

H1 受容体拮抗薬 K-8986 のプロセス合成法の開発

2020 年

福田 友昭

序文

社会に出る前に持っていた博士のイメージがあった。豊富な知識とそれに裏付けされた確度の高い意見を持ち、冷静沈着に物事の真実と向き合える研究者というものだ。しかし、社会に出て博士にも色々といふことを知った。しっかりとした調査から意見をする人、自身の経験から感性豊かに意見をする人、いささか傲慢な意見をする人と多種多様であった。人間社会、様々な視点や意見があるのは当たり前で、博士も特別ではないということだろう。

では、それら多種多様な博士が存在する中で研究者はどうあるべきなのか。研究者にとって博士という学位はひとつの身分証明となる。諸刃の剣ではあるが、社会では役に立つ機会が少なからずある。本来の目的はその逆で社会の役に立つための博士であるべきなのだろうが。研究者の現状を考えると、検索ツールが充実して科学論文が効率的に取得できるなど利便性が向上し、研究者個々の差がなくなっている。経験の差による影響が小さくなったということだ。しかし、研究環境が良くなり効率的になった結果、非効率なことが許容されなくなった。つまり豊富な知識を得るために重要な“失敗から学ぶ機会”が減少してしまったのだ。失敗から学ぶべきことは多い。失敗が課題解決の糸口になったり、失敗から研究の課題や目標を見つけることもある。医薬品開発における失敗は大いなる財産となる。

新薬の研究開発は失敗の連続で、1つの新薬を世に送り出すためには時間やコストが想定以上にかかる。失敗から得た知識を十分に活用しなければ成功には結びつかない。明確な目標を持ち、やるべきことをやるべき順序で進めなくてはならない。そしてやってみなければわからない部分の成功確率を上げるために十分な準備をする必要がある。研究者にとっての準備も同じである。仮説を検証する研究がほとんどであり、予想した通りの結果が出るかはやってみなければわからない。研究者は、豊富な知識と確度の高い意見が持てるよう準備するべきであり、いつかは社会の役に立つという強い気持ちをもって常に準備する存在であるべきである。そして博士はそういった研究者が目指すものであって欲しい。

自分は実作業の研究者としては折り返しの地点に来たのかもしれない。いつまで研究者でいられるのだろうか。これからいくつのチャンスがあるのだろうか。社会の役に立ちたい。物事の真実を捕まえていきたい。医薬品のプロセス化学を通して、ものづくりの楽しさと向き合っていきたい。現状に満足することなく夢や希望を持ち続け、追及する強い気持ちを忘れないように努めていきたい。そして社会に出る前に持っていたイメージの博士になりたい。研究者人生、まだまだこれからだ。

目次

序文

略語表

第1章 原薬のプロセス合成法の開発	1
1.1 有機合成化学とプロセス合成法の開発	1
1.2 プロセス評価因子 SELECT	1
1.3 初期のプロセス合成法の開発	4
第2章 開発形態の選定	6
2.1 塩の1次スクリーニング	7
2.2 塩の2次スクリーニング	8
2.3 塩の3次スクリーニング	8
第3章 原薬のプロセス合成法の開発	14
3.1 創薬化学ルートの改善検討	14
3.2 化合物5の合成検討	20
3.3 ピペラジンユニットの導入	27
3.4 Boc基の脱保護	30
3.5 最終反応工程	33
3.6 化合物6の1マレイン酸塩の調製	39
3.7 化合物1の粗体の再結晶	42
3.8 化合物の危険性評価	43
第4章 ベンズイミダゾールユニットのプロセス合成法の開発	44
4.1 化合物13の合成検討	44
4.2 ニトロ基の還元	46
4.3 ベンズイミダゾールの合成	47
4.4 化合物の危険性評価	49
第5章 ベンゾチアジンユニットのプロセス合成法の開発	50
5.1 化合物4の合成計画1	50
5.2 化合物4の合成計画2	52

5.3 ベンゾチアゾールの開環	52
5.4 ベンゾチアジンの合成	52
5.5 脱メチル化による化合物 4 の合成	53
5.6 化合物の危険性評価	54
第 6 章 結論	56
Experimental Section	61
References and Notes	68
主論文目録	71
謝辞	72

略語表

Ac	acetyl
Boc	<i>tert</i> -butoxycarbonyl
DBU	1,8-diazabicyclo[5.4.0]undec-7-ene
DMF	<i>N,N</i> -dimethylformamide
equiv	equivalent
ESI	electrospray ionization
Et	ethyl
h	hour
HPLC	high performance liquid chromatography
IgE	immunoglobulin E
<i>i</i> -Pr	isopropyl
LC-MS	liquid chromatography-mass spectrometry
LCAP	liquid chromatography area percent
M	mol/L
Me	methyl
MIBK	methyl isobutyl ketone
Ms	methanesulfonyl
ND	not detected
pH	power of hydrogen
RH	relative humidity
rt	room temperature
RT	retention time
RRT	relative retention time
<i>t</i> -Bu	<i>tert</i> -butyl
temp	temperature
TG-DTA	thermogravimetric-differential thermal analysis
THF	tetrahydrofuran
TMS	trimethylsilyl
UV	ultraviolet
XRPD	X-ray powder diffraction

第 1 章 原薬のプロセス合成法の開発

1.1 有機合成化学とプロセス合成法の開発¹

有機合成化学は医薬品開発で重要な役割を担う。医薬品有効成分の大部分が有機化合物であるためである。製薬企業の中で有機合成化学を基盤とした研究は、新しい医薬品の候補化合物を見つける創薬化学と、見つけた候補化合物を医薬品とするためのプロセス化学の 2 つに大別される。医薬品の開発ステージは、探索研究、非臨床試験、臨床試験及び承認申請の 4 つに分類できる。探索研究では、多数かつ多様な化合物の中からリード化合物を探索し、構造活性相関に基づいて化学構造を最適化する。そして *in vitro* での活性及び選択性、*in vivo* での有効性、体内動態、安全性及び物性の総合的評価から開発候補化合物を選定する。非臨床試験では、開発候補化合物の安全性と有効性を保証するための動物試験を実施する。ヒトに投与しても十分に安全な量と期間を決めるため、数十 g～数 kg の化合物量が必要となる。臨床試験では、開発候補化合物を段階的にヒトに投与して評価する。臨床試験以降で使用する化合物は、Good Manufacturing Practice (GMP) の規制要件を遵守して製造し品質保証されたものでなければならない。そして医薬品としての有用性や品質恒常性を確認し、規制当局に対して承認申請を行う。創薬化学は探索研究から非臨床試験の一部を担当し、プロセス化学は非臨床試験から承認申請、さらに上市後の改良検討までも担当する。

有機合成化学はプロセス化学研究の初期～中期で特に活躍する。これは、短工程、高選択、高収率を目標とする合成ルートの考案に役立つためである。しかし、プロセス化学は、有機合成化学、化学工学及び分析化学が関わり合うサイエンスであるため、原薬のプロセス合成法を開発するためには有機合成化学以外のスケール化因子も考慮しなければならない。原薬のプロセス合成法の開発では“効率の良い目的化合物の大量合成法”を確立する必要があるが、合成法が短工程、高選択又は高収率であったとしても、安全性、コスト及び再現性などの懸念がある場合は大量製造に適さない。原薬製造の効率の良さには実用的要素が含まれるからである。この実用的要素を含むスケール化因子をまとめたものがプロセス評価因子 SELECT である。SELECT は、Safety (安全性)、Environmental (環境負荷)、Legal (法規制)、Economy (経済性)、Control (品質制御)、Throughput (生産性) の 6 つの因子で構成され、これら因子間の相互関係を十分に理解した上で評価する必要がある。以降で SELECT のそれぞれの因子について説明する。

1.2 プロセス評価因子 SELECT¹

(1) Safety (安全性)

SELECT の中で最も重要な因子が安全性である。これはスケールが大きくなるにつれ、

作業員、製造サイト及び地域社会に対する損害という面でリスクが増大するためである。化学物質には、その物理的・化学的性質（引火性、爆発性など）によって生じる物理的影響（危険性）と生体への影響（健康及び環境に対する影響：有害性）がある。安全なスケールアッププロセスを開発するためには、化学物質の危険性及び有害性の有無を調査し、化学反応に関する危険性を把握しなければならない。大部分の医薬品候補化合物及び製造中間体は新規の化学物質であり、特に開発初期では危険性評価が重要となる。危険性評価の一次スクリーニングには示差走査熱量測定（DSC）を用いる。DSCで発熱量が500 J/g未満であり、かつ発熱開始温度が500°Cより低い場合は爆発の危険性が低いと判断される²。また、化学プロセスにおける発熱温度の評価指標として「100°Cルール」が用いられる。これはDSCの感度を考慮して「発熱開始温度マイナス100°C」を真の発熱温度とし、これより低い温度でプロセスを行えば安全であるという考え方である。危険性に懸念が生じた場合は、物理的衝撃や反応熱量に関する高次評価が行われる。危険性評価では、この他に静電気や発生ガス量なども考慮すべき因子である。

(2) Environmental（環境負荷）

環境負荷に関する指標としてグリーンケミストリーの12箇条がある。これらを考慮することで安全性や生産性の向上などにつながる場合もあり、開発後期の製造法構築に向けて重要性の高まる因子である。

<グリーンケミストリーの12箇条>

- ① 廃棄物は「出してから処理」ではなく、出さない
- ② 原料をなるべく無駄にしない形で合成する
- ③ 人体と環境に害の少ない反応物、生成物にする
- ④ 機能が同じなら、毒性のなるべく小さい物質をつくる
- ⑤ 補助物質はなるべく減らし、使うにしても無害なものを
- ⑥ 環境と経費への負担を考え、省エネルギーを心がける
- ⑦ 原料は枯渇性資源ではなく再生可能な資源から得る
- ⑧ 途中の修飾反応はできるだけ避ける
- ⑨ できる限り触媒反応を目指す
- ⑩ 使用後に環境中で分解するような製品を目指す
- ⑪ プロセス計測を導入する
- ⑫ 化学事故につながりにくい物質を使う

(3) Legal (法規制)

先に述べたように、ヒトに投与する化合物は **GMP** の規制要件を遵守する必要がある。日本の **GMP** は、「医薬品、医療機器等の品質、有効性及び安全性の確保等に関する法律（医薬品医療機器等法）」の下位概念である「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** 省令）」として法的要件となる。また、原薬製造では、化学物質の審査及び製造等の規制に関する法律（化審法）や労働安全衛生法など化学物質に関する種々の法規制に対しても注意が必要である。この他、海外で医薬品を開発したり製造したりする場合は、各国が定める法規制に従わなければならない。世界規模で薬事規制上のガイドラインの調和を図るために **ICH**（医薬品規制調和国際会議）の場があり、**ICH** ガイドラインを法律としている国もある。**ICH** ガイドライン³は、品質、安全性、有効性の各分野で作成されており、原薬の製造に向けては、特に品質のガイドラインを十分に理解する必要がある。

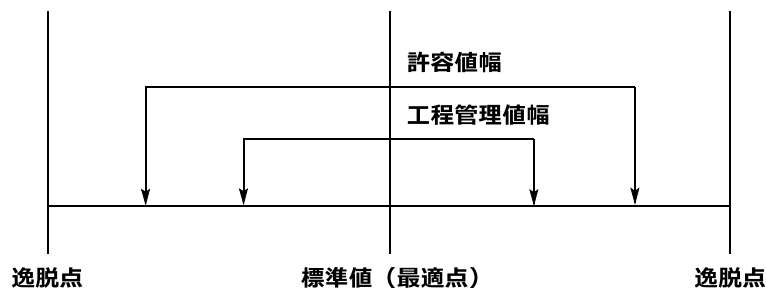
(4) Economy (経済性)

医薬品の開発には膨大な時間と費用が必要となるため、原薬製造では原材料費及び製造実施費用を考慮しなくてはならない。原材料は、入手性も含めて価格を調査する。原材料が枯渇性資源である場合や販売社が限られる場合、ライセンス契約が発生する場合など将来価格が変動する可能性が高いからである。製造実施費用を考える上では、極低温反応やカラム精製など特殊設備での操作が不必要であり、作業時間や廃棄物処理費を抑制したプロセス設計が望まれる。

(5) Control (品質制御)

品質制御には **GMP** の考え方が役立つ。**GMP** の三原則は、①人為的なミスを最小限に抑えること、②医薬品に対する汚染及び品質低下の防止、③高い品質を保証するシステムの設計、である。恒常して高品質な原薬を得るためには、システムを構築し、決められた作業を実施する必要がある。人為的なミスを最小限に抑えるためには、化合物の仕込量、温度及び時間などの操作範囲の設定が有効となる。つまり、規格不適合となる逸脱点を明らかとし、許容値幅を超えないよう、通常操作の実施を工程管理値幅として設定する (Figure 1-1)。

Figure 1-1. 操作範囲の設定



原薬で制御すべき品質として、不純物及び物性がある。不純物は安全性への懸念、物性は安定性及び有効性への懸念につながるため、各項目で ICH ガイドライン³が作成されている。有機不純物 (ICH Q3A)、残留溶媒 (ICH Q3C)、元素不純物 (ICH Q3D) 及び DNA 反応性不純物 (ICH M7) などがあり、これに安定性 (ICH Q1)、安全性 (ICH S シリーズ) 及び規格及び試験方法 (ICH Q6) を踏まえて、原薬に関する不純物及び物性の管理値を決定する。

(6) Throughput (生産性)

生産性は原薬の製造期間や製造コストに影響する因子である。医薬品は安定供給に向けた取り組みが要求されるため、生産性は商業生産以降で特に重要となる。生産性を向上させるためには、収率の向上、操作時間の短縮、原料仕込量の増加などへの取り組みが有効となる。具体的には、合成ルートの短工程化、リニアールートをコンバージェントルートとする、低収率反応を初期工程とするなど合成ルートそのものを変更する方法、または効率的な操作とするためのワンポット反応やテレスコーピングの活用などがある。基本的な製造工程の流れは、原料等の仕込み、反応、反応停止、抽出、濃縮、結晶化、ろ過、乾燥、生成物の取り出し、となる。ワンポット反応は、数種の反応をワークアップせずに順次反応させていく方法であり、抽出以降の操作を短縮できる。テレスコーピングは、生成物の単離をせずに次反応に用いる方法であり、スケールアップ製造でトラブルの多い、結晶化やろ過などの操作を短縮できる。しかし、同時にこれらの方法は不純物の持ち越しによって品質制御を難しくするため、製造工程の十分な理解が必要となる。

1.3 初期のプロセス合成法の開発

これまで述べたように、医薬品候補化合物のプロセス合成法の開発は創薬化学ルートの評価からスタートし、プロセス評価因子 SELECT を考慮して、創薬化学ルートを最適化するか新規合成ルートを開発するか決定する。その際、開発のタイムラインに合わせ

た迅速なプロセス合成法の開発が求められるため、有機合成化学の知識が大いに役立つ。

本研究では、初期のプロセス合成法の開発として医薬品候補化合物の開発形態の選定及び原料も含めた合成ルートを検討し、開発したプロセス合成法をキログラムスケール製造に適用した。

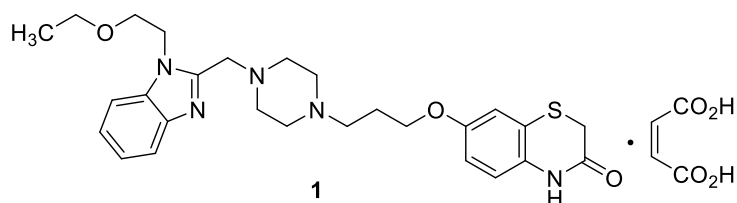
第 2 章 開発形態の選定

主に季節性アレルギー性結膜炎と通年性アレルギー性結膜炎に分類されるアレルギー性結膜炎はアレルゲンに対する I 型過敏症であり、眼の痒み、結膜充血、眼瞼腫脹及び結膜浮腫などの症状が罹患した患者でよく見られる。I 型過敏症の作用機序は以下のとおりである。

- (1) アレルゲンを認識すると IgE 抗体が産出され、肥満細胞のレセプターに結合する
- (2) 結合したレセプター上の IgE 抗体にアレルゲンが結合して架橋すると肥満細胞が活性化される
- (3) 活性化された肥満細胞から化学伝達物質が放出されてアレルギー症状が引き起こされる

ヒスタミンはこの化学伝達物質の 1 つであり、アレルギーの発現にはヒスタミン H1 受容体に関わる。K-8986 (1) はヒスタミン H1 受容体拮抗作用を持つ化合物であり、当該化合物を有効成分としたアレルギー性結膜炎治療に対する医薬品開発が進められていた⁴ (Figure 2-1)。早期段階の研究開発を行うためにキログラムスケールの K-8986 が必要であったため、当該化合物のプロセス合成法の開発に着手した。

Figure 2-1. K-8986 (1) の化学構造



K-8986 のスケールアップ製造を開始するにあたり、開発形態に関して検討した。K-8986 の遊離塩基がアモルファスであり、固体状態の研究が必要であった。低分子原薬の固体状態は品質管理に非常に重要であり、多くの場合、候補化合物が結晶となるよう設計される。一般的に結晶状態の化合物はアモルファス状態よりも安定であるため、医薬品開発にて利点となる、使用期限又はリテスト期間の延長が可能となる。候補化合物の結晶化が困難な場合、適切な開発形態を特定するため、塩形又は共結晶のスクリーニングが行われる。結晶化、塩形成、共結晶及び多形のスクリーニングは、物理的・化学的性質の向上と知的財産権の保護の観点から、創薬プロセスの重要なファクターとなる。

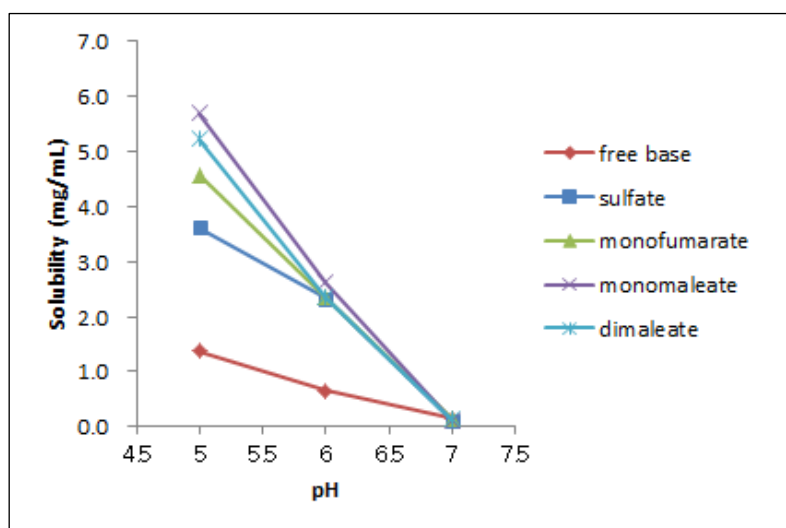
2.1 塩の1次スクリーニング

上述の課題に加えて、K-8986の遊離塩基の水溶解性がpH 6で1 mg/mL未満で製剤化に向けて水溶解性の向上が必要であったため、本化合物に適切な塩形のスクリーニングを行った。医薬品有効成分(API, active pharmaceutical ingredient)に受け入れられる対イオンを選択するため、GRASリスト、オレンジブックデータベース及び関連する科学論文を参照し^{5,6}、塩酸、硫酸、フマル酸、マレイン酸、リン酸及びクエン酸を塩の1次スクリーニングで用いた。K-8986の遊離塩基がピペラジン部分に2つの塩基性窒素を有するので、化合物と対応する酸のモル比を1:1又は1:2に調整して2成分混合物とした。析出した固体の結晶性はTG-DTA及びXRPDの測定にて確認した。塩酸塩は即座に潮解して取得困難であったが、4つの結晶塩(硫酸塩、1フマル酸塩、1マレイン酸塩及び2マレイン酸塩)は容易に調製可能であった(Table 2-1)。これら塩の水溶解性は、点眼液の製造条件(pH 5-6, 25°C)でK-8986の遊離塩基と比較して改善した(Figure 2-2)。

Table 2-1. 塩の1次スクリーニング

酸 (equiv)	塩	性状
塩酸 (1 or 2)	塩酸塩	即座に潮解
硫酸 (1 or 2)	硫酸塩	結晶
フマル酸 (1 or 2)	1 フマル酸塩	結晶
マレイン酸 (1)	1 マレイン酸塩	結晶
マレイン酸 (2)	2 マレイン酸塩	結晶

Figure 2-2. K-8986の遊離塩基及び各塩の水溶解性 (25°C)



2.2 塩の 2 次スクリーニング

塩の 2 次スクリーニングで各塩の物性等を評価した (Table 2-2). 4 つの塩形 (硫酸塩, 1 フマル酸塩, 1 マレイン酸塩及び 2 マレイン酸塩) に関して吸湿性及び眼刺激性を確認したところ, 硫酸塩は眼粘膜刺激性があり⁴, 1 フマル酸塩は吸湿性があった. さらに, 1 フマル酸塩は, TG-DTA 測定結果から結晶多形があると推測され (Table 2-2), 各種溶媒への溶解性の低さから再結晶が困難であった (Table 2-3). これらの結果を基に, 有望な開発候補形態として 1 マレイン酸塩及び 2 マレイン酸塩を選択した.

Table 2-2. 塩の 2 次スクリーニング

塩	TG-DTA 吸熱ピーク	吸湿性 75% RH, 25°C, 1day	眼粘膜刺激性 (ウサギ)	その他
硫酸塩	197°C	0.8%	軽度あり	
1 フマル酸塩	158°C, 292°C	4.9%	なし	再結晶が困難
1 マレイン酸塩	149°C	-0.1%	なし	
2 マレイン酸塩	128°C	0.4%	なし	

Table 2-3. 各塩の溶解性 (60°C)

Entry	溶媒	2 硫酸塩	1 フマル酸塩	1 マレイン酸塩	2 マレイン酸塩
1	MeOH	10	13	500	500
2	EtOH	<10	<10	63	33
3	Acetone	<10	<10	<10	<10
4	AcOEt	<10	<10	NA	<10
5	water	500	10	167	100
6	10% water/EtOH	13	50	NA	500
7	10% water/Acetone	<10	33	NA	333

2.3 塩の 3 次スクリーニング

1 マレイン酸塩と 2 マレイン酸塩の品質特性を比較する前に, 各塩の安定形を把握するため, 結晶多形スクリーニングをした. 評価には TG-DTA 及び XRPD を用いた.

