

博士論文

シロノタモギタケモドキ由来のセスキテルペノイド  
Pleurospiroketal 類の合成研究

帶津陽一

## 目次

略語表	1
序論	3
本論	
第一章 背景	
1.1. 序文	6
1.2. Pleurospiroketal 類の単離と活性	8
1.3. Pleurospiroketal 類の生合成	10
1.4. 一酸化窒素産生阻害活性について	13
1.5. 他のグループによる pleurospiroketal 類の合成研究	16
第二章 Pleurospiroketal A および B の合成研究	
2.1. 逆合成解析	18
2.2. Pleurospiroketal A の合成研究	20
第三章 Pleurospiroketal C, D, E の合成研究	
3.1. Pleurospiroketal C, D, E について	55
3.2. 逆合成解析	56
3.3. モデル基質による検討	57
3.4. 今後の展望	59
3.5. 小括	60
結論	62
実験の部	65
引用文献	85



## 略語表

Ac	acetyl
acac	acetylacetonate
Ar	aryl
ben	benzene
Bu	butyl
CD	circular dichroism
COSY	correlation spectroscopy
d	doublet
DBU	1,8-diazabicyclo[5.4.0]undec-7-ene
DCM	dichloromethane
dd	double doublet
DFT	density functional theory
DME	dimethoxy ethane
DMF	<i>N, N</i> -dimethylformamide
DMP	Dess-Martin Periodinane
dr	diastereomeric ratio
<i>ent</i>	enantiomer
HMBC	heteronuclear multiple bond coherence
HMPA	hexamethylphosphoric triamide
HPLC	high performance liquid chromatography
imid	imidazole
KHMDS	potassium hexamethyldisilazide
m	multiplet
mCBA	<i>meta</i> -chlorobenzoic acid
mCPBA	<i>meta</i> -chloroperoxybenzoic acid
MS	mass spectrometry
MTPA	$\alpha$ -Methoxy- $\alpha$ -(trifluoromethyl)phenylacetyl
MVK	methylvinylketone
N	normality
NMR	nuclear magnetic resonance

NOESY	nuclear Overhauser effect spectroscopy
NR	no reaction
PDC	pyridinium dichromate
PG	protecting group
Piv	pivaloyl
ppm	parts per million
PPTS	pyridinium <i>para</i> -toluenesulfonate
Pyr	pyridine
q	quartet
quant	quantitative
rt	room temperature
t	triplet
TBAF	tetrabutylammonium fluoride
TBHP	<i>tert</i> -butyl hydroperoxide
TBS	<i>tert</i> -butyldimethylsilyl
TEA	triethylamine
Tf	trifluoromethanesulfonic
THF	tetrahydrofuran
TMS	trimethylsilyl
tol	toluene
Ts	<i>para</i> -toluenesulfonyl
TS	transition state

## 序論

近年の化学の発展によって、農被害や病気の原因となる生命現象の一部を制御することができるようになった。ここには有機合成化学分野の発展が寄与している。例えば、農学の分野においては、20 世紀前半の dichlorodiphenyltrichloroethane (DDT) の実用化に始まる有機農薬の発展によって農作物の収量の増加や農家の負担軽減をもたらすことに成功した。しばらくしてから、環境汚染の問題および抵抗性を獲得した昆虫の出現という問題が提起されるようになったが<sup>1)</sup>、昆虫の性フェロモン等に注目する研究が大きく発展し、それを人工的に合成して散布することで生物の生殖行動を人為的に操ることができるようになったため、より環境負荷が小さく、抵抗性昆虫が現れにくいという理由でそれを用いた農薬が販売されるようになった<sup>2)</sup>。医学・薬学の分野においては、かつては国民病と呼ばれた結核に対して特効薬である抗生物質 streptomycin (1) が登場し死亡率を激減させることができた<sup>3)</sup>。この他、現在のところは完治が難しいとされている関節リウマチや潰瘍性大腸炎のような免疫疾患に対しても salazosulfapyridine (2) の登場によって患者の身体的な負担を大幅に軽減させることに成功している<sup>4)</sup> (Figure 1.)。

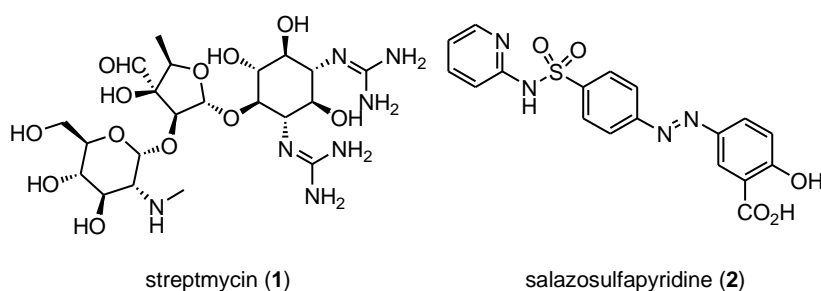


Figure 1. ストレプトマイシンとサラゾスルファピリジンの構造

しかしながら、未だに制御するのが難しい疾病があり、その代表例として悪性新生物 (がん) が挙げられる。2015 年時点で、がんは日本人の死亡原因の第一位であり、1981 年以降年々増加している<sup>5)</sup>。がんに対しては、これまでに対処療法として様々な抗がん剤が開発されてきた。しかしながら、それらが適

用可能ながんの状態や種類は限られており、その多くが正常細胞へ無差別な攻撃を伴い重篤な副作用を引き起こしてしまうため、がんは未だに難治性である。さらに上記に例示した疾病の場合とは異なりその副作用によって患者の身体的な負担が非常に大きくなるため、未だに決定的な治療法は確立されていない。それゆえ、有機合成化学の分野において簡便な化学的修飾などによって既知の有用物質の改良を行ったり、未知の有機化合物の新たな機能を引き出したことで、より副作用が小さく、なおかつより一般的に用いることのできる安価な抗がん剤の開発が早急に求められ続けている。

このような背景のもと、多種多様な生物活性を有する天然有機化合物を資源として、有機合成によって医薬品の種を探索する研究が盛んに行われてきた。Cragg らの報告によると、米国において低分子有機化合物の抗がん剤は 1940 年代から 2014 年までに 175 種類が承認され、そのうち 49%にあたる 85 種類が天然から得られた化合物またはそこから直接派生した化合物であることから、その重要性を伺うことができる<sup>6)</sup>。この傾向は現代においても継続しており、近年もがん細胞に対し細胞毒性を有する新規天然有機化合物の単離が多く報告されている。しかしながら、しばしば天然からは微量にしか単離することができず発見・単離・精製の段階では詳細な作用機序が明らかにされていない場合がある。このような有用天然有機化合物を十分量供給し、その作用機序の解明に貢献し、さらにそれを基に新たな有用物質を見出すためには全合成による試料供給が必要不可欠であり、その全合成経路の確立によって開発される新たな誘導化合物の生物活性試験を行うことも必要となる。

また、全合成が有用な手段となる場面が他にもあり、菌類に由来する二次代謝産物研究はその好例である。この研究領域においては対象となる菌種自体が難培養性などの理由で入手困難であったり、遺伝的要因や環境的要因が原因で二次代謝産物の生産が行われなくなったりといった理由により研究の進行が妨げられる場合がある。このような希少性の高い化合物に対しては、有機合成化学的な手法がその応用研究を進めるための有力な手段となる。

以上をふまえ、筆者は高等菌類の二次代謝産物の一種であり、セスキテルペノイドとしては前例のない **benzannulated 5,5-spirokacetal** 構造を有し、その HeLa 細胞に対する細胞毒性活性のために新規抗がん剤リード化合物としての働きが期待されているセスキテルペノイド **pleurospiroketal** 類に着目し、その

合成研究を行ったので詳細を本論で述べる。



## 本論

### 第1章 背景

#### 1.1. 序文

ヒラタケ属 (*Pleurotus* sp.)は、ヒラタケ科に属するキノコであり、世界でも一般的に栽培されている食用キノコの一つである。主に広葉樹の枯れ木、切り株、生きた木の枯損部などから発生する。

ヒラタケ属キノコは二次代謝産物として多種多様な生物活性物質を産生することが知られている。例えば、*P. mutilus* は抗菌活性を有する mutilin (3)や pleuromutilin (4)を産生する<sup>7)</sup>。他にも、*P. griseus* が産生し細胞毒性および抗菌活性を有する pleurotin (5)を挙げることができる<sup>8)</sup>。また、*P. japonicus* が産生する illudane セスキテルペノイド (6)は細胞毒性を示す<sup>9)</sup> (Figure 2.)。

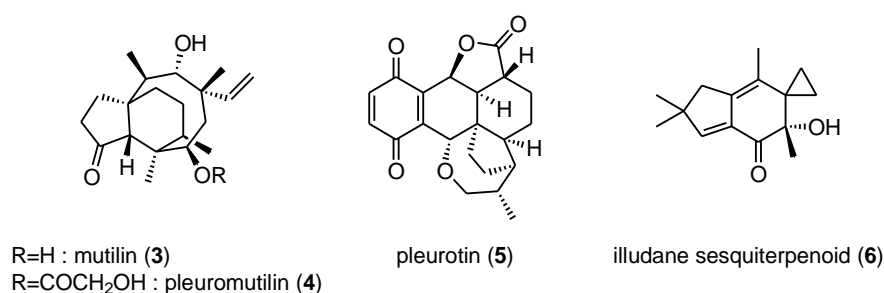
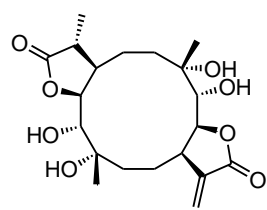
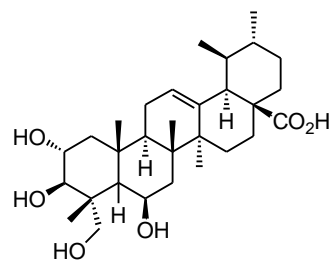


Figure 2. ヒラタケ属キノコから単離された化合物群

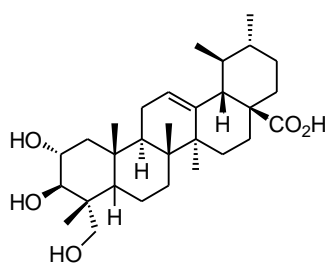
このように多様な生物活性を有するヒラタケ属キノコの一つには、我々が日々食するエリンギ (*P. eryngii*)も属し、同様に数多くの生物活性物質が単離されている。具体的には、抗がん活性物質として eryngiolide (7)、五環性トリテルペノイド (8 - 10)、抗ウイルス活性ペプチドのように医薬品への応用が期待される化合物が報告されている。また、エリンギ抽出物には抗酸化作用、免疫調整機能やエストロゲン様活性があることも報告されている<sup>10)</sup> (Figure 3.)。



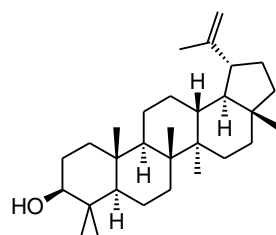
eryngiolide (7)



8



9



10

Figure 3. エリンギから単離された化合物群

## 1.2. Pleurospiroketal 類の単離と活性

前述したようにヒラタケ属キノコからは医薬品への応用が期待される活性を有する天然物が数多く単離されてきた。Pleurospiroketal 類 (11~15)は、2013年に Liu らによってヒラタケ属食用キノコのシロノタモギタケモドキ (*Pleurotus cornucopiae*)の酢酸エチル抽出物より単離が報告されたセスキテルペノイドである <sup>11)</sup> (Figure 4.)。その構造的特徴として、天然には珍しく、なおかつセスキテルペノイドにおいては前例のない benzannulated 5,5-spiroacetal 構造を有することが挙げられる (Figure 5.)。

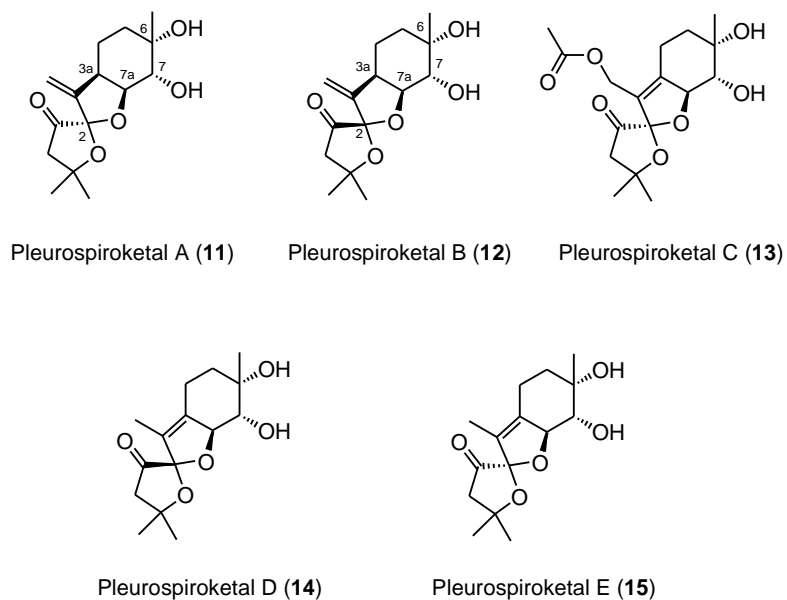


Figure 4. Pleurospiroketal 類の構造

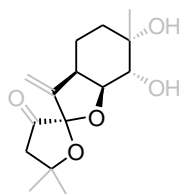
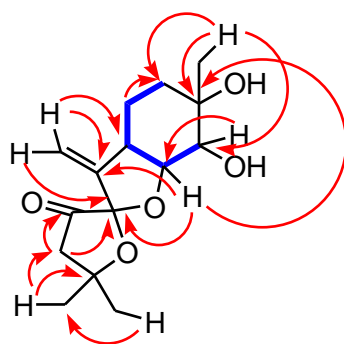


Figure 5. benzannulated 5,5-spiroketal 構造

また、その平面構造は HMBC 相関および  $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$  COSY 相関によって決定された。また、pleurospiroketal A (11)の絶対立体配置は銅線源を用いた単結晶 X 線結晶構造解析によって  $2R,3aR,6S,7R,7aS$  と決定された。

Pleurospiroketal B (12)については C7 位の水酸基を MTPA エステルへと変換することによる改良モッシャー法<sup>12)</sup>、C2 位は CD スペクトルが負のコットン効果<sup>13)</sup>を示したことにより、その絶対立体配置は  $2S,3aR,6S,7R,7aS$  と決定された。



HMBC (H → C)

$^1\text{H}$ - $^1\text{H}$  COSY (—)

Figure 6. Pleurospiroketal 類の構造決定

### 1.3. Pleurospiroketal 類の生合成

先述したように、benzannulated 5,5-spiroacetal 構造を有する天然物は稀であるが、pleurospiroketal 類と基本骨格が類似している天然物に asperketal F がある。Asperketal F はカリブ海に生息するサンゴ *Eunicea asperula* Milne Edwards and Haime より単離されたジテルペノイドであり、その生合成経路は以下のように提唱されている<sup>14)</sup>。すなわち、ゲラニルゲラニル二リン酸 (GGPP) が環化することでテトラエン **A** のような中間体となる。テトラエン **A** の C1 位と C12 位が酸化を受けヘミアセタールを形成することで asperketal A となる。Asperketal A の C15 位が水酸化された後、[5,5]-spiroacetal を構築し asperketal B が得られる。Asperketal B の 5 員環上のオレフィンが選択的に還元されることで asperketal D となった後、cope 転位<sup>15)</sup>が進行することで asperketal F が生合成されるという経路である。

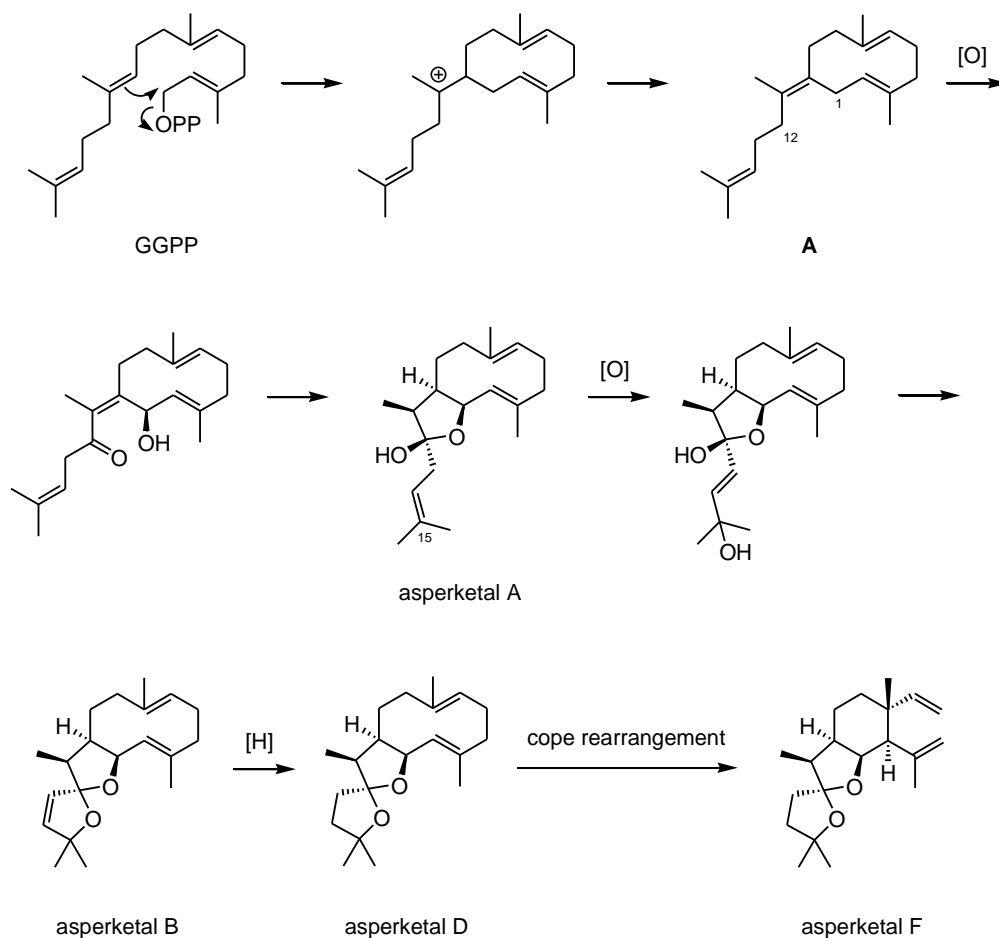


Figure 7. asperketal 類の生合成経路

その一方、pleurospiroketal 類の生合成についての詳細な研究はこれまでに報告されていないが、上記の化合物とは全く異なった経路が単離グループらによって提唱されている<sup>11)</sup>。すなわち、ファルネシル二リン酸の環化によりトリエン **16** が導かれる。トリエン **16** の酸化によりヒドロキシケトン **17** へと導かれる。ヒドロキシケトン **17** も pleurospiroketal 類と同時に *Pleurotus cornucopiae* より単離された既知物質である<sup>11)</sup>。ヒドロキシケトン **17** の C10 位の酸化後、[5,5]-spiroacetal 構造が構築されることで pleurospiroketal 類ができるという生合成経路である。

