

(19)日本国特許庁(JP)

(12)特許公報(B2)

(11)特許番号

特許第7636788号
(P7636788)

(45)発行日 令和7年2月27日(2025. 2. 27)

(24)登録日 令和7年2月18日(2025. 2. 18)

(51)Int. Cl.	F I
C 0 7 D 471/04 (2006. 01)	C 0 7 D 471/04 1 0 2
A 6 1 P 43/00 (2006. 01)	A 6 1 P 43/00 1 1 1
A 6 1 K 31/4745 (2006. 01)	A 6 1 K 31/4745
C 0 7 B 61/00 (2006. 01)	C 0 7 B 61/00 3 0 0

請求項の数 3 (全 12 頁)

(21)出願番号	特願2021-85011(P2021-85011)	(73)特許権者	598096991
(22)出願日	令和3年5月20日(2021. 5. 20)		学校法人東京農業大学
(65)公開番号	特開2022-178298(P2022-178298A)		東京都世田谷区桜丘1丁目1番1号
(43)公開日	令和4年12月2日(2022. 12. 2)	(74)代理人	100113022
審査請求日	令和6年4月24日(2024. 4. 24)		弁理士 赤尾 謙一郎
		(72)発明者	松島 芳隆
			東京都世田谷区桜丘一丁目1番1号 東京
			農業大学内
		(72)発明者	舟久保 明香
			東京都世田谷区桜丘一丁目1番1号 東京
			農業大学内
		審査官	松澤 優子

最終頁に続く

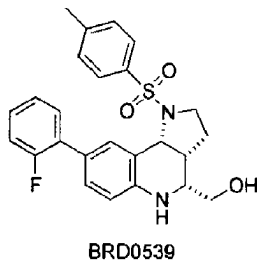
(54)【発明の名称】低分子化合物BRD0539の合成方法

(57)【特許請求の範囲】

【請求項1】

下式(化1)

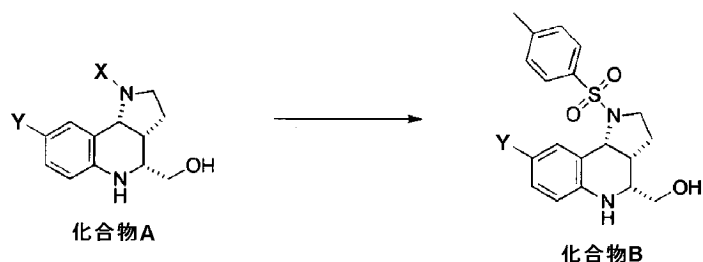
【化1】



で表される化合物BRD0539を合成する方法であって、

(i) 第1段階：下式(化2)に示すように、溶液中に下記化合物Aを用意し、該化合物Aのアミノ基の保護基Xを脱保護した後、アミン類の存在下で下記化合物Aにp-トルエンシルホニルクロライド(TsCl)又はp-トルエンシルホン酸無水物を反応させて、化合物Bを合成する段階、及び

【化2】

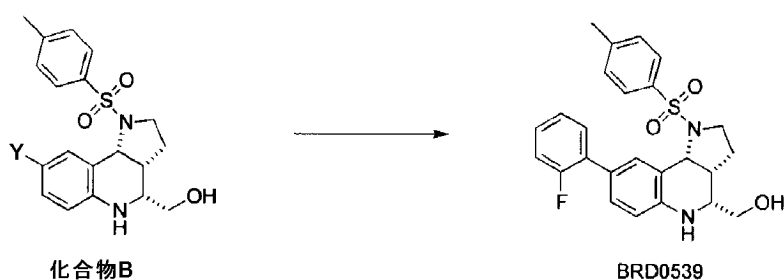


(式中、Xはアミノ基の保護基、Yはハロゲン原子又はトリフラート(TfO)を表す。以下同じ。)

10

(ii) 第2段階：下式(化3)に示すように、溶液中で、該化合物Bに2-フルオロフェニルボロン酸若しくはそのエステル又は2-フルオロフェニルトリフルオロボレート塩を反応させて、化合物BRD0539を合成する段階、

【化3】



から成る方法。

【請求項2】

前記第1段階と第2段階を以下のいずれかの方法で行う、請求項1に記載の方法。

(1) 第1段階の反応生成物である化合物Bを抽出して精製したのちに、別途この化合物Bを用いて第2段階を進める。

(2) 第1段階の反応生成物である化合物Bを抽出せずに第2段階を行う。

30

【請求項3】

前記アミノ基の保護基Xが、9-フルオレニルメチルオキシカルボニル(Fmoc)基、tert-ブトキシカルボニル(Boc)基、又はベンジルオキシカルボニル(Cbz)基、2-ニトロベンゼンスルホニル(ノシル)(Ns)基である請求項1又は2に記載の方法。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

