

博 士 論 文

ビタミン D 代謝物を基盤とした  
新しい分子創製に関する研究

徳島文理大学大学院薬学研究科  
薬学専攻 博士課程

末 長 努

指導教授 藤島利江

平成二十九年提出

# 目次

第一章 序論.....	1
第二章 スピロオキセタン構造を有するビタミン D 誘導体の合成に関する研究	
1. 序論.....	13
2. 逆合成解析.....	19
3. 共通中間体の合成.....	20
4. 3 位にオキセタン構造を有する A 環部前駆体の合成.....	22
5. 1 位にオキセタン構造を有する A 環部前駆体の合成.....	22
6. 2 位にオキセタン構造を有する A 環部前駆体の合成.....	24
7. カップリングによる新規誘導体の合成.....	24
8. ビタミン D の発色団を利用したヒドロキシ基の絶対配置決定.....	25
9. スピロオキセタン構造を有する誘導体の A 環部配座解析.....	35
10. 3 位にスピロオキセタン構造を有する誘導体の X 線結晶解析.....	39
11. オキセタン構造を有するビタミン D 誘導体の活性評価.....	40
12. まとめ.....	41
第三章 20 位ヒドロキシビタミン D および側鎖切断型誘導体の合成に関する研究	
1. 序論.....	43
2. 逆合成解析 (1).....	49
3. Grignard 試薬を用いた 20 位への側鎖部導入.....	50
4. X 線結晶解析を用いた CD 環および側鎖部の解析.....	55
5. カップリングによる新規誘導体の合成.....	57
6. 20 位ヒドロキシビタミン D 誘導体の活性評価.....	58

7.	20位ヒドロキシビタミンD誘導体のX線結晶解析.....	59
8.	側鎖部に関するさらなる構造展開.....	62
9.	逆合成解析(2).....	62
10.	.....	63
11.	特許申請等の目的で一部 非公開としています.	66
12.	.....	67
13.	まとめ.....	68
	総括.....	70
	実験の部.....	72
	参考文献.....	136
	謝辞.....	148

## 略語表

Bz	benzoyl
<i>i</i> -Bu	isobutyl
<i>m</i> -CPBA	<i>m</i> -chloroperoxybenzoic acid
DBU	1,8-diazabicyclo[5.4.0]undec-7-ene
DBP	vitamin D binding protein
DDQ	2,3-dichloro-5,6-dicyano- <i>p</i> -benzoquinone
DMAP	<i>N,N</i> -dimethyl-4-aminopyridine
DMSO	dimethylsulfoxide
IBX	2-iodoxybenzoic acid
KHMDS	potassium bis(trimethylsilyl)amide
LiHMDS	lithium bis(trimethylsilyl)amide
NaHMDS	sodium bis(trimethylsilyl)amide
PMB	<i>p</i> -methoxybenzyl
<i>i</i> -Pr	isopropyl
RXR	retinoid X receptor
TBAB	tetrabutylammonium bromide
TBAF	tetrabutylammonium fluoride
TBAI	tetrabutylammonium iodide
TBS	<i>t</i> -butyldimethylsilyl
THF	tetrahydrofuran
Ts	<i>p</i> -toluenesulfonyl
VDR	vitamin D receptor
VDRE	vitamin D responsive element

# 第一章 序論

## 背景

ビタミン D<sub>3</sub> (1) は 1925 年に抗くる病因子として発見され、哺乳類の生体内カルシウム代謝に必要なホルモンであることが明らかとなった (Fig. 1). 1970 年代になって、その活性本体は生体内でヒドロキシ化を受けた 1 $\alpha$ ,25-ジヒドロキシビタミン D<sub>3</sub> [1 $\alpha$ ,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>] (2) であることが解明された (Fig. 1). 1 $\alpha$ ,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> (2) はカルシウム恒常性に重要な役割を担う<sup>1-6)</sup>. その後数多くの研究により、ビタミン D<sub>3</sub> はカルシウム代謝だけでなく、細胞の分化誘導や増殖など細胞の機能調節に深く関わっていることが明らかとなった<sup>1-6)</sup>. ビタミン D<sub>3</sub> の様々な生理活性が明らかとなって以来、多くの 1 $\alpha$ ,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> (2) 類縁体が化学合成され、医薬品開発を主眼に、活性の向上、血中 Ca 濃度の上昇作用と目的とする作用の分離を目指して盛んに研究が行われている<sup>17)8)</sup>. その結果、現在ではアルファカルシドール (3) をはじめ、大きく 3 つの領域、すなわち骨粗鬆症、乾癬、二次性副甲状腺機能亢進症の治療薬として医薬品開発が成功している (Fig. 2). その中で、例えばマキサカルシトール (6) は維持透析下での血清副甲状腺ホルモン (PTH) 低下作用が強い薬剤と言われている. ビタミン D<sub>3</sub> のような生理活性物質に関しては、このように有機化学合成による構造の微細な変換を行うと、骨代謝作用、PTH 産生抑制作用などの薬理活性に大きな影響を及ぼすことから、その構造変換により種々の疾患に適した性質の化合物を創製できる可能性があることを示している.

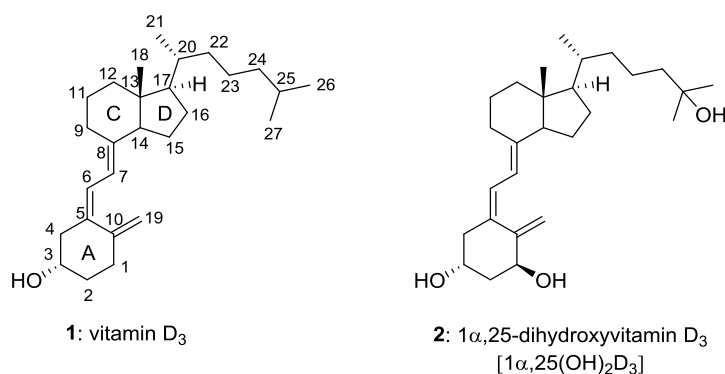
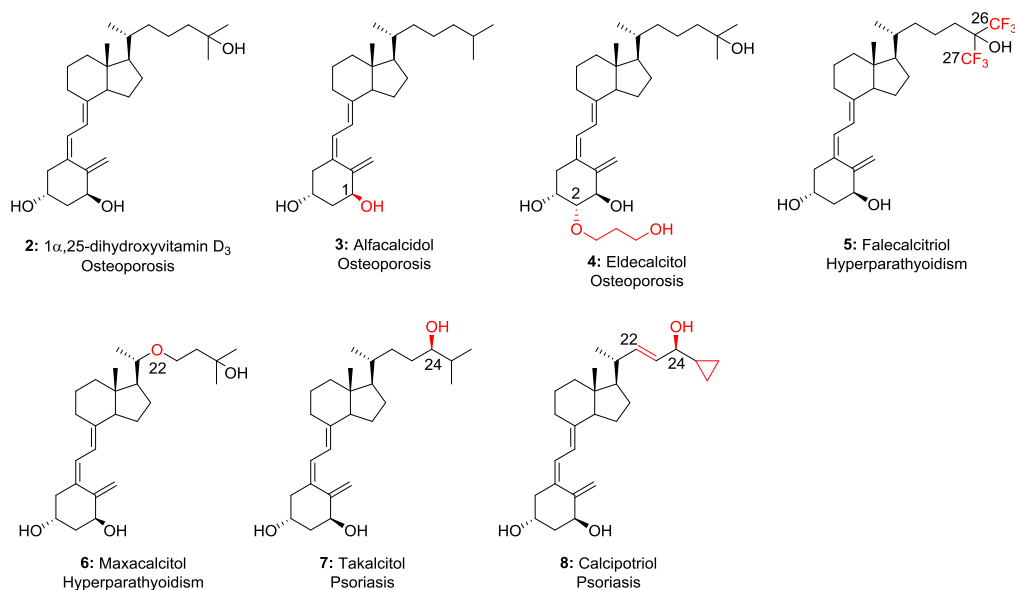


Fig. 1 Chemical structures of vitamin D<sub>3</sub> (1) and 1 $\alpha$ ,25-dihydroxyvitamin D<sub>3</sub> (2).



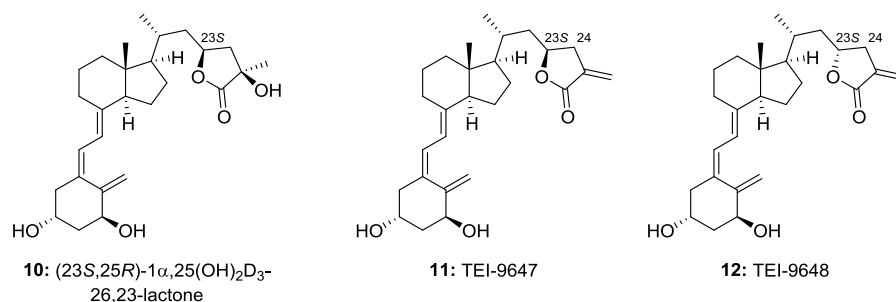
**Fig. 2** Vitamin D related drugs.

ビタミン D 製剤は古くは 1981 年に承認され、新しいものでは 2013 年に承認されたものがあるが、いずれも高カルシウム血症が副作用として懸念される。高カルシウム血症は 1 $\alpha$ ,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> (2) の持つカルシウム作用に起因するが、慢性的な高カルシウム血症は血管石灰化を促進し、高血圧や狭心症、心筋梗塞等の重篤な副作用をもたらす。ビタミン D 代謝物である 1 $\alpha$ ,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> (2) をもとに行われた研究によりリガンド結合様式など多くのことが解明されてきた。しかし、1 $\alpha$ ,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> (2) を基盤とした化学合成では完全な作用の分離はできておらず、有効性と安全性の面からビタミン D のカルシウム作用が分離した、疾患特異的なビタミン D 製剤の開発が望まれている。このように優れた化合物を創出することは現在もこの分野の目標の一つである。

### ビタミン D<sub>3</sub> の代謝

皮膚で生合成されたビタミン D<sub>3</sub> (1) あるいは小腸から吸収された食物由来のビタミン D<sub>3</sub> (1) は、特異的結合タンパク質 (vitamin D binding protein, DBP) に結合して、肝臓に運ばれる。主に肝臓で CYP27A1 あるいは CYP2R1 により 25 位がヒドロキシ化され<sup>7)</sup>、次に腎臓で CYP27B1 により 1 $\alpha$  位がヒドロキシ化され、活性型ビタミン D<sub>3</sub> である 1 $\alpha$ ,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> (2) が生じる (Fig. 3)。ビタミン D を代謝する酵素の中で生理的に重





**Fig. 5** Structures of 1 $\alpha$ ,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>-26,23-lactone analogues.

に少ない。また C-23 経路では C<sub>24</sub>-C<sub>25</sub> 結合が切断される反応も報告されている<sup>11)</sup>。24R 位をヒドロキシ化する経路では 6 段階でカルシトロン酸へ代謝する (**Fig. 4**)。これら代謝物は VDR 結合能をほとんど示さず、CYP24A1 は、不活性化酵素として 1 $\alpha$ ,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> (2) の生体内での存在量を調節する上で重要である。また、それ以外のビタミン D を代謝しうる酵素としては CYP3A4, CYP11A1, UDP-グルクロン酸転位酵素, 硫酸抱合酵素等が挙げられている。CYP11A1 は第三章で詳述するが、特徴的な性質を有する生理活性物質を生み出す。グルクロン酸抱合体や硫酸抱合体になると VDR 結合能は消失する。25 位水酸化酵素は CYP27A1 と CYP2R1 が存在し、動物種によっては他の CYP 分子種の寄与の方が大きい場合があるが、ヒトにおいては CYP2R1 が重要となる。2003 年、ヒト CYP2R1 の変異 L99P が、くる病を引き起こすことが報告された<sup>12)</sup>。一方、CYP27A1 遺伝子欠損はコレスタノールの蓄積により脳髄黄色腫症を引き起こすが、骨形成には特に大きな影響を及ぼさない<sup>13)</sup>。25 位ヒドロキシ化酵素はこの二つ以外にも報告されており主な薬物代謝酵素である CYP3A4 もその一つである<sup>14)</sup>。一方、1 $\alpha$  位ヒドロキシ化酵素は異なり、現在確認されているものは CYP27B1 のみである。CYP27B1 が発現する腎臓が、血中 1 $\alpha$ ,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> (2) の主な供給源であるが、他の組織、皮膚や骨芽細胞等においても CYP27B1 が発現し、腎外の CYP27B1 も生体内での調節に関与している<sup>15)</sup>。



## ビタミン D<sub>3</sub> の化学的性質

7-デヒドロコlesteroール (13) は、B 環部が 5,7-ジエン構造を持ち太陽光の光エネルギーを吸収し、ペリ環状反応の一つである電子環状反応と呼ばれる光化学反応を起こすことで B 環が開裂し、共役トリエン構造を有するプレビタミン D<sub>3</sub> (14) が生成する (Fig. 6)。この光反応は、紫外線の中でも UV-B (280-315 nm) の光が有効な反応であり、波長 295 nm が最も効率が良くプレビタミン D<sub>3</sub> (14) を生成する<sup>16)</sup>。ペリ環状反応のもう一つの反応の 1,7-シグマトロピー転位を介してプレビタミン D<sub>3</sub> (14) はビタミン D<sub>3</sub> (1) となる。この反応は平衡状態にあり体温付近ではビタミン D<sub>3</sub> (1) 側に大きく偏っており、温度のみに依存し、他の条件に影響されないとされる。プレビタミン D<sub>3</sub> は光により異性化しビタミン D<sub>3</sub> (1) 以外にも、ルミステロール (15) やタクシステロール (16) を生成する。これらの生成物には抗くる病活性はほとんどないが、ルミステロールには遺伝子を介さない生理作用が報告されている<sup>17)</sup>。

ビタミン D<sub>3</sub> は柔軟性の高い分子構造を有する。すなわち A 環部と側鎖部は多くの配座を取りうる。側鎖に関しては、炭素-炭素単結合の周りの回転により多くの配座が生成する。そのため側鎖、とくに 25 位ヒドロキシ基の存在位置は幅広い空間を占めることになる。1 $\alpha$ ,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> (2) の三つのヒドロキシ基は受容体結合に重要な役割を果たすが、配座によりその位置関係は大きく変化する。A 環部は二種イス型配座  $\alpha$ -form と  $\beta$ -form の速い平衡状態にあり、<sup>1</sup>H NMR 解析によると、およそ 1:1 の割合で存在してい

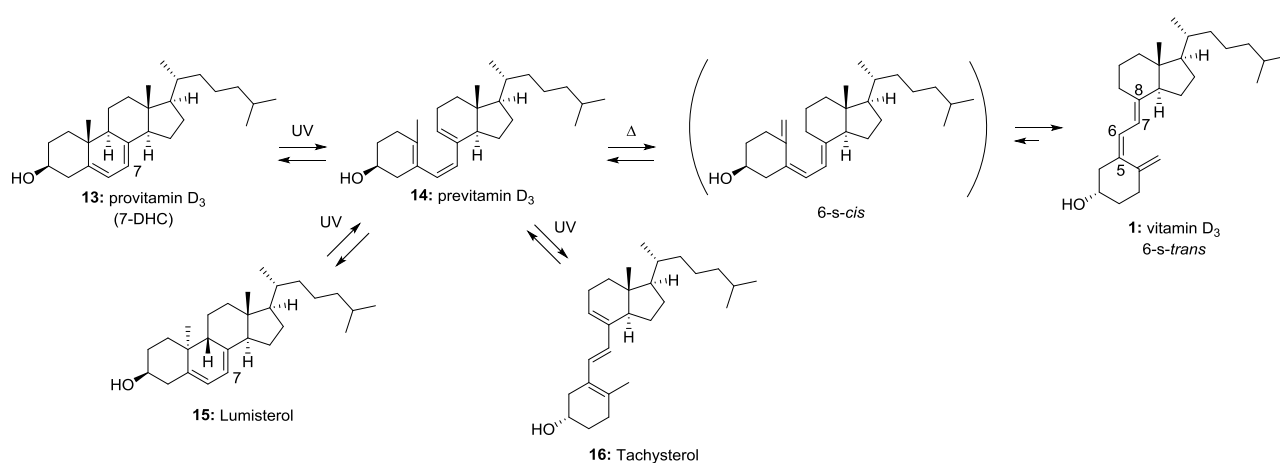
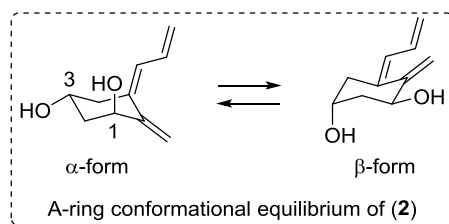


Fig. 6



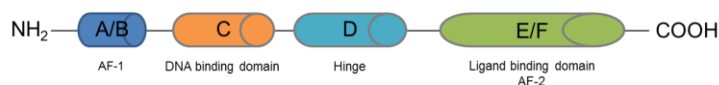
**Fig. 7** The A-ring of **2** and its related *seco*-steroids adopts two chair conformations,  $\alpha$ -form and  $\beta$ -form, and the conformational equilibrium can be estimated by using the vicinal coupling constants between protons at the C3 and C4 positions ( $J_{ax,ax} = 11.1$  Hz,  $J_{eq,eq} = 2.7$  Hz).

る (Fig. 7)<sup>18-20</sup>. 一方, CD 環部分は六員環と五員環が縮環したビシクロ環構造であり, この部分での大きなコンフォメーション変化はない. ステロイド骨格の B 環部が開裂した C5-C6-C7-C8 がなすジエン部分は共役しているため平面に近いが, X 線結晶解析などでジエン部の 4 つの炭素がなす二面角は平均して $\pm 8.5^\circ$  との報告がある<sup>21</sup>. C6-C7 の単結合は 6-*s-trans* 型が圧倒的優位に存在するが 6-*s-cis* 型でも存在する (Fig. 6). また, ジエン部とエキソメチレン部, すなわち C6-C5-C10-C19 がなす二面角は六員環イス型配座のため, 平均して $\pm 56^\circ$  との報告がある<sup>21</sup>. そのためビタミン D<sub>3</sub> 骨格はトリエン部を有するが, それらは相互作用はあるものの完全な共役系ではない.

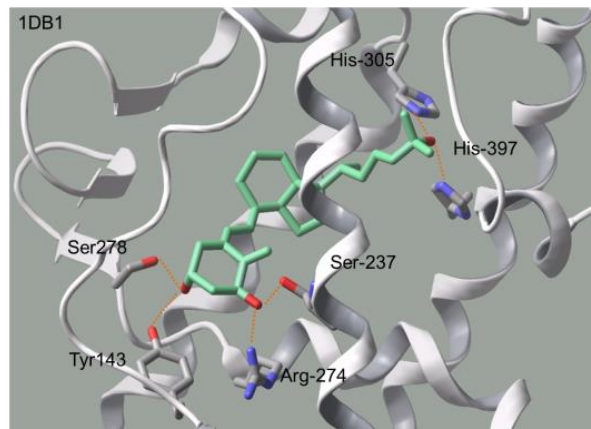
ヒト VDR と  $1\alpha,25(\text{OH})_2\text{D}_3$  (**2**) の複合体の結晶構造解析は 2000 年に報告された<sup>22</sup>. この結晶は安定化のため, ループ部分の 51 アミノ酸残基を除いたものであるが, 結晶中で A 環部は  $\beta$ -form にて受容体と結合していることが明らかとなった<sup>22</sup>. リガンド結合部位 (ligand binding domain, LBD) で  $1\alpha,25(\text{OH})_2\text{D}_3$  (**2**) の側鎖部, つまり C16-C17-C20-C22 のなす二面角はアンチ型ではなくゴーシュ型となっている. また, ジエン部の C5-C6-C7-C8 がなす二面角は  $-148.6^\circ$  であり, 柔軟な  $1\alpha,25(\text{OH})_2\text{D}_3$  (**2**) が受容体認識に重要であることがわかる. 現在では, 様々なリガンドを用いた複合体結晶が報告されているが, これは側鎖部を修飾したリガンドのみならず, イス型配座に影響を与える A 環部への修飾においても, 筆者が知る限りではすべて  $\beta$ -form にて結晶化している.

## 核内ビタミン D 受容体

ビタミン D<sub>3</sub> の活性発現に関わるタンパク質として最も重要なものに、核内 VDR がある。核内ステロイドホルモン受容体スーパーファミリーはヒトでは 48 種類存在し VDR はその一つである。VDR は他の多くの核内受容体と異なりサブタイプのない単一の受容体であり、 $1\alpha,25(\text{OH})_2\text{D}_3$  (**2**) やその代謝物の作用のほとんどは VDR を介する<sup>24)</sup>。VDR はリガンド依存的転写因子であり、リガンド依存的に転写共役因子群の解離や会合が起こる。このようなリガンド依存的な相互作用を介し、転写促進のみならず転写抑制も行う。VDR を含む核内ステロイド受容体群は、同じ遺伝子スーパーファミリーに属しており、一つの原初遺伝子から派生したため、受容体の構造、機能は類似している<sup>23)</sup>。すなわち受容体タンパクは、N 末端から C 末端に、機能的に共通する A~F までの領域がある (**Fig. 8**)。タンパク中央の C 領域に DNA 結合領域 (DNA binding domain, DBD) があり、DNA 配列を認識して結合する二つの Zn フィンガー構造が存在する。受容体タンパク C 末端付近の E 領域には LBD が存在する。VDR の LBD は 12 個の Helix から構成され、中央の疎水性ポケットをリガンドは認識して結合する。リガンド結合後の VDR は、Helix 12 が大きくシフトすることによりリガンドをホールドし、種々の転写共役活性化因子 (コアクチベーター) をリクルートできる構造となる。アンタゴニスト活性を有するリガンドは、側鎖部分をかさ高くすることや  $\alpha$ ,  $\beta$ -不飽和カルボニル構造等の導入により共有結合を形成させ、この Helix 12 の動きを阻害するとされる。結晶化された VDR リガンド結合領域は、一部のアミノ酸残基を除いた変異体でのみ、その立体構造が明らかとなっている。さらに、現在、報告されているものは VDR との複合体結晶であるが、実際には RXR とヘテロ二量化した状態で機能すると考えられる。2012 年には VDR-RXR 2 量体に DNA 結合サイトを含めた 3 量体の X 線結晶解析が報告された<sup>24-27)</sup>。



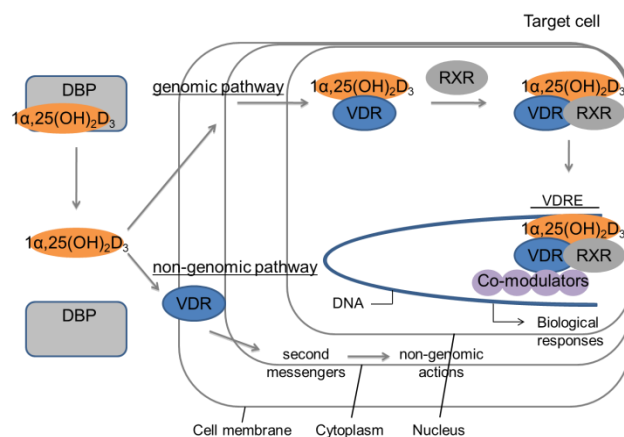
**Fig. 8** Primary structure of VDR and functional domains. The VDR belongs to the nuclear receptor super-family.



**Fig. 9** X-ray crystal structure of **2** bound to human VDR. (PDB ID: 1DB1)

この3量体の解析は、VDRを介した遺伝子発現におけるLBDとDBDとの間の協同的でアロステリックな効果を示唆している。さらに、この構造は、ヒンジ領域が複合体全体を安定化し得ることを示しており、LBDのHelix 12のコレギュレーターのリクルートを可能としている。測定技術の向上等で結晶化が困難であったVDR複合体の可視化が可能になり、VDRと共役因子を含めた構造的基礎の理解が進みつつある。ヒトVDRと $1\alpha,25(\text{OH})_2\text{D}_3$  (**2**)の複合体結晶では3つのヒドロキシ基はすべてVDRと水素結合を形成している<sup>22)</sup>。すなわち1位のヒドロキシ基はArg-274とSer-237と相互作用し、3位のヒドロキシ基はTyr-143およびSer-278と、25位のヒドロキシ基はHis-305とHis-397と水素結合を形成していた(**Fig. 9**)。

VDRはカルシウム調整に関わる腸や腎臓では高い発現量が認められるが、それ以外にも全身の様々な臓器や細胞種に発現しており、ビタミンDの様々な生理作用発現に関与していると考えられる<sup>3)4)</sup>。活性型ビタミンD<sub>3</sub> (**2**)の作用機序は、現在のところ二つに分けられる(**Fig. 10**)。一つは核内VDRを介する経路でgenomic pathwayと呼ばれる。もう一つは、細胞膜近傍のVDRもしくは未知の膜受容体を介して作用する経路でnon-genomic pathwayと呼ばれる。このnon-genomic pathwayは他のステロイドホルモン受容体にも存在している<sup>28)</sup>。genomic pathwayでは標的遺伝子発現を調節して、生理作用を発揮しており、ビタミンD作用の大半はこちらであると考えられる。一方、non-genomic pathwayはすみやかに起こる反応で、転写阻害剤の影響を受けないことか



**Fig. 10** VDR-mediated genomic action and putative non-genomic action.

らタンパク質合成を介さない作用と考えられる。non-genomic pathwayはL型Ca<sup>2+</sup>チャネルの開口や、膵臓β細胞からのインスリン分泌等がある。このnon-genomic pathwayでは1α,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> (2)の6-s-cis型が活性リガンドであると推測されている<sup>29)</sup>。さらに、近年MizwickiらはVDRのLDBの結晶構造解析結果を基に行った*in silico*解析により、1α,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> (2)の6-s-cis型に対するリガンド結合ポケット(VDR-alternative ligand binding pocket, VDR-AP)を報告している<sup>30)</sup>。このようにVDRを介した活性発現機構はgenomicやnon-genomicな作用やリガンドの結合ポケットなど、さらに解明すべき部分が多く存在する。

### ビタミンD<sub>3</sub>と疾患

ビタミンD<sub>3</sub> (1)は生体の恒常性維持にはたらき、ビタミンDの不足や生合成経路の障害は疾患を引き起こす。例えば、1α,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> (2)の生合成に関わる酵素の変異は、くる病発症に関わる。1α位ヒドロキシ化酵素であるCYP27B1の変異はこれまで多くの報告があり、ほとんどがくる病患者から見出されたものである<sup>31)</sup>。不活性化に関わるCYP24A1に変異が起こり過剰発現すると、活性型ビタミンD<sub>3</sub>の代謝が亢進してしまい前立腺癌や大腸癌のリスクが高くなる可能性がある。実際に多くの癌患者においてCYP24A1の過剰発現が観察されている<sup>32)</sup>。また、糖尿病やメタボリックシンドローム

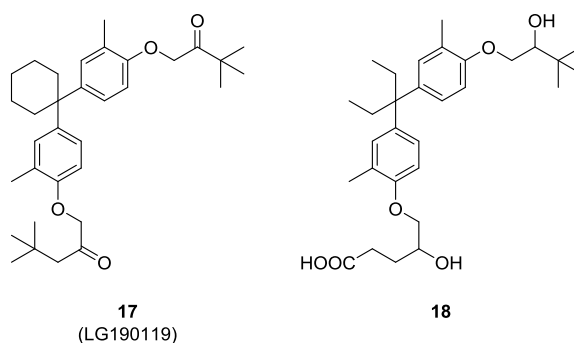
**Table 1** Vitamin D related diseases.

Biological activity	Related diseases
Intestinal calcium absorption Bone remodeling	Rickets, Osteomalacia, Osteoporosis, Secondary hyperparathyroidism
Cell cycle regulation	Psoriasis
Cell proliferation inhibition	Cancer
Stimulate synthesis of antimicrobial peptides	Increased prevalence of infection; e.g. tuberculosis
Facilitate insulin secretion	Impaired glucose tolerance and type-II diabetes

ムを発症する可能性が高い肥満者では、 $25(\text{OH})\text{D}_3$  (**9**) レベルが低い。脂肪細胞は VDR を発現し、 $1\alpha,25(\text{OH})_2\text{D}_3$  (**2**) は脂質生成に関与する<sup>33)</sup>。糖尿病では、ビタミン D 欠乏とインスリン抵抗性は相関が見られる<sup>34)</sup>。さらに **Table 1** に示すように骨や癌等以外にもビタミン D が治療薬となり得る疾患が考えられる<sup>35)</sup>。しかし、これらの疾患に対し目的の作用を得られる量のビタミン D を投与すると高カルシウム血症を引き起こしてしまう。ビタミン D を治療薬として用いる際、安全性の面からもカルシウム作用の分離が望まれるが、適応を拡大すると考えた際も作用分離が課題となる。

### ビタミン D 受容体リガンドの創製

活性型ビタミン  $\text{D}_3$  誘導体の合成方法は、大きく二つに分類できる<sup>36)37)</sup>。一つ目は生合成経路に基づきコレステロールを開裂させて合成する (linear synthesis) である。この方法はステロイド系化合物やビタミン D 系化合物が原料として得られやすいことから工業的合成においてよく用いられ、現在使用されているビタミン D 製剤はこの方法で合成されている。二つ目はビタミン D 誘導体を A 環部と C 環部および側鎖部に相当する部分をあらかじめ別々に合成してからカップリングする (convergent synthesis) である。コンバージェント法では、個々のセグメントで構造修飾を行えるため誘導体合成に際し有用であり、実験室レベルでは主にこの方法が用いられる。それ以外にも、作用分離や代謝プロファイルの向上を目的にセコステロイド型リガンドから脱却したビスフェニルメタン型誘導体 (**17**) (**18**) 等も VDR リガンドとして報告されている<sup>38)39)</sup>。



**Fig. 11** non-secosteroidal VDR ligands.

### 本研究の目的

これまでのビタミン D<sub>3</sub> (1) の創薬研究の取り組みは 1 $\alpha$ ,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> (2) に偏向しすぎていた傾向がある。生体内ではまだ役割が不明なビタミン D 代謝物が多くあり、これらが生体の恒常性維持を担っている可能性も否定できない。代謝物は (2) と物理化学的な面や生理的役割の面においても性質が異なる。したがって、新たな相互作用や別の活性発現機構を介して生理活性を発現している可能性がある。つまり、代謝物の役割を明らかとすることは新しい側面からの活性発現機構への理解に繋がると考えられる。例えば、近年報告された CYP11A1 代謝物である 20 位ヒドロキシビタミン D<sub>3</sub> は、ビタミン D 類縁体でありながら、カルシウム作用は弱く、分化誘導能では (2) と同等であると報告されている<sup>85)89)</sup>。この作用は VDR を介すると推定されているが、カルシウム作用が減弱する作用機序は不明である。また、生体内で役割を担っている 1 $\alpha$ ,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>

(2) のような活性代謝物の発見はその分野の研究を大きく進展させることが期待できる。そこで、有機化学的なアプローチによる活性代謝物の探索と新機能の付与を検討した。ビタミン D 研究では、1 $\alpha$ ,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> (2) を中心とした構造活性相関は膨大な数が報告されているが、(2) と同程度あるいは少し弱い活性の代謝物に関して体系的な研究はほとんど報告されていなかった。代謝物一つだけでは、分子作用機序にどのような変化が起きたか推測するのは困難だが、有機化学合成された誘導体ライブラリーの構築は、代謝物の持つ有利な性質について考察するための重要な知見を与える。

そこで、本研究ではビタミン D 類縁体の有する様々な生理作用を制御するために、

ビタミン D 代謝物を基盤とした新しい分子創製を試みた。ビタミン D<sub>3</sub> (1) の活性代謝物である 1 $\alpha$ ,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> (2) を基にした研究により多くの発見があったように代謝物を基盤とした研究はビタミン D に関する新しい知見や有利な構造修飾を見いだすことができると考えられる。つまり、代謝物間に生物活性の相違があることに基づき、代謝物に特徴的な構造を取り入れた誘導体設計を行い、活性発現に関わる最も重要なタンパク質である VDR との関係について考察した。さらに、本研究は大きく二つのことに関して研究を行った。一つは、これまでにない官能基を有する誘導体の合成法の確立と、代謝物研究において重要となる立体化学決定について検討した。すなわち、第二章ではオキセタンを用いて今後、合成研究や代謝物研究において有利となる知見や手法を確立した。もう一つは、上述したビタミン D 代謝物を基盤とした新しい分子創製を試みた。すなわち、第三章では CYP11A1 代謝物である 20S-ヒドロキシビタミン D<sub>3</sub> に関して体系的な構造活性相関について検討した。



## 第二章 スピロオキセタン構造を有する ビタミン D 誘導体の合成に関する研究

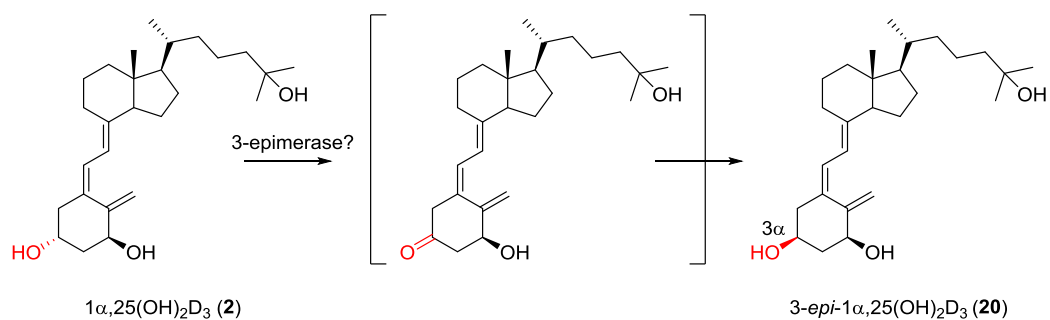
(本章の内容に関しては一部 *Tetrahedron letters*, **2014**, 55, 3805-3808 に発表済み)

### 1. 序論

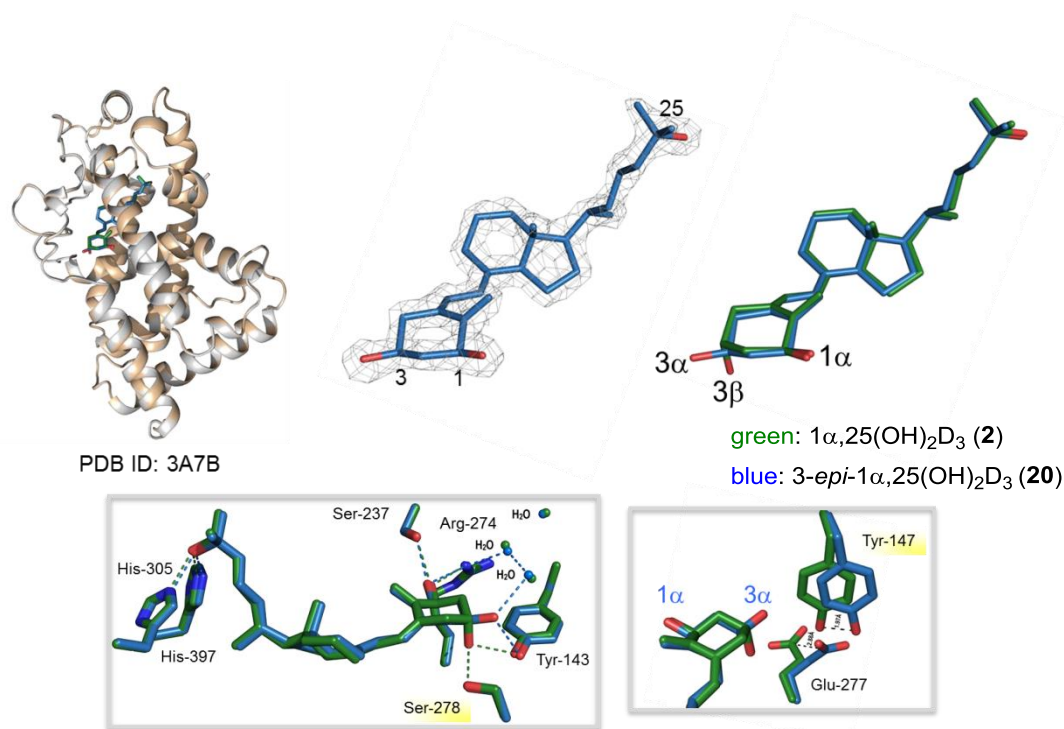
$1\alpha,25(\text{OH})_2\text{D}_3$  (**2**) と VDR 複合体の X 線構造解析により、リガンド結合領域 (LBD) において、 $1\alpha,25(\text{OH})_2\text{D}_3$  (**2**) の 3 つのヒドロキシ基は、それぞれ二つのアミノ酸残基と重要な水素結合を形成することが示された<sup>22)</sup>。A 環  $1\alpha$  位ヒドロキシ基は Ser-237 と Arg-274 と水素結合し、 $3\beta$  位ヒドロキシ基は Tyr-143 と Ser-278 と水素結合することで、受容体との安定な複合体形成に寄与している<sup>22)</sup>。これらヒドロキシ基の立体化学は厳密に認識され、一般にエピ化は VDR 親和性を減弱させる。しかし、 $1\alpha,25(\text{OH})_2\text{D}_3$  (**2**) の 1 位エピマー、すなわち  $1\beta$  位ヒドロキシ基を有する誘導体 (**19**) は、 $1\alpha,25(\text{OH})_2\text{D}_3$  (**2**) の 500 分の 1 に VDR 親和性が大きく低下するのに対し、3 位エピマー、すなわち  $3\alpha$  位ヒドロキシ基を有する代謝物 [3-エピ- $1\alpha,25$ -ジヒドロキシビタミン  $\text{D}_3$ , 3-*epi*- $1\alpha,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ ] (**20**) は  $1\alpha,25(\text{OH})_2\text{D}_3$  (**2**) の 4 分の 1 の VDR 親和性を保持しており、親和性への寄与には大きく差があることが知られていた<sup>1)40)</sup>。

近年、ビタミン D の新しい細胞特異的代謝経路として、 $3\beta$  位ヒドロキシ基が  $3\alpha$  位ヒドロキシ基に変換される 3 位エピ化が報告された<sup>41)</sup>。生体内における 3 位エピ化の役割は未だ不明であるが、 $1\alpha,25(\text{OH})_2\text{D}_3$  (**2**) のみならず 25-ヒドロキシビタミン  $\text{D}_3$ [ $25(\text{OH})\text{D}_3$ ] (**9**)、他の誘導体においても生成が報告されており、その変換機構には 3 位ケト体を經由することが示唆されている (**Fig. 12**)<sup>41)</sup>。この 3 位エピ化によって生じる  $3\alpha$  位ヒドロキシを有する誘導体は、ビタミン  $\text{D}_3$  類縁体の主な不活性化酵素である CYP24A1 抵抗性を示す<sup>42)43)</sup>。したがって、 $3\alpha$  位ヒドロキシ基を有する誘導体、さらには 3 位ヒドロキシ基に関する誘導体は、VDR 親和性をある程度保持しながら CYP24A1 代謝に抵抗するので、作用持続性の高い構造修飾となり得ると考えた。

2011 年には、 $1\alpha,25(\text{OH})_2\text{D}_3$  (**2**) の 3 位エピマー (**20**) と VDR との複合体結晶の X



**Fig. 12** Epimerization of C3-hydroxy group.



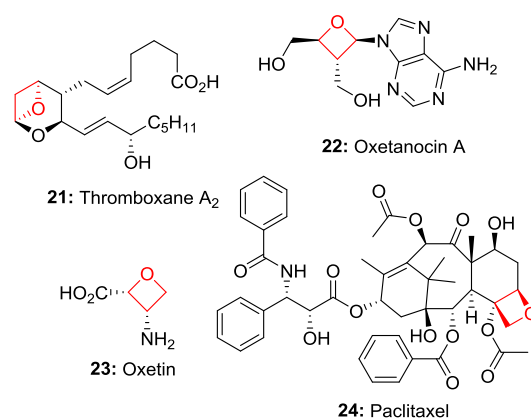
**Fig. 13** The X-ray crystal structure of  $3\text{-epi-}1\alpha,25\text{-dihydroxyvitamin D}_3$  (**20**) in complex with the vitamin D receptor<sup>41</sup>.

線構造解析が報告された (**Fig. 13**)<sup>41</sup>). 3位エピマー (**20**) においても  $1\alpha,25(\text{OH})_2\text{D}_3$  (**2**) と同様に、A環1α位ヒドロキシ基は二つのアミノ酸残基と水素結合を形成するが、エカトリアル位を占める3α位ヒドロキシ基はTyr-143との水素結合を保持するものの、Ser-278との水素結合を失う (**Fig. 13**)<sup>41</sup>). 加えて、3位エピマー (**20**) がある程度のVDR親和性を保持していることから、3位付近には置換基導入を許容する空間が存在しているものと考えられる。これまでA環部ヒドロキシ基の修飾はヘテロ原子置換や

立体異性体の合成などが行われてきた。1 $\alpha$ 位をフッ素で置換した誘導体は分化誘導能やVDR親和性をある程度維持する<sup>7)</sup>。1 $\alpha$ ,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> (2)の1位エピマー[1 $\beta$ ,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>] (19)は、DBPに対する結合性は上昇するが、VDR親和性は大幅に減弱し、transcaltachiaと呼ばれるnon-genomicな小腸Ca吸収作用を抑制することが報告されている<sup>44)</sup>。そこで、ビタミンD受容体を介した活性発現機構にて、1位、及び3位ヒドロキシ基の立体化学が果たす役割について着目した。すなわち立体化学に起因した水素結合様式の変化は異なる挙動を示す生理活性物質を生み出す。そこで、A環1位、及び3位近傍の付加的空間を利用して、水素結合様式を変化させる構造修飾が生物活性に与える影響を調べるため、これらヒドロキシ基のこれまでにない修飾を検討することにした。

付加的空間を利用し水素結合様式を変化させる構造修飾としてカルボニル基やエピメリ化が起こるヒドロキシ基を4級炭素にするなどが考えられる。カルボニル基は水素結合能を有しており、不斉を消失させ特徴的な活性を示す可能性もある。しかし、3位エピ化ではケト体の経路が示唆されるなど生体内で不安定であると推定されるが付加的空間を占めるような修飾とはならないであろう。4級炭素となるようにした場合、例えば3 $\alpha$ 位の水素をメチル基に変換すれば付加的な空間を占め疎水的相互作用により受容体との親和性上昇が期待できるが水素結合様式については検討することができないと考えられる。そこで両者の条件を満たす修飾として環状エーテルの導入を検討した。

一般的に三員環や四員環は不安定であり、五員環、六員環は安定である。ヘテロ四員環化合物であるオキシタンは三員環(オキシラン)と同じように高い環ひずみエネルギー(オキシラン 112 kJ/mol, オキシタン 106 kJ/mol)<sup>45)</sup>を有しているため求核剤による開環に対して高い反応性を示す。しかし、オキシタンは三員環よりもひずみが減少しているため、エポキシドより反応性は低く単離することが可能である。生物活性を有する天然物にもオキシタンは存在する(Fig. 14)。例えばトロンボキサンA<sub>2</sub> (21)は分子内にオキシタン環があり生体内で血小板凝集や血管収縮作用を有する。土壌細菌の*Bacillus megaterium*から単離されたオキシタノシンA (22)はHIVウイルスの*in vivo*での複製を阻害する<sup>46)47)</sup>。オキシチン (23)は*Streptomyces*属のOM-2317から単離さ



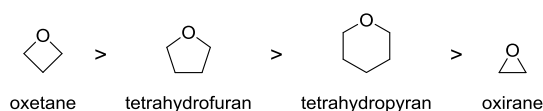
**Fig. 14** Oxetane-containing natural products.

れた化合物で抗菌活性を有する<sup>48)</sup>。さらによく知られているパクリタキセル (**24**) はセイヨウイチイ (*Taxus brevifolia*) の樹皮から単離され癌化学療法に用いられている。

また、環状飽和炭化水素のシクロブタンと、ヘテロ原子を含有するオキセタンは、同じ四員環であるが環配座が異なる。つまり、シクロブタン環はすべて炭素で構成されているため、存在する水素の立体的な反発により一つの炭素原子は残る三つの炭素原子がなす平面より約 25°ひずんでいる。一方、オキセタンは環の一つが酸素原子に置換された構造を持つことからシクロブタンよりひずみが解消され、より平面に近い構造となる<sup>49)</sup>。ケンブリッジ結晶構造データベース (CSD) にあるオキセタン構造を含む化合物の X 線結晶解析をした報告によると、3 位が置換されているオキセタンの ring puckering の平均値は 7.9° であった<sup>50)</sup>。置換されていないオキセタン環の ring puckering は 140 K で 8.7° , 90 K で 10.7° であった (**Table 2**)。このとき結合距離は 90 K で炭素-酸素結合は 1.46 Å, 炭素-炭素結合は 1.53 Å で、結合角は 90.2° (C-O-C), 92.0° (C-C-O), 84.8°

**Table 2** Structural properties of oxetane based on the X-ray crystal structure at 90K<sup>37)</sup>.

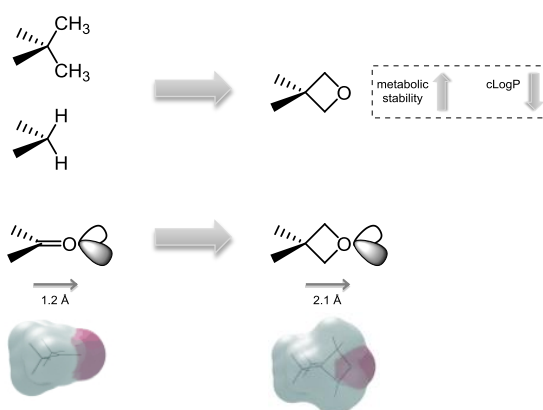
angle	length	ring puckering
C-O-C 90.2°	C-O 1.46 Å	10.7°
O-C-C 92.0°	C-C 1.53 Å	
C-C-C 84.8°	C-H 0.97Å	



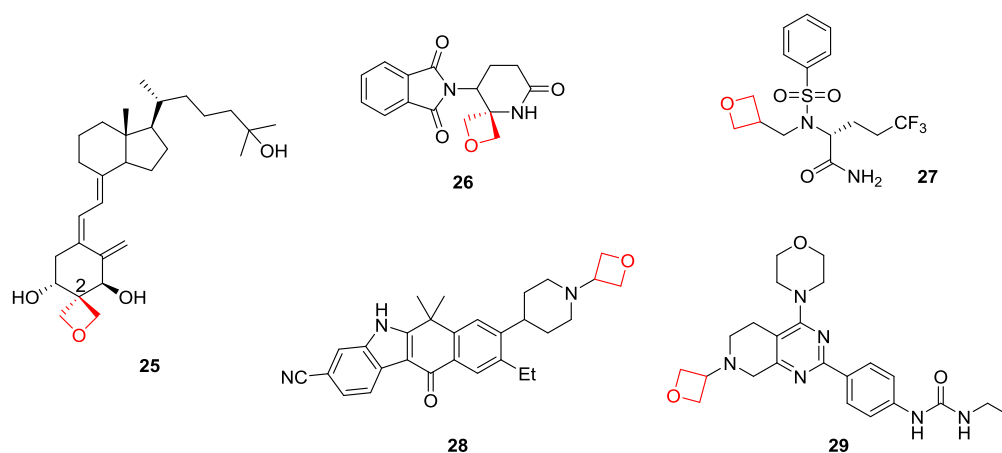
**Fig. 15** Comparison of cyclic ethers as hydrogen bond acceptors.

(C-C-C) となっている<sup>37)</sup>。歪んだ C-O-C 結合角は、酸素の孤立電子対を曝け出し、優れた水素結合受容体およびLewis塩基として作用することを可能にしている<sup>51)</sup>。環状エーテルは環の大きさが減少するにつれて、酸素の孤立電子対の軌道の S 性が高まるが、エポキシド以外は水素結合能に大きな影響はない。従って水素結合受容体とした場合、環状エーテルは、立体ひずみが少なく構造的に安定なテトラヒドロフラン、テトラヒドロピランよりも、オキセタンの方が効果的な水素結合受容体となる (**Fig. 15**)<sup>52)53)</sup>。環状エーテルではなく、他の水素結合能のある官能基、脂肪族ケトン、アルデヒド、エステルなどと比較してもオキセタンは優れた水素結合受容体として機能する<sup>54)</sup>。例外としてアミドはオキセタンより優れた水素結合受容体となる<sup>55)</sup>。

オキセタンは高い環のひずみエネルギーを有しており、重合性が高いことからモノマーとして利用され、オキセタンの置換基の違いによる重合性などが研究されている<sup>56)57)</sup>。さらに近年、四員環状エーテルであるオキセタンは、創薬分野での研究が始まってきている。Wuitschik らの研究では、オキセタンは *gem*-ジメチル基と同程度のファンデルワ

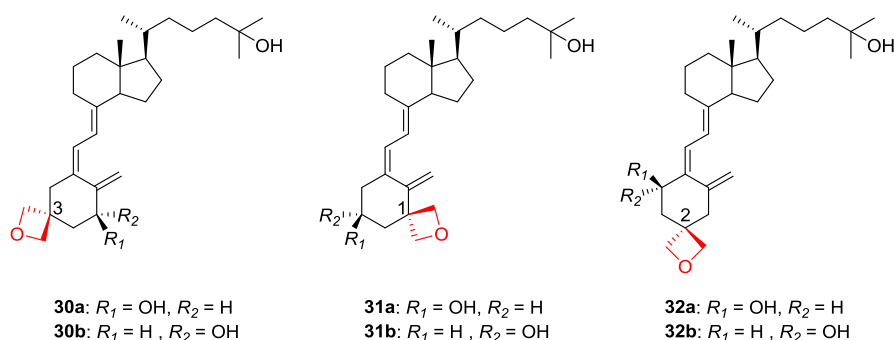


**Fig. 16** Oxetane structure as a bioisostere.



**Fig.17** Synthesized oxetane analogues.

ールス体積を占める<sup>58)</sup>. さらに *gem*-ジメチル基をオキセタンに変えると、多くの場合で代謝抵抗性が上がると報告している<sup>58)</sup>. ケトンからの変換についても同様の傾向がみられる. つまり、四員環状エーテルであるオキセタンは、*gem*-ジメチル基とカルボニル基の性質を合せ持ち、カルボニル基に相当する水素結合能を有した代謝安定性の高い官能基となる (**Fig. 16**)<sup>50)58-60)</sup>. これまで当研究室では、水素結合能と疎水性部位をあわせもつこのユニークな構造を利用すべく、 $1\alpha,25(\text{OH})_2\text{D}_3$  (**2**) の A 環 2 位にスピロオキセタンを導入した誘導体の合成を報告した (**Fig. 17**)<sup>61)62)</sup>. ウシ胸腺 VDR を用いた親和性試験の結果、親和性は  $1\alpha,25(\text{OH})_2\text{D}_3$  (**2**) に比べ減弱するものの、オキセタンを導入した誘導体 (**25**) とその立体異性体において、オキセタン環が  $1\alpha$  位ヒドロキシ基の役割を一部補助していたことから、四員環状エーテルがヒドロキシ基の代替となる可能性が示唆された<sup>61)62)</sup>. また、2013 年に Burkhard らは、サリドマイドにおいて、 $\alpha$  位に不斉中心を持つカルボニル基をオキセタンへと変換することで、*in vitro* での他の性質をほとんど変えず、異性体化を防ぎ、ヒト血漿中での安定性を増加させた誘導体 (**26**) を報告している (**Fig. 16**)<sup>63)</sup>. その他にも様々なオキセタン誘導体が報告されてきている (**Fig. 17**)<sup>64)</sup>. しかしながら、オキセタンはカルボニル基の代替として利用されるが、これまでにヒドロキシ基の代替として導入された例はない. 生理活性物質においてヒドロキシ基の代替として機能するならば医薬品設計に有用な官能基の一つとなると考え



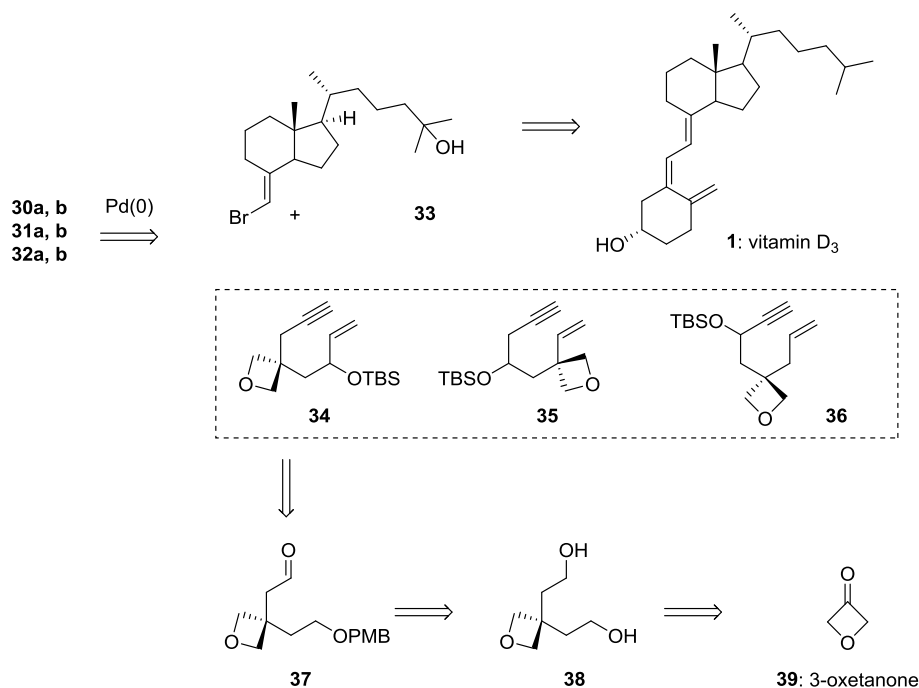
**Fig. 18.** Chemical structures of spiro-oxetane analogues (30-32).

られる。また、活性発現に重要なビタミン D<sub>3</sub> の A 環部ヒドロキシ基は、これまで有効な官能基変換に成功した例はない。本研究では 1 位または 3 位ヒドロキシ基をこれまで述べた有利な効果を期待しスピロオキセタン構造への修飾を試みることにした (Fig. 18)。3 位へのオキセタン導入は、水素結合能を持ったカルボニル基に比較して安定な官能基としてだけでなく、メチレン部位の疎水性アームは 3 位近傍に存在する疎水性アミノ酸残基、例えば Tyr-147 との相互作用が期待できる。また、対称なオキセタン導入は不斉を減じ、ヒドロキシ基の立体化学に起因する問題を減じる観点からも有利であると考えた。そこで、A 環部ヒドロキシ基の代替としてスピロオキセタン構造を有する活性型ビタミン D<sub>3</sub> 誘導体を設計し、その効率よい合成法の確立を行った。

## 2. 逆合成解析

スピロオキセタン構造を持つ新規誘導体は、鎖状の A 環部前駆体 (34-36) と側鎖部を含む CD 環部 (33) を、パラジウム触媒を用いてカップリングする収束的方法にて合成を計画した (Scheme 1)<sup>65</sup>。オキセタン導入により残るヒドロキシ基の役割への影響を考慮しジアステレオマーも合成する。よって鍵となるオキセタンを有する新規 A 環部前駆体 (34-36) は、ラセミ体で合成し CD 環部とカップリング後それぞれジアステレオマー混合物を分離して誘導体を合成する。

分離後、残るヒドロキシ基は絶対配置を決定する必要がある。そこでビタミン D<sub>3</sub> の構造を利用した構造決定を検討する。すなわち、発色団であるトリエン部を利用できる



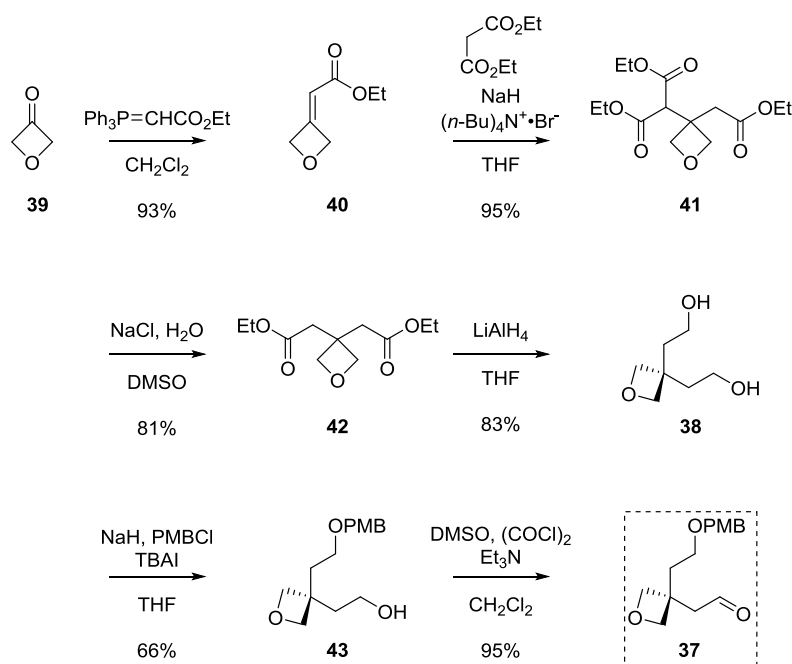
**Scheme 1** Retrosynthetic analysis of the spirocyclic *seco*-steroids **30-32**.