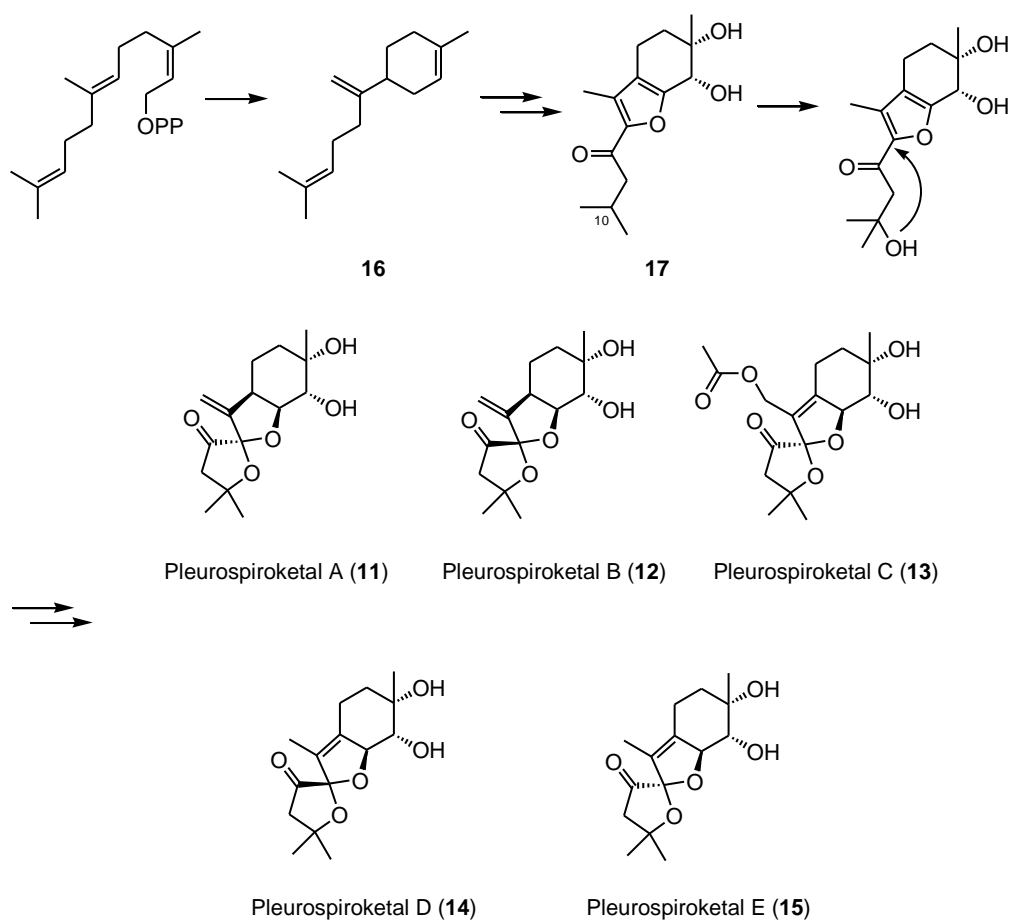


Figure 8. Pleurospiroketal 類の提唱生合成経路

#### 1.4. 一酸化窒素産生阻害活性について

Pleurospiroketal 類のうち pleurospiroketal A-C (**11-13**)に関してリポ多糖 (LPS)で活性化されたマクロファージの一酸化窒素(NO)産生阻害活性が報告されている。NO は不対電子を有するフリーラジカル的一种で、生体内では L-アルギニン (Arg)が NADPH を補酵素とした NO 産生酵素 (NO synthase, NOS)の働きによって L-シトルリンに変換される過程で生成される。NOS には神経型 (neuronal, nNOS)、誘導型 (inducible, iNOS)、内皮型(endothelial, eNOS)の 3 種類が知られている。nNOS、eNOS はそれぞれ主に細胞内情報伝達や血管拡張作用などの役割を担っており、常時細胞内に一定量存在している<sup>17)</sup>。一方で、iNOS は自然免疫において重要な役割を果たしており、誘導的に発現する<sup>18)</sup>。細菌、ウイルスなどの病原体が生体内に侵入し感染状態となると Toll 様受容体が LPS をはじめとする病原体由来成分を認識することで、主にマクロファージなどに存在する iNOS が誘導される<sup>19)</sup>。iNOS は常時活性をもち、過剰量の NO を持続的に産生する。産生された NO は、免疫応答によって生成する活性酸素種 ( $O_2^-$ )と反応し、非常に反応性が高く毒性の強いペルオキシナイトライト ( $ONOO^-$ )へ変換され、強力な抗菌活性を示す。このように、NO は生体防御において重要な役割を担っている反面、過剰に産生された NO や  $ONOO^-$ は酸化ストレスによって宿主の DNA の損傷や酵素の失活を引き起こす。NO の過剰産生は敗血症をはじめとした種々の炎症性疾患で認められており、創薬ターゲットとして研究されてきたが、近年、発がん及びがんの重篤化の原因の一つとなることも判明してきた<sup>16, 17)</sup>。そこで、NO の過剰産生を抑制し適度な量に調節することで発がんを予防し、がんを治療するという新たな試みに基づいた医薬品の開発が望まれている。Hobbs らは NO 産生阻害薬を主要な作用機序から 6 つに分類しており<sup>18)</sup>、①細胞内への Arg の取り込みを阻害し、NOS の基質を枯渇させる薬物、②NOS が Arg の酸化触媒として働くために必要な物質の供給を妨げる薬物、③NADPH を介した電子の流れを阻害する薬物、④NOS の発現を阻害する薬物、⑤NOS への基質の結合を阻害する薬物、⑥NO のスカベンジャーがある。

現在、iNOS による NO 産生を阻害する活性を有する天然物の探索研究が盛んに行われており、例えば costunolide (**18**)や dehydrocostus lactone (**19**)などの  $\alpha$ -methylene- $\gamma$ -butyrolactone 構造を有するセスキテルペンラクトン類が



NF- $\kappa$ B の活性化を抑制することで TNF- $\alpha$  や IL-2、iNOS mRNA などの発現を抑制し、NO の産生を阻害すると報告されている。また、**18** や **19** の誘導体  $\alpha$ -methylene- $\gamma$ -butyrolactone (**20**) について iNOS の発現阻害活性に関する活性試験が行われた結果、 $\alpha$ -methylene- $\gamma$ -butyrolactone 構造が活性発現に必須であることも判明してきた<sup>19)</sup> (Figure 9.)。

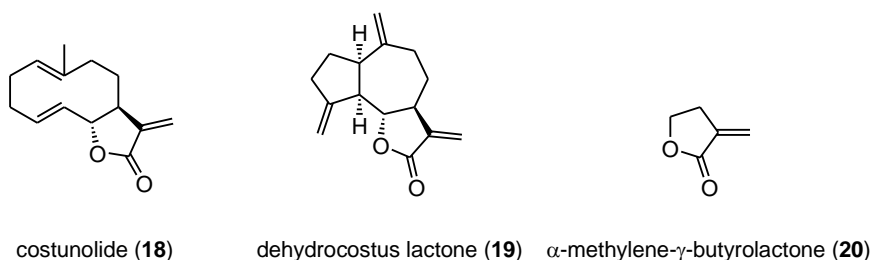


Figure 9. NO 産生阻害活性を有する天然物

その一方、タイ天然薬草であるバンレイシ科の *Melodorum fruticosum* の花部メタノール抽出物より単離されたブテノリド **21** についても同様のリポ多糖刺激による NO 産生阻害活性が認められている<sup>20)</sup> (Figure 10.)。

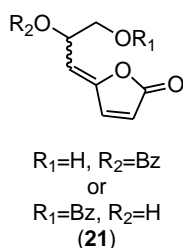


Figure 10. タイ天然薬草より単離されたブテノリド

上記のような情報を踏まえた上で pleurospiroketal 類の構造を見ると **11-13** の構造は NO 産生阻害活性が認められている上記の化合物群とは大きく異なっている。加えて、その活性発現の機序についての詳細は不明である。そのため、構造活性相関研究を行うことができれば、NO の産生抑制に基づく新たながんの治療法を開発するうえで非常に有益な情報を得ることが期待できる。

そこで、pleurospiroketal 類の効率的な合成経路を確立し、詳細な生物活性試験や構造活性相関研究への試料を供給したいと考えた。まずは、NO 産生阻害活性が最も高いと報告されている pleurospiroketal A とそのスピロ中心のジアステレオマーである pleurospiroketal B の合成を検討したので次章で述べる。

### 1.5. 他のグループによる pleurospiroketal 類の合成研究

筆者の合成研究に先立ち、他のグループによる pleurospiroketal 類の合成研究を紹介する。筆者の合成研究に並行して 2018 年に伊藤らにより天然型 pleurospiroketal A および B の全合成が報告されている<sup>21)</sup>。伊藤らは、市販のカルボン酸 **22** を出発原料として、(*S*)-体のオキサゾリジノンと縮合を行い、Evans アルドール反応<sup>22)</sup>によって **23** を C3a 位および C7a 位に関する単一異性体として得た後、オレフィンメタセシス<sup>23)</sup>を行うことで 6 員環を構築している。その後、四酸化オスミウムによる *cis*-ジオール化で C6 位と C7 位に水酸基を立体選択的に導入し、連続する C6, C7, C7a, C3a 位の不斉炭素の構築に成功している。その後、眞鍋らによって報告<sup>24)</sup>された 2,4,6-trichlorophenyl formate を用いて CO を導入した。**24** から増炭反応を行い得られた **25** に対して酸処理を行うことで pleurospiroketal A および B を混合物として得ている。この混合物の分離には HPLC が用いられている。出発原料から 16 工程、pleurospiroketal A, B とともに総収率 1.9% で合成を達成しているものの、合成の最序盤で最終生成物には不要なオキサゾリジノンを化学量論量以上用いる必要がある点は見逃すことができない。この問題点はとりわけ非天然型 pleurospiroketal 類の合成を考えた場合において顕著であり、(*S*)-体に比べ約 3 倍高価な(*R*)-体のオキサゾリジノンを用いなければならず、コスト面において課題が残されているといえる。また最終物である pleurospiroketal A および B を分離するのに HPLC を用いる必要がある点も、純粋な天然物を得る精製操作としては煩雑であり、より簡便な手法が望ましいと思われ、この点も合成上の課題といえる。



## 第二章 Pleurospiroketal A および B の合成研究

### 2.1. 逆合成解析

筆者の合成計画を以下に示す。**11** および **12** の合成における最大の課題は「C6, C7, C7a, C3a 位に連続する不斉炭素の制御」であると言える。これに対し、筆者はエポキシドに対する  $S_N2$  反応を用いることで 5,6-縮環部の立体化学を制御することができると考えた。すなわち、**11** は **26** の C8 位の水酸基を選択的に酸化することで得られると考えた。**26** はヒドロキシエポキシド **27** の電子豊富なエノールエーテル部分を選択的にエポキシ化することで得られると考えた。ヒドロキシエポキシド **27** はエノールトリフラート **28** と 5 員環ユニット **29** とのクロスカップリングにより合成することができると考えた (Figure 12.)。

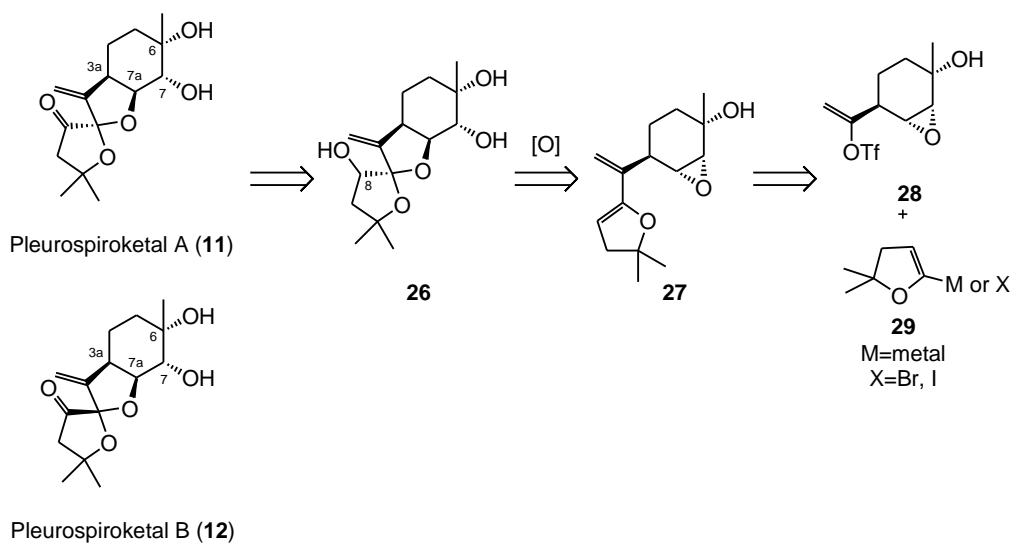


Figure 12. 逆合成解析

また、**27** から **26** への反応は以下の機構を想定している (Figure 13.)。すなわち、**27** のエノールエーテル部位を酸性条件下でエポキシ化するとテトラヒドロフラン環からの電子の押し出しでエポキシドが開環し、オキソニウムカチオン **A** が生じる。発生したオキソニウムカチオンに対して系中に存在する水が付加することでヘミアセタール **B** が得られる。このヘミアセタール性水酸基がエポキシドの付け根を求核攻撃することで **26** へと変換することができ

るという反応機構である。また、オキソニウムカチオン **A** に対して水は紙面上側と下側の両方から付加しうるため、pleurospiroketal **A** のみならず、そのスピロ中心のジアステレオマーである pleurospiroketal **B** も得ることができるという効率的な合成経路である。

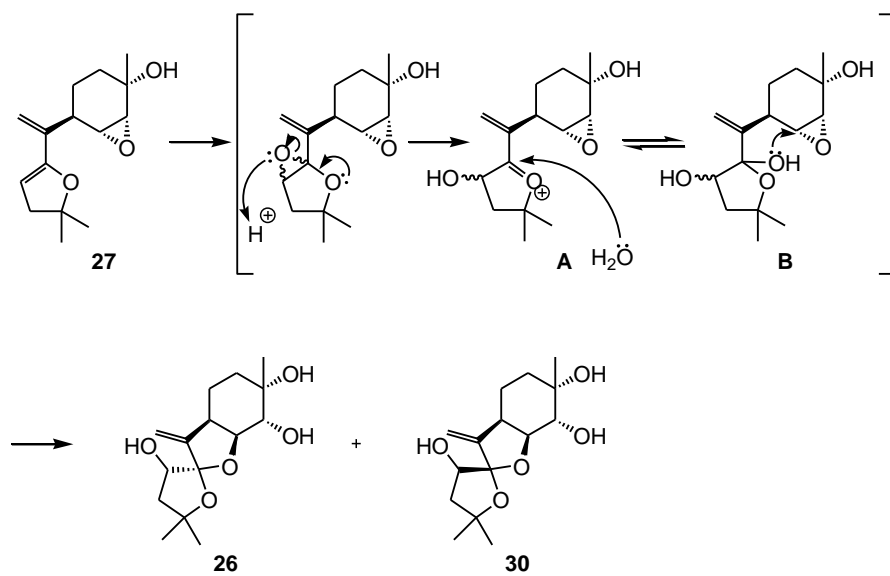


Figure 13. **27** から **26** への想定反応機構

## 2.2. Pleurospiroketal A の合成研究

### 2.2.1. 5 員環ユニットの合成

始めに 5 員環ユニットの合成を行った。中性条件でクロスカップリングを行うことのできる Stille クロスカップリング<sup>25)</sup>を炭素-炭素結合の形成方法として選択し、まず Guiry らの方法に従いジヒドロフラン **33** を得た<sup>26)</sup>。すなわち、propargyl alcohol と acetone を付加させジオール **31** を得た後、水和とエーテル化によりケトン **32** へと変換する。Bamford-Stevens 反応<sup>27)</sup>によって **32** からジヒドロフラン **33** を合成した。最後に、ジヒドロフラン **33** を Schlosser base<sup>28)</sup>によりスタニル化することで 5 員環ユニット **34** の合成を完了した。

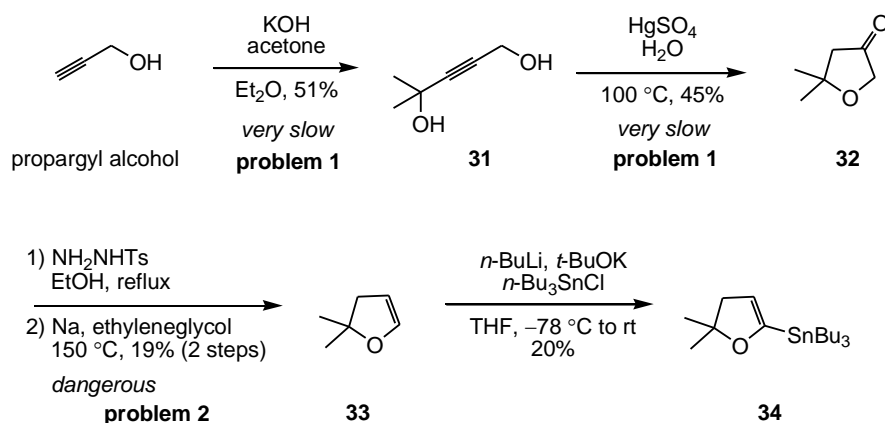


Figure 14. ビニルスタナン **34** の合成

有機合成において、「操作が簡便であること」や「試薬の取り扱いが容易なこと」、「反応がスムーズに完結すること」は常に重要視されるファクターである。その観点からすると、上記の合成法には、

- ① 最初に得られるジオールの極性が非常に高く、抽出が困難である
- ② 1 工程目の反応が完結するまで 1 週間を要する
- ③ アルキンの水和反応において毒性の高い水銀試薬を用いている
- ④ 金属ナトリウムを用いているためにスケールアップを行いにくい

という問題点があることが分かった。

そこで、ジヒドロフラン **33** のより簡便な合成に向けて合成経路の改良を行った (Figure 15.)。すなわち、アセトンに対してグリニャール試薬を作用させ

**35** とした<sup>29)</sup>。得られたホモアリルアルコール **35** をブロモエーテル化することで 5 員環を形成し **36** へと導いた。**36** を強塩基存在下加熱することで E2 脱離が起こり、ジヒドロフラン **33** とその異性体 **37** を 4:1 の比で与えた。これらの異性体は蒸留精製で分離することはできなかったため、混合物のまま次のスタンイル化を行うことで分離することができた。この合成経路により、前述の合成経路と比較してより迅速かつ試薬の取り扱いが容易なビニルスズ **34** の調製法を確立することができた。

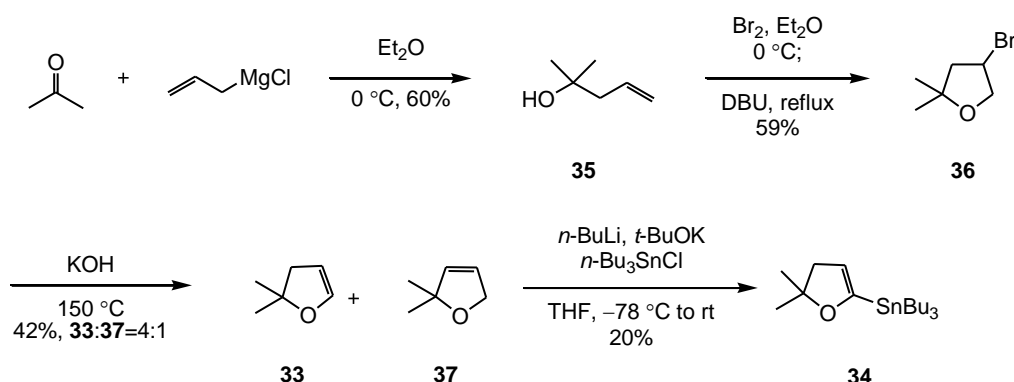


Figure 15. より簡便なジヒドロフラン **33** の合成

温和なクロスカップリングの条件としては、Stille クロスカップリングの他にも根岸カップリング<sup>30)</sup>やボロン酸を用いる鈴木-宮浦カップリング<sup>31)</sup>を挙げることができる。そのため、5 員環ユニットとしてヨウ化物 **38** やボロン酸エステル **39** の合成にも着手した (Figure 16.)。

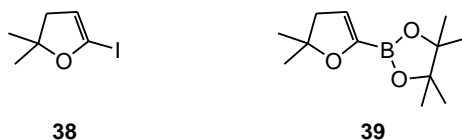


Figure 16. カップリングユニットの候補

ジヒドロフラン **33** に対しヨウ素を作用させヨウ化物 **38** の合成を試みた。しかし、ヨージド **38** は溶媒との分離が困難であったため、単離精製が困難であった (Figure 17.)。



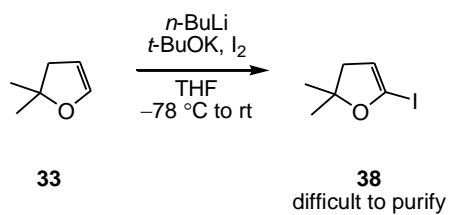


Figure 17. ヨウ化物 **36** の調製の検討

一方、ボロン酸エステル **39** については、Schlosser base を用いてジヒドロフラン **33** とボロン酸前駆体 **41** とを反応させようと試みたが反応は進行せず、合成することはできなかった。

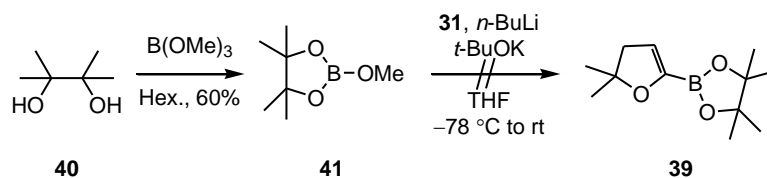


Figure 18. ボロン酸エステル **39** の調製の検討

以上の検討から、以降は Stille クロスカップリングを用いることとした。

### 2.2.2. エノールトリフラートの合成

ビニルスズ **32** を得ることに成功したので、エノールトリフラートユニットの合成に着手した。まず、Albizati らの方法を用いて (*S*)-perillyl alcohol をエノン **43** へと変換した<sup>32)</sup>。すなわち、(*S*)-perillyl alcohol をエポキシ化し、ヒドロキシエポキシドのジアステレオマー混合物を得たのち、水酸基を TBS 基で保護し、エポキシド **42** とした。**42** に対して系中で発生させたフェニルセレンニドアニオンを求核付加させることでアルコールのジアステレオマー混合物を得た。このとき、TBS 基の嵩高さのためか位置異性体である 2 級アルコールの生成は観測されなかった。TBS 基を除去した後、過ヨウ素酸ナトリウムを作用させることでセレノキシドの脱離とジオールの開裂が起こりエノン **43** を得た。

得られたエノン **43** に対してメチルリチウムを作用させると 2 種類のジアステレオマーが生成したが、両者はシリカゲルカラムクロマトグラフィーによる分離が可能であった。アリルアルコールの相対立体配置については、研究室で以前合成されていたエナンチオマーとの <sup>1</sup>H-NMR スペクトルとの比較により決定した<sup>33)</sup>。アリルアルコールの水酸基を配向基としたエポキシ化によりヒドロキシエポキシド **44** を良好な収率で得た。ヒドロキシエポキシド **44** をオゾン分解することでケトン **45** を合成した。ケトン **45** はシリカゲルに対し不安定であったため、粗生成物のまま次の反応に用いた (Figure 19.)。

