

博士論文

グルコキナーゼ活性化剤の工業的合成法の開発

2020 年度

土屋 英良

医歯薬保健学研究科博士課程後期薬科学専攻

目次

略語一覧.....	3
第1章 緒言	4
第1節 グルコキナーゼ活性化薬 (GKAs).....	4
第2節 プロセス化学研究とは.....	6
第3節 化合物 1 の製造上の課題.....	7
第2章 アルコール 9 の合成	10
第1節 アルケン 21 のジフッ素化の試み	10
第2節 立体選択的なエポキシ化の試み	11
第3節 ジフッ素体 22 の合成.....	15
第4節 アルコール 9 合成	18
第3章 化合物 1 の合成.....	19
第1節 Perkin 反応の試み.....	20
第2節 BT-スルホン 20 の合成.....	21
第3節 カルボン酸 15 の合成.....	22
第4節 アミノピラジン 18 の合成.....	25
第5節 化合物 1 の合成	26
第4章 結論	31
実験の部.....	32
参考文献.....	43
謝辞.....	46

略語一覽

Ac	acetyl
Bz	benzoyl
ca.	circa, about
DAST	diethylaminosulfur trifluoride
DBU	1,8-diazabicyclo[5.4.0]undec-7-ene
DMA	<i>N,N</i> -dimethylacetamide
DMF	dimethylformamide
DMSO	dimethylsulfoxide
Et	ethyl
GKAs	glucokinase activators
LHMDS	lithium hexamethyldisilazide
<i>m</i> CPBA	<i>m</i> -chloroperbenzoic acid
Me	methyl
MMPP	magnesium monoperoxyphthalate
Ms	methanesulfonyl (mesyl)
NBS	<i>N</i> -bromosuccinimide
NMO	<i>N</i> -methylmorpholine <i>N</i> -oxide
NMP	<i>N</i> -methylpyrrolidinone
NMR	nuclear magnetic resonance
PBSF	perfluoro-1-butanesulfonyl fluoride
PTC	phase-transfer catalyst
rt	room temperature
TBAF	tetrabutylammonium fluoride
TEMPO	2,2,6,6-tetramethylpiperidinyloxy
Tf	trifluoromethanesulfonyl
TFAA	trifluoroacetic anhydride
THF	tetrahydrofuran
TMU	tetramethylurea

第1章 緒言

第1節 グルコキナーゼ活性化薬 (GKAs)

糖尿病はインスリンの働きが不十分なために生じる慢性の高血糖を特徴とする全身の代謝異常で、膵β細胞の破壊が基盤にあり絶対的なインスリン不足を来すI型糖尿病と、インスリン抵抗性やインスリン分泌不全のあるII型糖尿病とがある。95%以上がII型糖尿病で、その主な原因は遺伝因子に加えて、食べすぎ、運動不足、ストレスなどのウェイトが高く、代表的な生活習慣病である。厚生労働省の実態調査¹⁾では、糖尿病が強く疑われる人、可能性を否定できない人はいずれも約1000万人(合わせて約2000万人)と推計されており、いまや40歳以上の国民の約4人に1人が糖尿病という異常事態となっている。

糖尿病には治癒を目的とした治療法はなく、治療の目的は血糖をコントロールして合併症を予防し、進行を遅らせることにある。糖尿病の治療は、食事療法と運動療法が基本であるが、それだけで良好な血糖コントロールが実現できない時には薬物療法を開始する。糖尿病の薬物療法にはインスリン、GLP-1作動薬といった注射薬や、経口血糖降下薬があり、患者さんの病態に合わせて治療薬を選択することが推奨されている²⁾。

経口血糖降下薬は、大きく分けてインスリン抵抗性改善系、インスリン分泌促進系、糖吸収・排泄調節系の3つに分類される。肥満、インスリン抵抗性の程度やインスリン分泌能を評価し、糖尿病合併症の状況、年齢、肝腎機能、服薬コンプライアンス、併存疾患、低血糖発作の有無や頻度などを考慮して薬を選択し、必要に応じて併用する。

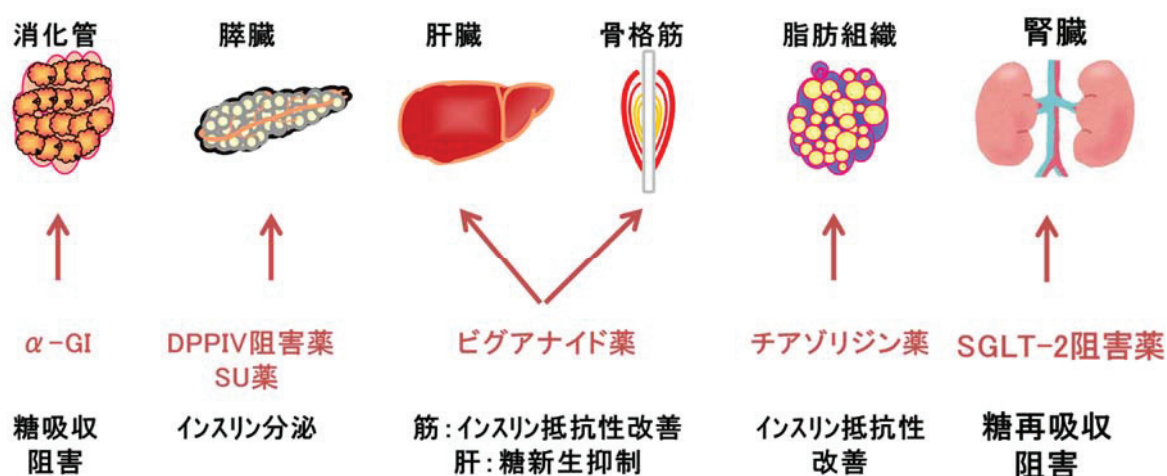


Figure 1. 糖尿病治療薬

グルコキナーゼは、膵β細胞、肝細胞および一部の内分泌系・神経系の細胞に発現し、グルコースをグルコース 6-リン酸へ変換する解糖系の律速段階酵素としてグルコース代謝の中心的な役割を果たしている³⁾。膵β細胞においてはインスリンの産生と分泌におけるグルコースセンサーとして機能し、また肝細胞ではグルコースの取り込みとグリコーゲンの合成を制御している (Figure 2)。肝臓での糖利用亢進と膵臓でのインスリン分泌増強という2つに関与するグルコキナーゼを活性化させることが糖尿病に対する新たな治療戦略として考えられ、多くの製薬企業でグルコキナーゼ活性

化薬 (glucokinase activators: GKAs) が開発されてきた。

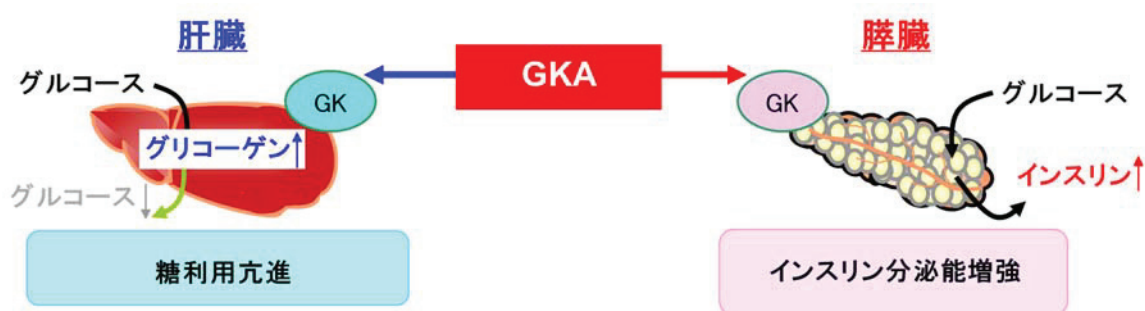


Figure 2. グルコキナーゼ活性化薬の作用部位

代表的な GKAs を Figure 3 に記載した。2000 年代初頭に最初の GKAs が報告されて以来、大手製薬企業が挙って GKAs の開発を進めてきた⁴⁾。2020 年時点では、多くの化合物は開発段階で中断しているが、Dorzagliatin は中国でフェーズ 3 まで進んでいる。帝人ファーマで開発が進められた化合物 **1**⁵⁾ は RO0281675 や PSN-010 と同様にフェニルアセトアミド構造を有するものの、二重結合で繋いだシクロペンタン環の 3,4 位にシス配置のジフッ素を持つという構造的な特徴を持っている。化合物にフッ素を導入するためのフッ素化試薬は、腐食性のフッ化水素が発生する可能性があるため取扱いが難しく、製造では特殊設備や経験が必要となる。よって、二つのフッ素の立体選択的導入を伴う化合物 **1** の大量合成法を構築することは極めてチャレンジングの研究題材だった。筆者は商用生産を見据え、化合物 **1** の製造プロセス化学研究を実施し、その結果を本論文にまとめた。

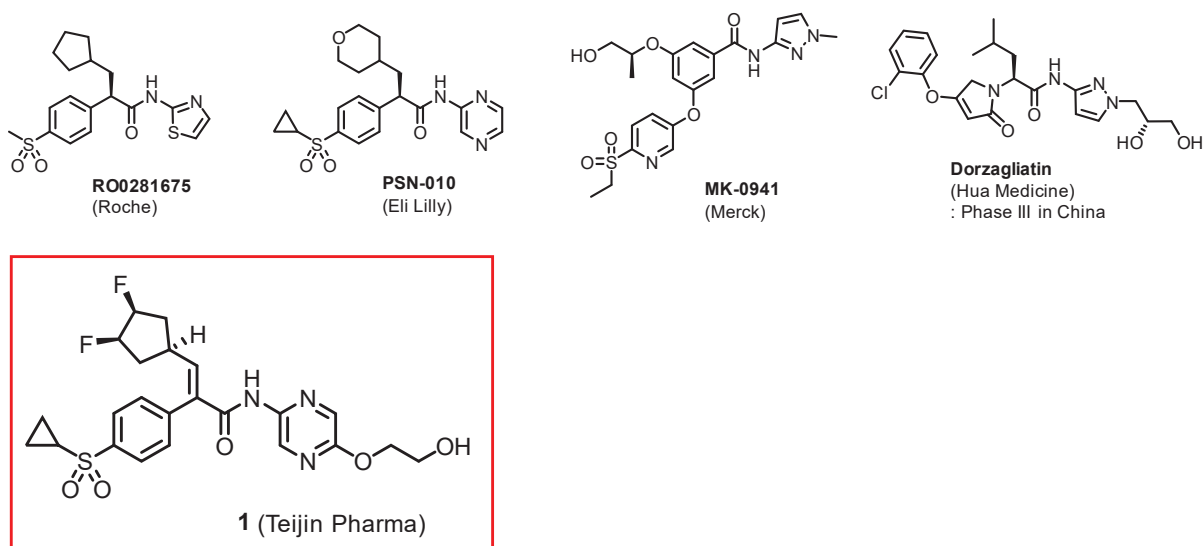


Figure 3. 代表的な GKAs

第2節 プロセス化学研究とは

プロセス化学研究とは、高品質な化合物の工業的製造法を提供するための研究である。医薬品の研究開発においては、創薬研究で見出された開発候補化合物（原薬）を安全性試験用、製剤検討用、臨床試験用に適切なタイミングで必要量を供給しつつ、並行して製造方法を改良し（プロセス開発）、商用製造法を確立することを主業務とする。プロセス化学に対比するものとして、創薬化学がある。創薬化学とプロセス化学の違いを Figure 4 にまとめた。創薬化学は良い薬理活性の化合物を見つけることを目的とするため、スピードが重視され、複数の化合物に展開しやすい合成法が求められる。そのため、反応における収率や品質は重要ではなく、純度を上げる精製方法もクロマトグラフィーなど多様な手法が利用可能である。また、合成スケールは g スケールで、原材料の制限もない。一方でプロセス化学は、品質、堅牢性、コスト、安全性、作業性、環境への配慮などを考慮し、生産効率を極限まで推し進めることを目的とする。収率や品質は最大化を目指し、精製方法は一般的には再結晶か蒸留に限定される。また、製造スケールは kg～トンスケールで、原材料はコストを念頭に、複数のサプライヤーから入手可能なものを選択する。さらに、創薬化学は物質特許の取得が重要だが、プロセス化学は製法特許の取得を目指し、また周辺知識として、創薬化学は化合物のデザインのために、薬理学や薬物動態、分子生物学が求められるが、プロセス化学は個々の化学反応を深く理解するために化学工学や分析化学の知識が必要である⁶⁾。



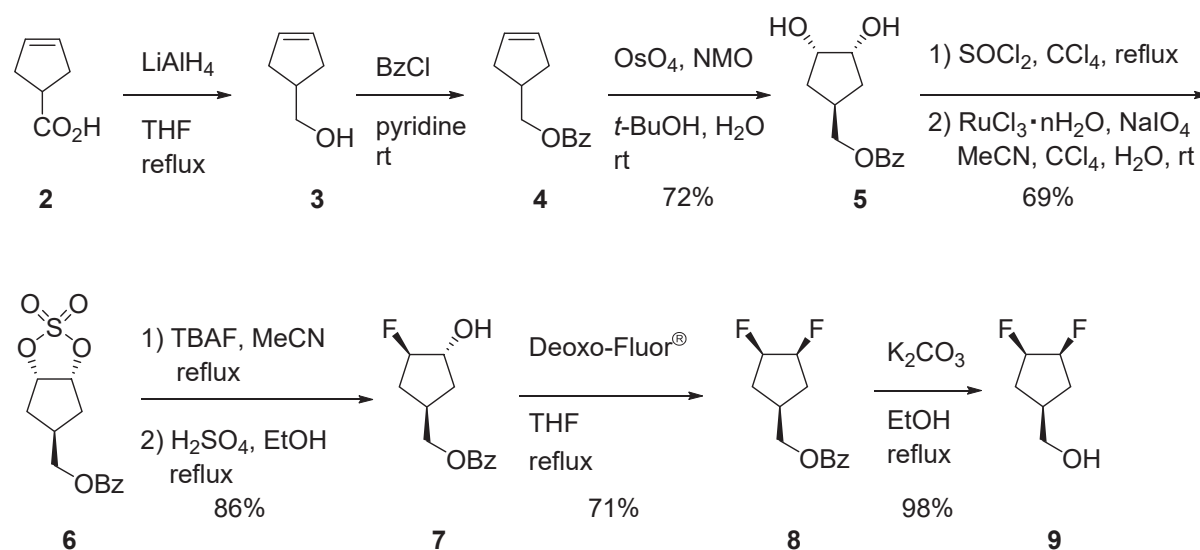
Figure 4. 創薬化学とプロセス化学の比較

プロセス化学研究は、①合成ルートの開発、②各反応、試薬、溶媒の決定、③最適化検討、の3段階に分けることができ、この検討により理想的なプロセスを構築していく。筆者は化合物 **1** の理想的な製造プロセスの構築を達成すべく、研究に取り組んだ。一般的な理想的なプロセスの要件を整理すると、以下ようになる。

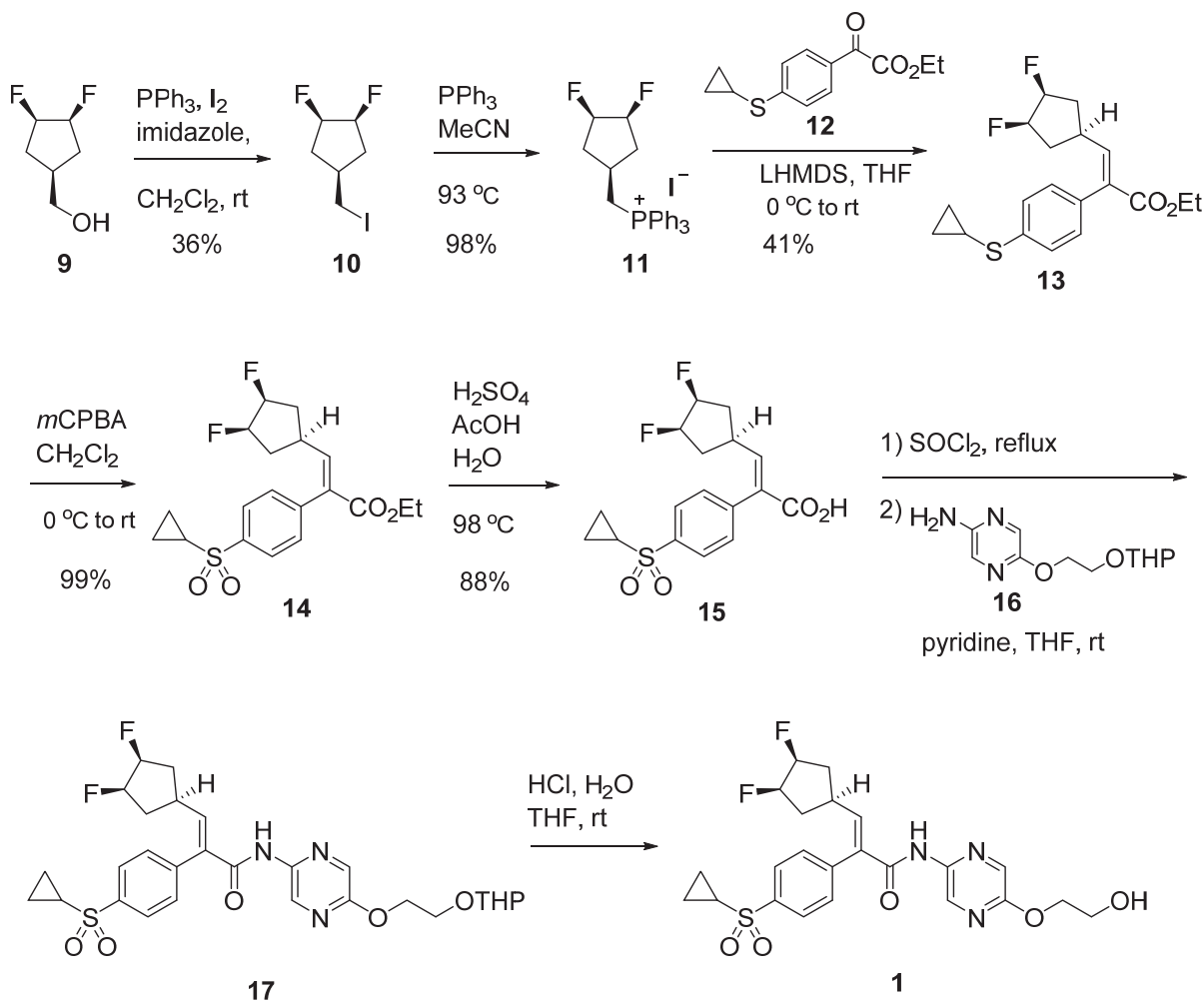
- ◇ 品質：不純物量が少ない
- ◇ 堅牢性：多少の反応条件の違いがあっても、安定した品質を与える
- ◇ 採算性：想定薬価に対して製造コストが低い
- ◇ 安全性：爆発や有毒ガスが発生するリスクのある反応を使用しない
- ◇ 作業性：操作が簡便で特殊な作業がない
- ◇ 環境への配慮：廃棄物量が少ない、環境への影響が大きい試薬や溶媒を使用しない

第3節 化合物1の製造上の課題

プロセス化学研究が行われる前の創薬研究時の化合物1の製造方法（創薬ルート）を Scheme 1 に示した⁵⁾。原料のカルボン酸2をLiAlH₄で還元し、ベンゾイル基で保護した後に、OsO₄でジヒドロキシル化し、ジオール体5を合成した。得られた5のヒドロキシ基を環状硫酸エステルに変換して6とした後に、TBAFとDeoxo-Fluor[®]により、2つのフッ素を導入し、ジフッ素体8を得た。8のベンゾイル基を脱保護して鍵中間体となるアルコール9とした (Scheme 1a)。その後、この9をホスホニウム塩11へ導き、ケトエステル12とのWittig反応によりアクリル酸エステル13を合成した。得られた13のスルフィドの酸化、エステルの加水分解を経てカルボン酸15へと導いた後に、アルコールを保護したアミノピラジン16とアミド化し、最後に酸で脱保護を行い、化合物1を合成した (Scheme 1b)。



Scheme 1a. 化合物1の創薬段階の合成ルート (前半工程)



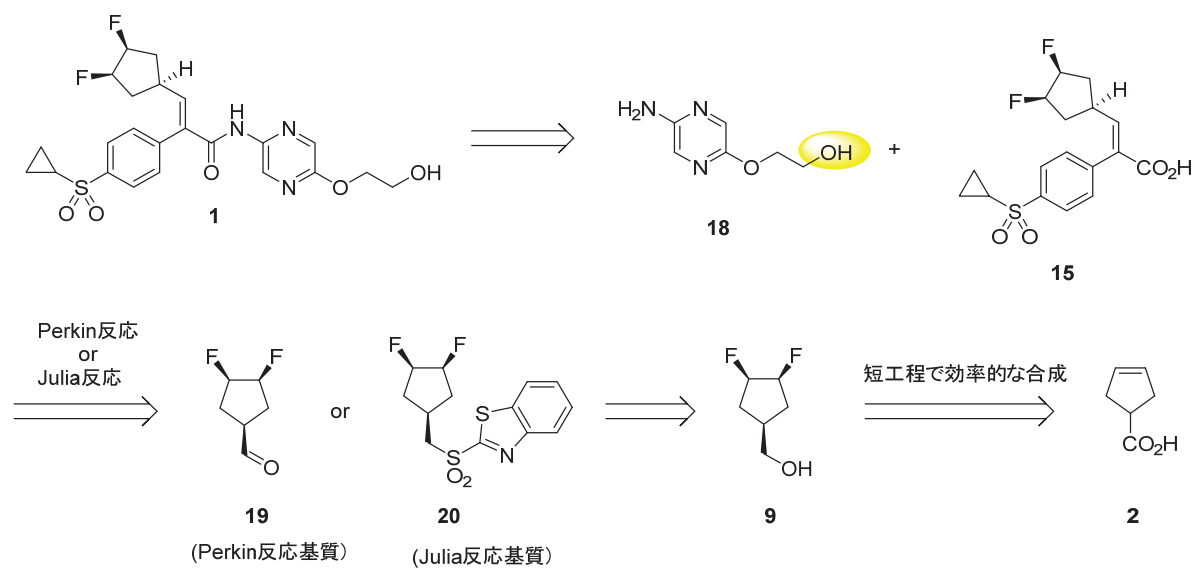
Scheme 1b. 化合物 1 の創薬段階の合成ルート (後半工程)