励起子キラリティー法を用いる。近年、ビタミン D 代謝物において 4 位がヒドロキシ化された例が報告された<sup>66)67)</sup>。ビタミン D やその類縁体の代謝では A 環部や CD 環部などにヒドロキシ化が起こることが多く、励起子キラリティー法を用いれば未知代謝物の絶対配置決定が可能である。しかしながら、ビタミン D 類縁体の構造決定に体系的な方法は報告されていない。一方、共通中間体からはさらなる構造展開が可能である。そこで立体化学決定のさらなる傍証となり、合成が可能な 2 位オキセタンを有する 4 位ヒドロキシ体の合成にも着手する。新規 A 環部前駆体 3 種は対称なペンタンジオール誘導体、3,3-bis(2-hydroxyethyl)oxetane (**38**) から導くこととし、その出発原料には 3-oxetanone (**39**) を選択した。

### 3. 共通中間体の合成

ビタミン骨格の構築に必要な A 環部エンイン前駆体 **34-36** の合成にあたり、まずは 3-oxetanone (**39**) から、四工程にて 3,3-bis(2-hydroxyethyl)oxetane (**38**) への変換を行った<sup>60)</sup>。3-oxetanone (**39**) に[(ethoxycarbonyl)methylene]triphenylphosphorane を反応させ、



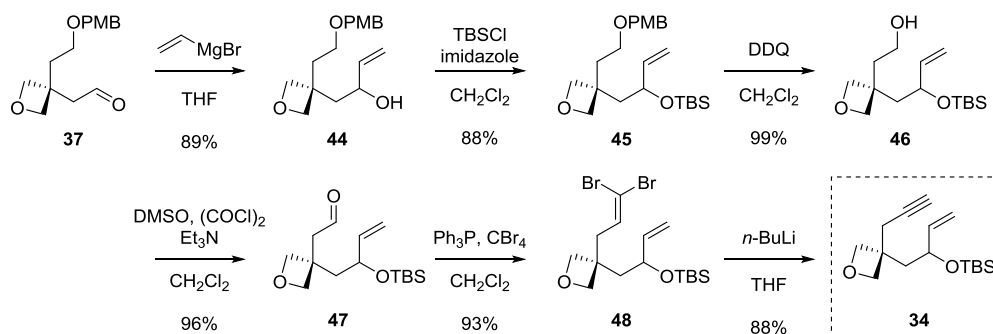


**Scheme 2** Synthesis of intermediate aldehyde **37**.

$\alpha,\beta$ -不飽和エステル体 (**40**) を収率 93%で得た. 次いで, マロン酸ジエチルに水素化ナトリウムを作用させて得られるカルバニオンの,  $\alpha,\beta$ -不飽和エステル体 (**40**) に対する Michael 付加反応により, 収率 95%にて付加体 (**41**) に導いた. さらに, この付加体 (**41**) に塩化ナトリウムと少量の水を加えて DMSO 溶液中 160 °C に加熱し, 収率 81%にてジエステル (**42**) へと変換した. 最後に, 水素化アルミニウムリチウムを用いて, ジエステル (**42**) を還元することにより, 出発原料となる 3,3-bis(2-hydroxyethyl)oxetane (**38**) を得た. 次に, 対称な 3,3-bis(2-hydroxyethyl)oxetane (**38**) の第一級ヒドロキシ基の一方を, *p*-メトキシベンジル (PMB) 基にて保護し, 保護体 (**43**) を収率 66%で得た. (**38**) を水素化ナトリウム処理後に塩化 *p*-メトキシベンジルを加える条件では, オキセタン開環に続いて五員環エーテルに閉環した副生成物が確認できたため, 水素化ナトリウムを後に加える方法に変更したところ, 収率 66%までの改善が見られた. 保護体 (**43**) は Swern 酸化により収率 95%にて共通中間体であるアルデヒド (**37**) へと導いた (Scheme 2).

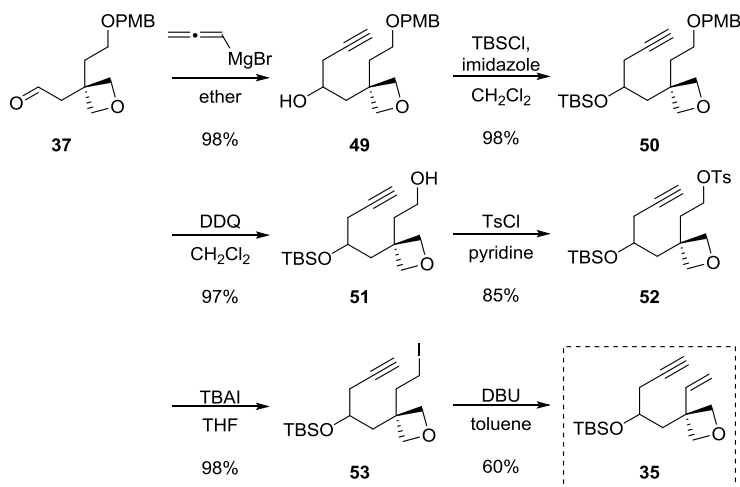
#### 4. 3位にオキセタン構造を有するA環部前駆体の合成

アルデヒド (37) に Grignard 反応にてビニル基を導入し、化合物 (44) を収率 89% で得た。第二級ヒドロキシ基を *t*-ブチルジメチルシリル (TBS) 基を用いて収率 88% にて保護し、第一級ヒドロキシ基上の PMB 基を 2,3-ジクロロ-5,6-ジシアノ-*p*-ベンゾキノ (DDQ) を用いて脱保護し、化合物 (46) へと収率 99% にて導いた。さらに、Swern 酸化して収率 96% で得られたアルデヒド (47) を Corey-Fuchs アルキン合成反応に付し<sup>68)69)</sup>、ジブロモ体 (48) を経由して二工程収率 82% にて、 $\alpha,\omega$ -エンイン体 (32) を合成した。結果、既知化合物の 3,3-bis(2-hydroxyethyl)oxetane (37) より八工程、収率 38% にて目的の A 環部エンイン前駆体 (34) の合成が完了した (Scheme 3)。

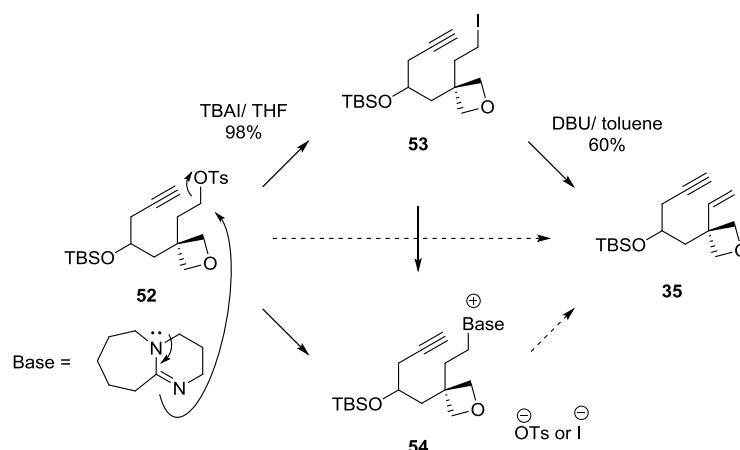


Scheme 3 Synthesis of the A-ring enyne precursor 34.

#### 5. 1位にオキセタン構造を有するA環部前駆体の合成



Scheme 4 Synthesis of the A-ring enyne precursor 35.



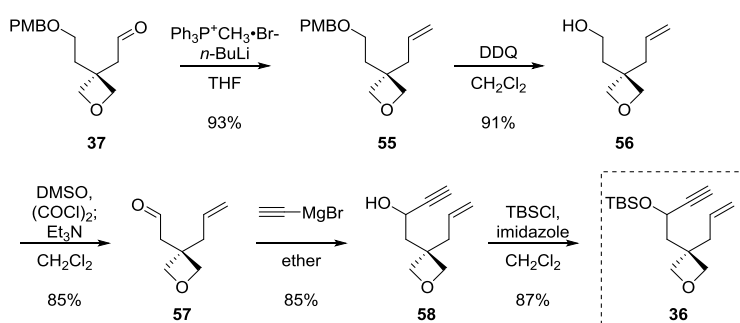
Scheme 5

共通中間体 (37) に、別途ブロム体より調製したアレニルマグネシウムブロミドと反応させプロパルギル基を導入した化合物 (49) を収率 98%にて得た。第二級ヒドロキシ基を TBS 基にて収率 98%で保護し、第一級ヒドロキシ基上の PMB 基を DDQ により脱保護し、化合物 (51) へと収率 97%にて導いた。第一級ヒドロキシ基をトシル化し収率 85%でトシル体 (52) へと導いた (Scheme 4)。トシル体 (52) に塩基を作用させて脱離反応により二重結合の構築を試みた (Scheme 5)。その結果、DBU, DBU, DMAP, LiHMDS, *t*-BuOK やトルエン、ピリジン、THF などの組み合わせでは加熱をしても反応は進行せず、オキセタン構造を持った原料が回収された。反応性を向上させるため NaI や TBAI を添加して反応を行ったところ、TLC 上でヨード体と推定されるスポットと目的化合物のスポットが確認できた。しかし、TLC 上では原料、ヨード体、目的物の 3 種類があり、後処理すると収率は 30-40%であった。反応が進行するにつれ TLC 上の原点にスポットができており、フラスコ内でも沈殿物が確認できた。この沈殿物の NMR や MS を測定した結果、塩基である DBU が求核置換したと予測される化合物 (54) が得られた。この化合物は脱離基と塩を形成していると考えられ、抽出操作後はほとんど有機層には含まれない。また溶媒にキシレンを用いた reflux 条件下では目的化合物 (35) は得られなかったが、オキセタン構造は保持されていた。オキセタン近傍は立体障害が大きく、脱離反応が進行しないこと、置換されたオキセタン環は塩基に対し比較的安定

であることが明らかとなった。副反応はトシル体 (52), ヨード体 (53) 両方で進行するが目的化合物 (35) は TBAI などの添加剤がないと進行しないことからヨード体 (53) を経て生成していると予測した。そのため原料をさらにヨード体へと変換した後に塩基を作用させることで収率 60%まで改善できた (Scheme 5)。結果, 化合物 (37) より八工程, 収率 29%にて目的の A 環部エンイン前駆体 (35) の合成が完了した (Scheme 4)。

## 6. 2位にオキセタン構造を有する A 環部前駆体の合成

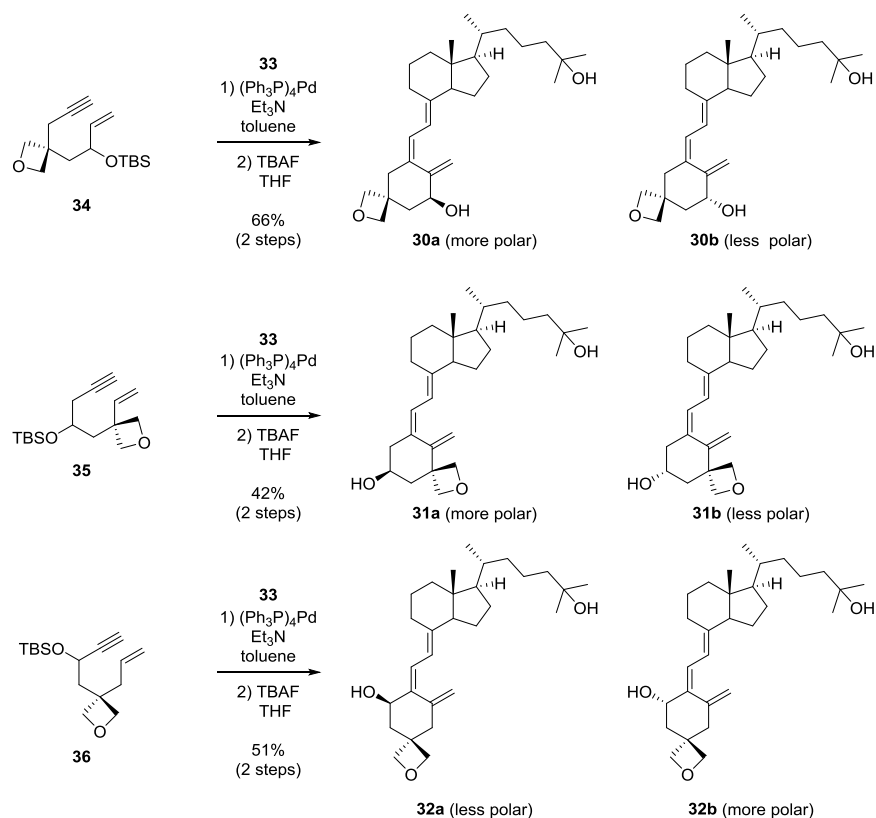
アルデヒド (37) を Wittig 反応に付し, 化合物 (55) を収率 93%で得た。第一級ヒドロキシ基上の PMB 基を DDQ を用いて収率 91%で脱保護し, さらに Swern 酸化により収率 85%で導いたアルデヒド (57) にエチニルマグネシウムブロミドを反応させ, エチニル基を導入した化合物 (58) を合成した。第二級ヒドロキシ基を TBS 基で保護し目的の A 環部前駆体を化合物 (36) より七工程の収率 33%で合成が完了した (Scheme 6)。



Scheme 6 Synthesis of the A-ring enyne precursor 36.

## 7. カップリングによる新規誘導体の合成

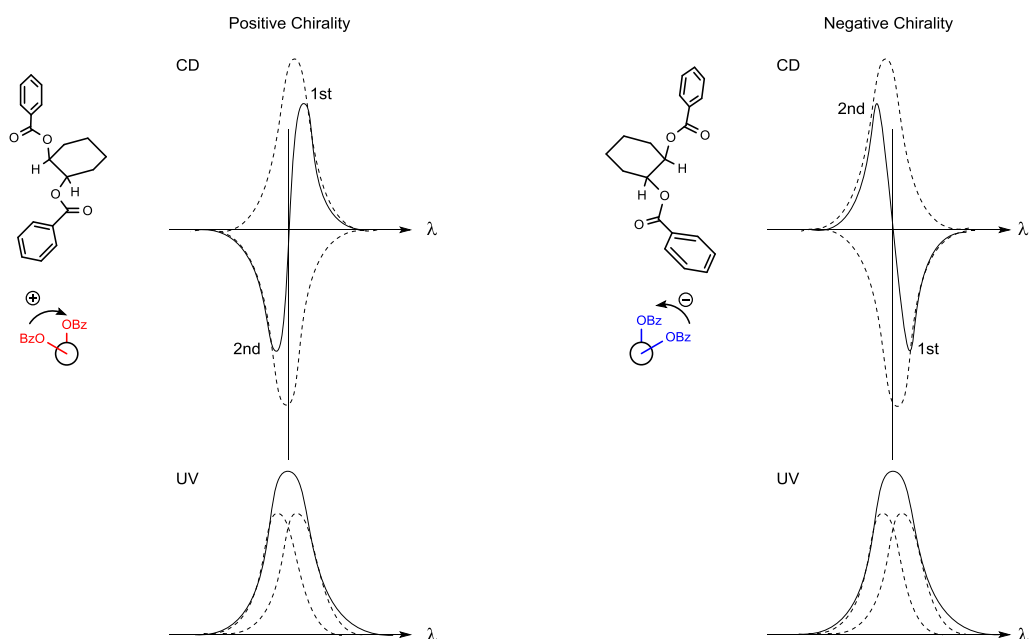
パラジウム触媒存在下, A 環部前駆体 (34-36) と CD 環部 (33) とのカップリング反応は, オキセタン構造に大きな問題は見られずに進行し, セコステロイド骨格に特徴的なトリエン構造を構築することができた。ヒドロキシ基上の TBS 保護基は, テトラ *n*-ブチルアンモニウムフルオリド (TBAF) 処理にて除去し, 目的の A 環部にスピロオキセタン構造を有する誘導体 6 種 (30-32) をそれぞれ二工程で得た (Scheme 7)。それぞれのジアステレオマーは逆相リサイクル HPLC にて分離精製した。



**Scheme 7** Synthesis of the spirocyclic *seco*-steroids **30-32**.

## 8. ビタミン D の発色団を利用したヒドロキシ基の絶対配置決定

第二級アルコールの絶対配置決定法は  $^1\text{H}$  NMR を用いる新モッシャー法や X 線結晶解析, CD スペクトルを用いた Cotton 効果を利用するものなどがある. 新モッシャー法では第二級アルコールを (*S*)-および (*R*)-MTPA エステルへと変換後,  $^1\text{H}$  NMR により得られる化学シフトの差 ( $\Delta\delta$ ) で絶対配置を決定する<sup>70)</sup>. X 線結晶解析は基本的には再結晶で単結晶を得る必要がある. それらに比較すると CD スペクトルを利用する励起子キラリティー法は化合物自身が発色団を持っていれば少ない工程で, さらに CD スペクトルそのものは極少量で測定可能である. 励起子キラリティー法は  $\pi$ - $\pi^*$ 吸収帯を持つ二つの等価な発色団の相互作用に基づいた絶対配置決定である. よく使用されている例はジベンゾエート系での適用で, 二つの発色団の電気遷移モーメントが右回りのねじれであれば正の励起子キラリティーをなす. それにより, CD スペクトルでは長波長側にある第 1 Cotton 効果は正となり, 短波長側の第 2 Cotton 効果は負を示す (**Fig. 19**). 反対

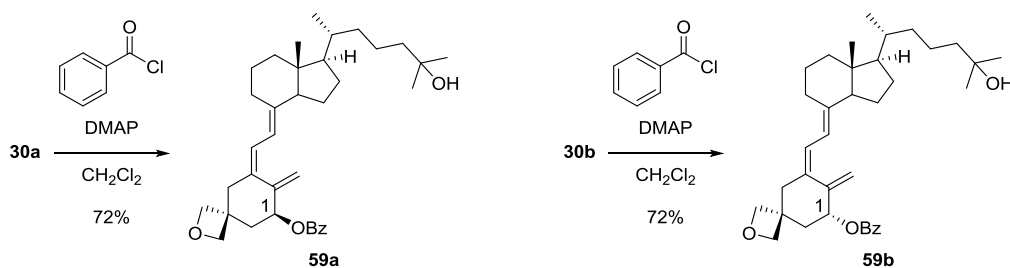


**Fig. 19** Exciton chirality of dibenzoates and sign of benzoate Cotton effect.

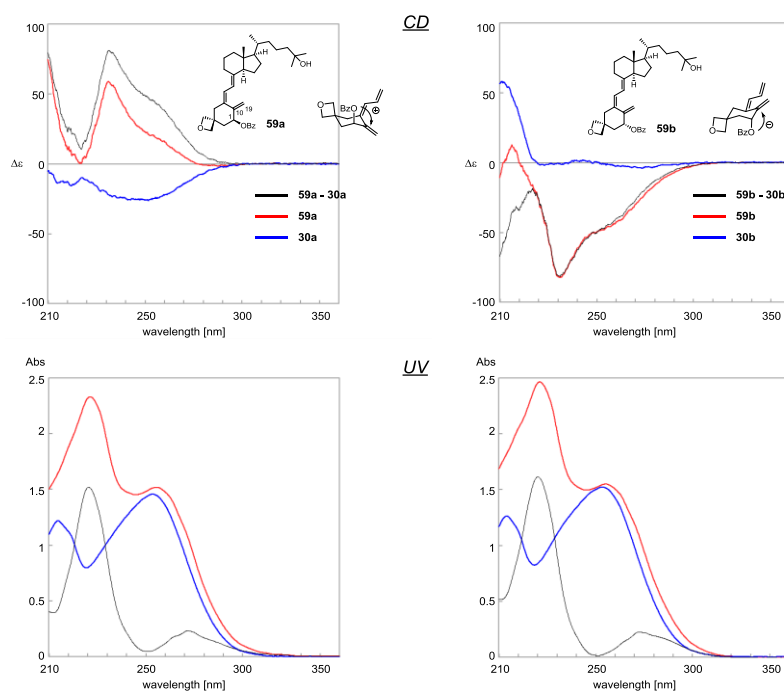
側である左回りの電気遷移モーメントであれば第 1, 第 2 Cotton 効果の符号は逆となり, 符号により絶対配置を決定する. 励起子相互作用は等価でない発色団間にも存在する. すなわち二重結合発色団は 195 nm 付近に  $\pi$ - $\pi^*$  吸収帯を持ち, ベンゾエート発色団は 230 nm に  $\pi$ - $\pi^*$  吸収帯を有する. この二つの発色団が正の励起子キラリティーをなすならば, 長波長側にある第 1 Cotton 効果 (230 nm のベンゾエート Cotton 効果) は正となり, 短波長側の第 2 Cotton 効果 (二重結合の Cotton 効果) は負となる. その効果を利用してアリルアルコールの絶対配置決定にも励起子キラリティー法が適用されている<sup>71-74</sup>. よって, この方法はビタミン D<sub>3</sub> など分子内に発色団を有している化合物の第二級アルコールの絶対配置決定に適している. 今回合成した誘導体以外にも未知代謝物でも適用が可能であるが, ビタミン D<sub>3</sub> 類縁体の構造決定では報告されていない. ビタミン D<sub>3</sub> 誘導体に関して, 励起子キラリティー法による絶対配置決定を確立することは, 今後ビタミン D<sub>3</sub> 類縁体, 例えば合成した誘導体やビタミン D<sub>3</sub> の代謝研究などでの適用が期待できる. そこで合成した新規誘導体 6 種 (30-32) の 1 位または, 3 位, 4 位ヒドロキシ基の立体化学決定に, ビタミン D<sub>3</sub> 骨格がもつ特徴的なトリエン部との相互作用による Cotton 効果を利用することにした.

## A 環 1 位ヒドロキシ基の絶対配置決定

A 環 1 位ヒドロキシ基は、隣接する C(10)-19 位エキソメチレンとアリルアルコール構造を有している。そこで、C1 位ヒドロキシ基に関して合成した誘導体 2 種 (**30a,b**) それぞれをジクロロメタン溶液中、4-ジメチルアミノピリジン (DMAP) 存在下、ベンジルクロリドを反応させ、いずれも収率 72%にてベンゾエート誘導体 (**59a,b**) へと変換した (Scheme 8)。ベンゾエート化による Cotton 効果を明確にするため、それぞれの親化合物 (**30a,b**) との差スペクトルをとったところ、UV スペクトルにおいてベンゾエートの吸収が明らかとなった。このことから、CD スペクトルにおいても差スペクトルはベンゾエート由来の吸収を明らかとしていると考えられる。エタノール溶液中における両者の UV スペクトルはほぼ同等であったが、CD スペクトルでは明確に正負の符号が逆転したスペクトルが得られた (Fig. 20)。59a と 30a からの差 CD スペクトルでは波長 242 nm で正の Cotton 効果が観測されたことから、二つの発色団間の位置関係は時計回りであること、一方、59b と 30b からは波長 241 nm にて負の Cotton 効果が観測されたことから、発色団間の位置関係は反時計回りであることが示された (Fig. 20)。したがって、1 位ヒドロキシ基の絶対配置は 30a を 1 $\alpha$  ヒドロキシ、30b を 1 $\beta$  ヒドロキシと決定することができた。<sup>1</sup>H NMR 解析により、C1-ベンゾエート誘導体における A 環 1 位-2 位間のビシナルカップリング定数は、重クロロホルム中で、それぞれ 6.5 Hz, 6.2



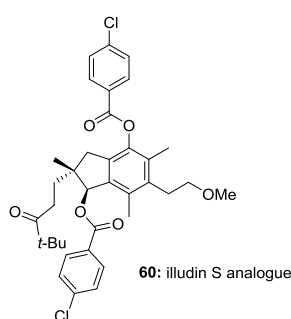
Scheme 8 Synthesis of the C1-allylic benzoates **59a** and **59b**.



**Fig. 20** Differential CD and UV spectra of the C1-benzoates (**59a** and **59b**) and their corresponding parents (**30a** and **30b**) in ethanol. The concentration of each compound was adjusted to 83  $\mu\text{M}$  by using an  $\epsilon$  value of 18,000 at 265 nm, which was obtained by UV spectroscopy.

Hz であり，誘導體 (**59a,b**) の 1 位置換基はいずれもアキシャル位をわずかに優先していた．これは CD スペクトルの観測結果を支持するものであった．

### A 環 3 位ヒドロキシ基の絶対配置決定



**Fig. 21**

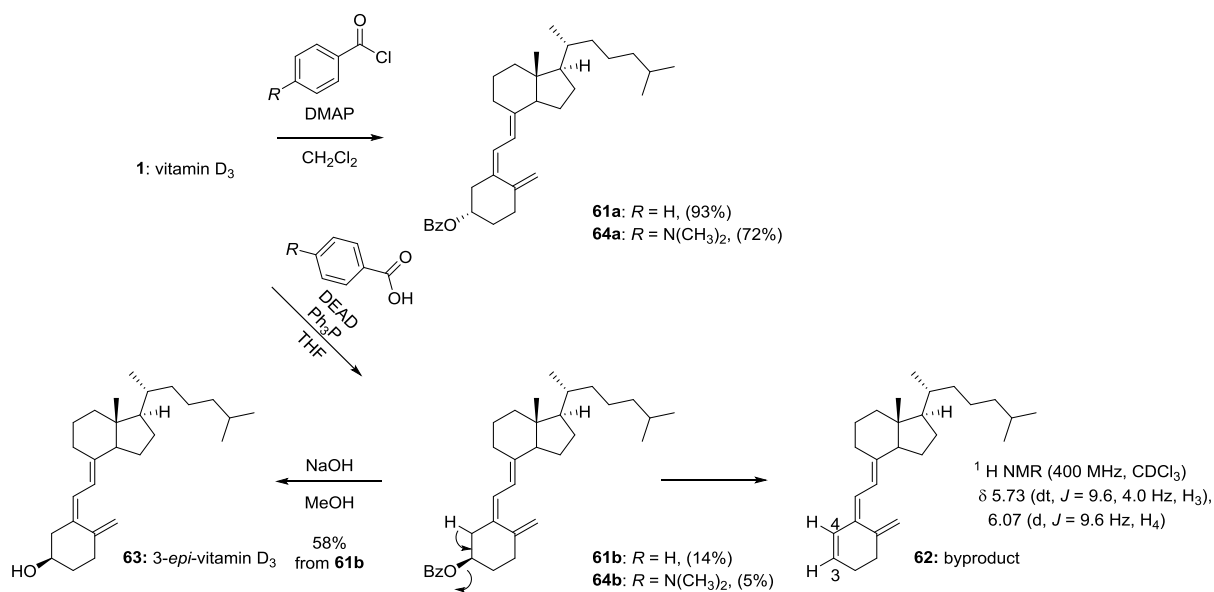
次に 3 位ヒドロキシ基に関して検討を行った．3 位ヒドロキシ基はアリルアルコール構造ではない．しかし，空間的に距離のある場合でも励起子相互作用は存在する．例えば，ジベンゾエート系では月夜茸の成分 illudin S の絶対配置は，そのフェノール性ジベンゾエート誘導體 (**60**) の CD スペクトルにより決定された (**Fig. 21**)<sup>75)</sup>．この場合は，1,4-ジベンゾエート系で

あり，励起子キラリティー法は離れた相互作用系にも適用できる．励起子キラリティー

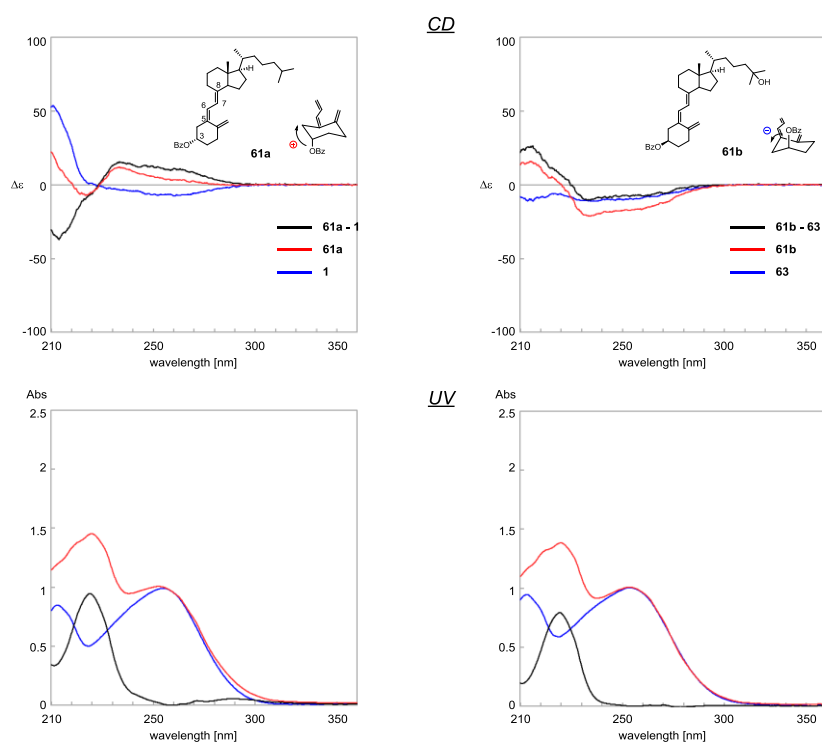


法を用いた絶対配置決定を用いるときは電気遷移モーメント間のキラリティーが空間的に明瞭である必要がある。合成した誘導体 3 位ヒドロキシ基に対しこの方法を適用した場合、C(10)-19 エキソメチレンとは対角線上の位置関係にあるため、主にジエン部とのキラリティーによる Cotton 効果が観測されると考えられる。しかし、励起子相互作用は電気遷移モーメント間の距離と負の相関関係にあり、距離が離れるほど弱くなる。加えてトリエン部自身がキラリティーを有することから CD スペクトルによる絶対配置決定に影響する可能性がある。そこで、まず立体化学が明らかなビタミン D<sub>3</sub> を用いて予試験を行った。

ビタミン D<sub>3</sub> (**1**) をジクロロメタン溶液中、DMAP 存在下、ベンジルクロリドを反応させ、ベンゾエート体 (**61a**) へと収率 93% で変換した (Scheme 9)。さらにビタミン D<sub>3</sub> を光延反応により、THF 溶液中、Ph<sub>3</sub>P と安息香酸、DEAD を加え反応させ 3-*epi*-ビタミン D<sub>3</sub> のベンゾエート体 (**61b**) を収率 14% で得た。このとき、副生成物が得られ、MS スペクトルや <sup>13</sup>C NMR, DEPT での第三級炭素数の変化から 3 位脱離体と推定した。また <sup>1</sup>H NMR で δ 5.73 (1 H, dt, *J* = 9.6, 4.0 Hz) と δ 6.07 (1 H, d, *J* = 9.6 Hz) のシグナルが観測されたことから、脱離体 (**62**) が生成したと推定した (Scheme 9)。脱離体 (**62**) は収率 77% と多く生成したが、単工程で目的化合物 (**61b**) を合成できたためこのまま進めることとした。さらにベンゾエート (**61b**) を加水分解を行い、3-*epi*-ビタミン D<sub>3</sub> (**63**) を収率 58% で得た。合成した 3-*epi*-ビタミン D<sub>3</sub> は、報告されている <sup>1</sup>H NMR と一致した<sup>30)</sup>。合成したベンゾエート体 (**61a,b**) の CD スペクトルを測定した (Fig. 22)。その結果、それぞれの親化合物 (**1**) (**63**) と差スペクトルをとると先ほどと同様に UV においてベンゾエートの吸収スペクトルが明らかとなった。しかし、CD スペクトルでは Cotton 効果の正負は確認できたが明瞭なスペクトルを得たとはいえなかった。励起子キラリティー法を適用する際の注意として励起子キラリティーが明瞭である必要があり、不明瞭なスペクトルでは結果が入れ替わることもある。より明確な Cotton 効果

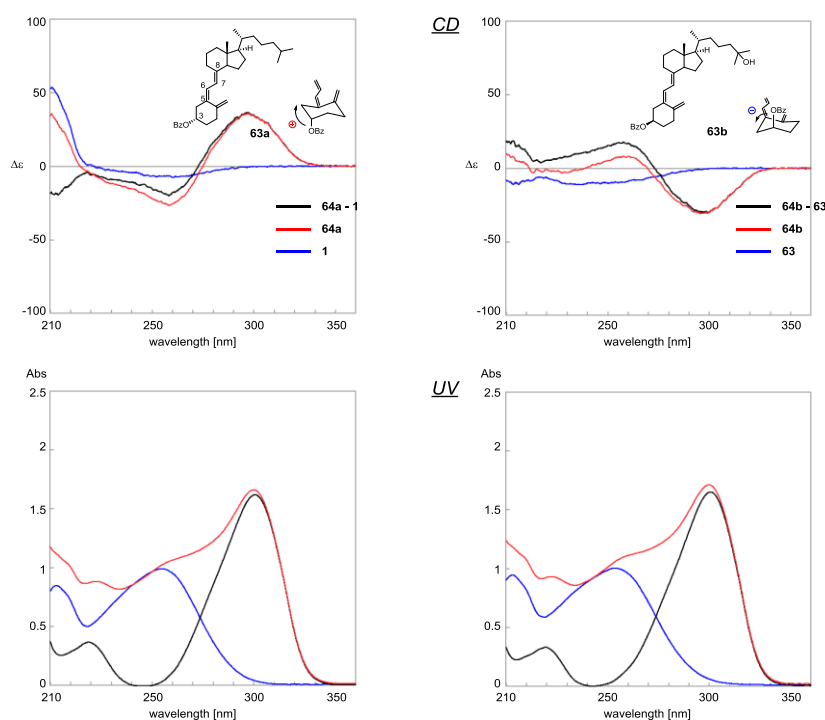


**Scheme 9** Synthesis of the C3-benzoates **61a,b** and **64a,b**.

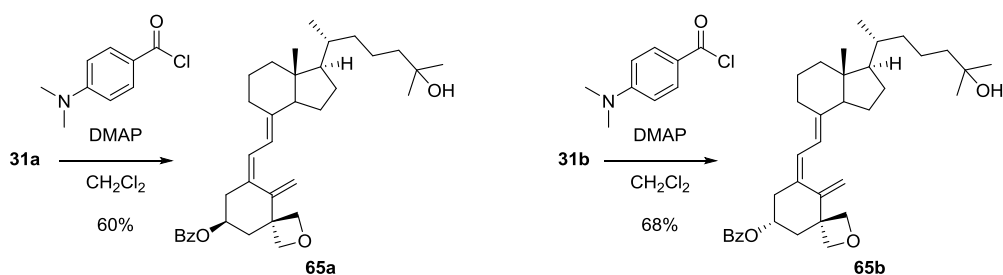


**Fig. 22** Differential CD and UV spectra of the C3-benzoates (**61a** and **61b**) and their corresponding parents (**1** and **63**) in ethanol. The concentration of each compound was adjusted to 56  $\mu$ M by using an  $\epsilon$  value of 18,000 at 265 nm, which was obtained by UV spectroscopy.

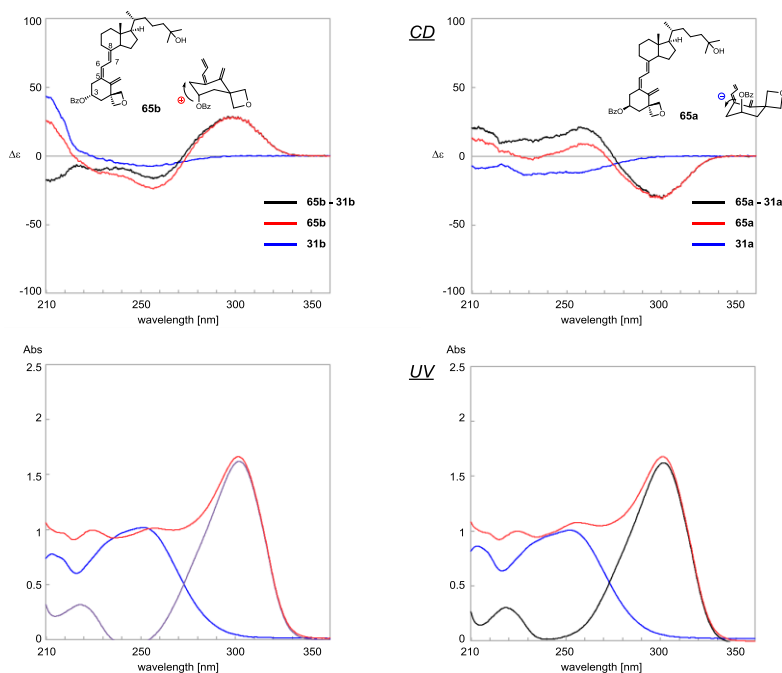
を得るためには、同じ励起波長の発色団を用いる、あるいは遷移モーメントを大きくする必要があるのである。すなわち、UVの吸収強度が大きいほど Cotton 効果は大きくなる。そこで次にビタミン D<sub>3</sub> の吸収極大 265 nm よりさらに長波長 310 nm にシフトする 4-ジメチルアミノベンゾエート体を合成し比較することとした。それぞれ 4-ジメチルアミノベンゾイルクロリドあるいは 4-ジメチルアミノ安息香酸に試薬を変更して反応を行い **64a** を収率 72% で変換し、**64b** を収率 5% と副生成物を 55% で得た (Scheme 9)。4-ジメチルアミノベンゾエート体 (**64a,b**) の UV 吸収は、より長波長にシフトし、強い強度で分裂型の Cotton 効果を観測できた (Fig. 23)。Fig. 22 と Fig. 23 の CD スペクトルの正負は一致していることから構造決定にはどちらも適用可能と考えられる。しかし、CD スペクトルを Cotton 効果の強度で比較すると 3 位ヒドロキシ基に関しては 4-ジメチルアミノベンゾエート体が適している。よってオキセタン環を有する誘導体 (**31a,b**)



**Fig. 23** Differential CD and UV spectra of the C3-benzoates (**64a** and **64b**) and their corresponding parents (**1** and **63**) in ethanol. The concentration of each compound was adjusted to 56  $\mu\text{M}$  by using an  $\epsilon$  value of 18,000 at 265 nm or 30,400 at 310 nm, which was obtained by UV spectroscopy.



**Scheme 10** Synthesis of the C3-benzoates **65a** and **65b**.



**Fig. 24** Differential CD and UV spectra of the C3-benzoates (**65a** and **65b**) and their corresponding parents (**31a** and **31b**) in ethanol. The concentration of each compound was adjusted to 56  $\mu\text{M}$  by using an  $\epsilon$  value of 18,000 at 265 nm or 30,400 at 310 nm, which was obtained by UV spectroscopy.

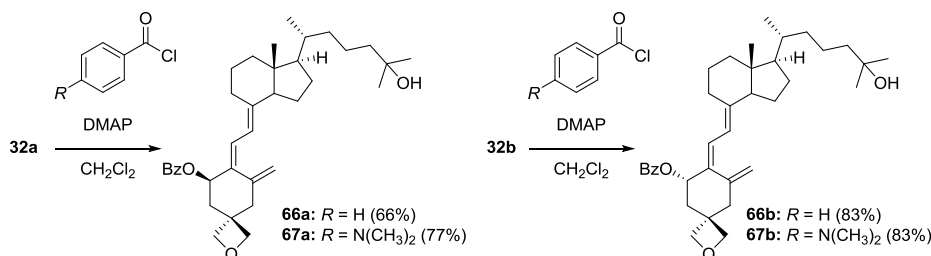
は4-ジメチルアミノベンゾエート体 (**65a,b**) へと導いた (**Scheme 10**). その結果, 誘導体の3位ヒドロキシ基の絶対配置は波長 **65a** と **31a** の差 CD スペクトルでは波長 306 nm で正の Cotton 効果が観測されたことから, 二つの発色団間の位置関係は時計回りであること, 一方, **65b** と **31b** からは波長 310 nm にて負の Cotton 効果が観測されたことから, 発色団間の位置関係は反時計回りであることが示された (**Fig. 24**). したがって, この方法を適用し3位ヒドロキシ基の絶対配置は **31a** を  $1\alpha$  ヒドロキシ, **31b** を  $1\beta$  ヒドロキシと決定することができた. さらにオキセタンを導入した誘導体とビタミン  $\text{D}_3$  (**1**)

や 3-*epi*-ビタミン D<sub>3</sub> (**20**) の波形とほぼ一致し、1 位スピロオキセタンが発色団のコンフォメーションに与える影響が小さいことが示唆された。

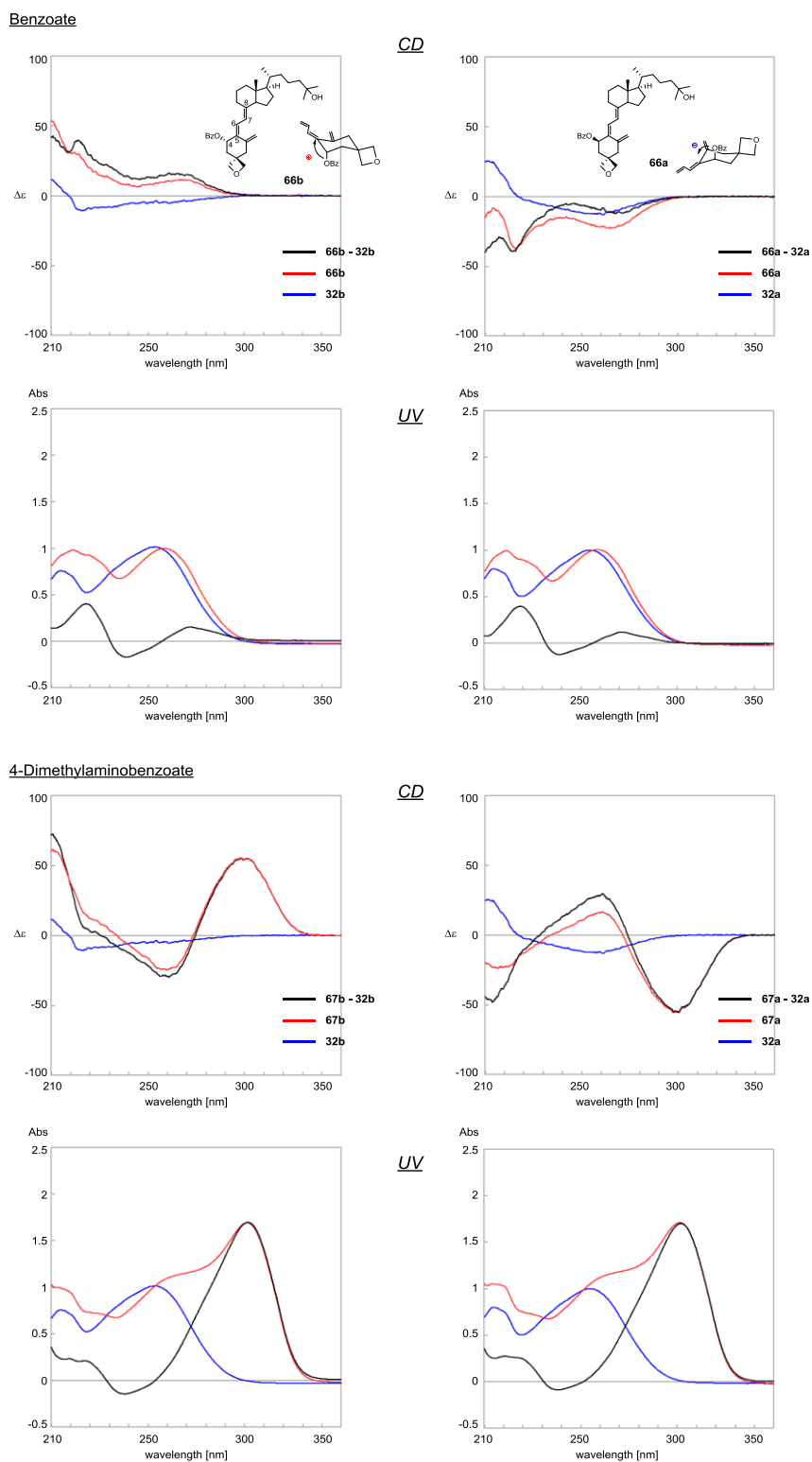
#### A 環 4 位ヒドロキシ基の絶対配置決定

最後に 4 位のヒドロキシ基はベンゾエート体と 4-ジメチルアミノベンゾエート体両方を合成し (Scheme 11), CD スペクトルを測定し合成した誘導体のヒドロキシ基の絶対配置を決定した (Fig. 25). 4 位ヒドロキシ基はベンゾエート (**66a,b**) への変換では、1 位ヒドロキシ基の場合と異なり 230 nm 付近にあるベンゾエートの Cotton 効果によるピークは明瞭ではなかった。これはジエン、エキソメチレン、ベンゾエートの相互作用が影響しているためと考えられる。一方、4-ジメチルアミノベンゾエート (**67a,b**) では明確なチャートが得られ、絶対構造決定が可能となった。

励起子キラリティー法による絶対配置決定は、ビタミン D 誘導体の  $\lambda_{\max}$  が 265nm 付近にあり、ベンゾエートの  $\lambda_{\max}$  が 228nm にあることから、CD スペクトルに影響することが懸念されたが、親化合物との差スペクトルをとることで導入したベンゾエート部分とビタミン D 由来のジエンとの Cotton 効果が明確となることが明らかとなった。それぞれの親化合物との差スペクトルをとると、ジアステレオマー同士であるにも関わらず互いに相補的な CD スペクトルが得られたこともそれを支持するものである。共役系を延長する 4-ジメチルアミノベンゾエートでは空間的に距離のある場合でも明瞭な Cotton 効果が観測できた。今回合成した誘導体の Cotton 効果を予測するに当たり、モデルとしてイス型配座を使用している。後で述べるが C3-オキセタン誘導体に関しては



Scheme 11 Synthesis of the C4-benzoates **66a,b** and **67a,b**.



**Fig. 25** Differential CD and UV spectra of the C4-benzoates (**66a,b** and **67a,b**) and their corresponding parents (**32a** and **32b**) in ethanol. The concentration of each compound was adjusted to 56  $\mu\text{M}$  by using an  $\epsilon$  value of 18,000 at 265 nm or 30,400 at 310 nm, which was obtained by UV spectroscopy.

X 線結晶解析より 3 位オキセタン導入後もイス型配座をとることを明らかとしている。C1-オキセタン誘導体は予試験として行ったビタミン D<sub>3</sub> (**1**) とほぼ同じスペクトルを与えたことからイス型配座を優先していると考えている。C2-オキセタン誘導体は他の二つの誘導体の結果を考慮すると同様と考えられる。しかし、仮にイス型配座をとらなくても電気遷移モーメントの方向は変わらない。すなわち、Cotton 効果の強度には影響しても、正負には影響しないため問題ないと考えている。励起子キラリティー法を用いた場合 A 環部と CD 環部のほぼすべてにおいて適用でき、トリエン部が酸化などを受けてヒドロキシ基が導入されても発色団が残っていれば絶対配置決定が可能であると考えられる。今後はこれらの結果を足掛かりにより複雑な系、例えば 1 位 3 位に立体不明なヒドロキシ基が存在する場合などでもこの方法の適用が可能と考えている。さらに様々なビタミン D 類縁体の構造決定に用いることが期待できる。

#### 9. スピロオキセタン構造を有する誘導体の A 環部配座解析

スピロオキセタン構造が A 環配座に及ぼす影響を調べるために、合成したスピロオキセタン誘導体の <sup>1</sup>H NMR 解析を行った。一般に、ビタミン D 誘導体の A 環部配座解析に用いられている、六員環モデル化合物のビシナルカップリング定数 ( $J_{ax-ax} = 11.1$  Hz,  $J_{eq-eq} = 2.7$  Hz) を使用した<sup>18-20</sup>。親化合物である 1 $\alpha$ ,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> (**2**) の A 環部は、 $\alpha$  型と  $\beta$  型の椅子型配座間の速い平衡にあることが知られている。

配座解析を行うためにそれぞれの重クロロホルム中での A 環部プロトンの帰属を行った。C3-スピロオキセタン誘導体 (**30a**) の場合、1 位の立体化学は励起子キラリティー法により決定している。1 位以外のプロトンの帰属に関しては COSY, NOESY 相関により決定した (Fig. 26)。COSY スペクトルでオキセタン環と相関があり、6 位プロトンと相関のあるプロトンを 4 位とし、1 位と相関があるものを 2 位と帰属した。次にオキセタン環の帰属として 2 位側に NOESY 相関があるものと 4 位側に相関があるものに帰属した。オキセタンはさらに 1 $\beta$  位と NOESY 相関があるものを 3 $\beta$ 2 として残るオキセタンのピークを相対的に決定した。またオキセタン 3 $\beta$ 4 は 6 位との NOE が観測でき

た (Fig. 27). 4位プロトンの $\alpha$ 位,  $\beta$ 位に関してはオキセタン $3\beta_2$ とのW型の遠隔カップリングのあるものを $4\alpha$ 位と決定した (Fig. 27). さらに $4\beta$ 位プロトンとW型遠隔カップリングのあるものを $2\beta$ 位プロトンと帰属した.  $2\alpha$ 位と $4\alpha$ 位はNOEも観測できた. その他の誘導体も Fig.28,29 に示す NOESY 相関を示し, 同様の解析により A 環部プロトンの帰属を行った (Table 3).

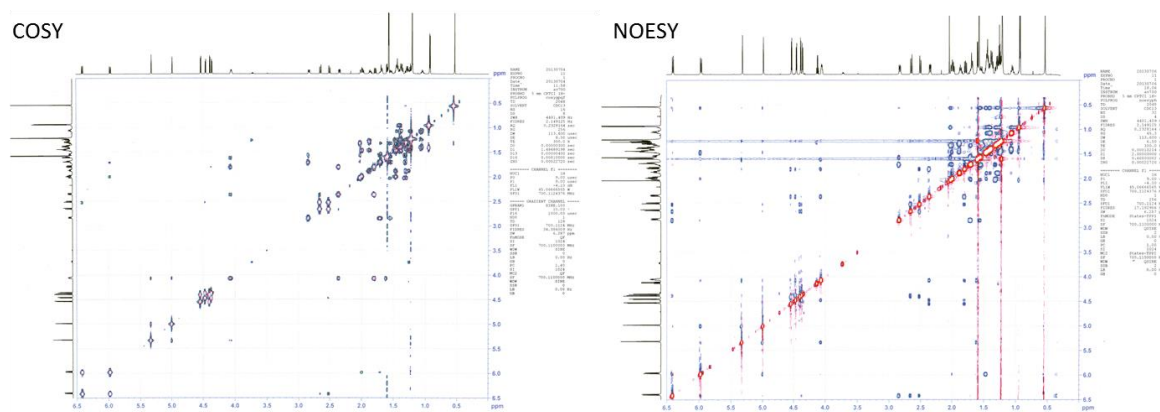


Fig. 26

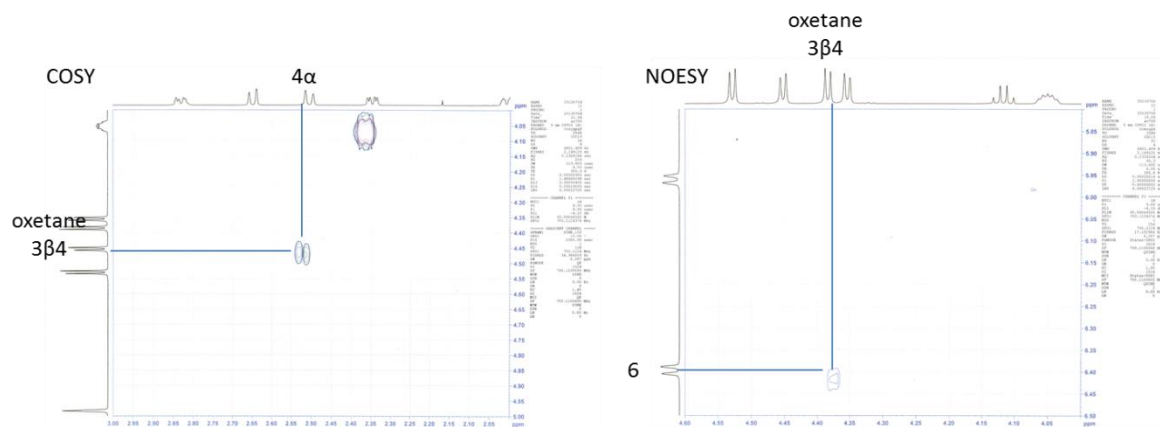
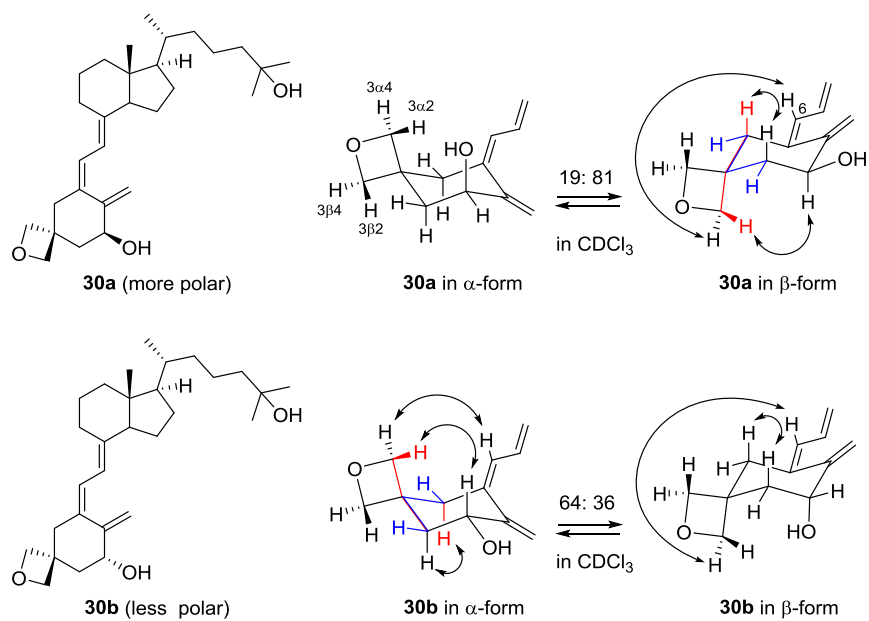
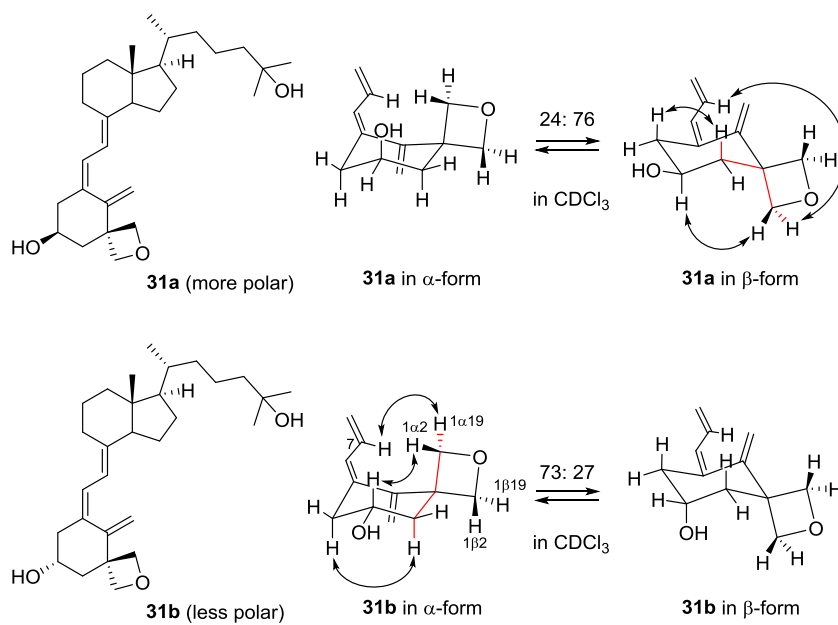


Fig. 27





**Fig. 28**



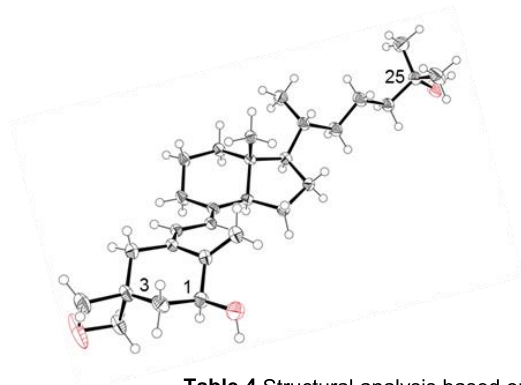
**Fig. 29**

**Table 3**  $^1\text{H}$  NMR spectral data for the spirocyclic *seco*-steroids **30a,b** and **31a,b** in  $\text{CDCl}_3$ .