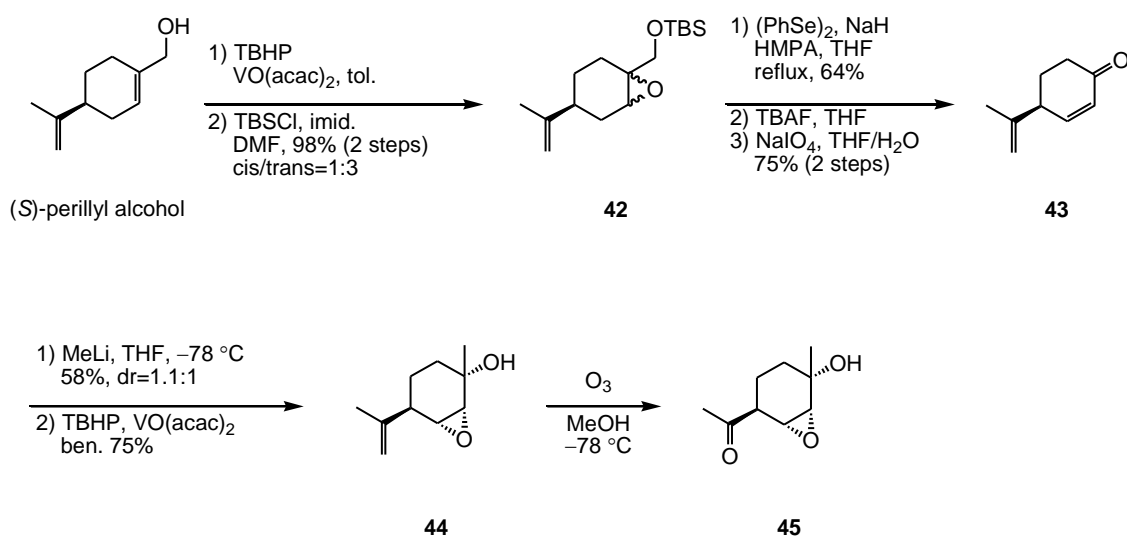


Figure 19. エポキシケトン **45** の調製

次に、ケトン **45** に対するエノールトリフラート化の条件を検討することにした (Figure 20.)。まず KHMDs を塩基として用いたが、望むエノールトリフラート **28** は低収率でしか得ることができず、主にジオール **46** を与える結果となった。

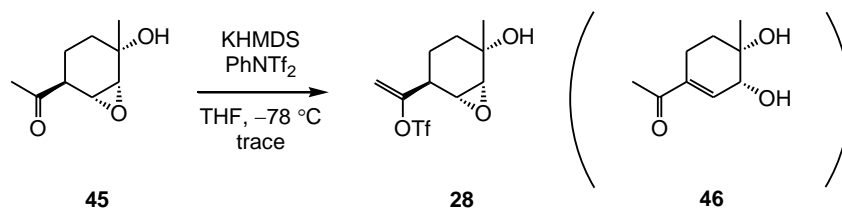


Figure 20. エポキシケトン **45** に対するエノールトリフラート化

ジオール **46** が生成する原因を以下のように考察した。

第一の原因として、ケトン **45** をエノラート化する際に、1 当量目の塩基による水酸基からの脱プロトン化が引き起こされアルコキシド **47** が生じる。次に、2 当量目の塩基により一度は速度論的なエノラート **48** が生じるが、より安定なジアニオン **49** へと異性化をするため、エポキシドの開環を伴ってジオール **46** となるのではないかと考えた。

また、第二の原因として、配位による影響も考えられた。すなわち、エポキシドが金属に対して配位してしまうことで、塩基が望まない側のケトンの  $\alpha$  位へと接近しやすくなる。そのため、プロトンが引き抜かれた場合に **49** を経由することでジオール **46** が生成する可能性もあると考えた (Figure 21.)。

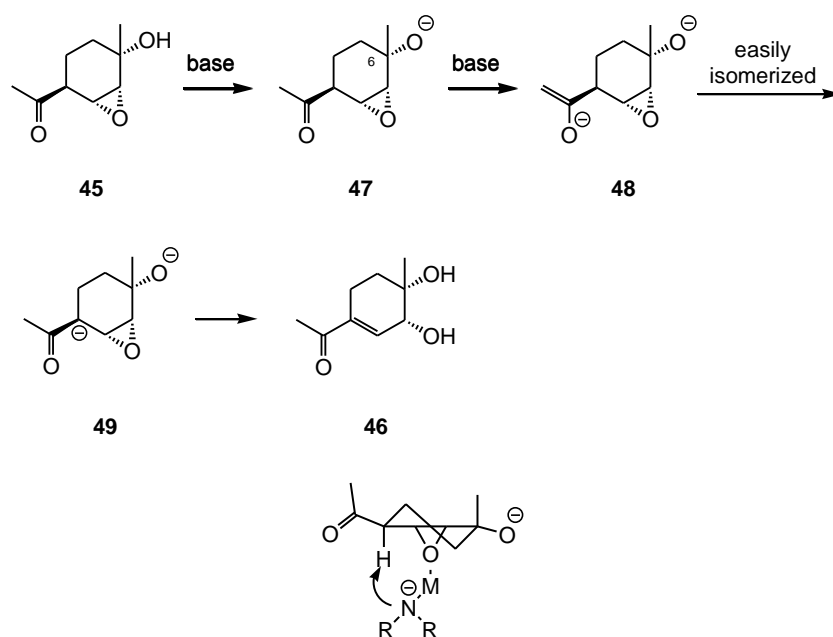


Figure 21. ジオール生成についての考察

そこで、アルコキシドの生成を抑制してみることにし、3級水酸基を保護した状態でエノールトリフラート化を行うこととした。ヒドロキシエポキシド **45** の3級水酸基を TMS 基で保護した後、オゾン酸化に付してケトン **49** を得た。ケトン **50** の粗生成物に対し Figure 22 に示すような条件でエノールトリフラート化を検討した。

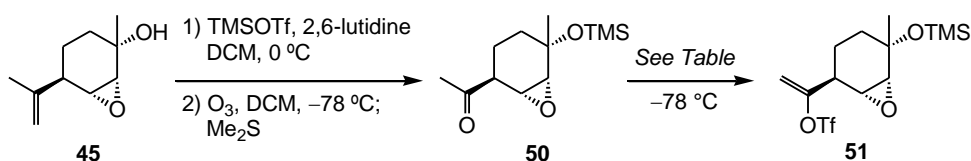


Table: Conditions of enol triflation

Entry	base	solv.	additive	reagent	result
1	KHMDS	THF		PhNTf <sub>2</sub>	<b>46, 52</b>
2	KHMDS	DME		PhNTf <sub>2</sub>	<b>46, 52</b>
3	KH	THF		PhNTf <sub>2</sub>	ND
4	<i>t</i> -BuOK	THF		PhNTf <sub>2</sub>	complex mixture
5	KOH	Et <sub>2</sub> O		PhNTf <sub>2</sub>	complex mixture
6	Et <sub>3</sub> N	DCM		Tf <sub>2</sub> O	<b>46, 52</b>
7	2,6-lutidine	DCM		Tf <sub>2</sub> O	<b>46, 52</b>
8	KHMDS	THF	HMPA	PhNTf <sub>2</sub>	<b>46, 52</b>

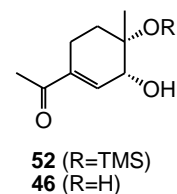


Figure 22. エノールトリフレート化の検討

先と同じ反応条件である **Entry 1** や溶媒を 1,2-ジメトキシエタン (DME)へと変更した **Entry 2** においても、これまでと同様にエポキシドの開環が優先した **46** や **52** を主生成物として得る結果となった。**Entry 3～5** では塩基の検討を行ったが、目的の **51** を検出することができない、または系中が複雑化してしまうという結果になった。**Entry 6, 7** ではエノールトリフレート化剤の検討を行ったが、目的物を得るのは困難であった。これらの結果から、ジオールは C6 位のアルコキシドが原因で生成しているのではないと結論付けた。

そこで、**Entry 8** のようにエポキシドの金属への配位を抑制することを目的として、金属への配位能の高い HMPA を添加した。しかしながら、この条件においてもエポキシドの開環を抑制することはできなかった。

以上の検討から、エノールトリフレート **51** の合成は困難であると結論付け、Stille クロスカップリングに用いる基質を変更することとした。

### 2.2.3. 合成計画の見直し

前節の検討の結果より、カルボニル基の $\beta$ 位に脱離能の高いエポキシドが存在することがエノールトリフラーの合成を困難にしていると考えた。そこで、Stille クロスカップリングを行った後にエポキシドを導入しようと考えた (Figure. 23)。すなわち、Stille クロスカップリングを行う基質としてエノールトリフラー **55** とビニルスズ **34** を用いることにした。カップリング体 **54** に対して、アリルアルコール部分の水酸基を足掛かりとした立体選択的なエポキシ化と電子密度の高いジヒドロフラン部分へのエポキシ化を同時に行うことができる、先の合成計画における中間体のビスエポキシド **53** へと導くことができる考えた。

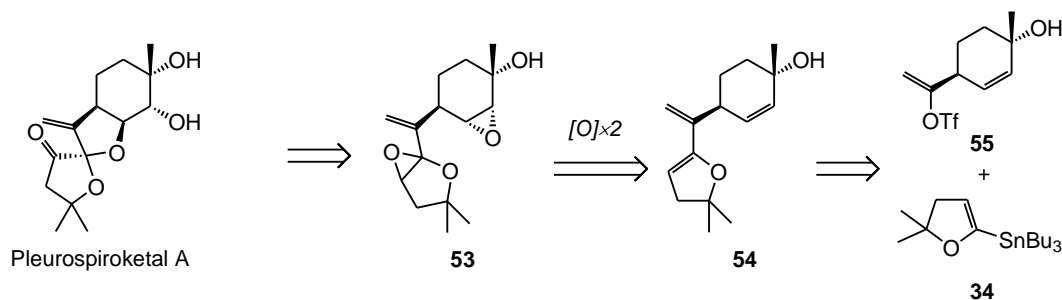


Figure 23. 新たな逆合成解析

また、目的のエノールトリフラー **55** はケトン **56** より得られると考えた。ケトン **56** はエノン **57** へのメチル基の導入とジオール部分の酸化的開裂により合成できると考えた。**57** は先ほど合成したエノン **43** より導くことができると考えた (Figure 24.)。

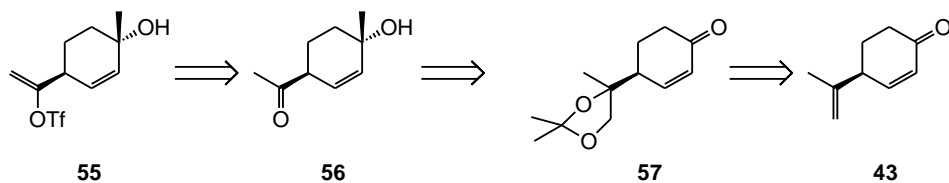


Figure 24. エノールトリフラー **55** の逆合成

#### 2.2.4. エノールトリフラート **55** の調製

まず、エノン **43** を四酸化オスミウムによりジヒドロキシ化することでジオール **59** を得ようとした。しかし、1 級水酸基がエノンに対して oxa-Michael 付加<sup>34)</sup>したケトン **58** が得られた。低収率の原因として、四酸化オスミウムのオレフィンへの付加に関する選択性が乏しく、抽出困難なテトラオールが生成してしまったためであると考えている (Figure 25.)。

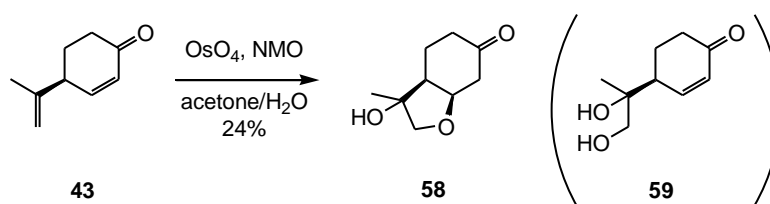


Figure 25. エノン **43** に対するジオール化

原理的に Michael 付加は可逆反応であるため、そのままアセトニド保護することで望むエノン **57** を得ることができた。**57** にメチルリチウムを作用させアリルアルコールへと変換した。アリルアルコールのアセトニドを除去し、得られたトリオール **60** のジオール部位を過ヨウ素酸ナトリウムにより開裂させようと試みたが、反応は全く進行しなかった。この理由は不明であるが、**58** の収率が合成中盤にも関わらず非常に低かったため、他の合成経路を模索することとした (Figure 26.)。以上の内容を修士論文にて報告した。

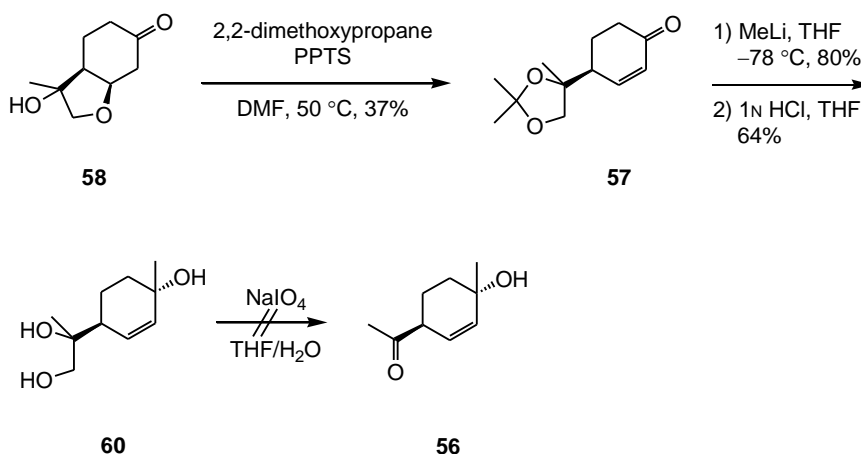


Figure 26. ケトン **56** の調製の検討

### 2.2.5. 合成計画の見直し②

合成中間体 **61** の C7, C7a 位に存在するエポキシドを導入するのに必要なオレフィンも Stille クロスカップリング後に構築する合成計画へと変更した (Figure 27.). すなわち、pleurospiroketal A はヒドロキシエポキシド **61** を酸性条件下で脱保護し、水酸基の酸化をすることで得られると考えた。ヒドロキシエポキシド **61** は Stille クロスカップリングによって合成可能なジヒドロフラン **62** よりジヒドロフラン部位のジヒドロキシ化とエポキシドの位置の移動によって得られると考えた。

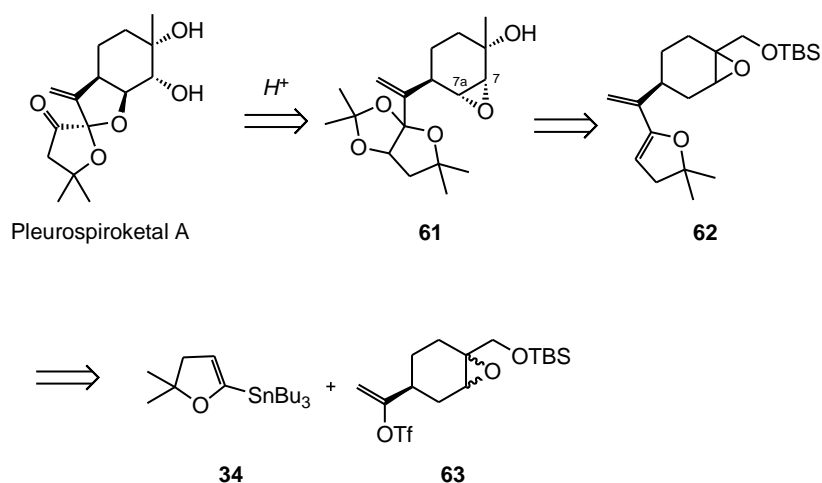


Figure 27. 新たな逆合成解析②



### 2.2.6. エノールトリフラートユニットの合成

最初の合成経路に従って合成されたエポキシド **42** の *cis/trans* 混合物に対し、レミュージョンソン酸化<sup>35)</sup>を行うことでケトン **64** を合成した。得られたケトン **64** を速度論的なトリフル化の条件に付したところ、目的のエノールトリフラート **63** を良好な収率で得ることに成功した (Figure 28.)。

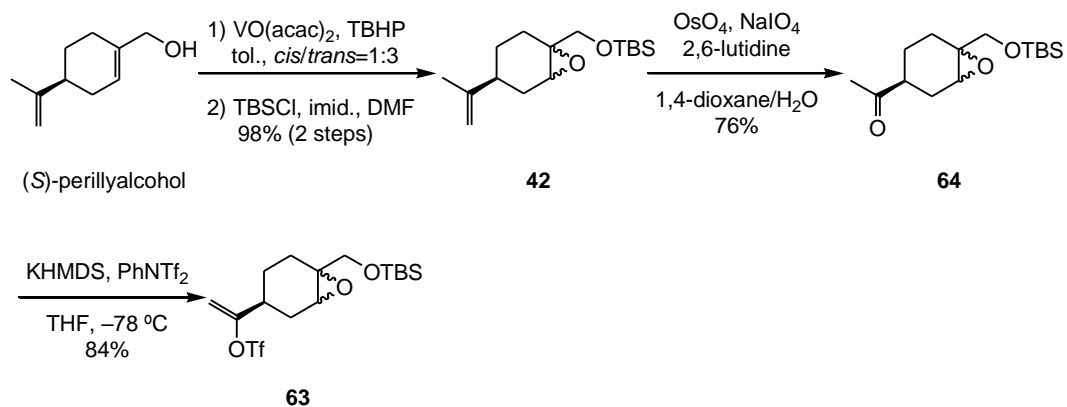


Figure 28. エノールトリフラート **63** の調製

### 2.2.7. Stille クロスカップリング

カップリング後に生成するジヒドロフラン環のエノールエーテル部分はシリカゲルなどの弱酸性条件であっても非常に不安定である可能性があった。しかし、**62** ではジメチル基が存在するため Thorpe-Ingold 効果<sup>36)</sup>による 5 員環構造の安定化を期待してカップリングの検討を進めた。

実際に Stille クロスカップリングを行ったところ、中程度の収率で目的のカップリング体 **62** を得ることに成功した。**62** のエノールエーテル部分は通常のシリカゲルに対しては不安定であったが、トリエチルアミンを添加したシリカゲルを用いれば精製可能であった。なお、カップリングを行う際に系中でエノールエーテル部分が壊れてしまう可能性を考え、その抑制のために炭酸カリウムを加えたところ、収率は大幅に減少してしまった。次に、得られたカップリング体 **62** に対して *m*CPBA を作用させることでジオール **65** へと導くことを考えた。しかし、酸化によって生じたヘミアセタール部分が直ちに開環してヒドロキシケトンへ **66** と異性化してしまった。**66** においては Thorpe-Ingold 効果の働きが弱かったようである。そのため、再度合成計画を見直すこととした。

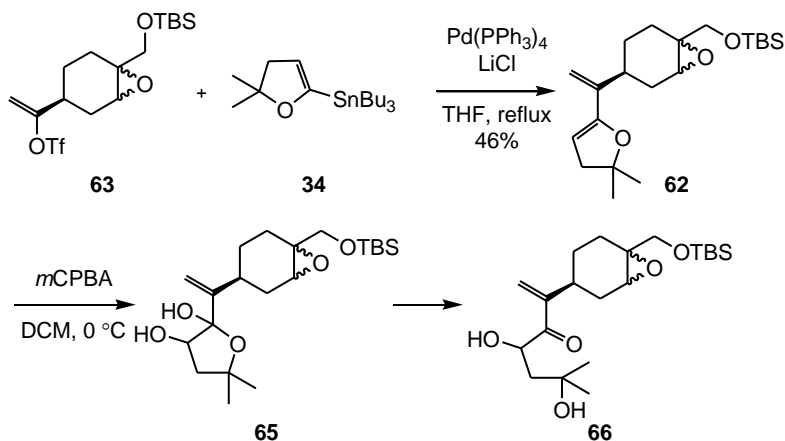


Figure 29. Stille クロスカップリングとエノールエーテル部分のエポキシ化

### 2.2.9. 合成計画の見直し③

これまでの、C2 位ケトンに対する水和反応を起点としたヒドロキシ基の SN2 反応による C7, C7a 位エポキシドの開環を鍵反応とした合成計画では残念ながら pleurospiroketal 類の合成を達成することはできなかった。ここでは、ジヒドロフラン環のエノールエーテル部位の酸化で生じるオキソニウムカチオンに着目した。カップリング体の 6 員環部分の C7a 位に水酸基が存在していれば、系中に存在している水が付加する前に分子内で水酸基の求核付加が起こり [5,5]-スピロアセタール構造を構築することができるのではないかと考えた。

これに伴い、以下のような逆合成を立案することができる (Figure 30.)。Pleurospiroketal A はアルコール **67** の 5 員環上の水酸基の酸化と保護基の除去により得られると考えた。アルコール **67** はカップリング体 **68** のエノールエーテル部位を選択的にエポキシ化することで得られると考えた。カップリング体 **68** はエノールトリフラート **69** と合成済みのビニルスズ **34** との Stille クロスカップリングにより得られると考え合成に着手した。

