

博 士 論 文

β_3 -アドレナリン受容体作動薬リトベグロン
エチル塩酸塩の効率的な工業的製法の開発

金沢大学大学院医薬保健学総合研究科

創薬科学専攻

分子生薬学研究室

学 籍 番 号 : 1829012002

氏 名 : 曾根原 順一

主任指導教員名 : 後藤 (中川) 享子

対象論文

Junichi Sonehara, Hidetoshi Isawa, Kiyoshi Kasai, Norihiko Kikuchi, Takehiro Ishikawa, Masahiro Kobayashi, Tetsuji Ozawa, Ritsu Suzuki, Makoto Kobayashi, Takayuki Ainai, Masayuki Nishimura, Yohei Saito, and Kyoko Nakagawa-Goto

Development of an Efficient Scale-up Synthesis Method for a β_3 -Adrenergic Receptor Agonist, Ritobegron Ethyl Hydrochloride

Org. Process Res. Dev. **2020**, *24*, 1675–1682

目次

1. 緒論.....	2
2. 本論.....	5
2.1 背景.....	5
2.2 開発戦略.....	8
2.3 フェニルアセトアルデヒド 3b の合成.....	9
2.3.1 ベンジルアルコール 8 の合成.....	9
2.3.2 ベンジルアルコール 8 の還元と最適化.....	10
2.3.3 フェニルアセトアルデヒド 3b ならびに等価体の合成 と最適化.....	15
2.4 還元アミノ化反応とその最適化	19
2.5 結論.....	26
3. 謝辞.....	28
4. 実験の部.....	29
4.1 General Information	29
4.2 Experimental Section	30
4.3 Spectrum Data	36
5. 引用文献.....	46

1. 緒論

過活動膀胱（overactive bladder : OAB）とは、「尿意切迫感を必須とした症状症候群であり、通常、頻尿及び夜間頻尿を伴い、切迫性尿失禁は必須ではない」と定義されている疾患である。本間らが行った疫学的調査¹⁾から、40歳以上の日本人の12.4%（8人に1人）がOABの症状を持つといわれ、患者数は1000万人を超えると推定されている。

正常な膀胱では、蓄尿期には交感神経終末よりノルアドレナリンが放出され、平滑筋が弛緩し、尿道が収縮する。一方、排尿期には、ノルアドレナリンの放出が抑制され、尿道が弛緩するとともに副交感神経終末からアセチルコリンが放出され、膀胱が収縮することで尿が排泄される。OABは、何らかの原因によりこの膀胱の機能が正しく制御されない状態となり、少量の尿で膀胱が過剰に収縮し、我慢できない強い尿意切迫感が急激に起こる（Figure 1）。これらは、生命の危機につながることは極めて稀であるが、患者の日常生活に大きな支障をきたし、生活の質を著しく低下させるため、有用な薬剤の開発が求められている。

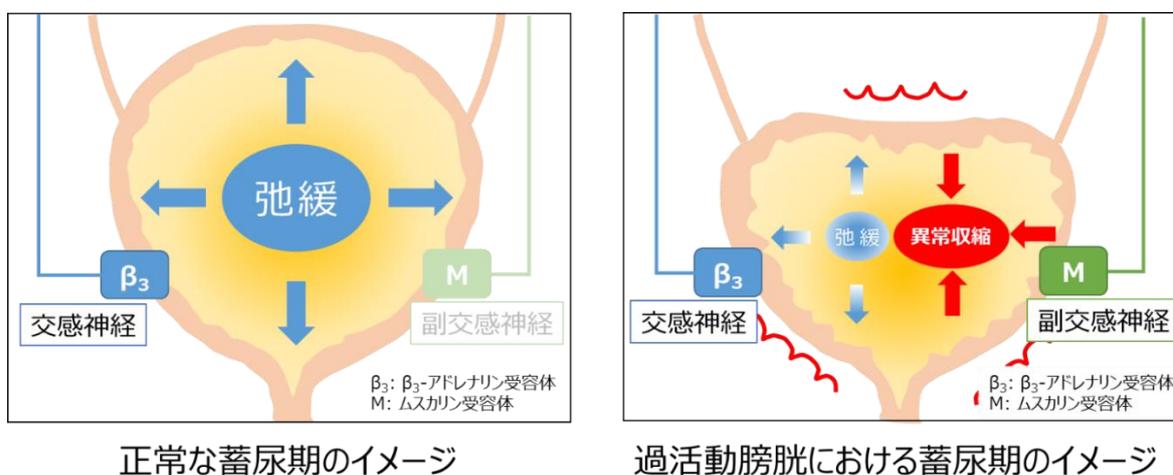


Figure 1. 膀胱の蓄尿期イメージ

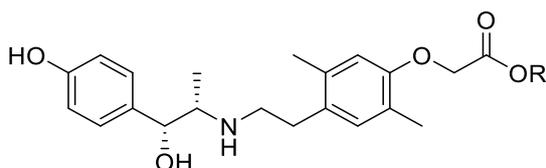
OABには、薬物療法、行動療法、手術療法などが適応されており、薬物療法で古くから使われている治療薬は抗コリン薬（ムスカリン受容体拮抗薬）である。抗コリン薬は、アセチルコリンに刺激される膀胱のムスカリン受容体に結合し、その作用を阻害することで、膀胱の異常収縮を抑制し、OABを改善する優れた薬剤である。しかし、口渇、便秘、眠気、眼圧上昇などの副作用を伴うことから、

作用機序の異なる薬剤の開発が求められていた。

近年、新たな作用機序を有する薬剤として注目されているのが、 β_3 -アドレナリン受容体作動薬である。アドレナリン受容体は、G たんぱく共役型の受容体であり、 α と β の二種類に大別されている。 β -アドレナリン受容体 (β -AR) は刺激を受けることにより平滑筋を弛緩することが知られており、サブタイプとして β_1 、 β_2 および β_3 -AR に分類される。

ヒトにおいて β_1 -AR は主に心臓に存在し、受容体への刺激により心拍数が増加する。 β_2 -AR は主として気管支・血管などに存在し、受容体への刺激により平滑筋を弛緩させることが知られている。 β_3 -AR は、ヒトの生体内に広く分布し、特に脂肪組織・消化器官などに多く存在する。また、ヒト膀胱平滑筋の β -AR の 97% が β_3 -AR であり、これが膀胱弛緩に主として関与することも分かっている。よって、 β_3 -AR への選択的作動薬は、抗コリン薬の課題である副作用を回避できる可能性のある OAB 治療薬として期待されている¹⁾⁵⁾。

リトベグロンエチル塩酸塩 (**1**) は、キッセイ薬品工業株式会社 (長野県, 日本) で創製された選択的 β_3 -AR 作動薬のプロドラックである。フェノキシ酢酸部位が加水分解されたカルボン酸体 (リトベグロン) が活性本体である (**Figure 2**)。



R = H: Ritobegron

R = Et, HCl salt: Ritobegron ethyl hydrochloride (**1**)

Figure 2. Chemical Structures of Ritobegron and its Ethyl Hydrochloride (**1**)

リトベグロンは、ヒト β_3 -AR に対する強いアゴニスト活性を有し、 β_1 及び β_2 -AR に比してそれぞれ 301 倍及び 32 倍の高い選択性を示した。ラット及びサル摘出膀胱を用いた実験においても弛緩作用が確認され、膀胱、心房及び子宮平滑筋への 50% 効果濃度の比較では膀胱選択性を有していた^{6) 7)}。また、ヒト摘出膀胱でもリトベグロンが β_3 -AR を介した強い膀胱弛緩作用を示すことも明らかとなっている⁴⁾。

さらに、リトベグロンはカニクイザルを用いた *in vivo* 試験において、血圧及び心拍数に影響を与えることなく膀胱内圧を低下させた⁷⁾。

以上のことから、リトベグロンエチル塩酸塩 (**1**) を経口投与することによって、生体内でリトベグロンへと代謝され、その高選択的な β_3 -AR 作用により、他の循環器へ影響を及ぼすことなく膀胱内圧を低下させることが推測された。よって、OAB 治療薬として本化合物が有望であると期待され、さらなる非臨床および臨床試験に向けた開発推進が必要とされた。

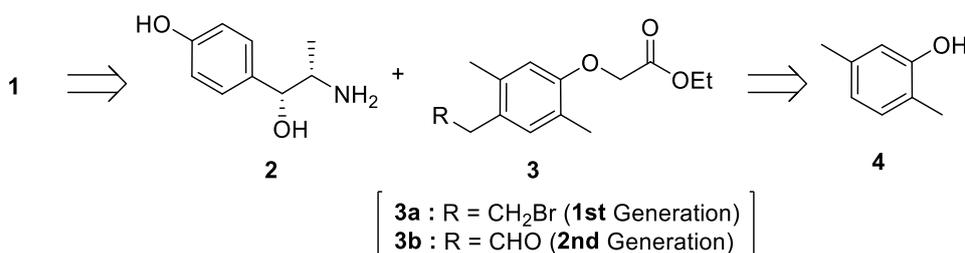
数百グラムスケールのリトベグロンエチル塩酸塩 (**1**) の合成法 (第一世代製法) はすでに開発されている (本論 2.1 背景 **Scheme 2**)。しかし、非臨床および臨床試験を進めるために必須の数十キログラムスケールでの供給には、反応時のプロセス安全性、副生成物の制御、高価な試薬の使用によるコスト面など、多くの課題を有していた。そこで、著者はこれらの問題を克服した効率的かつ有用な工業的製法の確立が必要であると考え研究を行なった。

2. 本論

2.1 背景

リトベグロンエチル塩酸塩 (**1**) の基本的な合成戦略は、商業的に入手可能な 4-ヒドロキシノルエフェドリン (**2**)⁸⁾⁻¹²⁾ と安価な 2,5-キシレノール (**4**) から誘導可能なフェノキシ酢酸エステル **3** のカップリングを主軸とした (**Scheme 1**)。

Scheme 1. Basic Retrosynthetic Strategy for 1

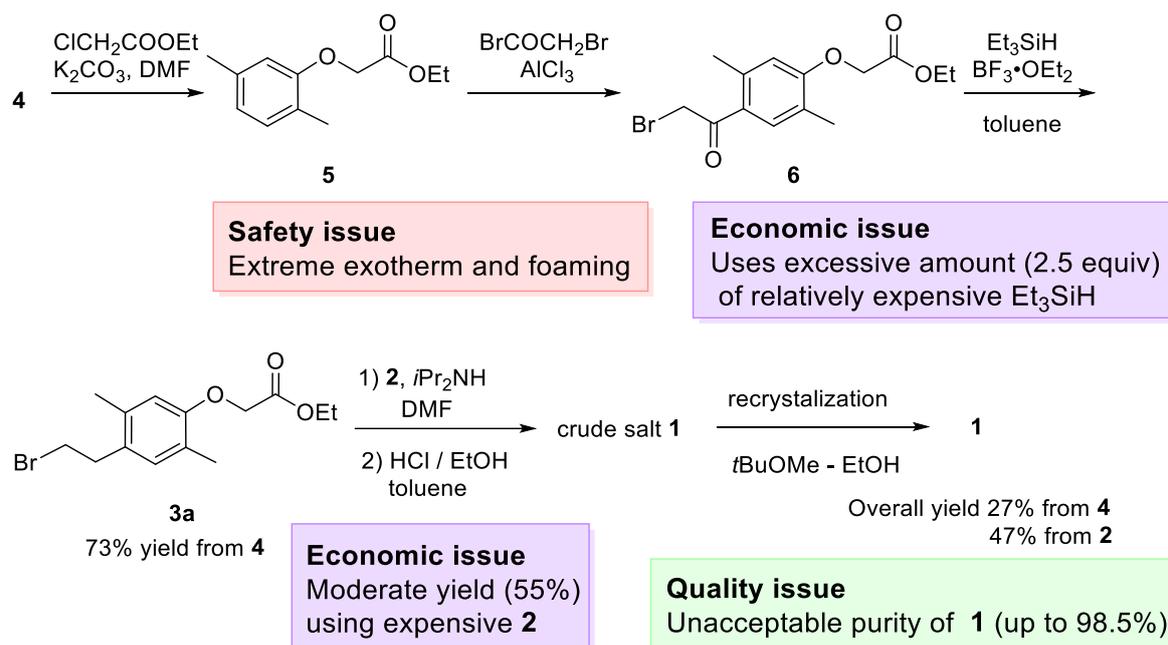


本基本戦略に従い第一世代製法 (**Scheme 2**) では、**2** へのカップリング相手としてフェニルエチルブロミド **3a** が選択された。**3a** の合成は以下の様に行った¹³⁾。

先ず、クロロ酢酸エチルによる化合物 **4** の *O*-アルキル化反応によってフェノキシ酢酸 **5**¹³⁾を得たのち、臭化ブロモアセチルによるフリーデル・クラフトアシル化反応によってフェナシルブロミド **6**¹³⁾を得た。さらに、トリエチルシランを用いた還元、晶析により、所望のフェニルエチルブロミド **3a** を結晶性粉末として得た。**4** からの通算収率は 73%であった。

2 への **3a** を用いた *N*-アルキル化後、エタノール及びトルエン混合溶液中で塩化水素により塩酸塩 **1** の粗結晶を得た。得られた粗結晶は *tert*-ブチルメチルエーテルおよびエタノール中で再結晶することにより、**2** からの通算収率 47%、**4** からの通算収率 27%でリトベグロンエチル塩酸塩 (**1**) を最高純度 98.5%で得た。

Scheme 2. Synthetic Route of 1 (First-Generation)



本第一世代製法は数百グラムスケールの合成には適しているが、数十キログラム規模で製造をするには、以下に示すようなプロセス安全面、経済面、品質面に係るいくつかの解決すべき深刻な課題を抱えていた。

- 1) フェノキシ酢酸 **5** のフリーデル・クラフトアシル化反応における強い発熱と発泡（プロセス安全面の課題）

プラントでの操作を考えた場合、強い発熱の制御不能による暴走反応や塩化アルミニウム投入時の急激な発泡は、安全な運転を妨げるものであり、解決が必要であった。

- 2) フェナシルブロミド **6** の還元における還元剤の過剰量使用（経済面の課題）

低コストでの **1** の供給を志向した場合、比較的高価な還元剤であるトリエチルシランはできる限り最小限に抑えることが望ましく、2.5 当量といった過剰使用は看過できない課題であった。

- 3) *N*-アルキル化反応における中程度の収率（経済面の課題）

4-ヒドロキシノルエフェドリン (**2**) は商業的に入手可能ではあるが、不斉中心を二つ有する光学活性な化合物であり、比較的高価な化合物である。そのため、

できる限り効率的に使用されることが望まれていた。

4) **1** の許容できない純度（品質面の課題）

2 への *N*-アルキル化では、過剰 *N*-アルキル化やフェニルエチルブロミド **3a** の β 脱離反応といった副反応が起こり、複数の不純物が生成した。これらの不純物は続く造塩、晶析で十分に除去されず、目的物であるリトベグロンエチル塩酸塩 (**1**) の純度は最高で 98.5% までしか向上しなかった。この純度では、ヒトに投与する化合物として安全性を確保できず、改善が必須であった。

著者は、これらの課題を解決するために効率的かつ工業的製法の開発に着手した。

2.2 開発戦略

第一世代製法の主な課題は、フェニルエチルブロミド **3a** の合成工程もしくはそのカップリング工程に起因していた。**Scheme 1** で示した基本的な合成戦略を変更することなく問題を解決する方法として、**3a** の代替えとなり得るフェニルアセトアルデヒド **3b** もしくはその等価体を経由する製法の開発を計画した。

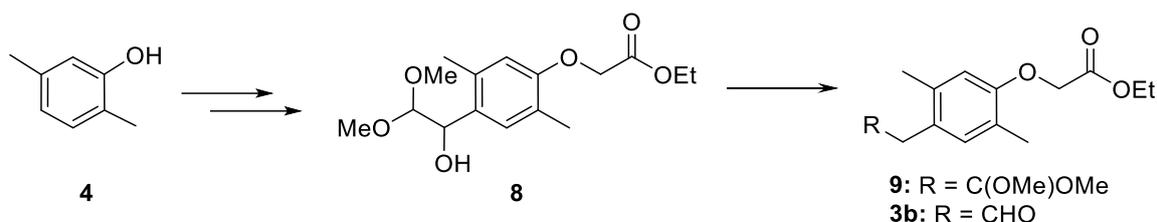
アルデヒド **3b** であれば、ルイス酸を用いた発熱の強いフリーデル・クラフトアシル化や比較的高価なトリエチルシランの過剰使用を回避しつつ、その合成を達成できる可能性がある。さらに、アルデヒド **3b** と一級アミン **2** との還元アミノ化であれば、フェニルエチルブロミド **3a** と **2** との *N*-アルキル化に比べて、円滑かつ副反応も少なく進行することが期待できた。

一方、フェニルアセトアルデヒドは一般的に反応性が高く、すぐに重合や自己縮合が進むことが知られており、安定性の課題が予見されていた。そのため著者は、フェニルアセトアルデヒド **3b** の結晶化による安定性の確保、もしくはその等価体である (ヘミ) アセタールの利用を考え、開発を進めた。

2.3 フェニルアセトアルデヒド **3b** の合成

フェニルアセトアルデヒド **3b** は、第一世代製法と同様の出発原料 2,5-キシレノール (**4**) からベンジルアルコール **8** を経由し、アルコールの還元及びアセタールの加水分解により得ることとした (Scheme 3)。

Scheme 3. Synthetic Route of Phenylacetoaldehyde **3b**



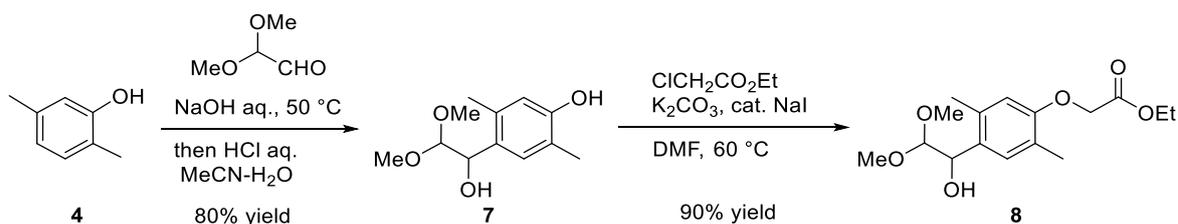
2.3.1 ベンジルアルコール **8** の合成

ベンジルアルコール **8** は、2,5-キシレノール (**4**) の水酸化ナトリウム水溶液中、グリオキサールジメチルアセタールでのヒドロキシアルキル化後に、含水アセトニトリル中での中和晶析によって収率 80%で得られたフェノール **7** を経由して合成した (Scheme 4)。無置換フェノールとの反応における位置選択性は、通常パラ/オルトは 7:3¹⁴⁾であるが、本反応では高い位置選択性 (パラ位 : オルト位 = 97:3) で進行した。

