

ビタミンD新代謝物および関連化合物の

合成並びに代謝研究

山本 恵子

目 次

序論	-----	1
本論	-----	8
第1章	ビタミンD共役トリエン部分の biological oxidation を想定しての biomimetic chemical oxidation -----	8
第1節	ビタミンDと活性酸素種 singlet oxygen との反応 -----	9
第2節	ビタミンD ₃ endoperoxide (2 および 3) の化学反応 -----	17
第3節	ビタミンD ₃ の位置および立体選択的エポキシ化反応 -----	28
第4節	トリエン部分が酸化された新代謝物 19-nor-7,8-epoxy-25-hydroxy-10-oxovitamin D ₃ (8) の合成 -----	33
第5節	ビタミンDトリエン酸化体のヒト骨髄性白血病細胞に対する分化誘導作用について -----	38
第2章	23位の水酸化を経るビタミンD新代謝物の立体選択的合成および立体配置の決定 -----	43
第1節	25-OH-D ₃ -26,23-lactone (11) の4つの立体異性体の合成 -----	44
第2節	23位の立体配置に関する考察 -----	61

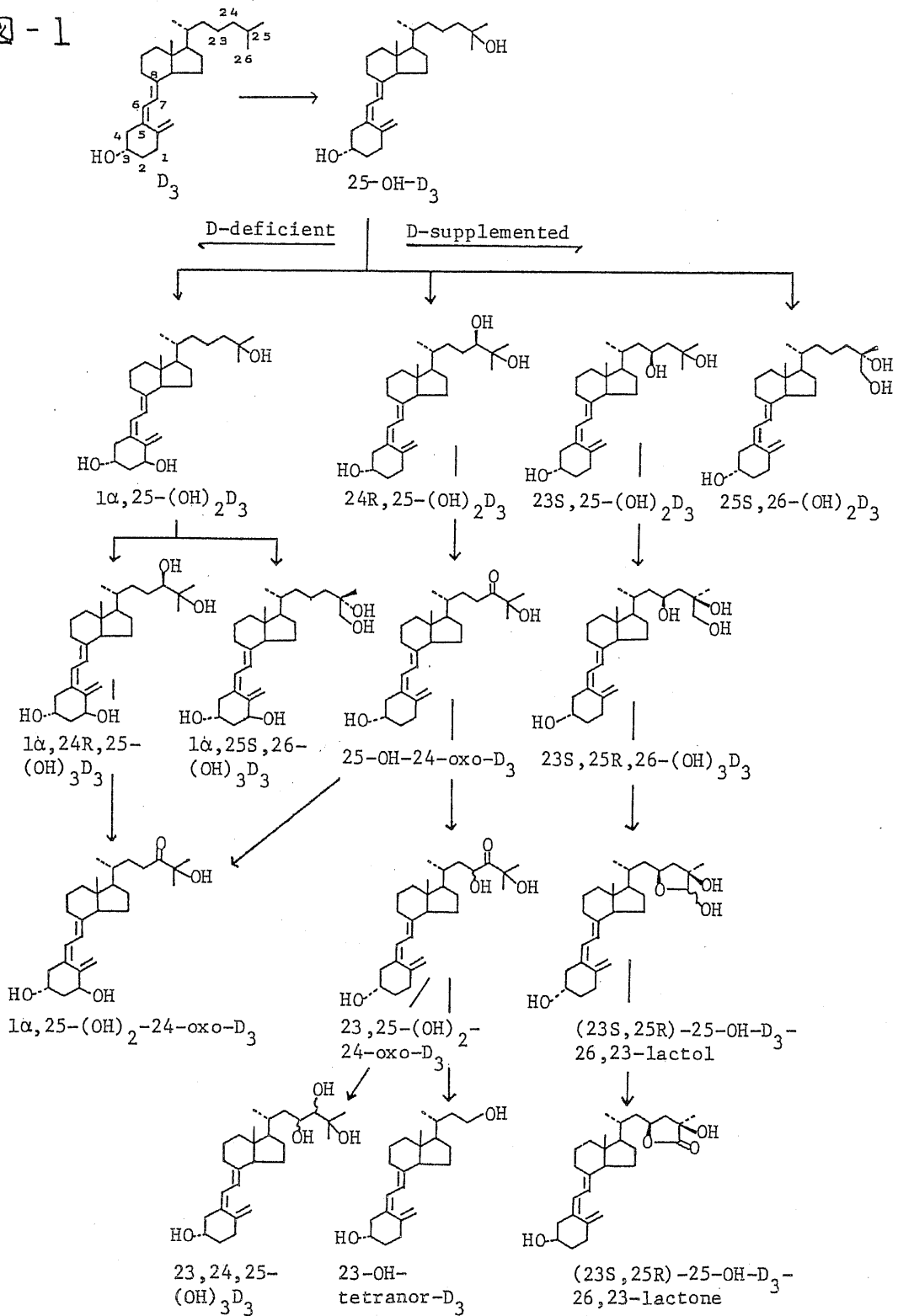
第3節	天然 lactone (II) の立体配置の決定	65
第4節	lactone (II) の推定生合成中間体 $23S, 25R, 26-(OH)_3 D_3$ (14) および $(23S, 25R)-25-OH-D_3-26, 23-lactol$ (15) の立体選択的合成	67
第5節	ビタミンD新代謝物 $1\alpha, 25R, 26-(OH)_3-23-oxo-D_3$ (16) の立体選択的合成	70
第3章	$(23S, 25R)-25-OH-D_3-26, 23-lactone$ (II) の生合成経路の解明	78
第1節	$23S, 25R, 26-(OH)_3 D_3$ (14) および $(23S, 25R)-25-OH-D_3-26, 23-lactol$ (15) の lactone (II) への生物学的変換	80
第2節	$(23S, 25R)-25-OH-D_3-26, 23-lactol$ (15) の単離同定	83
結 論		86
謝 辞		88
実 験 の 部		89
第1章の実験		90
第2章の実験		116
第3章の実験		155
文 献		159

序 論

近年ビタミンDに関する多くの新事実が明らかにされ、ビタミンDに関する研究は、医学、生化学を問わず多くの分野で飛躍的な進歩をとげた。著者はビタミンDの生体内代謝、特に酸化反応に着目し、有機化学的見地からその研究に取り組んだ。

ビタミンDは、1922年 McCollum により発見・命名された抗くる病因子であり、生体内でカルシウムおよびリンの代謝を調節している物質である。1960年代後半から1970年代にかけて DeLuca のグループを中心に精力的に行なわれた代謝研究の結果、ビタミンDは体内で代謝され活性型 D_3 $1\alpha, 25$ -dihydroxyvitamin D_3 [$1\alpha, 25$ -(OH) $_2$ D_3] となってはじめてその作用を発現することが明らかにされた¹⁾。以後、現在に至るまで多くのビタミンD代謝物が単離・構造決定された。それら代謝物の生成経路は、図-1のごとく要約される。体内に取り込まれたビタミンDは、肝臓で25位が水酸化されて 25-hydroxyvitamin D_3 (25-OH- D_3) となる²⁾。25-OH- D_3 は血中に最も多量に存在する循環型のビタミンDで、これ以後は血中のカルシウム濃度に依存して大きく二つの経路に分かれて代謝される。すなわち、血中のカルシウム濃度が正常値以下(D欠乏状態)では、腎臓で1 α 位が水酸化され³⁾ $1\alpha, 25$ -(OH) $_2$ D_3 となる⁴⁾。 $1\alpha, 25$ -(OH) $_2$ D_3 は、ビタミンD代謝産物中で最も強い活性を有し、いわゆるビタミンD作用すなわちカルシウムおよびリンの代謝調節の作用発現の本体として認められている化合物であり、その作用機構が詳細に研究されている。一方、血中のカルシウム濃度が正常または高い場合(D充分状

☒ - 1

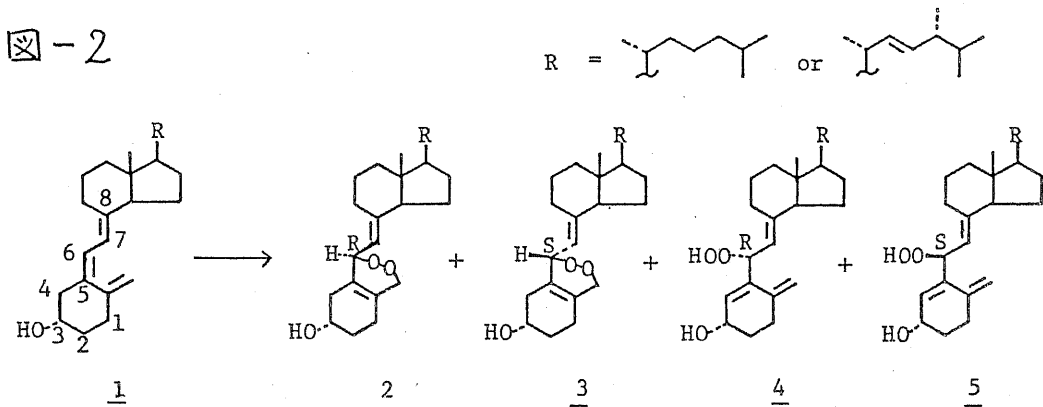


態)には、25-OH-D₃は側鎖部分が酸化的に代謝される。すなわち24位⁵⁾、26位⁶⁾あるいは23位⁷⁾の水酸化を経て図-1に示すごとく多くの代謝物を生成する。これら側鎖代謝経路のうち、24位の水酸化を経る経路は特に顕著で、24R,25-dihydroxyvitamin D₃ [24R,25-(OH)₂D₃]は25-OH-D₃に次いで血中に多量に存在し重要な物質と考えられるが、その生理的意義に関しては、ビタミンDの生理作用発現に不可欠であるという説と体外排泄の第一段階であるという説があり定説はない。26位の水酸化を経る経路は代謝研究の初期に見い出されたが、その生理的意義はほとんど明らかにされていない。23位の水酸化を経る経路は最近になってその存在がはじめて明らかにされ、この経路の代謝研究が著者らも含めて近年活発に展開され多くの知見が得られた。

最近活性型D₃ $\alpha,25$ -(OH)₂D₃がカルシウムおよびリンの代謝調節以外の注目すべき作用を有することが見い出され、ビタミンD研究は従来とは異なる新たな局面をむかえた。すなわち $\alpha,25$ -(OH)₂D₃がヒト骨髓性白血病細胞(HL-60)の分化誘導を強く促進することが示され⁸⁾、抗腫瘍性の面から注目されると共に、 $\alpha,25$ -(OH)₂D₃のレセプターが従来より知られている小腸および骨以外の生体の多くの組織に存在する⁹⁾ことが明らかにされ、このことから、ビタミンDは細胞の基本的機能発現に重要な役割を果たしているのではないかと考えられるようになってきた。このような興味深い生理作用とも関連して、ビタミンDの更に詳細な代謝研究が望まれている。

ビタミンDの代謝物は、図-1に示した如く数多く知られているが、それらはモノオキシゲナーゼ(チトクローム P450)によって酸化されたと考えられる化合物のみである。一方、ビタミンDはアラキドン酸(ビタミンF)、 β -カロチン(プロビタミンA)、トコフェロール(ビタミンE)と同様脂溶性ビタミンに属し反応性の高い共役トリエンを有しているので、それらと同様生体内で不飽和炭素部分が酸化的に代謝されることが期待される。しかしトリエン部分が酸化された代謝物は、著者がこの研究を開始した当時全く見い出されていなかった。また、トリエン部分の化学的酸化反応に関する系統的研究もほとんどなされていなかった。

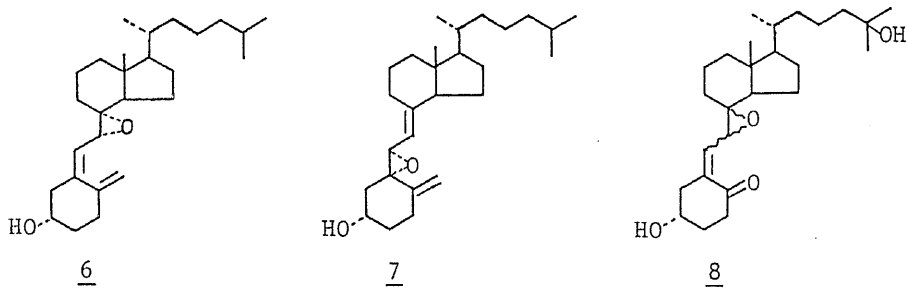
著者は、ビタミンDの生体内酸化反応と関連し興味あるトリエン部分の biomimetic chemical oxidation の研究を行った。その結果、ビタミンDと singlet oxygen との反応では、singlet oxygen とビタミンDの *s*-シスジエン部分との 1,4-環化付加体である 6,19-epidioxylvitamin D (endoperoxide) (2 および 3) および エン反応生成物である $\Delta^{4,7,10(19)}$ 6-hydroperoxide (4 および 5) の生成を初めて確認した。^{10), 11), 12)} 主生成物である endoper-



oxide 類は、その反応性を詳細に検討すると共に、トリエン部分が酸化的に修飾された各種ビタミンD誘導体に変換した¹¹⁾。そしてこれらの HL-60 分化誘導における生理作用を検討し興味ある結果を得た¹³⁾。

ビタミンD₃のエポキシ化反応の検討では、位置および立体選択的に (7R)-7,8-epoxyvitamin D₃ (7,8-epoxide) (6) 並びに (5S)-5,6-epoxyvitamin D₃ (5,6-epoxide) (7) を合成する方法を確立した¹⁴⁾。そしてこの方法を利用し、最近になって見い出された¹⁵⁾ ビタミンDのトリエン部分が酸化された代謝物である 19-nor-7,8-epoxy-25-hydroxy-10-oxo-vitamin D₃ (19-nor-7,8-epoxy-25-OH-10-oxo-D₃) (8) の合成も検討した。

図-3

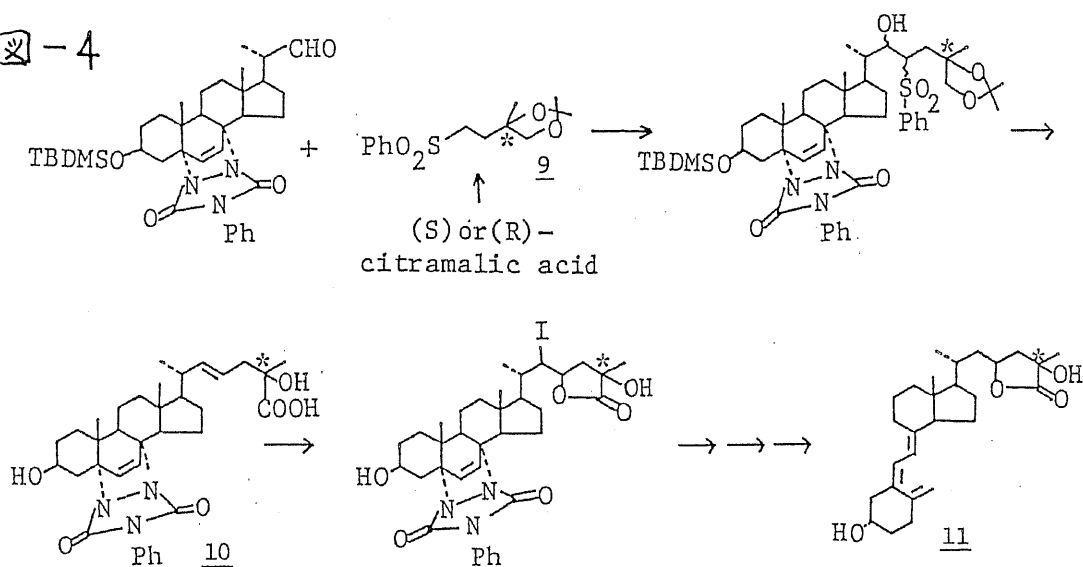


D 充分状態において 25-OH-D₃ は側鎖が酸化的に代謝される。24位および26位の水酸化を経る代謝経路は従来より知られていたが、23位の水酸化を経る代謝経路は、新代謝物 25-hydroxy-vitamin D₃-26,23-lactone (25-OH-D₃-26,23-lactone) (11)¹⁶⁾ の発見を契機として最近になって見い出された。

著者はこの新しい代謝経路の一連の代謝物の合成並びに代謝研究を系統的に行った。まずこの経路の主代謝産物であり、かつ抗ビタミンD作用を有することが知られている¹⁷⁾ 25-OH-D₃-26,

23-lactone (11)の合成を検討した。その結果、25位の立体配置を既知の立体配置を有する chiral synthon を用いることにより、また23位の立体配置を鍵中間体 Δ^{22} -26-カルボン酸 (10) の iodo-lactonization の反応条件を制御することにより、選択的に導入し、可能な4つの立体異性体の合成に成功した(図-4)。そして天然品との直接比較により天然 lactone (11) は23位がS配置であり、25位がR配置であることを初めて明らかにした。更に天然 lactone (11) の効率の良い立体選択的合成法を確立した⁽⁸⁾。

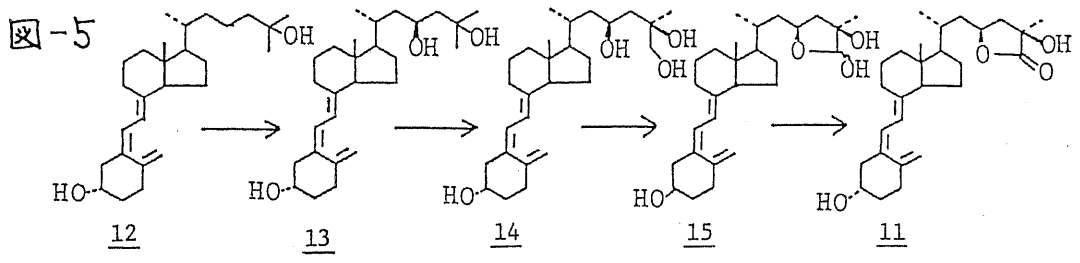
図-4



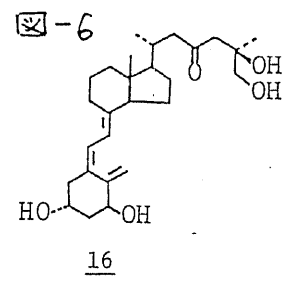
25-OH-D₃ から lactone (11) に至る生合成中間体としてその後、23S,25-dihydroxyvitamin D₃ [23S,25-(OH)₂D₃] (13) が単離同定された⁽⁷⁾。著者は 23S,25-(OH)₂D₃ (13) から lactone への生合成は酸化が stepwise に進行するなら中間体として 23S,25R,26-trihydroxyvitamin D₃ [23S,25R,26-(OH)₃D₃] (14) および (23S,25R)-25-hydroxyvitamin D₃-26,23-lactol (25-OH-D₃-26,23-lactol) (15) を経由すると考えた(図-5)。そしてこの生合成経路の解明を目的として、

推定中間体(14)および(15)を lactone(11)の立体選択的合成法を
応用して効率よく合成した¹⁹⁾。

推定中間体(14)および(15)は lactone 生合成の主臓器である D
充分状態の腎臓(ニワトリ)を用いて代謝を検討した。その結果
いずれも効率よく lactone(11)に変換され、14 および 15 が
lactone 生合成の前駆物質であることが証明された。更に半減
期が短かく単離が困難であった lactol(15)を 14 の代謝物とし
て単離固定することにも初めて成功した²⁰⁾以上の結果 lactone
(11)の生合成経路が図-5 の如く確立された。



新代謝物として報告された²⁰⁾ 1 α , 25R, 26-tri-
hydroxy-23-oxovitamin D₃ [1 α , 25R, 26-(OH)₃-
23-oxo-D₃](16)を chiral synthon を用いる化
学合成および酵素による水酸化の手法を用
いて立体選択的に合成した。その結果天然
品と合成品は一致せず、報告された構造式
は誤りであることが明らかとなった²²⁾。



以下、第1章では、ビタミンDトリエン部分の biomimetic
chemical oxidation について述べる。

第2章では、側鎖の23位が酸化された新代謝物の立体選択的
合成および構造決定について述べる。

第3章では、lactone(11)の生合成経路の解明について述べる。

本 論

第1章 ビタミンD共役トリエン部分の biological oxidation を想定しての biomimetic chemical oxidation

生体内において酸化反応が非常に重要であることは周知の通りである。生体内酸化反応は多種多様であるが、これらの反応は酸化還元酵素と総称される一群の酵素の作用によって行われる。それらの酸化反応のうちアミノ酸、脂質、糖、ビタミン、ホルモン、核酸、ヘムなどの代謝、あるいは薬物代謝、毒物の解毒的分解に欠くことのできない酸素酸化反応は、酸素分子あるいは基質が酵素により活性化されて酸素が基質に取り込まれる反応で、有機化合物の化学的な酸素酸化反応と形式的に似ている点が多く、合成化学における酸素酸化反応の応用という観点から興味深い。現在生体内における酸素酸化反応について全反応の概要やある段階における機構が序々に明らかにされつつあり、生体内の反応といえども電子のレベルで理解できる化学反応と原理的に変るところはないので、生体内酸化反応に対して有機化学からアプローチを行うことは可能であり、生化学と有機化学の相乗的発展にも有意義であると思われる。以上の観点から著者は、生理活性物質の生体内酸化反応および化学的酸化反応に興味をもった。

第1節 ビタミンDと活性酸素種 singlet oxygenとの反応

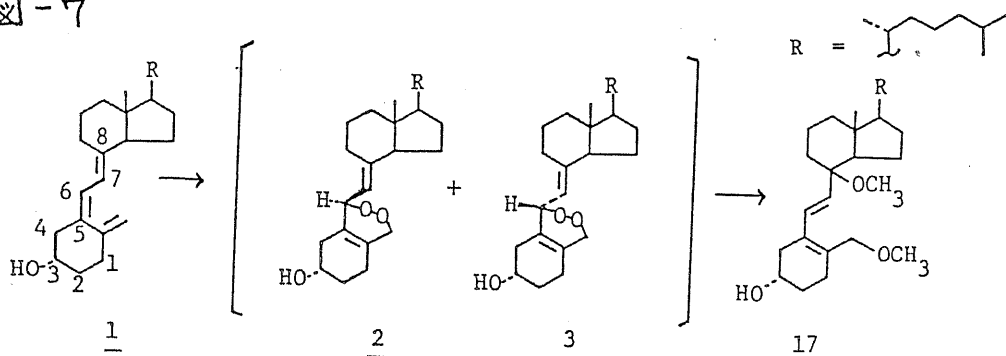
singlet oxygen が生物学的酸化還元系で発生し、生体内物質の酸化反応に関与し、生体内で重要な役割を演じていることは既に知られている。例えば、生体の重要な構成物質である脂質は、singlet oxygen によって酸化され、生じた過酸化脂質は種々の酵素の活性を低下させたり、生体膜自身の変質を引き起すなど生体に対して害作用を及ぼす^{23a)}。一方 β -カロチン²⁴⁾ やトコフェロール²³⁾ は singlet oxygen の scavenger として働き、脂質の過酸化を防御している。また不飽和脂肪酸であるアラキドン酸はリポキシゲナーゼを介して過酸化され leukotriene 類を生合成するが、リポキシゲナーゼを介する酸化と singlet oxygen による酸化は似ており、リポキシゲナーゼを介する酸化の biomimetic oxidation という意味からも singlet oxygen と生体内物質との反応は興味深い。

最近リポキシゲナーゼと singlet oxygen の活性が高いヒト骨髓性白血病細胞に活性型ビタミンD₃である $1\alpha,25-(OH)_2D_3$ の receptor protein が発見された²⁵⁾ が、この事実は、反応性の高い共役トリエンを有するビタミンDが生体内で過酸化反応を起している可能性を示唆していると考えられた。以上の観点からビタミンDと singlet oxygen の反応を検討した。

ビタミンDと singlet oxygen の反応についての報告は、唯一 J. Bland²⁶⁾ によるものがある。彼らは化学的 ($NaOCl + H_2O_2$) に発生させた singlet oxygen とビタミンD₃を MeOH 中で反応させ、予期した (4+2) の環化付加物である endoperoxide (2) およ

び(3)の代りに 8,19-dimethoxy-9,10-secocholesta-5(10),6-dien-3 β -ol (25) を単離した。これは最初生成した endoperoxide (2) あるいは (3) が不安定であるため、溶媒として用いた MeOH に攻撃されて生成したのであろうと報告している (図-7)。

図-7



著者は、光増感反応により発生させた singlet oxygen とビタミンDの反応を検討した。増感剤として Rose Bengal (RB) あるいは Tetraphenyl porphine (TPP) を用い、種々の溶媒中で酸素を導入しながら光照射を行い、ビタミンDの共役トリエン部分と singlet oxygen が反応した4種の酸素付加体(2), (3), (4), (5)を得た。一方酸素の代りにアルゴンを導入する(singlet oxygen が生成しない)同様の条件下では、ビタミンDは5,6-二重結合のミストランス異性化反応を起し、ビタミンD (1) とトランスビタミンD (18) の平衡混合物となった*。この平衡反応は速やかに進行することから、2, 3, 4, 5 は 1 と 18 の平衡混合物から生成したものと考えられる (図-8)。

光増感酸化反応の条件および結果を表-1に示す。いずれの場合も主生成物は μ -シスジエンと singlet oxygen の(4+2)付加体である endoperoxide (2) および (3) であり、それらは6位の立体異性体で生成比1:1、総収率55~65%で得られた。増感剤

* RBを用いた場合、約15分で 1:18 = 3:5 の平衡混合物となった。

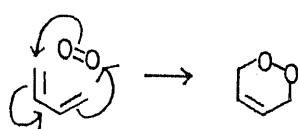
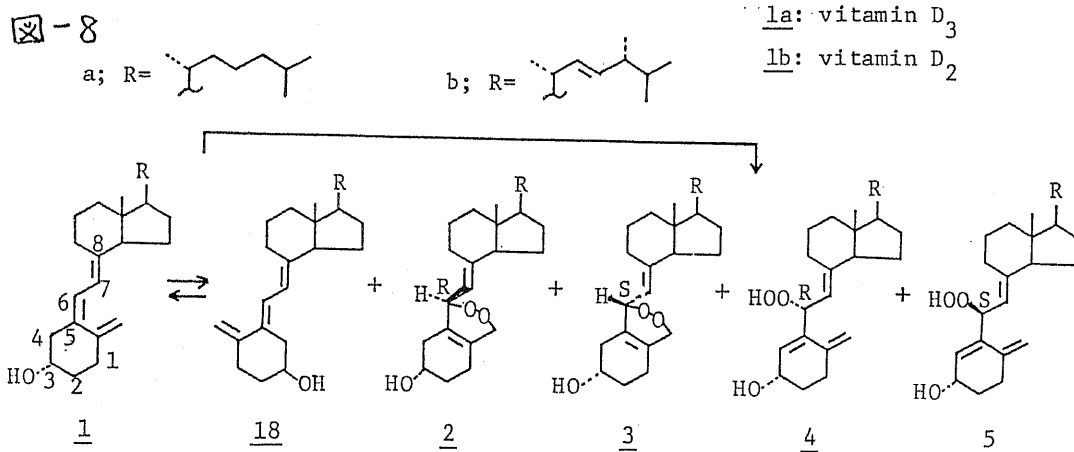
表-1

Photooxidation of vitamin D

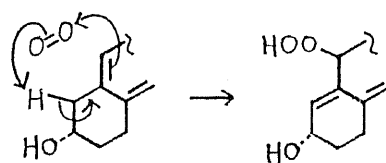
entry	substrate (mg)	solvent (mL)	sensitizer (mg)	time (h)	product isolated yield (%)			
					<u>2</u>	<u>3</u>	<u>4</u>	<u>5</u>
1	<u>1a</u> (100)	EtOH(100)	RB(100)	3	26	29	11	7
2	<u>1a</u> (100)	CH ₂ Cl ₂ (100)	RB(100)	0.6	29	22	11	7
3	<u>1a</u> (100)	acetone(100)	RB(100)	1.5	28	28	11	7
4	<u>1a</u> (100)	EtOH-benzene (10:90)	RB(100)	0.6	34	30	12	9
5	<u>1a</u> (1000)	EtOH-benzene (20:180)	RB(200)	1.5	33	31	13	9
6	<u>1a</u> (100)	CH ₂ Cl ₂ (100)	TPP(5)	0.8	19	18		
7	<u>1a</u> (100)	acetone(100)	TPP(5)	3	21	26		
8	<u>1b</u> (100)	EtOH(100)	RB(100)	3	25	28	10	7
9	<u>1b</u> (1000)	EtOH-benzene (20:180)	RB(100)	2	31	34	14	10

RB : Rose Bengal

TPP : Tetraphenylporphine



(4+2) 反応



エン反応

として RB を用いた場合には、エン反応生成物である hydroperoxide (4) および (5) も単離できた。このエン反応は 5,6-二重結合のアリリック位である 4 位のプロトンが引き抜かれて起ったものであり、6 位の立体異性体である α および β が合せて 15~25% の収率で得られた。増感剤として TPP を用いた場合には TLC 上では α あるいは β の生成は認められたが、副生成物との分離が困難であり、純物質として単離できなかった。

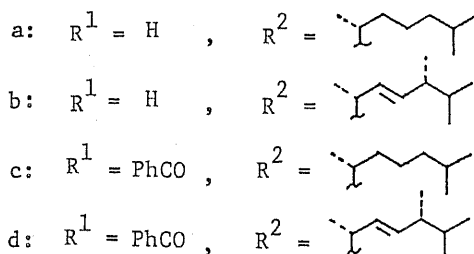
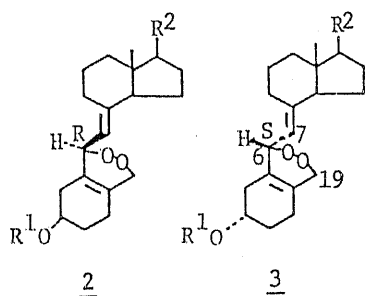
表-1 から明らかのように、この酸化反応では 2 つのタイプの生成物 [(4+2) 付加反応生成物 および エン反応生成物] の生成比は反応条件にほとんど影響されないが、反応速度は条件、特に溶媒の種類に影響された。これは溶媒によって singlet oxygen の寿命が異なるためと考えられる。

endoperoxide (2) および (3) の構造は各種スペクトルデータに基づいて決定した。2 および 3 は、マススペクトルおよび元素分析値よりビタミン D に酸素一分子が付加した化合物であることが示されたこと、および UV で 220nm 以上に吸収極大がなくジエンが存在しないことが示されたことより酸素が s-シスジエン部分に付加した化合物であることが強く示唆された。更に $^1\text{H-NMR}$ (表-2) において δ 4.0-4.6 の間に AB quartet または broad singlet で 19 位の CH_2 のシグナルが観測されたこと、 δ 4.7-5.3 の間にそれぞれ doublet で 6 位および 7 位のプロトンのシグナルが観測されたこと、また $^{13}\text{C-NMR}$ において 4 つの sp^2 炭素 (2b, 3b では側鎖に更に 2 つの sp^2 炭素がある) および酸素と結合している 3 つの sp^3 炭素のシグナルが観測されたことより、その構造は確実である。2 および 3 の 6 位の立体配置は

CD スペクトルおよび X 線解析により決定した。6 位の立体異性体対 [(2a と 3a), (2b と 3b) 更に 2a, 3a, 2b, 3b をそれぞれ benzoyl 化して得た (2c と 3c), (2d と 3d)] はよく似たスペクトルデータを示すが、CD スペクトルでは 210 nm 付近にそれぞれ付号が逆の Cotton 効果を示した (表-2)。2 と 3 は 6 位以外はすべて同じ立体構造を有するので、この Cotton 効果は 6 位の立体配置を反映していることになり、同一符号の Cotton 効果を示す化合物同士の 6 位の立体配置は同一であると考えられた。X 線解析は 2b の benzoate である 2d を用いて行った。その結果、図-9 に示す

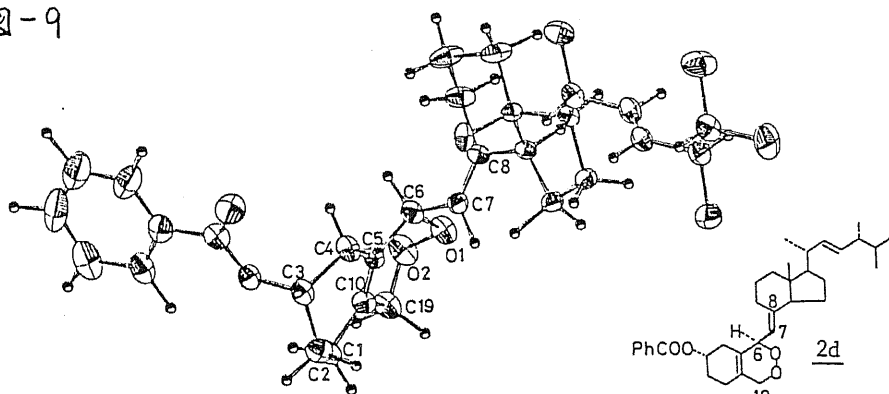
Spectral data of vitamin D endoperoxide 2 and 3

compd	¹ H-NMR δ (multiplicity, J in Hz)				CD	
	H-6 and H-7		H-19		nm (Δε)	
<u>2a</u>	4.88(d,10), 5.15(d,10)		4.36(br s)		207(-23.3)	
<u>3a</u>	4.76(d,9), 5.23(d,9)		4.17(d,16)	4.60(d,16)	215(+6.5)	
<u>2b</u>	4.85(d,9) 5.12(d,9)		4.36(br s)		210(-17.7)	
<u>3b</u>	4.73(d,10) 5.18(d,10)		4.08(d,16)	4.48(d,16)	211(+11.3)	
<u>2c</u>	4.93(d,10)	5.25(d,10)	4.40(d,15)	4.53(d,15)	209(-20.5)	228(+6.5)
<u>3c</u>	4.77(d,9)	5.27(d,9)	4.23(d,15)	4.65(d,15)	210(+6.3)	221(+8.2)
<u>2d</u>	4.88(d,10)	5.32(d,10)	4.30(d,15)	4.56(d,15)	211(-11.5)	227(+5.7)
<u>3d</u>	4.78(d,10)	5.30(d,10)	4.21(d,16)	4.63(d,16)	206(+7.7)	219(+5.8)



ORTEP drawing を得、2dの6位はR配置であることが明らかとなった。このX線解析の結果からCDスペクトルにおいて、210nm付近で負のCotton効果を示す2a, 2b, 2c, 2dは6位がR配置であり、正のCotton効果を示す3a, 3b, 3c, 3dは6位がS配置であるという結論に至った。

図-9

vitamin D₂ endoperoxide (2d)

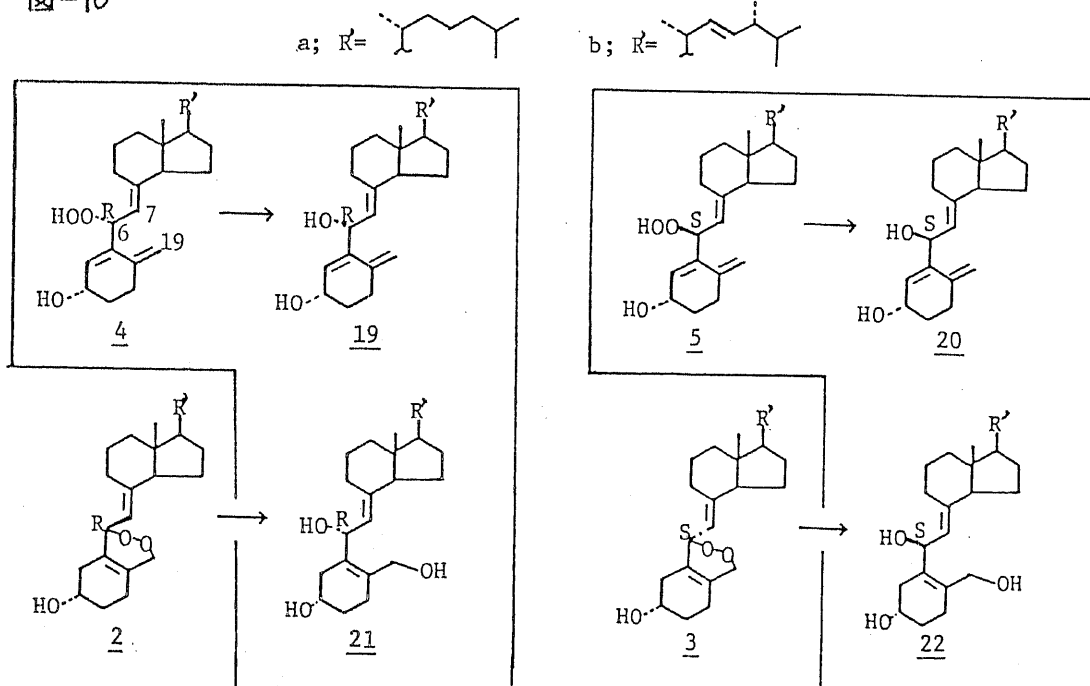
hydroperoxide (オキソヒドロペルオキシド)の構造は、各種スペクトルデータおよび特異的な化学反応に基づいて帰属した。マスマスペクトルでは、ビタミンDに酸素一分子が付加した化合物に相当する分子イオンピークを示し、更にhydroperoxideに特徴的な、 M^+-O , M^+-H_2O , $M^+-H_2O_2$ のピークを明確に示した。その結果、ビタミンDとsinglet oxygenのエン反応生成物であることが強く示唆された。UVでは吸収極大を232~235nmに示し、帰属した構造のジエンchromophoreに対するウッドワード則による計算値234nmとよく一致した。また¹H-NMRではδ7.8-8.3の間にD₂O添加により消失するOOHのシグナルがsingletで観測され、オレフィン領域には19位のexocyclic methyleneの2つのプロトンがそれぞれbroad singletで、6位および7位

のプロトンが AB quartet で、4位のプロトンが multiplet で観測された。また3位のプロトンは通常のビタミンD骨格の場合(約 δ 4.0)より低磁場にシフトしており、4,5-二重結合の導入が強く示唆された。4, 5 は Ph_3P で処理すると OOH が OH に容易に還元されて alcohol 体 (19, 20) となった(図-10)。こ

表-3 Spectral data of hydroperoxides and related compounds

	UV nm λ_{max}	$^1\text{H-NMR}$ δ							
		OOH	H-3	H-19		H-6 and H-7		H-4	H-18
4a	232	7.86	4.42	4.96	5.13	5.00	5.54	6.02	0.52
5a	232.5	8.08	4.43	4.96	5.12	5.00	5.53	6.04	0.60
4b	235	7.96	4.43	4.97	5.0-5.4	5.54	6.04	0.52	
5b	234	8.28	4.42	4.95	4.9-5.3	5.50	6.04	0.61	
19a	234.5		4.40	4.94	5.06	5.10	5.30	6.12	0.50
20a	234.5		4.38	4.90	5.00	5.04	5.24	6.05	0.60
21a			3.88			5.14	5.34		0.50
22a			4.10			5.10	5.52		0.57

図-10



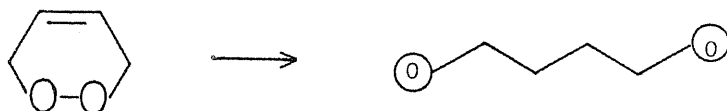
の結果は 4, 5 が hydroperoxide であることを更に確実なものとした。6位の立体配置は 4, 5, 19, 20 およびそれらと構造のよく似た 6-alcohol 体 (21, 22) の $^1\text{H-NMR}$ の比較により推定した。6-alcohol 体 (21) および (22) は endoperoxide (2 および 3) の LiAlH_4 による還元生成物であり (図-10 および第2節 P26 参照) 6位の立体配置は明確である。6-hydroperoxide (4, 5) および 6-alcohol 体 (19, 20, 21, 22) の 6位の立体異性体対 (4と5, 19と20, 21と22) は 18位のプロトンのケミカルシフトが δ 0.5 付近の化合物群 (4, 19, 21) と δ 0.6 付近の化合物群 (5, 20, 22) とに分けられた (図-10)。このケミカルシフトの差は 6位の立体配置の反映のためと考えられたことから, 6R-alcohol (21) および 6S-alcohol (22) との比較により, δ 0.5 付近の化合物群 (4, 19, 21) の 6位が R 配置であり, δ 0.6 付近の化合物群 (5, 20, 22) の 6位が S 配置であると帰属した。

なお、1980年になって Havinga ら²¹⁾もビタミンDの光増感反応により endoperoxide (2 および 3) の混合物を得たと報告したが、2と3の混合物の分離および立体配置の決定は行っておらず、また hydroperoxide の生成に関しても言及していない。

第2節 ビタミンD₃ endoperoxide (2 および 3) の化学反応

炭素骨格の1位と4位が特異的に酸化された (site specific oxygenation) 化合物が容易に得られ(図-11)天然物合成に応用できることから、endoperoxideの化学反応の検討は重要であるが、一般にendoperoxideは不安定な化合物で取り扱いにくいいためか、化学反応に関する報告は以外と少ない。

図-11

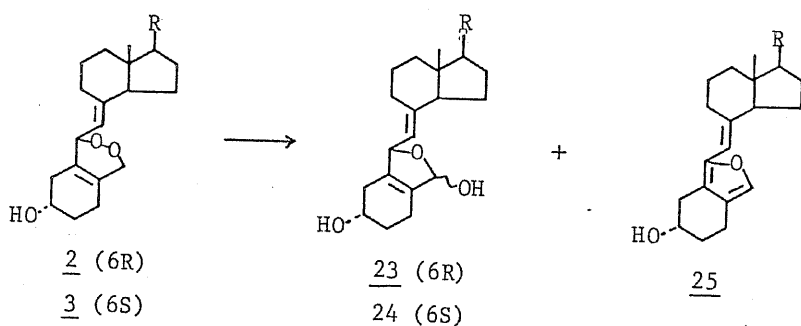


今回得たビタミンDのendoperoxide(2)および(3)はかなり安定で、endoperoxideの化学反応性を検討するためには好適な化合物である。2および3の化学反応の検討は、化学的にはビニル基のついたendoperoxideという点で、また生物学的にはビタミンDの6位および19位が酸化された代謝物との関連から興味深い。

2および3は熱的にはかなり安定で、精製直後のキシレン中では数時間 refluxしてもほとんど変化しないが、酸、塩基、遷移金属錯体に対しては高い反応性を示す。以下endoperoxide(2)および(3)の化学反応について詳述する。それぞれの反応は総て6位のエピマーである2および3の両者について別々に検討を行ったが、ほとんど差が認められなかったことから以下6R体(2)を代表させて反応について述べる。

endoperoxide (2 および 3) は、塩基と容易に反応し、酸素酸素結合が開裂した後閉環した hemiacetal (23 or 24) およびそれより脱水したものに相当する furan (25) を好収率で生成した。例えば 2 は 5% KOH-MeOH 中、室温で 30 分以内に完全に消失し、hemiacetal (23) および furan (25) を各々 69%, 18% で与えた。Et₃N 存在下 2 をベンゼン中 80°C で処理すると hemiacetal (23) が 26%, furan (25) が 52% の収率で、C₆F 存在下 DMF 中、室温で処理すると 23 が 27%, 25 が 37% の収率で得られた。

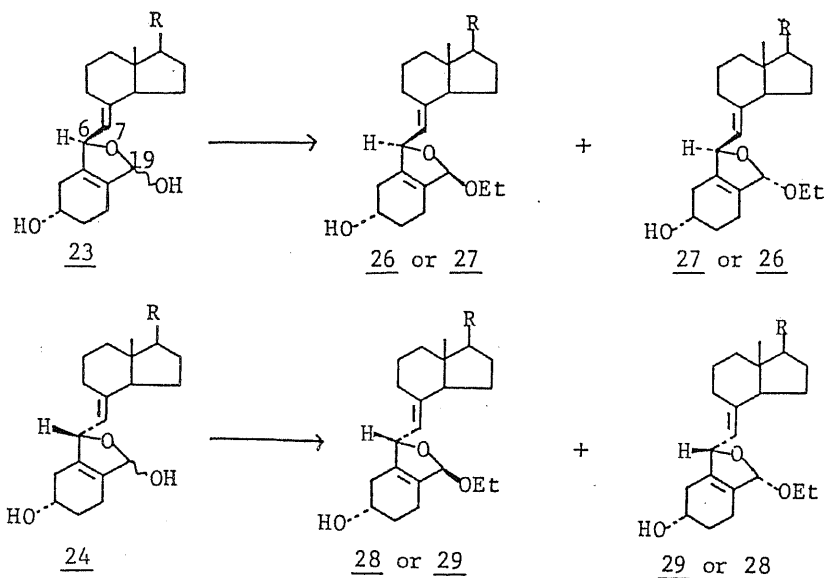
図-12



23 は非常に不安定な化合物であり、その構造はスペクトルデータ [MS m/z 416 (M⁺); ¹H-NMR δ 3.56~5.90 (complex signal, 6H, H-3, 6, 7, 19 and OH)] および次の事実より推定した。i) 23 を CDCl₃ に溶解し、放置すると furan (25) に定量的に変化する。ii) 23 を EtOH に溶解し、放置するとほぼ定量的に 2 種の acetal (26) (less polar 体), (27) (more polar 体) に変化した。[24 も同様に acetal (28) (less polar 体), (29) (more polar 体) に変化した。] (図-13)。26 および 27 は HPLC で分離し、その構造はそれらがマスマスペクトルにおいて 444 に分子イオンピークを示し、¹H-NMR ではエトキシ基のシグナル [26: δ 1.11 (t, 3H, J=7 Hz), 3.46 (m, 2H), 27: δ 1.12 (t, 3H, J=7 Hz), 3.51 (m, 2H)] が

観測され、6位および7位のプロトンがそれぞれ doublet [26: δ 4.60 (d, 1H, J=9 Hz), 5.36 (d, 1H, J=9 Hz), 27: δ 4.76 (d, 1H, J=9 Hz), 5.17 (d, 1H, J=9 Hz)] で、19位のアセタールプロトンが singlet (26: δ 5.48, 27: δ 5.39) で観測されたことおよびその他のスペクトルデータより帰属した。iii) acetal (26) および (27) は xylene 中で reflux すると定量的に furan (25) に変換される。以上の事実より 23 は 19 位の立体配置が異なる 2 種の hemiacetal の混合物であると結論した。

図-13



25 は UV において 273 nm (ϵ 15800), 283 (18200), 295.5 (13200) に vinyl furan chromophore に起因する特徴的な吸収を示し、¹H-NMR では aromatic 領域である δ 7.15 (s, 1H) に 19 位のプロトンのシグナルが、5.64 (s, 1H) に 7 位のプロトンのシグナルが観測され、その他のスペクトルデータからもその構造は確実である。

本反応における hemiacetal (23) および furan (25) の生成機構

は次のように考えられる。hemiacetal (23)は、塩基により endoperoxide (2) の19位のプロトンが引き抜かれ酸素酸素結合が開裂して30となり、それが閉環して生成したものである。

furan (25)の生成機構は hemiacetal (23)を経る path a と6位のプロトンが引き抜かれて hemiketal (32)を経由する path b の二つが考えられるが(図-14)、以下の事実、すなわち i) path a で furan (25)が生成するならば、中間体の hemiacetal (23)を同一の反応条件(5% KOH-MeOH)に付すと 25 が得られるはずであるが、実際には 25 は得られず 23 の回収に終わった。ii) 2 を Ac₂O-pyridi-

