

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 公開特許公報(A)

(11) 特許出願公開番号

特開2016-74646

(P2016-74646A)

(43) 公開日 平成28年5月12日(2016.5.12)

(51) Int.Cl.		F I		テーマコード (参考)
<b>C07C 327/42</b>	<b>(2006.01)</b>	C07C 327/42	CSP	4C069
<b>C07D 207/50</b>	<b>(2006.01)</b>	C07D 207/50		4H006

審査請求 未請求 請求項の数 1 O L (全 9 頁)

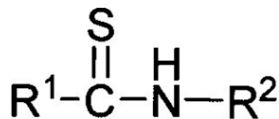
(21) 出願番号	特願2014-207775 (P2014-207775)	(71) 出願人	305060567 国立大学法人富山大学 富山県富山市五福3190
(22) 出願日	平成26年10月9日 (2014.10.9)	(72) 発明者	千葉 順哉 富山県富山市杉谷2630 富山大学杉谷 キャンパス内
		(72) 発明者	友廣 岳則 富山県富山市杉谷2630 富山大学杉谷 キャンパス内
		(72) 発明者	畑中 保丸 富山県富山市杉谷2630 富山大学杉谷 キャンパス内
		Fターム(参考)	4C069 AC36 BC06 BC12 4H006 AA01 AA03 AB84 TN30 TN50

(54) 【発明の名称】 チオアミド誘導体

(57) 【要約】 (修正有)

【課題】 添加剤が不要で、温和な条件下に水溶液でも進行する汎用性の高い生体直交型の新規クリック反応に使用されるチオアミド誘導体の提供。

【解決手段】 例えば、以下のようなチオアミド誘導体。



( R<sup>1</sup> はアルキル基 ; R<sup>2</sup> は 1 ) アミノ基又はそのアミノ基がカルバメート系保護された部位を末端に有す炭素数 1 ~ 6 のアルキレン、 2 ) アミノ基又はそのアミノ基がカルバメート系保護された部位を末端に有す C 1 ~ 3 のアルキレンに 1 ~ 6 個のメチレンオキシメチレン鎖を介して結合した C 1 ~ 3 のアルキレンか、或いは、 3 ) カルボキシル基又はその活性された基を有す C 1 ~ 6 のアルキレン。 )

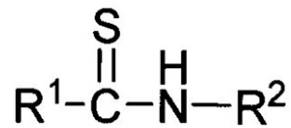
【選択図】 なし

## 【特許請求の範囲】

## 【請求項 1】

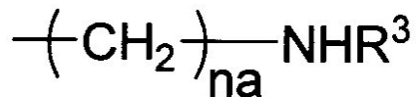
一般式 (1)

## 【化 1】

「式中、R<sup>1</sup> は、アルキル基を； R<sup>2</sup> は、以下のいずれかの式を意味する

10

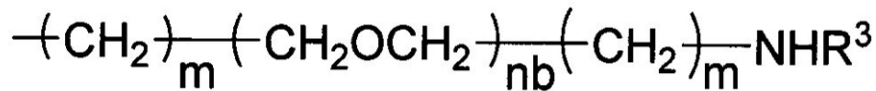
## 【化 2】



(式中、R<sup>3</sup> は、水素原子またはカルバメート系保護基を、na は、1 ~ 6 の整数を、それぞれ意味する)

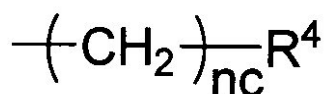
## 【化 3】

20



(式中、R<sup>3</sup> は、水素原子またはカルバメート系保護基を、nb は、1 ~ 6 の整数を、m は、1 ~ 3 の整数を、それぞれ意味する)

## 【化 4】



30

(式中、R<sup>4</sup> は、カルボキシル基またはその活性された基を、nc は、1 ~ 6 の整数を、それぞれ意味する)

で表されるチオアミド誘導体。

## 【発明の詳細な説明】

## 【技術分野】

## 【0001】

本発明は、汎用性の高い官能基を導入したクリック反応に有用なチオアミド誘導体に関する。

40

## 【背景技術】

## 【0002】

高い反応性・選択性を持った反応で比較的単純な小分子パーツを多様に組み合わせ、新たな機能性分子を創出する鍵反応をクリック反応と総称し、バリー・シャープレスによって提案された。

