論文特集「生物活性物質」

(日本化学会誌, 1981, (5), p. 860~867)

© 1981 The Chemical Society of Japan

2-アミノ-3-(2-オキソ-4-フェニル-1-アゼチジニル) プロピオンアミドの合成

(1980年10月16日受理)

吉岡 武男***・滝田 智久*・梅沢 浜夫
中村 光**・飯高 洋一**

ブレオマイシンの構造決定の過程でモデル化合物として、2-アミノ-3-(2-オキソ-4-フェニル-1-アゼチジニル)プロピオンアミドを合成した。

出発原料として 4-フェニル-2-アゼチジノンをを用い、*N*-ヒドロキシメチル化後 *N*-クロロメチル体に変換した。このクロロメチル体と (*ε*-ブトキシカルボニルアミノ)マロン酸ジメチルを縮合させ、2-(*ε*-ブトキシカルボニルアミノ)-2-(2-オキソ-4-フェニル-1-アゼチジニルメチル)マロン酸ジメチルを得た。このジエステル体をモノエステル体に導いたのちアミド化し、ついで脱保護することにより表題化合物を得た。

ここに得られた表題化合物のジアステレオマーの一つは塩酸塩として結晶化された。その IR スペクトルは 1710 cm^{-1} に β -ラクタムおよび第一級アミドに基づく吸収が1本に重なって観測され、IR 吸収の異常が認められた。この化合物はX線結晶解析によりその構造が確認され、2個存在する不斉炭素の相対配位 [(*S*, *S*) または (*R*, *R*)] が決定された。

1 緒 言

1972年著者らはブレオマイシンの全構造として図1に示す β -ラクタムを有する構造式を提出した¹⁾。しかしながらこの β -ラクタム構造は直接化学的に証明されたものではなく、¹H および

Fig. 1 Structure of bleomycin proposed in 1972¹⁾

The structure was revised to the ring-open amide structure at the β -lactam in 1978²⁾

微生物化学研究所, 141 東京都品川区上大崎

** 東京大学薬学部, 113 東京都文京区本郷

*** 現在 三楽オーシャン中央研究所, 251 藤沢市城南

- 1) T. Takita, Y. Muraoka, T. Yoshioka, A. Fujii, K. Maeda, H. Umezawa, *J. Antibiot.*, 25, 755(1972).

¹³C-NMR, 末端分析, *pK_a* 値などのデータに基づいて推定されたものであった。したがってその構造式提出後もその β -ラクタム構造を直接化学的に証明するための研究を継続した。その問題点の一つはブレオマイシンが通常の単環性 β -ラクタム化合物が示す $1730\sim 1760\text{ cm}^{-1}$ のカルボニルに基づく吸収³⁾を示さないことである。構造式提出のさいには単環性 β -ラクタムは分子内水素結合などによりカルボニル吸収は 1715 cm^{-1} 付近まで下がり得るので⁴⁾, IR 吸収の観点からは提出式は矛盾しないと考えたが、この点をモデル化合物を合成して実証すること、およびそのモデル化合物の反応性を知る目的でブレオマイシンのピリミジン環をベンゼン環に置換した図2に示される化合物[1]を合成す

Fig. 2 2-Amino-3-(2-oxo-4-phenyl-1-azetidyl)-propionamide [1]

- 2) T. Takita, Y. Muraoka, T. Nakatani, A. Fujii, Y. Umezawa, H. Naganawa, H. Umezawa, *J. Antibiot.*, 31, 801(1978).
3) L. J. Bellamy, *The Infrared Spectra of Complex Molecules*, John Wiley, New York (1958) p.214.
4) T. Kikuchi, S. Uyeo, *Chem. Pharm. Bull.*, 15, 549 (1967).

Fig. 3 Attempt to synthesize [1] by coupling of a Schiff base and ketene

ることを意図した。

本報告では [1] の合成法ならびにそれら関連化合物の IR 吸収スペクトル, さらに [1] の X 線結晶解析について述べる。

2 結果と考察

2.1 2-アミノ-3-(2-オキソ-4-フェニル-1-アゼチジニル)プロピオンアミド [1] の合成

光学活性のアスパラギンまたはアスパラギン酸を原料とし, 立体化学を保持して β -アミノアラニン誘導体へ導き, その β 位のアミノ基にベンズアルデヒドを縮合させ, 生成した Schiff 塩基 [2] にケテンを付加することにより [1] を合成する試みは失敗に終わった (図 3)。この合成法は [1] に存在する 2 個の不斉炭素

の一つが既知であるので, ジアステレオマーを分離後酸水水解して得られるイソフェニルアラニンの絶対配置を決定すれば⁵⁾, それぞれのジアステレオマーの絶対配置を決定することができる利点があり最初に試みられたものである。

つぎに文献既知の 4-フェニル-2-アゼチジノンを出発原料とし, その窒素原子にアラニンアミド基を結合させて目的物を得る方法を検討した。図 4 にその合成経路を示す。

2.1.1 4-フェニル-2-アゼチジノン [4] の合成: [4] の合成には二つの方法が知られている。第一の方法は 3-アミノ-3-フェニルプロピオン酸エステルに Grignard 試薬を反応させる合成法⁶⁾, 第二の方法はスチレンに *N*-カルボニルスルファモイルクロリドを反応させる合成法⁷⁾ である。著者らは第二の方法により

Fig. 4 Synthetic scheme of [1]

5) Y. Seto, T. Yamada, K. Niwa, S. Miwa, F. Tanaka, S. Kuwata, H. Watanabe, *Chem. Lett.*, 1973, 151.