付加体 **7** を、触媒量のヨウ化ナトリウムと炭酸カリウム存在下クロロ酢酸エチルと DMF 中 60 °C で反応させ、後処理で DMF や無機塩を除いたのち、トルエンおよび *n*-ヘプタンの混合溶液中から晶析することによって収率 90%で所望のベンジルアルコール **8** を得た。

本工程により、カラムクロマトグラフィーなどの精製を必要とせず、晶析のみで **4** からの通算収率 72%でベンジルアルコール **8** を得ることに成功した。

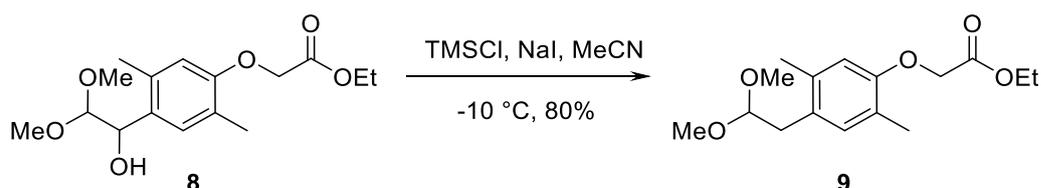
Scheme 4. Synthesis of Benzylalcohol **8**



2.3.2 ベンジルアルコール **8** の還元と最適化

目的とするアルデヒド **3b** もしくはその等価体であるアセタールもしくはヘミアセタールを得るためには、ベンジルアルコール **8** の水酸基の還元が必要である。一般的な水酸基還元方法である W-4 Raney Ni、Pt/C、Rh/alumina、Rh/C、Pd(OH)₂、Pd/BaSO₄、Rh/Pt/C を用いた触媒的水素添加条件や第一世代製法で用いたトリエチルシランを試みたが、目的の還元体は得られなかった。そこで、-10 °C で 3 当量の TMSCl-NaI-MeCN 試薬^{15), 16)}により還元を行った結果、実験室スケールにおいて約 80%の収率でジメチルアセタール **9** が得られた (Scheme 5)。本試薬は、1987 年に坂井らからベンジルアルコールの水酸基の効率的な還元剤として報告され、その反応機構¹⁷⁾も提案されている。本法により目的の還元体は得られたが、満足な収率ではなく、不純物抑制による収率向上が必要であった。

Scheme 5. Reduction of **8** to **9**



カラムクロマトグラフィーにより単離した結果、主な不純物は目的中間体であるアルデヒド **3b** とスチリルエーテル **11** あることが推定された (Figure 3)。**11** は ¹H NMR スペクトルにより特徴のあるピークが見られたため、スチリル構造を有した *E/Z* 混合物であると推定した (*E* 体 (6.77 ppm, 5.84 ppm [*J* = 12.8 Hz])、*Z* 体 (6.10 ppm, 5.22 ppm [*J* = 7.2 Hz])). フェニルアセトアルデヒド **3b** は最終的な目的物であるが、比較的不安定であることが予想されており、スケールアップに伴い濃縮などの加熱操作時間が延長することによる分解を懸念し、本工程では生成を抑制することが望まれた。

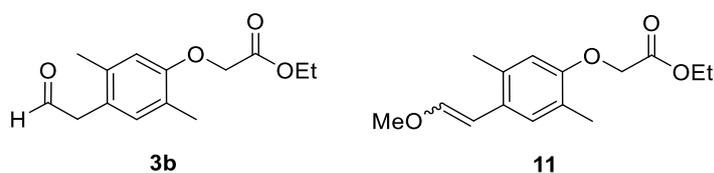
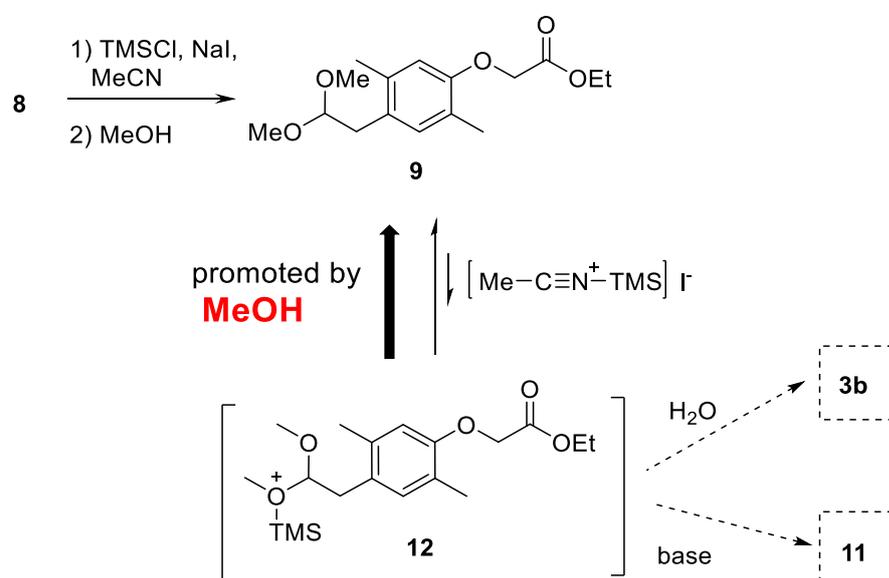


Figure 3. Estimated Chemical Structures of Main Impurities

これら不純物の生成機構の推定とヨウ化トリメチルシランの反応報告^{15), 18)}から、本反応条件下で目的物であるジメチルアセタール **9** への過剰反応により反応中間体 **12** が生成していると推測した。もし **12** が系中に存在する場合、後処理工程にて添加される水もしくは塩基により、容易に不純物 **3b** もしくは **11** は生成すると考えられた (Scheme 6)。

従って、反応終了後のメタノールの添加が反応中間体 **12** による副反応を抑制する効果的な方法であると推測して実施したところ、**12** は速やかに **9** へと変換され、ほぼ定量的にジメチルアセタール **9** が得られた。

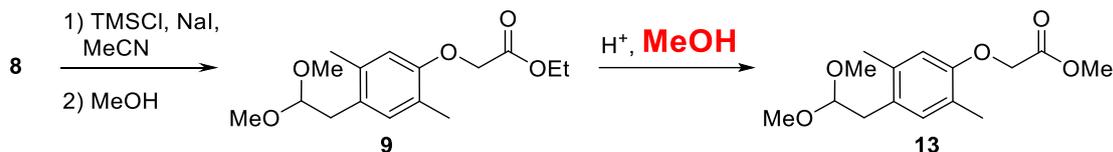
Scheme 6. Role of Methanol during the Workup Process



しかしながらスケールアップにしたがって、この後処理方法に起因したメチルエステル **13** (Scheme 7) の副生が課題として浮上した。**13** は、主目的物との構造が非常に近いために、その後の工程における反応・精製挙動も類似し、精製工程において除去されず、医薬品の原薬の品質制御を考慮すると抑制すべき不純物であった。

本反応では、原料であるベンジルアルコール **8** の水酸基と TMSCl-NaI-MeCN 試薬が反応することによって系中に酸が発生しており、後処理でトリエチルアミンにより中和していた。しかし、前述の不純物抑制のために中和前にメタノールを加えたことによって、エステル交換が進行して **13** が生成した。

Scheme 7. Transesterification of **9** with Methanol



実験室スケール (700 g) で確立した条件を 85 kg スケールを実施した際に、化合物 **13** の生成量は、0.21%から 0.62%と約 3 倍に増加し、本課題は顕在化した (Table 1, Entries 1 および 2)。これは、スケールアップに伴い反応液に対する冷却効率が想定的に低下したことにより、同じ温度を維持するためにトリエチルアミンのトルエン溶液の滴下速度を落とさざるを得なくなり、滴下に想定以上の時間を要したことに起因していた。原因であるメタノールの代わりにエタノールを用いることで、メチルエステルの混在抑制を図ったが、前述の反応中間体 **12** とエタノールとの反応が容易に進行せず断念した。そこで、中和操作の最適化によるメチルエステル **13** の生成抑制を試みた (Table 1)。

トリエチルアミンのトルエン溶液の滴下時間と内温の制御によって、メチルエステル **13** の制御をすべく、影響因子の調査を進め、下記のこと が判明した。

- **13** の生成量は、温度依存的である (Entries 3–5 及び Entries 6/7)
- **13** の生成量は、時間依存的である (Entries 3/6 及び Entries 4/7)
- Entries 8 および 9 の実験より、低温維持よりも短時間添加の方が **13** の生成抑制に効果的である可能性が示唆された。

プラント操作において、温度および時間の両方を制限する作業は非常に困難であり、操作の堅牢性が失われるため、より注意を払うパラメーターを明確にすることが重要である。そこで著者は、トリエチルアミンのトルエン溶液の中和熱による断熱温度上昇を算出し、中和熱による反応混合物の温度上昇を予測することとした。

メトラー・トレド社製の反応熱量計 (Multimax RB04-50) を用い、中和に伴う熱量を測定した。その結果、中和前の反応混合物の比熱を 2.00 J/(g K)、トリエチ

ルアミンのトルエン溶液の比熱を 1.71 J/(g K)とし、中和時の断熱温度上昇を算出したところ、13 K であった。これは、-13 °C 以下の反応液に、同温まで冷却したトリエチルアミンのトルエン溶液を一気に加えた場合であっても、内温は 0 °C までしか上昇しないことを意味している。実際のプラントでは、実験室のように一度に加えることはできず、ポンプなどの送液能力に依存するため、メタノールを添加後、事前冷却したトリエチルアミン溶液を可能な限り早く加えても、10 K 程度の温度上昇にとどまると予想された。

実際に、57 kg スケールにてトリエチルアミンのトルエン溶液を-15 °C まで事前に冷却し、最大速度で送液したところ、添加時間は 25 分、内温は-17 °C から-9 °C への上昇（温度上昇 8 K）となり、メチルエステル **13** の生成量は 0.08%まで抑制することができた（Entry 10）。

Table 1. Optimization of the Workup Process by Control of Methyl Ester **13**
Generation

Entry	Internal Temperature (°C)	Time for Addition of Et ₃ N/Toluene (min.)	Area% of Methyl Ester 13 *	Scale
1	-16 to -13	120	0.21%	700 g
2	-14 to -13	255	0.62%	85 kg
3	-15	180	0.58%	10 g
4	-10	180	0.89%	10 g
5	-5	180	1.09%	10 g
6	-15	120	0.46%	10 g
7	-10	120	0.63%	10 g
8	-8	60	0.14%	50 g
9	0	50	0.21%	10 g
10	-17 to -9	25	0.08%	57 kg

* The area % of **13** in the acetonitrile solution of **9** is measured with analytical HPLC by method C in section 4.1.

以上、最適化した条件をまとめると以下のようになる。

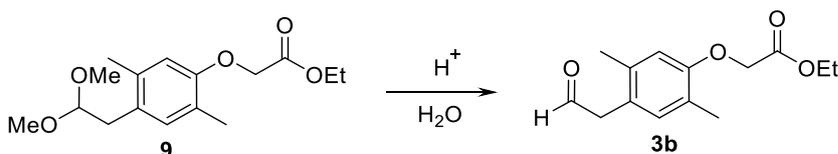
- 塩化トリメチルシランおよびヨウ化ナトリウムのアセトニトリル懸濁液中に、ベンジルアルコール **8** のアセトニトリル溶液を -18°C 付近で徐々に加えた後、30分 攪拌。
- メタノールを 1 当量加えた後、事前に冷却したトリエチルアミンのトルエン溶液 を速やかに加え、中和。
- エリソルビン酸ナトリウムにて遊離ヨウ素を還元し、一般的な後処理をした後、 減圧濃縮によりアセトニトリルへと溶媒置換して、ほぼ定量的にジメチルアセタ ール **9** のアセトニトリル溶液を得る。

本最適化により、ジメチルアセタール **9** 溶液を数十キログラムスケールにて効 率的に得る方法が確立された。

2.3.3 フェニルアセトアルデヒド **3b** ならびに等価体の合成と最適化

鍵中間体であるフェニルアセトアルデヒド **3b** は、ジメチルアセタール **9** を酸存在下加水分解することで得られるはずである (Scheme 8)。また、フェニルアセトアルデヒド類の安定性の課題を解消するためには、**3b** は結晶として得ることが望ましい。そのためには高純度な **3b** を得ることが必要と考え、酸の種類及び当量、反応温度などの反応条件を変更して **9** の加水分解反応の最適化を実施した。

Scheme 8. Hydrolysis of **9** to Phenylacetaldehyde **3b**



ジメチルアセタール **9** は、エステル基を同一分子内に有している。不要なエステル加水分解の回避を考慮に入れ、工業的製法を確立するには下記を満たす条件が必要であった。

- 1) 反応速度が極端に落ちることなく、99%以上の反応転化率まで到達すること。
 - 2) 反応終点到達後少なくとも 2 時間までは、エステル部位の加水分解といった副反応などによって反応混合液の純度が大きく低下しないこと。
- プラント作業では、機器分析による反応終点確認や後処理終了までの時間を確保する必要があり、少なくとも 2 時間は必要である。

加水分解の条件として、シュウ酸、過塩素酸、濃硫酸、リン酸、酢酸などを酸として選択し、50%含水アセトニトリル (8 重量倍量) 中でモル当量数、反応温度を変化させて検討を行った (Figure 4)。その結果を以下にまとめた。

- 1) 過塩素酸 (1.5 モル当量、20 °C) (run 1, ▲) は、短時間で反応転化率は 100%に達するものの、エステル部位が加水分解されたカルボン酸体の副生が早く、短時間で **9** の純度が低下した。
- 2) 濃硫酸 (1.5 モル当量、20 °C) (run 2, ▲)、濃硫酸 (0.5 当量、40 °C) (run 6, ●) は、反応転化率は 100%に達するものの、その後速やかに **9** の純度が低下した。別に、濃塩酸のような強酸も実施したが同様な結果が与えられた。

- 3) シュウ酸 (1.5 モル当量、20 °C) (run 3, ▲) は、副反応は抑えられていたものの、反応速度が遅かった。シュウ酸 (1.5 モル当量、40 °C) (run 5, □) は、反応速度上がったが、副反応速度も速く、望みの条件とはならなかった。シュウ酸 (0.5 モル当量、40 °C) (run 7, ●) は、3 時間で目標反応終点 (99%以上) に到達し、その後も反応が進み 100%に到達した上、副反応による純度低下は緩やかであり、反応 5 時間時点で純度 94.5%以上を維持し、望ましい反応条件であった。
- 4) リン酸 (1.5 モル当量、40 °C) (run 4, □) は、目標とする反応条件を満たしていたが、シュウ酸 (0.5 モル当量、40 °C) (run 7, ●) には劣っていた。
- 5) 弱酸として酢酸 (1.5 モル当量、40 もしくは 20 °C) も実施したが、アセタールの加水分解は進行しなかった。

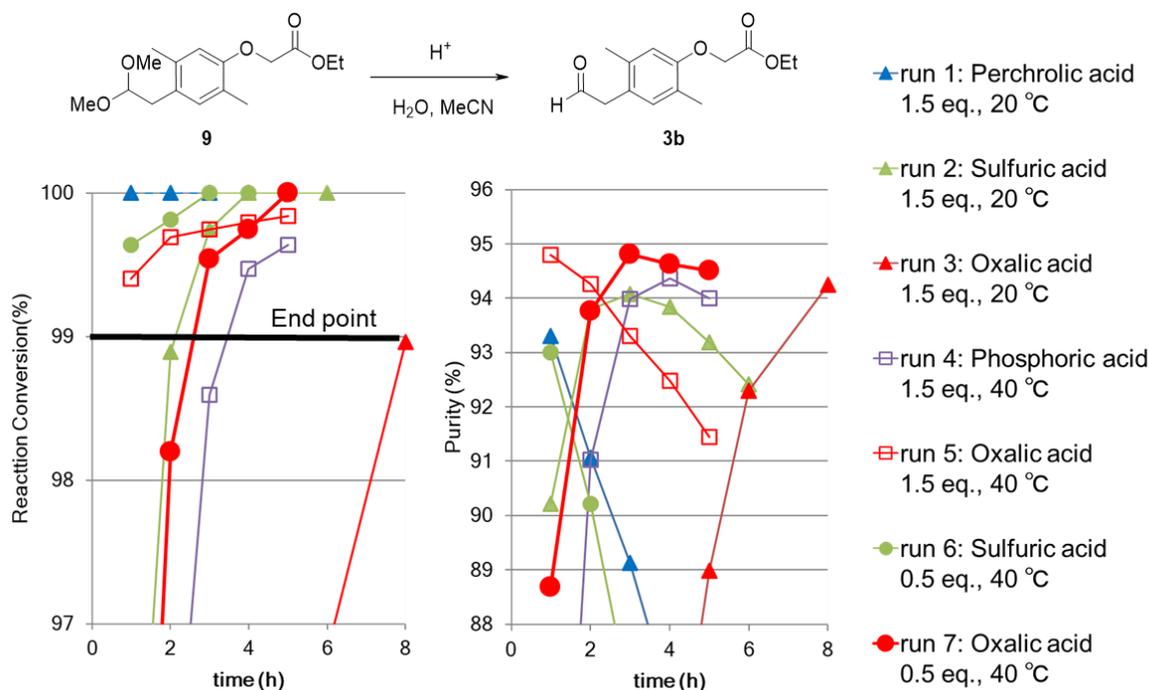


Figure 4. Optimization of Hydrolysis Conditions (Left: Reaction Conversion, Right: Purity of **3b** in a reaction mixture)

以上のことから、シュウ酸 0.5 モル当量を使用し、40 °C で 3 時間加熱する条件が最も良い結果を与えることを明らかにした (run 7, ●)。

前述の様に、安定性を確保し、数十キログラムスケール製造で高純度の目的化合物を得る方法として、結晶化は望ましい精製方法であり、結晶化条件の確立は必須である。そこで得られたアルデヒド **3b** を、まずはカラムクロマトグラフィーで精製した後、結晶化がうまく進行するか試みた。検討した溶媒系は下記の(1)から(9)である。