## 【0003】

クリック反応は、生体直交性 (通常は生体分子の構造中になく官能基の組み合わせで、これらが互いに選択的に反応しかつ、そのことが他の内因性分子には影響を与えない化学的性質) を持つ代表的な反応であり、生体に緩和な条件で新たな化学結合を導入することが

50

できるため、細胞表面の生体分子を特異的に蛍光可視化する等の高度な技術に応用されている（非特許文献 1）。

アミド結合形成反応としての Staudinger 反応（非特許文献 2）や、アシルスルホンアミド結合形成反応としての Sulfo Click 反応（非特許文献 3）なども、生体直交性を有するクリック反応の例として挙げられる。

【先行技術文献】

【非特許文献】

【0004】

【非特許文献 1】Acc. Chem. Res., 44, 666-676 (2011)

【非特許文献 2】J. Am. Chem. Soc., 124, 14893-14902 (2002)

10

【非特許文献 3】J. Am. Chem. Soc., 125, 7754-7755 (2003)

【非特許文献 4】Chem. Commun., 49, 10242-10244 (2013)

【発明の概要】

【発明が解決しようとする課題】

【0005】

発明者らは、チオアミドとスルホニルアジドが効率よく結合を形成する新規クリック反応を開発した（非特許文献 4）。この反応は、様々な溶媒中で反応が進行し、中でも水中で最も効率よい有用な反応である。

しかし、この反応に用いる市販のチオアミドの種類は少なく、また、ローソン試薬などのチオ化剤によるチオアミド化が利用できるものの汎用性の高いチオアミド誘導体が求められている。

20

【課題を解決するための手段】

【0006】

添加剤が不要で、温和な条件下に水溶液でも進行する汎用性の高い生体直交型の新規クリック反応に使用されるチオアミドとして、下記のチオアミド誘導体を開発した。

以下に本発明を詳細に説明する。

【0007】

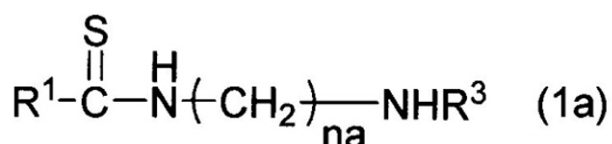
本発明において、アルキル基とは、メチル、エチル、プロピル、イソプロピル、ブチル、イソブチル、tert-ブチル、ペンチルおよびヘキシル基などの直鎖状または分岐鎖状の C<sub>1</sub> - C<sub>6</sub> アルキル基；カルバメート系保護基とは、tert-ブトキシカルボニル基（Boc）、ベンジルオキシカルボニル基（ZまたはCbz）、9-フルオレニルメチルオキシカルボニル基（Fmoc）、2,2,2-トリクロロエトキシカルボニル基（Troc）、アリルオキシカルボニル基（Alloc）などの基；カルボキシ基の活性された基とは、スクシンイミド、マレイイミドなど環状イミドを有するカルボキシ基およびハロゲン（フルオロ、クロロ、プロモなど）化剤で誘導された基などを意味する。

30

【0008】

本発明の第 1 の発明は、以下のチオアミド誘導体である。

【化 1】



40

【0009】

「式中、R<sup>1</sup> は、アルキル基を；R<sup>3</sup> は、水素原子またはカルバメート系保護基を、na は、1 ~ 6 の整数を、それぞれ意味する」

【0010】

R<sup>1</sup> のアルキル基として好ましいものは、メチル基である。

カルバメート系保護基として好ましいものは、tert-ブトキシカルボニル基（Boc）である

50

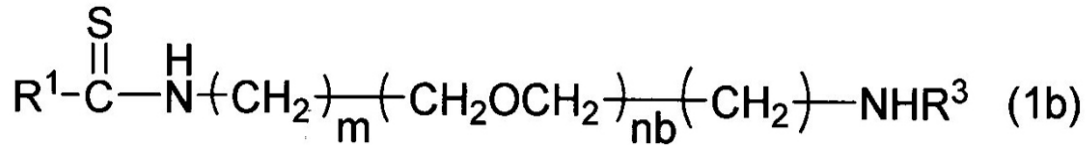
。

$n a$ として好ましいものは整数の2である。

【0011】

本発明の第2の発明は、以下のチオアミド誘導体である。

【化2】



10

【0012】

「式中、 $R^1$ は、アルキル基を； $R^3$ は、水素原子またはカルバメート系保護基を、 $n b$ は、1～6の整数を、 $m$ は、1～2の整数を、それぞれ意味する。」

