

含窒素 5,6-縮合複素環を母核とする
VEGFR-2 キナーゼ阻害薬開発における
プロセス化学研究

2016

石本和久

目次

略語表

緒論	1
本論	7
第 1 章 イミダゾ[1,2- <i>b</i>]ピリダジン-2-アミン骨格を有する VEGFR-2 キナーゼ阻害薬開発におけるプロセス化学研究	7
第 1 節 序論	7
第 2 節 VEGFR-2 キナーゼ阻害薬候補化合物 1 と 2 のプロセス化学研究	8
第 3 節 結論	21
第 2 章 [1,2,4]トリアゾロ[1,5- <i>a</i>]ピリジン-2-アミン骨格を有する VEGFR-2 キナーゼ阻害薬開発におけるプロセス化学研究	24
第 1 節 序論	24
第 2 節 VEGFR-2 キナーゼ阻害薬候補化合物 3 のプロセス化学研究	25
第 3 節 結論	45
第 3 章 1-(ピリジン-2-イル)グアニジン誘導体の酸化的閉環反応による[1,2,4]トリアゾロ[1,5- <i>a</i>]ピリジン-2-アミン誘導体の新規合成法の開発	48
第 1 節 序論	48
第 2 節 1-(ピリジン-2-イル)グアニジン誘導体の酸化的閉環反応の研究	49
第 3 節 結論	59
結語	60
謝辞	62
実験の部	63
第 1 章の実験	63
第 2 章の実験	68
第 3 章の実験	76
参考文献およびノート	93

略語表

Ac	acetyl
Ac ₂ O	acetic anhydride
AcOH	acetic acid
API	active pharmaceutical ingredients
AUC	area under the plasma concentration–time curve
<i>n</i> -BuOAc	normal butyl acetate
<i>n</i> -BuOCl	tertiary butyl hypochlorite
c.HCl	concentrated hydrochloric acid
CRK3	cdc2-related protein kinase 3
DBU	1,8-diazabicyclo[5.4.0]-7-undecene
DIPEA	<i>N,N</i> -diisopropylethylamine
DMAC	<i>N,N</i> -dimethylacetamide
DMAP	4-dimethylaminopyridine
DME	1,2-dimethoxyethane
DMF	<i>N,N</i> -dimethylformamide
DMSO	dimethyl sulfoxide
EGFR	epidermal growth factor receptor
Et ₃ N	triethylamine
EtOAc	ethyl acetate
EtOH	ethanol
FTO	freedom to operate
GC	gas chromatography
GMP	good manufacturing practice
HER	human epidermal growth factor receptor
HMBC	heteronuclear multiple bond correlation
HPLC	high performance liquid chromatography
HRMS	high resolution mass spectrometry
HUVEC	human umbilical vein endothelial cells
IC ₅₀	half maximal inhibitory concentration
ICH	international conference on harmonization of technical requirements for registration of pharmaceuticals for human use
IPE	diisopropyl ether

IR	infrared
JAK	janus kinase
KSCN	potassium thiocyanate
LAH	lithium aluminum hydride
LC/MS	liquid chromatography/mass spectrometry
MeCN	acetonitrile
MeOH	methanol
MeOAc	methyl acetate
NaOBr	sodium hypobromite
NaOCl	sodium hypochlorite
NBS	<i>N</i> -bromosuccinimide
NCS	<i>N</i> -chlorosuccinimide
NDDH	1,3-dichloro-5,5-dimethylhydantoin
NIS	<i>N</i> -iodosuccinimide
NMP	<i>N</i> -methylpyrrolidone
NMR	nuclear magnetic resonance
NOESY	nuclear overhauser effect correlated spectroscopy
PAT	process analytical technology
PDE10A	phosphodiesterase 10A
PDGFR	platelet-derived growth factor
PI3	phosphoinositide 3-kinase
PKC θ	protein kinase C θ
PLGF	placental growth factor
<i>i</i> -PrOH	2-propanol
QbD	quality by design
rt	room temperature
TCCA	trichloroisocyanuric acid
THF	tetrahydrofuran
TMEDA	<i>N,N,N',N'</i> -tetramethylethylenediamine
TYK2	tyrosine-protein kinase 2
VEGF	vascular endothelial growth factor
VEGFR	vascular endothelial growth factor receptor