- (1) *tert*-ブチルメチルエーテル
- (2) *tert*-ブチルメチルエーテル-*n*-ヘキサン混合溶媒
- (3) ジイソプロピルエーテル
- (4) ジイソプロピルエーテル-*n*-ヘキサン混合溶媒
- (5) トルエン-*n*-ヘキサン混合溶媒
- (6) *n*-ヘキサン
- (7) 酢酸エチル-*n*-ヘキサン混合溶媒
- (8) エタノール-*n*-ヘキサン混合溶媒
- (9) 酢酸エチル-シクロヘキサン混合溶媒

その結果、条件(3)のジイソプロピルエーテル及び条件(8)のエタノール-*n*-ヘキサン混合溶媒のみ固体が得られた。条件(3)で得られた固体は、20 °C 付近で簡単に溶解したことから、フェニルアセトアルデヒド **3b** を容易に結晶化させることは困難であると推測した。

一方、条件(8)で得られた固体は、興味深いことに室温でも固体の状態を維持していた。この固体を CDCl₃ に溶解し、¹H-NMR スペクトルを測定したところ、**3b** とエタノールの 1 : 1 の混合物であり、エタノール和物の可能性が示唆された。しかし、DMSO-*d*₆ に溶解して ¹H-NMR スペクトルを測定したところ、ヘミアセタール **10** の構造が示唆され、各種機器分析の結果、ヘミアセタール構造であることが確定した (Figure 5)。

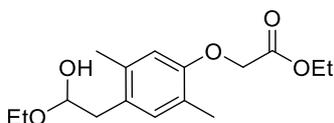


Figure 5. Chemical Structure of Hemiacetal **10**

ヘミアセタール **10** は、比較的安定な結晶として得られたことから、数十キログラムスケールでの取り扱いと共に、結晶化による品質制御が可能であると推測され、理想的な中間体であった。そこで、**10** をアルデヒド **3b** の等価体として使用することにした。

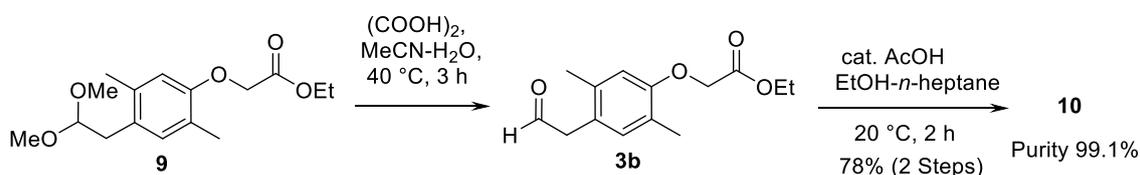
しかし、条件(8)のエタノール-*n*-ヘキサン混合溶媒中でのヘミアセタール **10** を晶析は、析出速度及び単離収率が安定しなかった。そこで、ヘミアセタール化反応促進のために酢酸 0.05 当量を加えたところ、速やかにアセタール化が進行し、安定して結晶が析出するようになった。また、得られた湿結晶の静電気による引火リスクを下げるために沸点が低い *n*-ヘキサンから *n*-ヘプタンに変更するという改良も加えた。

以上の最適化により、数十キログラムスケールにてヘミアセタール **10** を効率的に得る下記の方法が確立された (**Scheme 9**)。

- ジメチルアセタール **9** のアセトニトリル溶液に、シュウ酸及び水を加え、40 °C にて 3 時間攪拌。
- 30 °C 以下で炭酸カリウム水溶液を加えて中和し、トルエン及び *tert*-ブチルメチルエーテルを加えた一般的な後処理
- 減圧濃縮により溶媒を除いた後、エタノール、*n*-ヘプタン、0.05 当量の酢酸及び種晶を加え、20 °C で 2 時間攪拌。
- 得られた懸濁液に *n*-ヘプタンをゆっくりと加え、段階的に冷却しながら攪拌し、ろ取・乾燥。

本最適化により、アルデヒド **3b** の代替等価体であるヘミアセタール **10** を、ベンジルアルコール **8** から通算収率 78%、純度 99.1% で得ることに成功し、数十キログラムスケールにて効率的に得る方法を確立した。

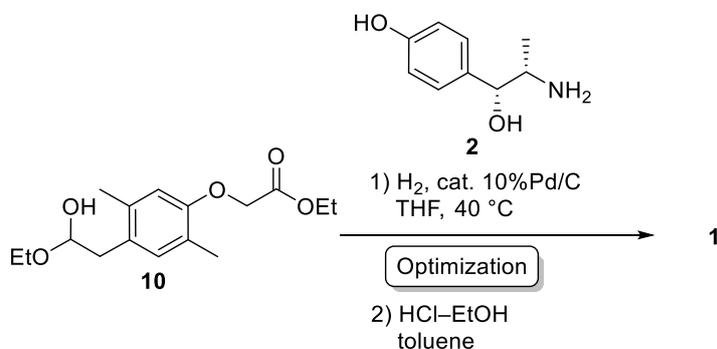
Scheme 9. Formation of Hemiacetal **10**



2.4 還元アミノ化反応とその最適化

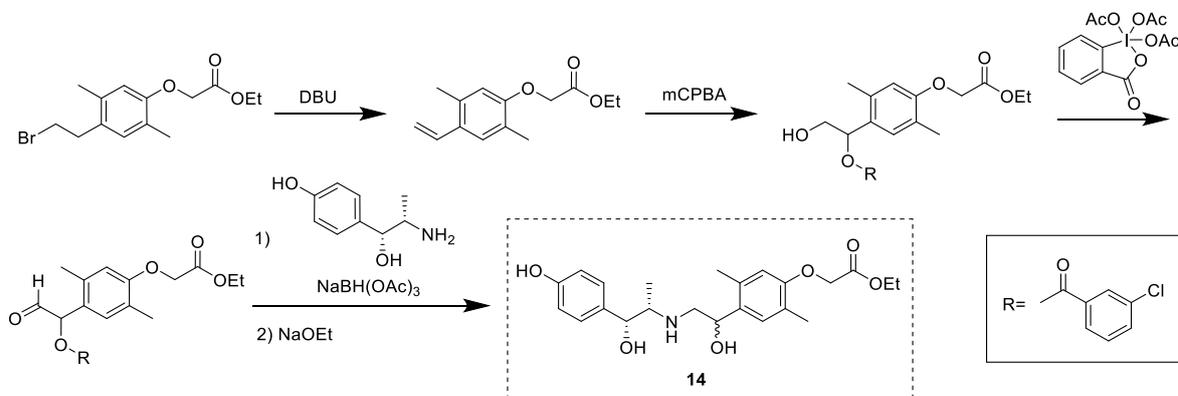
得られたヘミアセタール **10** と 1.0 当量の 4-ヒドロキシノルエフェドリン (**2**) を用いた還元アミノ化は、触媒量の 10%Pd/C 存在下 40 °C で円滑に進行した (Scheme 10)。このことから、ヘミアセタール **10** がアルデヒド **3b** の代替え等価体として予想通りに機能することがわかった。得られた付加体は、エタノール-トルエン混合溶媒中で塩化水素と処理することでリトベグロンエチル塩酸塩 (**1**) を得ることができた。しかしながら本反応では、除去が困難で、最終生成物である **1** にも残存する不純物が副生し、その生成量の制御が必要であった。

Scheme 10. Reductive Coupling of Hemiacetal **10** with 4-Hydroxynorephedrine (**2**)



残存する副生成物を、分取液体クロマトグラフィーにより単離し、Scheme 11 に示す方法にて合成した標品と比較することによって、**14** の構造であることを突き止めた。

Scheme 11. Synthesis of Impurity **14**



不純物 **14** は還元アミノ化にてジアステレオマー混合物として生成し、4.1 項に示す method D の条件下、HPLC により保持時間 12.7 分に **14a**、13.1 分に **14b** が検出された。還元アミノ化反応液、**1** の粗結晶及び **1** の精製晶中の **14** の量を測定してその精製挙動を確認した。その結果 **14** は塩酸塩にすることにより、**14a** 及び **14b** の結晶化による除去効率が異なり、不純物 **14b** (保持時間 13.1 分) が化合物 **1** に残りやすいことが判明した (Table 2)。なお、**14a** 及び **14b** のジアステレオマー混合物を塩酸塩にし、再結晶することによって **14b** のみを得ることができるが、ベンジル位の水酸基の絶対立体配置は決定していない。

Table 2. Area %* of Impurities **14a** and **14b** in Each Steps

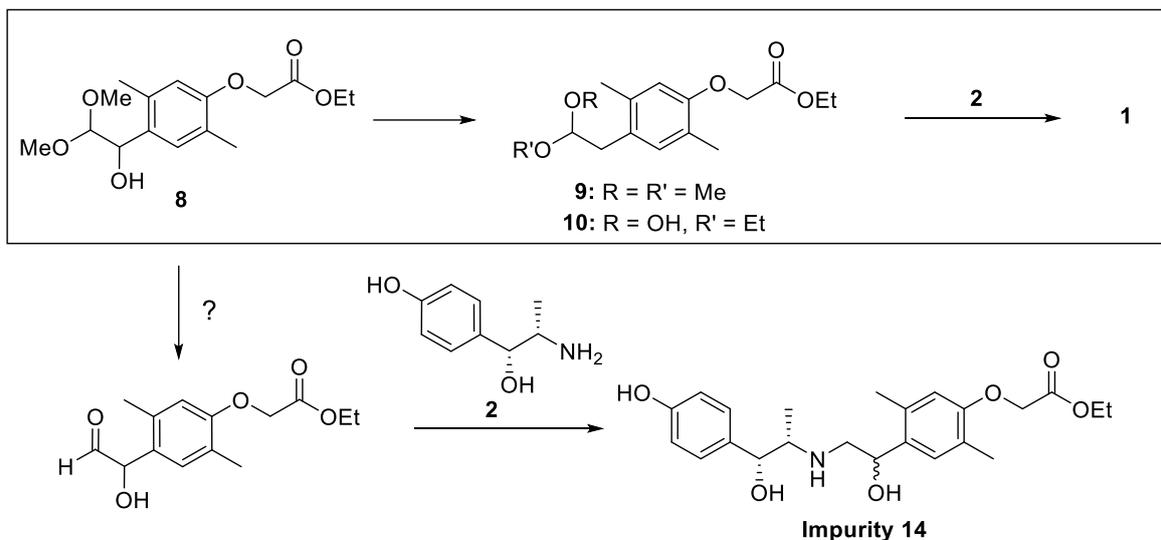
Compound	Reaction mixture	Crude 1	1
14a	0.36%	0.04%	0.03%
14b	0.34%	0.24%	0.14%

* The area % of **14a** (retention time, 12.7 min) and **14b** (retention time, 13.1 min) in the reaction mixture, crude of **1**, and crystal of **1** are measured with analytical HPLC by method D in section 4.1.

すでに実施済みの非臨床試験結果を用いてヒトへ投与に対する安全性を確保するためには、「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」(医薬審発第 1216001 号) に定められる安全性確認の必要な閾値である 0.15%以下に最終生成物 **1** 中の不純物 **14b** 量を制御することが必須であった。

不純物 **14** の生成経路として、ベンジルアルコール **8** から **1** を生成する過程で、微量に残存した **8** が加水分解され、**2** と反応するルートがまず疑われた (Scheme 12)。しかし、**8** は **9** 中にはほとんど残存しておらず、ヘミアセタール **10** も高純度で得られていることから、本仮説は否定された。

Scheme 12. A Possible Mechanism for Impurity 14 (Denied)



不純物 **14** が還元アミノ化中で経時的に増加しなかったため、本反応における副反応ではなく、反応開始前に起因するものと推定した。そこで、ヘミアセタール **10** 及び **2** の混合後から水素導入までの経過時間、温度の違いによって、還元アミノ化の反応液中での **14** の副生がどのように変化するかを検証した結果、下記のこと が判明した (**Table 3**)。

- **14** の生成量は、経過時間が伸長するとともに増加する (**Entries 1–4**)
- **14** の生成量は、温度に依存して増加する (**Entries 5–7**)。

以上のことから、**10** 及び **2** の混合はできる限り低温で実施し、できる限り早く水素を導入することが、不純物 **14** の生成抑制には重要であることが判明した。すなわち、水素導入までは所望のイミン生成を抑制し、生成したイミンを速やかに消費することによる、反応系中イミンの低濃度維持が、不純物 **14** の生成抑制として有効であると考えられた。

Table 3. Process Parameters Related to the Generation of Impurity **14**

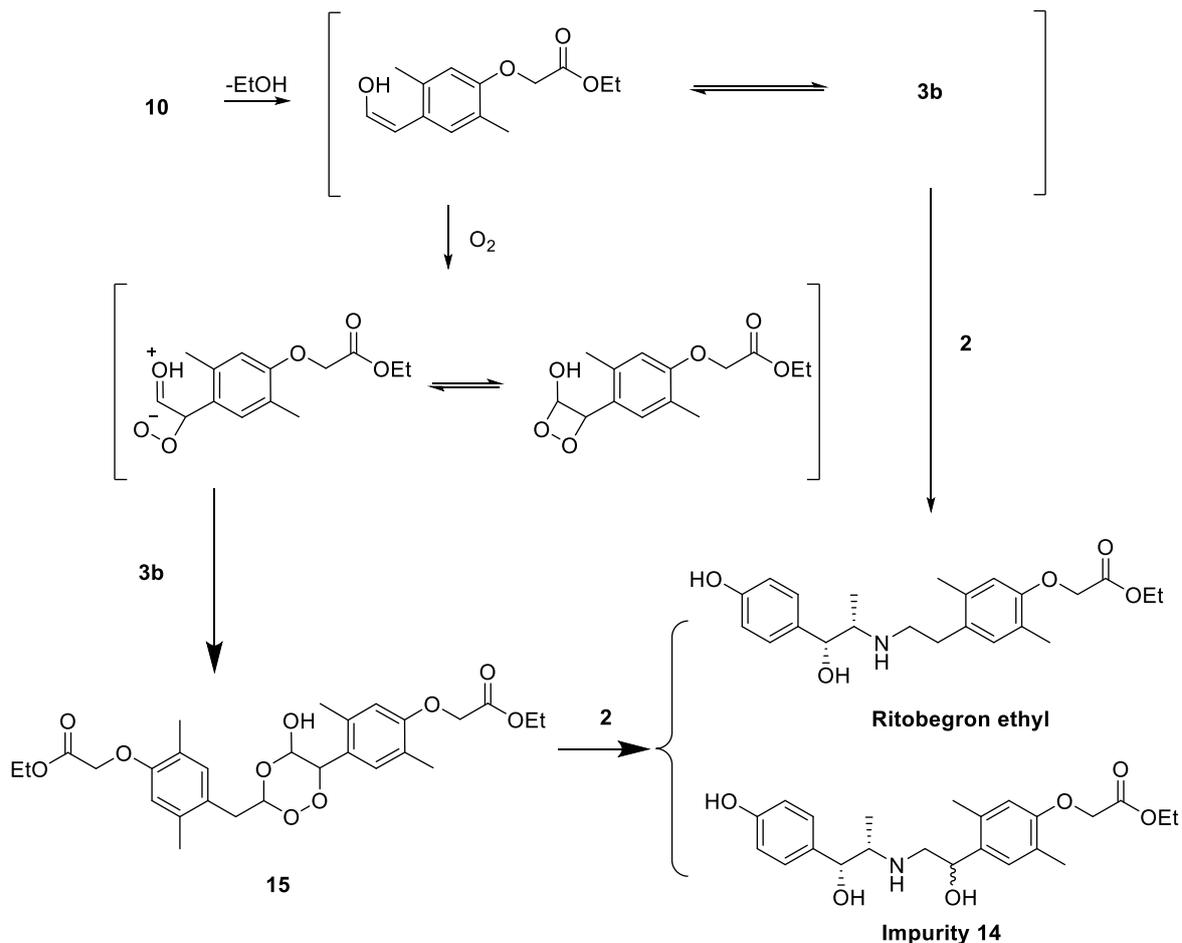
Entry	Internal Temperature before H ₂ Gas Introduction (°C)	Duration Time before H ₂ Gas Introduction (min.)	Area% of Impurity 14 * in the Reaction Mixture
1	-15	40	14a : 0.20%, 14b : 0.21%
2	-15	60	14a : 0.25%, 14b : 0.24%
3	-15	120	14a : 0.27%, 14b : 0.25%
4	-15	180	14a : 0.36%, 14b : 0.34%
5	-13	35	14a : 0.19%, 14b : 0.23%
6	-7	30	14a : 0.65%, 14b : 0.62%
7	-3	30	14a : 0.68%, 14b : 0.65%

*The areas % are measured with analytical HPLC by method D in section 4.1. The retention time was 12.7 min for **14a** and 13.1 min for **14b**.