この発明は、CRISPR-Cas9の阻害剤である低分子化合物BRD0539の新規な合成方法に関する。

【背景技術】

40

【0002】

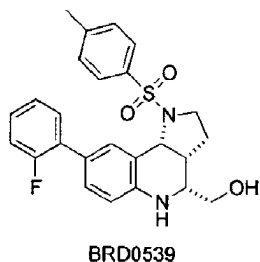
CRISPR-Cas9は、外来性ウイルスやプラスミドへの獲得免疫を与える微生物の適応免疫システムとして、細菌や古細菌において発見されたものであり、細菌がウイルスの侵入した際にウイルスの遺伝子を自分の遺伝子の中に取りこんで記憶し、同じウイルスが再度侵入した場合、その遺伝子を切断し排除するという免疫機構である(非特許文献1等)。これを応用することでDNAの任意の塩基配列を認識し、その部分を削除・置換することができ、従来のもよりも高精度で簡便なゲノム編集技術として注目されている(非特許文献2, 3等)。

一方、2019年にCRISPR-Cas9の阻害剤となる低分子化合物BRD0539(化1)が発見された(非特許文献4)。この阻害剤であるBRD0539を用いれば、CRISPR-Cas9の活性をより正確

50

に制御することが可能になる。

【化1】

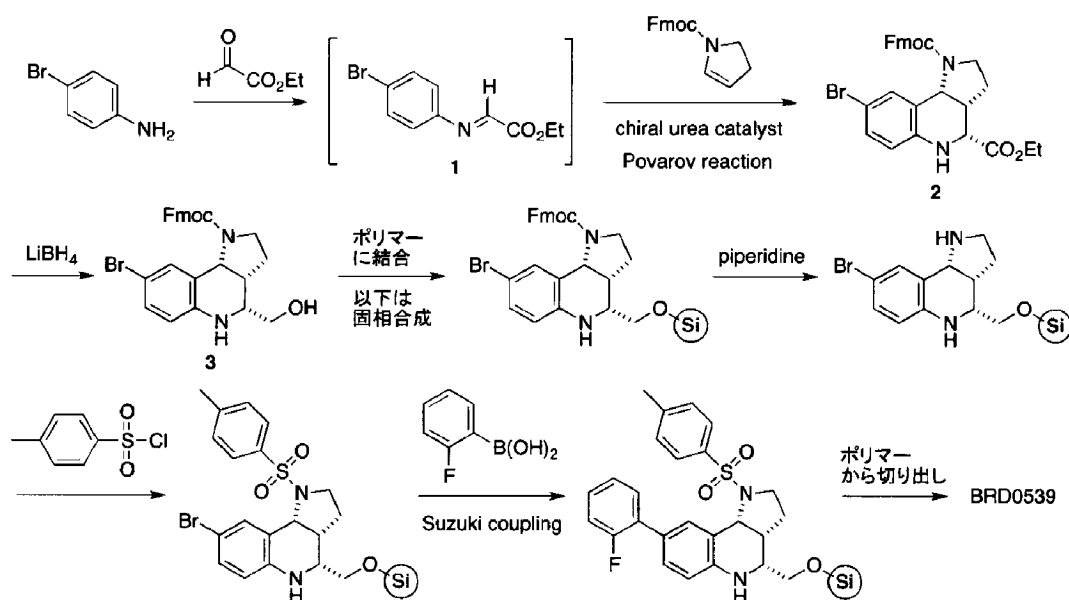


【0003】

BRD0539の合成経路は既に報告されている（非特許文献5、特許文献1等）。

最初に報告されたBRD0539の合成方法（非特許文献5）の概要を、下式（化4）に示す。即ち、4-ブロモアニリンを出発物質とし、Povarov反応により三環性の化合物2を合成し、その後還元により化合物3に変換する。化合物3以降の変換反応（Fmoc基の脱保護、N-トシル化（スルホンアミド化）、鈴木・宮浦カップリング）は固相合成で行なわれている。この合成方法においては、化合物3以後の変換において、ポリマー（Si）に固定されることでヒドロキシ基が保護されている。

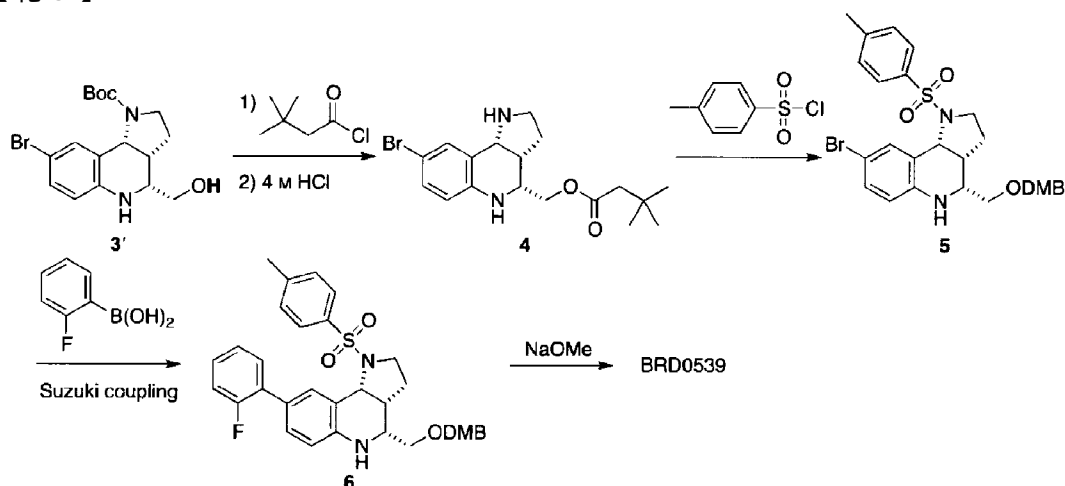
【化4】



【0004】

その後報告された方法（特許文献1）では、下式（化5）に示すように、先の合成経路を基本とし、化合物3に相当する化合物をN-Boc体3'(93 % e.e.)として得た後、ヒドロキシ基を3,3-ジメチルブチリル（DMB）基で保護した化合物を用いて以後の変換（脱Boc、トシル化、鈴木・宮浦カップリング、脱DMB）を行う。この合成方法においては、ヒドロキシ基をDMB基で保護してその後の変換を行っている。