6) E. Testa, L. Fontanela, V. Aresi, *Ann. Chem.*, 656, 114(1962).

Fig. 5 ^1H -NMR chemical shifts of 4-phenyl-2-azetidinone [4] in CDCl_3

合成した。すなわち、ベンズアルデヒドとマロン酸および酢酸アンモニウムから合成したイソフェニルアラニンをエステル化し、その遊離塩基を4当量のヨウ化メチルマグネシウムと室温で18時間反応させ[4]を得た。この融点は文献値と一致し、MSスペクトルは分子イオン147、フラグメントイオン118 ($\text{M}-\text{CHO}$), 104 ($\text{M}-\text{CONH}$)を示した。IRスペクトルは 1735 cm^{-1} に β -ラクタムの吸収を示した。 ^1H -NMRの化学シフトを図5に示す。このNMRスペクトルにおいて H_a は4位のフェニル基の影響で H_b より約0.5 ppm 高磁場にシフトしている。結合定数 J 値はトランス (2.8 Hz) よりシス (5.5 Hz) の方が大きい。さらに H_b と H_d との遠隔結合定数 J_{bd} は J_{ad} よりも大きいことから H_b と H_d は β -ラクタムの面に対して同じ側にあり、フェニル基に対してトランスの関係にあることを示している。

2.1.2 1-ヒドロキシメチル-4-フェニル-2-アゼチジノン [5] の合成: ペプチドのヒドロキシメチル化⁷⁾ に示唆を得、[4]とパラホルムアルデヒドを当量、封管中 130°C 、4時間反応させると[5]と[5']が約1:1の割合で得られた。そこでパラホルムアルデヒドを1.3当量使用し、前述と同様に反応後エーテルで再結晶すると[5]の無色針状結晶が収率88%で得られた。ここで[5']が生成したことは[5]のヒドロキシメチル基が反応性に富み、[5]にカルボアニオンを反応させれば炭素-炭素結合は容易に形成できることを示唆していた。

2.1.3 1-クロロメチル-4-フェニル-2-アゼチジノン [6] の合成: [5]にグリシンアミド部分を結合させれば目的物[1]は合成できる。そこでカルボアニオンとしてアミノマロン酸誘導体を結合させることにした。縮合反応のさいの分解を防ぐため中性反応が望ましいと考え、ヒドロキシメチル基の塩素化を行なった。すなわち、[5]を無水エーテル中室温で塩化チオニルと反応させ、減圧乾固後MSスペクトルを測定すると分子イオン197, 195およびフラグメントイオン160 ($\text{M}-\text{Cl}$), 118 ($\text{M}-\text{Cl}-\text{CH}_2\text{CO}$)が観察された。しかしシリカゲルTLCで[6]の確認を試みたが展開中に分解し、数多くのスポットを与えていたので[6]は精製することなくつぎの反応に使用した。

2.1.4 2-(*t*-ブトキシカルボニルアミノ)-2-(2-オキソ-4-フェニル-1-アゼチジニルメチル)マロン酸ジメチル [8] の合成: (ヒドロキシイミノ)マロン酸ジメチルを接触還元後 *t*-ブトキシカルボニル化して *t*-ブトキシカルボニルアミノマロン酸ジメチル[7]

を合成した。[7]を[6]と室温で18時間反応させたのちシリカゲルカラムクロマトグラフィーで精製し、ベンゼン-ヘキサンから再結晶すると[8]が無色針状結晶として収率82%で得られた。

2.1.5 2-(*t*-ブトキシカルボニルアミノ)-3-(2-オキソ-4-フェニル-1-アゼチジニル)プロピオン酸メチル [9] の合成: [8]の加水分解において単環性 β -ラクタムがどの程度の塩基性条件に耐え得るのか、またエステルとの反応性の差がどれほどあるのかが問題であった。そこで低温で1当量の希アルカリを用いて加水分解を行なったところ、 β -ラクタム環を保持したモノカルボキシ体が好収率で得られた。このモノカルボキシ体は β -ケトエステルであるので容易に脱炭酸することができた。得られたモノエステル[9]はジアステレオマーの混合物であったので、その分離をシリカゲルカラムクロマトグラフィーで行なった。すなわち、ジアステレオマー混合物をシリカゲルに吸着させたのち、ベンゼン-酢酸エチル (5:1) で溶出すると同溶媒 (3:1) 展開のシリカゲルTLCにおいて R_f 値 0.38 [9a] と R_f 値 0.22 [9b] にヨード発色する物質に分離することができた。単離された[9a]と[9b]の比率は2:5であり、収率は[8]から74%であった。

2.1.6 2-(*t*-ブトキシカルボニルアミノ)-3-(2-オキソ-4-フェニル-1-アゼチジニル)プロピオンアミド [10] の合成: 2.1.5において β -ラクタム環を開環させることなくエステルのみを選択的に加水分解できたことから、過剰のアノニアを使用しても低温で反応を行なえば β -ラクタム環を開環させずにアミド化できることが推察された。そこで[9a], [9b]をそれぞれ無水メタノールに溶解し、氷冷下アノニアを飽和させ、 5°C で18時間反応させると目的のアミド[10a], [10b]がそれぞれ定量的に得られた。