1 マレイン酸塩は結晶多形が見つからず, Figure 2-3 及び Figure 2-4 のデータを示した結晶形を安定形とし, 以降の評価に用いた.

Figure 2-3. 1 マレイン酸塩の TG-DTA 測定

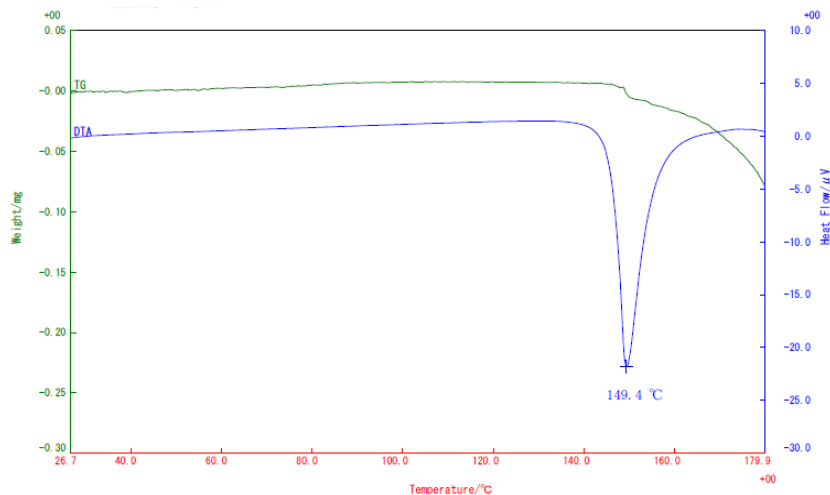
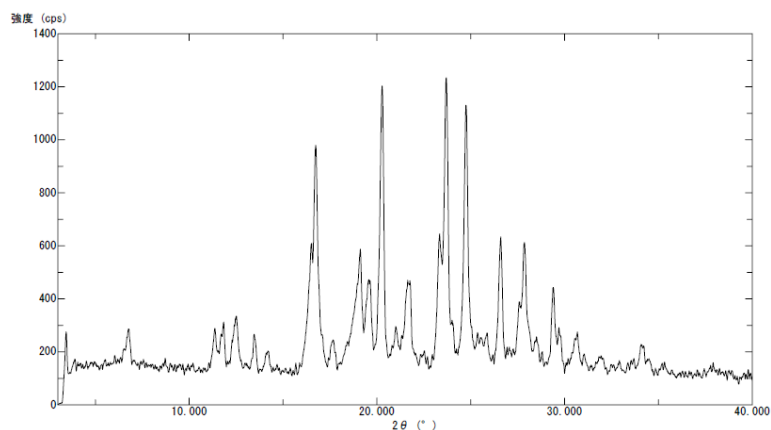


Figure 2-4. 1 マレイン酸塩の XRPD 測定



2 マレイン酸塩の結晶多形スクリーニングの結果を Table 2-4 にまとめた。2 マレイン酸塩では、種々の溶媒系で生成した α 型 (Figure 2-5 及び Figure 2-8), 2-propanol を用いたときのみ生成した β 型 (Figure 2-6 及び Figure 2-9), MIBK を用いたときのみ生成した γ 型 (Figure 2-7 及び Figure 2-10) の 3 種の結晶多形を確認した。 α 型は融点が最も高かった。 β 型は 2-propanol の溶媒和物であり, 昇温すると 108°C 付近で α 型に熱転移した (Figure 2-11)。 γ 型は再現性が低く, 追加評価が困難であった。 よって, 2 マレイン酸塩では α 型を安定形と判断した。

Table 2-4. 2-マレイン酸塩の結晶多形比較

2 マレイン酸塩	α 型	β 型	γ 型
融点	128°C	112°C	126°C
溶媒系	種々の溶媒系にて生成	2-propanol を用いたときのみ生成	MIBK を用いたときのみ生成 *再現性低い
残留溶媒	溶媒残存なし	2-propanol が 5% 残存 *熱転移にて α 型になる	MIBK が 0.5% 残存

Figure 2-5. 2 マレイン酸塩 (α 型) の TG-DTA 測定

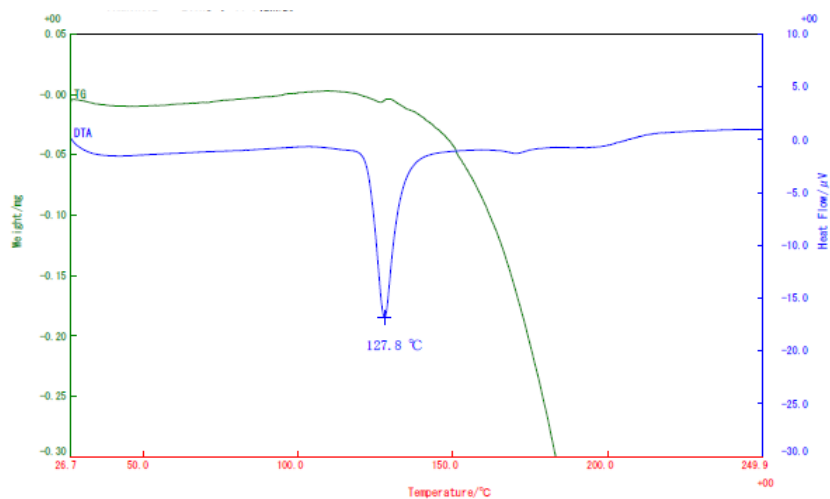


Figure 2-6. 2 マレイン酸塩 (β 型) の TG-DTA 測定

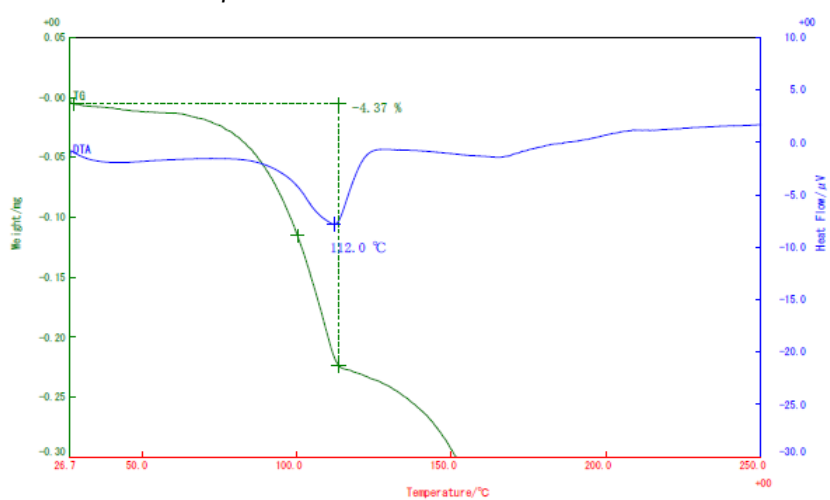


Figure 2-7. 2 マレイン酸塩 (γ 型) の TG-DTA 測定

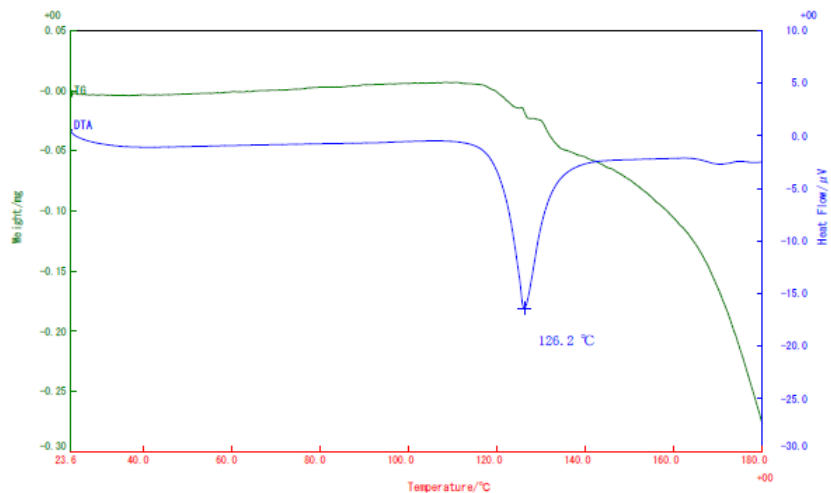


Figure 2-8. 2 マレイン酸塩 (α 型) の XRPD 測定

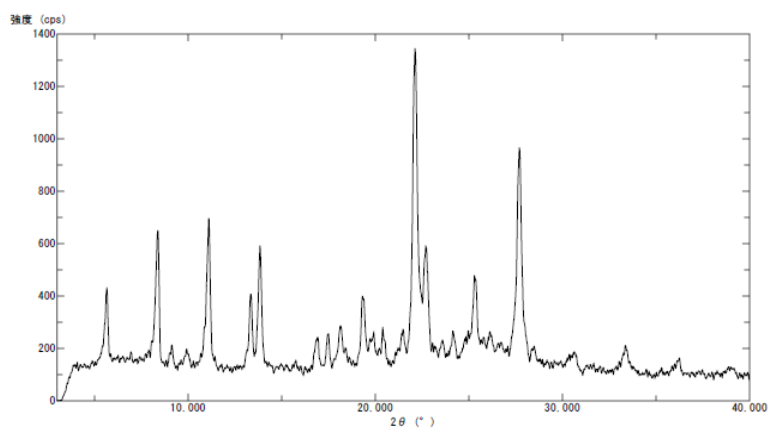


Figure 2-9. 2 マレイン酸塩 (β 型) の XRPD 測定

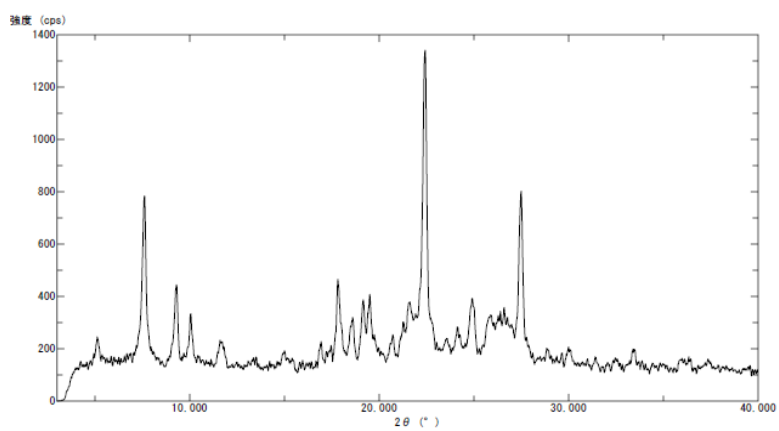


Figure 2-10. 2 マレイン酸塩 (γ 型) の XRPD 測定

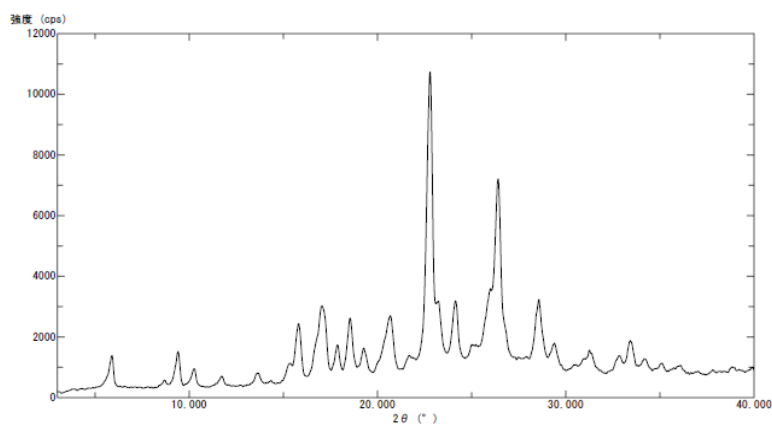
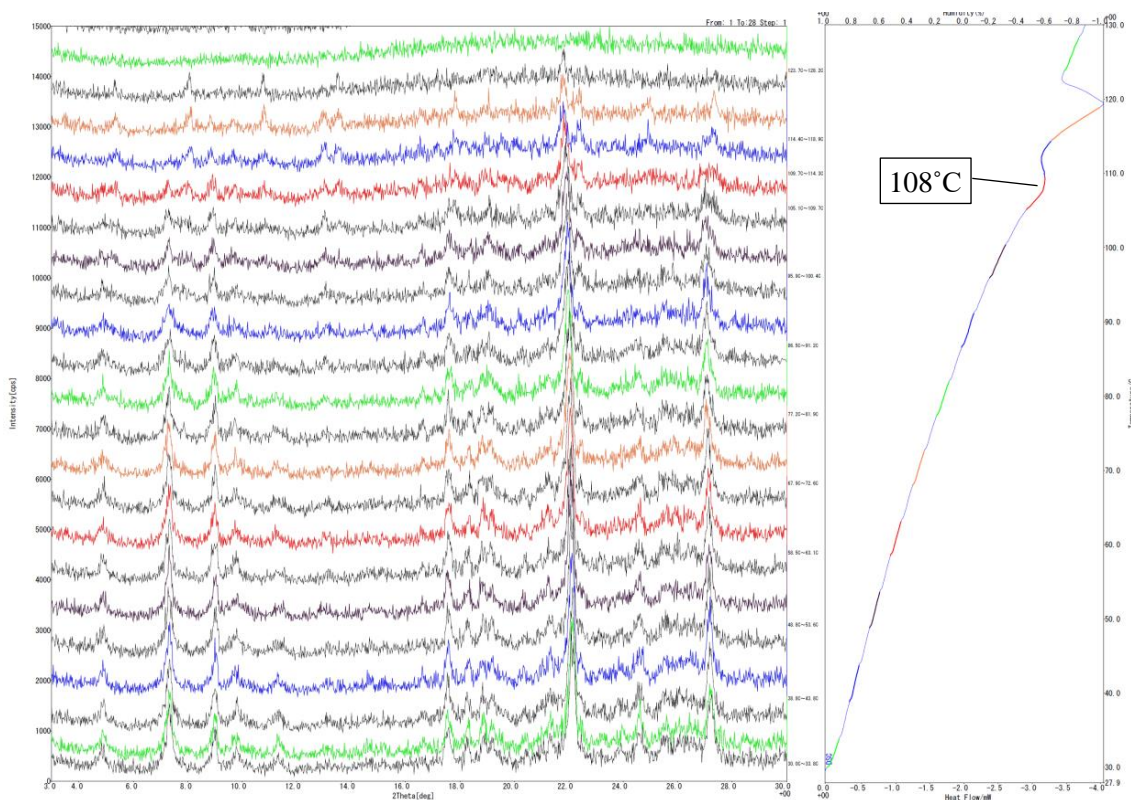


Figure 2-11. 2 マレイン酸塩 (β 型) の DSC/XRPD 測定



上述した 1 マレイン酸塩と 2 マレイン酸塩の安定形を用いて、安定性、吸湿性、水溶解性及び純度を比較した (Table 2-5). 熱 (80°C, 1 週間) 及び光 (120 万 lx/h) に対して、1 マレイン酸塩は安定であったが、2 マレイン酸塩ではわずかに純度が低下した. 吸湿性の検討では、75% RH 及び 93% RH の 2 条件にて 25°C で 1 日経過後の変化を確認した.

1 マレイン酸塩は吸湿性が全くなかったが, 2 マレイン酸塩は湿度の高い条件 (93% RH) で吸湿してアモルファス化した。水溶解性では大きな差がなかったものの, 純度は 1 マレイン酸塩が 2 マレイン酸塩よりも高く, スケールアップ製造時に大きな利点となる精製効果に差があった。

以上より, 医薬品開発を進めるために適切な API の開発形態として 1 マレイン酸塩を選択した。

Table 2-5. 塩の 3 次スクリーニング: 1 マレイン酸塩と 2 マレイン酸塩の比較

conditions	1 マレイン酸塩	2 マレイン酸塩
熱安定性 (80°C, 1 week)	100.6%	98.9%
光安定性 (1.2 million lux hours)	100.6%	94.3%
吸湿性 (75% RH, 25°C, 1 day)	- 0.1%	0.4%
吸湿性 (93% RH, 25°C, 1 day)	0.1%	11.0% アモルファスに変化
水溶解性 (pH 5.5)	5.10 mg/mL	3.85 mg/mL
純度 (HPLC area% ^a)	99.4%	97.2%

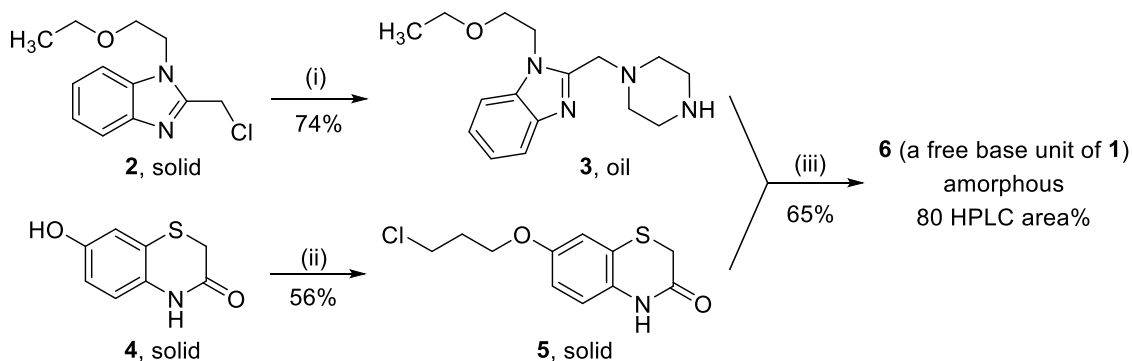
a: HPLC condition A

第3章 原薬のプロセス合成法の開発

3.1 創薬化学ルートの改善検討

化合物 **6** (**1** の遊離塩基) の創薬化学での合成ルートを Scheme 3-1 に示す. 当該合成ルートをスケールアップ製造に適用するには3つの大きな課題があった. 第1に, 化合物 **2** とピペラジンの *N*-アルキル化がピペラジンを介した二量体の副生成を抑制するため長時間反応であった⁷. 第2に, 化合物 **6** の合成には高温 (120°C) 及びクロマトグラフィー精製が必要であった. 第3に, 化合物 **4** と 1-ブromo-3-クロロプロパンの *O*-アルキル化の生成物である化合物 **5** が難溶解性のため品質管理が困難であった. しかしながら, 当該合成ルートはコンバージェントであり, 3つの化学変換工程が良好な収率であったため, 上記の課題に取り組んだ.

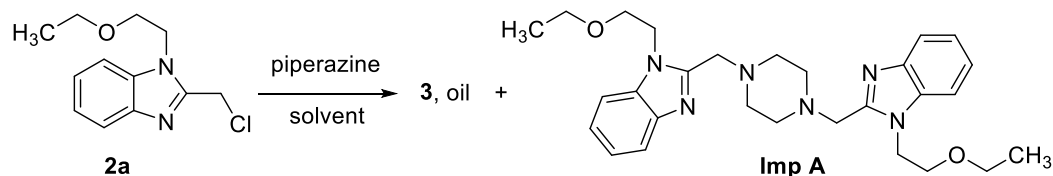
Scheme 3-1. 化合物 **6** の創薬化学での合成ルート



Reagents and conditions: (i) piperazine (2 equiv), NEt₃, EtOH (30 v/w), rt, 2 days; (ii) 1-bromo-3-chloropropane, K₂CO₃, 2-butanone, reflux, 13 h; (iii) K₂CO₃, KI, DMF, 120 °C, 5 h, HPLC condition B.

化合物 **2** とピペラジンの *N*-アルキル化を検討した. Table 3-1 の Entry 1-3 に示すように, ピペラジン量の増加によって **Imp A** の副生が減少した. 反応溶媒の検討では, Entry 8 のトルエンを用いた条件で **Imp A** の副生を最も抑制できたが, 反応液が懸濁し, 反応液のサンプリングに課題を残した. 化合物 **3** と **Imp A** の比率は改善傾向にあったが, 反応時間の短縮は困難であったため化合物 **2** の脱離基の変更を計画した.

Table 3-1. 化合物 **2** とピペラジンの *N*-アルキル化検討 1

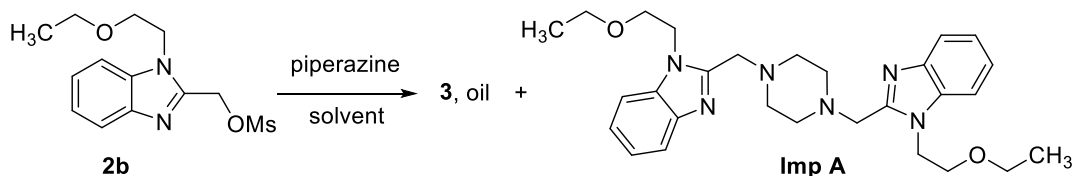


Entry	piperazine (equiv)	solvent (v/w)	temp (°C)	time	HPLC area% ^a	
					3	Imp A
1 ^b	2	EtOH (30)	rt	2 days	66	34
2	4	EtOH (30)	rt	1 day	86	14
3	8	EtOH (30)	rt	1 day	93	7
4	4	MeOH (30)	rt	1 day	84	16
5	4	1:1 (v/v) EtOH/H ₂ O (30)	rt	1 day	88	12
6	4	MeCN (30)	rt	1 day	90	10
7	4	AcOEt (30)	rt	1 day	90	10
8	4	toluene (30)	rt	1 day	92	8

a: HPLC condition B, b: The isolated yields of **3** and **Imp A** were 74 and 25%, respectively.