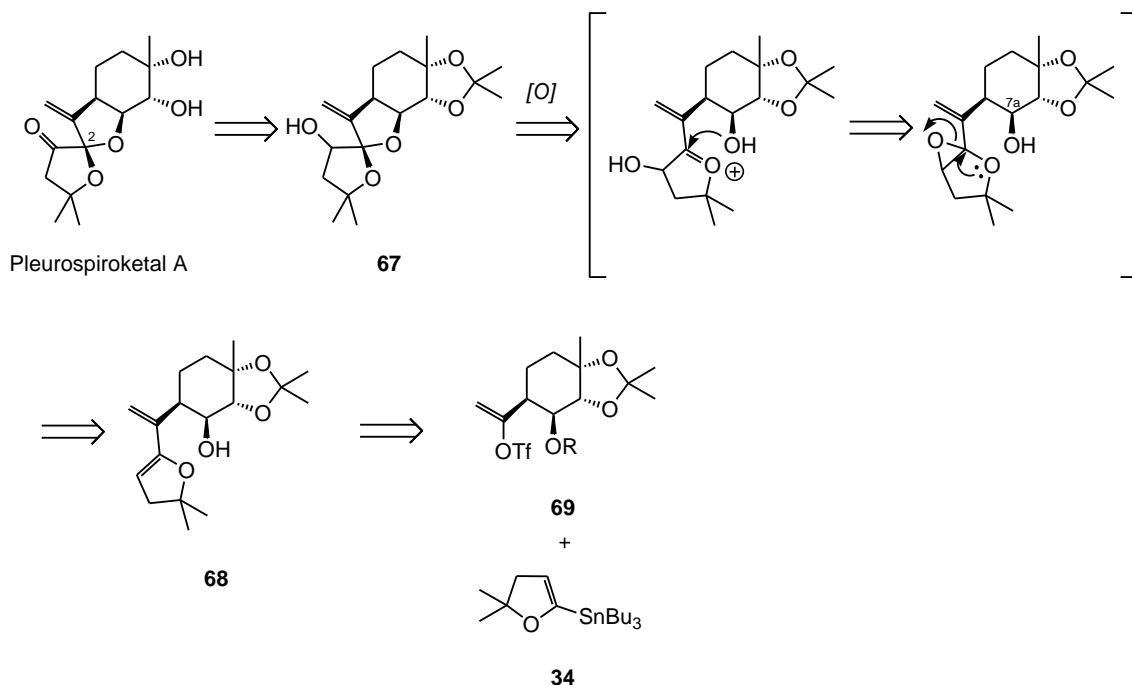


Figure 30. 合成計画の見直し③

#### 2.2.10. エノールトリフラートユニットの合成

まずは本合成経路の妥当性を検証するために、ラセミ体での合成に着手した。ラセミ体のエノールトリフラートユニット **73** の合成法は既知であったため、それを用いることとした<sup>37)</sup>。市販のアルデヒド **70** をシリルジエノールエーテルへと変換し、メチルビニルケトンとの Diels-Alder 反応<sup>38)</sup>を行い、ジアステレオマー比 4:1 でケトン **71** を得た。これらのジアステレオマーはシリカゲルカラムクロマトグラフィーにより分離することが可能であった。ケトン **71** のオレフィン部分を四酸化オスミウムにより立体障害の大きな TBS オキシ基を避ける方向からジオール化した。得られたジオールをアセトニドにより保護し **72** を得た後、速度論的な条件を用いてエノールトリフラート化することでカップリング前駆体 **73** を良好な収率で得た。ここで、ビニルスズ **34** とのカップリングの前に、エノールトリフラート **73** の TBS 基を除去しておけば、カップリング後直ちにスピロ環が構築されて不安定なジヒドロフランの取り扱いを回避できると期待した。しかし、実際にエノールトリフラート **73** に対し TBAF を作用させたところ、直ちになおかつ定量的にアルキン **74** を得る結果となった。ちなみに、谷野らは norzoanthamine の合成において、本反応と類似の条件を用いてアルキン部分の合成をしている<sup>39)</sup>。一方、酸性条件を用いた場合は TBS 基よりも先にアセトニドが除去され **75** となってしまう結果となった。そのため、TBS 基の除去はカップリング後に行うこととした (Figure 31.)。

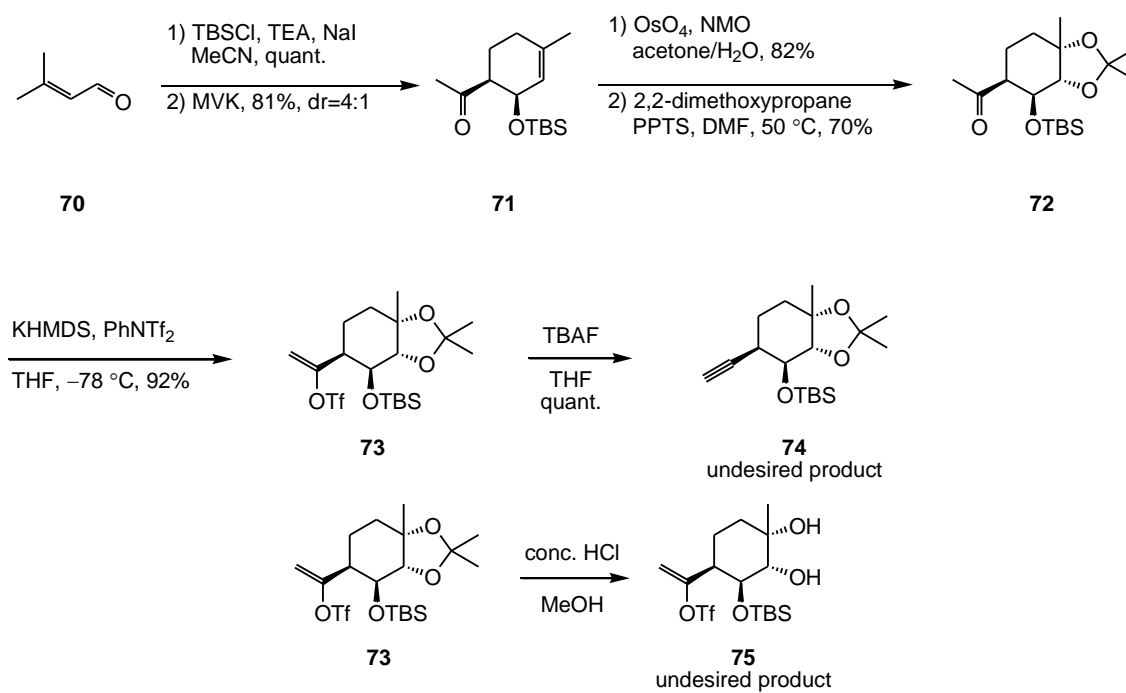


Figure 31. エノールトリフラートユニット **73** の合成

### 2.2.11. (±)-Pleurospiroketal A および B の合成

両カップリングユニットを得ることができたので **Stille** クロスカップリングを行った。先と同様にテトラキストリフェニルホスフィンパラジウムを触媒として **THF** 中で加熱還流を行うことで反応は進行し、カップリング体を中程度の収率で得ることに成功した。懸念された通り、ジヒドロフラン環のエノールエーテル部位はシリカゲルに対し不安定であったため、トリエチルアミンを添加したシリカゲルカラムクロマトグラフィーにより迅速に精製した。続いて得られたカップリング体の **TBS** 基を **TBAF** により除去し **68** とした。こちらの化合物もシリカゲルに対し不安定であり、長時間晒すとスピロ環を形成した **76** へと変換されてしまうことが判明した。しかしながら、このことは筆者の逆合成の妥当性を支持する結果である。

そこで、**68** の合成後直ちにエノールエーテル部位のエポキシ化による [5,5]-スピロアセタール構造の構築に着手した。アルコール **68** に対して **mCPBA** を作用させると、pleurospiroketal A および B 前駆体のアルコール **77** および **78** をそれぞれ 1:1 の比で得ることに成功した。なお、幸運にも両者はシリカゲルカラムクロマトグラフィーによって分離可能であった。反応の収率が中程度でとどまった原因の 1 つとして、系中が **mCBA** で酸性となるためにエノールエーテル部分が反応するよりも早くスピロ環が構築されてしまい、スピロ化合物 **76** を生じることが考えられる。そこで、この望まない反応を抑制するために反応温度を下げたり、炭酸水素ナトリウムを加えることで **mCBA** の中和を検討したが、逆に収率は 20%程度にまで低下した。そのため、反応にはある程度の温度と系中が酸性であることが必要であると考え、これ以上の検討は行わなかった。

また、この反応によって得られたアルコール **77** および **78** の 2 級アルコール部分の相対立体配置はエキソメチレン部分と 2 級水酸基の付け根のプロトンに **NOESY** 相関が観測されたことにより決定した (Figure 32.)。

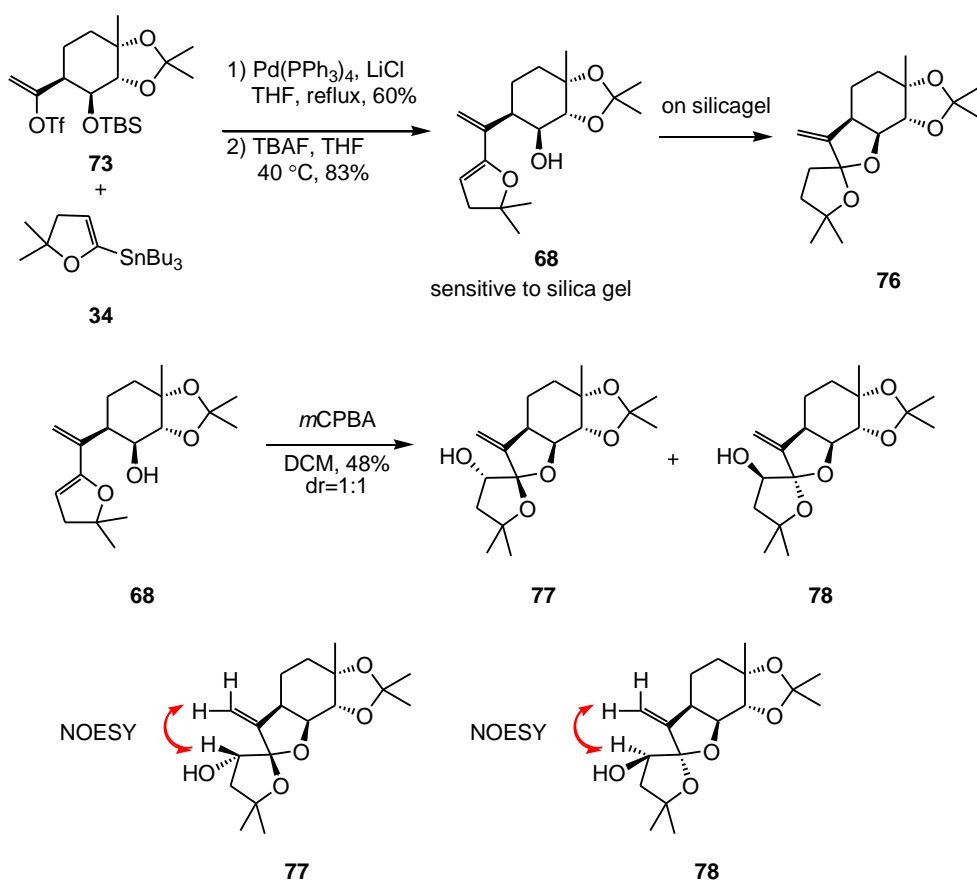


Figure 32. Stille クロスカップリングと[5,5]-スピロアセタールの構築

[5,5]-スピロアセタール構造を構築することができたので、pleurospiroketal A,B の全合成に必要な工程は 5 員環上の水酸基の酸化とアセトニドの除去となる。まずは、アルコール **77** を Dess-Martin 酸化<sup>40)</sup>することでケトンへと導いた。反応はゆっくりと進行し、スピロ中心の異性化は観測されなかった。得られたケトンのアセトニドを強酸性条件により除去することでラセミ体の pleurospiroketal A の生成を確認することができた。

しかし、本条件下ではスピロ中心の異性化が観測されてしまい、伊藤らの報告<sup>21)</sup>にもあったように pleurospiroketal B との分離困難な混合物を与える結果となった。そこで脱保護条件の検討を行うこととした (Figure 33.)。

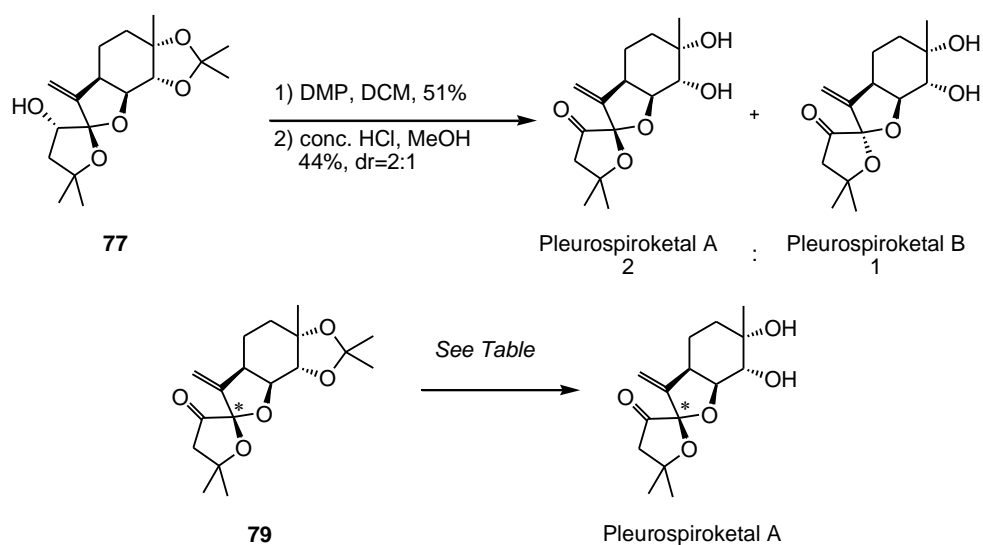


Table: Conditions of deprotection

	conditions	dr of spiro center
1	conc. HCl, MeOH	1:0 → 2:1
2	AcOH, THF	deprotection did not proceeded
3	1N HCl, THF	>10:1 → 5:1
4	TsOH, MeOH	>10:1 → 4:1
5	PPTS, MeOH	>10:1 → 5:1 (deprotection did not proceeded)

Figure 33. ラセミ体の pleurospiroketal A の合成とアセトニド除去の検討

Entry 1 は先ほど用いた条件である。Entry 2 に示す酢酸のような弱酸では脱保護反応が進行しなかった。Entry 3 のように希塩酸を用いた場合、ジアステレオマー比は 5:1 まで向上したが異性化を抑制することはできなかった。Entry 4 のようにトシル酸を用いて脱保護を行った場合も異性化を抑制することはできなかった。Entry 5 のように PPTS を用いた場合、脱保護が進行しなかったうえにスピロ中心のジアステレオマー比の減少も観測された。そのため、この段階でのアセトニドの除去はスピロ中心の異性化を伴わざるを得ないと判断し、反応の順序を入れ替えてみることにした。

先に **77** のアセトニドを除去して得られるトリオール反応性について考察した。ここでは酸化されうる水酸基は 2 か所存在するが、6 員環上 C7 位の 2



級水酸基についてはエクアトリアル方向に向いている。一般的に 6 員環上の水酸基を酸化する場合については、エクアトリアル水酸基よりもアキシアル水酸基のほうが高い反応性を有する<sup>41)</sup>。すなわち、5 員環上の C8 位の水酸基が優先的に酸化されると期待した。アルコール **77** のアセトニドを酸性条件で除去しトリオールを得た。このとき、幸運なことにスピロ環の異性化は観測されなかった。さらに、このトリオールを Dess-Martin 試薬により酸化したところ、望む C8 位の水酸基のみが酸化され、pleurospiroketal A の全合成を達成した。

また、**78** に対し同様の変換を施すと、こちらも異性化することなく pleurospiroketal B の全合成に至った。この結果から、この酸性条件下の反応においてはスピロ環が開裂した後に熱力学的に安定なスピロ環の相対立体配置に偏るのではないと結論付けられた (Figure 34.)。

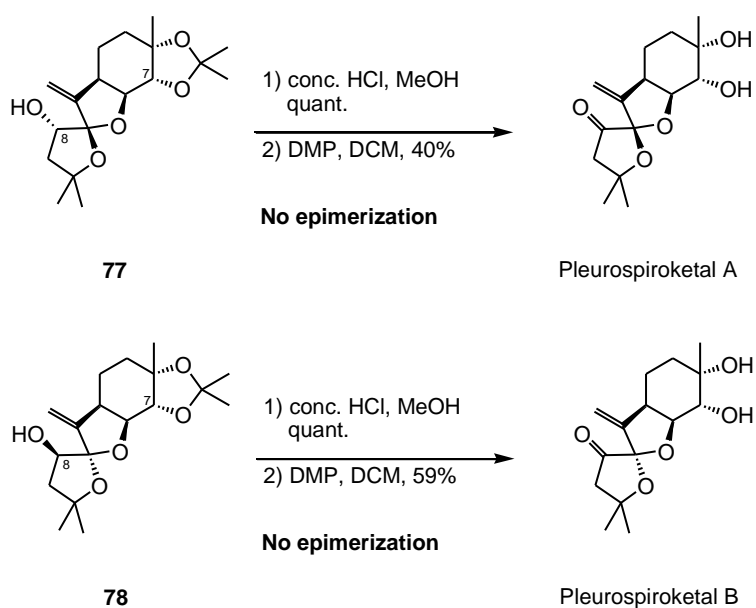


Figure 34. 異性化しなかった pleurospiroketal A および B の全合成

#### 2.2.11. スピロ環構築の際の立体化学に関する考察

Pleurospiroketal A および B のラセミ体全合成に成功したものの、**77** や **78** が酸性条件下で異性化しなかったことは考察に値する。Pleurospiroketal A, B の[5,5]-スピロアセタール構造を構築する際、考えられるジアステレオマーはその反応機構から **77**、**78**、**80**、**81** の 4 種類存在するが、実際に得られたのは 2 級水酸基の付け根とエキソメチレン部分との間に NOESY 相関が観測された **77** と **78** の 2 種類のみであった。この要因を以下のように推察した。

ジヒドロフラン部分は、自由回転できる。このとき、**68** のエノールエーテル部分と *m*CPBA が反応する際に、6 員環 C7a 位に存在する水酸基が配向基となり、酸素原子とカルボン酸末端の水素が水素結合をして安定化されているような遷移状態を考えることができる。このとき、5 員環は pleurospiroketal A および B がそれぞれ得られるような方向を向いている。エポキシ化が完了すると直ちに 5 員環の酸素原子からの電子の押し出しでオキシニウムカチオンが生じ、5 員環が回転するよりも速く 6 員環上の水酸基からの求核攻撃が起こる。すなわち、エポキシ化の段階の面選択性が維持される。そのため、スピロ環がジアステレオ選択的に構築されると考えられる (Figure 35.)。

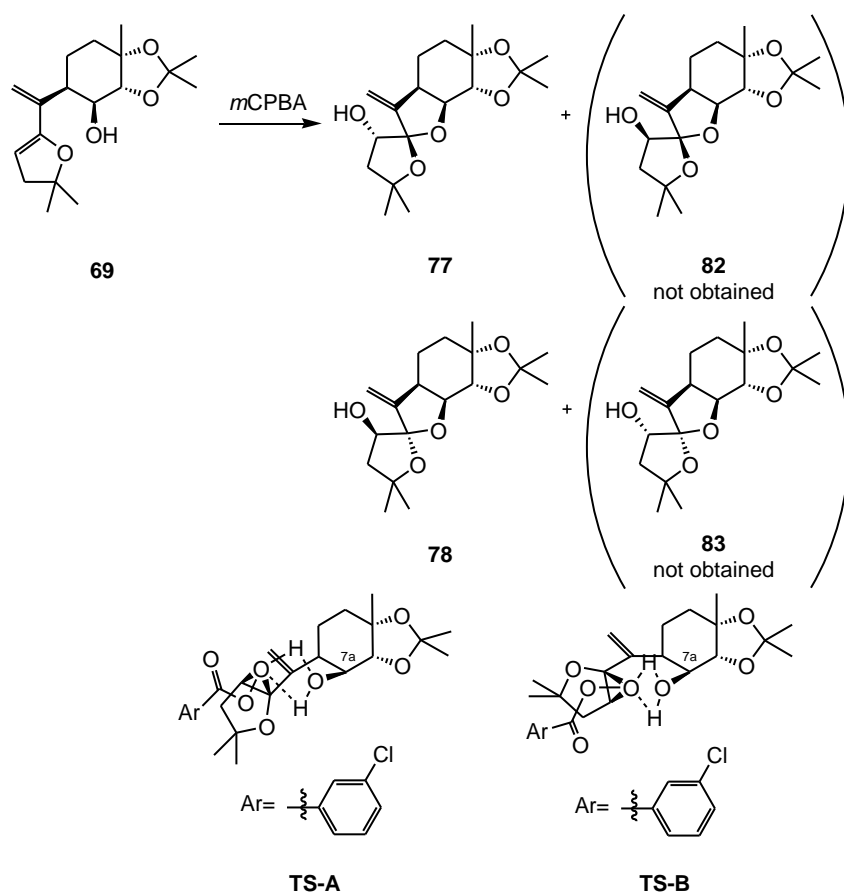
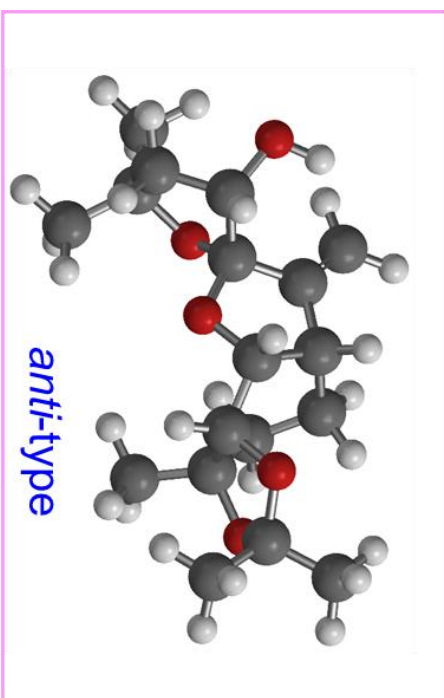