一方、別の検討の中から新たな不純物 **14** の生成原因も明らかとなった。ヘミアセタール **10** の安定性を確認している中で、**10** もしくはアルデヒド **3b** からトリオキサン **15** (Scheme 13) が生成することが判明した。また、**10** にトリオキサン **15** を添加して還元アミノ化すると、その添加量に応じて不純物 **14** の生成量が増加することから、トリオキサン **15** の生成は不純物 **14** の生成原因の一つであると考えられた。

これらの知見から、不純物 **14** の生成機構の一つとして Scheme 13 に示すルートが考えられた。ヘミアセタール **10** から生成したアルデヒド **3b** のエノール形の二重結合が酸化され、得られた過酸化体が **3b** と結合し、トリオキサン **15** が生成する。生成した **15** と 4-ヒドロキシノルエフェドリン (**2**) との還元アミノ化は、所望のリトバグロンエチルとともに **14** が形成されるという機構である。本機構が正しいければ不純物 **14** を効果的に抑制する手順として、酸化抑制も有効な手段と考えられた。

Scheme 13. Alternative Mechanism for Impurity 14



したがって、反応系中イミンの低濃度維持として 1) ヘミアセタール **10** の溶解度の低下ならびに 2) 生成したイミンの速やかな消費の促進、**10** の酸化抑制として 3) 反応系中からの酸素の徹底的な除去を狙い、以下の対策を行うこととした (Figure 6)。

1) ヘミアセタール **10** の溶解度の低下

- 反応開始前の混合液を $-13\text{ }^{\circ}\text{C}$ 以下まで下げることによって、**10** の溶解度を下げ、イミン生成を抑制する。

2) 生成したイミンの速やかな消費の促進

- $-13\text{ }^{\circ}\text{C}$ 以下で水素を含む全ての原料の仕込みを終了し、その後速やかに $40\text{ }^{\circ}\text{C}$ まで昇温することにより、生成したイミンの還元を速やかに進行させる。

3) 反応系中からの酸素の徹底的な除去

- 操作毎に、次のいずれかの方法で酸素を十分除去し、ヘミアセタール **10** の酸化を抑制する。
 - 減圧後の窒素による減圧解除して、酸素濃度 0.5%まで除去する（減圧法）
 - 窒素によって 0.5 MPaG まで加圧し、常圧まで解除する操作を 3 回繰り返して、酸素濃度 0.5%まで除去する（加圧法）

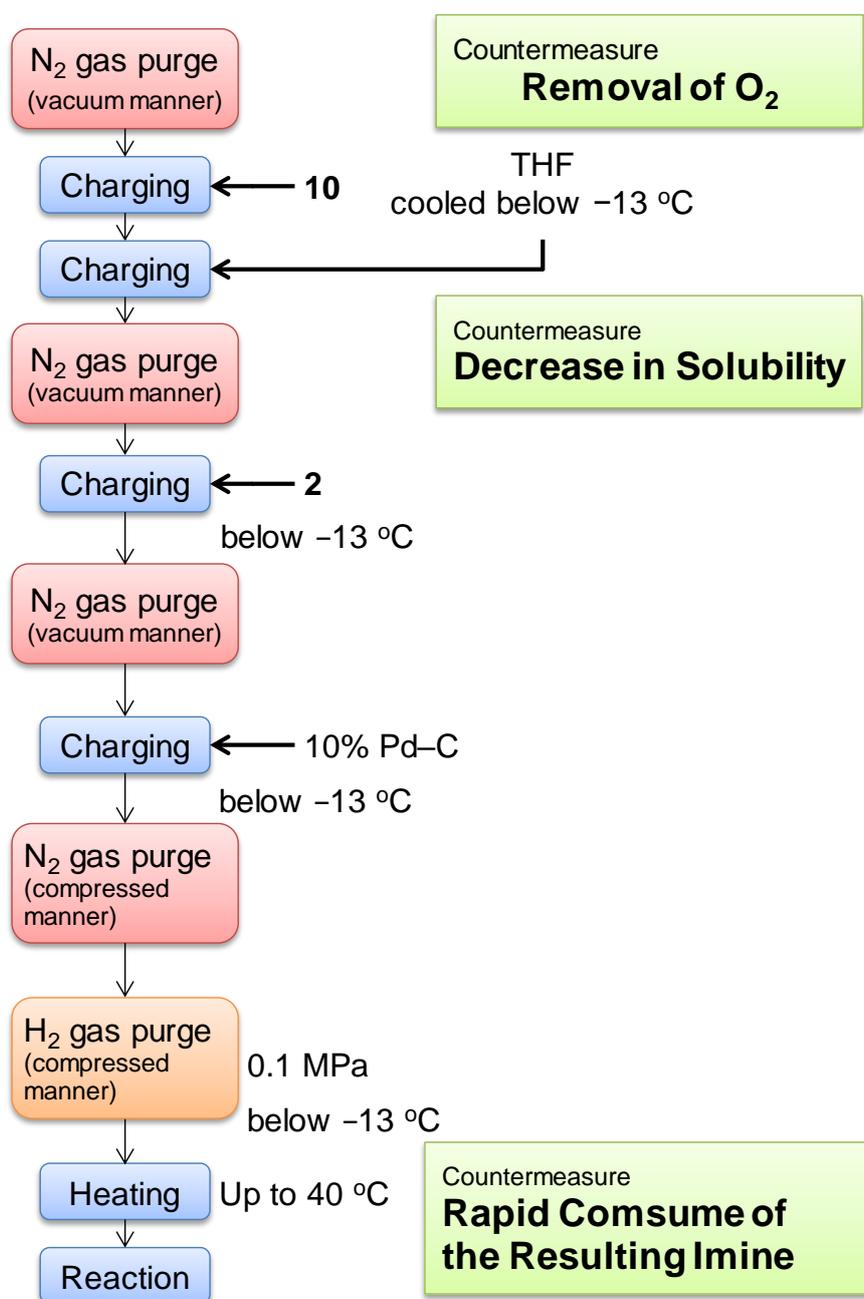
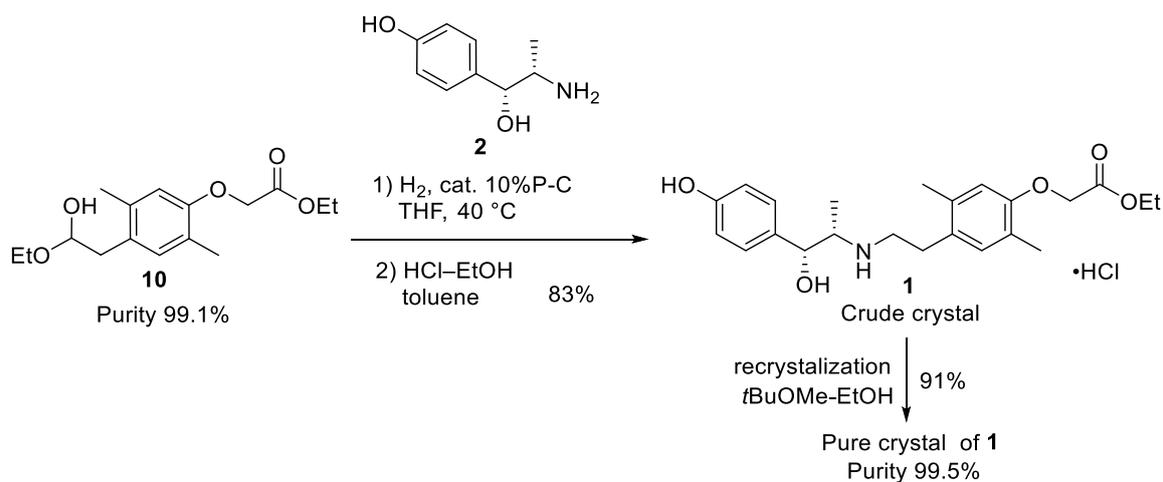


Figure 6. Production Flow for Suppressing Impurity 14

すなわち、純度 99.1% のヘミアセタール **10** (63.5 kg) に窒素置換して $-13\text{ }^{\circ}\text{C}$ まで冷却した THF を加え、再度減圧法にて窒素置換した。4-ヒドロキシノルエフェドリン (**2**) を $-13\text{ }^{\circ}\text{C}$ 以下で仕込み、再度同様に窒素置換した。10%Pd-C の仕込み後、窒素による加圧法で酸素濃度 0.5% 以下まで置換した。同様に水素による加圧法で十分に置換した後、速やかに $40\text{ }^{\circ}\text{C}$ まで加熱し、同温で水素 0.1 MPaG 下 3 時間で攪拌した。触媒を除去し、減圧濃縮した後、一般的な後処理方法・溶媒置換を経てトルエン-エタノール溶液を得た。塩化水素-エタノール溶液を加えた後、トルエンを加えて攪拌し、ろ取・乾燥して化合物 **1** の粗結晶を得た。得られた **1** の粗結晶は *tert*-ブチルメチルエーテル-エタノール混合溶媒中で再結晶をして、99.5% の純度で 69 kg の化合物 **1** を得た (Scheme 14)。不純物 **14** は検出されず、本法により生成を抑えることに成功した。

Scheme 14. Synthesis of **1** from Hemiacetal **10**



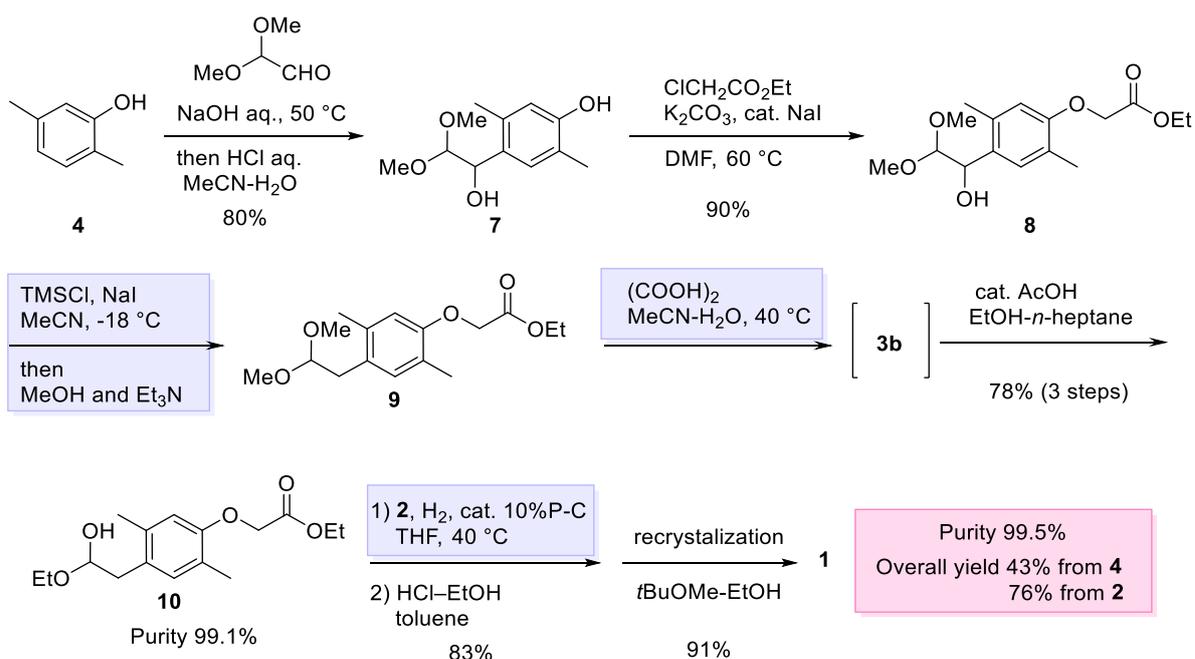
2.5 結論

リトベグロンエチル塩酸塩 (**1**) の数十キログラムスケールでの供給が可能な効率的かつ工業的製法の確立を目的として、著者は本研究を実施した。その結果、下記の項目を達成することにより、第一世代製法で抱えていたプロセス安全面、経済面、品質面に関わる課題をすべて解消した第二世代製法を確立させ、目的物 **1** を 69 Kg 得た (Scheme 15)。

- 第一世代製法の課題の原因を解消し得る化合物として、フェニルアセトアルデヒド **3b** を設定し、等価体であるヘミアセタール **10** を鍵中間体として使用するルートを開発
- TMSCl-NaI-MeCN 試薬を用いたベンジルアルコール **8** の水酸基の還元、後処理方法の最適化による効率的なジメチルアセタール **9** の取得
- **9** の加水分解条件の最適化と鍵中間体ヘミアセタール **10** の単離方法の開発による高純度な **10** の結晶取得
- 還元アミノ化反応で副生する不純物 **14** の効果的な抑制方法の確立

Scheme 15. Efficient Scale-up Synthesis of **1** (Second- Generation)

Key reaction steps and workup processes



第二世代製法では、製造工程数は5工程から6工程に増加したが、安価な出発原料 **4** から通算収率 27%から 43%に、比較的高価な 4-ヒドロキシノルエフェドリン (**2**) から通算収率 47%から 76%へと大きく向上し、目的物 **1** の純度も 99.5%と向上した (**Table 4**)。本法により、 β_3 -アドレナリン受容体作動薬リトベグロンエチル塩酸塩 (**1**) の効率的かつ工業的製法を確立させることに成功した。

Table 4. Comparison between the First-Generation Process and the New Process

Item	First Generation	 improved	Second Generation
Total Number of Steps	5		6
Overall yield from 4	27%		43% (1.6 times)
Overall yield from 2	47%		76% (1.6 times)
Area% purity of 1 by HPLC	Up to 98.5%		99.5% (1 point increase)

3. 謝辞

本論文の作成に際し、終始ご懇篤なご指導、ご鞭撻を賜りました金沢大学大学院 医薬保健学総合研究科 後藤（中川）享子 准教授に謹んで深謝申し上げます。

本論文の執筆にあたり、有益な示唆を賜りました金沢大学大学院 医薬保健学総合研究科 国嶋崇隆 教授、松尾淳一 教授、吉村智之 准教授、内山正彦 准教授に深く感謝申し上げます。

本研究を進めるにあたって、ご助力賜りました金沢大学大学院 医薬保健学総合研究科 齋藤洋平 助教に謹んで感謝申し上げます。

本研究に際し、多大なるご支援と発表の機会を与えてくださいましたキッセイ薬品工業株式会社 代表取締役会長 神澤陸雄 会長、並びに 代表取締役社長 降旗喜男 社長に深甚なる感謝の意を表します。

また、本研究に際し、多大なるご支援とご援助をいただきましたキッセイ薬品工業株式会社 取締役研究本部長 菊池伸次 博士、研究統括部長 保屋野雄志 博士、CMC 研究部長 柳孝志 博士に謹んで感謝申し上げます。

本研究を進めるにあたり、終始ご指導賜りました、キッセイ薬品工業株式会社 品質保証部長 伊澤英俊 博士、研究管理部長 田中信行 博士、玉井哲郎 博士、向山晴信 博士、布袋之彦 氏、及び原田弘 博士に深く感謝いたします。また、本研究の遂行にご協力いただきましたキッセイ薬品工業株式会社の平田一満 氏、鎌田晃爾 氏、村仲秀幸 博士、河西潔 氏、石川健宏 氏、小林雅周 博士、小澤哲治 博士、鈴木律氏、小林眞 氏、相内孝幸 氏、西村政幸 氏、及び菊地紀彦 氏、並びに上越化学研究所の諸兄に感謝申し上げます。

最後に、本研究を進めるにあたり陰ながら支えてくれた妻 扶実江と家族に感謝いたします。

4. 実験の部

4.1 General Information

All air- and moisture-sensitive manipulations were performed under a nitrogen atmosphere. All substrates, reagents, and solvents were purchased from commercial suppliers and used without further purification. ^1H NMR and ^{13}C NMR spectra were recorded on a Bruker AVANCE 400M (400 MHz) or AVANCE DRX500 (500 MHz) spectrometer using tetramethylsilane as the internal standard in the indicated solvents. High-resolution mass spectra (HRMS) were measured on an Agilent Technologies Q-TOF 6520 mass spectrometer. Elemental analysis was conducted on an Elementar Analysensysteme GmbH vario EL III elemental analyzer.

Analytical HPLC for measuring the purities of **7** and **8** (Methods A and B)

XbridgeC18 column (4.6 x 250 mm, 5 μm); mobile phase A: 20 mM KH_2PO_4 ; mobile phase B: acetonitrile; UV detection at 225 nm; flow rate: 1.0 mL/min; column temperature: 55 $^\circ\text{C}$;

Method A for **7**: gradient initial conditions: A-70%:B-30%; hold at A-70%:B-30% from 0–5 min; linear ramp to A-40%:B-60% from 5–20 min.

Method B for **8**: gradient initial conditions: A-65%:B-35%; hold at A-65%:B-35% from 0–10 min; linear ramp to A-35%:B-65% from 10–30 min; hold from 30–60 min.

Analytical HPLC method C for measuring the purity of **9** and **10**

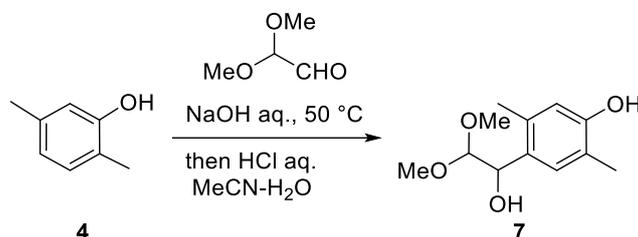
Intertsil ODS-P column (4.6 x 250 mm, 5 μm); mobile phase A: 20 mM H_3PO_4 (pH 2.3); mobile phase B: acetonitrile; UV detection at 225 nm; flow rate: 1.0 mL/min; column temperature: 40 $^\circ\text{C}$; gradient initial conditions: A-55%:B-45%; hold at A-55%:B-45% from 0–15 min; linear ramp to A-30%:B-70% from 15–25 min; hold from 25–45 min.

Analytical HPLC method D for measuring the purity of **1**

Intertsil ODS-3 column (4.6 x 250 mm, 5 μm); mobile phase A: 20 mM H_3PO_4 (pH 3.0); mobile phase B: acetonitrile; UV detection at 225 nm; flow rate: 1.0 mL/min; column temperature: 40 $^\circ\text{C}$; gradient initial conditions: A-74%:B-26%; hold at A-74%:B-26% from 0–20 min; linear ramp to A-30%:B-70% from 20–50 min; hold from 50–60 min.

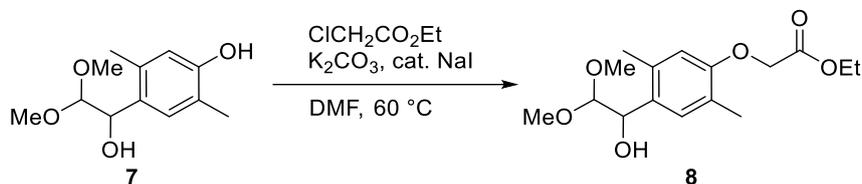
4.2 Experimental Section

4-(1-Hydroxy-2,2-dimethoxyethyl)-2,5-dimethylphenol (**7**)



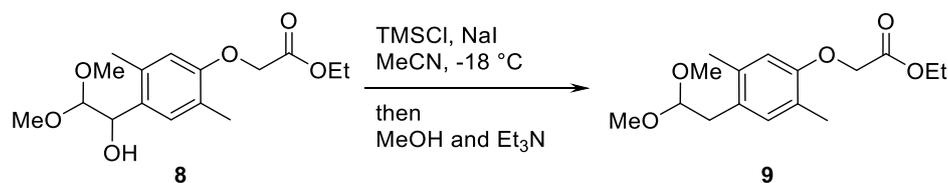
A 60% aqueous solution of glyoxal dimethylacetal (235 kg, 1350 mol, 1.5 equiv) was steadily added to a mixture of sodium hydroxide (36.0 kg, 900 mol, 1.0 equiv), water (875 L), and 2,5-xyleneol (**4**) (110 kg, 900 mol) at 50 °C; the reaction mixture was stirred at this temperature for 8 h. The conversion was monitored by HPLC analysis. After acetonitrile (96.8 kg) was added at 0 °C, 7.5% hydrochloric acid (139 kg) was steadily added over a duration of 1 h, and compound **7** (80 g) were added as a seed crystal. The mixture was stirred for 1 h between -5 and 10 °C to precipitate the product. Additional 7.5% hydrochloric acid (278 kg) was steadily added over a duration of 2 h between -5 and 10 °C and the suspension was stirred for 2 h, and then filtered. The resulting cake was washed with a mixed solvent of acetonitrile (8.8 kg) and water (275 L) and dried at 60 °C under reduced pressure to obtain **7** (163 kg, 97.2area% purity). ¹H NMR (DMSO-*d*₆, 400 MHz, δ): 2.06 (s, 3H), 2.16 (s, 3H), 3.08 (s, 3H), 3.35 (s, 3H), 4.24 (d, 1H, *J* = 6.8 Hz), 4.55 (dd, 1H, *J* = 4.3, 6.8 Hz), 4.93 (d, 1H, *J* = 4.3 Hz), 6.49 (s, 1H), 7.04 (s, 1H), 8.94 (br s, 1H). ¹³C NMR (DMSO-*d*₆, 100 MHz, δ): 14.2, 17.3, 52.2, 53.6, 67.4, 106.5, 114.2, 118.8, 127.9, 128.8, 132.1, 152.3. HRMS (*m/z*): [M+Na]⁺ calcd for C₁₂H₁₈O₄Na, 249.1097; found, 249.1091. Retention time (analytical HPLC method A): 4.8 min.