化合物 **2** の脱離基をメシレート (化合物 **2b**) とし、ピペラジンとの *N*-アルキル化を検討したところ、反応時間を大幅に短縮できた (Table 3-2)。化合物 **3** と **Imp A** の比率に対しては、ピペラジン量の影響が大きく (Entry 1-3), 反応温度の影響はなかった (Entry 3-5)。そのため、ピペラジンを 10 当量用いたところ、最も良い結果となった (Entry 6)。

Table 3-2. 化合物 **2** とピペラジンの *N*-アルキル化検討 2

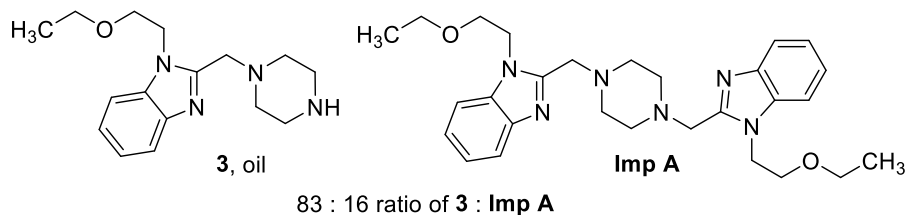


Entry	piperazine (equiv)	solvent (v/w)	temp (°C)	time	HPLC area% ^a	
					3	Imp A
1	2	MeOH (2)	0	6 h	1	86
2	4	MeOH (2)	0	2 h	71	28
3	6	MeOH (3)	0	2 h	85	13
4	6	MeOH (3)	rt	2 h	88	12
5	6	MeOH (3)	60	2 h	85	13
6	10	MeOH (3)	rt	2 h	92	6

a: HPLC condition B

化合物 **3** の塩形成による精製効果を確認した (Table 3-3). 原料には化合物 **3** と **Imp A** の比率が 83:16 の混合物を用いた. 硫酸, 塩酸, マレイン酸及びフマル酸を用いた場合に結晶が得られ, 硫酸塩は膨潤してろ過性が悪かったため精製効果がなく, 塩酸塩は潮解性のため取得が困難であった. 2 マレイン酸塩及び 2 フマル酸塩は精製効果があり, 前述の結果 (Table 3-2) との組み合わせによって高純度の化合物 **3** が調製可能となった.

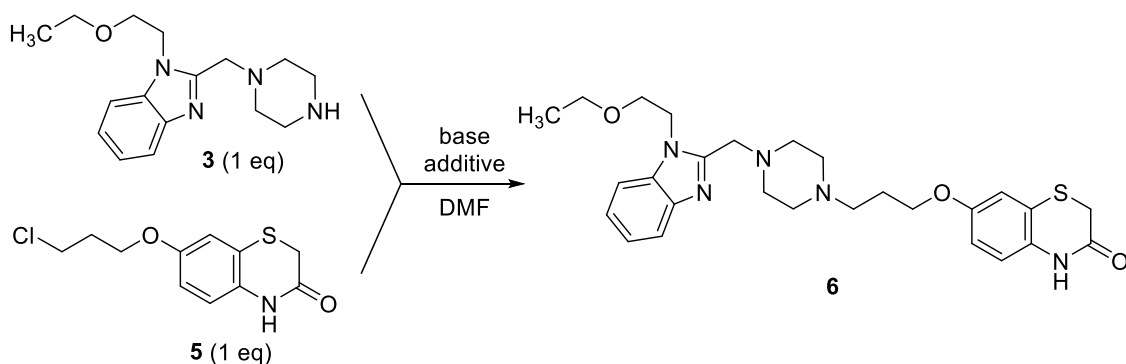
Table 3-3. 化合物 **3** の精製検討



Entry	酸 (2 equiv)	結晶化溶媒	塩	性状	HPLC area% ^a	
					3	Imp A
1	硫酸	EtOH	硫酸塩	結晶	82	17
2	塩酸	EtOH	塩酸塩	結晶 (潮解性)	-	-
3	リン酸	EtOH	-	-	-	-
4	トシル酸	EtOH	-	-	-	-
5	マレイン酸	EtOH	2 マレイン酸塩	結晶	97	3
6	フマル酸	EtOH	2 フマル酸塩	結晶	92	8

a: HPLC condition B

次に化合物 **3** と化合物 **5** の *N*-アルキル化を検討した。創薬化学ルートでは化合物 **3** を 2 当量用いていたが、製造コストを考慮して化合物 **3** を 1 当量とした。反応温度は様々な反応設備に対応できるように 100°C に設定し、溶媒は、DMF、CH₃CN 及び EtOH を用いた反応性の評価から DMF を選択した。塩基は炭酸カリウムを用いた条件で化合物 **6** の HPLC 純度が高かった (Table 3-4)。

Table 3-4. 化合物 **3** と化合物 **5** の *N*-アルキル化 1

Entry	base (equiv)	additive (equiv)	temp (°C)	time	HPLC area% ^a
1	K ₂ CO ₃ (2)	KI (1)	100	5 h	88
2	Cs ₂ CO ₃ (2)	KI (1)	100	5 h	50
3	NaOH (2)	KI (1)	100	5 h	37
4	<i>t</i> -BuOK (2)	KI (1)	100	5 h	12
5	DBU (2)	KI (1)	100	5 h	58

a: HPLC condition B

化合物 **6** の HPLC 純度が 9 割程度となっている要因に不純物ピーク数の多さがあった。そこで反応性に影響するパラメータを特定するため、よう化カリウム量及び反応温度を検討した (Table 3-5)。その結果、よう化カリウムを 1 当量とした場合に HPLC 純度が最も良く (Entry 1-3)、反応温度は HPLC 純度に影響しなかった (Entry 1, 4 及び 5)。

Table 3-5. 化合物 **3** と化合物 **5** の *N*-アルキル化 2

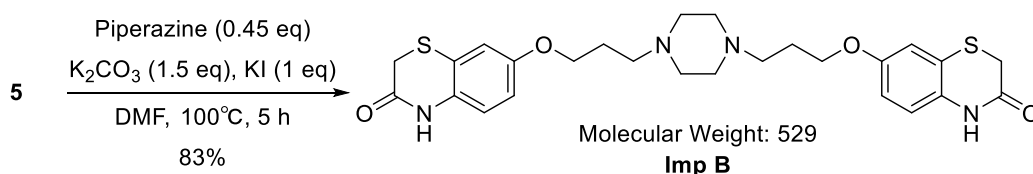
Entry	base (equiv)	additive (equiv)	temp (°C)	time	HPLC area% ^a
1	K ₂ CO ₃ (1.5)	KI (1)	100	5 h	88
2	K ₂ CO ₃ (1.5)	KI (0.5)	100	5 h	84
3	K ₂ CO ₃ (1.5)	none	100	5 h	51
4	K ₂ CO ₃ (1.5)	KI (1)	80	8 h	88
5	K ₂ CO ₃ (1.5)	KI (1)	60	15 h	87

a: HPLC condition B

上述の検討で取得した化合物 **6** はクロマトグラフィー精製を必要とせずマレイン酸塩化できたが、新たな課題として原薬品質に影響する不純物を確認した。当該不純物は化合物 **6** に 0.4 HPLC area%含まれており、再結晶を繰り返すと増加した。

当該不純物は LC-MS 測定 (ESI, ポジティブモード) で $m/z = 529$ のピークを観測し, UV スペクトルからベンゾチアジン骨格を有する構造が示唆されたため, ピペラジンに化合物 **5** が 2 つ付加した構造を推定した. そこで Scheme 3-1 に示す方法にて標品を合成し, 当該不純物を **Imp B** と同定した.

Scheme 3-1. **Imp B** の合成



Imp B は化合物 **3** に残存したピペラジンが原因となり副生する. ピペラジンの残存に対処するには, 生成物の塩を利用して反応後のピペラジンを除去する, 若しくは塩酸とピペラジンを同モル用いる条件やシリル基で一時的に保護する条件によってモノアルキル化のピペラジン使用量を減らすなどの方法が有効となる⁷. しかし, これらの方法を当該合成ルートで適用してもピペラジンの持ち越しによる **Imp B** 形成の完全な制御が困難であると予測した. また, 後述するように, 1 マレイン酸塩と 2 マレイン酸塩を確実に作り分けるため, 化合物 **6** の更なる純度向上が必要であった.

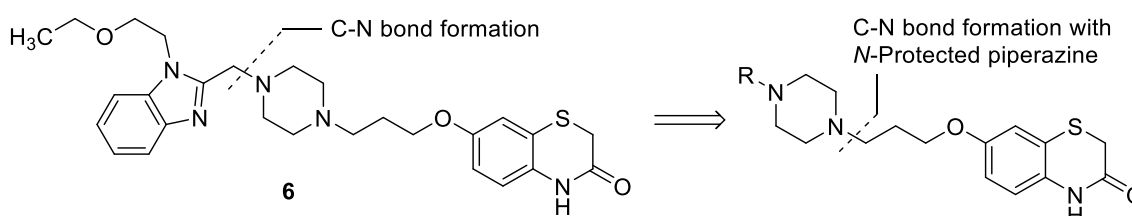
これらの課題を解決するため, 化合物 **6** の新たな合成法の開発に取り組んだ. Table 3-6 に示すように, ベンゾチアジン骨格を持つ合成中間体の低溶解性に関する情報を創薬化学ルートの検討で得ていた. 一般に, 化合物の低溶解性はプロセス合成法の開発に適さない. これは化合物の低溶解性が再結晶を困難とするためである. しかしながら, 目的化合物が低溶解性であれば, 高極性の溶媒を用いた晶析やスラリー洗浄が可能になると考えた. そのため, この性質の利用によって創薬化学ルートでの課題を解決できると予想し, 新規合成ルートを考案した.

Table 3-6. ベンゾチアジン含有化合物の溶解性 (mg/mL at 25°C)

Solvent	4	5	7 (vide infra)	8 (vide infra)
water	<1	<1	<1	NA ^a
acetonitrile	1.5	5.3	4.9	<1
methanol	11.2	4.8	17.2	7.3
ethanol	8.7	3.7	11.1	<1
2-propanol	6.0	2.1	6.3	<1
acetone	7.5	15.0	9.6	<1
tetrahydrofuran	19.6	47.5	60.3	<1
ethyl acetate	1.8	8.3	11.8	<1
toluene	<1	1.7	5.1	<1

a: Not available.

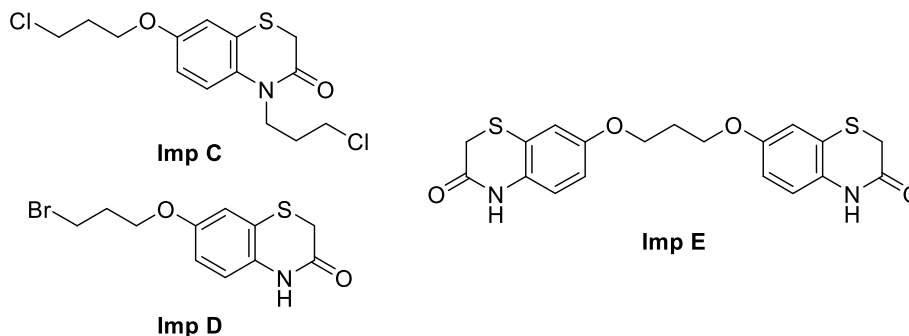
新規合成ルートは、保護されたピペラジンとの C-N 結合形成を経由する方法を計画した (Scheme 3-2). このルートではピペラジンユニットの導入後に精製する機会が増え、ベンゾチアジン骨格由来の低溶解性を利用したろ過操作で試薬由来の不純物や合成副生物を容易に除去できると考えた. また、最終反応工程が化合物 **2** とピペラジンの C-N 結合形成となるため、反応条件の緩和による化合物 **6** の純度向上が期待できた.

Scheme 3-2. 中間体の低溶解性を利用した新規合成計画

3.2 化合物 **5** の合成検討

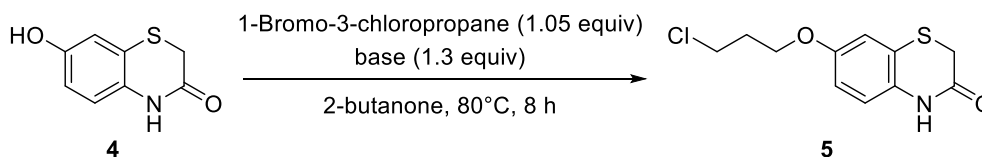
新規合成プロセスを確立するためにベンゾチアジン中間体の品質管理が重要であったので、化合物 **5** の合成を検討した. 1-ブロモ-3-クロロプロパンと化合物 **4** の *O*-アルキル化で調製した化合物 **5** は、**Imp C**、**Imp D** 及び **Imp E** を含んでいた (Figure 3-1). これらの不純物は、以降のプロセスを通してほとんど除去できなかったため、その生成抑制に取り組む必要があった.

Figure 3-1. Imp C, Imp D 及び Imp E の構造



まずは塩基を検討した (Table 3-7). 強塩基では **Imp C**, **Imp D** 及び **Imp E** の副生量が増えるという知見があったため, 比較的マイルドな塩基を用いた結果, 炭酸カリウムのみが有効であった (Entry 1).

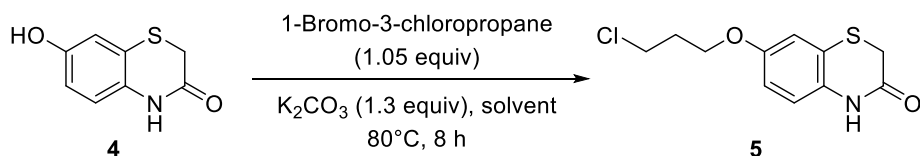
Table 3-7. 1-ブロモ-3-クロロプロパンと化合物 4 の O-アルキル化 1



Entry	base	HPLC area% ^a				
		5	4	Imp C	Imp D	Imp E
1	K ₂ CO ₃	35	57	ND	1	1
2	Na ₂ CO ₃	ND	100	ND	ND	ND
3	Li ₂ CO ₃	ND	100	ND	ND	ND
4	CaCO ₃	ND	100	ND	ND	ND
5	NEt ₃	3	96	ND	1	ND
6	<i>i</i> -Pr ₂ NEt	1	89	ND	ND	ND
7	Pyridine	ND	100	ND	ND	ND

a: HPLC condition B

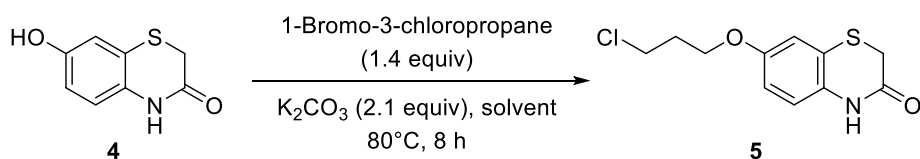
続いて溶媒を検討したところ, Table 3-8 の Entry 5 に示すように 10%含水エタノールを用いる条件で良好な結果を得た. 上述の塩基の検討も含めると, 化合物 4 のカリウム塩の溶解が反応性に影響した可能性が高いと考える.

Table 3-8. 1-ブロモ-3-クロロプロパンと化合物 **4** の *O*-アルキル化 2

Entry	solvent	HPLC area% ^a				
		5	4	Imp C	Imp D	Imp E
1	2-butanone	35	57	ND	1	1
2	DMF	21	46	ND	3	10
3	MeCN	40	48	<1	1	1
4	EtOH	56	30	ND	1	7
5	10% water/EtOH	71	15	1	2	3
6	10% water/2-propanol	65	19	1	2	1
7	10% water/ <i>n</i> -propanol	51	33	ND	2	5

a: HPLC condition B

原料である化合物 **4** は、アルキル化剤と塩基の増加によって消失した (Table 3-9). エタノールの含水量は 5-10% が適切であった (Entry 1-2). しかしながら依然として固液反応であり、スケールアップした際に攪拌効率が変化すると不純物量がばらつく可能性が高かった. さらに化合物 **5** の再精製も困難であったため、本反応方法による化合物 **5** の合成を断念した.

Table 3-9. 1-ブロモ-3-クロロプロパンと化合物 **4** の *O*-アルキル化 3

Entry	solvent	HPLC area% ^a				
		5	4	Imp C	Imp D	Imp E
1	5% water / EtOH	88	<1	4	2	1
2	10% water / EtOH	86	1	3	3	2
3	30% water / EtOH	55	34	ND	2	3

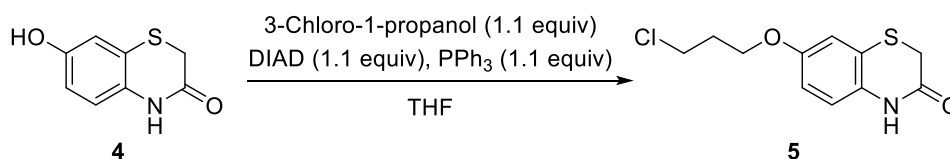
a: HPLC condition B

不純物の生成を抑制できるよう、化合物 **4** の反応点を考慮して光延反応を選択した。光延反応は試薬由来の副生物の除去が課題となるが、ベンゾチアジン骨格由来の低溶解性を利用すればこの課題を解決できると考えた。光延試薬は入手性及び安全性を考慮して DIAD (diisopropyl azodicarboxylate) とした⁸。化合物 **4** の溶解性を考慮すると THF は適切ではなかったものの (Table 3-6)、化合物 **4** の懸濁液に DIAD を加える過程で溶液となり反応したため THF を選択した。3-クロロ-1-プロパノールと化合物 **4** の光延反応は上述した除去しにくい不純物 (**Imp C**, **Imp D** 及び **Imp E**) を生成せず、反応プロファイルがきれいだった。

光延反応では、反応終了後にトリフェニルホスフィンオキシド ($\text{Ph}_3\text{P}=\text{O}$) とヒドラジンジカルボン酸ジイソプロピルが 1:1 の錯体を形成する。この錯体を除去するために実験室スケールではクロマトグラフィー精製を行うが、スケールアップ製造では避けるべき操作である。スケールアップ製造に適用可能な方法を調査すると、上述の錯体を反応晶析及びリスラリーの 2 度のろ過で除去する方法、反応後の pH 調整によって生成物を可溶性塩にして錯体を固液分離する方法、又は生成物の塩を含んだ水層を有機溶媒で洗浄する方法などの報告例があった⁹。しかし、いずれの方法も煩雑な精製操作であったため、化合物 **5** の低溶解性を活用した簡便な精製操作を開発した。

上記の錯体及びトリフェニルホスフィンオキシドはいずれも MeOH に溶解するが、化合物 **5** は MeOH には溶けにくかった (Table 3-6)。そこで反応終了後に反応液を濃縮して MeOH 溶媒系でスラリー洗浄したところ、MeOH/water (2:1) ではトリフェニルホスフィン (PPh_3) 及びトリフェニルホスフィンオキシドのいずれも残留したが、MeOH では完全に除去できた (Table 3-10)。

Table 3-10. 光延反応の後処理検討



Entry	Workup: 反応液濃縮後にスラリー洗浄	yield (%)	GC area%		
			5	PPh_3	$\text{Ph}_3\text{P}=\text{O}$
1	2:1 (v/v) MeOH/water (9 v/w), 23°C, 1 h	82	87.7	8.1	1.6
2	MeOH (6 v/w), 23°C, 1 h	81	97.1	ND	ND

また、光延反応は水の影響を受ける反応である。化合物 **4** は吸湿性があり、空気中で放置すると水分量が約 3% まで増加したため、化合物 **4** の水分を管理する必要があった。

Table 3-11 に示すように、水分を 0.57%、0.86%、1.41% 含む化合物 **4** を光延反応に用いたところ、水分の増加に伴い収率が低下した。この結果から化合物 **4** の水分を 1% 以下に設定した。

Table 3-11. 光延反応に対する化合物 **4** の水分の影響

Entry	化合物 4 の水分	収率
1	0.57%	80%
2	0.86%	77%
3	1.41%	71%

化合物 **4** の水分の管理に向けて乾燥時の安定性を確認した (Table 3-12)。減圧乾燥で水を除去するためには外温 50°C 以上とする必要があるため、外温 60°C で 48 時間までの経時変化を確認した。その結果、化合物 **4** の乾燥時の安定性に問題はなかった。

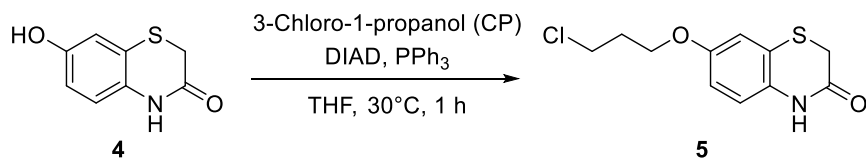
Table 3-12. 化合物 **4** の乾燥時の安定性 (外温 60°C)

RRT	化合物	HPLC area% ^a			
		initial	6 h	24 h	48 h
0.74	不明	0.31	0.32	0.32	0.31
1.00	4	99.6	99.6	99.7	99.7

a: HPLC condition C

これまでの検討結果から化合物 **5** のスケールアップ製造に光延反応が適用できると判断し、その他の詳細な反応条件を検討した。Table 3-13 に示すように、反応溶媒量の影響はなかった (Entry 1-3) また、仕込みの容易さから DIAD のトルエン溶液を用いて検討した。その結果、反応への影響がなかったため、DIAD のトルエン溶液をスケールアップ製造に用いた (Entry 4)。

Table 3-13. 光延反応の検討 1

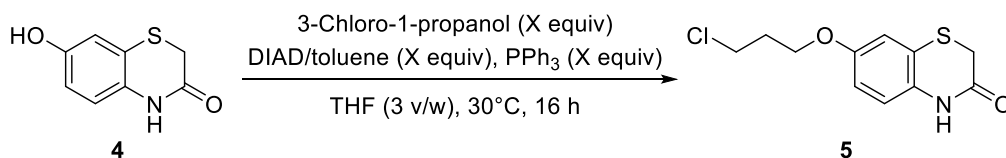


Entry	CP (equiv)	DIAD (equiv)	PPh ₃ (equiv)	THF (v/w)	転化率 (%)	yield (%)	HPLC area% ^a
1	1.1	1.1	1.1	4	98.7	78	98
2	1.1	1.1	1.1	3	98.2	78	96
3	1.1	1.1	1.1	2	98.0	78	97
4	1.3	1.2 ^b	1.2	3	98.1	74	97

a: HPLC condition A, b: 40% toluene solution,

Table 3-14 の Entry 1 に示すように、反応時間を 16 時間まで延長しても原料である化合物 **4** が消失しなかったため、試薬量を検討した。3-クロロ-1-プロパノール、DIAD 及び PPh₃ を同モルとして増量した結果、1.5 当量としても化合物 **4** が完全に消失しなかった (Entry 3)。試薬量が反応転化率に影響しなかったため、試薬量は 1.1 当量でも十分であったが、当該反応での水分の厳格な管理を不要とするため、試薬量を 1.3 当量に設定した。これは上述した化合物 **4** の水分以外にも、スケールアップ製造時の使用設備や操作、季節など水分の変動要因を考慮したものである。また、化合物 **4** を含めた不純物は、光延試薬を増量しても MeOH を用いた化合物 **5** の精製にて十分に除去可能であった。

