHCH), 3.77, (t, *J* = 9.0, 1H, CHCH $_2$ O), 3.36 (d, *J* = 6.0, 1H, CHCHCH $_3$ ), 2.78 (dd, *J* = 7.2, 13.8, 1H, CCH $_2$ CH), 2.73 (bs, 3H, OH), 2.62-2.35 (m, 5H, C(CH $_2$ CH) $_2$ ), 2.07-2.02 (m, 1H, CHCH $_2$ O), 1.23 (s, 6H, CH $_3$ CCH $_3$ ), 1.02 (s, 3H, CH $_3$ CCH), 0.93 (d, *J* = 6.0, 3H, CH $_3$ CHCH $_2$ );  $^{13}\text{C}$  NMR (CDCl $_3$ , 150 MHz)  $\delta$  154.8, 124.4, 121.4, 92.9, 71.8, 71.6, 71.4, 70.0, 56.7, 55.6, 55.3, 45.8, 44.3, 40.9, 35.8, 34.6, 33.1, 29.4, 29.2, 24.6, 22.1, 21.5, 19.9, 17.6, 14.1, 7.7, -0.01.

## 第四章 *des*-D型ビタミンD誘導体の合成

ビタミンD誘導体開発は、1990年代半ばから、必ずしもヒドロインダン骨格を持たない構造でもビタミンD作動薬として機能することが証明されてきている。即ち、C,D環部を廃したRetiferol<sup>39</sup>や、C環部またはD環部を廃したビタミンD誘導体をはじめ<sup>40</sup>、CD4720やLG190178のように、A-C,D環部全てを芳香族骨格で代替した、天然のステロイド骨格を持たないものでもビタミンD作動薬として機能することが報告されている。<sup>41</sup> さらにごく最近では、C環部を廃し、D環部をベンゼン環とした誘導体がカルシウム作用を抑え、細胞の分化誘導・増殖抑制作用を示すことが報告されている。<sup>42</sup> (Figure. 4-1)

Figure 4-1

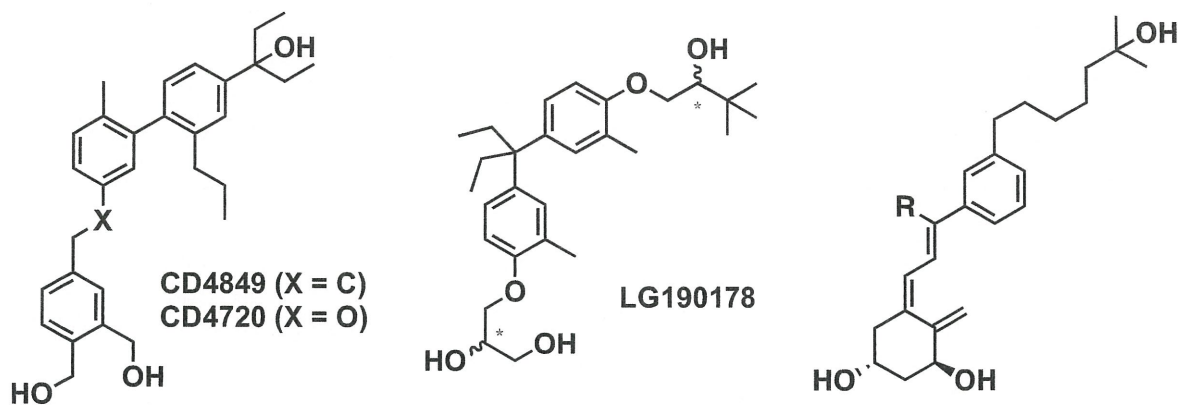


<sup>39</sup> (a) H. Hilpert and B. Wirz, *Tetrahedron.*, 2001, 57, 681-694; (b) A. Kutner, H. Zhao, H. Fitak and S. R. Wilson, *Bioorganic Chemistry.*, 1995, 23, 22-32.

<sup>40</sup> (a) G. D. Zhu, Y. Chen, X. Zhou, M. Vandewalle, P. J. De Clercq, R. Bouillon and A. Verstuyf, *Bioorganic & Medical Chemistry Letters.*, 1996, 6, 1703-1708; (b) X. Zhou, G. D. Zhu, D. V. Haver, M. Vandewalle, P. J. De Clercq, A. Verstuyf and R. Bouillon, *J. Med. Chem.*, 1999, 42, 3539-3556; (c) W. Yong, S. Ling, C. D'Halleweyn, D. V. Haver, P. D. Clercq, M. Vandewalle, R. Bouillon and A. Verstuyf., *Bioorganic & Medical Chemistry Letters.*, 1997, 7, 923-928.

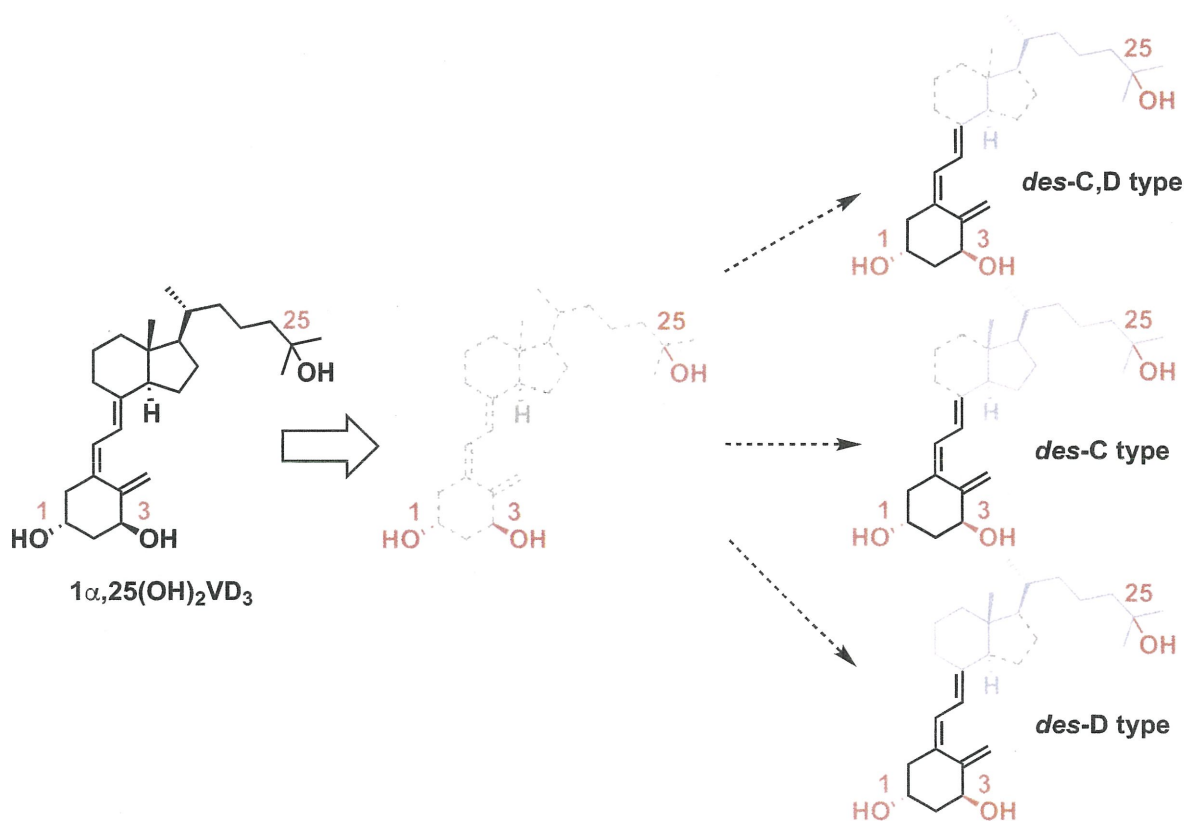
<sup>41</sup> (a) M. F. Bohem, P. Fitzgerald, A. Zou, M. G. Elogort, E. D. Bischoff, L. Mere, D. E. Mais, R. P. Bissonnette, R. A. Heyman, A. M. Nadzan, M. Reichman and E. A. Allegretto, *Chemistry & Biology.*, 1999, 6, 265-275; (b) F. Ciesielski, Y. Sato, Y. Chebaro, D. Moras, A. Dejaegere and N. Rochel, *J. Med. Chem.*, 2012, 55, 8440-8449; (c) H. Kashiwagi, Y. Ono, M. Ohta, S. Itho, F. Ichikawa, S. Harada, S. Takeda, N. Sekiguchi, M. Ishigai, T. Takahashi.

<sup>42</sup> P. Gogoi, S. Seoane, R. Siqueiro, T. Guberteau, M. A. Maestro, R. P. Fernandes, N. Rochel and A. Mourino



これらの報告例が示すことは、必ずしも天然型C,D環部のような $trans$ -ヒドロインダン構造は必要なく、最も重要なことは、VDR (Vitamin D Receptor)との結合ドメインである、ビタミンD骨格の1,3,25位 (steroid numbering)に位置する水酸基の空間的な位置および屈曲した脂溶性構造を持つということである。そして、これらの条件を満たせば、C,D環部をある程度簡略化した誘導体でもビタミンD作動薬として十分機能する可能性を持つ。(Figure 4-2)

Figure 4-2

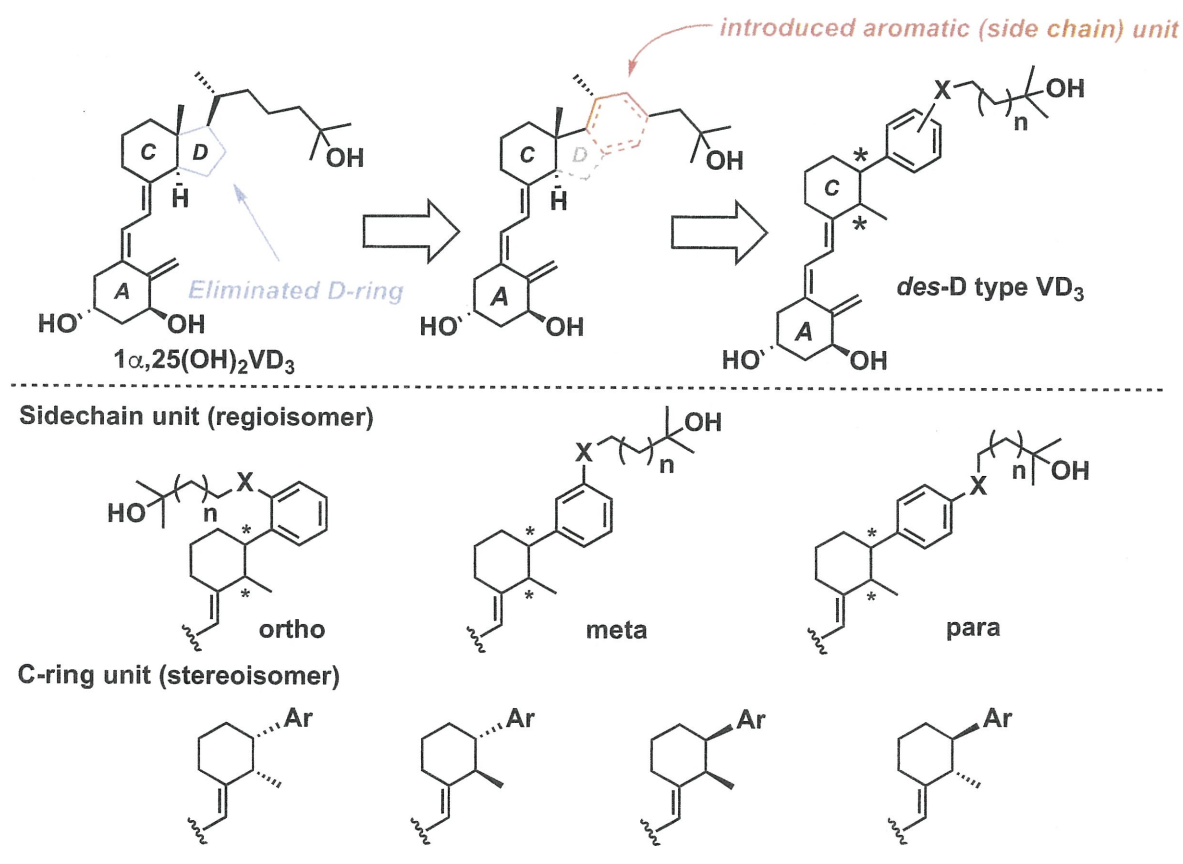


このようなC,D環部を簡略化した骨格であれば、より簡易的に新規ビタミン誘導体としてのライブラリー構築を行うことに期待ができる。前章にて報告を行った、16-oxa型ビタミンD誘導体のように、*trans*-ヒドロインダン骨格を有する修飾C,D環部ビタミンD誘導体を合成することは容易ではなく、そのライブラリー構築を行うことは難しい。この様な面からも、C,D環部を簡略化した誘導体構築は大変魅力的である。

以上の背景から、本章では従来のビタミンD構造をある程度残しつつ、比較的合成が容易なC,D環部誘導体として、D環部を廃し、ベンゼン環を新たに導入した *des*-D型ビタミンD誘導体を設計した。<sup>43</sup>

*des*-D型ビタミンD誘導体は、そのC環部のメチル基と側鎖部との立体異性体と芳香族部分に導入する側鎖の位置異性体を組み合わせた誘導体構築を可能とする。そのため、この種の誘導体に一定の活性があれば、比較的広範囲なライブラリー構築を行い、且つ、作用分離を期待できる新規誘導体探索が可能となる。(Figure 4-3)

Figure 4-3



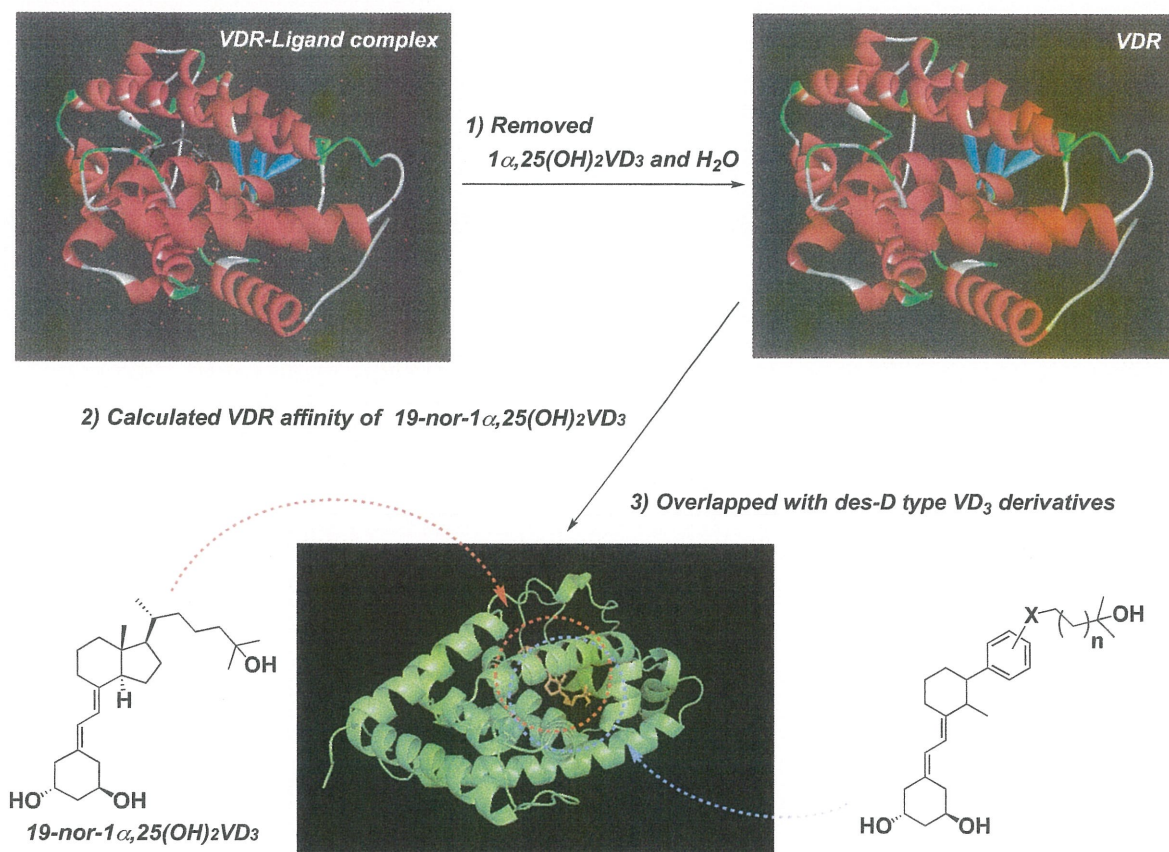
<sup>43</sup> 2018年度 中田 春樹 修士論文 (神奈川大学)

#### 4-1. ドッキングシミュレーションを用いた *des-D*型ビタミンD誘導体の設計

*des-D*型ビタミンD誘導体の設計は、AutoDock Vina<sup>TM</sup> programを用いるドッキングシミュレーションにより行った。このドッキングシミュレーションでは、VDR複合体結晶構造データは1DB1、ブランクとなるリガンドには19-*nor*-1 $\alpha$ ,25(OH)<sub>2</sub>VD<sub>3</sub>を用いた。(Figure 4-4)

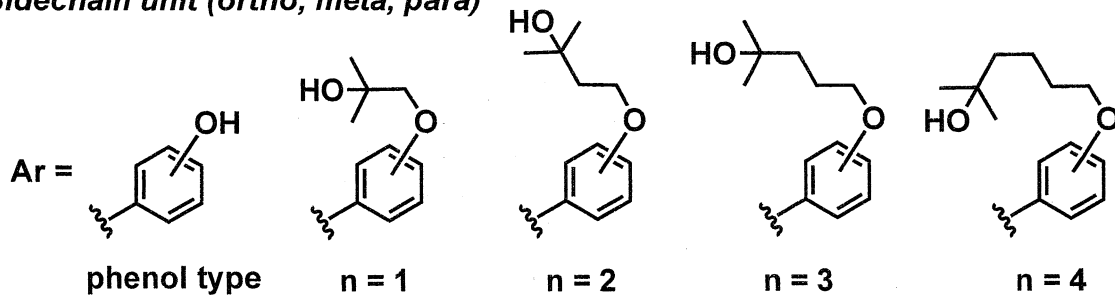
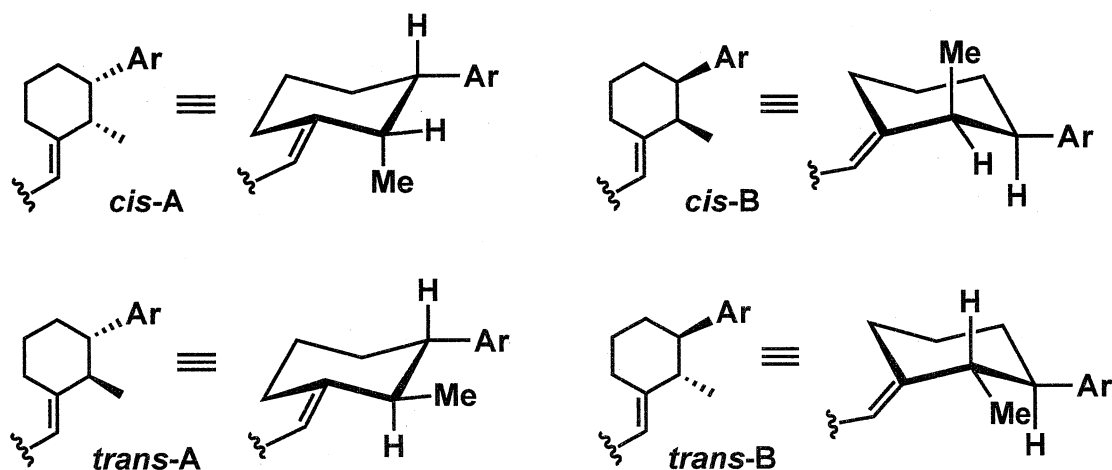
Figure 4-4

##### Molecular-Docking Study (AutoDock<sup>TM</sup> Vina program)



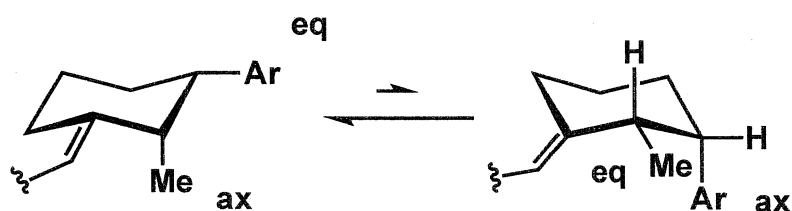
ドッキングシミュレーションは、*des-D*型ビタミンD誘導体C環部メチル基と芳香族部分の *cis-trans* 異性体とこれらの鏡像異性体の4種類、そして側鎖部分の位置異性体, *ortho*位, *meta*位, *para*位を3種類, さらには, 側鎖長としての炭素数4種類 ( $n = 1\sim 4$ )を組み合わせた誘導体を実施した。(Figure 4-5)

Figure 4-5

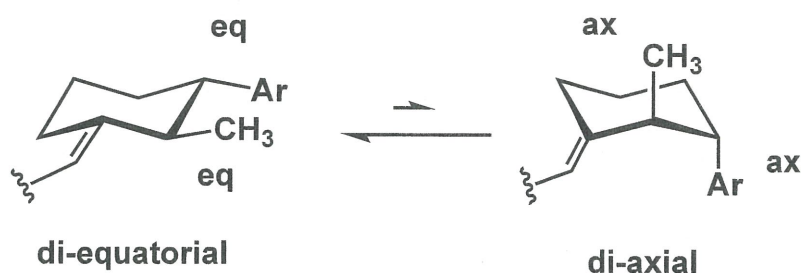
**Sidechain unit (ortho, meta, para)****C-ring unit**

ここで、C環部の予想される配座 (chair, boat, twist)については、chair型を優先的に取ることを前提としたシミュレーションを行っている。これは、後に示すドッキングシミュレーション結果において、VDRタンパク質内に存在するC環部分が、chair型として表示されることを考慮したものである。そして、C環部*cis-A* (または*cis-B*) は側鎖部分 (= Ar)がequatorial位を優先とする配座、*trans-A* (または*trans-B*) は、メチル基と側鎖部分 (= Ar)がdi-equatorial位を優先とする配座を用いた。(Figure 4-6)

Figure 4-6

***cis-A* (or *cis-B*)**



*trans-A (or trans-B)*

シミュレーション結果は、各側鎖部の位置異性体に対して最適な3種類の側鎖長から得られる立体異性体に絞って記載する。(Table 4-1)

Table 4-1

Side chain	ortho			meta			para			
	n	2	3	4	1	2	3	Phenol type	1	2
<i>cis-A</i>		-11.1	-11.3	-11.3	-11.7	-11.3	-11.6	-10.9	-10.7	-10.6
<i>trans-A</i>		-11.1	-11.3	-11.1	-11.7	-11.7	-11.7	-11.0	-10.9	-10.4
<i>cis-B</i>		-10.3	-10.7	-10.8	-10.1	-10.3	-10.5	-10.7	-10.3	-9.5
<i>trans-B</i>		-10.0	-9.9	-9.2	-10.1	-10.2	-10.6	-9.6	-10.1	-9.5

\* PDB ID : 1DB1

\* VDR affinity of 19-*nor*-1 $\alpha$ ,25(OH) $_2$ -VD $_3$  : -11.5 kcal/mol

シミュレーションの結果、C環部の立体異性体として*trans-A*, *cis-A*体の誘導体群に一定のVDR親和性が、その計算値として得られた。特に、側鎖部の位置異性体 meta位, ortho位の誘導体群には期待が持てる。この結果を基に合成を計画した新規 *des-D*型ビタミンD誘導体と 19-*nor*-1 $\alpha$ ,25(OH) $_2$ VD $_3$ のオーバーラップモデルを下記に示す。(Figure 4-7-1, 4-7-2, 4-7-3, 4-7-4)

Figure 4-7-1

Molecular-docking study based on a crystal structure of VDR in complex with  $1\alpha,25(\text{OH})_2\text{VD}_3$  (PDB:1DB1, 19-nor- $1\alpha,25(\text{OH})_2\text{VD}_3$  : -11.3 kcal/mol)

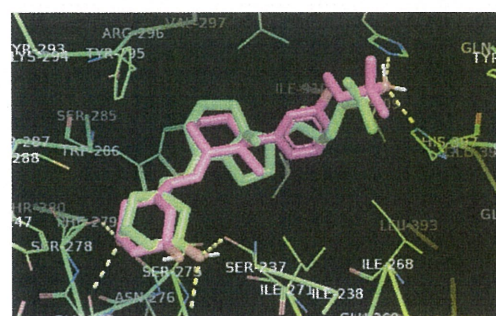
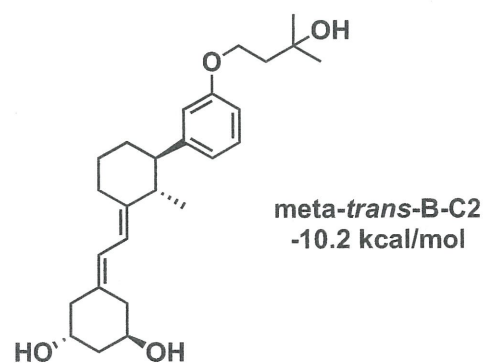
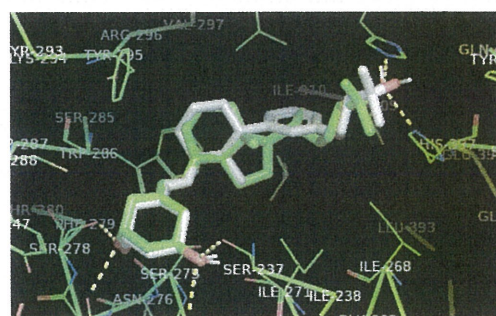
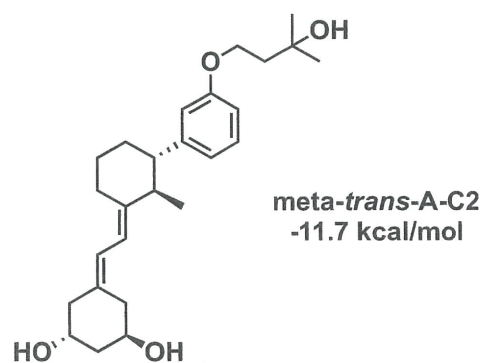
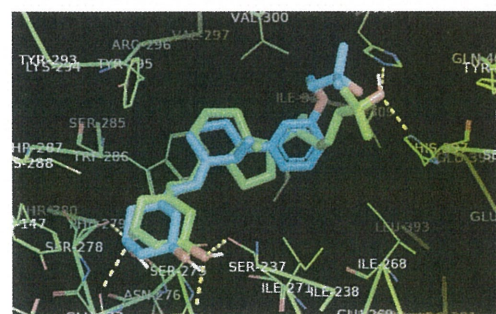
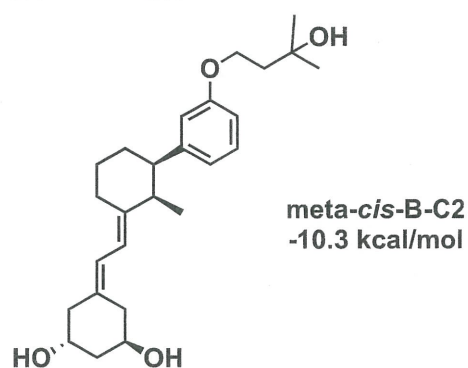
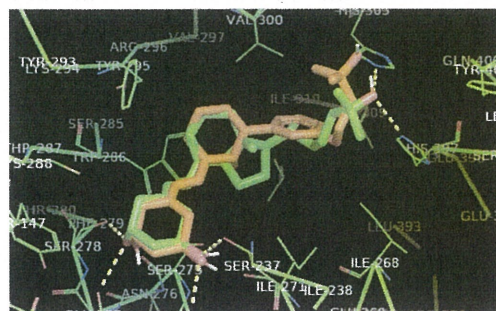
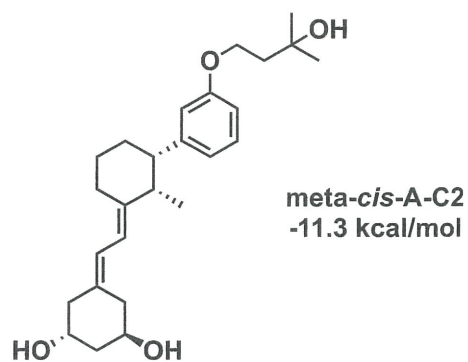




Figure 4-7-2

Molecular-docking study based on a crystal structure of VDR in complex with  $1\alpha,25(\text{OH})_2\text{VD}_3$  (PDB:1DB1, 19-nor- $1\alpha,25(\text{OH})_2\text{VD}_3$  : -11.3 kcal/mol)

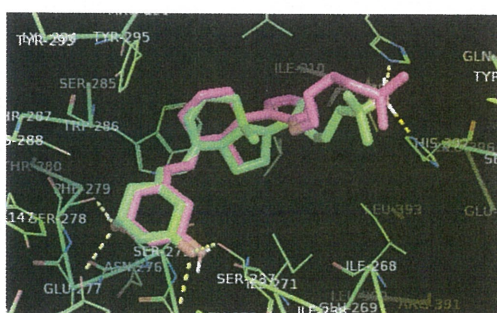
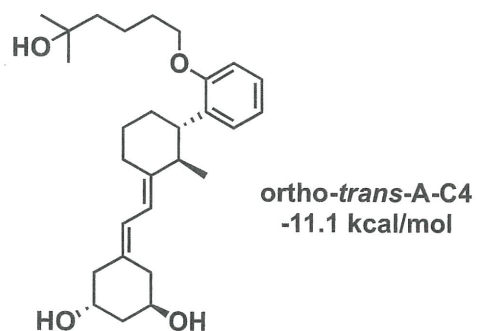
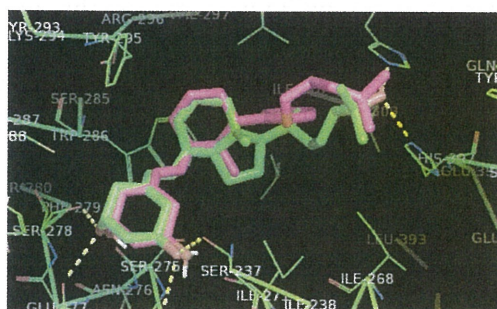
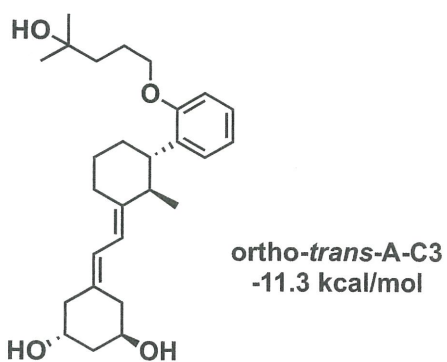
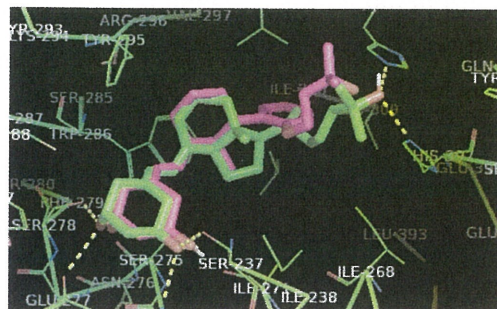
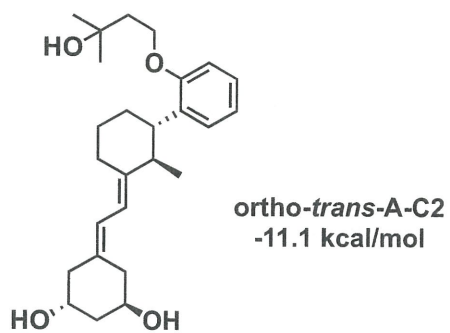


Figure 4-7-3

Molecular-docking study based on a crystal structure of VDR in complex with  $1\alpha,25(\text{OH})_2\text{VD}_3$  (PDB:1DB1, 19-nor- $1\alpha,25(\text{OH})_2\text{VD}_3$  : -11.3 kcal/mol)

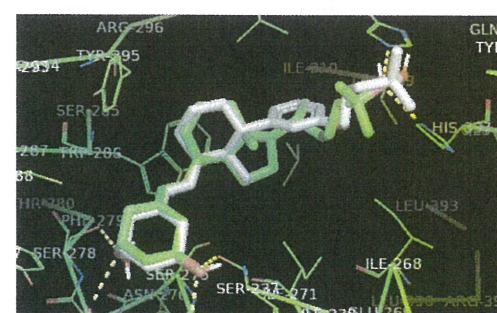
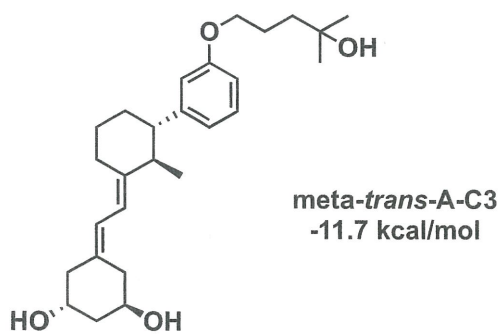
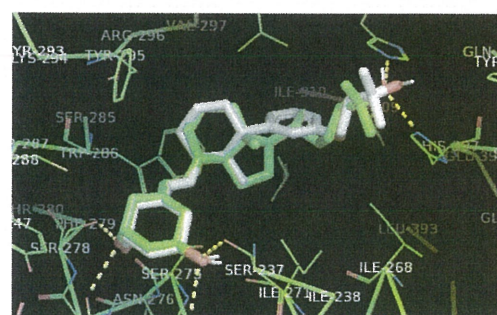
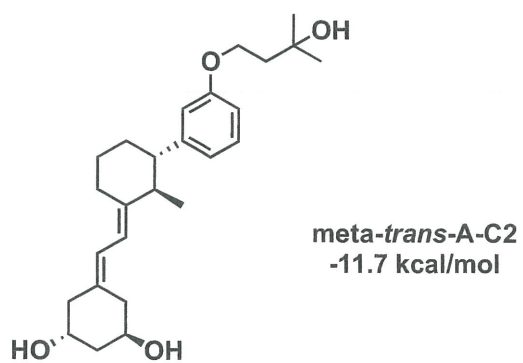
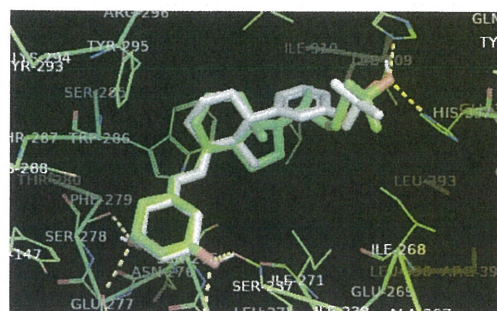
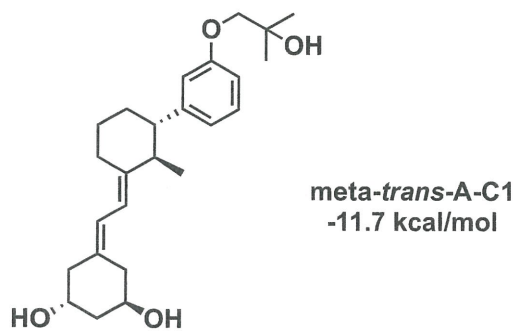
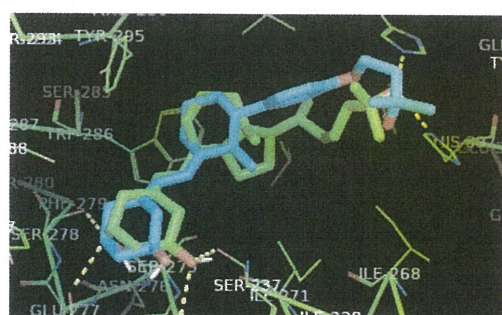
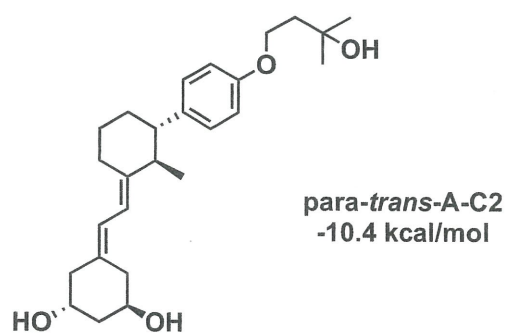
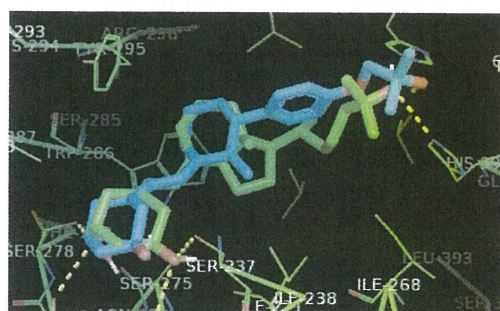
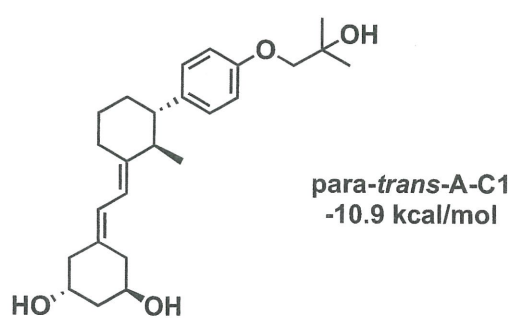
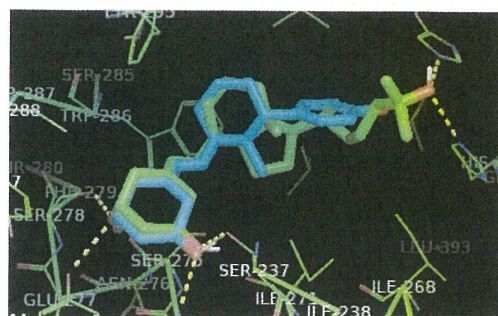
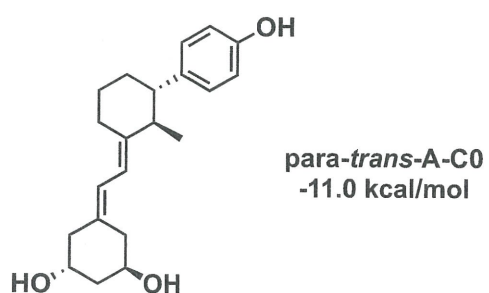


Figure 4-7-4

Molecular-docking study based on a crystal structure of VDR in complex with  $1\alpha,25(\text{OH})_2\text{VD}_3$  (PDB:1DB1, 19-nor- $1\alpha,25(\text{OH})_2\text{VD}_3$  : -11.3 kcal/mol)