この製造方法においても、数 g 程度の供給であれば可能だが、数百 k g スケールの商用生産では以下に示すような回避しなければならない課題があった。これらの課題を解決すべく、プロセス研究をスタートさせた。

- ① 2→3 の工程：安全面でスケールアップが困難な還元剤である LiAlH_4 の使用
- ② 4→5 の工程：毒性の高い OsO_4 の使用
- ③ 7→8 の工程：高価なフッ素化試薬 Deoxo-Fluor[®] の使用
- ④ 11 と 12 の Wittig 反応：低収率と副生するトリフェニルホスフィンオキシドの除去のためのシリカゲルカラムクロマトグラフィーの使用
- ⑤ 全工程が 20 工程と長く、トータル収率が 4% 以下と低い

課題を解決するための合成戦略を Scheme 2 に示した。創薬ルートの化合物 9 を鍵中間体として維持するものの、 LiAlH_4 や OsO_4 、Deoxo-Fluor[®] を使用せずに化合物 9 を合成することとした。アクリル酸 15 の炭素-炭素二重結合の形成には、除去が困難なトリフェニルホスフィンオキシドが副生する Wittig 反応を避け、より高収率が期待できる Perkin 反応もしくは Julia 反応を選択することとし

た。また、最終工程のアミド化は、無保護の **18** を用いることで、工程数を軽減できると考えた。



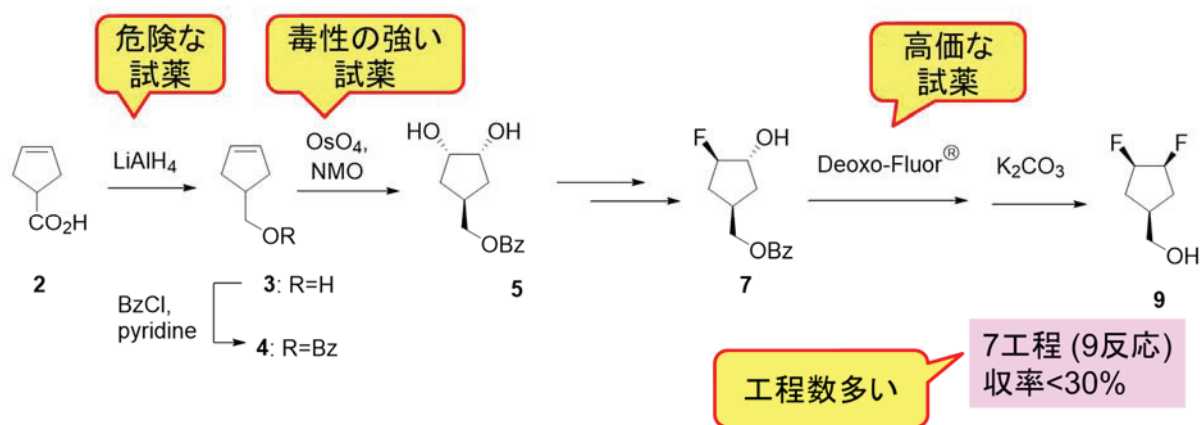
課題	対応策
① 危険な LiAlH ₄ の使用	スケールアップに適した試薬を用い、より短 工程なアルコール 9 の合成を目指す
② 毒性の高い OsO ₄ の使用	
③ 高価な Deoxo-fluor® の使用	
④ 収率が低くカラム精製が必要な Wittig 反応	Perkin 反応または Julia 反応
⑤ 工程数が多く、トータル収率が低い (20 steps, <4% yield)	無保護の 18 の使用や①～④の課題解決によ り、工程数削減と収率向上

Scheme 2. 化合物 **1** の合成戦略 (改良ルート)

第2章 アルコール **9** の合成

創薬ルートにおけるカルボン酸 **2** のカルボキシル基の還元では、分子内に還元剤と反応する可能性がある二重結合が存在するため、 LiAlH_4 以外の還元剤では良好な結果は得られなかった。一方で危険な LiAlH_4 の利用を回避するためには、反応基質を **2** 以外に変更する必要があった。すなわちエステル基以外は反応の可能性が低い **22** であれば、適用可能な還元剤の種類が増え、温和な還元剤でスケールアップしやすい NaBH_4 に変更できると考えた。そして、毒性の高い OsO_4 や高価な Deoxo-Fluor[®] を使わず、アルケン **21** に対し如何に立体選択的に2つのフッ素を導入するかが本ルートの最大の鍵であった。また、一連の化合物は分子量が小さいことから、アルコール **9** までは固体ではなく油状物質となり、再結晶による精製ができないことが予想された。よって、粗体のまま次工程を実施することになるので、できるかぎり副生成物が発生しない反応条件を見出す必要があった (Scheme 3)。

<創薬ルート>

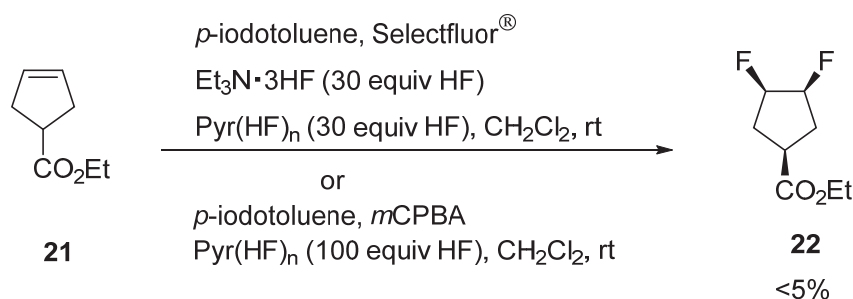


Scheme 3. アルコール **9** における創薬ルートと改良ルートの比較

第1節 アルケン **21** のジフッ素化の試み

オレフィンのジフルオロ化はこれまでに様々な条件が検討されているが、フッ素化剤としてフッ素ガスやフッ化キセノンが用いられおり、これらは基質適用範囲が狭く、高価であるといった欠点があった。2016年に Gilmour と Jacobsen によってビシナル位がフルオロ化されたジフルオロアルカンの合成法が独立して報告された⁷⁾。本反応は、系中で生成したヨードアレンジフロリド (ArIF_2) が反応活性種となり、鎖状アルケンのジフッ素化に効果的であることが示された。その一方で、大過剰のフッ素源が必要という問題点に加え、Jacobsen の論文に「シクロヘキセンは目的物が取得でき

なかった」という記載があるように、その反応適用例は鎖状アルケンに限られていた。そこで、**2**のカルボン酸をエステルへと変換したアルケン **21** に対して、本条件を適用した。その結果、60 当量を超えるフッ素源を使用したにもかかわらず、目的のジフッ素体 **22** の収率は5%未満となり、予想通り、環状アルケンには適用できないことがわかった (Scheme 4)。

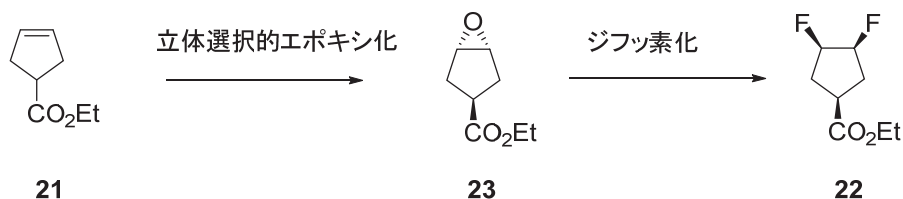


Scheme 4. アルケン **21** の直接的ジフッ素化の検討

以上の検討により、アルケン **21** に対する直接的なフッ素の導入は難しいと判断し、本検討は断念した。しかしながら、二重結合に対する直接的なフッ素の導入は依然として満足いく反応条件はなく、本検討を通じて、引き続き興味深い研究素材であることを再度認識した。

第2節 立体選択的なエポキシ化の試み

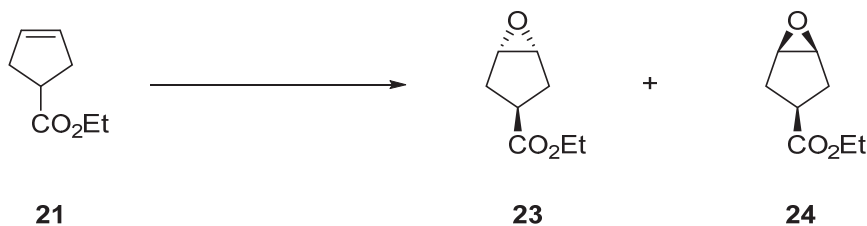
次に、立体選択的なエポキシ化とそれに続くエポキシドのジフッ素化により、ジフッ素体 **22** の合成を検討することとした (Scheme 5)。エポキシ化および続くフッ素への変換については、アルケンの直接的なフッ素化と比較して非常に多くの報告例があることから、本基質である **21** に対して、高効率かつ立体選択的な反応条件が存在することを期待した。エポキシドからジフッ素化体の新法として、 F^- によるエポキシドの開環、続く生じたアルコールの立体反転を伴うフッ素化を想定し、エステル置換基に対してトランス配置となるエポキシド **23** の合成を目指し、検討を行った。



Scheme 5. エポキシド **23** を経由するジフッ素体 **22** の合成計画

まず、エポキシ化について、文献既知の条件を用いて、反応条件のスクリーニングを行った (Table 1)。始めに、大量合成にも適用可能な酸化剤と知られている MMPP を使い、水と酢酸エチルの 2 相系の条件でエポキシ化を実施した⁸⁾。MMPP は他の過酸に比べて穏やかな酸化剤で、反応の副生成物として得られるビスフタル酸マグネシウムは水溶性であるため、反応の後処理段階で容易に除去が可能である。反応は非常にスムーズに進行し、原料は消失した。一方、立体選択性については、所望の異性体 **23** が優先して生成するものの、その選択性は 3.5:1 に留まった (entry 1)。続いてプロモヒドリンを経てのエポキシ環化⁹⁾では、**23** の異性体である **24** が優先して生成した (0.3:1=**23:24**、entry 2)。ここで酸化剤を 30%過酸化水素水に固定して検討することとした。過酸化水素水は安価で且つ水以外の副生成物を生じないクリーンな酸化剤であり、生産スケールを見据えた時、過酸化水素水でエポキシ化を行うのが理想的と考えられた。Kokotos ら¹⁰⁾によって報告されたトリフルオロアセトフェノンと過酸化水素水から発生するジオキシランによる酸化は、原料は消失するものの、選択性は MMPP より低かった (2.6:1=**23:24**、entry 3)。Entry 4 のタングステン酸ナトリウムを用いた場合、原料は残存したものの、立体選択性が向上した (6.2:1=**23:24**、entry 4)。さらに相間移動触媒 (PTC) としてメチルトリ-*n*-オクチルアンモニウム硫酸水素塩、酸としてフェニルホスホン酸、および添加剤として Na₂SO₄ を追加した条件¹¹⁾では、選択性と収量が大幅に向上した (91.8 area%、11:1=**23:24**、entry 5)。そこで entry 5 の条件を元に、さらに最適化することとした。

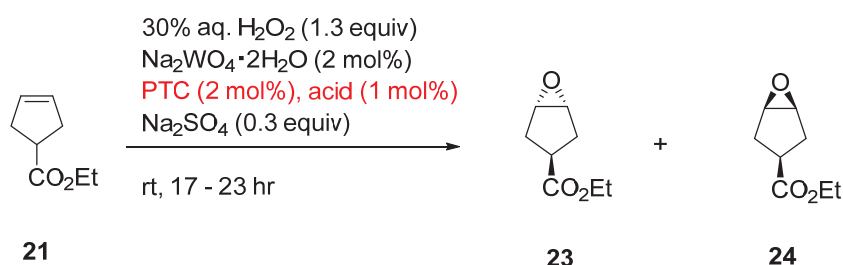
Table 1. アルケン **21** のエポキシ化反応のスクリーニング



entry	reagents and solvents	conditions	GC area%			ratio 23/24
			21	23	24	
1	MMPP, <i>n</i> -Bu ₄ NHSO ₄ , EtOAc, H ₂ O	rt, 25 h	nd	77.9	22.1	3.5
2	1) NBS, acetone, H ₂ O, 2) DBU CH ₂ Cl ₂ ,	1) rt, 22 h 2) rt, 21 h	nd	22.4	75.4	0.3
3	30% H ₂ O ₂ , 2,2,2-trifluoroacetophenone buffer, MeCN, <i>t</i> -BuOH	rt, 19 h	nd	72.0	28.0	2.6
4	30% H ₂ O ₂ , Na ₂ WO ₄ · 2H ₂ O, MeOH	rt, 19 h; 60 °C, 5 h	24.7	63.1	10.2	6.2
5	30% H ₂ O ₂ , Na ₂ WO ₄ · 2H ₂ O, Na ₂ SO ₄ , [Me(<i>n</i> -C ₈ H ₁₇) ₃ N]HSO ₄ , PhP(O)(OH) ₂	rt, 19 h	nd	91.7	8.3	11.0

先の Table 1 の entry 5 の条件に対して、過酸化水素水とタングステン酸触媒は固定し、他のパラメータの検討を行った (Table 2)。酸触媒をフェニルホスホン酸からリン酸にすると選択性は低下したが (7.7:1=23:24, entry 6)、硫酸ナトリウムは添加してもしなくても、反応には全く影響がないことがわかった (11.1:1=23:24, entry 7)。反応温度を 50 °C に昇温しても選択性はほとんど変わらず、選択性に関しては温度の影響はほとんど無いと考えられた (10.0:1=23:24, entry 8)。続いて、PTC のアニオン部分を塩素に変えると反応性が低下するとともに、選択性も低下した (8.5:1=23:24, entry 9)。カチオン部分をテトラブチルアンモニウムに変えた場合も、大幅に反応性が低下し、原料が残存した (15.4:1=23:24, entry 10)。しかしながら、entry 10 の条件で立体選択性が向上していることに着目し、原料を消失させることができさえすれば、最も良い条件になり得ると考え、反応温度を 50 °C に昇温すると、期待通りに反応は定量的に進行し、また選択性も最も高い値を示した (17.3:1=23:24, entry 11)。以上の検討より、entry 11 の条件を最適処方とした¹²⁾。

Table 2. エポキシ化反応条件の最適化



entry	PTC	acid	Na ₂ SO ₄ (equiv)	温度	GC area%			ratio 23/24
					21	23	24	
5	[Me(<i>n</i> -C ₈ H ₁₇) ₃ N]HSO ₄	PhP(O)(OH) ₂	0.3	rt	nd	91.7	8.3	11.0
6	[Me(<i>n</i> -C ₈ H ₁₇) ₃ N]HSO ₄	H ₃ PO ₄	0.3	rt	nd	87.7	11.4	7.7
7	[Me(<i>n</i> -C ₈ H ₁₇) ₃ N]HSO ₄	PhP(O)(OH) ₂	none	rt	nd	91.8	8.3	11.1
8	[Me(<i>n</i> -C ₈ H ₁₇) ₃ N]HSO ₄	PhP(O)(OH) ₂	0.3	50 °C	nd	90.4	9.0	10.0
9	[Me(<i>n</i> -C ₈ H ₁₇) ₃ N]Cl	PhP(O)(OH) ₂	0.3	rt	12.2	77.7	9.1	8.5
10	<i>n</i> -Bu ₄ NHSO ₄	PhP(O)(OH) ₂	0.3	rt	69.5	27.7	1.8	15.4
11	<i>n</i> -Bu ₄ NHSO ₄ (1 mol %)	PhP(O)(OH) ₂ (0.5 mol %)	none	50 °C	nd	90.3	5.2	17.3

エポキシ化の立体選択性について、その詳細は不明であるが、シクロペンテン環上のエチルエステル基とシス配置の2つのアリル位の水素との立体障害を避けるため、反対側からタングステン触媒活性種が近づくことによって、選択的に反応が進行すると推定された (Figure 5)¹³⁾。また、PTCについては、 $\text{Me}(n\text{-C}_8\text{H}_{17})_3\text{N}$ に比べ、 $n\text{-Bu}_4\text{N}$ の方が立体的に混んでいるので反応性が低い(室温では反応完結しない)、その分基質の立体配置の影響を強く受けて、立体選択性が上がったと考えられた。

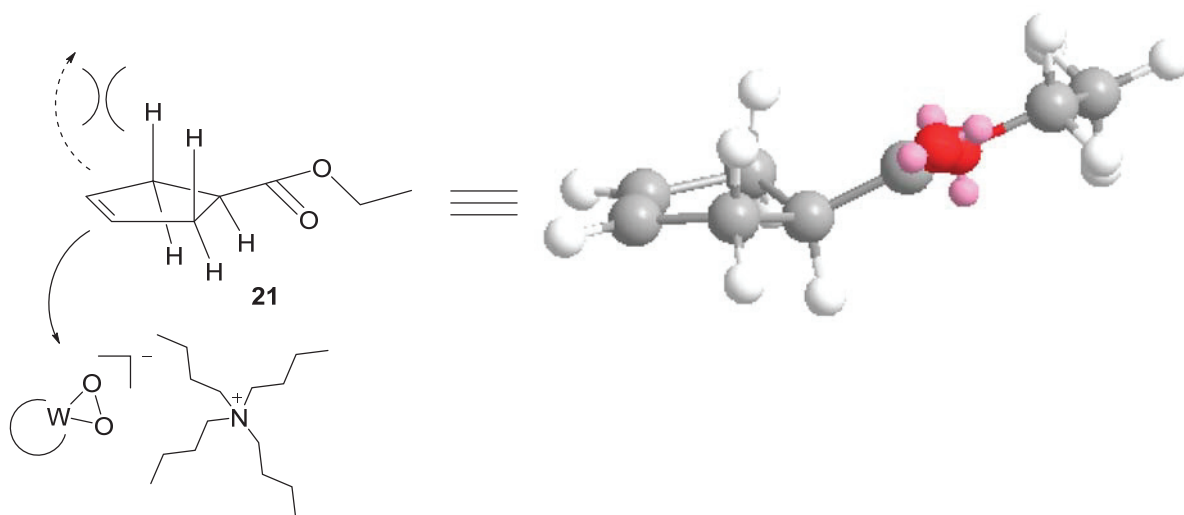
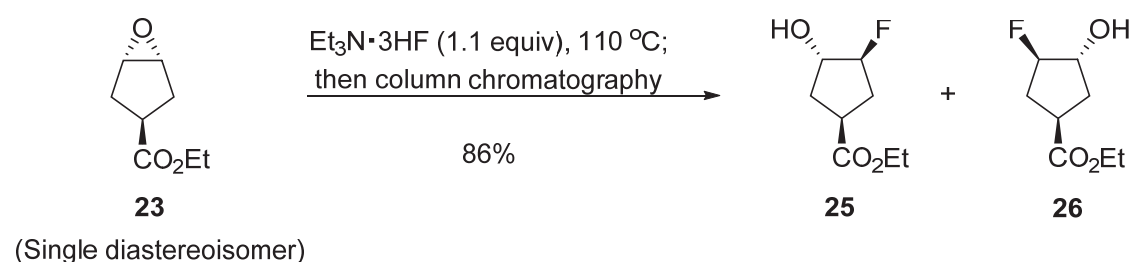


Figure 5. エポキシ化の立体選択性に関する考察

第3節 ジフッ素体 **22** の合成

初期段階におけるフッ素化の検討は、異性体であるシスエポキシド **24** をシリカゲルカラムクロマトグラフィーで除去したトランスエポキシド **23** を用いて行った。まず、危険な HF を発生しないフッ化カリウムとトリエチレングリコール¹⁴⁾による塩基性条件での開環反応を試みたが、目的物は全く得られず、原料の異性体 **24** が増加するのみであった。これは、おそらくエステル置換基のエピメリ化を経由したものと考えられた。そこで、塩基性条件をあきらめ、比較的安価でバルクでも取り扱われているトリエチルアミン三フッ化水素酸塩 ($\text{Et}_3\text{N} \cdot 3\text{HF}$)¹⁵⁾ で加熱したところ、反応はきれいに進行し、カラム精製後の収率 86% で、目的のモノフッ素体をジアステレオマー (**25** と **26**) の混合物として取得することができた (Scheme 6)。このモノフッ素体を用いて、次の脱酸素的フッ素化反応 ($-\text{OH} \rightarrow -\text{F}$) の検討を行った。



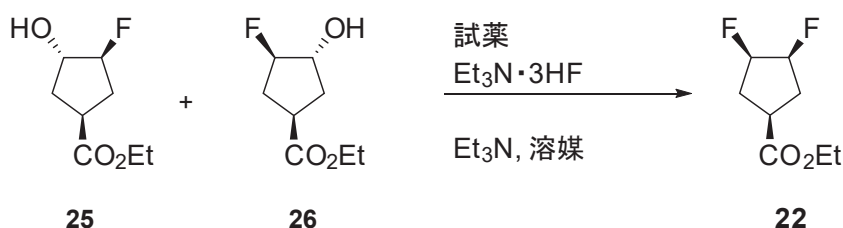
Scheme 6. $\text{Et}_3\text{N} \cdot 3\text{HF}$ を用いたモノフッ素体 **25**、**26** の合成

