

新規医薬品候補化合物 SEGRA の効率的合成法とプロセス開発

2016年3月

奈良先端科学技術大学院大学
物質創成科学研究科

工藤一弘

目次

略語表	・・・5
-----	------

第1章 諸言

1. 序論	・・・7
1-1. プロセス開発の意義	・・・7
1-2. 医薬品原薬製造における製法構築	・・・7
1-3. 医薬品の原薬開発とその流れ	・・・7
2. 製造プロセス開発	・・・8
2-1. 合成ルートと収率の向上	・・・8
2-2. 作業効率の改善	・・・9
2-3. 使用試薬の最適化	・・・9
2-4. 使用溶媒の選択	・・・10
2-5. 安全性の確保	・・・11
2-6. 環境への配慮	・・・12
3. 品質マネジメント	・・・13
3-1. 医薬品製造における Good Manufacturing Practice (GMP)	・・・13
3-2. 精製法の確立	・・・13
3-3. 不純物コントロール	・・・14
3-4. 結晶形コントロール	・・・14
4. スケールアップ	・・・15
4-1. 製造サイズの最適化	・・・15
4-2. 頑健性の確保	・・・15
5. 本研究の目的	・・・16
6. 参考文献等	・・・16

第2章 Hurtleley 反応を用いた 8-アミノ-3-ヒドロキシ-6H-ベンゾ[c]クロメン-6-オン誘導体の効率的新規合成ルート開発

1. 序論	・・・18
1-1. 医薬品としてのステロイド	・・・18
1-2. Selective Glucocorticoid Receptor Agonists (SEGRA) 開発の意義	・・・18
1-3. ステロイドの作用機序と SEGRA	・・・19
1-4. 新規 SEGRA 化合物の探索研究	・・・20
1-5. SEGRA の新規化合物探索とその方法	・・・21
1-6. SEGRA の新規化合物探索結果	・・・22

1-7. SEGRA 化合物 X のメディシナルルートによる合成法	・・・23
1-8. 目的中間体化合物のメディシナルルート合成法の考察	・・・24
2. 本章における研究の目的	・・・25
3. 新規製法検討	・・・26
3-1. アミノ類縁体置換基を導入した 2-ブロモ安息香酸における Hurlley 反応	・・・26
3-2. アミノ基をアセチル保護した原料における Hurlley 反応最適化	・・・27
3-3. 脱アセチル保護検討	・・・29
3-4. Hurlley 反応の新規ルート適用可能性検討結果	・・・30
4. Hurlley 反応の収率向上検討	・・・30
4-1. Hurlley 反応における共通不純物	・・・30
4-2. 銅触媒スクリーニングによる収率向上検討	・・・31
4-3. 塩基スクリーニングによる収率向上検討	・・・31
4-4. 銅触媒と塩基のスクリーニング結果と不純物プロファイルの考察	・・・32
4-5. 炭酸塩基とヨウ化銅の組み合わせによる収率最適化検討	・・・33
5. 新規 Hurlley 条件による Hurlley 反応の適用範囲の拡大	・・・34
6. Hurlley 反応を適用したルート探索	・・・35
6-1. 5 位をハロゲン置換した 2-ブロモ安息香酸を用いた 1 の合成検討	・・・35
6-2. 5-カルボキシル-2-ブロモ安息香酸を用いた 1 の合成ルート検討	・・・37
7. Hurlley 反応の推定反応機構と収率向上の考察	・・・37
7-1. Hurlley 反応の反応機構	・・・37
7-2. ヨウ化銅/炭酸ナトリウム系による収率向上の考察	・・・38
8. 後工程における銅残存の影響	・・・39
8-1. 銅残存量の閾値の設定	・・・40
8-2. アンモニア懸濁洗浄による銅の除去プロセスの確立	・・・41
9. 製造コストについて	・・・42
10. 小括ならびに考察	・・・43
11. 参考文献等	・・・44
第 2 章 実験の部	・・・46

第 3 章 Hurlley 反応を用いた新規合成法のスケールアップ検討と製造

1. 序論	・・・53
1-1. スケールアップ検討の意義	・・・53
2. 百グラムスケールにおけるスケールアップ、ラボ検討	・・・53
2-1. Hurlley 反応と銅精製プロセス検討	・・・53

2-2. 脱アセチル化反応	55
2-3. 百グラムスケール合成の考察	56
3. キログラムスケールを用いた実機製造検討	57
3-1. 実機による Hurtleley 反応とアンモニア洗浄による銅精製	57
3-2. 実機による脱アセチル化工程	58
3-3. キログラムスケールを用いた実機製造検討結果と考察	60
4. 実製造に向けた課題の解決	60
4-1. 新規銅除去プロセスの開発	60
4-2. 銅精製プロセス効率化検討	61
4-3. 安定した除去プロセス確立検討	62
4-4. 炭酸抑制検討	64
5. 出発原料 130 kg を用いた本製造	65
5-1. Hurtleley 反応と銅の除去工程	65
5-2. 脱アセチル化工程	67
5-3. 本製造の結果と考察	67
6. 今後のための検討	69
6-1. 5-アセトアミド-2-ブロモ安息香酸の合成検討	69
6-2. 製造ルート one-pot 化検討	71
7. 小括ならびに考察	72
8. 参考文献等	73
第3章 実験の部	73

第4章 7-ブロモ-8-メトキシカルボニル-3,3-ジメチル-3,4-ジヒドロ-1H-キノキサリン-2-オン誘導体の効率的合成法の開発

1. 序論	76
1-1. 開発バックアップ化合物の意義	76
1-2. SEGRA バックアップ化合物の開発の経緯	76
1-3. 3,4-ジヒドロキノキサリン-2-オン骨格合成ルートとその問題点	77
2. 新規合成法開発検討	78
2-1. 新規ルート開発のための出発原料情報	78
2-2. 逆合成解析	80
3. ルート1における合成法検討	81
4. ルート2における合成法検討	82
5. ルート3における合成法検討	83
5-1. 2-ブロモイソ酪酸エチルを用いたアルキル化検討	83
5-2. アルキル化反応における溶媒効果検証	85

5-3. アルキル化の推定反応機構と考察	・・・86
6. ニトロ化工程	・・・87
6-1. ニトロ化検討と不純物単離	・・・87
6-2. ニトロ化における位置選択性の考察	・・・89
7. 還元・環化検討	・・・89
8. ルート3 検討結果	・・・90
9. 単離工程の削減とカラム精製を省略した合成プロセスの開発	・・・90
10. スケールアップ検討	・・・91
10-1. 改良第1工程、アルキル化・メチルエステル化	・・・91
10-2. 改良第2工程、ニトロ化	・・・93
10-3. 改良第3工程、ニトロ基還元、環化	・・・94
10-4. 500 g の出発原料を用いたスケールアップ合成の考察	・・・95
11. 小括ならびに考察	・・・96
12. 参考文献等	・・・97
第4章 実験の部	・・・97
<u>第5章 結論ならびに考察</u>	・・・104
研究業績リスト	・・・108
謝辞	・・・110

略語表

試薬に関する略号

DMF	<i>N, N</i> -dimethylformamide
DMSO	dimethylsulfoxide
DPPA	diphenylphosphoryl azide
NBS	<i>N</i> -bromosuccinimide
PTSA	<i>p</i> -toluenesulfonic acid
TFA	trifluoroacetic acid
THF	tetrahydrofuran
TMS	tetramethylsilane

化学構造に関する略号

Ac	acetyl
Boc	<i>tert</i> -butoxycarbonyl
Cbz	benzyloxycarbonyl
PMB	<i>p</i> -methoxybenzyl
Ms	methanesulfonyl
Me	methyl
Et	ethyl
Pr	propyl
Bu	butyl
Ph	phenyl

プロセス開発に関する略号

API	active pharmaceutical ingredient	医薬品有効成分、原薬
ARC [®]	accelerating rate calorimeter	加速速度熱量計
DSC	differential scanning calorimetry	示差走査熱量計
GL	glass lining	ガラスライニング製
GMP	good manufacturing practice	医薬品等の製造管理及び品質管理に関する基準
ICH	the international conference on harmonisation of technical requirements for registration of pharmaceuticals for human use	日米 EU 医薬品規制調和国際会議
MSDS	material safety data sheet	化学物質等安全データシート
PDE	permitted daily exposure	1日最大摂取許容量

PV	process validation	プロセスバリデーション
QOL	quality of life	一人一人の人生の内容の質や社会的にみた生活の質
SUS	steel use stainless	日本工業標準調査会規格のステンレスの略称

薬理学に関する略号

AP-1	activator protein-1	転写因子 AP-1
BA	bioavailability	生物学的利用率
DEX	dexamethasone	デキサメタゾン
FML	flurmetholone	フルオロメトロン
GR	glucocorticoid receptor	グルココルチコイド受容体
GRC	glucocorticoid receptor complexes	グルココルチコイド受容体複合体
HSP	heat shock protein	ヒートショックタンパク質
IL	interleukin	インターロイキン
IOP	intraocular pressure	眼内圧
LPC	lysophosphatidylcholine	リソホスファチジルコリン
Nf- κ B	nuclear factor-kappa B	核内因子 κ B
SEGRA	selective glucocorticoid receptor agonists	選択的グルココルチコイド受容体アゴニスト
TA	transactivation	転写活性化作用
TAT	tyrosine aminotransferase	チロシン-アミノ基転移酵素
TNF	Tumor Necrosis Factor	腫瘍壊死因子
TR	transrepression	転写抑制作用

機器分析に関する略号

ESI	electrospray ionization	エレクトロスプレーイオン化
HPLC	high performance liquid chromatography	高速液体クロマトグラフィー
ICP	inductively coupled plasma	誘導結合プラズマ
IR	infrared spectroscopy	赤外分光法
NMR	nuclear magnetic resonance	核磁気共鳴
Mp	melting point	融点
MS	mass spectrometry	質量分析法

第1章 諸言

1. 序論

1-1. プロセス開発の意義^{1,2}

医薬品は疾病の診断や治療又は予防に使用され、人々の QOL 向上に貢献し、健やかな生活を送るための必需品である。医薬品の製造販売の業許可を有する者は、時に患者さんの生命を左右する薬を必要な時期に必要な量を届ける義務があり、その安定供給が求められる。医薬品は、一般的に有効成分である原薬（API）と品質や有用性面から原薬をサポートする添加剤により構成され、その用途に応じて錠剤、点眼剤、注射剤等の数多くの剤型に製剤化され投与される。医薬品の有効成分である原薬は主に化学合成法、発酵法、動物・植物からの抽出により製造されているが、重要成分であることから、安定的に供給するために再現性に優れた製造法を構築する必要がある。そのために必要な研究が原薬のプロセス開発であり、患者さんに安心して医薬品を利用して頂くための重要な使命の観点からその社会的意義は大きい。

1-2. 医薬品原薬製造における製法構築^{1,2}

医薬品が安心して利用されるために、有効成分である原薬は適正な品質で製造されることが必要となる。原薬の製造法においては品質を担保するために科学的な視点からアプローチを行い、品質に関与するパラメータを定量的にマネジメントする必要がある。そのためには頑健性を有した原薬の合成ルート、反応、そして精製法を確立することが重要となり、原薬のプロセス開発における骨子となる。また安定的な品質を担保していても、高価格であり少量しか製造できないのであれば安心して利用することに制限が生じる。そのために、プロセス開発においては収率向上や安価な合成法選定によるコスト削減、また作業性や安全性そして環境の観点を考慮した上での大量製法を確立することも重要な要素となる。

1-3. 医薬品の原薬開発とその流れ^{1,2}

一般的な医薬品の開発は、創薬研究により薬を種の状態から探索し薬効を有する新規化合物を見出す基礎研究と、見出された化合物を高次の動物や人間で薬効や安全性を確認していく開発研究に大別される。基礎研究においては、そ

の手法は様々であるが治療ターゲット疾患に対する病的モデルを構築し、それに対し効果を有する新規化合物を多種類合成し評価を行う。その際にもっとも重要とされる指標は薬効とそのスピードであり、必ずしも合成法が確立されている必要はなく、また精製方法もシリカゲルカラムクロマトグラフィーや薄層クロマト板からのかき取りなど手段は問わない。しかし数グラム程度の化合物の取得では問題にならない合成法や精製法も、開発研究が進み、数キログラムから数百キログラムの製造量が必要になった際には非常に大きなインパクトとなり、量の確保、製造リードタイムの順守の観点で懸念となる。開発研究においては、人に投与する前に動物に対して有効性、安全性を確認する非臨床試験と、人に対して安全性、有効性を確認するための臨床試験用に、適正な品質を有した原薬を必要量提供するための開発を実施していく。研究開発は迅速化が求められ、候補化合物が選定されてから限られた期間で開発研究用の原薬製造法を構築する必要がある、高度な原薬開発能力やチームワークが求められる。

2. 製造プロセス開発

基礎研究で見出された候補化合物において、その製造プロセスが創薬の初期段階で最適化されていることは少なく、必要となる合成量や品質に対応するために、科学的根拠に基づいて真に効率的な合成法を創出することが求められる。そのためには有機化学、分析化学、化学工学を核とした領域に加え、医薬品製造を取り巻く規制の理解など幅広い知識からアプローチすることが重要となる。

2-1. 合成ルート開発と収率の向上^{1,2}

新規製法を開発する上で、合成ルートは大きな道筋を決定する重要な要素となり、効率的な合成法を逆合成解析にて探索していく必要がある。一般的に多段階反応で候補化合物を合成する際には、出発原料を段階的に化学変換して合成するリニア製法より、複数の出発原料を用いてそれぞれ個別に中間体を合成し、その各中間体同士を反応させて目的物へと収束させるコンバージェント製法が製造コストや効率性の観点から優れているとされている。また収率に関しては、得られる目的化合物の取得量に直結するために、一般的には高い収率が望ましい。しかしプロセス開発の観点からは、例え高収率であっても出発原料の入手が限定的であったり、非常にコストの高い試薬が必要であったり、また特許的に問題があるケースにおいては収率が低い方が有利なケースもあり、総合的な観点から判断する必要がある。

2-2. 作業効率の改善^{1,2}

大量スケールにおける製造は、ラボレベルとは比較にならない程の作業時間が必要とされ、ステップの最短化は効率化の観点から非常に重要な指標となる。不要な単離工程を削減する **one-pot** 反応の採用や、未精製のまま次工程へと反応を進めるテレスコーピング化は、作業効率に対する貢献度が非常に高い。また工程削減まではいかなくても、精製工程や抽出回数、更に試薬数を一つ低減することでも大きなメリットになり得る。効率化は品質を担保することが大前提となるため、全ての操作における科学的な意義を明確にして、不要な工程を削減し効率的なプロセスを設定する必要がある。

2-3. 反応試薬の最適化

有機化学の長い歴史において多様な反応や試薬が開発され、合成の選択肢は広がっている。しかし有用な反応であっても使用試薬が高毒性、高価格そして環境面で懸念がある際には採用は難しいことがあり、代替法の検討が必要とされる。試薬の毒性や活性そして環境面への影響に関しては、その使用前に **MSDS** 等を参照しリスクを回避することが可能である。また試薬コストに関しては製造費用に大きく影響することから、同等性が確保できる際には安価な試薬を選定する必要がある。価格や価値は、一般的にその存在量と反比例している傾向があり、その情報から相場の判断がある程度可能となる。一例として金属触媒はカップリング反応を始め多くの重要な反応に用いられるが、その価格については金属の種類によって大きく異なり、銅、鉛、亜鉛、ニッケル (Ni) 等は地殻存在度も高く、安価で入手可能である (**Table 1-1**)。一方で貴金属や工業用途に利用される金、銀、そして多くの重要反応にて用いられるパラジウム (Pd) はその存在量は少なく高価となっている。なお価格は政治的背景も含めて複雑な要因により相場が決定されることから、常にその最新の情報を入手しておく必要がある。

Table 1-1. 主要金属地殻存在度、産出国価格一覧表³

元素名	平均地殻存在度 (ppm)	経済性を有し回収可能 含有下限値 (ppm)	主な生産国	価格 ^a (円/kg)
Cu	55	5,000	チリ、ペルー、中国	700
Ag	0.08	-	メキシコ、中国、ペルー	63,000
Au	0.003	-	中国、南アフリカ、豪州	4,600,000
Pb	13	20,000	中国、豪州、米国	210
Zn	70	25,000	中国、豪州、ペルー	251
Ni	75	10,000	インドネシア、露、比国	1,572
Fe	50,000	250,000	中国、豪州、ブラジル	7 ^b
Al	81,000	300,000	豪州、中国、ブラジル	210
Pd	0.01	-	露、南アフリカ、カナダ	2,600,000

^a ロンドン金属取引所 2014 年 8 月価格参照. ^b 鉄鉱石価格.

2-4. 使用溶媒の選択

溶媒は化合物を溶解し均一に展開させるだけでなく、化学反応に対しても大きな影響を与えることからその選択は重要である。プロセス開発の観点としては、環境面で大量使用に懸念のあるハロゲン溶媒や消防法上、特殊引火物として指定されているジエチルエーテル、更に毒性を有する 1,4-ジオキサン等の使用を避けることが前提となるが⁴、その他、高価格溶媒は理由がない以上は避けるべきである。また溶媒は反応以外にも精製工程において抽出、結晶化など幅広く用いられるが、最終取得原薬における残存溶媒量は厳密にコントロールする必要がある。溶媒の残存の閾値は国際的に規定されており、ICH のガイドライン⁵にてその残存が毒性に応じて 3 つにクラス分けされ、最も毒性が高い溶媒に指定されたクラス 1 の溶媒に関しては、数 ppm の残存も許容されていない (Table 1-2)。上記の観点から、溶媒の選択は使用時の利便性のみではなく、安全性、コスト、そして規制を考慮に入れて選択する必要がある。

Table 1-2. ICH ガイドラインで規定の溶媒残存クラス分けと閾値（一部抜粋）

クラス 1 の溶媒（医薬品の製造において使用を避けるべき溶媒）			
溶媒		濃度限度値 (ppm)	考慮した点
ベンゼン		2	発がん性
1,2-ジクロロエタン		5	毒性
クラス 2 の溶媒（医薬品中の残留量を規制すべき溶媒）			
溶媒		PDE ^a (mg/day)	残存濃度限度値 (ppm)
アセトニトリル		4.1	410
クロロホルム		0.6	60
ジクロロメタン		6.0	600
DMF		8.8	880
1,4-ジオキサン		3.8	380
<i>n</i> -ヘキサン		2.9	290
トルエン		8.9	890
クラス 3 の溶媒 ^b （GMP 又はその他の品質基準により規制されるべき溶媒）			
酢酸	アセトン	DMSO	2-メチル-1-プロパノール
2-BuOH	ヘプタン	2-PrOH	<i>t</i> -ブチルメチルエーテル

^apermitted daily exposure. ^bクラス 3 の溶媒は低毒性かつ健康に及ぼすリスクも低い。溶媒の残留量はその摂取量が 50 mg/day 以下であれば、妥当性の理由を示さなくても許容可。

2-5. 安全性の確保⁶

大量スケール製造において、作業の安全性を確保することは非常に重要な観点となる。万一、重大な事故が発生してしまった際には人的な被害やその製造サイトにおける他品目の供給懸念を含む物的な損害に留まらず、その地域社会に対しても不安を与えることに繋がり、非常に大きなリスクとなる。化学事故を未然に防ぐリスクマネジメントはプロセス化学において非常に重要な指標となり、反応に対する危険性を戦略的に回避する必要がある。Table 1-3 は、反応の暴走となる要因を化学的因子と物理的因子に分類している。化学的因子は化学反応自体に関係するものであり、物理的因子は化学反応を行わせる条件及び物質や熱の移動に関係するものである。化学的因子と物理的因子とは独立したのではなく相互に影響を及ぼし合うため、反応の危険性を評価する際には様々な条件下で化学反応系の挙動を調査することが重要となる。

Table 1-3. 反応暴走条件の判定に必要な因子

化学的因子	反応速度因子	反応次数、頻度因子、活性化エネルギー等
	熱力学的因子	反応熱等
物理的因子	物性値	密度、粘性係数、比熱、溶解度、熱伝達率、体膨張率、拡散係数、表面張力、潜熱、蒸気圧等
	装置特性	伝熱面積、伝熱係数、攪拌効率等
	操作条件	反応温度、冷媒温度、流入速度、流出速度等

化学反応の危険性を評価する際の試験装置として、反応熱量計、示差走査熱量計 (DSC)、そして加速速度熱量計 (ARC[®]) が一般的に知られている。反応熱量計は反応における熱の発生挙動に関する計測を行い、化学プロセスの安全性予測やスケールアップにおける最適化条件の設定などに用いて、反応における吸発熱の状態を把握しておくことが可能となる。また DSC は、基準物質と試料に一定の熱を与えながらその温度を測定して、試料の熱物性を温度差として捉え、状態変化による吸熱反応や発熱反応を測定する。反応の特性を評価することで吸発熱現象が生じる温度とその熱量を測定し、反応が暴走した際の評価を行うことが可能である。本法は極めて少量の試料で簡便かつ安全に発熱開始温度や発熱量の測定を行える特徴がある。ARC[®]は試料容器に反応原液を加え、断熱条件下で反応させ暴走を誘発し一定の発熱速度を計測する温度や、断熱系での暴走までの時間を測定することで、実際に近い条件にて反応系の熱的挙動を推察することが可能である。DSC と ARC[®]における発熱や断熱温度上昇は危険度をクラス分けにより安全性評価が可能であるが (Table 1-4)、比較的危険度の弱い発熱の際においても、発熱のメカニズムを詳細に把握することにより、発熱をコントロールし、安全域を確保したプロセスを策定することが重要となる。

Table 1-4. DSC、ARC[®]による分解熱とその発熱反応のクラス分け評価⁷

発熱反応	分解熱/J (g) ⁻¹	断熱温度上昇/°C
非常に弱い	100	80
弱い～激しい	100-500	80-400
非常に激しい	500-1000	400-800
極端に激しい	1000	800

2-6. 環境への配慮

ジクロロメタンやクロロホルムをはじめとするハロゲン溶媒は、溶解性を

はじめとした様々な使いやすい特性からラボレベルにおいては非常に汎用されているが、近年ハロゲン溶媒やハロゲン化合物の規制が厳しくなっており⁸、大量製造においてはその使用による環境への影響や廃棄コストの増加が懸念される。またハロゲン溶媒は発がん性を有し⁹、作業者の安全性に対して特別に考慮する必要がある点からも使用に留意が必要である。金属触媒に関してもその大量使用に際しては、環境面への影響を考慮する必要がある。一例として鉛 (Pb)、水銀 (Hg)、ヒ素 (As)、カドニウム (Cd)、六価クロム (Cr⁶⁺) に関しては水質汚濁に係る環境基準が設置されており¹⁰、金属触媒を選択する際の指標となる。

3. 品質マネジメント

医薬品はその有効性、安全性を担保するために医薬品及び医薬部外品の製造管理及び品質管理の基準に関する省令 (Good Manufacturing Practice、GMP) の下、高い品質基準が設けられている。医薬品の原薬においても GMP の管理下で品質基準を設定する必要がある、含有される不純物や結晶形に関して、戦略的に品質をマネジメントすることが求められる。

3-1. 医薬品製造における GMP¹¹

医薬品を製造する場合、医薬品及び医薬部外品の製造管理及び品質管理の基準に関する省令、GMP を順守する必要がある、製造業者は GMP 管理の下、患者さんが安心して使用できる製品を供給する義務がある。GMP の概念は、誰が作業しても、いつ作業しても必ず同じ品質・高い品質の製品を作るために製造に携わる者が行うべき事である。原薬においても GMP の管理下で製造を行う必要がある、その求められる内容は原薬 GMP ガイドラインで定められている。GMP 管理下における製法では、原薬の出発物質を定義すること、品質に影響を与える重要工程を設定することが求められ、各工程で規格を設定しそれをクリアすることが求められる。またその製法の妥当性を確認するためにプロセス・バリデーション (PV) で評価を行い、実生産のロットスケールにて 3 回製造し、製法が確立していることを確認する。それらの妥当性を基に審査を受けて、承認を取得した製法が人々に投与される原薬の製造法として認められる。

3-2. 精製法の確立

化合物を合成した後の精製法は、一般的にシリカゲルカラムクロマトグラフィー、蒸留、再結晶が知られている。蒸留と再結晶は、精製対象化合物の沸点

や結晶形成の有無など、物性情報が必要となるが、シリカゲルカラムクロマトグラフィーはそのような物性情報を必要とせず、高い精製効果で単離が可能となり、非常に広く用いられている手法である。一方、プロセス化学においてはシリカゲルカラムクロマトグラフィーによる精製は効率化の観点から不利とされている。一般的に理論段数を維持するために、シリカゲル量はサンプルの重量比にて 20 倍量程度必要とされており、100 kg のサンプルを用いた際はその分離にシリカゲルを 2 トン程度用いる必要が生じる。またその移動相として溶媒が数十トンレベルで必要となり、溶媒を留去する際や溶媒の処分に膨大な作業が発生する。プロセス化学において望ましい精製法は、結晶化により固体を析出させ、その際に不純物を含むろ液を分離して目的物を取得する手法である。本法は再結晶時のパラメータを制御することで、再現性を有した精製法として構築可能であり、第一選択として検討する精製法となる。

3-3. 不純物コントロール

原薬製造において、純度 100%の品質を常に製造することは非常に困難である。そのために医薬品開発においては、製法において副生しうる不純物を把握し、その量を一定の範囲でコントロールすることが重要となる。特に開発研究段階においては、意図的にある程度の不純物を含んだ原薬を用いて安全性試験を行い、評価することで不純物の安全性を担保する戦略が採用され、その結果を踏まえて原薬の品質規格が設定される。そのためには副生した化合物を同定した上で挙動を把握する必要がある。即ちどの工程で、どの程度副生するか、そして精製によりどの程度除去されるかを定量的に測定し、戦略的に不純物の量をコントロールすることが求められる。

3-4. 結晶形コントロール^{1, 12}

プロセス研究において、原薬の結晶形コントロールは非常に重要な要素となる。同じ化合物でありながらも異なる結晶形では、溶解度や溶解速度の違いにより生物学的利用率 (BA) に影響し、薬効に差が生じるためである。安定した薬効の確保のためには、常に同じ結晶形にて製造を行う必要があり、そのためのプロセス構築が必要となる。一般的には最も安定な結晶形を採用することが多いが、開発の途中で新たに最安定結晶が見出されるような際は、製法再構築が必要となり大きな手戻りとなるため、原薬の候補化合物が見出された段階から漏れなく結晶形が調査される。その手法としてスクリーニング法が確立されており、候補化合物にはどのような結晶多形が存在するかを把握し、どの結晶

形が最安定であるかを確認した上で開発に用いる結晶形を採用する必要がある。

4. スケールアップ

ラボレベルにおいて、数グラム単位で合成していた反応を 1,000 倍、百万倍へと増量し大量製造へと移行することをスケールアップと呼ぶ。ラボレベルでは高収率で進行していた反応でも、スケールアップに伴い再現性が得られない場合がある。その要因を化学的視点から解決法を策定し製造プロセス設計を行う必要がある。

4-1. 製造サイズの最適化^{1,2}

スケールアップ製造においては、プラントにて反応釜を用いて製造を行う。その大きさは反応に応じて選択可能であり、1,000 L から 10,000 L のスケールから選定する。その際に重要となる観点は溶媒量と反応の種類である。溶媒量に関しては、反応時における最大使用量が収まる釜を選択する必要がある、多大な溶媒量を使用する反応は設備にも制限を与える。そのために反応に使用する溶媒量は最小化する必要がある、その指標としては仕込み原料重量に対して 20 倍量の体積を限度とすることが望ましい。また反応の種類に応じて、釜の材質を選択する必要がある。一般的にアルカリ性の反応ではステンレス（SUS）製、酸性の反応では金属とガラスの融合により耐食性を有するグラスライニング（GL）製が用いられ、耐薬品性に優れたハステロイ（高耐熱耐食合金）を使用することもある。

4-2. 頑健性の確保^{1,2}

スケールアップにおいて、少量検討時の再現性が得られない要因は様々であるが、ラボにおける合成と使用する設備が異なり、攪拌効率や熱の伝導の効果が同一ではないことがその一因となる。ラボ検討においては、マグネティックスターラーを用いて反応を行うことが多いが、反応液中に固体が存在する際に、攪拌により固体がすりつぶされて微細化される。一方、実際の製造設備を用いた製造（実機製造）の際には攪拌翼を用いることからすりつぶしの効果はないため、その違いが反応の進行に影響を与えている可能性がある。また熱の伝導に関しては、昇温、冷却などでスケールアップ時には膨大な時間を要することがあり、その時間差が反応や品質に影響を与える可能性を考慮に入れて、製造プロセスを設計する必要がある。再現性確保のためには、熱や温度等のパラメ

一タが影響を与える範囲や限度を精査し、余裕を持ったプロセスの構築が重要な要素となる。また違いが生じた際には、原因を正確に把握した上で解決法を化学工学的視点から設定することが必要である。

5. 本研究の目的

前述のとおり、医薬品の新規開発においては、臨床試験を初めとする各種試験に対して必要な品質、量の原薬を供給する必要がある、定められた開発期間の中で必要試験に適した規格を確保するための製法開発が重要となる。しかし医薬品開発の初期段階において最適かつ大量製造可能な製法が存在する事例は稀であり、製造法、品質マネジメント、スケールアップそして規制の観点から真に効率的な原薬プロセスを早期に開発することが求められる (Figure 1-1)。本研究では新規な抗炎症作用 (SEGRA) を有する 2 種の医薬品候補化合物の中間体に対し、探索段階の合成法と比較して効率性やコストの面で大幅に改良された新規合成ルートの開発を行った。また治験用原薬などの供給を目的に、その製法について大量製造可能なプロセス開発を検討した。

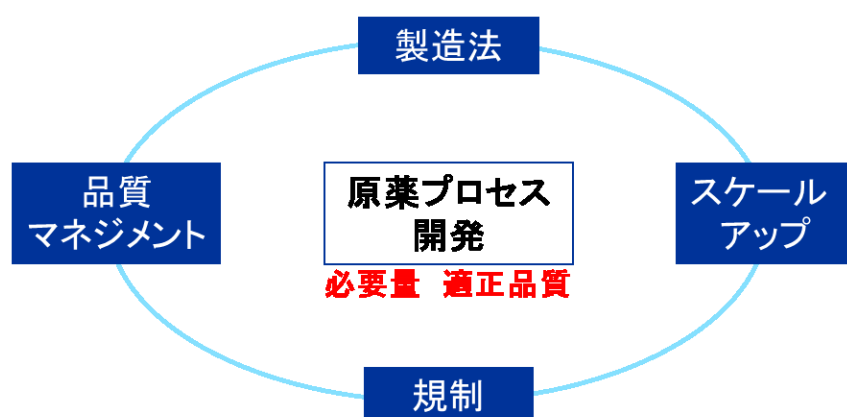


Figure 1-1. 医薬品の原薬プロセス開発とその主要要件

6. 参考文献等

- 1) 医薬品のプロセス化学；日本プロセス化学会；化学同人
- 2) プロセス化学 医薬品合成から製造まで；Neal.G.Anderson；丸善株式会社
- 3) 非鉄金属資源開発技術のしおり；JOGMEC（2014/8）
- 4) 厚生労働省ホームページ 特定化学物質障害予防規則等

http://www.mhlw.go.jp/file/06-Seisakujouhou-11300000-Roudoukijunkyokuanzeneiseibu/gaiyou_DDVPetc.pdf

- 5) 独立行政法人 医薬品医療機器総合機構ホームページ ICH ガイドライン
<https://www.pmda.go.jp/int-activities/int-harmony/ich/0014.html>
- 6) T. Ando, Y. Fujimoto, M. Kumsaki, *Specific Research Reports of the National Institute of Industrial Safety*, **2002**, 27, 5.
- 7) 国立研究開発法人 産業技術総合研究所ホームページ 化学物質の爆発安全情報データベース <http://explosion-safety.db.aist.go.jp/>
- 8) 環境省ホームページ 特定排水基準に係る検定方法に関し留意すべき細目等
<http://www.env.go.jp/hourei/05/000194.html>
- 9) 環境省ホームページ ベンゼン、トリクロロエチレン及びテトラクロロエチレンによる大気汚染に係る環境基準について
<http://www.env.go.jp/hourei/syousai.php?id=1000070>
- 10) 新・公害防止の技術と法規；産業環境管理協会
- 11) 医薬品医療機器総合機構ホームページ 原薬 GMP ガイドライン
<https://www.pmda.go.jp/review-services/drug-reviews/master-files/0007.html>
- 12) 医薬品開発における結晶多形の制御と評価；シーエムシー出版

第2章 Hurtley 反応を用いた 8-アミノ-3-ヒドロキシ-6H-ベンゾ[c]クロメン-6-オン誘導体の効率的新規合成ルート開発

1. 序論

1-1. 医薬品としてのステロイド

ステロイドにおける医薬品療法は、1936年の Kendall らによる副腎皮質からステロイドの一つであるコルチゾンの抽出・精製の成功、Reichstein によるコルチゾンの化学構造の決定を経て、1948年に Hench らにより実施されたコルチゾンをリウマチ患者に投与した治験において劇的に抗炎症効果を示した一連の報告が端を発している (Figure 2-1)。その臨床試験の大きな成功から 1950年のノーベル生理学・医学賞は、これら基礎研究と臨床応用への成功により、Kendall、Reichstein、Hench の 3氏が揃って受賞した¹。その後、様々な単離されたステロイドが炎症の治療薬として用いられており、多くの炎症に悩む患者さんに対して効果を挙げている。一方で当初ステロイドは生体由来成分であり、副作用はそれほど大きいものではないとの想定であったが、実際には長期間に及ぶステロイド療法は副作用を生み、その中でも骨粗鬆症や感染症、対糖能異常そして副腎不全などの重篤な症例も報告されている²。

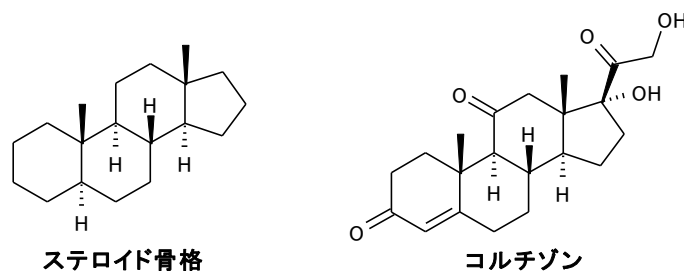


Figure 2-1. ステロイド骨格とコルチゾンの構造式

1-2. SEGRA 開発の意義

ステロイドにおける副作用を回避する手段の一つとして、患部に対する局所投与が治療法として採用されている。主に呼吸器、皮膚そして眼に使用することで全身性の副作用の軽減が報告されているが、局所とはいえ、その慢性的な使用は副作用発現を引き起こすことが報告されている³。皮膚領域においては萎縮、細菌や真菌感染の誘発、毛細血管拡張、多毛、また呼吸器領域においては喉の荒れ、声のかすれ、口腔内のカビ、更に眼科領域は白内障、そして緑内障

が報告されている。局所疾患ごとに特徴づけられた様々な副作用となっているが、眼科分野の副作用である緑内障は、視力の低下から最悪の症状として失明まで懸念される疾患であり、重篤な副作用として問題となっている。