【0013】

$R^1$ のアルキル基として好ましいものは、メチル基である。

カルバメート系保護基として好ましいものは、tert-ブトキシカルボニル基(Boc)である。

。

$n b$ として好ましいものは整数の2である。

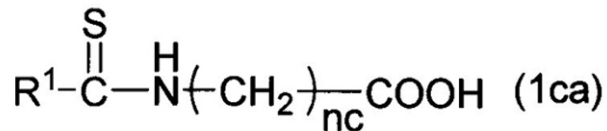
$m$ として好ましいものは整数の1である。

20

【0014】

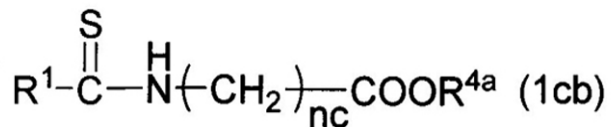
本発明の第3の発明は、以下のチオアミド誘導体である。

【化3】



【化4】

30



【0015】

「式中、 $R^1$ は、アルキル基を； $R^{4a}$ は、環状イミドまたはハロゲン化フェニル基を、 $n c$ は、1～6の整数を、それぞれ意味する。」

【0016】

$R^1$ のアルキル基として好ましいものは、メチル基である。

40

環状イミドとして好ましいものは、スクシンイミドである。

$n c$ として好ましいものは整数の1である。

【発明の効果】

【0017】

本発明のチオアミドとスルホニルアジドを基質とする緩和なクリック反応により、スルホニルアミジンが高収率で生成し、容易にアシルスルホンアミドへと変換可能である。また、クリック生成した結合の一部は、アシルスルホンアミドへの変換時に切断され、さらにアシルスルホンアミドもN-アルキル化後に切断可能である。また、生体直交性を有し、水溶液中室温で容易に反応が進行するため、生体系への応用できる。

【発明を実施するための形態】

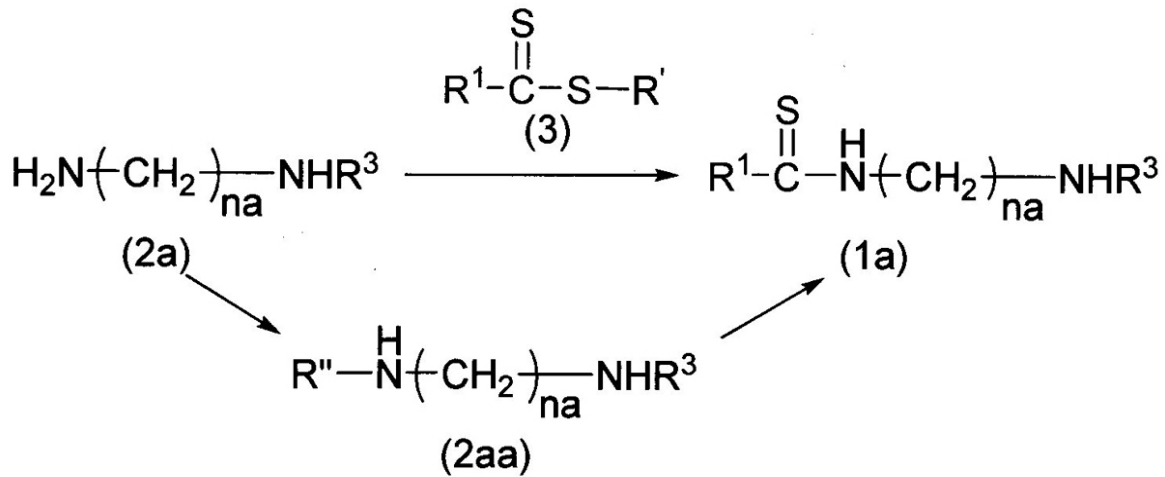
50

【 0 0 1 8 】

本発明のチオアミド誘導体の製造方法について説明する

&lt; 製造法 1 &gt;