Positions	<b>30a</b>	<b>30b</b>	Positions	<b>31a</b>	<b>31b</b>
1	4.05 m	4.16 m	Oxetane 1 $\alpha$ 2	4.48 d (6.2)	4.41 d (5.9)
2 $\alpha$	1.79 dd (12.4, 9.5)	2.17 dd (12.9, 4.0)	Oxetane 1 $\alpha$ 19	4.87 d (6.2)	4.48 d (5.9)
2 $\beta$	2.35 ddd (12.4, 4.3, 1.3)	1.97 dd (12.9, 8.1)	Oxetane 1 $\beta$ 2	4.40 d (5.8)	4.51 d (6.2)
Oxetane 3 $\alpha$ 2	4.53 d (6.0)	4.48 d (5.9)	Oxetane 1 $\beta$ 19	4.43 d (5.8)	4.81 d (6.2)
Oxetane 3 $\alpha$ 4	4.39 d (6.0)	4.35 d (5.9)	2 $\alpha$	1.86 dd (12.5, 9.1)	2.40 dd (12.7, 2.5)
Oxetane 3 $\beta$ 2	4.45 d (6.0)	4.60 d (6.0)	2 $\beta$	2.46 dd (12.5, 2.3)	1.92 dd (12.7, 8.8)
Oxetane 3 $\beta$ 4	4.36 d (6.0)	4.38 d (6.0)	3	3.86 m	3.91 m
4 $\alpha$	2.51 d (13.1)	2.58 d (13.2)	4 $\alpha$	2.20 dd (12.6, 9.6)	2.56 dd (12.7, 3.9)
4 $\beta$	2.65 d (13.1)	2.62 d (13.2)	4 $\beta$	2.57 dd (12.6, 3.6)	2.22 dd (12.7, 8.8)
6	6.40 d (11.2)	6.43 d (11.3)	6	6.31 d (11.2)	6.31 d (11.2)
7	5.96 d (11.2)	5.95 d (11.3)	7	6.05 d (11.2)	6.04 d (11.2)
19E	4.98 t (1.7)	4.97 s	19E	5.09 s	5.07 s
19Z	5.32 t (1.7)	5.28 s	19Z	5.29 s	5.28 s

C3-スピロオキセタン誘導体 (**30a,b**) においては, A 環 1 位-2 位間のビシナルカップリング定数の解析の結果, 重クロロホルム溶媒中 1 位ヒドロキシ基がエクソ位を占める配座が優先することが明らかとなった (**Fig. 27**). 1 位ヒドロキシ基が天然型である **30a** の場合,  $\alpha$  型:  $\beta$  型 = 18: 81 となり, VDR 結合に有利な  $\beta$  型優先で存在することが推定された. 3 位オキセタン誘導体では特徴的な二次元の相関は COSY による遠隔カップリングと 3 位プロトンとオキセタンの NOESY 相関が観測できた. C1-オキセタン誘導体 (**31a,b**) においてもオキセタン環のプロトンとの遠隔カップリングがあり, A 環 2 位-3 位間のビシナルカップリング定数の解析の結果, ヒドロキシ基はエクソ位を占める配座が優先した (**Fig. 29**). 1 位ヒドロキシ基が天然型の **31b** は  $\alpha$  型:  $\beta$  型 = 73: 27 となり,  $\alpha$  型を優先する.

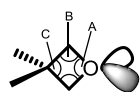
### 10. 3位にスピロオキセタン構造を有する誘導体のX線結晶解析



Crystal Data:

Monoclinic  $P2_1$   
 0.200 x 0.070 x 0.030 mm  
 FW = 442.66  
 a = 19.3366(8) Å       $\alpha = 90^\circ$   
 b = 7.1441(3) Å       $\beta = 108.1004(14)^\circ$   
 c = 20.3154(8) Å       $\gamma = 90^\circ$   
 Volume = 2667.54(19) Å<sup>3</sup>  
 Z = 4  
 Density (calcd) = 1.102 Mg/m<sup>3</sup>  
 T = 100 K  
 R1 = 0.0388, wR2 = 0.1048 [ $I > 2\sigma(I)$ ]

Table 4 Structural analysis based on the X-ray crystal structure at 100K.



Conformation A			Conformation B		
angle	length	ring puckering	angle	length	ring puckering
A: C-O-C 93.0°	C-O 1.43 Å	3.4°	A: C-O-C 92.2°	C-O 1.44 Å	3.1°
B: O-C-C 91.2°	C-C 1.54 Å		B: O-C-C 91.2°	C-C 1.53 Å	
C: C-C-C 84.7°	C-H 0.99 Å		C: C-C-C 85.2°	C-H 0.99 Å	

オキセタン環を導入した誘導体 (30a) の X 線結晶解析の結果、誘導体は結晶中で 2 種類の配座で結晶化しており、配座間の差はほとんどなかった。それぞれのオキセタン環の結合はオキセタン環の歪みは少なく ring puckering は約 3° であった (Table 4)。これまでに合成されたスピロオキセタン環化合物の平均値は 10.7° であり、さらに平面性を増していた。種々置換基のある六員環へスピロオキセタン環を導入しても六員環への影響が小さいことが明らかとなった。しかし、ORTEP 図を見るとオキセタン環の酸素は球形ではなく、楕円となっていた。通常 1 $\alpha$ ,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> (2) はトリエン部を有するがそれぞれの二重結合は完全には共役していない。つまり 1 $\alpha$ ,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> (2) ジエン部も CD 環の歪みなどにより、C5-C6-C7-C8 の二面角は  $\pm 8.5^\circ$  と完全な平面ではない<sup>21)</sup>。誘導体 (30a) もジエン部の二面角 C5-C6-C7-C8 は 4.3° であった。また C1-オキセタン誘導体においても、X 線結晶解析は行っていないが、CD スペクトルにおいてオキセタン環を導入していない化合物と相同なスペクトルを与えたことから、オキセタン導入による六員環構造への影響は小さいと考えられる。生理活性物質と受容体との相互作用において、取りうる配座は重要となる。上に述べた解析により、種々置換基を有する六員環においてもオキセタン導入によって環構造に大きな歪みが生じないことが明らかとなった。このことはオキセタンをヒドロキシ基やカルボニル基の生物学的等価体として用いる場合に重要な知見である。

## 1.1. オキセタン構造を有するビタミン D 誘導体の活性評価

絶対配置の決定した新規誘導体 (**30-32**) はウシ胸腺 VDR の結合能試験を行った。ヒト VDR およびウシ VDR 間では、全長のアミノ酸残基は一致している。1 位または 3 位ヒドロキシ基の代替としてオキセタンを導入した誘導体では、両者とも残るヒドロキシ基が天然型の立体配置のほうが、つまり (**30a**) と (**31b**) が、より高い親和性を示した。C-2 オキセタン誘導体 (**32a,b**) では立体異性体間で差はなく、どちらも低い親和性であった。誘導体 (**30-32**) はいずれも  $1\alpha,25(\text{OH})_2\text{D}_3$  (**2**) より低い親和性を示していた (**Table 5**)。しかし、3 位代謝物 (**20**) や合成された 1 位エピマー (**19**) との比較では、C1-スピロオキセタン誘導体 (**31b**) と C3-スピロオキセタン誘導体 (**30a**) の結果は異なっていた (**Fig. 30**)。すなわち C1-スピロオキセタン誘導体 (**31b**) は 1 位エピマー (**19**) と同程度の親和性を保持していたのに対し、C3-スピロオキセタン誘導体 (**30a**) は 300 分の 1 と大きく減弱していた。3 位代謝物 (**17**) の研究や  $^1\text{H}$  NMR 解析の結果から、C3-オキセタンの方が親和性を保持すると予測したがそれとは異なる結果となった。3 位近傍にはオキセタン構造を許容することができる付加的空間が存在することから、著しく親和性が減弱した理由として、水素結合様式が変化した影響が大きいと考えた。すなわち、受容体との安定な複合体形成において 3 位ヒドロキシ基は 1 位に比べ水素結合供与体として重要であることが示唆された。

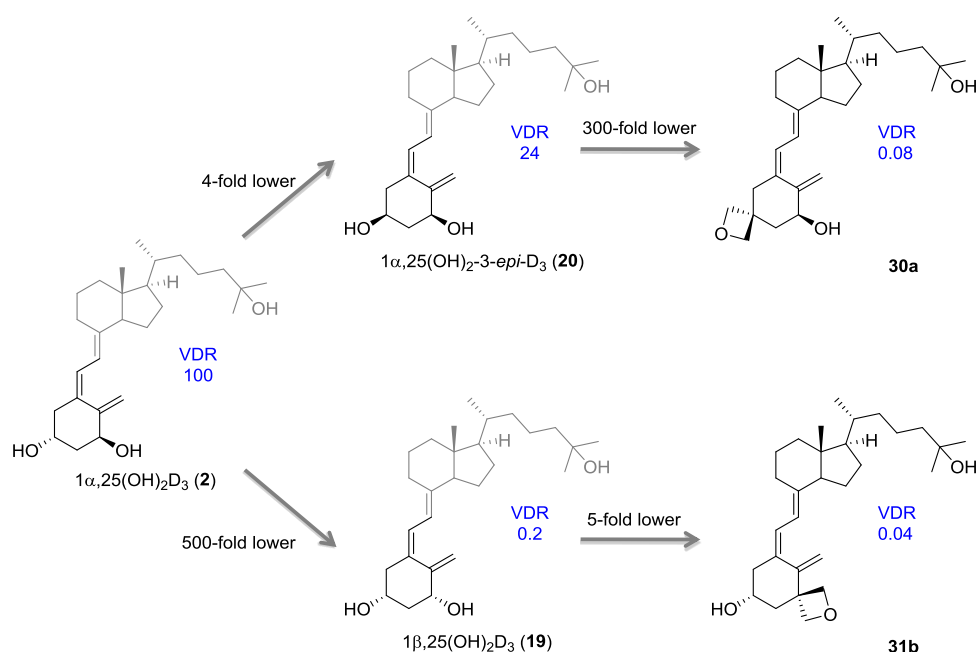
この研究によりオキセタン環は水素結合受容体として機能しているヒドロキシ基の代替として機能し得ることが示唆された。今後オキセタン環がヒドロキシ基の生物学的

**Table 5** Relative VDR binding affinity of a spirocyclic oxetane-fused vitamin D analogues.

Compounds	VDR <sup>a</sup> binding affinity
$1\alpha,25$ -dihydroxyvitamin D <sub>3</sub> ( <b>2</b> )	100 <sup>b</sup>
<b>30a</b>	0.08
<b>30b</b>	< 0.005
<b>31a</b>	< 0.005
<b>31b</b>	0.04
<b>32a</b>	< 0.0003
<b>32b</b>	< 0.0003

<sup>a</sup>Bovine thymus.

<sup>b</sup>Potency of  $1\alpha,25$ -dihydroxyvitamin D<sub>3</sub> is normalized 100 by definition.



**Fig. 30** Structures of A-ring epimers of  $1\alpha,25(\text{OH})_2\text{D}_3$  (**2**) and key oxetane-fused analogues.

等価体と示すためには、1位エピマー（**19**）において報告されている  $1\alpha,25(\text{OH})_2\text{D}_3$  (**2**) の non-gemomic action のアンタゴニスト活性について精査する必要がある。オキセタン構造についてはさらなる吟味が必要であるが、この研究はヒドロキシ基の生物学的等価体としてはたらくことが示唆されたはじめての例である。またビタミン D 研究という観点からは 3 位ヒドロキシ基が水素結合供与体として機能していることを示唆する重要な結果であると考えている。3 位ヒドロキシ基はビタミン  $\text{D}_3$  (**1**) が代謝活性化を受ける前から存在していることから、種々の代謝物に存在している。したがって、今後さらに水素結合供与体としての機能を検討することにより、ビタミン  $\text{D}_3$  のみならず、その代謝物についても適用できる重要な修飾を生み出すことが期待できると考えている。

## 12. まとめ

第二章では、活性型ビタミン D が機能するために重要な A 環部ヒドロキシ基に注目し、カルボニル基の新しいバイオイソスターとして注目されるオキセタンをヒドロキシ基の代替とする新規誘導体（**30-32**）を設計し、合成法を確立した。スピロオキセタン構造を A 環部構築に必要な  $\alpha,\omega$ -エンイン前駆体（**34-36**）は、3-oxetanone (**39**) から四

工程で調製できる既知の 3,3-bis(2-hydroxyethyl)oxetane (**38**) を出発原料とし、化合物 **34** を八工程収率 38%、化合物 **35** を八工程収率 29%、化合物 **36** を七工程収率 33%、にて合成した。新規オキセタン誘導体 (**34-36**) の立体化学決定には、ビタミン D の持つ特徴的なトリエン構造を利用し、そのベンゾエート誘導体の励起子キラリティー法にて決定した。ウシ胸腺 VDR による競合的親和性試験によりオキセタン構造はヒドロキシ基の代替となることが示唆された。

# 第三章 20 位ヒドロキシビタミン D および側鎖切断型誘導体の合成に関する研究

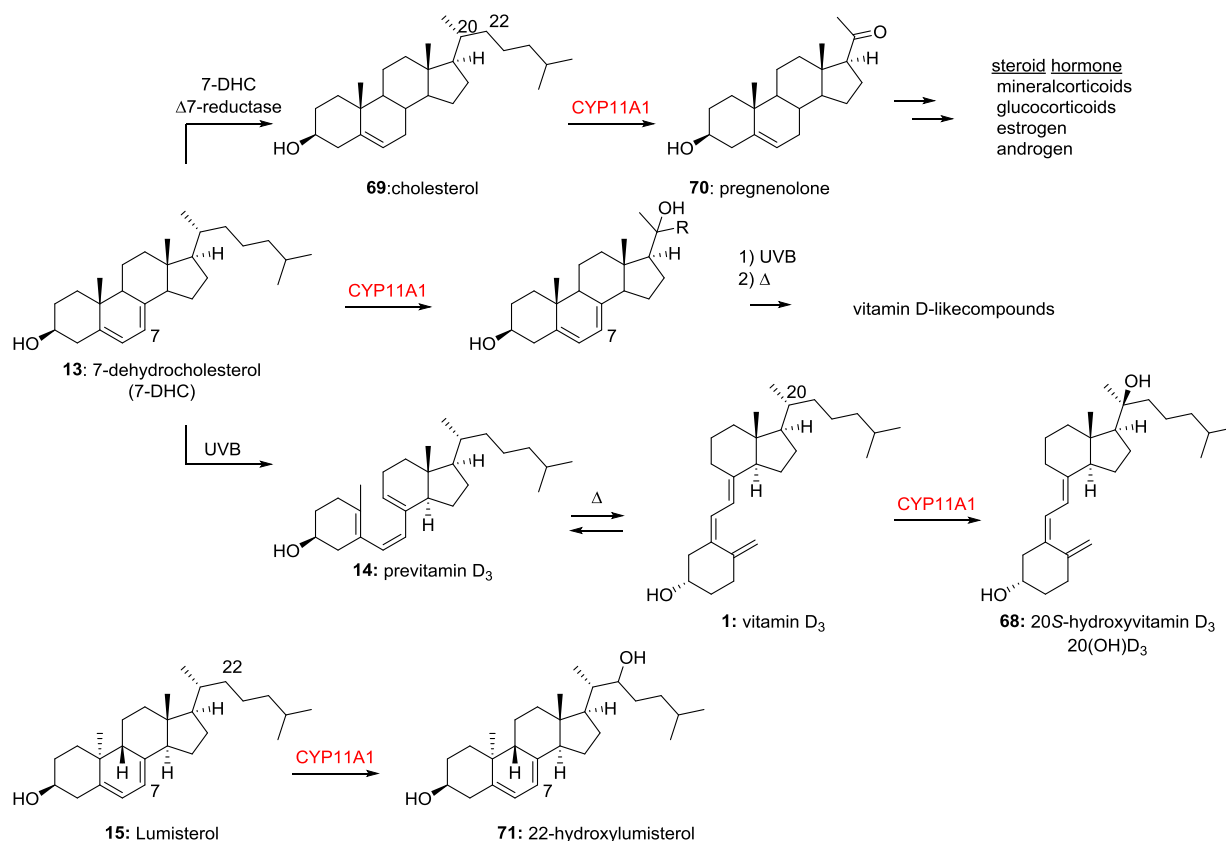
## 1. 序論

### CYP11A1 によるビタミン D<sub>3</sub> の代謝

ビタミン D<sub>3</sub> が生理活性を発現する際には、ターゲットとなる受容体に加え、活性体の生合成に関わる酵素群が重要となる。近年、側鎖切断酵素 (P450 scc) として知られる CYP11A1 がビタミン D<sub>3</sub> を基質とし、20*S*-ヒドロキシビタミン D<sub>3</sub> (**68**) を生成することが報告された (**Fig. 31**)<sup>76)77)</sup>。

CYP11A1 はコレステロール (**69**) を基質として C20-C22 にて側鎖切断することによりステロイドホルモン生合成に関わる重要な酵素である。CYP11A1 遺伝子は脊椎動物にしかみられず、1984 年に John らがはじめてクローニングを報告した<sup>78)</sup>。この酵素が触媒する反応はステロイドホルモン生合成経路の第一段階反応であり、かつ律速段階となっていることから、酵素活性消失は重篤な副腎機能不全を引き起こす。CYP11A1 によりコレステロール (**69**) から重要なステロイドホルモン前駆体であるプレグネノロン (**70**) を生成する<sup>79)</sup>。コレステロール側鎖切断反応は、1) 22 位ヒドロキシ化、2) 20 位ヒドロキシ化、3) C20-C22 結合切断の三段階からなる。

これまで CYP11A1 は基質特異性が高いと考えられており、内在性基質として確立されていたのは 7-デヒドロコレステロール (**13**)、コレステロール (**69**) のみであった<sup>79)</sup>。しかし、近年ビタミン D<sub>3</sub> (**1**) も CYP11A1 の基質となることが明らかとなり、さらに 2014 年には 7-デヒドロコレステロール (**13**) に加え、その立体異性体であるルミステロール (**15**) もこの酵素の基質となることが報告された<sup>80)</sup>。ルミステロール (**15**) は *in vitro* においては 22 位ヒドロキシ体 (**71**) を生成する (**Fig. 31**)。22 位ヒドロキシ体はさらに代謝を受けて 20 位にヒドロキシ基を導入された 20,22 位ジヒドロキシ体を生成するが 20 位ヒドロキシ体は生成しない<sup>80)</sup>。さらに CYP11A1 の基質として報告されているものにはビタミン D<sub>2</sub> やエルゴステロールなどがある。ビタミン D<sub>3</sub> (**1**) の CYP11



**Fig. 31** Metabolism of vitamin D<sub>3</sub> and its related compounds by CYP11A1 (P450sc).

A1による代謝では、20位以外にヒドロキシ基導入された代謝産物も報告されているが、主代謝産物である 20-ヒドロキシビタミン D<sub>3</sub>[20(OH)D<sub>3</sub>] (68) が酵素から放出されやすい<sup>77)</sup>。2012年には20(OH)D<sub>3</sub> (68) がヒトの CYP27A1により25位ヒドロキシ化されることが報告され、さらに翌年にはこの25位ヒドロキシ体が CYP27B1により活性型ビタミン D<sub>3</sub>型の化合物を生成することが報告された<sup>81)82)</sup>。また、CYP11A1の基質となるのはビタミン D<sub>3</sub>であり、25(OH)D<sub>3</sub> (9) は代謝を受けにくい<sup>83)</sup>この新しい経路でビタミン D<sub>3</sub>を代謝しうる細胞は、CYP11A1発現量の多い副腎、黄体などが考えられるが、皮膚においても CYP11A1の発現は確認されている。In vivoでの生成は2012年に Slominskiらがヒト血清中で、25(OH)D<sub>3</sub> (9)の20倍低い濃度であるが20(OH)D<sub>3</sub> (68)を検出したことを報告している<sup>84)</sup>。このことから、CYP11A1の発現が高い組織では、古典経路と新規経路の両方によってビタミン D<sub>3</sub> (1)を代謝していると考えられる。



## 20S-ヒドロキシビタミン D<sub>3</sub> の作用

ヒト成人表皮角化細胞に対し、20(OH)D<sub>3</sub> (68) は 1 $\alpha$ ,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> (2) とほぼ同等の増殖抑制効果とケラチノサイト分化誘導能を有することが明らかとなった<sup>85)</sup>。さらに、20(OH)D<sub>3</sub> (68) による nuclear factor- $\kappa$ B (NF- $\kappa$ B) 抑制効果は 1 $\alpha$ ,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> (2) に匹敵することも示された<sup>86)</sup>。これらの作用は細胞内の VDR 発現が必要であると確認されており、genomic 又は non-genomic か明らかではないものの、VDR を介した作用と推定されている。ラット CYP24A1 により 20(OH)D<sub>3</sub> (68) は、24 位あるいは 25 位がヒドロキシ化された代謝物を生成し、1 $\alpha$ ,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> (2) および 20(OH)D<sub>3</sub> (68) よりも強い活性を示すことが報告された<sup>87)</sup>。皮膚細胞以外にも白血病細胞株 (K562 細胞, MEI 細胞) において、20(OH)D<sub>3</sub> (68) および 20,23(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> は 1 $\alpha$ ,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> (2) とほぼ同等の増殖抑制能と分化誘導能を示した<sup>88)</sup>。さらに、HL-60 細胞および U927 細胞においても 1 $\alpha$ ,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> (2) の活性を超えないものの、増殖抑制能および単球への分化誘導能を示した<sup>88)</sup>。また、毒性の面では 1 $\alpha$ ,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> (2) は、マウスへ 2  $\mu$ g/kg の投与で、高カルシウム血症を示すが、20(OH)D<sub>3</sub> (68) はマウスへ 3 週間 30  $\mu$ g/kg 腹腔内投与を行っても高カルシウム血症、肝臓・腎臓に対し毒性は示さない<sup>89)</sup>。

## 20S-ヒドロキシビタミン D<sub>3</sub> の誘導体研究

20(OH)D<sub>3</sub> (68) の誘導体研究では天然の代謝物ではない 20R-ヒドロキシビタミン D<sub>3</sub><sup>90)</sup> や代謝物の 20S,23S-ジヒドロキシビタミン D<sub>3</sub> とその 23R 異性体の合成などが報告されてきている。20(OH)D<sub>3</sub> (68) の体系的誘導体研究はないと言ってよく、その生理的役割を考察する上でさらなる情報が必要である。

1 $\alpha$ ,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> (2) の 3 つのヒドロキシ基は VDR のリガンド認識において重要であり、いずれのヒドロキシ基欠損も親和性を大きく低下させる。VDR は他の核内受容体と異なりサブタイプが存在せず、また 1 $\alpha$ ,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> (2) の様々な作用において不可欠であるとされていることから、VDR との結合性はビタミン D 誘導体の生理活性を理解する上で重要な因子の一つである。20(OH)D<sub>3</sub> (68) は 1 $\alpha$ ,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> (2) は物理化学的性質

が大きく異なることから、活性発現に必要な受容体との相互作用も異なると予測される。その誘導体は 20(OH)D<sub>3</sub> の性質を有し、カルシウム作用の弱い誘導体の創製が期待できるであろう。

修士課程において CYP11A1 により導入される 20 位ヒドロキシ基の役割を精査するため、20(OH)D<sub>3</sub> (68) をはじめ、種々修飾を加えた 20 位ヒドロキシビタミン D 誘導体を合成した (Fig. 32)<sup>101)</sup>。20(OH)D<sub>3</sub> (68) は、受容体 (VDR) に対しこれまでの結合様式と異なり高い親和性を示す可能性もあった。しかし 1 $\alpha$ ,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> (2) との競合試験では受容体への親和性は 25-ヒドロキシビタミン D<sub>3</sub> (9) より低くビタミン D<sub>3</sub> (1) と同程度であった。この結果は 20 位ヒドロキシ基が VDR の結合にネガティブにはたらくモチーフであることを示唆するものであった。報告されている代謝物の機能は genomic な反応において VDR との関与が示唆されており、構造修飾の影響を明確にするため VDR 親和性を上昇させる修飾を行った。そこで、1 $\alpha$ ,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> (2) に導入した際 VDR 親和性を増強させる三つのモチーフ、すなわち 2 $\alpha$  位メチル基、天然の 1 $\alpha$  ヒドロキシ基、25 位ヒドロキシ基を導入することとした。その結果、この三つのモチーフをすべて有する誘導体 (73) は、20 位ヒドロキシ基存在下でも親和性上昇効果がみられた。しかし誘導体 (73) の 25 位のヒドロキシ基を欠く誘導体 (72) の場合、共通の A 環部を有していれば、誘導体 (74) のように側鎖部を短くしても VDR 親和性は、1 $\alpha$ ,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> (2) を 100 とした比活性ではいずれも 0.07 と差がなかった (Fig. 32)。これは共通の A 環部を有する場合、側鎖部の影響が小さいことを示す重要な結果と考えた。

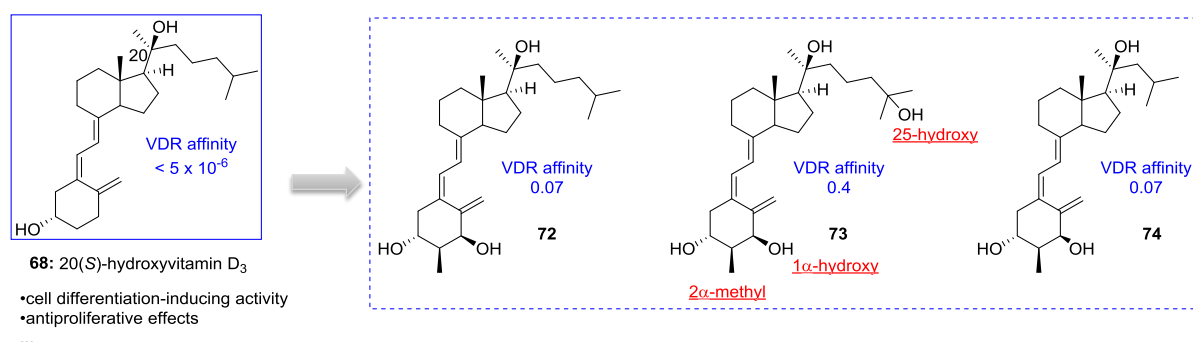
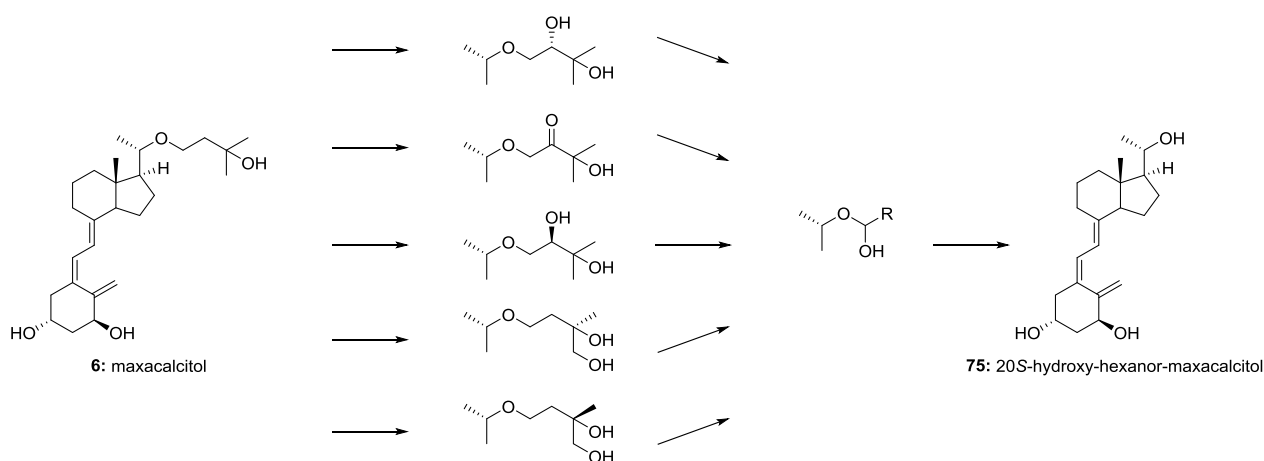


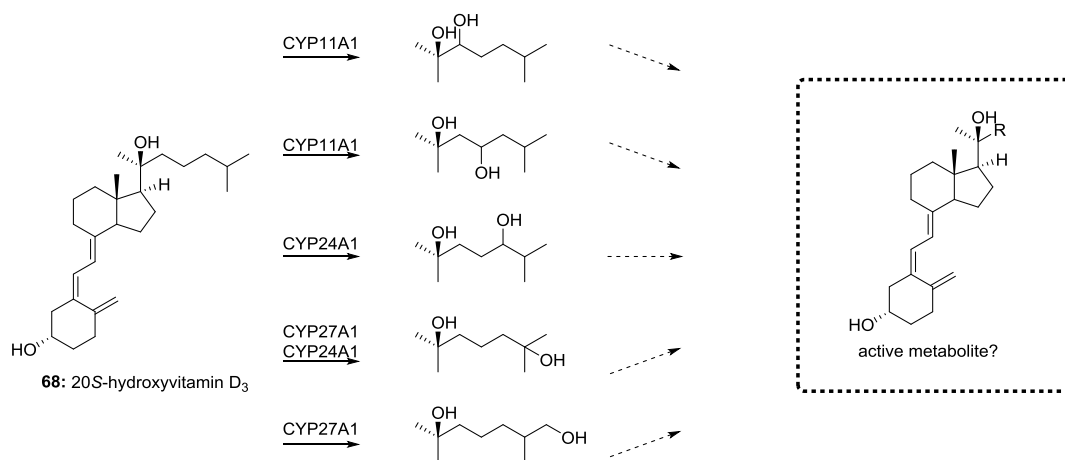
Fig. 32 Structures of 20-hydroxyvitamin D analogues.

## 20S-ヒドロキシビタミン D<sub>3</sub> を基盤とした誘導体設計

20S-ヒドロキシビタミン D<sub>3</sub> (**68**) の生理的役割を検討する上で、核内受容体 VDR との親和性に注目した。修士課程に行った検討では、20S-ヒドロキシビタミン D<sub>3</sub> (**68**) は VDR 親和性をほぼ示さないことが明らかとなった。一方、側鎖部分のさらなるヒドロキシ化は 1 $\alpha$ ,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> (**2**) と同等あるいはそれ以上の活性を示す場合も考えられる。それらを踏まえ 20S-ヒドロキシビタミン D<sub>3</sub> (**68**) はコレステロールの CYP11A1 代謝物であるプレグネノロンと同様に活性前駆体であり、活性本体はさらなる代謝物に存在していると仮説を立てた。すなわち、VDR を標的タンパクとしたとき、さらなる修飾を行えば、20S-ヒドロキシビタミン D<sub>3</sub> より活性の高いリガンドが創出されると仮定で



**Fig. 33** Postulated metabolic pathways of maxacalcitol (**6**) in rat.

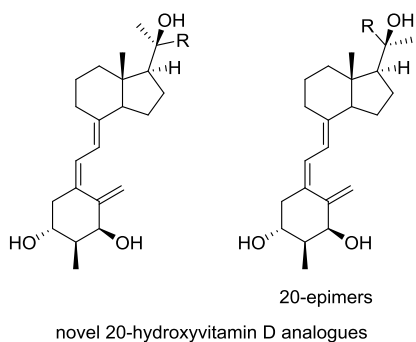


**Fig. 34** Metabolism of 20S-hydroxyvitamin D<sub>3</sub> (**68**) by CYP11A1 and the role of CYP27A1 and CYP24A1 in the further hydroxylation of products.

きる。VDR の LBD における 20 位近傍は Leu-230, Ile-268, Val-300 等による疎水的空間であり、極性基である 20 位ヒドロキシ基は受容体との相互作用において不利にはたらいっていると考えられる。そのため、修士課程で合成した様々な親和性を上昇させる修飾を加えてもそれほど親和性の上昇がみられなかったと考えられる。

現在、医薬品として使用されているマキサカルシトール (6) は 22 位の炭素原子が酸素原子に置換された構造を有し、構造的に 20S-ヒドロキシビタミン D<sub>3</sub> (68) と類似している (Fig. 2)。さらにカルシウム作用が弱い特徴を有し二次性副甲状腺機能亢進症治療に用いられる。そのことから、20 位近傍の酸素原子はなんらかの重要な役割を担っていると考えられる。しかし、マキサカルシトール (6) に関しても詳細な分子作用機序は不明である。ラットを用いた代謝実験では、多段階のヒドロキシ化後、側鎖切断が起こり 20S-hydroxy-hexanor-maxacalcitol (75) が生成される (Fig. 33)<sup>91)</sup>。(75) はさらに 17 位のヒドロキシ化やグルクロン酸抱合を受ける。一方、20S-ヒドロキシビタミン D<sub>3</sub> (68) は主に側鎖部分のヒドロキシ化を受ける (Fig. 34)<sup>92)</sup>。その後、さらに 1 $\alpha$  位がヒドロキシ化されたものが生成されるが<sup>92)</sup>、側鎖部分が切れるような代謝は報告されていない。しかし、7-デヒドロコレステロール (13) やルミステロール (15) の CYP11A1 代謝物はさらに代謝され側鎖長が短くなる代謝を受ける<sup>92-94)</sup>。これらの代謝物はビタミン D 型への変換が可能であるため、生体内で存在している可能性がある。側鎖長の変化は 1 $\alpha$ ,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> (2) の CYP24A1 による代謝でも報告されている (Fig. 4)<sup>11)</sup>。側鎖部の切断は、アルキル鎖短縮により疎水性相互作用を失うことや、25 位ヒドロキシ基の重要な水素結合を失うことから、これまで一般に不活性化のプロセスと捉えられるため、マキサカルシトール代謝物についてもその生物活性はあまり吟味されていない。

そこで本研究では、活性代謝物探索を目的として 20S-ヒドロキシビタミン D<sub>3</sub> (68) の化合物ライブラリーを構築することとした。その詳細が明らかとなれば 20S-ヒドロキシビタミン D<sub>3</sub> (68) の活性代謝物を考察する重要な知見が得られると期待できる。誘導体設計は、側鎖長を吟味する体系的な報告がこれまでにないことから、側鎖部に関する構造展開を計画した (Fig. 35)。アッセイ系は活性発現に重要である VDR を介した



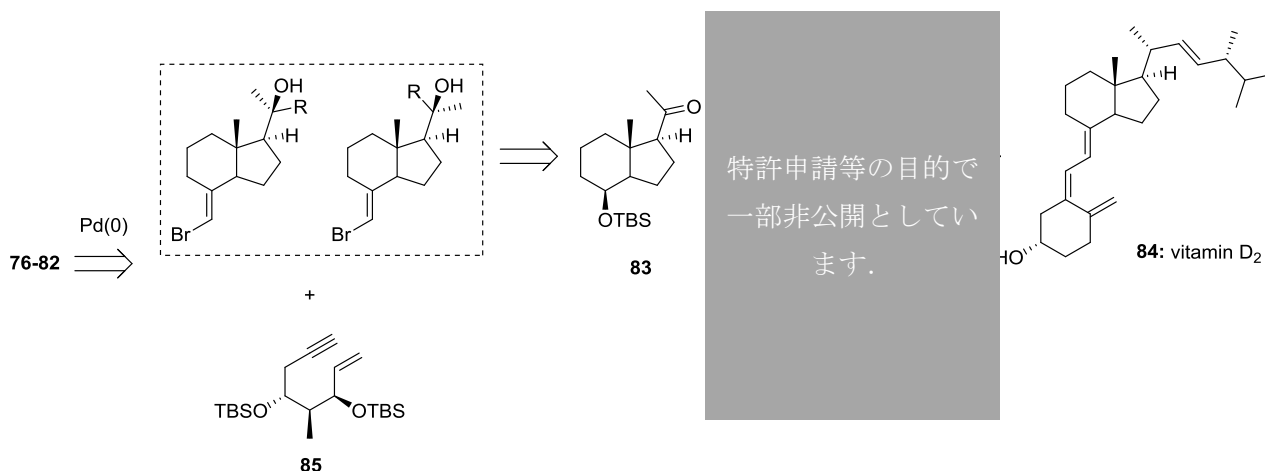
特許申請等の目的で一部  
非公開としています。

Fig. 35 Design of novel 20-hydroxyvitamin D analogues

生物活性への影響について検討する。

## 2. 逆合成解析 (1)

側鎖部を比較するため共通の A 環部を持ち種々の側鎖長を有する 20 位ヒドロキシビタミン D 誘導体 (76-82) を合成ターゲットとした。さらに短い側鎖としてイソプロピル側鎖誘導体を計画した。しかしイソプロピル基を Grignard 反応で直接導入するのは困難であると予測されたため、より反応しやすい [redacted] 側鎖の導入も検討することとした。[redacted] の持つ [redacted] は受容体結合において有利な相互作用が期待でき、合成の面においても還元反応でイソプロピル基へと変換でき、さらなる官能基導入など構造展開しやすいという利点がある。さらにイソプロピル基は代謝により側鎖



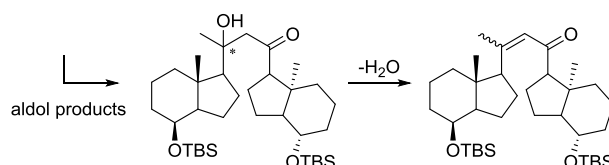
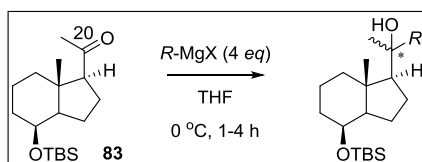
Scheme 12 Retrosynthetic analysis of novel 20-hydroxyvitamin D analogues with cleaved side chain.

末端に第三級ヒドロキシ基が導入されうると考え誘導体 (82) の合成も計画した. 逆合成解析により A 環部前駆体と別途合成した CD 環部をパラジウム触媒を用いてカップリングする収束的方法で誘導体を合成することとした (Scheme 12).

### 3. Grignard 試薬を用いた 20 位への側鎖部導入

側鎖部導入時の Grignard 反応による選択性は, Felkin-Anh 則に従い, 18 位メチル基有する側が最も大きな置換基 L, 水素を最も小さい置換基 S としてカルボニル基に対してより立体障害の少ない方から求核攻撃したもの, すなわち 20S 体が主生成物として得られると予測できる. これは後に X 線結晶解析により確認した. また, Grignard 反応の反応機構は求核付加機構か一電子移動機構のどちらかを経由して進行する. 求核付加機構では Lewis 酸であるマグネシウムに Lewis 塩基のカルボニル酸素が配位し, カルボニル基が分極すると同時 R 基の求核性を強め, 反応が進行する. 一電子移動機構ではラジカルが関与し, 嵩高い試薬を用いた場合この機構で進行するとされる. 今回側鎖部導入反応においては, Felkin-Anh 則に従った生成物が得られていることから主に求核付加機構にて進行していると考えている.

Grignard 試薬による種々の側鎖部導入反応を Table 6 にまとめた. この反応は当研究室の山菅, 大西らとの共同で行っておりその結果を引用している<sup>99)100)</sup>. エントリー1,2 は, 前述の誘導体 (72,74) の合成のため, 修士課程にて既に報告したものである. ステロイド骨格上の 20 位付近は立体的に混んでおり, 二級 Grignard 試薬ではさらに反応が難しく, エントリー3 の Grignard 試薬単体では, 目的生成物は 10%とほとんど得られなかった. Grignard 反応の副反応は, 反応剤の  $\beta$  位に水素が存在する場合は, ヒドリド移動によってカルボニル基の還元反応があるが, 今回 Grignard 試薬の塩基性に基づくアルドール反応が主な副反応として収率低下を引き起こしていた. 反応改善のため, イソブチル側鎖導入時にも用いた塩化セリウムの添加を検討した. セリウムは周期表の第 6 周期に属する希土類元素であり, 独特の化学的性質を有する. Grignard 試薬とケトンとの反応において, 塩化セリウム存在下ではより反応性が増強され, エノール化しやす



**Table 6** Introduction of side-chain by Grignard reaction.

entry	reagent	additive	products 20S: 20R	aldol products	recovery
1		—	83%(100: 0)	trace	—
2		CeCl <sub>3</sub> (4 eq.)	86%(86: 14)	trace	—
3		—	10%(81: 19)	44%	30%
4		CeCl <sub>3</sub> (4 eq.)	88%(75: 25)	trace	—
5		—	trace	82%	12%
6		CeCl <sub>3</sub> (4 eq.)	90%(80: 20)	trace	3%
7 <sup>a</sup>	特許申請等の目的で一部非公開		78%(25: 75)	trace	—

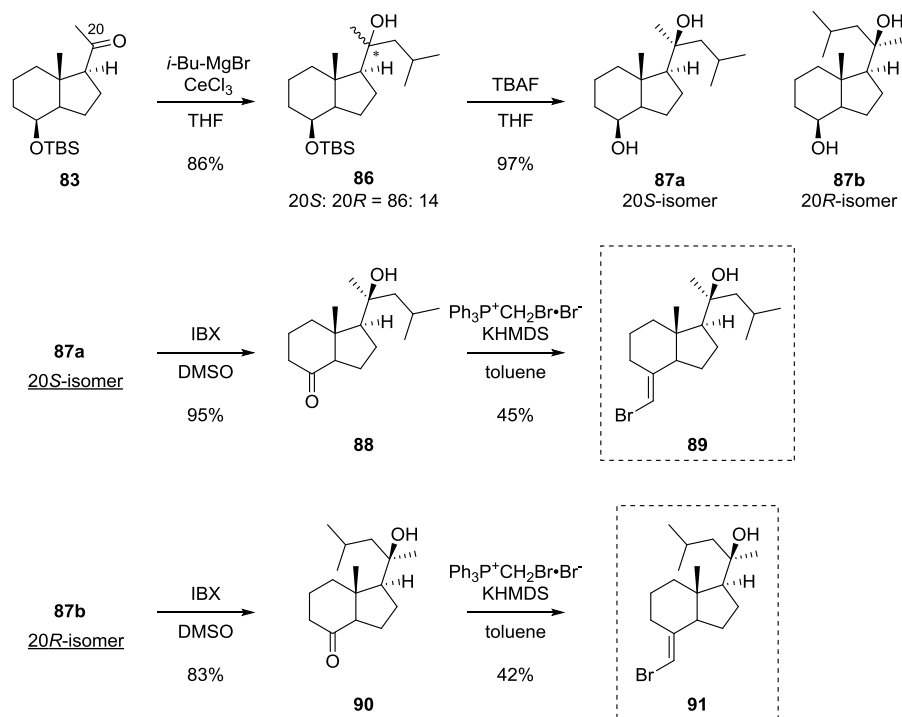
<sup>a</sup> Grignard reagent (2 eq.) was used.

いケトンとの副反応を抑制する<sup>95)</sup>。セリウムはカルボニルの酸素に強く配位してカルボニル基を活性化する。また、別の重要な因子として Grignard 試薬は塩化セリウムにより塩基性が減弱する。以上のことから、添加する条件では Grignard 試薬と等量用いた。エントリー3 では 44%アルドール反応が進行したため、エントリー4 の条件のように Grignard 試薬と等量の塩化セリウムを添加して反応を行ったところ目的化合物を良好な収率 88%にて得ることができた。エントリー1 に示すようにアルキル鎖が長いものは 20S 体のみを与えるのに対し、アルキル鎖が短くなるほどマイナーな生成物も得られ

た. これは Grignard 試薬のアルキル鎖が短くなり立体障害が減少するのが理由と考えられる. よって短い側鎖の Grignard 反応では 20 位に関する立体異性体もある程度生成される. そこで得られた 20 位に関する異性体はすべて合成を進めることとした.

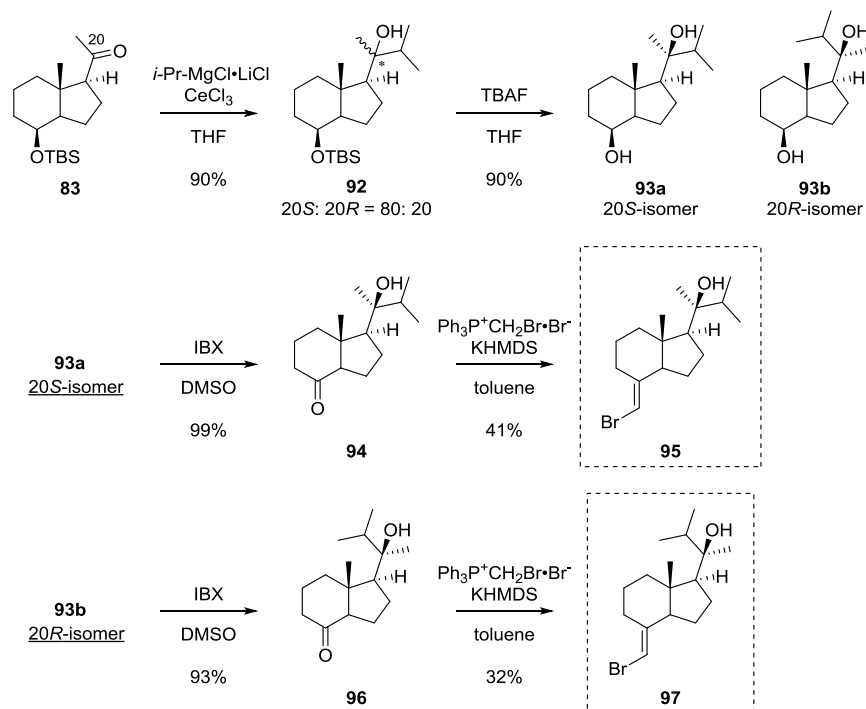
### 側鎖長の異なる CD 環部の合成

側鎖部導入後, 20 位に関するジアステレオマー混合物の分離はシリカゲルカラムクロマトグラフィー条件では困難であったため, TBAF 処理により TBS 基を脱保護した後に分離した. 分離した 20 位に関する立体異性体はそれぞれアルコールを 2-ヨードキシ安息香酸 (IBX) にて酸化し, ケトンへと導いた. 得られたケトンを経由して Wittig 反応に付し, 目的のブロモオレフィンの合成を行った (Scheme 13-15). これらの側鎖長の異なる, あるいは二重結合を有する CD 側鎖部の違いは, 反応性にほぼ影響せず概ね良好な収率にて合成することができた. CD 環部の最終段階の Wittig 反応は文献と同様に *E* 体が主生成物であり, *Z* 体はほとんど生成されない<sup>65)</sup>. また収率についても同程度の収率が得られている. しかし, Scheme 15 での IBX を用いた酸化反応はやや収率の低下がみ

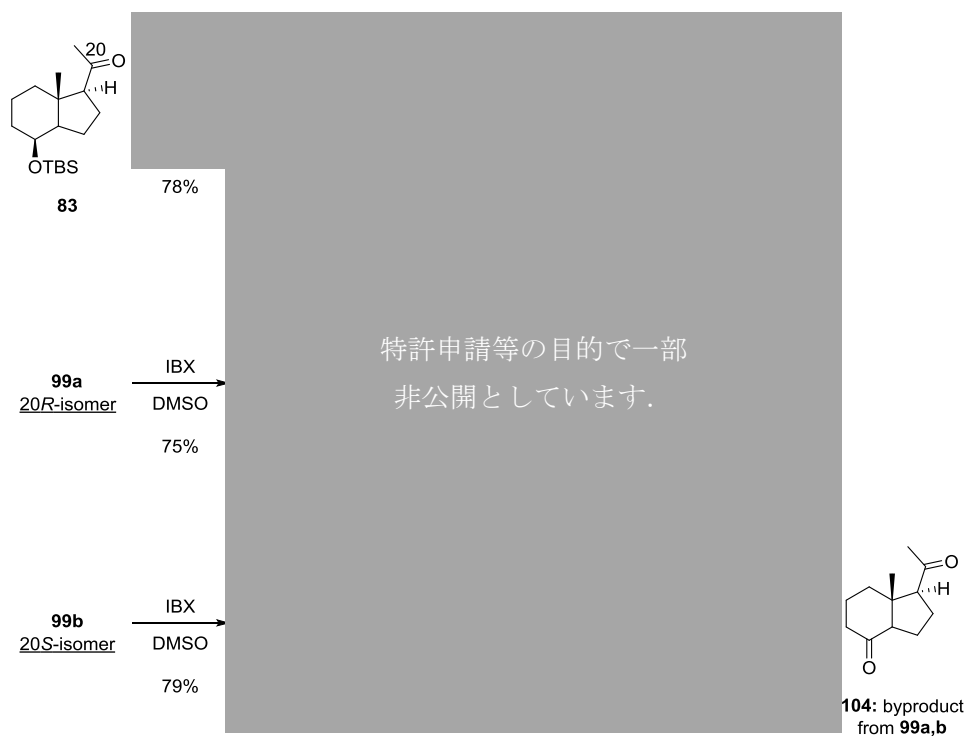


Scheme 13 Synthesis of the CD-ring portions **89** and **91**.





**Scheme 14** Synthesis of the CD-ring portions **95** and **97**.

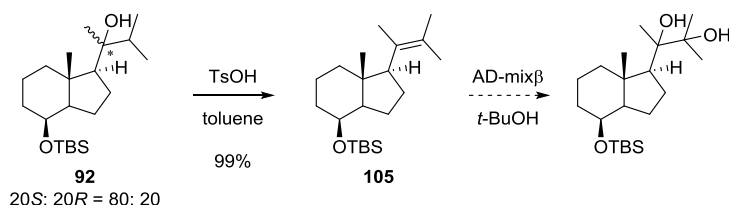


**Scheme 15** Synthesis of the CD-ring portions **101** and **103**.

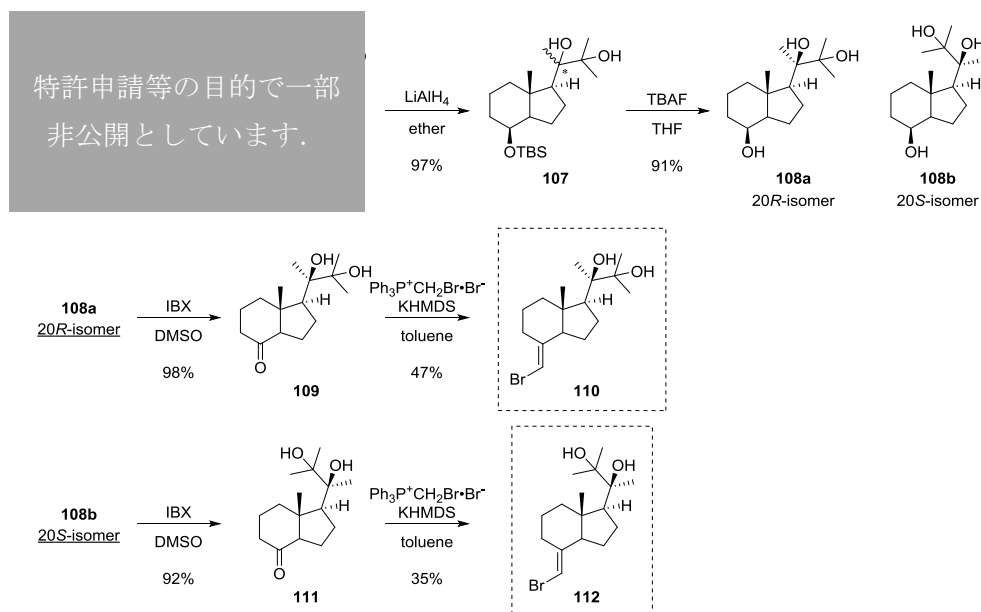
られた。環状の第三級アリルアルコールは DMSO 中、IBX と反応して転位反応が起こることが報告されている<sup>96)</sup>。この化合物は環状ではないが IBX と [redacted] が反応し、<sup>1</sup>H、および <sup>13</sup>C NMR と MS スペクトルから側鎖が切れたと予測される副生成物 (**104**) が得られた。アリルアルコール構造を有する場合、副反応を防ぐため Swern 酸化など他の酸化方法を行うのが望ましいと考えられる。

### さらなる修飾した側鎖部を有する CD 環部の合成

側鎖末端への第三級アルコールの導入に関してはイソプロピル側鎖を有する CD 環部より合成を試みた (Scheme 16)。すなわち、イソプロピル基導入後トシル化を経てオレフィン (**105**) を構築した。その後 Sharpless 不斉ジヒドロキシ化反応を試みたが反応は進行しなかった。これは 4 置換アルケンの立体障害によるものと考えられる。そこで、次に [redacted] 側鎖からの展開を試みた (Scheme 17)。20 位ケトン体より合成した立体異性体混合物 (**104**) を [redacted]，立体異性体混合物として第三級アルコールを導入した化合物 (**107**) を得た。その後同様にして反応を行い目的の CD 環部 (**110, 112**) を合成した (Scheme 17)。



**Scheme 16** Synthesis of diol by Sharpless asymmetric dihydroxylation.



Scheme 17 Synthesis of the CD-ring portions 110 and 112.

