

Title	海洋天然物スピロリドのスピロイミン環部分構造の合成および立体配置の解明
Author(s)	南野, 宏
Citation	大阪大学, 2020, 博士論文
Version Type	VoR
URL	https://doi.org/10.18910/76385
rights	
Note	

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

Osaka University

学位論文

海洋天然物スピロリドのスピロイミン環
部分構造の合成および立体配置の解明

令和元年度

大阪大学大学院理学研究科化学専攻

生体分子化学研究室

南野 宏

目次

第1章 序論

1-1 環状イミン毒.....	1
1-2 ニコチン性アセチルコリン受容体と環状イミン毒の生物活性.....	6
1-3 環状イミン毒に対する化学的観点からの研究.....	19
1-4 スピロイミンユニットの合成研究.....	28
1-5 本研究の目的.....	39

参考文献

第2章 本論I SPXの7,6-スピロイミン環部分構造の合成

2-1 構造決定を指向した7,6-スピロイミン誘導体の設計.....	45
2-2 7,6-スピロイミン誘導体の合成戦略.....	48
2-3 シラトランを基盤とした7,6-スピロ環の効率的構築法の開発.....	53
2-4 7,6-スピロイミン誘導体の合成.....	59

第3章 本論II 立体配置の決定と配座解析

3-1 7,6-スピロイミン環部分の立体配座の決定.....	74
3-2 SPXの4位の立体配置の決定.....	75
3-3 SPXの γ -ブテノリド環部分の立体配座の考察.....	81

第4章 本論III 7,6-スピロイミン環部分構造を基盤とした化学的観点からの研究

4-1 5位の簡便な誘導化を意図した変換反応の検討.....	86
4-2 7,6-スピロイミン誘導体の安定性.....	87
4-3 7,6-スピロイミン誘導体の結合親和性評価.....	92

参考文献

第5章 結論..... 98

実験の部..... 99

スペクトルデータ	111
謝辞	144
付録	145

略語表

α -BgT	α -Bungarotoxin
Ac	acetyl
AChBP	acetylcholine binding protein
ACh	acetylcholine
AChR	acetylcholine receptor
aq	aqueous
BINOL	1,1'-bi-2-naphthol
Bn	benzyl
Boc	<i>ter</i> -butoxycarbonyl
BOX	bis(oxazoline)
br	broad
brsm	based on recovered starting material
BSA	Bovine serum albumin
Bu	butyl
Cat.	catalyst
CBS	CoreyBakshi-Shibata
Cbz	carbobenzoxy
ChAT	choline acetyltransferase
Conc.	concentration
COSY	correlation spectroscopy
d	doublet
DABCO	1,4-diazabicyclo[2.2.2]octane
DBU	1,8-diazabicycloundec-7-ene
DCM	dichloromethane
dd	double doublet
de	diastereomer excess
13-desMe SPX C	13-desmethyl Spirolide C
13,19-didesMe SPX C	13,19-didesmethyl Spirolide C
DFT	Density Functional Theory
DMAP	<i>N,N</i> -dimethyl-4-aminopyridine
DME	1,2-dimethoxyethane
DMF	<i>N,N</i> -dimethylformamide
DMS	dimethyl sulfide

DMSO	dimethyl sulfoxide
<i>dr</i>	diastereomeric ratio
en	ethylenediamine
eq.	equivalent
Et	ethyl
Et ₃ N	triethyl amine
Fib	Fibroin
FLIPR	Fluorometric Imaging Plate Reader
GYM	Gymnodimine
HEK	Human Embryonic Kidney Cells
HMBC	Heteronuclear Multiple Bond Coherence
HOMO	highest occupied molecular orbital
HPLC	high performance liquid chromatography
HRMS	high resolution mass spectrometry
HSQC	Heteronuclear Single Quantum Correlation
<i>i-</i>	iso
IC	inhibitory concentration
IR	infrared
<i>J</i> BCA	<i>J</i> -based configuration analysis
KHMDS	Potassium bis(trimethylsilyl)amide
LD	lethal dose
LDA	Lithium diisopropylamide
LiHMDS	Lithium bis(trimethylsilyl)amide
LUMO	lowest unoccupied molecular orbital
<i>m-</i>	meta
<i>m</i> CPBA	<i>m</i> -chloroperbenzoic acid
MCMM	Monte Carlo plus Minimization
Me	methyl
20-Me SPX G	20-Methyl Spirolide G
MOM	methoxy methyl
MPP ⁺	1-methyl-4-phenylpyridinium
MS	molecular sieves
MS	mass spectrum
Ms	methanesulfonyl
MTPA	α -methoxy- α -(trifluoromethyl)phenylacetic acid)

<i>n</i> -	normal
NaBH ₄	sodium borohydride
nAChR	nicotinic acetylcholine receptor
NaHMDS	sodium hexamethyldisilazide
NCS	<i>N</i> -chlorosuccinimide
NIS	<i>N</i> -iodosuccinimide
NMR	nuclear magnetic resonance
NOE	nuclear Overhauser effect
NOESY	nuclear Overhauser effect spectroscopy
NSP	neurotoxic shellfish poisoning
<i>o</i> -	ortho
<i>p</i> -	para
PDB	Protein Data Bank
Ph	phenyl
PMB	<i>p</i> -methoxybenzyl
PnTX	Pinnatoxin
ppm	parts per million
PtTX	Pteriatoxin
Py	pyridine
q	quartet
quant.	Quantitative
RCM	ring-closing metathesis
ROE	Rotating Overhauser enhancement
ROESY	Rotating Overhauser enhancement and Exchange Spectroscopy
rt	room temperature
SI	electrospray ionization
SM	starting material
SPX	Spirolide
SSP	spiroimine shellfish poisoning
t	triplet
<i>t</i> -	tertiary
TASF	tris(dimethylamino)sulfonium difluorotrimethylsilicate
TBAF	tetrabutylammonium fluorided
TBS	<i>t</i> -butyldimethylsilyl
TES	triethylsilyl

Tf	trifluoromethanesulfonyl
TFA	trifluoroacetic acid
TFAA	trifluoroacetic anhydride
THF	tetrahydrofuran
THP	2-tetrahydropyranyl
TLC	thin layer chromatography
TMS	trimethylsilyl
TOCSY	totally correlated spectroscopy
Ts	<i>p</i> -toluenesulfonyl
TSA	toluenesulfonic acid
VAPOL	2,2'-diphenyl-3,3'-(4-biphenanthrol)

第1章 序論

1-1 環状イミン毒

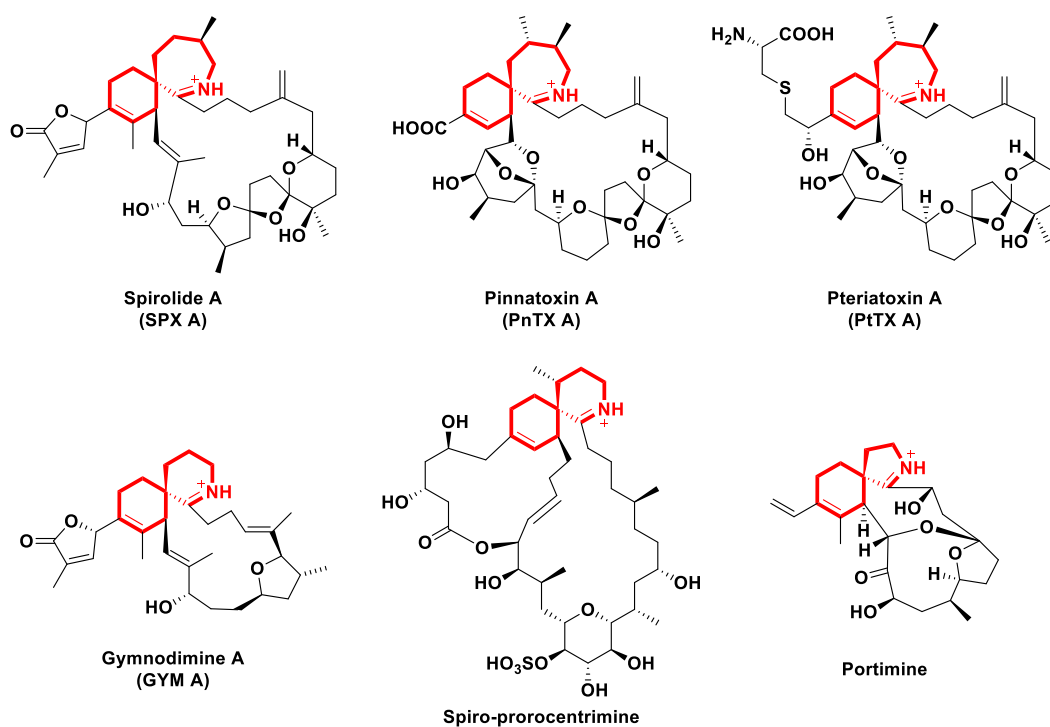


図 1-1 環状イミン毒の化学構造
共通構造であるスピロイミン環を赤色で示す

環状イミン毒 (Cyclic Imine Toxins) は、渦鞭毛藻類によって生産される海洋生物毒の一種であり、スピロイミン環を共通構造とした脂溶性の化合物群である (図 1-1)。これまでに約 40 種類の環状イミン毒が報告されており、具体的には、スピロリド、ピンナトキシシ、プテリアトキシシ、ギムノジミン、スピロプロロセントリミン、プロロセントロリド、ポルチミンなどが挙げられる¹⁾。スピロリド、ピンナトキシシ、プテリアトキシシ、ギムノジミンは、マウスに対する急性致死毒性やニコチン性アセチルコリン受容体 (nAChR) への強力な阻害作用など興味深い生物活性を示すことが報告されている。一方、スピロプロロセントリミンやプロロセントロリドについては生物活性に関する詳細な研究はなされていない。近年発見された新しい環状イミン毒ポルチミンは、癌細胞のアポトーシス誘導を示すことが明らかとなっており、アポトーシス研究のツールとしても興味を持たれている。このように多岐にわたる興味深い

生物活性や構造の複雑性から、環状イミン毒は合成研究のみならず創薬研究やケミカルバイオロジー研究の観点からも注目を集めている。また近年では、ヒトへの食中毒をもたらす新たな生物毒として懸念されており、食品安全問題の面でも環状イミン毒の科学的研究が求められている²⁾。以下、ピンナトキシシン・プテリアトキシシン、ギムノジミン、スピロリドに焦点を当て、それらの研究について概説する。

1-1-a ピンナトキシシン/ プテリアトキシシン

1995年に上村らは *Pinna Muricata* からピンナトキシシン (Pinnatoxin; PnTX) A を初めて単離することに成功し³⁾、翌年にはその類縁体である PnTX B、C、D を同じ抽出物より単離した⁴⁾。PnTX は、日本でも食中毒の原因物質として知られている環状イミン毒であり、底生性渦鞭毛藻類の一種が生産していると考えられているが、その詳細は未だ解明されていない。化学構造は、各種スペクトルデータより、7,6-スピロイミン環、6,5,6-ビススピロアセタール環、6,5-ビシクロ環を有する平面構造が提唱されている (図 1-3)。近年では、SPX と同様に γ -ラクトン環を有する新たな類縁体として PnTX F も発見されている⁵⁾。

毒性に関しては、SPX と同様、マウスに対する急性致死毒性が報告されており、PnTX A はマウスの腹腔内投与において $LD_{50} = 2.7 \mu\text{g}/\text{kg}$ を示す⁶⁾。合成研究については、1998年に岸らによって初めて全合成が達成され、絶対立体配置も決定されている⁷⁾。その後も、平間、Zakarian、中村らのグループがそれぞれ独自の合成法で全合成を達成している⁸⁾。また Zakarian らは、実際に全合成した PnTX A を用いて安定性評価を行い、イミン部位の高い加水分解耐性を確認している⁹⁾。通常イミン構造とは異なるこの高い安定性は、PnTX が経口摂取においても強力な毒性を発現することと深く関与していると考えられている。

プテリアトキシシン (Pteriatxin; PtTX) は、2001年に沖縄で二枚貝 *Pteria penguin* から単離され、マウスに対して強力な急性毒性を示すことが報告されている¹⁰⁾。上村らは天然から得られた極微量のサンプルから、各種測定法を駆使し、その全相対立体配置を推定した。その結果、PnTX と類似のポリエーテルマクロ環構造と、34位側鎖にシステイン誘導体を有することが明らかになった (図 1-2)。その後、2006年に岸らが全合成を達成し、全絶対立体配置を確認した¹¹⁾。

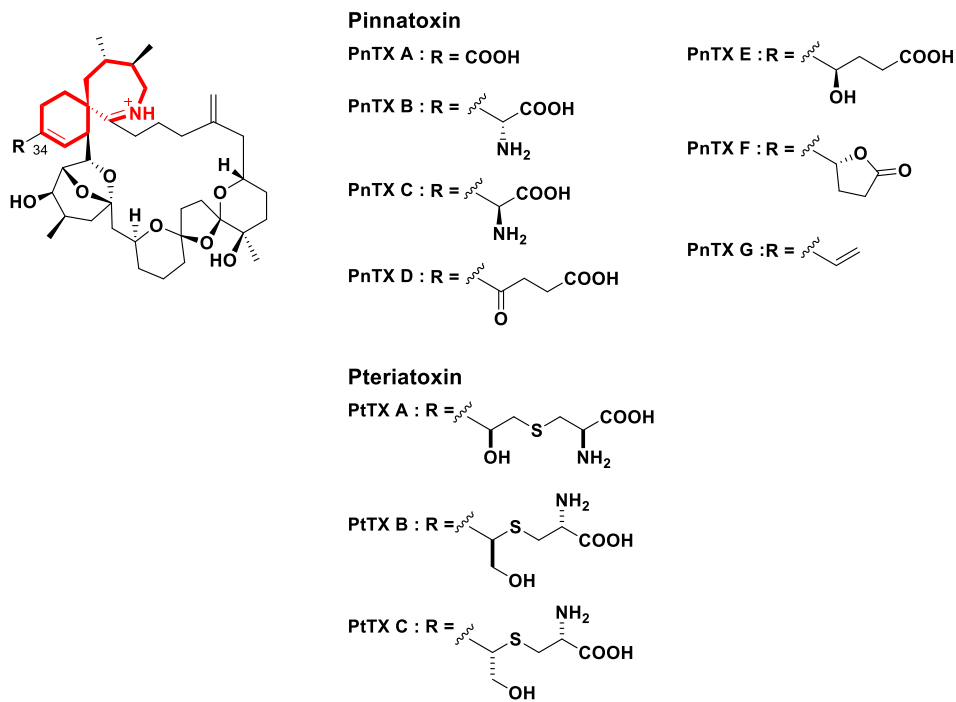


図 1-2 PnTX および PtTX の化学構造

1-1-b ギムノジミン

ギムノジミン (Gymnodimine; GYM) は、1995 年に安元らによって *Tiostrea chilensis* から単離された環状イミン毒であり、渦鞭毛藻類 *Karenia selliformis* によって生産される¹²⁾。安元らは、各種 NMR 法を用いて GYMA の平面構造と相対立体配置を推定し、構造的特徴として 6,6-スピロイミン環と γ -ブテノリド環を有することを明らかとした (図 1-3)。その後、1997 年に Stewart らは、アミド誘導体の X 線結晶構造解析によって全絶対立体配置を決定した¹³⁾。合成研究については、2009 年に Romo らのグループが初の全合成を報告している¹⁴⁾。

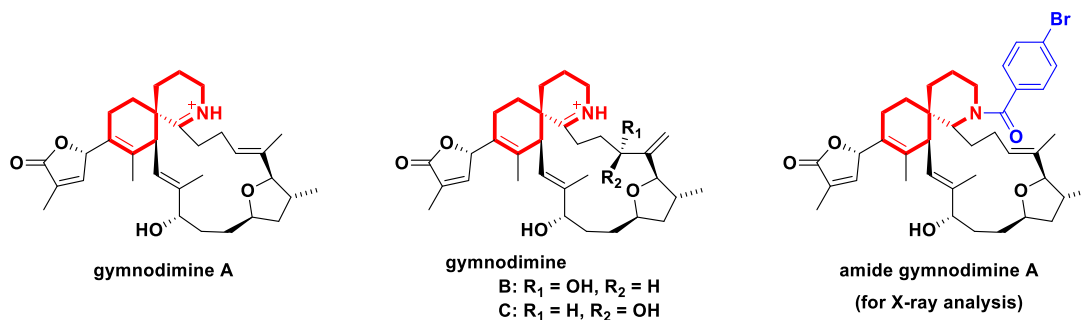


図 1-3 GYM とアミド誘導体の化学構造

1-1-c スピロリド

スピロリド (Spirolide; SPX) は 1995 年にカナダの Nova Scotia の大西洋岸において二枚貝から初めて単離され¹⁵⁾、その後もヨーロッパ・北米・南米の海岸で採取された二枚貝や植物プランクトン抽出物から確認されている。環状イミン毒の中で最も多くの類縁体が存在する SPX は、渦鞭毛藻類 *Alexandrium ostenfeldii*¹⁶⁾、あるいは *Alexandrium peruvianum*¹⁷⁾によって生産されていることが明らかとなっている。

現在までに 14 種類の類縁体の存在が確認され、各種 NMR 測定や MS 測定によってそれぞれの平面構造や立体配置が決定されているが¹⁸⁾、4 位の相対立体配置については未解明のままである。SPX のほとんどが、7,6-スピロイミン環、6,5,5-ビススピロアセタール環および γ -ラクトン環を有している (図 1-4)。類縁体間の特徴的な構造の違いの一つに、7 員環におけるメチル基の数が挙げられる。多くの SPX は、31 位と 32 位に二つの連続したメチル基を有しているが、SPX A、B は一つのメチル基のみを有する。このメチル基の数の違いは、SPX A、B のイミン環が開環したケトアミン構造を持つ SPX E、F の存在からも、環状イミン構造の加水分解耐性に寄与することが示唆されている。他の構造の違いはケタール部分に見られ、SPX A-F が 6,5,5-ビススピロアセタール環、SPX G とそのデメチル体が 6,6,5-ビススピロアセタール環、SPX H、I が 6,5-スピロアセタール環をそれぞれ有する。

SPX の毒性は一般的に強く、1 mL の 1% Tween 80 に溶解した 5 μ g の SPX A-D をマウスに腹腔内投与したところ、7 分以内に死亡する急性致死毒性を示すことが報告されている¹⁹⁾。中でも、13-desMe SPX C は、マウスの腹腔内投与において LD₅₀ = 5.0-8.0 μ g/kg と最も強力な毒性を示す。一方、イミン環が開環した SPX E、F では、20 μ g の投与によっても全く毒性を示さなかったことから、イミン部位が生物活性の発現に不可欠な構造要因であることが示唆されている。また、SPX A、D の胃内部への投与実験において、SPX D は投与したマウス全てが数分のうちに死に至ったものの、SPX A では半数しか死に至らなかったという結果が報告されている。これは、SPX D のイミン環が有する二つのメチル基の存在が、酸や酵素による加水分解に対する安定性を向上させていると考えられ、イミン環のメチル基の存在もまた生物活性を強める重要な要因であることが分かる。また、SPX をはじめとする環状イミン毒 (前述した PnTX や GYM) の主な作用標的は、nAChR であることが明らかとなっており、その詳細については第 2 節で述べる。

合成研究については、多くの研究者が全合成に挑戦しているものの未だ達成されておらず、未解明な立体構造を決定するという観点からも合成化学的なアプローチが強く望まれている。SPX は、7,6-スピロイミン環とビススピロアセタール環に加え、 γ -ラクトン環を有しているため、環状イミン毒の中でもその合成は極めて困難であると

いえる。全合成に向けた研究で最も進んでいるのは Zakarian らのグループであり、2012年に23員環の全炭素骨格の構築に成功しているものの、合成後期の閉環反応における収率の低さが問題となっておりそれ以降の進展はない²⁰⁾。また、スピロイミン環部分においては6員環、ビススピロアセタール環部分においては6,5-スピロ環のみの構築に留まっているため、全合成にはさらなる検討が必要である。

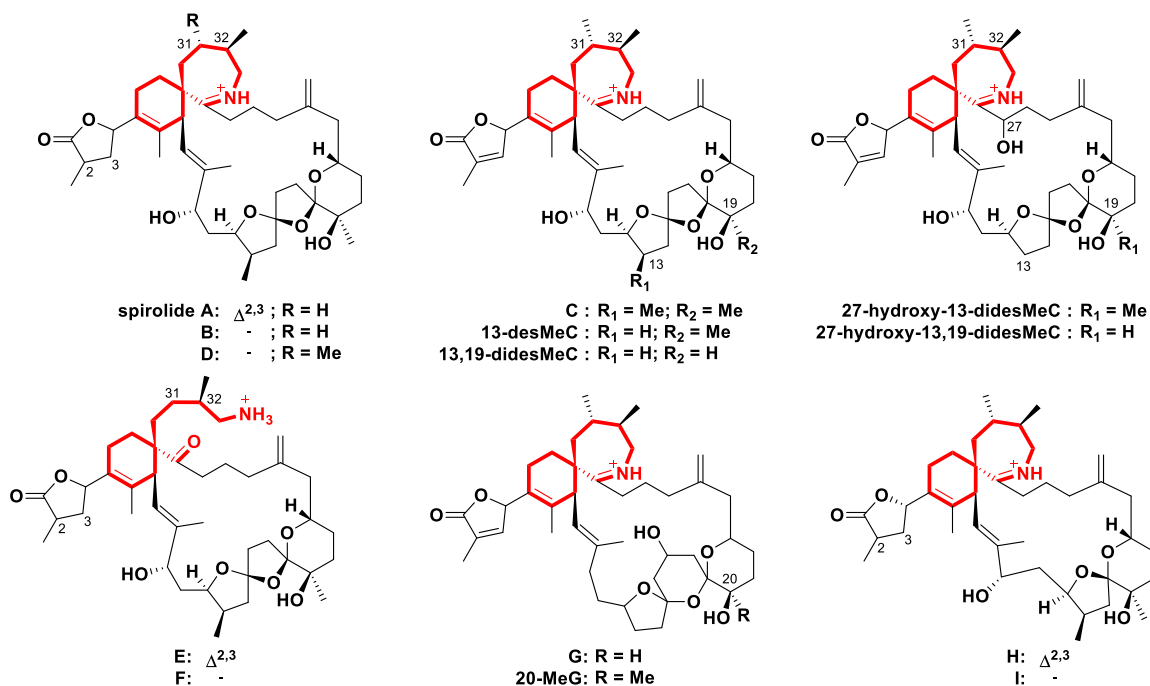


図 1-4 SPX 類の化学構造

以上述べたこれらの環状イミン毒は、全て強力なマウス致死毒性を有しており、その主要な機構として nAChR の阻害作用が考えられている。よって、これら化合物と nAChR の詳細な相互作用に興味を持たれ、これまで多くの研究が精力的に進められてきた。

1-2 nAChR と環状イミン毒

これまでの多くの研究により、環状イミン毒の作用標的は nAChR であることが明らかとなっている。本節ではまず、nAChR が環状イミン毒の作用標的としてどのような経緯で決定されたかを述べた後、作用標的である nAChR の概要、および nAChR に作用する既知の毒素について述べる。続いて、環状イミン毒の nAChR に対する作用機序について報告されている先行研究を示す。

1-2-a 環状イミン毒の作用標的の同定

環状イミン毒が発見された当初は、それらの作用標的は電位依存性イオンチャネルであると予想され、SPX や PnTX はカルシウムチャネルに³⁾、GYM はナトリウムチャネルに作用すると考えられていた¹²⁾。しかし、提唱された仮説を実験的に示す有意な情報は得られず、作用標的の同定に向けた細胞レベルでの研究がなされた。

2008 年に Kharrat らは、カエルとマウスから単離した神経筋細胞において、GYM A が神経刺激によって誘発された単収縮張力を時間・濃度依存的かつ可逆的に阻害することを発見した (図 1-5)²¹⁾。この時、直接的な筋刺激による単収縮張力の阻害が確認されなかったことから、GYM A は神経伝達系を阻害することが明らかとなった。さらに彼らは、GYM A が神経筋細胞の微小終板電位の阻害、すなわちシナプス後膜に存在する AChR によって誘起される終板電位を阻害することも報告している (図 1-6)。後に、13-desMe SPX C や PnTX F でも同様に、電気刺激ではなく神経刺激によって誘起された活動電位のみを阻害することが確認されている²²⁾。

また、分子遺伝学的研究も行われ、Gill らは 13-desMe SPX C をマウスに投与し遺伝子解析を行った。その結果、nAChR 遺伝子の発現が上昇するアップレギュレーションが確認され、SPX が nAChR に作用していることが示された²³⁾。

以上の研究結果から、環状イミン毒は神経終末に存在する nAChR を阻害することでその強力な生物活性を発現していることが強く示唆された。

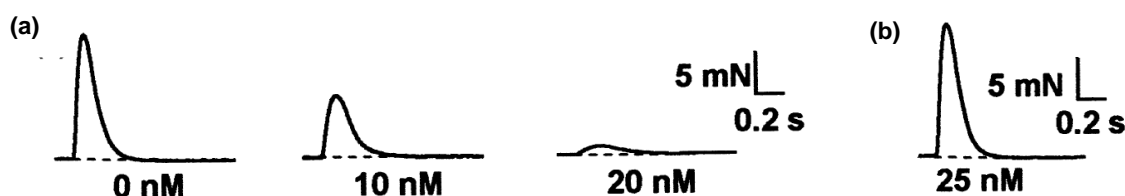


図 1-5 GYM A による神経筋細胞の単収縮張力の阻害
神経刺激によって誘発された単収縮張力 (a) を阻害する一方で、筋刺激による単収

縮張力 (b) の阻害は確認されなかった。この結果は、GYMA の神経伝達系への作用を示唆している。

Reprinted with permission from *J. Neurochem.* **2008**, *107*, 952-963.²¹⁾

Copyright © (2008) John Wiley and Sons.

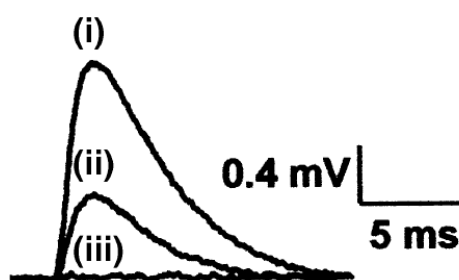


図 1-6 GYMA による微小終板電位の阻害

2 nM の GYMA を投与した結果、投与前 (i) に比べて、5 分後 (ii)、15 分後 (iii) と時間依存的に終板電位が阻害される。

Reprinted with permission from *J. Neurochem.* **2008**, *107*, 952-963.²¹⁾

Copyright © (2008) John Wiley and Sons.

1-2-b nAChR

nAChRは、神経伝達物質であるアセチルコリン (ACh) の受容体であり、神経伝達の調節を行うリガンド開口型イオンチャネルである。nAChRの立体構造は、低温電子顕微鏡²⁴⁾やX線結晶構造解析²⁵⁾を用いて解明され、構造的にもまた機能的にも、細胞外領域、膜貫通領域、細胞内領域に分けることができる (図1-7)。nAChRはサブユニット ($\alpha 1$ - $\alpha 10$ 、 $\beta 1$ - $\beta 4$ 、 γ 、 δ 、 ϵ) からなるホモあるいはヘテロな5量体であり²⁶⁾、サブユニット構成により高度に多様性に富む。骨格筋型nAChRは5種類のサブユニット ($\alpha 1$ 、 β 、 γ 、 δ 、 ϵ) から、神経型nAChRは11種類のサブユニット ($\alpha 2$ - $\alpha 7$ 、 $\alpha 9$ 、 $\alpha 10$ 、 $\beta 2$ - $\beta 4$) からそれぞれ形成されることが知られている (図1-8)²⁷⁾。

サブタイプを形成するサブユニットの組成や化学量論は、薬理活性、カチオン選択性、脱感作の速度、発現分布などの受容体特性に深く関与している。そのため、創薬研究や生化学研究の観点からも、サブタイプ選択性の機構解明やサブタイプ選択的な阻害剤や薬剤の開発が盛んに行われている。例えば、神経細胞に多く発現しているホモ五量体の $\alpha 7$ サブタイプは、高いカルシウム透過性、速い脱感作、抗炎症作用、免疫応答の調節、偏在的分布といった特徴的性質を有することから、神経疾患や炎症性疾

患などに対する治療薬の創薬標的としても研究がなされている²⁸⁾。

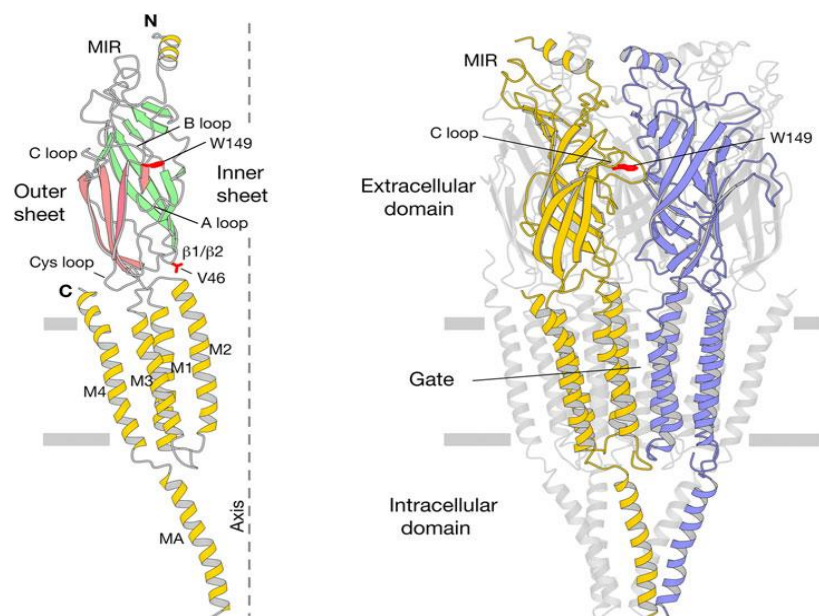


図1-7 nAChRの立体構造 (PDB: 2BG9)

左は α サブユニット単量体の構造、右は五量体の構造を表す。チャンネルのゲートは膜貫通領域に存在し、ここをカチオンが通過する。

Reprinted with permission from *Q. Rev. Biophys.* **2013**, 46 (4), 283-322. ²⁵⁾

Copyright © (2013) Cambridge University Press.

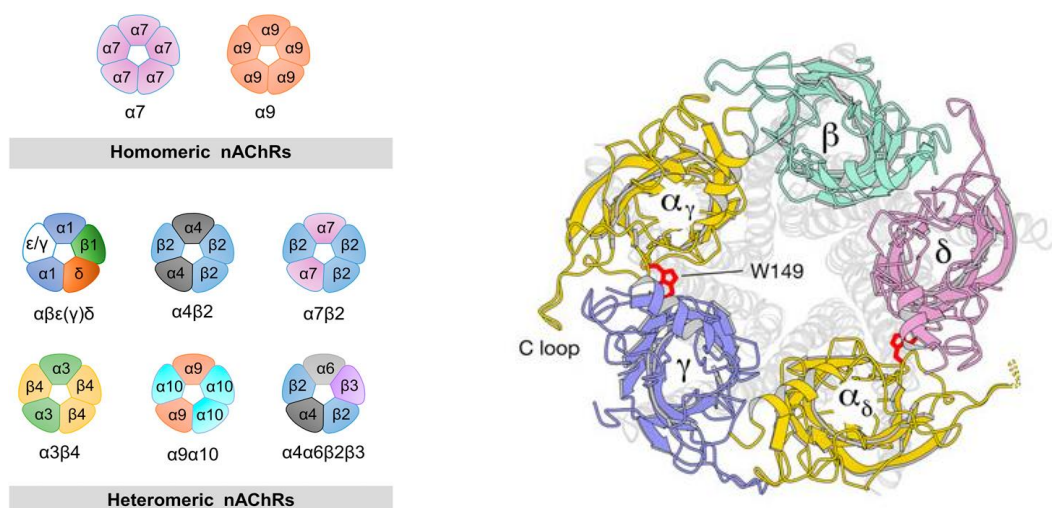


図1-8 nAChRのサブタイプと $\alpha_1\beta_2\gamma\delta$ の立体構造 (PDB: 2BG9)

サブタイプを形成するサブユニットの組み合わせにより、それぞれの構造に特異的な

受容体特性を示す。AChは α サブユニットの細胞外領域に存在するリガンド結合部位（W149近傍）に結合することでチャンネルを開く。

Reprinted with permission from *Molecular Pharmacology*. 2016, 90 (3), 288-299. ²⁸⁾

Copyright © (2016) ASPET.

Reprinted with permission from *Q. Rev. Biophys.* 2013, 46 (4), 283-322. ²⁵⁾

Copyright © (2013) Cambridge University Press.

α サブユニットの細胞外領域にはリガンド結合部位が存在し、通常はこれにAChが結合することで一過性の構造変化を引き起こし、イオンチャンネルを開口させる。その結果、細胞内外の電気化学的勾配に従ってカチオンが流入し、細胞膜を脱分極させる。リガンド結合部位における重要な相互作用は、カチオン- π 相互作用、カチオン-双極子相互作用、水素結合、ファンデルワールス力であることがこれまでの研究により明らかとなっている（図1-9）²⁹⁾。とりわけ、リガンド結合部位のLoop Bに存在するトリプトファン残基（図1-9、赤色）との相互作用が駆動力になることが多く、AChの場合もまた、AChのアニモニウムカチオンとトリプトファン残基間のカチオン- π 相互作用によって結合している。また、近接するLoop C（図1-9、緑色）が、結合しているリガンドを覆うような構造、すなわちキャップ構造をとることが分かっており、このキャップ構造によるリガンド-nAChR相互作用の安定化の程度や、キャップ構造の傾き具合などが生物活性に影響を与えている。

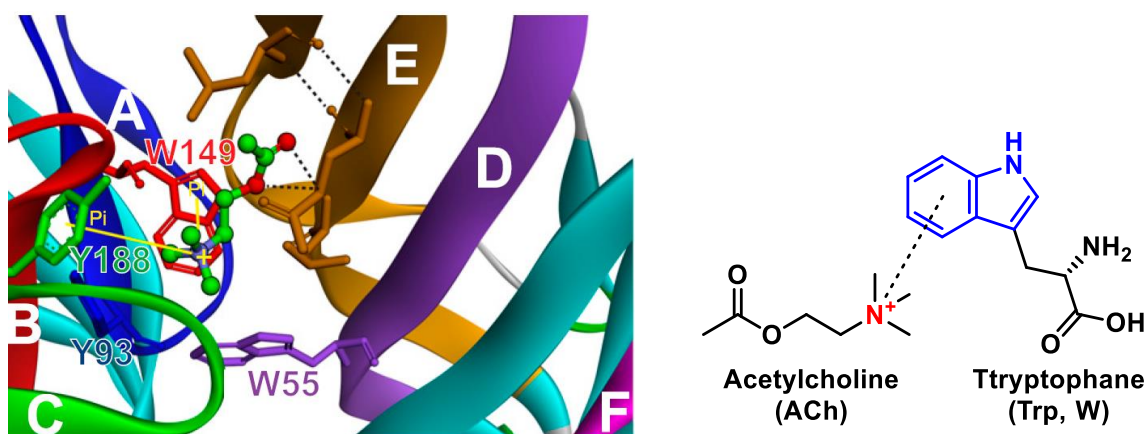


図 1-9 ACh（緑色）の結合様式（ $\alpha 7$ /AChBP chimera, PDB: 3SQ6）

AChの場合、AChのアニモニウムカチオンとトリプトファン残基（W149）とのカチオン- π 相互作用によって結合する。

Reprinted with permission from *Molecular Pharmacology*. 2016, 90 (3), 288-299. ²⁸⁾

Copyright © (2016) ASPET.

1-2-c nAChR に作用する毒素

生物の神経系機能や運動において極めて重要な役割を担う nAChR は、獲物の捕獲や外敵から身を守るために用いる毒素の優れた標的となる³⁰⁾。そのため、植物やバクテリア、真菌、動物など幅広い範囲の生物種が、nAChR に作用する毒素を生産している。リガンド結合部位に結合して機能を発現するそれらの毒素は、生体内の神経伝達物質のように受容体を活性化させるアゴニストと、受容体の働きを阻害するアンタゴニストに分類することができる。

へビ毒の α -ブンガロトキシシン (α -BgTX) は、歴史ある nAChR の研究において最も価値の高い毒素として知られており、nAChR を強力に阻害するペプチド系のアンタゴニストである (図 1-10)。この特異的かつ高い結合能を有する α -BgTX の発見は、多くの蛋白質化学的な解析研究の糸口となり、初の nAChR の精製を可能とした³¹⁾。現在でも nAChR に関する様々な研究のツールとして広く用いられている。

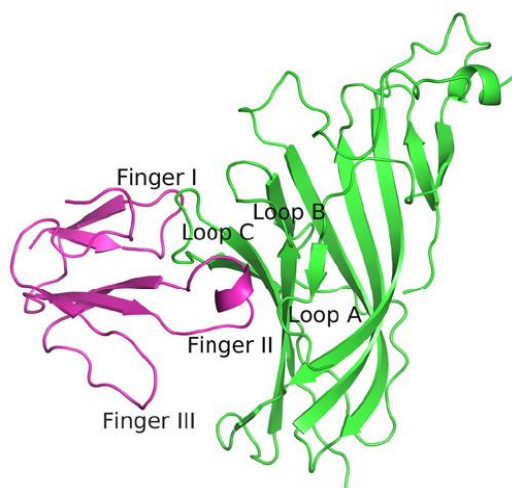


図 1-10 α -BgTX- α 9 複合体の結晶構造

α -BgTX (ピンク色) は nAChR の細胞外領域 (緑色) に存在するリガンド結合部位に強く結合することで、nAChR の機能を阻害する。

Reprinted with permission from *Nat. Struct. Mol. Biol.* **2014**, 21 (11), 976-980.²⁵⁾

Copyright © (2014) Springer Nature.

ここで、nAChR に作用する種々の毒素の化学構造 (図 1-11) と、毒素-nAChR 間の複合体構造 (図 1-12、赤色：毒素、青色： α ユニット、水色： β サブユニット、黄色：Loop C) について示す。ここでは、アゴニストのニコチン、エピバチジン、アナ

トキシシンと、アンタゴニストの α -コブラトキシシン、メチルリカコニチン、 α -コノトキシシンを例として挙げる³⁰⁾。それらの図からも分かるように、nAChR に作用する毒素の大きさ・構造は様々で、前述した α -BgTX のように分子量の大きいペプチドや、ニコチンやエピバチジンのような低分子、複雑構造を有する天然物などが存在する。

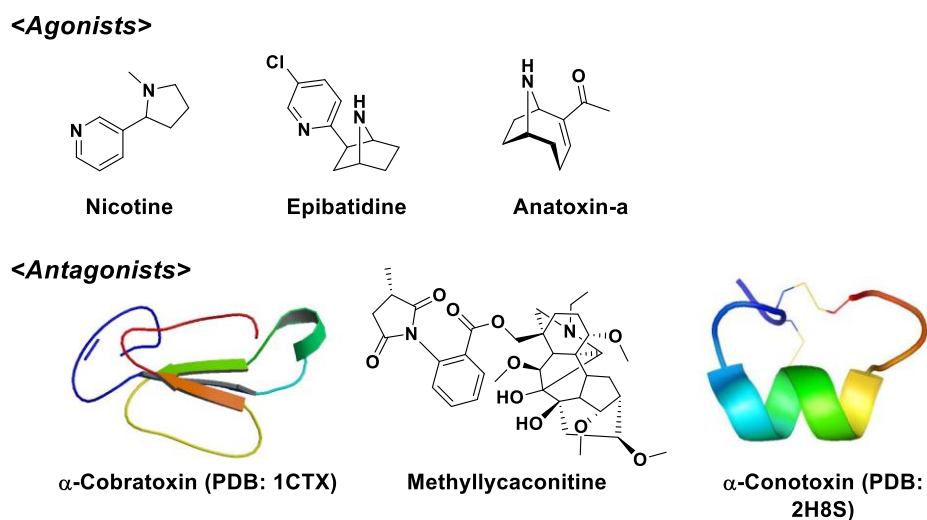


図 1-11 nAChR に作用する毒素の化学構造

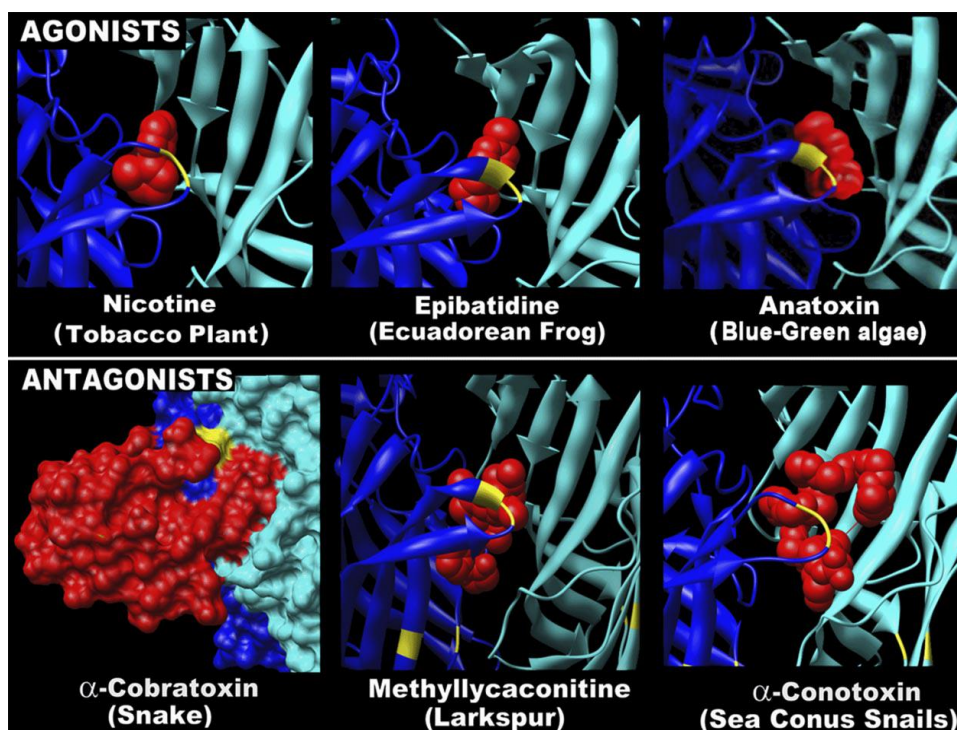


図 1-12 種々の毒素－nAChR 複合体のモデル構造³⁰⁾

赤色で示す種々の毒素がリガンド結合部位に結合し、アゴニスト、あるいはアンタゴニストとして作用する。また、黄色で示す LoopC によるキャップ構造の微妙な違いが、nAChR の機能に影響を及ぼす。

Reprinted with permission from *Physiol. Rev.* **2009**, 89 (1), 73-120. ⁴⁾

Copyright © (2009) The American Physiological Society.

1-2-d 環状イミン毒の nAChR の機能に対する活性評価

環状イミン毒の作用標的が nAChR であることが判明したので、次に nAChR の機能に対する活性評価が行われた。すなわち、環状イミン毒が nAChR のアゴニストあるいはアンタゴニストとして作用するのかが調べられた。

活性評価としてまず、膜電位固定法の一つパッチクランプ法を用いた電気生理学的な実験 ³²⁾ が行われた。アフリカツメガエルの卵母細胞に発現させたシビレエイ由来の骨格筋型 nAChR ($\alpha_1\beta\gamma\delta$ サブタイプ) に対し、種々の環状イミン毒を作用させた結果、アセチルコリンが誘起するイオン電流の阻害が確認された (図 1-13)。一方、アセチルコリン非存在下においては、イオン電流の誘起が見られなかったことから、環状イミン毒は nAChR に対してアンタゴニストとして作用することが明らかとなった。それらの環状イミン毒は可逆的かつ濃度依存的な阻害作用を有し、それぞれの IC_{50} は 13-desMe SPX C ($IC_{50} = 0.51$ nM) ³³⁾、PnTXA ($IC_{50} = 5.5$ nM) ³⁴⁾、GYMA ($IC_{50} = 2.8$ nM) ³³⁾ と非常に強い阻害能を有することが示された。

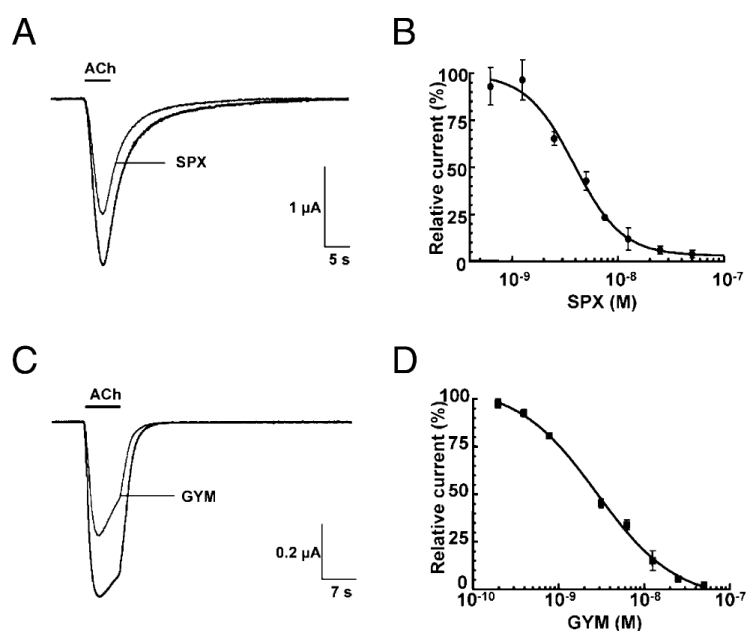


図 1-13 SPX と GYM によるイオン電流の阻害¹²⁾

13-desMe SPX C、GYM A は、ACh が誘起するイオン電流を強力に阻害するアンタゴニストとして作用する。

Reprinted with permission from *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. **2010**, 107 (13), 6076-6081.³³⁾

Copyright © (2010) National Academy of Science, USA.

また、骨格筋型 nAChR に加えて、神経型 nAChR であるホモ五量体の $\alpha 7$ サブタイプとヘテロ五量体の $\alpha 4\beta 2$ サブタイプに対する機能性評価も行われた。その結果、骨格筋型 nAChR と同様、アンタゴニストとして作用することが明らかとなり、中でも PnTX A は $\alpha 7$ サブタイプをより強く阻害するサブタイプ選択的なアンタゴニストであることが確認された ($\alpha 7$: $IC_{50} = 0.11$ nM、 $\alpha 4\beta 2$: $IC_{50} = 30.4$ nM、 $\alpha 1_2\beta\gamma\delta$: $IC_{50} = 5.5$ nM) (図 1-14)³⁴⁾。各縁体の阻害濃度 IC_{50} については表 1-1 にまとめてある。

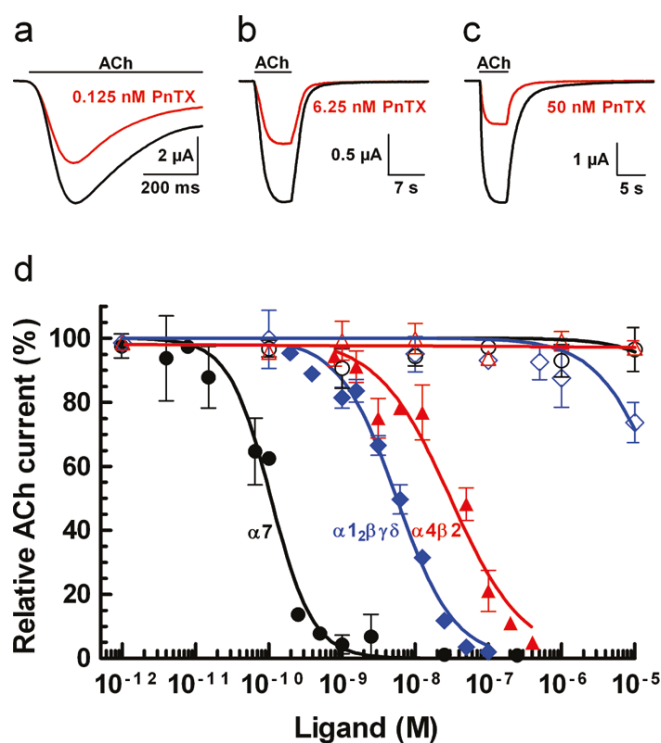


図 1-14 PnTX A のサブタイプ選択的な阻害作用

PnTX A は、(a) $\alpha 7$ サブタイプ > (b) 骨格筋型 nAChR > (c) $\alpha 4\beta 2$ サブタイプの順にイオン電流を阻害するサブタイプ選択的なアンタゴニストである。

Reprinted with permission from *J. Am. Chem. Soc.* **2011**, 133, 10499-10511.³⁴⁾

Copyright © (2011) American Chemical Society.

表 1-1 環状イミン毒の各 nAChR サブタイプに対する阻害濃度 IC₅₀

Inhibitory Concentration (IC ₅₀ , nM)				
Cyclic Imine Toxin	$\alpha_1\beta_1\gamma\delta$ (<i>Torpedo</i>)	α_7 (human)	$\alpha_4\beta_2$ (human)	Ref.
13-desMe SPX C	0.51 (0.4-0.6)	0.18 (0.16-0.21)	3.9 (2.9-5.1)	12
13, 19-didesMe SPX C	0.20 (0.16-0.26)	0.25 (0.24-0.27)	6.26 (4.7-8.3)	15b
20-Me SPX G	0.36 (0.29-0.45)	0.48 (0.15-1.4)	2.1 (1.4-3.1)	15a
GYM A	2.8 (1.9-4.1)		0.9 (0.6-1.2)	1
PnTX A	5.53 (4.5-6.8)	0.11 (0.086-0.13)	30.4 (19.4-47.5)	13
PnTX G	3.82 (2.99-4.88)	5.06 (3.84-6.67)	4.90 (3.97-6.06)	11

また Hauser らは、細胞内カルシウムイオン濃度の変化を測定する FLIPR (Fluorometric Imaging Plate Reader) 法を用いて、13-desMe SPX C と GYM A の機能評価を行っている³⁵⁾。具体的には、蛍光試薬を取り込ませた細胞に環状イミン毒を投与した際に変化する蛍光強度を測定することによって、それらが細胞内のカルシウムイオン濃度に及ぼす影響を調べた。彼らは、種々のサブタイプの nAChR を用いて FLIPR 法を行い、13-desMe SPX C と GYM A がアンタゴニストとして作用することを確認し、とりわけ α_7 サブタイプと $\alpha_4\beta_2$ サブタイプのカルシウム流入が強く阻害されることを報告している。

1-2-e 環状イミン毒の nAChR に対する結合親和性評価

競合結合試験は、阻害剤の結合親和性を示す絶対阻害定数 K_i を求めることができ、またアンタゴニストの阻害様式（競合阻害、非競合阻害、アロステリック阻害）を特徴づけることができる。これまで、6 種類の環状イミン毒の競合結合試験が実施され、4 種類のサブタイプに対する阻害定数がそれぞれ算出されている^{32)-34), 36)}。それらの競合結合試験では、³H や ¹²⁵I で標識された既知の放射性標識リガンドが競合阻害剤として用いられている。

まず、HEK-293 細胞上に発現させた骨格筋型 nAChR ($\alpha_1\beta_1\gamma\delta$) を用いた試験では、サブタイプ $\alpha_1\beta_1\gamma\delta$ に強力に結合することが知られている [¹²⁵I]- α -BgTX との競合結合反応が調べられた。その結果、環状イミン毒が競合的に極めて強く結合することが確認され、それらの K_i 値は nM からサブ nM にまで及ぶことが分かった (表 1-2)。

また、神経型 nAChR に対する結合親和性も評価され、 α_7 サブタイプは [¹²⁵I]- α -BgTX³⁷⁾、 $\alpha_4\beta_2$ 、 $\alpha_3\beta_2$ サブタイプは [³H]-エピバチジンが競合阻害剤として用いられた。骨格筋型 nAChR と同様、非常に高い結合親和性が確認された中で (表 1-2)、環状イミン毒が nAChR のサブタイプとの相互作用において選択性を示すことが明らかとなった。

その様子は、 $\alpha 3\beta 2$ サブタイプにおいて特に顕著に表れており、最も強く結合した 13-desMe SPX C の阻害定数 ($\alpha 3\beta 2$: $K_i = 0.021$ nM) に対して、PnTX A は 100 倍近く弱い阻害定数 ($\alpha 3\beta 2$: $K_i = 9.4$ nM) を示した (図 1-15)。

表 1-2 環状イミン毒の各 nAChRs サブタイプに対する阻害定数 K_i

Inhibitory Constant ($K_i \pm$ SEM, nM)					
Cyclic Imine Toxin	$\alpha 1_2\beta 1\gamma \delta$ (<i>Torpedo</i>)	$\alpha 7-5HT_3$ (human)	$\alpha 4\beta 2$ (human)	$\alpha 3\beta 2$ (human)	Ref.
13-desMe SPX C	0.080 ± 0.002	0.53 ± 0.08	0.58 ± 0.07	0.021 ± 0.005	12
13, 19-didesMe SPX C	0.017 ± 0.003	0.22 ± 0.06	53 ± 25	0.51 ± 0.14	15b
20-Me SPX G	0.028 ± 0.005	0.11 ± 0.08	3.6 ± 0.7	0.040 ± 0.001	15a
GYM A	0.23 ± 0.08	0.33 ± 0.08	0.62 ± 0.07	0.24 ± 0.09	1
PnTX A	2.80 ± 0.03	0.35 ± 0.04	15.6 ± 5.2	9.4 ± 1.9	13
PnTX G	0.11 ± 0.04	0.72 ± 0.03	101 ± 30	64 ± 2	11
a-toxin	0.011 ± 0.002				15b
Mehtyllycaconitine		0.83 ± 0.12			15b
Epibatidine			0.054 ± 0.011	0.034 ± 0.002	15b

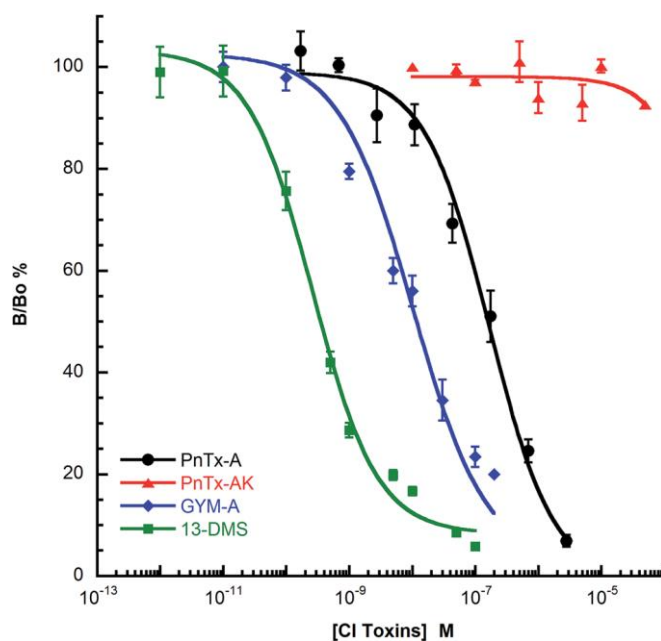


図 1-15 環状イミン毒の $\alpha 3\beta 2$ サブタイプに対する結合親和性

緑色で示す 13-desMe SPX C は、他の環状イミン毒(青色:GYM A、黒色:PnTX A)と比べて、低濃度の投与で nAChR に結合している放射性標識リガンドの結合を競合阻害する。

Reprinted with permission from *Nat. Prod. Rep.* **2015**, 32 (3), 411-435. ¹⁾

Copyright © (2015) Royal Society of Chemistry.

1-2-f 環状イミン毒の nAChRs 阻害作用による新たな生物活性

近年、環状イミン毒の新たな生物活性が注目を集めている。Botana らのグループは、13-desMe SPX C のアルツハイマー病治療薬としての可能性を報告している³⁸⁾。彼らは、アルツハイマー病の原因として考えられているリン酸化タウタンパク質とアミロイド β 凝集が過剰に発現するモデルマウス 3xTg を用いて実験を行った。モデルマウス 3xTg に 13-desMe SPX C を投与したところ、タウタンパク質のリン酸化とアミロイド β 凝集が抑制されることを見出した (図 1-16)。この結果より、13-desMe SPX C をはじめとする環状イミン毒が、アルツハイマー病の治療薬開発のための魅力的な分子ツールになりうることを示唆された。

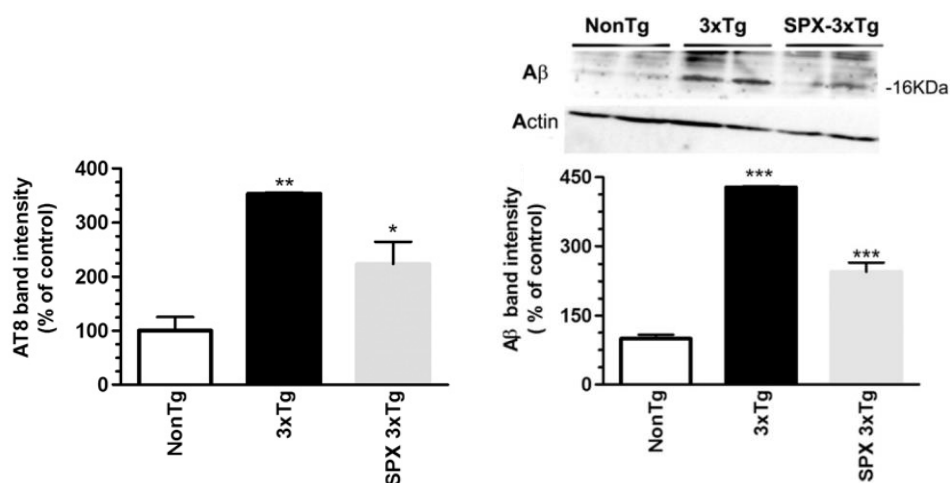


図 1-16 13-desMe SPX C のアルツハイマー病モデルマウスに対する作用

アルツハイマー病モデルマウス 3xTg では、黒色のグラフが示すようにタウタンパク質のリン酸化とアミロイド β 凝集が過剰に起こるが、13-desMe SPX C を投与することでそれらの発現は抑制される。

(左図) リン酸化タウタンパク質の発現を示す。AT8 はリン酸化タウタンパク質と結合する抗体

(右図) アミロイド β 凝集を示す。

Reprinted with permission from *Neurochem. Int.* **2011**, 59 (7), 1056-1065.³⁸⁾

Copyright © (2011) Elsevier.

また、2018 年には、ヒトの神経幹細胞を用いた興味深い研究結果が報告されている³⁹⁾。図 1-17 のパネル B に示すように、神経毒 MPP⁺は通常の神経細胞 (パネル A) を

変性させる神経変性作用をもつことが知られているが、ここに、13-desMe SPX C あるいは 20-Me SPX G を添加させておくと、パネル C と D が示すように MPP⁺の変性作用が阻害されることが明らかとなった。さらに、SPX を 30 日間にわたって神経幹細胞に暴露させたところ、nAChR の $\alpha 7$ サブユニットと、アセチルコリンの合成酵素である ChAT の発現量がそれぞれ増加していることが確認された。これらの効果は、SPX が nAChRs の $\alpha 7$ や $\alpha 4$ サブユニットに強く結合することに起因すると考察されている。このように nAChRs を介した神経保護作用を有する SPX は、神経伝達効率を向上させる可能性が高く、神経変性疾患に対するリード化合物としての応用が期待される。

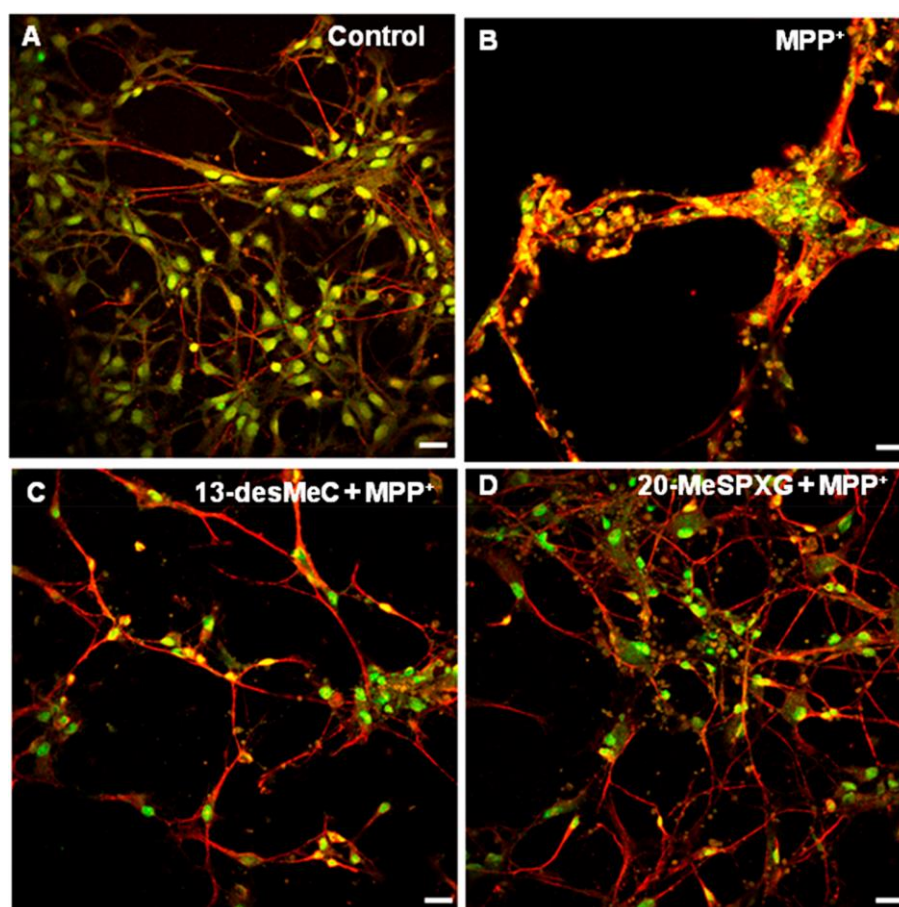


図 1-17 SPX の神経変性作用に対する阻害効果 (8 時間後)

通常の神経細胞 (A) に MPP⁺を作用させると神経変性が起こるが、SPX はこれを阻害する神経保護作用を示す。

(赤色 : β チューブリン、緑色 : NeuN、MPP⁺ = 1 mM、SPX = 50 nM)

Reprinted with permission from *ACS Chem. Neurosci.* **2018**, 9 (6), 1441-1452. ³⁹⁾

Copyright © (2018) American Chemical Society.

以上、環状イミン毒は非ペプチド系化合物として最強の nAChR 阻害作用を有する低分子化合物であるため、生化学研究の分子ツールや創薬研究の観点からも有用性の高い魅力的な天然物であることが窺える。特に神経変性疾患の治療薬や医薬品リードとしての応用も期待されており、それら疾患の医薬品開発における新たな創薬コンセプト創出の可能性も秘めている。このような展開を実現するためには、環状イミン毒の詳細な作用機序の解明を目指した化学的観点からの研究が必要不可欠である。

1-3 環状イミン毒に対する化学的観点からの研究

本節ではまず、環状イミン毒の生物活性の結果を化学構造から議論している先行研究について、ファーマコフォアおよび nAChR に対するサブタイプ選択性に着目してそれぞれ概説する。また、相対立体配置が決定されていない SPX の構造決定に関する報告例についてもその詳細を述べ、合成化学的アプローチによる決定の必要性を示す。最後に、これまで行われてきた化学的観点からの研究を踏まえ、スピロイミン環部分構造を基盤とした研究への着想および解決すべき課題点について説明する。

1-3-a 環状イミン毒のファーマコフォア

第一節でも述べた通り、SPX A、B の開環体である SPX E、F は、マウスへの毒性を示さないことが分かっている。また、Zakarian らは、PnTX A とそのケトアミン体である PnTX AK をそれぞれ全合成し、nAChR に対する機能性と結合親和性について比較している (図 1-18)³⁴⁾。その結果、PnTX AK はどのサブタイプに対しても不活性であることが明らかとなり、イミン環構造の重要性が示唆された。

また、環状アミンについても報告例があり、Hu らは SPX B を NaBH₄ で還元した二級アミン体を合成し、マウスに対する生物活性を調べている⁴⁰⁾。その結果、ケトアミン体と同じく有意な活性が認められなかったことから、生物活性の発現には環状かつイミン構造が必要であることが分かった (図 1-20)。

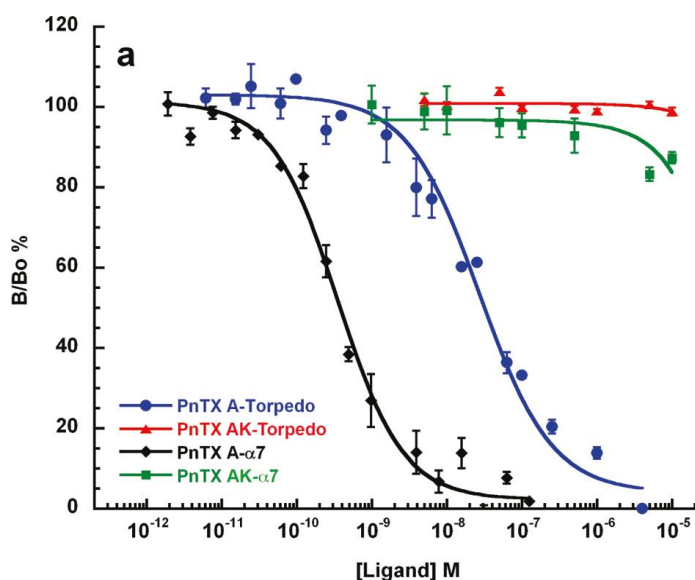


図 1-18 PnTX AK の結合親和性

ケトアミン体である PnTX AK は、骨格筋型 nAChR (赤色)、α7 (緑色) に対して親

和性を示さなかった。(PnTX A : 骨格筋型 nAChR (青色)、 $\alpha 7$ (黒色))

Reprinted with permission from *J. Am. Chem. Soc.* **2011**, *133*, 10499-10511. ³⁴⁾

Copyright © (2011) American Chemical Society.

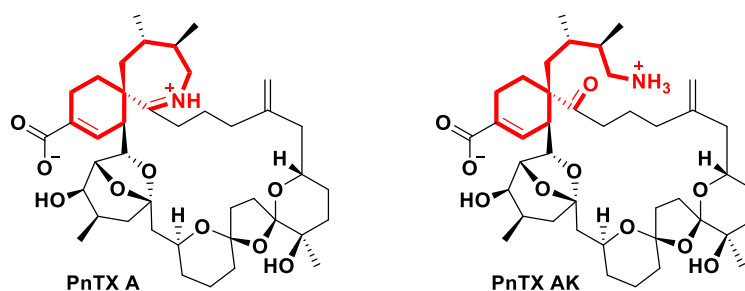


図 1-19 PnTX A とその開環体 PnTX AK の化学構造

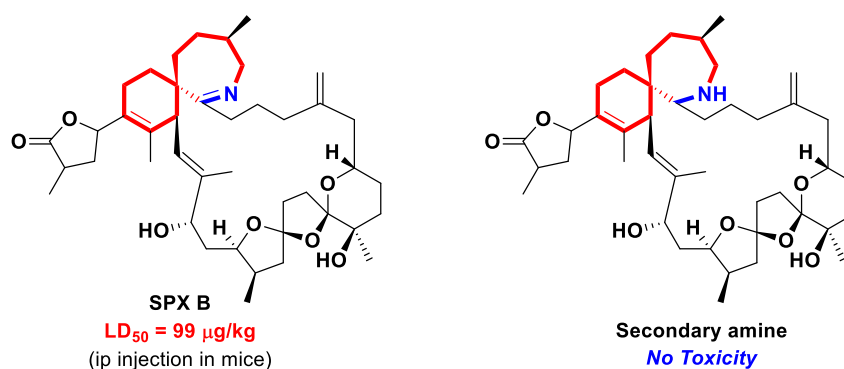


図 1-20 SPX B と環状アミン体

また Bourne らは、13-desMe SPX C と nAChR の細胞外領域の相同タンパク質であるアセチルコリン結合性タンパク (AChBP) との共結晶構造から、結合部位近傍のアミノ酸残基との相互作用様式を解明している (図 1-21) ³³⁾。その結果、スピロイミン環部分のプロトン化されたイミニウムカチオンと LoopB のトリプトファン残基 (W147) 間の水素結合が、その強力な結合親和性に寄与していると結論付けた。また、その水素結合距離 (2.9 Å) が、nAChR に強く結合するニコチンやエピバチデンのアンモニウムカチオンとトリプトファン間の水素結合距離 (2.6-2.7 Å) と同等であることも明らかとなった。このことは、SPX のイミニウムカチオンが活性中心であることを強く示唆している。

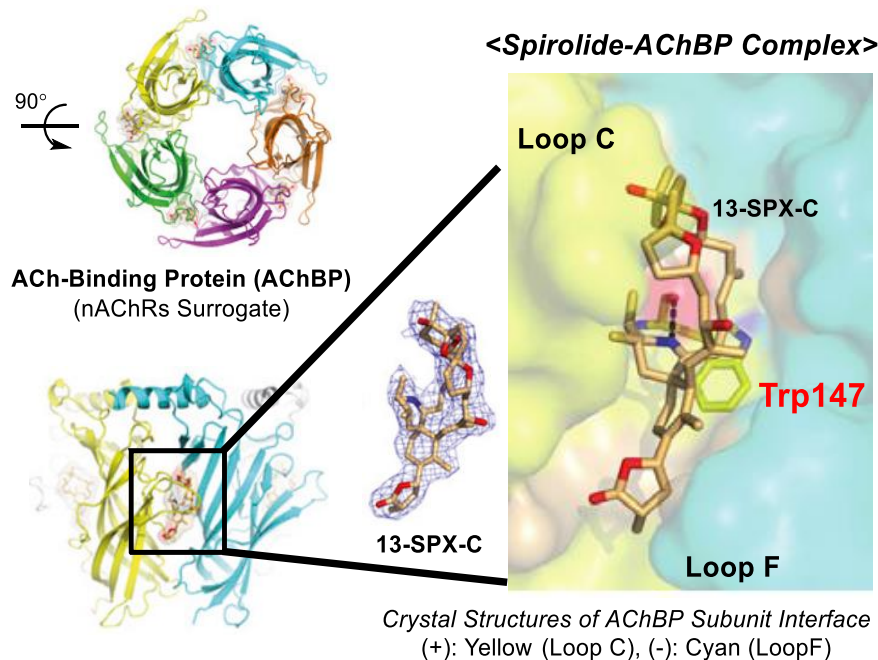


図 1-21 13-desMe SPX C-AChBP 複合体の結晶構造 (PDB: 2WZY)

SPX のイミニウムカチオンとトリプトファン (Trp147) 間の水素結合が、強い結合親和性の駆動力となっている。

Reprinted with permission from *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. **2010**, 107 (13), 6076-6081.³³⁾

Copyright © (2010) National Academy of Science, USA.

また Duroure らは、GYMA の 6,6-スピロイミン環構造を模倣したアナログ体の合成および生物活性評価を行い、スピロイミン環構造の重要性について報告している⁴¹⁾。合成したアナログ体は、GYMA には劣るものの、nAChRs の機能を阻害することが確認された (図 1-22)。このことはスピロイミン環構造の重要性を示唆した結果であるとも言えるが、アナログ体が天然物にないシリルエーテル基を有することから、本結果によって環状イミン毒のファーマコフォアを正確に決定することは難しい。

以上、天然物およびアナログ体を用いた限られた実験により、ファーマコフォアとしてイミニウムカチオンを中心とするスピロイミン環骨格が想定されうるが、生物活性を発現する必要最小限の構造に関する実験的根拠は未だ得られていない。

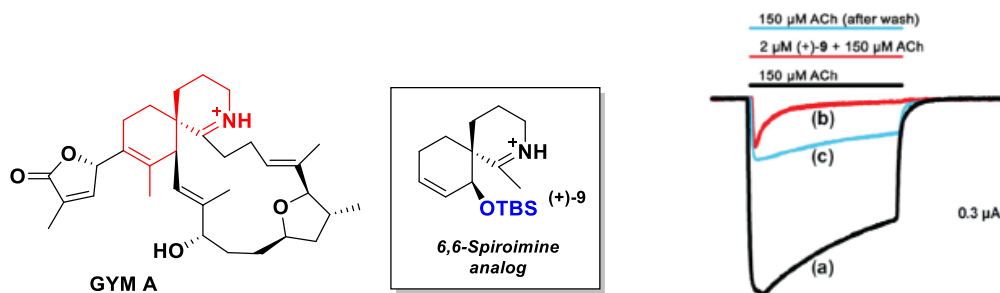


図 1-22 GYM A の 6,6-スピロイミン環を基盤としたアナログ体の生物活性¹⁰⁾

2 μM のアナログ体を投与することで、ACh が誘起するイオン電流(右図:a、黒色)を約 89% 阻害する(右図:b、赤色)。

Reprinted with permission from *Org. Biomol. Chem.* **2011**, 9 (23), 8112-8118. ⁴¹⁾

Copyright © (2011) Royal Society of Chemistry.

1-3-b nAChR に対するサブタイプ選択性

次に、環状イミン毒のサブタイプ選択性に寄与する化学構造について議論している先行研究を述べる。Bourne らは、PnTX A と PnTX G の唯一の構造的違いである 33 位の置換基に着目し、その構造の違いが nAChR に対するサブタイプ選択性に影響することを報告している⁴²⁾。まず、PnTX A、G の IC_{50} 値を電気生理学的手法により求めたところ、 $\alpha 7$ サブタイプに対してより強い阻害活性を有するのは PnTX A であることがわかった(図 1-23、PnTX A: $\text{IC}_{50} = 0.11 \text{ nM}$ 、PnTX G: $\text{IC}_{50} = 5.0 \text{ nM}$)。一方、 $\alpha 4\beta 2$ サブタイプに対しては PnTX A の阻害活性は 100 倍程度弱くなり、PnTX G がより強い活性を示すことが確認されている(PnTX A: $\text{IC}_{50} = 30.4 \text{ nM}$ 、PnTX G: $\text{IC}_{50} = 4.9 \text{ nM}$)。さらに彼らは AChBP を用いた結晶構造解析により、33 位置換基周辺の相互作用様式についても明らかにしている。その結果、PnTX A が有する高極性なカルボン酸が、結合部位周辺のアミノ酸残基のみならずいくつかの水分子と水素結合ネットワークを形成していることを見出した。これが PnTX G とは異なる生物活性を有する理由であると彼らは考察している(図 1-24)。また、SPX が有するブテノリド環や、PtTX が有するシステイン誘導体のようにサイズの大きい置換基もまた、結合部位近傍の水素結合ネットワークに影響を与えることで異なるサブタイプ選択性を発現しうると指摘している。すなわち、33 位 (SPX の場合 4 位) の置換基依存的な相互作用様式が、サブタイプ選択性の制御に関わっていると考えられる。

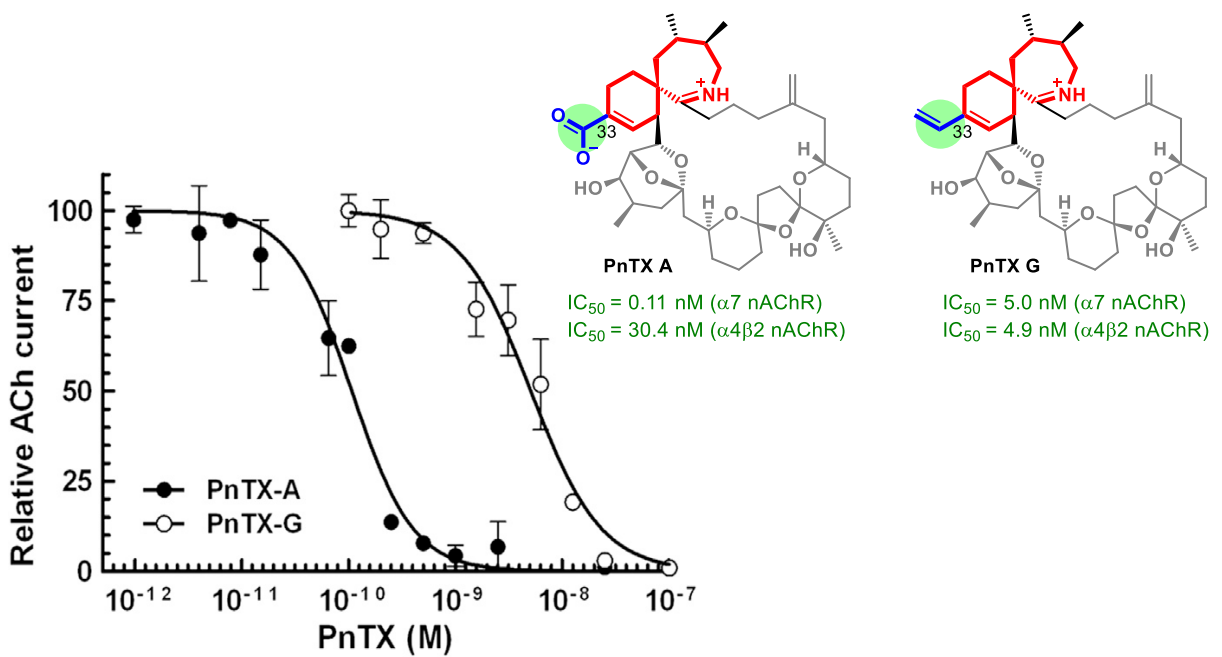


図 1-23 PnTX A、G の $\alpha 7$ サブタイプに対する阻害作用の違い

Reprinted with permission from *Structure*. 2015, 23 (6), 1106-1115. ⁴²⁾

Copyright © (2015) Elsevier.

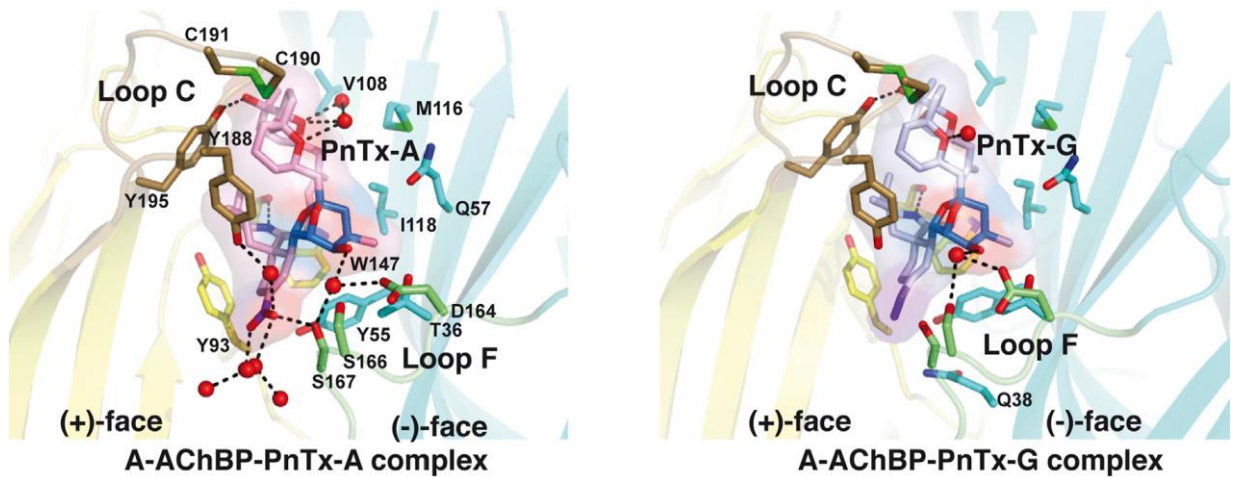


図 1-24 PnTX A と PnTX G の AChBP との共結晶

33 位に高極性置換基を有する PnTX A は水素結合ネットワーク（橙色の点線で囲っている箇所）を形成することで、PnTX G とは異なる結合親和性を示す。

Reprinted with permission from *Structure*. 2015, 23 (6), 1106-1115. ⁴²⁾

Copyright © (2015) Elsevier.