2.1.7 [1] の合成: [10a]および[10b]をそれぞれ 0°C で1時間、トリフルオロ酢酸で処理し、弱酸性レジンに吸着させ、希塩酸で溶出後低温で減圧乾固すると[1a]および[1b]が塩酸塩として[10]からそれぞれ収率88, 89%で得られた。[1a]塩酸塩は水-エタノールから再結晶すると無色針状結晶を与えたが、[1b]塩酸塩は結晶化に成功せず白色粉末として得られた。

2.2 [1] およびその合成中間体の IR スペクトル

本研究の目的の一つは合成された単環性 β -ラクタムのカルボニル基のIR吸収を検討することである。表1に[1]およびその合成中間体のKBr錠で測定したIRスペクトルのカルボニル吸収領域における最高波数の吸収を示す。合成中間体[8], [9]および[10]は β -ラクタムの他に高波数のカルボニル吸収を示すエステルおよびウレタンを含むため β -ラクタムのカルボニル吸収を帰属することはできないが、[8]および[1a]塩酸塩以外は通常の単環性 β -ラクタム化合物が示す $1730\sim 1760\text{ cm}^{-1}$ の範囲内に⁸⁾に吸収を有していた。[8]は 1775 cm^{-1} 以外に 1750 cm^{-1} にも吸収を有し、 α 位に *t*-ブトキシカルボニル基を有するマロン酸ジメチルエステルの吸収と β -ラクタムの吸収がそのいずれかに帰属される。[1a]塩酸塩は脱保護した化合物中ただ一つ結晶として単離された物質で、 β -ラクタムと第一級アミドの吸収が重なって 1710 cm^{-1} に強い1本の吸収を示した(図6)。

この吸収は現在までに知られている単環性 β -ラクタムの示すもっとも低波数のカルボニル吸収である。その原因は結晶格子内における強い分子内および分子間の水素結合によると思われる

7) R. Graf, *Ann. Chem.*, 661, 111(1963).

8) H. E. Zaugg, W. B. Martin, *Org. React.*, 14, 52(1965).

Table 1 Carbonyl IR absorption of 4-phenyl-2-azetidinone derivatives (KBr-tablet)

Compound	IR absorption (cm ⁻¹)
[4]*	1735
[5]*	1735
[8]*	1775
[9a]*	1745
[9b]*	1755
[10a]*	1750
[10b]*	1760
[1a]	1745
[1b]	1740
[1a]·CF ₃ COOH	1740
[1b]·CF ₃ COOH	1740
[1a]·HCl*	1710
[1b]·HCl	1735

* Crystal.

Table 2 Crystal data

Chemical formula	C ₁₂ H ₁₆ N ₃ O ₂ Cl
Molecular weight	269.7
Space group	P2 ₁
<i>a</i> (Å)	13.816
<i>b</i>	5.810
<i>c</i>	8.332
β (°)	95.65
<i>V</i> (Å ³)	665.6
<i>Z</i>	2
<i>D_c</i> (Mgm ⁻³)	1.346

Fig. 6 IR spectrum of [1a] hydrochloride

が、単環性 β -ラクタムのカルボニル吸収が特定の測定条件下とはいえ、1710 cm⁻¹ まで低波数にシフトしたことは特筆に値する。ここに示された IR 測定結果からは、図 1 に示されたプレオマイシンの β -ラクタム構造は否定することはできなかった。

2.3 [1a] 塩酸塩の X 線結晶解析

前節で述べたように、[1a] 塩酸塩の結晶の KBr 錠で測定した IR スペクトルにおいて、 β -ラクタムのカルボニル基は 1710 cm⁻¹ に異常に低波数の吸収を示したが、その異常の原因が目的とした構造と異なる構造によるのであるのか、また、正しい構造としても、その立体構造 [2 種のジアステレオマー (それぞれ D および L-体) が存在] はどうなのか、さらに、 β -ラクタムのカルボニル吸収の異常をひき起こす原因は何か、を検討するために、[1a] 塩酸塩の X 線結晶解析による構造決定を行なった。

水-エタノール-2-プロパノール系混合溶媒から再結晶した塩酸塩の針状結晶について得られた結晶データは表 2 のとおりであ

Table 3 Atomic coordinates ($\times 10^4$, for H $\times 10^3$) with e. s. d.'s

		X	Y	Z
Cl	1	12141 (1)	2500 (0)	3540 (1)
O	2	9285 (2)	708 (4)	3315 (3)
N	3	8379 (2)	2541 (7)	5039 (3)
C	4	8971 (2)	2470 (7)	3871 (3)
C	5	9240 (2)	4826 (6)	3212 (4)
N	6	10093 (2)	4465 (6)	2281 (3)
C	7	8396 (2)	5944 (6)	2167 (4)
N	8	7932 (2)	4437 (5)	932 (3)
C	9	6887 (2)	4229 (6)	301 (4)
C	10	7261 (2)	2747 (9)	-1089 (3)
C	11	8270 (2)	3320 (6)	-318 (4)
O	12	9106 (2)	2989 (5)	-621 (3)
C	13	6240 (2)	3114 (6)	1413 (3)
C	14	6515 (2)	1088 (7)	2230 (4)
C	15	5900 (3)	44 (7)	3225 (5)
C	16	4988 (2)	988 (8)	3382 (4)
C	17	4714 (2)	2996 (8)	2592 (4)
C	18	5337 (2)	4065 (7)	1601 (4)
H	N3	817 (3)	109 (9)	539 (5)
H'	N3	814 (3)	396 (10)	545 (5)
H	C5	946 (2)	606 (7)	412 (4)
H	N6	1072 (2)	367 (7)	290 (4)
H'	N6	1036 (3)	581 (8)	203 (4)
H''	N6	997 (3)	349 (8)	128 (4)
H	C7	782 (2)	633 (6)	289 (3)
H'	C7	862 (2)	754 (9)	167 (4)
H	C9	663 (2)	597 (7)	-5 (4)
H	C10	706 (2)	94 (7)	-104 (4)
H'	C10	709 (3)	344 (8)	-225 (4)
H	C14	719 (2)	42 (7)	207 (4)
H	C15	612 (4)	-144 (13)	378 (6)
H	C16	448 (3)	26 (8)	411 (4)
H	C17	402 (3)	360 (8)	273 (4)
H	C18	516 (3)	560 (8)	106 (4)