#### 4. X線結晶解析を用いた CD 環および側鎖部の解析

合成した CD 環部 (93a, 99a,b) は、20 位の立体化学決定のため、酢酸エチル-*n*-ヘキサンを用いた再結晶後に、X 線結晶解析を行った。ここで Felkin-Anh 則に基づく 20 位の立体化学が確認された。それに加え、別の知見として、イソプロピル側鎖 CD 環部 (93a) と [redacted] 側鎖 CD 環部 (99b) はそれぞれ二種類の配座 (A, B) で結晶化することが判明した (Fig. 36)。それぞれの配座間の差は大きくなくわずかな違いの配座にて結晶化していた。誘導体 (93a) のイソプロピル側鎖末端 23 位 24 位メチル基は、図のニューマン投影式を見ると CD 環に対しアンチ又はゴーシュ配座を占める。一方、誘導体 (99a,b) の [redacted] 側鎖末端は 20R, 20S とともにメチレン部分がヒドロキシ基と重なる配座で結晶化しており側鎖部の指向性が大きく異なることが明らかとなった (Fig. 36)。

VDR と結合した複合体中のリガンドである  $1\alpha,25(\text{OH})_2\text{D}_3$  (2) の側鎖部 C17-C20-C22-C23 がなす二面角は  $-154^\circ$  であり (PDB ID: 1DB1)、一方、 [redacted] 側鎖 (99a) において C17-C20-C22-C23 がなす二面角は  $126^\circ$  であった。これら切断された短い側鎖は (2) における重要な 25 位ヒドロキシ基を欠く。しかし、 [redacted]

側鎖 (99a) はメチレン部分は通常では相互作用しないアミノ酸残基と相互作用できる空間を占める可能性がある。これは誘導体 (99b) にも当てはまる。さらに後で述べるが、誘導体へと変換した後も側鎖は 20 位ヒドロキシ基とが重なる配座にて結晶化していた。この解析により、結晶中においてと 20 位ヒドロキシ基の組み合わせが側鎖部をこれまでにない配座に規定するというこれまでにない重要な結果が得られた (Table 7)。

特許申請等の目的で一部  
非公開としています。

Crystal Data: **93a**  
 Monoclinic  $P2_12_12$   
 0.50 x 0.05 x 0.05 mm  
 FW = 240.37  
 a = 21.378(14) Å       $\alpha = 90^\circ$   
 b = 11.183(7) Å       $\beta = 90^\circ$   
 c = 11.852(8) Å       $\gamma = 90^\circ$   
 Volume = 2833(3) Å<sup>3</sup>  
 Z = 8  
 Density (calcd) = 1.127 Mg/m<sup>3</sup>  
 T = 100 K  
 R1 = 0.0263, wR2 = 0.0597 [ $I > 2\sigma(I)$ ]

Crystal Data: **99a**  
 Monoclinic  $P2_12_12_1$   
 0.350 x 0.220 x 0.120 mm  
 FW = 238.36  
 a = 6.751(3) Å       $\alpha = 90^\circ$   
 b = 13.505(6) Å       $\beta = 90^\circ$   
 c = 15.400(7) Å       $\gamma = 90^\circ$   
 Volume = 1404.0(11) Å<sup>3</sup>  
 Z = 4  
 Density (calcd) = 1.128 Mg/m<sup>3</sup>  
 T = 100 K  
 R1 = 0.0336, wR2 = 0.0774 [ $I > 2\sigma(I)$ ]

Crystal Data: **99b**  
 Monoclinic  $P2_1$   
 0.500 x 0.400 x 0.400 mm  
 FW = 238.36  
 a = 9.396(3) Å       $\alpha = 90^\circ$   
 b = 12.966(4) Å       $\beta = 106.611(3)^\circ$   
 c = 11.788(4) Å       $\gamma = 90^\circ$   
 Volume = 1376.2(8) Å<sup>3</sup>  
 Z = 4  
 Density (calcd) = 1.150 Mg/m<sup>3</sup>  
 T = 100 K  
 R1 = 0.0274, wR2 = 0.0685 [ $I > 2\sigma(I)$ ]

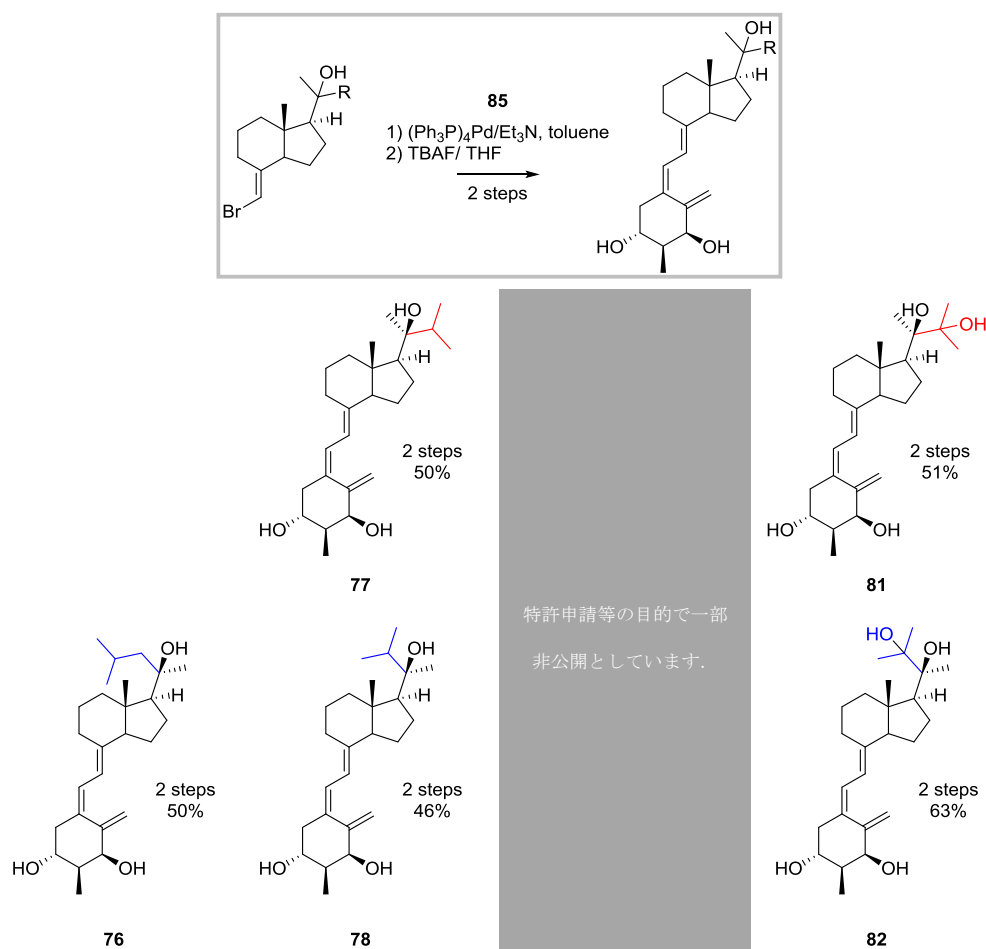
Fig. 36 X-ray crystal structures.

**Table 7** Key torsion angles of the side-chains based on the X-ray crystal structures.

Torsion angles	<b>93a</b> (isopropyl)		<b>99a</b> (isopropenyl)
	Conformation	Conformation	特許申請等の目的で一部 非公開としています。
	A	B	
C16-C17-C20-C21	-173°	-169°	-177°
C16-C17-C20-C22	63°	68°	62°
C17-C20-C22-C23	-174°	-165°	126°

### 5. カップリングによる新規誘導体の合成

新規 CD 環部は別途合成した A 環部前駆体 (**85**) とそれぞれパラジウム触媒を用いてカップリングを行い、目的の種々側鎖部を有する誘導体 (**76-82**) を合成した (**Scheme 18**)。カップリング反応は側鎖構造や、20 位の立体に関わらず問題なく進行し、目的の誘導体を得られた。

**Scheme 18** Synthesis of novel 20-hydroxyvitamin D analogues (**76-82**) with cleaved side chain.

## 6. 20位ヒドロキシビタミンD誘導体の活性評価

合成した誘導体 (76-82) はウシ胸腺 VDR を用いた結合能試験を行った。結果を **Table 8** と **Fig. 37** に示す。側鎖切断は不活性化のプロセスであるため、側鎖を短縮するような修飾は、これまで全く吟味されていなかったといえる。

イソブチル側鎖誘導体 (74) に比べ、20位エピ体 (76) は2倍の活性を示した。さらに、(74) を減炭素したイソプロピル側鎖誘導体 (77) は5-6倍作用が増強した。これは25位ヒドロキシ基を有する誘導体 (73) に匹敵した。

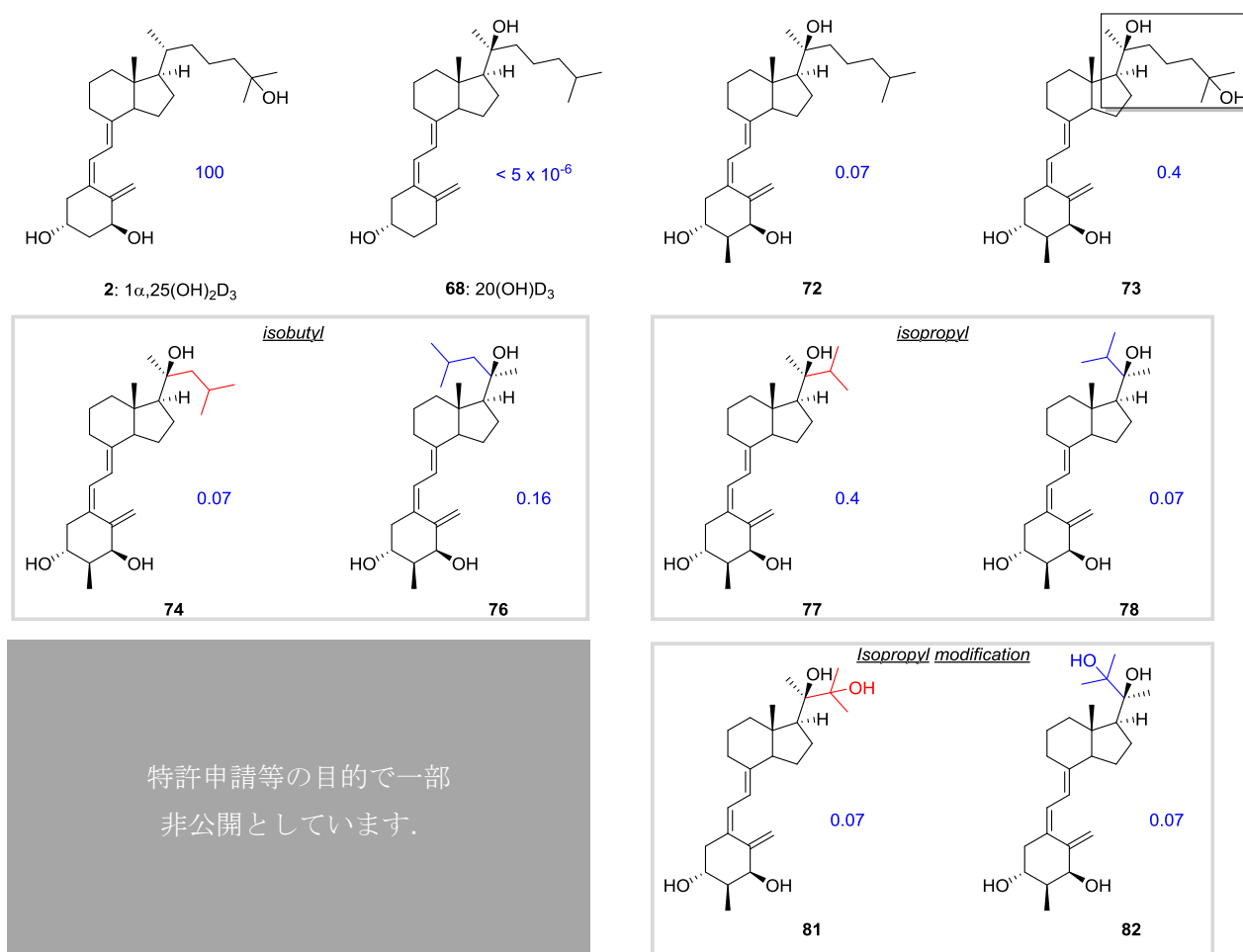
これは20位ヒドロキシビタミンD誘導体として大きく親和性が上昇したはじめての例である。一方、22位にさらにヒドロキシ基が導入された誘導体 (81) (82) は、20位立体に関わらず親和性は低下していた。第三章では、天然と異なる20位異性化と側鎖長の短い20位ヒドロキシビタミンD誘導体が高い親和性を示すという重要な結果が得られた。

**Table 8** Relative VDR binding affinity of the 20-hydroxyvitamin D analogues.

Compounds	VDR <sup>a</sup> binding affinity
1 $\alpha$ ,25-dihydroxyvitamin D <sub>3</sub> ( <b>2</b> )	100 <sup>b</sup>
20S-hydroxyvitamin D <sub>3</sub> ( <b>68</b> )	<5 x 10 <sup>-6</sup>
<b>72</b>	
<b>73</b>	
isobutyl <b>74</b> (20S)	特許申請等の目的で一部非公開とされています。
<b>76</b> (20R)	
isopropyl <b>77</b> (20S)	
<b>78</b> (20R)	
<b>79</b> (20R)	
<b>80</b> (20S)	
isopropyl modification <b>81</b> (20R)	
<b>82</b> (20S)	

<sup>a</sup>Bovine thymus

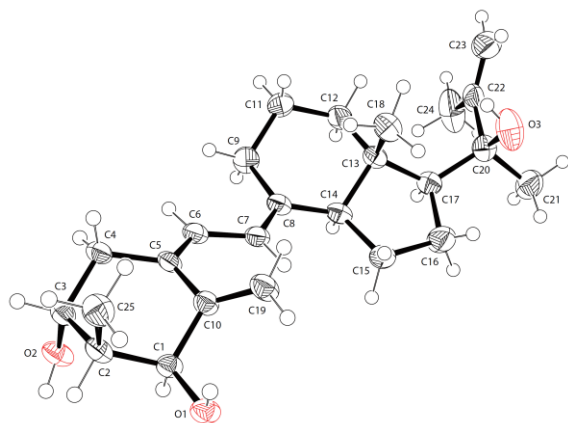
<sup>b</sup>Potency of 1 $\alpha$ ,25-dihydroxyvitamin D<sub>3</sub> is normalized 100 by definition.



**Fig. 37** Structures of 20-hydroxyvitamin D analogues.

## 7. 20位ヒドロキシビタミンD誘導体のX線結晶解析

前述の高活性の化合物 (80) について、その由来を調べるべく、X線結晶解析を行った (Fig. 38)。CD環の側鎖部分の配座は、カップリング前のCD環部 (99b) と同様にメチレン部分と20位ヒドロキシ基がエクリップス型配座となっていた。Table 9は側鎖部の重要な torsion angle をまとめたものである。 $1\alpha,25(\text{OH})_2\text{D}_3$  (2) の20位エピ体 (113) は高活性を示すことが知られ<sup>40)98)</sup> (Fig. 39)、親和性上昇は側鎖部が相互作用できる領域が変化することや21位メチル基がアミノ酸残基とのファンデルワールス相互作用があることが理由とされている<sup>97)</sup>。 $1\alpha,25(\text{OH})_2\text{D}_3$  (2) や20位エピ体 (113) はVDRとの複合体結晶が報告されている<sup>97)</sup>。そこで21位メチル基について 側鎖誘導体 (80) と比較した。すなわちC16-17-20-21で規定される torsion angle



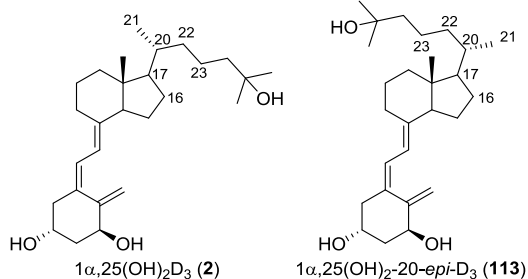
Crystal Data:

Monoclinic  $P2_1$   
 0.150 x 0.050 x 0.010 mm  
 FW = 386.66  
 a = 11.2766(6) Å       $\alpha = 90^\circ$   
 b = 6.5027(3) Å       $\beta = 109.832(2)^\circ$   
 c = 16.0049(10) Å       $\gamma = 90^\circ$   
 Volume = 1104.01(10) Å<sup>3</sup>  
 Z = 2  
 Density (calcd) = 1.163 Mg/m<sup>3</sup>  
 T = 100 K  
 R1 = 0.0441, wR2 = 0.1055 [ $I > 2\sigma(I)$ ]

Fig. 38 X-ray crystal structure of **80**.

を比べると 20 位エピ体 (**113**) は  $56^\circ$  で合成した誘導体 (**80**) は  $54^\circ$  とほぼ一致した (Table 9). 従って, 誘導体 (**80**) の親和性上昇には 21 位メチル基が一部寄与していると考えられる. また 20 位ヒドロキシ基と不飽和結合の組み合わせは側鎖部をこれまでにない配座に規定することが明らかとなった. これは先述の CD 環部の X 線結晶解析で得られた結果とも一致する. C17-20-22-23 で規定される torsion angle では  $1\alpha,25(\text{OH})_2\text{D}_3$  (**2**) は  $-154^\circ$  でその 20 位エピ体 (**113**) は  $178^\circ$  であった (Table 9). それに対し誘導体 (**80**) は  $124^\circ$  とどちらとも異なる角度を示していた.

一般に受容体-リガンド結合にはエントロピーロスが伴うので, それを補うだけのエネルギー, 水素結合やイオン, 双極子, 疎水性相互作用などが存在すれば複合体形成が



特許申請等の目的  
 で一部非公開  
 としています.

Fig. 39 Structures of  $1\alpha,25(\text{OH})_2\text{D}_3$  and 20-epi ligands.



**Table 9** Key torsion angles of the side chain based on the X-ray crystal structures.

Torsion angles	1 $\alpha$ ,25(OH) <sub>2</sub> D <sub>3</sub> ( <b>2</b> )	1 $\alpha$ ,25(OH) <sub>2</sub> -20- <i>epi</i> -D <sub>3</sub> ( <b>113</b> )	<b>80</b>
C16-C17-C20-C21	81°	56°	54°
C16-C17-C20-C22	-33°	-172°	176°
C17-C20-C22-C23	-154°	178°	124°

有利となる。側鎖部のアルキル鎖の短縮により、ファンデルワールス相互作用が減少し、さらに重要な 25 位の水素結合を失うことから、この [redacted] 側鎖は 1 $\alpha$ ,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> (**2**) に比べエンタルピー的には不利にはたらくと予測できる。さらに柔軟性の高い側鎖部が短縮によりリガンド自体のエントロピーが減少すると考えられる。つまり、エントロピーの減少と、水素結合を欠くことで不利なエンタルピー変化が存在していると考えられる。実際の実験結果と親和性試験の結果をみると合成した他の誘導体と比べ [redacted] 側鎖は親和性が上昇した。さらにイソプロピル側鎖においては大きな親和性上昇効果がないことから、新たな相互作用は  $\pi$  電子が関与していると考えられる。それらを考慮するとこの修飾では新たな相互作用を獲得することで有利なエンタルピー変化の結果、親和性が上昇したといえる。他の可能性としては [redacted] 側鎖が受容体とフィットすることで疎水性空間に存在している水分子を追い出して親和性が上昇するなどが考えられる。

20 位エピ体 (**113**) の VDR 親和性上昇効果も重要だが、もう一つ注目すべきことは、分化誘導能である。20 位エピ体 (**113**) は 1 $\alpha$ ,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> (**2**) に比べ約 30 倍以上高い分化誘導能を有する。さらに 2 $\alpha$  メチル基を有する場合、相乗的に分化誘導能が上昇する<sup>98)</sup>。今回合成した [redacted] 側鎖誘導体は 20 位エピ体 (**113**) 同様に 20 位立体依存的に親和性が上昇したことや、21 位のメチル基の指向性が同じであったことから、分化誘導能に影響している可能性がある。仮に同様の傾向が観測できれば 21 位のメチル基の位置関係が分化誘導能への切り替えに重要である可能性がある。さらに二重結合は新たな相互作用の存在が示唆されることから、こちらについてもこれをリード化合物として類縁体を合成し、相互作用を明らかにする必要がある。

## 8. 側鎖部に関するさらなる構造展開

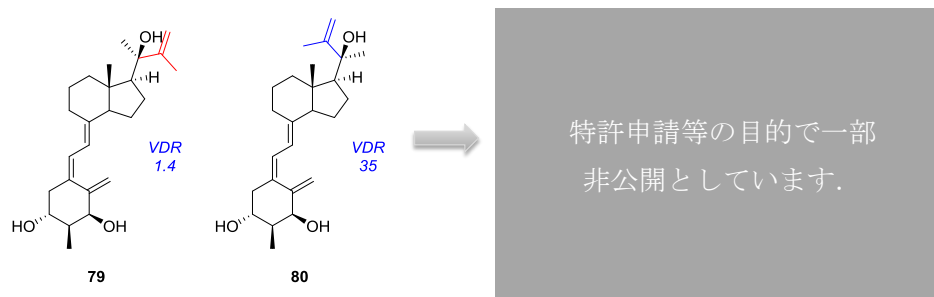
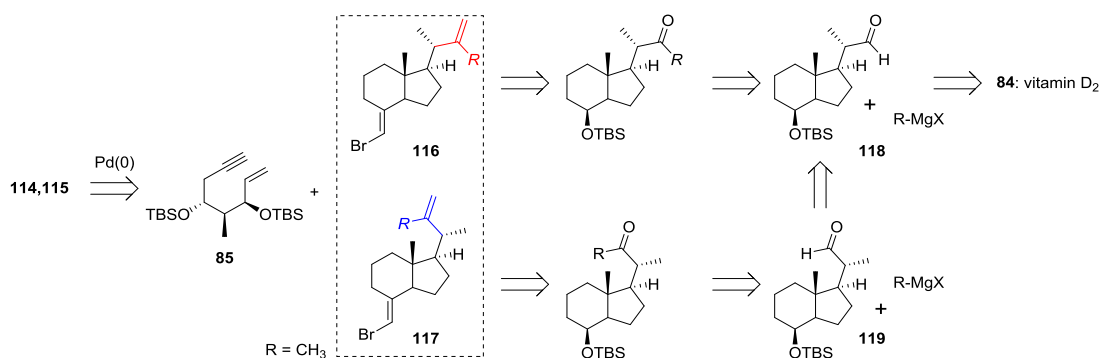


Fig. 40 Structures of [redacted] side chain analogues.

驚くべきことに VDR に対し高活性を示した 20 位ヒドロキシ基を有する [redacted] 誘導体 (79, 80) は側鎖部が大きく切断されており, 親和性上昇効果は 25 位ヒドロキシ基の水素結合によらないと予測された. そこで, オレフィン導入による  $\pi$  電子の相互作用あるいはアリルアルコール構造が側鎖部を規定する効果によるものと考えた. 20 位近傍は Leu-230, Ile-268, Val-300 など疎水的空間で囲まれているため 20 位ヒドロキシ基は不利にはたらいっている可能性がある. そこで, これらの化合物の親和性上昇効果を明らかにする目的で, 20 位ヒドロキシ基を欠く誘導体を設計し, その合成法を確立することにした (Fig. 40).

## 9. 逆合成解析 (2)

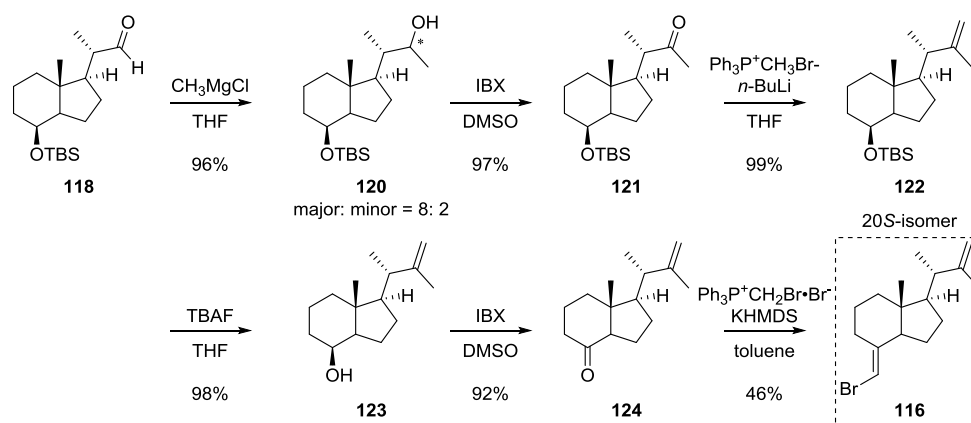
逆合成解析を Scheme 19 に示す. 今後 22 位へオレフィンを有し, 種々側鎖部への構造展開が可能な合成スキームを構築した. すなわち, Scheme 19 は Grignard 試薬や Wittig 反応による種々ホスホニウム塩を変更することで, 22 位にオレフィンを有する様々な側鎖部構築が可能である.



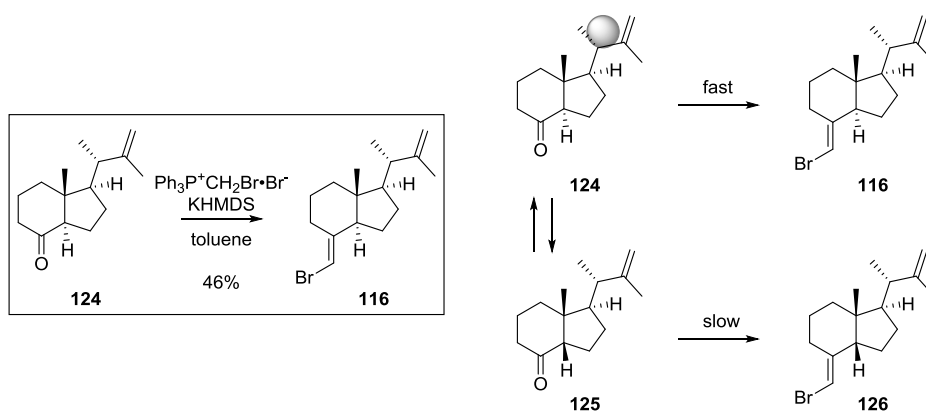
Scheme 19 Retrosynthetic analysis of novel vitamin D analogues with cleaved side chain.

## 10. 20位ヒドロキシ基を欠く側鎖切断型 CD 環部の合成

ビタミン D<sub>2</sub> (**84**) より導いたアルデヒド (**118**) にメチルマグネシウムクロリドを反応させ、収率 96% で得られたジアステレオマー混合物のアルコール (**120**) を IBX によりケトン (**121**) へと収率 97% で変換した (Scheme 20). 次にケトン (**121**) を Wittig 反応に付し化合物 (**122**) の合成を試みた. ホスホニウム塩 2.1 等量, *n*-BuLi 2 等量により生成するリンイリド 2 等量の条件にて室温 15 時間で反応させたところ, 目的化合物の収率は 4% と低く, 原料回収は 88% であった. 等量数と反応温度を変更し良好な収率 99% で化合物 (**122**) を合成することができたが, このとき 20 位のエピ化は観察されなかった (Table 10). その後, 第二級アルコールの TBS 基を TBAF により処理して脱保護体 (**123**) を収率 98% で得た. 脱保護体 (**123**) を IBX 酸化により収率 92% でケトン (**124**) に変換し, さらに Wittig 反応に付しブロモオレフィン (**116**) の合成が完了した (Scheme 20).



Scheme 20. Synthesis of **116**

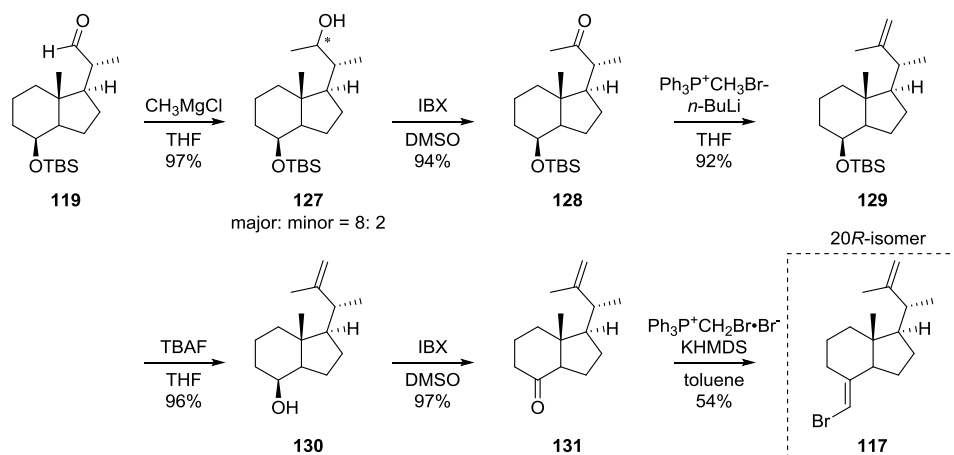


**Scheme 21**

CD 環部合成の最終段階の反応は、副生成物として 14 位がエピ化した化合物 (**125**, **126**) が他の CD 環部類縁体より多く生成された (**Scheme 21**)。これはリンイリド調製後残った塩基の影響であると推測される。ただし前述の 20 位ヒドロキシ CD 環部類縁体では、それほど生成されなかった。14 位エピ化が問題となった化合物 (**124**) では 20 位ヒドロキシ基が存在していない。これまでの CD 環部では 20 位ヒドロキシ基が残った塩基と作用して 14 位エピ化を抑制していたと考えられる。生成物からエピ体へは変換しないことから低温にして反応を行ったところエピ化を抑制し目的化合物を得ることができた。さらに 14 位エピ化が起こり TLC 上で **125** の生成が確認できても、温度を管理すればほぼ目的化合物が得られることから、親化合物 (**124**) の方が反応しやすいことが予測された。

20 位立体異性体のアルデヒド (**119**) は化合物 (**118**) を THF 溶液中、DBU を reflux で反応させ 20 位の立体異性体混合物のアルデヒドを得た。この混合物はシリカゲルカラムクロマトグラフィーでの分離が困難である。そこで、さらにメタノール溶液中  $\text{NaBH}_4$  を反応させ、アルコールへ変換後、ジアステレオマー混合物を分離した。望みの立体異性体を再び酸化してアルデヒド (**119**) を得た。得られたアルデヒド (**119**) を前述の同条件にて反応を行い化合物 (**117**) を合成した (**Scheme 22**)。

22 位に二重結合を有する側鎖部構築において重要な Wittig 反応を **Table 10** にまとめた。この反応は 20 位の立体が異なると反応性が大きく変わることが明らかとなった。すなわち化合物 (**121**) から (**122**) へは反応完結に 20 時間を要する。一方、化合物 (**128**)



Scheme 22 Synthesis of 117

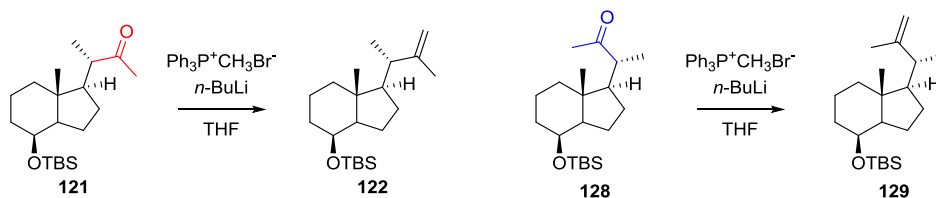
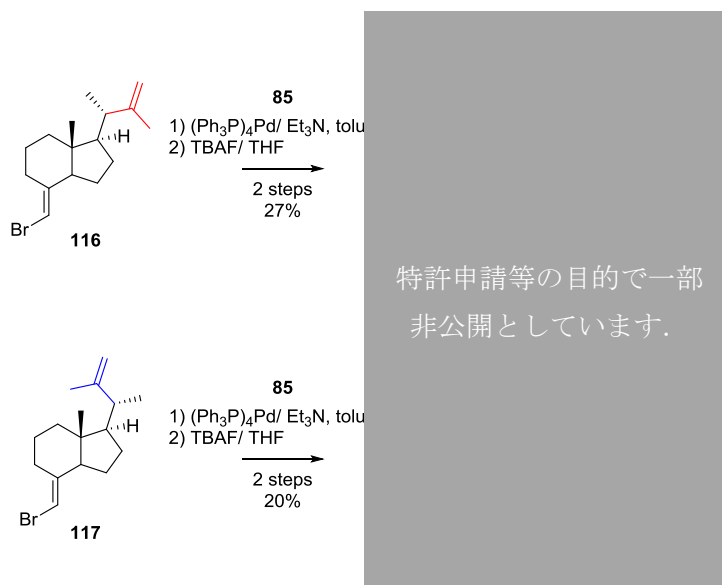


Table 10 Wittig reaction of 121 and 128.

entry	ketone	$\text{Ph}_3\text{P}^+\text{CH}_3\text{Br}^-$	$n\text{-BuLi}$	solvent	temp.	time	yield
1	<b>121</b>	10.2 eq.	10 eq.	THF	reflux	21 h	99%
2	<b>121</b>	10.2 eq.	10 eq.	toluene	reflux	19 h 45 min	88%
3	<b>128</b>	10.2 eq.	10 eq.	THF	reflux	2 h 30 min	92%
4	<b>128</b>	10.2 eq.	10 eq.	toluene	reflux	1 h 50 min	87%

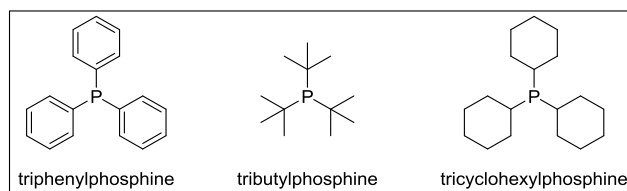
から (129) では 2 時間程度であり、必要な反応時間が大きく異なる。また溶媒を変更し、反応温度を上げてても反応時間はほとんど変化せず、やや収率が低下しており、目的化合物が高温で一部分解したと考えられる。化合物 (129) の合成は先の反応を参考に等量数を決定したが、この結果から、より少ない等量数でも速やかに合成できると予測される。

## 1.1. 20位ヒドロキシ基を欠く側鎖切断型誘導体の合成



**Scheme 23** Synthesis of novel vitamin D analogues with cleaved side chain without the 20-hydroxyvitamin group.

最後に新規 CD 環部 (116,117) は A 環部前駆体 (85) とカップリング反応を行い、二工程で目的の 20 位ヒドロキシ基を欠く側鎖切断型誘導体 (114,115) の合成が完了した (Scheme 23)。ただし、収率はそれぞれ 27%, 20%と低かった。カップリング反応に用いるパラジウム触媒はこれまで同様トリフェニルホスフィンが配位したテトラキス (トリフェニルホスフィン) パラジウムを使用した。ホスフィン配位子は金属の電子密度を高め、その結果、金属がよい求核剤となり、適切な基質に対し酸化的付加しやすくなるとされる。一般にクロスカップリング反応は電子豊富でかさ高い配位子を用いることで促進される。トリフェニルホスフィンより活性な配位子として、たとえば *tert*-ブチル基やシクロヘキシル基などが置換した三級アルキルホスフィンが配位したパラジウム触媒は、クロスカップリングにおいて高い活性を示すことが知られる (Fig. 41)。しかしトリフェニルホスフィンに比べアルキルホスフィン是不安定である。この反応については十分な検討ができていない。オレフィンを有する誘導体のカップリング反応については、今後検討を行う必要があると考えている。



**Fig. 41** Phosphine ligands.

## 1.2. 側鎖切断型ビタミンD誘導体の活性評価



**Fig. 42**

これら新規誘導体 (114,115) は逆相リサイクル HPLC にて精製後、ウシ胸腺 VDR 親和性の結果を行った (Fig. 42). [redacted] 側鎖誘導体の結果をまとめたものを Fig. 43 と Table 11 に示した. 特に [redacted] 誘導体 (115) は 20 位ヒドロキシ体から脱却した構造を持ち、 $1\alpha,25(\text{OH})_2\text{D}_3$  (2) に匹敵する高い親和性を示した (Fig. 42). ビタミン D 誘導体に関して側鎖切断された構造で、高い親和性を示す誘導体は報告されていない. 20 位ヒドロキシ基の有無で比較すると、誘導体 (79) に比べ誘導体 (114) は 4 倍、誘導体 (80) に比べ誘導体 (115) は 1.5 倍程度活性が上昇し、20 位に関しどちらの立体においても、親和性の上昇がみられた. したがって、20 位 S 体, R 体に関わらず、20 位ヒドロキシ基除去は親和性上昇に効果があることが明らかとなった. ただし、その効果は (80) と (115) で比較すると小さくなく 20 位ヒドロキシ基も親和性上昇に何らかの寄与をしていると考えられる. これは先の X 線結晶解析で述べた通り 20 位ヒドロキシ基と [redacted] の側鎖配座規定の効果がその一つであると推定している.



**Fig. 43** Structures of [redacted] side chain analogues.

**Table 11** Relative vitamin D receptor binding affinities for the vitamin D analogues.

Compounds	VDR <sup>a</sup> binding affinity
1 $\alpha$ ,25-dihydroxyvitamin D <sub>3</sub> ( <b>2</b> )	100 <sup>b</sup>
20S-hydroxyvitamin D <sub>3</sub> ( <b>68</b> )	<5 x 10 <sup>-6</sup>
20-hydroxy	[redacted] 特許申請等の目的で一部 非公開としています。

<sup>a</sup>Bovine thymus

<sup>b</sup>Potency of 1 $\alpha$ ,25-dihydroxyvitamin D<sub>3</sub> is normalized 100 by definition.

### 13. まとめ

種々の側鎖を有する 20 位ヒドロキシビタミン D のライブラリーを構築し、VDR 親和性を調査した結果、20 位ヒドロキシ基の立体化学、及び [redacted] が VDR 親和性に影響を与えること、さらに活性型である 1 $\alpha$ ,25-ジヒドロキシビタミン D<sub>3</sub> に相当する高親和性を持つ誘導体 (**68**) を見いだした (**Fig. 43**)。この誘導体は 20 位ヒドロキシ基と



いう VDR 親和性という側面においてはネガティブな効果をもつ構造がありながら高い親和性を示すという重要な結果が得られた。加えて A 環修飾を有する 20 位ヒドロキシビタミン D 誘導体において側鎖部切断の影響が小さいことが示された。

20 位ヒドロキシ基の役割をさらに検討するため、20 位ヒドロキシ基を欠く側鎖切断型誘導体の合成法を確立した。側鎖の親和性上昇効果に 20 位ヒドロキシ基は必須ではないことが明らかとなったが、この修飾の場合ではそれほど不利にはたっていないことが示された。また新たな相互作用には の関与が示唆された。短い側鎖を有する誘導体が高親和性を示したはじめての例として重要であり、今後この効果について精査する必要がある。Fig. 43 の 4 種の 誘導体は側鎖部 24 位を欠くためビタミン D の主な不活性化経路である CYP24A1 による多段階の代謝を回避できることが期待できる。また、一般に  $1\alpha,25(\text{OH})_2\text{D}_3$  (2) の 20 位立体異性体は分化誘導能に大きく影響していることから、この修飾について検討すれば分化誘導能への切り替えに重要な知見を得られる可能性がある。誘導体 (80) と誘導体 (115) の親和性の差は小さく、誘導体 (115) とその類縁体は 20 位立体化学の構築がより容易であることから、20 位ヒドロキシ基の役割を考察する上で非常に重要なツールとなることが期待できる。

## 総括

本研究では代謝物を基盤として誘導体設計と合成、活性評価を行った。第二章では(2)の3位代謝物に着目し、受容体との結合において重要なA環部ヒドロキシ基の構造修飾を試みた。さらに、修飾する官能基として、特徴的な構造を有するスピロオキセタン環を選択した。つまり、スピロオキセタン環を新たなヒドロキシ基の生物学的等価体とする試みを行った。その結果、スピロオキセタン環は水素結合受容体として機能するヒドロキシ基の代替となる可能性が示唆された。1位または3位オキセタン誘導体の受容体結合能の結果から、3位に比べ重要であると考えられていた1位ヒドロキシ基への構造修飾が許容されることが示唆された。また、(2)の3位ヒドロキシ基はVDRとの複合体形成において、水素結合供与体として重要であることが示唆され、今後、誘導体設計に関して有用な知見が得られた。6種の誘導体の立体化学決定には励起子キラリティー法を適用した。今後、他のビタミンD類縁体の絶対配置決定の方法として、励起子キラリティー法を用いる際に有用な知見を明らかとした。

第三章では側鎖切断酵素(P450<sub>scc</sub>)であるCYP11A1による代謝物である20-ヒドロキシビタミンD<sub>3</sub>(68)を基盤に誘導体設計および合成を行った。種々の側鎖を導入可能とする合成法の確立により、標的受容体と側鎖部の疎水的相互作用が減少しても、共通のA環部ヒドロキシ基を有する構造により、結合能には差がないことを明らかにした。さらに20位異性化と側鎖長の短い20位ヒドロキシビタミンD誘導体が高い親和性を示すという重要な結果が得られた。

次に、20位ヒドロキシ基の役割をさらに検討するため、20位ヒドロキシ体から脱却し、Grignard試薬やWittig反応によるホスホニウム塩を変更することで種々側鎖部の検討を可能とした合成法を確立した。誘導体は20位ヒドロキシ基を除いた場合でも親和性は上昇し、その効果には [redacted] が示唆された。短い側鎖を持つ誘導体がVDRに対して活性型ビタミンD<sub>3</sub>(2)に匹敵する高親和性を示すというはじめての例が得られた。今後は確立した合成法を用いて新たな相互作用を明らかと

することができると考えている。この章では 20 位ヒドロキシ基の役割を精査することができ、高親和性を示す誘導体の合成に成功した。さらに VDR とリガンドとの新たな相互作用の発見などビタミン D 研究において非常に重要な知見を得ることができた。

以上、本研究は、ユニークなビルディングブロックであるオキセタンの可能性を探るため *seco*-ステロイド骨格に導入する合成法の開発、あるいは 20 位ヒドロキシビタミン D を基盤とした体系的な側鎖修飾 CD 環部の開発や、ビタミン D 化合物における新たな立体化学決定法を行ったものである。本研究により得られた知見は今後のビタミン D 研究に応用でき、新たなリガンド設計や活性発現機構解明に貢献できると考えている。

#### General information:

NMR spectra were recorded on a Bruker AVANCE-400, a Bruker AVANCE-700, or a JEOL ECX-400 spectrometer. The chemical shifts have been expressed in ppm relative to tetramethylsilane (TMS). Mass spectra and electrospray ionisation high-resolution mass spectra (ESI-HRMS) were recorded on a Bruker micrOTOF. Infrared (IR) spectra were recorded on a Jasco FT/IR-6300 spectrometer, or a Perkin Elmer Spectrum One FT-IR spectrometer and are expressed in  $\text{cm}^{-1}$ . Ultraviolet (UV) spectra were recorded with a Jasco V-660 spectrophotometer. Circular dichroism (CD) spectra were measured on a Jasco J-820 spectropolarimeter. Recycling preparative HPLC was performed on a Shimadzu CBM-20A equipped with an LC-6AD pump and an SPD-M20A diode array detector.

#### Experimental Procedures:

##### Compound **40**

To a solution of 3-oxetanone **39** (3.74 g, 51.9 mmol) in dry dichloromethane (100 mL) was added [(ethoxycarbonyl)methylene]triphenylphosphorane (19.9 g, 57.1 mmol, 1.1 *eq.*) with stirring under an atmosphere of argon at 0 °C. The resulting mixture was stirred at room temperature for 30 min. The solvent was removed under the reduced pressure to give a residue, from which compound **40** (6.87 g) was separated by silica gel column chromatography (ethyl acetate: *n*-hexane = 1: 4) as a colorless oil in 93% yield.

**40**:  $^1\text{H}$  NMR (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  1.28 (3 H, t,  $J = 7.1$  Hz), 4.17 (2 H, q,  $J = 7.1$  Hz), 5.30 (1 H, dd,  $J = 3.5, 2.4$  Hz), 5.31 (1 H, dd,  $J = 3.5, 2.4$  Hz), 5.51 (1 H, dd,  $J = 3.6, 2.4$  Hz), 5.52 (1 H, dd,  $J = 3.6, 2.4$  Hz), 5.64 (1 H, quint.,  $J = 2.4$  Hz).

##### Compound **41**

To a suspension of sodium hydride (3.24 g, 60% in mineral oil, 81.0 mmol, 3.0 *eq.*) in THF (54 mL) was added diethyl malonate (14.3 mL, 15.1 g, 84.9 mmol, 3.5 *eq.*) in a dropwise

manner with stirring under an atmosphere of argon at 0 °C. After having been stirred for 20 min at room temperature, tetra-*n*-butylammonium bromide (3.48 g, 10.8 mmol, 0.4 *eq.*), followed by a solution of **40** (3.87 g, 27.2 mmol) in THF (6.4 mL), was introduced to the reaction mixture. The mixture was stirred for 18 h, and quenched by the addition of acetic acid (5.8 mL). The reaction mixture was diluted with ether, and washed with brine, dried over sodium sulfate and filtered. Evaporation of the filtrate afforded a residue, from which compound **41** (7.01 g) was separated by silica gel column chromatography (ethyl acetate: *n*-hexane = 1: 6) as a colorless oil in 95% yield.

**41**: <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 1.26 (3 H, t, *J* = 7.2 Hz), 1.29 (6 H, t, *J* = 7.1 Hz), 2.98 (2 H, s), 3.96 (1 H, s), 4.14 (2 H, q, *J* = 7.2 Hz), 4.23 (4 H, q, *J* = 7.1 Hz), 4.58 (2H, d, *J* = 6.9 Hz), 4.77 (2 H, d, *J* = 6.9 Hz).

#### Compound **42**

To a solution of **41** (7.01 g, 25.6 mmol) dissolved in DMSO (200 mL) and water (1.4 mL) was added sodium chloride (3.04 g, 52.0 mmol, 2.0 *eq.*), and the mixture was heated with stirring at 160 °C for 3 h. The reaction mixture was diluted with ether, and washed with brine, dried over sodium sulfate and filtered. Evaporation of the filtrate afforded a residue, from which compound **42** (4.85 g) was separated by silica gel column chromatography (ethyl acetate: *n*-hexane = 1: 6) as a colorless oil in 81% yield.

**42**: <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 1.26 (6 H, t, *J* = 7.2 Hz), 2.91 (4 H, s), 4.13 (4 H, q, *J* = 7.2 Hz), 4.56 (4 H, s).

#### Compound **38**

To a suspension of lithium aluminum hydride (1.00 g, 26.4 mmol) in THF (27 mL) was added dropwise a solution of **42** (1.60 g, 6.95 mmol) dissolved in THF (2 mL) at 0 °C under an atmosphere of argon. After having been stirred for 15 min at room temperature, the reaction

mixture was cooled to  $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ , and saturated aqueous ammonium chloride (3 mL) was cautiously added in a dropwise manner. The whole mixture was extracted with ethyl acetate. The combined organic layer was filtered through Celite®. Evaporation of the filtrate gave a residue, which was being compound **38** (840 mg, 83 %) as a colorless oil without further purification.

**38**:  $^1\text{H}$  NMR (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  2.60 (4 H, t,  $J = 6.4$  Hz), 3.79 (4 H, t,  $J = 6.4$  Hz), 4.49 (4 H, s)

### Compound **43**

To a solution of **38** (520 mg, 3.56 mmol), *p*-methoxybenzyl chloride (PMBCl) (0.53 mL, 3.90 mmol, 1.1 *eq.*) and tetra-*n*-butylammonium iodide (TBAI) (657 mg, 1.78 mmol, 0.5 *eq.*) dissolved in dry THF (2.4 mL) was added a suspension of sodium hydride (171 mg, 60% in mineral oil, 4.28 mmol, 1.2 *eq.*) in THF (1.2 mL) with stirring under an atmosphere of argon at  $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ . The reaction mixture was stirred for 1 day at room temperature, while a suspension of sodium hydride (43 mg, 60% in mineral oil, 1.08 mmol, 0.3 *eq.*) in THF (0.3 mL) was added for three times at  $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$  to complete the reaction. After the addition of saturated aqueous ammonium chloride (5 mL) to the reaction mixture at  $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ , the whole was extracted with ethyl acetate (100 mL x 3). The combined organic layer was washed with brine, dried over sodium sulfate and filtered. Evaporation of the filtrate afforded a residue, from which **43** (628 mg) was separated by silica gel column chromatography (ethyl acetate: *n*-hexane = 1: 2, then ethyl acetate: *n*-hexane: methanol = 20: 10: 1) as a pale yellow oil in 66% yield, with the bis-PMB ether product (126 mg, 9 %).

**43**:  $^1\text{H}$  NMR (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  1.92 (1 H, br. s), 1.99 (2 H, t,  $J = 6.5$  Hz), 2.06 (2 H, t,  $J = 6.2$  Hz), 3.53 (2 H, t,  $J = 6.2$  Hz), 3.72 (2 H, t,  $J = 6.5$  Hz), 3.80 (3 H, s), 4.41 (2 H, s), 4.44 (2 H, d,  $J = 6.0$  Hz), 4.47 (2 H, d,  $J = 6.0$  Hz), 6.87 (2 H, d,  $J = 8.7$  Hz), 7.22 (2 H, d,  $J = 8.7$  Hz);  $^{13}\text{C}$  NMR (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  35.5 (t), 38.1 (t), 40.6 (s), 55.2 (q), 59.3 (t), 66.5 (t), 72.8 (t),

82.1 (t), 113.8 (d), 129.2 (d), 130.1 (s), 159.2 (s); IR (ATR) 3417, 2932, 2866, 2358, 2336, 1612, 1586, 1512  $\text{cm}^{-1}$ ; HRMS (ESI+)  $m/z$  calcd. for  $\text{C}_{15}\text{H}_{22}\text{NaO}_4$   $[\text{M}+\text{Na}]^+$  289.1410, found 289.1411.

#### Compound 37

A solution of oxalyl chloride (0.45 mL, 5.16 mmol, 2.3 *eq.*) in  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (1.5 mL) was added to a stirred solution of dimethylsulfoxide (DMSO) (0.80 mL, 10.3 mmol, 4.7 *eq.*) in dry  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (1.5 mL) under an atmosphere of argon at  $-78\text{ }^\circ\text{C}$ , and the mixture was stirred at the same temperature for 30 min. The resulting mixture was transferred to a solution of **43** (592 mg, 2.22 mmol) in  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (4 mL), and the reaction mixture was stirred at  $-78\text{ }^\circ\text{C}$  for 40 min. Subsequently, neat triethylamine (2.7 mL, 19.4 mmol, 8.7 *eq.*) was added to the reaction mixture followed by stirring for 30 min. The reaction was quenched by the addition of water (5 mL) and the whole was extracted with ether (70 mL x 3). The combined organic layer was washed with brine (5 mL), dried over sodium sulfate and filtered. Evaporation of the filtrate afforded a residue, from which **37** (568 mg) was separated by silica gel column chromatography (ethyl acetate: *n*-hexane = 1: 2, then 1: 1) as a colorless oil in 95% yield.

**37**:  $^1\text{H}$  NMR (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  2.12 (2 H, t,  $J = 6.0$  Hz), 2.92 (2 H, s), 3.48 (2 H, t,  $J = 6.0$  Hz), 3.81 (3 H, s), 4.35 (2 H, s), 4.46 (2 H, d,  $J = 6.0$  Hz), 4.58 (2 H, d,  $J = 6.0$  Hz), 6.87 (2 H, d,  $J = 8.8$  Hz), 7.20 (2 H, d,  $J = 8.8$  Hz), 9.75 (1 H, s);  $^{13}\text{C}$  NMR (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  35.6 (t), 39.6 (s), 49.5 (t), 55.3 (q), 66.3 (t), 72.7 (t), 82.0 (t), 113.8 (d), 129.1 (d), 130.1 (s), 159.2 (s), 200.6 (d); IR (ATR) 2932, 2887, 2837, 2734, 2251, 1718, 1612, 1585, 1512  $\text{cm}^{-1}$ ; HRMS (ESI+)  $m/z$  calcd. for  $\text{C}_{15}\text{H}_{20}\text{NaO}_4$   $[\text{M}+\text{Na}]^+$  287.1254, found 287.1242.

#### Compound 44

A solution of vinylmagnesium bromide (1.0 M in THF, 0.76 mL, 0.76 mmol, 4.0 *eq.*) was added to a stirred solution of **37** (50 mg, 0.19 mmol) in dry THF (0.76 mL) at  $-78\text{ }^\circ\text{C}$  in a

drop-wise manner under an atmosphere of argon. After having been stirred for 1 h at 0 °C, the reaction was quenched by the addition of saturated aqueous ammonium chloride (5 mL). The resultant mixture was extracted with ethyl acetate (20 mL x 3), and the combined organic layer was washed with brine (3 mL), dried over sodium sulfate and filtered. Evaporation of the filtrate afforded a residue, from which **44** (49 mg) was separated by silica gel column chromatography (ethyl acetate: *n*-hexane = 1: 1) as a colorless oil in 89% yield.

**44**: <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 1.87 (1 H, dd, *J* = 14.4, 4.0 Hz), 1.99 (1 H, dd, *J* = 14.4, 9.0 Hz), 2.13 (1 H, dt, *J* = 14.4, 6.0 Hz), 2.24 (1 H, ddd, *J* = 14.4, 7.1, 6.0 Hz), 3.53 (1 H, ddd, *J* = 9.6, 7.1, 5.6 Hz), 3.58 (1 H, dt, *J* = 9.6, 6.0 Hz) 3.80 (3 H, s), 4.21 (1 H, m), 4.412 (1 H, d, *J* = 6.0 Hz), 4.414 (2 H, s), 4.43 (1 H, d, *J* = 6.0 Hz), 4.46 (1 H, d, *J* = 6.0 Hz), 4.54 (1 H, d, *J* = 6.0 Hz), 5.05 (1 H, dt, *J* = 10.3, 1.1 Hz), 5.17 (1 H, dt, *J* = 17.2, 1.3 Hz), 5.84 (1 H, ddd, *J* = 17.2, 10.3, 6.1 Hz), 6.87 (2 H, d, *J* = 8.6 Hz), 7.23 (2 H, d, *J* = 8.6 Hz); <sup>13</sup>C NMR (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 35.4 (t), 40.9 (s), 42.5 (t), 55.3 (q), 66.6 (t), 70.5 (d), 72.9 (t), 82.1 (t), 82.9 (t), 113.8 (d), 114.2 (t), 129.3 (d), 130.0 (s), 141.5 (d), 159.2 (s); IR (ATR) 3393, 2931, 2867, 1612, 1513 cm<sup>-1</sup>; HRMS (ESI<sup>+</sup>) *m/z* calcd. for C<sub>17</sub>H<sub>24</sub>NaO<sub>4</sub> [M+Na]<sup>+</sup> 315.1567, found 315.1594.

#### Compound **45**

To a stirred solution of **44** (167 mg, 0.57 mmol) and imidazole (233 mg, 3.42 mmol, 6.0 *eq.*) in dry CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (0.7 mL) was added *tert*-butyldimethylsilyl chloride (TBSCl) (258 mg, 1.71 mmol, 3.0 *eq.*) at 0 °C under an atmosphere of argon, and the resulting mixture was stirred at room temperature for 3 h 30 min. The reaction mixture was then diluted with ethyl acetate (40 mL) and was washed successively with water (1 mL), and with brine (1 mL). The organic layer was dried over sodium sulfate, filtered and concentrated. The residue was purified by silica gel column chromatography (ethyl acetate: *n*-hexane = 1: 9) to give **45** (203 mg) as a colorless oil in 88% yield.

**45**: <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 0.00 (6 H, s), 0.85 (9 H, s), 1.73 (1 H, dd, *J* = 14.2, 4.7 Hz),



2.05 (1 H, dd,  $J = 14.2, 8.7$  Hz), 2.07 (1 H, dt,  $J = 14.1, 6.7$  Hz), 2.16 (1 H, dt,  $J = 14.1, 6.7$  Hz), 3.53 (2 H, t,  $J = 6.7$  Hz), 3.80 (3 H, s), 4.17 (1 H, ddd,  $J = 8.7, 7.3, 4.7$  Hz), 4.39 (1 H, d,  $J = 6.0$  Hz), 4.40 (1 H, d,  $J = 6.0$  Hz), 4.42 (2 H, s), 4.43 (1 H, d,  $J = 6.0$  Hz), 4.62 (1 H, d,  $J = 6.0$  Hz), 4.98 (1 H, d,  $J = 10.3$  Hz), 5.02 (1 H, d,  $J = 17.2$  Hz), 5.74 (1 H, ddd,  $J = 17.4, 10.2, 7.3$  Hz), 6.87 (2 H, d,  $J = 8.7$  Hz), 7.23 (2 H, d,  $J = 8.7$  Hz);  $^{13}\text{C}$  NMR (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  - 4.6 (q), - 3.9 (q), 17.9 (s), 25.8 (q), 34.9 (t), 40.3 (s), 43.9 (t), 55.2 (q), 66.4 (t), 72.2 (d), 72.7 (t), 82.5 (t), 83.2 (t), 113.8 (d), 114.3 (t), 129.1 (d), 130.4 (s), 141.9 (d), 159.1 (s); IR (ATR) 2930, 2858, 1614, 1513  $\text{cm}^{-1}$ ; HRMS (ESI+)  $m/z$  calcd. for  $\text{C}_{23}\text{H}_{38}\text{NaO}_4\text{Si}$   $[\text{M}+\text{Na}]^+$  429.2342, found 429.2429.