緒論

医薬品開発とプロセス化学¹

20世紀に入り、G. Domagk のスルファニルアミドの発見、A. Fleming によるペニシリンの発見に端を発した化学療法は、その後の数々の抗生物質の発見とともに、第2次世界大戦の前後に医療の世界に見ざましい進歩をもたらした。1950年代以降になると、薬と受容体の相互作用に基づく医薬品開発の理論が確立され、感染症だけでなく、さまざまな疾患に対する医薬品の開発が大きく進展した。1970年代以降には、血圧降下薬、循環改善薬、消化性潰瘍治療薬、糖尿病治療薬、脂質異常症治療薬、中枢神経系用薬、抗アレルギー薬、排尿障害治療薬等に画期的新薬が登場し、いわゆるブロックバスター(通常年間売上高が10億ドルを超える新薬)と呼ばれるものが続々と上市された。しかし、2000年代以降になると、既存の薬を超える薬効、安全性を持つ新薬の開発が次第に難しくなり、現在ではひとつの医薬品が完成するまでに、平均して12~15年の年月と、数百億円の費用がかかると言われている。世界中には数多くの製薬会社が存在するものの、年間に創り出される新薬はわずか15~20種に止まるというのが現状である。

医薬品を世に送り出すまでには様々な開発ステージが存在するが、プロセス化学は創薬化学部門から創出された開発候補化合物を、医薬品として上市するまでの非常に長い開発期間を支える非常に重要な役割を担っている (Figure 1)。

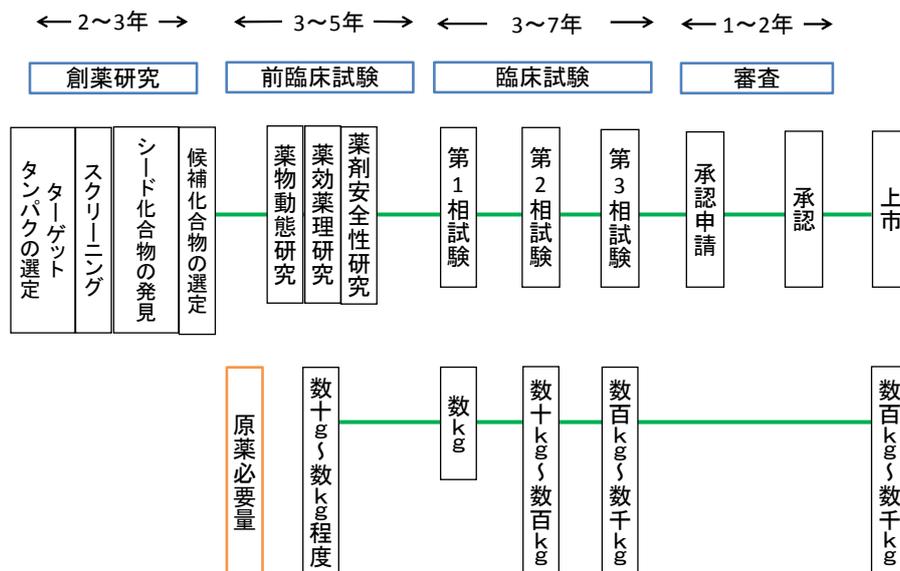


Figure 1. 医薬品の開発と原薬製造

開発初期の段階では、プロセス化学研究者はまず創薬化学から創出された開発候補化合物を、毒性試験、臨床試験、製剤検討等のために、適切なタイミングで必要量(数キログラム程度)を供給し、開発研究をサポートする必要がある。開発中期には、必要な医薬品原薬(active pharmaceutical ingredients: API)の量も数十キログラム~数百キログラムに増加し、これらの原薬を毒性試験、臨床試験のためにタイムリーに供給するとともに、工業化を見据えた製法検討を行う必要がある。開発後期になると、必要量は数百キログラムから数トンにまで増加し、より高い品質、商用生産に耐えうる堅牢性の追求、厳しい原価低減を目指した製造法のつくり込みを行い、製造サイトへの製造法の移管といった業務を担うことになる。

創薬化学においては、リード化合物の発見が最優先事項である。製造法が効率的であるかどうか、全工程における収率が高いか低いかはあまり大きな問題とはならない。試薬類は、高価で入手の難しいものでも使用することができる。また、実験方法についても、高温や超低温反応、危険性の高い試薬の使用、不活性ガス下での試薬類の秤量や反応、溶液の濃縮乾固、シリカゲルカラムクロマトグラフィーによる生成物の単離・精製といった操作を自由に組み入れることができる。