続くヒドロキシ基の脱酸素的フッ素化でも、 $\text{Et}_3\text{N} \cdot 3\text{HF}$ をフッ素源として利用すれば、前述のエポキシド開環反応から one-pot 化が実現可能と考えられたため、 $\text{Et}_3\text{N} \cdot 3\text{HF}$ 使用を前提で反応条件の検討を行った。One-pot 反応は、単離操作を省くことで単離操作時の収率ロス無くすだけでなく、生産スケールでの労働時間の削減に寄与し、結果的に製造コストダウンにつながる。さらに本フッ素化反応については 2 つのメリットが期待された。第一にフッ素化反応はその腐食性のため、テフロンコーティングした反応釜や Hastelloy 製の釜など特殊設備が必要である。しかしながら同じ大きさの特殊設備を複数保有する製造サイトは限られているため、通常は 1 つの反応釜でフッ素化を対応せざるを得ない。そのため、フッ素化を 2 工程に分けた場合、1 工程目と 2 工程目の間に釜洗浄が必要となり釜繰りが難しく、複数バッチが必要な商用生産段階になったときにフッ素化工程が律速になり、生産スケジュールに大きな影響を及ぼす。そこでこの工程を one-pot 化することで、生産スケジュールが組みやすくなると考えられる。第二のメリットは、1 工程目 (エポキシド開環) の反応後の後処理にて余剰の $\text{Et}_3\text{N} \cdot 3\text{HF}$ を除去するところを、そのまま残して 2 工程目 (脱酸素的フッ素化) に有効利用することで、フッ素化試薬を無駄なく最小量の使用に抑えることができる。

まずヒドロキシ基を脱離基に変換し、 $\text{Et}_3\text{N} \cdot 3\text{HF}$ のフッ素で求核置換反応を試みた。トリフルオロアセチル化やメシル化を経由する方法では目的物がほとんど得られなかった (Table 3, entry 1, 2)。これはフッ素の求核性の低さに対して、脱離基の脱離能が弱かったためと考えられた。一方で Tf_2O ¹⁶⁾ を用いた場合は、反応はスムーズに進行し、目的物 **22** を取得することができた (entry 3)。続いて、アルコールを脱酸素的にフッ素へと置換する脱酸素的フッ素化試薬を検討した。代表的な脱酸素的フッ素化試薬を Figure 6 に示したが、フッ素化試薬は他の汎用試薬に比べて価格が高い。DAST

や Deoxo-Fluor®はラボスケールでは使いやすいが、水や熱に不安定なため大スケールでの使用は難しく、また、XtalFluor¹⁷⁾、Alkylfluor¹⁸⁾、PyFluor¹⁹⁾は固体試薬なので DAST に比べ安定性は高くなったが、高価で且つ入手性が低い。その中で、石川試薬²⁰⁾と PBSF¹⁵⁾²¹⁾は比較的安価で入手性も良かったため、これらを第一選択としてフッ素化検討を実施した。その結果、石川試薬では少量の目的物 **22** を得るに留まったものの、PBSF では高収率で **22** を得ることができた (entries 4, 5)。一般に脱酸素的フッ素化は競合するオレフィンの副生 (E2 脱離) との戦いであるが、幸運にも PBSF の条件では E2 脱離が抑制された結果となった。PBSF は Tf₂O よりも安価であることから、entry 5 の条件を最適条件として、続く one-pot 化検討を実施することとした。検討した中で、最も安価なフッ素化試薬である PBSF が本基質に適合したことは、本ルートを採用する第二のブレイクスルーとなった。

Table 3. 脱酸素的フッ素化反応の検討



entry	試薬 (equiv)	Et ₃ N · 3HF (equiv)	Et ₃ N (equiv)	溶媒	温度	GC area%		assay%
						25+26	22	
1	TFAA (2.4)	3.0	6.6	MeCN	rt → 50 °C	99.5	0.2	-
2	MsCl (1.2)	3.0	6.6	MeCN	rt → 50 °C	99.4	0.1	-
3	Tf ₂ O (2.4)	3.0	6.6	MeCN	rt	0.4	92.5	77.3
4	Ishikawa reagent (3.0)	2.0	none	toluene	rt → 40 °C	nd	11.6	-
5	PBSF (1.5)	1.5	3.0	THF	rt	nd	96.5	94.1

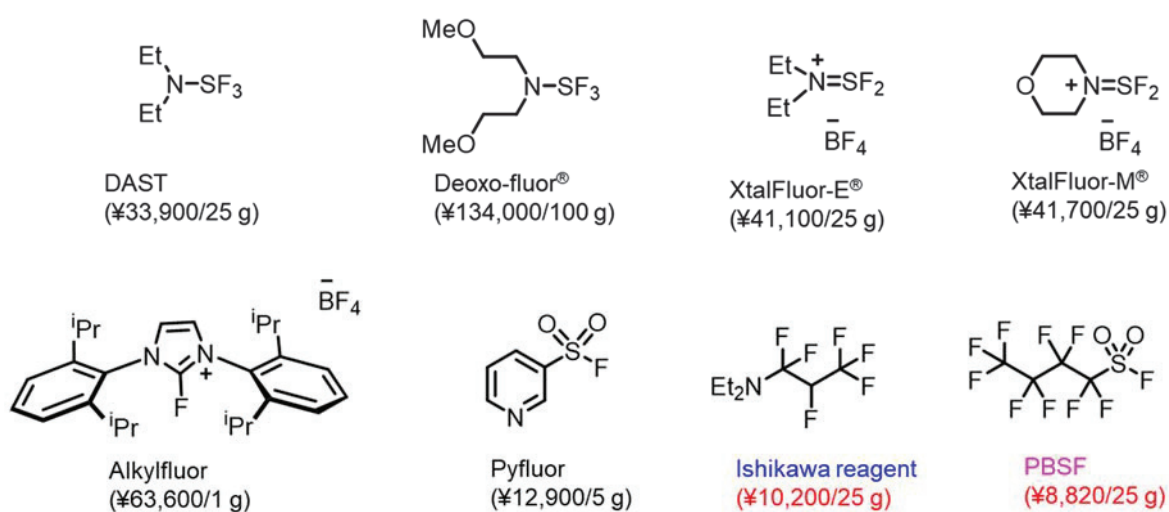
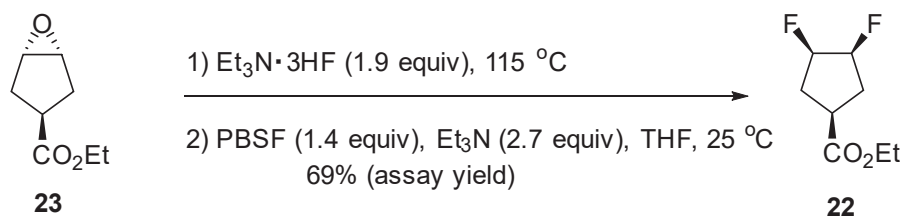


Figure 6. 代表的な脱酸素的フッ素化試薬

最終的に、1 段目のエポキシドの開環反応で使用される分を加味して、まず 1.9 当量の $\text{Et}_3\text{N} \cdot 3\text{HF}$ を **23** と 115 °C にて反応させた後に、後処理することなく、THF 中、2.7 当量の Et_3N と 1.4 当量の PBSF を加え、25 °C 下、脱酸素的フッ素化反応を行う方法を最終処方とした (Scheme 7)。



Scheme 7. エポキシド **23** の one-pot でのジフッ素化による **22** の合成

この反応は当初、収率のばらつきが観測された。後々わかったことだが、 $\text{Et}_3\text{N} \cdot 3\text{HF}$ に含まれる HF の数によって反応性が異なることがわかった。HF の数は $^1\text{H-NMR}$ (DMSO) で δ 11.5ppm 付近のピークで確認できるが、同じ $\text{Et}_3\text{N} \cdot 3\text{HF}$ として売られている試薬でもサプライヤーによって HF の数が異なっていた (Figure 7)。NMR の積分比より Et_3N 1 分子に対して A 社のものと HF が 2 分子、B 社は 3 分子含有と見積もられた。当初、筆者は A 社のもので検討していたが、その場合、エポキシド開環反応で原料を消失させるのに加熱条件が必要であった。一方、B 社製を用いた場合には室温で原料が消失するものの、結果的にジフッ素体 **22** の含量が大幅に低下した。これは、後者の反応だと基質の分解が起きたためと考えられた。そこで B 社製の $\text{Et}_3\text{N} \cdot 3\text{HF}$ を Et_3N で希釈して、A 社製と同程度の HF 数に調整したところ、A 社製を用いたときと同等の結果を得ることができた。

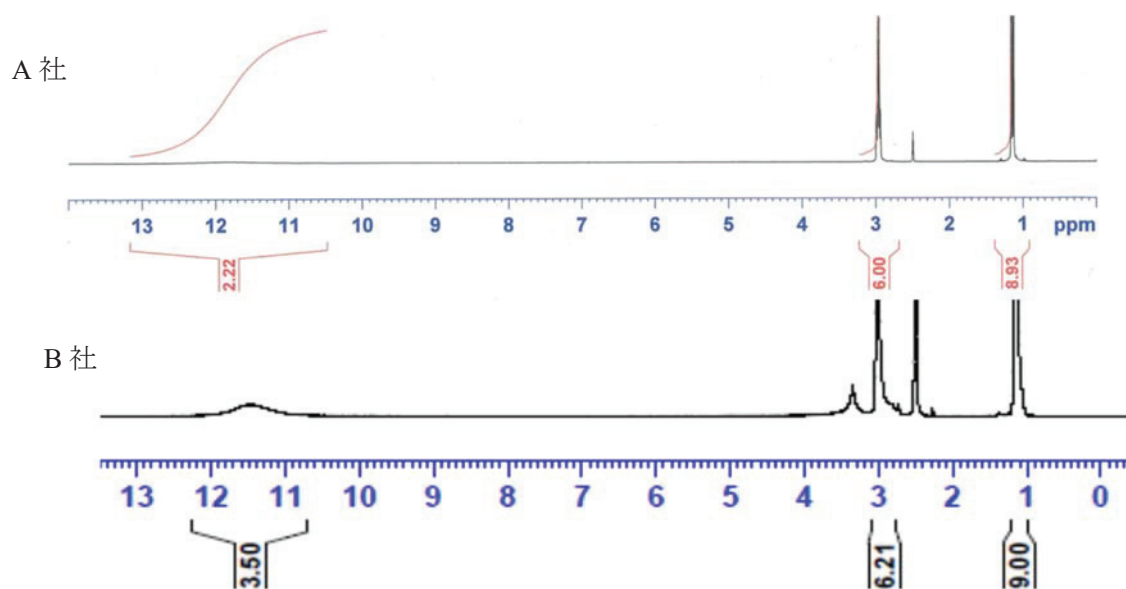
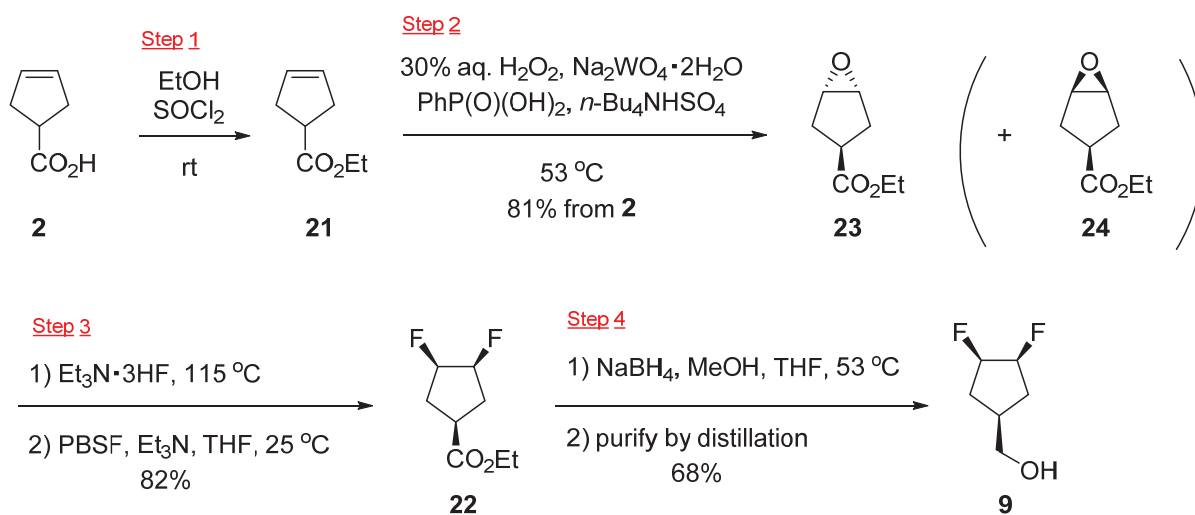


Figure 7. サプライヤーによる $\text{Et}_3\text{N} \cdot 3\text{HF}$ の $^1\text{H-NMR}$ スペクトルの違い

第4節 アルコール9合成

懸念であった立体選択的なフッ素化に目途が立ったことから、最適化した反応条件で、275 gのカルボン酸 **2** を用いる確認実験を実施した (Scheme 8)。 **2** を塩化チオニル存在下、エタノールと反応させエステル **21** を合成した。得られた **21** は沸点が 160~170 °C と比較的低温、後処理時の抽出溶媒 (酢酸イソプロピル) の濃縮の段階で収量のロスがあった。そこで、抽出で得た溶液を濃縮せずにそのまま次のエポキシ化に付すことにより、カルボン酸 **2** から **2** 工程収率 81%でエポキシド (94:6=**23**:**24**) を取得した。続く、one-pot でのジフッ素化 (エポキシドの開環、脱酸素的フッ素化) により、ジフッ素体 **22** を取得後、**22** のエステルのアルコールへの還元を試みた。一般的に、水素の発生を伴う還元反応のスケールアップは、安全面で特に注意が必要である。エステルのアルコールへの還元には、ラボスケールでは LiAlH_4 がよく用いられるが、強力な還元力ゆえにスケールアップ時のコントロールが難しい。そこで、安定で安価な還元剤として知られ、工業的利用にも適している NaBH_4 を第一選択として検討した。幸運にも、 NaBH_4 と MeOH の組み合わせ²²⁾でスムーズに反応が進行することがわかり、さらに MeOH の添加速度により、発熱や水素ガスの発生をコントロールすることができることから、スケールアップ可能と判断した。その結果、得られた粗体を単蒸留での精製後、収率 68%でアルコール **9** を取得した。なおこの単蒸留は回収率重視のため、立体異性体の除去効果はほとんど無く、結果として **9** とそのジアステレオマーの混合物として得た。

以上、危険な LiAlH_4 や毒性の強い OsO_4 、高価な Deoxo-Fluor[®]の使用を回避し、創薬ルート (7 工程、9 反応、収率 $\leq 30\%$) より短工程かつ高収率 (4 工程、5 反応、収率 45%) なアルコール **9** の合成法を確立した。また、本合成法は途中の中間体を単離精製していないことから、製造時間の短縮につながり、生産性の面でも非常に優れている製造方法と言える。



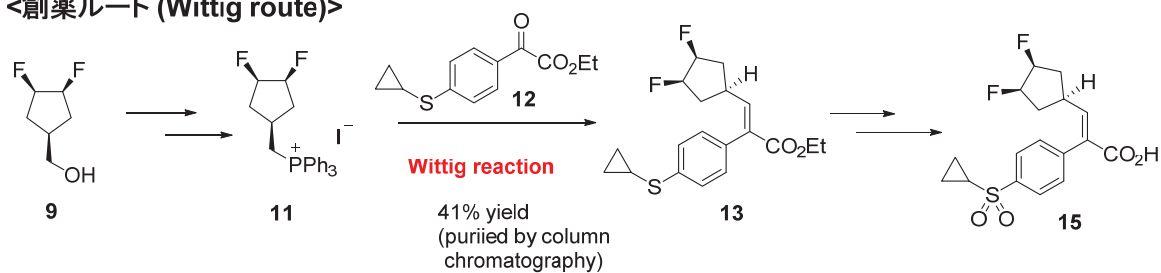
4 steps (5 reactions)
45% yield

Scheme 8. 最適化されたアルコール9の大量合成法

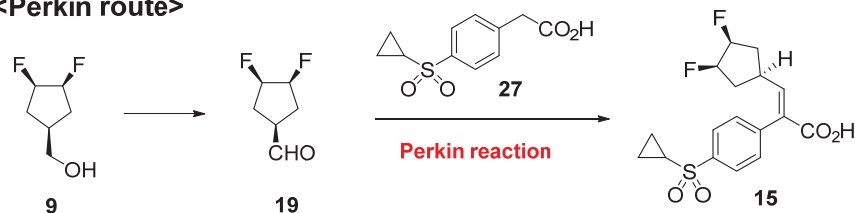
第3章 化合物 1 の合成

創薬ルートの Wittig 反応は収率が 40%程度と低く、また副生する Z 体とトリフェニルホスフィンオキシドをシリカゲルカラムクロマトグラフィーで除去していた。スケールアップするためには、収率向上とシリカゲルカラムクロマトグラフィーを回避する必要がある。筆者は、フェニルアクリル酸誘導体 **15** を合成するのに、余計な脱離基を必要とせず最も原子効率が良い Perkin 反応²³⁾か、もしくは、反応基質が安定で取扱いやすく、高収率の見込める Julia 反応²⁴⁾で解決できると考えた (Scheme 9)。

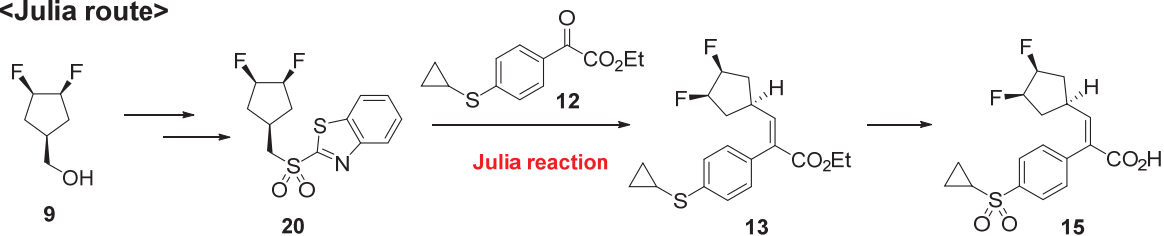
<創薬ルート (Wittig route)>



<Perkin route>



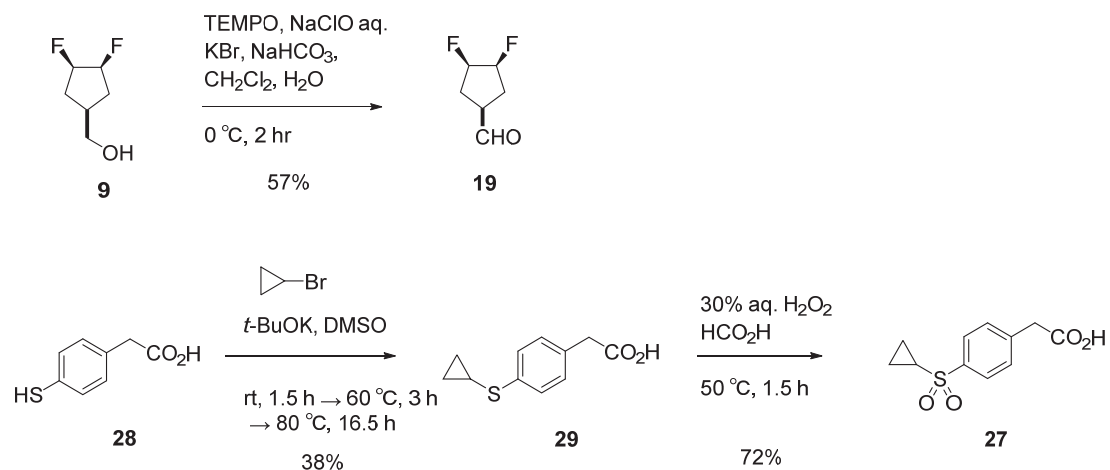
<Julia route>



Scheme 9. カルボン酸 **15** の合成戦略

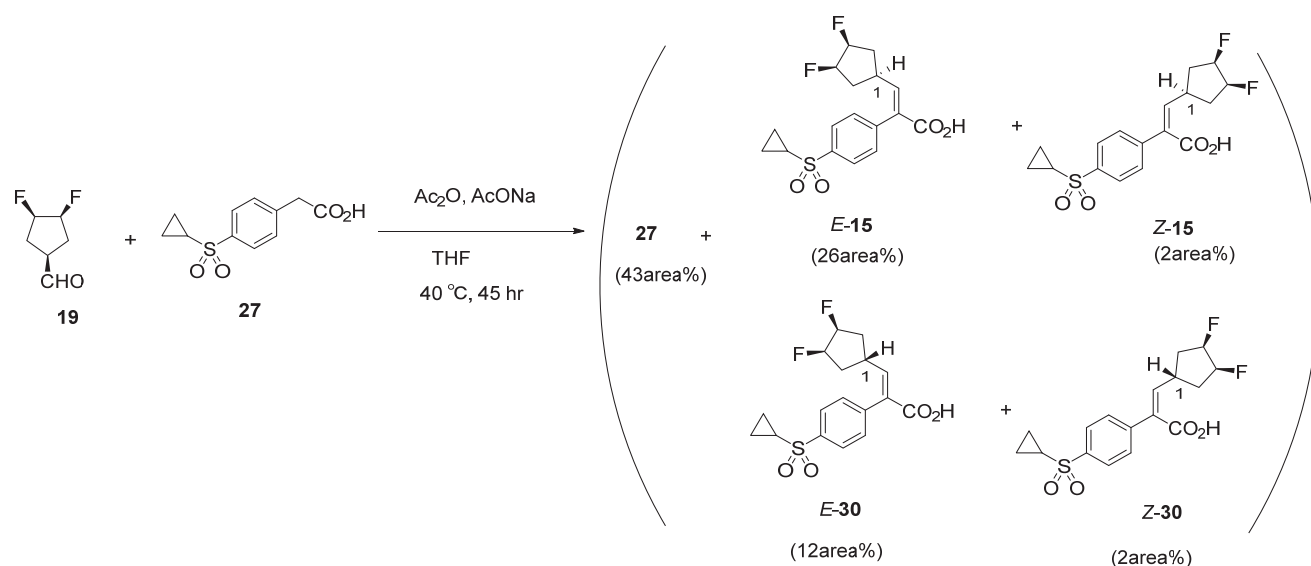
第1節 Perkin 反応の試み

まず、フェニルアクリル酸 **15** を合成するのに最も短工程で原子効率が良い Perkin 反応の検討を行った。原料のアルデヒド **19** とフェニル酢酸 **27** は以下の方法で取得した (Scheme 10)²⁵。