#### Compound 46

To a stirred solution of **45** (500 mg, 1.23 mmol) in a mixture of  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (15 mL) and water (1.5 mL) was added DDQ (419 mg, 1.85 mmol, 1.5 *eq.*) at 0 °C, and the resulting mixture was stirred at room temperature for 20 min. The reaction mixture was then diluted with ether (150 mL), and was washed successively with saturated aqueous sodium bicarbonate (10 mL), and then with brine (10 mL). The organic layer was dried over magnesium sulfate, filtered and concentrated to afford a residue, from which **46** (349 mg) was separated by silica gel column chromatography (ethyl acetate: *n*-hexane = 1: 3) as a colorless oil in 99% yield.

**46**:  $^1\text{H}$  NMR (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  0.01 (3 H, s), 0.02 (3 H, s), 0.86 (9 H, s), 1.78 (1 H, dd,  $J = 14.3, 4.5$  Hz), 2.04 (1 H, dt,  $J = 13.8, 7.0$  Hz), 2.10 (1 H, dd,  $J = 14.3, 8.6$  Hz), 2.14 (1 H, dt,  $J = 13.8, 7.0$  Hz), 3.75 (1 H, dt,  $J = 10.7, 7.0$  Hz), 3.79 (1 H, dt,  $J = 10.7, 7.0$  Hz), 4.21 (1 H, ddd,  $J = 8.6, 7.3, 4.5$  Hz), 4.40 (1 H, d,  $J = 6.0$  Hz), 4.43 (1 H, d,  $J = 6.0$  Hz), 4.45 (1 H, d,  $J = 6.0$  Hz), 4.62 (1 H, d,  $J = 6.0$  Hz), 5.02 (1 H, d,  $J = 10.3$  Hz), 5.11 (1 H, d,  $J = 17.2$  Hz), 5.78 (1 H, ddd,  $J = 17.2, 10.3, 7.3$  Hz);  $^{13}\text{C}$  NMR (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  - 4.5 (q), - 3.9 (q), 17.9 (s), 25.8 (q), 37.7 (t), 40.4 (s), 44.0 (t), 59.4 (t), 72.3 (d), 82.3 (t), 83.2 (t), 114.5 (t), 141.8 (d); IR (ATR) 3403, 2954, 2929, 2858, 1644  $\text{cm}^{-1}$ ; HRMS (ESI+)  $m/z$  calcd. for  $\text{C}_{15}\text{H}_{30}\text{O}_3\text{NaSi}$   $[\text{M}+\text{Na}]^+$

309.1856, found 309.1828.

#### Compound 47

A solution of oxalyl chloride (0.23 mL, 2.60 mmol, 2.4 *eq.*) in CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (3 mL) was added to a solution of DMSO (0.40 mL, 5.15 mmol, 4.6 *eq.*) in dry CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (3 mL) under an atmosphere of argon at – 78 °C, and the mixture was stirred at the same temperature for 30 min. The resulting mixture was transferred to a solution of **46** (320 mg, 1.12 mmol) in dry CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (6 mL), and the reaction mixture was stirred at – 78 °C for 40 min. Subsequently, neat triethylamine (1.4 mL, 9.86 mmol, 9.0 *eq.*) was added to the reaction mixture followed by stirring for 50 min. The reaction was quenched by the addition of water (5 mL) and the whole was extracted with ether (70 mL x 3). The combined organic layer was washed with brine (3 mL), dried over sodium sulfate and filtered. Evaporation of the filtrate afforded a residue, from which **47** (307 mg) was separated by silica gel column chromatography (ethyl acetate: *n*-hexane = 1: 3) as a colorless oil in 96% yield.

**47**: <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 0.01 (3 H, s), 0.02 (3 H, s), 0.86 (9 H, s), 2.00 (1 H, dd, *J* = 14.4, 4.4 Hz), 2.18 (1 H, dd, *J* = 14.4, 7.8 Hz), 3.03 (1 H, d, *J* = 17.6 Hz), 3.10 (1 H, d, *J* = 17.6 Hz), 4.19 (1 H, dt, *J* = 6.8, 5.2 Hz), 4.37 (1 H, d, *J* = 6.3 Hz), 4.43 (1 H, d, *J* = 6.3 Hz), 4.57 (1 H, d, *J* = 6.3 Hz), 4.66 (1 H, d, *J* = 6.3 Hz), 5.04 (1 H, d, *J* = 10.3 Hz), 5.14 (1 H, d, *J* = 17.2 Hz), 5.77 (1H, ddd, *J* = 17.2, 10.3, 6.7 Hz), 9.84 (1 H, s); <sup>13</sup>C NMR (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ - 4.7 (q), - 4.1 (q), 18.0 (s), 25.9 (q), 39.5 (s), 43.2 (t), 49.5 (t), 72.2 (d), 82.4 (t), 83.1 (t), 114.8 (t), 141.1 (d), 200.8 (d); IR (ATR) 2957, 2929, 2858, 2720, 1722, 1643 cm<sup>-1</sup>; HRMS (ESI+) *m/z* calcd. for C<sub>15</sub>H<sub>28</sub>O<sub>3</sub>NaSi [M+Na]<sup>+</sup> 307.1700, found 307.1705.

#### Compound 48

To a solution of triphenylphosphine (165 mg, 0.63mmol, 3.0 *eq.*) in dry CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (1.5 mL) was added dropwise a solution of carbon tetrabromide (104 mg, 0.31 mmol, 1.5 *eq.*) in dry CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>

(1.2 mL) under an atmosphere of argon at 0 °C. After the resulting pale yellow mixture was cooled to – 78 °C, a solution of **47** (60 mg, 0.21 mmol) in dry CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (0.9 mL) was added to the mixture. After having been stirred for 40 min at – 78 °C, the reaction was quenched by the addition of water (5 mL) and the whole was extracted with ether (20 mL x 3). The combined organic layer was washed with brine (3 mL), dried over sodium sulfate, filtered and concentrated. The residue was separated by silica gel column chromatography (ethyl acetate: *n*-hexane = 1: 19) to give the dibromide **48** (85 mg) as a colorless oil, which was subsequently reacted to the next step without further purification.

**48**: <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 0.03 (3 H, s), 0.05 (3 H, s), 0.87 (6 H, s), 1.72 (1 H, dd, *J* = 14.2, 4.9 Hz), 2.05 (1 H, dd, *J* = 14.2, 8.4 Hz), 2.59 (1 H, dd, *J* = 15.4, 7.0 Hz), 2.68 (1 H, dd, *J* = 15.4, 7.0 Hz), 4.21 (1 H, ddd, *J* = 8.4, 7.3, 4.9 Hz), 4.326 (1 H, d, *J* = 6.2 Hz), 4.330 (1 H, d, *J* = 6.1 Hz), 4.46 (1 H, d, *J* = 6.1 Hz), 4.65 (1 H, d, *J* = 6.2 Hz), 5.05 (1 H, d, *J* = 10.2 Hz), 5.16 (1 H, d, *J* = 17.2 Hz), 5.77 (1 H, ddd, *J* = 17.2, 10.2, 7.3 Hz), 6.45 (1 H, t, *J* = 7.0 Hz); <sup>13</sup>C NMR (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ - 4.5 (q), - 3.9 (q), 18.0 (s), 25.9 (q), 39.2 (t), 41.1 (s), 44.3 (t), 72.0 (d), 81.5 (t), 82.1 (t), 90.8 (s), 114.9 (t), 134.5 (d), 141.4 (d); HRMS (ESI+) *m/z* calcd. for C<sub>16</sub>H<sub>28</sub>Br<sub>2</sub>O<sub>2</sub>NaSi [M+Na]<sup>+</sup> 461.0118, found 461.0124.

#### Compound **34**

To a solution of the dibromide **48** (85 mg) in THF (0.8 mL) was added dropwise *n*-BuLi (1.64 M in hexane, 470 μL, 0.77 mmol) under an atmosphere of argon at – 78 °C. The resulting reaction mixture was stirred for 2 h at – 78 °C. The reaction was quenched by the addition of saturated aqueous ammonium chloride (5 mL), and the whole was extracted with ether (20 mL x 3). The combined organic layer was washed with brine (3 mL), dried over sodium sulfate and filtered. Evaporation of the filtrate afforded a residue, from which **34** (47 mg) was separated by silica gel column chromatography (ethyl acetate: *n*-hexane = 1: 49) as a colorless oil in 88% yield.

**34:**  $^1\text{H}$  NMR (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  0.02 (3 H, s), 0.03 (3 H, s), 0.86 (9 H, s), 1.89 (1 H, dd,  $J = 14.1, 5.0$  Hz), 1.99 (1 H, t,  $J = 2.6$  Hz), 2.12 (1 H, dd,  $J = 14.1, 8.4$  Hz), 2.64 (1 H, dd,  $J = 16.8, 2.6$  Hz), 2.75 (1 H, dd,  $J = 16.8, 2.6$  Hz), 4.22 (1 H, m), 4.34 (1 H, d,  $J = 6.1$  Hz), 4.40 (1 H, d,  $J = 6.1$  Hz), 4.46 (1 H, d,  $J = 6.1$  Hz), 4.63 (1 H, d,  $J = 6.1$  Hz), 5.03 (1 H, dq,  $J = 10.2, 0.9$  Hz), 5.14 (1 H, dt,  $J = 17.2, 1.2$  Hz), 5.78 (1 H, ddd,  $J = 17.2, 10.2, 7.1$  Hz);  $^{13}\text{C}$  NMR (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  - 4.6 (q), - 4.0 (q), 18.0 (s), 25.7 (t), 25.8 (q), 40.8 (s), 43.2 (t), 70.1 (d), 72.0 (d), 80.8 (s), 81.4 (t), 81.8 (t), 114.7 (t), 141.5 (d); IR (ATR) 3312, 3076, 2955, 2930, 2860, 2119, 1643  $\text{cm}^{-1}$ ; HRMS (ESI+)  $m/z$  calcd. for  $\text{C}_{16}\text{H}_{28}\text{O}_2\text{NaSi}$   $[\text{M}+\text{Na}]^+$  303.1751, found 303.1768.

### Compound **49**

To a stirred solution of the aldehyde **37** (308 mg, 1.17 mmol) dissolved in dry ether (3.7 mL) was added a solution of allenylmagnesium bromide (*ca.* 2 M in ether, 3.5 mL, 7.0 mmol, 6.0 *eq.*) at - 78 °C under an atmosphere of argon. After having been stirred for 25 min at the same temperature, the reaction was quenched by the addition of saturated aqueous ammonium chloride (5 mL). The resultant mixture was extracted with ethyl acetate (60 mL x 3), and the combined organic layer was washed with brine, dried over sodium sulfate and filtered. Evaporation of the filtrate afforded a residue, from which a diastereomeric mixture of homopropargyl alcohols **49** (349 mg) was obtained by silica gel column chromatography (ethyl acetate: *n*-hexane = 1: 1, then 2: 1) as a colorless oil in 98% yield.

**49:**  $^1\text{H}$  NMR (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  1.93 (1 H, dd,  $J = 14.4, 2.8$  Hz), 2.01 (1 H, dd,  $J = 14.4, 9.5$  Hz), 2.05 (1 H, t,  $J = 2.6$  Hz), 2.09 (1 H, dt,  $J = 14.5, 5.4$  Hz), 2.26 (1 H, ddd,  $J = 14.5, 7.7, 5.2$  Hz), 2.33 (2 H, dd,  $J = 6.0, 2.6$  Hz), 2.70 (1 H, br. d,  $J = 3.6$  Hz), 3.50 (1 H, ddd,  $J = 9.6, 7.7, 4.9$  Hz), 3.58 (1 H, dt,  $J = 9.6, 5.4$  Hz), 3.80 (3 H, s), 3.85 (1 H, m), 4.41 (2 H, s), 4.42 (1 H, d,  $J = 6.1$  Hz), 4.45 (1 H, d,  $J = 6.2$  Hz), 4.46 (1 H, d,  $J = 6.2$  Hz), 4.53 (1 H, d,  $J = 6.1$  Hz), 6.87 (2 H, d,  $J = 8.6$  Hz), 7.21 (2 H, d,  $J = 8.6$  Hz);  $^{13}\text{C}$  NMR (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  28.7 (t), 35.4 (t), 41.0 (s), 41.6 (t), 55.3 (q), 66.5 (t), 67.4 (d), 71.0 (d), 72.9 (t), 80.7 (s), 82.1 (t), 82.7 (t), 113.8

(d), 129.3 (d), 129.9 (s), 159.3 (s); IR (ATR) 3398, 3289, 2927, 2869, 2360, 2340, 2250, 1612, 1586, 1512  $\text{cm}^{-1}$ ; HRMS (ESI+)  $m/z$  calcd. for  $\text{C}_{18}\text{H}_{24}\text{O}_4\text{Na}$   $[\text{M}+\text{Na}]^+$  327.1567, found 327.1594.

### Compound **50**

To a stirred solution of alcohol **49** (400 mg, 1.32 mmol) and imidazole (539 mg, 7.92 mmol, 6.0 *eq.*) in dry  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (2 mL) was added *tert*-butyldimethylsilyl chloride (TBSCl) (597 mg, 3.96 mmol, 3.0 *eq.*) at 0 °C under an atmosphere of argon, and the resulting mixture was stirred at room temperature for 15 h. The reaction mixture was then diluted with ethyl acetate (100 mL) and was washed successively with water (5 mL), and brine (5 mL). The organic layer was dried over sodium sulfate, filtered and concentrated. The residue was purified by silica gel column chromatography (ethyl acetate: *n*-hexane = 1: 9) to give **50** (548 mg) as a colourless oil in 99% yield.

**50**:  $^1\text{H}$  NMR (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  0.01 (3 H, s), 0.08 (3 H, s), 0.86 (9 H, s), 1.97 (3 H, m), 2.11 (1 H, dd,  $J = 14.3, 9.4$  Hz), 2.22 (1 H, dt,  $J = 13.9, 6.9$  Hz), 2.32 (2 H, m), 3.53 (2 H, m), 3.80 (3 H, s), 3.90 (1 H, m), 4.38 (1 H, d,  $J = 5.9$  Hz), 4.41 (1 H, d,  $J = 5.9$  Hz), 4.42 (2 H, s), 4.53 (1 H, d,  $J = 5.9$  Hz), 4.67 (1 H, d,  $J = 5.9$  Hz), 6.87 (1 H, d,  $J = 8.6$  Hz), 7.23 (1 H, d,  $J = 8.6$  Hz);  $^{13}\text{C}$  NMR (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  - 4.3 (q), - 4.2 (q), 17.8 (s), 25.8 (q), 28.4 (t), 34.9 (t), 40.1 (s), 41.9 (t), 55.3 (q), 66.4 (t), 68.5 (d), 70.8 (d), 72.8 (t), 80.8 (s), 82.4 (t), 83.0 (t), 113.8 (d), 129.1 (d), 130.4 (s), 159.1 (s); IR (ATR) 3305, 2930, 2858, 2250, 1613, 1586  $\text{cm}^{-1}$ ; HRMS (ESI+)  $m/z$  calcd. for  $\text{C}_{24}\text{H}_{38}\text{O}_4\text{SiNa}$   $[\text{M}+\text{Na}]^+$  441.2432, found 441.2413.

### Compound **51**

To a stirred solution of **50** (185 mg, 0.44 mmol) in a mixture of  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (5.5 mL) and water (0.5 mL) was added DDQ (150 mg, 0.66 mmol, 1.5 *eq.*) at 0 °C, and the resulting mixture was stirred at room temperature for 50 min. The reaction mixture was then diluted with ether (100

mL), and was washed successively with saturated aqueous sodium bicarbonate (10 mL), and then with brine (10 mL). The organic layer was dried over magnesium sulfate, filtered and concentrated to afford a residue, from which **51** (127 mg) was separated by silica gel column chromatography (ethyl acetate: *n*-hexane = 1: 9, then 1: 1) as a colorless oil in 97% yield.

**51**:  $^1\text{H}$  NMR (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  0.03 (3 H, s), 0.10 (3 H, s), 0.87 (9 H, s), 2.00 (2 H, m), 2.03 (1 H, t,  $J = 2.7$  Hz), 2.16 (2 H, m), 2.30 (1 H, ddd,  $J = 16.5, 8.0, 2.7$  Hz), 2.38 (1 H, ddd,  $J = 16.5, 3.9, 2.7$  Hz), 3.78 (2 H, m), 3.94 (1 H, m), 4.40 (1 H, d,  $J = 5.9$  Hz), 4.46 (1 H, d,  $J = 5.9$  Hz), 4.52 (1 H, d,  $J = 5.9$  Hz), 4.69 (1 H, d,  $J = 5.9$  Hz);  $^{13}\text{C}$  NMR (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  -4.3 (q), -4.2 (q), 17.8 (s), 25.8 (q), 28.5 (t), 37.6 (t), 40.2 (s), 42.1 (t), 59.3 (t), 68.6 (d), 70.9 (d), 80.7 (s), 82.2 (t), 83.0 (t); IR (ATR) 3412, 3310, 2930, 2859, 2362, 2332, 2251  $\text{cm}^{-1}$ ; HRMS (ESI+)  $m/z$  calcd. for  $\text{C}_{16}\text{H}_{30}\text{O}_3\text{SiNa}$   $[\text{M}+\text{Na}]^+$  321.1856, found 321.1852.

#### Compound **52**

To a stirred solution of **51** (91 mg, 0.31 mmol) in dry pyridine (2 mL) was added *p*-toluenesulfonyl chloride (TsCl) (177 mg, 0.93 mmol, 3.0 *eq.*) at 0 °C under an atmosphere of argon, and the resulting mixture was stirred at room temperature for 12 h. The reaction was quenched by the addition of water at 0 °C. The resultant mixture was extracted with ether, and the combined organic layer was washed with HCl (2 M) and with brine, dried over sodium sulfate and filtered. Evaporation of the filtrate afforded a residue, from which **52** (119 mg) was obtained by silica gel column chromatography (ethyl acetate: *n*-hexane = 1: 9, then 1: 4) as a colorless oil in 85% yield.

**52**:  $^1\text{H}$  NMR (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  0.03 (3 H, s), 0.07 (3 H, s), 0.84 (9 H, s), 1.93 (1 H, dd,  $J = 14.6, 2.6$  Hz), 2.01 (1 H, t,  $J = 2.6$  Hz), 2.07 (2 H, m), 2.29 (3 H, m), 2.46 (3 H, s), 3.82 (1 H, m), 4.16 (2 H, m), 4.31 (1 H, d,  $J = 6.1$  Hz), 4.38 (1 H, d,  $J = 6.3$  Hz), 4.40 (1 H, d,  $J = 6.3$  Hz), 4.63 (1 H, d,  $J = 6.1$  Hz), 7.36 (2 H, d,  $J = 8.1$  Hz), 7.79 (2 H, d,  $J = 8.1$  Hz);  $^{13}\text{C}$  NMR (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  -4.29 (q), -4.26 (q), 17.8 (s), 21.6 (q), 25.7 (q), 28.4 (t), 34.0 (t), 39.9 (s), 41.3

(t), 67.0 (t), 68.4 (d), 71.2 (d), 80.3 (s), 81.4 (t), 82.6 (t), 127.9 (d), 129.9 (d), 133.0 (s), 144.9 (s); IR (ATR) 3307, 2930, 2858, 2251, 1598  $\text{cm}^{-1}$ ; HRMS (ESI+)  $m/z$  calcd. for  $\text{C}_{23}\text{H}_{36}\text{O}_5\text{SSiNa}$   $[\text{M}+\text{Na}]^+$  475.1945, found 475.1952.

### Compound **53**

To a stirred solution of **52** (145 mg, 0.32 mmol) in THF (2 mL) was added tetra-*n*-butylammonium iodide (TBAI) (356 mg, 0.96 mmol, 3.0 *eq.*) at room temperature under an atmosphere of argon, and the resulting mixture was stirred at reflux for 1 h 40 min. After the addition of water (3 mL) to the reaction mixture at 0 °C, the whole was extracted with ether (20 mL x 3). The combined organic layer was washed with brine, dried over sodium sulfate and filtered. Evaporation of the filtrate afforded a residue, from which **53** (128 mg) was separated by silica gel column chromatography (ethyl acetate: *n*-hexane = 1: 9) as a colorless oil in 98% yield.

**53**:  $^1\text{H}$  NMR (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  0.04 (3 H, s), 0.11 (3 H, s), 0.87 (9 H, s), 2.07 (3 H, m), 2.35 (3 H, m), 2.54 (1 H, m), 3.16 (2 H, m), 3.87 (1 H, m), 4.36 (1 H, d,  $J = 6.0$  Hz), 4.45 (1 H, d,  $J = 6.0$  Hz), 4.48 (1 H, d,  $J = 6.0$  Hz), 4.66 (1 H, d,  $J = 6.0$  Hz);  $^{13}\text{C}$  NMR (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  - 4.21 (q), - 4.18 (q), - 1.6 (t), 17.8 (s), 25.8 (q), 28.5 (t), 40.1 (t), 41.0 (t), 43.2 (s), 68.5 (d), 71.1 (d), 80.5 (s), 80.8 (t), 82.0 (t); IR (ATR) 3310, 2954, 2929, 2858, 1731  $\text{cm}^{-1}$ ; HRMS (ESI+)  $m/z$  calcd. for  $\text{C}_{16}\text{H}_{29}\text{IO}_2\text{SiNa}$   $[\text{M}+\text{Na}]^+$  431.0874, found 431.0878.

### Compound **35**

To a stirred solution of **53** (19 mg, 0.05 mmol) in toluene (0.1 mL) was added 1,8-diazabicyclo[5.4.0]undec-7-ene (DBU) (70  $\mu\text{L}$ , 71 mg, 0.47 mmol, 9.4 *eq.*) at 0 °C under an atmosphere of argon, and the resulting mixture was stirred at room temperature for 17 h 30 min. After the addition of saturated aqueous ammonium chloride (3 mL) to the reaction mixture at 0 °C, the whole was extracted with ether (10 mL x 3). The combined organic layer was washed

with brine, dried over sodium sulfate and filtered. Evaporation of the filtrate afforded a residue, from which **35** (8 mg) was separated by silica gel column chromatography (ethyl acetate: *n*-hexane = 1: 1) as a colorless oil in 93% yield.

**35**:  $^1\text{H}$  NMR (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  - 0.02 (3 H, s), 0.06 (3 H, s), 0.86 (3 H, s), 2.02 (1 H, t,  $J$  = 2.7 Hz), 2.09 (1 H, dd,  $J$  = 14.0, 3.5 Hz), 2.24 (1 H, dd,  $J$  = 14.0, 8.9 Hz), 2.31 (2 H, dd,  $J$  = 5.9, 2.7 Hz), 3.87 (1 H, ddt,  $J$  = 8.9, 5.9, 3.5 Hz), 4.54 (1 H, d,  $J$  = 5.6 Hz), 4.55 (1 H, d,  $J$  = 5.6 Hz), 4.62 (1 H, d,  $J$  = 5.9 Hz), 4.75 (1 H, d,  $J$  = 5.9 Hz), 5.26 (1 H, d,  $J$  = 17.5 Hz), 5.28 (1 H, d,  $J$  = 10.8 Hz), 6.02 (1 H, dd,  $J$  = 17.5, 10.8 Hz);  $^{13}\text{C}$  NMR (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  - 4.4 (q), - 4.3 (q), 17.8 (s), 25.8 (q), 28.2 (t), 43.9 (s), 44.1 (t), 68.7 (d), 70.7 (d), 80.8 (s), 81.0 (t), 82.4 (t), 114.4 (t), 140.9 (d); IR (ATR) 3313, 2956, 2930, 2859, 1734, 1640  $\text{cm}^{-1}$ ; HRMS (ESI+)  $m/z$  calcd. for  $\text{C}_{16}\text{H}_{28}\text{O}_2\text{SiNa}$   $[\text{M}+\text{Na}]^+$  303.1751, found 303.1769.

#### Compound **54**

$^1\text{H}$  NMR (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  - 0.04 (3 H, s), 0.11 (3 H, s), 0.86 (9 H, s), 1.85 (6 H, m), 1.94 (1 H, dd,  $J$  = 14.7, 2.2 Hz), 2.09 (2 H, m), 2.20 (1 H, t,  $J$  = 2.6 Hz), 2.26 (3 H, m), 2.34 (1 H, dd,  $J$  = 8.4, 2.6 Hz), 2.42 (1 H, dt,  $J$  = 16.6, 3.2 Hz), 2.96 (2 H, m), 3.48 (1 H, m), 3.74 (7 H, m), 3.88 (1 H, m), 4.26 (1 H, d,  $J$  = 6.3 Hz), 4.36 (1 H, d,  $J$  = 6.2 Hz), 4.50 (1 H, d,  $J$  = 6.2 Hz), 4.75 (1 H, d,  $J$  = 6.3 Hz);  $^{13}\text{C}$  NMR (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  - 4.04 (q), - 4.01 (q), 17.8 (s), 20.3 (t), 23.2 (t), 25.7 (q), 25.9 (t), 28.4 (t), 28.6 (t), 29.4 (t), 33.9 (t), 40.1 (s), 41.3 (t), 47.3 (t), 49.6 (t), 50.3 (t), 56.0 (t), 68.7 (d), 72.0 (d), 80.2 (s), 80.8 (t), 81.9 (t), 166.8 (s); HRMS (ESI+)  $m/z$  calcd. for  $\text{C}_{25}\text{H}_{45}\text{N}_2\text{O}_2\text{Si}$   $[\text{M}]^+$  433.3245, found 433.3247.

#### Compound **55**

To a suspension of the methyltriphenylphosphonium bromide ( $\text{Ph}_3\text{PCH}_3\text{Br}$ ) (750 mg, 2.10 mmol, 2.1 *eq.*) in THF (5 mL) was added *n*-BuLi (1.64 M in *n*-hexane, 1.2 mL, 1.97 mmol, 2.0 *eq.*) in a dropwise manner with stirring under an atmosphere of argon at 0 °C. After having been



stirred for 40 min at same temperature, aldehyde **37** (265 mg, 1.00 mmol) was dropwised to the reaction mixture at - 20 °C. The mixture was stirred at room temperature for 2 h. After the addition of saturated aqueous ammonium chloride (5 mL) to the reaction mixture at 0 °C, the whole was extracted with ethyl acetate (40 mL x 3). The combined organic layer was washed with brine, dried over sodium sulfate and filtered. Evaporation of the filtrate afforded a residue, from which **55** (245 mg) was separated by silica gel column chromatography (ethyl acetate: *n*-hexane = 1: 4) as a colorless oil in 93% yield.

**55**: <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 1.96 (2 H, t, *J* = 6.5 Hz), 2.44 (2 H, d, *J* = 7.3 Hz), 3.52 (2 H, t, *J* = 6.5 Hz), 3.81 (3 H, s), 4.38 (2 H, d, *J* = 5.9 Hz), 4.41 (2 H, s), 4.50 (2 H, d, *J* = 5.9 Hz), 5.10 (2 H, m), 5.78 (1 H, ddt, *J* = 17.5, 9.6, 7.3 Hz); <sup>13</sup>C NMR (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 35.4 (t), 40.2 (t), 41.0 (s), 55.2 (q), 66.2 (t), 72.7 (t), 81.2 (t), 113.7 (d), 118.1 (t), 129.1 (d), 130.4 (s), 133.6 (d), 159.1 (s); IR (ATR) 2923, 2863, 1613, 1514 cm<sup>-1</sup>; HRMS (ESI+) *m/z* calcd. for C<sub>16</sub>H<sub>22</sub>O<sub>3</sub>Na [M+Na]<sup>+</sup> 285.1461, found 285.1477.

#### Compound **56**

To a stirred of **55** (245 mg, 0.93 mmol) in a mixture of CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (7.4 mL) and water (0.7 mL) was added 2,3-dichloro-5,6-dicyano-*p*-benzoquinone (DDQ) (317 mg, 1.40 mmol, 1.5 *eq.*) at 0 °C, and the resulting mixture was stirred at room temperature for 20 min. The reaction mixture was then diluted with ether (300 mL), and was washed successively with saturated aqueous sodium bicarbonate (5 mL), and then with brine (5 mL). The organic layer was dried over sodium sulfate, filtered and concentrated to afford a residue, from which **56** (121 mg) was separated by silica gel column chromatography (ethyl acetate: *n*-hexane = 1: 1) as a colourless oil in 91% yield.

**56**: <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 1.94 (2 H, t, *J* = 6.8 Hz), 2.49 (2 H, d, *J* = 7.3 Hz), 3.77 (2 H, t, *J* = 6.8 Hz), 4.43 (2 H, d, *J* = 5.9 Hz), 4.51 (2 H, d, *J* = 5.9 Hz), 5.14 (1 H, d, *J* = 10.1 Hz), 5.15 (1 H, d, *J* = 17.1 Hz), 5.79 (1 H, ddt, *J* = 17.1, 10.1, 7.3 Hz); <sup>13</sup>C NMR (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>)

$\delta$  38.0 (t), 40.2 (t), 40.9 (s), 58.8 (t), 81.1 (t), 118.2 (t), 133.4 (d)

### Compound **57**

A solution of oxalyl chloride (0.14 mL, 0.20 mg, 1.58 mmol, 2.3 *eq.*) in CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (1.8 mL) was added to a solution of DMSO (0.25 mL, 0.25 mg, 3.20 mmol, 4.6 *eq.*) in dry CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (1.8 mL) under an atmosphere of argon at – 78 °C, and the mixture was stirred at the same temperature for 30 min. The resulting mixture was transferred to a solution of **56** (100 mg, 0.70 mmol) in dry CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (3.7 mL), and the reaction mixture was stirred at – 78 °C for 40 min. Subsequently, neat triethylamine (0.86 mL, 0.62 mg, 6.13 mmol, 8.8 *eq.*) was added to the reaction mixture followed by stirring for 30 min. The reaction was quenched by the addition of water (5 mL) and the whole was extracted with ether (50 mL x 3). The combined organic layer was washed with brine (5 mL), dried over sodium sulfate and filtered. Evaporation of the filtrate afforded a residue, from which **57** (83 mg) was separated by silica gel column chromatography (ethyl acetate: *n*-hexane = 1: 1) as a colorless oil in 85% yield.

**57**: <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  2.56 (2 H, d, *J* = 7.3 Hz), 2.87 (2 H, d, *J* = 1.0 Hz), 4.49 (2 H, d, *J* = 6.3 Hz), 4.55 (2 H, d, *J* = 6.3 Hz), 5.45 (1 H, d, *J* = 17.0 Hz), 5.14 (1 H, d, *J* = 10.2 Hz), 5.74 (1 H, ddt, *J* = 17.0, 10.2, 7.3 Hz), 9.79 (1 H, s); <sup>13</sup>C NMR (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  40.0 (s), 40.7 (t), 49.5 (t), 80.8 (t), 118.9 (t), 132.9 (d), 200.2 (d)

### Compound **58**

A solution of ethynylmagnesium bromide (0.5 M in THF, 2.0 mL, 1.00 mmol, 5.0 *eq.*) was added to a stirred solution of **57** (28 mg, 0.20 mmol) in dry THF (1.0 mL) at – 78 °C in a drop-wise manner under an atmosphere of argon. After having been stirred for 30 min at room temperature, the reaction was quenched by the addition of saturated aqueous ammonium chloride (3 mL). The resultant mixture was extracted with ethyl acetate (10 mL x 3), and the combined organic layer was washed with brine (3 mL), dried over sodium sulfate and filtered.

Evaporation of the filtrate afforded a residue, from which **58** (28 mg) was separated by silica gel column chromatography (ethyl acetate: *n*-hexane = 1: 2) as a colorless oil in 85% yield.

### Compound **36**

To a stirred solution of **58** (55 mg, 0.33 mmol) and imidazole (135 mg, 1.98 mmol, 6.0 *eq.*) in dry CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (2 mL) was added *tert*-butyldimethylsilyl chloride (TBSCl) (149 mg, 0.99 mmol, 3.0 *eq.*) at 0 °C under an atmosphere of argon, and the resulting mixture was stirred at room temperature for 70 min. The reaction mixture was then diluted with ethyl acetate (100 mL) and was washed successively with water (3 mL), and with brine (3 mL). The organic layer was dried over sodium sulfate, filtered and concentrated. The residue was purified by silica gel column chromatography (ethyl acetate: *n*-hexane = 1: 9) to give **36** (80 mg) as a colorless oil in 87% yield.

**36**: <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 0.10 (3 H, s), 0.15 (3 H, s), 0.88 (9 H, s), 2.02 (1 H, dd, *J* = 14.1, 5.7 Hz), 2.20 (1 H, dd, *J* = 14.1, 8.4 Hz), 2.41 (1 H, d, *J* = 2.1 Hz), 2.52 (1 H, dd, *J* = 14.2, 7.2 Hz), 2.59 (1 H, dd, *J* = 14.2, 7.2 Hz), 4.35 (1 H, d, *J* = 6.0 Hz), 4.39 (1 H, d, *J* = 6.0 Hz), 4.46 (1 H, ddd, *J* = 8.4, 5.7, 2.1 Hz), 4.57 (1 H, d, *J* = 6.0 Hz), 4.61 (1 H, d, *J* = 6.0 Hz), 5.15 (1 H, br. d, *J* = 10.2 Hz), 5.17 (1 H, br. d, *J* = 17.0 Hz), 5.82 (1 H, ddt, *J* = 17.0, 10.2, 7.2 Hz); <sup>13</sup>C NMR (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ - 5.0 (q), - 4.4 (q), 18.0 (s), 25.7 (q), 39.6 (t), 40.7 (s), 43.9 (t), 59.7 (d), 73.1 (d), 81.3 (t), 81.8 (t), 85.0 (s), 118.3 (t), 133.5 (d); HRMS (ESI+) *m/z* calcd. for C<sub>16</sub>H<sub>28</sub>O<sub>2</sub>SiNa [M+Na]<sup>+</sup> 303.1751, found 303.1750.

### Compounds **30a,b**

To a stirred solution of the A-ring enyne precursor **34** (60 mg, 0.21 mmol) and the CD-ring portion **33** (92 mg, 0.26 mmol, 1.2 *eq.*) in a mixture of toluene (7.5 mL) and triethylamine (2.6 mL) was added tetrakis(triphenylphosphine)palladium (73 mg, 0.06 mmol, 0.3 *eq.*) at room temperature under an atmosphere of argon. After having been heated at reflux for 1 h, the

reaction mixture was diluted with ether and filtered through a small pad of silica gel. Evaporation of the filtrate gave a residue, which was purified by silica gel column chromatography (ethyl acetate: *n*-hexane = 1: 7) to give a mixture of protected *seco*-steroids (105 mg).

The crude products (105 mg) dissolved in THF (0.8 mL) were treated with tetra-*n*-butylammonium fluoride (TBAF) (1.0 M in THF, 0.42 mL, 0.42 mmol) at room temperature for 1 h 20 min. Brine (3.5 mL) was added to the mixture and the whole was extracted with ethyl acetate (20 mL x 3). The organic layer was washed with brine, dried over sodium sulfate, filtered and concentrated. The residue was purified by silica gel column chromatography (ethyl acetate: *n*-hexane = 1: 2) to give **30a,b** (62 mg) in 66% yield (two steps). The product ratio between **30a** and **30b** was estimated to be 1: 1 by <sup>1</sup>H NMR analysis and by analytical HPLC. Separation and further purification of **30a** (more polar, *t<sub>R</sub>* = 12.60 min) and **30b** (less polar, *t<sub>R</sub>* = 12.83 min) were conducted on a recycling HPLC (YMC-Pack Pro C18 column, 20 x 150 mm, 10 mL min<sup>-1</sup>, acetonitrile: water = 9: 1).

**30a**: UV (ethanol)  $\lambda_{\max}$  264 nm,  $\lambda_{\min}$  229 nm; <sup>1</sup>H NMR (700 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  0.54 (3 H, s), 0.94 (3 H, d, *J* = 6.6 Hz), 1.21 (6 H, s), 1.79 (1 H, dd, *J* = 12.4, 9.5 Hz), 2.35 (1 H, ddd, *J* = 12.4, 4.3, 1.3 Hz), 2.51 (1 H, d, *J* = 13.1 Hz), 2.65 (1 H, d, *J* = 13.1 Hz), 2.83 (1 H, dd, *J* = 11.6, 3.7 Hz), 4.05 (1 H, m), 4.36 (1 H, d, *J* = 6.0 Hz), 4.39 (1 H, d, *J* = 6.0 Hz), 4.45 (1 H, d, *J* = 6.0 Hz), 4.53 (1 H, d, *J* = 6.0 Hz), 4.98 (1 H, t, *J* = 1.7 Hz), 5.32 (1 H, t, *J* = 1.7 Hz), 5.96 (1 H, d, *J* = 11.2 Hz), 6.40 (1 H, d, *J* = 11.2 Hz); <sup>1</sup>H NMR (700 MHz, methanol-*d*<sub>4</sub>)  $\delta$  0.57 (3 H, s), 0.96 (3 H, d, *J* = 6.6 Hz), 1.16 (6 H, s), 1.71 (1 H, dd, *J* = 12.1, 10.2 Hz), 2.34 (1 H, ddd, *J* = 12.1, 4.6, 1.5 Hz), 2.44 (1 H, d, *J* = 13.1 Hz), 2.65 (1 H, d, *J* = 13.1 Hz), 2.88 (1 H, dd, *J* = 12.3, 4.4 Hz), 3.90 (1 H, dd, *J* = 10.0, 4.6 Hz), 4.34 (1 H, d, *J* = 5.9 Hz), 4.37 (1 H, d, *J* = 6.0 Hz), 4.45 (1 H, d, *J* = 5.9 Hz), 4.48 (1 H, d, *J* = 6.0 Hz), 4.89 (1 H, s), 5.33 (1 H, s), 6.01 (1 H, d, *J* = 11.1 Hz), 6.39 (1 H, d, *J* = 11.1 Hz); <sup>13</sup>C NMR (175 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  12.0 (q), 18.8 (q), 20.8 (t), 22.3 (t), 23.6 (t), 27.6 (t), 29.1 (t), 29.2 (q), 29.4 (q), 36.1 (d), 36.4 (t), 40.4 (s), 40.5 (t), 43.9 (t), 44.4 (t),

46.0 (s), 46.2 (t), 56.4 (d), 56.5 (d), 70.8 (d), 71.1 (s), 81.4 (t), 81.7 (t), 110.7 (t), 116.9 (d), 124.1 (d), 133.2 (s), 143.4 (s), 147.6 (s); IR (ATR) 3403, 2942, 2867, 1654, 1646, 1638  $\text{cm}^{-1}$ ; HRMS (ESI+)  $m/z$  calcd. for  $\text{C}_{29}\text{H}_{46}\text{NaO}_3$   $[\text{M}+\text{Na}]^+$  465.3339, found 465.3358.

**30b**: UV (ethanol)  $\lambda_{\text{max}}$  263 nm,  $\lambda_{\text{min}}$  228 nm;  $^1\text{H}$  NMR (700 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  0.54 (3 H, s), 0.94 (3 H, d,  $J = 6.5$  Hz), 1.21 (6 H, s), 1.97 (1 H, dd,  $J = 12.9, 8.1$  Hz), 2.17 (1 H, dd,  $J = 12.9, 4.0$  Hz), 2.58 (1 H, d,  $J = 13.2$  Hz), 2.62 (1 H, d,  $J = 13.2$  Hz), 2.84 (1 H, dd,  $J = 12.9, 4.6$  Hz), 4.16 (1 H, m), 4.35 (1 H, d,  $J = 5.9$  Hz), 4.38 (1 H, d,  $J = 6.0$  Hz), 4.48 (1 H, d,  $J = 5.9$  Hz), 4.60 (1 H, d,  $J = 6.0$  Hz), 4.97 (1 H, s), 5.28 (1 H, s), 5.95 (1 H, d,  $J = 11.3$  Hz), 6.43 (1 H, d,  $J = 11.3$  Hz);  $^1\text{H}$  NMR (700 MHz, methanol- $d_4$ )  $\delta$  0.54 (3 H, s), 0.96 (3 H, d,  $J = 6.5$  Hz), 1.16 (6 H, s), 1.77 (1 H, dd,  $J = 12.5, 9.5$  Hz), 2.28 (1 H, dd,  $J = 12.5, 4.3$  Hz), 2.48 (1 H, d,  $J = 13.1$  Hz), 2.64 (1 H, d,  $J = 13.1$  Hz), 2.89 (1 H, dd,  $J = 13.4, 4.7$  Hz), 3.98 (1 H, dd,  $J = 9.4, 4.4$  Hz), 4.355 (1 H, d,  $J = 5.9$  Hz), 4.363 (1 H, d,  $J = 6.0$  Hz), 4.47 (1 H, d,  $J = 5.9$  Hz), 4.50 (1 H, d,  $J = 6.0$  Hz), 4.87 (1 H, s), 5.31 (1 H, s), 6.00 (1 H, d,  $J = 11.2$  Hz), 6.41 (1 H, d,  $J = 11.2$  Hz);  $^{13}\text{C}$  NMR (175 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  12.0 (q), 18.8 (q), 20.8 (t), 22.2 (t), 23.6 (t), 27.6 (t), 29.1 (t), 29.2 (q), 29.4 (q), 36.1 (d), 36.4 (t), 40.4 (t), 40.5 (s), 43.1 (t), 44.4 (t), 45.9 (s), 46.3 (t), 56.3 (d), 56.5 (d), 71.1 (s), 71.7 (d), 81.6 (t), 81.9 (t), 111.7 (t), 116.9 (d), 124.4 (d), 132.9 (s), 143.4 (s), 147.3 (s); IR (ATR) 3403, 2942, 2867, 1654, 1646, 1633  $\text{cm}^{-1}$ ; HRMS (ESI+)  $m/z$  calcd. for  $\text{C}_{29}\text{H}_{46}\text{NaO}_3$   $[\text{M}+\text{Na}]^+$  465.3339, found 465.3374.

### Compounds **31a,b**

The corresponding the spirocyclic vitamin D analogues **31a,b** were synthesized by the same procedure as described for **30a,b** using **35** instead of **34**, in 42% yield (two steps). Separation and further purification of **31a** (more polar,  $t_R = 13.26$  min) and **31b** (less polar,  $t_R = 13.52$  min) were conducted on a recycling HPLC (YMC-Pack Pro C18 column, 20 x 150 mm, 10  $\text{mL min}^{-1}$ , acetonitrile: water = 9: 1).

**31a**: UV (ethanol)  $\lambda_{\text{max}}$  263 nm, 214 nm,  $\lambda_{\text{min}}$  227nm;  $^1\text{H}$  NMR (700 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  0.55 (3 H,

s), 0.94 (3 H, d,  $J = 6.5$  Hz), 1.22 (6 H, s), 1.86 (1 H, dd,  $J = 12.6, 9.1$  Hz), 2.20 (1 H, dd,  $J = 12.6, 9.6$  Hz), 2.46 (1 H, dd,  $J = 12.6, 2.3$  Hz), 2.57 (1 H, dd,  $J = 12.6, 3.6$  Hz), 2.81 (1 H, dd,  $J = 12.8, 4.9$  Hz), 3.86 (1 H, m), 4.40 (1 H, d,  $J = 5.8$  Hz), 4.43 (1 H, d,  $J = 5.8$  Hz), 4.48 (1 H, d,  $J = 6.2$  Hz), 4.87 (1 H, d,  $J = 6.2$  Hz), 5.09 (1 H, s), 5.29 (1 H, s), 6.05 (1 H, d,  $J = 11.2$  Hz), 6.31 (1 H, d,  $J = 11.2$  Hz);  $^1\text{H}$  NMR (700 MHz, methanol- $d_4$ )  $\delta$  0.58 (3 H, s), 0.97 (3 H, d,  $J = 6.5$  Hz), 1.16 (6 H, s), 1.75 (1 H, dd,  $J = 12.5, 9.6$  Hz), 2.13 (1 H, dd,  $J = 12.5, 10.3$  Hz), 2.43 (1 H, dd,  $J = 12.5, 2.4$  Hz), 2.52 (1 H, dd,  $J = 12.5, 3.5$  Hz), 2.85 (1 H, dd,  $J = 12.5, 4.5$  Hz), 3.72 (1 H, m), 4.32 (1 H, d,  $J = 5.7$  Hz), 4.42 (1 H, d,  $J = 6.4$  Hz), 4.89 (1 H, d,  $J = 6.3$  Hz), 5.03 (1 H, s), 5.31 (1 H, s), 6.08 (1 H, d,  $J = 11.2$  Hz), 6.32 (1 H, d,  $J = 11.2$  Hz);  $^{13}\text{C}$  NMR (175 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  11.9 (q), 18.4 (s), 18.8 (q), 20.8 (t), 22.4 (t), 23.7 (t), 27.6 (t), 29.1 (t), 29.2 (q), 29.4 (q), 30.1 (d), 36.4 (t), 40.5 (t), 44.4 (t), 45.2 (t), 46.0 (t), 56.3 (d), 56.6 (d), 58.5 (s), 67.7 (d), 71.1 (s), 78.9 (t), 80.8 (t), 110.9 (t), 116.9 (d), 124.2 (d), 133.4 (s), 143.5 (s), 146.2 (s); IR (ATR) 3392, 2942, 2874, 1646  $\text{cm}^{-1}$ ; HRMS (ESI+)  $m/z$  calcd. for  $\text{C}_{29}\text{H}_{46}\text{O}_3\text{Na}$   $[\text{M}+\text{Na}]^+$  465.3339, found 465.3323.

**31b**: UV (ethanol)  $\lambda_{\text{max}}$  262 nm, 213 nm,  $\lambda_{\text{min}}$  227nm;  $^1\text{H}$  NMR (700 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  0.52 (3 H, s), 0.94 (3 H, d,  $J = 6.5$  Hz), 1.22 (6 H, s), 2.05 (1 H, dd,  $J = 12.6, 8.8$  Hz), 2.22 (1 H, dd,  $J = 12.4, 8.8$  Hz), 2.40 (1 H, dd,  $J = 12.7, 2.5$  Hz), 2.56 (1 H, dd,  $J = 12.6, 3.9$  Hz), 2.81 (1 H, dd,  $J = 13.4, 4.6$  Hz), 3.91 (1 H, m), 4.41 (1 H, d,  $J = 5.9$  Hz), 4.48 (1 H, d,  $J = 5.9$  Hz), 4.51 (1 H, d,  $J = 6.2$  Hz), 4.81 (1 H, d,  $J = 6.2$  Hz), 5.07 (1 H, s), 5.28 (1 H, s), 6.04 (1 H, d,  $J = 11.3$  Hz), 6.31 (1 H, d,  $J = 11.2$  Hz);  $^1\text{H}$  NMR (700 MHz, methanol- $d_4$ )  $\delta$  0.55 (3 H, s), 0.96 (3 H, d,  $J = 6.6$  Hz), 1.16 (6 H, s), 1.75 (1 H, dd,  $J = 12.4, 9.6$  Hz), 2.13 (1 H, dd,  $J = 12.5, 10.9$  Hz), 2.43 (1 H, dd,  $J = 12.5, 3.9$  Hz), 2.52 (1 H, dd,  $J = 12.5, 4.1$  Hz), 3.73 (1 H, m), 4.34 (1 H, d,  $J = 5.8$  Hz), 4.43 (1 H, d,  $J = 5.8$  Hz), 4.45 (1 H, d,  $J = 6.3$  Hz), 4.88 (1 H, d,  $J = 6.3$  Hz), 5.00 (1 H, s), 5.30 (1 H, s), 6.07 (1 H, d,  $J = 11.2$  Hz), 6.33 (1 H, d,  $J = 11.2$  Hz);  $^{13}\text{C}$  NMR (175 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  11.9 (q), 18.8 (q), 20.8 (t), 22.2 (t), 23.6 (t), 27.6 (t), 29.1 (t), 29.2 (q), 29.4 (q), 36.1 (d), 36.4 (t), 40.5 (t), 44.4 (t), 45.0 (t), 45.2 (s), 45.9 (s), 46.0 (t), 56.3 (d), 56.5 (d), 67.7 (d),

71.1 (s), 79.4 (t), 80.5 (t), 110.7 (t), 116.0 (d), 124.2 (d), 133.3 (s), 143.6 (s), 146.3 (s); IR (ATR) 3392, 2942, 2870, 1646  $\text{cm}^{-1}$ ; HRMS (ESI+)  $m/z$  calcd. for  $\text{C}_{29}\text{H}_{46}\text{O}_3\text{Na}$   $[\text{M}+\text{Na}]^+$  465.3339, found 465.3325.

### Compounds **32a,b**

The corresponding the spirocyclic vitamin D analogues **32a,b** were synthesized by the same procedure as described for **30a,b** using **36** instead of **34**, in 51% yield (two steps). Separation and further purification of **32a** (more polar,  $t_R = 13.26$  min) and **32b** (less polar,  $t_R = 13.52$  min) were conducted on a recycling HPLC (YMC-Pack Pro C18 column, 20 x 150 mm, 10 mL  $\text{min}^{-1}$ , acetonitrile: water = 9: 1).

**32a**: UV (ethanol)  $\lambda_{\text{max}}$  262 nm, 213 nm,  $\lambda_{\text{min}}$  227nm;  $^1\text{H}$  NMR (700 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  0.54 (3 H, s), 0.94 (3 H, d,  $J = 6.4$  Hz), 1.22 (6 H, s), 1.95 (1 H, dd,  $J = 13.2, 3.0$  Hz), 2.17 (1 H, dd,  $J = 13.2, 6.4$  Hz), 2.46 (1 H, d,  $J = 13.1$  Hz), 2.76 (1 H, d,  $J = 13.1$  Hz), 2.84 (1 H, dd,  $J = 13.0, 4.3$  Hz), 4.26 (1 H, m), 4.30 (1 H, d,  $J = 5.8$  Hz), 4.40 (1 H, d,  $J = 6.2$  Hz), 4.49 (1 H, d,  $J = 5.8$  Hz), 4.70 (1 H, d,  $J = 6.2$  Hz), 4.98 (1 H, s), 5.27 (1 H, s), 6.05 (1 H, d,  $J = 11.2$  Hz), 6.42 (1 H, d,  $J = 11.2$  Hz);  $^{13}\text{C}$  NMR (175 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  11.9 (q), 18.8 (q), 20.8 (t), 22.3 (t), 23.6 (t), 27.6 (t), 29.1 (t), 29.2 (q), 29.4 (q), 36.1 (d), 36.4 (t), 40.3 (s), 40.4 (t), 42.0 (t), 44.4 (t), 45.2 (t), 46.1 (s), 56.4 (d), 56.5 (d), 71.1 (s), 73.8 (d), 81.7 (t), 82.1 (t), 116.7 (t), 116.8 (d), 120.9 (d), 139.2 (s), 140.6 (s), 145.2 (s); HRMS (ESI+)  $m/z$  calcd. for  $\text{C}_{29}\text{H}_{46}\text{O}_3\text{Na}$   $[\text{M}+\text{Na}]^+$  465.3339, found 465.3322.

**32b**: UV (ethanol)  $\lambda_{\text{max}}$  262 nm, 213 nm,  $\lambda_{\text{min}}$  227nm;  $^1\text{H}$  NMR (700 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  0.53 (3 H, s), 0.93 (3 H, d,  $J = 6.5$  Hz), 1.22 (6 H, s), 2.03 (1 H, dd,  $J = 13.1, 3.6$  Hz), 2.10 (1 H, dd,  $J = 13.1, 6.1$  Hz), 2.51 (1 H, d,  $J = 13.0$  Hz), 2.69 (1 H, d,  $J = 13.0$  Hz), 2.84 (1 H, dd,  $J = 13.8, 4.6$  Hz), 4.22 (1 H, m), 4.32 (1 H, d,  $J = 5.8$  Hz), 4.39 (1 H, d,  $J = 6.2$  Hz), 4.49 (1 H, d,  $J = 5.8$  Hz), 4.67 (1 H, d,  $J = 6.2$  Hz), 4.96 (1 H, s), 5.26 (1 H, s), 6.04 (1 H, d,  $J = 11.3$  Hz), 6.44 (1 H, d,  $J = 11.3$  Hz);  $^{13}\text{C}$  NMR (175 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  12.0 (q), 18.8 (q), 20.8 (t), 22.2 (t), 23.6 (t), 27.7 (t),

29.1 (t), 29.2 (q), 29.4 (q), 36.1 (d), 36.4 (t), 40.3 (s), 40.4 (t), 42.2 (t), 44.4 (t), 45.2 (t), 46.0 (s), 56.4 (d), 56.5 (d), 71.1 (s), 73.4 (d), 81.6 (t), 82.0 (t), 116.6 (t), 116.8 (d), 120.5 (d), 139.4 (s), 140.6 (s), 145.2 (s); HRMS (ESI+)  $m/z$  calcd. for  $C_{29}H_{46}O_3Na$   $[M+Na]^+$  465.3339, found 465.3324.

### Compound **59a**

A solution of **30a** (1.0 mg, 2.3  $\mu$ mol) dissolved in dry  $CH_2Cl_2$  (200  $\mu$ L), which had been filtered through a pad of aluminium oxide, was treated with 4-dimethylaminopyridine (DMAP) (8.3 mg, 68  $\mu$ mol, 30 *eq.*) and benzoyl chloride (3.9  $\mu$ L, 34  $\mu$ mol, 15 *eq.*) at 0 °C under an atmosphere of argon. The reaction mixture was stirred for 5 h, and purified by preparative TLC (ethyl acetate: *n*-hexane = 1: 2) without pre-treatment to afford the corresponding C1-benzoate **59a** (0.9 mg) in 72% yield.

**59a**: UV (ethanol)  $\lambda_{max}$  266 nm, 231 nm,  $\lambda_{min}$  255 nm, 208 nm; CD (ethanol)  $\lambda_{max}$  242 nm (+80.6);  $^1H$  NMR (700 MHz,  $CDCl_3$ )  $\delta$  0.32 (3 H, s), 0.91 (3 H, d,  $J = 6.4$  Hz), 1.20 (6 H, s), 2.22 (1 H, dd,  $J = 13.3, 4.0$  Hz), 2.28 (1 H, dd,  $J = 13.3, 6.5$  Hz), 2.63 (1 H, d,  $J = 13.1$  Hz), 2.76 (1 H, d,  $J = 13.1$  Hz), 2.84 (1 H, dd,  $J = 12.7, 3.8$  Hz), 4.37 (1 H, d,  $J = 6.0$  Hz), 4.46 (1 H, d,  $J = 6.0$  Hz), 4.55 (1 H, d,  $J = 6.0$  Hz), 4.57 (1 H, d,  $J = 6.0$  Hz), 5.04 (1 H, s), 5.37 (1 H, s), 5.52 (1 H, dd,  $J = 6.5, 4.0$  Hz), 5.89 (1 H, d,  $J = 11.3$  Hz), 6.48 (1 H, d,  $J = 11.3$  Hz), 7.41 (2 H, t,  $J = 7.7$  Hz), 7.54 (1 H, t,  $J = 7.7$  Hz), 7.96 (2 H, d,  $J = 7.7$  Hz);  $^1H$  NMR (700 MHz, methanol- $d_4$ )  $\delta$  0.17 (3 H, s), 0.90 (3 H, d,  $J = 6.3$  Hz), 1.15 (6 H, s), 2.12 (1H, dd,  $J = 13.9, 3.6$  Hz), 2.42 (1 H, ddd,  $J = 13.9, 5.0, 1.4$  Hz), 2.60 (1 H, d,  $J = 13.0$  Hz), 2.85 (1 H, d,  $J = 13.0$  Hz), 2.88 (1 H, dd,  $J = 12.8, 4.3$  Hz), 4.35 (1 H, d,  $J = 6.0$  Hz), 4.50 (1 H, d,  $J = 5.9$  Hz), 4.54 (1 H, d,  $J = 6.0$  Hz), 4.66 (1 H, d,  $J = 5.9$  Hz), 5.00 (1 H, s), 5.37 (1 H, s), 5.56 (1 H, dd,  $J = 5.0, 3.6$  Hz), 5.84 (1 H, d,  $J = 11.1$  Hz), 6.53 (1 H, d,  $J = 11.1$  Hz), 7.43 (2 H, t,  $J = 7.4$  Hz), 7.58 (1 H, t,  $J = 7.4$  Hz), 7.89 (2 H, d,  $J = 7.4$  Hz);  $^{13}C$  NMR (175 MHz,  $CDCl_3$ )  $\delta$  11.6 (q), 18.8 (q), 20.8 (t), 22.1 (t), 23.6 (t), 27.6 (t), 29.1 (t), 29.2 (q), 29.3 (q), 36.1 (d), 36.3 (t), 40.1 (t), 40.4 (t), 40.6 (s),



44.4 (t), 45.9 (s), 46.1 (t), 56.3 (d), 56.4 (d), 71.1 (s), 74.1 (d), 81.3 (t), 81.7 (t), 114.3 (t), 117.0 (d), 124.5 (d), 128.4 (d), 129.5 (d), 130.3 (s), 132.7 (s), 133.0 (d), 142.7 (s), 143.5 (s), 165.5 (s); HRMS (ESI+)  $m/z$  calcd. for  $C_{36}H_{50}NaO_4$   $[M+Na]^+$  569.3601, found 569.3601.