【 化 5 】



10

【 0 0 1 9 】

「式中、 $\text{R}^1$  は、アルキル基を； $\text{R}^3$  は、水素原子またはカルバメート系保護基を、 $\text{R}'$  は、アルキル基を、 $\text{R}''$  は、アシル基を、 $na$  は、1～6の整数を、それぞれ意味する」

20

【 0 0 2 0 】

一般式(2a)のジアミン誘導体に一般式(3)のジチオカルボン酸エステルを、反応させることにより一般式(1a)のチオアミド誘導体を得ることができる。この反応は、溶媒中で行ってもよく、用いられる溶媒は、特に限定されないが、テトラヒドロフランなどエーテル系溶媒が挙げられる。

反応温度は、使用される溶媒により適宜決めればよいが、20～60、好ましくは室温である。

【 0 0 2 1 】

別法として、一般式(2a)のジアミン誘導体の一方のアミノ基をカルバメート系保護基以外の保護基、例えば、アセチル基などで保護して一般式(2aa)とした後、ローソン試薬などチオ化剤を反応させ、一般式(1a)のチオアミド誘導体を得ることもできる。

30

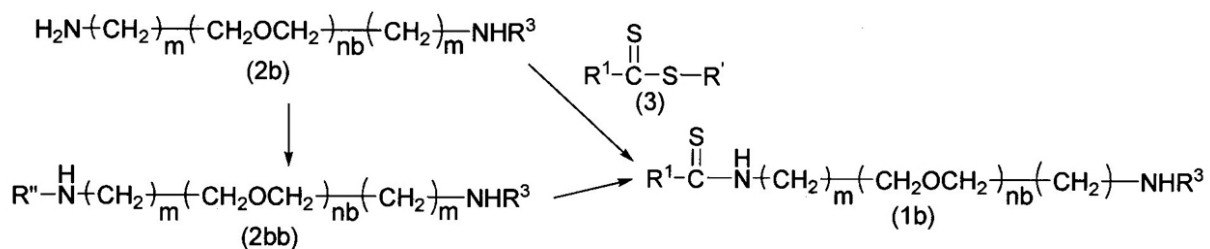
【 0 0 2 2 】

一般式(1a)の $\text{R}^3$ が水素原子であるチオアミド誘導体は、トリフルオロ酢酸など有機酸や無機酸との塩とすることもできる。

【 0 0 2 3 】

&lt; 製造法 2 &gt;

【 化 6 】



40

【 0 0 2 4 】

「式中、 $\text{R}^1$  は、アルキル基を； $\text{R}^3$  は、水素原子またはカルバメート系保護基を、 $\text{R}'$  は、アルキル基を、 $\text{R}''$  は、アシル基を、 $nb$  は、1～6の整数を、 $m$  は、1～2の整数を、それぞれ意味する」

50

## 【0025】

一般式(2b)のジアミン誘導体に一般式(3)のジチオカルボン酸エステルを、反応させることにより一般式(1b)のチオアミド誘導体を得ることができる。この反応は、溶媒夕中で行ってもよく、用いられる溶媒は、特に限定されないが、テトラヒドロフランなどエーテル系溶媒が挙げられる。

反応温度は、使用される溶媒により適宜決めればよいが、20 ~ 60、好ましくは室温である。

## 【0026】

別法として、一般式(2b)のジアミン誘導体の一方のアミノ基をカルバメート系保護基以外の保護基、例えば、アセチル基などで保護して一般式(2bb)とした後、ローソン試薬などチオ化剤を反応させ、一般式(1a)のチオアミド誘導体を得ることもできる。