図-14

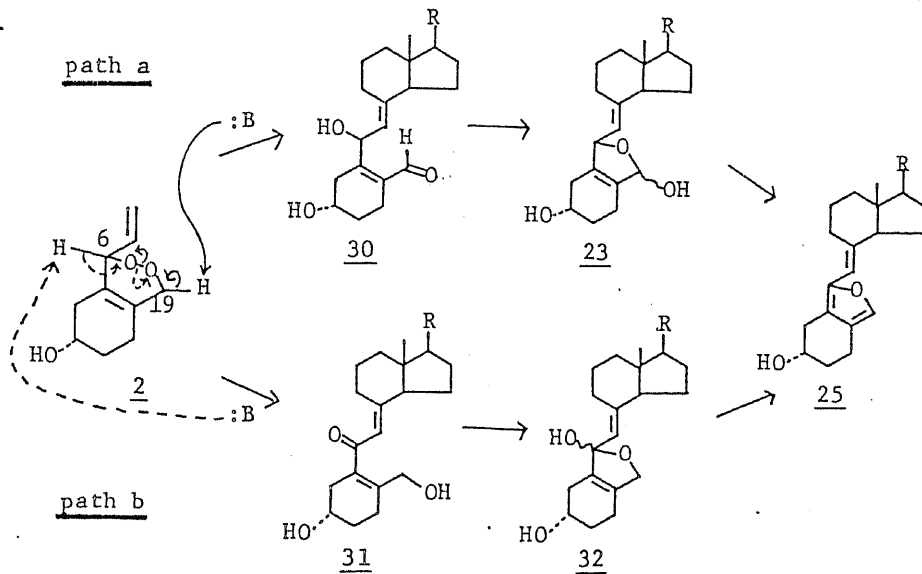
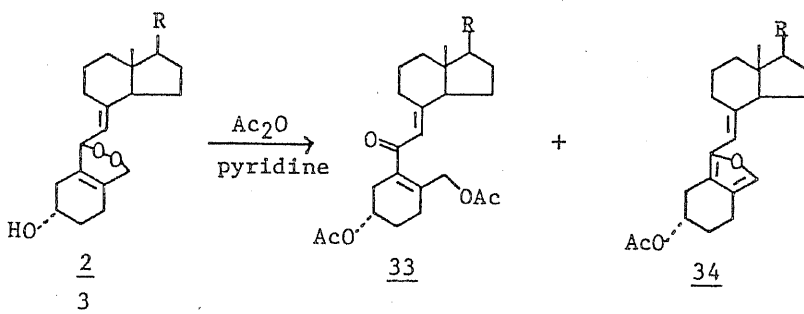


図-15



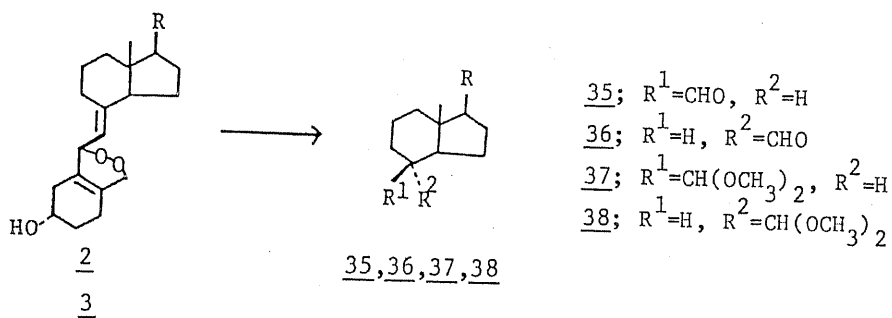
ne (1:1) 中, 50°C にて処理すると, ketoalcohol (31) が 3,19-diacetate (33) (18%) として捕獲され〔主生成物は furan (25) の 3-acetate (34) (70%)〕 path b も起ることが示唆された (図-15)。ことよりこの場合は path b を経て 25 が生成していると結論した。

5% KOH-MeOH では main product が hemiacetal (23) (path a) であり minor product が furan (25) (path b) であることは、立体障害の少ない 19 位のプロトンの方が引き抜かれやすいためと考えるとよく理解できる。Et₃N および C₅F の場合 furan (25) が main product として単離されたが、Et₃N の場合は反応温度 (80°C) が高いため一旦生成した hemiacetal (23) が脱水して furan 体 (25) になるためと考えられ、一方 C₅F の場合は 25 の総収率が低く主反応がどちらであるか明らかでない。

酸との反応

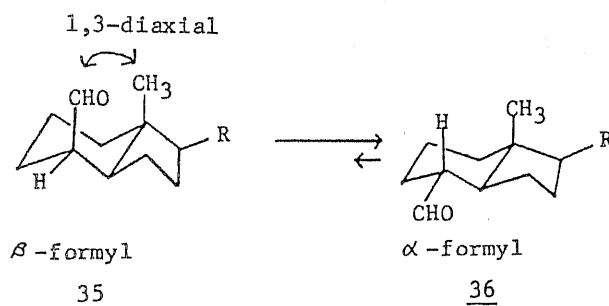
endoperoxide (2 および 3) は酸と反応させるとルイス酸の場合もプロトンの場合も 6,7-結合が開裂して aldehyde (35) あるいは acetal (38) を主生成物として与えた (図-16)。例えば 2 を BF₃-Et₂O とベンゼン中、室温にて反応させると 35 が 84% の収率で得られた。BF₃-Et₂O より弱いルイス酸である ZnCl₂ と 2 との

図-16



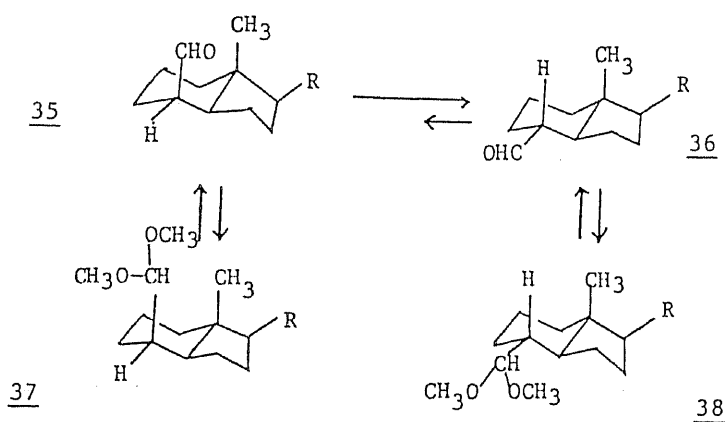
反応は、xylene中で室温にて処理した場合には全く進行しないが、 100°C に加熱することにより容易に進行し、5分以内に2が完全に消失して35が85%の収率で得られた。これらルイス酸との反応において35のエピマーである36の生成は認められなかった。35の構造は35がオイル状の物質であり、マススペクトルで278に分子イオンピークを示したこと、 $^1\text{H-NMR}$ で $\delta 9.99$ にアルデヒドプロトンのシグナルを示し、アルカン領域にCD環と側鎖に相当するプロトンのシグナルのみを示したことおよびIRにおいて 1710 cm^{-1} にカルボニルの吸収を示したことより帰属した。更に35の semicarbazone 誘導体(35')の元素分析値もその構造とよく一致した。ホルミル基の立体配置は化学反応により決定した。35はEtOH中、NaOEtで処理するとほぼ定量的に異性体36に変換された。この事実から35より36の方が熱力学的に安定であることが明らかとなった。図-17に示すごとくホルミル基が β 配置の場合、ホルミル基と CH_3 基は1,3-diaxialの関係になり立体障害が大きく不安定であるが、 α 配置になると立体障害が解消されて安定になるので、ホルミル基は熱力学的に安定な36が α 配置であり、不安定な35が β 配置であると決定した。

図-17



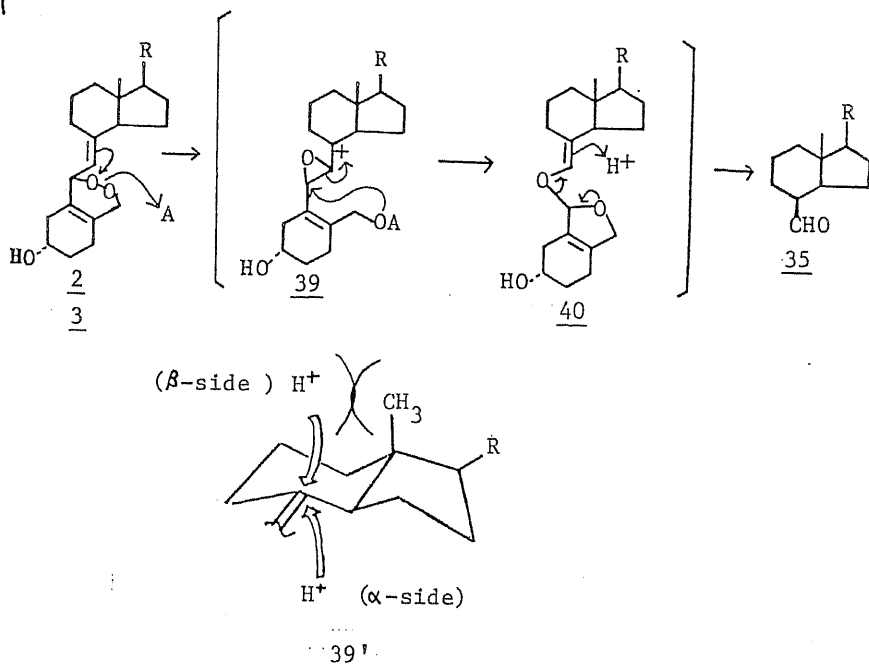
次にプロトンとして HCl を用い、之を MeOH 中で反応させたと
 ころ、ルイス酸と同様に 6,7-結合が開裂して生成した alde-
 hyde の dimethyl acetal (38) が 38% の収率で得られた(図-16)。
 この反応においては acetal (38) のエピマーである 37 の生成は認
 められなかった。dimethyl acetal (38) は HCl-aqueous acetone
 にて処理すると加水分解されて定量的に aldehyde 体 (36) を与
 えた。HCl-MeOH 中では aldehyde (35) と (36) は平衡であり、ま
 た aldehyde と acetal も平衡であること(図-18)より、ここ
 で得られた 38 の acetal 基は熱力学的に安定な α 配置であると
 推定した。

図-18



本反応の反応機構は次のように考えた(図-19)。酸がより立体
 障害の少ない 19 位に隣接した酸素に配位し、酸素酸素結合が開
 裂して 39 となり、続いて 6,7-結合が開裂して 40 となり、8 位に
 protonation が起って aldehyde (35) が生成する。ルイス酸の場合
 熱力学的に不安定な β -ホルミル体 (35) のみが生成するのは、
 39 において立体障害の少ない α 側から H^+ が入り込むため(図
 -19, 39')と考えている。

図-19

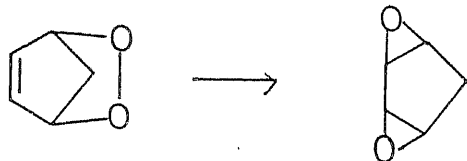


遷移金属錯体との反応

遷移金属錯体は endoperoxide 類に作用し、興味ある転位反応を引き起こすことが知られている²⁸⁾。特にプロスタグランディン(PG)系の endoperoxide と遷移金属錯体との反応は、PGの生合成反応とも関連しよく研究されている。

著者は、ビタミンDの endoperoxide と遷移金属錯体との反応に興味をもち、2種の金属錯体 Tetraphenylporphine cobalt (CoTPP) および Pd(Ph₃P)₄ を用いてその反応性の検討を行った。CoTPP は one electron redox process で反応し、bicyclic endoperoxide は diepoxide に変換されることが知られている(図-20)^{28a)}。

図-20



2を CH_2Cl_2 に溶解し CoTPP と $-20\sim-10^\circ\text{C}$ にて反応させたところ、diepoxideは生成せず、塩基性条件下の反応と全く同様の反応が進行することが明らかとなった。すなわち、酸素酸素結合が開裂して生成する β -hydroxy enal体(30)が開環した化合物である hemiacetal体(23)が好収率(75%)で、唯一の生成物として得られた。この反応が、塩基との反応と同様位置選択的に進行したのは、endoperoxideのより立体障害の少ない酸素に CoTPP が配位して反応が開始した為と考えられる。two electron transfer reagentとして知られている $\text{Pd}(\text{Ph}_3\text{P})_4$ はendoperoxideに作用して転位反応生成物および還元反応生成物を与えることが報告されている(図-21)^{28b,c)}。2をbenzeneに溶解し、 $\text{Pd}(\text{Ph}_3\text{P})_4$ 存在下、室温にて攪拌したところ反応はほとんど進行しなかったが、加熱還流することにより速やかに進

図-21

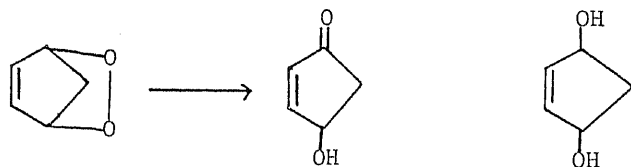
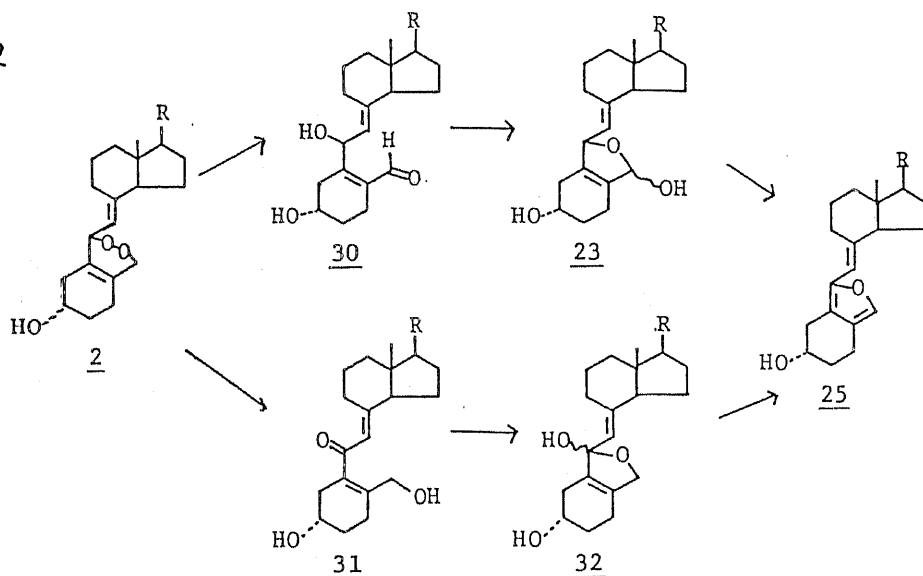


図-22

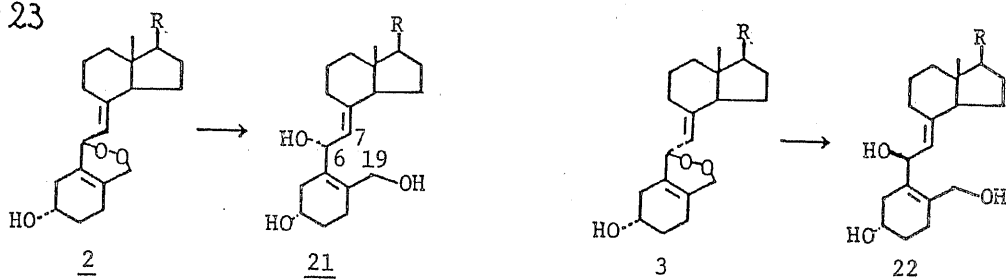


行し hemiacetal (23) が 16%, furan (25) が 47% の収率で得られ還元体は得られなかった。この場合も反応は塩基との反応と同様の中間体である hydroxy enal (30) あるいは hydroxy enone (31) を経て進行するものと考えている(図-22)。

還元反応

一般に endoperoxide 類は還元剤に対して反応性が高いが、ビタミンDの endoperoxide である $\underline{2}$ および $\underline{3}$ は反応性が低かった。例えば緩やかな還元剤である NaBH_4 , thiourea (酸素酸素結合の選択的還元剤)²⁹⁾, diimide (炭素炭素二重結合の選択的還元剤)³⁰⁾, および接触還元(酸素酸素結合, 炭素炭素二重結合共に還元しうる)に対して安定であり変化しなかった。しかし、 LiAlH_4 では容易に還元されて $\underline{2}$ から triol (21) が 70% の収率で得られた(図-23)。21 は不安定な化合物であり、シリカゲルのカラムクロマトグラフィーに付すだけでも分解した。その精製は Sephadex LH 20 を用いたカラムクロマトグラフィーにて行った。21 はマススペクトルにおいて 418 に分子イオンピークを示し、 $\underline{2}$ に水素2原子が付加した化合物であることが示され、 ^1H NMR において δ 4.05 (d, 1H, $J=12$ Hz) および δ 4.25 (d, 1H,

図-23



$J=12\text{ Hz}$) に 19 位のプロトンのシグナルが、また $\delta 5.14$ ($d, 1H, J=8\text{ Hz}$) および $\delta 5.34$ ($d, 1H, J=8\text{ Hz}$) に 6 位および 7 位のプロトンのシグナルが観測されたことよりその構造を決定した。21 は 6 位および 19 位に水酸基を有しており、その生理作用に興味を持たれるが、不安定であるため生理作用の検討には適さなかった。

第3章 ビタミンD₃の位置および立体選択的エポキシ化反応

retinoic acid (ビタミンA) が *in vivo* でエポキシ化され、生理活性のある 5,6-epoxy retinoic acid に変換されることは既に知られている³¹⁾。ビタミンDも生体内で同様にエポキシ化されることが期待できたことから、過酸化試薬によるエポキシ化の検討を行った。

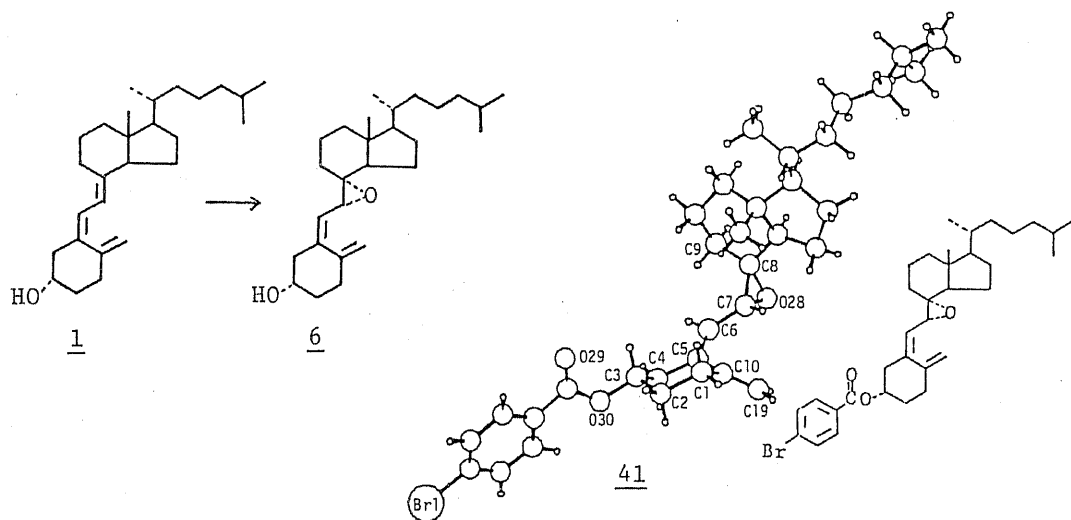
ビタミンDのトリエン部分のエポキシ化反応に関しては古く、ビタミンD₂の3,5-dinitrobenzoate を過フタル酸で酸化すると7,8-epoxide (立体配置は未決定)³²⁾ が、H₂O₂-PhCN で酸化すると5,6-epoxide^{32b)} が選択的に得られることが既に報告されている。しかしビタミンD₃のエポキシ化に関する報告はない。

著者は、ビタミンDのエポキシ化の検討を系統的に行い、位置および立体選択的に7,8-epoxide および5,6-epoxide を得る条件を見出し、更にX線解析により7,8-epoxide の立体配置を決定した。

m-クロル過安息香酸によるエポキシ化反応

ビタミンD₃をCH₂Cl₂中で m-クロル過安息香酸(MCPBA)と -70°~0°Cにて反応させ、位置および立体選択的に 7,8-epoxide (6) を81%の収率で得た。6はマスマスペクトルで400に分子イオンピークを示し、ビタミンD₃の monoepoxide であることが示され、またUV(λ_{max} 227.5 nm, ϵ 7330)で共役 diexodiene chromophore の吸収*を示し、7,8-epoxide であることが示唆された。¹H-NMR においては δ 3.88 および δ 5.20 に7位および6位のプロトンのシグナルが AB quartet ($J=9$ Hz)で観測され、また¹³C-NMR ではアルケン炭素が4つ存在することが示されたことから7,8-epoxide であることは確実である。

図-24



* 例えば C=C1C=CC=C1 (λ_{max} 220 nm, ϵ 5500), C=C1C=CC=C1C=C1 (λ_{max} 220 nm, ϵ 6000)

epoxide の立体配置は 6 の *p*-bromobenzoate (41) の X線解析 (図-24) により α -配置であると決定した。本反応の位置選択性は、生成物の熱力学的安定性、すなわち生成物が共役ジエンを保持していること、および電子的要因、すなわち 10,19-二重結合より 7,8-二重結合の方が electron rich であること、によるものと考えている。また立体選択的に α 側からのみ攻撃されるのは、 β 側は 18位のメチル基による立体障害が大きく試薬が近づきがたいためである。ビタミン D が 7,8-二重結合の α 側から位置および立体選択的に酸化されることは、過マンガン酸カリウムとの反応でも観測されている³³⁾。

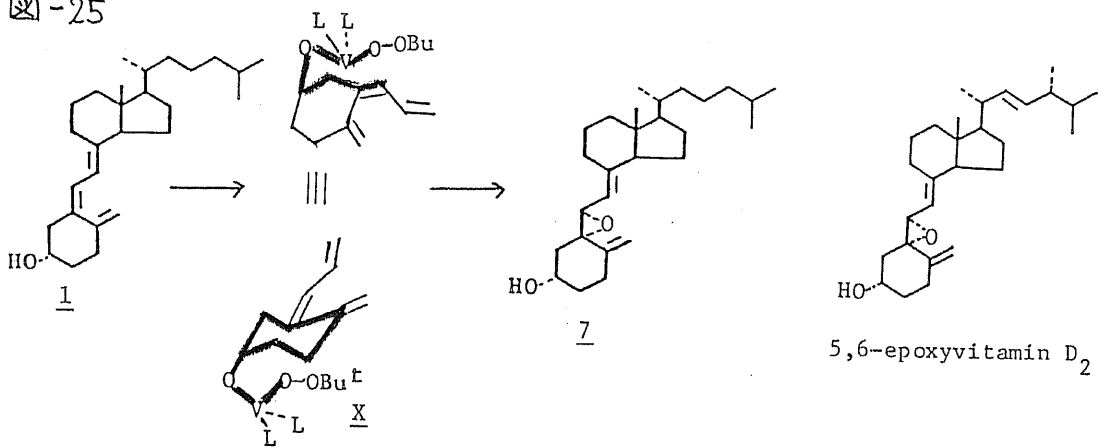
t-BuOOH によるビタミン D₃ のエポキシ化反応

二重結合に対してホモアリリック位である 3位の水酸基の容斥により位置選択的に 5,6-二重結合でエポキシ化が起ることを期待して、vanadium または molybdenum complex 触媒下、t-BuOOH でのエポキシ化を検討した。

ビタミン D₃ を benzene 中、vanadyl acetylacetonate [VO(acac)₂] 存在下、無水 t-BuOOH と室温にて反応させたところ、(5s)-5,6-epoxy vitamin D₃ (7) が唯一の生成物として 90% の収率で得られた。7 はマススペクトルで 400 に分子イオンピークを示し、ビタミン D₃ の monoepoxide であることが、また UV ($\lambda_{\max} < 220 \text{ nm}$) より共役ジエンが存在しないことが示され、5,6-monoepoxide であることが示唆された。¹H-NMR では δ 3.62 および δ 4.65 に 6位および 7位のプロトンのシグナルが ABquartet ($J=9 \text{ Hz}$) で観測され、¹³C-NMR ではアルケン炭素が

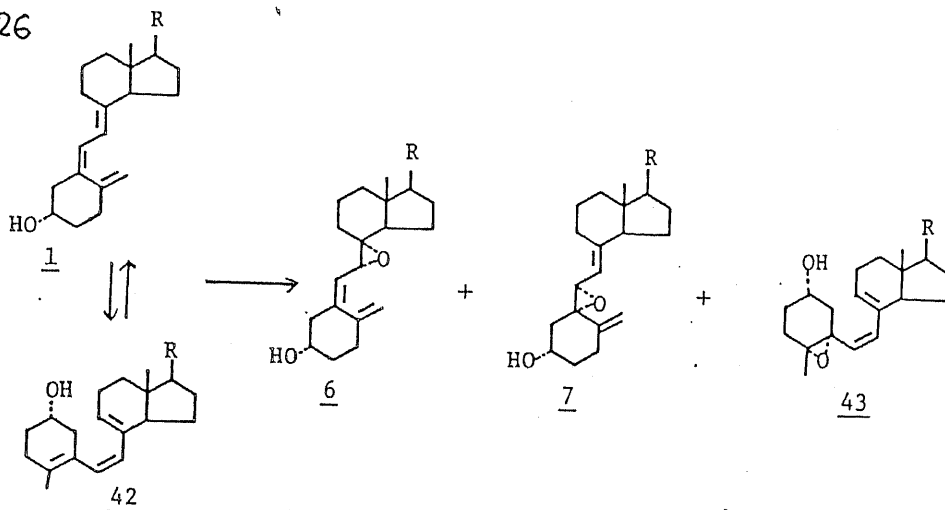
4つ存在することが示されたことから、5,6-epoxide であることは確実である。実際 $^1\text{H-NMR}$ および UV は、報告されている 5,6-epoxyvitamin D_2 のそれ^{*,32b)}とよく似ている。5位および6位の立体配置は、 $t\text{-BuOOH}$ と $\text{VO}(\text{acac})_2$ の complex がホモアリリック位である3位のアルコールと結合し、試薬と5,6-二重結合を含む環およびA環が共に chair form である中間体(X)を形成した後、酸素が α 側から攻撃してエポキシ体が生成すると考えられたことより α 配置であると帰属した。

図-25



molybdenum hexacarbonyl [$\text{Mo}(\text{CO})_6$] を触媒として用いる $t\text{-Bu}$

図-26



* λ_{max} 210 nm

OOHの酸化は室温では全く進行しなかった。反応は加熱により進行したが、反応の選択性は低下し3種の epoxide(6), (7) および (43) をそれぞれ収率 24%, 45%, 24% で与えた。5,10-epoxide(43)は、ビタミンD₃が熱により1,7-シグマトロピー転位を起し previtamin D₃(42)と平衡状態になり、42がt-BuOOHと反応して生成したと考えるとよく理解できる。

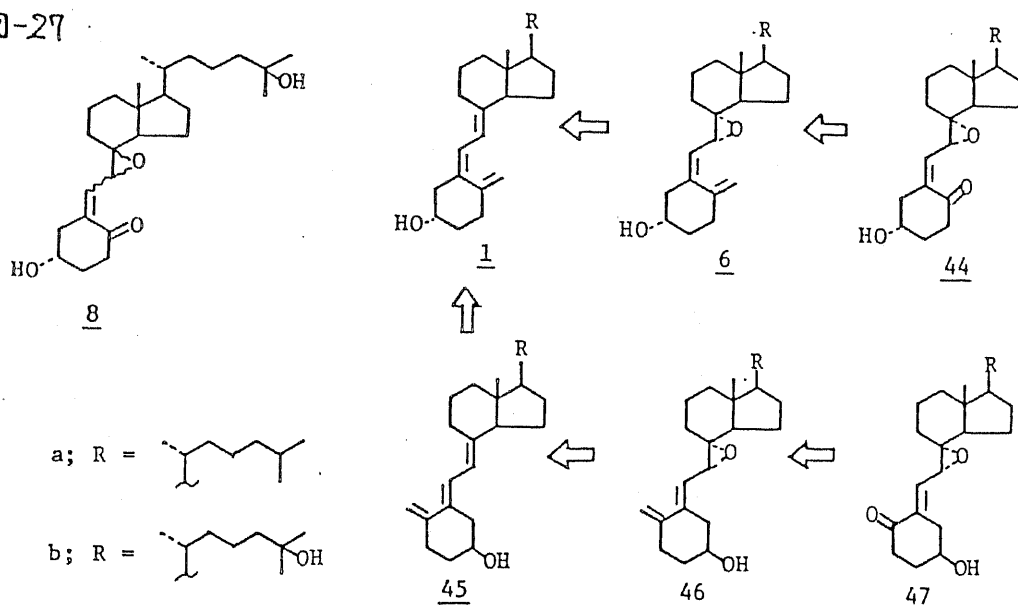
第4節 トリエン部分が酸化された新代謝物 19-nor-7,8-epoxy-25-hydroxy-10-oxovitamin D₃ (8) の合成

著者によるビタミン D₃ のエポキシ化反応の研究後、DeLuca¹⁵⁾ は 25-OH-D₃ の新代謝物として 19-nor-7,8-epoxy-25-OH-10-oxo-D₃ (8) の単離同定を報告した。8 は初めて発見されたトリエン酸化代謝物であり、8 の発見により生体内でエポキシ化が起ることが明らかとなった。著者は前節で述べたエポキシ化の手法を用いて 5,6-シス体 (44b) 並びに 5,6-トランス体 (47b) の合成を行った。

合成計画

19-nor-7,8-epoxy-25-OH-D₃ (8) の 6 位, 7 位および 8 位の立体配置は未決定であり、構造式 8 で表わされる化合物は 8 種可能である。それらのうち先に開発した MCPBA によるエポキシ化の手法を用いて合成可能な 5,6-シス体 (44b) および 5,6-トランス体 (47b) の合成を計画し、図-27 に示す短工程で効率の良い

図-27

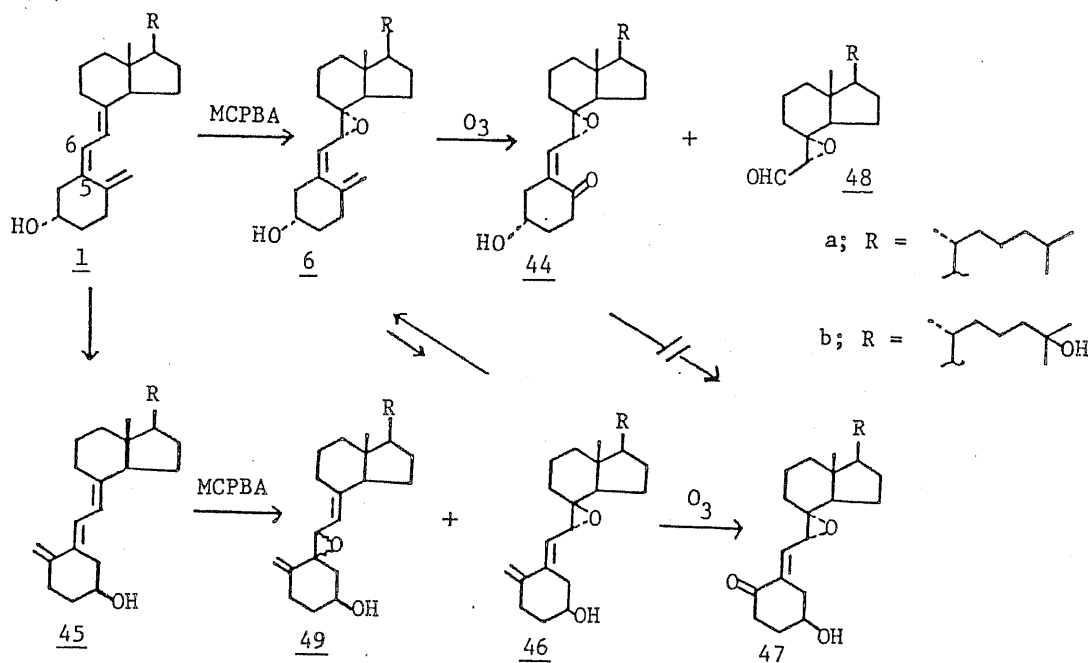


合成法を企画した。すなわち 5,6-シス体 (44b) は MCPBA によるエポキシ化で得た 7,8-epoxide (6b) の 10,19-二重結合をオゾン分解して得る。5,6-トランス体 (47b) は 25-OH-D₃ (1b) の 5,6-二重結合を異性化させてトランス-25-OH-D₃ (45b) とした後エポキシ化し、更にオゾン分解して得ることにした。

モデル化合物 (44a) および (47a) の合成

ビタミン D₃ (1a) を用いてこの合成計画の検討を行った。1a の MCPBA によるエポキシ化により得た 6a を MeOH-CH₂Cl₂ (1:1) 中、-70°C にてオゾン分解し、続いて (CH₃)₂S で処理し 44a を 44% の収率で得た。この時 5,6-二重結合のオゾン分解も競走的に起り、エポキシアルデヒド (48a) が 38% の収率で得られた。次にビタミン D₃ (1a) の異性化により得たトランスビタミン D₃ (45a) の MCPBA によるエポキシ化を行った。その結果、反応の選択性

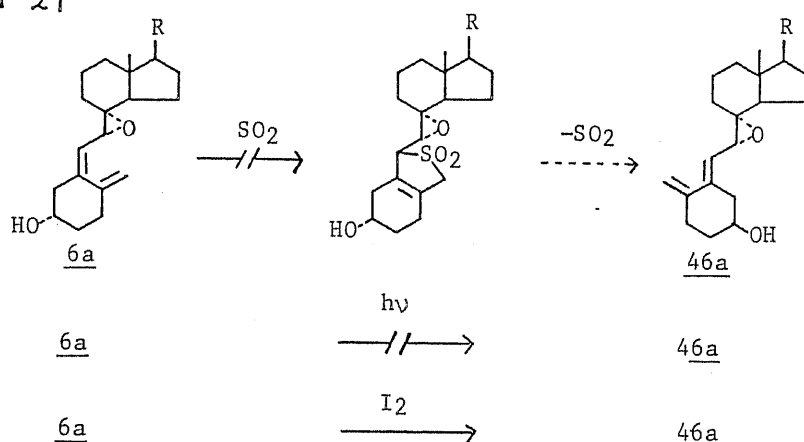
図-28



は 1a に比べて著しく低下した。種々の条件検討にもかかわらず、主生成物は 5,6-エポキシ体 (49a) であり、目的とする 7,8-epoxy 体 (46a) は最高収率 14% でしか得られなかった。7,8-epoxy 体 (46a) は 6a と同様のオゾン分解により 19-nor-10-oxo 体 (47a) に 35% の収率で導いた。

ところで 19-nor-10-oxo 体の 5,6-二重結合のシス-トランス異性化、例えば 44 から 47 への変換が可能ならば 45 から 46 への効率の悪い反応を回避できる。そこでその異性化を検討した。44a から 47a へは光異性化、 I_2 による異性化および酸による異性化を試みた。しかし結果は原料回収あるいは複雑な混合物の生成に終り、目的は達成できなかった。そこで次に、7,8-エポキシ体 (6a) の 46a への 5,6-二重結合の異性化を検討した。6a から 46a への異性化は SO_2 を付加させた後脱 SO_2 化する方法 (キレトロピー反応)、光による方法、 I_2 による方法の 3 つを検討した (図-29)。その結果、 I_2 による場合のみ異性化が進行し、6a と 46a が 3.5:1 の割合で得られた。

図-29



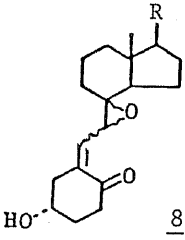
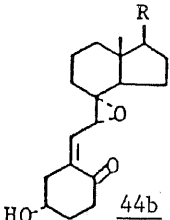
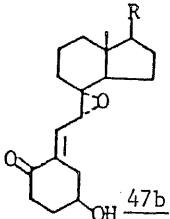
$$\underline{6a} : \underline{46a} = 3.5 : 1$$

5,6-シス体(44b) および 5,6-トランス体(47b)の合成(図-28)

25-OH-D₃ (1b)をMCPBAでエポキシ化し7,8-epoxy体(6b)を70%の収率で得た。6bをモデル実験と同様にオゾン分解し、目的の7,8-epoxy-10-oxo体(44b)を収率46%で得た。

47bは低収率である45bのエポキシ化を回避し、次のごとく合成した。7,8-epoxy体(6b)をI₂により異性化させ6bと46bの平衡混合物とした。6bと46bは種々の条件検討にもかかわらず分離できなかったため混合物のまま次の反応すなわちオゾン分解に付した。得られた44bと47bの混合物(44b:47b≒4:1)はHPLCを用いて分離し目的物(47b)を得た。

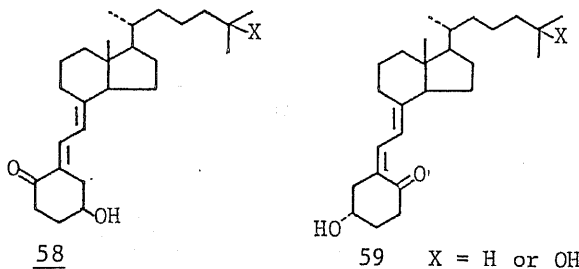
以上の如く合成を完了した44bおよび47bと天然品(8)の比較すべき特徴的なスペクトルデータを表-4に示した。5,6-二重結合がシス配置である合成品44bと天然品47bは¹H-NMRで表-4

R =			
MS m/z	418(M ⁺), 138, 120	418, 138, 120	418, 138, 120
¹ H-NMR	1.28(s, 6H, H-26 and 27)	1.21	1.21
δ	<u>3.76(d, 1H, J=10 Hz)</u>	<u>4.23(J=9 Hz)</u>	<u>3.67(J=8 Hz)</u>
(CDCl ₃)	3.95(m, 1H, H-3)	4.26	4.23
	<u>6.43(d, 1H, J=10 Hz)</u>	<u>5.57(J=9 Hz)</u>	<u>6.51(J=8 Hz)</u>
UV λ	<u>256(max)</u>	<u>251(max)</u>	<u>254(max)</u>
(MeOH)	212(min)	214(min)	212(min)

6位および7位のプロトンのケミカルシフトが異なり、またUVで吸収極大が異なるが、5,6-二重結合がトランス配置である合成品(47b)と δ は $^1\text{H-NMR}$, UV とともにかなりよく似ている。このことより δ の5,6-二重結合はトランス配置であると予想される。そして δ と 47b のわずかな違いが、微量しか得られない天然品 (δ) のスペクトルデータ測定の際の実験誤差によるものなのか、あるいは7,8-epoxideの立体配置の違いによるものなのか、今後天然品 (δ) との直接比較により明らかにする予定である。

最近になってトリエン部分が酸化された代謝物 5(E)-19-nor-10-oxovitamin D (58) および 5(Z)-19-nor-10-oxovitamin D (59) の生成が相い追いで報告された⁶¹⁾。そしてこれらの代謝物が、活性酸素種が多いことが知られておりかつアラキドン酸が代謝される白血球細胞にて見い出されたことは、更に他のビタミンDトリエン酸化体の生成を示唆するものであり、今後ビタミンDの代謝経路が大きく広がることが期待できる。以上の点で、トリエン部分の化学的酸化反応の検討の価値は一段と高まったと考えている。

図 - 30



第5節 ビタミンDトリエン酸化体のヒト骨髄性白血病細胞に対する分化誘導作用について

須田ら³⁴⁾は、 $1\alpha,25-(OH)_2D_3$ はネズミの骨髄性白血病細胞(M1)の増殖を濃度依存的に抑制しマクロファージへ分化誘導する作用があり、その強さは dexamethazone の100倍であることを示した³⁴⁾。また、ヒト骨髄性白血病細胞(HL-60)に対しても $1\alpha,25-(OH)_2D_3$ が同様に有効であることを示した³⁵⁾。更にM1細胞を移植したヌードマウスに $1\alpha-OH-D_3$ [体内で $1\alpha,25-(OH)_2D_3$ になる]を腹腔内投与すると著明な延命効果が認められることを明らかにし、 $1\alpha,25-(OH)_2D_3$ による骨髄性白血病の治療の可能性を示唆した²⁵⁾。そして $1\alpha,25-(OH)_2D_3$ の分化誘導作用は細胞質シセプターを介して発現しているのではと提唱した。

$1\alpha,25-(OH)_2D_3$ のHL-60細胞に対する強い分化誘導活性の発見以来、著者の属する研究室では須田教授のグループと共同でビタミンD誘導体の分化誘導能に対する構造活性相関の研究を行ってきた³⁶⁾。その研究の一環として、著者はビタミンDトリエン酸化生成物に関するHL-60細胞の分化誘導能を検討し、以下に示す興味ある結果を得た。

ビタミンDトリエン酸化生成物のHL-60細胞分化誘導作用について

トリエン部分が酸化的に修飾された誘導体とそれらの元(未修飾)のビタミンD (parent D) の分化誘導能* および細胞質

*分化誘導に伴い食能も誘導されるため、分化誘導能は食能を測定することにより調べられる。

レセプターへの結合能を測定し比較した。その結果(表-5)、エポキシド類および19-アルコール体は、parent D に比べて分化誘導活性および細胞質レセプターへの結合能が共に低下することが示された。一方 endoperoxide (2e, 3e) は parent D (1e) に比べて細胞質レセプターへの結合能は低下するが分化誘導能は低下しないという特異な結果を示した。この事実は、分化誘導活性と細胞質レセプターへの結合能は並行するというこれまでの結果と一致しない点および両作用の分離という観点から興味深かった。そこで endoperoxide 類の分化誘導能について詳細に検討することにした。

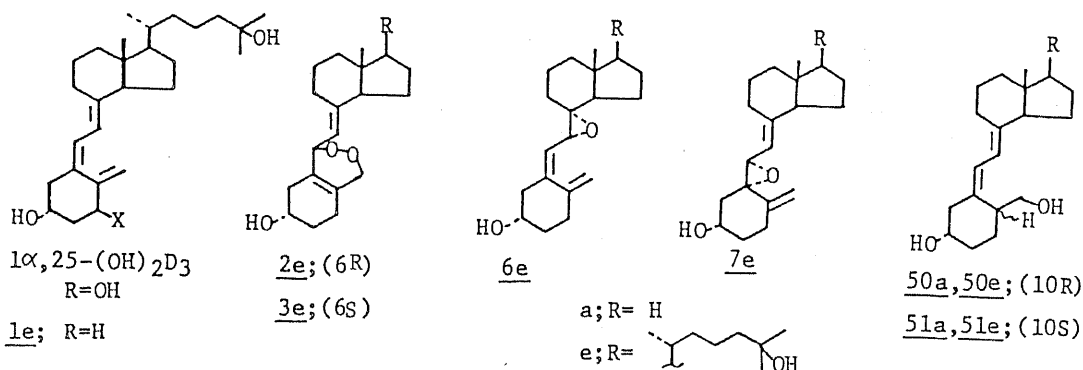
表-5 HL-60細胞の貪食能と $1\alpha, 25-(OH)_2 D_3$ レセプターへの結合能***

compound	phagocytosis ^{*,**}	binding activity ^{**}
$1\alpha, 25-(OH)_2 D_3$	1	1
25-OH- D_3 (1e)	320	600
endo-peroxide (2e)	120	3000
(3e)	130	3000
epoxide (6e)	>1000	>10000
(7e)	>1000	>10000
19-alcohol (50a)	>1000	>10000
(51a)	>1000	>10000
(50e)	1000	7000
(51e)	1000	9000

* phagocytosis which is a typical marker of the differentiation

** $1\alpha, 25-(OH)_2 D_3$ の貪食能と結合能を1とし、同じ効果を発現するのにビタミンD誘導体が何倍必要であるかを示す。

*** 生理活性の測定は、昭和大学・須田教授のグループにより行われた。



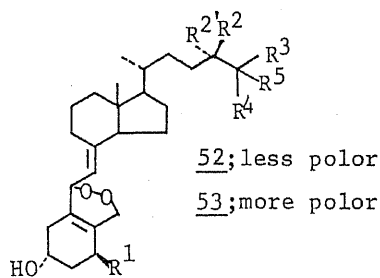
ビタミンD endoperoxide 類のHL-60細胞分化誘導作用について

種々のビタミンD誘導体の endoperoxide を前述(第1節)の光増感反応によって合成し、その分化誘導能と細胞質レセプターへの結合能を parent D と比較検討した。その結果 endoperoxide 類は構造活性相関の点で2つのグループに分けられることが明らかとなった(表-6)。すなわち α 水酸基を有するビタミンDの endoperoxide (Group I) と α 水酸基を持たないビタミンDの endoperoxide (Group II) である。Group I の endoperoxide 類は parent D と比較して分化誘導能は約100分の1に減少し、結合能は1000分の1に減少した。このような両作用の低下は立体構造の変化(酸素の付加により6位が sp^2 から sp^3 になる)によるものと考えるところで説明できる。Group II の endoperoxide 類は parent D と比較して分化誘導能は増強され、結合能は低下した。Group II の結果は、分化誘導能と結合能はほぼ並行するというこれまでに知られているビタミンD誘導体の結果と一致しない。その原因として、i) ビタミンD endoperoxide の分化誘導はレセプターを介さないで発現されている。ii) 分化誘導活性は基質を加えて3日後に測定するのに対し、細胞質レセプターへの結合能は基質を加えて1時間後に測定する。それゆえ endoperoxide が他の化合物に変化した後分化誘導作用を発現する。が考えられた*^注。

表-6 endoperoxide 類の HL-60 細胞に対する貪食能と結合能**

Group and compound		phagocytosis*	binding activity*
<u>Group I</u>	Vitamin D derivatives possesing 1 α -hydroxyl group		
	1 α ,25-(OH) ₂ D ₃ (parent D)	1	1
	1 α ,25-(OH) ₂ D ₃ endoperoxide (52f)	130	800
	1 α ,25-(OH) ₂ D ₃ endoperoxide (53f)	200	800
	1 α ,24R-(OH) ₂ D ₃ (parent D)	1	1
	1 α ,24R-(OH) ₂ D ₃ endoperoxide (52g)	150	800
	1 α ,24R-(OH) ₂ D ₃ endoperoxide (53g)	200	800
	1 α -OH-D ₃ (parent D)	320	800
	1 α -OH-D ₃ endoperoxide (52h)	>1000	>10000
	1 α -OH-D ₃ endoperoxide (53h)	>1000	>10000
<u>Group II</u>	Vitamin D derivatives lacking 1 α -hydroxyl group		
	25-OH-D ₃ (parent D)	320	600
	25-OH-D ₃ endoperoxide (2e)	120	3000
	25-OH-D ₃ endoperoxide (3e)	130	3000
	24-F ₂ -25-OH-D ₃ (parent D)	200	1000
	24-F ₂ -25-OH-D ₃ endoperoxides (52i,53i)	45	1000
	26,27-F ₆ -25-OH-D ₃ (parent D)	200	50
	26,27-F ₆ -25-OH-D ₃ endoperoxides (52j,53j)	30	1500