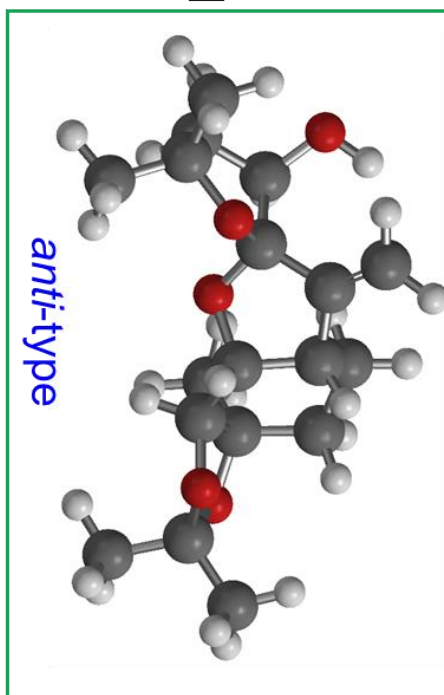
Figure 35. [5,5]-スピロアセタール構築の際の推定遷移状態

ここでさらに、本反応の生成物として考えうる 4 種類のジアステレオマーの熱力学的安定性について DFT 計算 (B3LYP/6-31G)による比較を行った。

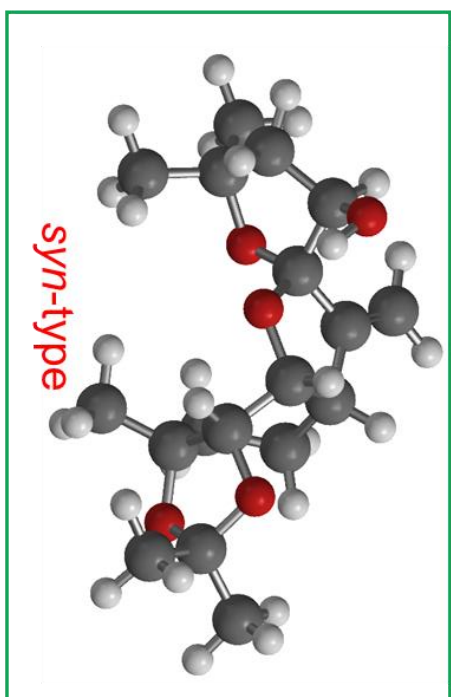


5.4 kcal/mol

<

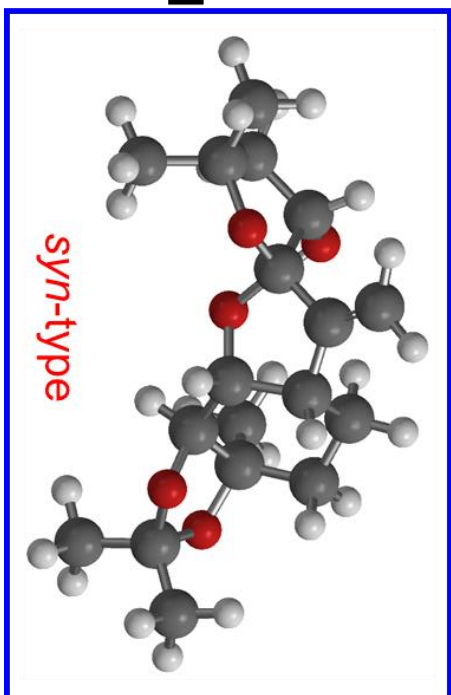


Δ 1.4 kcal/mol



1.6 kcal/mol

<



すると意外にも、生成しなかったジアステレオマー**82**が2番目に安定という計算結果が得られた。また、先ほど行った**77**や**78**に対するアセトニドの脱保護実験において *m*CBA よりも強力な酸性を有する希塩酸を用いた場合でもスピロ中心の異性化が起きていないことから本反応では、速度論的な要因のみが立体を支配しているおり、今回のような結果につながったと考えた。

#### 2.2.12. Pleurospiroketal A,B の光学活性体の合成

ラセミ体の pleurospiroketal A, B を全合成することができたので、光学活性体の合成に着手した。先ほどの合成経路に従えば、エノールトリフラートユニット **73** を光学活性体として得ることができれば、pleurospiroketal A, B も光学活性体として合成することができる。この時、鍵となるのは pleurospiroketal 類の C7a 位にあたる炭素にどのように酸素原子を導入して不斉点を構築するかという点である。

一般に光学活性な天然物を合成する際の主な手法としては、

- ① ラセミ体の光学分割
- ② 不斉触媒や不正補助基など、原料以外に由来する不斉源を用いた不斉反応
- ③ 出発原料にもともと存在する不斉点を利用するキラルプール法

の 3 つを挙げることができる。どの方法にも一長一短があるが、望まない鏡像体が不要である場合、① 光学分割で「基質が半分無駄になってしまう」という点はデメリットとして無視できない。また、利用する予定のアルデヒド **70** とメチルビニルケトン は分子サイズが小さくかつシンプルな構造であるため、よく知られる一般的な不斉触媒を利用した不斉誘起反応によって光学純度の高い合成中間体を得るのは困難であろうと思われた。そのため、より確実性の高いキラルプール法を用いた天然型 pleurospiroketal 類の合成経路の確立を検討することとした。

### 2.2.13. (–)-Limonene を用いた合成研究

まずは(–)-limonene を出発物質に用いて検討を開始した。Pleurospiroketal 類の C7a 位は(–)-limonene のアリル位にあたるため、そこに水酸基を位置選択的かつ立体選択的に導入することができれば光学活性なカップリングユニットであるエノールトリフラートを得ることができると考えた。

(–)-Limonene にはアリル位が 5 つ存在するため、Juge らの方法によって (–)-limonene のイソプロペニル基を位置選択的に酸化開裂することでアリル位の炭素を減らし、メチルケトン **82** へと導いた<sup>42)</sup>。得られたメチルケトン **82** に対して二酸化セレンを作用させたところ、反応は複雑化してしまった。

これは二酸化セレンによるアリル位の酸化が位置選択的に起こらないためであると考え、セレンに酸素原子を配位させることで望みの位置に選択的に水酸基が導入されることを期待し、メチルケトン **82** をいったんアルコール **84** へと還元した。しかし、このアルコール **84** に二酸化セレンを作用させた場合も同様の結果を与えるのみであった。

続いて、(–)-limonene に対し pleurospiroketal 類の C7a 位にあたる位置にカルボニル基を導入することを考えた。アリル位を温和に酸化できると報告された Havens らの方法を用いてメチルケトン **82** の酸化を行ったところ<sup>43)</sup>、望みの C7a 位にあたる位置にカルボニル基が導入された **86** ではなく、C5 位にあたる位置にカルボニル基が導入されてしまった **87** のみが見られる結果となった (Figure 36.)。

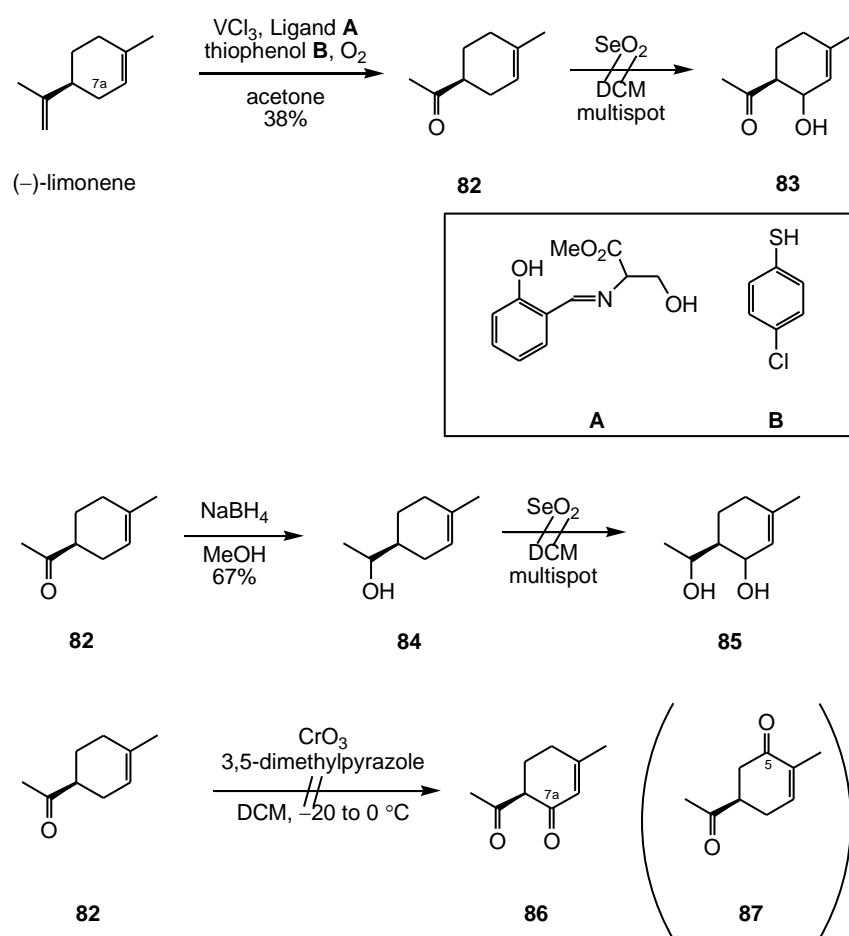


Figure 36. (–)-limonene を出発原料とした検討

以上から、不斉原料である(–)-limonene を出発原料とした pleurospiroketal 類の C7a 位にあたる位置への直接的な酸素原子の導入は困難であると結論付け、出発原料を変更することとした。



#### 2.2.14. (–)-Perillaldehyde を用いた合成研究

Pleurospiroketal 類の 6 員環の C7a 位にあたる位置への直接的な酸素原子の導入は不可能であったので、転位反応によって酸素原子を導入する合成計画へと変更した。すなわち、光学活性なエノールトリフラートユニット **73** はラセミ体合成で用いたケトン **71** を光学活性体で得ることができればそこから導くことができる。ケトン **71** は **88** のイソプロペニル基を選択的に酸化することで得られると考えた。**88** はエノン **89** の還元と保護により得られると考えた。エノン **89** は既知のエノン **43** から導くことができると考え合成に着手した (Figure 37.)。

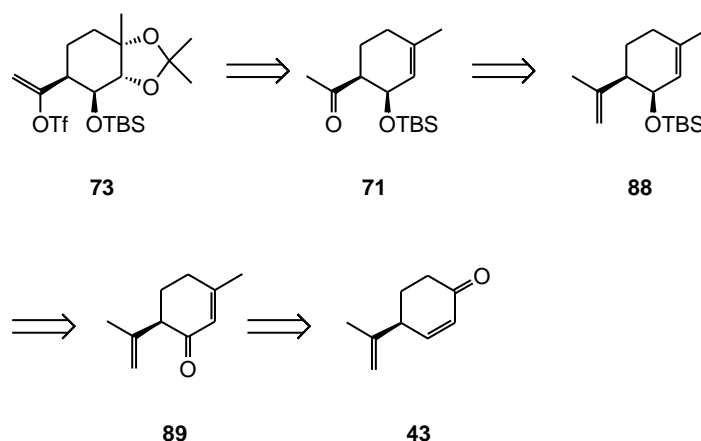


Figure 37. (–)-Perillaldehyde を原料とした場合の逆合成

(–)-Perillaldehyde から既知の 3 工程で導けるエノン **43** に対し<sup>44)</sup>、メチルリチウムを作用させアリルアルコール **90** を 1.1:1 のジアステレオマー比で得た。これらのアルコールをシリカゲルカラムクロマトグラフィーにより分離し、それぞれに対し PDC を作用させたところ、いずれのアルコールも既知のエノン **89** へと導くことができた<sup>45)</sup>。エノン **89** の Luche 還元<sup>46)</sup>はイソプロペニル基を避ける方向から進行し、立体選択的に既知のアリルアルコールへと変換することができた<sup>45)</sup>。得られたアリルアルコールを TBS 基で保護することで **88** へと導いた。**88** に対し先ほど用いた条件で選択的にイソプロペニル基を酸化開裂し、ラセミ体合成で用いた中間体のケトン **71** を既知のエノンから 5 工程で光学活性体として得ることに成功した (Figure 38.)。

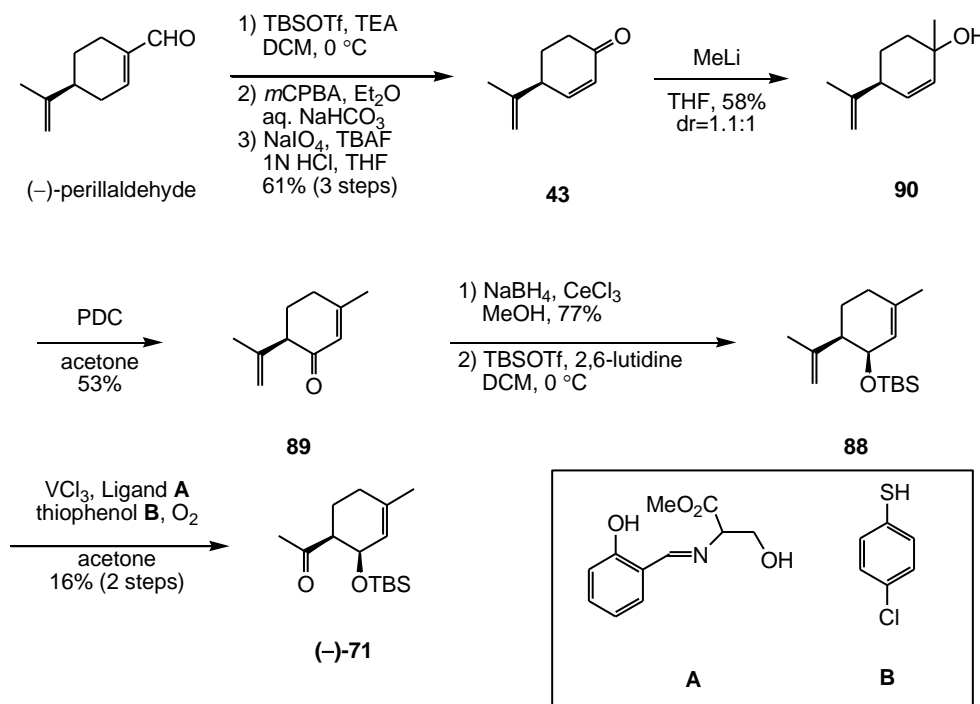


Figure 38. (–)-Perillaldehyde をキラルプールとした(–)-**72** の合成

しかしながら、確立した合成経路においてはイソプロペニル基の酸化開裂反応 (**88**→**71**)に過剰量用いているチオフェノール **B** の除去が難しいため大スケールでの合成が行いにくく、かつ収率も低いという課題が残された。そのため、生物活性試験のための試料供給という観点から見た場合、本法では十分量の試料を供給するのは困難であると考え、より収率の高い方法を模索することとした。

まずは **88** に対しレミュージョンソン酸化による酸化的開裂を行った。この場合、所望のケトン(–)-**71** は最高でも 40% 程度しか得ることができず、6 員環内部のオレフィンも開裂してしまった **91** を主生成物として得る結果となった。加えて、再現性も低かったため別の方法を検討することとした。

続いて、**88** のすべてのオレフィンをヒドロキシ化したテトラオール **92** の水酸基を選択的に開裂させることを試みた。このテトラオール **92** については酢酸エチルで抽出することが可能であった。まず、低温で過ヨウ素酸ナトリウムを作用させたところ (a)、反応は直ちに完結し、すべてのジオール部分が開裂

した **91** のみを与える結果となった。四酢酸鉛を低温で作用させた場合 (b) も同様であった。

そこで、イソプロペニル基のオレフィンをエポキシドとして保護し、最後に過ヨウ素酸で開裂させることを考えた。エノン **89** のイソプロペニル基を *m*CPBA によりエポキシ化しエポキシド **93** を 1:1 の分離可能なジアステレオマーとして得た。エポキシド **93** のカルボニル基を選択的に還元しようと試みたが、Luche 還元 (a) や  $\text{Ca}(\text{BH}_4)_2$  を用いた還元<sup>47)</sup> (b) ではエポキシドが優先的に開環したジオール **94** を与えるのみであった。セリウムやカルシウムのルイス酸性の高さが原因と考え、それを抑制する目的で THF を溶媒として低温で DIBAL による還元を行ったが、2:1 の比率でジオール **94** とヒドロキシエポキシド **95** の分離困難な混合物を与えたため、これ以上の検討は行わなかった (Figure 39.)。

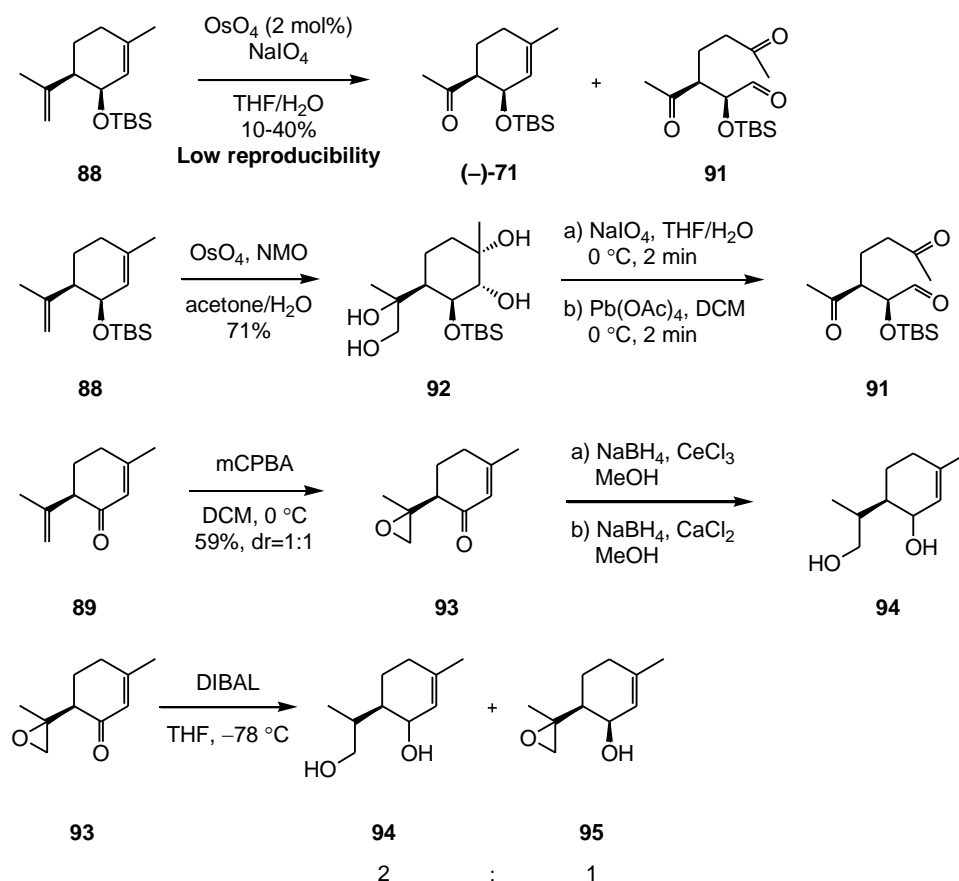


Figure 39. 酸化的開裂の検討

ここで、先ほど合成したテトラオール **92** の 1 級水酸基のみを保護してから種々の官能基変換を行うことで光学活性なカップリングユニット前駆体のケトン **72** を得ることができるのではないかと考えた。

まずは、脱保護の工程を削減できるため、最も工程数が短くなると期待されるトシル基を保護基として反応を行った。田辺らにより報告された方法<sup>48)</sup>によりトシル化を行いトリオール **96** とした後、炭酸カリウムを作用させてエポキシドを形成しジオール **97** とした。得られたジオール **97** にアセトニドで保護を行い **98** へと変換した。最後に **98** のエポキシドをメタ過ヨウ素酸によって開裂しようとしたが、ほとんどが過ヨウ素酸の酸性によりアセトニドが除去されそのままジオールの開裂が起きてしまい望まない **91** が得られてしまった。系中で生じるヨウ化水素による酸性を中和するために炭酸水素ナトリウムを加えた場合は、反応が進行しなかった。そこで別の基質を用いることとした (Figure 40.)。

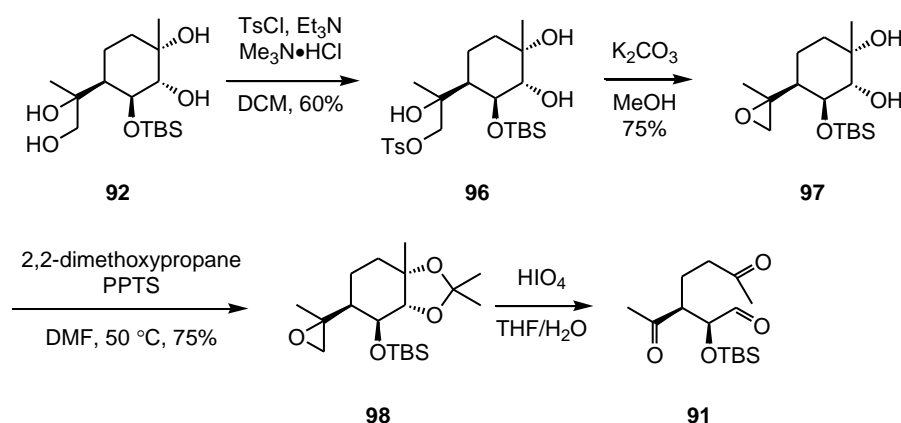


Figure 40. トシル基で 1 級水酸基を保護した場合

次は、テトラオール **92** に対しその 1 級水酸基をアセチル基で保護し、トリオール **99** とした。このとき、C7 位の 2 級水酸基にアセチル化が起きた **100** も分離困難な混合物として 3:1 の割合で得られた。

そこで、保護基をピバロイル基へと変更し、反応を行った。すると位置選択性が 10:1 以上へと改善し 1 級水酸基選択的に保護することに成功した。保護基がピバロイル基の場合でも 1 級水酸基の保護体 **99** と 2 級水酸基の保護体 **100** の分離は不可能であったが、これらのトリオールにアセトニド保護を施し

た段階でシリカゲルカラムクロマトグラフィーにより分離することが可能となった。得られた保護体 **101** のピバロイル基を加メタノール分解により除去し、ジオール **102** へと変換した。ジオール **102** を過ヨウ素酸ナトリウムによって開裂させることで、光学活性なケトン **72** の高収率な合成に成功した。

その後はケトン **72** をエノールトリフラート **73** へと変換し、ビニルスズ **34** との Stille クロスカップリングと続く TBS 基の除去、スピロ環構築、アセトニド除去、水酸基の酸化という 5 工程で天然型 pleurospiroketal A の不斉全合成を達成した (Figure 41.)。

