

Ⅲ－４ Novel カチオン輸送担体に対するパスポート構造を元にした，有機化学的薬物誘導体化

富山大学・大学院医学薬学研究部 薬品製造学研究室 教授 松谷裕二

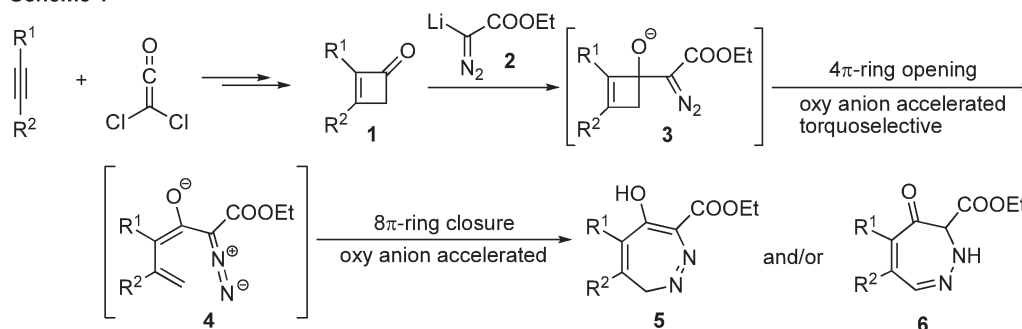
【研究の背景と目的】

血液網膜関門を介したベラパミル輸送を阻害する薬物の特徴として，アミン含有薬物は阻害を示すものの，四級アンモニウム含有薬物では阻害されないことが挙げられる。本研究では「網膜への薬物送達を目的とした薬物・化合物の誘導体化」を最終目標として研究を遂行しており，それを可能とするパスポート構造を明らかにするためには，プローブとなる薬物に対し各種アミン含有構造を付加させ，その輸送活性を比較するのが最良の方法である。本年度は，パスポート構造の候補として含窒素複素環構造を想定し，特に7員環を有する1,2-ジアゼピン誘導体を構築するための，一般性の高い新手法の開発を行うこととした。ジアゼピン骨格は窒素原子の求核性により四級アンモニウム化などの化学修飾が可能であり，化合物の物性チューニングが容易であること，また，構造物性に影響を与えず互変異性構造がジアゼピン骨格上では可能であることが，その理由である。筆者らは，これまでに独自の手法によるベンゾジアゼピン骨格構築法を開発しており，本法が本目的の達成に直線的に応用可能と見込まれる。すなわち，シクロブテノンに対するジアゾメチレンアニオンの求核付加_連続的電子環状反応というドミノ型プロセスを用い，1,2-ジアゼピン骨格の新規構築法として検討を行うことにした。また，本骨格に存在する互変異性体の存在についても精査し，異性体を効果的に合成し分けるための反応条件についても検討を行うものとした。更に，今後実際に研究を進める予定であるプローブ薬物へのパスポート構造付加も念頭におき，合成可能な1,2-ジアゼピン誘導体の置換基一般性や，反応性や安定性についての情報を得ることも，本研究の目的である。

【実験手法】

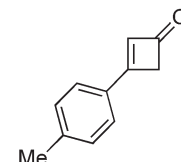
1,2-ジアゼピン形成反応の基質となるシクロブテノン誘導体(1)は，置換アセチレン類とジクロロケテンとの[2+2]環化付加反応を利用して合成を行う。本化合物に対し，ジアゾメチレンアニオン(2)を低温下にて求核付加させ，生じたオキシアニオンにより加速される $4\pi-8\pi$ タンデム型電子環状反応により，中間体3および4を経て，目的とする1,2-ジアゼピン誘導体(5または6)を合成するよう計画した(Scheme 1)。

Scheme 1



([2+2] 環化付加反応によるシクロブテノン誘導体 **1** の合成の実施例)

To a solution of 4-tolylacetylene (4.76 g, 41.0 mmol) and zinc-copper couple (10.0 g, 153 mmol) in Et₂O (82 mL) was added the solution of trichloroacetyl chloride (1.70 g, 103 mmol) in dimethoxyethane (31 mL) via cannula at 0 °C. After stirring for 15 min, the cooling bath was removed to allow the reaction to warm up to room temperature. After stirring for 1.5 h, the resulting mixture was filtered through Celite (solvent; hexane). The combined organic extracts were washed with each of ice-cold 0.5 M hydrochloric acid, ice-cold 5% sodium hydroxide solution, and brine, dried over MgSO₄, filtered, and concentrated under reduced pressure. The crude mixture containing 4,4-dichlorocyclobutenone was directly subjected to the next reaction without further purification.

