

チューブリン重合阻害剤 Phomopsin A の合成研究

Synthetic studies on phomopsin A, an inhibitor of tubulin assembly

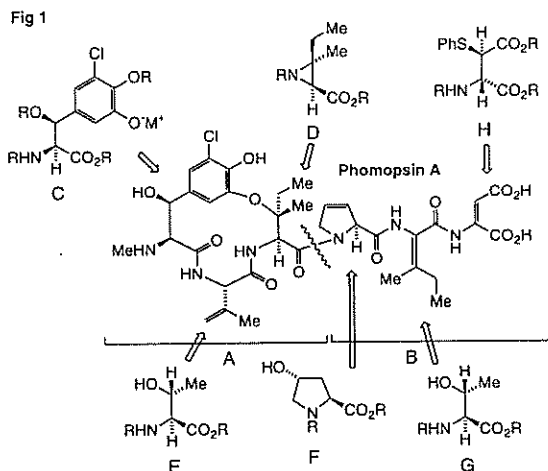
研究代表者 慶應義塾大学理工学部応用化学科 助手 橋本 貴美子
 Instructor, Department of Applied Chemistry,
 Faculty of Science and Technology, Keio University
 Kimiko HASHIMOTO

Phomopsin A, a strong inhibitor of tubulin assembly, has some unique structural features, that is, (i) all of the six amino acid units consists of unusual amino acids, (ii) the units are highly oxidized, (iii) the four units among them are different kinds of dehydroamino acids, (iv) the structure consist of two portions, the ring and the chain parts, and the former contains an ether structure which composed from phenol and tertiary alcohol, and the latter is constructed from three contiguous dehydroamino acids. Synthetic studies on the unusual peptide have been attempted. Syntheses of the each unit are shown in schemes 1 ~ 5, and their coupling reactions are shown in schemes 6 and 7. The unique structural features mentioned above were constructed except unit E.

1. 研究目的

Phomopsin A は一種のカビ毒であり、このカビに寄生された豆を羊や牛等の家畜に与えるとルビノシス病を引き起こし、畜産業に多大な損害を与える原因物質として単離、構造決定された。その後この化合物の生物活性については、細胞分裂の際に重要な働きをするチューブリン蛋白質の重合を阻害することが報告された。また、その際にチューブリン上の受容体への結合能が既知物質中では最も強いことから、類縁体が合成できれば重合阻害のメカニズムや、細胞分裂の機構研究のためのバイオツールとなることが期待されている。

一方、有機化学的な観点から見るとこのペプチドはいくつかの際立った特徴がある。すなわち(i)6種のアミノ酸ユニットから構成されており、その全てが非蛋白性のものである(ii)酸化段階が非常に高い(iii)タイプの異なる4種のデヒドロアミノ酸を含む(iv)環状部と鎖状部とから構成されるが、環状部にはフェノール性水酸基と3級アルコールとからなるエーテル構造を有し、鎖状部は3連続のデヒドロアミノ酸から成る。これらの特徴ある構造を