### Compound **59b**

The corresponding C1-benzoate **59b** was synthesized by the same procedure as described for **59a**, using **30b** instead of **30a**, in 72% yield.

**59b**: UV (ethanol)  $\lambda_{max}$  265 nm, 231 nm,  $\lambda_{min}$  255 nm, 207 nm; CD (ethanol)  $\lambda_{min}$  241 nm (-81.5);  $^1H$  NMR (700 MHz,  $CDCl_3$ )  $\delta$  0.52 (3 H, s), 0.92 (3 H, d,  $J = 6.5$  Hz), 1.20 (6 H, s), 1.89 (1 H, dd,  $J = 12.8, 6.6$  Hz), 1.99 (1 H, br. d,  $J = 13.2$  Hz), 2.20 (1 H, dd,  $J = 13.4, 3.9$  Hz), 2.29 (1 H, dd,  $J = 13.4, 6.2$  Hz), 2.62 (1 H, d,  $J = 13.2$  Hz), 2.77 (1 H, d,  $J = 13.2$  Hz), 2.83 (1 H, dd,  $J = 12.4, 4.8$  Hz), 4.38 (1 H, d,  $J = 6.0$  Hz), 4.45 (1 H, d,  $J = 6.0$  Hz), 4.56 (1 H, d,  $J = 6.0$  Hz), 4.59 (1 H, d,  $J = 6.0$  Hz), 5.07 (1 H, s), 5.39 (1 H, s), 5.56 (1 H, dd,  $J = 6.2, 3.9$  Hz), 5.87 (1 H, d,  $J = 11.0$  Hz), 6.46 (1 H, d,  $J = 11.0$  Hz), 7.42 (2 H, t,  $J = 7.7$  Hz), 7.55 (1 H, t,  $J = 7.7$  Hz), 7.95 (2 H, d,  $J = 7.7$  Hz);  $^1H$  NMR (700 MHz, methanol- $d_4$ )  $\delta$  0.53 (3 H, s), 0.94 (3 H, d,  $J = 6.5$  Hz), 1.15 (6 H, s), 1.84 (1 H, dd,  $J = 12.3, 6.4$  Hz), 2.01 (1 H, br. d,  $J = 12.7$  Hz), 2.15 (1 H, dd,  $J = 13.9, 3.6$  Hz), 2.39 (1 H, ddd,  $J = 13.9, 5.2, 1.4$  Hz), 2.61 (1 H, d,  $J = 13.1$  Hz), 2.82 (1 H, d,  $J = 13.1$  Hz), 2.88 (1 H, dd,  $J = 13.4, 5.4$  Hz), 4.36 (1 H, d,  $J = 6.0$  Hz), 4.47 (1 H, d,  $J = 6.0$  Hz), 4.54 (1 H, d,  $J = 6.0$  Hz), 4.62 (1 H, d,  $J = 6.0$  Hz), 5.02 (1 H, d,  $J = 1.9$  Hz), 5.37 (1 H, s), 5.56 (1 H, dd,  $J = 5.2, 3.6$  Hz), 5.85 (1 H, d,  $J = 11.1$  Hz), 6.52 (1 H, d,  $J = 11.1$  Hz), 7.44 (2 H, t,  $J = 7.7$  Hz), 7.58 (1 H, t,  $J = 7.7$  Hz), 7.88 (2 H, d,  $J = 7.7$  Hz);  $^{13}C$  NMR (175 MHz,  $CDCl_3$ )  $\delta$  12.0 (q), 18.8 (q), 20.8 (t), 22.1 (t), 23.7 (t), 27.6 (t), 29.16 (t), 29.18 (q), 29.4 (q), 36.1 (d), 36.4 (t), 40.0 (t), 40.47 (t), 40.52 (s), 44.4 (t), 45.9 (s), 46.0 (t), 56.3 (d), 56.5 (d), 71.1 (s), 74.1 (d), 81.4 (t), 81.7 (t), 115.0 (t), 117.0 (d), 124.9 (d), 128.4 (d), 129.6 (d), 130.3 (s), 132.4 (s), 133.0 (d), 142.4 (s), 143.3 (s), 165.6 (s); HRMS (ESI+)  $m/z$  calcd. for  $C_{36}H_{50}NaO_4$   $[M+Na]^+$  569.3601, found 569.3608.

## Compound **61a**

A solution of **1** (30 mg, 0.08 mmol) dissolved in dry CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (0.5 mL), which had been filtered through a pad of aluminium oxide, was treated with 4-dimethylaminopyridine (DMAP) (95 mg, 0.68 mmol, 9.8 *eq.*) and benzoyl chloride (48  $\mu$ L, 0.41 mmol, 5.1 *eq.*) at 0 °C under an atmosphere of argon. The reaction mixture was stirred at room temperature for 40 min. Saturated aqueous sodium bicarbonate was added to the mixture at 0 °C and the whole was extracted with ethyl acetate. The organic layer was washed with brine, dried over sodium sulfate, filtered and concentrated. The residue was purified by silica gel column chromatography (ethyl acetate: *n*-hexane = 1: 9) to give **61a** (34 mg) in 90% yield.

**61a**: UV (ethanol)  $\lambda_{\max}$  263 nm, 230 nm,  $\lambda_{\min}$  249nm; CD (ethanol)  $\lambda_{\max}$  244 nm (+15.4); <sup>1</sup>H NMR (700 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  0.55 (3 H, s), 0.865 (3 H, d, *J* = 6.6 Hz), 0.869 (3 H, d, *J* = 6.6 Hz), 0.92 (3 H, d, *J* = 6.6 Hz), 2.28 (1 H, ddd, *J* = 13.8, 9.1, 4.5 Hz), 2.49 (1 H, ddd, *J* = 13.8, 7.2, 4.6 Hz), 2.52 (1 H, dd, *J* = 13.5, 8.0 Hz), 2.70 (1 H, dd, *J* = 13.3, 3.9 Hz), 2.80 (1 H, dd, *J* = 12.6, 3.8 Hz), 4.88 (1 H, s), 5.10 (1 H, s), 5.21 (1 H, m), 6.06 (1 H, d, *J* = 11.3 Hz), 6.25 (1 H, d, *J* = 11.3 Hz), 7.43 (2 H, t, *J* = 7.4 Hz), 7.54 (1 H, t, *J* = 7.4 Hz), 8.03 (2 H, d, *J* = 7.4 Hz); <sup>1</sup>H NMR (700 MHz, methanol-*d*<sub>4</sub>)  $\delta$  0.57 (3 H, s), 0.876 (3 H, d, *J* = 6.6 Hz), 0.880 (3 H, d, *J* = 6.6 Hz), 0.94 (3 H, d, *J* = 6.6 Hz), 2.28 (1 H, ddd, *J* = 13.7, 8.5, 4.7 Hz), 2.51 (1 H, dd, *J* = 13.5, 7.1 Hz), 2.69 (1 H, dd, *J* = 13.5, 3.7 Hz), 2.84 (1 H, dd, *J* = 12.8, 4.6 Hz), 4.83 (1 H, d, *J* = 2.8 Hz), 5.12 (1 H, t, *J* = 1.2 Hz), 5.17 (1 H, m), 6.08 (1 H, d, *J* = 11.2 Hz), 6.26 (1 H, d, *J* = 11.2 Hz), 7.45 (2 H, t, *J* = 7.4 Hz), 7.58 (1 H, t, *J* = 7.4 Hz), 7.98 (2 H, d, *J* = 7.4 Hz); <sup>13</sup>C NMR (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  12.0 (q), 18.8 (q), 22.2 (t), 22.6 (q), 22.8 (q), 23.6 (t), 23.9 (t), 27.7 (t), 28.0 (d), 29.1 (t), 32.1 (t), 32.3 (t), 36.1 (d), 39.5 (t), 40.6 (t), 42.3 (t), 45.9 (s), 56.4 (d), 56.6 (d), 72.3 (d), 112.7 (t), 117.5 (d), 122.6 (d), 128.3 (d), 129.6 (d), 130.7 (s), 132.8 (d), 134.2 (s), 142.4 (s), 144.2 (s), 166.0 (s); HRMS (ESI+) *m/z* calcd. for C<sub>34</sub>H<sub>48</sub>O<sub>2</sub>Na [M+Na]<sup>+</sup> 511.3547, found 511.3587.

## Compound **64a**

A solution of **1** (30 mg, 0.08 mmol) dissolved in dry CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (0.5 mL), which had been filtered through a pad of aluminium oxide, was treated with 4-dimethylaminopyridine (DMAP) (57 mg, 0.47 mmol, 5.9 *eq.*) and 4-(dimethylamino)benzoyl chloride (43 mg, 0.23 mmol, 2.9 *eq.*) at 0 °C under an atmosphere of argon. The reaction mixture was stirred at room temperature for 6 h 30 min. Saturated aqueous sodium bicarbonate (5 mL) was added to the mixture at 0 °C and the whole was extracted with ethyl acetate. The organic layer was washed with brine, dried over sodium sulfate, filtered and concentrated. The residue was purified by silica gel column chromatography (ethyl acetate: *n*-hexane = 1: 9) to give **64a** (31 mg) in 72% yield.

**64a**: UV (ethanol)  $\lambda_{\max}$  311 nm, 232 nm,  $\lambda_{\min}$  245nm,  $\lambda_{\text{sh}}$  265 nm; CD (ethanol)  $\lambda_{\max}$  307 nm (+36.7); <sup>1</sup>H NMR (700 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  0.55 (3 H, s), 0.866 (3 H, d, *J* = 6.7 Hz), 0.871 (3 H, d, *J* = 6.7 Hz), 0.92 (3 H, d, *J* = 6.6 Hz), 2.26 (1 H, ddd, *J* = 13.7, 9.2, 4.6 Hz), 2.49 (1 H, dd, *J* = 13.3, 7.5 Hz), 2.68 (1 H, dd, *J* = 13.3, 3.9 Hz), 2.81 (1 H, dd, *J* = 12.5, 4.3 Hz), 3.03 (6 H, s), 4.86 (1 H, s), 5.08 (1 H, s), 5.16 (1 H, dq, *J* = 12.0, 3.9 Hz), 6.06 (1 H, d, *J* = 11.2 Hz), 6.24 (1 H, d, *J* = 11.2 Hz), 6.64 (2 H, d, *J* = 9.0 Hz), 7.90 (2 H, d, *J* = 9.0 Hz); <sup>1</sup>H NMR (700 MHz, methanol-*d*<sub>4</sub>)  $\delta$  0.57 (3 H, s), 0.876 (3 H, d, *J* = 6.6 Hz), 0.880 (3 H, d, *J* = 6.6 Hz), 0.94 (3 H, d, *J* = 6.5 Hz), 2.26 (1 H, ddd, *J* = 13.7, 8.5, 4.6 Hz), 2.47 (1 H, dd, *J* = 13.8, 7.6 Hz), 2.66 (1 H, dd, *J* = 13.8, 3.7 Hz), 2.84 (1 H, dd, *J* = 12.7, 4.8 Hz), 3.02 (6 H, ), 4.82 (1 H, d, *J* = 2.5 Hz), 5.09 (1 H, dq, *J* = 11.3, 3.7 Hz), 5.36 (1 H, s), 6.08 (1 H, d, *J* = 11.2 Hz), 6.25 (1 H, d, *J* = 11.2 Hz), 6.70 (2 H, d, *J* = 9.0 Hz), 7.81 (2 H, d, *J* = 9.0 Hz); <sup>13</sup>C NMR (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  12.0 (q), 18.8 (q), 22.2 (t), 22.6 (q), 22.8 (q), 23.6 (t), 23.9 (t), 27.7 (t), 28.0 (d), 29.1 (t), 32.2 (t), 32.4 (t), 36.13 (d), 36.14 (t), 39.5 (t), 40.1 (q), 40.6 (t), 42.5 (t), 45.9 (s), 56.4 (d), 56.6 (d), 71.3 (d), 110.7 (d), 112.5 (t), 117.56 (s), 117.59 (d), 122.4 (d), 131.3 (d), 134.7 (s), 142.1 (s), 145.0 (s), 153.3 (s), 166.3 (s); HRMS (ESI+) *m/z* calcd. for C<sub>36</sub>H<sub>53</sub>NO<sub>2</sub>Na [M+Na]<sup>+</sup> 554.3969, found 554.4012.

### Compound **61b**

A solution of **1** (30 mg, 0.08 mmol) in THF (0.8 mL) was added to triphenylphosphine (Ph<sub>3</sub>P) (31 mg, 0.12 mmol, 1.5 *eq.*) and benzoic acid (29 mg, 0.24 mmol, 3.0 *eq.*) at room temperature under an atmosphere of argon. The mixture was treated with diethyl azodicarboxylate (DEAD) (53  $\mu$ L, 0.12 mmol, 1.5 *eq.*) at 0 °C. The reaction mixture was stirred at room temperature for 14 h 45 min. Evaporation of the afforded a residue, from which **61b** (6 mg) was separated by silica gel column chromatography (ethyl acetate: *n*-hexane = 1: 99) as a colorless oil in 14% yield, with the C3-elimination product (22 mg, 77%).

**61b**: UV (ethanol)  $\lambda_{\max}$  264 nm, 230 nm,  $\lambda_{\min}$  249nm; CD (ethanol)  $\lambda_{\min}$  244 nm (-10.5); <sup>1</sup>H NMR (700 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  0.55 (3 H, s), 0.866 (3 H, d, *J* = 6.6 Hz), 0.871 (3 H, d, *J* = 6.6 Hz), 0.92 (3 H, d, *J* = 6.6 Hz), 2.26 (1 H, ddd, *J* = 13.7, 10.2, 4.6 Hz), 2.49 (1 H, dd, *J* = 13.2, 8.0 Hz), 2.71 (1 H, dd, *J* = 13.2, 4.0 Hz), 2.80 (1 H, dd, *J* = 13.7, 4.5 Hz), 4.89 (1 H, s), 5.10 (1 H, s), 5.17 (1 H, m), 6.07 (1 H, d, *J* = 11.3 Hz), 6.26 (1 H, d, *J* = 11.3 Hz), 7.43 (2 H, t, *J* = 7.4 Hz), 7.55 (1 H, t, *J* = 7.4 Hz), 8.03 (2 H, d, *J* = 7.4 Hz); <sup>1</sup>H NMR (700 MHz, methanol-*d*<sub>4</sub>)  $\delta$  0.57 (3 H, s), 0.877 (3 H, d, *J* = 6.6 Hz), 0.880 (3 H, d, *J* = 6.6 Hz), 0.94 (3 H, d, *J* = 6.6 Hz), 2.27 (1 H, ddd, *J* = 13.6, 8.9, 4.6 Hz), 2.51 (1 H, dd, *J* = 13.1, 7.2 Hz), 2.69 (1 H, dd, *J* = 13.2, 3.7 Hz), 2.83 (1 H, dd, *J* = 12.0, 4.3 Hz), 4.83 (1 H, s), 5.12 (1 H, s), 5.14 (1 H, m), 6.08 (1 H, d, *J* = 11.2 Hz) 6.26 (1 H, d, *J* = 11.2 Hz), 7.45 (2 H, t, *J* = 7.8 Hz), 7.59 (1 H, t, *J* = 7.8 Hz), 7.98 (2 H, d, *J* = 7.8 Hz); <sup>13</sup>C NMR (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  11.9 (q), 18.9 (q), 22.3 (t), 22.6 (q), 22.8 (q), 23.7 (t), 23.9 (t), 27.7 (t), 28.0 (d), 29.0 (t), 32.1 (t), 32.4 (t), 36.1 (d), 39.5 (t), 40.5 (t), 42.4 (t), 45.9 (s), 56.4 (d), 56.6 (d), 72.5 (d), 112.8 (t), 117.4 (d), 122.6 (d), 128.3 (d), 129.6 (d), 130.8 (s), 132.8 (d), 134.4 (s), 142.6 (s), 144.7 (s), 165.9 (s); HRMS (ESI+) *m/z* calcd. for C<sub>34</sub>H<sub>48</sub>O<sub>2</sub>Na [M+Na]<sup>+</sup> 511.3547, found 511.3576.

### Compound **64b**

A solution of **1** (30 mg, 0.08 mmol) in THF (0.8 mL) was added to triphenylphosphine (Ph<sub>3</sub>P) (31 mg, 0.12 mmol, 1.5 *eq.*) and benzoic acid (29 mg, 0.24 mmol, 3.0 *eq.*) at room temperature under an atmosphere of argon. The mixture was treated with diethyl azodicarboxylate (DEAD) (53  $\mu$ L, 0.12 mmol, 1.5 *eq.*) at 0 °C. The reaction mixture was stirred at room temperature for 16 h 35 min. Evaporation of the afforded a residue, from which **64b** (2 mg) was separated by silica gel column chromatography (ethyl acetate: *n*-hexane = 1: 19, then 1: 3) as a colorless oil in 5% yield, with the C3-elimination product (22 mg, 55%), and with starting material **1** (8 mg, 27%).

**64b**: UV (ethanol)  $\lambda_{\max}$  311 nm, 232 nm,  $\lambda_{\min}$  245nm,  $\lambda_{\text{sh}}$  266 nm; CD (ethanol)  $\lambda_{\min}$  308 nm (-30.1); <sup>1</sup>H NMR (700 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  0.56 (3 H, s), 0.865 (3 H, d, *J* = 6.6 Hz), 0.870 (3 H, d, *J* = 6.6 Hz), 0.92 (3 H, d, *J* = 6.4 Hz), 2.24 (1 H, ddd, *J* = 14.0, 9.5, 4.2 Hz), 2.46 (1 H, dd, *J* = 13.2, 8.7 Hz), 2.69 (1 H, dd, *J* = 13.2, 4.0 Hz), 2.80 (1 H, dd, *J* = 13.6, 4.3 Hz), 3.03 (6 H, s), 4.87 (1 H, s), 5.08 (1 H, s), 5.12 (1 H, dq, *J* = 12.7, 4.0 Hz), 6.07 (1 H, d, *J* = 11.2 Hz), 6.25 (1 H, d, *J* = 11.2 Hz), 6.64 (2 H, d, *J* = 8.8 Hz), 7.90 (2 H, d, *J* = 8.8 Hz); <sup>1</sup>H NMR (700 MHz, methanol-*d*<sub>4</sub>)  $\delta$  0.57 (3 H, s), 0.876 (3 H, d, *J* = 6.6 Hz), 0.880 (3 H, d, *J* = 6.6 Hz), 0.94 (3 H, d, *J* = 6.5 Hz), 2.48 (2 H, m), 2.65 (1 H, dd, *J* = 13.2, 3.9 Hz), 2.83 (1 H, dd, *J* = 10.9, 5.4 Hz), 4.82 (1 H, s), 5.06 (1 H, m), 5.10 (1 H, s), 6.08 (1 H, d, *J* = 11.2 Hz), 6.24 (1 H, d, *J* = 11.2 Hz), 6.69 (2 H, d, *J* = 9.0 Hz), 7.81 (2 H, d, *J* = 9.0 Hz); <sup>13</sup>C NMR (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  12.0 (q), 18.9 (q), 22.3 (t), 22.6 (q), 22.8 (q), 23.6 (t), 23.9 (q), 27.7 (t), 28.0 (d), 29.0 (t), 32.3 (t), 32.6 (t), 36.1 (d), 39.5 (t), 40.1 (q), 40.6 (t), 42.6 (t), 45.9 (s), 56.4 (d), 56.6 (d), 71.6 (d), 110.7 (d), 112.5 (t), 117.5 (d), 117.6 (s), 122.4 (d), 131.3 (d), 134.9 (s), 142.3 (s), 145.0 (s), 153.3 (s), 166.3 (s); HRMS (ESI+) *m/z* calcd. for C<sub>36</sub>H<sub>53</sub>NO<sub>2</sub>Na [M+Na]<sup>+</sup> 554.3969, found 554.3952.

## Compound **62**

**62**: <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  0.56 (3 H, s), 0.868 (3 H, d, *J* = 6.6 Hz), 0.872 (3 H, d, *J* = 6.6 Hz), 0.92 (3 H, d, *J* = 6.3 Hz), 2.88 (1 H, dd, *J* = 12.2, 4.0 Hz), 5.09 (1 H, s), 5.14 (1 H, s),

5.73 (1 H, dt,  $J = 9.6, 4.0$  Hz), 6.07 (1 H, d,  $J = 9.6$  Hz), 6.25 (1 H, d,  $J = 12.0$  Hz), 6.29 (1 H, d,  $J = 12.0$  Hz);  $^{13}\text{C}$  NMR (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  12.0 (q), 18.8 (q), 22.2 (t), 22.5 (q), 22.8 (q), 23.7 (t), 23.8 (t), 27.6 (t), 28.0 (d), 28.3 (t), 29.1 (t), 33.5 (t), 36.07 (d), 36.08 (t), 39.4 (t), 40.5 (t), 46.1 (s), 56.6 (d), 113.1 (t), 118.2 (d), 123.3 (d), 127.4 (d), 131.7 (d), 134.2 (s), 143.2 (s), 144.6 (s); HRMS (ESI+)  $m/z$  calcd. for  $\text{C}_{27}\text{H}_{42}\text{Na}$   $[\text{M}+\text{Na}]^+$  389.3179, found 389.3201.

### Compound **63**

**63**: UV (ethanol)  $\lambda_{\text{max}}$  265 nm, 213 nm,  $\lambda_{\text{min}}$  229 nm;  $^1\text{H}$  NMR (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  0.55 (3 H, s), 0.86 (3 H, d,  $J = 6.6$  Hz), 0.87 (3 H, d,  $J = 6.6$  Hz), 0.92 (3 H, d,  $J = 6.4$  Hz), 2.27 (1 H, dd,  $J = 12.4, 8.4$  Hz), 2.58 (1 H, dd,  $J = 13.1, 3.9$  Hz), 2.83 (1 H, dd,  $J = 12.1, 4.0$  Hz), 3.89 (1 H, m), 4.84 (1 H, s), 5.06 (1 H, s), 6.04 (1 H, d,  $J = 11.2$  Hz), 6.24 (1 H, d,  $J = 11.2$  Hz); HRMS (ESI+)  $m/z$  calcd. for  $\text{C}_{27}\text{H}_{44}\text{ONa}$   $[\text{M}+\text{Na}]^+$  407.3284, found 407.3278.

### Compound **65a**

The corresponding C3-benzoate **65a** was synthesized by the same procedure as described for **61a**, using **31a** instead of **1**, in 60% yield.

**65a**: UV (ethanol)  $\lambda_{\text{max}}$  312 nm, 235 nm,  $\lambda_{\text{min}}$  245 nm,  $\lambda_{\text{sh}}$  279 nm, 268 nm; CD (ethanol)  $\lambda_{\text{min}}$  310 nm (-30.6);  $^1\text{H}$  NMR (700 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  0.56 (3 H, s), 0.92 (3 H, d,  $J = 6.4$  Hz), 1.22 (6 H, s), 2.17 (1 H, dd,  $J = 12.9, 8.4$  Hz), 2.42 (1 H, dd,  $J = 12.7, 8.4$  Hz), 2.46 (1 H, dd,  $J = 12.9, 3.2$  Hz), 2.66 (1 H, dd,  $J = 12.9, 3.8$  Hz), 2.79 (1 H, dd,  $J = 13.8, 4.8$  Hz), 3.04 (6 H, s), 4.50 (1 H, d,  $J = 6.0$  Hz), 4.53 (1 H, d,  $J = 6.0$  Hz), 4.58 (1 H, d,  $J = 6.0$  Hz), 4.80 (1 H, d,  $J = 6.0$  Hz), 5.12 (1 H, s), 5.16 (1 H, m), 5.34 (1 H, s), 6.09 (1 H, d,  $J = 11.2$  Hz), 6.34 (1 H, d,  $J = 11.2$  Hz), 6.63 (2 H, d,  $J = 8.8$  Hz), 7.85 (2 H, d,  $J = 8.8$  Hz);  $^1\text{H}$  NMR (700 MHz, methanol- $d_4$ )  $\delta$  0.60 (3 H, s), 0.97 (3 H, d,  $J = 6.6$  Hz), 1.17 (6 H, s), 2.26 (1 H, dd,  $J = 13.0, 6.9$  Hz), 2.35 (1 H, dd,  $J = 13.4, 3.4$  Hz), 2.46 (1 H, dd,  $J = 13.2, 7.4$  Hz), 2.62 (1 H, dd,  $J = 13.3, 3.5$  Hz), 2.82 (1 H, dd,  $J = 13.7, 3.9$  Hz), 4.50 (1 H, d,  $J = 6.0$  Hz), 4.57 (1 H, d,  $J = 6.0$  Hz), 4.66 (1 H, d,  $J = 6.0$

Hz), 4.69 (1 H, d,  $J = 6.0$  Hz), 5.10 (1 H, s), 5.15 (1 H, m), 5.42 (1 H, s), 6.15 (1 H, d,  $J = 11.1$  Hz), 6.36 (1 H, d,  $J = 11.1$  Hz), 6.68 (2 H, d,  $J = 9.1$  Hz), 7.77 (2 H, d,  $J = 9.1$  Hz);  $^{13}\text{C}$  NMR (175 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  11.9 (q), 18.7 (q), 20.8 (t), 22.3 (t), 23.6 (t), 27.6 (t), 29.1 (t), 29.2 (q), 29.4 (q), 36.1 (d), 36.4 (t), 40.1 (q), 40.5 (t), 41.6 (t), 42.3 (t), 44.4 (t), 45.4 (s), 46.0 (s), 56.3 (d), 56.5 (d), 69.5 (d), 71.1 (s), 79.6 (t), 80.1 (t), 110.7 (d), 110.7 (t), 117.0 (d), 117.1 (s), 124.5 (d), 131.3 (d), 133.1 (s), 143.5 (s), 146.4 (s), 153.3 (s), 166.2 (s); HRMS (ESI+)  $m/z$  calcd. for  $\text{C}_{38}\text{H}_{55}\text{NO}_4\text{Na}$   $[\text{M}+\text{Na}]^+$  612.4023, found 612.4006.

### Compound **65b**

The corresponding C3-benzoate **65b** was synthesized by the same procedure as described for **61a**, using **31b** instead of **1**, in 68% yield.

**65b**: UV (ethanol)  $\lambda_{\text{max}}$  313 nm, 235 nm,  $\lambda_{\text{min}}$  247nm,  $\lambda_{\text{sh}}$  277 nm, 268 nm; CD (ethanol)  $\lambda_{\text{max}}$  306 nm (+28.9);  $^1\text{H}$  NMR (700 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  0.54 (3 H, s), 0.94 (3 H, d,  $J = 6.5$  Hz), 1.22 (6 H, s), 2.20 (1 H, dd,  $J = 12.8, 7.8$  Hz), 2.43 (1 H, dd,  $J = 13.2, 7.8$  Hz), 2.67 (1 H, dd,  $J = 13.2, 4.3$  Hz), 2.80 (1 H, dd,  $J = 13.4, 4.6$  Hz), 4.51 (1 H, d,  $J = 6.0$  Hz), 4.55 (1 H, d,  $J = 6.1$  Hz), 4.59 (1 H, d,  $J = 6.0$  Hz), 4.78 (1 H, d,  $J = 6.1$  Hz), 5.11 (1 H, s), 5.18 (1 H, m), 5.33 (1 H, s), 6.08 (1 H, d,  $J = 11.2$  Hz), 6.34 (1 H, d,  $J = 11.2$  Hz), 6.64 (2 H, d,  $J = 9.0$  Hz), 7.85 (2 H, d,  $J = 9.0$  Hz);  $^1\text{H}$  NMR (700 MHz, methanol- $d_4$ )  $\delta$  0.58 (3 H, s), 0.97 (3 H, d,  $J = 6.6$  Hz), 1.17 (6 H, s), 2.22 (1 H, dd,  $J = 13.2, 7.4$  Hz), 2.39 (1 H, dd,  $J = 13.0, 4.1$  Hz), 2.44 (1 H, dd,  $J = 13.2, 7.4$  Hz), 2.65 (1 H, dd,  $J = 13.1, 3.8$  Hz), 2.86 (1 H, dd,  $J = 12.4, 4.0$  Hz), 4.51 (1 H, d,  $J = 6.1$  Hz), 4.55 (1 H, d,  $J = 6.1$  Hz), 4.63 (1 H, d,  $J = 6.1$  Hz), 4.70 (1 H, d,  $J = 6.1$  Hz), 5.10 (1 H, s), 5.14 (1 H, m), 5.41 (1 H, s), 6.14 (1 H, d,  $J = 11.2$  Hz), 6.39 (1 H, d,  $J = 11.2$  Hz), 6.70 (2 H, d,  $J = 9.0$  Hz), 7.78 (2 H, d,  $J = 9.0$  Hz);  $^{13}\text{C}$  NMR (175 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  11.9 (q), 18.8 (q), 20.8 (t), 22.3 (t), 23.6 (t), 27.7 (t), 29.2 (t), 29.4 (q), 29.7 (q), 36.1 (d), 36.4 (t), 40.0 (q), 40.5 (t), 41.5 (t), 42.2 (t), 44.4 (t), 45.3 (s), 46.0 (s), 56.4 (d), 56.6 (d), 69.5 (d), 71.1 (s), 79.6 (t), 80.0 (t), 110.66 (d), 110.69 (t), 116.9 (d), 117.0 (s), 124.5 (d), 131.3 (d), 132.9 (s), 143.5 (s), 146.6 (s), 153.4 (s),

166.2 (s); HRMS (ESI+)  $m/z$  calcd. for  $C_{38}H_{55}NO_4Na$   $[M+Na]^+$  612.4023, found 612.3980.

### Compound **66a**

The corresponding C4-benzoate **66a** was synthesized by the same procedure as described for **61a**, using **32a** instead of **1**, in 66% yield.

**66a**: CD (ethanol)  $\lambda_{\min}$  271 nm (-16.2);  $^1H$  NMR (700 MHz,  $CDCl_3$ )  $\delta$  0.53 (3 H, s), 0.93 (3 H, d,  $J = 6.3$  Hz), 1.21 (6 H, s), 1.93 (1 H, dd,  $J = 14.1, 3.0$  Hz), 2.46 (1 H, d,  $J = 13.1$  Hz), 2.51 (1 H, br. d,  $J = 12.6$  Hz), 2.82 (1 H, dd,  $J$ ), 2.98 (1 H, d,  $J = 13.1$  Hz), 4.31 (1 H, d,  $J = 5.9$  Hz), 4.52 (1 H, d,  $J = 6.0$  Hz), 4.53 (1 H, d,  $J = 5.9$  Hz), 4.69 (1 H, d,  $J = 6.0$  Hz), 5.03 (1 H, s), 5.33 (1 H, s), 5.69 (1 H, br. t,  $J = 3.4$  Hz), 6.08 (1 H, d,  $J = 11.2$  Hz), 6.55 (1 H, d,  $J = 11.2$  Hz), 7.43 (2 H, t,  $J = 7.4$  Hz), 7.55 (1 H, t,  $J = 7.4$  Hz), 7.94 (2 H, d,  $J = 7.4$  Hz);  $^{13}C$  NMR (175 MHz,  $CDCl_3$ )  $\delta$  12.0 (q), 18.8 (q), 20.8 (t), 22.3 (t), 23.7 (t), 27.6 (t), 29.1 (t), 29.2 (q), 29.4 (q), 36.1 (d), 36.4 (t), 39.2 (t), 40.4 (t), 40.5 (s), 44.4 (t), 45.1 (t), 46.2 (s), 56.50 (d), 56.53 (d), 71.1 (s), 76.8 (d), 81.7 (t), 81.9 (t), 116.7 (d), 116.9 (t), 125.0 (d), 128.4 (d), 129.5 (d), 130.5 (s), 132.9 (d), 134.1 (s), 140.1 (s), 146.7 (s), 165.6 (s); HRMS (ESI+)  $m/z$  calcd. for  $C_{36}H_{50}O_4Na$   $[M+Na]^+$  569.3601, found 569.3557.

### Compound **66b**

The corresponding C4-benzoate **66b** was synthesized by the same procedure as described for **61a**, using **32b** instead of **1**, in 83% yield.

**66b**: CD (ethanol)  $\lambda_{\max}$  271 nm (+16.2);  $^1H$  NMR (700 MHz,  $CDCl_3$ )  $\delta$  0.54 (3 H, s), 0.93 (3 H, d,  $J = 6.4$  Hz), 1.21 (6 H, s), 2.47 (1 H, dd,  $J = 14.1, 2.7$  Hz), 2.51 (1 H, d,  $J = 13.1$  Hz), 2.82 (1 H, dd,  $J = 16.8, 5.3$  Hz), 2.93 (1 H, d,  $J = 13.1$  Hz), 4.33 (1 H, d,  $J = 5.9$  Hz), 4.51 (1 H, d,  $J = 6.0$  Hz), 4.54 (1 H, d,  $J = 5.9$  Hz), 4.70 (1 H, d,  $J = 6.0$  Hz), 4.99 (1 H, s), 5.30 (1 H, s), 5.66 (1 H, br. t,  $J = 3.6$  Hz), 6.05 (1 H, d,  $J = 11.3$  Hz), 6.58 (1 H, d,  $J = 11.3$  Hz), 7.41 (2 H, t,  $J = 7.4$  Hz), 7.54 (1 H, t,  $J = 7.4$  Hz), 7.93 (2 H, d,  $J = 7.4$  Hz);  $^{13}C$  NMR (175 MHz,  $CDCl_3$ )  $\delta$  12.1 (q),



18.8 (q), 20.8 (t), 22.2 (t), 23.5 (t), 27.7 (t), 29.2 (q), 29.4 (t), 29.7 (q), 36.1 (d), 36.4 (t), 39.2 (t), 40.4 (t), 40.5 (s), 44.4 (t), 45.1 (t), 46.1 (s), 56.45 (d), 56.49 (d), 71.1 (s), 76.7 (d), 81.6 (t), 81.9 (t), 116.7 (d), 116.9 (t), 124.8 (d), 128.4 (d), 129.5 (d), 130.5 (s), 132.9 (d), 134.0 (s), 140.1 (s), 146.7 (s), 165.6 (s)

#### Compound **67a**

The corresponding C4-benzoate **67a** was synthesized by the same procedure as described for **61a**, using **32a** instead of **1**, in 83% yield.

**67a**: CD (ethanol)  $\lambda_{\min}$  310 nm (-55.8);  $^1\text{H}$  NMR (700 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  0.53 (3 H, s), 0.93 (3 H, d,  $J = 6.5$  Hz), 1.21 (6 H, s), 1.90 (1 H, dd,  $J = 14.1, 3.1$  Hz), 2.45 (1 H, d,  $J = 13.2$  Hz), 2.47 (1 H, dd,  $J = 14.1, 2.0$  Hz), 2.82 (1 H, dd,  $J = 12.8, 5.0$  Hz), 2.95 (1 H, d,  $J = 13.2$  Hz), 3.03 (6 H, s), 4.30 (1 H, d,  $J = 5.9$  Hz), 4.50 (1 H, d,  $J = 6.1$  Hz), 4.52 (1 H, d,  $J = 5.9$  Hz), 4.69 (1 H, d,  $J = 6.1$  Hz), 5.02 (1 H, s), 5.30 (1 H, s), 5.63 (1 H, br. t,  $J = 3.6$  Hz), 6.07 (1 H, d,  $J = 11.4$  Hz), 6.52 (1 H, d,  $J = 11.4$  Hz), 6.63 (2 H, d,  $J = 9.0$  Hz), 7.81 (2 H, d,  $J = 9.0$  Hz);  $^{13}\text{C}$  NMR (175 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  12.0 (q), 18.8 (q), 20.8 (t), 22.3 (t), 23.7 (t), 27.6 (t), 29.1 (t), 29.2 (q), 29.4 (q), 36.1 (d), 36.4 (t), 39.3 (t), 40.1 (q), 40.4 (t), 40.6 (s), 44.4 (t), 45.2 (t), 46.1 (s), 56.49 (d), 56.53 (d), 71.1 (s), 75.7 (d), 81.8 (t), 82.0 (t), 110.7 (d), 116.6 (t), 116.8 (d), 117.2 (s), 124.3 (d), 131.2 (d), 134.8 (s), 140.4 (s), 146.2 (s), 153.3 (s), 165.9 (s); HRMS (ESI+)  $m/z$  calcd. for  $\text{C}_{38}\text{H}_{55}\text{NO}_4\text{Na}$   $[\text{M}+\text{Na}]^+$  612.4023, found 612.4011.

#### Compound **67b**

The corresponding C4-benzoate **67b** was synthesized by the same procedure as described for **61a**, using **32b** instead of **1**, in 83% yield.

**67b**: CD (ethanol)  $\lambda_{\max}$  308 nm (+55.3);  $^1\text{H}$  NMR (700 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  0.53 (3 H, s), 0.93 (3 H, d,  $J = 6.4$  Hz), 1.21 (6 H, s), 2.41 (1 H, dd,  $J = 13.5, 4.3$  Hz), 2.51 (1 H, d,  $J = 13.1$  Hz), 2.82 (1 H, dd,  $J = 15.1, 4.8$  Hz), 2.90 (1 H, d,  $J = 13.1$  Hz), 4.32 (1 H, d,  $J = 5.8$  Hz), 4.49 (1 H, d,  $J =$

6.0 Hz), 4.54 (1 H, d,  $J = 5.8$  Hz), 4.69 (1 H, d,  $J = 6.0$  Hz), 4.98 (1 H, s), 5.28 (1 H, s), 5.60 (1 H, br. t,  $J = 3.6$  Hz), 6.05 (1 H, d,  $J = 11.3$  Hz), 6.55 (1 H, d,  $J = 11.3$  Hz), 6.62 (2 H, d,  $J = 8.8$  Hz), 7.81 (2 H, d,  $J = 8.8$  Hz);  $^{13}\text{C}$  NMR (175 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  12.1 (q), 18.8 (q), 20.8 (t), 22.2 (t), 23.6 (t), 27.7 (t), 29.20 (t), 29.22 (q), 29.4 (q), 36.1 (d), 36.4 (t), 39.4 (t), 40.1 (q), 40.4 (t), 40.6 (s), 44.4 (t), 45.2 (t), 46.0 (s), 56.4 (d), 56.5 (d), 71.1 (s), 75.4(d), 81.7 (t), 82.0 (t), 110.7 (d), 116.6 (t), 116.8 (d), 117.2 (s), 124.0 (d), 131.2 (d), 134.7 (s), 140.4 (s), 146.1 (s), 153.3 (s), 165.9 (s); HRMS (ESI+)  $m/z$  calcd. for  $\text{C}_{38}\text{H}_{55}\text{NO}_4\text{Na}$   $[\text{M}+\text{Na}]^+$  612.4023, found 612.3988.

#### Compound 90

**90:**  $^1\text{H}$  NMR (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  0.80 (3 H, s), 0.96 (3 H, d,  $J = 6.6$  Hz), 0.99 (3 H, d,  $J = 6.6$  Hz), 1.19 (3 H, s);  $^{13}\text{C}$  NMR (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  14.6 (q), 18.8 (t), 22.8 (t), 24.0 (d), 24.6 (q), 25.2 (q), 26.2 (q), 39.7 (t), 40.9 (t), 50.2 (s), 51.6 (t), 60.4 (d), 62.1 (d), 76.1 (s), 212.0 (s); HRMS (ESI+)  $m/z$  calcd. for  $\text{C}_{16}\text{H}_{28}\text{O}_2\text{Na}$   $[\text{M}+\text{Na}]^+$  275.1982, found 275.1961.

#### Compound 91

**96:**  $^1\text{H}$  NMR (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  0.73 (3 H, s), 0.95 (3 H, d,  $J = 6.8$  Hz), 0.99 (3 H, d,  $J = 6.8$  Hz), 1.17 (3 H, s), 5.64 (1 H, br. s);  $^{13}\text{C}$  NMR (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  13.7 (q), 21.7 (t), 22.4 (t), 22.8 (t), 24.0 (d), 24.6 (q), 25.3 (q), 26.2 (q), 30.9 (t), 40.6 (t), 45.9 (s), 51.4 (t), 56.1 (d), 59.8 (d), 76.4 (s), 97.8 (d), 144.7 (s); HRMS (ESI+)  $m/z$  calcd. for  $\text{C}_{17}\text{H}_{29}\text{BrONa}$   $[\text{M}+\text{Na}]^+$  351.1294, found 351.1298.

#### Compound 92

$\text{CeCl}_3$  (318 mg, 1.29 mmol, 4 *eq.*) was dried with a heat gun for 15 min, and added dry THF (0.8 mL) under an atmosphere of argon at room temperature. The mixture was added to a solution of **83** (100 mg, 0.32 mmol) in dry THF (2.5 mL) at the same temperature, and stirring for 15 min. The resulting mixture was added isopropylmagnesium chloride lithium chloride

complex solution (1.3 M in THF, 1.0 mL, 1.3 mmol, 4 *eq.*) at 0 °C. After having been stirred for 70 min at the same temperature, the reaction was quenched by the addition of saturated aqueous NH<sub>4</sub>Cl (5 mL) and the whole was extracted with ether (50 mL x 3). The combined organic layer was washed with brine (5 mL), dried over sodium sulfate and filtered. Evaporation of the filtrate afforded a residue, from which **92** (103 mg) was separated by flash silica gel column chromatography (ethyl acetate: *n*-hexane = 1: 19) as a colourless oil in 90% yield.

**92**: <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 0.00 (3 H, s), 0.01 (3 H, s), 0.82 (3 H, d, *J* = 6.9 Hz), 0.879 (3 H, d, *J* = 6.9 Hz), 0.882 (9 H, s), 1.12 (3 H, s), 1.15 (3 H, s), 4.01 (1 H, m); <sup>13</sup>C NMR (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ - 5.2 (q), - 4.8 (q), 15.6 (q), 16.1 (q), 17.7 (t), 18.0 (s), 18.5 (q), 20.3 (q), 20.9 (t), 22.8 (t), 25.8 (q), 34.4 (t), 36.5 (d), 41.4 (t), 43.0 (s), 53.1 (d), 56.0 (d), 69.5 (d), 77.3(s); HRMS (ESI+) *m/z* calcd. for C<sub>21</sub>H<sub>42</sub>O<sub>2</sub>SiNa [M+Na]<sup>+</sup> 377.2846, found 377.2846.

Aldol products (less polar)

<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ - 0.007 (3 H, s), - 0.005 (3 H, s), 0.00 (3 H, s), 0.01 (3 H, s), 0.84 (3 H, s), 0.87 (6 H, s), 0.88 (6 H, s), 1.10 (3 H, s), 1.30 (3 H, s), 4.00 (1 H, d, *J* = 2.3 Hz), 4.03 (1 H, d, *J* = 2.1 Hz); <sup>13</sup>C NMR (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ - 5.19 (q), - 5.16 (q), - 4.8 (q), 15.6 (q), 17.6 (t), 18.0 (s), 21.3 (t), 21.9 (t), 23.1 (t), 25.7 (q), 25.8 (q), 26.7 (q), 34.2 (t), 34.3 (t), 39.9 (t), 41.2 (t), 42.9 (s), 44.3 (s), 53.1 (d), 53.3 (d), 54.0 (t), 60.1 (d), 65.7 (d), 68.9 (d), 69.5 (d), 74.6 (s), 214.5 (s); HRMS (ESI+) *m/z* calcd. for C<sub>36</sub>H<sub>68</sub>O<sub>4</sub>Si<sub>2</sub>Na [M+Na]<sup>+</sup> 643.4548, found 643.4569

Aldol products (more polar)

<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ - 0.01 (3 H, s), 0.000 (3 H, s), 0.002 (3 H, s), 0.01 (3 H, s), 0.87 (6 H, s), 0.88 (6 H, s), 1.10 (3 H, s), 1.22 (3 H, s), 4.00 (1 H, d, *J* = 2.2 Hz), 4.03 (1 H, d, *J* = 1.8 Hz); <sup>13</sup>C NMR (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ - 5.20 (q), - 5.17 (q), - 4.83 (q), - 4.81 (q), 15.86 (q), 15.89 (q), 17.56 (t), 17.64 (t), 17.98 (s), 18.01 (s), 21.8 (t), 22.2 (t), 22.8 (t), 23.1 (t), 25.75 (q), 25.80 (q), 27.4 (q), 34.2 (t), 34.3 (t), 40.0 (t), 41.2 (t), 43.0 (s), 44.5 (s), 52.9 (d), 53.3 (d), 53.8 (t),

59.9 (d), 64.7 (d), 68.9 (d), 69.4 (d), 74.9 (s), 214.4 (s); HRMS (ESI+)  $m/z$  calcd. for  $C_{36}H_{68}O_4Si_2Na$   $[M+Na]^+$  643.4548, found 643.4548.

### Compounds **93a,b**

To a stirred solution of **92** (150 mg, 0.42 mmol) in dry THF (1.5 mL) was added tetra-*n*-butylammonium fluoride (TBAF) (1.0 M in THF, 2.1 mL, 2.1 mmol, 5 *eq.*) under an atmosphere of argon at 0 °C, and resulting mixture was stirred at reflux for 42 h. After the addition of brine (3.5 mL) and water (3.5 mL) to the reaction mixture at 0 °C, the whole was extracted with ethyl acetate (50 mL x 3). The organic layer was washed with brine, dried over magnesium sulfate and filtered. Evaporation of the filtrate afforded a residue, from which **93a** (17 mg, 16%, less polar) and **93b** (82 mg, 81%, more polar) were obtained by flash silica gel column chromatography (ethyl acetate: *n*-hexane = 1: 3) both as colourless solids in a combined yield of 97%.

**93a**:  $^1H$  NMR (400 MHz,  $CDCl_3$ )  $\delta$  0.83 (3 H, d,  $J = 6.9$  Hz), 0.89 (3 H, d,  $J = 6.9$  Hz), 1.13 (3 H, s), 1.17 (3 H, s), 2.12 (1 H, br. d,  $J = 10.8$  Hz), 4.09 (1 H, m);  $^{13}C$  NMR (100 MHz,  $CDCl_3$ )  $\delta$  15.4 (q), 16.1 (q), 17.5 (t), 18.5 (q), 20.2 (q), 20.8 (t), 22.3 (t), 33.5 (t), 36.6 (d), 41.1 (t), 42.7 (s), 52.6 (d), 55.8 (d), 69.5 (d), 77.2(s); m.p. 92-93 °C(ethyl acetate-*n*-hexane) colorless prisms;  $[\alpha]_D^{22} = +17.1$  ( $c = 1.03$ ,  $CHCl_3$ ); *Anal.* Calcd.  $C_{15}H_{28}O_2 \cdot 1/6H_2O$ : C, 74.01; H, 11.74. found: C, 74.28; H, 11.74; HRMS (ESI+)  $m/z$  calcd. for  $C_{15}H_{28}O_2Na$   $[M+Na]^+$  263.1982, found 263.1998.

**93b**:  $^1H$  NMR (400 MHz,  $CDCl_3$ )  $\delta$  0.90 (3 H, d,  $J = 6.8$  Hz), 0.95 (3 H, d,  $J = 6.8$  Hz), 0.98 (3 H, s), 1.16 (3 H, s), 2.11 (1 H, br.d,  $J = 12.4$  Hz), 4.09 (1 H, m);  $^{13}C$  NMR (100 MHz,  $CDCl_3$ )  $\delta$  15.5 (q), 17.0 (q), 17.5 (t), 18.8 (q), 21.5 (q), 22.3 (t), 22.5 (t), 33.5 (t), 35.8 (d), 40.9 (t), 43.0 (s), 52.7 (d), 55.6 (d), 69.5 (d), 77.9(s); m.p. 74-76 °C(ethyl acetate-*n*-hexane) colorless needles;  $[\alpha]_D^{25} = +38.8$  ( $c = 0.51$ ,  $CHCl_3$ ); *Anal.* Calcd.  $C_{15}H_{28}O_2$ : C, 74.95; H, 11.74. found: C, 75.10; H, 11.52; HRMS (ESI+)  $m/z$  calcd. for  $C_{15}H_{28}O_2Na$   $[M+Na]^+$  263.1982, found 263.1997.

#### Compound **94**

To a stirred solution of **93a** (72 mg, 0.30 mmol) in dry DMSO (2.6 mL) was added 2-iodoxybenzoic acid (IBX) (168 mg, 0.60 mmol, 2 *eq.*) at room temperature. After having been stirred for 1 h 30 min at the same temperature, the addition of saturated aqueous NaHCO<sub>3</sub> (3 mL) to the reaction mixture, the whole was extracted with ether (50 mL x 3). The combined organic layer was washed with brine, dried over sodium sulfate and filtered. Evaporation of the filtrate afforded a residue, from which **94** (71 mg) was separated by silica gel column chromatography (ethyl acetate: *n*-hexane = 1: 2) as a colourless solid in 99 % yield.

**94**: <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 0.82 (3 H, s), 0.85 (3 H, d, *J* = 6.8 Hz), 0.89 (3 H, d, *J* = 6.8 Hz), 1.16 (3 H, s); <sup>13</sup>C NMR (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 14.3 (q), 16.0 (q), 18.5 (q), 18.8 (t), 20.3 (q), 21.2 (t), 23.9 (t), 36.8 (d), 39.6 (t), 40.8 (t), 50.0 (s), 56.0 (d), 62.1 (d), 76.6 (s), 211.9 (s); m.p. 109 °C(ethyl acetate-*n*-hexane) colorless prisms; [ $\alpha$ ]<sub>D</sub><sup>25</sup> = - 25.5 (c = 0.95, CHCl<sub>3</sub>); *Anal.* Calcd. C<sub>15</sub>H<sub>26</sub>O<sub>2</sub>: C, 75.58; H, 10.99. found: C, 75.72; H, 10.78; HRMS (ESI+) *m/z* calcd. for C<sub>15</sub>H<sub>26</sub>O<sub>2</sub>Na [M+Na]<sup>+</sup> 261.1825, found: 261.1845.

#### Compound **95**

A suspension of (bromomethylene)triphenylphosphonium bromide (829 mg, 1.90 mmol, ) in dry toluene (4 mL) was sonicated for 5 min at room temperature and then stirred at the same temperature for 10 min. The resulting mixture was added potassium bis(trimethylsilyl)amide (KHMDS) (0.5 M in toluene, 3.6 mL, 1.80 mmol) at 0 °C, and the mixture was stirred at the same temperature for 30 min. Subsequently, to a solution of **94** (91 mg 0.38 mmol) was added to the reaction mixture at -30 °C followed by the temperature was elevated gradually from -30-0 °C. After having been stirred for min at 0 °C and room temperature for min. The reaction mixture was then diluted with ether-*n*-hexane (1: 1) (30 mL) and was filtered through celite. Evaporation of filtrate afforded a residue, from which **95** (49 mg) was separated by silica gel

column chromatography (ethyl acetate: *n*-hexane = 1: 9) as a colourless oil in 41% yield.

**95:**  $^1\text{H}$  NMR (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  0.76 (3 H, s), 0.85 (3 H, d,  $J = 6.9$  Hz), 0.90 (3 H, d,  $J = 6.9$  Hz), 1.15 (3 H, s), 5.65 (1 H, br. s);  $^{13}\text{C}$  NMR (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  13.5 (q), 16.1 (q), 18.5 (q), 20.5 (q), 21.3 (t), 21.7 (t), 22.4 (t), 30.9 (t), 36.6 (d), 40.5 (t), 45.8 (s), 55.4 (d), 56.1 (d), 77.2 (s), 97.8 (d), 144.7(s); HRMS (ESI+)  $m/z$  calcd. for  $\text{C}_{16}\text{H}_{27}\text{BrONa}$   $[\text{M}+\text{Na}]^+$  337.1137, found 337.1137.

#### Compound **96**

This compound **96** was obtained by the same procedure as described for **94** by using **93b** instead of **93a**, in 93% yield.

**96:**  $^1\text{H}$  NMR (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  0.81 (3 H, s), 0.92 (3 H, d,  $J = 6.8$  Hz), 0.96 (3 H, d,  $J = 6.8$  Hz), 1.03 (3 H, s), 2.43 (1 H, dd,  $J = 10.4, 7.4$  Hz);  $^{13}\text{C}$  NMR (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  14.4 (q), 17.0 (q), 18.4 (q), 18.8 (t), 21.7 (q), 23.0 (t), 23.9 (t), 36.1 (d), 39.5 (t), 40.9 (t), 50.2 (s), 55.8 (d), 62.2 (d), 77.4 (s), 212.0 (s); IR (ATR) 3464, 2988, 2958, 2887, 1694  $\text{cm}^{-1}$ ; HRMS (ESI+)  $m/z$  calcd. for  $\text{C}_{15}\text{H}_{26}\text{O}_2\text{Na}$   $[\text{M}+\text{Na}]^+$  261.1825, found 261.1805.

#### Compound **97**

This compound **97** was obtained by the same procedure as described for **95** by using **96** instead of **94**, in 32% yield.

**97:**  $^1\text{H}$  NMR (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  0.75 (3 H, s), 0.91 (3 H, d,  $J = 6.7$  Hz), 0.95 (3 H, d,  $J = 6.7$  Hz), 1.00 (3 H, s), 5.64 (1 H, br. s);  $^{13}\text{C}$  NMR (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  13.6 (q), 17.0 (q), 18.6 (q), 21.4 (q), 21.8 (t), 22.4 (t), 23.0 (t), 30.9 (t), 35.9 (d), 40.3 (t), 45.9 (s), 55.2 (d), 56.2 (d), 77.8 (s), 97.9 (d), 144.7 (s)

#### Compound **98**

To a solution of **83** (100 mg, 0.32 mmol) in dry toluene (1.5 mL) was added

██████████ magnesium bromide (0.5 M in THF, 1.3 mL, 0.65 mmol, 2 *eq.*) dropwise under an argon atmosphere at 0 °C, and the stirring was continued for 6 h at same temperature. The reaction was quenched by addition of saturated aqueous NH<sub>4</sub>Cl (5 mL). The resultant mixture was extracted with ether (15 mL x 3), and the combined organic layer was washed with brine (5 mL), dried over magnesium sulfate and filtered. Evaporation of the filtrate afforded a residue, from which **98** (88 mg) was separated by silica gel column chromatography (ethyl acetate: *n*-hexane = 1: 99) as a colourless oil in 78% yield.

**98**: <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ - 0.01 (3 H, s), 0.00 (3 H, s), 0.88 (9 H, s), 1.17 (3 H, s), 1.38 (3 H, s), 1.72 (3 H, s), 2.09 (1 H, m), 4.00 (1 H, m), 4.70 (1 H, s), 4.94 (1 H, s); <sup>13</sup>C NMR (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ - 5.2 (q), - 4.8 (q), 15.7 (q), 17.7 (t), 18.0 (s), 19.9 (q), 21.7 (t), 22.6 (t), 25.8 (q), 27.4 (q), 34.4 (t), 41.1 (t), 42.8 (s), 53.3 (d), 55.6 (d), 69.5 (d), 77.2 (s), 108.3 (t), 152.3 (s); HRMS (ESI+) *m/z* calcd. for C<sub>21</sub>H<sub>40</sub>O<sub>2</sub>SiNa [M+Na]<sup>+</sup> 375.2690, found 375.2660.

#### Compounds **99a,b**

This compounds **99a,b** were obtained by the same procedure as described for **93a,b** by using **98** instead of **92**, in 95% yield.