<u>52,53</u>	R ¹	R ²	R ^{2'}	R ³	R ⁴	R ⁵
f	OH	H	H	CH ₃	CH ₃	OH
g	OH	OH	H	CH ₃	CH ₃	H
h	OH	H	H	CH ₃	CH ₃	H
i	H	F	F	CH ₃	CH ₃	OH
j	H	H	H	CF ₃	CF ₃	OH



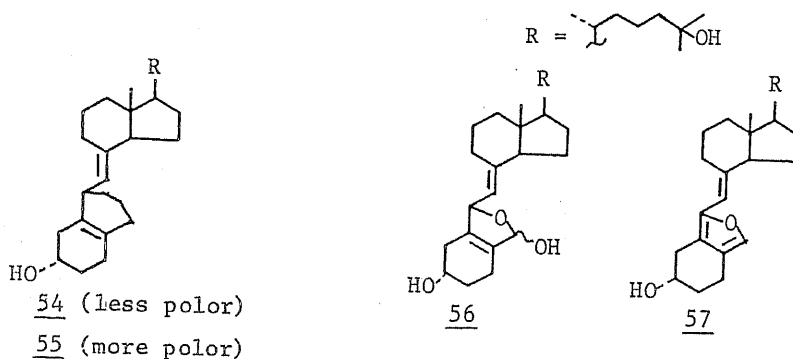
* 1 α ,25-(OH)₂D₃ の貪食能と結合能を1とし、同じ効果を実現するのにビタミンD誘導体が何倍必要であることを示す。

** 生理活性の測定は昭和入・須田教授のグループにより行われた。

*注、山田らはii)の可能性をさぐるためには endoperoxide の活性を mimic し、かつ安定であるアナログの分化誘導能および結合能を測定することが適切であると考え、そのような条件を満たすアナログとして endoperoxide の酸素を炭素に置き代えた化合物であり当研究室で合成された³⁷⁾ 25-hydroxy-6,19-ethanovitamin D₃ (25-OH-6,19-ethano D₃) (54) および (55) を選び、その分化誘導能およびレセプターへの結合能を調べた。その結果、endoperoxide の強い分化誘導活性と異なり、炭素アナログは分化誘導能、結合能ともに著しく弱かった。この事実は endoperoxide が培養液中で化学変化を起し、別の化合物になった後作用を発現している可能性を強く示唆した。

その後共同研究者である椎名ら³⁸⁾は、[26,27-³H]-25-OH-D₃ endoperoxide を用いて作用機序の検討を行い、25-OH-D₃ endoperoxide が HL-60 細胞と培養中に hemiacetal 体 (56) および furan 体 (57) に変化することを示し、更に 56 および 57 が分化誘導作用を発現していることを明らかとした。

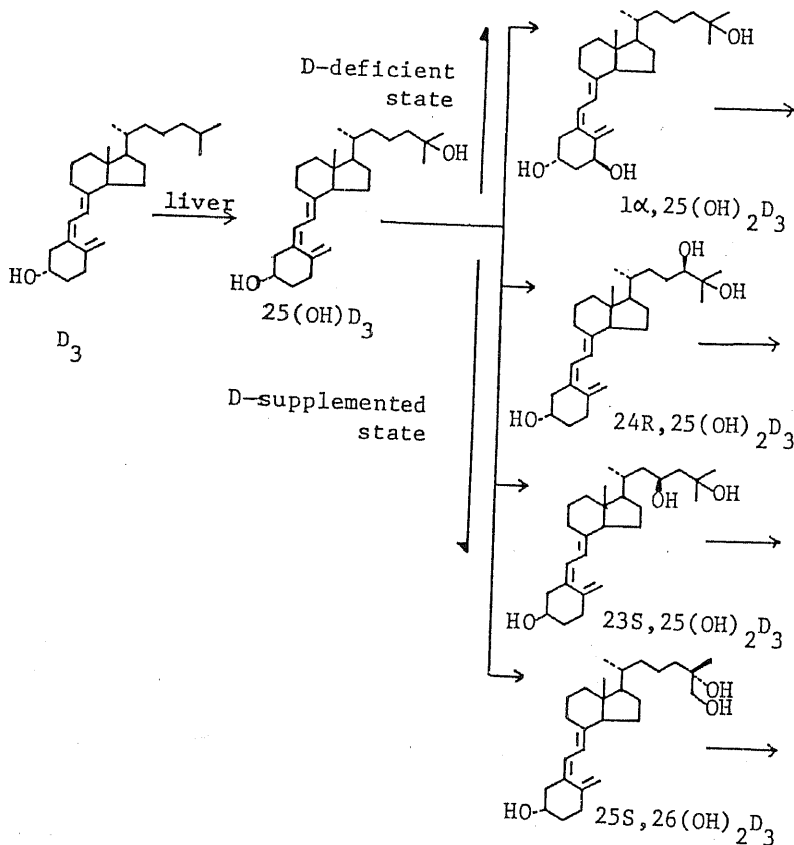
図-31



第2章 23位の水酸化を経るビタミンD新代謝物の立体選択的 合成および立体配置の決定

D 充分状態における側鎖代謝経路のうち(図-32)、23位の水酸化を経る経路は 1979年 DeLuca ら¹⁶⁾による 25-OH-D₃-26,23-lactone(II)の発見を契機として新たに見い出された。著者は 25-OH-D₃-26,23-lactone(II)が発見されると同時にこの化合物の合成に着手し、引き続き 23位の水酸化を経る代謝物の合成並びに代謝研究を系統的に行った。

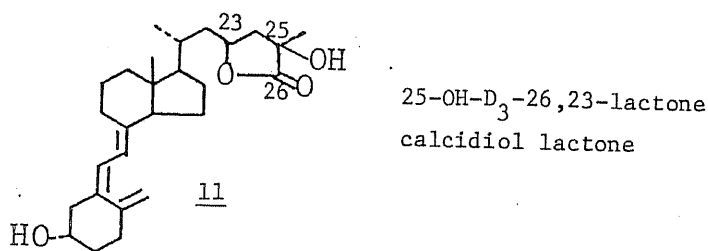
図-32



第1節 25-OH-D₃-26,23-lactone (II) の4つの立体異性体の合成

25-OH-D₃-26,23-lactone (II) は、初め Horst ら³⁹⁾により HPLC において 24R,25-(OH)₂D₃ と溶出位置が同一であることから、24R,25-(OH)₂D₃ のアッセイの際 24R,25-(OH)₂D₃ と競合する化合物として発見された。その後 Wichmann ら¹⁶⁾によりビタミンDを十分に投与したニワトリから 25-OH-D₃ の代謝物として単離され、図-33 に示す平面構造式および通称名 Calcidiol lactone が提出された。lactone (II) は、カルシウム上昇作用など一般の D 作用をほとんど示さないのにもかかわらず、血しょう中のビタミンD結合蛋白に対して結合能がビタミンD代謝産物中で最も高く⁴⁰⁾ また 1 α ,25-(OH)₂D₃ の作用に拮抗して血中のカルシウム濃度を下げるすなわち anti vitamin D 作用を有する¹⁷⁾ など今迄に知られている代謝物とは明らかに異なる特徴的な生理作用を示す興味深い化合物である。

図-33

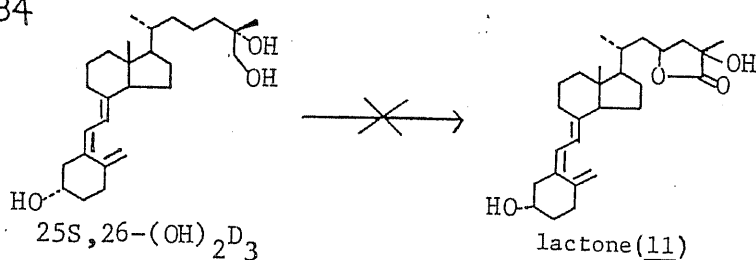


lactone (II) は側鎖の26位が酸化された代謝物であるため、発見された当時、著者らも含め多くの研究者が、既に単離され立体配置の確定していた代謝物 25S,26-dihydroxyvitamin D₃ [25S,26-(OH)₂D₃] が前駆物質であると考え、従って lactone の25位は S 配置であると推定した。実際 Hollis ら⁴¹⁾ は、25S,26-(OH)₂D₃ が、

lactoneに代謝されたと報告した。

lactone (11) はそれまで知られていたビタミンD代謝物に比べて複雑な側鎖構造を有し、不斉中心である23位および25位の立体配置が未決定であったこと、また生理作用の検討などのためのサンプル供給が望まれていたことから合成のtargetとして魅力的であった。著者は立体配置の明確な4種のlactoneを合成し、lactone (11) は多くの予想に反し25位はR配置であり23位はS配置であることをはじめに明らかにした。この結果25位がS配置である25S,26-(OH)₂D₃を前駆体とするlactone (11)の生合成経路は否定された(図-34)。また天然lactone (11)の効率の良い立体選択的合成法も確立した。

図-34



lactone (11)の立体選択的合成の計画

側鎖の23位および25位の不斉中心を立体選択的に導入し、かつ官能基を効率よく導入できる合成法を計画した。すなわち、目的物をステロイド骨格部分と側鎖部分に分け、ステロイド部分には市販されておりかつ安価であるergosterol (64)より容易に得られるC-22ユニットを、側鎖部分には光学活性なcitramalic acid (67)より誘導できるC-5ユニットを用い、両者をカップリングさせて炭素骨格を構築した後側鎖を完成させ、最後

に骨格変換を行い目的物を得ることとした。この基本構想に従い二つの方法を計画した。

第一の方法の逆合成を図-35に示す。C-22 ユニットとして sulfone 体 (63) を、C-5 ユニットとして ester 体 (65) あるいは anhydride 体 (66) を選んだ。この方法の長所は、i) ester 体 (65) および anhydride 体 (66) は目的物の側鎖のすべての官能基を有し、官能基導入が容易である。ii) 65 および 66 は S 体、R 体共に、市販の chiral synthon である (S)-citramalic acid あるいは (R)-citramalic acid より容易に誘導でき、S 体を用いたならば 25S-lactone が、R 体を用いたならば 25R-lactone が得られ、25位に関して望みの立体配置が 100% 達成できる。iii) γ -ケトカルボン酸 (62) のケトン基を望みの立体配置のアルコールに選択的に還元したならば lactone (11) の立体選択的合成が完成する。である。一方この方法は key step となる sulfone 体 (63) と ester (65) あるいは anhydride (66) とのカップリング反応において、electrophile となる ester (65) あるいは anhydride (66) が β -hydroxycarbonyl 構造をもつためカルボニル部分での反応が遅いと脱 ROH 反応が起り、共役カルボニル化合物を生成する可能性がある。

第二の方法を図-36に示した。この方法は i) sulfone 体 (73) が側鎖の必要とされる官能基を有している点、ii) 25位の不斉中心を 100% の選択性で導入できる点、iii) γ,δ -不飽和カルボン酸 (69) の立体選択的 iodolactonization が成功したならば、lactone (11) の立体選択的合成が完成する点、では第一の方法と同様である。一方、標的化合物の 26位に相当する sulfone (73) の 4-

図-35

第一の方法

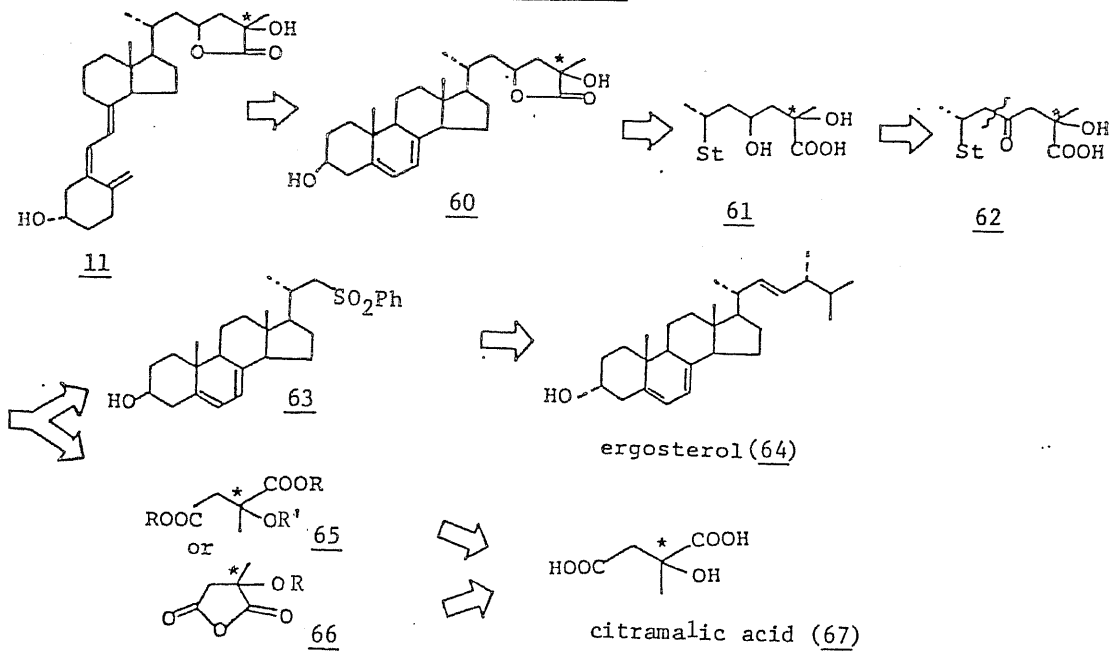
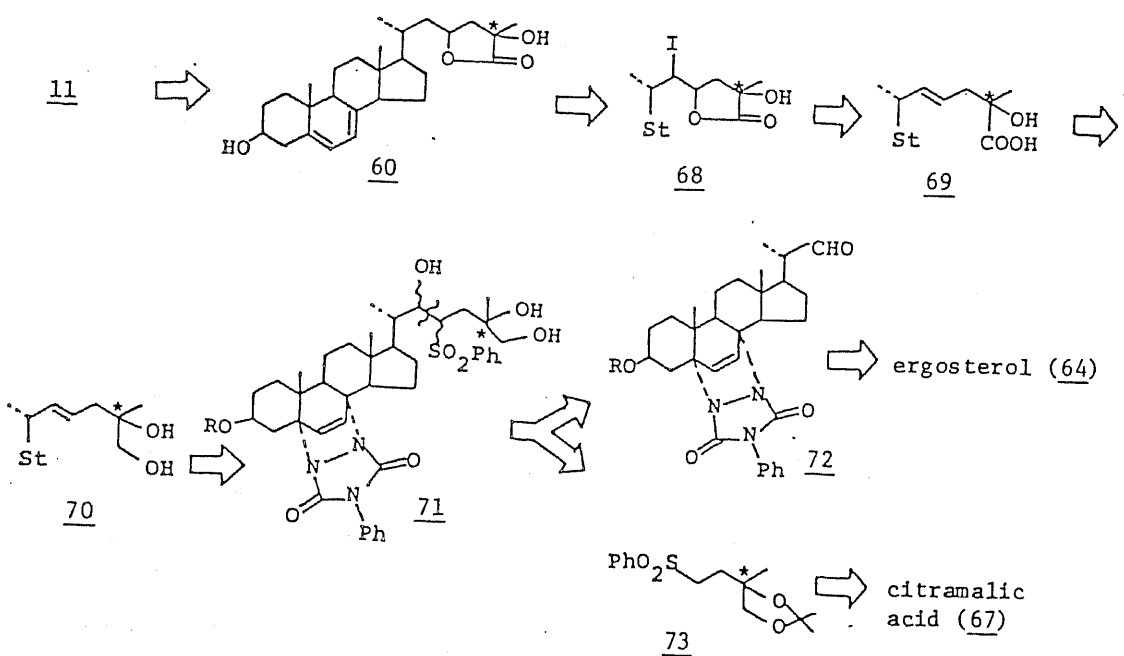


図-36

第二の方法



位の炭素の酸化段階がアルコールであるため側鎖構築のステップが長い点では第一の方法より不利であり、カップリング反応はより反応性の高い aldehyde (72) と sulfone (73) を用いるため確実性が高い点で第一の方法より有利である。key step は vic diol (70) のカルボン酸への酸化および α, β -不飽和カルボン酸 (69) の立体選択的 iodolactonization である。

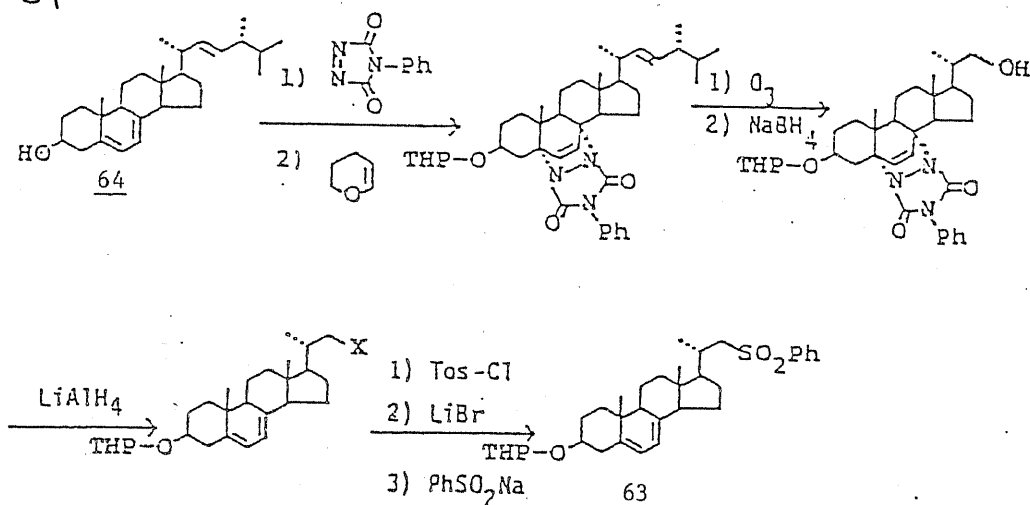
実際第一の方法ではカップリング反応が成功せず、第二の方法で目的物の合成を達成した。以下、実験経過および結果を詳述する。

第一の方法による lactone (11) の合成

1) ステロイド部分; C-22 sulfone 体 (63) の合成

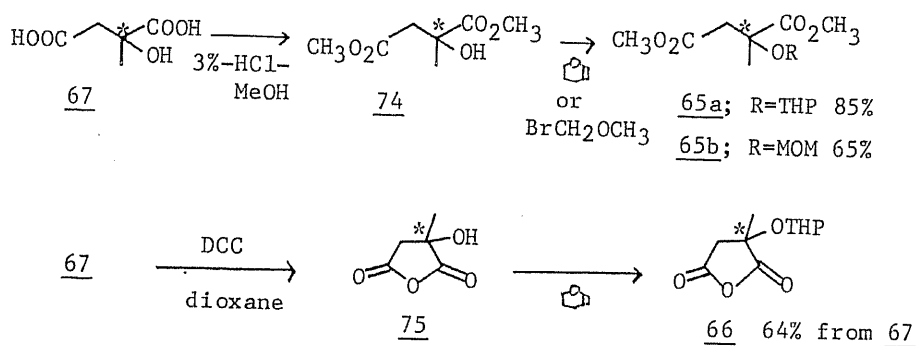
市販されている ergosterol (64) から C-22 sulfone 体 (63) への合成法は既に当研究室で確立されており⁴²⁾ その方法に従って合成し sulfone 体 (63) を ergosterol (64) より総収率 20% で得た。

図-37



2) 側鎖部分; ester体(65)およびanhydride体(66)の合成
 市販されている(S)-あるいは(R)-citramalic acid(67)をdimethyl ester体(74)とした後、三級水酸基をtetrahydropyranyl (THP) etherあるいはmethoxymethyl (MOM) etherとして保護し、目的のester体(65a)および(65b)を得た。anhydride体(66)は、citramalic acid(67)をdioxane中dicyclohexylcarbodiimide (DCC)で処理して75とした後水酸基を保護して得た。

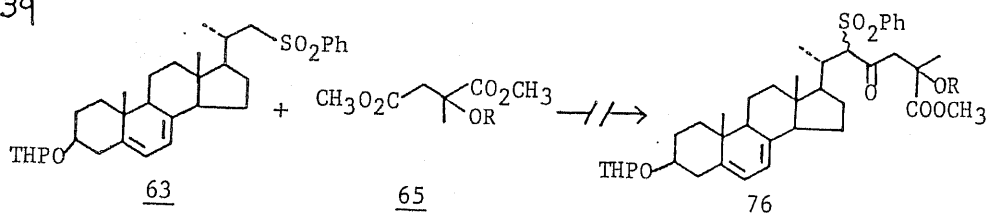
図-38



3) sulfone(63)とester(65)のカップリング反応

スルホンの α -カルバニオンとエステルがカップリングすることは既に報告されていた⁴³⁾。そこでその方法に従って sulfone(63)と ester(65)のカップリング反応を試みたが、反応は進行しなかった。baseの量や種類、反応温度など種々の条件検討

図-39

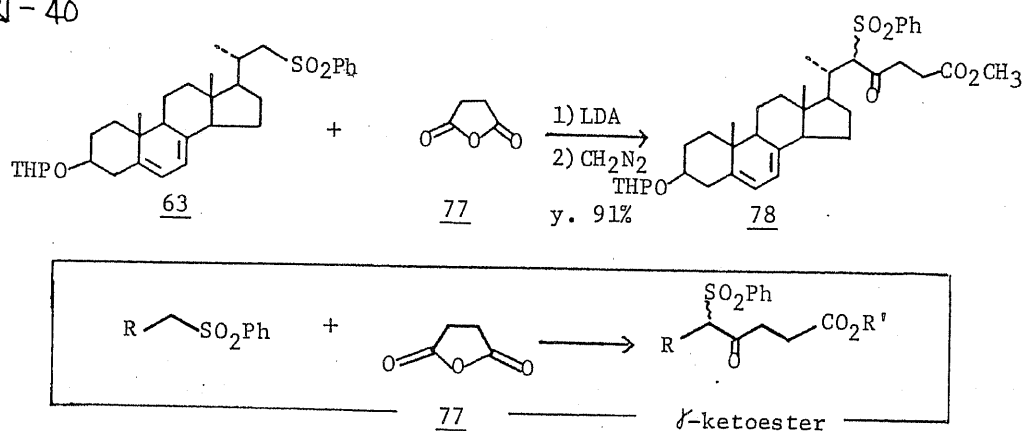


を行ったが、原料回収あるいは過激な条件下での解析不能な化合物の生成に終わり、目的物は得られなかった(図-39)。一般にエステルは electrophile としての反応性が低い上に、65は立体的に混み合っているためカップリングできないものと考えている。

4) sulfone (63) と anhydride (77) のカップリング反応

スルホンの α -カルバニオンと酸無水物のカップリングが可能か否か知られていなかったが、酸無水物はエステルより反応性が高いため可能であろうと考え、両者のカップリング反応を検討した。モデル化合物としてコハク酸無水物(77)を選び sulfone(63)のアニオンと反応させ CH_2N_2 で処理したところ、カップリング生成物(78)が91%の高収率で得られた。この結果、スルホンと酸無水物が容易にカップリングすることをはじめて明らかにし、 γ -ケートエステルの新しい合成法を開発した(図-40)。

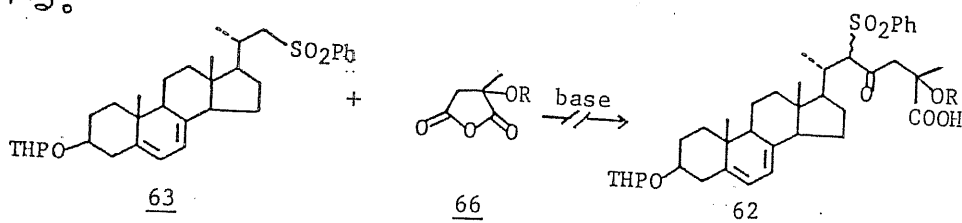
図-40



sulfone (63) と citramalic acid (67) より誘導した anhydride (66) のカップリングをモデル実験の場合と同様に試みた。しかし反応は全く進行せず、条件を激しくすると原料が消費され種々の生成物を与えたが、それらの分離および構造解析は困難

であり目的物は見い出せなかった(図-41)。この結果は sulfone (63) および anhydride (66) が共に立体的に混み合っているため正常なカップリング反応が遅く、過激な条件下では anhydride の活性プロトンの引き抜きに端を発する反応が起ったものと考えている。

図-41

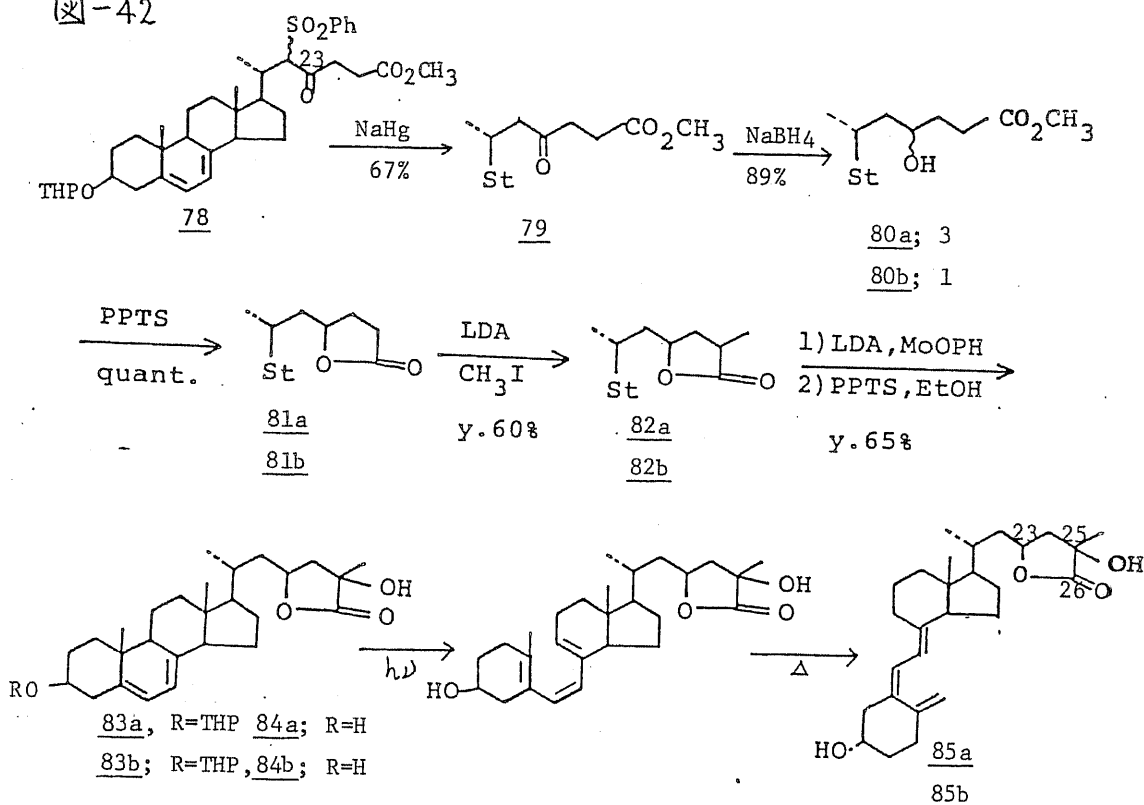


5) モデル反応生成物(78)から lactone (85a, b)の合成⁴⁴⁾

第一の方法による lactone (II) の合成は達成できなかったが、lactone の立体配置とスペクトルの関係に関する情報を得るために、モデル反応で得たカップリング生成物(78)を用いて側鎖を完成させ、lactone を合成してみることにした。まず 78 の phenyl sulfonyl 基を還元的に除去し 23-ketone 体(79)を得た。次に 79 を NaBH_4 にて還元し α -hydroxyester 体 (80a) および (80b) を約 3:1 の割合で得た。80a および 80b は 23 位の立体異性体であり、カラムクロマトグラフィーにて分離後それぞれを閉環させ α -lactone 体 (81a) および (81b) とした。81a, 81b はカルボニルの α 位をメチル化し更に $\text{MoO}_5 \cdot \text{pyridine} \cdot \text{HMPA}$ (MoOPH) にて OH 化して側鎖を完成させ、THP を除去し 81a から 84a を、81b から 84b をそれぞれ唯一の生成物として得た。プロビタミン D である 84a および 84b は常法、すなわち光照射による逆環化反応でプレビタミン D とし、続く熱による 1,7-シグマトロピー反応でビタミン D 骨格に変換し、

lactone (85a) および (85b) とした。

図-42

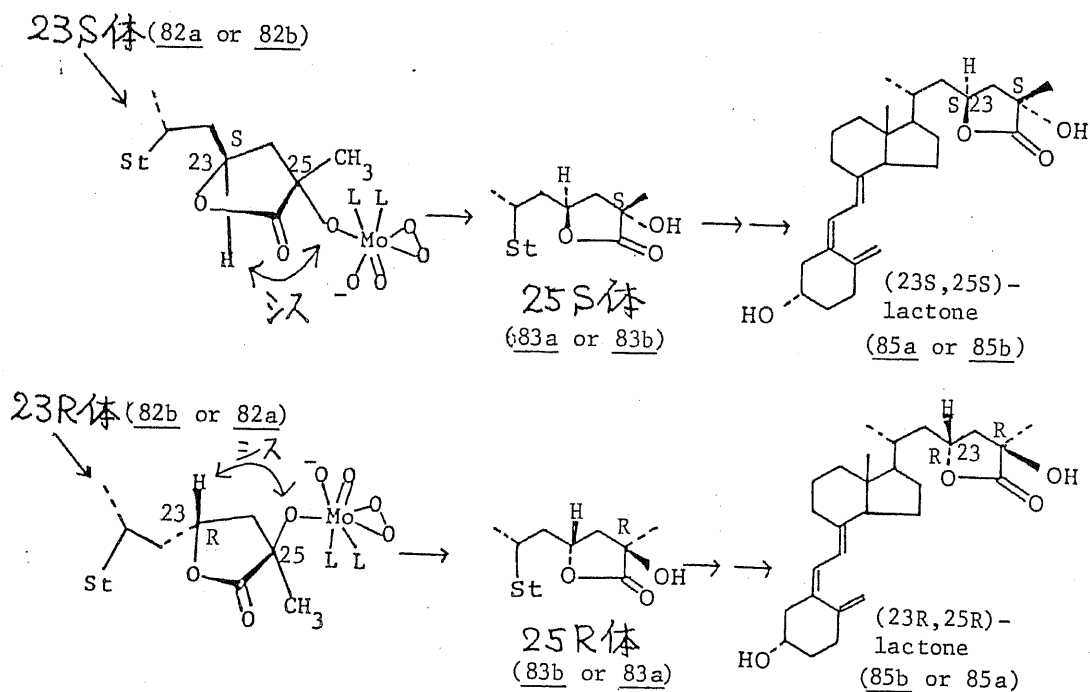


23位および25位に関する立体異性体である 85a および 85b は非常によく似たスペクトルデータを与えた。UVでは両者とも 265 nm に吸収極大を、228 nm に吸収極小を示し、ビタミン D 骨格であることが確認できた。マススペクトルでは 428 に分子イオンピークを示し、その他のフラグメントもこの構造とよく一致した。IRでは 1767 cm^{-1} (85a) および 1763 cm^{-1} (85b) にカルボニルの吸収を示し、 γ -lactone であることを確認した。 $^1\text{H-NMR}$ では δ 4.74 (85a) および δ 4.71 (85b) に23位のプロトンのシグナルを示し、その他のシグナルもこの構造とよく一致した。以上のスペクトルデータより 85a および 85b の構造

は確実である。

MoOPHによる水酸化は、MoOPHがかなり高いため立体障害の少ない側から接近しやすく、結果的に立体障害の少ない側の水酸化が優先することは既に知られている⁴⁵⁾。したがってこの場合の水酸化も立体障害の少ない側からのみ選択的に起ったのであると考えられ、その結果 83a および 83b の23位の水素と25位の水酸基は lactone 環に対して同じ側、すなわちシス配置であると考えられた。図-43に示した如く23S体 (82a or 82b) からは25S体 (83a or 83b) のみが、23R体 (82b or 82a) からは25R体 (83b or 83a) のみが生成したことになり、85a および 85b は (23S,25S)-lactone あるいは (23R,25R)-lactone であると帰属した。

図-43



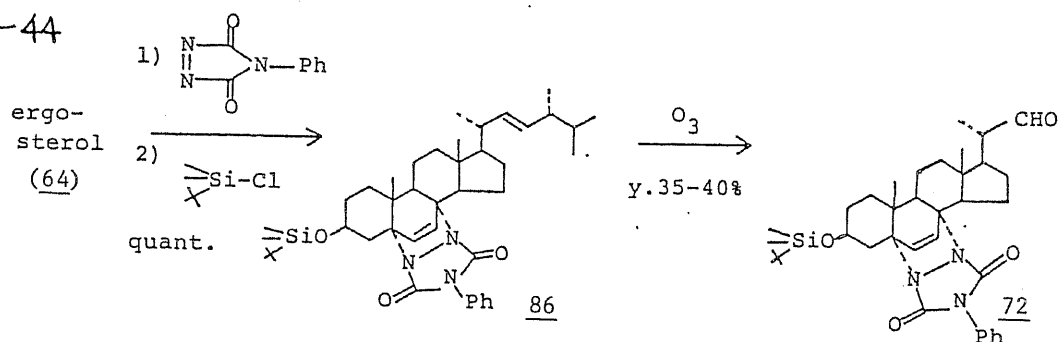
第二の方法による lactone (II) の合成

1) ステロイド部分; c-22 aldehyde (72) の合成

ergosterol (64) の 5,7-diene を triazoline で保護した後、3位の水酸基を t-butyl dimethylsilyl (TBDMS) 基で保護し 86 とした。

86 は Barton ら⁴⁶⁾の方法でオゾン分解して aldehyde (72) とし、ergosterol (64) より総収率 35~40% で得た。

図-44

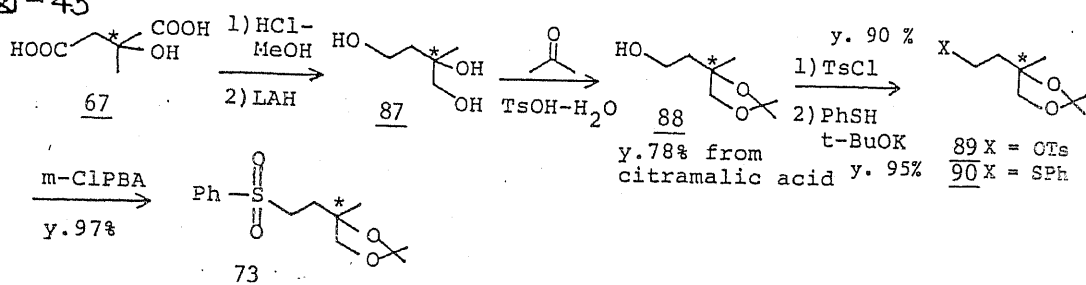


2) 側鎖部分; (S)-および (R)-sulfone (73) の合成

(S)-citramalic acid (67) から tosylate (89) への変換は Sih⁴⁷⁾の方法を改良して行った。citramalic acid (67) の dimethylester (74) を LiAlH₄ で還元し triol (87) とし、その vicdiol を acetonide で保護した後一級アルコールを tosyl化して 89 を得た。続いて PhSH で phenyl sulfite (90) とし、2当量の MCPBA で酸化して求める (S)-sulfone (73) を 67 から総収率 65% で得た。

(R)-sulfone (73) も (R)-citramalic acid (67) より同様にして導いた。

図-45

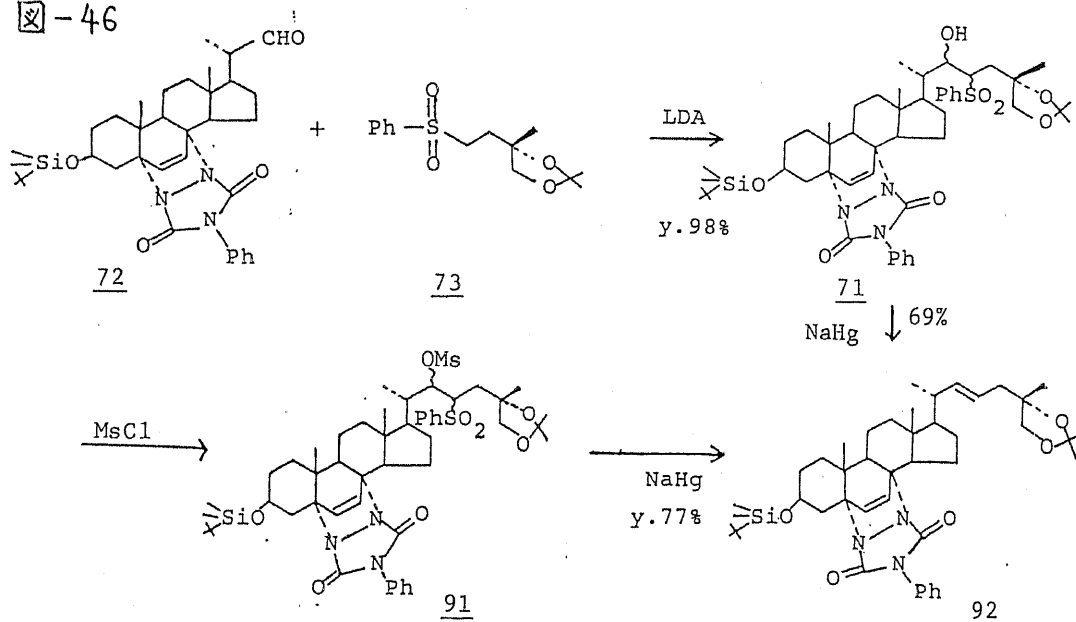


3) 25S-lactone の合成

lactone(11) の側鎖の立体配置は4種可能であるが、当初25位はS配置であると推定していたので、まず25位がS配置を有する2つの lactone の合成を行った。

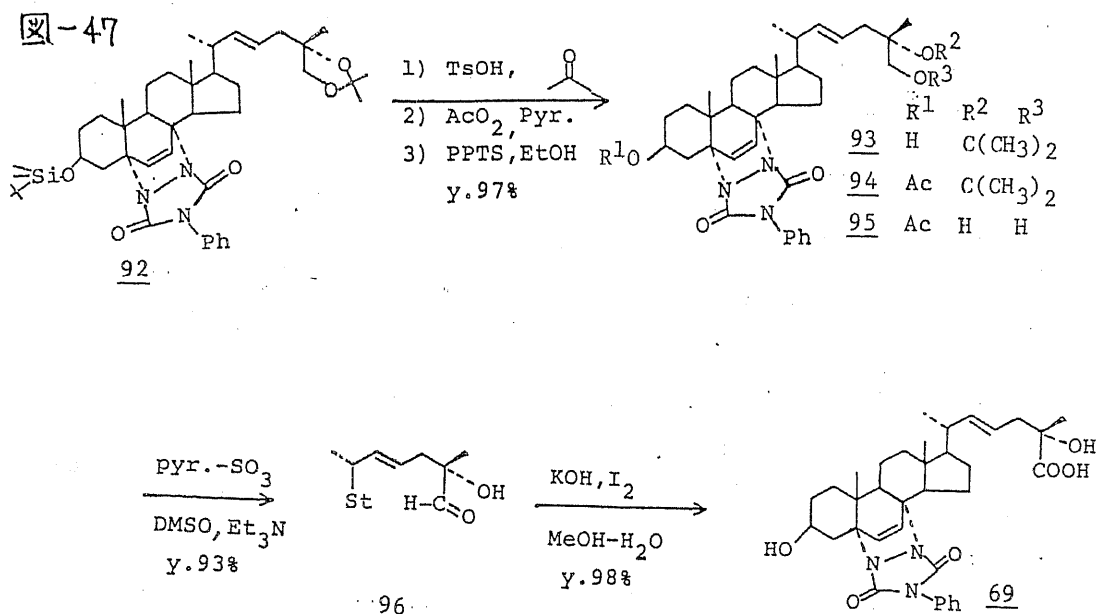
aldehyde(72) と (S)-sulfone(73) の α -カルバニオンを THF 中 -20°C にて反応させたところ、目的の β -hydroxy sulfone 体(71) が 22 位および 23 位に関する異性体の混合物として 98% の高収率で得られた。次に 71 を NaHg で還元し目的物(92)を唯一の生成物として 69% の収率で得た。22 位のアルコールをいったん mesyl 化した後 NaHg で還元すると同様に 92 が唯一の生成物として 77% の収率で得られた。 β -hydroxy sulfone の NaHg による reductive elimination ではトランスオレフィンが主成することは知られている⁴⁸⁾。92 は本反応における唯一の生成物であることから、導入されたオレフィンはトランス配置であると帰属した。このことは $^1\text{H-NMR}$ において 22, 23 位のプロトンのシ

図-46



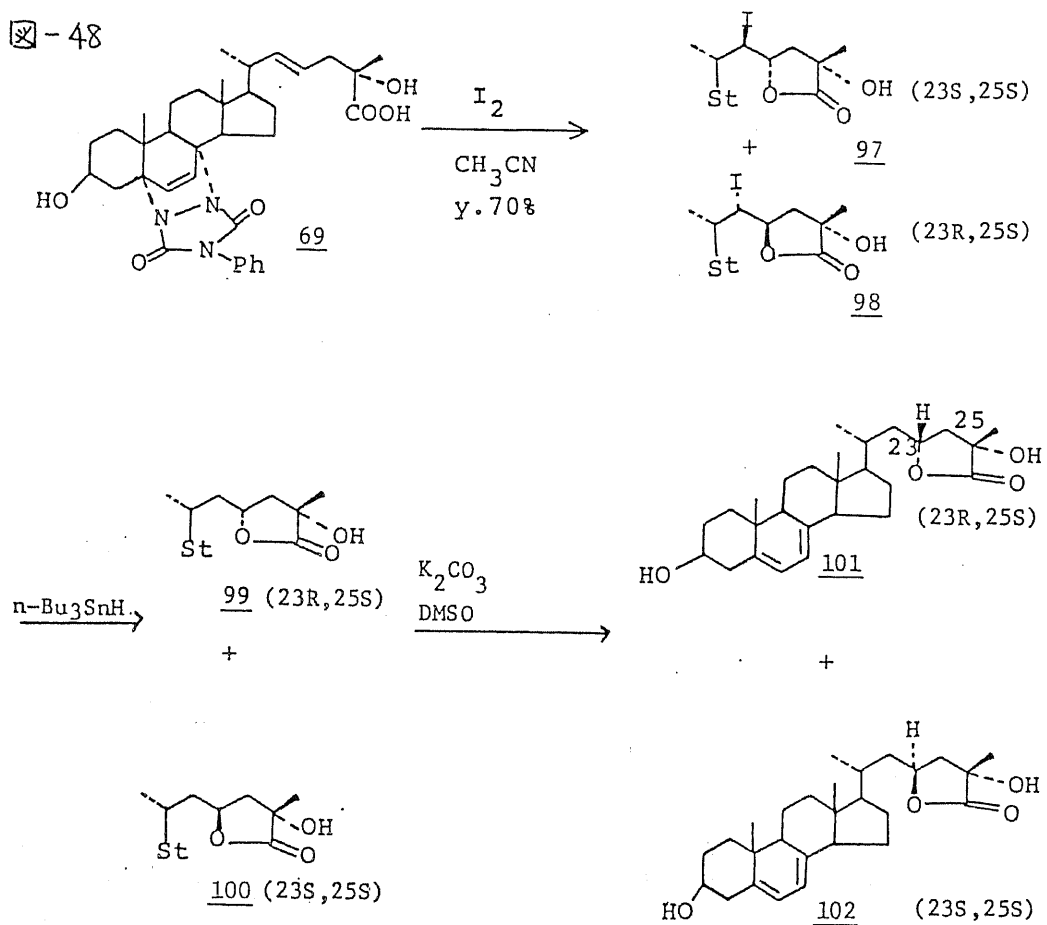
グナルが 22,23-二重結合がトランス配置である ergosterol (64) のそれと酷似していることから強く支持された。

次に3位と26位の水酸基を区別するために、3位の TBDMS を除去しアセチル化した後、25,26位の脱アセトナイド化を行い 95 を得た。続いて26位の一級アルコールを PDC にて酸化し、直接カルボン酸を得ることを試みたが、25,26-炭素炭素結合の開裂が起り目的物は得られなかった。そこでアルコール→アルデヒド→カルボン酸と stepwise に酸化することとした。まず diol 体 (95) の一級アルコールを Moffat oxidation の変法 (sulfur trioxide pyridine complex, DMSO, Et₃N) にて選択的に酸化し aldehyde (96) を 93% の高収率で得た。続く α -hydroxy aldehyde (96) の α -hydroxy carboxylic acid (69) への変換は種々の酸化剤を試みた結果、sugar の酸化に用いられることのあるアルカリ性ヨウ素溶液⁴⁴⁾にて満足できる結果を得た。すなわち 5.8 当量のヨウ素存在下、KOH-MeOH-H₂O 溶液中、室温にて反応させると、カ



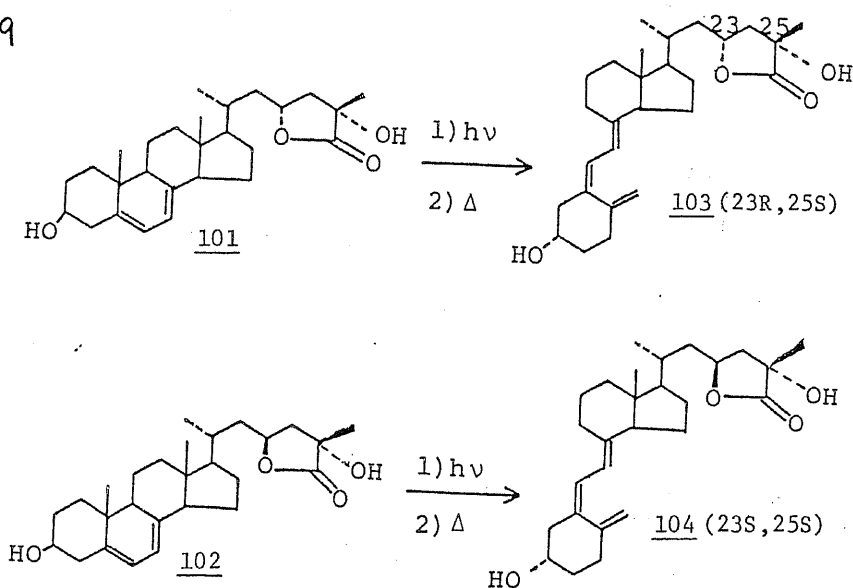
ルボン酸(69)が98%の高収率で得られた。 δ,δ' -不飽和カルボン酸(69)の iodolactonization の検討は種々の条件下で行い、表-7(P-62)に示す結果を得。(23S,25S)-iodolactone(97)および(23R,25S)-iodolactone(98)を得た。97および98は混合物のままヨウ素を還元的に除去し99,100とした。続いて triazoline を除去し(23R,25S)-lactone(101)および(23S,25S)-lactone(102)に導き両者を分離した。