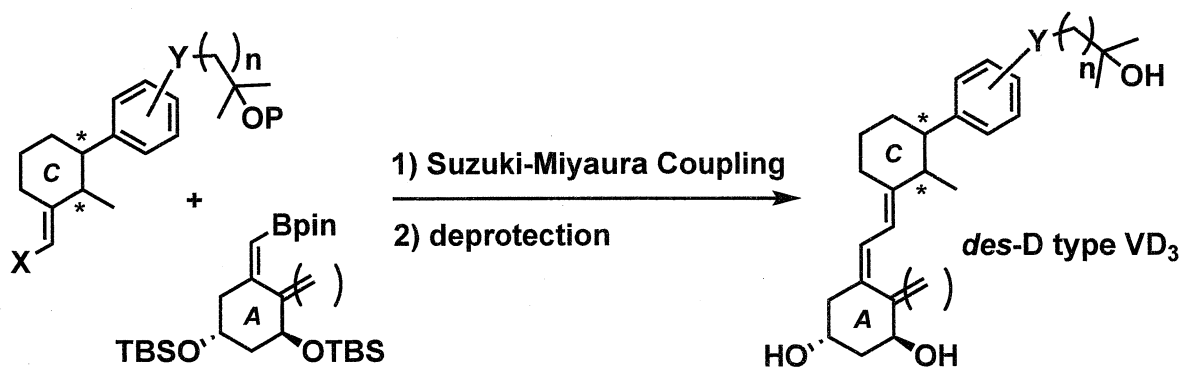




4-2. *des*-D型C環部ユニットの合成

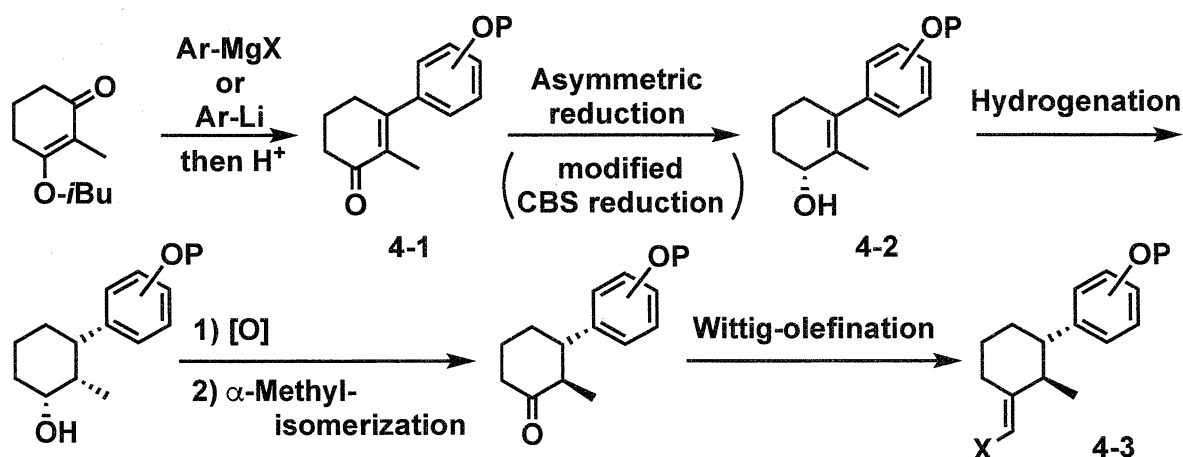
*des*-D型ビタミンD誘導体はC環部とA環部のSuzuki-Miyaura Couplingを用いるライブラリー構築を計画した。(Scheme 4-1)

Scheme 4-1



C環部ユニットは、エノン体 **4-1**の不斉還元によりアルコール体 **4-2**を合成し、接触水素化反応、2級アルコールの酸化反応、 $\alpha$ -methyl基の異性化、Wittig-olefinationにより、ハロメチレン体 **4-3**の合成を計画した。(Scheme 4-2)

Scheme 4-2



合成計画に従いC環部ユニットの合成を実施した。即ち、Dean-Stark還流管を用いて、市販の2-methyl-1,3-cyclohexanedioneのトルエン (0.8 M)溶液に、*p*-TsOH (10

mol%), *i*-BuOH (3.5 equiv.)を加え, 12時間加熱還流後, 通常の後処理を行い, エノールエーテル体 **4-4** を得た。次に, エノールエーテル体 **4-4**のTHF溶液 (0.5 M)にMOMエーテル体のGrignard反応剤 (1.5 eq.)を0°Cで滴下し, 室温で3時間攪拌した。1N 塩酸による後処理により, *meta*位, *para*位への側鎖導入に対応するβ-アリーールシクロヘキセノン **4-5**を得た (*meta*: 76%, *para*: 76%)。Ortho位の位置異性体については, MOMエーテル体のTHF溶液 (0.5 M)に*n*-BuLi (1.05 eq)を-78°Cで滴下し, 1時間攪拌を行った。調整したアルキルリチウムに, エノールエーテル体 **4-4**のTHF溶液 (0.5 M)を滴下し, 0°Cに昇温後, 1時間攪拌を行い, 同様の後処理により, 対応するβ-アリーールシクロヘキセノン体 **4-5**を得た (58%)。 (Scheme 4-3)

Scheme 4-3

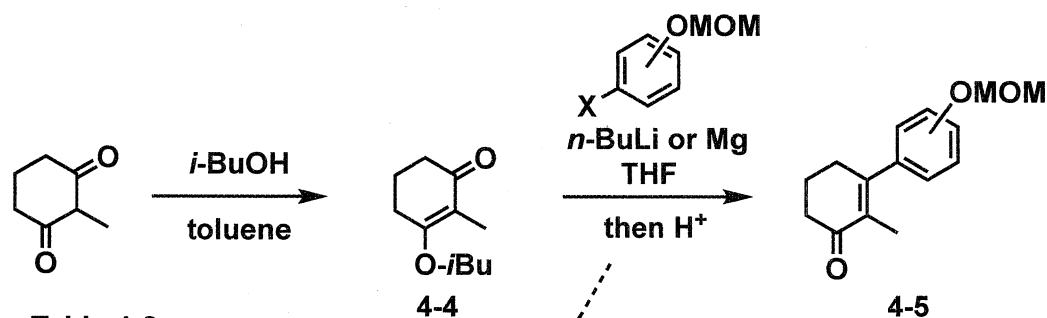


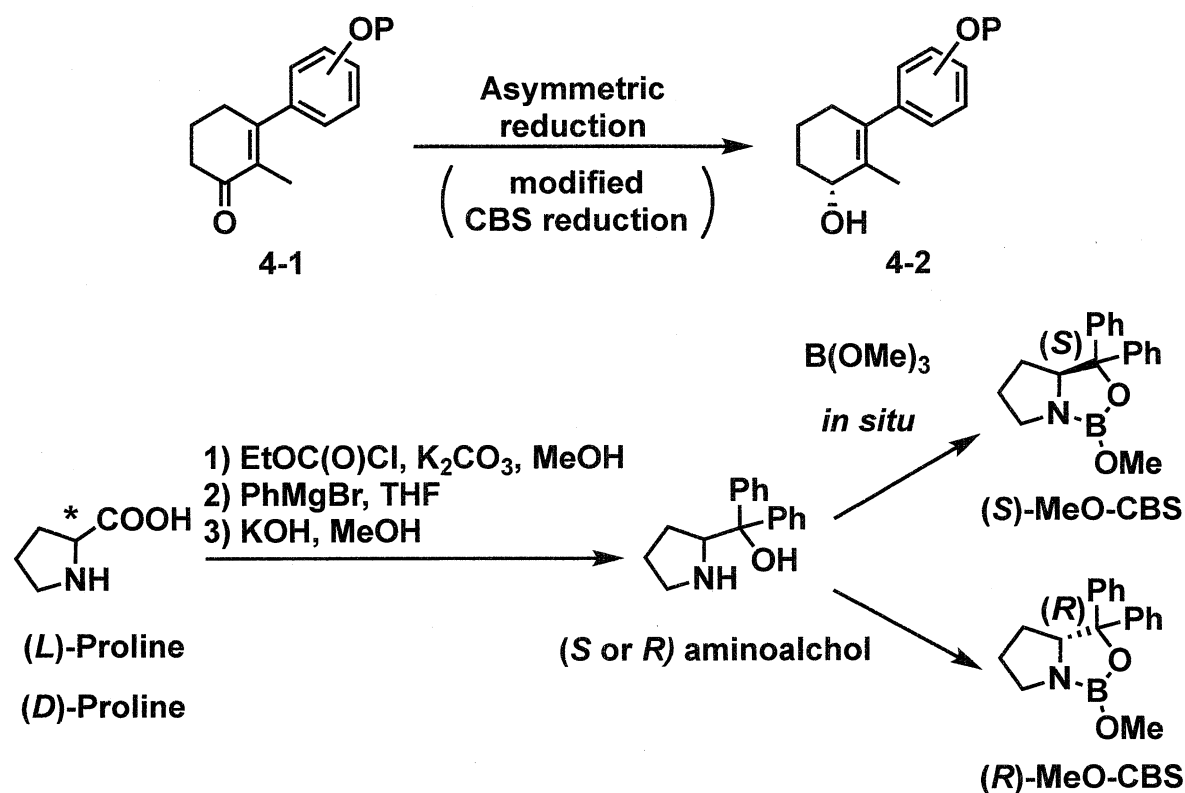
Table 4-2

entry	substituent	temp.
1	ortho (Ar-Li)	-78°C to r.t.
2	meta (Ar-MgBr)	0°C to r.t.
3	para (Ar-MgBr)	0°C to r.t.

ortho : 58 % yield  
meta : 76 % yield  
para : 76 % yield

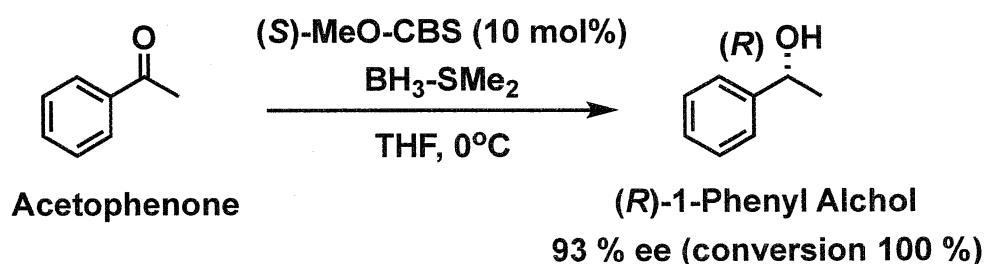
続いて, β-アリーールシクロヘキセノン体 **4-5**のCorey-Bakshi-Shibata (CBS)Reductionの検討を行った。使用する触媒は市販のProlineから合成したアミノアルコール体を用いた。(Scheme 4-4)

Scheme 4-4



初めに、合成したアミノアルコール体から調整する触媒能を確認するため、市販のAcetophenoneのCBS還元反応を行った。<sup>44</sup> (S)-aminoalcoholとB(OMe)<sub>3</sub>により調整した(S)-MeO-CBS触媒を用いた還元反応により得られたPhenyl Alcoholと市販の(R)-1-Phenyl Alcohol, そしてラセミ体のPhenyl AlcoholをHPLCにより比較を行い、その不斉収率を求めた。測定の結果、目的の(R)体が93% eeで得られたため、合成したCBS触媒に問題ないと判断し、β-アリーールシクロヘキセノン体 4-5の不斉還元に応用した。(Scheme 4-5)

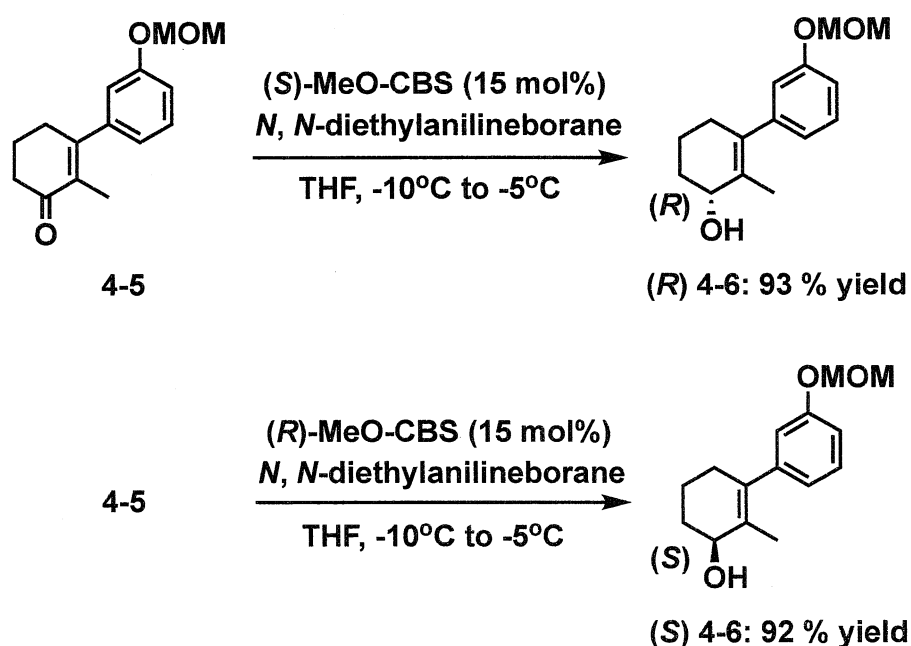
Scheme 4-5



<sup>44</sup> G. Alagona, C. Ghio, M. Persico and S. Tomas., J. Am. Chem. Soc., 2003, 125, 10027-10039.

即ち, Ar 雰囲気下, L-Prolineより合成した(*S*)-アミノアルコール (15 mol %) の THF溶液 (0.01 M)に $B(OMe)_3$  (1.05 eq.)を加え室温で1時間攪拌した。そこに *N,N*-Diethylaniline Borate (1.1 eq.) と $\beta$ -アリールシクロヘキセノン体 **4-5**の THF溶液 (0.5 M)を $-10^\circ\text{C}$ で45分間かけて滴下し,  $-5^\circ\text{C}$ で12時間攪拌した。通常の後処理によりアルコール体 (*R*) **4-6**を得た (93%)。同様の操作で(*R*)-アミノアルコールを用いるCBS還元により, (*S*) **4-6**を得た (92%)。<sup>45</sup> (Scheme 4-6-1)

Scheme 4-6-1



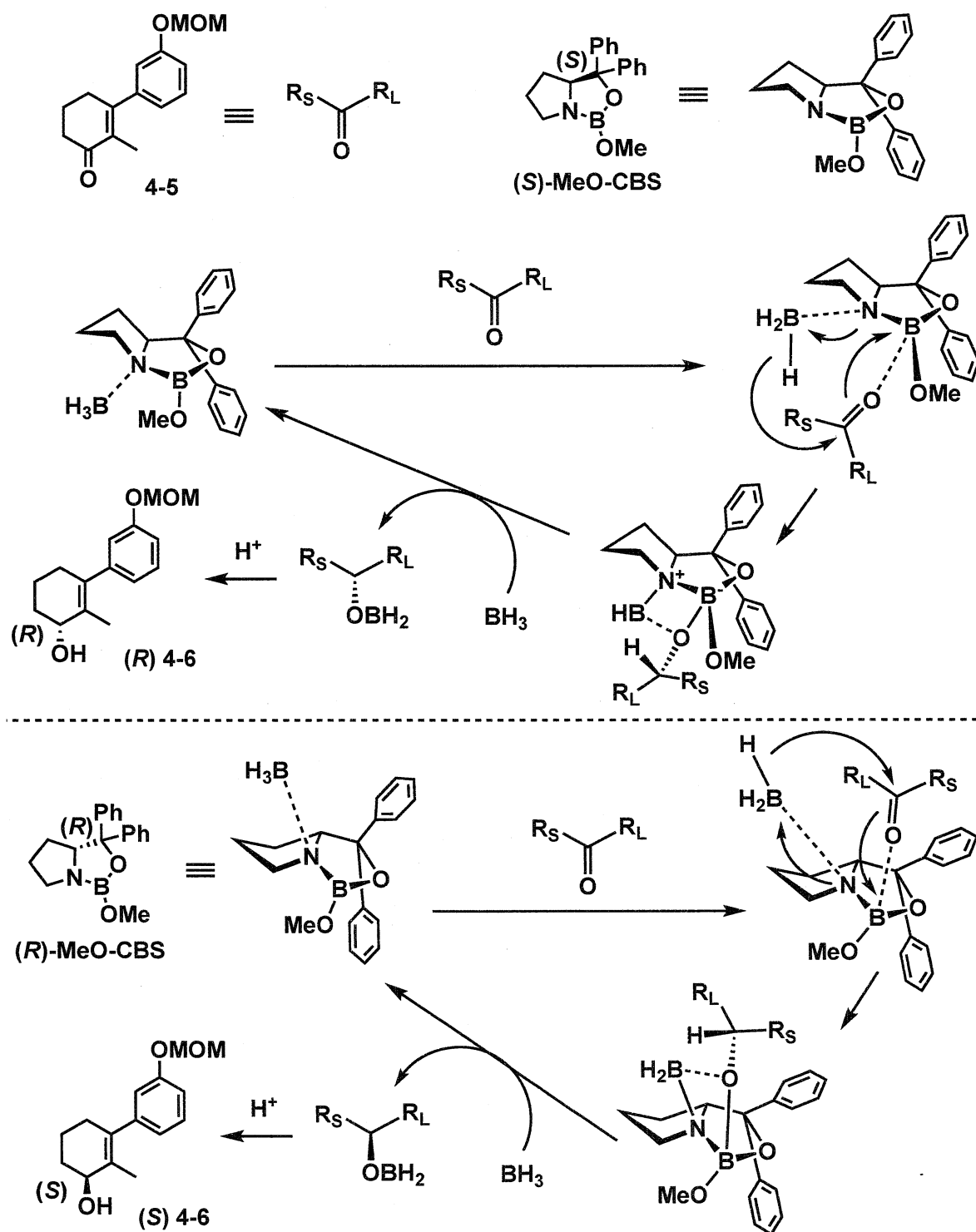
この反応で得られるアルコール体の立体選択性は, 理論上(*S*)-MeO-CBSを用いた条件では(*R*) **4-6**が優先的に得られ, (*R*)-MeO-CBSでは(*S*) **4-6**が優先的に得られる。

(Scheme 4-6-2)

<sup>45</sup> (a) N. Holub, J. Neidhofer and S. Blechert., *Org. Lett.*, 2005, 7, 1227-1229; (b) J. Xu, X. Su and Q. Zhang, *Tetrahedron: Asymmetry.*, 2003, 14, 1781-1786; (c) C. E. Garrett, K. Prasad, O. Repic and T. J. Blacklock, *Tetrahedron: Asymmetry.*, 2002, 13, 1347-1349.



Scheme 4-6-2

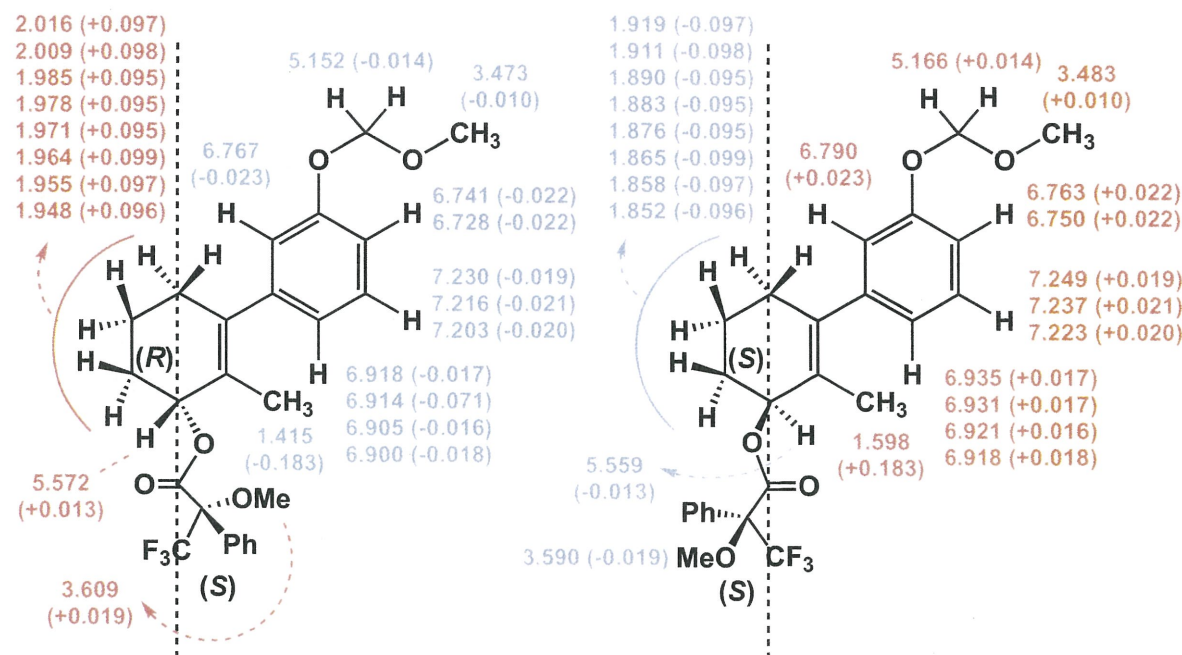




4-6-(*S*)-MTPAの組み合わせは、これの逆である。これを踏まえて、測定結果を見ると、(*R*) 4-6-(*S*)-MTPAではC環部メチル基と芳香族側鎖側が高磁場シフト ( $-\Delta\delta$ )し、その逆側に位置する脂肪族部分は低磁場シフト ( $+\Delta\delta$ )している。そして、4-6-(*S*)-MTPAではその逆のケミカルシフト値が得られている。(Figure 4-9)

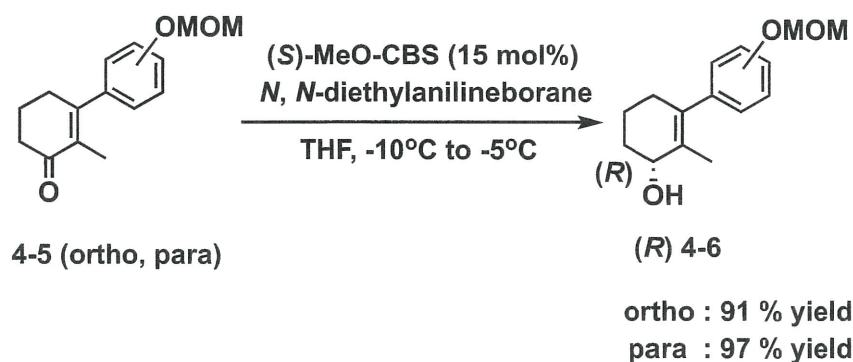
Figure 4-9

$\delta$  (ppm) ( $\pm \Delta\delta$ )



以上の結果から、同様の反応条件により、側鎖位置異性体ortho, para位の(*R*)-アルコール体 4-6を合成した ((*R*) 4-6-para: 91%, (*R*) 4-6-ortho: 97%)。以上合成したアルコール体 4-6の不斉収率は85~90%eeの範囲である。(Scheme 4-8)

Scheme 4-8

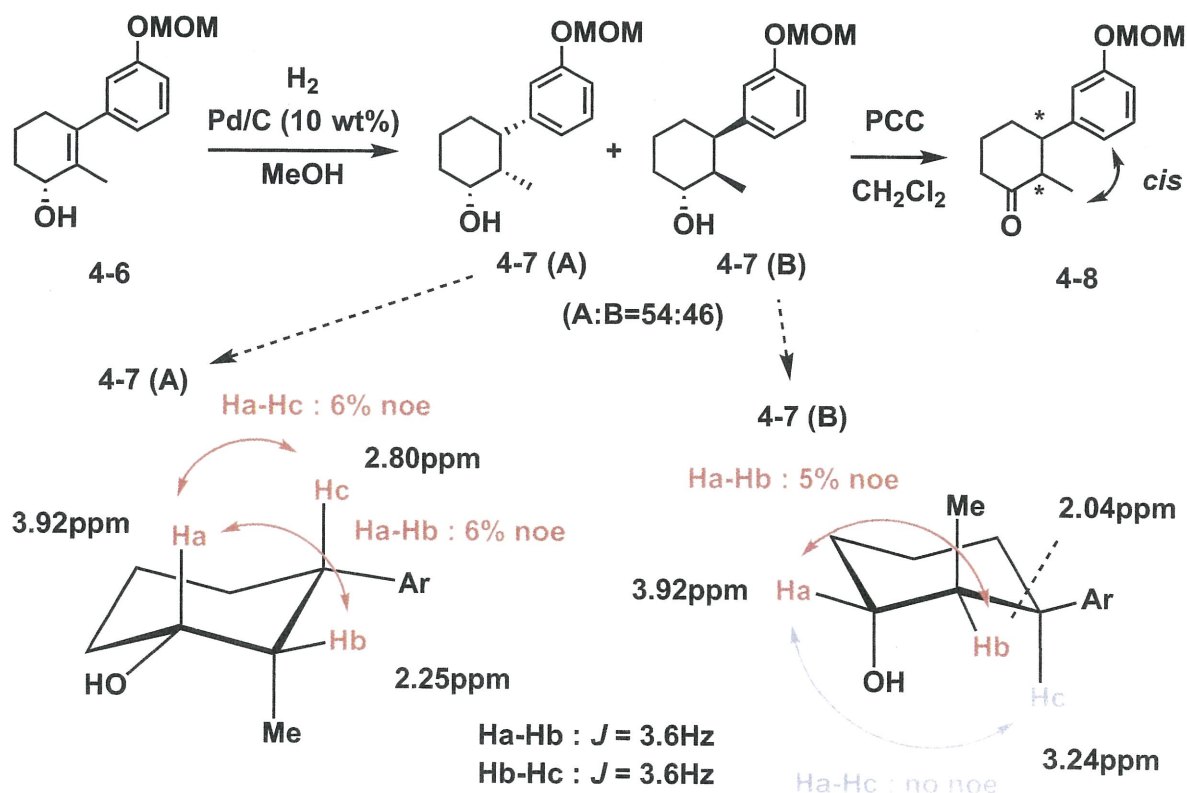


続いて、CBS還元により得られたアルコール体 **4-6**の接触水素化反応による還元体**4-7**の合成検討を行った。即ち、Pd/C (10 mol%)のメタノール溶液 (0.5 M)にアルコール体 **4-5**を加え、水素雰囲気下で12時間攪拌後、セライトによるろ過と濃縮により対応する還元体を得た。

検討の結果、2種類の生成物を薄層クロマトグラフィー及び<sup>1</sup>H-NMRから確認した。この2種類の生成物を含む粗生成物の2級アルコールの酸化反応をPCCにより行ったところ、ケトン体 **4-8**の単一化合物としての<sup>1</sup>H-NMRスペクトルが得られた。以上の結果から、接触水素化反応により、目的の還元体 **4-7 (A)**とそのジアステレオマー体 **4-7 (B)**が同時に生成していると推測した。

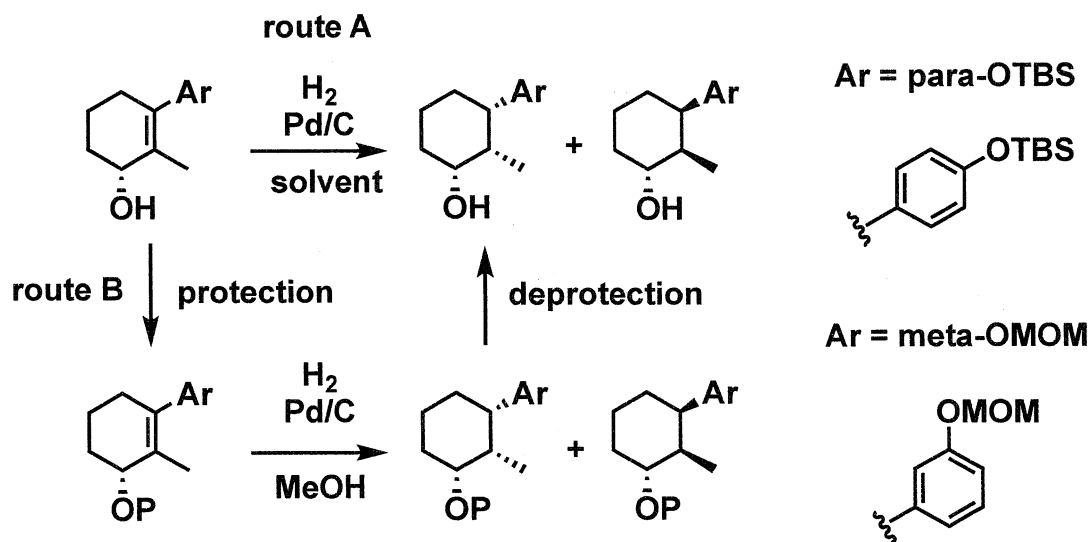
次に、接触水素化により得られた2種類の還元体をカラムクロマトグラフィーにより単離し、各々の<sup>1</sup>H-NMRとNOEDIF測定を行った。測定の結果、**4-7 (A)**では、Ha-Hcにて6%のNOEが観測されたのに対し、**4-7 (B)**ではHa-HcにNOEは観測されなかった。即ち、この条件ではアルコール基を避けて、β面から水素化されて生成した**4-7 (A)**とα面から水素化されたて生成した**4-7 (B)**が54:46で生成していると判断した。(Scheme 4-9)

Scheme 4-9



以上の結果から、ジアステレオマー体**4-7 (B)**の生成を抑制する目的で、接触水素化反応の溶媒検討 (**route A**)と2級アルコールの保護を経由した接触水素化反応の検討 (**route B**)を行った。(Scheme 4-10)

Scheme 4-10



検討の結果、2級アルコールを保護した基質の接触水素化反応によりジアステレオ異性体生成の抑制が可能であった (Table 4-4 (**route B**))。

シリル系保護基であるTMS, TES, TBS保護基によりジアステレオ異性体の抑制はできたが、TMS保護を行った基質では、接触水素化反応時に脱保護が進行した **B** が主生成物として得られており、ジアステレオ異性体が生成する懸念が残る。TBS保護を行った条件では、ジアステレオ異性体の異性が抑制できるものの、後の脱保護反応が温和な条件では進行しなかったため、TES保護を用いる条件を採用した。

別途、アセチル化を経由した条件では、Pd(0)活性種が基質との酸化的付加反応によって、 $\pi$ -アリルPd錯体を経由し、水素による置換反応/還元的脱離を経て脱アセチル化が進行した **C**が主生成物として得られた結果も報告している。<sup>46</sup> (Table 4-3, 4-4)

<sup>46</sup> 2019年度 平林 佳那子 卒業論文 (神奈川大学)

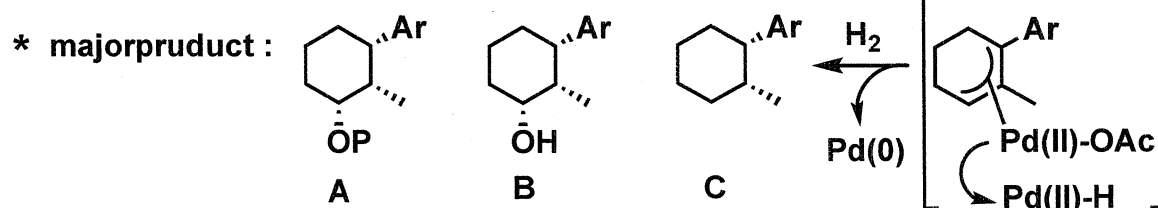
Table 4-3 (route A)

entry	solvent	dr*	conversion (%)	Ar
1	AcOEt	-	no reaction	para-OTBS
2	EtOH	53:47	100	para-OTBS
3	MeOH	58:42	100	para-OTBS

Table 4-4 (route B)

entry	Protecting group	major product*	conversion (%)	Ar
1	TBS	A (dr >95:5)	100	para-OTBS
2	TES	A (dr >95:5)	100	meta-OMOM
3	TMS	B	100	meta-OMOM
4	Ac (acetyl)	C	100	para-OTBS

\* dr : determined by 1H-NMR

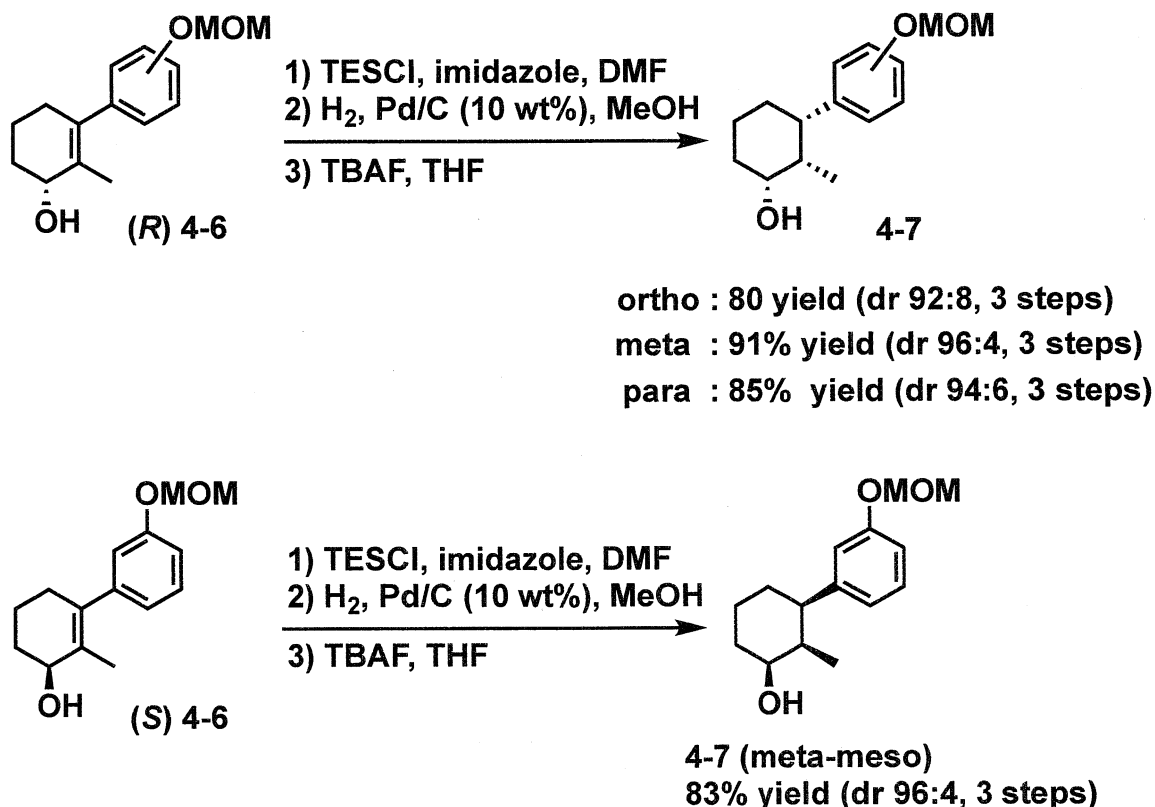


以上の結果から、アルコール体 **4-6**の接触水素化反応は2級アルコールのTES保護を經由して行った。即ち、アルコール体 **4-6**とimidazole (2.2 eq.)のDMF溶液 (0.4 M)にTESCl (1.5 eq)を0°Cで加え、室温で3時間攪拌後、通常の後処理によりシリル体を得た。次に、Pd/C (10 mol%)のMeOH溶液 (0.5 M)に、シリル体の粗生成物を加え、水素雰囲気下、室温で12時間攪拌後、セライトによる濾過と濃縮により、還元体を粗生成物として得た。さらに、この還元体のTHF (1.0M)溶液に、TBAF (1.0 M in THF, 1.5 eq.)を加え、室温で1時間攪拌後、通常の後処理により、目的のアルコール体 **4-7**を得た。接触水素化反応時のジアステレオ異性体の生成は、反応スケール等で多少異なり、今回使用した条件では、ジアステレオ異性体が約5 %前後生成する結果であった。

側鎖をortho位とした基質 **4-6** (ortho)では、接触水素化反応が室温では進行せず、

加温条件 (40°C)で攪拌を行うことで、その反応が進行したが、これの影響もあり、ジアステレオ異性体が8 %程度生成する結果であった。これについては、接触水素化の溶媒検討とHCOOH/Et<sub>3</sub>N (70°C)での還元反応の検討を行ったが、どの条件においても還元反応は進行しない結果であった。(Scheme 4-11)

Scheme 4-11



\* dr: determined by <sup>1</sup>H-NMR

次に、アルコール体 4-7の2級アルコールの酸化反応の検討を行った。まず、中性条件下で酸化反応が行える、Parik-Douerin酸化とSwern酸化を検討したが、どちらの条件においても、モノメチルエーテル体Aや硫酸化されたような化合物Bが主生成物として得られた。双方の反応系にEt<sub>3</sub>Nを過剰量添加することにより、目的のケトン体は少量得られるものcis体 4-8とα-methyl基の異性化が進行したtrans体 4-8の混合物であり、この反応条件によるこれ以上の検討は中止した。

このため、PCCを用いた酸性条件での酸化反応を検討した。結果として、懸念されたMOM基の脱保護とα-methyl基の異性化は進行せず、目的のcis-ケトン体 4-8が得られた。(Scheme 4-12)



Scheme 4-12

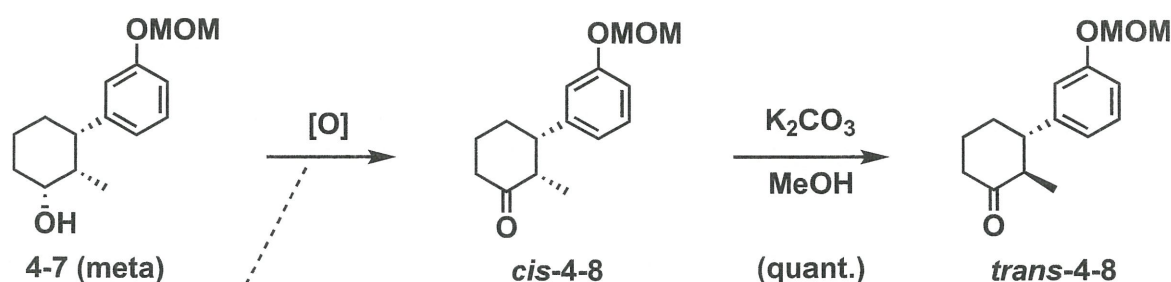
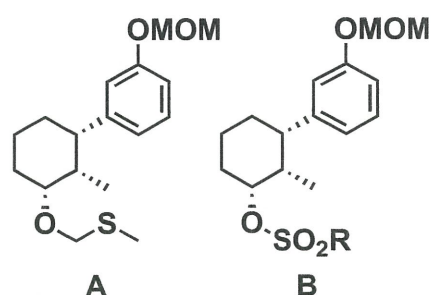