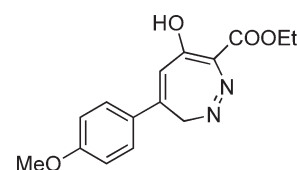


To a solution of zinc dust (7.89 g, 121 mmol) and tetramethylethylenediamine (18.1 mL, 121 mmol) in EtOH (42 mL) were dropwised acetic acid (6.9 mL, 121 mmol) and then the solution of 4,4-dichlorocyclobutenone (4.75 g, 20.9 mmol) in EtOH (42 mL) via cannula at 0 °C. After stirring for 15 min at the same temperature, the cooling bath was removed to allow the reaction to warm up to room temperature. After stirring for 1 h, The resulting mixture was filtered through Celite (solvent; hexane:Et₂O = 1:1). The combined organic extracts were washed with each of 10% hydrochloric acid, saturated aqueous NaHCO₃, and brine, dried over MgSO₄, filtered, and concentrated under reduced pressure. The residue was purified by flash column chromatography on silica gel (hexane) to afford the cyclobutenone (2.00 g, 12.7 mmol, 31%) as a yellow solid.

Mp 97-100 °C; ¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃): δ 7.52 (2H, d, *J* = 7.8 Hz), 7.31 (2H, d, *J* = 7.8 Hz), 6.32 (1H, s), 3.51 (2H, s), 2.44 (3H, s); ¹³C-NMR (126 MHz, CDCl₃): δ 187.2, 170.6, 142.5, 129.3, 128.6, 128.45, 128.38, 48.2, 21.5; IR (KBr): 1699 cm⁻¹; MS (EI) *m/z* 158 (M⁺); HRMS (EI) calcd for C₁₁H₁₀O: 158.0732, found: 158.0758.

(1,2-ジアゼピン誘導体 **5** の合成の実施例)

To a solution of ethyl diazoacetate (44.5 mg, 0.39 mmol) in dry THF (1.3 mL) was added n-BuLi in hexane (1.6 M, 0.33 mL, 0.52 mmol) at -78 °C, and the

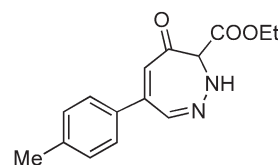


mixture was stirred at $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ for 15 min. To the above mixture was added a solution of the 3-(4-methoxyphenyl)cyclobutenone (45.0 mg, 0.26 mmol) in dry THF (1.3 mL). After stirring for 15 min at the same temperature, the cooling bath was removed to allow the reaction to warm up to room temperature for 1 h. The reaction mixture was diluted with sat. NH_4Cl aq., extracted with CH_2Cl_2 , and dried over MgSO_4 . The solvent was removed under reduced pressure. The residue was purified by flash column chromatography on silica gel (hexane:MeOH = 200:1) to afford **5** (62.9 mg, 84%) as a yellow solid.

Mp $100\text{--}105\text{ }^{\circ}\text{C}$; $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, Acetone- d_6): δ 9.13 (1H, brs), 7.67 (2H, d, $J = 8.7$ Hz), 7.02 (2H, d, $J = 8.7$ Hz), 6.51 (1H, s), 4.56 (2H, s), 4.20 (2H, q, $J = 7.1$ Hz), 2.83 (3H, s), 1.27 (3H, t, $J = 7.1$ Hz); $^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, Acetone- d_6): δ 182.8, 167.5, 162.1, 146.3, 136.6, 135.2, 130.5, 129.4, 115.1, 61.1, 55.7, 52.1, 14.4; IR (KBr): 3220, 1738 cm^{-1} ; MS (EI) m/z 288 (M^+); HRMS (EI) calcd for $\text{C}_{15}\text{H}_{16}\text{N}_2\text{O}_4$: 288.1110, found: 288.1133.

(1,2-ジアゼピン誘導体 **6** の合成の実施例)

To a solution of LDA (1.50 mmol, prepared from diisopropylamine and $n\text{-BuLi}$) in dry THF (2.2 mL) was added ethyl diazoacetate (152.9 mg, 1.30 mmol) in dry THF (2.2 mL) at $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$, and the mixture was stirred at $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ for 0.5 h. To the above mixture