一方、プロセス化学では開発候補化合物を対象として、大量入手可能な原料を用いて、目的物をできるだけ短工程で収率よく、安価に合成することが第一の目標となる。高温($>120\text{ }^{\circ}\text{C}$)や低温反応($<-20\text{ }^{\circ}\text{C}$)には特別な製造設備が必要となり、発火性を持つLAHや、爆発性のあるアジドのような危険性のある試薬の使用は避けるのが一般的である。また、シリカゲルカラムクロマトグラフィーによる化合物の精製は、大量の溶媒、専用設備、時間を要することから通常は用いられず、晶析による精製が第一選択となる。その他、設備の関係から、通常は溶液の濃縮乾固も行わない。取り扱う化合物の量が多く、反応のスケールが大きいため、反応の危険性を評価するために様々な手法(熱危険性評価、反応熱量評価、反応暴走評価、衝撃・摩擦危険性評価等)が必要となる。また、製造量が多いことから、抗癌剤等の活性・毒性の高い化合物を扱う際には、アイソレーター等を備えた特殊な製造設備が必要となり、作業員も特殊な安全保護具を着用して作業を行う必要性が生じるといった制約が加わる。

開発後期の段階になると、プロセス化学研究者だけではなくケミカルエンジニアも加わって、商用生産設備での製造を想定して、晶析、濾過、乾燥、粉碎等の単位操作について、化学工学的見地から改良が加えられる。

また、近年は PAT (process analytical technology)^{注1} と呼ばれる近赤外分光分析、ラマン分光分析等の分析手法を用いたリアルタイム分析を用いて、QbD (quality by design)^{注2} による品質制御戦略により製品の生産性、費用効果、品質を向上させる試みもなされている。

その他、商用生産のための製造法については、製造工程で使用するすべての化合物について、他社の物質特許に抵触しないこと、かつ製造法が他社の製法特許に抵触しない (freedom to operate: FTO) ことが要件となり、知的財産部といった専門部署との情報共有も必要となる。さらに、近年は環境面への意識の高まりから、触媒反応、酵素の利用を初めとした環境調和型の製造法の設計、すなわちグリーンケミストリーが求められるようになって来ている。

もう一点重要なことは、プロセス化学者は治験原薬、および商用原薬の製造に際して、法令を遵守する必要があるということである。医薬品などの品質確保のためには、原材料の受け入れから最終製品の出荷に至るまでの製造工程全般に渡り、十分な管理の下での医薬品などの製造体制を確立する必要がある。そのため、製造所における製造管理、品質管理の基準を制定し、これを「医薬品及び医薬部外品の製造管理及び品質管理の基準」 (good manufacturing practice: GMP) と呼び、薬事法で規制されている。GMP の考え方の基本になっているのは、「人為的な誤りを最小限にすること」、「医薬品の汚染および品質低下を防止すること」、「高い品質を保証するシステムを設定すること」という GMP 3 原則であり、治験薬の製造に際してはこれらを遵守することが求められる。

以上に述べたように、医薬品開発の過程でプロセス化学者に求められることは非常に多岐に渡る。いかに優れた薬効を持っている化合物でも、価格が非常に高く、安定的に供給できないようでは医薬品として上市することは難しい。プロセス化学者の長期にわたる広範、かつ詳細な研究成果があつて初めて、医薬品を世界中のより多くの患者の元へ届けることが可能になる。プロセス化学者が医薬品開発において果たす役割は大きく、責任は重大であると言える。

VEGFR-2 キナーゼ阻害薬²⁻⁴

腫瘍は増殖の際に、栄養、酸素の不足に陥るため、血管新生を促進することで血流を

注1 リアルタイムな計測により、医薬品の製造工程を設計、分析、管理し、最終的に製品の品質を保証するシステム (文献 1(b)から抜粋)。安全性と品質保持のための運用ガイドラインである ICH Q8~ICH Q10 で提唱されている医薬品の品質管理の考え方。

注2 目的の品質が保障されるよう最適の製造法を設計すべく、実験事実と科学的根拠に基づく製品および工程理解によりデザインスペースを設定する。デザインスペースの範囲内で作業をする限り、製法変更とはみなされない。従来多大な時間と労力を要した既承認薬への変更を、デザインスペースの範囲内で実施することができる。なお、デザインスペースは、製造プロセスにおけるパラメーター (試薬当量、反応温度、反応時間など) が変動しても、許容される品質が確保できることが立証されている範囲を言う (文献 1(b)から抜粋)。

増やして、栄養と酸素を取り込むことが知られている。そのため、血管新生は腫瘍の増殖に重要な役割を担っており、血管新生を阻害して酸素と栄養の供給を遮断することで、腫瘍の成長を抑えることができると考えられている。