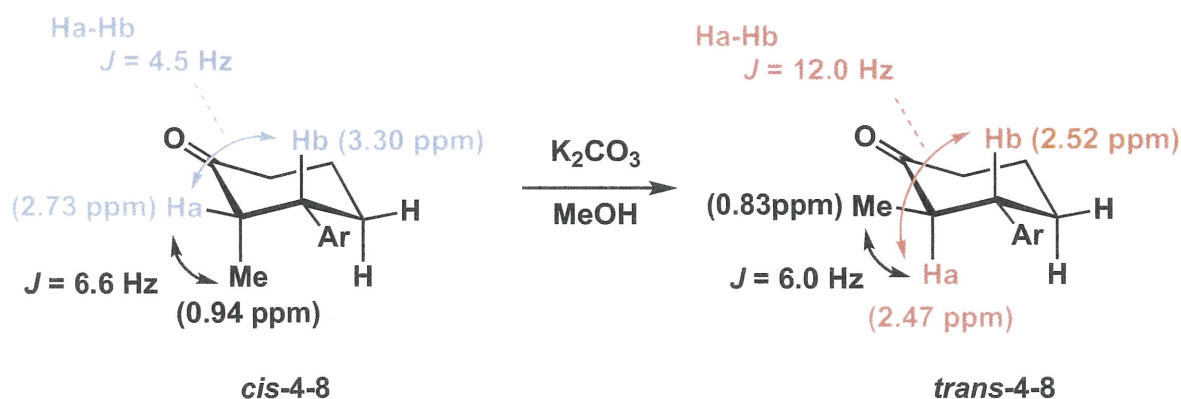
Table 4-5

entry	condition	temp	product
1	PCC, CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub>	r.t.	<i>cis</i> -4-8 (97 %)
2	(COCl) <sub>2</sub> , Et <sub>3</sub> N DMSO, CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub>	-78°C to r.t.	A
3	Py-SO <sub>3</sub> , Et <sub>3</sub> N DMSO	r.t.	B



続けて、このケトン体を $\text{K}_2\text{CO}_3$ とMeOHで処理することにより、 $\alpha$ -methyl基の異性化反応の検討を行った。ケトン体 4-8の $\alpha$ -methyl基異性化前後の $^1\text{H-NMR}$ を比較したところ、 $\alpha$ -methyl基のピークが芳香族部分の磁気遮蔽効果により、約0.1 ppm程度高磁場シフトしていることと、Ha-Hb間の $J$ 値が、異性化前ではequatorial-axialの関係 (2面角=60°C)に相当する $J$ 値 ( $J = 4.5 \text{ Hz}$ )と異性化後ではdiaxialの関係 (2面角=180°C)に相当する $J$ 値 ( $J = 12.0 \text{ Hz}$ )として観測したため、 $\alpha$ -methyl基の異性化が進行していると判断した。(Scheme 4-13)

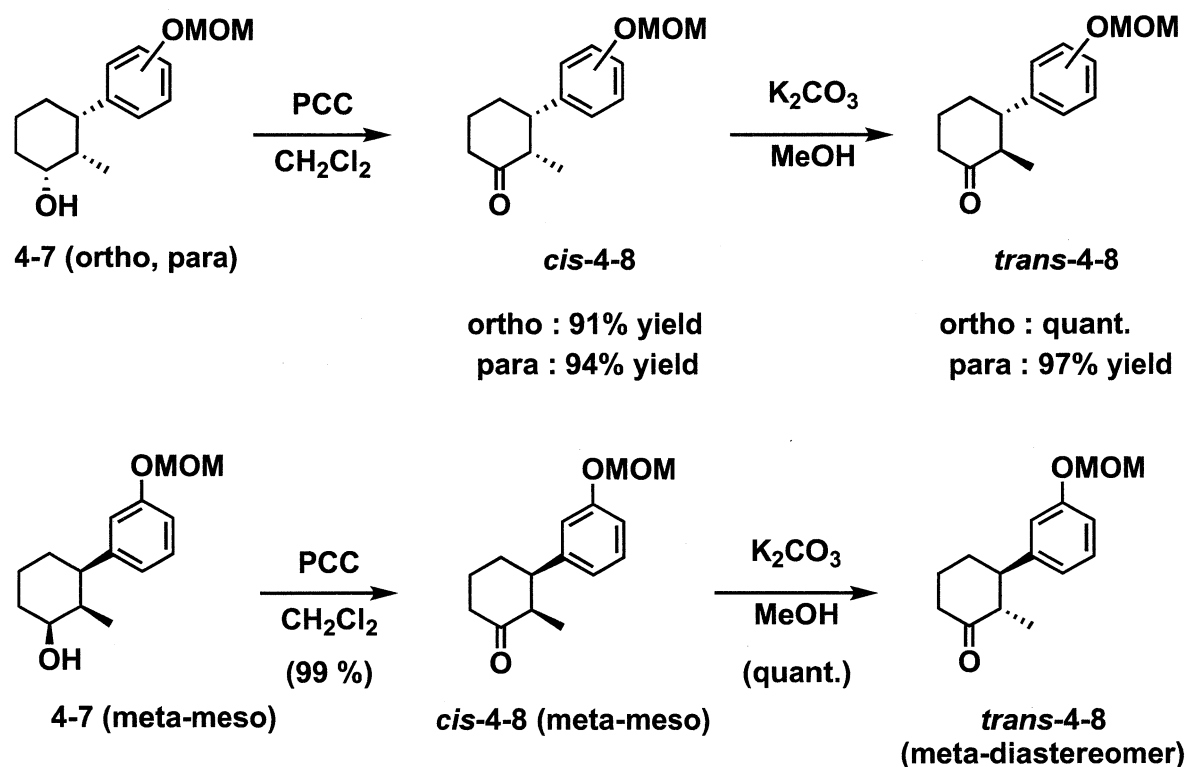
Scheme 4-13





これらの検討結果から、各アルコール体 **4-7**の酸化反応と $\alpha$ -methyl基の異性化を行った。即ち、アルコール体**4-7**の $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ 溶液 (0.2 M)にPCC (1.5 eq.)と同質量のセライトを加え、3時間攪拌後、濾過と濃縮によりケトン体 *cis-4-8*を得た。この粗生成物のMeOH溶液に $\text{K}_2\text{CO}_3$  (3.0 eq.)加え、一晩攪拌後、通常の後処理により、目的のケトン体 *trans-4-8*を得た。(Scheme 4-14)

Scheme 4-14



続いて、ケトン体 **4-8**のWittig-olefinationによるハロメチレン体 **4-9**の合成を検討した。この反応については、第二章、三章でも述べたように、種々ケトン体で行っているが、塩基として用いているヘキサメチルジシラザン由来のTMS付加体 **4-9-TMS**や、プロトン化された **4-9-H**が生成することが問題視されてきた。これらの知見から塩基の検討を行った。(Scheme 4-15)

Scheme 4-15

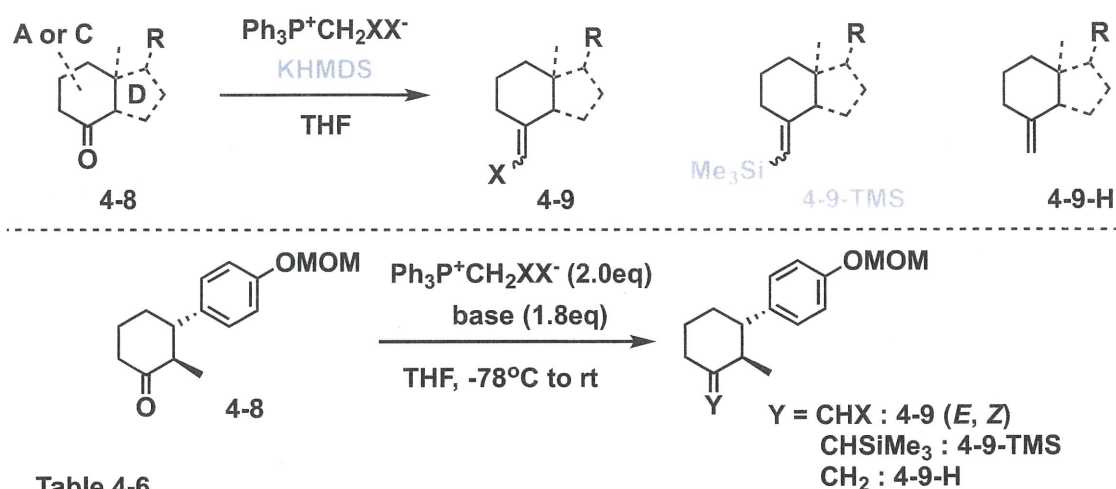
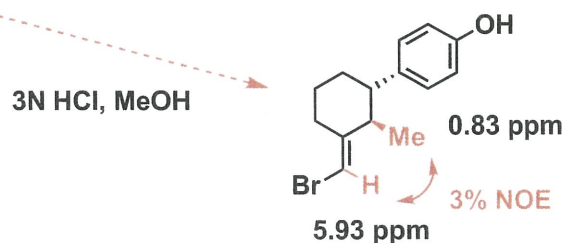


Table 4-6

entry	X	base	4-9-( <i>E</i> ) : 4-9-( <i>Z</i> ) : 4-9-TMS : 4-9-H	conversion (%)
1	Br	KHMDS	94 : 0 : 0 : 6	100
2	↓	<i>n</i> -BuLi	0 : 0 : 0 : 100	100
3		LTMP	100 : 0 : 0 : 0	28
4		LDA	100 : 0 : 0 : 0	100
5		I	LDA	74 : 0 : 0 : 26



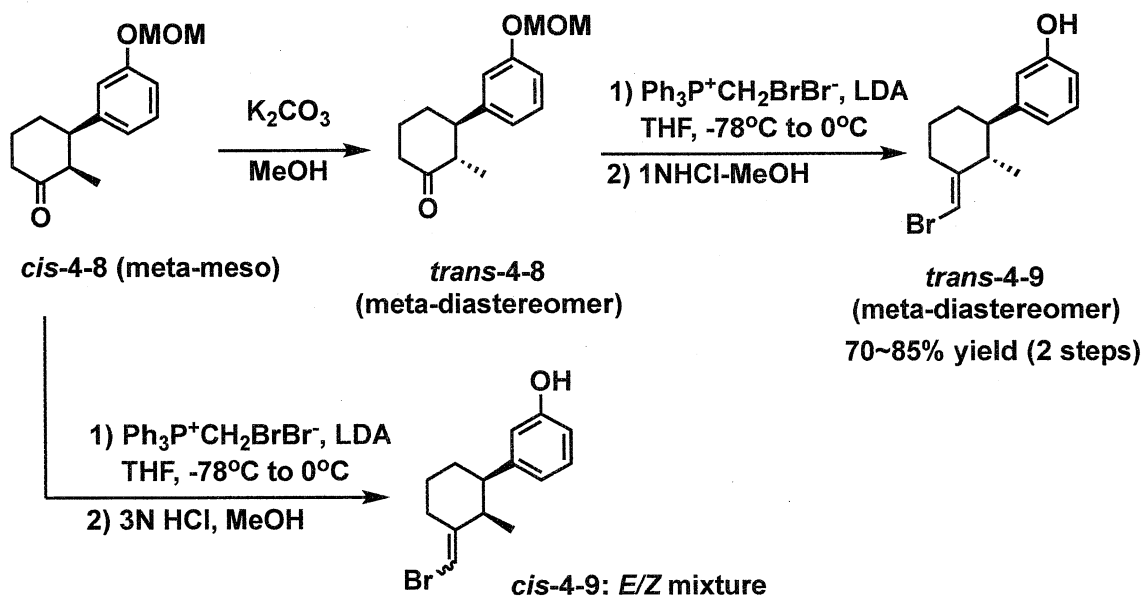
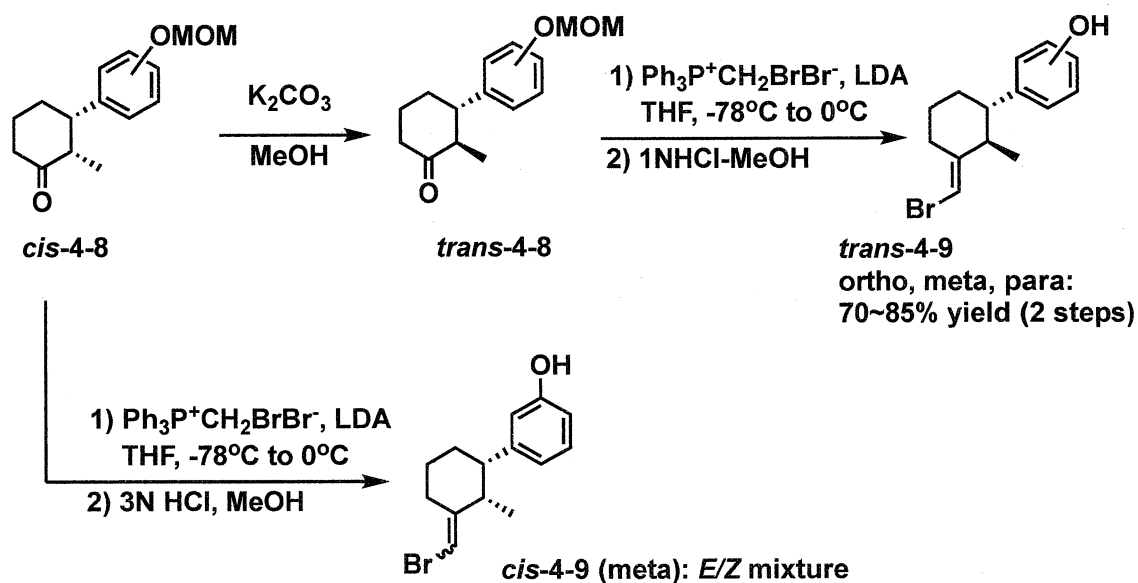
即ち、 $\text{Ph}_3\text{P}^+(\text{CH}_2\text{IX})\text{X}^-$  (3.0 eq., X = Br, I)のTHF溶液 (0.5 M)を $-78^\circ\text{C}$ に冷却し、別途調整したLDA (1.0 M in THF, 2.8 eq.)を加え、 $0^\circ\text{C}$ に昇温後1時間攪拌しリンイリドを調整した。このリンイリド溶液を $-78^\circ\text{C}$ に冷却後、ケトン体 **4-8**のTHF溶液 (0.5 M)を加え、3時間かけて $0^\circ\text{C}$ に昇温後、1時間攪拌し、Hexaneを加え、濾過と濃縮により、目的のハロメチレン体を得た。反応検討の結果、塩基にLDAを用いた条件で、目的のハロメチレン体**4-9**が得られたため、この条件を採用した。

さらに、このハロメチレン体 **4-9**のMeOH溶液 (0.1 M)に3N HCl (1.0 M)を加え、室温で3日間攪拌後、通常の後処理を行うことで、脱保護体を得た。この脱保護体のNOEDIF測定により、アルケン部とメチル基のプロトン間に3%のNOEを観測した

ため, *E*体選択的にブロモメチレン体が得られていると判断した。(Table 4-6, entry 4)

この検討結果を基に, 残りのケトン体 4-8についても同様の反応検討を行った。(Scheme 4-16)

Scheme 4-16



結果として、ケトン体 *trans*-4-8からの合成は問題なく反応が進行したが、*cis*-4-8では、対応するハロメチレン体 *cis*-4-9の*E/Z*混合物が得られる結果であった。

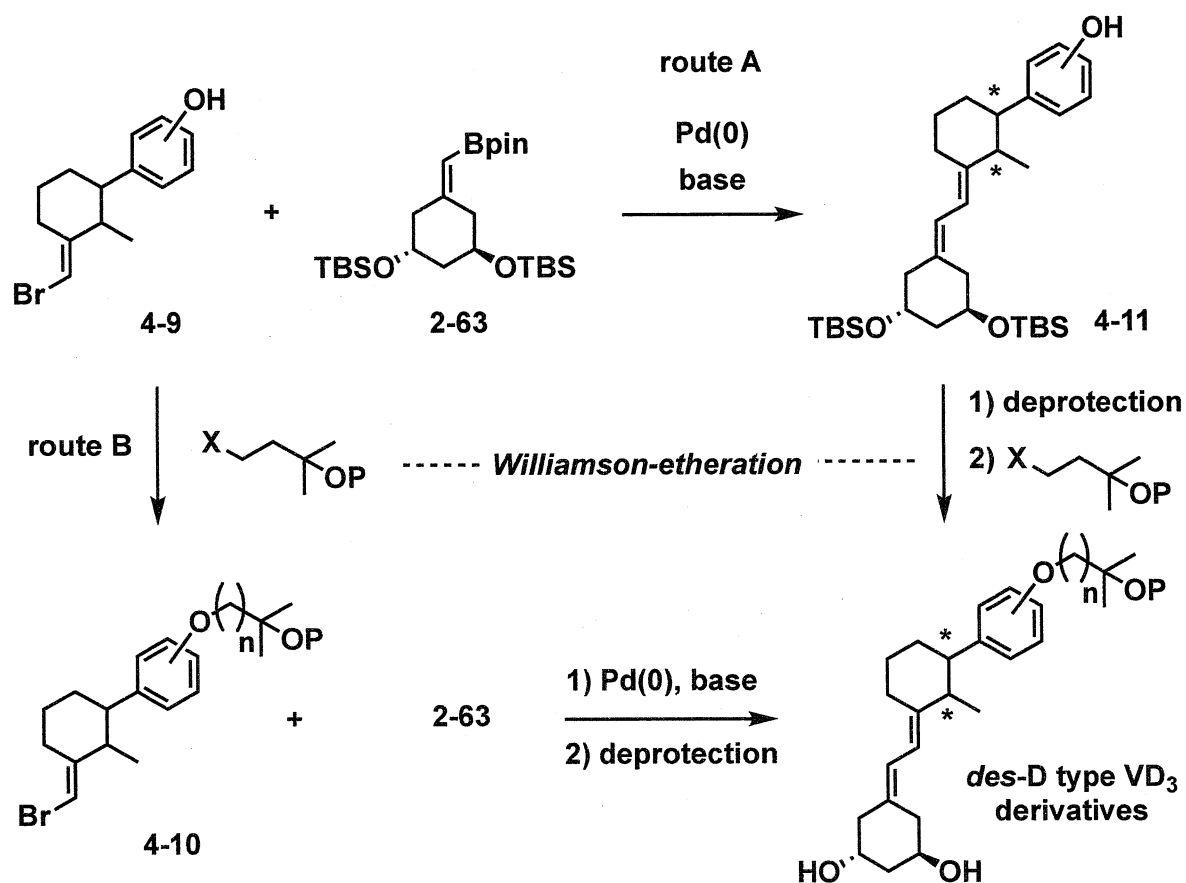
これら合成したC環部ユニットの最終的なジアステレオマー比 (dr)は90:10 ~ 85:15であり、このジアステレオ異性体の生成は、エノン体 4-5のCBS還元反応での不斉収率とアルコール体 4-6の2級アルコールの保護を経由する接触水素化反応で生成するジアステレオ異性体が反映された結果である。

ここで、合成したC環部アルコール体が白色結晶として得られているため、再結晶法によるジアステレオマー比の改善を検討しているが、現状、再結晶は可能であるもののジアステレオマー比の改善には至っていない。

4-3. *des*-D型ビタミンD誘導体の合成

合成したC環部ユニットとA環部ユニットとのカップリング反応による*des*-D型ビタミンD誘導体ライブラリーの構築を実施した。誘導体ライブラリーの構築は、A-C環部ユニットのSuzuki-Miyaura Coupling反応、側鎖の導入、脱保護により誘導体を構築する手法 (**route A**)と、側鎖を導入したC環部ユニットとA環部ユニットのSuzuki-Miyauraカップリング反応、脱保護を経由して誘導体を構築する手法 (**route B**)を検討した。(Scheme 4-17)

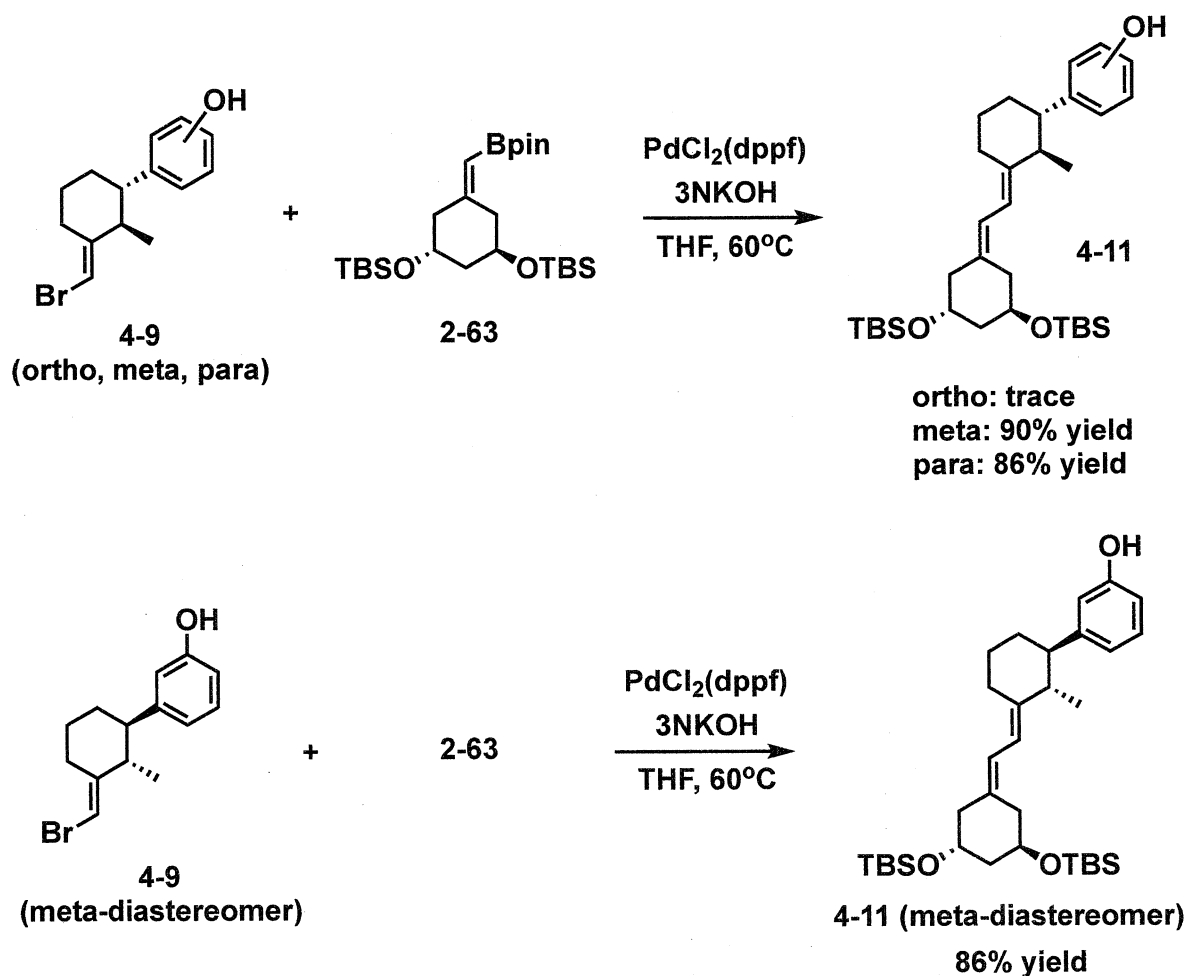
Scheme 4-17



初めに、C環部アルコール体ユニット **4-9**とA環部ユニット **2-63**とのカップリング反応の検討を行った。即ち、Ar雰囲気下、C環部アルコール体 **4-9**とPdCl<sub>2</sub>(dppf) (10 mol%)のTHF溶液 (1.0 M)に、A環部ユニット **2-63**のTHF溶液 (0.5 M)と3NKOH (5.0

M)を加え、60°Cで24時間攪拌後、etherを加え、セライトによる濾過と濃縮後、シリカゲルカラムクロマトグラフィーによりカップリング体 **4-11**を得た。(Scheme 4-18)

Scheme 4-18



カップリング反応検討の結果、側鎖位置異性体, meta位, para位のカップリング体の収率は86~90%の収率で得られたが, ortho 位の誘導体合成を目的とした条件では, 原料体は全て消費するものの, 目的のカップリング体がほとんど得られず, 反応系が複雑化する結果であった。

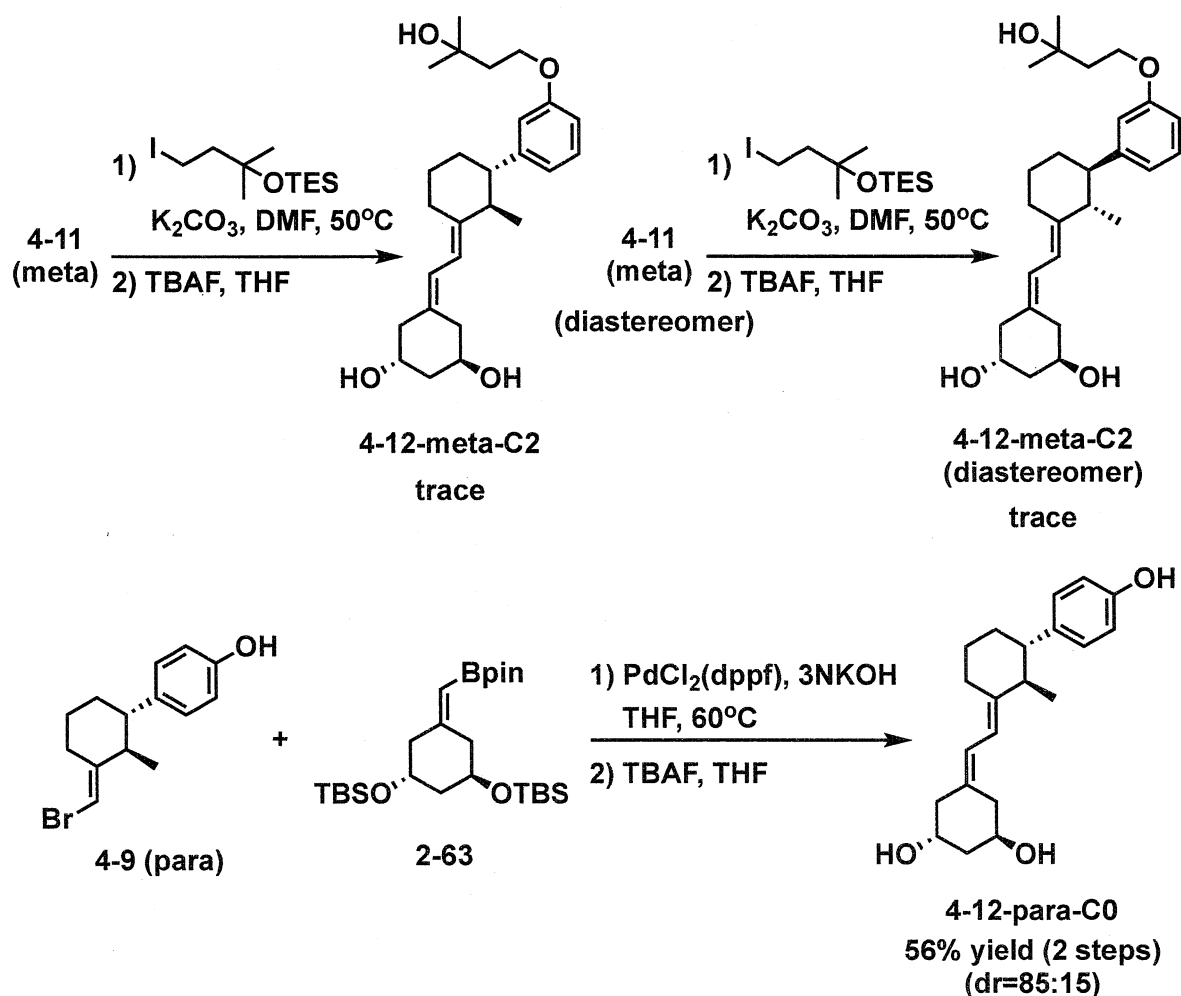
続いて, 得られたカップリング体 **4-11**に側鎖の導入検討を行った。即ち, カップリング体 **4-11**のDMF溶液 (0.5 M)に側鎖ユニット (3.0 eq)と $\text{K}_2\text{CO}_3$  (5.0 eq.)を加え, 50°Cで24時間攪拌後, 通常の後処理により, 対応するトリシリル体の粗生成物を得

た。この粗生成物のTHF溶液 (1.0 M)にTBAF (10.0 eq)のTHF溶液 (1.0 M)を加え、3時間攪拌後、通常の後処理により *des*-D型ビタミンD誘導体**4-12**を得た。

しかしながら、この合成手法 (**route A**)では、カップリング体と導入する側鎖ユニットがともに低極性であり、反応完結の判断や単離をすることが容易ではないことや、側鎖ユニットを過剰量使用するため、脱保護で使用するTBAFもその分過剰量必要となり、誘導体として効率的に単離することが困難であり、全ての条件で低収率であった。

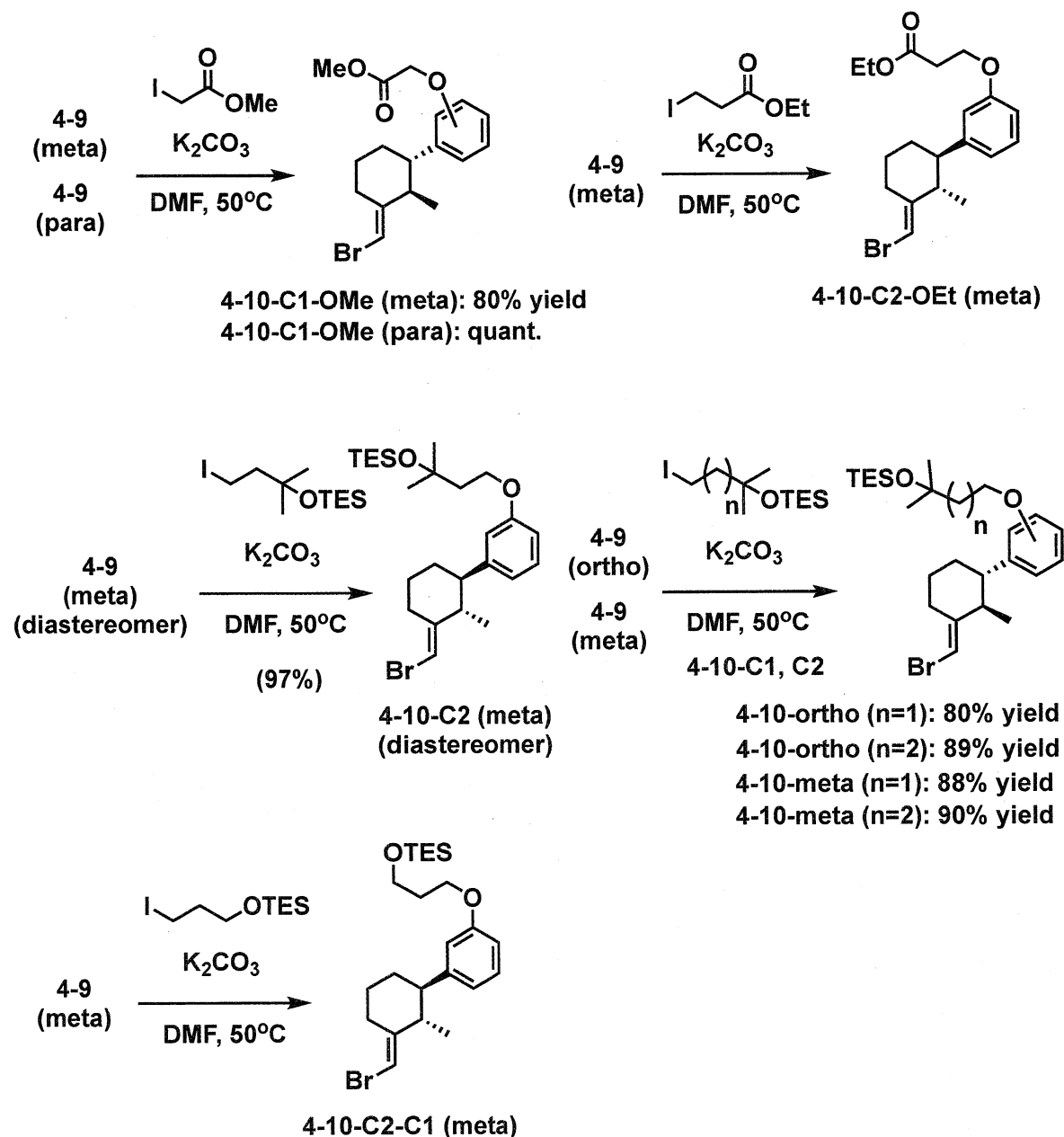
カップリング体 **4-11**は側鎖を導入しない誘導体合成を目的として、カップリング体 **4-11**のTHF溶液 (1.0 M)にTBAF (3.0 eq)のTHF溶液 (1.0 M)を加え、12時間攪拌後、通常の後処理により、*des*-D型ビタミンD誘導体 **4-12-para-C0**を得た (56%, 2 steps)。(**Scheme 4-19**)

Scheme 4-19



以上の結果から、先にC環部アルコール体に側鎖を導入する手法 (**route B**)による誘導体ライブラリーの構築を検討した。まず、C環部に対応する側鎖ユニットをWilliamson etherationにより導入した。(Scheme 4-20)

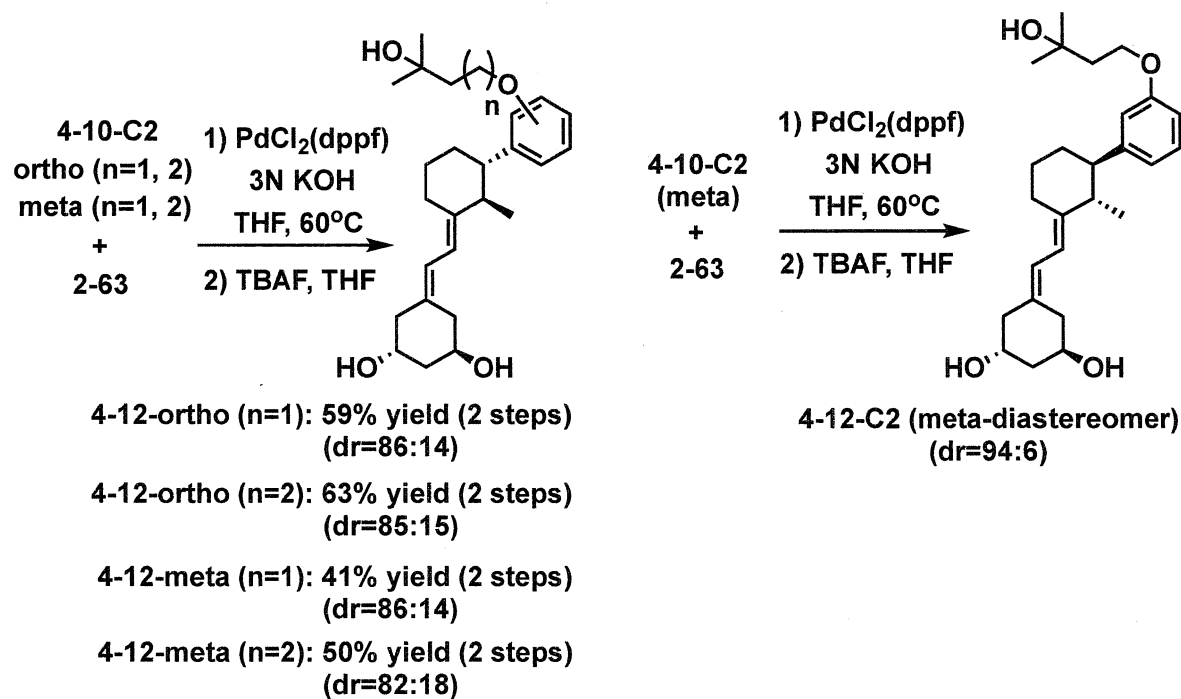
Scheme 4-20





C環部ユニットへの側鎖導入と単離は問題なく行えたため、C環部ユニットとA環部ユニットとのカップリング反応と脱保護による*des*-D型ビタミンD誘導体の合成を検討した。(Scheme 4-21)

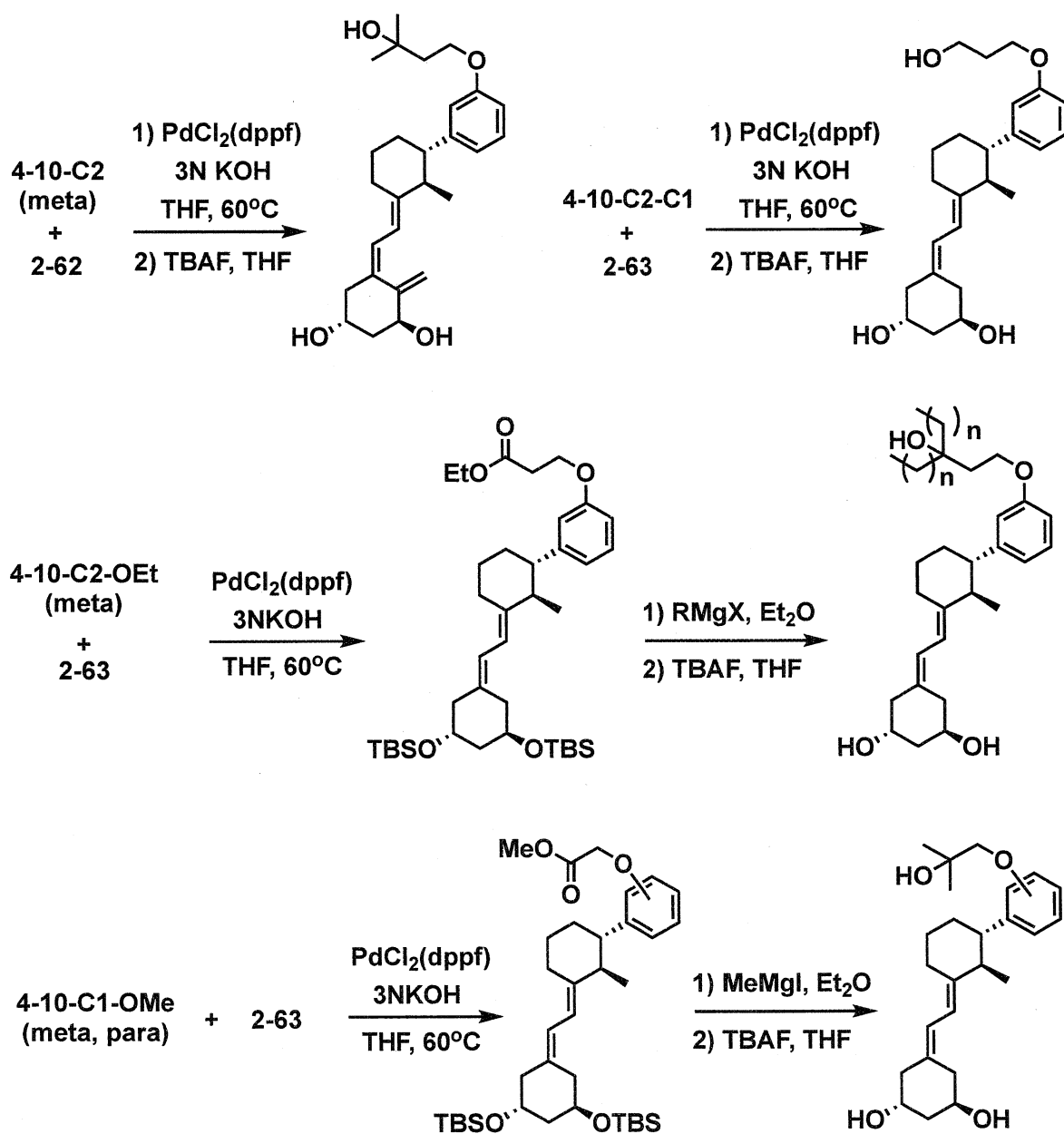
Scheme 4-21



検討の結果、この合成手法により収率50~60% (2 steps)の範囲で誘導体合成を行うことが可能であり、*des*-D型ビタミンD誘導体のライブラリーとしての構築が可能であった。これら誘導体の光学純度はC環部の光学純度に依存するため、dr 82:18~94:6の範囲である。