【化 5】



【先行技術文献】

【特許文献】

【0005】

【特許文献1】国際公開W02020/068304

【非特許文献】

【0006】

【非特許文献1】Science, 2007, 315, 1709-1712.

【非特許文献2】Science, 2012, 337, 816-821.

【非特許文献3】Nature Biotechnology, 2014, 32, 347-355.

【非特許文献4】Cell, 2019, 177, 1067-1079.e19.

【非特許文献5】ACS Comb. Sci. 2012, 14, 621-630. (ACS Comb. Sci. 2014, 16, 46-4

6.に修正あり)

【発明の概要】

【発明が解決しようとする課題】

【0007】

CRISPR-Cas9の阻害剤であるBRD0539を用いれば、CRISPR-Cas9の活性をより正確に制御することができるため、BRD0539の合成が簡易になって入手が容易になれば、その合成方法の有用性は高い。

しかし、既報告のBRD0539の合成経路（非特許文献5、特許文献1等）は、全て出発物質（上記化学式（化4）では化合物3）のヒドロキシ基（最終生成物であるBRD0539の4位のヒドロキシメチル基のヒドロキシ基に相当する）を保護することにより行われており、工程も多く複雑であり、改善を要すると考えられた。

そのため、本発明は、従来のBRD0539の合成経路より効率のよい合成経路を提供することを目的とする。

【課題を解決するための手段】

【0008】

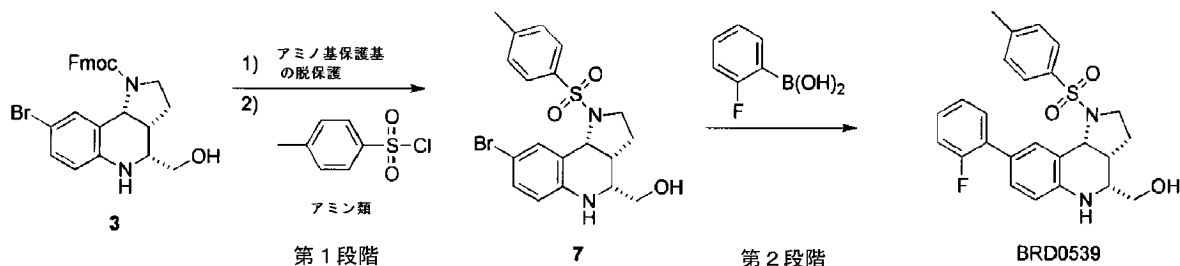
本発明者は、鋭意努力の結果、下式（化6）に示すように、従来の合成方法と異なり、出発物質（ここでは化合物3）のヒドロキシ基を保護することなしに、より効率的な合成を達成した。

20

30

40

【化6】



まず、第1段階で、出発物質（化合物3）のアミノ基の保護基（ここではFmoc基）を脱保護した反応液に、アミン類（ピリジン）とトシルクロリド（TsCl）を加えてトシル化したところ（One-pot反応）、目的の化合物7を収率よく得ることに成功した（73%）。次に、第2段階の鈴木・宮浦カップリング反応においても、ヒドロキシ基を保護せずとも高収率（94%）で反応が進行し、目的のBRD0539を得ることができた。この合成経路は、化合物3から2段階で、BRD0539を収率69%で得ることができ、大変効率の良い合成法といえる。

10

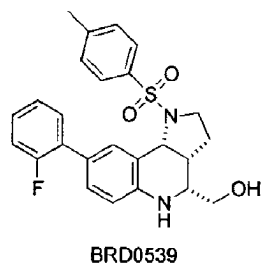
即ち、本発明者は、出発物質である下記化合物Aのヒドロキシ基を反応の全工程に渡って保護せずに、この反応を行うことができることを見出し、少ない工程で容易にBRD0539を合成することのできる経路を開発することに成功した。

【0009】

即ち、本発明は、下式（化1）

20

【化1】

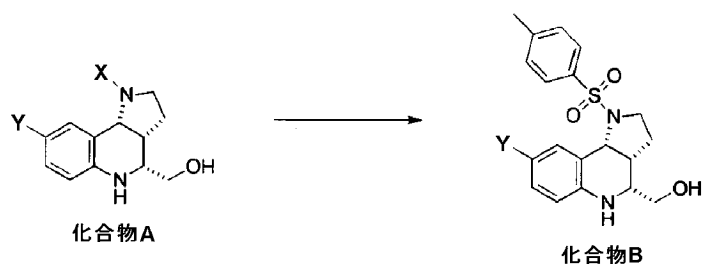


で表される化合物BRD0539を合成する方法であって、

30

(i) 第1段階：下式（化2）に示すように、溶液中に下記化合物Aを用意し、該化合物Aのアミノ基の保護基Xを脱保護した後、アミン類の存在下で下記化合物Aにp-トルエンシルホニルクロライド（TsCl）又はp-トルエンシルホン酸無水物を反応させて、化合物Bを合成する段階、及び