しかしステロイドはその副作用が問題と判明した今日においても最も強力な炎症に対する治療剤として広く適用されている。副作用をリスクとして受け入れる前提で、局所投与以外にも分割投与や軟膏、クリーム等の剤型による投与、またはステロイドの各種誘導体を疾患の重さに応じて選択して使用することで副作用を低減化する治療方法が進められている⁴。ステロイド療法において、薬効を維持し副作用を低減化したステロイドの存在は炎症に悩む多くの患者さんを苦しみから解放し、かつ治療形態も軽減化することからその意義は非常に大きい。

1-3. ステロイドの作用機序と SEGRA

ステロイドの作用機序は、投与後に細胞膜を透過し細胞内に移行後、細胞質に存在する非活性型のグルココルチコイド受容体 (GR) -ヒートショックタンパク質 90 (HSP90) 複合体に結合しグルココルチコイド複合体 (GRC) を形成し、核内に移動して遺伝子の発現を活性化もしくは抑制することで作用を発現していることが報告され (Figure 2-2)⁵、その際に遺伝子を活性化する作用 (転写活性化作用、Transactivation, TA)、および遺伝子を抑制する作用 (転写抑制作用、Transrepression, TR) と二つの機序に分別される仮説が提唱されている⁶。TA 作用機序はグルココルチコイド受容体とステロイドの複合体が二量体となり、遺伝子の発現を促進しタンパク質の合成を推進させることで様々な副作用の原因に寄与していると考えられている。例として、産出促進されたタンパク質が房水流出経路を阻害し、眼内圧力が上昇することが緑内障の一因とされている^{3d}。また一方で抗炎症作用には TA 作用と TR 作用の両方が関与しているとされているが、特に TR 作用にはグルココルチコイド受容体とステロイドの複合体のモノマーが、炎症のメディエーターの転写促進因子として知られる転写因子 AP-1 (activator protein-1, AP-1) や核内因子 κ B (nuclear factor-kappa B, Nf- κ B) 等と結合しその炎症性のメディエーターであるインターロイキン (interleukin, IL-1、IL-4、IL-6) や腫瘍壊死因子- α (Tumor Necrosis Factor, TNF- α) 等の発現を抑制することで抗炎症に関与しているという仮説が報告されている⁷。

そこで近年、ステロイド骨格を有さずに TR 作用と TA 作用が乖離した選択的グルココルチコイド受容体アゴニスト (Selective Glucocorticoid Receptor Agonists, SEGRA) の研究が広く進められており、TR に選択的な作用を示す化合物について薬効と副作用が乖離したポテンシャルを持つ化合物が報告されている⁸。今後

SEGRA としてのコンセプトが実証されれば、既存のステロイドの概念を塗り替えた有用な新規医薬品の開発が期待される。

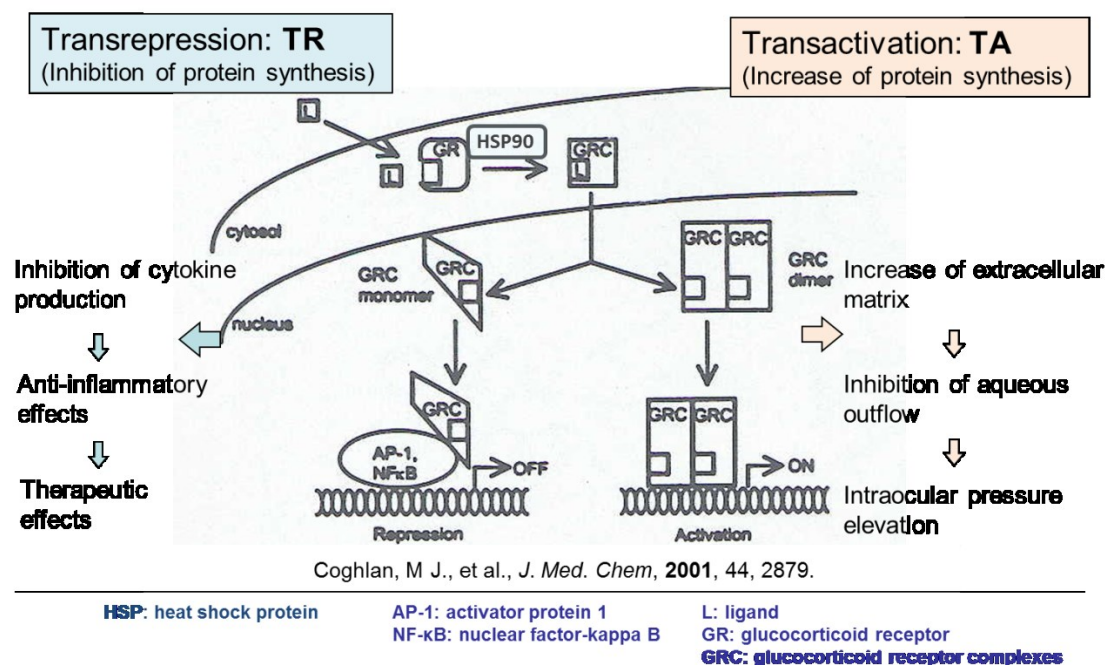
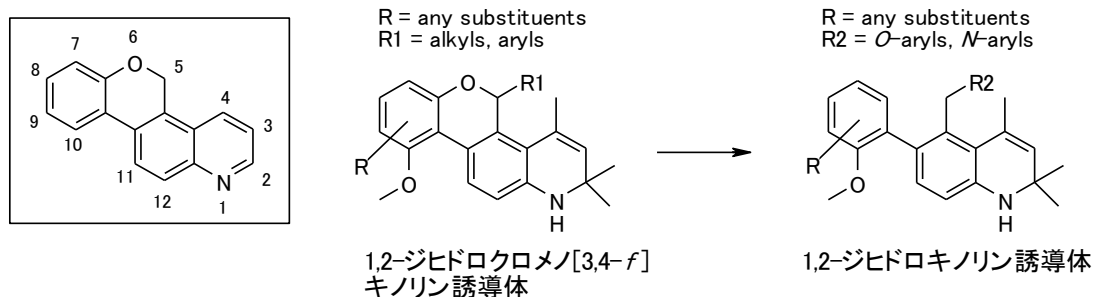


Figure 2-2. ステロイド薬の主な二つのメカニズム

1-4. 新規 SEGRA 化合物の探索研究

2001年に Abbott 社によって、非ステロイド骨格である 1,2-ジヒドロクロメノ [3,4-*f*]キノリン誘導体にて GR との高い結合活性を有し、更に TR に選択的な作用を示すことが報告された (Scheme 2-1)^{8f}。筆者らの研究グループはその知見を基に、1,2-ジヒドロクロメノ [3,4-*f*]キノリン誘導体をシード化合物に選定し、更なる高い薬効と副作用の乖離を示すこと、そして自社オリジナル化合物の創出することを目的として構造展開を行った。種々の合成展開を行い薬効評価を実施した結果、4 環系骨格の 5、6 位が開裂した 1,2-ジヒドロキノリン誘導体骨格においてシード化合物と同等以上の GR 結合活性と TR 選択的な作用を見出した^{8c-e}。また構造展開により見出した化合物の誘導体は新規性を有しており知的財産の観点からも新規化合物として有用であると考えられた。

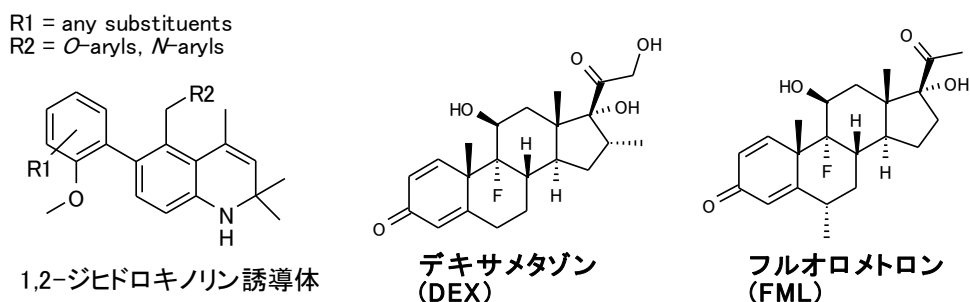
Scheme 2-1. 新規 SEGRA 探索のための合成展開



1-5. SEGRA の新規化合物探索方法

SEGRA 新規化合物の探索方法としては、1次スクリーニング、*in vitro* assay 系にて市販のステロイド薬であるデキサメタゾン (DEX) を対照薬としてグルココルチコイドとレセプターの結合能力と炎症に関与するサイトカインの一種である IL-6 の産生抑制効果を評価した (Table 2-1)^{8b}。またラット由来培養細胞を用いてチロシン-アミノ基転移酵素 (tyrosine aminotransferase, TAT) 産生亢進作用にて副作用を評価した。なお TAT 遺伝子上流にはグルココルチコイドにより活性化するプロモーター領域が存在するため、TAT の発現誘導作用により TA の作用評価が可能である。続いて2次スクリーニングにて市販のステロイド薬であるフルオロメトロン (FML) を対照薬として用い、マウスによる *in vivo* assay 系にて抗アレルギー作用を評価した。更に3次スクリーニングではラットを用いた眼圧上昇測定により副作用評価を実施した。

Table 2-1. 1,2-ジヒドロキノリン誘導体骨格、DEX、FML の構造式と評価方法



1 次スクリーニング		陽性対照薬：DEX
GR 結合能評価	Glucocorticoid Receptor Competitor Assay Kit, Green (invitrogen)を用いて競合アッセイ法により結合能力を測定。	
IL-6 遊離抑制作用評価	FC40 不死化ヒト角膜上皮細胞株を LPC で刺激することで IL-6 を遊離しその濃度を測定。	
TAT 産生亢進作用評価	ラット幹細胞系から培養した細胞に評価薬、対照薬を添加しインキュベーション後、L-チロシンを加えた。更にインキュベーションした後に酵素反応を停止させ、340 nm における吸光度を測定し TAT の活性評価指標とした。	
2 次スクリーニング		陽性対照薬：FML
抗アレルギー作用評価	アレルギー性結膜炎を惹起したマウスに対し、新規化合物を投与し、アレルギー症状の指標である血管透過性を結膜組織への色素の漏出量を測定することにより評価。	
3 次スクリーニング		陽性対照薬：FML
眼圧上昇測定評価	眼圧上昇測定評価: FML 点眼液 1%を用いてラットに 1 日 4 回、3 週間、1 週に 5 回投与後、眼圧上昇を測定。	

1-6. SEGRA の新規化合物探索結果

1500 を超える新規化合物が合成され、その評価を実施したところ、1,2-ジヒドロキノリン骨格を有する SEGRA 化合物 X について SEGRA として薬効と副作用が乖離した新規薬剤の候補化合物となる可能性が示唆された (Figure 2-3)。

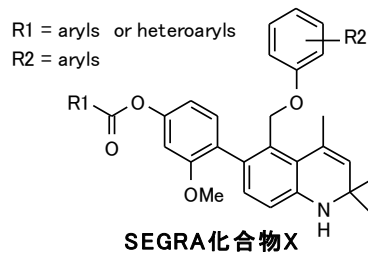


Figure 2-3. SEGRA 化合物 X の構造式

その薬理効果は 1 次スクリーニングにおけるグルココルチコイド受容体との結合能力評価において、 10^{-5} M の濃度にて DEX と同等である 100% の結合能を示した (Table 2-2)。また TR として評価される IL-6 阻害評価においては DEX と比較して 79% の阻害活性を示した一方で、TA 効果として評価指標となる TAT 産生亢進作用において、DEX の 28% の TAT 誘導能を示し TR と TA 作用の乖離の可能性が示唆された。また 2 次スクリーニングのマウス血管透過性亢進抑制作用評価においては FML と共に 29% と強力な抗アレルギー作用を示した。3 次スクリーニングにおける化合物 X の副作用評価として、眼圧に対する影響を測定した。0.1% の FML を投与したところ、平均して 3–4 mmHg の眼圧上昇が確認された一方で、化合物 X においては 0.01–1% 濃度において眼圧の上昇は確認されなかった。

Table 2-2. SEGRA 化合物 X の評価結果

<i>In vitro</i> assay	GR binding (Binding ability) ^a	Transrepression:TR (IL-6 inhibition) ^a	Transactivation:TA (TAT induction) ^a
DEX	100 %	100 %	100 %
SEGRA 化合物 X	100 %	79 %	28 %

^aEfficacy@ 10^{-5} M.

<i>In vivo</i> assay	Anti-allergic effect ^b	IOP ^c elevation (side effect)
0.1% FML	29 % inhibition	3–4 mmHg elevated
0.1% SEGRA 化合物 X	29 % inhibition	No effect (0.01–1%)

^b血管透過性を測定. ^cIntraocular pressure.

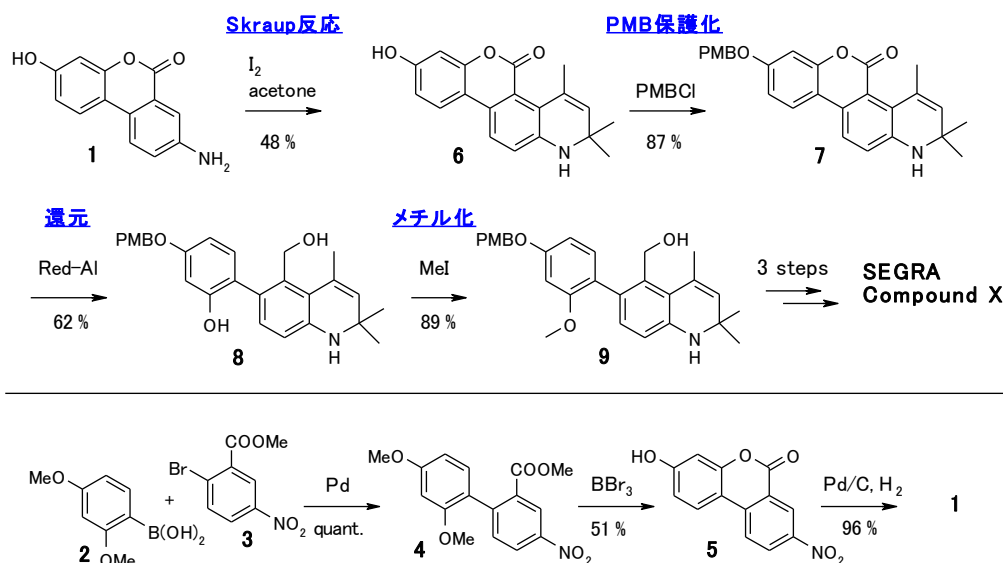
1-7. SEGRA 化合物 X のメディシナルルートによる合成法

SEGRA 化合物 X は、高度にメチル化されたジヒドロキノリン骨格を有していることが特徴とされ、高い SEGRA 活性を有している化合物のほとんどにおいて

はその骨格は必須であることが明らかとなっている^{8c-e}。しかし5、6位に置換基を有する2,2,4-トリメチル-1,2-ジヒドロキノリン骨格の合成法は非常に限られている。これまでに報告されている本骨格の合成法は、化合物**1**に対し変法 Skraup 反応を用いてジヒドロキノリン骨格を構築することで5、6位が置換された4環性化合物**6**を合成し(メディシナルルート、Scheme 2-2)、続いて PMB にて保護、還元、メチル化により化合物**9**とし、その後3工程にて目的の SEGRA 化合物 X を合成する手法が報告されている。

また化合物**1**の合成においては、出発物質としてボロン酸**2**と2-ブロモ-5-ニトロ安息香酸メチル**3**を用い、鈴木-宮浦カップリングで**4**とし、 BBr_3 を用いた脱メチル化と連続的分子内環化により目的とする骨格を有する化合物**5**とし、更にニトロ基を還元することで、中間体**1**を合成(**2**と**3**から3工程、収率49%)している。この様に SEGRA 化合物 X の合成はトータル10工程で得られている^{8c-e}。

Scheme 2-2. メディシナルルートにおける合成ルート



1-8. 目的中間体化合物のメディシナルルート合成法の考察

SEGRA 化合物 X を高次モデルの評価用に数キログラム以上合成するためには膨大な量の出発原料が必要となる。特に合成ルートの初期段階は全体のコストや収率に対するインパクトは非常に大きいことから、SEGRA 化合物 X のプロセス検討を開始するにあたり、初期の工程に注力してその課題を抽出し改良を行うための検討を実施した。

前述した様に中間体**1**はメディシナルルートにおいて、全3工程、49%で合

成されている。収率は平均 80%程度と決して低収率ではないものの、本製法においては大きくコスト面の観点で課題が挙げられた (Table 2-3)。まず出発物質であるボロン酸 **2** が非常に高価であり、汎用的に入手できるボロン酸化合物でなかったために、安価かつ安定な調達のためには **2** を更に数ステップを要して製造する必要があった。また鈴木-宮浦カップリングに使用されるパラジウム触媒は高価である上に、その配位子に起因した分子量の大きさから 5%と触媒量の使用であるが、実際には大量に使用する必要があった。続く第 2 工程については一般的に脱離が困難である脱メチル化を行うために、高価な BBr₃ を用いており、更に低収率と大きな課題があった。加えて環境面でその使用に懸念のあるハロゲン溶媒が必要であり大きな問題となることが考えられ、今後の大量製造の観点からその改良が必要とされた。

Table 2-3. 第 3 工程までの詳細と問題点

		step 1		step 2		step 3	
		鈴木-宮浦反応		脱メチル化、環化		還元	
反応原料	当量	2	1.0	4	1.0	5	1.0
		3	1.0				
反応試薬	当量	PdCl ₂ (PPh ₃) ₂	0.05	BBr ₃	3.0	10% Pd/C	0.1 w/w ^a
		K ₂ CO ₃	2.0			H ₂	1200 v/w ^b
溶媒		DMF		ジクロロメタン		MeOH/DMF	
温度/反応時間		80°C/15 h		-78°C/1 h		r.t./15 h	
収率		quant.		51%		96%	
問題点		高価格原料：ボロン酸 高価格試薬：Pd 触媒		高価格試薬：BBr ₃ ハロゲン溶媒使用 低温反応		特に問題なし	

^a化合物 **5** に対する Pd/C の重量比. ^b化合物 **5** の重量に対する H₂ の体積比.

2. 本章における研究の目的

SEGRA としての探索研究により見出された SEGRA 化合物 **X** は薬効と副作用に乖離作用を有することから新規医薬品の候補化合物となっている。より高次の動物モデルや人間による臨床試験によりその効果や安全性を確認することでその有用性のコンセプトを検証する必要があるが、その試験用の原薬は適切な品質とキログラムスケールにおける量が必要とされ、効率的かつ安定的に供給可能な合成法の開発が求められている。しかし SEGRA 化合物 **X** のメディシナルルートにおける初期工程については価格面、環境面の観点から問題が多く、

改良が必要とされた。ここで化合物 **1** の安価かつ効率的な製造ルートの構築のために、下記 3 項目を目標としてプロセス検討を実施した。

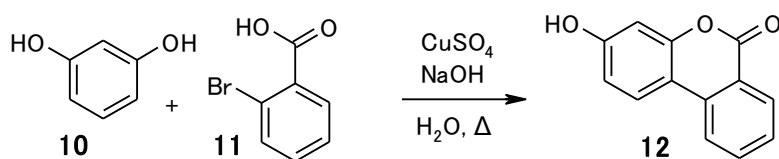
- ① メディシナルルートと比較し、コストと収率面で有用なプロセスを構築
- ② 後工程に影響を与えない品質の確保
- ③ 大量製造法の確立

3 新規製法検討

3-1. アミノ類縁体置換基を導入した 2-ブロモ安息香酸における Hurltley 反応

一般的なベンゾクロメン-6-オン骨格の合成法検討において、2-ブロモ安息香酸 **11** とレゾルシノール **10** から、銅触媒存在下にて one-pot で骨格構築を行う Hurltley 反応を適用することが効率的であると考えられた (Scheme 2-3)⁹。本反応は、安価な銅やレゾルシノール **10** の使用によるコスト面のメリットやステップ数削減の観点から目的骨格 **12** の構築法として有用と考えられたが、2-ブロモ安息香酸誘導体において、無置換やメトキシ基、ベンジロキシ基等の限定された置換基においては比較的、高収率で進行することが報告されているものの、5 位にアミノ基やアミノ基等価体を有する置換基についての報告例は限定されている¹⁰。そこで中間体 **1** を構築するために、5 位にアミノ類縁体置換基を導入した 2-ブロモ安息香酸についてその適用の可能性について調査した。

Scheme 2-3. Hurltley 反応によるベンゾクロメン-6-オン骨格の合成



検討を開始するにあたり、5-アミノ-2-ブロモ安息香酸 **13** を用いて Hurltley 反応の適用可能性を検討した (Table 2-4)。この際に用いた Hurltley 反応の条件は過去に一般的に報告されている条件を利用した。即ちレゾルシノール **10** を **11** に対して 2 当量、水酸化ナトリウム 2.0–2.2 当量、硫酸銅を 0.05–0.15 当量用い、 100°C にて反応を行った (Hurltley 条件 A)^{9,11}。硫酸銅以外を溶解させ、加熱した反応液に対して、硫酸銅水溶液を添加したところ、反応液は直ちに黒色で粘性を有する懸濁液となった (entry 1)。その反応液を $^1\text{H NMR}$ にて確認したところ、複雑な混合物中に痕跡量の目的物 **1** が確認できる程度の結果となった。ま

た同様に2-ブロモ-5-ニトロ安息香酸**14**を用いて反応を行った際も複雑な混合物を与え、若干の目的物**5**が確認できる程度となった (entry 2)。続いてアミノ基に保護基を導入して検討を行った。Bocにて保護したアミノ基**13a**にて検討を行ったところ Hurltley 反応は進行し、目的とする化合物**1a**が得られたが、この際、反応の収率が33%から65%と安定しないことも同時に明らかとなった (entry 3)。短時間反応の際に高収率が確認されることや脱保護体**1**が確認されたことから収率不安定の原因として、反応系内で脱 Boc 化が進行していることが推察された。目的物を高収率で得るためには反応時間の繊細なコントロールが必要となることから、スケールアップ時の再現性に大きな懸念を残す結果となった。続いて Cbz 基にて保護した化合物**13b**で検討したところ目的物**1b**が44%で得られた (entry 4)。しかし得られた生成物中にベンジルアルコールが含まれており、系内で脱保護が起こっていると推察された。そこでアセチル (Ac) 基にて保護した化合物**13c**にて検討したところ、39%で目的物**1c**が得られた (entry 5)。Ac 保護基を用いた際は低収率であるものの、脱保護は確認されず、反応の再現性に優れていることが明らかとなった。更にパラメトキシベンジル (PMB) 基、メシル (Ms) 基にて保護した化合物**13d**、**13e**にて反応を検討したが、目的物は全く得られない結果となった (entry 6, 7)。

Table 2-4. アミノ類縁体を有するブロモ安息香酸を用いた Hurltley 反応検討

entry	benzoic acid	R	yield (%)	target compounds
1	13	NH ₂	trace	1
2	14	NO ₂	trace	5
3	13a	NHBoc	33–65 ^a	1a
4	13b	NHCbz	44 ^b	1b
5	13c	NHAc	39	1c
6	13d	NHPMB	0	1d
7	13e	NHMs	0	1e

^a 反応時間 20 分. ^b ベンジルアルコール 6%を含む.

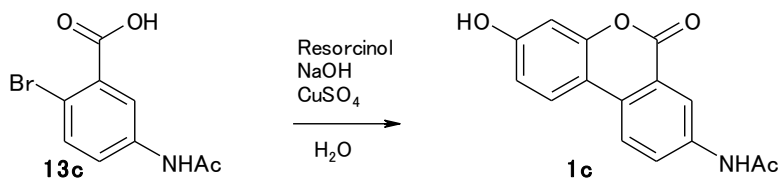
3-2. アミノ基をアセチル保護した原料における Hurltley 反応最適化

上記の結果から、再現性に優れる Ac 基を有する基質**13c**を用いて最適化を実

施し、収率向上検討を行った (Table 2-5)。一般的な Hurltley 条件 A に対して、レゾルシノール **10** を 3 当量、水酸化ナトリウムを 3.3 当量、硫酸銅 0.3 当量に増加した際、**1c** の収率は 50%まで上昇した (entry 2)。ここで試薬当量を増加した上で反応温度を 60°Cとしたところ (Hurltley 反応条件 B)、収率は更に向上し 65%まで上昇することが明らかとなった (entry 3)。最適温度を探索するために、70°C、50°Cにて収率を調査した際にはそれぞれ 57%と若干低下し、60°Cにて収率が最大となる結果が得られた (entry 4, 5)。60°Cにて収率が最大となった理由に関して、70°C、50°Cでは 60°Cの際と比較して、その組成は異なるものの、いずれも副生物が多く生成しており¹²、この事が低収率の原因と考えられ、60°Cが最も副生物を抑制できるバランスの良い温度であると考えられた。

続いて不要な試薬の添加を避けるために、各試薬当量の増減と収率向上の関係について調査を行った。その結果、レゾルシノール **10** のみを 1 当量減量した際は 54%と収率は低下した (entry 6)。また水酸化ナトリウムを 1 当量減量した際には 32%まで収率が低下し、さらに硫酸銅を 0.1 当量用いて反応を行ったところ 44%まで収率は低下することが明らかとなった (entry 7, 8)。ここで硫酸銅の触媒当量について、0.5 当量に増加させて検討したところ、64%と 0.3 当量の硫酸銅の際とほぼ同程度の収率となり、触媒当量の増加による収率の向上は 0.3 当量以上においては効果がないことが明らかとなった (entry 9)。

Table 2-5. Ac 保護体 **13c** を用いた Hurltley 反応の最適化検討



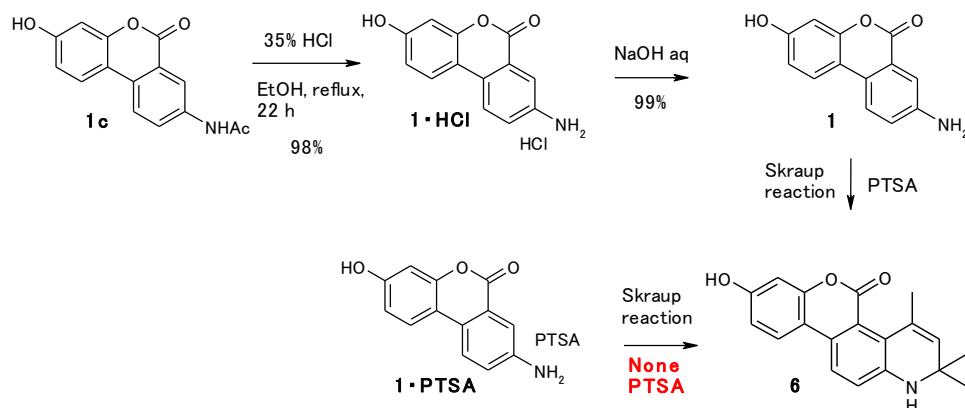
entry	temp (°C)	time (h)	equiv			yield (%)	Hurltley 反応条件
			resorcinol 10	NaOH	CuSO ₄		
1	100	0.5	2.0	2.2	0.10	39	条件 A
2	100	1	3.0	3.3	0.3	50	-
3	60	1	3.0	3.3	0.3	65	条件 B
4	70	3	3.0	3.3	3.0	57	-
5	50	3	3.0	3.3	3.0	57	-
6	60	2	2.0	3.3	0.3	54	-
7	60	5	3.0	2.0	0.3	32	-
8	60	3	3.0	3.3	0.1	44	-
9	60	1.5	3.0	3.3	0.5	64	-

3-3. 脱アセチル保護検討

化合物 **1c** の Ac 保護基の脱保護を検討した (Scheme 2-4)。一般的な Ac 保護基の脱保護法であるエタノールと塩酸を用いて脱保護を行ったところ速やかに反応は進行し、脱保護体 **1** の塩酸塩が 98%と高収率で見出された¹³。化合物 **1** の塩酸塩は水酸化ナトリウム水溶液中でのスラリー洗浄により脱塩し、中間体 **1** が 99%で合成できた。本法は高収率ではあるが、フリー体における取得時のろ過性が非常に悪いこと、更に脱塩工程が必要であることから作業効率性の面で課題があった。

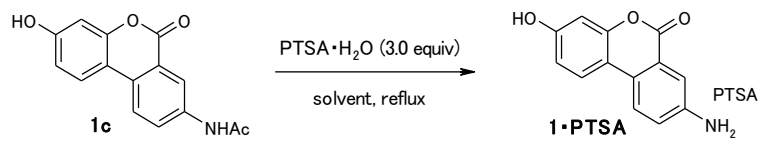
SEGRA 化合物 X の合成ルートにおいて、中間体 **1** の次工程の Skraup 反応の試薬として *p*-トルエンスルホン酸 (PTSA) を使用するが、PTSA を反応試薬として添加するのではなく、化合物 **1** の PTSA 塩においても Skraup 反応は収率を維持して **6** が得られることが明らかとなっている¹⁴。そこで、脱保護を PTSA で実施し、目的物を PTSA 塩とすることで脱塩工程の省略を計画した。

Scheme 2-4. 塩酸による脱保護、および PTSA による Skraup 反応



エタノール溶媒にて PTSA を 3 当量添加し、加熱攪拌したところ、脱保護が確認され、目的物の塩 **1·PTSA** が 81%で得られた (Table 2-6)。この際、出発原料の残存が 8%確認された (entry 1)。ここで PTSA 試薬の溶解性向上のために反応溶媒に水を添加したところ反応はスムーズに進行し、**1·PTSA** が 93%と高収率で得られることが明らかとなった (entry 2)。脱保護反応終了時の後処理は反応液を冷却し、析出した固体をろ取することで目的物が得られており、残存 PTSA は取得固体をエタノール洗浄することで除去可能であった。また PTSA 塩はフリー体 **1** と比較して明らかなる過性の向上が確認された。なお、水の添加量を増加した際には、反応後の冷却による固体析出量が低下し、それに伴う収率の低下が確認された (entry 3)。

Table 2-6. PTSA による脱 Ac 化検討



entry	solvent	ratio	Time (h)	yield (%)	comment
1	EtOH	-	25	81	原料残存 8%
2	EtOH/H ₂ O	15:2	23	93	-
3	EtOH/H ₂ O	15:5	23	72	-

3-4. Hurtley 反応の新規ルート適用可能性検討結果

これまでの重要中間体 **1** の合成検討において、Ac 保護体 **13c** を原料に使用し、Hurtley 条件 B を用いることで、化合物 **1c** が 65% で得られることが明らかとなった。また Ac 保護基は PTSA にて 93% と高収率で脱保護可能であり、ろ過性に優れ、また次工程で試薬の添加を省略可能な PTSA 塩として取得できることを見出した。これらの結果より Hurtley 反応を用いた本新規合成ルートは中間体 **1** (PTSA 塩として) の新規ルートとしての有用性が見出された。

4. Hurtley 反応の収率向上検討

ここまでの Hurtley 反応の検討でメディスナルルートと比較して効率的な合成ルートを見出した。ここで更なる改良を目的として Hurtley 反応の収率向上検討を実施した。

4-1. Hurtley 反応における共通不純物

Ac 保護基を有する化合物 **13c** の Hurtley 反応の検討において、これまでに目的物の他に複数の反応副生物が生成していることが明らかとなっている。そこで各副生物を単離しその構造を精査したところ¹⁵、本反応においては化合物 **A**、**B**、**C** が共通して副生している事が判明した (Figure 2-4)。なお副生物 **A** と **B** の構造は単離して ¹H NMR と MS スペクトルデータから推測した。副生物 **C** は単離体と市販品を ¹H NMR にて比較することで構造を特定している。本反応の転化率は目的物と副生体 **A**、**B**、**C** に対して高い割合を示し、収率向上のためにはこれらの副生をいかに抑制するかが鍵となる。

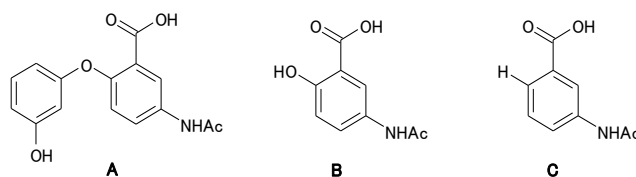


Figure 2-4. 副生物 **A**、**B**、**C** の構造式

4-2. 銅触媒スクリーニングによる収率向上検討

銅触媒を最適化するために、硫酸銅以外の触媒を用いて収率への影響を精査した。2 価の酢酸銅を用いて反応を行ったところ、収率は 57% となり、硫酸銅を用いた際より若干低下した (Table 2-7, entry 1, 2)。その原因は副生物 **A**、**B**、**C** がいずれも若干量増加したことが理由と考えられる。また 2 価の塩化銅を用いた際も若干の収率低下となり、entry 1 と比較し副生物 **A** と **C** の増量が認められた (entry 3)。続いて、1 価の臭化銅を用いて検討を行ったところ、収率は 58% と硫酸銅と比較して若干低下した (entry 4)。ここでヨウ化銅を用いると収率が 67% と向上した (entry 5)。この際はいずれの副生物の抑制傾向が見られた。

Table 2-7. Hurtley 反応における銅触媒のスクリーニング結果^a

entry	catalyst	yield (%)			
		1c ^a	A	B	C
1 ^b	CuSO ₄	65	13	16	3
2	Cu(OAc) ₂	57	15	17	5
3	CuCl ₂	60	16	16	5
4	CuBr	58	13	16	6
5	CuI	67	10	12	2

^a 副生物 **A**、**B**、**C** の収率は **1c** をろ別後のろ液に対する HPLC 測定により確認。^b Table 2-5, entry 3 における結果から引用。

4-3. 塩基スクリーニングによる収率向上検討

続いて水酸化ナトリウム以外の塩基を用いて収率に与える影響を精査した

(Table 2-8)。水酸化カリウムと水酸化リチウムを用いた際、水酸化ナトリウム使用時の収率 65%と比較して若干の収率の低下が確認されたが、同様の不純物プロファイルを示す結果となった (entry 1, 2, 3)。ここで炭酸カリウムを塩基に用いたところ、比較的弱塩基性であるにも関わらず、水酸化ナトリウムと同程度の収率が確認された (entry 4)。また炭酸ナトリウムを用いた際には 67%と収率が向上し (entry 5)、entry 4、5 のいずれにおいても副生物 **A**、**B** の生成を抑制していることが確認された。炭酸水素ナトリウムを用いた際には若干の収率低下が確認され、また炭酸リチウムを用いた際には 48%と大きく収率が低下した (entry 6, 7)。これらは出発原料 **13c** の残存が確認され、副生物も増加傾向が見られている。またトリエチルアミンを塩基に用いた際には出発原料 **13c** の残存と副生物 **B** の増加が確認され、ナトリウムエトキシドを用いた際には副生物 **A** と **B** が多く副生し、共に目的物の収率低下が確認された (entry 8, 9)。

Table 2-8. Hurtley 反応における塩基のスクリーニング結果

entry	base	yield (%)				
		1c	A	B	C	13c
1	NaOH	65	13	16	3	0
2	KOH	61	14	17	5	0
3	LiOH	59	13	19	5	0
4	K ₂ CO ₃	65	3	7	11	0
5	Na ₂ CO ₃	67	5	6	13	0
6	NaHCO ₃	59	9	11	10	6
7	Li ₂ CO ₃	48	11	13	15	2
8	Et ₃ N	43	14	25	11	7
9	NaOEt	50	17	22	5	0