この他、合成しているC環部ユニットとA環部ユニットのカップリング反応により、下記誘導体合成を行える段階である。(Scheme 4-22)

Scheme 4-22



## 4-4. 結論

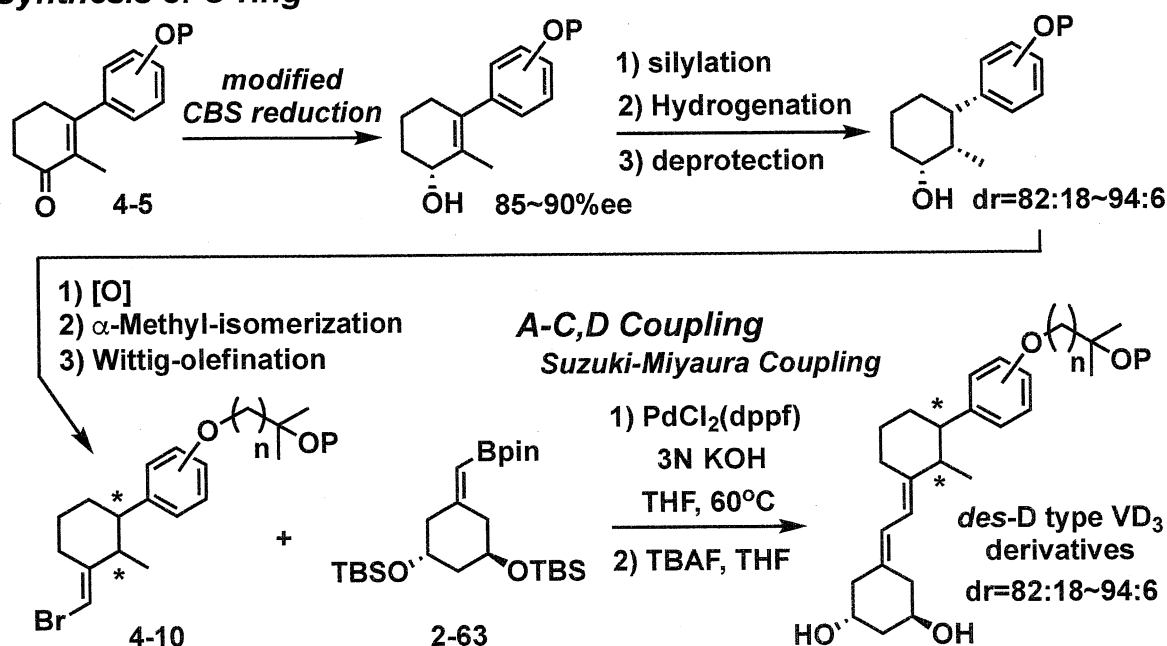
本章では, *des*-型ビタミンD誘導体の検討を行い, 以下の結果が得られた。

(Figure 4-11)

- 1) C環部ユニットは, エノン体 **4-1**のCorey-Bakshi-Shibata Reductionによる不斉還元と, 2級アルコールの保護を経由する接触水素化, 2級アルコールの酸化反応後の $\alpha$ -methyl基の異性化, 続くWittig-olefinationにより, ハロメチレン体 **4-3**の合成が可能であった。合成したC環部ユニットの光学純度は, CBS還元と接触水素化反応の影響により, ジアステレオマー比 (dr) 82:18~94:6の範囲である。
- 2) *des*-D型ビタミンD誘導体は, 先に側鎖を導入したC環部ユニットとA環部ユニットのSuzuki-Miyaura Coupling反応により構築することが可能であった。これら誘導体のジアステレオマー比は, 使用したC環部ユニットと同等のものである。最終的な誘導体としての光学純度の改善に課題は残るものの, この種の誘導体合成は比較的短い合成ルートで構築することが可能であり, 多種類の誘導体ライブラリー構築が可能である。

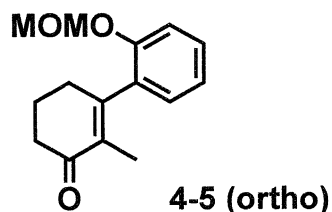
Figure 4-11

## Synthesis of C-ring



### Experimental Section (chapter 4)

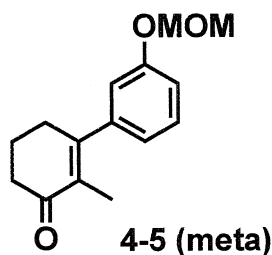
**General Procedures.** NMR spectra were recorded in CDCl<sub>3</sub> at 600 and 500 MHz for <sup>1</sup>H and 150 and 125 MHz for <sup>13</sup>C on JEOL JNM-ECA600 and -ECA500 spectrometers, respectively. Chemical shifts are reported in parts per million (ppm, δ) relative to Me<sub>4</sub>Si (δ 0.00) or residual CHCl<sub>3</sub> (δ 7.26 for <sup>1</sup>H NMR) and CDCl<sub>3</sub> (δ 77.0 for <sup>13</sup>C NMR). IR spectra were recorded on a JASCO IR FT/IR 4100 spectrometer. High-resolution mass spectra (HR-MS) were measured on a JEOL Accu TOF T-100 equipped with an ESI ionization unit. All reactions sensitive to oxygen and/or moisture were performed under an argon atmosphere. Dry solvents [tetrahydrofuran (THF), *N,N*-dimethylformamide (DMF), dichloromethane (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>), toluene, and diethyl ether (ether)] were purchased from Kanto Chemicals. PdCl<sub>2</sub>(dppf) was purchased from Sigma-Aldrich and used as received. Grignard reagent was prepared from Mg turnings and the corresponding bromide in THF.



#### 2'-(methoxymethoxy)-2-methyl-5,6-dihydro-[1,1'-biphenyl]-3(4*H*)-one (4-5 (ortho)).

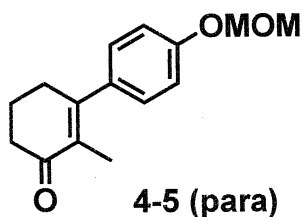
Under Ar atmosphere, to a solution of 1-iodo-2-(methoxymethoxy)benzene (1.5 eq) in THF was added *n*-BuLi (1.5 eq) at -78°C. After being stirred for 30min at 0°C and then cooling to -78°C, to the lithiated reagent was added **3-isobutoxy-2-methylcyclohex-2-en-1-one (4-4)** at -78 °C and stirred for 1.5 h. The reaction mixture was quenched with aqueous HCl and extracted with AcOEt. The combined organic layers were washed with saturated aqueous NaHCO<sub>3</sub> and brine, dried over MgSO<sub>4</sub>, filtered through a pad of Celite and concentrated under reduced pressure. The resulting residue was purified by column chromatography on silica gel (hexane/AcOEt) to give **4-5 (ortho)** in 58% yield. **4-5 (ortho)**: <sup>1</sup>H NMR (600 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 7.28 (ddd, *J* = 3.6, 6.0, 8.4 Hz, 1H, Ar), 7.16 (d, *J* = 8.4 Hz, 1H, Ar), 7.03-7.02 (m, 2H, Ar), 5.16 (s, 2H, CH<sub>3</sub>OCH<sub>2</sub>), 3.44 (s, 3H, CH<sub>3</sub>OCH<sub>2</sub>), 2.68 (brs, 1H, CH<sub>2</sub>), 2.54 (q, *J* = 6.0 Hz, 2H, CH<sub>2</sub>),

2.47 (brs, 1H,  $\text{CH}_2$ ), 2.09 (brs, 2H, Allylic  $\text{CH}_2$ ), 1.61 (s, 3H,  $\text{CH}_3$ );  $^{13}\text{C}$  NMR (150 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  200.0, 155.1, 153.0, 132.8, 131.1, 129.1, 128.3, 121.8, 114.8, 94.5, 56.1, 38.0, 32.2, 22.9, 12.7.



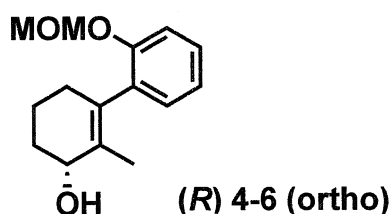
**3'-(methoxymethoxy)-2-methyl-5,6-dihydro-[1,1'-biphenyl]-3(4H)-one (4-5 (meta)).**

Under Ar atmosphere, to a mixture of Mg turnings (3.0 eq) and THF was added dropwise 1-bromo-3-(methoxymethoxy)benzene (1.5 eq). After stirring for 30 min, to the solution of the Grignard reagent was added **3-isobutoxy-2-methylcyclohex-2-en-1-one (4-4)** at 0 °C and stirred for 1.5 h. The reaction mixture was quenched with 1M HCl and extracted with ethyl acetate. The combined organic layers were washed with saturated aqueous  $\text{NaHCO}_3$  and brine, dried over  $\text{MgSO}_4$ , filtered through a pad of Celite and concentrated under reduced pressure. The resulting residue was purified by column chromatography on silica gel (hexane/AcOEt) to give **4-5 (meta)** in 76% yield. **4-5 (meta)**:  $^1\text{H}$  NMR (600 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  7.31 (dd,  $J = 7.8$  Hz, 1H, Ar), 7.01 (d,  $J = 7.8$  Hz, 1H, Ar), 6.88 (s, 1H, Ar), 6.84 (d,  $J = 7.8$  Hz, 1H, Ar), 5.19 (s, 2H,  $\text{CH}_3\text{OCH}_2$ ), 3.50 (s, 3H,  $\text{CH}_3\text{OCH}_2$ ), 2.63-2.61 (m, 2H,  $\text{CH}_2$ ), 2.52 (t,  $J = 6.5$  Hz, 2H,  $\text{CH}_2$ ), 2.09 (quint,  $J = 6.5$  Hz, 2H, Allylic  $\text{CH}_2$ ), 1.73 (s, 3H,  $\text{CH}_3$ );  $^{13}\text{C}$  NMR (150 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  200.0, 157.2, 156.2, 142.8, 131.9, 130.0, 120.6, 115.5, 115.1, 94.5, 56.1, 37.8, 32.8, 22.8, 12.9.



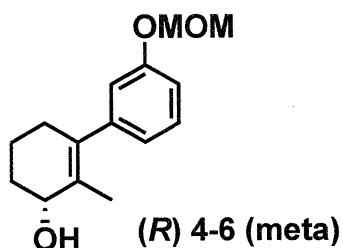
**4'-(methoxymethoxy)-2-methyl-5,6-dihydro-[1,1'-biphenyl]-3(4H)-one (4-5 (para)).**

In a similar manner to that for the synthesis of **3-isobutoxy-2-methylcyclohex-2-en-1-one (4-4)** from **4-5 (meta)**, target compound **4-5 (para)** was obtained from **4-4** in 76% yield. **4-5 (para)**:  $^1\text{H}$  NMR (600 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  7.16 (d,  $J = 8.9$  Hz, 2H, Ar), 7.06 (d,  $J = 8.9$  Hz, 2H, Ar), 5.20 (s, 2H,  $\text{CH}_3\text{OCH}_2$ ), 3.50 (s, 3H,  $\text{CH}_3\text{OCH}_2$ ), 2.63-2.61 (m, 2H,  $\text{CH}_2$ ), 2.51 (t,  $J = 6.6$  Hz, 2H,  $\text{CH}_2$ ), 2.08 (quint,  $J = 6.3$  Hz, 2H, Allylic  $\text{CH}_2$ ), 1.75 (s, 3H,  $\text{CH}_3$ );  $^{13}\text{C}$  NMR (150 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  200.1, 156.9, 156.1, 134.8, 131.7, 128.7, 115.9, 94.4, 56.1, 37.8, 32.9, 22.7, 13.0.



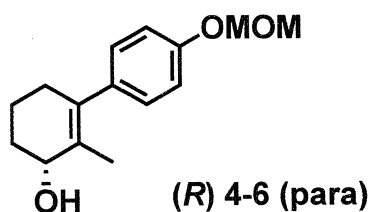
**(R)-2'-(methoxymethoxy)-2-methyl-3,4,5,6-tetrahydro-[1,1'-biphenyl]-3-ol ((R) 4-6 (ortho)).**

Under Ar-atmosphere (*S*)- $\alpha,\alpha$ -diphenylprolinol (15 mol%) and  $\text{B}(\text{OMe})_3$  (0.16 eq) were dissolved in THF. The mixture was stirred for 1 h at room temperature, before  $\text{BH}_3 \cdot N,N$ -diethylaniline (1.5 eq) was added and the resulting solution cooled to  $-10$  °C. A solution of **4-5 (ortho)** in THF was added over 45 min. Then the solution was stirred at  $-5$  °C for 12 h. The reaction mixture was quenched with 1M HCl and extracted with  $\text{Et}_2\text{O}$ . The combined organic layers were washed with brine, dried over  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ , filtered, and concentrated. The residue was purified by column chromatography on silicagel (hexane/AcOEt) to give **(R) 4-6 (ortho)** in 91 % yield. **(R) 4-6 (ortho)**:  $^1\text{H}$  NMR (600 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  7.20 (dd,  $J = 8.4$  Hz, 1H, Ar), 7.09 (d,  $J = 7.8$  Hz, 1H, Ar), 7.03 (brs, 1H, Ar), 6.98 (brs, 1H, Ar), 5.13 (s, 2H,  $\text{CH}_2\text{OCH}_3$ ), 4.13 (brd, 1H,  $\text{CHOH}$ ), 3.46 (s, 3H,  $\text{CH}_2\text{OCH}_3$ ), 2.33 (brd, 1H,  $\text{CH}_2$ ), 2.12-2.04 (m, 1H,  $\text{CH}_2$ ), 1.89-1.77 (m, 3H,  $\text{CH}_2$ , Allylic  $\text{CH}_2$ ), 1.70 (brs, 1H, Allylic  $\text{CH}_2$ ), 1.59 (s, 3H,  $\text{CH}_3$ ).



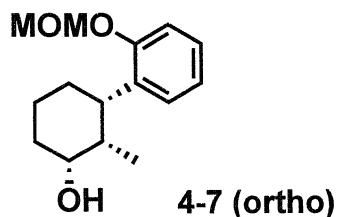
**(R)-3'-(methoxymethoxy)-2-methyl-3,4,5,6-tetrahydro-[1,1'-biphenyl]-3-ol ((R) 4-6 (meta)).**

In a similar manner to that for the synthesis of **(R) 4-6 (ortho)** from **4-5 (ortho)**, target compound **(R) 4-6 (meta)** was obtained from **4-5 (meta)** in 93% yield. **(R) 4-6 (meta)**:  $^1\text{H}$  NMR (600 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  7.24 (t, 1H,  $J = 7.8$  Hz, Ar), 6.91 (d, 1H,  $J = 7.8$  Hz, Ar), 6.82 (s, 1H, Ar), 6.78 (d, 1H,  $J = 7.8$  Hz, Ar), 5.17 (s, 2H,  $\text{CH}_2\text{OCH}_3$ ), 4.12 (brs, 1H,  $\text{CHOH}$ ), 3.49 (s, 3H,  $\text{CH}_2\text{OCH}_3$ ), 2.28-2.20 (m, 2H,  $\text{CH}_2$ ), 1.86-1.77 (m, 3H, Allylic  $\text{CH}_2$ ,  $\text{CH}_2$ ), 1.72-1.67 (m, 1H,  $\text{CH}_2$ ), 1.70 (s, 3H,  $\text{CH}_3$ );  $^{13}\text{C}$  NMR (150 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  157.1, 144.8, 136.5, 130.5, 129.1, 121.8, 116.1, 114.2, 94.5, 69.4, 56.0, 32.2, 32.0, 18.6, 17.7.



**(R)-4'-(methoxymethoxy)-2-methyl-3,4,5,6-tetrahydro-[1,1'-biphenyl]-3-ol ((R) 4-6 (para)).**

In a similar manner to that for the synthesis of **(R) 4-6 (ortho)** from **4-5 (ortho)**, target compound **(R) 4-6 (para)** was obtained from **4-5 (para)** in 93% yield. **(R) 4-6 (para)**:  $^1\text{H}$  NMR (600 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  7.06 (d, 2H,  $J = 9.0$  Hz, Ar), 6.99 (d, 2H,  $J = 9.0$  Hz, Ar), 5.18 (s, 2H,  $\text{CH}_2\text{OCH}_3$ ), 4.11 (brs, 1H,  $\text{CHOH}$ ), 3.50 (s, 3H,  $\text{CH}_2\text{OCH}_3$ ), 2.27-2.18 (m, 2H,  $\text{CH}_2$ ), 1.85-1.77 (m, 3H, Allylic  $\text{CH}_2$ ,  $\text{CH}_2$ ), 1.70 (s, 3H,  $\text{CH}_3$ );  $^{13}\text{C}$  NMR (150 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  155.8, 136.9, 136.2, 130.3, 129.2, 115.8, 94.5, 69.5, 56.0, 32.3, 32.0, 18.7, 17.7.



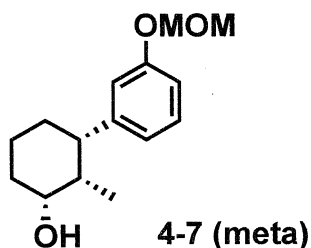
**(1*R*,2*S*,3*S*)-3-(2-(methoxymethoxy)phenyl)-2-methylcyclohexan-1-ol (4-7 (ortho)).**

To a mixture of alcohol (**R**) **4-6 (ortho)** and imidazole (2.0 eq) in DMF was added Et<sub>3</sub>SiCl (1.5 eq) at 0°C. After stirring for 3 h at room temperature, to this was added saturated aqueous NaHCO<sub>3</sub> at 0°C. The mixture was extracted with hexane, dried over MgSO<sub>4</sub>, filtered, and concentrated to provide the silyl ether, which was subjected to the next reaction without purification.

To a solution of the residue thus obtained in MeOH was added 10% Pd/C (5 wt%). Under H<sub>2</sub> atmosphere (1 atm) the suspension was stirred for 12 h at room temperature or 40°C and filtered through a pad of Celite. The filtrate was concentrated to provide the reductant of silyl ether, which was subjected to the next reaction without purification.

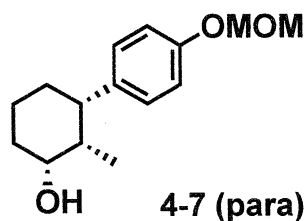
To a solution of the residue thus obtained in THF was added *n*-Bu<sub>4</sub>NF (1.5 eq) at 0°C. After stirring for 3 h at room temperature, saturated aqueous NH<sub>4</sub>Cl was added, and then the mixture was extracted with ether. The organic layer was dried over Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, filtered, concentrated and chromatographed on silica gel (hexane/AcOEt) to give **4-7 (ortho)** in 80% yield (dr 92:8). **4-7 (ortho)** <sup>1</sup>H NMR (600 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 7.15 (dd, *J* = 7.8 Hz, 1H, Ar), 7.12 (dd, *J* = 7.8 Hz, 1H, Ar), 7.08 (dd, *J* = 7.8 Hz, 1H, Ar), 6.96 (dd, *J* = 7.8 Hz, 1H, Ar), 5.20 (dd, *J* = 6.3, 10.5 Hz, 2H, CH<sub>2</sub>OCH<sub>3</sub>), 3.96 (ddd, *J* = 3.6, 12.0 Hz, 1H, CHOH), 3.49 (s, 3H, CH<sub>2</sub>OCH<sub>3</sub>), 3.22 (ddd, 1H, *J* = 3.6, 13.2 Hz, CHAr), 2.38 (ddq, *J* = 3.6, 7.2 Hz, 1H, CHCH<sub>3</sub>), 1.91-1.72 (m, 3H), 1.56-1.44 (m, 3H), 1.38 (brs, 1H, OH), 0.66 (d, *J* = 7.2 Hz, 3H, CHCH<sub>3</sub>); <sup>13</sup>C NMR (150 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 154.5, 133.2, 128.1, 126.8, 121.2, 113.7, 94.5, 73.7, 56.1, 39.1, 38.2, 28.7, 24.4, 23.2, 5.9.





**(1*R*,2*S*,3*S*)-3-(3-(methoxymethoxy)phenyl)-2-methylcyclohexan-1-ol (4-7 (meta)).**

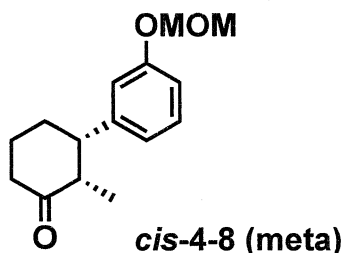
In a similar manner to that for the synthesis of **4-7 (ortho)** from (*R*) **4-6 (ortho)**, target compound **4-7 (meta)** was obtained from (*R*) **4-6 (meta)** in 91% yield (dr 96:4). **4-7 (meta)**:  $^1\text{H NMR}$  (600 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  7.21 (dd,  $J = 7.8$  Hz, 1H, Ar), 6.88 (dd,  $J = 2.4, 7.8$ , 1H, Ar), 6.85 (s, 1H, Ar), 6.83 (d, 1H,  $J = 7.8$  Hz, Ar), 5.20 (d,  $J = 1.2$  Hz, 2H,  $\text{CH}_2\text{OCH}_3$ ), 3.92 (ddd,  $J = 3.6, 11.4$  Hz, 1H,  $\text{CHOH}$ ), 3.48 (s, 3H,  $\text{CH}_2\text{OCH}_3$ ), 2.79 (ddd,  $J = 3.6, 13.2$  Hz, 1H,  $\text{CHAr}$ ), 2.25 (dq,  $J = 3.6, 7.2$  Hz, 1H,  $\text{CHCH}_3$ ), 1.88 (dddd,  $J = 3.0, 13.2$  Hz, 1H,  $\text{CH}_2$ ), 1.73 (dddd,  $J = 4.2, 12.6$  Hz,  $\text{CH}_2$ ), 1.73-1.70 (m, 1H,  $\text{CH}_2$ ), 1.59 (dddd,  $J = 3.0, 13.2$  Hz, 1H,  $\text{CH}_2$ ), 1.55 (brs, 1H, OH), 1.49 (dddd,  $J = 4.2, 12.6$  Hz, 1H,  $\text{CH}_2$ ), 1.40 (dddd, 3.6, 13.2 Hz, 1H,  $\text{CH}_2$ ), 0.66 (d,  $J = 7.2$  Hz, 3H,  $\text{CHCH}_3$ );  $^{13}\text{C NMR}$  (150 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  157.2, 146.4, 129.0, 121.1, 115.7, 113.4, 94.5, 73.7, 55.9, 45.5, 41.4, 28.4, 24.1, 22.9, 5.5.



**(1*R*,2*S*,3*S*)-3-(4-(methoxymethoxy)phenyl)-2-methylcyclohexan-1-ol (4-7 (para)).**

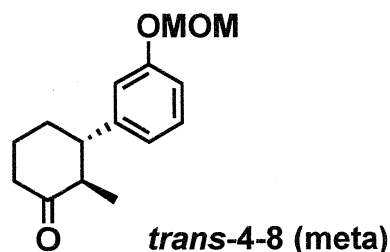
In a similar manner to that for the synthesis of **4-7 (ortho)** from (*R*) **4-6 (ortho)**, target compound **4-7 (para)** was obtained from (*R*) **4-6 (para)** in 97% yield (dr 94:6). **4-7 (para)**:  $^1\text{H NMR}$  (600 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  7.09 (d,  $J = 7.8$  Hz, 2H, Ar), 6.97 (d,  $J = 7.8$  Hz, 2H, Ar), 5.16 (s, 2H,  $\text{CH}_2\text{OCH}_3$ ), 3.92 (m, 1H,  $\text{CHOH}$ ), 3.48 (s, 3H,  $\text{CH}_2\text{OCH}_3$ ), 2.77 (ddd,  $J = 3.4, 12.9$  Hz, 1H,  $\text{CHAr}$ ), 2.21 (dq,  $J = 3.4, 6.9$  Hz, 1H,  $\text{CHCH}_3$ ), 1.88 (dddd,  $J = 3.0,$

13.1 Hz, 1H,  $\text{CH}_2$ ), 1.72 (dddd,  $J = 3.6, 13.2$  Hz, 1H,  $\text{CH}_2$ ), 1.56 (brs, 1H, OH), 1.49 (dddd,  $J = 3.8, 12.6$  Hz, 1H,  $\text{CH}_2$ ), 1.41 (dddd,  $J = 3.9, 13.1$  Hz, 2H,  $\text{CH}_2$ ), 0.65 (d,  $J = 7.8$  Hz, 3H,  $\text{CHCH}_3$ );  $^{13}\text{C}$  NMR (150 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  155.4, 138.1, 128.4, 115.9, 94.6, 73.8, 56.0, 44.9, 41.6, 28.5, 24.2, 23.2, 5.4.



**(2*S*,3*S*)-3-(3-(methoxymethoxy)phenyl)-2-methylcyclohexan-1-one (*cis*-4-8 (meta)).**

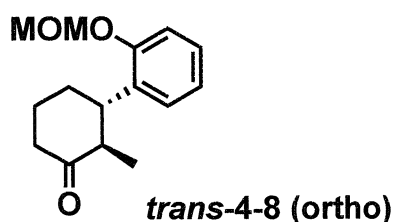
To a solution of **4-7 (meta)** in  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  was added PCC (1.5 eq) and Celite at  $0^\circ\text{C}$ . After stirring for 3 h at room temperature, the solid material was filtered off and concentrated to provide the ***cis*-4-8 (meta)**, which was subjected to the next reaction without purification. ***cis*-4-8 (meta)**:  $^1\text{H}$  NMR (600 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  7.22 (dd,  $J = 8.2$  Hz, 1H, Ar), 6.91 (dd,  $J = 1.8, 8.2$  Hz, 1H, Ar), 6.81 (s, 1H, Ar), 6.77 (d,  $J = 7.8$  Hz, 1H, Ar), 5.16 (s, 2H,  $\text{CH}_2\text{OCH}_3$ ), 3.48 (s, 3H,  $\text{CH}_2\text{OCH}_3$ ), 3.30 (ddd,  $J = 4.5, 9.0$  Hz, 1H,  $\text{CHAr}$ ), 2.73 (quint,  $J = 6.6, 13.2$  Hz, 1H,  $\text{CH}_2$ ), 2.56 (ddd,  $J = 5.4, 9.7, 15.0$  Hz, 1H,  $\text{CH}_2$ ), 2.40 (ddd,  $J = 5.4, 15.0$  Hz, 1H,  $\text{CH}_2$ ), 2.10-1.98 (m, 3H), 1.80-1.70 (m, 1H,  $\text{CH}_2$ ), 0.94 (d,  $J = 6.6$  Hz, 2H,  $\text{CHCH}_3$ );  $^{13}\text{C}$  NMR (150 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  214.7, 157.4, 143.6, 129.3, 121.5, 116.3, 114.0, 94.5, 56.0, 49.8, 47.6, 38.7, 27.1, 23.9, 12.1.



**(2*R*,3*S*)-3-(3-(methoxymethoxy)phenyl)-2-methylcyclohexan-1-one (*trans*-4-8 (meta)).**

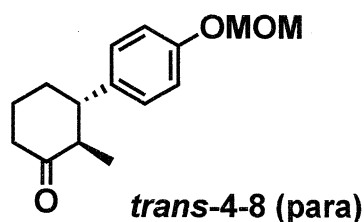
To a solution of the residue thus obtained in MeOH was added  $\text{K}_2\text{CO}_3$  (3.0 eq). The

mixture was stirred at room temperature for 24 h and the added H<sub>2</sub>O. The combined organic layers were extracted with hexane, dried over MgSO<sub>4</sub>, filtered, and concentrated to give **trans-4-8 (meta)** in 97% yield. **trans-4-8 (meta)**: <sup>1</sup>H NMR (600 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 7.24 (d, *J* = 8.4, 1H, Ar), 6.92 (dd, *J* = 2.4, 8.4 Hz, 1H, Ar), 6.87 (s, 1H, Ar), 6.85 (d, *J* = 7.2 Hz, 1H, Ar), 5.18 (d, *J* = 1.8 Hz, 2H, CH<sub>2</sub>OCH<sub>3</sub>), 3.49 (s, 3H, CH<sub>2</sub>OCH<sub>3</sub>), 2.61 (sext, *J* = 6.1 Hz, 1H, CH<sub>2</sub>), 2.51 (ddd, *J* = 4.2, 12.0 Hz, 1H, CH<sub>2</sub>), 2.55-2.43 (m, 1H, CH<sub>2</sub>), 2.47 (dq, *J* = 6.0, 13.8 Hz, 1H, CHCH<sub>3</sub>), 2.14 (dddd, *J* = 3.0, 13.8 Hz, 1H, CH<sub>2</sub>), 2.01-1.99 (m, 1H, CH<sub>2</sub>), 1.93 (ddd, *J* = 3.6, 13.8 Hz, 1H, CHAr), 1.75 (dddd, *J* = 4.2, 13.2 Hz, 1H, CH<sub>2</sub>), 0.83 (d, *J* = 6.6 Hz, 3H, CHCH<sub>3</sub>); <sup>13</sup>C NMR (150 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 212.3, 157.6, 145.6, 129.6, 120.8, 115.3, 114.1, 94.5, 56.0, 53.1, 50.5, 41.8, 34.4, 26.5, 12.3.



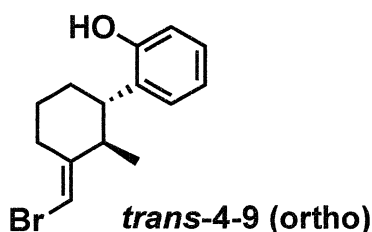
**(2*R*,3*S*)-3-(2-(methoxymethoxy)phenyl)-2-methylcyclohexan-1-one (trans-4-8 (ortho)).**

In a similar manner to that for the synthesis of **trans-4-8 (meta)** from **4-7 (meta)**, target compound **trans-4-8 (ortho)** was obtained from **4-7 (ortho)** in 91% yield. **trans-4-8 (ortho)**: <sup>1</sup>H NMR (600 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 7.22 (d, *J* = 7.8 Hz, 1H, Ar), 7.18 (dd, *J* = 7.8 Hz, 1H, Ar), 7.09 (d, *J* = 7.8 Hz, 1H, Ar), 7.01 (d, *J* = 7.8 Hz, 1H, Ar), 5.19 (dd, *J* = 6.0, 16.2 Hz, 2H, CH<sub>2</sub>OCH<sub>3</sub>), 3.46 (s, 3H, CH<sub>2</sub>OCH<sub>3</sub>), 3.15 (t, *J* = 10.5 Hz, 1H, CH<sub>2</sub>), 2.76 (sext, *J* = 6.0 Hz, 1H, CH<sub>2</sub>), 2.52-2.50 (m, 1H, CH<sub>2</sub>), 2.48 (dq, *J* = 6.0, 13.2 Hz, 1H, CHCH<sub>3</sub>), 2.13 (dddd, *J* = 3.2, 6.0 Hz, 1H, CH<sub>2</sub>), 2.02-1.92 (m, 2H, CH<sub>2</sub>), 1.78 (ddd, *J* = 4.2, 13.2 Hz, 1H, CHAr), 0.83 (d, *J* = 7.2 Hz, 3H, CHCH<sub>3</sub>); <sup>13</sup>C NMR (150 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 212.3, 157.6, 145.6, 129.6, 120.8, 115.3, 114.1, 94.6, 94.5, 94.4, 56.0, 53.1, 50.5, 41.8, 34.4, 26.5, 12.3.



**(2*R*,3*S*)-3-(4-(methoxymethoxy)phenyl)-2-methylcyclohexan-1-one (*trans*-4-8 (para)).**

In a similar manner to that for the synthesis of *trans*-4-8 (*meta*) from 4-7 (*meta*), target compound *trans*-4-8 (*para*) was obtained from 4-7 (*para*) in 91% yield. *trans*-4-8 (*para*):  $^1\text{H}$  NMR (600 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  7.11 (d,  $J = 8.4$  Hz, 1H, Ar), 7.00 (d,  $J = 8.4$  Hz, 1H, Ar), 5.17 (s, 2H,  $\text{CH}_2\text{OCH}_3$ ), 3.49 (s, 3H,  $\text{CH}_2\text{OCH}_3$ ), 2.58 (sext,  $J = 6.2$  Hz, 1H,  $\text{CH}_2$ ), 2.50 (dddd,  $J = 3.0, 11.4$  Hz, 1H,  $\text{CH}_2$ ), 2.53-2.47 (m, 1H,  $\text{CH}_2$ ), 2.47 (dq,  $J = 6.0, 13.8$  Hz, 1H,  $\text{CHCH}_3$ ), 2.13 (dddd,  $J = 3.0, 13.8$  Hz, 1H,  $\text{CH}_2$ ), 1.99-1.95 (m, 1H,  $\text{CH}_2$ ), 1.91 (ddd,  $J = 3.6, 13.8$  Hz, 1H,  $\text{CHAr}$ ), 1.75 (dddd,  $J = 4.2, 13.2$  Hz, 1H,  $\text{CH}_2$ ), 0.81 (d,  $J = 6.0$  Hz, 3H,  $\text{CHCH}_3$ );  $^{13}\text{C}$  NMR (150 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) 212.4, 155.9, 137.3, 128.1, 116.3, 94.5, 56.0, 52.4, 50.8, 41.8, 34.6, 26.4, 12.2.

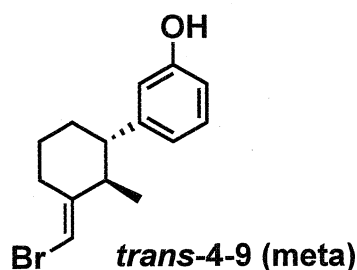


**2-((1*S*,2*R*,*E*)-3-(bromomethylene)-2-methylcyclohexyl)phenol (*trans*-4-9 (ortho)).**

To a mixture of  $\text{Ph}_3\text{P}^+(\text{CH}_2\text{Br})\text{Br}^-$  (3.0 eq) and THF was added LDA (1.0 M in THF, 2.9 eq) at  $-78^\circ\text{C}$ . It was allowed to warm to  $0^\circ\text{C}$  and stirred for 1 h. After cooling to  $-78^\circ\text{C}$ , to this was added a solution of *trans*-4-8 (*ortho*) and the mixture was stirred for 12h at  $0^\circ\text{C}$ . The mixture was filtered through a short pad of silica gel, washing with hexane. The solvent was removed under reduced pressure to provide the bromide, which was subjected to the next reaction without purification.

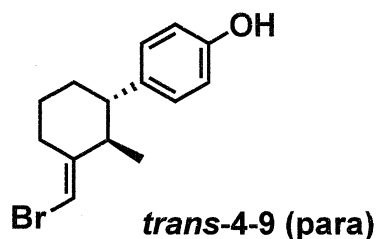
To a solution of the residue thus obtained in MeOH was added 3N HCl was added at  $0^\circ\text{C}$ . After stirred for 24h, the reaction mixture was quenched with saturated aqueous  $\text{NaHCO}_3$  and extracted with  $\text{Et}_2\text{O}$ . The combined organic layers were washed with brine, dried over

Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, filtered, and concentrated. The residue was purified by column chromatography on silicagel (hexane/AcOEt) to give **trans-4-9 (ortho)**. **trans-4-9 (ortho)**: <sup>1</sup>H NMR (600 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 7.17 (d, *J* = 7.8 Hz, 1H, Ar), 7.07 (d, *J* = 7.5 Hz, 1H, Ar), 6.91 (d, *J* = 7.5 Hz, 1H, Ar), 6.72 (d, *J* = 7.8 Hz, 1H, Ar), 5.94 (s, 1H, C=CH), 4.67 (brs, 1H, OH), 3.12-3.09 (m, 1H, CH<sub>2</sub>), 2.68 (ddd, *J* = 3.6, 10.8 Hz, 1H, CH<sub>2</sub>), 2.47 (sext, *J* = 6.0 Hz, CH<sub>2</sub>), 1.76 (ddd, *J* = 3.6, 12.6 Hz, 1H, CHAr), 1.95-1.84 (m, 3H), 1.76 (ddd, *J* = 3.6, 12.6 Hz, 1H, CHAr), 1.46 (dddd, *J* = 4.2, 12.6 Hz, 1H, CH<sub>2</sub>), 0.87 (d, *J* = 7.2 Hz, 3H, CHCH<sub>3</sub>); <sup>13</sup>C NMR (150 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 153.0, 148.5, 131.1, 127.8, 126.9, 121.1, 115.5, 98.9, 45.4, 43.1, 33.6, 32.4, 26.6, 15.3.