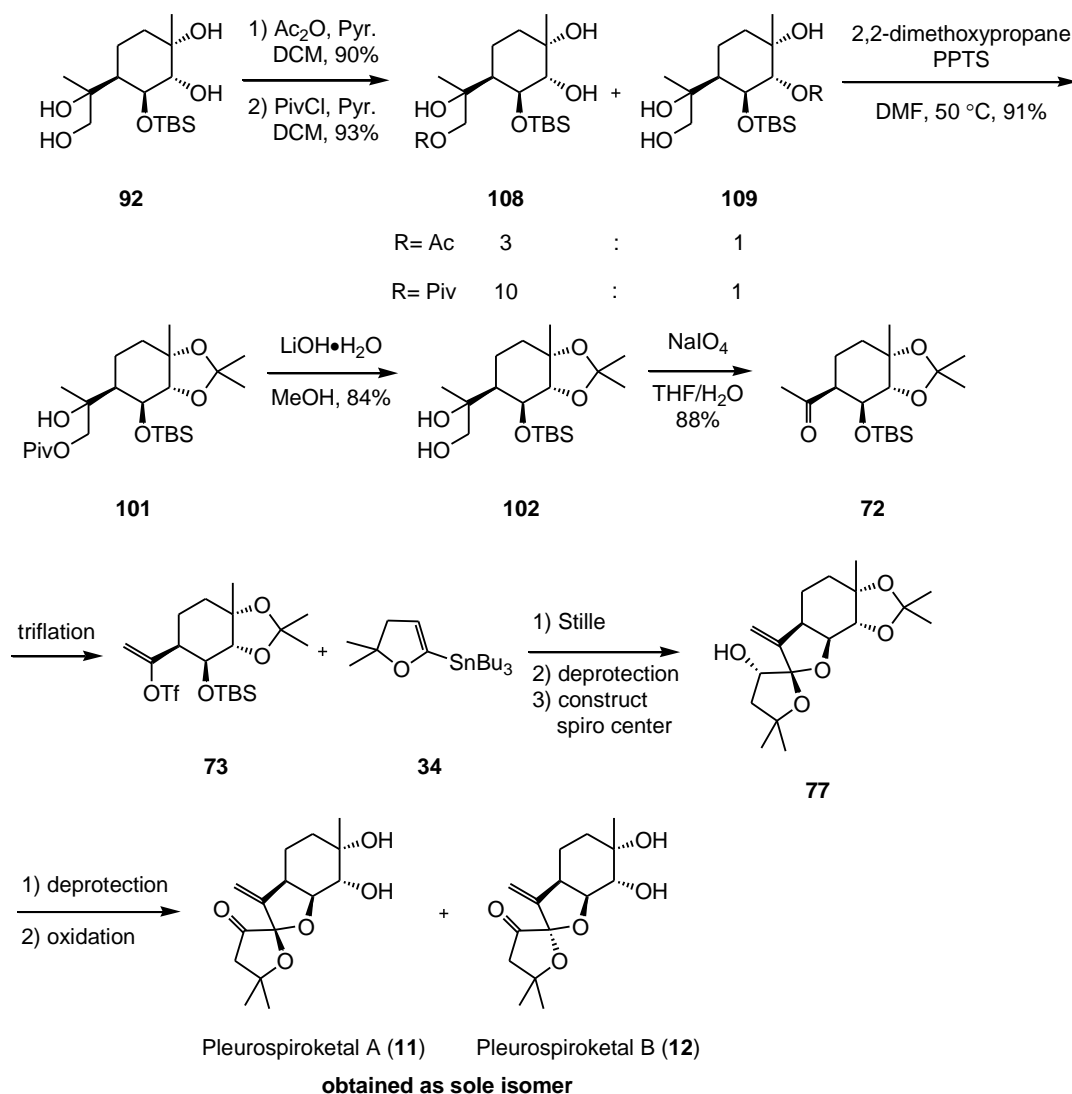


Figure 41. テトラオール **94** から天然型 pleurospiroketal A の不斉全合成

既知のエノン **43** からの工程数は 4 工程増えてしまったものの、1 工程でイソプロペニル基を酸化的に開裂させた場合に比べて、通算収率は大きく向上し、再現性も良くスケールアップにも耐えうる合成経路が確立された。

### 2.2.15. 非天然型 pleurospiroketal 類の合成研究

天然型 pleurospiroketal 類をキラルプール法によって合成することができたので、非天然型 pleurospiroketal 類のキラルプール法による合成に着手した。幸いにも、アリルアルコール **90** のエナンチオマー *ent*-**90** が購入可能であったので、それを用いた。

天然型 pleurospiroketal 類の合成と同様の合成経路により、現在はエノールトリフラートユニット *ent*-**73** の合成まで完了している。このまま合成を継続し、非天然型 pleurospiroketal 類まで導く予定である (Figure 42.)。

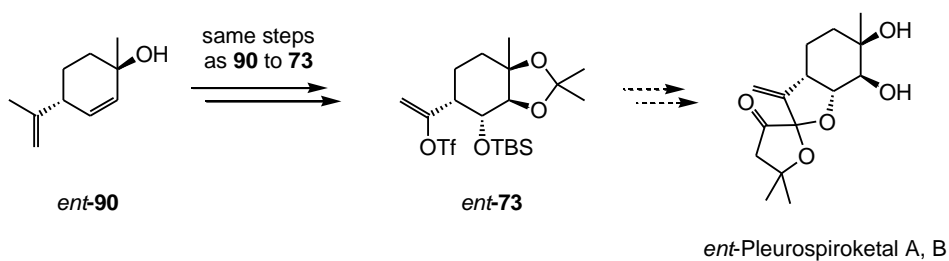


Figure 42. 非天然型 pleurospiroketal 類の合成

#### 2.2.16. 小括

以上を小括する。筆者は一酸化窒素産生阻害活性を有するセスキテルペノイド **pleurospiroketal A, B** の合成研究を行った。(–)-Perillaldehyde から 3 工程で既知のエノン **43** へと変換後、メチルリチウムを作用させることで得られたアリルアルコールのジアステレオマー混合物に対し PDC を作用させることで酸化的転位反応が進行しエノン **88** を合成した。このものに対し種々の官能基変換によってエノールトリフラート **73** を得た。もう一方のカップリングユニットのビニルスズ **34** はアセトンより 4 工程で合成した。両カップリングユニットに対して Stille クロスカップリングを適用し、脱保護を行うことでスピロ環化前駆体のアルコール **68** を得た。エノールエーテル部分をエポキシ化することで **pleurospiroketal A, B** 前駆体のアルコール **77** と **78** を分離可能なジアステレオマーとして得た。両者に対して、それぞれ酸化→脱保護の順に反応を行うとスピロ環の異性化が観測され、**pleurospiroketal A, B** を分離困難な混合物として与える結果となったが、脱保護→酸化の順で反応を行うと **pleurospiroketal A, B** をそれぞれ単一化合物として得る結果となり **pleurospiroketal A** および **B** の不斉全合成を達成した。総工程数は 15 工程、総収率は **pleurospiroketal A, B** それぞれに対し 1.6%、2.4%であった。



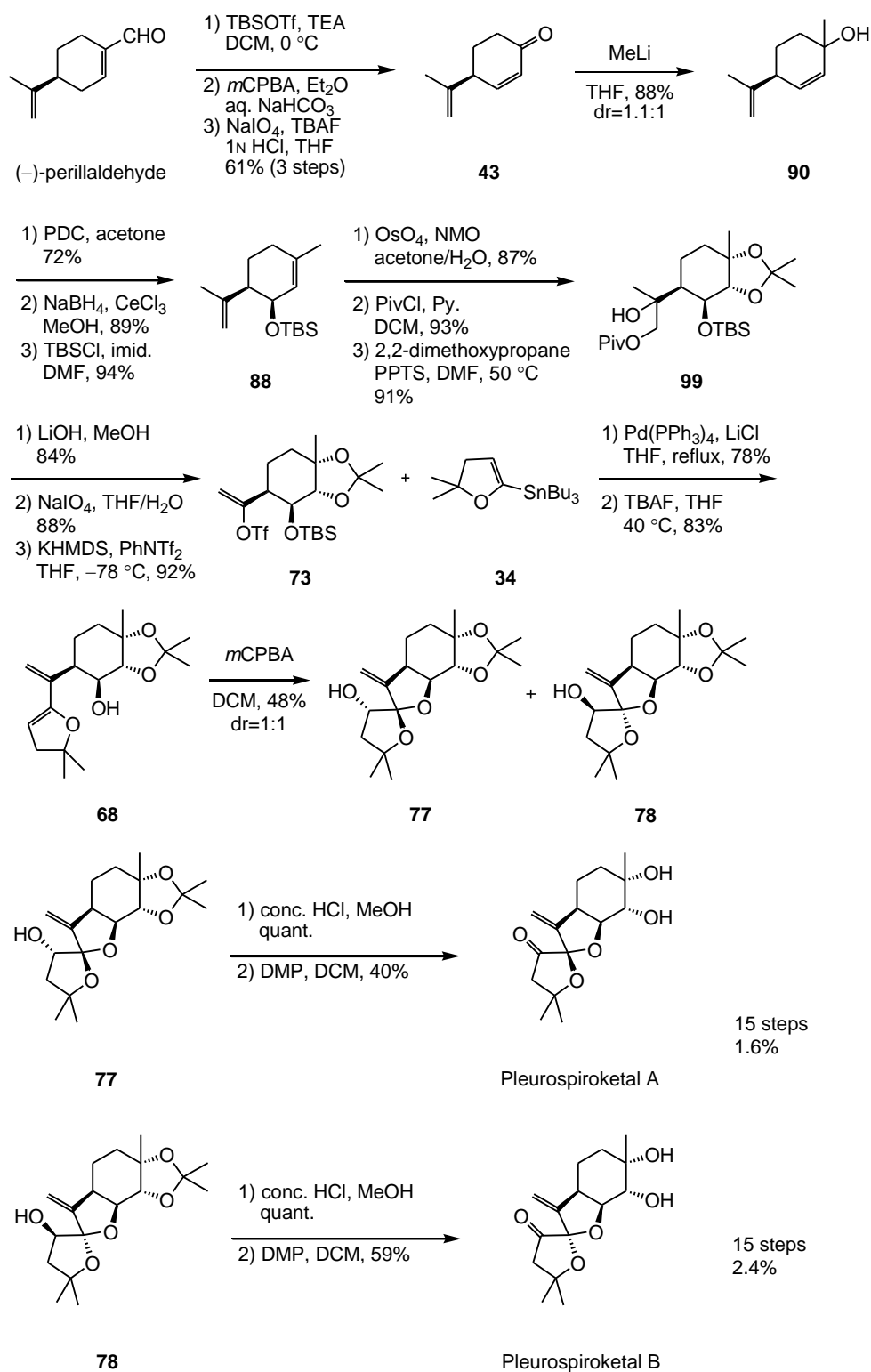


Figure 43. Pleurospiroketal A, B の不斉全合成

### 第3章 Pleurospiroketal C, D, E の合成研究

#### 3.1. Pleurospiroketal C, D, E について

Pleurospiroketal 類には pleurospiroketal A, B のみならず、pleurospiroketal C, D, E も存在する。これらの化合物は pleurospiroketal A, B とともにシロノタモギタケモドキ(*Pleurotus cornucopiae*)の酢酸エチル抽出物より単離された。その構造はいずれも MS および NMR によって決定され、特に pleurospiroketal C については pleurospiroketal A, B よりも弱い NO 産生阻害活性と pleurospiroketal A, B よりも強い HeLa 細胞に対する細胞毒性が報告されている<sup>11)</sup>。一方、pleurospiroketal D, E は HPLC 等による分離が検討されておらず、それぞれ 5:4 の混合物として得られている。そのため、それぞれの化合物についての単一なデータを得られておらず、活性試験も行われていない。そこでこれらの初の全合成を達成して活性試験に供することを目的として、pleurospiroketal C, D, E の合成に着手した。

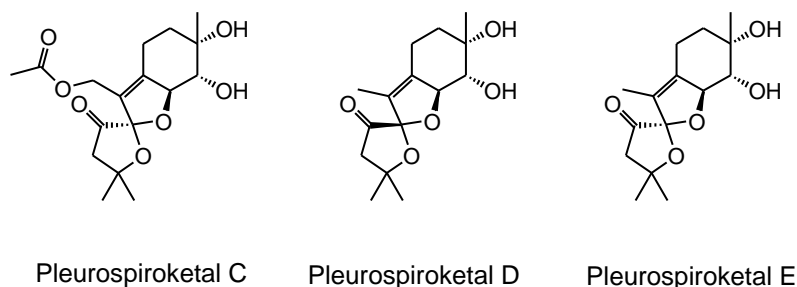


Figure 44. Pleurospiroketal C-E の構造

### 3.2. 逆合成解析

Pleurospiroketal C, D, E の逆合成解析を以下に示す。Pleurospiroketal A, B の合成を参考にすると、pleurospiroketal D, E はカップリング体 **103** の電子豊富なエノールエーテル部分をエポキシ化した後、脱保護と酸化を行うことで得られると考えた。カップリング体 **103** はエノールトリフラート **104** とビニルスズ **34** との Stille クロスカップリングにより得られると考えた。エノールトリフラート **104** はケトン **72** を熱力学的条件でトリフラート化することで導くことができると考え合成に着手した。なお、pleurospiroketal D, E の分離は pleurospiroketal A, B の時と同様にスピロ環構築の際に行うことができると期待した。

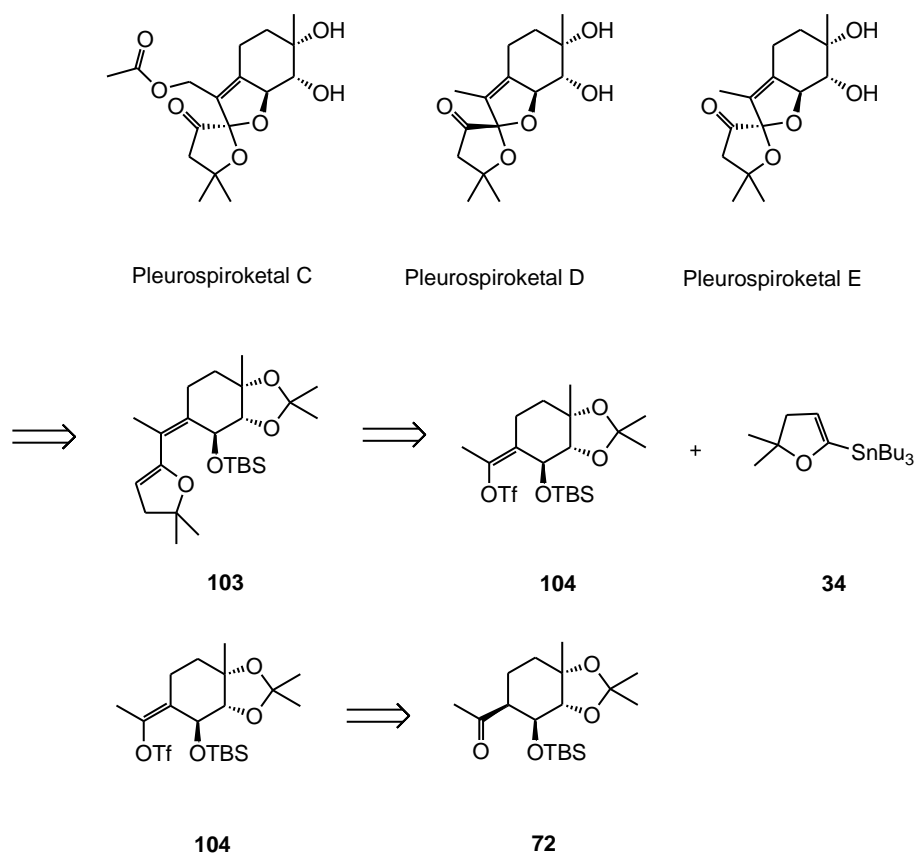


Figure 45. Pleurospiroketal C-E の逆合成解析

### 3.3. モデル基質による検討

まずはモデル基質としてラセミ体の合成中間体のケトン **71** を用いて熱力学的に安定な内部エノールトリフラー **105** を合成するための条件検討を行った (Figure 46.)。

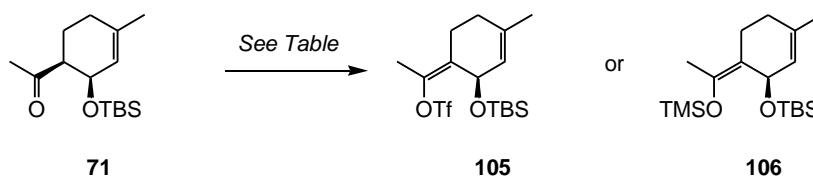


Table: Conditions to enol triflate **105**


entry	base	reagent	solv.	temp.	result
1	TEA	Tf <sub>2</sub> O	DCM	0 °C	N.R.
2	<i>t</i> -BuOK	Tf <sub>2</sub> O	DCM	0 °C	N.R.
3	TEA	TMSCl	DCM	rt	N.R.
4	HMDS	TMSOTf	DCM	reflux	multispot
5	NaH		DMF or cyclohexane	rt	N.R.

Figure 46. 熱力学的な内部エノールトリフラー **105** の合成検討

Entry 1 は一般的な熱力学的に安定な内部エノールトリフラー合成の条件を参考に反応を行った。しかし、反応は全く進行しなかった。Entry 2 では塩基を変更して反応を行ったが、この場合でも反応は全く起こらなかった。そこで、一度シリルエノールエーテルで捕捉した後にリチウム試薬を作用させてリチウムエノラートを発生させることで、望むトリフラー化反応を進行させようと考えた。Entry 3 のように塩基としてトリエチルアミンを作用させた場合、反応は進行しなかった。Entry 4 では Guzaev らが用いていた条件<sup>49)</sup>を参考として、塩基としてヘキサメチルジシラザンを用いてトリフルオロメタンスルホン酸トリメチルシリルをシリル化剤として反応を行うと、反応系が複雑化してしまった。TBS 基の嵩高さのために反応が進行しないと考え、塩基として水素化ナト

リウムを選択し反応を行った。Entry 5 では、西井らによって報告されていたシリルエノールエーテル化の方法を試みた<sup>50)</sup>。この場合でも所望の生成物 **106** を得ることはできなかった。

以上の結果から、熱力学的に安定な内部エノールトリフラートを合成することは困難であると結論付け、これ以上の検討は行わなかった。今後は別の合成法を模索する予定である。

### 3.4. 今後の展望

モデル基質において内部エノールトリフラート **105** の合成を行うことができなかった。今後は、パラジウムやロジウムなどの遷移金属を用いてトリオール **107** および **108** のエキソメチレンを直接内部オレフィンへと異性化する検討を行い、pleurospiroketal D, E へと導く予定である (Figure 47.)。

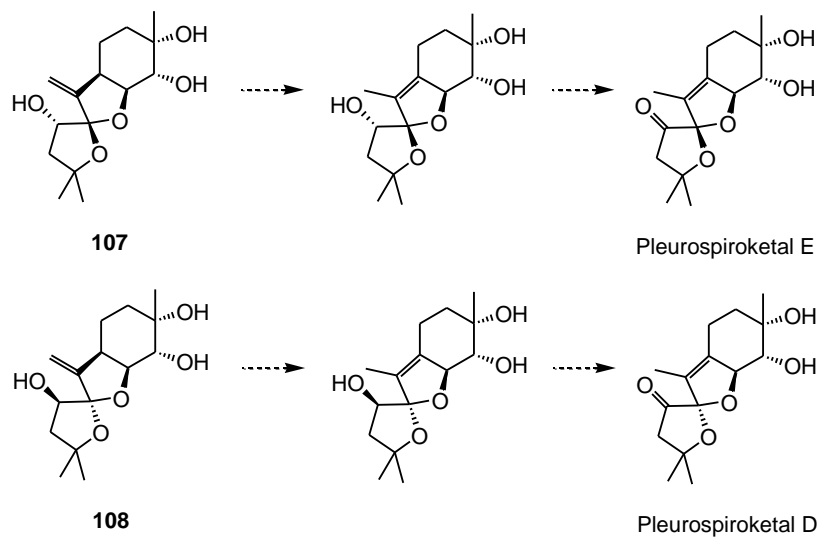


Figure 47. 今後の展望

### 3.5. 小括

以上を総括する。筆者は pleurospiroketal C, D, E の初の全合成を目指しそれらの合成研究に着手した。Pleurospiroketal A, B を合成した際と同様の手法で合成が可能であると考えたため、まずはモデル基質を用いて熱力学的に安定な内部エノールトリフラートの合成を検討した (Figure 48.)。

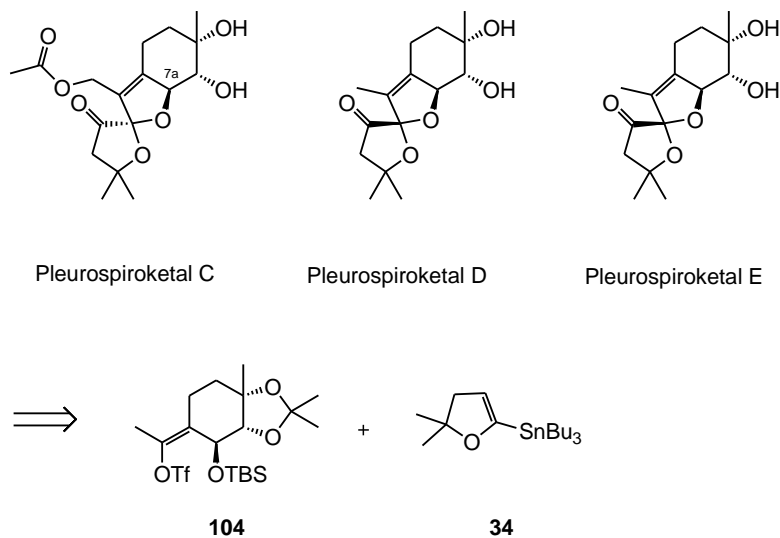


Figure 48. Pleurospiroketal C-E の合成に向けた逆合成解析

しかし、C7a 位にあたる位置に存在する TBS 基の嵩高さのためかケトン **71** のエノールトリフラート化およびシリルエノールエーテル化を行うことはできなかった (Figure 49.)。

