

シリングリン A の全合成とその構造活性相関研究

北大院薬 ○千葉 拓也、市川 聡、松田 彰

<研究背景>

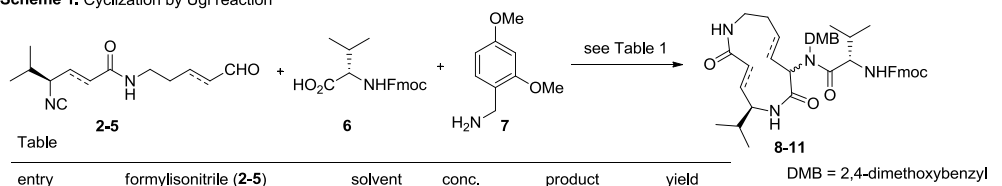
シリングリン A (**1**) は、*Pseudomonas syringae* pv *Syringae* が産生する植物毒素として単離された化合物であり¹⁾、2008 年に Kaiser らによりプロテアソーム阻害活性を示すことが明らかとされた (Fig. 1)²⁾。シリングリン A はプロテアソームのβ1、β2 およびβ5 サブユニットが有する全ての触媒活性部位を阻害することが知られており、新規プロテアソーム阻害剤のリード化合物として期待されている。その全合成は、Kaiser ら³⁾、Stephenson ら⁴⁾、Pirrung ら⁵⁾によって達成されているが、誘導体合成に適したものであるとは言えない。そこで筆者は、より効率的なシリングリン A の全合成経路を確立し、その経路を用いて誘導体合成を行うことで、新規プロテアソーム阻害剤の開発を目指すこととした。

<研究結果>

筆者は、ホルミルイソニトリル、アミン、カルボン酸の 3 成分を用いる Ugi 反応を行うことでシリングリン A を合成することとした。本合成法では、シリングリン A の 12 員環形成と側鎖であるウレアジペプチド部の導入を一挙に達成することができる。また、Ugi 反応に用いるカルボン酸ユニットを変更することで、側鎖の異なるシリングリン A の誘導体を簡便に合成できると考えられる。まず、どのような構造のホルミルイソニトリル体が Ugi 反応を行う上で最適であるのかを調べるために、モデル化合物を用いた Ugi-3 成分反応の検討を行った (Scheme 1)。化合物 **2** を用いた場合には Ugi 反応は全く進行せず、アミド体 **12** が得られた (Table, entries 1-3)。化合物 **2** の分子内には 2 つの *E*-オレフィン有しているために、ホルミル基とイソシアノ基が近接しにくく、その間にイソニトリルを介したペプチドカップリング反応が進行したと考えられる⁶⁾。化合

物 **3** を用いた場合には、目的とする環化二量化した化合物 **13** が得られた (entries 4-7)。一方で、化合物 **4** を用いた場合には、19%の収率で目的物 **10** を得ることができた (entry 8)。

Scheme 1. Cyclization by Ugi reaction



entry	formylisocyanide (2-5)	solvent	conc.	product	yield
1		CH ₂ Cl ₂	10 mM	amide (13)	ca. 20-30%
2		MeOH	10 mM	amide (13)	
3		toluene	10 mM	amide (13)	
4		CH ₂ Cl ₂	0.1 M	dimer (12)	64%
5		CH ₂ Cl ₂	10 mM	dimer (12)	53%
6		MeOH	10 mM	dimer (12)	42%
7		toluene	10 mM	dimer (12)	45%
8		CH ₂ Cl ₂	1 mM	Ugi product (10)	19%
9		CH ₂ Cl ₂	10 mM	Ugi product (11)	7%
10		MeOH	10 mM	Ugi product (11)	19%