Table 3-14. 光延反応の検討 2



Entry	reagents (X equiv)	HPLC area% ^a	
		4	5
1	1.3	5.5	85.3
2	1.4	5.0	84.5
3	1.5	2.5	84.9

a: HPLC condition D

次に DIAD 添加時の発熱の大きさを考慮して、反応温度の影響を調査した。反応液の

内温を 30°C 及び 45°C とし、安定性も含めて確認したところ、各条件での差はなく、反応時間延長に伴う品質低下もなかった (Table 3-15 及び Table 3-16)。

Table 3-15. 光延反応の検討 2: 内温 30°C での反応液の安定性

RT (min)	化合物	HPLC area% ^b					
		initial	1 h	3 h	8 h	24 h	精製後
2.5	4	29.4	4.8	4.4	4.4	4.4	1.0
7.6	DIAD ^{a)}	1.1	1.1	1.2	1.1	1.1	0.6
9.0	DIAD ^{a)}	2.0	1.8	1.8	2.1	2.0	ND
13.8-13.9	5	61.0	85.2	85.5	85.3	85.2	98.4
14.8	Ph ₃ P=O	6.4	6.1	6.1	6.2	6.3	ND
19.1	不明	ND	0.86	0.91	0.94	0.96	ND

a: DIAD 由来ピーク, b: HPLC condition D

Table 3-16. 光延反応の検討 2: 内温 45°C での反応液の安定性

RT (min)	化合物	HPLC area% ^b					
		initial	1 h	3 h	8 h	24 h	精製後
2.5	4	36.1	5.0	5.1	5.1	5.1	0.9
7.6	DIAD ^{a)}	1.1	1.1	1.2	1.1	1.1	ND
9.0	DIAD ^{a)}	1.8	1.9	1.8	1.9	1.3	ND
13.8-13.9	5	54.6	84.8	84.8	84.6	85.1	99.1
14.8	Ph ₃ P=O	6.4	6.2	6.2	6.3	6.4	ND
19.1	不明	ND	1.0	1.0	1.0	1.0	ND

a: DIAD 由来ピーク, b: HPLC condition D

化合物 **5** を固体として取り出すため、乾燥時の安定性を確認した (Table 3-17)。外温 60°C で 48 時間までの経時変化がなく、化合物 **5** は安定であった。

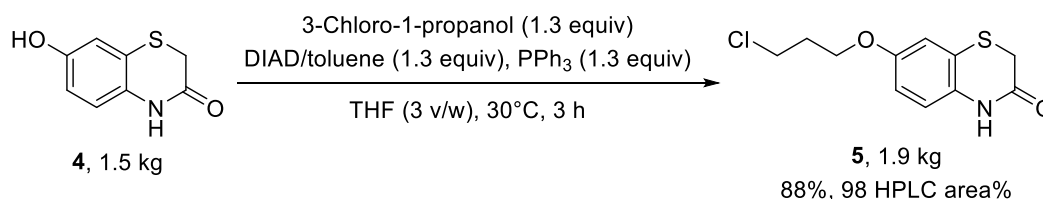
Table 3-17. 化合物 5 の乾燥時の安定性 (60°C)

RRT	化合物	HPLC area% ^a			
		initial	6 h	24 h	48 h
0.19	4	0.77	0.78	0.76	0.77
0.46	不明	0.30	0.30	0.30	0.30
0.61	不明	0.33	0.34	0.33	0.33
1.00	5	98.50	98.5	98.5	98.5

a: HPLC condition E

以上の検討によって、新規合成プロセスの検討に向けた化合物 5 の製造法を確立したためスケールアップ製造に適用した。化合物 4 を 1.5 kg 用いて製造を行い、収率 88%、98 HPLC area% (HPLC condition E) で化合物 5 を得ることができた (Scheme 3-3)。

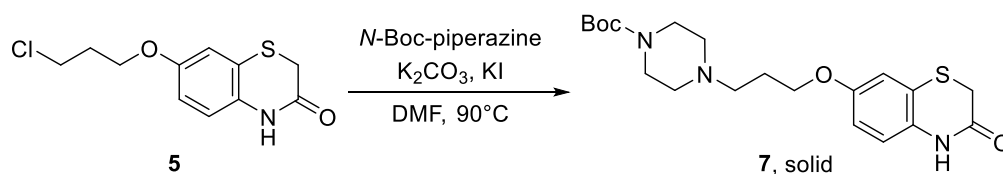
Scheme 3-3. 化合物 5 のスケールアップ製造



3.3 ピペラジンユニットの導入

ピペラジンユニットの導入には容易に入手可能で安価な *N*-Boc ピペラジンをを用いた。化合物 5 と *N*-Boc ピペラジンの *N*-アルキル化は、創薬化学ルートの化合物 3 と化合物 5 の *N*-アルキル化と同様の条件で進行し、化合物 7 を固体として与えた。なお、検討及びスケールアップ製造に使用した *N*-Boc ピペラジン中のピペラジン量は 3-5%であった¹⁰。

Scheme 3-3. 化合物 5 と *N*-Boc ピペラジンの *N*-アルキル化



創薬化学ルートの課題であった **Imp B** は本工程でも副生する可能性があった。**Imp B** の副生に影響するパラメータを調査した結果、炭酸カリウム及びよう化カリウムの量の関与が判明した (Table 3-18)。炭酸カリウム量の増加によって **Imp B** の量が多くなり

(Entry 1-3), よう化カリウムを0.5当量と少なくした条件で **Imp B** が多く生成した (Entry 5). そのため, 試薬量を, *N*-Boc ピペラジンは1.05 当量, 炭酸カリウムは0.75 当量, よう化カリウムは1.25 当量に設定した.

Table 3-18. 化合物 **5** と *N*-Boc ピペラジンの *N*-アルキル化検討

Entry	<i>N</i> -Boc-piperazine (equiv)	K ₂ CO ₃ (equiv)	KI (equiv)	yield (%)	HPLC area% ^a	
					7	Imp B
1	1	1.5	1	96	96	0.32
2	1	1	1	96	97	0.16
3	1	0.5	1	98	98	ND
4	1	1	1.5	98	97	0.15
5	1	1	0.5	97	93	0.41
6	1.05	1	1	98	97	0.13
7	1.1	1	1	98	97	0.12

a: HPLC condition A

後処理の課題として, 反応終了後に水を加えて析出した化合物 **7** の流動性及び, ろ過性が非常に悪かった. 原因は化合物 **7** の結晶が細かく凝集しやすい性質にあった. そこで, 結晶の析出を緩やかとして分散性が良くなるよう, 内温 70°C 以上で水を加える操作を設定した. 水の添加量は収率及び純度に影響しなかったため, ろ過操作への移行を考慮して6倍容量とした (Table 3-19).

Table 3-19. 化合物 **5** と *N*-Boc ピペラジンの *N*-アルキル化の後処理検討

Entry	水 (X v/w)	収率 (%)	HPLC area% ^a
1	10	96	96.7
2	8	99	96.0
3	6	99	96.2
4	4	97	96.5

a: HPLC condition A

単離した化合物 **7** の不純物プロファイルを確認したところ、新規不純物として **Imp F** を 0.4 HPLC area% 含んでいた (Figure 3-2)。当該不純物の構造が溶けにくいと予想されたため、以降の工程への持ち越しを懸念して本工程での除去を検討した。化合物 **7** の溶解性データから (Table 3-6)、THF を用いた化合物 **7** の再結晶を試みた。化合物 **7** に 5 倍容量の THF を加えて内温 60°C で溶解し、溶液中の不溶物をろ過で除去した後に結晶化したところ、**Imp B** 及び **Imp F** を含むほとんどの不純物を除去できた (Table 3-20)。精製後の化合物 **7** が THF の溶媒和物となったものの、含量が 97.4% から脱溶媒和物換算で 99.9% まで向上した。

しかし、その後の **Imp F** を含む化合物 **7** を用いた検討によって **Imp F** が原薬品質に影響しない不純物であると判明したため、当該精製操作は本工程の不純物プロファイルが変化した際の救済処置の位置づけとした。

Figure 3-2. **Imp F** の構造

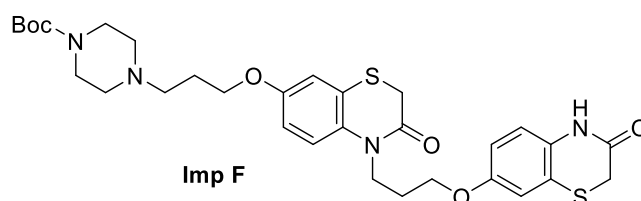


Table 3-20. 化合物 **7** の精製検討

RRT	化合物	HPLC area% ^a	
		精製前	精製後
0.45	Imp F	0.37	0.01
0.73	Imp B	0.10	ND
1.00	7	98.0	99.7

a: HPLC condition F

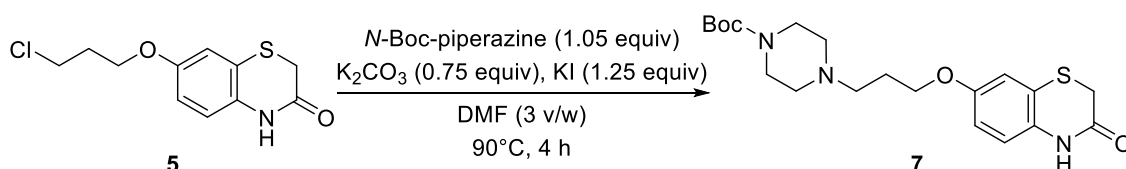
化合物 **7** を固体として取り出すため、乾燥時の安定性を確認した。外温 60°C で 72 時間までの経時変化がなく、化合物 **7** は安定であった (Table 3-21)。

Table 3-21. 化合物 **7** の乾燥時の安定性 (60°C)

RRT	化合物	HPLC area% ^a				
		initial	6 h	24 h	48 h	72 h
0.45	Imp F	0.34	0.34	0.34	0.37	0.34
1.00	7	98.0	98.1	98.0	98.0	98.1
1.21	不明	0.82	0.83	0.82	0.87	0.83

a: HPLC condition F

設定した操作条件をスケールアップ製造に適用した. 化合物 **5** の仕込量を 2 kg 及び 3.4 kg で製造した結果, 再現性の良い化合物 **7** の取得に成功し, 化合物 **7** 中の **Imp B** を 0.10% 以下に抑制できた (Table 3-22).

Table 3-22. 化合物 **7** のスケールアップ製造

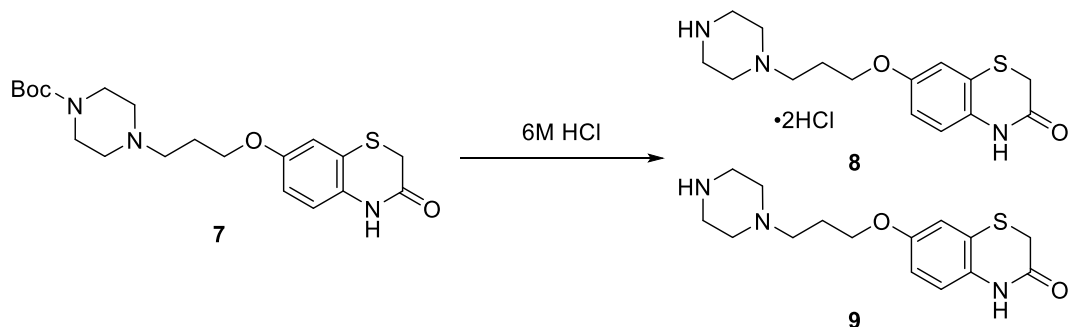
Entry	化合物 5 仕込量	yield (%)	HPLC area% ^a		
			7	Imp B	Imp F
1	2 kg	97	97	0.08	0.39
2	3.4 kg	98	98	0.10	0.38

a: HPLC condition F

3.4 Boc 基の脱保護

酸性条件下で Boc 基を除去して生成物を塩で取得すれば, 不純物プロファイルが変化し, 純度の向上につながると考えた. 化合物 **7** の Boc 基の脱保護は 6M 塩酸で容易に進行し, 塩酸塩である化合物 **8** を固体として取得できた (Scheme 3-4). 化合物 **8** は有機溶媒に溶けにくく (Table 3-6) 反応晶析が容易であった.

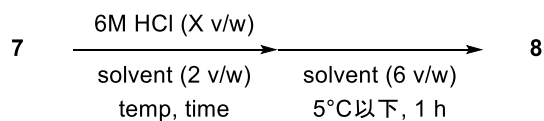
Scheme 3-4. 化合物 **7** の Boc 基の脱保護



酸性条件下での Boc 基の除去は二酸化炭素及びイソブチレンを発生するため、スケールアップ製造時の反応設備の内圧の上昇及びガスの系外への放出に注意しなければならない¹¹。特にイソブチレンは可燃性が高いため系外への放出を抑制する必要があるが、沸点が低くガストラップしにくいといった課題がある。イソブチレンの系外への放出を抑制するためには、アルコール溶媒の選択が効果的である。これは反応で生成したイソブチレンが反応性の高い *tert*-ブチルカチオンと平衡状態にあり、*tert*-ブチルカチオンがアルコール又は水と即座に反応し、対応するエーテル又は *tert*-ブタノールを形成するためである。

本工程でもアルコール溶媒を選択し、急激なガス放出を避けるため、6M 塩酸を用いて反応の進行に影響を与えるパラメータを調査した (Table 3-23)。溶媒をエタノールとした際にメタノールよりも収率が良かった (Entry 1-2)。反応温度を 20°C から 40°C とすると反応時間が 6 時間から 1 時間に短縮した (Entry 2-3)。6M 塩酸の量は反応時間への影響が小さく、塩酸量を増加すると収率が低下した (Entry 3-5)。

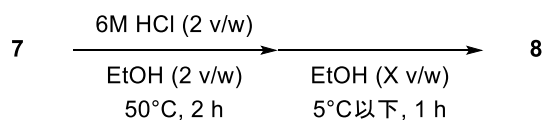
以上の検討から、反応の進行には反応温度の影響が大きく、試薬を全て加えてからの昇温は危険と判断した。よって、スケールアップ製造時の操作は、化合物 **7** にエタノールを加えて 40°C 以上で 2-3 倍容量の 6M 塩酸を滴加する手順とした。

Table 3-23. Boc 基の脱保護の検討 1

Entry	6M HCl (v/w)	solvent	temp (°C)	time (h)	yield (%)	HPLC area% ^a
1	3	MeOH	20	6	82	98
2	3	EtOH	20	6	87	99
3	3	EtOH	40	1	89	98
4	2	EtOH	40	2	92	98
5	5	EtOH	40	1	79	98

a: HPLC condition A

結晶化溶媒の量を調査したところ、収率及び純度への影響はなかった (Table 3-24).

Table 3-24. Boc 基の脱保護の検討 2

Entry	EtOH (X v/w)	yield (%)	HPLC area% ^a
1	5	92	98
2	6	92	98
3	7	93	98

a: HPLC condition A

化合物 **8** を固体として取り出すため、乾燥時の安定性を確認した。外温 60°C で 48 時間までの経時変化がなく、化合物 **8** は安定であった (Table 3-25).

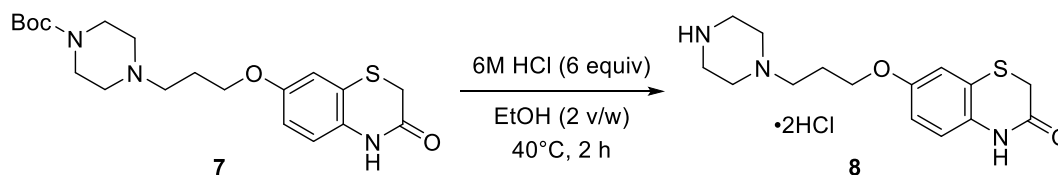
Table 3-25. 化合物 **8** の乾燥時の安定性

RRT	化合物	HPLC area% ^a			
		initial	6 h	24 h	48 h
1.00	8	99.3	99.3	99.3	99.3
1.42	不明	0.19	0.19	0.19	0.19
1.54	不明	0.41	0.41	0.41	0.41

a: HPLC condition G

上述した検討を受けて、化合物 **7** の仕込量を 2.8 kg 及び 3.7 kg で製造した (Table 3-26)。化合物 **8** は結晶水を持つ化合物であり乾燥後の水分に差が出たものの、いずれの製造でも脱水和物換算で収率 99% と定量的に化合物 **8** を得ることができた。そして、ベンゾチアジン骨格を有する各中間体の低溶解性を利用する合成プロセスによって、再結晶なしでも最終反応工程の原料である化合物 **8** を高純度で得ることに成功した。

Table 3-26. 化合物 **8** のスケールアップ製造



Entry	化合物 7 仕込量	yield (%) ^a	HPLC area% ^b	水分
1	2.8 kg	99	99.2	7.2%
2	3.7 kg	99	99.9	2.8%

a: 脱水和物換算, b: HPLC condition G

3.5 最終反応工程

ベンズイミダゾール誘導体の化合物 **2** は、類似構造の化合物 **10** に Ames 試験（細菌を用いる変異原性試験）で陽性の報告があったため ¹²、スケールアップ製造で作業者が暴露されないように注意する必要がある (Scheme 3-5)。そこで、化合物 **11** を原料とし、水酸基を変換した化合物を単離せずに次の反応に用いる操作を検討した。

Scheme 3-5. 最終反応工程の原料の選択

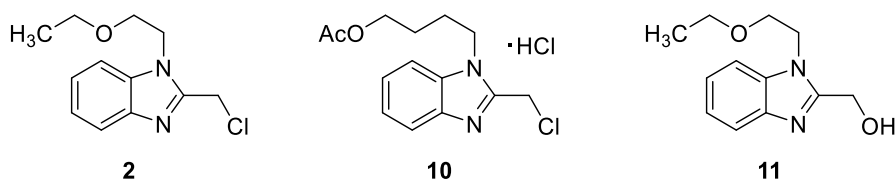
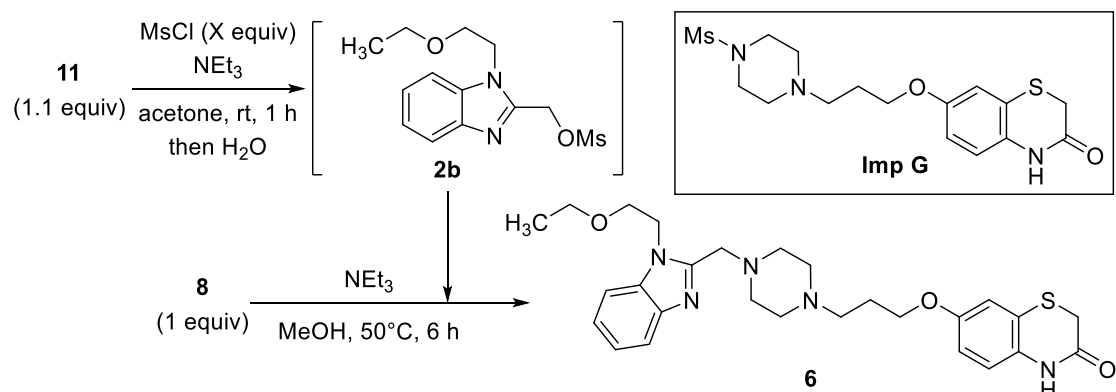


Table 3-27 に示すように、創薬化学ルートでの検討を参考に脱離基を OMs として検討した。化合物 **11** をメシル化した後、反応液を水でクエンチして化合物 **8** との反応に用いた結果、温和な条件での化合物 **6** の合成が可能であった。しかし、新たな不純物として **Imp G** の生成を確認した。**Imp G** は化合物 **6** をマレイン酸塩化しても全く除去できず、MsCl を減らしても生成した。生成要因はクエンチ処理での MsCl の分解不足と推測したが、原薬品質に影響を与える高リスクの不純物と判断したため、メシレートを経由する合成ルートの検討を中止した。

Table 3-27. 脱離基の検討



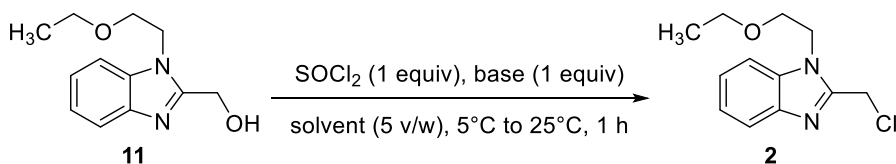
Entry	MsCl (X equiv)	HPLC area% ^a			
		11	8	6	Imp G
1	1.21	0.63	0.87	92.8	0.59
2	1.1	1.15	0.45	94.7	0.20

a: HPLC condition B

化合物 **2** は化合物 **11** からの調製が容易であり、化合物 **8** との *N*-アルキル化が円滑に反応したため、反応中間体として選択した。Table 3-28 に示すように、化合物 **2** への変換には塩化チオニルを用いた。トリエチルアミンを用いた場合は塩が析出し、反応液の移送に適さないと考えた (Entry 1)。ジイソプロピルエチルアミンを用いた場合は、いずれ

の溶媒¹³でも内温が 25°C へ上昇するにつれて塩が溶解して均一の反応液となったため、当該塩基を採用した (Entry 2-5)。

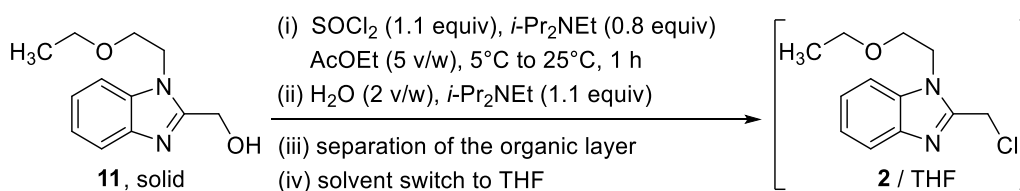
Table 3-28. 化合物 **2** の合成検討



Entry	base	solvent	反応液の状態
1	NEt ₃	THF	塩析出
2	<i>i</i> -Pr ₂ NEt	THF	溶液
3	<i>i</i> -Pr ₂ NEt	acetone	溶液
4	<i>i</i> -Pr ₂ NEt	toluene	溶液
5	<i>i</i> -Pr ₂ NEt	AcOEt	溶液