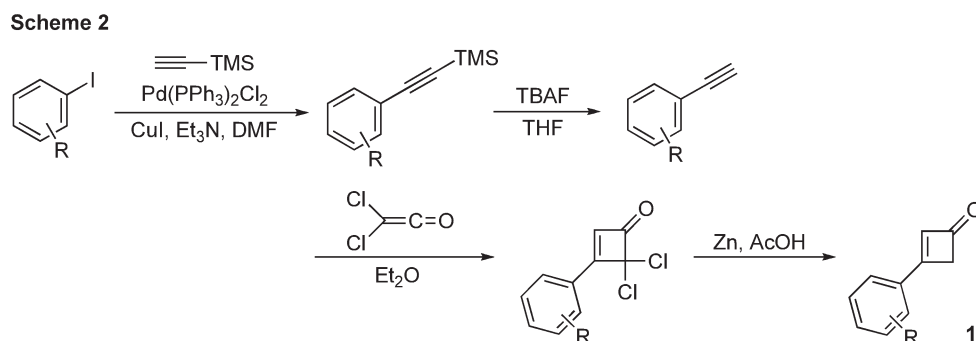
was added a solution of the 3-(4-tolyl)cyclobutenone (105.9 mg, 0.67 mmol) in dry THF (2.3 mL). After stirring for 15 min at the same temperature, the cooling bath was removed to allow the reaction to warm up to room temperature for 1 h. The reaction mixture was diluted with sat. NH_4Cl aq., extracted with CH_2Cl_2 , and dried over MgSO_4 . The solvent was removed under reduced pressure. To this residue were added benzene (9.1 mL) and pyridine (0.37 mL, 4.6 mmol) at room temperature. After stirring for further 7 h, pyridine (74 μL , 0.92 mmol) was added to the mixture. After stirring for further 5 h, pyridine (74 μL , 0.92 mmol) was added to the mixture. After stirring for further 5 h, pyridine (74 μL , 0.92 mmol) was added to the mixture. After stirring for 7 h, the reaction was quenched with 10% hydrochloric acid, and the reaction mixture was extracted with Et_2O . The combined organic extracts were concentrated under reduced pressure. The residue was purified by flash column chromatography on silica gel (hexane:AcOEt = 4:1) to afford **6** (103 mg, 0.378 mmol, 81%) as a colorless oil.

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3): δ 7.59 (1H, brs), 7.43–7.35 (3H, m), 7.26–7.24 (2H, m), 6.77 (1H, s), 4.49–4.36 (2H, m), 4.07 (1H, s), 2.41 (3H, s), 1.34 (3H, t, $J = 7.1$ Hz); $^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, Benzene- d_6): 178.5, 166.6, 144.9, 139.1, 138.2, 135.6, 132.2, 129.6, 127.9, 68.6, 62.3, 21.0, 14.1; IR (KBr): 3371, 1742 cm^{-1} ; MS (EI) m/z 158 (M^+); HRMS (EI) calcd for $\text{C}_{15}\text{H}_{16}\text{N}_2\text{O}_3$: 272.1161, found: 272.1144.

【結果・考察】

<各種置換シクロブテノン誘導体 **1** の合成>

まずは、1,2-ジアゼピン合成のための原料化合物となる、各種置換シクロブテノン誘導体**1**の合成を行った。その概略を Scheme 2 に示す。

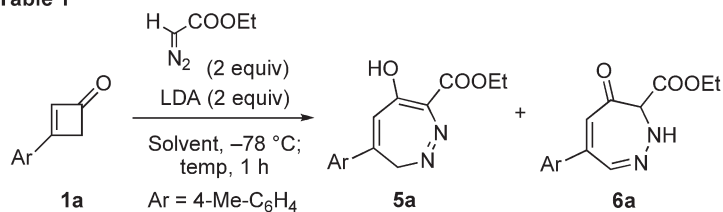


容易に入手可能なヨードベンゼン誘導体に対して、DMF 溶媒中にて TMS-アセチレンとの園頭カップリングを CuI, Et₃N, およびパラジウム触媒存在下にて行い、良好な収率にて TMS-アセチレン体とし、引き続き TBAF を用いた脱シリル化を行って、アルキン体を合成した。次に、Et₂O 溶媒中にて、トリクロロアセチルクロリドから調製したジクロロケテンとの [2+2] 環化付加反応に付き、シクロブテノン骨格を構築、その後、クロロ基を酢酸中で亜鉛還元により除去し、目的とする各種置換シクロブテノン誘導体 (**1**) を得ることに成功した。

<1,2-ジアゼピン環形成反応の条件検討>

3-(4-tolyl)cyclobutenone (**1a**) をモデル基質として、1,2-ジアゼピン環形成反応の条件検討を行った。その詳細を Table 1 に示す。ここでは、溶媒と反応温度について精査した。塩基として LDA を用いていることからエーテル系溶媒に固定し、まずは THF を溶媒として低温下リチオジアゾアセテート