Ethyl 2-[4-(1-hydroxy-2,2-dimethoxyethyl)-2,5-dimethylphenoxy]acetate (8)



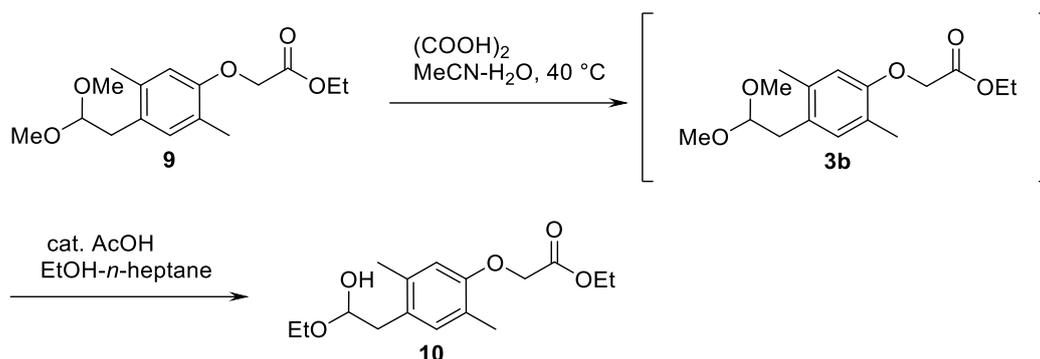
A mixture of **7** (40.8 kg, 180 mol), potassium carbonate (32.4 kg, 234 mol, 1.3 equiv), sodium iodide (0.81 kg, 5 mol, 0.03 equiv) and DMF (99.2 kg) was charged. A solution of ethyl chloroacetate (25.4 kg, 207 mol, 1.15 equiv) in DMF (17.6 kg) was added at 60 °C; the reaction mixture was stirred at this temperature for 3 h. The reaction completion was confirmed by HPLC analysis. After toluene (326 kg) and water (163 L) were added, the upper layer was collected. The organic layer was successively washed with 15% sodium chloride aqueous solution (122 kg) and water (163 L), and concentrated under reduced pressure. The residue was dissolved at 60 °C by adding *n*-heptane (326 kg) and toluene (39.9 kg) and then stirring the mixture for 1 h each at 30 °C and 0 °C, followed by filtration. The resulting cake was washed twice with *n*-heptane (94 kg) and dried under reduced pressure for 12 h at 30 °C, 15.5 h at 50 °C to obtain **8** as white powder (50.7 kg, 96.8 area% purity). ¹H NMR (CDCl₃, 400 MHz, δ): 1.29 (t, 3H, *J* = 7.1 Hz), 2.26 (s, 3H), 2.31 (s, 3H), 2.60 (br s, 1H), 3.21 (s, 3H), 3.49 (s, 3H), 4.26 (q, 2H, *J* = 7.1 Hz), 4.32 (d, 1H, *J* = 6.6 Hz), 4.60 (s, 2H), 4.79 (d, 1H, *J* = 6.6 Hz), 6.48 (s, 1H), 7.24 (s, 1H). ¹³C NMR (CDCl₃, 100 MHz, δ): 14.2, 15.9, 19.5, 55.1, 56.4, 61.2, 65.8, 70.1, 108.5, 113.3, 124.7, 129.3, 130.5, 135.0, 155.4, 169.2. HRMS (*m/z*): [M+NH₄]⁺ calcd for C₁₆H₂₈O₆N, 330.1911; found, 330.1911; [M+Na]⁺ calcd for C₁₆H₂₄O₆Na, 335.1465; found, 335.1465. Retention time (analytical HPLC method B): 12.8 min.

Ethyl 2-[4-(2,2-dimethoxyethyl)-2,5-dimethylphenoxy]acetate (**9**)



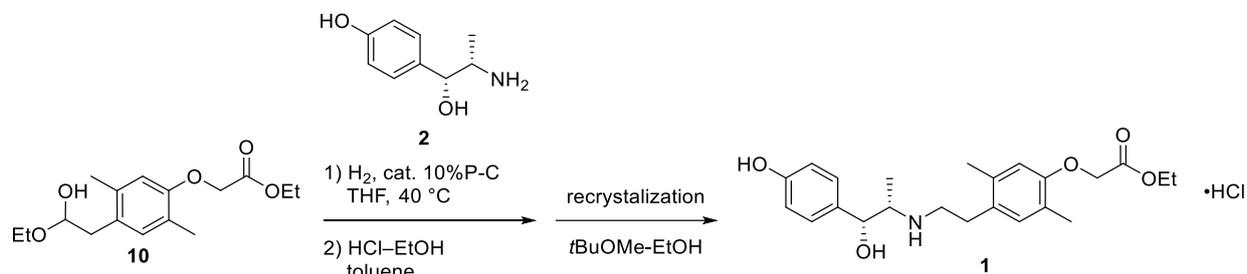
A solution of **8** (56.8 kg, 182 mol) in acetonitrile (80 L) was steadily added at -19 to -18 °C for 53 min to the suspension of sodium iodide (84.5 kg, 564 mol, 3.1 equiv), trimethylsilyl chloride (61.2 kg, 564 mol, 3.1 equiv), and acetonitrile (364 L). After stirring for 30 min, methanol (5.83 kg, 182 mol, 1.0 equiv) was added, and a mixed solution of triethylamine (27.6 kg, 273 mol, 1.5 equiv) and toluene (227 L), which was pre-cooled to -15 °C, were charged for 25 min at -17 to -9 °C. A solution of sodium erythorbate (51.1 kg) and potassium carbonate (19.9 kg) in water (460 L) was steadily added for 10 min at -9 to 7 °C, and the mixture was stirred for 1 h at 15 °C to obtain the organic layer. The obtained layer was successively washed with water (114 L) and 20% sodium chloride aqueous solution (102 L) twice and concentrated under reduced pressure. Acetonitrile (364 L) was added to the residue, and the mixture was concentrated under reduced pressure again. Acetonitrile (292 L) was added to obtain the acetonitrile solution of **9** [53.9 kg (theoretical amount)]. The sample for analysis of **9** was obtained by the concentration of the acetonitrile solution. ^1H NMR (CDCl_3 , 400 MHz, δ): 1.29 (t, 3H, $J = 7.1$ Hz), 2.23 (s, 3H), 2.27 (s, 3H), 2.82 (d, 2H, $J = 5.6$ Hz), 3.32 (s, 6H), 4.26 (q, 2H, $J = 7.1$ Hz), 4.47 (t, 1H, $J = 5.6$ Hz), 4.59 (s, 2H), 6.50 (s, 1H), 6.96 (s, 1H). ^{13}C NMR (CDCl_3 , 100 MHz, δ): 12.4, 13.9, 18.0, 34.5, 51.8, 59.3, 64.2, 103.6, 111.6, 122.6, 126.4, 131.0, 133.1, 152.8, 167.5. HRMS (m/z): $[\text{M}+\text{NH}_4]^+$ calcd for $\text{C}_{16}\text{H}_{28}\text{O}_5\text{N}$, 314.1962; found, 314.1961, $[\text{M}+\text{Na}]^+$ calcd for $\text{C}_{16}\text{H}_{24}\text{O}_5\text{Na}$, 319.1516; found, 319.1516. Retention time (analytical HPLC method C): 24 min.

Ethyl 2-[4-(2-ethoxy-2-hydroxyethyl)-2,5-dimethylphenoxy]acetate (**10**)



Oxalic acid (8.2 kg, 91 mol, 0.5 equiv) and water (216 L) were added to a acetonitrile solution of **9** (53.9 kg [theoretical amount], 182 mol). The reaction mixture was stirred for 3 h at 42 °C and reaction completion was confirmed by HPLC analysis. 7% potassium carbonate aqueous solution (180 kg), toluene (59 L), and *t*-butylmethylether (271 kg) were added to the mixture at 26 to 30 °C. The organic layer was separated, washed with 7% potassium carbonate aqueous solution (180 kg), 5% sodium bicarbonate aqueous solution (164 kg), and 10% sodium chloride aqueous solution (162 kg) twice, and dried over anhydrous sodium sulfate (38 kg). After the removal of sodium sulfate, the filtrate was concentrated below 50 °C under reduced pressure. After the residual oil was solved in ethanol (70 L) and *n*-heptane (108 kg), acetic acid (0.54 kg, 9 mol, 0.05 equiv) and compound **10** (5.4 g) was successively added as a seed crystal. The mixture was stirred for 2 h at 20 °C to achieve a suspension of **10**. *n*-Heptane (443 kg) was steadily added over a duration of 1.5 h at the same temperature; the suspension was stirred for 1 h at 20 °C and for 2 h at -2 to 8 °C, and then filtered. The resulting cake was washed with *n*-heptane (108 kg) twice and dried at 0 to 10 °C under reduced pressure to obtain **10** (42.2 kg, 99.1 area% purity). ¹H NMR (DMSO-*d*₆, 400 MHz, δ): 1.06 (t, 3H, *J* = 7.1 Hz), 1.21 (t, 3H, *J* = 7.1 Hz), 2.12 (s, 3H), 2.20 (s, 3H), 2.62 (dd, 1H, *J* = 6.0, 13.9 Hz), 2.71 (dd, 1H, *J* = 5.0, 13.9 Hz), 3.28 (dq, 1H, *J* = 7.1, 9.6 Hz), 3.66 (dq, 1H, *J* = 7.1, 9.6 Hz), 4.16 (q, 2H, *J* = 7.1 Hz), 4.57–4.66 (m, 1H), 4.71 (s, 2H), 5.91 (d, 1H, *J* = 7.6 Hz), 6.59 (s, 1H), 6.93 (s, 1H). ¹³C NMR (DMSO-*d*₆, 100 MHz, δ): 14.5, 15.7, 16.0, 19.2, 40.2, 61.0, 61.5, 65.5, 97.3, 113.5, 123.1, 129.1, 133.1, 135.1, 154.4, 169.5. HRMS (*m/z*): [M+H]⁺ calcd for C₁₄H₁₈O₄, 251.1278; found, 251.1276 detected as aldehyde **3b**. Retention time (analytical HPLC method C): 13.8 min (detected as aldehyde **3b**).

Ritobegron ethyl hydrochloride (1) (Ethyl [4-(2-[[*(1R,2S)*-1-hydroxy-1-(4-hydroxyphenyl)propan-2-yl]amino}ethyl)-2,5-dimethylphenoxy]acetate monohydrochloride)



After charging THF (320 L) to a sub reactor under reduced pressure, the pressure was released with nitrogen gas followed by cooling THF below $-13\text{ }^{\circ}\text{C}$. Separately, **10** (63.5 kg, 212 mol, 1.0 equiv, 99.1% purity) was added to a main reactor that was purged by decompression and release with nitrogen gas to reduce oxygen below 0.5% (vacuum manner), and then cooled THF was added to a main reactor. After the above-mentioned nitrogen gas purge, (1*R,2S*)-2-amino-1-(4-hydroxyphenyl)-1-propanol (**2**) (35.5 kg, 212 mol) and THF (39 L) were successively added to a main reactor below $-13\text{ }^{\circ}\text{C}$. After the same nitrogen gas purge again, the suspension of 10% Pd-C (ca. 50% water content) (11.9 kg) in THF (39 L) without gas purge were added below $-13\text{ }^{\circ}\text{C}$. The reactor was purged by repeating compression up to 0.5 MPa with nitrogen gas and release three times to reduce oxygen below 0.5% (compressed manner) followed by the hydrogen gas purge in the same manner. The reaction mixture was stirred at $40\text{ }^{\circ}\text{C}$ with 0.1 MPa of hydrogen gas for 3 h, and its conversion was monitored by HPLC analysis. After the removal of palladium by filtration using celite, the filtrate was concentrated below $50\text{ }^{\circ}\text{C}$ under reduced pressure; THF (39 L) and toluene (288 L) were added to the residue. Water (284 L) to the residue, the organic layer was separated and successively washed with 1% sodium bicarbonate aqueous solution (180 kg) and 18% sodium chloride aqueous solution (217 kg), and then dried over anhydrous sodium sulfate (36 kg). After removal of sodium sulfate, the filtrate was concentrated below $50\text{ }^{\circ}\text{C}$ under reduced pressure, and toluene (206 L) was added to the residue. The solution was concentrated below $50\text{ }^{\circ}\text{C}$ under reduced pressure, and then toluene (132 L) and ethanol (34.5 kg) were added to the residue. A 20% hydrogen chloride solution in ethanol (35.0 kg, 212 mol, 1.0 equiv) was steadily added at 0 to $9\text{ }^{\circ}\text{C}$, and the mixture was stirred for 1 h at 3 to $8\text{ }^{\circ}\text{C}$. Toluene (213 L) was added, the suspension was stirred for 1 h at the same temperature range, and then filtered. The resulting cake was washed with the mixed solvent

of ethanol (13 kg) and toluene (146 L) twice, and dried below 50 °C under reduced pressure to give crude compound of **1** (76.9 kg).

The obtained crude **1** (76.9 kg) was dissolved in ethanol (538 L) at 78 °C, the insoluble materials was removed by filtration and washed with ethanol (77 L). The seed compound **1** (3.8 g) were added to the ethanol solution at 55 °C, *t*-butylmethylether (300 kg) was added at 46 to 48 °C, and the suspension was then stirred for 1 h at 46 °C. *t*-Butylmethylether (300 kg) was added at 25 °C and the mixture was stirred for 1 h, settled for 5 h, and stirred for 3 h at 0 to 6 °C. After filtration, the obtained cake was successively washed with the solvent mixture consisting of *t*-butylmethylether (192 kg) and ethanol (48 L), followed by *t*-butylmethylether (231 kg), and then dried below 70 °C under reduced pressure to obtain **1** (68.6 kg, 99.5% purity). ¹H NMR (DMSO-*d*₆, 500 MHz, δ): 0.98 (d, 3H, *J* = 6.7 Hz), 1.22 (t, 3H, *J* = 7.1 Hz), 2.15 (s, 3H), 2.27 (s, 3H), 2.92–3.12 (m, 4H), 3.26–3.38 (m, 2H), 4.17 (q, 2H, *J* = 7.1 Hz), 4.75 (s, 2H), 5.13 (m, 1H), 5.95 (d, 1H, *J* = 3.9 Hz), 6.68 (s, 1H), 6.78 (d, 2H, *J* = 8.6 Hz), 6.97 (s, 1H), 7.18 (d, 2H, *J* = 8.6 Hz), 9.09 (br s, 2H), 9.45 (s, 1H). ¹³C NMR (DMSO-*d*₆, 125 MHz, δ): 9.8, 14.5, 16.0, 19.4, 29.0, 45.5, 59.1, 61.0, 65.5, 69.7, 114.0, 115.4, 123.9, 127.4, 128.4, 131.2, 131.7, 134.9, 154.9, 157.1, 169.4. Elemental Analysis: Calcd for C₄₅H₂₈N₄O₇Cl: C, 63.08; H, 7.36; N, 3.20; Cl, 8.10. Found: C, 62.98; H, 7.29; N, 3.15; Cl, 8.01. Retention time (analytical HPLC method D): 19.6 min.