4-4. 銅触媒と塩基のスクリーニング結果と不純物プロファイルの考察

これまでの結果において、収率を大きく向上する条件を見出すことはできなかったが、ここで各反応の不純物プロファイルに注目した。水酸化ナトリウムとヨウ化銅の組み合わせを用いた際、不純物 **C** の産生は 2%と抑制傾向が得られている (Table 2-7, entry 5)。また炭酸ナトリウムと硫酸銅の組み合わせを用いた

際の不純物は、硫酸銅と水酸化ナトリウムを用い、試薬当量を増加し 60°Cで反応を行う Hurlley 条件 B と比較し A を 5%、B を 6%と大きく抑制し C については 13%と比較的多く副生している傾向が得られている (Table 2-8, entry 5)。これらの結果から炭酸ナトリウムとヨウ化銅の組み合わせについて副生物の産生を相補的に抑制する可能性を見出し、その効果について検証した。

4-5. 炭酸塩基とヨウ化銅の組み合わせによる収率最適化検討

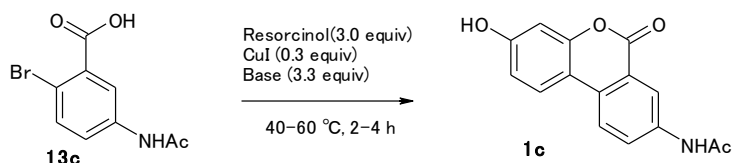
炭酸ナトリウム 3.3 当量、ヨウ化銅を 0.3 当量用いて 60°Cで反応を行ったところ副生物 A、B、C の生成を総合的に抑制し収率は 73%まで向上した (Table 2-9, entry 1)。また反応温度を 50°Cとした際には収率は 82%まで向上し、5 位にアミノ基類縁体を有する安息香酸誘導体において 80%を超える条件を見出した

(entry 2)。反応温度を 40°Cまで低下した際には、79%と若干の収率低下と原料の残存が確認され、50°Cにおける収率を超える結果は得られなかった (entry 3)。

また更なる検討のために、炭酸ナトリウム以外の炭酸塩基を用いて収率への影響の確認を行った。炭酸カリウムを用いた際には副生物の抑制が確認できたが収率は 78%と若干の低下が確認された (entry 4)。炭酸リチウムを用いた際には副生物 A と B の増加が確認され、収率は 47%と大きく低下した (entry 5)。また炭酸セシウムを用いた際には副生物 C の増加と原料の残存が確認され、収率は 50%と低下した (entry 6)。炭酸水素ナトリウムを用いた際には原料の残存が確認され、収率は 73%と低下する結果となった (entry 7)。炭酸水素カリウムを用いた際には副生物 B と C に大幅な増加が確認され、収率も 55%と低下した

(entry 8)。上記の結果より炭酸ナトリウムとヨウ化銅の組み合わせが最も高収率を与える組み合わせと考えられた。収率が 78%と若干の低下したものの、炭酸ナトリウムとほぼ同程度の結果が得られた炭酸カリウムにおいては、ナトリウムと比較し分子量が大きく使用重量の増加の観点からも炭酸ナトリウムより優先順位はやや劣る。上記の結果より、レゾルシノール **10** を 3 当量、炭酸ナトリウム 3.3 当量、そしてヨウ化銅を 0.3 当量用いて 50°Cで Hurlley 反応を行う、Hurlley 条件 C を見出した。

Table 2-9. ヨウ化銅を用いた Hurltley 反応における炭酸塩基の最適化検討



entry	temp (°C)	base	yield (%)					Hurltley 反応条件
			1c	A	B	C	13c	
1 ^a	60	Na ₂ CO ₃	73	6	7	6	0	-
2	50	Na ₂ CO ₃	82	5	7	5	0	条件 C
3	40	Na ₂ CO ₃	79	4	6	4	2	-
4	50	K ₂ CO ₃	78 ^b	4	6	6	0	-
5	50	Li ₂ CO ₃	47	10	15	7	0	-
6	50	Cs ₂ CO ₃	50	4	9	13	15	-
7	50	NaHCO ₃	73	5	7	7	4	-
8	50	KHCO ₃	55	6	14	17	0	-

^a副生物 A、B、C 以外に複数の未知不純物が合計 7%副生した。 ^bHPLC 定量収率。

5. 新規 Hurltley 条件による Hurltley 反応の適用範囲の拡大

炭酸塩基とヨウ化銅による組合せにより、Ac 保護体 **13c** における Hurltley 反応の収率向上を見出した。その条件は水酸化ナトリウムを使用し 100°C で加熱攪拌する Hurltley 条件 A や B と比較して弱塩基である炭酸ナトリウムを使用し、50°C と穏やかな条件が特徴である (Hurltley 条件 C、Table 2-10)。

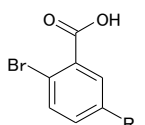
Table 2-10. Hurltley 条件 A、B、C

	Hurltley 条件 A	Hurltley 条件 B	Hurltley 条件 C
レゾルシノール当量	2.0	3.0	3.0
塩基 /当量	水酸化ナトリウム /2.0-2.2	水酸化ナトリウム /3.3	炭酸ナトリウム /3.3
銅触媒/当量	硫酸銅/0.05-0.15	硫酸銅/0.3	ヨウ化銅/0.3
温度 (°C)	100	60	50
収率 (%)	39	65	82

ここでこれまでに反応中での脱保護が確認されていた保護基や副生物を多く生成した BocNH 基、CbzNH 基そしてニトロ基を有する基質において再検討を実施した。その結果、従来条件 A では収率に再現性が見られなかった Boc 保護体

13a について Hurltley 条件 C では 73%と収率が向上し、加えて反応に再現性が得られた。(Table 2-11, entry 1)。続いてアミノ基を Cbz にて保護した化合物 **13b** に対して、従来の Hurltley 条件 A では 6%のベンジルアルコールを含む 44%で目的物 **1b** が得られていたが、Hurltley 条件 C による炭酸ナトリウムとヨウ化銅の組み合わせにおいては、脱保護は確認されず収率も 75%に向上した (entry 2)。更に副生物を多く生成し、痕跡量程度の目的物しか得られていなかったニトロ体 **14** においても、65%まで収率が向上した (entry 3)。本ヨウ化銅と炭酸ナトリウムの組み合わせによる Hurltley 反応条件 C は、従来法と比較し温和な条件であることから、高温や強塩基性に不安定なブロモ安息香酸誘導体に対して適用できる汎用性を有していると考えられた。

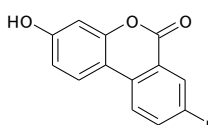
Table 2-11. Cbz 基、Boc 基そしてニトロ基を有する 2-ブロモ安息香酸における Hurltley 反応検討



13a: R = NHBoc
13b: R = NHCbz
14: R = NO₂

Hurltley 反応

→



1a: R = NHBoc
1b: R = NHCbz
5: R = NO₂

entry	R	Hurltley 条件 A	Hurltley 条件 C
1	NHBoc	33–65	73
2	NHCbz	44 ^a	75
3	NO ₂	Trace	65

^a ベンジルアルコール 6%を含む。

6. Hurltley 反応を適用したルート探索

これまでの研究により、5-アセトアミド-2-ブロモ安息香酸を用いて Hurltley 反応条件 C で反応を行えば、one-pot、収率 80%以上でベンゾクロメン-6-オン骨格が構築でき、また脱 Ac 化により高収率で中間体 **1** が合成できることが見出された。ここで、2-ブロモ安息香酸誘導体において更なる効率的ルートを探るために、アミノ類縁体置換基を有していない原料を用いて中間体 **1** を合成する可能性について検討した。

6-1. 5 位をハロゲン置換した 2-ブロモ安息香酸を用いた **1** の合成検討

5 位にブロモ基、ヨード基を有する化合物 **15**、**16** についてはサプライヤーが豊富に存在し¹⁶、5-アセトアミド-2-ブロモ安息香酸と比較し安価に調達できる可

能性があった。そこで本原料を用いて中間体 **1** の合成検討を行った (Table 2-12)。

ブロモ体 **15** を用いて Hurltley 反応を実施したところ、Hurltley 条件 B にて収率 90%、Hurltley 条件 C にて収率 87% で目的物 **17** が得られた (entry 1)。またヨード体 **16** を用いたところ Hurltley 条件 B にて収率 95%、Hurltley 条件 C にて収率 74% で反応が進行し (entry 2)、高収率で目的物 **18** が取得できることが明らかとなった。

Table 2-12. ブロモ基、ヨード置換基を有する 2-ブロモ安息香酸を用いた新規合成ルート検討

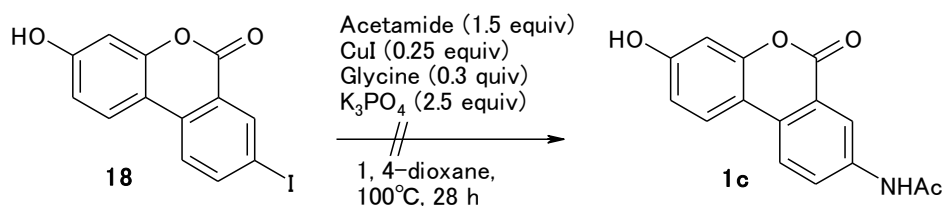
15: R = Br
16: R = I

17: R = Br
18: R = I

entry	R	収率 (%)	
		Hurltley 反応条件 B	Hurltley 反応条件 C
1	Br	90	87
2	I	95	74

上記の高収率結果を合成ルートに適用するために、化合物 **17**、**18** に対するアミノ置換基の導入を検討した。研究を始めた当時、アンモニアやその類縁体を用いて無置換のアミノ基を直接導入する反応例は高温やマイクロウェーブ使用等の特殊な条件が多く、適用に懸念があったことから¹⁶、より反応性の高いヨード体 **18** に対して、アセトアミドを用いたカップリング反応により化合物 **1c** の合成を検討した (Scheme 2-5)¹⁷。しかし本検討において反応は全く進行せず原料が回収される結果となり、目的物 **1c** を得る条件を見出すことはできなかった。本合成ルートは 5-アセトアミド-2-ブロモ安息香酸を用いる合成ルートと比較し、アミノカップリングの難易度に加え、脱保護によるステップ数増加の観点からもより効率的な製法になる可能性は低いと判断し、ここで検討は中断した。

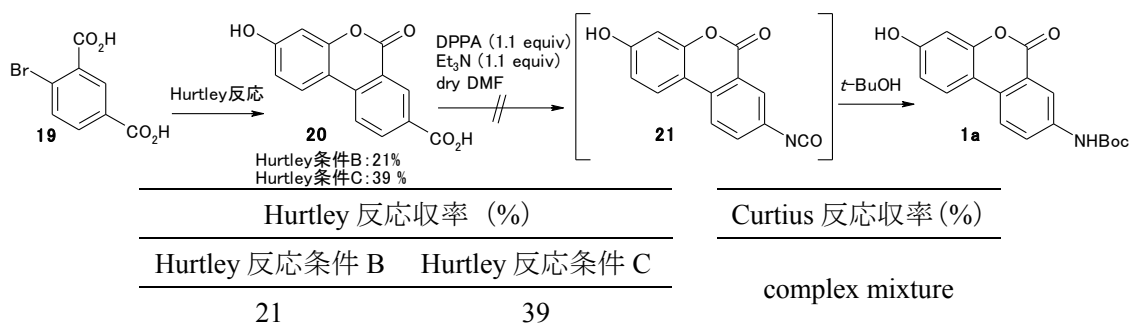
Scheme 2-5. 化合物 **18** とアセトアミドのカップリング反応と新規ルート検討



6-2. 5-カルボキシル-2-ブロモ安息香酸を用いた **1** の合成ルート検討

カルボキシル体 **20** は Curtius 反応にて、カルボキシル基の位置にアミノ基を導入できる可能性がある (Table 2-13)。そこで 5-カルボキシル-2-ブロモ安息香酸 **19** を用いて Hurltley 反応と Curtius 反応を行い新規ルートとするための検討を実施した。しかしジカルボキシル体 **19** を用いて、Hurltley 反応を行ったところ、Hurltley 反応条件 B にて収率 21%、条件 C にて 39% で目的化合物 **20** が得られ、低収率となった。また続く化合物 **20** を用いて Curtius 反応を行ったところ、DPPA を添加後、Curtius 転移体であるイソシアネート体 **21** の生成が確認できず、複雑な混合物を与える結果となり目的物 **1a** を得ることはできなかった。本法は効率的な新規ルートになる可能性は低いと判断し、ここで検討を中止した。

Table 2-13. Hurltley 反応と Curtius 反応を用いた新規ルート検討



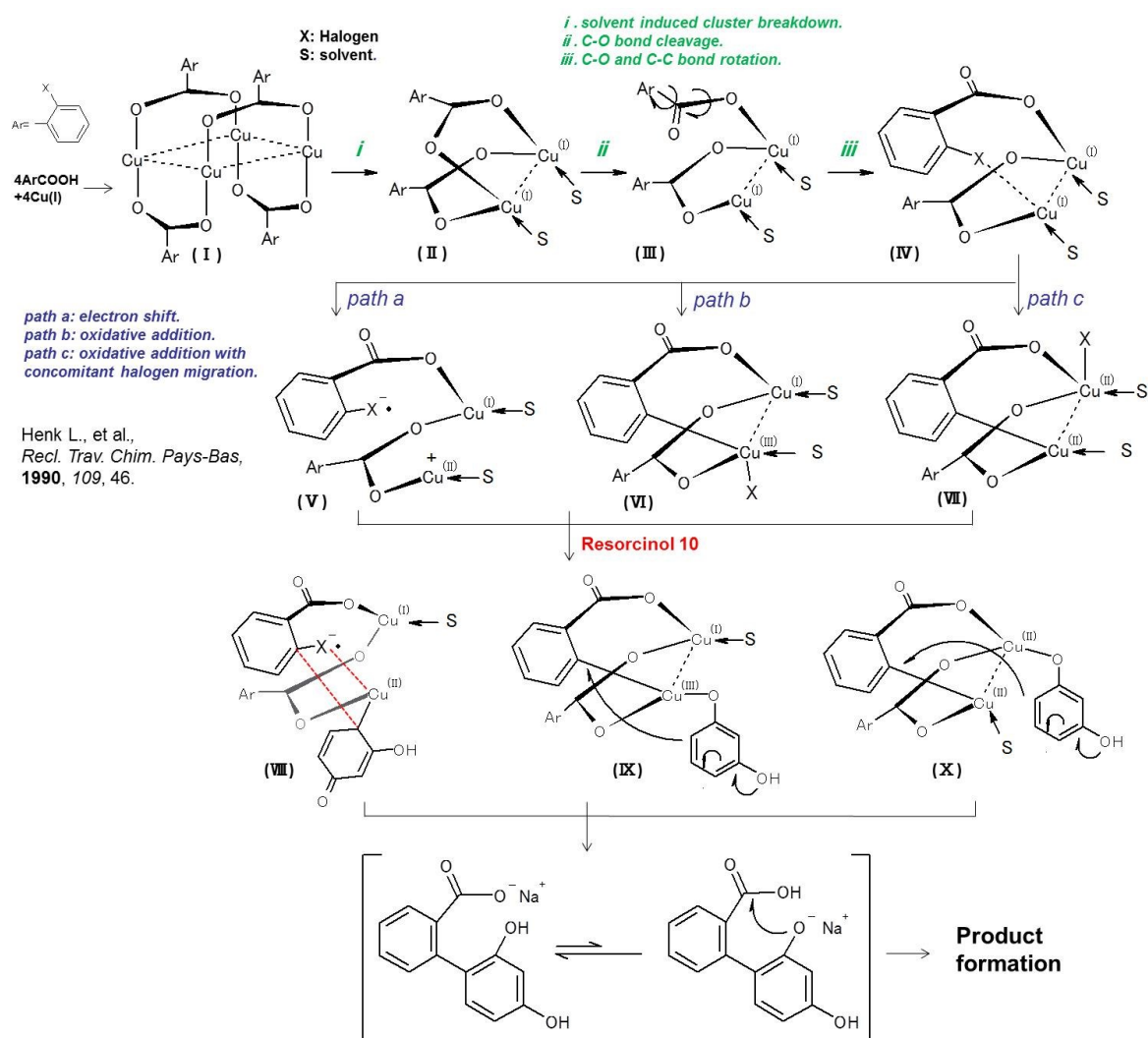
7. Hurltley 反応の推定反応機構と収率向上の考察

7-1. Hurltley 反応の反応機構

Hurltley 反応の反応機構について、Henk らにより 2-ハロ安息香酸と銅が 4 量体の安息香酸銅 (I) を最初に形成する機構が提唱されている (Scheme 2-6)¹⁸。4 量体は X 線結晶構造解析にてその存在が確認されているが、極性溶媒以外ではその構造を解離させることはできず、反応溶媒が水やエタノール等に限定される理由となっている。続いて溶媒によるクラスターの解離と炭素-酸素結合の開裂、そして炭素-炭素と炭素-酸素結合の回転により、反応中間体 (IV) を形成する。その後、Henk らは電子移動による経路 a と酸化的付加による経路 b そしてハロゲン移動に伴う酸化的付加の経路 c を提唱している。本反応機構については、2 価の硫酸銅と比較して 1 価のヨウ化銅を用いた際に収率が改善する結果が得られていることから、一般的に 1 価の銅におけるカップリング反応機構として提唱されている電子移動を経由する経路 a が有力と推察している。その後、

レゾルシノール **10** が銅に配位した後にレゾルシノールの 4 位と安息香酸誘導体の 2 位で炭素-炭素結合を形成すると推察している。続く分子内環化においては、分子内のフェノール性水酸基とカルボキシレートのナトリウム塩のプロトン交換の平衡において、カルボキシル基に対してナトリウムフェノキッドが反応することで環化が進行し、目的化合物を与えていると考えられる。

Scheme 2-6. Hurtley 反応の推定反応機構

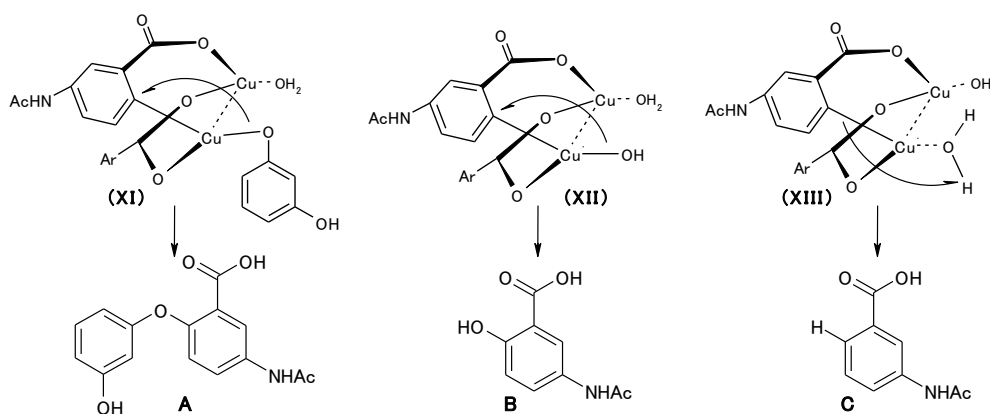


7-2. ヨウ化銅/炭酸ナトリウム系による収率向上の考察

上記の反応機構の path a, b, c を経て、レゾルシノール **10** が銅に付加し反応中間体 (**XI**) を形成した後、**10** の水酸基が炭素-酸素結合を形成することで副生物 A、溶媒である水が銅に配位し (**XII**)、炭素-酸素結合を形成することで副生物

B が生成すると考えられる (Scheme 2-7)。また副生物 **C** に関しては、レゾルシノール **10** や溶媒とカップリング反応することなく、反応中間体 (**XIII**) からプロトンと反応することで副生していると推察される。炭酸ナトリウムとヨウ化銅の組み合わせによる収率向上については、炭酸塩基は水酸化ナトリウムと比較し弱塩基性であることから、溶媒である水やレゾルシノール **10** の水酸基に対して求核性を比較的低下させることで炭素-酸素結合、即ち副生物 **A**、**B** を抑制していると推察される。しかし、炭素-炭素結合に対する反応を促進する効果も弱いため、プロトンと反応し副生物 **C** が比較的多く生成する。一方でヨウ化銅は炭素-炭素結合や炭素-酸素結合を形成するカップリングの効果が高く、副生物 **C** をほとんど副生しないが、副生物 **A** と **B** については抑制の効果はないと思われる。著者はこの組み合わせがお互いの効果を相補的に補うことで副生物を抑制し、収率の向上に繋がっていると推察した。

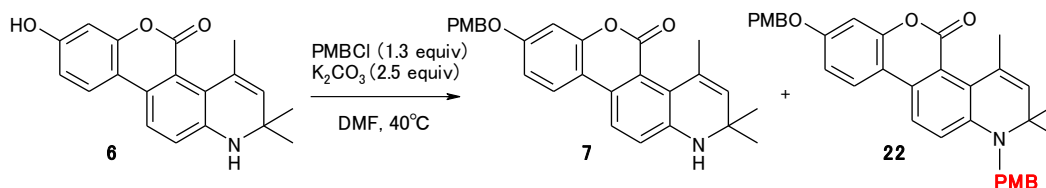
Scheme 2-7. 副生物 **A**、**B**、**C** の推定生成反応機構



8. 後工程における銅残存の影響

Hurtley 条件 C で得られた中間体 **1** を用いて SEGRA 化合物 **X** の合成を行ったところ、Hurtley 反応に用いたヨウ化銅の残存は、後工程であるフェノール性水酸基の PMB 保護化で *N*-PMB 体 **22** を増加させた (Scheme 2-8)^{14, 19}。*N*-PMB 体 **22** は脱 PMB 保護が困難であり収率の低下となること、また銅の残存量に依存した増加をすることから、その低減が安定的な製造の観点から大きな課題となった。そこで、Hurtley 反応後における銅の除去を検討した。

Scheme 2-8. PMB 保護化における目的物 **7** と *N*-PMB 体 **22** の構造式



8-1. 銅残存量の閾値の設定

検討を開始するにあたり、銅をどのレベルまで除去すれば *N*-PMB 化抑制の目的を達成できるかを確認するために、ヨウ化銅を添加した状態で *O*-PMB 化を行うスパイクテストを実施した(Figure 2-5)。PMBCl を 1.5 当量とやや過剰に加えた状態で、ヨウ化銅を重量比にして 0.76% (7,600 ppm)、0.09% (900 ppm)、添加なしの 3 条件で PMB 化反応を行った。その結果、原料消失時における *N*-PMB 体 **22** はヨウ化銅添加量が 0.76% の際に 3.7% (2h)、0.09% 添加の際には 3.1% (3h)、添加なしでは 2.6% (3h) と大きな変化は無かったが、24 時間ではヨウ化銅添加量が 0.76% の際に 15.9% と添加なし時の 8.2% と比較して 2 倍程度生成することが明らかとなった。しかしヨウ化銅が 0.09% の際には *N*-PMB 体は 10.6% と添加なしの際と大きな差は無いことから 900 ppm 以下に *N*-PMB 化の安全域があると考え、残存量がその 1/3 の値である 300 ppm を目標に銅の除去プロセスを検討することとした。

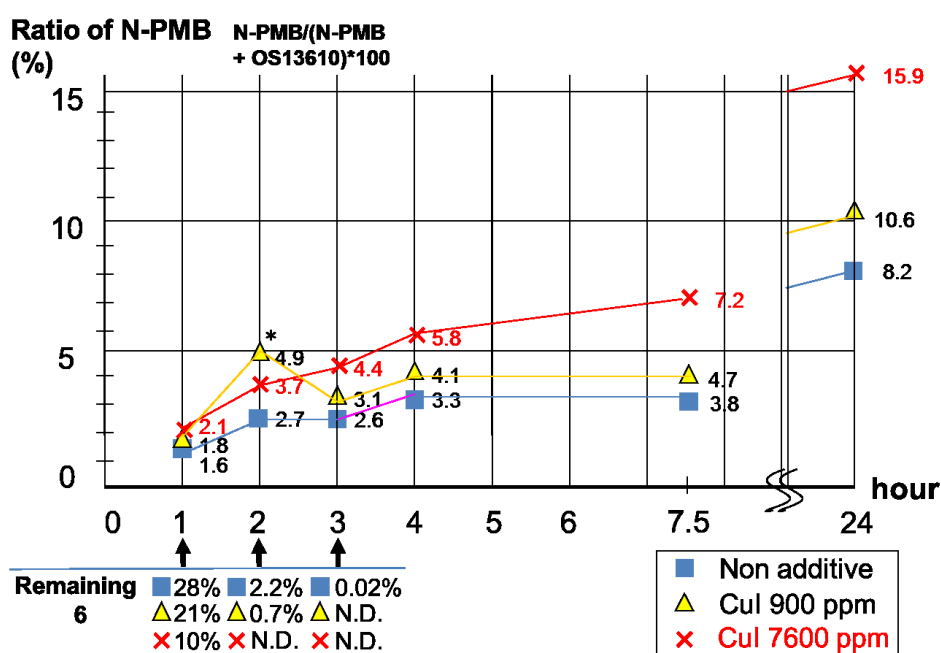


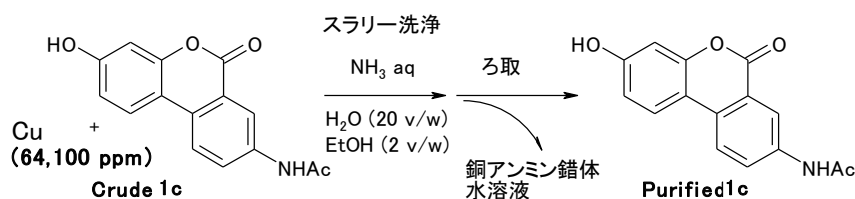
Figure 2-5. ヨウ化銅添加による *N*-PMB 体 **22** の副生量

8-2. アンモニア懸濁洗浄による銅の除去プロセスの確立

一般的に2価の銅は水溶性が高く、また塩酸等の酸性液に容易に溶解する傾向がある。2価の硫酸銅を用いた Hurlley 反応の際には塩酸で洗浄することで、10 ppm を下回る除去結果が得られていた。しかし1価のヨウ化銅については水や酸性溶液に対して難溶性を示す傾向があったことから、改めて銅を除去するための洗浄方法を検証した (Table 2-14)。ここで銅の含量確認法として、外部分析機関における誘導結合プラズマ分析 (ICP) による定量を採用した。また全サンプルを ICP 測定することは価格や時間の面から非効率的であることから、水質検査用のパックテストを用いた比色法による簡易検査も採用した²⁰。本パックテストにおいて定量は不可能であるが、除去傾向を色の濃度で即座に判別できるメリットがある。洗浄対象化合物として、ICP 定量にて 64,100 ppm (6.41%) の銅含量を有する化合物 **1c** (含量 80.2%) を用いて実施した。

6 M 塩酸とエタノールの 1:2 の混合溶媒を用いて、60°C、12 時間のスラリー攪拌を行った後、反応液をろ取し、取得固体の銅含量をパックテストで簡易測定したところ若干の除去効果が確認された。しかしその際の ICP 定量を行うと銅含量は 14,800 ppm と除去効果は示すものの大幅な残存が明らかとなり、塩酸による洗浄では困難であると考えた (entry 1)。続いて酸素存在下、銅はアンモニア水に溶性を示す文献例を参考にし²¹、アンモニア水を化合物 **1c** に対して 8 当量用いて懸濁洗浄を行った。その結果、簡易パックテストで銅は検出されず、明らかな除去効果を示したが、ろ液ロスによる収率低下 (70%) も同時に確認された (entry 2)。そこで銅の除去効果と収率を維持したアンモニア洗浄の条件探索を実施した。アンモニア 1 当量による懸濁洗浄の際には収率が 106% となりろ液ロスは低減されたが、簡易テストで銅の大幅な除去は確認されなかった (entry 3)。2 当量を用いた際、簡易テストで entry 3 と比較し銅の除去傾向が見出されたことから、ICP 測定による定量を実施したところ、7,800 ppm の残存となった (entry 4)。ここで攪拌時間を 1 時間から 3 時間まで延長したところ、ICP 定量にて 24 ppm まで残存を抑制することを見出し、収率も 96% と低下が抑制された (entry 5)。なお、アンモニア当量を 3 当量まで増加すると若干の収率低下傾向が見られた (entry 6)。以上より、アンモニア水のスラリー洗浄法 (アンモニア 2 当量、3 時間攪拌) は収率低下を抑制し、銅を除去可能な条件として妥当であると考えられた。

Table 2-14. スラリー洗浄法による銅除去プロセスの条件探索



entry	additive	equiv	time (h)	temp (°C)	yield (%) ^a	簡易テスト	ICP (ppm)
1	6M HCl/EtOH	15 v/w ^b (1:2)	12	60	116	+ ^c	14,800
2	28% NH ₃ aq	8.0	0.5	r.t.	70	—	^d
3	28% NH ₃ aq	1.0	1.0	r.t.	106	+ ^c	^d
4	28% NH ₃ aq	2.0	1.0	r.t.	97	+ ^c	7,800
5	28% NH ₃ aq	2.0	3.0	r.t.	96	—	24
6	28% NH ₃ aq	3.0	1.0	r.t.	91	—	^d

^aCrude **1c** の含量 80.2%に対する収率. ^b**1c**、**1g** あたりの体積. ^cパックテストの比色法にて銅除去傾向は確認. ^d未測定.

9. 製造コストについて

新規製法において試薬価格の観点から評価を行った²². 従来のメディシナルルートにおいて、1 kg の中間体 **1** を合成するために、全 3 工程で使用する試薬コストを見積もったところ 305,700 円となり、その大半をパラジウム触媒と BBr₃ が占めていた (Table 2-15)。一方で 1 kg の中間体 **1** を合成するために、新規合成ルート全 2 工程で用いた試薬コストを試算したところ、約 1/16 の 19,600 円となり、大幅な削減となった。

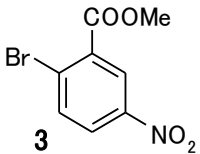
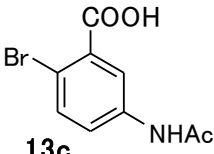
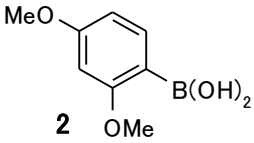
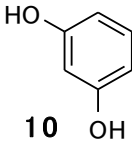
Table 2-15. 新旧合成ルートにおける中間体 **1**、1kg 製造の試薬コスト

		1 を 1 kg 製造するための試薬コスト(百円)			
		step 1	step 2	step 3	total
メディシナルルート	K ₂ CO ₃ (2.0 equiv)	15	BBr ₃ (3.0 equiv) 1756	Pd/C ^a 210	3057
	PdCl ₂ (PPh ₃) ₂ (0.05 equiv)	1041		H ₂ ^b 35	
新規合成ルート	Resorcinol (3.0 equiv)	29	PTSA (3.0 equiv) 149		196
	Na ₂ CO ₃ (3.3 equiv)	1			
	CuI (0.30 equiv)	17			

^aステップ 2、生成物 **5** に対し重量比で 10%使用. ^b化合物 **1** を 1 kg 製造において 400 L 使用した実績を採用.

また出発原料コストについては秘密保持の観点から調達価格の公開はできないが、メディシナルルートにおける出発原料 **3** と新規合成ルートにおける 5-アセトアミド-2-ブロモ安息香酸 **13c** は、1 kg あたり同程度の価格であった (Table 2-16)。またメディシナルルートの出発原料であるボロン酸 **2** はレゾルシノール **10** と比較し、1 kg あたりの価格は 70 倍以上高価であった。これらの価格情報から新規製法はコスト的に大きなメリットを有していることが明らかとなった。

Table 2-16. 新旧合成ルートにおける出発原料価格比較

メディシナルルート	価格差	新規合成ルート
 <p>3</p>	\doteq 同程度	 <p>13c</p>
 <p>2</p>	\gg 70 倍以上	 <p>10</p>

10. 小括ならびに考察

薬効と副作用が乖離した医薬品候補化合物である SEGRA 化合物 X について、高次の評価試験に大量使用するために効率的合成法が必要とされた。SEGRA 化合物 X の中間体 **1** の合成法においては、コストや環境面から大きな問題があることからその改良プロセス検討を行い以下の結論を見出した。

- ① 中間体 **1** の骨格構築法として安価な原料と反応剤かつ one-pot で合成できる Hurltley 反応に注目した。そこでアミノ基を有するブロモ安息香酸、及びその誘導体において検討を行い、アミノ基を Ac 保護すること、また反応試薬量を増加し 60°C で反応することで、65% で再現性良く Hurltley 反応が進行することを見出した。
- ② Hurltley 反応の収率向上検討において、共通して生成している副生物を抑制することが鍵となることを見出した。即ち塩基と銅触媒のスクリーニング検討により、炭酸ナトリウムとヨウ化銅の組み合わせを用いて 50°C で反応することで副生物の産生を抑制し、反応収率を 82% まで上昇させた。

- ③ Ac 保護基は、PTSA を用いる条件で容易に除去でき、反応後に得られる目的物 **1** の PTSA 塩は次工程の反応試薬として使用可能であった。また **1** のフリエーテルと比較し、**1** の PTSA 塩はろ過性に優れることも明らかとなり、大量合成に有利と考えられた。
- ④ ヨウ化銅の残存は後工程のフェノール性水酸基の PMB 保護において、*N*-PMB 体 **22** の副生を増加させることが明らかとなった。そこでスパイクテストにより **22** の副生を抑制できる安全域を調査し、900 ppm まで銅を除去することでその影響が抑えられることを見出し、残存の許容値を 300 ppm 以下に設定した。また精製法として、アンモニア水を用いた懸濁スラリー洗浄により、残存銅を 30 ppm 以下まで除去できることを見出した。
- ⑤ 新規合成ルートはメディスナルルートと比較して、出発原料と使用試薬コストの面で大きなメリットを有していた。

上記の知見から、Hurtley 反応を用いた中間体 **1** の新規製造ルートは効率的かつコスト面からも有用であると判断した。本法を用いて中間体 **1** の製造を行うことを決定した。

11. 参考文献等

- 1) (a) Sulek, K., *Wiad Lek*, **1968**, *21*, 1885. (b) Burns, C., *Rheum Dis Clin North Am*, **2016**, *42*, 1.
- 2) Schäcke, H., Döcke, W.D., and Asadulah, K., *Pharmacol. Ther*, **2002**, *96*, 23.
- 3) (a) Maibach, H.I., and Wester, R.C., *Int. J. Dermatol*, **1992**, *31*, 21. (b) McDonough, A.K., Curtis, J. R., and Saag, K.G., *Curr. Opin. Rheumatol*, **2008**, *20*, 131. (c) James, E.R., *J. Ocul. Pharmacol. Ther*, **2007**, *23*, 403. (d) Kersey, J. P., and Broadway, D.C., *Eye*, **2006**, *20*, 407.
- 4) ステロイドの選び方・使い方ハンドブック ; 山本一彦 ; 羊土社
- 5) Coghlan, M J., et al., *J. Med. Chem*, **2001**, *44*, 2879.
- 6) Evans, R. M., *Recent Prog. Horm. Res*, **1989**, *45*, 1.
- 7) Reichardt, H. M., Tuckermann, J.P., Göttlicher, M., et al., *EMBO J*, **2001**, *20*, 7168.
- 8) (a) Schäcke, H., Schottelius, A., Döcke, W.D., et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, **2004**, *101*, 227. (b) M. Kato, Y. Hagiwara, T. Ogawa, M. Miwa, H. Asada, M. Nakamura, *J. Ocul. Pharmacol*, **2011**, *27*, 353. (c) M. Matsuda, T. Mori, K.