図-48



プロビタミンDである 101 および 102 は、光照射による逆環化反応でプレビタミンDとし、続く熱による1,7-シグマトロピー反応でビタミンD骨格に導き、最終目的物である (23R,25S)-lactone (103) および (23S,25S)-lactone (104) とした。

図-49

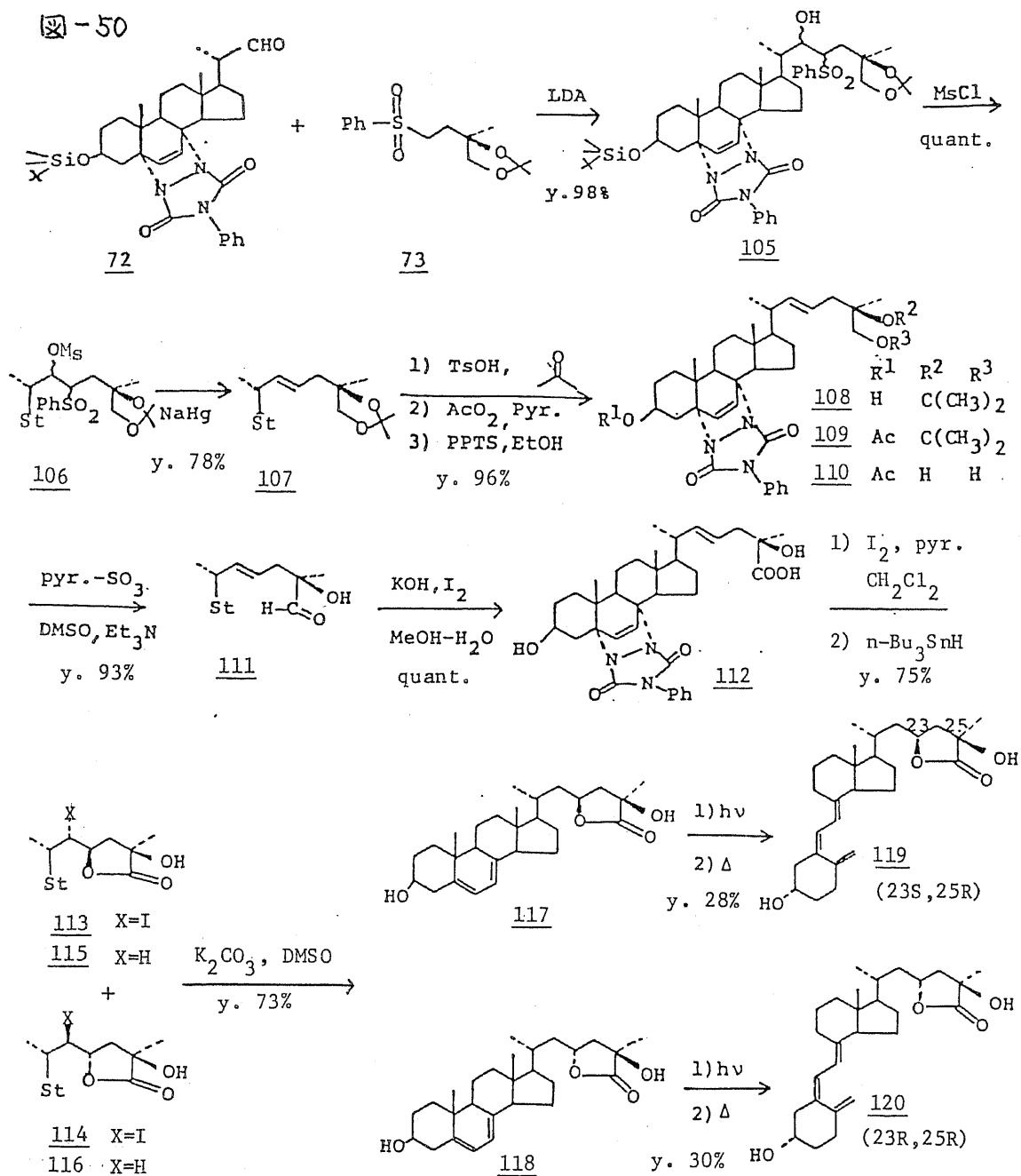


23位に関する立体異性体である lactone (103) および (104) は、UVで 265 nm に吸収極大を、228 nm に吸収極小を示しビタミンD骨格であることを確認した。またマススペクトルにおいてはそれぞれ428に分子イオンピークを示し、その他のフラグメントもこの構造とよく一致した。IRでは 1772 cm^{-1} (103) および 1763 cm^{-1} ; (104) にカルボニルの吸収を示し α -lactone であることが示された。 $^1\text{H-NMR}$ では δ 4.45 (103), δ 4.71 (104) に23位のプロトンのシグナルが観測され、その他のシグナルもこの構造とよく一致した。以上の事実より 103 および 104 の構造は確実である。

4) 25R-lactone の合成

25R配置を有する2つの lactone の合成は、(R)-citramalic acidより誘導した (R)-sulfone (73) と aldehyde (72) を用い 25S-lactone の合成の場合と同様の方法で行った。α,β-不飽和カル

図-50



ボン酸(112)の iodolactonization を検討中、著者はこの反応を pyridine 存在下で行うと立体選択性が大きく変化することを見出し (P62, 表-7)、その結果満足できる立体選択性で23位の不斉中心導入を達成した。その他の反応もすべて円滑に進行し、目的物である (23S,25R)-lactone (119) および (23R,25R)-lactone (120) の合成を完了した。*

119 および 120 は $^1\text{H-NMR}$ で23位のプロトンのケミカルシフトが δ 4.44 および δ 4.74 と異なる以外はほとんど同様のスペクトルデータを与え、103 および 104 とよく似ている。以上の事実より 119 および 120 の構造は确实である。

以上の如く、立体配置の異なる4種の lactone (103), (104) (119), (120) の合成を完了した。

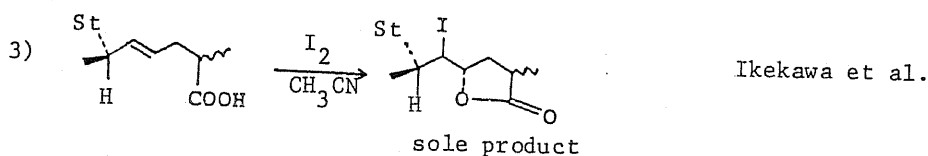
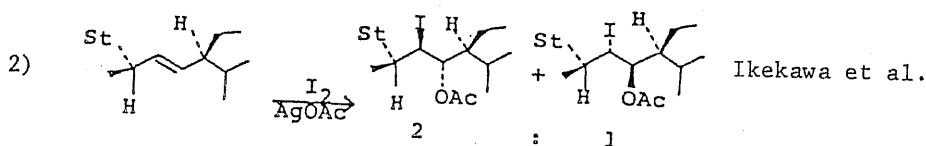
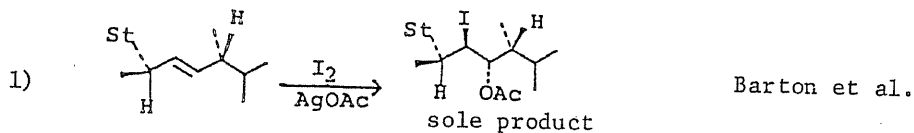
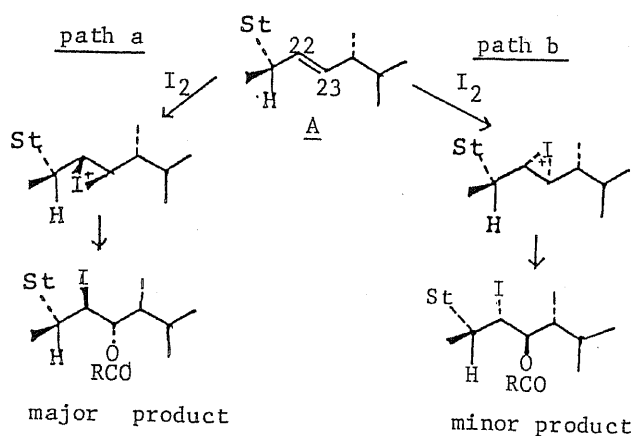
* lactone (119) および (120) の立体配置の決定については第2節で述べる。

第2節 23位の立体配置に関する考察

iodolactonization について

ステロイドの22,23-二重結合への iodoacetoxylation および iodolactonization の立体選択性については Barton⁵⁰⁾ および 池川⁵⁰⁾ の報告がある(図-51)。22,23-二重結合を有したステロイドの側鎖は図-51に示した A のようなコンホメーションが優位であり、iodoacetoxylation および iodolactonization の反応の初めに起るヨウ素の付加はステロイド骨格側からでなく立体障

図-51



害の少ない21位 Me基側から主として起り (path a), RCOO^\ominus は付加したヨウ素に対して anti attack し 図-51 に示す生成物を与えると説明している。

著者の行った iodolactonization の結果を表-7 にまとめた。表-7 より次のことが明らかとなった。i) 25位の立体配置は立体選択性に若干の影響を与えるが、25S体、25R体共に主生成物はヨウ素が21位 Me基側から付加 (path a) したものであった。ii) 25S体と25R体を比較すると、前者はヨウ素の21位 Me基側からの付加 (path a) の選択性が高かったが、後者は選択性が低かった。iii) 25S体、25R体共に pyridine が共存するとヨウ素が steroid 骨格側から付加 (path b) したものがかなり増加し、

表-7 iodolactonization の立体選択性について

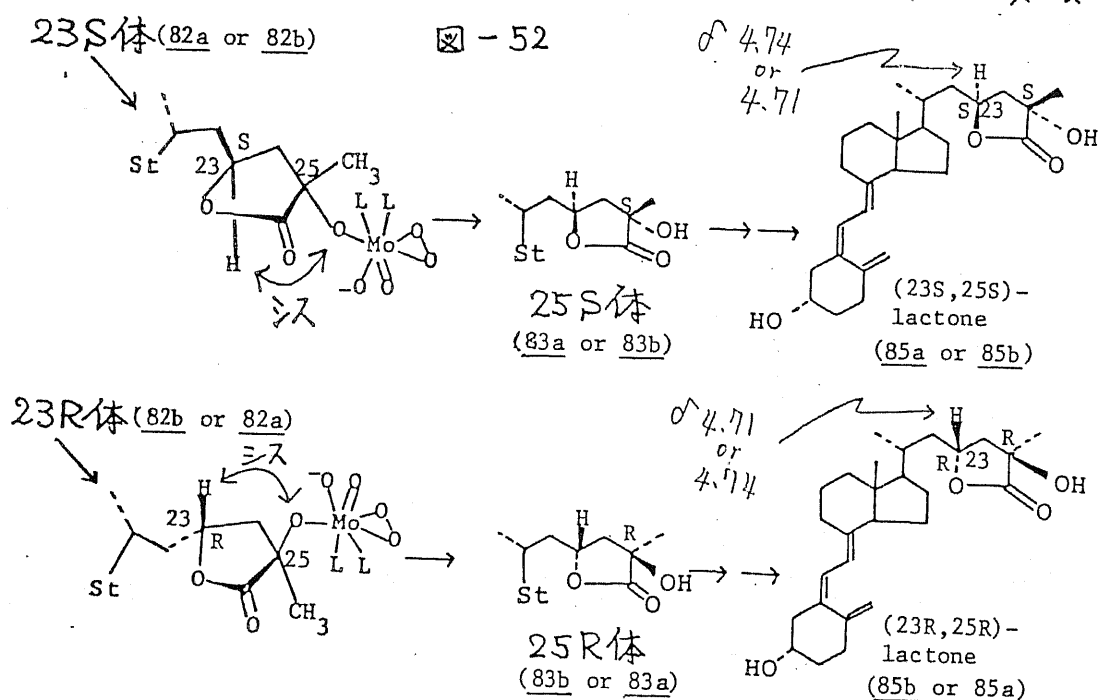
	97 (23S, 25S)	98 (23R, 25S)	114 (23S, 25R)	113 (23R, 25R)
solvent (%)	(%)	(%)	(%)	(%)
benzene	63	37		
AcOEt			56	44
Et ₂ O			65	35
CH ₃ CN	90	10	57	43
CH ₂ Cl ₂	66	34	69	31
CH ₃ CN, Pyr.	57	43	27	73
CH ₂ Cl ₂ , Pyr.	55	45	20	80

異性体比は HPLC のピーク面積比より算出した。

特に 25R 体では主生成物となった。pyridine の効果については
 i) pyridine が存在すると出発物質のコンホメーション A (図-51)
 の優先性が減少する。ii) ヨウ素が pyridine と complex をつくり
 大きな試薬として作用するために配向性が変化する。が考え
 られる。pyridine 共存下における配向性の変化は新知見であり
 興味深い。

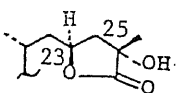
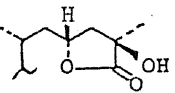
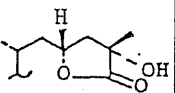
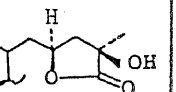
lactone (103), (104), (119), (120) の 23 位の立体配置の決定

立体配置については $^1\text{H-NMR}$ が有力な情報を与えてくれた。
 今回合成を行った 4 種の lactone のスペクトルデータは互いに
 よく類似しているが、 $^1\text{H-NMR}$ における H-23 のケミカルシフト
 のみ異なり、 δ 4.4 付近の化合物 (103 および 119) と δ 4.7 付
 近の化合物 (104 および 120) に分けられた (表-8)。前述の
 如く 25 位に水酸基をもたない lactone (82a), (82b) の MoOPH
 による水酸化により得た 83a, 83b は、水酸化の際の 5 員環の



1,3位の立体障害のために23位のHと25位のOHが互いにシスの関係にあるが(図-52)、それらから誘導した85a, 85bのH-23のケミカルシフトは δ 4.74および δ 4.71であった。このことはH-23が δ 4.7付近の化合物は23位のHと25位のOHがシスの関係にあり、したがって δ 4.4付近の化合物はトランスの関係にあることを示唆している。よって25S体のうち104(δ 4.71)の23位はS配置(23-Hと25-OHがシス配置)であり、103(δ 4.45)の23位はR配置(23-Hと25-OHがトランス配置)であると決定した。25R体については120(δ 4.74)の23位はR配置(23-Hと25-OHがシス配置)であり、119(δ 4.44)の23位はS配置(23-Hと25-OHがトランス配置)であると決定した。

表-8

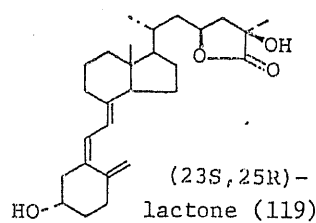
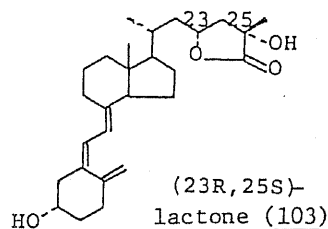
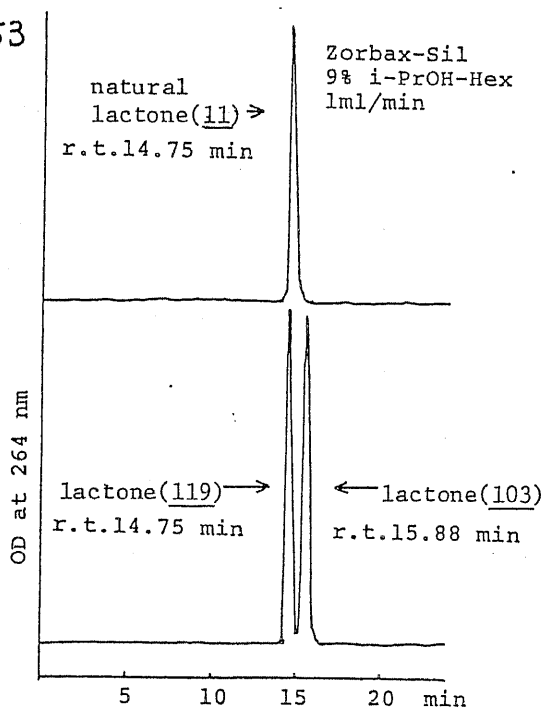
substrate	lactone(104) (25S)	lactone(120) (25R)	lactone(103) (25S)	lactone(119) (25R)
H-23 δ	4.71	4.74	4.45	4.44
substrate	85b	85a		
H-23 δ	4.71	4.74		
23-Hと25-OH の相対配置	シス	シス	トランス	トランス
結 論	 (23S, 25S)	 (23R, 25R)	 (23R, 25S)	 (23S, 25R)

天然 lactone(11)のH-23のケミカルシフトは δ 4.46であることから、この時点で天然品は(23R, 25S)配置あるいは(23S, 25R)配置であることが明らかとなった。

第3節 天然 lactone (11) の立体配置の決定

天然 lactone (11) は、著者が合成した4つの lactone のうち、(23*S*, 25*S*)体 (104) および (23*R*, 25*R*)体 (120) とは ¹H-NMR における H-23 のケミカルシフトが異なり一致しなかったが、(23*R*, 25*S*)体 (103) および (23*S*, 25*R*)体 (119) とはすべてのスペクトルデータが測定誤差の範囲内で共に一致し、スペクトルデータから天然品の立体配置を決定することはできなかつた。そこで合成品 (103) および (119) と rat の血清より単離した天然 lactone (11)⁵²⁾ の直接比較を HPLC を用いて行った。図-53 に合成品 (103) および (119) の1:1の混合物と天然 lactone (11) の HPLC (Zorbax SIL, 9% i-PrOH-Hexane) による溶出の結果を示す。天然品は (23*S*, 25*R*)-lactone (119) と同一の保持容量

図-53



(14.75 ml) で溶出した。その結果、天然品の 23 位は S 配置であり、25 位は R 配置であることが明らかとなった。

以上の如く、著者は天然 lactone (II) の不明であった 23 位および 25 位の立体配置の決定に初めて成功した。また天然 lactone (II) の 25 位が R 配置であることから、大多数が予想した 25 S , 26-(OH) $_2$ D_3 を前駆物質とする lactone (II) の生合成経路は否定された。

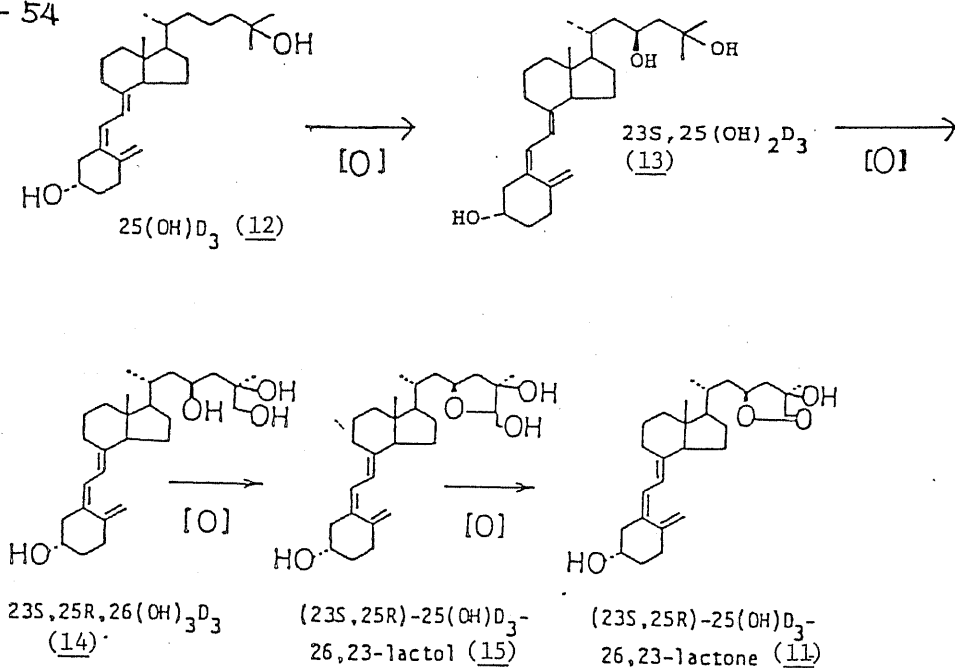
天然 lactone (II) が合成品 (II $_9$) と一致したことから、図-50 (P-59) に示す如く、iodolactonization を著者の開発した pyridine 存在下 CH_2Cl_2 中で行うことにより 23 位に関して 80% の選択性で、また (R)-sulfone (73) を用いることにより 25 位に関して 100% の選択性で天然 lactone (II) を立体選択的に合成したことになり、ここに天然品の効率の良い立体選択的合成法を確立した。

著者らとほぼ同時に DeLuca, 池川のグループ⁵³⁾ および Williams のグループ⁵⁴⁾ が天然 lactone の合成に成功したと報告した。しかしそれらの合成法は、合成の途中で生成する異性体の分離を含む非立体選択的合成法である。天然品の立体配置の決定に関しては、DeLuca, 池川のグループが著者らと同様の結果を得たことを報告した。⁵³⁾

第4節 lactone (11) の推定生合成中間体 23S, 25R, 26-(OH)₃ D₃ (14) および (23S, 25R)-25-OH-D₃-26, 23-lactol (15) の立体選択的合成

前述の如く天然 lactone (11) の構造決定並びにその合成に成功したが、その後 DeLuca ら⁷⁾により 25-OH-D₃ から lactone (11) に至る生合成中間体として 23S, 25-dihydroxyvitamin D₃ [23S, 25-(OH)₂ D₃] が単離同定された。著者は 23S, 25-(OH)₂ D₃ から lactone (11) への生合成は酸化が stepwise に進行するなら中間体として 23S, 25R, 26-trihydroxyvitamin D₃ [23S, 25R, 26-(OH)₃ D₃] (14) および (23S, 25R)-25-hydroxyvitamin D₃-26, 23-lactol (25-OH-D₃-26, 23-lactol) (15) を経由すると考えた(図-54)。今回 lactone (11) の生合成経路の解明を目的として推定中間体 (14) および (15) の合成を行った。

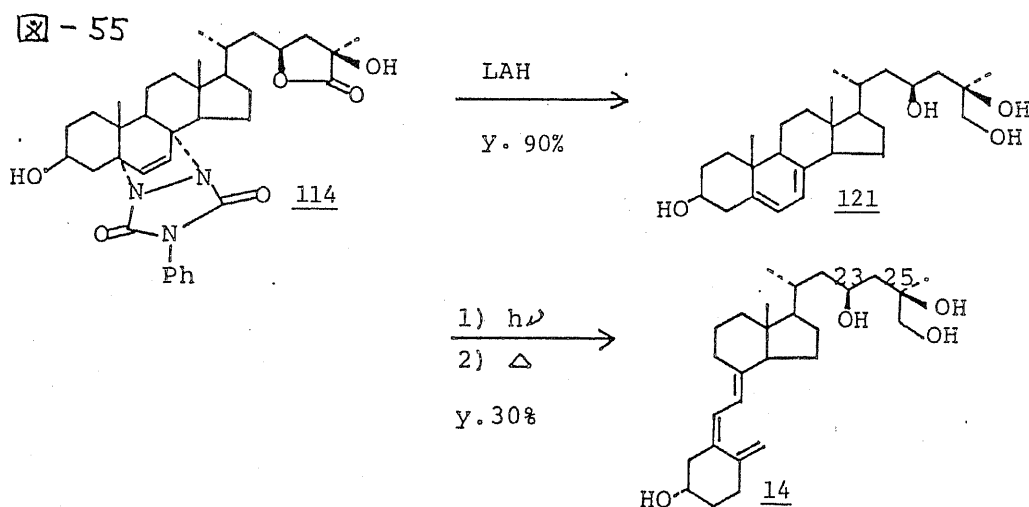
図-54



23S, 25R, 26-(OH)₃ D₃ (14) の合成

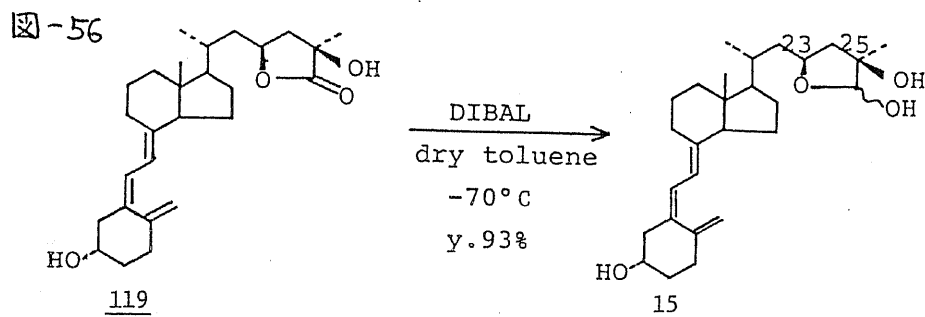
23S, 25R, 26-(OH)₃ D₃ (14) の合成は (23S, 25R)-lactone (119) の立体選択的合成法を利用することにより容易に達成できた。すなわち 119 の合成中間体 (114) を LiAlH₄ にて処理し、lactone をアルコールに還元すると同時に保護基である triazoline を除去して 5, 7-diene を再生し、一挙に目的のプロビタミン D (121) を 90% という高収率で得た。121 は常法 (光による開環、熱による異性化) によりビタミン D 骨格に変換し目的物 (14) とした。

は UV で 265 nm に吸収極大を示し、228 nm に吸収極小を示したことからビタミン D 骨格であることを確認した。マススペクトルでは 432 に分子イオンピークを示し、その他のフラグメントもこの構造とよく一致した。¹H-NMR では δ 3.57 に H-26 が AB quartet, J=11 Hz で観測され、δ 3.8-4.2 に H-3 および H-23 が multiplet で観測された。その他のシグナルもこの構造を強く支持している。以上の事実およびその他のスペクトルデータより 14 の構造は確実である。



(23S, 25R)-26, 23-lactol (15) の合成

天然 lactone (11) と一致した合成品 (23S, 25R)-lactone (119) をトルエン中、 -70°C にて diisobutyl aluminium hydride (DIBAL) を用いて還元することにより (23S, 25R)-26, 23-lactol (15) を一工程かつ 93% の高収率で得た。15 は UV で 265 nm に吸収極大を示し、228 nm に吸収極小を示した。マススペクトルでは 430 に分子イオンピークを示し、その他のフラグメントもこの構造とよく一致した。 $^1\text{H-NMR}$ では δ 3.8-4.2 に H-3 および H-23 が multiplet で観測され、 δ 4.38 に H-26 が singlet で観測された。その他のシグナルもこの構造とよく一致した。以上の事実より 15 の構造は确实である。

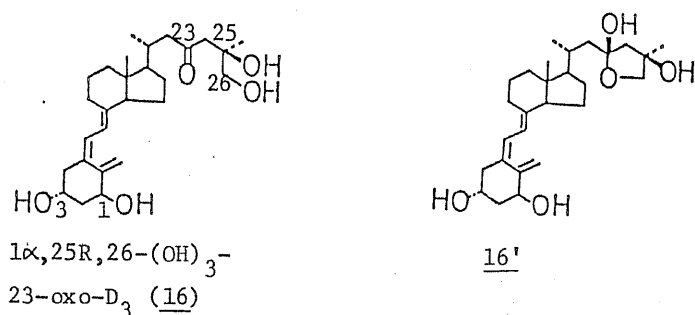


第5節 ビタミンD新代謝物 $1\alpha,25R,26-(OH)_3-23-oxo-D_3$ (16)

(提案された推定構造式)の立体選択的合成

1982年 Norman ら²¹⁾は、ビタミンDを十分に投与したニワトリの小腸粘膜と $1\alpha,25-(OH)_2D_3$ の incubation mixture から活性化型 D_3 $1\alpha,25-(OH)_2D_3$ の主代謝物として新物質(X)を単離し、その構造式として $1\alpha,25R,26-trihydroxy-23-oxovitamin D_3$ [$1\alpha,25R,26-(OH)_3-23-oxo-D_3$] (16) の hemiacetal 体 (16') を提出した。著者は構造推定に至った根拠すなわちマススペクトルおよび側鎖の化学的性質の解釈に疑問を抱いた。そこで提出された構造式の真偽を確かめるため、また23位の水酸化を経る一連の代謝物合成研究の一環として、本化合物の立体選択的合成を chiral synthon を用いる化学合成および酵素による水酸化の手法を用いて行った。

図-57

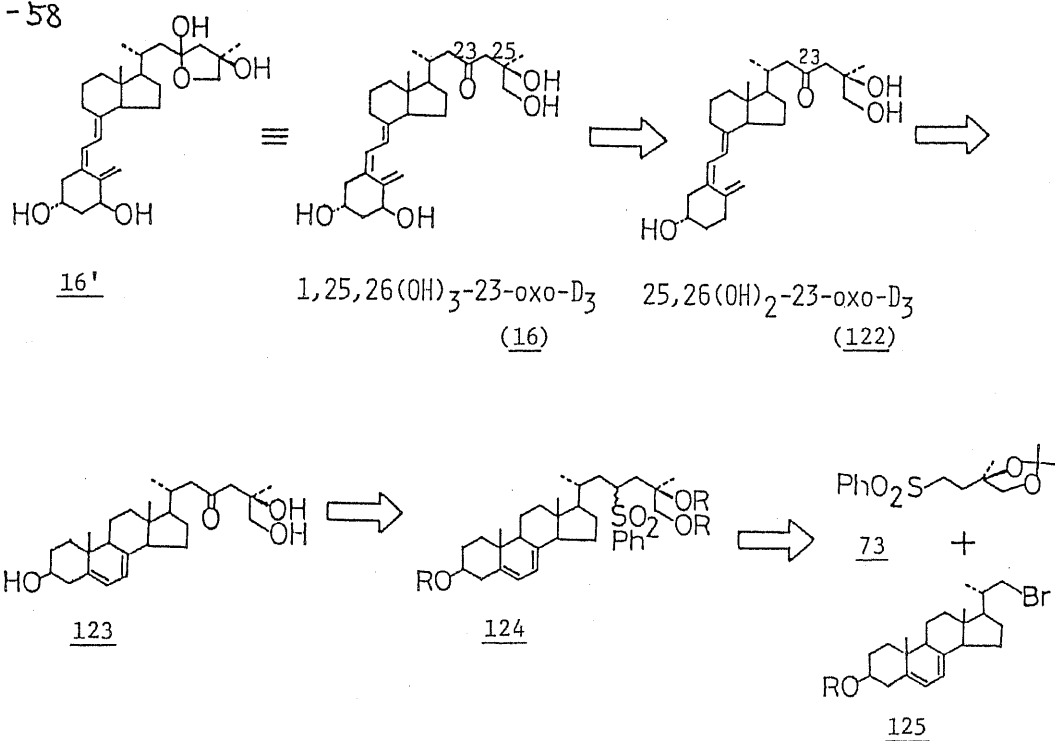


合成計画

ビタミンD新代謝物(X)の推定構造式(16)は側鎖の25位およびA環の1位に不斉炭素を有しているので、この2つの不斉中心を選択的に導入できる合成法を計画した(図-58)。すなわち、側鎖の不斉中心は先に合成した lactone (119), triol (14), lactol

(15)の場合と同様 chiral synthon である citramalic acid (67) より容易に導かれる (R)-sulfone (73) を用いて導入する。ステロイド骨格部分には ergosterol (64) より誘導できる C-22 Br-体 (125) を用いる。23位のカルボニルはカップリング体(124)の酸化脱スルホン化により導入する。1位の水酸基はβ水酸化酵素の活性が高いD欠乏状態のニワトリの腎臓ホモジェネートと 25R,26-(OH)₂-23-oxo-D₃ (122) のインキュベーションにより導入する。すなわち、化学的に 25R,26-(OH)₂-23-oxo-D₃ (122) を合成した後、酵素的に1位を水酸化し目的物(16)を得るわけである。

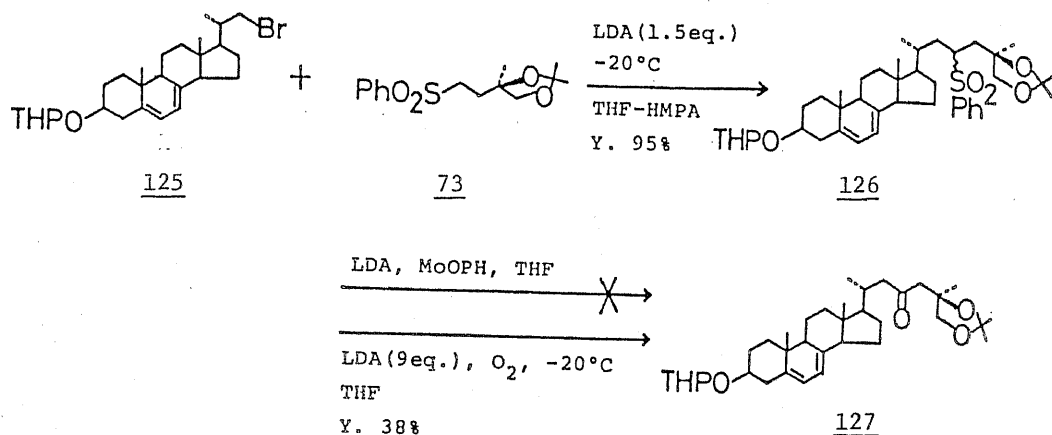
図-58



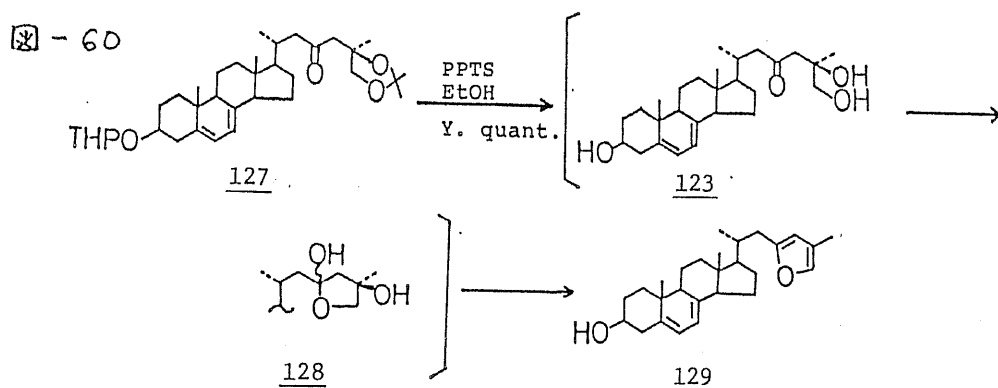
25R,26-(OH)₂-23-oxo-D₃ (122) の合成

(R)-sulfone (73) のカルバニオンと Br 体 (125) のカップリング反応は THF 中、 -20°C では円滑に進行しないが、HMPA の共存により容易に進行し 126 を 95% の高収率で得た。続いて ketone 体 (127) を得るために、126 の sulfone のアニオンの MoOPH による酸化⁵⁵⁾を試みたが、反応は進行せず、反応条件を強かにすると phenyl sulfone の phenyl 基が酸化されたと思われる化合物が得られ、目的物は得られなかった。この結果から sulfone (126) のアニオンとかさ高い試薬である MoOPH は、立体障害が大きく近づけないのであると判断した。そこで MoOPH の代りにかさの小さい酸素分子を用いることとし、126 の THF 溶液に base を加えた後酸素を導入した。その結果、酸化的脱スルホン化が起り目的の 23-ketone 体 (127) が得られた。以上で側鎖の官能基導入を完了した (図-59)。

図-59



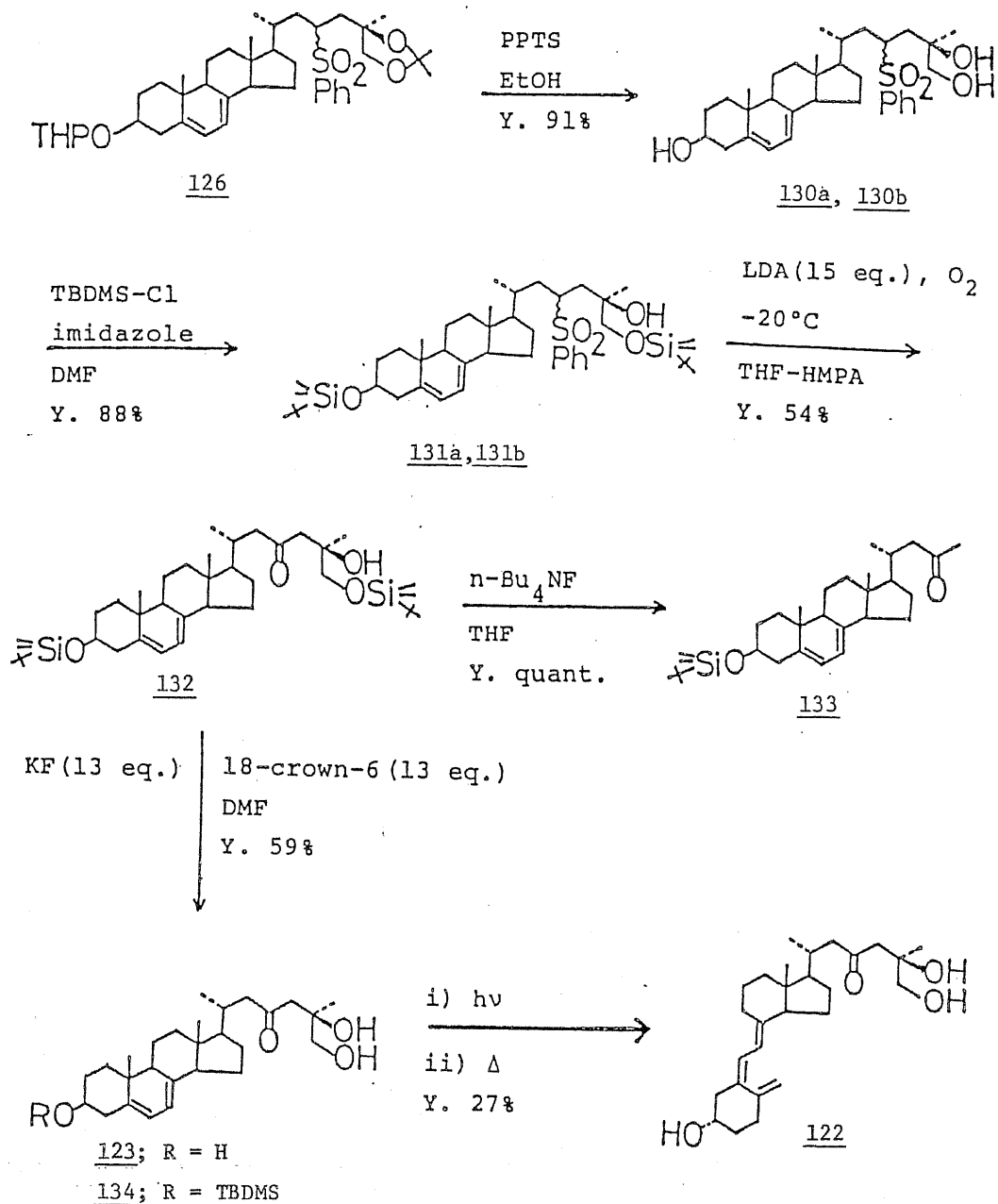
次にプロビタミンD (123) を得るために、127 の3位, 25位, 26位の保護基の除去を種々の酸性条件下で試みた。しかし目的は達成できず、得られたものは furan 体 (129) のみであった。furan 体 (129) は 127 の保護基が除去され目的のプロビタミンD (123) となった後、この条件下で 23-ketone と 26-OH が閉環し hemiketal (128) となり、更に2分子脱水して生成したものと考えられる。



そこで保護基を酸性条件以外で除去できる TBDMS エーテルに代えることが適切であると考え、126 の保護基を除去し、シリル化して23位の sulfone の異性体である 131a, 131b を得た。次に、アルゴン気流下 sulfone のアニオンを生成させ、続いてアルゴンを酸素で置換することにより 23-ketone 体 (132) を54%の収率で得た。シリル基の除去は $n\text{-Bu}_4\text{NF}$ を用いて試みた。その結果、側鎖の β -hydroxyketone が retroaldol 縮合を起し、24, 25-炭素炭素結合が開裂した ketone 体 (133) が定量的に得られた。種々の条件検討の結果、DMF 中、KF-(18-crown-6) にて処理することにより目的のプロビタミンD (123) を得ることができた。側鎖の β,γ -dihydroxyketone は、閉環それに続く脱水によりフラン環を形成する、あるいは retroaldol 縮合を起しやすいため扱いにくい化合物であったが、上述の方法によりこ

これらの問題を解決した。プロビタミンD (123) は常法によりビタミンD骨格に変換した。

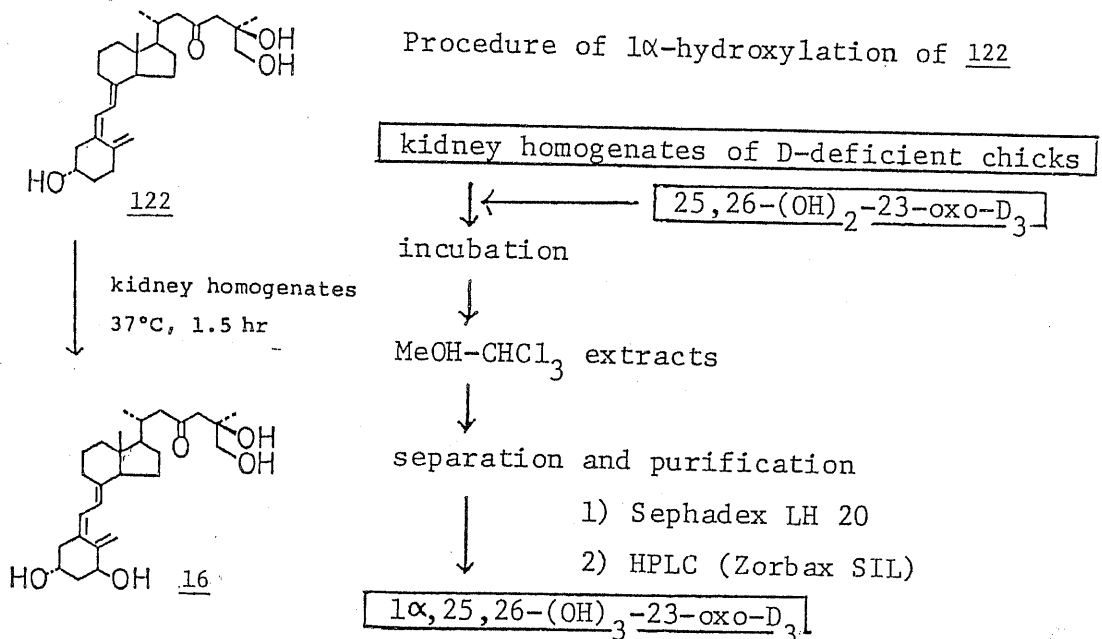
図-61



1 α 水酸基の導入

1 α 水酸基はいわゆる D 作用発現に不可欠であり生物学的に極めて重要な官能基であるため、合成上その容易な導入法が望まれるが、未だ応用範囲の広い良い方法はない。現在合成上利用されている方法は3つに大別される。すなわち i) ステロイド骨格あるいはビタミン D 骨格に化学的に導入する。ii) 1 α 水酸基を有したステロイドを出発原料として用いる。iii) ビタミン D の 1 α -hydroxylase により導入する。である。今回は少量の原料で可能な iii) の方法により導入することとした。すなわち化学的に合成した 25R,26-(OH)₂-23-oxo-D₃ (122) を 1 α -hydroxylase と作用させ酵素的に 1 α 水酸基を導入し、目的物 (16) を得た。図-62 にその手順を要約した。1 α -hydroxylase の活性が高い D 欠乏状態のニワトリの腎臓 homogenate と 25R,26-(OH)₂-23-oxo-D₃

図-62

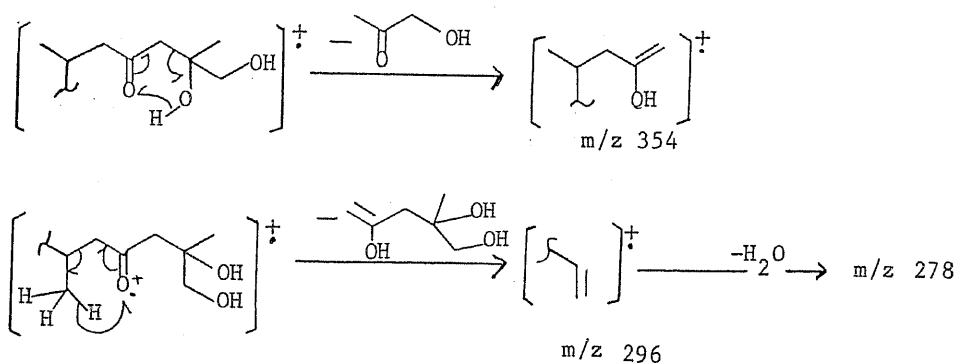


(122)のインキュベーションは、酸素気流下、37°Cにて1.5時間行った。次に incubation mixture から CHCl_3 を用いて Gray の方法⁵⁶⁾により抽出を行った。抽出物を Sephadex LH20 カラムクロマトグラフィー続いて HPLC を用いて分離精製し、目的物 $1\alpha, 25R, 26-(\text{OH})_3-23\text{-oxo-D}_3$ (16) を得た。ここで得た化合物はマスおよび UV スペクトルにより目的物であることを確認した。

代謝物(X)と合成品 $1\alpha, 25R, 26-(\text{OH})_3 \text{D}_3$ (16) の比較

Norman らは、代謝物(X)すなわち $1\alpha, 25R, 26-(\text{OH})_3-23\text{-oxo-D}_3$ は23位のカルボニルと26位の水酸基で hemiacetal 環を形成し、hemiacetal 環上の23位および25位の水酸基は水素結合が可能な syn 型(16')であると報告している(図-57)。しかし、著者が合成した $25R, 26-(\text{OH})_2-23\text{-ketone}$ 基を有する化合物はすべて IR でカルボニルの吸収を示し hemiketal 環は形成していない。また代謝物(X)と合成品(16)のマススペクトルは明らかに異なる。合成品(16)は側鎖の MacLafferty 転位に基づくピーク (m/z 354, 336, 321, 278, 263)(図-63)が特徴的に観測されるが、代