10

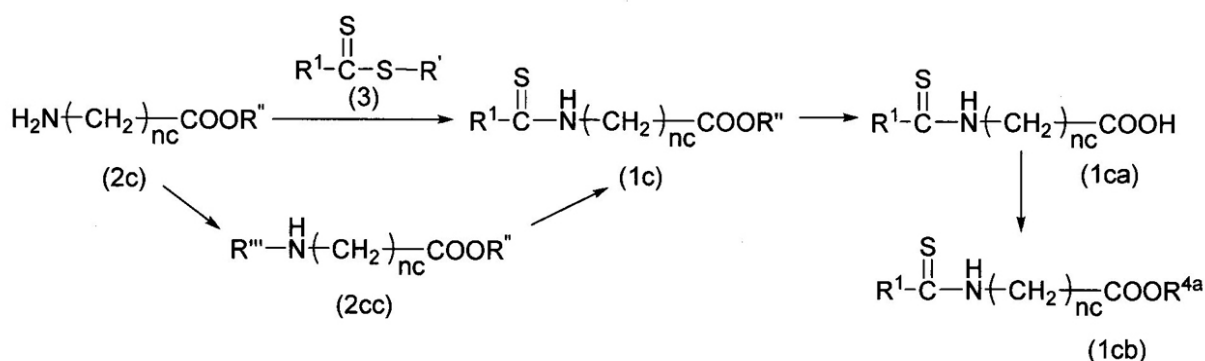
## 【0027】

一般式(1b)のR<sup>3</sup>が水素原子であるチオアミド誘導体は、トリフルオロ酢酸など有機酸や無機酸との塩とすることもできる。

## 【0028】

<製造法3>

## 【化7】



20

## 【0029】

「式中、R<sup>1</sup>は、アルキル基を；R<sup>1'</sup>は、アルキル基を、R<sup>1''</sup>は、アシル基を、R<sup>4a</sup>は、環状イミノ基を、ncは、1~6の整数を、それぞれ意味する」

30

## 【0030】

一般式(2c)の化合物に一般式(3)のジチオカルボン酸エステルを、反応させることにより一般式(1c)のチオアミドカルボン酸エステル体を得ることができる。この反応は、溶媒夕中に行ってもよく、用いられる溶媒は、特に限定されないが、テトラヒドロフランなどエーテル系溶媒が挙げられる。

反応温度は、使用される溶媒により適宜決めればよいが、20 ~ 60、好ましくは室温である。

## 【0031】

別法として、一般式(2c)の化合物のアミノ基を、例えば、アセチル基などで保護して一般式(2cc)とした後、ローソン試薬などチオ化剤を反応させ、一般式(1c)のチオアミドカルボン酸エステル体を得ることもできる。

40

## 【0032】

一般式(1c)のチオアミドカルボン酸エステル体の加水分解反応など脱保護反応に付すことにより、一般式(1ca)のチオアミドカルボン酸体を得ることができる。

## 【0033】

一般式(1ca)のチオアミドカルボン酸体に、N-ヒドロキシスクシンイミド、ペンタフルオロフェノールなどの活性化試薬を反応させることにより、一般式(1cb)のチオアミドカルボン酸の活性化体を得ることができる。

以下、本発明を実施例で説明するが、本発明はこれらに限定されるものではない。

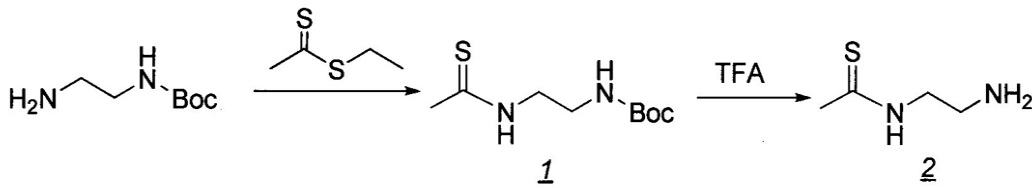
50

## 【実施例】

## 【0034】

## 実施例 1

## 【化8】



10

## 【0035】

(1) N-Boc-エチレンジアミン (79  $\mu$ L, 0.5mmol) をテトラヒドロフラン0.5mLに溶解し、その溶液にジチオ酢酸エチル (69  $\mu$ L, 0.6mmol) を滴下して加えた。30分間室温で撹拌した後、分取薄層クロマトグラフィー (PLC) (クロロホルム:メタノール=10:1) にて精製し、無色固体の tert-butyl 2-ethanethioamidoethylcarbamate (化合物1) を108mg得た。

## 【0036】

$^1\text{H NMR}$  (400MHz,  $\text{CDCl}_3$ , TMS) 8.71(brs, 1H), 4.98(brs, 1H), 3.67(d,  $J=5.6\text{Hz}$ , 2H), 3.43(d,  $J=5.6, 11.2\text{Hz}$ , 2H), 2.55(s, 3H), 1.45(s, 9H).

HRMS (ESI): calcd for  $\text{MNa}^+$ ,  $\text{C}_9\text{H}_{18}\text{N}_2\text{O}_2\text{SNa}$  : 241.0987 ; found 241.0985.