Scheme 10. アルデヒド **19** とフェニル酢酸 **27** の合成

Perkin 反応として、無水酢酸と酢酸ナトリウムを用いた一般的な条件²³)を試みた。しかしながら、原料 **27** は消失せず、また粗生成物も目的の *E/Z*-**15** と、**19** の 1 位エピマー由来のアルケン *E/Z*-**30** の混合物であった (Scheme 11)。*E/Z*-**30** の副生は、アルデヒド **19** が塩基性条件で不安定なことが原因と考えられた。実際にフェニル酢酸 **27** を入れずに、アルデヒド **19** を同じ反応条件で攪拌したところ、GC 上で **19** の異性体と思われるピークが増加した。以上の結果から、Perkin 反応によるフェニルアクリル酸誘導体 **15** の効率的な合成は困難と判断し、検討を中止した。

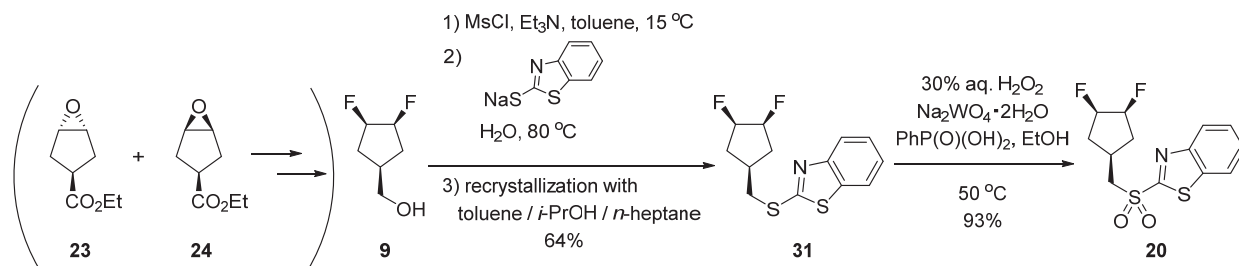


Scheme 11. Perkin 反応の検討

第2節 BT-スルホン **20** の合成

Julia 反応は、反応基質のスルホンが一般に安定で、さらに Wittig 反応に比べ反応条件が温和なため、収率の向上が期待でき、スケールアップも可能と考えられた。Julia 反応基質のスルホンとして、安価で入手容易なベンゾチアゾリル(BT)スルホンを選択した。創薬ルートのホスホニウム塩 **11** は、その塩という性質上、再結晶による精製ができなかったが、BT-スルホン **20** であれば、再結晶により合成ルート前半の不純物を除去し純度向上が可能となるため、理想的な中間体であると考えられた。

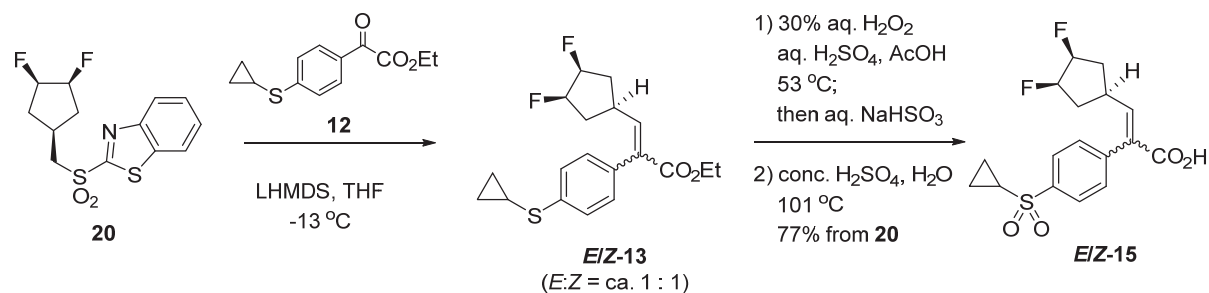
まず、アルコール **9** をトルエン中 Et₃N 存在下、MsCl でメシル化した後、one-pot でチオベンゾチアゾール基 (SBT) を導入し BT-スルフィド **31** を合成した²⁶⁾(Scheme 12)。One-pot 化するにあたり、Ms 化後に水を添加して攪拌を阻害する不溶物を溶解させることが、SBT 化反応を完結させるキーポイントだった。後処理した後の粗体を、トルエン/*i*-PrOH/*n*-ヘプタンで再結晶することにより、99% 以上の高純度の BT-スルフィド **31** を取得することができた。続くスルホンへの酸化は、工程で使用する原材料の種類を増やさないためにも (原材料が増えれば、その分原材料の保管や原材料の受け入れ試験が生じる)、Step 2 のエポキシ化の条件を応用した。事前検討で、BT-スルホン **20** の再結晶溶媒として EtOH/水系が最適であることがわかっていたため、反応液から直接晶析できるよう EtOH を反応溶媒として選択した。EtOH 中、タングステン酸ナトリウムとフェニルホスホン酸存在下、50 °C で過酸化水素水を滴下すると、反応は 1 時間で完結した。反応終了後に水を添加し、不溶物を熱時ろ過した後、冷却することで析出した固体をろ取り、93%の高収率で BT-スルホン **20** を取得した。なお、この **20** の段階で、**23** に少量含まれるシスエポキシド **24** 由来の不純物は 0.4%以下になっていることから、期待通りに BT-スルフィド **31** と BT-スルホン **20** の晶析精製で当該不純物は効果的に除去されたことが示唆された。



Scheme 12. BT-スルホン **20** の合成

第3節 カルボン酸 **15** の合成

20 と **12** の Julia 反応は、Wittig 反応の時と同じ塩基である LHMDS を用いたところ、反応はスムーズに進行したものの、*E/Z* の選択性は約 1:1 で、選択性は見られなかった (Scheme 13)。しかしながら、後述する酸クロリドへの変換の工程で *E* 体へ異性化することがわかったため、Julia 反応での選択性向上の取り組みは行わなかった。続くスルフィドの酸化は、創薬ルートの *m*CPBA に代わり、安価で且つ水以外の副生成物が生じない過酸化水素水を第一選択として検討を行った。また、次の加水分解は塩基性条件ではシクロペンタン環の 1 位の立体配置が異性化するため、酸性条件の適用が必須であった。加水分解工程との one-pot 化を念頭に置き、酸性加水分解と同じ溶媒 (酢酸、硫酸、水) 中に過酸化水素水をゆっくり滴下することで、スルフィドの酸化がスムーズに進行した。反応終了後に亜硫酸水素ナトリウムを加えて残存する過酸化水素を分解し、そこに硫酸、水を追加し one-pot で加水分解することで、目的物のカルボン酸 *E/Z-15* を取得した。本合成法は創薬ルートのカラム精製を回避するだけでなく、BT-スルホン **20** からの通算収率も 77%と、創薬ルートの収率 (36%) を大幅に改善することができた。



Scheme 13. カルボン酸 (*E/Z-15*) の合成

加水分解工程の後処理は工夫した箇所が多いので、以下にフローチャートと、各操作の役割を示した (Figure 8)。

- ① 平衡反応である酸性加水分解を完結させるために、生成するエタノールと酢酸エチルを除去する目的で反応液の一部 (**20** の仕込み量に対して 2 v/w) を留去した。
- ② 目的物 *E/Z-15* が酸性官能基のカルボン酸を持つので、同じ酸性の酢酸や硫酸を分液操作で除くのは難しい。そこで目的物粗体を水の添加による晶析で取得することで、酢酸や硫酸は母液へ除去した。
- ③ 反応条件が強酸性で 100 °C と比較的厳しい条件なため、反応液は濃く着色した。そのまま、ろ取してもこの着色成分は残ってしまうため、活性炭処理でこの着色成分を除去した。
- ④ *E/Z-15* と Julia 反応の副生成物 2-ヒドロキシベンゾチアゾール (BTOH) の分離には、aq. NaHCO₃ を用いた逆抽出を利用した。これにより、*E/Z-15* は水層へ移動し、有機層に残留する BTOH と分離できた。
- ⑤ 逆抽出後の中和の過程において、水層を塩基性から一気に pH=1 まで下げると、急激な過飽和状態になり、目的物はオイルアウトしてしまった。そこで pH=2.5~3.0 付近で一旦中和をストップし、析出した結晶を熟成させた後、さらに塩酸を加えて pH=1 にすることでオイル

アウトの発生を回避した。

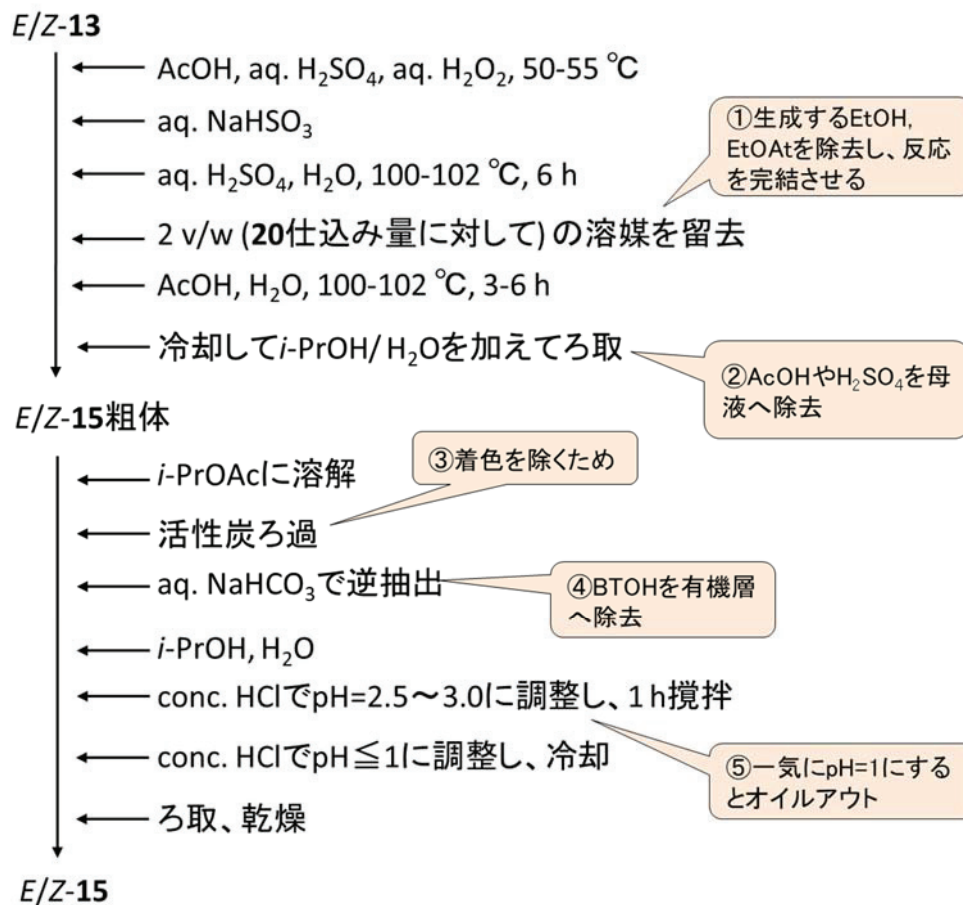
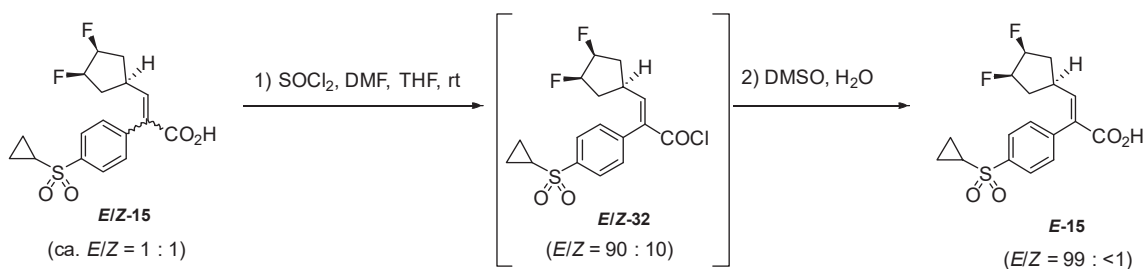


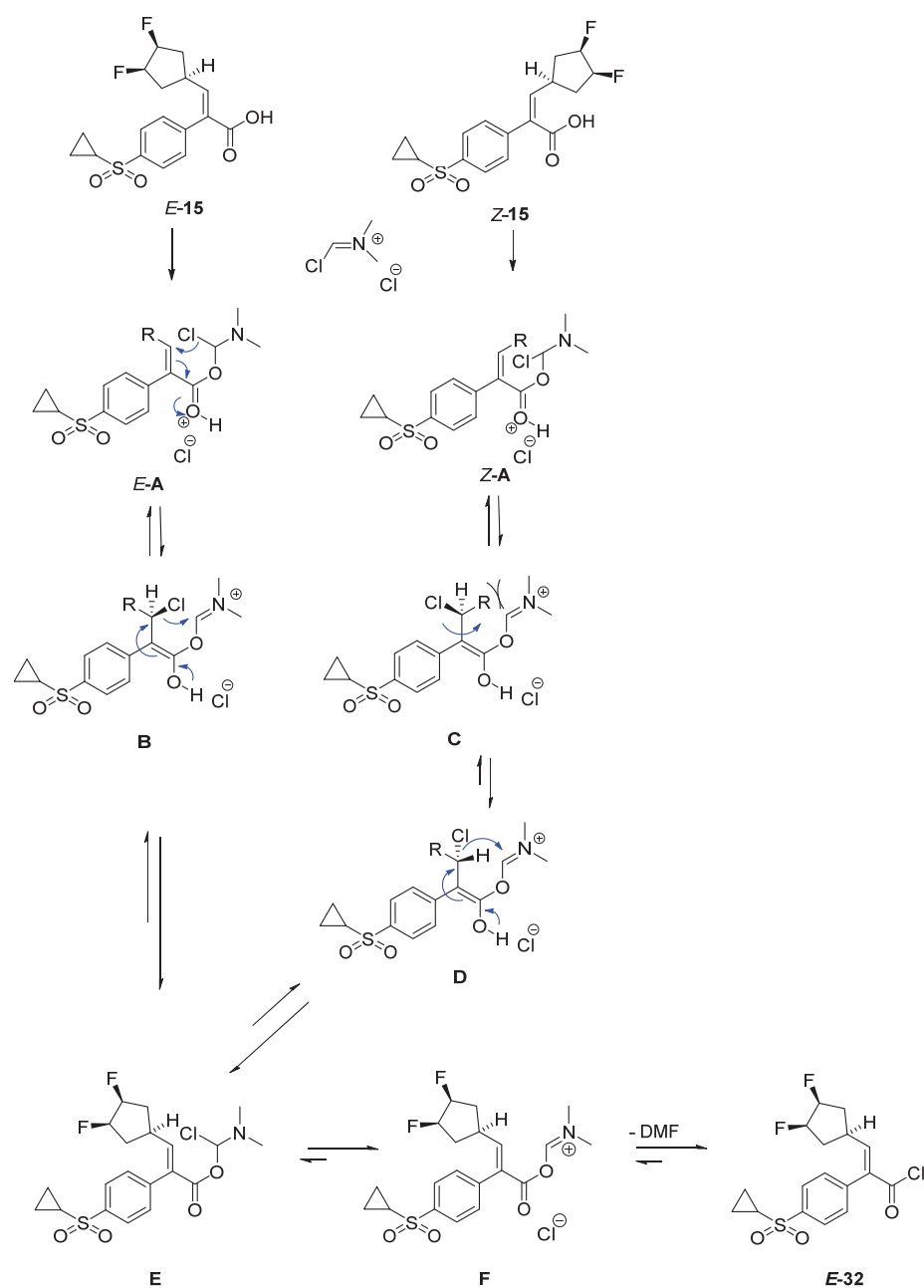
Figure 8. カルボン酸 15 の合成手順

こうして得られた *E/Z*-15 を酸クロリド **32** へと変換する工程を検討した。THF 中、DMF 存在下、塩化チオニルを作用させて目的の **32** へと変換した。その反応液を HPLC で分析したところ、**32** の一方の異性体の減少が観察され、得られた **32** を加水分解後、単離精製することで、望みとする異性体である *E*-15 を単一のジアステレオマーとして得た。この結果は、**32** への変換行程にて所望の *E* 体への異性化が進行した結果であると考えられた (Scheme 14)。



Scheme 14. 酸クロリ化条件での *E* 体への異性化

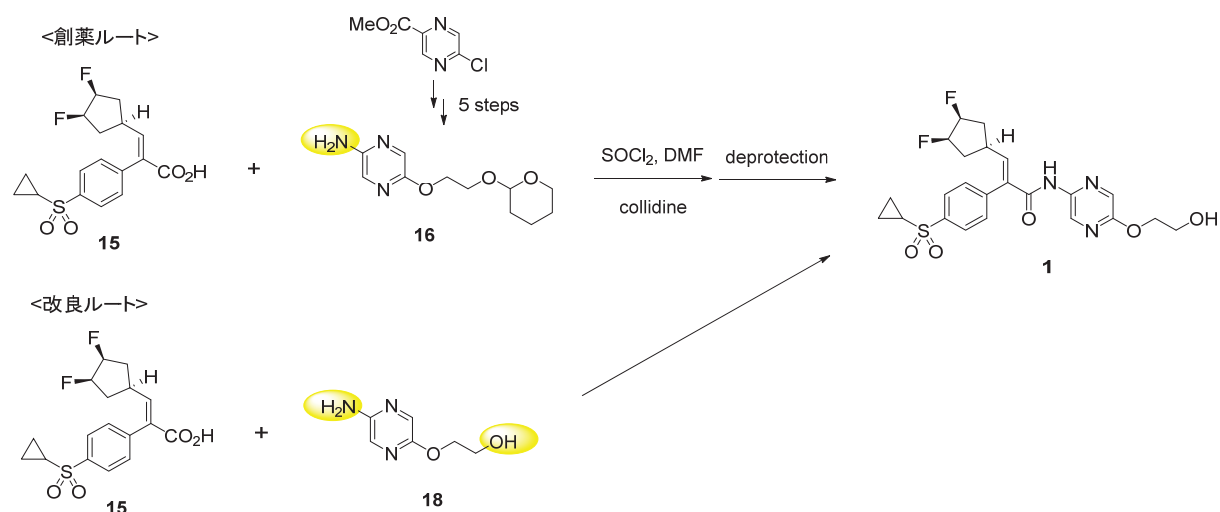
異性化の反応機構の詳細は不明であるが、以下のように推測している (Scheme 15)。まず、塩化チオニルと DMF から生成した Vilsmeier 試薬と *E/Z*-15 が反応し、中間体 **A** となる。ここで塩素がアクリル酸の二重結合部分に移動し、*E* 体からは中間体 **B**、*Z* 体からは中間体 **C** を形成し、中間体 **C** は立体障害を避けるように中間体 **D** の配置を取る。中間体 **B**、**D** から二重結合が再生し中間体 **E** となり、中間体 **F** を経由して酸クロリド *E*-32 が生成すると考えられた。また、*E*-**A** と *Z*-**A** における塩素の移動において、*E*-**A** ではシクロペンチル基の立体の影響を受けないのに対し、*Z*-**A** ではその立体の影響が生じるとも考えられ、*E*-**A** からの酸クロリドへの変換が優先して進行したために、結果として *E*-32 への異性化が進行したとも考えられる。



Scheme 15. *E* 体への異性化の推定メカニズム

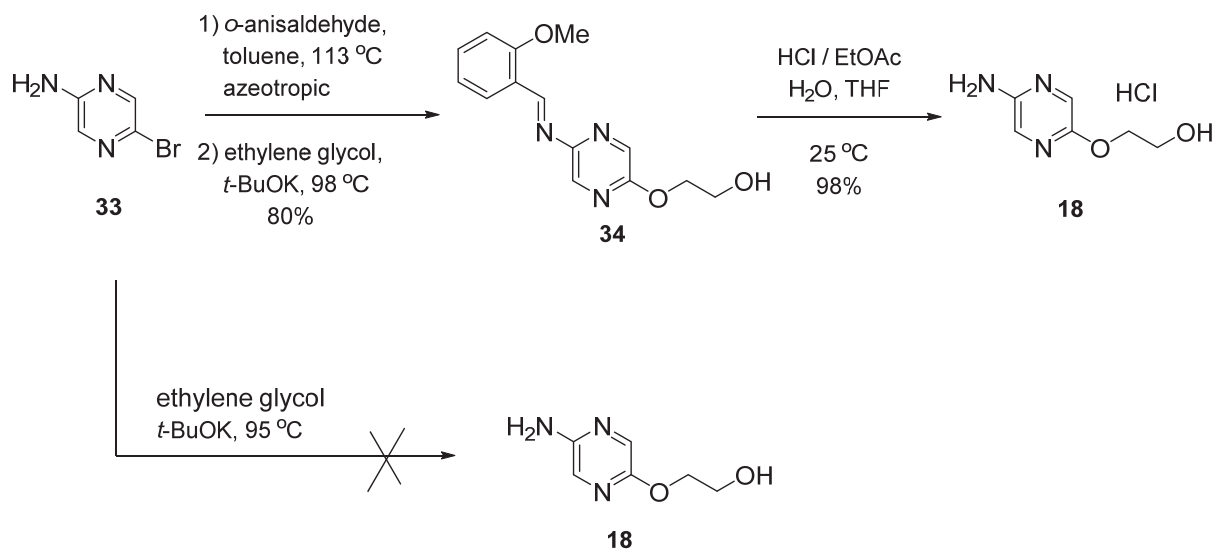
第4節 アミノピラジン 18 の合成

創薬ルートでは5-クロロピラジン-2-カルボン酸メチルから5工程かけてアルコールを保護したアミノピラジン 16 を合成し、15 とアミド化した後に脱保護して化合物 1 を合成していた。改良ルートでは工程数の低減を目指しており、無保護のアミノピラジン 18 とカルボン酸 15 とのアミド化²⁷⁾を検討した (Scheme 16)。創薬ルートと異なり、18 にはアミノ基とヒドロキシ基の2か所の反応点があるため、不純物コントロールが難しいことが予想された。