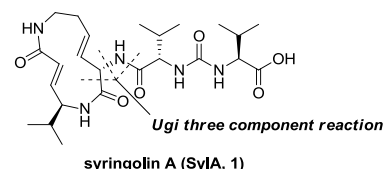
Table

DMB = 2,4-dimethoxybenzyl

amide **12**

dimer **13**

Figure 1. Structure and synthetic strategy of syringolin A

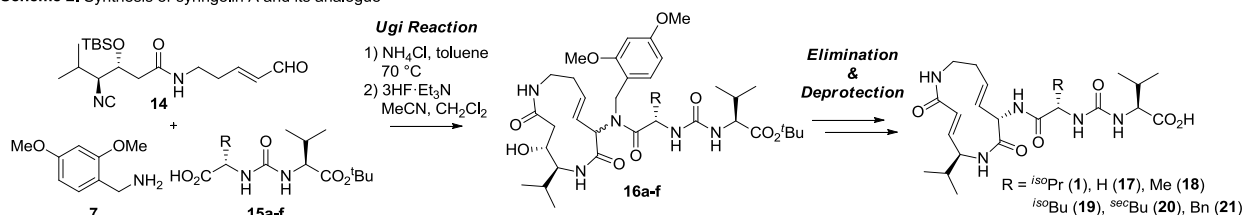


更に、化合物 **5** を用いた場合は、CH₂Cl₂ 中では 7%、MeOH 中では 19%の収率で目的物 **11** を得ることができた (entries 9, 10)。これらの結果により、筆者は化合物 **4** のように *E*-オレフィンをもつ基質を用いてシリングリン A の全合成を行うこととした。

そこで、まず Boc-L-バリンから数工程の変換を経て、ホルミルイソニトリル **14** を合成した。続いて、ホルミルイソニトリル **14**、ジメトキシベンジルアミン **7**、ウレア構造を有するカルボン酸 **15a** の 3 成分を用いた Ugi 反応を行い、化合物 **16a** を得た。更に水酸基の脱離、保護基の除去を経てシリングリン A (**1**) の全合成を達成した (Scheme 2)。

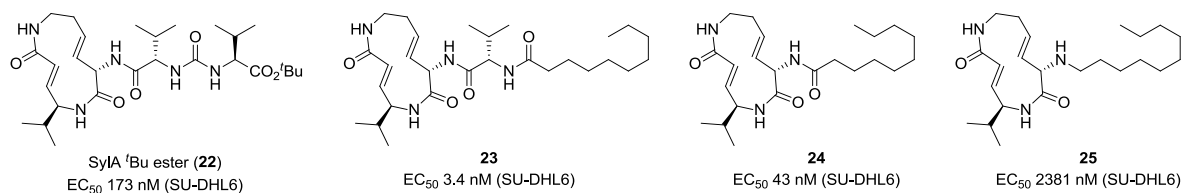
シリングリン A とプロテアソームの X 線共結晶により、シリングリン A 側鎖部の 12 員環側のイソプロピル基はプロテアソームとの結合に際し、疎水性相互作用による安定化を受けていることが予想されたため、筆者はその部位の疎水性をより大きくした誘導体を設計した。また比較対象として疎水性を小さくした誘導体も合成することとした。これら誘導体は Ugi-3 成分反応におけるカルボン酸ユニットを変更することで合成した (Scheme 2)。合成した誘導体のプロテアソーム阻害活性を評価したところ、誘導体 **21** が最も強い活性を示した (*K_i* 44 nM)。

Scheme 2. Synthesis of syringolin A and its analogue



また、シリングリン A は細胞膜透過性を有さないため殺細胞活性を示さないことが知られている。そこで、脂溶性側鎖を導入した誘導体を合成することとした。また、その中で、側鎖部が活性に与える影響を調べるために、部分的に欠如・変換した誘導体 **22-25** の合成を行い、その細胞増殖抑制活性の評価を行った (Fig. 2)。その結果、化合物 **23** が非常に強い細胞増殖抑制活性 (*IC*₅₀ 3.4 nM) を示した。

Figure 2. Structure of lipophilic SyIA analogue and its cell-growth inhibitory activity



<結論>

筆者は、Ugi-3 成分反応を鍵工程としたシリングリン A の全合成を行った。また、本合成法を用いてシリングリン A のウレア部を変換した誘導体を合成し、フェニルアラニン誘導体が最も強い活性を示すことを明らかにした。更に、脂溶性側鎖を導入することで膜透過性を付与した誘導体の合成も行った。

<参考文献>

- 1) Wäspl U. *et al.*, *Mol. Plant Microbe Interact* **1998**, 11, 727.
- 2) Kaiser, M. *et al.*, *Nature* **2008**, 452, 755.
- 3) Kaiser, M. *et al.*, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **2009**, 106, 6507.
- 4) Stephenson, C. *et al.*, *Org. Lett.* **2010**, 12, 3453.
- 5) Pirrung, M. *et al.*, *Org. Lett.* **2010**, 12, 2402.
- 6) Danishefsky, S. J. *et al.*, *J. Am. Chem. Soc.* **2010**, 132, 4098.