## 【0037】

(2) tert-butyl 2-ethanethioamidoethylcarbamate (45mg, 0.206mmol) を50%トリフルオロ酢酸/塩化メチレンに溶解し、15分間室温で撹拌した。溶媒を減圧留去し真空乾燥することで、無色油状のN-(2-aminoethyl)ethanethioamide (化合物2) の2TFA塩を69mg得た。

20

## 【0038】

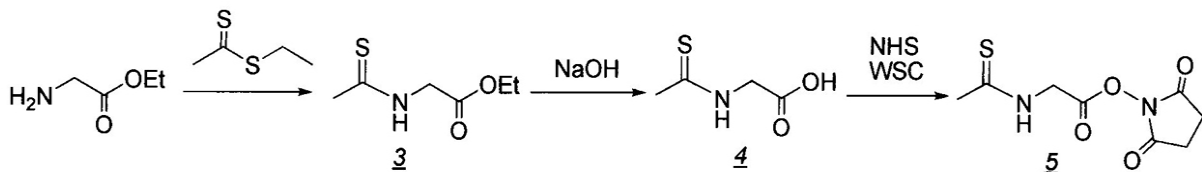
$^1\text{H NMR}$  (400MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ) 3.91(t,  $J=7.0\text{Hz}$ , 2H), 3.21(t,  $J=7.0\text{Hz}$ , 2H), 2.50 (s, 3H).

HRMS (ESI): calcd for  $\text{MH}^+$ ,  $\text{C}_4\text{H}_{11}\text{N}_2\text{S}$  : 119.0643 ; found 119.0637.

## 【0039】

## 実施例 2

## 【化9】



30

## 【0040】

(1) グリシンエチルエステル・塩酸塩 (140mg, 1mmol) とトリエチルアミン (664  $\mu$ L, 5mmol) をテトラヒドロフラン15mLに加えた後に、ジチオ酢酸エチル (126  $\mu$ L, 1.1mmol) を滴下しながら加え、室温で終夜撹拌した。溶媒を減圧留去し、真空乾燥した後、シリカゲルカラムクロマトグラフィー (クロロホルム) にて精製し、淡黄色油状の2-エタンチオイミド酢酸エチルエステル (化合物3) を160mg得た。

40

## 【0041】

$^1\text{H NMR}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) 7.75(brs, 1H), 4.37(d,  $J=4.4\text{Hz}$ , 2H), 4.27(q,  $J=7.2\text{Hz}$ , 2H), 2.61 (s, 3H), 1.31(t,  $J=7.2\text{Hz}$ , 3H).

HRMS (ESI): calcd for  $\text{MNa}^+$ ,  $\text{C}_6\text{H}_{11}\text{NO}_2\text{SNa}$  : 184.0408 ; found 184.0403.

## 【0042】

(2) 2-エタンチオイミド酢酸エチルエステル (48mg, 0.3mmol) エタノール1mL に溶解し、1N水酸化ナトリウム水溶液を加え、室温で30分撹拌した。1N塩酸水溶液にて中和後、陽イオン交換樹脂 (Dowex 50w x 8) を加えて、室温で10分間静かに撹拌した。樹脂を濾

50

別し、濾液の溶媒を減圧留去後、真空乾燥することで淡黄色固体の2-エタンチオアミド酢酸（化合物4）を33mg（85%）得た。

【0043】

$^1\text{H NMR}$  (400 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ) 4.34(s, 2H), 2.51 (s, 3H).

HRMS (ESI): calcd for  $[\text{M}-\text{H}^+]^-$ ,  $\text{C}_4\text{H}_6\text{NO}_2\text{S}$  : 132.0119 ; found 132.0122.

【0044】

(3) 2-エタンチオアミド酢酸 (33mg, 0.25mmol) と N-ヒドロキシコハク酸イミド (NHS : 35mg, 0.3mmol) を脱水アセトニトリル 5 mL に溶解し、その溶液に 1-エチル-3-(3-ジメチルアミノプロピル)カルボジイミド塩酸塩 (WSC : 71mg, 0.37mmol) を加えて、1時間室温で撹拌した。溶媒を減圧留去後、残渣に水を加え、クロロホルムで 10 回抽出した。有機層を合わせて硫酸マグネシウムで乾燥し、溶媒を減圧留去・真空乾燥して、無色固体の 2-エタンチオアミド酢酸コハク酸アミドエステル（化合物5）27mg（47%）得た。