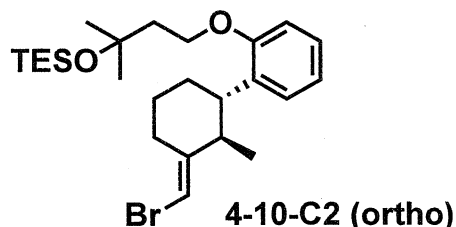
**3-((1*S*,2*R*,*E*)-3-(bromomethylene)-2-methylcyclohexyl)phenol (*trans*-4-9 (ortho)).**

In a similar manner to that for the synthesis of **trans-4-9 (ortho)** from **trans-4-8 (ortho)**, target compound **trans-4-9 (meta)** was obtained from **trans-4-8 (meta)**. **trans-4-9 (meta)** <sup>1</sup>H NMR (600 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 7.16 (dd, *J* = 8.1 Hz, 1H, Ar), 6.74 (d, *J* = 7.8 Hz, 1H, Ar), 6.68-6.65 (m, 2H, Ar), 5.93 (s, 1H, C=CH), 4.83-4.75 (m, 1H, OH), 3.10 (brd, *J* = 12.6 Hz, 1H, CH<sub>2</sub>), 2.32 (sext, *J* = 5.8 Hz, 1H, CH<sub>2</sub>), 2.18 (ddd, *J* = 4.2, 11.4 Hz, 1H, CHAr), 1.94-1.86 (m, 3H), 1.67 (dddd, *J* = 3.6, 12.6 Hz, 1H, CH<sub>2</sub>), 1.43 (dddd, *J* = 3.6, 13.2 Hz, 1H, CH<sub>2</sub>), 0.83 (d, *J* = 6.0 Hz, 3H, CHCH<sub>3</sub>); <sup>13</sup>C NMR (150 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 155.6, 148.3, 147.3, 129.6, 120.0, 114.2, 113.2, 99.1, 53.2, 43.7, 35.2, 32.4, 26.6, 15.7.



**4-((1*S*,2*R*,*E*)-3-(bromomethylene)-2-methylcyclohexyl)phenol (*trans*-4-9 (para)).**

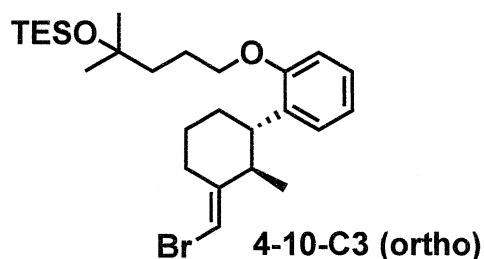
In a similar manner to that for the synthesis of *trans*-4-9 (ortho) from *trans*-4-8 (ortho), target compound *trans*-4-9 (para) was obtained from *trans*-4-8 (para). *trans*-4-9 (para):  $^1\text{H}$  NMR (600 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  7.03 (d,  $J = 8.4$  Hz, 1H, Ar), 6.77 (d,  $J = 8.4$  Hz, 1H, Ar), 5.92 (s, 1H, C=CH), 4.65 (brs, 1H, OH), 3.10-3.08 (m, 1H, CH<sub>2</sub>), 2.28 (sext,  $J = 5.8$  Hz, 1H, CH<sub>2</sub>), 2.17 (ddd,  $J = 4.2, 11.4$  Hz, 1H, CHAr), 1.94-1.85 (m, 3H), 1.65 (dddd,  $J = 3.0, 12.6$  Hz, 1H, CH<sub>2</sub>), 1.42 (dddd,  $J = 4.2, 13.2$  Hz, 1H, CH<sub>2</sub>), 0.81 (d,  $J = 6.0$  Hz, 3H, CHCH<sub>3</sub>);  $^{13}\text{C}$  NMR (150 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  153.8, 148.5, 137.7, 128.4, 115.2, 98.9, 52.5, 44.1, 35.5, 32.4, 26.6, 15.7.



**((4-(2-((1*S*,2*R*,*E*)-3-(bromomethylene)-2-methylcyclohexyl)phenoxy)-2-methylbutan-2-yl)oxy)triethylsilane (4-10-C2 (ortho)).**

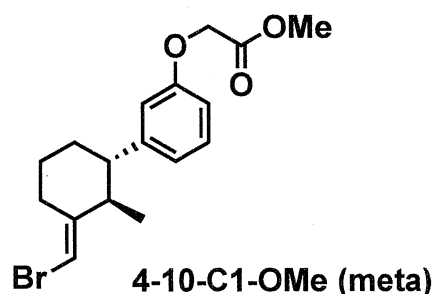
To a solution of alcohol *trans*-4-9 (ortho) in DMF was added  $\text{K}_2\text{CO}_3$  and triethyl((4-iodo-2-methylbutan-2-yl)oxy)silane. The mixture was stirred for 24 h at  $50^\circ\text{C}$ . After addition of  $\text{H}_2\text{O}$ , the mixture was extracted with ether. The combined organic layers were washed with brine, dried over  $\text{MgSO}_4$ , filtered, and concentrated. The residue was purified by column chromatography on silica gel (hexane/AcOEt) to give **4-10-C2 (ortho)**:  $^1\text{H}$  NMR (600 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  7.16 (d,  $J = 7.8$  Hz, 1H, Ar), 7.15 (d,  $J = 7.8$  Hz, 1H, Ar), 6.91 (d,  $J = 7.2$  Hz, 1H, Ar), 6.87 (d,  $J = 8.4$  Hz, 1H, Ar), 5.92 (s, 1H, C=CH), 4.10 (t,  $J = 6.9$  Hz, 2H, CH<sub>2</sub>OAr), 3.10-3.09 (m, 1H, CH<sub>2</sub>), 2.80 (brs, 1H, CH<sub>2</sub>), 2.47 (brs, 1H, CH<sub>2</sub>), 1.95 (t,  $J = 7.2$  Hz, 2H, CCH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>), 1.91-1.86 (m, 2H, CH<sub>2</sub>), 1.81-1.66 (m, 2H,

CH<sub>2</sub>), 1.46-1.40 (m, 1H, CH<sub>2</sub>), 1.30 (s, 3H, C(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>), 1.29 (s, 3H, C(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>), 0.95 (t, *J* = 7.8 Hz, 9H, Si(CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 0.82 (d, *J* = 7.2 Hz, 3H, CHCH<sub>3</sub>), 0.59 (q, *J* = 7.8 Hz, 6H, Si(CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>); <sup>13</sup>C NMR (150 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 156.6, 149.0, 133.4, 127.4, 126.9, 120.4, 111.5, 98.6, 72.4, 64.8, 43.8, 43.0, 33.8, 32.5, 30.5, 30.4, 26.7, 15.4, 7.1, 6.7.



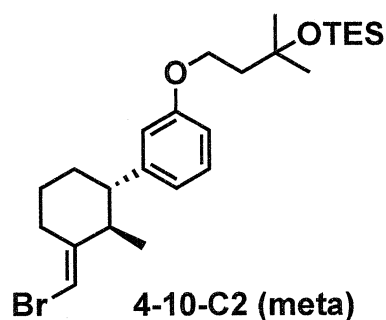
**((5-(2-((1*S*,2*R*,*E*)-3-(bromomethylene)-2-methylcyclohexyl)phenoxy)-2-methylpentan-2-yl)oxy)triethylsilane (4-10-C3 (ortho)).**

In a similar manner to that for the synthesis of **4-10-C2 (ortho)** from *trans*-**4-9 (ortho)**, target compound **4-10-C3 (ortho)** was obtained from *trans*-**4-9 (ortho)** and triethyl((5-iodo-2-methylpentan-2-yl)oxy)silane. *trans*-**4-9 (para)**: <sup>1</sup>H NMR (600 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 7.15 (d, *J* = 7.8 Hz, 1H, Ar), 7.14 (d, *J* = 7.8 Hz, 1H, Ar), 6.90 (d, *J* = 7.8 Hz, 1H, Ar), 6.87 (d, *J* = 7.8 Hz, 1H, Ar), 5.92 (s, 1H, C=CH), 3.94 (t, *J* = 6.6 Hz, 2H, CH<sub>2</sub>OAr), 3.11-3.08 (m, 1H, CH<sub>2</sub>), 2.78 (brs, 1H, CH<sub>2</sub>), 2.51 (brs, 1H, CH<sub>2</sub>), 1.92-1.72 (m, 6H, CH<sub>2</sub>), 1.58-1.56 (m, 2H, CH<sub>2</sub>), 1.48-1.40 (m, 1H, CH<sub>2</sub>), 1.24 (s, 6H, C(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>), 0.95 (t, *J* = 7.8 Hz, 9H, Si(CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 0.83 (d, *J* = 6.0 Hz, 3H, CHCH<sub>3</sub>), 0.57 (q, *J* = 7.8 Hz, 6H, Si(CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>); <sup>13</sup>C NMR (150 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 156.7, 148.9, 133.5, 127.7, 126.9, 120.5, 111.7, 98.6, 73.0, 68.7, 42.9, 41.7, 33.6, 32.5, 29.9, 26.7, 24.6, 15.4, 7.1, 6.8.



**methyl-2-(3-((1*S*,2*R*,*E*)-3-(bromomethylene)-2-methylcyclohexyl)phenoxy)acetate (4-10-C1-OMe (meta)).**

In a similar manner to that for the synthesis of **4-10-C2 (ortho)** from *trans*-**4-9 (ortho)**, target compound **4-10-C1-OMe (meta)** was obtained from *trans*-**4-9 (meta)** and methyl 2-iodoacetate. **4-10-C1-OMe (meta)**:  $^1\text{H}$  NMR (600 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  7.22 (d,  $J = 7.8$  Hz, 1H, Ar), 6.81 (d,  $J = 7.8$  Hz, 1H, Ar), 6.77 (s, 1H, Ar), 6.72 (dd,  $J = 2.4, 8.4$  Hz, 1H, Ar), 5.93 (s, 1H, C=CH), 4.63 (s, 2H,  $\text{CH}_2(\text{O})\text{CH}_3$ ), 3.81 (s, 3H,  $\text{CH}_2(\text{O})\text{CH}_3$ ), 3.11-3.09 (m, 1H,  $\text{CH}_2$ ), 2.32 (sext,  $J = 5.9$  Hz, 1H,  $\text{CH}_2$ ), 2.20 (ddd,  $J = 3.6, 10.8$  Hz, 1H,  $\text{CHAr}$ ), 1.96-1.87 (m, 3H,  $\text{CH}_2$ ,  $\text{CHCH}_3$ ), 1.67 (dddd,  $J = 3.0, 13.2$  Hz, 1H,  $\text{CH}_2$ ), 1.47-1.40 (m, 4H,  $\text{CH}_2$ ), 0.82 (d,  $J = 6.6$  Hz, 3H,  $\text{CHCH}_3$ );  $^{13}\text{C}$  NMR (150 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  169.4, 157.9, 148.2, 147.2, 133.4, 129.5, 121.0, 114.3, 111.7, 99.1, 65.4, 53.3, 52.2, 43.7, 35.3, 32.4, 26.6, 15.7.

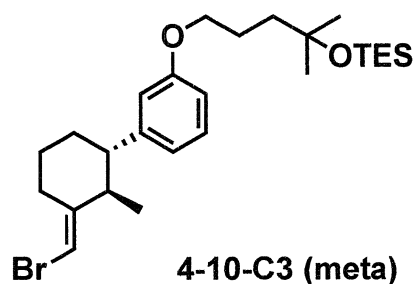


**((4-(3-((1*S*,2*R*,*E*)-3-(bromomethylene)-2-methylcyclohexyl)phenoxy)-2-methylbutan-2-yl)oxy)triethylsilane (4-10-C2 (meta)).**

In a similar manner to that for the synthesis of **4-10-C2 (ortho)** from *trans*-**4-9 (ortho)**, target compound **4-10-C2 (meta)** was obtained from *trans*-**4-9 (meta)** and triethyl((4-iodo-2-methylbutan-2-yl)oxy)silane. **4-10-C2 (meta)** :  $^1\text{H}$  NMR (600 MHz,

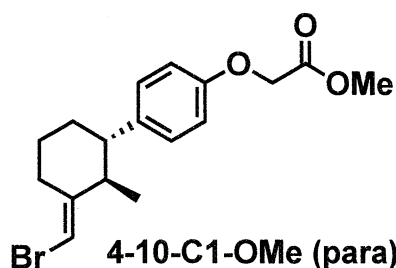


CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  7.20 (d,  $J = 7.8$  Hz, 1H, Ar), 6.75 (d,  $J = 7.8$  Hz, 1H, Ar), 6.74 (d,  $J = 7.8$  Hz, 1H, Ar), 6.71 (s, 1H, Ar), 5.93 (s, 1H, C=CH), 4.12 (t,  $J = 7.2$  Hz, 2H, CH<sub>2</sub>OAr), 3.11-3.09 (m, 1H, CH<sub>2</sub>), 2.33 (sext,  $J = 6.1$  Hz, 1H, CH<sub>2</sub>), 2.19 (ddd,  $J = 3.0, 12.0$  Hz, 1H, CHAr), 1.94 (t,  $J = 7.2$  Hz, 2H, CH<sub>2</sub>OSi), 1.95-1.86 (m, 4H, CH<sub>2</sub>, CHCH<sub>3</sub>), 1.69 (dddd,  $J = 3.6, 12.6$  Hz, 1H, CH<sub>2</sub>), 1.47-1.41 (m, 1H, CH<sub>2</sub>), 1.30 (s, 6H, C(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>), 0.95 (t,  $J = 7.8$  Hz, 9H, Si(CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 0.83 (d,  $J = 7.2$  Hz, 3H, CHCH<sub>3</sub>), 0.59 (q,  $J = 7.8$  Hz, 6H, Si(CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>); <sup>13</sup>C NMR (150 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  159.4, 148.4, 146.9, 129.4, 119.6, 113.9, 111.8, 99.0, 72.4, 64.7, 53.4, 43.8, 43.7, 35.3, 32.5, 30.4, 30.3, 26.6, 15.7, 7.1, 6.7.



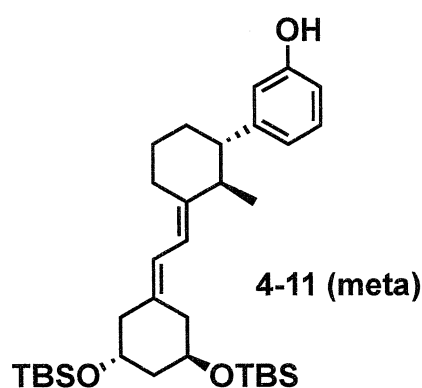
**((5-(3-((1S,2R,E)-3-(bromomethylene)-2-methylcyclohexyl)phenoxy)-2-methylpentan-2-yl)oxy)triethylsilane (4-10-C3 (meta)).**

In a similar manner to that for the synthesis of **4-10-C2 (ortho)** from *trans*-**4-9 (ortho)**, target compound **4-10-C3 (meta)** was obtained from *trans*-**4-9 (meta)** and triethyl((5-iodo-2-methylpentan-2-yl)oxy)silane. **4-10-C3 (meta)**: <sup>1</sup>H NMR (600 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  7.19 (d,  $J = 7.5$  Hz, 1H, Ar), 6.74-6.71 (m, 3H, Ar), 5.93 (s, 1H, C=CH), 3.95 (t,  $J = 7.2$  Hz, 2H, CH<sub>2</sub>OAr), 3.11-3.09 (m, 1H, CH<sub>2</sub>), 2.34 (sext,  $J = 5.9$  Hz, 1H, CH<sub>2</sub>), 2.19 (ddd,  $J = 3.0, 10.8$  Hz, 1H, CHAr), 1.94-1.85 (m, 6H), 1.69 (dddd,  $J = 3.6, 12.6$  Hz, 1H, CH<sub>2</sub>), 1.59-1.56 (m, 2H, CH<sub>2</sub>), 1.49-1.40 (m, 1H, CH<sub>2</sub>), 1.24 (s, 6H, C(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>), 0.95 (t,  $J = 7.8$  Hz, 9H, Si(CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 0.83 (d,  $J = 7.2$  Hz, 3H, CHCH<sub>3</sub>), 0.58 (q,  $J = 7.8$  Hz, 6H, Si(CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>); <sup>13</sup>C NMR (150 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  159.3, 148.4, 146.9, 129.3, 119.6, 113.8, 111.8, 99.0, 73.0, 68.4, 53.4, 43.7, 42.3, 41.3, 35.3, 32.4, 29.9, 26.6, 24.4, 15.7, 7.1, 6.8.



**methyl-2-(4-((1*S*,2*R*,*E*)-3-(bromomethylene)-2-methylcyclohexyl)phenoxy)acetate (4-10-C1-OMe (para)).**

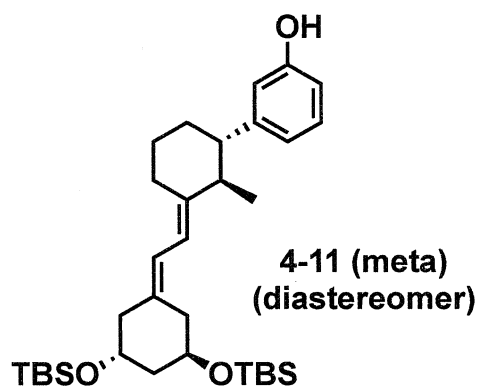
In a similar manner to that for the synthesis of 4-10-C2 (*ortho*) from *trans*-4-9 (*ortho*), target compound 4-10-C1-OMe (*para*) was obtained from *trans*-4-9 (*para*) and methyl 2-iodoacetate. 4-10-C1-OMe (*para*):  $^1\text{H NMR}$  (600 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  7.08 (d,  $J = 8.4$  Hz, 2H, Ar), 6.85 (d,  $J = 8.4$  Hz, 2H, Ar), 5.92 (s, 1H, C=CH), 4.62 (s, 2H,  $\text{CH}_2(\text{O})\text{CH}_3$ ), 3.81 (s, 3H,  $\text{CH}_2(\text{O})\text{CH}_3$ ), 3.11-3.08 (m, 1H,  $\text{CH}_2$ ), 2.30 (sext,  $J = 5.9$  Hz, 1H,  $\text{CH}_2$ ), 2.19 (ddd,  $J = 3.6, 12.0$  Hz, 1H,  $\text{CHAr}$ ), 1.94-1.85 (m, 3H,  $\text{CH}_2$ ,  $\text{CHCH}_3$ ), 1.66 (dddd,  $J = 3.6, 13.2$  Hz, 1H,  $\text{CH}_2$ ), 1.46-1.39 (m, 4H,  $\text{CH}_2$ ), 0.80 (d,  $J = 7.2$  Hz, 3H,  $\text{CHCH}_3$ );  $^{13}\text{C NMR}$  (150 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  169.5, 156.3, 148.4, 138.7, 128.3, 114.7, 99.0, 65.5, 52.5, 52.2, 44.0, 35.5, 32.4, 26.6, 15.7.



**3-((1*S*,2*R*,*E*)-3-(2-((3*R*,5*R*)-3,5-bis((*tert*-butyldimethylsilyl)oxy)cyclohexylidene)ethylidene)-2-methylcyclohexyl)phenol (4-11 (*meta*)).**

To a mixture of boronate 2-63 (1.2 eq), aqueous 3N KOH and THF was added dropwise a mixture bromide *trans*-4-9 (*meta*) and  $\text{PdCl}_2(\text{dppf})$  (8 mol%) in THF at room temperature. The resulting mixture was stirred for 12 h at 60°C. After addition of  $\text{Et}_2\text{O}$ , the mixture was

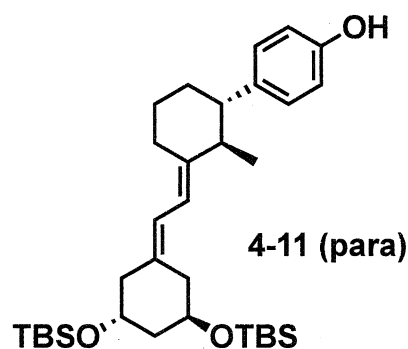
washed with 1N HCl and brine, dried over MgSO<sub>4</sub>, concentrated, passed through a short silica gel column with 1 % ether in hexane, and then concentrated to provide the coupling product **4-11 (meta)**. **4-11 (meta)**: <sup>1</sup>H NMR (600 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 7.15 (d, *J* = 8.4, 1H, Ar), 6.75 (d, *J* = 7.2 Hz, 1H, Ar), 6.67-6.66 (m, 2H, Ar), 6.19 (d, *J* = 10.8 Hz, 1H, CH=CH), 6.05 (d, *J* = 10.8 Hz, 1H, CH=CH), 4.90 (brs, 1H, OH), 4.11-4.06 (m, 2H, CHCH<sub>2</sub>CH), 2.96 (m, 1H, CH<sub>2</sub>), 2.41-2.27 (m, 4H), 2.19-2.12 (m, 2H), 1.91-1.78 (m, 4H), 1.71-1.60 (m, 3H), 1.44-1.36 (m, 1H), 0.89 (s, 9H, SiC(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 0.88 (s, 9H, SiC(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 0.83 (d, *J* = 6.6 Hz, 3H, CHCH<sub>3</sub>), 0.07 (s, 3H, Si(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>), 0.06 (s, 6H, Si(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>), 0.05 (s, 3H, Si(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>); <sup>13</sup>C NMR (150 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 155.6, 148.6, 143.9, 134.9, 129.4, 122.0, 115.6, 114.2, 112.9, 68.3, 68.0, 53.9, 46.0, 43.7, 43.6, 37.1, 35.7, 29.7, 27.6, 25.9, 18.2, 15.9, -4.7, -4.8, -4.9.



**3-((1*S*,2*R*,*E*)-3-(2-((3*R*,5*R*)-3,5-bis((*tert*-butyldimethylsilyl)oxy)cyclohexylidene)ethylidene)-2-methylcyclohexyl)phenol (4-11 (meta) (diastereomer)).**

In a similar manner to that for the synthesis of **4-11 (meta)** from *trans*-**4-9 (meta)** and **2-63**, target compound **4-11 (meta) (diastereomer)** was obtained from *trans*-**4-9 (meta) (diastereomer)** and **2-63**. **4-11 (meta) (diastereomer)**: <sup>1</sup>H NMR (600 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 7.15 (d, *J* = 7.5, 1H, Ar), 6.75 (d, *J* = 7.2 Hz, 1H, Ar), 6.67-6.65 (m, 2H, Ar), 6.19 (d, *J* = 10.8 Hz, 1H, CH=CH), 6.05 (d, *J* = 10.8 Hz, 1H, CH=CH), 5.00 (brs, 1H, OH), 4.14-4.06 (m, 2H, CHCH<sub>2</sub>CH), 2.96-2.95 (m, 1H, CH<sub>2</sub>), 2.41-2.26 (m, 4H), 2.19-2.11 (m, 2H), 1.92-1.76 (m, 4H), 1.71-1.62 (m, 3H), 1.40-1.33 (m, 1H), 0.89 (s, 9H, SiC(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 0.86 (s, 9H, SiC(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 0.83 (d, *J* = 7.2 Hz, 3H, CHCH<sub>3</sub>), 0.07 (s, 3H, Si(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>), 0.06 (s, 3H, Si(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>), 0.05 (s, 3H, Si(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>), 0.04 (s, 3H, Si(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>); <sup>13</sup>C NMR (150 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ

155.6, 148.6, 144.1, 134.8, 129.4, 122.1, 120.0, 115.4, 114.2, 112.9, 68.2, 68.0, 53.9, 46.0, 43.7, 43.5, 37.2, 35.7, 30.0, 27.7, 25.9, 25.8, 18.2, 15.8, -4.7, -4.8, -4.9.



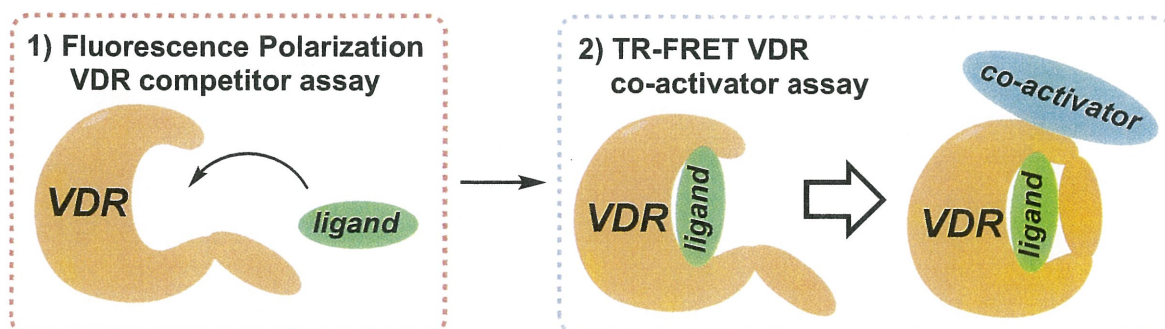
**4-((1*S*,2*R*,*E*)-3-(2-((3*R*,5*R*)-3,5-bis((*tert*-butyldimethylsilyl)oxy)cyclohexylidene)ethylidene)-2-methylcyclohexyl)phenol (4-11 (para)).**

In a similar manner to that for the synthesis of **4-11 (meta)** from *trans*-**4-9 (meta)** and **2-63**, target compound **4-11 (para)** was obtained from *trans*-**4-9 (para)** (diastereomer) and **2-63**. **4-11 (para)**:  $^1\text{H NMR}$  (600 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  7.03 (d,  $J = 8.4$ , 1H, Ar), 6.77 (d,  $J = 8.4$ , 1H, Ar), 6.19 (d,  $J = 12.0$  Hz, 1H,  $\text{CH}=\text{CH}$ ), 6.04 (d,  $J = 12.0$  Hz, 1H,  $\text{CH}=\text{CH}$ ), 4.80 (brs, 1H, OH), 4.11-4.06 (m, 2H,  $\text{CHCH}_2\text{CH}$ ), 2.96-2.94 (m, 1H,  $\text{CH}_2$ ), 2.41-2.32 (m, 3H), 2.28-2.23 (m, 1H), 2.15-2.11 (m, 2H), 1.90-1.77 (m, 4H), 1.71-1.60 (m, 2H), 1.42-1.36 (m, 1H), 0.89 (s, 9H,  $\text{SiC}(\text{CH}_3)_3$ ), 0.86 (s, 9H,  $\text{SiC}(\text{CH}_3)_3$ ), 0.81 (d,  $J = 6.6$  Hz, 3H,  $\text{CHCH}_3$ ), 0.07 (s, 3H,  $\text{Si}(\text{CH}_3)_2$ ), 0.06 (s, 6H,  $\text{Si}(\text{CH}_3)_2$ ), 0.05 (s, 3H,  $\text{Si}(\text{CH}_3)_2$ );  $^{13}\text{C NMR}$  (150 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  153.6, 144.2, 138.9, 134.7, 128.4, 122.0, 115.4, 115.1, 68.3, 68.0, 53.1, 46.0, 44.0, 43.7, 37.1, 36.0, 29.7, 27.6, 25.9, 18.2, 15.9, -4.7, -4.8, -4.9.

## 第五章 VDR結合能評価

新規ビタミンD誘導体ライブラリーとして構築した、16-oxa型ビタミンD誘導体とdes-D型ビタミンD誘導体の*in vitro*でのビタミンD受容体タンパク質 (VDR)結合能評価を実施した。本研究で用いた評価系は、ビタミンD受容体タンパク質 (Vitamin D Receptor: VDR)に対する親和性を評価する”蛍光偏光ビタミンD受容体競合アッセイ (fluorescence polarization vitamin D receptor competitor assay (PolarScreen™, Invitrogen))”と、VDRに対する結合能を評価する”時間分解蛍光共鳴エネルギー転移ビタミンD受容体コアクチベーターアッセイ (time-resolved fluorescence resonance energy transfer (TR-FRET) VDR co-activator assay (LanthaScreen®, Invitrogen))”である。<sup>47</sup> (Figure 5-1)

Figure 5-1



<sup>47</sup> D. K. Stafslie, K. L. Vedvik, T. De Rosier and M. S. Ozers, *Mol. Cell. Endocrinol.*, 2007, **264**, 82–89.

## 5-1. VDR結合能の初期評価

本研究で使用するアッセイキットの性能を確認するため、市販の $1\alpha,25(\text{OH})_2\text{VD}_3$  (Aldrich)を用いた初期評価を検討した。

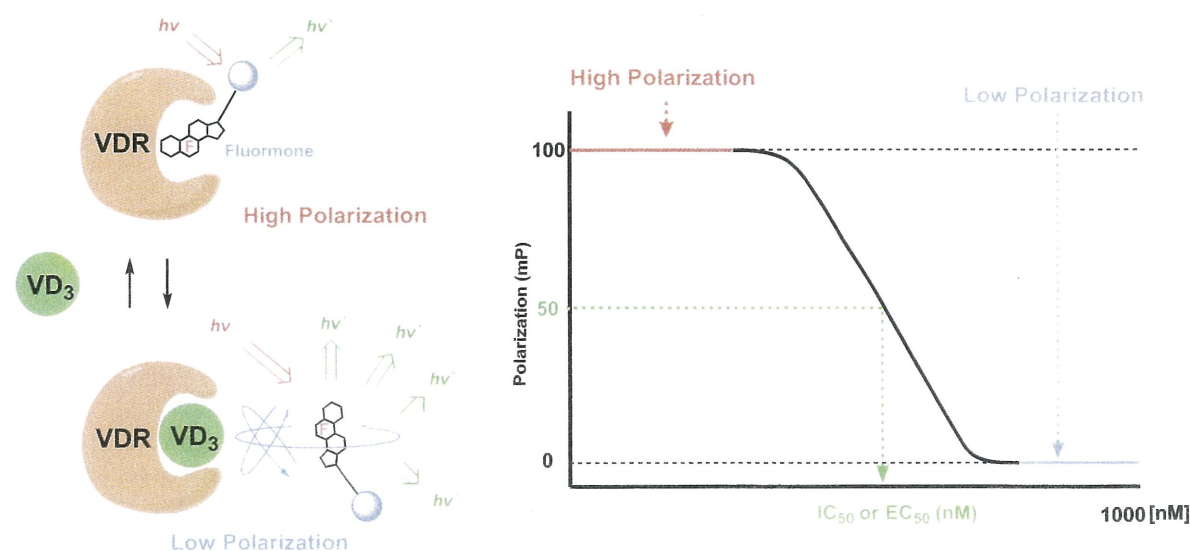
### 5-1-1. 蛍光偏光ビタミンD受容体競合アッセイ

蛍光偏光ビタミンD受容体競合アッセイ (fluorescence polarization vitamin D receptor competitor assay (PolarScreen™, Invitrogen))は、完全長ヒトVDR (無標識)と蛍光リガンド (Fluoromone™ VDR Red)の複合体に対して、評価対象であるビタミンD誘導体を加え、照射した偏光を蛍光リガンドを介して観測を行う。

蛍光リガンド単体を低分子とみなすと、その溶液中でのブラウン運動は大きく、照射された偏光が励起してから蛍光を発するまでに分子が回転して蛍光の偏光が解消されるため、低い偏光値 (mP)が観測される。これに対して、蛍光リガンドがVDRとの複合体形成した状態を大きな分子とみなすと、このブラウン運動は小さいため、偏光が解消されにくく、高い偏光値 (mP)が観測される。

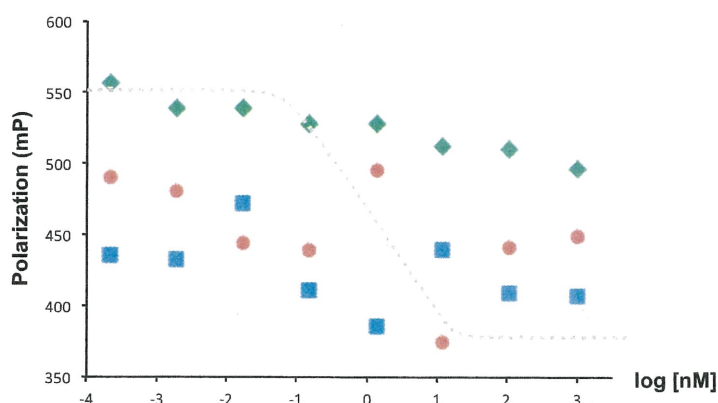
即ち、蛍光リガンドとビタミンD誘導体が競合的にVDRとの複合体形成を行うことで起こる偏光値の変化をビタミンD誘導体の濃度系列に対して測定を行うことで、リガンドのVDRに対する親和性 ( $\text{IC}_{50}$ ,  $\text{EC}_{50}$ )を求める。(Figure 5-2)

Figure 5-2



このアッセイキットの初期評価として、 $1\alpha,25(\text{OH})_2\text{VD}_3$ を用いた測定を行った。即ち、 $1\alpha,25(\text{OH})_2\text{VD}_3$ の濃度系列（濃度範囲：0.21pM~1,000nM）にVDR (1.4 nM), Fluormon (2.0 nM)を分注し、室温で2時間インキュベーションの後、偏光値の測定を行った (n=3: blue, red, green)。(Figure 5-3)

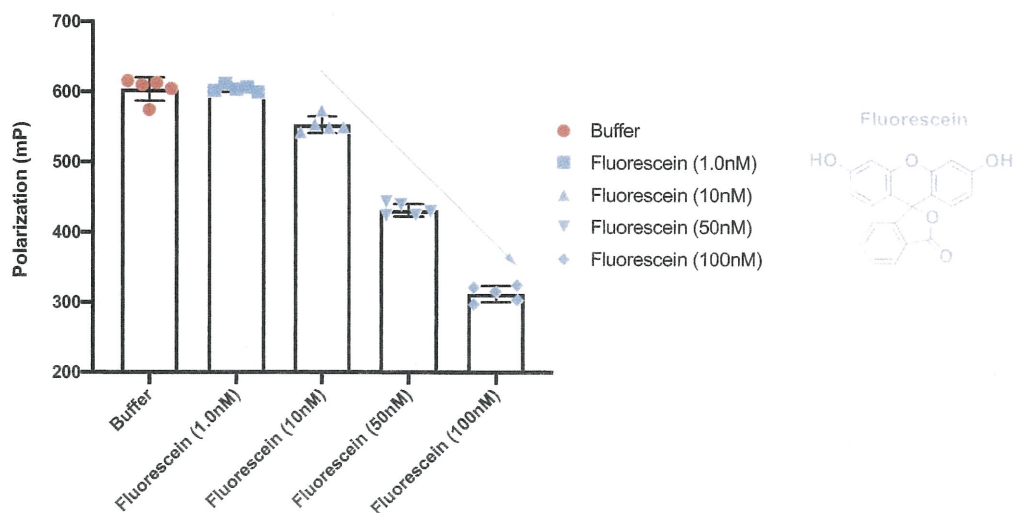
Figure 5-3



使用する試薬の濃度や測定装置の条件設定等を含め、何度か測定を試みたものの、目的とするシグモイド曲線 (gray)は得られず、再現性も取れない結果であった。

次に、測定機器であるTecan infinit<sup>TM</sup> F200 pro (Tecan Japan)の性能評価を目的として、市販のFluoresceinの濃度系列に対する偏光値の測定を行った。即ち、Fluoresceinの濃度範囲1.0 nMから100 nMのバッファー溶液の偏光値を測定した (Figure 5-4)

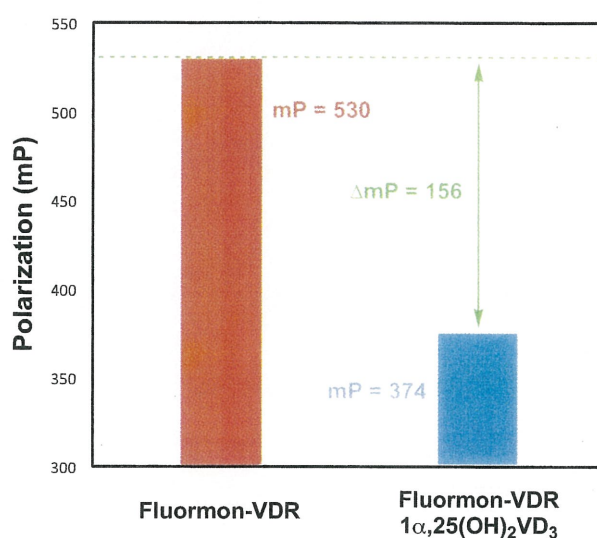
Figure 5-4



評価の結果、Fluorseinの濃度増加に伴い、偏光値が低下する結果が得られ、その測定値も再現性が取れる結果であった。よって、この測定機器による不具合はなく、評価キットの再現性に問題があると結論付けた。以上の結果を踏まえて、この評価系では、リガンド濃度1,000 nM単一濃度で評価を行うこと目指した。

即ち、VDR (1.4 nM)-Fluormon (2.0 nM)の複合体のみと、これに $1\alpha,25(\text{OH})_2\text{VD}_3$  1,000 nMを分注した2種類のサンプルのみ評価を行った。(Figure 5-5)

Figure 5-5



評価の結果、リガンドの添加前後で、偏光値 (mP)に明確な差 ( $\Delta\text{mP}=156$ )が得られ、再現性も取れる結果であったため、このアッセイキットは単一濃度 (1,000nM)のみでの測定を行うこととした。

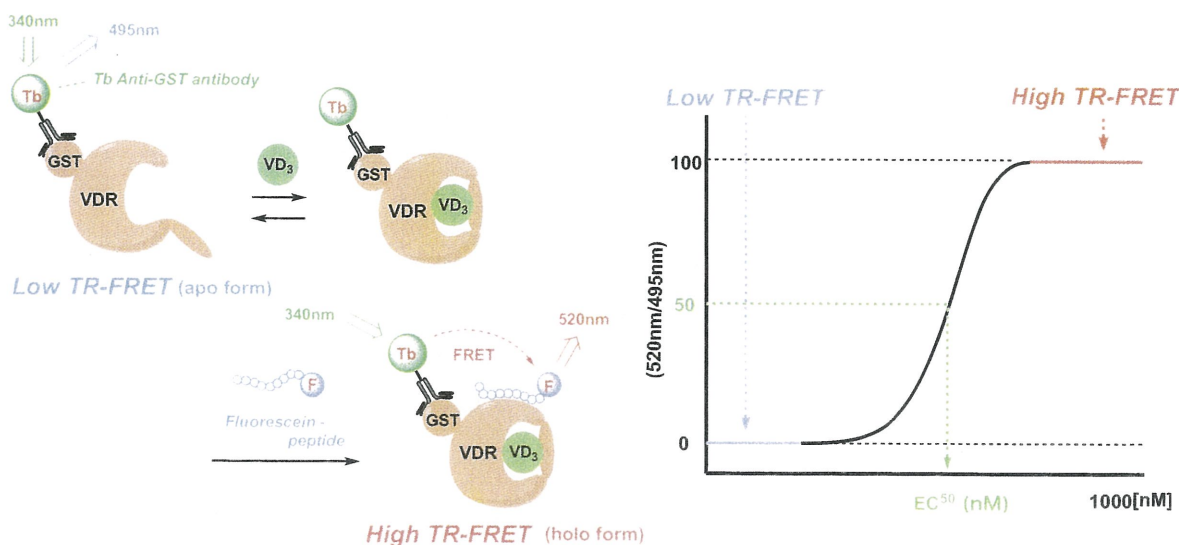


### 5-1-2. 時間分解蛍光共鳴エネルギー転移ビタミンD受容体コアクチベーターアッセイ

時間分解蛍光共鳴エネルギー転移ビタミンD受容体コアクチベーターアッセイ (time-resolved fluorescence resonance energy transfer (TR-FRET) VDR co-activator assay (LanthaScreen®, Invitrogen))は、長寿命蛍光試薬のTbキレートがGSTタグを介して標識されたVDRとビタミンD誘導体、そして、擬似的にco-activatorとして作用する短鎖ペプチド(Fluorescein peptide)を用いるアッセイ系である。