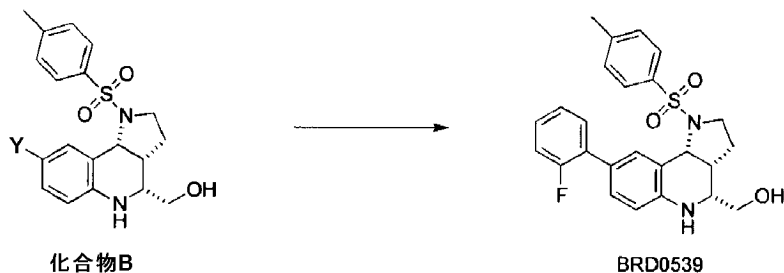
【化2】



（式中、Xはアミノ基の保護基、Yはハロゲン原子又はトリフラート（TfO）を表す。以下同じ。）

(ii) 第2段階：下式（化3）に示すように、溶液中で、該化合物Bに2-フルオロフェニルボロン酸若しくはそのエステル又は2-フルオロフェニルトリフルオロボレート塩を反応させて、化合物BRD0539を合成する段階、

【化3】



から成る方法である。

【発明を実施するための最良の形態】

【0010】

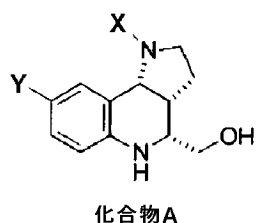
本発明は、低分子化合物BRD0539を合成する方法であって、以下に説明する2段階から成る。

【0011】

(i) 第1段階：

(a) まず下記化合物Aの溶液を用意する。この化合物Aは下式(化7)で表される。

【化7】



式中、Xはアミノ基の保護基を表す。

【0012】

下記に、このアミノ基の保護基の例とその脱保護方法を挙げる。ただし、本発明の化合物Aのアミノ基の保護基としては、これらに限定される必要はない。

(a) 9-フルオレニルメチルオキシカルボニル(Fmoc)基 -- フッ化テトラブチルアンモニウム(TBAF)、ピペリジンなどのアミンや塩基により処理することにより脱保護できる。

(b) tert-ブトキシカルボニル(Boc)基 -- トリフルオロ酢酸や塩酸-酢酸エチル溶液などの強酸性条件下で脱保護できる。

(c) ベンジルオキシカルボニル(Cbz)基 -- パラジウムを触媒とした水素添加反応、パーチ還元などで脱離できる。

(d) 2-ニトロベンゼンスルホニル(Ns)基 -- 塩基性条件下チオールを作用させることで脱保護できる。

(e) 2,2,2-トリクロロエトキシカルボニル(Troc)基 -- 亜鉛粉末-酢酸などを作用させることで脱保護できる。

(f) アリルオキシカルボニル(Alloc)基 -- パラジウム触媒存在下、アミンなどを加えて脱保護できる。

(g) トリフルオロアセチル(CF₃CO-)基 -- 水酸化ナトリウム水溶液などの処理により脱離できる。

(h) p-トルエンシルホニル(Ts)基 -- パーチ還元などにより脱離できる。

(i) 2-(トリメチルシリル)エトキシカルボニル(Teoc)基 -- フッ化テトラブチルアンモニウム(TBAF)などの含フッ素化合物(フッ化物イオン)により処理することにより脱保護できる。

【0013】

本発明で用いる場合、これらの中で、9-フルオレニルメチルオキシカルボニル(Fmoc)

基、tert-ブトキシカルボニル(Boc)基、ベンジルオキシカルボニル(Cbz)基、2-ニトロベンゼンスルホニル(ノシル)(Ns)基が好ましい。

また上式中、Yはハロゲン原子又はトリフラート(TfO)を表す。

溶液の溶媒としては、THFやジオキサンなどのエーテル系の有機溶媒が好ましい。

反応溶液中の化合物Aの濃度は、好ましくは、約10 mM~500 mMである。

【0014】

(b)次に、この化合物Aのアミノ基の保護基Xを脱保護する。適切な脱保護方法は保護基により異なり、その方法は上記に挙げた。例えば、実施例で用いたFmoc基をTBAFを用いて脱保護する場合のTBAFの濃度は約0.01mM~1M程度である。

なお、この脱保護は、通常温度0~60 で1~数時間程度で完了するが、次の反応に進む前に、この脱保護が進んだことを確認することが好ましい。具体的には、例えば、薄層クロマトグラフィー(TLC)により、UVランプ照射や発色剤などを用いて、原料の消失を確認する。この脱保護の程度は、完全に原料が消失することが好ましいが、完全でなくともほとんどの原料が消失する程度でもよい。

10

【0015】

(c)次に、脱保護されたアミノ基を有する化合物Aのそのままの反応液に、アミン類の存在下でp-トルエンスルホニルクロライド(TsCl)又はp-トルエンスルホン酸無水物を加えて、トシル化(スルホンアミド化)する。