る。独立な 1398 個の反射を使って重原子法で解析した結果、得られた構造を図 7 に示す。最終的には、差 Fourier 合成を行なって 16 個すべての水素原子の位置を決め、それらに等方性温度因子を与えて最小二乗法をくり返し、最終 *R* 因子 3.41% を得た。各原子の最終パラメーターは表 3 に示したとおりである。これから計算された結合距離、結合角を図 7 に記入したが、水素原子を含まない結合距離、角度の標準偏差はそれぞれ 0.004 Å, 0.3° と見積もられる。

いろいろな置換基をもったアゼチジノン誘導体の X 線解析の結果^{9)~13)} と比較して (表 4), 四員環部分の構造を見ると同類の置換基の場合により一致がみられる。また、それら置換基の四員環に対する配座を Newman 投影によって図示すると図 8 のとおり

- 9) E. F. Paulus, D. Kobelt, H. Jensen, *Angew. Chem., Int. Ed. Engl.*, 8, 990 (1969).
- 10) R. Parthasarathy, *Acta Crystallogr., Sect. B*, 26, 1282 (1970).
- 11) G. Kartha, G. Ambady, *J. Chem. Soc.*, 1973, 2042.
- 12) A. Colens, J. P. Declercq, G. Germain, J. P. Putzeys, M. Van Meerssche, *Cryst. Struct. Commun.*, 3, 119 (1974).
- 13) R. Chambers, R. J. Doedens, *Acta Crystallogr., Sect. B*, 36, 1507 (1980).

Table 4 Distances and angles within the four-membered ring of six substituted monocyclic 2-azetidiones

Substituents on the four-membered ring

N8	<i>m</i> -BrC ₆ H ₄ CO	<i>p</i> -ClC ₆ H ₄	<i>p</i> -BrC ₆ H ₄	C ₆ H ₅	C ₆ H ₁₁	CH ₂ CH(NH ₃ ⁺)CONH ₂
C10	H, H	H, C ₆ H ₅	H, H	C ₆ H ₅ , Cl	CN, Cl	H, H
C9	H, CH ₃	H, <i>i</i> -C ₃ H ₇	H, H	H, C ₆ H ₅	H, SC ₆ H ₅	H, C ₆ H ₅
Distances (Å)						
C10-C11	1.52 (1.5)	1.518 (5)	1.518 (7)	1.530 (12)	1.561 (6)	1.513 (4)
C9-C10	1.58 (1.5)	1.575 (4)	1.539 (7)	1.602 (10)	1.566 (5)	1.571 (5)
N8-C9	1.48 (1.5)	1.481 (4)	1.459 (7)	1.498 (10)	1.452 (5)	1.492 (3)
N8-C11	1.40 (1.5)	1.367 (4)	1.363 (7)	1.342 (10)	1.348 (5)	1.349 (4)
Angles (°)						
C10-C11-N8	—	93.0 (3)	92.0 (3)	92.9 (6)	90.4 (3)	93.5 (3)
C9-C10-C11	—	85.5 (3)	85.4 (3)	85.6 (5)	85.0 (3)	85.5 (3)
N8-C9-C10	—	86.5 (3)	87.9 (3)	84.5 (5)	86.5 (3)	85.8 (2)
C11-N8-C9	—	95.0 (3)	94.5 (3)	96.9 (6)	97.9 (3)	94.9 (2)
Reference						
	Paulus et al. ⁹⁾ (1969)	Parthasarathy ¹⁰⁾ (1970)	Kartha et al. ¹¹⁾ (1973)	Colens et al. ¹²⁾ (1974)	Chambers et al. ¹³⁾ (1980)	This work

Fig. 7 Perspective view of the molecular structure with atom numbering scheme, bond distances (Å) and angles (°)

である。N8-C7 の内部回転角は後述の分子内水素結合によっても図8の位置に固定されていると考えられる。C9-C13 については本化合物と同様に、C9 にフェニル基が置換した 3-クロロ-1,3,4-トリフェニル-2-アゼチジン¹²⁾ の内部回転角を比較のため図8(c), (d)に示した。両者は本質的には似た構造をとっているが、対応した角に約 20° の違いが見られる。これは多分 N8 の置換基の相違と隣接分子との相互作用の違いに基づくものであろう。

図7を見ると、β-ラクタムのカルボニル酸素Oは、同一分子内の N6 と 2.792(3)Å の分子内水素結合、隣接分子の N6 と 2.763(4)Å の分子間水素結合をつくっている。水素結合に関連した距離と角度は表5に示すとおりであり、これを見ると、上記二つの水素結合はきわめて強いものであることがわかる。本分子のカルボニルの異常な低波数の吸収はこれによって説明することができよう。

Fig. 8 Newman projections along a) N8-C7 and b) C9-C13 of the present compound

c) and d) are those the C9-C13 and C9'-C13' of 3-chloro-1,3,4-triphenyl-2-azetidione respectively (Colens et al., 1974)¹²⁾.