また Hellyer らは、分子モデル計算を用いて、PnTX F の各サブタイプにおける相互作用様式の違いについて議論している (図 1-25) ⁴³⁾。PnTX F は 33 位に γ -ラクトン環を有しており、 $\alpha 7$ サブタイプの機能を強く阻害することが分かっている。ドッキング計算の結果、全てのサブタイプにおいて、PnTX F のイミニウムカチオンとトリプトファン 147 の間に水素結合が形成されていた。一方で、33 位の γ -ラクトン環近傍においては、サブタイプ毎に異なる作用様式であることが確認された。 $\alpha 7$ サブタイプや骨格筋型 nAChR においては、 γ -ラクトン環がアルギニン、セリンとそれぞれ水素結合を形成していたが、 $\alpha 4\beta 2$ サブタイプにおいては水素結合の形成が確認されなかった。このことは、PnTX F の $\alpha 4\beta 2$ サブタイプに対する弱い阻害活性と結びつけることができる。これらの結果もまた、33 位置換基が結合部位周辺のアミノ酸配列の違いを認識することでサブタイプ選択性を発現していることを示唆している。

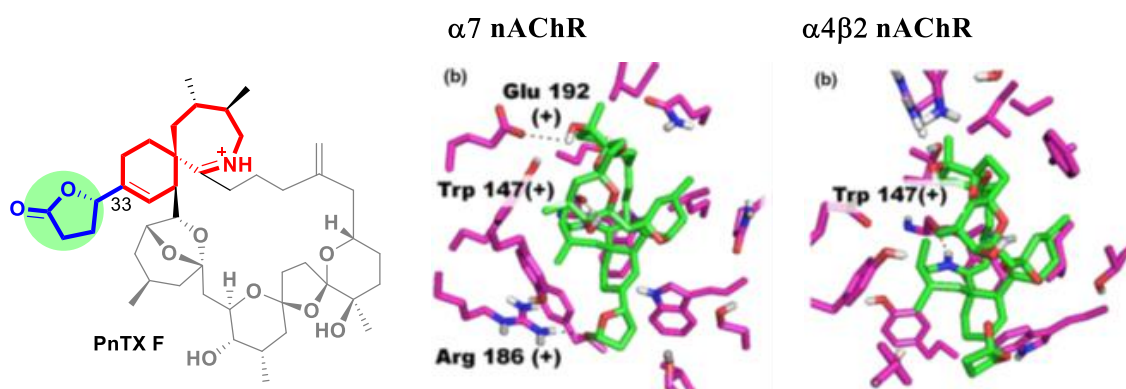


図 1-25 PnTX F と nAChRs 複合体のドッキング計算

$\alpha 7$ サブタイプと $\alpha 4\beta 2$ サブタイプでは、33 位置換基の周辺の相互作用様式が異なる。

Reprinted with permission from *J. Neurochem.* **2015**, 135 (3), 479-491. ⁴³⁾

Copyright © (2015) John Wiley and Sons.

このように二つの天然物の生物活性の比較や分子モデル計算により、33 位の置換基がサブタイプ選択性に寄与していることが示唆されている。そのため、33 位置換基に着目した系統的かつ精密な構造活性相関研究が望まれているが、天然物そのものを用いた研究は量的供給および化学合成の難しさといった観点から現実的ではない。また SPX に至っては、全合成はおろか γ -ブテノリド環部分の立体化学でさえも未だ明らかにされておらず、まずは構造決定を達成することが急務である。

1-3-c 環状イミン毒 SPX の立体配置

SPX は、他の環状イミン毒に比べて強力な阻害活性を有することに加えて、アミロイドβ凝集阻害効果や神経保護作用といった興味深い生物活性を有する。したがって、全合成を含む化学的研究が特に望まれているが、前述した通り 4 位の相対立体配置でさえも未解明のままである。4 位はサブタイプ選択性への寄与が示唆されている箇所でもあるため、立体配置の決定は解決すべき最重要課題である。

化合物の立体化学を決定する手法としてしばしば X 線結晶構造解析が用いられるが、SPX は非結晶性であるため単結晶を得ることができない。また Bourne らによって AChBP との複合体構造が解かれているものの³³⁾、分解能が不十分だったため 4 位の立体配置の決定には至っていない。

2009 年に Forino らは、NMR と計算科学を駆使して、13,19-didesMe SPX C の相対立体配置の決定を試みている (図 1-26)⁴⁴⁾。まず彼らは、分子モデル計算による配座解析の結果から、ブテノリド環とシクロヘキセン環の二面角を見積もった (表 1-3)。次に、各種 NMR 測定から得られた $^3J_{HH}$ 、 $^2J_{CH}$ 、 $^3J_{CH}$ の大小の組み合わせによって配座を推定する JBCA 法の適用によって回転配座を絞り、分子モデル計算の結果にそぐわない *anti* 配座を除外した。残る *gauche* 配座となる 2 つの可能なモデルに対し、 1H NMR シグナルの多重度からシクロヘキセン環部分のプロトンのアキシアル-エクアトリアル配座を決定し、実際に観測された ROESY 相関の結果と比較することで、4R 体の *gauche*- と 4S 体の *gauche*+ に絞った。最終的に、H4-H35a 間の ROE 相関の有無によって、4 位の立体配置が R 配置であると推定した。(図 1-27)。しかし、①観測された ROE 相関が非常に微弱であったこと、②比較したジアステレオマーの H4-H35a 間の距離の違いに顕著な差がなかったこと、③絞り込みによって得られた配座が最安定配座ではないことなど、その結論には疑いの余地がある。また、他の SPX 類縁体とは異なる ROE 相関が観測されていることから (表 1-4)、天然物を用いた構造決定の再現性や信憑性という点でも課題が残る^{12), 13)}。

以上より、機器分析や計算科学による構造決定は非常に困難であり、また SPX の量的供給の難しさを考慮すると、4 位の相対立体配置は合成化学的アプローチによる決定が望ましい。

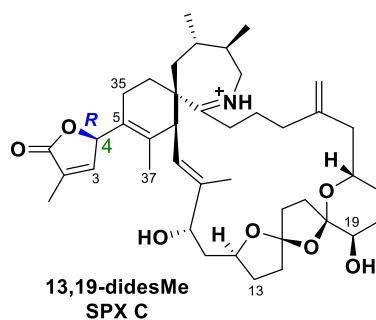


図 1-26 提唱された 13,19-didesMe SPX C の完全相対立体配置
Forino らは 4 位の立体配置を *R* と決定したが、その結論には疑いの余地がある。

表 1-3 分子モデル計算により得られた安定配座の二面角と分子内距離

Family	Dihedral angle α ($^\circ$)	H3–H37 (Å)	H4–H37 (Å)	H4–H35a (Å)
4 <i>R</i>				
<i>anti</i>	168 $^\circ$	3.3	3.8	2.5
<i>gauche</i> ⁻	-53 $^\circ$	2.5	2.1	3.3
<i>gauche</i> ⁺	43 $^\circ$	4.7	2.3	3.7
4 <i>S</i>				
<i>anti</i>	-176 $^\circ$	3.4	3.7	2.2
<i>gauche</i> ⁺	39 $^\circ$	2.3	2.3	3.7
<i>gauche</i> ⁻	-41 $^\circ$	4.2	2.4	3.7

分子モデル計算の結果に対し、JBCA 法と観測された ROE 相関を用いて絞り込みを行った結果、4*R* 体の *gauche*-と 4*S* 体の *gauche*+に絞られた(橙色)。

Reprinted with permission from *Org. Biomol. Chem.* **2009**, 7, 3674-3681.⁴⁴⁾

Copyright © (2015) Royal Society of Chemistry.

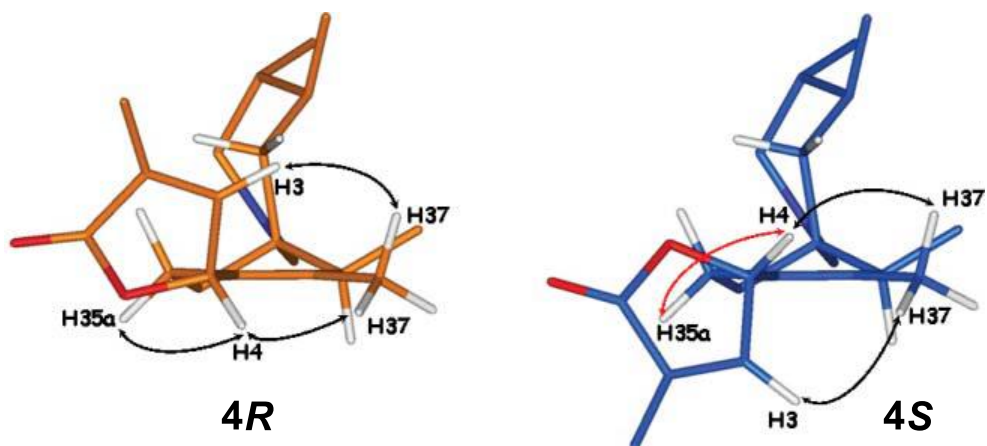


図 1-27 4 位の立体配置決定におけるモデル図と ROESY 相関(左:4R、右:4S)¹¹⁾
 黒矢印は観測可能な ROE 相関、赤矢印は観測不可能な ROE 相関を示す。構造決定の決め手になったのは H4-H35a 間の ROE の有無であるが、ROE が非常に微弱であること、両者の水素間の距離に顕著な差がないことなどが指摘されている。

Reprinted with permission from *Org. Biomol. Chem.* **2009**, 7, 3674-3681.⁴⁴⁾

Copyright © (2015) Royal Society of Chemistry.

表 1-4 SPX C 類縁体および SPX H で観測される ROE 相関

C#	13-desMe ^[a]	13,19-didesMe ^[b]	SPX H ^[c]
	NOEs	NOEs	NOEs
3	4, 34a, 37	30a ^[d] , 37	4, 37
4	27a ^[d] , 34a ^[d] , 37	35a ^[d] , 37	37

[a] Data taken from ref (45). [b] Data taken from ref (44)-a. [c] Data taken from ref (46). [d] Intensity of the NOE(ROE)s are very weak.

1-3-d 環状イミン毒のスピロイミン環部分構造

本節で述べてきたことを受けて、スピロイミン環部分構造に焦点を当てた研究を着想した。具体的には、スピロイミン環部分構造の合成ができれば、まず重要な 4 位の立体配置の決定が SPX の全合成をしなくとも達成できると考えた。さらに、スピロイミン環部分構造の合成を起点にファーマコフォアを決定することで、サブタイプ選択性の解明を目指した構造活性相関研究も実現できる可能性がある。すなわち、天然物のファーマコフォアを基盤としたアナログ体を活用することで、未解明な生命現象の理解や新規生物活性化合物の創出といった「ファーマコフォア基盤型研究」への展開が期待される。このような研究では、天然物のファーマコフォアが特定の生体高分子への結合に最適化された分子骨格要素であることを利用しており、また膨大な工程数により合成される天然物に比べて効率よくアナログ体が供給できることが最大の利点である。

しかし、スピロイミン環部分構造の合成は環状イミン毒の全合成を阻む複雑構造でもあるため、その合成は極めて困難であり克服すべき問題が山積みである。そのため、新たな合成戦略に基づいたスピロイミン環部分構造の新規合成法を確立する必要がある。

1-4 スピロイミンユニットの合成研究

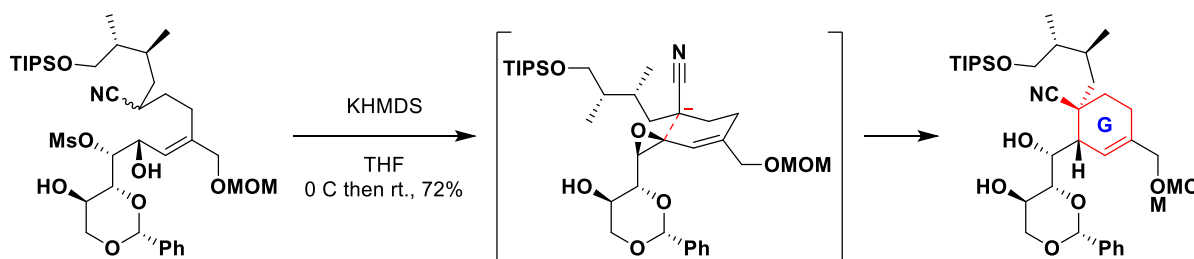
スピロイミンユニットの構築は、これまでの環状イミン毒の合成研究においても特に注目されいくつかの方法論が報告されてきた。本節では、PnTX の全合成における7,6-スピロ環構造の構築法について報告例を示した後、スピロイミン環部分構造の合成戦略として有用性の高い合成初期での分子内 Diels-Alder 反応を用いた方法論について述べる。また、本研究で適用した 2-シリルジエンに関する先行研究について Diels-Alder 反応およびカップリング反応の基質としての性質に着目し概説する。最後に γ -ブテノリド環構築の過去の報告例について説明し、スピロイミン環部分構造の合成における解決すべき問題点を挙げる。

1-4-a 7,6-スピロイミン環の合成研究

本項ではまず、PnTX の全合成を達成した平間、Zakarian、岸、中村・橋本らがそれぞれ用いた 7,6-スピロイミン環構造の合成法について述べる。次に、SPX や PnTX の全合成を指向した合成初期における分子内 Diels-Alder 反応について報告例を示す。

(1) PnTX の全合成研究

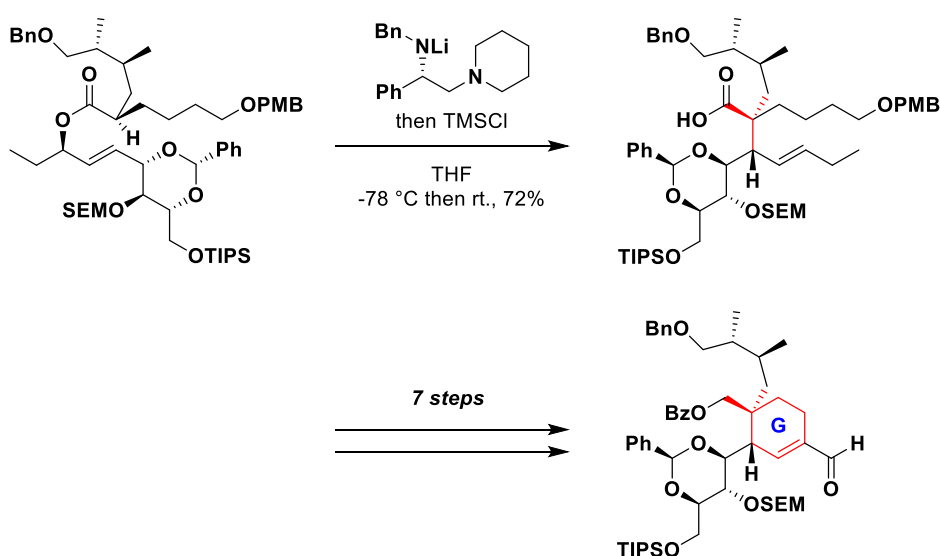
2004 年に形式全合成を達成した平間らは、ジアステレオ選択的な分子内アルキル化によりスピロ炭素を含むシクロヘキセン環の構築に成功している (スキーム 1-1)^{8)-a}。具体的には、D-グルコースより調製したメシラートに KHMDS を作用させ、系内で生じたエポキシニトリルの分子内アルキル化によって立体化学を完全に制御した形でシクロヘキセン環を得ている。しかし、本反応は選択性、収率ともに良いものの、反応が PnTX 骨格に依存しているため、その他の環状イミン毒への適応は難しい。



スキーム 1-1 平間らによる分子内アルキル化反応

次に Zakarian らは、独自に開発した四置換シリルケテンアセタールの立体選択的

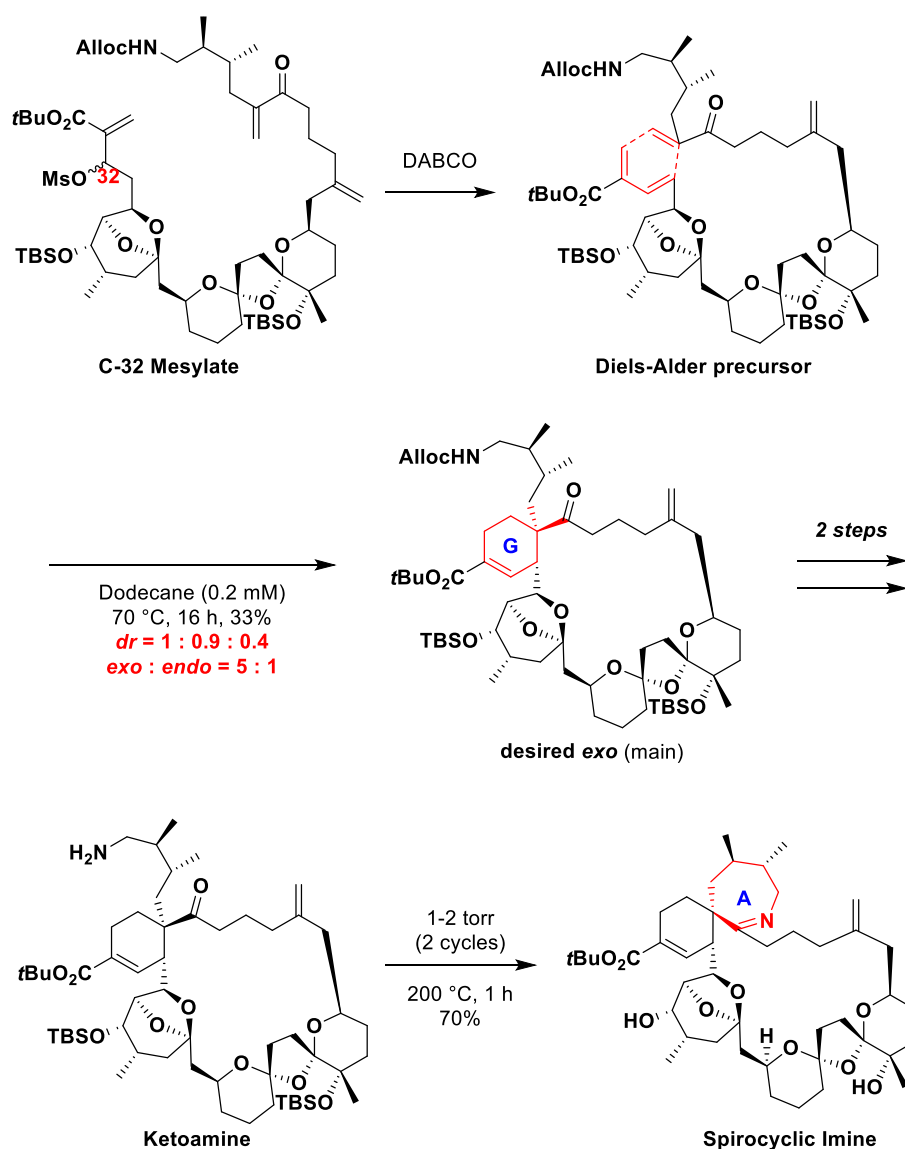
Ireland-Claisen 転位反応を用いることで、シクロヘキセン環を構築している (スキーム 1-2)^{8)-b)}。すなわち、エステル化合物に対し古賀らのキラルリチウムアミドを用いることで、(Z)-シリルケテンアセタールを立体選択的に生成させ、続く転位反応によって望むスピロ環を有するカルボン酸を立体選択的に得ている。その後、6 段階を経てジアルデヒドを合成し、アルドール環化反応によってシクロヘキセン環の構築に成功している。こちらも鍵反応の選択性、収率ともに良く、SPX の合成にも適用できるが、転位反応後シクロヘキセン環構築までに 7 段階を要するなど、簡便性、効率性という観点では問題が残っている。



スキーム 1-2 Zakarian らによる G 環の合成

さらに岸、中村・橋本らは、推定されている生合成経路である Diels-Alder 反応を適用することで、効率的にシクロヘキセン環の構築を行っている。

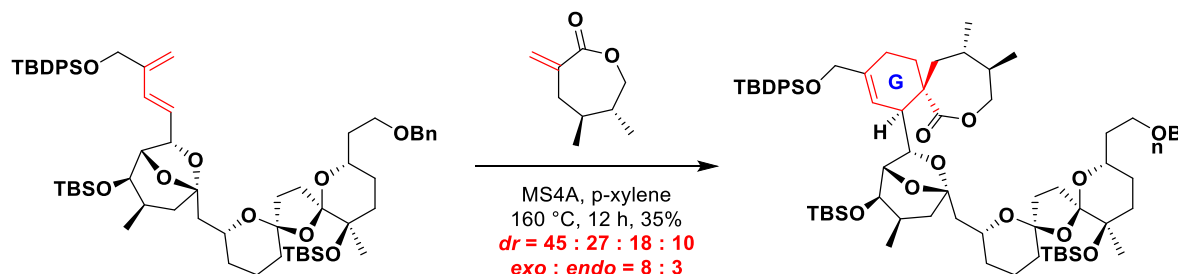
岸らは、分子内 Diels-Alder 反応を用いてスピロ炭素を含むシクロヘキセン環の構築を行った (スキーム 1-3)⁷⁾。まず、32 位のメシレートを DABCO によってオレフィン化し、分子内 Diels-Alder 反応の前駆体を合成した。続く分子内 Diels-Alder 反応を種々の溶媒、反応温度で検討した結果、0.2 mM のドデカン溶媒、70°C で反応を行うことで、望みの *exo* 体を主生成物として得ることに成功している。しかし、二つの立体異性体が多く副生したため、その収率は 33% にとどまっている。その後、脱保護して得られたケトアミンのイミン化反応を種々の条件下で試みたが、反応点がスピロ炭素に隣接するため極めて反応性が低いことが分かった。最終的には、無溶媒で高真空下 200°C という過酷な条件下で、目的の 7,6-スピロイミン環の構築を達成している。



スキーム 1-3 岸らによる分子内 Diels-Alder 反応

中村・橋本らは、岸らの結果を踏まえ、合成後期での分子間 Diels-Alder 反応によりシクロヘキセン環の構築を行っている (スキーム 1-4)^{8)c}。彼らは、二重結合とカルボニル基が *s*-シス配置に固定された α , β -不飽和カルボニル化合物をジエノフィル基質として用いると *exo* 選択的に反応が進行するという Roush らの報告に着目した。すなわち、図に示すジエノフィルラクトンとの分子間 Diels-Alder 反応を試みた。*p*-キシレン溶媒中 160°C で加熱した結果、位置選択性は完全に制御され、目的とする *exo* 環化付加体を優先して得ることに成功した。しかし、*exo/endo* 比は 8:3、ジエンの面選

択性は 5:3 にとどまり、目的物の収率も 35% と、岸らが報告した分子内反応の結果とほぼ同じになった。

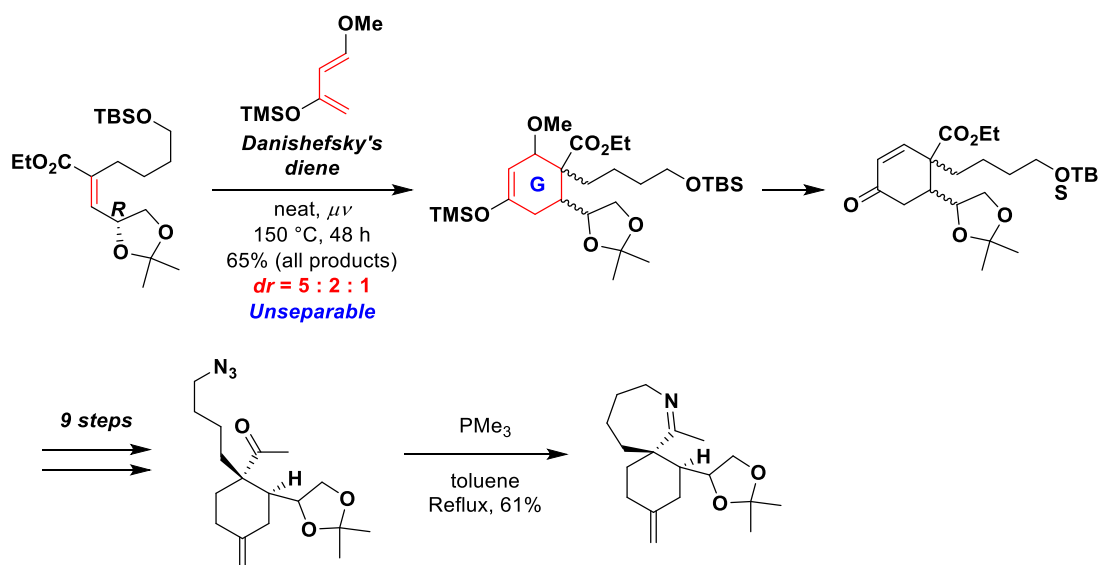


スキーム 1-4 中村・橋本らによる分子間 Diels-Alder 反応

スピロ炭素を含むシクロヘキセン環を一挙に構築する上で、Diels-Alder 反応は非常に簡便で効率的であると考えられる。しかしながら、岸らや中村・橋本らのグループにおいて、ともに *exo* 選択的に反応が進行しているものの、どちらも選択性には問題が残っているといえる。これは、合成後期での Diels-Alder 反応の選択性が基質の構造に依存しているためであると考えられる。従って、より効率的なシクロヘキセン環構築の実現には、合成初期における選択的 Diels-Alder 反応を適用することが望ましい。

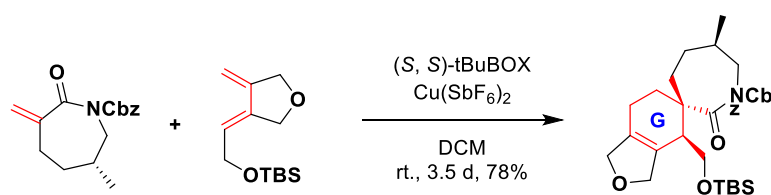
(2) 合成初期における Diels-Alder 反応

2010 年に Brimble らは、スピロリドのスピロイミン環部分の構築を目指し、Danishefsky ジエンを基質とした選択的 Diels-Alder 反応の開発を行っている (スキーム 1-5)⁴⁷⁾。アセトナイド保護されたジエノフィルと Danishefsky ジエンを、無溶媒、高温、マイクロウェーブ照射下で Diels-Alder 反応を行うことで、ジアステレオ選択性は中程度ながら望みの立体構造を持つ環化付加体を優先的に得ることに成功している。その後メチルケトン、アジド基を導入し、最後に Aza-Wittig 反応を用いることで目的の 7,6-スピロイミン環を得ることに成功している。本手法は合成の初期段階で簡便にスピロイミン環が構築できる合成手法ではあるが、やはり選択性の制御に課題が残る。また、後の γ -ブテノリド環の効率的な構築については加味されておらず、導入には多段階を要することが予想できる。



スキーム 1-5 Brimble らによる 7,6-スピロイミン環の合成

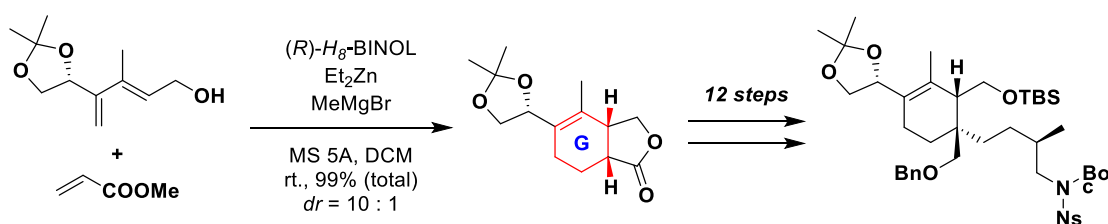
石原らのグループも、合成初期における分子間 Diels-Alder 反応を鍵とした構築法を報告している (スキーム 1-6)⁴⁸⁾。2016 年には、メチル基を有する α -メチレンカプロラクタムとシソイドジエンを基質として用い、不斉銅触媒存在下で反応を行ったところ、選択的かつ高収率で望む *exo* 環化付加体を得ることに成功している。本手法はシクロヘキセン環部分をエナンチオ選択的に構築する初めての例であり効率的な手法と思われたが、得られたジヒドロフランから目的とするスピロイミン環の合成には多段階を要するため実用性に乏しく、これ以上の検討は行われていない。



スキーム 1-6 石原らによる分子内 Diels-Alder 反応

さらに同グループは、Ward らが報告した BINOL をキラルルイス酸テンプレートとする Diels-Alder 反応に着目し⁴⁹⁾、2019 年にも新たな構築法について報告している (スキーム 1-7)⁵⁰⁾。すなわち、ビナフトールをキラルテンプレートとするルイス酸を用いることで、ジエンとジエノフィルを互いに接近させ、高エナンチオ選択的にビスクロラク톤を合成する手法を用いた。条件検討の結果、MS5A 存在下、触媒量のオク

タヒドロビナフトール、メチルグリニヤール試薬、トリエチル亜鉛を用いることで、ジエノールとアクリル酸メチルの Diels-Alder 反応が高収率かつ高エナンチオ選択的に進行することを見出した。本手法はシクロヘキセン環を構築する上では収率、選択性ともに優れているものの、その後の 7 員環構築までに多段階を要することがやはり課題となる。さらに、7 員環のメチル基を合成後期で導入しているため、ほとんどの SPX や PnTX が有する連続した二つのメチル基の導入が困難であることも大きな問題である。



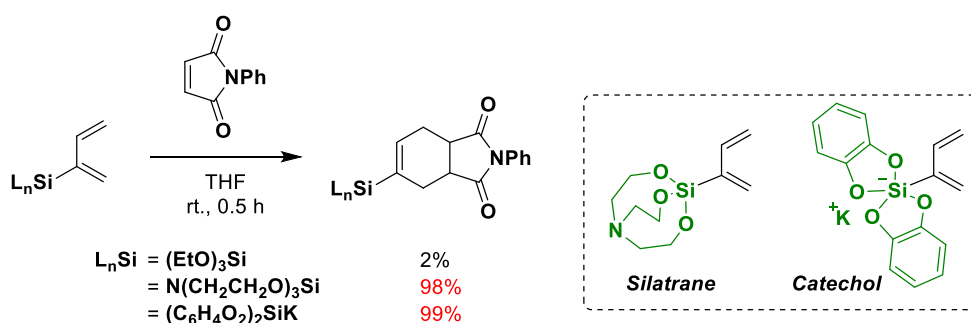
スキーム 1-7 石原らによるキラルLewis酸テンプレートを用いた分子間 Diels-Alder 反応

以上より、スピロイミンユニットのシクロヘキセン環部分の合成は極めて難易度の高い挑戦的課題であることがわかる。近年、合成初期での Diels-Alder 反応を用いた簡便な合成法が開発されてきているが、未だに全合成に適応できる段階には至っていない。ましてや、立体構造解析や構造活性相関研究を加味した方法論の開発については一切の報告例がない。さらに、SPX においては γ -ブテノリド環も有するため、その構築も加味する必要があり、より問題を困難にしている。

1-4-b 2-シリルジエンを用いた Diels-Alder 反応とカップリング反応

本項では、本研究で適用した 2-シリルジエンに関する先行研究について概説する。2-シリルジエンは近年多くの研究がなされており、Diels-Alder 反応の基質としての利用や、その反応を用いた天然物合成などに展開されつつある⁵¹⁾。この要因として、①シリル置換基の電子的および立体的な影響による反応性、選択性の制御が可能であること、②金属触媒を用いたカップリング反応による種々の置換基への構造変換が可能であること⁵²⁾、などが挙げられる。シリル基を有するジエンを用いた Diels-Alder 反応の報告例の中で、2 位が置換された 2-シリルジエンを用いているものはそれほど多くはない。Ganem らは、独自の方法で調製した 2-トリエチルシリル化ジエンとアクリル酸エチルをベンゼン中で反応させることで、位置選択的に反応が進行することを初

めて見出した⁵³⁾。また近年 Welker らは、2 位にシリル基を有する 1,3-ジエンを用いた Diels-Alder 反応について精力的に研究を行っている⁵⁴⁾。彼らは、3 種類のアロキシシリルジエンをそれぞれ合成し、マレイミドとの Diels-Alder 反応を行ったところ、シラトラン、カテコールを有するジエンが、シロキサンジエンよりも反応性が高いことを見出した (スキーム 1-8)。さらに、半経験的分子軌道法によるエネルギー計算の結果、シラトランジエンとカテコールジエンがともに Danishefsky's ジエンよりも高い HOMO エネルギーをもつことを明らかとした (図 1-28)。また彼らは、シラトランジエンに対し非対称ジエノフィルを作用させたところ、位置選択的に Diels-Alder 反応が進行することも確認している (スキーム 1-9)。以上のように、シラトランやカテコールを有する 2 位アロキシシリルジエンは、Diels-Alder 反応において、高い反応性および位置選択性を示すことが明らかとなった。



スキーム 1-8 アルコキシシリルジエンの反応性

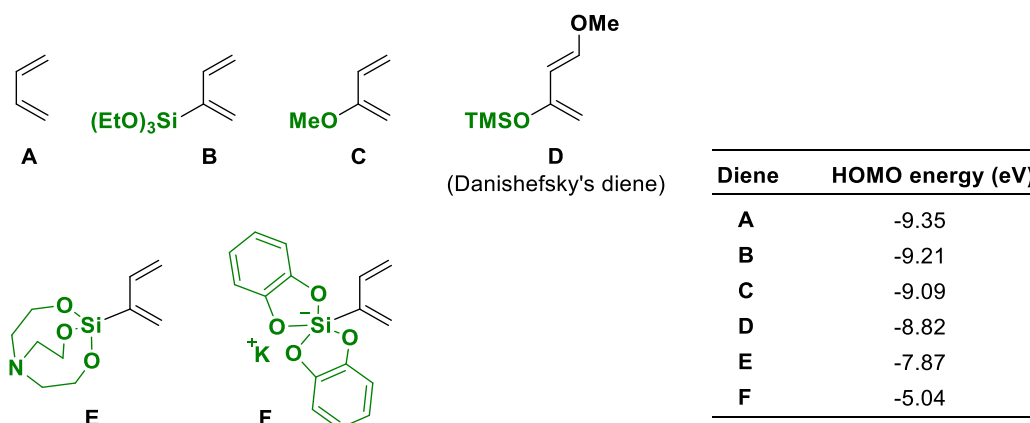
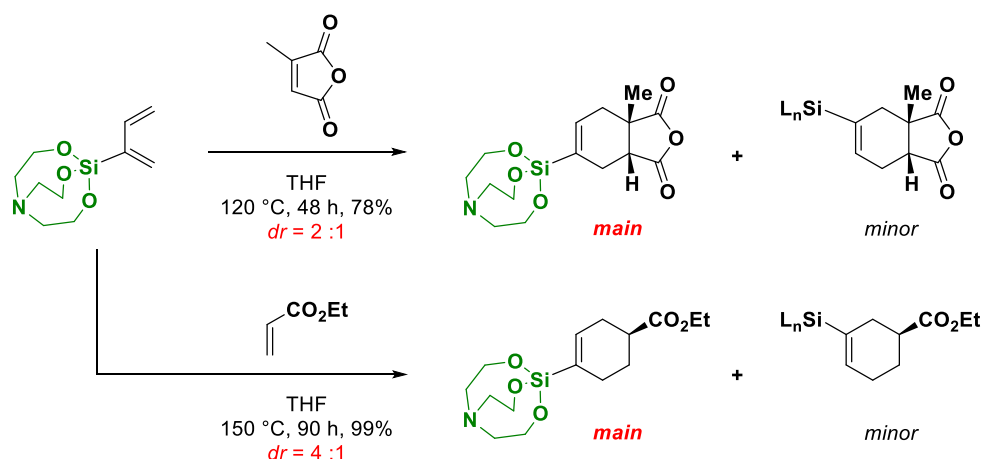
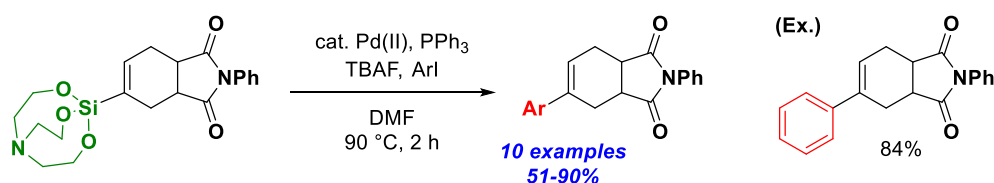


図 1-28 1,3-ジエンの HOMO エネルギー



スキーム 1-9 シラトランジエンの位置選択的 Diels-Alder 反応

Diels-Alder 反応によって得られるビニルシラトランは、炭素-炭素結合形成反応の一つである檜山カップリング反応の優れた基質としても用いることができる。DeShong らの報告によると、フェニルシラトランはトリメトキシフェニルシランよりもカップリング反応の反応性が高く、アリアルトリフレートやアリアルハライドと収率良く反応することが明らかとなっている⁵⁵⁾。また Welker らも、上で述べた Diels-Alder 反応の環化付加体を用いて檜山カップリング反応を行っており、種々のヨウ化アリアルでカップリング体の合成に成功している (スキーム 1-10)。

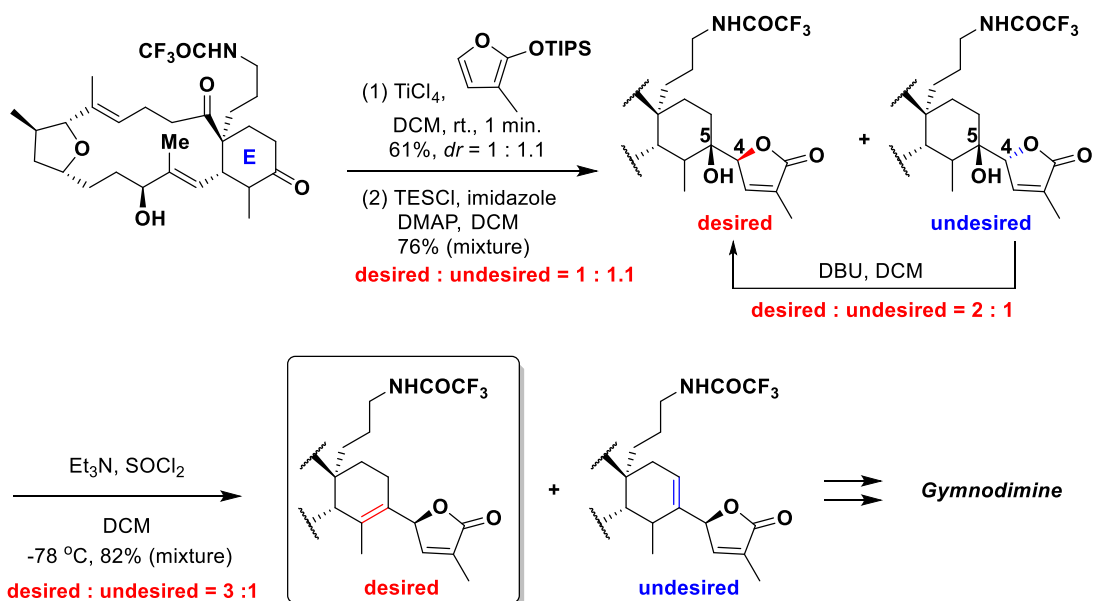


スキーム 1-10 シラトラン部位の檜山カップリング反応

このように、2-シリルジエン、とりわけシラトラン化ジエンを基質として Diels-Alder 反応を行うことで、反応性の向上や選択性の制御のみならず、環化付加体のビニルシラン構造を利用した簡便な構造変換をもたらすことができる。すなわち、シラトランジエンは、 γ -ブテノリド環の簡便な導入を目指したシクロヘキセン環部分の選択的構築に応用できる魅力的な基質の一つであると考えられる。

1-4-c γ -ブテノリド環の合成研究

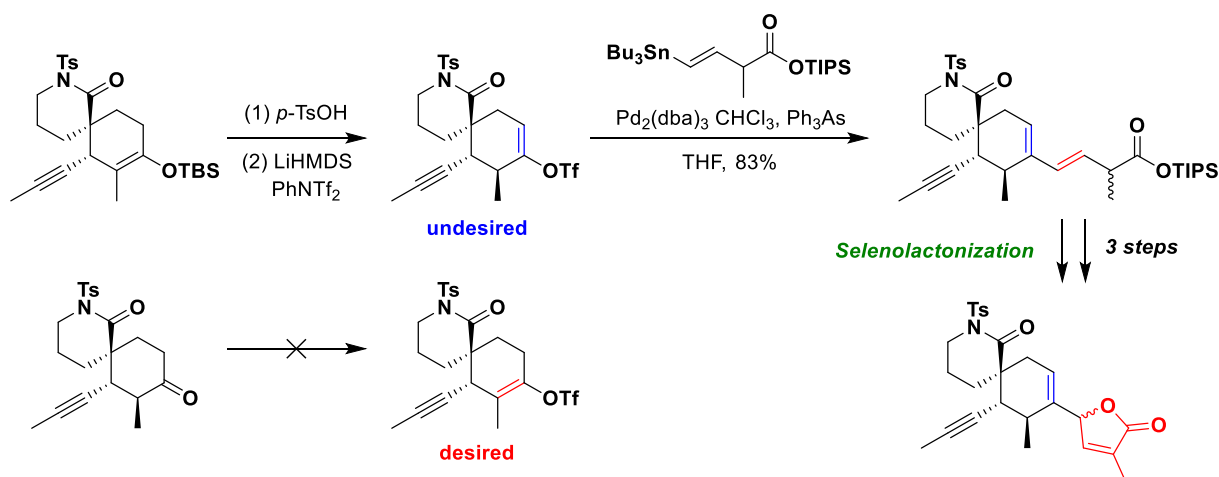
環状イミン毒の合成研究において、 γ -ブテノリド環の合成例はほとんどない。唯一、Romo らは GYM の全合成において、 γ -ブテノリド環の合成に成功している（スキーム 1-11）⁷⁾。彼らはまず、シリルエノールエーテルを脱保護したケトン体に対して、シリルオキシフランを用いたビニログス向山アルドール反応を行うことで、ヒドロキシラク톤を合成した。C4 位については、1 : 1.1 の混合物で得られたが、後に DBU を用いた異性化により望む立体異性体を 2 : 1 の比で優先的に得ている。その後、C5 位ヒドロキシ基の脱水反応を行うことで、3 : 1 と中程度の位置選択性ではあるものの、目的とする γ -ブテノリド環を含むシクロヘキセン環の構築に成功している。本手法は、GYM の全合成に活用されていることから実用的な方法であるといえるが、 γ -ブテノリド環導入時の立体選択性やオレフィン化の位置選択性など、選択性については改善の余地がある。また、C4 位の立体化学については、全合成の終盤で異性化により制御しているため、C4 位の立体化学が不明である SPX や部分構造の合成には不向きであると考えられる。



スキーム 1-11 Romo らによる γ -ブテノリド環の合成

また Romo らは全合成研究の中で、Stille カップリング反応を用いた γ -ブテノリド環の導入も試みている（スキーム 1-12）。しかしながら、Stille カップリング反応の基質であるビニルトリフレート体が合成できず、様々な条件下において逆の位置異性体

のみが得られた。その後も望む位置異性体への異性化はかなわず、ここでもやはり、シクロヘキセン環のオレフィン部分の位置選択性の制御が難点となった。ここで、逆の位置異性体を用いたブテノリド環の合成については、Stille カップリング反応によって導入したカルボン酸を足掛かりにセレンラクトン化が行われた。本手法は、 γ -ブテノリド環の効率的な合成法として魅力的ではあるが、4位の立体化学を制御できない点が欠点である。



スキーム 1-12 Romo らの別アプローチによる γ -ブテノリド環の導入

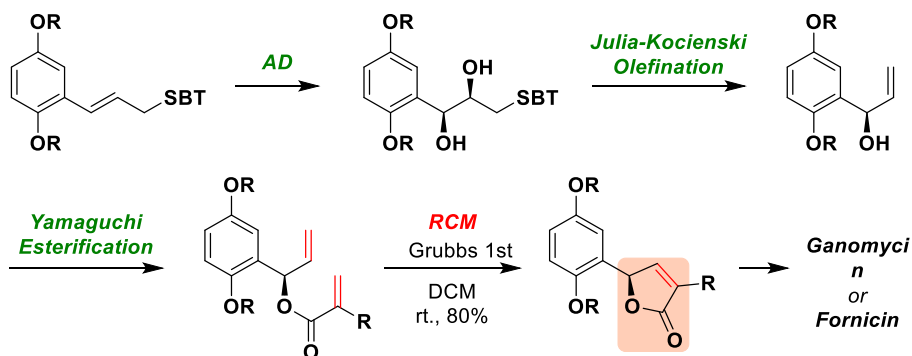
環状イミン毒の合成研究ではないが、 γ -ブテノリド環を立体選択的に構築している例はいくつか報告されている。ここでは、実用性を考慮し、キラルなアリルアルコールと閉環メタセシス反応を鍵反応とした合成法について述べる。

額田らは、ガノマイシンおよびフォルニシンの全合成研究において、不斉ジヒドロキシ化反応と続く Julia-Kocienski オレフィン化様反応によりアリルアルコールを立体選択的に合成し、山口エステル化反応によって閉環メタセシス反応の基質であるエステルを得た (スキーム 1-13)⁵⁶。その後、閉環メタセシス反応の触媒条件を検討し、室温下でグラブス第一世代触媒を用いることで望む γ -ブテノリド環が収率良く得られることを見出した。

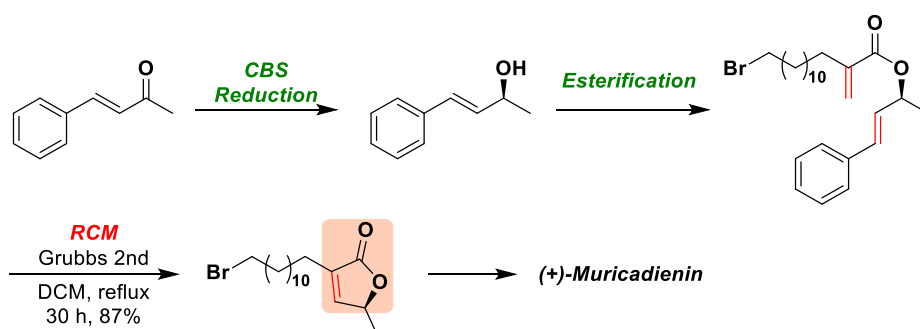
また、Fernandes らはムリカジエニン類の全合成研究において、アリルケトンの CBS 還元によって得られたアリルアルコールをエステル化し、グラブス第二世代触媒存在下、加熱還流することで目的の γ -ブテノリド環を構築している (スキーム 1-14)⁵⁷。

これらの閉環メタセシス反応を用いた γ -ブテノリド環の構築においては、キラルなアリルアルコールの合成と、閉環メタセシス反応における反応条件の最適化が鍵ととれる。望む立体の γ -ブテノリド環を効率よく構築することができるこの手法は、ス

ピロイミンユニットの γ -ブテノリド環合成においても適用することが望ましいが、未だそのような合成戦略は報告されていない。



スキーム 1-13 額田らによる γ -ブテノリド環の合成



スキーム 1-14 Fernandesらによる γ -ブテノリド環の合成

本節で示したように、スピロイミンユニットの合成は非常に難しく、特にシクロヘキセン環の選択的構築や γ -ブテノリド環をはじめとした置換基の導入など多くの課題がある。また、立体配置の決定を指向した7,6-スピロイミン環骨格の効率的な構築を考慮すると、新規合成法の開発が必要不可欠である。すなわち、①合成初期の分子間 Diels-Alder 反応を用いた7,6-スピロ環の効率的構築、②4位への簡便な置換基導入、③構造決定を意図した γ -ブテノリド環の構築、この三点を同時に満たす緻密な分子設計を行わなければならない。

1-5 本研究の目的

環状イミン毒は nAChRs を主な作用標的とする天然物であり、極めて強力な阻害活性に加えて、サブタイプ選択性の発現や神経保護作用など魅力的な生物活性を有している。そのため、神経疾患などの医薬品リードや分子ツールとしての応用にも期待がもたれ、これまで数多くの研究が行われてきた。しかしながら、希少かつ複雑天然物である環状イミン毒は量的供給が困難であるため、その詳細な作用機構の解明を目指した系統的な構造活性相関研究は達成されていない。

最も強力な阻害作用や神経保護作用等を有する SPX に至っては、全合成のみならず 4 位の立体配置でさえも明らかになっておらず、化学的観点からの研究が特に求められている。とりわけ、4 位の置換基は生物活性に影響を与える部位でもあるため、その立体配置の解明は目下の急務である。天然物そのものを用いた構造決定が困難であることを考慮すると、合成化学的アプローチによる決定が望ましいが、複雑構造を有する SPX の全合成による決定は現実的な解決策とは言い難い。

そこで、上記の問題点を解決するために、SPX の部分構造であるスピロイミンユニットに焦点を当てた研究戦略を立案した (図 1-29)。すなわち本研究では、SPX と同等の構造と立体配座を有する 7,6-スピロイミン環部分構造を設計・合成し、天然物の NMR データと比較することで 4 位の立体配置を決定することとした。しかし、スピロイミンユニットはスピロリドの全合成を阻む複雑構造でもあるためその合成法は未だ確立されておらず、構造決定に適応できる段階には至っていない。そこで本研究では、まず 7,6-スピロイミン環部分構造の効率的合成法の開発を大きな研究目的に設定した。合成法の開発においては、①7,6-スピロ環の選択的構築、②4 位への簡便な置換基導入、③構造決定を意図した γ -ブテノリド環の構築、以上の 3 点を同時に満たす緻密な分子設計が必要である。本研究では、これらの課題を克服することで 7,6-スピロイミン環部分構造の合成法を確立し、合成した誘導体を用いた立体構造解析を目指した。

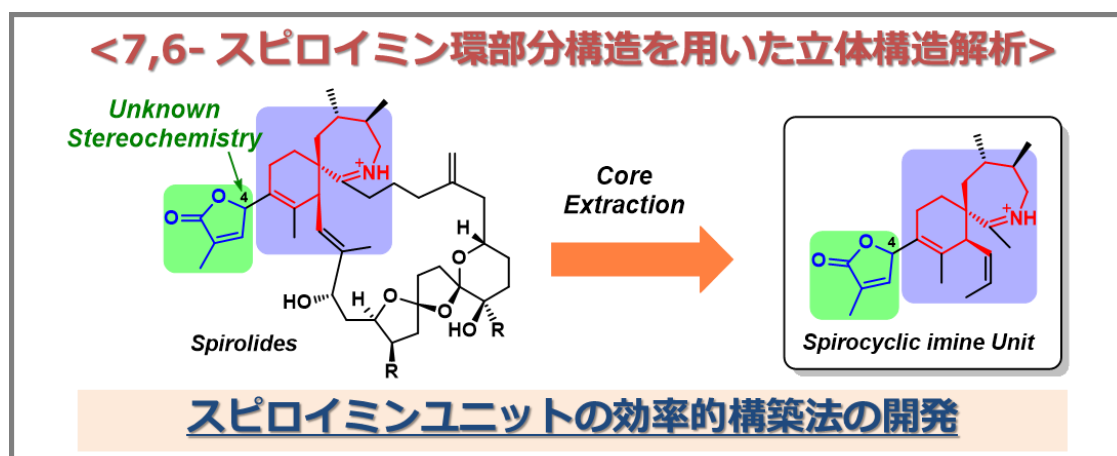


図 1-29 7,6-スピロイミン環部分構造を用いた研究戦略

また、本研究目的が達成されれば、7,6-スピロイミン環部分構造を基盤とした化学的観点からの研究も可能となる。具体的には、SPXの全合成への適用、後の構造活性相関を意図した反応手法の開発、また生物活性評価によるファーマコフォア構造の決定や構造活性相関へと展開できる。本研究では、実際に合成した7,6-スピロイミン誘導体の化学的安定性や生物活性の評価、および天然物との比較を行うことで新たな知見の獲得も目指した。これらの化学的研究により得られる情報は、環状イミン毒のサブタイプ選択性や神経保護作用などの詳細な作用機構の理解へとつながり、神経疾患などの医薬品リードや分子ツールの開発にも応用できると期待される。

参考文献

- (1) C. E. Stivala, E. Benoit, R. Araoz, D. Servent, A. Novikov, J. Molgo, A. Zakarian, *Nat. Prod. Rep.* **2015**, 32, 411–435.
- (2) J. Molgo, P. Marchot, R. Araoz, E. Benoit, B. I. Iorga, A. Zakarian, P. Taylor, Y. Bourne, D. Servent, *J. Neurochem.* **2017**, 142, 41-51.
- (3) D. Uemura, T. Chou, T. Haino, A. Nagatsy, S. Fukuzawa, S. Zheng, H. Chen, *J. Am. Chem. Soc.* **1995**, 117, 1155-1156.
- (4) T. Chou, T. Haino, M. Kuramoto, D. Uemura, *Tetrahedron Lett.* **1996**, 37, 4027-4030.
- (5) A. I. Selwood, C. O. Miles, A. L. Wilkins, R. Van Ginkel, R. Munday, F. Rise, P. McNabb, *J. Agric. Food. Chem.* **2010**, 58, 6532-6542.
- (6) M. Kuramoto, H. Arimoto, D. Uemura, *Mar. Drugs.* **2004**, 2, 39-54.
- (7) J. A. McCauley, K. Nagasawa, P. A. Lander, M. A. Semones, Y. Kishi, *J. Am. Chem. Soc.* **1998**, 120 (30), 7647-7648.
- (8) (a) M. Inoue and M. Hirama; S. Sakamoto *et al.* *Angew. Chem. Int. Ed.* **2004**, 43, 6505-6510, (b) A. Zakarian; (1) C. E. Stivala *et al.* *J. Am. Chem. Soc.* **2008**, 130, 3774-3776, (2) R. Araoz *et al.* *J. Am. Chem. Soc.* **2011**, 133, 10499-10511, (c) S. Nakamura and S. Hashimoto; S. Nakamura *et al.* *Angew. Chem. Int. Ed.* **2008**, 47, 7091-7094.
- (9) J. J. Jackson, C. E. Stivala, J. Molgo, A. Zakarian, *J. Org. Chem.* **2012**, 77, 10435-10440.
- (10) N. Takada, N. Umemura, K. Suenaga, D. Uemura, *Tetrahedron Lett.* **2001**, 3495-3497.
- (11) F. Matsuura, R. Peters, M. Anada, S. S. Harried, J. Hao, Y. Kishi, *J. Am. Chem. Soc.* **2006**, 128, 7463-7465
- (12) T. Seki, M. Satake, L. Mackenzie, H. F. Kaspar, T. Yasumoto, *Tetrahedron Lett.* **1995**, 36 (39), 7093-7069.
- (13) M. Stewart, J. W. Blunt, M. H. Munro, W. T. Robinson, D. J. Hannah, *Tetrahedron Lett.* **1997**, 38 (27), 4889-4890.
- (14) (a) K. Kong, Z. Moussa, C. Lee, D. Romo, *J. Am. Chem. Soc.* **2011**, 133, 19844-19856, (b) K. Kong, D. Romo, C. Lee, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2009**, 48, 7402-7405.
- (15) T. Hu, J. M. Curtis, Y. Oshima, M. A. Quilliam, J. A. Walter, W. M. Watson-Wright, J. L. C. Wright, *J. Chem. Soc., Chem. Commun.* **1995**, 2159-2161.
- (16) A. D. Cembella, N. I. Lewis, M. A. Quilliam, *Nat. Toxins.* **1999**, 7, 197-206.
- (17) R. M. Van Wagoner, I. Misner, C. R. Tomas, J. L. C. Wright, *Tetrahedron Lett.* **2011**, 52, 4243-4246.
- (18) (a) Spirolide A, C, desMe-C; T. Hu *et al.* *J. Nat. Prod.* **2001**, 64, 308-312, (b) Spirolide B,

- D; T. Hu *et al.* *J. Chem. Soc., Chem. Commun.* **1995**, 2159-2161, (c) Spirolide E, F; T. Hu *et al.* *Tetrahedron Lett.* **1996**, 37(43), 7671-7674, (d) Spirolide G; J. Aasen *et al.* *Chem. Res. Toxicol.* **2005**, 18, 509-515, (e) Spirolide H, I; J. S. Roach *et al.*, *J. Nat. Prod.* **2009**, 72, 1237-1240.
- (19) R. Munday, M. A. Quilliam, P. LeBlanc, N. Lewis, P. Gallant, S. A. Sperker, H. S. Ewart, S. L. MacKinnon, *Toxins.* **2012**, 4, 1-14.
- (20) C. E. Stivala, Z. Gu, L. L. Smith, A. Zakarian, *Org. Lett.* **2012**, 14 (3), 804-807.
- (21) R. Kharrat, D. Servent, E. Grirard, G. Ouanounou, M. Amar, R. Marrouchi, E. Benoit, J. Molgo, *J. Neurochem.* **2008**, 107, 952-963.
- (22)(a) R. Araoz, D. Servent, G. Ouaounou, E. Benoit, J. Molgo, *Biol. Res.* **2009**, 42, R-118, (b) S. D. Hellyer, A. I. Selwood, L. Rhodes, D. S. Kerr, *Toxicon*, **2011**, 58, 693-699.
- (23) S. Gill, M. Murphy, J. Clausen, D. Richard, M. Quilliam, S. MacKinnon, P. LaBlanc, R. Mueller, O. Pulido, *Neurotoxicology*, **2003**, 24, 593-604.
- (24)(a) A. Miyazawa, Y. Fujiyoshi, N. Unwin, *Nature*, **2003**, 423, 949-955, (b) R. M. Walsh Jr, S-H Roh, A. Gharpure, C. L. Morales-Perez, J. Teng, R. E. Hibbs, *Nature*, **2018**, 557, 261-265.
- (25)(a) C. L. Morales-Perez, C. M. Noviello, R. E. Hibbs, *Nature*, **2016**, 538, 411-415, (b) M. Zouridakis, P. Giastas, E. Zarkadas, D. Chroni-Tzartou, P. Bregestovski, S. J. Tzartos, *Nat. Struct. Mol. Biol.* **2014**, 21 (11), 976-980, (c) C. D. Dellisanti, Y. Yao, J. C. Stroud, Z-Z. Wang, L. Chen, *Nature Neuroscience*, **2007**, 10, 953-962, (d) N. Unwin, *Q. Rev. Biophys.* **2013**, 46 (4), 283-322.
- (26) N. L. Novere, P-J. Corringer, J-P Changeux, *J. Neurobiol.* **2002**, 53, 447-456.
- (27)(a) E. X. Albuquerque, E. F. R. Pereira, M. Alkondon, S. W. Rogers, *Physiol. Rev.* **2009**, 89, 73-120, (b) E. K. M. Lebbe, S. Peigneur, I. Wijesekara, J. Tytgat, *Mar. Drugs*, **2014**, 12, 2970-3004.
- (28)(a) J. Corradi, C. Bouzat, *Mol. Pharmacol.* **2016**, 90 (3), 288-299, (b) H. Wang, M. Yu, M. Ochani, C. A. Amella, M. Tanovic, S. Susarla, J. H. Li, H. Wang, H. Yang, L. Ulloa, Y. Al-Abed, C. J. Czura, K. J. Tracey, *Nature*, **2003**, 421, 384-387.
- (29)(a) H. R. Arias, R-X. Gu, D. Feuerbach, D-Q. Wei, *Biochemistry*, **2010**, 49 (19), 4169-4180, (b) R. J. Lwa, R. H. Henchman, J. A. McCammon, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* **2005**, 102, 6813-6818, (c) H. R. Arias, *J. Thermodynam. Cat.* **2012**, 3, 4.
- (30)(a) E. X. Albuquerque, E. F. R. Pereira, M. Alkondon, S. W. Rogers, *Physiol. Rev.* **2009**, 89, 73-120, (b) E. K. M. Lebbe, S. Peigneur, I. Wijesekara, J. Tytgat, *Mar. Drugs*, **2014**, 12, 2970-3004.
- (31)(a) J-P. Changeux, M. Kasai, C-Y. Lee, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* **1970**, 67 (3),

- 1241-1247, (b) E. A. Barnard, V. Coates, J. O. Dolly, B. Mallick, *Cell. Biol. Int. Rep.* **1977**, *1*, 99-106, (c) H. C. Fertuck, M. M. Salpeter, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* **1974**, *71* (4), 1376-1378.
- (32) K. Matsuda, *J. Pesticide Sci.* **2002**, *27* (2), 166-168.
- (33) Y. Bourne, Z. Radic, R. Araoz, T. T. Talley, E. Benoit, D. Servent, P. Taylor, J. Molgo, P. Marchot, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* **2010**, *107* (13), 6076-6081.
- (34) R. Araoz, D. Servent, J. Molgo, B. I. Iorge, C. Fruchart-Gaillard, E. Benoit, Z. Gu, C. Stivala, A. Zakarian, *J. Am. Chem. Soc.* **2011**, *133*, 10499-10511.
- (35) T. A. Hauser, C. D. Hepler, D. C. Kombo, V. P. Grinevich, M. N. Kiser, D. N. Hooker, J. Zhang, D. Mountfort, A. Selwood, S. R. Akireddy, S. R. Letchworth, D. Yohannes, *Neuropharmacology*, **2012**, *62*, 2239-2250.
- (36) (a) R. Araoz, G. Ouanounou, B. I. Iorge, A. Goudet, D. Alili, M. Amar, E. Benoit, J. Molgo, D. Servent, *Toxicol. Sci.* **2015**, *147*, 156-167, (b) A. Couesnon, R. Araoz, B. I. Iorge, E. Benoit, M. Reynaud, D. Servent, J. Molgo, *Toxins*, **2016**, *8*, E249.
- (37) D. Servent, V. Winckler-Dietrich, H. Y. Hu, P. Kessler, P. Drevet, D. Bertrant, A. Menez, *J. Biol. Chem.* **1997**, *272* (39), 24279-24286.
- (38) E. Alonso, C. Vale, M. R. Vieytes, F. M. Laferla, L. Gimenez-Llort, L. M. Botana, *Neurochem. Int.*, **2011**, *59*, 1056-1065.
- (39) A. Boente-Juncal, A. G. Mendez, C. Vale, M. R. Vieyte, L. M. Botana, *ACS Chem. Neurosci.* **2018**, *9*, 1441-1452.
- (40) R. Kharrat, D. Servent, E. Grirard, G. Ouanounou, M. Amar, R. Marrouchi, E. Benoit, J. Molgo, *J. Neurochem.* **2008**, *107*, 952-963.
- (41) L. Duroure, T. Jousseume, R. Araoz, E. Barre, P. Retailleau, L. Chabaud, J. Molgo, C. Guillou, *Org. Biomol. Chem.* **2011**, *9*, 8112-8118.
- (42) Y. Bourne, G. Sulzenbacher, Z. Radic, R. Araoz, M. Reynaud, E. Benoit, A. Zakarian, D. Servent, J. Molgo, P. Taylor, P. Marchot, *Structure.* **2015**, *23*, 1106-1115.
- (43) S. D. Hellyer, D. Indurthi, T. Balle, V. Runder-Varga, A. I. Selwood, J. D. A. Tyndall, M. Chebib, L. Rhodes, D. S. Kerr, *J. Neurochem.* **2015**, *135*, 479-491.
- (44) (a) P. Ciminiello, B. Catalanotti, C. Dell'Aversano, C. Fattorusso, E. Fattorusso, M. Forino, L. Grauso, A. Leo, L. Tartaglione, *Org. Biomol. Chem.* **2009**, *7*, 3674-3681, (b) Ciminiello, P.; Dell'Aversano, C.; Fattorusso, E.; Forino, M.; Grauso, L.; Tartaglione, L.; Guerrini, F.; Pistocchi, R. *J. Nat. Prod.* **2007**, *70*, 1878-1883, (c) Ciminiello, P.; Dell'Aversano, C.; Iacovo, D. E.; Fattorusso, E.; Forino, M.; Grauso, L.; Tartaglione, L.; Guerrini, F.; Pezzolesi, L.; Pistocchi, R. *Toxicon*, **2010**, *56*, 1327-1333.
- (45) Falk, M.; Burton, W. I.; Hu, T.; Walter, A. J.; Wright, C. L. J. *Tetrahedron*, **2001**, *57*,

8659-8665.

- (46) Roach, S. J.; LeBlanc, P.; Lewis, I. N.; Munday, R.; Quilliam, A. M.; MacKinnon, L. S. *J. Nat. Prod.* **2009**, *72*, 1237-1240.
- (47) S. M. Gueret, D. P. Furkert, M. A. Brimble, *Org. Lett.* **2010**, *12* (22), 5226-5229.
- (48)(a) J. Ishihara, M. Horie, Y. Shimada, S. Tojo, A. Murai, *Synlett.* **2002**, *3*, 403-406, (b) J. Ishihara, S. Tojo, T. Makino, H. Sekiya, A. Tanabe, M. Shiraishi, A. Murai, S. Hatakeyama, *Heterocycles*, **2017**, *95*.
- (49) D. E. Ward, M. S. Souweha, *Org. Lett.* **2005**, *7* (16), 3533-3536.
- (50) J. Ishihara, F. Usui, T. Kurose, T. Baba, Y. Kawaguchi, Y. Watanabe, S. Hatakeyama, *Chem. Eur. J.* **2019**, *25*, 1543-1552.
- (51)(a) G. T. Halvorsen, W. R. Roush, *Org. Lett.*, **2007**, *9* (11), 2243-2246, (b) G. T. Halvorsen, W. R. Roush, *Org. Lett.*, **2008**, *10* (22), 5313-5316, (c) Z. Ikeda, K. Oshima, S. Matsubara, *Org. Lett.*, **2005**, *7* (22), 4859-4861, (d) F. Zhao, S. Zhang, Z. Xi, *Chem. Commun.*, **2011**, *47*, 4348-4357.
- (52) D. E. Ward, M. S. Souweha, *Org. Lett.*, **2005**, *7* (16), 3533-3536.
- (53) D. G. Batt, B. Ganem, *Tetrahedron Lett.*, **1978**, *36*, 3323-3324.
- (54)(a) R. R. Pidaparathi, M. E. Welker, C. S. Day, M. W. Wright, *Org. Lett.*, **2007**, *9* (9), 1623-1626, (b) R. R. Pidaparathi, C. S. Junker, M. E. Welker, C. S. Day, M. W. Wright, *J. Org. Chem.*, **2009**, *74*, 8290-8297.
- (55)(a) S. Riggelman, P. DeShong, *J. Org. Chem.*, **2003**, *68*, 8106-8109, (b) J. K. Puri, R. Singh, V. K. Chahal, *Chem. Soc. Rev.*, **2011**, *40*, 1791-1840.
- (56) A. Yajima, S. Urao, R. Katsuta, T. Nukada, *Eur. J. Org. Chem.* **2014**, 731-738.
- (57) R. A. Kunkalkar, D. Laha, R. A. Fernandes, *Org. Biomol. Chem.* **2016**, *14*, 9072-9079.

第2章 本論I SPXの7,6-スピロイミン環部分構造の合成

2-1 構造決定を指向した7,6-スピロイミン誘導体の設計

第一章でも述べた通り、SPXの γ -ブテノリド環部分はサブタイプ選択性の発現と密接に関わることから、その未解明な立体配置の決定は解決すべき最重要課題である。単離した天然物そのものを用いた構造決定が困難な場合、合成化学的アプローチによる決定が望まれるが、合成法が未だ確立されていないSPXの全合成による構造決定は現実的ではない。そこで、部分構造である7,6-スピロイミンユニットを用いた立体構造解析を着想した。本研究を達成するためにはまず、①適切な誘導体の設計、②誘導体の効率的合成法の確立を解決する必要がある。

まずは構造決定を可能とする7,6-スピロイミン誘導体の設計を行った。部分構造を用いた構造決定では、その部分構造が天然物の構造のみならず立体配座も十分再現していることが重要である。今回の場合、4位周辺の構造と7,6-スピロ環の配座が再現されていれば、NMRデータの比較による構造決定が可能であると考えた。4位周辺の構造については、 ^{13}C NMR化学シフトが γ 位まで離れた置換基の影響を受けることを考えると、天然物と同じシクロヘキセン環を有する必要があると考えた。さらに、シクロヘキセン環の配座がスピロ炭素によって連結されている7員環の配座の影響を強く受けると考え、7,6-スピロ環を含む誘導体を設計することとした。以上の構造情報と簡便な合成を加味したいくつかの化合物を設計し、それらの安定配座が天然物の配座とよく一致するかどうかを計算科学により確認した。図2-1はMacroModel計算により算出した天然物13-desMe SPX C (4S体)の最安定配座であり、オレンジ色で示した箇所が7,6-スピロイミンユニットに該当する。7,6-スピロイミンユニットの配座については、実際の天然物で得られているROEデータ (ROEの正確性が確かではない γ -ブテノリド環周辺は除く)とも矛盾がなく、配座計算の信頼性は高い。また配座解析において、最安定配座エネルギーから10 kcal/mol以内における7,6-スピロイミンユニットの配座がすべて最安定配座のものと同じであることも確認している。なお、4R体についても γ -ブテノリド環部分以外は同様の安定配座をとる。ここで得られた天然物の配座情報を基に、最適な構造を有する誘導体の分子設計に取り組んだ。

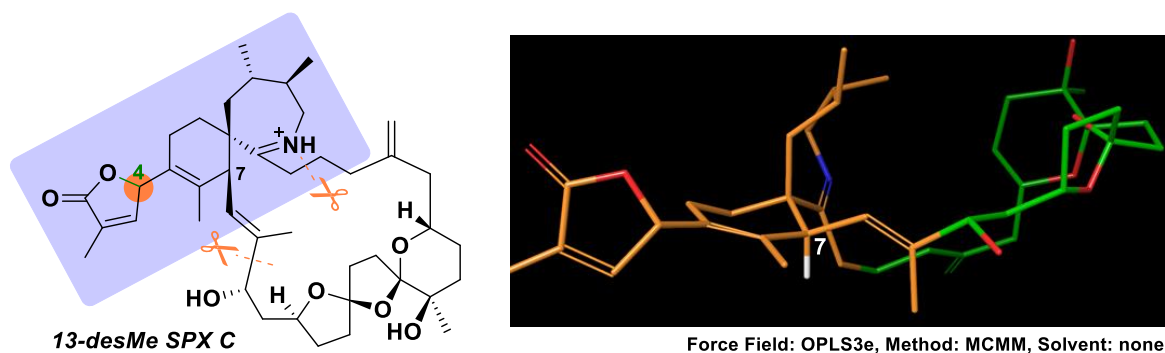


図 2-1 13-desMe SPX C (4S 体) の最安定配座

まず、合成の簡略化を考慮し、不斉ジメチル基を除去した化合物 A、およびオレフィンの前駆体であるアセチレン化合物 B を設計し、それらの配座計算を実施した。その結果、それらの化合物では天然物の配座を再現しないことが明らかとなった (図 2-2、2-3)。具体的には、メチル基を持たない 7 員環の場合、いくつか異なる安定配座を有することに加えて、最安定配座が天然物の配座と大きく異なることが分かった。これは、連続する不斉ジメチル基が 7 員環の配座を固定化させる重要な役目を担っていることを示唆する結果である。また、7 位がアセチレン基の場合では、望むエカトリアル配座ではなく偽アキシアル配座をとるため、こちらも天然物と同じシクロヘキセン環の配座を再現できないことが確認された。これより、不斉ジメチル基と 7 位のオレフィン置換基が必須構造であると考え、それらを有する 7,6-スピロイミン誘導体 **1** (4S 体) の配座解析を行ったところ、予想通り天然物と同等の安定配座を有することがわかった (図 2-4) 以上の結果より、本研究では誘導体 **1** の両ジアステレオマーを合成し、報告されている天然物 SPX の NMR データと比較することで 4 位の立体配置を決定できると考えた。



図 2-2 非天然型の安定配座を有する 7,6-スピロイミン誘導体 A

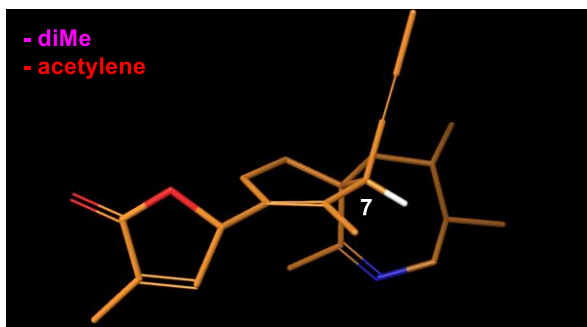
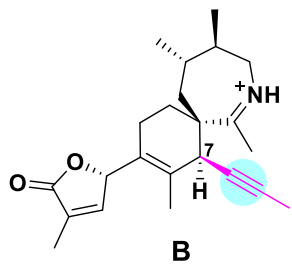


図 2-3 非天然型の安定配座を有する 7,6-スピロイミン誘導体 **B**

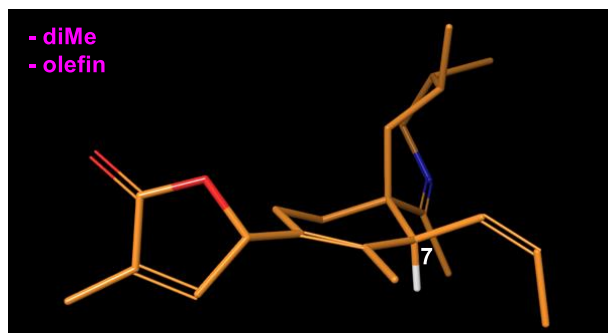
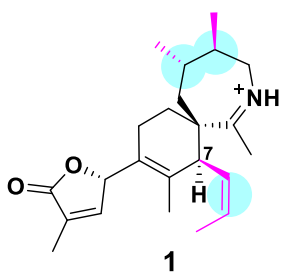


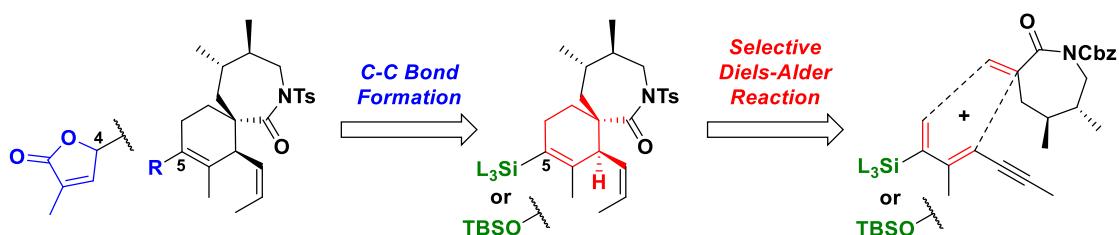
図 2-4 天然型の安定配座を有する 7,6-スピロイミン誘導体 **1**

2-2 7,6-スピロイミン誘導体の合成戦略

本節では、2-1 で設計した 7,6-スピロイミン誘導体 **1** の合成戦略について述べる。まず、本合成の鍵となるシクロヘキセン環部分の選択的構築における解決すべき課題を明確にし、その解決方策について述べる。その後、Diels-Alder 反応と後の構造展開に着目した予備研究について概説し、シラトランジエンが基質として有用性が高いと判断した経緯について説明する。最後に、予備研究で明らかとなった課題も踏まえて、実際に 7,6-スピロイミン誘導体 **1** の逆合成解析を示す。

2-2-a シクロヘキセン環の合成戦略

設計した 7,6-スピロイミン誘導体の合成において、最も挑戦的な課題はシクロヘキセン環部分の選択的構築である。これまでいくつかの研究グループによって合成研究がなされてきたものの¹⁾、全合成はおろか構造決定に適応できる段階には至っていない。第一章でも述べた通り、スピロ炭素を含むシクロヘキセン環部分の合成は、合成初期での選択的 Diels-Alder 反応が有用であると考えられる。さらに、後の γ -ブテノリド環の導入による立体化学の決定を加味すると、Diels-Alder 反応で得られる環化付加体から容易に炭素-炭素結合を形成させ、両ジアステレオマー体に誘導できることが望ましい。また、5 位における炭素-炭素結合形成の実現は、後の構造展開にも活用できるため実用性も高いと考えられる。すなわち本合成戦略においては、①合成初期での Diels-Alder 反応の選択性の制御、②5 位での簡便な炭素-炭素結合形成、が大きなポイントでありこれらを同時に満たす新規合成法を開発する必要がある (スキーム 2-1)。そこで解決方策として、1-4-b で述べたようにシリル化ジエンあるいはシリルエーテル化ジエンを用いた Diels-Alder 反応とカップリング反応の適用に着目した。

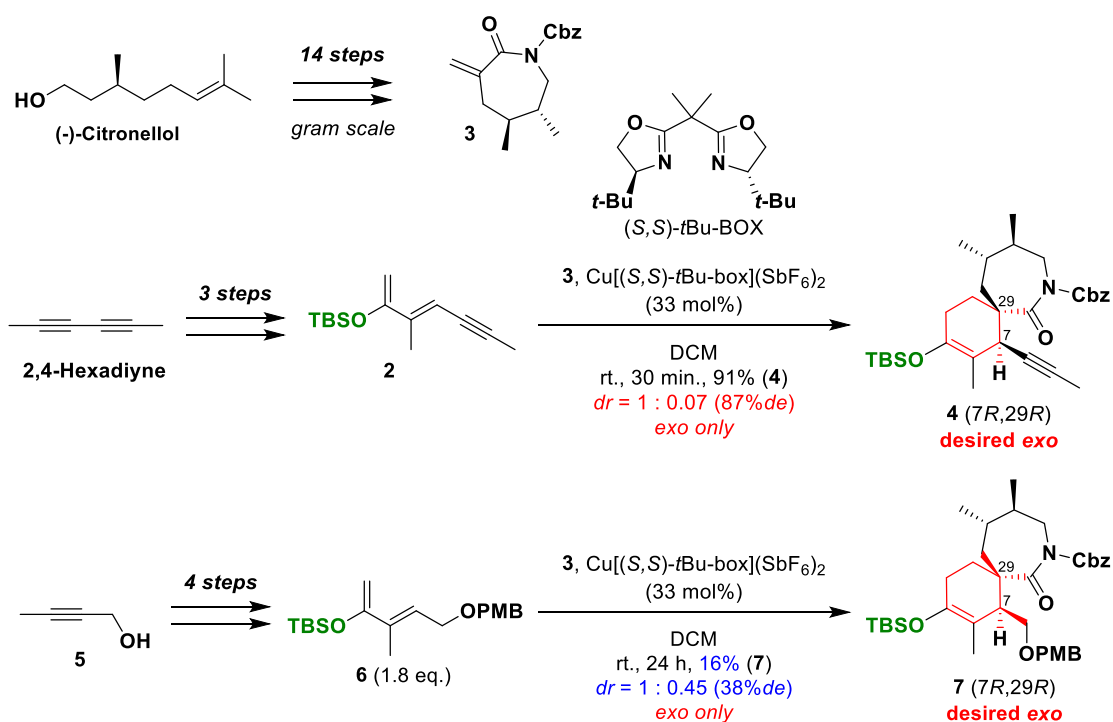


スキーム 2-1 シクロヘキセン環部分の選択的構築と構造展開

2-2-b 選択的 Diels-Alder 反応に関する予備研究

これまで、7,6-スピロイミン誘導体の合成に適用可能なジエン基質を見出すために、基質合成および選択的 Diels-Alder 反応の検討を行ってきた²⁾。ここでは、最終的にシラトラン化ジエン基質を適用するに至った経緯、また予備研究により明らかになった課題について詳細を述べる。