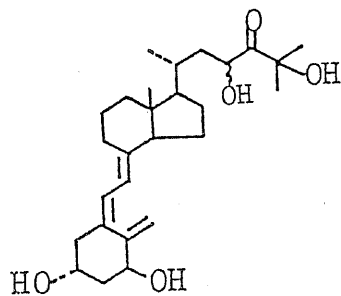
図-63



謝物(X)ではそれらが観測されないばかりか帰属困難なピークが多数存在し、合成品とは一致しなかった。以上の事実すなわち合成品の側鎖は hemiketal 環を形成していないこと、およびマススペクトルが一致しないことから Σ は $1\alpha, 25R, 26-(OH)_3-23-oxo-D_3$ (16) とは異なる化合物であることが強く示唆された。またマススペクトルおよび化学的性質の違いは、 Σ が提出された構造式 $1\alpha, 25R, 26-(OH)_3-23-oxo-D_3$ (16) の 25 位の異性体すなわち $1\alpha, 25S, 26-(OH)_3-23-oxo-D_3$ である可能性をも明らかに否定している。

著者がこの仕事を完了してから、Normanら⁵⁷⁾は Σ の構造の訂正を発表し、 $1\alpha, 23, 25-(OH)_3-24-oxo-D_3$ (135) に改めた。今回合成した $25R, 26-(OH)_2-23-oxo-D_3$ (122) および $1\alpha, 25R, 26-(OH)_3-23-oxo-D_3$ (16) が天然に存在するの否か、未だ明らかでないが、存在の可能性はある。また側鎖の酸化されたビタミンD誘導体としてその生理作用に興味もたれる。

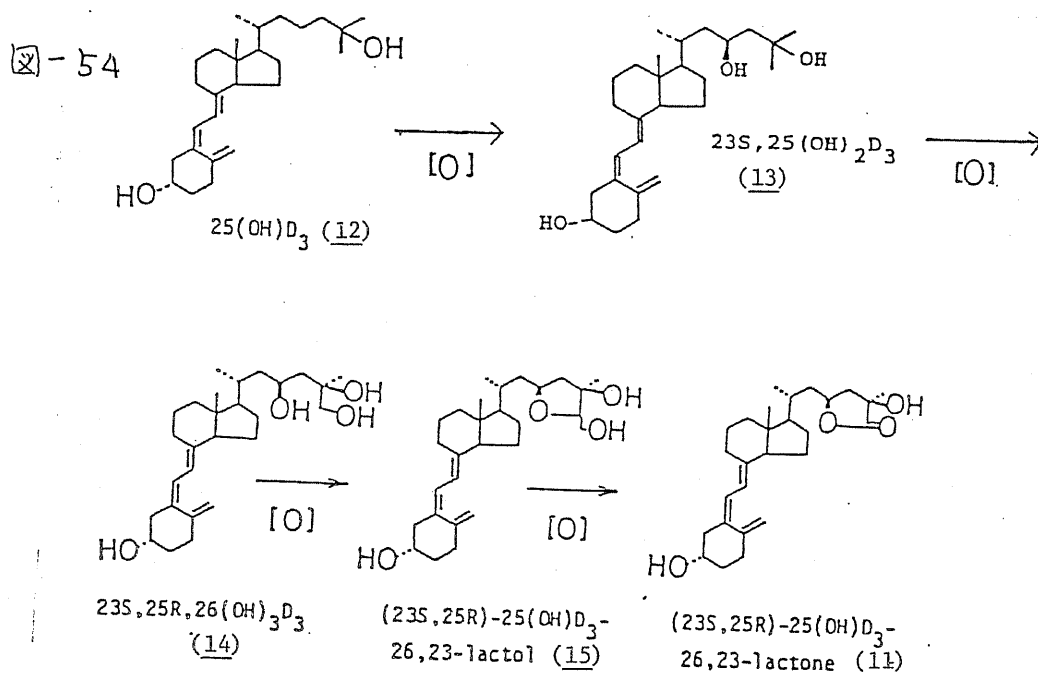
図-64



$1\alpha, 23, 25-(OH)_3-24-oxo-D_3$ (135)

第3章 (23S, 25R)-25-OH-D₃-26, 23-lactone (11) の生合成経路の解明

前述の如く、著者は 25-OH-D₃ から 23S, 25-(OH)₂-D₃ (13) を経て 25-OH-D₃-26, 23-lactone (11) へ至る代謝が酸化段階において stepwise に進行するなら、23S, 25-(OH)₂-D₃ (13) はまず 26 位が水酸化され 23S, 25R, 26-(OH)₃-D₃ (14) となり、ついで 26 位がアルデヒドの段階にまで酸化された (23S, 25R)-25-OH-D₃-26, 23-lactol (15) を生成し、最後に 26 位がカルボン酸の段階にまで酸化され 26, 23-lactone (11) を生成すると考え (図-54), lactone (11) と同一の立体配置を有するこれらの推定代謝物を合成した。これら推定代謝物が実際腎臓に存在する lactone 生合成酵素によって lactone (11) に変換されるか否か、またこれらが生合成中間体として存



在するのかが否か検討した。その結果 $23S, 25R, 26-(OH)_3 D_3$ (14) および lactol (15) が腎臓の酵素により共に効率よく lactone に変換されることを明らかにした。また $23S, 25R, 26-(OH)_3 D_3$ (14) の代謝物として、半減期が短かく単離が困難であった lactol (15) の単離同定にも成功した。以下、その経緯を詳述する。

第1節 23S, 25R, 26-(OH)₃ D₃ (14) および (23S, 25R)-25-OH-D₃-26, 23-lactol (15) の lactone (11) への生物学的変換

lactone (11) はビタミンDが十分に投与された動物の腎臓にて 25-OH-D₃ から生合成されると DeLuca⁵⁸⁾ は報告している。そこで i) 合成した立体配置の明確な 23S, 25R, 26-(OH)₃ D₃ (14) および lactol (15) が生物学的に lactone (11) に変換されるか否か、ii) triol (14) の代謝物として lactol (15) が存在するか否か、iii) lactone (11) へ至る各酸化段階が総てビタミンDの投与状態の制御を受けているか否か、をニワトリの腎臓を用いて以下に示す3つの条件下で検討した。実験方法および手順を図-65に要約した。Group I では triol (14) および lactol (15) のD充分状態における変換状況を検討した。1α, 25-(OH)₂ D₃ の7日間投与によりD充分状態となったニワトリの腎臓ホモジネートと triol (14) あるいは lactol (15) の incubation を 37°C にて 90分間行った。Group II では、変換が酵素を介して進行することを確認するために、酵素が存在しない場合の変換状況を検討した。D充分状態のニワトリの腎臓ホモジネートを 100°C にて 5分間加熱し酵素を不活性化した後、Group I と同様のインキュベーションを行った。Group III ではD欠乏状態における変換状況を検討した。D欠乏食で飼育しD欠乏状態となったニワトリの腎臓ホモジネートを用い Group I, II と同様のインキュベーションを行った。その結果を表-9に示す。得られた化合物は合成品との HPLC の保持容量, UV およびマススペクトルの比較によりその構造を確認した。

☒-65

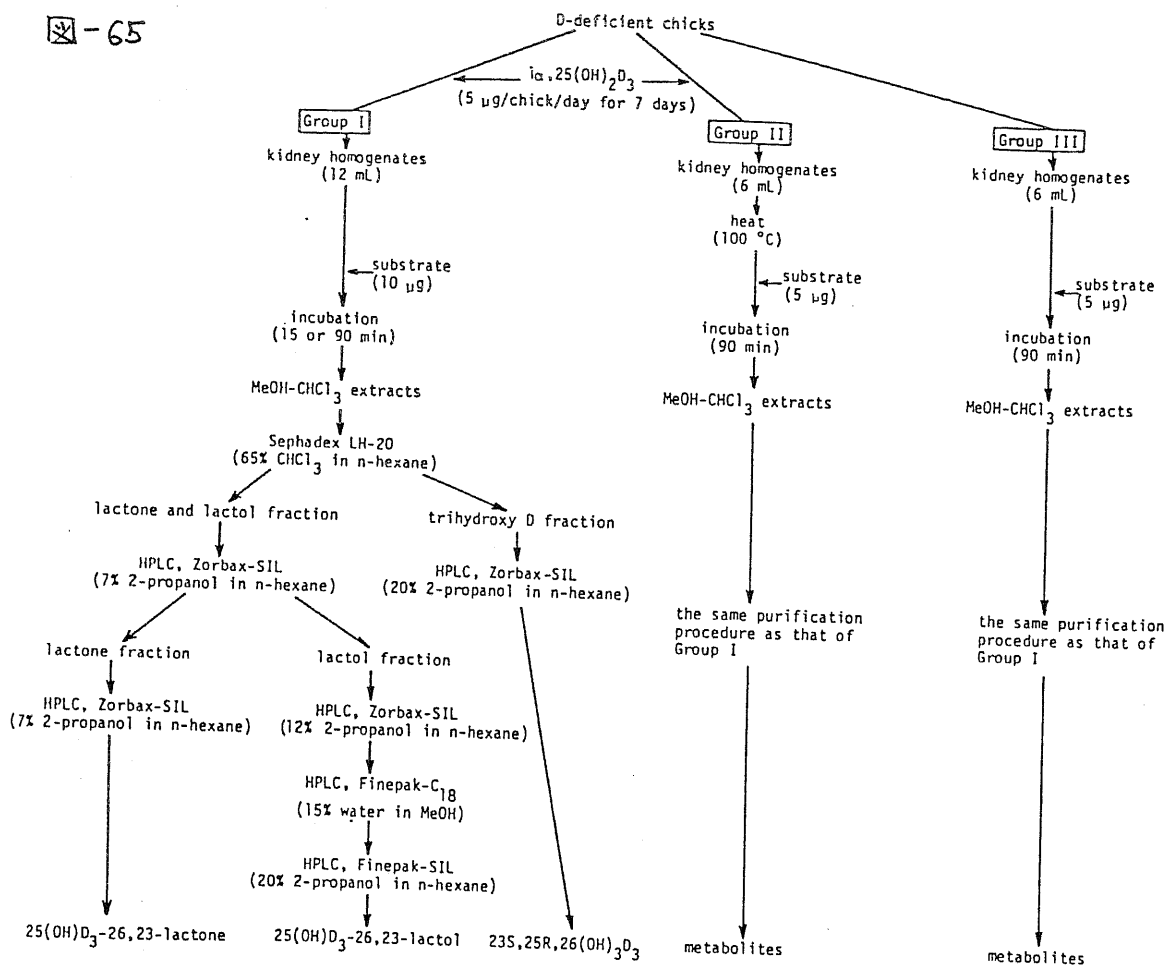


表-9

substrate	Group	metabolites and substrates isolated (yield %)*		
		23S,25R,26-(OH) ₃ D ₃ (14)	lactol (15)	lactone (11)
23S,25R,26-(OH) ₃ D ₃ (14)	I	8	0	31
	II	/**	0	0
	III	/**	0	0
lactol(15)	I		0	23
	II		35	0
	III		0	16

* グループごとに3回の実験を行い、その平均値を示した

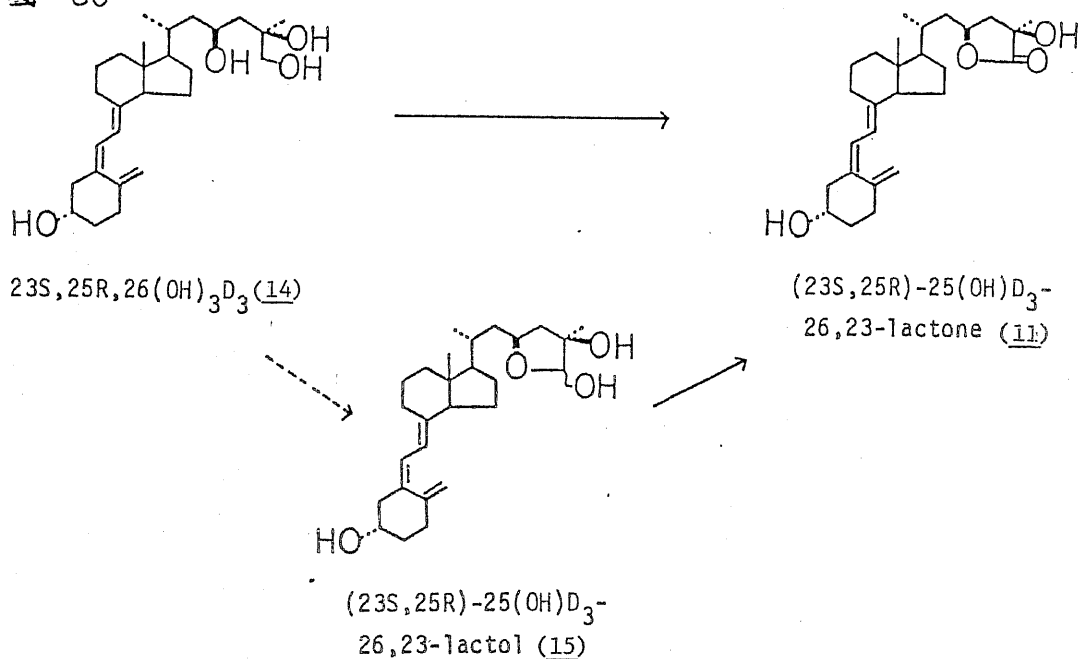
** 定量は行なわなかった。

23S,25R,26-(OH)₃D₃ (14) を基質として用いた場合、Group I では lactone (11) に高率で変換されるが、Group II, III では全く変換されなかった。この結果、triol (14) は D 充分状態において活性化酵素により lactone (11) に変換されることが明らかとなった。triol (14) から lactone (11) への代謝中間体と予想した lactol (15) は、いずれの Group から検出されなかった。

lactol (15) を基質として用いた場合、Group I および III で lactone (11) に変換され、Group II では変換されなかった。この結果 lactol (15) は D の投与状態とは無関係に活性化酵素により lactone (11) に変換されることが明らかとなった。

以上の実験結果から 23S,25R,26-(OH)₃D₃ (14) および lactol (15) が lactone (11) の生合成の前駆物質であることが明らかとなった。しかし triol (14) から lactone (11) への生合成中間体として、lactol (15) を捕獲することはできなかった (図-66)。

図-66



第2節 (23S, 25R)-25-OH-D₃-26, 23-lactol (15) の単離同定

前述の如く、著者は、23S, 25R, 26-(OH)₃ D₃ (14) および lactol (15) が効率よく lactone (11) に変換することを証明し、その結果 14 および 15 が lactone (11) の生合成中間体であることを明らかにした。しかし triol (14) の代謝物と考えられる lactol (15) を捕捉することはできなかった。

ところで前節の実験のうち Group I における lactone (11) の生成率は、triol (14) を基質とした場合 (31%) の方が lactol (15) を基質とした場合 (23%) より高く、また基質の回収率も triol (14) (8%) の方が lactol (15) (0%) より高かった。この事実は、triol (14) に比べて lactol (15) は代謝速度が速く、また生成した lactone (11) も更に次の代謝物に変換されることを示唆していると考えた。すなわち triol (14) は lactol (15) を経て lactone (11) に変換されるが、lactol (15) は半減期が短いため 90 分間のインキュベーションでは検出できないのであると考え、短時間のインキュベーションを行うことにした。

インキュベーション時間を15分に短縮し、前節と同様の方法で検討した。その結果 (表-10)、triol (14) を基質とした場合、期待通り lactol (15) が代謝物として 16% の収率で得られた。この表-10

substrate	metabolites and substrates isolated (yield %)		
	23S, 25R, 26-(OH) ₃ (OH)D ₃ (14)	lactol (15)	lactone (11)
14	32	16	29
15		11	43

ようにして推定中間体(15)の単離に初めて成功した。以上の結果、図-67に示す lactone 生合成経路が証明された。また、lactol (15) を基質とした場合、lactone (11) が 43% の高収率で得られ、更に lactol (15) も 11% 回収され、予想通り lactol (15) の半減期が triol (14) より短いことが示された。単離した lactol (15) は合成した lactol (15) と HPLC (図-68)、UV およびマススペクトルが完全に一致した。またこの lactol (15) はトリメチルシリル化により tris(trimethylsilyl) ether 誘導体(136)に変換し、合

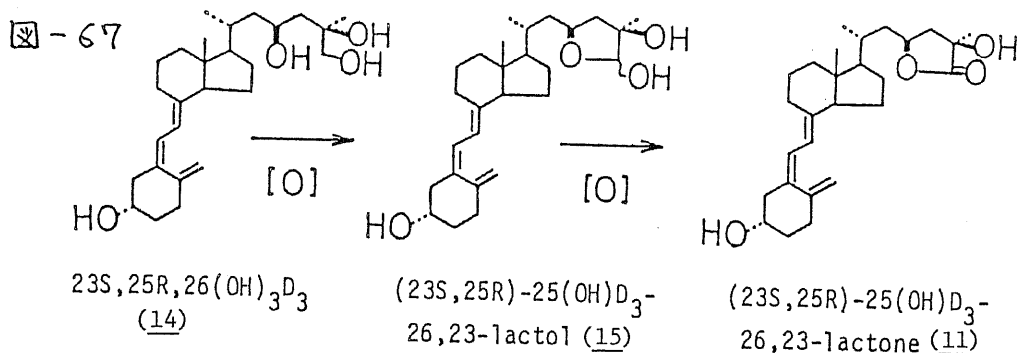
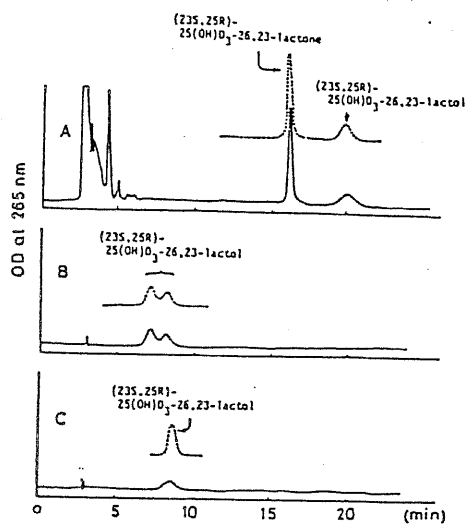


図-68



HPLC purification of 25(OH)D₃-26,23-lactol. The lactone and lactol fraction from Sephadex LH-20 was separated on Zorbax-SIL (0.46 × 25 cm; 7% 2-propanol in *n*-hexane, 1 ml/min) (A), and the lactol peak was then further purified by successive chromatography on Zorbax-SIL (0.46 × 25 cm; 12% 2-propanol in *n*-hexane, 1 ml/min), Finepak-C₁₈ (0.46 × 25 cm; 15% water in methanol, 1 ml/min) (B), and Finepak-SIL (0.46 × 25 cm; 20% 2-propanol in *n*-hexane, 1 ml/min) (C).

成した lactol (15) のそれ (36) と HPLC, UV および マススペクトルを比較した結果、いずれも完全に一致した。以上の事実および立体配置の明確な $23S, 25R, 26-(OH)_3 D_3$ (14) の代謝物であることから、天然の lactol は $(23S, 25R)$ 配置であると決定した。

本章の実験結果より lactone (11) の生合成に関して次の点が明らかとなった。i) lactone (11) が triol (14) および lactol (15) から非常に効率よく生合成される。ii) lactol (15) が triol (14) から効率よく生合成される。iii) triol \rightarrow lactol \rightarrow lactone の代謝において triol \rightarrow lactol より lactol \rightarrow lactone の代謝速度の方が速い。iv) lactol (15) から lactone (11) への酸化酵素はビタミン D の投与状態と無関係に活性である。

著者がこの代謝研究を進めている間に、 $23, 25, 26-(OH)_3 D_3$ が $25-OH-D_3$ ⁵⁹⁾ あるいは $23S, 25-(OH)_2 D_3$ ⁶⁰⁾ の代謝物として単離されたことおよび $23, 25, 26-(OH)_3 D_3$ が生物学的に lactone (11) に変換されることが報告された。

以上の著者らの研究結果および報告されている lactone (11) の生合成に関する研究結果より、 $25-OH-D_3$ から lactone (11) への推定した生合成中間体が総て単離されたことになり、それらが総て lactone (11) に効率よく変換されることが証明された。この結果、 $25-OH-D_3$ から lactone (11) への代謝は予想通り酸化が step-wise に進行することが明らかとなり、lactone 生合成経路は図-54 の如く確立された。

結 論

ビタミンDトリエン部分の酸化反応に関する研究として、

i) ビタミンDが singlet oxygen と容易に反応し、1,4-環化付加ビタミンD-endoperoxide (3および3') 並びに 6-hydroperoxide (4および4') を与えることを見い出した。endoperoxide (3および3') の化学反応性の検討の結果、トリエン部分が酸化的に修飾された種々のビタミンD誘導体を得た。これらトリエン酸化ビタミンD誘導体は HL-60 分化誘導における生理作用も検討し、特に endoperoxide 類の生理作用に関して興味ある結果を得た。

ii) ビタミンD₃-7,8-epoxide (6) 並びに 5,6-epoxide (7) を位置および立体選択的に得る条件を見い出し、その方法を応用して、新代謝物 19-nor-7,8-epoxy-25-OH-10-oxo-D₃ (8) の合成を検討した。

最近ビタミンDの活性型代謝物のレセプターが、活性酸素種の多いことが知られている種々の白血球細胞で見い出された。また、これらの細胞でビタミンDのトリエン部分が酸化された代謝物の生成が確認された。これらの点から、上述した著者の研究がこの分野の先駆的研究となったと考えている。

ビタミンDの23位の水酸化を経る代謝物の合成および代謝研究として

i) 23位の水酸化を経る代謝経路の主代謝物である 25-OH-D₃-26, 23-lactone (11) の4つの立体異性体を chiral synthon を用い

て立体選択的に合成し、天然 lactone (11) との直接比較により、23位が S 配置であり、25位が R 配置であることをはじめに明らかにし、合せて天然 lactone (11) の効率のよい立体選択的合成法を確立した。

- ii) lactone (11) の生合成経路を推定し、推定中間体 23S, 25R, 26-(OH)₃ D₃ (14) および 26, 23-lactol (15) を lactone (11) の立体選択的合成法を応用して効率よく合成した。
- iii) 推定代謝物 14 および 15 から lactone (11) への生合成に関してニワトリの腎臓を用いた *in vitro* で詳しく検討した結果、15 を新代謝物として単離することに成功すると同時に、25-OH-D₃ から lactone (11) への生合成経路を確立した。
- iv) 新代謝物として報告された 1 α , 25R, 26-(OH)₃-23-oxo-D₃ (16) を、chiral synthon を用いる化学合成と酵素による水酸化の手法を用いて立体選択的に合成した。合成品と天然品は一致せず、提出された天然品の構造式は誤りであることを明らかにした。

謝 辞

本研究を行なうにあたり、終始御指導、御鞭達を賜りました帝京大学薬学部・高山浩明教授に深く感謝致します。

研究を實際に進めるに際し、適切な御指導、御助言を賜りました帝京大学薬学部・山田幸子助教授に心より感謝致します。

本論文の作成に際し、御指導、御助言をして頂きました千葉大学薬学部・坂井進一郎教授に厚くお礼申しあげます。

共同研究並びに有益な御助言をして頂きました昭和大学歯学部・須田立雄教授に深謝致します。

有益な御助言、御討論をして頂きました帝京大学薬学部薬化学教室の諸賢に感謝致します。

各種スペクトルデータを測定して頂きました帝京大学薬学部中央機器室の皆様には感謝致します。

実験の部

本研究に使用した機器は以下に示す通りである。

- Mass: JEOL JMS-D300 GC-MS
- NMR: EM-360 60MHz NMR Spectrometer (Varian)
Varian XL100 NMR Spectrometer
- IR: HITACHI 215 Grating Infrared Spectrophotometer
JASCO A-302 Diffraction Grating Infrared Spectrophotometer
- UV: HITACHI Model 200-10 Spectrophotometer
JASCO UVIDEC-100 UV Spectrophotometer
- m.p.: Yanaco Micro Melting Point Apparatus
- HPLC: Waters M-6000A
JASCO UVIDEC-100
- Anal: Perkin-Elmer 240B
- $[\alpha]_D$: JASCO DIP-181
- CD : JASCO J-20A

第1章の実験

ビタミンDの光増感酸化反応

本文(P-11)表-1に示した条件にて反応を行った。ここではビタミンD₃の光増感反応を例にして記す。

ビタミンD₃を溶解させた溶液に増感剤を加え氷水冷却下酸素を前もって導入しておく。そこにパイレックスフィルターを通して200 Wハロゲンランプ(ウシオ, JCV 100-200 GS)を照射する。反応の進行状況はTLCにてチェックし原料がほぼ消失した時点で酸素の導入および光照射を止めN₂を5分間導入した。反応液の溶媒を留去し、残渣をAcOEtに溶解させ飽和食塩水にて洗浄する。AcOEt層はNa₂SO₄にて乾燥し溶媒を留去する。残渣はカラムクロマトグラフィー(SiO₂, AcOEt: benzene = 4:96)にて分離精製し(6S)-endoperoxide (3), (6R)-endoperoxide (2) および 6-hydroperoxide (4, 5)をこの順で得た。4および5はHPLC (Lichrosorb Si-60, iPrOH: hexane = 7:93)を用いることにより less polar 体(4), more polar 体(5)を分離した。収率は表1に示した。

2a: MS m/z 416 (M⁺), 398 (M⁺-H₂O), 285 (398-side chain); HR-MS Calcd for C₂₇H₄₄O₃ 416.3290, Found 416.3306; ¹H-NMR (CDCl₃) 0.56 (s, 3H, H-18), 4.07 (m, 1H, H-3), 4.36 (s, 2H, H-19), 4.88 and 5.17 (each d, each 1H, J=10 Hz, H-6 and 7); ¹³C-NMR (CDCl₃) δ. 65.9 (d, C-3), 72.2 (t, C-19), 76.9 (d, C-6), 115.6 (d, C-7), 125.7 (s, C-5 and 10), 148.1 (s, C-8); UV (95% EtOH) no absorption > 220 nm; CD (hexane) 207 nm (Δε -23.3)

3a: MS m/z 416 (M^+), 398, 285; HR-MS Calcd for $C_{27}H_{44}O_3$ 416.3290, Found 416.3270; 1H -NMR ($CDCl_3$) δ 0.57 (s, 3H, H-18), 3.93 (m, 1H, H-3), 4.17 and 4.60 (each d, each 1H, $J=16$ Hz, H-19), 4.76 and 5.23 (each d, each 1H, $J=9$ Hz, H-6 and 7); ^{13}C -NMR ($CDCl_3$) δ 67.2 (d, C-3), 72.2 (t, C-19), 76.8 (d, C-6), 114.5 (d, C-7), 125.7 and 126.8 (d \times 2, C-5 and 10), 149.2 (s, C-8); UV (95% EtOH) no absorption >220 nm; CD (hexane) 215 nm ($\Delta\epsilon$ +6.5)

4a: MS m/z 416 (M^+), 400 (M^+-O), 398 (M^+-H_2O), 382 ($M^+-H_2O_2$), 290, 278, 265, 247; HR-MS Calcd for $C_{27}H_{44}O_3$ 416.3290, Found 416.3280; 1H -NMR ($CDCl_3$) δ 0.52 (s, 3H, H-18), 4.42 (m, 1H, H-3), 4.96 and 5.13 (each s, each 1H, H-19), 5.00 and 5.54 (each d, each 1H, $J=9$ Hz, H-6 and 7), 6.02 (br s, 1H, H-4), 7.86 (1H, s, OH, D_2O 添加后消失); IR $D_{max}^{CHCl_3}$ 3350, 2950, 2870 cm^{-1} ; UV $\lambda_{max}^{95\% EtOH}$ 232 nm

5a: MS m/z 416 (M^+), 400, 398, 384, 382, 290, 278, 247; HR-MS Calcd for $C_{27}H_{44}O_3$ 416.3290, Found 416.3280; 1H -NMR ($CDCl_3$) δ 0.60 (s, 3H, H-18), 4.43 (m, 1H, H-3), 4.96 and 5.12 (each s, each 1H, H-19), 5.00 and 5.53 (each d, each 1H, $J=9$ Hz, H-6 and 7), 6.04 (br s, 1H, H-4), 8.08 (s, 1H, OH, D_2O 添加后消失); IR $D_{max}^{CHCl_3}$ 3350, 2950, 2870 cm^{-1} ; UV $\lambda_{max}^{95\% EtOH}$ 232.5 nm

2b: MS m/z 428 (M^+), 410 (M^+-H_2O), 285; HR-MS Calcd for $C_{28}H_{44}O_3$ 428.3290 Found 428.3289; 1H -NMR ($CDCl_3$) δ 0.55 (s, 3H, H-18), 4.07 (m, 1H, H-3), 4.36 (s, 2H, H-19), 4.85 and 5.12 (each d, each 1H, $J=9$ Hz, H-6 and 7), 5.12 (m, 2H, H-22 and 23); ^{13}C -NMR ($CDCl_3$) δ 66.1 (d, C-3), 72.3 (t, C-19), 77.0 (d, C-6), 115.6 (d, C-7), 125.9 (s, C-5 and 10), 132.2 (d, C-22), 135.5 (d, C-23), 148.4 (s, C-8); UV

λ (95% EtOH) no absorption > 220 nm; CD (hexane) 210 nm ($\Delta\epsilon -17.7$)

3b: MS m/z 428 (M^+), 410, 285; HR-MS Calcd for $C_{28}H_{44}O_3$ 428.3290 Found 428.3295; 1H -NMR ($CDCl_3$) δ 0.54 (s, 3H, H-18), 3.78 (m, 1H, H-3), 4.08 and 4.48 (each d, each 1H, $J=16$ Hz, H-19), 4.73 and 5.18 (each d, each 1H, $J=10$ Hz, H-6 and 7), 5.12 (m, 2H, H-22 and 23); ^{13}C -NMR ($CDCl_3$) δ 67.5 (d, C-3), 72.2 (t, C-19), 77.0 (d, C-6), 114.6 (d, C-7), 125.9 (s, C-10), 126.8 (s, C-5), 132.1 (d, C-22), 135.6 (d, C-23), 149.3 (s, C-8); UV λ (95% EtOH) no absorption > 220 nm; CD (hexane) 211 nm ($\Delta\epsilon +11.3$)

4b: MS m/z 428 (M^+), 412 (M^+-O), 410 (M^+-H_2O), 394 ($M^+-H_2O_2$), 302, 290, 277, 259; HR-MS Calcd for $C_{28}H_{44}O_3$ 428.3290 Found 428.3287; 1H -NMR ($CDCl_3$) δ 0.52 (s, 3H, H-18), 4.43 (m, 1H, H-3), 4.97 (br s, 1H, H-19), 5.0 ~ 5.4 (m, 4H, H-7, 19, 22 and 23), 5.54 (d, 1H, $J=8$ Hz, H-6), 6.04 (br s, 1H, H-4), 7.96 (br s, 1H, OH, D_2O 添加で消失); IR $\nu_{max}^{CHCl_3}$ 3350, 2950, 2865 cm^{-1} ; UV $\lambda_{max}^{95\% EtOH}$ 235 nm

5b: MS m/z 428 (M^+), 412, 410, 394, 302, 290, 277, 259; HR-MS Calcd for $C_{28}H_{44}O_3$ 428.3290, Found 428.3298; 1H -NMR ($CDCl_3$) δ 0.61 (s, 3H, H-18), 4.42 (m, 1H, H-3), 4.95 and 5.10 (each br s, each 1H, H-19), 4.9 ~ 5.3 (m, 3H, H-7, 22 and 23), 5.50 (d, 1H, $J=8$ Hz, H-6), 6.04 (br s, 1H, H-4), 8.28 (br s, 1H, OH, D_2O 添加で消失); IR $\nu_{max}^{CHCl_3}$ 3350, 2950, 2865 cm^{-1} ; UV $\lambda_{max}^{95\% EtOH}$ 234 nm

2c: MS m/z 520 (M^+), 502 (M^+-H_2O), 380; 1H -NMR ($CDCl_3$) δ 0.56 (s, 3H, H-18), 4.40 and 4.53 (each d, each 1H, $J=15$ Hz, H-19), 4.93 and 5.25 (each d, each 1H, $J=10$ Hz, H-6 and 7), 5.42 (m, 1H, H-3), 7.35 - 7.65 (m, 3H, H-aromatic), 8.07 (d, d, 2H, $J=8$ and 2 Hz, H-aromatic);

IR $\nu_{\max}^{\text{CHCl}_3}$ 2955, 2870, 1710 cm^{-1} ; UV $\lambda_{\max}^{95\% \text{EtOH}}$ 228.5 ($\epsilon = 16200$), 274 (1100), 281 (980) nm; CD (hexane) 209 nm ($\Delta\epsilon -20.5$), 228 (+6.5)

3c: MS m/z 520 (M^+), 502, 380; $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) δ 0.58 (s, 3H, H-18), 4.23 and 4.65 (each d, each 1H, $J=15\text{Hz}$, H-19), 4.77 and 5.27 (each d, each 1H, $J=9\text{Hz}$, H-6 and 7), 5.30 (m, 1H, H-3), 7.25 ~ 7.65 (m, 3H, H-aromatic), 8.05 (d, d, 2H, H-aromatic); IR $\nu_{\max}^{\text{CHCl}_3}$ 2950, 2865, 1710 cm^{-1} ; UV $\lambda_{\max}^{95\% \text{EtOH}}$ 227 ($\epsilon = 15100$), 274 (1200), 281 (1000) nm; CD (hexane) 210 nm ($\Delta\epsilon +6.3$), 221 (+8.2)

2d: mp. 132-133° (from hexane); MS m/z 532 (M^+), 514 ($M^+ - \text{H}_2\text{O}$), 392 (514 - PhCOOH); $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) δ 0.59 (s, 3H, H-18), 0.82, 0.84, 0.92 and 1.02 (each d, each 3H, $J=7\text{Hz}$, H-21, 26, 27 and 28), 4.30 and 4.56 (each d, each 1H, $J=15\text{Hz}$, H-19), 4.88 and 5.32 (each d, each 1H, $J=10\text{Hz}$, H-6 and 7), 5.18 (m, 2H, H-22 and 23), 5.40 (m, 1H, H-3), 7.30-7.60 (m, 3H, H-aromatic), 8.01 (d, d, 2H, $J=8$ and 2Hz , H-aromatic); $^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3) δ 69.0 (d, C-3), 72.1 (t, C-19), 76.7 (d, C-6), 114.9 (d, C-7), 125.4 and 125.9 (each s, C-5 and 10), 128.2, 129.4 and 131.9 (each d, C-aromatic), 130.4 (s, C-aromatic), 132.8 (d, C-22), 135.3 (d, C-23), 148.9 (s, C-8), 165.9 (s, C=O); IR ν_{\max}^{KBr} 2960, 1710 cm^{-1} ; UV $\lambda_{\max}^{95\% \text{EtOH}}$ 227 ($\epsilon = 15500$), 273 (1000), 281 (950) nm; CD (hexane) 211 nm ($\Delta\epsilon -11.5$), 227 (+5.7); Anal. Calcd for $\text{C}_{35}\text{H}_{48}\text{O}_4$ C 78.90, H 9.08, Found C 78.62, H 9.01; $[\alpha]_D^{30} +77.5^\circ$ (CHCl_3 $c = 0.69$)

3d: mp. 126-127° (from hexane); MS m/z 532 (M^+), 514, 392, 267; $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) δ 0.59 (s, 3H, H-18), 0.83, 0.84, 0.92 and 1.03

(each d, each 3H, $J = 7 \text{ Hz}$, H-21, 26, 27 and 28), 4.21 and 4.63 (each d, each 1H, $J = 16 \text{ Hz}$, H-19), 4.78 and 5.30 (each d, each 1H, $J = 10 \text{ Hz}$, H-6 and 7), 5.18 (m, 2H, H-22 and 23), 5.23 (m, 1H, H-3), 7.30~7.60 (m, 3H, H-aromatic), 8.01 (dd, 2H, $J = 8$ and 2 Hz , H-aromatic); $^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3) δ 70.6 (d, C-3), 72.0 (t, C-19), 76.8 (d, C-6), 114.3 (d, C-7), 125.9 and 126.3 (each s, C-5 and 10), 128.2, 129.2 and 131.9 (each d, C-aromatic), 130.4 (s, C-aromatic), 132.8 (d, C-22), 135.4 (d, C-23), 149.6 (s, C-8), 165.9 (s, C=O); IR $\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}}$ 2960, 1720 cm^{-1} ; UV $\lambda_{\text{max}}^{95\% \text{ EtOH}}$ 229 ($\epsilon = 15100$), 274 (1200), 281 (1100) nm; CD (hexane) 206 nm ($\Delta\epsilon +7.7$), 219 (+5.8); Anal Calcd for $\text{C}_{35}\text{H}_{48}\text{O}_4$ C 78.90, H 9.08, Found C 79.06, H 9.13; $[\alpha]_{\text{D}}^{30} -6.1^\circ$ (CHCl_3 $c = 0.54$)

endoperoxide (2b) から 3-benzoate (2d) への変換

2b (110 mg, 0.26 mmol) の pyridine (0.2 ml) 溶液を氷水冷却しておき、そこに benzoyl chloride (36 μl , 0.31 mmol) を加え同温にて放置する。30分後反応液に氷片を加え AcOEt にて抽出する。AcOEt 層は 5% NaHCO_3 水、続いて水で洗浄し、 Na_2SO_4 乾燥後溶媒を留去する。残渣はカラムクロマトグラフィー (SiO_2 . 6g, AcOEt:hexane = 2:98) にて精製し 2d を 115 mg (84%) 得た。

2e, 2g, 2h についても同様の反応を行い、2d, 2e, 2c を得た。

hydroperoxide (4a) から alcohol (19a) への変換

4a (10 mg, 2.4×10^{-2} mmol) の benzene (600 μ l) 溶液に Ph_3P (6.5 mg, 2.5×10^{-2} mmol) を加え室温にて攪拌する。20分後溶媒を留去し残渣はカラムクロマトグラフィー (SiO_2 3 g, AcOEt : hexane = 50:50) にて精製し 19a を 8.3 mg (86%) 得た。

19a: MS m/z 400 (M^+), 382 ($\text{M}^+ - \text{H}_2\text{O}$), 364 ($382 - \text{H}_2\text{O}$), 265, 247; HR-MS Calcd for $\text{C}_{27}\text{H}_{44}\text{O}_2$ 400.3341, Found 400.3339; $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) δ 0.50 (s, 3H, H-18), 4.40 (m, 1H, H-3), 4.94 and 5.06 (each s, each 1H, H-19), 5.10 and 5.30 (each d, each 1H, $J=8$ Hz, H-6 and 7), 6.12 (br s, H-4); IR $D_{\text{max}}^{\text{CHCl}_3}$ 3610, 3400, 2950 cm^{-1} ; UV $\lambda_{\text{max}}^{95\% \text{EtOH}}$ 234.5 nm

hydroperoxide (5a) から alcohol (20a) への変換

5a (8 mg, 1.9×10^{-2} mmol) と Ph_3P (5.2 mg, 2×10^{-2} mmol) を用いて 4a の場合と同様に反応させ 20a を 6 mg (78%) 得た。

20a: MS m/z 400 (M^+), 382, 364, 265, 247; HR-MS Calcd for $\text{C}_{27}\text{H}_{44}\text{O}_2$ 400.3341 Found 400.3324; $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) δ 0.60 (s, 3H, H-18), 4.38 (m, 1H, H-3), 4.90 and 5.00 (each s, each 1H, H-19), 5.04 (d, 1H, $J=8$ Hz, H-7), 5.24 (d, 1H, $J=8$ Hz, H-6), 6.05 (br s, 1H, H-4); IR $D_{\text{max}}^{\text{CHCl}_3}$ 3600, 3410, 2950 cm^{-1} ; UV $\lambda_{\text{max}}^{95\% \text{EtOH}}$ 234.5 nm

endoperoxide (2a および 3a) と 5% KOH-MeOH との反応

2a (55mg, 1.3×10^{-1} mmol) を 5% KOH-MeOH (3ml) に溶解させ室温にて放置する。30分後 CH_2Cl_2 にて希釈し飽和食塩水で洗浄し Na_2SO_4 乾燥して溶媒を留去する。残渣はカラムクロマトグラフィ- (SiO_2 5g, AcOEt:hexane = 20:80) にて分離精製し furan 体 (25) を 9.5mg (18%) 得た。更に AcOEt:hexane = 80:20 で溶出させ hemiacetal 体 (23) を 38mg (69%) 得た。

25: MS m/z 398 (M^+), 285 (M^+ -side chain), 191, 190, 151; $^1\text{H-NMR}$ (acetone- d_6) δ 0.62 (s, 3H, H-18), 3.80 (d, 1H, $J=4.5\text{ Hz}$, OH), 3.99 (m, 1H, H-3), 5.64 (s, 1H, H-7), 7.15 (s, 1H, H-9); IR $\nu_{\text{max}}^{\text{CHCl}_3}$ 3610, 2940 cm^{-1} ; UV $\lambda_{\text{max}}^{95\% \text{ EtOH}}$ 273.5 ($\epsilon=15800$), 283 ($\epsilon=18200$), 295.5 (13200) nm

23: MS m/z 416 (M^+), 398 ($\text{M}^+ - \text{H}_2\text{O}$), 285 (398-side chain), 191, 190, 151; $^1\text{H-NMR}$ (acetone- d_6) δ 0.61 (s, 3H, H-18), 3.56-5.90 (complex, 6H); IR $\nu_{\text{max}}^{\text{CHCl}_3}$ 3610, 3420, 2940 cm^{-1} ; UV $\lambda_{\text{max}}^{95\% \text{ EtOH}}$ 211.5 ($\epsilon=9500$) nm

3a (100mg, 2.4×10^{-1} mmol) も同様に反応させ 25 を 18mg (19%), 24 を 71mg (71%) 得た。

24: $^1\text{H-NMR}$ (acetone- d_6) δ 0.60 (s, 3H, H-18), 3.50-5.93 (complex)

endoperoxide (2a および 3a) と Et_3N との反応

2a (50mg, 1.2×10^{-1} mmol) および Et_3N (50 μl) の benzene (2ml) 溶液を 80°C にて 4.5 時間加熱する。冷後溶媒を留去し 5% KOH-MeOH との反応の場合と同様に分離精製し 25 を 25mg (52%), 23 を 13mg (26%) 得た。

3a (50mg) も同様に反応させ 25 を 23mg (48%), 24 を 10mg (20%) 得た。

endoperoxide (2a および 3a) と C_5F との反応

2a (45 mg, 1.1×10^{-1} mmol) の DMF (2 ml) 溶液に C_5F (16 mg, 1.1×10^{-1} mmol) を加え室温にて 2 時間攪拌する。AcOEt で希釈し水洗、 Na_2SO_4 乾燥後溶媒を留去する。残渣は 5% KOH-MeOH との反応の場合と同様に分離精製し 25 を 16 mg (37%), 23 を 12 mg (27%) 得た。

3a (30 mg) も同様に反応させ 25 を 11 mg (38%), 23 を 7 mg (23%) 得た。

acetal (26), (27)

23 (40 mg, 9.6×10^{-2} mmol) の EtOH (3 ml) 溶液を $3^\circ C$ にて 3 日間その後室温にて 4 日間放置する。溶媒を留去し残渣を HPLC (μ -Porasil, 0.79×30 cm, $iPrOH$: hexane = 5:95) にて分離精製し less polar 体 (26) を 22 mg (52%), more polar 体 (27) を 15 mg (35%) 得た。

26: MS m/z 444 (M^+), 398 ($M^+ - EtOH$), 285, 151; 1H -NMR (acetone- d_6) δ 0.60 (s, 3H, H-18), 1.11 (t, 3H, $J=7$ Hz, CH_3CH_2), 3.46 (m, 2H, CH_2CH_2), 3.68 (d, 1H, $J=4.5$ Hz, OH), 3.88 (m, 1H, H-3), 4.60 and 5.36 (each d, each 1H, $J=9$ Hz, H-6 and 7), 5.48 (s, 1H, H-19); IR $\nu_{max}^{CHCl_3}$ 3400, 2955 cm^{-1}

27: MS m/z 444 (M^+), 398, 285, 151; 1H -NMR (acetone- d_6) δ 0.60 (s, 3H, H-18), 1.12 (t, 3H, $J=7$ Hz, CH_3CH_2), 3.51 (m, 2H, CH_2CH_2), 3.70 (d, 1H, $J=4.5$ Hz, OH), 3.90 (m, 1H, H-3), 4.76 and 5.17 (each d, each 1H, $J=9$ Hz, H-6 and 7), 5.39 (s, 1H, H-19); IR $\nu_{max}^{CHCl_3}$ 3400, 2955 cm^{-1}

acetal (28), (29)

24 (40 mg) を 23 と同様に反応させ less polar 体 (28) を 15 mg (35%) および more polar 体 (29) を 22 mg (52%) 得た。

28: MS m/z 444 (M^+), 398, 285, 151; 1H -NMR ($CDCl_3$) δ 0.60 (s, 3H, H-18),

1.25 (t, $J=7\text{ Hz}$, CH_3CH_2), 3.66 (m, 2H, CH_3CH_2), 4.03 (m, 1H, H-3), 4.92 and 5.33 (each d, each 1H, $J=8\text{ Hz}$, H-6 and 7), 5.60 (s, 1H, H-19); IR $\mathcal{D}_{\text{max}}^{\text{CHCl}_3}$ 3440, 2950 cm^{-1}

29: MS m/z 444 (M^+), 398, 285, 151; $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) δ 0.60 (s, 3H, H-18), 1.24 (t, $J=7\text{ Hz}$, CH_3CH_2), 3.68 (m, 2H, CH_3CH_2), 4.10 (m, 1H, H-3), 4.74 and 5.59 (each d, each 1H, $J=8\text{ Hz}$, H-6 and 7), 5.66 (s, 1H, H-19); IR $\mathcal{D}_{\text{max}}^{\text{CHCl}_3}$ 3450, 2950 cm^{-1}

hemiacetal (23), (24) から furan (25) への変換

23 (34 mg, 8.2×10^{-2} mmol) の CDCl_3 (500 μl) 溶液を室温にて放置すると溶液は暗緑色を呈する。2時間後溶媒を留去しカラムクロマトグラフィー (SiO_2 5g, AcOEt: hexane = 1:1) にて精製し 25 を 31 mg (95%) 得た。

24 も同様に反応させ 25 を定量的に得た。

acetal (26), (27), (28), (29) から furan (25) への変換

26 (2 mg) の xylene (1 ml) 溶液を1時間還流する。溶媒を留去し残渣は TLC (SiO_2 , AcOEt: benzene = 15:85) にて精製し 25 を 1.8 mg (94%) 得た。

27, 28, 29 も同様に反応させ 25 を定量的に得た。

hemiketal (23) と 5% KOH-MeOH との反応

23 (30 mg, 7.2×10^{-2} mmol) の 5% KOH-MeOH (2 ml) 溶液を室温にて放置する。30分後 CH_2Cl_2 で希釈し溶媒を留去する。残渣はカラムクロマトグラフィー (SiO_2 5g, AcOEt: hexane = 80:20) にて精製し 23 を 27 mg (90%) 回収した。

endoperoxide (2a), (3a) と Ac_2O -pyridine との反応

2a (95 mg, 2.3×10^{-1} mmol) の pyridine (2 ml) 溶液に無水酢酸 (2 ml) を加え、 80°C にて3時間加熱する。冷後無水酢酸および pyridine を留去し、残渣を AcOEt に溶かして飽和食塩水で洗浄、 Na_2SO_4 乾燥、溶媒を留去する。残渣はカラムクロマトグラフィー (SiO_2 5g, AcOEt: hexane = 8:92) にて分離精製し 34 を 63 mg (63%) 得。更に AcOEt: hexane = 15:85 で溶出させ 33 を 20 mg (18%) 得た。