図7に示された [Ia] の構造は、2個存在する不斉炭素の相対配位が (S, S) または (R, R) であることを示し、プレオマイシンと同じ相対配位を有することが明らかにされた。

3 実験

IR スペクトルの測定は EPI-S2 型を使用し、臭化カリウム錠によって測定した。NMR スペクトルの測定は Varian 社の A 60, HA 100 D および XL 100 型を用い、重水中においては TMS を外部基準に用い、その他の溶媒中では TMS を内部基準とした。MS スペクトルの測定は日立 RMU 6M および 7M を使用した。融点はヤマト科学微量融点測定装置で測定し、未補正である。X線結晶解析には、0.075×0.075×0.35 mm の結晶を用い、Philips 4 軸回折計により CuK_α 線で強度データを測定した。3°<θ<78° の範囲で測定された独立な反射の数は 1398 個であった。

Table 5 Hydrogen-bond distances (Å) and angles (°)

D-H...A	Symmetry for A	D...A	H...A	∠D-H...A
N 6-H'' (N 6).....O12	(i)	2.792 (3)	1.91 (3)	144 (3)
N 6-H' (N 6).....O12	(ii)	2.763 (4)	1.92 (4)	155 (4)
N 6-H (N 6).....Cl	(i)	3.134 (3)	2.10 (3)	163 (3)
N 3-H (N 3).....Cl	(iii)	3.265 (4)	2.32 (5)	172 (4)
N 3-H' (N 3).....Cl	(iv)	3.223 (4)	2.27 (6)	170 (4)

Symmetry code

(i) x, y, z (ii) $2-x, 1/2+y, -z$ (iii) $2-x, -1/2+y, 1-z$ (iv) $2-x, 1/2+y, 1-z$

3.1 (S)-3-ベンジリデンアミノ-2-p-(トリルスルホニルアミノ)プロピオンアミド [2] の合成

(S)-3-アミノ-2-(p-トリルスルホニルアミノ)プロピオンアミド 257 mg (1 mmol) をメタノール 5 ml に溶解後、ベンズアルデヒド 126 mg (1.2 mmol) を加えて 1.5 時間還流した。放冷後ベンゼンを加え析出した沈殿物を濾取し、メタノール-酢酸エチルから再結晶すると [2] の無色板状結晶が 260 mg (収率 73%) 得られた。mp 169~171°C。

分析値 C 59.02%, H 5.48%, N 12.26%

C₁₇H₂₁N₃S としての

計算値 C 59.11%, H 5.54%, N 12.16%

[α]_D²⁵ 44° (c=1, メタノール)

NMR (CD₃OD) δ: 2.32 (3H, s, CH₃), 3.68 (2H, m, C-3H₂), 4.08 (1H, m, C-2H), 7.14~7.80 (9H, m, Ar), 8.14 (1H, br, CH)

IR (cm⁻¹): ν_{C=O} 1670 (アミド)

3.2 1-アセチル-2-フェニル-3-(p-トリルスルホニル)イミダゾリン-4-カルボキサミド [3] の合成

[2] 50 mg (0.1 mmol) をトルエン 5 ml に加熱溶解後ジケテンを熱分解して発生させたケテンを導入しながら 1 時間還流した。減圧乾固後残留物を少量の酢酸エチルに溶解しシリカゲル TLC プレートに吸着させ、酢酸エチルで展開した。R_f 値 0.36 の UV 吸収を示す区分を削り取り、酢酸エチルで抽出後減圧乾固すると [3] が白色粉末として 6 mg (収率 12%) 得られた。mp 145~147°C。

NMR (CDCl₃) δ: 1.82 (3H, s, COCH₃), 2.52 (3H, s, CH₃), 3.25 (1H, m, C-5H), 3.90~4.28 (1H, m, C-5H), 4.54 (1H, m, C-4H), 5.10~5.30 (1H, br, NH), 6.10~6.50 (1H, br, NH), 6.43 (1/3H, C-2H), 6.94 (2/3H, s, C-2H), 7.30~7.50 (7H, m, Ar), 7.82 (2H, d, J=8.5 Hz, Ar)

IR (cm⁻¹): ν_{C=O} 1680, 1645 (アミド)

MS (m/z): 387 (M), 345, 343, 301, 260, 232

3.3 1-ヒドロキシメチル-4-フェニル-2-アゼチジノン [5] の合成

4-フェニル-2-アゼチジノン [4]⁶⁾ 146 mg (1 mmol) とパラホルムアルデヒド 40 mg (1.3 mmol) を耐圧管中、130°C で 4 時間反応させたのち、エチルエーテルから再結晶すると [5] の無色針状結晶が 145 mg (収率 88%) 得られた。mp 83~84°C。

分析値 C 68.02%, H 6.42%, N 8.14%

C₁₀H₁₁NO₂ としての

計算値 C 67.78%, H 6.26%, N 7.91%

NMR (CDCl₃) δ: 2.86 (1H, dd, J=15, 2.5 Hz, C-3H), 3.39 (1H, dd, J=15, 5.5 Hz, C-3H), 4.18 (2H, m, N-CH₂), 4.84 (1H, dd, J=2.5, 5.5 Hz, C-4H), 5.03 (1H, dd, J=10, 15 Hz), 7.35 (5H, s, Ar)