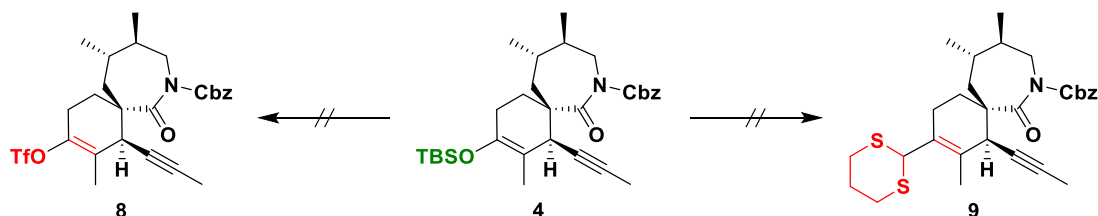
まずシラトラン化ジエンを用いる前に、先行研究により高い反応性を有することが知られているシリルエーテル化ジエン **2** を用いて Diels-Alder 反応の検討を行った。その結果、ジエン基質と別途調製したジエノフィル基質 **3** を不斉銅触媒条件下で反応させることで、位置・*exo* 選択性のみならず面選択性も制御され、期待通り望む環化付加体 **4** が高収率で得られた。(スキーム 2-2)。一方、同条件下でシリルエーテル化ジエン **6** を用いた場合、収率だけでなく面選択性も大幅に低下し、アセチレン基が面選択性の制御に寄与していることが示唆された。



スキーム 2-2 シリルエーテル化ジエンを用いた Diels-Alder 反応

次に収率良く得られた環化付加体 **4** を起点に、 γ -ブテノリド環構築を目指した構造変換を試みた。しかしながら、得られた環化付加体 **4** からの構造展開は困難を極めた

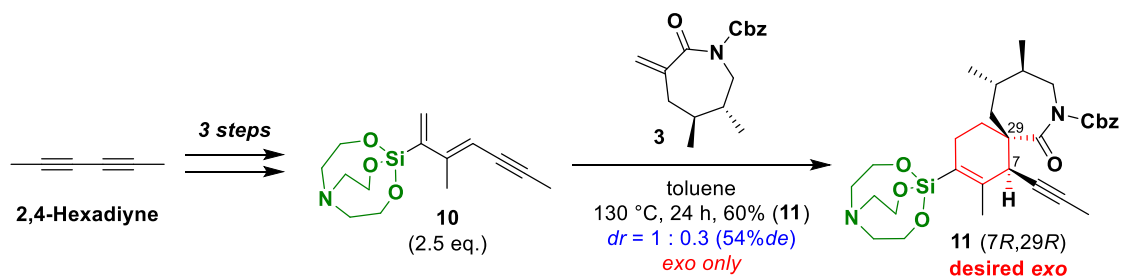
(スキーム 2-3)。当初の計画であったエノールトリフレート化は進行しないか、あるいは望まない位置異性体のみを与えた。また、シクロヘキセン環のオレフィン部分の再構築のために様々な合成経路や反応条件を検討したものの、 γ -ブテノリド環構築の足掛かりとなるような置換基の導入には至らなかった。



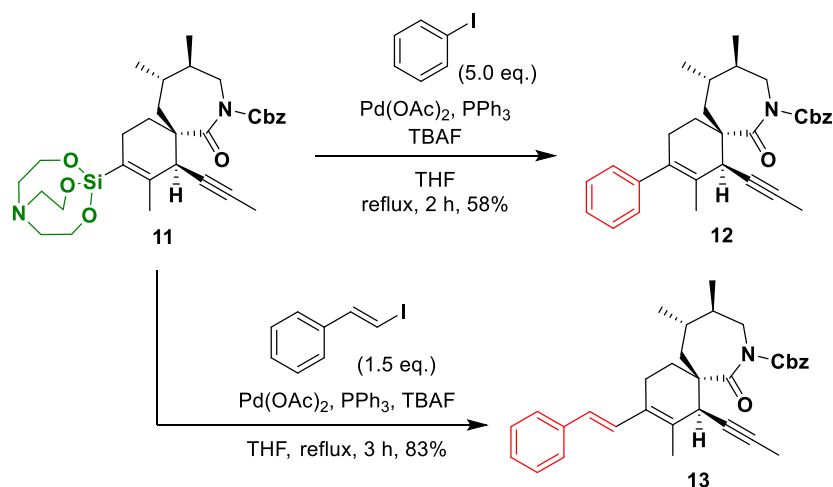
スキーム 2-3 環化付加体 **4** の構造変換の検討

シリルエーテル化ジエンの適用を断念し、次にシラトラン化ジエン **10** を用いた選択的 Diels-Alder 反応を行った (スキーム 2-4)。その結果、トルエン溶媒中 2.5 当量のジエン基質を用いて加熱還流することで、こちらも位置・*exo* 選択的かつ中程度の面選択性で反応が進行し望む異性体 **11** が優先的に生成されることを見出した。さらに、続くビニルシラトラン構造の構造変換についても、パラジウム触媒と TBAF を用いた檜山カップリング反応によって芳香環やスチレン基を直接導入することに成功し、効率的な構造展開の可能性を示唆した結果が得られた (スキーム 2-5)。

選択的 Diels-Alder 反応においては面選択性が中程度であったことや過剰量のジエン基質を要するなど解決すべき課題も残ったが、後の γ -ブテノリド環の簡便な導入を考慮すると、効率的な構造変換の可能性を秘めたシラトラン化ジエン **10** の適用が妥当であると判断した。すなわち、シラトラン基を基盤とした 7,6-スピロ環の選択的構築法の確立と、 γ -ブテノリド環の足掛かりとなる置換基の効率的導入が解決されれば、これまでにない素晴らしい合成法が開発され 7,6-スピロイミン誘導体 **1** の合成に大きく近づくと考えた。以上を踏まえて、次項ではシラトランを基盤とした 7,6-スピロイミン誘導体の逆合成解析を示す。



スキーム 2-4 シラトラン化ジエンを用いた Diels-Alder 反応

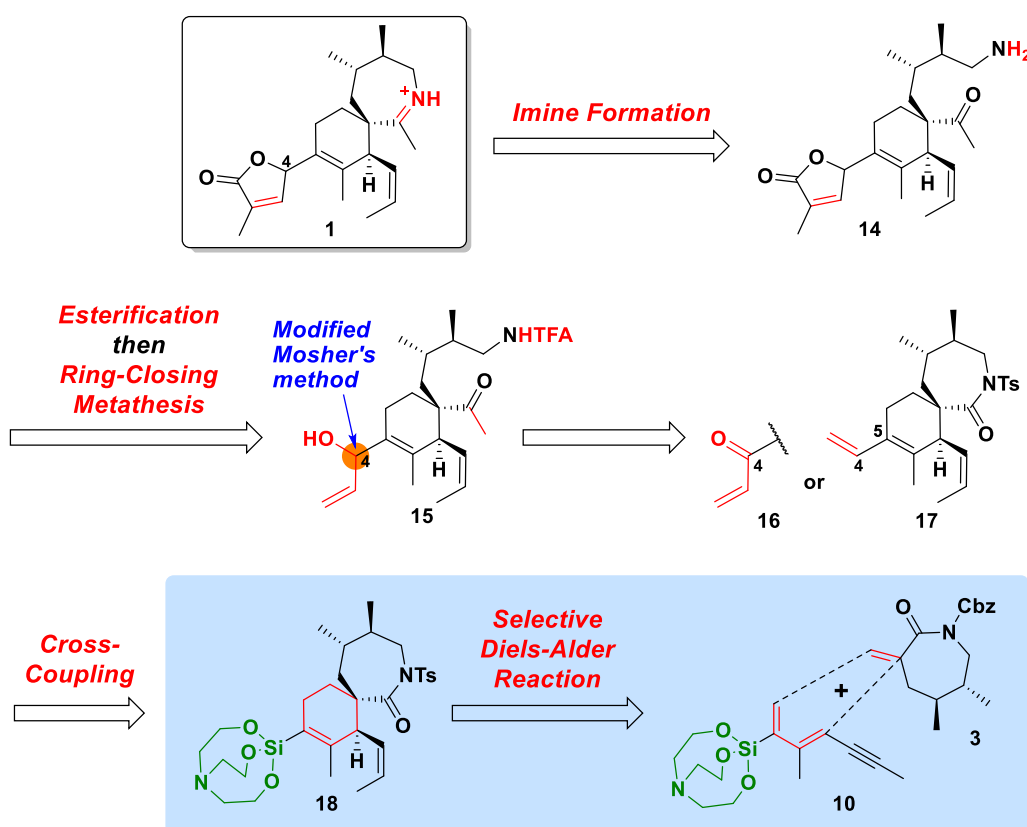


スキーム 2-5 ビニルシラトラン構造を用いた檜山カップリング反応

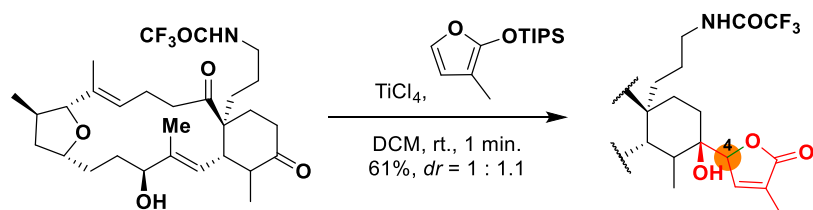
2-2-c 7,6-スピロイミン誘導体の逆合成解析

シラトランジエンを基盤としたシクロヘキセン環部分の構築を念頭に置き、7,6-スピロイミン誘導体 **1** の逆合成解析を行った。(スキーム 2-6)。まず、7,6-スピロイミン誘導体 **1** のイミン部位は前駆体であるケトアミン **14** の分子内イミン形成反応により構築できると考えた。ここでは、 γ -ブテノリド環の4位の異性化が起こりうるため、その制御を考慮した反応条件を適用する必要がある。次に、 γ -ブテノリド環の構築は、Romo らが GYM の全合成で適用したビニログス向山アルドール反応を用いた方法があるが (スキーム 2-7) ⁷⁾、4位の立体化学を予め明確にしておく必要がある本研究には不向きである。そこで新モッシャー法の適用により立体配置が決定できるアリルアルコール **15** を足掛かりに γ -ブテノリド環の合成を行うこととした。すなわち、アリルアルコール **15** の第二級アルコールの立体化学を帰属した後、塩化メタクリルとのエステル化を行い、続く分子内閉環メタセシス反応により効率良く γ -ブテノリド環を構築できると考えた。閉環メタセシス反応においては、望まないオレフィン部分の副反応を抑え γ -ブテノリド環のみが形成されるような穏和な条件を見出す必要がある。アリルアルコール **15** については、エノン **16** の1,2-還元あるいはビニル化合物 **17** からの変換により合成が可能であると考えた。ビニル化合物 **17** からの変換の場合、エノンに比べて一段階多くなるものの、オレフィン部分を位置選択的に酸化開裂できれば、ビニルグリニャール試薬を作用させることで容易に合成できる。ケトアミン部分の合成はラクタムの開環反応によって可能である。またエノン **16** とビニル化合物 **17** は、どちらも 7,6-ラクタム **18** のビニルシラン構造を足掛かりに金属触媒を用いたカ

カップリング反応により直接合成できると考えた。この4位と5位における炭素-炭素結合形成の実現は本合成戦略の大きなポイントの一つである。構造変換が可能な7,6-ラクタム **18** については、前項でも述べた通り、 α -メチレン化ジメチルラクタム **3** とシラトラン化ジエン **10** を用いた選択的 Diels-Alder 反応により一挙に構築する。ここでは、予備研究の結果を踏まえ、面選択性を向上させるための新たな反応条件を見出す必要がある。



スキーム 2-6 7,6-スピロイミン誘導体 **1** の逆合成解析

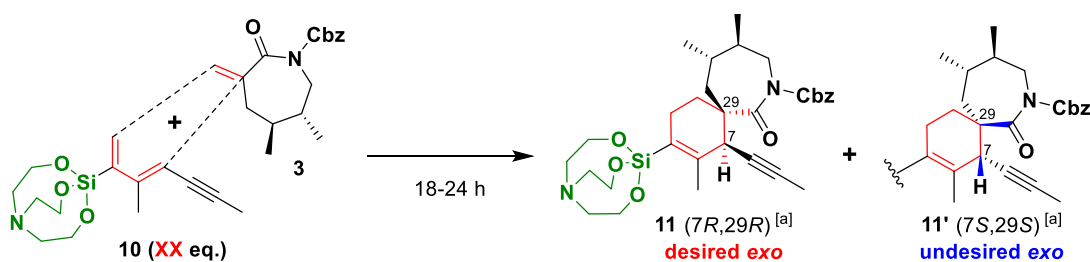


スキーム 2-7 Romo らによる γ -ブテノリド環の構築

2-3 シラトランを基盤とした7,6-スピロ環の効率的構築法の開発

2-3-a 選択的 Diels-Alder 反応の検討

予備研究で明らかになった通り、シラトラン化ジエン **10** を用いた Diels-Alder 反応における課題は面選択性の向上であり、これを達成するためにはより穏和な反応条件を見出す必要がある。そこでまず、本反応に対する溶媒効果、反応温度、当量の検討を行うことで、選択性および収率の向上を目指した。(表 2-1)。まず、予備研究のエントリー1 に比べて低い反応温度下において、1.2 当量のジエン基質を用いて種々の反応溶媒(反応濃度 0.05 M) を検討した結果、面選択性への影響は確認されなかった。しかし、エントリー8 に示すように 1,2-ジクロロエタンを用いた場合、反応温度と当量を下げたにも関わらずエントリー1 と同等の収率および面選択性で目的物を得ることに成功した。これは 1,2-ジクロロエタンのジエン基質に対する高い溶解性によるものだと考察した。

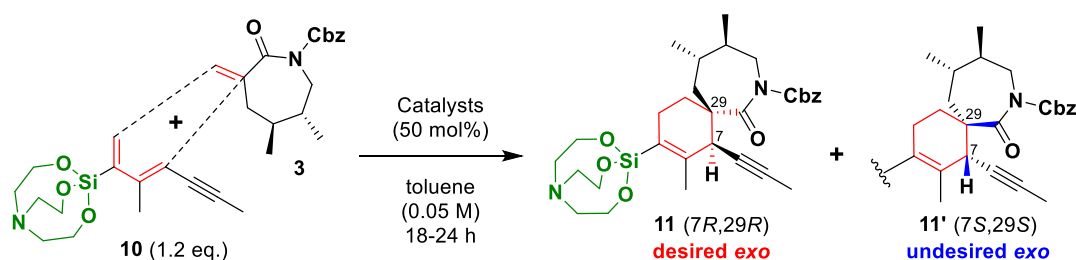


Entry	Solvents	10 (eq.)	Conc. (M)	Temp (°C)	Results (11 : 11')	Yields (11)
1	toluene	2.5	0.07	130	1 : 0.30 (54% <i>de</i>)	60%
2	toluene	1.2	0.05	110	1 : 0.30 (54% <i>de</i>)	18%
3	benzene	1.2	0.05	110	1 : 0.33 (50% <i>de</i>)	10%
4	DMF	1.2	0.05	110	1 : 0.28 (56% <i>de</i>)	19%
5	1,4-dioxane	1.2	0.05	110	1 : 0.34 (49% <i>de</i>)	8%
6	DME	1.2	0.05	110	-	decomp.
7	DMSO	1.2	0.05	110	1 : 0.32 (53% <i>de</i>)	25%
8	ClCH ₂ CH ₂ Cl	1.2	0.05	110	1 : 0.30 (54% <i>de</i>)	62%

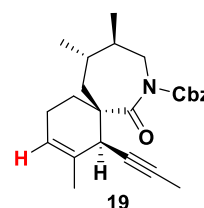
表 2-1 溶媒効果の検討

溶媒効果を調べるのと同時に金属触媒の検討も行った(表 2-2)。本検討では、不斉配位子を用いた選択性の制御を意図し、ルイス酸による反応性向上を目指した。また、予備研究の結果と比較するために溶媒はトルエンを使用した。エントリー2、3 では AlCl₃ と BF₃ Et₂O を作用させたが、ジエン基質の分解反応のみが進行した。次にラン

タノイド系の $\text{Sc}(\text{OTf})_3$ と $\text{Yb}(\text{OTf})_3$ を用いて室温条件下で反応させたところ、ジエン基質の分解に加えて環化付加体の分解物 **19** も質量分析により確認された (エントリー4、5)。これは $\text{Sc}(\text{OTf})_3$ と $\text{Yb}(\text{OTf})_3$ の強いルイス酸性が原因であると考えた。そこで、分解反応を抑えるためにルイス酸性の弱い金属触媒の検討を行った。エントリー6、7の $\text{Cu}(\text{OTf})_2$ と $\text{Zn}(\text{OTf})_2$ はやはりジエン基質にのみ作用し分解反応を引き起こした。一方で、 $\text{Mg}(\text{OTf})_2$ を添加した際は基質の分解は確認されず、低収率ではあるものの Diels-Alder 反応が進行し環化付加体を与えることがわかった (エントリー8)。さらに、得られた環化付加体の構造解析を行ったところ、驚くべきことに面選択性が完全に制御された望む異性体 **11** のみが生成されていることが明らかとなった。



Entry	Catalysts	Temp (°C)	Results (11 : 11')	Yields (11)
1	none	130	1 : 0.30 (54% <i>de</i>)	60%
2	AlCl_3	80	10 <i>decomp.</i>	-
3	$\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$	80	10 <i>decomp.</i>	-
4	$\text{Sc}(\text{OTf})_3$	rt.	<i>decomp.</i> , 19	-
5	$\text{Yb}(\text{OTf})_3$	rt.	<i>decomp.</i> , 19	-
6	$\text{Cu}(\text{OTf})_2$	80	10 <i>decomp.</i>	-
7	$\text{Zn}(\text{OTf})_2$	80	10 <i>decomp.</i>	-
8	$\text{Mg}(\text{OTf})_2$	80	1 : 0.02 (96%<i>de</i>)	8%



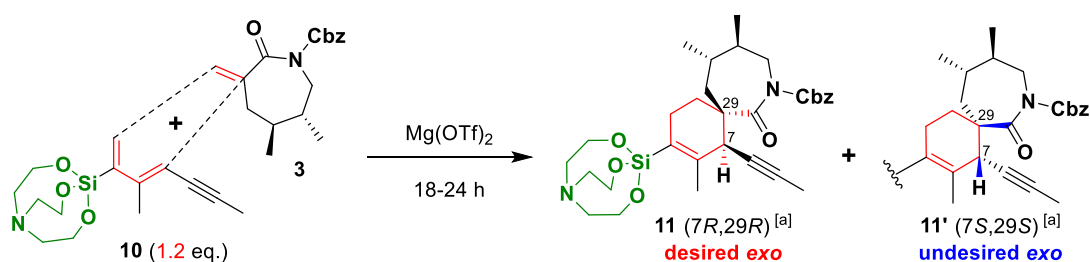
[a] 2.5 eq. of diene **10** was used in 0.07 M toluene

表 2-2 金属触媒の検討

反応性を向上させる溶媒、さらに $\text{Mg}(\text{OTf})_2$ の添加のみで面選択性を完全に制御できることを見出したので、次に条件の最適化を行うことで収率の向上を目指した。(表 2-3)。まず 50 mol% の $\text{Mg}(\text{OTf})_2$ 存在下、0.05 M の 1,2-ジクロロエタン中で加熱還流したところ、高い面選択性のままわずかながら収率の向上が確認された (エントリー3)。さらに分子間反応においては反応濃度も重要であるので、濃度を 0.1 M と高濃度にしたところ収率は 41% と大きく向上し、面選択性も維持されたままであった (エントリー4)。最終的には、0.15 M の 1,2-ジクロロエタン中、110°C で激しく攪拌することで望む *exo* 異性体 **11** が 79% 収率、96%*de* で得られることを見出した (エントリー5)。

なお、エントリー6に示すように、さらなる高濃度条件下においては収率の低下が確認された。

以上の結果より、当初の課題であった面選択性と反応性の問題を解決し、シラトラン化ジエン7を用いた7,6-スピロ環の効率的構築法の確立に成功した。

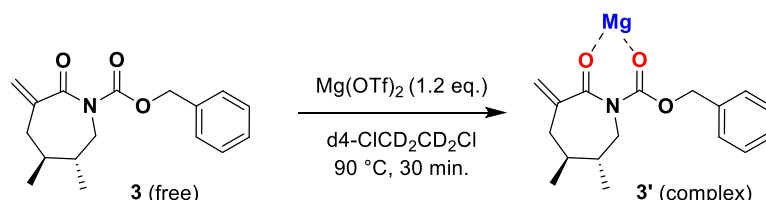


Entry	Solvents	$\text{Mg}(\text{OTf})_2$	Conc. (M)	Temp (°C)	Results (11 : 11')	Yields (11)
1	toluene	none	0.07	130	1 : 0.30 (54% <i>de</i>)	60%
2	toluene	50 mol%	0.05	80	1 : 0.02 (96% <i>de</i>)	8%
3	$\text{ClCH}_2\text{CH}_2\text{Cl}$	50 mol%	0.05	110	1 : 0.02 (96% <i>de</i>)	11%
4	$\text{ClCH}_2\text{CH}_2\text{Cl}$	50 mol%	0.1	110	1 : 0.02 (96% <i>de</i>)	41%
5	$\text{ClCH}_2\text{CH}_2\text{Cl}$	50 mol%	0.15	110	1 : 0.02 (96% <i>de</i>)	79%
6	$\text{ClCH}_2\text{CH}_2\text{Cl}$	50 mol%	0.2	110	1 : 0.02 (96% <i>de</i>)	54%

表 2-3 反応条件の最適化

2-3-b マグネシウム配位効果の実験的証明

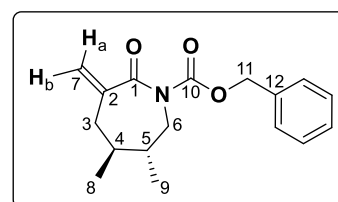
2-2-c で述べたように、本反応における面選択性の発現はマグネシウムの配位効果によるものと予想した。すなわち、ルイス酸である $\text{Mg}(\text{OTf})_2$ がジエノフィル基質 **3** のカルボニル酸素に配位することで有利な配座に固定され、その結果望む選択性で反応が進行したと考えた。そこで、マグネシウム配位効果の実験的証拠を得るために NMR 測定を行った。具体的には、重 1,2-ジクロロエタン中でジエノフィル基質と 1.2 当量の $\text{Mg}(\text{OTf})_2$ を加えた試料溶液 (**3'**) の ^1H 、 ^{13}C NMR 測定をそれぞれ実施した (スキーム 2-8)。



スキーム 2-8 Mg が配位したジエノフィル基質

まず ^1H NMR を測定し、得られたスペクトルを $\text{Mg}(\text{OTf})_2$ を加えていないジエノフィル基質と比較した。その結果、カルボニル基に近い程スペクトルのブロード化と化学シフトの差が確認された (表 2-4)。このことは、 $\text{Mg}(\text{OTf})_2$ がカルボニル酸素に配位している可能性を示唆している。

C #	δ_{H} (free, 3)		δ_{H} (complex, 3')		$\Delta\delta_{\text{H}}$
	δ_{H}	Peaks	δ_{H}	Peaks	
3	2.47	dd	2.49	dd	+0.02
	2.12	q	2.15	q (br)	+0.03
4	1.42	m	1.44	br	+0.02
5	1.42	m	1.44	br	+0.02
6	3.86	d	3.86	d	0
	3.25	q	3.39	d, br	+0.04
7a	5.75	d	5.79	br	+0.04
7b	5.40	d	5.47	br	+0.07
8	0.94	d	0.94	d	0
9	0.99	d	0.99	d	0
11	5.23	dd	5.29	br	+0.06



$$[\text{a}] \Delta\delta_{\text{H}(\text{or C})} = \delta_{\text{H}(\text{or C})}(\text{complex}) - \delta_{\text{H}(\text{or C})}(\text{free})$$

表 2-4 ^1H NMR のスペクトル形状と化学シフトの差

次に得られた ^{13}C NMR スペクトルを図 2-5 に示す。上段のスペクトルが示すように、 $\text{Mg}(\text{OTf})_2$ 存在下においては一部スペクトルが大きく減弱することが明らかとなった。これは配位効果によってスペクトルが広幅化したためと考えられる。HSQC、HMBC 測定を用いて減弱したスペクトルを帰属した後、 $\text{Mg}(\text{OTf})_2$ を加えていないジエノフィル基質 **3** の化学シフトとの比較を行った (表 2-5)。その結果、 ^1H NMR の結果と同様、カルボニル基周辺において化学シフトの顕著な差が確認された。また化学シフトの差に着目すると、 α -炭素である C2 位は低磁場シフトを、 β -炭素である C6、C7、C11 位は高磁場シフトしていることがわかった。これらの化学シフトの差を可視化したところ、Castellino らによる NMR 分光法を用いた錯体形成検出の報告例^{3), 4)}と同じ傾向を示していることが明らかとなった (図 2-6)。以上の NMR 測定の結果より、マグネシウムイオンはジエノフィル基質のカルボニル酸素に配位していることが実験的に証明された。

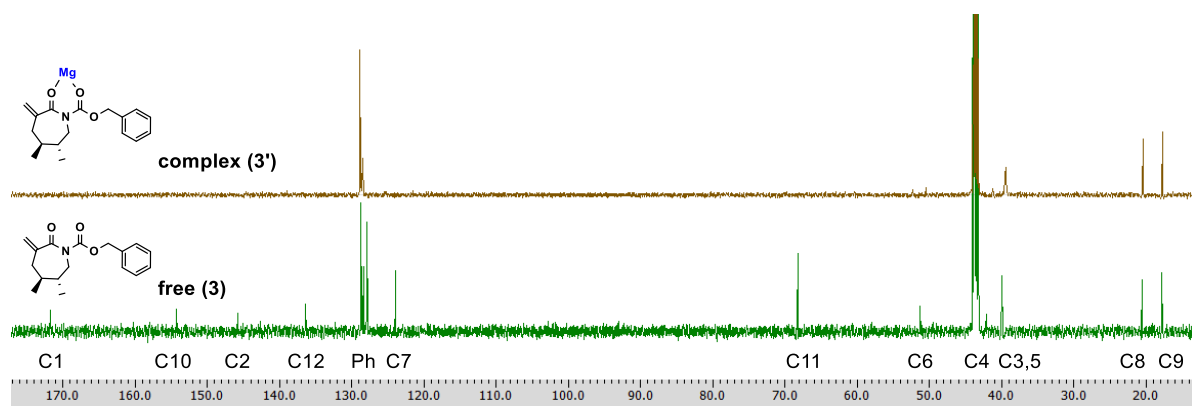
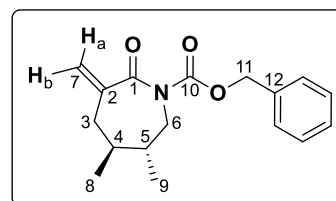


図 2-5 ^{13}C NMR スペクトル (上 : $\mathbf{3}'$ 、下 : $\mathbf{3}$)

C #	δ_{C} (free, $\mathbf{3}$)	δ_{C} (complex, $\mathbf{3}'$)	$\Delta\delta_{\text{C}}$
1	171.8	175.1	+3.3
2	145.8	144.6	-1.2
3	39.9	39.6	-0.3
4	42.1	42.2	+0.1
5	39.9	39.6	-0.3
6	51.3	52.4	+1.1
7	124.0	125.3	+1.3
8	20.6	20.4	-0.2
9	17.8	17.7	-0.1
10	154.2	155.9	+1.7
11	68.3	69.7	+1.4
12	136.4	135.3	-1.1



[a] $\Delta\delta_{\text{H(or C)}} = \delta_{\text{H(or C)}}(\text{complex}) - \delta_{\text{H(or C)}}(\text{free})$

[b] Chemical shifts of $\mathbf{3}'$ were assigned by HSQC and HMBC measurements.

表 2-5 ^{13}C NMR 化学シフトの差

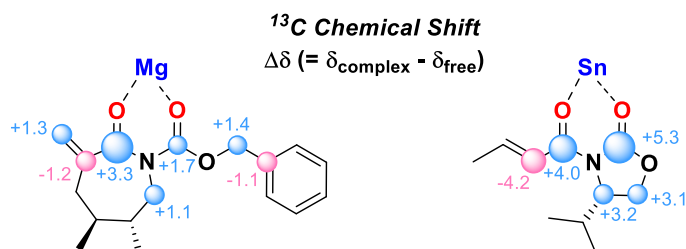


図 2-6 ^{13}C NMR 化学シフト差の可視化

(左 : $\mathbf{3}'$ 、右 : Castellino による *N*-アシルオキサゾリジノン- SnCl_4 錯体)

2-3-c 面選択性の発現機構の推定

マグネシウム配位効果が実験的に明らかとなったので、次に配位効果による高い面選択性の発現機構について考察した。まず $\text{Mg}(\text{OTf})_2$ とジエノフィル基質が 1:1 で配位していると仮定し、1.2 当量の $\text{Mg}(\text{OTf})_2$ 存在下におけるジエノフィル基質の安定配座を求めた。NOESY 測定により得られた NOE 相関を解析した結果、図 2-7 に示すように、二つのメチル基がエクソトリアル位に位置する立体配座を有することがわかった。一方、 $\text{Mg}(\text{OTf})_2$ 非存在下では、H3ax と H7b、H4 と H7b 間の NOE 相関も弱いながら観測された (図 2-8)。このことは、7員環が柔軟な配座をとっていることを示唆しており、 $\text{Mg}(\text{OTf})_2$ はこれを固定化させる役割を担っていると考えることができる。

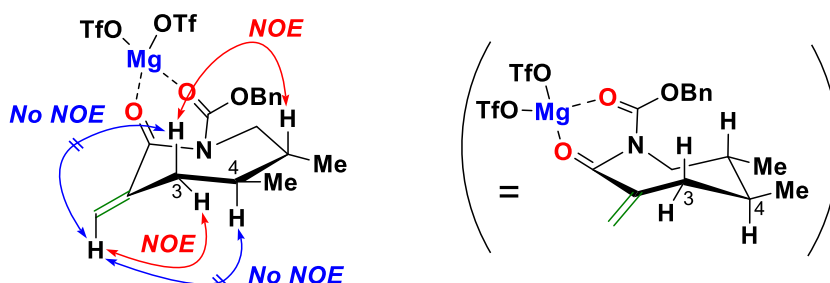


図 2-7 $\text{Mg}(\text{OTf})_2$ 存在下のジエノフィルの安定配座

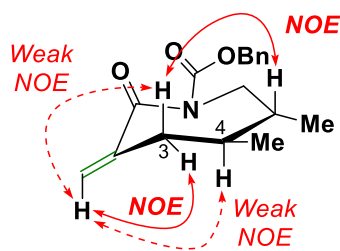


図 2-8 $\text{Mg}(\text{OTf})_2$ 非存在下のジエノフィルの安定配座

得られた安定配座のジエノフィル基質 **3** とジエン基質 **10** 間の Diels-Alder 反応の遷移状態を考えると、面選択性発現の鍵となるのは反応点近傍に位置する C3 位のアキシアル水素であると考えた (図 2-9)。すなわち、このアキシアル水素とジエン基質が有するアセチレン基間の立体反発の影響が小さい面からのみジエン基質が反応点に接近でき、その結果面選択性が完全に制御された環化付加体を与えると考えた。また、触媒量の $\text{Mg}(\text{OTf})_2$ で面選択性が発現していることから、 $\text{Mg}(\text{OTf})_2$ のジエノフィル基

質 **3** へのキレートによる反応の加速効果もあると推察できる。

以上、マグネシウム配位効果によるジエノフィル基質の安定配座を明らかにすることで、本反応における面選択性の発現機構を推定した。

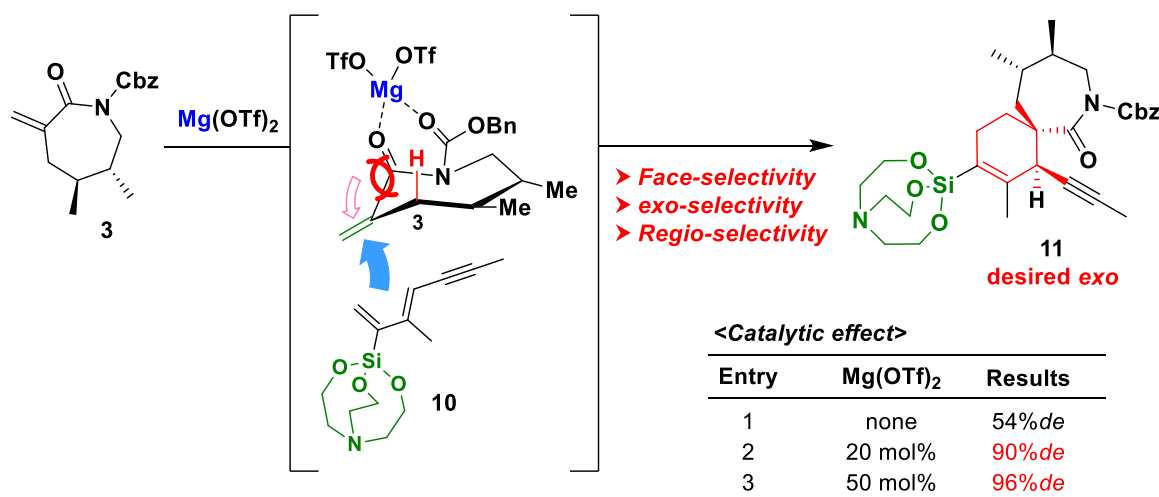


図 2-9 配位効果がもたらす面選択性の発現機構の推定

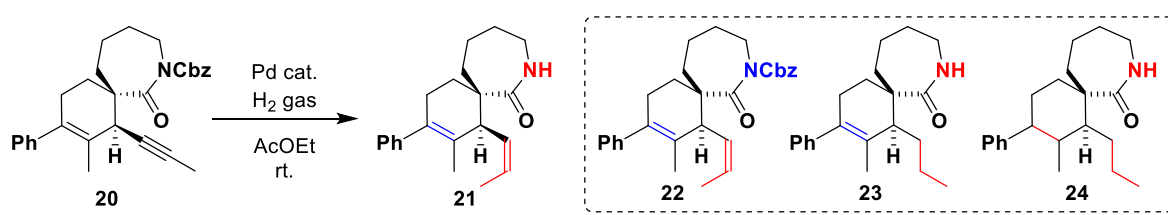
2-4 7,6-スピロイミン誘導体の合成

2-4-a 5 位炭素-炭素結合形成反応の前駆体の合成

選択的 Diels-Alder 反応により望む環化付加体 **11** が得られたので、次に γ -ブテノリド環導入の鍵を握る炭素-炭素結合形成反応の基質 **18** の合成を行った。まず、Pd 触媒を用いた接触水素化によりアセチレン基のオレフィン化と Cbz の脱保護を同時に行うこととした。本基質を用いる前にモデル化合物 **20** を用いた接触水素化を検討した結果、50 mol%の Pd/C を作用させると目的化合物 **21** の 7 位のオレフィンやシクロヘキセン環の水素化も進行してしまうことがわかった (表 2-6 エントリー1)。Pd/C の当量を下げることで過剰反応を抑え、目的化合物 **21** を主生成物として得ることができたが、7 位のオレフィンが水素化された副生成物 **23** も多く生成され、またスケールアップに伴う低い再現性も問題となった (表 2-6 エントリー2)。強い還元能を持つ Pd/C では選択的水素化が困難であると考え、次に触媒毒により活性を抑えた Pd 触媒を試みた。その結果、エチレンジアミンで被毒させた中程度の活性を保持する Pd/C (**en**)を添加させることで、目的化合物 **21** を選択的かつ定量的に得ることに成功した (表 2-6 エントリー3)。また、大スケールで反応を行っても収率の低下は確認されず、

再現性の問題も解決された。一方、絹のフィブロインに Pd が担持された Pd/Fib を用いると、Cbz 基の還元が抑制された化合物 **22** を与えた (表 2-6 エントリー4)。⁵⁾

モデル実験により選択的水素化を実現する穏和な条件を見出したので、次に実際の本基質である環化付加体 **11** を用いて接触水素化を行った (スキーム 2-9)。その結果、モデル実験と同様に Pd/C (en) を作用させることで目的のラクタム **25** のみが定量的に得られた。その後、得られたラクタムを LDA 存在下 TsCl と反応させることでアミド部位を Ts 保護し、炭素-炭素結合形成反応の前駆体 **18** を二段階収率 77% で合成することに成功した。

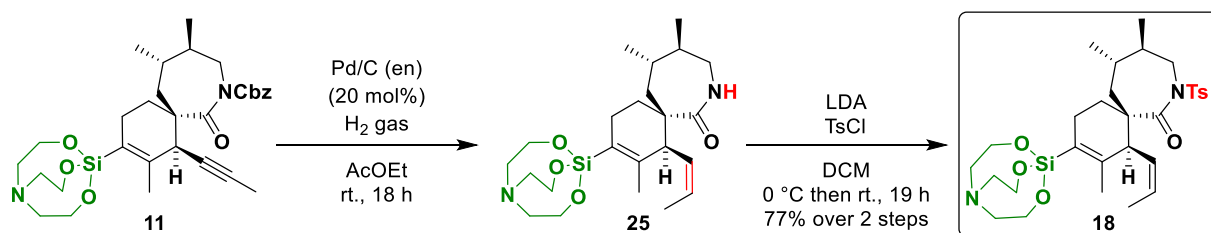


Entry	Pd cat.	Time (h)	Results ^a
1	Pd/C (50 mol%)	2.5	Overreaction (23, 24)
2	Pd/C (15 mol%)	4	21 : 23 = 1 : 0.5
3	Pd/C(en) (40mol%)	12	21 only
4	Pd/Fib (20 mol%)	4	20 (SM) : 22 = 1 : 2.6

Activity
Pd/C > Pd/C (en) > Pd/Fib

[a] Judged by crude 1H NMR

表 2-6 モデル化合物 **20** を用いた選択的接触水素化の検討

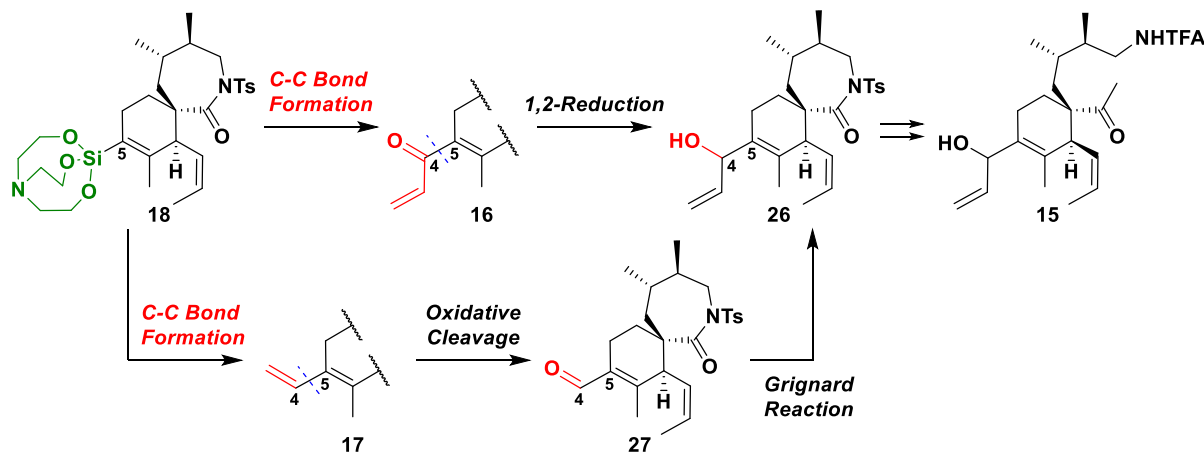


スキーム 2-9 カップリング反応の基質 **5** の合成

2-4-b 5 位の炭素-炭素結合形成とアリルアルコール **15** の合成

次にカップリング反応の基質 **18** からアリルアルコール **15** の合成を目指した。まず、基質 **18** の 5 位に対して炭素-炭素結合形成反応によりエノン **16** あるいはビニル基の導入 (**17**) を行った (スキーム 2-10)。その後、得られたエノン **16** およびビニル化合

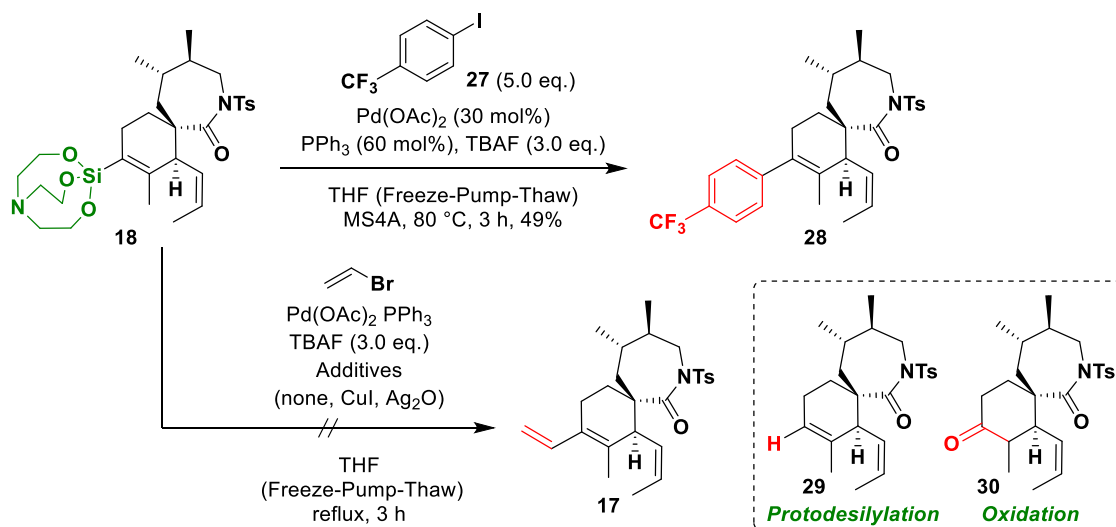
物 **17** よりアリルアルコール **26** への変換を検討し、続くラクタムの開環や保護基の変換を経て、新モッシャー法が適用可能なアリルアルコール **15** を合成した。本項ではその詳細について述べる。



スキーム 2-10 アリルアルコール **15** の合成

(1) 檜山カップリング反応による 5 位への置換基導入の検討

まず、ビニルシラン構造を用いた檜山カップリング反応によるビニル基の導入を目指した。はじめに、今回合成したビニルシラトラン構造の反応性を確認するために、比較的反応性が高いハロゲン化アリールとの檜山カップリング反応を検討した（スキーム 2-11）。その結果、シラトラン **18** に 3 当量の TBAF を作用させることで、カップリング体 **28** を 49% 収率で得ることに成功した。ハロゲン化アリールとの反応が確認できたので、次に実際にビニル基の導入を検討した。しかし、種々の反応条件を試みたものの、脱シリルプロトン化や玉尾酸化反応による副生成物 (**29**、**30**) のみが生成され、目的の化合物 **17** は痕跡量に留まった。これはハロゲン化ビニルの反応性がハロゲン化アリールよりも著しく低いためであり、檜山カップリング反応によるビニル基の導入は断念せざるを得ない結果となった。

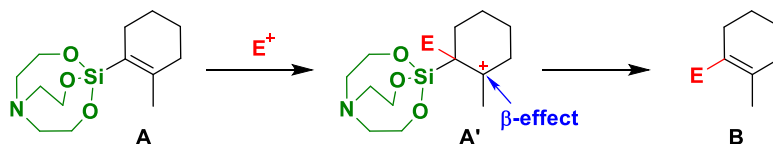


スキーム 2-11 檜山カップリング反応の検討

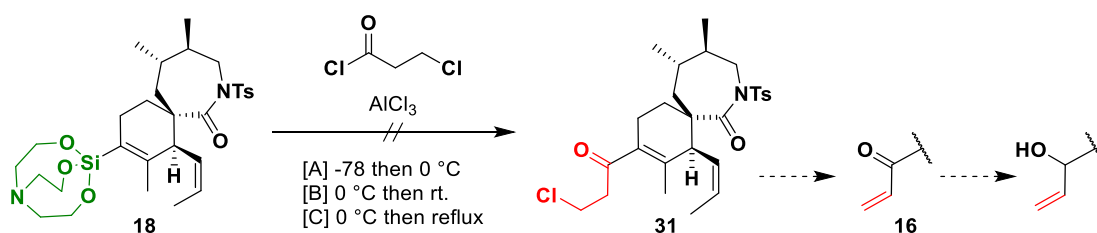
(2) 求電子剤を用いた 5 位への置換基導入の検討

檜山カップリング反応の適用を断念し、次に求電子剤を用いたビニルシラン構造の構造変換を行うこととした。スキーム 2-12 に示すように、ケイ素の β カチオン安定化効果により反応中間体 **A'** の生成が促進されることから、求電子剤を用いた置換基の導入が可能であると考えた。

そこでまず、Friedel-Crafts 型反応を検討した (スキーム 2-13) ⁶⁾。エノン **16** の前駆体であるケトン **31** を合成するため、市販で購入した塩化アシルとのアシル化反応を試みた。しかし、ルイス酸存在下、種々の反応温度下においても脱シリルプロトン化や分解反応が進行し、目的の化合物 **31** は得られなかった。

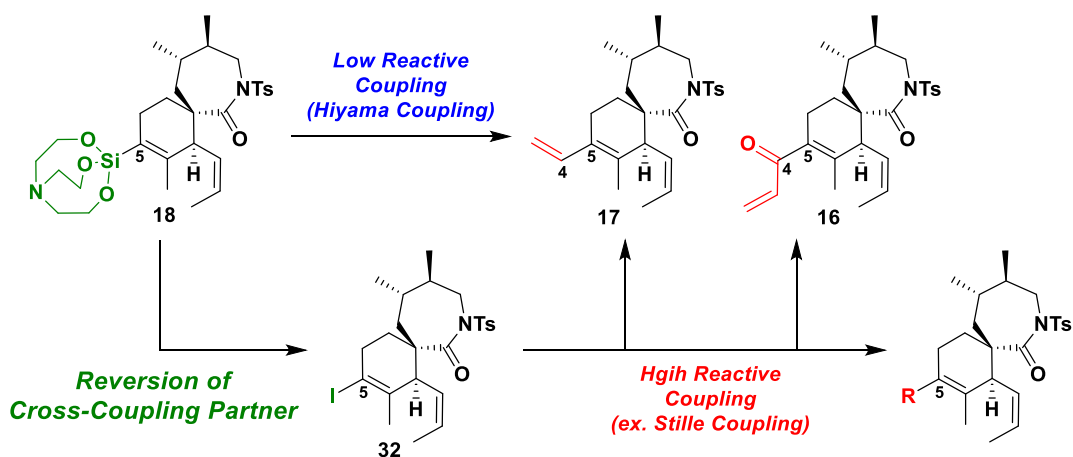


スキーム 2-12 ビニルシランの求電子反応

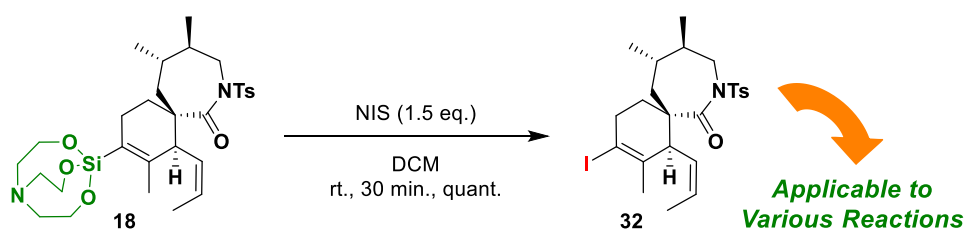


スキーム 2-13 Friedel-Crafts 型アシル化反応

次に、カップリングパートナーの転換を期待し脱シリルヨウ素化を検討した⁷⁾。ヨウ素への変換が達成されれば、ヨウ化ビニルを用いたより反応性の高いカップリング反応が適用できるため、望む置換基の導入や様々な構造変換の可能性が広がると考えた (スキーム 2-14)。検討の結果、求電子剤として NIS を添加し室温下で 30 分攪拌させることで、望むヨウ化ビニル **32** が定量的に得られることを見出した (スキーム 2-15)。このビニルシラトランの脱シリルヨウ素化については過去に報告例がなく、シラトラン基の汎用性を高める重要な知見といえる。



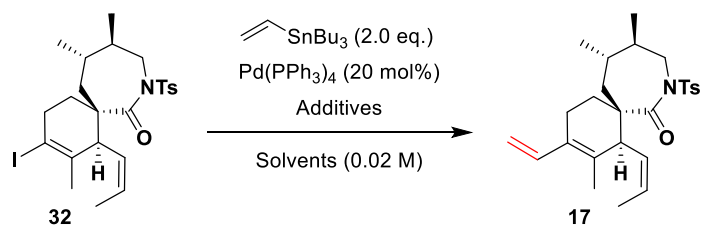
スキーム 2-14 カップリングパートナーの転換と構造展開



スキーム 2-15 脱シリルヨウ素化によるカップリングパートナーの転換

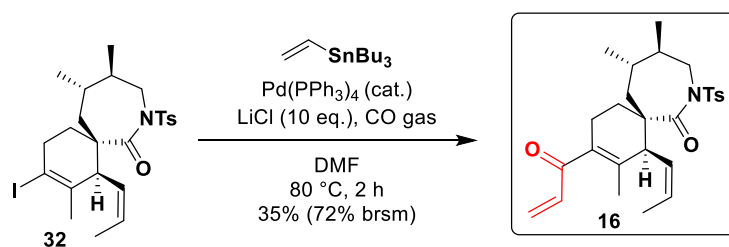
続いて、得られたヨウ化ビニル **32** とトリブチルビニルチンとの Stille カップリング反応を検討した (表 2-7)。その結果、80°C の DMF 溶媒中、Pd(PPh₃)₄ と過剰量の LiCl を作用させることで収率良くビニル基を導入することに成功した。さらに、同条件下において CO 挿入型 Stille カップリング反応を行ったところ、こちらも問題なく反応が進行し直接エノン **16** を合成することに成功した (スキーム 2-16)。

以上、当初の合成戦略より一段階多いものの、シラトラン基を起点に炭素-炭素結合形成反応を実現し、高収率かつ効率的にビニル基およびエノンを導入することに成功した。また、ビニルシラトランがヨウ化ビニルの等価体であることが明らかとなり、シラトラン基が Diels-Alder 反応のみならず構造多様化の観点からも優れた置換基であることが強く示唆された。とりわけ環状イミン毒の当箇所については、種々の置換基が存在しサブタイプ選択性を発現する重要な部位でもあるため、本反応を基盤とした網羅的な構造活性相関研究への応用も可能である。



Entry	Additives	Solvents	Temp. (°C)	Time (h)	Results	Yield (17)
1	CuI (1.0 eq.)	THF	75	24	No reaction	-
2	LiCl (10 eq.)	THF	75	21	32 : 17 = 1 : 0.4	29%
3 ^[a]	LiCl (10 eq.)	DMF	80	1	17 only	97%

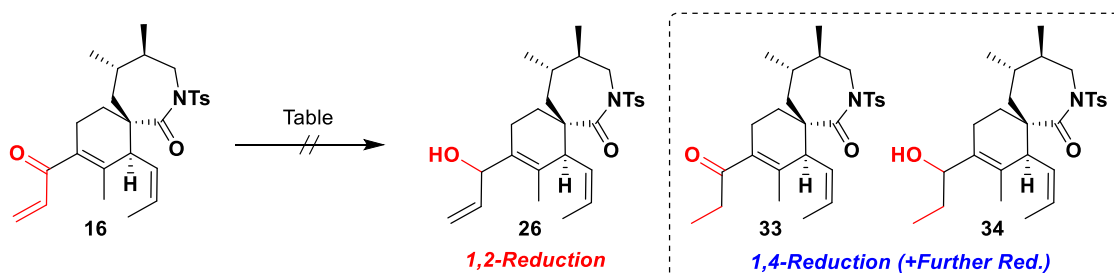
表 2-7 Stille カップリング反応の検討



スキーム 2-16 CO 挿入型 Stille カップリング反応によるエノン **16** の合成

ビニル基およびエノンの導入に成功したので、次にアリルアルコールへの変換を検討した。まずはエノン **16** の 1,2-還元反応を検討した (表 2-8)。一般的に用いられる

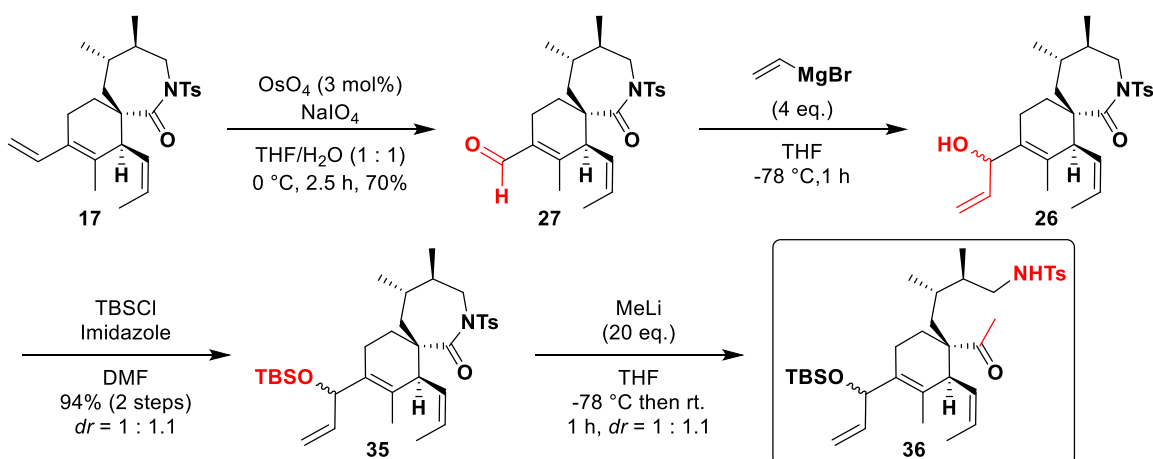
反応条件を試みたところ、1,4-還元反応のみが進行し目的のアリルアルコール **26** を得ることはできなかった。1,2-還元反応の条件は他にも多数存在し検討の余地は残されているが、後述するビニル基を起点とした合成経路で目的のアリルアルコールを収率良く得ることができたので、これ以上の検討は行わなかった。



Entry	Conditions	Solvents	Temp. (°C)	Time (h)	26 : 33 : 34
1	BH ₃ DMS, (S)-Me-CBS	THF	-40 then rt.	21	0 : 1 : 0
2	NaBH ₄ , CeCl ₃ 7H ₂ O	THF / MeOH (10 : 1)	0 then rt.	1.5	0 : 1 : 0.37

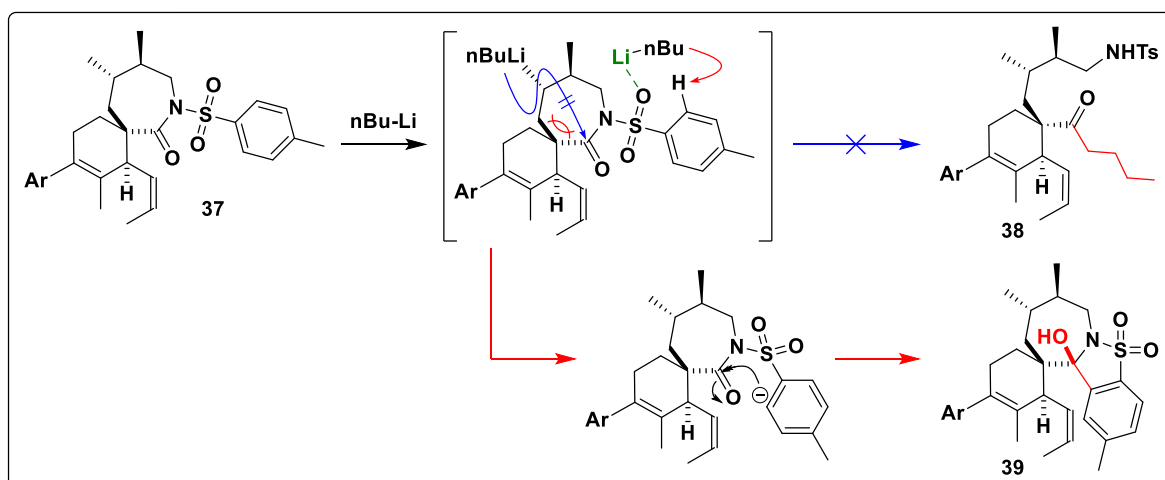
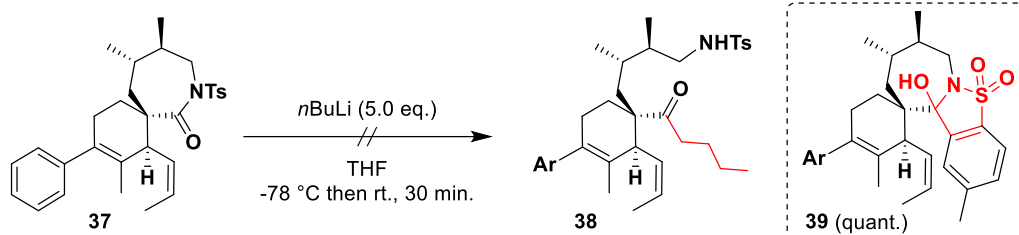
表 2-8 エノン **16** の 1,2-還元反応の検討

次に、ビニル化合物 **17** からアリルアルコール **26** への変換を検討した (スキーム 2-17)。まず、ビニル化合物 **17** に触媒量の四酸化オスミウムと過ヨウ素酸ナトリウムを THF/水の混合溶媒中 0°C で作用させることで、三つのオレフィンのうち末端オレフィンのみを選択的に酸化することに成功した。この際、四置換オレフィンおよび 7,6-スピロ環近傍に位置する 7 位の二置換オレフィンについて、いずれも立体障害の影響で酸化されなかったと考えられる。得られたアルデヒド **27** はビニルグリニャール試薬と反応させることで目的とするアリルアルコール **26** への変換に成功した。次にアリルアルコール **26** のアルコール部分を TBS 保護することで化合物 **35** をジアステレオマー比 1:1.1 で収率良く合成し、その後低温下で過剰量のメチルリチウムを作用させることでラクタムの開環によるケトアミン **36** の合成に成功した。

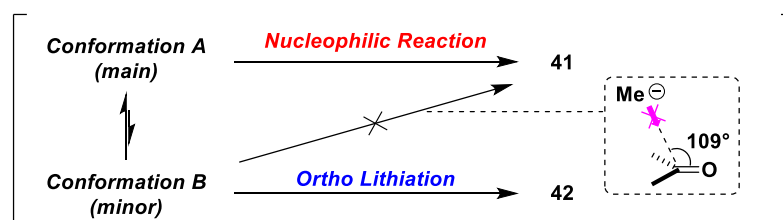
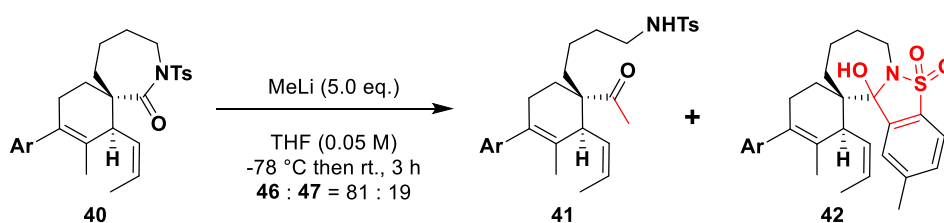


スキーム 2-17 ケトアミン **36** の合成

ここで、開環反応におけるモデル化合物 **37** を用いた予備実験では、メチルリチウムの代わりに *n*-ブチルリチウムを作用させると目的化合物 **38** ではなく副生成物 **39** が定量的に得られることを確認している (スキーム 2-18)。これは、嵩高い *n*-ブチルリチウムがアミド部位に接近できず代わりに Ts 基のオルトリチオ化を引き起こしたことが原因と考えられる。すなわち、電子豊富なスルホニル基とリチウムイオンとの相互作用により近傍のオルト位がリチオ化され、続くアミドへの求核攻撃により五員環が形成されたと推察した。また、メチルリチウムを用いた場合でも、ジメチル基がないデメチル体 **40** では同様の反応が副反応として起こることが分かった (スキーム 2-19)。この結果は、デメチル体がメチルリチウムの求核攻撃を妨げるような立体配座をマイナー成分として有していることを示唆している。この立体配座 (スキーム 2-19 中の配座 B) ではカルボニル基に対する求核反応の立体電子的要求 (Burgi-Dunitz 軌跡; カルボニル基に対して斜め方向から反応する) を満たしていないため、開環反応ではなく副反応が進行したと考えることができる。すなわち、不斉ジメチル基の有無で 7,6-スピロ環が取り得る安定配座が異なり、その結果求核反応の反応性に差が出る立体電子効果の影響であると考察できる。



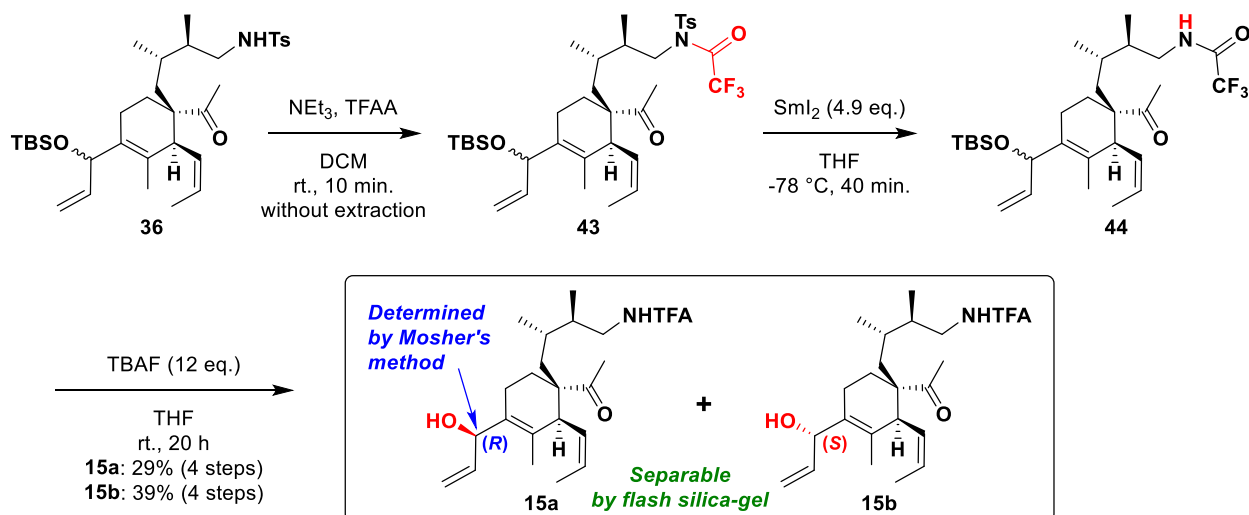
スキーム 2-18 オルトリチオ化と環形成反応による **39** の生成



スキーム 2-19 MeLi を用いたデメチル体 **40** の開環反応

次に、目的化合物であるアリルアルコール **15** の合成を行った (スキーム 2-20)。Romo らの方法に従い、ケトアミン **36** の第二級アミンをトリフルオロアセチル(TFA)基で保護し溶媒を除いた後、SmI₂ を用いた穏和な条件下で Ts 基を除去した⁸⁾。その後、過

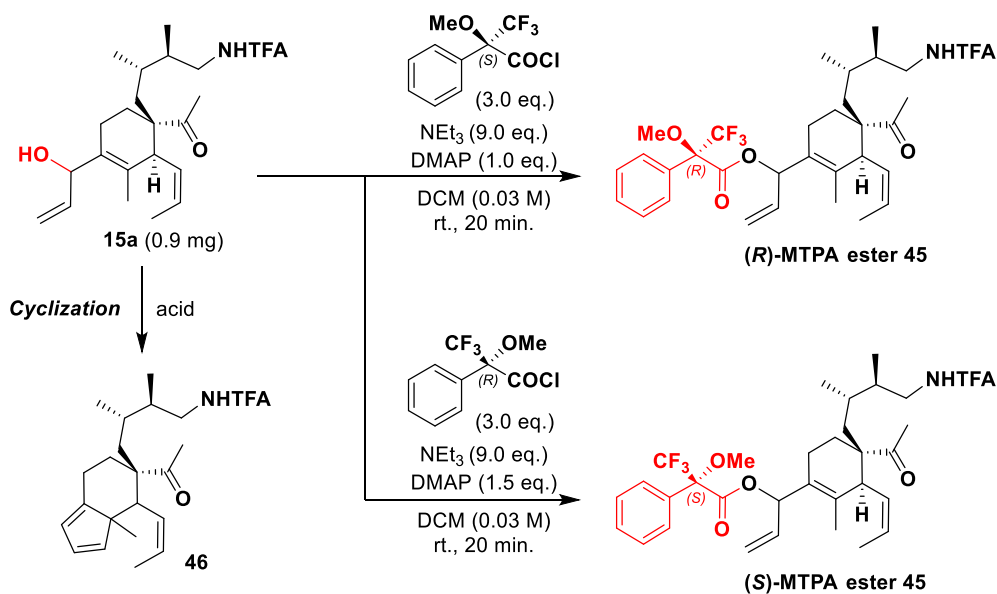
剰量の TBAF を用いて TBS 基を除去することでアリルアルコール **15** の両ジアステレオマーをそれぞれ 4 段階収率 29%、39%で得ることに成功した。これらのジアステレオマーについては、1%のトリエチルアミンで予備洗浄したフラッシュシリカゲルを用いて容易に分離精製することができ、TLC 上では **15a** が高極性側であった。



スキーム 2-20 アリルアルコール **15** の合成

2-4-d アリルアルコール **15** の絶対立体配置の決定

次に、合成したアリルアルコール **15** の第二級アルコールの絶対立体配置を新モッシャー法により決定した⁹⁾。まず、精製したアリルアルコール **15a** に(*S*)-、(*R*)-MTPA クロリドをそれぞれ作用させて MTPA エステル **45** を合成した(スキーム 2-21)。この際、DMAP 非存在下では反応は進行せず、また副反応による環化体 **46** の生成を防ぐために過剰量のトリエチルアミンを要した。得られた MTPA エステル **45** の ¹H NMR 測定を行い、図 2-10 左図に示すように(*S*)-MTPA エステル(上段、通常体)および(*R*)-MTPA エステル(下段、斜体)の化学シフトを帰属した。その後、両エステルの化学シフトの差 ($\Delta\delta = \delta((S)\text{-MTPA}) - \delta((R)\text{-MTPA})$) の値を求め、新モッシャー法よりアリルアルコール **15a** の立体化学を *R* 配置と決定した。



スキーム 2-21 MTPA エステル 45 の合成

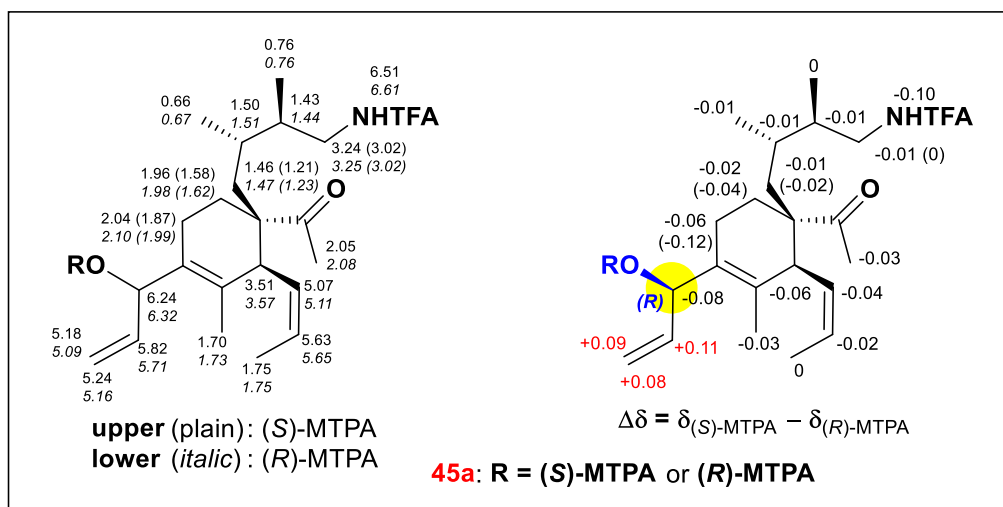
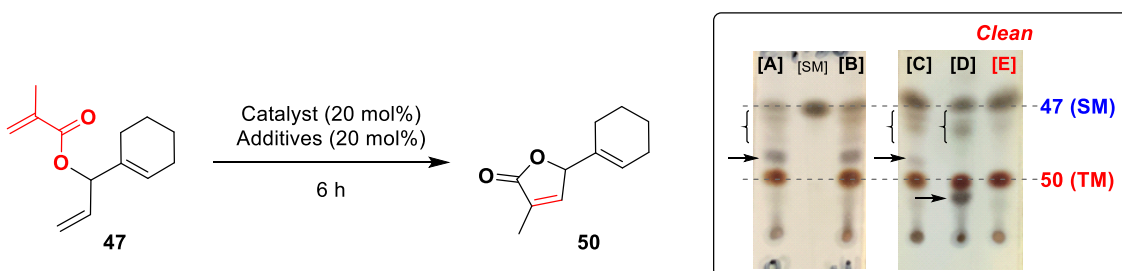


図 2-10 新モッシャー法による絶対立体配置の決定

2-4-e γ -ブテノリド環の構築

アリルアルコール **15** の両ジアステレオマーの合成および精製に成功したので、次に分子内閉環メタセシス反応を鍵とした γ -ブテノリド環の構築を行った。このとき、前駆体であるアリルエステルが 4 つのオレフィンを有することから、閉環メタセシス

反応における副反応が懸念された。そこで、 γ -ブテノリド環の形成のみが促進される穏和な反応条件を見出すために、モデル化合物 **47** を用いて予備実験を行った (表 2-9)。モデル化合物 **47** は、市販で購入できるアルデヒド **48** よりアリルアルコール **49** を経て二段階収率 35% で合成した (スキーム 2-22)。まず、アリルエステル **47** に触媒量の Grubbs 触媒第二世代をジクロロエタン中 50°C で作用させたところ (エントリー 1)、目的の γ -ブテノリド環 **50** が主生成物として得られた。しかし TLC を分析すると、いくつかの副反応も同時に進行していることが確認された。新しいロットの触媒を用いた場合も同様の結果を得た (エントリー 2)。次に、副反応の原因の一つと考えられる異性化を防ぐ目的で 1,4-ベンゾキノン を共存させたが、改善は見られず目的の反応自体の反応性も大幅に下がってしまった (エントリー 3)。エントリー 4 では Hoveyda-Grubbs 触媒第二世代を検討したが、やはり副反応は制御できなかった。そこで、触媒活性の低い Grubbs 触媒第一世代を用いたところ、反応性こそは低下したものの副反応が完全に抑えられることを見出した。条件の最適化を行った結果、1,2-ジクロロエタン中 90°C で反応を行うことで目的化合物 **50** のみを高変換率で得ることに成功した。



Entry	Catalysts	Conc. (M)	Solvent / Temp. (°C)	Additives	Results (TLC)	50 : SM (47)
1	Grubbs 2nd (<i>old Lot</i>)	0.03	DCM / 50	none	[A]	1 : 0.10
2	Grubbs 2nd (<i>new Lot</i>)	0.03	DCM / 50	none	[B]	1 : 0.12
3	Grubbs 2nd (<i>new Lot</i>)	0.03	DCM / 50	1,4-benzoquinone	[C]	1 : 0.60
4	Hoveyda-Grubbs 2nd	0.03	DCM / 50	none	[D]	1 : 0.11
5	Grubbs 1st	0.03	DCM / 50	none	[E], <i>Clean</i>	1 : 0.60
6	Grubbs 1st	0.1	DCM / 50	none	<i>Clean</i>	1 : 1.42
7	Grubbs 1st	0.03	ClCH ₂ CH ₂ Cl / 90	none	<i>Clean</i>	1 : 0.20

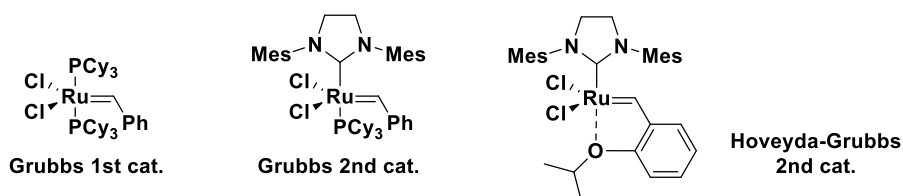
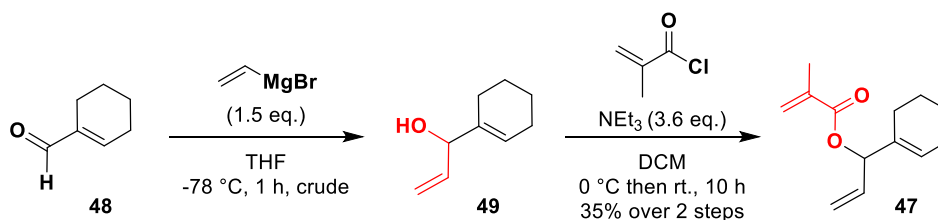
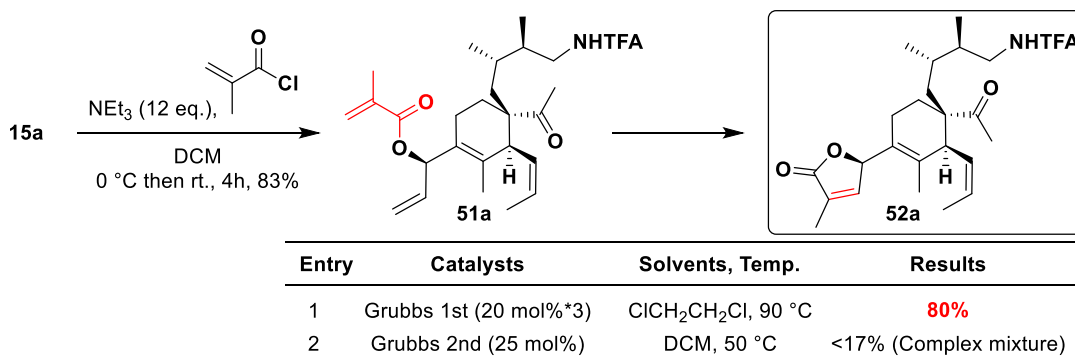


表 2-9 モデル基質 **47** を用いた閉環メタセシス反応の検討

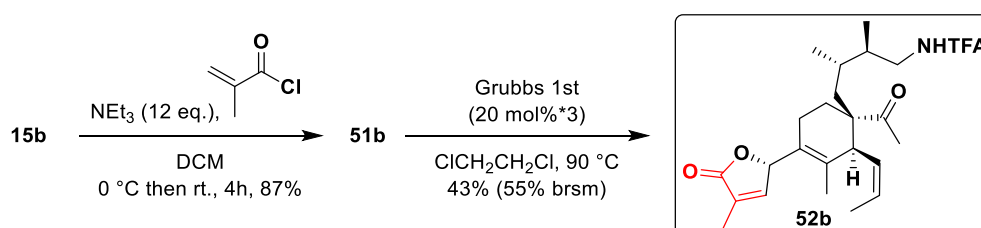


スキーム 2-22 モデル基質 **47** の合成

次に実際の基質を用いて γ -ブテノリド環の構築を目指した (スキーム 2-23)。出発物質であるアリルアルコール **15a** は弱酸性下で容易に環化することが分かっていたので (スキーム 2-21)、過剰量のトリエチルアミン存在下で塩化メタクリルと反応させた。エステル化は問題なく進行し、エステル **51a** を収率良く得ることができた。次に予備実験で見出した反応条件を参考にエステル **51a** の閉環メタセシス反応を検討した。20 mol% の Grubbs 触媒第一世代を 1,2-ジクロロエタン中 3 回添加することで、期待通り γ -ブテノリド環 **52a** を高収率で得ることに成功した。念のため Grubbs 触媒第二世代も作用させたが、やはり副反応や分解反応が進行し目的物は低収率に留まった。以上より、閉環メタセシス反応を鍵とした γ -ブテノリド環の構築を達成した。ジアステレオマーである **52b** についても、同様の経路で合成した (スキーム 2-24)。



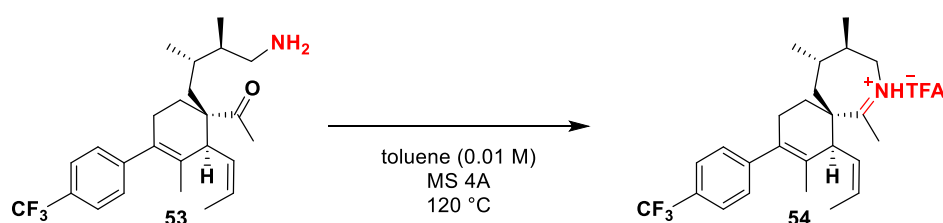
スキーム 2-23 γ -ブテノリド環の構築



スキーム 2-24 ジアステレオマー **52b** の合成

2-4-f イミン形成反応

続いて最終段階であるイミン形成反応の検討を行った。まず7員環イミンを形成させる最適条件を見つけるため、予備実験として同様の部分構造を有するモデル化合物 **53** を別途合成して検討を行った (表 2-10)。まず、ケトアミン **53** をトルエン溶媒中加熱還流したが目的物は得られなかった (エントリー1)。そこで、Zakarian らが PnTX の全合成で適用したトリエチルアミンとトリメチル安息香酸を用いて反応を行ったところ¹⁰⁾、イミニウム塩 **54** が NMR 収率 90%で生成されることを見出した (エントリー2)。さらに、TFA を作用させると、より短時間で定量的にイミン形成反応が進行することが明らかとなった。



Entry	Catalysts	Time (h)	53 : 54 ^[b]	NMR Yields
1	none	20	Consumed	-
2	NEt ₃ , Benzoic Acid ^[a] (1.2 eq.)	20	1 : 0.11	90%
3	TFA (1.2 eq.)	3.5	1 : 0	quant.