4.3 Spectrum Data

4-(1-Hydroxy-2,2-dimethoxyethyl)-2,5-dimethylphenol (**7**)

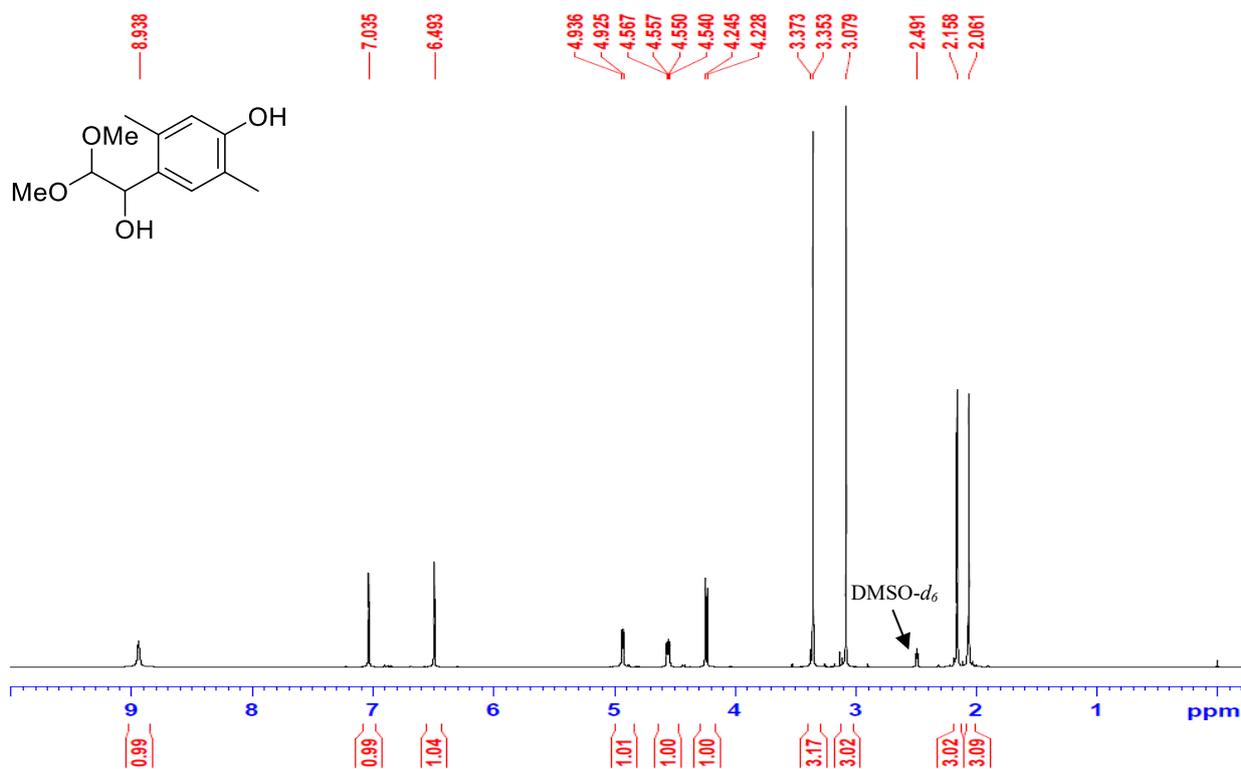


Figure 7. ¹H NMR Spectrum of **7** (DMSO-*d*₆, 500 MHz)

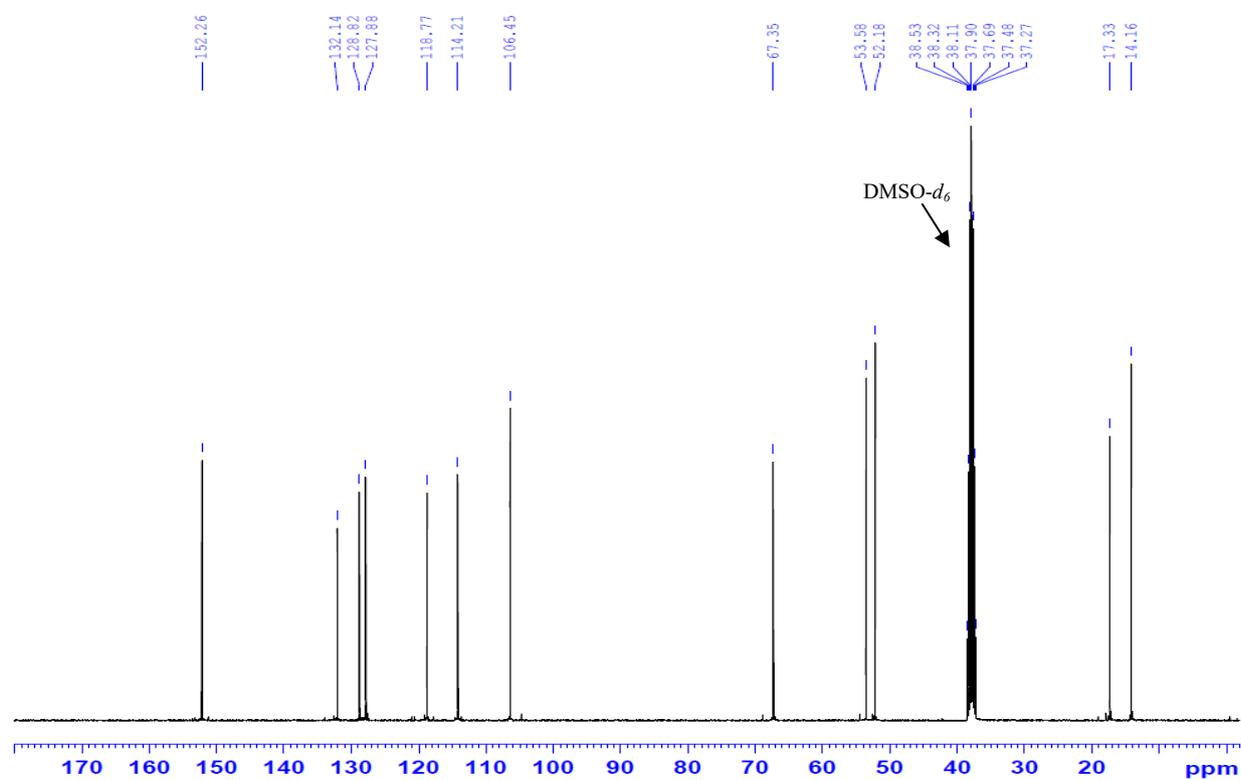


Figure 8. ¹³C NMR Spectrum of **7** (DMSO-*d*₆, 125 MHz)

Ethyl 2-[4-(1-hydroxy-2,2-dimethoxyethyl)-2,5-dimethylphenoxy]acetate
(8)

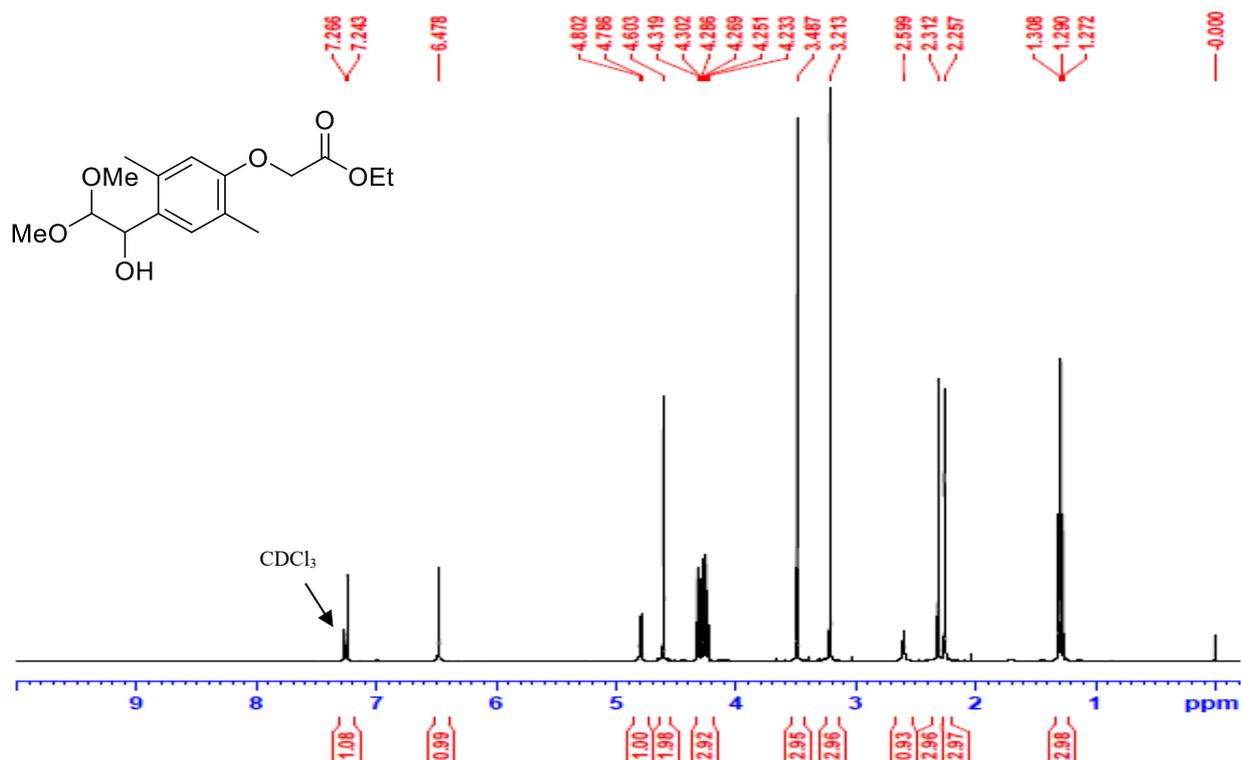


Figure 9. ¹H NMR Spectrum of 8 (CDCl₃, 500 MHz)

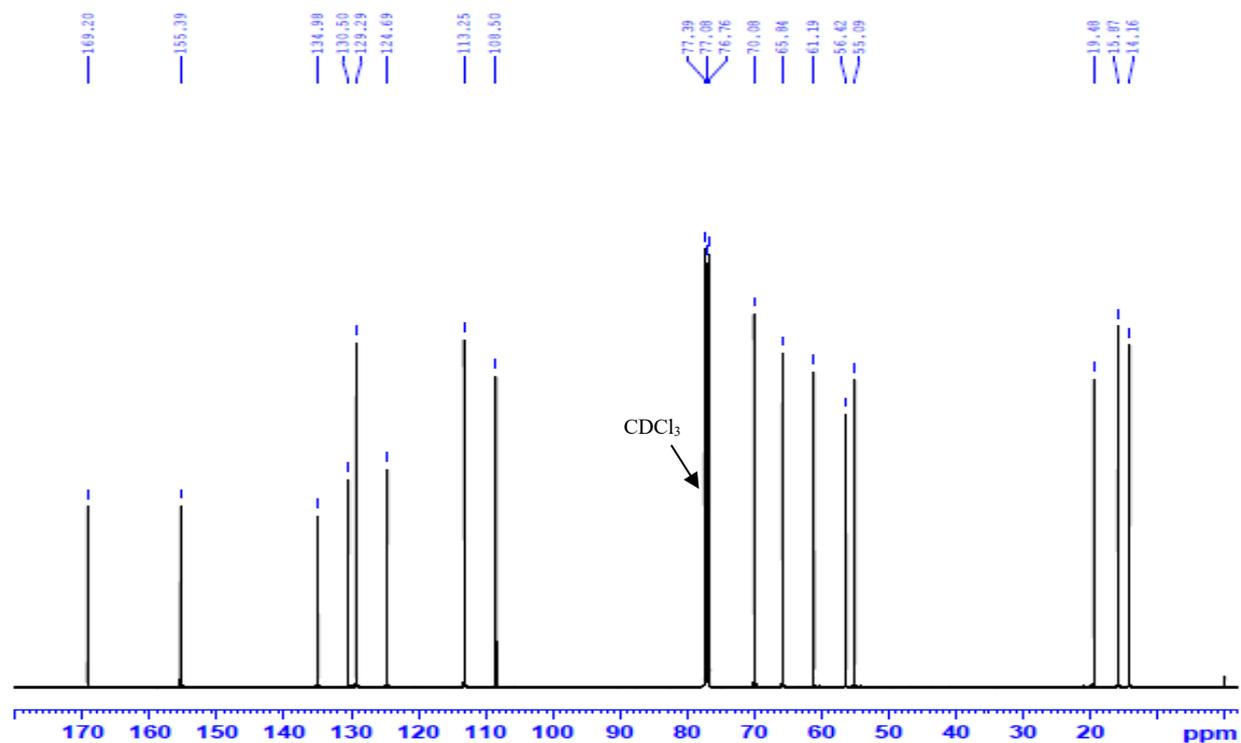


Figure 10. ¹³C NMR Spectrum of 8 (CDCl₃, 125 MHz)

Ethyl 2-[4-(2,2-dimethoxyethyl)-2,5-dimethylphenoxy]acetate (**9**)

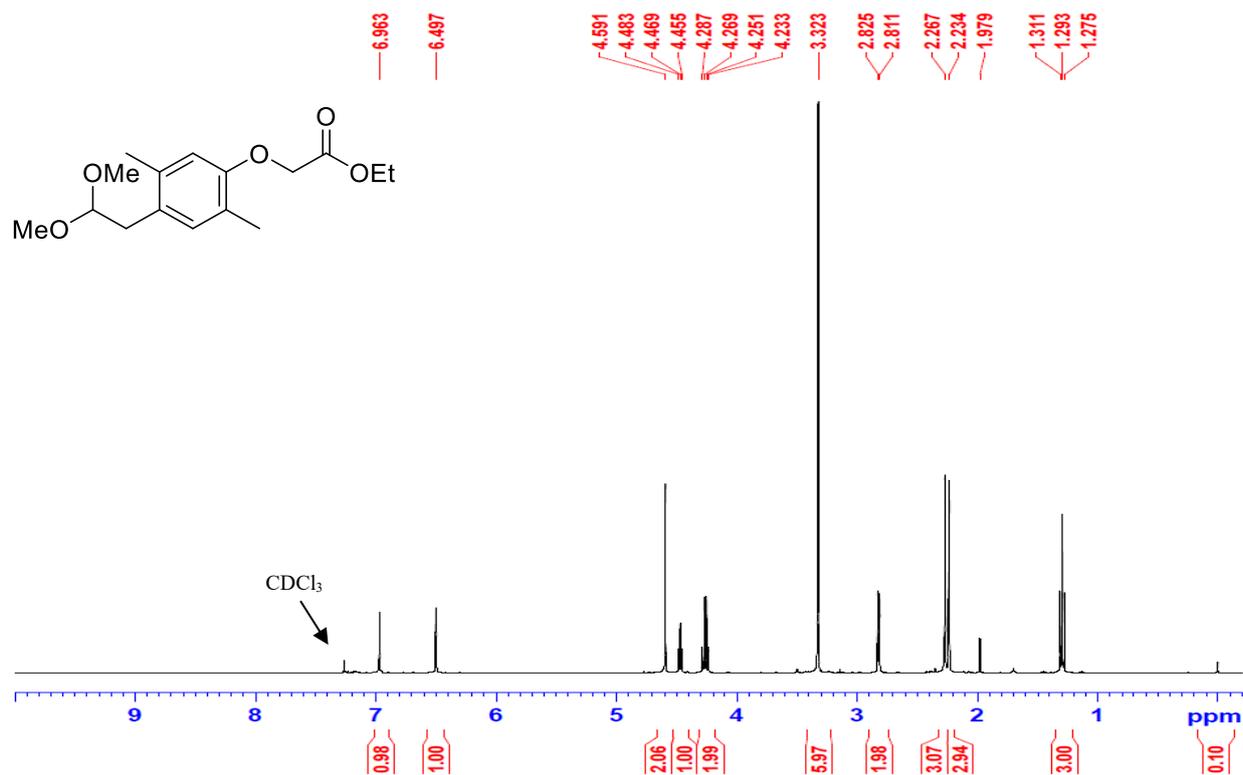


Figure 11. ¹H NMR Spectrum of **9** (CDCl₃, 500 MHz)

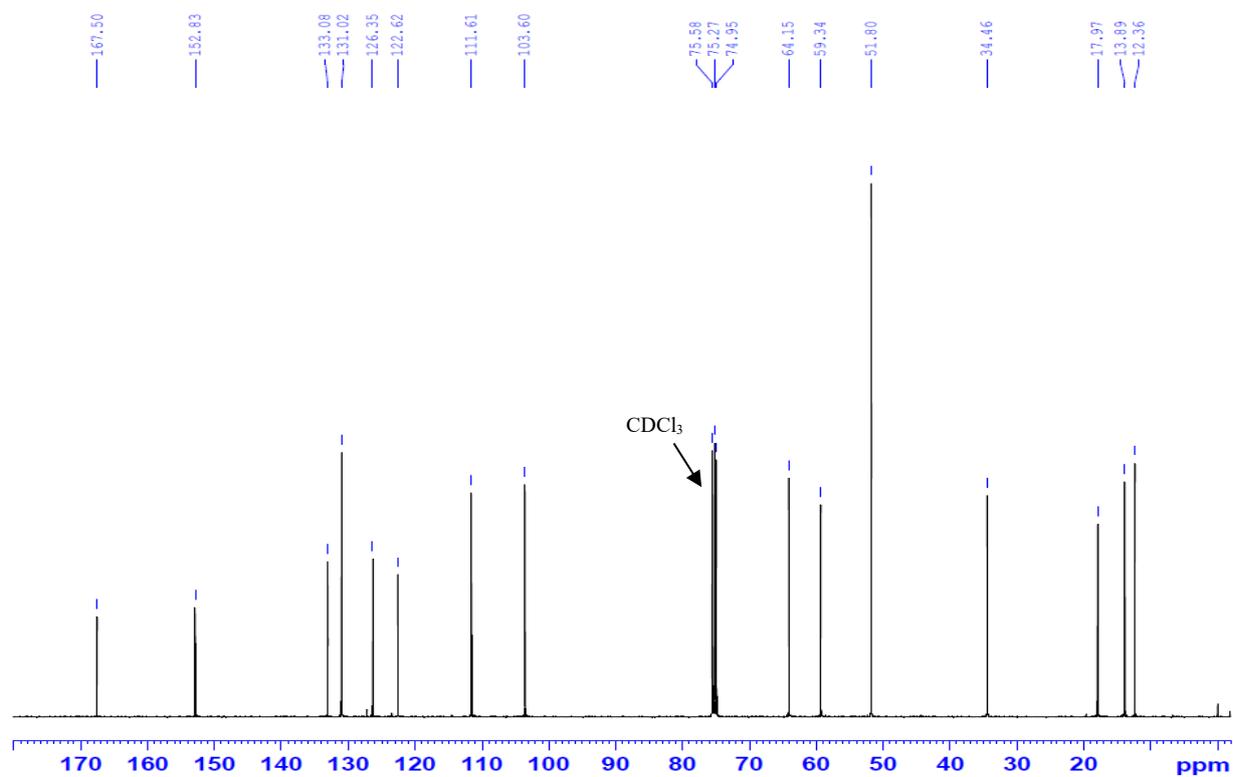


Figure 12. ¹³C NMR Spectrum of **9** (CDCl₃, 125 MHz)

Ethyl 2-[4-(2-ethoxy-2-hydroxyethyl)-2,5-dimethylphenoxy]acetate (**10**)

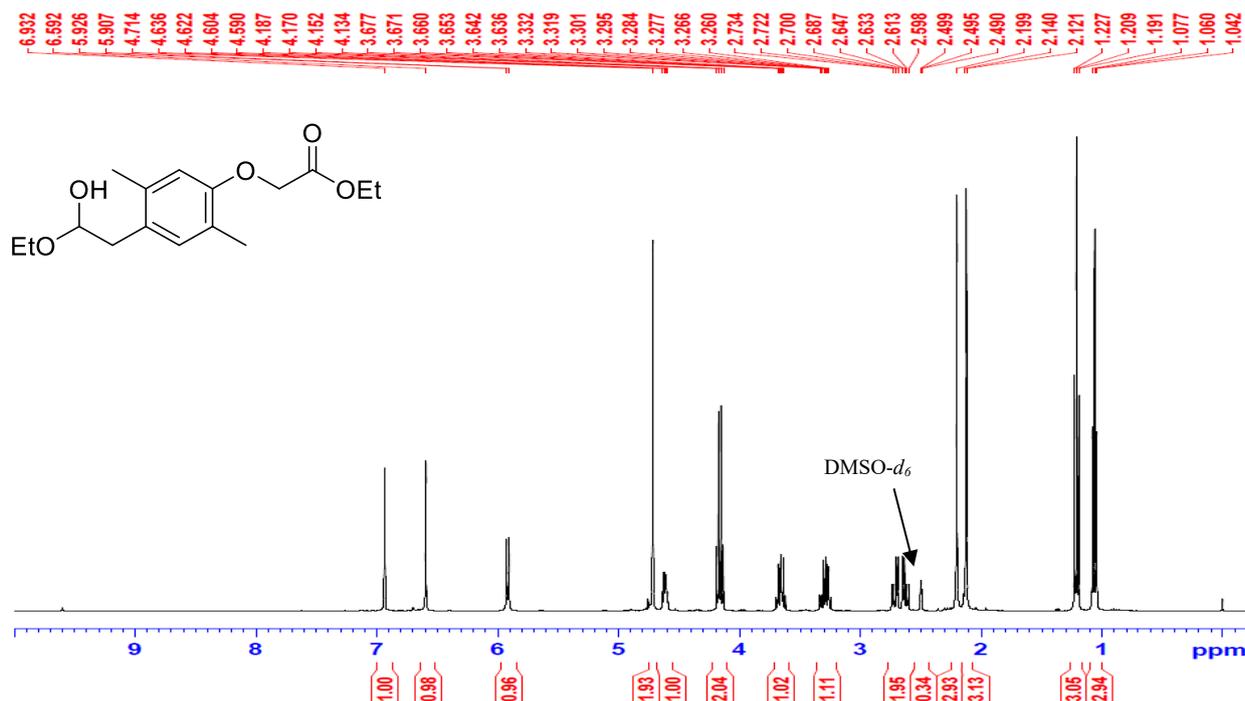


Figure 13. ¹H NMR Spectrum of **10** (DMSO-*d*₆, 500 MHz)