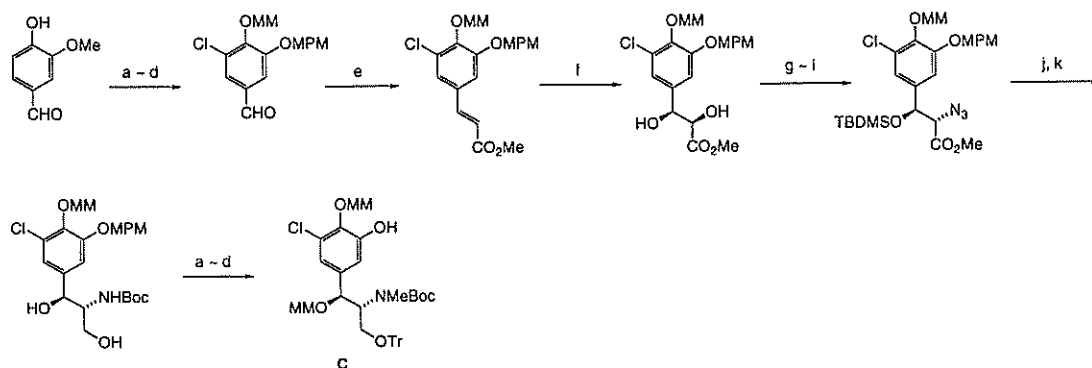


どのように構築するかは、合成化学的にも面白い課題である。

2. 研究経過

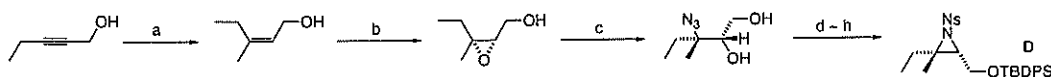
Phomopsin A (1)は環状部(A)と鎖状部(B)とからなり、それぞれは3つのアミノ酸で構成されている。そこで1の逆合成はFig 1に示すように、大きくA, B

Scheme 1



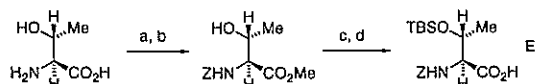
(a) SO_2Cl_2 , BPO / benzene / reflux (b) 47% HBr / reflux (c) MPMCl, NaH / DMF-THF (d) MMCl, DIPEA / CH_2Cl_2 (e) $\text{Ph}_3\text{PCHCO}_2\text{Me}$ / toluene / 50°C (f) AD-MIX- α , MeSO_2NH_2 / $^t\text{BuOH-H}_2\text{O}$ (g) NsCl, Et_3N / CH_2Cl_2 / -25°C (h) NaN_3 / DMF (i) TBDMSOTf, Et_3N / CH_2Cl_2 (j) LiAlH_4 / THF / 0°C (k) Boc_2O , Et_3N / dioxane- H_2O (l) TiCl_4 / py / 50°C (m) MMCl, DIPEA / CH_2Cl_2 (n) MeI, NaH / DMF (o) H_2 , 10% Pd-C / EtOH-AcOEt

Scheme 2



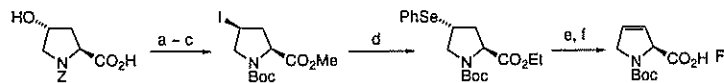
(a) $^t\text{BuMgCl}$, Cp_2TiCl_2 / Et_2O then MeI / THF (b) $\text{Ti}(\text{O}^i\text{Pr})_4$, (+)-DET, TBHP, MS4A / CH_2Cl_2 / -40°C (c) TMSN_3 , $\text{Al}(\text{O}^i\text{Pr})_3$ / CH_2Cl_2 (d) TBDPSCI, imidazole / CH_2Cl_2 (e) MsCl, Et_3N / CH_2Cl_2 (f) H_2 , $\text{Pd}(\text{OH})_2$ / AcOEt (g) MeONa / MeOH (h) NsCl, py / CH_2Cl_2

Scheme 3



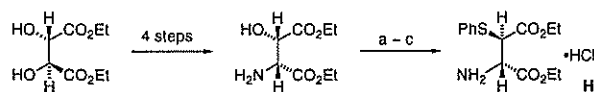
(a) SOCl_2 / MeOH / reflux (b) ZCl, NaHCO₃ / dioxane- H_2O (c) TBSOTf, 2,6-lutidine / CH_2Cl_2 (d) 1M NaOH / dioxane