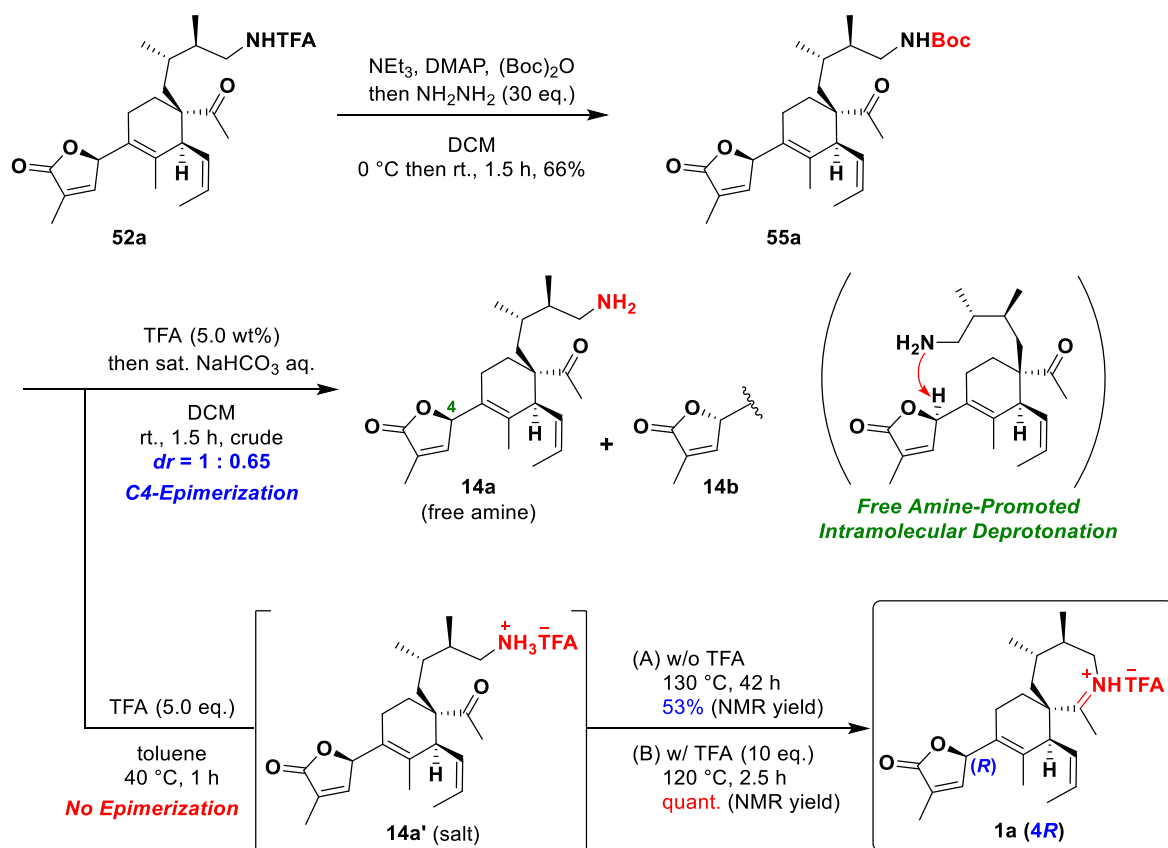
[a] Trimethyl Benzoic Acid, [b] Judged from ¹H NMR under CDCl₃

表 2-10 モデル基質 **53** を用いたイミン形成反応の検討

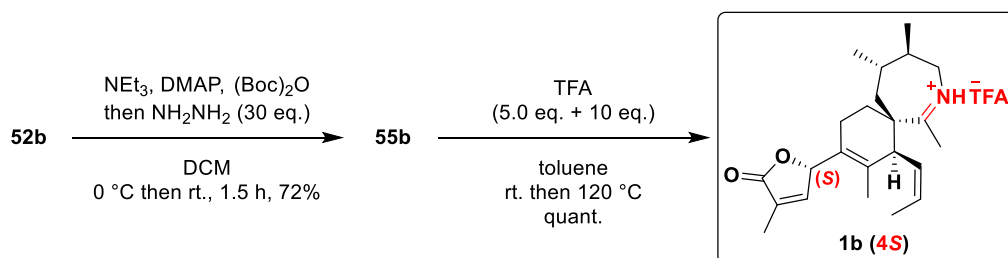
酸触媒によってイミン形成反応が進行することを確認したので、次に本基質を用いて7,6-スピロイミン誘導体 **1** の合成を行った (スキーム 2-25)。まず、第二級アミン **52a** を Boc 保護し、そのまま系中でヒドラジンを作用させることで TFA 基の除去を行った。次に、Boc 体 **55a** を酸性条件で除去し、出発物質が完全に消失することを TLC で確認した後、NaHCO₃ を加えてケトアミン **14a** の抽出を行った。しかし、抽出物の構造を NMR で確認したところ、4 位のエピ化が進行していることが判明した。第二級アミン **52a** の γ -ブテノリド環が弱塩基性条件下においてもエピ化しないことを考えると、これはフリーアミンによる分子内エピ化が原因であると推定した。そこで、フリーアミン **14a** として抽出することなくワンポットでのイミン形成反応を検討した。その結果、Boc 基の除去により生成されるアンモニウム塩 **14a'** に対して、系中で TFA を追加し 120°C まで昇温させることで、4 位のエピ化を防ぎつつ、目的の 7,6-スピロ

イミン誘導体 **1a** を定量的に得ることに成功した。また、ジアステレオマー**1b** についても、同様の合成経路で合成することに成功した (スキーム 2-26)。

以上より、構造決定を指向した 7,6-スピロイミン誘導体 **1** の効率的な合成法の確立を達成するとともに、天然物 SPX の部分構造スピロイミンユニットの初めての合成に成功した。



スキーム 2-25 7,6-スピロイミン誘導体 **1a** の合成



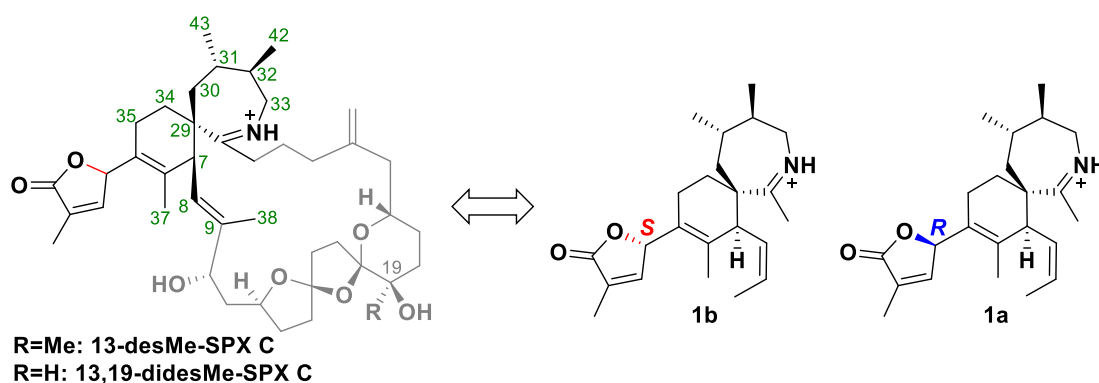
スキーム 2-26 7,6-スピロイミン誘導体 **1b** の合成

第3章 本論II 立体配置の決定と配座解析

3-1 7,6-スピロイミン環部分の立体配座の決定

7,6-スピロイミン誘導体 **1** の両ジアステレオマーをそれぞれ合成することに成功したので、次に4位の立体配置の決定を目指した。2-1の分子設計で述べた通り、設計した両ジアステレオマーは、天然物と同様の7,6-スピロイミン環部分構造を有していると考えている。構造解析に必須となる本前提を確かめるために、まず、合成した誘導体の7,6-スピロイミン環部分が天然物と同等の配座であることを調べた。NOESY測定の結果、配座を決定づける重要なNOE相関が、天然物で得られているものとおおむね一致していることが確認された(表3-1)^{11), 12)}。さらに、表中の緑色で示したNOE相関から導き出した誘導体の配座は、MacroModel計算や先行研究で示された天然物SPXの安定配座とほぼ同じであることが明らかとなった(図3-1)¹²⁾。

以上、当初の分子設計通り、天然物の配座を再現した7,6-スピロイミン誘導体 **1** の創出に成功した。これより、本誘導体と天然物のNMR化学シフトを比較することで、4位の立体配置の決定が可能である。



C#	13-desMe-SPX C ^[b]	13,19-didesMe-SPX C ^[c]	1b (4S)	1a (4R)
	NOEs	NOEs	NOEs	NOEs
7	34a, 37, 38	34a, 38	34a, 38	34a, 38
8	30a, 31, 37, 43	31, 43	30a, 31, 37, 43 ^[d]	30a, 31, 34b ^[d] , 43 ^[d]
33a	42	42	42	42
33b	34b, 42	34b	30b, 32, 34b	30b, 32, 34b, 43 ^[d]

[a] Spectra were recorded using CD₃OD as solvent and chemical shifts were referred to CHD₂OH = 3.30 ppm.

[b] Data taken from ref. (11). [c] Data taken from ref. (12). [d] Intensity of the NOE(ROE)s are very weak.

表 3-1 7,6-スピロイミン環部分の NOE 相関

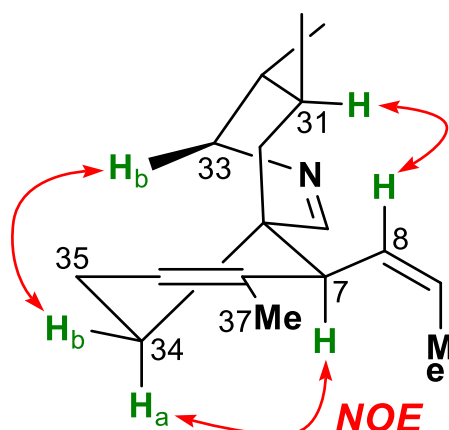


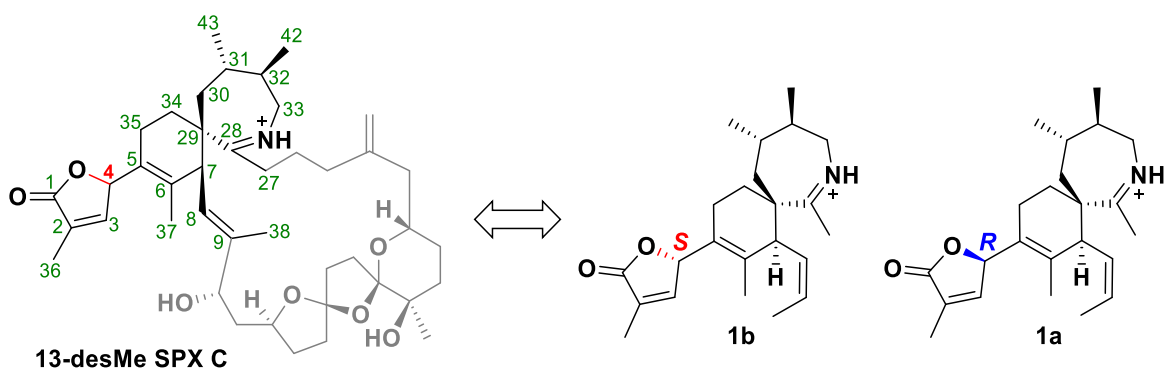
図 3-1 7,6-スピロイミン環部分の立体配座

3-2 SPX の 4 位の立体配置の決定

7,6-スピロイミン環部分が天然物と同じ配座であることが分かったので、次に合成誘導体の両ジアステレオマーと天然物の ^1H 、 ^{13}C NMR を比較することで、SPX の 4 位の立体化学の解明に迫った。

3-2-a 13-desMe SPX C と 7,6-スピロイミン誘導体の比較

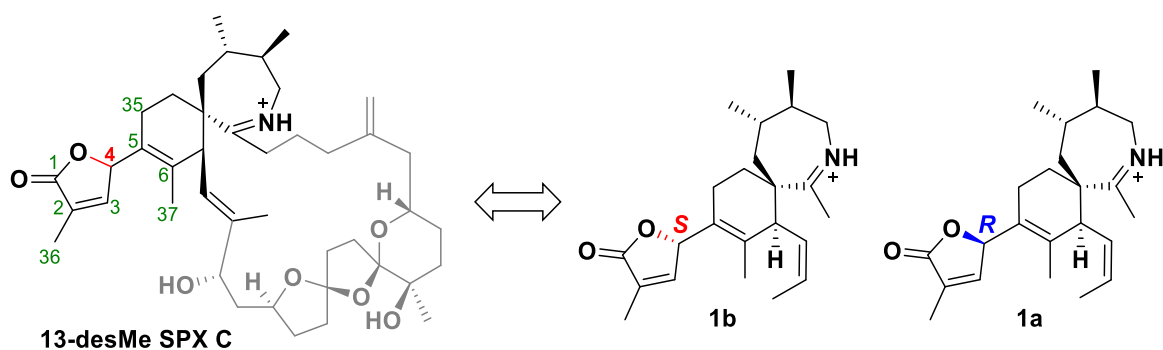
まず、Wright らによって報告されている 13-desMe SPX C のイミニウム塩との ^1H 、 ^{13}C NMR の比較を行った (表 3-2) ¹¹⁾。次に 4 位の立体配置を決定するために、4 位周辺の C1-6、C35-37 に着目し、天然物と合成誘導体の化学シフトの差 ($\Delta\delta = \delta_{13\text{-desMe SPX C}} - \delta_{\text{合成誘導体}}$) を算出した。まず、 ^1H NMR の化学シフト差をみると、4*S* 体と天然物の NMR データはほぼ一致していたものの、4*R* 体では異なり、特に 35 位において顕著な差が確認された (表 3-3、図 3-2)。



C #	13-desMe SPX C [b]		1b (4S)		1a (4R)	
	δ_H	δ_C	δ_H	δ_C	δ_H	δ_C
1		176.8		176.8		176.7
2		131.0		131.2		131.4
3	7.13	149.5	7.14	149.5	7.15	150.1
4	5.98	82.0	5.97	82.0	5.99	81.3
5		126.4		126.3		126.2
6		133.2		133.9		136.1
7	3.78	48.1	3.78	46.7	3.80	46.4
8	5.16	122.5	5.25	128.0	5.25	128.1
9		146.0	5.88	130.7	5.86	130.3
27	2.82, 3.10	36.0	3.22	45.3	3.22	45.3
28		201.3		202.4		202.5
29		52.4		50.4		50.1
30a	1.79	36.7	1.75	38.2	1.69	39.1
30b	2.01		1.83		1.75	
31	1.04	37.5	1.29	36.4	1.32	36.4
32	1.67	38.8	1.57	39.0	1.59	38.9
33a	3.55	51.8	3.47	52.6	3.54	52.9
33b	4.18		4.07		4.03	
34a	1.67	32.4	1.79	31.0	1.92	30.6
34b	1.98		1.95		1.92	
35a	1.72	20.3	1.72	20.3	1.93	20.9
35b	2.27		2.20		1.98	
36	1.90	10.5	1.91	10.5	1.91	10.5
37	1.74	16.7	1.77	17.1	1.83	17.7
38	1.91	12.9	1.85	14.4	1.86	14.3
42	1.11	18.9	1.08	18.5	1.08	18.4
43	1.05	20.1	1.03	20.8	1.01	21.0

[a] Spectra were recorded using CD₃OD as solvent and chemical shifts were referred to CHD₂OH = 3.30 ppm (¹H). [b] Data taken ref.(11). [c] $\Delta\delta = \delta_{13\text{desMe-SPX C}} - \delta_1$

表 3-2 13-desMe SPX C と合成誘導体の ¹H NMR



C #	13-desMe-SPX C [b]		1b (4S)		1a (4R)	
	δ_c		δ_c	$\Delta\delta_c$	δ_c	$\Delta\delta_c$
3	7.13		7.14	-0.01	7.15	-0.02
4	5.98		5.97	+0.01	5.99	-0.01
35a	1.72		1.72	+0.00	1.93	+0.21
35b	2.27		2.20	+0.07	1.98	+0.29
36	1.90		1.91	-0.01	1.91	-0.01
37	1.74		1.77	-0.03	1.83	-0.09

表 3-3 4 位周辺の ^1H NMR の比較

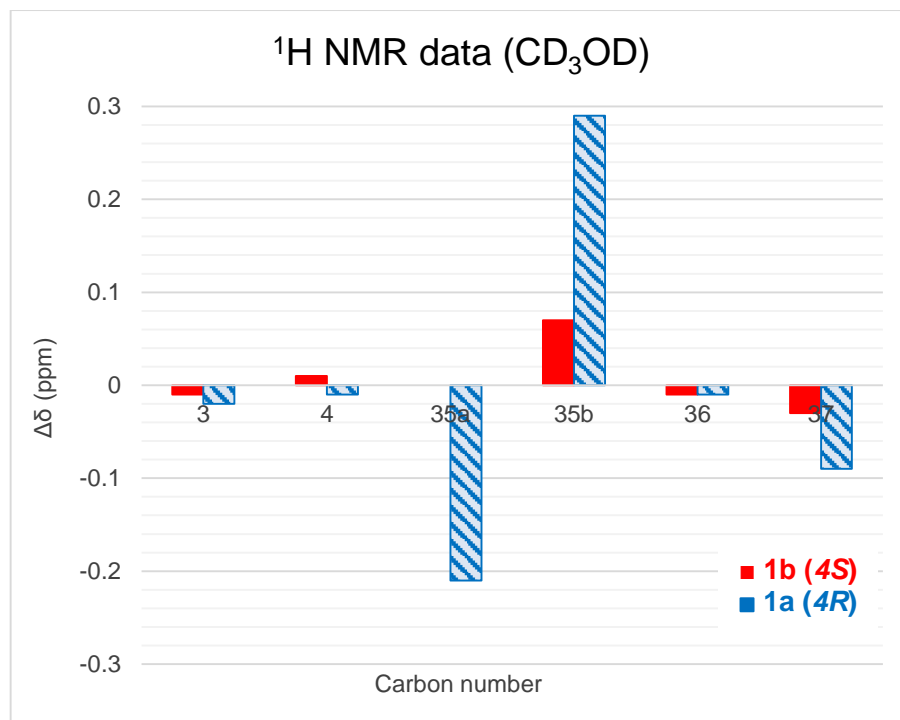
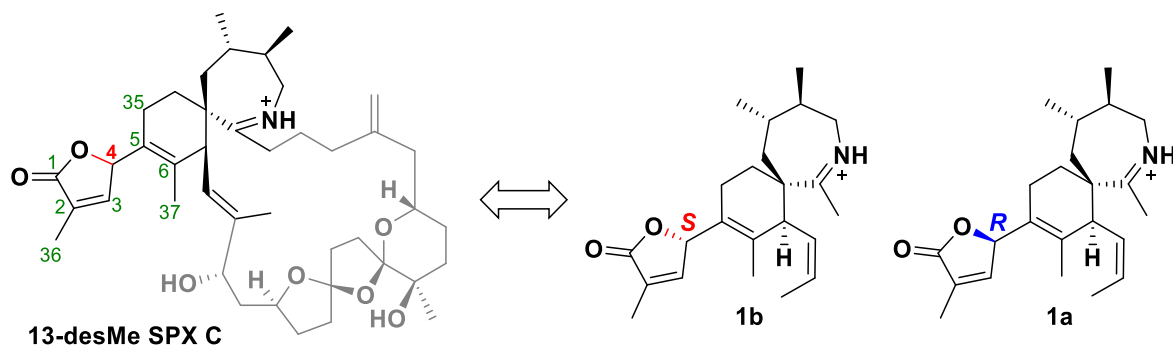


図 3-2 ^1H NMR 化学シフトの差

さらに、 ^{13}C NMR のデータについても ^1H NMR の比較結果と同様に $4S$ 体とは概ね一致し、 $4R$ 体とは異なることが確認された (表 3-4、図 3-3)。特に 6 位については、約 3 ppm ほどの顕著な化学シフト差が確認された。この位置は $4S$ 体でも 0.7 ppm ほどの化学シフトの差が確認されたが、これは部分構造の端に近いためであると考えられる。この分を差し引いて考えても、 $4R$ 体と天然物の化学シフト差は明らかに大きな値であることが分かる。

以上の結果より、13-desMe SPX C の 4 位の立体配置が S 配置であることを実験的に証明することに成功した。これは、Forino らが推定した 13,19-didesMe SPX C の立体配置とは逆の結果となった¹²⁾。



C #	13-desMe SPX C ^[b]		1b (4S)		1a (4R)	
	δ_{C}		δ_{C}	$\Delta\delta_{\text{C}}$	δ_{C}	$\Delta\delta_{\text{C}}$
1	176.8		176.8	+0.0	176.7	+0.1
2	131.0		131.2	-0.2	131.4	-0.4
3	149.5		149.5	+0.0	150.1	-0.6
4	82.0		82.0	+0.0	81.3	+0.7
5	126.4		126.3	+0.1	126.2	+0.2
6	133.2		133.9	-0.7	136.1	-2.9
35	20.3		20.3	+0.0	20.9	-0.6
36	10.5		10.5	+0.0	10.5	+0.0
37	16.7		17.1	-0.4	17.7	-1.0

表 3-4 4 位周辺の ^{13}C NMR の比較

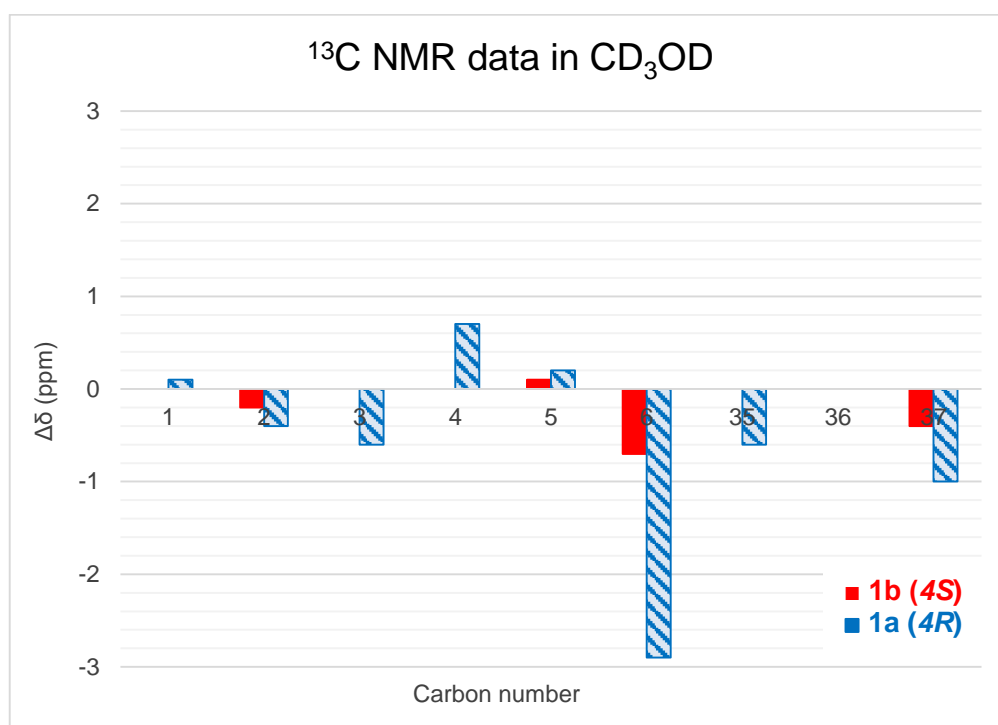


図 3-3 ^{13}C NMR 化学シフトの差

3-2-b 13,19-didesMe SPX C と 7,6-スピロイミン誘導体の比較

次に、同じスピロイミン骨格を有する天然物 13,19-didesMe SPX C のイミニウム塩との比較を行った (図 3-4)¹²⁾。その結果、3-2-a と同様、4S 体は天然物の NMR データとおおむね一致し、4R 体では顕著な差を示した (図 3-5、図 3-6)。すなわち、13,19-didesMe 体の 4 位についても S 配置であることが強く示唆された。

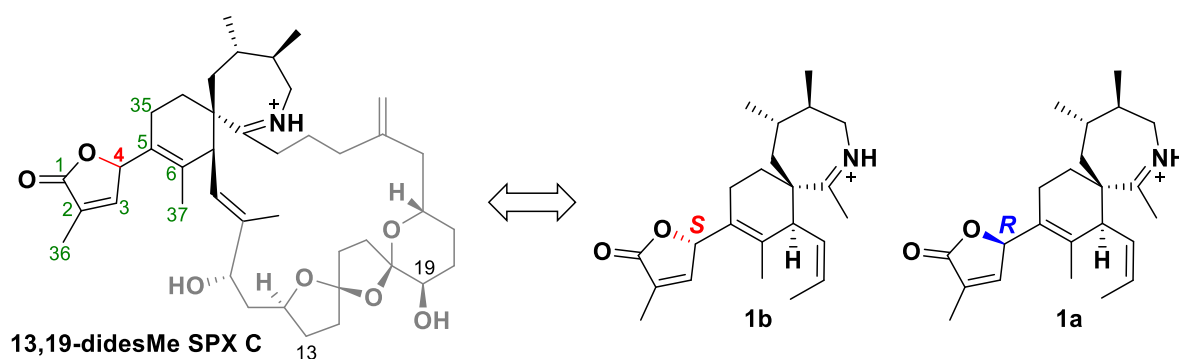


図 3-4 13,19-didesMe SPX C と合成誘導体の比較

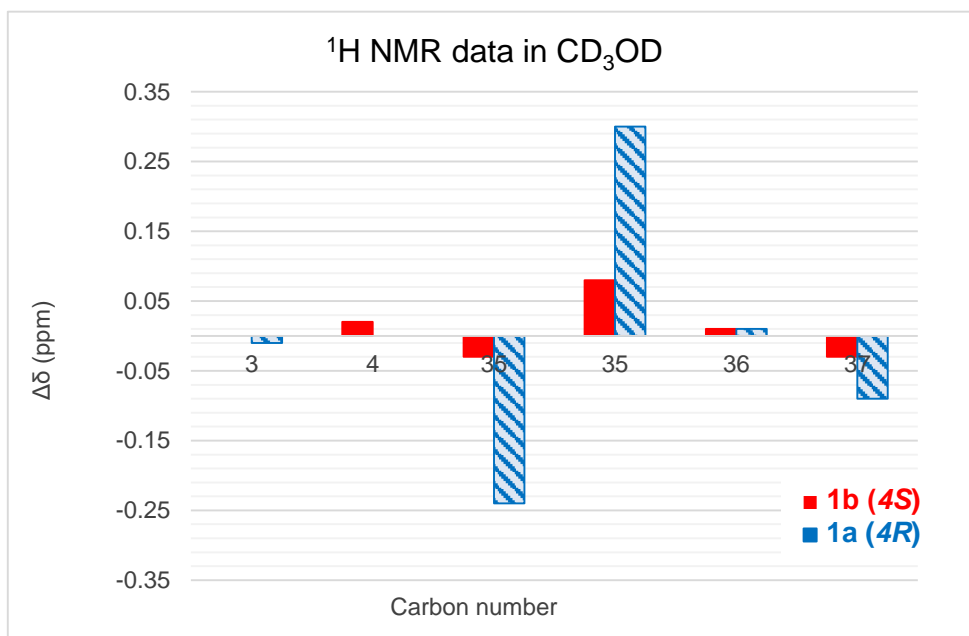


図 3-5 ¹H NMR 化学シフトの差

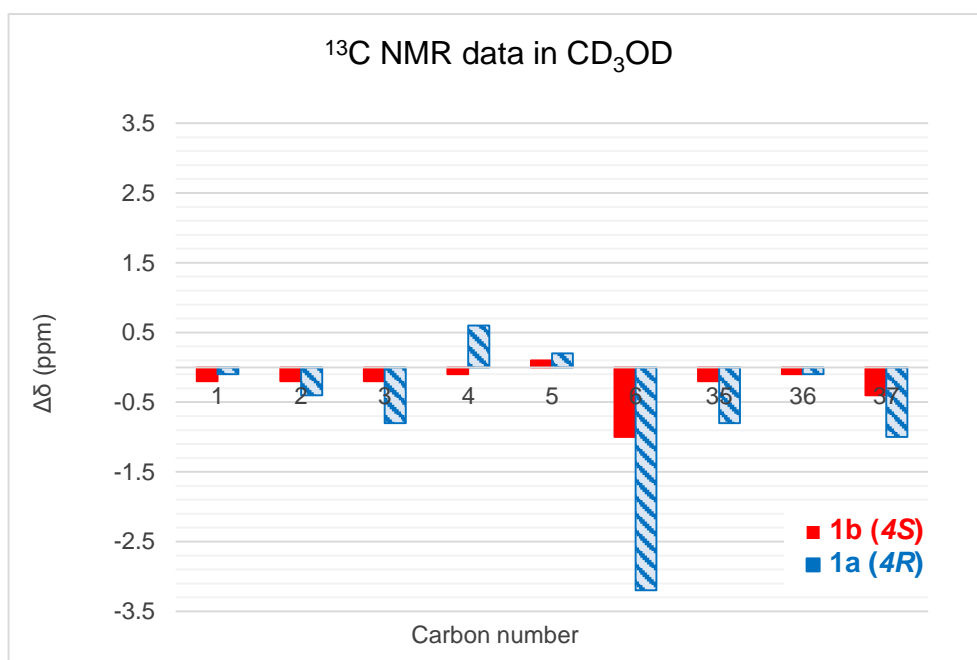


図 3-6 ¹³C NMR 化学シフトの差

以上より、合成した 7,6-スピロイミン誘導体 **1** と天然物 SPX の NMR を比較することで、合成化学的アプローチによる 4 位の立体配置の決定に成功した。

3-3 SPX の γ -ブテノリド環部分の立体配座の考察

3-3-a SPX の γ -ブテノリド環部分の立体配座の推定

次に、SPX の γ -ブテノリド環部分の立体配座の推定を試みた。これまで得られた結果より、①4S 体の 7,6-スピロイミン環部分は天然物と同じ立体配座、②4S 体と天然物の 4 位周辺の NMR 化学シフトが一致、していることが明らかとなったので、4S 体の 4 位周辺の立体配座についても天然物と同等であると考えた (図 3-7)。すなわち、4S 体の γ -ブテノリド環部分の立体配座を詳細に解析することで、天然物 SPX の立体配座を推定できると考えた。また、4 位の立体化学が NMR 化学シフトに及ぼす影響について考察するために、4R 体の立体配座も明らかにすることとした。

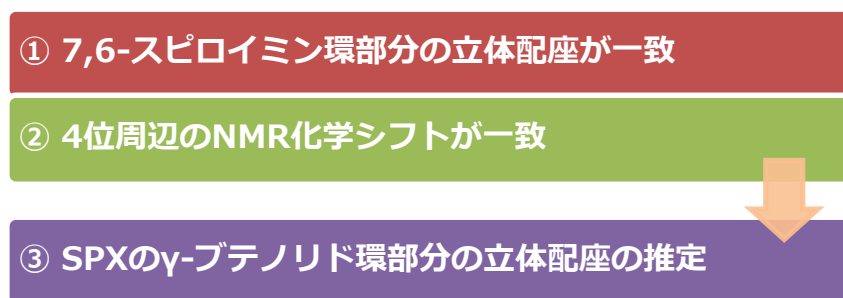


図 3-7 SPX の γ -ブテノリド環部分の立体配座の推定

①4S 体の立体配座

まず、合成した 4S 体の NOESY 測定で得られた NOE 相関より γ -ブテノリド環部分の立体配座の決定を行った (図 3-8)。その結果、H4-H37 間で強い相関が観測されたことから、 γ -ブテノリド環の配座は A (*gauche+*) あるいは B (*gauche-*) に絞ることができた。また、H3-H35a と H3-H37 間の NOE 相関が確認された一方で、H4-H35a の相関が得られなかったことから、4S 体の γ -ブテノリド環部分の安定配座は A (*gauche+*) であると結論付けた。これは、MacroModel 計算や DFT 計算による配座計算の結果とも一致している (図 3-9、3-10)。これより、4S 体と天然物の 4 位周辺の化学シフトがほぼ同じであることを考えると、天然物 SPX が有する γ -ブテノリド環部分も配座 A をとる可能性が高いと考察した。この配座が生物活性にどのように影響しているかは機構解明研究においても興味深い点であり、今回得られた配座情報は重要な知見であると考えられる。

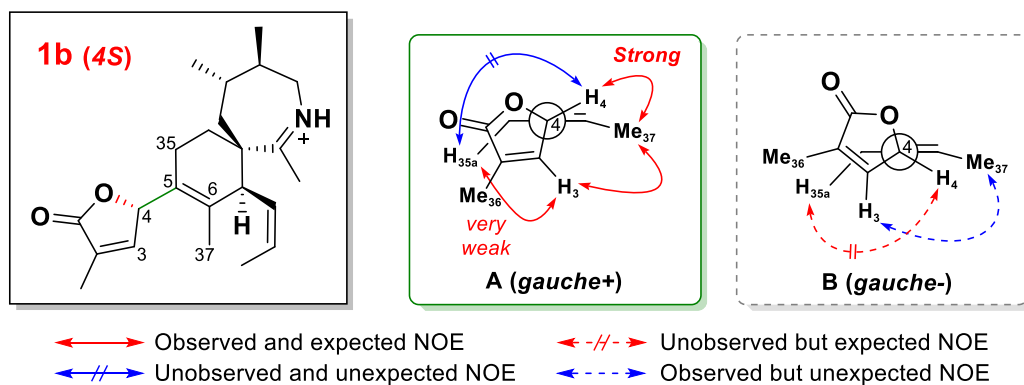


図 3-8 NOESY 測定による γ -ブテノリド環部分の配座の決定 (4S 体)

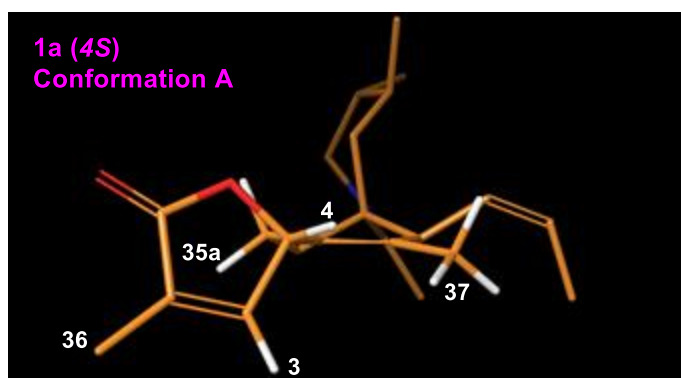


図 3-9 MacroModel 計算による γ -ブテノリド環部分の安定配座 (4S 体)
(Force Field: OPLS3e、Method: MCMM、Solvent: none)

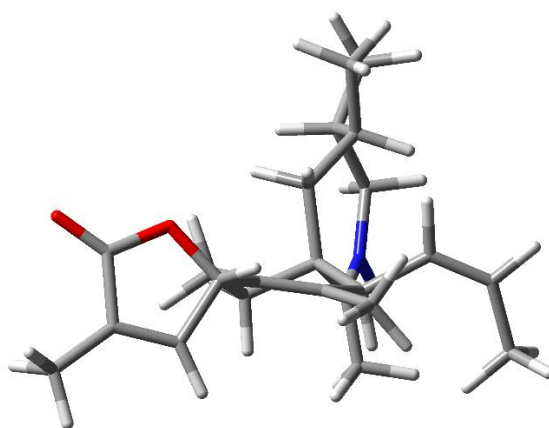


図 3-10 DFT 計算による γ -ブテノリド環部分の安定配座 (4S 体)
(B3LYP/6-31G (d,p)/MeOH、charge: +1、Imaginary Freq: 0)

②4R 体の立体配座

次に、4R 体の γ -ブテノリド環部分の立体配座を決定した (図 3-11)。まず、4S 体と同様に H4-H37 の強い NOE 相関が観測されたため *gauche* 配座のいずれか (C, E) であると予想した。しかし、H3-H37、H3-H35b、H4-H35a の相関が確認されたことから *eclipsed* 配座 (D) であることが強く示唆された。これは計算科学による配座解析の結果とも一致している (図 3-12、3-13)。また、①で得られた 4S 体の配座と比較すると、 γ -ブテノリド環部分の配座の違いは明確であり、これが NMR 化学シフトに影響を及ぼしたと考えることができる。

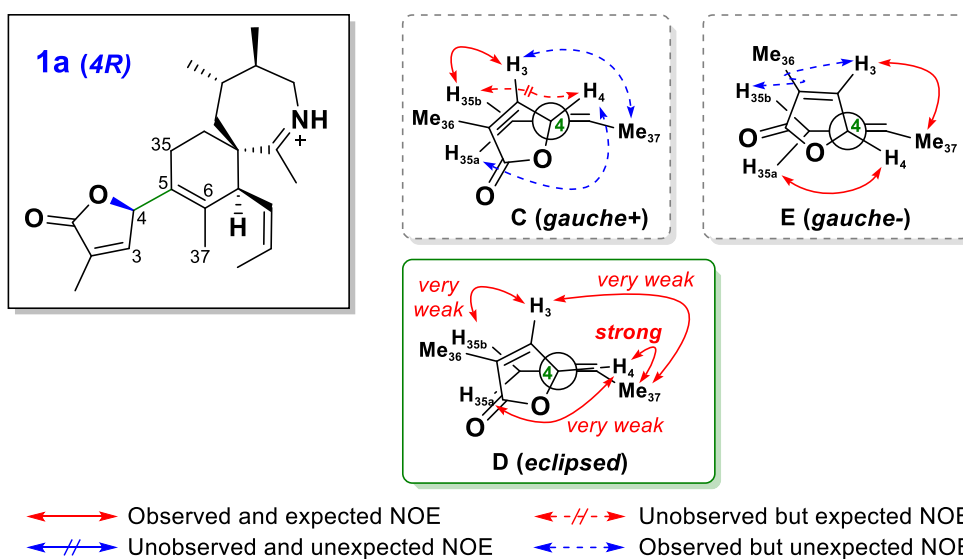


図 3-11 NOESY 測定による γ -ブテノリド環部分の配座の決定 (4R 体)

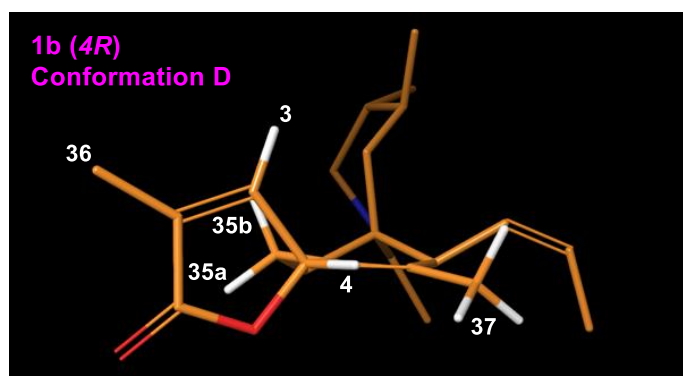


図 3-12 MacroModel 計算による γ -ブテノリド環部分の安定配座 (4R 体)
(Force Field: OPLS3e、Method: MCMM、Solvent: none)

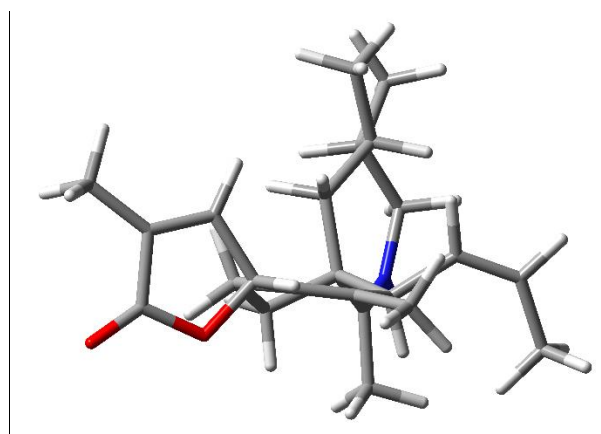


図 3-13 DFT 計算による γ -ブテノリド環部分の安定配座 (4R 体)
(B3LYP/6-31G (d,p)/MeOH、charge: +1、Imaginary Freq: 0)

3-3-b 6 位の ^{13}C NMR 化学シフト差に関する考察

次に、ジアステレオマー間で最も顕著な差が観測された 6 位の ^{13}C NMR 化学シフトについて考察を行った。まず、DFT 計算により求めた各安定配座の ^{13}C 遮蔽定数を求めたところ、ジアステレオマー体間での化学シフト差は実験値と計算値で同じ傾向を示し、6 位においても明確な化学シフト差が確認された (図 3-14)。これは、実験値の高い信憑性に加えて、安定配座を用いた考察が可能であることを示唆した結果となった。次に、両ジアステレオマー体の γ -ブテノリド環部分の安定配座における O-C4-C5-C6 の二面角を解析した。その結果、4S 体の二面角が 139° だったのに対し、4R 体では 116° であることが分かった (図 3-15)。このとき、二面角が 90° に近い 4R 体では、CO の反結合性軌道と C5-C6 の p 軌道が平行に重なる立体配座であることが確認された。これは、C5-C6 の π 軌道から σ_{CO}^* 軌道への超共役効果が十分起こり得る配座であると考えられる。すなわち、超共役効果により 6 位炭素の電子密度が低下し、その結果反遮蔽効果による低磁場シフトを受けたと推察した。一方、4S 体の安定配座においては、このような軌道の重なりをもたない配座であるため超共役効果は起こらないと考えた。以上、超共役効果の有無によって 6 位の ^{13}C 化学シフトに差が生じたと考察した。

本項では、4S 体と 4R 体の γ -ブテノリド環部分の立体配座を明らかにすることで天然物 SPX の立体配座の推定を行った。さらに、構造決定の決め手となった 6 位の ^{13}C NMR 化学シフトの違いが、 γ -ブテノリド環部分の立体配座に起因する超共役効果によって説明できることを示した。

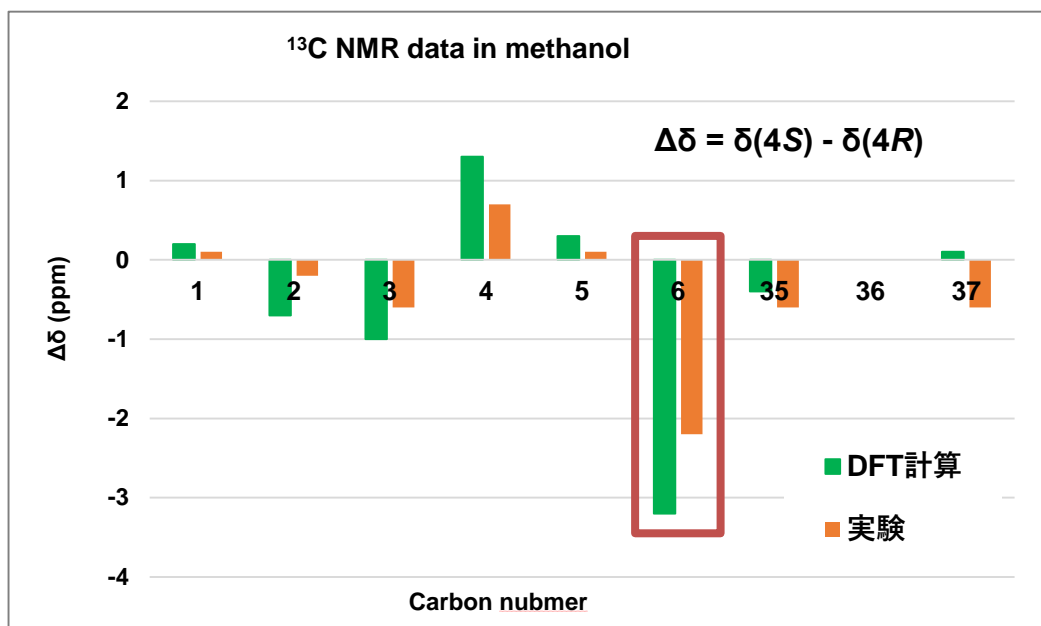


図 3-14 DFT 計算により算出した遮蔽定数と実験値の比較

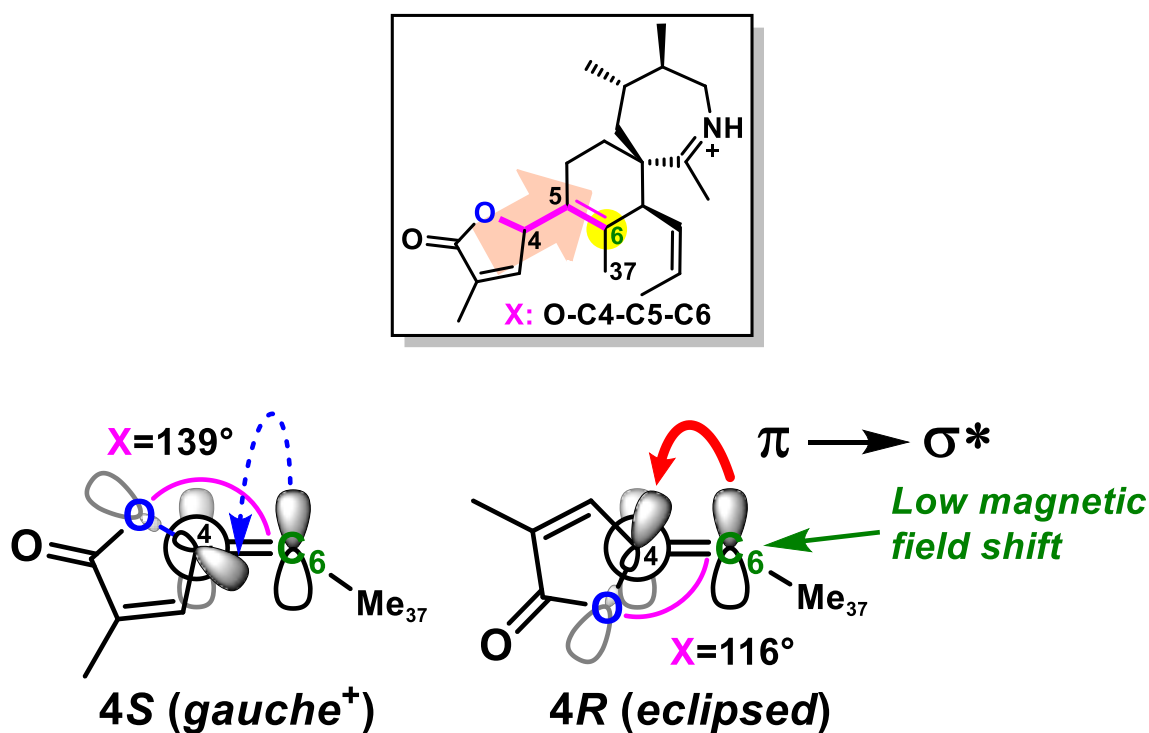


図 3-15 超共役効果 ($\pi \rightarrow \sigma^*$) による 6 位炭素の電子密度の低下

左：4S 体の配座では軌道の相互作用は起こらない

右：4R 体の配座では軌道の相互作用により超共役効果が起こり、その結果 6 位の電子密度が低下し低磁場シフト化される。

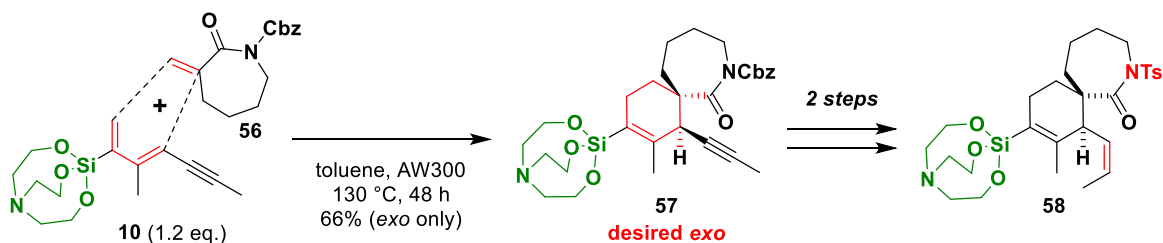
第4章 本論III 7,6-スピロイミン環部分構造を基盤とした化学的観点からの研究

第3章では、第2章で合成法を確立した7,6-スピロイミン誘導体を用いて立体配置の決定という一つの大きな目的を達成したので、次に7,6-スピロイミン環部分構造を基盤とした化学的研究に取り組んだ。本章では、まず5位の簡便な誘導化を意図した変換反応の検討を行い、その後7,6-スピロイミン誘導体の安定性およびnAChRに対する結合親和性について評価した。

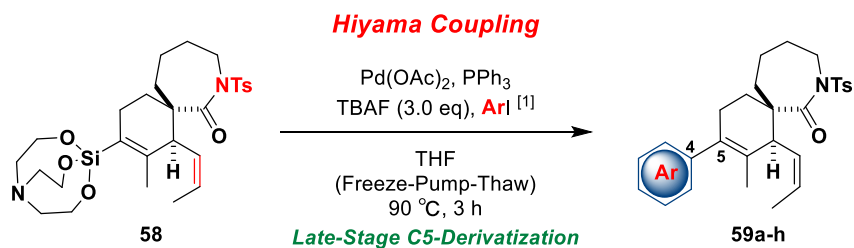
4-1 5位の簡便な誘導化を意図した変換反応の検討

序論でも述べたように、環状イミン毒の4位(PnTXでは33位)の置換基がサブタイプ選択性に寄与していることが強く示唆されている。そのため、系統的な構造活性相関を行うためには4位における効率的な構造多様化を実現する必要があるが、それを可能とする方法論はこれまで開発されてこなかった。そこで、第2章で見出したシラトランを基盤とした合成戦略を適用することで、効率的な構造変換が実現できると考え、5位の簡便な誘導化を意図した変換反応の検討を行った。

まず、ビニルシラン構造を用いた檜山カップリング反応の前駆体**58**を合成した(スキーム4-1)。デメチル体**58**は、デメチルラクタム**56**を用いた*exo*選択的Diels-Alder反応より得られた環化付加体**57**よりジメチル体と同様のスキームで合成した。その後、前駆体**58**をPd触媒とTBAF存在下で種々のヨウ化アリールと反応させたところ、対応するカップリング体**59**が収率良く得られることを確認した。(表4-1)。また、CuIを共存させることで、脱シリルプロトン化が進行し定量的に化合物**60**が得られることも見出した。以上、ビニルシラン構造を用いた檜山カップリング反応を適用することで、5位に種々の芳香環を導入することに成功した。また、得られたカップリング体から5段階で7,6-スピロイミン誘導体へと変換できることから、合成後期での効率のかつ簡便な構造多様化が実現したといえる。



スキーム4-1 カップリング反応の前駆体**58**の合成



<Facile Derivatization at C5 Position>

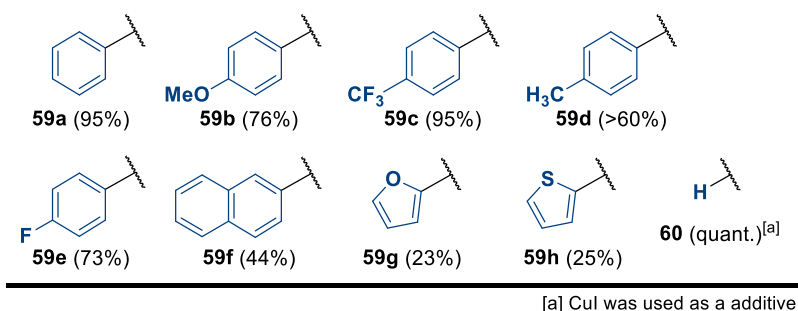


表 4-1 檜山カップリング反応による構造変換

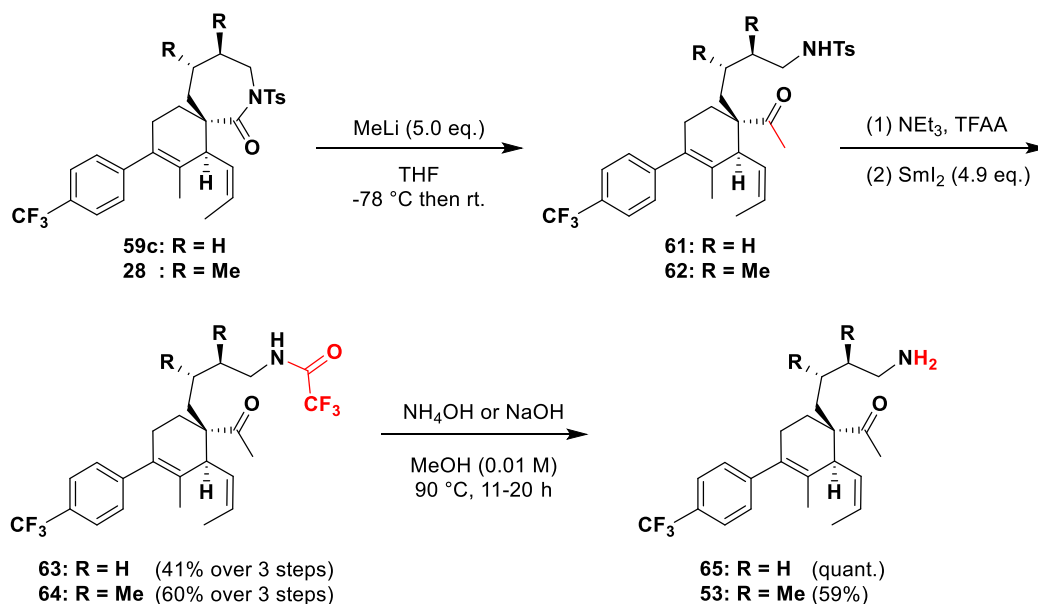
4-2 7,6-スピロイミン誘導体の安定性

一般的にイミンは容易に加水分解を受け、対応するカルボニル化合物とアミンに戻るが、環状イミン毒のイミン部位は極めて高い安定性を示すことが知られている。この要因の一つに7員環が有するジメチル基の影響が考えられるが、それを実証した例はない。またこれまでの合成研究により、それらのジメチル基がイミン形成反応の反応性にも影響を及ぼすことが分かってきた。本節では、7,6-スピロイミン誘導体の合成実験を展開してきた中で明らかとなった、ジメチル基のイミン形成反応および安定性への影響について議論する。

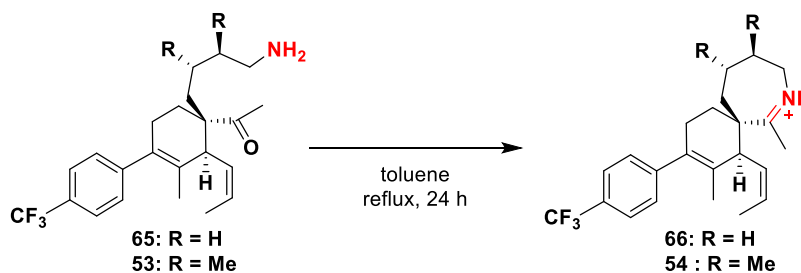
4-2-a ジメチル基によるイミン形成反応への影響

まず、イミン形成反応に対するジメチル基の影響を調べるために、4位に芳香環を有する前駆体(ジメチル体 **53** およびデメチル体 **65**)をそれぞれ合成し(スキーム 4-3)、それらを用いてイミン形成反応の検討を行った(表 4-2)。ジメチル基を有するケトアミン **53** のイミン化は、第2章で述べたように TFA 存在下加熱還流することで容易に進行し、目的の 7,6-スピロイミン誘導体 **54** を定量的に得ることができた。一方、デメチル体 **65** の場合、同条件下では反応が進行せず、ジメチル基を除くことでイミン

化の反応性が著しく低下することが明らかとなった。条件検討の結果、エントリー4の条件において目的化合物 **66** を HPLC 精製により得ることに成功したが、その収率はわずか 1%に留まった。



スキーム 4-2 芳香環を有するケトアミン体の合成



Entry	SM	Conditions	Results
1	53 (R = Me)	TFA	quant.
2	65 (R = H)	NaHCO ₃	No reaction
3	65 (R = H)	TFA	No reaction
4	65 (R = H)	TFA, MS 4A	No reaction
5	65 (R = H)	NEt ₃ , Benzoic Acid, MS 4A	1% (NMR yield)

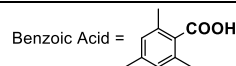


表 4-2 イミン形成反応の検討

このジメチル基の有無によるイミン形成反応の反応性の違いは、ソープ・インゴールド効果で説明できる (図 4-1)¹³⁾。すなわち、7員環が有するメチル基により配座自由度が減少し、環化反応に有利な配座に誘導される確率が高まったためであると考察した。このことは、二つのメチル基が天然物の配座の再現だけでなく、イミン形成反応においても必要不可欠な構造要因であることを実験的に示唆した結果といえる。

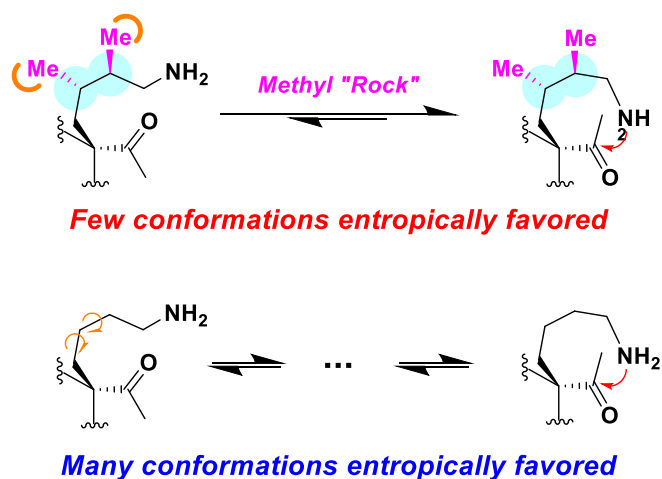
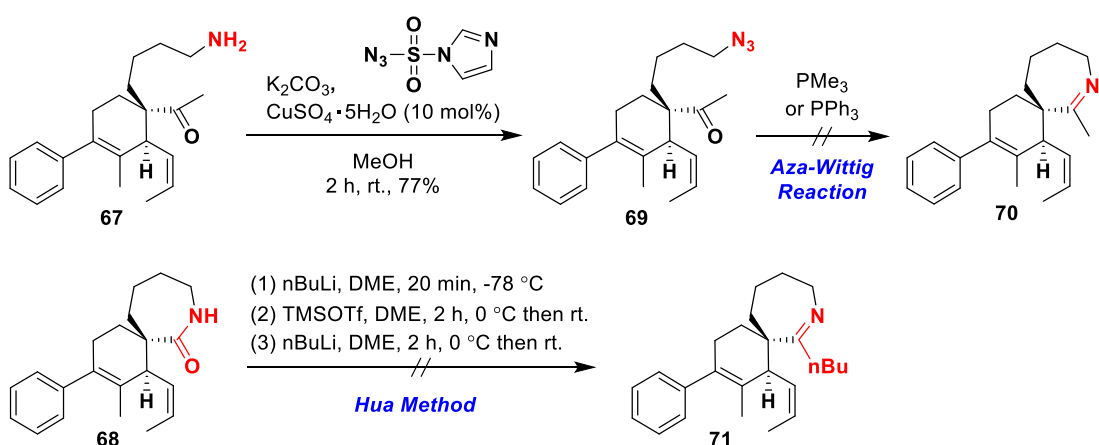


図 4-2 メチル基が及ぼすソープ・インゴールド効果

また、メチル基を持たない 7,6-スピロイミン誘導体の合成に関しては、ケトアミン **67** やラクタム **68** を用いて別の合成アプローチ (Aza-Wittig 反応や Hua 合成法の適用) の検討も行ったが、目的の 7,6-スピロイミン誘導体は得られなかった (スキーム 4-3)。



スキーム 4-3 他の合成経路によるイミン部位構築の検討

4-2-b ジメチル基による安定性への影響

次に、7,6-スピロイミン誘導体の安定性評価を行った。ジメチル基を含む **54** や **1** は、MeOH 溶媒中では数日かけて徐々にケトアミン体へと加水分解されたが、トルエン、ベンゼン、DMSO、クロロホルムでは非常に安定に存在することが明らかとなった (図 4-3)。一方で、デメチル体 **66** はクロロホルム、ベンゼン溶媒中においても容易に加水分解されることが確認された。

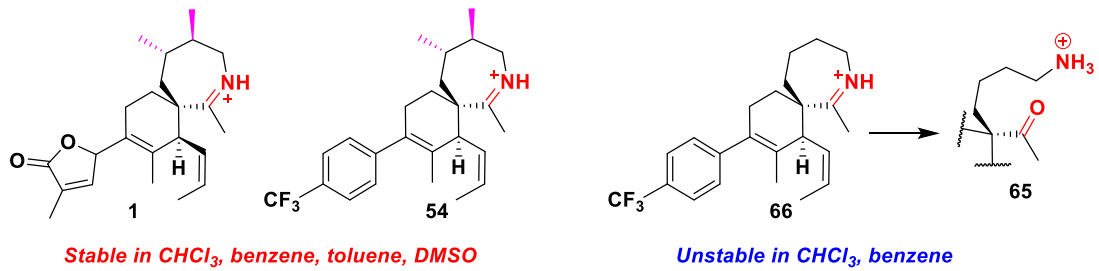
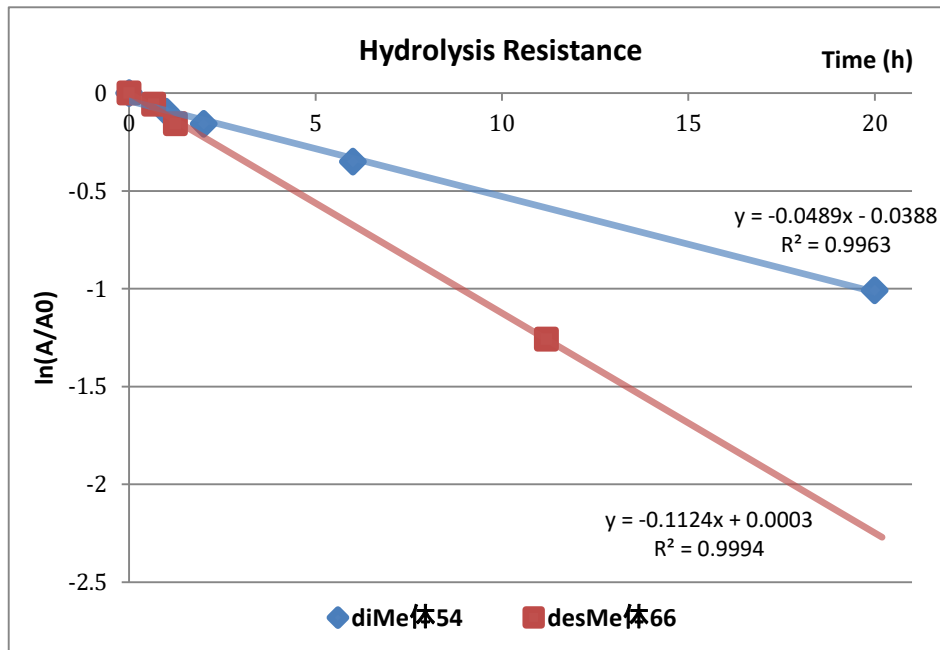


図 4-3 ジメチル基の有無による安定性の違い

また、リン酸バッファー中 35°Cでの安定性を比較した結果、11 時間後にジメチル体 **54** が 44%、デメチル体 **66** が 72%加水分解されることが明らかとなり、ジメチル基がイミン部位の加水分解耐性の向上に寄与していることが示唆された (図 4-4)。



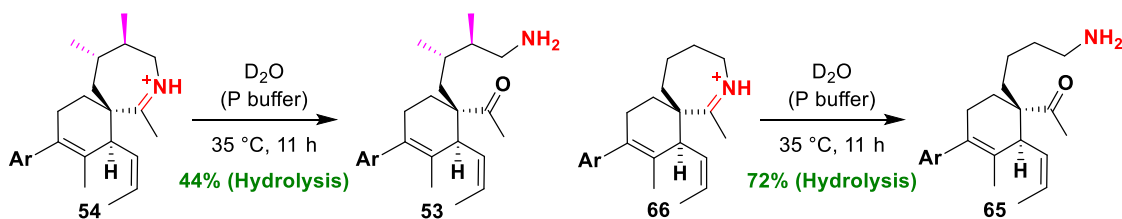


図 4-4 リン酸 Buffer 中での安定性評価

次に、ジメチル基の有無による安定性の違いについてイミン部位周辺の立体配座に焦点を当てて考察した。第 2 章でも述べた通り、ジメチル基による配座の固定化を受けないデメチル体は天然型とは異なる安定配座をとる。図 4-5 に示すように、非天然型の配座ではイミン部位周辺にスペースがあり、ここに水分子が進入することで容易に加水分解を受けると考えることができる。一方、天然型の配座の場合、イミン部位近傍に位置するアキシアル水素やオレフィン置換基との立体反発により水分子が反応点に近づきにくく、その結果加水分解が起こりにくいと考察した。

以上より、ジメチル基の安定性への影響を実験的に検証し、立体配座の観点から考察を行った。ジメチル基が加水分解耐性を向上させる本結果は、全ての環状イミン毒が 7,6-スピロ環にメチル基を有していることと深く関連していると推察できる。

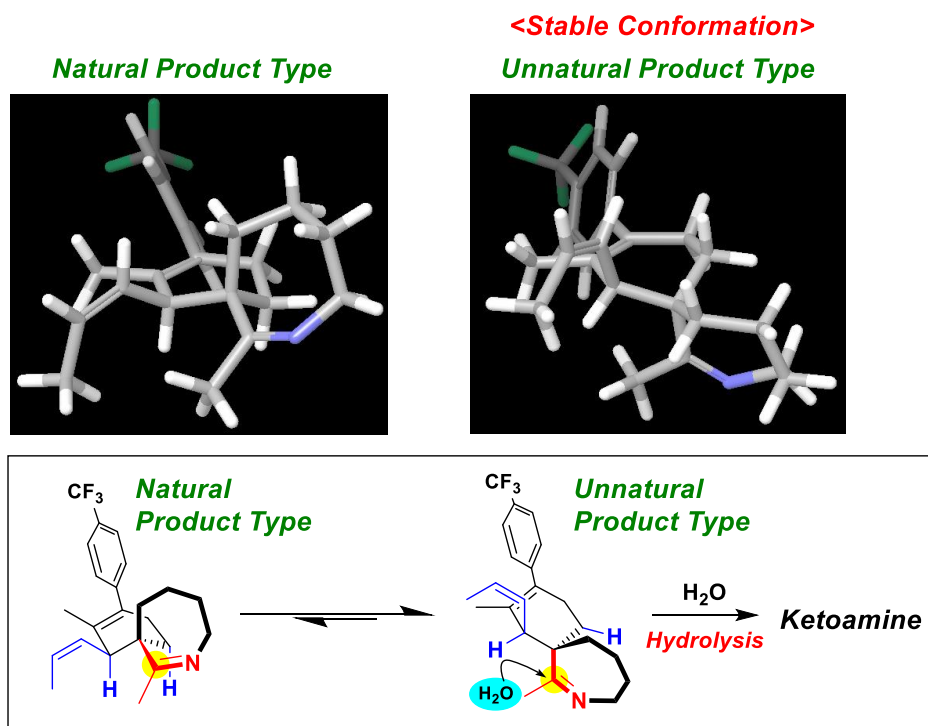


図 4-5 非天然型配座の加水分解機構

4-3 7,6-スピロイミン誘導体の結合親和性評価

次に7,6-スピロイミン誘導体のnAChRに対する結合親和性を評価した。ここでは、SPXをはじめとする環状イミン毒が $\alpha 4\beta 2$ サブタイプに強く結合することを考慮し、シナプトソーム中の $\alpha 4\beta 2$ サブタイプを用いて競合阻害実験を行った。

4-3-a シナプトソームの抽出

まず、競合阻害実験で用いるシナプトソーム（神経終末画分）の抽出を行った。哺乳類の脳の神経組織から単離されるシナプトソームは、イオンチャネル、レセプター、酵素とタンパク質など、神経伝達物質の放出・取り込みと貯蔵に関わる完全な分子機構を含んでいるため、シナプス伝達の研究でよく用いられる。このシナプトソームにはnAChRのサブタイプである $\alpha 4\beta 2$ も多く発現しており、今回はこれを用いて競合阻害実験を行うこととした。

シナプトソーム単離の概要を図4-6に示す。豚あるいはラットから単離された脳をポッター型ホモジナイザーで均質化させ、遠心分離（1000 g、10分）により構造の大きい組織破片を除いた。さらに、残った上澄みを超遠心分離（35000 g、1時間）することで、サイトゾルとシナプトソームを分離した。ペレットとして沈降したシナプトソームをバッファー溶液で懸濁させ超遠心分離器（35000 g、10分）を用いて洗浄を行った。その後、得られたシナプトソームはプロテアーゼカクテルを含むバッファー溶液で再懸濁させ、競合阻害実験を行うまで-80°Cで冷凍保管した。シナプトソーム中のタンパク質濃度については、BSA法を用いて評価した。

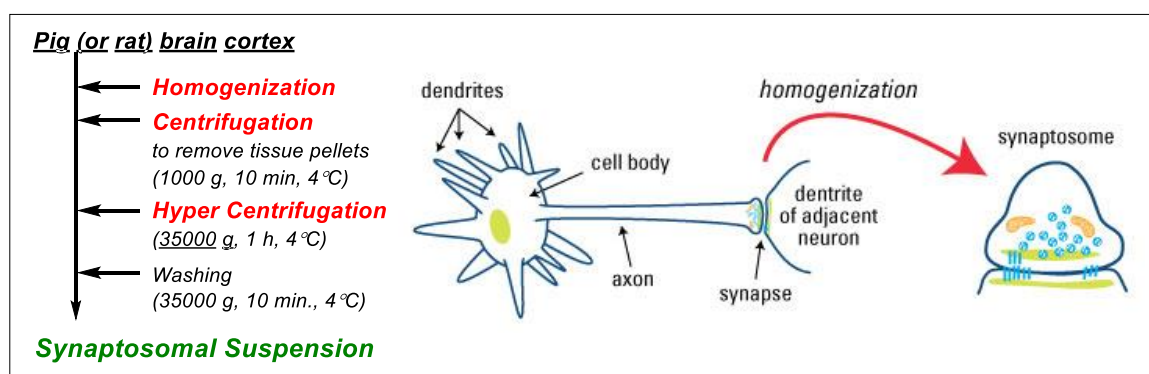


図4-6 シナプトソームの単離

4-3-b 競合阻害実験

次に、得られたシナプトソームを用いて競合阻害実験を行った。競合阻害剤として $\alpha 4\beta 2$ サブタイプに特異的に結合する放射性標識化された $[^3\text{H}]$ -エピバチジンを使用した (図 4-7)。まず、 $\alpha 4\beta 2$ サブタイプに強く結合することが知られているニコチン、およびエピバチジンの阻害活性を評価したところ、過去に報告されている阻害定数とおおむね同じ値を示した (図 4-8)。

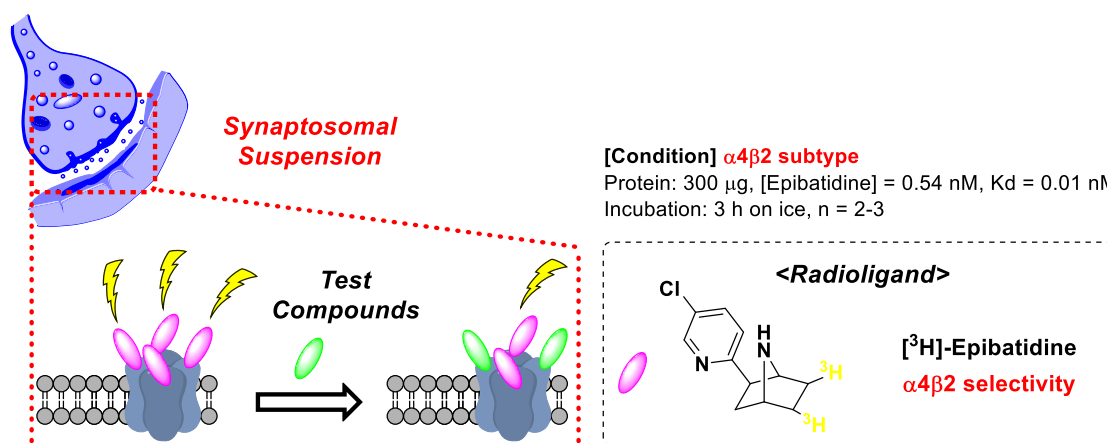


図 4-7 放射性標識化リガンドを用いた競合阻害実験

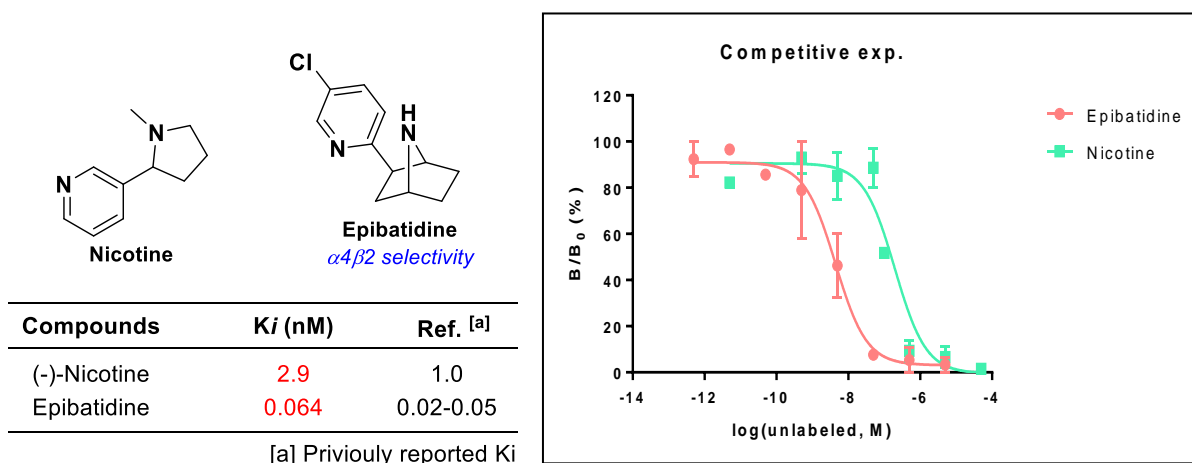


図 4-8 ニコチンおよびエピバチジンの阻害活性評価

ポジティブコントロールの結果を受けて、次に合成した 7,6-スピロイミン誘導体の阻害活性を調べた。まず、5 位に芳香環を有する誘導体 **54** の阻害活性を評価したとこ

ろ、有意な活性は認められなかった (図 4-10)。また、SPX と同様に γ -ブテノリド環を有する 7,6-スピロイミン誘導体 **1b** においても阻害活性が確認されなかったことから、今回合成した部分構造は天然物と同等の活性を発現しないことが示唆された。

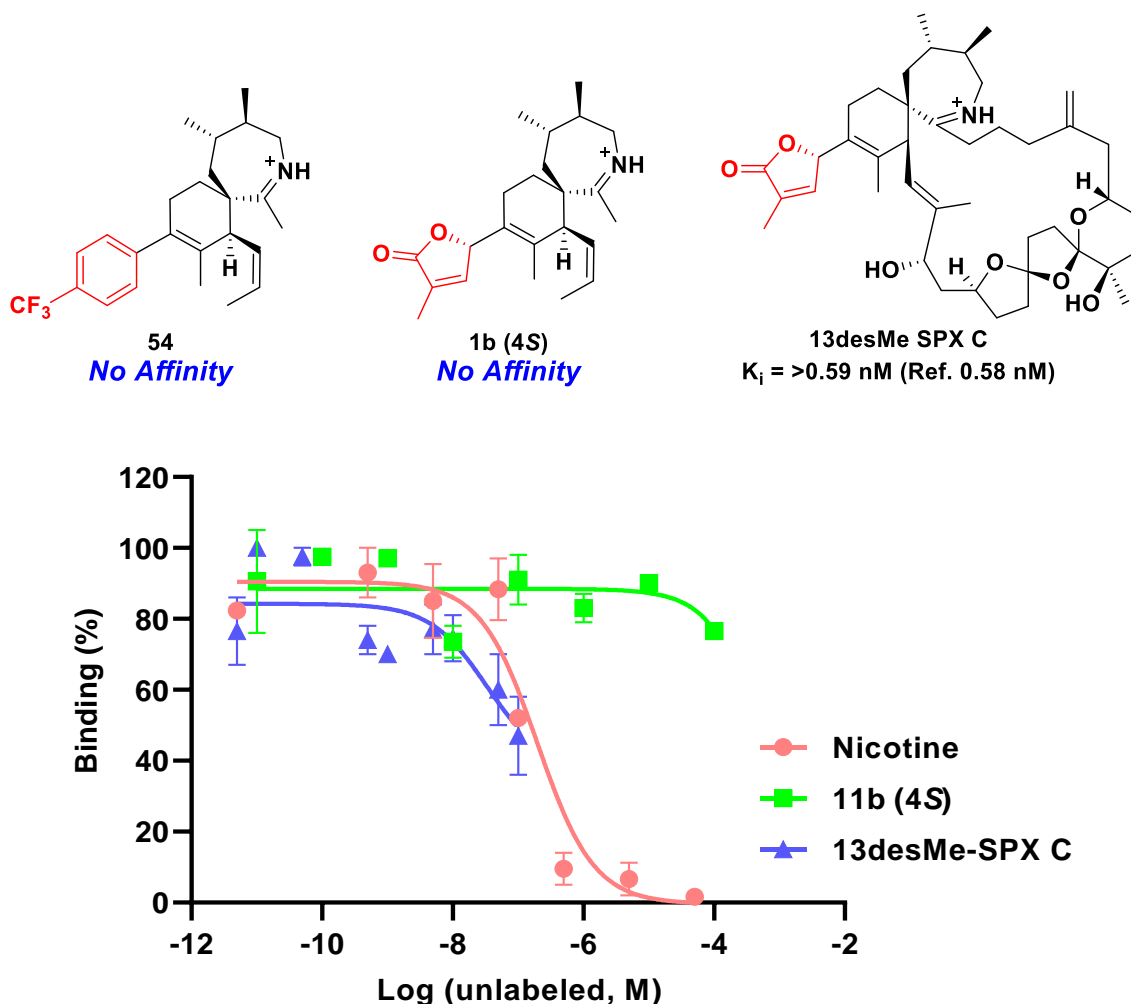


図 4-10 ジメチル体の阻害活性評価

合成した部分構造が環状イミン毒のファーマコフォアを有しているにも関わらず阻害活性を発現しない理由の一つに、イミン部位の低い安定性が挙げられる。すなわち、活性評価中にイミン部位が加水分解され、不活性なケトアミン体に変換されてしまっているという可能性である。4-2 でイミン部位の安定性がジメチル基によって向上されることが実証されたが、その寄与は天然物の高い安定性には及ばない。Zakarianらは、環状イミン毒の PnTX が pH 7.3 のバッファー溶液中 100°C で加熱してもわずか

20%の加水分解しか起こらないことを明らかにしており、これは合成した 7,6-スピロイミン誘導体に比べて極めて高い安定性を有することを意味する (図 4-11)。この天然物と誘導体における安定性の大きな差は、やはり構造上の違いであるビススピロアセタール環の影響が大きい。図 4-12 の CPK モデルで示すように、環状イミン毒 (ここでは SPX) のビススピロアセタール環部分 (緑色) はイミン近傍を覆うグローブ構造を取っており、これによってイミン部位への水分子のアクセスを妨げていると推察できる。一方、合成誘導体の場合、両側から水分子が自由にアクセスできるため、活性中心構造であるイミン部位が容易に加水分解を受けると考えられる (図 4-13)。以上のことを考えると、環状イミン毒のファーマコフォアを基盤とした化学的観点からの研究を展開するためには、このイミン部位の加水分解を防ぐような置換基の導入が必要であることが示唆された。

部分構造による有意な阻害活性は認められなかったが、本研究において得られた知見や考察は、nAChR 阻害作用を有する新たな 7,6-スピロイミン誘導体の分子設計の指針になることが期待される。

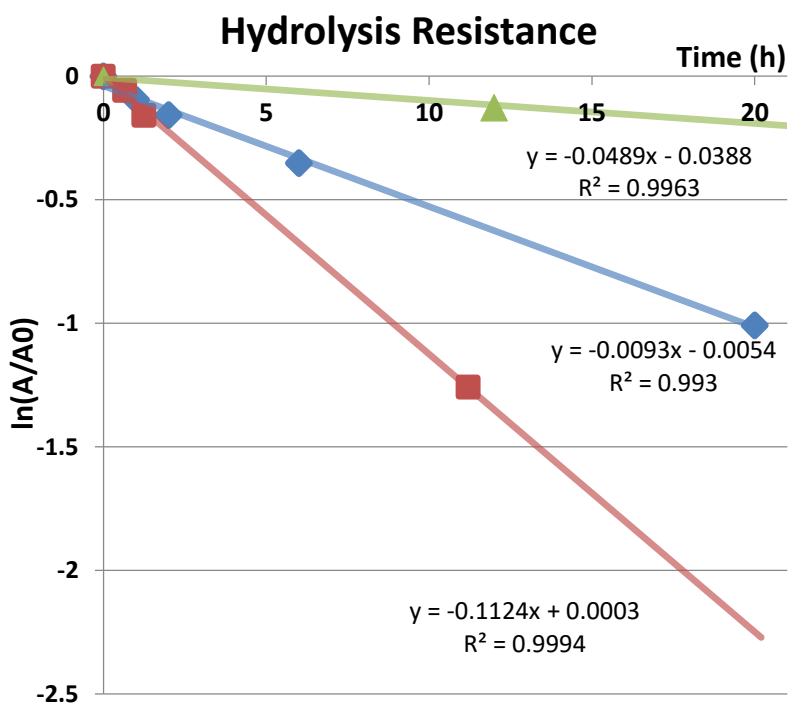


図 4-11 PnTX と合成誘導体のバッファー溶液中 (pH 7.3) における安定性の比較
 緑 : PnTX (100°C)、青 : ジメチル体 54 (35°C)、赤 : デメチル体 66 (35°C)

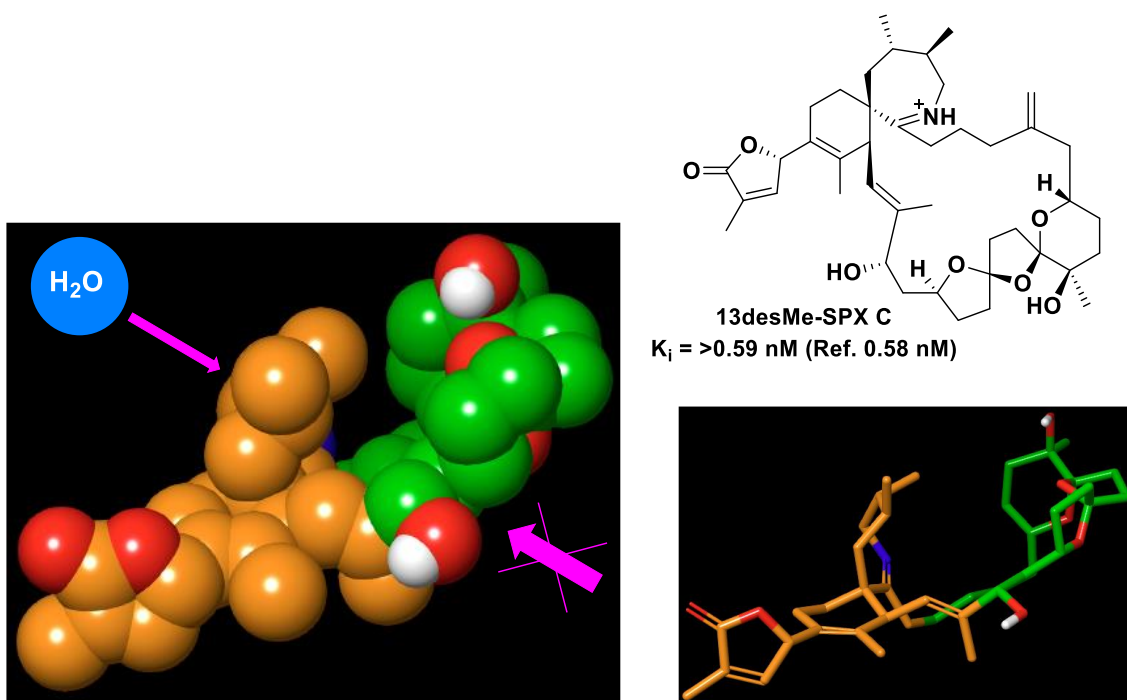


図 4-12 SPX の CPK (空間充填) モデル

ビススピロアセタール環 (緑) によるグローブ構造によって水分子のイミン部位へのアクセスを妨げていると考えられる

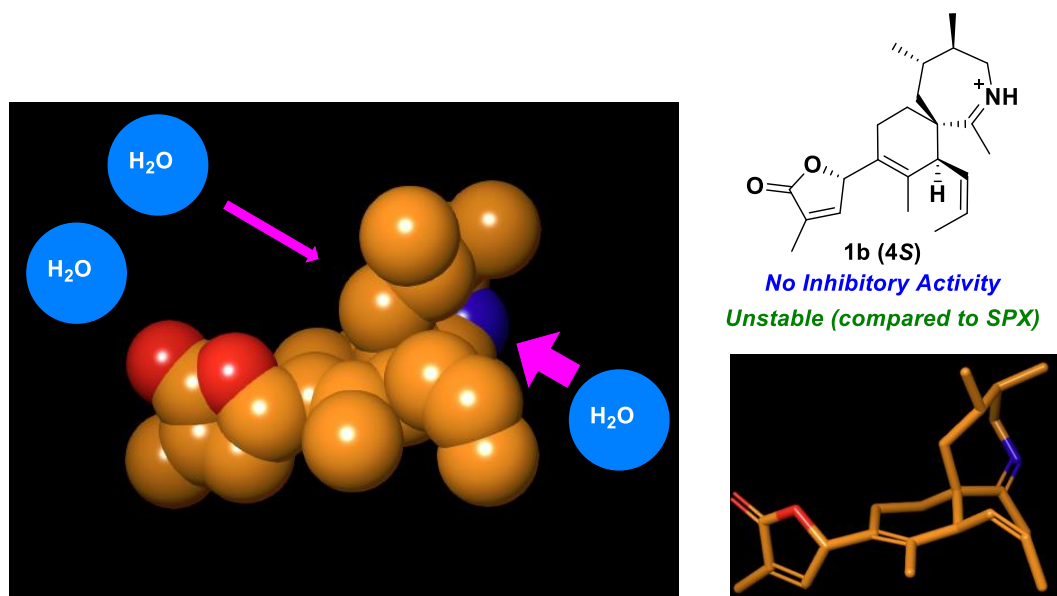


図 4-13 7,6-スピロイミン誘導体 **1b** の CPK モデル

両側からの水分子のアクセスにより活性中心構造であるイミン部位が容易に加水分外を受けると考察

参考文献

- (1) (a) Ishihara, J.; Horie, M.; Shimada, Y.; Tojo S.; Murai, A., *Synlett*. **2002**, 3, 403-406. (b) Stivala, C. E.; Zakarian, A., *Org. Lett.* **2009**, 11 (4), 839-842. (c) Gueret, S. M.; Furkert D. P.; Brimble, M. A., *Org. Lett.* **2010**, 12 (22), 5226-5229. (d) Ishihara, J.; Tojo, S.; Makino, T.; Sekiya, H.; Tanabe, A.; Shiraishi, M.; Murai A.; Hatakeyama, S., *Heterocycles* **2017**, 95, 422-444. (e) Ishihara, J.; Usui, F.; Kurose, T.; Baba, T.; Kawaguchi, Y.; Watanabe Y.; Hatakeyama, S., *Chem. Eur. J.* **2019**, 25, 1543-1552. (f) Guthertz, A.; Lusseau, J.; Desvergnès, V.; Massip, S.; Landais, Y., *Chem. Eur. J.* **2019**, 25, 1-9.; For the synthetic study of SPX, see: Stivala, C. E.; Gu, Z.; Smith, L. L.; Zakarian, A., *Org. Lett.* **2012**, 14, 804-807.
- (2) Tsuchikawa, H.; Minamino, K.; Hayashi, S.; Murata, M., *Asian J. Org. Chem.* **2017**, 6, 1322-1327.
- (3) Castellino, S.; *J. Org. Chem.* **1990**, 55, 5197
- (4) Yasukawa, Y.; Tsuchikawa, H.; Todokoro, Y.; Murata, M. *Asian. J. Org. Chem.* **2018**, 7, 1101-1106.
- (5) Yabe, Y.; Sawama, Y.; Monguchi, Y.; Sajiki, H. *Catal. Sci. Technol.*, **2014**, 4, 260.
- (6) Perrone, S.; Knochel, P. *Org. Lett.*, **2007**, 9 (6), 1041-1044.
- (7) (a) Langille, N.; Panek, J. *Org. Lett.*, **2004**, 6 (18) 3203-3206, (b) Denmark, S.; Liu, J.; Muhuhi, J. *J. Org. Chem.*, **2011**, 76, 201-215.
- (8) Moussa, Z.; Romo, D. *Synlett*, **2006**, 19, 3294-3298.
- (9) Ohtani, I.; Kusumi, T.; Kashman, Y.; Kakisawa, H. *J. Am. Chem. Soc.* **1991**, 113, 4092.
- (10) Araoz, R.; Servent, D.; Molgo, J.; Iorga, B.; Fruchart-Gaillard, C.; Benoit, E.; Gu, Z.; Stivala, C.; Zakarian, A. *J. Am. Chem. Soc.*, **2011**, 133, 10499-10511,
- (11) Falk, M.; Burton, W. I.; Hu, T.; Walter, A. J.; Wright, C. L. *J. Tetrahedron*, **2001**, 57, 8659-8665.
- (12) (a) Ciminiello, P.; Dell'Aversano, C.; Fattorusso, E.; Forino, M.; Grauso, L.; Tartaglione, L.; Guerrini, F.; Pistocchi, R. *J. Nat. Prod.* **2007**, 70, 1878-1883. (b) Ciminiello, P.; Catalanotti, B.; Dell'Aversano, C.; Fattorusso, C.; Fattorusso, E.; Forino, M.; Grauso, L.; Leo A.; Tartaglione, L. *Org. Biomol. Chem.* **2009**, 7, 3674-3681. (c) Ciminiello, P.; Dell'Aversano, C.; Iacovo, D. E.; Fattorusso, E.; Forino, M.; Grauso, L.; Tartaglione, L.; Guerrini, F.; Pezzolesi, L.; Pistocchi, R. *Toxicon*, **2010**, 56, 1327-1333.