Table 1



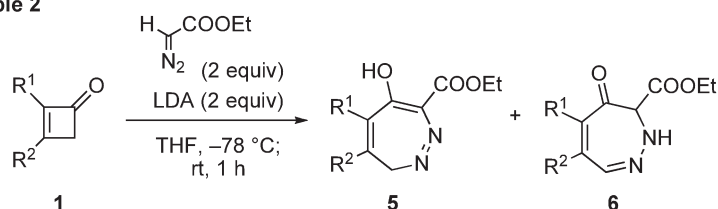
entry	solvent	temp	yield (%)	5a:6a
1	THF	rt	73	51:49
2	CPME	rt	47	40:60
3	Et ₂ O	rt	65	45:55
4	THF	0 °C	51	37:63
5	THF	45 °C	47	34:66
6	THF	rt	85	82:18

を調製して **1a** と反応させ、次いで反応温度を室温まで昇温させたところ、73% という良好な収率にて目的とする 1,2-ジアゼピン誘導体を与えることが判った。ここで得られた 1,2-ジアゼピン誘導体は 2 種類であり、それぞれを単離して構造解析を行ったところ、エノール型ジアゼピン (**5a**) とイミン型ジアゼピン (**6a**) であることが判り、その生成比はほぼ 1:1 であった (entry 1)。その他のエーテル系溶媒 (CPME, Et₂O) を用いた場合、収率が若干低下した (entry 2, 3)。また、THF 溶媒中でも、昇温温度を 0°C や 45°C とした場合も、収率の低下が見られた (entry 4, 5)。なお、entry 1 と同条件でも、微量の酸性不純物を排除した溶媒を用いた時、収率が 85% まで向上し、また **5a** と **6a** の異性体比も 82:18 と大きく変化することが明らかとなった (entry 5)。この結果は、微妙な反応条件の違いが、異性体比に大きな影響を与えることを示すものである。

<1,2-ジアゼピン環形成反応の一般性の検討>

ここまでの検討で見出された最適条件にて、種々の置換基を有するシクロブテノン体を基質として、1,2-ジアゼピン環形成反応の一般性を検証した。その結果を Table 2 に示す。R² として芳香族置換基を有する誘導体について、概ね良好な収率にて 1,2-ジアゼピン誘導体を与えることが明らかとなった (entry 1-5)。やや立体障害がある誘導体 (R² = Mes) についても、若干収率は落ちるものの、対応するジアゼピン体を生成した (entry 6)。また、R¹ にも置換基を有する基質や、脂肪族置換基を有する基質においても、反応は進行することが明らかとなった (entry 7, 8)。なお、いずれの場合においても、2 種類の互変異性体 (**5** および **6**) を生成しており、エノール型異性体 **5** が主生成物であった。これらの異性体は、いずれもカラムクロマトグラフィーにて単離精製が可能である。

Table 2



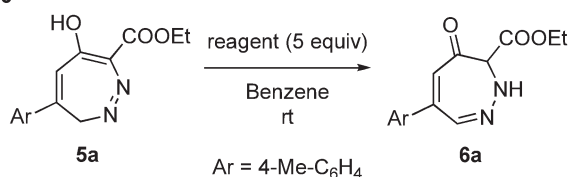
entry	1	R ¹	R ²	yield (%)	5:6
1	1b	H	Ph	84	86:14
2	1c	H	4-MeO-C ₆ H ₄	77	77:23
3	1d	H	4-F-C ₆ H ₄	71	90:10
4	1e	H	1-Naph	78	72:28
5	1f	H	2-Me-C ₆ H ₄	77	73:27
6	1g	H	Mes	59	58:42
7	1h	Ph	Ph	69	81:19
8	1i	H	<i>n</i> -Bu	64	88:12

以上のように、本 1,2-ジアゼピン環形成反応は、一般性が高く広い応用性を有することが明らかとなった。

<互変異性体の相互変換と選択的合成>

上述の通り、本反応では2種類のジアゼピン互変異生体が生成した。これらは、いわゆるタートメリズムにより相互変換できるものと考えられ、一方で、それぞれが分離可能な安定性と物性を独立して有している。そこで、これら異性体の相互変換の要因となる条件について、精査することにした。エノール型ジアゼピン **5a** を用いて、酸および塩基の影響を調査した結果を Table 3 に示す。酸性条件では徐々に分解反応が進行するのみであったが (entry 1)、アミン塩基の存在下ではイミン型ジアゼピン **6a** への異性化が観察された (entry 2-7)。特にピリジン共存下で効率良く異性化が進行した (entry 5)。なお、**6a** は安定な異性体であり、**5a** への逆異性化は全く観察されなかった。