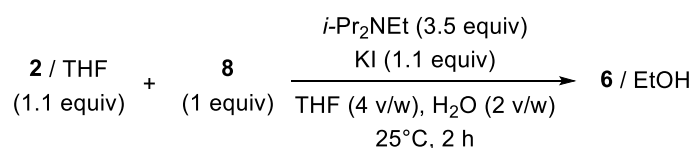
反応後に抽出及び濃縮操作を行わないと次工程の *N*-アルキル化が進行しなかった。これは塩化チオニル又はその分解物が反応阻害に関与したと推察した。反応後の抽出操作を考慮して溶媒は酢酸エチルを選択した。反応液が酸性だと反応後の抽出ができず、反応系中に過剰量の塩基を添加すると 4 級アンモニウム塩の形成によって反応が汚くなった。そのため、反応時の塩基を制限し、クエンチで水を加えた後に塩基を追加する手順として 4 級アンモニウム塩形成の課題に対処した (Scheme 3-6)。

Scheme 3-6. 化合物 **2** の製造手順



化合物 **8** は THF や DMF 中でジイソプロピルエチルアミンを加えても溶解せず、化合物 **2** と反応しなかった。これは化合物 **8** 及びその遊離塩基の溶解性が原因であると考えた。THF 溶媒に水を添加して化合物 **8** を溶解したところ 2 相系となり、化合物 **8** の遊離塩基の析出もなく化合物 **2** と反応し、化合物 **6** を与えた (Scheme 3-7)。

Scheme 3-7. 化合物 **2** と化合物 **8** の *N*-アルキル化 1



2 相系の反応である場合、反応液のサンプリング位置が課題となる。そこで、サンプリングの適切性を含めて反応液の安定性を確認した (Table 3-29)。反応液の上層をサンプリングして経時確認したところ、2 時間で反応が終了した後、化合物 **2** と化合物 **6** が過反応したと推測できる不純物が増加した。工程内試験での評価対象となる化合物 **8** は、感度比が化合物 **2** の約 2 倍、化合物 **6** と同程度であったが、想定される HPLC 面積百分率が低かった。HPLC 面積値を確認すると、化合物 **8** が消失した 1.5 時間以降で総面積が一定となった (Table 3-30)。本結果は、化合物 **8** の多くが下層にあり、反応液の上層のサンプリングのみでは化合物 **8** の消失を正しく評価できないことを意味している。しかし工程内試験での下層の正確なサンプリングは困難であるため、上層の評価で化合物 **8** の消失に加えて化合物 **2** の量を確認し、反応終点を決定した。

Table 3-29. 化合物 **2** と化合物 **8** の *N*-アルキル化 2 (HPLC 面積百分率)

RT (min)	化合物	HPLC area% ^a						
		initial	0.5 h	1 h	1.5 h	2 h	3 h	24 h
5.8	8	17.4	2.8	1.0	ND	ND	ND	ND
11.8	2	68.1	12.1	2.7	0.8	ND	ND	ND
18.7	6	14.5	85.1	96.3	99.2	100	98.7	94.7
22.1	不明	ND	ND	ND	ND	ND	1.3	5.3

a: HPLC condition H

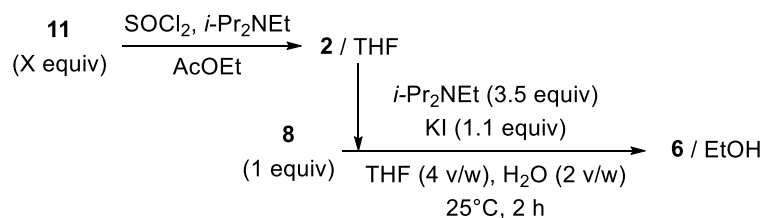
Table 3-30. 化合物 **2** と化合物 **8** の *N*-アルキル化 2 (HPLC 面積値)

化合物	HPLC area ^a				
	化合物 8	化合物 2	化合物 6	不明	総計
initial	58.47548	229.18201	48.79124	ND	336.44873
0.5 h	21.81213	95.67303	673.00037	ND	790.48552
1 h	10.15214	27.80798	993.51471	ND	1031.77483
1.5 h	ND	9.27138	1092.51636	ND	1101.78774
2 h	ND	ND	1128.12830	ND	1128.12830
3 h	ND	ND	1104.55444	15.00663	1119.56108
24 h	ND	ND	1059.66614	59.44340	1119.10954

a: HPLC condition H

化合物 **11** の当量を検討した (Table 3-31). 化合物 **8** に対して 0.90-1.15 当量の範囲で検討したところ, 1.05 当量以上用いた条件で化合物 **8** が完全に消失したが, 化合物 **2** と化合物 **6** の過反応物と推測した不純物が生成し, 化合物 **11** の量が多いほど当該不純物が増加した. 上述したように化合物 **8** の残存量の把握は困難であるため, 未反応の化合物 **8** が残存するリスクの低い条件として化合物 **11** の仕込量を 1.1 当量と設定した.

Table 3-31. 化合物 **2** と化合物 **8** の *N*-アルキル化 3



RRT	化合物	11 (X equiv), HPLC area% ^a					
		1.15	1.10	1.05	1.00	0.95	0.90
0.25	8	ND	ND	ND	0.38	0.91	1.87
0.65	2	0.69	0.43	0.32	ND	ND	0.42
1.00	6	98.5	99.0	99.3	99.62	99.1	97.7
1.09	不明	0.82	0.60	0.36	ND	ND	ND
yield (%)		90	91	91	89	84	76

a: HPLC condition I

次工程のマレイン酸塩化の結晶化溶媒をエタノールとしたため, 化合物 **6** をエタノー

ル溶液とした。この溶液の室温での保管を想定して外温 40°C で 48 時間の安定性を確認した (Table 3-32)。その結果、経時増加する不純物があったものの、化合物 **6** の著しい純度低下はなく、化合物 **6** のエタノール溶液での運用は可能と判断した。

Table 3-32. 化合物 **6** のエタノール溶液の安定性 (40°C)

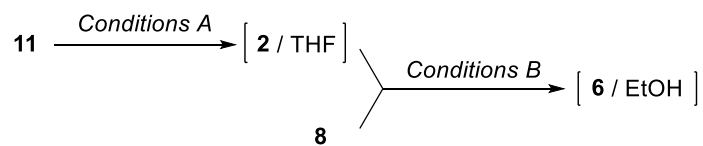
RRT	化合物	HPLC area% ^a			
		initial	6 h	24 h	48 h
1.00	6	95.1	94.5	94.0	93.7
1.67-1.69	不明	0.54	0.78	0.86	0.85
1.90-1.91	不明	3.2	3.6	4.1	4.2
2.29-2.30	不明	0.39	0.45	0.50	0.52

a: HPLC condition J

上述した検討を受けて、化合物 **8** の仕込量を 1.2 kg 及び 1.5 kg で計 4 回製造し、再現性の良い結果を与えた (Table 3-33)。また、最初の創薬化学ルートと比較し、新規合成ルートでは以下の点が改善した。

- (1) 原薬中の **Imp B** の量を 0.1%未満に削減
- (2) 化合物 **6** の純度が 88 HPLC area%から 99 HPLC area%に向上
- (3) 化合物 **6** までの総収率が 48% (化合物 **2** と **5** から) から 87% (化合物 **11** と **5** から) に増加

Table 3-33. 化合物 **6** のスケールアップ製造



Reagent and Conditions: (A) (i) 1.1 equiv of compound **11**, 1.21 equiv of SOCl_2 , 0.9 equiv of *i*- Pr_2NEt , AcOEt, 5 to 25°C, 1 h; (ii) H_2O ; (iii) 1.2 equiv of *i*- Pr_2NEt ; (iv) solvent switch to THF; (B) 1 equiv of compound **8**, 3.5 equiv of *i*- Pr_2NEt , 1.1 equiv of KI, THF, H_2O , 25°C, 2 h.

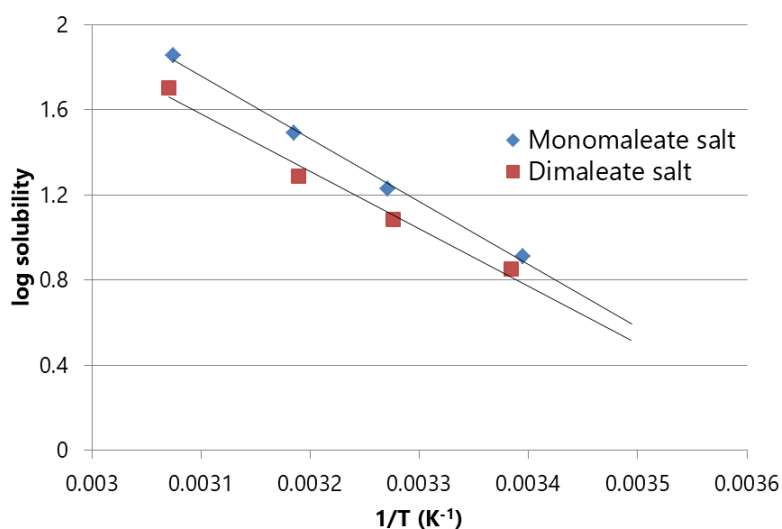
Entry	化合物 8 仕込量	6 / EtOH 収量	6 / EtOH 濃度 (g/g) ^a	化合物 6 含量	yield (%)
1	1.2 kg	7.1 kg	0.192	1.4 kg	91
2	1.2 kg	7.0 kg	0.192	1.3 kg	91
3	1.5 kg	9.2 kg	0.192	1.8 kg	90
4	1.5 kg	9.2 kg	0.193	1.8 kg	91

a: HPLC condition K

3.6 化合物 **6** の 1 マレイン酸塩の調製

マレイン酸塩化では、開発形態として化合物 **6** の 1 マレイン酸塩を選択したため、物理的・化学的性質の劣る 2 マレイン酸塩の混在リスクを評価する必要がある。結晶化溶媒であるエタノール中の 2 つの塩の溶解度を測定したところ、いずれの温度でも化合物 **6** の 1 マレイン酸塩は対応する 2 マレイン酸塩より溶けやすく、結晶化中の 2 マレイン酸塩の核発生を避けなければならなかった (Figure 3-3)。

Figure 3-3. 化合物 6 の 1 マレイン酸塩及び 2 マレイン酸塩のエタノールの溶解度



結晶化中の 2 マレイン酸塩の核発生を防ぐため、添加するマレイン酸が化合物 6 に対して過剰量とならないよう 0.95 当量に設定した。結晶化操作は以下の手順とした。60°C で化合物 6 のエタノール溶液に 0.95 当量のマレイン酸を加えて溶解した後、50°C で 1 マレイン酸塩の種結晶を添加して核発生をコントロールした。次いで、30°C で熟成して急冷による結晶形の転移を防ぎ、10°C で最終熟成して 1 マレイン酸塩を取得した。

- (1) Add 0.95 equiv of maleic acid at 60°C
- (2) Cool to 50°C, add seed, hold 1 h
- (3) Cool to 30°C, hold 12 h
- (4) Cool to 10°C, hold 3 h

結晶化操作を決定するため、操作時の安定性を確認した。化合物 6 のエタノール溶液を用いてマレイン酸添加前後の各溶液を内温 78°C で 24 時間攪拌したところ、化合物量に若干の増減があったものの、いずれの溶液中の化合物 6 も安定であった (Table 3-34 及び Table 3-35)。さらに化合物 1 の粗体は外温 60°C、48 時間の保管で変化がなく、乾燥時に品質劣化の懸念がなかった (Table 3-36)。

Table 3-34. マレイン酸添加前の溶液の安定性

RT (min)	化合物	HPLC area% ^a				
		initial	1 h	3 h	6 h	24 h
16.3-16.4	6	94.1	92.1	91.4	91.6	92.2
24.4-24.5	不明	0.71	1.24	1.43	1.39	1.24
25.2-25.3	不明	3.9	5.2	5.7	5.7	5.5
27.8	不明	0.33	0.33	0.33	0.32	0.38
28.5	不明	0.63	0.83	0.86	0.79	0.30

a: HPLC condition A

Table 3-35. マレイン酸添加後の溶液の安定性

RT (min)	化合物	HPLC area% ^a				
		initial	1 h	3 h	6 h	24 h
16.3-16.4	6	92.7	92.1	91.9	91.9	91.5
24.0-24.2	不明	0.93	1.35	1.49	1.46	1.61
24.9-25.2	不明	5.0	5.1	5.2	5.2	5.4
27.8	不明	0.34	0.34	0.32	0.32	0.31
28.0-28.3	不明	0.72	0.75	0.78	0.76	0.61

a: HPLC condition A

Table 3-36. 化合物 **1** の粗体の乾燥時の安定性 (60°C)

RRT	化合物	HPLC area% ^a			
		initial	6 h	24 h	48 h
0.20	不明	0.05	0.05	0.07	0.05
0.47-0.48	不明	0.06	0.06	0.06	0.06
1.00	6	99.6	99.6	99.6	99.6
1.61	不明	0.09	0.09	0.09	0.09
1.84-1.85	不明	0.11	0.11	0.11	0.11

a: HPLC condition J

以上の検討によって製造方法が確定したため、キログラムスケールで化合物 **1** (化合物 **6** の 1 マレイン酸塩) の製造を 4 回行った。Table 3-37 に示すように、収率、純度、融点及びマレイン酸含量での再現性が良く、設定した結晶化操作の堅牢性が確認できた。

Table 3-37. 化合物 1 の粗体のスケールアップ製造

yield		HPLC area%	融点 ^a	マレイン酸含量 ^b
1.1 kg	67%	99.6% ^c	149.0°C	18.4%
1.1 kg	69%	99.1% ^c	148.6°C	18.4%
1.6 kg	73%	99.5% ^d	149.8°C	18.3%
1.6 kg	72%	99.4% ^d	149.8°C	18.3%

a: 1 マレイン酸塩の融点は 149°C, 2 マレイン酸塩の融点は 128°C

b: 1 マレイン酸塩のマレイン酸の理論定量値は 18.55%

c: HPLC condition A, d: HPLC condition J

3.7 化合物 1 の粗体の再結晶

化合物 1 は臨床試験用に GMP 製造をする必要があり, 化合物 1 の粗体の再結晶を行った. 操作は 1 マレイン酸塩の調製と同様としたが, 使用するクリーンルーム内の晶析設備の大きさを考慮して溶媒量を増加する必要があった. 化合物 1 の粗体に対して 8 倍容量のエタノールを用いた際は収率 95%であり, 16 倍容量で 92%, 20 倍容量で 89%, 24 倍容量で 86%と溶媒量が増えるに従い収率は減少したものの, その程度は小さかった (Table 3-38). 加えて, 溶媒量増加による品質劣化もなかったため, 溶媒系の変更をせず, スケールアップ製造ではエタノールを化合物 1 の粗体に対して 20 倍容量に設定した.

化合物 1 の粗体の仕込量を 3.1 kg で製造を実施した (Table 3-39). 収率は 80%と, 配管やろ過機の付着ロスによって実験室スケールよりも低下したものの, 問題なくスケールアップ製造ができた.

Table 3-38. 化合物 1 の粗体の再結晶の検討

RRT	HPLC area% ^a			
	原料	16 倍容量	20 倍容量	24 倍容量
1.00	99.4	99.8	99.8	99.8
1.47-1.49	0.15	ND	ND	ND
1.74-1.77	0.10	0.02	0.02	0.02
2.29-2.33	0.09	0.07	0.07	0.07
収率		92%	89%	86%

a: HPLC condition L

Table 3-39. 化合物 1 のスケールアップ製造

yield		HPLC area% ^a	融点	マレイン酸含量
2.5 kg	80%	99.9%	149.8°C	18.3%

a: HPLC condition J

3.8 化合物の危険性評価

新規合成ルートで設定した原料及び中間体の危険性に関する熱安定性評価をした。DSC 測定をした結果、発熱量が 500 J/g 以上の化合物は 5 及び 8 であった (Table 3-40)。しかし、これらの「発熱開始温度マイナス 100°C」は 189.9°C 及び 228.1°C と非常に高かったことから、スケールアップ製造での危険性は低いと判断した。

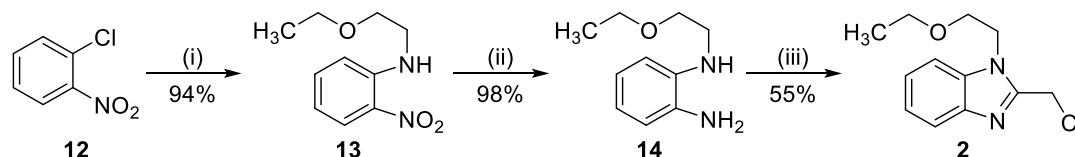
Table 3-40. 化合物の危険性評価

化合物	発熱開始温度 (°C)	発熱開始温度マイナス 100 (°C)	発熱量 (J/g)
4	365.1	-	424.410
5	289.9	189.9	878.559
7	328.3	-	225.230
8	328.1	228.1	537.274
11	187.8	-	76.646

第4章 ベンズイミダゾールユニットのプロセス合成法の開発

第3章で述べたように、原薬のプロセス合成法では化合物 **11** を原料に設定し、水酸基を Cl 基に変換して化合物 **2** を単離せずに用いた。創薬化学での化合物 **2** の合成ルートを Scheme 4-1 に示す。当該ルートは安価な原料から先例の多い化学変換で構成しており、大きな課題は3つであった。第1に化合物 **12** から化合物 **13** への変換が 130°C と高温であった。第2に亜鉛粉末の使用による安全面及び反応設備内部の傷の懸念、並びに廃棄処理の煩雑さがあった。第3に化合物 **14** から化合物 **2** への変換で塩酸を用いて加熱するため、製造装置が腐食する懸念があった。上記3つの課題はいずれも試薬条件の変更などで解決できると考え、当該ルートでの製造方法を検討した。

Scheme 4-1. 化合物 **2** の創薬化学での合成ルート



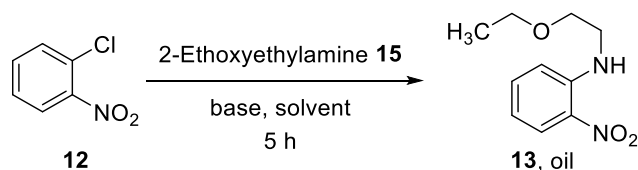
Reagents and conditions: (i) 2-Ethoxyethylamine, 130°C, 7 h; (ii) Zn, 2.5 M NaOH, EtOH, reflux, 0.5 h; (iii) chloroacetic acid, 4M HCl, reflux, 4 h.