第 5 章 結論

環状イミン毒の詳細な作用機構の解明を最終目標に掲げ、その一つ目の重要課題である SPX の 4 位の立体配置の解明を目指した。全合成による構造決定が困難であったことから、本研究では SPX のスピロイミンユニットに着目し、構造決定を可能とする 7,6-スピロイミン環部分構造の設計および合成、そして部分構造を用いた立体配置の決定を行った。

まず、NMR の比較による構造決定を加味し、SPX の化学構造と立体配座を再現した適切な 7,6-スピロイミン誘導体を設計した。その後、シラトランを基盤とした Diels-Alder 反応および炭素-炭素結合形成反応を用いることで、シクロヘキセン環の選択的構築と構造決定を意図した γ -ブテノリド環の簡便な導入を達成し、7,6-スピロイミン誘導体の両ジアステレオマー体の合成法の確立に成功した。

合成した誘導体の 7,6-スピロイミン環部分の立体配座を確認したところ、分子設計通り天然物と同等の配座を有していることが明らかとなった。この結果を受けて天然物の NMR データとの比較を行ったところ、*S* 体は天然物とよく一致した一方で、*R* 体は顕著な化学シフト差を示した。以上の結果より、天然物スピロリドの 4 位の立体配置が *S* 配置であることを実験的に明らかとした。

第 4 章では、7,6-スピロイミン誘導体を用いた化学的観点からの研究へと展開し、ジメチル基のイミン構造の安定性への寄与について実証した。また、競合阻害実験による生物活性評価により、今回合成した部分構造が nAChR 阻害活性を示さないことを確認した。

本研究は、SPX の部分構造を独自の的方法論により合成し、構造決定が困難であった 4 位の立体配置を実験的に明らかにしたものである。本研究で得られた知見および開発した方法論は、SPX の全合成研究や、nAChR に対する阻害機構の解明につながる化学的アプローチに有用であることが期待される。

実験の部

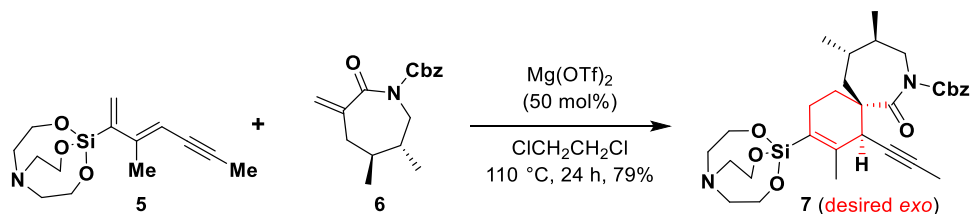
Chemistry

General Procedures

All reactions sensitive to air or moisture were performed under argon atmosphere with dry glassware unless otherwise noted in particular. The dehydrated solvents, dichloromethane (DCM), tetrahydrofuran (THF), toluene, *N,N*-dimethylformamide (DMF) were purchased from Kanto Chemical Co. Inc. or Wako Pure Chemical Industries Ltd. and were used without further dehydration. All other chemicals were purchased from local vendors, and used as supplied unless otherwise stated. Thin-layer chromatography (TLC) of E. Merck silica gel 60 F254 pre-coated plates (0.25-mm thickness) was used for the reaction analyses. For column chromatography, Kanto silica gel 60N (spherical, 100-210 μm or 40-50 μm) was used. Optical rotations were recorded on a JASCO P-1010 polarimeter. IR spectra were recorded on a JASCO FT-IR-300E Fourier transform infrared spectrometer. ^1H - and ^{13}C -NMR spectra were recorded on a JEOL JNM-ECS400 spectrometer, a JEOL JNM-ECA500 spectrometer and a Bruker AVANCE700. Chemical shifts are reported in ppm from tetramethylsilane (TMS) with reference to internal residual solvent [^1H NMR, CHCl_3 (7.24), CD_2HOD (3.30), C_6D_6 (7.16); ^{13}C NMR, CDCl_3 (77.16), CD_3OD (49.00), C_6D_6 (128.06)] The following abbreviations are used to designate the multiplicities: s = singlet, d = doublet, t = triplet, q = quartet, m = multiplet, br = broad, brd = broad doublet. High resolution mass spectra (HRMS) were recorded on a Thermo Scientific LTQ-Orbitrap XL mass spectrometer.

Experimental Procedures

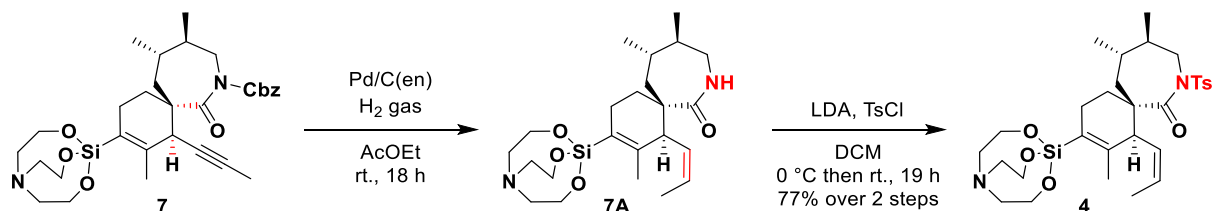
Desired-*exo* (7*R*,29*R*) vinyl silatrane derivative 7:



To a solution of the α -methylene- ϵ -lactam **6** (398 mg, 1.39 mmol) and silatrane dieneyne **5** (464 mg, 1.66 mmol) in $\text{ClCH}_2\text{CH}_2\text{Cl}$ (8.7 mL, 0.15 M) was added $\text{Mg}(\text{OTf})_2$ (224 mg, 0.69 mmol). After being stirred at $110\text{ }^\circ\text{C}$ for 24 h, the mixture was concentrated under reduced pressure. Purification by flash silica gel column chromatography (hexane/EtOAc = 2/1 to 1/4) afforded the desired-*exo* DA adduct **7** (623 mg, 1.10 mmol, 79%) as a slightly yellow solid, which is same as previously reported compound.

$R_f = 0.51$ (silica gel, EtOAc); $[\alpha]_D^{16} +40.8$ (c 0.07, CHCl_3); $^1\text{H NMR}$ (C_6D_6 , 500MHz): δ 7.44 (2H, d, $J = 7.5\text{ Hz}$), 7.11 (2H, t, $J = 7.5\text{ Hz}$), 7.05 (1H, t, $J = 7.5\text{ Hz}$), 5.24 (1H, d, $J = 13.0\text{ Hz}$), 5.20 (1H, d, $J = 13.0\text{ Hz}$), 4.26 (1H, brs), 3.86 (1H, dd, $J = 3.5, 15.0\text{ Hz}$), 3.54 (1H, dd, $J = 3.0, 15.0\text{ Hz}$), 3.35 (6H, t, $J = 5.5\text{ Hz}$), 2.79 (1H, d, $J = 18.5\text{ Hz}$), 2.69 (1H, d, $J = 18.5\text{ Hz}$), 2.53 (3H, s), 2.04 (1H, d, $J = 14.5\text{ Hz}$), 1.92 (6H, t, $J = 5.5\text{ Hz}$), 1.87 (1H, m), 1.75 (2H, m), 1.48 (3H, d, $J = 2.5\text{ Hz}$), 1.29 (1H, dd, $J = 11.0, 14.5\text{ Hz}$), 0.94 (3H, d, $J = 6.5\text{ Hz}$), 0.89 (1H, m), 0.81 (3H, d, $J = 6.5\text{ Hz}$); $^{13}\text{C NMR}$ (C_6D_6 , 125 MHz): δ 176.9, 156.8, 139.2, 137.0, 131.0, 128.5, 127.9, 127.3, 80.6, 77.4, 68.2, 58.7, 51.5, 51.4, 49.2, 43.3, 40.2, 36.2, 32.0, 30.2, 27.8, 23.8, 20.8, 17.9, 3.5; IR (neat) 2960, 2917, 2871, 1706, 1455, 1375, 1268, 1201, 1124, 1101, 771, 605, 590, 464, 455, 447, 418, 408 cm^{-1} ; HRMS (ESIMS): m/z calcd for $\text{C}_{31}\text{H}_{42}\text{N}_2\text{O}_6\text{SiNa}$ $[\text{M}+\text{Na}]^+$ 589.2710, found 589.2703.

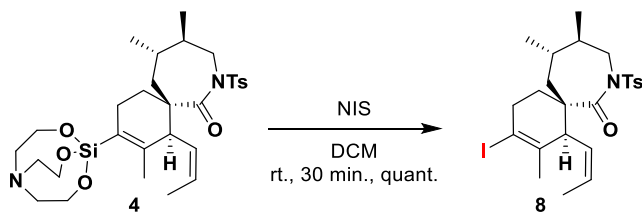
5-silatrane *N*-Ts Lactam 4:



To a solution of *N*-Cbz lactam **7** (0.116 g, 0.200 mmol) in EtOAc (8.0 mL) was added 4% Pd/C(en) (109 mg, 0.041 mmol) and injected H₂ gas. After being stirred at room temperature for 18 h, the reaction mixture was filtrated thorough Celite with EtOAc and concentrated under reduced pressure. The residue was used in the next step without further purification. To a solution of crude lactam **7A** in DCM (4.0 mL) was added 1.5 M LDA (1.3 mL, 2.0 mmol) at 0 °C slowly. After being stirred at 0 °C for 20 min., TsCl (57 mg, 0.30 mmol) was added at 0 °C. The resulting mixture was stirred under room temperature for 19 h. After cooling to room temperature, the reaction mixture was quenched with saturated NaHCO₃ solution and was stirred at room temperature for 15 min. The aqueous layer was extracted with DCM, and the organic layer was washed by brine, dried over anhydrous Na₂SO₄, filtered and concentrated under reduced pressure. Purification by flash silica gel column chromatography (hexane/EtOAc = 1/1 to 0/1) afforded the *N*-Ts lactam **7** (90.6 mg, 0.154 mmol, 77%) as an orange solid.

$R_f = 0.48$ (silica gel, EtOAc); $[\alpha]_D^{27} +86.5$ (c 0.12, CHCl₃); ¹H NMR (CDCl₃, 500 MHz): δ 7.81 (2H, d, $J = 8.0$ Hz), 7.22 (2H, d, $J = 8.0$ Hz), 5.47 (1H, dq, $J = 6.5, 10.0$ Hz), 5.01 (1H, t, $J = 10.0$ Hz), 4.22 (1H, d, $J = 15.5$ Hz), 3.83 (2H, m), 3.72 (6H, t, $J = 5.5$ Hz), 2.76 (6H, m), 2.38 (3H, s), 2.16 (2H, br), 1.67 (1H, m), 1.65 (3H, s), 1.62 (1H, m), 1.53 (3H, dd, $J = 0.5, 6.5$ Hz), 1.36-1.28 (4H, m), 1.09 (3H, d, $J = 5.5$ Hz), 0.92 (3H, d, $J = 6.0$ Hz); ¹³C NMR (CDCl₃, 125 MHz): δ 176.2, 143.6, 141.8, 137.3, 129.7, 129.6, 128.9, 128.7, 127.5, 58.8, 51.7, 50.7, 48.2, 45.7, 40.5, 36.8, 35.3, 32.8, 26.7, 22.6, 21.7, 21.2, 20.6, 17.7, 13.6; IR (neat) 2962, 2927, 1685, 1457, 1345, 1214, 1184, 1165, 1078, 1057, 1034, 811, 763, 730, 706, 660, 579, 545 cm⁻¹; HRMS (ESIMS): m/z calcd for C₃₀H₄₄N₂O₆SSiNa [M+Na]⁺ 611.2587, found 611.2589.

5-Iodide *N*-Ts lactam **8**:

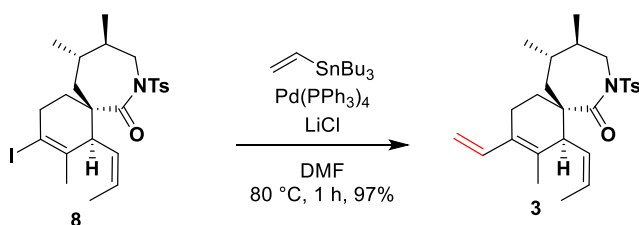


To a solution of 5-silatrane *N*-Ts lactam **4** (0.158 g, 0.269 mmol) in dry THF (5.4 mL) was added *N*-iodosuccinimide (91 mg, 0.40 mmol) and stirred at room temperature for 30 min. The reaction mixture was quenched with aqueous sodium thiosulfate at room temperature and

extracted with DCM three times. The organic layer was washed by brine, dried over anhydrous Na₂SO₄, filtered and concentrated under reduced pressure. Purification by open silica gel column chromatography (hexane/EtOAc = hexane to 3/1) afforded the vinyl iodide **8** (0.145 g, 0.268 mmol, quant.) as a light yellow solid.

R_f = 0.57 (silica gel, hexane/EtOAc = 3/1); $[\alpha]_D^{27}$ +174.6 (c 0.17, CHCl₃); ¹H NMR (CDCl₃, 500 MHz): δ 7.82 (2H, d, J = 8.5 Hz), 7.28 (2H, d, J = 8.5 Hz), 5.62 (1H, dq, J = 7.0, 11.0 Hz), 5.03 (1H, td, J = 1.5, 10.5 Hz), 4.13 (1H, dd, J = 3.5, 16.0 Hz), 4.00 (1H, dd, J = 3.5, 16.0 Hz), 3.69 (1H, d, J = 11.0 Hz), 2.42 (3H, s), 2.40 (1H, m), 2.03 (1H, m), 1.74 (3H, t, J = 2.0 Hz), 1.68 (1H, m), 1.65 (1H, m), 1.64 (3H, dd, J = 1.5, 7.0 Hz), 1.33 (2H, m), 1.26 (1H, m), 1.23 (1H, m), 1.12 (3H, d, J = 7.0 Hz), 0.92 (3H, d, J = 6.5 Hz); ¹³C NMR (CDCl₃, 125 MHz) δ 175.1, 144.5, 138.8, 136.2, 129.3, 129.0, 128.4, 127.9, 95.2, 50.5, 49.0, 45.6, 40.5, 40.3, 38.7, 35.4, 32.6, 28.3, 21.9, 21.3, 18.0, 13.6; IR (neat) 2961, 2926, 2875, 1686, 1344, 1166, 1080, 1060, 754, 661, 580, 545 cm⁻¹; HRMS (ESIMS): m/z calcd for C₂₄H₃₂INO₃Na [M+Na]⁺ 564.1045, found 564.1039.

5-vinyl *N*-Ts lactam **3**:

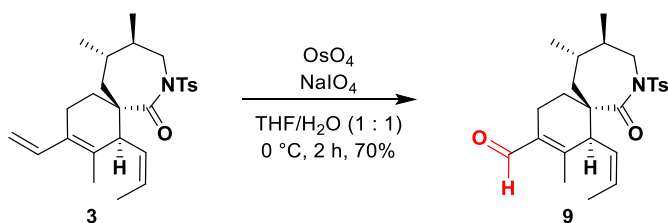


To a solution of vinyl iodide **8** (0.145 g, 0.268 mmol) in DMF (13.5 mL, Freeze-Pump-Thaw) was added LiCl (0.114 g, 2.70 mmol), Pd(PPh₃)₄ (0.062 g, 0.054 mmol) and tributylvinyltin (139 μ L, 0.480 mmol). After being stirred at 80 °C for 1 h, the reaction mixture was quenched by water and extracted with Et₂O. The organic layer was washed by brine and dried with anhydrous Na₂SO₄, filtrated and concentrated under reduced pressure. Purification by flash silica gel column chromatography (hexane/EtOAc = 10/1) afforded the 5-vinyl product **3** (0.115 g, 0.261 mmol, 97%) as a white solid.

R_f = 0.26 (hexane/EtOAc = 10/1); $[\alpha]_D^{27}$ +97.8 (c 0.23, CHCl₃); ¹H NMR (CDCl₃, 500 MHz): δ 7.81 (2H, d, J = 8.0 Hz), 7.22 (2H, d, J = 8.5 Hz), 6.59 (1H, dd, J = 11.0, 17.5 Hz), 5.60 (1H, dq, J = 7.0, 10.5 Hz), 5.01 (1H, td, J = 1.5, 11.0 Hz), 4.85 (1H, d, J = 11.0 Hz), 4.81 (1H, d, J

= 17.5 Hz) 4.16 (1H, dd, $J = 3.0, 15.5$ Hz), 4.03 (1H, dd, $J = 2.5, 15.5$ Hz), 3.61 (1H, d, $J = 11.0$ Hz), 2.39 (1H, m), 2.37 (3H, s), 2.00 (1H, m), 1.72 (1H, m), 1.71 (3H, s), 1.65 (2H, m), 1.64 (3H, dd, $J = 1.5, 7.0$ Hz), 1.32-1.27 (3H, m), 1.11 (3H, d, $J = 6.5$ Hz), 0.91 (3H, d, $J = 6.0$ Hz); ^{13}C NMR (CDCl_3 , 125 MHz) δ 175.6, 144.1, 136.6, 134.8, 134.2, 129.3, 129.0, 128.9, 127.5, 126.3, 110.6, 50.3, 49.0, 45.3, 40.5, 40.1, 35.4, 30.2, 22.4, 21.7, 21.2, 18.0, 17.7, 13.7; IR (neat) 2957, 2925, 1687, 1344, 1185, 1166, 1077, 1068, 707, 660, 583, 544 cm^{-1} ; HRMS (ESIMS): m/z calcd for $\text{C}_{26}\text{H}_{35}\text{NO}_3\text{SNa}$ $[\text{M}+\text{Na}]^+$ 464.2235, found 464.2229.

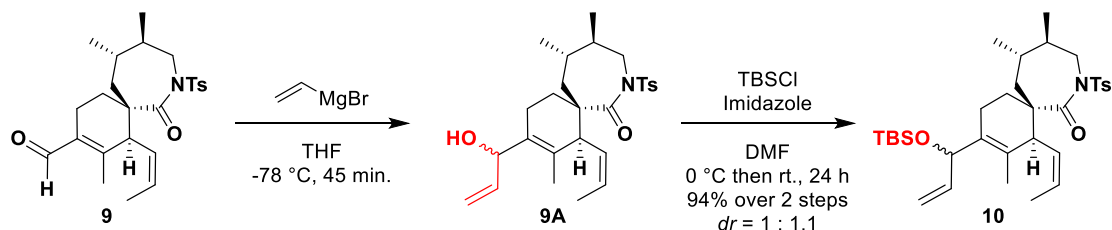
Aldehyde 9



To a solution of 5-vinyl lactam **3** (25.0 mg, 0.057 mmol) in THF (1.4 mL) and water (1.4 mL) was added 4% OsO_4 (10 μL , 0.0017 mmol) and NaIO_4 (24.0 mg, 0.110 mol) at 0 °C. After being stirred at 0 °C for 2 h, the reaction mixture was quenched by aqueous sodium thiosulfate. The aqueous layer was extracted with EtOAc, and the organic layer was washed by aqueous sodium thiosulfate and brine, dried over anhydrous Na_2SO_4 , filtered and concentrated under reduced pressure. Purification by open silica gel column chromatography (hexane/EtOAc = 2/1) afforded the aldehyde **9** (17.7 mg, 0.040 mmol, 70%) as a white solid.

$R_f = 0.43$ (hexane/EtOAc = 2/1); $[\alpha]_{\text{D}}^{27} +148.7$ (c 0.06, CHCl_3); ^1H NMR (CDCl_3 , 500 MHz): δ 9.85 (1H, s), 7.78 (2H, d, $J = 8.0$ Hz), 7.21 (2H, d, $J = 8.0$ Hz), 5.74 (1H, dq, $J = 7.0, 10.5$ Hz), 5.00 (1H, td, $J = 1.5, 11.0$ Hz), 4.23 (1H, dd, $J = 2.0, 16.0$ Hz), 3.95 (1H, dd, $J = 3.0, 15.5$ Hz), 3.57 (1H, d, $J = 11.0$ Hz), 2.39 (3H, s), 2.06 (1H, m), 2.03 (3H, s), 2.01 (1H, m), 1.75-1.64 (3H, m), 1.68 (3H, dd, $J = 1.5, 7.0$ Hz), 1.33 (1H, m), 1.24 (2H, m), 1.13 (3H, d, $J = 7.0$ Hz), 0.93 (3H, d, $J = 6.0$ Hz); ^{13}C NMR (CDCl_3 , 125 MHz) δ 190.4, 175.1, 157.8, 144.9, 135.9, 130.2, 129.9, 129.0, 127.6, 50.6, 48.5, 47.5, 40.5, 40.0, 35.2, 28.5, 21.7, 21.3, 20.1, 17.7, 17.0, 14.3, 13.7; IR (neat) 2960, 2926, 1684, 1664, 1346, 1167, 1080, 661, 581, 544 cm^{-1} ; HRMS (ESIMS): m/z calcd for $\text{C}_{25}\text{H}_{33}\text{NO}_4\text{SNa}$ $[\text{M}+\text{Na}]^+$ 466.2028, found 466.2037.

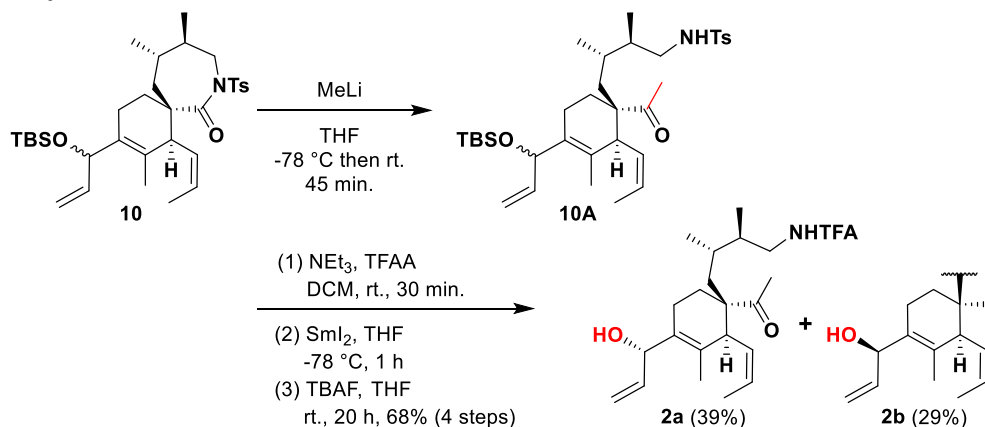
Silyl ether 10



To a solution of aldehyde **9** (50.4 mg, 0.114 mmol) in THF (5.5 mL) was added vinyl Grignald reagent (1.0 M, 0.45 mL, 0.45 mmol) at -78 °C. After being stirred at -78 °C for 1 h, the reaction mixture was quenched by saturated aqueous NH₄Cl at 0 °C. The resulting mixture was extracted with Et₂O. The organic layer was washed by brine, dried over anhydrous Na₂SO₄, filtered and concentrated under reduced pressure. Without purification, to this crude solution in DMF (2.2 mL) was added imidazole (111.9 mg, 1.644 mmol) and TBSCl (82.8 mg, 0.549 mmol) at 0 °C. After being stirred at room temperature for 24 h., the reaction mixture was quenched by saturated aqueous NH₄Cl, and the resulting mixture was extracted with EtOAc. The organic layer was washed by brine, dried over anhydrous NaSO₄, filtered and concentrated under reduced pressure. Purification by open silica gel column chromatography (hexane/EtOAc = 6/1) afforded the silyl ethers **10** (62.6 mg, 0.107 mmol, 94% over 2 steps) as a colorless oil as a mixture of two diastereomers (epimeric at C5 position, *dr* = 1:1.1).

R_f = 0.76 (hexane/EtOAc = 2/1); IR (neat) 2954, 2927, 2856, 1686, 1349, 1251, 1167, 1081, 1063, 1031, 854, 836, 774, 660, 582 cm⁻¹; HRMS (ESIMS): *m/z* calcd for C₃₃H₅₁NO₄SSiNa [M+Na]⁺ 608.3206, found 608.3197.

Allyl alcohols 2



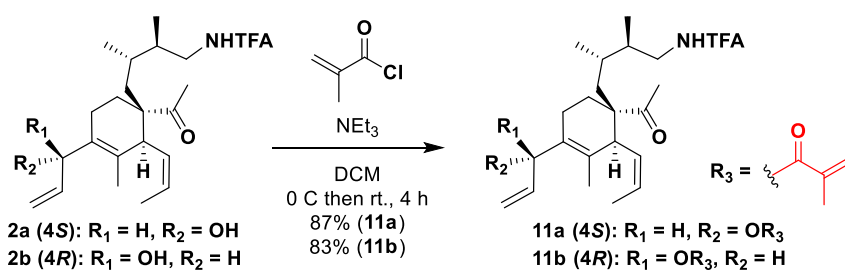
To a solution of *N*-Ts lactam **10** (0.197 g, 0.337 mmol) in THF (11.3 mL) was added methyl lithium solution (1.2 M, 5.6 mL, 6.8 mmol) at -78 °C. After being stirred at -78 °C for 5 min., the reaction mixture was warmed to room temperature. After being stirred at room temperature for 1 h, the reaction mixture was quenched by saturated aqueous NH₄Cl at 0 °C and extracted with Et₂O. The organic layer was washed by brine, dried over anhydrous Na₂SO₄, filtered and concentrated under reduced pressure. Without further purification, to a solution of the *N*-Ts amine **10A** at 0 °C was added NEt₃ (236 μL, 1.70 mmol) and TFAA (240 μL, 1.70 mmol) [2]. After stirring at room temperature for 30 min., the reaction mixture was concentrated under reduced pressure. To a solution of intermediate in THF (1.7 mL) was added SmI₂ (0.1 M in THF, 16.6 mL, 1.66 mmol) at -78 °C. After stirring at -78 °C for 1 h, the reaction mixture was filtrated through open silica gel with EtOAc and concentrated under reduced pressure. Without further purification, the trifluoroacetamide and TBAF (1.0 M, 4.1 mL, 4.1 mmol) in dry THF (11.3 mL) was stirred at room temperature for 12 h, and then the reaction mixture was quenched by saturated aqueous NH₄Cl at 0 °C, and the resulting mixture was extracted with Et₂O. The organic layer was washed by brine, dried over anhydrous Na₂SO₄, filtered and concentrated under reduced pressure. Purification by open silica gel column chromatography with a very small amount of NEt₃ (hexane to hexane/EtOAc = 3/1 to 2/1 to 1/1) afforded the allyl alcohol **2a** (56.9 mg, 0.133 mmol, 39%) as a slightly yellow oil and the allyl alcohol **2b** (42.4 mg, 0.0988 mmol, 29%) as a slightly yellow oil, respectively.

2a: R_f = 0.23 (hexane/EtOAc = 2/1); [α]_D²⁷ +106.6 (c 0.05, CHCl₃); ¹H NMR (CDCl₃, 500 MHz): δ 6.56 (1H, br), 5.73 (1H, ddd, *J* = 3.0, 10.5, 17.5 Hz), 5.62 (1H, dq, *J* = 6.5, 11.0 Hz), 5.16 (1H, dt, *J* = 2.0, 17.0 Hz), 5.14 (1H, tq, *J* = 1.5, 11.0 Hz), 5.08 (1H, dt, *J* = 2.0, 10.5 Hz), 5.05 (1H, m), 3.52 (1H, d, *J* = 11.0 Hz), 3.26 (1H, m), 3.01 (1H, dt, *J* = 5.0, 13.5 Hz), 2.59 (1H, br), 2.24 (1H, dd, *J* = 8.0, 18.5 Hz), 2.12 (3H, s), 2.02 (1H, m), 1.90 (1H, m), 1.74 (3H, dd, *J* = 1.5, 6.5 Hz), 1.65 (3H, t, *J* = 2.0 Hz), 1.50 (2H, m), 1.33 (2H, m), 1.25 (1H, m), 0.77 (3H, d, *J* = 7.0 Hz), 0.67 (3H, d, *J* = 7.0 Hz); ¹³C NMR (CDCl₃, 125 MHz) δ 213.9, 138.5, 132.1, 130.2, 129.2, 126.4, 114.3, 71.3, 54.2, 44.3, 42.3, 41.7, 35.8, 28.0, 26.9, 26.0, 20.8, 17.9, 15.3, 14.0, 13.7, 11.9; IR (neat) 3329, 2965, 2934, 1711, 1560, 1459, 1388, 1365, 1358, 1209, 1185, 1161, 1028, 995, 927, 747, 727, 707, 472, 457 cm⁻¹; HRMS (ESIMS): *m/z* calcd for C₂₃H₃₄F₃NO₃Na [M+Na]⁺ 452.2388, found 452.2386.

2b: R_f = 0.11 (hexane/EtOAc = 2/1); [α]_D²⁷ +81.0 (c 0.05, CHCl₃); ¹H NMR (CDCl₃, 500 MHz): δ 6.70 (1H, br), 5.77 (1H, ddd, *J* = 4.5, 10.5, 17.0 Hz), 5.60 (1H, dq, *J* = 7.0, 11.0 Hz), 5.18 (1H, dt, *J* = 1.5, 17.0 Hz), 5.11 (1H, tq, *J* = 1.5, 11.0 Hz), 5.09-5.07 (2H, m), 3.54 (1H, d,

$J = 11.0$ Hz), 3.26 (1H, m), 3.01 (1H, dt, $J = 5.0, 13.5$ Hz), 2.85 (1H, br), 2.18 (3H, s), 2.14 (1H, m), 2.00 (2H, m), 1.74 (3H, dd, $J = 2.0, 7.0$ Hz), 1.64 (3H, t, $J = 1.5$ Hz), 1.53-1.36 (3H, m), 1.26 (1H, m), 0.77 (3H, d, $J = 7.0$ Hz), 0.67 (3H, d, $J = 7.0$ Hz); ^{13}C NMR (CDCl_3 , 125 MHz) δ 214.2, 138.5, 129.5, 126.3, 114.1, 71.4, 54.4, 44.3, 42.2, 41.8, 35.7, 27.8, 26.9, 26.1, 20.8, 17.8, 15.3, 13.7, 11.8; IR (neat) 3342, 2971, 2936, 1711, 1699, 1365, 1217, 1206, 1159, 994, 925, 773, 669 cm^{-1} ; HRMS (ESIMS): m/z calcd for $\text{C}_{23}\text{H}_{34}\text{F}_3\text{NO}_3\text{Na}$ $[\text{M}+\text{Na}]^+$ 452.2388, found 452.2386.

Allyl esters 11



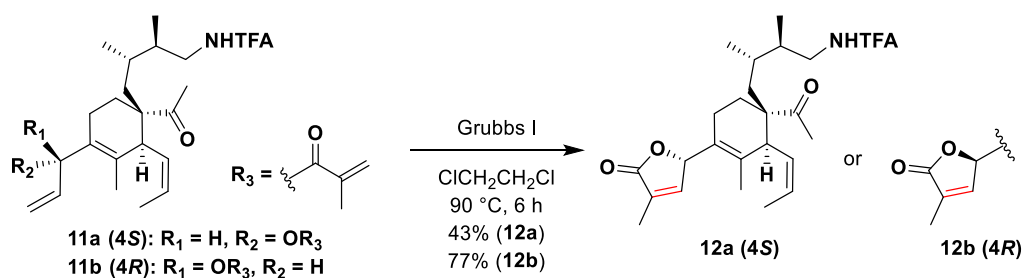
To a solution of the allyl alcohol **2a** (6.6 mg, 0.015 mmol) in DCM (0.50 mL) at 0 °C was added NEt_3 (41.5 μL , 0.299 mmol) and methacryloyl chloride (9.5 μL , 0.10 mmol). After stirring at 0 °C for 2 h, the reaction mixture was warmed to room temperature and stirred for 1 h. Then additional NEt_3 (41.5 μL , 0.299 mmol) and methacryloyl chloride (9.5 μL , 0.10 mmol) were added at 0 °C. After being stirred at room temperature for 1 h., the reaction mixture was quenched by saturated aqueous NH_4Cl at 0 °C, and the resulting mixture was extracted with DCM. The organic layer was washed by brine, dried over anhydrous Na_2SO_4 , filtered and concentrated under reduced pressure. Purification by open silica gel column chromatography with a very small amount of NEt_3 (hexane to hexane/EtOAc = 3/1) afforded the allyl ester **11a** (6.5 mg, 0.013 mmol, 87%) as a colorless oil.

11a: $R_f = 0.52$ (hexane/EtOAc = 2/1); $[\alpha]_{\text{D}}^{27} +105.0$ (c 0.12, CHCl_3); ^1H NMR (CDCl_3 , 500 MHz): δ 6.52 (1H, br), 6.10 (1H, s), 6.09 (1H, m), 5.67 (1H, ddd, $J = 4.5, 10.5, 17.0$ Hz), 5.63 (1H, dq, $J = 7.0, 11.0$ Hz), 5.55 (1H, s, $J = 1.5$ Hz), 5.13-5.08 (2H, m), 5.07 (1H, dt, $J = 1.5, 12.5$ Hz), 3.52 (1H, d, $J = 11.0$ Hz), 3.25 (1H, m), 3.02 (1H, dt, $J = 5.5, 13.5$ Hz), 2.12 (3H, s), 2.08-1.98 (3H, m), 1.95 (3H, s), 1.74 (3H, dd, $J = 1.5, 7.0$ Hz), 1.70 (3H, t, 2.0 Hz), 1.64 (1H, m), 1.51-1.42 (3H, m), 0.83 (1H, m), 0.77 (3H, d, $J = 7.0$ Hz), 0.66 (3H, d, $J = 7.0$ Hz); ^{13}C NMR (CDCl_3 , 125 MHz) δ 213.7, 166.3, 136.7, 134.7, 133.8, 128.9, 127.1, 126.8, 125.6,

115.6, 73.9, 54.2, 44.3, 42.5, 41.7, 35.9, 29.9, 28.2, 26.6, 26.0, 21.7, 18.5, 18.3, 15.4, 13.7, 11.9; IR (neat) 3335, 2973, 2942, 2892, 1712, 1562, 1458, 1387, 1209, 1183, 1160, 934, 757, 727, 668 cm^{-1} ; HRMS (ESIMS): m/z calcd for $\text{C}_{27}\text{H}_{38}\text{F}_3\text{NO}_4\text{Na}$ $[\text{M}+\text{Na}]^+$ 520.2651, found 520.2647.

11b: In the same manner as that described above, the allyl ester **11b** (4.9 mg, 0.010 mmol, 83%) was obtained from **5a** (5.1 mg, 0.012 mmol); $R_f = 0.52$ (hexane/EtOAc = 2/1); $[\alpha]_D^{27} +84.0$ (c 0.05, CHCl_3); ^1H NMR (CDCl_3 , 500 MHz): δ 6.52 (1H, br), 6.08 (1H, s), 6.04 (1H, m), 5.76 (1H, ddd, $J = 5.0, 10.5, 17.0$ Hz), 5.64 (1H, dq, $J = 7.0, 11.0$ Hz), 5.54 (1H, s, $J = 1.5$ Hz), 5.16 (1H, dt, $J = 1.5, 18.5$ Hz), 5.14 (1H, dt, $J = 1.5, 10.5$ Hz), 5.10 (1H, tq, $J = 1.5, 11.0$ Hz), 3.48 (1H, d, $J = 11.0$ Hz), 3.25 (1H, m), 3.04 (1H, dt, m), 2.12 (3H, s), 2.08-1.98 (3H, m), 1.93 (3H, s), 1.76 (3H, dd, $J = 1.5, 7.0$ Hz), 1.71 (3H, s), 1.51-1.44 (4H, m), 0.84 (1H, m), 0.77 (3H, d, $J = 7.0$ Hz), 0.67 (3H, d, $J = 7.0$ Hz); ^{13}C NMR (CDCl_3 , 125 MHz) δ 213.2, 166.2, 136.5, 134.8, 133.6, 129.3, 127.5, 126.7, 125.5, 115.7, 74.1, 54.2, 44.3, 43.4, 41.8, 36.3, 29.7, 28.4, 26.2, 26.1, 21.8, 18.5, 18.3, 15.5, 13.8, 12.0; IR (neat) 3324, 2966, 2933, 1714, 1220, 1183, 1158, 935, 781 cm^{-1} ; HRMS (ESIMS): m/z calcd for $\text{C}_{27}\text{H}_{38}\text{F}_3\text{NO}_4\text{Na}$ $[\text{M}+\text{Na}]^+$ 520.2651, found 520.2649.

Butenolides 12

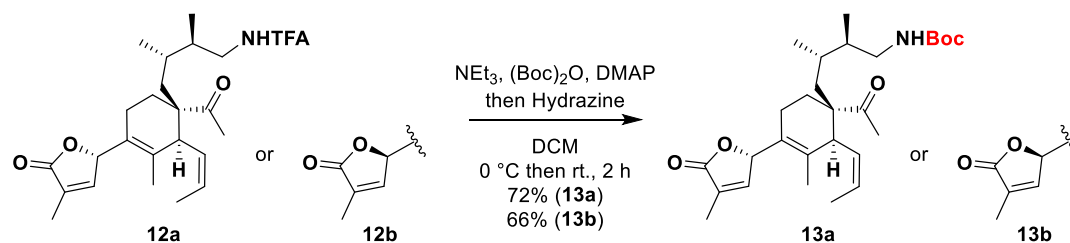


To a solution of the allylic ester **11a** (6.5 mg, 0.013 mmol) in $\text{ClCH}_2\text{CH}_2\text{Cl}$ (440 μL) was added Grubbs 1st catalyst (2.1 mg, 0.0026 mmol) at room temperature. After stirring at 90 $^\circ\text{C}$ for 2 h, additional Grubbs 1st catalyst (2.1 mg, 0.0026 mmol) were added. Moreover, after being stirred at 90 $^\circ\text{C}$ for 2.5 h., additional Grubbs 1st catalyst (2.1 mg, 0.0026 mmol) were added again. After being stirred at 90 $^\circ\text{C}$ for 1.5 h, the reaction mixture was evaporated under reduced pressure. Purification by open silica gel column chromatography (hexane to hexane/EtOAc = 4/1 to 2/1) afforded **12a** (2.6 mg, 0.0056 mmol, 43%) as a colorless oil.

12a: $R_f = 0.12$ (hexane/EtOAc = 2/1); $[\alpha]_D^{27} +106.0$ (c 0.05, CHCl_3); $^1\text{H NMR}$ (CDCl_3 , 500 MHz): δ 6.77 (1H, s, $J = 1.5$ Hz), 6.43 (1H, br), 5.73 (1H, t, $J = 1.5$ Hz), 5.68 (1H, dq, $J = 7.0$, 11.0 Hz), 5.12 (1H, tq, $J = 1.5$, 11.0 Hz), 3.57 (1H, d, $J = 11.0$ Hz), 3.26 (1H, m), 3.02 (1H, dt, $J = 5.0$, 13.5 Hz), 2.13 (3H, s), 1.94 (1H, m), 1.91 (3H, t, $J = 2.0$ Hz), 1.76 (3H, s), 1.75 (3H, dd, $J = 2.0$, 7.0 Hz), 1.67 (2H, m), 1.56 (1H, m), 1.48-1.41 (2H, m), 0.87-0.83 (2H, m), 0.78 (3H, d, $J = 7.0$ Hz), 0.66 (3H, d, $J = 7.0$ Hz); $^{13}\text{C NMR}$ (CDCl_3 , 125 MHz) δ 213.6, 174.7, 157.4, 147.7, 136.7, 130.6, 128.5, 127.2, 123.8, 79.7, 54.3, 44.3, 42.4, 35.9, 29.9, 28.1, 26.5, 25.9, 20.7, 18.0, 15.2, 13.8, 11.8, 10.8; IR (neat) 3341, 2966, 2933, 2860, 1759, 1715, 1560, 1459, 1366, 1212, 1179, 1163, 1107, 1044, 955, 727, 421 cm^{-1} ; HRMS (ESIMS): m/z calcd for $\text{C}_{25}\text{H}_{34}\text{F}_3\text{NO}_4\text{Na}$ $[\text{M}+\text{Na}]^+$ 492.2338, found 492.2340.

12b: In the same manner as that described above, the butenolide **12b** (3.6 mg, 0.0077 mmol, 77%) was obtained from **11b** (4.9 mg, 0.0099 mmol); $R_f = 0.24$ (hexane/EtOAc = 2/1); $[\alpha]_D^{27} +82.8$ (c 0.05, CHCl_3); $^1\text{H NMR}$ (CDCl_3 , 500 MHz): δ 6.79 (1H, s, $J = 1.5$ Hz), 6.55 (1H, br), 5.72 (1H, t, $J = 1.5$ Hz), 5.64 (1H, dq, $J = 7.0$, 11.0 Hz), 5.05 (1H, tq, $J = 1.5$, 11.0 Hz), 3.64 (1H, d, $J = 11.0$ Hz), 3.28 (1H, m), 2.98 (1H, dt, $J = 5.0$, 13.5 Hz), 2.17 (3H, s), 1.96 (1H, m), 1.91 (3H, t, $J = 2.0$ Hz), 1.75 (3H, dd, $J = 2.0$, 7.0 Hz), 1.73 (3H, s), 1.60 (2H, m), 1.52 (1H, m), 1.48-1.36 (2H, m), 0.88-0.78 (2H, m), 0.77 (3H, d, $J = 7.0$ Hz), 0.66 (3H, d, $J = 7.0$ Hz); $^{13}\text{C NMR}$ (CDCl_3 , 125 MHz) δ 213.7, 174.5, 157.5, 147.4, 135.5, 130.1, 129.0, 126.9, 123.6, 80.0, 54.2, 44.3, 41.9, 41.7, 35.5, 29.9, 27.6, 26.9, 26.1, 20.2, 18.0, 15.2, 13.7, 11.8, 10.7; IR (neat) 3340, 2966, 2946, 2860, 1746, 1723, 1440, 1366, 1230, 1177, 955, 722, 410 cm^{-1} ; HRMS (ESIMS): m/z calcd for $\text{C}_{25}\text{H}_{34}\text{F}_3\text{NO}_4\text{Na}$ $[\text{M}+\text{Na}]^+$ 492.2338, found 492.2342.

N-Boc amines 13



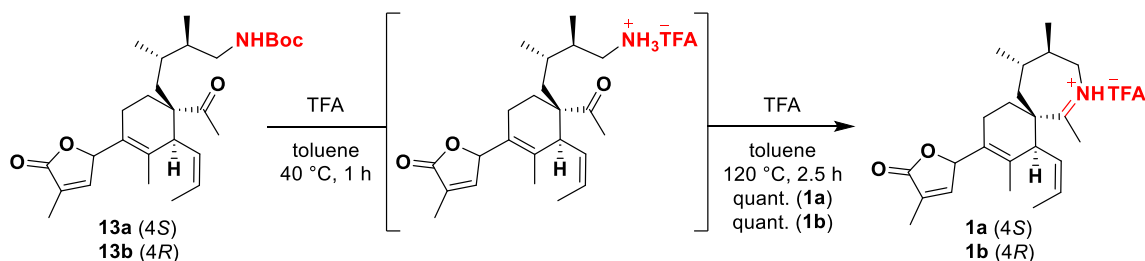
To a solution of the trifluoroacetamide **12a** (6.0 mg, 0.013 mmol) in DCM (1.6 mL) was added NEt_3 (32 μL , 0.23 mmol), DMAP (1.9 mg, 0.016 mmol) and $(\text{Boc})_2\text{O}$ (19.9 mg, 0.0911 mmol) at $0\text{ }^\circ\text{C}$ [3]. After stirring at room temperature for 1.5 h, hydrazine hydrate (18 μL , 0.59

mmol) was added at room temperature. After being stirred at room temperature for 20 min., the cloudy reaction mixture was quenched by saturated aqueous NH_4Cl at 0 °C, and the resulting mixture was extracted with DCM. The organic layer was washed by brine, dried over anhydrous Na_2SO_4 , filtered and concentrated under reduced pressure. Purification by open silica gel column chromatography (hexane/EtOAc = 2/1) afforded the *N*-Boc amine **13a** (4.4 mg, 0.0093 mmol, 72%) as a colorless oil.

13a: $R_f = 0.46$ (hexane/EtOAc = 1/1); $[\alpha]_D^{27} +94.2$ (c 0.055, CHCl_3); ^1H NMR (CDCl_3 , 500 MHz): δ 6.76 (1H, s, $J = 1.5$ Hz), 6.72 (1H, br), 5.67 (1H, dq, $J = 7.0, 11.0$ Hz), 5.12 (1H, tq, $J = 1.5, 11.0$ Hz), 4.46 (1H, br), 3.47 (1H, d, $J = 11.0$ Hz), 2.92 (2H, m), 2.10 (3H, s), 1.97 (1H, m), 1.91 (3H, t, $J = 1.5$ Hz), 1.88 (1H, m), 1.79 (3H, dd, $J = 2.0, 7.0$ Hz), 1.77 (3H, s), 1.55 (2H, m), 1.44 (9H, s), 1.29-1.22 (2H, m), 0.89-0.80 (2H, m), 0.73 (3H, d, $J = 7.0$ Hz), 0.64 (3H, d, $J = 7.0$ Hz); ^{13}C NMR (CDCl_3 , 125 MHz) δ 221.6, 168.5, 156.2, 147.8, 136.5, 130.4, 128.9, 127.0, 124.1, 79.7, 54.1, 43.3, 42.1, 37.7, 29.9, 28.6, 25.6, 22.9, 20.7, 18.1, 15.4, 14.3, 14.1, 12.0, 10.8; IR (neat) 3395, 2970, 2935, 2850, 1754, 1707, 1524, 1458, 1392, 1368, 1279, 1254, 1176, 1099, 1045, 957, 868, 786, 700, 413 cm^{-1} ; HRMS (ESIMS): m/z calcd for $\text{C}_{28}\text{H}_{43}\text{NO}_5\text{Na}$ $[\text{M}+\text{Na}]^+$ 496.3039, found 496.3038.

13b: In the same manner as that described above, the *N*-Boc amine **13b** (10.0 mg, 0.0211 mmol, 66%) was obtained from **12b** (15.0 mg, 0.0320 mmol); $R_f = 0.55$ (hexane/EtOAc = 1/1); $[\alpha]_D^{27} +74.2$ (c 0.055, CHCl_3); ^1H NMR (CDCl_3 , 500 MHz): δ 6.79 (1H, s, $J = 1.5$ Hz), 6.72 (1H, br), 5.63 (1H, dq, $J = 7.0, 11.0$ Hz), 5.06 (1H, tq, $J = 1.5, 11.0$ Hz), 4.49 (1H, br), 3.52 (1H, d, $J = 10.5$ Hz), 2.92 (2H, m), 2.13 (3H, s), 1.97 (1H, m), 1.92 (3H, t, $J = 1.5$ Hz), 1.87 (1H, m), 1.79 (3H, dd, $J = 1.5, 7.0$ Hz), 1.75 (3H, s), 1.50 (2H, m), 1.44 (9H, s), 1.36-1.29 (2H, m), 0.89-0.80 (2H, m), 0.72 (3H, d, $J = 7.0$ Hz), 0.64 (3H, d, $J = 7.0$ Hz) ^{13}C NMR (CDCl_3 , 125 MHz) δ 222.3, 174.9, 155.9, 147.35, 135.5, 123.01, 129.4, 126.6, 123.8, 80.1, 54.0, 45.0, 43.0, 42.2, 37.2, 28.6, 26.6, 25.8, 20.3, 18.0, 15.4, 14.1, 12.0, 10.8; IR (neat) 3388, 2982, 2928, 2853, 1755, 1701, 1536, 1279, 1260, 1045, 791, 755 cm^{-1} ; HRMS (ESIMS): m/z calcd for $\text{C}_{28}\text{H}_{43}\text{NO}_5\text{Na}$ $[\text{M}+\text{Na}]^+$ 496.3039, found 496.3035.

Spirocyclic imines 1

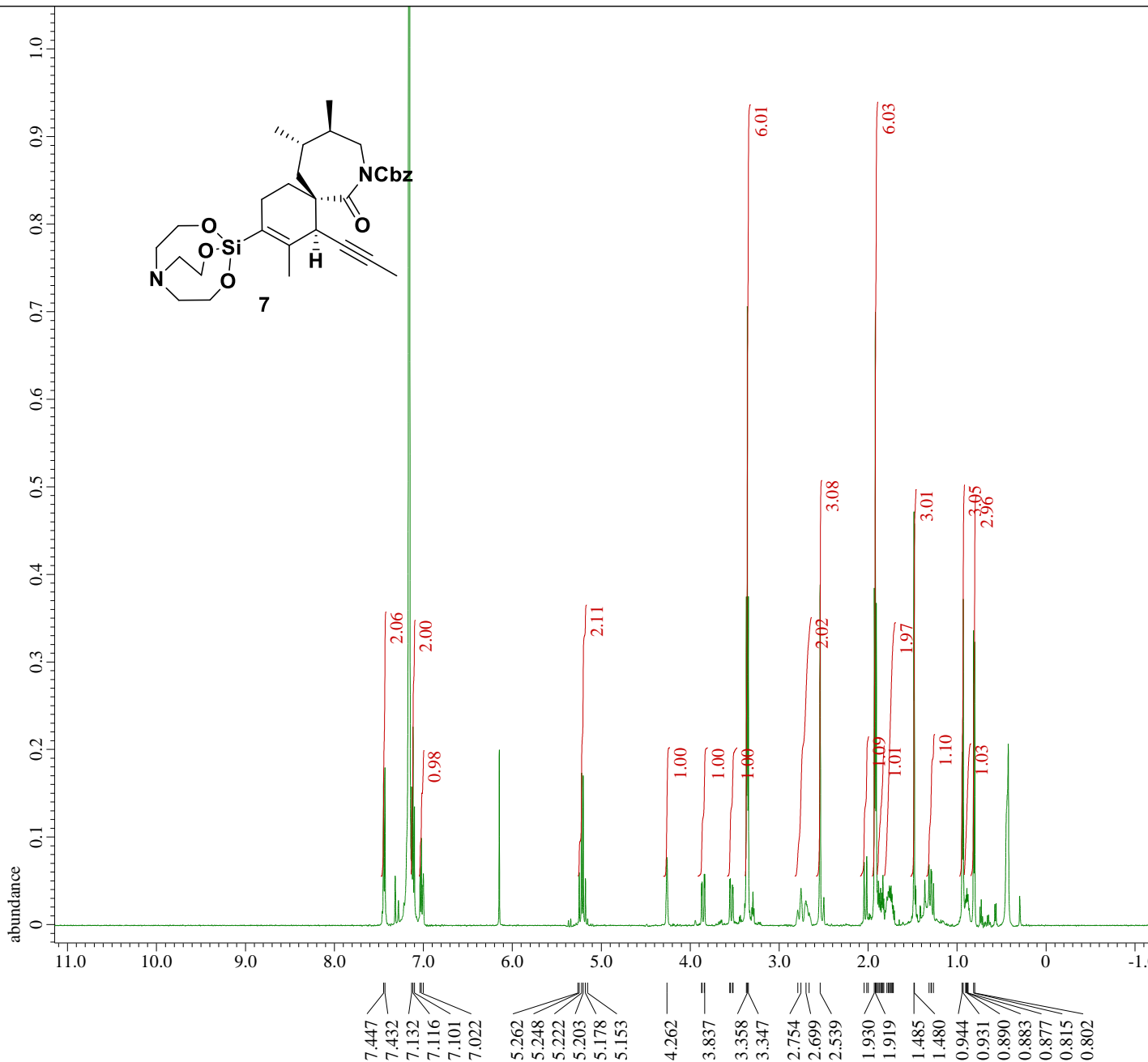


To a solution of the Boc amine **13a** (1.8 mg, 0.0038 mmol) in toluene (0.65 mL) was added TFA (1.5 μ L, 0.019 mmol). After stirring at 40 °C for 1 h, additional TFA (3.0 μ L, 0.038 mmol) was added at the same temperature. And then, after being stirred at 120 °C for 2.5 h., the solvent was evaporated and residue was dried under high vacuum to afforded **1a** (1.3 mg, 0.0037 mmol, quant.) as a yellow solid.

1a: $R_f = 0.55$ (CHCl₃/MeOH = 6/1); $[\alpha]_D^{25} +129.6$ (c 0.05, CHCl₃); ¹H NMR (CD₃OD, 500 MHz): δ 7.14 (1H, t, $J = 1.5$ Hz), 5.97 (1H, br), 5.88 (1H, dq, $J = 7.0, 11.0$ Hz), 5.25 (1H, t, $J = 11.0$ Hz), 4.07 (1H, dd, $J = 5.0, 13.5$ Hz), 3.77 (1H, d, $J = 10.5$ Hz), 3.47 (1H, dd, $J = 2.5, 13.5$ Hz), 3.22 (3H, s), 2.20 (1H, m), 1.95 (1H, m), 1.91 (3H, t, $J = 2.0$ Hz), 1.85 (3H, dd, $J = 1.5, 6.5$ Hz), 1.83 (1H, m), 1.79 (1H, m), 1.77 (3H, s), 1.75 (1H, m), 1.72 (1H, m), 1.57 (1H, br), 1.29 (1H, m), 1.08 (3H, d, $J = 7.0$ Hz), 1.03 (3H, d, $J = 6.5$ Hz); ¹³C NMR (CD₃OD, 175 MHz) δ 202.4, 176.8, 149.5, 133.9, 131.2, 130.7, 128.0, 126.3, 82.0, 52.6, 50.4, 46.7, 45.3, 39.0, 38.2, 36.4, 31.0, 20.8, 20.3, 18.5, 17.1, 14.4, 10.5; IR (neat) 3019, 2966, 2933, 2857, 1756, 1680, 1464, 1384, 1192, 1190, 1136, 1110, 1042, 796, 755, 719, 663 cm⁻¹; HRMS (ESIMS): m/z calcd for C₂₃H₃₄NO₂ [M+H]⁺ 356.2584, found 356.2588, m/z calcd for C₂₃H₃₃NO₂Na [M+Na]⁺ 378.2409, found 378.2407.

1b: In the same manner as that described above, the spirocyclic imine **1b** (0.8 mg, 0.002 mmol, quant.) was obtained from **13b** (1.1 mg, 0.002 mmol); $R_f = 0.55$ (CHCl₃/MeOH = 6/1); $[\alpha]_D^{25} +90.4$ (c 0.05, CHCl₃); ¹H NMR (CD₃OD, 500 MHz): δ 7.15 (1H, br), 5.99 (1H, br), 5.86 (1H, dq, $J = 7.0, 11.0$ Hz), 5.25 (1H, t, $J = 11.0$ Hz), 4.03 (1H, dd, $J = 4.0, 14.0$ Hz), 3.80 (1H, d, $J = 11.0$ Hz), 3.54 (1H, dd, $J = 3.5, 14.0$ Hz), 3.22 (3H, s), 1.98-1.93 (2H, m), 1.92 (2H, m), 1.91 (3H, t, $J = 2.0$ Hz), 1.86 (3H, dd, $J = 1.5, 6.5$ Hz), 1.83 (3H, s), 1.75 (1H, m), 1.69 (1H, m), 1.59 (1H, m), 1.32 (1H, m), 1.08 (3H, d, $J = 7.0$ Hz), 1.01 (3H, d, $J = 7.0$ Hz); ¹³C NMR (CD₃OD, 175 MHz) δ 202.5, 176.7, 150.1, 136.1, 131.4, 130.3, 128.1, 126.2, 81.3, 52.9, 50.1, 46.4, 45.3, 39.1, 38.9, 36.4, 30.8, 30.6, 21.0, 20.9, 18.4, 17.7, 14.3, 10.5; IR (neat) 2968, 2928, 2862, 1757, 1681, 1201, 1137, 1045, 756 cm⁻¹; HRMS (ESIMS): m/z calcd for C₂₃H₃₃NO₂Na [M+Na]⁺ 378.2409, found 378.2409.

Copies of ^1H , ^{13}C NMR Spectra



Filename = KM-6-122-F2_proton-1-10.
Author = Murata
Experiment = proton.jxp
Sample_Id = KM-6-122-F2'
Solvent = BENZENE-D6
Actual_Start_Time = 2-MAR-2017 14:07:02
Revision_Time = 17-OCT-2019 14:00:06

Comment = single_pulse
Data_Format = 1D_REAL
Dim_Size = 26214
Dim_Title = Proton
Dim_Units = [ppm]
Dimensions = X
Site = ECA 500
Spectrometer = JNM-ECA500

Field_Strength = 11.7473579[T] (500[MHz])
X_Acq_Duration = 3.49175808[s]
X_Domain = 1H
X_Freq = 500.15991521[MHz]
X_Offset = 5.0[ppm]
X_Points = 32768
X_Prescans = 1
X_Resolution = 0.28638868[Hz]
X_Sweep = 9.38438438[kHz]
X_Sweep_Clipped = 7.50750751[kHz]
Irr_Domain = Proton
Irr_Freq = 500.15991521[MHz]
Irr_Offset = 5.0[ppm]
Tri_Domain = Proton
Tri_Freq = 500.15991521[MHz]
Tri_Offset = 5.0[ppm]
Clipped = FALSE
Scans = 8
Total_Scans = 8

Relaxation_Delay = 5[s]
Recvr_Gain = 48
Temp_Get = 25[dC]
X_90_Width = 6.4[us]
X_Acq_Time = 3.49175808[s]
X_Angle = 45[deg]
X_Atn = 4.5[dB]
X_Pulse = 3.2[us]
Irr_Mode = Off
Tri_Mode = Off
Dante_Presat = FALSE
Initial_Wait = 1[s]
Phase = {0, 90, 270, 180, 180, 27}
Repetition_Time = 8.49175808[s]

X : parts per Million : Proton

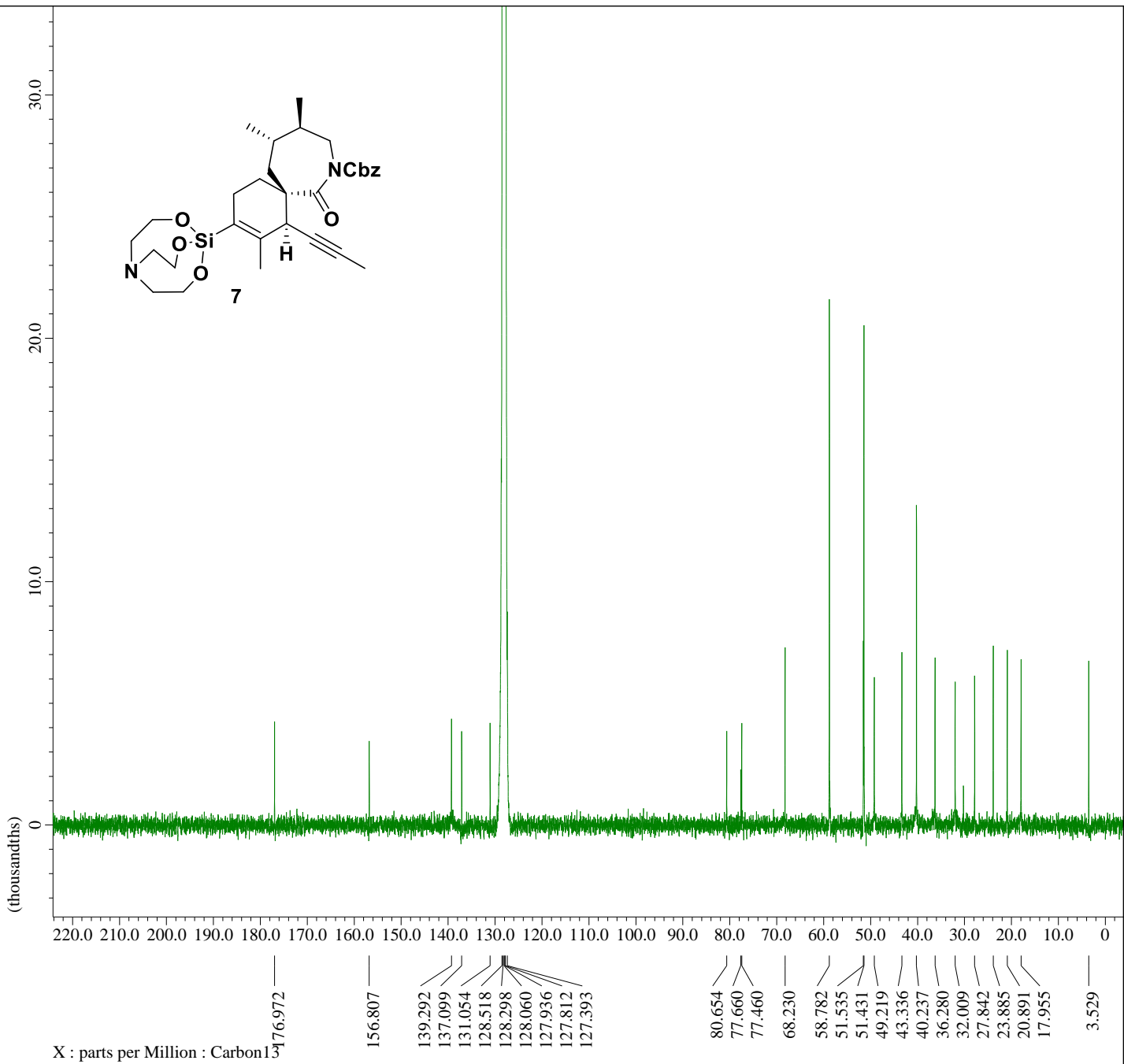
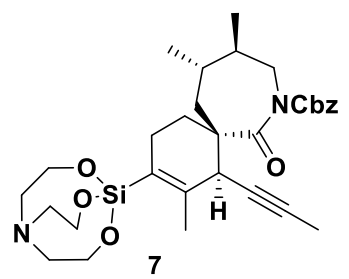


Filename = KM-6-121-F2_carbon-1-6.jd
Author = Murata
Experiment = carbon.jxp
Sample_Id = KM-6-121-F2
Solvent = BENZENE-D6
Actual_Start_Time = 3-MAR-2017 21:26:37
Revision_Time = 17-OCT-2019 17:25:35

Comment = single pulse decoupled ga
Data_Format = 1D_REAL
Dim_Size = 26214
Dim_Title = Carbon13
Dim_Units = [ppm]
Dimensions = X
Site = JNM-ECS400
Spectrometer = DELTA2_NMR

Field_Strength = 9.389766[T] (400[MHz])
X_Acq_Duration = 1.04333312[s]
X_Domain = 13C
X_Freq = 100.52530333[MHz]
X_Offset = 100[ppm]
X_Points = 32768
X_Prescans = 4
X_Resolution = 0.95846665[Hz]
X_Sweep = 31.40703518[kHz]
X_Sweep_Clippped = 25.12562814[kHz]
Irr_Domain = Proton
Irr_Freq = 399.78219838[MHz]
Irr_Offset = 5[ppm]
Clipped = TRUE
Scans = 71113
Total_Scans = 71113

Relaxation_Delay = 2[s]
Recvr_Gain = 58
Temp_Get = 25[dC]
X_90_Width = 9.8[us]
X_Acq_Time = 1.04333312[s]
X_Angle = 30[deg]
X_Atn = 5.5[dB]
X_Pulse = 3.26666667[us]
Irr_Atn_Dec = 21.742[dB]
Irr_Atn_Noie = 21.742[dB]
Irr_Noise = WALTZ
Irr_Pwidth = 0.115[ms]
Decoupling = TRUE
Initial_Wait = 1[s]
Noe = TRUE
Noe_Time = 2[s]
Repetition_Time = 3.04333312[s]



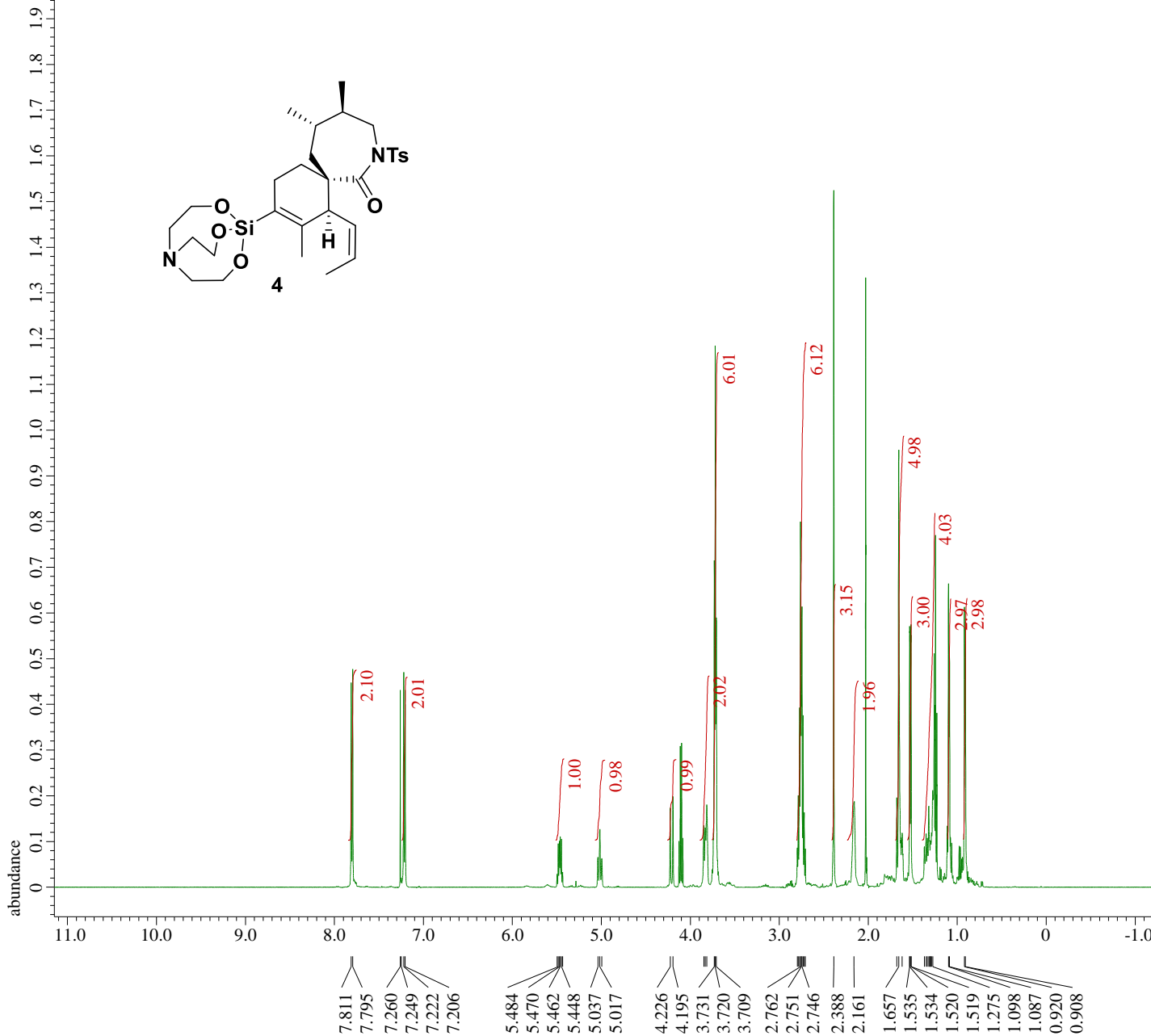


Filename = KM-10-45-F1-2 (SI)_proton
Author = Murata
Experiment = proton.jxp
Sample_Id = KM-10-45-F1-2 (SI)
Solvent = CHLOROFORM-D
Actual_Start_Time = 10-APR-2019 20:29:05
Revision_Time = 16-OCT-2019 14:40:38

Comment = single_pulse
Data_Format = 1D_REAL
Dim_Size = 26214
Dim_Title = Proton
Dim_Units = [ppm]
Dimensions = X
Site = ECA 500
Spectrometer = JNM-ECA500

Field_Strength = 11.7473579[T] (500[MHz])
X_Acq_Duration = 3.49175808[s]
X_Domain = 1H
X_Freq = 500.15991521[MHz]
X_Offset = 5.0[ppm]
X_Points = 32768
X_Prescans = 1
X_Resolution = 0.28638868[Hz]
X_Sweep = 9.38438438[kHz]
X_Sweep_Clipped = 7.50750751[kHz]
Irr_Domain = Proton
Irr_Freq = 500.15991521[MHz]
Irr_Offset = 5.0[ppm]
Tri_Domain = Proton
Tri_Freq = 500.15991521[MHz]
Tri_Offset = 5.0[ppm]
Clipped = FALSE
Scans = 8
Total_Scans = 8

Relaxation_Delay = 5[s]
Recvr_Gain = 30
Temp_Get = 25[dC]
X_90_Width = 6.4[us]
X_Acq_Time = 3.49175808[s]
X_Angle = 45[deg]
X_Atn = 4.5[dB]
X_Pulse = 3.2[us]
Irr_Mode = Off
Tri_Mode = Off
Dante_Presat = FALSE
Initial_Wait = 1[s]
Phase = {0, 90, 270, 180, 180, 27
Repetition_Time = 8.49175808[s]