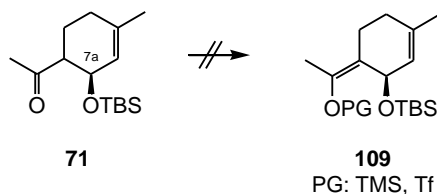


Figure 49. Pleurospiroketal C-E の合成に向けたモデル実験の結果

今後は pleurospiroketal A, B 前駆体のオレフィンの異性化の検討を行い、pleurospiroketal 類の網羅的全合成を目指す予定である (Figure. 50)。

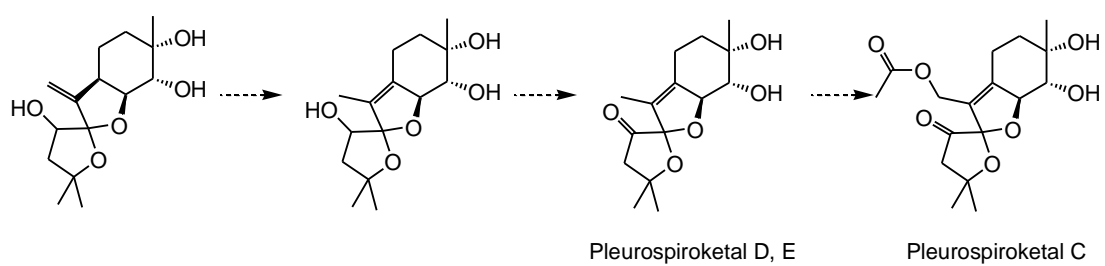


Figure 50. Pleurospiroketal C-E の全合成に向けた展望



## 結論

本研究を総括する。筆者は、ヒラタケ科のキノコ的一种である *Pleurotus cornucopiae* より単離された一酸化窒素産生阻害活性を有するセスキテルペノイドの **pleurospiroketal** 類に着目し、本化合物群に特徴的な連続する不斉炭素の効率的な構築を鍵段階とした合成研究に着手した。

第一章では **pleurospiroketal** 類の構造的特徴や活性について述べ、一酸化窒素産生阻害活性ががん治療のために期待されているものの、その活性発現のメカニズムは未だに不明であり生物活性試験の必要があること、それにもかかわらず合成例が 1 例のみであり、工程の効率や通算収率、化合物の分離に課題が残されていることを述べた。

これを踏まえて、第二章では実際に行った筆者の **pleurospiroketal A, B** の不斉全合成研究について述べた。**Stille** クロスカップリングと続くエノールエーテルのエポキシ化を鍵反応とする逆合成を立案した。既知のエノン **43** から 15 工程、通算収率 1.6% および 2.4% で天然型の (+)-**pleurospiroketal A, B** 合成を達成した。唯一報告されている合成よりも 1 工程短く、**pleurospiroketal A, B** それぞれを単一異性体として合成することのできる合成経路となっている (Figure 51.)。

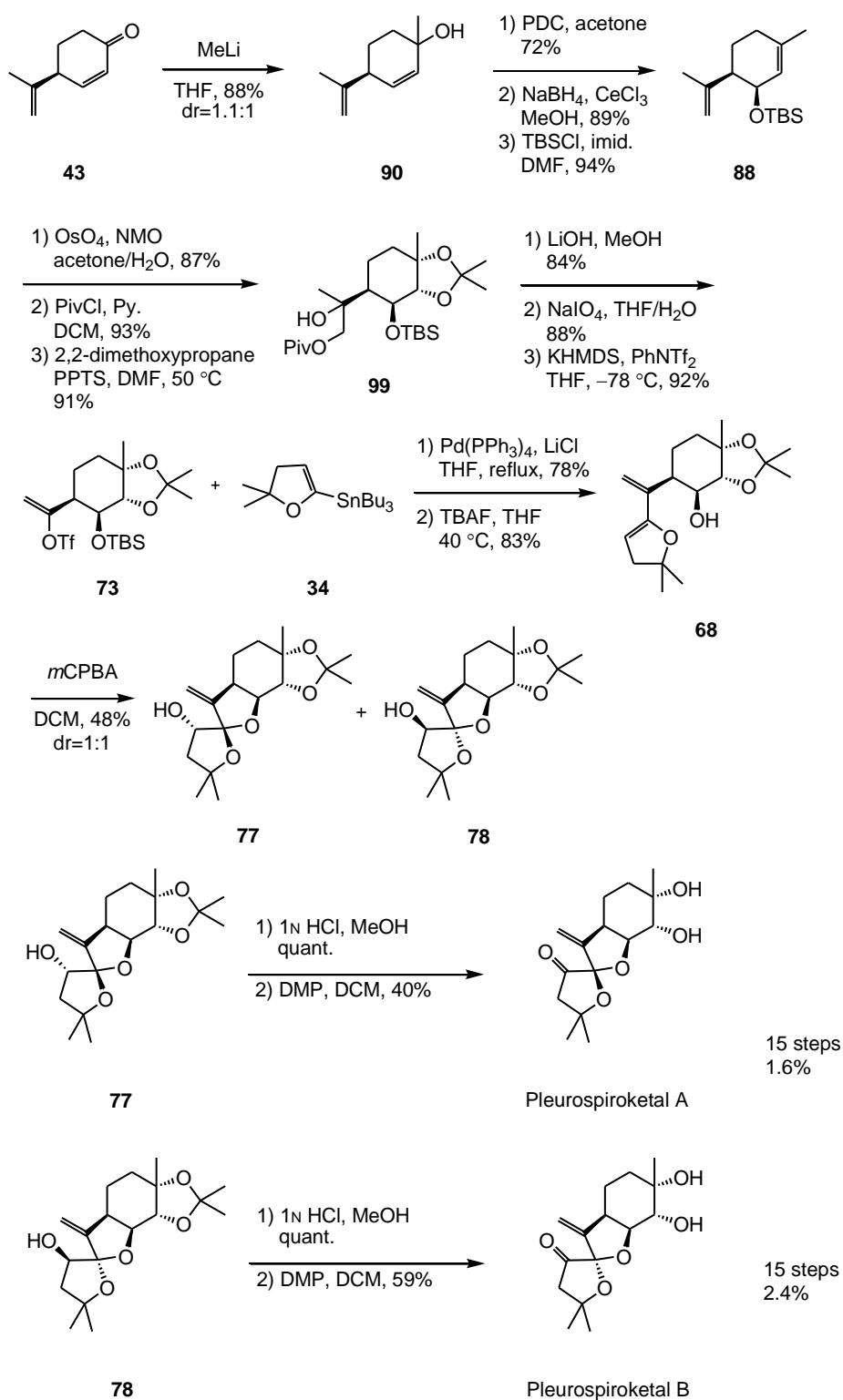


Figure 51. 天然型 pleurospiroketal A, B の合成

第三章では第二章で確立した合成法を応用し、pleurospiroketal C, D, E の

合成研究を行った。まずはモデル基質を用いて検討を行ったが、望みの内部エノールトリフラート **105** を得ることは困難であり、未だカップリングユニットの合成には至っていない (Figure 52.)。今後は、別法による合成を目指す予定である。

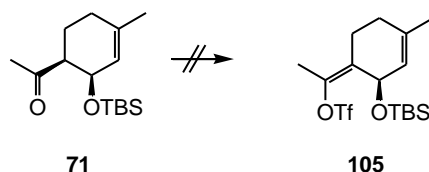


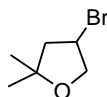
Figure 52. Pleurospiroketal C-E の合成研究

以上に述べたように、筆者は菌類に由来する新規セスキテルペノイド pleurospiroketal 類に着目し、その合成法の確立を目指して合成研究を行い、pleurospiroketal A および B の不斉全合成を達成した。今後本研究を基にした pleurospiroketal 類の構造活性相関研究が進展し、その作用機序を明らかにすることができれば新規抗がん剤創出への足掛かりになる可能性がある。また、本研究で得られた合成化学的知見が他の天然物合成にも応用され、今後の有機合成化学ならびに農芸化学のさらなる発展に少しでも寄与できれば幸いである。

## 実験の部

- $^1\text{H}$ -NMR スペクトルは残存非重水素化溶媒 ( $\text{CHCl}_3$ : 7.26 ppm)を内部標準とし、JEOL-JNM ECS-400 (400MHz)を用いて測定した。
- $^{13}\text{C}$ -NMR 溶媒ピーク( $\text{CDCl}_3$  : 77.0 ppm)を内部標準とし、JEOL-JNM ECS-400 (100 MHz)を用いて測定した。
- 赤外分光スペクトルは Jasco FT/IR-4200 を用いて測定した。
- 高分解能 ESI マススペクトルは
- 比旋光度は Jasco P-2100 を用いて測定した。
- シリカゲルクロマトグラフィーは記載がない限り関東化学社製シリカゲル 60N (球状、中性) 63~210 $\mu$  を用いて行った。
- 実験項における化合物の炭素番号は IUPAC 命名法に基づいているため、本編に記載されている炭素番号とは異なる。

4-bromo-tetrahydro-2,2-dimethylfuran (**36**)



アルゴン雰囲気下、ホモアリルアルコール **35** (6.19 g, 61.8 mmol)のジエチルエーテル溶液に対し、0 °Cで臭素 (3.35 mL, 64.89 mmol)を加え、90 分間撹拌した。その後、キノリン (8.06 mL, 67.98 mmol)を加え加熱還流下で 3 時間撹拌した。反応終了後、セライトろ過により沈殿を除去した。ろ液を減圧下濃縮し、得られた残渣を蒸留精製 (19.0 mmHg, 72.6 °C)により精製し、ブロモエーテル **36** (7.76 g, 43.34 mmol, 70%)を得た。

**36**: pale yellow oil;  $^1\text{H-NMR}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  (ppm)= 4.39 (1H, dt,  $J$ = 2.4 Hz, 5.2Hz), 4.20 (1H, dd,  $J$ = 6.0 Hz, 8.4 Hz), 3.99 (1H, dd,  $J$ = 5.2 Hz, 8.4 Hz), 2.37 (1H, dd,  $J$ = 8.0 Hz, 10.0 Hz), 2.15 (1H, dd,  $J$ = 5.2 Hz, 14.0 Hz), 1.42 (3H, s), 1.24 (3H, s);  $^{13}\text{C-NMR}$  (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  (ppm)= 81.33, 74.61, 48.89, 45.33, 28.56, 28.44

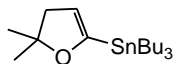
2,2-dimethyl-2,3-dihydrofuran (**33**)



ブロモエーテル **36** (8.04 g, 44.90 mmol)に対し水酸化カリウム (7.56 g, 134.71 mmol)を加え、150 °Cに加熱し、蒸留することでジヒドロフラン **33** (1.84 g, 18.75 mmol)を得た。

**33**: colorless oil; 各種スペクトルデータは文献値と一致した。

Tributyl(5,5-dimethyl-4,5-dihydrofuran-2-yl)stannane (**34**)

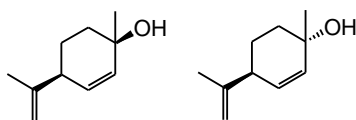


カリウム *t*-ブトキシド (433 mg, 3.86 mmol) のテトラヒドロフラン溶液 (15 mL) にジヒドロフラン **33** (189 mg, 1.93 mmol) を加え、 $-78^{\circ}\text{C}$  に冷却した。反応溶液に対し *n*-ブチルリチウム (1.56 M ヘキサン溶液, 2.47 mL, 3.86 mmol) を加え 30 分撹拌した。このものに対し塩化トリブチルスズ (1.31 mL, 4.83 mmol) を加えさらに 2 時間撹拌した。飽和炭酸水素ナトリウム水溶液を加え反応を停止し、ヘキサンで 2 回抽出した。合わせた有機層を硫酸ナトリウムで乾燥後、減圧濃縮した。得られた残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (*n*-ヘキサン: トリエチルアミン = 100:1) により精製しビニルスズ **34** (168 mg, 0.433 mmol, 20%) を得た。

**34**: colorless oil;  $^1\text{H-NMR}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  (ppm) = 4.84 (1H, m), 2.37 (2H, m), 1.52 (6H, m), 1.30 (12H, m), 0.95 (6H, t,  $J = 8.0$  Hz), 0.89 (9H, t,  $J = 7.2$  Hz);  $^{13}\text{C-NMR}$  (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  (ppm) = 161.34, 110.20, 84.70, 43.22, 28.97, 28.33, 27.13, 13.72, 9.52

(1*R*,4*S*)-1-methyl-4-(prop-1-en-2-yl)cyclohex-2-enol (**90**)

(1*S*,4*S*)-1-methyl-4-(prop-1-en-2-yl)cyclohex-2-enol (**90'**)



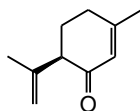
アルゴン雰囲気下、エノン **43** (873.8 mg, 6.42 mmol) のテトラヒドロフラン溶液 (25 mL) を  $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$  に冷却し、メチルリチウム (1.09 M ジエチルエーテル溶液, 7.06 mL, 7.70 mmol) を滴下し 30 分間攪拌した。温度を室温にまで昇温し、さらに 90 分攪拌した。水を加え反応を停止し、水層をジエチルエーテルで 5 回抽出した。合わせた有機層を硫酸ナトリウムで乾燥後、減圧濃縮した。得られた残渣をシリカゲルクロマトグラフィー (*n*-ヘキサン/ジエチルエーテル = 4:1) により精製し、アリルアルコール **90** (390.5 mg, 2.57 mmol, 40%) および **90'** (472.4 mg, 3.10 mmol, 48%) を得た。

**90**: colorless oil;  $^1\text{H-NMR}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  (ppm) = 5.71 (1H, dd,  $J = 7.5$  Hz, 1.2 Hz), 5.66 (1H, dd,  $J = 7.5$  Hz, 1.2 Hz), 4.76 (2H, dt,  $J = 14.4$  Hz, 1.2 Hz), 2.66 (1H, m), 1.76-1.86 (2H, m), 1.74 (3H, s), 1.57-1.65 (2H, m), 1.49 (1H, s), 1.30 (3H, s);  $^{13}\text{C-NMR}$  (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  (ppm) =

**90'**: colorless oil;  $^1\text{H-NMR}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  (ppm) = 5.69 (1H, dd,  $J = 1.6$  Hz, 10.0 Hz, ) 5.61 (3.2 Hz, 10.0 Hz), 4.78 (1H, t,  $J = 1.6$  Hz), 4.66 (1H, t,  $J = 0.8$  Hz), 2.74 (1H, m), 1.76-1.91 (2H, m), 1.74 (3H, s), 1.51-1.68 (2H, m), 1.46 (1H, s), 1.29 (3H, s);  $^{13}\text{C-NMR}$  (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  (ppm) = 147.20, 134.43, 130.81, 110.94, 68.65, 42.44, 36.05, 28.92, 24.97, 21.23



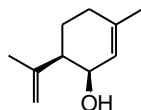
(*R*)-3-methyl-6-(prop-1-en-2-yl)cyclohex-2-enone (**89**)



アリルアルコール **90** と **90'**の混合物 (170.9 mg)をアセトン (10 mL)に溶解し、ニクロム酸ピリジニウム (2.11 g, 5.61 mmol)およびシリカゲルを加え 24 時間攪拌した。反応終了後、反応溶液をセライトによってろ過し、ろ液を減圧濃縮した。得られた残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (*n*-ヘキサン/ジエチルエーテル=4:1)により精製し、エノン **89** (120.4 mg, 0.801 mmol, 72%)を得た。

**89**: colorless oil; 各種スペクトルデータは文献値と一致した。

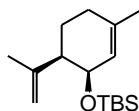
(1*R*, 6*R*)-3-methyl-6-(prop-1-en-2-yl)cyclohex-2-enol (**A**)



エノン **89** (354.9 mg, 2.36 mmol)をメタノール (15 mL)に溶解し、塩化セリウム(Ⅲ)七水和物 (1.06 g, 2.84 mmol)を加えた後、0 °Cに冷却した。これに対し水素化ホウ素ナトリウム (107.4 mg, 2.84 mmol)を少しずつ加え 10 分間攪拌した。反応終了後、反応液を減圧濃縮し得られた残渣に水を加えジエチルエーテルで 5 回抽出した。有機層を硫酸ナトリウムで乾燥後、減圧濃縮した。得られた残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (*n*-ヘキサン/ジエチルエーテル=4:1)により精製し、アリルアルコール **A** (323.8 mg, 2.10 mmol, 89%)を得た。

**A**: colorless oil; 各種スペクトルデータは文献値と一致した。

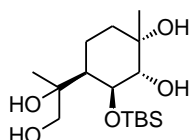
((1*R*, 6*R*)-3-methyl-6-(prop-1-en-2-yl)cyclohex-2-enyloxy)(*tert*-butyl)dimethylsilane (**88**)



アリルアルコール **A** (323.8 mg, 2.10 mmol)をジメチルホルムアミド (5 mL)に溶解し、イミダゾール (714.8 mg, 10.50 mmol)、*tert*-ブチルジメチルクロロシラン (1.27 g, 8.40 mmol)を加えた後アルゴン置換を行った。48 時間攪拌し、反応終了後に炭酸水素ナトリウム水溶液を加え、ヘキサンで 3 回抽出した。有機層を硫酸マグネシウムで乾燥後、減圧濃縮した。得られた残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (*n*-ヘキサン)により精製し、シリルエーテル **88** (525.3 mg, 1.97 mmol, 94%)を得た。

**88**: colorless oil;  $^1\text{H-NMR}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  (ppm) = 5.50 (1H, m), 4.80 (1H, m), 4.69 (1H, m), 4.13 (1H,  $J = 4.0$  Hz), 1.80-2.01 (4H, m), 1.76 (3H, s), 1.68 (3H, s), 1.50-1.57 (1H), 0.84 (9H, s), 0.00 (6H, d, 2.2 Hz);  $^{13}\text{C-NMR}$  (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  (ppm) = 147.12, 137.49, 124.33, 110.61, 66.46, 46.61, 31.22, 25.88, 23.43, 22.36, 21.21, 18.24, -3.83, -4.79

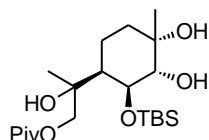
## テトラオール (92)



シリルエーテル **88** (525.3 mg, 1.97 mmol) をアセトン (6 mL), 水 (2 mL) に溶解させ、*N*-メチルモルホリンオキシド (4.8 M 水溶液, 1.64 mL, 7.88 mmol)、四酸化オスミウム (20 mg/mL *t*-ブチルアルコール溶液, 0.500 mL, 0.0394 mmol) を加え 24 時間攪拌した。反応終了後、チオ硫酸ナトリウム水溶液を加え酢酸エチルで 7 回抽出した。有機層を硫酸ナトリウムで乾燥後、減圧濃縮した。得られた残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (酢酸エチル) により精製しテトラオール **92** (572.5 mg, 1.71 mmol, 87%) を得た。

**92**: colorless foam;  $^1\text{H-NMR}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  (ppm) = 4.37 (1H, m), 3.59 (2H, m), 3.43 (1H, dd,  $J$  = 8.4 Hz, 10.8 Hz), 3.30 (1H, s), 2.71 (1H, m), 1.63-1.77 (4H, m), 1.38 (3H, s), 1.24-1.29 (1H, m), 1.23 (3H, s), 0.92 (9H, s), 0.20 (6H, d,  $J$  = 3.2 Hz);  $^{13}\text{C-NMR}$  (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  (ppm) = 75.34, 74.47, 73.81, 71.84, 68.92, 34.60, 26.57, 26.18, 26.09, 17.94, -2.62, -4.85

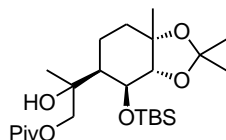
## Piv 保護 (108)



アルゴン雰囲気下、テトラオール **92** (25.6 mg, 0.0765 mmol) のジクロロメタン溶液 (2 mL) に対し、ピリジン (20.4  $\mu$  L, 0.230 mmol)、ヒバロイルクロリド (11.2  $\mu$  L, 0.0918 mmol) を加え、24 時間攪拌した。反応終了後、減圧濃縮を行い、塩化アンモニウム水溶液を加え酢酸エチルで 3 回抽出した。有機層を硫酸銅水溶液で 2 回洗浄し、硫酸ナトリウムで乾燥後、減圧濃縮した。得られた残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (*n*-ヘキサン/酢酸エチル=1:1) により精製し、トリオール **108** と **109** の混合物 (29.8 mg, 0.0712 mmol, 93%) を得た。

**108**: white foam;  $^1\text{H-NMR}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  (ppm) = 4.33 (1H, m), 4.19 (1H, d,  $J$  = 10.8 Hz), 3.91 (1H, d,  $J$  = 10.8 Hz), 3.52 (1H, m), 3.43 (1H, s), 2.63 (1H, d,  $J$  = 2.0 Hz), 1.89 (1H, m), 1.84 (1H, s), 1.58-1.74 (4H, m), 1.39 (3H, s), 1.24 (3H, s), 1.22 (9H, s), 0.91 (9H, s), 0.24 (3H, s), 0.19 (3H, s);  $^{13}\text{C-NMR}$  (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  (ppm) = 178.35, 75.46, 73.53, 73.24, 71.53, 69.40, 60.41, 39.50, 38.83, 34.87, 31.56, 27.14, 26.12, 23.87, 18.32, 17.89, 14.19, 14.13, -2.11, -5.11

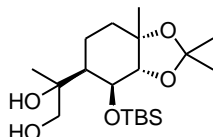
## アセトナイド保護体 (101)