33: MS m/z 500 (M^+), 440 ($M^+ - CH_3COOH$), 380 ($440 - CH_3COOH$), 267 (380-side chain); 1H -NMR ($CDCl_3$) δ 0.59 (s, 3H, H-18), 2.08 (s, 6H, CH_3 CO), 4.71 (s, 2H, H-19), 5.08 (m, 1H, H-3), 5.92 (s, 1H, H-7); IR $\nu_{max}^{CHCl_3}$ 2960, 1725, 1590 cm^{-1} ; UV $\lambda_{max}^{95\% EtOH}$ 262 ($\epsilon = 12000$) nm

34: MS m/z 440 (M^+), 380 ($M^+ - CH_3COOH$); 1H -NMR (acetone- d_6) δ 0.62 (s, 3H, H-18), 1.97 (s, 3H, CH_3 CO), 5.05 (quint. 1H, $J = 6$ Hz, H-3), 5.58 (s, 1H, H-7), 7.13 (s, 1H, H-19); IR $\nu_{max}^{CHCl_3}$ 2950, 1720 cm^{-1} ; UV $\lambda_{max}^{95\% EtOH}$ 273.5 ($\epsilon = 16600$), 283 (19600), 295.5 (14800) nm

3a (112 mg) も同様に反応させ 34 を 83 mg (70%), 33 を 24 mg (18%) 得た。

endoperoxide (2a), (3a) と $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$ との反応

氷水冷却した 2a (50 mg, 1.2×10^{-1} mmol) の benzene (2 ml) 溶液に $\text{BF}_3 \cdot \text{etherate}$ (16 μl , 1.3×10^{-1} mmol) を加える。反応液は褐色を呈する。25分後氷片を加え CHCl_3 にて抽出し、水洗、 Na_2SO_4 乾燥、溶媒を留去する。残渣はカラムクロマトグラフィー (SiO_2 4 g, benzene: hexane = 25: 75) にて精製し 35 を 28 mg (84%) 得た。

35: MS m/z 278 (M^+), 260 ($\text{M}^+ - \text{H}_2\text{O}$), 165 ($\text{M}^+ - \text{side chain}$), 149; $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) δ 0.61 (s, 3H, H-18), 9.99 (s, 1H, CHO); IR $\nu_{\text{max}}^{\text{CHCl}_3}$ 2950, 2860, 1710 cm^{-1}

3a (320 mg, 7.7×10^{-1} mmol) も同様に反応させ 35 を 145 mg (68%) 得た。

aldehyde (35) のセミカルバゾン (35')

35 (140 mg, 5.0×10^{-1} mmol) の MeOH (4 ml) 溶液に塩酸セミカルバジド (84 mg, 7.5×10^{-1} mmol) および酢酸ナトリウム (83 mg, 1.0 mmol) の水 (1 ml) 溶液を加え 65°C にて30分間加熱する。冷後析出した結晶を濾取し semicarbazone (35') を 161 mg 得た。MeOH より 3 回再結晶を行った。

35': mp $160-161^\circ$ MS m/z 335 (M^+), 276 ($\text{M}^+ - \text{H}_2\text{NCONH}$); UV $\lambda_{\text{max}}^{95\% \text{EtOH}}$ 232 nm; Anal. Calcd for $\text{C}_{20}\text{H}_{37}\text{N}_3\text{O}$ C 71.59, H 11.12, N 12.53
Found C 71.83, H 11.13, N 12.27

endoperoxide (2a), (3a) と ZnCl_2 との反応

2a (24 mg, 5.8×10^{-2} mmol) の xylene (0.5 ml) 溶液に ZnCl_2 (2.5 mg, 1.8×10^{-2} mmol) を加え 100°C にて5分間加熱する。冷後直接カラムクロマトグラフィー (SiO_2 5 g, AcOEt: hexane = 35: 65) に付し

35 を 13 mg (81%) 得た。

3a (100 mg, 2.4×10^{-1} mmol) も同様に反応させ 35 を 57 mg (85%) 得た。

aldehyde (35) から aldehyde (36) への異性化

35 (10 mg, 3.6×10^{-2} mmol) の EtOH (0.5 ml) 溶液を氷水冷却した EtONa の EtOH 溶液 (EtOH 1 ml + Na 20 mg) に加え 0°C にて攪拌する。10 分後氷片を加え CHCl₃ にて抽出する。水洗、Na₂SO₄ 乾燥後溶媒を留去する。残渣は TLC (SiO₂, AcOEt:hexane = 10:90) にて精製し 36 を 9 mg (90%) 得た。

36: MS m/z 278 (M⁺), 249 (M⁺-CHO); ¹H-NMR (CDCl₃) δ 0.70 (s, 3H, H-18), 9.53 (d, 1H, J=3 Hz, CHO); IR $\nu_{\max}^{\text{CHCl}_3}$ 2950, 1720 cm⁻¹

endoperoxide (2a), (3a) と 3% HCl-MeOH との反応

2a (58 mg, 1.4×10^{-1} mmol) の MeOH (4 ml) 溶液を氷水冷却しておき濃塩酸 (0.4 ml) を加え同温にて攪拌する。反応液は徐々に茶褐色を呈する。2 時間後氷片を加え CHCl₃ 抽出を行う。抽出液は水洗、Na₂SO₄ 乾燥し溶媒を留去する。残渣はカラムクロマトグラフィー (SiO₂, 5g, AcOEt:hexane = 10:90) にて精製し 38 を 17 mg (38%) 得た。

38: MS m/z 324 (M⁺), 323, 293 (M⁺-OCH₃), 292 (M⁺-CH₃OH), 278, 261; ¹H-NMR (CDCl₃) δ 0.67 (s, 3H, H-18), 3.38 and 3.40 (each s, each 3H, CH₃O x 2), 4.06 (d, 1H, J=4 Hz, H-7); IR $\nu_{\max}^{\text{CHCl}_3}$ 2940 cm⁻¹

3a (74 mg) も同様に反応させ 38 を 20 mg (35%) 得た。

dimethyl acetal (38) より aldehyde (36) への変換

38 (17 mg, 5.2×10^{-2} mmol) の acetone (2 ml) 溶液を氷水冷却しておき 18% 塩酸水 (0.4 ml) を加え同温にて攪拌する。45分後水で希釈し acetone を留去する。残留物から CHCl_3 抽出を行い水洗、 Na_2SO_4 乾燥、溶媒留去し 36 を 18 mg (quant) 得た。

endoperoxide (2a), (3a) と CoTPP との反応

-20°C に冷却した CoTPP (3 mg, 4.5×10^{-3} mmol) の CH_2Cl_2 (1 ml) 溶液に 2a (20 mg, 4.8×10^{-2} mmol) の CH_2Cl_2 (1 ml) 溶液を加え -20 ~ -10°C にて攪拌する。5時間後溶媒を留去し残渣をカラムクロマトグラフィー (SiO_2 5 g, AcOEt: hexane = 80:20) にて精製し 15 mg (75%) 得た。

endoperoxide (2a), (3a) と $\text{Pd}(\text{Ph}_3\text{P})_4$ との反応

2a (35 mg, 8.4×10^{-2} mmol) および $\text{Pd}(\text{Ph}_3\text{P})_4$ (10 mg, 8.7×10^{-3} mmol) の benzene (1 ml) 溶液を15分間還流する。暗赤色の反応液を直接カラムクロマトグラフィー (SiO_2 7 g, AcOEt: hexane = 20:80) に付し 25 を 16 mg (47%) 得。更に AcOEt: hexane = 70:30 にて溶出させ 23 を 5.5 mg (16%) 得た。

3a (50 mg, 1.2×10^{-1} mmol) も同様に反応させ 25 を 25 mg (52%), 23 を 8 mg (16%) 得た。

endoperoxide (2a), (3a) と LiAlH_4 との反応

氷水冷却した LiAlH_4 (22 mg, 5.8×10^{-1} mmol) の ether (2 ml) 懸濁液に 2a (118 mg, 2.8×10^{-1} mmol) の ether (5 ml) 溶液を加え

室温に戻し攪拌する。1時間後湿った Na_2SO_4 を加え反応をクエンチし吸引濾過する。濾過物を $\text{AcOEt}-\text{MeOH}$ (4:1) で充分洗う。濾液と洗液を合し溶媒を留去する。残渣はカラムクロマトグラフィ- (Sephadex LH 20 10g hexane: $\text{CHCl}_3 = 35:65$) にて精製し 21 を 83 mg (70%) 得た。

21: MS m/z 418 (M^+), 400 ($\text{M}^+ - \text{H}_2\text{O}$), 382 ($400 - \text{H}_2\text{O}$), 287 (400 - side chain), 269, 152, 134; $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) δ 0.50 (s, 3H, H-18), 3.88 (m, 1H, H-3), 4.05 and 4.25 (each d, each 1H, $J=12$ Hz, H-19), 5.14 and 5.34 (each d, each 1H, $J=8$ Hz, H-6 and 7); IR $\nu_{\text{max}}^{\text{CHCl}_3}$ 3610, 3410, 2960 cm^{-1}

3a (45 mg, 1.1×10^{-1} mmol) も同様に還元し 22 を 23 mg (51%) 得た。

22: MS m/z 418 (M^+), 400, 287, 269, 153, 152, 135, 134; $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) δ 0.57 (s, 3H, H-18), 3.77 and 3.47 (each d, each 1H, $J=12$ Hz, H-19), 4.10 (m, 1H, H-3), 5.10 and 5.52 (each d, each 1H, $J=8$ Hz, H-6 and 7); IR $\nu_{\text{max}}^{\text{CHCl}_3}$ 3620, 3410, 2955 cm^{-1}

7,8-epoxide (5)

-70°Cに冷却したビタミンD₃ (1.0g, 2.6 mmol) のdry CH₂Cl₂ (30 ml) 溶液に *m*-クロル過安息香酸 (80%含有, 562mg, 2.6 mmol) を加え、攪拌しつつ反応温度を徐々に上昇させる。反応温度が0°Cに上昇した2.5時間後CH₂Cl₂ で希釈し、5% NaHCO₃ 水、水で洗浄し、Na₂SO₄ 乾燥後溶媒を留去する。残渣はカラムクロマトグラフィ - (SiO₂ 20g AcOEt: Hexane = 30:70) にて精製し epoxide (5) を 844mg (81%) 得た。

5: MS *m/z* 400 (M⁺), 382 (M⁺-H₂O), 367 (382-CH₃), 364 (382-H₂O), 287 (M⁺-side chain), 269 (287-H₂O), 251 (269-H₂O), 247; HR-MS Calcd for C₂₇H₄₄O₂ 400.3341 Found 400.3358; ¹H-NMR (CDCl₃) δ 0.67 (s, 3H, H-18), 0.85 (d, 6H, J=6, H-26 and 27), 3.88 (d, 1H, J=9, H-7), 3.93 (m, 1H, H-3), 4.93 and 5.00 (each br s, each 1H, H-19), 5.20 (d, 1H, J=9, H-6); ¹³C-NMR (CDCl₃) δ 54.1 (d, C-7), 65.6 (s, C-8), 69.1 (d, C-3), 112.2 (t, C-19), 121.4 (d, C-6), 145.0 and 145.5 (each s, C-5 and 10); IR $\nu_{\max}^{\text{CHCl}_3}$ 3610, 3440, 2950, 2865 cm⁻¹; UV $\lambda_{\max}^{\text{EtOH}}$ 227.5 (ε = 7330) nm

p-bromobenzoate (4)

epoxide (5) (740mg, 1.85 mmol) のdry pyridine (3 ml) 溶液を-20°Cに冷却しておき *p*-ブロムベンゾイルクロライド (609mg, 2.78 mmol) を加え-20°Cにて5分攪拌後0°Cにて1時間攪拌する。反応液はAcOEtで希釈し飽和食塩水で洗浄しNa₂SO₄ 乾燥。溶媒を留去する。残渣はカラムクロマトグラフィ - (SiO₂ 20g AcOEt: Hexane = 10:90) にて精製し 4 を 668mg (62%) 得た。

4: mp. 121-122° (from MeOH-CH₂Cl₂); MS *m/z* 584 (M⁺+2), 582 (M⁺), 566 (584-H₂O), 564 (M⁺-H₂O), 382 (M⁺-*p*-ブロム安息香酸), 364 (382-H₂O),

349 (364-CH₃), 269 (382-side chain), 251, 247; HR-MS Calcd for C₃₄H₄₇O₃Br 582.2706 Found 582.2695; ¹H-NMR (CDCl₃) δ 0.72 (s, 3H, H-18), 0.87 (d, 6H, J=6 Hz, H-26 and 27), 3.93 (d, 1H, J=9.5 Hz, H-7), 5.02 and 5.10 (each br s, each 1H, H-19), 5.26 (d, 1H, J=9.5 Hz, H-6), 7.57 and 7.88 (each d, each 2H, J=8.5 Hz, H-aromatic); IR ν_{\max}^{Br} 2955, 2930, 2860, 1720 cm⁻¹; UV $\lambda_{\max}^{\text{EtOH:hexane=1:1}}$ 243 (ε = 43200) nm

5,6-epoxide (7)

ヒタミン D₃ (100 mg, 2.6 × 10⁻¹ mmol) および VO(acac)₃ (3 mg, 1.1 × 10⁻² mmol) の dry benzene (2 ml) 溶液を 5°C に冷却しておき無水 t-BuOOH (4.98 mM benzene 溶液, 104 μl, 5.2 × 10⁻¹ mmol) をゆっくり加える。この間に反応液は緑色から暗赤色になる。反応液は室温に戻し 3 時間攪拌する。飽和 Na₂SO₃ 水を加え benzene にて抽出し飽和食塩水で洗浄。Na₂SO₄ 乾燥。溶媒を留去する。残渣はカラムクロマトグラフ, - (SiO₂ 3g AcOEt:hexane = 30:70) にて精製し 7 を 94 mg (90%) 得た。

7: MS m/z 400 (M⁺), 385 (M⁺-CH₃), 382 (M⁺-H₂O), 357 [M⁺-(CH₃)₂CH] 315 [M⁺-(CH₃)₂CHCH₂CH₂CH₂], 287 (M⁺-side chain); HR-MS Calcd for C₂₇H₄₄O₂ 400.3341 Found. 400.3346; ¹H-NMR (CDCl₃) δ 0.47 (s, 3H, H-18), 0.85 (d, 6H, J=6 Hz, H-26 and 27), 3.62 (d, 1H, J=9 Hz, H-6), 3.90 (m, 1H, H-3), 4.65 (d, 1H, J=9 Hz, H-7), 4.91 (br s, 2H, H-19); ¹³C-NMR (CDCl₃) δ 61.4 (d, C-6), 64.3 (s, C-5), 69.1 (d, C-3), 108.9 (t, C-19), 114.5 (d, C-7), 142.9 (s, C-8), 148.0 (s, C-10); IR $\nu_{\max}^{\text{CHCl}_3}$ 3610, 3420, 2950, 2870 cm⁻¹; UV $\lambda_{\max}^{95\% \text{EtOH}}$ 214 (ε = 17200) nm

Mo(CO)₆ を触媒とする t-BuOOH によるエポキシ化

ビタミン D₃ (100 mg, 2.6×10^{-4} mmol) および Mo(CO)₆ (3 mg, 1.1×10^{-2} mmol) の dry benzene (2 ml) 溶液に無水 tBuOOH (4.98 mM benzene 溶液, 104 μ l, 5.2×10^{-4} mmol) を加える。1.5 時間還流後室温に戻し反応液を飽和 Na₂SO₃ 水に加える。benzene で抽出を行い飽和食塩水で洗浄し、Na₂SO₄ 乾燥。溶媒を留去する。残渣はカラムクロマトグラフィー (SiO₂ 7g, AcOEt: hexane = 20:80) にて分離精製し 43 を 25 mg (24%), 47 を 47 mg (45%) 46 を 25 mg (24%) の順に得た。

43: MS m/z 400 (M⁺), 385 (M⁺-CH₃), 382 (M⁺-H₂O), 364 (382-H₂O), 357, 343, 287, 269; HR-MS Calcd for C₂₇H₄₄O₂ 400.3341 Found 400.3348; ¹H-NMR (CDCl₃) δ 0.71 (s, 3H, H-18), 0.88 (d, 6H, J=7 Hz, H-26 and 27), 0.96 (d, 3H, J=7 Hz, H-21), 1.31 (s, 3H, H-19), 3.71 (m, 1H, H-3), 5.58 (m, 1H, H-9), 5.46 and 5.86 (each d, each 1H, J=12 Hz, H-6 and 7); IR $\nu_{max}^{CHCl_3}$ 3450, 2950, 2870 cm⁻¹; UV $\lambda_{max}^{95\% EtOH}$ 243 (E=5400) nm

エポキシケトン (44a) および エポキシアルデヒド (48a)

6a (151 mg, 3.8×10^{-4} mmol) の MeOH-CH₂Cl₂ (1:1, 10 ml) 溶液を -70°C に冷却しておき O₃ を 5 分間通じる。続いて N₂ を 3 分間通じ (CH₃)₂S (1.2 ml) を加え徐々に室温に戻す。室温にて 2 時間攪拌後溶媒を留去する。残渣はカラムクロマトグラフィ - (SiO₂ 10 g AcOEt:hexane = 30:70) にて分離精製し aldehyde 体 (48a) を 44 mg (38%), 原料を 19 mg, ketone 体 (44a) を 67 mg (44%) の順で得た。

44a: MS m/z 402 (M⁺), 384 (M⁺-H₂O), 369 (384-CH₃), 264, 249, 247, 221, 138, 120; HR-MS Calcd for C₂₆H₄₂O₃ 402.3134, Found 402.3129; ¹H-NMR (CDCl₃) δ 0.84 (s, 3H, H-18), 0.88 (d, 6H, J=6 Hz, H-26 and 27), 4.25 (d, 1H, J=8 Hz, H-7), 4.30 (m, 1H, H-3), 5.58 (d, 1H, J=8 Hz, H-6); ¹³C-NMR (CDCl₃) δ 54.4 (d, C-7), 65.8 (d, C-3), 66.7 (s, C-8), 136.9 (d, C-6), 138.9 (s, C-5), 201.6 (s, C-10); IR $\nu_{\max}^{\text{CHCl}_3}$ 3420, 2950, 2865, 1685 cm⁻¹; UV λ (EtOH) 250.5 (ε = 7200, max), 215 (min), (MeOH) 249.5 (max), 216 (min), (Et₂O) 250 (max), 214 (min) nm

48a: MS m/z 306 (M⁺), 291 (M⁺-CH₃), 277 (M⁺-CHO), 275, 263, 247; ¹H-NMR (CDCl₃) δ 0.76 (s, 3H, H-18), 0.88 (d, 6H, J=6 Hz, H-26 and 27), 0.94 (d, 3H, J=6 Hz, H-21), 3.45 (d, 1H, J=5 Hz, H-7), 9.61 (d, 1H, J=5 Hz, H-6); IR $\nu_{\max}^{\text{CHCl}_3}$ 2935, 2860, 1715 cm⁻¹

7,8-epoxide (46a) および 5,6-epoxide (49a)

トランス ビタミン D₃ (1.82 g, 4.74 mmol) の CH₂Cl₂ (50 ml) 溶液を -70°C に冷却しておき MCPBA (80% 含有 1.02 g, 4.74 mmol) をゆっくりに加える。20 分後 -70°C に冷却した CH₂Cl₂ (100 ml) を追加し MCPBA を全溶させる。1.5 時間後 5% NaHCO₃ 水を加え攪拌しつつ室温に戻す。CH₂Cl₂ 層を分離し 5% NaHCO₃ 水続いて水で洗浄し Na₂SO₄ 乾燥後溶媒を留去する。残渣はカラムクロマトグラフィ - (SiO₂ 50 g, AcOEt:hexane = 15:85) で分離精製

し 49a を 491 mg (26%), 46a を 270 mg (14%) の順で得た。

46a: MS m/z 400 (M^+), 385 ($M^+ - CH_3$), 382 ($M^+ - H_2O$), 364 (382 - H_2O), 287 ($M^+ - \text{side chain}$), 269, 251, 247; HR-MS Calcd for $C_{27}H_{44}O_2$ 400.3341 Found 400.3336
'H-NMR ($CDCl_3$) δ 0.71 (s, 3H, H-18), 0.88 (d, 6H, $J=6$ Hz, H-26 and 27), 3.77 (d, 1H, $J=8.5$ Hz, H-7), 3.94 (m, 1H, H-3), 4.74 and 4.97 (each brs, 1H x 2, H-19), 5.54 (d, 1H, $J=8.5$ Hz, H-6); IR $\nu_{max}^{CHCl_3}$ 3400, 2940, 2860 cm^{-1} ; UV $\lambda^{95\% EtOH}$ 228 (max), 214 (min) nm

49a: MS m/z 400 (M^+), 385, 382, 315, 287; 'H-NMR ($CDCl_3$) δ 0.59 (s, 3H, H-18), 0.88 (d, 6H, $J=6$ Hz, H-26 and 27), 3.44 (d, 1H, $J=8$ Hz, H-6), 3.82 (m, 1H, H-3), 4.80 and 5.02 (each brs, 1H x 2, H-19), 4.92 (d, $J=8$ Hz, H-7); IR $\nu_{max}^{CHCl_3}$ 3600, 3440, 2930, 2860 cm^{-1}

エポキシケトン (47a)

46a (250 mg, 6.25×10^{-4} mmol) の MeOH- CH_2Cl_2 (1:1, 100 ml) 溶液を $-70^\circ C$ に冷却しておき O_3 を 45 秒間導入する。次に $(CH_3)_2S$ (5 ml) を加え同温にて 1 時間攪拌する。徐々に温度を上昇させ 2.5 時間後 $0^\circ C$, 3.5 時間後 $(CH_3)_2S$ (5 ml) を追加し 4 時間後室温に戻す。27 時間後溶媒を留去し残渣はカラムクロマトグラフィー (SiO_2 7g, AcOEt:Hexane=5:95) にて精製し 47a を 88 mg (35%) 得た。

47a: MS m/z 402 (M^+), 384 ($M^+ - H_2O$), 373, 275, 264, 249, 247, 138, 120; HR-MS Calcd for $C_{26}H_{42}O_3$ 402.3134 Found 402.3132; 'H-NMR ($CDCl_3$) δ 0.72 (s, 3H, H-18), 0.88 (d, 6H, $J=6$, H-26 and 27), 3.71 (d, 1H, $J=8$ Hz, H-7), 4.22 (m, 1H, H-3), 6.55 (d, t, 1H, $J=8$ and 2 Hz, H-6); IR $\nu_{max}^{CHCl_3}$ 3420, 2935, 2870, 1685, 1612 cm^{-1} ; UV λ (EtOH) 254 ($\epsilon=10200$, max), 210 (min), (MeOH) 254 (max), 211 (min), (Et₂O) 250 (max), 209 (min) nm

6a から 46a への I₂ による異性化

6a (20 mg, 5.0×10^{-2} mmol) の hexane (5 ml) 溶液に pyridine (50 μ l) 続いて I₂ (1 mg) を加え室温にて攪拌する。20 時間後 Na₂S₂O₃ 水を加え I₂ を quench し AcOEt で抽出する。抽出物は Na₂S₂O₃ 水, 水で洗浄し, Na₂SO₄ 乾燥, 溶媒を留去する。残渣はカラムクロマトグラフィー (SiO₂ 7 g, AcOEt: hexane = 30:70) にて分離精製し 46a を 4 mg (20%) 原料 (6a) を 13 mg (65%) の順で得た。

7,8-epoxide (6b)

25(OH)D₃ (60 mg, 1.5×10^{-1} mmol) の dry CH₂Cl₂ (9 ml) 溶液を -70°C に冷却しておき MCPBA (33 mg, 1.5×10^{-1} mmol) を加え攪拌する (-70 ~ 0°C)。2.5 時間後 CH₂Cl₂ で希釈し 5% NaHCO₃ 水, 水で洗浄し, Na₂SO₄ 乾燥, 溶媒を留去する。残渣はカラムクロマトグラフィー (SiO₂ 8 g, AcOEt-hexane = 40:60) にて精製し 6b を 46 mg (74%) 得た。

6b: MS m/z 416 (M⁺), 401 (M⁺-CH₃), 398 (M⁺-H₂O), 383 (398-CH₃), 380 (398-H₂O), 287 (M⁺-side chain), 269, 251; HR-MS Calcd for C₂₇H₄₄O₃ 416.3290 Found 416.3282; ¹H-NMR (CDCl₃) δ 0.69 (s, 3H, H-18), 1.21 (s, 6H, H-26 and 27), 3.89 (d, 1H, J=9 Hz, H-7), 3.92 (m, 1H, H-3), 4.97 and 5.04 (H-19), 5.24 (d, 1H, J=9 Hz, H-6); IR $\nu_{\max}^{\text{CHCl}_3}$ 3600, 3420, 2940 cm⁻¹; UV $\lambda_{\max}^{95\% \text{ EtOH}}$ 227.5 nm

エポキシケトン (44b) および エポキシアルデヒド (48b)

6b (15 mg, 3.6×10^{-2} mmol) の MeOH-CH₂Cl₂ (1:1, 10 ml) 溶液を -70°C に冷却しておき O₃ を 15 秒間導入する。次に N₂ を 3 分間導入した後 (CH₃)₂S (0.5 ml) を加え徐々に室温に戻す。室温にて 1 時間攪拌後溶媒を

留去する。残渣はカラムクロマトグラフィ- (SiO_2 5g, AcOEt: hexane=50:50)にて分離精製し aldehyde 体(48b)を 4mg (34%), ketone 体(44b)を 7mg (46%)の順で得た。

44b: MS m/z 418 (M^+), 400 ($M^+ - \text{H}_2\text{O}$), 385 ($400 - \text{CH}_3$), 382 ($400 - \text{H}_2\text{O}$), 262, 247, 245; HR-MS Calcd for $\text{C}_{26}\text{H}_{42}\text{O}_4$ 418.3083. Found 418.3078; $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) δ 0.85 (s, 3H, H-18), 0.95 (d, 3H, $J=6\text{Hz}$, H-21), 1.21 (s, 6H, H-26 and 27), 4.23 (d, 1H, $J=9\text{Hz}$, H-7), 4.26 (m, 1H, H-3), 5.57 (d, 1H, $J=9\text{Hz}$, H-6); IR $\nu_{\text{max}}^{\text{CHCl}_3}$ 3440, 2940, 2865, 1680 cm^{-1} ; UV λ (EtOH) 251 (max), 214 (min), (MeOH) 251 (max), 214 (min), (Et_2O) 251.5 (max), 213 (min) nm

48b: MS m/z 322 (M^+), 307 ($M^+ - \text{CH}_3$), 304 ($M^+ - \text{H}_2\text{O}$), 289 ($304 - \text{CH}_3$), 279, 262, 247, 245, 229; $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) δ 0.76 (s, 3H, H-18), 0.96 (d, 3H, $J=6\text{Hz}$, H-21), 1.22 (s, 6H, H-26 and 27), 3.45 (d, 1H, $J=5\text{Hz}$, H-7), 9.59 (d, 1H, $J=5\text{Hz}$, H-6); IR $\nu_{\text{max}}^{\text{CHCl}_3}$ 2950, 2865, 1715 cm^{-1}

6b の 46b への I_2 による異性化

6b (45mg, 1.1×10^{-4} mmol) の hexane (70ml) 溶液に pyridine (700 μl) および I_2 (14mg) を加え室温にて攪拌する。19.5時間後 $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ 水を加え I_2 を quench し AcOEt にて抽出する。水洗. Na_2SO_4 乾燥後溶媒を留去する。残渣はカラムクロマトグラフィ- (SiO_2 7g AcOEt: hexane=50:50)にて精製し 6b と 46b の混合物 38mg (約 4:1) を得た。

エポキシケトン (47b)

6b と 46b の混合物 (6mg, 1.4×10^{-2} mmol) の MeOH- CH_2Cl_2 (1:1, 50ml) 溶液を -70°C に冷却しておき O_3 を 15秒間導入する。その後 N_2 を 3分間導入し $(\text{CH}_3)_2\text{S}$ (5ml) を加え攪拌しつつ徐々に室温に戻す。16時間後

溶媒を留去し残渣をカラムクロマトグラフィー (SiO_2 3g AcOEt:hexane = 60:40) に付し 44b と 47b の混合物 6 mg を得る。 44b と 47b は HPLC (Finepak SIL C_18 -OH: hexane = 20:80) にて分離し目的物 (47b) を 1.2 mg (20%) 得た。

47b: MS m/z 418 (M^+), 400 ($M^+ - \text{H}_2\text{O}$), 138, 135, 120; HR-MS Calcd for $\text{C}_{26}\text{H}_{42}\text{O}_4$ 418.3083 Found 418.3089; $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) δ 0.72 (s, 3H, H-18), 0.94 (d, 3H, $J=6\text{ Hz}$, H-21), 1.21 (s, 6H, H-26 and 27), 3.67 (d, 1H, $J=8\text{ Hz}$, H-7), 4.23 (m, 1H, H-3), 6.51 (d, 1H, $J=8\text{ Hz}$, H-6)

endoperoxide (2e), (3e)

氷水冷却した 25(OH)D₃ (1e) (22 mg, 5.5×10^{-2} mmol) および Rose Bengal (80 mg) の局方 EtOH (80 ml) 溶液に酸素を導入しておき pyrex filter を通して 200 W ハロゲンランプを照射する。原料がほぼ消失するまで酸素の導入および光照射を続ける。溶媒を留去し残渣はカラムクロマトグラフィー (Sephadex LH20, 15 g, hexane : CHCl₃ = 50 : 50) にて精製し 2e および 3e を合わせて 14 mg 混合物として得る。この混合物は HPLC (μ -Porasil, 0.79 x 30 cm, i-PrOH : hexane = 10 : 90) にて分離し 6R体 (2e) を 6.6 mg (28%), 6S体 (3e) を 7.4 mg (31%) の順で得た。

2e : mp. 137~138°C (from i-PrOH : hexane); MS m/z 432 (M⁺), 414 (M⁺-H₂O), 396 (414-H₂O), 151; ¹H-NMR (CDCl₃) δ 0.56 (s, 3H, H-18), 0.94 (d, 3H, J=6 Hz, H-21), 1.22 (s, 6H, H-26 and 27), 4.10 (m, 1H, H-3), 4.36 and 4.44 (each d, each 1H, J=15 Hz, H-19), 4.92 and 5.20 (each d, each 1H, J=10 Hz, H-6 and 7); CD (MeOH) 210 nm ($\Delta\epsilon$ -39.4)

3e : mp. 148~150°C (from i-PrOH : hexane); MS m/z 432 (M⁺), 414, 396, 151; ¹H-NMR (CDCl₃) δ 0.56 (s, 3H, H-18), 0.94 (d, 3H, J=6 Hz, H-21), 1.22 (s, 6H, H-26 and 27), 3.96 (m, 1H, H-3), 4.20 and 4.60 (each d, each 1H, J=16 Hz, H-19), 4.80 and 5.28 (each d, each 1H, J=9 Hz, H-6 and 7); CD (MeOH) 213 nm ($\Delta\epsilon$ +9.9)

以下の光増感酸化反応は 25(OH)D₃ の場合と同様に行った。分離精製の方法および機器データについて以下に述べる。

endoperoxide (52f), (53f)

Sephadex LH 20 カラムクロマトグラフィ- (6g, hexane : CHCl_3 : MeOH = 30 : 70 : 2) にて精製し 52f および 53f の混合物を得. 次にシリカゲルカラムクロマトグラフィ- (3g, AcOEt : CH_2Cl_2 = 9 : 1) にて 52f および 53f を分離した。

52f: MS m/z 430 ($\text{M}^+ - \text{H}_2\text{O}$), 412 (430 - H_2O), 394 (412 - H_2O), 379 (394 - CH_3)

53f: MS m/z 430, 412, 394, 379

endoperoxide (52g), (53g)

Sephadex LH 20 カラムクロマトグラフィ- (6g, hexane : CHCl_3 : MeOH = 30 : 70 : 3) にて精製し 52g および 53g の混合物を得. 次に HPLC (Lichrosorb μP^2 : hexane = 20 : 80) に付し 52g および 53g を分離した。

52g: MS m/z 430 ($\text{M}^+ - \text{H}_2\text{O}$), 412 (430 - H_2O), 394 (412 - H_2O), 379 (394 - CH_3)

53g: MS m/z 430, 412, 394, 379

endoperoxide (52h), (53h)

Sephadex LH 20 カラムクロマトグラフィ- (6g, hexane : CHCl_3 = 35 : 65) にて 52h および 53h を分離精製した。

52h: MS m/z 414 ($\text{M}^+ - \text{H}_2\text{O}$), 301 (414 - side chain), 283, 167; $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) δ 0.58 (s, 3H, H-18), 0.89 (d, 6H, $J=6$ Hz, H-26 and 27), 0.93 (d, 3H, $J=6$ Hz, H-21), 4.24 (m, 1H, H-3), 4.41 (m, 1H, H-1), 4.52 and 4.82 (each d, each 1H, $J=18$ Hz, H-19), 5.03 and 5.19 (each d, each 1H, $J=9$ Hz, H-6 and 7); CD (MeOH) 208 nm (ΔE -50.1)

53h: mp. 135~136°C (from MeOH); MS m/z 414, 301, 206, 167;

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) δ 0.56 (s, 3H, H-18), 0.86 (d, 6H, $J=6\text{ Hz}$, H-26 and 27),
 0.91 (d, 3H, $J=6\text{ Hz}$, H-26), 4.12 (m, 1H, H-3), 4.25 (m, 1H, H-1), 4.67 (s, 2H,
 H-19), 4.74 and 5.33 (each d, each 1H, $J=9\text{ Hz}$, H-6 and 7); CD (MeOH)
 212 nm ($\Delta\epsilon +13.4$)

endoperoxide (52i), (53i)

シリカゲルカラムクロマトグラフィー (3g, AcOEt:hexane = 40:60)
 にて精製し 52i および 53i を混合物として得た。

52i, 53i MS m/z 468 (M^+), 450 ($\text{M}^+ - \text{H}_2\text{O}$), 330, 312, 299, 285, 258

endoperoxide (52j), (53j)

シリカゲルカラムクロマトグラフィー (2.5g, AcOEt:hexane = 40:
 60) にて精製し 52j および 53j を混合物として得た。

52j, 53j: MS m/z 540 (M^+), 522 ($\text{M}^+ - \text{H}_2\text{O}$), 508, 504, 402, 384, 371,
 330, 285

第2章の実験

dimethylcitramalate (74)

citramalic acid (3.6g, 2.4×10^{-2} mmol) の dry MeOH (50ml) 溶液を氷水冷却しておき AcCl (2.5 ml) をゆっくりに加える (3% HCl-MeOH 溶液となる。) 室温にて 14.5 時間攪拌する。MeOH を濃縮し 5% NaHCO₃ 水を加えてアルカリ性とし CHCl₃ にて抽出する。飽和食塩水で洗浄し Na₂SO₄ 乾燥, 溶媒留去後減圧蒸留にて 74 を 3.9 g (86~90°C / 4 mm Hg, quant.) 得た。

ester 体 (65a)

74 (1.0g, 5.68 mmol), dihydropyrane (2.07 ml, 22.7 mmol) および PPTS (428 mg, 1.71 mmol) の dry CH₂Cl₂ (10 ml) 溶液を室温にて 42 時間攪拌した。溶媒を留去し残渣を直接カラムクロマトグラフ (SiO₂, 30g, AcOEt : hexane = 10 : 90) に付し 65a を得た。ここで得た 65a は減圧蒸留にて更に精製し純粋な THP ether 体 (65a) (97°C / 10 mm Hg) を 1.25g (85%) 得た。

65a: ¹H-NMR (CDCl₃) δ 3.66 and 3.74 (each s, each 3H, OCH₃ × 2), 4.90 (m, 1H, acetal-H)

ester 体 (65b)

氷水冷却した NaH (50% 含有, 0.6g, 12.5 mmol) の dry THF (3ml) 溶液に 74 (0.75g, 4.26 mmol) の dry THF (7.5 ml) 溶液を加え 0°C にて 20 分間攪拌後 BrCH₂OCH₃ (1.035 ml, 12.2 ml) を滴下する。同温にて 30 分間攪拌後室温に戻し 4 時間攪拌する。反応液は be-

benzeneにて希釈し氷水冷却下 2N Na_2CO_3 水を加える。benzene 層は更に 2N Na_2CO_3 で洗浄し水洗(2回), Na_2SO_4 乾燥後溶媒を留去する。残渣はカラムクロマトグラフィー (SiO_2 , 30g, Acetone: benzene = 4:96)にて精製し 65b を 0.85g 得た。ここで得た 65b は減圧蒸留し純粋な MOM ether 体 (65b) ($80\sim 85^\circ/12\sim 11\text{ mm Hg}$) を 0.75g (80%) 得た。

65b: $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) δ 1.53 (s, 3H), 2.86 (s, 2H), 3.33 (3.63 and 3.73 (each s, each 3H, $\text{OCH}_3 \times 3$), 4.74 (s, 2H, OCH_2O)

anhydride 体 (75)

Dicyclohexyl carbodiimide (278 mg, 1.35 mmol) の dry dioxane (5 ml) 溶液に citramalic acid (67) (200 mg, 1.35 mmol) の dry dioxane (5 ml) 溶液をゆっくり加える。室温にて 1 時間攪拌後反応液を吸引濾過する。濾液は溶媒を留去し減圧乾燥して粗の anhydride 体 (75) を 176 mg 得る。

75: IR $\overset{\text{CHCl}_3}{\text{D}}_{\text{max}}$ 1865, 1790 cm^{-1}

anhydride 体 (66)

粗の anhydride 体 (75) (176 mg) の dry CH_2Cl_2 (2 ml) 溶液に dihydropyran (493 μl , 5.4 mmol) および PPTS (102 mg, 0.41 mmol) を加え室温にて 3 日間攪拌する。溶媒を留去し残渣をカラムクロマトグラフィー (SiO_2 7g, benzene)にて分離精製し THP ether (66) を 186 mg [64% from citramalic acid (67)] 得た。

66: $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) δ 1.60 and 1.64 (s \times 2, 合せて 3H, CH_3), 4.78 and 4.96 (m \times 2, 合せて 1H, acetal-H); IR $\overset{\text{CHCl}_3}{\text{D}}_{\text{max}}$ 2945, 2860, 1865, 1785 cm^{-1}

sulfone (63) と ester (65) のカップリング反応

文献記載の方法により sulfone (63) と ester (65) のカップリング反応を試みたが反応は全く進行しなかった。baseの増量, 温度の上昇, 反応時間の延長などを行うことにより原料は消費され種々の生成物を与えたが、それらの構造解析は不能であり目的物は認められなかった。その一例を示す。

63 (28 mg, 5.2×10^{-2} mmol) の dry THF (0.5 ml) 溶液を -20°C に冷却しておき n-BuLi (hexane 溶液, 1.04×10^{-1} mmol) を加え2時間攪拌する。この溶液を -70°C に冷却した 65 (27 mg, 1.04×10^{-1} mmol) の dry THF (0.3 ml) 溶液に加え(反応液は直ちに褐色を呈する)同温にて2時間, $-70 \sim -40^{\circ}\text{C}$ にて2時間攪拌する。反応液に氷片を加え CH_2Cl_2 にて抽出し水洗, Na_2SO_4 乾燥, 溶媒を留去する。残渣はカラムクロマトグラフィー (SiO_2 5g, AcOEt: benzene = 2:98) にて分離精製し原料の 63 を 20 mg (71%) 回収した。その他数種の生成物は認められたが痕跡程度であった。

カップリング体 (78)

-70°C に冷却した 63 (79 mg, 1.47×10^{-1} mmol) の dry THF (0.5 ml) 溶液に LDA (hexane-THF 溶液, 3.67×10^{-1} mmol) を加え同温にて15分間攪拌する。この溶液に 77 (15 mg, 1.5×10^{-1} mmol) および HMPA (29 μl) の dry THF (0.26 mmol) 溶液をゆっくり滴下し(反応液は褐色を呈する)同温にて1時間攪拌する。反応液に飽和 NH_4Cl 水, 続いて 5% HCl 水を加え AcOEt にて抽出する。AcOEt 層は水洗, Na_2SO_4 乾燥後溶媒を留去する。残渣は MeOH (5 ml) に溶解させ CH_2N_2 の ether 溶液を MeOH 溶液が黄色を呈するまで

加える。溶媒を留去しカラムクロマトグラフィー (SiO_2 , 14 g, AcOEt:hexane = 20:80) にて精製し 78 を 87 mg (90%) 得た。

78: MS m/z 652 (M^+), 568 ($M^+ - \text{CO}$), 550 (568 - H_2O), 535 (550 - CH_3), 518, 409, 376; $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) δ 0.53 (s, 3H, H-18), 0.90 (s, 3H, H-19), 1.15 (d, $J=6.5\text{Hz}$, H-21), 3.63 (s, OCH₃), 4.70 (br s, 1H, acetal-H), 5.38 and 5.53 (each d, each 1H, $J=5\text{Hz}$, H-6 and 7), 7.30 - 8.00 (m, 5H, H-aromatic)

23-ketone 体 (79)

氷水冷却した 78 (76 mg, 1.17×10^{-1} mmol) の dry MeOH (25 ml) 溶液に Na_2HPO_4 (945 mg, 6.65 mmol) を懸濁させ 5% Na-Hg (3.06 g, 6.65 mmol) を加え激しく攪拌する。5分後室温に戻し2時間攪拌する。MeOH を半量に濃縮し水を加えて AcOEt にて抽出し飽和食塩水洗浄, Na_2SO_4 乾燥, 溶媒を留去する。残渣は TLC (SiO_2 , AcOEt:hexane = 4:96) にて分離精製し 79 を 40 mg (67%) 得, 原料を 9 mg (12%) 回収した。

79: MS m/z 512 (M^+), 428 ($M^+ - \text{CO}$), 410 (428 - H_2O), 395 (410 - CH_3); $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) δ 0.66 (s, 3H, H-18), 0.93 (s, H-19), 3.66 (s, OCH₃), 4.73 (br s, acetal-H), 5.36 and 5.52 (each d, each 1H, $J=6\text{Hz}$, H-6 and 7)

δ -hydroxyester 体 (80a) (80b)

氷水冷却した 79 (128 mg, 2.5×10^{-1} mmol) の CH_2Cl_2 -MeOH (2:1, 4.5 ml) 溶液に NaBH_4 (48 mg, 1.26 mmol) の MeOH (1.5 ml) 溶液を加え同温にて 30 分間攪拌する。反応液に水を加え CH_2Cl_2 にて抽出し水洗, Na_2SO_4 乾燥し溶媒を留去する。残渣は TLC (SiO_2 , AcOEt

: hexane = 30:70) にて分離精製し less polar 体(80a)を93mg, more polar 体(80b)を21mg (合せて89%)得た。

80a: MS m/z 514 (M^+), 482 ($M^+ - CH_3OH$), 412 ($M^+ - \square - H_2O$), 380 (412 - CH_3OH), 365 (380 - CH_3); 1H -NMR ($CDCl_3$) δ 0.64 (s, 3H, H-18), 0.94 (s, 3H, H-19), 3.67 (s, 3H, OCH_3), 4.73 (br s, 1H, acetal-H), 5.32 and 5.49 (each d, each 1H, $J=5$ Hz, H-6 and 7); IR ν_{max}^{KBr} 2945, 2870, 1740 cm^{-1}

80b: MS m/z 514 (M^+), 482, 380, 365; 1H -NMR ($CDCl_3$) δ 0.62 (s, 3H, H-18), 0.92 (s, 3H, H-19), 3.66 (s, 3H, OCH_3), 4.73 (br s, 1H, acetal-H), 5.35 and 5.51 (each d, each 1H, $J=5$ Hz, H-6 and 7); IR ν_{max}^{KBr} 2950, 2870, 1740 cm^{-1}

δ -lactone 体 (81a), (81b)

80a (26 mg, 5.1×10^{-2} mmol) の dry CH_2Cl_2 (1 ml) 溶液に PPTS (19 mg, 7.6×10^{-2} mmol) の dry CH_2Cl_2 (1 ml) 溶液を加え室温にて14時間攪拌する。反応液に dihydropyrane (15 μ l, 1.6×10^{-1} mmol) を加え更に3時間攪拌する。反応液を濃縮しカラムクロマトグラフィー (SiO_2 2g, AcOEt: benzene = 20:80) にて精製し 81a を 23 mg (quant) 得た。

81a: MS m/z 482 (M^+), 398 ($M^+ - \square$), 380 (398 - H_2O), 365 (380 - CH_3); 1H -NMR ($CDCl_3$) δ 0.63 (s, 3H, H-18), 0.93 (s, 3H, H-19), 4.30~4.85 (m, 3H, H-3, 23 and acetal-H), 5.40 and 5.53 (each d, each 1H, $J=6$ Hz, H-6 and 7); IR ν_{max}^{KBr} 2940, 1765 cm^{-1} ; UV $\lambda_{max}^{95\% EtOH}$ 271, 281, 293 nm

80b も同様に反応させ 81b を得た。

81b: MS m/z 482 (M^+), 398, 380, 365; 1H -NMR ($CDCl_3$) δ 0.64 (s, 3H, H-18), 0.95 (s, 3H, H-19), 4.40~4.85 (m, 3H, H-3, 23 and acetal-H),

5.39 and 5.57 (each d, each 1H, $J=6$ Hz, H-6 and 7); IR ν_{\max}^{KBr} 2945, 1785 cm^{-1} ; UV $\lambda_{\max}^{95\% \text{ EtOH}}$ 271, 281, 291 nm

γ -lactone 体 (82a), (82b)

81a (20 mg, 4.1×10^{-2} mmol) の THF (0.2 ml) 溶液に HMPA (50 μl) および CH_3I (26 μl , 4.1×10^{-2} mmol) を加え -70°C に冷却する。そこに LDA (hexane-THF 溶液, 2.1×10^{-1} mmol) を加え同温にて 40 分間攪拌する。 -70°C の反応液に飽和 NH_4Cl 水を加え室温に戻し 5% HCl を加え AcOEt にて抽出する。 AcOEt 層は水洗, Na_2SO_4 乾燥後溶媒を留去する。残渣は TLC (SiO_2 , $\text{AcOEt}:\text{hexane}=30:70$) にて分離精製し 82a を 12 mg (58%) 得た。

82a: MS m/z 496 (M^+), 394 ($\text{M}^+ - \text{C}_6\text{H}_5 - \text{H}_2\text{O}$), 379 (394 - CH_3), 353, 253, 251; IR ν_{\max}^{KBr} 2935, 1760 cm^{-1}