IR (cm⁻¹): ν_{C=O} 1735 (β-ラクタム)

MS (m/z): 177 (M), 160, 148, 147, 146

3.4 1-クロロメチル-4-フェニル-2-アゼチジノン [6] の合成
[5] 177 mg (1 mmol) を無水ジエチルエーテル 8 ml に溶解し、蒸留した塩化チオニル 0.11 ml (1.5 mmol) を氷冷下に加え、室温で 18 時間反応させたのち減圧乾固した。このクロロ体は不安定なため MS で確認後ただちに乾燥し、つぎの反応に使用した。

MS (m/z): 197, 195 (M), 160

3.5 (t-ブトキシカルボニルアミノ)マロン酸ジメチル [7] の合成

(ヒドロキシイミノ)マロン酸ジエチル¹⁶⁾の合成法を模して調製した(ヒドロキシイミノ)マロン酸ジメチル 16.1 g (0.1 mmol) を 95% メタノール 30 ml に溶解し、10% パラジウム-炭素触媒 2 g を加え、室温、4 atm で 3 時間接触還元した。濾過後母液に O-t-ブチル-S-(4,6-ジメチル-2-ピリミジニル)=チオカルボナート 27 g (0.11 mol) を含むジオキサン溶液 120 ml, およびトリエチルアミン 2 ml を加え、室温で 24 時間反応させた。反応液にベンゼンを加え生成した沈殿物を濾過して除き、母液は減圧乾固した。残留物をベンゼンに溶解し、シリカゲル (500 g) のカラムに吸着させ、ベンゼン-酢酸エチル (20:1) で溶出し、同溶媒 (5:1) 展開のシリカゲル TLC において R_f 値 0.55 にヨード発色する溶出区分を集めて減圧乾固すると [7] が油状物質として 23.7 g (収率 95%) 得られた。

NMR (CDCl₃) δ: 1.45 (9H, s, t-ブチル), 3.82 (6H, s, OCH₃), 5.00 (1H, d, J=8 Hz, C-2H), 5.52 (1H, br, NH)

MS (m/z): 248 (M+1), 192, 148

3.6 2-(t-ブトキシカルボニルアミノ)-2-(2-オキソ-4-フェニル-1-アゼチジニル)マロン酸ジメチル [8] の合成

[7] 3.21 g (0.013 mol) を無水テトラヒドロフラン 75 ml に溶解し、55% 水素化ナトリウム 480 mg (0.011 mol) を加え、室温で 7 分間反応させたのち 30 分間還流した。氷冷後 [6] 1.95 g (0.01 mol) を無水ジエチルエーテル 25 ml に溶解して加え、室温で 18 時間反応させたのちベンゼンを加え減圧濃縮した。その濃縮液をシリカゲル (300 g) のカラムに吸着させ、ベンゼン-酢酸エチル (3:1) で溶出し、同溶媒 (5:1) 展開のシリカゲル TLC

14) J. Zambito, E. E. Howe, *Org. Synth.*, 40, 21(1960).

において R_f 値 0.26 にヨード発色を示す溶出区分を集めて減圧乾固した。ベンゼン-ヘキサンで再結晶すると [8] の無色針状結晶が 3.35 g (収率 82%) 得られた。mp 140~141°C。

分析値 C 59.44%, H 6.32%, N 7.16%

$C_{20}H_{26}N_2O_7$ としての

計算値 C 59.10%, H 6.45%, N 6.89%

NMR ($CDCl_3$) δ : 1.33 (9 H, s, *t*-ブチル), 2.75 (1 H, dd, $J=15$, 2.5 Hz, C_{β}^{15} -3 H), 3.38 (1 H, dd, $J=15$, 5.5 Hz, C_{β} -3 H), 3.61 (1 H, d, $J=15$ Hz, C-3 H), 3.72 (3 H, s, OCH_3), 3.81 (3 H, s, OCH_3), 4.38 (1 H, d, $J=15$ Hz, C-3 H), 4.68 (1 H, dd, $J=2.5$, 5.5 Hz, C_{β} -4 H), 5.92 (1 H, br, NH), 7.33 (5 H, s, Ar)

IR (cm^{-1}): $\nu_{C=O}$ 1775, 1750, 1715 (β -ラクタム, エステル, ウレタン)

MS (m/z): 407 ($M+1$), 406 (M), 351, 350, 322

3.7 2-(*t*-ブトキシカルボニルアミノ)-3-(2-オキソ-4-フェニル-1-アゼチジニル)プロピオン酸メチル [9] の合成

[8] 1.21 g (3 mmol) をアセトン 150 ml に溶解し、氷冷下 0.1 N 水酸化ナトリウム 30 ml を加え、同温度で 3 時間反応させた。反応液を中和後アセトンを留去した。残留物を酢酸エチルで抽出後無水硫酸ナトリウムで乾燥した。溶媒を留去後クロロホルム 50 ml を加え 7 時間還流した。減圧乾固後ベンゼンに溶解し、シリカゲル (200 g) のカラムに吸着させ、ベンゼン-酢酸エチル (5:1) で溶出すると同溶媒 (3:1) 展開のシリカゲル TLC で R_f 値 0.38 [9a] および R_f 値 0.22 [9b] にヨード発色する物質が溶出された。それぞれベンゼン-ヘキサンから再結晶し、前者 200 mg, 後者 500 mg (収率 74%) を得た。