このアミン類としては、ピリジン、トリエチルアミン、ジイソプロピルエチルアミン、イミダゾール、1,8-ジアザビシクロ[5.4.0]ウンデカ-7-エン(DBU)、1,4-ジアザビシクロ[2.2.2]オクタン(DABCO)などを使用できる。

20

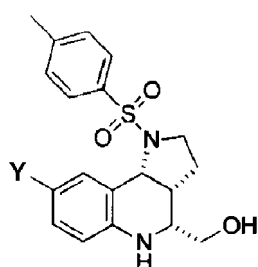
この反応は通常0~60 程度、好ましくは室温で行い、反応時間は数時間~数日程度である。圧は一般的には常圧である。この他の反応条件として、無水条件(アルゴンや窒素雰囲気下、塩化カルシウム管を取り付ける、など)が好ましい。

用いるアミン類、TsCl、p-トルエンスルホン酸無水物の反応液中の濃度は、それぞれ約10 mM~10 M程度、好ましくは約10 mM~500 mM程度である。

【0016】

その結果、下式で表される化合物Bが生成する。

【化8】



化合物B

【0017】

(ii) 第2段階:

40

この段階では、溶液中で、化合物Bに2-フルオロフェニルボロン酸若しくはそのエステル又は2-フルオロフェニルトリフルオロボレート塩を反応させる。この反応は、いわゆる鈴木・宮浦カップリングであり、通常パラジウム触媒と塩基を用いる。反応条件は鈴木・宮浦カップリングの通常の条件を用いることができる。パラジウム触媒としては、テトラキス(トリフェニルホスフィン)パラジウム、トリス(ジベンジリデンアセトン)ジパラジウム、パラジウムカーボン、酢酸パラジウム、[1,1'-ビス(ジフェニルホスフィノ)フェロセン]二塩化パラジウム、ジクロロビス(トリシクロヘキシルホスフィン)パラジウム、クロロ(2-ジシクロヘキシルホスフィノ-2',4',6'-トリイソプロピル-1,1'-ビフェニル)[2-(2'-アミノ-1,1'-ビフェニル)]パラジウム(II)などが挙げられるが、これらに限定されない。また、パラジウム触媒の代わりに、[1,1'-ビス(ジフェニルホスフィノ)フェロ

50

セン]ジクロロニッケル、塩化ニッケル、ビス(1,5-シクロオクタジエン)ニッケルなどのニッケル触媒を使用することもできる。塩基としては、例えば、ナトリウムメトキシド、炭酸水素ナトリウム、炭酸カリウム、炭酸ナトリウム、水酸化ナトリウム、フッ化セシウム、水酸化タリウム、リン酸三カリウム水和物などが用いられるがこれに限定されない。反応液中の塩基と触媒の濃度は、それぞれ、10 mM ~ 500 mM程度である。

溶媒としては、THFなどのエーテル系の有機溶媒のほか水を用いることもできる。

【0018】

反応溶液中の化合物Bの濃度は、好ましくは、約10 mM ~ 500 mMである。

反応物としては、2-フルオロフェニルボロン酸若しくはそのエステル又は2-フルオロフェニルトリフルオロボレート塩が用いられる。このエステルとしては、ピナコールエステル(pin)、トリメチレングリコールエステル、ジイソプロピルエステル、カテコールエステル、ネオペンチルグリコールエステルなど、2-フルオロフェニルトリフルオロボレート塩としては、そのカリウム塩、そのテトラブチルアンモニウム塩などが挙げられるが、これらに限定されない。反応溶液中のこれらの反応物の濃度は10 mM ~ 500 mM程度である。

この反応は通常0 ~ 60 程度、好ましくは室温で行い、反応時間は数時間 ~ 数日程度である。圧は一般的には常圧である。この他の反応条件として、無水条件(アルゴンや窒素雰囲気下、塩化カルシウム管を取り付ける、など)が好ましい。