X : parts per Million : Proton

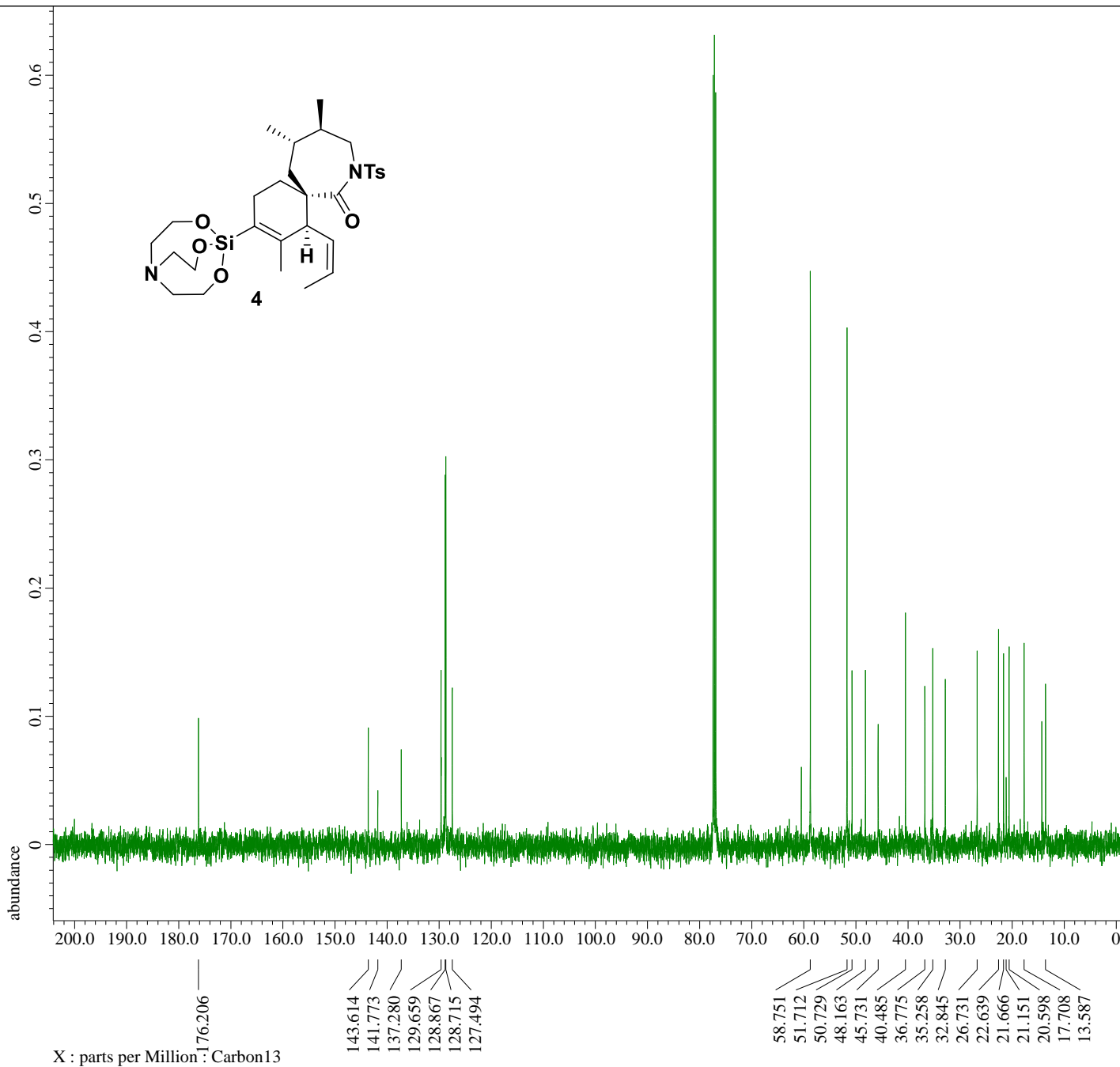


Filename = KM-10-45-F1-2 (SI)_carbon
Author = Murata
Experiment = carbon.jxp
Sample_Id = KM-10-45-F1-2 (SI)
Solvent = CHLOROFORM-D
Actual_Start_Time = 10-APR-2019 20:32:24
Revision_Time = 16-OCT-2019 10:48:20

Comment = single pulse decoupled ga
Data_Format = 1D COMPLEX
Dim_Size = 26214
Dim_Title = Carbon13
Dim_Units = [ppm]
Dimensions = X
Site = ECA 500
Spectrometer = JNM-ECA500

Field_Strength = 11.7473579[T] (500[MHz])
X_Acq_Duration = 0.83361792[s]
X_Domain = 13C
X_Freq = 125.76529768[MHz]
X_Offset = 100[ppm]
X_Points = 32768
X_Prescans = 4
X_Resolution = 1.19959034[Hz]
X_Sweep = 39.3081761[kHz]
X_Sweep_Clipped = 31.44654088[kHz]
Irr_Domain = Proton
Irr_Freq = 500.15991521[MHz]
Irr_Offset = 5.0[ppm]
Clipped = FALSE
Scans = 261
Total_Scans = 261

Relaxation_Delay = 2[s]
Recvr_Gain = 56
Temp_Get = 25[dC]
X_90_Width = 22[us]
X_Acq_Time = 0.83361792[s]
X_Angle = 30[deg]
X_Atn = 7[dB]
X_Pulse = 7.33333333[us]
Irr_Atn_Dec = 27.65[dB]
Irr_Atn_NoE = 27.65[dB]
Irr_Noise = WALTZ
Irr_Pwidth = 92[us]
Decoupling = TRUE
Initial_Wait = 1[s]
Noe = TRUE
Noe_Time = 2[s]
Repetition_Time = 2.83361792[s]



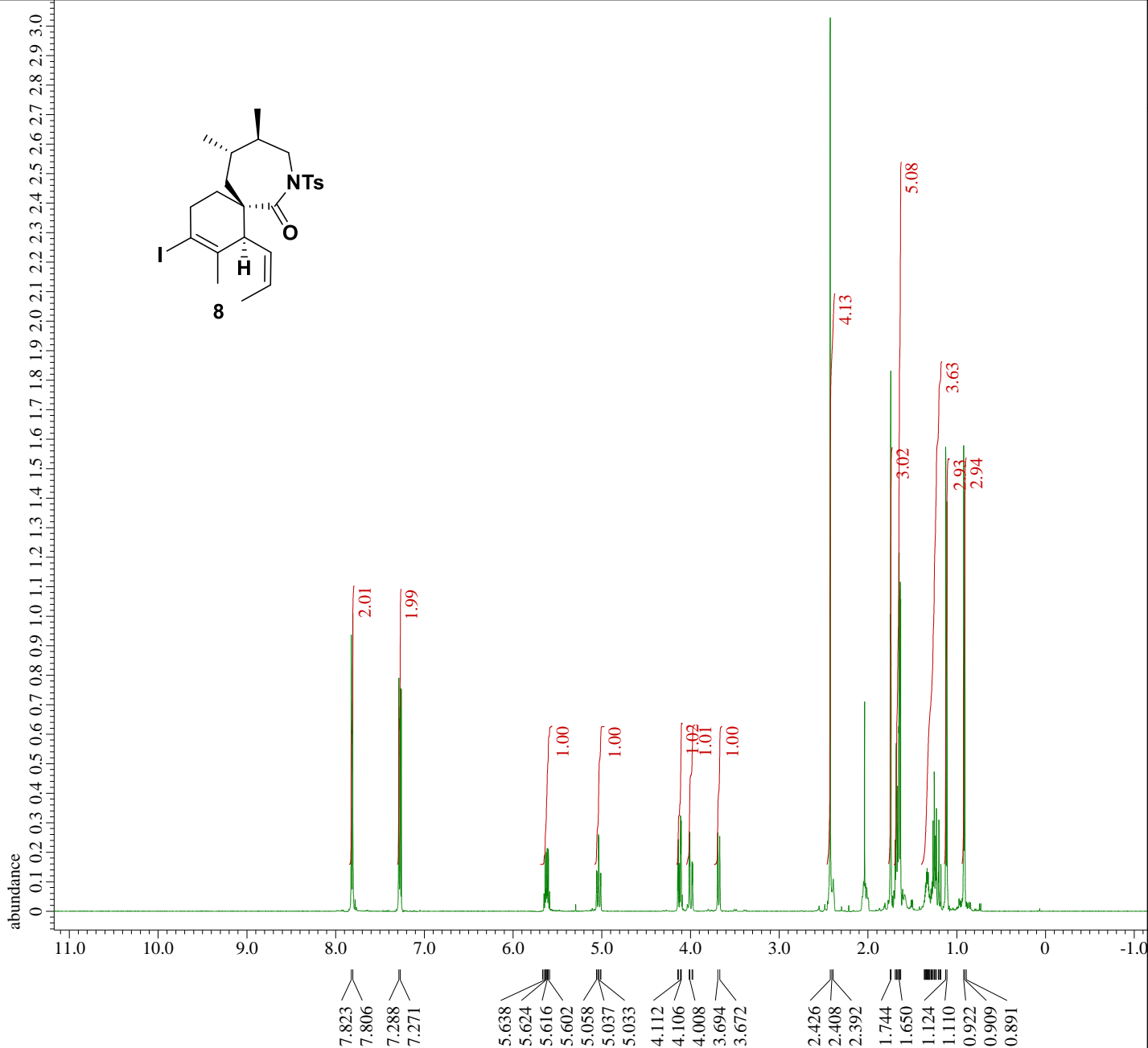


Filename = KM-10-49-F1(SI)_proton-1-
Author = Murata
Experiment = proton.jxp
Sample_Id = KM-10-49-F1(SI)
Solvent = CHLOROFORM-D
Actual_Start_Time = 11-APR-2019 10:09:48
Revision_Time = 16-OCT-2019 14:41:49

Comment = single_pulse
Data_Format = 1D_REAL
Dim_Size = 26214
Dim_Title = Proton
Dim_Units = [ppm]
Dimensions = X
Site = ECA 500
Spectrometer = JNM-ECA500

Field_Strength = 11.7473579[T] (500[MHz])
X_Acq_Duration = 3.49175808[s]
X_Domain = 1H
X_Freq = 500.15991521[MHz]
X_Offset = 5.0[ppm]
X_Points = 32768
X_Prescans = 1
X_Resolution = 0.28638868[Hz]
X_Sweep = 9.38438438[kHz]
X_Sweep_Clipped = 7.50750751[kHz]
Irr_Domain = Proton
Irr_Freq = 500.15991521[MHz]
Irr_Offset = 5.0[ppm]
Tri_Domain = Proton
Tri_Freq = 500.15991521[MHz]
Tri_Offset = 5.0[ppm]
Clipped = FALSE
Scans = 8
Total_Scans = 8

Relaxation_Delay = 5[s]
Recvr_Gain = 34
Temp_Get = 25[dC]
X_90_Width = 6.4[us]
X_Acq_Time = 3.49175808[s]
X_Angle = 45[deg]
X_Atn = 4.5[dB]
X_Pulse = 3.2[us]
Irr_Mode = Off
Tri_Mode = Off
Dante_Presat = FALSE
Initial_Wait = 1[s]
Phase = {0, 90, 270, 180, 180, 27
Repetition_Time = 8.49175808[s]



X : parts per Million : Proton

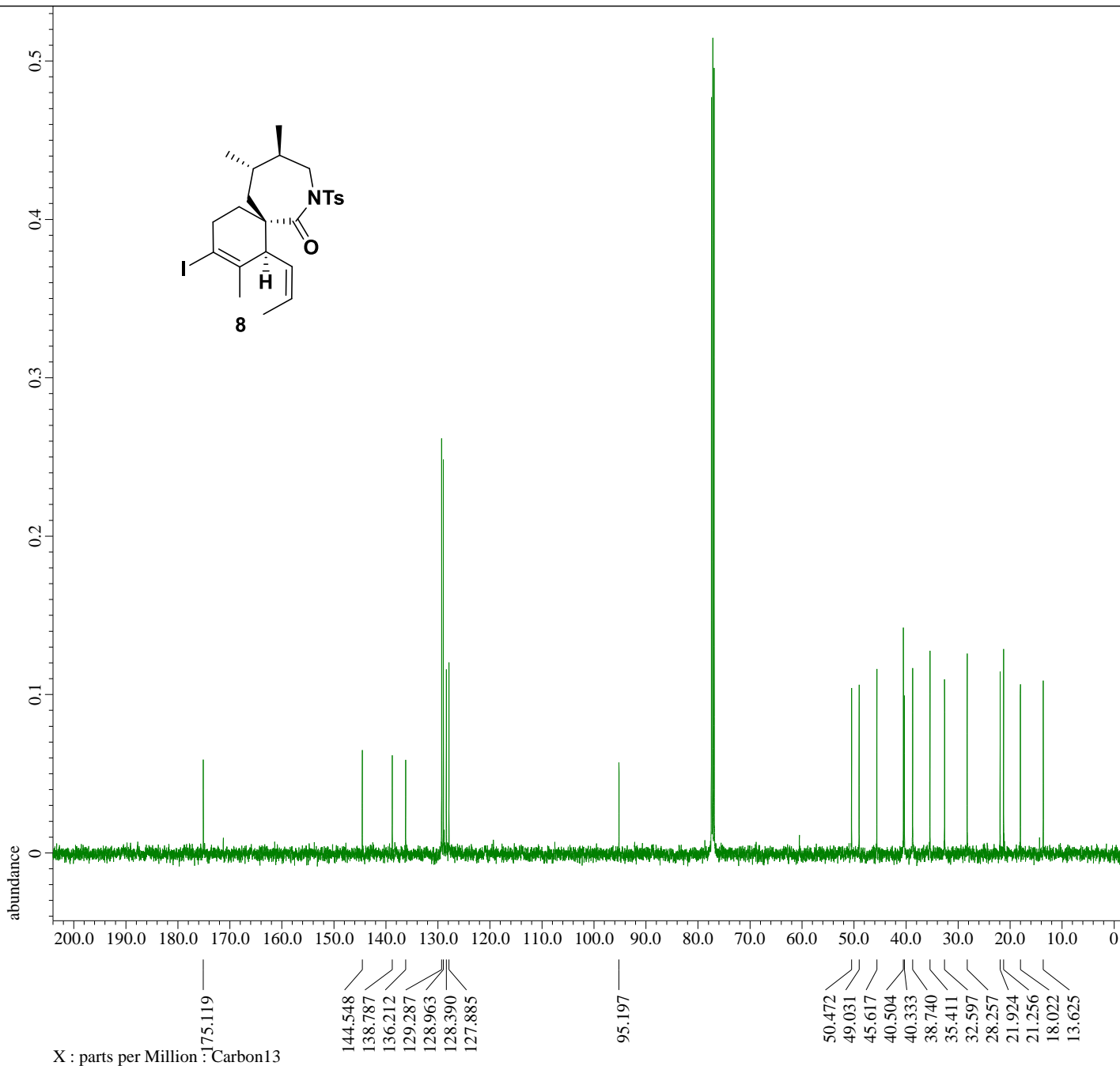


Filename = KM-10-49-F1 (SI)_carbon-1-
Author = Murata
Experiment = carbon.jxp
Sample_Id = KM-10-49-F1 (SI)
Solvent = CHLOROFORM-D
Actual_Start_Time = 11-APR-2019 10:12:53
Revision_Time = 16-OCT-2019 10:54:45

Comment = single pulse decoupled ga
Data_Format = 1D COMPLEX
Dim_Size = 26214
Dim_Title = Carbon13
Dim_Units = [ppm]
Dimensions = X
Site = ECA 500
Spectrometer = JNM-ECA500

Field_Strength = 11.7473579 [T] (500 [MHz])
X_Acq_Duration = 0.83361792 [s]
X_Domain = 13C
X_Freq = 125.76529768 [MHz]
X_Offset = 100 [ppm]
X_Points = 32768
X_Prescans = 4
X_Resolution = 1.19959034 [Hz]
X_Sweep = 39.3081761 [kHz]
X_Sweep_Clippped = 31.44654088 [kHz]
Irr_Domain = Proton
Irr_Freq = 500.15991521 [MHz]
Irr_Offset = 5.0 [ppm]
Clipped = TRUE
Scans = 1024
Total_Scans = 1024

Relaxation_Delay = 2 [s]
Recvr_Gain = 54
Temp_Get = 25 [dC]
X_90_Width = 22 [us]
X_Acq_Time = 0.83361792 [s]
X_Angle = 30 [deg]
X_Atn = 7 [dB]
X_Pulse = 7.33333333 [us]
Irr_Atn_Dec = 27.65 [dB]
Irr_Atn_Noce = 27.65 [dB]
Irr_Noise = WALTZ
Irr_Pwidth = 92 [us]
Decoupling = TRUE
Initial_Wait = 1 [s]
Noe = TRUE
Noe_Time = 2 [s]
Repetition_Time = 2.83361792 [s]



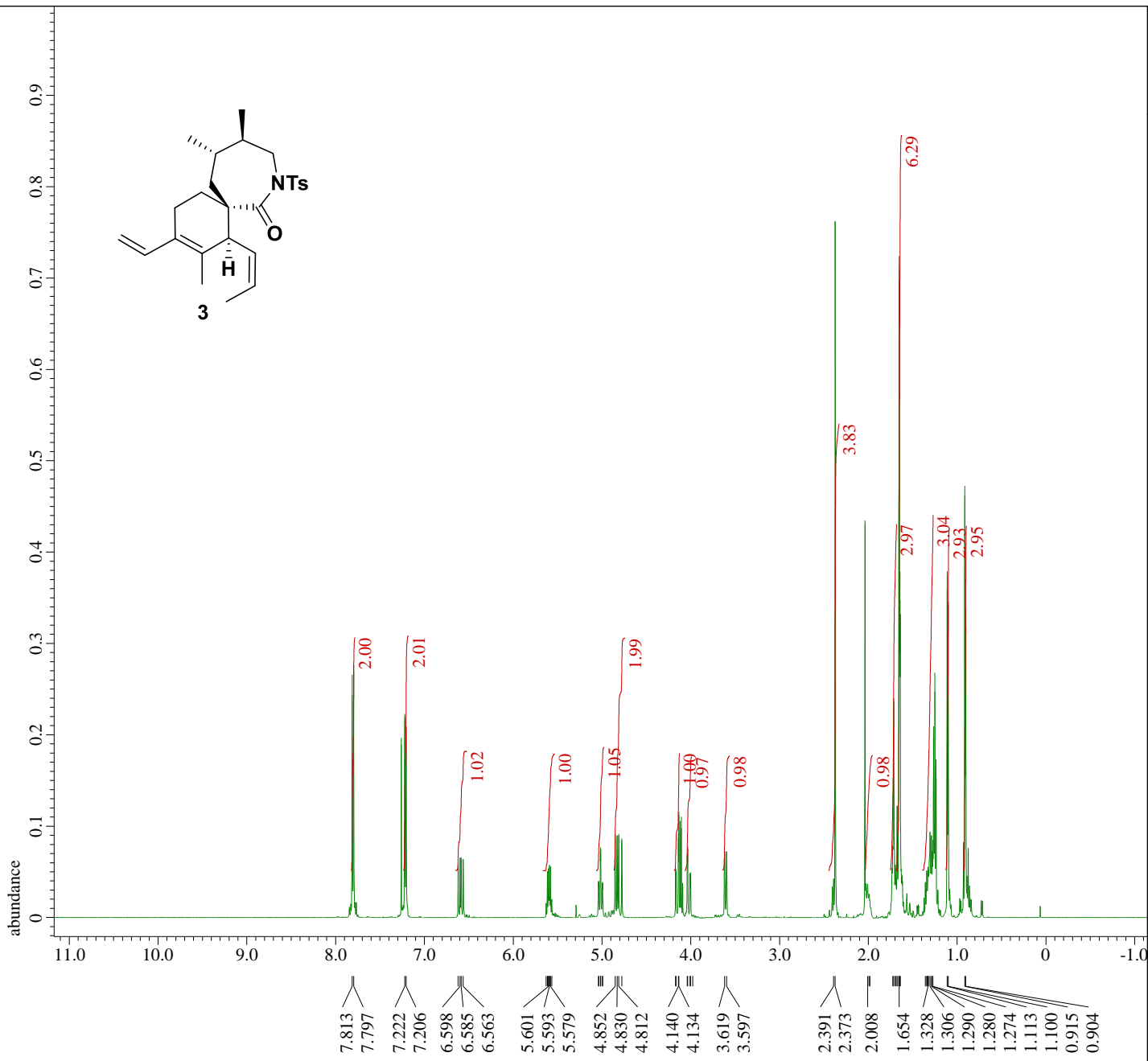
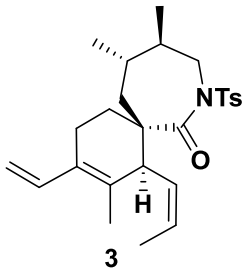


Filename = KM-9-183-F1_proton-1-8.jd
Author = Murata
Experiment = proton.jxp
Sample_Id = KM-9-183-F1
Solvent = CHLOROFORM-D
Actual_Start_Time = 9-MAR-2019 09:01:34
Revision_Time = 16-OCT-2019 14:38:30

Comment = single_pulse
Data_Format = 1D_REAL
Dim_Size = 52429
Dim_Title = Proton
Dim_Units = [ppm]
Dimensions = X
Site = ECA 500
Spectrometer = DELTA2_NMR

Field_Strength = 11.7473579[T] (500[MHz])
X_Acq_Duration = 6.98351616[s]
X_Domain = 1H
X_Freq = 500.15991521[MHz]
X_Offset = 5.0[ppm]
X_Points = 65536
X_Prescans = 1
X_Resolution = 0.14319434[Hz]
X_Sweep = 9.38438438[kHz]
X_Sweep_Clipped = 7.50750751[kHz]
Irr_Domain = Proton
Irr_Freq = 500.15991521[MHz]
Irr_Offset = 5.0[ppm]
Tri_Domain = Proton
Tri_Freq = 500.15991521[MHz]
Tri_Offset = 5.0[ppm]
Clipped = FALSE
Scans = 8
Total_Scans = 8

Relaxation_Delay = 5[s]
Recvr_Gain = 30
Temp_Get = 32.4[dC]
X_90_Width = 13.1[us]
X_Acq_Time = 6.98351616[s]
X_Angle = 45[deg]
X_Atn = 4[dB]
X_Pulse = 6.55[us]
Irr_Mode = Off
Tri_Mode = Off
Dante_Presat = FALSE
Initial_Wait = 1[s]
Repetition_Time = 11.98351616[s]



X : parts per Million : Proton

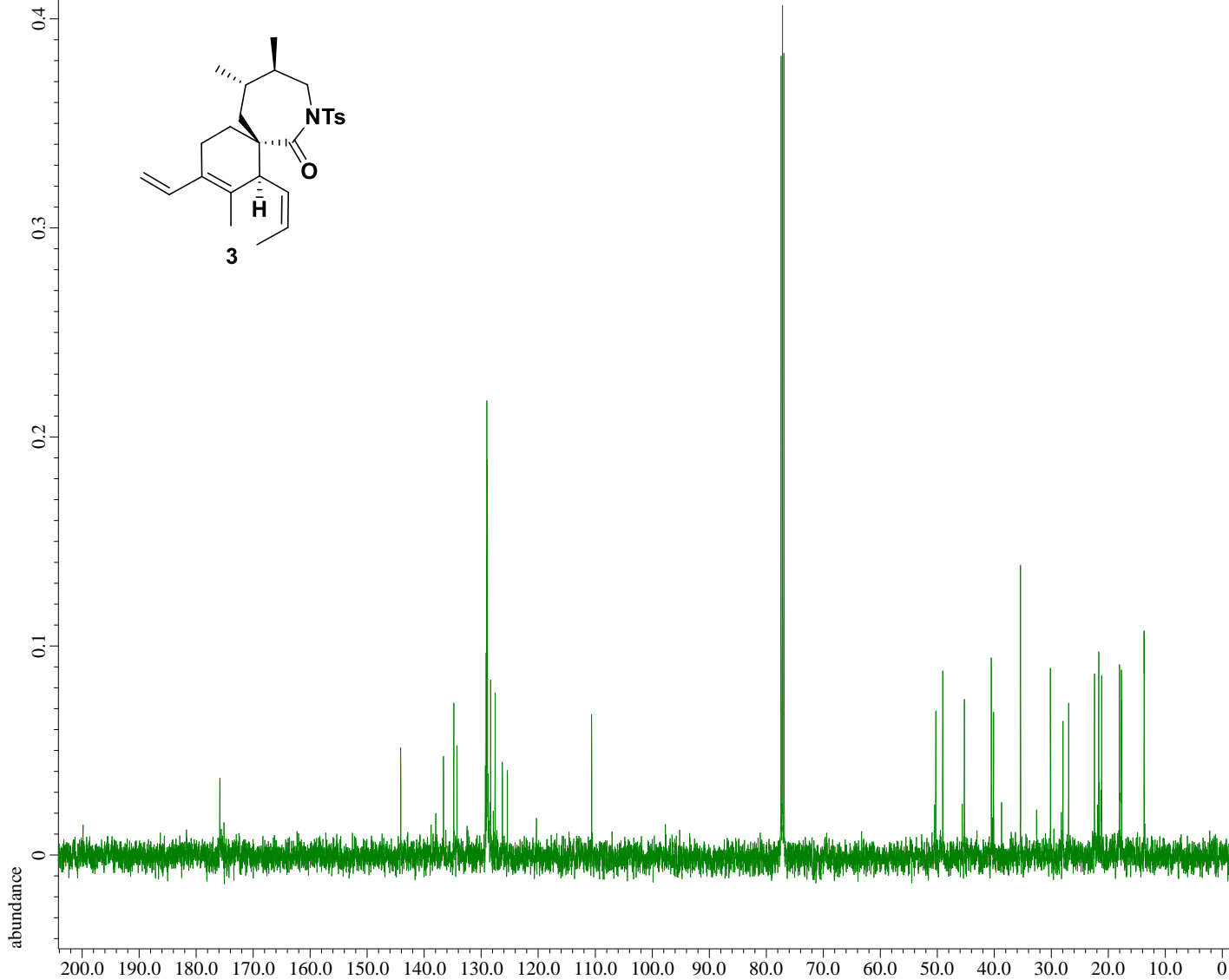
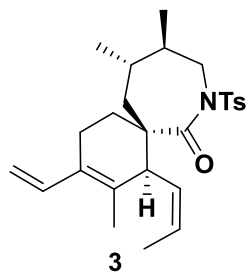


Filename = KM-10-51-F1_carbon-1-8.jd
Author = Murata
Experiment = carbon.jxp
Sample_Id = KM-10-51-F1
Solvent = CHLOROFORM-D
Actual_Start_Time = 11-APR-2019 19:16:34
Revision_Time = 16-OCT-2019 11:02:46

Comment = single pulse decoupled ga
Data Format = 1D COMPLEX
Dim_Size = 26214
Dim_Title = Carbon13
Dim_Units = [ppm]
Dimensions = X
Site = ECA 500
Spectrometer = JNM-ECA500

Field_Strength = 11.7473579[T] (500[MHz])
X_Acq_Duration = 0.83361792[s]
X_Domain = 13C
X_Freq = 125.76529768[MHz]
X_Offset = 100[ppm]
X_Points = 32768
X_Prescans = 4
X_Resolution = 1.19959034[Hz]
X_Sweep = 39.3081761[kHz]
X_Sweep_Clipped = 31.44654088[kHz]
Irr_Domain = Proton
Irr_Freq = 500.15991521[MHz]
Irr_Offset = 5.0[ppm]
Clipped = TRUE
Scans = 216
Total_Scans = 216

Relaxation_Delay = 2[s]
Recvr_Gain = 52
Temp_Get = 25[dC]
X_90_Width = 22[us]
X_Acq_Time = 0.83361792[s]
X_Angle = 30[deg]
X_Atn = 7[dB]
X_Pulse = 7.33333333[us]
Irr_Atn_Dec = 27.65[dB]
Irr_Atn_Noise = 27.65[dB]
Irr_Noise = WALTZ
Irr_Pwidth = 92[us]
Decoupling = TRUE
Initial_Wait = 1[s]
Noe = TRUE
Noe_Time = 2[s]
Repetition_Time = 2.83361792[s]



X : parts per Million : Carbon13

175.844
144.119
129.153
129.020
128.915
128.343
127.570
110.630
50.262
49.051
45.254
40.533
40.132
35.411
30.165
22.439
21.695
21.180
18.051
17.708
13.730

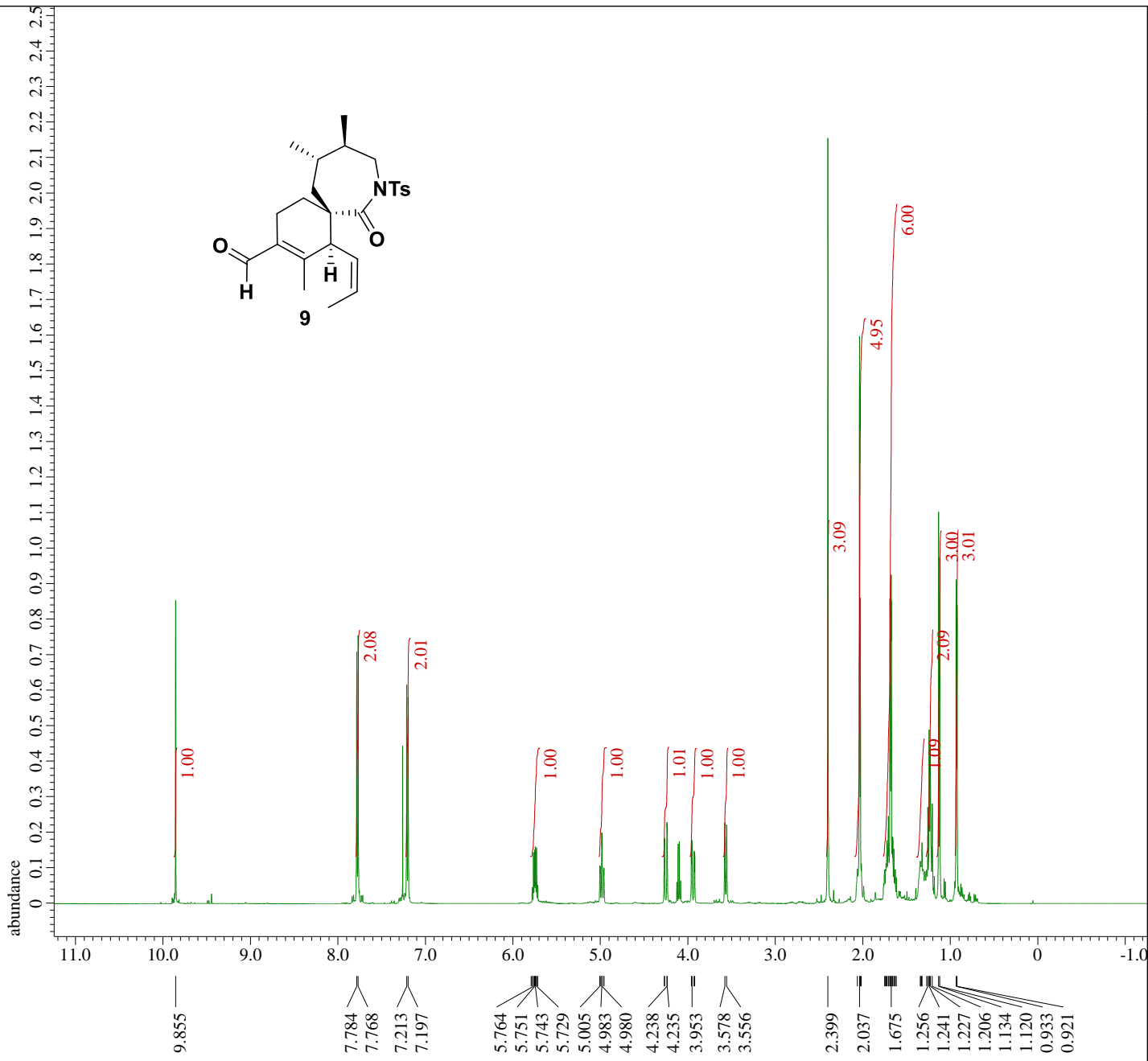
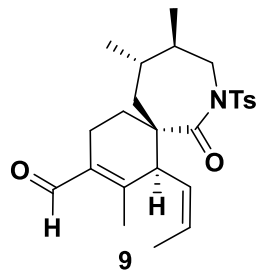


Filename = KM-10-53-F2 (SI)_proton-1-
Author = Murata
Experiment = proton.jxp
Sample_Id = KM-10-53-F2 (SI)
Solvent = CHLOROFORM-D
Actual_Start_Time = 12-APR-2019 20:14:59
Revision_Time = 16-OCT-2019 14:49:48

Comment = single_pulse
Data_Format = 1D_COMPLEX
Dim_Size = 26214
Dim_Title = Proton
Dim_Units = [ppm]
Dimensions = X
Site = ECA 500
Spectrometer = JNM-ECA500

Field_Strength = 11.7473579 [T] (500 [MHz])
X_Acq_Duration = 3.49175808 [s]
X_Domain = 1H
X_Freq = 500.15991521 [MHz]
X_Offset = 5.0 [ppm]
X_Points = 32768
X_Prescans = 1
X_Resolution = 0.28638868 [Hz]
X_Sweep = 9.38438438 [kHz]
X_Sweep_Clipped = 7.50750751 [kHz]
Irr_Domain = Proton
Irr_Freq = 500.15991521 [MHz]
Irr_Offset = 5.0 [ppm]
Tri_Domain = Proton
Tri_Freq = 500.15991521 [MHz]
Tri_Offset = 5.0 [ppm]
Clipped = FALSE
Scans = 8
Total_Scans = 8

Relaxation_Delay = 5 [s]
Recvr_Gain = 28
Temp_Get = 25 [dC]
X_90_Width = 6.4 [us]
X_Acq_Time = 3.49175808 [s]
X_Angle = 45 [deg]
X_Atn = 4.5 [dB]
X_Pulse = 3.2 [us]
Irr_Mode = Off
Tri_Mode = Off
Dante_Presat = FALSE
Initial_Wait = 1 [s]
Phase = {0, 90, 270, 180, 180, 27
Repetition_Time = 8.49175808 [s]



X : parts per Million : Proton

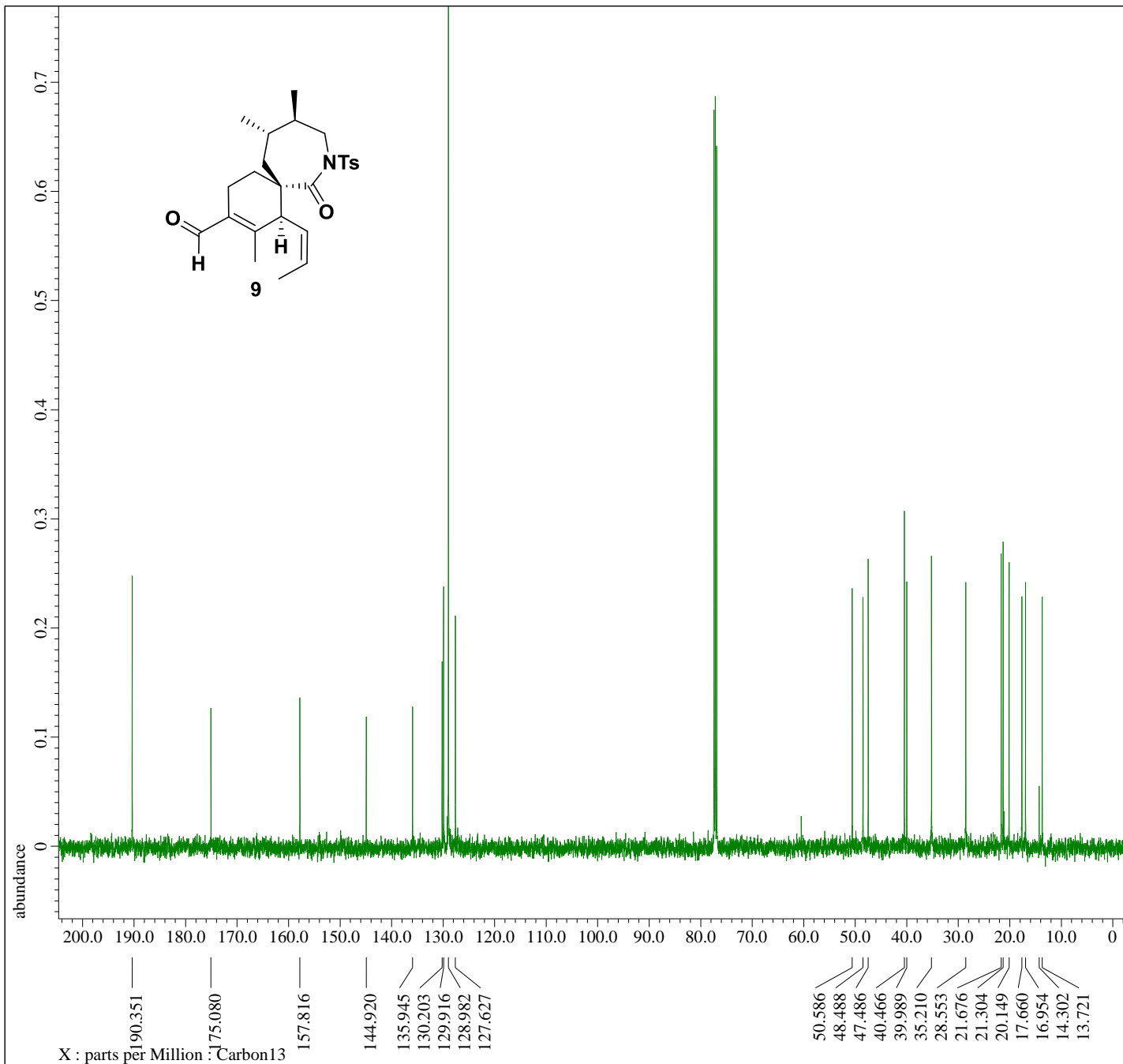


Filename = KM-10-53-F2 (SI)_carbon-1-
Author = Murata
Experiment = carbon.jxp
Sample_Id = KM-10-53-F2 (SI)
Solvent = CHLOROFORM-D
Actual_Start_Time = 12-APR-2019 20:18:05
Revision_Time = 16-OCT-2019 11:07:17

Comment = single pulse decoupled ga
Data_Format = 1D COMPLEX
Dim_Size = 26214
Dim_Title = Carbon13
Dim_Units = [ppm]
Dimensions = X
Site = ECA 500
Spectrometer = JNM-ECA500

Field_Strength = 11.7473579 [T] (500 [MHz])
X_Acq_Duration = 0.83361792 [s]
X_Domain = 13C
X_Freq = 125.76529768 [MHz]
X_Offset = 100 [ppm]
X_Points = 32768
X_Prescans = 4
X_Resolution = 1.19959034 [Hz]
X_Sweep = 39.3081761 [kHz]
X_Sweep_Clipped = 31.44654088 [kHz]
Irr_Domain = Proton
Irr_Freq = 500.15991521 [MHz]
Irr_Offset = 5.0 [ppm]
Clipped = FALSE
Scans = 485.0
Total_Scans = 485.0

Relaxation_Delay = 2 [s]
Recvr_Gain = 56
Temp_Get = 25.1 [dC]
X_90_Width = 22 [us]
X_Acq_Time = 0.83361792 [s]
X_Angle = 30 [deg]
X_Atn = 7 [dB]
X_Pulse = 7.33333333 [us]
Irr_Atn_Dec = 27.65 [dB]
Irr_Atn_Noise = 27.65 [dB]
Irr_Noise = WALTZ
Irr_Pwidth = 92 [us]
Decoupling = TRUE
Initial_Wait = 1 [s]
Noe = TRUE
Noe_Time = 2 [s]
Repetition_Time = 2.83361792 [s]



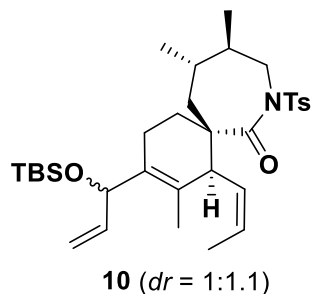
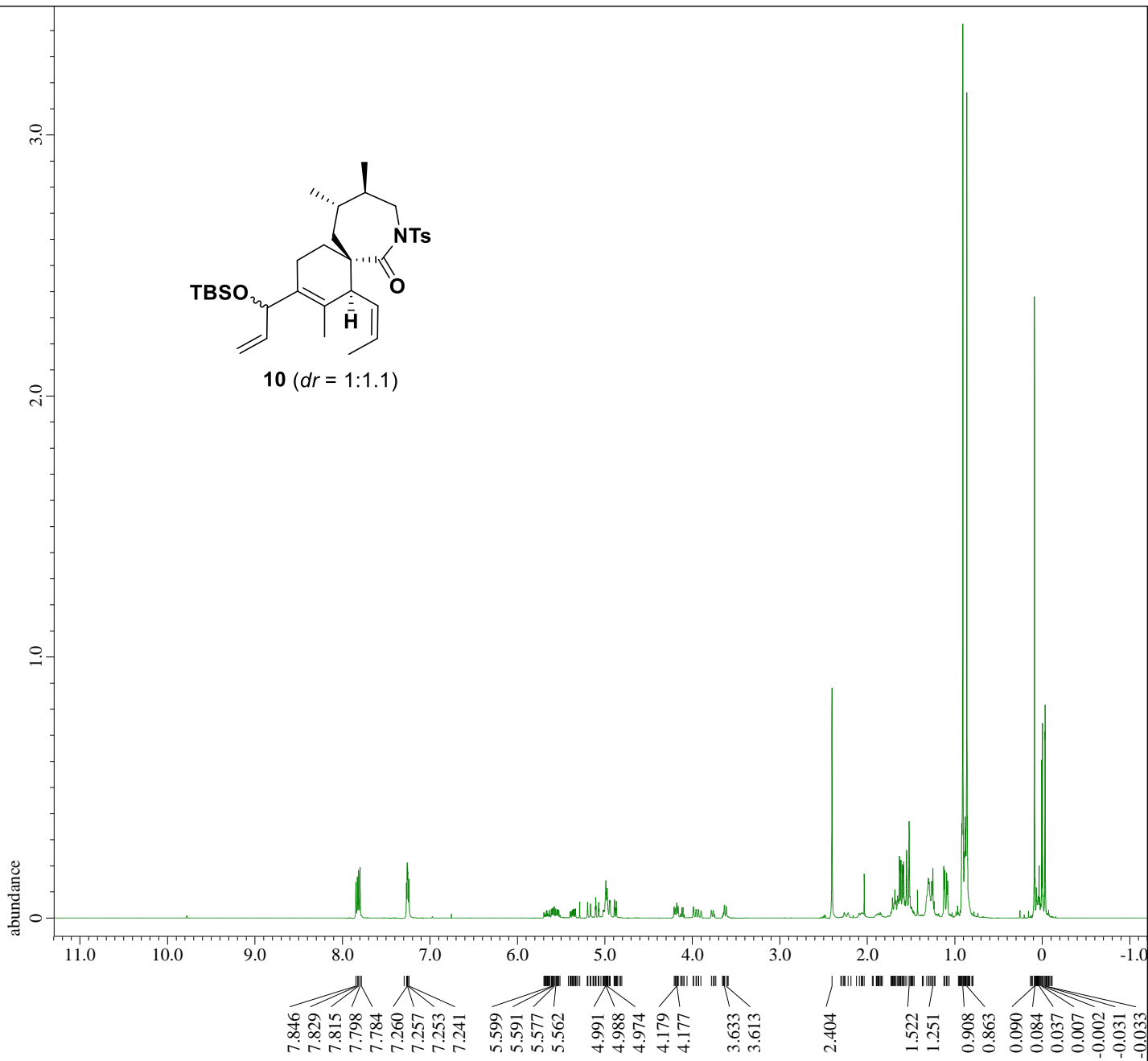


Filename = KM-10-59-F1_proton-1-7.jd
Author = Murata
Experiment = proton.jxp
Sample_Id = KM-10-59-F1
Solvent = CHLOROFORM-D
Actual_Start_Time = 15-APR-2019 15:42:42
Revision_Time = 16-OCT-2019 17:53:15

Comment = single_pulse
Data_Format = 1D_REAL
Dim_Size = 26214
Dim_Title = Proton
Dim_Units = [ppm]
Dimensions = X
Site = ECA 500
Spectrometer = JNM-ECA500

Field_Strength = 11.7473579[T] (500[MHz])
X_Acq_Duration = 3.49175808[s]
X_Domain = 1H
X_Freq = 500.15991521[MHz]
X_Offset = 5.0[ppm]
X_Points = 32768
X_Prescans = 1
X_Resolution = 0.28638868[Hz]
X_Sweep = 9.38438438[kHz]
X_Sweep_Clipped = 7.50750751[kHz]
Irr_Domain = Proton
Irr_Freq = 500.15991521[MHz]
Irr_Offset = 5.0[ppm]
Tri_Domain = Proton
Tri_Freq = 500.15991521[MHz]
Tri_Offset = 5.0[ppm]
Clipped = FALSE
Scans = 8
Total_Scans = 8

Relaxation_Delay = 5[s]
Recvr_Gain = 22
Temp_Get = 25.3[dC]
X_90_Width = 6.4[us]
X_Acq_Time = 3.49175808[s]
X_Angle = 45[deg]
X_Atn = 4.5[dB]
X_Pulse = 3.2[us]
Irr_Mode = Off
Tri_Mode = Off
Dante_Preset = FALSE
Initial_Wait = 1[s]
Phase = {0, 90, 270, 180, 180, 27
Repetition_Time = 8.49175808[s]



X : parts per Million : Proton

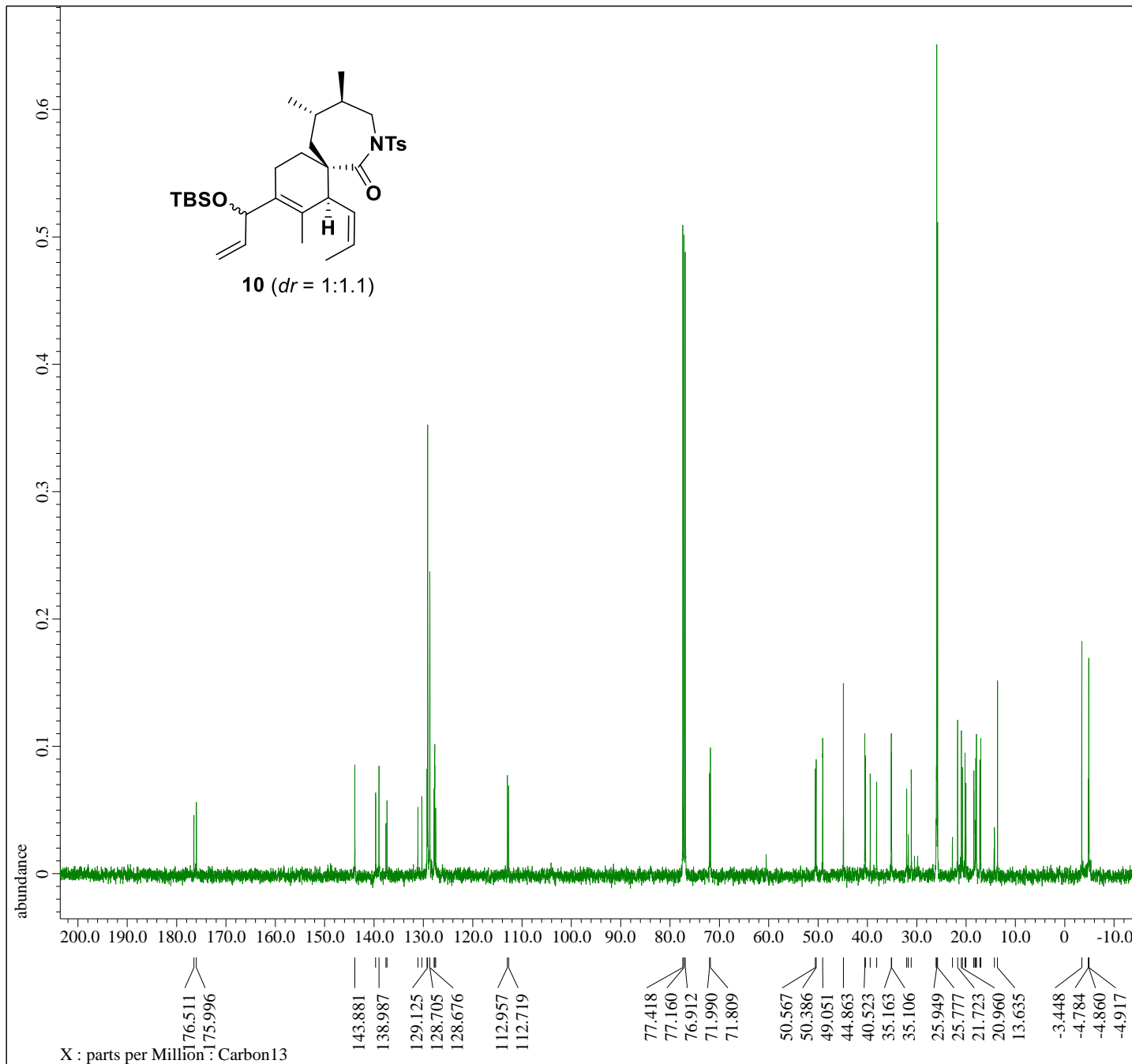


Filename = KM-10-59-F1_carbon-1-7.jd
Author = Murata
Experiment = carbon.jxp
Sample_Id = KM-10-59-F1
Solvent = CHLOROFORM-D
Actual_Start_Time = 15-APR-2019 15:45:47
Revision_Time = 16-OCT-2019 11:09:13

Comment = single pulse decoupled ga
Data_Format = 1D COMPLEX
Dim_Size = 26214
Dim_Title = Carbon13
Dim_Units = [ppm]
Dimensions = X
Site = ECA 500
Spectrometer = JNM-ECA500

Field_Strength = 11.7473579[T] (500[MHz])
X_Acq_Duration = 0.83361792[s]
X_Domain = 13C
X_Freq = 125.76529768[MHz]
X_Offset = 100[ppm]
X_Points = 32768
X_Prescans = 4
X_Resolution = 1.19959034[Hz]
X_Sweep = 39.3081761[kHz]
X_Sweep_Clipped = 31.44654088[kHz]
Irr_Domain = Proton
Irr_Freq = 500.15991521[MHz]
Irr_Offset = 5.0[ppm]
Clipped = TRUE
Scans = 739
Total_Scans = 739

Relaxation_Delay = 2[s]
Recvr_Gain = 54
Temp_Get = 25.3[dC]
X_90_Width = 22[us]
X_Acq_Time = 0.83361792[s]
X_Angle = 30[deg]
X_Atn = 7[dB]
X_Pulse = 7.33333333[us]
Irr_Atn_Dec = 27.65[dB]
Irr_Atn_Noise = 27.65[dB]
Irr_Noise = WALTZ
Irr_Pwidth = 92[us]
Decoupling = TRUE
Initial_Wait = 1[s]
Noe = TRUE
Noe_Time = 2[s]
Repetition_Time = 2.83361792[s]



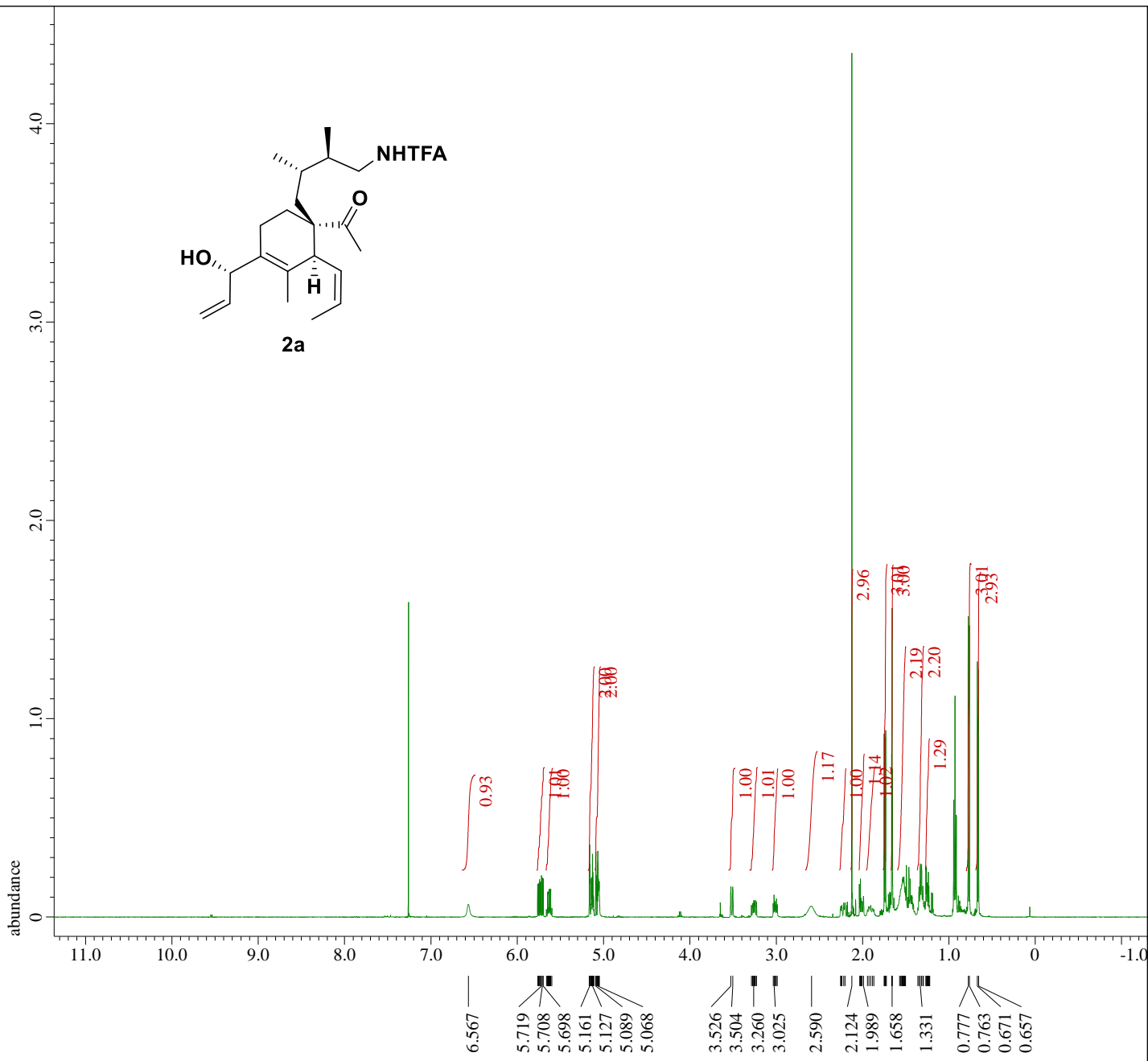


Filename = KM-10-67-F1(SI)_proton-2-
Author = Murata
Experiment = proton.jxp
Sample_Id = KM-10-67-F1(SI)
Solvent = CHLOROFORM-D
Actual_Start_Time = 18-APR-2019 13:05:49
Revision_Time = 16-OCT-2019 17:50:09

Comment = single_pulse
Data_Format = 1D_REAL
Dim_Size = 26214
Dim_Title = Proton
Dim_Units = [ppm]
Dimensions = X
Site = ECA 500
Spectrometer = JNM-ECA500

Field_Strength = 11.7473579[T] (500[MHz])
X_Acq_Duration = 3.49175808[s]
X_Domain = 1H
X_Freq = 500.15991521[MHz]
X_Offset = 5.0[ppm]
X_Points = 32768
X_Prescans = 1
X_Resolution = 0.28638868[Hz]
X_Sweep = 9.38438438[kHz]
X_Sweep_Clipped = 7.50750751[kHz]
Irr_Domain = Proton
Irr_Freq = 500.15991521[MHz]
Irr_Offset = 5.0[ppm]
Tri_Domain = Proton
Tri_Freq = 500.15991521[MHz]
Tri_Offset = 5.0[ppm]
Clipped = FALSE
Scans = 8
Total_Scans = 8

Relaxation_Delay = 5[s]
Recvr_Gain = 36
Temp_Get = 26[dC]
X_90_Width = 6.4[us]
X_Acq_Time = 3.49175808[s]
X_Angle = 45[deg]
X_Atn = 4.5[dB]
X_Pulse = 3.2[us]
Irr_Mode = Off
Tri_Mode = Off
Dante_Presat = FALSE
Initial_Wait = 1[s]
Phase = {0, 90, 270, 180, 180, 27
Repetition_Time = 8.49175808[s]



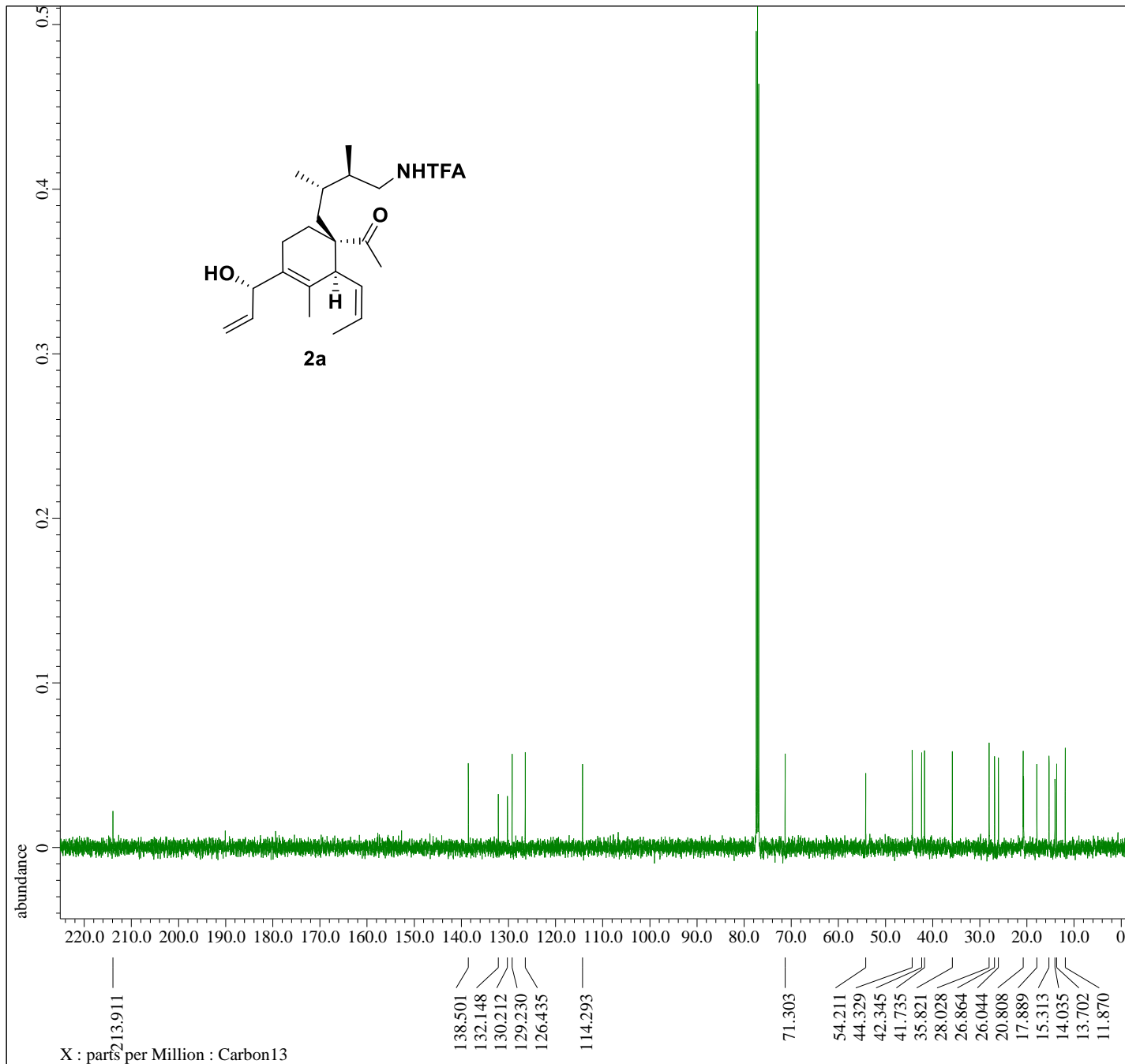


Filename = KM-10-67-F1(SI)_carbon-1-
Author = Murata
Experiment = carbon.jxp
Sample_Id = KM-10-67-F1(SI)
Solvent = CHLOROFORM-D
Actual_Start_Time = 18-APR-2019 13:09:02
Revision_Time = 16-OCT-2019 11:12:53

Comment = single pulse decoupled ga
Data Format = 1D REAL
Dim_Size = 26214
Dim_Title = Carbon13
Dim_Units = [ppm]
Dimensions = X
Site = ECA 500
Spectrometer = JNM-ECA500

Field_Strength = 11.7473579[T] (500[MHz])
X_Acq_Duration = 0.83361792[s]
X_Domain = 13C
X_Freq = 125.76529768[MHz]
X_Offset = 100[ppm]
X_Points = 32768
X_Prescans = 4
X_Resolution = 1.19959034[Hz]
X_Sweep = 39.3081761[kHz]
X_Sweep_Clipped = 31.44654088[kHz]
Irr_Domain = Proton
Irr_Freq = 500.15991521[MHz]
Irr_Offset = 5.0[ppm]
Clipped = TRUE
Scans = 793
Total_Scans = 793

Relaxation_Delay = 2[s]
Recvr_Gain = 54
Temp_Get = 25.6[dC]
X_90_Width = 22[us]
X_Acq_Time = 0.83361792[s]
X_Angle = 30[deg]
X_Atn = 7[dB]
X_Pulse = 7.33333333[us]
Irr_Atn_Dec = 27.65[dB]
Irr_Atn_NoE = 27.65[dB]
Irr_Noise = WALTZ
Irr_Pwidth = 92[us]
Decoupling = TRUE
Initial_Wait = 1[s]
Noe = TRUE
Noe_Time = 2[s]
Repetition_Time = 2.83361792[s]



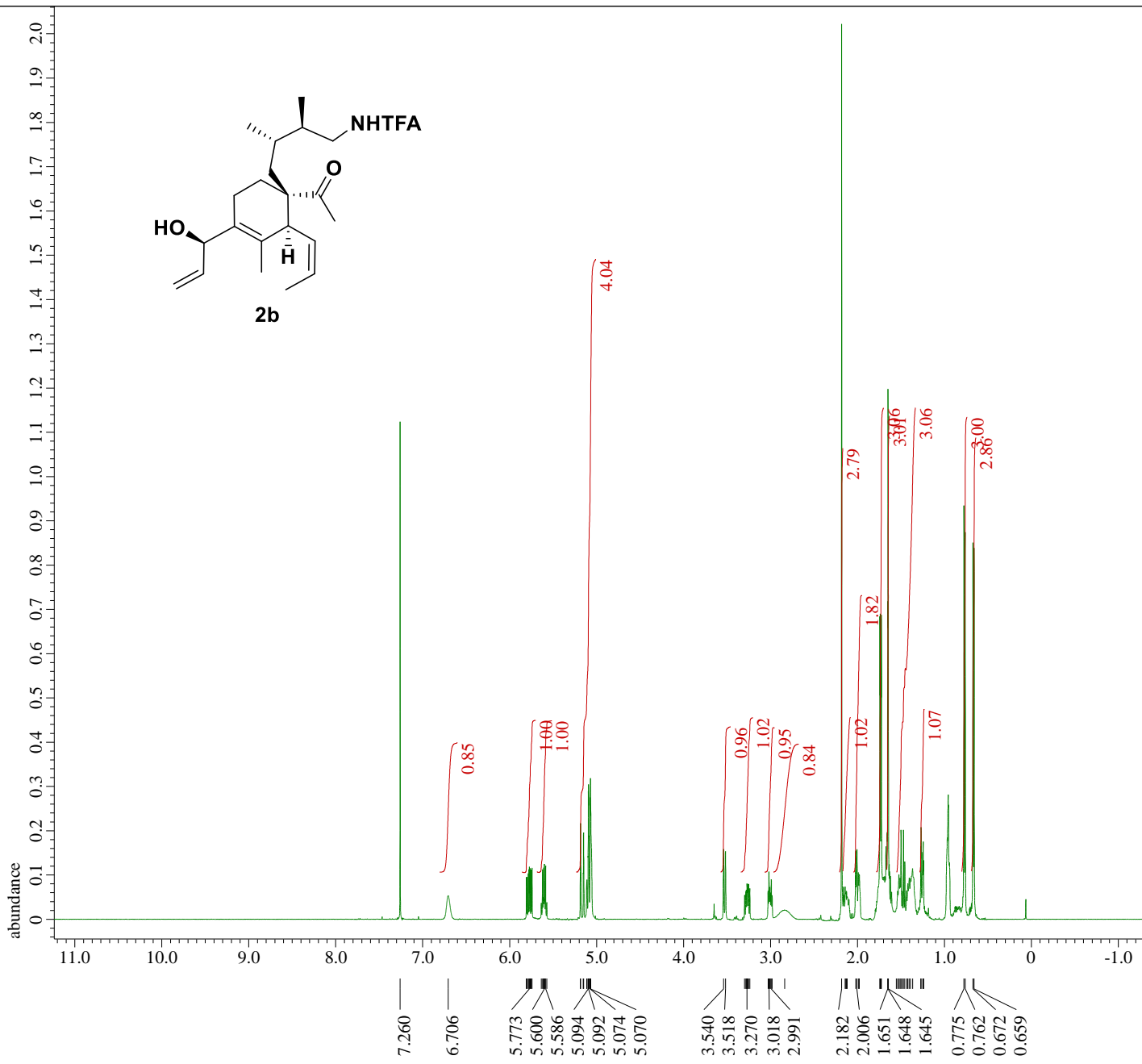
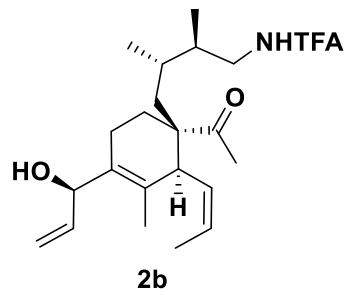


Filename = KM-10-67-F2 (SI)_proton-1-
Author = Murata
Experiment = proton.jxp
Sample_Id = KM-10-67-F2 (SI)
Solvent = CHLOROFORM-D
Actual_Start_Time = 18-APR-2019 17:14:08
Revision_Time = 16-OCT-2019 18:02:35

Comment = single_pulse
Data_Format = 1D_REAL
Dim_Size = 26214
Dim_Title = Proton
Dim_Units = [ppm]
Dimensions = X
Site = ECA 500
Spectrometer = JNM-ECA500

Field_Strength = 11.7473579 [T] (500 [MHz])
X_Acq_Duration = 3.49175808 [s]
X_Domain = 1H
X_Freq = 500.15991521 [MHz]
X_Offset = 5.0 [ppm]
X_Points = 32768
X_Prescans = 1
X_Resolution = 0.28638868 [Hz]
X_Sweep = 9.38438438 [kHz]
X_Sweep_Clipped = 7.50750751 [kHz]
Irr_Domain = Proton
Irr_Freq = 500.15991521 [MHz]
Irr_Offset = 5.0 [ppm]
Tri_Domain = Proton
Tri_Freq = 500.15991521 [MHz]
Tri_Offset = 5.0 [ppm]
Clipped = FALSE
Scans = 8
Total_Scans = 8

Relaxation_Delay = 5 [s]
Recvr_Gain = 38
Temp_Get = 25.9 [dC]
X_90_Width = 6.4 [us]
X_Acq_Time = 3.49175808 [s]
X_Angle = 45 [deg]
X_Atn = 4.5 [dB]
X_Pulse = 3.2 [us]
Irr_Mode = Off
Tri_Mode = Off
Dante_Presat = FALSE
Initial_Wait = 1 [s]
Phase = {0, 90, 270, 180, 180, 27
Repetition_Time = 8.49175808 [s]



X : parts per Million : Proton

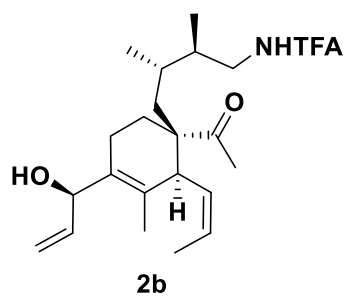
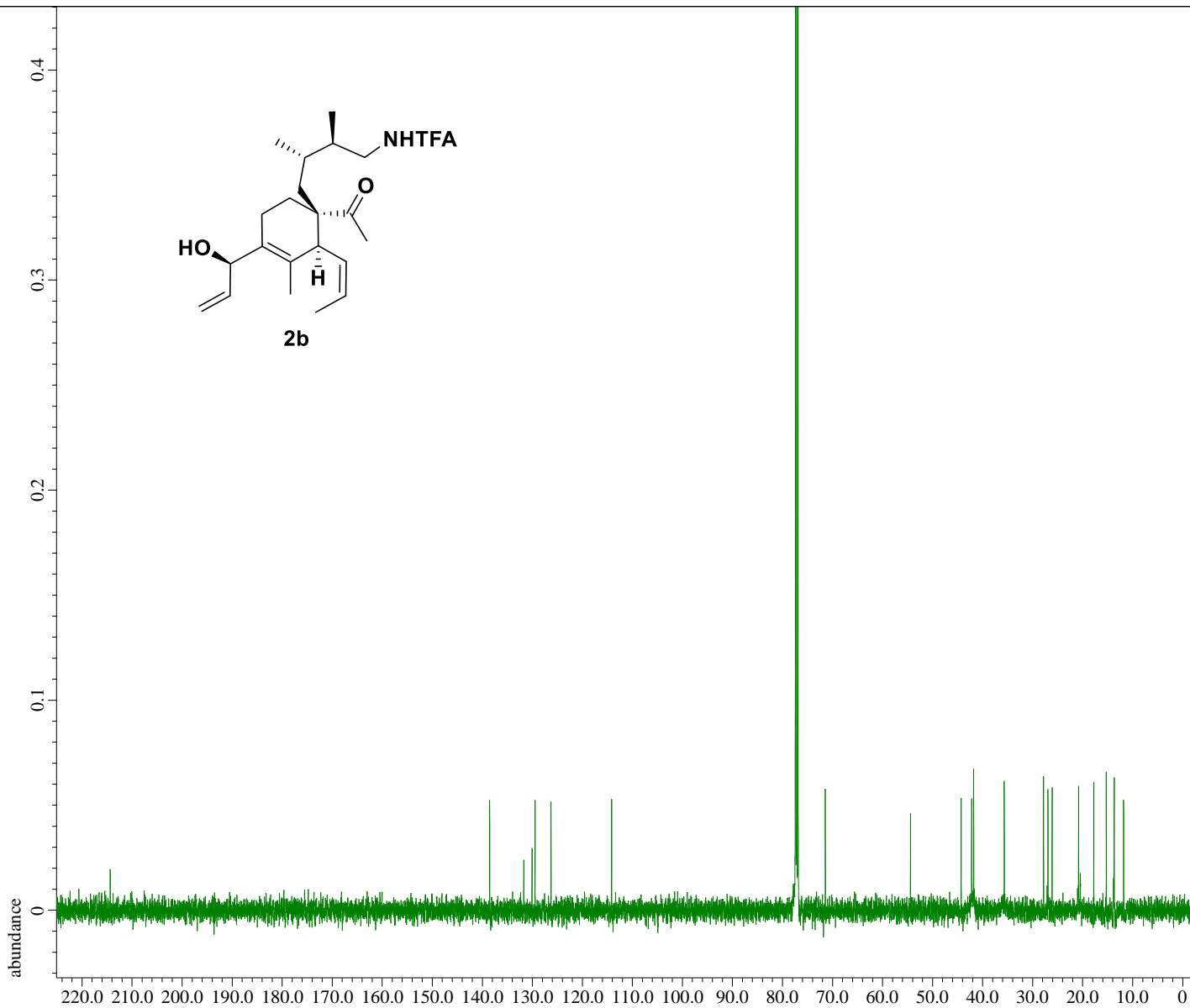


Filename = KM-10-67-F2(SI)_carbon-1-
Author = Murata
Experiment = carbon.jxp
Sample_Id = KM-10-67-F2(SI)
Solvent = CHLOROFORM-D
Actual_Start_Time = 18-APR-2019 17:18:07
Revision_Time = 16-OCT-2019 11:15:18

Comment = single pulse decoupled ga
Data_Format = 1D REAL
Dim_Size = 26214
Dim_Title = Carbon13
Dim_Units = [ppm]
Dimensions = X
Site = ECA 500
Spectrometer = JNM-ECA500

Field_Strength = 11.7473579[T] (500[MHz])
X_Acq_Duration = 0.83361792[s]
X_Domain = 13C
X_Freq = 125.76529768[MHz]
X_Offset = 100[ppm]
X_Points = 32768
X_Prescans = 4
X_Resolution = 1.19959034[Hz]
X_Sweep = 39.3081761[kHz]
X_Sweep_Clipped = 31.44654088[kHz]
Irr_Domain = Proton
Irr_Freq = 500.15991521[MHz]
Irr_Offset = 5.0[ppm]
Clipped = TRUE
Scans = 1024
Total_Scans = 1024

Relaxation_Delay = 2[s]
Recvr_Gain = 56
Temp_Get = 25.8[dC]
X_90_Width = 22[us]
X_Acq_Time = 0.83361792[s]
X_Angle = 30[deg]
X_Atn = 7[dB]
X_Pulse = 7.33333333[us]
Irr_Atn_Dec = 27.65[dB]
Irr_Atn_NoE = 27.65[dB]
Irr_Noise = WALTZ
Irr_Pwidth = 92[us]
Decoupling = TRUE
Initial_Wait = 1[s]
Noe = TRUE
Noe_Time = 2[s]
Repetition_Time = 2.83361792[s]



X : parts per Million : Carbon13

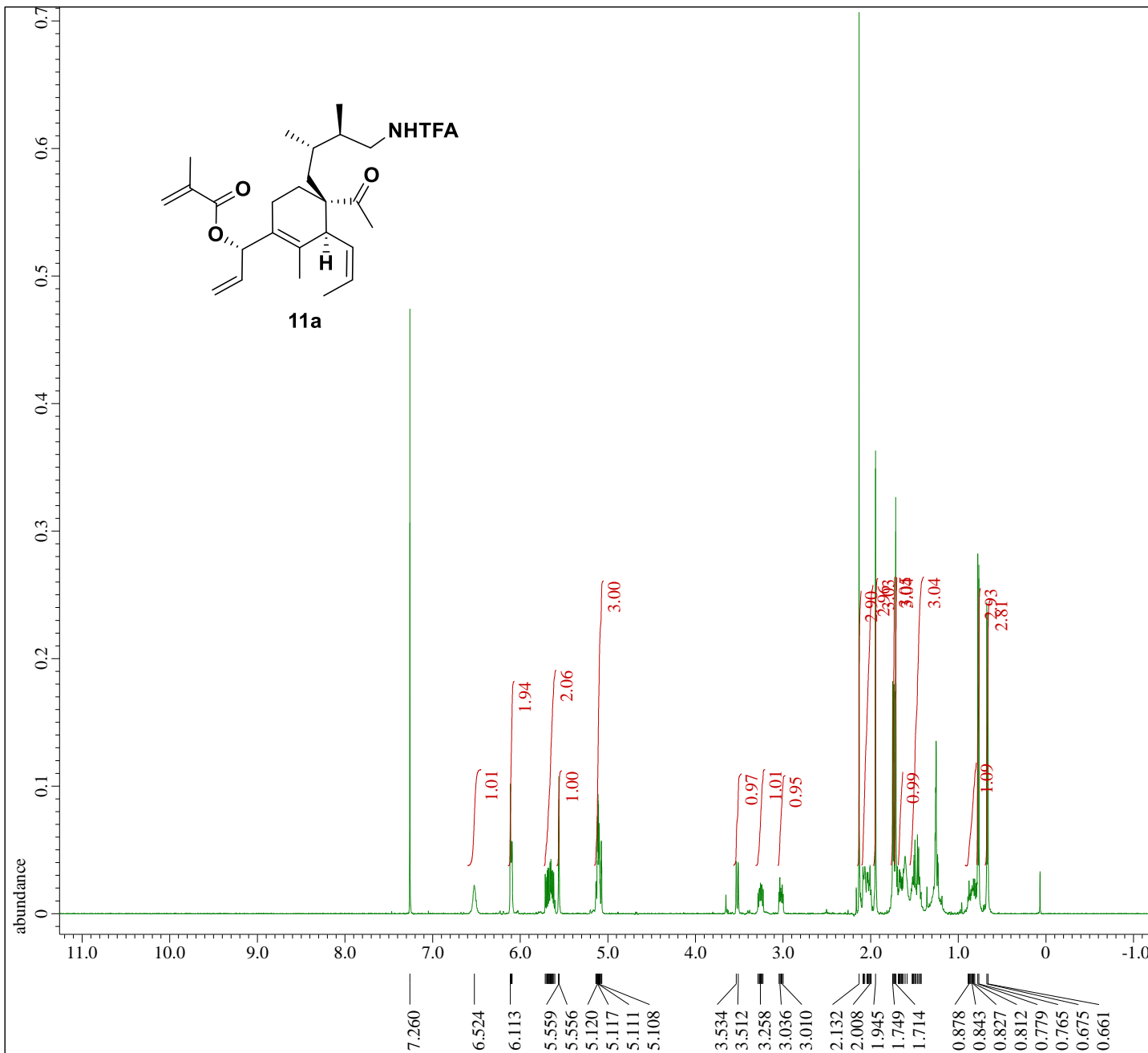


Filename = KM-10-81-F1(SI)_proton-1-
Author = Murata
Experiment = proton.jxp
Sample_Id = KM-10-81-F1(SI)
Solvent = CHLOROFORM-D
Actual_Start_Time = 25-APR-2019 09:45:49
Revision_Time = 17-OCT-2019 17:10:32

Comment = single_pulse
Data_Format = 1D_REAL
Dim_Size = 52429
Dim_Title = Proton
Dim_Units = [ppm]
Dimensions = X
Site = ECA 500
Spectrometer = DELTA2_NMR

Field_Strength = 11.7473579[T] (500[MHz])
X_Acq_Duration = 6.98351616[s]
X_Domain = 1H
X_Freq = 500.15991521[MHz]
X_Offset = 5.0[ppm]
X_Points = 65536
X_Prescans = 1
X_Resolution = 0.14319434[Hz]
X_Sweep = 9.38438438[kHz]
X_Sweep_Clipped = 7.50750751[kHz]
Irr_Domain = Proton
Irr_Freq = 500.15991521[MHz]
Irr_Offset = 5.0[ppm]
Tri_Domain = Proton
Tri_Freq = 500.15991521[MHz]
Tri_Offset = 5.0[ppm]
Clipped = FALSE
Scans = 8
Total_Scans = 8

Relaxation_Delay = 5[s]
Recvr_Gain = 40
Temp_Get = 25.1[dC]
X_90_Width = 13.1[us]
X_Acq_Time = 6.98351616[s]
X_Angle = 45[deg]
X_Atn = 4[dB]
X_Pulse = 6.55[us]
Irr_Mode = Off
Tri_Mode = Off
Dante_Presat = FALSE
Initial_Wait = 1[s]
Repetition_Time = 11.98351616[s]