これまで、血管新生に関与する多くの因子が発見されてきたが、血管内皮細胞成長因子 (vascular endothelial growth factor: VEGF) は最も有力な血管新生誘導因子として知られている。VEGF のファミリーは構造的に相同性のある 5 つのタンパク質 (VEGF-A, VEGF-B, VEGF-C, VEGF-D, placental growth factor: PLGF) からなる。これらのタンパク質が、レセプターとなるチロシンキナーゼ (vascular endothelial growth factor receptor: VEGFR-1, VEGFR-2, VEGFR-3) に結合することによって VEGFR の 2 量化が起こり、キナーゼの活性化と VEGFR の特定のチロシン残基のリン酸化が起こる。このリン酸化により、細胞内で様々なシグナル伝達が起こり、血管新生に必須である分化、細胞透過性、細胞遊走、細胞生存が制御され、血管内皮増殖と血管の形成が起こる。

このように、腫瘍の血管新生においては VEGF/VEGFR によるシグナル伝達経路が極めて重要な役割を果たしている。そのため、VEGF/VEGFR の相互作用に関する基礎研究が精力的に進められると同時に、VEGF/VEGFR の相互作用を阻害する小分子・高分子を見出すことで、血管新生を抑えて腫瘍の増殖を防ぐ抗癌剤を創製するという創薬研究も進められている。これまでに、VEGF/VEGFR をターゲットとした薬剤として、VEGF に対するヒトモノクローナル抗体であるベバシズマブ、VEGFR-2 キナーゼ阻害薬としてソラフェニブ、スニチニブ、パゾパニブ、アキシチニブ等がすでに上市されており (Figure 2)、さらに強力な高腫瘍活性を持つ新薬の開発が望まれている。

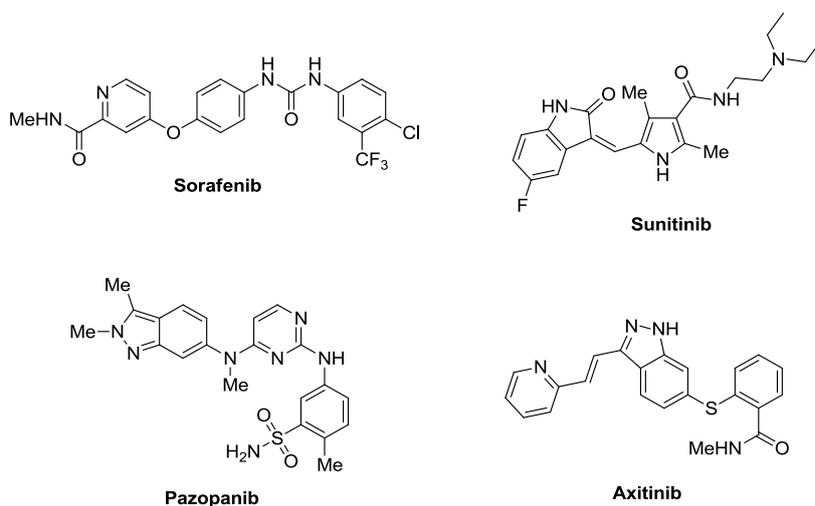


Figure 2. これまでに上市されている VEGFR-2 キナーゼ阻害薬

新薬候補化合物のプロセス化学研究

化合物 **1**、**2** および **3** は、VEGFR-2 キナーゼ阻害薬の候補化合物として創製され、経口の抗癌剤として開発が進められてきた化合物である (Figure 3)。これらの化合物の特徴として、VEGFR-2 キナーゼ阻害薬として新規のケモタイプとなった、6 位にエーテル結合、2 位にアミノ基を持つイミダゾ[1,2-*b*]ピリダジン (化合物 **1**, **2**) および[1,2,4]トリアゾロ[1,5-*a*]ピリジン (化合物 **3**) を母核に持つことが挙げられる。これまで、イミダゾ[1,2-*b*]ピリダジンと[1,2,4]トリアゾロ[1,5-*a*]ピリジンを母核とする化合物については、その興味深い生理活性から医薬品候補化合物として大きな注目を集めてきたが、⁵⁻¹⁴ 6 位にエーテル結合、2 位にアミノ基を持つ化合物についての報告例は限られていた。¹⁵