[9a]: mp 104.5~105°C

分析値 C 62.40%, H 6.95%, N 8.21%

$C_{18}H_{24}N_2O_5$ としての

計算値 C 62.05%, H 6.94%, N 8.04%

NMR ($CDCl_3$) δ : 1.45 (9 H, s, *t*-ブチル), 2.82 (1 H, dd, $J=15$, 2.5 Hz, C_{β} -3 H), 3.15 (1 H, dd, $J=14.5$, 3.5 Hz, C-3 H), 3.35 (1 H, dd, $J=15$, 5.5 Hz, C_{β} -3 H), 3.71 (3 H, s, OCH_3), 3.76 (1 H, dd, 14.5, 7.5 Hz, C-3 H), 4.42 (1 H, m, C-2 H), 4.72 (1 H, dd, $J=5.5$, 2.5 Hz, C_{β} -4 H), 5.48 (1 H, d, $J=7.5$ Hz, NH), 7.34 (5 H, s, Ar)

IR (cm^{-1}): $\nu_{C=O}$ 1745 (β -ラクタム, エステル), 1700 (ウレタン)

MS (m/z): 349 ($M+1$), 293, 292, 291, 275, 264

[9b]: mp 124.5~125°C

分析値 C 61.81%, H 6.80%, N 8.48%

$C_{18}H_{24}N_2O_5$ としての

計算値 C 62.05%, H 6.94%, N 8.04%

NMR ($CDCl_3$) δ : 1.44 (9 H, s, *t*-ブチル), 2.85 (1 H, dd, $J=15$, 2.5 Hz, C_{β} -3 H), 3.25 (1 H, dd, $J=15$, 5 Hz, C-3 H), 3.39 (1 H, $J=15$, 5.5 Hz, C_{β} -3 H), 3.70 (3 H, s, OCH_3), 3.77 (1 H, d, $J=15$, 4.5 Hz, C-3 H), 4.32 (1 H, m, C-2 H), 4.53 (1 H, dd, $J=2.5$, 5 Hz, C_{β} -4 H), 5.41 (1 H, d, $J=8$ Hz, NH), 7.35 (5 H, s, Ar)

IR (cm^{-1}): $\nu_{C=O}$ 1755 (β -ラクタム,), 1730 (エステル), 1705 (ウレタン)

MS: [9a] と同一のスペクトルを示した。

3.8 2-(*t*-ブトキシカルボニルアミノ)-3-(2-オキソ-4-フェニル-1-アゼチジニル)プロピオンアミド [10] の合成

[9a] および [9b] 150 mg をそれぞれ無水メタノール 30 ml に溶解し、氷冷下でアンモニアを飽和させたのち 5°C で 18 時間放置した。それぞれの反応液を減圧乾固し、酢酸エチル展開のシリカゲル TLC で検討すると前者からは R_f 値 0.34 [10a], 後者からは R_f 値 0.28 [10b] にヨード発色を示す一つのスポットを与えた。[10a] はベンゼン, [10b] は酢酸エチルにより結晶化した。

[10a]: mp 153.5~154.5°C

分析値 C 61.60%, H 6.84%, N 12.15%

$C_{17}H_{23}N_3O_4$ としての

計算値 C 61.24%, H 6.95%, N 12.61%

NMR ($CDCl_3$) δ : 1.41 (9 H, s, *t*-ブチル), 2.80 (1 H, dd, $J=15$, 2.5 Hz, C_{β} -3 H), 3.15 (1 H, dd, $J=14.5$, 4.5 Hz, C-3 H), 3.32 (1 H, dd, $J=15$, 5 Hz, C_{β} -3 H), 3.76 (1 H, dd, $J=14.5$, 8 Hz, C-3 H), 4.93 (1 H, m, C-2 H), 4.70 (1 H, dd, $J=2.5$, 5 Hz, C_{β} -4 H), 5.93 (1 H, d, $J=8$ Hz, NH), 6.12 (1 H, br, NH), 6.77 (1 H, br, NH), 7.37 (5 H, s, Ar)

IR (cm^{-1}): $\nu_{C=O}$ 1750 (β -ラクタム), 1730~1690 (エステル, ウレタン, アミド)

MS (m/z): 334 ($M+1$), 333 (M), 289, 278, 277

[10b]: mp 153.5~154.5°C

分析値 C 61.42%, H 6.89%, N 13.12%

$C_{17}H_{23}N_3O_4$ としての

計算値 C 61.24%, H 6.95%, N 12.61%

NMR ($CDCl_3$) δ : 1.47 (9 H, s, *t*-ブチル), 2.84 (1 H, dd, $J=15$, 2.5 Hz, C_{β} -3 H), 3.25 (1 H, dd, $J=14.5$, 6 Hz, C-3 H), 3.38 (1 H, dd, $J=15$, 5 Hz, C_{β} -3 H), 3.63 (1 H, dd, $J=14.5$, 4 Hz, C-3 H), 4.34 (1 H, m, C-2 H), 4.66 (1 H, dd, $J=5$, 2.5 Hz, C_{β} -4 H), 6.02 (1 H, br, NH), 6.20 (1 H, d, $J=8$ Hz, NH), 6.80 (1 H, br, NH), 7.34 (5 H, s, Ar)