X : parts per Million : Proton

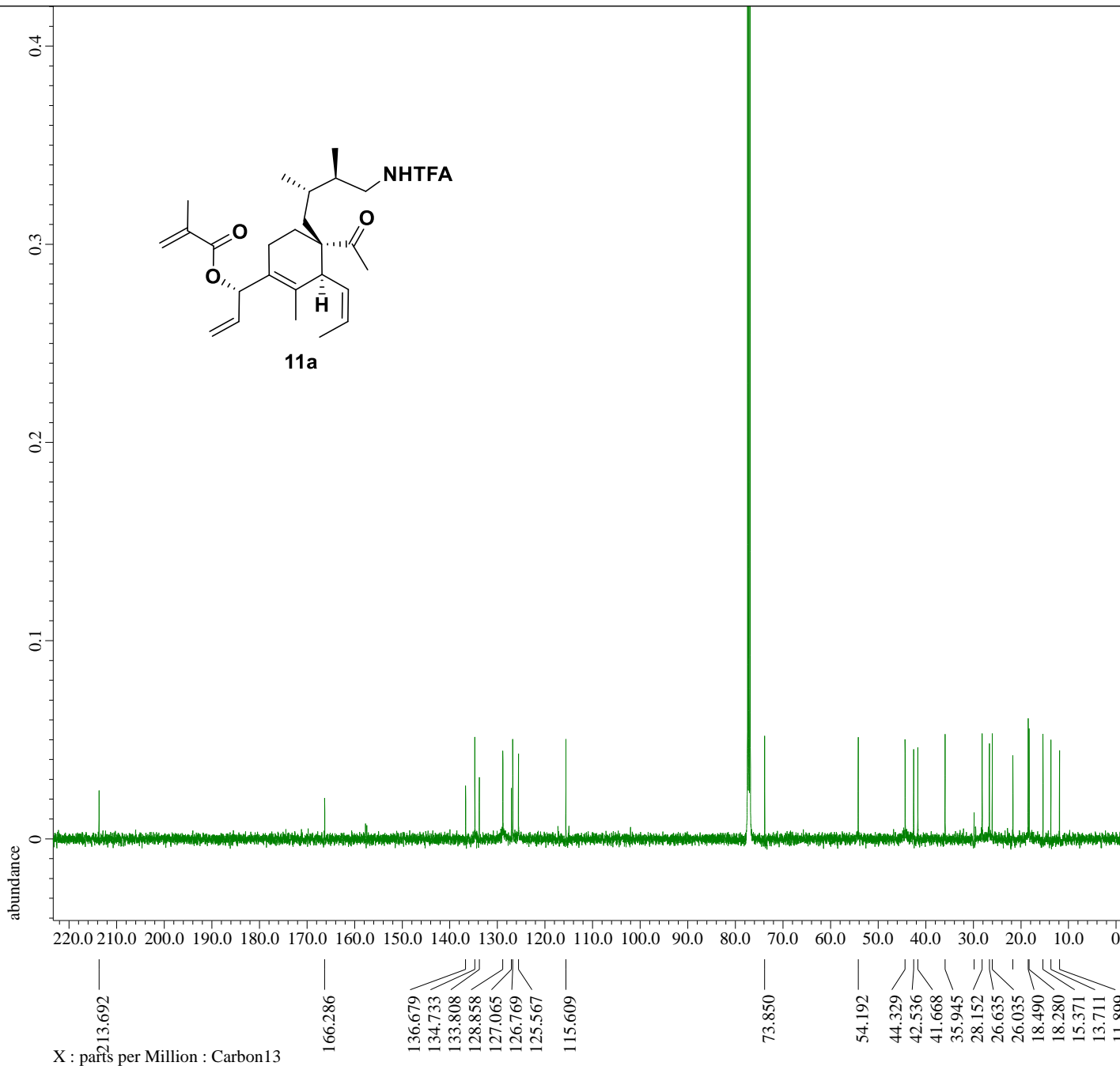


Filename = KM-10-81-F1(SI)_carbon-1-
Author = Murata
Experiment = carbon.jxp
Sample_Id = KM-10-81-F1(SI)
Solvent = CHLOROFORM-D
Actual_Start_Time = 25-APR-2019 09:48:38
Revision_Time = 16-OCT-2019 11:19:59

Comment = single pulse decoupled ga
Data_Format = 1D_REAL
Dim_Size = 26214
Dim_Title = Carbon13
Dim_Units = [ppm]
Dimensions = X
Site = ECA 500
Spectrometer = DELTA2_NMR

Field_Strength = 11.7473579[T] (500[MHz])
X_Acq_Duration = 0.83361792[s]
X_Domain = 13C
X_Freq = 125.76529768[MHz]
X_Offset = 100[ppm]
X_Points = 32768
X_Prescans = 4
X_Resolution = 1.19959034[Hz]
X_Sweep = 39.3081761[kHz]
X_Sweep_Clipped = 31.44654088[kHz]
Irr_Domain = Proton
Irr_Freq = 500.15991521[MHz]
Irr_Offset = 5.0[ppm]
Clipped = FALSE
Scans = 2535
Total_Scans = 2535

Relaxation_Delay = 2[s]
Recvr_Gain = 58
Temp_Get = 25[dC]
X_90_Width = 11.6[us]
X_Acq_Time = 0.83361792[s]
X_Angle = 30[deg]
X_Atn = 10[dB]
X_Pulse = 3.86666667[us]
Irr_Atn_Dec = 20.5[dB]
Irr_Atn_Noise = 20.5[dB]
Irr_Noise = WALTZ
Irr_Pwidth = 92[us]
Decoupling = TRUE
Initial_Wait = 1[s]
Noe = TRUE
Noe_Time = 2[s]
Repetition_Time = 2.83361792[s]



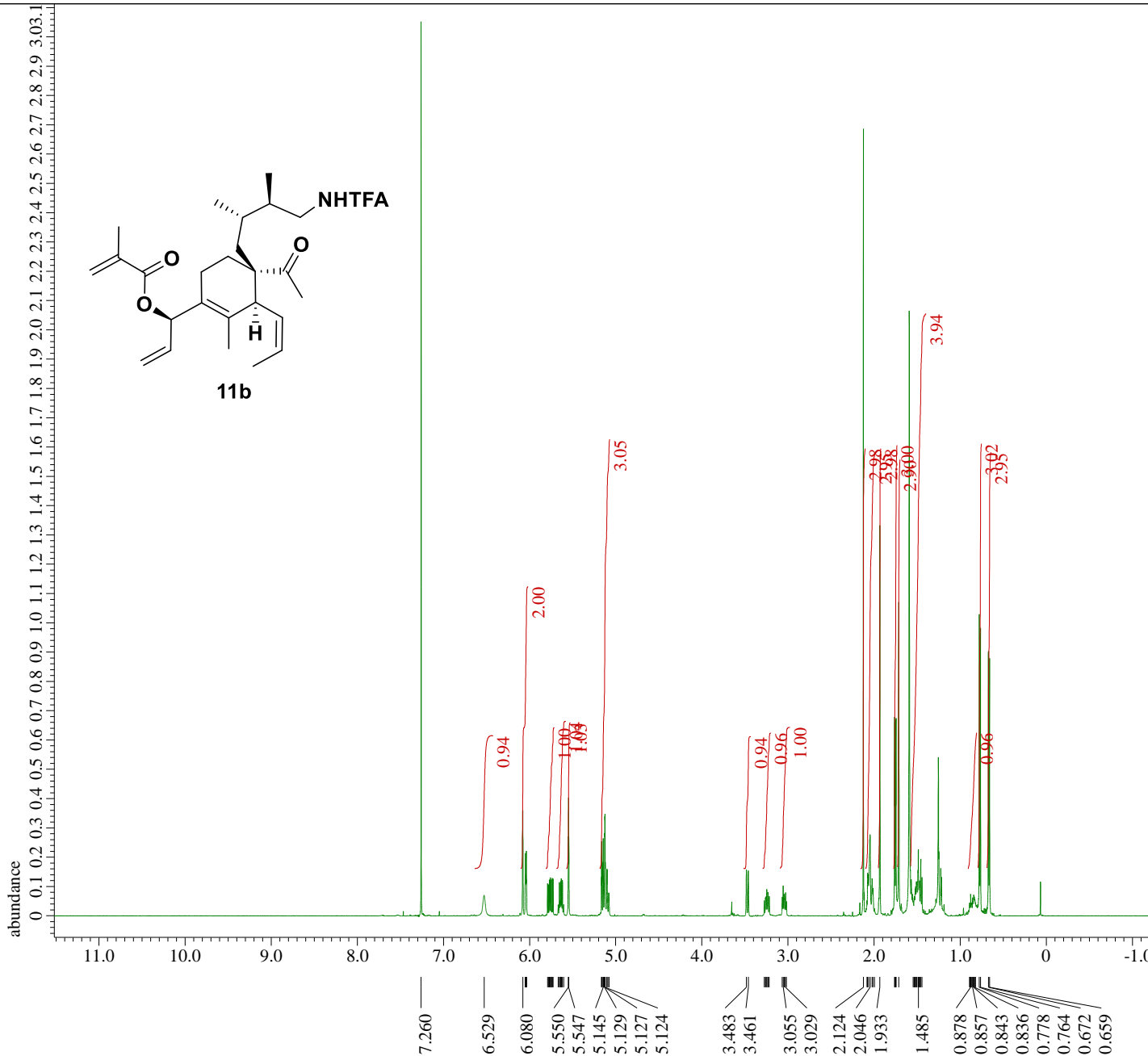


Filename = KM-10-93-F1_proton-1-7.jd
Author = Murata
Experiment = proton.jxp
Sample_Id = KM-10-93-F1
Solvent = CHLOROFORM-D
Actual_Start_Time = 10-MAY-2019 10:32:18
Revision_Time = 16-OCT-2019 18:18:47

Comment = single_pulse
Data_Format = 1D_REAL
Dim_Size = 26214
Dim_Title = Proton
Dim_Units = [ppm]
Dimensions = X
Site = ECA 500
Spectrometer = JNM-ECA500

Field_Strength = 11.7473579 [T] (500 [MHz])
X_Acq_Duration = 3.49175808 [s]
X_Domain = 1H
X_Freq = 500.15991521 [MHz]
X_Offset = 5.0 [ppm]
X_Points = 32768
X_Prescans = 1
X_Resolution = 0.28638868 [Hz]
X_Sweep = 9.38438438 [kHz]
X_Sweep_Clipped = 7.50750751 [kHz]
Irr_Domain = Proton
Irr_Freq = 500.15991521 [MHz]
Irr_Offset = 5.0 [ppm]
Tri_Domain = Proton
Tri_Freq = 500.15991521 [MHz]
Tri_Offset = 5.0 [ppm]
Clipped = FALSE
Scans = 16
Total_Scans = 16

Relaxation_Delay = 5 [s]
Recvr_Gain = 44
Temp_Get = 26 [dC]
X_90_Width = 7.3 [us]
X_Acq_Time = 3.49175808 [s]
X_Angle = 45 [deg]
X_Atn = 4.5 [dB]
X_Pulse = 3.65 [us]
Irr_Mode = Off
Tri_Mode = Off
Dante_Presat = FALSE
Initial_Wait = 1 [s]
Phase = {0, 90, 270, 180, 180, 27
Repetition_Time = 8.49175808 [s]



X : parts per Million : Proton

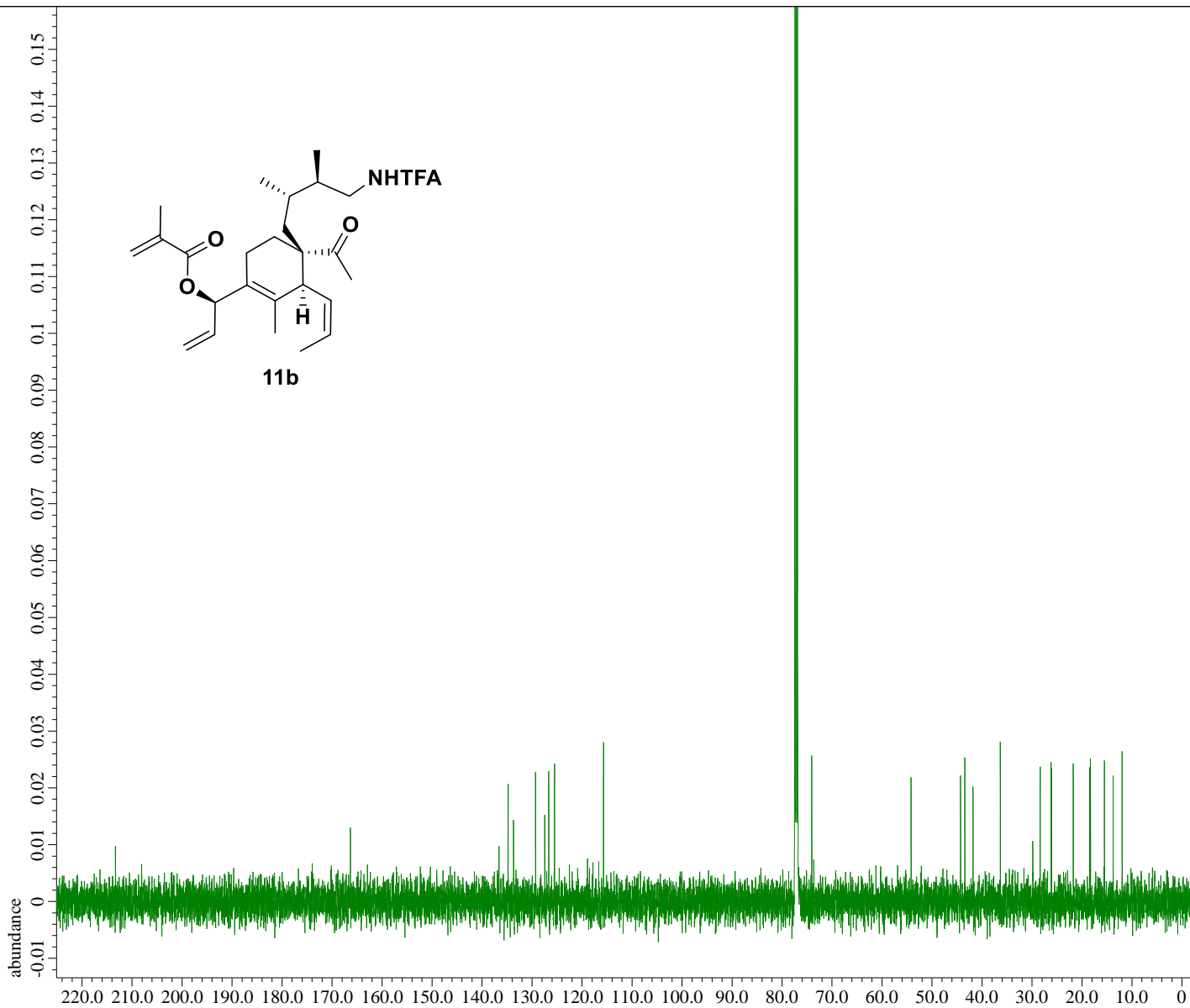


Filename = KM-10-93-F1_carbon-1-7.jd
Author = Murata
Experiment = carbon.jxp
Sample_Id = KM-10-93-F1
Solvent = CHLOROFORM-D
Actual_Start_Time = 10-MAY-2019 10:37:26
Revision_Time = 16-OCT-2019 11:22:21

Comment = single pulse decoupled ga
Data_Format = 1D REAL
Dim_Size = 26214
Dim_Title = Carbon13
Dim_Units = [ppm]
Dimensions = X
Site = ECA 500
Spectrometer = JNM-ECA500

Field_Strength = 11.7473579[T] (500[MHz])
X_Acq_Duration = 0.83361792[s]
X_Domain = 13C
X_Freq = 125.76529768[MHz]
X_Offset = 100[ppm]
X_Points = 32768
X_Prescans = 4
X_Resolution = 1.19959034[Hz]
X_Sweep = 39.3081761[kHz]
X_Sweep_Clipped = 31.44654088[kHz]
Irr_Domain = Proton
Irr_Freq = 500.15991521[MHz]
Irr_Offset = 5.0[ppm]
Clipped = TRUE
Scans = 2048
Total_Scans = 2048

Relaxation_Delay = 2[s]
Recvr_Gain = 56
Temp_Get = 26[dC]
X_90_Width = 20[us]
X_Acq_Time = 0.83361792[s]
X_Angle = 30[deg]
X_Atn = 7[dB]
X_Pulse = 6.66666667[us]
Irr_Atn_Dec = 26.51[dB]
Irr_Atn_NoE = 26.51[dB]
Irr_Noise = WALTZ
Irr_Pwidth = 92[us]
Decoupling = TRUE
Initial_Wait = 1[s]
Noe = TRUE
Noe_Time = 2[s]
Repetition_Time = 2.83361792[s]



X : parts per Million : Carbon13

- 134.791
- 129.296
- 127.456
- 126.664
- 125.500
- 115.704
- 74.060
- 54.182
- 44.291
- 43.423
- 41.811
- 36.336
- 28.371
- 26.178
- 26.092
- 21.752
- 18.471
- 18.309
- 15.514
- 13.759
- 11.975

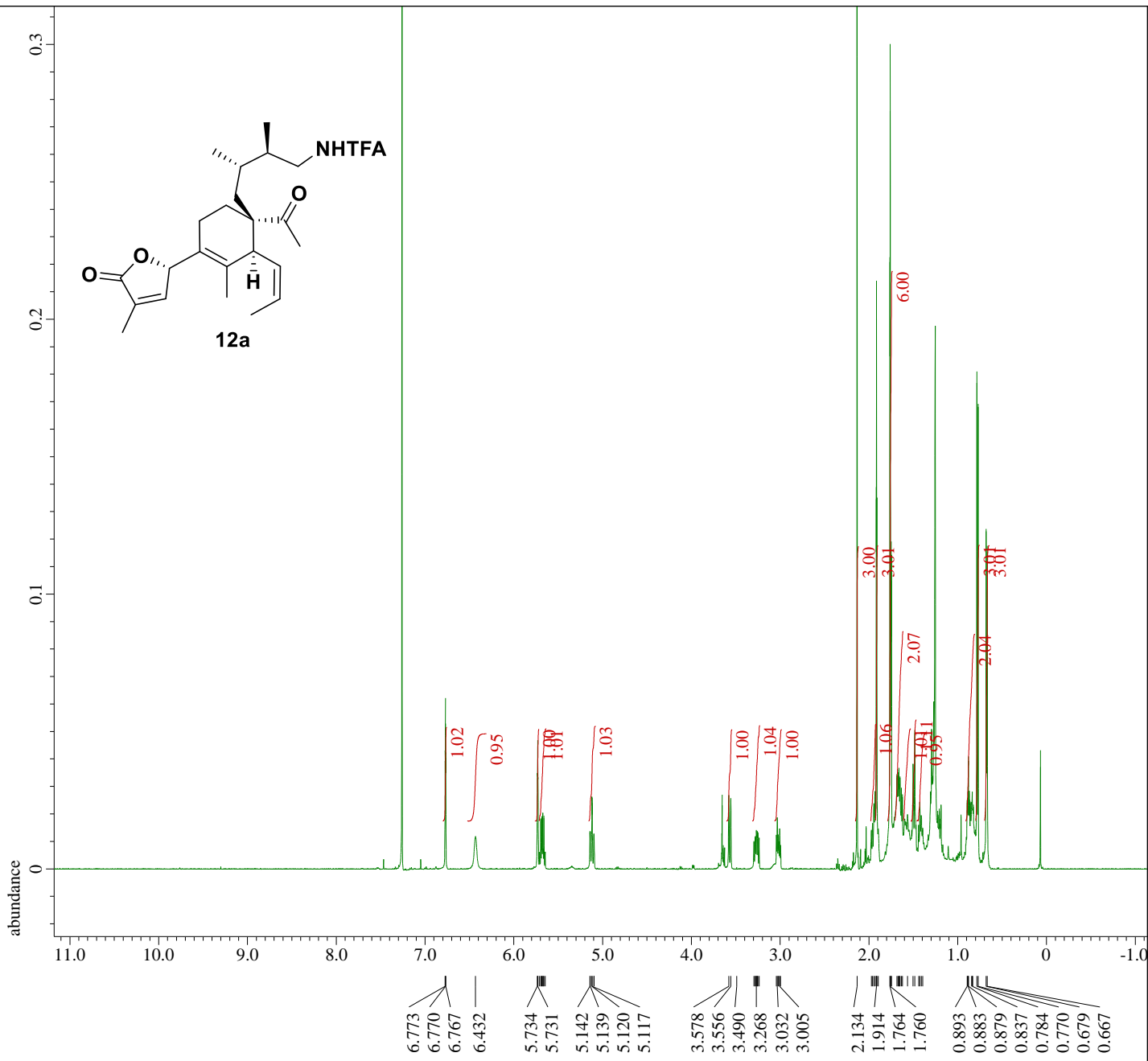
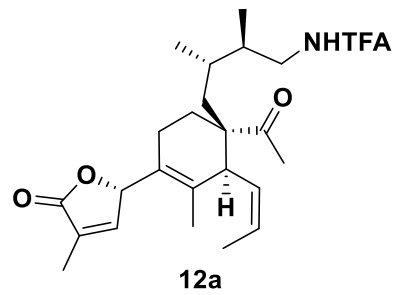


Filename = KM-10-83-F2(SI)_proton-1-
Author = Murata
Experiment = proton.jxp
Sample_Id = KM-10-83-F2(SI)
Solvent = CHLOROFORM-D
Actual_Start_Time = 28-APR-2019 20:30:23
Revision_Time = 17-OCT-2019 15:24:47

Comment = single_pulse
Data_Format = 1D_REAL
Dim_Size = 52429
Dim_Title = Proton
Dim_Units = [ppm]
Dimensions = X
Site = ECA 500
Spectrometer = DELTA2_NMR

Field_Strength = 11.7473579[T] (500[MHz])
X_Acq_Duration = 6.98351616[s]
X_Domain = 1H
X_Freq = 500.15991521[MHz]
X_Offset = 5.0[ppm]
X_Points = 65536
X_Prescans = 1
X_Resolution = 0.14319434[Hz]
X_Sweep = 9.38438438[kHz]
X_Sweep_Clipped = 7.50750751[kHz]
Irr_Domain = Proton
Irr_Freq = 500.15991521[MHz]
Irr_Offset = 5.0[ppm]
Tri_Domain = Proton
Tri_Freq = 500.15991521[MHz]
Tri_Offset = 5.0[ppm]
Clipped = FALSE
Scans = 100
Total_Scans = 100

Relaxation_Delay = 5[s]
Recvr_Gain = 44
Temp_Get = 25[dC]
X_90_Width = 13.1[us]
X_Acq_Time = 6.98351616[s]
X_Angle = 45[deg]
X_Atn = 4[dB]
X_Pulse = 6.55[us]
Irr_Mode = Off
Tri_Mode = Off
Dante_Presat = FALSE
Initial_Wait = 1[s]
Repetition_Time = 11.98351616[s]



X : parts per Million : Proton

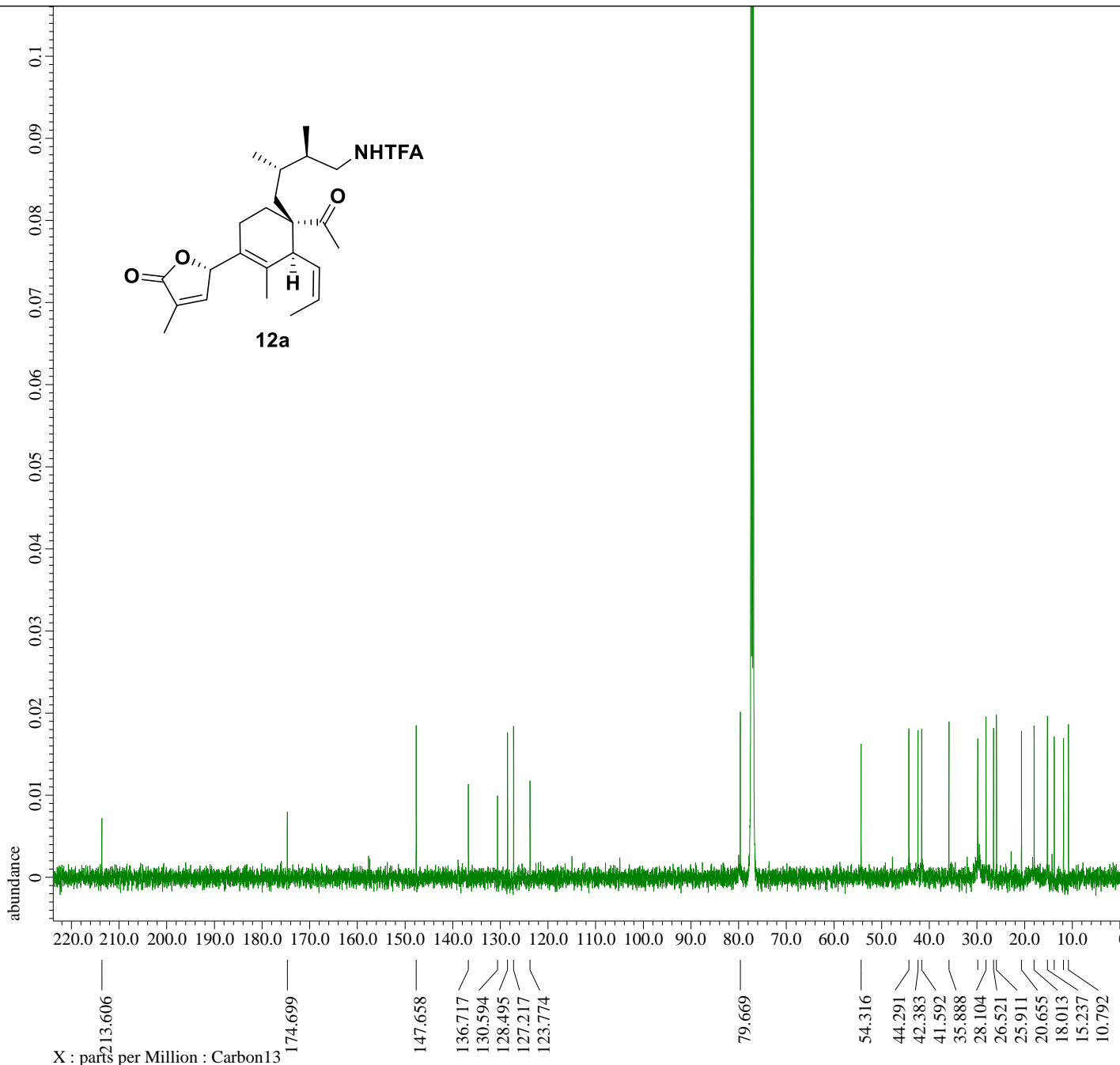


Filename = KM-10-83-F2 (SI)_carbon-1-
Author = Murata
Experiment = carbon.jxp
Sample_Id = KM-10-83-F2 (SI)
Solvent = CHLOROFORM-D
Actual_Start_Time = 28-APR-2019 20:51:44
Revision_Time = 16-OCT-2019 13:00:51

Comment = single pulse decoupled ga
Data Format = 1D REAL
Dim_Size = 26214
Dim_Title = Carbon13
Dim_Units = [ppm]
Dimensions = X
Site = ECA 500
Spectrometer = DELTA2_NMR

Field_Strength = 11.7473579 [T] (500 [MHz])
X_Acq_Duration = 0.83361792 [s]
X_Domain = 13C
X_Freq = 125.76529768 [MHz]
X_Offset = 100 [ppm]
X_Points = 32768
X_Prescans = 4
X_Resolution = 1.19959034 [Hz]
X_Sweep = 39.3081761 [kHz]
X_Sweep_Clipped = 31.44654088 [kHz]
Irr_Domain = Proton
Irr_Freq = 500.15991521 [MHz]
Irr_Offset = 5.0 [ppm]
Clipped = FALSE
Scans = 15000
Total_Scans = 15000

Relaxation_Delay = 2 [s]
Recvr_Gain = 58
Temp_Get = 24.9 [dC]
X_90_Width = 11.6 [us]
X_Acq_Time = 0.83361792 [s]
X_Angle = 30 [deg]
X_Atn = 10 [dB]
X_Pulse = 3.86666667 [us]
Irr_Atn_Dec = 20.5 [dB]
Irr_Atn_Noise = 20.5 [dB]
Irr_Noise = WALTZ
Irr_Pwidth = 92 [us]
Decoupling = TRUE
Initial_Wait = 1 [s]
Noe = TRUE
Noe_Time = 2 [s]
Repetition_Time = 2.83361792 [s]



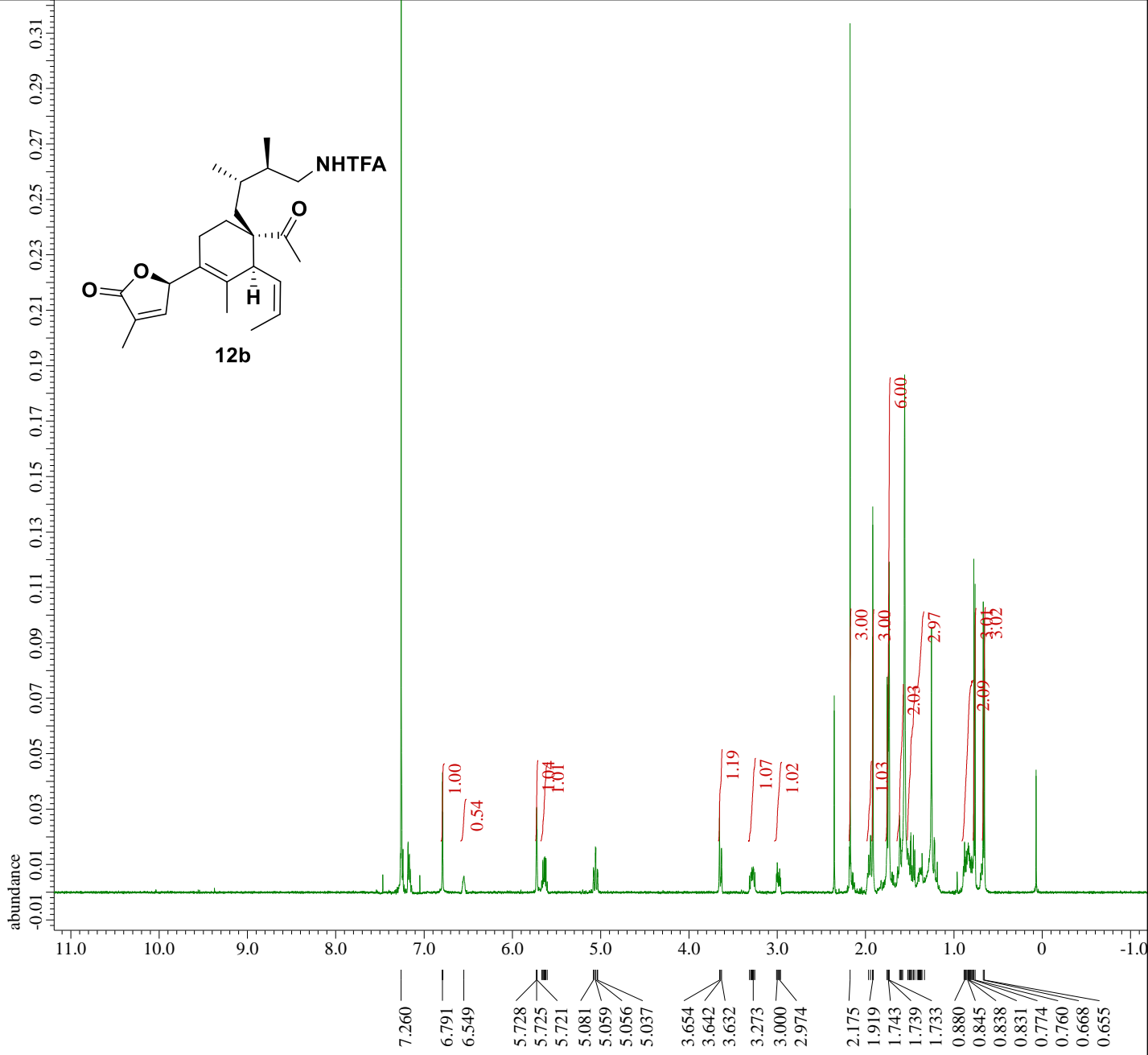
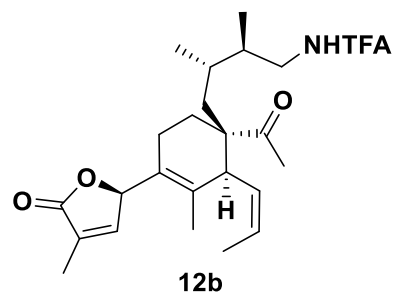


Filename = KM-10-95-F2 (SI)_proton-1-
Author = Murata
Experiment = proton.jxp
Sample_Id = KM-10-95-F2 (SI)
Solvent = CHLOROFORM-D
Actual_Start_Time = 13-MAY-2019 22:40:05
Revision_Time = 16-OCT-2019 21:48:44

Comment = single_pulse
Data_Format = 1D_REAL
Dim_Size = 52429
Dim_Title = Proton
Dim_Units = [ppm]
Dimensions = X
Site = ECA 500
Spectrometer = DELTA2_NMR

Field_Strength = 11.7473579 [T] (500 [MHz])
X_Acq_Duration = 6.98351616 [s]
X_Domain = 1H
X_Freq = 500.15991521 [MHz]
X_Offset = 5.0 [ppm]
X_Points = 65536
X_Prescans = 1
X_Resolution = 0.14319434 [Hz]
X_Sweep = 9.38438438 [kHz]
X_Sweep_Clipped = 7.50750751 [kHz]
Irr_Domain = Proton
Irr_Freq = 500.15991521 [MHz]
Irr_Offset = 5.0 [ppm]
Tri_Domain = Proton
Tri_Freq = 500.15991521 [MHz]
Tri_Offset = 5.0 [ppm]
Clipped = FALSE
Scans = 16
Total_Scans = 16

Relaxation_Delay = 5 [s]
Recvr_Gain = 46
Temp_Get = 25 [dC]
X_90_Width = 13.1 [us]
X_Acq_Time = 6.98351616 [s]
X_Angle = 45 [deg]
X_Atn = 4 [dB]
X_Pulse = 6.55 [us]
Irr_Mode = Off
Tri_Mode = Off
Dante_Preset = FALSE
Initial_Wait = 1 [s]
Repetition_Time = 11.98351616 [s]



X : parts per Million : Proton

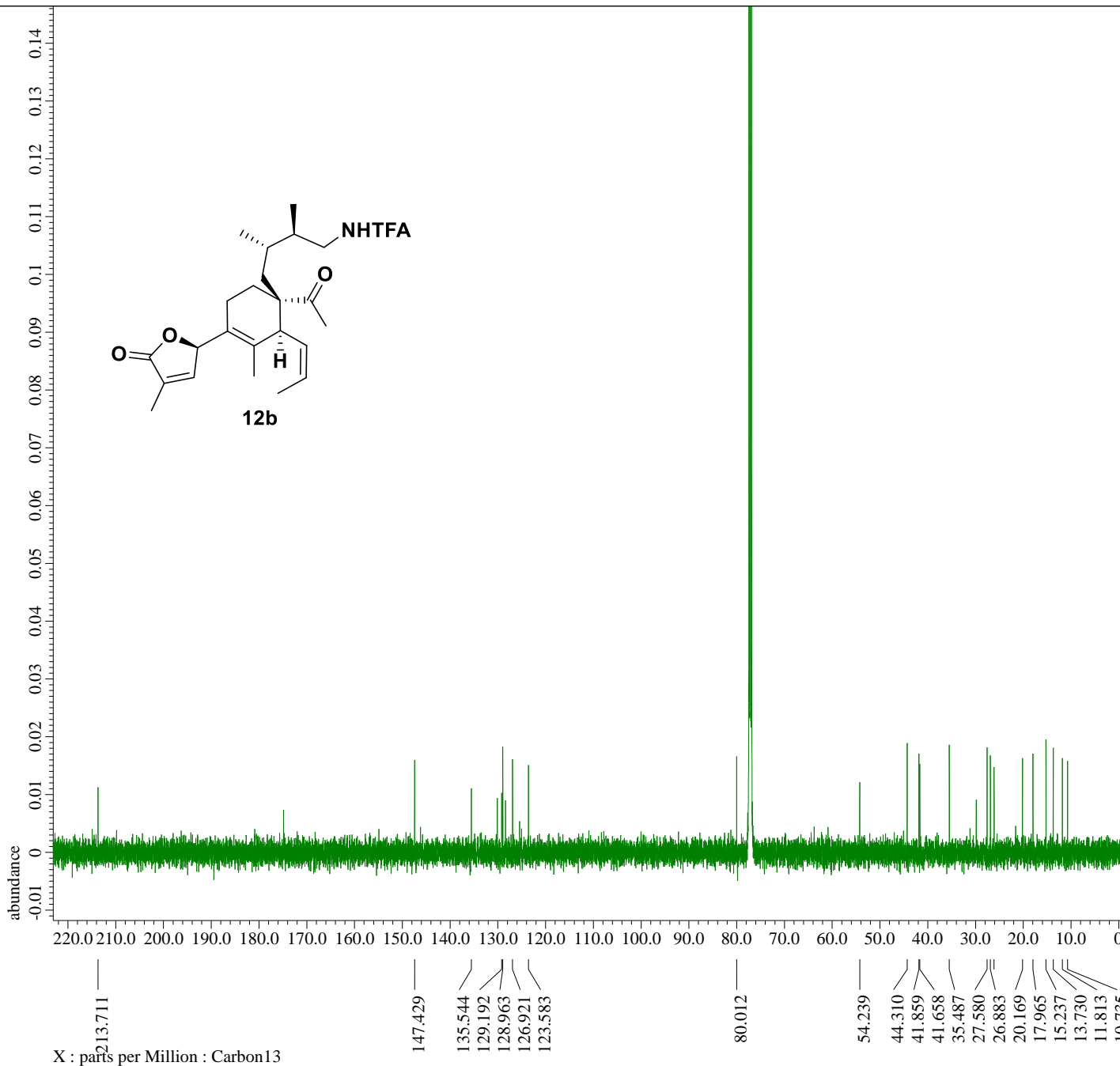


Filename = KM-10-95-F2(SI)_carbon-1-
Author = Murata
Experiment = carbon.jxp
Sample_Id = KM-10-95-F2(SI)
Solvent = CHLOROFORM-D
Actual_Start_Time = 13-MAY-2019 22:44:29
Revision_Time = 16-OCT-2019 13:07:18

Comment = single pulse decoupled ga
Data_Format = 1D REAL
Dim_Size = 26214
Dim_Title = Carbon13
Dim_Units = [ppm]
Dimensions = X
Site = ECA 500
Spectrometer = DELTA2_NMR

Field_Strength = 11.7473579[T] (500[MHz])
X_Acq_Duration = 0.83361792[s]
X_Domain = 13C
X_Freq = 125.76529768[MHz]
X_Offset = 100[ppm]
X_Points = 32768
X_Prescans = 4
X_Resolution = 1.19959034[Hz]
X_Sweep = 39.3081761[kHz]
X_Sweep_Clipped = 31.44654088[kHz]
Irr_Domain = Proton
Irr_Freq = 500.15991521[MHz]
Irr_Offset = 5.0[ppm]
Clipped = FALSE
Scans = 12000
Total_Scans = 12000

Relaxation_Delay = 2[s]
Recvr_Gain = 60
Temp_Get = 24.9[dC]
X_90_Width = 11.6[us]
X_Acq_Time = 0.83361792[s]
X_Angle = 30[deg]
X_Atn = 10[dB]
X_Pulse = 3.86666667[us]
Irr_Atn_Dec = 20.5[dB]
Irr_Atn_Noie = 20.5[dB]
Irr_Noise = WALTZ
Irr_Pwidth = 92[us]
Decoupling = TRUE
Initial_Wait = 1[s]
Noe = TRUE
Noe_Time = 2[s]
Repetition_Time = 2.83361792[s]



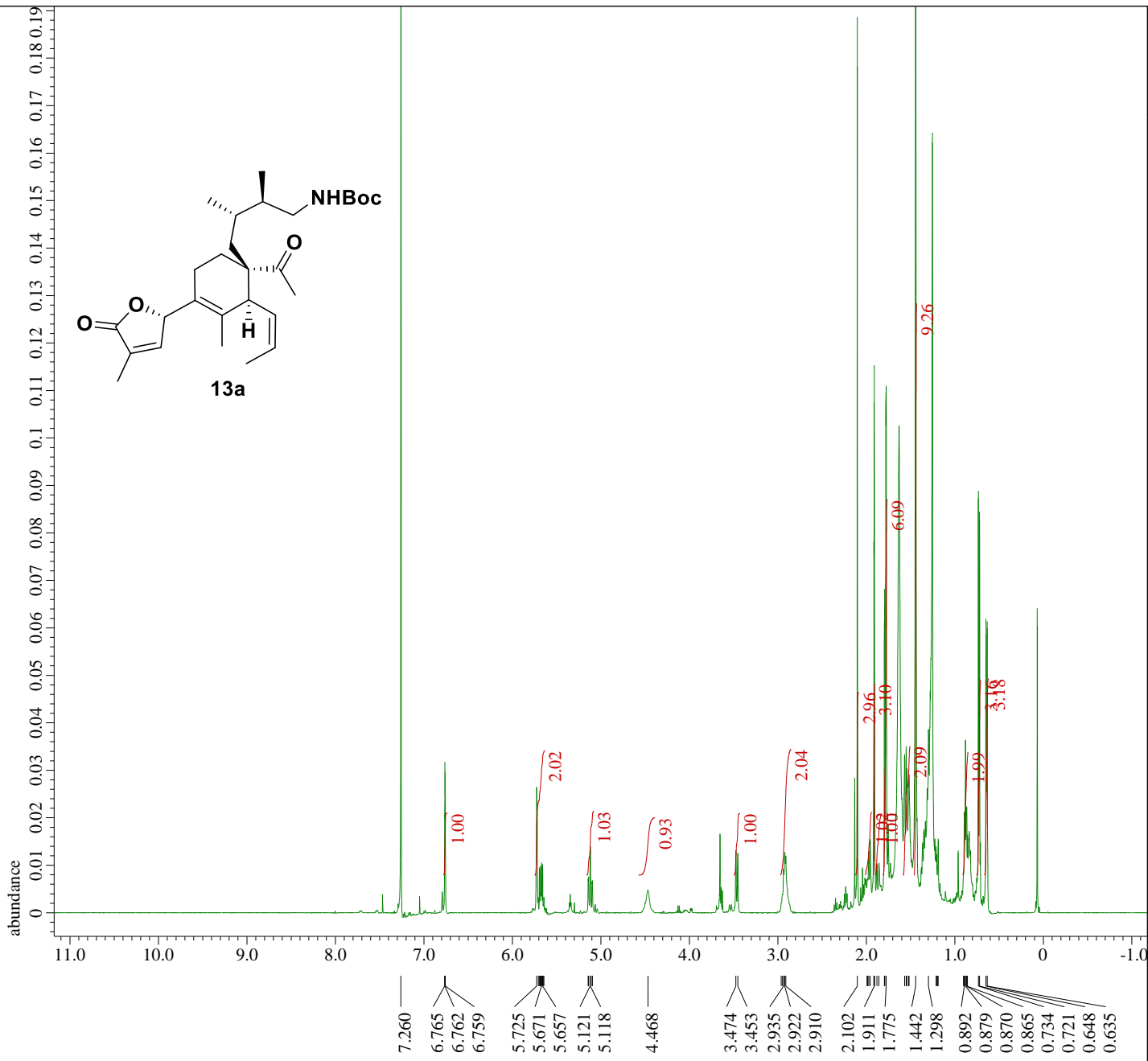
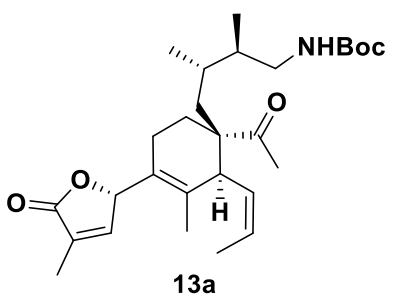


Filename = KM-10-87-F2 (SI)_proton-1-
Author = Murata
Experiment = proton.jxp
Sample_Id = KM-10-87-F2 (SI)
Solvent = CHLOROFORM-D
Actual_Start_Time = 30-APR-2019 22:07:06
Revision_Time = 17-OCT-2019 15:27:18

Comment = single_pulse
Data_Format = 1D_REAL
Dim_Size = 52429
Dim_Title = Proton
Dim_Units = [ppm]
Dimensions = X
Site = ECA 500
Spectrometer = DELTA2_NMR

Field_Strength = 11.7473579 [T] (500 [MHz])
X_Acq_Duration = 6.98351616 [s]
X_Domain = 1H
X_Freq = 500.15991521 [MHz]
X_Offset = 5.0 [ppm]
X_Points = 65536
X_Prescans = 1
X_Resolution = 0.14319434 [Hz]
X_Sweep = 9.38438438 [kHz]
X_Sweep_Clipped = 7.50750751 [kHz]
Irr_Domain = Proton
Irr_Freq = 500.15991521 [MHz]
Irr_Offset = 5.0 [ppm]
Tri_Domain = Proton
Tri_Freq = 500.15991521 [MHz]
Tri_Offset = 5.0 [ppm]
Clipped = FALSE
Scans = 1000
Total_Scans = 1000

Relaxation_Delay = 5 [s]
Recvr_Gain = 46
Temp_Get = 25 [dC]
X_90_Width = 13.1 [us]
X_Acq_Time = 6.98351616 [s]
X_Angle = 45 [deg]
X_Atn = 4 [dB]
X_Pulse = 6.55 [us]
Irr_Mode = Off
Tri_Mode = Off
Dante_Preset = FALSE
Initial_Wait = 1 [s]
Repetition_Time = 11.98351616 [s]



X : parts per Million : Proton

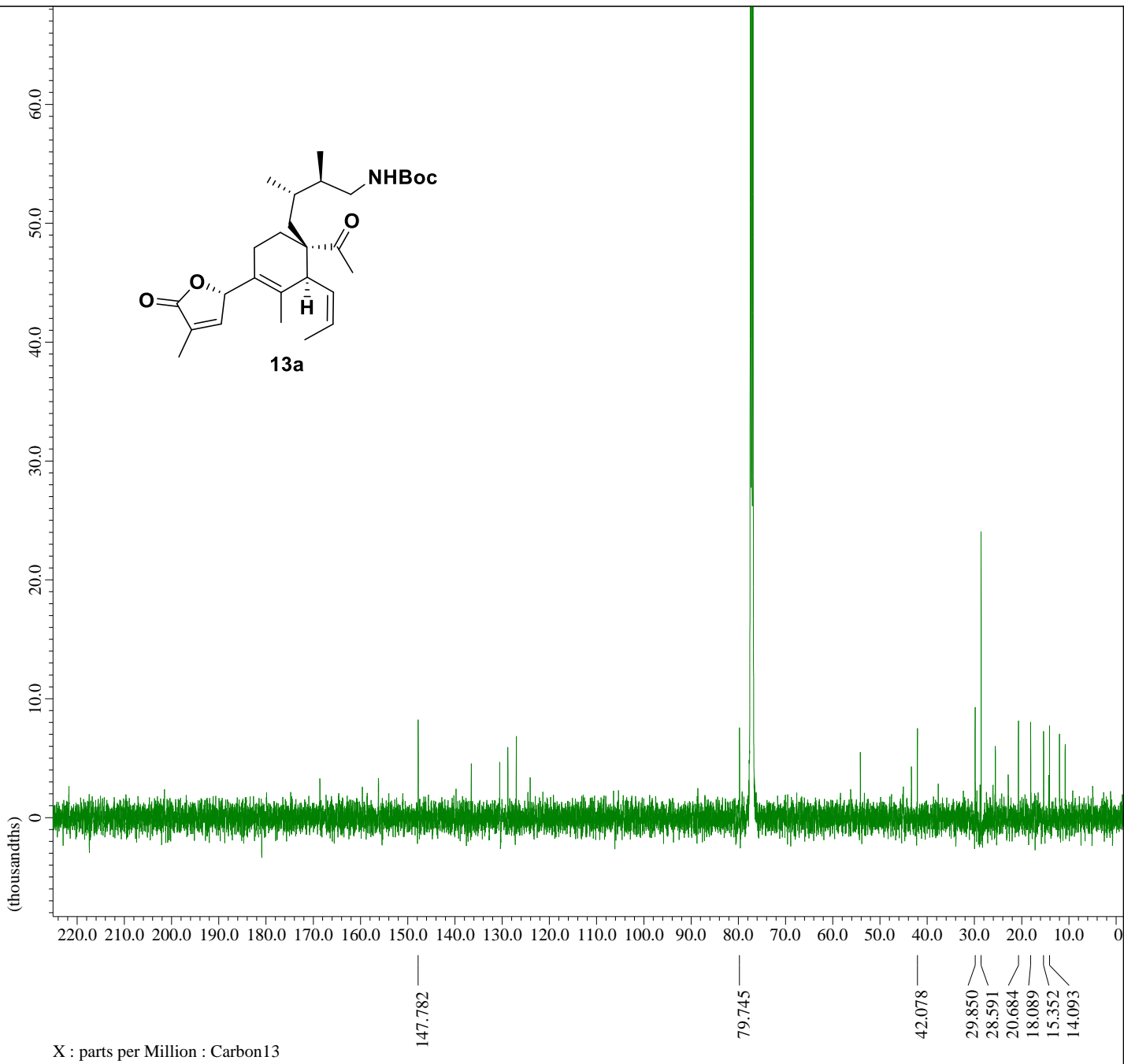


Filename = KM-10-87-F2 (SI)_carbon-1-
Author = Murata
Experiment = carbon.jxp
Sample_Id = KM-10-87-F2 (SI)
Solvent = CHLOROFORM-D
Actual_Start_Time = 1-MAY-2019 01:28:01
Revision_Time = 16-OCT-2019 13:11:50

Comment = single pulse decoupled ga
Data Format = 1D REAL
Dim_Size = 26214
Dim_Title = Carbon13
Dim_Units = [ppm]
Dimensions = X
Site = ECA 500
Spectrometer = DELTA2_NMR

Field_Strength = 11.7473579 [T] (500 [MHz])
X_Acq_Duration = 0.83361792 [s]
X_Domain = 13C
X_Freq = 125.76529768 [MHz]
X_Offset = 100 [ppm]
X_Points = 32768
X_Prescans = 4
X_Resolution = 1.19959034 [Hz]
X_Sweep = 39.3081761 [kHz]
X_Sweep_Clipped = 31.44654088 [kHz]
Irr_Domain = Proton
Irr_Freq = 500.15991521 [MHz]
Irr_Offset = 5.0 [ppm]
Clipped = FALSE
Scans = 10000
Total_Scans = 10000

Relaxation_Delay = 2 [s]
Recvr_Gain = 58
Temp_Get = 25 [dC]
X_90_Width = 11.6 [us]
X_Acq_Time = 0.83361792 [s]
X_Angle = 30 [deg]
X_Atn = 10 [dB]
X_Pulse = 3.86666667 [us]
Irr_Atn_Dec = 20.5 [dB]
Irr_Atn_Noise = 20.5 [dB]
Irr_Noise = WALTZ
Irr_Pwidth = 92 [us]
Decoupling = TRUE
Initial_Wait = 1 [s]
Noe = TRUE
Noe_Time = 2 [s]
Repetition_Time = 2.83361792 [s]





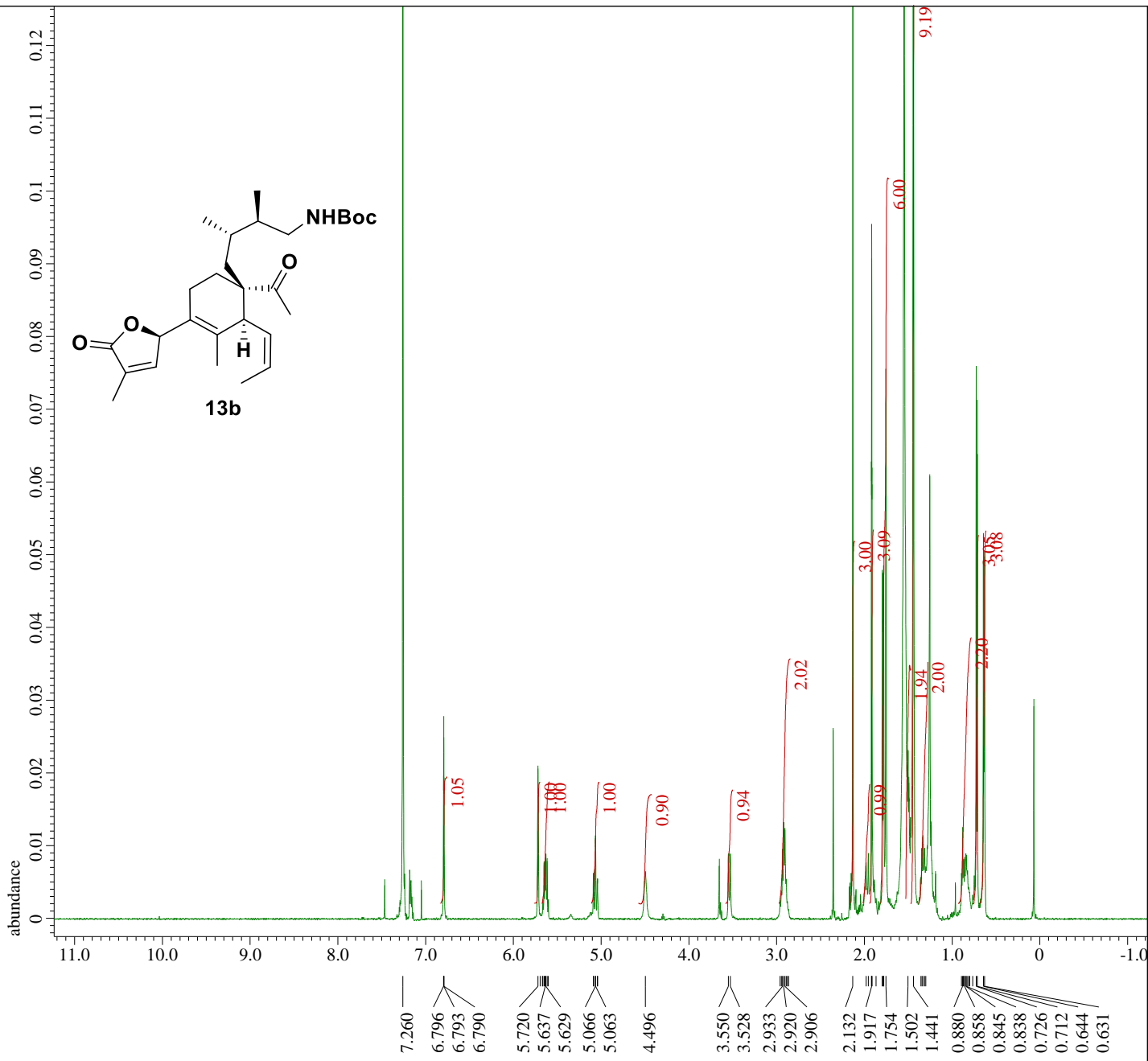
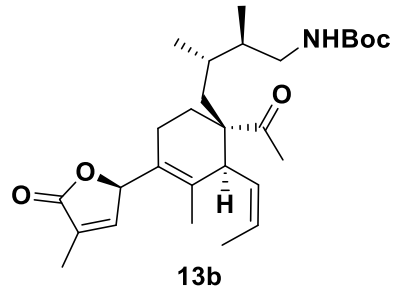
```

Filename      = KM-10-97-F1 (SI)_proton-1-
Author       = Murata
Experiment   = proton.jxp
Sample_Id    = KM-10-97-F1 (SI)
Solvent      = CHLOROFORM-D
Actual_Start_Time = 14-MAY-2019 21:02:15
Revision_Time  = 17-OCT-2019 17:13:38

Comment      = single_pulse
Data Format   = 1D_REAL
Dim_Size     = 52429
Dim_Title    = Proton
Dim_Units    = [ppm]
Dimensions   = X
Site         = ECA 500
Spectrometer = DELTA2_NMR

Field Strength = 11.7473579 [T] (500 [MHz])
X_Acq_Duration = 6.98351616 [s]
X_Domain      = 1H
X_Freq        = 500.15991521 [MHz]
X_Offset      = 5.0 [ppm]
X_Points      = 65536
X_Prescans    = 1
X_Resolution  = 0.14319434 [Hz]
X_Sweep       = 9.38438438 [kHz]
X_Sweep_Clipped = 7.50750751 [kHz]
Irr_Domain    = Proton
Irr_Freq      = 500.15991521 [MHz]
Irr_Offset    = 5.0 [ppm]
Tri_Domain    = Proton
Tri_Freq      = 500.15991521 [MHz]
Tri_Offset    = 5.0 [ppm]
Clipped       = FALSE
Scans         = 111
Total_Scans   = 111

Relaxation_Delay = 5 [s]
Recvr_Gain       = 48
Temp_Get         = 25 [dC]
X_90_Width      = 13.1 [us]
X_Acq_Time      = 6.98351616 [s]
X_Angle         = 45 [deg]
X_Atn           = 4 [dB]
X_Pulse         = 6.55 [us]
Irr_Mode        = Off
Tri_Mode        = Off
Dante_Preset    = FALSE
Initial_Wait    = 1 [s]
Repetition_Time = 11.98351616 [s]
  
```



X : parts per Million : Proton

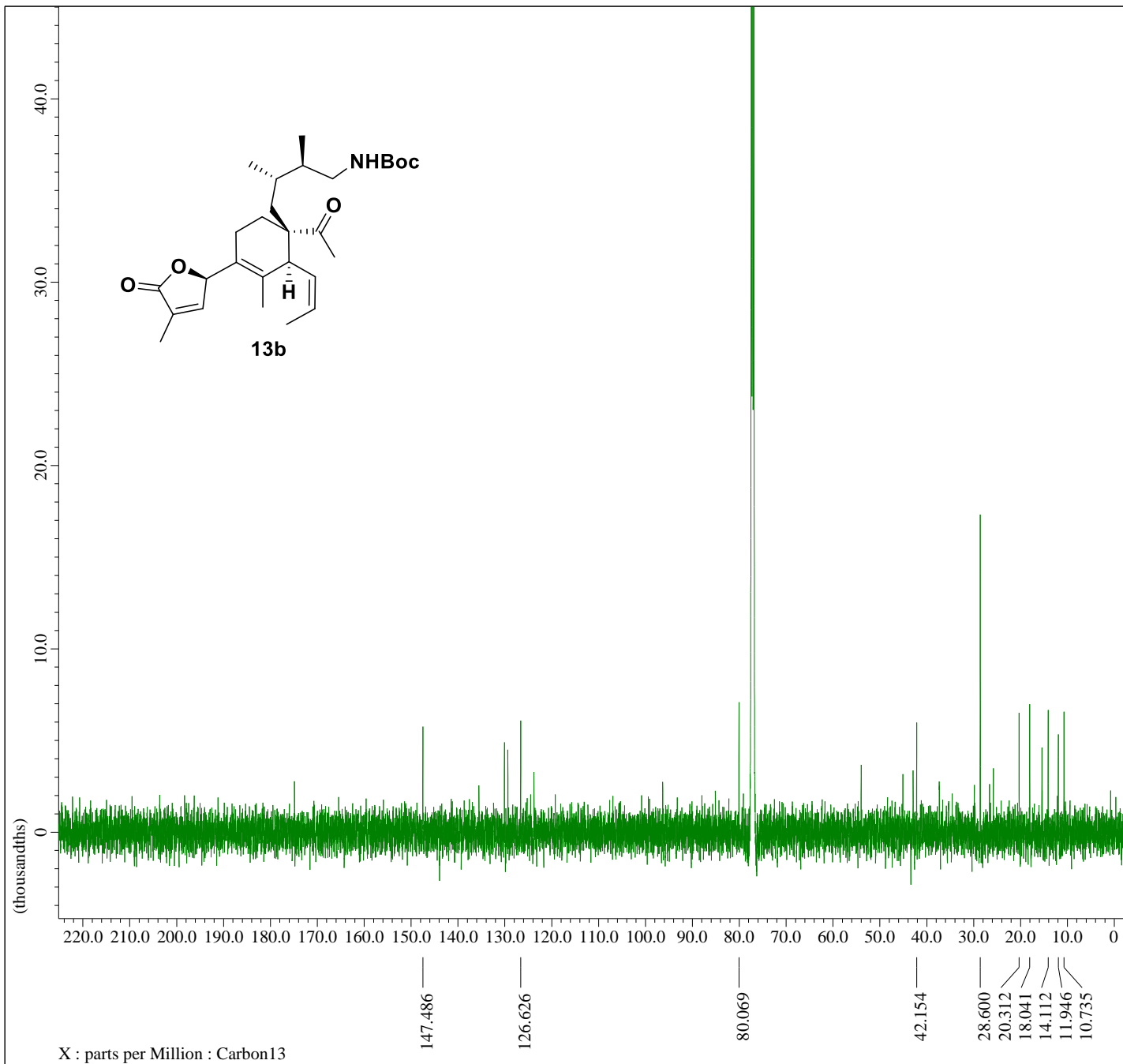


Filename = KM-10-97-F1(SI)_carbon-1-
Author = Murata
Experiment = carbon.jxp
Sample_Id = KM-10-97-F1(SI)
Solvent = CHLOROFORM-D
Actual_Start_Time = 14-MAY-2019 21:25:59
Revision_Time = 16-OCT-2019 13:16:29

Comment = single pulse decoupled ga
Data_Format = 1D_REAL
Dim_Size = 26214
Dim_Title = Carbon13
Dim_Units = [ppm]
Dimensions = X
Site = ECA 500
Spectrometer = DELTA2_NMR

Field_Strength = 11.7473579[T] (500[MHz])
X_Acq_Duration = 0.83361792[s]
X_Domain = 13C
X_Freq = 125.76529768[MHz]
X_Offset = 100[ppm]
X_Points = 32768
X_Prescans = 4
X_Resolution = 1.19959034[Hz]
X_Sweep = 39.3081761[kHz]
X_Sweep_Clipped = 31.44654088[kHz]
Irr_Domain = Proton
Irr_Freq = 500.15991521[MHz]
Irr_Offset = 5.0[ppm]
Clipped = FALSE
Scans = 14000
Total_Scans = 14000

Relaxation_Delay = 2[s]
Recvr_Gain = 58
Temp_Get = 25[dC]
X_90_Width = 11.6[us]
X_Acq_Time = 0.83361792[s]
X_Angle = 30[deg]
X_Atn = 10[dB]
X_Pulse = 3.86666667[us]
Irr_Atn_Dec = 20.5[dB]
Irr_Atn_Noce = 20.5[dB]
Irr_Noise = WALTZ
Irr_Pwidth = 92[us]
Decoupling = TRUE
Initial_Wait = 1[s]
Noe = TRUE
Noe_Time = 2[s]
Repetition_Time = 2.83361792[s]



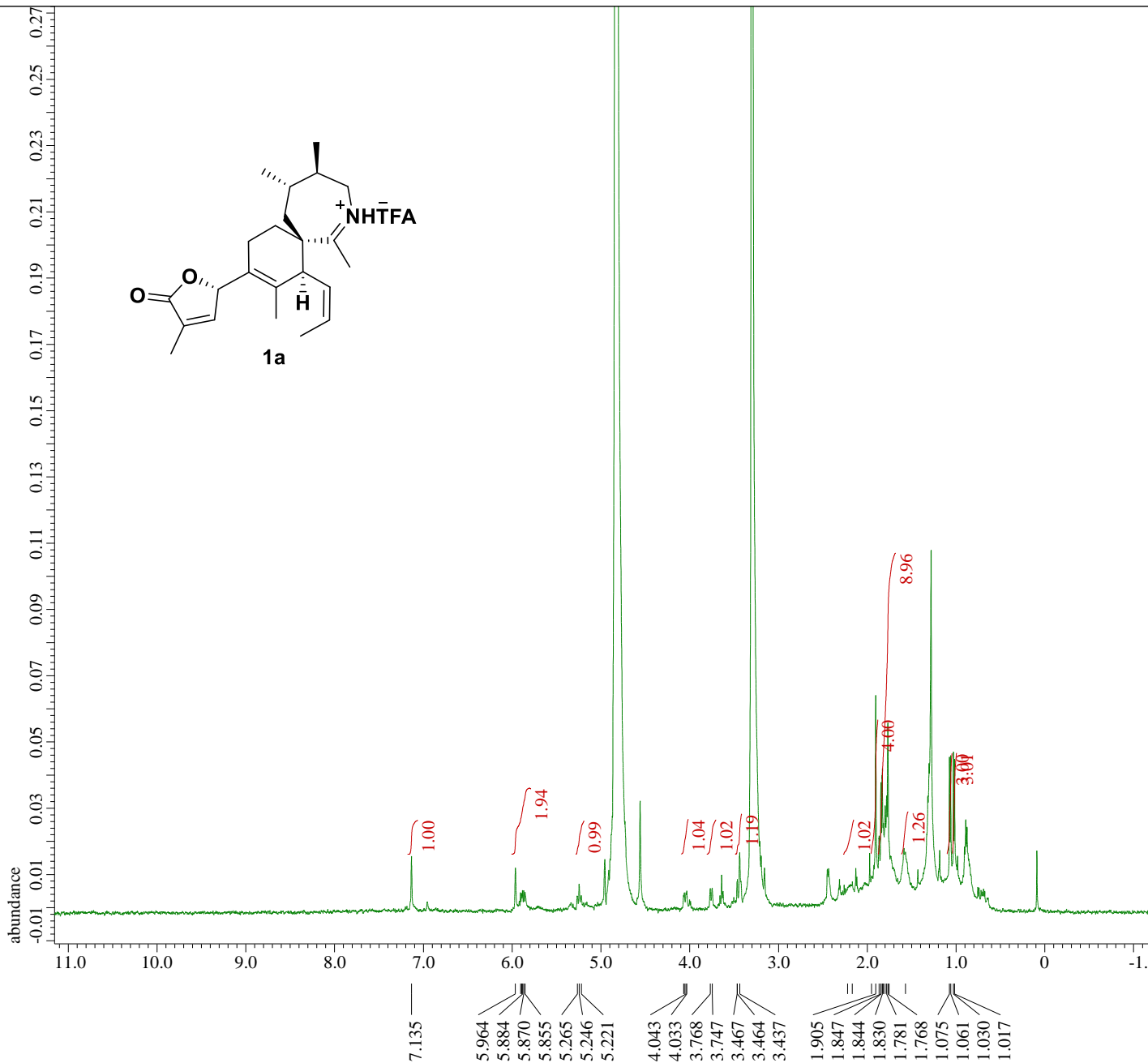


Filename = KM-10-Imine (S)-CD3OD_pro
Author = Murata
Experiment = proton.jxp
Sample_Id = KM-10-Imine (S)-CD3OD
Solvent = METHANOL-D4
Actual_Start_Time = 1-JUL-2019 18:53:13
Revision_Time = 16-OCT-2019 22:43:43

Comment = single_pulse
Data_Format = 1D_REAL
Dim_Size = 26214
Dim_Title = Proton
Dim_Units = [ppm]
Dimensions = X
Site = ECA 500
Spectrometer = JNM-ECA500

Field_Strength = 11.7473579[T] (500[MHz])
X_Acq_Duration = 3.49175808[s]
X_Domain = 1H
X_Freq = 500.15991521[MHz]
X_Offset = 5.0[ppm]
X_Points = 32768
X_Prescans = 1
X_Resolution = 0.28638868[Hz]
X_Sweep = 9.38438438[kHz]
X_Sweep_Clipped = 7.50750751[kHz]
Irr_Domain = Proton
Irr_Freq = 500.15991521[MHz]
Irr_Offset = 5.0[ppm]
Tri_Domain = Proton
Tri_Freq = 500.15991521[MHz]
Tri_Offset = 5.0[ppm]
Clipped = FALSE
Scans = 8
Total_Scans = 8

Relaxation_Delay = 5[s]
Recvr_Gain = 50
Temp_Get = 25.9[dC]
X_90_Width = 7.3[us]
X_Acq_Time = 3.49175808[s]
X_Angle = 45[deg]
X_Atn = 4.5[dB]
X_Pulse = 3.65[us]
Irr_Mode = Off
Tri_Mode = Off
Dante_Preset = FALSE
Initial_Wait = 1[s]
Phase = {0, 90, 270, 180, 180, 27
Repetition_Time = 8.49175808[s]



X : parts per Million : Proton

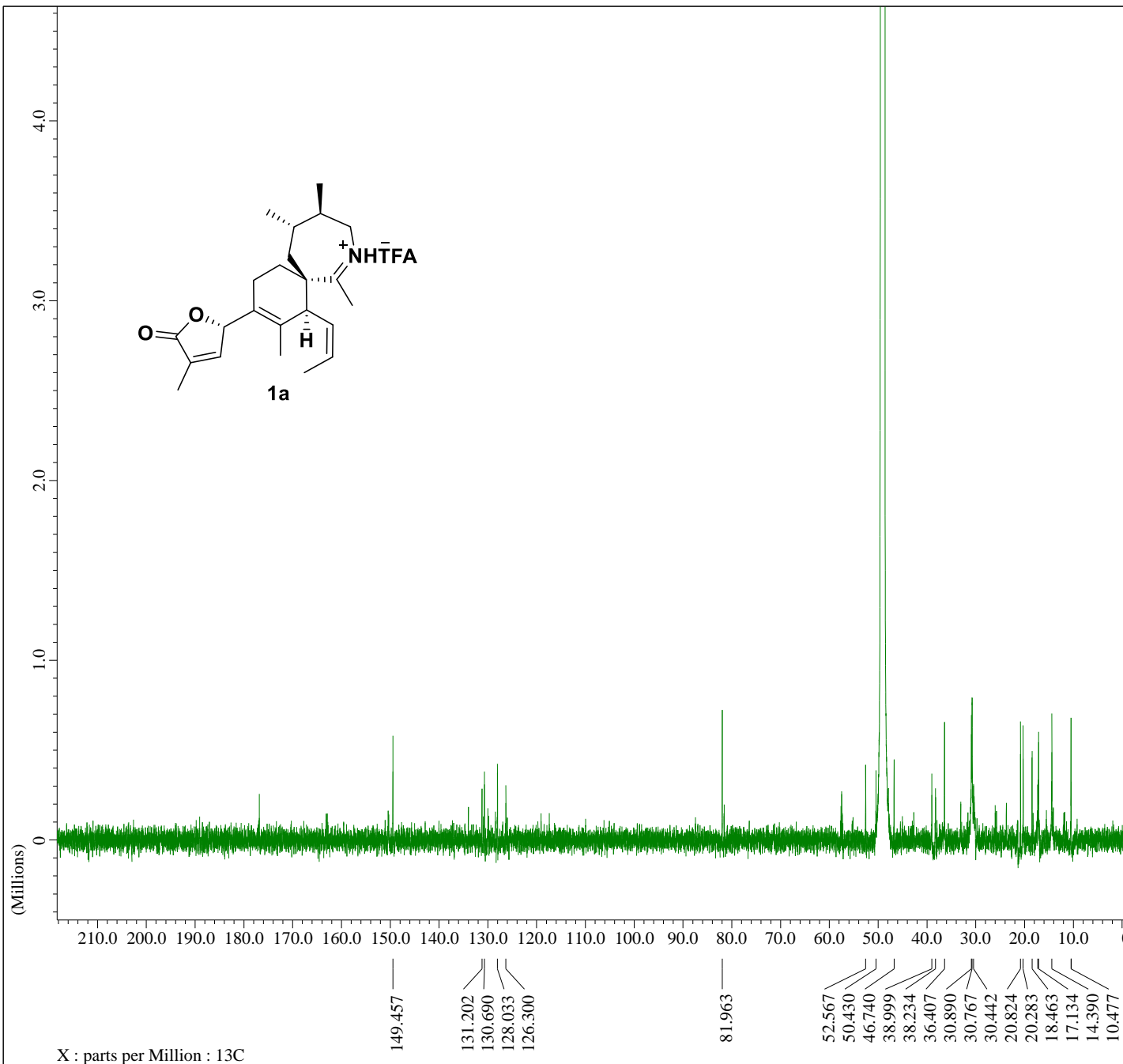
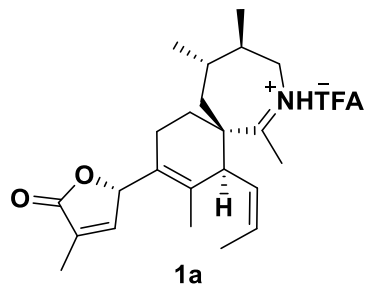


Filename = KM-10-145-S_2-8.jdf
Author = nmrsu
Experiment = zgpg30
Sample_Id = 13C KM-10-155-R-700 190718
Solvent = MeOD
Revision_Time = 16-OCT-2019 13:26:44

Comment = 13C KM-10-155-R-700 190718
Data_Format = 1D REAL
Dim_Size = 32768
Dim_Title = 13C
Dim_Units = [ppm]
Dimensions = X
Spectrometer = BRUKER DMX_NMR

X_Freq = 176.09058084 [MHz]
X_Offset = 17.607298 [kHz]
X_Sweep = 41.66666667 [kHz]

Temp_Get = 297.9961 [K]
X_Points = 32768
X_Prescans = 4
Filter_Factor = 480
Scans = 20942



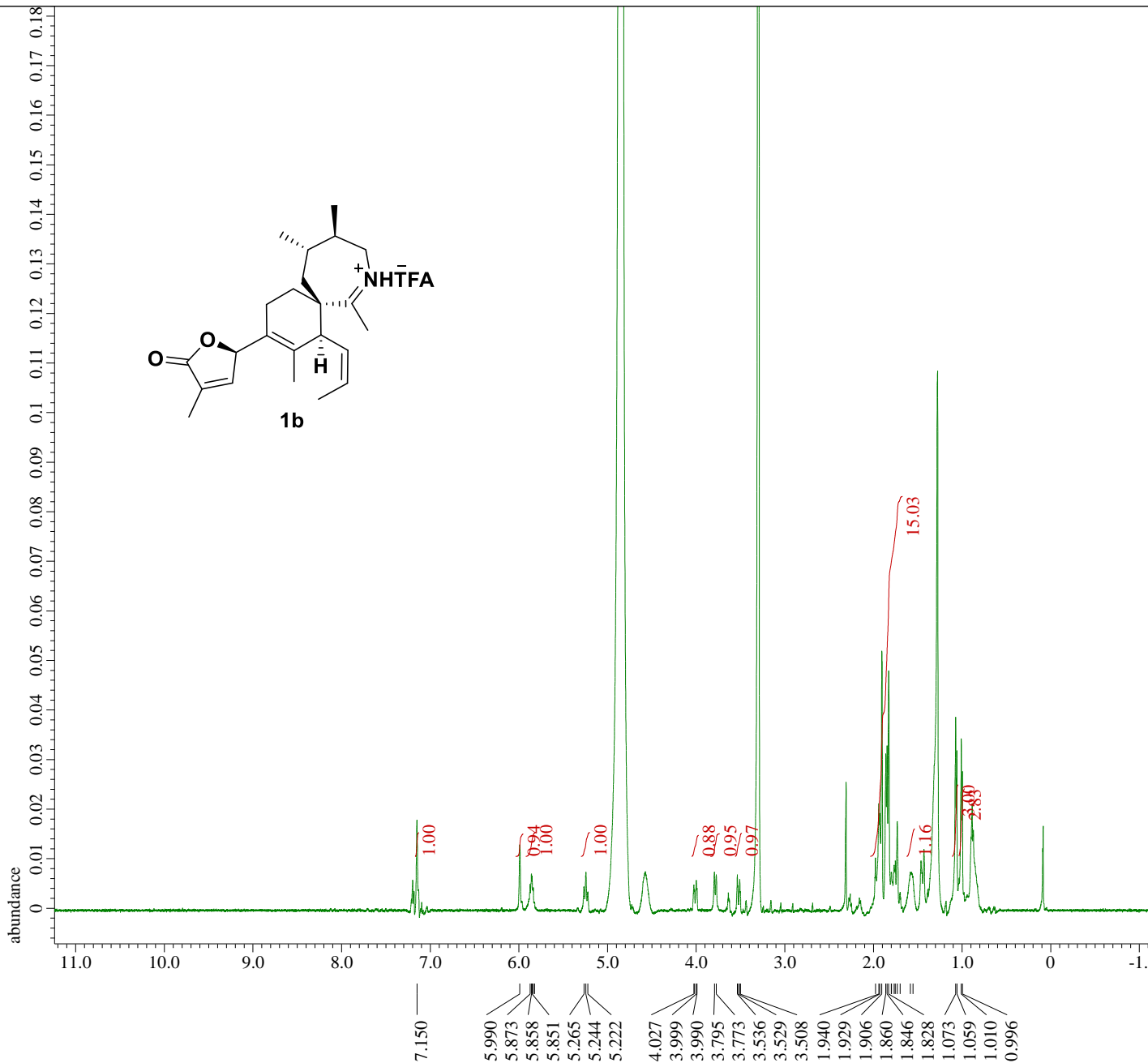


Filename = KM-10-Imine(R)-CD3OD_prot
Author = Murata
Experiment = proton.jxp
Sample_Id = KM-10-Imine(R)-CD3OD
Solvent = METHANOL-D4
Actual_Start_Time = 8-JUL-2019 21:27:05
Revision_Time = 16-OCT-2019 22:57:45

Comment = single_pulse
Data_Format = 1D_REAL
Dim_Size = 26214
Dim_Title = Proton
Dim_Units = [ppm]
Dimensions = X
Site = ECA 500
Spectrometer = JNM-ECA500

Field_Strength = 11.7473579 [T] (500 [MHz])
X_Acq_Duration = 3.49175808 [s]
X_Domain = 1H
X_Freq = 500.15991521 [MHz]
X_Offset = 5.0 [ppm]
X_Points = 32768
X_Prescans = 1
X_Resolution = 0.28638868 [Hz]
X_Sweep = 9.38438438 [kHz]
X_Sweep_Clipped = 7.50750751 [kHz]
Irr_Domain = Proton
Irr_Freq = 500.15991521 [MHz]
Irr_Offset = 5.0 [ppm]
Tri_Domain = Proton
Tri_Freq = 500.15991521 [MHz]
Tri_Offset = 5.0 [ppm]
Clipped = FALSE
Scans = 50
Total_Scans = 50

Relaxation_Delay = 5 [s]
Recvr_Gain = 44
Temp_Get = 25.3 [dC]
X_90_Width = 7.3 [us]
X_Acq_Time = 3.49175808 [s]
X_Angle = 45 [deg]
X_Atn = 4.5 [dB]
X_Pulse = 3.65 [us]
Irr_Mode = Off
Tri_Mode = Off
Dante_Presat = FALSE
Initial_Wait = 1 [s]
Phase = {0, 90, 270, 180, 180, 27
Repetition_Time = 8.49175808 [s]



X : parts per Million : Proton

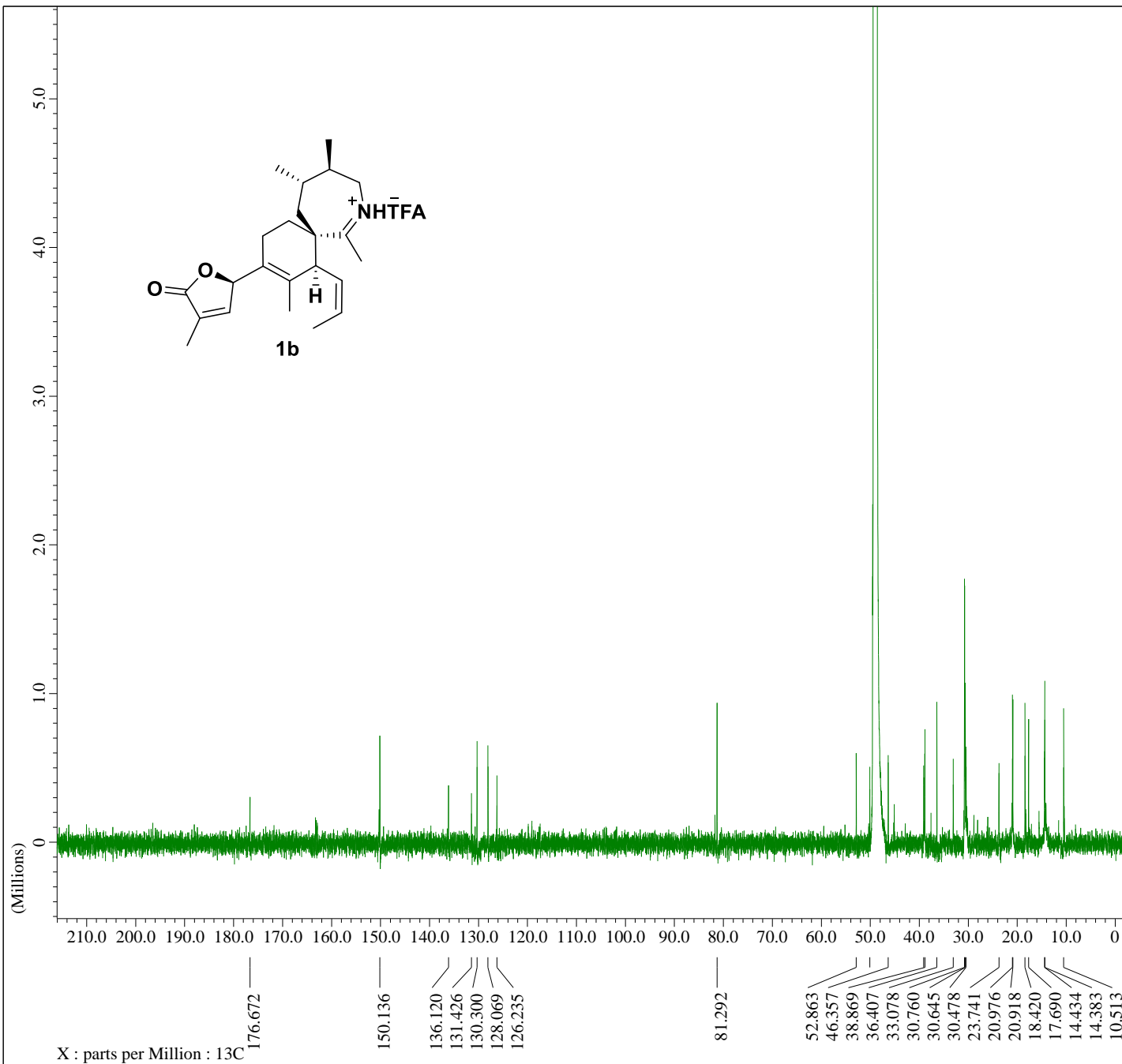
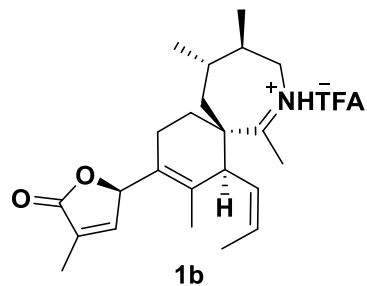


Filename = KM-10-155-R-700_2-7.jdf
Author = nmrsu
Experiment = zgpg30
Sample_Id = 13C KM-10-155-R-700 190718
Solvent = MeOD
Revision_Time = 16-OCT-2019 13:34:06

Comment = 13C KM-10-155-R-700 190718
Data_Format = 1D REAL
Dim_Size = 32768
Dim_Title = 13C
Dim_Units = [ppm]
Dimensions = X
Spectrometer = BRUKER DMX_NMR

X_Freq = 176.09058084 [MHz]
X_Offset = 17.607298 [kHz]
X_Sweep = 41.66666667 [kHz]

Temp_Get = 298.0043 [K]
X_Points = 32768
X_Prescans = 4
Filter_Factor = 480
Scans = 25616



謝辞

本研究を行うにあたって、nAChR 発現 HEK 細胞の御提供ならびに競合阻害実験について多大なる御助言を賜りました東北大学大学院農学研究科 此木敬一准教授に深く感謝いたします。

また、SPX の立体配置の決定について貴重な御意見を賜りましたフェデリコ 2 世・ナポリ大学薬学研究科 Martino Forino 教授に深く感謝いたします。

本研究は大阪大学大学院理学研究科化学専攻生体分子化学研究室において行われたものであり、終始御指導、御鞭撻頂きました村田道雄教授に深く感謝いたします。

本論文を作成するにあたり、副査として多くの御助言を頂きました本学理学研究科化学専攻 梶原康宏教授、本学産業科学研究所 笹井宏明教授に深く感謝いたします。

本研究の遂行にあたって直接の実験指導から研究の進め方など、細やかな御指導、御討論頂きました大分大学全学研究推進機構 土川博史博士に深く感謝いたします

本研究を行う上で数々の御助言またお心配りを頂きました花島慎弥講師、梅川雄一助教に深く感謝いたします。

日々の研究を進めるにあたり多大なる御指導、御助言頂きました安川佳史博士、林達博士、Joan Candice Ondevilla 修士、佐々木克聡修士に深く感謝いたします。

有意義な研究生生活を支えて下さいました本研究室の皆様に深く感謝いたします。

最後に、経済的、精神的に支えて頂きました両親、妹、伯父に深く感謝いたします。

付録

公表論文

Synthesis of 7,6-Spirocyclic Imine with Butenolide Ring Provides Evidence for the Relative Configuration of Marine Toxin 13-desMe Spirolide C, **Minamino, K.**; Murata, M.; Tsuchikawa, H. *Org. Lett.* **2019**, *21*, 8970-8975.