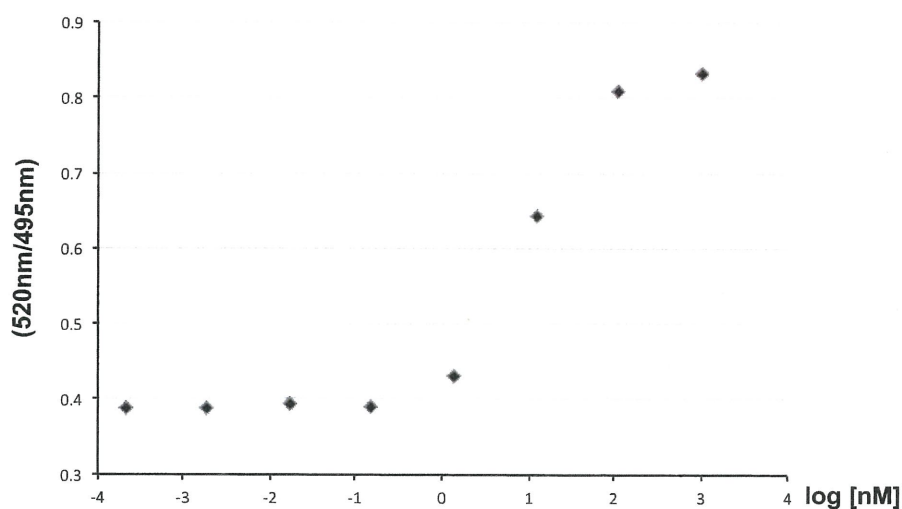
即ち、Tbキレート標識されたVDRが空の状態 (apo体)では、Tbキレートから一定の波長 (Donor Emission : 495nm)のみが観測される。これに対してビタミンD誘導体を加えるとVDR-Ligand複合体を形成し、co-activatorが結合可能となる状態 (holo体)に配座変換が行われる。続けて、この複合体にco-activatorとして擬似的に働くFluorescein peptideがVDR-Ligand複合体の決まった領域 (LXXLL)に選択的に結合することで、この時Tbキレートの持つ蛍光エネルギーがFluorescein peptideに転移 (FRET)することで、このペプチドからの蛍光強度 (Acceptor Emission : 520nm)が強くと観測される。これをビタミンD誘導体の濃度系列に対して測定を行うことで、濃度依存的に得られる、Tbキレートからの蛍光強度 (Donor Emission : 495nm)とFluorescein peptideと蛍光強度 (Acceptor Emission : 520nm)の比率を求めることで、リガンドのVDRに対する結合能 ( $EC_{50}$ )を測定する。(Figure 5-6)

Figure 5-6



このアッセイキットに $1\alpha,25(\text{OH})_2\text{VD}_3$ を用いる初期評価を実施した。即ち, $1\alpha,25(\text{OH})_2\text{VD}_3$  (濃度範囲: 0.21pM~1,000nM)の希釈系列にVDR (1.0 nM), Tbキレート剤 (2.0 nM), Fluorescein peptide (100 nM)を分注し, 室温で2時間インキュベーション後, 2種類の波長 (Donor Emission: 495 nm, Acceptor Emission: 520 nm)での測定を行った。(Figure 5-7)

Figure 5-7



測定の結果, リガンドの濃度依存的に蛍光強度比 (520nm/495nm)が得られ,  $\text{EC}_{50}$ は10~15 nMの範囲で再現性も得られたため, 新規誘導体についても同様の操作による測定を行うこととした。

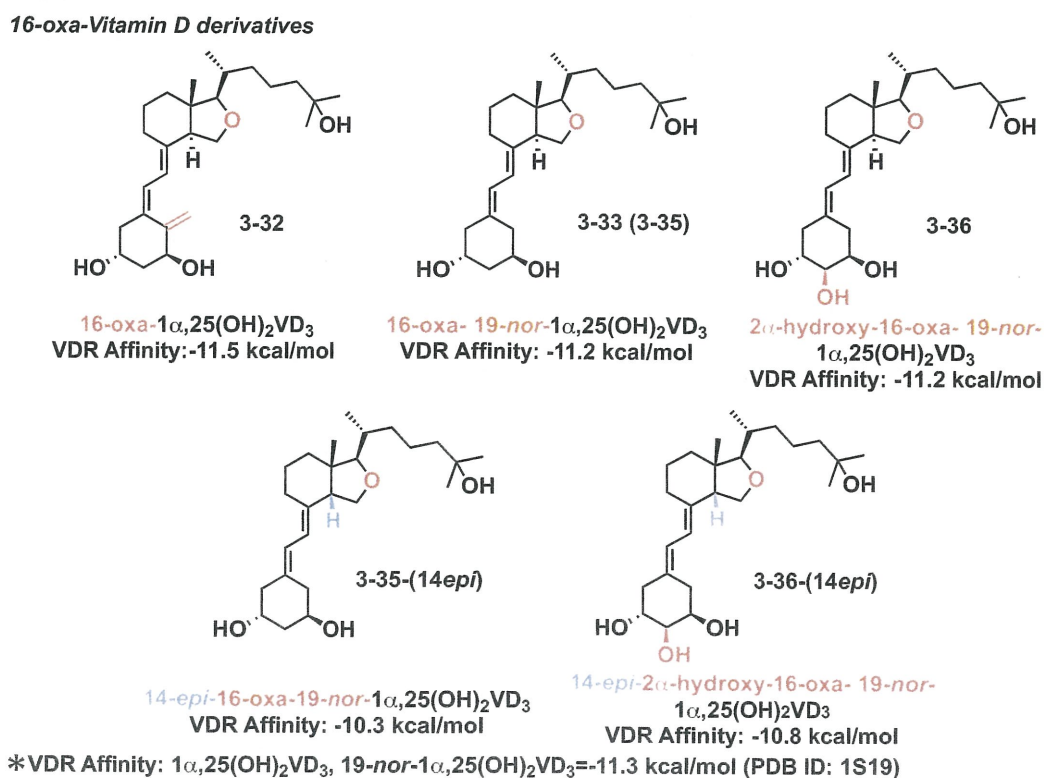
## 5-2. 新規ビタミンD誘導体のVDR結合能評価

前項目での2種類の初期評価結果を基に、16-oxa型ビタミンD誘導体と*des*-D型ビタミンD誘導体の活性評価を実施した。そして、このVDR結合能評価の結果と誘導体設計に用いたAutoDock<sup>TM</sup>vina programのシミュレーション結果との相関関係についても考察を行った。AutoDock<sup>TM</sup>vina programはflexible dockingに分類されるため、これを用いた考察では、VDRは剛体として取り扱うものとする。

### 5-2-1. 16-oxa型ビタミンD誘導体のVDR結合能評価

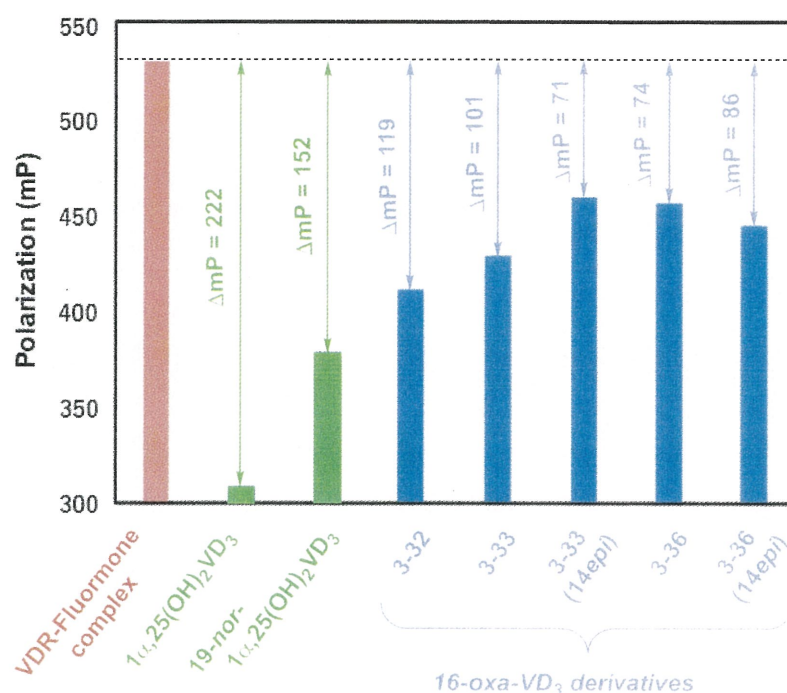
前項の初期活性評価の結果をもとに、16-oxa型ビタミンD誘導体のVDR結合能評価を行った。本研究で、VDR結合能評価に適用可能であった16-oxa型ビタミンD誘導体は、以下5種類 (3-32, 3-33, 3-36, 3-35-14-*epi*, 3-36-14-*epi*)である。第三章でのドッキングシミュレーション結果も併記する。(Figure 5-8)

Figure 5-8



初めに、蛍光偏光ビタミンD受容体競合アッセイによるVDR親和性評価を実施した。リガンドには、ブランクとして $1\alpha,25(\text{OH})_2\text{VD}_3$ と $19\text{-nor-}1\alpha,25(\text{OH})_2\text{VD}_3$ を用い、16-oxa型ビタミンD誘導体を含む全てのリガンド濃度は、 $1,000\text{nM}$ の単一濃度とした。VDR-Fluoromon複合体から観測される偏光値 (mP)よりも低いmP値を示す誘導体がVDRに対する親和性を有する誘導体である。 (Figure 5-9)

Figure 5-9



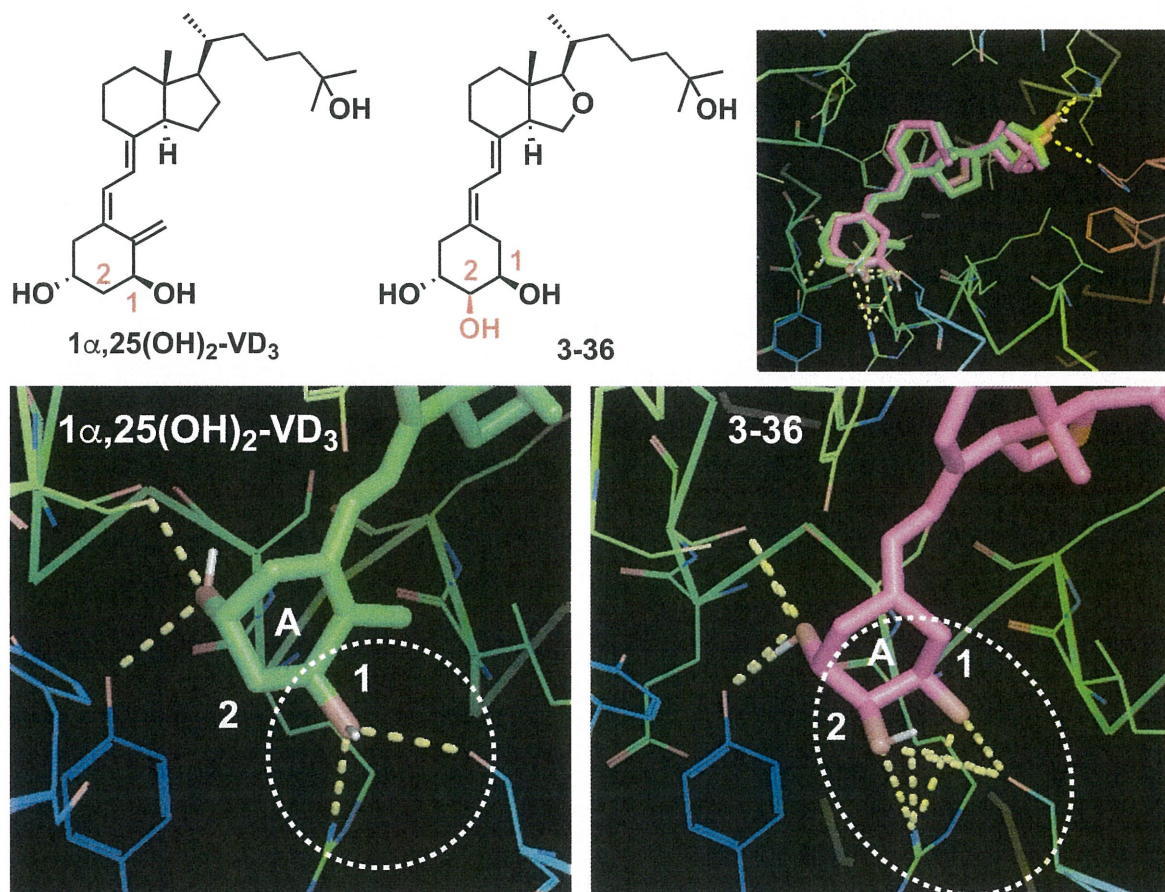
評価の結果、全ての誘導体で偏光値 (mP)の減少が見られたが、やはり $1\alpha,25(\text{OH})_2\text{VD}_3$ と $19\text{-nor-}1\alpha,25(\text{OH})_2\text{VD}_3$ の偏光値の減少幅 ( $\Delta\text{mP}$ : 222~152)が比較的大きく、それに続き16-oxa型ビタミンD誘導体**3-32**, **3-33**の偏光値の減少が顕著に現れた ( $\Delta\text{mP}$ : 119~101)。このVDRに対する親和性の差は、16位に酸素原子を導入したことが、その天然型の骨格と比較して側鎖末端25位水酸基の若干の構造変化が起きていることの証明であると言える。

この他の、16-oxaビタミンD誘導体である2-alkoxy型**3-36**や14位*epi*体**3-33 (14-epi)**, **3-36 (14-epi)**の偏光値の減少幅は小さい結果であった。 ( $\Delta\text{mP}$ : 86~71)。2-alkoxy型ビタミンD誘導体**3-36**の $1\alpha,25(\text{OH})_2\text{VD}_3$ とのオーバーラップモデルでは、構造全体としては良好な重なりが得られているが、1位水酸基と水素結合するアミノ酸残基



(ARG-274, SER-237)が、新たに導入した2位水酸基とも水素結合する形式が見られる。このような新たな水素結合部分が誘導体の空間配置のズレを生じさせる因子となり、親和性を低下させたと予測している。(Figure 5-10)

Figure 5-10

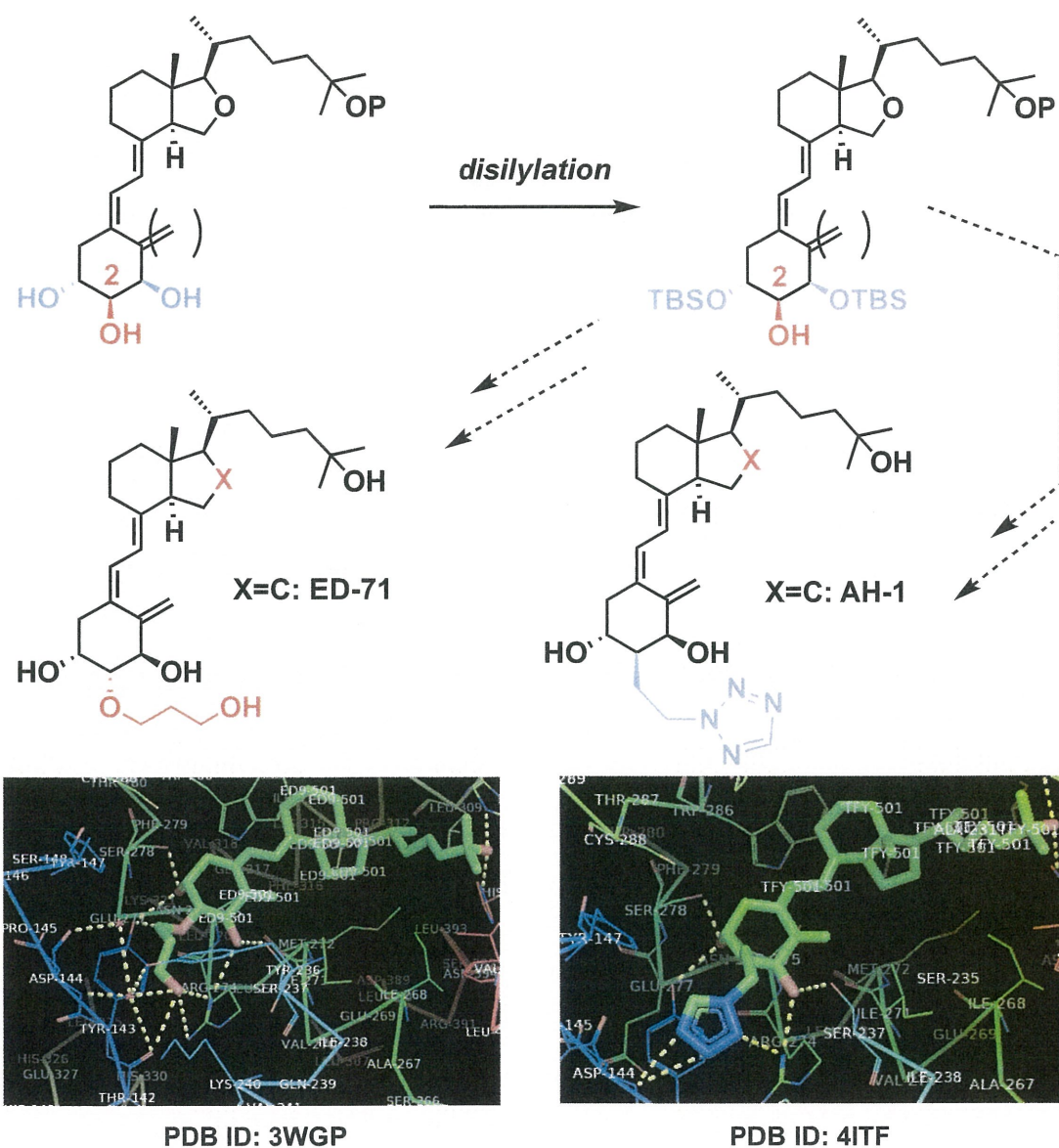


\*green: 1α,25(OH)<sub>2</sub>-VD<sub>3</sub>, pink: 3-36

第二章で述べたように、2-alkoxy型ビタミンD誘導体はA環部1,3位のジシリル化反応を経由して、A環部2位に官能基を導入した誘導体としての構築が望まれる。骨粗鬆治療薬であるED-71や高い骨形成作用を持つAH-1<sup>48</sup>の16-oxa体としての誘導体合成など既存の修飾A環部誘導体構築にも期待が持てる。(Figure 5-11)

<sup>48</sup> M. Matsuo, A. Hasegawa, M. Takano, H. Saito, S. Kakuda, T. Chida, K. Takagi, E. Ochiai, K. Horie, Y. Harada, M. Takimoto, M. Kamimura, K. Takenouchi, D. Sawada and A. Kittaka, ACS. Med. Chem. Lett., 2013, 4, 671-674.

Figure 5-11

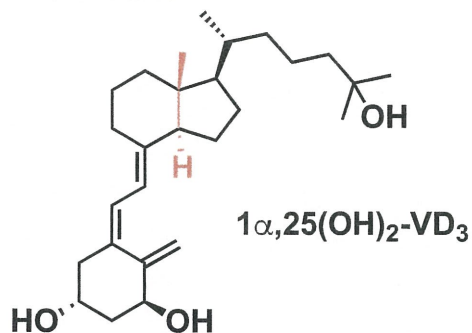
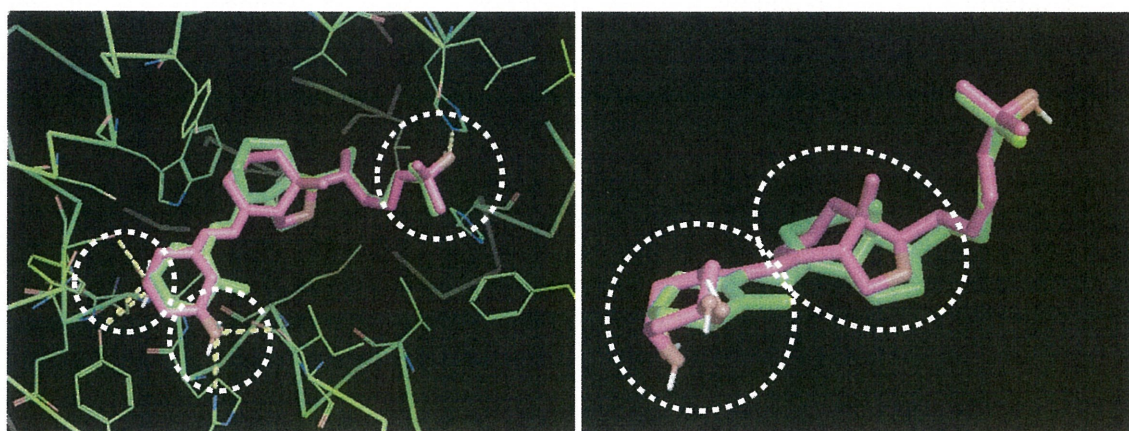
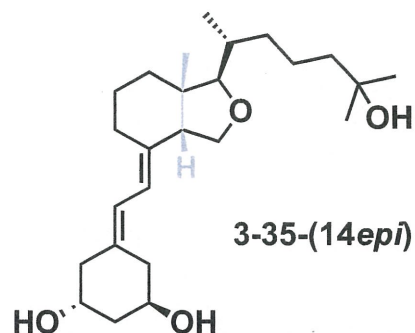


*cis*-ヒドロインダン骨格である14-*epi*体誘導体のオーバーラップモデルでは、シミュレーションの設定上1,3,25位の水酸基部分は一致しているが、C,D環部とA環部同士の重なりには大きなズレが生じている。

このことから、実際にはこの誘導体のVDR内での1,3,25位の水酸基部分の空間配置は、シミュレーション結果とは異なることが予測され、これが、14-*epi*体のVDRに対する親和性が低い理由であり、やはり *trans*-ヒドロインダン骨格の重要性がうかがえる。(Figure 5-12)



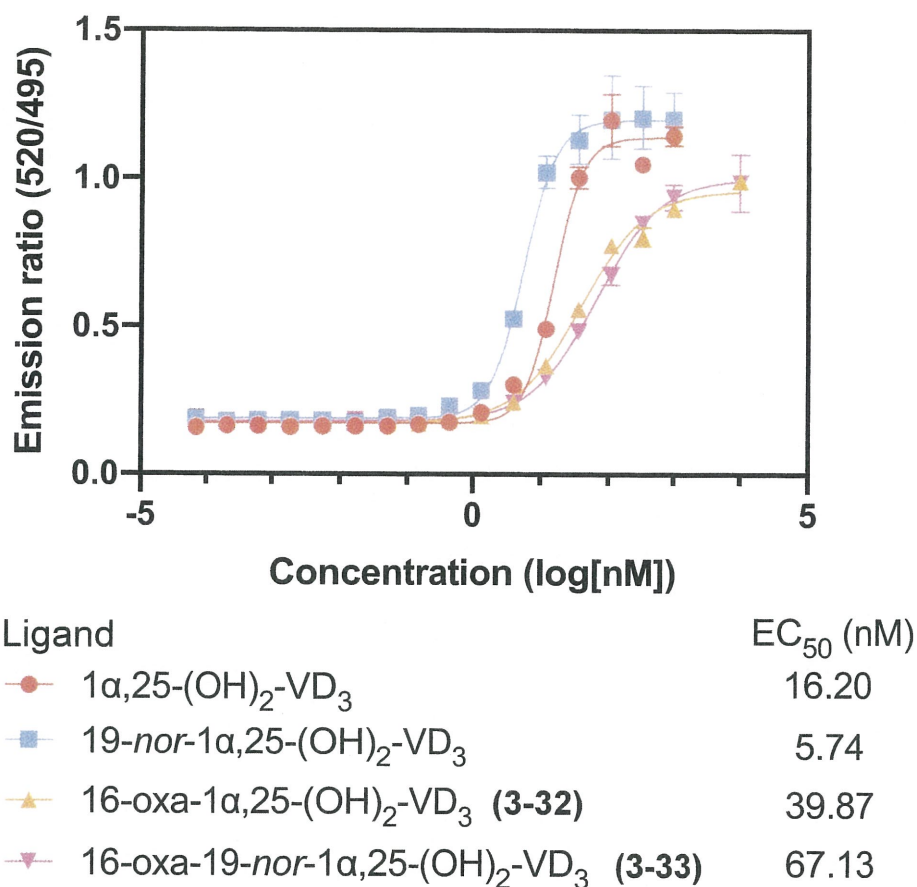
Figure 5-12

*trans*-Hidrindane*cis*-Hidrindane

\* green:  $1\alpha,25(\text{OH})_2\text{-VD}_3$ , pink:  $3\text{-}35\text{-}(14\text{epi})$

次に、蛍光偏光ビタミンD受容体競合アッセイにより偏光値の減少が顕著に見られた、16-oxa型ビタミンD誘導体 ( $3\text{-}32$ ,  $3\text{-}33$ )の時間分解蛍光共鳴エネルギー転移ビタミンD受容体コアクチベーターアッセイによるVDR結合能評価を実施した。ブランクとなるリガンドには、先と同様 $1\alpha,25(\text{OH})_2\text{VD}_3$ と19-*nor*- $1\alpha,25(\text{OH})_2\text{VD}_3$ を用いた。(Figure 5-13)

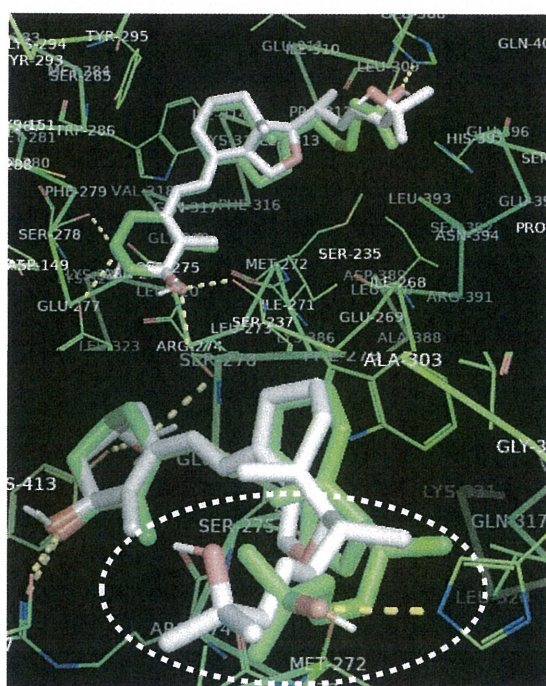
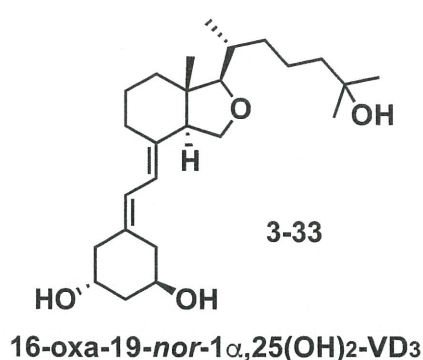
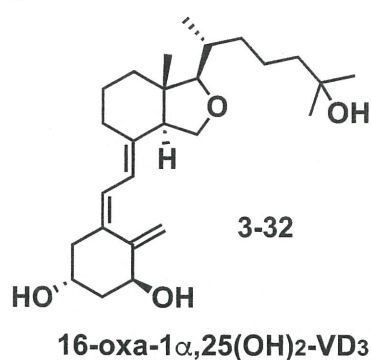
Figure 5-13



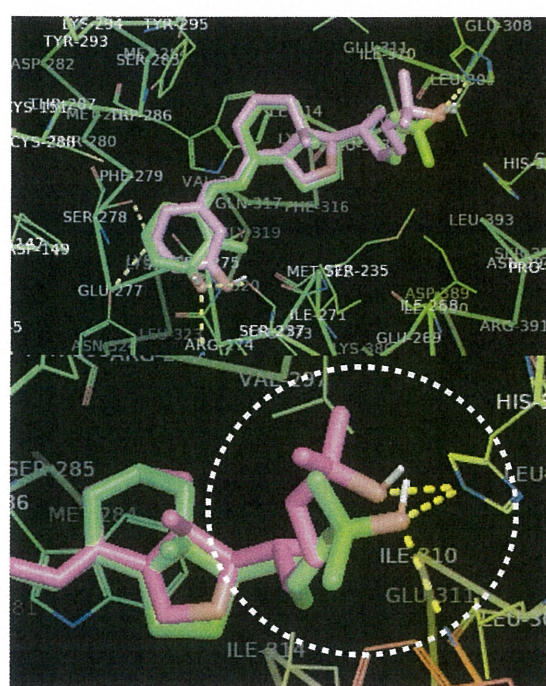
測定の結果, 16-oxa型ビタミンD誘導体のEC<sub>50</sub>は, 1α,25(OH)<sub>2</sub>-VD<sub>3</sub>と比較して, 2~4倍濃度でVDRに対する十分な結合能を示した。この結果は, ドッキングシミュレーションにより, 16-oxa型ビタミンD誘導体の25位側鎖末端部分が, 天然型と比較して, 若干異なる空間配置を示していることと関連付けることができる。(Figure 5-14)



Figure 5-14



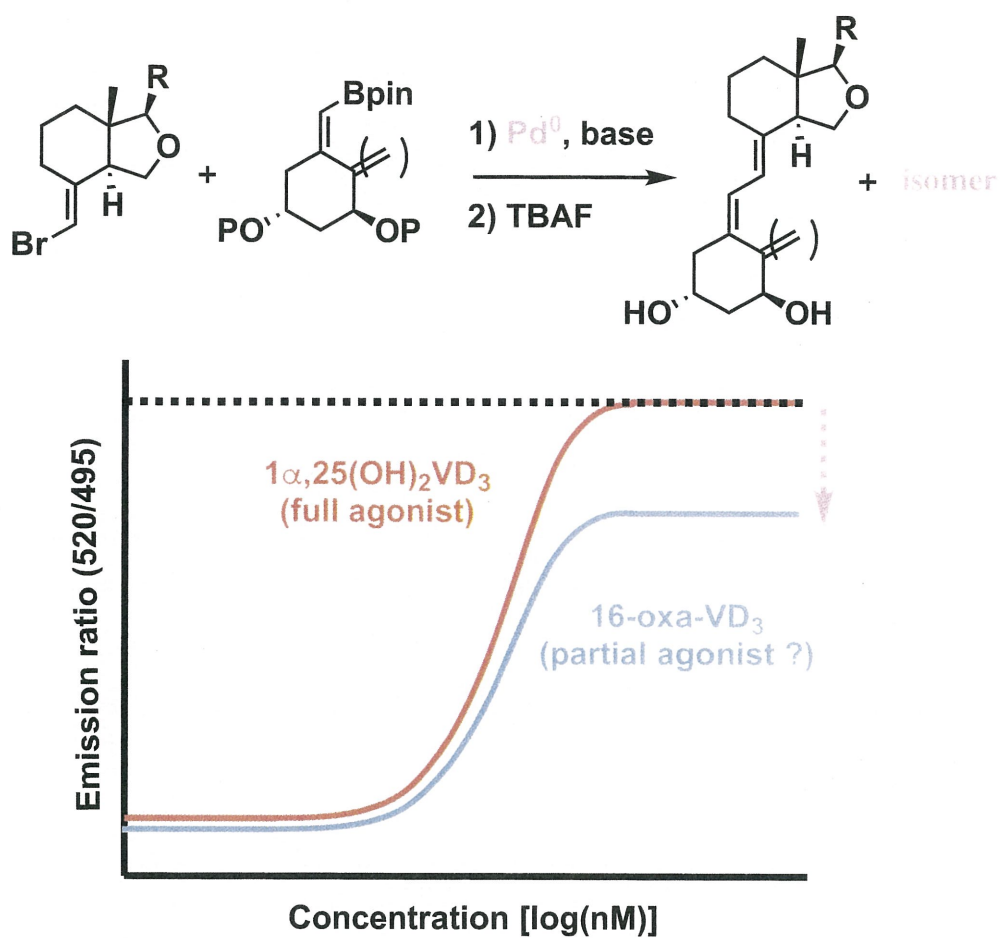
\*green: 1 $\alpha$ ,25(OH)<sub>2</sub>-VD<sub>3</sub>  
white: 16-oxa-1 $\alpha$ ,25(OH)<sub>2</sub>-VD<sub>3</sub>



\*green: 19-nor-1 $\alpha$ ,25(OH)<sub>2</sub>-VD<sub>3</sub>  
pink: 16-oxa-19-nor-1 $\alpha$ ,25(OH)<sub>2</sub>-VD<sub>3</sub>

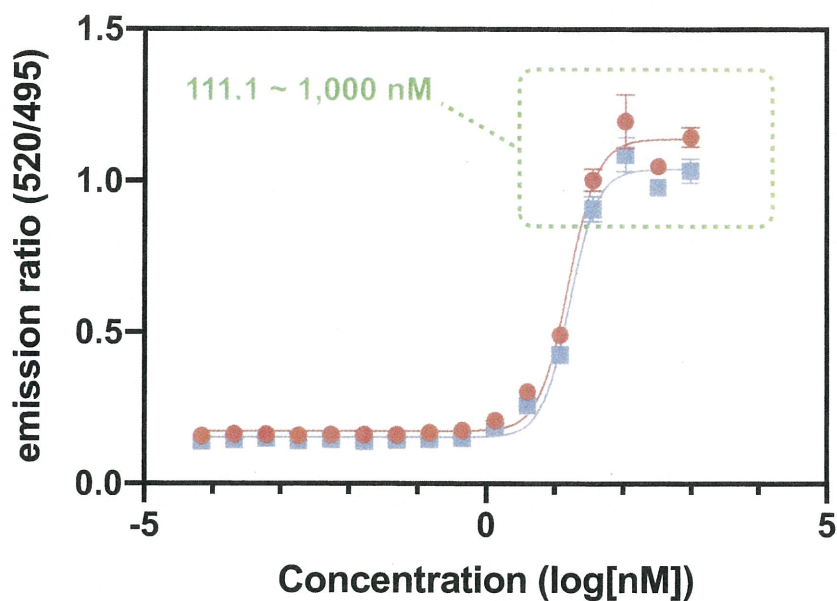
しかしながら、16-oxa型ビタミンD誘導体の測定結果は天然型に比べpartial agonist的な挙動が得られている。この理由としては、カップリング反応で用いている金属種 (Pd)や誘導体としての異性体による影響、そして誘導体濃度の誤差などが考えられる。(Figure 5-15)

Figure 5-15



これらの原因解明のため、第二章にて合成した、異性体を含む $1\alpha,25(\text{OH})_2\text{VD}_3$  (dr=90:10)とその既製品 (Aldrich)のVDR結合能評の比較を行った。この評価は、カップリング反応で生成する異性体や使用するPd触媒による影響を調査することを目的とした。(Figure 5-16)

Figure 5-16

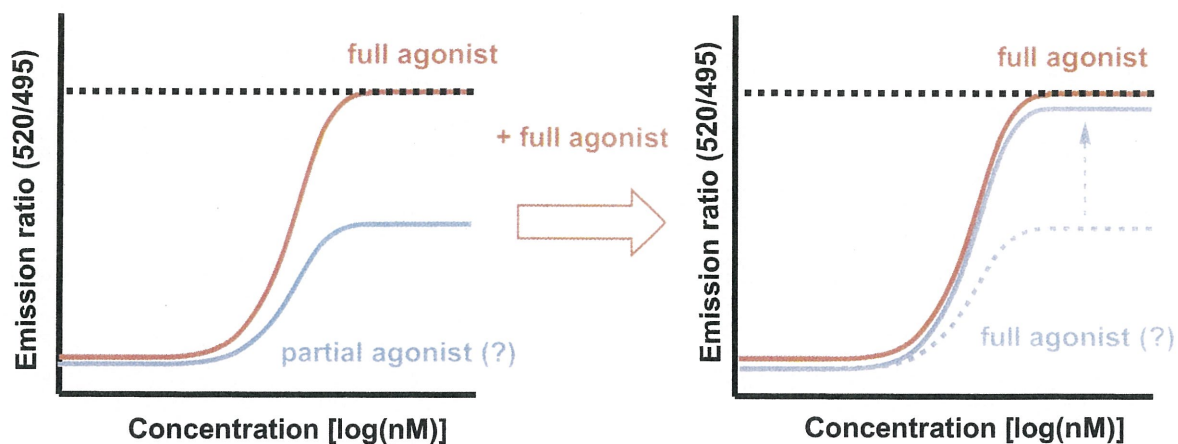


Compound	EC <sub>50</sub> (nM)
● 1α,25-(OH) <sub>2</sub> -VD <sub>3</sub> (aldrich)	16.2
■ 1α,25-(OH) <sub>2</sub> -VD <sub>3</sub> (合成品)	17.1

評価の結果、合成した1α,25(OH)<sub>2</sub>-VD<sub>3</sub>は、その既製品と比べて111.1 nMから1,000 nMの範囲での蛍光強度が多少低い数値を取るものの、EC<sub>50</sub>値は16.2 nMと17.1 nMであり1.0 nM分の誤差にとどまったため、誘導体の精製条件や濃度調節などの面に問題はないと判断した。

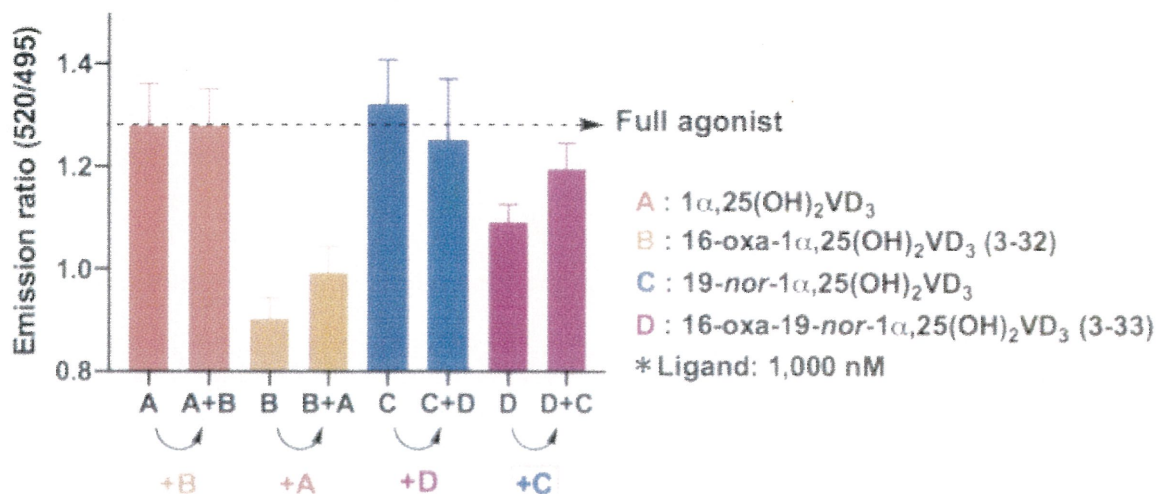
次に、1α,25(OH)<sub>2</sub>-VD<sub>3</sub>または19-nor-1α,25(OH)<sub>2</sub>-VD<sub>3</sub>とA環部が対応する16-oxa型ビタミンD誘導体 (3-32, 3-33)共存下での結合能評価を実施した。この評価は、2種類の誘導体共存下でfull agonistとしての挙動が得られるかの確認を目的として実施した。(Figure 5-17)