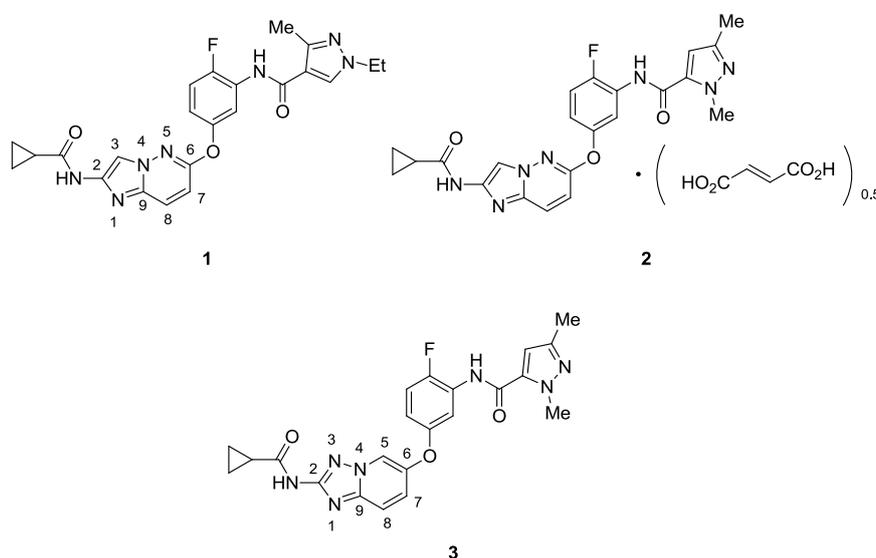


Figure 3. VEGFR-2 キナーゼ阻害薬候補化合物

これらの化合物の初期の開発をサポートするために、数百グラムから数キログラムの原薬を早期に供給することが求められ、筆者はプロセス化学の見地からこれらの化合物の製造法の検討を行った。化合物 **1**、**2** の合成については、製造コスト、およびグリーンケミストリーの観点から、コンバージョンな合成ルートを採用することにした。中心骨格となるイミダゾ[1,2-*b*]ピリダジン-2-アミンについては、これまでは保護基を用いた合成法しか知られていなかったが、シクロプロパンカルボニル基を導入したイミドを用いた合成法の検討を行い、簡便なワンポット合成法を開発した (第 1 章)。

化合物 **3** の合成については、6 位にエーテル結合を有する[1,2,4]トリアゾロ[1,5-*a*]ピリジンを合成する上で、2-ニトロ-5-ブロモピリジンとフェノールとの S_NAr 反応の位置選択性が低く、シリカゲルカラムクロマトグラフィーによる精製を必要とするという問

題点が存在した。そこで、2-ニトロ-5-ハロピリジンとフェノールとの S_NAr 反応の条件を詳細に検討することで、反応の位置選択性を向上させ、シリカゲルカラムクロマトグラフィーによる精製を用いることなく、目的の骨格を合成することを可能とした (第2章)。

これらの化合物は医薬品原薬に相当するために、溶解度や安定性といった化合物の物理化学的な性質が究めて重要であり、化合物 **2** については 0.5 フマル酸塩^{注3}、化合物 **3** については Form A が開発形として選択されている。これらの開発形を、大スケールで再現性よく得ることは非常に困難であったが、詳細な検討を行うことで再現性の良い確実な製法を見出すことに成功した。

さらに化合物 **3** の中心骨格である[1,2,4]トリアゾロ[1,5-*a*]ピリジン-2-アミンの別途合成法の検討を行い、*N*-クロロスクシンイミド (NCS) と K_2CO_3 水溶液を用いた 1-(ピリジン-2-イル)グアニジン誘導体の新規酸化的閉環反応を見出した。この酸化的閉環反応の基質適用範囲を調べる過程で、目的物の他に興味深い副生成物が得られることを見出した (第3章)。以上の結果について以下に詳述する。