Scheme 16. 化合物 1 の最終工程の合成戦略

アルコールが無保護である 18 の短工程での合成法として、2-アミノ-5-ブロモピラジン (33) を出発物質とするのが最適と考えられた。まず、33 に対し直接エチレングリコールの付加を試みたが、目的物を取得することができなかった (Scheme 17)。これは 33 のアミノ基の存在によりピラジン環の電子密度が高いために反応性が低く、アルコキシ化が進行しないと考えた。そこで 33 のアミノ基を *o*-アニスアルデヒドによりイミンに誘導した後に、エチレングリコールを反応させることで、目的とするアルコキシ体 34 を収率 80%で得ることができた。続く 34 のイミンの脱保護反応は、塩酸を用いるのが最も簡便で安価な条件である。初期の conc.HCl を用いた条件では脱イミン化、塩酸塩化は直ちに進行するものの、長時間攪拌すると結晶がガム状になった。これは conc.HCl に含まれる余剰の水によって目的物が潮解したためと考えられた。そこで反応液中の水をコントロールするため、conc.HCl を HCl/EtOAc に変更し、水を1当量だけ添加する条件にしたところ、予想通り長時間攪拌しても潮解することなく、流動性の良いスラリーを維持し、収率 98%で無保護のアミノピラジン 18 を取得することができた。以上の結果、創薬ルート (5 工程) に比べ、工程数を短縮したアミノピラジンの合成方法を見出すことに成功した。



Scheme 17. アミノピラジジン (18) の合成

第5節 化合物 1 の合成

ICH Q3A ガイドライン (新有効成分含有医薬品のうち原薬の不純物に関するガイドライン)²⁸⁾ では、0.15%を越える不純物がある場合は安全性の確認が必要となっているため、追加の安全性試験を避けるためにも、原薬中の新規不純物量を閾値以下 (0.15%以下) にコントロールする必要があった。次のアミド化工程は最終反応工程であり、原薬の品質への影響が大きいため、反応で生じる不純物は極限まで減らしたいと考えた。しかしながら、アミノピラジジン 18 にはフリーのアミノ基とヒドロキシ基の 2 か所の反応点があるので、不純物をコントロールすることは非常にチャレンジングな検討であった。

創薬ルートと同様に、酸クロリドへの変換に最も一般的な試薬である塩化チオニルを用いた場合、スルホキシド基を介して二つの化合物 1 が結合した sulfite 体 35 が副生した (Figure 9)。この 35 は再結晶で除去しにくい上に、*in-silico* 計算で DNA 反応性不純物と判定された。ICH M7 ガイドライン (潜在的発がんリスクを低減するための医薬品中 DNA 反応性 (変異原性) 不純物の評価及び管理)²⁸⁾ では、*in-silico* 計算で DNA 反応性不純物と判定された場合は、管理戦略を適切に立てる必要がある。場合によっては ppm オーダーの管理が必要となるため、この時点で sulfite 体が生成する塩化チオニルの使用は避けることにした。

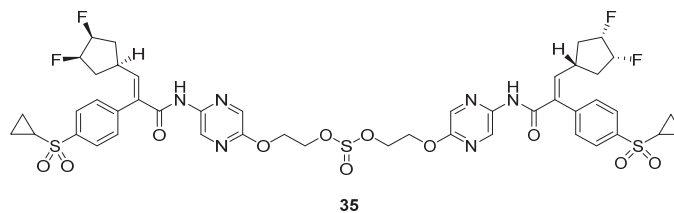
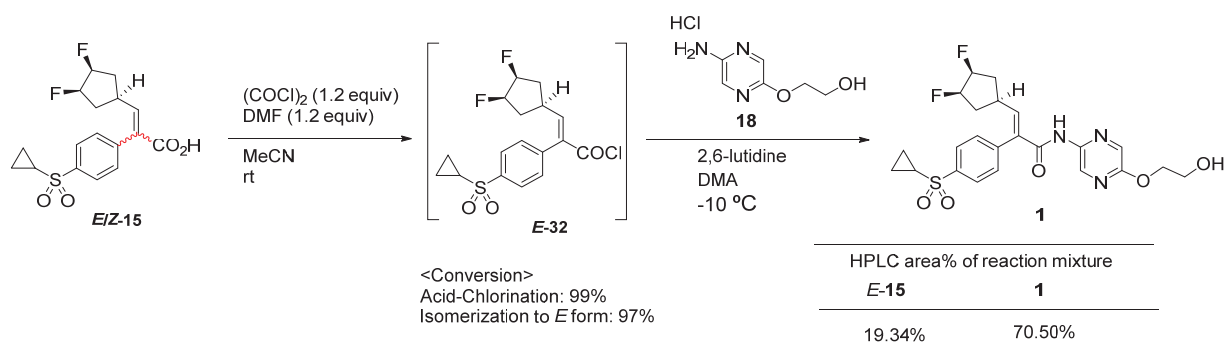


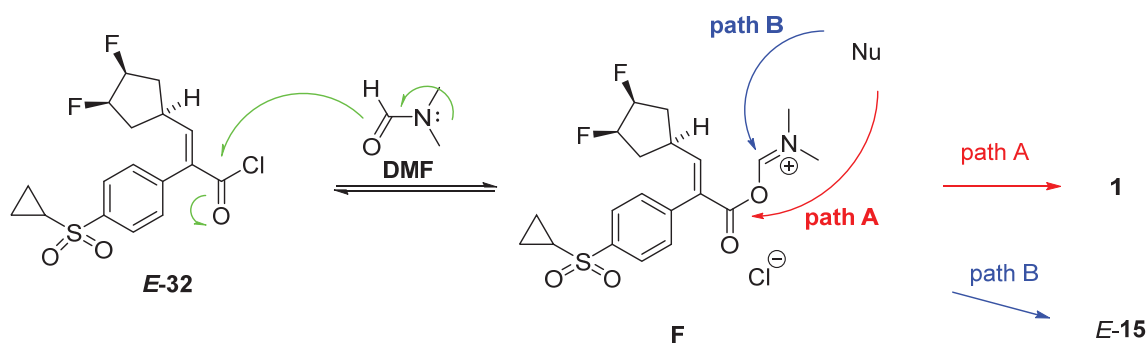
Figure 9. Sulfite 体の構造

そこで酸クロリドに変換する試薬として塩化オキサリルで検討することとした。これまで **15** の *E/Z* 体混合物を SOCl_2/DMF の条件に付すことで異性化させて一旦 *E-15* として取り出し、再び SOCl_2 と処理したのちアミド化していたが、理想的には *E/Z* の異性化とアミド化を one-pot で実施したいと考えた。そこで、添加剤として DMF を用いた条件で *E/Z-15* から **1** への反応の one-pot 化を検討したところ、酸クロリドへの変換と異性化はそれぞれ転化率 99%と 97%で問題なく進行し、続くアミド化反応で目的の **1** を約 70%の収率で得るものの、19%程度原料のカルボン酸 **15** を回収する結果となった (Scheme 18)。



Scheme 18. 異性化とアミド化の one-pot での試み

この原因として、DMF を用いた場合、下の Scheme 19 の path B のように中間体 **F** のイミニウム部分を求核剤のアミノピラジンを攻撃することにより、カルボン酸 **15** に戻ると考えられた。



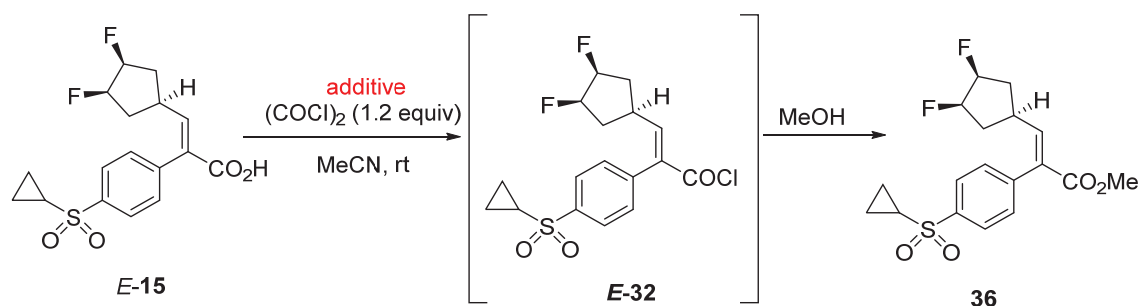
Scheme 19. 原料カルボン酸 **15** 残存の推定メカニズム

そこで DMF に代わる添加剤を探索することとし、以下の条件を満たす添加材をスクリーニングした。

- ・反応性が高く塩化オキサリルとも反応し、Vilsmeier 試薬を生じること。
- ・アミド化時に酸クロリドがカルボン酸に戻らないこと。
- ・異性化反応が進行すること。
- ・安価で入手性が高いこと。

まず精製した *E* 体を用いて、酸クロリドが得られるかを確認した。反応の進行は、反応液をサンプリングし MeOH でクエンチして、酸クロリドをメチルエステルに変換することでモニターした (Table 4)。その結果、ほとんどの添加剤で原料が残存する中、テトラメチル尿素 (TMU) において反応が良好に進行した。TMU 以外の添加剤は、立体的な嵩高さにより Vilsmeier 試薬が形成しにくいのに対し、TMU は電子供与性が強いことから、その立体的な嵩高さにも関わらず Vilsmeier 試薬が DMF と同程度形成され、反応が進行したと考えられた。

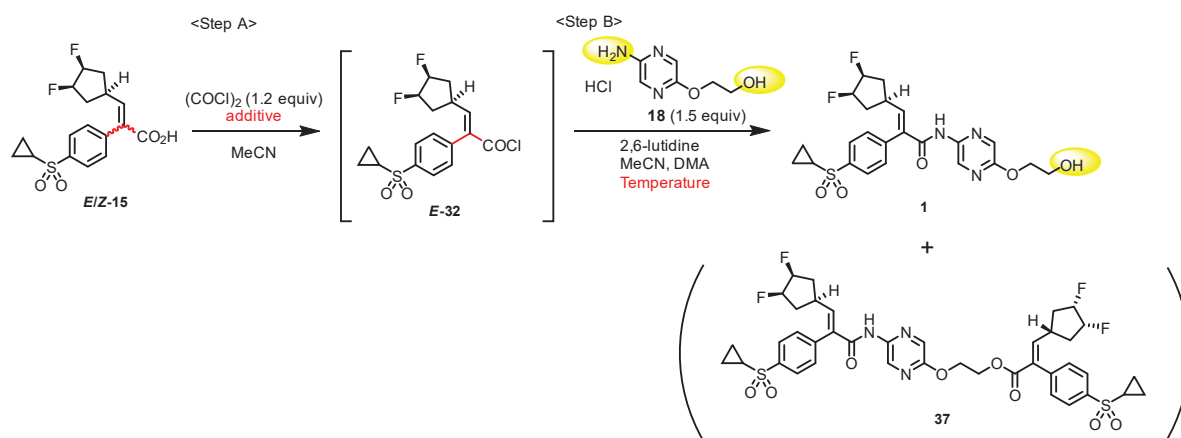
Table 4. 添加剤のスクリーニング検討



entry	additive (equiv)	time (hour)	HPLC area%	
			<i>E</i> -15	36
1	DMF (1.2)	2	1.6	98.3
2	DMA (1.2)	8	11.2	88.8
3	NMP (1.0)	4.5	19.2	79.7
4	<i>N,N</i> -diethylformamide (1.0)	2	24.4	75.6
5	1-formylpyperidine (1.0)	2	26.6	73.5
6	TMU (1.0)	3.5	3.3	96.7

続いて実際の基質である *E/Z* 体を使用して検証した (Table 5)。期待通り、TMU を用いた場合に原料に戻らずにアミド化が進行した (entry 3)。原料に戻らない要因として、立体的な嵩高さ及び電子密度の高さに起因していると推定している。Entry 1 と 2 に比較データとして DMF のデータを示したが、原料を消失させることによって、収率も大幅に向上させることができた。一方で、反応添加率が向上したことに起因して、**1** のヒドロキシ基と **15** のカルボン酸が縮合した不純物 **37** が増加した。この不純物 **37** は晶析で除きにくいため、反応で生成した量がそのまま粗体中に残存してしまった。ICH の Q3A ガイドライン (新有効成分含有医薬品のうち原薬の不純物に関するガイドライン) に基づき、個々の不純物を 0.15%以下と設定していたので、反応段階で、できるだけ **37** の生成量を抑えておく必要があった。そこで反応温度を $-10\text{ }^{\circ}\text{C}$ から $-28\text{ }^{\circ}\text{C}$ に下げることによって、**37** の生成量を 0.10%以下まで減らすことができた (entry 4)。

Table 5. アミド化の反応最適化



entry	Step A	Step B 反応				粗体		
	添加剤 (当量)	温度 (°C)	HPLC area%			HPLC area%		収率 (%)
			E-15	1	37	1	37	
1	DMF (1.2)	-10	19.34	70.50	0.05	-	-	-
2	DMF (0.5)	-10	4.31	84.37	0.08	98.95	0.09	78
3	TMU (1.3)	-10	0.56	90.00	0.18	97.87	0.21	89
4	TMU (1.3)	-28	0.53	88.39	0.08	99.11	0.05	92

スケールアップした時に、試薬添加時の局所的な反応温度上昇や予期せぬ反応時間の延長で、不純物 **37** が増加するリスクが懸念された。そこで、**37** を効果的に除去する再結晶溶媒を見つける目的で、**1** と **37** の各種溶媒に対する溶解度を測定した (Figure 10)。その結果、アニソールを用いた場合に **1** と **37** の溶解度差が最も大きいことがわかった。さらに種々の溶媒との組み合わせを検討し、**37** の残存量を半分に減らすことができたアニソール/アセトニトリル=10/2 を最適な再結晶溶媒と選定した。

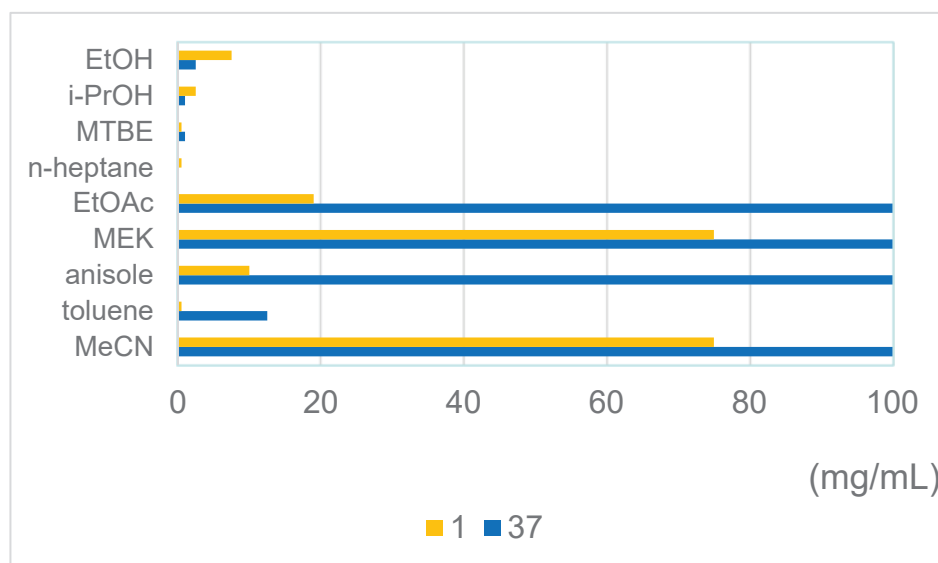
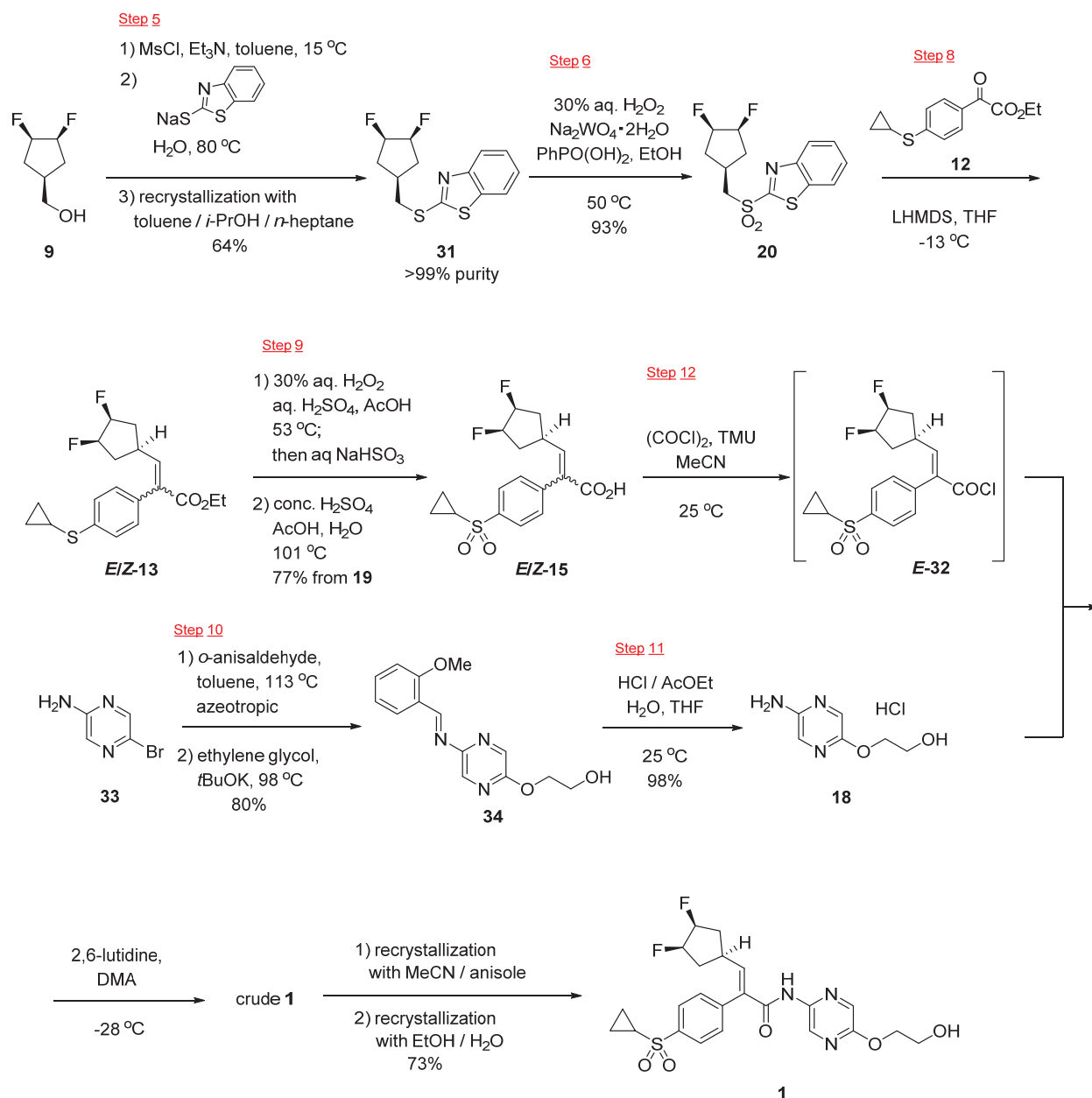


Figure 10. 1 と 37 の 60 °C での各種溶媒に対する溶解度

最後に、最適化した反応条件で、アルコール **9** 以降の 130 g スケールの確認実験を行った (Scheme 20)。最終工程は、**1** の粗体を取得後、**37** などの低極性成分を減らすためにアニソール/アセトニトリルで再結晶し、最後に EtOH/水再結晶で高極性成分を除去することで、純度 99.5%以上の高品質な化合物 **1** を合成することができた。また、エポキシ化工程で副生したシスエポキシド **24** 由来の異性体は、この再結晶の後に化合物 **1** 中で 0.10%以下にコントロールされていることも確認した。以上、アルコール **9** 以降の後半工程では、Wittig 反応後のカラム精製を回避するだけでなく、創薬ルートの 13 工程から 8 工程に削減し、収率も <13%から 34%へと大幅に向上させることに成功した。