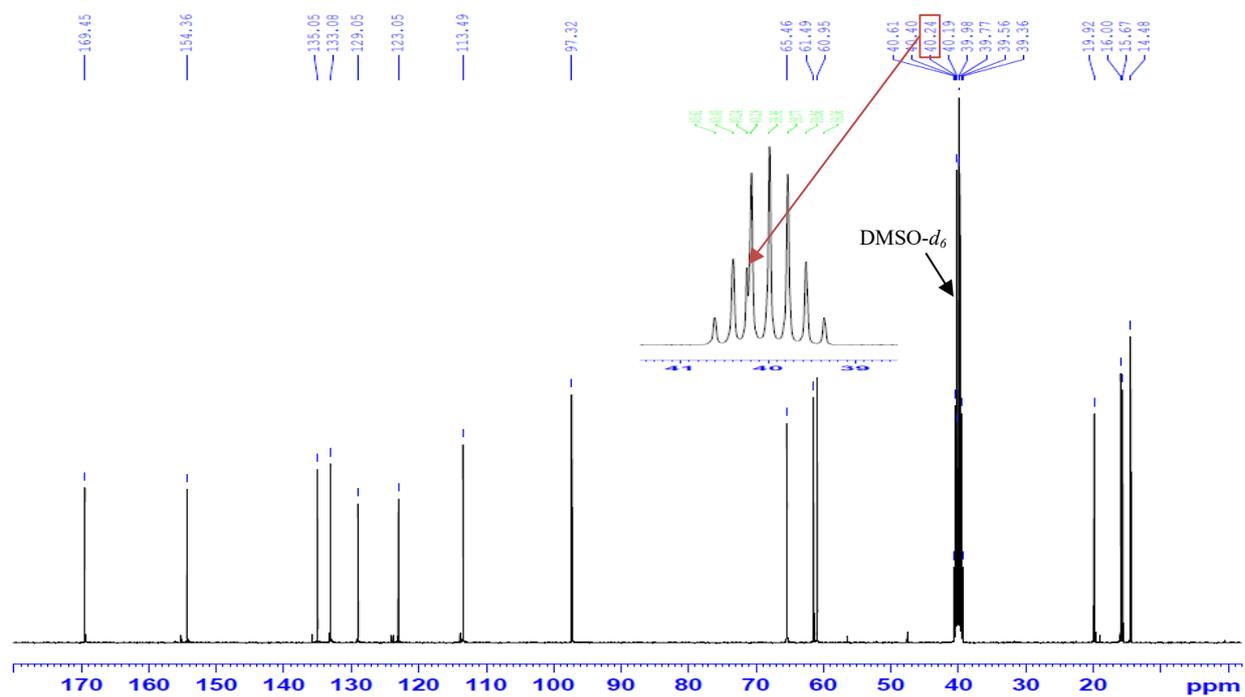


Figure 14. ¹³C NMR Spectrum of **10** (DMSO-*d*₆, 125 MHz)

Ritobegron ethyl hydrochloride (**1**) (Ethyl [4-(2-[[*(1R,2S)*-1-hydroxy-1-(4-hydroxyphenyl)propan-2-yl]amino}ethyl)-2,5-dimethylphenoxy]acetate monohydrochloride)

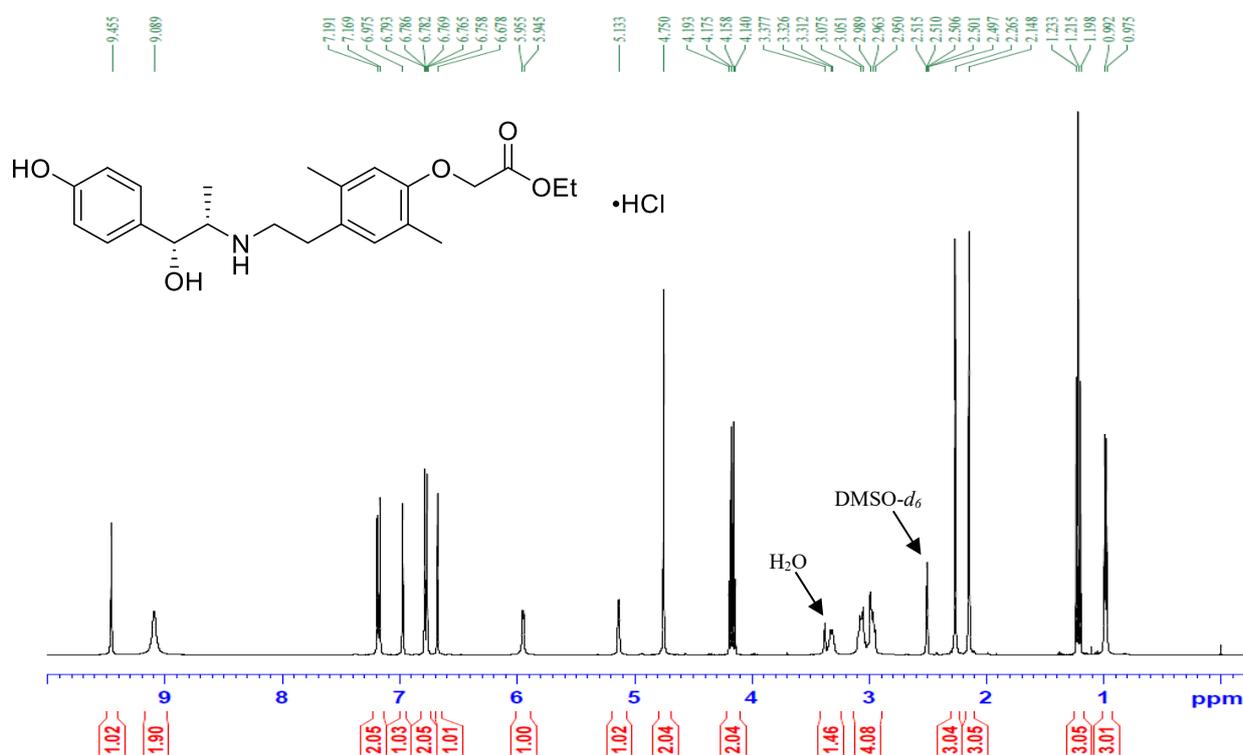


Figure 15. ¹H NMR Spectrum of **1** (DMSO-*d*₆, 500 MHz)

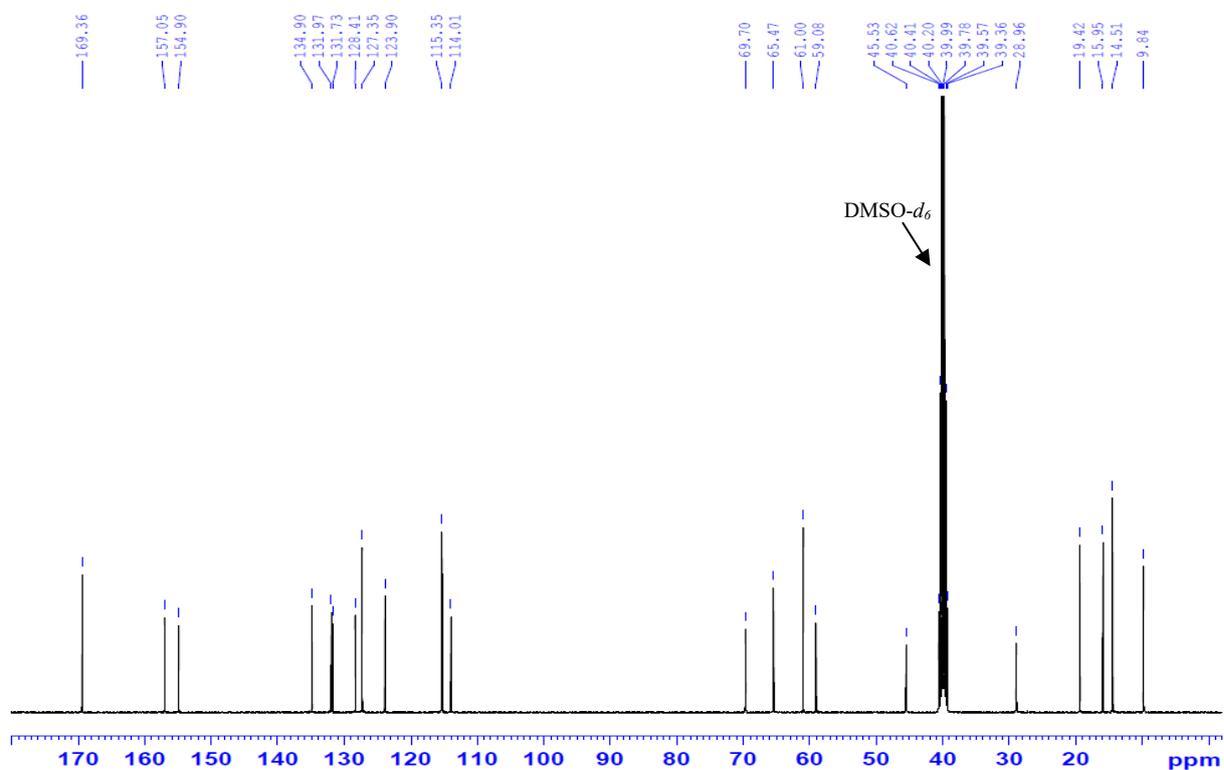


Figure 16. ¹³C NMR Spectrum of **1** (DMSO-*d*₆, 125 MHz)

Methyl ester **13**

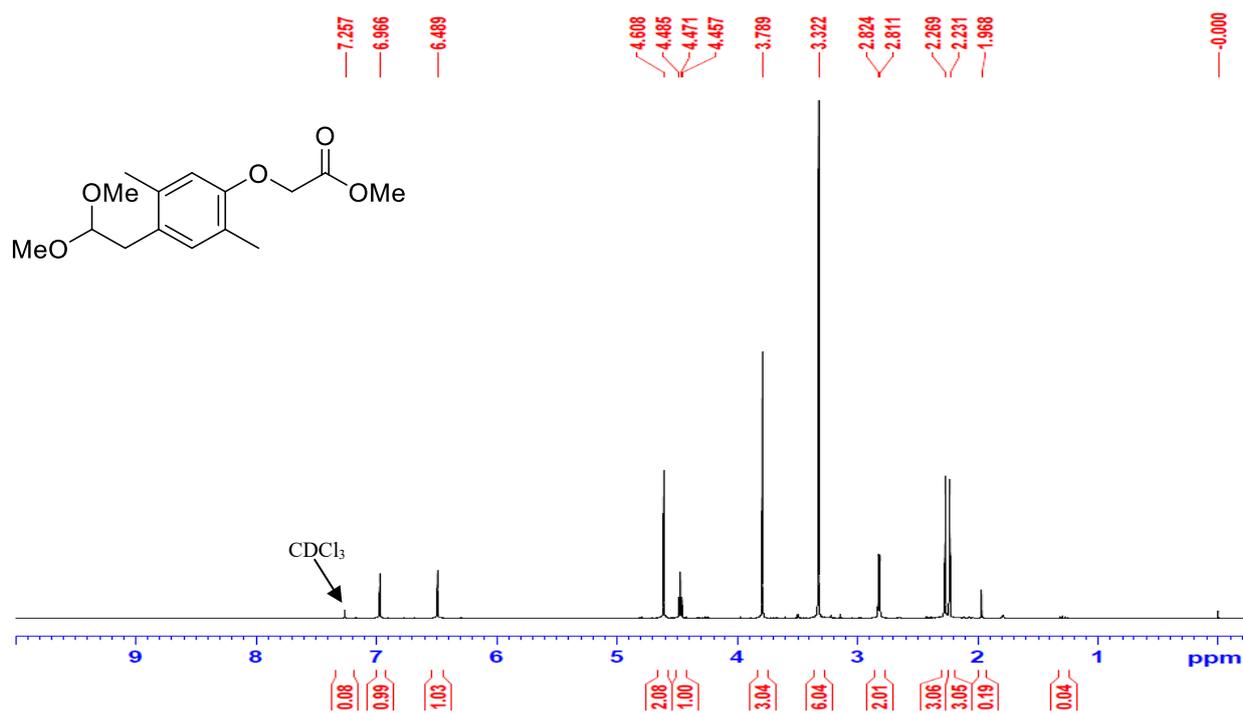


Figure 17. ¹H NMR spectrum of **13** (CDCl₃, 500 MHz)

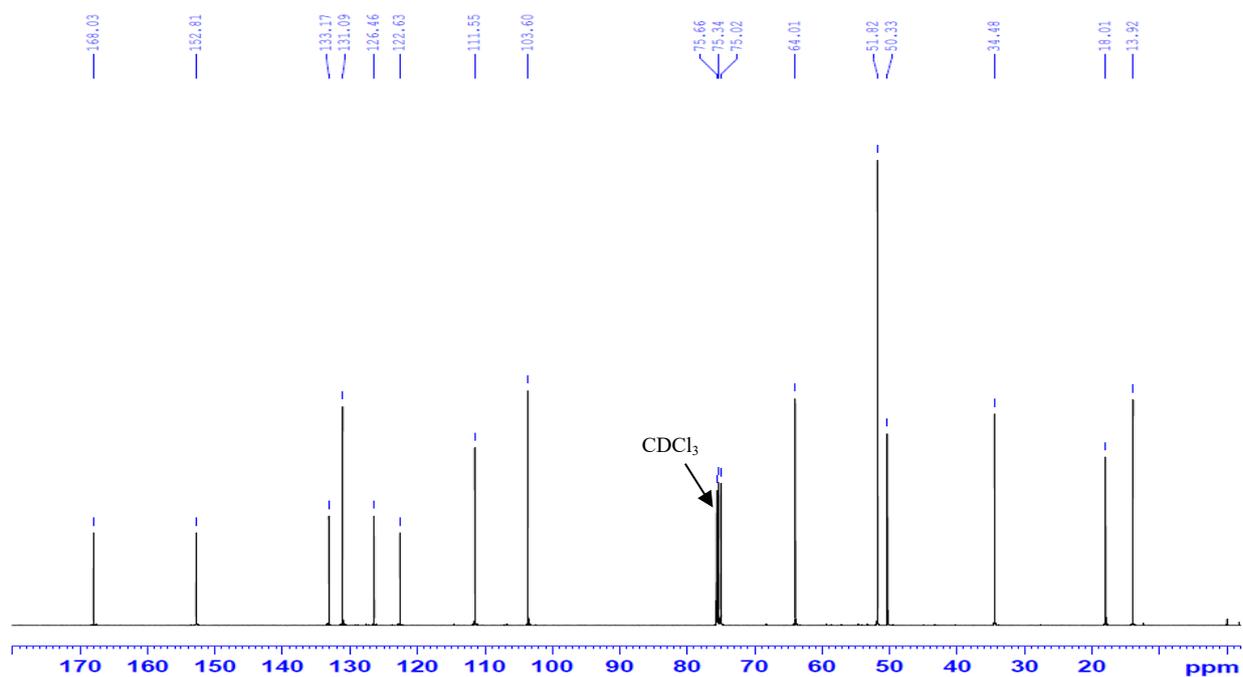


Figure 18. ¹³C NMR spectrum of **13** (CDCl₃, 125 MHz)

- The retention time of **13** was 17.2 min and that of **9** was 24.4 min with analytical HPLC method C in section 4.1.