4.1 化合物 **13** の合成検討

化合物 **12** から化合物 **13** への変換について検討した結果を Table 4-1 に示した。創薬化学ルートの条件では反応 5 時間で収率 93%であった (Entry 1)。化合物 **12** は融点が 32°C で取り扱いにくかったため、操作性改善を考慮してトルエンを添加したところ、収率が低下した (Entry 2 及び 3)。反応温度を 100°C とすると収率が 76%に低下したため (Entry 4)、同温度でアミン **15** を増量したところ収率 91%に改善した (Entry 5)。塩基を追加した場合、 K_2CO_3 では収率が向上したが流動性が悪くなり、 $KO-t-Bu$ では反応プロファイルが汚くなり、 NEt_3 では収率が大幅に低下した (Entry 6-8)。

以上より、Entry 5 の条件で反応温度を低減できる可能性があったものの、化合物 **12** の扱いにくさ及びアミン **15** の増量によるコストの増加を懸念して原料を化合物 **16** へ変更した (Table 4-2)。なお、化合物 **16** は化合物 **12** と同等の価格であった。

Table 4-1. 化合物 13 の合成検討 1



Entry	amine 15 (equiv)	base (equiv)	solvent (v/w)	temp (°C)	yield (%) (¹ H-NMR)
1	2.2	none	none	130 ^{a)}	93
2	2.2	none	touene (1)	130	83
3	2.2	none	touene (2)	130	63
4	2.2	none	none	100 ^{b)}	76
5	5.0	none	none	100	91
6	2.2	K ₂ CO ₃ (1)	none	100	83
7	2.2	KO- <i>t</i> -Bu (1)	none	100	messy
8	2.2	NEt ₃ (1)	none	100	56

a: 反応時の内温 122°C, b: 反応時の内温 92°C

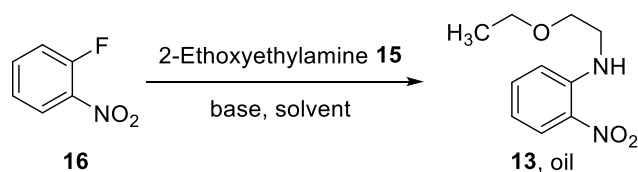
Table 4-2 に示すように、化合物 16 を原料として検討したところ、60°C、2 時間で反応が完結した (Entry 1)。しかし、本反応の終了後に室温へ冷却した際、副産物であるフッ化水素とアミン 15 の塩がゲル状になり、反応液の流動性が著しく悪くなった。流動性の改善に向けて検討した結果、トルエン及び塩基の添加では効果がなく (Entry 2-4)、メタノールの添加で効果があったため本条件を採用した (Entry 8)。また、Entry 7 に示すように室温でも反応が完結したものの、化合物 16 へのアミン 15 の滴加時に発熱が激しく温度コントロールが困難であったため、以下の滴加方法を検討した。

- (1) 氷冷して化合物 16 のメタノール溶液へアミン 15 をゆっくり滴加し、滴加終了後に外温 60°C で昇温する
- (2) 室温で化合物 16 のメタノール溶液へアミン 15 を滴加する。滴加時の発熱を利用して昇温し、滴加終了後に外温 60°C とする
- (3) 外温 40°C でアミン 15 のメタノール溶液へ化合物 16 を滴加した後、外温 60°C で昇温する

操作 1 ではアミン 15 の滴加時の温度コントロールが困難であったので、操作 2 で室温でアミン 15 を滴加して滴加時の発熱を利用する方法としたが、外温 60°C とした際に更

なる発熱があった。この時点での発熱は反応温度のコントロール及び反応暴走した際の対処を困難にすると考えたため、操作3で試薬の添加順序を逆にした。外温40°Cでアミン15への化合物16の滴加によって化合物16の消費を早め、昇温時の発熱が温和となるよう設計した。

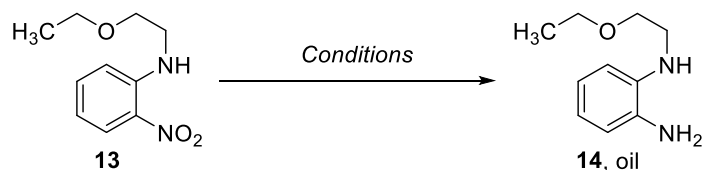
Table 4-2. 化合物13の合成検討2



Entry	amine 15 (equiv)	base (equiv)	solvent (v/w)	temp (°C)	time (h)	yield (%) (¹ H-NMR)
1	2.2	none	none	60	2	100
2	2.2	none	toluene (2)	60	2	100
3	1.1	K ₂ CO ₃ (1.1)	toluene (2)	60	5	100
4	1.1	NEt ₃ (1.1)	toluene (2)	60	5	100
5	1.1	NEt ₃ (1.1)	toluene (2)	rt	3	64
6	1.1	NEt ₃ (1.1)	none	rt	3	75
7	2.2	NEt ₃ (1.1)	none	rt	3	100
8	2.2	none	MeOH (0.5)	60	1.5	100

4.2 ニトロ基の還元

Table 4-3 に示すように、Raney-Ni 及び Pd-C を用いたいずれの温和な条件でもニトロ基を還元できた (Entry 2 及び 3)。目的物である化合物14は油状物であり、空気下で直ちに着色する性状であったため、反応終了後のろ過及び濃縮で次工程に以降できる Pd-C を用いた条件を採用した。なお、当該反応は進行に伴って緩やかに発熱し、内温を25°C以下に制御すると反応が遅延したため、反応温度を内温35-50°Cの範囲に設定した。

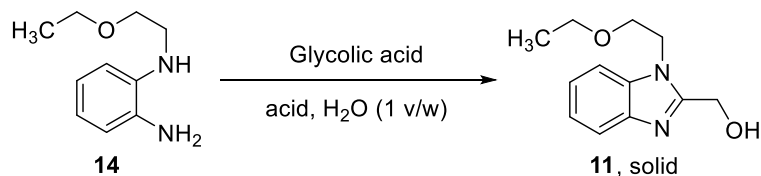
Table 4-3. ニトロ基の還元

Entry	Conditions	yield (%) (¹ H-NMR)
1	Zn, 2.5 M NaOH, EtOH, reflux, 0.5 h	98
2	Raney-Ni (0.5 w/w), H ₂ (1 atm), EtOH, rt, 4 h	100
3	5% Pd-C (50% wet, 0.1 w/w), H ₂ (1 atm) MeOH (5 v/w), rt, 3 h	100

4.3 ベンズイミダゾールの合成

化合物 **11** の合成検討を Table 4-4 に示した。グリコール酸を用いて創薬化学ルートの条件を参考に検討したところ、収率 63% で目的とする化合物 **11** を与えた (Entry 1)。続いて、製造設備の腐食性が低い濃硫酸を用いて検討した。Entry 2 の濃硫酸のみの条件では化合物が分解したため、濃硫酸を減量して水で希釈したところ、化合物 **11** を収率 82% で得ることができた (Entry 3)。種々条件を検討した結果、硫酸量は 0.5 v/w あれば十分であり (Entry 4-7, 原料 **14** に対して 1.6 当量に相当)、反応温度は 80°C 以上が好ましかった (Entry 4, 8-9)。グリコール酸量の影響は小さかったため、1.1 当量以上に設定した (Entry 5, 10-11)。

Table 4-4. 化合物 **11** の合成



Entry	glycolic acid (equiv)	acid (v/w)	temp (°C)	time (h)	yield (%)
1	1.5	conc. HCl (1)	120	4	63
2 ^{a)}	1.5	conc. H ₂ SO ₄ (2)	120	4	decomposition
3	1.5	conc. H ₂ SO ₄ (1)	120	4	82
4	1.5	conc. H ₂ SO ₄ (1)	100	4	80
5	1.5	conc. H ₂ SO ₄ (0.5)	100	4	78
6	1.5	conc. H ₂ SO ₄ (0.3)	100	4	65
7	1.5	conc. H ₂ SO ₄ (0.1)	100	4	43
8	1.5	conc. H ₂ SO ₄ (0.5)	80	4	78
9	1.5	conc. H ₂ SO ₄ (0.5)	60	4	71
10	1.3	conc. H ₂ SO ₄ (0.5)	100	4	74
11	1.1	conc. H ₂ SO ₄ (0.5)	100	4	74

a: H₂O を使用していない

反応の仕込時に化合物 **14** の水溶液に濃硫酸を加えた際の発熱が激しく、化合物 **14** と硫酸の塩が攪拌を阻害したため、試薬の投入順序や仕込温度について検討した。その結果、内温 40°C 以上で化合物 **14** と硫酸の塩が溶解可能であったため、硫酸を加える際の外温の過度な冷却をせず、硫酸を加えた際の発熱を利用して昇温する手法とした。反応系内の水量を増やして 75% 硫酸水溶液を加え、発熱を緩和して内温をコントロールし、硫酸塩の析出を防いだ。なお、硫酸の滴加初期に当該塩は析出せず、反応液のサンプリングでも問題なかったため、本合成条件を採用した。

後処理では、反応終了後に冷却したアンモニア水に反応液を加え、酢酸エチルで抽出し、クエンチ時の分散性及び抽出効率を良くするためアンモニア水へメタノールを添加した。抽出液の色相が非常に濃く原薬への影響を懸念したが、結晶化検討の結果、酢酸エチルでの再結晶によって色成分の除去を可能とし、析出した化合物 **11** はうすい褐色であった。

化合物 **11** の乾燥時の安定性を外温 60°C で確認したところ、RRT 0.29 及び 1.29 のピークがわずかに経時増加した (Table 4-5)。化合物 **11** は最終反応工程の原料であるため、

乾燥時間の延長には注意する必要があると判断した。

Table 4-5. 化合物 **11** の乾燥時の安定性 (60°C)

RRT	化合物	HPLC area% ^a			
		initial	6 h	24 h	48 h
0.22	不明	0.02	0.02	0.02	0.02
0.29	不明	ND	ND	0.01	0.02
1.00	11	99.98	99.98	99.90	99.87
1.29	不明	ND	ND	0.07	0.10

a: HPLC condition G

上述した検討によって、本章の冒頭に記載した創薬化学ルートでの課題を全て解決したため、キログラムスケールにて製造をした (Table 4-6)。その結果、原薬製造の最終反応工程の原料である化合物 **11** を高純度で取得でき、再現性のあるプロセス合成法を開発できた。

Table 4-6. 化合物 **11** のスケールアップ製造

Entry	収量			収率 (%) 3 steps	HPLC area% ^a
	化合物 13	化合物 14	化合物 11		
1	2.4 kg	-	1.6 kg	67	99.6
2	2.9 kg	-	2.1 kg	73	99.9

a: HPLC condition G

4.4 化合物の危険性評価

原料及び生成物がニトロ化合物を経由するため、化合物の危険性に懸念があった。熱安定性評価をするため DSC 測定をした結果、化合物 **16** 及び **13** は発熱量が 500 J/g 以上の危険性のある化合物であったが、発熱開始温度マイナス 100°C が 294.9°C 及び 161.9°C と非常に高かったため、スケールアップ製造に問題ないと判断した。

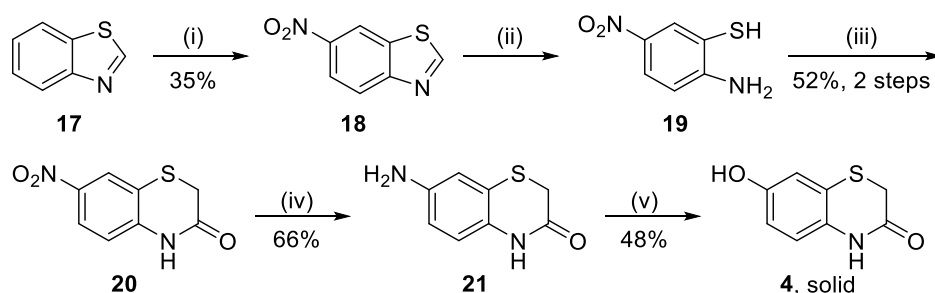
Table 4-6. 化合物の危険性評価

化合物	発熱開始温度 (°C)	発熱開始温度マイナス 100 (°C)	発熱量 (J/g)
16	394.9	294.9	3365.835
13	261.9	161.9	2002.895

第5章 ベンゾチアジニユニットのプロセス合成法の開発

化合物 **4** の創薬化学での合成ルートを Scheme 5-1 に示す。当該ルートは、ニトロ化、ヒドラジンをを用いた加水分解、塩化スズを用いた還元、及びジアゾ化とスケールアップするには不適切な化学変換工程の連続であり、6工程の総収率が6%と非常に低く、製造方法を根本から見直す必要があった。

Scheme 5-1. 化合物 **4** の創薬化学での合成ルート

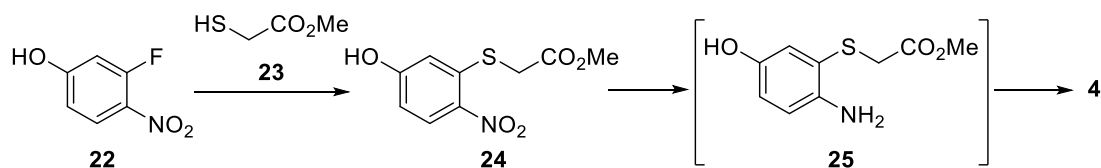


Reagents and conditions: (i) HNO_3 , H_2SO_4 , 10°C , 1 h; (ii) $\text{H}_2\text{NNH}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$, EtOH, reflux, 2 h; (iii) chloroacetic acid, 2.5 M NaOH, reflux, 1 h; (iv) SnCl_2 , conc. HCl, 90°C , 0.5 h; (v) NaNO_2 , 20% H_2SO_4 , AcOH, reflux, 0.5 h.

5.1 化合物 **4** の合成計画 1

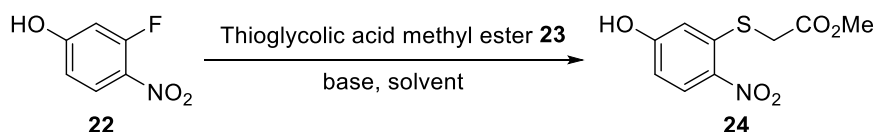
新規合成ルートとして、原料に化合物 **22** を用いて化合物 **23** を導入し、化合物 **24** のニトロ基を還元して環化するルートを考案した。本ルートであれば、化学変換工程が3工程となり、いずれも効率の良い変換ができると考えた。

Scheme 1.



まず、化合物 **24** の合成を検討した (Table 5-1)。Entry 1-5 の条件検討で良好な収率の条件はあったものの、いずれも反応液が固化して攪拌困難となった。反応液の流動性は、塩基に炭酸ナトリウムを用いる条件で解決した (Entry 6)。反応条件を最適化したところ、 50°C 、5時間で反応が完結し、収率94%にて化合物 **24** を与えた (Entry 7)。

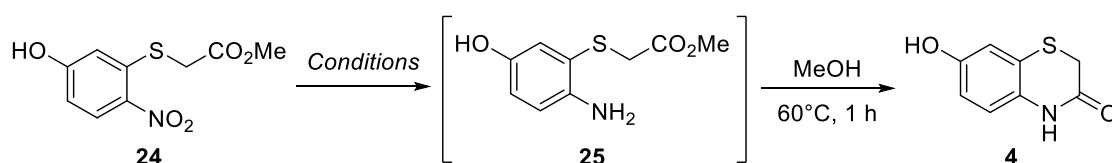
Table 5-1. 化合物 **24** の合成検討



Entry	23 (equiv)	base (equiv)	solvent (v/w)	temp (°C)	time	yield (%)
1	1.1	NEt ₃ (2.2)	MeOH (5)	rt	1 day	46
2	1.1	K ₂ CO ₃ (2)	MeOH (5)	rt	1 day	76
3	1.3	K ₂ CO ₃ (2)	MeOH (5)	rt	1 day	92
4	1.3	K ₂ CO ₃ (2)	acetone (5)	rt	1 day	92
5	1.3	K ₂ CO ₃ (2)	MeCN (5)	rt	1 day	trace
6	1.3	Na ₂ CO ₃ (2)	MeOH (5)	rt	1 day	92
7	1.3	Na ₂ CO ₃ (1.5)	MeOH (5)	50	5 h	94

続いて、化合物 **24** のニトロ基の還元を検討した (Table 5-2). Entry 1 の Pd-C を用いた条件では化合物 **25** への変換が悪かった. Entry 2 又は 3 の Raney-Ni 又は Na₂S₂O₄ を用いた条件では化合物 **4** を高収率で与えたものの、複数回還元試薬を追加しなければならなかった. これは製造管理の設定を煩雑とし、作業者の安全面確保に課題が生じるため、非常に厳しいと考えた. さらに、化合物 **23** が予想していた以上に悪臭であり、使用できる製造設備も限られてしまうため合成ルートを再考した.

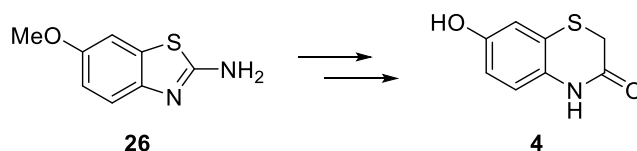
Table 5-2. 化合物 **24** のニトロ基の還元



Entry	Conditions	yield (%)
1	Pd-C (1 w/w), H ₂ (balloon), MeOH, 40°C, 8 h	poor conversion
2	H ₂ (balloon), Raney-Ni (0.5 w/w), EtOH, rt, 8 h then Raney-Ni (0.5 w/w), rt, 0.5 h	92
3	Na ₂ S ₂ O ₄ (2 equiv), H ₂ O, 60°C, 20 min, then Na ₂ S ₂ O ₄ (2 equiv) 60°C, 20 min, then Na ₂ S ₂ O ₄ (2 equiv), 60°C, 20 min	99

5.2 化合物 4 の合成計画 2

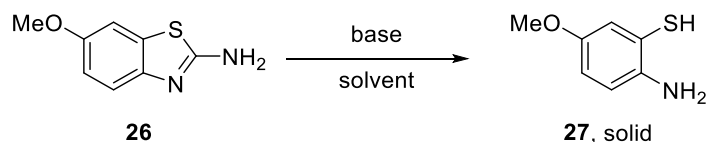
創薬化学ルートを基に再調査したところ、化合物 **26** が安価に入手可能であった。化合物 **26** を原料とすれば、悪臭の硫黄試薬を回避した化合物 **4** へ変換可能と考え、検討に着手した。



5.3 ベンゾチアゾールの開環

化合物 **26** のベンゾチアゾールの開環^{4b}を検討した (Table 5-3)。創薬化学ルートと同様のヒドラジンをを用いた条件では反応しなかった (Entry 1)。Entry 3 の水酸化カリウムを用いた条件で緩やかに反応したため、溶媒をエチレングリコール水としたところ、化合物 **27** を収率 93% で得ることができた (Entry 4)。エチレングリコールは排出規制があるためプロピレングリコールに代替したところ、同等の結果となった (Entry 5)。また、高濃度の塩基性条件で高温長時間の反応となるために化合物 **27** の分解を懸念したが、48 時間まで反応を延長しても化合物 **27** は安定であった。反応後に中和して固体として得た化合物 **27** は空气中で変色するため精製や乾燥をせず、そのまま次工程に用いた。

Table 5-3. 化合物 **26** のベンゾチアゾールの開環



Entry	base (equiv)	solvent (v/w)	temp (°C)	time (h)	yield (%)
1	H ₂ NNH ₂ ·H ₂ O (7)	EtOH (5)	90	5	No Reaction
2	NaOMe (5)	EtOH (5)	90	5	No Reaction
3	KOH (5)	EtOH (5)	90	5	Slow Reaction
4	KOH (3)	ethylene glycol (0.24) H ₂ O (2)	110	15	93
5	KOH (3)	propylene glycol (0.24) H ₂ O (2)	110	15	91

5.4 ベンゾチアジンの合成

Table 5-4 に示すように、Entry 1 の条件では化合物 **28** とクロロ酢酸が過反応した **Imp H**

が生成した。そこで、アルキル化剤をクロロ酢酸メチルとしたところ、反応条件の緩和が可能となり、**Imp H** の生成を抑制できた (Entry 2 及び 3)。目的物である化合物 **28** が反応後に析出したため、ろ取した後に水でスラリー洗浄して無機物を除去した。

Table 5-4. 化合物 **28** の合成

Entry	Conditions	yield (%)	
		28	Imp H
1	Chloroacetic acid (1.5 equiv), KOH (3 equiv) H ₂ O (5 v/w), 100°C, 2 h	52	28
2	Methyl chloroacetate (1.5 equiv), K ₂ CO ₃ (1 equiv) H ₂ O (5 v/w), EtOH (2 v/w), 80°C, 1 h	91	0
3	Methyl chloroacetate (1.1 equiv), K ₂ CO ₃ (1 equiv) H ₂ O (3 v/w), EtOH (2 v/w), 40°C, 2 h	88	0

後述するように、次工程を無水反応としたため、化合物 **28** を十分に乾燥する必要があった。外温 60°C で 72 時間までの経時変化を確認した結果、化合物 **28** の乾燥時の安定性に問題はなかった (Table 5-5)。

Table 5-5. 化合物 **28** の乾燥時の安定性

RRT	化合物	HPLC area% ^a				
		initial	6 h	24 h	48 h	72 h
0.30	不明	0.20	0.20	0.20	0.20	0.20
0.93	不明	0.36	0.36	0.40	0.38	0.36
1.00	28	99.4	99.4	99.4	99.4	99.4

a: HPLC condition C

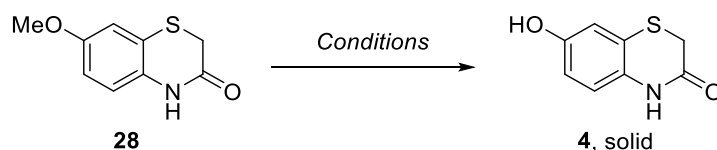
5.5 脱メチル化による化合物 **4** の合成

化合物 **28** の脱メチル化による化合物 **4** の合成を検討した (Table 5-6)。Entry 1 の BBr₃ を用いた条件は文献例のあった方法であったものの、BBr₃ が廃液処理の観点からスケールアップ製造で使用しにくいため、その他の条件を試みた。その結果、酸や TMSI を用いた条件は不適當であったが (Entry 2-5)、塩化アルミニウムを用いた条件で速やかな脱メチル化ができた (Entry 6)。空气中で安定な塩化アルミニウム 6 水和物では化合物 **4** へ変換できなかったため (Entry 7)、スケールアップ製造では Entry 6 の条件を採用した。

後処理操作は、反応液に水を加える方法では固化して攪拌できなくなったため、水に反応液を加える方法でクエンチした。また、クエンチ後に析出した化合物 **4** は微細結晶であり、ろ過性が非常に悪かった。種々検討を行ったが、ろ過性が改善できず、製造では大幅なスケールアップを避けた。

なお、スケールアップ製造後の検討にて、メチルスカベンジャーとしてメチオニンを添加した条件¹⁴で化合物 **28** の脱メチル化が可能であることが判明した (Entry 8)。塩化アルミニウムよりも後処理の工夫ができるため、有用な反応条件であると考えられる。

Table 5-6 化合物 **4** の合成



Entry	Conditions	yield (%)
1	BBr ₃ (2.4 equiv), CH ₂ Cl ₂ , 0°C, overnight	97
2	conc. H ₂ SO ₄ (4 v/w), 22°C, 2 h	decomposition
3	47% HBr (4 v/w), 75°C, 9 h	No Reaction
4	47% HBr (4 v/w), TBAB (0.5 equiv), 75°C, 9 h	Slow Reaction
5	TMSCl (5 equiv), NaI (5 equiv), CHCl ₃ , 22°C, 24 h	No Reaction
6	AlCl ₃ (3 equiv), toluene, 90°C, 1 h	84
7	AlCl ₃ ·6H ₂ O (3 equiv), toluene, 85°C, 4 h	No Reaction
8	MsOH (10 v/w), methionine (3 eq), 60°C, 18 h	90

上述した検討を受けて、スケールアップ製造を行った (Table 5-7)。本章の冒頭に記載した創薬化学ルートの課題であった反応を全て回避し、化学変換工程が 6 工程から 3 工程となり、総収率が 6% から 71% へと大幅に向上した。

Table 5-7. 化合物 **4** のスケールアップ製造

製造番号	化合物	収量	収率 (%)	HPLC area% ^a
1	28	3.3 kg	86 (2 steps)	-
	4^b	352 g	83	99.1
2	28	4.3 kg	88 (2 steps)	-
	4^c	346 g	81	98.4

a: HPLC condition N, b: 6 ロットに分割, c: 9 ロットに分割

5.6 化合物の危険性評価

新規合成ルートで設定した原料及び中間体の危険性に関する熱安定性評価をした。

DSC 測定をした結果、発熱量が 500 J/g 以上の化合物はなく、スケールアップ製造での危険性は低いと判断した (Table 5-8)。

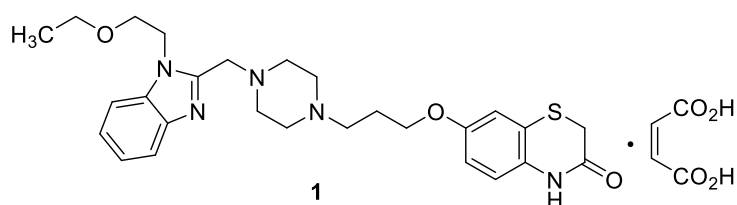
Table 5-8. 化合物の危険性評価

化合物	発熱開始温度 (°C)	発熱開始温度マイナス 100 (°C)	発熱量 (J/g)
26	363.0	-	395.294
28	394.0	-	330.64

第6章 結論

K-8986 (1) はヒスタミン H1 受容体拮抗作用を持つ化合物であり、アレルギー性結膜炎治療に対する医薬品開発が進められていた (Figure 6-1). 早期段階の研究開発に化合物供給するため、K-8986 (1) のプロセス合成法の開発に着手した.