参考論文

Efficient Access to the Functionalized Bicyclic Pharmacophore of Spirolide C by Using a Selective Diels-Alder Reaction, Tsuchikawa, H.; **Minamino, K.**; Hayashi, S.; Murata, M. *Asian J. Org. Chem.* **2017**, *6*, 1322-1327.

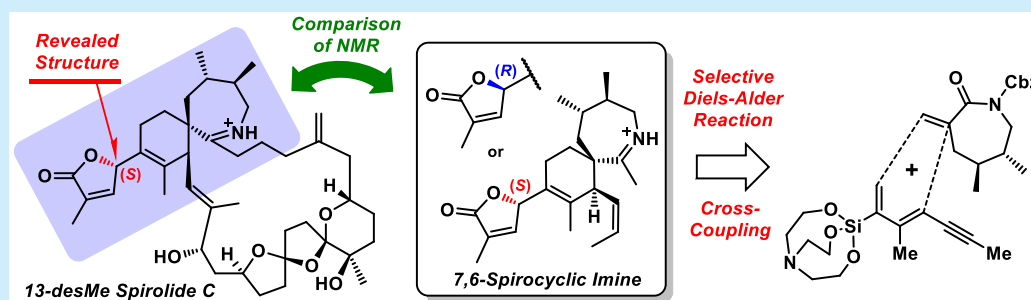
Synthesis of 7,6-Spirocyclic Imine with Butenolide Ring Provides Evidence for the Relative Configuration of Marine Toxin 13-desMe Spirolide C

Kou Minamino,[†] Michio Murata,^{*,†,‡} and Hiroshi Tsuchikawa^{*,†,‡,§}

[†]Department of Chemistry, Faculty of Science, Osaka University, 1-1 Machikaneyama, Toyonaka, Osaka 560-0043, Japan

[‡]Research Promotion Institute, Oita University, 1-1 Idaigaoka, Hasama, Yufu, Oita 879-5593, Japan

S Supporting Information



ABSTRACT: Efficient synthesis of the partial structure of marine toxin 13-desMe spirolide C was achieved via the selective Diels–Alder reaction and C–C bond formation with the use of a silatrane substituent and the subsequent facile formation of a γ -butenolide ring. The comparison of NMR data between the synthesized diastereomers and the natural product strongly suggested that the relative configuration at the C4 position was *S* configuration with respect to the 7,6-spirocycle.

Spirolides (SPXs, Figure 1) are a unique family of marine toxins produced by the dinoflagellates *Alexandrium ostenfeldii*¹ and *Alexandrium peruvianum*.² SPXs, categorized as cyclic imine toxins, have a 7,6-spirocyclic imine core as a common structural motif. Other cyclic imine toxins of dinoflagellate origin include pinnatoxins (PnTXs),³ gymnodimines (GYMs),⁴ pteriatoxins (PtTXs),⁵ and portimine.⁶ SPXs exhibit acute lethal toxicity toward mice, among which 13-desMe-SPX C exhibits the most potent activity with LD₅₀ = 5.0–8.0 $\mu\text{g}/\text{kg}$ through intraperitoneal injection.⁷ Furthermore, SPXs have been reported to be potent inhibitors of nicotinic acetylcholine receptors (nAChRs).⁸ In recent years, it has been found that 13-desMe SPX C suppresses the phosphorylation of tau proteins and the aggregation of amyloid β ,⁹ thus attracting attention as a neuroprotective agent against neurodegenerative diseases.¹⁰ Their interesting bioactivity suggests that SPXs could be potential drug leads or molecular tools, so the chemistry-based approach is necessary to elucidate the detailed mechanism of action of SPXs. Nevertheless, the total synthesis of SPXs has not yet been achieved; moreover, even the relative configuration at the C4 position remains elusive.

In 2009, Ciminiello et al. reported the full relative stereochemistry for 13,19-didesMe SPX C through the detailed analysis of the NMR data with the aid of computational techniques.¹¹ However, there seemed to be room for experimental examination in the stereochemistry of the C4 position. This is because a critical ROE correlation was

relatively weak, possibly due to the rotational conformers about the C4–C5 bond. Although the crystal structure of 13-desMe SPX C in complex with the ACh-binding protein was reported by Bourne,^{8b} it is too ambiguous to clearly assign the C4 configuration. These studies revealed the necessity of a synthetic approach to determine the configuration. However, the structural determination by a total synthesis turned out to be difficult because of synthetic difficulties in the characteristic moieties of SPXs such as the 7,6-spirocyclic imine bearing a γ -butenolide ring seen for PnTX and GYM¹² and the 5,6,6-spiroacetal tricycle, to which no practical approach has been established. Thus, for the assignment of the C4 configuration, it would be a realistic strategy to synthesize a partial structure of SPX that included the 7,6-spirocyclic imine unit. To achieve this goal, a proper design and an efficient synthesis of this fragmental structure, including the C4 carbon, are crucial issues.

Herein, we designed a spirocyclic imine derivative (**1**) (Scheme 1) as an appropriate partial structure and succeeded in establishing an efficient method for the synthesis. The 7,6-spirocyclic imine and γ -butenolide ring were successfully constructed using a selective Diels–Alder reaction under newly developed conditions, the subsequent C–C bond formation, and the ring-closing metathesis. Furthermore, by comparing synthetic derivatives with the natural product 13-desMe SPX

Received: September 24, 2019

Published: October 30, 2019

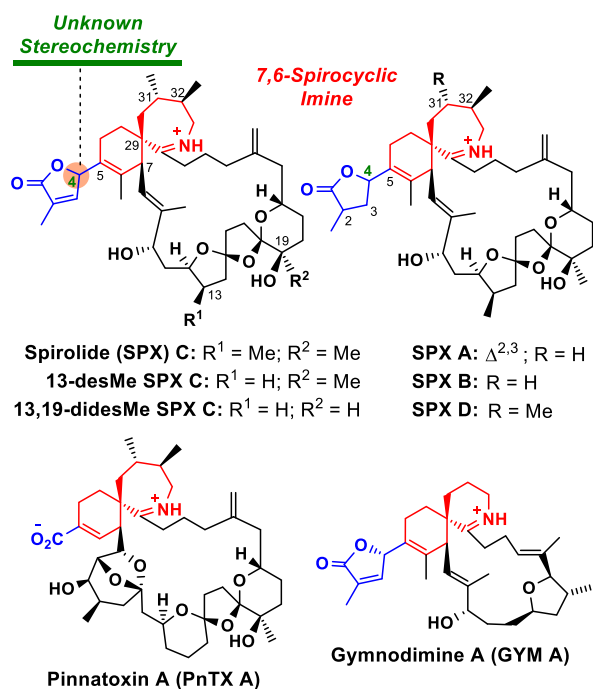
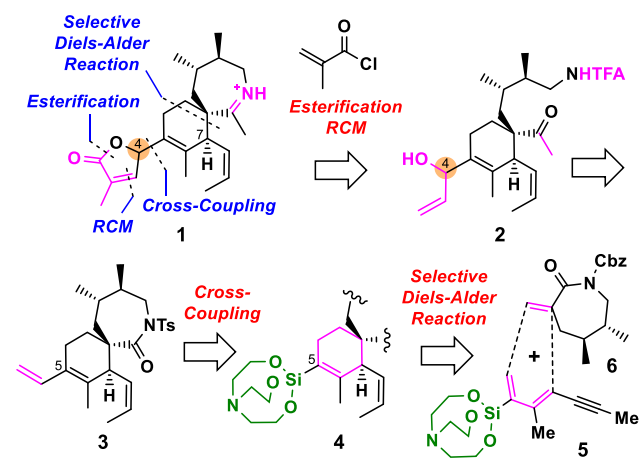


Figure 1. Chemical structures of representative cyclic imine toxins.

Scheme 1. Retrosynthetic Analysis of Spirocyclic Imine Derivatives (1)



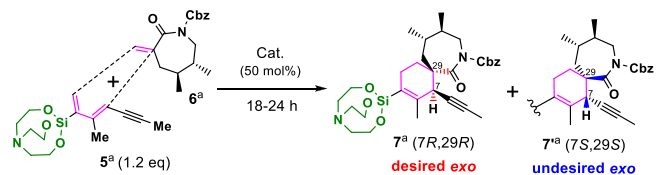
C, we provided strong evidence that the stereochemistry of the C4 position was the *S* configuration with respect to the asymmetric centers in the spirocyclic moiety.

First, the 7,6-spirocyclic imine derivative (1) was designed as our synthetic target (Scheme 1). For the structural assignment of the C4 position by comparing NMR chemical shifts, we expected that not only the structure close to butanolide ring but also the dimethylated 7-membered spirocyclic imine ring and the C7 olefin substituent are necessary to strictly reproduce the original environment around the C4 position based on the conformational analysis by calculation (see the Supporting Information for details). Particularly, without the dimethyl group, the conformation of the 7-membered ring is not fixed. Also, when the substituent at the 7-position is acetylene, the conformation of the central cyclohexene is predicted to change to a different one from a natural product, so these substituents were thought to be necessary to reproduce the conformation around the C4 position of SPXs.

The retrosynthetic analysis of 1 is shown in Scheme 1. For the construction of the γ -butenolide ring, besides Romo's efficient method in the total synthesis of GYM,¹³ we examined another route, including the ring-closing metathesis (RCM) via allyl alcohol 2, whose configuration at the C4 position could be correctly assigned at this stage. The synthesis of 2 could be achieved via the selective oxidative cleavage of the olefin moiety of 3 and the subsequent vinylation. The terminal olefin at the C5 position of 3 can be easily introduced with the use of a silatrane group. The spirocycle could be constructed via the face- and *exo*-selective Diels–Alder reaction between 5¹⁴ and 6 by improving our previous protocol.¹⁵

First, we examined the highly face- and *exo*-selective Diels–Alder reaction using the previously synthesized silatrane dienyne 5 and dienophile lactam 6 (Table 1).¹⁵ Our previous conditions (entry 1 of Table 1) had still room for improvement in the medium face selectivity (7:7' = 1:0.30, 54% *de*).¹⁵ Thus, we examined the solvent effect at the lower temperature (see the Supporting Information in detail). As a result, 1,2-dichloroethane was found to dramatically improve the reactivity when compared with toluene partly due to the high solubility for dienyne 5 while simultaneously have little effect on the face selectivity (Table 1, entries 2 and 3). Parallel with the solvent screening, metal catalysts were also investigated in toluene to improve the face selectivity (Table 1, entries 4–8). In the case of lanthanides Sc(OTf)₃ and Yb(OTf)₃, their strong Lewis acidity resulted in the decomposition of both starting materials (entries 4 and 5). Weaker Lewis acids Cu(OTf)₂ and Zn(OTf)₂ did not activate lactam 6 only to cause a decomposition of 5 (Table 1, entries 6 and 7). However, Mg(OTf)₂ gave a cycloaddition product in low yield and, surprisingly, the face selectivity was found to be completely controlled (7:7' = 1:0.02, 96% *de*, Table 1, entry 8). Ultimately, as shown in entry 9, increasing the reaction concentration and temperature under 1,2-dichloroethane solvent improved the yield of the desired adduct 7 (79%) without the loss of selectivity. Thus, we successfully established the facile synthetic protocol of the desired enantiopure silatrane intermediate. The excellent selectivity was likely attributed to the chelating effect of magnesium to the carboxyl groups of dienophile lactam 6, and especially, the face selectivity probably results from the increased steric hindrance on the unfavorable face by the fixed conformation of dienophile lactam 6 in the complex with Mg(OTf)₂ (see the Supporting Information for details).

Because cycloadduct 7 was successfully obtained in high yield and high diastereoselectivity, the synthesis of both diastereomers of allyl alcohol 2 was subsequently carried out (Scheme 2). Initially, the removal of a Cbz group and the selective partial hydrogenation of alkyne moiety of 7 was simultaneously performed in the presence of a catalytic amount of palladium-activated carbon ethylenediamine complex, and the resulting free lactam was protected with a Ts group to afford *N*-Ts lactam 4 in 77% over the two steps. Next, the key C–C bond formation reaction to obtain 5-vinyl lactam 3 was investigated. As the most straightforward way, the Hiyama coupling reaction between silatrane *N*-Ts lactam 4 and vinyl bromide was attempted, but the reaction did not proceed, unlike in our previous report because of its lower reactivity than aryl(styryl)iodide.¹⁵ However, we found a more versatile transformation method. Namely, the desilylative iodination of *N*-Ts lactam 4 with *N*-iodosuccinimide made it possible to reverse the polarity of the cross-coupling partner to produce

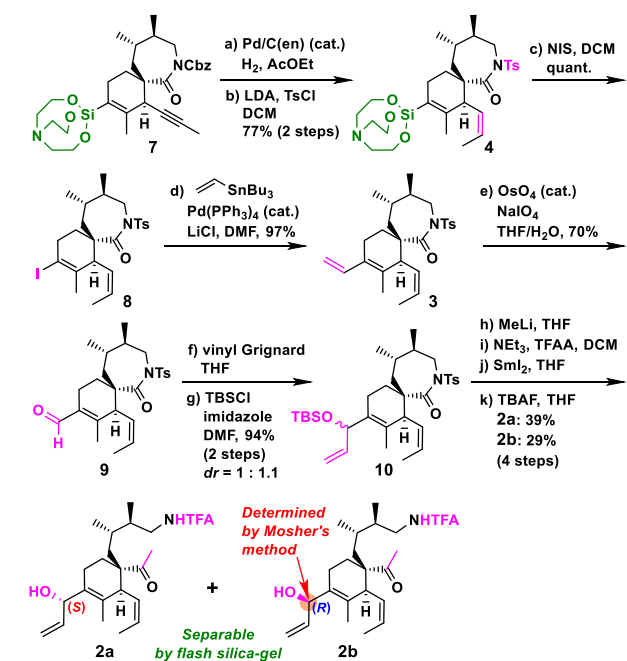
Table 1. Selective Diels–Alder Reaction between 2-Silatorane Dienyne **5** and α -Methylene- ϵ -lactam **6**


Reaction scheme showing the Diels–Alder reaction between 2-silatorane dienyne **5** (1.2 eq) and α -methylene- ϵ -lactam **6** (1.2 eq) catalyzed by a catalyst (50 mol%) in toluene at 130 °C for 18–24 h, yielding the desired *exo* product **7^a** (7*R*,29*R*) and the undesired *exo* product **7^b** (7*S*,29*S*).

entry	solvent	cat.	conc (M)	temp (°C)	result (7:7')	yield (%)
1 ^b	toluene	none	0.07	130	1:0.30 (54% <i>de</i>)	80
2	toluene	none	0.05	110	1:0.30 (54% <i>de</i>)	18
3	ClCH ₂ CH ₂ Cl	none	0.05	110	1:0.30 (54% <i>de</i>)	62
4	toluene	Sc(OTf) ₃	0.05	rt	<i>decomp.</i>	
5	toluene	Yb(OTf) ₃	0.05	rt	<i>decomp.</i>	
6	toluene	Cu(OTf) ₂	0.05	80	<i>S decomp.</i>	
7	toluene	Zn(OTf) ₂	0.05	80	<i>S decomp.</i>	
8	toluene	Mg(OTf) ₂	0.05	80	1:0.02 (96% <i>de</i>)	8
9	ClCH ₂ CH ₂ Cl	Mg(OTf) ₂	0.15	110	1:0.02 (96% <i>de</i>)	79

^aWe previously reported the synthesis of starting materials (**5** and **6**) and the structural determination of cycloadduct **7** and **7'**,¹⁵

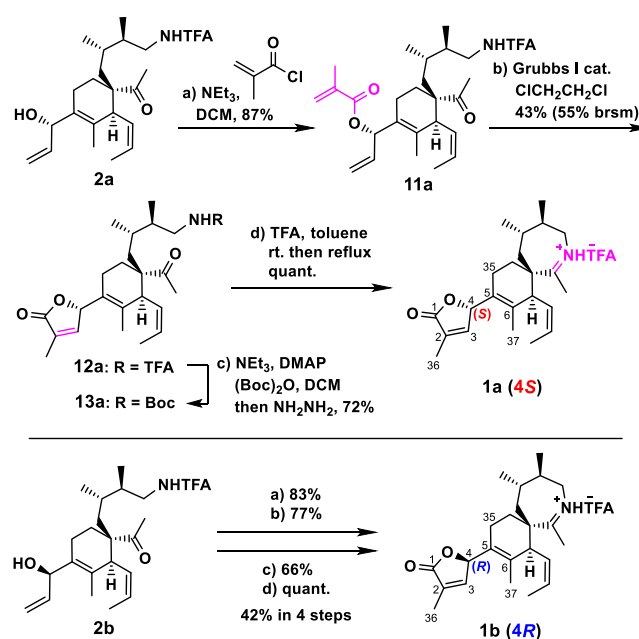
^bPreviously reported condition (2.5 equiv of **5** was used).¹⁵

Scheme 2. Synthesis of Allyl Alcohols **2a** and **2b**

vinyl iodide **8** quantitatively, and then it was subjected to Stille cross-coupling reaction with a commercially available vinyl tributyltin to afford the desired 5-vinyl lactam **3** in an excellent yield. The subsequent selective oxidative cleavage of the terminal olefin moiety, although there were three olefins that could be oxidized, proceeded without problem, probably due to the steric congestion around the internal alkenes. The aldehyde **9** obtained through this process was converted into the corresponding allyl alcohol using the vinyl Grignard reagent, and then the TBS protection of the allyl alcohol produced lactam **10** with a diastereomer ratio of 1:1.1. After using methyllithium to acquire the ring-opening reaction of lactam **10**, the Ts group was replaced with a TFA group in two steps under a Romo's protocol;¹⁶ the TBS group was removed to afford allyl alcohols **2** without problems. The obtained diastereomers (**2a** and **2b**) could be easily separated using flash column chromatography, and the configuration at the C4

position of allyl alcohol **2b** was determined to be the *R* configuration by a modified Mosher's method using MTPA-ester derivatives (see the Supporting Information for details). Finally, we established a method to easily convert cycloadduct **7** to both diastereomers of allyl alcohol **2**.

With allyl alcohols **2a** and **2b** in hand, we next examined the synthesis of target spirocyclic imine derivatives **1a** and **1b** by the construction of a γ -butenolide ring and the formation of an imine ring (Scheme 3). First, the esterification of allyl alcohol

Scheme 3. Synthesis of Spirocyclic Imine Derivatives **1a** and **1b**

2a with methacryloyl chloride was performed to give ester **11a** in good yield, which is a precursor of ring-closing metathesis. The initial attempt using Grubbs second-generation catalyst resulted in complex mixtures probably because of the undesired metathesis reactions of other olefin moieties. On the other hand, milder reaction conditions using the Grubbs first-generation catalyst enabled ring closure at the desired

position to afford γ -butenolide **12a** in 43% yield (55% brsm). Afterward, the TFA group was converted to a Boc group in one step to furnish *N*-Boc amine **13a**. Finally, a spontaneous imine formation of **13a** was accomplished by deprotecting the amino group using TFA at room temperature to give the corresponding ammonium salt and then heating under reflux in the presence of additional TFA in one pot. We successfully obtained the target spirocyclic imine **1a** (**4S**) quantitatively. At this point, when the ammonium intermediate was extracted as a free amine, the epimerization at the C4 position occurred presumably due to the free amine-promoted deprotonation. Similarly, the spirocyclic imine **1b** (**4R**) was also synthesized from allyl alcohol **2b** through the same route. Finally, the synthesis of both diastereomers **1a** and **1b** was achieved.

Before comparing NMR chemical shifts, we confirmed that the synthesized compounds (**1a** and/or **1b**) showed the same conformation for the 7,6-spirocyclic part as that of natural SPXs by NOE experiments because the truncated structure often caused a conformation alteration and led to significant changes in NMR signals. Both of the compounds **1a** and **1b** were shown to have basically the same conformation as that of an SPX homologue (see the Supporting Information for details). Then, we compared their ^1H and ^{13}C NMR data with those of the protonated 13-desMe SPX C reported by the Wright group (Figure 2).^{1e} Compounds **1a** and **1b** showed

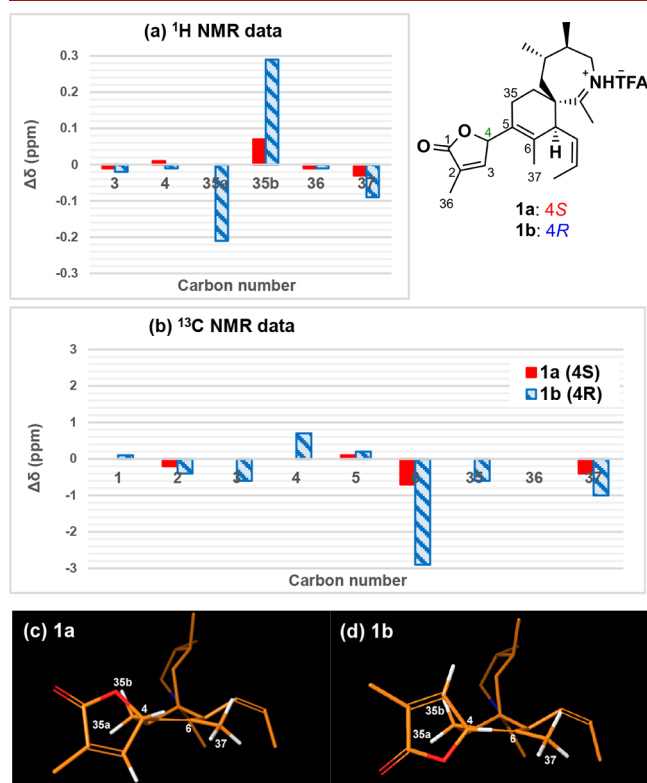


Figure 2. Differences in chemical shifts between 13-desMe SPX C and the synthetic spirocyclic imine derivatives **1a** (**4S**) or **1b** (**4R**). (a) ^1H NMR data (500 MHz, CD_3OD). (b) ^{13}C NMR (175 MHz, CD_3OD). The *x*- and *y*-axis represent carbon number and $\Delta\delta$ in ppm, respectively. Red (filled) and blue (hatched) bars represent $\Delta\delta = \delta(13\text{-desMe SPX C}) - \delta(\mathbf{1a})$ and $\delta(\mathbf{1b})$, respectively. (c and d) The most stable structures of **1a** and **1b** were obtained by the MacroModel calculation. The differences in chemical shifts were induced by the different conformation of γ -butenolide ring.

similarity and difference, respectively, as we expected; the differences in the chemical shifts of both ^1H and ^{13}C NMR at the C1–6 and C35–37 near the C4 position indicated that the data of **1a** was in good agreement with those of the 13-desMe SPX C, while those of **1b** were significantly different from those of the natural product. In particular, remarkable differences were observed for the H35a and H35b positions of **1b** in the ^1H chemical shifts (about 0.2–0.3 ppm) (Figure 2a) and for the C6 position in the ^{13}C chemical shift (about 3.0 ppm) (Figure 2b). These differences could be accounted for by the difference in their most stable conformation as deduced from MacroModel calculations (Figures 2c and 2d, see Supporting Information for details). These results strongly suggest that the stereochemistry at the C4 position of the 13-desMe SPX C is the *S* configuration, which is the opposite stereochemistry of those previously reported for 13,19-didesMe SPX C.^{11b,17}

In conclusion, we succeeded in efficiently synthesizing the spirocyclic imine derivatives **1**, which were the partial structure of marine toxin 13-desMe SPX C, by an original method using the selective Diels–Alder reaction, C–C bond formation based on a silatrane substituent, and the subsequent convenient assembly of a γ -butenolide ring. Furthermore, by comparing the NMR data of the synthesized diastereomers (**1a** and **1b**) with those of the natural product, we demonstrated clear evidence of the relative configuration at the C4 position. The practical and useful method for the synthesis of spirocyclic imine derivatives that was developed here is also applicable to chemistry-based studies on the mode of action of cyclic imine toxins as well as to the total syntheses of SPXs.

■ ASSOCIATED CONTENT

Supporting Information

The Supporting Information is available free of charge on the ACS Publications website at DOI: 10.1021/acs.orglett.9b03373.

Experimental procedures, including spectroscopic data for all new compounds and determination of the absolute configuration of **2b**, detailed analysis of selective Diels–Alder reaction, and detailed structural analysis of **1a** and **1b** (PDF)

■ AUTHOR INFORMATION

Corresponding Authors

*E-mail: h-tsuchi@chem.sci.osaka-u.ac.jp.

*E-mail: murata@chem.sci.osaka-u.ac.jp.

ORCID

Michio Murata: 0000-0002-1600-145X

Hiroshi Tsuchikawa: 0000-0003-0554-2303

Notes

The authors declare no competing financial interest.

■ ACKNOWLEDGMENTS

Financial support was provided by the Grants-in-Aid for Scientific Research on Innovative Areas “Frontier Research on Chemical Communications” (Grant 17H06406). We are grateful to Drs. M. Forino (University of Naples Federico II) and S. Hanashima (Osaka University) for their advice and comments.

REFERENCES

- (1) (a) Hu, T.; Curtis, J. M.; Oshima, Y.; Quilliam, M. A.; Walter, J. A.; Watson-Wright, W. M.; Wright, J. L. C. Spirolides B and D, two novel macrocycles isolated from the digestive glands of shellfish. *J. Chem. Soc., Chem. Commun.* **1995**, 2159–2161. (b) Cembella, A. D.; Lewis, N. I.; Quilliam, M. A. Spirolide composition of micro-extracted pooled cells isolated from natural plankton assemblages and from cultures of the dinoflagellate *Alexandrium ostenfeldii*. *Nat. Toxins* **1999**, *7*, 197–206. (c) Cembella, A. D.; Bauder, A. G.; Lewis, N. I.; Quilliam, M. A. Association of the gonyaulacoid dinoflagellate *Alexandrium ostenfeldii* with spirolide toxins in size-fractionated plankton. *J. Plankton Res.* **2001**, *23*, 1413–1419. (d) Falk, M.; Burton, I. W.; Hu, T.; Walter, J. A.; Wright, J. L. C. Assignment of the relative stereochemistry of the spirolides, macrocyclic toxins isolated from shellfish and from the cultured dinoflagellate *Alexandrium ostenfeldii*. *Tetrahedron* **2001**, *57*, 8659–8665. (e) Hu, T.; Burton, I. W.; Cembella, A. D.; Curtis, J. M.; Quilliam, M. A.; Walter, J. A.; Wright, J. L. C. Characterization of Spirolides A, C, and 13-Desmethyl C, New Marine Toxins Isolated from Toxic Plankton and Contaminated Shellfish. *J. Nat. Prod.* **2001**, *64*, 308–312.
- (2) Van Wagoner, R. M.; Misner, I.; Tomas, C. R.; Wright, J. L. C. Occurrence of 12-methylgymnodimine in a spirolide-producing dinoflagellate *Alexandrium peruvianum* and the biogenetic implications. *Tetrahedron Lett.* **2011**, *52*, 4243–4246.
- (3) (a) Uemura, D.; Chou, T.; Haino, T.; Nagatsu, A.; Fukuzawa, S.; Zheng, S.-Z.; Chen, H.-S. Pinnatoxin A: a toxic amphoteric macrocycle from the Okinawan bivalve *Pinna muricata*. *J. Am. Chem. Soc.* **1995**, *117*, 1155–1156. (b) Chou, T.; Osamu, K.; Uemura, D. Relative stereochemistry of pinnatoxin A, a potent shellfish poison from *Pinna muricata*. *Tetrahedron Lett.* **1996**, *37*, 4023–4026. (c) Chou, T.; Haino, T.; Kuramoto, M.; Uemura, D. Isolation and structure of pinnatoxin D, a new shellfish poison from the okinawan bivalve *Pinna muricata*. *Tetrahedron Lett.* **1996**, *37*, 4027–4030. (d) Selwood, A. L.; Miles, C. O.; Wilkins, A. L.; Ginkel, R.; Munday, R.; Rise, F.; McNabb, P. Isolation, structural determination and acute toxicity of pinnatoxins E, F and G. *J. Agric. Food Chem.* **2010**, *58* (10), 6532–6542.
- (4) (a) Seki, T.; Satake, M.; Mackenzie, L.; Kaspar, H. F.; Yasumoto, T. Gymnodimine, a new marine toxin of unprecedented structure isolated from New Zealand oysters and the dinoflagellate, *Gymnodinium* sp. *Tetrahedron Lett.* **1995**, *36*, 7093–7096. (b) Stewart, M.; Blunt, J. W.; Munro, M. H. G.; Robinson, W. T.; Hannah, D. J. The absolute stereochemistry of the New Zealand shellfish toxin gymnodimine. *Tetrahedron Lett.* **1997**, *38*, 4889–4890. (c) Miles, C. O.; Wilkins, A. L.; Stirling, D. J.; MacKenzie, A. L. New Analogue of Gymnodimine from a *Gymnodinium* Species. *J. Agric. Food Chem.* **2000**, *48*, 1373–1376.
- (5) Takada, N.; Umemura, N.; Suenaga, K.; Uemura, D. Structural determination of pteriatoxins A, B and C, extremely potent toxins from the bivalve *Pteria penguin*. *Tetrahedron Lett.* **2001**, *42*, 3495–3497.
- (6) (a) Selwood, A. L.; Wilkins, A. L.; Munday, R.; Rhodes, L. L.; Holland, P. T. Portimine: a bioactive metabolite from the benthic dinoflagellate *Vulcanodinium rugosum*. *Tetrahedron Lett.* **2013**, *54* (35), 4705–4707. (b) Fribley, A. M.; Xi, Y.; Makris, C.; Alves-de-Souza, C.; York, R.; Tomas, C.; Wright, J. L. C.; Strangman, W. K. Identification of Portimine B, a New Cell Permeable Spiroimine That Induces Apoptosis in Oral Squamous Cell Carcinoma. *ACS Med. Chem. Lett.* **2019**, *10*, 175–179.
- (7) Munday, R.; Quilliam, M. A.; LeBlanc, P.; Lewis, N.; Gallant, P.; Sperker, S. A.; Ewart, H. S.; MacKinnon, S. L. Investigations into the Toxicology of Spirolides, a Group of Marine Phycotoxins. *Toxins* **2012**, *4*, 1–14.
- (8) (a) Araújo, R.; Servent, D.; Ouounou, G.; Benoit, E.; Molgó, J. The emergent marine dinoflagellate toxins spirolides and gymnodimines target nicotinic acetylcholine receptors. *J. Biol. Res.* **2009**, *42*, R-118. (b) Bourne, Y.; Radić, Z.; Araújo, R.; Talley, T. T.; Benoit, E.; Servent, D.; Taylor, P.; Molgó, J.; Marchot, P. Structural determinants in phycotoxins and AChBP conferring high affinity binding and nicotinic AChR antagonism. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **2010**, *107*, 6076–6081. (c) Hauser, T. A.; Hepler, C. D.; Kombo, D. C.; Grinevich, V. P.; Kiser, M. N.; Hooker, D. N.; Zhang, J.; Mountfort, D.; Selwood, S. R.; Akireddy, S. R.; Letchworth, S. R.; Yohannes, D. Comparison of acetylcholine receptor interactions of the marine toxins, 13-desmethylspirolide C and gymnodimine. *Neuropharmacology* **2012**, *62*, 2239–2250. (d) Araújo, R.; Ouounou, G.; Iorga, B. I.; Goudet, A.; Alili, D.; Amar, M.; Benoit, E.; Molgó, J.; Servent, D. The Neurotoxic Effect of 13,19-Didesmethyl and 13-Desmethyl Spirolide C Phycotoxins Is Mainly Mediated by Nicotinic Rather Than Muscarinic Acetylcholine Receptors. *Toxicol. Sci.* **2015**, *147*, 156–167. (e) Couesnon, A.; Araújo, R.; Iorga, B. I.; Benoit, E.; Reynaud, M.; Servent, D.; Molgó, J. The Dinoflagellate Toxin 20-Methyl Spirolide-G Potently Blocks Skeletal Muscle and Neuronal Nicotinic Acetylcholine Receptors. *Toxins* **2016**, *8*, No. 249.
- (9) (a) Alonso, E.; Vale, C.; Vieytes, M. R.; Laferla, F. M.; Gimenez-Llort, L.; Botana, L. M. 13-Desmethyl spirolide-C is neuroprotective and reduces intracellular A β and hyperphosphorylated tau in vitro. *Neurochem. Int.* **2011**, *59*, 1056–1065. (b) Alonso, E.; Otero, P.; Vale, C.; Alfonso, A.; Antelo, A.; Gimenez-Llort, L.; Chabaud, L.; Guillou, C.; Botana, L. M. Benefit of 13-desmethyl Spirolide C Treatment in Triple Transgenic Mouse Model of Alzheimer Disease: Beta-Amyloid and Neuronal Markers Improvement. *Curr. Alzheimer Res.* **2013**, *10*, 279–289.
- (10) Boente-Juncal, A.; Mendez, A. G.; Vale, C.; Vieytes, M. R.; Botana, L. M. In Vitro Effects of Chronic Spirolide Treatment on Human Neuronal Stem Cell Differentiation and Cholinergic System Development. *ACS Chem. Neurosci.* **2018**, *9*, 1441–1452.
- (11) (a) Ciminiello, P.; Dell'Aversano, C.; Fattorusso, E.; Forino, M.; Grauso, L.; Tartaglione, L.; Guerrini, F.; Pistocchi, R. Spirolide Toxin Profile of Adriatic *Alexandrium ostenfeldii* Cultures and Structure Elucidation of 27-Hydroxy-13,19-didesmethyl Spirolide C. *J. Nat. Prod.* **2007**, *70*, 1878–1883. (b) Ciminiello, P.; Catalanotti, B.; Dell'Aversano, C.; Fattorusso, C.; Fattorusso, E.; Forino, M.; Grauso, L.; Leo, A.; Tartaglione, L. Full relative stereochemistry assignment and conformational analysis of 13,19-didesmethyl spirolide C via NMR- and molecular modeling-based techniques. A step towards understanding spirolide's mechanism of action. *Org. Biomol. Chem.* **2009**, *7*, 3674–3681. (c) Ciminiello, P.; Dell'Aversano, C.; Iacovo, D. E.; Fattorusso, E.; Forino, M.; Grauso, L.; Tartaglione, L.; Guerrini, F.; Pezzolesi, L.; Pistocchi, R. Characterization of 27-hydroxy-13-desmethyl spirolide C and 27-oxo-13,19-didesmethyl spirolide C. Further insights into the complex Adriatic *Alexandrium ostenfeldii* toxin profile. *Toxicon* **2010**, *56*, 1327–1333.
- (12) For the synthetic study of the spirocyclic imine fragment, see: (a) Ishihara, J.; Horie, M.; Shimada, Y.; Tojo, S.; Murai, A. Asymmetric Construction of the Azaspiro[5.6] dodec-9-ene System in Marine Natural Toxins. *Synlett* **2002**, *3*, 403–406. (b) Stivala, C. E.; Zakarian, A. Studies Toward the Synthesis of Spirolides: Assembly of the Elaborated E-Ring Fragment. *Org. Lett.* **2009**, *11* (4), 839–842. (c) Gueret, S. M.; Furkert, D. P.; Brimble, M. A. Synthesis of a functionalized 7,6-bicyclic spiroimine ring fragment of the spirolides. *Org. Lett.* **2010**, *12* (22), 5226–5229. (d) Ishihara, J.; Tojo, S.; Makino, T.; Sekiya, H.; Tanabe, A.; Shiraiishi, M.; Murai, A.; Hatakeyama, S. Concise Formation of Spirocyclic Compounds for Marine Phycotoxins. *Heterocycles* **2017**, *95*, 422–444. (e) Ishihara, J.; Usui, F.; Kurose, T.; Baba, T.; Kawaguchi, Y.; Watanabe, Y.; Hatakeyama, S. Synthetic Studies on Spirolides A and B: Formation of the Upper Carbon Framework Based on a Lewis Acid Template-Catalyzed Diels–Alder Reaction. *Chem. - Eur. J.* **2019**, *25*, 1543–1552. (f) Guthertz, A.; Lusseau, J.; Desvergnès, V.; Massip, S.; Landais, Y. An Approach towards the Synthesis of the Spiroimine Fragment of 13-Desmethylspirolide C and Gymnodimine A. *Chem. - Eur. J.* **2019**, *25*, 1–9 For the synthetic study of SPX, see: (g) Stivala, C. E.; Gu, Z.; Smith, L. L.; Zakarian, A. Studies toward the Synthesis of Spirolide C: Exploration into the Formation of the 23-Membered All-Carbon Macrocyclic Framework. *Org. Lett.* **2012**, *14*, 804–807.
- (13) (a) Kong, K.; Romo, D.; Lee, C. Enantioselective Total Synthesis of the Marine Toxin (–)-Gymnodimine Employing a

Barbier-Type Macrocyclization. *Angew. Chem., Int. Ed.* **2009**, *48*, 7402–7405. (b) Kong, K.; Moussa, Z.; Lee, C.; Romo, D. Total Synthesis of the Spirocyclic Imine Marine Toxin (–)-Gymnodimine and an Unnatural C4-Epimer. *J. Am. Chem. Soc.* **2011**, *133*, 19844–19856.

(14) For the 2-silicon-substituted 1,3-diene chemistry reported by Welker and coworkers, see: (a) Pidaparthi, R. R.; Welker, M. E.; Day, C. S.; Wright, M. W. Preparation of 2-Trialkylsiloxy-Substituted 1,3-Dienes and Their Diels–Alder/Cross-Coupling Reactions. *Org. Lett.* **2007**, *9*, 1623–1626. (b) Pidaparthi, R. R.; Junker, C. S.; Welker, M. E.; Day, C. S.; Wright, M. W. Preparation of 2-Silicon-Substituted 1,3-Dienes and Their Diels–Alder/Cross-Coupling Reactions. *J. Org. Chem.* **2009**, *74*, 8290–8297.

(15) Tsuchikawa, H.; Minamino, K.; Hayashi, S.; Murata, M. Efficient Access to the Functionalized Bicyclic Pharmacophore of Spirolide C by Using a Selective Diels–Alder Reaction. *Asian J. Org. Chem.* **2017**, *6*, 1322–1327.

(16) Moussa, Z.; Romo, D. Mild Deprotection of Primary N-(p-Toluenesulfonyl) Amides with SmI₂ Following Trifluoroacetylation. *Synlett* **2006**, *19*, 3294–3298.

(17) We also compared the NMR data between the synthesized diastereomers and 13,19-didesMe SPX C, and the same conclusion (S configuration) was obtained. See the [Supporting Information](#).

Spiro Compounds

SPECIAL
ISSUE

Efficient Access to the Functionalized Bicyclic Pharmacophore of Spirolide C by Using a Selective Diels–Alder Reaction

Hiroshi Tsuchikawa,^[a] Kou Minamino,^[a] Sho Hayashi,^[a] and Michio Murata^{*[a, b]}

Abstract: A functionalized bicyclic lactam that was used as a key intermediate in an efficient synthesis of the pharmacophore of potent marine toxin spirolide C was synthesized by using a highly selective Diels–Alder reaction. To improve the reactivity of this transformation without loss of selectivity, substrates that contained a silyl ether or silatrane moiety were elaborately designed and converted into the spirobicyclic

core structure with stereochemical control over the two asymmetric centers at the C7 and C29 positions. Moreover, a further C–C bond formation by using a Hiyama cross-coupling reaction of the vinyl silatrane derivative facilitated versatile modification at the C5 position with an aryl or alkenyl substituent.

Spirolides (SPXs) are a unique family of nitrogenous marine toxins that are known as “cyclic imine toxins”. First, two family members, SPX B and D, were isolated from the digestive glands of mussels *Mytilus edulis* and scallops *Placopecten magellanicus* (Figure 1).^[1] These compounds were subsequently found to be produced by the dinoflagellate *Alexandrium ostensefeldii*.^[2] Related metabolites that contained a cyclic imine, such as pinnatoxins (PnTXs),^[3] gymnodimines (GYMs),^[4] and prorocentrolide,^[5] have also been isolated from marine dinoflagellates. SPXs exhibit potent toxicity towards mice, with an intraperitoneal (i.p.) LD₅₀ value of 8.0 μg kg⁻¹ for spirolide C (SPX C),^[6] presumably owing to strong antagonistic effects on nicotinic acetylcholine receptors (nAChRs).^[7] A recent study on an in vivo model of Alzheimer’s disease (AD) reported that 13-desmethyl SPX C holds potential for therapeutic applications,^[8] as such, this compound has attracted much attention among natural-product chemists and pharmaceutical scientists. Nevertheless, neither the absolute stereochemistry of the entire mol-

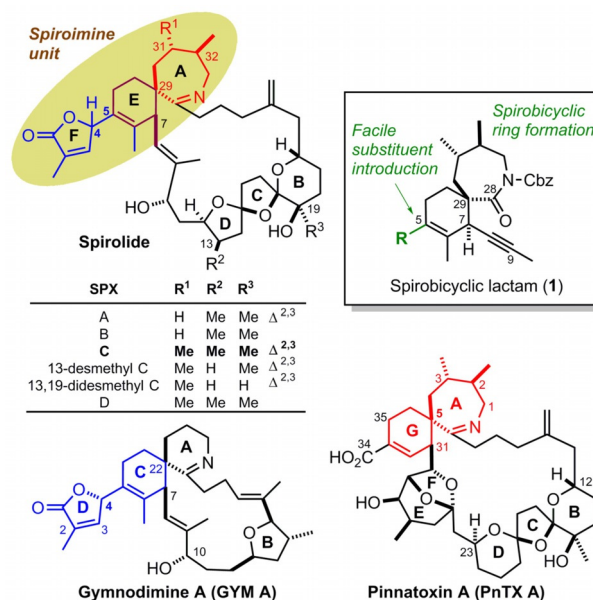


Figure 1. Chemical structures of cyclic imine toxins and a critical synthetic intermediate of SPX C. Cbz = carboxybenzyl.

ecule nor the relative configuration at the C4 position has been elucidated yet.^[9]

Chemical synthesis is often the best way to tackle these issues. However, the synthetic study of SPX^[10] has not progressed significantly compared to those of PnTX^[11] and GYM.^[12] One of the main reasons for this disparity is the structural complexity of the spiroimine moiety (A, E, and F rings), which is characterized by the co-occurrence of tetrasubstituted cyclohexene with bis-methylated seven-membered spirocyclic imine and γ -butenolide structures; these fragments posed a formidable challenge in the synthetic studies of PnTX and GYM, respectively.^[11,12] In addition to these synthetic problems, the

[a] Dr. H. Tsuchikawa, K. Minamino, S. Hayashi, Prof. M. Murata
Graduate School of Science
Osaka University
1-1 Machikaneyama, Toyonaka
Osaka 560-0043 (Japan)
E-mail: murata@chem.sci.osaka-u.ac.jp

[b] Prof. M. Murata
ERATO, Lipid Active Structure Project
Science and Technology Agency
1-1 Machikaneyama, Toyonaka
Osaka 560-0043 (Japan)

Supporting information and the ORCID identification number(s) for the author(s) of this article can be found under <https://doi.org/10.1002/ajoc.201700164>.

This manuscript is part of the Board Members special issue celebrating the 5th anniversary and the success of Asian Journal of Organic Chemistry. Click here to see the Table of Contents of the special issue.

biological importance of the spiroimine unit,^[1,13] which contains the F ring (C5 substituent) as the pharmacophore and has been suggested to be responsible for the toxicity and nAChR-subtype selectivity of cyclic imine toxins,^[14] has prompted us to establish an efficient synthetic method for this fragment. To achieve this goal, we selected spirobicyclic lactam **1** (Figure 1) as the key intermediate, because lactam **1** was thought to be suitable for modifications at the C28 and C9 positions through metal-mediated alkylation to give the spiroimine unit.^[12ab,15] However, an efficient spirobicyclic ring formation that is practically applicable to SPXs has not yet been established; synthetic methods for similar structures with differently sized rings or simpler substitution patterns have previously been reported.^[12d,16] Another issue to be addressed is the introduction of substituents at the C5 position; to date, the only successful example is a vinylogous Mukaiyama aldol reaction procedure reported by Romo's group in the total synthesis of GYM.^[12ab] Therefore, the development of an efficient method for the construction of the spirobicyclic system, followed by prompt transformation of the C5 substituent for the synthesis of intermediate **1**, is highly desirable.

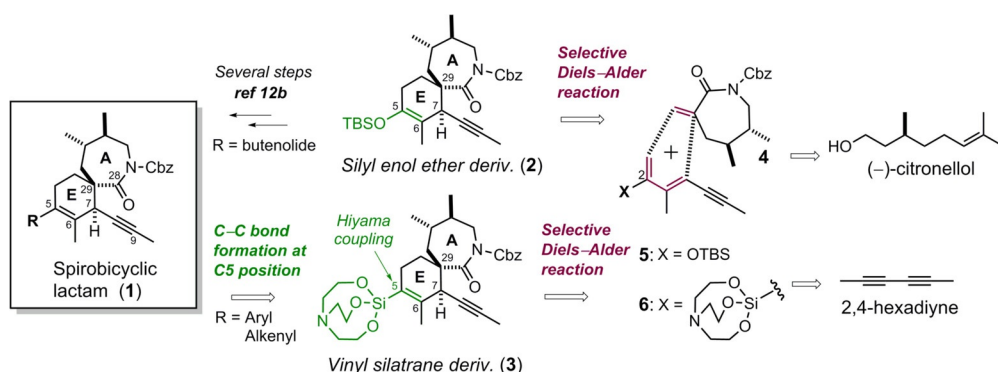
Herein, we aimed to develop two approaches to suitably functionalized bicyclic ring frameworks of SPX C by using a selective Diels–Alder reaction. Concise functionalization at the C5 position was achieved in a one-step Hiyama cross-coupling reaction by using the vinyl silatrane structure of the cycloaddition product. This is a much simpler and more diversity-oriented method than previous methods and can be employed for further chemical and biological investigations, including the total synthesis of SPX C.

We selected spirobicyclic lactam **1** as our synthetic target and intended to synthesize it from two silylated compounds, silyl enol ether derivative **2** and vinyl silatrane derivative **3** (Scheme 1). Compound **2** was considered as a potential intermediate because the silyl enol ether moiety could be converted into a butenolide structure in several steps by following the method that was elegantly established by Romo's group in the total synthesis of GYM.^[12b] In addition, compound **3** seemed to be another promising precursor, because the vinyl silatrane moiety could be directly transformed into the target compound (**1**) through a C–C bond formation by using a Hiyama cross-coupling reaction, thereby enabling a facile and divergent modification at the C5 position with aryl and alkenyl sub-

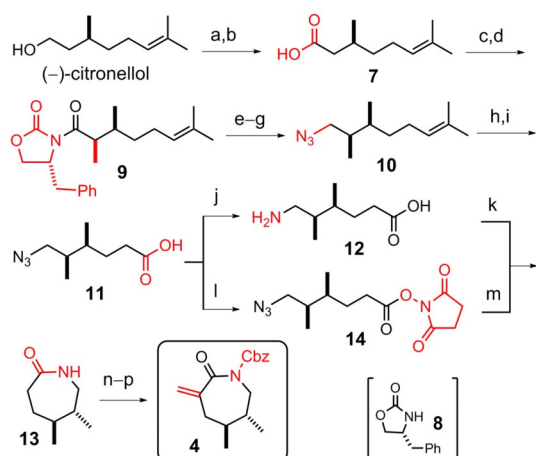
stituents. According to this scenario, the construction of functionalized bicyclic derivatives **2** and **3** would be achieved through a selective Diels–Alder reaction in one step from an α -methylene- ϵ -lactam derivative (**4**) and a silylated dienyne derivative (**5** or **6**). Lactam **4** was used because the cyclic α -methylene carbonyl structure is known to provide the desired *exo* selectivity with high regioselectivity and reactivity.^[17] 2-TBS-ether dienyne **5**, which was successfully utilized by Romo's group, was selected as the diene,^[12b,16a] along with 2-silatrane dienyne **6**, which was inspired by Welker and co-worker's report on 2-silicon-substituted 1,3-diene chemistry, in which a 2-silatrane diene showed high reactivity and *exo* selectivity in the Diels–Alder reaction, in addition to the usefulness of the resulting vinyl silatrane moiety for further coupling reactions.^[18] Because dienophile **4** and 2-silatrane diene **6** were more complex than those that were used in previous studies,^[16a-c] the reactivity and selectivity in the Diels–Alder reaction were thought to be low, as in the synthesis of compound **1**. The substrates would be synthesized from commercially available (–)-citronellol (for dienophile **4**) and 2,4-hexadiyne (for dienes **5**^[12b] and **6**).

First, the synthesis of the dienophile, γ,δ -dimethyl- α -methylene- ϵ -lactam derivative **4**, was performed as shown in Scheme 2.^[19] After the two-step oxidation of (–)-citronellol into the corresponding carboxylic acid, the coupling of compound **7** with Evans' chiral oxazolidinone (**8**) and subsequent asymmetric methylation of the imide enolate afforded bis-methylated compound **9** with good diastereoselectivity.^[20] NaBH₄ reduction of the imide moiety into the corresponding alcohol and mesylation followed by azide substitution furnished compound **10**.^[20b] Then, the double bond of compound **10** was oxidatively cleaved with OsO₄/NaIO₄ and the resulting aldehyde was oxidized into the corresponding carboxylic acid, thus giving compound **11**.

Next, we examined two routes for the formation of the lactam. First, the azide group of compound **11** was reduced into an amine by hydrogenation, and the cyclodehydration of 6-aminocaproic acid (**12**) was performed in the presence of SiO₂ by heating at reflux in toluene,^[21] thereby leading to the desired ϵ -lactam (**13**), but with low reproducibility. As the second route, the carboxylic acid group in compound **11** was converted into *N*-hydroxysuccinimide ester **14**; subsequent azide reduction and concomitant cyclization afforded ϵ -lactam **13** in 57% yield over two steps. After *N*-Cbz protection, α -



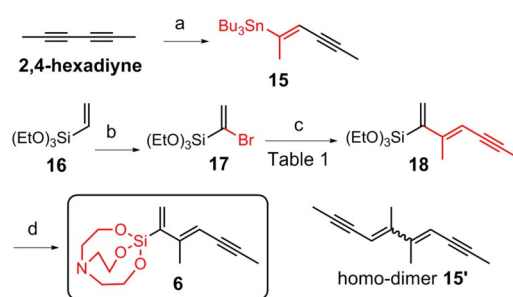
Scheme 1. Synthetic strategy for functionalized spirobicyclic lactam **1**. TBS = *tert*-butyldimethylsilyl.



Scheme 2. Synthesis of α -methylene- ϵ -lactam derivative **4**. Reagents and conditions: a) SO_3Py , DMSO, Et_3N , CH_2Cl_2 , 25°C , 1.5 h, 80% yield; b) NaClO_2 , NaH_2PO_4 , 2-methyl-2-butene, water, $t\text{BuOH}$, 0°C ; then, 25°C , 3 h, quantitative yield; c) PvCl , Et_3N , DMAP, THF, 0°C ; then, (*R*)-4-benzyl-oxazolidin-2-one (**8**), reflux, 24 h, 90% yield; d) NaHMDS , Mel, THF, -78°C , 5 h, 76% yield; e) NaBH_4 , THF, water, 25°C , 5.5 h, quantitative yield; f) MeSO_2Cl , Et_3N , CH_2Cl_2 , 0°C , 3.5 h; g) NaN_3 , DMF, 60°C , 11 h, 88% yield (over 2 steps); h) OsO_4 , NaIO_4 , 2,6-lutidine, THF, water, acetone, 25°C , 12 h; i) NaClO_2 , $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, MeCN, 25°C , 24 h, 75% yield (over 2 steps); j) H_2 , Pd/C, MeOH, 25°C , 24 h; k) SiO_2 , toluene, reflux, 24 h, 0–60% yield (over 2 steps); l) SuOH , TFAA, pyridine, CH_2Cl_2 , 25°C , 1 h; m) H_2 , Pd/C, EtOAc, 25°C , 8 h, 57% yield (over 2 steps); n) $n\text{BuLi}$, CbzCl, THF, -78°C , 5.5 h, 69% yield; o) LiHMDS, $\text{CF}_3\text{CO}_2\text{CH}_2\text{CF}_3$, THF, 25°C , 40 min; p) $(\text{CH}_2\text{O})_m$, K_2CO_3 , 18-crown-6, toluene, 90°C , 7 h, 61% yield (over 2 steps). SO_3Py = sulfur trioxide pyridine complex, PvCl = pivaloyl chloride, DMAP = 4-dimethylaminopyridine, NaHMDS = sodium bis(trimethylsilyl)amide, SuOH = *N*-hydroxysuccinimide, TFAA = trifluoroacetic anhydride, CbzCl = benzyl chloroformate, LiHMDS = lithium bis(trimethylsilyl)amide.

methylenation under the conditions reported by Riofski et al.^[22] successfully furnished the desired dimethyl- α -methylene- ϵ -lactam (**4**) in 61% yield.

Subsequently, the synthesis of 2-silatrane dienyne derivative **6** was conducted as shown in Scheme 3. By using a slightly modified version of the procedure reported by Kong et al.,^[12b] the hydrostannylation of 2,4-hexadiyne was performed, thus giving (*E*)-vinyl stannane **15** as the main product in 52% yield. After the bromination of commercially available vinyltriethoxysilane (**16**) to afford 1-bromovinyl product **17** in 98% yield,^[23] a Stille coupling reaction with vinylstannane **15** was examined. Various Pd catalysts were screened in the reaction with CuI in DMF, but homodimer **15'** was formed as the main product (Table 1, entries 1–3). The purity of CuI was suspected to be



Scheme 3. Synthesis of 2-silatrane dienyne derivative **6**. Reagents and conditions: a) CuCN , $n\text{BuLi}$, $n\text{Bu}_3\text{SnH}$, THF, -50°C , 3 h; then, MeOH at -78°C over 1 h, 52% yield; b) Br_2 , Et_3NH , neat, reflux, 5 h, 98% yield; c) $[\text{PdCl}_2(\text{PPh}_3)_2]$, CuI (99.999%; Aldrich), DMF (freeze–pump–thaw), 25°C , 19 h, 62% yield; d) triethanolamine, KOH, toluene, reflux, 3 h, 57% yield.

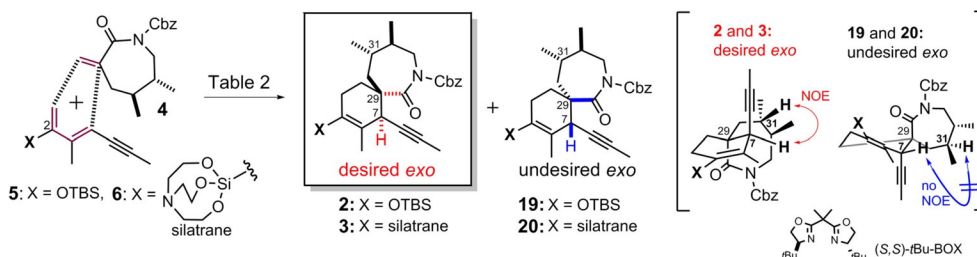
Table 1. Optimization of the synthesis of 2-silatrane dienyne **6**.

Entry	Catalyst	Additive	Solvent	Yield [%]	
				18	15'
1	$[\text{Pd}(\text{dba})_3]\text{CHCl}_3$	CuI ^[a]	DMF	trace	main product
2	$[\text{Pd}(\text{PPh}_3)_4]$	CuI ^[a]	DMF	trace	main product
3	$[\text{PdCl}_2(\text{PPh}_3)_2]$	CuI ^[a]	DMF	0	main product
4	$[\text{PdCl}_2(\text{PPh}_3)_2]$	CuI ^[b]	DMF	9–48	
5	$[\text{PdCl}_2(\text{PPh}_3)_2]$	CuI ^[b]	DMF ^[c]	62	

[a] CuI (> 98.0%; Aldrich); [b] CuI (99.999%; Aldrich); [c] a freeze–pump–thaw cycle was performed prior to use. dba = dibenzylideneacetone.

the cause of this result; purer reagent (99.999%) gave the desired coupling product (**18**), thereby hindering the generation of homodimer **15'**, but with unstable reproducibility (9–48%). Consequently, performing a freeze–pump–thaw cycle of DMF was found to improve the yield of compound **18** up to 62%, with high reproducibility (Table 1, entry 5). Finally, compound **18** was treated with triethanolamine in the presence of KOH in toluene under Dean–Stark conditions, thus providing the desired 2-silatrane dienyne (**6**) in 57% yield.

After preparing all of the substrates, including 2-TBS-ether dienyne **5**, which was obtained by following a literature procedure,^[12b] we focused on the key Diels–Alder reaction (Scheme 4). First, silyl ether diene **5** was examined by using a chiral Cu^{II} –BOX hexafluoroantimonate complex as the catalyst, because it was previously used to activate an *N*-Cbz-lactam in a Diels–Alder reaction.^[24,16a–c] As shown in Table 2, entry 1, when dienophile **4** and diene **5** were treated with the



Scheme 4. Examination of the Diels–Alder reactions of compound **4** with substrates **5** and **6**.

Entry	Diene (equiv)	Solvent	Catalyst (mol %)	T [°C]	t [h]	Yield [%]
1	5 (1.8)	CH ₂ Cl ₂	[Cu{(S,S)-tBu-BOX}](SbF ₆) ₂ (33)	25	9 h	64 (<i>exo</i> only; 2/19 = 1:0.07)
2	5 (3.0)	CH ₂ Cl ₂	[Cu{(S,S)-tBu-BOX}](SbF ₆) ₂ (33)	25	30 min	97 (<i>exo</i> only; 2/19 = 1:0.07)
3	6 (1.4)	CH ₂ Cl ₂	[Cu{(S,S)-tBu-BOX}](SbF ₆) ₂ (25)	25 → reflux	2 d	n.r. ^[a]
4	6 (1.4)	toluene	[Cu{(S,S)-tBu-BOX}](SbF ₆) ₂ (25)	80	6 d	12 ^[b]
5	6 (1.4)	toluene	[Cu{(S,S)-tBu-BOX}](SbF ₆) ₂ (50)	130	12 h	– ^[c]
6	6 (1.4)	toluene	none	130	36 h	48 (<i>exo</i> only; 3/20 = 1:0.3)
7	6 (2.5)	toluene	none	130	24 h	79 (<i>exo</i> only; 3/20 = 1:0.3)

[a] n.r. = no reaction; [b] yield of the cycloadducts; [c] compounds **4** and **6** decomposed.

Cu catalyst at 25 °C for 9 h, the reaction proceeded well, thereby affording the cycloadducts in 64% yield, almost as a single diastereomer. After detailed NMR analysis of the product, we found that the reaction proceeded with high regio-, *exo*, and facial selectivity, thereby resulting in the predominant formation of the desired *exo* (7*S*,29*R*) isomer of compound **2** (see the Supporting Information, Figures S1–S6 and Tables S1 and S2); an NOE correlation between the H7/H31 protons, which was expected to be observed for the desired *exo* (7*S*,29*R*) isomer but not for the undesired *exo* (7*R*,29*S*) isomer, was clearly observed in the main product.^[25,26] Then, moderate refinement of the reaction conditions provided the desired product (**2**) and trace amounts of the undesired *exo* product (**19**) in 97% yield (Table 2, entry 2), which were inseparable by flash column chromatography. These results indicated that the spirobicyclic intermediate with a silyl enol ether moiety was efficiently constructed in a manner that was applicable for the synthesis of SPX for the first time.

Next, we turned our attention to the synthesis of silatrane dienyne **6**, a key compound in our alternative, more-straightforward route to the target lactam (**1**). First, the substrates were treated with the Cu catalyst in CH₂Cl₂ at 25 °C and then heated at reflux for two days; however, the reaction unexpectedly did not proceed at all (Table 2, entry 3). Although a simple 2-silatrane diene has been reported to be almost twice as reactive as Danishefsky's diene,^[18b] 2-silatrane diene **6** seemed to be less reactive than 2-silyloxy diene **5**, presumably owing to the increased steric repulsion between the large 2-silatrane moiety and the 3-methyl group, which potentially hampered the *s-cis* conformation that would be favorable for the reaction. To improve the considerably decreased reactivity, the solvent was changed to toluene and the reaction mixture was stirred at 80 °C for six days, which led to a slight formation of the cycloadducts (12% yield) as an isomeric mixture (stereostructure not determined; Table 2, entry 4). By increasing the temperature to 130 °C, dienophile **4** and diene **6** preferentially decomposed, and the desired coupling product was not obtained (Table 2, entry 5). Moreover, the Cu^{II}–BOX complex seemed to dissociate under such harsh conditions. Considering that the Cu catalyst may have an adverse effect at high temperatures, the reaction was attempted without a catalyst (Table 2, entry 6). Surprisingly, the thermal conditions alone were found to afford the cycloadduct in 48% yield as a 1:0.3 stereoisomeric mixture. To our delight, NMR analysis of the products (similar to compound **2**) revealed an NOE correlation

between the H7–H31 protons in the main product (see the Supporting Information, Figure S8), but not in the minor product. This result indicated that the reaction not only proceeded with excellent regio- and *exo* selectivity, but also with favorable facial selectivity, thereby furnishing the desired *exo* (7*R*,29*R*) isomer (**3**; main product) over the undesired *exo* (7*S*,29*S*) isomer (**20**; minor product).^[25] Finally, increasing the amount of diene substrate **6** and shortening the reaction time improved the yield (79%) without the loss of selectivity, and compounds **3** and **20** could be separated by flash column chromatography (Kanto 60N, 40–50 μm; Table 2, entry 7). These results showed that the regio and *endo*–*exo* selectivity were perfectly controlled by the precisely designed substrates, as expected. Moreover, the diastereoselectivity was acceptable for further elaboration; the selectivity was likely attributed to the relative steric repulsion between the acetylene moiety of diene **6** and the C31 methyl group (or the C30 methylene group) of dienophile **4** under kinetic control (Figure 2).^[27] Even considering the moderate facial selectivity, this method represents a simple and convergent process for the construction of the complex spirobicyclic tetrasubstituted cyclohexene core with a vinyl silatrane moiety by using a Diels–Alder reaction.

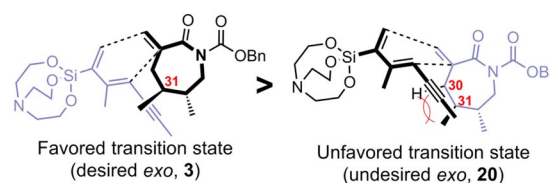
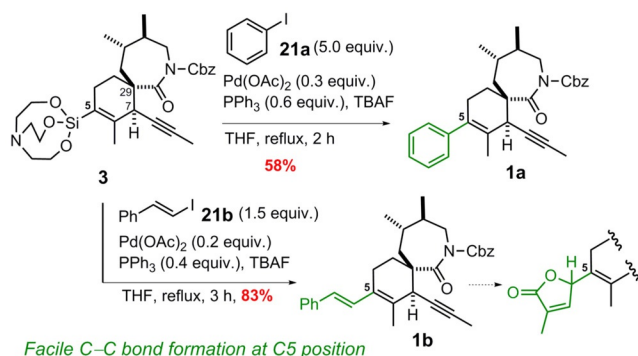


Figure 2. Plausible explanation of the facial selectivity in the Diels–Alder reaction between lactam **4** and silatrane dienyne **6**. Bn = benzyl.

With the desired spirobicyclic silylated compounds in hand, the remaining task was to achieve a C–C bond formation at the C5 position of silatrane derivative **3** for the facile introduction of a substituent (Scheme 5). When compound **3** was stirred with iodobenzene (**21a**) and TBAF in the presence of a Pd catalyst at reflux in THF for 2 h, the coupling reaction proceeded smoothly, thereby furnishing 5-phenyl-substituted compound **1a** in 58% yield. Because Pd-catalyzed cross-coupling reactions that use vinyl silatrane have rarely been reported,^[18] this report constitutes the first practical application of this reaction for such a highly functionalized system. Next,



Scheme 5. C–C bond formation at the C5 position of spirobicyclic silatrane derivative **3** through a Hiyama cross-coupling reaction.

a nonaryl derivative, (*E*)-styryl iodide (**21b**), was treated under the same reaction conditions, thereby affording 5-styryl product **1b** in 83% yield. Notably, the styryl group of coupling compound **1b** might also be useful for further modifications at the C5 position, including the formation of a butenolide. Our strategy for the Diels–Alder reaction, in combination with the simple C–C bond-forming method through a Hiyama cross-coupling reaction, will facilitate the synthesis of target compound **1** that contains γ -butenolide and other substituents.

In summary, we have successfully developed a practical method for the construction of the functionalized bicyclic ring framework (A and E rings) of SPX C by using a selective Diels–Alder reaction to obtain two silylated cycloadducts; for both the silyl enol ether and vinyl silatrane derivatives, the reactions proceeded with excellent regio- and *exo* selectivity. With the silatrane adduct, we succeeded in introducing an aryl or alkenyl substituent at the C5 position through direct Pd-catalyzed coupling reactions. The spirobicyclic compounds that were obtained by using this strategy could be derivatized into the pharmacophore of SPX. Furthermore, they were also used to investigate the structure–activity relationships, structural determination, and the total synthesis of SPX C.

Acknowledgements

We thank Dr. S. Hanashima (Osaka University) for helpful discussions and Dr. N. Inazumi (Osaka University) for his help in performing the NMR measurements. This work was supported by a JST ERATO grant (JPMJER1005) and by a Grant-In-Aid for Young Scientists (B) from the Japan Society for the Promotion of Science (JSPS; 24710249).

Conflict of Interest

The authors declare no conflict of interest.

Keywords: cross-coupling • cycloaddition • lactams • natural products • spiro compounds

- [1] T. Hu, J. M. Curtis, Y. Oshima, M. A. Quilliam, J. A. Walter, Watson-W. M. Wright, J. L. C. Wright, *J. Chem. Soc. Chem. Commun.* **1995**, 2159–2161.
- [2] a) A. D. Cembella, A. G. Bauder, N. I. Lewis, M. A. Quilliam, *J. Plankton Res.* **2001**, *23*, 1413–1419; b) M. Falk, I. W. Burton, T. Hu, J. A. Walter, J. L. C. Wright, *Tetrahedron* **2001**, *57*, 8659–8665; c) T. Hu, I. W. Burton, A. D. Cembella, J. M. Curtis, M. A. Quilliam, J. A. Walter, J. L. C. Wright, *J. Nat. Prod.* **2001**, *64*, 308–312.
- [3] a) D. Uemura, T. Chou, T. Haino, A. Nagatsu, S. Fukuzawa, S.-Z. Zeng, H.-S. Chen, *J. Am. Chem. Soc.* **1995**, *117*, 1155–1156; b) T. Chou, O. Kamo, D. Uemura, *Tetrahedron Lett.* **1996**, *37*, 4023–4026; c) T. Chou, T. Haino, M. Kuramoto, D. Uemura, *Tetrahedron Lett.* **1996**, *37*, 4027–4030.
- [4] a) T. Seki, M. Satake, L. Mackenzie, H. F. Kaspar, T. Yasumoto, *Tetrahedron Lett.* **1995**, *36*, 7093–7096; b) M. Stewart, J. W. Blunt, M. H. G. Munro, W. T. Robinson, D. J. Hannah, *Tetrahedron Lett.* **1997**, *38*, 4889–4890; c) C. O. Miles, A. L. Wilkins, D. J. Stirling, A. L. MacKenzie, *J. Agric. Food Chem.* **2000**, *48*, 1373–1376.
- [5] a) K. Torigoe, M. Murata, T. Yasumoto, T. Iwashita, *J. Am. Chem. Soc.* **1988**, *110*, 7876–7877; b) T. Hu, A. S. W. deFreitas, J. M. Curtis, Y. Oshima, J. A. Walter, J. L. C. Wright, *J. Nat. Prod.* **1996**, *59*, 1010–1014.
- [6] R. Munday, M. A. Quilliam, P. LeBlanc, N. Lewis, P. Gallant, S. A. Sperker, H. S. Ewart, S. L. MacKinnon, *Toxins* **2012**, *4*, 1–14.
- [7] Y. Bourne, Z. Radić, R. Araújo, T. T. Talley, E. Benoit, D. Servent, P. Taylor, J. Molgó, P. Marchot, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2010**, *107*, 6076–6081.
- [8] E. Alonso, P. Otero, C. Vale, A. Alfonso, A. Antelo, L. Giménez-Llort, L. Chabaud, C. Guillou, L. M. Botana, *Curr. Alzheimer Res.* **2013**, *10*, 279–289.
- [9] Although a complete relative stereochemical assignment of 13,19-didesmethyl SPX C was conducted based on NMR analysis and molecular modeling, the configuration at the C4 position might require more experimental evidence before a conclusive assignment can be made, because it was estimated based on a weak NOE correlation; see: P. Ciminiello, B. Catalanotti, C. Dell’Aversano, C. Fattorusso, E. Fattorusso, M. Forino, L. Grauso, A. Leo, L. Tartaglione, *Org. Biomol. Chem.* **2009**, *7*, 3674–3681.
- [10] Except for the syntheses of fragments, a synthetic study of SPX has only previously been reported by Zakarian’s group, see: C. E. Stivala, Z. Gu, L. L. Smith, A. Zakarian, *Org. Lett.* **2012**, *14*, 804–807.
- [11] For total syntheses of PnTX A, see: a) J. A. McCauley, K. Nagasawa, P. A. Lander, S. G. Mischke, M. A. Semones, Y. Kishi, *J. Am. Chem. Soc.* **1998**, *120*, 7647–7648; b) C. E. Stivala, A. Zakarian, *J. Am. Chem. Soc.* **2008**, *130*, 3774–3776; c) S. Nakamura, F. Kikuchi, S. Hashimoto, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2008**, *47*, 7091–7094; *Angew. Chem.* **2008**, *120*, 7199–7202; for a formal total synthesis of PnTX A, see: d) S. Sakamoto, H. Sakazaki, K. Hagiwara, K. Kamada, K. Ishii, T. Noda, M. Inoue, M. Hirama, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2004**, *43*, 6505–6510; *Angew. Chem.* **2004**, *116*, 6667–6672.
- [12] For total syntheses of GYM, see: a) K. Kong, D. Romo, C. Lee, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2009**, *48*, 7402–7405; *Angew. Chem.* **2009**, *121*, 7538–7541; b) K. Kong, Z. Moussa, C. Lee, D. Romo, *J. Am. Chem. Soc.* **2011**, *133*, 19844–19856; for synthetic studies of GYM, see: c) J. W. Johannes, S. Wenglowsky, Y. Kishi, *Org. Lett.* **2005**, *7*, 3997–4000; d) T. Tsujimoto, J. Ishihara, M. Horie, A. Murai, *Synlett* **2002**, 399–402.
- [13] T. Hu, J. M. Curtis, J. A. Walter, J. L. C. Wright, *Tetrahedron Lett.* **1996**, *37*, 7671–7674.
- [14] Y. Bourne, G. Sulzenbacher, Z. Radić, R. Araújo, M. Reynaud, E. Benoit, A. Zakarian, D. Servent, J. Molgó, P. Taylor, P. Marchot, *Structure* **2015**, *23*, 1106–1115.
- [15] D. H. Hua, S. W. Miao, S. N. Bharathi, T. Katsuhira, A. A. Bravo, *J. Org. Chem.* **1990**, *55*, 3682–3684.
- [16] a) K. Kong, Z. Moussa, D. Romo, *Org. Lett.* **2005**, *7*, 5127–5130; b) J. Ishihara, M. Horie, Y. Shimada, S. Tojo, A. Murai, *Synlett* **2002**, 403–406; c) M. A. Brimble, D. Crimmins, M. Trzoss, *Arkivoc* **2005**, (i), 39–52; d) M. A. Brimble, M. Trzoss, *Tetrahedron* **2004**, *60*, 5613–5622; e) S. M. Guéret, P. D. O’Connor, M. A. Brimble, *Org. Lett.* **2009**, *11*, 963–966.
- [17] a) W. R. Roush, B. B. Brown, *J. Org. Chem.* **1992**, *57*, 3380–3387; b) F. Fotiadu, F. Michel, G. Buono, *Tetrahedron Lett.* **1990**, *31*, 4863–4866.
- [18] a) R. R. Pidaparthy, M. E. Welker, C. S. Day, M. W. Wright, *Org. Lett.* **2007**, *9*, 1623–1626; b) R. R. Pidaparthy, C. S. Junker, M. E. Welker, C. S. Day, M. W. Wright, *J. Org. Chem.* **2009**, *74*, 8290–8297.
- [19] Very recently, Ishihara, Hatakeyama, and co-workers synthesized the same α -methylene- ϵ -caprolactam (**4**) and reported a very similar ap-

- proach to the spirolactam portion of spiroolides by using this dienophile; see: J. Ishihara, S. Tojo, T. Makino, H. Sekiya, A. Tanabe, A. Murai, S. Hatakeyama, *Heterocycles* **2017**, *95*, 422–444.
- [20] a) D. A. Evans, M. D. Ennis, D. J. Mathre, *J. Am. Chem. Soc.* **1982**, *104*, 1737–1739; b) C. E. Stivala, A. Zakarian, *Tetrahedron Lett.* **2007**, *48*, 6845–6848.
- [21] H. Ogawa, K. Nozawa, P. Ahn, *J. Chem. Soc. Chem. Commun.* **1993**, *18*, 1393–1394.
- [22] M. V. Riofski, J. P. John, M. M. Zheng, J. Kirshner, D. A. Colby, *J. Org. Chem.* **2011**, *76*, 3676–3683.
- [23] R. Nagel, H. W. Post, *J. Org. Chem.* **1952**, *17*, 1379–1381.
- [24] D. A. Evans, D. M. Barnes, J. S. Johnson, T. Lectka, P. V. Matt, S. J. Miller, J. A. Murry, R. D. Norcross, E. A. Shaughnessy, K. R. Campos, *J. Am. Chem. Soc.* **1999**, *121*, 7582–7594.
- [25] For details of the structure determination, see the Supporting Information.
- [26] The excellent selectivity could be explained by a synergetic effect of the substrates and chiral reagent; for details, see Ref. [16a].
- [27] When the desired *exo* product (**3**) was heated at 130 °C in toluene, no isomerization occurred, thus indicating that the selectivity might have originated from the difference between the transition states under kinetic control.

Manuscript received: March 15, 2017
 Revised manuscript received: April 24, 2017
 Accepted manuscript online: May 8, 2017
 Version of record online: July 4, 2017