Scheme 4



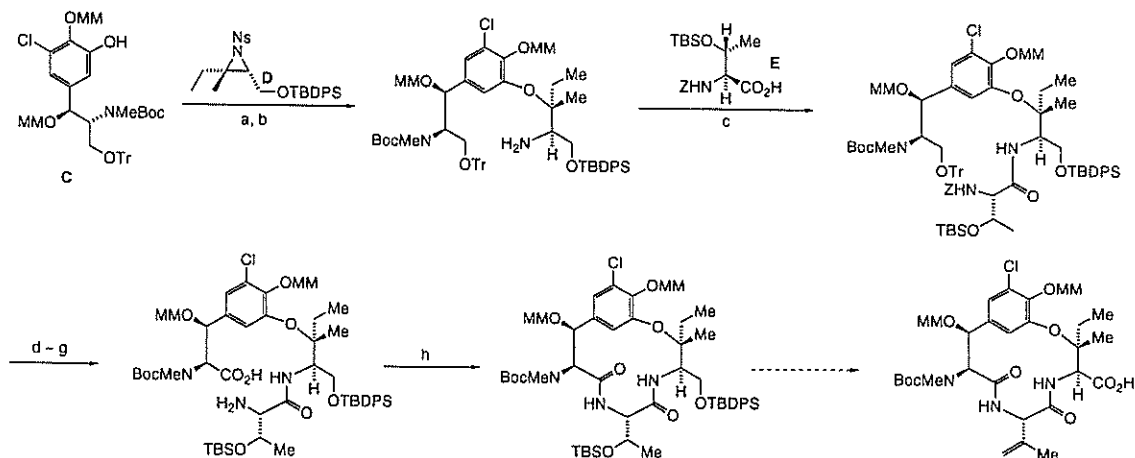
(a) SOCl_2 / MeOH (b) H_2 , 10% Pd-C, Boc_2O / MeOH (c) DEAD, PPh_3 , MeI / THF (d) Ph_2Se_2 , NaBH₄ / EtOH / 90°C (e) 30% H_2O_2 , py / CH_2Cl_2 (f) 1M NaOH / dioxane

Scheme 5



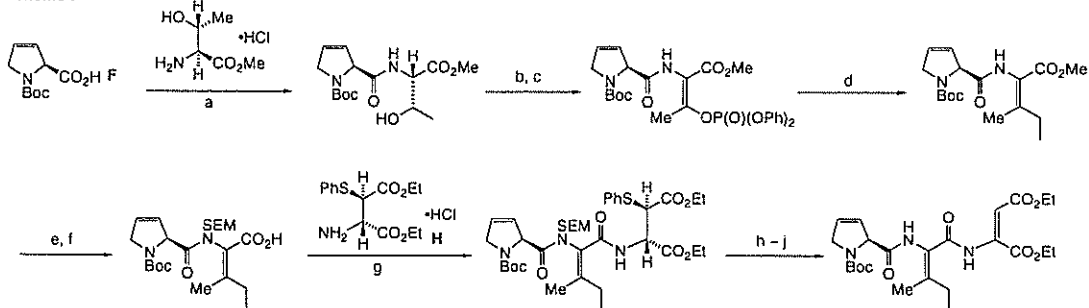
(a) Boc_2O / dioxane- H_2O (b) Ph_2S_2 , $^t\text{Bu}_3\text{P}$ / THF (c) TFA then HCl aq

Scheme 6



(a) C, D, NaH / DMF (b) mercaptoethanol, DBU / DMF (c) E, WSCD, HOBT / CH₂Cl₂ (d) 0.01% HCl-MeOH / CH₂Cl₂ (e) Dess-Martin reagent, py / CH₂Cl₂ (f) NaClO₂, 2-methyl-2-butene, NaH₂PO₄ / H₂O (g) H₂, 10% Pd-C / EtOH-AcOEt (h) WSCD, HOBT / DMF

Scheme 7



(a) Thr-OMe·HCl, WSCD·HCl, HOBT, Et₃N / THF-DMF (b) Dess-Martin reagent / CH₂Cl₂ (c) (PhO)₂P(O)Cl, NaH / THF (d) EtLi, CuBr·DMS / Et₂O / -100°C (e) SEMCl, NaH / DMF / 0°C (f) 1M KOH / dioxane (g) H, WSCD·HCl, HOBT, Et₃N / CH₂Cl₂ (h) mCPBA / CH₂Cl₂ / -78°C (i) 102°C / dioxane (j) TFA

に分け、それぞれを合成した後に縮合することにした。またそれぞれの構成成分は C-H へと逆合成した。以下に合成スキームを示す。

Scheme 1 (ユニット C)