- Kawashima, M. Nagatsuka, S. Kobayashi, M. Yamamoto, M. Kato, M. Takai, T. Oda, WO 2007/032556 A1. (d) M. Matsuda, M. Nagatsuka, T. Mori, S. Kobayashi, S. M. Kato, M. Takai, WO 2008/059865 A1. (e) M. Matsuda, M. Nagatsuka, T. Mori, S. Kobayashi, WO 2008/059867 A1. (f) Elmore S W., et al., *J. Med. Chem.*, **2001**, *44*, 4481.
- 9) Hurtley, W. R. H., *J. Chem. Soc.*, **1929**, 1870.
 - 10) (a) Krzeszewski, M, Vakuliuk, O, Gryko, D. T., *Eur. J. Org. Chem.* **2013**, *25*, 5631.
(b) Sun, W, Cama, L. D, Birzin, E. T, Warriier. S, Locco. L, Mosley. R, Hammond. M. L, Rohrer, S. P., *Bioorg. Med. Chem. Lett*, **2006**, *16*, 1468.
 - 11) 過去報告されている Hurtley 反応はレゾルシノール **10** が 2 当量、塩基が 2–2.2 当量、硫酸銅が 0.05–0.15 当量の使用が最も一般的であり、当量を増加させることで収率が改善する報告は筆者の知る限りされていない。
 - 12) ¹H NMR にて Hurtley 反応後の副生物の生成比率を比較して確認した。副生物の同定はこの検討時には行っていない。
 - 13) Greene's Protective Groups in Organic Synthesis, 4th Edition; Peter G. M. Wuts; Wiley.
 - 14) 一般的な Skraup 反応では、アセトン溶媒でヨウ素を用いて反応を行うが、SEGRA 化合物 X の製造法では PTSA と 2,2-ジメトキシプロパンを用いた改良条件を採用している。A. Ohno, K. Kudou, T. Katsuhira, WO/2014/098046 A1.
 - 15) 副生物 **A**、**B**、**C** の単離は、Hurtley 反応後に目的物 **1c** を取得したろ液から抽出操作により取得した。詳細は実験項参照。
 - 16) SciFinder[®]、Reaxys[®] 調査結果
 - 17) W. Deng, et al., *Tetrahedron Lett*, **2004**, *45*, 2311.
 - 18) (a) Henk, L., et al., *Inorg. Chem.*, **1989**, *28*, 4140. (b) Henk, L., et al., *Organometallics*, **1989**, *8*, 2293. (c) Henk, L., et al., *Recl. Trav. Chim. Pays-Bas*, **1990**, *109*, 46.
 - 19) 化合物 **22** の構造は MS スペクトルデータから推測した。
 - 20) 共立理化学研究所の水質検査用パックテストを使用。テストチューブに測定液を加え混合後、1 分間で銅の濃度に比例してオレンジ色の濃度が濃くなる。測定濃度の範囲は 0.5 ppm から 10 ppm. 0.5、1、2、3、5、10 ppm の 6 ポイントに比色対象の標準色が設置されている。
 - 21) Proceedings of the Symposium on Interconnect and Contact Metallization; Harzara S. Rathore; Electrochemical Society.
 - 22) 実際に製造用として購入した価格から算定した。

第2章 実験の部

^1H 核磁気共鳴スペクトル (^1H NMR) と ^{13}C 核磁気共鳴スペクトル (^{13}C NMR) は、日本電子社 (JEOL) の JNM-GSX400 (400 MHz) 又は JNM-ECP500 (500 MHz) により、テトラメチルシラン (TMS) を内部標準として測定した。赤外吸収スペクトル (IR) はパーキンエルマー社 (Perkin Elmer) の Spectrum One 1600 Series FTIR により、臭化カリウム錠剤法により測定した。融点はビュッヒ社 (Büchi) の Büchi 535 で測定した。質量分析はアジレントテクノロジーズ社 (Agilent Technologies) の HP 1100 series LC/MS system によりエレクトロスプレーイオン化法 (ESI、ポジティブ及びネガティブモード) にて測定した。ICP は株式会社住化分析センターに依頼し測定した。HPLC はウォーターズ社 (Waters) の Waters alliance series もしくは日立社の Hitachi LaChrom series にて、カラムにエクスブリッジ社 (X Bridge) の C8 column (3.5 μm ; 4.6 mm I.D. \times 150 mm) を用いて測定した。測定溶媒: 0.05% TFA 水溶液、0.05% TFA/MeCN 溶液 (85:15)、アイソクラティック条件、カラム温度 25°C、流速: 1.0 mL/min、波長: 215 nm、10 μL インジェクション。保持時間: **13** (3.2 min)、レゾルシノール **10** (3.4 min)、副生物 **B** (4.0 min)、副生物 **C** (4.3 min)、**1** (6.0 min)、**13c** (8.4 min)、副生物 **A** (12.8 min)、**1c** (18.7 min)。

使用試薬及び溶媒

実験に使用した試薬及び溶媒は特に記載のない限り、既知化合物、市販の試薬及び溶媒を使用した。

Hurtley 反応条件 A による一般的合成法

5-アセトアミド-2-ブロモ安息香酸 **13c** (1.0 equiv)、レゾルシノール **10** (2.0 equiv)、4 M 水酸化ナトリウム水溶液 (2.2 equiv) の混合物に 5-アセトアミド-2-ブロモ安息香酸 **13c** の重量に対して、10–20 倍量となる体積の水を加え、100°C で加熱攪拌した。100°C にて 10% 硫酸銅水溶液 (0.05 equiv) を加え、0.5–3 時間加熱攪拌した。反応液を放冷後、2 M 塩酸で弱酸性とし、析出固体をろ取した。固体を更に水で洗浄後、50°C にて減圧乾燥し目的化合物 **1c** を取得した。

Hurtley 反応条件 B による一般的合成法

5-アセトアミド-2-ブロモ安息香酸 **13c** (1.0 equiv)、レゾルシノール **10** (3.0 equiv)、4 M 水酸化ナトリウム水溶液 (3.3 equiv) の混合物に 5-アセトアミド-2-ブロモ安息香酸 **13c** の重量に対して、10–20 倍量となる体積の水を加え、60°C で加熱攪拌した。60°C にて 10% 硫酸銅水溶液 (0.3 equiv) を加え、1–3 時間加熱攪

拌した。反応液を放冷後、2 M 塩酸で弱酸性とし、析出固体をろ取した。固体を更に水で洗浄後、50°Cにて減圧乾燥し目的化合物 **1c** を取得した。

Hurtley 反応条件 C による一般的合成法

5-アセトアミド-2-ブロモ安息香酸 **13c** (1.0 equiv)、レゾルシノール **10** (3.0 equiv)、炭酸ナトリウム (3.3 equiv) の混合物に 5-アセトアミド-2-ブロモ安息香酸 **13c** の重量に対して、10–20 倍量となる体積の水を加え、50°Cで加熱攪拌した。50°Cにてヨウ化銅 (0.3 equiv) を加え、1–24 時間加熱攪拌した。反応液を放冷後、6 M 塩酸で酸性とし、析出固体をろ取した。固体を更に水で洗浄後、50°Cにて減圧乾燥し目的化合物 **1c** を取得した。

アンモニア水洗浄による銅除去法

重量比率にて 19.8%の銅を含有する 8-アセトアミド-3-ヒドロキシ-6*H*-ベンゾ[c]クロメン-6-オン **1c** (5.00 g, 18.6 mmol) と水 (125 mL) の懸濁液に室温下、28%アンモニア水 (2.51 mL, 37.1 mmol) を加え室温にて 3 時間攪拌した。固体をろ過して 2 M 塩酸 (20 mL)、水 (5 mL) そしてエタノール (5 mL) で洗浄後、減圧乾燥して精製 **1c** を得た (3.84 g、収率 76.7%、銅含有量控除収率：95.6%)。

8-アセトアミド-3-ヒドロキシ-6*H*-ベンゾ[c]クロメン-6-オン (**1c**)

市販化合物である 5-アセトアミド-2-ブロモ安息香酸 **13c** (0.200 g, 0.775 mmol) を出発原料として用い、Hurtley 反応条件 C により 4 時間加熱攪拌し、化合物 **1c** を無色固体として得た (0.171 g、収率 81.9%)。

$^1\text{H NMR}$ (400 MHz, DMSO-*d*₆): δ 2.10 (s, 3H), 6.74 (d, $J = 2.4$ Hz, 1H), 6.83 (dd, $J = 8.8, 2.4$ Hz, 1H), 8.00 (dd, $J = 8.8, 2.4$ Hz, 1H), 8.08 (d, $J = 8.8$ Hz, 1H), 8.21 (d, $J = 8.8$ Hz, 1H), 8.50 (d, $J = 2.4$ Hz, 1H), 10.25 (s, 1H), 10.32 (s, 1H). $^{13}\text{C NMR}$ (100 MHz, DMSO-*d*₆): δ 24.06, 102.91, 109.49, 113.13, 118.13, 119.38, 122.50, 124.26, 126.14, 130.08, 138.74, 151.50, 159.22, 160.56, 168.72. IR (KBr): cm^{-1} 3339, 3252, 3187, 1717, 1665, 1619, 1600, 1548, 1490, 1458, 1408, 1370, 1312, 1274, 1165, 1129, 1026, 896, 836, 777, 726, 632. HRMS: calcd for C₁₅H₁₁NO₄ [M^+]: 269.0688. Found: 269.0687. Mp: 340–353 °C decomposed.

8-アミノ-3-ヒドロキシ-6*H*-ベンゾ[c]クロメン-6-オン・PTSA (**1**・PTSA)

8-アセトアミド-3-ヒドロキシ-6*H*-ベンゾ[c]クロメン-6-オン **1c** (10.0 g, 37.1 mmol)、エタノール (200 mL)、PTSA・H₂O (21.2 g, 0.111 mol) の混合液を内温 80°Cで 23 時間加熱攪拌した。反応終点確認後、反応液を氷冷し 5°C以下で 1 時間攪拌し、析出した固体をろ取した。ろ取物を更にエタノールで洗浄し、50°C

にて減圧乾燥させることで表記化合物 **1**•PTSA を淡黄色固体として得た (13.6 g、収率 91.7%)。

^1H NMR (500 MHz, DMSO- d_6) δ : 2.29 (s, 3H), 6.76 (d, J = 2.4 Hz, 1H), 6.85 (dd, J = 8.9, 2.4 Hz, 1H), 6.97 (br s, 3H), 7.11–7.14 (m, 2H), 7.50 (dt, J = 8.0, 1.8 Hz, 2H), 7.57 (dd, J = 8.9, 2.4 Hz, 1H), 7.84 (d, J = 2.4 Hz, 1H), 8.08 (d, J = 8.9 Hz, 1H), 8.22 (d, J = 8.9 Hz, 1H), 10.24 (s, 1H). ^{13}C NMR (100 MHz, DMSO- d_6): δ 20.83, 103.03, 109.22, 113.34, 119.95, 120.57, 123.52, 124.64, 125.53, 128.11, 128.27, 131.97, 135.66, 138.14, 145.04, 151.77, 159.71, 160.27. IR (KBr): cm^{-1} 3327, 2927, 2648, 2016, 1737, 1623, 1547, 1495, 1462, 1369, 1325, 1275, 1209, 1174, 1127, 1011, 901, 845, 817, 778, 726, 689. HRMS: calcd for $\text{C}_{13}\text{H}_9\text{NO}_3$ [M^+ – PTSA]: 227.0582. Found: 227.0581. Mp: 300 °C decomposed.

8- (*tert*-ブトキシカルボニルアミノ) -3-ヒドロキシ-6*H*-ベンゾ[*c*]クロメン-6-オン (**1a**)

2-ブロモ-5- (*tert*-ブトキシカルボニルアミノ)安息香酸 **13a** (0.300 g, 0.949 mmol) を出発原料として用い、Hurtley 反応条件 C により 3 時間加熱攪拌し反応液を氷冷後、中和を行わずにろ過することで表記化合物 **1a** を無色固体として得た (0.226 g、収率 72.6%)。

^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ : 1.51 (s, 9H), 6.74 (d, J = 2.2 Hz, 1H), 6.82 (dd, J = 8.8, 2.2 Hz, 1H), 7.86 (dd, J = 8.8, 2.2 Hz, 1H), 8.06 (d, J = 8.8 Hz, 1H), 8.17 (d, J = 8.8 Hz, 1H), 8.41 (d, J = 2.2 Hz, 1H), 9.79 (s, 1H), 10.22 (s, 1H). MS (ESI): 326 [$\text{M}-\text{H}$] $^-$. IR (KBr): cm^{-1} 3351, 2983, 1710, 1701, 1627, 1575, 1536, 1518, 1498, 1457, 1394, 1370, 1318, 1273, 1247, 1157, 1124, 1061, 1008, 907, 860, 843, 818, 779, 728, 627.

8-ベンジルオキシカルボニルアミノ-3-ヒドロキシ-6*H*-ベンゾ[*c*]クロメン-6-オン (**1b**)

5-ベンジルオキシカルボニルアミノ-2-ブロモ安息香酸 **13b** (0.201 g, 0.575 mmol) を出発原料として用い、Hurtley 反応条件 C により 6 時間加熱攪拌し、表記化合物 **1b** を黄色固体として得た (0.155 g、収率 74.7%)。

^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ : 5.20 (s, 2H), 6.74 (d, J = 2.2 Hz, 1H), 6.83 (dd, J = 8.8, 2.2 Hz, 1H), 7.34–7.47 (m, 5H), 7.91 (dd, J = 8.8, 2.2 Hz, 1H), 8.07 (d, J = 8.8 Hz, 1H), 8.21 (d, J = 8.8 Hz, 1H), 8.38 (d, J = 2.2 Hz, 1H), 10.20 (s, 1H), 10.24 (s, 1H). MS (ESI): 360 [$\text{M}-\text{H}$] $^-$. IR (KBr): cm^{-1} 3309, 1724, 1699, 1623, 1593, 1553, 1489, 1461, 1411, 1358, 1314, 1260, 1163, 1135, 1092, 1008, 979, 903, 863, 849, 813, 778, 734, 694, 667.

3-ヒドロキシ-8-ニトロ-6*H*-ベンゾ[*c*]クロメン-6-オン (5)

市販化合物である 2-ブロモ-5-ニトロ安息香酸 **14** (0.191 g, 0.775 mmol) を出発原料として用い、Hurtley 反応条件 C により 3 時間半加熱攪拌し、表記化合物 **5** を黄色固体として得た (0.129 g、収率 64.8%)。

$^1\text{H NMR}$ (400 MHz, DMSO- d_6) δ : 6.81 (d, $J = 2.3$ Hz, 1H), 6.91 (dd, $J = 8.8, 2.3$ Hz, 1H), 8.29 (d, $J = 8.8$ Hz, 1H), 8.50 (d, $J = 9.0$ Hz, 1H), 8.61 (dd, $J = 9.0, 2.5$ Hz, 1H), 8.82 (d, $J = 2.5$ Hz, 1H), 10.76 (s, 1H). MS (ESI): 256 [M-H] $^-$. IR (KBr): cm^{-1} 3367, 3204, 3080, 1745, 1716, 1675, 1626, 1581, 1518, 1477, 1452, 1342, 1240, 1199, 1152, 1123, 1075, 1009, 922, 857, 777, 750, 718, 702, 641.

8-ブロモ-3-ヒドロキシ-6*H*-ベンゾ[*c*]クロメン-6-オン (17)

市販化合物である 2, 5-ジブロモ安息香酸 **15** (0.217 g, 0.776 mmol) を出発原料として用い、Hurtley 反応条件 C により 6 時間加熱攪拌し、表記化合物 **17** を無色固体として得た (0.197 g、収率 87.4%)。

$^1\text{H NMR}$ (500 MHz, DMSO- d_6) δ : 6.76 (d, $J = 2.4$ Hz, 1H), 6.85 (dd, $J = 8.9, 2.4$ Hz, 1H), 8.05 (dd, $J = 8.9, 2.4$ Hz, 1H), 8.18 (d, $J = 8.9$ Hz, 1H), 8.24 (d, $J = 8.9$ Hz, 1H), 8.25 (d, $J = 2.4$ Hz, 1H), 10.45 (s, 1H). MS (ESI): 291 [M+H] $^+$, 293 [M+2+H] $^+$, IR (KBr): cm^{-1} 3298, 1702, 1631, 1599, 1471, 1455, 1372, 1314, 1280, 1233, 1172, 1124, 1009, 981, 896, 838, 776, 723, 624.

3-ヒドロキシ-8-ヨード-6*H*-ベンゾ[*c*]クロメン-6-オン (18)

市販化合物である 2-ブロモ-5-ヨード安息香酸 **16** (0.200 g, 0.613 mmol) を出発原料として用い、Hurtley 反応条件 C により 5 時間加熱攪拌し、表記化合物 **18** を茶色固体として得た (0.154 g、収率 74.1%)。

$^1\text{H NMR}$ (400 MHz, DMSO- d_6) δ : 6.75 (d, $J = 2.4$ Hz, 1H), 6.85 (dd, $J = 8.8, 2.4$ Hz, 1H), 8.06 (d, $J = 8.5$ Hz, 1H), 8.16 (d, $J = 8.8$ Hz, 1H), 8.18 (dd, $J = 8.5, 1.7$ Hz, 1H), 8.43 (d, $J = 1.7$ Hz, 1H), 10.43 (s, 1H). MS (ESI): 339 [M+H] $^+$. IR (KBr): cm^{-1} 3308, 1701, 1626, 1603, 1468, 1452, 1398, 1312, 1279, 1203, 1171, 1125, 967, 838, 810, 778, 723, 680, 625.

8-カルボキシル-3-ヒドロキシ-6*H*-ベンゾ[*c*]クロメン-6-オン (20)

市販化合物である 4-ブロモイソフタル酸 **19** (2.00 g, 8.16 mmol) を出発原料として用い、Hurtley 反応条件 C により 6 時間加熱攪拌し、表記化合物 **20** を茶色固体として得た (0.811 g、収率 38.8%)。

$^1\text{H NMR}$ (400 MHz, DMSO- d_6) δ : 6.78 (d, $J = 2.2$ Hz, 1H), 6.88 (dd, $J = 8.8, 2.2$ Hz, 1H), 8.22 (d, $J = 8.8$ Hz, 1H), 8.32 (dd, $J = 8.4, 1.8$ Hz, 1H), 8.37 (d, $J = 8.4$ Hz, 1H),

8.68 (d, $J = 1.8$ Hz, 1H), 10.56 (s, 1H), 13.25 (s, 1H). MS (ESI): 255 [M-H]⁻. IR (KBr): cm^{-1} 3382, 1721, 1691, 1615, 1452, 1424, 1332, 1308, 1268, 1245, 1194, 1121, 1009, 863, 833, 784, 769, 751, 723, 671.

2-ブロモ-5- (*tert*-ブトキシカルボニルアミノ) 安息香酸 (**13a**)

5-アミノ-2-ブロモ安息香酸 **13** (25.8 g, 0.119 mol) と水 (78 mL) の混合物に 4 M の水酸化ナトリウム水溶液 (30 mL, 0.120 mol) と二炭酸ジ-*tert*-ブチル (36 mL, 0.157 mol) を加え、室温で 40 時間攪拌した。反応液を氷冷し 1 M 塩酸 (120 mL, 0.120 mol) を加えて中和し、酢酸エチル (400 mL)、水 (250 mL) を加えて抽出した。有機層を飽和塩化ナトリウム水溶液 (200 mL) で洗浄後、濃縮し、得られた固体を *n*-ヘキサンと酢酸エチルの混合溶媒 (*n*-ヘキサン : 酢酸エチル = 100:1, 200 mL) で洗浄後、乾燥して標記化合物 **13a** (34.5 g、収率 91.7%) を得た。

¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 1.47 (s, 9H), 7.46 (dd, $J = 8.8, 2.6$ Hz, 1H), 7.56 (d, $J = 8.8$ Hz, 1H), 7.92 (d, $J = 2.6$ Hz, 1H), 9.66 (s, 1H), 13.36 (s, 1H). MS (ESI): 314 [M-H]⁻, 316 [M+2-H]⁻.

5-ベンジルオキシカルボニルアミノ-2-ブロモ安息香酸 (**13b**)

5-アミノ-2-ブロモ安息香酸 **13** (3.00 g, 13.9 mmol) と水 (35 mL) の混合物に 4 M の水酸化ナトリウム水溶液 (3.65 mL, 14.6 mmol)、クロロギ酸ベンジル (3.95 mL, 27.8 mmol) を加え、室温で 18 時間攪拌した。反応液を氷冷し 6 M 塩酸 (2.5 mL, 15.0 mmol) を加えて中和しろ過した。ろ取物を水 (10 mL)、トルエン (5 mL) で洗浄後、乾燥して標記化合物 **13b** (4.29 g、収率 88.2%) を得た。

¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 5.16 (s, 2H), 7.33–7.45 (m, 5H), 7.51 (dd, $J = 8.8, 2.6$ Hz, 1H), 7.61 (d, $J = 8.8$ Hz, 1H), 7.91 (d, $J = 2.6$ Hz, 1H), 10.08 (s, 1H), 13.37 (s, 1H). MS (ESI): 348 [M-H]⁻, 350 [M+2-H]⁻.

2-ブロモ-5- (4-メトキシベンジル) アミノ安息香酸 (**13d**)

5-アミノ-2-ブロモ安息香酸 **13** (1.00 g, 4.63 mmol)、炭酸カリウム (1.60 g, 11.6 mmol) と DMF (20 mL) の混合物に氷冷下、塩化パラメトキシベンジル (0.712 mL, 5.23 mmol) を加え、室温で 6 時間攪拌した。反応液を氷冷し 6 M 塩酸 (2.5 mL, 15.0 mmol) を加えて中和し、酢酸エチル (100 mL)、水 (100 mL) を加えて抽出した。有機層を水 (50 mL) と飽和塩化ナトリウム水溶液 (50 mL) で洗浄後、濃縮しシリカゲルカラムクロマトグラフィーで精製することで標記化合物 **13d** (0.704 g、収率 45.2%) を得た。

¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 3.76 (s, 3H), 5.22 (s, 2H), 5.55 (s, 2H), 6.62 (dd, $J =$

8.8, 2.9 Hz, 1H), 6.92 (d, $J=2.9$ Hz, 1H), 6.96 (dt, $J=9.3, 2.6$ Hz, 2H), 7.28 (d, $J=8.8$ Hz, 1H), 7.40 (dt, $J=9.3, 2.6$ Hz, 2H).

2-ブロモ-5-メタンスルホニルアミノ安息香酸 (**13e**)

5-アミノ-2-ブロモ安息香酸 **13** (2.04 g, 9.45 mmol)、ピリジン (2.00 mL, 24.8 mmol) と THF (40 mL) の混合物に氷冷下、塩化メタンスルホニル (1.08 mL, 13.9 mmol) と THF (20 mL) の混合物を加え、氷冷下で3時間攪拌した。反応液を濃縮し、酢酸エチル (200 mL) と 2 M 塩酸 (100 mL) を加えて抽出した。有機層を水 (100 mL) と飽和塩化ナトリウム水溶液 (100 mL) で洗浄後、濃縮し得られた固体を酢酸エチル (10 mL) で洗浄後、乾燥して標記化合物 **13e** (0.795 g、収率 28.6%) を得た。

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, DMSO- d_6) δ : 3.04 (s, 3H), 7.26 (dd, $J=8.6, 2.6$ Hz, 1H), 7.56 (d, $J=2.6$ Hz, 1H), 7.67 (d, $J=8.6$ Hz, 1H), 10.08 (s, 1H), 13.50 (s, 1H).

5-アセトアミド-2-(3-ヒドロキシ)フェニルオキシ安息香酸 (副生物 A)

5-アセトアミド-2-ブロモ安息香酸 **13c** を用いて Hurltley 反応を行い、目的化合物 **1c** をろ取後のろ液に酢酸を加えて pH を中性に調整し、更に酢酸エチルを加えて抽出した。有機層に 0.1 M 水酸化ナトリウム水溶液を加え抽出し分液した。分液後の水層に 1 M 塩酸を加え弱酸性とし、酢酸エチルを加えて抽出し有機層を水、飽和塩化ナトリウム水溶液で洗浄後に濃縮した。得られた固体を 50°C で乾燥することで、表記副生物 **A** を単離した。

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, DMSO- d_6) δ : 2.05 (s, 3H), 6.20 (t, $J=2.3$ Hz, 1H), 6.28 (dd, $J=8.2, 2.3$ Hz, 1H), 6.43 (dd, $J=8.2, 2.3$ Hz, 1H), 7.02 (d, $J=8.7$ Hz, 1H), 7.08 (t, $J=8.2$ Hz, 1H), 7.74 (dd, $J=8.7, 2.7$ Hz, 1H), 8.08 (d, $J=2.7$ Hz, 1H), 9.47 (s, 1H), 10.11 (s, 1H), 12.86 (s, 1H). MS (ESI): 288 [M+H] $^+$.

5-アセトアミド-2-ヒドロキシ安息香酸 (副生物 B)

5-アセトアミド-2-ブロモ安息香酸 **13c** を用いて Hurltley 反応を行い、目的化合物 **1c** をろ取後のろ液に酢酸を加えて pH を中性に調整し、更に酢酸エチルを加えて抽出した。抽出後の水層に塩酸を加えて酸性とし、酢酸エチルを加えて抽出した。有機層を水、飽和塩化ナトリウム水溶液で洗浄後に濃縮し、得られた固体を 50°C で乾燥することで、表記副生物 **B** を単離した。

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, DMSO- d_6) δ : 2.01 (s, 3H), 6.90 (d, $J=9.0$ Hz, 1H), 7.64 (dd, $J=9.0, 2.6$ Hz, 1H), 8.08 (d, $J=2.6$ Hz, 1H), 9.88 (s, 1H), 10.97 (s, 1H), 13.96 (br s, 1H). MS (ESI): 196 [M+H] $^+$.

3-アセトアミド安息香酸 (副生物 C)

5-アセトアミド-2-ブロモ安息香酸 **13c** を用いて Hurlley 反応を行い、目的化合物 **1c** をろ取後のろ液に酢酸を加えて pH を弱酸性に調整し、更に酢酸エチルを加えて抽出した。有機層を濃縮し乾燥することで、副生物 C を含む混合物を得た。副生物 C は市販品の 3-アセトアミド安息香酸の ^1H NMR データと比較し構造を決定した。

^1H -NMR (DMSO- D_6) δ : 2.06 (s, 3H), 7.41 (t, $J = 7.7$ Hz, 1H), 7.60 (d, $J = 7.7$ Hz, 1H), 7.81 (d, $J = 7.7$ Hz, 1H), 8.21 (s, 1H), 10.12 (s, 1H), 11.07 (s, 1H).

第3章 Hurtley 反応を用いた新規合成法のスケールアップ検討と製造

1. 序論

1-1. スケールアップ検討の意義

医薬品は必要とされる患者さんに安定的に届けられる必要があり、その製造販売を行う者は安定的に製品を供給する義務を有している。医薬品の有効成分である原薬は、品質を担保した上で必要時期に必要な量の供給を行うために、真に有効な製造プロセスの確立が求められる。例え非常に優れた活性を有する原薬が創出されたとしても、長期間でごく少量しか製造できない限られた供給となる際には、患者さん全てへの供給やコスト増大による負担の観点で懸念となる。スケールアップにおいてはそのゴールとなる商用生産にて 10,000 L を超える大型の反応釜を用いて、500–1,000 kg のスケールで製造を行うことで、大量の原薬や中間体を短期間で供給することが可能となり、その意義は大きい。

第2章で中間体 **1** の新規合成ルートを見出し、従来法と比較し収率、コスト、工程数の観点から有用な製法であると考えられた。本章ではその製法のスケールアップにより、開発研究において十分に原薬を供給可能となる 100 kg スケール製造の検討と更なる商用スケールのために再現性の確認や、安全性そして作業効率の評価を実施した。なおスケールアップに際しては下記①から③のスケールにおいて段階的に増加させることで、収率や品質面に与える影響や安全性の評価を行った。

- ① 百グラムスケールにおけるラボスケールアップ検討
- ② キログラムスケールにおける実機製造検討
- ③ 中間体 **1** を 100 kg 以上製造する本製造

2. 百グラムスケールにおけるスケールアップ、ラボ検討

2-1. Hurtley 反応と銅精製プロセス検討

スケールアップ初期検討として 187 g の出発原料 **13c** を用いて合成を行い、反応の再現性、安全性評価そして作業性について調査した (Table 3-1)。

・Hurtley 反応仕込み時

化合物 **13c**、市水、レゾルシノール **10** の懸濁液に炭酸ナトリウムを固体で一

括添加したところ、原料のカルボキシル基と炭酸塩基の中和反応で、激しい炭酸ガスの発泡が観測されスケールアップ時には安全性に懸念があると考えられた。反応液を 50°C に昇温した際、反応液は溶液状となった。その後ヨウ化銅を添加した際は、温度上昇は観察されず、安全性に関して懸念は見られなかった。

- ・反応

反応液は銅触媒を加えた後、直ちに目的物が析出して懸濁液となり、7 時間で終点設定した残存出発原料 1.5% 未満となった。なお反応時間の延長による影響を精査するために 21 時間継続して攪拌を実施したが、副生物の増加等の影響は確認されなかった。

- ・反応後処理工程（粗体取得）

析出した目的物 **1c** を減圧下、ろ紙とブフナー漏斗を用いて取得したが、この際ろ過性が非常に悪く、作業時間が非常に長くなることが懸念された。ここで実製造時には遠心分離作業を行うことを想定し、小型の遠心ろ過器を用いてろ過を行ったところ、通液性は問題なかった。

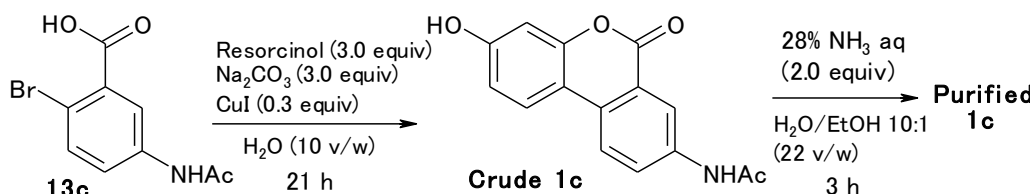
- ・銅精製工程（アンモニア洗浄）

Hurtley 反応で得られた粗体に水、エタノール、アンモニア水を添加しスラリー洗浄を 3 時間行った。攪拌終了後、ろ過性が非常に悪いことが確認されたが、遠心分離機を用いれば問題ないと判断した。

- ・結果（収率、純度、銅含量）

精製体 **1c** は 146.6 g 取得され、収率は 75.6% となった。銅残存は ICP 定量測定の結果 28 ppm の残存となった。この時 HPLC 純度は 99.59% となり、副生物は完全に除去されレゾルシノール **10** のみ含有が確認された。

Table 3-1. 百グラムスケールにおける再現性検討と結果



Hurtley 反応			アンモニア洗浄		
出発原料・使用試薬	使用量	mol	出発原料・使用試薬	使用量	mol
化合物 13c	187 g	0.724	化合物 1c	生成物全量	-
Resorcinol 10	239 g	2.17	28% NH ₃ aq	88.1 g	1.45
Na ₂ CO ₃	253 g	2.39	水	4.00 L	-
CuI	41.4 g	0.217	EtOH	400 mL	-
市水	2.00 L	-	-	-	-
			収量・収率 (1c)	146.6 g・75.6%	
			HPLC 純度	99.59%	
			銅定量値 (ICP) :	28 ppm	

2-2. 脱アセチル化反応

・反応仕込み時

60 g の化合物 **1c** とエタノール、市水の混合液に PTSA を添加した。添加の際、反応液に発熱は観測されなかった。反応液は、攪拌に問題ない程度の懸濁液となった (Table 3-2)。

・反応

内温 80°C にて攪拌し反応の進行をモニタリングしたところ、小スケール時と同程度の反応速度で進行が確認され、反応 17 時間で原料残存が 7.8% となった。ここで反応が停滞した際の対応策として 1 当量の PTSA を追加することで反応速度への影響を調査したところ、反応速度の向上が確認され、添加後 4 時間で終点設定した原料残存率 1.0% 未満が確認された。

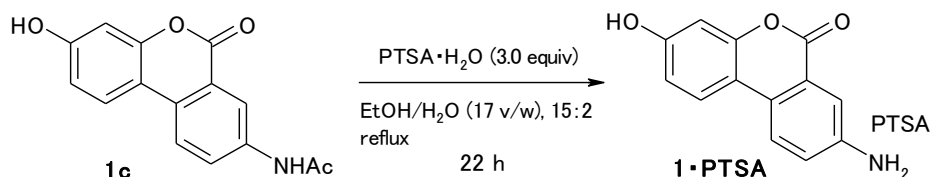
・反応後処理工程 (粗体取得)

反応終点確認後に冷却した際、目的物 **1** の PTSA 塩が析出した。固体をろ取した際にろ過性は非常に良好であることが確認された。

・結果 (収率、純度、銅含量)

77.1 g の固体 **1**・PTSA が取得され、収率は 86.5% となった。純度は HPLC に
 において目的物と PTSA 以外の不純物は確認されず、PTSA と目的物の比は HPLC
 にて 1:1 で取得された。

Table 3-2. 60 g の化合物 **1c** を用いた脱保護検討と結果



出発原料・使用試薬	使用量	mol
化合物 1c	60.0 g	0.223
PTSA · H ₂ O	127 g	0.669
PTSA · H ₂ O (追加分)	42.3 g	0.223
EtOH	900 mL	-
市水	120 mL	-
収量・収率 (1 ・PTSA)	77.1 g · 86.5%	
HPLC 純度	100%	
1 :PTSA	1:1	

2-3. 百グラムスケール合成の考察

187 g の原料 **13c** を用いて Hurltley 反応を検討した結果、収率は数十ミリから
 数グラムスケールにて検討した際と同等の結果となった。反応時間の延長に対
 しても特に問題となる要素は確認されていない。銅の除去工程において、小ス
 ケール時とほぼ同様に除去効果が認められ (28 ppm)、目標とした 300 ppm を大
 大きく下回る精製効果が確認された。また反応時の安全性について、発熱は認め
 られなかったことから、大きな懸念にはならないと判断した。しかし炭酸ナト
 リウムを一括で添加する際の発泡は事故の原因になるため、分割添加が必要と
 考えられた。ろ過性に関しては懸念が生じたが、遠心分離機を用いてろ過する
 ことで、問題ないと判断した。