81b も同様に反応させ 82b を得た。

82b: MS m/z 496 (M^+), 394, 379, 353, 253, 251

lactone (83a), (83b)

-70°C に冷却した LDA (6.0×10^{-2} mmol) の hexane-THF 溶液に 82a (6 mg, 1.2×10^{-2} mmol) の dry THF (0.2 ml) 溶液をゆっくり加える。20 分間攪拌後 MoOPH (21 mg, 4.8×10^{-2} mmol) を加え同温にて 1.5 時間攪拌する。反応液に飽和 Na_2SO_3 水 (2 ml) を加え室温に戻し水 (1 ml) を加え 15 分間攪拌し AcOEt にて抽出する。水洗, Na_2SO_4 乾燥後溶媒を留去する。残渣は TLC ($\text{AcOEt}:\text{benzene}=15:85$) にて精製し 83a を 3.5 mg (57%) 得た。

83a: MS m/z 512 (M^+), 410 ($\text{M}^+ - \text{C}_6\text{H}_5 - \text{H}_2\text{O}$), 395 (410 - CH_3), 253;

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) δ 0.64 (s, 3H, H-18), 0.94 (s, 3H, H-19), 1.26 (s, 3H, H-27), 4.76 (m, 1H, acetal-H), 5.40 and 5.59 (each m, each 1H, H-6 and 7); UV $\lambda_{\text{max}}^{95\% \text{EtOH}}$ 271, 281, 292 nm

82b も同様に反応させ 83b を得た。

83b: MS m/z 512 (M^+), 410, 395, 253, 251; $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) δ 0.64 (s, 3H, H-18), 0.94 (s, 3H, H-19), 1.26 (s, 3H, H-27), 4.74 (m, 1H, acetal-H), 5.44 (m, 2H, H-6 and 7); UV $\lambda_{\text{max}}^{95\% \text{EtOH}}$ 272, 282, 293 nm

プロビタミンD (84a), (84b)

83a (4 mg, 7.8×10^{-3} mmol) および PPTS (3 mg, 1.2×10^{-2} mmol) の EtOH (0.3 ml) 溶液を 45°C に加温し攪拌する。2.5 時間後氷冷し水を加えて AcOEt 抽出する。AcOEt 層は水洗, Na_2SO_4 乾燥、溶媒を留去する。残渣は TLC (AcOEt: $\text{CHCl}_3 = 2:1$) にて精製し 84a を定量的に得た。

83b から同様にして 84b を得た。

84a は 118 と 84b は 102 と同一物質であるので機器データは 118 および 102 を参照

84a, 84b から 85a, 85b への変換は 118, 102 から 120, 104 への変換の項を参照

triazoline adduct (86)

ergosterol (15.8 g, 40 mmol) の CHCl_3 (400 ml) 溶液に過剰の 4-phenyl-1,2,4-triazoline-3,5-dione [triazoline] により反応液が赤色を呈するまで triazoline (6.73 g, 38.5 mmol) をゆっくり加える。5分攪拌後 CHCl_3 を留去し残渣をカラムクロマトグラフィー (SiO_2 150g, AcOEt:hexane = 66:34) にて精製し ergosterol の triazoline adduct を 22.7g 得た。

この化合物を dry DMF (80 ml) に溶かし imidazole (6.8 g, 10^{-1} mmol) 続いて $t\text{-Bu}(\text{CH}_3)_2\text{SiCl}$ (7.2g, 48 mmol) を加え (発熱反応であり直ちに結晶が析出する) 室温にて攪拌する。2.5時間後氷片を加え CH_2Cl_2 にて抽出し水洗, Na_2SO_4 乾燥, 溶媒留去する。残渣を AcOEt:hexane (1:4) にて再結晶し結晶を 15.0g 得。母液はカラムクロマトグラフィー (SiO_2 150g, AcOEt:hexane = 20:80) にて精製し 86 を合せて 23.8g (87%), 原料を 3.0g (13%) 得た。

86: $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) δ 0.10 [s, 6H, $(\text{CH}_3)_2\text{Si}$], 0.90 (s, 9H, $t\text{-Bu}$), 5.20 (m, 2H, H-2Z and 23), 6.20 and 6.30 (each d, each 1H, $J=8$ Hz, H-6 and 7), 7.32 (s, 5H, Ph)

aldehyde (72)

86 (11g, 16 mmol) の 1% pyridine 含有 CH_2Cl_2 (440 ml) 溶液を -70°C に冷却しておき O_2 を導入する。原料を $2/3$ 位消費した時点で O_2 の導入を止める。 N_2 を導入した後室温に戻し 0.1N HCl (250 ml) および CHCl_3 にて充分振とうする。 CHCl_3 層は飽和食塩水で洗浄し Na_2SO_4 乾燥, 溶媒留去する。残渣はカラムクロマトグラフィー (SiO_2 200g, AcOEt:hexane = 20:80) にて精製し 72 を 3.6

g (36%) 得た。

72: mp. 180-181° (from acetone); MS m/z 617 (M^+), 442 (M^+ -triazoline), 309 (442 - \bar{x} SiOH-1), 295, 269; HR-MS Calcd for $C_{28}H_{46}O_2Si$ 442.3267 Found 442.3278; 1H -NMR ($CDCl_3$) δ 4.45 (m, 1H, H-3), 6.20 and 6.32 (each d, each 1H, $J=8$ Hz, H-6 and 7), 7.35 (s, 5H, Ph), 9.55 (d, 1H, $J=4$ Hz, H-22)

triol (87)

氷水冷却した $LiAlH_4$ (910 mg, 23.9 mmol) の dry THF (50 ml) 懸濁液に diester 体 (74) (2.10 g, 11.9 mmol) の dry THF (20 ml) 溶液を加え 10 ml の THF で洗いこむ。反応液は室温に戻し 1 時間攪拌後 THF-H₂O (60:40 30 ml) を加え無機物が白濁するまで充分攪拌を続ける。反応液は吸引濾過し THF-H₂O (85:15 100 ml) で洗浄し濾液と洗液を合して溶媒を留去し一昼夜減圧乾燥し粗の triol 体 (87) を 1.2 g 得る。87 は精製することなく次の反応に付した。

acetone (88)

粗の 87 (1.2 g, 10 mmol) に acetone (15 ml) 続いて $TsOH \cdot H_2O$ (0.5 g, 2.6 mmol) を加え室温にて攪拌する。14.5 時間後無水 K_2CO_3 (300 mg) を加え 15 時間後 $TsOH \cdot H_2O$ (0.5 g) を追加した。16 時間後 acetone を濃縮し CH_2Cl_2 を加え 5% $NaHCO_3$ 水中に注ぐ。 CH_2Cl_2 層は飽和食塩水で洗浄し Na_2SO_4 乾燥。溶媒を留去する。残渣はカラムクロ

マトグラフィー (SiO_2 , 10g, AcOEt:hexane = 50:50) にて精製し 88 を 1.49g (78%, from 74) 得た。

tosylate (89)

88 (2.05g, 12.8 mmol) の dry pyridine (10 ml) 溶液に TsCl (3.66 g, 19.2 mmol) を加え室温にて 5 時間攪拌する。pyridine を留去し CH_2Cl_2 を加え水洗, Na_2SO_4 乾燥, 溶媒を留去する。残渣はカラムクロマトグラフィー (SiO_2 , 5g, AcOEt:hexane = 20:80) にて精製し 89 を 3.64g (90%) 得た。

phenylsulfite (90)

氷水冷却した PhSH (630 μl , 6.13 mmol) および t-BuOK (686 mg, 6.13 mmol) の DMF (6 ml) 溶液に tosylate (89) (1.75g, 5.57 mmol) の DMF (6 ml) 溶液を滴下し室温に戻して 1 時間攪拌する。AcOEt にて希釈し水洗 (3 回), Na_2SO_4 乾燥後溶媒を留去する。残渣はカラムクロマトグラフィー (SiO_2 50g, AcOEt:hexane = 7:93) にて精製し sulfide 体 (90) を 1.34g (95%) 得た。

sulfone (73)

氷水冷却した sulfide 体 (90) (2.57g, 10.2 mmol) の dry CH_2Cl_2 (20 ml) 溶液に m-クロル過安息香酸 (80% 含有 4.84g, 22.4 mmol) を加える (発熱反応, 直ちに白色結晶析出)。室温に戻し 30 分間攪拌する。 CH_2Cl_2 にて希釈し 5% NaHCO_3 水, 水で洗浄し Na_2SO_4 乾燥, 溶媒を留去する。残渣はカラムクロマトグラフィー (SiO_2 70g, AcOEt:hexane = 40:60) にて精製し sulfone 体 (73) を 2.80g

(97%)得た。

(R)-73: mp. 61~62°, $[\alpha]_D^{24} +8.1^\circ$ (CHCl₃ C=1.5)

(S)-73: mp. 67~68°, $[\alpha]_D^{24} -8.2^\circ$ (CHCl₃ C=1.5)

β -hydroxysulfone 体 (71)

S-sulfone 体 (73) (276 mg, 9.7×10^{-1} mmol) および $i\text{Pr}_2\text{NH}$ (177 μl , 1.27 mmol) の dry THF (2 ml) 溶液を -20°C にて攪拌しておき $n\text{-BuLi}$ (hexane 溶液, 1.07 mmol) を加える。同温にて30分攪拌後、aldehyde 体 (72) (500 mg, 8.1×10^{-1} mmol) の dry THF (1.5 ml) 溶液をゆっくりに加えその後20分間攪拌する。NH₄Cl 水を加えCHCl₃ にて抽出を行いCHCl₃ 層を水洗, Na₂SO₄ 乾燥後、溶媒を留去する。残渣はカラムクロマトグラフィー (SiO₂ 20g, AcOEt: hexane = 30:70) にて精製し目的物 (71) を22 および 23 位に関する立体異性体の混合物として 750 mg (quant.) 得た。

71: MS m/z 726 (M^+ -triazoline), 711 (726-CH₃), 579 (711- $\equiv\text{SiOH}$); $^1\text{H-NMR}$ (CDCl₃) δ 0.10 [s, 6H, (CH₃)₂Si], 0.88 (s, 9H, tBu), 1.25 (s, H-27), 1.32 (s, acetamide CH₃), 6.20 and 6.32 (each d, each 1H, $J=8\text{Hz}$, H-6 and 7), 7.40 (s, 5H, N-Ph), 7.45~8.10 (m, 5H, SO₂ Ph); IR $\nu_{\text{max}}^{\text{CHCl}_3}$ 1690, 1750 cm^{-1}

Δ^{22} 体 (92): β -hydroxysulfone 体 (71) より

71 (100 mg, 1.1×10^{-1} mmol) の dry MeOH (10 ml) 溶液に Na₂HPO₄ (

708 mg, 4.99 mmol) を懸濁させ 0°C 冷却下 5% Na-Hg (2.295 g, 4.99 mmol) を加え激しく攪拌する。5分後室温に戻し1時間10分攪拌を続ける。MeOHを半量に濃縮し水を加えAcOEtにて抽出しAcOEt層は水洗, Na₂SO₄ 乾燥後溶媒を留去する。残渣はカラムクロマトグラフィー (SiO₂ 5g, AcOEt:hexane = 15:85) にて精製し 92 を 57 mg (69%) 得る。

92: MS m/z 568 (M⁺-triazoline), 553 (568-CH₃), 435 (553- \bar{x} SiOH-1), 435, 251; ¹H-NMR (CDCl₃) δ 0.09 [s, 6H, (CH₃)₂Si], 0.87 (s, tBu), 1.24 (s, H-27), 1.37 (s, acetonide CH₃), 3.63 and 3.77 (each d, each 1H, J=8 Hz, H-26), 4.30 (m, 1H, H-3), 5.32 (m, 2H, H-22 and 23), 6.19 and 6.35 (each d, each 1H, J=8 Hz, H-6 and 7), 7.40 (s, 5H, Ph); IR $\nu_{\text{max}}^{\text{CHCl}_3}$ 1745, 1685 cm⁻¹

mesylate (91)

91 (1.65 g, 1.83 mmol) の dry pyridine (6 ml) 溶液を氷水冷却しておき MsCl (1 ml, 10.2 mmol) を加えそのまま 0°C にて攪拌する。1時間15分後室温に戻し3時間後 MsCl (0.5 ml) を追加した。5時間後反応液を氷水に注ぎ AcOEt にて抽出し飽和食塩水洗浄, Na₂SO₄ 乾燥, 溶媒を留去する。残渣はカラムクロマトグラフィー (SiO₂ 20g, AcOEt:hexane = 50:50) にて精製し 91 を 1.81 g (quant.) 得た。

91: ¹H-NMR (CDCl₃) δ 0.09 [s, 6H, (CH₃)₂Si], 0.88 (s, 9H, tBu), 1.23 (s, H-27), 1.32 (s, acetonide CH₃), 5.10 (m, 1H, H-22), 6.20 and 6.34 (each d, each 1H, J=8 Hz, H-6 and 7), 7.40 (s, 5H, N-Ph), 7.45-8.10 (m, 5H, SO₂Ph)

Δ^2 体(92) : mesylate(91)より

91 (1.74 g, 1.78 mmol) の dry MeOH (50 ml) 溶液に Na_2HPO_4 (1.39 g, 9.78 mmol) を懸濁させ 0°C 冷却下 5% Na-Hg (4.50 g, 9.78 mmol) を加え激しく撹拌する。30分後室温に戻し1時間5分後 Na_2HPO_4 (695 mg, 4.89 mmol), 5% Na-Hg (1.67 g, 3.63 mmol) を追加し2時間10分後更に Na_2HPO_4 (300 mg, 2.11 mmol), 5% Na-Hg (1.25 g, 2.72 mmol) を追加した。3時間後反応液に氷片を加え AcOEt にて抽出し、5% HCl, 飽和食塩水で洗浄し MgSO_4 乾燥。溶媒を留去する。残渣はカラムクロマトグラフィー (SiO_2 20 g, AcOEt : hexane = 20 : 80) にて精製し 92 を 1.02 g (77%) 得た。

3-alcohol 体(93)

92 (1.05 g, 1.41 mmol) の acetone (15 ml) 溶液に $\text{T}_2\text{O} \cdot \text{H}_2\text{O}$ (300 mg, 1.58 mmol) を加え室温にて1.5時間撹拌後、反応液を脱水する為に無水 K_2CO_3 (300 mg, 2.17 mmol) を加え10分間撹拌する。AcOEt にて希釈し水洗、 Na_2SO_4 乾燥、溶媒留去する。残渣はカラムクロマトグラフィー (SiO_2 15 g, AcOEt : hexane = 70 : 30) にて精製し 93 を 900 mg (quant) 得た。

93 : MS m/z 454 (M^+ -triazoline), 439 (454 - CH_3), 421 (439 - H_2O), 251; $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) δ 0.82 (s, 3H, H-18), 0.95 (s, 3H, H-19), 1.05 (d, $J=6$ Hz, H-21), 1.23 (s, 3H, H-27), 1.40 (s, 6H, acetonide CH_3), 3.66 and 3.82 (each d, each 1H, $J=8$ Hz, H-26), 4.40 (m, 1H, H-3), 5.37 (m, 2H, H-22 and 23), 6.22 and 6.37 (each d, each 1H, $J=8$ Hz, H-6 and 7), 7.40 (s, 5H, Ph); IR $\nu_{\text{max}}^{\text{CHCl}_3}$ 1745, 1685 cm^{-1}

3-acetate (94)

氷水冷却した 93 (980 mg, 1.56 mmol) の dry pyridine (6 ml) 溶液に Ac_2O (6 ml) を加える。0°C ~ 室温にて 14 時間放置後 pyridine および Ac_2O を留去する。残渣に AcOEt を加え 5% NaHCO_3 水、水で洗浄し、 Na_2SO_4 乾燥、溶媒を留去する。残渣はカラムクロマトグラフィ- (SiO_2 15 g, $\text{AcOEt}:\text{hexane} = 70:30$) にて精製し 94 を 1040 mg (99%) 得た。

94: MS m/z 436 (M^+ -triazoline-AcOH), 253, 251; $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) δ 0.83 (s, 3H, H-18), 0.98 (s, 3H, H-19), 1.06 (d, $J=6$ Hz, H-21), 1.24 (s, 3H, H-27), 1.38 (s, 6H, acetonide CH_3), 2.00 (s, 3H, CH_3CO), 3.67 and 3.80 (each d, each 1H, $J=8$ Hz, H-26), 5.00 ~ 5.57 (br, 1H, H-3), 6.24 and 6.40 (each d, each 1H, $J=8$ Hz, H-6 and 7), 7.37 (s, 5H, Ph); IR $\nu_{\text{max}}^{\text{CHCl}_3}$ 1750, 1730, 1690 cm^{-1}

25,26-diol 体 (95)

94 (130 mg, 1.94×10^{-1} mmol) の EtOH (3 ml) 溶液に PPTS (100 mg 3.98×10^{-1} mmol) を加え 20 分間加熱還流する。EtOH を留去し残渣をカラムクロマトグラフィ- (SiO_2 7 g, $\text{AcOEt}:\text{hexane} = 70:30$) にて精製し 95 を 120 mg (98%) 得た。

95: MS m/z 396 (M^+ -triazoline-AcOH), 381 (396- CH_3), 378 (396- H_2O), 365 (396- CH_2OH), 253, 251; $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) δ 0.83 (s, 3H, H-18), 0.98 (s, 3H, H-19), 1.10 (s, 3H, H-27), 2.03 (s, 3H, CH_3CO), 3.37 (s, 2H, H-26), 5.00 ~ 5.75 (br, 1H, H-3), 5.36 (m, 2H, H-22 and 23), 6.23 and 6.39 (each d, each 1H, $J=8$ Hz, H-6 and 7), 7.37 (s, 5H, Ph); IR $\nu_{\text{max}}^{\text{CHCl}_3}$ 1750, 1730, 1690 cm^{-1}

aldehyde (96)

95 (940 mg, 1.49 mmol) および Et_3N (3.11 ml, 22.4 mmol) の dry DMSO (5 ml) 溶液に pyridine \cdot SO_3 (592 mg, 3.72 mmol) の dry DMSO (5 ml) 溶液を室温にて加え攪拌する。20分後反応液を氷水に注ぎ benzene を加える。エマルジョンを生じたので AcOH を加え酸性とした後 benzene にて抽出する。benzene 層は水洗 (3回) し、 Na_2SO_4 乾燥後溶媒を留去する。残渣はカラムクロマトグラフィー (SiO_2 20g, AcOEt: hexane = 50:50) にて精製し 96 を 819 mg (87%) 得た。

96: MS m/z 452 (M^+ -triazoline +2), 394 (M^+ -triazoline-AcOH) 379 (394 - CH_3), 365 (394 - CHO), 253, 251; $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) δ 0.80 (s, 3H, H-18), 0.97 (s, 3H, H-19), 1.26 (s, 3H, H-27), 2.00 (s, 3H, CH_3CO), 5.00 ~ 5.75 (br, 1H, H-3), 5.36 (m, 2H, H-22 and 23), 6.23 and 6.40 (each d, each 1H, $J=8$ Hz, H-6 and 7), 7.40 (s, 5H, Ph), 9.53 (s, 1H, CHO); IR $\nu_{\text{max}}^{\text{CHCl}_3}$ 1750, 1730, 1690 cm^{-1}

 α -hydroxycarboxylic acid (69)

96 (100 mg, 1.59×10^{-4} mmol) の MeOH (3.24 ml) 溶液に KOH (170 mg, 3.04 mmol) を加え室温にて15分間攪拌後残りの KOH (145 mg, 2.59 mmol), 続いて I_2 (235 mg, 9.25×10^{-4} mmol) を加える。5分後 H_2O (665 μl) を加え室温にて1時間攪拌する。過剰の I_2 を $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ 水でクエンチし CHCl_3 で希釈した後 5% HCl を加え水層を pH 1~2 とする。 CHCl_3 層は飽和食塩水で洗浄し Na_2SO_4 乾燥溶媒を留去する。残渣はカラムクロマトグラフィー (SiO_2 10g, AcOEt) にて精製し 69 を 96 mg (100%) 得た。

69: MS m/z 428 (M^+ -triazoline), 426, 408 (426-H₂O), 395, 251;
¹H-NMR (CDCl₃) δ 0.80 (s, 3H, H-18), 0.94 (s, 3H, H-19), 1.37 (s, 3H, H-27), 4.43 (m, 1H, H-3), 4.90~5.50 (m, 5H, H-22, 23 and OH x 3), 6.22 and 6.32 (each d, each 1H, $J=8.5$ Hz, H-6 and 7), 7.40 (s, 5H, Ph); IR $\nu_{\max}^{\text{CHCl}_3}$ 1745, 1685 cm^{-1}

iodolactone (97) および (98)

氷水冷却した 69 (28 mg, 4.6×10^{-2} mmol) の CH₃CN (1 ml) 溶液に I₂ (5.9 mg, 2.3×10^{-2} mmol) を加え攪拌する。7 時間後反応液に Na₂S₂O₃ 水を加え CHCl₃ および 5% HCl 水 3 滴を加える。CHCl₃ 抽出液は飽和食塩水で洗浄し Na₂SO₄ 乾燥。溶媒を留去する。残渣はカラムクロマトグラフィ- (SiO₂ 10 g, AcOEt : hexane = 80 : 20) にて精製し 97 および 98 を混合物として 24 mg (71%) 得た。97 と 98 の生成比は 9 : 1 (HPLC, μ -Porasil, iPrOH : hexane = 15 : 85) であった。

97 (98 を 1/10 含む): MS m/z 554 (M^+ -triazoline), 552, 534 (552-H₂O), 521 (554-H₂O-CH₃), 408 (554-H₂O-HI), 393 (408-CH₃), 251; ¹H-NMR (CDCl₃) δ 0.89 (s, 3H, H-18), 0.96 (s, 3H, H-19), 1.48 (s, 3H, H-27), 4.00~4.75 (m, 3H, H-3, 22 and 23), 6.27 and 6.36 (each d, each 1H, $J=8.5$ Hz, H-6 and 7), 7.40 (s, 5H, Ph); IR $\nu_{\max}^{\text{CHCl}_3}$ 1780, 1745, 1685 cm^{-1}

lactone (99) および (100)

97 (98 を 1/10 含む) (185 mg, 2.54×10^{-1} mmol) の DME (7 ml) 溶液に $\pi\text{Bu}_3\text{SnH}$ (700 μl , 2.6 mmol) を加え 60~70°C にて 50 分間加熱

する。冷後 DME を留去し残渣を CH_3CN に溶解させ hexane にて 2 回洗浄 (過剰の $n\text{Bu}_3\text{SnH}$ を除く) する。 CH_3CN を留去し残渣をカラムクロマトグラフィー (SiO_2 10g, $\text{AcOEt}:\text{hexane} = 80:20$) にて精製し 99 (100 を % 含む) を 130 mg (85%) 得た。

99 (100 を % 含む): MS m/z 428 (M^+ -triazoline), 408 395 (428 - $\text{H}_2\text{O}-\text{CH}_3$), 369, 251; $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) δ 0.82 (s, 3H, H-18), 0.92 (s, 3H, H-19), 1.48 (s, 3H, H-27), 4.10~4.75 (m, 2H, H-3 and 23), 6.23 and 6.37 (each d, each 1H, $J=8\text{Hz}$, H-6 and 7), 7.40 (s, 5H, Ph); IR $\nu_{\text{max}}^{\text{CHCl}_3}$ 1770, 1745 1685 cm^{-1}

プロビタミン D (101), (102)

99 (100 を % 含む) (130 mg, 2.16×10^{-4} mmol) の dry DMSO (3 ml) 溶液に無水 K_2CO_3 (200 mg, 1.45 mmol) を加え 125°C にて 1.5 時間加熱する。冷後水を加え AcOEt にて抽出し水洗 (3 回), 飽和食塩水で洗浄し Na_2SO_4 乾燥, 溶媒を留去する。残渣はカラムクロマトグラフィー (SiO_2 , 7g, $\text{AcOEt}:\text{hexane} = 50:50$) にて分離精製し 101 を 62 mg (67%), 102 を 7 mg (7.6%) 得た。

101: MS m/z 428 (M^+), 410 ($\text{M}^+-\text{H}_2\text{O}$), 395 (410 - CH_3), 369, 271, 253, 251; $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) δ 0.65 (s, 3H, H-18), 0.95 (s, 3H, H-19), 1.04 (d, 3H, $J=7\text{Hz}$, H-21), 1.50 (s, H-27), 3.64 (m, 1H, H-3), 4.46 (m, 1H, H-23), 5.40 (m, 1H, H-6 or 7), 5.58 (m, 1H, H-7 or 6); IR $\nu_{\text{max}}^{\text{CHCl}_3}$ 2950, 2865, 1770 cm^{-1} ; UV $\lambda_{\text{max}}^{95\% \text{EtOH}}$ 271, 282, 293 nm

102: MS m/z 428 (M^+), 410, 395, 369, 271, 253, 251; $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) δ 0.64 (s, 3H, H-18), 0.95 (s, 3H, H-19), 1.04 (d, $J=6\text{Hz}$, 3H, H-21), 1.51 (s, H-27), 3.65 (m, 1H, H-3), 4.73

(m, 1H, H-23), 5.39 (m, 1H, H-6 or 7), 5.56 (m, 1H, H-7 or 6);
 IR $\nu_{\max}^{\text{CHCl}_3}$ 2930, 2850, 1765 cm^{-1} ; UV $\lambda_{\max}^{95\% \text{EtOH}}$ 271, 281
 292 cm^{-1}

プロビタミンD (101) から (23R, 25S)-lactone (103) への変換
 101 (3.5 mg, 8.2×10^{-3} mmol) の Et_2O (200 ml) 溶液に氷水冷却下ア
 ルゴンを15分間導入した後 vycor フィルターを通して高圧水銀
 ランプを3分15秒間照射する。 Et_2O を留去し残渣をカラムクロ
 マトグラフィー (Sephadex LH 20 19 g hexane: CHCl_3 = 35:65) にて
 分離精製し previtamin D を 1.14 mg (33%), tachysterol を 1.17
 mg (33%), 原料 (101) を 1.10 mg (31%) の順で得た。

プレビタミンD: UV $\lambda_{\max}^{95\% \text{EtOH}}$ 261 nm

tachysterol: MS m/z 428 (M^+), 410 ($\text{M}^+ - \text{H}_2\text{O}$), 395 (410 - CH_3),
 369; UV $\lambda_{\max}^{95\% \text{EtOH}}$ 270 (sh), 280, 290 (sh) nm

プレビタミンD (1.14 mg, 2.66×10^{-3} mmol) の局方 EtOH (1.5 ml) 溶液を
 アルゴン気流下遮光し室温にて放置する。12日後溶媒を留去し残渣をカ
 ラムクロマトグラフィー (Sephadex LH 20 19 g, hexane: CHCl_3 =
 35:65) にて分離精製し 103 を 855 μg (75%) 得た。

103: MS m/z 428 (M^+), 410 ($\text{M}^+ - \text{H}_2\text{O}$), 395 (410 - CH_3), 369, 271,
 253, 136, 118; $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) δ 0.57 (s, 3H, H-18), 1.01 (d, 3H, J=
 6 Hz, H-21), 1.50 (s, 3H, H-27), 3.97 (m, 1H, H-3), 4.45 (m, 1H, H-23), 4.83
 (br s, 1H, H-19), 5.06 (br s, 1H, H-19), 6.05 (d, 1H, J=11 Hz, H-6
 or 7), 6.21 (d, 1H, J=11 Hz, H-7 or 6); IR $\nu_{\max}^{\text{CHCl}_3}$ 2940, 2850,
 1772 cm^{-1} ; UV $\lambda_{\max}^{95\% \text{EtOH}}$ 264.5 (max), 228.5 (min) nm

プロビタミンD (102) から (23S, 25S)-lactone (104) への変換
 102 (7 mg, 1.6×10^{-2} mmol) の Et₂O-EtOH (19:1, 200 ml) 溶液に
 氷水冷却下アルゴンを経過した後 vycor フィルターを通
 して高圧水銀ランプを3分間照射する。溶媒を留去し残渣をカ
 ラムクロマトグラフィー (Sephadex LH 20, 20 g, hexane : CHCl₃
 = 35 : 65) にて分離精製し previtamin D を 2.22 mg (32%),
 tachysterol を 2.07 mg (30%) この順で得た。

プレビタミンD (2.22 mg, 5.19×10^{-3} mmol) の局方 EtOH (6
 ml) 溶液をアルゴン気流下遮光し室温にて放置する。8日後、
 溶媒を留去し残渣をカラムクロマトグラフィー (Sephadex
 LH 20, 20 g, hexane : CHCl₃ = 35 : 65) にて精製し 104 を 1.90
 mg (86%) 得た。

104 : MS m/z 428 (M⁺), 410 (M⁺-H₂O), 395 (M⁺-H₂O-CH₃),
 369, 253, 251, 136, 118 ; ¹H-NMR (CDCl₃) δ 0.56 (s, 3H, H-18),
 1.03 (3H, H-21), 1.50 (s, 3H, H-27), 3.94 (m, 1H, H-3), 4.71 (m, 1H,
 H-23), 4.81 (br s, 1H, H-19), 5.03 (br s, 1H, H-19), 6.04 (d, 1H, J=11
 Hz, H-6 or 7), 6.22 (d, 1H, J=11 Hz, H-7 or 6) ; IR $\nu_{\max}^{\text{CHCl}_3}$ 2930,
 2850, 1763 cm⁻¹ ; UV $\lambda_{\max}^{\text{EtOH}}$ 265 (max), 228 (min) nm

β -hydroxysulfone 体 (105)

R-sulfone 体 (73) (715 mg, 2.52 mmol) および $i\text{Pr}_2\text{NH}$ (884 μl , 6.32 mmol) の dry THF (6 ml) 溶液を -20°C にて攪拌しておき、 $n\text{-BuLi}$ (hexane 溶液, 5.04 mmol) を加える。同温にて25分間攪拌後、aldehyde 体 (1.31 g, 2.12 mmol) の dry THF (6 ml) 溶液をゆっくり加え、その後20分間攪拌する。 NH_4Cl 水を加え AcOEt にて抽出を行い、AcOEt 層を水洗、 Na_2SO_4 乾燥後溶媒を留去する。残渣はカラムクロマトグラフィー (SiO_2 40g, AcOEt:hexane = 30:70) にて精製し目的物 (105) を22位および23位に関する立体異性体の混合物として 1.87g (98%) 得た。

105: MS m/z 726 (M^+ -triazoline), 711 (726- CH_3), 579 [$711 - t\text{Bu}(\text{CH}_3)_2\text{SiOH}$]; $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) δ 0.10 [s, 6H, $(\text{CH}_3)_2\text{Si}$] 0.88 (s, 9H, $t\text{BuSi}$), 1.24 (s, H-27), 6.17 (d, 1H, $J=8.5\text{ Hz}$, H-6 or 7), 6.29 (d, 1H, $J=8.5\text{ Hz}$, H-7 or 6), 7.38 (s, 5H, N-Ph) 7.45~8.10 (m, 5H, SO_2 Ph); IR $\nu_{\text{max}}^{\text{CHCl}_3}$ 1747, 1690 cm^{-1} ; HR-MS calcd for $\text{C}_{42}\text{H}_{66}\text{O}_6\text{SiS}$ 726.4346, found 726.4344

mesylate (106)

105 (1.0g, 1.1 mmol) の dry pyridine (5 ml) 溶液を氷水冷却しておき MsCl (1 ml, 10.2 mmol) を加え、室温に戻し3時間攪拌する。反応液を氷水に注ぎ、AcOEt にて抽出し、飽和食塩水洗浄、 Na_2SO_4 乾燥、溶媒を留去する。残渣はカラムクロマトグラフィー (SiO_2 15g, AcOEt:hexane = 50:50) にて精製し 106 を 1.05g (97%) 得た。

106: IR $\text{D}_{\text{max}}^{\text{CHCl}_3}$ 2980, 2940, 2850, 1745, 1690 cm^{-1}

Δ^{22} 体 (107)

106 (970 mg, 9.9×10^{-1} mmol) の dry MeOH (30 ml) 溶液に Na_2HPO_4 (973 mg, 6.85 mmol) を懸濁させ 0°C 冷却下 5% Na-Hg (3.15 g, 6.85 mmol) を加え激しく攪拌する。30分後室温に戻し更に30分間攪拌を続ける。反応液に氷水を加え AcOEt にて抽出し、5% HCl 水、飽和食塩水で洗浄し、 Na_2SO_4 乾燥、溶媒を留去する。残渣はカラムクロマトグラフィー (SiO_2 10g, AcOEt: hexane = 20:80) にて精製し 107 を 574 mg (78%) 得た。

107: mp $132-134^\circ$ (from AcOEt-hexane); MS m/z 568 (M^+ -triazoline), 553 (568- CH_3), 436 [568- $\text{tBu}(\text{CH}_3)_2\text{SiOH}$], 435, 421, 251; $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) δ 0.10 [s, 6H, $(\text{CH}_3)_2\text{Si}$], 0.88 (s, 9H, tBu Si), 1.22 (s, 3H, H-27), 1.37 (s, 6H, acetamide CH_3), 3.68 (d, 1H, $J=8\text{ Hz}$, H-26), 3.82 (d, 1H, $J=8\text{ Hz}$, H-26), 4.35 (br, 1H, H-3), 5.33 (m, 2H, H-22, 23), 6.18 (d, 1H, $J=8\text{ Hz}$, H-6 or 7), 6.33 (d, 1H, $J=8\text{ Hz}$, H-7 or 6), 7.40 (s, 5H, Ph), HR-MS calcd for $\text{C}_{36}\text{H}_{60}\text{O}_3\text{Si}$ 568.4311 found 568.4332

3-alcohol 体 (108)

107 (342 mg, 4.6×10^{-1} mmol) の acetone (5 ml) 溶液に $\text{TsOH} \cdot \text{H}_2\text{O}$ (50 mg, 2.63×10^{-1} mmol) を加え室温にて 2 時間 40 分攪拌後反応液を脱水する為に無水 K_2CO_3 (60 mg, 4.35×10^{-1} mmol) を加え 5 分間攪拌する。AcOEt にて希釈し、水洗、 Na_2SO_4 乾燥後溶媒を留去する。残渣はカラムクロマトグラフィー (SiO_2 8g,

AcOEt : hexane = 70 : 30) にて精製し 108 を 283 mg (98%) 得た。

108 : MS m/z 454 (M^+ -triazoline), 439 (454 - CH₃), 421 (439 - H₂O), 251; ¹H-NMR (CDCl₃) δ 0.80 (s, 3H, H-18), 0.94 (s, 3H, H-19), 1.05 (d, 3H, $J=6$ Hz, H-21), 1.22 (s, 3H, H-27), 1.37 (s, 6H, acetamide CH₃), 3.64 (d, 1H, $J=8.5$ Hz, H-26), 3.80 (d, 1H, $J=8.5$ Hz, H-26), 4.35 (br, 1H, H-3), 5.35 (m, 2H, H-22 and 23), 6.23 (d, 1H, $J=8.5$ Hz, H-6 or 7), 6.36 (d, 1H, $J=8.5$ Hz, H-7 or 6), 7.40 (s, 5H, Ph); IR $\nu_{\max}^{\text{CHCl}_3}$ 1745, 1685 cm^{-1} ; HR-MS calcd for C₃₀H₄₆O₃ 454.3447 found 454.3459

3-acetate (109)

氷水冷却した 108 (250 mg, 3.97×10^{-1} mmol) の dry pyridine (2 ml) 溶液に Ac₂O (2 ml) を加え同温にて 2 時間放置した後室温に戻し更に 15 時間放置する。pyridine および Ac₂O を留去し、残渣に AcOEt を加え 5% NaHCO₃ 水、飽和食塩水にて洗浄し、Na₂SO₄ 乾燥、溶媒を留去する。残渣はカラムクロマトグラフィ (SiO₂ 6g, AcOEt : hexane = 40 : 60) にて精製し、109 を 274 mg (quant.) 得た。

109 : MS m/z 494 (M^+ -triazoline - 2), 481 (M^+ -triazoline - CH₃), 436 (496 - AcOH), 421 (436 - CH₃), 253, 251; ¹H-NMR (CDCl₃) δ 0.81 (s, 3H, H-18), 0.98 (s, 3H, H-19), 1.23 (s, 3H, H-27), 1.38 (s, 6H, acetamide CH₃), 2.00 (s, 3H, CH₃CO), 3.64 (d, 1H, $J=8$ Hz, H-26), 3.76 (d, 1H, $J=8$ Hz, H-26), 5.0 - 5.7 (br, 1H, H-3), 5.32 (m, 2H, H-22 and 23), 6.22 (d, 1H, $J=8.5$ Hz, H-6 or 7), 6.37 (d, 1H, $J=8.5$ Hz, H-7 or 6), 7.37 (s, 5H, Ph); IR $\nu_{\max}^{\text{CHCl}_3}$

1750, 1730, 1690 cm^{-1} ; HR-MS calcd for $\text{C}_{36}\text{H}_{44}\text{O}_2$ 436.3341
found 436.3346

25,26-diol (II0)

II0 (245 mg, 3.65×10^{-1} mmol) の EtOH (5 ml) 溶液に PPTS (150 mg, 5.98×10^{-1} mmol) を加え 30 分間加熱還流する。EtOH を留去し、残渣をカラムクロマトグラフィー (SiO_2 5 g, AcOEt: hexane = 70:30) にて精製し II0 を 226 mg (98%) 得た。

II0: MS m/z 454 (M^+ -triazoline-2), 396 (M^+ -triazoline - AcOH), 253, 251; $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) 0.81 (s, 3H, H-18), 0.98 (s, 3H, H-19), 1.09 (s, 3H, H-27), 2.00 (s, 3H, CH_3CO), 3.37 (s, 2H, H-26), 5.0-5.75 (br, 1H, H-3), 5.34 (m, 2H, H-22 and 23), 6.20 (d, 1H, $J=8.5\text{Hz}$, H-6 or 7), 6.37 (d, 1H, $J=8.5\text{Hz}$, H-7 or 6), 7.36 (s, 5H, Ph); IR $\overset{\text{CHCl}_3}{\text{max}}$ 1750, 1730, 1690 cm^{-1} ; HR-MS calcd for $\text{C}_{27}\text{H}_{40}\text{O}_2$ 396.3025 found 396.3022

aldehyde (III)

II0 (215 mg, 3.41×10^{-1} mmol) および Et_3N (711 μl , 5.11 mmol) の dry DMSO (1.2 ml) 溶液に pyridine \cdot SO_3 (135 mg, 8.49×10^{-1} mmol) の dry DMSO (1.2 ml) 溶液を室温にて加え攪拌する。20 分後反応液を氷水に注ぎ benzene を加える。エマルジョンを生じたので AcOH を加え酸性とした後 benzene にて抽出する。benzene 層は水洗し (3 回) Na_2SO_4 乾燥後溶媒を留去する。残渣はカラムクロマトグラフィー (SiO_2 6 g, AcOEt: hexane = 50:50) にて精製し III を 199 mg (93%) 得た。

III: MS m/z 452 (M^+ -triazoline -2), 394 (M^+ -triazoline -AcOH); $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) δ 0.79 (s, 3H, H-18), 0.98 (s, 3H, H-19), 1.25 (s, 3H, H-27), 2.0 (s, 3H, CH_3CO), 4.9-5.7 (br, 1H, H-3), 5.33 (m, 2H, H-22 and 23), 6.20 (d, 1H, $J=8.5\text{ Hz}$, H-6 or 7), 6.36 (d, 1H, $J=8.5\text{ Hz}$, H-7 or 6), 7.37 (s, 5H, Ph), 9.35 (s, 1H, CHO); IR $\nu_{\text{max}}^{\text{CHCl}_3}$ 1750, 1730, 1690 cm^{-1} ; HR-MS calcd for $\text{C}_{27}\text{H}_{38}\text{O}_2$ 394.2869 found 394.2857

α -hydroxycarboxylic acid (II2)

III (235 mg, 3.74×10^{-1} mmol) の MeOH (7.6 ml) 溶液に KOH (370 mg, 6.61 mmol) を加え、室温にて15分間攪拌後、残りの KOH (330 mg, 5.89 mmol) 続いて I_2 (552 mg, 2.17 mmol) を加える。5分後 H_2O (665 μl) を加え、室温にて1.5時間攪拌する。過剰の I_2 を $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ 水でクエンチし MeOH を evaporate する。残渣を CHCl_3 に溶解させ 5% HCl を加えて水層を pH 1~2 とし、 CHCl_3 層は飽和食塩水で洗浄し、 Na_2SO_4 乾燥、溶媒を留去する。残渣はカラムクロマトグラフィー (SiO_2 12g, AcOEt) にて精製し II2 を 235 mg (98%) 得た。

II2: MS m/z 428 (M^+ -triazoline), 426, 408 (426- H_2O), 395 (428- H_2O - CH_3), 253, 251; $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) δ 0.78 (s, 3H, H-18), 0.93 (s, 3H, H-19), 1.36 (s, 3H, H-27), 4.4 (m, 1H, H-3), 4.9-5.5 (m, 5H, H-22, 23 and OH), 6.19 (d, 1H, $J=8.5\text{ Hz}$, H-6 or 7), 6.29 (d, 1H, $J=8.5\text{ Hz}$, H-7 or 6), 7.40 (s, 5H, Ph); IR $\nu_{\text{max}}^{\text{CHCl}_3}$ 1745, 1690 cm^{-1}

iodolactone (113) および (114)

112 (105 mg, 1.74×10^{-1} mmol) の dry CH_2Cl_2 (6 ml) 溶液に dry pyridine (105 μl) を加え 30 分間攪拌する。次に反応液を氷水冷却し I_2 (133 mg, 5.24×10^{-1} mmol) を加えそのまま 2.5 時間攪拌した後 dry pyridine (105 μl), I_2 (133 mg) を追加し更に 7 時間攪拌する。飽和 $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ 水を加え CHCl_3 にて抽出し CHCl_3 層は飽和食塩水にて洗浄し Na_2SO_4 乾燥後溶媒を留去する。残渣はカラムクロマトグラフィ - (SiO_2 , 6g, $\text{AcOEt} : \text{hexane} = 80 : 20$) にて精製し 113 および 114 を混合物として 95 mg (75%) 得た。113 と 114 の生成比は 4:1 (HPLC, $\mu\text{-Porasil}$, $\text{AcOEt} : \text{hexane} = 70 : 30$) であった。

113 および 114 (4:1 混合物): MS m/z 554 (M^+ -triazoline), 552, 534 (552- H_2O), 521 (554- $\text{H}_2\text{O}-\text{CH}_3$); $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) δ 0.80 (s, 3H, H-18), 0.94 (s, 3H, H-19), 1.45 (s, 3H, H-27), 4.0-4.7 (m, 3H, H-3, 22 and 23), 6.23 (d, 1H, $J=8.5$ Hz, H-6 or 7), 6.29 (d, 1H, $J=8.5$ Hz, H-7 or 6), 7.40 (s, 5H, Ph); IR $\nu_{\text{max}}^{\text{CHCl}_3}$ 1780, 1745, 1685 cm^{-1} ; HR-MS calcd for $\text{C}_{27}\text{H}_{39}\text{O}_4\text{I}$ 554.1879 found 554.1889

lactone (115) および (116)

113 と 114 の混合物 (4:1, 100 mg, 1.37×10^{-1} mmol) の DME (4 ml) 溶液に $n\text{Bu}_3\text{SnH}$ (300 μl , 1.1 mmol) を加え 60°C にて加熱する。1 時間 15 分後 $n\text{Bu}_3\text{SnH}$ (150 μl) を追加し、更に 20 分間加熱する。冷後 DME を留去し残渣を CH_3CN に溶解させ hexane にて 2 回洗浄 (過剰の $n\text{Bu}_3\text{SnH}$ を除く) する。 CH_3CN を留

去し、残渣をカラムクロマトグラフィー (SiO_2 10g, $\text{AcOEt} : \text{hexane} = 80:20$) にて精製し 115 を 66 mg (80%), 116 を 16 mg (19%) 得た。

115: MS m/z 428 ($M^+ - 175$), 426, 408 ($426 - \text{H}_2\text{O}$), 395 ($428 - \text{H}_2\text{O} - \text{CH}_3$), 369 ($428 - \text{CH}_3 - \text{CO}_2$), 253, 251; $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) δ 0.80 (s, 3H, H-18), 0.94 (s, 3H, H-19), 1.44 (s, 3H, H-27), 4.15 - 4.65 (m, 2H, H-3 and 23), 6.19 (d, 1H, $J = 8.5 \text{ Hz}$, H-6 or 7), 6.32 (d, 1H, $J = 8.5 \text{ Hz}$, H-7 or 6), 7.37 (s, 5H, Ph); IR $\nu_{\text{max}}^{\text{CHCl}_3}$ 1770, 1745, 1685 cm^{-1} ; HR-MS calcd for $\text{C}_{27}\text{H}_{40}\text{O}_4$ 428.2927 found 428.2927

プロビタミン D (117), (118)

115 (50 mg, $8.29 \times 10^{-2} \text{ mmol}$) と無水 K_2CO_3 (100 mg, $7.25 \times 10^{-1} \text{ mmol}$) の dry DMSO (1.5 ml) 溶液を 125°C にて 1 時間 10 分加熱する。冷後氷水を加え AcOEt にて抽出し、水洗 (3 回), Na_2SO_4 乾燥、溶媒を留去する。残渣はカラムクロマトグラフィー (SiO_2 6g, $\text{AcOEt} : \text{hexane} = 60:40$) にて精製し 117 を 26 mg (73%) 得た。

117: MS m/z 428 (M^+), 410 ($M^+ - \text{H}_2\text{O}$), 395 ($410 - \text{CH}_3$), 369 ($M^+ - \text{CH}_3 - \text{CO}_2$), 271, 253, 251; $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) δ 0.63 (s, 3H, H-18), 0.95 (s, 3H, H-19), 1.05 (d, 3H, $J = 6 \text{ Hz}$, H-21), 1.50 (s, 3H, H-27), 3.63 (m, 1H, H-3), 4.44 (m, 1H, H-23), 5.32 (m, 1H, H-6 or 7), 5.58 (m, 1H, H-7 or 6); IR $\nu_{\text{max}}^{\text{CHCl}_3}$ 1772 cm^{-1} ; UV $\lambda_{\text{max}}^{95\% \text{ EtOH}}$ 271.5, 282, 293 nm; HR-MS calcd for $\text{C}_{27}\text{H}_{40}\text{O}_4$ 428.2925, found 428.2915

116 から同様にして 118 を得た。

118 : MS m/z 428 (M^+), 410 ($M^+ - H_2O$), 395 (410- CH_3), 369 ($M^+ - CH_3 - CO_2$), 271, 253, 251 ; 1H -NMR ($CDCl_3$) δ 0.65 (s, 3H, H-18), 0.95 (s, 3H, H-19), 1.03 (d, 3H, $J=6$ Hz, H-21), 3.60 (m, 1H, H-3), 4.78 (m, 1H, H-23), 5.42 (m, 1H, H-6 or 7), 5.61 (m, 1H, H-7 or 6); IR $D_{max}^{CHCl_3}$ 1760 cm^{-1}