**99a**: <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 1.17 (3 H, s), 1.38 (3 H, s), 1.71 (3 H, s), 2.12 (1 H, m), 4.01 (1 H, m), 4.70 (1 H, s), 4.93 (1 H, d, *J* = 0.8 Hz); <sup>13</sup>C NMR (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 15.3 (q), 17.4 (t), 19.9 (q), 21.6 (t), 22.0 (t), 27.3 (q), 33.4 (t), 40.8 (t), 42.5 (s), 52.8 (d), 55.4 (d), 69.3 (d), 77.1 (s), 108.3 (t), 152.3 (s); m.p. 78 °C(ethyl acetate-*n*-hexane) colorless prisms; [α]<sub>D</sub><sup>23</sup> = + 5.0 (c = 1.00, CHCl<sub>3</sub>); *Anal.* Calcd. C<sub>15</sub>H<sub>26</sub>O<sub>2</sub>: C, 75.58; H, 10.99. found: C, 75.72; H, 11.34; HRMS (ESI+) *m/z* calcd. for C<sub>15</sub>H<sub>26</sub>O<sub>2</sub>Na [M+Na]<sup>+</sup> 261.1825, found 261.1811.

**99b**: <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 1.04 (3 H, s), 1.17 (3 H, s), 1.76 (3 H, s), 4.04 (1 H, m), 4.77 (1 H, s), 5.06 (1 H, s); <sup>13</sup>C NMR (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 14.0 (q), 17.2 (t), 19.9 (q), 20.4 (t), 21.7 (t), 29.3 (q), 33.4 (t), 38.9 (t), 42.6 (s), 52.7 (d), 54.9 (d), 69.3 (d), 76.9 (s), 108.7 (t), 151.2 (s); m.p. 106 °C(ethyl acetate-*n*-hexane) colorless prisms; [α]<sub>D</sub><sup>23</sup> = + 59.4 (c = 1.00, CHCl<sub>3</sub>);

*Anal.* Calcd. C<sub>15</sub>H<sub>26</sub>O<sub>2</sub>: C, 75.58; H, 10.99. Found: C, 75.67; H, 11.27; HRMS (ESI+) *m/z* calcd. for C<sub>15</sub>H<sub>26</sub>O<sub>2</sub>Na [M+Na]<sup>+</sup> 261.1825, found 261.1813.

### Compound **100**

This compound **100** was obtained by the same procedure as described for **94** by using **99a** instead of **93a**, in 75% yield.

**100**: <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 0.85 (3 H, s), 1.43 (3 H, s), 1.76 (3 H, s), 4.75 (1 H, t, *J* = 1.6 Hz), 4.96 (1 H, s); <sup>13</sup>C NMR (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 14.3 (q), 18.6 (t), 19.9 (q), 22.1 (t), 24.0 (t), 27.6 (q), 39.3 (t), 40.8 (t), 49.8 (s), 55.6 (d), 62.4 (d), 76.6 (s), 108.7 (t), 152.1 (s), 211.8 (s); m.p. 82-83 °C(ethyl acetate-*n*-hexane) colorless fine needles; [ $\alpha$ ]<sub>D</sub><sup>24</sup> = - 33.3 (c = 1.00, CHCl<sub>3</sub>); *Anal.* Calcd. C<sub>15</sub>H<sub>24</sub>O<sub>2</sub>: C, 76.23; H, 10.24. found: C, 76.45; H, 10.61; HRMS (ESI+) *m/z* calcd. for C<sub>15</sub>H<sub>24</sub>O<sub>2</sub>Na [M+Na]<sup>+</sup> 259.1669, found 259.1651.

### Compound **101**

This compound **101** was obtained by the same procedure as described for **95** by using **100** instead of **94**, in 52% yield.

**101**: <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 0.78 (3 H, s), 1.41 (3 H, s), 1.75 (3 H, d, *J* = 0.8 Hz), 4.73 (1 H, t, *J* = 1.6 Hz), 4.96 (1 H, d *J* = 0.8 Hz), 5.64 (1 H, d, *J* = 1.6 Hz); <sup>13</sup>C NMR (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 13.5 (q), 19.9 (q), 21.5 (t), 22.1 (t), 22.4 (t), 27.7 (q), 30.9 (t), 40.2 (t), 45.6 (s), 54.9 (d), 56.3 (d), 76.9 (s), 97.8 (d), 108.4 (t), 144.6 (s), 152.1 (s); HRMS (ESI+) *m/z* calcd. for C<sub>16</sub>H<sub>24</sub>BrONa [M+Na]<sup>+</sup> 335.0981, found 335.0970.

### Compound **102**

This compound **102** was obtained by the same procedure as described for **94** by using **99b** instead of **93**, in 79% yield.

**102**: <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 0.72 (3 H, s), 1.23 (3 H, s), 1.82 (3 H, s), 2.38 (1 H, dd, *J*



= 11.4, 7.5 Hz), 4.82 (1 H, s), 5.11 (1 H, s);  $^{13}\text{C}$  NMR (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  13.1 (q), 18.3 (t), 20.4 (q), 22.1 (t), 23.8 (t), 29.5 (q), 37.5 (t), 40.9 (t), 49.9 (s), 55.1 (d), 62.3 (d), 76.5 (s), 109.3 (t), 151.1 (s), 211.9 (s); m.p. 162 °C(methanol) colorless prisms;  $[\alpha]_D^{25} = + 9.3$  (c = 1.00,  $\text{CHCl}_3$ ); *Anal.* Calcd.  $\text{C}_{15}\text{H}_{24}\text{O}_2$ : C, 76.23; H, 10.24. found: C, 76.15; H, 10.53; HRMS (ESI+) *m/z* calcd. for  $\text{C}_{15}\text{H}_{24}\text{O}_2\text{Na}$   $[\text{M}+\text{Na}]^+$  259.1669, found 259.1669.

### Compound 103

This compound **103** was obtained by the same procedure as described for **95** by using **102** instead of **94**, in 47% yield.

**103**:  $^1\text{H}$  NMR (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  0.66 (3 H, s), 1.22 (3 H, s), 1.81 (3 H, s), 2.85 (1 H, m), 4.81 (1 H, t,  $J = 1.4$  Hz), 5.09 (1 H, d,  $J = 1.0$  Hz), 5.64 (1 H, t,  $J = 1.7$  Hz);  $^{13}\text{C}$  NMR (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  12.2 (q), 20.5 (q), 21.2 (t), 22.19 (t), 22.22 (t), 29.3 (q), 30.9 (t), 38.4 (t), 45.8 (s), 54.6 (d), 56.3 (d), 76.9 (s), 97.7 (d), 109.0 (t), 144.8 (s), 151.4 (s); HRMS (ESI+) *m/z* calcd. for  $\text{C}_{16}\text{H}_{25}\text{BrONa}$   $[\text{M}+\text{Na}]^+$  335.0981, found 335.0954.

### Compound 104

**104**:  $^1\text{H}$  NMR (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  0.67 (3 H, s), 2.16 (3 H, s), 2.52 (1 H, dd,  $J = 11.0, 7.4$  Hz), 2.77 (1 H, t,  $J = 9.4$  Hz);  $^{13}\text{C}$  NMR (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  13.8 (q), 19.5 (t), 22.7 (t), 23.7 (t), 31.3 (q), 37.8 (t), 40.7 (t), 49.9 (s), 61.5 (d), 63.2 (d), 208.2 (s), 210.4 (s); HRMS (ESI+) *m/z* calcd. for  $\text{C}_{12}\text{H}_{18}\text{O}_2\text{Na}$   $[\text{M}+\text{Na}]^+$  217.1199, found 217.1199.

### Compound 106

To a solution of **98** (764 mg, 2.17 mmol) in dry chloroform (20 mL) was added *m*-chloroperbenzoic acid with water (*m*-CPBA) (824 mg, 4.77 mmol, 2.2 *eq.*) under an atmosphere of argon at 0 °C, and the resulting mixture was stirring for 1 h at the same temperature. After the addition of saturated aqueous  $\text{NaHCO}_3$  (20 mL) to the reaction mixture,

the whole was extracted with CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (100 mL x 3). The combined organic layer was washed with brine, dried over sodium sulfate and filtered. Evaporation of the filtrate afforded a residue, from which **106** (512 mg) was separated by flash silica gel column chromatography (ethyl acetate: *n*-hexane = 1: 19) as a colourless solid in 64% yield.

**106**: <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ - 0.02 (3 H, s), - 0.01 (3 H, s), 0.87 (9 H, s), 2.49 (1 H, d *J* = 5.2 Hz), 2.61 (1 H, d *J* = 5.2 Hz), 3.08 (1 H, d, *J* = 4.8 Hz), 3.27 (1 H, d, *J* = 5.2 Hz), 3.99 (1 H, s); <sup>13</sup>C NMR (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>); δ - 5.2 (q), - 4.8 (q), 15.4 (q), 17.6 (t), 18.0 (s), 18.3 (q), 21.1 (t), 22.7 (t), 24.7 (q), 25.7 (q), 34.4 (t), 41.1 (t), 43.3 (s), 52.7 (t), 53.0 (d), 55.4 (d), 61.8 (s), 69.3 (d), 73.1 (s); HRMS (ESI+) *m/z* calcd. for C<sub>21</sub>H<sub>40</sub>O<sub>3</sub>SiNa [M+Na]<sup>+</sup> 391.2639, found 391.2658.

#### Compound **107**

To a stirred solution of **106** (42 mg, 0.11 mmol) in dry ether (4.5 mL) was added a solution of lithium aluminium hydride (LiAlH<sub>4</sub>) (2.0 M in THF, 0.33mL, 0.66 mmol, 6 *eq.*) at 0 °C under an atmosphere of argon. After having been stirred for 12 h 20 min at 4 °C and for 1 h 15 min at room temperature, the reaction was quenched by addition of water (0.5 mL) and saturated Rochelle salt (0.5 mL). The resultant mixture was extracted with ethyl acetate (30 mL x 3), and the combined organic layer was washed with brine (3 mL), dried over sodium sulfate and filtered. Evaporation of the filtrate afforded a residue, from which **107** (40 mg) was separated by silica gel column chromatography (ethyl acetate : *n*-hexane = 1: 9) as a colourless solid in 97% yield.

**107**: <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 0.00 (3 H, s), 0.01 (3 H, s), 0.88 (9 H, s), 1.14 (3 H, s), 1.186 (1 H, s), 1.194 (1 H, s), 1.30 (1 H, s), 4.01 (1 H, m); <sup>13</sup>C NMR (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ - 5.2 (q), - 4.8 (q), 14.9 (q), 17.7 (t), 18.0 (s), 23.3 (q), 23.35 (t), 23.41 (t), 25.8 (q), 26.0 (q), 26.2 (q), 34.3 (t), 41.4 (t), 44.1 (s), 52.4 (d), 55.0 (d), 69.5 (d), 77.2 (s), 78.6 (s); HRMS (ESI+) *m/z* calcd. for C<sub>21</sub>H<sub>42</sub>O<sub>3</sub>SiNa [M+Na]<sup>+</sup> 393.2795, found 393.2829.

## Compounds **108a,b**

This compounds **108a,b** were obtained by the same procedure as described for **93a,b** by using **107** instead of **92**, in 91% yield.

**108a**:  $^1\text{H}$  NMR (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  1.15 (3 H, s), 1.18 (3 H, s), 1.19 (3 H, s), 1.29 (3 H, s), 4.08 (1 H, s);  $^{13}\text{C}$  NMR (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  14.7 (q), 17.5 (t), 22.9 (t), 23.1 (q), 23.2 (t), 26.0 (q), 26.3 (q), 33.4 (t), 41.1 (t), 43.8 (s), 51.9 (d), 54.8 (d), 69.4 (d), 77.0 (s), 78.3 (s); m.p. 151-153 °C(ethyl acetate) colorless needles;  $[\alpha]_D^{25} = +24.1$  ( $c = 1.00$ ,  $\text{CHCl}_3$ ); *Anal.* Calcd.  $\text{C}_{15}\text{H}_{28}\text{O}_3$ : C, 70.27; H, 11.01. found: C, 70.34; H, 10.67; HRMS(ESI+)  $m/z$  calcd. for  $\text{C}_{15}\text{H}_{28}\text{O}_3\text{Na}$   $[\text{M}+\text{Na}]^+$  279.1931, found: 279.1929.

**108b**:  $^1\text{H}$  NMR (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  1.18 (6 H, s), 1.19 (3 H, s), 1.22 (3 H, s), 4.06 (1 H, m);  $^{13}\text{C}$  NMR (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  15.4 (q), 17.2 (t), 21.0 (q), 23.1 (t), 25.0 (q), 25.1 (q), 25.3 (t), 33.6 (t), 40.6 (t), 44.5 (s), 51.7 (d), 53.1 (d), 69.4 (d), 76.5 (s), 80.0 (s); m.p. 119-120 °C(ethyl acetate) colorless prisms;  $[\alpha]_D^{25} = +18.5$  ( $c = 1.01$ ,  $\text{CHCl}_3$ ); *Anal.* Calcd.  $\text{C}_{15}\text{H}_{28}\text{O}_3$ : C, 70.27; H, 11.01. found: C, 70.55; H, 11.38; HRMS (ESI+)  $m/z$  calcd. for  $\text{C}_{15}\text{H}_{28}\text{O}_3\text{Na}$   $[\text{M}+\text{Na}]^+$  279.1931, found 279.1925.

## Compound **109**

This compound **109** was obtained by the same procedure as described for **94** by using **108a** instead of **93a**, in 98% yield.

**109**:  $^1\text{H}$  NMR (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  0.83 (3 H, s), 1.21 (3 H, s), 1.23 (3 H, s), 1.32 (3 H, s);  $^{13}\text{C}$  NMR (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  13.8 (q), 19.5 (t), 23.3 (q), 23.5 (t), 23.8 (t), 26.1 (q), 26.4 (q), 39.6 (t), 40.8 (t), 51.0 (s), 55.1 (d), 61.5 (d), 76.9 (s), 77.6 (s), 212.0 (s); m.p. 102-104 °C(ethyl acetate-*n*-hexane) colorless prisms;  $[\alpha]_D^{25} = -13.3$  ( $c = 0.70$ ,  $\text{CHCl}_3$ ); *Anal.* Calcd.  $\text{C}_{15}\text{H}_{26}\text{O}_3$ : C, 70.83; H, 10.30. Found: C, 71.01; H, 10.58; HRMS (ESI+)  $m/z$  calcd. for  $\text{C}_{15}\text{H}_{26}\text{O}_3\text{Na}$   $[\text{M}+\text{Na}]^+$  277.1774, found 277.1774.

### Compound **110**

This compound **110** was obtained by the same procedure as described for **95** by using **109** instead of **94**, in 47% yield.

**110**:  $^1\text{H}$  NMR (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  0.77 (3 H, s), 1.21 (3 H, s), 1.23 (3 H, s), 1.32 (3 H, s), 5.67 (1 H, d,  $J = 1.6$  Hz);  $^{13}\text{C}$  NMR (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  13.0 (q), 22.4 (t), 22.5 (t), 23.5 (q), 23.6 (t), 26.2 (q), 26.4 (q), 31.0 (t), 40.6 (t), 46.8 (s), 54.4 (d), 55.5 (d), 77.2 (s), 78.0 (s), 98.1 (d), 144.6 (s); HRMS (ESI+)  $m/z$  calcd. for  $\text{C}_{15}\text{H}_{26}\text{O}_3\text{Na}$   $[\text{M}+\text{Na}]^+$  353.1087, found 353.1064.

### Compound **111**

This compound **111** was obtained by the same procedure as described for **94** by using **108b** instead of **93a**, in 92% yield.

**111**:  $^1\text{H}$  NMR (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  0.83 (3 H, s), 1.18 (3 H, s), 1.19 (3 H, s), 1.20 (3 H, s);  $^{13}\text{C}$  NMR (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  14.1 (q), 19.6 (t), 20.9 (q), 23.8 (t), 24.9 (q), 25.3 (q), 25.4 (t), 39.1 (t), 41.0 (t), 51.9 (s), 53.3 (d), 61.1 (d), 76.3 (s), 79.2 (s), 212.4 (s); m.p. 80-81 °C(ethyl acetate-*n*-hexane) colorless needles;  $[\alpha]_D^{25} = -33.6$  ( $c = 0.30$ ,  $\text{CHCl}_3$ ); *Anal.* Calcd.  $\text{C}_{15}\text{H}_{26}\text{O}_3 \cdot 1/9\text{H}_2\text{O}$ : C, 74.27; H, 10.31. found: C, 74.41; H, 10.01; HRMS (ESI+)  $m/z$  calcd. for  $\text{C}_{15}\text{H}_{26}\text{O}_3\text{Na}$   $[\text{M}+\text{Na}]^+$  277.1774, found 277.1774.

### Compound **112**

This compound **112** was obtained by the same procedure as described for **95** by using **111** instead of **94**, in 47% yield.

**112**:  $^1\text{H}$  NMR (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  0.77 (3 H, s), 1.19 (3 H, s), 1.21 (3 H, s), 1.22 (3 H, s), 5.64 (1 H, s);  $^{13}\text{C}$  NMR (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  13.6 (q), 20.8 (q), 22.4 (t), 22.6 (t), 25.0 (q), 25.3 (q), 25.6 (t), 31.0 (t), 40.1 (t), 47.6 (s), 53.0 (d), 55.2 (d), 79.8 (s), 97.6 (d), 144.9 (s).

## Compound 76

To a stirred solution of the A-ring enyne precursor **85** (13 mg, 0.03 mmol) and the CD-ring portion **91** (13 mg, 0.04 mmol, 1.2 *eq.*) in a mixture of toluene (1.6 mL) and triethylamine (0.6 mL) was added tetrakis(triphenylphosphine)palladium (12 mg, 0.01 mmol, 0.3 *eq.*) at room temperature under an atmosphere of argon. After having been heated at reflux for 30 min, the reaction mixture was diluted with ether and filtered through a small pad of silica gel. Evaporation of the filtrate gave a residue, which was purified by silica gel column chromatography (ethyl acetate: *n*-hexane = 1: 19) to give a mixture of protected *seco*-steroids (28 mg).

The crude products (28 mg) dissolved in THF (0.1 mL) were treated with tetra-*n*-butylammonium fluoride (TBAF) (1.0 M in THF, 0.30 mL, 0.30 mmol) at reflux for 2 h 30 min. Brine (3 mL) was added to the mixture and the whole was extracted with ethyl acetate (10 mL x 3). The organic layer was washed with brine, dried over sodium sulfate, filtered and concentrated. The residue was purified by silica gel column chromatography (ethyl acetate: *n*-hexane = 1: 1) to give **76** (6.8 mg) in 50% yield (two steps).

**76**: UV (ethanol)  $\lambda_{\max}$  268 nm,  $\lambda_{\min}$  228 nm;  $^1\text{H}$  NMR (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  0.71 (3 H, s), 0.94 (3 H, d,  $J = 6.6$  Hz), 0.99 (3 H, d,  $J = 6.6$  Hz), 1.08 (3 H, d,  $J = 6.9$  Hz), 1.17 (3 H, s), 2.23 (1 H, dd,  $J = 13.4, 7.9$  Hz), 2.67 (1 H, dd,  $J = 13.5, 4.0$  Hz), 2.82 (1 H, dd,  $J = 12.1, 3.7$  Hz), 3.85 (1 H, m), 4.31 (1 H, t,  $J = 4.0$  Hz), 5.01 (1 H, s), 5.28 (1 H, s), 6.01 (1 H, d,  $J = 11.3$  Hz), 6.39 (1 H, d,  $J = 11.3$  Hz);  $^{13}\text{C}$  NMR (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  12.5 (q), 14.0 (q), 21.9 (t), 22.8 (t), 23.4 (t), 24.0 (d), 24.6 (q), 25.3 (q), 26.1 (q), 28.9 (t), 41.2 (t), 43.4 (t), 44.2 (d), 46.3 (s), 51.4 (t), 56.5 (d), 60.6 (d), 71.7 (d), 75.4 (d), 76.6 (s), 113.2 (t), 117.5 (d), 124.7 (d), 133.3 (s), 142.6 (s), 146.5 (s); HRMS (ESI+)  $m/z$  calcd. for  $\text{C}_{26}\text{H}_{42}\text{O}_3\text{Na}$   $[\text{M}+\text{Na}]^+$  425.3026, found 425.3025.

## Compound 77

The 20-hydroxyvitamin D analogue **77** was synthesized by the same procedure as described

for **76** using **95** instead of **91**, in 50% yield (two steps).

**77**: UV (ethanol)  $\lambda_{\max}$  268 nm,  $\lambda_{\min}$  228 nm;  $^1\text{H}$  NMR (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  0.73 (3 H, s), 0.84 (3 H, d,  $J = 6.9$  Hz), 0.89 (3 H, d,  $J = 6.9$  Hz), 1.07 (3 H, d,  $J = 6.9$  Hz), 1.13 (3 H, s), 1.93 (1 H, dq,  $J = 7.1, 3.7$  Hz), 1.99 (1 H, br. t,  $J = 9.5$  Hz), 2.10 (1 H, br. d,  $J = 12.6$  Hz), 2.23 (1 H, dd,  $J = 13.4, 7.9$  Hz), 2.66 (1 H, dd,  $J = 13.5, 4.0$  Hz), 2.82 (1 H, dd,  $J = 12.1, 4.1$  Hz), 3.84 (1 H, m), 4.31 (1 H, t,  $J = 4.1$  Hz), 5.00 (1 H, d,  $J = 1.8$  Hz), 5.27 (1 H, s), 6.01 (1 H, d,  $J = 11.3$  Hz), 6.38 (1 H, d,  $J = 11.3$  Hz);  $^{13}\text{C}$  NMR (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  12.5 (q), 13.7 (q), 16.1 (q), 18.5 (q), 20.5 (q), 21.3 (t), 21.9 (t), 23.4 (t), 29.0 (t), 36.5 (d), 41.0 (t), 43.4 (t), 44.2 (d), 46.2 (s), 56.1 (d), 56.6 (d), 71.7 (d), 75.3 (d), 77.1 (s), 113.2 (t), 117.5 (d), 124.6 (d), 133.3 (s), 142.5 (s), 146.6 (s); HRMS (ESI+)  $m/z$  calcd. for  $\text{C}_{25}\text{H}_{40}\text{O}_3\text{Na}$   $[\text{M}+\text{Na}]^+$  411.2870, found 411.2880.

#### Compound **78**

The 20-hydroxyvitamin D analogue **78** was synthesized by the same procedure as described for **76** using **97** instead of **91**, in 46% yield (two steps).

**78**: UV (ethanol)  $\lambda_{\max}$  268 nm,  $\lambda_{\min}$  228 nm;  $^1\text{H}$  NMR (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  0.73 (3 H, s), 0.92 (3 H, d,  $J = 6.7$  Hz), 0.95 (3 H, d,  $J = 6.7$  Hz), 1.00 (3 H, s), 1.08 (3 H, d,  $J = 6.9$  Hz), 2.10 (1 H, br. d,  $J = 12.1$  Hz), 2.23 (1 H, dd,  $J = 13.5, 8.1$  Hz), 2.67 (1 H, dd,  $J = 13.5, 4.0$  Hz), 2.83 (1 H, dd,  $J = 12.2, 4.0$  Hz), 3.85 (1 H, m), 4.31 (1 H, t,  $J = 4.1$  Hz), 5.01 (1 H, s), 5.28 (1 H, s), 6.02 (1 H, d,  $J = 11.2$  Hz), 6.38 (1 H, d,  $J = 11.2$  Hz);  $^{13}\text{C}$  NMR (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  12.5 (q), 13.8 (q), 17.0 (q), 18.7 (q), 21.3 (q), 22.0 (t), 23.0 (t), 23.3 (t), 28.9 (t), 36.0 (d), 40.9 (t), 43.4 (t), 44.2 (d), 46.3 (s), 55.9 (d), 56.6 (d), 71.7 (d), 75.4 (d), 77.9 (s), 113.2 (t), 117.6 (d), 124.7 (d), 133.3 (s), 142.6 (s), 146.6 (s); HRMS (ESI+)  $m/z$  calcd. for  $\text{C}_{25}\text{H}_{40}\text{O}_3\text{Na}$   $[\text{M}+\text{Na}]^+$  411.2870, found 411.2880.

#### Compound **79**

The 20-hydroxyvitamin D analogue **79** was synthesized by the same procedure as described

for **76** using **101** instead of **91**, in 53% yield (two steps).

**79**: UV (ethanol)  $\lambda_{\max}$  267 nm,  $\lambda_{\min}$  228 nm;  $^1\text{H}$  NMR (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  0.75 (3 H, s), 1.07 (3 H, d,  $J = 6.9$  Hz), 1.40 (3 H, s), 1.75 (3 H, s), 1.81 (1 H, m), 2.01 (1 H, m), 2.12 (1 H, m), 2.23 (1 H, dd,  $J = 13.3, 7.7$  Hz), 2.67 (1 H, dd,  $J = 13.5, 4.1$  Hz), 2.83 (1 H, dd,  $J = 12.2, 4.2$  Hz), 3.85 (1 H, m), 4.31 (1 H, t,  $J = 4.2$  Hz), 4.72 (1 H, s), 4.95 (1 H, s), 5.00 (1 H, s), 5.28 (1 H, s), 6.00 (1 H, d,  $J = 11.3$  Hz), 6.38 (1 H, d,  $J = 11.2$  Hz);  $^{13}\text{C}$  NMR (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  12.5 (q), 13.7 (q), 19.9 (q), 21.7 (t), 22.1 (t), 23.4 (t), 27.6 (q), 28.9 (q), 40.8 (t), 43.4 (t), 44.2 (d), 46.0 (s), 55.6 (d), 56.8 (d), 71.7 (d), 75.3 (d), 77.1 (s), 108.3 (t), 113.2 (t), 117.5 (d), 124.6 (d), 133.3 (s), 142.4 (s), 146.5 (s), 152.3 (s); HRMS (ESI+)  $m/z$  calcd. for  $\text{C}_{25}\text{H}_{38}\text{O}_3\text{Na}$   $[\text{M}+\text{Na}]^+$  409.2713, found 409.2700.

#### Compound **80**

The 20-hydroxyvitamin D analogue **80** was synthesized by the same procedure as described for **76** using **103** instead of **91**, in 56% yield (two steps).

**80**: UV (ethanol)  $\lambda_{\max}$  268 nm,  $\lambda_{\min}$  228 nm;  $^1\text{H}$  NMR (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  0.65 (3 H, s), 1.07 (3 H, d,  $J = 6.9$  Hz), 1.22 (3 H, s), 1.81 (3 H, s), 2.22 (1 H, dd,  $J = 13.4, 8.0$  Hz), 2.66 (1 H, dd,  $J = 13.5, 3.9$  Hz), 2.80 (1 H, dd,  $J = 13.3, 4.1$  Hz), 3.84 (1 H, m), 4.31 (1 H, t,  $J = 4.0$  Hz), 4.80 (1 H, s), 5.00 (1 H, d,  $J = 1.6$  Hz), 5.08 (1 H, d,  $J = 0.8$  Hz), 5.28 (1 H, s), 6.00 (1 H, d,  $J = 11.3$  Hz), 6.37 (1 H, d,  $J = 11.3$  Hz);  $^{13}\text{C}$  NMR (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  12.5 (q), 20.5 (q), 21.4 (t), 22.2 (t), 23.2 (t), 28.9 (t), 29.1 (q), 39.0 (t), 43.4 (t), 44.2 (d), 46.1 (s), 55.4 (d), 56.7 (d), 71.7 (d), 75.3 (d), 77.2 (s), 108.8 (t), 113.2 (t), 117.5 (d), 124.6 (d), 133.2 (s), 142.6 (s), 146.6 (s), 151.6 (s); HRMS (ESI+)  $m/z$  calcd. for  $\text{C}_{25}\text{H}_{38}\text{O}_3\text{Na}$   $[\text{M}+\text{Na}]^+$  409.2713, found 409.2729.

#### Compound **81**

The 20-hydroxyvitamin D analogue **81** was synthesized by the same procedure as described for **76** using **110** instead of **91**, in 51% yield (two steps).

**81**: UV (ethanol)  $\lambda_{\max}$  268 nm,  $\lambda_{\min}$  228 nm;  $^1\text{H}$  NMR (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  0.75 (3 H, s), 1.07 (3 H, d,  $J = 6.9$  Hz), 1.21 (3 H, s), 1.23 (3 H, s), 1.31 (3 H, s), 2.23 (1 H, dd,  $J = 13.5, 7.9$  Hz), 2.67 (1 H, dd,  $J = 13.6, 4.0$  Hz), 2.82 (1 H, dd,  $J = 12.0, 4.0$  Hz), 3.85 (1 H, m), 4.31 (1 H, t,  $J = 4.1$  Hz), 5.01 (1 H, d,  $J = 1.8$  Hz), 5.28 (1 H, s), 6.03 (1 H, d,  $J = 11.3$  Hz), 6.38 (1 H, d,  $J = 11.3$  Hz);  $^{13}\text{C}$  NMR (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  12.5 (q), 13.2 (q), 22.7 (t), 23.5 (q), 23.6 (t), 26.2 (q), 26.3 (q), 29.0 (t), 41.2 (t), 43.4 (t), 44.2 (d), 47.2 (s), 55.0 (d), 55.9 (d), 71.7 (d), 75.3 (d), 77.2 (s), 78.2 (s), 113.2 (t), 117.7 (d), 124.6 (d), 133.4 (s), 142.4 (s), 146.5 (s); HRMS (ESI+)  $m/z$  calcd. for  $\text{C}_{25}\text{H}_{40}\text{O}_4\text{Na}$   $[\text{M}+\text{Na}]^+$  427.2819, found 427.2819.

### Compound **82**

The 20-hydroxyvitamin D analogue **82** was synthesized by the same procedure as described for **76** using **112** instead of **91**, in 63% yield (two steps).

**82**: UV (ethanol)  $\lambda_{\max}$  268 nm,  $\lambda_{\min}$  228 nm;  $^1\text{H}$  NMR (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  0.76 (3 H, s), 1.08 (3 H, d,  $J = 6.9$  Hz), 1.19 (3 H, s), 1.21 (3 H, s), 1.22 (3 H, s), 2.67 (1 H, dd,  $J = 13.6, 4.0$  Hz), 2.83 (1 H, dd,  $J = 12.5, 4.2$  Hz), 3.85 (1 H, m), 4.32 (1 H, t,  $J = 4.1$  Hz), 5.01 (1 H, s), 5.28 (1 H, s), 6.01 (1 H, d,  $J = 11.4$  Hz), 6.39 (1 H, d,  $J = 11.4$  Hz);  $^{13}\text{C}$  NMR (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  12.5 (q), 14.0 (q), 20.7 (q), 22.9 (t), 23.4 (t), 25.0 (q), 25.3 (q), 25.7 (t), 29.1 (t), 40.8 (t), 43.4 (t), 44.2 (d), 48.0 (s), 53.8 (d), 55.6 (d), 71.7 (d), 75.3 (d), 76.3 (s), 80.0 (s), 113.1 (t), 117.3 (d), 124.7 (d), 133.2 (s), 142.7 (s), 146.6 (s); HRMS (ESI+)  $m/z$  calcd. for  $\text{C}_{25}\text{H}_{40}\text{O}_4\text{Na}$   $[\text{M}+\text{Na}]^+$  427.2819, found 427.2819.

### Compound **120**

A solution of methylmagnesium chloride (3.0 M in THF, 0.21 mL, 0.63 mmol, 2.0 *eq.*) was added to a stirred solution of aldehyde **118** (100 mg, 0.31 mmol) in dry THF (1 mL) at 0 °C in a drop-wise manner under an atmosphere of argon. After having been stirred for 25 min at 0 °C, the reaction was quenched by the addition of saturated aqueous ammonium chloride (1 mL) and



brine (1 mL). The resulting mixture was extracted with ethyl acetate (10 mL x 3), and the combined organic layer was washed with brine (1 mL), dried over sodium sulfate and filtered. Evaporation of the filtrate afforded a residue, from which **120** (101 mg) was separated by silica gel column chromatography (ethyl acetate: *n*-hexane = 1: 9) as a colorless oil in 96% yield. The ratio between the major and the minor isomers was deduced to be 8: 2 by <sup>1</sup>H NMR analysis using the protons at 1.14 ppm and 1.00 ppm, respectively.

**120**: <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) (major isomer) δ - 0.01 (3 H, s), 0.00 (3 H, s), 0.87 (3 H, d, *J* = 5.9 Hz), 0.88 (9 H, s), 0.91 (3 H, s), 1.14 (3 H, d, *J* = 6.5 Hz), 3.93 (1 H, q, *J* = 6.5 Hz), 4.00 (1 H, m); (minor isomer) δ - 0.01 (3 H, s), 0.00 (3 H, s), 0.88 (9 H, s), 0.91 (3 H, s), 0.92 (3 H, d, *J* = 5.3 Hz), 1.00 (3 H, d, *J* = 6.4 Hz), 3.90 (1 H, dq, *J* = 6.4, 3.5 Hz); <sup>13</sup>C NMR (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>) (major isomer) δ - 5.2 (q), - 4.8 (q), 11.1 (q), 13.6 (q), 17.7 (t), 18.0 (s), 21.4 (q), 23.0 (t), 25.8 (q), 26.8 (t), 34.4 (t), 40.7 (t), 41.3 (d), 42.0 (s), 53.0 (d), 53.5 (d), 69.2 (d), 69.4 (d);  $[\alpha]_D^{23} = +40.4$  (*c* = 1.00, CHCl<sub>3</sub>); IR (ATR) 3362, 2930, 2858 cm<sup>-1</sup>.

#### Compound **121**

To a solution of **120** (165 mg, 0.48 mmol) in DMSO (2 mL) was added 2-iodoxybenzoic acid (IBX) (269 mg, 0.96 mmol, 2 *eq.*), and the resulting mixture was stirred at room temperature for 3 h 30 min. After the addition of saturated aqueous sodium bicarbonate (5 mL) to the reaction mixture at 0 °C, the whole was extracted with ether (20 mL x 3). The combined organic layer was washed with brine (3 mL), dried over sodium sulfate and filtered. Evaporation of the filtrate afforded a residue, from which **121** (152 mg) was separated by silica gel column chromatography (ethyl acetate: *n*-hexane: 1: 49) as a colorless oil in 94% yield.

**121**: <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ - 0.04 (3 H, s), - 0.02 (3 H, s), 0.86 (9 H, s), 0.91 (3 H, s), 1.06 (3 H, d, *J* = 6.8 Hz), 2.07 (3 H, s), 2.47 (1 H, dq, *J* = 10.8, 6.8 Hz), 3.98 (1 H, m); <sup>13</sup>C NMR (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ - 5.2 (q), - 4.9 (q), 14.0 (q), 16.3 (q), 17.6 (t), 18.0 (s), 23.2 (t), 25.7 (q), 26.5 (t), 28.3 (q), 34.3 (t), 40.6 (t), 42.2 (s), 49.8 (d), 52.5 (d), 52.6 (d), 69.1 (d), 213.0 (s);

$[\alpha]_D^{24} = + 29.7$  ( $c = 1.01$ ,  $\text{CHCl}_3$ ); IR (ATR) 2930, 2857, 1713  $\text{cm}^{-1}$ ; HRMS (ESI+)  $m/z$  calcd. for  $\text{C}_{20}\text{H}_{38}\text{O}_2\text{SiNa}$   $[\text{M}+\text{Na}]^+$  361.2533, found 361.2516.

### Compound **122**

To a suspension of methyltriphenylphosphonium bromide (801 g, 2.24 mmol, 10.2 *eq.*) in THF (6.7 mL) was added *n*-BuLi (1.64 M in *n*-hexane, 1.30 mL, 2.13 mmol, 10.0 *eq.*) in a dropwise manner with stirring under an atmosphere of argon at 0 °C. After having been stirred for 30 min at the same temperature, followed by a solution of **121** (75 mg, 0.22 mmol) in THF (2 mL x 2), was introduced to the reaction mixture. The mixture was stirred for 30 min respectively at 0 °C and room temperature, then stirred for 21 h at reflux. The reaction was quenched by the addition of saturated aqueous ammonium chloride (5 mL). The resultant mixture was extracted with ethyl acetate (10 mL x 3), and the combined organic layer was washed with brine (3 mL), dried over sodium sulfate and filtered. Evaporation of the filtrate afforded a residue, from which **122** (73 mg) was separated by silica gel column chromatography (ethyl acetate: *n*-hexane = 1: 99) as a colorless oil in 99% yield.

**122**:  $^1\text{H}$  NMR (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  - 0.01 (3 H, s), 0.01 (3 H, s), 0.89 (9 H, s), 0.94 (3 H, s), 1.00 (3 H, d,  $J = 6.8$  Hz), 1.61 (3 H, s), 2.11 (1 H, dq,  $J = 9.9, 6.8$  Hz), 3.99 (1 H, s), 4.55 (1 H, s), 4.62 (1 H, s);  $^{13}\text{C}$  NMR (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  - 5.2 (q), - 4.8 (q), 13.8 (q), 17.7 (t), 18.1 (q), 19.5 (q), 23.0 (t), 25.8 (q), 27.2 (t), 34.5 (t), 40.8 (t), 41.9 (s), 44.0 (d), 53.3 (d), 53.8 (d), 109.1 (t), 150.9 (s);  $[\alpha]_D^{23} = + 36.3$  ( $c = 1.00$ ,  $\text{CHCl}_3$ ); IR (ATR) 3071, 2930, 2903, 2858, 1645  $\text{cm}^{-1}$ .

### Compound **123**

The compound **122** (294 mg, 0.87 mmol) was treated with tetra-*n*-butylammonium fluoride (TBAF, 1.0 M in THF, 8.70 mL, 8.70 mmol, 10 *eq.*) at 0 °C. After having been heated at reflux for 14 h 30 min, brine (10 mL) and water (5 mL) were added to the mixture at room temperature and the whole was extracted with ethyl acetate (50 mL x3). The organic layer

washed with brine (5 mL), dried over sodium sulfate, filtered and concentrated. The residue was purified by silica gel column chromatography (ethyl acetate: *n*-hexane = 1: 4) to give **123** (189 mg) as a colorless oil in 98% yield.

**123**:  $^1\text{H}$  NMR (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  0.95 (3 H, s), 1.00 (3 H, d,  $J = 6.8$  Hz), 1.60 (3 H, s), 1.97 (1 H, br. d,  $J = 12.8$  Hz), 2.11 (1 H, dq,  $J = 10.1, 6.7$  Hz), 4.06 (1 H, m), 4.56 (1 H, s), 4.63 (1 H, s);  $^{13}\text{C}$  NMR (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  13.6 (q), 17.5 (t), 18.0 (q), 19.4 (q), 22.4 (t), 27.0 (t), 33.5 (t), 40.4 (t), 41.6 (s), 43.9 (d), 52.8 (d), 53.6 (d), 69.3 (d), 109.2 (t), 150.5 (s);  $[\alpha]_D^{23} = +15.1$  ( $c = 1.01$ ,  $\text{CHCl}_3$ ); IR (ATR) 3423, 3070, 2936, 2868, 1645  $\text{cm}^{-1}$ .

#### Compound **124**

To a solution of **123** (80 mg, 0.36 mmol) in DMSO (2.8 mL) was added 2-iodoxybenzoic acid (IBX) (202 mg, 0.72 mmol, 2 *eq.*), and the resulting mixture was stirred at room temperature for 25 min. After the addition of saturated aqueous sodium bicarbonate (5 mL) to the reaction mixture at 0 °C, the whole was extracted with ether (20 mL x 3). The combined organic layer was washed with brine (3 mL), dried over sodium sulfate and filtered. Evaporation of the filtrate afforded a residue, from which **124** (73 mg) was separated by silica gel column chromatography (ethyl acetate: *n*-hexane: 1: 9) as a colorless solid in 92% yield.

**124**:  $^1\text{H}$  NMR (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  0.66 (3 H, s), 1.07 (3 H, d,  $J = 6.8$  Hz), 1.63 (3 H, s), 2.49 (1 H, dd,  $J = 11.0, 7.1$  Hz), 4.60 (1 H, s), 4.66 (1 H, s);  $^{13}\text{C}$  NMR (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  12.5 (q), 18.0 (q), 19.0 (t), 19.6 (q), 24.1 (t), 27.4 (t), 39.0 (t), 40.9 (t), 44.1 (d), 49.6 (s), 53.8 (d), 62.1 (d), 109.8 (t), 149.9 (s), 212.0 (s); IR (ATR) 3070, 2958, 2873, 1713, 1645  $\text{cm}^{-1}$ ; HRMS (ESI+)  $m/z$  calcd. for  $\text{C}_{15}\text{H}_{24}\text{O}_n$   $[\text{M}+\text{Na}]^+$  243.1719, found 243.1709.

#### Compound **116**

To a suspension of (bromomethyl)triphenylphosphonium bromide (349 mg, 0.80 mmol, 5 *eq.*) in toluene (3.2 mL) was added potassium bis(trimethylsilyl)amide (KHMDs) (0.5 M in toluene,

1.5 mL, 0.75 mmol, 4.7 eq.) in a dropwise manner with stirring under an atmosphere of argon at 0°C. After having been stirred for 30 min at the same temperature and then a solution of **124** (35 mg, 0.16 mmol) in toluene (1 mL x 2) was introduced to the reaction mixture at -30°C. The mixture was stirred at 0 °C for 1 h and at rt for 30 min. The reaction mixture was diluted with ether: *n*-hexane = 1: 1, and filtered through Celite<sup>®</sup>. Evaporation of the filtrate afforded a residue, from which **116** (22 mg) was separated by silica gel column chromatography (ethyl acetate: *n*-hexane = 1:99) as a colorless oil in 46% yield.

**116**: <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 0.59 (3 H, s), 1.05 (3 H, d, *J* = 6.7 Hz), 1.62 (3 H, s), 2.12 (1 H, dq, *J* = 10.6, 6.8 Hz), 4.59 (1 H, s), 4.65 (1 H, s), 5.65 (1 H, s); <sup>13</sup>C NMR (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 11.9 (q), 18.0 (q), 19.7 (q), 22.0 (t), 22.6 (t), 27.3 (t), 31.0 (t), 39.9 (t), 44.6 (d), 45.3 (s), 52.8 (d), 56.0 (d), 97.5 (d), 109.5 (t), 145.1 (s), 150.4 (s).

#### Compound **127**

This compound **127** was obtained by the same procedure as described for **120** by using **119** instead of **118**, in 97% yield.

(major isomer) : <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ - 0.00 (3 H, s), 0.01 (3 H, s), 0.82 (3 H, d, *J* = 6.8 Hz), 0.88 (9 H, s), 0.91 (3 H, s), 1.12 (3 H, d, *J* = 6.4 Hz), 4.01 (1 H, m), 4.09 (1 H, dq, *J* = 6.4, 2.1 Hz); <sup>13</sup>C NMR (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ - 5.2 (q), - 4.8 (q), 11.2 (q), 14.1 (q), 17.7 (t), 18.0 (s), 20.9 (q), 22.9 (t), 25.8 (q), 26.8 (t), 34.5 (t), 40.1 (t), 40.4 (d), 42.0 (s), 52.6 (d), 53.0 (d), 68.6 (d), 69.3 (d); [ $\alpha$ ]<sub>D</sub><sup>23</sup> = + 55.4 (c = 1.00, CHCl<sub>3</sub>); IR (ATR) 3413, 2929, 2857 cm<sup>-1</sup>; HRMS (ESI+) *m/z* calcd. for C<sub>20</sub>H<sub>40</sub>O<sub>2</sub>SiNa [M+Na]<sup>+</sup> 363.2690, found 363.2674.

(minor isomer) : <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ - 0.01 (3 H, s), 0.01 (3 H, s), 0.83 (3 H, d, *J* = 6.8 Hz), 0.88 (9 H, s), 0.93 (3 H, s), 1.05 (3 H, d, *J* = 6.3 Hz), 4.00 (1 H, m); <sup>13</sup>C NMR (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ - 5.2 (q), - 4.8 (q), 11.7 (q), 14.0 (q), 16.7 (q), 17.7 (t), 18.0 (s), 22.8 (t), 25.8 (q), 26.5 (t), 34.5 (t), 40.2 (t), 41.1 (d), 42.1 (s), 53.0 (d), 53.2 (d), 69.0 (d), 69.3 (d); [ $\alpha$ ]<sub>D</sub><sup>23</sup> = + 39.1 (c = 1.00, CHCl<sub>3</sub>); IR (ATR) 3363, 2929, 2857 cm<sup>-1</sup>; HRMS (ESI+) *m/z* calcd. for

$C_{20}H_{40}O_2SiNa$   $[M+Na]^+$  363.2690, found 363.2705.

#### Compound **128**

This compound **128** was obtained by the same procedure as described for **121** by using **127** instead of **120**, in 94% yield.

**128**:  $^1H$  NMR (400 MHz,  $CDCl_3$ )  $\delta$  - 0.02 (3 H, s), - 0.01 (3 H, s), 0.87 (9 H, s), 0.90 (3 H, s), 1.01 (3 H, d,  $J = 6.9$  Hz), 2.13 (3 H, s), 2.47 (1 H, dq,  $J = 10.6, 6.9$  Hz), 3.99 (1 H, m);  $^{13}C$  NMR (100 MHz,  $CDCl_3$ )  $\delta$  - 5.2 (q), - 4.8 (q), 14.3 (q), 16.7 (q), 17.5 (t), 18.0 (s), 22.3 (t), 25.7 (t), 25.8 (q), 28.1 (q), 34.3 (t), 39.2 (t), 41.7 (s), 48.3 (d), 52.5 (d), 53.3 (d), 69.1 (d), 213.8 (s);  $[\alpha]_D^{24} = + 32.6$  ( $c = 1.01$ ,  $CHCl_3$ ); IR (ATR) 2929, 2856, 1709  $cm^{-1}$ ; HRMS (ESI+)  $m/z$  calcd. for  $C_{20}H_{38}O_2SiNa$   $[M+Na]^+$  361.2533, found 361.2539.

#### Compound **129**

This compound **129** was obtained by the same procedure as described for **122** by using **128** instead of **121**, in 92% yield.

**129**:  $^1H$  NMR (400 MHz,  $CDCl_3$ )  $\delta$  - 0.01 (3 H, s), 0.00 (3 H, s), 0.88 (9 H, s), 0.91 (3 H, d,  $J = 6.7$  Hz), 0.92 (3 H, s), 1.63 (3 H, s), 2.21 (1 H, dq,  $J = 10.2, 6.7$  Hz), 3.99 (1 H, m), 4.60 (1 H, s), 4.72 (1 H, d,  $J = 2.0$  Hz);  $^{13}C$  NMR (100 MHz,  $CDCl_3$ )  $\delta$  - 5.2 (q), - 4.8 (q), 12.9 (q), 17.6 (t), 17.8 (t), 18.0 (s), 19.9 (q), 22.5 (t), 25.8 (q), 27.0 (t), 34.6 (t), 39.0 (t), 42.2 (s), 43.5 (d), 53.1 (d), 69.4 (d), 110.2 (t), 150.7 (s);  $[\alpha]_D^{23} = + 61.0$  ( $c = 1.01$ ,  $CHCl_3$ ); IR (ATR) 2929, 2858, 1644  $cm^{-1}$ .

#### Compound **130**

This compound **130** was obtained by the same procedure as described for **123** by using **129** instead of **122**, in 96% yield.

**130**:  $^1H$  NMR (400 MHz,  $CDCl_3$ )  $\delta$  0.92 (3 H, d,  $J = 6.7$  Hz), 0.93 (3 H, s), 1.63 (3 H, s), 2.21

(1 H, dq,  $J = 10.4, 6.8$  Hz), 4.07 (1 H, m), 4.61 (1 H, s), 4.73 (1 H, d,  $J = 1.9$  Hz);  $^{13}\text{C}$  NMR (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  12.7 (q), 17.3 (t), 17.7 (q), 19.8 (q), 21.9 (t), 26.9 (t), 33.6 (t), 38.7 (t), 41.9 (s), 43.5 (d), 52.7 (d), 53.0 (d), 69.4 (d), 110.4 (t), 150.4 (s);  $[\alpha]_D^{23} = + 66.9$  ( $c = 0.99$ ,  $\text{CHCl}_3$ ); IR (ATR) 3408, 3069, 2931, 2867, 1643  $\text{cm}^{-1}$ .

#### Compound **131**

This compound **131** was obtained by the same procedure as described for **124** by using **130** instead of **123**, in 97% yield.

**131**:  $^1\text{H}$  NMR (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  0.61 (3 H, s), 0.96 (3 H, d,  $J = 6.8$  Hz), 1.67 (3 H, s), 2.42 (1 H, dd,  $J = 11.3, 7.7$  Hz), 4.65 (1 H, s), 4.74 (1 H, s);  $^{13}\text{C}$  NMR (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  11.7 (q), 17.7 (q), 18.6 (t), 19.7 (q), 24.0 (t), 27.2 (t), 37.3 (t), 41.0 (t), 43.9 (d), 50.0 (s), 53.0 (d), 62.0 (d), 111.0 (t), 149.9 (s), 212.1 (s);  $[\alpha]_D^{23} = + 16.4$  ( $c = 1.00$ ,  $\text{CHCl}_3$ ); IR (ATR) 3074, 2964, 2934, 2867, 1713, 1643  $\text{cm}^{-1}$ ; HRMS(ESI+)  $m/z$  calcd. for  $\text{C}_{15}\text{H}_{24}\text{ONa}$   $[\text{M}+\text{Na}]^+$  243.1719, found 243.1719.

#### Compound **117**

This compound **117** was obtained by the same procedure as described for **116** by using **131** instead of **124**, in 54% yield.

**117**:  $^1\text{H}$  NMR (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 0.59 (3 H, s), 1.05 (3 H, d,  $J = 6.7$  Hz), 1.62 (3 H, s), 2.12 (1 H, dq,  $J = 10.6, 6.8$  Hz), 4.59 (1 H, s), 4.65 (1 H, s), 5.65 (1 H, s);  $^{13}\text{C}$  NMR (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 11.9 (q), 18.0 (q), 19.7 (q), 22.0 (t), 22.6 (t), 27.3 (t), 31.0 (t), 39.9 (t), 44.6 (d), 45.3 (s), 52.8 (d), 56.0 (d), 97.5 (d), 109.5 (t), 145.1 (s), 150.4 (s).

#### Compound **114**

To a stirred solution of the A-ring enyne precursor **85** (21 mg, 0.06 mmol) and the CD-ring portion **116** (20 mg, 0.07 mmol, 1.2 *eq.*) in a mixture of toluene (2.6 mL) and trimethylamine

(0.9 mL) was added tetrakis(triphenylphosphine)palladium (19 mg, 0.02, 0.3 *eq.*) at room temperature under an atmosphere of argon. After having been heated at reflux for 50 min, the reaction mixture was diluted with ether and filtered through a small pad of silica gel. Evaporation of the filtrate gave a residue, which was purified by silica gel column chromatography (ethyl acetate: *n*-hexane = 1: 99) to give a mixture of protected *seco*-steroid (28 mg).

The crude product (28 mg) dissolved in THF (0.2 mL) was treated with tetra-*n*-butylammonium fluoride (TBAF) (1.0 M in THF, 0.47 mL, 0.47 mmol) at reflux for 3 h 20 min. Brine (1 mL) was added to the mixture and the whole was extracted with ethyl acetate (10 mL x 3). The organic layer was washed with brine (2 mL), dried over sodium sulfate, filtered and concentrated. The residue was purified by silica gel column chromatography (ethyl acetate: *n*-hexane = 1: 1), followed by silica gel preparative TLC (ethyl acetate: *n*-hexane = 1: 1) to give **114** (6 mg) as a colorless solid in 27% yield (two steps).

**114**: UV (ethanol)  $\lambda_{\max}$  267 nm,  $\lambda_{\min}$  228 nm;  $^1\text{H NMR}$  (700 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  0.56 (3 H, s), 1.04 (3 H, d,  $J = 6.8$  Hz), 1.08 (3 H, d,  $J = 6.9$  Hz), 1.62 (3 H, s), 1.92 (1 H, ddt,  $J = 14.1, 7.1, 3.6$  Hz), 1.98 (1 H, br. d,  $J = 12.3$  Hz), 2.03 (1 H, dd,  $J = 12.0, 7.0$  Hz), 2.11 (1 H, dq,  $J = 10.7, 6.7$  Hz), 2.23 (1 H, dd,  $J = 13.4, 8.0$  Hz), 2.67 (1 H, dd,  $J = 13.4, 4.0$  Hz), 2.83 (1 H, dd,  $J = 12.7, 4.5$  Hz), 3.85 (1 H, m), 4.31 (1 H, t,  $J = 4.0$  Hz), 4.57 (1 H, s), 4.64 (1 H, s), 5.01 (1 H, s), 5.27 (1 H, s), 6.01 (1 H, d,  $J = 11.3$  Hz), 6.39 (1 H, d,  $J = 11.3$  Hz);  $^{13}\text{C NMR}$  (175 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  12.1 (q), 12.5 (q), 18.0 (q), 19.7 (q), 22.2 (t), 23.6 (t), 27.4 (t), 29.1 (t), 40.6 (t), 43.5 (t), 44.2 (d), 44.8 (d), 45.7 (s), 53.3 (d), 56.5 (d), 71.7 (d), 75.4 (d), 109.3 (t), 113.2 (t), 117.0 (d), 124.8 (d), 133.0 (s), 143.1 (s), 146.5 (s), 150.7 (s); HRMS (ESI+)  $m/z$  calcd. for  $\text{C}_{25}\text{H}_{38}\text{O}_2\text{Na}$   $[\text{M}+\text{Na}]^+$  393.2764, found 393.2741.

### Compound **115**

This compound **115** was obtained by the same procedure as described for **114** by using **117**

instead of **116**, in 20% yield.

**115**: UV (ethanol)  $\lambda_{\max}$  268 nm,  $\lambda_{\min}$  228 nm;  $^1\text{H}$  NMR (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  0.51 (3 H, s), 0.94 (3 H, d,  $J = 6.8$  Hz), 1.08 (3 H, d,  $J = 6.9$  Hz), 1.66 (3 H, s), 1.96 (1 H, br. t,  $J = 9.8$  Hz), 2.67 (1 H, dd,  $J = 13.6, 4.1$  Hz), 2.81 (1 H, dd,  $J = 13.6, 3.2$  Hz), 3.84 (1 H, m), 4.30 (1 H, t,  $J = 4.0$  Hz), 4.61 (1 H, s), 4.73 (1 H, s), 5.01 (1 H, s), 5.28 (1 H, s), 6.00 (1 H, d,  $J = 11.3$  Hz), 6.39 (1 H, d,  $J = 11.3$  Hz);  $^{13}\text{C}$  NMR (175 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 11.2 (q), 12.6 (q), 17.7 (q), 19.8 (q), 21.7 (t), 23.4 (t), 27.2 (t), 29.1 (t), 38.7 (t), 43.5 (t), 44.2 (d), 44.3 (d), 46.0 (s), 53.0 (d), 56.3 (d), 71.7 (d), 75.5 (d), 110.5 (t), 113.2 (t), 116.9 (d), 124.8 (d), 132.9 (s), 143.3 (s), 146.6 (s), 150.5 (s); IR (ATR) 3357, 2964, 2946, 2888, 2867, 2843, 1641, 1621  $\text{cm}^{-1}$

#### Competitive vitamin D receptor (VDR) binding assay

The bovine thymus VDR receptor was obtained from Yamasa Biochemical (Chiba, Japan) and dissolved in 0.05 M phosphate buffer (pH 7.4) containing 0.3 M KCl and 5 mM dithiothreitol immediately prior to use. The receptor solution (500  $\mu\text{L}$ ) was pre-mixed with 50  $\mu\text{L}$  of an ethanol solution of  $1\alpha,25$ -dihydroxyvitamin  $\text{D}_3$  or an analogue at various concentrations for 60 min at 25  $^\circ\text{C}$ , prior to the before addition of [ $^3\text{H}$ ]- $1\alpha,25$ -dihydroxyvitamin  $\text{D}_3$  (50  $\mu\text{L}$ ). The receptor mixture was then left to stand overnight with 0.1 nM [ $^3\text{H}$ ]- $1\alpha,25$ -dihydroxyvitamin  $\text{D}_3$  at 4  $^\circ\text{C}$ . The bound and free [ $^3\text{H}$ ]- $1\alpha,25$ -dihydroxyvitamin  $\text{D}_3$  were separated by treatment with a dextran-coated charcoal (Norit SX-II) suspension (200  $\mu\text{L}$ ) for 30 min at 4  $^\circ\text{C}$ , followed by centrifugation at 3000 rpm for 10 min. The supernatant (500  $\mu\text{L}$ ) was mixed with Insta-Gel<sup>®</sup> Plus (9.5 mL) (PerkinElmer, USA) and the radioactivity was counted. The relative potency of the analogues was calculated from the concentration required to displace 50% of the [ $^3\text{H}$ ]- $1\alpha,25$ -dihydroxyvitamin  $\text{D}_3$  from the receptor compared with the activity of  $1\alpha,25$ -dihydroxyvitamin  $\text{D}_3$ , which was assigned as 100 by definition.