脱 Ac 化においては、スケールアップによる反応への影響は確認されなかった。
 また反応後の PTSA 塩の取得において、ろ過性が良好なことも確認された。収
 率、HPLC 純度、PTSA 塩比率からも小スケールと比較して再現性を有し、問題
 ないと考えられた。

上記の結果より、百グラムスケールにおいても本反応は再現性を有しており
 更なるスケールアップが可能と判断した。

3. キログラムスケールを用いた実機製造検討

3-1. 実機による Hurlley 反応とアンモニア洗浄による銅精製

実製造の 1/5 スケールを想定した 23 kg の出発原料 **13c** を用いて、実機により製造を行い再現性や問題の評価を行った (Table 3-3)。

・反応仕込み

炭酸ナトリウム添加時の発泡抑制のために分割添加を行った。その際に固体の炭酸ナトリウム添加では、不溶成分が残存することが懸念されたため、炭酸ナトリウム水溶液を別途調製し添加した。その結果、発泡については泡の消失を確認してから順次添加することで、コントロールは可能であった。

・Hurlley 反応

内温を 50°C に加熱し、ヨウ化銅を添加した。この際に発熱は全く観測されなかった。反応は 5 時間で終点を迎え、スケールアップに伴う反応の遅延は確認されなかった。反応中の副生物の生成割合もラボレベルとほぼ同等となった。反応液はペースト状の懸濁状態が確認された。

・反応後処理工程 (粗体取得)

反応後にろ過を行った。ペースト状の懸濁液はろ過性が悪く、遠心分離機を用いても 5 時間程度のろ過時間を要する結果となった。遠心分離機の設備の大きさには限度があり、今後のスケールアップ時のろ過工程の作業効率面で懸念となった。

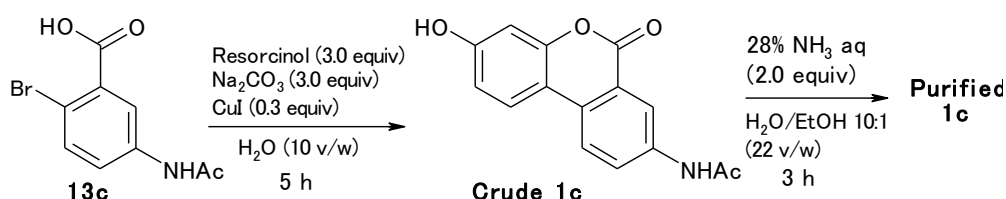
・銅精製工程 (アンモニア洗浄)

Hurlley 反応で得られた湿固体 **1c** に対してアンモニア水を用いて残存銅の除去を行った。ラボ検討時と同様に 3 時間の懸濁攪拌を実施しろ過を行った際、取得固体 **1c** に青色の帯状の着色が確認され、ICP にて銅の定量を行ったところ 5400 ppm の残存となった。目標値である残存閾値 300 ppm を大きく逸脱していたことから、再度同じ洗浄条件にて精製を実施した。しかし再精製後の固体について銅定量結果は 3100 ppm の残存となり、再洗浄による効果は低い結果となった。また再洗浄によるスラリー攪拌時間延長は固体の粒度を細粒化し、ろ布漏れや目詰まりの原因となった。結果として、ろ過時間の大幅な延長に繋がり、10 時間に及ぶ作業時間を要した。

・結果（収率、純度、銅含量）

1c 取得固体量は 13.5 kg、収率は 56.3 %となった。収率の低下の原因は、ろ布漏れによる 8.8%のロスとアンモニア処理を繰り返したことによる化合物 **1c** の溶解ロスが原因となった。HPLC による目的物純度は 99.42 %となり、レゾルシノール **10** が 0.15 %と 0.05%程度の未知不純物が 2 種類確認された。銅含量定量値は前述の通り、3100 ppm と設定閾値を大きく逸脱する結果となった。

Table 3-3. 23 kg の出発原料 **13c** を用いた実機検討と結果



Hurtley 反応			アンモニア洗浄		
出発原料・使用試薬	使用量(kg)	mol	出発原料・使用試薬	使用量 (kg)	mol
化合物 13c	23.0	89.1	化合物 1c	生成物全量	-
resorcinol 10	29.4	267	28% NH ₃ aq	10.8	178
Na ₂ CO ₃	31.1	294	市水	460 L	-
CuI	5.09	26.7	EtOH	46 L	-
市水	230 L	-			
			収量・収率 (1c)	13.5 kg・56.3%	
			HPLC 純度	99.42%	
			銅定量値 (ICP)	3100 ppm	

3-2. 実機による脱アセチル化工程

前工程で得られた化合物 **1c** を 13.5 kg 用いて、脱 Ac 化工程を行った (Table 3-4)。

・反応仕込み、反応

化合物 **1c** を 13.5 kg 用いて脱 Ac 化を実施した。化合物 **1c**、エタノール、水の懸濁液に PTSA 水和物を添加したところ、発熱は確認されず問題なく仕込みは

可能であった。内温 75°C から 85°C で加熱攪拌を行い、反応 26 時間で目標とする残存出発物質 1% 以下 (0.84%) を確認した。

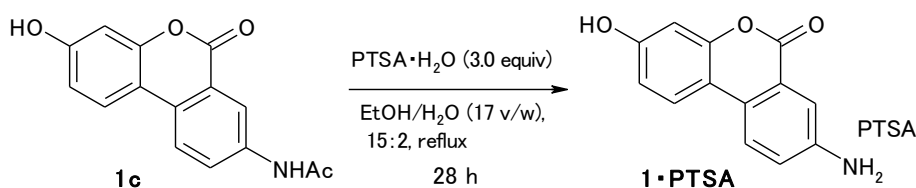
・後処理

反応終点確認後、0 から 10°C に冷却し固体を析出させ、再結晶溶媒中の目的物 **1** 定量値が 10% 未満となったところで (定量値 : 7.62%) 遠心分離して目的物を取得した。ろ過性は非常に良好であった。

・結果

1・PTSA の取得固体量は 18.0 kg、収率 90.2% となった。HPLC 純度は目的物と PTSA 以外に不純物は確認されなかった。また **1** と PTSA 塩比率について HPLC にて 1:1 であることが確認された。銅含量については ICP 定量により、2200 ppm の残存が確認された。

Table 3-4. 13.5 kg の化合物 **1c** を用いた実機検討と結果



製造設備

GL 製反応釜 : 1000 L、攪拌翼

遠心分離機 : SUS 製 36 inch、ろ布

コニカルドライヤー

脱保護反応

出発原料・使用試薬	使用量 (kg)	mol
化合物 1c	13.5	50.1
PTSA · H ₂ O	28.5	150
EtOH	200 L	-
市水	27 L	-
収量・収率 (1 ・PTSA)	18.0 kg・90.2%	
HPLC 純度	100%	
1 :PTSA (HPLC)	1:1	
銅定量値 (ICP)	2200 ppm	

3-3. キログラムスケールを用いた実機製造検討結果と考察

23 kgにおける実機製造において、Hurtley 反応と Ac 基の脱保護は反応の再現性を有していた。しかし銅の除去工程においては、目標とする残存閾値である 300 ppm を大きく逸脱し、5400 ppm の残存が明らかとなった。措置対応として再度アンモニア水にてスラリー洗浄を行ったが、3100 ppm の残存が確認され、措置の効果は得られなかった。一方でスラリー洗浄を繰り返すことで、細粒化によるろ過性の悪化に伴い、遠心分離機を用いたろ過においても多大なる過時間を要する結果となった。スラリー洗浄においては目的物粒子に内包された銅を除去することが必要であり、スケールが増大した際には、小スケールと同様の攪拌時間では十分にその除去ができないことが原因と考えられた。しかしろ過性の観点からこれ以上ろ過時間を延長することは困難であり、今後更なるスケールアップを行う状況において、本精製法は製造プロセスとして成立しないと判断された。

4. 実製造に向けた課題の解決

4-1. 新規銅除去プロセスの開発

実機スケール試作にて、アンモニア水を用いたスラリー洗浄では小スケール結果の再現性が得られなかった。その原因として、懸濁という不均一状態でスラリー洗浄することは、スケールが増大した際に固体粒子の内部まで万遍なく洗浄が行き渡る効果を維持できないことにあると考えた。そこでスケールアップ時に頑健性を確保するために、均一系の溶解状態にて除去プロセスを確立することが問題解決の重要要素と考え、検討を実施した。

化合物 **1c** を溶解することで、抽出法やろ過による銅の洗浄が可能と考えられたが、化合物 **1c** は過剰の DMF や DMSO 溶媒以外には極めて難溶性を示し、また高極性である DMF と DMSO 溶液から化合物 **1c** の高収率の回収は困難であった。しかし更なる化合物 **1c** の溶解検討を行った結果、興味深いことに、水酸化ナトリウム水溶液に対して溶解性を示すことが明らかとなった。ここで銅を 6.41%含有する化合物 **1c**、1 g のクルード体重量に対し、1 M の水酸化ナトリウム水溶液を 20 倍体積量用いて溶解させたところ、目視にて金属状の不溶成分を含む混合液となった。そこでろ過により不溶物を除去して銅の残存量を ICP にて定量したところ、21 ppm まで残存量を低下できることが明らかとなった。また銅を除去後のろ過液については酸性にすることで化合物 **1c** を回収率 97.5% で取得可能であり、本法は新規の銅除去プロセスとして有用である可能性が見出

された。なお化合物 **1c** の溶解に関しては、**1c** のフェノール性水酸基のナトリウム塩となり溶解しているのではなく、化学変換を伴うことで溶解性の化合物になっていると推察した。そこで溶解液の $^1\text{H NMR}$ 測定、また MS による分子量分析を行ったところ、溶解中の化合物塩はラクトン環が開環した化合物 **23** であることが示唆された (Figure 3-1)。

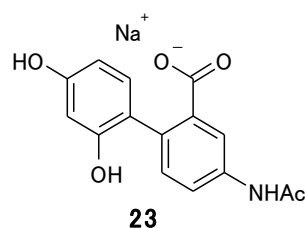


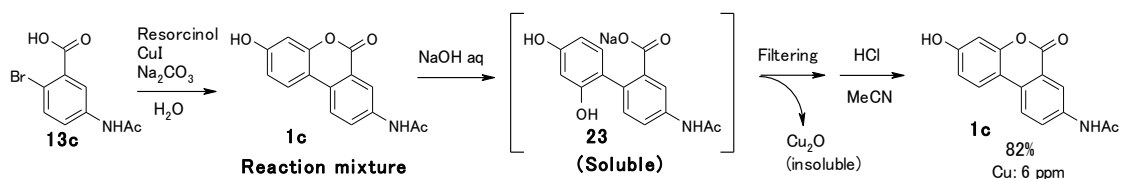
Figure 3-1. 開環体 **23** の構造式

4-2. 銅精製プロセス効率化検討

上記の検討において、銅を含む化合物 **1c** を水酸化ナトリウム溶液に溶解し、不溶の銅をろ過にて除去可能なことを見出されたため、Hurtley 反応後にクルードの **1c** を取得して溶解する精製プロセスは可能と考えられたが、ここで作業効率化のために、Hurtley 反応後の懸濁液に直接水酸化ナトリウム水溶液を加えることで one-pot で溶解し、ろ過による銅精製を行う製法の可能性を検証した

(Scheme 3-1)。Hurtley 反応の終点を確認後、20 倍量¹の 1 M 水酸化ナトリウム水溶液を系内に加え、50°C で攪拌することで目的物 **1c** を完全に溶解させた。セライト®を用いて反応液をろ過した後に、固体析出時にレゾルシノール **10** 除去に効果を有するアセトニトリル溶媒を 3 倍量^{1,2}添加し、酸を加えて環化させ、その後析出した固体をろ取することで化合物 **1c** を取得した。収率 82%、HPLC 純度は 95.4% となり、収率を維持し比較的高い純度で化合物 **1c** が得られることを見出した。この際、銅の残存は 6 ppm と精製効果も維持しており、本プロセスは有用であると判断した。

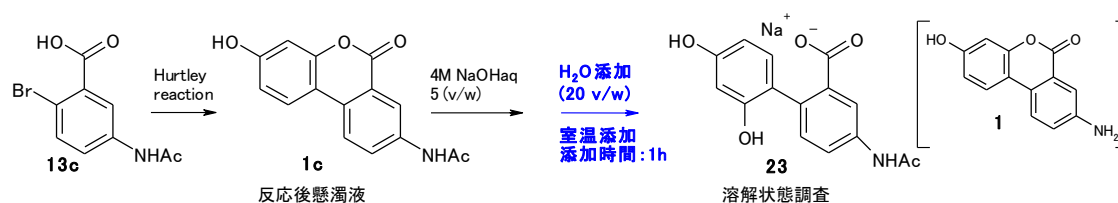
Scheme 3-1. Hurtley 反応後の one-pot における銅精製プロセス検討³



4-3. 安定した除去プロセス確立検討

Hurtley 反応後に one-pot で行う銅除去プロセスにおいて、化合物 **1c** は開環体 **23** となって溶解するが、化学平衡は環化体に大きく偏っており、安定した溶解状態を確立しない際にはすぐに化合物 **1c** は不溶物として析出し、銅のろ過時に収率の低下に繋がることが懸念された。100 キログラムを超える製造においてはろ過に時間を要することが想定され、反応後に **1c** を溶解してから銅をろ過するまでの安定した溶解状態を保つための条件設定が重要と考えられた。そこで Hurtley 反応後の懸濁液に水酸化ナトリウム水溶液と水を添加した際の溶解液中の開環体 **23** の定量収率を継時的に調査し溶解状態の挙動を精査した (Table 3-5)。反応後 50°C にて室温の 4 M 水酸化ナトリウム水溶液 (5 倍量¹) と水 (20 倍量¹) を添加し、継時的に定量収率を調査したところ、添加後 1 時間で 42.8% と低い値を示し 3 時間後においても 60% に達しなかった (entry 1)。室温の水を添加することで内温が下がり、定量収率の低下に繋がったと考えられ、温度が重要なパラメータであると考えられた。ここで反応後の温度を 60°C とし、内温が 50°C 以上を保つように 4 M 水酸化ナトリウム水溶液 (5 倍量¹) と水 (20 倍量¹) を滴下して定量収率を調査したところ、添加後の 1 時間から 74.3% と高い定量収率となり、その後 6 時間経過しても 70% 以上を維持することが明らかとなった (entry 2)。終夜攪拌後の 20 時間で 64.3% まで定量収率の低下が確認されたが、その原因は脱 Ac 化の進行であることが明らかとなった。化合物 **1** は次工程の目的物であることから混入自体に問題は無いが、**1** のろ過性に対する影響や次工程の反応仕込み量を一定にする観点から過度の副生はコントロールすることが必要と考えられた。開環体 **23** の定量収率の調査において、反応温度を 70°C とした際には、添加後 1 時間から 70% を超えることはなかった (entry 3)。この定量収率の低下は脱 Ac 化の生成速度が速いことが原因と判明した。これらの結果より、化合物 **1c** の溶解においては一定以上の温度が定量収率の維持に重要であるが、70°C では脱保護の促進が速いことが確認された。

Table 3-5. 温度と開環体 **23** 定量収率の経時変化^a

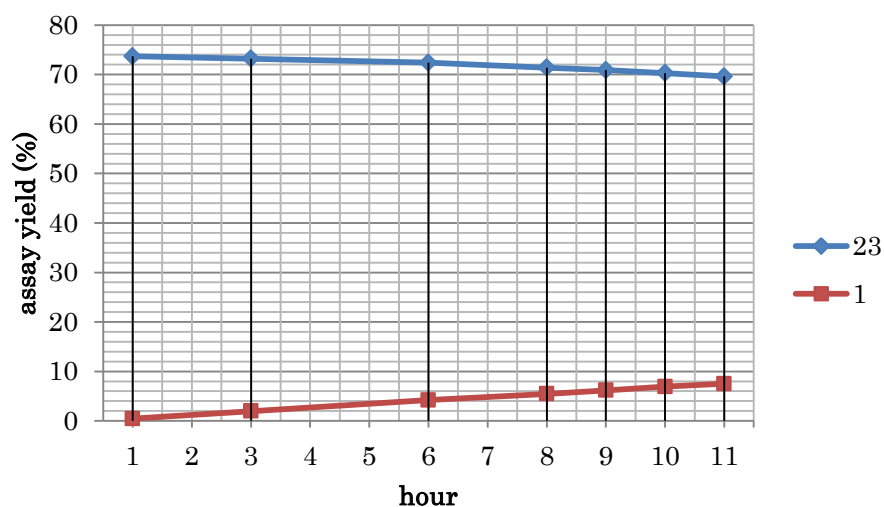


entry	4 M NaOH aq 添加量 (倍量 ¹)	攪拌温度 (°C)	23 の定量収率 % (脱保護体 1 %)			
			1 h	3 h	6 h	20 h
1	5	50	42.8	59.6	-	50.9
2	5	60	74.3 (1.5)	72.7 (2.2)	71.4 (4.1)	64.3 (12.8)
3	5	70	68.3 (6.8)	65.7 (9.5)	63.6 (12.7)	50.6 (31.9)

^a 定量収率の測定方法：溶解液をサンプリングし、素早くメンブレンフィルター ($\phi=45\mu\text{m}$) でろ過した液を塩酸で酸性とした後に HPLC で定量し、その濃度から定量収率を算出した。

上記の結果から Hurltley 反応後の懸濁液を 60°C に加熱して、内温を維持した状態で水酸化ナトリウム溶液と水を加えることが溶解状態維持に最適と考えられた。ここで上記の溶解条件において、大量スケールにおけるろ過時間が 10 時間と想定しその時間における **23** の定量収率と脱保護体 **1** の副生状況をより詳細に精査した。その結果、添加後 10 時間まで 70.3% の定量収率を維持していることが明らかとなった。10 時間後の脱保護率は 6.93% となり、この程度の含有はろ過性には問題を与えないと判断し、本プロセスは実施可能であると判断した (Chart 3-1)。

Chart 3-1. 開環体 **23** の溶解定量収率の経時変化



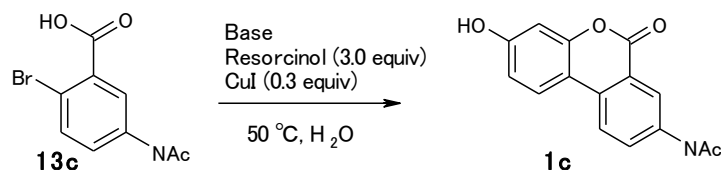
反応時間 (h)	1	3	6	8	9	10	11
23 の定量収率 (%)	73.7	73.2	72.4	71.4	70.9	70.3	69.6
脱保護体 1 の定量収率 (%)	0.44	1.98	4.19	5.47	6.18	6.93	7.50

【添加条件】60℃にて4 M NaOH aq 5 倍量¹を10分かけて滴下（内温 60.5～59℃）、続いて60℃に加熱した水 20 倍量¹を10分かけて滴下（内温 60～56℃）。

4-4. 炭酸抑制検討

反応仕込み時に炭酸の中和による発泡が大量スケール時の作業安全性に対して懸念となっていた。そこで出発原料 **13c** のカルボキシル基に対して、水酸化ナトリウムを等モル量加えあらかじめカルボキシル基をナトリウム塩とすることが発泡対策で有用と考えられた (Table 3-6)。従来法では、塩基として3.3当量の炭酸ナトリウムを使用していたが (entry 1)、1.0当量の水酸化ナトリウムを用いて原料を中和し、その後炭酸ナトリウムを2.3当量添加し反応を行ったところ、発泡は観測されず、また収率は84%と若干向上することが明らかとなった (entry 2)。ここで水酸化ナトリウム添加において添加量の許容値を精査した。水酸化ナトリウムを0.8当量添加し、2.5当量の炭酸ナトリウムを加えた際、80%と若干の収率低下傾向が見られた (entry 3)。また水酸化ナトリウムを1.5当量、炭酸ナトリウムを1.8当量添加して検討したところ、水酸化ナトリウムを1当量添加時とほぼ同等の収率83%で得られる結果となったが (entry 4)、水酸化ナトリウムを2当量まで増量した際には64%と大幅な収率低下が観測された (entry 5)。これらの結果より、1.0当量の水酸化ナトリウム添加は発泡抑制に効果があり、かつ収率向上傾向があることが明らかとなった。また若干の添加量が増減しても収率に与える影響は少ないと判断され、改良プロセスとして成立すると判断した。

Table 3-6. 水酸化ナトリウムと炭酸ナトリウムの併用における Hurtley 反応収率の影響調査



entry	NaOH (equiv)	Na ₂ CO ₃ (equiv)	time (h)	yield (%)
1(従来法)	-	3.3	12	82
2	1.0	2.3	24	84
3	0.8	2.5	24	80
4	1.5	1.8	24	83
5	2.0	1.3	24	64

5. 出発原料 130 kg を用いた本製造

これまでの検討結果を踏まえ、化合物 **13c** を出発原料として 130 kg 用いて、本製造を実施した。反応設備には、体積と工程作業を考慮して隣接された 6000 L と 4000 L の反応釜を併用した。また銅のろ過工程は粉末セルロース (KC フロック[®]) を敷き詰めた加圧ろ過を採用した。固体取得時の固液分離にはハステロイ性の遠心分離機を用い、乾燥にはコニカルドライヤーを用いた (Table 3-7)。

Table 3-7. 130 kg 製造に用いた製造設備

製造設備	
第 1 工程	第 2 工程
GL 製反応釜 : 4000 L、反应用	GL 製反応釜 : 4000 L、反应用
GL 製反応釜 : 6000 L、銅精製プロセス用	GL 製反応釜 : 6000 L、ろ液保管用
加圧濾過器 : φ=65 cm、KC フロック [®]	攪拌翼
攪拌翼	遠心分離機 : ハステロイ製 42 inch、ろ布
遠心分離機 : ハステロイ製 42 inch、ろ布	コニカルドライヤー : 1000 L
コニカルドライヤー : 1000 L	

5-1. Hurtley 反応と銅の除去工程

・ Hurtley 反応仕込み

洗浄を確認した 6000 L の反応釜に対して、市水を 1.3 トン加え、窒素置換した後、レゾルシノール **10** を 166 kg、化合物 **13c** を 130 kg 加え、4 M 水酸化ナ

トリウム水溶液を 126 L 滴下した。滴下は 5 分程度で完了し、5°C 程度の発熱が確認された。続いて炭酸ナトリウムを 123 kg 添加し反応温度となる 50°C まで 1.5 時間かけて昇温した。この間において、発泡は観測されていない。その後、ヨウ化銅を 28.8 kg 添加したが、発熱は見られなかった。

・反応

内温が 45°C 以上となった時点より 1 時間後から 2 時間ごとにサンプリングを行った。反応は 5 時間で原料残存率 0.8% となり終点を迎え（終点：原料残存率 1.5% 以下）、反応温度を 30°C 以下に放冷した。

・銅精製工程

反応液温度を昇温し、内温 60°C まで加熱を行ったが、比熱の高い水を大部分含むことから昇温だけで 3 時間を要した。内温が 60°C となった時点で 4 M 水酸化ナトリウム水溶液を 650 L 添加し、更に 60°C に加熱した市水を 2.6 トン加え加熱攪拌を開始した。添加してすぐに目視では溶解が確認され、保温 1 時間後にサンプリングして上澄み液中の化合物 **23** の定量収率を測定したところ、71% となっていたことから（目標 70% 以上）、反応釜の下部よりポンプを通し、あらかじめ KC フロック[®]にてろ過層を形成していた加圧ろ過器にて熱時ろ過を実施した。ろ過速度に関して、初期の通液性は良いが時間の経過に伴いろ過速度の低下が確認された。しかしろ過層の上部の銅の層を除去すると再度、ろ過速度が回復した。結果的にろ過に要した時間は 10 時間となり、ろ液は釜内温度を 30°C 以下として一晩静置した。その後、ろ過液に対してアセトニトリルを 390 L 加え、35% の濃塩酸を用いて pH が 1-2 となるまで滴下を開始した。本滴下時には中和による発熱に加え、炭酸塩基を中和することによる発泡が確認されることが懸念とされていたが、塩酸の添加量に比例して発泡が速やかに発生すること、泡の発生が収まった時点で次の塩酸を添加することで発泡のコントロールは可能であった。最終的に 423 L 添加した時点で pH が 1.57 となり、滴下を終了した。この後、遠心分離機にて固液を分離し、市水 650 L にて洗浄した。その後、湿晶を真空下 50°C にて 42.5 時間乾燥し目的物 **1c** を取得した。

・結果

取得固体量は 103.76 kg、収率 76.5% で化合物 **1c** を得た。HPLC 純度は 93.56% となり、副生物に関しては脱保護体 **1** が 3.36%、レゾルシノール **10** が 2.42%、副生物 **B** が 0.194%、副生物 **C** が 0.244%、そしてその他構造不明の不純物 1 種が 0.223% 含有されていた。残存銅の含量に関しては ICP 定量の結果、4 ppm であることが確認された。

5-2. 脱アセチル化工程

・脱 Ac 化仕込み

第 1 工程で得られた化合物 **1c** を用いて第 2 工程の脱 Ac 化を実施した。4000 L の反応釜内に化合物 **1c** (103 kg)、PTSA (218 kg)、エタノール (1560 kg) 及び市水 (206 L) を順次添加し攪拌を行い、内温 80℃まで加熱した。

・反応

反応液の状態は加温開始から懸濁状態であったが、20 時間にて濃褐色の溶解状態となった。22 時間で原料残存率が 0.8%となり終点が確認され (化合物 **1c** 残存率 1.0%以下)、その後内温を 10℃以下にて攪拌することで晶析を行い、攪拌 4 時間で上澄み液中の化合物 **1** の定量値が 10.1%で一定となったところで晶析を終了した。その後、遠心分離にて化合物 **1**・PTSA を分離したが、ろ液に若干の濁りが生じ、ろ布漏れが確認された。急遽、より目の細かいろ布に交換しろ過を行ったがろ過性は低下した。その後取得した固体を真空下、50℃にて 19.5 時間乾燥により化合物 **1**・PTSA を取得した。

・結果

化合物 **1** は PTSA 塩として 119.07 kg 取得され、収率は 77.8%となった。品質に関して、**1**・PTSA の HPLC 純度は他の不純物を認めない高純度となり、トシル酸との比率も 1:1 で得られた。なお、ろ液中の化合物 **1** の定量収率は 16.2%となり、ろ過時のロス率は 6.1%と判明した。

5-3. 本製造の結果と考察

130 kg の出発原料 **13c** を用いて製造を実施した結果、2 工程、トータル収率 59.5%で中間体 **1**・PTSA が得られた。品質面でも高純度が確認され、次工程以降の製造へと問題なく使用できることが確認された (Table 3-8)。

第 1 工程の Hurltley 反応において収率、純度等、小スケール時の再現性を有しており 130 kg スケールにおいても問題なく製造可能であった。今後の課題としては、Hurltley 反応後、銅精製のろ過工程に 10 時間を要しており、溶液量削減や速やかにろ過を行うための設備の検討が必要と考えられた。

第 2 工程の脱保護においては高い転化率となり、不純物も確認されないことから反応の再現性を有していた。しかし化合物 **1** の PTSA 塩取得の際に、これまでの検討で想定していた以上に細かい粒子が析出したことでろ布漏れが確認

され、更にその対応として目の細かいろ布を使用することでろ過性が低下した。今後は固体析出時の粒度コントロールを種晶の添加や結晶形、攪拌翼の精査等の観点から対応法を策定することで目的物 **1**・PTSA のろ布漏れ 6.1%を防止し、更にろ液への溶解ロス 10.1%を最小化するプロセスを実現することが課題と考えられた。

Table 3-8. 130 kg における本製造と結果

2 steps
59.5 % yield

Hurtley 反応			脱 Ac 化		
出発原料・使用試薬	使用量 (kg)	mol	出発原料・使用試薬	使用量	mol
化合物 13c	130.0	504	化合物 1c	103 kg	383
Resorcinol 10	166.0	1510	PTSA・H ₂ O	218 kg	1150
4 M NaOH 溶液	126 L	504	EtOH	1545 L	-
Na ₂ CO ₃	123.0	1160	市水	206 L	-
CuI	28.8	151			
市水	1300 L	-			
銅精製プロセス					
4 M NaOH 溶液	650 L				
水 (60°C)	2600 L				
MeCN	390 L				
35%濃塩酸	388 L (目安量)				
結果					
収量 (1c)	103.76 kg		収量 (1 ・PTSA)	119.07 kg	
収率	76.5%		収率	77.8%	
HPLC 純度	93.56%		ろ布漏れ定量収率	6.1%	
	1 ;3.36%, 10 ;2.42%、		ろ液中定量収率	16.2%	
不純物含有量	B ;0.194%, C ;0.244%、		HPLC 純度	100%	
	その他;0.223%		1 : PTSA	1:1	
銅定量値 (ICP) :	4 ppm			-	

6. 今後のための検討

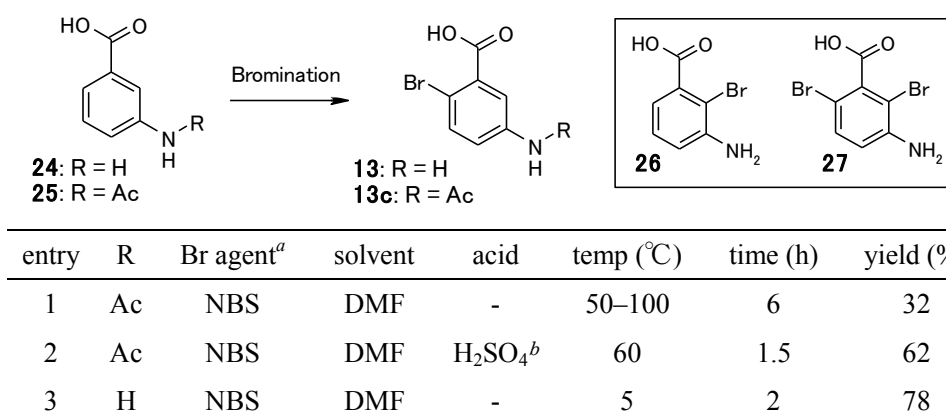
上記において 100 kg スケールにおける製造を達成したが、プロセス検討に終わりはなく、恒常的にプロセスを見直すことが必要となる。ここで、更なる合成ルートを改良するための検討を実施した。

6-1. 5-アセトアミド-2-ブロモ安息香酸の合成検討

5-アセトアミド-2-ブロモ安息香酸の調達に関して、適切な品質、量、価格にて入手する供給ルートは確立していたが、安定供給やより安価な原料製造法探索の観点から検討を行った。

3-アミノ安息香酸 **24** は非常に安価かつ大量入手可能な原料であり⁴、本原料を用いて 5-アセトアミド-2-ブロモ安息香酸 **13c** の製法を確立することで **13c** を安価に入手可能と考えられた。本法においては 3-アミノ安息香酸の 6 位に効率的にブロモ基を導入することが重要と考えられ、その位置選択的なブロモ化を検討した (Table 3-9)。3-アミノ安息香酸のアミノ基を Ac 化した化合物 **25** に対してブロモ化剤に NBS、溶媒に DMF を用いて検討を行ったところ⁵、目的物 **13c** は確認されたが反応進行の停滞が確認され、温度を 50°C から 100°C へ上昇させても原料が残存し 32% と低収率になった (entry 1)。反応速度を向上させるために、酸触媒として 2 当量の硫酸を加えた際、収率は 62% まで向上したが、この際にも 10% 程度の原料残存が確認された (entry 2)。ここで 3-アミノ安息香酸 **24** を用いて DMF 溶媒下、NBS にてブロモ化を検討した結果、1 時間の反応時間で原料は消失し、78% と高い収率でブロモ化体 **13** が得られることを見出した (entry 3)。後処理については反応終点確認後に水を添加することで固体が析出し、ろ過による取得で容易に目的物が得られた。副生物に関しては取得固体中に位置異性体 **26** とジブロモ体 **27** がそれぞれ約 0.2%、0.3% 確認されているが、工程が進むことで除去可能なことを確認した。ブロモ化の選択性についてはブロモニウムイオンに対して、カルボキシル基が隣接基として関与することに加え、立体的な効果によるものと推察される。

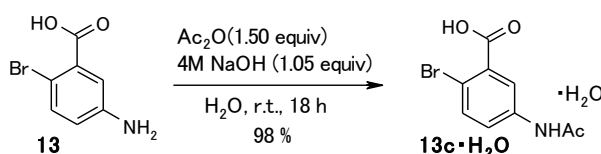
Table 3-9. 位置選択的なブロモ化検討



^a1.05 当量使用. ^b2 当量使用.