注3 フリー体と、各種の酸から調製した塩の物性を比較した結果、溶解度や安定性の観点からフマル酸塩が選択された。

本論

第1章 イミダゾ[1,2-*b*]ピリダジン-2-アミン骨格を有する VEGFR-2 キナーゼ阻害薬開発におけるプロセス化学研究

第1節 序論

化合物 **1** および **2** は、VEGFR-2 キナーゼの阻害薬の候補化合物として武田薬品工業において創製されたものである (Figure 4)。¹⁶ VEGFR-2 キナーゼに対する IC₅₀^{注4} はいずれも 1.1 nM であり、非常に強い阻害活性を示す。また、化合物 **2** のフリー体については、VEGF によって誘起されるヒト臍帯静脈内皮細胞 (human umbilical vein endothelial cells: HUVEC) の増殖に対しても強力な阻害活性 (IC₅₀=0.56 nM) を示すことも特徴である。X 線結晶構造解析と構造活性相関の研究からは、中央のベンゼン環上に大きな官能基を導入すると、VEGFR-2 との相互作用が阻害されることが分かっているが、2'位にフッ素原子やメチル基といった置換基を入れることにより、マウスを用いた薬物動態試験において、AUC (area under the plasma concentration–time curve) が大きく増加することが見出された。いずれの化合物も、イミダゾ[1,2-*b*]ピリダジン-2-アミン骨格を母核として持っており、6 位にエーテル結合を持つイミダゾ[1,2-*b*]ピリダジン-2-アミンをいかに効率よく合成できるかが大量合成の鍵となる。これらの化合物の大量合成法について、プロセス化学の見地から検討を行った。

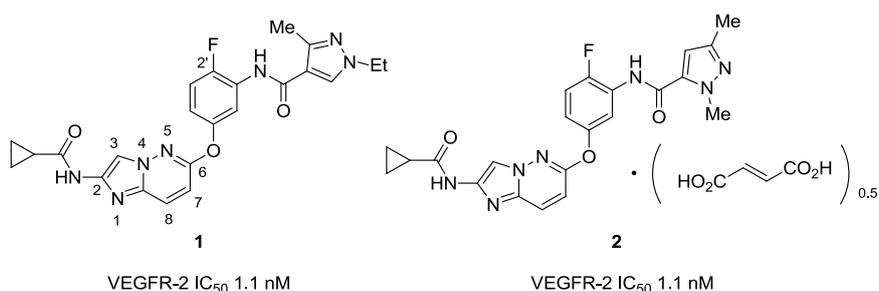


Figure 4. VEGFR-2 キナーゼ阻害薬候補化合物 **1** および **2**

注4 half maximal inhibitory concentrationの略。阻害薬がターゲットとなるタンパク質の活性を50%阻害する濃度を表す。VEGFR-2キナーゼに対する阻害活性は、抗リン酸化チロシン抗体を用いてAlpha Screen system (Perkin-Elmer, USA) により測定された。^{16b}

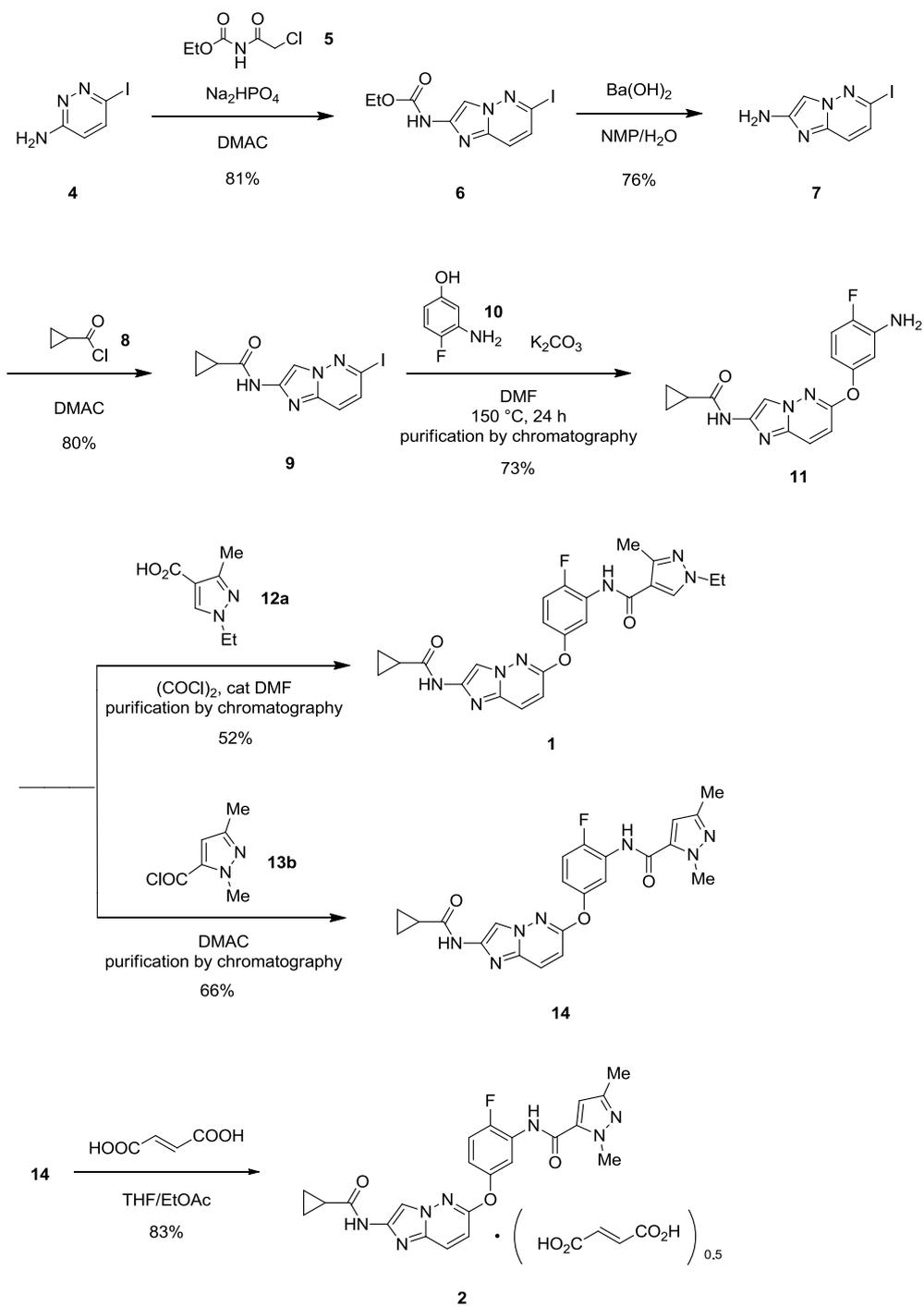
第2節 VEGFR-2 キナーゼ阻害薬候補化合物 **1** と **2** のプロセス化学研究