Table 3



entry	reagent	time (h)	yield (%)
1	10% HCl aq	21	—
2	<i>i</i> -Pr ₂ NH	0.75	59
3	BnNH ₂	0.75	41
4	Et ₃ N	1.5	70
5	Pyridine	7	81
6	DMAP	0.5	61
7	2,6-lutidine	4	67

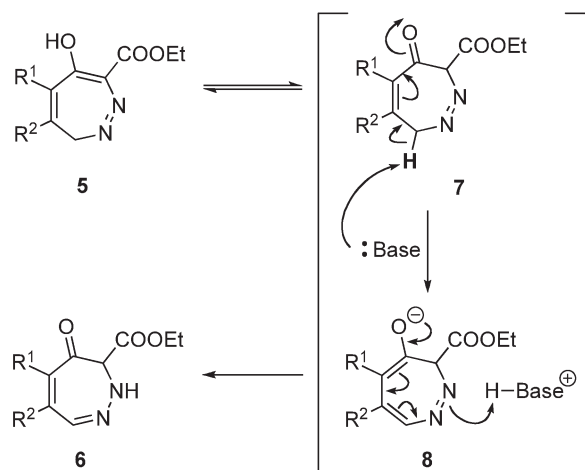
塩基性条件下での異性化のメカニズムは、

Scheme 3 に示すようなものと推定される。すなわち、**5** のケト型である **7** に対する塩基の作用で脱プロトン化が進行してエノラート **8** が生じ、その再プロトン化が窒素原子上で起こることで異性体 **6** が生じるものである。

これらの検討から、互変異性体の生成比には、反応系内のアミン塩基が大きく作用していることが示唆される。そこで、これらの互変異性体を選択的に得るような反応条件について検討を

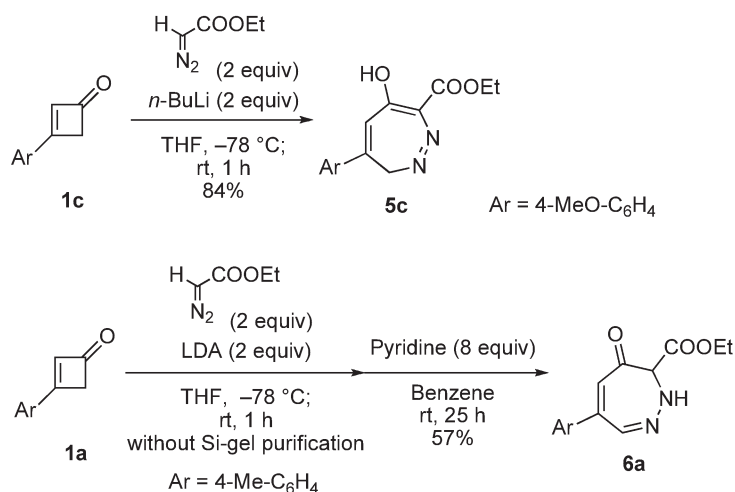
行った。その結果について、Scheme 4 にまとめる。リチオジアゾアセテートの調製に LDA を用いると、アミン塩基であるジイソプロピルアミンが反応系中に遊離する。これは、異性体 **5** から **6** への異性化を促進するものと考えられる。そこで、LDA の代わりに *n*-BuLi を塩基として利用する反応条件

Scheme 3



を試みたところ、エノール型異性体 **5** が 84 % という高収率で生成し、イミン型異性体 **6** は全く生成しなかった。また逆に、従来の条件で得たジアゼピン生成物（異性体混合物）を、精製せずにそのままピリジン処理を施すことで、57 % 収率にてイミン型異性体 **6** を単一生成物として得ることに成功した。このように、反応条件を適切に設定することで、1,2-ジアゼピンの 2 種類の互変異性体を効率的に合成する一般法を確立することに成功した。

Scheme 4



【結論および今後の展開】

上述の通り、本年度はパスポート構造として含窒素複素環である 1,2-ジアゼピン誘導体を想定し、シクロブテノンの連続的電子環状反応を活用することで、2 種類の互変異性体を選択的に合成するための一般法を確立できた。今後は、網膜への薬物送達を可能とするパスポート構造を特定し、網膜輸送性に優れた薬物を創出するため、硝子体内投与でのみしか現在成功していない VEGF を標的とし、本受容体阻害剤などにパスポート構造を付加した誘導体合成を行い、輸送活性を比較検討していく予定である。