プロビタミン D (117) から (23S, 25R)-lactone (119) への変換
117 (9.1 mg, 2.1×10^{-2} mmol) の Et_2O (200 ml) 溶液に氷水冷却下アルゴンを15分間導入した後 vycol フィルターを通して高圧水銀ランプを3分間照射する。 Et_2O を留去し、残渣をカラムクロマトグラフィ - (Sephadex LH 20 20g hexane : $CHCl_3$ = 35:65) にて分離精製し previtamin D を 3.02 mg (33%), tachysterol, 原料 (117) を 1.89 mg (21%) の順で得た。

プレビタミン D : UV $\lambda_{max}^{95\% EtOH}$ 260 nm

プレビタミン D (3.02 mg, 7.06×10^{-3} mmol) の入ったナシ型フラスコをアルゴンで置換しておき、アルゴンを bubble した局方 $EtOH$ (5 ml) を加える。この $EtOH$ 溶液を $-70^\circ C$ 冷却下減圧し脱気して、再びアルゴンで置換する。この溶液を $60^\circ C$ にて5時間加熱し、次に室温にて15時間放置する。溶媒を留去し、残渣はカラムクロマトグラフィ - (Sephadex LH 20 20g, $CHCl_3$: hexane = 65:35) にて精製し、目的物 (119) を 2.56 mg (85%) 得た。

119 : MS m/z 428 (M^+), 410 ($M^+ - H_2O$), 395 (410- CH_3), 369 ($M^+ - CH_3 - CO_2$), 271, 253, 251, 136, 118 ; 1H -NMR ($CDCl_3$) δ 0.56

(s, 3H, H-18), 1.49 (s, 3H, H-27), 3.97 (m, 1H, H-3), 4.44 (m, 1H, H-23), 4.83 (br s, 1H, H-19), 5.05 (br s, 1H, H-19), 6.03 (d, 1H, J=11 Hz, H-6 or 7), 6.22 (d, 1H, J=11 Hz, H-7 or 6); UV $\lambda_{\text{max}}^{95\% \text{EtOH}}$ 265 (max), 228 (min) nm; IR $\nu_{\text{max}}^{\text{CHCl}_3}$ 1772 cm⁻¹

プロビタミンD (118) から (23R, 25R)-lactone (120) への変換

118 (1.13 mg, 2.6×10^{-3} mmol) の Et₂O (200 ml) 溶液に氷水冷却下アルゴンを15分間導入した後、vycol フィルターを通して高圧水銀ランプを2分45秒照射する。溶媒を留去し残渣をカラムクロマトグラフィー (Sephadex LH 20 20g, hexane:CHCl₃ = 35:65) にて分離精製し previtamin D を 371 μg (33%), tachysterol を 397 μg (35%) の順で得た。

プロビタミンD: UV $\lambda_{\text{max}}^{95\% \text{EtOH}}$ 260 nm

tachysterol : UV $\lambda_{\text{max}}^{95\% \text{EtOH}}$ 270 (sh), 280, 290 (sh) nm

プロビタミンD (370 μg, 8.6×10^{-4} mmol) の局所 EtOH (2 ml) 溶液をアルゴン気流下遮光し室温にて放置する。11日後、溶媒を留去し残渣をカラムクロマトグラフィー (Sephadex LH 20, 20g, hexane:CHCl₃ = 35:65) にて精製し 120 を 293 μg (79%) 得た。

120: MS m/z 428 (M⁺), 410 (M⁺-H₂O), 395 (410-CH₃), 369, 253, 251, 136, 118; ¹H-NMR (CDCl₃) δ 0.57 (s, 3H, H-18), 1.02 (d, 3H, J=6 Hz, H-21), 3.95 (m, 1H, H-3), 4.74 (m, 1H, H-23), 4.81 (br s, 1H, H-19), 5.06 (br s, 1H, H-19), 6.05 (d, 1H, J=11 Hz, H-6 or 7), 6.22 (d, 1H, J=11 Hz, H-7 or 6); UV $\lambda_{\text{max}}^{95\% \text{EtOH}}$ 265 (max), 228 (min) nm; IR $\nu_{\text{max}}^{\text{CHCl}_3}$ 1767 cm⁻¹

プロビタミンD (121)

LiAlH₄ (10 mg, 2.6×10^{-1} mmol) を dry THF (1 ml) に懸濁させ 10 分間加熱する。冷後 114 (28 mg, 4.6×10^{-2} mmol) の dry THF (1 ml) 溶液を加え 50 分間還流する。冷後含水 THF を加えて攪拌し、吸引濾過する。濾過物を THF 更に CHCl₃-MeOH (2:1) で充分洗浄し、濾液と洗液を合して Na₂SO₄ 乾燥し、溶媒を留去する。残渣はカラムクロマトグラフィー (Sephadex LH 20 10g hexane:CHCl₃:MeOH=25:75:2) にて精製し 121 を 18 mg (90%) 得た。

121: MS m/z 432 (M⁺), 414 (M⁺-H₂O), 399 (414-CH₃), 383 (414-CH₂OH), 373, 342, 253, 251; ¹H-NMR (DMSO-d₆) δ 0.58 (s, 3H, H-18), 0.86 (s, 3H, H-19), 1.07 (s, 3H, H-27), 3.6~4.0 (m, 2H, H-3 and 23), 5.37 and 5.52 (each m, each 1H, H-6 and 7); IR $\nu_{\max}^{\text{CHCl}_3}$ 3370 cm⁻¹
UV $\lambda_{\max}^{95\% \text{EtOH}}$ 272, 282, 293 nm

23S, 25R, 26-(OH)₃ D₃ (14)

121 (6 mg, 1.4×10^{-2} mmol) の局方 EtOH (200 ml) 溶液を氷水冷却しておき Ar を 20 分間導入した後 vycol filter を通して高圧水銀ランプを 5 分間照射する。溶媒を留去し、残渣はカラムクロマトグラフィー (Sephadex LH 20 25g hexane:CHCl₃:MeOH=25:75:2.5) にて分離精製し previtamin D を 2.6 mg 得た。previtamin D は局方 EtOH (2 ml) に溶解させ 60~63°C にて 7 時間加熱する。冷後溶媒を留去し、残渣はカラムクロマトグラフィー (Sephadex LH 20 25g, hexane:CHCl₃:MeOH=25:75:2.5) にて精製し 14 を 1.9 mg (32%) 得た。

14 mp. 96~98°C MS m/z 432 (M⁺), 414 (M⁺-H₂O), 399

(414-CH₃), 383 (414-CH₂OH), 373, 365, 342, 271, 253, 251, 136, 118; HR-MS Calcd for C₂₇H₄₄O₄ 432.3239, Found 432.3256; ¹H-NMR (CDCl₃) δ 0.56 (s, 3H, H-18), 0.98 (br s, 3H, H-21), 1.22 (s, 3H, H-27), 3.49 and 3.65 (each d, each 1H, J=11 Hz, H-26), 3.8~3.4 (m, 2H, H-3 and 23), 4.82 and 5.04 (each br s, each 1H, H-19), 6.05 and 6.21 (each d, each 1H, J=11 Hz, H-6 and 7); IR $\nu_{\max}^{\text{CHCl}_3}$ 3430 cm⁻¹; UV $\lambda_{\max}^{95\% \text{ EtOH}}$ 265 (max), 228 (min) nm

(23S, 25R)-26, 23-lactol (15)

119 (1.8 mg, 4.2 × 10⁻³ mmol) の toluene (300 μl) 溶液を -70°C に冷却しておき DIBAL (25% hexane 溶液, 26.5 μl, 4.7 × 10⁻² mmol) をゆっくり加え -70°C にて 2 時間攪拌する。次に -70°C に冷却した EtOH (150 μl) を加え 20 分攪拌後ゆっくり室温に戻す。CHCl₃ および 5% HCl を加え CHCl₃ 層は水洗。Na₂SO₄ 乾燥し溶媒を留去する。残渣はカラムクロマトグラフィー (Sephadex LH 20 10g, hexane: CHCl₃: MeOH = 35: 65: 2) にて精製し 15 を 1.67 mg (93%) 得た。

15: MS m/z 430 (M⁺), 412 (M⁺-H₂O), 394 (412-H₂O), 379 (394-CH₃), 356, 342, 324, 309, 253, 251, 136, 118; ¹H-NMR (CDCl₃) δ 0.55 (s, 3H, H-18), 0.99 (each br s, H-21), 1.34 (s, 3H, H-27), 3.8~4.2 (m, 2H, H-3 and 23), 4.83 (s, 2H, H-19 and 26), 5.07 (s, 1H, H-19), 6.06 and 6.22 (each d, each 1H, J=11 Hz, H-6 and 7); IR $\nu_{\max}^{\text{CHCl}_3}$ 3400 cm⁻¹; UV $\lambda_{\max}^{95\% \text{ EtOH}}$ 265 (max), 228 (min) nm

カッパリング体 (126)

73 (71 mg, 0.25 mmol), $i\text{Pr}_2\text{NH}$ (70 μl , 0.50 mmol) の dry THF (300 μl) 溶液を -20° にて攪拌しておく。そこに $n\text{-BuLi}$ (hexane 溶液 0.38 mmol) を加え 5 分攪拌した後 125 (100 mg, 0.21 mmol), HMPA (131 μl , 0.75 mmol) の dry THF (700 μl) 溶液を加え, 更に dry THF (200 μl) で洗いこむ。30 分後 -20° の反応液に飽和 NH_4Cl 水を加え AcOEt で抽出する。抽出液は飽和食塩水で 4 回洗浄し, Na_2SO_4 で乾燥し溶媒を留去する。残渣はカラムクロマトグラフィ (SiO_2 , 8 g, AcOEt : hexane = 20 : 80) にて精製し 126 を 135 mg (95 %) 得た。

126: MS m/z 680 (M^+), 665 ($\text{M}^+ - \text{CH}_3$), 596 ($\text{M}^+ - \text{C}_6\text{H}_5$), 578 (596 - H_2O), 563 (578 - CH_3), 538 ($\text{M}^+ - \text{PhSO}_2\text{H}$), 520 (578 - CH_3COCH_3), 505 (520 - CH_3), 454, 379, 253, 251, $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) δ : 0.51, 0.57 (s, 合せて 3H, H-18), 4.73 (m, 1H, H^{O}), 5.37 (m, 1H, H-6 or 7), 5.53 (m, 1H, H-7 or 6), 7.40 - 7.73 (m, 3H, H-aromatic), 7.73 - 8.00 (m, 2H, H-aromatic), IR $\text{D}_{\text{max}}^{\text{CHCl}_3}$ 2940, 2870, 1300, 1140 cm^{-1} , UV $\lambda_{\text{max}}^{95\% \text{EtOH}}$ 216 (sh), 262 (sh), 272, 282, 293 nm, HR-MS calcd for $\text{C}_{41}\text{H}_{60}\text{O}_6\text{S}$ 640.4110, found 640.4111

sulfone (126) の MoOPH による 酸化

-78° に冷却した 126 (12mg, 1.7×10^{-2} mmol) の dry THF (100 μ l) 溶液に LDA (0.3 mmol) を加え攪拌する。5分後 MoOPH (31 mg, 7.1×10^{-2} mmol) の dry THF (100 μ l) 溶液を加える。25分後室温に戻し攪拌する。15時間後飽和 Na_2SO_3 水を加え AcOEt で抽出し水洗, Na_2SO_3 乾燥し溶媒を留去する。残渣はカラムクロマトグラフィ - (SiO_2 6g AcOEt: hexane = 20:80) にて精製し原料(126) を 9mg 回収した。

sulfone (126) の O_2 による 酸化: 127

126 (13mg, 1.9×10^{-2} mmol), $i\text{Pr}_2\text{NH}$ (30 μ l, 2.1×10^{-2} mmol) の dry THF (1ml) 溶液を -20° に冷却しておく。そこに $n\text{-BuLi}$ (hexane 溶液, 1.7×10^{-1} mmol) を加え20分攪拌後 P_2O_5 で乾燥した酸素を40分通じる。続いて 0° にて10分酸素を通じた後飽和 Na_2SO_3 (1ml) を加え10分攪拌する。反応液は AcOEt で抽出し水, 飽和食塩水にて洗浄し, Na_2SO_4 乾燥後溶媒を留去する。残渣はカラムクロマトグラフィ - (SiO_2 2g, AcOEt: hexane = 10:90) にて分離精製し目的物 127 を 4mg (38%) 得、原料(130) を 8mg (62%) 回収した。

127: MS m/z 554 (M^+), 470 ($\text{M}^+ - \text{H}_2\text{O}$), 452 (470 - H_2O), 437 (470 - CH_3), 411, 395, 379, $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) δ : 0.66 (s, 3H, H-18), 0.95 (s, 3H, H-19), 1.34, 1.38 and 1.41 (each s, each 3H, H-27 and acetal CH_3), 2.65 and 2.87 (each d, each 1H, $J=17$, H-24), 3.94 (s, 2H, H-26),

4.76 (m, 1H, acetal H), 5.41 and 5.58 (each m, each 1H, H-6 and 7)
 IR $\overset{\text{CDCl}_3}{\text{D}}_{\text{max}}$ 1705 cm^{-1} , UV $\overset{95\% \text{ EtOH}}{\lambda}_{\text{max}}$ 272, 282, 293 nm

furan 体 (129)

127 (3mg) および PPTS (2mg) の EtOH (200 μl) 溶液を 30 分還流した。溶媒を留去し乾燥後カラムクロマトグラフィー (SiO_2 , 2g, AcOEt: hexane = 30:70) にて精製し 129 を 2mg (TLC 上では quant) 得た。

129: MS m/z 394 (M^+), 379 ($M^+ - \text{CH}_3$), 376 ($M^+ - \text{H}_2\text{O}$), 361 ($M^+ - \text{CH}_3 - \text{H}_2\text{O}$), 335, 281 (376 - C_6H_5), $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) δ : 0.66 (s, 3H, H-18), 0.95 (s, 3H, H-19), 0.95 (d, 3H, $J=6$ H-21), 2.00 (s, 3H, H-27), 3.64 (brs, 1H, H-3), 5.44 and 5.61 (each m, each 1H, H-6 and 7), 5.89 (s, 1H, H-24), 7.10 (s, 1H, H-26), UV $\overset{95\% \text{ EtOH}}{\lambda}_{\text{max}}$ 215, 271, 281.5, 293 nm, HR-MS calcd for $\text{C}_{27}\text{H}_{28}\text{O}_2$ 394.2870, found 394.2870

sulfone 体 (130a), (130b)

126 (50mg, 7.3×10^{-2} mmol) および PPTS (100mg, 3.9×10^{-1} mmol) の局方 EtOH (1ml) 溶液を 1 時間還流する。冷後溶媒を留去し乾燥後カラムクロマトグラフィー (SiO_2 5g, AcOEt: hexane = 70:30) にて分離精製し 23 位の異性体である less polar 体 (130a) を 20mg, more polar 体 (130b) を 17mg (total 91%) 得た。

130a: mp. 204 ~ 205° (needles, from CH_2Cl_2 -AcOEt), MS m/z 556 (M^+), 538 ($M^+ - \text{H}_2\text{O}$), 523 (538 - CH_3), 520 (538 - H_2O), 505 (520 - CH_3), 396 (538 - PhSO_2H), 383 ($M^+ - \text{PhSO}_2\text{H} - \text{CH}_2\text{OH}$), 363, 295, 253, 251 $^1\text{H-NMR}$

(CDCl₃) δ: 0.59 (s, 3H, H-18), 0.71 (d, 3H, J=6, H-21), 0.93 (s, 3H, H-19), 1.26 (s, 3H, H-27), 3.2-3.9 (m, 4H, H-3, 23 and 26), 5.40 and 5.58 (each m, each 1H, H-6 and 7), 7.5-7.75 (m, 3H, H-aromatic), 7.84-8.0 (m, 2H, H-aromatic), IR $\nu_{\max}^{\text{CHCl}_3}$ 3475, 2940, 2860, 1300, 1140 cm⁻¹, UV $\lambda_{\max}^{95\% \text{ EtOH}}$ 217, 263 (sh), 272, 282, 293 nm HR-MS calcd for C₃₃H₄₈O₅S 556.3222, found 556.3236, Anal. Calcd for C₃₃H₄₈O₅S C 71.19, H 8.69, Found C 71.17, H 8.72,

130b: mp. 187-189° (needles, from CH₂Cl₂-AcOEt), MS m/z 556, 538, 523, 520, 505, 396, 383, 363, 295, 253, 251 ¹H-NMR (CDCl₃) δ: 0.46 (s, 3H, H-18), 0.90 (3H, H-21), 0.92 (s, 3H, H-19), 1.22 (s, 3H, H-27), 3.25-3.8 (m, 4H, H-3, 23 and 26), 5.40 and 5.58 (each m, each 1H, H-6 and 7), 7.45-7.7 (m, 3H, H-aromatic), 7.82-8.02 (m, 2H, H-aromatic), IR $\nu_{\max}^{\text{CHCl}_3}$ 3400, 2945, 2860, 1300, 1140 cm⁻¹, UV $\lambda_{\max}^{95\% \text{ EtOH}}$ 217, 263 (sh), 272, 282, 294 nm, HR-MS Calcd for C₃₃H₄₈O₅S 556.3222, Found 556.3211, Anal. Calcd for C₃₃H₄₈O₅S + ½ H₂O C 70.05, H 8.73, Found C 70.21, H 8.70

TBDMS 体 (131a), (131b)

131a (74 mg, 1.3 × 10⁻¹ mmol) の dry DMF (2 ml) 溶液に imidazole (45 mg, 6.6 × 10⁻¹ mmol) 続いて tBu (CH₃)₂SiCl (50 mg, 3.3 × 10⁻¹ mmole) を加え室温にて攪拌する。25分後 AcOEt で希釈し水を加えよく振とうする。AcOEt 層は水洗(2回)後 Na₂SO₄ 乾燥。溶媒留去しカラムクロマトグラフィ-(SiO₂ 5g, AcOEt: hexane = 10:90)にて精製し 131a を 92 mg (88%) 得た。130b から同様にして 131b を得た。

131a : mp. 145 ~ 147° (needles, from AcOEt-MeOH), MS m/z 784 (M^+), 766 ($M^+ - H_2O$), 727 ($M^+ - tBu$), 670 ($M^+ - tBu \times 2$), 652 ($M^+ - tBu$ (CH_3)₂SiOH), 556 [$M^+ - (tBu(CH_3)_2Si-1) \times 2$], 538 [$652 - (tBu(CH_3)_2Si-1)$], 536, 523, 505, 414, 253, 251 1H -NMR ($CDCl_3$) δ : 0.06 [s, 6H, (CH_3)₂Si], 0.08 s, 6H, (CH_3)₂Si], 0.59 (s, 3H, H-18), 0.75 (d, 3H, J=6, H-21), 0.90 and 0.92 (each s, 21H, $tBuSi \times 2$ and H-19), 1.21 (s, 3H, H-27), 3.46 and 3.53 (each d, each 1H, J=10, H-26), 3.10-3.80 (m, 2H, H-3 and 23), 5.40 and 5.57 (each m, each 1H, H-6 and 7), 7.48-7.74 (m, 3H, H-aromatic), 7.86-8.00 (m, 2H, H-aromatic). IR ν_{max}^{KBr} 2955, 2930, 2855, 1300, 1145 cm^{-1} , UV $\lambda_{max}^{95\% EtOH}$ 216, 263 (sh), 271.5, 282, 293 nm, HR-MS Calcd for $C_{45}H_{76}O_5SSi_2$ 784.4952, Found 784.4944, Anal. Calcd for $C_{45}H_{76}O_5SSi_2$ C 68.82, H 9.75, Found C 68.85, H 9.79.

131b : mp. 90 ~ 93° (needles, from AcOEt-MeOH), MS m/z 784, 766, 727, 651, 637 ($M^+ - \overline{3}SiOH-CH_3$), 253, 251 1H -NMR ($CDCl_3$) δ : 0.06 [s, 12H, (CH_3)₂Si $\times 2$], 0.50 (s, 3H, H-18), 0.90 (s, 24H, H-19, 21 and $tBuSi$), 1.11 (s, 3H, H-27), 3.37 (s, 2H, H-26), 3.15 ~ 3.70 (m, 2H, H-3 and 23), 5.41 and 5.57 (each m, each 1H, H-6 and 7), 7.46-7.74 and 7.86-8.05 (each m, 3H and 2H, H-aromatic) IR ν_{max}^{KBr} 2955, 2930, 2855, 1305, 1145 cm^{-1} UV $\lambda_{max}^{95\% EtOH}$ 216, 263 (sh), 272, 282, 294 nm, HR-MS Calcd for $C_{45}H_{76}O_5SSi_2$ 784.4952, Found 784.4934, Anal. Calcd for $C_{45}H_{76}O_5SSi_2$ C 68.82, H 9.75 Found C 68.58, H 9.79

23-ketone 体 (132)

131 (20mg, 2.6×10^{-2} mmol) および iPr_2NH (71 μl , 5.1×10^{-1} mmol) の dry THF (3ml) 溶液を Ar 気流下 -20° にて攪拌しておきそこに $n-BuLi$

(hexane 溶液 0.38 mmol) 続いて HMPA (200 μ l, 1.15 mmol) を加える。5分攪拌後 Ar を O_2 に置換する。45分後 -20° の反応液に飽和 Na_2SO_3 水を加え AcOEt にて抽出し水洗(4回), Na_2SO_4 乾燥後. 溶媒を留去する。残渣はカラムクロマトグラフィ - (SiO_2 7g AcOEt-hexane = 5:95) にて分離精製し, 132 を 9mg (54%), 原料を 6mg (30%) の順で得た。

132: MS m/z 658 (M^+), 640 ($M^+ - H_2O$), 625 (640 - CH_3), 601 ($M^+ - tBu$), 583 (601 - H_2O), 526 ($M^+ - \ddot{S}iOH$), 511 (526 - CH_3), 508 (526 - H_2O), 493 (508 - CH_3), 470, 338, 323, 297, 1H -NMR ($CDCl_3$) δ : 0.05 and 0.06 [each s, 12H, $(CH_3)_2Si \times 2$], 0.66 (s, 3H, H-18), 0.90 (s, 18H, tBu), 0.94 (s, 3H, H-19), 1.19 (s, 3H, H-27), 2.45 and 2.79 (each d, each 1H, $J=16$, H-24), 3.49 (s, 2H, H-26), 3.60 (m, 1H, H-3), 3.80 (s, 1H, OH, D_2O 添加で消失), 5.41 and 5.57 (each m, each 1H, H-6 and 7). IR $\nu_{max}^{CHCl_3}$ 2935, 2850, 1695 cm^{-1} , UV $\lambda_{max}^{95\%EtOH}$ 263 (sh), 271, 281, 293 nm, HR-MS Calcd for $C_{39}H_{70}O_4Si_2$ 658.4812, Found 658.4821

ketone 体 (133)

132 (1mg) の dry THF (50 μ l) 溶液を氷水冷却しておき $n-Bu_4NF$ (10mg / THF 50 μ l) を加え攪拌する。1時間後 AcOEt で希釈し水洗 Na_2SO_4 乾燥後. 溶媒を留去する。残渣はカラムクロマトグラフィ - (SiO_2 , 2g, AcOEt:hexane = 30:70) にて精製し 133 を定量的に得た。

133: MS m/z 470 (M^+), 338 ($M^+ - \ddot{S}iOH$), 323 (338 - CH_3), 297 [$M^+ - \ddot{S}i - CH_3COCH_3$... (MacLafferty 転位)]

プロビタミン D (123)

132 (13mg, 2.0×10^{-2} mmol) および KF (15mg, 2.6×10^{-1} mmol) を DMF (1ml)

に懸濁しておき、そこに 18-crown-6 (69 mg, 2.6×10^{-1} mmol) を加え室温にて攪拌する。47 時間後反応液を氷水冷却し AcOEt をゆっくりに加え氷の入った分液漏斗にそそぐ。AcOEt 層は水洗 (4 回), Na_2SO_4 乾燥後、溶媒を留去する。残渣はカラムクロマトグラフィ (SiO_2 , 3g, AcOEt: hexane = 50:50) にて分離精製し 134 を 3 mg (28%), 123 を 5 mg (59%) の順で得た。

134: MS m/z 508 ($\text{M}^+ - \text{H}_2\text{O} \times 2$), 470 [$\text{M}^+ - \text{CH}_2\text{CHOHCH}_2\text{OH}$ (MacLafferty 転位)] 376 ($\text{M}^+ - \text{H}_2\text{O} \times 2 - \ddot{\text{O}}\text{SiOH}$), 361 (376 - CH_3), 335, 323, 297; $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) δ : 0.06 (s, 6H, $(\text{CH}_3)_2\text{Si}$), 0.67 (s, 3H, H-18), 0.90 (s, 9H, tBu), 0.95 (s, 3H, H-19), 1.22 (s, 3H, H-27), 2.56 and 2.80 (each d, each 1H, $J=17\text{ Hz}$, H-24), 3.45 (m, 2H, H-26, D_2O 添加で AB quartet $J=10\text{ Hz}$), 3.56 (m, 1H, H-3), 4.21 (s, 1H, OH, D_2O 添加で消失), 5.43 and 5.57 (each m, each 1H, H-6 and 7)

123: MS m/z 430 (M^+), 412 ($\text{M}^+ - \text{H}_2\text{O}$), 397 (412 - CH_3), 394 (412 - H_2O), 361 (394 - $\text{H}_2\text{O} - \text{CH}_3$), 356 ($\text{M}^+ - \text{CH}_2\text{CHOHCH}_2\text{OH}$), 323 (356 - $\text{H}_2\text{O} - \text{CH}_3$), 297, 253, 251; $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) δ 0.66 (s, 3H, H-18), 0.95 (s, 3H, H-19), 0.98 (d, 3H, $J=6\text{ Hz}$, H-21), 1.21 (s, 3H, H-27), 2.52 and 2.78 (each d, each 1H, $J=17\text{ Hz}$, H-24), 3.42 (m, 2H, H-26, D_2O 添加で AB quartet $J=10\text{ Hz}$), 3.50 (m, 1H, H-3), 4.16 (s, 1H, OH, D_2O 添加で消失), 5.40 and 5.55 (each m, each 1H, H-6 and 7); IR $\text{D}_{\text{max}}^{\text{CHCl}_3}$ 3620 ~ 3200, 2935, 2860, 1695 cm^{-1} , UV $\lambda_{\text{max}}^{95\% \text{ EtOH}}$ 262 (sh), 271, 281, 293 nm; HR-MS Calcd for $\text{C}_{27}\text{H}_{42}\text{O}_4$ 430.3083, Found 430.3075

プロビタミン D (123) から 25R, 26-(OH)₂-23-oxo-D₃ (122) への変換
123 (4.70 mg, 1.1×10^{-2} mmol) の Et₂O-95% EtOH (1:1, 200 ml) 溶液に Ar を 20 分間導入し溶液中の酸素を除く。氷水冷却下 Vycol filter を通して高圧水銀ランプを 4 分間照射する。溶媒を留去後カラム

クロマトグラフィ - (Sephadex LH 20 20g, hexane:CHCl₃:MeOH = 35:65:1) にて分離し、previtamin D (123') を 1.50 mg (32%), tachysterol (123'') を 1.60 mg (34%), 原料 (123) を 0.50 mg (11%) の順で得た。

previtamin D (123'): UV $\lambda_{\max}^{95\% \text{ EtOH}}$ 260 nm

tachysterol (123''): UV $\lambda_{\max}^{95\% \text{ EtOH}}$ 270 (sh), 279, 290 nm

provitamin D (123): UV $\lambda_{\max}^{95\% \text{ EtOH}}$ 262 (sh), 272, 282, 294 nm

previtamin D (123') (1.12 mg, 2.6×10^{-3} mmol) の局方 EtOH (5 ml) 溶液を遮光し室温にて10日間放置する。溶媒を留去後、カラムクロマトグラフィ - (Sephadex LH 20 20g, hexane:CHCl₃:MeOH = 35:65:1) にて分離精製し、原料 (123') を 120 μg (11%), 122 を 924 μg (83%) の順で得る。

122: MS m/z 430 (M⁺), 412 (M⁺-H₂O), 394 (412-H₂O), 361 (394-H₂O-CH₃), 356 [M⁺-CH₂CHOHCH₂OH (MacLafferty 転位)], 323 (356-H₂O-CH₃), 298, 265, 253, 251, 136, 118; ¹H-NMR (CDCl₃) δ 0.59 (s, 3H, H-18), 0.96 (d, 3H, J=6 Hz, H-21), 1.20 (s, 3H, H-27), 2.56 and 2.74 (each d, each 1H, J=17 Hz, H-24), 3.42 (brs, 2H, H-26, D₂O 添加で AB quartet J=10 Hz), 3.93 (m, 1H, H-3), 4.12 (br, 1H, OH, D₂O 添加で消失), 4.81 and 5.04 (each brs, each 1H, H-19), 6.05 and 6.21 (each d, each 1H, J=11 Hz, H-6 and 7); IR $\tilde{\nu}_{\max}^{\text{CHCl}_3}$ 3630~3200, 2940, 2860, 1695 cm⁻¹, UV $\lambda_{\max}^{95\% \text{ EtOH}}$ 265 (max), 228 (min) nm

1 α ,25R,26-(OH)₂-23-oxo-D₃ (16)

ビタミンD欠乏食で飼育した chick (3週令, 40羽) の腎臓を抽出

し 20% homogenate (180 ml) を調製する。122 (100 μ g, 0.23 μ mol) を加え酸素気流下 37° にて 1.5 時間インキュベーションする。MeOH-CHCl₃ (2:1, 778 ml) を加えインキュベーションを止める。CHCl₃ にて抽出し、溶媒を留去後カラムクロマトグラフィ (Sephadex LH20 12g, Hexane: CHCl₃: MeOH = 35: 65: 1) にて分離精製し 16 が含まれている 170 ~ 340 ml を集める。このフラクションは HPLC (Zorbax SIL, iPrOH: Hexane = 20: 80) にて精製し目的物 (16) (retention volume 15.6 ml) を得る。更に HPLC (Zorbax SIL, MeOH: CH₂Cl₂ = 6: 96) で精製し 16 (retention volume 11.2 ml) を約 1 μ g 得る。

16 : MS m/z 446 (M⁺), 410 (M⁺ - H₂O x 2), 392 (410 - H₂O), 374 (392 - H₂O), 354 [M⁺ - H₂O - CH₂CHOHCHOH - (MacLafferty 転位)], 336 (354 - H₂O), 321 (336 - CH₃), 278 [410 - CH₃COCH₂C(CH₃)(OH)CH₂OH - (MacLafferty 転位)], 263 (278 - CH₃), 152, 134; UV $\lambda^{95\% \text{ EtOH}}$ 264 (max), 229 (min) nm

第3章の実験

D充分状態のニワトリの腎臓ホモジェネートの調製

生後1日目の White Leghorn cockerel chick を1%Ca および0.45%Pを含むビタミンD欠乏食にて4週間飼育する。続いて $1\alpha, 25(\text{OH})_2\text{D}_3$ を1羽につき1日5 μg , 7日間経口投与しD充分状態とする。これらのニワトリの腎臓を摘出し、ニンクしぼり器で圧搾し細かくする。この腎臓と腎臓の4倍量のインキュベーションメディアウム[0.2M sucrose, 15mM Tris-HCl (pH7.4), 2mM MgCl_2 および5mM sodium succinate を含む]とをホモジェナイズし20%腎臓ホモジェネートを得る。

D欠乏状態のニワトリの腎臓ホモジェネートの調製

D充分状態の場合に与えた $1\alpha, 25(\text{OH})_2\text{D}_3$ の代りに綿実油を与えた。その他はD充分状態の場合と同様である。

☆ 23S, 25R, 26(OH) $_3\text{D}_3$ (14)と腎臓ホモジェネートのインキュベーション
90分間のインキュベーション; Group Iについて

14 (10 μg)と先に調製したニワトリの20%腎臓ホモジェネート(12ml)を酸素気流下37 $^{\circ}\text{C}$ にて90分間インキュベーションする。MeOH- CHCl_3 (2:1)を加え反応を終了させ、Grayらの方法に従って CHCl_3 抽出を行う。 CHCl_3 抽出液は溶媒を留去しカラムクロマトグラフィー(Sephadex LH 20 10g, CHCl_3 :hexane = 65:35)にて精製し lactone (11) および lactol (15) を含むフラクション(30~200 ml) (fr1) と基質である 23S, 25R, 26(OH) $_3\text{D}_3$ (14)を含むフラ

クション (200 ~ 450 ml) (fr 2) とに分離する。fr 1 は HPLC (Zorbax SIL, i-PrOH: hexane = 7:93) にて展開し、lactone (11) が溶出するフラクション (fr 1') と lactol (15) が溶出するフラクション (fr 1'') に分け、収量は HPLC における標準品との面積比により決定した。fr 1' は先と同様の HPLC にて再度精製し、マスおよび UV スペクトルを測定した。マス、UV スペクトルおよび HPLC における保持容量は標準品の 11 と完全に一致し、その構造を確認した。fr 1'' から lactol は検出されなかった。Sephadex LH20 ガラムクロマトグラフィーにおける fr 2 は HPLC (Zorbax SIL, i-PrOH: hexane = 20:80) にて 2 回精製し、マスおよび UV スペクトルを測定した。マス、UV スペクトルおよび HPLC における保持容量は標準品 (14) と完全に一致し、その構造を確認した。収量は HPLC における標準品との面積比により決定した。

Group II について

D 充分状態の 20% 腎臓ホモジネートを 100°C にて 5 分間加熱した後 Group I と同様にインキュベーションを行った。fr 1 から lactone および lactol は検出されなかった。

Group III について

D 欠乏状態の 20% 腎臓ホモジネートを用い Group I と同様にインキュベーションを行った。結果は Group II と同様 lactone および lactol が検出されなかった。

15分間のインキュベーション

90分の場合の Group I と同様にインキュベーションを行い15分後 MeOH-CHCl₃ (2:1) を加えて反応を終了させた。Group I と同様の後処理を行い *fr I'* から lactone を単離した。 *fr I''* は更に3つの異なる HPLC にて精製し [i) Zorbax SIL i-PrOH:hexane = 12:82, ii) Finepak-C₁₈ H₂O:MeOH = 15:85, iii) Finepak SIL i-PrOH:hexane = 20:80], マスおよび UV スペクトルを測定した。マス, UV スペクトルおよび HPLC における保持容量は標準品の (23S, 25R)-25(OH)D₃-26, 23-lactol (15) と完全に一致しその構造を確認した。結果は本文の表-10 に示した。

lactol の TMS 化

上記のごとく単離した代謝物 (15) (約 300 mg) を CH₂Cl₂ (10 μl) に溶解する。この溶液に大過剰の trimethyl silyl imidazole (10 μl) を加え室温にて放置する。1時間後溶媒および過剰の試薬を除去し残渣のうち hexane に可溶性部分を HPLC (Finepak SIL, AcOEt:hexane = 3:97) に付し 265 nm に吸収をもち 7.0~8.0 ml に溶出するピークを集めた。得られた tris(trimethyl silyl) ether 体 (136) はマススペクトルおよび HPLC における保持容量が合成品のそれと完全に一致した。

136: MS *m/z* 646 (M⁺), 631 (M⁺-CH₃), 556 (M⁺-3SiOH), 541 (556-CH₃), 528, 466, 438, 423,

合成品の lactol (15) も同様に反応させ tris(trimethyl silyl) ether 体 (136) を得た。

☆ lactol (15)と腎臓ホモジェネートのインキュベーション
90分間のインキュベーション

Group I, II, IIIについて、全て triol (14)の場合と同様に行った。
その結果表9に示したごとく Group IおよびIIにおいては lactone
が単離され Group IIIでは lactol が回収された。

15分間のインキュベーション

triol (14)の場合と同様に行った。その結果 fr I' から lactone
が43%得られ lactol が11%回収された。

文 献

- 1) H. F. DeLuca and H. K. Schoes. Ann. Rev. Biochem., 45, 631, (1976),
A. W. Norman, J. Roth and L. Orci, Endocrine Rev., 3, 331, (1982).
- 2) J. W. Blunt, H. F. DeLuca and H. K. Schoes, Biochemistry, 7, 3317 (1968).
- 3) I. T. Boyle, R. W. Gray and H. F. DeLuca, Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.,
68, 2131 (1971).
- 4) M. F. Holick, H. K. Schoes, H. F. DeLuca, T. Suda and R. J. Cousins.
Biochemistry 10, 2799 (1971). D. E. M. Lawson, D. R. Fraser, E. Kodicek,
H. R. Norris and D. H. Williams, Nature, 230, 228 (1971).
- 5) M. F. Holick, H. K. Schoes, H. F. DeLuca, R. W. Gray. I. T. Boyle and
T. Suda, Biochemistry, 11, 4251 (1972).
- 6) T. Suda. H. F. DeLuca, H. K. Schoes, Y. Tanaka and M. F. Holick, Bio-
chemistry, 9, 4776 (1970).
- 7) Y. Tanaka, J. K. Wichmann, H. K. Schoes and H. F. DeLuca, Biochemistry,
20, 3875 (1981)
- 8) C. Miyaura, E. Abè, T. Kuribayashi, H. Tanaka, K. Konno, Y. Nishii and
T. Suda. Biochem. Biophys. Res. Commun., 102, 937 (1981).
- 9) references are cited in 13).
- 10) S. Yamada, K. Nakayama and H. Takayama, Tetrahedron Lett., 4895 (1978).
- 11) S. Yamada, K. Nakayama, H. Takayama, A. Itai and Y. Iitaka, J. Org. Chem.
48, 3477 (1983)
- 12) S. Yamada, K. Nakayama, H. Takayama, A. Itai and Y. Iitaka, Chem. Pharm.
Bull., 27 (1979)
- 13) S. Yamada, K. Yamamoto, H. Naito, T. Suzuki, M. Ohmori, H. Takayama, Y.
Shiina, C. Niyaura, H. Tanaka, E. Abè, I. Matsunaga, Y. Niahii and T. Sida,
J. Med. Chem., in press.
- 14) K. Nakayama, S. Yamada, H. Takayama, Y. Nawata and Y. Iitaka, J. Org. Chem.
49, 1537 (1980).
- 15) H. F. DeLuca, H. K. Schoes and Y. Tanaka, U. S. Patent 4 229 359 (1980).
- 16) J. Wichmann, H. F. DeLuca, H. K. Schoes, R. L. Horst, R. M. Shepard and
N. A. Jorgensen, Biochemistry, 18, 4775 (1979).
- 17) S. Ishizuka, S. Ishimoto and A. W. Norman, FEBS Lett. 139, 267 (1982).
- 18) a) S. Yamada, K. Nakayama and H. Takayama, Tetrahedron Lett., 22, 2591 (1981).
b) S. Yamada, K. Nakayama and H. Takayana, Chem. Pharm. Bull. 27, 2329
(1981).
- c) 中山恵子, 山田幸子, 高山浩明, 第24回天然有機化合物討論会 (大阪)
講演要旨集 P356 (1981).

- 19) S. Yamada, K. Nakayama and H. Takayama, J. Org. Chem. 47 4770 (1982).
- 20) S. Yamada, K. Nakayama and H. Takayama, T. Shinki, Y. Takasaki and T. Suda
J. Biol. Chem., 259, 884 (1984)
- 21) N. Ohnuma, J. R. Kruse G. Popjak and A. W. Norman, J. Biol. Chem., 257,
5097 (1982).
- 22) S. Yamada, K. Nakayama and H. Takayama, Tetrahedron Lett., 25, 3239 (1984).
- 23) a) ビタミン学 [I] 日本ビタミン学会編, 東京化学同人
b) R. L. Clough, B. G. Yee and C. S. Foote, J. Am. Chem. Soc. 101, 683
(1979).
- 24) a) C. S. Foote and R. W. Denny, J. Am. Chem. Soc. 90 6233 (1968).
b) N. I. Krinsky, Photophysiology, 3, 123 (1968).
- 25) H. Tanaka, E. Abe, C. Miyaura, T. Kuribayashi, K. Konno, Y. Nishii and
T. Suda, Biochem. J., 204, 713 (1982).
- 26) J. Bland and B. Craney, Tetrahedron Lett. 4041, (1974).
- 27) J. W. H. Gielen, R. B. Koolstra, H. J. C. Jacobd and E. Havinga, Recl.
Trav. Chim. Pays-Bas, 99, 306 (1980).
- 28) a) J. D. Boyd, C. S. Foote and D. K. Imagawa, J. Am. Chem. Soc. 102, 364
(1980)
b) M. Suzuki, R. Noyori and N. Hamanaka, Ibid. 103, 5606 (1981).
c) M. Suzuki, Y. Oda and R. Noyori, Tetrahedron Lett., 22, 4413 (1981).
- 29) C. Kaneko, A. Sugimoto and S. Tanaka, Synthesis 876 (1974).
- 30) a) W. Adam and H. J. Eggelte, Angew. Chem., Int. Ed. Engl., 16, 713 (1977).
b) idem. J. Org. Chem., 42, 3978 (1977).
c) W. Adam, A. J. Bloodworth, H. J. Eggelre and M. E. Loveitt, Angew.
Chem., Int. Ed. Engl., 17, 209 (1978).
- 31) A. M. McCormic, J. L. Napoli, J. K. Schnoes and H. F. DeLuca, Biochemistry,
17, 4085 (1978).
- 32) a) L. Velluz, G. Amiard, B. Goffinet, Compt. rend., 240, 2076
(1955).
b) N. L. Boulch, Y. Raoul, G. Ourisson, Bull. Soc. Chim. Fr., 646 (1965),
2413 (1967)
- 33) a) Y. Wang, H.-S. Ting, J.-J. Huang, Y.-C. H. Chow, Y.-T. Huang Acta Chim.
Sin 24, 126 (1958).
b) H. T. Toh, W. H. Okamura, 48, 1414 (1983).
- 34) E. Abè, C. Miyaura, H. Sakagami, M. Takeda, K. Konno, T. Yamazaki, S.
Yoshiki and T. Suda, Proc. Natl. Acad. Sci., U.S. A. 78, 4990 (1981).
- 35) C. Miyaura, E. Abe, T. Kuribayashi, H. Tanaka, K. Konno, Y. Nishii and
T. Suda, Biochem. Biophys. Res. Commun., 102, 937 (1981).

- 36) Y. Shiina, E. Abe, C. Miyaura, H. Tanaka, S. Yamada, M. Ohmori, K. Nakayama, H. Takayama, I. Matsunaga, Y. Nishii, H. F. DeLuca and T. Suda, Arch. Biochem. Biophys. 220, 90 (1983).
- 37) 内藤裕之, 修士論文.
- 38) Y. Shiina, C. Miyaura, H. Tanaka, E. Abe, S. Yamada, K. Yamamoto, E. Ino, H. Takayama, I. Matsunaga, Y. Nishii and T. Suda, J. Med. Chem. in press.
- 39) a) R. L. Horst, R. M. Shepard, N. A. Jorgensen and H. F. DeLuca, Arch. Biochem. Biophys., 192, 512 (1979).
b) R. M. Shepard, R. L. Horst, A. J. Hamstra and H. F. DeLuca, Biochem. J. 182, 55 (1979).
- 40) R. L. Horst. Biochem. Biophys. Res. Commun., 89, 286 (1979).
- 41) B. W. Hollis, B. A. Roos and P. W. Lambert, Biochem. Biophys. Res. Commun., 95, 520 (1980)
- 42) a) H. Takayama, M. Ohmori and S. Yamada, Tetrahedron Lett., 21, 5027 (1980)
b) 大森正幸, 中山恵子, 山田幸子, 高山浩明, 第23回天然有機化合物討論会 (名古屋), 講演要旨集, P120 (1980)
- 43) K. Kondo and D. Tunemoto, Tetrahedron Lett., 1397 (1975).
- 44) 中山恵子, 山田幸子, 高山浩明, 日本薬学会 第101年会 (熊本) 講演要旨集 P478 (1981)
- 45) E. Vedejs, D. A. Engler and J. E. Telschow, J. Org. Chem. 43, 188 (1978).
- 46) D. H. R. Barton, T. Shioiri and D. A. Widdowson, J. Chem. Soc. (C), 1968 (1971).
- 47) Y. Fujimoto, J. S. Yadav and C. J. Sih, Tetrahedron Lett., 21, 2481 (1980).
- 48) a) P. J. Kocienaki B. Lythgoe and S. Ruston, J. Chem. Soc., Perkin I, 829 (1978)
b) P. J. Kocienski, B. Lythgoe and D. A. Roberts, ibid. 834 (1978).
c) P. J. Kocienski B. Lythgoe and I. Waterhouse, ibid. 1045 (1980).
- 49) C. E. Ballou and H. O. L. Fisher, J. Am. Chem. Soc., 76 3188 (1954).
- 50) D. H. R. Barton J. P. Poyser and P. Sammes, J. C. S. Perkin I, 53 (1972).
- 51) a) M. Nakane, M. Morisaki and N. Ikekawa, Tetrahedron, 31, 2755 (1975).
- 52) 天然 lactone (II) は 帝人 (株) 山口久夫, 石塚誠一両博士により供与された。
- 53) T. Eguchi, S. Takatsuto, M. Ishiguro, N. Ikekawa, Y. Tanaka and H. F. DeLuca, J. Org. Chem. 46, 6579 (1981).
- 54) D. S. Morris, D. H. Williams and A. F. Norris, J. Org. Chem. 46 3422 (1981).
- 55) R. D. Little and S. O. Myong, Tetrahedron Lett., 21, 3339 (1980).

- 56) R. W. Gray, J. L. Omdahl, J. G. Chazarian and H. F. DeLuca, J. Biol. Chem., 247, 7528 (1972).
- 57) E. Mayer, J. E. Bishop, R. A. S. Chandraratna, W. H. Okamura, H. R. Kruse, G. Popjak, N. Ohnuma and A. W. Norman, J. Biol. Chem., 258, 13458 (1983).
- 58) Y. Tanaka, J. K. Wichmann, H. E. Paaren, H. K. Schnoes and H. F. DeLuca, Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A., 77, 6411 (1980).
- 59) S. Ishizuka, S. Ishimoto and A. E. Norman, Arch. Biochem. Biophys., 217, 264 (1982).
- 60) J. L. Napoli and R. L. Horst, Biochem. J., 206, 173 (1982).
- 61) a) J. L. Napoli, J. L. Sommerfeld, B. C. Pramanik, R. Gardner, A. D. Sherry, J. J. Partridge, M. R. Uskokovic and R. L. Horst, Biochemistry, 22, 3636 (1983).
- b) R. U. Simpson, J. K. Wichmann, H. E. Paaren, H. K. Schnoes and H. F. DeLuca, Arch. Biochem. Biophys. 230, 21 (1984).
- c) M. S. Cohen and T. K. Gray, Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 81, 931 (1984).
- d) T. Okabe, S. Ishizuka, M. Fujisawa, J. Watanabe and F. Takaku, Biochem. Biophys. Res. Commun., 127, 635 (1985).