テトラオール **108** と **109** の混合物 (663.3 mg, 1.58 mmol) のジメチルホルムアミド溶液 (10 mL) にパラトルエンスルホン酸ピリジニウム (39.8 mg, 0.158 mmol)、2,2-ジメトキシプロパン (0.388 mL, 3.17 mmol) を加え、50 °C で 24 時間攪拌した。炭酸水素ナトリウム水溶液を加え反応を終了させ、有機層を酢酸エチルで 2 回抽出した。合わせた有機層を硫酸ナトリウムで乾燥後、減圧濃縮した。得られた残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (*n*-ヘキサン/酢酸エチル=4:1) により精製し、アルコール **101** (662.6 mg, 1.45 mmol, 91%) を得た。

**101**: colorless oil;  $^1\text{H-NMR}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  (ppm) = 4.56 (1H, m), 4.22 (1H, d,  $J$  = 11.2 Hz), 3.92 (1H, d,  $J$  = 11.6 Hz), 3.72 (1H, d,  $J$  = 2.8 Hz), 3.23 (1H, s), 1.59-1.85 (5H, m), 1.42 (3H, s), 1.37 (3H, s), 1.32 (3H, s), 1.25 (3H, s), 1.22 (9H, s), 0.92 (9H, s), 0.24 (3H, s), 0.20 (3H, s);  $^{13}\text{C-NMR}$  (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  (ppm) = 178.22, 107.36, 81.12, 78.76, 73.13, 70.21, 69.30, 41.70, 38.83, 36.53, 28.19, 27.29, 27.13, 26.03, 25.24, 23.62, 17.92, 17.70, -2.62, -4.84

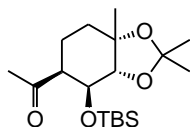
## Piv 脱保護 (102)



アルコール **101** (662.6 mg, 1.45 mmol) のメタノール (10 mL) 溶液に水酸化リチウム一水和物 (121.3 mg, 2.89 mmol) を加え、18 時間攪拌した。反応終了後に減圧濃縮を行い、水を加えた。酢酸エチルで 5 回抽出し、合わせた有機層を硫酸ナトリウムで乾燥後、減圧濃縮した。得られた残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (*n*-ヘキサン/酢酸エチル=1:1) により精製し、ジオール **102** (453.8 mg, 1.21 mmol, 84%) を得た。

**102**: colorless oil;  $^1\text{H-NMR}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  (ppm) = 4.55 (1H, m), 3.74, (1H, d,  $J$  = 2.4 Hz), 3.62 (1H, d,  $J$  = 10.4 Hz), 3.48 (1H, d,  $J$  = 10.4 Hz), 1.58-1.84 (5H, m), 1.47 (3H, s), 1.37 (3H, s), 1.34 (3H, s), 1.23 (3H, s), 0.92 (9H, s), 0.20 (6H, s);  $^{13}\text{C-NMR}$  (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  (ppm) = 107.40, 81.19, 78.82, 74.25, 70.24, 68.64, 41.66, 36.31, 28.30, 27.27, 26.05, 25.06, 22.66, 18.11, 17.95, -2.65, -4.70

## ケトン (72)

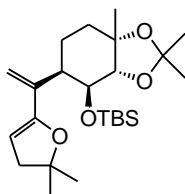


ジオール **102** (259.1 mg, 0.692 mmol) のテトラヒドロフラン溶液 (6 mL) に水 (2 mL)、過ヨウ素酸ナトリウム (222.0 mg, 1.038 mmol) を加え、終夜攪拌した。反応終了後、炭酸水素ナトリウム水溶液を加え、酢酸エチルで 2 回抽出した。合わせた有機層を硫酸ナトリウムで乾燥後、減圧濃縮した。得られた残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (*n*-ヘキサン/酢酸エチル=7:1) により精製しケトン **72** (207.5 mg, 0.606 mmol, 88%) を得た。

**72**: 得られたスペクトルデータは文献値と一致した。



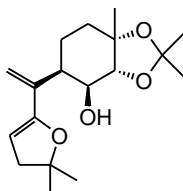
((3a*S*,6*R*,7*S*,7a*R*)-hexahydro-6-(1-(4,5-dihydro-5,5-dimethylfuran-2-yl)vinyl)-2,2,3a-trimethylbenzo[d][1,3]dioxol-7-yloxy)(tert-butyl)dimethylsilane (**B**)



エノールトリフラート **72** (86.1 mg, 0.181 mmol) とビニルスズ **34** (68.1  $\mu$  L, 0.218 mmol) のテトラヒドロフラン溶液 (3 mL) に無水塩化リチウム (23.1 mg, 0.544 mmol)、トリス(ジベンジリデンアセトン)ニパラジウム (8.3 mg, 0.00907 mmol)、トリフェニルホスフィン (9.5 mg, 0.0363 mmol) を加えた。反応系をアルゴンで置換し、加熱還流下で 3 時間攪拌した。反応終了後、フッ化カリウム水溶液を加え、終夜攪拌した。ジエチルエーテルで水層を 2 回抽出し、合わせた有機層を硫酸ナトリウムで乾燥後、減圧濃縮した。得られた残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (*n*-ヘキサン/ジエチルエーテル=20:1 +1% トリエチルアミン) によりカップリング成績体 **B** (59.5 mg, 0.141 mmol, 78%) を得た。

**B**: pale yellow oil;

(3aR,4S,5R,7aS)-hexahydro-5-(1-(4,5-dihydro-5,5-dimethylfuran-2-yl)vinyl)-2,2,7a-trimethylbenzo[d][1,3]dioxol-4-ol (**68**)

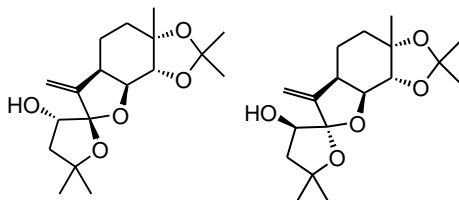


カップリング成績体 **B** (68.0 mg, 0.161 mmol) のテトラヒドロフラン溶液にブツ化テトラブチルアンモニウム (1.0M テトラヒドロフラン溶液, 1.80 mL, 1.61 mmol) を加えた。反応終了後、飽和食塩水を加えジエチルエーテルで 3 回抽出した。合わせた有機層を硫酸ナトリウムで乾燥後、減圧濃縮した。得られた残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (*n*-ヘキサン/ジエチルエーテル = 4:1 + 1% トリエチルアミン) により精製し、アルコール **68** (41.0 mg, 0.133 mmol, 83%) を得た。

**68:** colorless oil;

環化体 (77)

環化体 (78)

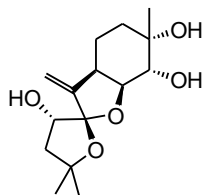


*m*-クロロ安息香酸 (0) のジクロロメタン溶液にアルコール **68** (0) を加え、10 分間攪拌した。反応終了後、チオ硫酸ナトリウム水溶液、炭酸水素ナトリウム水溶液を加え、酢酸エチルで 4 回抽出した。合わせた有機層を硫酸ナトリウムで乾燥後、減圧濃縮した。得られた残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (*n*-ヘキサン/酢酸エチル=4:1) により精製し、アルコール **77** および **78** を得た。

**77**: colorless oil;  $^1\text{H-NMR}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  (ppm) = 5.27 (2H, dd,  $J$  = 1.6 Hz, 5.6 Hz), 4.40 (1H, dd,  $J$  = 2.8 Hz, 7.2 Hz), 4.28 (1H, dd,  $J$  = 7.6 Hz, 10.0 Hz), 4.13 (1H, d,  $J$  = 2.8 Hz), 2.91 (1H, m), 2.22 (1H, q,  $J$  = 8.0 Hz), 1.50-1.96 (7H, m), 1.46 (3H, s), 1.43 (3H, s), 1.40 (3H, s), 1.33 (3H, s);  $^{13}\text{C-NMR}$  (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  (ppm) = 152.37, 110.34, 109.42, 107.20, 79.48, 78.34, 78.27, 75.01, 74.94, 45.57, 38.82, 32.21, 30.78, 29.87, 27.57, 27.14, 26.10, 24.81

**78**: colorless oil;  $^1\text{H-NMR}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  (ppm) = 5.27 (2H, dd,  $J$  = 1.6 Hz, 12.8 Hz), 4.60 (1H, dd,  $J$  = 2.4 Hz, 6.4 Hz), 4.30 (1H, dd,  $J$  = 10.0 Hz, 8.0 Hz), 4.13 (1H, d,  $J$  = 2.4 Hz), 2.92 (1H, m), 2.31 (1H, dd,  $J$  = 8.0 Hz, 12.0 Hz), 1.80-1.88 (2H, m), 1.53-1.59 (1H, m), 1.47 (3H, s), 1.42-1.46 (1H, m), 1.40 (3H, s), 1.36 (3H, s), 1.28 (3H, s);  $^{13}\text{C-NMR}$  (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  (ppm) = 153.36, 111.02, 109.89, 106.90, 79.72, 78.81, 76.68, 75.76, 45.00, 39.13, 32.91, 31.91, 30.68, 29.67, 27.53, 27.27, 26.11, 25.52

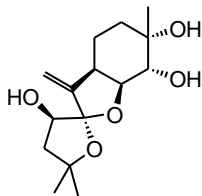
脱保護 for A (77')



アルコール **77** (4.30 mg, 0.0133 mmol) のメタノール溶液 (1 mL) に濃塩酸を 1 滴加え終夜撹拌した。飽和炭酸水素ナトリウム水溶液を加え反応を停止させ、水層を酢酸エチルで 3 回抽出した。合わせた有機層を硫酸ナトリウムで乾燥後、減圧濃縮した。得られた残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (酢酸エチル) により精製し、トリオール **77'** (4.00 mg, quant.) を得た。

**77'**: colorless crystal;  $^1\text{H-NMR}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  (ppm) = 5.28 (1H, d,  $J$  = 3.2 Hz), 5.08 (1H, d,  $J$  = 3.2 Hz), 4.20 (1H, t,  $J$  = 8.0 Hz), 4.11 (1H, dd,  $J$  = 7.2 Hz, 10.4 Hz), 3.48 (1H, d, 8.0 Hz), 2.99 (1H, m), 2.24 (1H, dd,  $J$  = 7.2 Hz, 12.0 Hz), 1.52-1.58 (2H, m), 1.40 (3H, s), 1.32 (3H, s);  $^{13}\text{C-NMR}$  (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  (ppm) = 148.76, 111.95, 107.37, 82.49, 80.00, 78.14, 72.43, 45.52, 42.46, 31.61, 29.69, 29.51, 26.69, 18.39

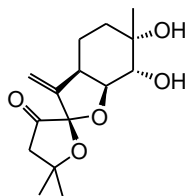
脱保護 for B (78')



アルコール **78** (1.70 mg, 0.00524 mmol) のメタノール溶液 (1 mL) に濃塩酸を 1 滴加え終夜撹拌した。飽和炭酸水素ナトリウム水溶液を加え反応を停止させ、水層を酢酸エチルで 3 回抽出した。合わせた有機層を硫酸ナトリウムで乾燥後、減圧濃縮した。得られた残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (酢酸エチル) により精製し、トリオール **78'** (1.90 mg, quant.) を得た。

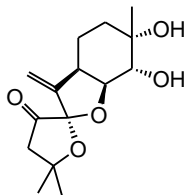
**78'**: colorless crystal;  $^1\text{H-NMR}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  (ppm) = 5.43 (1H, d,  $J$  = 3.2 Hz), 5.24 (1H, d, 2.8 Hz), 4.09 (1H, t,  $J$  = 8.0 Hz), 4.03 (1H, dd,  $J$  = 1.2 Hz, 4.8 Hz), 3.46 (1H, d,  $J$  = 8.8 Hz), 2.95 (1H, m), 1.53-2.32 (H, m), 1.43 (3H, s), 1.42 (3H, s), 1.24 (3H, s);  $^{13}\text{C-NMR}$  (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  (ppm) = 146.27, 110.70, 82.44, 81.97, 77.93, 72.40, 44.19, 41.97, 40.62, 32.14, 31.52, 31.21, 29.96, 26.68, 18.24

(+)-Pleurospiroketal A (11)



トリオール **77'** (2.5 mg, 0.00879 mmol) のジクロロメタン溶液 (2 mL) にデスマーチン試薬 (4.8 mg, 0.0114 mmol) を加え、36 時間攪拌した。飽和チオ硫酸ナトリウム水溶液および飽和炭酸水素ナトリウム水溶液を加え反応を停止させ、水槽を酢酸エチルで 3 回抽出した。合わせた有機層を硫酸ナトリウムで乾燥後、減圧濃縮した。得られた残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (n-ヘキサン/酢酸エチル=1:1) により精製し、Pleurospiroketal A (**11**) を得た。

(+)-Pleurospiroketal B (12)



トリオール **78'** (3.1 mg, 0.0109 mmol) のジクロロメタン溶液 (2 mL) にデスマーチン試薬 (6.0 mg, 0.0142 mmol) を加え、36 時間攪拌した。飽和チオ硫酸ナトリウム水溶液および飽和炭酸水素ナトリウム水溶液を加え反応を停止させ、水槽を酢酸エチルで 3 回抽出した。合わせた有機層を硫酸ナトリウムで乾燥後、減圧濃縮した。得られた残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (*n*-ヘキサン/酢酸エチル=1:1) により精製し、(+)-Pleurospiroketal B (1.8 mg, 0.00638 mmol, 59%) を得た。

## 引用文献

- 1) レイチェル・カーソン 『沈黙の春』 (新潮社、1962 年)
- 2) 信越化学工業株式会社  
<https://www.shinetsu.co.jp/jp/products/specialty-chemicals-business/synthetic-pheromones/>
- 3) 公益財団法人結核予防会; <https://www.jatahq.org/>
- 4) 公益財団法人日本リウマチ財団  
[http://www.rheumanet.or.jp/rheuma/rm400/rm400\\_chiryo\\_dmard.html](http://www.rheumanet.or.jp/rheuma/rm400/rm400_chiryo_dmard.html)
- 5) 厚生労働省 平成 27 年(2015)人口動態統計の年間推計  
<http://www.mhlw.go.jp/toukei/saikin/hw/jinkou/suikei15/index.html>
- 6) D. J. Newman, G. M. Cragg, *J. Nat. Prod.*, **2016**, *79*, 629
- 7) H. Egger, H. Reinshagen, *J. Antibiot.*, **1976**, *29*, 915
- 8) W. J. Robbins, F. Kavanagh, A. Hervey, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S. A.*, **1947**, *33*, 171
- 9) M. Hara, M. Yoshida, M. Morimoto, H. Nakano,  
*J. Antibiot.*, **1987**, *40*, 1643
- 10) S.-j. Wang, Y.-x. Li, Li Bao, J.-j. Han, X.-l. Yang, H.-r. Li, Y.-q. Wang, S.-j. Li, H.-w. Liu, *Org. Lett.*, **2012**, 3672
- 11) S.-j. Wang, Li Bao, J.-j. Han, Q.-x. Wang, X.-l. Yang, H.-a. Wen, L.-d. Guo, S.-j. Li, F. Zhao, H.-w. Liu, *J. Nat. Prod.*, **2013**, *76*, 45
- 12) I. Ohtani, T. K., Y. Kashman, H. Kakisawa, *J. Am. Chem. Soc.*, **1991**, *113*, 409
- 13) E. L. Eliel, S. H. Wilen. *Stereochemistry of Organic Compounds*. Wiley., **1994**, pp. 1000
- 14) J. Shin, W. Fenical, *J. Org. Chem.*, **1988**, *53*, 3271
- 15) C. Cope, E. M. Hardy, *J. Am. Chem. Soc.* **1940**, *62*, 441
- 16) V. K. Singh, S. Mehrotra, P. Narayan, C. M. Pandrey, S. S. Agarwal,  
*Immunol. Res.*, **2000**, *22*, 1
- 17) J. A. Coulter, H. O. McCarthy, J. Xiang, W. Roedl, E. Wagner, T. Robson, D. G. Hirst, *Nitric Oxide*, **2008**, *19*, 192



- 18) A. J. Hobbs, A. Higgs, S. Moncada, *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.* **1999**, *39*, 191
- 19) H. Matsuda, T. Kagerura, I. Toguchida, H. Ueda, T. Morikawa, M. Yohikawa, *Life Sci.*, **2000**, *66*, 2151
- 20) 第 58 回天然有機化合物討論会講演要旨集, **2016**, 487
- 21) T. Kobayashi, K. Tanaka, M. Ishida, N. Yamakita, H. Abe, H. Ito, *Chem. Commun.*, **2018**, *54*, 10316
- 22) D. A. Evans, E. Vogel, J. V. Nelson, *J. Am. Chem. Soc.*, **1979**, *101*, 6120
- 23) N. Calderon, H. Y. Chen, K. W. Scott, *Tetrahedron Lett.* **1967**, *8*, 3327
- 24) T. Ueda, H. Konishi, K. Manabe, *Org. Lett.*, **2012**, *14*, 5370
- 25) J. K. Stille, *Angew. Chem. Int. Ed.*, **1986**, *25*, 508
- 26) T. G. Kilroy, A. J. Hanessy, Y. M. Malone, A. Farrell, P. J. Guiry, *J. Mol. Catal. A: Chem.*, **2003**, *196*, 65
- 27) W. R. Bamford, T. S. Stevens, *J. Chem. Soc.*, **1952**, 4735
- 28) M. Schlosser, *Pure&Appl. Chem.*, **1988**, *60*, 1627
- 29) G. Osztrovszky, T. Holm, R. Madsen, *Org. Biomol. Chem.*, **2010**, *8*, 3402
- 30) A. O. King, N. Okukado, E. Negishi, *J. Chem. Soc., Chem. Commun.* **1977**, 683
- 31) N. Miyaura, A. Suzuki, *J. Chem. Soc., Chem. Commun.* **1979**, 866
- 32) R. V. Stevens, K. F. Albizati, *J. Org. Chem.*, **1985**, *50*, 632
- 33) 平成 26 年度 木村真菜 東京大学大学院農学生命科学研究科 修士論文
- 34) A. Michael, *J. Prakt. Chem.* **1887**, *35*, 349
- 35) R. Pappo, D. S. Allen, Jr., R. U. Lemieux, W. S. Johnson, *J. Org. Chem.*, **1956**, *21*, 478
- 36) R. M. Beesley, C. K. Ingold, J. F. Thorpe, *J. Chem. Soc. Trans.*, **1915**, *107*, 1080
- 37) T. Kobayashi, M. Ishida, K. Imaida, H. Abe, H. Ito, *Tetrahedron Letters*, **2017**, *58*, 3294
- 38) O. Diels, K. Alder, *Liebigs, Ann. Chem.*, **1928**, *460*, 98
- 39) M. Miyashita, M. Sasaki, I. Hattori, M. Sakai, K. Tanino, *Science*, **2004**, *305*, 495

- 40) D. B. Dess, J. C. Martin, *J. Org. Chem.*, **1983**, *48*, 4155
- 41) E. L. Eliel, S. H. Schroeter, T. J. Brett, F. J. Biros, J.-C. Richer, *J. Am. Chem. Soc.*, **1966**, *88*, 3327
- 42) X. Baucherel, J. Uziel, S. Juge, *J. Org. Chem.*, **2001**, *66*, 4504
- 43) W. G. Salmond, M. A. Barta, J. L. Havens, *J. Org. Chem.*, **1978**, *43*, 2057
- 44) P. C. Roosen, C. D. Vanderwal, *Angew. Chem.*, **2016**, *128*, 7296
- 45) A. N. Cheallaigh, D. J. Mansell, H. S. Toogood, S. Tait, A. Lygidakis, N. S. Scrutton  
J. M. Gardiner, *J. Nat. Prod.*, **2018**, *81*, 1546
- 46) J. L. Luche, *J. Am. Chem. Soc.*, **1978**, *100*, 2226
- 47) H. Fujii, K. Oshima, K. Utimoto, *Chem. Lett.*, **1991**, 1847
- 48) Y. Yoshida, Y. Sakakura, N. Aso, S. Okada, Y. Tanabe, *Tetrahedron*, **1999**, *55*, 2183
- 49) M. E. Jung, M. Guzaev, *J. Org. Chem.*, **2013**, *78*, 7518
- 50) Y. Tanabe, T. Misaki, M. Kurihara, A. Iida, Y. Nishii, *Chem. Commun.*, **2002**, 1628

## 謝辞

本研究の遂行にあたり、本論文に関する御指導を始めとして多くの御助言御指導を頂いた、東京大学大学院農学生命科学研究科教授 滝川浩郷 先生に心から御礼申し上げます。

本研究テーマを立案して頂き、有機化学の面白さや難しさ、研究者としての在り方についてご教授頂き、熱意を持って御指導御鞭撻を頂いた、東京大学大学院農学生命科学研究科名誉教授 渡邊秀典 先生に厚く御礼申し上げます。

鋭く的確な御助言を数多く頂き、丁寧な御指導を頂いた東京大学大学院農学生命科学研究科准教授 小倉由資 先生に深く御礼申し上げます。

日々の研究生活を近くから見守り、多くのご助言を頂いた東京大学大学院農学生命科学研究科元特任講師 森直紀 先生に深く感謝申し上げます。

日々の実験に必要な試薬類、器具類を迅速に修理、提供していただきました株式会社オオウチサイエンス 大内基義 氏、ならびに有限会社山本薬品商会 山本良文 氏、高野吉知 氏に感謝申し上げます。

博士課程の先輩として常日頃から多くのことを学ばせていただいた岡村仁則 農学博士ならびに増田眞大 農学博士に深く御礼申し上げます。

日頃から多くのアドバイスやご指導を頂き、研究室生活を支えていただいた先輩方に厚く御礼申し上げます。また、研究室生活を盛り上げ、実りあるものにしてくださった後輩方に御礼申し上げます。

最後になりましたが、博士課程への進学を認めてくださり、経済的、精神的に惜しみない協力を頂いた両親、家族に心より感謝いたします。