また得られた化合物 **13** は水溶媒中で無水酢酸を用いて Ac 化することで⁶、98%の収率で 5-アセトアミド-2-ブロモ安息香酸 **13c** が 1 水和物として合成されることを見出した (Scheme 3-2)⁷。

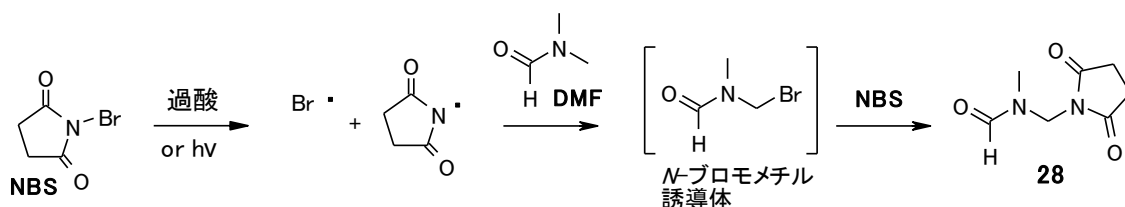
Scheme 3-2. Ac 保護による化合物 **13c** 合成



新規原料 **13c** 合成プロセスにおいて、5-アセトアミド-2-ブロモ安息香酸 **13c**・**H₂O** は安価な原料を用いて 2 ステップ、76%で得られており効率的な製法と考えられたが、DMF 溶媒下、NBS を添加する際、発熱が観測されていたことが大量製造時における安全性の観点から懸念となった。そこで安全性の評価について示差走査熱量測定 (SC-DSC)、断熱熱量測定 (ARC[®]) を実施することで危険度を定量的に評価した。SC-DSC にて発熱の開始温度を調査したところ発熱は 63°C で発生し、その際に 880 J/g の熱量が観測され、一般的に安全と評価される 300 J/g を大きく上回り、非常に激しい反応と分類された。更に ARC[®] にて反応系の熱的挙動を調査した結果、59.8°C で自己発熱を示し断熱的に 175.7 °C まで達することが確認され、分解熱量は過氧化物レベルであることが明らかとなった⁸。上記の結果から 3-アミノ安息香酸を用いたブロモ化による新規合成ルートは、収率や安価な反応剤の使用の観点から有用であっても、ブロモ化工程における反応の安全性は許容できないレベルであり、新規製法として採用不可能と判断された。この大きな発熱のメカニズムとしては、NBS における DMF とのラジカ

ル反応により *N*-ブロモメチル誘導体が生成し、その後速やかに NBS と反応することで化合物 **28** を形成する分解機構が提唱されている (Scheme 3-3) ⁹。

Scheme 3-3. NBS と DMF の反応スキーム

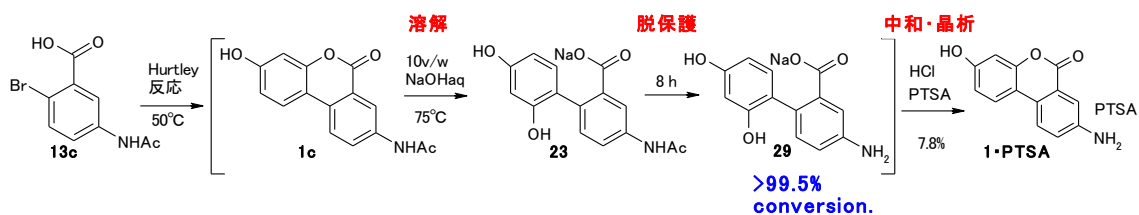


6-2. 製造ルート one-pot 化検討

Hurtley 反応の銅精製プロセスにおいて、水酸化ナトリウム溶液中の環化体 **23** は時間の経過と共に脱 Ac 化が観測されている。これまではろ過性や次工程の仕込み量の観点から、脱保護をコントロールするプロセスを検討していたが、脱保護体 **1** は次ステップの目的物であることから、one-pot 化の可否を検討した (Scheme 3-4)。

Hurtley 反応を行い、反応終点確認後に内温を 75°C とし、10 倍量¹の 4 M 水酸化ナトリウム水溶液を用いて脱 Ac 化の進行を調査した。その結果、反応 8 時間で Ac 体 **23** の残存率が 0.5% 未満となることが確認された。また 24 時間以上の加熱においても新規不純物は認められていないことから one-pot 化において脱 Ac 化は問題なく進行することが確認された。続いて one-pot にて脱保護体 **29** の環化、PTSA 塩形成による晶析を試みた。Hurtley 反応に用いた炭酸ナトリウムと溶解、脱保護に用いた水酸化ナトリウムの総添加塩基量を若干下回る量の塩酸で中和後、3 当量の PTSA を添加し塩形成を検討したところ、反応液は粘性の溶液状態で固体の析出が困難となり、7.8% と若干量の目的物しか得られなかった。本結果より、安定した収量で化合物 **1**・PTSA を取得することは難易度が高いことが想定された。高収率かつ頑健性の高い **1**・PTSA 取得プロセスが今後の課題となる。

Scheme 3-4. 精製プロセスにおける one-pot 脱保護検討



7. 小括ならびに考察

第2章までの検討により、SEGRA 化合物 X の中間体 **1** の合成において、Hurtley 反応を用いた新規合成ルートが製造効率やコスト面で有用であることを見出していた。新規製法を用いて、100 kg 以上の中間体 **1**・PTSA 製造を達成するためにスケールアップ製造を検討したその結果、以下の結論を見出した。

- ① 百グラムスケールにおけるラボレベルのスケールアップ検討で、新規合成法は再現性を有していた。
- ② 実機によるスケールアップ検討にて、23 kg の出発原料 **13c** を用いて製造した結果、Hurtley 反応、脱保護反応は再現性を有していたが、銅の精製工程であるアンモニアスラリー洗浄で目標とする銅の残存値 300 ppm を大きく逸脱し、5400 ppm の残存が確認され、精製プロセスは再現性を有していなかった。また再精製も効果は低く、ろ過性も低下し大量製造への適用は不可と判断した。
- ③ スケールアップにおいて再現性を有する銅の新規精製法の検討を行った。その結果、化合物 **1c** は開環体 **23** となり水酸化ナトリウム溶液に溶解すること、不溶の銅はろ過で除去できること、その際に銅の残存は 21 ppm まで抑制可能なことを見出した。また Hurtley 反応後に one-pot で水酸化ナトリウムを加えて溶解し、銅を精製するプロセスにおいて目的物の収率、純度を維持し、銅の残存を 6 ppm まで抑制した。
- ④ 銅の新規精製法を大量製造に適用するために、溶解状態を維持するための温度を精査した。また脱保護体の生成挙動を把握し、コントロール可能な溶解条件を見出した。
- ⑤ 130 kg の出発原料 **13c** を用いて Hurtley 反応を行い、化合物 **1c** を 103.76 kg、76.5% で取得した。HPLC 純度は脱保護体 **1**、3.36% を含む 93.56% となった。この時、銅の定量値は 4 ppm であった。
- ⑥ 103 kg の化合物 **1c** を用いて脱 Ac 化を行い、化合物 **1**・PTSA を 119.07 kg、77.8% で取得した。純度は他の不純物を認めない高純度となり、**1** と PTSA の比率は 1:1 となった。反応は再現性を有していたが、晶析時に細かい粒子となり遠心ろ過の際に 6.1% のろ布漏れとろ過性の低下が確認され、粒度コントロールが今後の課題となった。

上記の知見より、中間体 **1**・PTSA は 2 工程、59.5% で製造され、メディシナルルートと比較し、ステップの短縮かつ高価な試薬と原料を回避した大幅な製

造コスト削減を実現した。また本製法は 130 kg の出発原料 **13c** を用いた製造も達成し、効率的な製法であることが例証された。

8. 参考文献等

- 1) 出発原料 **13c** の単位重量に対する体積比
- 2) アセトニトリルはレゾルシノールに対し高い溶解性を示したこと、また水と任意の割合で混合可能なことから選定した。
- 3) 不溶の銅成分については、ヨウ化銅と水酸化ナトリウム溶液を 60°C で加熱攪拌した際に、灰色のヨウ化銅が赤色へと変色しかつ重量減少が確認されたことから、Cu₂O であると推察している。
- 4) 15710 の化学商品；化学工業日報
- 5) S. Bartoli, A. Cipollone, A. Squarcia, A. Madami, D. Fattori, *Synthesis*, **2009**, 8, 1305.
- 6) *Greene's Protective Groups in Organic Synthesis*, 4th Edition; Peter G. M. Wuts; Wiley.
- 7) 熱分析による重量減少率から 1 水和物と推定した。
- 8) (a) 産業科学者ホームページ、リレーショナル化学災害データベース (b) 危険物ハンドブック；プレスリック；丸善株式会社
- 9) (a) 第 3 回プロセス化学ラウンジ、富士市、2009 年 2 月 (b) C. Caristi et al., *Tetrahedron Lett*, **1983**, 24, 2685.

第 3 章 実験の部

¹H 核磁気共鳴スペクトル (¹H NMR) は、日本電子 (JEOL) の JNM-GSX400 (400 MHz) または JNM-ECP500 (500 MHz) にてテトラメチルシラン (TMS) を内部標準とし測定した。ICP、示差走査熱量測定 (SC-DSC)、断熱熱量測定 (ARC[®]) は株式会社住化分析センターに依頼し測定した。HPLC はウォーターズ社 (Waters) の Waters alliance series もしくは日立社の Hitachi LaChrom series にて、カラムにエクスブリッジ社 (X Bridge) の C8 column (3.5 μm; 4.6 mm I.D. × 150 mm) を用いて測定した。測定溶媒：0.05% TFA 水溶液、0.05% TFA/MeCN 溶液 (85:15)、アイソクラティック条件、カラム温度 25°C、流速：1.0 mL/min、波長：215 nm、10 μL インジェクション。保持時間：**13** (3.2 min)、レゾルシノール **10** (3.4 min)、副生物 **B** (4.0 min)、副生物 **C** (4.3 min)、**1** (6.0 min)、**13c** (8.4 min)、副生物 **A** (12.8 min)、**1c** (18.7 min)。

使用試薬及び溶媒

実験に使用した試薬及び溶媒は特に記載のない限り、既知化合物、市販の試薬及び溶媒を使用した。

3-アセトアミド-6-(2,4-ジヒドロキシルフェニル)安息香酸ナトリウム (**23**)

8-アセトアミド-3-ヒドロキシ-6*H*-ベンゾ[*c*]クロメン-6-オン **1c** (0.708 g, 2.63 mmol)、水 (35 mL) そして 4 M 水酸化ナトリウム水溶液 (0.690 mL, 2.76 mmol) の混合液を外温 65°C にて 1 時間加熱攪拌した。反応液をろ過し、ろ液を減圧下 60°C で乾燥することで表記化合物 **23** (0.451 g, 55.4%) を得た。

¹H NMR (500 MHz, D₂O) δ: 2.19 (s, 3H), 6.16–6.18 (m, 2H), 6.91 (d, *J* = 8.9 Hz, 1H), 7.34 (dd, *J* = 8.2 Hz, 1H), 7.40 (d, *J* = 2.1 Hz, 1H), 7.44 (dd, *J* = 8.2, 2.1 Hz, 1H). MS (ESI): 286 [M–H][–].

5-アミノ-2-ブロモ安息香酸 (**13**)

3-アミノ安息香酸 **24** (3.00 g, 21.9 mmol) の DMF (18 mL) 溶液に、5°C 以下で DMF (9 mL) と *N*-ブロモコハク酸イミド (4.09 g, 23.0 mmol) の混合溶液を滴下した。5°C 以下で 1 時間攪拌した後に水 (60 mL) を加えて 5°C 以下で 12 時間攪拌し、ろ過した。ろ取物を更に水 (5 mL) で洗浄後、減圧下 50°C で乾燥させることで表記化合物 **13** (3.68 g, 収率 77.9%) を淡黄色固体として得た。

¹H NMR (DMSO-*d*₆, 400 MHz) δ: 5.49 (s, 2H), 6.59 (dd, *J* = 8.5, 2.9 Hz, 1H), 6.93 (d, *J* = 2.9 Hz, 1H), 7.25 (d, *J* = 8.5 Hz, 1H), 13.04 (s, 1H).

5-アセトアミド-2-ブロモ安息香酸・1 水和物 (**13c**・H₂O)

5-アミノ-2-ブロモ安息香酸 **13** (30.5 g, 0.141 mol) と水 (360 mL) の混合物に氷冷下、4 M 水酸化ナトリウム水溶液 (37.1 mL, 0.148 mol)、無水酢酸 (20.5 mL, 0.217 mol) を加え室温で 4 時間攪拌した。反応液を再度氷冷し 6 M 塩酸 (26.0 mL, 0.156 mol) を加えて中和し、析出した固体をろ過した。ろ取物を更に水 (20 mL) で洗浄後、減圧下 50°C で乾燥させることで表記化合物 **13c**・H₂O (38.1 g, 収率 97.7%) を無色固体で得た。

¹H NMR (DMSO-*d*₆, 400 MHz) δ: 2.05 (s, 3H), 7.61–7.64 (m, 2H), 8.02 (d, *J* = 1.8 Hz, 1H), 10.19 (s, 1H), 13.39 (s, 1H).

One-pot 化検討

8-アミノ-3-ヒドロキシ-6*H*-ベンゾ[*c*]クロメン-6-オン・PTSA (**1**・PTSA)

5-アセトアミド-2-ブロモ安息香酸 **13c** (5.01 g, 19.4 mmol)、レゾルシノール **10** (6.41 g, 58.2 mmol)、水 (50 mL) の混合液に 4 M 水酸化ナトリウム溶液 (4.84

mL, 19.4 mmol) を添加し 5 分間攪拌後、炭酸ナトリウム (4.73 g, 44.6 mmol) を加え外温 50°C で加熱攪拌した。更にヨウ化銅 (1.10g, 5.78 mmol) を加え、50°C で 18 時間加熱攪拌した。4 M 水酸化ナトリウム溶液 (50 mL, 200 mmol) を添加後、内温を 75°C になるまで加熱し (外温 83°C)、8 時間攪拌した。反応液をセライト®でろ過後、氷冷下 6 M 塩酸 (43.0 mL, 258 mmol) と PTSA・H₂O (11.1 g, 58.4 mmol) を添加し、5°C 以下で 18 時間攪拌した。析出した固体をろ取し、水 (10 mL) とアセトニトリル (10 mL) で洗浄することで表記化合物 **1・PTSA** を茶色固体で得た (0.601 g, 7.8%)。

第4章 7-ブロモ-8-メトキシカルボニル-3,3-ジメチル-3,4-ジヒドロ-1*H*-キノキサリン-2-オン誘導体の効率的合成法の開発

1. 序論

1-1. 開発バックアップ化合物の意義

医薬品の新規開発は10年以上もの時間を要し、薬の候補として研究を開始した化合物が新薬として世に出る成功確率はおよそ3万分の1と非常に低い¹。医薬品開発において薬理スクリーニングで絞り込みを行う際に、候補化合物と同程度の薬効を示し、異なる科学的性質を有する化合物が存在する場合には、先行の候補化合物のバックアップ化合物として別途並行して開発を行うケースもある。バックアップ化合物については、先行化合物が何らかの事情で開発中止になった際に、速やかにその代わりとなるだけでなく、製剤化検討におけるより薬効を引き出す処方開発や、経口剤、注射剤そして点眼剤等の投与形態の最適化によって、時には先行の候補化合物を凌ぐ医薬品になる可能性も秘めている。

1-2. SEGRA バックアップ化合物の開発の経緯

1,2-ジヒドロキノリン骨格を有する SEGRA 化合物 X が SEGRA 活性を示し有用な医薬品候補として開発を進められている一方で、4環性化合物の一連の誘導体においても強力な SEGRA としての薬効を示すことが報告されており²、これらの報告を基に探索研究を行った結果、3,4-ジヒドロキノキサリン-2-オン骨格を有する新規化合物においても強力な薬効を示すことが見出された (Figure 4-1)³。ジヒドロキノリン骨格と比較して本骨格から得られる誘導体は薬効が同程度であり、かつ高い水溶性を有している化合物も選定されており、ジヒドロキノリン骨格とは異なる処方や投与経路にて開発の可能性を有している。そのため本新規骨格化合物に関しても、動物試験等の高次のモデルにおいて更なる薬効や副作用の評価を行う必要があった。

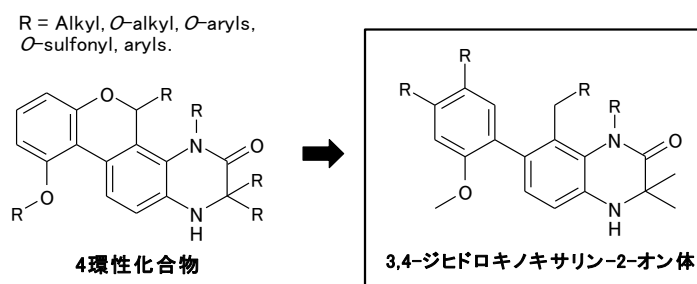
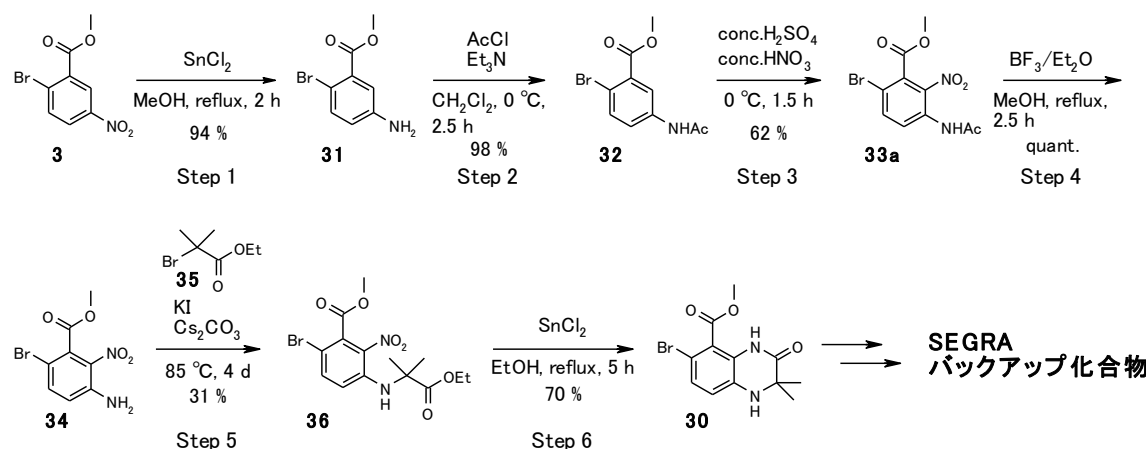


Figure 4-1. 3,4-ジヒドロキノキサリン-2-オン骨格を有する SEGRA バックアップ化合物の開発

1-3. 3,4-ジヒドロキノキサリン-2-オン骨格合成ルートとその問題点

ジヒドロキノキサリン骨格を有する SEGRA 化合物の合成は化合物 **30** を共通中間体としていずれも調製されており (Scheme 4-1)³、その製法はバックアップ化合物の合成において非常に重要となるが、これまで報告されている中間体 **30** の合成法は Scheme 4-1 に限定されていた (メディシナルルート)。それは化合物 **3** のニトロ基のスズを用いた収率 94%の還元から開始され、続く化合物 **31** のアミノ基の Ac 保護により 98%の収率で Ac 体 **32** を合成している。濃硝酸/濃硫酸を用いたニトロ化とシリカゲルカラムクロマトグラフィーによる精製により 62%でニトロ体 **33a**、続くトリフルオロボラン-ジエチルエーテル錯体を用いた Ac 基の脱保護で定量的に化合物 **34** を調製した。更に **34** に対してブロモイソブチル酸エチル **35** を用いたアルキル化と、シリカゲルカラムクロマトグラフィーによる精製により 31%で **36** とした後に、最終工程としてニトロ基の還元を行い連続した分子内の環化により、目的骨格を有する化合物 **30** を 70%で得ている。本中間体 **30** の合成において、全 6 工程、トータル収率 12%にて目的物を取得しているが、本プロセスについては低収率であることに加え、複数回のシリカゲルカラムクロマトグラフィー精製やハロゲン溶媒の使用など、製造効率化や環境面そしてコストの観点から非常に大きな問題を有していた。特に第 5 工程においては、アルキル化剤である **35** を溶媒として大過剰使用することや高価な炭酸セシウムを塩基に用いること、かつ高温で反応時間が 4 日以上要すること、更にその単離にカラム精製を 2 回連続で実施する必要があることから大きな問題となっていた。

Scheme 4-1. メディシナルルートにおける中間体 **30** の合成ルート



本中間体 **30** から誘導される化合物は今後バックアップ化合物として開発される際に、大量スケールの製造が必要となる。そのため既報の製造法では目的とする量を期間内に提供することは非常に困難でありかつその費用は莫大なものになることが想定された。そこで中間体 **30** の新規効率的合成ルートの探索を行った。

2. 新規合成法開発検討

中間体 **30** の既知合成法において、最も問題となっている第5工程のアルキル化については、求核剤である化合物 **34** のアミノ基のオルト位に強力な電子求引性置換基であるニトロ基を有することでその求核性が大きく低下していること、更に求電子剤であるブromo体 **35** の反応中心が第三級炭素と嵩高いことが原因と考えられた。そこで本アルキル化工程を回避した別ルートにおいて3,4-ジヒドロキノキサリン-2-オン骨格を構築するルート検討を実施した。

2-1. 新規ルート開発のための出発原料情報

ルート検討に際して、3、7、8位に中間体 **30** の合成に適用可能な置換基を有する3,4-ジヒドロキノキサリン-2-オン体の合成情報について調査を行った結果 (Figure 4-2)、7位にハロゲン、8位にアルキル置換基を有している化合物の合成例はメディシナルルート以外で、全く報告されていないことが明らかとなった⁴。

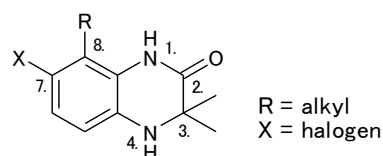


Figure 4-2. 3,4-ジヒドロキノキサリン-2-オン体の置換位置番号

そこで目的の位置に置換基を有する 3,4-ジヒドロキノキサリン-2-オン骨格構築においては、1 位にカルボニル基へ誘導可能な置換基 (Figure 4-3)、2、3 位にアミノ基へと誘導可能な置換基、6 位にハロゲン置換基を有する芳香族体を調製して中間体 **30** の合成に適用することが有用と考え、その様な芳香族化合物の製造法の調査を行った。なおカルボニル基に誘導可能な置換基としては、エステル基やカルボキシル基に加えて、酸化による誘導も適用可能と考えてヒドロキシメチル基やメチル基も想定した。アミノ基へと誘導可能な置換基はニトロ基や、Curtius 反応にて変換可能なカルボキシル基も対象とした。更にハロゲンについては後工程のカップリングの反応性を考慮し、ブロモ基、ヨード基を想定した。調査の結果、目的とする位置全てに必要な置換基を有する、もしくは目的官能基に誘導可能な置換基を有する芳香族体の合成例や供給先について存在しないことが明らかとなった⁵。一般的に芳香族化合物の入手を行う際、2 置換までは多数の供給先が存在しているが、3 置換芳香族になるとその数は大きく減少し、4 置換になると更に限られる現状があり、多置換芳香族において必要とする位置に希望する官能基を有している化合物の入手難易度は非常に高い。そのためルート検討においては、効率的に中間体 **30** へと誘導可能な 4 置換芳香族体の合成法の確立が重要なポイントになると考えた。

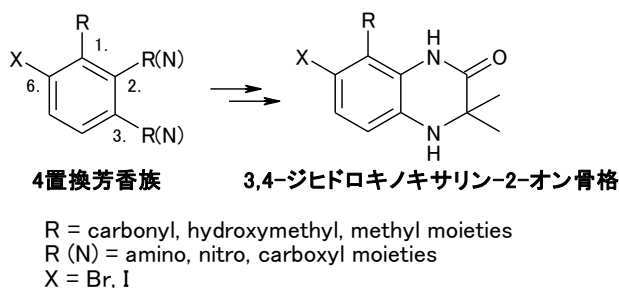


Figure 4-3. 4 置換芳香族を用いた 3,4-ジヒドロキノキサリン-2-オン骨格構築

またルート検討において、適切な価格かつ品質が保証され、安定的に大量入手可能な出発化合物を選定することが非常に重要となる。ここで中間体 **30** の合成に適用可能な 4 置換芳香族体の調製において、5-アセトアミド-2-ブロモ安息香酸 **13c** は、ジヒドロキノリン骨格を有する SEGRA 化合物の製造にて使用実績

があり、大量かつ品質を担保し適度な価格で調達が可能であることから、化合物 **13c** やその誘導体である **13** を用いたルート選定は出発原料の確保の観点から有利な条件となり得ると考えられた (Figure 4-4)。

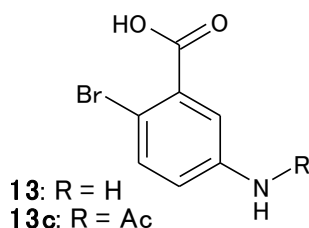


Figure 4-4. 5-アミノ-2-ブロモ安息香酸 **13** と 5-アセトアミド-2-ブロモ安息香酸 **13c** の構造式

2-2. 逆合成解析

上記の情報を基に、新規合成ルート開発のために中間体 **30** の逆合成解析を実施した。その結果ルート 1、2、3 について候補としてピックアップした (Scheme 4-2)。

【ルート 1】

中間体 (I) は (II) において、分子内でアルキル化することでジヒドロキノキサリン骨格を構築できる可能性があると考えられた。(II) は (III) と酸クロリド体 (IV) が縮合することで合成可能であり、(III) については、メディシナルルートにて実績のある化合物 **32** の類縁体 (V) のニトロ化とその還元で合成可能であることからルート候補になりえると考えた。本ルートは骨格構築となるアルキル化による環化の際、オルト位にニトロ基等の強力な電子求引性置換基を有していないことや、エントロピー的に有利な分子内反応であることから合成の可能性を有していると判断した。

【ルート 2】

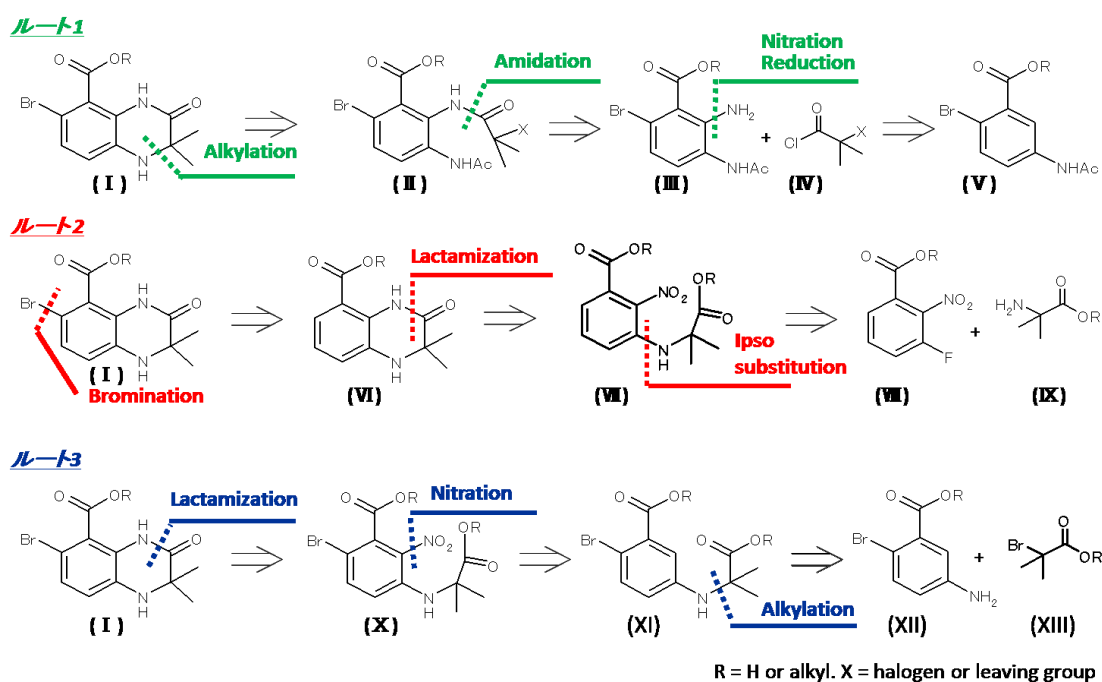
原料調達の懸念はあるが、試薬レベルでは入手可能なフルオロニトロ体 (VII) を用いた合成ルートについても検討を行った。中間体 (I) は化合物 (VI) をブロモ化により合成可能と考えた。(VI) については、(VII) のニトロ基の還元と分子内における環化で合成可能と判断し、化合物 (VII) についてはフルオロニトロ体 (VIII) とアミノ体 (IX) において芳香族求核置換反応による導入により合成可能と考えられ、候補として選定した。

【ルート 3】

メディシナルルートの合成例より、中間体 (I) は (X) のニトロ基の還元

による分子内環化で合成可能である。またニトロ基は (XI) に対してニトロ化することで導入可能と考えられた。(XI) は容易に調達が可能な化合物 13 の類縁体 (XII) に対して (XIII) とアルキル化を行うことで合成可能と考えた。アルキル化において、強力な電子求引性置換基を有する化合物 34 と比較し、(XII) は求核性が向上することにより収率の改善が期待される。

Scheme 4-2. 逆合成解析ルート

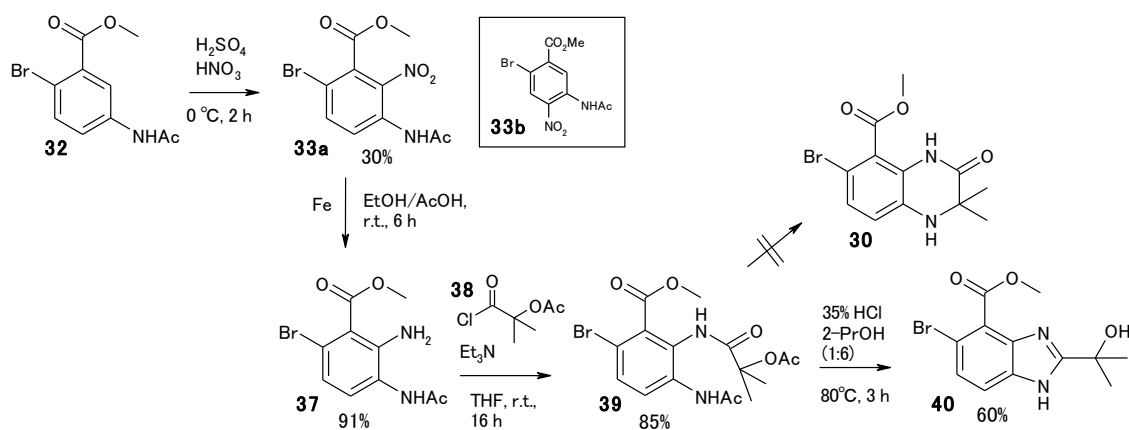


3. ルート 1 における合成法検討

合成ルート選定の始めとして、ルート 1 の合成法について検証を行った (Scheme 4-3)。化合物 13c のメチルエステル体 32 に対し、濃硫酸/濃硝酸でニトロ化を行ったところ、目的の位置にニトロ化された化合物 33a と位置異性体 33b がほぼ 1:1 で生成した。ここで酢酸エチル/*n*-ヘキサン溶媒を用いて再結晶すると、目的の異性体のみを 30% で得られることが明らかとなった。本再結晶による精製は、ろ液ロスによる収率の低下は確認されるものの、一般的に除去困難である異性体に対し、カラム精製をスキップできる製法になり得ると考えられた。続いて鉄粉末を用いてニトロ基を還元し⁶、91% の高収率で化合物 37 を合成後、更に化合物 37 と市販品である酸クロリド体 38 の縮合を行うことで収率 85% にて化合物 39 が合成可能であることが明らかとなった。ここでジヒドロキノキサリン骨格を構築するために、酸性加熱条件下、脱 Ac 保護と同時に分

子内でのアルキル化による環化を試みた。しかし目的の化合物は得られず、ベンゾイミダゾール体 **40** が 60% で得られることが明らかとなった。本分子内アルキル化による環化は、不可逆的であるイミダゾール体 **40** の生成が優先したため、目的物 **30** を高収率で得る条件探索は困難と想定され、ここで検討を中止した。

Scheme 4-3. ルート 1 における合成法検討



4. ルート 2 における合成法検討

続いてルート 2 の合成ルートにおいて、新規ルートとしての可能性を検討した (Table 4-1)。市販品として購入可能なニトロ基のオルト位にフッ素置換基が導入された化合物 **41** に対して、塩基に炭酸カリウム、溶媒に DMF を用いてアミノ体 **42** と芳香族求核置換反応にて導入を計画したが、全く反応は進行せず原料が回収される結果となった (entry 1)。第三級アミンの嵩高さによる求核力の低下が未反応の原因の一つと推察している。またより強力な塩基として水素化ナトリウムを用いて反応を行った際には、アミノ体 **42** が置換したと推定される目的物 **43** は確認されず、原料の分解物由来の複雑な混合物が確認された (entry 2)。化合物 **41** とアミノ体 **42** を用いた芳香族求核置換反応は難易度が高いことが明らかとなり、また化合物 **41** はサプライヤー先が限定され非常に高価であること⁷、更に後工程でブロモ基を位置選択的に導入する工程が必要であり、効率的な新規ルートとしての可能性は低いと判断し、ここで検討を中止した。

Table 4-1. ルート 2 における合成法検討

entry	base	solvent	temp (°C)	result
1	K ₂ CO ₃	DMF	50	no reaction.
2	NaH	THF	0–r.t.	complex mixture ^a

^a¹H NMR 分析にて、混合物の中に目的物と確認できるピークは確認できなかった。

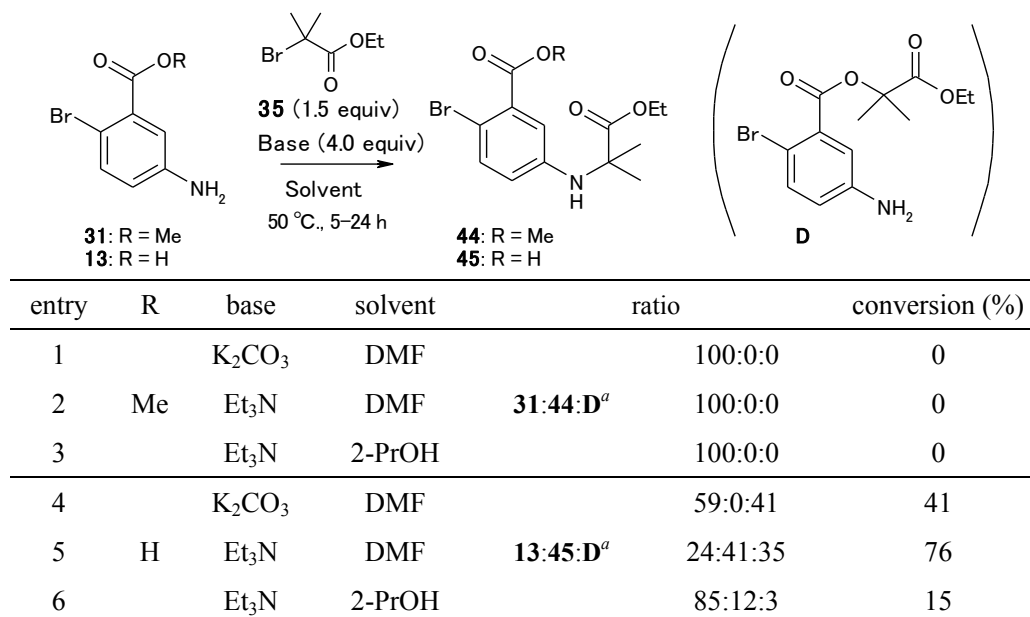
5. ルート 3 における合成法検討

ここで合成ルート 3 について検討を実施した。本ルートは調達が容易である化合物 **13** 誘導体を出発原料に用いて、アルキル化と続くニトロ化を高収率で進行させる条件を見出すことがポイントと考えられた。

5-1. 2-ブロモイソ酪酸エチルを用いたアルキル化検討

アニリン体 **31**、**13** を用いて、第三級の嵩高い求電子剤 **35** とのアルキル化反応について検討を実施した⁸。メチルエステル体 **31** と **35** に対し、其々塩基/溶媒の組み合わせとして炭酸カリウム/DMF、トリエチルアミン/DMF そしてトリエチルアミン/2-プロパノールの 3 条件を用い 50 °C にて反応を行ったところ、アルキル化反応は全く進行せず、いずれも原料が回収される結果となった (Table 4-2, entry 1–3)。一方でカルボキシル基がフリーである **13** を用いたところ、炭酸カリウム/DMF 系において目的物は確認されず、出発原料である **13** と *O*-アルキル化が進行した **D** が 59:41 の割合で得られた (entry 4)。トリエチルアミン/DMF 系を用いた際には 76% と比較的高い転化率となり、原料 **13** の残存と目的物 **45** が得られたが、同時に **D** の副生も確認されその比は 24:41:35 となった (entry 5)。またトリエチルアミン/2-プロパノール系を用いた際には反応の転化率は 15% と低く原料 **13** の残存がメインとなったが、若干の目的物 **45** と **D** の副生が確認され、その生成比は 85:12:3 となった (entry 6)。