## Crystallographic Data

### Compound **30a**

Table 1. Crystal data and structure refinement for **30a**.

Identification code	#352Fr1	
Empirical formula	C <sub>29</sub> H <sub>46</sub> O <sub>3</sub>	
Formula weight	442.66	
Temperature	100 K	
Wavelength	1.54178 Å	
Crystal system	Monoclinic	
Space group	P2 <sub>1</sub>	
Unit cell dimensions	a = 19.3366(8) Å	α = 90°.
	b = 7.1441(3) Å	β = 108.1004(14)°.
	c = 20.3154(8) Å	γ = 90°.
Volume	2667.54(19) Å <sup>3</sup>	
Z	4	
Density (calculated)	1.102 Mg/m <sup>3</sup>	
Absorption coefficient	0.532 mm <sup>-1</sup>	
F(000)	976	
Crystal size	0.200 x 0.070 x 0.030 mm <sup>3</sup>	
Theta range for data collection	2.404 to 72.668°.	
Index ranges	-23 ≤ h ≤ 23, -8 ≤ k ≤ 8, -24 ≤ l ≤ 24	
Reflections collected	25417	
Independent reflections	9393 [R(int) = 0.0374]	
Completeness to theta = 67.679°	99.0 %	
Absorption correction	None	
Refinement method	Full-matrix least-squares on F <sup>2</sup>	
Data / restraints / parameters	9393 / 1 / 600	
Goodness-of-fit on F <sup>2</sup>	1.119	
Final R indices [I > 2σ(I)]	R1 = 0.0388, wR2 = 0.1048	
R indices (all data)	R1 = 0.0429, wR2 = 0.1158	
Absolute structure parameter	0.00(8)	
Extinction coefficient	n/a	
Largest diff. peak and hole	0.412 and -0.252 e.Å <sup>-3</sup>	

Table 2. Atomic coordinates ( $\times 10^4$ ) and equivalent isotropic displacement parameters ( $\text{\AA}^2 \times 10^3$ ) for **30a**.  $U(\text{eq})$  is defined as one third of the trace of the orthogonalized  $U^{ij}$  tensor.

	x	y	z	$U(\text{eq})$
C(1A)	8034(1)	4658(3)	1798(1)	26(1)
C(2A)	8564(1)	5268(4)	1416(1)	30(1)
C(3A)	8453(1)	7335(4)	1230(1)	28(1)
C(3AA)	9036(2)	8236(5)	962(2)	41(1)
C(3BA)	8742(1)	8675(4)	1847(1)	34(1)
C(4A)	7671(1)	7714(4)	776(1)	31(1)
C(5A)	7119(1)	6941(3)	1094(1)	24(1)
C(6A)	6554(1)	7973(3)	1139(1)	24(1)
C(7A)	5982(1)	7394(3)	1424(1)	23(1)
C(8A)	5403(1)	8423(3)	1436(1)	23(1)
C(9A)	5261(1)	10414(3)	1182(1)	29(1)
C(10A)	7262(1)	4989(3)	1339(1)	24(1)
C(11A)	4523(1)	10606(3)	615(1)	28(1)
C(12A)	3898(1)	9739(3)	826(1)	25(1)
C(13A)	4057(1)	7703(3)	1072(1)	18(1)
C(14A)	4793(1)	7690(3)	1673(1)	21(1)
C(15A)	4828(1)	5743(3)	1988(1)	25(1)
C(16A)	4025(1)	5275(4)	1905(1)	24(1)
C(17A)	3546(1)	6840(3)	1448(1)	22(1)
C(18A)	4099(1)	6430(3)	480(1)	22(1)
C(19A)	6783(1)	3606(4)	1153(1)	30(1)
C(20A)	2792(1)	6119(4)	1015(1)	26(1)
C(21A)	2347(1)	7566(4)	496(2)	38(1)
C(22A)	2363(1)	5474(4)	1496(1)	31(1)
C(23A)	1699(1)	4256(4)	1141(1)	35(1)
C(24A)	1248(1)	3792(4)	1617(1)	31(1)
C(25A)	622(1)	2413(4)	1333(1)	30(1)
C(39A)	80(1)	3097(5)	662(2)	43(1)
C(27A)	895(2)	482(5)	1232(2)	45(1)
O(1A)	8128(1)	2773(3)	2007(1)	40(1)
O(2A)	9247(2)	9477(5)	1536(2)	87(1)
O(3A)	270(1)	2368(4)	1858(1)	47(1)
C(1B)	16711(2)	1194(4)	2976(1)	35(1)
C(2B)	17497(2)	650(4)	3352(2)	40(1)

C(3B)	17548(1)	-1299(4)	3660(1)	31(1)
C(3AB)	18320(1)	-2081(5)	3953(2)	47(1)
C(3BB)	17428(1)	-2904(4)	3134(2)	37(1)
C(4B)	17092(1)	-1436(4)	4151(1)	30(1)
C(5B)	16320(1)	-768(3)	3816(1)	23(1)
C(6B)	15750(1)	-1815(3)	3839(1)	24(1)
C(7B)	14982(1)	-1327(3)	3570(1)	22(1)
C(8B)	14430(1)	-2387(3)	3625(1)	21(1)
C(9B)	14504(1)	-4321(3)	3937(1)	24(1)
C(10B)	16269(1)	1076(3)	3472(1)	26(1)
C(11B)	14167(1)	-4452(3)	4526(1)	25(1)
C(12B)	13381(1)	-3729(4)	4309(1)	27(1)
C(13B)	13322(1)	-1741(3)	4014(1)	20(1)
C(14B)	13647(1)	-1748(3)	3400(1)	21(1)
C(15B)	13430(1)	162(4)	3064(1)	27(1)
C(16B)	12657(1)	458(4)	3120(1)	31(1)
C(17B)	12540(1)	-1024(4)	3637(1)	27(1)
C(18B)	13734(1)	-343(4)	4574(1)	24(1)
C(19B)	15899(2)	2523(4)	3600(1)	34(1)
C(20B)	12081(1)	-258(4)	4078(1)	34(1)
C(21B)	12030(2)	-1595(5)	4648(2)	45(1)
C(22B)	11309(1)	255(5)	3611(1)	38(1)
C(23B)	10912(1)	1641(5)	3941(2)	40(1)
C(24B)	10118(1)	1895(5)	3520(1)	38(1)
C(25B)	9724(1)	3504(4)	3751(1)	37(1)
C(26B)	9738(2)	3312(6)	4494(2)	52(1)
C(27B)	10019(2)	5402(5)	3612(2)	61(1)
O(1B)	16652(2)	3030(3)	2691(1)	54(1)
O(2B)	18162(1)	-3585(4)	3465(1)	66(1)
O(3B)	8977(1)	3330(4)	3318(1)	48(1)

---

Compound **93a**Table 1. Crystal data and structure refinement for **93a**.

Identification code	#32	
Empirical formula	C <sub>15</sub> H <sub>28</sub> O <sub>2</sub>	
Formula weight	240.37	
Temperature	100 K	
Wavelength	0.71073 Å	
Crystal system	Orthorhombic	
Space group	P2(1)2(1)2	
Unit cell dimensions	a = 21.378(14) Å	α = 90°.
	b = 11.183(7) Å	β = 90°.
	c = 11.852(8) Å	γ = 90°.
Volume	2833(3) Å <sup>3</sup>	
Z	8	
Density (calculated)	1.127 Mg/m <sup>3</sup>	
Absorption coefficient	0.072 mm <sup>-1</sup>	
F(000)	1072	
Crystal size	0.50 x 0.05 x 0.05 mm <sup>3</sup>	
Theta range for data collection	1.72 to 21.23°.	
Index ranges	-21 ≤ h ≤ 21, -11 ≤ k ≤ 11, -12 ≤ l ≤ 12	
Reflections collected	17760	
Independent reflections	3145 [R(int) = 0.0324]	
Completeness to theta = 21.23°	99.8 %	
Absorption correction	None	
Refinement method	Full-matrix least-squares on F <sup>2</sup>	
Data / restraints / parameters	3145 / 0 / 319	
Goodness-of-fit on F <sup>2</sup>	1.095	
Final R indices [I > 2σ(I)]	R1 = 0.0263, wR2 = 0.0597	
R indices (all data)	R1 = 0.0304, wR2 = 0.0618	
Absolute structure parameter	0.4(10)	
Largest diff. peak and hole	0.099 and -0.121 e.Å <sup>-3</sup>	

Table 2. Atomic coordinates ( $\times 10^4$ ) and equivalent isotropic displacement parameters ( $\text{\AA}^2 \times 10^3$ ) for **93a**.  $U(\text{eq})$  is defined as one third of the trace of the orthogonalized  $U^{ij}$  tensor.

	x	y	z	U(eq)
C(1)	8927(1)	2584(2)	2386(2)	27(1)
C(2)	9521(1)	3109(2)	2888(2)	33(1)
C(3)	9369(1)	3208(2)	4161(2)	32(1)
C(4)	8739(1)	2540(2)	4343(2)	23(1)
C(5)	8687(1)	1707(2)	3293(2)	23(1)
C(6)	8021(1)	1357(2)	2953(2)	28(1)
C(7)	7990(1)	878(2)	1744(2)	31(1)
C(8)	8253(1)	1758(2)	886(2)	31(1)
C(9)	8917(1)	2137(2)	1171(2)	30(1)
C(10)	9102(1)	600(2)	3423(2)	30(1)
C(11)	8645(1)	2074(2)	5558(2)	24(1)
C(12)	8062(1)	1307(2)	5660(2)	28(1)
C(13)	8624(1)	3135(2)	6400(2)	25(1)
C(14)	8089(1)	4007(2)	6188(2)	35(1)
C(15)	8597(1)	2739(2)	7637(2)	35(1)
C(16)	8673(1)	8108(2)	7433(2)	25(1)
C(17)	8450(1)	9229(2)	8022(2)	34(1)
C(18)	8417(1)	8864(2)	9274(2)	29(1)
C(19)	8723(1)	7609(2)	9361(2)	23(1)
C(20)	9134(1)	7523(2)	8276(2)	22(1)
C(21)	9263(1)	6264(2)	7838(2)	28(1)
C(22)	9468(1)	6262(2)	6597(2)	30(1)
C(23)	9013(1)	6897(2)	5807(2)	31(1)
C(24)	8878(1)	8158(2)	6201(2)	28(1)
C(25)	9741(1)	8234(2)	8413(2)	29(1)
C(26)	8991(1)	7318(2)	10540(2)	24(1)
C(27)	9390(1)	6196(2)	10546(2)	29(1)
C(28)	8446(1)	7187(2)	11408(2)	28(1)
C(29)	8058(1)	6058(2)	11223(2)	36(1)
C(30)	8664(1)	7217(2)	12640(2)	39(1)
O(1)	9313(1)	1129(1)	952(1)	32(1)
O(2)	9150(1)	1291(1)	5903(1)	34(1)
O(3)	9428(1)	8858(1)	5996(1)	37(1)
O(4)	9407(1)	8254(1)	10933(1)	28(1)

---

Compound **99a**

Table 1. Crystal data and structure refinement for **99a**.

Identification code	SO-13m-01	
Empirical formula	C <sub>15</sub> H <sub>26</sub> O <sub>2</sub>	
Formula weight	238.36	
Temperature	100 K	
Wavelength	0.71073 Å	
Crystal system	Orthorhombic	
Space group	P 21 21 21	
Unit cell dimensions	a = 6.751(3) Å	α = 90°.
	b = 13.505(6) Å	β = 90°.
	c = 15.400(7) Å	γ = 90°.
Volume	1404.0(11) Å <sup>3</sup>	
Z	4	
Density (calculated)	1.128 Mg/m <sup>3</sup>	
Absorption coefficient	0.072 mm <sup>-1</sup>	
F(000)	528	
Crystal size	0.350 x 0.220 x 0.120 mm <sup>3</sup>	
Theta range for data collection	2.006 to 25.042°.	
Index ranges	-7 ≤ h ≤ 7, -15 ≤ k ≤ 15, -18 ≤ l ≤ 18	
Reflections collected	11865	
Independent reflections	2381 [R(int) = 0.0343]	
Completeness to theta = 25.000°	98.1 %	
Absorption correction	None	
Refinement method	Full-matrix least-squares on F <sup>2</sup>	
Data / restraints / parameters	2381 / 0 / 165	
Goodness-of-fit on F <sup>2</sup>	1.067	
Final R indices [I > 2σ(I)]	R1 = 0.0336, wR2 = 0.0774	
R indices (all data)	R1 = 0.0389, wR2 = 0.0803	
Absolute structure parameter	-0.4(6)	
Extinction coefficient	n/a	
Largest diff. peak and hole	0.113 and -0.132 e.Å <sup>-3</sup>	

Table 2. Atomic coordinates ( $\times 10^4$ ) and equivalent isotropic displacement parameters ( $\text{\AA}^2 \times 10^3$ ) for **99a**.  $U(\text{eq})$  is defined as one third of the trace of the orthogonalized  $U^{ij}$  tensor.

	x	y	z	U(eq)
C(8)	3211(3)	-3173(2)	1972(2)	35(1)
C(9)	1721(4)	-3678(2)	1375(2)	42(1)
C(11)	-128(4)	-3063(2)	1202(1)	40(1)
C(12)	351(4)	-2013(2)	873(1)	35(1)
C(13)	1712(3)	-1458(2)	1508(1)	23(1)
C(14)	3563(3)	-2114(2)	1658(2)	30(1)
C(15)	4981(3)	-1452(2)	2158(2)	39(1)
C(16)	4623(3)	-415(2)	1754(2)	33(1)
C(17)	2793(3)	-518(2)	1154(1)	23(1)
C(18)	590(3)	-1233(2)	2351(1)	23(1)
C(20)	1725(3)	486(2)	1031(1)	23(1)
C(21)	-145(4)	393(2)	476(2)	34(1)
C(22)	3145(3)	1222(2)	589(1)	26(1)
C(23)	3518(3)	2102(2)	935(2)	34(1)
C(24)	4063(4)	926(2)	-262(2)	44(1)
O(1)	2473(2)	-3219(1)	2851(1)	33(1)
O(2)	1218(3)	858(1)	1870(1)	30(1)

Compound **99b**Table 1. Crystal data and structure refinement for **99b**.

Identification code	SO-13m-02	
Empirical formula	C <sub>15</sub> H <sub>26</sub> O <sub>2</sub>	
Formula weight	238.36	
Temperature	100 K	
Wavelength	0.71073 Å	
Crystal system	Monoclinic	
Space group	P 21	
Unit cell dimensions	a = 9.396(3) Å	α = 90°.
	b = 12.966(4) Å	β = 106.611(3)°.
	c = 11.788(4) Å	γ = 90°.
Volume	1376.2(8) Å <sup>3</sup>	
Z	4	
Density (calculated)	1.150 Mg/m <sup>3</sup>	
Absorption coefficient	0.074 mm <sup>-1</sup>	
F(000)	528	
Crystal size	0.500 x 0.400 x 0.400 mm <sup>3</sup>	
Theta range for data collection	1.803 to 25.450°.	
Index ranges	-11 ≤ h ≤ 11, -15 ≤ k ≤ 14, -13 ≤ l ≤ 14	
Reflections collected	11544	
Independent reflections	4582 [R(int) = 0.0221]	
Completeness to theta = 25.000°	96.5 %	
Absorption correction	None	
Refinement method	Full-matrix least-squares on F <sup>2</sup>	
Data / restraints / parameters	4582 / 1 / 318	
Goodness-of-fit on F <sup>2</sup>	1.051	
Final R indices [I > 2σ(I)]	R1 = 0.0274, wR2 = 0.0685	
R indices (all data)	R1 = 0.0285, wR2 = 0.0694	
Absolute structure parameter	-0.1(3)	
Extinction coefficient	0.0179(13)	
Largest diff. peak and hole	0.189 and -0.192 e.Å <sup>-3</sup>	



Table 2. Atomic coordinates ( $\times 10^4$ ) and equivalent isotropic displacement parameters ( $\text{\AA}^2 \times 10^3$ ) for **99b**.  $U(\text{eq})$  is defined as one third of the trace of the orthogonalized  $U^{ij}$  tensor.

	x	y	z	$U(\text{eq})$
C(8A)	8139(1)	4893(1)	1175(1)	19(1)
C(9A)	8121(1)	3763(1)	1539(1)	22(1)
C(11A)	7150(1)	3576(1)	2360(1)	22(1)
C(12A)	5559(1)	3972(1)	1832(1)	19(1)
C(13A)	5540(1)	5125(1)	1527(1)	16(1)
C(14A)	6554(1)	5280(1)	711(1)	18(1)
C(15A)	6256(1)	6387(1)	267(1)	22(1)
C(16A)	4575(1)	6528(1)	120(1)	22(1)
C(17A)	4071(1)	5548(1)	670(1)	17(1)
C(18A)	6029(1)	5778(1)	2668(1)	20(1)
C(20A)	2680(1)	5745(1)	1104(1)	18(1)
C(21A)	1358(2)	6032(1)	32(1)	23(1)
C(22A)	2286(1)	4785(1)	1709(1)	17(1)
C(23A)	2365(1)	4775(1)	2853(1)	23(1)
C(24A)	1797(1)	3839(1)	953(1)	21(1)
O(1A)	8972(1)	5523(1)	2148(1)	23(1)
O(2A)	2994(1)	6597(1)	1900(1)	23(1)
C(8B)	5500(2)	5705(1)	6259(1)	27(1)
C(9B)	6494(2)	6650(1)	6343(1)	31(1)
C(11B)	8108(2)	6468(1)	7062(1)	27(1)
C(12B)	8791(1)	5516(1)	6636(1)	21(1)
C(13B)	7869(1)	4547(1)	6654(1)	17(1)
C(14B)	6256(1)	4774(1)	5895(1)	20(1)
C(15B)	5489(1)	3729(1)	5733(1)	24(1)
C(16B)	6711(1)	2983(1)	5594(1)	21(1)
C(17B)	8186(1)	3614(1)	5929(1)	17(1)
C(18B)	7972(2)	4246(1)	7936(1)	20(1)
C(20B)	9597(1)	2944(1)	6388(1)	18(1)
C(21B)	9622(2)	2112(1)	5460(1)	28(1)
C(22B)	11014(1)	3593(1)	6633(1)	22(1)
C(23B)	11926(2)	3713(1)	7706(1)	27(1)
C(24B)	11368(2)	4069(1)	5574(1)	33(1)
O(1B)	5147(1)	5530(1)	7353(1)	36(1)
O(2B)	9528(1)	2426(1)	7450(1)	21(1)

---

Compound **80**

Table 1. Crystal data and structure refinement for **80**.

Identification code	#311-20S
Empirical formula	C <sub>25</sub> H <sub>38</sub> O <sub>3</sub>
Formula weight	386.55
Temperature	100 K
Wavelength	1.54178 Å
Crystal system	Monoclinic
Space group	P2 <sub>1</sub>
Unit cell dimensions	a = 11.2766(6) Å      α = 90°. b = 6.5027(3) Å      β = 109.832(2)°. c = 16.0049(9) Å      γ = 90°.
Volume	1104.01(10) Å <sup>3</sup>
Z	2
Density (calculated)	1.163 Mg/m <sup>3</sup>
Absorption coefficient	0.577 mm <sup>-1</sup>
F(000)	424
Crystal size	0.150 x 0.050 x 0.010 mm <sup>3</sup>
Theta range for data collection	4.167 to 72.009°.
Index ranges	-13 ≤ h ≤ 13, -7 ≤ k ≤ 7, -19 ≤ l ≤ 19
Reflections collected	9400
Independent reflections	3870 [R(int) = 0.0463]
Completeness to theta = 67.679°	97.1 %
Absorption correction	None
Refinement method	Full-matrix least-squares on F <sup>2</sup>
Data / restraints / parameters	3870 / 1 / 266
Goodness-of-fit on F <sup>2</sup>	1.059
Final R indices [I > 2σ(I)]	R1 = 0.0441, wR2 = 0.1055
R indices (all data)	R1 = 0.0512, wR2 = 0.1099
Absolute structure parameter	0.14(13)
Extinction coefficient	n/a
Largest diff. peak and hole	0.157 and -0.179 e.Å <sup>-3</sup>

Table 2. Atomic coordinates ( $\times 10^4$ ) and equivalent isotropic displacement parameters ( $\text{\AA}^2 \times 10^3$ ) for **80**.  $U(\text{eq})$  is defined as one third of the trace of the orthogonalized  $U^{ij}$  tensor.

	x	y	z	U(eq)
C(1)	3887(2)	6520(4)	8776(2)	27(1)
C(2)	3114(3)	5907(4)	9360(2)	30(1)
C(3)	2596(2)	3734(4)	9112(2)	31(1)
C(4)	1800(2)	3586(4)	8137(2)	32(1)
C(5)	2392(2)	4518(4)	7510(2)	27(1)
C(6)	2253(2)	3593(4)	6730(2)	29(1)
C(7)	2750(2)	4234(4)	6050(2)	29(1)
C(8)	2480(2)	3388(4)	5241(2)	29(1)
C(9)	1592(3)	1614(5)	4888(2)	38(1)
C(10)	3066(2)	6501(4)	7802(2)	28(1)
C(11)	682(3)	1984(5)	3940(2)	40(1)
C(12)	1356(3)	2678(4)	3304(2)	36(1)
C(13)	2163(2)	4593(4)	3655(2)	28(1)
C(14)	3098(2)	4061(4)	4589(2)	32(1)
C(15)	4013(3)	5872(5)	4806(2)	44(1)
C(16)	4125(3)	6475(7)	3901(2)	54(1)
C(17)	3121(3)	5197(5)	3190(2)	34(1)
C(18)	1322(3)	6403(5)	3715(2)	39(1)
C(19)	2925(3)	8146(4)	7287(2)	37(1)
C(20)	2701(3)	6249(4)	2270(2)	36(1)
C(21)	3842(3)	6747(6)	1990(2)	53(1)
C(22)	1780(3)	4945(5)	1554(2)	43(1)
C(23)	647(4)	5625(9)	1059(3)	72(1)
C(24)	2251(5)	2887(6)	1379(3)	75(1)
C(25)	2065(3)	7456(5)	9314(2)	40(1)
O(1)	4557(2)	8394(3)	9064(1)	32(1)
O(2)	3618(2)	2297(3)	9290(2)	36(1)
O(3)	2142(3)	8200(4)	2323(2)	60(1)

## 参考文献

- 1) Feldman, D.; Wesley Pike, J.; Adam, J. S.; *Vitamin D, Third edition*; Elsevier Academic Press: Burlington, **2011**.
- 2) Haussler, M. R.; Whitfield, G. K.; Kaneko, I.; Haussler, C. A.; Hsieh, D.; Hsieh, J.-C.; Jurutka, P. W. Molecular mechanisms of vitamin D action. *Calcified Tissue Int.*, **2013**, *92*, 77-98.
- 3) Bikle, D. Nonclassic actions of vitamin D. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, **2009**, *96*, 26-34.
- 4) Wang, Y.; Zhu, J.; DeLuca, H. F. Where is the vitamin D receptor? *Archiv. Biochem. Biophys.*, **2012**, *523*, 123-133.
- 5) Norman, A. W. Vitamin D Receptor: New Assignments for an Already Busy Receptor. *Endocrinology*, **2006**, *147*, 5542-5548.
- 6) Plum, L. A.; DeLuca, H. F. Vitamin D, disease and therapeutic opportunities. *Nat. Rev. Drug Disc.*, **2010**, *9*, 941-955.
- 7) Bouillon, R.; Okamura, W. H.; Norman, A. W. Structure-function relationships in the vitamin D endocrine system. *Endocrine Rev.*, **1995**, *16*, 200-257.
- 8) Yamada, S.; Shimizu, M.; Yamamoto, K. Structure-function relationships of vitamin D including ligand recognition by the vitamin D receptor *Med. Res. Chem.* **2003**, *23*, 89-115.
- 9) Miura, D.; Manabe, K.; Ozono, K.; Saito, M.; Gao, Q.; Norman, A. W.; Ishizuka, S. Antagonistic action of novel 1 $\alpha$ ,25-dihydroxyvitamin D<sub>3</sub>-26,23-lactone analogs on differentiation of human leukemia cells (HL-60) induced by 1 $\alpha$ ,25-dihydroxyvitamin D<sub>3</sub>. *J. Biol. Chem.*, **1999**, *274*, 16392-16399.
- 10) Ishizuka, S.; Miura, D.; Ozono, K.; Saito, M.; Eguchi, H.; Chokki, M.; Norman, A. W. (23*S*)- and (23*R*)-25-dehydro-1 $\alpha$ -hydroxyvitamin D<sub>3</sub>-26,23-lactone function as antagonists of vitamin D receptor-mediated genomic actions of 1 $\alpha$ ,25-dihydroxyvitamin D<sub>3</sub>. *Steroids*, **2001**, *66*, 227-237.

- 11) Sawada, N.; Kusudo, T.; Sakaki, T.; Hatakeyama, S.; Hanada, M.; Abe, D.; Kamao, M.; Okano, T.; Ohta, M.; Inouye, K. Novel metabolism of 1 $\alpha$ ,25-dihydroxyvitamin D<sub>3</sub> with C<sub>24</sub>-C<sub>25</sub> bond cleavage catalyzed by Human CYP24A1. *Biochemistry*, **2004**, *43*, 4530-4537.
- 12) Cheng, J. B.; Levine, M. A.; Bell, N. H.; Mangelsdorf, D.; Russell, D. W. Genetic evidence that the human CYP2R1 enzyme is a key vitamin D 25-hydroxylase. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, **2004**, *101*, 7711-7715.
- 13) Cali, J. J.; Hsieh, C. L.; Francke, U.; Russell, D. W. Mutations in the bile acid biosynthetic enzyme sterol 27-hydroxylase underlie cerebrotendinous xanthomatosis. *J. Biol. Chem.*, **1991**, *266*, 7779-7783.
- 14) Gupta, R. P.; Hollis, B. W.; Patel, S. B.; Patrick, K. S.; Bell, N. H. CYP3A4 is a human microsomal vitamin D 25-hydroxylase. *J. Bone Miner. Res.*, **2004**, *19*, 680-688.
- 15) Bikle, D. D. Extra renal synthesis of 1,25-dihydroxyvitamin D and its health implications. *Clinic. Rev. Bone Miner. Metab.*, **2009**, *7*, 114-125.
- 16) Dauben, W. G.; Phillips, R. B. Effects of wavelength on the photochemistry of provitamin D<sub>3</sub>. *J. Am. Chem. Soc.*, **1982**, *104*, 5780-5781.
- 17) Noman, A. W.; Mizwicki, M. T.; Norman, D. P. G. Steroid-hormone rapid actions, membrane receptors and a conformational ensemble model. *Nature Rev. Drug Discovery*, **2004**, *3*, 27-41.
- 18) Okamura, W. H.; Norman, A. W.; Wing, R. M. Vitamin D: concerning the relationship between molecular topology and biological function. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, **1974**, *71*, 4194-4197.
- 19) Eguchi, T.; Ikekawa, N. Conformational analysis of 1 $\alpha$ ,25-dihydroxyvitamin D<sub>3</sub> by nuclear magnetic resonance. *Bioorg. Chem.*, **1990**, *18*, 19-29.
- 20) Eguchi, T.; Kakimura, K.; Ikekawa, N. Synthesis of 1 $\alpha$ -[19-<sup>13</sup>C]hydroxyvitamin D<sub>3</sub> and <sup>13</sup>C NMR analysis of the conformational equilibrium of the A-ring. *Bioorg. Chem.*, **1991**, *19*, 327-332.

- 21) Okamura, W. H.; Midland, M. M.; Hammond, M. W.; Rahman, N. A.; Dormanen, M. C.; Nemere, I.; Norman, A. W. Chemistry and conformation of vitamin D molecules. *J. Steroid Biochem. Molec. Biol.*, **1995**, *53*, 603-613.
- 22) Rochel, N.; Wurtz, J. M.; Mitschler, A.; Klaholz, B.; Moras, D. The crystal structure of the nuclear receptor for vitamin D bound to its natural ligand. *Mol. Cell*, **2000**, *5*, 173-179.
- 23) Mangelsdorf D. J.; Thummel, C.; Beato, M.; Herrlich, P.; Schütz, G.; Umesono, K.; Blumberg, B.; Kastner, P.; Mark, M.; Chambon, P.; Evans, R. M. The nuclear receptor superfamily: The second decade. *Cell*, **1995**, *83*, 835-839.
- 24) Rochel, N.; Ciesielski, F.; Godet, J.; Moman, E.; Roessle, M.; Peluso-Iltis, C.; Moulin, M.; Haertlein, M.; Callow, P.; Mely, Y.; Svergun, D. I.; Moras, D. Common architecture of nuclear receptor heterodimers on DNA direct repeat elements with different spacings. *Nature Struct. Mol. Biol.*, **2011**, *18*, 564-570.
- 25) Zhang, J.; Chalmers, M. J.; Stayrook, K. R.; Burriss, L. L.; Wang, Y.; Busby, S. A.; Pascal, B. D.; Garcia-Ordenez, R. D.; Bruning, J. B.; Istrate, M. A.; Kojetin, D. J.; Dodge, J. A.; Burriss, T. P.; Griffin, P. R. DNA binding alters coactivator interaction surfaces of the intact VDR-RXR complex. *Nature Struct. Mol. Biol.*, **2011**, *18*, 556-563.
- 26) Orlov, I.; Rochel, N.; Moras, D.; Klaholz, B. P. Structure of the full human RXR/VDR nuclear receptor heterodimer complex with its DR3 target DNA. *EMBO. J.*, **2012**, *31*, 291-300.
- 27) Christakos, S.; Dhawan, P.; Verstuyf, A.; Verlinden, L.; Carmeliet, G.; Vitamin D: metabolism, molecular mechanism of action, and pleiotropic effects. *Physiol. Rev.*, **2016**, *96*, 365-408.
- 28) Lösel, R.; Wehling, M. Nongenomic actions of steroid hormones. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.*, **2003**, *4*, 46-55.
- 29) Norman, A. W.; Okamura, W. H.; Hammond, M. W.; Bishop, J. E.; Dormanen, M. C.; Bouillon, R.; van Baelen, H.; Ridall, A. L.; Daane, E.; Khoury, R.; Farach-Carson, M. C.

- Comparison of 6-s-cis- and 6-s-trans-locked analogs of 1 $\alpha$ ,25-dihydroxyvitamin D<sub>3</sub> indicates that the 6-s-cis conformation is preferred for rapid nongenomic biological responses and that neither 6-s-cis- nor 6-s-trans-locked analogs are preferred for genomic biological responses. *Mol. Endocrinol*, **1997**, *11*, 1518-1531.
- 30) Mizwicki, M. T.; Keidel, D.; Bula, C. M.; Bishop, J. E.; Zanello, L. P.; Wurtz, J. M.; Moras, D.; Norman, A. W. Identification of an alternative ligand-binding pocket in the nuclear vitamin D receptor and its functional importance in 1 $\alpha$ ,25(OH)<sub>2</sub>-vitamin D<sub>3</sub> signaling. *Proc. Natl. Acad Sci U.S.A.*, **2004**, *101*, 12876-12881.
- 31) Wang, J. T.; Lin, C. J.; Burridge, S. M.; Fu, G. K.; Labuda, M.; Portale, A. A.; Miller, W. L. Genetics of vitamin D 1 $\alpha$ -hydroxylase deficiency in 17 families. *Am. J. Hum. Genet.*, **1998**, *63*, 1694-1702.
- 32) Sakaki, T.; Yasuda, K.; Kittaka, A.; Yamamoto, K.; Chen, T. C. CYP24A1 as a potential target for cancer therapy. *Anti-Cancer Agents in Medicinal Chemistry*, **2014**, *14*, 97-108.
- 33) Li, J.; Byrne, M. E.; Chang, E.; Jiang, Y.; Donkin, S. S.; Buhman, K. K.; Bugess, J. R.; Teegarden, D. 1 $\alpha$ ,25-Dihydroxyvitamin D hydroxylase in adipocytes. *J. Steroid Biochem. Mol. Biol.*, **2008**, *112*, 122-126.
- 34) Kayaniyil, S.; Vieth, R.; Retnakaran, R.; Knight, J.A.; Qi, Y.; Gerstein, H.C.; Perkins, B. A.; Harris, S. B.; Zinman, B.; Hanley, A.J. Association of vitamin D with insulin resistance and  $\beta$ -cell dysfunction in subjects at risk for type 2 diabetes. *Diabetes Care*, **2010**, *33*, 1379-1381.
- 35) Noman, A. W.; Bouillon, R. Vitamin D nutritional policy needs a vision for the future. *Experimental Biology and Medicine*, **2010**, *235*, 1034-1045.
- 36) Dai, H.; Posner, G. H. Synthetic approaches to vitamin D. *Synthesis*, **1994**, *12*, 1383-1398.
- 37) Murayama, E.; Miyamoto, K.; Kubodera, N.; Mori, T.; Matsunaga, I.; Synthetic studies of vitamin D<sub>3</sub> analogues. VIII. : synthesis of 22-oxavitamin D<sub>3</sub> analogues. *Chem. Pharm. Bull.*, **1986**, *39*, 4410-4413.

- 38) Boehm, M. F.; Fitzgerald, P.; Zou, A.; Elgort, M. G.; Bischoff, E. D.; Mere, L.; Mais, D. E.; Bissonnette, R. P.; Heyman, R. A.; Nadzan, A. M.; Reichman, M.; Allegretto, E. A. Novel nonsecosteroidal vitamin D mimics exert VDR-modulating activities with less calcium mobilization than 1,25-dihydroxyvitamin D<sub>3</sub>, *Chem. Biol.*, **1999**, *6*, 265-275.
- 39) Kashiwagi, H.; Ono, Y.; Shimizu, K.; Haneishi, T.; Ito, S.; Iijima, S.; Kobayashi, T.; Ichikawa, F.; Harada, S.; Sato, H.; Sekiguchi, N.; Ishigai, M.; Takahashi, T. Novel nonsecosteroidal vitamin D<sub>3</sub> carboxylic acid analogs for osteoporosis, and SAR analysis. *Bioorg. Med. Chem.*, **2011**, *19*, 4721-4729.
- 40) Fujishima, T.; Konno, K.; Nakagawa, K.; Kurobe, M.; Okano, T.; Takayama, H.; Efficient synthesis and biological evaluation of all A-ring diastereomers of 1 $\alpha$ ,25-dihydroxyvitamin D<sub>3</sub> and its 20-epimer. *Bioorg. Med. Chem.*, **2000**, *8*, 123-134.
- 41) Molnár, F.; Sigüeiro, R.; Sato, Y.; Araujo, C.; Schuster, I.; Antony, P.; Peluso, J.; Muller, C.; Mouriño, A.; Moras, D.; Rochel, N. 1 $\alpha$ ,25(OH)<sub>2</sub>-3*epi*-vitamin D<sub>3</sub>, a natural physiological metabolite of vitamin D<sub>3</sub>: its synthesis, biological activity and crystal structure with its receptor. *PLoS. One*, **2011**, *6*, e18124.
- 42) Reddy, G. S.; Rao, D. S.; Siu-Caldera, M. L.; Astecker, N.; Weiskopf, A.; Vouros, P.; Sasso, G. J.; Manchand, P. S.; Uskokovic, M. R. 1 $\alpha$ ,25-dihydroxy-16-ene-23-yne-vitamin D<sub>3</sub> and 1 $\alpha$ ,25-dihydroxy-16-ene-23-yne-20-*epi*-vitmain D<sub>3</sub>: Analogs of 1 $\alpha$ ,25-dihydroxyvitmain D<sub>3</sub> that resist metabolism through the C-24 oxidation pathway are metabolized through the C-3 epimerization pathway. *Arch. Biochem. Biophys.*, **2000**, *383*, 197-205.
- 43) Rhieu, S. Y.; Annalora, A. J.; Wang, G.; Flarakos, C. C.; Gathungu, R. M.; Vouros, P.; Sigüeiro, R.; Mouriño, A.; Schuster, I.; Palmore, G. T. R.; Reddy, G. S. Metabolic stability of 3-*epi*-1 $\alpha$ ,25-dihydroxyvitamin D<sub>3</sub> over 1 $\alpha$ ,25-dihydroxyvitamin D<sub>3</sub>: metabolism and molecular docking studies using rat CYP24A1. *J. Cell. Biochem.*, **2013**, *114*, 2293-2305.
- 44) Norman, A. W.; Bouillon, R.; Farach-Carson, M. C.; Bishop, J. E.; Zhou, L. X.; Nemere, I.; Zhao, J.; Muralidharan, K. R.; Okumura, W. H. Demonstration that 1



- beta,25-dihydroxyvitamin D<sub>3</sub> is an antagonist of the nongenomic but not genomic biological responses and biological profile of the three A-ring diastereomers of 1 $\alpha$ ,25-dihydroxyvitamin D<sub>3</sub>. *J. Biol. Chem.*, **1993**, *268*, 20022-20030.
- 45) Eigenman, H. K.; Golden, D. M.; Benson, S. W. Revised group additivity parameters for the enthalpies of formation of oxygen-containing organic compounds. *J. Phys. Chem.*, **1973**, *77*, 1687-1691.
- 46) Shimada, N.; Hasegawa, S.; Harada, T.; Tomisawa, T.; Fujii, A.; Takita, T. Oxetanocin, a novel nucleoside from bacteria. *J. Antibiot.*, **1986**, *39*, 1623.
- 47) Hoshino, H.; Shimizu, N.; Shimada, N.; Takita, T.; Takeuchi, T. Inhibition of infectivity of human immunodeficiency virus by oxetanocin. *J. Antibiot.*, **1987**, *40*, 1077-1078.
- 48) Omura, S.; Murata, M.; Imamura, N.; Iwai, Y.; Tanaka, H.; Furusaki, A.; Matsumoto, T. Oxetin, a new antimetabolite from an actinomycete fermentation, isolation, structure and biological activity. *J. Antibiot.*, **1984**, *37*, 1324-1332.
- 49) Luger, P.; Buschmann, J. Oxetane: the first x-ray analysis of a nonsubstituted four-membered ring. *J. Am. Chem. Soc.*, **1984**, *106*, 7118-7121.
- 50) Burkhard, J. A.; Wuitschik, G.; Rogers-Evans, M.; Müller, K.; Carreira, E. M. Oxetanes as versatile elements in drug discovery and synthesis. *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2010**, *49*, 9052-9067.
- 51) Searles, S.; Tamres, M. Hydrogen bond formation with saturated cyclic ethers. *J. Am. Chem. Soc.*, **1951**, *73*, 3704-3706.
- 52) Bradon, M.; Tamres, O. P. M.; Searles, S. Jr. The iodine complex of some saturated cyclic ethers. 1S2 I. The visible region. *J. Am. Chem. Soc.*, **1960**, *82*, 2129-2134.
- 53) West, R.; Powell, D. L.; Lee, M. K. T.; Whatley, L. S. Hydrogen bonding studies. IX. The thermodynamics of hydrogen bonding of phenol to ethers and related compounds. *J. Am. Chem. Soc.*, **1964**, *86*, 3227-3229.
- 54) Besseau, F.; Luçon, M.; Laurence, C.; Berthelot, M. Hydrogen-bond basicity pK<sub>HB</sub> scale of

- aldehydes and ketones. *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 2*, **1998**, 101-108.
- 55) Berthelot, M.; Besseau, F.; Laurence, C. The hydrogen-bond basicity  $pK_{HB}$  scale of peroxides and ethers. *Eur. J. Org. Chem.*, **1998**, 1998, 925-931.
- 56) Nakano, Y.; Tsutsumi, H. Ionic conductive properties of solid polymer electrolyte based on poly(oxetane) with branched side chains of terminal nitrile groups. *Solid State Ionics*, **2014**, *262*, 774-777.
- 57) Nakano, Y.; Shinke, K.; Ueno, K.; Tsutsumi, H. Solid polymer electrolytes prepared from poly(methacrylamide) derivative having tris(cyanoethoxymethyl) group as its side chain. *Solid State Ionics*, **2016**, *286*, 1-6.
- 58) Wuitschik, G.; Rogers-Evans, M.; Müller, K.; Fischer, H.; Wagner, B.; Schuler, F.; Polonchuk, L.; Carreira, E.M. Oxetanes as promising modules in drug discovery. *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2006**, *45*, 7736-7739.
- 59) Wuitschik, G.; Rogers-Evans, M.; Buckl, A.; Bernasconi, M.; Märki, M.; Godel, T.; Fischer, H.; Wagner, B.; Parrilla, I.; Schuler, F.; Schneider, J.; Alker, A.; Schweizer, W. B.; Müller, K.; Carreira, E. M. Spirocyclic oxetanes: synthesis and properties. *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2008**, *47*, 4512-4515.
- 60) Wuitschik, G.; Carreira, E. M.; Wagner, B.; Fischer, H.; Parrilla, I.; Schuler, F.; Rogers-Evans, M.; Müller, K. Oxetanes in drug discovery. *J. Med. Chem.*, **2010**, *53*, 3227-3246.
- 61) Fujishima, T.; Nozaki, T.; Suenaga, T. Design and synthesis of novel 1,25-dihydroxyvitamin D<sub>3</sub> analogues having a spiro-oxetane fused at the C2 position in the A-ring. *Bioorg. Med. Chem.*, **2013**, *21*, 5209-5217.
- 62) Fujishima, T.; Suenaga, T.; Nozaki, T. Synthetic strategy and biological activity of A-ring stereoisomers of 1,25-dihydroxyvitamin D<sub>3</sub> and C2-modified analogues. *Current Topics Med. Chem.*, **2014**, *14*, 2446-2453.
- 63) Burkhard, J. A.; Wuitschik, G.; Plancher, J. M.; Rogers-Evans, M.; Carreira, E. M.

- Synthesis and stability of oxetane analogs of Thalidomide and Lenalidomide. *Org. Lett.* **2013**, *15*, 4312-4315.
- 64) Bull, J. A.; Croft, R. A.; Davis, O. A.; Doran, R.; Morgan, K. F. Oxetanes: recent advances in synthesis, reactivity, and medicinal chemistry. *Chem. Rev.*, **2016**, *116*, 12150-12233.
- 65) Trost, B. M.; Dumas, J.; Villa, M. New strategies for the synthesis of vitamin D metabolites via Pd-catalyzed reactions. *J. Am. Chem. Soc.*, **1992**, *114*, 9836-9845.
- 66) Wang, Z.; Lin, Y. S.; Zheng, X. E.; Senn, T.; Hashizume, T.; Scian, M.; Dickmann, L. J.; Nelson, S. D.; Baillie, T. A.; Hebert, M. F.; Blough, D.; Davis, C. L.; Thummel, K.E. An inducible cytochrome P450 3A4-dependent vitamin D catabolic pathway. *Molecular Pharmacology*, **2012**, *81*, 498-509.
- 67) Rao, D. S.; Dayal, R.; Siu-Caldera, M. L.; Horst, R. L.; Uskokovic, M. R.; Tserng, K. Y.; Reddy, G. S. Isolation and identification of 4,25-dihydroxyvitamin D<sub>2</sub>: a novel A-ring hydroxylated metabolite of vitamin D<sub>2</sub>. *J. Steroid Biochem. Molec. Biol.*, **1999**, *71*, 63-70.
- 68) Corey, E. J.; Fuchs, P. L. A synthetic method for formyl→ethynyl conversion (RCHO→RCCH or RCCR') *Tetrahedron Lett.*, **1972**, *13*, 3769-3772.
- 69) Yang, F. Y.; Newsome, J. J.; Curran, D. P. Structure assignment of lagunapyrone B by fluororous mixture synthesis of four candidate stereoisomers. *J. Am. Chem. Soc.*, **2006**, *128*, 14200-14205.
- 70) Dale, J. A.; Mosher, H. S. Nuclear magnetic resonance enantiomer reagents. Configurational correlations via nuclear magnetic resonance chemical shifts of diastereomeric mandelate, *O*-methylmandelate, and  $\alpha$ -methoxy- $\alpha$ -trifluoromethylphenylacetate (MTPA) esters. *J. Am. Chem. Soc.*, **1973**, *95*, 512-519.
- 71) Harada, N.; Iwabuchi, J.; Yokota, Y.; Uda, H.; Nakanishi, K. A chiroptical method for determining the absolute configuration of allylic alcohols. *J. Am. Chem. Soc.*, **1981**, *103*, 5590-5591.
- 72) Harada, N.; Iwabuchi, J.; Yokota, Y.; Uda, H.; Ochi, M. The absolute stereochemistry of

- isoamijiol, a dolastane diterpene, as determined by the C.D. Allylic benzoate method. *J. Chem. Soc., Chem. Commun.*, **1984**, 1220-1221.
- 73) Fukushi, Y.; Yajima, C.; Mizutani, J.; Tahara, S. Tricyclic sesquiterpenes from *rudbeckia laciniata* in honour of professor G. H. Neil Towers 75th birthday. *Phytochemistry*, **1998**, *49*, 593-600.
- 74) Wei, H.; Itoh, T.; Kinoshita, M.; Kotoku, N.; Aoki, S.; Kobayashi, M. Shimalactone A, a novel polyketide, from marine-derived fungus *Emericella varicolor* GF10. *Tetrahedron*, **2005**, *61*, 8054-8058.
- 75) Harada, N.; Nakanishi, K. Exciton chirality method and its application to configurational and conformational studies of natural products. *Acc. Chem. Res.*, **1972**, *5*, 257-263.
- 76) Guryev, O.; Carvalho, R. A.; Usanov, S.; Gilep, A.; Estabrook, R. W. A pathway for the metabolism of vitamin D<sub>3</sub>: Unique hydroxylated metabolites formed during catalysis with cytochrome P450<sub>scc</sub> (CYP11A1). *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, **2003**, *100*, 14754-14759.
- 77) Slominski, A.; Semak, I.; Zjawiony, J.; Wortsman, J.; Li, W.; Szczesniewski, A.; Tuckey, R. C. The cytochrome P450<sub>scc</sub> system opens an alternate pathway of vitamin D<sub>3</sub> metabolism. *FEBS J* **2005**, *272*, 4080-4090.
- 78) John, M. E.; John, M. C.; Ashley, P.; MacDonald, R. J.; Simpson, E. R.; Waterman, M. R. Identification and characterization of cDNA clones specific for cholesterol side-chain cleavage cytochrome P-450. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, **1984**, *81*, 5628-5632.
- 79) Pikuleva, I. A. Cytochrome P450s and cholesterol homeostasis. *Pharmacol. Therapeutics*, **2006**, *112*, 761-773.
- 80) Tuckey, R. C.; Slominski, A. T.; Chnenga, Y. S.; Chen, J.; Kim, T. K.; Xiao, M.; Li, W. Lumisterol is metabolized by CYP11A1: Discovery of a new pathway. *Int. J. Biochem. Cell Biol.*, **2014**, *55*, 24-34.
- 81) Tieu, E. W.; Li, W.; Chen, J.; Baldisseri, D. M.; Slominski, A. T.; Tuckey, R. C. Metabolism of cholesterol, vitamin D<sub>3</sub> and 20-hydroxyvitamin D<sub>3</sub> incorporated into phospholipid

- vesicles by human CYP27A1. *J. Steroid Biochem. Molec. Biol.*, **2012**, *129*, 163-171.
- 82) Tang, E. K.; Chen, J.; Janjetovic, Z.; Tieu, E. W.; Slominski, A. T.; Li, W.; Tuckey, R.C. Hydroxylation of CYP11A1-derived products of vitamin D<sub>3</sub> metabolism by human and mouse CYP27B1. *Drug Metab. Dispos. Biol. Fate Chem.*, **2013**, *41*, 1112-1124.
- 83) Slominski, A.; Semak, I.; Zjawiony, J.; Wortsman, J.; Li, W.; Szczesniewski, A.; Tuckey, R. C. The cytochrome P450<sub>scc</sub> system opens an alternate pathway of vitaminD<sub>3</sub> metabolism, *FEBS J.* **2005**, *272*, 4080–4090.
- 84) Andrzej T. Slominski, A.T.; Kim, T. K.; Shehabi, H. Z.; Semak, I.; Tang, E. K. Y.; Nguyen, M. N.; Benson, H. A. E.; Korik, E.; Janjetovic, Z.; Chen, J.; Yates, C. R.; Postlethwaite, A.; Li, W.; Tuckey, R. C. In vivo evidence for a novel pathway of vitamin D<sub>3</sub> metabolism initiated by P450<sub>scc</sub> and modified by CYP27B1. *FASEB.*, **2012**, *26*, 3901-3915.
- 85) Zbyetek, B.; Janjetovic, Z.; Tuckery, R. C.; Zmijewski, M. A.; Sweatman, T. W.; Jones, E.; Nguyen, M. N.; Slominski, A. T. 20-Hydroxyvitamin D<sub>3</sub>, a product of vitamin D<sub>3</sub> hydroxylation by cytochrome P450<sub>scc</sub>, stimulates keratinocyte differentiation. *J. Invest. Dermatol.*, **2008**, *128*, 2271-2280.
- 86) Jantovic, Z.; Zmijewski, M. A.; Tuckery, R. C.; DeLeon, D. A.; Nguyen, M. N.; Pfeffer, L. M.; Slominski, A. T. 20-Hydroxycholecalciferol, product of vitamin D<sub>3</sub> hydroxylation by P450<sub>scc</sub>, decreases NF-κB activity by increasing IκBα levels in human keratinocytes. *PLoS ONE.*, **2009**, *4*, e5988.
- 87) Tieu, E. W.; Tang, E. K. Y.; Chen, J.; Li, W.; Nguyen, M. N.; Janjetovic, Z.; Slominski, A.; Tuckey, R. C. Rat CYP24A1 acts on 20-hydroxyvitamin D<sub>3</sub> producing hydroxylated products with increased biological activity. *Biochemical pharmacology*, **2012**, *84*, 1696-1704.
- 88) Slominski, A. J.; Janjetovic, Z.; Fuller, B. E.; Zmijewski, M. A.; Tuckey, R. C.; Nguyen, M. N.; Sweatman, T.; Li, W.; Zjawiony, J.; Miller, D.; Chen, T. C.; Lozanski, G.; Holick, H. F. Products of vitamin D<sub>3</sub> or 7-dehydrocholesterol metabolism by cytochrome P450<sub>scc</sub> show

- anti-leukemia effects, having low or absent calcemic activity. *PloS. ONE.*, **2010**, *5*, e9907.
- 89) Wang, J.; Slominski, A.; Tuckey, R. C.; Janjetovic, Z.; Kulkarni, A.; Chen, J.; Postlethwaite A. E.; Miller, D.; Li, W. 20-Hydroxyvitamin D<sub>3</sub> inhibits proliferation of cancer cells with high efficacy while being non-toxic. *Anticancer Research*, **2012**, *32*, 739-746.
- 90) Lin, Z.; Marepally, S. R.; Ma, D.; Kim, T. K.; Oak, A. S. W.; Myers, L. K.; Tuckey, R. C.; Slominski, A. T.; Miller, D. D.; Li, W. Synthesis and biological evaluation of vitamin D<sub>3</sub> metabolite 20S,23S-dihydroxyvitamin D<sub>3</sub> and its 23R epimer. *J. Med. Chem.*, **2016**, *59*, 5102-5108.
- 91) Ishigai, M.; Arai, S.; Ishitani, Y.; Kumaki, K. *In vivo* metabolism of the vitamin D analog, 22-Oxacalcitriol: evidence for side-chain truncation and 17-hydroxylation. *J. Steroid Biochem. Molec. Biol.*, **1998**, *66*, 281-293.
- 92) Slominski, A. T.; Kim, T. K.; Li, W.; Yi, A. K.; Postlethwaite, A.; Tuckey, R. C. The role of CYP11A1 in the production of vitamin D metabolites and their role in the regulation of epidermal functions. *J. Steroid Biochem. Molec. Biol.*, **2014**, *144*, 28-39.
- 93) Slominski, A.; Zjawiony, J.; Wortsman, J.; Semak, I.; Stewart, J.; Pisarchik, A.; Sweatman, T.; Marcos, J.; Dunbar, C.; Tuckey, R. C. A novel pathway for sequential transformation of 7-dehydrocholesterol and expression of the P450<sub>scc</sub> system in mammalian skin. *Eur. J. Biochem.*, **2004**, *271*, 4178-4188.
- 94) Slominski, A.; Kim, T. K.; Zmijewski, M. A.; Janjetovic, Z.; Li, W.; Chen, J.; Kusniatsova, E. I.; Semak, I.; Postlethwaite, A.; Miller, D.; Zjawiony, J.; Tuckey, R. C. Novel vitamin D photoproducts and their precursors in the skin, *Dermato-endocrinology*, **2013**, *5*, 7-19.
- 95) Imamoto, T.; Takiyama, N.; Nakamura, K.; Hatajima, T.; Kamiya, Y. Reactions of carbonyl compounds with Grignard reagents in the presence of cerium chloride. *J. Am. Chem. Soc.*, **1989**, *III*, 4392-4398.
- 96) Shibuya, M.; Ito, S.; Takahashi, M.; Iwabuchi, Y.; Oxidative rearrangement of cyclic tertiary allylic alcohols with IBX in DMSO. *Org. Lett.*, **2004**, *6*, 4303-4306.

- 97) Tocchini-Valentini, G.; Rochel, N.; Wurtz, J. M.; Mitschler, A.; Moras, D. Crystal structures of the vitamin D receptor complexed to superagonist 20-epi liogand. *Proc. Natl. Acad Sci U.S.A.*, **2001**, *98*, 5491-5496.
- 98) Saito, N.; Suhara, Y.; Kurihara, M.; Fujishima, T.; Honzawa, S.; Takayanagi, H.; Kozono, T.; Matsumoto, M.; Ohmori, M.; Miyama, N.; Takayama, H.; Kittaka, A. Design and efficient synthesis of 2 $\alpha$ -( $\omega$ -Hydroxyalkoxy)-1 $\alpha$ ,25-dihydroxyvitamin D<sub>3</sub> analogues, including 2-epi-ED-71 and their 20-epimers with HL-60 cell differentiation Activity. *J. Org. Chem.*, **2004**, *69*, 7463-7471.
- 99) 山菅真基 新規イソプロピル基導入方法を用いたビタミン D 誘導体の合成研究, 徳島文理大学香川薬学部 卒業論文, **2013**.
- 100) 大西翔太 側鎖切断型 20 位ヒドロキシビタミン D 誘導体の合成研究, 徳島文理大学香川薬学部 卒業論文, **2014**.
- 101) 末長努 20 位ヒドロキシビタミン D 誘導体の設計と合成, 徳島文理大学大学院香川薬学研究科 修士論文, **2013**.

## 謝辞

本研究を遂行するにあたり、懇篤なるご指導、ご鞭撻を賜りました徳島文理大学香川薬学部 教授 藤島利江先生に深く感謝致します。

本論文を査読していただき、有益なる御助言と御教示賜りました徳島文理大学香川薬学部 教授 山口健太郎先生、教授 代田修先生、准教授 富永昌英先生ならび東邦大学薬学部 教授 東屋功先生に心より感謝致します。

本研究において X 線結晶解析に関してご指導を賜りました徳島文理大学 教授 山口健太郎先生、講師 川幡正俊先生に感謝致します。

本研究において元素分析を実施して下さいました首都大学東京 大学院都市環境科学研究科 准教授 瀬高渉先生、甲南大学理工学部 助教 片桐幸輔先生、大阪大学薬学部 助教 駒川晋輔先生に深く御礼申し上げます。

研究実験に際し、ご手伝い下さった学生諸氏に感謝致します。

本研究の実施には多くの皆様に多大なる御協力と御支援をいただきました。心より厚く御礼申し上げます。

最後に、十年間という長い大学生活を絶えず支え続けてくれた両親に心から感謝致します。