Figure 5-17



即ち、 $1\alpha,25(\text{OH})_2\text{-VD}_3$  (A)とその19*nor*型ビタミンD誘導体 (C),そしてこれらの16-*oxa*型ビタミンD誘導体 (B, D)の単一濃度1,000nMでFRETを測定し、この評価系列に、それぞれ対応する誘導体 (AとB, CとD)を、互いに1,000nM追加後、室温下2時間インキュベーションを行い、再びFRETを測定することで、その挙動を調査した。(Figure 5-18)

Figure 5-18



評価の結果、 $1\alpha,25(\text{OH})_2\text{-VD}_3$  (A)とその19*nor*型ビタミンD誘導体 (C)は対応する16-oxa型ビタミンD誘導体 (B, D)の添加前後で、その蛍光強度が大きく変化することではなく、full agonistとしての活性を維持する結果であった。16-oxa型ビタミンD誘導体 (B, D)に対して天然型、19-*nor*型ビタミンD誘導体 (A, B)を添加した条件では、多少蛍光強度は増加するものの、full agonistとして判断できるほどの蛍光強度の増加には至らなかった。即ち、これら誘導体単体の評価系中では、共存するVDR (1.0 nM)に対して、そのほとんどにリガンドが結合した状態をとっていると推測できる。

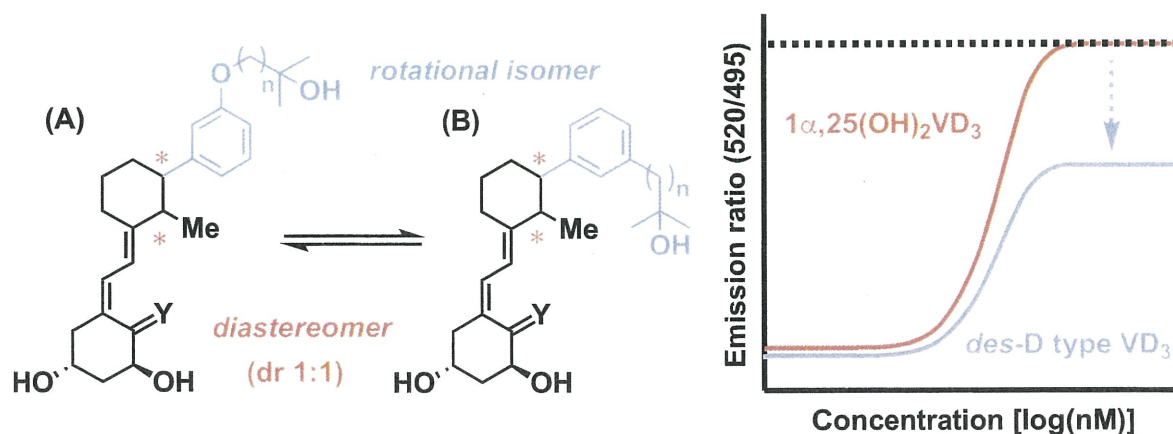
以上の結果から、16-oxa型ビタミンD誘導体がpartial agonist的な挙動を示した理由として、1) 目的の16-oxa型ビタミンD誘導体に含まれる異性体が、低濃度でもVDRに対して強い結合能を有し、FRETが観測できないVDR-Ligand複合体を形成したこと。2) 目的の16-oxa型ビタミンD誘導体由来のVDR-Ligand複合体がとるholo体としての複合体タンパク構造が、co-activatorとの結合がしにくい構造をとっていることで、FRETの観測を弱めたことが要因であると推測される。後者の影響によるものが確かであれば、これは当初の目的通り、 $1\alpha,25(\text{OH})_2\text{-VD}_3$ とは異なる活性を示す誘導体として期待が持てるものである。



### 5-2-2. *des*-D型ビタミンD誘導体のVDR結合能評価

*des*-D型ビタミンD誘導体は、これまでに誘導体数種類の時間分解蛍光共鳴エネルギー転移ビタミンD受容体コアクチベーターアッセイ評価により、一定のVDR結合能を持つことを報告しているが、これら全ての誘導体はpartial agonistとしての挙動を示していた。この原因は、これまでに合成された*des*-D型ビタミンD誘導体のC環部メチル基と側鎖芳香族部分のジアステレオマー比が約1:1の誘導体となっていたことが理由であった。これは言い換えれば、一方の光学活性体が強力なagonistとして作用し、もう一方の光学活性体がantagonistとしての挙動を示す可能性を持った誘導体であると言える。他にも、側鎖芳香族部分の回転異性体 (A, B)の存在比がVDR結合能に影響していることも予測している。(Figure 5-19)

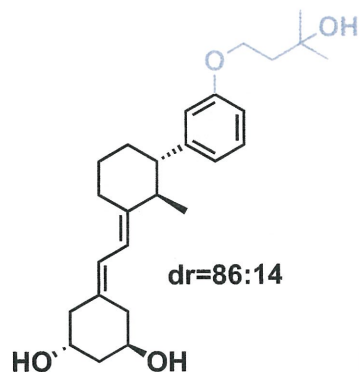
Figure 5-19



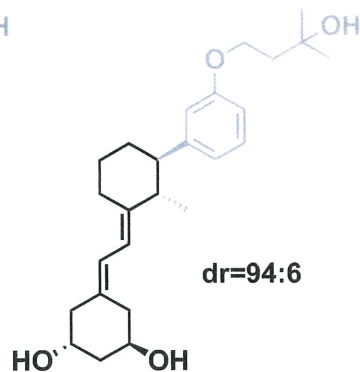
本研究でVDR結合能評価に移行できた*des*-D型ビタミンD誘導体は、以下6種類である。そしてこれら誘導体の光学純度 (dr)は、94:6~82:18の範囲である。第四章でのドッキングシミュレーション結果も併記する。(Figure 5-20)

Figure 5-20

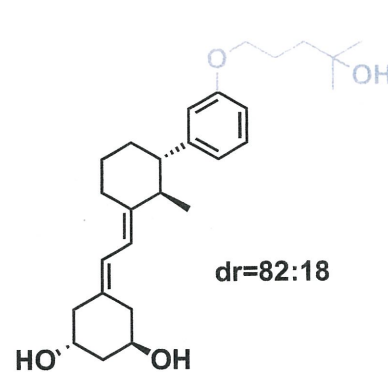
Sidechain: meta derivatives



**4-12-meta-C2**  
VDR Affinity: -11.7 kcal/mol

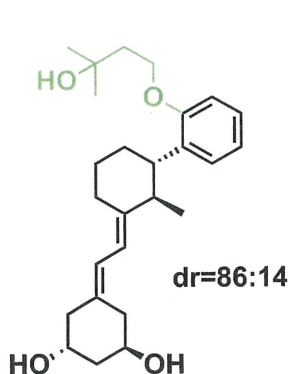


**4-12-meta-C2**  
(diastereomer)  
VDR Affinity: -11.3 kcal/mol

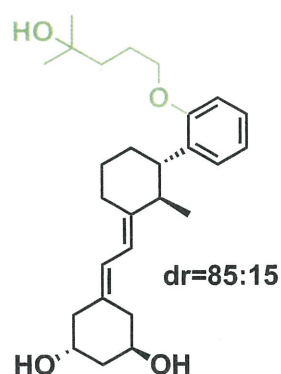


**4-12-meta-C3**  
VDR Affinity: -11.7 kcal/mol

Sidechain: ortho derivatives

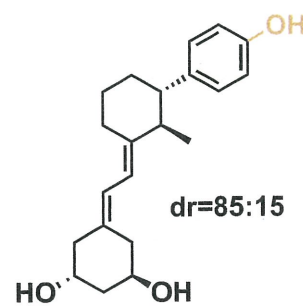


**4-12-ortho-C2**  
VDR Affinity: -11.1 kcal/mol



**4-12-ortho-C3**  
VDR Affinity: -11.3 kcal/mol

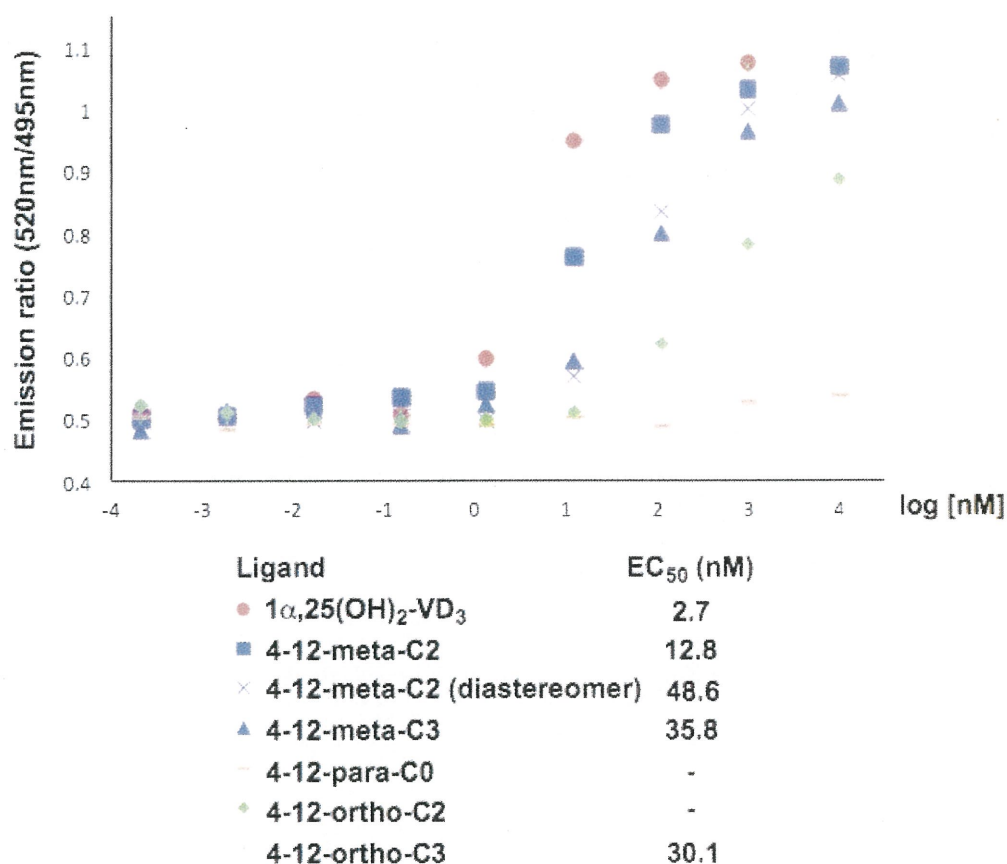
Sidechain: para derivative



**4-12-para-C0**  
VDR Affinity: -11.0 kcal/mol

*des*-D型ビタミンD誘導体は一定のVDR結合能を示すことを報告しているため、時間分解蛍光共鳴エネルギー転移ビタミンD受容体コアクチベーターアッセイのみ評価を実施した。評価の結果、4種類の誘導体で $EC_{50}=12.8\sim 48.6$  nMの範囲でVDR結合能が得られた。リガンド濃度範囲は、0.21pM~10,000nMである。(Figure 5-21)

Figure 5-21



測定した *des*-D型ビタミンD誘導体の中で、**4-12-meta-C2 (A)**がEC<sub>50</sub>値12.8 nMと最も強いVDR結合能を示した。今回ブランクとして用いた1 $\alpha$ ,25(OH)<sub>2</sub>-VD<sub>3</sub>のEC<sub>50</sub>値は2.7 nMであり、これと比較すると約5倍濃度で同様のVDR結合能を示す結果である。しかしながら、これまで行ってきた1 $\alpha$ ,25(OH)<sub>2</sub>-VD<sub>3</sub>のVDR結合能評価で、そのEC<sub>50</sub>値は10~15 nMの濃度範囲であることが経験値としてほとんどである。このことを考慮すれば、*des*-D型ビタミンD誘導体 **4-12-meta-C2 (A)**のEC<sub>50</sub>値12.8 nMという数値は、1 $\alpha$ ,25(OH)<sub>2</sub>-VD<sub>3</sub>と同等のVDR結合能を示すとも言える。*des*-D型ビタミンD誘導体 **4-12-meta-C2 (A)**が強いVDR結合能を示した結果は、ドッキングシミュレーションの結果とも相関が得られる結果である。ドッキングシミュレーションではVDRに対する親和性が-11.7 kcal/molを示しており、これのブランクである19-*nor*-1 $\alpha$ ,25(OH)<sub>2</sub>-VD<sub>3</sub>のシミュレーション結果は、-11.3 kcal/molと同等のVDR親和性を示している。そして、これらのoverlap modelでも、ビタミンD骨格の1, 3, 25

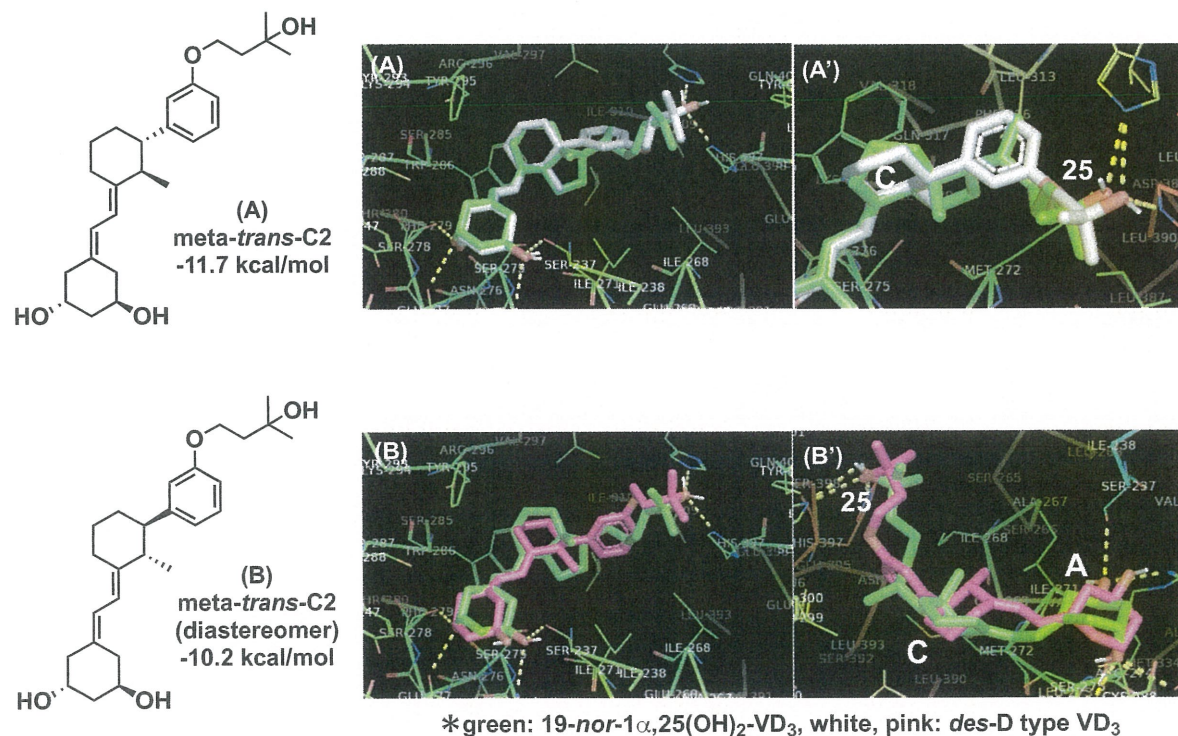


位の水酸基が同様の空間配置を示し、ビタミンD骨格特有の脂溶性構造との良好な重なりが得られている。

これのC環部メチル基と側鎖芳香族部分のジアステレオマー体である誘導体 **4-12-meta-C2 (B)** のVDR結合能はEC<sub>50</sub>値48.6 nMであり、**4-12-meta-C2 (A)**と比較すると、約4倍濃度でVDR結合能を示す結果である。この理由は、ドッキングシミュレーションから、1, 3, 25位の水酸基位置は19-*nor*-1 $\alpha$ ,25(OH)<sub>2</sub>-VD<sub>3</sub>とほとんど同様の空間配置を示しているが、C環部の立体配座の違いから、ビタミンD骨格全体の脂溶性構造とはズレが生じていることが原因であることが推測される。

**4-12-meta-C2 (A)** とそのジアステレオマー体**4-12-meta-C2 (B)** は、互いの誘導体を10%程度含む誘導体であるため、このC環部立体配座の影響による明確なVDR結合能との相関関係は得られていない。しかしながら、現行の光学純度においても、そのEC<sub>50</sub>値には約4倍の差が得られている。この光学純度に関する問題は、以下考察を行う全ての誘導体にも適用されるものである。(Figure 5-22)

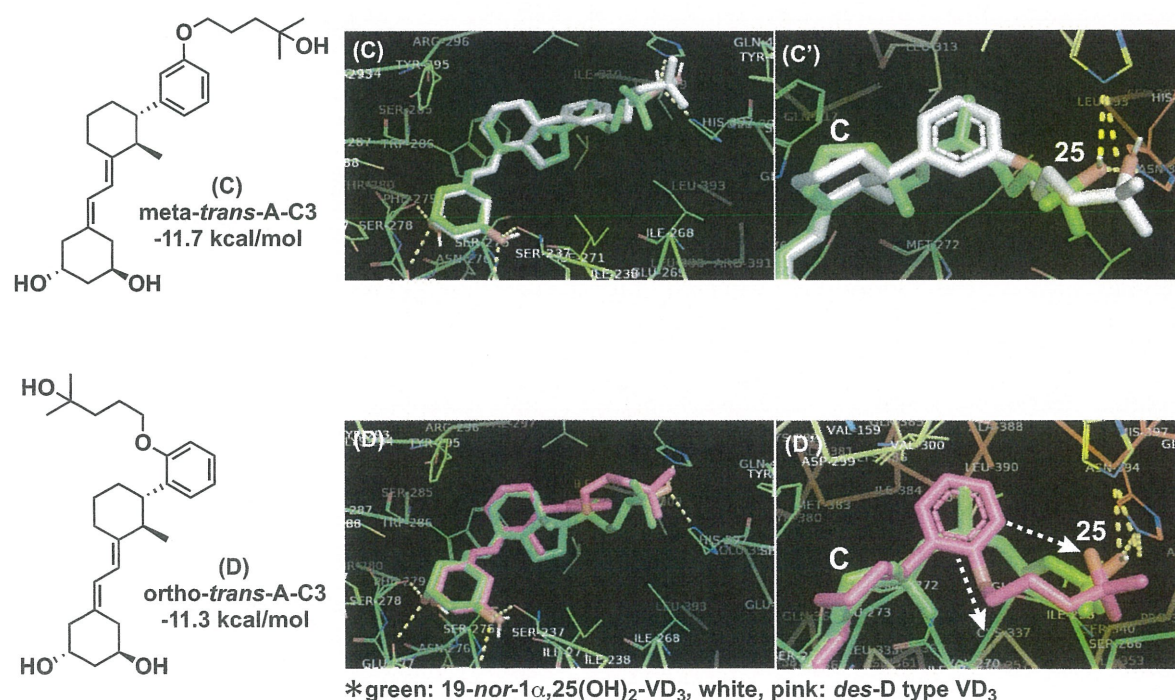
Figure 5-22



*des*-D型ビタミンD誘導体 **4-12-meta-C2 (A)**の次にVDR結合能を示した誘導体、**4-12-meta-C3 (C)**、**4-12-ortho-C3 (D)**のEC<sub>50</sub>値はそれぞれ、35.8及び30.1 nMであった。これは、双方のドッキングシミュレーションにおいて、側鎖部分のオーバーラップモデルのズレが反映された結果であると推測できる。即ち、誘導体**4-12-meta-C3 (C)**は**4-12-meta-C2 (A)**と比較して、側鎖部分の炭素数が1炭素多い誘導体であるため、その分25位水酸基部分の空間配置のズレが生じている。

誘導体**4-12-ortho-C3 (D)**はC環部に対してortho位から側鎖が伸長している誘導体であり、19-*nor*-1 $\alpha$ ,25(OH)<sub>2</sub>-VD<sub>3</sub>の側鎖の伸長方向と比較すると若干ズレた伸長方向を示している。しかしこのortho位から伸長する側鎖は、伸長方向のズレを補うようにして、25位水酸基VDRとの結合ドメイン部分に届く空間配置をとっている。**(Figure 5-23)**

Figure 5-23



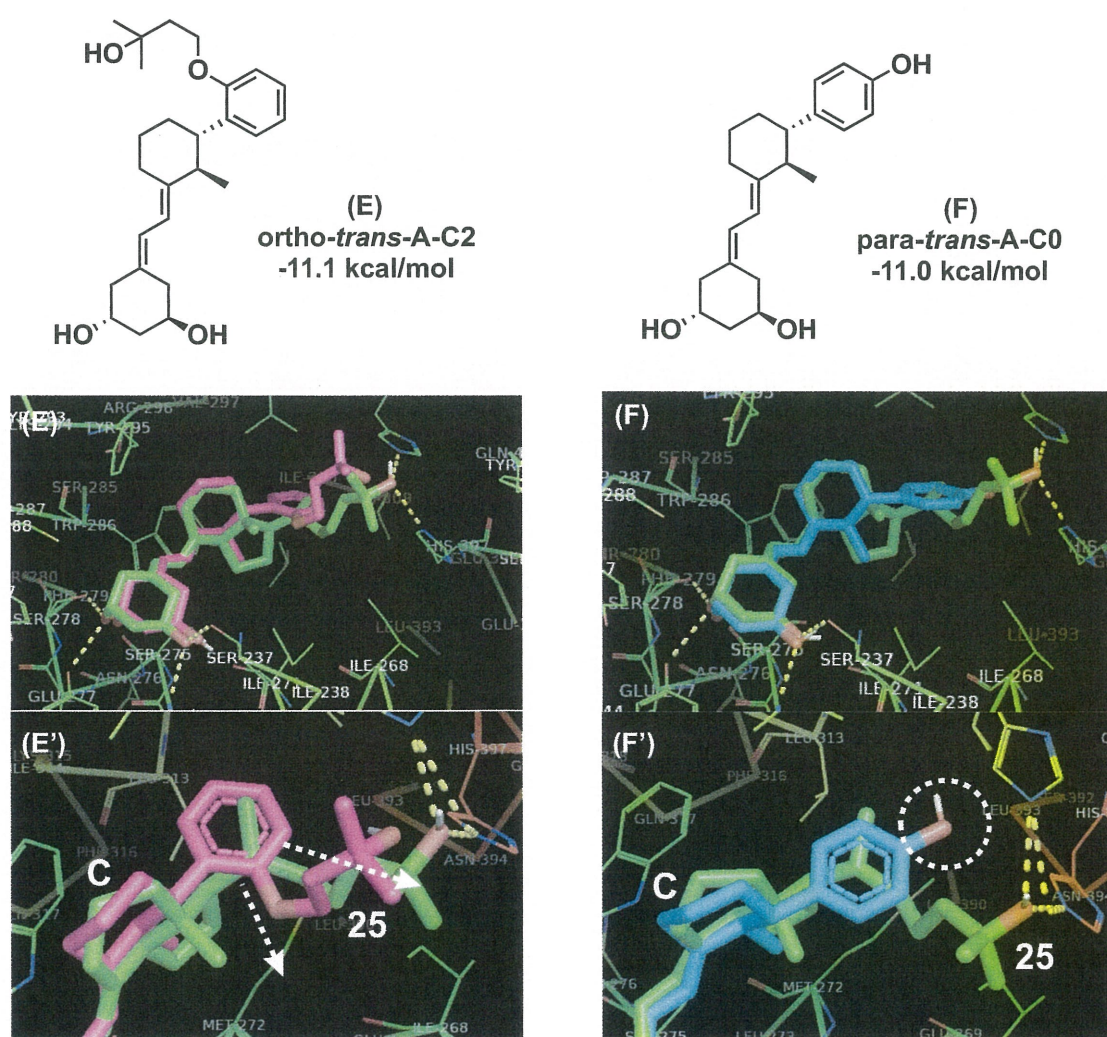
*des*-D型ビタミンD誘導体 **4-12-ortho-C2 (E)**と**4-12-para-C0 (F)**はVDRに対する結合能が弱い、または結合能を示さない誘導体である。これら誘導体がVDR結合能を示さない理由は、ドッキングシミュレーションから25位水酸基に位置する部分が、VDRとの結合ドメインに届いていないことが原因であると予測できる。



即ち、**4-12-ortho-C2 (E)**はortho位に側鎖を有する誘導体であるため、19-*nor*-1 $\alpha$ ,25(OH) $_2$ -VD $_3$ との側鎖の伸長方向が異なる。そしてその側鎖炭素数は2炭素であるため、本来の25位水酸基とVDRとの結合ドメインに水酸基が届いていない空間配置を取っている。

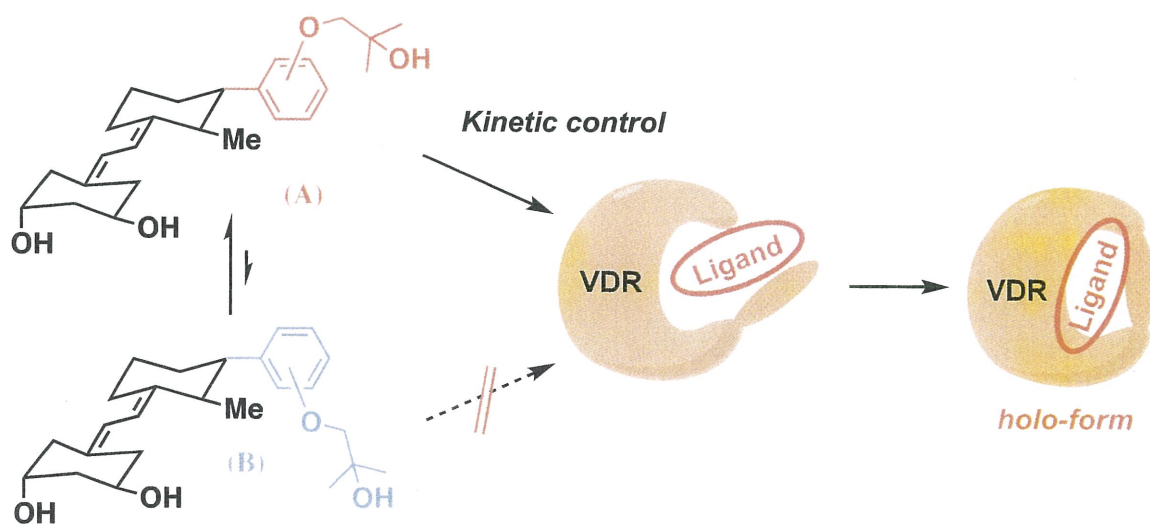
**4-12-para-C0 (F)**は、そのVDR親和性が-11.0 kcal/molの数値を示しており、数値としては比較的VDR結合能が期待出来る誘導体であるが、そのオーバーラップモデルを見ると、アルキル鎖を持たないフェーノール型の側鎖を有する誘導体であるため、25位水酸基とVDR結合ドメイン部分に水酸基が届いていないことが原因であることは明白である。(Figure 5-24)

Figure 5-24



今回のVDR結合能評価の結果から、 $EC_{50}$ 値が～数十nM範囲の誘導体であれば、full agonistとしての挙動が得られることが証明された。側鎖部分がmeta位, ortho位の誘導体はその芳香環部分の回転により側鎖末端水酸基位置が異なる回転異性体 (A, B)が存在することが予測されるものの、これら誘導体がfull agonistとしての挙動を示したことから、ドッキングシミュレーションで得られているVDR内での空間配置構造、そして、ビタミンD誘導体がVDR内で配座変換できないことから、異性体Aが優先的にVDRに対する親和性を示していることが予測できる。そして、この種の誘導体のVDR結合能評価では、異性体A, Bの熱力学的安定性とVDRに対する速度論的な親和性の関係性があると予測している。(Figure 5-25)

Figure 5-25

**Thermodynamic control**

### 5-3. 結論

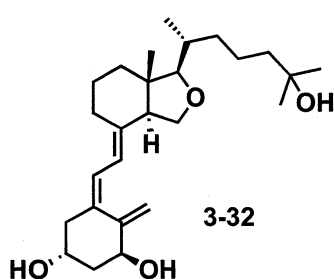
本章では、16-oxa型ビタミンD誘導体と*des*-D型ビタミンD誘導体のVDRに対する親和性及び結合能評価を行うことで、以下の結果を得た。(Figure 5-26)

- 1) 16-oxa型ビタミンD誘導体 (3-32, 3-33)の時間分解蛍光共鳴エネルギー転移ビタミンD受容体コアクチベーターアッセイでのEC<sub>50</sub>値 (39.9, 67.1nM)は、1 $\alpha$ ,25(OH)<sub>2</sub>-VD<sub>3</sub>のEC<sub>50</sub>値 (16.2nM)と比較して、2~4倍濃度であった。しかしながら空白と比較して同じ濃度オーダーでEC<sub>50</sub>値が得られているため、十分なVDR結合能を有する誘導体であると言える。
- 2) 16-oxa型ビタミンD誘導体の蛍光偏光ビタミンD受容体競合アッセイは、単一濃度での偏光値の減少幅を比較するのみであったが、14位*epi*体 (3-35-(14-*epi*), 3-36-(14-*epi*))や2-alkoxy型の誘導体 (3-36, 3-36-(14-*epi*))の偏光値の減少幅は小さくVDRに対する親和性が低い結果が得られた。これらの結果から、C,D環部の*trans*-ヒドロインダン構造は重要であり、2-alkoxy型誘導体としての構築には、2位水酸基への新たな官能基を導入した誘導体構築が望まれる。
- 3) *des*-D型ビタミンD誘導体の時間分解蛍光共鳴エネルギー転移ビタミンD受容体コアクチベーターアッセイでは、4種類の誘導体 (4-12-*meta*-C2, 4-12-*meta*-C2 (diatereomer), 4-12-*meta*-C3, 4-12-*ortho*-C3))でEC<sub>50</sub>=12.8~48.6 nMの範囲でVDR結合能が得られた。特に、側鎖を*meta*位とする誘導体 (4-12-*meta*-C2)のEC<sub>50</sub>値は12.8nMであり、1 $\alpha$ ,25(OH)<sub>2</sub>-VD<sub>3</sub>のEC<sub>50</sub>値 (2.7nM)と比較して約5倍濃度であった。これら誘導体はジアステレオマー比を改善することで、EC<sub>50</sub>値がより低濃度で得られる可能性を持つ。
- 4) AutoDock<sup>TM</sup> Vina programを用いたドッキングシミュレーションは、計算値としてのVDR親和性とoverlap modelを用いることで、VDR結合能評価と相関が取れる結果であった。即ち、a) 新規誘導体のVDR内での結合ドメインである1, 3, 25位水酸基の空間配置が一致すること、b) ビタミンD骨格特有のA環部からC環部にかけての屈曲した脂溶性構造が一致すること、c) ビタミンD骨格1, 3, 25位に

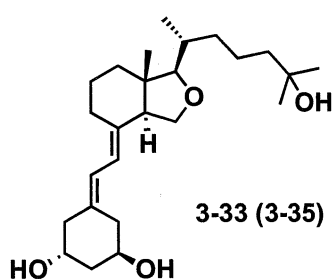
相当する水酸基意外に、水素結合する官能基を有さないこと (1, 3, 25位の水酸基以外にVDRとの結合ドメインを有する, VDR-ligand複合体結晶データ (PDB) には適用しない。), d) VDRに対する親和性 (kcal/mol)の計算値が、ブランクであるリガンドの親和性と $\pm 0.5$  kcal/molの範囲内であること。これら4つの条件を満たす誘導体であれば、 $1\alpha,25(\text{OH})_2\text{-VD}_3$ や $19\text{-nor-}1\alpha,25(\text{OH})_2\text{-VD}_3$ と同じ濃度オーダーでVDR結合能が得られ可能性が高い。

Figure 5-26

## 16-oxa-Vitamin D derivatives

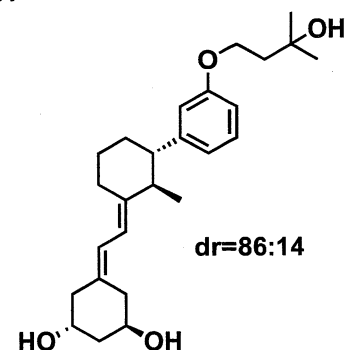


16-oxa- $1\alpha,25(\text{OH})_2\text{VD}_3$   
VDR Affinity: -11.5 kcal/mol  
 $\text{EC}_{50}$ =39.9nM

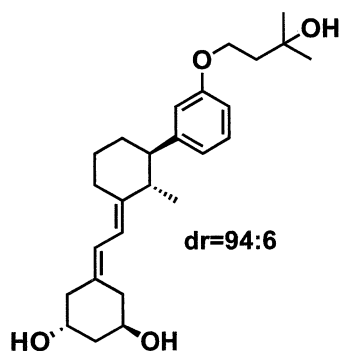


16-oxa-19-nor- $1\alpha,25(\text{OH})_2\text{VD}_3$   
VDR Affinity: -11.2 kcal/mol  
 $\text{EC}_{50}$ =67.1nM

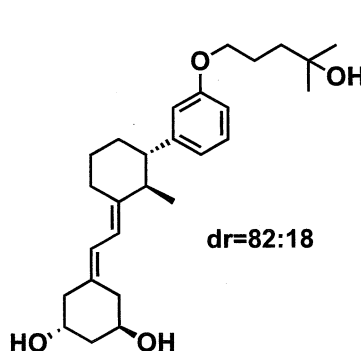
## des-D-type Vitamin D derivatives



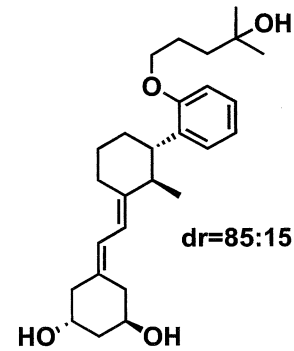
4-12-meta-C2  
VDR Affinity: -11.7 kcal/mol  
 $\text{EC}_{50}$ =12.8nM



4-12-meta-C2  
(diastereomer)  
VDR Affinity: -11.3 kcal/mol  
 $\text{EC}_{50}$ =48.6nM



4-12-meta-C3  
VDR Affinity: -11.7 kcal/mol  
 $\text{EC}_{50}$ =35.8nM



4-12-ortho-C3  
VDR Affinity: -11.3 kcal/mol  
 $\text{EC}_{50}$ =30.1nM

### ***Experimental section (Chapter 5)***

#### **Evaluation of the VDR-binding affinity of the 16-oxa type VD<sub>3</sub> and *des*-D type VD<sub>3</sub> derivatives**

VDR-binding affinity of 16-oxa type VD<sub>3</sub> and *des*-D type VD<sub>3</sub> derivatives were evaluated using a fluorescence polarization (FP) VDR competitor assay (PolarScreen™, Invitrogen) and a time-resolved fluorescence resonance energy transfer (TR-FRET) VDR co-activator assay. Each assay was performed under *in vitro* conditions in 384-well black polystyrene plates (Corning® 384-well Low Volume Black Round Bottom Polystyrene NBS Microplate (Corning 3676)) using a total volume of 40 mL/well.

#### **Fluorescence polarization (FP) VDR competitor assay (PolarScreen™, Invitrogen)**

Vitamin D<sub>3</sub> receptor (VDR), Fluormone™ VDR Red (Fluormone), VDR Red Assay Buffer and DTT solution were purchased from Invitrogen (PolarScreen Vitamin D Receptor Competitor Assay). VD<sub>3</sub> analogues were dissolved in dimethyl sulfoxide (DMSO, for molecular biology, Sigma Aldrich) and diluted with VDR Red Assay Buffer with 1% DMSO to arbitrary concentrations. Receptor-tracer complex was added to VD<sub>3</sub> solutions to final concentrations of 1.4 nM for VDR, 2.0 nM for Fluormone and 1.0 mM for VD<sub>3</sub> analogues in total volume of 20 mL/well. This mixture was incubated for 2 h at room temperature. FP was measured on an Infinite® F200 Pro microplate reader (Tecan) using a 535 nm excitation filter (25 nm bandwidth) and 590 nm emission filter (20 nm bandwidth). Finally, the ΔmP for VD<sub>3</sub> analogues was calculated to compared with mP value of VDR-fluorescent ligand complex.

#### **Time-resolved fluorescence resonance energy transfer (TR-FRET) VDR co-activator assay**

VDR ligand-binding domain tagged with GST (VDR-LBD (GST)), fluorescein-TRAP220/DRIP-2 co-activator peptide (Fluorescein-peptide),

LanthaScreen<sup>®</sup> Tb-anti-GST (Goat) antibody (Tb-anti-GST), TR-FRET co-regulator buffer G and DTT solution were purchased from Invitrogen (LanthaScreen<sup>®</sup> TR-FRET VDR Coactivator Assay Kit). VD<sub>3</sub> analogues were dissolved in dimethyl sulfoxide (DMSO, for molecular biology, Sigma Aldrich) and diluted with TR-FRET co-regulator buffer G with 1% DMSO to arbitrary concentrations. Receptor-tracer-antibody complex was added to VD<sub>3</sub> solutions to final concentrations of 1.0 nM for VDR-LBD (GST), 2.0 nM for Tb-anti-GST and 100 nM for Fluorescein-peptide in total volume of 20 mL/well. This mixture was incubated for 2 h at room temperature. TR-FRET was measured on an Infinite<sup>®</sup> F200 PRO microplate reader (Tecan) using a 340 nm excitation filter (30 nm bandwidth), terbium emission filter 495 nm (10 nm bandwidth) and tracer emission filter 520 nm (25 nm bandwidth). Finally, the EC<sub>50</sub> of VD<sub>3</sub> analogues was calculated.