Impurity 14b

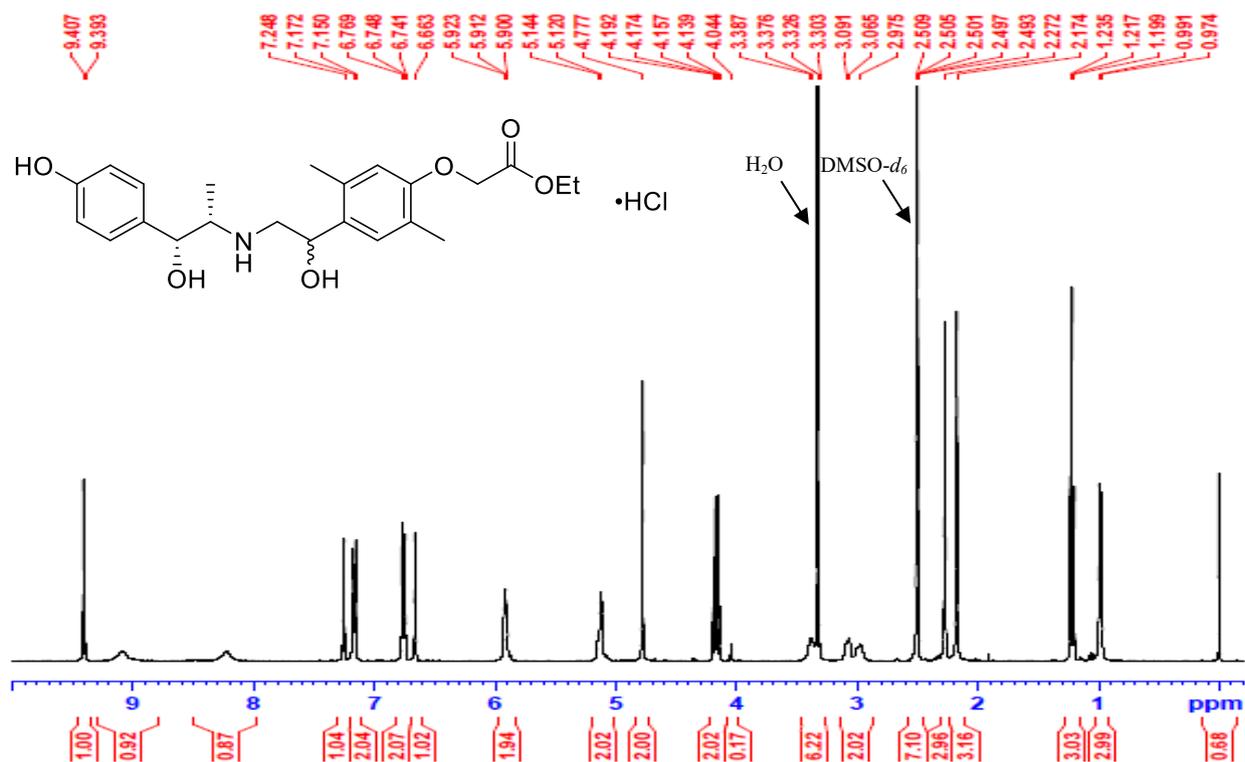


Figure 19. ¹H NMR Spectrum of Hydrochloric Acid of Impurity **14b** (DMSO-*d*₆, 500 MHz)

Trioxane 15

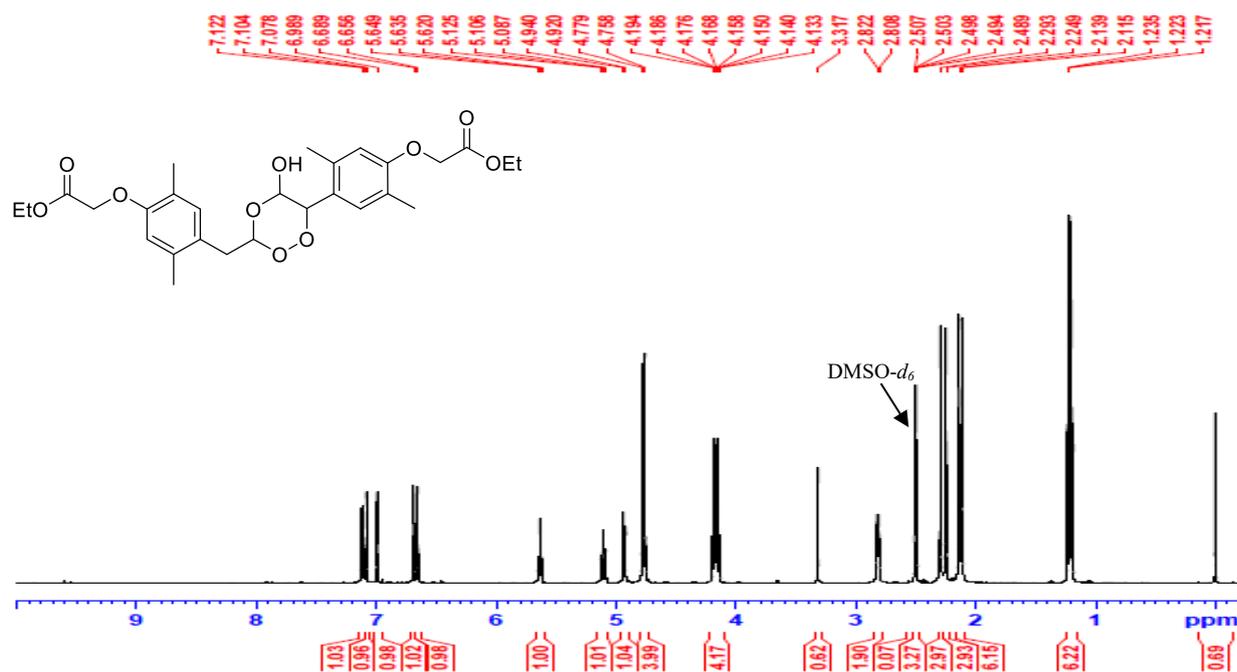


Figure 20. ¹H NMR Spectrum of 15 (DMSO-*d*₆, 500 MHz)

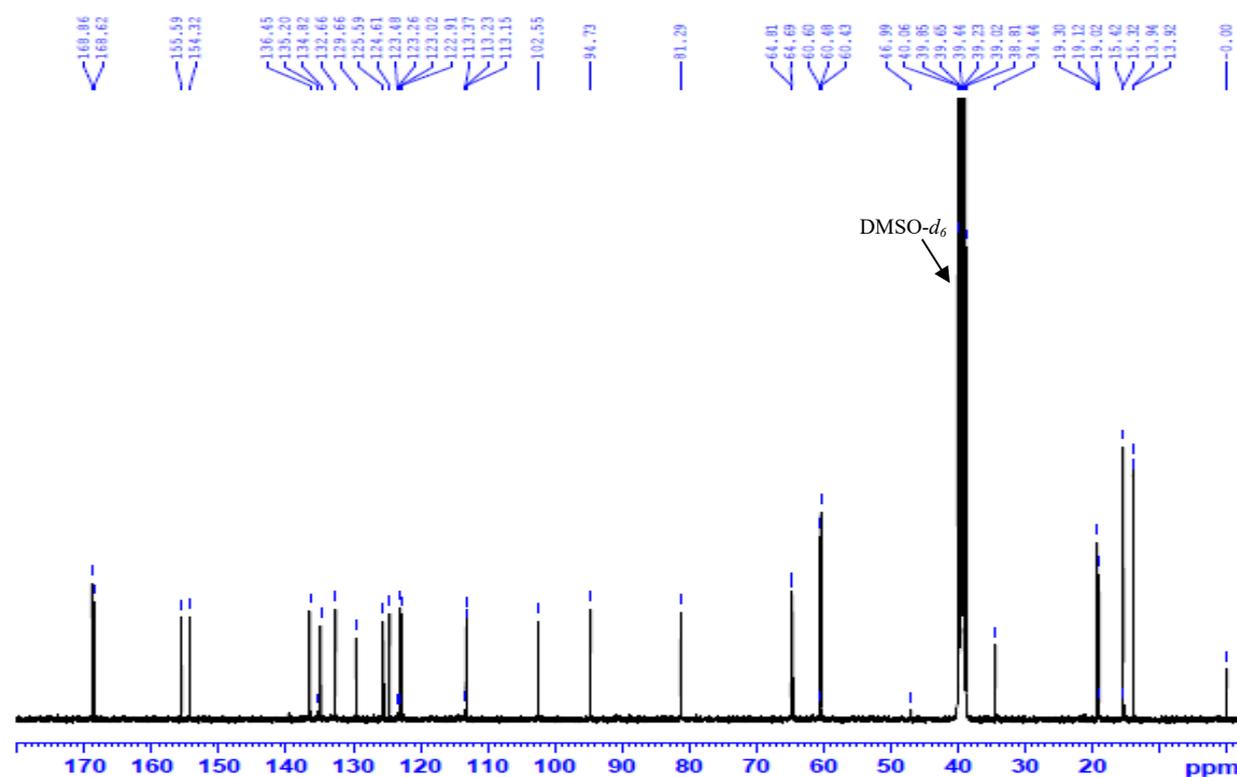


Figure 21. ¹³C NMR Spectrum of 15 (DMSO-*d*₆, 125 MHz)

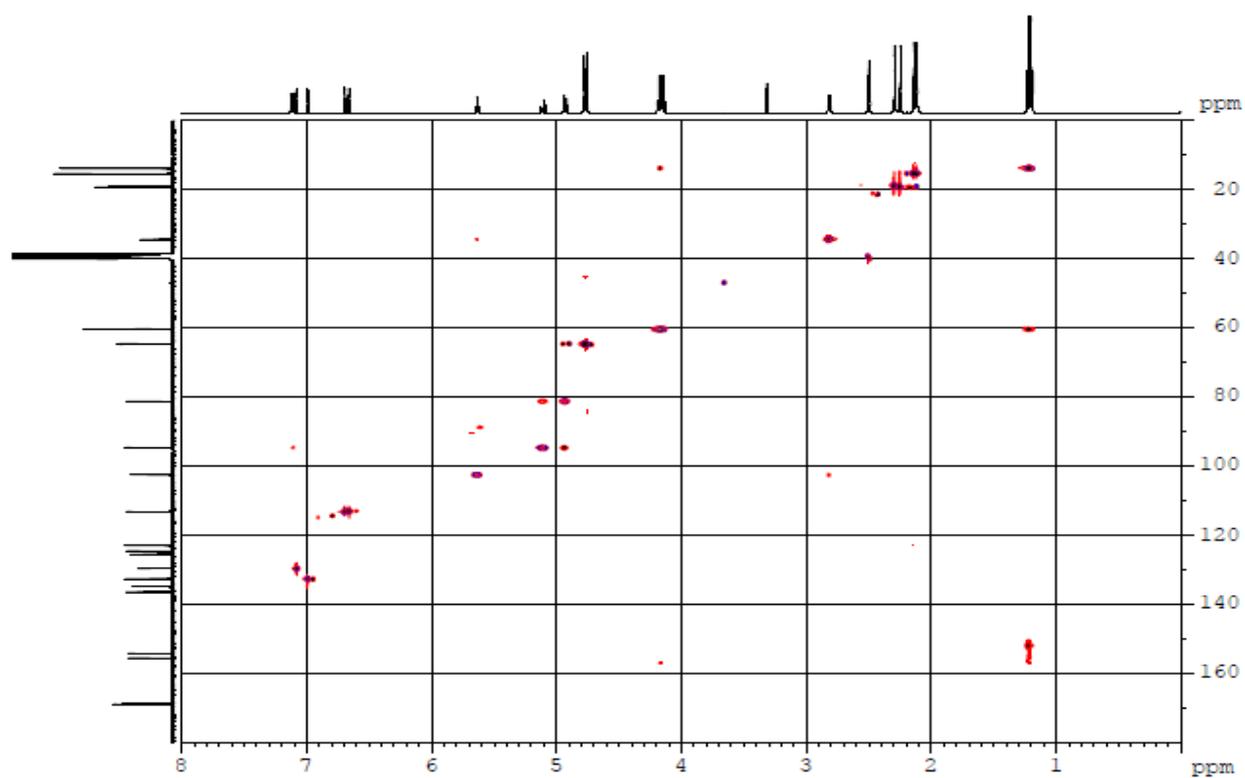


Figure 22. HSQC Spectrum of **15** (DMSO- d_6)

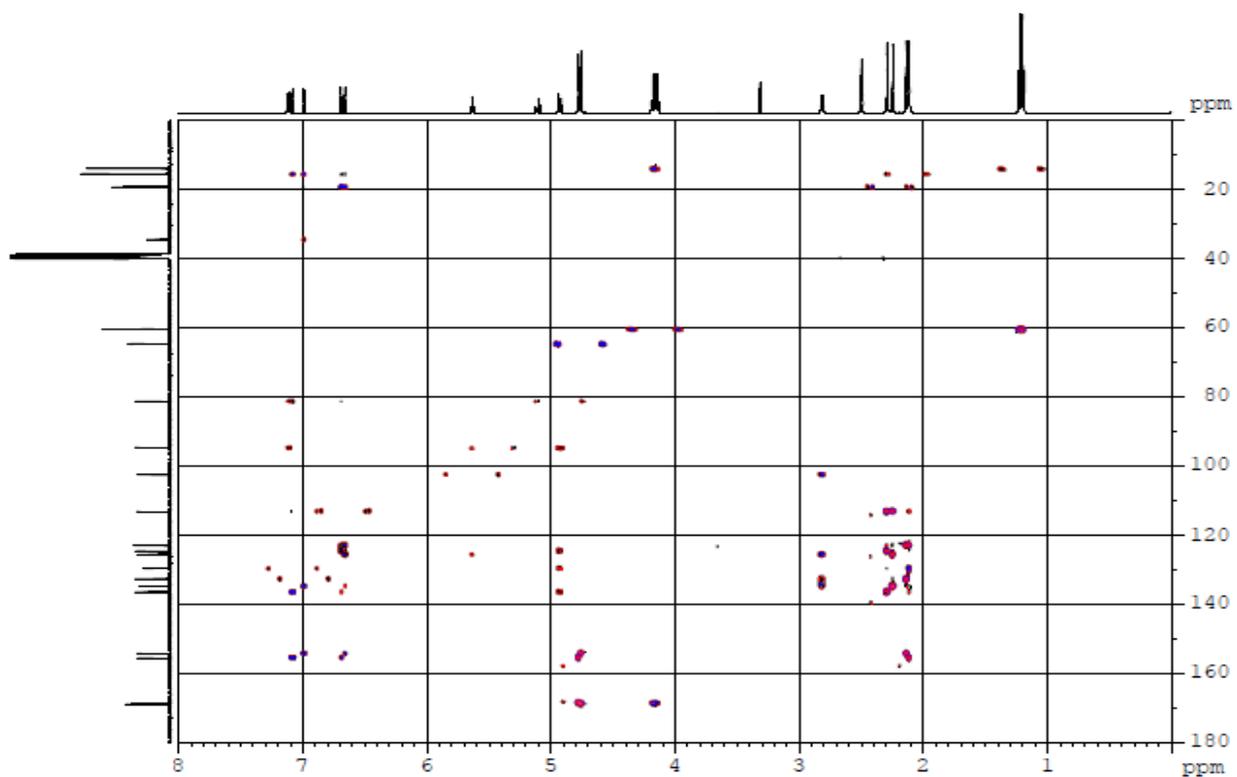


Figure 23. HMBC Spectrum of **15** (DMSO- d_6)

Table 5. HRMS Data of **15**

HRMS (m/z): [M+NH ₄] ⁺	
calcd for C ₂₈ H ₃₆ O ₁₀ :	550.2647
found:	550.2645

- Impurity **15** has a retention time of 27.3 min under analytical HPLC method C in section 4.1.

5. 引用文献

- 1) 本間之夫; 柿崎秀宏; 後藤百万; 武井実根雄; 山西友典; 林邦彦; 排尿に関する疫学的研究委員会. 排尿に関する疫学的研究. *日本排尿機能学会誌* **2003**, *14*, 266–277.
- 2) Edmondson, S. D.; Zhu, C.; Kar, N. F.; Di Salvo, J.; Nagabukuro, H.; Sacre-Salem, B.; Dingley, K.; Berger, R.; Goble, S. D.; Morriello, G.; Harper, B. Discovery of Vibegron: A Potent and Selective β_3 Adrenergic Receptor Agonist for the Treatment of Overactive Bladder. *J. Med. Chem.* **2016**, *59*, 609–623.
- 3) Thiagamoorthy, G.; Giarenis, I.; Cardozo, L. Early Investigational β_3 Adreno-receptor Agonists for the Management of the Overactive Bladder Syndrome. *Expert Opin. Invest. Drugs* **2015**, *24*, 1299–1306.
- 4) Igawa, Y.; Michel, M. C. Pharmacological Profile of β_3 -Adrenoceptor Agonists in Clinical Development for the Treatment of Overactive Bladder Syndrome. *Naunyn-Schmiedebergs Arch. Pharmacol.* **2013**, *386*, 177–183.
- 5) Andersson, K.E.; Martin, N.; Nitti, V. Selective β_3 -Adrenoceptor Agonists for the Treatment of Overactive Bladder. *J. Urol.* **2013**, *190*, 1173–1180.
- 6) Maruyama, I.; Goi, Y.; Tatemichi, S.; Maruyama, K.; Hoyano, Y.; Yamazaki, Y.; Kusama, H. Bladder Selectivity of the Novel β_3 -Agonist Ritobegron (KUC-7483) Explored by in vitro and in vivo Studies in the Rat. *Naunyn Schmiedebergs Arch. Pharmacol.* **2012**, *385*, 845–852.
- 7) Maruyama, I.; Tatemichi, S.; Goi, Y.; Maruyama, K.; Hoyano, Y.; Yamazaki, Y.; Kusama, H. Effect of Ritobegron (KUC-7483), Novel Selective β_3 -Adrenoceptor Agonist, on the Bladder Function in Cynomolgus Monkey. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **2012**, *342*, 163–168.
- 8) Sugiyama, T.; Fujishima, A.; Umetani, A.; Matsunaga, N.; Omori, Y.; Seko, N. Process for Production of Optically Active Benzylamine derivative. Patent WO2007/000918, 2007.
- 9) Yamaguchi, T.; Ban, M.; Yanagi, T.; Kikuchi, K.; Kubota, M.; Ozawa, T. Phenol Derivatives and the Methods of Use Thereof. Patent WO2004/005251, 2004.
- 10) Nishiyama, A.; Kishimoto, N.; Nagashima, N. Process for Producing Optically Active β -Amino Alcohol. Patent WO2003/104186, 2003.

- 11) Mizusuna, A.; Yoshihara, H.; Miyata, R. Method for Producing Optically Active Aminoalcohol. Patent JP 2003/327564, 2003.
- 12) Tsunoda, H.; Okumura, K.; Otsuka, K. Optically Active Amine Derivative and Method of Synthesis. Patent WO 2002/038532, 2002.
- 13) Tanaka, N.; Tamai, T.; Mukaiyama, H.; Hirabayashi, A.; Muranaka, H.; Sato, M.; Akahane, M. Phenoxyacetic Acid Derivatives and Medical Compositions Containing the Same. Patent WO 2000/002846, 1999.
- 14) Wilhelm, D.; Esmard, F. New Phenolic Compounds Derived from Dialkoxyethanols, Their Preparation Process and Their Application. Patent EP1125908, 2001.
- 15) Olah, G. A.; Narang, S. C. Iodotrimethylsilane –A Versatile Synthetic Reagent. *Tetrahedron* **1982**, *38*, 2225–2277.
- 16) Sakai, T.; Miyata, K.; Utaka, M.; Takeda, A. Me₃SiCl–NaI–CH₃CN as an Efficient and Practical Reducing Agent for Benzylic Alcohols. *Tetrahedron Lett.* **1987**, *28*, 3817–3818.
- 17) Sakai, T.; Miyata, K.; Tsuboi, S.; Takeda, A.; Utaka, M.; Torii, S. A Convenient Reductive Removal of Benzylic Hydroxyl and Trimethylsilyloxyl Groups with Me₃SiCl–NaI–CH₃CN Reagent. *Bull. Chem. Soc. Jpn.* **1989**, *62*, 3537–3541.
- 18) Jung, M. E.; Andrus, W. A.; Ornstein, P. L. Non-aqueous Conversion of Ketals to Ketones via Treatment with Trimethylsilyl Iodide. *Tetrahedron Lett.* **1977**, *48*, 4175–4178.