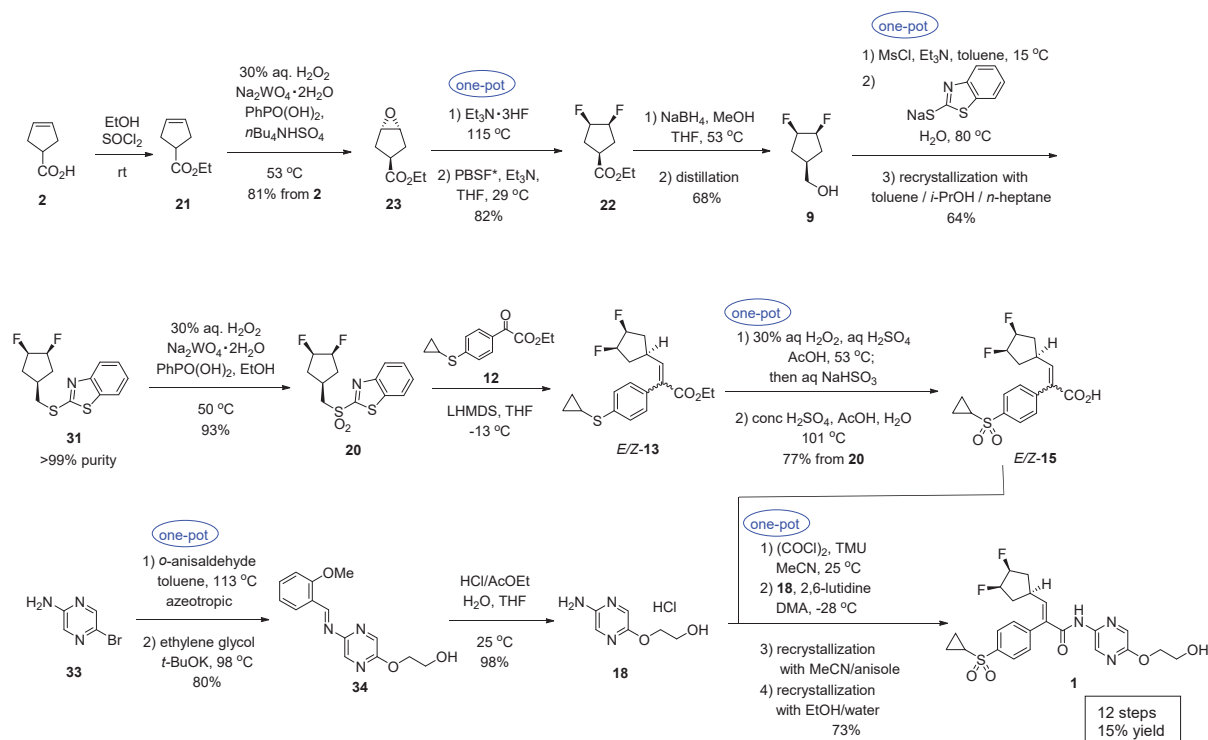
Scheme 20.1 の大量合成法

第4章 結論

筆者はグルコキナーゼ活性剤 **1** の製造プロセス研究を行い、創薬ルートでの課題をすべて解決した改良製造法を見出した (Table 6)。危険な LiAlH_4 は、取り扱いやすい NaBH_4 に変更し、毒性の高い OsO_4 は、過酸化水素水とタングステン触媒による安全でクリーンなエポキシ化に変更した。また、高価な Deoxo-fluor[®] は、比較的安価な $\text{Et}_3\text{N} \cdot 3\text{HF}$ と PBSF を用いた one-pot ジフッ素化により 2 つのフッ素を導入し、カラム精製が必要で低収率だった Wittig 反応は、Julia 反応に変更することで、カラム精製を回避し、さらに収率も大幅に改善した。結果として、工程数を 20 から 12 に削減し、トータル収率も 4% 未満から 15% に向上させることができた。以上、本研究によって、堅牢性が高く、スケールアップ可能な化合物 **1** の工業的製造法の開発を達成した。

Table 6. 創薬ルートの課題に対する解決策

創薬ルートの課題	改良製法
① 危険な LiAlH_4 の使用	取り扱いやすい NaBH_4 によるエステル還元
② 毒性の高い OsO_4 の使用	過酸化水素水とタングステン酸触媒を用いた安全でクリーンなエポキシ化
③ 高価な Deoxo-fluor [®] の使用	比較的安価な $\text{Et}_3\text{N} \cdot 3\text{HF}$ と PBSF による one-pot ジフッ素化
④ 収率が低くカラム精製が必要な Wittig 反応	温和な反応条件で高収率の Julia 反応
⑤ 工程数が多く、トータル収率が低い (20 steps, <4% yield)	前半工程 (アルコール 9 の合成) の改善に加え、one-pot 反応や無保護でのアミド化 (最終工程) により、工程数削減と収率向上を達成 (12 steps, 15% yield)



Scheme 21. 化合物 **1** の合成ルート (全工程)

実験の部

General. Starting materials, reagents, and solvents were obtained from commercial suppliers and used without further purification. ^1H and ^{13}C NMR spectra were acquired with a Bruker AV400M spectrometer using the solvents indicated. Data are reported as follows: chemical shift in ppm (δ) relative to tetramethylsilane, multiplicity (s = singlet, d = doublet, t = triplet, q = quartet, quint. = quintet, dd = doublet of doublets, dt = doublet of triplets, td = triplet of doublets, br = broad signal, m = multiplet), coupling constant (Hz) and integration. Infrared spectra were acquired using attenuated total reflectance (ATR) measured with a Bruker ALPHA spectrometer. High-resolution mass spectrometry (HRMS) with electrospray ionization (ESI) was performed using a Shimadzu LCMS-ITTOF mass spectrometer. Gas chromatography (GC) analysis was performed using an Agilent 7890A or 7890B system. High-performance chromatography (HPLC) analysis was performed using a Waters Alliance system or Agilent 1100 series.

GC conditions. (A) Column, Agilent HP-5 30.0 m \times 0.25 mm \times 0.25 μm ; flow rate, 1.0 mL/min; oven temperature gradient, 40 $^\circ\text{C}$ held for 2 min and then ramped at 20 $^\circ\text{C}/\text{min}$ to 280 $^\circ\text{C}$; retention times, **21** 6.5 min, **23** 7.8 min, **24** 8.1 min. (B) Column, Agilent DB624 30.0 m \times 0.32 mm \times 1.80 μm ; flow rate, 2.0 mL/min; oven temperature gradient, 80 $^\circ\text{C}$ held for 2 min and then ramped at 15 $^\circ\text{C}/\text{min}$ to 170 $^\circ\text{C}$; retention times, **2** 8.6 min, **21** 8.1 min, **23** 11.5 min, **24** 12.7 min, **22** 12.1 min, **9** 10.6 min.

HPLC conditions. (A) Column, Phenomenex Kinetex F5 150 mm \times 3.0 mm, 5 μm ; elution A, 0.1% acetic acid aqueous solution; elution B, 0.1% acetic acid in MeOH; gradient, linear ramp from 40% B to 90% B over 15 min, held at 90% B for 3 min, linear ramp from 90% B to 40% B over 0.1 min, then 6.9 min post time at 40% B; flow rate, 0.6 mL/min; at 35 $^\circ\text{C}$; wavelength, 226 nm; retention times, **31** 11.6 min, **20** 8.4 min, **12** 11.9 min, *E*-**13** 12.9 min, *Z*-**13** 14.0 min, *E*-**15** 6.2 min, *Z*-**15** 6.7 min, **1** 7.8 min. (B) Column, Develosil ODS-MG-3 250 mm \times 4.6 mm, 3 μm ; elution A, 0.01 mol/L ammonium acetate solution; elution B, MeOH; gradient, linear ramp from 5% B to 40% B over 10 min, linear ramp from 40% B to 80% B over 65 min, linear ramp from 80% B to 5% B over 0.1 min then 14.9 min post time at 5% B; flow rate, 0.5 mL/min; at 40 $^\circ\text{C}$; wavelength, 230 nm; retention times, **20** 49.2 min, *E*-**15** 21.3 min, *Z*-**15** 23.1 min, **1** 44.5 min. (C) Column, Daicel CHIRALPAK AS-H 250 mm \times 4.6 mm, 5 μm ; elution A, *n*-hexane; elution B, 0.2% diethylamine in EtOH; isocratic, 20% B; flow rate, 1.0 mL/min; at 40 $^\circ\text{C}$; wavelength, 271 nm; retention times, **20** 18.5 min, diastereomer of **20** derived from **24** 28.0 min. (D) Column, Daicel CHIRALCEL OJ-3 250 mm \times 4.6 mm, 3 μm ; elution A, *n*-hexane; elution B, 0.2% diethylamine in EtOH; gradient, linear ramp from 30% B to 35% B over 45 min, held at 35% B for 10 min, linear ramp from 35% B to 40% B over 40 min, linear ramp from 40% B to 30% B over 10 min; flow rate, 1.0 mL/min; at 40 $^\circ\text{C}$; wavelength, 316 nm; retention times, **1** 59.7 min, diastereomer of **1** derived from **24** 87.2 min.

第2章の実験

アルケン **21** の直接的ジフッ素化検討 (Scheme 4)

To a Teflon flask was added **21** (0.30 g, 2.14 mmol), CH_2Cl_2 , *p*-iodotoluene (0.2 equiv), fluorination reagent, and oxidation reagent (Selectfluor[®]: 1.5 equiv or *m*CPBA: 1.1 equiv). The reaction mixture was stirred at room

temperature. The reaction mixture was analyzed by GC method B.

アルケン **21** のエポキシ化反応スクリーニング (Table 1)

Entry 1

To a 200 mL round-bottom flask was added **21** (5.00 g, 35.7 mmol), EtOAc (25 mL), and *n*Bu₄NHSO₄ (606 mg, 1.79 mmol). Aqueous MMPP slurry (13.24 g (26.8 mmol) in 18 mL of H₂O) was added to the mixture dropwise at room temperature (exothermic). The reaction mixture was stirred at room temperature for 25 h and analyzed by GC method A.

Entry 2

To a 100 mL round-bottom flask was added **21** (0.911 g, 6.50 mmol), acetone (20 mL), H₂O (5 mL), and NBS (1.27 g, 7.15 mmol) at room temperature. After stirring for 22 h, the resulting mixture was quenched with 5% sodium thiosulfate solution (40 mL). The aqueous layer was extracted with CH₂Cl₂ three times, and the combined organic layer was dried over MgSO₄, filtered, and concentrated under reduced pressure. To the crude mixture (1.74 g) was added CH₂Cl₂ (20 mL) and DBU (1.4 mL, 9.27 mmol). The reaction mixture was stirred at room temperature for 21 h and analyzed by GC method A.

Entry 3

To a 200 mL round-bottom flask was added **21** (1.00 g, 7.13 mmol), *t*-BuOH (10 mL), 2,2,2-trifluoroacetophenone (62 mg, 0.36 mmol), MeCN (0.75 mL), and buffer (0.6 M K₂CO₃, 4x10⁻⁵ M EDTA solution, 10 mL) at room temperature. 30% aqueous H₂O₂ (1.46 mL, 14.27 mmol) was added to the mixture dropwise at room temperature (exothermic). The reaction mixture was stirred at room temperature for 19 h and analyzed by GC method A.

Entry 4

To a 25 mL round-bottom flask was added **21** (1.00 g, 7.13 mmol), MeOH (2 mL), and Na₂WO₄ · 2H₂O (47 mg, 0.14 mmol) at room temperature. 30% aqueous H₂O₂ (0.95 mL, 9.27 mmol) was added to the mixture over a period of 30 min at room temperature (exothermic). The reaction mixture was stirred at room temperature for 19 h and heated to 60 °C. After stirring at 60 °C for 5 h, the reaction mixture was analyzed by GC method A.

Entry 5

To a 30 mL round-bottom flask was added **21** (1.00 g, 7.13 mmol), Na₂WO₄ · 2H₂O (47 mg, 0.14 mmol), [Me(*n*-C₈H₁₇)₃N]HSO₄ (66 mg, 0.14 mmol), PhP(O)(OH)₂ (11 mg, 0.07 mmol), and Na₂SO₄ (304 mg, 2.14 mmol) at room temperature. 30% aqueous H₂O₂ (0.95 mL, 9.27 mmol) was added to the mixture over a period of 2 h at room temperature (exothermic). The reaction mixture was stirred overnight at room temperature and analyzed by GC method A.

エポキシ化反応条件の最適化 (Table 2)

Entry 6

To a 100 mL round-bottom flask was added **21** (10.00 g, 71.3 mmol), Na₂WO₄ · 2H₂O (471 mg, 1.43 mmol), [Me(*n*-C₈H₁₇)₃N]HSO₄ (665 mg, 1.43 mmol), H₃PO₄ (82.2 mg, 0.71 mmol), and Na₂SO₄ (3.04 g, 21.4 mmol) at room temperature. 30% aqueous H₂O₂ (9.47 mL, 92.7 mmol) was added to the mixture over a period of 2 h at

room temperature (exothermic). The reaction mixture was stirred overnight at room temperature and analyzed by GC method A.

Entry 7

To a 100 mL round-bottom flask was added **21** (10.00 g, 71.3 mmol), Na₂WO₄ · 2H₂O (471 mg, 1.43 mmol), [Me(*n*-C₈H₁₇)₃N]HSO₄ (665 mg, 1.43 mmol), and PhP(O)(OH)₂ (113 mg, 0.71 mmol) at room temperature. 30% aqueous H₂O₂ (9.48 mL, 92.8 mmol) was added to the mixture over a period of 2 h at room temperature (exothermic). The reaction mixture was stirred overnight at room temperature and analyzed by GC method A.

Entry 8

To a 100 mL round-bottom flask was added **21** (10.00 g, 71.3 mmol), Na₂WO₄ · 2H₂O (471 mg, 1.43 mmol), [Me(*n*-C₈H₁₇)₃N]HSO₄ (685 mg, 1.47 mmol), PhP(O)(OH)₂ (113 mg, 0.71 mmol), and Na₂SO₄ (3.04 g, 21.4 mmol). The mixture was heated to 50 °C. 30% aqueous H₂O₂ (9.47 mL, 92.7 mmol) was added to the mixture below 55 °C over a period of 4 h. The reaction mixture was stirred for 1 h at 50 °C and analyzed by GC method A.

Entry 9

To a 20 mL round-bottom flask was added **21** (1.00 g, 7.13 mmol), Na₂WO₄ · 2H₂O (47 mg, 0.14 mmol), [Me(*n*-C₈H₁₇)₃N]Cl (58 mg, 0.14 mmol), PhP(O)(OH)₂ (11 mg, 0.07 mmol), and Na₂SO₄ (304 mg, 2.14 mmol) at room temperature. 30% aqueous H₂O₂ (0.95 mL, 9.27 mmol) was added to the mixture over a period of 1.5 h at room temperature (exothermic). The reaction mixture was stirred overnight at room temperature and analyzed by GC method A.

Entry 10

To a 20 mL round-bottom flask was added **21** (1.00 g, 7.13 mmol), Na₂WO₄ · 2H₂O (47 mg, 0.14 mmol), *n*-Bu₄NHSO₄ (48 mg, 0.14 mmol), PhP(O)(OH)₂ (11 mg, 0.07 mmol), and Na₂SO₄ (304 mg, 2.14 mmol) at room temperature. 30% aqueous H₂O₂ (0.95 mL, 9.27 mmol) was added to the mixture over a period of 1.5 h at room temperature (exothermic). The reaction mixture was stirred overnight at room temperature and analyzed by GC method A.

Entry 11

To a 100 mL round-bottom flask was added **21** (10.00 g, 71.3 mmol), Na₂WO₄ · 2H₂O (235 mg, 0.71 mmol), PhP(O)(OH)₂ (56 mg, 0.36 mmol), *n*-Bu₄NHSO₄ (242 mg, 0.71 mmol) at room temperature. The mixture was heated to 50 °C. 30% aqueous H₂O₂ (9.47 mL, 92.7 mmol) was added to the mixture below 55 °C over a period of 4 h. The reaction mixture was stirred at 50 °C for 2 h and analyzed by GC method A.

Mixture of ethyl (1*s*,3*S*,4*S*)-3-fluoro-4-hydroxycyclopentane-1-carboxylate (25) and ethyl (1*r*,3*R*,4*R*)-3-fluoro-4-hydroxycyclopentane-1-carboxylate (26) (Scheme 6).

A reactor was charged with Et₃N · 3HF (20.1 mL, 123 mmol) and **23** (17.53 g, 112 mmol). The mixture was heated to 110 °C and stirred for 10 h. After cooling to below 10 °C, 20% KHCO₃ solution (130 mL) was added dropwise at 0–20 °C. The reaction mixture was extracted twice with *i*-PrOAc (175 mL, 88 mL). The combined organic layer was washed with H₂O (88 mL) and concentrated under reduced pressure to give a crude product. The crude product was purified by flash column chromatography (elution A, *n*-heptane; elution B, EtOAc;

gradient, linear ramp from 6% B to 50% B) to afford a mixture of **25** and **26** (17.00 g, 86% yield). ¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 4.77–4.93 (m, 1H), 4.37–4.41 (m, 1H), 4.16 (q, *J* = 7.2 Hz, 2H), 3.04–3.13 (m, 1H), 2.36–2.51 (m, 1H), 2.11–2.33 (m, 2H), 1.94–2.00 (m, 1H), 1.72 (brs, 1H), 1.27 (t, *J* = 7.2 Hz, 3H); ¹³C-NMR (100 MHz, CDCl₃) δ 175.4, 98.4 (d, *J*_{CF} = 177 Hz), 75.8 (d, *J*_{CF} = 27 Hz), 60.9, 39.9, 35.0, 33.6 (d, *J*_{CF} = 22 Hz), 14.1; FTIR (ATR, cm⁻¹) 3435, 2982, 1711, 1181, 1070 965; HRMS (ESI) *m/z* [M+H]⁺ calcd for C₈H₁₃FO₃ 177.0921, found 177.0921.

脱酸素的フッ素化反応の検討 (Table 3)

Entry 1

To a plastic tube was added a mixture of **25** and **26** (101 mg, 0.57 mmol), MeCN (0.5 mL), Et₃N (522 μL, 3.75 mmol), and Et₃N · 3HF (278 μL, 1.70 mmol). TFAA (94 μL, 0.68 mmol) was added dropwise to the mixture while cooling in an ice bath. The reaction mixture was stirred at room temperature overnight. TFAA (94 μL, 0.68 mmol) was added dropwise to the mixture while cooling in an ice bath. The reaction mixture was stirred at room temperature for 4 h and at 50 °C for 3 h, and analyzed by GC method A.

Entry 2

To a plastic tube was added a mixture of **25** and **26** (104 mg, 0.59 mmol), MeCN (0.5 mL), Et₃N (545 μL, 3.91 mmol), and Et₃N · 3HF (289 μL, 1.77 mmol). MsCl (55 μL, 0.71 mmol) was added dropwise to the mixture while cooling in an ice bath. The reaction mixture was stirred at room temperature for 4 h and at 50 °C for 2 h, and analyzed by GC method A.

Entry 3

To a plastic tube was added a mixture of **25** and **26** (102 mg, 0.58 mmol), MeCN (0.5 mL), Et₃N (531 μL, 3.81 mmol), and Et₃N · 3HF (282 μL, 1.73 mmol). Tf₂O (114 μL, 0.69 mmol) was added dropwise to the mixture while cooling in an ice bath. The reaction mixture was stirred at room temperature for 3 h. Tf₂O (114 μL, 0.69 mmol) was added dropwise to the mixture while cooling in an ice bath. The reaction mixture was stirred at room temperature for 2 h, and analyzed by GC method A.

Entry 4

To a plastic tube was added a mixture of **25** and **26** (46 mg, 0.26 mmol), toluene (0.3 mL), Et₃N · 3HF (42 μL, 0.26 mmol), and Ishikawa reagent (70 μL, 0.39 mmol). The reaction mixture was stirred at room temperature overnight and at 40 °C for 4 h. Et₃N · 3HF (42 μL, 0.26 mmol) and Ishikawa reagent (70 μL, 0.39 mmol) were added. The reaction mixture was stirred at 40 °C overnight, and analyzed by GC method A.

Entry 5

To a 100 mL Teflon flask was added a mixture of **25** and **26** (3.00 g, 17.0 mmol), THF (21 mL), and Et₃N · 3HF (4.2 mL, 25.5 mmol). Et₃N (7.1 mL, 51.1 mmol) was added dropwise to the mixture while cooling in an ice bath followed by PBSF (4.6 mL, 51.1 mmol). The reaction mixture was stirred at room temperature for 5 h, and analyzed by GC method A.

最適化されたアルコール9の大量合成法 (Scheme 8)

Ethyl (1*R*,3*S*,5*S*)-6-oxabicyclo[3.1.0]hexane-3-carboxylate (23).

A reactor was charged with EtOH (550 mL) and **2** (275.0 g, 2.45 mol), and cooled to 0–5 °C. SOCl₂ (291.8 g, 2.45 mol) was added to the mixture dropwise below 10 °C. After addition, the mixture was warmed to 25–35 °C and stirred for 5 h. The resulting mixture was quenched with H₂O (1375 mL), and then extracted twice with *i*-PrOAc (550 mL, 275 mL). The combined organic layer was washed with NaHCO₃ solution (220.0 g in 2750 mL of H₂O) followed by NaCl solution (137.5 g in 1375 mL of H₂O) to give a solution of **21**. Na₂WO₄·2H₂O (8.09 g, 0.0245 mol), PhP(O)(OH)₂ (1.94 g, 0.0122 mol) and *n*-Bu₄NHSO₄ (8.31 g, 0.0245 mol) were added to the above solution of **21** and the mixture was heated to 50–55 °C. 30% aqueous H₂O₂ (361.4 g, 3.19 mol) was added below 55 °C over a period of 5–6 h, and then the mixture was stirred at 50–55 °C for 20 h. After cooling to 25–35 °C, *i*-PrOAc (275 mL) was added to the mixture, and the organic layer was separated. The organic layer was cooled to 0–10 °C, and sodium thiosulfate pentahydrate solution (174.4 g in 1100 mL of H₂O) was added slowly to the organic layer at 0–10 °C. The mixture was warmed to 25–35 °C and washed with NaCl solution (68.8 g in 688 mL of H₂O). The organic layer was concentrated under reduced pressure below 40 °C to give **23** (308.5 g, 81% yield based on **2**) as a pale yellow oil. GC purity **23** 90.2 area%, **24** 6.0 area% (GC condition B); **23**: ¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 4.13 (q, *J* = 7.2 Hz, 2H), 3.52 (s, 2H), 2.59–2.68 (m, 1H), 2.32–2.38 (dd, *J* = 14.0, 8.0 Hz, 2H), 1.86–1.92 (m, 2H), 1.25 (t, *J* = 7.2 Hz, 3H). **24**: ¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 4.13 (q, *J* = 7.2 Hz, 2H), 3.47 (s, 2H), 2.68–2.73 (m, 3H), 1.82–1.88 (m, 2H), 1.26 (t, *J* = 7.2 Hz, 3H); ¹³C-NMR (100 MHz, CDCl₃) δ 174.8, 60.7, 56.2, 38.1, 30.4, 14.2; FTIR (ATR, cm⁻¹) 2981, 2932, 1723, 1213, 1178, 1061, 836.