## 第六章 総括と展望

本研究では、ドッキングシミュレーションを用いる新規ビタミンD誘導体の構造設計から合成、そしてVDR (Vitamin D Receptor)結合能評価を実施した。その結果、新規ビタミンD誘導体として、16-oxa型ビタミンD誘導体と*des*-D型ビタミンD誘導体のライブラリー構築を可能とし、これら一部誘導体はagonistとして十分なVDR結合能が得られた。

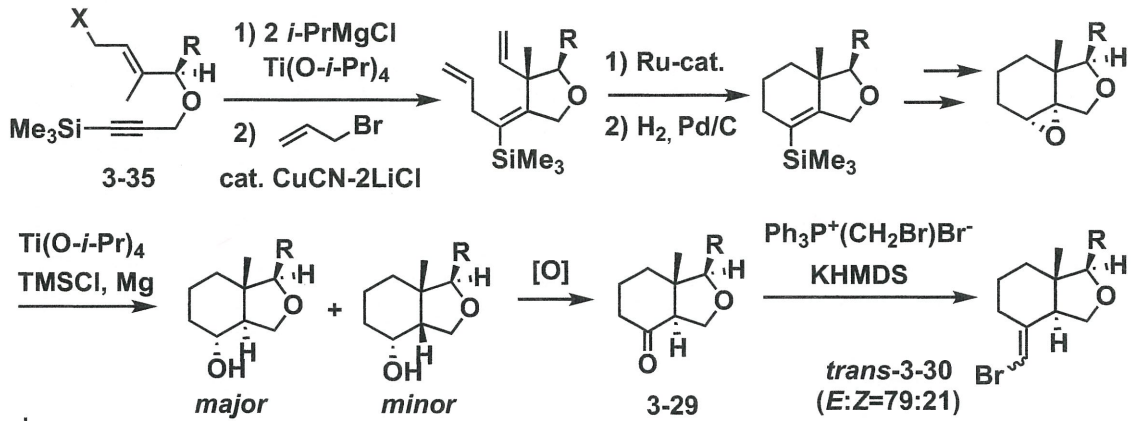
16-oxa型ビタミンD誘導体は、エンイン型中間体の四価のチタンアルコキシドの2当量のGrignard反応剤から発生する二価チタン反応剤との反応とによるアルケニルチタンの生成と、続くCuCNを触媒としたアリルブロミドとのアリル化反応、Ru触媒による閉環メタセシス反応、部分接触水素化反応、低原子価チタン種による立体選択的なエポキシドのラジカル還元反応を鍵反応として16-oxa型C,D環部ユニット (3-29, 3-30) を構築し、対応する16-oxa型C,D環部とA環部ユニットのSuzuki-Miyaura Coupling, Horner-Wadsworth-Emmons Reactionにより数種類の16-oxa型ビタミンD誘導体を合成した。

16-oxa型ビタミンD誘導体 (3-32, 3-33) のVDRに対する結合能EC<sub>50</sub>値は、39.9, 67.1nMであり、この時ブランクとして用いた1 $\alpha$ ,25(OH)<sub>2</sub>-VD<sub>3</sub>のEC<sub>50</sub>値 (16.2nM) と比較すると2~4倍濃度であるが、同じ濃度オーダーであったため、十分なVDR結合能が得られていると言える。

この時、partial agonist的な挙動を示した原因の特定には至っていないが、仮説として、当初の目的通り16位に酸素原子を導入したことで起こる若干の構造変化が、holo体としてのVDR-Ligand複合体全体の構造にも影響することで、co-activatorが結合する過程が進行しにくくなったとの予測を立てている。そしてこれが事実であれば、1 $\alpha$ ,25(OH)<sub>2</sub>-VD<sub>3</sub>とは異なる生理活性を発現する誘導体である可能性を十分に持つ。(Figure 6-1)

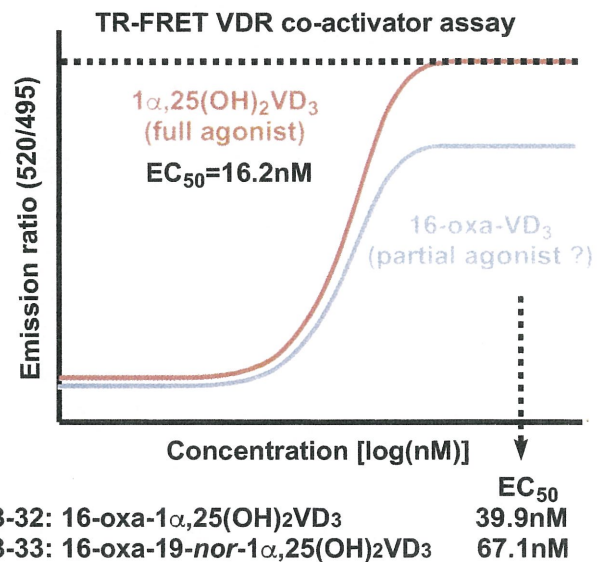
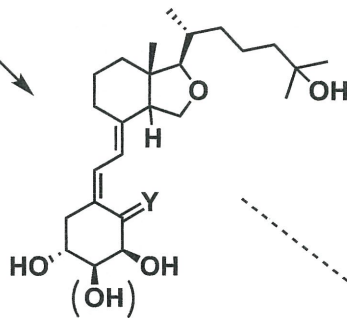
Figure 6-1

## Synthesis of 16-oxa-C,D-ring

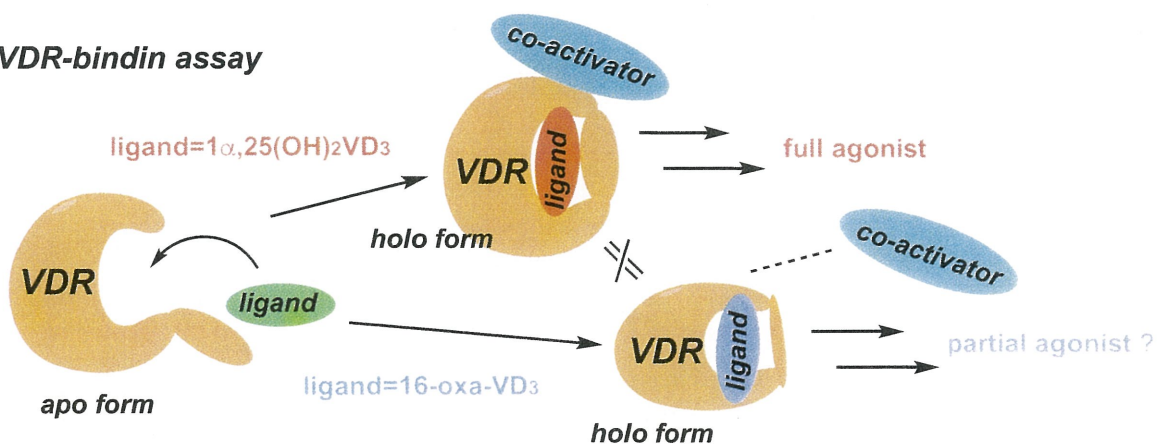


## A-C,D Coupling

- Suzuki-Miyaura Coupling
- Horner-Wadsworth-Emmons Reaction

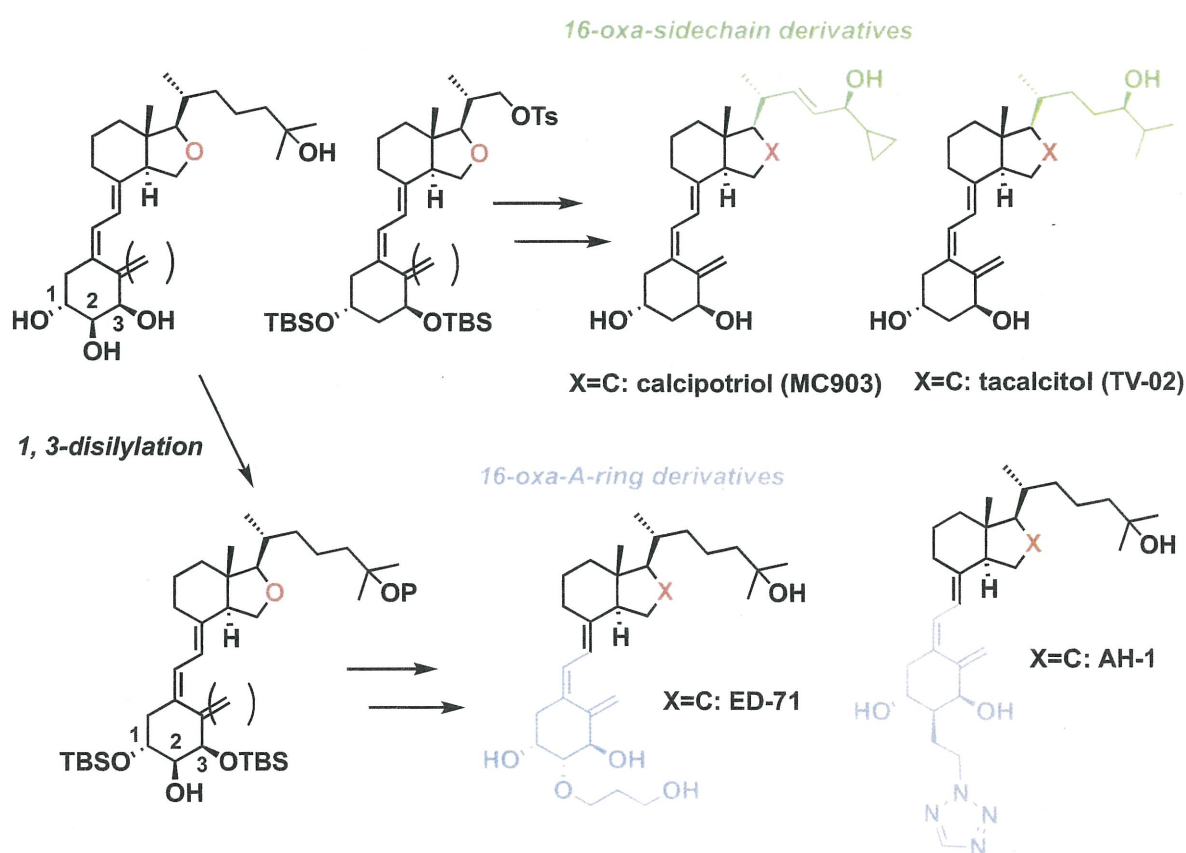


## VDR-binding assay



16-oxa型ビタミンD誘導体に一定のVDR結合能が得られたことから、今後の展望として、これを基盤とする側鎖またはA環部誘導体としての構築に期待ができる。特に、本研究でVDRに対する親和性の低かった2-alkoxy型ビタミンD誘導体は、その1, 3位水酸基の選択的ジシリル化反応を行える可能性が高く、これを基盤として、骨粗鬆治療薬であるED-71や高い骨形成作用を持つAH-1と同様のA環部誘導体としての構築などに期待がもてる。(Figure 6-2)

Figure 6-2

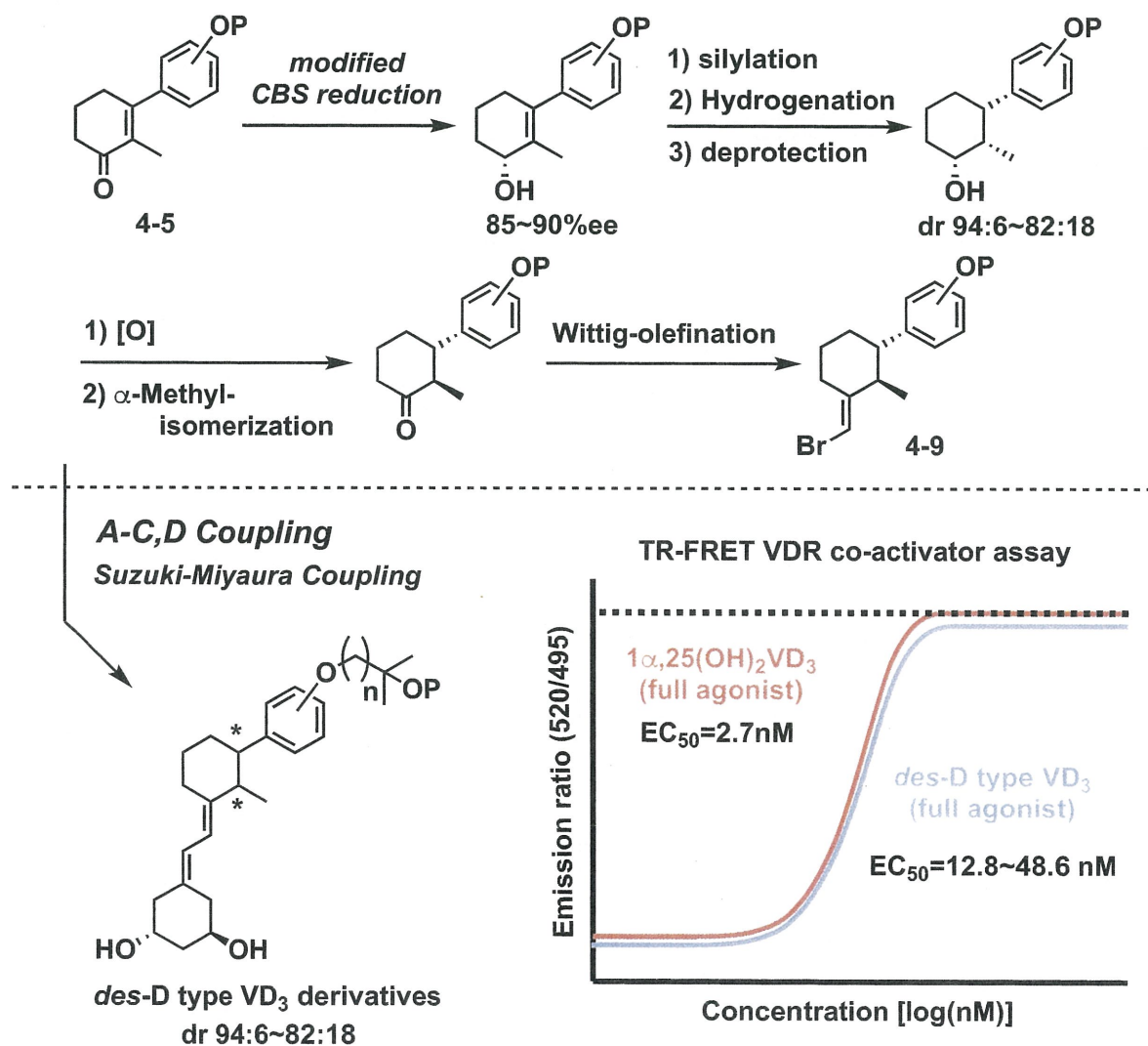


*des*-D型ビタミンD誘導体は、エノン体 (4-5) の Corey-Bakshi-Shibata (CBS) Reductionによる不斉還元と、2級アルコールの保護を経由する接触水素化反応、2級アルコールの酸化反応後の $\alpha$ -methyl基の異性化、続く Wittig-olefinationにより、C環部ユニット (4-9)を構築し、対応するC環部とA環部ユニットとの Suzuki-Miyaura Coupling反応により、*des*-D型ビタミンD誘導体を合成した。これら誘導体は、C環部合成時の CBS還元と接触水素化反応の影響により、ジアステレオマー比 (dr) 94:6~82:18の誘導体となっている点で、光学純度の改善が課題である。

*des*-D型ビタミンD誘導体のVDRに対する結合能は、その光学純度が低いにもかかわらず、 $EC_{50}$ 値12.8~48.6 nMの範囲であり、これら誘導体は全てfull agonistとしての挙動が得られた。特に、誘導体 (4-12-meta-C2)の $EC_{50}$ 値は12.8nMであり十分なVDR結合能が得られた。この時ブランクとして用いた $1\alpha,25(OH)_2-VD_3$ の $EC_{50}$ 値(2.7nM)と比較すると約5倍濃度であるが、この $1\alpha,25(OH)_2-VD_3$ を用いた同様のVDR結合能評価での $EC_{50}$ 値は、そのほとんどが経験値として10~15nMの範囲で得られている。このことを考慮すれば、この誘導体は光学純度が低いにもかかわらず $1\alpha,25(OH)_2-VD_3$ と同等の結合能を持つとも言える。(Figure 6-3)

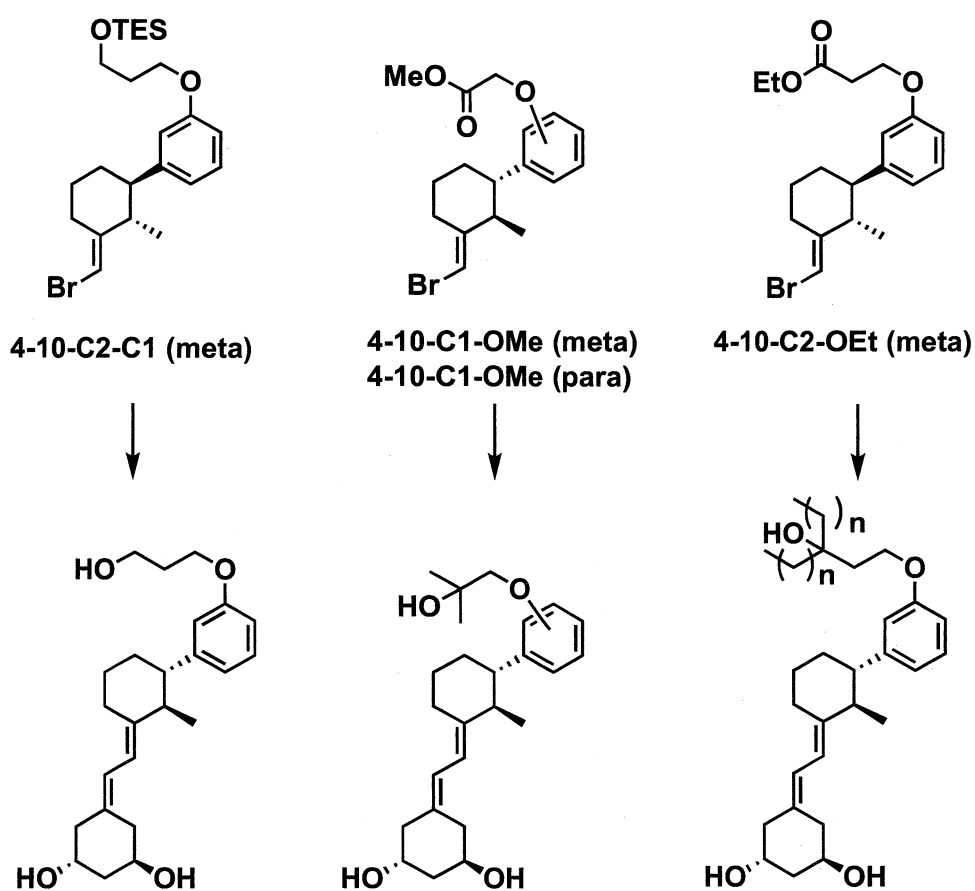
Figure 6-3

### Synthesis of C-ring



*des*-D型ビタミンD誘導体の今後の展望としては、さらなる誘導体ライブラリーの構築と光学純度の改善である。誘導体ライブラリーの構築という面では、すでに *des*-D型ビタミンDの側鎖誘導体として複数の誘導体構築を可能としたC環部ユニットを合成しており、これらユニットから合成できる誘導体のVDR結合能評価を行うことで、側鎖部分のVDRに対する構造活性相関を明確にしていくことを予定している。(Figure 6-4)

Figure 6-4

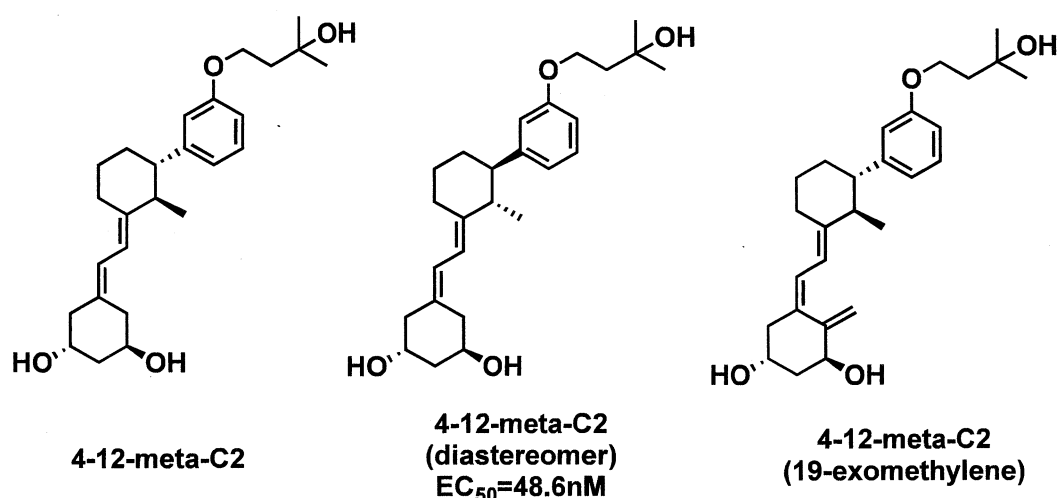


光学純度の改善という面では、カップリング前駆体であるC環部ユニットは、再結晶法により白色結晶が得られており、これの溶媒等の条件検討により改善が見込まれる。

さらに、本研究で十分なVDR結合能を示した *des*-D型ビタミンD誘導体 (**4-12-meta-C2**)とそのジアステレオマー体、そしてこれのA環部を天然型とした誘導体のHPLCによる光学活性体としての分取を終えており、これら3種類の誘導体

のVDR結合能評価を行う予定である。この評価により、*des*-D型ビタミンD誘導体(4-12-*meta*-C2)とそのジアステレオマー体の立体配座の違いによるVDR結合能への影響を明確にする。A環部を天然型とした誘導体については、対応する19-*nor*型の誘導体(4-12-*meta*-C2)で、光学純度が低いにもかかわらず十分なVDR結合能が得られていたことから、この誘導体のVDR結合能には大いに期待できる。(Figure 6-5)

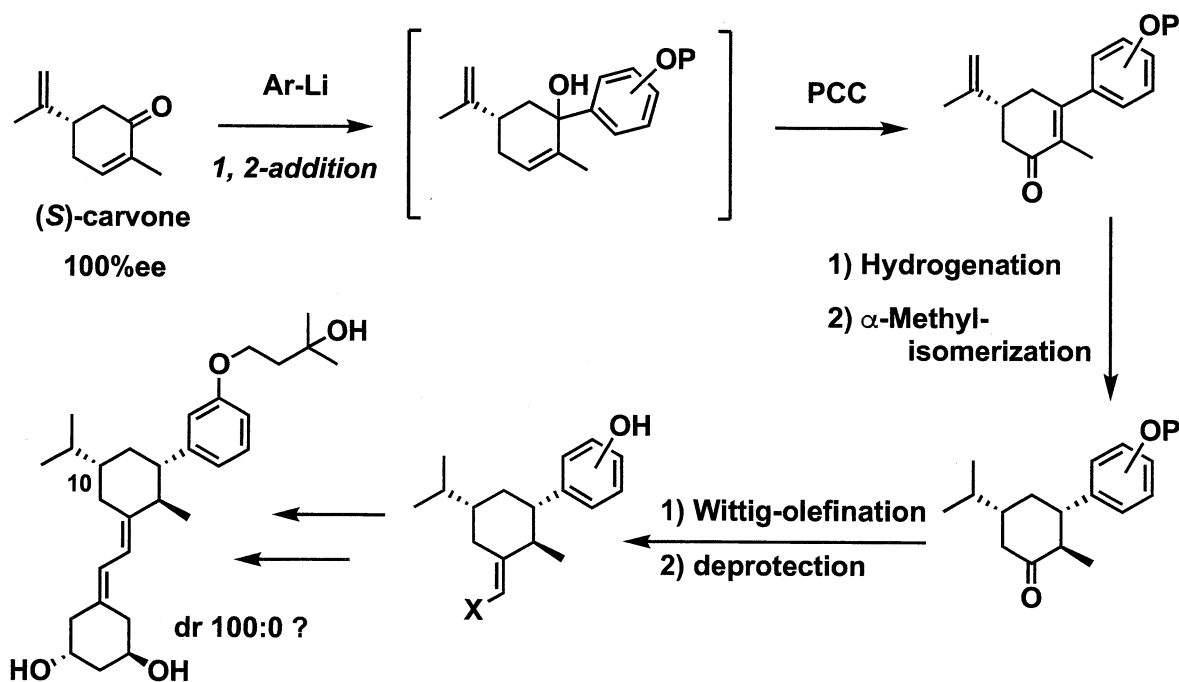
Figure 6-5



この他、当研究室では天然から安価に入手可能である *carvon* を原料とした *des*-D型ビタミンD誘導体の合成にも着手しており、これを原料とする誘導体合成では、出発原料である *carvon* の光学純度を維持したまま、光学活性体として誘導体合成を行うことが可能となる。これについては、既に一部誘導体の合成と一定のVDR結合能を報告しているが、ビタミンD骨格10位に相当するイソプロピル基のVDR親和性・結合能に及ぼす影響や、誘導体としての光学純度の確認を課題としている。<sup>48</sup> (Figure 6-6)

<sup>48</sup> 2019年度 久保 文香 卒業論文 (神奈川大学)

Figure 6-6



AutoDock<sup>TM</sup> Vina programを用いたドッキングシミュレーションとVDR結合能評価の相関関係は、概ね相関が取れる結果であった。VDRは剛体として扱い、リガンドはChem3Dの分子力場計算 (MM2)による構造最適化を行ったものを用いてきた。

実際のシミュレーション結果は、VDRに対するリガンドの親和性 (kcal/mol)が数種類表示される。この時採用する結果は、rmsd (root mean square deviation, 平均二乗偏差)が0であり、ブランクとして入れ込んだリガンドデータと新規リガンドのoverlapp modelで、ビタミンD骨格の1, 3, 25位水酸基の位置が概ね一致ことを条件とした。この条件を満たす新規リガンドであれば、最低限VDRに対する親和性が得られる誘導体となる可能性が高い。

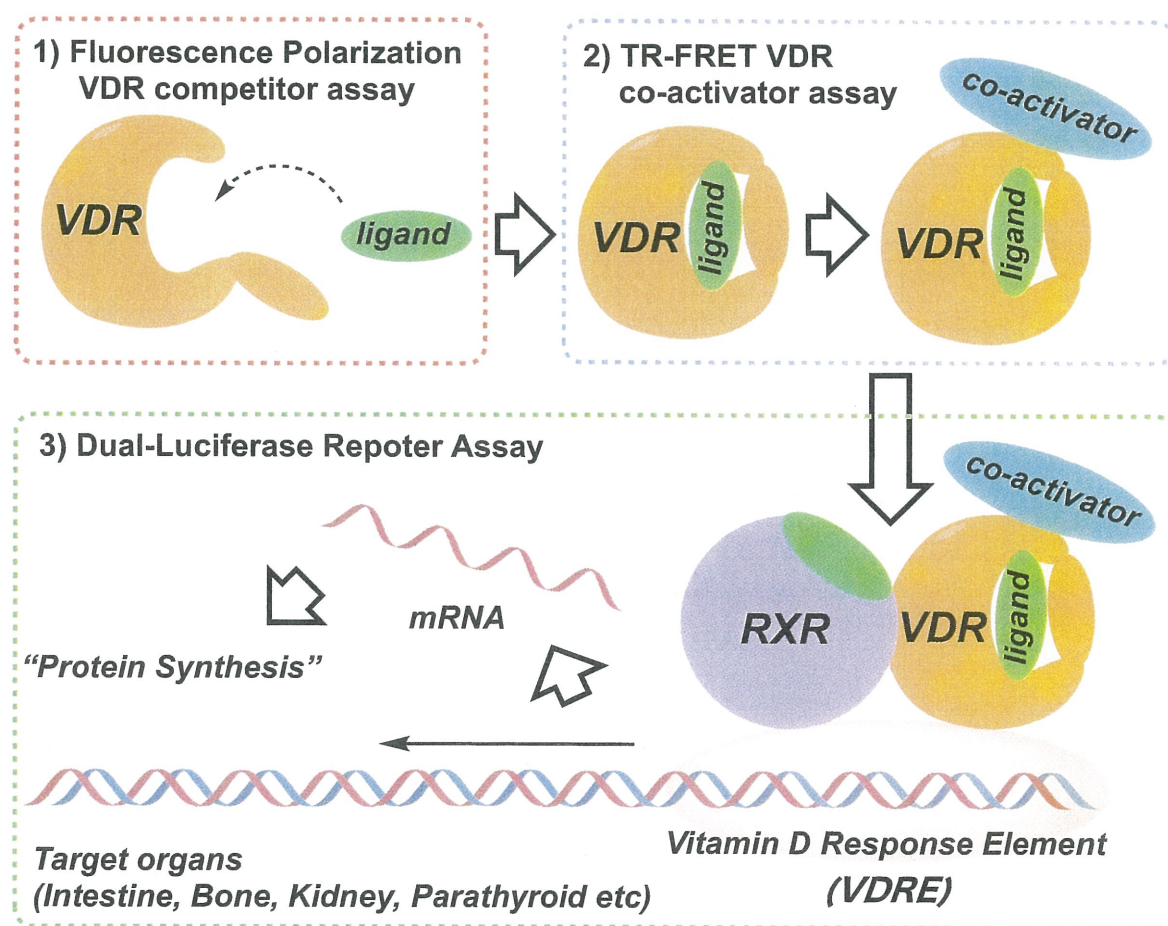
十分なVDR結合能を得ることを目的とした場合には、その条件が増える。即ち、a) 新規誘導体のVDR内での結合ドメインである1, 3, 25位水酸基の空間配置が一致すること、b) ビタミンD骨格特有のA環部からC環部にかけての屈曲した脂溶性構造が一致すること、c) ビタミンD骨格1, 3, 25位に相当する水酸基意外に、水素結合する官能基を有さないこと (1, 3, 25位の水酸基以外にVDRとの結合ドメインを有する、VDR-ligand複合体結晶データ (PDB)には適用しない。), d) VDRに対する親和性 (kcal/mol)の計算値が、ブランクであるリガンドの親和性と $\pm 0.5$ kcal/molの範囲



内であること。この条件を満たす新規リガンドであれば、 $1\alpha,25(\text{OH})_2\text{-VD}_3$ と同じ濃度オーダーでVDR結合能を示す可能性が高い。

これまで当研究室にて構築した、新規ビタミンD誘導体は、蛍光偏光ビタミンD受容体競合アッセイと時間分解蛍光共鳴エネルギー転移ビタミンD受容体コアクチベーターアッセイにより、新規誘導体のVDRに対する親和性と結合能を評価している。これの次段階としてデュアルルシフェラーゼレポーターアッセイによる遺伝子転写活性評価の実施を目指している。(Figure 6-7)

Figure 6-7



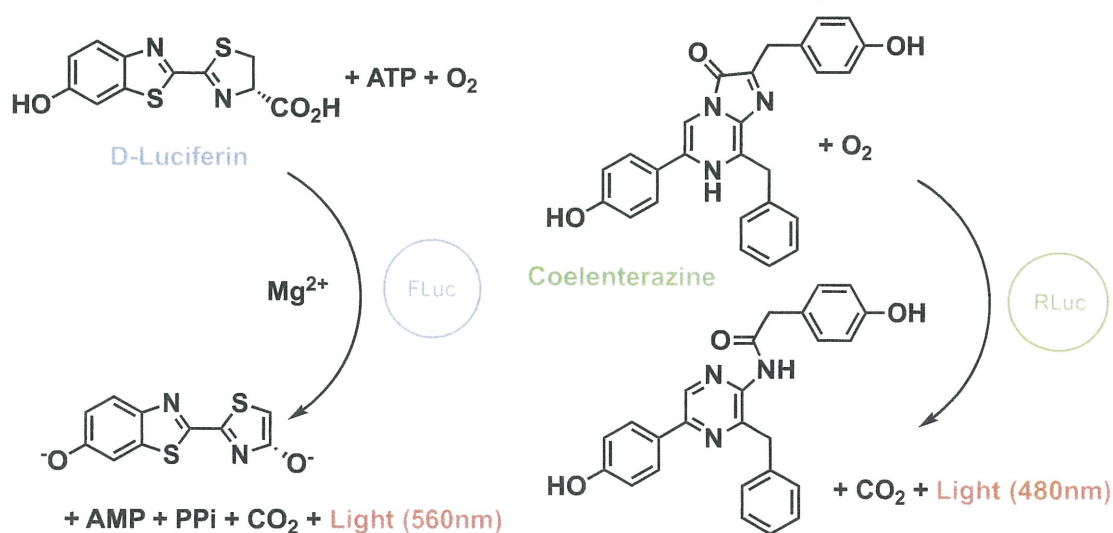
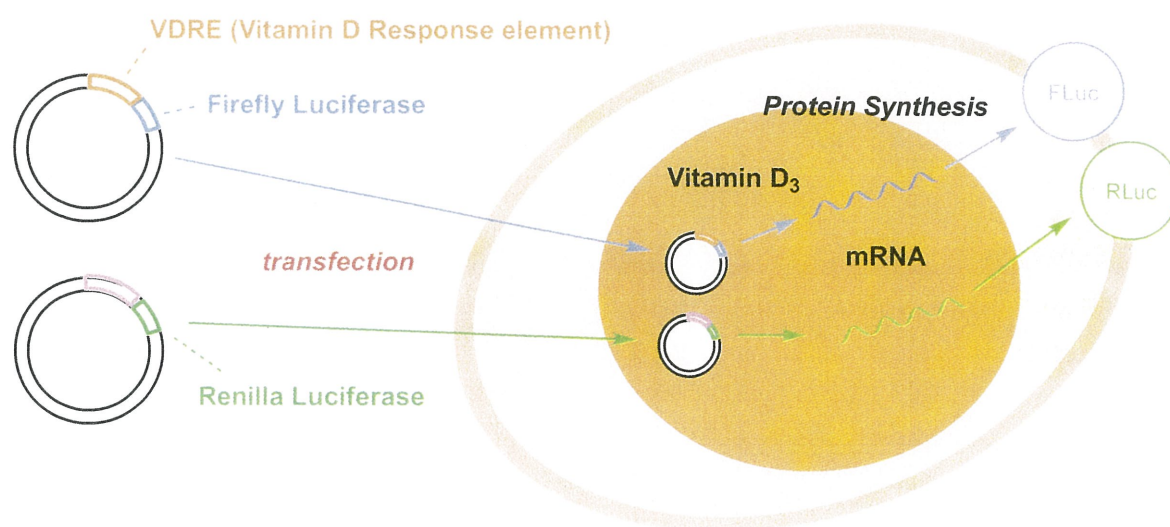
デュアルルシフェラーゼレポーターアッセイ (Dual-Luciferase<sup>®</sup> Reporter (DLR<sup>™</sup>) Assay System) は、2種類のルシフェラーゼ遺伝子を用いる手法であり、一方のルシフェラーゼ遺伝子に特定の転写調節領域をクローニングし、これを細胞内に組み込み、細胞培養後のルシフェラーゼタンパクからの発光を測定する。もう一

方のルシフェラーゼ遺伝子はコントロールレポーターとして用いる。

即ち、発現用プラスミドとして、ホタルルシフェラーゼ遺伝子にVDR-RXR複合体の転写調節領域であるVDRE (Vitamin D Response element)をクローニングしたベクターと常時発現型プラスミド (コントロールレポーター)として、恒常的な活性を持つ転写調節領域をクローニングしたウミシイタケルシフェラーゼ遺伝子のベクターの細胞内へのトランスフェクションを行う。この細胞に対して、一定濃度のビタミンD誘導体の添加と細胞培養後に2種類のルシフェラーゼタンパク由来の発光を連続的に測定する。

初めに、ルシフェリンを含む試薬 (LARII)を加え、発光測定を行う。この時加えたルシフェリンはホタルルシフェラーゼタンパクの触媒作用により酸化されることで、約560nmの発光が観測される。即ちこの発光量は、ビタミンD誘導体の遺伝子転写活性に依存するものである。次に、Stop&Glo<sup>®</sup>試薬を加え、発光測定を行う。この試薬は、ホタルルシフェラーゼタンパクの触媒作用を停止させると同時に、セレンテラジンを供給する。このセレンテラジンはウミシイタケルシフェラーゼの触媒作用により酸化されることで、約480nmの光を放出する。これは、ホタルルシフェラーゼの活性のコントロールレポーターとして、細胞生存率やトランスフェクション効率などによる実験値のばらつきを最小限に抑える。以上の実験操作により、ビタミンD誘導体の遺伝子転写活性の評価を行う。(Figure 6-8)

Figure 6-8



本研究で、一定のVDR結合能が得られた誘導体であれば、デュアルルシフェラーゼレポーターアッセイにより遺伝子転写活性が得られる可能性が大いにあり、今後の展望に期待している。以上を本研究の総括とする。

[発表論文]

- (1) K. Ibe, T. Yamada and S. Okamoto, "Synthesis and vitamin D receptor affinity of 16-oxa vitamin D<sub>3</sub> analogues", *Org. Biomol. Chem.*, **2019**, *17*, 10188-10200.
  
- (2) K. Ibe, H. Aoki, H. Takagi, K. Ken-mochi, Y. Hasegawa, N. Hayashi and S. Okamoto, "Preparation of 2-hydroxy A-ring precursors for synthesis of vitamin D<sub>3</sub> analogues from lyxose", *Tetrahedron Letters*, **2015**, *56*, 2315-2318.
  
- (3) K. Ibe, Y. Hasegawa, M. Shibuno, T. Shishido, Y. Sakai, Y. Kosaka, K. Susa and S. Okamoto, "Simple and practical method for selective acylation of primary hydroxyl group catalyzed by *N*-methyl-2-phenylimidazole (Ph-NMI) or 2-phenylimidazo[2,1-*b*]benzothiazoles (Ph-IBT)", *Tetrahedron Letters*, **2014**, *55*, 7039-7042.

## 謝辞

本研究を進めるにあたり、終始適切な御指導、御助言を頂きました、岡本専太郎教授、山田健助教に深く感謝致します。そして研究を進める上で、測定・分析機器など技術的な面で、御指導、御助言を頂きました、松野千加士技術員に深く感謝致します。何よりも、企業への就職後にもかかわらず、本学博士後期課程への進学と研究活動の機会を与えて頂いたことに深く感謝致します。

昨今の新型コロナウイルスによる世界的パンデミックにより、大学の運営状況が混乱する中、今回の学位論文審査を承諾いただいた、岡田正弘教授、小野晶教授、金仁華教授、横澤勉教授に深く感謝申し上げます。

そしてこのような状況下、研究活動を再開できたこと、学位論文の審査を行っていただけることは、本研究科の諸先生方をはじめ、本学教職員の方々のおかげであり、この事にも深く感謝申し上げます。

最後に、博士後期課程の2年間で、共同研究者として協力した、中田春樹君、大上真由さん、小牧拓夢君、久保文香さん、長谷川紗也さん、平林加奈子さん、三橋知華さんに深く感謝致します。

そして、本研究を円滑に進めることができたのは、研究室の諸先輩方が築き上げてきた基礎研究の成果があつてこそのものであると実感しています。これら基礎研究の成果が構築された中で、研究を進められたことは幸運なことであり、研究室の先輩方に感謝申し上げます。