パニンリンを出発物質とし、クロル化、Wittig 反応、不斉ジヒドロキシ化、位置選択的アジド基導入の後、酸化段階と保護基の調整を経て光学活性な C ユニットの合成した。

Scheme 2 (ユニット D)

2-ペンチン-1-オールに対してヒドロチタン化を経

て、メチル基を導入後、不斉エポキシ化、アジドアニオンによる位置選択的開環、アミンへの還元後のアジリジン環形成によってユニット D を調製した。

Scheme 3 (ユニット E)

スレオニンの 3 つの官能基を順次保護、脱保護を行ってカルボン酸へと導き、これをユニット E とした。

Scheme 4 (ユニット F)

Z-ヒドロキシプロリンの保護基を調整後、水酸基を

ヨウ素、フェニルセレン基へと順次変換し、位置選択的な脱離反応を経て β,γ -不飽和プロリンとし、カルボン酸へと変換してユニット F とした。

Scheme 5 (ユニット H)

D-酒石酸ジエチルを既知の方法を用いて、エポキシドを経てアミノ基の導入を行い、次に残りの水酸基をフェニルチオ基へと変換しユニット H とした。

Scheme 6 (ユニット A : 環状部)

環状部の最も問題となるフェノールと3級アルコールとのエーテル構造は、ユニット C のフェノキシドをユニット D のアジリジンと反応させることで達成できた。この時アジリジン環の開環は混み合った3級側からのみ起こった。これは1級水酸基の保護基として TBDPS を用いたため、その立体障害が大きいことが原因と思われる。また開環反応を進行させるためにはアジリジンの窒素の保護基も重要であり、後の脱保護の都合も考慮してノシル基を使用した。

次いで3つめのアミノ酸ユニット E の縮合である。2通りの方法が考えられるが、最後に C-E ユニット間で環化することとし、まずユニット E のカルボン酸とユニット D 側のアミノ基を縮合した。最後の環化はまだ条件検討中ではあるが20%程度の環化体が得られた。この後ユニット E のシリル基を除去し、酸化して得られるカルボニル化合物を Wittig 反応で不飽和体へと変換する計画である。この時に1,3-ジカルボニル化合物を経るため、ユニット E の不斉中心は失われると考えられるが、環のコンホメーションにより、天然型が優先されると考えている。

Scheme 7 (ユニット B : 鎖状部)

鎖状部の特徴は3連続の不飽和アミノ酸構造である。ユニット F のデヒドロプロリンは既知の方法で合成し、ここに次ぎのユニット G の前駆体としてスレオニン縮合した。この水酸基を酸化後、

エノールホスフェートとし、Weiler 法を用いてエチル基を立体選択的に導入した。次に末端ユニット H の縮合であるが、ユニット G 由来のカルボキシ基を活性化すると、オキサゾリジン環を形成しやすく、またそれによって、立体選択的に導入したエチル基の部分も異性化を起こすことがわかった。そこでその原因となるアミノ基を保護した上でユニット H との縮合を行い、フェニルチオ基の酸化、脱離を経て鎖状部 B の合成を行った。

3. 研究成果

種々のデヒドロアミノ酸の合成法とその連結法、フェノールと3級アルコールとのエーテル構造の構築法等、有機合成化学上の課題の一つの解法を見出した。またデヒドロアミノ酸の化学的性質についても知見を得ることができた。

4. 今後の課題と発展

Phomopsin A の全合成には至らなかったが、環状部と鎖状部の合成は大方達成できたため、最後のデヒドロアミノ酸の合成と、両部分の縮合が今後の課題である。デヒドロアミノ酸の立体選択的合成法については、まだ研究の余地があるため、この成果を生かして新規合成法や縮合法の開発を行いたい。

5. 発表論文リスト

1. Synthesis of the ring portion of phomopsin A, Taki A., Kubota K., Hashimoto K., Nakata M. (投稿準備中)
2. Synthesis of the chain portion of phomopsin A, Kanemoto K., Hashimoto K., Nakata M. (投稿準備中)