Ethyl (1*r*,3*R*,4*S*)-3,4-difluorocyclopentane-1-carboxylate (22**).**

Caution! PBSF and Et₃N·3HF generate volatile and corrosive HF. All contact with skin must be avoided. The experiment must be handled in a well-ventilated hood.

A reactor was charged with Et₃N·3HF (600.0 g, 3.72 mol) and **23** (300.0 g, 1.92 mol) and the mixture was heated to 110–120 °C and stirred for 10 h. After cooling to below 30°C, THF (2100 mL) was charged to the mixture. The mixture was cooled to 0–5 °C, and Et₃N (525.0 g, 5.19 mol) was added dropwise at 0–10 °C. PBSF (90% assay, 786.6 g, 2.34 mol) was added to the mixture at 0–10 °C and the reaction mixture was stirred for 5 h at 25–30 °C. The reaction mixture was cooled to 0–10 °C, and KHCO₃ solution (288.5 g, in 1442 mL of H₂O) was added dropwise at 0–30 °C to give a pH of 7. Toluene (3000 mL) and H₂O (600 mL) were charged to the mixture at 20–30 °C, and the resulting organic layer (organic layer I), aqueous layer and fluorous layer were separated. The aqueous layer was extracted with toluene (1500 mL) to give organic layer II. The fluorous layer was extracted with organic layer II to give organic layer III. The resulting fluorous layer was further extracted with toluene (1500 mL) to give organic layer IV. Organic layers I, III and IV were combined and washed twice with H₂O (1500 mL × 2). The resulting organic layer was concentrated under reduced pressure below 50 °C to give compound **22** (280.5 g, 82% yield). ¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 4.90–5.02 (m, 1H), 4.78–4.86 (m, 1H), 4.18 (q, *J* = 7.2 Hz, 2H), 2.76–2.84 (m, 1H), 2.20–2.45 (m, 4H), 1.27 (t, *J* = 7.2 Hz, 3H); ¹³C-NMR (100 MHz, CDCl₃) δ 173.7, 91.7 (dd, *J*_{CF} = 189, 17 Hz), 61.1, 36.8 (t, *J*_{CF} = 4 Hz), 30.8 (m), 14.1; FTIR (ATR, cm⁻¹) 2984, 1728, 1188, 1082; HRMS (ESI) *m/z* [M+H]⁺ calcd for C₈H₁₂F₂O₂ 179.0878, found 179.0883.

[(1*r*,3*R*,4*S*)-3,4-Difluorocyclopentyl]methanol (9).

A reactor was charged with THF (676 mL) and NaBH₄ (110.5 g, 2.92 mol). A solution of **22** in THF, prepared in another reactor with **22** (260.0 g, 1.46 mol) in THF (780 mL), was added to the mixture at 25–35 °C. Another reactor was washed with THF (260 mL). The mixture was heated to 50–55 °C, then MeOH (296 mL) was added slowly dropwise over a period of 5–6 h at 50–55 °C. After addition, the reaction mixture was stirred at 50–55 °C for 2 h. The resulting mixture was cooled to 25–35 °C, followed by the addition of *i*-PrOAc (780 mL) and NH₄Cl solution (130.0 g in 1300 mL of H₂O). The mixture was filtered through a Celite[®] bed and the bed was washed with *i*-PrOAc (520 mL). The filtrate was separated into an organic layer and an aqueous layer. The aqueous layer was extracted with *i*-PrOAc (780 mL). The combined organic layer was washed with NaCl solution (156.0 g, in 780 mL of H₂O) and concentrated under reduced pressure below 40 °C to give crude **9**. Crude **9** was purified by simple distillation at 120–140 °C under 2–3 torr to afford **9** (134.3 g, 68% yield) as a pale yellow oil. ¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃). δ 4.82–4.99 (m, 2H), 3.63 (d, *J* = 6.8 Hz, 2H), 2.07–2.24 (m, 3H), 1.76–1.86 (m, 2H).

第3章の実験

アルデヒド **19** とフェニル酢酸 **27** の合成 (Scheme 10)**(1*r*,3*R*,4*S*)-3,4-difluorocyclopentane-1-carbaldehyde (19).**

A reactor was charged with **9** (50.0 g, 367 mmol) and CH₂Cl₂ (500 mL). To the resulting solution, cooled to -10–0 °C, was added TEMPO (1.15 g, 7.35 mmol) and a solution of potassium bromide (4.38 g in 10 mL of H₂O). Aqueous NaClO solution (285 mL of 12% NaClO solution was adjusted to pH 9.5 by addition of sodium bicarbonate) was next added dropwise over a period of 1 h at below 20 °C. After addition, the reaction mixture was stirred at 0–10 °C for 2 h. The layers were separated, and the CH₂Cl₂ phase was washed sequentially with a solution of KI (2.44 g in 183 mL of 1 M HCl), 1 M sodium thiosulfate solution (183 mL), 5% NaHCO₃ solution (184 mL), and saturated NaCl solution (184 mL). The resulting CH₂Cl₂ solution was concentrated under reduced pressure at 30 °C to give crude **19** (32.51 g). Crude **19** was purified by flash column chromatography (elution A, *n*-heptane; elution B, EtOAc; gradient, linear ramp from 8% B to 55% B (1st purification), followed by from 50% B to 90%B (2nd purification)) to afford **19** (28.13 g, 57% yield). ¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃). δ 9.66 (s, 1H), 4.88–5.05 (m, 2H), 2.76–2.79 (m, 1H), 2.18–2.36 (m, 4 H).

2-(4-(cyclopropylthio)phenyl)acetic acid (29).

A reactor was charged with **28** (4.21 g, 25.0 mmol) and DMSO (21 mL). To the resulting solution was added *t*-BuOK (7.02 g, 62.6 mmol) followed by bromocyclopropane (2.4 mL, 30.0 mmol) at room temperature. The mixture was stirred for 1.5 h at room temperature and 3 h at 60 °C. Bromocyclopropane (2.4 mL, 30.0 mmol) was added, and then the reaction mixture was stirred for 18.5 h at 80 °C. After cooling to room temperature, the resulting mixture was quenched with H₂O (30 mL), and then *i*-PrOAc (13 mL) was added. The layers were separated, and the aqueous layer was acidified to a pH of 2 with 1M HCl. The aqueous layer was extracted twice with *i*-PrOAc (42 mL, 21 mL). The combined organic layer was washed with H₂O (21 mL) and saturated NaCl solution (21 mL), respectively. The resulting organic layer was concentrated under reduced pressure to give crude **29**. Crude **29** was purified by flash column chromatography (elution A, *n*-heptane; elution B, EtOAc;

gradient, linear ramp from 20% B to 1100% B (1st purification), followed by from 20% B to 94% B (2nd purification)) to afford **29** (1.97 g, 38% yield). ¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃). δ 7.34–7.37 (m, 2H), 7.21–7.24 (m, 2H), 3.58 (s, 2H), 2.17–2.22 (m, 1H), 1.06–1.11 (m, 2H), 0.68–0.73 (m, 2 H).

2-(4-(cyclopropylsulfonyl)phenyl)acetic acid (**27**)

A reactor was charged with **29** (2.04 g, 9.78 mmol) and formic acid (10 mL). To the resulting solution, heated to 50 °C, was added 30% aqueous H₂O₂ (2.10 mL, 20.5 mmol) below 55 °C over a period of 2 h. The mixture was stirred at 50 °C for 2 h. After cooling to 30 °C, the reaction mixture was quenched with 20% NaHSO₃ solution (1.54 g) and concentrated under reduced pressure at 50 °C. H₂O (10 mL) was added to the residue. The mixture was stirred for 1.5 h at room temperature and cooled to 0 °C. After stirring for 1.5 h at 0 °C, the solid was collected by filtration. The wet cake was washed with a pre-cooled H₂O (10 mL) and dried in vacuum below 50 °C for 3.5 h to give crude **27** (2.18 g). Crude **27** was purified by flash column chromatography (elution A, *n*-heptane; elution B, EtOAc; gradient, linear ramp from 22% B to 100% B) to afford **27** (1.70 g, 72% yield) as a white solid. ¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃). δ 7.81–7.89 (m, 2H), 7.43–7.52 (m, 2H), 3.76 (s, 2H), 2.42–2.49 (m, 1H), 1.33–1.36 (m, 2H), 0.98–1.06 (m, 2 H).

Perkin 反応検討 (Scheme 11)

A reactor was charged with **27** (100 mg, 0.42 mmol) and acetic anhydride (0.20 mL, 2.08 mmol). The mixture was stirred at 40 °C for 2 h. To the mixture was added **19** (57.7 mg, 0.43 mmol), THF (0.2 mL), and sodium acetate (68.6 mg, 0.84 mmol) at 40 °C. The reaction mixture was stirred at 40 °C for 45 h, and analyzed by HPLC method B.

2-ブロモ-5-アミノピラジン (**33**) から直接 **18** 合成の試み (Scheme 17 下段)

A reactor was charged with **33** (1.00 g, 5.75 mmol), toluene (9 mL), ethylene glycol (20 mL), and *t*-BuOK (0.77 g, 6.90 mmol). The mixture was heated to 95 °C and stirred for 25 h. The amount of **18** was about 1% by HPLC analysis.

添加剤のスクリーニング検討 (Table 4)

To a round-bottom flask was added MeCN (2–4 v/w), *E*-**15**, additive, and oxalylchloride (1.2 equiv). The reaction mixture was stirred at room temperature and analyzed by HPLC.

1 の大量合成法 (Scheme 20)

2-(((1*r*,3*R*,4*S*)-3,4-Difluorocyclopentyl)methyl)thio)-1,3-benzothiazole (**31**).

A reactor was charged with toluene (650 mL), **9** (130.0 g, 0.96 mol) and Et₃N (144.9 g, 1.43 mol), and cooled to 0–10 °C. MsCl (131.3 g, 1.15 mol) was added to the mixture dropwise at 0–20 °C. The mixture was then stirred at 10–20 °C for 1 h. Next, 47% aqueous sodium-2-mercapto benzothiazole solution (456.3 g, 1.14 mol) was added to the mixture and the resulting biphasic solution was stirred vigorously at 75–85 °C for 12 h. After adding H₂O (260 mL), the reaction mixture was cooled to 40–45 °C. The organic layer was separated and diluted

with toluene (650 mL) at 40–45 °C. The organic layer was washed with NaOH solution (52.0 g in 650 mL of H₂O) at 30–40 °C followed by washing twice with H₂O (650 mL × 2). The organic layer was concentrated under reduced pressure below 50 °C until no further distillate could be collected. Toluene (221 mL), *i*-PrOH (871 mL) and *n*-heptane (650 mL) were added to the residue. The mixture was stirred at 65–75 °C until the solid was dissolved and then cooled to 45–50 °C. Seed crystals (65 mg) were added, and the resulting mixture was stirred at 45–50 °C for 30 min and then cooled to 0–7 °C. After 1 h at 0–7 °C, the solid was collected by filtration. The filter cake was washed with pre-cooled *i*-PrOH (650 mL) and dried in vacuum below 50 °C for 12 h to give **31** (174.0 g, 64% yield) as a light brown powder. HPLC purity 99.3 area% (HPLC condition A); ¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 7.85–7.87 (m, 1H), 7.73–7.75 (m, 1H), 7.39–7.43 (m, 1H), 7.27–7.31 (m, 1H), 4.78–4.98 (m, 2H), 3.46 (d, *J* = 7.6 Hz, 2H), 2.45–2.56 (m, 1H), 2.19–2.35 (m, 2H), 1.83–1.98 (m, 2H); ¹³C-NMR (100 MHz, CDCl₃) δ 166.1, 153.2, 135.3, 126.1, 124.4, 121.5, 121.0, 92.3 (dd, *J*_{CF} = 188, 16 Hz), 39.9, 33.8 (m), 32.4 (t, *J*_{CF} = 4 Hz); FTIR (ATR, cm⁻¹) 1076, 1007, 763; HRMS (ESI) *m/z* [M+H]⁺ calcd for C₁₃H₁₃F₂NS₂ 286.0530, found 286.0528.

2-(((1*r*,3*R*,4*S*)-3,4-Difluorocyclopentyl)methyl)sulfonyl)-1,3-benzothiazole (20).

A reactor was charged with EtOH (1500 mL), **31** (150.0 g, 526 mmol), Na₂WO₄·2H₂O (17.33 g, 52.5 mmol) and PhP(O)(OH)₂ (4.14 g, 26.2 mmol), and then heated to 45–55 °C. 30% aqueous H₂O₂ (131.0 g, 1155 mmol) was added at 45–55 °C over a period of 2–4 h, and the mixture was stirred at 45–55 °C for 1 h. After cooling to 0–10 °C, NaHSO₃ solution (32.78 g in 263 mL of H₂O) was added dropwise below 20 °C and the mixture was stirred, then heated to 65–75 °C and filtered. The filter cake was washed with EtOH (300 mL). H₂O (150 mL) was added to the filtrate at 60–75 °C. The mixture was cooled to 40–45 °C and stirred until a precipitate formed, followed by cooling to 20–30 °C. H₂O (375 mL) was added to the mixture at 20–30 °C, and the mixture was cooled to 0–5 °C. After 1 h at 0–5 °C, the solid was collected by filtration. The wet cake was washed with a pre-cooled mixture of EtOH (300 mL) and H₂O (150 mL) and dried in vacuum below 50 °C for 12 h to give **20** (155.0 g, 93% yield) as a pale yellow powder. HPLC purity 99.8 area% (HPLC condition B), diastereomer ratio **20**/diastereomer derived from **24** = 99.6/0.4 (HPLC condition C); ¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 8.22–8.24 (m, 1H), 8.02–8.05 (m, 1H), 7.60–7.69 (m, 2H), 4.79–4.99 (m, 2H), 3.70 (d, *J* = 7.2 Hz, 2H), 2.66–2.77 (m, 1H), 2.28–2.44 (m, 2H), 1.91–2.06 (m, 2H); ¹³C-NMR (100 MHz, CDCl₃) δ 165.8, 152.7, 136.8, 128.3, 127.8, 125.5, 122.4, 91.8 (dd, *J*_{CF} = 188, 16 Hz), 60.7, 34.0 (m), 26.8 (t, *J*_{CF} = 4 Hz); FTIR (ATR, cm⁻¹) 1322, 1144, 760, 639; HRMS (ESI) *m/z* [M+H]⁺ calcd for C₁₃H₁₃F₂NO₂S₂ 318.0429, found 318.0418.

Ethyl-2-[4-(cyclopropylthio)phenyl]-2-oxoacetate (12).

A reactor was charged with CH₂Cl₂ (1500 mL) and AlCl₃ (186.4 g, 1.40 mol) at 25–35 °C, and cooled to 0–5 °C. Ethyl chloroglyoxylate (150.0 g, 1.10 mol) was added to the mixture at 0–5 °C. Cyclopropyl phenyl sulfide (150.0 g, 1.00 mol) was added slowly to the mixture at 0–10 °C. The mixture was warmed to 20–25 °C and stirred for 3 h. The reaction mixture was added to H₂O (1500 mL, pre-cooled at 0–5 °C) and stirred at 25–35 °C for 30 min. The organic layer was separated, and the aqueous layer was extracted with EtOAc (1500 mL). The combined organic layer was washed twice with HCl solution ((95.0 g of conc. HCl in 712 mL of H₂O) × 2)

followed by NaHCO₃ solution (60.0 g in 750 mL of H₂O) and NaCl solution (225 g in 750 mL of H₂O). The organic layer was concentrated under reduced pressure below 50 °C to give **12** (232.0 g, 93% yield) as a yellow oil. ¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 7.92 (dt, *J* = 8.8, 2.0 Hz, 2H), 7.45 (dt, *J* = 8.8, 2.0 Hz, 2H), 4.44 (q, *J* = 7.2 Hz, 2H), 2.18–2.23 (m, 1H), 1.42 (t, *J* = 7.2 Hz, 3H), 1.15–1.20 (m, 2H), 0.71–0.75 (m, 2H).

2-[4-(Cyclopropylsulfonyl)phenyl]-3-[(1*r*,3*R*,4*S*)-3,4-difluorocyclopentyl]acrylic acid (*E/Z*-15**).**

A reactor was charged with THF (550 mL), **20** (110.0 g, 347 mmol) and **12** (91.1 g, 364 mmol), and then cooled to -15 °C. LHMDs (1 M solution in THF) (589 mL, 589 mmol) was added dropwise below -10 °C, and the mixture was stirred at -15 to -10 °C for 2 h. H₂SO₄ solution (24.8 mL of conc. H₂SO₄ in 415 mL of H₂O) was added below 0 °C and the mixture was stirred at 25–35 °C for 20 min. The mixture was concentrated under reduced pressure below 40 °C until no more THF distilled out, and then extracted with *i*-PrOAc (550 mL) at 25–35 °C. The organic layer was washed with H₂O (330 mL) and concentrated under reduced pressure below 50 °C to give *E/Z*-**13** (ratio by HPLC area% was *E:Z*=57:43). The *E/Z*-**13** residue was used directly in the next step without further purification.

To a solution of *E/Z*-**13** in acetic acid (440 mL) was added H₂SO₄ solution (37.0 mL of conc. H₂SO₄ in 73.0 mL of H₂O) at 25–30 °C. The mixture was heated to 50–55 °C. 30% H₂O₂ (95.2 g, 839 mmol) was added below 55 °C over a period of 2 h, and the mixture was stirred at 50–55 °C for 1 h. After cooling to 20–30 °C, NaHSO₃ solution (3.61 g, in 18.7 mL of H₂O) was added dropwise at 20–30 °C and then the mixture stirred. H₂O (110 mL) and conc. H₂SO₄ (193 mL) were added, and the reaction mixture was heated to 100–102 °C and stirred for 6 h. The mixture was cooled to 80 °C and the solvent (220 mL) was distilled from the reaction mixture under reduced pressure. Acetic acid (110 mL) and H₂O (110 mL) were added at 80 °C, and the mixture was heated to 100–102 °C and stirred for 6 h. After cooling to 55–60 °C, seed crystals of *E/Z*-**15** (55 mg) were added, the mixture was stirred at 55–60 °C for 30 min, and then cooled to 20–30 °C. *i*-PrOH (110 mL) and H₂O (990 mL) were added at 20–30 °C and the mixture was cooled to 0–5 °C. After 1 h at 0–5 °C, the solid was collected by filtration. The filter cake was washed with a pre-cooled mixture of *i*-PrOH (24 mL) and H₂O (196 mL), followed by H₂O (660 mL). The wet cake was dissolved in *i*-PrOAc (880 mL) at 20–35 °C. Activated carbon (5.5 g) was added and the mixture was stirred at 20–35 °C for 30 min. The mixture was filtered through a Celite[®] bed, and the bed was washed with *i*-PrOAc (220 mL). The filtrate was extracted three times with NaHCO₃ solution (46.2 g in 572 mL of H₂O, 18.7 g in 231 mL of H₂O, 18.7 g in 231 mL of H₂O) at 20–35 °C. The combined aqueous layer was washed with *i*-PrOAc (440 mL) followed by the addition of H₂O (220 mL) and *i*-PrOH (572 mL) at 20–30 °C. The pH of the mixture was adjusted to 2.5–3.0 with conc. HCl (83.6 mL) at 20–30 °C. Seed crystals of *E/Z*-**15** (55 mg) were added, and the mixture was stirred at 20–30 °C for 1 h. The pH of the mixture was adjusted to below 1.0 with conc. HCl (20.9 mL) and the mixture was cooled to 0–5 °C. After 1 h at 0–5 °C, the solid was collected by filtration. The filter cake was washed with a pre-cooled mixture of *i*-PrOH (55 mL) and H₂O (165 mL), followed by H₂O (660 mL). The wet cake was dried in a hot air oven at 50–55 °C for 15 h to give *E/Z*-**15** (95.0 g, 77% yield) as a pale yellow powder. HPLC purity 99.8 area% (HPLC condition B); *E*-**15**: ¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃). δ 7.92 (d, *J* = 8.4 Hz, 2H), 7.35 (d, *J* = 8.4 Hz, 2H), 7.24 (d, *J* = 10.8 Hz, 1H), 4.77–4.93 (m, 2H), 2.47–2.58 (m, 2H), 2.08–2.15 (m, 2H), 1.96–2.03 (m, 2H), 1.36–1.41 (m, 2H), 1.04–1.10

(m, 2H)

Z-15: ¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 7.88 (d, *J* = 8.8 Hz, 2H), 7.53 (d, *J* = 8.8 Hz, 2H), 6.45 (d, *J* = 9.6 Hz, 1H), 4.86–5.04 (m, 2H), 3.57–3.68 (m, 1H), 2.33–2.50 (m, 3H), 1.89–2.02 (m, 2H), 1.34–1.39 (m, 2H), 1.02–1.07 (m, 2H); ¹³C-NMR (100 MHz, CDCl₃) δ 170.4, 151.5, 142.5, 140.1, 131.3, 129.0, 127.6, 92.2 (dd, *J*_{CF} = 188, 16 Hz), 34.9 (m), 33.0, 32.8 (t, *J*_{CF} = 4 Hz), 6.0; FTIR (ATR, cm⁻¹) 1672, 1276, 1143, 1077, 884; HRMS (ESI) *m/z* [M-H]⁻ calcd for C₁₇H₁₈F₂O₄S 355.0821, found 355.0818.