Table 4-2. 化合物 **31**、**13** とブロモ体 **35** によるアルキル化検討



^a 生成比は ¹H NMR における各ピークの積分値から算出した。

一方でアニリン体 **13** に対して、カルボキシル基がフリーである **46** を用いたところ、炭酸カリウム/DMF 系にて 44%の転化率で反応は進行した (Table 4-3, entry 1)。その際に反応液中には未反応の **13** と生成物 **48** のみが約 1:1 の割合で確認され、転化率は低いが高割合で目的物に変換されることが明らかとなった。またトリエチルアミン/DMF 系の際には 99%と高い転化率で反応が進行したが、目的物 **48** が HPLC 定量収率にて 15%と低収率であり複雑な副生物を生成した(entry 2)。しかしここで溶媒を 2-プロパノールとし、塩基にトリエチルアミンを用いたところ、高い転化率と不純物の抑制が確認され、定量収率 85%にて反応が進行し **48** が得られることを見出した (entry 3)。またメチルエステル体 **31** においても、高い転化率と共に 68%の収率にて目的物 **47** が得られている (entry 4)。興味深いことに Table 4-3 の entry 3 と 4 の結果はエチルエステル体 **35** を用いた Table 4-2 の entry 3、6 と比較して、反応条件は同じでありながら高収率で進行すること、また反応中や生成物中の不純物の中に **E** と同定される副生物は ¹H NMR 分析において確認されない結果となった。

ここで 2-プロパノール以外のアルコール溶媒を用いて収率への影響を調査した。その結果、エタノールにおいて転化率 65%、収率 48%となり共に低下が確認された。その際に副生物は観測されず未反応の **13** の残存による転化率の低下が原因となった (entry 5)。またメタノール溶媒を用いた際には、24%と更に転化率が低下し、原料回収と目的物のみが確認される結果となった (entry 6)。

Table 4-3. 化合物 **31**、**13** とブロモ体 **46** を用いたアルキル化検討の最適化

13: R = H
31: R = Me

46 (1.5 equiv)
Base (4.0 equiv)

48: R1 = H
47: R1 = Me

E

Solvent
50 °C, 5~24 h

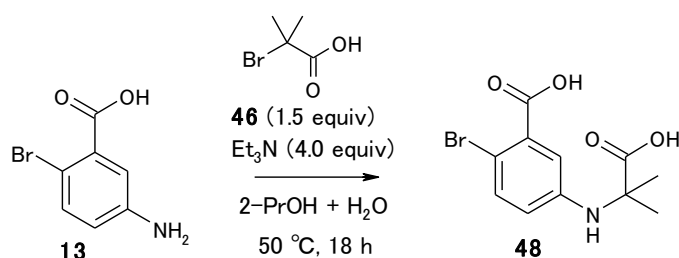
entry	R	base	solvent	yield (%)	conversion (%) ^a	time (h)
1		K ₂ CO ₃	DMF	not isolated ^b	44	17
2	H	Et ₃ N	DMF	15 ^c	99 ^d	23
3		Et ₃ N	2-PrOH	85 ^c	89 ^d	20
4	Me	Et ₃ N	2-PrOH	68 ^e	85	19
5		Et ₃ N	EtOH	48 ^e	65	23
6	H	Et ₃ N	MeOH	Not isolated	24	21

^a 転化率は ¹H NMR における各ピークの積分値から算出した。 ^{b1}H NMR において **13** と **48** 比は約 1:1 と確認された。 ^cHPLC 定量収率。 ^dHPLC の面百値。 ^e 単離収率。

5-2. アルキル化反応における溶媒効果検証

アルキル化反応においてアルコール溶媒を用いた際、その嵩高さと収率が比例する傾向が見られた。本傾向により水酸基の存在が反応に影響している可能性が考えられたことから、2-プロパノールに水を添加することで反応への影響を調査した (Table 4-4)。 **13** と試薬の使用量、反応時間や温度等、全ての条件を揃えた上で、無水の 2-プロパノール、5%の水を添加した無水 2-プロパノールそして 10%の水を添加した無水 2-プロパノールを溶媒に用いて原料残存率を確認した。その結果、反応 18 時間にて、無水 2-プロパノールを用いた際に原料 **13** の残存率は 8%となったが (entry 1)、5%の水を添加した際に原料残存率は 18%まで増加した (entry 2)。更に 10%の水を添加した溶媒では 27%まで残存率の増加が確認され、それに伴い反応の転化率も低下することが判明した (entry 3)。

Table 4-4. アルキル化反応における水添加による反応進行調査^a



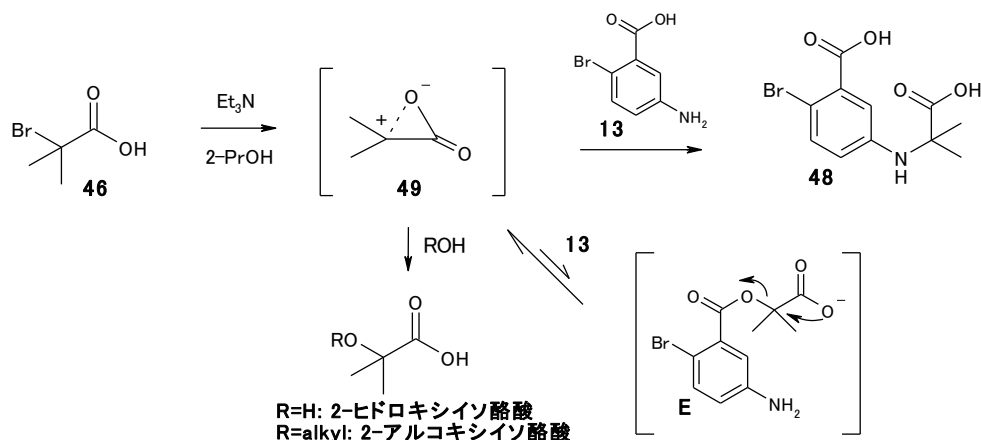
entry	solvent	13 残存率 (%) ^b	conversion (%)
1	2-PrOH (dry)	8	93
2	2-PrOH (dry)/H ₂ O (95:5)	18	84
3	2-PrOH (dry)/H ₂ O (90:10)	27	77

^aHPLCにて確認. ^b原料残存率= {13/(13+48)} ×100.

5-3. アルキル化の推定反応機構と考察

これまでの検討結果より、トリエチルアミン/2-プロパノール系においてカルボキシル基がフリーである **46** を用いた際に高い転化率で反応が進行し **47**、**48** が高収率で得られること、また嵩の低いアルコール溶媒の使用や水分含量の増加にて収率が低下する知見が得られている。それらの原因として考えられるメカニズムは、化合物 **46** が反応系内において分子内で三員環の高活性な中間体 **49** を形成し、中間体 **49** と **13**、**31** のアミノ基がアルキル化することで反応が進行している可能性が推察された (Scheme 4-4)⁹。反応性の高い中間体 **49** は水や嵩の低いアルコールと反応し不可逆的に 2-ヒドロキシイソ酪酸や 2-アルコキシイソ酪酸を形成するために収率低下すると推察される。また **13** における *O*-アルキル化との選択性については **E** が副生しても分子内で隣接基関与による可逆的な脱 *O*-アルキル化が進行することで **E** が不安定化することから **48** が優先的に得られると推測された。

Scheme 4-4. アミノ体 **13** と **46** によるアルキル化の推定反応機構

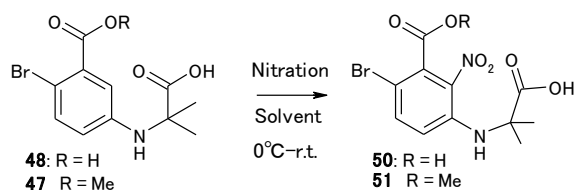


6. ニトロ化工程

6-1. ニトロ化検討と不純物単離

続いて化合物 **48** に対するニトロ化の検討を実施した (Table 4-5)。ジカルボキシル基を有する化合物 **48** において濃硝酸/濃硫酸もしくは TFA 溶媒下、硝酸ナトリウム¹⁰を用いてニトロ化を行ったところ、若干量の **48** の残存と共に複雑な混合物を与える結果となった (entry 1, 2)。またモノメチルエステル化された化合物 **47** において TFA と硝酸ナトリウムを用いてニトロ化したところ、ジカルボキシル体の際と同様に複雑な混合物を与える結果となったが、この際には原料 **48** の残存は確認されなかった (entry 3)。

Table 4-5. カルボキシル基を有する **48**、**47** におけるニトロ化検討



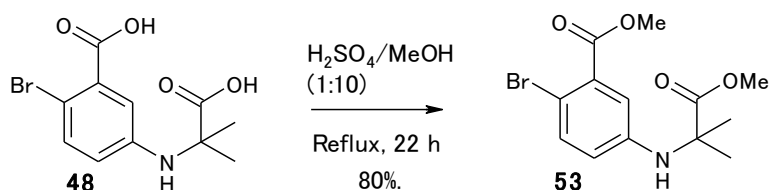
entry	R	nitro agent	equiv	solvent	temp(°C)	time (h)	yield (%)
1	H	HNO ₃	^a	H ₂ SO ₄	0	3	complex mixture ^b
2	H	NaNO ₃	1.05	TFA	25	4	complex mixture ^b
3	Me	NaNO ₃	1.05	TFA	25	5	complex mixture

^a濃硝酸/濃硫酸 (1:1) を化合物 **48** の重量体積比で 15 倍量使用. ^b若干量の **48** の残存確認.

ここでカルボキシル基の存在がニトロ化における活性種であるニトロニウム

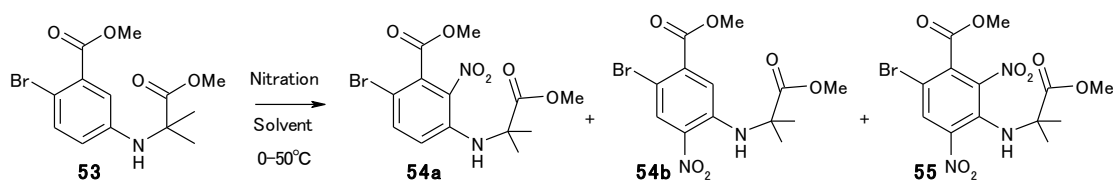
イオン **52** (NO_2^+) と作用することで不利な影響を与えている可能性が想定されたことから、カルボキシル基が共にメチルエステル化された **53** を調製し、ニトロ化の検討を行うこととした。なおエステル化についてはメタノール存在下、濃硫酸を添加し 18 時間加熱攪拌することにより 80% で進行することが明らかとなっている (Scheme 4-5)。

Scheme 4-5. 化合物 **48** のジメチルエステル化



ジメチルエステル体 **53** を用いてニトロ化の検討を行った。濃硝酸/濃硫酸によるニトロ化を行ったところ原料 **53** の残存と目的物である **54a**、ニトロ基の位置異性体 **54b**、更にジニトロ体 **55** の生成が 45:30:23:2 の比で確認された (Table 4-6, entry 1)。一方で化合物 **53** に対して TFA 溶媒下、硝酸ナトリウムを用いたところ、目的物 **54a** と位置異性体 **54b**、そしてジニトロ体 **55** が 62:22:16 の割合で生成し、HPLC 定量収率 57% で優先的に **54a** が得られた。また異性体を含む混合物に対する精製においては、反応後に抽出にて無機塩を除去し、副生物を含むクルード体を 2-プロパノールを用いて再結晶することで目的物 **54a** のみが 38%、HPLC 純度 99% 以上にて単離可能なことも明らかとなった。

Table 4-6. ジメチルエステル体 **53** におけるニトロ化検討



entry	nitro agent	equiv	solvent	temp(°C)	time (h)	yield of 54a (%)	ratio of 53:54a:54b:55
1	HNO_3	^a	H_2SO_4	0	3	not isolated	45:30:23:2 ^b
2	NaNO_3	1.0	TFA	50	5	57(38) ^c	0:62:22:16 ^d

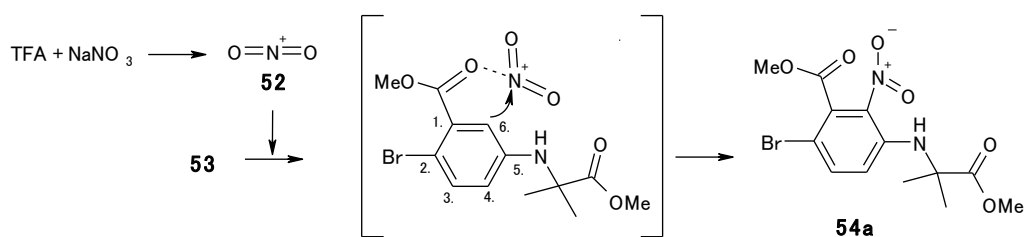
^a濃硝酸/濃硫酸 (1:1) を化合物 **53** の重量体積比で 15 倍量使用. ^b ^1H NMR により確認. ^c HPLC 定量収率 (単離収率). ^d HPLC により確認.

6-2. ニトロ化における位置選択性の考察

芳香族におけるニトロ化は一般的に、活性種としてニトロニウムイオン **52** が生成し反応する機構であること、また電子供与性置換基に対してオルト-パラ配向性を示すことが知られている。本化合物 **53** を用いたニトロ化においても 5 位のアミノ置換基のオルト位である 4 位と 6 位にて優先的にニトロ化が進行しており、更に 4 位と比較して立体的にやや不利である 6 位にて選択的なニトロ化が確認されている。この選択性に関しては 1 位のカルボニル基の酸素原子が隣接基として関与していることが選択性の原因になっていると推察している

(Scheme 4-6)。カルボニル基とニトロニウムイオン **52** は電子的に相互作用する可能性があり、その際にニトロニウムイオン **52** は 6 位の反応点から有利な位置に配位することで選択性に寄与していると想定している。

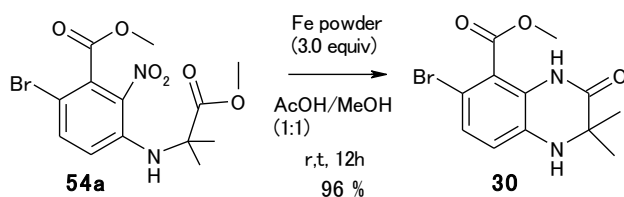
Scheme 4-6. 選択的ニトロ化の推定反応機構



7. 還元・環化検討

目的中間体化合物 **30** の合成において、従来法では環境面への影響から使用に懸念のあった 2 価の塩化スズを用いてメタノール溶媒下、還流条件にて還元を行っていた。ここでは鉄粉末 ($\phi=45\mu\text{m}$) を用いてニトロ体 **54a** の還元を検討したところ⁶、室温にて速やかな還元と続く連続的な分子内環化が進行し目的とする骨格を有する中間体 **30** を 96% で得た (Scheme 4-7)。なお化合物 **30** の鉄の残存に関しては本工程以降、鉄が反応への影響を与えるステップが存在しないこと、また最終化合物の数ステップ前までには完全に除去されることを確認しており、本工程時点においては明確な残存基準の設定や精製プロセスは不要と判断した。

Scheme 4-7. ニトロ基の還元による連続的分子内環化反応



8. ルート 3 検討結果

ルート 3 について新規効率的合成法としての可能性を検討した結果、第 1 ステップのアルキル化は、HPLC 定量収率 85%で進行すること、続いてジカルボキシル体 **48** を収率 80%でジメチルエステル体 **53** としニトロ化することで、定量収率 57%で目的とする位置にニトロ基が導入された **54a** が得られることを見出した。更に鉄粉を用いた温和な条件によるニトロ基の還元と連続的環化により目的の中間体 **30** が 96%で得られることを確認した。各工程の定量収率から目的物 **30** は 4 工程、トータル 37%で得られており、従来のメディシナルルートの 6 工程、トータル収率 12%と比較して明らかに工程数や収率の改善が認められ、中間体 **30** のより効率的な新規合成ルートとして適用の可能性があると判断した。

9. 単離工程の削減とカラム精製を省略した合成プロセスの開発

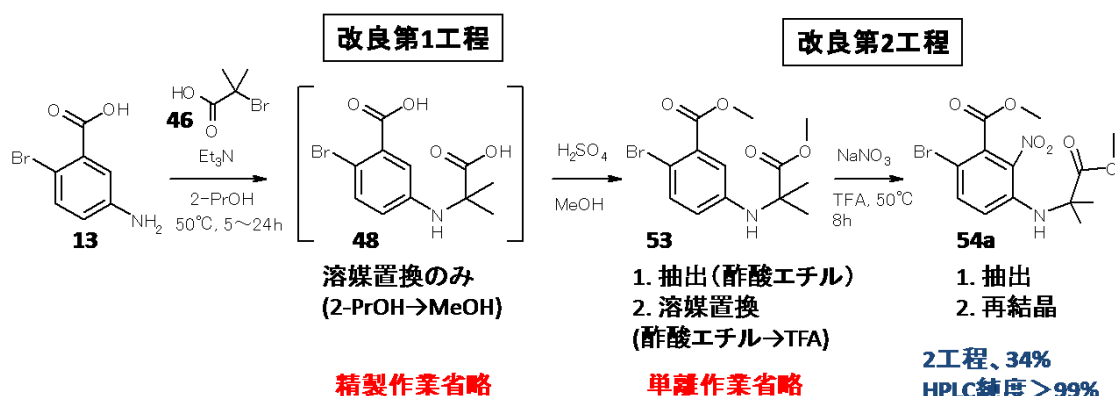
新規ルートの効率化のために、中間体 **30** の合成プロセスにおいて最適化検討を実施した (Scheme 4-8)。最適化において、カラム精製を省略し品質を担保することを必須目標に設定し、その上で作業性の観点から単離回数を抑制する製造プロセスの確立を目標として検討を行った。

アルキル化工程後とメチルエステル化工程後の **48** と **53** の物性はアモルファス状の固体や液体となり、再結晶による精製の難易度が高く、純度の高い単離体を得るためにはシリカゲルカラムクロマトグラフィーが必要とされた。そこでアルキル化工程においては反応後、単離、精製作業は行わずに次工程のメチル化を one-pot で実施するための検討を行った。アルキル化の反応終点を確認後、反応溶媒である 2-プロパノールを留去し、その反応混合物にメタノールと硫酸を加えてエステル化を実施した。減圧留去だけでは除くことができないアルキル化工程にて生成した副生物、無機塩が系内に含まれる状況でのエステル化となったが、結果的に副生物の増加は確認されず問題なく反応が進行し、収率も維持されていた。

また次工程のニトロ化についても、one-pot 化の可能性を検討した。しかしニ

トロ化においてメチルエステル化で使用したメタノール溶媒から TFA に置換し、その中に硝酸ナトリウムを添加する事は、これまでのニトロ化の検討における結果から、高沸点であり留去困難な硫酸の残存や前工程で生成した無機塩、そして副生化合物の存在がニトロ化反応へ大きな影響を与える懸念があった。そこでエステル化後に抽出操作を行い、硫酸や無機塩そして水溶性を示す化合物の除去を行った状況でニトロ化を検討した。エステル化反応後に酢酸エチルで抽出し有機層を濃縮した混合物に、TFA と硝酸ナトリウムを添加してニトロ化反応を行ったところ、反応は問題なく進行し単離した場合とほぼ変わらない位置選択性や定量収率で反応が進行した。またニトロ化反応後の精製において、抽出により塩を除去し、有機層を濃縮後、2-プロパノールで晶析させることで、2工程収率 34%、99%以上の高い純度で化合物 **54a** が得られた。これらの結果から、ニトロ体 **54a** の取得まで単離精製を省略したプロセスで合成は可能と判断した。

Scheme 4-8. 精製、単離作業を省略した化合物 **54a** の合成プロセス



10. スケールアップ検討

これまでの検討を踏まえて、500 g の出発原料 **13** を用いて、ラボによるスケールアップ検討を行った。本合成は、SEGRA 活性評価のために中間体 **30** を 150 g 供給することに加え、作業性や反応安全性の評価、更に今後の大量スケールアップ製造における課題の抽出を目的として実施した。

10-1. 改良第1工程、アルキル化・メチルエステル化

・アルキル化反応仕込み

出発原料 **13** (500 g)、イソブチル酸 **46** (580 g)、無水 2-プロパノール (5.00 L)

の混合液にトリエチルアミン (1.29 L) を 10 分間かけて滴下した。その結果、内温が 20.0°C から 36.5°C まで上昇が確認された。化合物 **13** およびイソブチル酸 **46** のカルボキシル基とトリエチルアミンとの中和熱と想定され、大量スケール時において温度をコントロールしながら添加する必要があると考えられた。

- ・アルキル化反応

50°C で攪拌をスタートし、反応 7 時間で出発原料 **13** の残存が 7.46% となった。以後減少が認められず、ここで反応を終了した。終了時に目的物 **48** の HPLC 純度は 77.40% となった。

- ・反応後処理とメチルエステル化仕込み

反応後に析出した塩をろ去して、2-プロパノール溶媒を留去後にメタノール (2.5 L×2) で共沸し無水メタノール (10.0 L) を加えた。氷冷下攪拌しながら、混合液に 30 分かけて濃硫酸 (1.00 L) を添加したところ内温が 7.8°C から 23.1°C まで上昇し、硫酸添加時には温度コントロールの上、分割添加により過度の温度上昇による突沸を防ぐ必要があると考えられた。

- ・メチルエステル化反応

硫酸添加後に加熱を開始し、内温が 63°C となった時点から 19 時間でエステル化の進行が認められなくなった際に反応を終了した。HPLC 純度は目的物が 67.63%、そして出発原料 **13** とモノエステル体¹¹の残存がそれぞれ 9.33%、6.02% 確認された。

- ・メチルエステル化反応後処理

反応液を濃縮し、水 (5.00 L) を加え酢酸エチル (5.00 L×2) で抽出することで、硫酸、無機塩そしてその他の水溶性不純物を除去した。取り集めた有機層は水 (5.00 L) で洗浄後に濃縮することで次工程へと進められた (640.7 g)。

- ・結果

抽出操作後の化合物 **53** はクルード体として 640.7 g 取得された。**53** の HPLC 純度は 73.34% であり、含まれる不純物は **48** ; 1.61%、モノエステル体 ; 3.62%、その他は構造不明の多数の不純物が含まれる結果となった (Table 4-7)。

Table 4-7. 改良第 1 工程使用原料、試薬と結果

改良第 1 工程使用原料、試薬					
アルキル化			メチルエステル化		
原料・試薬	使用量	mol	原料・試薬	使用量	mol
5-アミノ-2-ブロモ安息香酸 13	500 g	2.32	H ₂ SO ₄	1.00 L ^a	-
2-ブロモイソ酪酸	580 g	3.47	MeOH (dry)	10.0 L ^a	-
Et ₃ N	1.29 L	9.26			
2-PrOH (dry)	5.00 L	-			
結果					
アルキル化			メチルエステル化		
収量 (物性)	^b (橙色粘性液体)		640.7 g ^c (淡黄色粘性液体)		
収率	^b		^b		
HPLC 純度	77.40%		73.34%		
特記不純物	13 ; 7.46%		48 ; 1.61%、モノエステル体; 3.62%		

^a5-アミノ-2-ブロモ安息香酸 **13** の使用重量に対して使用量を設定. ^b濃縮のみで次工程に進めた. ^c抽出後の有機層を濃縮した重量.

10-2. 改良第 2 工程、ニトロ化

・仕込み

第 1 工程で得られた濃縮物全量 (640.7 g) に対し TFA (4.80 L) を加え、内温 20.4°C にて硝酸ナトリウム (164.9 g) を添加した。その際に内部温度の上昇は全く確認されなかった。

・反応

50°C で 5 時間加熱攪拌により出発原料の消失が確認され、溶媒を留去した。反応終了時の HPLC では目的物 **54a** が 52.25%、位置異性体 **54b** が 18.26%、ジニトロ体 **55** が 13.87%、そしてその他不純物の合計が 15.62% 確認された。

・後処理

反応後に TFA を留去し 4 M 水酸化ナトリウム水溶液 (1.44 L) で中和して、水 (3.60 L) を加え酢酸エチル (5.00 L) で抽出した。有機層を濃縮して 2-プロパノールを総量が 1.8 L となるように加えた後、60°C で 3 時間スラリー状態で加熱攪拌と室温で 12 時間攪拌することで晶析を行った。ろ過性は非常に良好であり、ろ過した固体を 2-プロパノール (500 mL) で洗浄して減圧乾燥すること

で化合物 **54a** が 247.3 g 取得された。

・結果

化合物 **54a** が 247.3 g 取得され出発原料である化合物 **13** から 28.5%で目的物が得られた。HPLC 純度は 99.00%となり、観測された不純物中にジニトロ体が 0.49%確認された (Table 4-8)。

Table 4-8. 改良第 2 工程使用原料、試薬と結果

改良第 2 工程		
ニトロ化		
原料・試薬	使用量	mol
クルード 53	640.7 g	-
NaNO ₃	164.9 g ^a	1.94 ^a
TFA	4.80 L	-
結果		
収量 (物性)	247.3 g (橙色固体)	
収率	28.5% (from 化合物 13)	
HPLC 純度	99.00%	
特記不純物	ジニトロ体 55 : 0.49%	

^aクルード **53**、640.7 g の重量を全て **53** として使用量を算出した。

10-3. 改良第 3 工程、ニトロ基還元・環化

・鉄による還元、連続的分子内環化反応仕込み

化合物 **54a** (247.3 g) とメタノール (1.73 L)、酢酸 (1.73 L) の混合液を水浴下にて攪拌し、鉄粉末 (110.0 g) を添加した。この際に内温は 20.8 °C から 30.1 °C に上昇した。

・反応

7 時間で原料 **54a** 残存率が 1.06%となりその後終夜で攪拌を行った。反応 23 時間で原料の完全消失が確認された。目的物の HPLC 純度は 99.04%となりその他 4 つの副生物が合計 0.96%観測された。

・後処理

反応後に不溶の鉄をセライト[®]ろ過にて除去後、溶媒を留去し酢酸エチル 3.75 L を加え、1 M 塩酸 (3.75 L×3) で洗浄した。有機層を更に水 (3.75 L) で洗浄

後に濃縮し、析出した固体を *n*-ヘキサン/酢酸エチル 5:1 溶液 (250 mL) で洗浄し減圧下 50 °C で乾燥させることで目的物 **30** を 191.1 g 取得した。

・結果

中間体 **30** を収率 92.6% で合成した。純度については HPLC において他の不純物を認めない高純度で得られる結果となった (Table 4-9)。

Table 4-9. 改良第 3 工程使用原料、試薬と結果

改良第 3 工程		
ニトロ基還元、環化		
原料・試薬	使用量	mol
54a	247.3 g	0.659
鉄粉末 ($\phi=45 \mu\text{m}$)	110 g	1.97
MeOH	1.73 L	-
AcOH	1.73 L	-
結果		
収量 (物性)	191.1 g (淡灰色固体)	
収率	92.6%	
HPLC 純度	100.0%	

10-4. 500 g の出発原料を用いたスケールアップ合成の考察

ラボにより 500 g の出発原料を用いたスケールアップ合成を行った結果、中間体 **30** を取得量 191 g、3 工程 27%、HPLC 純度 100% で得た。収率に関してはメチルエステル化の際に計 15% 程度残存している **48** とモノエステル体の反応促進と、ニトロ化の際に **53** を含むクルード体に添加する硝酸ナトリウム量の精査による副生物 **54b**、**55** の抑制が鍵になると考えられる。作業安全性に関しては、当初注意が必要と考えていたニトロ化において、小スケール時から反応系内の内温を詳細にモニタリングしてきたが、いずれも発熱は観測されておらず、スケールアップにおいても大きな問題はないと考えられた。一方で鉄粉を用いたニトロ基の還元工程にて、鉄粉添加時に発熱が確認されたことが大量スケールにおける懸念となった。しかし安全性を確保するための対応策として、鉄粉末と溶媒の混合液に、温度コントロール下で化合物 **54a** の溶液を少量ずつ添加する軽微なプロセス変更で発熱は制御可能と考えられる。上記の考察より、本ルートを用いた更なる大量スケールにおける製造は可能と判断した。

11. 小括ならびに考察

SEGRA 活性を有する医薬品の開発において、3,4-ジヒドロキノキサリン-2-オン骨格を有する SEGRA 化合物をバックアップ化合物として開発するため、その中間体である化合物 **30** の効率的な合成法が求められていた。メディシナルルートにおける中間体 **30** の合成法はステップ数、収率、コストそして作業性の観点から大量製造が非常に困難であったことから新規の効率的合成ルート開発を行い、以下の結論を見出した。

- ① 嵩高い求電子剤 **46** とアミノ体 **13** に対して、高収率で進行するアルキル化の条件を見出した。また優先的に希望位置で進行するニトロ化条件と続く還元による連続的分子内環化で 3,4-ジヒドロキノキサリン-2-オン骨格を構築し、中間体 **30** を合成するルートを見出した。
- ② 旧メディシナルルートにおいては、6 工程で 6 回の単離を実施していたが、新規ルートではプロセスの最適化検討を行うことにより、3 工程削減し、更に単離回数は 2 回とすることで作業効率を大幅に向上させた。
- ③ 旧ルートにおいては、大量製造においてコストや作業性から大きな懸念となるシリカゲルカラムクロマトグラフィー精製を 3 回実施する必要があったが、新規プロセスにおいてはシリカゲルカラム精製を全て省略し、かつ高純度で合成可能であった。
- ④ 新規合成ルートにおいて、使用する試薬や溶媒はコストや環境面を考慮し選定した。また作業安全性はコントロール可能な範囲と判断された。
- ⑤ 500 g の出発原料 **13** を用いて新規ルートのスケールアップ検討を実施した結果、3 工程、27%、他の不純物を認めない純度で中間体 **30** が得られた。本結果は旧メディシナルルートにおける 6 工程、トータル 12%の収率と比較し、格段に改良された (Table 4-10)。

Table 4-10. 新旧ルート比較

	工程数	単離回数	カラム回数	全収率(%)
旧ルート	6	6	4	12
新ルート	3	2	0	27

上記の知見から、中間体 **30** の新規製造ルートは効率的かつ有用であると判断した。今後はニトロ化をはじめとした各工程の収率の向上や試薬、溶媒の使用量の最適化により、更なるスケールアップ製造に対応可能な製法を確立することが目標となる。

12. 参考文献等

- 1) 製薬協 DATA BOOK 2012 ; 日本製薬工業協会
- 2) S. S. Hadida-Ruah, H. E. Xiaohui, and J. Y. Nagasawa, WO 2004/110385 A2.
- 3) (a) M. Matsuda, T. Mori, K. Kawashima, M. Yamamoto, M. Kato, M. Takai, M. Nagatsuka, and S. Kobayashi, WO 2007/105766 A1 (b) M. Matsuda, T. Mori, M. Nagatsuka, and S. Kobayashi, WO 2008/146871 A1 (c) M. Kato, M. Takai, T. Matsuyama, T. Kurose, Y. Hagiwara, M. Matsuda, and T. Mori, WO 2009/035067 A1 (d) M. Kato, M. Takai, T. Matsuyama, T. Kurose, Y. Hagiwara, K. Oki, M. Matsuda, and T. Mori, WO 2010/029986 A1.
- 4) (a) K. Sukanta and B. Edward R, *Heterocycles*, **2006**, 68, 1931. (b) T. Shinji and K. Mitsunori, JP 2011/020992. (c) T. Ruth E, et al., *Journal of Medicinal Chemistry*, **1994**, 37, 758. (d) T. Shinji, et al., *Advanced Synthesis & Catalysis*, **2010**, 352, 2531. (e) H. Robert, et al., WO 2001/016139. (f) I. Toru, et al., JP 2009/051830. (g) I. Toru, et al., WO 2007/089034. (h) T. Shinji and K. Mitsunori, JP 2010/065015. (I) T. Shinji, et al., *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, **2009**, 19, 4119.
- 5) SciFinder[®]、Reaxys[®] を用いて調査した。
- 6) G. C. Coutts, N. J. Culbert, M. E. Edwards, J. A. Hadfield, D. R. Musto, V. H. Pavlidis, and D. J. Richards, *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1*, **1985**, 1829.
- 7) 1万円/g以上。SciFinder[®]による試薬価格調査から95–98%純度の価格を参照。USD=120円として換算した。
- 8) 嵩高い化合物 **35** とアニリン体のアルキル化について過去に報告はされているが、安定的な収率での報告例はない。(a) F. Hoffmann, et al., WO 2011/128251 A1. (b) K. Tachibana, et al., EP1790640 A1. (c) S. D. Clarke, J. C. Metcalfe, and G. A. Smith, *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 2*, **1993**, 1187.
- 9) 2-ブロモイソ酪酸 **46** とエタノールから中間体 **49** を得て2-エトキシイソ酪酸を形成する反応機構が提唱されている。John A. Ragan, et al., *Org. Proc. Res. Dev.*, **2010**, 14, 1402.
- 10) P. P. Fu, L. S. Von Tungeln, L.-H. Chiu, D.-J. Zhan, J. Deck, T. Bucci, and J.-C. Wang, *Chem. Res. Toxicol.*, **1998**, 11, 937.
- 11) 分子量から推定した。カルボキシル基のどちらかにメチルエステル化されているかは不明。

第4章 実験の部

¹H 核磁気共鳴スペクトル (¹H NMR) と ¹³C 核磁気共鳴スペクトル (¹³C NMR)

は、日本電子 (JEOL) の JNM-GSX400 (400 MHz)、JNM-ECP500 (500 MHz) または JNM-ECS400 によりテトラメチルシランを内部標準として測定した。赤外吸収スペクトル (IR) はパーキンエルマー社 (Perkin Elmer) の Spectrum One 1600 Series FTIR により、臭化カリウム錠剤法または液膜法により測定した。融点はビュッヒ社 (Büchi) の Büchi 535 で測定した。質量分析はアジレントテクノロジーズ社 (Agilent Technologies) の HP 1100 Series LC/MS system によりエレクトロスプレーイオン化法 (ESI、ポジティブ及びネガティブモード) にて測定した。HPLC はウォーターズ社 (Waters) の Waters alliance series にて、カラムにエクスピリッジ社 (X Bridge) の C8 column (3.5 μm ; 4.6 mm I.D. \times 150 mm) を用いて測定した。**48**、**47**、**53** 調製時の測定条件 ; 測定溶媒 A : 0.05% TFA 水溶液、測定溶媒 B : 0.05% TFA/MeCN 溶液、グラディエント条件 : 0 min 95% A、5 min 95% A、25 min 10% A、30 min 10% A。カラム温度 40°C、流速 : 1.0 mL/min、波長 : 225 nm、保持時間 : **14** (6.3 min)、**48** (13.6 min)、**47** (16.5 min)、**53** (19.0 min)。

54a and **30** 調製時の測定条件 ; アイソクラティック溶出、測定溶媒 10 mM $\text{CH}_3\text{CO}_2\text{NH}_4$ 水溶液/アセトニトリル (60:40)、カラム温度 40°C、流速 : 1.0 mL/min、波長 : 225 nm、保持時間 : **30** (4.9 min)、**53** (9.8 min)、**54a** (13.7 min)、**54b** (16.8 min)、**55** (18.9 min)。

使用試薬及び溶媒

実験に使用した試薬及び溶媒は特に記載のない限り、既知化合物、市販の試薬及び溶媒を使用した。

2-ブロモ-5-(1-カルボキシ-1-メチルエチル) アミノ安息香酸 (**48**)

5-アミノ-2-ブロモ安息香酸 **13** (10.0 g, 46.3 mmol) と 2-ブロモイソ酪酸 **46** (11.6 g, 69.5 mmol) の混合物に、無水 2-プロパノール (100 mL)、トリエチルアミン (26 mL, 0.188 mol) を加え、50°C で 20 時間攪拌した。減圧下溶媒を留去し、6 M 塩酸 (20 mL)、水 (300 mL) を加え酢酸エチル (150 mL \times 2) で抽出した。取り集めた有機層を無水硫酸マグネシウムで乾燥し、減圧下溶媒を留去して 50°C で乾燥させることにより、標題化合物 **48** を淡黄色アモルファス状固体として得た (12.3 g, 収率 88.2%、HPLC purity: 95.8%)。本化合物は特に精製することなく、次工程に使用した。

^1H NMR (DMSO- d_6 , 400 MHz) δ : 1.42 (s, 6H), 6.51 (dd, $J = 8.8, 2.9$ Hz, 1H), 6.87 (d, $J = 2.9$ Hz, 1H), 7.33 (d, $J = 8.8$ Hz, 1H), 12.86 (br s, 2H). ^{13}C NMR (DMSO- d_6 , 100 MHz) δ : 25.52, 55.99, 104.57, 115.15, 117.11, 133.40, 133.66, 145.96, 167.67, 176.80. IR (KBr) cm^{-1} : 3387, 2987, 2769, 2510, 1717, 1601, 1473, 1393, 1257, 1218, 1157, 1035, 973, 825, 781, 664, 626. Mp 105 °C. HRMS (EI): calcd for $\text{C}_{11}\text{H}_{12}\text{BrNO}_4$ [M^+]:

300.9950. Found; 300.9952.

2-ブロモ-5-(1-カルボキシ-1-メチルエチル) アミノ安息香酸メチル (**47**)

5-アミノ-2-ブロモ安息香酸メチル **31** (0.436 g, 1.90 mmol)、2-ブロモイソ酪酸 **46** (0.479 g, 2.87 mmol)、2-プロパノール (4.50 mL) の混合物にトリエチルアミン (1.07 mL, 7.68 mmol) を加え、50°Cで19時間攪拌した。減圧下溶媒を留去し、水 (30 mL)、1 M 塩酸 (5 mL)、を加えて酢酸エチル (15 mL×2) で抽出した。取り集めた有機層を更に飽和食塩水 (15 mL) で洗浄後、無水硫酸マグネシウムで乾燥後に有機層を濃縮し、シリカゲルカラムクロマトグラフィーにて精製することで標題化合物 **47** を赤色液体として得た (0.407 g, 68.0%)。

^1H NMR (DMSO- d_6 , 400 MHz) δ : 1.42 (s, 6H), 3.81 (s, 3H), 6.54 (dd, $J = 8.8, 3.3$ Hz, 1H), 6.88 (d, $J = 3.3$ Hz, 1H), 7.36 (d, $J = 8.8$ Hz, 1H), 12.47 (s, 1H). ^{13}C NMR (DMSO- d_6 , 100 MHz) δ : 25.52, 52.36, 56.04, 104.54, 115.26, 117.54, 132.11, 133.83, 146.09, 166.57, 176.74. IR (film) cm^{-1} : 3388, 2991, 2949, 1725, 1601, 1509, 1474, 1437, 1398, 1334, 1297, 1254, 1154, 1032, 970, 818, 779, 611. HRMS (EI): calcd for $\text{C}_{12}\text{H}_{14}\text{BrNO}_4$ [M^+]: 315.0106. Found; 315.0090.