IR (cm^{-1}): $\nu_{C=O}$ 1760 (β -ラクタム), 1730 (ウレタン), 1680 (アミド)

MS: [10a] と同一のスペクトルを与えた。

3.9 2-アミノ-3-(2-オキソ-4-フェニル-1-アゼチジニル)プロピオンアミド [1] の合成

[10a] および [10b] 90 mg をそれぞれ氷冷し、トリフルオロ酢酸 2 ml を加え、同温度で 2 時間反応させたのち低温でトリフルオロ酢酸を減圧留去した。残留物を 5 ml に溶解し、pH 6 に調節後 CG 50 (H型) 50 ml のカラムに吸着させた。水洗後 0.02 N 塩酸で溶出させ、ニンヒドリン呈色反応陽性区分を 30°C 以下で減圧乾固した。[10a] からは [1a] 64 mg (収率 88%), [10b] からは [1b] 66 mg (収率 89%) がそれぞれ塩酸塩として得られた。[1a] 塩酸塩は水-エタノールから再結晶すると無色針状結晶を与えた。

[1a] 塩酸塩: mp 189~190°C

分析値 C 53.29%, H 5.88%, N 15.08%

$C_{12}H_{16}N_3O_2Cl$ としての

計算値 C 53.43%, H 5.97%, N 15.57%

NMR (D_2O) δ : 2.92 (1 H, dd, $J=15.5$, 2.5 Hz, C_{β} -3 H), 3.38

15) C_{β} : β -ラクタム環上の炭素を表わす。

(1H, dd, $J=15$, 4.5 Hz, C-3H), 3.46 (1H, dd, $J=15.5$, 5 Hz, C-3H), 3.78 (1H, dd, $J=15$, 6 Hz, C-3H), 4.18 (1H, dd, $J=6$, 4.5 Hz, C-2H), 4.80 (1H, dd, $J=2.5$, 5 Hz, C β -4H), 7.42 (5H, s, Ar)

IR(cm^{-1}): $\nu_{\text{C=O}}$ 1710 (β -ラクタム, アミド)

MS (CI 法, メタン)(m/z): 234 (M+1), 233 (M), 217, 216, 192, 189, 160

MS (FD 法)(m/z): 234 (M+1), 233 (M)

[1b] 塩酸塩: mp 124~125°C

分析値 C 53.04%, H 6.27%, N 15.37%

$\text{C}_{12}\text{H}_{16}\text{N}_2\text{O}_2\text{Cl}$ としての

計算値 C 53.43%, H 5.97%, N 15.57%

NMR (D_2O) δ : 2.90 (1H, dd, $J=15$, 2.5 Hz, C β -3H), 3.31 (1H, dd, $J=3$, 14.5 Hz, C-3H), 3.52 (1H, dd, $J=15.5$, 5 Hz, C β -3H), 3.80~4.30 (2H, m, C-2H, C-3H), 4.78 (1H, dd, $J=2.5$, 5 Hz, C β -4H), 7.45 (5H, s, Ar)

IR(cm^{-1}): $\nu_{\text{C=O}}$ 1735 (β -ラクタム), 1690 (アミド)

MS (CI 法): [1a] と同一のスペクトルを示した。

Special Articles on

Biologically Active Substances

Synthesis of 2-Amino-3-(2-oxo-4-phenyl-1-azetidiny)propionamide

Takeo YOSHIOKA***, Tomohisa TAKITA*, Hamao UMEZAWA,
Hikaru NAKAMURA** and Yoichi IITAKA**

*Institute of Microbial Chemistry; Kami-Osaki, Shinagawa-ku,
Tokyo 141 Japan*

** *University of Tokyo, Faculty of Pharmaceutical Sciences;
Hongo, Bunkyo-ku, Tokyo 113 Japan*

*** *Present address: Central Research Laboratories of Sanraku-
Ocean Co., Ltd.; Jyonan, Fujisawa-shi 251 Japan*

2-Amino-3-(2-oxo-4-phenyl-1-azetidiny)propionamide was synthesized as a model compound for the β -lactam moiety of bleomycin, of which the structure was proposed in 1972 but revised in 1978.

4-Phenyl-2-azetidinone was *N*-hydroxymethylated with paraformaldehyde. The hydroxymethyl group was converted to the chloromethyl group with thionyl chloride. Condensation of the chloromethyl derivative and dimethyl (*t*-butoxycarbonylamino)malonate gave dimethyl 2-(*t*-butoxycarbonylamino)-2-(2-oxo-4-phenyl-1-azetidiny)methyl malonate in 82% yield. One of the methoxycarbonyl groups was removed by alkaline hydrolysis followed by decarboxylation to afford a diastereomeric mixture of methyl 2-(*t*-butoxycarbonylamino)-3-(2-oxo-4-phenyl-1-azetidiny)propionate in 74% yield. The diastereomeric mixture was separated by a silica-gel chromatography. Each diastereoisomer was ammonolyzed, followed by deprotection with trifluoroacetic acid to give the target substance.

One of the diastereoisomers of the target substance was crystallized as its hydrochloride from aqueous ethanol. The IR spectrum showed only one carbonyl absorption at 1710 cm^{-1} , which is the least wave-number absorption in monocyclic β -lactams so far reported. The X-ray crystallographic study revealed that the relative configuration of the two asymmetric carbons is [*S*, *S*] or [*R*, *R*], the same as that of bleomycin, and the strong intra- and intermolecular hydrogen bondings cause such an abnormal IR absorption for the β -lactam.