2-[(5-[(1*E*)-(2-Methoxyphenyl)methylidene]amino} pyrazin-2-yl)oxy]ethanol (34**)**

A reactor was charged with toluene (800 mL), 2-amino-5-bromopyrazine (**33**) (100.0 g, 0.58 mol) and *o*-anisaldehyde (156.5 g, 1.15 mol). The mixture was heated to 110–115 °C and stirred for 4 h under azeotropic conditions to remove H₂O from the reaction. The mixture was cooled to 25–30 °C followed by the addition of ethylene glycol (1200 mL) at 25–30 °C. *t*-BuOK (77.4 g, 0.69 mol) was added in three portions below 40 °C and reagent adhering to the vessel wall was released using additional ethylene glycol (400 mL). The mixture was heated at 95–100 °C for 20–25 h and then cooled to 80–90 °C. Toluene (600 mL) was added, and the mixture was cooled to 45–50 °C and stirred for 30 min. After cooling to 25–30 °C, H₂O (1000 mL) was added, and the mixture was stirred at 25–30 °C for 30 min and cooled to 0–7 °C. After 1 h at 0–7 °C, the solid was collected by filtration. The filter cake was washed with H₂O (50 mL). A reactor was charged with the wet cake and H₂O (900 mL). After stirring the mixture at 25–30 °C for 15 min, the solid was collected by filtration. The filter cake was washed with H₂O (50 mL) followed by *n*-heptane (500 mL). The wet cake was dried in vacuum at 45–50 °C for 15 h to give **34** (126.0 g, 80% yield) as a pale yellow powder. ¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 9.64 (s, 1H), 8.22 (dd, *J* = 7.6, 2.0 Hz, 1H), 8.18 (d, *J* = 1.6 Hz, 1H), 8.15 (d, *J* = 1.6 Hz, 1H), 7.44–7.48 (m, 1H), 7.05 (t, *J* = 7.6 Hz, 1H), 6.96 (d, *J* = 8.4 Hz, 1H), 4.49–4.51 (m, 2H), 3.99–4.00 (m, 2H), 3.92 (s, 3H), 2.77–2.79 (m, 1H); ¹³C-NMR (100 MHz, CDCl₃) δ 160.2, 158.8, 157.8, 151.2, 137.3, 133.5, 133.4, 124.4, 120.8, 111.2, 68.7, 61.6, 55.6; FTIR (ATR, cm⁻¹) 3352, 1449, 756, 445; HRMS (ESI) *m/z* [M+H]⁺ calcd for C₁₄H₁₅N₃O₃ 274.1186, found 274.1173.

2-((5-Aminopyrazin-2-yl)oxy)ethanol (18**)**

A reactor was charged with THF (600 mL), EtOAc (360 mL), **34** (120 g, 0.44 mol) and H₂O (9.5 mL, 0.53 mol) at 20–25 °C. 10.6%w/w HCl/EtOAc (263 mL, 0.53 mol) was added dropwise over a period of 2 h at 20–25 °C. After stirring at 20–30 °C for 2 h, the solid was collected by filtration. The filter cake was washed with EtOAc (240 mL). The wet cake was dried under vacuum at 35–40 °C for 17 h to give **18** (82.1 g, 98%) as a pale yellow powder. ¹H-NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 8.17 (d, *J* = 1.2 Hz, 1H), 7.95 (d, *J* = 1.2 Hz, 1H), 7.87 (brs, 3H), 4.25 (t, *J* = 5.2 Hz, 2H), 3.71 (t, *J* = 5.2 Hz, 2H); ¹³C-NMR (100 MHz, CDCl₃) δ 155.5, 142.8, 133.6, 126.0, 68.7, 59.1; FTIR (ATR, cm⁻¹) 3178, 3041, 1675, 1617, 1319, 1249, 1209, 1084, 1039, 1011, 901, 849, 643; HRMS (ESI) *m/z* [M+H]⁺ calcd for C₆H₉N₃O₂ 156.0768, found 156.0765.

(*E*)-2-(4-(Cyclopropylsulfonyl)phenyl)-3-((1*r*,3*S*,4*R*)-3,4-difluorocyclopentyl)-*N*-(5-(2-hydroxyethoxy)pyrazin-2-yl)acrylamide (1**)**

A reactor was charged with MeCN (525 mL), TMU (29.6 g, 255 mmol) and *E/Z*-**15** (70.0 g, 196 mmol), and the mixture was cooled to 10–20 °C. Oxalyl chloride (30.1 g, 237 mmol) was added at 15–40 °C, and the mixture was stirred at 20–30 °C for 1 h and then cooled to -2–5 °C. DMA (140 mL) was added at -2 to 5 °C, and the mixture was stirred at 0–5 °C for 1 h and then cooled to below -20 °C. **18** (56.5 g, 295 mmol) was added below -20 °C, and mixture was cooled to -30 to -25 °C. A solution of 2,6-lutidine in DMA, prepared in another reactor with 2,6-lutidine (73.5 g, 686 mmol) in DMA (105 mL), was added dropwise to the mixture at -30 to -25 °C. After addition, the mixture was stirred at -30 to -25 °C for 2 h. The reaction mixture was quenched with DMSO (35 mL) and warmed to 0 °C. H₂O (1050 mL) was added at 0–25 °C and the mixture was stirred at 20–30 °C for 1 h and then cooled to 0–7 °C. After 1 h at 0–7 °C, the solid was collected by filtration. The filter cake was washed with H₂O (700 mL). The wet cake was dried in a hot air oven at 50–55 °C for 8 h to give crude **1** (86.0 g, referred to as **A**). A reactor was charged with MeCN (172 mL), anisole (860 mL) and crude **1** (86.0 g, **A**). The slurry was stirred at 70–80 °C until the solid was dissolved. The solution was slowly cooled to 45–50 °C and stirred for 1 h. The mixture was cooled to 0–7 °C, followed by stirring for 1 h, and then the solid was collected by filtration. The filter cake was washed with a mixture of MeCN (28 mL) and anisole (144 mL), followed by a mixture of EtOH (86 mL) and H₂O (86 mL). The wet cake was dried in a hot air oven at 50–55 °C for 8 h to give crude **1** (74.0 g, referred to as **B**). A reactor was charged with EtOH (1480 mL), H₂O (296 mL) and crude **1** (74.0g, **B**). The mixture was stirred at 70–75 °C until the solid was dissolved. Activated carbon (7.4 g) was added and the mixture was stirred at 70–75 °C for 1 h. The mixture was filtered through a Celite® bed and the filter cake was washed with a mixture of EtOH (370 mL) and H₂O (74 mL). The filtrate was stirred at 70–75 °C until a clear solution was obtained. The solution was slowly cooled to 45–50 °C and stirred for 1 h. The resulting slurry was cooled to 0–7 °C, followed by stirring for 1 h, and then the solid was collected by filtration. The filter cake was washed with H₂O (1480 mL). The wet cake was dried under vacuum at 50–55 °C for 12 h to give **1** (71.0 g, 73% yield based on *E/Z*-**15**) as an off-white powder. HPLC purity 99.8 area% (HPLC condition B), diastereomer ratio **1**/diastereomer derived from **24** = 99.94/0.06 (HPLC condition D); ¹H-NMR (600 MHz, DMSO-*d*₆) δ 10.65 (s, 1H), 8.78 (d, *J* = 1.2 Hz, 1H), 8.13 (d, *J* = 1.8 Hz, 1H), 7.92 (d, *J* = 8.4 Hz, 2H), 7.50 (d, *J* = 7.8 Hz, 2H), 6.71 (d, *J* = 10.2 Hz, 1H), 4.91–5.03 (m, 2H), 4.85 (t, *J* = 6.0 Hz, 1H), 4.30 (t, *J* = 4.8 Hz, 2H), 3.72 (q, *J* = 4.8 Hz, 2H), 2.89–2.92 (m, 1H), 2.54–2.58 (m, 1H), 2.15–2.21 (m, 2H), 1.89–1.96 (m, 2H), 1.14–1.17 (m, 2H), 1.06–1.09 (m, 2H); ¹³C-NMR (150 MHz, DMSO-*d*₆) δ 166.1, 156.4, 143.3, 142.4, 140.5, 139.7, 134.1, 132.2, 131.9, 130.5, 127.0, 92.1 (dd, *J*_{CF} = 186, 16 Hz), 68.0, 59.1, 34.0 (dd, *J*_{CF} = 16, 5 Hz), 31.8, 31.5 (d, *J*_{CF} = 5 Hz), 5.4; FTIR (ATR, cm⁻¹). 3486, 3037, 1649, 1345, 1142; MS (ESI) *m/z* [M+H]⁺ 494.1548, [M+Na]⁺ 516.1345, [M-H]⁻ 492.1408; Anal. Calcd for C₂₃H₂₅F₂N₃O₅S: C, 55.97; H, 5.11; F, 7.70; N, 8.51; S, 6.50 found C, 55.50; H, 5.16; F, 7.55; N, 8.46; S, 6.58.

参考文献

- 1) 「平成 28 年「国民健康・栄養調査」の結果」、厚生労働省ホームページ <https://www.mhlw.go.jp/stf/houdou/0000177189.html>
- 2) 日本糖尿病学会 糖尿病診療ガイドライン 2019 南江堂
- 3) (a) Kawai, S.; Mukai, T.; Mori, S.; Mikami, B.; Murata, K. Hypothesis: Structures, Evolution, and Ancestor of Glucose Kinases in the Hexokinase Family. *J. Biosci. Bioeng.* **2005**, *99*, 320–330. (b) Iynedjian, P. B. Molecular Physiology of Mammalian Glucokinase. *Cell. Mol. Life Sci.* **2009**, *66*, 27–42.
- 4) (a) Haynes, N. -E.; Corbett, W. L.; Bizzarro, F. T.; Guertin, K. R.; Hilliard, D. W.; Holland, G. W.; Kester, R. F.; Mahaney, P. E.; Qi, L.; Spence, C. L.; Teng, J.; Dvorozniak, M. T.; Railkar, A.; Matschinsky, F. M.; Grippo, J. F.; Grimsby, J.; Sarabu, R. Discovery, Structure–Activity Relationships, Pharmacokinetics, and Efficacy of Glucokinase Activator (2*R*)-3-Cyclopentyl-2-(4-methanesulfonylphenyl)-*N*-thiazol-2-yl-propionamide (RO0281675). *J. Med. Chem.* **2010**, *53*, 3618–3625. (b) DeBaillie, A. C.; Magnus, N. A.; Laurila, M. E.; Wepsiec, J. P.; Ruble, J. C.; Petkus, J. J.; Vaid, R. K.; Niemeier, J. K.; Mick, J. F.; Gunter, T. Z. An Asymmetric Synthesis of a Chiral Sulfone Acid with Concomitant Hydrolysis and Oxidation to Enable the Preparation of a Glucokinase Activator. *Org. Process Res. Dev.* **2012**, *16*, 1538–1543. (c) Yoshikawa, N.; Xu, F.; Arredondo, J. D.; Itoh, T. A Large-Scale Synthesis of Potent Glucokinase Activator MK-0941 via Selective *O*-Arylation and *O*-Alkylation. *Org. Process Res. Dev.* **2011**, *15*, 824–830. (d) Zhu, X. -X.; Zhu, D. -L.; Li, X. -Y.; Li, Y. -L.; Jin, X. -W.; Hu, T. -X.; Zhao, Y.; Li, Y. -G.; Zhao, G. -Y.; Ren, S.; Zhang, Y.; Ding, Y. -H.; Chen, L. Dorzagliatin (HMS5552), a novel dual-acting glucokinase activator, improves glycaemic control and pancreatic β -cell function in patients with type 2 diabetes: A 28-day treatment study using biomarker-guided patient selection. *Diabetes Obes Metab.* **2018**, *20*, 2113–2120.
- 5) Fukuda, Y.; Asahina, Y.; Takadoi, M.; Yamamoto, M. Cyclopentylacrylic Acid Amide Derivative. PCT Int. Appl. WO/2009/133687 A1 20091105, 2009.
- 6) (a) Anderson, N. G. プロセス化学 第 2 版: 医薬品合成から製造まで, 丸善出版, **2014**. (b) 日本プロセス化学会 編. 医薬品のプロセス化学. 第 2 版, 化学同人, **2012**. (c) 日本プロセス化学会 編. 実践プロセス化学, 化学同人, **2013**.
- 7) (a) Banik, S. M.; Medley, J. W.; Jacobsen, E. N. Catalytic, Diastereoselective 1,2-Difluorination of Alkenes. *J. Am. Chem. Soc.* **2016**, *138*, 5000–5003. (b) Molnár, I. G.; Gilmour, R. Catalytic Difluorination of Olefins. *J. Am. Chem. Soc.* **2016**, *138*, 5004–5007. (c) Haj, M. K.; Banik, S. M.; Jacobsen, E. N. Catalytic, Enantioselective 1,2-Difluorination of Cinnamamides. *Org. Lett.* **2019**, *21*, 4919–4923.
- 8) Varie, D. L.; Beck, C.; Borders, S. K.; Brady, M. D.; Cronin, J. S.; Ditsworth, T. K.; Hay, D. A.; Hoard, D. W.; Hoying, R. C.; Linder, R. J.; Miller, R. D.; Moher, E. D.; Remacle, J. R.; Rieck, J. A. Design, Development, and Scale-Up of a Selective meso-Epoxyde Desymmetrization Process. *Org. Process Res. Dev.* **2007**, *11*, 546–559.
- 9) Zhang, F.; Song, Z. J.; Tschäen, D.; Volante, R. P. Enantioselective Preparation of Ring-Fused 1-Fluorocyclopropane-1-carboxylate Derivatives: En Route to mGluR 2 Receptor Agonist MGS0028. *Org.*

- Lett.* **2004**, *6*, 3775–3777.
- 10) Limnios, D.; Kokotos, C. G. 2,2,2-Trifluoroacetophenone: An Organocatalyst for an Environmentally Friendly Epoxidation of Alkenes. *J. Org. Chem.* **2014**, *79*, 4270–4276.
 - 11) (a) Hachiya, H.; Kon, Y.; Ono, Y.; Takumi, K.; Sasagawa, N.; Ezaki, Y.; Sato, K. Unique Salt Effect on Highly Selective Synthesis of Acid-Labile Terpene and Styrene Oxides with a Tungsten/H₂O₂ Catalytic System under Acidic Aqueous Conditions. *Synthesis* **2012**, *44*, 1672–1678. (b) Sato, K.; Aoki, M.; Ogawa, M.; Hashimoto, T.; Panyella, D.; Noyori, R. A-Halide-Free Method for Olefin Epoxidation with 30% Hydrogen Peroxide. *Bull. Chem. Soc. Jpn.* **1997**, *70*, 905–915.
 - 12) Tsuchiya, H. Epoxy Compound Production Method. PCT Int. Appl. WO/2018/097150 A1 20180531, **2018**.
 - 13) (a) Kon, Y.; Tanaka, S.; Sato, K. Clean and practical oxidation using hydrogen peroxide. *Synthesiology*, **2015**, *8*, 16–28. (b) Hamkalo, M.; Fita, P.; Fedorynski, M.; Makosza, M. Interfacial Generation of a Carbanion: The Key Step of PTC Reaction Directly Observed by Second Harmonic Generation. *Chem. Eur. J.* **2018**, *24*, 3975–3979.
 - 14) Wright, J. A.; Fox, J. A Synthesis of 2-Deoxy-2-fluoro-D-xylose. *Carbohydr. Res.* **1970**, *13*, 297–300.
 - 15) Simpson, R. D.; Zhao, W. Asymmetric syntheses of (1*r*,3*R*,4*S*)- and (1*s*,3*R*,4*S*)-(3,4-difluorocyclopentyl)-alanine derivatives. *Tetrahedron: Asymmetry* **2009**, *20*, 1515–1520.
 - 16) Patel, A. R.; Hua, X.-G.; Lawer, A.; Ahmeda, M. I.; Au, C.; Jwad, R.; Trinh, J.; Gonzalez, C.; Hannah, E.; Bhadbhade, M. M.; Hunter, L. Scalable, stereoselective syntheses of α,β -difluoro- γ -amino acids. *Tetrahedron* **2016**, *72*, 3305–3317.
 - 17) Beaulieu, F.; Beauregard, L. -P.; Courchesne, G.; Couturier, M.; LaFlamme, F.; L'Heureux, A. Aminodifluorosulfonium Tetrafluoroborate Salts as Stable and Crystalline Deoxyfluorinating Reagents. *Org. Lett.* **2009**, *11*, 5050–5053.
 - 18) Goldberg, N. W.; Shen, X.; Li, J.; Ritter, T. AlkylFluor: Deoxyfluorination of Alcohols. *Org. Lett.* **2016**, *18*, 6102–6104.
 - 19) Nielsen, M. K.; Ugaz, C. R.; Li, W.; Doyle, A. G. PyFluor: A Low-Cost, Stable, and Selective Deoxyfluorination Reagent. *J. Am. Chem. Soc.* **2015**, *137*, 9571–9574.
 - 20) Takaoka, A.; Iwakiri, H.; Ishikawa, N. *F*-Propene-Dialkylamine Reaction Products as Fluorinating Agents. *Bull. Chem. Soc. Jpn.* **1979**, *52*, 3377–3380.
 - 21) Nielsen, M. K.; Ahneman, D. T.; Riera, O.; Doyle, A. G. Deoxyfluorination with Sulfonyl Fluorides: Navigating Reaction Space with Machine Learning. *J. Am. Chem. Soc.* **2018**, *140*, 5004–5008.
 - 22) Rozema, M. J.; Kruger, A. W.; Rohde, B. D.; Shelat, B.; Bhagavatula, L.; Tien, J. J.; Zhang, W.; Henry, R. F. Synthesis of a novel farnesyl transferase inhibitor, ABT-100; selective preparation of a stereogenic tertiary carbinol. *Tetrahedron* **2005**, *61*, 4419–4425.
 - 23) Gaukroger, K.; Hadfield, J. A.; Hepworth, L. A.; Lawrence, N. J.; McGown, A. T. Novel Syntheses of Cis and Trans Isomers of Combretastatin A-4. *J. Org. Chem.* **2001**, *66*, 8135–8138.
 - 24) Review of Julia olefination: Blakemore, P. R. The modified Julia olefination: alkene synthesis *via* the condensation of metallated heteroarylalkylsulfones with carbonyl compounds. *J. Chem. Soc., Perkin Trans. I*, **2002**, 2563–2585.

- 25) (a) TEMPO oxidation of **9**: Barnett, C. J.; Wilson, T. M.; Kobierski, M. E. A Practical Synthesis of Multitargeted Antifolate LY231514. *Org. Process Res. Dev.* **1999**, *3*, 184–188. (b) Cyclopropylation of **28**: Mao, W.; Ning, M.; Liu, Z.; Zhu, Q.; Leng, Y.; Zhang, A. Design, synthesis, and pharmacological evaluation of benzamide derivatives as glucokinase activators. *Bioorg. Med. Chem.* **2012**, *20*, 2982-2991.
- 26) Tsuchiya, H. Sulfide compound production method. PCT Int. Appl. WO/2018/097149 A1 20180531, 2018.
- 27) Review of large-scale amide formation: Dunetz, J. R.; Magano, J.; Weisenburger, G. A. Large-Scale Applications of Amide Coupling Reagents for the Synthesis of Pharmaceuticals. *Org. Process Res. Dev.* **2016**, *20*, 140–177.
- 28) International Council for Harmonisation of Technical Requirements for Pharmaceuticals for Human Use. ICH Guidelines. <https://www.ich.org/page/ich-guidelines>

謝辞

本論文の執筆に際してご指導、ご高配を賜りました広島大学大学院 医系科学研究科 熊本卓哉教授に心から感謝申し上げます。また、副指導教員をお引き受け頂き、ご助言をいただいた古武弥一郎教授、山野幸子准教授に深く感謝いたします。

本論文の審査をお引き受け頂き、有益なご助言とご指導を賜りました広島大学大学院 医系科学研究科 小池透教授、松浪勝義教授、先進理工系科学研究科 波多野さや佳講師に厚くお礼申し上げます。

また、セミナー等で楽しく議論させて頂きました、中嶋龍助教や白井孝宏助教をはじめ、広島大学大学院 創薬合成化学研究室の皆様感謝いたします。

本研究は、帝人ファーマ株式会社 原薬技術グループにて行われました。本研究の発表の機会を与えて頂きました帝人ファーマ株式会社 医薬開発・生産技術部門 土肥雅彦氏、佐藤嘉紀氏、望月勢司氏に深謝いたします。また本論文執筆に当たり、ご協力およびご助言を頂きました帝人ファーマ株式会社 原薬技術グループ 主任研究員 小宮山真人氏、主任研究員 金澤親志博士、研究員 梅田晃司氏に心より感謝いたします。さらに、本研究に際して種々のご協力を頂いた帝人ファーマ株式会社 原薬技術グループの諸氏に感謝いたします。

最後に、大学に入学することで家庭に多大な負担をかけたにも関わらず、何一つ文句を言わず、本論文執筆を温かく見守り、サポートしてくれた妻由紀子に心の底から感謝します。