Figure 6-1. K-8986 (1) の化学構造



1. 開発形態の選定 (第2章)

K-8986 (1) の開発形態に関して検討した. K-8986 (1) の遊離塩基がアモルファスであり、製剤化に向けて水溶解性の向上が必要であったため、塩形のスクリーニングに取り組んだ. 1次スクリーニングにて、容易に調製可能な4つの結晶塩 (硫酸塩, 1 フマル酸塩, 1 マレイン酸塩及び2 マレイン酸塩) を見つけた. 2次スクリーニングにて、当該4つの塩から、課題の少なかった1 マレイン酸塩及び2 マレイン酸塩を選択した. 3次スクリーニングにて、1 マレイン酸塩及び2 マレイン酸塩の結晶多形を含む品質特性を確認し (Table 6-2), 医薬品開発を進めるために適切な API の開発形態として1 マレイン酸塩を選択した.

Table 6-1. 塩の3次スクリーニング: 1 マレイン酸塩と2 マレイン酸塩の比較

conditions	1 マレイン酸塩	2 マレイン酸塩
熱安定性 (80°C, 1 week)	100.6%	98.9%
光安定性 (1.2 million lux hours)	100.6%	94.3%
吸湿性 (75% RH, 25°C, 1 day)	-0.1%	0.4%
吸湿性 (93% RH, 25°C, 1 day)	0.1%	11.0% アモルファスに変化
水溶解性 (pH 5.5)	5.10 mg/mL	3.85 mg/mL
純度 (HPLC area% ^a)	99.4%	97.2%

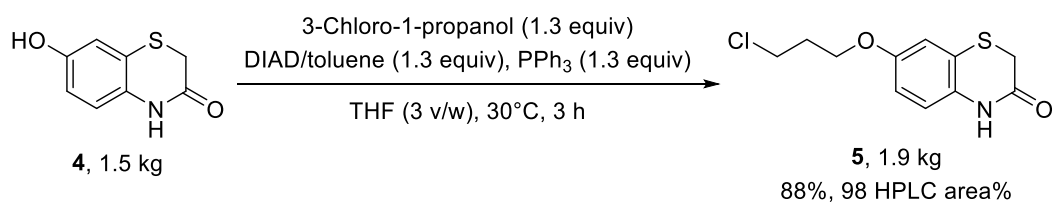
a: HPLC condition A

2. 原薬のプロセス合成法の開発 (第3章)

K-8986 (**1**) の製造ルートを設定するため、創薬化学ルートの改善に取り組んだ結果、新たな合成法の開発が必要となった。そこで、ベンゾチアジン化合物の低溶解性に着目した合成ルートの開発に取り組んだ。

新規合成ルートの確立に重要であった化合物 **5** の合成では、光延反応の選択によって不純物の制御を可能とし、化合物 **5** の低溶解性を活用した簡便な精製操作の開発に成功した (Scheme 6-1)。

Scheme 6-1. 化合物 **5** の新規合成ルート



新規合成ルートでは *N*-Boc ピペラジンをを用いた合成法を設定した (Scheme 6-2)。化合物 **5** と *N*-Boc ピペラジンの *N*-アルキル化では、創薬化学ルートで高リスクの不純物であった **Imp B** (Figure 6-2) の生成を抑制できる条件を見出した。そして、ベンゾチアジン骨格を有する各中間体の低溶解性を利用する合成プロセスによって、再結晶なしでも最終反応工程の原料である化合物 **8** を高純度で得ることに成功した。また、最初の創薬化学ルートと比較して新規合成ルートでは、以下の点が改善した。

- (1) 原薬中の **Imp B** の量を 0.1%未満に削減
- (2) 化合物 **6** の純度が 88 HPLC area%から 99 HPLC area%に向上
- (3) 化合物 **6** までの総収率が 48% (化合物 **2** と **5** から) から 87% (化合物 **11** と **5** から) に増加

Scheme 6-2. K-8986 (1) の新規合成ルート

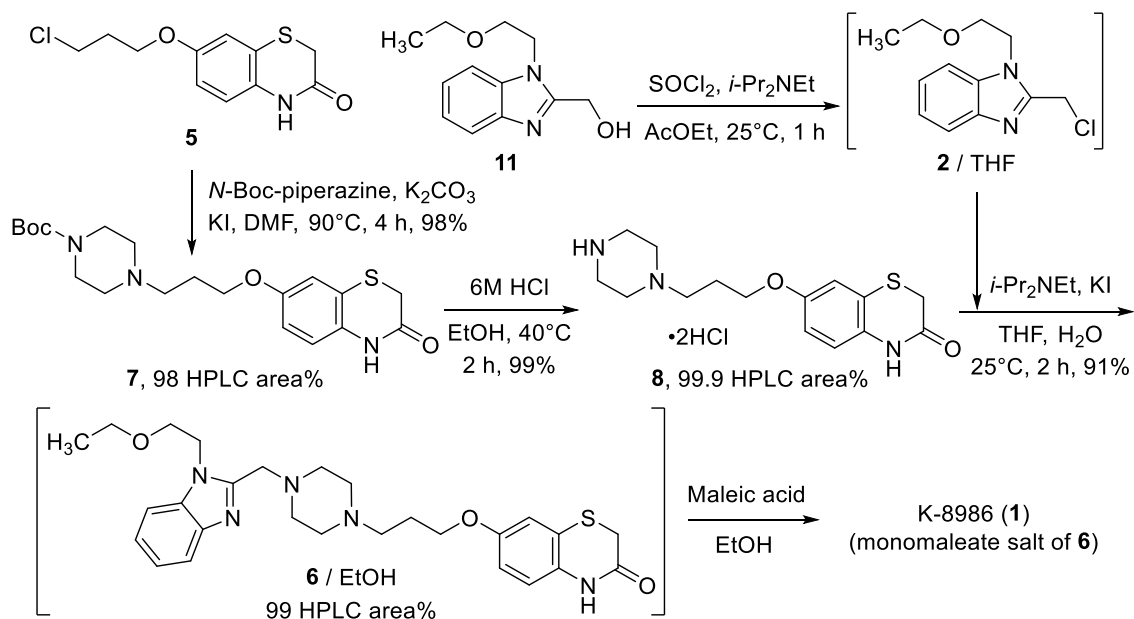
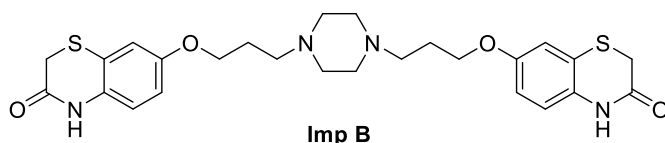


Figure 6-2. 原薬品質に影響する不純物 **Imp B** の化学構造



化合物 **1** の合成（化合物 **6** の 1 マレイン酸塩化）では、物理化学的性質の劣る 2 マレイン酸塩の混在リスクがあり、結晶化中の 2 マレイン酸塩の核発生を防ぐための操作方法を設定した。本操作方法をスケールアップ製造に適用し、堅牢性を確認した (Table 6-1)。

Table 6-1. 化合物 **1** のスケールアップ製造

工程	yield		HPLC area%	融点 ^a	マレイン酸含量 ^b
結晶化	1.1 kg	67%	99.6% ^c	149.0 °C	18.4%
	1.1 kg	69%	99.1% ^c	148.6 °C	18.4%
	1.6 kg	73%	99.5% ^d	149.8 °C	18.3%
	1.6 kg	72%	99.4% ^d	149.8 °C	18.3%
再結晶	2.5 kg	80%	99.9% ^d	149.8 °C	18.3%

a: 1 マレイン酸塩の融点は 149°C, 2 マレイン酸塩の融点は 128°C

b: 1 マレイン酸塩のマレイン酸の理論定量値は 18.55%

c: HPLC condition A, d: HPLC condition J

3. ベンズイミダゾールユニットのプロセス合成法の開発 (第 4 章)

原薬のプロセス合成法の原料である化合物 **11** の合成法を検討した。創薬化学ルート of 改善に取り組み, 原料を化合物 **16** として, 安全性及び再現性を考慮したプロセス合成法を設定した (Scheme 6-3)。本合成法でスケールアップ製造し, 原薬製造の最終反応工程の原料である化合物 **11** を高純度で取得することができた (Table 6-2)。

Scheme 6-3. 化合物 **11** の新規合成ルート

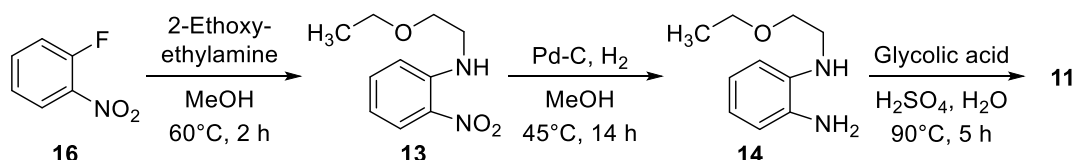


Table 6-2. 化合物 **11** の製造

Entry	収量			収率 (%) 3 steps	HPLC area% ^a
	化合物 13	化合物 14	化合物 11		
1	2.4 kg	-	1.6 kg	67	99.6
2	2.9 kg	-	2.1 kg	73	99.9

a: HPLC condition G

3. ベンズチアジンユニットのプロセス合成法の開発 (第 5 章)

原薬のプロセス合成法のもう一方の原料である化合物 **4** の合成法を検討した。創薬化学ルートを根本から見直す必要があったことから新規合成ルートの開発に取り組み, 化

化合物 **26** を原料としたプロセス合成法を設定した (Scheme 6-4)。本合成法のスケールアップ製造にて再現性を確認し、必要量の化合物 **4** を取得できた (Table 6-2)。

Scheme 6-4. 化合物 **4** の新規合成ルート

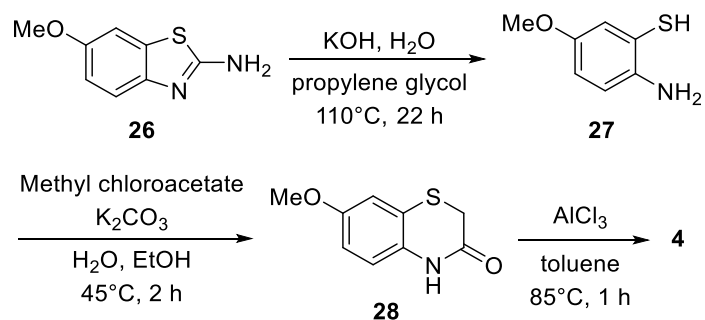


Table 6-3. 化合物 **4** のスケールアップ製造

製造番号	化合物	収量	収率 (%)	HPLC area% ^a
1	28	3.3 kg	86 (2 steps)	-
	4 ^b	352 g	83	99.1
2	28	4.3 kg	88 (2 steps)	-
	4 ^c	346 g	81	98.4

a: HPLC condition N, b: 6 ロットに分割, c: 9 ロットに分割

Experimental Section

General: All reactions were performed under a nitrogen atmosphere. Reagents and solvents were obtained from commercial suppliers and used without further purification. ^1H and ^{13}C nuclear magnetic resonance (NMR) spectra were collected using a JEOL JNM-ECS400 spectrometer. HRMS data were obtained using a JEOL JMS-T100GCV spectrometer. Reaction monitoring and product purity were analyzed by reverse phase high-performance liquid chromatography (HPLC) on an Agilent 1100 series instrument.

HPLC Condition A; XBridgeTM phenyl (3.5 μm , 4.6 mm ϕ \times 50 mm); solvent A, 0.005 mol/L phosphate buffer (pH 6.0); solvent B, methanol; gradient program, solvent A/solvent B 80/20 to 40/60 (0–10 min), 40/60 (10–20 min), 40/60 to 15/85 (20–30 min), 15/85 (30–40 min); flow rate of 1.0 mL/min; 40°C; UV detection at 246 nm.

HPLC Condition B; Inertsil ODS-3V (5 μm , 4.6 mm ϕ \times 150 mm); solvent A, 0.01 mol/L SDS/0.005 mol/L phosphoric acid; solvent B, acetonitrile; gradient program, solvent A/solvent B 48/52 (0–10 min), 48/52 to 10/90 (10–30 min), 10/90 (30–35 min); flow rate of 1.0 mL/min; 40°C; UV detection at 246 nm.

HPLC Condition C; XBridgeTM phenyl (3.5 μm , 4.6 mm ϕ \times 50 mm); solvent A, 0.005 mol/L phosphate buffer (pH 6.0); solvent B, methanol; gradient program, solvent A/solvent B 90/10 (0–10 min), 90/10 to 15/85 (10–30 min); flow rate of 1.0 mL/min; 40°C; UV detection at 246 nm.

HPLC Condition D; XBridgeTM phenyl (3.5 μm , 4.6 mm ϕ \times 50 mm); solvent A, 0.005 mol/L phosphate buffer (pH 6.0); solvent B, methanol; gradient program, solvent A/solvent B 80/20 to 25/75 (0–20 min); flow rate of 1.0 mL/min; 40°C; UV detection at 246 nm.

HPLC Condition E; XBridgeTM phenyl (3.5 μm , 4.6 mm ϕ \times 50 mm); solvent A, 0.01 mol/L phosphate buffer (pH 6.0); solvent B, methanol; gradient program, solvent A/solvent B 80/20 to 55/45 (0–5 min), 55/45 (5–15 min), 55/45 to 15/85 (15–30 min); flow rate of 1.0 mL/min; 40 °C; UV detection at 246 nm.

HPLC Condition F; XBridgeTM phenyl (3.5 μm , 4.6 mm ϕ \times 50 mm); solvent A, 0.01 mol/L phosphate buffer (pH 6.0); solvent B, methanol; gradient program, solvent A/solvent B 80/20 to 50/50 (0–5 min), 50/50 (5–25 min), 50/50 to 15/85 (25–35 min), 15/85 (35–40 min); flow rate of 1.0 mL/min; 40 °C; UV detection at 246 nm.

HPLC Condition G; XBridgeTM phenyl (3.5 μm , 4.6 mm ϕ \times 50 mm); solvent A, 0.01 mol/L

phosphate buffer (pH 6.0); solvent B, methanol; gradient program, solvent A/solvent B 90/10 to 40/60 (0–20 min); flow rate of 1.0 mL/min; 40 °C; UV detection at 246 nm.

HPLC Condition H; XBridge™ phenyl (3.5 μm, 4.6 mmφ × 50 mm); solvent A, 0.005 mol/L phosphate buffer (pH 6.0); solvent B, methanol; gradient program, solvent A/solvent B 80/20 to 25/75 (0–20 min), 25/75 (20–30 min); flow rate of 1.0 mL/min; 40 °C; UV detection at 246 nm.

HPLC Condition I; XBridge™ phenyl (3.5 μm, 4.6 mmφ × 50 mm); solvent A, 0.01 mol/L phosphate buffer (pH 6.0); solvent B, methanol; gradient program, solvent A/solvent B 80/20 to 25/75 (0–20 min), 25/75 (20–30 min); flow rate of 1.0 mL/min; 40 °C; UV detection at 246 nm.

HPLC Condition J; XBridge™ phenyl (5 μm, 4.6 mmφ × 150 mm); solvent A, 0.01 mol/L phosphate buffer (pH 5.0); solvent B, methanol; gradient program, solvent A/solvent B 50/50 to 15/85 (0–70 min); flow rate of 1.0 mL/min; 40 °C; UV detection at 246 nm.

HPLC Condition K; XBridge™ phenyl (3.5 μm, 4.6 mmφ × 50 mm); solvent A, 0.01 mol/L phosphate buffer (pH 6.0); solvent B, methanol; isocratic program, solvent A/solvent B 40/60; flow rate of 1.0 mL/min; 40 °C; UV detection at 246 nm.

HPLC Condition L; L-column2 ODS (5 μm, 4.6 mmφ × 150 mm); solvent A, 0.01 mol/L phosphate buffer (pH 6.0); solvent B, methanol; gradient program, solvent A/solvent B 60/40 to 15/85 (0–60 min); flow rate of 1.2 mL/min; 40 °C; UV detection at 246 nm.

HPLC Condition M; XBridge™ phenyl (3.5 μm, 4.6 mmφ × 50 mm); solvent A, 0.01 mol/L phosphate buffer (pH 6.0); solvent B, methanol; isocratic program, solvent A/solvent B 70/30; flow rate of 1.0 mL/min; 40 °C; UV detection at 246 nm.

HPLC Condition N; XBridge™ phenyl (3.5 μm, 4.6 mmφ × 50 mm); solvent A, 0.01 mol/L phosphate buffer (pH 6.0); solvent B, methanol; gradient program, solvent A/solvent B 90/10 (0–10 min), 90/10 to 15/85 (10–30 min); flow rate of 1.0 mL/min; 40 °C; UV detection at 246 nm.

第 3 章

Preparation of 5. To a solution of 7-Hydroxy-2*H*-benzo[*b*][1,4]thiazin-3(4*H*)-one (**4**, 1.5 kg, 8.5 mol) and triphenyl phosphine (2.9 kg, 11.1 mol, 1.3 equiv) in THF (4.2 kg) was added 3-chloro-1-propanol (1.0 kg, 11.1 mol, 1.3 equiv), and the resulting mixture was cooled to 10 °C. A solution of diisopropyl azodicarboxylate (5.6 kg, 40 wt %, 11.1 mol, 1.3 equiv) in toluene was then added to the reactor while the internal temperature was kept below 30 °C. The batch was

aged at 20–30 °C for a minimum of 3 h, and water (47 g, 2.6 mol, 0.3 equiv) was then added. The mixture was concentrated to a residue under reduced pressure with a jacket temperature of 50 °C. Methanol (MeOH, 2.5 kg) was charged, and the batch was again concentrated to a residue before being diluted with MeOH (7.3 kg). The batch was aged at 20–30 °C for 1 h. The resulting slurry was filtered, and the cake was washed with MeOH (1.1 kg). The crude product was dried under vacuum at 50 °C to yield **5** as a white solid (1.9 kg, 88%, yield from **4**, 98 LCAP with condition E): ¹H NMR (396 MHz, DMSO-*d*₆) δ 2.09–2.16 (m, 2H), 3.32 (s, 2H), 3.77 (t, *J* = 6.4 Hz, 2H), 4.04 (t, *J* = 5.9 Hz, 2H), 6.79 (dd, *J* = 8.6, 2.7 Hz, 1H), 6.89 (d, *J* = 8.6 Hz, 1H), 6.93 (d, *J* = 2.7 Hz, 1H), 10.39 (s, 1H); ¹³C NMR (100 MHz, DMSO-*d*₆) δ 29.0, 31.7, 41.9, 64.7, 112.8, 113.8, 118.1, 120.3, 131.2, 153.9, 164.8; HRMS (FD) calcd for C₁₂H₁₂ClNO₂S (M⁺) 257.0277, found 257.0248.

Preparation of 7. A mixture of **5** (3.3 kg, 13.0 mol), potassium carbonate (1.3 kg, 9.8 mol, 0.75 equiv), potassium iodide (2.7 kg, 16.3 mol, 1.25 equiv), and *N*-Boc piperazine (2.5 kg, 13.7 mol, 1.05 equiv) in DMF (9.2 kg) was heated to 85 °C and aged for 4 h. Upon completion of the reaction, the batch was quenched with water (19.8 kg) at >70 °C. The resulting slurry was cooled to 10 °C and aged for 1 h. The solid was collected by filtration and washed with water (6.6 kg). The crude product was dried under vacuum at 50 °C to yield **7** as a white solid (5.2 kg, 98%, yield from **5**, 98 LCAP with condition F): ¹H NMR (396 MHz, DMSO-*d*₆) δ 1.45 (s, 9H), 1.92–1.99 (m, 2H), 2.44 (t, *J* = 5.0 Hz, 4H), 2.54 (t, *J* = 7.5 Hz, 2H), 3.31 (t, *J* = 1.6 Hz, 2H), 3.39 (s, 2H), 3.44 (brs, 4H), 3.99 (t, *J* = 6.1 Hz, 2H), 6.75 (dd, *J* = 8.6, 2.7 Hz, 1H), 6.86–6.88 (m, 2H); ¹³C NMR (100 MHz, DMSO-*d*₆) δ 27.5, 28.7 (x 3), 30.6, 54.1 (x 2), 56.2 (x 2), 67.6, 81.3, 114.1, 119.5, 122.7, 131.9, 156.4, 156.6, 167.8; HRMS (FD) calcd for C₂₀H₂₉N₃O₄S (M⁺) 407.1879, found 407.1914.

Preparation of 8. To a mixture of **7** (2.8 kg, 7.0 mol) in ethanol (EtOH, 4.5 kg) was added 6 M hydrochloric acid (4.2 kg, 36% hydrochloric acid and 3.5 kg of water, 42.0 mol, 6 equiv) while the internal temperature was kept between 40 and 50 °C. The mixture was aged at 40–50 °C for 2 h until HPLC analysis showed complete conversion (<0.5 LCAP of **7**). EtOH (13.2 kg) was charged to the batch followed by cooling to 10 °C. The resulting slurry was aged for 1 h before it was filtered, and the cake was washed with additional EtOH (4.5 kg). The crude product was dried under vacuum at 50 °C to yield **8** as a white solid (2.6 kg, 99%, yield from **7**, 99.9 LCAP with condition G): ¹H NMR (396 MHz, D₂O) δ 2.24–2.31 (m, 2H), 3.44 (s, 2H), 3.51 (t, *J* = 7.9

Hz), 3.68 (br, 8H), 4.13 (t, $J = 5.9$ Hz), 6.85 (dd, $J = 9.1, 2.7$ Hz, 1H), 6.94 (d, $J = 8.6$ Hz, 1H), 6.99 (d, $J = 2.7$ Hz, 1H); ^{13}C NMR (100 MHz, D_2O) δ 23.4, 29.0, 40.8 (x 2), 48.6 (x 2), 54.9, 65.3, 113.2, 114.0, 118.9, 121.4, 130.0, 154.3, 168.1; HRMS (FD) calcd for $\text{C}_{15}\text{H}_{21}\text{N}_3\text{O}_2\text{S}$ ($\text{M} - 2\text{HCl}$) 307.1354, found 307.1369.