その結果、低分子化合物BRD0539が得られる。

【0019】

これら第1段階と第2段階を以下のいずれかの方法で行ってもよい。

(1) 第1段階の反応生成物である化合物Bを抽出して精製したのちに、別途この化合物Bを用いて第2段階を進める。

(2) 第1段階の反応生成物である化合物Bを抽出せずにそのまま第2段階を行う。

【実施例】

【0020】

以下、実施例にて本発明を例証するが本発明を限定することを意図するものではない。

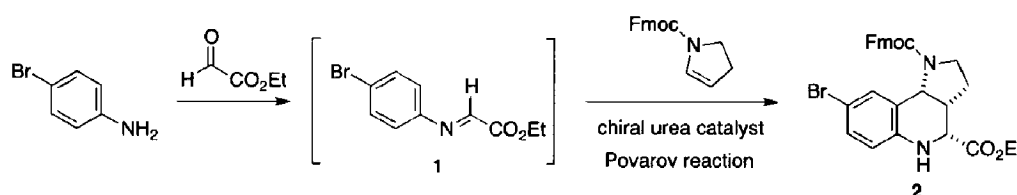
以下の実施例中、融点はYanaco MP-500Pで測定した未補正の値である。NMRスペクトルはJEOL ECX 400分光計で測定した($^1\text{H-NMR}$: 399.8 MHz, $^{13}\text{C-NMR}$: 100.5 MHz)。 ^1H 及び ^{13}C NMRスペクトルの化学シフトの報告値は、内部標準物質テトラメチルシラン($\delta = 0$)あるいは溶媒のシグナル(CDCl_3 , $\delta = 77.0$)を基準として報告した。IRスペクトルはFT IR分光計(島津製作所製 Prestige-21)にて測定した。旋光度はRudolph Research Analytical社のAUTOPOL 4Tにて測定し、比旋光度の値を $10^{-1} \text{ deg cm}^2 \text{ g}^{-1}$ の単位で報告した。HRMS(高分解能質量スペクトル)は質量分析装置(アジレント・テクノロジー株式会社製6530C qTOF) ESIポジティブモードにて測定した。フラッシュカラムクロマトグラフィー/シリカゲルカラムクロマトグラフィーは全て関東化学のシリカゲル60N(spherical, neutral, 40-50 mm)を用いて行った。薄層クロマトグラフィーにはMerck Kieselgel 60 F254を用いた。

【0021】

製造例 1

本製造例では、(3aR,4R,9bR)-1-((9H-fluoren-9-yl)methyl) 4-ethyl 8-bromo-3,3a,4,5-tetrahydro-1H-pyrrolo[3,2-c]quinoline-1,4(2H,9bH)-dicarboxylate (化合物2)を合成した。本製造例の反応式を以下に示す。

【化9】



10

20

30

40

アルゴン雰囲気下、無水硫酸マグネシウム (0.312 g) に2-オキソ酢酸エチル (東京化成工業株式会社製) (47 %トルエン溶液, 1.37 g, 5.53 mmol) を加え0 に冷却した。4-プロモアニリン (東京化成工業株式会社製) (0.793 g, 4.61 mmol) の無水トルエン (富士フィルム和光純薬株式会社製) (9.5 mL) 溶液をシリンジポンプで30分かけて加え、0 で1時間攪拌した。反応液を吸引ろ過、減圧濃縮することで中間体イミン (化合物1) を得た。これにトルエンを加え留去した (共沸によって水を除去) 後、続く反応を行った。アルゴン雰囲気下、化合物1を無水トルエン (27.3 mL) に溶解し、キラル尿素触媒 (R)-N-[(1R,2R)-2-(3-(3,5-ビス(トリフルオロメチル)フェニル)ウレイド)シクロヘキシル]-tert-ブチル-スルフィアミド (Sigma-Aldrich社製) (0.0871 mg, 0.184 mmol) と粉末状の5 モレキュラーシーブス (0.0792 g)、(9H-フルオレン-9-イル)メチル 2,3-ジヒドロ-1H-ピロール-1-カルボキシレート (自作) (1.65 g, 5.94 mmol) の無水トルエン (9.5 mL) 溶液を加え、室温で5分攪拌した。反応液を-65 に冷却した後、無水のp-トルエンスルホン酸 (0.0158 g, 0.0917 mmol) の無水THF (富士フィルム和光純薬株式会社製) (200 μ L) 溶液を少量ずつ加え-65 で1時間攪拌した。反応液を減圧濃縮することにより反応を終了させ粗生成物を得た。粗生成物をフラッシュカラムクロマトグラフィー (ヘキサン : EtOAc = 1 : 1, シリカゲル 407 g) により精製し、化合物2 (1.78 g, 収率70 %) を得た。

10

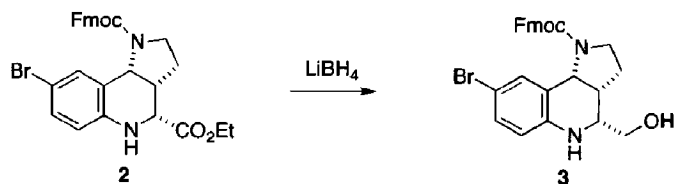
【 0 0 2 2 】

製造例 2

本製造例では、化合物2 から(3aR,4R,9bR)-(9H-fluoren-9-yl)methyl 8-bromo-4-(hydroxymethyl)-2,3,3a,4,5,9b-hexahydro-1H-pyrrolo[3,2-c]quinoline-1-carboxylate (化合物3)を合成した。本製造例の反応式を以下に示す。

20

【 化 1 0 】



アルゴン雰囲気下、製造例1で得た化合物2 (2.12 g, 3.88 mmol) を無水THF (富士フィルム和光純薬株式会社製) (39 mL) に溶解し0 に冷却した後、LiBH₄ in THF (関東化学株式会社製) (2.0 M, 2.9 mL, 5.8 mmol) を加え室温までゆっくりと温度を上げ、室温で3時間攪拌した。sat. NH₄Cl aq. (ca. 20 mL) を加え反応を終了させEtOAc (ca. 15 mL) で2回抽出した。抽出した有機層を飽和食塩水 (ca. 20 mL) で洗い、MgSO₄で乾燥させた後、吸引ろ過、減圧濃縮することで粗生成物を得た。粗生成物をフラッシュカラムクロマトグラフィー (ヘキサン : EtOAc = 1 : 1, シリカゲル 407 g) により精製し、化合物3 (1.19 g, 82 % e.e, 収率74 %) を得た。これらはベンゼン : CH₂Cl₂ = 9 : 1によって二回再結晶を行うことで99 % e.eの化合物3 (0.996 g) を得た。(Chiral OJ-H column, MeOH : EtOH = 1 : 1, 1.0 mL/min, 210 nm; 保持時間 : timemajor = 6.64 and timeminor = 5.91 min.)