第1項 創薬化学における合成法とプロセス合成戦略

創薬化学における **1** と **2** の合成法^{注5} を Scheme 1 に示す。^{16(b)} 3-アミノ-6-ヨードピリダジン **4** を Na₂HPO₄ 存在下にカルバメート **5** と反応させることで 6-ヨードイミダゾ[1,2-*b*]ピリダジン **6** を得て、続いて Ba(OH)₂ を用いた加水分解によりエトキシカルボニル基の除去を行い、シクロプロパンカルボニルクロリド **8** と反応させることで中間体 **9** を得る。続いて、約 150 °C という高温で **9** と 3-アミノ-4-フルオロフェノール **10** との S_NAr 反応を行って **11** を得た後、ピラゾールカルボン酸 **12a**、または市販の 1,3-ジメチル-1*H*-ピラゾール-5-カルボニルクロリド **13b** と反応させて化合物 **1** と **14** を合成する。さらに、**14** については THF/EtOAc 混合溶媒中でフマル酸と反応させることで 0.5 フマル酸塩 **2** として得ている。

創薬化学における合成法は、リニアな合成法であり、かつ総収率が 20%程度に止まることから、スケールアップには適さないと考えられた。また、(1) 非常に高価かつ入手が難しい化合物 **4** を原料として使用していること、(2) シリカゲルカラムクロマトグラフィーによる化合物の精製を行っていること、(3) **9** と **10** の S_NAr 反応において高温 (150 °C) が必要となること、(4) 大量入手することのできないピラゾールカルボン酸 **12a** を使用すること、(5) 化合物 **14** の 0.5 フマル酸塩への変換に再現性が乏しいことが、大量合成を行う上で解決しなければならない課題であった。以上のような状況を踏まえ、筆者は安価で堅牢、かつスケールアップ可能な製造法の開発に着手した。