Preparation of 1. Preparation of 2 from 11. To a solution of **11** (0.93 kg, 4.2 mol, 1.1 equiv) and *N,N*-diisopropylethylamine (*i*-Pr₂NEt, 0.45 kg, 3.4 mol, 0.9 equiv) in ethyl acetate (AcOEt, 4.2 kg) cooled to 0 °C was added thionyl chloride (0.55 kg, 4.6 mol, 1.21 equiv) over 20 min, while the internal temperature was kept below 20 °C. The mixture was aged at 20–25 °C for 1 h until HPLC analysis showed complete conversion (<1 LCAP of **11**). To the reaction mixture were sequentially added water (1.9 kg) and *i*-Pr₂NEt (0.59 kg, 4.6 mol, 1.2 equiv). The layers were separated, and the organic layer was concentrated under reduced pressure with a jacket temperature of 40 °C. The residue **2** was diluted with THF (5.3 kg) and used directly in the next step.

Preparation of 6 from 2. Compound **8** (1.46 kg, 3.8 mol) and water (2.9 kg) were added to a THF solution of **2** prepared in the previous step, and the resulting mixture was cooled to 0 °C. To the mixture at <30 °C was added *i*-Pr₂NEt (1.73 kg, 13.4 mol, 3.0 equiv) followed by KI (0.70 kg, 4.2 mol, 1.1 equiv). The batch was aged at 20–30 °C for 3 h until HPLC analysis showed complete conversion (<1 LCAP of **2**). AcOEt (5.3 kg) was charged, followed by water (2.9 kg). The aqueous layer was separated, and the organic layer was washed with 20% NaCl (0.67 kg of NaCl and 2.6 kg of water) before being concentrated under reduced pressure with a jacket temperature of 30–40 °C and then diluted with EtOH (4.7 kg). Activated carbon (109 g) was added, and the mixture stirred for 1 h. The mixture was filtered and washed with EtOH (2.3 kg). The filtrate weighed 9.2 kg and contained 1.8 kg of **6** as determined by the HPLC assay (91%, yield from **8**, HPLC condition K).

Preparation of 1 from 6. To a 19 wt % solution of **6** in EtOH (9.2 kg, 1.8 kg assay for **6**, 3.4 mol) was added maleic acid (381 g, 3.3 mol, 0.95 equiv) at 60 °C. The solution was cooled to 45–50 °C; the seed crystal (compound **1**, 9 g) was added, and the batch was aged for 1 h and then cooled to 30 °C. After agitation for an additional 12 h, the resulting slurry was cooled to 10 °C and aged for 3 h. The solid was collected by filtration, washed with additional EtOH (5.6 kg), and dried under vacuum at 50 °C to yield **1** as a white solid (1.6 kg, 73%, yield from **6**, 99.5 LCAP with condition J): ^1H NMR (396 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ 1.03 (t, $J = 7.0$ Hz, 3H), 2.04–2.08 (m, 2H),

3.10 (br, 8H), 3.18 (br, 2H), 3.38 (t, $J = 7.0$ Hz, 2H), 3.42 (s, 2H), 3.71 (t, $J = 7.9$ Hz, 2H), 3.95 (s, 2H), 4.01 (t, $J = 5.9$ Hz, 2H), 4.51 (t, $J = 5.2$ Hz, 2H), 6.06 (s, 2H), 6.79 (dd, $J = 9.1, 2.7$ Hz, 1H), 6.90–6.92 (m, 2H), 7.17–7.26 (m, 2H), 7.58–7.61 (m, 2H), 10.43 (s, 1H); ^{13}C NMR (100 MHz, DMSO- d_6) δ 15.0, 23.8, 29.0, 43.5, 49.7 (x 2), 51.3 (x 2), 53.2, 53.4, 65.3, 65.7, 68.7, 110.7, 112.8, 113.9, 118.2, 118.8, 120.3, 121.6, 122.2, 131.3, 135.6, 135.8 (x 2), 141.8, 150.6, 153.7, 164.7, 167.3 (x 2); HRMS (FD) calcd for $\text{C}_{27}\text{H}_{35}\text{N}_5\text{O}_3\text{S}$ [(M – maleic acid) $^+$] 510.2539, found: 510.2558.

第 4 章

For the known compound **13** and **14**, see: *J. Med. Chem.* **1986**, *29*, 1178–1183.

Preparation of 11. Preparation of 13. To a solution of 2-ethoxyethylamine (2.5 kg, 22.1 mol, 2.5 equiv) in methanol (0.7 kg) was added **16** (1.8 kg, 12.8 mol) while the internal temperature was kept between 40 and 50 °C. The solution was heated to 50–60 °C and aged for 2 h. Upon completion of the reaction, the batch was cooled to 30 °C. To the reaction mixture was added toluene (6.3 kg) and water (3.6 kg). The layer was separated, and the organic layer was washed with 10% NaCl (0.2 kg of NaCl and 1.7 kg of water). The organic layer was concentrated under reduced pressure with a jacket temperature of 30–50 °C to yield **13** as an orange oil (2.9 kg): ^1H -NMR (396 MHz, CDCl_3): δ 1.25 (t, $J = 7.0$ Hz, 3H), 3.49 (q, $J = 5.2$ Hz, 2H), 3.58 (q, $J = 6.9$ Hz, 2H), 3.73 (t, $J = 5.6$ Hz, 2H), 6.65 (ddd, $J = 1.3, 7.2, 8.5$ Hz, 1H), 6.86 (dd, $J = 0.8, 8.8$ Hz, 1H), 7.43 (ddd, $J = 1.7, 7.0, 8.7$ Hz, 1H), 8.18 (dd, $J = 1.2, 8.8$ Hz, 1H), 8.24 (brs, 1H).

Preparation of 14. A mixture of **13** (2.9 kg) and 5%Pd-C (50% wet, 268 g) in MeOH (10.6 kg) was heated to 35–50 °C under H_2 atmosphere and aged for 7 h. The reaction mixture was filtered and washed with MeOH (6.4 kg) and water (2.2 kg). The filtrate was concentrated under reduced pressure with a jacket temperature of 30–40 °C. The residue **14** was used directly in the next step.

Preparation of 11. To a mixture of **14** in water was added 75% sulfuric acid aqueous solution (2.7 kg, 20.4 mol) and glycolic acid (1.2 kg, 15.2 mol, 1.2 equiv). The mixture was heated to 85–100 °C and aged for 5 h. Upon completion of the reaction, the batch was cooled to 30 °C. A solution of 28% ammonia aqueous solution (4.1 kg) in MeOH (0.9 kg) was cooled to 0 °C. To the solution was then added the reaction mixture while the internal temperature was kept below 30 °C.

To the mixture was added AcOEt (10.3 kg) and water (1.1 kg). The layer was separated at 35 °C, and the organic layer was concentrated to a residue under reduced pressure with a jacket temperature of 30–40 °C. AcOEt (10.3 kg) was charged, and the batch was heated to 60 °C. The solution was cooled to 10 °C and aged for 1 h. The solid was collected by filtration, washed with additional AcOEt (2.1 kg), and dried under vacuum at 40 °C to yield **11** as a light orange solid (2.1 kg, 73%, yield from **16**, 99.9 LCAP with condition G): ¹H NMR (396 MHz, CDCl₃) δ 1.11 (t, *J* = 7.0 Hz, 3H), 3.42 (q, *J* = 6.8 Hz, 2H), 3.77 (t, *J* = 5.2 Hz, 2H), 4.42 (t, *J* = 5.0 Hz, 2H), 4.91 (s, 2H), 7.26–7.34 (m, 3H), 7.73–7.77 (m, 1H).

第 5 章

For the known compound **27**, **28** and **4**, see: *Chem. Pharm. Bull.* **2010**, 58, 326–331.

Preparation of 28. Preparation of 27. A mixture of 2-amino-6-methoxybenzothiazole **26** (4.5 kg, 25.0 mol) and KOH (4.2 kg, 74.9 mol, 3 equiv) in propylene glycol (1.1 kg) and water (4.5 kg) was heated to 100 °C and aged for 22 h. Upon completion of the reaction, the batch was cooled to 30 °C. The reaction mixture was neutralized with 6 mol/L HCl (7.9 kg of HCl and 6.8 kg of water) while the internal temperature was kept below 35 °C. The resulting slurry was cooled to 10 °C and aged for 1 h. The solid was collected by filtration, washed with additional water (4.5 kg). The solid **27** was used directly in the next step: ¹H NMR (396 MHz, CDCl₃) δ 3.73 (s, 3H), 6.68–6.73 (m, 2H), 6.93–6.94 (m, 1H).

Preparation of 28. To a mixture of **27** in ethanol (7.2 kg) and water (13.5 kg) was added K₂CO₃ (3.5 kg, 25.0 mol, 1 equiv) and methyl chloroacetate (3.0 kg, 27.5 mol, 1.1 equiv) while the internal temperature was kept below 15 °C. The mixture was heated to 35–50 °C and aged for 3 h. Upon completion of the reaction, the batch was cooled to 10 °C and aged for 1 h. The solid was collected by filtration, washed with additional water (13.5 kg). A mixture of the solid in water (22.5 kg) was heated to 35 °C and aged for 0.5 h. The solid was collected by filtration, washed with additional water (13.5 kg). A mixture of the solid in water (22.5 kg) was heated to 35 °C and aged for 0.5 h. The solid was collected by filtration, washed with additional water (13.5 kg), and dried under vacuum at 50 °C to yield **28** as a white solid (4.3 kg, 88%, yield from **26**): ¹H NMR (396 MHz, DMSO-*d*₆) δ 3.42 (s, 2H), 3.71 (s, 3H), 6.77 (dd, *J* = 2.8, 8.8 Hz, 1H), 6.89 (d, *J* = 8.4 Hz, 1H), 6.90 (d, *J* = 2.4 Hz, 1H), 10.38 (brs, 1H).

Preparation of 4. To a mixture of **26** (455 g, 2.3 mol) in toluene (2 kg) was added AlCl₃ (932 g, 7.0 mol, 3 equiv). The mixture was heated to 85 °C and aged for 1 h. Upon completion of the reaction, the batch was cooled to 50 °C. A solution of MeOH (360 g) in water (3.2 kg) was cooled to 0 °C. To the solution was then added the reaction mixture while the internal temperature was kept below 40 °C. The original reactor was rinsed with water (0.5 kg). The resulting slurry was cooled to 10 °C and aged for 1 h. The solid was collected by filtration and washed with 1 mol/L HCl (91 g of HCl and 83 g of water), water (2.3 kg), and MeOH (360 g). The crude product was dried under vacuum at 50 °C to yield **4** as a white solid (346 g, 81%, yield from **28**, 98 LCAP with condition N): ¹H NMR (396 MHz, DMSO-*d*₆) δ 3.38 (s, 2H), 6.58 (dd, *J* = 3.0, 8.6 Hz, 1H), 6.68 (d, *J* = 2.8 Hz, 1H), 6.69 (d, *J* = 8.8 Hz, 1H), 9.33 (s, 1H), 10.27 (s, 1H).

References and Notes

- (1) (a) 日本プロセス化学会 編, 医薬品のプロセス化学, 株式会社化学同人 (2005). (b) 日本プロセス化学会 編, 実践プロセス化学, 株式会社化学同人 (2013). (c) Neal, G. Anderson, プロセス化学 第2版 医薬品合成から製造まで, 丸善出版株式会社 (2014). (d) バッチプロセスのスケールアップとラボ検討の進め方, サイエンス&テクノロジー株式会社 (2011)
- (2) 化学品の分類および表示に関する世界調和システム (GHS) で火薬類の区分外となる.
- (3) 独立行政法人 医薬品医療機器総合機構ホームページ, ICH 医薬品規制調和国際会議 <https://www.pmda.go.jp/int-activities/int-harmony/ich/0014.html>
- (4) (a) Fukuda, T.; Koketsu, A.; Kaneko, Y.; Ashikawa, Y. Monomaleate of Benzothiazine Compound. WO2011115173, 2011. (b) Fukuda, T.; Koketsu, A. Method for Producing Benzothiazine Compound. WO2011115150, 2011.
- (5) (a) U.S. Food and Drug Administration. Orange Book. <https://www.fda.gov/Food/IngredientsPackagingLabeling/GRAS/default.htm>. (b) U.S. Food and Drug Administration. Orange Book. <https://www.accessdata.fda.gov/scripts/cder/ob/index.cfm>. (c) Gould, P. L. Salt selection for basic drugs. *Int. J. Pharm.* **1986**, *33*, 201–217. (d) Paulekuhn, S.; Dressman, J. B.; Saal, C. Trends in Active Pharmaceutical Ingredient Salt Selection based on Analysis of the Orange Book Database. *J. Med. Chem.* **2007**, *50*, 6665–6672. (e) Saal, C.; Becker, A. Pharmaceutical salts: A summary on doses of salt formers from the Orange Book. *Eur. J. Pharm. Sci.* **2013**, *49*, 614–623.
- (6) For examples of a salt selection, see: (a) Bastin, R. J.; Bowker, M. J.; Slater, B. J. Salt Selection and Optimisation Procedures for Pharmaceutical New Chemical Entities. *Org. Process Res. Dev.* **2000**, *4*, 427–435. (b) Gross, T. D.; Schaab, K.; Ouellette, M.; Zook, S.; Reddy, J. P.; Shurtleff, A.; Sacaan, A. I.; Alebic-Kolbah, T.; Bozigian, H. An Approach to Early-Phase Salt Selection: Application to NBI-75043. *Org. Process Res. Dev.* **2007**, *11*, 365–377. (c) Serajuddin, A. T. M. Salt formation to improve drug solubility. *Adv. Drug Delivery Rev.* **2007**, *59*, 603–616. (d) Black, S. N.; Collier, E. A.; Davey, R. A.; Roberts, R. A. Structure, Solubility, Screening, and Synthesis of Molecular Salts. *J. Pharm. Sci.* **2007**, *96*,

- 1053–1068. (e) Morrison, H.; Jona, J.; Walker, S. D.; Woo, J. C. S.; Li, L.; Fang, J. Development of a Suitable Salt Form for a GPR40 Receptor Agonist. *Org. Process Res. Dev.* **2011**, *15*, 104–111.
- (7) For monoalkylation of piperazine, see: (a) Foye, W. O.; Levine, H. B.; McKenzie, W. L. α -(N-Piperazino)dimethylacetanilides and Their Local Anesthetic Activity. *J. Med. Chem.* **1966**, *9*, 61–63. (b) Wang, T.; Zhang, Z.; Meanwell, N. A. Regioselective Monobenzoylation of Unsymmetrical Piperazines. *J. Org. Chem.* **2000**, *65*, 4740–4742. (c) Guillaume, M.; Cuypers, J.; Vervest, I.; De Smaele, D.; Leurs, S. Synthesis of T2288: From Bench Synthesis to Pilot Production. *Org. Process Res. Dev.* **2003**, *7*, 939–941. (d) Aalla, S.; Gilla, G.; Anumula, R. R.; Kurella, S.; Padi, P. R.; Vummenthala, P. R. Improved Process for Ranolazine: An Antianginal Agent. *Org. Process Res. Dev.* **2012**, *16*, 748–754.
- (8) (a) Dembinski, R. Recent Advances in the Mitsunobu Reaction: Modified Reagents and the Quest for Chromatography-Free Separation. *Eur. J. Org. Chem.* **2004**, 2763–2772. (b) Sugimura, T.; Hagiya, K. Di-2-methoxyethyl Azodicarboxylate (DMEAD): An Inexpensive and Separation-friendly Alternative Reagent for the Mitsunobu Reaction. *Chem. Lett.* **2007**, *36*, 566–567.
- (9) (a) Anderson, N. G.; Lust, D. A.; Colapret, K. A.; Simpson, J. H.; Malley, M. F.; Gougoutas, J. Z. Sulfonation with Inversion by Mitsunobu Reaction: An Improvement on the Original Conditions. *J. Org. Chem.* **1996**, *61*, 7955–7958. (b) Thomas, A. V.; Patel, H. H.; Reif, L. A.; Chemburkar, S. R.; Sawick, D. P.; Shelat, B.; Balmer, M. K.; Patel, R. R. Fenleuton: Development of a Manufacturing Process. *Org. Process Res. Dev.* **1997**, *1*, 294–299. (c) Yee, N. K.; Farina, V.; Houpis, I. N.; Haddad, N.; Frutos, R. P.; Gallou, F.; Wang, X.; Wei, X.; Simpson, R. D.; Feng, X.; Fuchs, V.; Xu, Y.; Tan, J.; Zhang, L.; Xu, J.; Smith-Keenan, L. L.; Vitous, J.; Ridges, M. D.; Spinelli, E. M.; Johnson, M.; Donsbach, K.; Nicola, T.; Brenner, M.; Winter, E.; Kreye, P.; Samstag, W. Efficient Large-Scale Synthesis of BILN 2061, a Potent HCV Protease Inhibitor, by a Convergent Approach Based on Ring-Closing Metathesis. *J. Org. Chem.* **2006**, *71*, 7133–7145. (d) Connolly, T. J.; Auguscinski, W.; Fung, P.; Galante, R.; Liu, W.; McGovern, L.; Sebastian, A.; Shen, X.; Shi, X.; Wilk, B.; Varsalona, R.; Zhong, H. Development of a Pilot-Plant-Scale Synthesis of an Alkylated Dihydrobenzothiadiazole S,S-Dioxide: Incorporation of a Late-Stage Mitsunobu Reaction. *Org. Process Res. Dev.* **2010**, *14*, 868–877.

- (10) *N*-Boc piperazine used in this process contained ~3–5% piperazine. GC condition: DB-5 (0.25 μ m, 0.25 mm ϕ \times 30 m); carrier gas, helium; flow rate of 40 cm/s; program, 100 $^{\circ}$ C (0 to 2 min), 100 to 300 $^{\circ}$ C (2 to 22 min), 300 $^{\circ}$ C (22 to 28 min).
- (11) (a) Dias, E. L.; Hettenbach, K. W.; am Ende, D. J. Minimizing Isobutylene Emissions from Large Scale tert-Butoxycarbonyl Deprotections. *Org. Process Res. Dev.* **2005**, *9*, 39–44. (b) Ashworth, I. W.; Cox, B. G.; Meyrick, B. Kinetics and Mechanism of *N*-Boc Cleavage: Evidence of a Second-Order Dependence upon Acid Concentration. *J. Org. Chem.* **2010**, *75*, 8117–8125. (c) Chekal, B. P.; Ewers, J.; Guinness, S. M.; Ide, N. D.; Leeman, K. R.; Post, R. J.; Rane, A. M.; Sutherland, K.; Wang, K.; Webster, M.; Withbroe, G. J.; Draper, J.; Lynch, D.; McAuliffe, M.; Keane, J. Palbociclib Commercial Manufacturing Process Development. Part III. Deprotection Followed by Crystallization for API Particle Property Control. *Org. Process Res. Dev.* **2016**, *20*, 1217–1226.
- (12) Compound **2** is structurally similar to a known mutagen compound. See: Provencal, D. P.; Gesenberg, K. D.; Wang, H.; Escobar, C.; Wong, H.; Brown, M. A.; Staab, A. J.; Pendri, Y. R. Development of an Efficient and Scalable Process of a Respiratory Syncytial Virus Inhibitor. *Org. Process Res. Dev.* **2004**, *8*, 903–908, compound **8**.
- (13) For a reaction of thionyl chloride with THF, see: Jackson, R. W. *Chem. Eng. News* **1988**, *66* (27), 2.
- (14) (a) Fujii, N.; Irie, H.; Yajima, H. *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1* **1977**, 2288–2289. (b) Robert, W. S.; Sean, N. N.; Armando, U.; David, C.; Nebojsa, S. Development of a Scalable Synthesis to VEGFR Inhibitor AG-28262. *Org. Process Res. Dev.* **2006**, *10*, 296–303

主論文目録

本学位論文内容は下記の発表論文による。

1. Fukuda, T.; Hara, T.; Ina, S.; Nemoto, T.; Oshima, T. *Org. Process Res. Dev.*, **2019**, *23*, 470–476.

謝辞

本研究の発表の機会を賜り、また研究生活の開始から本論文をまとめるまでの長期間、有益な御指導、御鞭撻を賜りました千葉大学大学院薬学研究院、根本哲宏教授に深謝いたします。

本論文をまとめるにあたり様々のご協力を賜りました千葉大学大学院薬学研究院、原田慎吾講師、中島誠也助教に感謝いたします。

本研究を行うにあたり、多大な示唆や御助言を与えてくださいました興和株式会社、大島武氏、稲真嗣氏に心から感謝いたします。

本研究の共同研究者である興和株式会社、原猛哲氏に感謝いたします。そして、本研究を行う上でご協力を賜りました興和株式会社、理化学研究部の皆さまに心から御礼申し上げます。

博士課程在籍に関して様々なサポートを賜りました興和株式会社の方々、博士課程で出会った千葉大学の学生及び教職員の方々に感謝いたします。

研究の礎を築いた西千葉校舎時代に出会い、研究に対する情熱を共に育み、今では家族ぐるみの付き合いをする、大切な友人たちに厚謝いたします。

最後に、研究者になるきっかけを与えてくれ、これまでの自分を応援し続けてくれた両親、過酷な研究生活を理解し、今の自分を支えてくれている掛け替えのない存在である家族に甚謝いたします。

本学位論文の審査は千葉大学大学院薬学研究院で指名された下記の審査委員により行われた。

主査	千葉大学大学院教授	(薬学研究院)	理学博士	石橋 正己
副査	千葉大学大学院准教授	(薬学研究院)	薬学博士	北島 満里子
副査	千葉大学大学院准教授	(薬学研究院)	薬学博士	荒井 秀