10

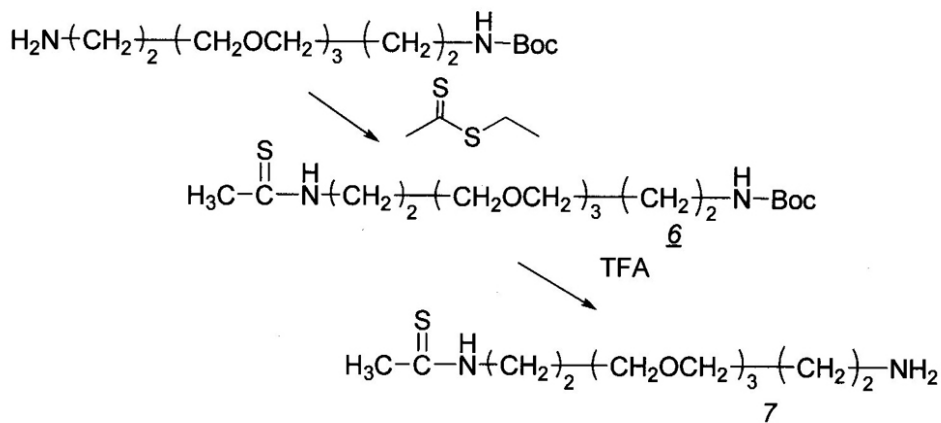
【0045】

$^1\text{H NMR}$  (400MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ) 4.34 (s, 2H), 2.82(s, 4H), 2.51 (s, 3H).

【0046】

実施例 3

【化10】



20

30

【0047】

(1) N-Boc-ジエチレングリコールビス(3-アミノプロピル)エーテル (160mg, 0.5mmol) をテトラヒドロフラン 1mL に溶解し、その溶液にジチオ酢酸エチル (69  $\mu\text{L}$ , 0.6mmol) を滴下して加えた。30分間室温で撹拌した後、分取薄層クロマトグラフィー (PLC) (クロロホルム:メタノール=10:1) にて精製し、淡黄色油状の tert-butyl 2-(2-ethanethioamido ethoxy)ethyl carbamate (化合物6) を 188mg 得た。

【0048】

$^1\text{H NMR}$  (400MHz,  $\text{CDCl}_3$ , TMS) 8.61(brs, 1H), 4.89(brs, 1H), 3.51-3.78(m, 14H), 3.18-3.25 (m, 2H), 2.53(s, 3H), 1.91-1.94(m, 2H), 1.71-1.76(m, 2H), 1.44(s, 9H).

HRMS (ESI): calcd for  $\text{MNa}^+$ ,  $\text{C}_{17}\text{H}_{34}\text{N}_2\text{O}_5\text{SNa}$  : 401.2086 ; found 401.2084.

40

【0049】

(2) 化合物6 (206mg, 0.55mmol) を 50% トロフルオロ酢酸 / 塩化メチレン に溶解し、15分間室温で撹拌した。溶媒を減圧留去し真空乾燥することで、淡黄色油状の N-(2-(2-アミノエトキシ)エチル)エタンチオアミド (化合物7) の二トリフルオロ酢酸塩を 276mg 得た。

【0050】

$^1\text{H NMR}$  (400MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ) 3.59-3.67 (m, 12H), 3.54 (t,  $J=6.8\text{Hz}$ , 2H), 3.08 (t,  $J=6.8\text{Hz}$ , 2H), 2.45(s, 3H), 1.87-1.94(m, 4H).

HRMS (ESI): calcd for  $\text{MH}^+$ ,  $\text{C}_{12}\text{H}_{27}\text{N}_2\text{O}_3\text{S}$  : 279.1742; found 279.1739.

【産業上の利用可能性】

【0051】

50



本発明のチオアミドとスルホニルアジドを基質とする緩和なクリック反応で、スルホニルアミジンが高収率で生成し、容易にアシルスルホンアミドへと変換可能である。また、クリック生成した結合の一部は、アシルスルホンアミドへの変換時に切断され、さらにアシルスルホンアミドもN-アルキル化後に切断可能である。また、生体直交性を有し、水溶液中室温で容易に反応が進行するため、生体系への応用できる。