30

化合物3: mp 107.8-110.1 ; [D_{20.0}] +135.6° (c 0.980, CHCl₃); ¹H-NMR (399.8 MHz, CDCl₃): = 7.77 (d, 1 H, J = 7.3 Hz), 7.71 (d, 1 H, J = 1.8 Hz), 7.67-7.59 (m, 2 H), 7.47-7.37 (m, 3 H), 7.36-7.28 (m, 2 H), 7.10 (dd, 1 H, J = 2.3, 8.7 Hz), 6.40 (d, 1 H, J = 8.7 Hz), 5.25 (d, 0.7 H, J = 7.3 Hz), 5.09 (d, 0.3 H, J = 6.7 Hz), 4.57-4.46 (m, 1 H), 4.46-4.37 (m, 1 H), 4.37-4.18 (m, 2 H), 3.84-3.72 (m, 1 H), 3.71-3.50 (m, 2 H), 3.50-3.34 (m, 1 H), 2.41-2.29 (m, 1 H), 2.01 (quin, 1 H, J = 11.1 Hz), 1.94-1.75 (m, 2 H), 1.64 (s, 1 H) ppm; ¹³C-NMR (100.5 MHz, CDCl₃): = 156.6, 143.9, 143.9, 142.1, 141.3, 132.6, 131.1, 130.9, 127.7, 127.3, 127.0, 125.0, 125.0, 124.8, 124.2, 119.9, 116.2, 110.1, 67.8, 67.5, 65.0, 56.4, 56.2, 52.7, 52.4, 47.3, 47.2, 45.1, 38.9, 38.4, 34.9, 22.6, 21.6; Anal. Calcd for

40

50

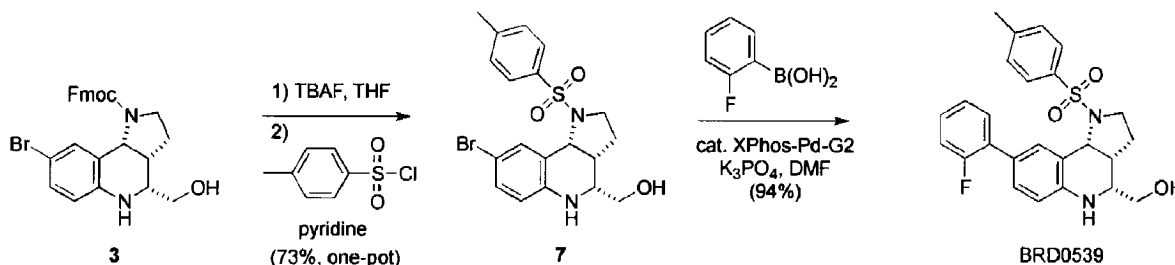
C₂₇H₂₅BrN₂O₃: C, 64.16; H, 4.49; N, 5.54. HRMS (ESI+) Calcd for C₂₇H₂₅BrN₂O₃ [M+H]⁺: 505.1127, found: 505.1126.

【 0 0 2 3 】

実施例 1

本実施例では、化合物 3 から 2 段階で BRD0539 を合成した。本実施例の反応式を以下に示す。

【 化 1 1 】



【 0 0 2 4 】

第 1 段階：化合物 3 から ((3aR,4R,9bR)-8-bromo-1-tosyl-2,3,3a,4,5,9b-hexahydro-1H-pyrrolo[3,2-c]quinolin-4-yl)methanol (化合物 7) を合成した。

アルゴン雰囲気下、製造例 2 で得た化合物 3 (1.08 g, 2.14 mmol) を無水 THF (富士フィルム和光純薬株式会社製) (79.3 mL) に溶解し、TBAF in THF (Sigma-Aldrich 社製) (1.0 M, 4.3 mL, 4.3 mmol) を加え、室温で 2 時間攪拌した。TLC により原料の消失を確認した後、脱水ピリジン (関東化学株式会社製) (13.7 mL) を加えた後、0 に冷却し TsCl (p-トルエンスルホニルクロリド (又はトシルクロリドともいう) / 東京化成工業株式会社製) (0.612 g, 3.21 mmol) を加え室温で 3 時間攪拌した。その後、TsCl (0.312 g, 1.63 mmol) を追加した後 15 時間、さらに TsCl (0.502 g, 2.63 mmol) を加え 2 時間攪拌した後、水 (ca. 100 mL) を加え反応を停止、しばらく攪拌した後、CH₂Cl₂ (ca. 30 mL) で 3 回抽出した。抽出した有機層を飽和食塩水 (ca. 100 mL) で洗い、MgSO₄ で乾燥させた後、吸引ろ過、減圧濃縮することで粗生成物を得た。この粗生成物をフラッシュカラムクロマトグラフィー (ヘキサン : EtOAc = 1 : 3, シリカゲル 407 g) により精製し、化合物 7 (0.683 g, 収率 73 %) を得た。分析用サンプルは再結晶 (EtOAc) によって得た。