2-ブロモ-5-(1-メトキシカルボニル-1-メチルエチル) アミノ安息香酸メチル (**53**)

2-ブロモ-5-(1-カルボキシ-1-メチルエチル) アミノ安息香酸 **48** (10.8 g, 35.8 mmol) とメタノール (150 mL) の混合溶液に濃硫酸 (15 mL) を加え、外温 70°Cで21.5時間加熱攪拌した。減圧下溶媒を留去し水 (200 mL) を加えて酢酸エチル (120 mL×2) で抽出した。取り集めた有機層を更に水 (100 mL)、飽和食塩水 (100 mL) で洗浄後、無水硫酸マグネシウムで乾燥し、減圧下溶媒を留去して、50°Cで乾燥させることにより標題化合物 **53** を淡黄色液体として得た (9.44 g, 収率 80.0%)。

^1H NMR (DMSO- d_6 , 400 MHz) δ : 1.45 (s, 6H), 3.61 (s, 3H), 3.81 (s, 3H), 6.46 (dd, $J = 8.7, 2.7$ Hz, 1H), 6.51 (s, 1H), 6.85 (d, $J = 2.7$ Hz, 1H), 7.37 (d, $J = 8.7$ Hz, 1H). ^{13}C NMR (DMSO- d_6 , 100 MHz) δ : 25.55, 52.25, 52.37, 56.31, 104.87, 115.51, 117.19, 132.10, 133.99, 145.78, 166.41, 175.64. IR (film) cm^{-1} : 3398, 2994, 2953, 1733, 1601, 1516, 1475, 1436, 1386, 1335, 1247, 1219, 1147, 1031, 988, 818, 779, 652, 617. HRMS (EI): calcd for $\text{C}_{13}\text{H}_{16}\text{BrNO}_4$ [M^+]: 329.0263. Found; 329.0260.

6-ブロモ-3-(1-メトキシカルボニル-1-メチルエチル) アミノ-2-ニトロ安息香酸メチル (**54a**)

2-ブロモ-5-(1-メトキシカルボニル-1-メチルエチル) アミノ安息香酸メチル **53** (0.861 g, 2.61 mmol) とトリフルオロ酢酸 (4.30 mL) の混合溶液を外温 50°C

で攪拌し、硝酸ナトリウム (0.224 g, 2.63 mmol) を加え、5 時間加熱攪拌した。減圧下溶媒を留去し、水 (10 mL)、4 M 水酸化ナトリウム水溶液 (4 mL) を加えて、酢酸エチル (15 mL×2) で抽出した。取り集めた有機層を更に水 (10 mL)、飽和食塩水 (10 mL) で洗浄後、無水硫酸マグネシウムで乾燥し、減圧下溶媒を留去後に 2-プロパノール (4.3 mL) を加え室温で 20 時間攪拌した。晶析した固体をろ取り、ろ取物を更に 2-プロパノール (1 mL) で洗浄し 50°C で乾燥させることで標題化合物 **54a** を橙色固体として得た (0.368 g, 37.6%)。

^1H NMR (DMSO- d_6 , 400 MHz) δ : 1.61 (s, 6H), 3.70 (s, 3H), 3.86 (s, 3H), 6.70 (d, J = 9.3 Hz, 1H), 7.76 (d, J = 9.3 Hz, 1H), 8.01 (s, 1H). ^{13}C NMR (DMSO- d_6 , 100 MHz) δ : 25.41, 52.98, 53.23, 57.44, 105.20, 118.35, 130.68, 132.59, 138.86, 141.78, 165.24, 174.15. IR (KBr) cm^{-1} : 3455, 3377, 3004, 2958, 1734, 1605, 1498, 1444, 1387, 1358, 1313, 1262, 1217, 1151, 1088, 1031, 987, 913, 822, 711, 646. Mp 119 °C. HRMS (EI): calcd for $\text{C}_{13}\text{H}_{15}\text{BrN}_2\text{O}_6$ [M^+]: 374.0113. Found; 374.0113.

7-ブロモ-8-メトキシカルボニル-3,3-ジメチル-3,4-ジヒドロ-1*H*-キノキサリン-2-オン (**30**)

6-ブロモ-3-(1-メトキシカルボニル-1-メチルエチル) アミノ-2-ニトロ安息香酸メチル **54a** (0.500 g, 1.33 mmol)、メタノール (3.75 mL)、酢酸 (3.75 mL) の混合溶液に氷冷下で鉄粉末 ($\phi=45\ \mu\text{m}$) (0.224 g, 4.01 mmol) を加え、室温で 12 時間攪拌した。減圧下溶媒を留去した後に、酢酸エチル (20 mL) を加え、60°C で 2 分間攪拌した。セライト[®]を用いて不溶物をろ去した後に、水 (20 mL)、飽和食塩水 (10 mL) で洗浄した。有機層を無水硫酸マグネシウムで乾燥し、濃縮後 50°C で減圧乾燥させることで標題化合物 **30** を淡褐色固体として得た (0.400 g, 95.7%)。

^1H NMR (DMSO- d_6 , 400 MHz) δ : 1.22 (s, 6H), 3.84 (s, 3H), 6.46 (s, 1H), 6.72 (d, J = 8.4 Hz, 1H), 7.07 (d, J = 8.4 Hz, 1H), 10.09 (s, 1H). ^{13}C NMR (DMSO- d_6 , 100 MHz) δ : 24.68, 52.79, 53.71, 105.98, 116.25, 120.96, 124.53, 126.28, 134.01, 165.51, 170.29. IR (KBr) cm^{-1} : 3325, 3206, 3113, 3060, 2969, 1855, 1716, 1691, 1591, 1469, 1436, 1387, 1358, 1311, 1286, 1265, 1160, 1027, 942, 810, 730, 682. Mp 156 °C. HRMS (EI): calcd for $\text{C}_{12}\text{H}_{13}\text{BrN}_2\text{O}_3$ [M^+]: 312.0110. Found; 312.0098.

2-ブロモ-5-(1-エトキシカルボニル-1-メチルエチル) アミノ安息香酸 (**45**)

^1H NMR (DMSO- d_6 , 400 MHz) δ : 1.09 (t, J = 7.0 Hz, 3H), 1.44 (s, 6H), 4.08 (q, J = 7.0 Hz, 2H), 6.42 (s, 1H), 6.46 (dd, J = 8.7, 3.2 Hz, 1H), 6.84 (d, J = 3.2 Hz, 1H), 7.33 (d, J = 8.7 Hz, 1H), 13.10 (br s, 1H).

1-アミノ-4-ブロモ-3- (1-エトキシカルボニル-1-メチル) エトキシカルボニルベンゼン (副生物 **D**)

$^1\text{H NMR}$ (400 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ : 1.20 (t, $J = 7.0$ Hz, 3H), 1.59 (s, 6H), 4.14 (q, $J = 7.0$ Hz, 2H), 5.59 (s, 2H), 6.64 (dd, $J = 8.4, 2.9$ Hz, 1H), 6.92 (d, $J = 2.9$ Hz, 1H), 7.29 (d, $J = 8.4$ Hz, 1H).

2-ブロモ-5- (1-メトキシカルボニル-1-メチルエチル) アミノ-4-ニトロ安息香酸メチル (**54b**)

$^1\text{H NMR}$ ($\text{DMSO-}d_6$, 400 MHz) δ : 1.63 (s, 6H), 3.74 (s, 3H), 3.88 (s, 3H), 6.97 (s, 1H), 8.18 (s, 1H), 8.34 (s, 1H).

2-ブロモ-4,6-ジニトロ-5- (1-メトキシカルボニル-1-メチルエチル) アミノ安息香酸メチル (**55**)

$^1\text{H NMR}$ ($\text{DMSO-}d_6$, 400 MHz) δ : 1.60 (s, 6H), 3.76 (s, 3H), 3.93 (s, 3H), 8.32 (s, 1H), 8.68 (s, 1H).

3-アセトアミド-6-ブロモ-2-ニトロ安息香酸メチル (**33a**)

硫酸 (300 mL) と 5-アセトアミド-2-ブロモ安息香酸メチル **32** (44.1 g, 0.162 mol) の混合溶液に、氷冷下濃硝酸 (300 mL) を滴下した。氷冷下で 2 時間攪拌後、反応溶液を氷水 (200 mL) に注ぎ込み、更に水 (1 L) を加え、酢酸エチル (750 mL \times 2) で抽出した。取り集めた有機層をセライト[®]でろ過し、更に水 (300 mL) と飽和食塩水溶液 (300 mL) で洗浄後、無水硫酸マグネシウムで乾燥し、減圧下溶媒を留去後、析出固体を *n*-ヘキサン/酢酸エチル 5:1 溶液 (200 mL) で洗浄し減圧下 50°C で乾燥することで標題化合物 **33a** を黄色固体として得た (15.6 g, 30.4%)。

$^1\text{H NMR}$ (400 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ : 2.04 (s, 3H), 3.87 (s, 3H), 7.56 (d, $J = 8.8$ Hz, 1H), 8.03 (d, $J = 8.8$ Hz, 1H), 10.46 (s, 1H).

3-アセトアミド-2-アミノ-6-ブロモ安息香酸メチル (**37**)

3-アセトアミド-6-ブロモ-2-ニトロ安息香酸メチル **33a** (1.97 g, 6.21 mmol)、エタノール (40 mL)、酢酸 (40 mL) の混合液に室温下、鉄粉末 ($\phi = 45$ μm) (1.42 g, 25.4 mmol) を加え、室温で 6 時間攪拌した。減圧下溶媒を留去した後に氷冷下、水 (100 mL)、4 M 水酸化ナトリウム水溶液 (20 mL) を加え、酢酸エチル (100 mL \times 2) で抽出した。取り集めた有機層を更に水 (100 mL) と飽和食塩水溶液 (100 mL) で洗浄後、無水硫酸マグネシウムで乾燥し、減圧下溶媒を留去した後に減圧下 50°C で乾燥することで標題化合物 **37** を灰色固体として得た

(1.62 g, 91.1%)。

$^1\text{H NMR}$ (400 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ : 2.04 (s, 3H), 3.85 (s, 3H), 5.33 (s, 2H), 6.81 (d, $J=8.5$ Hz, 1H), 7.19 (d, $J=8.5$ Hz, 1H), 9.15 (s, 1H). IR (KBr) cm^{-1} : 3471, 3377, 3245, 3008, 2958, 1702, 1657, 1612, 1576, 1513, 1460, 1434, 1374, 1296, 1282, 1265, 1226, 1186, 1120, 1024, 984, 964, 942, 914, 871, 793, 708, 635. MS (ESI): 285 [M-H] $^-$, 287 [M-H] $^-$.

3-アセトアミド-2- (2-アセトキシイソブチリル) アミド-6-ブロモ安息香酸メチル (39)

3-アセトアミド-2-アミノ-6-ブロモ安息香酸メチル **37** (3.00 g, 10.5 mmol)、無水 THF (45 mL)、トリエチルアミン (3.64 mL, 26.1 mmol) の混合液に 2-アセトキシイソブチリルクロリド **38** (3.00 mL, 21.0 mmol) を加え、室温で 16 時間攪拌した。不溶物をろ取にて除去後濃縮し、水 (200 mL) を加え酢酸エチル (100 mL \times 2) で抽出した。取り集めた有機層を更に水 (100 mL) と飽和食塩水溶液 (100 mL) で洗浄後、無水硫酸マグネシウムで乾燥し、減圧下溶媒を留去した。析出した固体をジエチルエーテル (20 mL) で洗浄し、減圧下 50°C で乾燥することで標題化合物 **39** を無色固体として得た (3.69 g, 85.0%)。

$^1\text{H NMR}$ (400 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ : 1.49 (s, 6H), 2.13 (s, 3H), 2.13 (s, 3H), 3.80 (s, 3H), 7.64 (d, $J=8.8$ Hz, 1H), 8.13 (d, $J=8.8$ Hz, 1H), 8.41 (s, 1H), 9.60 (s, 1H). IR (KBr) cm^{-1} : 3360, 3260, 3000, 2959, 1724, 1700, 1680, 1593, 1524, 1480, 1419, 1373, 1305, 1258, 1190, 1138, 1019, 970, 952, 918, 876, 835, 811, 711, 668, 607. MS (ESI): 415 [M-H] $^-$, 417 [M-H] $^-$.

5-ブロモ-2- (1-ヒドロキシ-1-メチル) エチル-4-メトキシカルボニルベンゾイミダゾール (40)

3-アセトアミド-2- (2-アセトキシイソブチリル) アミド-6-ブロモ安息香酸メチル **39** (1.09 g, 2.62 mmol) と 2-プロパノール (28 mL) の混合溶液に室温で濃塩酸 (5 mL) を滴下し、80°C にて 5 時間加熱攪拌した。反応液を放冷し減圧下溶媒を留去後、析出した固体をジエチルエーテル/エタノール 1:1 溶液 (10 mL) で洗浄し、表記化合物の粗体を得た。得られた粗体に対して、水 (3 mL) と飽和炭酸水素ナトリウム水溶液 (10 mL) を加えた後に水 (40 mL) を加え酢酸エチル (50 mL \times 2) で抽出した。取り集めた有機層を更に水 (20 mL) と飽和食塩水溶液 (20 mL) で洗浄後、無水硫酸マグネシウムで乾燥した。減圧下溶媒を留去後、析出固体をジエチルエーテル (5 mL) で洗浄し減圧下 50°C で乾燥することで標題化合物 **40** を無色固体として得た (0.489 g, 59.5%)。

$^1\text{H NMR}$ (400 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ : 1.55 (s, 6H), 3.92 (s, 3H), 5.72 (s, 1H), 7.39 (d, $J=$

8.4 Hz, 1H), 7.51 (br s, 1H), 12.52 (br s, 1H). ^1H NMR (500 MHz, CDCl_3) δ : 1.76 (s, 6H), 2.54 (s, 1H), 4.05 (s, 3H), 7.56 (d, $J = 8.6$ Hz, 1H), 7.69 (d, $J = 8.6$ Hz, 1H), 10.52 (s, 1H). ^{13}C NMR (CDCl_3 , 100 MHz) δ : 30.13, 52.38, 70.64, 113.90, 117.21, 124.41, 128.77, 135.80, 143.23, 161.62, 165.78. IR (KBr) cm^{-1} : 3450, 3141, 2828, 1716, 1608, 1585, 1519, 1464, 1428, 1383, 1349, 1302, 1279, 1256, 1219, 1183, 1154, 1106, 1027, 998, 966, 932, 892, 814, 787, 741, 701, 667, 605. MS (ESI): 313 $[\text{M}+\text{H}]^+$, 315 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

第5章 結論ならびに考察

医薬品の有効成分である原薬は、その開発において非臨床、臨床等の必要試験に対し目標とする量と品質で供給される必要がある。しかし創薬研究から見出された候補化合物においてその製法が最適化されていることは少なく、限られた期間で品質を戦略的にマネジメントし、頑健性を有した製造を GMP 管理下で実施することが必要となる。そのプロセス開発においては、合成ルートの改良や反応条件最適化による収率向上をはじめ、不要な作業の削減による効率化、高価な試薬や溶媒の代替によるコスト削減、そして作業安全性確保等の多面的な観点からのアプローチが重要となる。また見出した改良製法はスケールアップ検討により、実機製造で再現性と適用可否を確認し、製造法として確立していく必要がある。

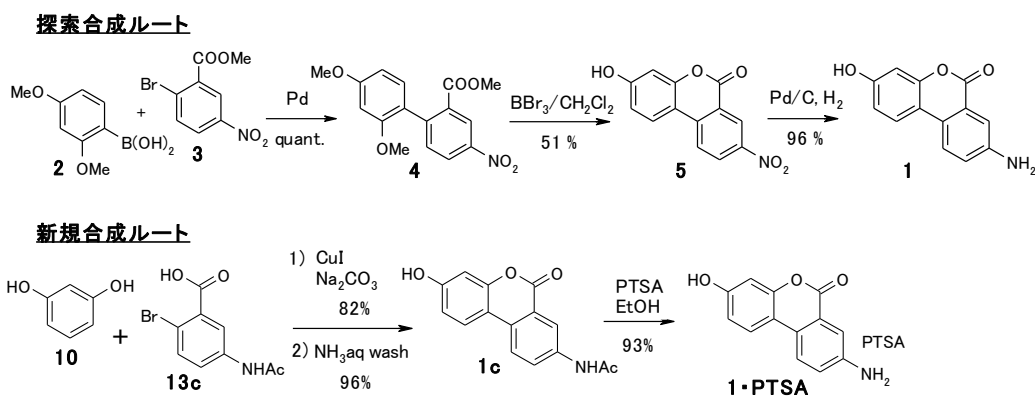
本研究を開始するにあたり、2種の医薬品候補化合物の中間体の原薬開発が必要とされたが、探索段階の合成法では必要品質、量を定められた期間内で提供することに懸念があり、また多大な製造コストが必要であった。そこで筆者は効率性やコストの面で大幅に改良された新規合成ルートの開発を行った。またその製法について大量製造可能なプロセス開発を実施した。

薬理活性と副作用を乖離した医薬品としての可能性を有する選択的グルココルチコイド受容体アゴニスト (SEGRA) をターゲットにした創薬研究が行われ、有用な開発候補化合物が見出された (第2章参照)。新規 SEGRA 候補化合物においては、高次の動物モデルや臨床試験にて安全性と薬効を評価するために大量製造が必要とされていたが、その合成中間体である **1** の既存の合成法は高価な試薬と原料、そして環境への懸念のあるハロゲン溶媒を用いることから問題が多く、効率的な合成法が必要とされていた (Scheme 5-1)。著者は中間体 **1** の合成には、安価なレゾルシノール **10** と 2-ブromo安息香酸誘導体から、one-pot で目的とする骨格構築が可能な Hurlley 反応の適用がコストや効率性の観点から適切と考え、本反応を用いた中間体 **1** の合成を検討した。

Hurlley 反応において、アミノ置換基類縁体を含む原料を用いた報告は限定されており、検討の結果、アミノ基、ニトロ基を有する原料では低収率となる結果が確認された。しかしアセチルアミノ置換基を有する安息香酸誘導体 **13c** に対して、ヨウ化銅と炭酸ナトリウムの新規組み合わせで Hurlley 反応を行えば、82%の収率で目的物 **1c** を得ることを見出した (Scheme 5-1)。一方その際に試薬として用いたヨウ化銅の残存が後工程で問題となる懸念が生じたため、銅の残存に対して閾値と精製法の設定を行い、スパイクテストにより 300 ppm の残存で問題がないこと、アンモニア水を用いたスラリー洗浄により **1c** の収率 96%で

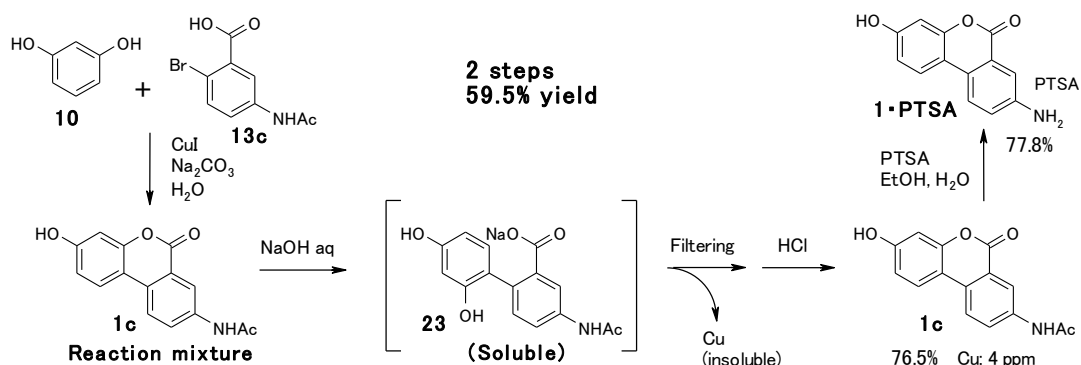
30 ppm 以下まで銅の除去効果があることを見出した。更に **1c** は PTSA を用いた Ac 基の脱保護により 93% の収率で中間体 **1**・PTSA へと導かれ、本ルートは効率的な新規合成法と考えられた。

Scheme 5-1. 中間体 **1** のメディシナルルートと新規合成ルート



第 3 章では Hurltley 反応を用いた新規製法を大量製造に適用するためにはスケールアップ検討が必要であり、そのプロセス検討を実施した。100 kg 以上の製造スケールを想定し、百グラムスケールにおけるラボ検討とキログラムスケールにおける実機試作により順次評価を行った。その結果、百グラムスケール検討においては問題なく少量検討の再現性が得られたが、キログラムスケールにおける実機試作の結果、銅の精製工程においてアンモニア水を用いたスラリー洗浄で大幅な銅の残存が確認され、再現性が得られないことが明らかとなった。そこでスケールアップによる影響を回避できるプロセスの再検討を行ったところ、化合物 **1c** を開環体 **23** として水酸化ナトリウム水溶液に溶解させ、不溶の銅をろ別により除去すること、また除去後のろ液を酸性にすることで収率の低下なく、銅残存定量値 10 ppm 以下で化合物 **1c** が得られる新規精製工程を見出した (Scheme 5-2)。本プロセスを用いて 130 kg の **13c** を用いて製造を行い、銅定量値が 4 ppm まで低減された化合物 **1c** を 103.76 kg、収率 76.5% にて合成した。続く脱 Ac 化において目的とする中間体 **1**・PTSA を 119.07 kg、収率 77.8% (ろ布漏れ 6.1%)、HPLC 純度 100% で合成し、中間体 **1** の大量スケール製造を実現した。

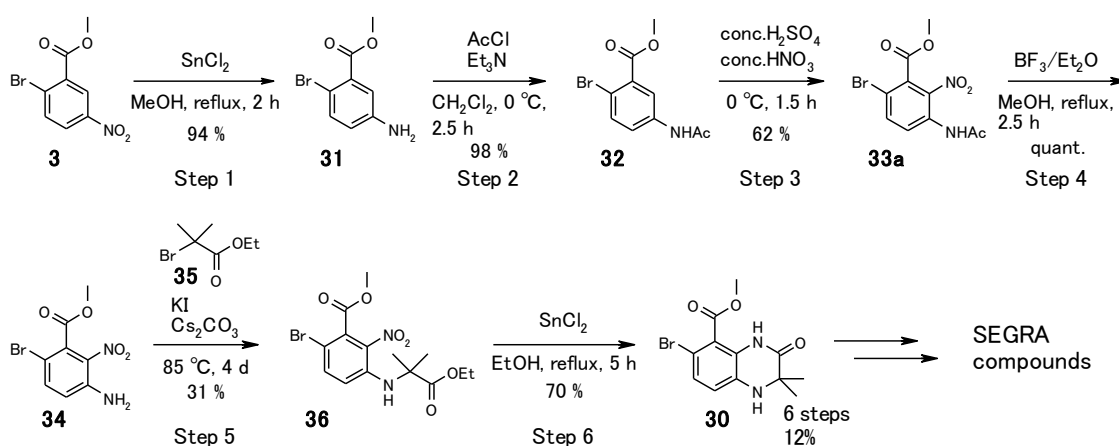
Scheme 5-2. 100 kg スケールによる中間体 **1**・PTSA の実機製造



医薬品の新規開発の成功確率は非常に低いことから、先行で進められている候補化合物のバックアップ化合物を選定し、別途並行して開発を行うケースもある。バックアップ化合物については、先行化合物が開発中止になった際に、速やかにその代わりとなることや、時には先行の候補化合物を凌ぐ医薬品になる可能性も秘めている（第4章参照）。

SEGRA の開発においても、3,4-ジヒドロキノキサリン-2-オン骨格を有する化合物がバックアップとして選定され、薬効と安全性を評価するためにその原薬供給が求められていた。しかしバックアップ化合物の合成中間体である化合物 **30** の骨格構築法は（Scheme 5-3）、既存の報告例では6工程でそのトータル収率は12%と低いものであった。また工程中、シリカゲルカラムクロマトグラフィーによる複数回の精製が必要であり大量製造の観点で大きな課題があった。

Scheme 5-3. 中間体 **30** のメディシナルルート

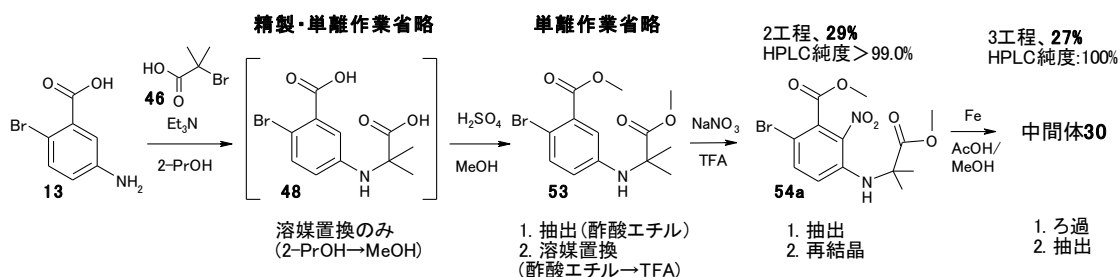


筆者は上記の課題を解決すべく、中間体 **30** の改良合成ルートを検討したところ、出発原料 **13** に対しカルボキシル基がフリーである求電子剤 **46** を2-プロパ

ノール溶媒下、トリエチルアミンを塩基に用いてアルキル化することにより HPLC 定量収率 85%で反応が進行し、目的とする化合物 **48** が得られることを見出した (Scheme 5-4)。また **48** を収率 80%でジメチルエステル体 **53** とし、位置選択的なニトロ化によりニトロ体 **54a** を HPLC 定量収率 57%で合成した。なおニトロ化後は異性体を含む副生物が多く含有されるが、2-プロパノールで再結晶することで **54a** を単離収率 38%で取得できた。続く鉄を用いた還元と分子内環化により 96%で中間体 **30** を構築し新規合成ルートを見出した。

続いて合成プロセスの最適化検討を行った。**13** のアルキル化反応後、精製や単離操作を省略し、one-pot で **48** をジメチルエステル化すること、またエステル化後も抽出による精製のみで単離操作を省略し、**53** をニトロ化することで化合物 **54a** が 2 工程で取得できることを見出した。さらに上記プロセスを用いて、500 g の出発原料を用いてスケールアップ検討を実施した。その結果、**30** (取得量 191 g) を 3 工程、単離操作 2 回にて収率 27%、HPLC にて他の不純物を認めない純度で合成できることを確認し、本ルートが新規製法として有用であることを見出した。

Scheme 5-4. 中間体 **30** の新規合成ルートと最適化プロセスによる 500 g の **13** を用いたスケールアップ結果



本研究で医薬品候補化合物の中間体である **1** と **30** の新規合成法が見出された。これらの結果は疾病に悩む患者さんの下へと医薬品を安定的に届けるために有用と考えられる。中間体 **1** は今後商用生産スケール (10,000 L) において恒常的に生産するための検討が課題となる。また中間体 **30** に関しては各工程の収率向上と、更なるスケールアップにおいて再現性を確認し、将来的な商用生産スケールでの製造を実現するための継続的な検討が本研究の今後の課題である。

研究業績リスト

主要論文

本論文は下記の論文、特許を基にまとめたものである。

第 2 章に関する特許

1. 3-Hydroxy-6*H*-benzo[*c*]chromen-6-one derivative and method for producing same.
Kazuhiro Kudo, Noriyoshi Yamamoto, Masakazu Ban, Atsushi Ohno. Patent grant in US/08802869、US/09029572

第 3 章に関する論文

1. Scalable synthesis of 8-amino-3-hydroxy-6*H*-benzo[*c*]chromen-6-one: key intermediate for SEGRA via the Hurltley reaction.
Kazuhiro Kudo, Noriyoshi Yamamoto. *Org. Process Res. Dev.* **2015**, *19*, 309–314.

第 4 章に関する論文

1. Development of a Practical Synthesis of 7-Bromo-8-methoxycarbonyl-3,3-dimethyl-3,4-dihydro-1*H*-quinoxalin-2-one.
Kazuhiro Kudo, Takahiro Honda, Noriyoshi Yamamoto. *HETEROCYCLES*. **2015**, *91*, 1591–1602.

参考論文等

学術論文

1. Domino Double Michael-Claisen Cyclizations: A Powerful General Tool for Introducing Quaternary Stereocenters at C(4) of Cyclohexane-1,3-diones and Total Synthesis of Diverse Families of Sterically Congested Alkaloids.
Teruhiko Ishikawa, Kazuhiro Kudo, Ken Kuroyabu, Satoshi Uchida, Takayuki Kudoh and Seiki Saito. *J. Org. Chem.* **2008**, *73*, 7498–7508.

学会発表

1. 形式的[3+3]型環化反応を用いた生理活性アルカロイド類の合成研究；石川彰彦、水田智弘、内田聡、工藤一弘、小西博子、斎藤清機：日本化学会第 83 春季年会（東京、2003 年 3 月）
2. 生理活性アルカロイド Galanthamine の全合成研究；工藤一弘、石川彰彦、斎藤清機：日本化学会第 84 春季年会（兵庫、2004 年 3 月）

特許

1. Novel indole derivative having inhibitory activity on I κ B kinase β .
Hiroshi Enomoto, Kenji Kawashima, Kazuhiro Kudou, Minoru Yamamoto, Masaaki Murai, Takaaki Inaba, Noriko Ishizaka. WO/2008/087933
2. Novel pyrrole derivative having ureide group and aminocarbonyl group as substituents.
Kenji Kawashima, Hiroshi Enomoto, Noriko Ishiza, Minoru Yamamoto, Kazuhiro Kudou, Masaaki Murai, Takaaki Inaba, Kazuyoshi Okamoto. WO/2008/105408
3. Prophylactic or therapeutic agent for bone/joint diseases comprising, as active ingredient, pyrrole derivative having ureide group, aminocarbonyl group and substituted phenyl group as substituents.
Masaaki Murai, Fumio Tsuji, Hiroshi Enomoto, Kenji Kawashima, Noriko Kawashima, Kazuhiro Kudou, Minoru Yamamoto. WO/2010/024226
4. Industrial process for preparation of 1,2-dihydroquinoline derivative or a salt thereof, and intermediate for preparation thereof.
Noriyoshi Yamamoto, Atsushi Ohno, Kazuhiro Kudo, Masakazu Ban, Takashi Minura, Takashi Ohtani. WO/2013/108921
5. Method for producing 1,2-dihydroquinoline synthetic intermediate.
Atsushi Ohno, Kazuhiro Kudo, Takeshi Katsuhira. WO/2014/098046
6. Production method for 3,3-dimethyl-3,4-dihydro-1H-quinoxalin-2-one derivative and intermediate for said production method.
Kazuhiro Kudo, Masato Nagatsuka. WO/2015/020204

謝辞

本研究の発表の機会をお与え下さるとともに、本論文のご高閲とご指導を頂きました、奈良先端科学技術大学院大学 物質創成科学研究科 機能高分子科学研究室 本田崇宏教授に深甚なる謝辞を表します。

また本論文の審査をお引き受け頂き、数々の有益なご助言を賜りました奈良先端科学技術大学院大学 物質創成科学研究科 垣内喜代三教授、森本積准教授、松尾貴史准教授に深く感謝致します。

本研究の開始にあたりご尽力頂きました、参天製薬株式会社 元原薬開発グループ グループマネージャー 伴正和博士、同元合成グループ グループマネージャー 山本悟功博士に深く感謝致します。

本論文の発表の機会を与えて頂きました、参天製薬株式会社 プロダクトサプライ本部 本部長 中田圭三氏、同研究開発本部 グローバル製剤技術統括部 統括部長 森島健司氏、あゆみ製薬株式会社 青野浩之博士に深く感謝致します。

本研究の共同研究者である、参天製薬株式会社 大野敦嗣氏、協和ファーマケミカル株式会社 勝平健博士に深く感謝致します。

NMRをはじめ機器分析を頂きました参天製薬株式会社 西岡英子氏に深く感謝致します。

英語論文作成の際に、ご助言頂きました奈良先端科学技術大学院大学 技術英語講師 中山裕木子氏に深く感謝致します。

本論文作成を支えて頂いた、妻に深く感謝致します。