化合物 7: mp 207.2-208.5 ; [α]_D^{20.0} +103 ° (c 1.07, CHCl₃); ¹H-NMR (CDCl₃/TMS):

= 7.82 (s, 1 H), 7.78 (d, 2 H, J = 8.2 Hz), 7.36 (d, 2 H, J = 7.8 Hz), 7.12 (d, 1 H, J = 8.7 Hz), 6.39 (dd, 1 H, J = 1.1, 8.7 Hz), 5.00 (d, 1 H, J = 7.3 Hz), 4.19 (brs, 1 H), 3.63 (d, 1 H, J = 7.3 Hz), 3.55-3.44 (m, 2 H), 3.34-3.36 (m, 1 H), 2.46 (s, 3 H), 1.92 (quin, 1 H, J = 9.7 Hz), 1.77-1.63 (m, 2 H) ppm; ¹³C-NMR (CDCl₃/TMS): = 143.8, 143.2, 135.0, 133.4, 131.1, 129.9, 127.6, 122.4, 116.2, 110.5, 65.0, 58.9, 52.5, 47.2, 38.3, 23.1, 21.6; Anal. Calcd for C₁₉H₂₁BrN₂O₃

S: C, 52.18; H, 4.89; N, 6.41. Found: C, 52.04; H, 4.82; N, 6.31 %.

【 0 0 2 5 】

第 2 段階：化合物 7 から ((3aR,4R,9bR)-8-(2-fluorophenyl)-1-tosyl-2,3,3a,4,5,9b-hexahydro-1H-pyrrolo[3,2-c]quinolin-4-yl)methanol (BRD0539) を合成した。

アルゴン雰囲気下、第 1 段階で得た化合物 7 (0.683 g, 1.56 mmol) を THF (52.0 mL) に溶解し、蒸留水 (17.3 mL) を加えたのち、2-フルオロフェニルボロン酸 (東京化成工業株式会社製) (0.363 g, 2.34 mmol)、K₃PO₄ · nH₂O (リン酸三カリウム水和物 76.7 %, 1.12 g, 4.05 mmol)、及びパラジウム触媒 (クロロ(2-ジシクロヘキシルホスフィノ)-2',4',6'-トリイソプロピル-1,1'-ビフェニル)[2-(2'-アミノ-1,1'-ビフェニル)]パラジウム (II) / Sigma-Aldrich 社製 X-Phos Pd-G2) (0.0614 g, 0.0781 mmol) を加え室温で 3 時間攪拌した。反応混合液を EtOAc (ca. 20 mL) で三回抽出し、有機層を Na₂SO₄ で乾燥させた後、吸引ろ過、減圧濃縮することで粗生成物を得た。粗生成物をフラッシュカラムクロマトグラフィー (ヘキサン : EtOAc = 1 : 2, シリカゲル 212 g) により精製し、BRD0539 (0.

661 g, 収率94 %)を得た。分析用サンプルは再結晶 (MeOH) によって得た。

BRD0539: mp 101.2.0-104.4 ; [α]_D20.0 105 ° (c 0.960, CHCl₃); ¹H-NMR (CDCl₃/TMS)

: δ = 7.90 (s, 1 H), 7.79 (d, 2 H, J = 7.8 Hz), 7.43 (t, 1 H, J = 7.8 Hz), 7.36-7.27 (m, 3 H), 7.25-7.04 (m, 3 H), 6.56 (d, 1 H, J = 8.2 Hz), 5.09 (d, 1 H, J = 7.3 Hz), 4.28 (brs, 1 H), 3.62 (dd, 3 H, J = 2.3, 9.2 Hz), 3.58-3.42 (m, 2 H), 3.42-3.25 (m, 2 H), 2.43 (s, 3 H), 1.98 (quin, 1 H, J = 10.6 Hz), 1.87-1.73 (m, 1 H), 1.71-1.57, (m, 2 H) ppm; ¹³C-NMR (CDCl₃ / TMS): δ = 159.7 (d, J = 246.4 Hz), 143.6, 142.9, 135.2, 131.3 (d, J = 1.9 Hz), 130.4 (d, J = 3.8 Hz), 129.9, 129.0 (d, J = 4.8 Hz), 127.9 (d, J = 7.6 Hz), 127.6, 126.2, 124.3 (d, J = 3.8 Hz), 120.5, 116.0, 115.8, 114.5, 65.1, 59.2, 52.6, 47.2, 38.7, 23.2, 21.5; Anal. Calcd for C₂₇H₂₅BrN₂O₃: C, 66.35; H, 5.57; N, 6.19. Found: C, 66.34; H, 5.73; N, 6.15 %.

フロントページの続き

(56)参考文献 国際公開第2020/068304(WO, A1)

Cell, 2019年, Vol.177, pp.1067-1079

ACS Combinatorial Science, 2012年, Vol.14, pp.621-630

(58)調査した分野(Int.Cl., DB名)

C07D

A61P

A61K

CAPLUS/REGISTRY(STN)

CASREACT(STN)

JSTPLUS/JMEDPLUS/JST7580(JDreamIII)