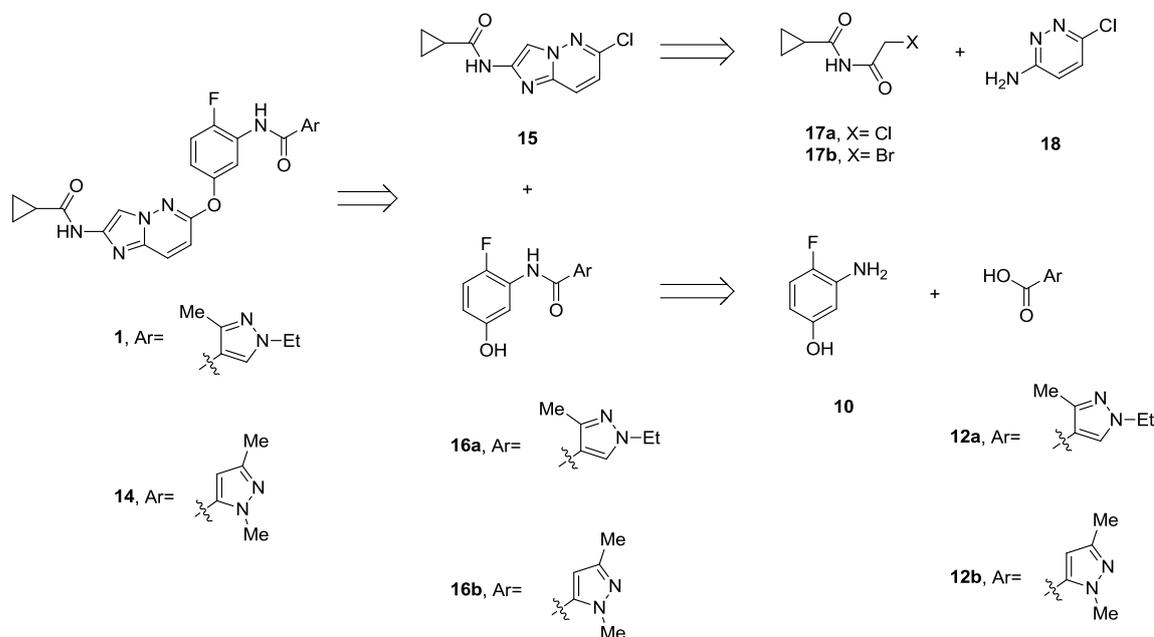
注5 以下、「創薬化学における合成法」は、実験室において数十ミリグラムから数グラム程度の目的化合物の合成に使用される合成法のことを指す。



Scheme 1. 創薬化学における **1** と **2** の合成法

化合物 **1** と **14** の逆合成解析を Scheme 2 に示す。一般に、リニアールなルートと比較して、コンバージェントなルートの方が製造法としては効率的であることが多いとされて

いる。^{注6} そこで、よりコンバージョンな合成法を目指すために、6-クロロイミダゾ[1,2-*b*]ピリダジン **15** とフェノール **16a/16b** を最終工程でカップリングさせることを考えた。



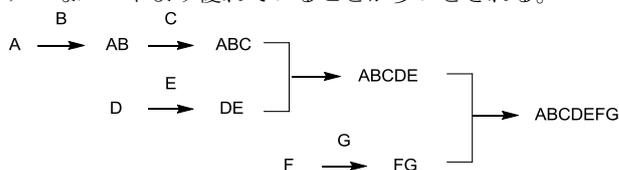
Scheme 2. 化合物 **1** と **14** の逆合成解析

化合物 **15** については、後の工程で加水分解とアシル化を必要とするカルバメート **5** を使うことなく、2-ハロアセチルカルボキサミド **17a/17b** と 3-アミノ-6-クロロピリダジン **18** を直接縮合させることで合成できるのではないかと考えた。もし、クロロ体 **15** と **16a/16b** の S_NAr 反応が進行するなら、ヨードピリダジン **4** よりもはるかに安価で入手の容易な、3-アミノ-6-クロロピリダジン **18** を出発原料として用いることができることになる。フェノール **16a/16b** については、化合物 **10** のアミノ基、ヒドロキシ基の官能

注6 リニアー (直線的) なルート：出発原料を、段階的に化学変換して目的の化合物を合成する方法。



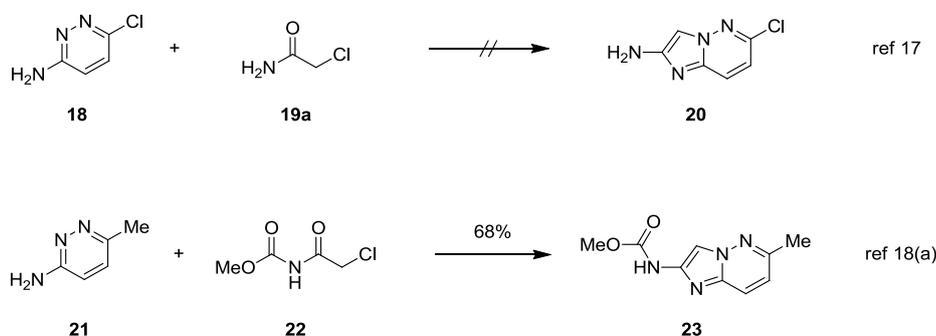
コンバージョン (収束的) なルート：複数の出発原料を、それぞれ個別に化学変換して各中間体へ導き、それら各中間体同士を反応させて目的物を合成する方法。原材料費が安い、使用溶媒量が少ないために廃棄物量が少ない、パラレル合成を実施できる可能性があるといった利点があることから、生産性の面でリニアールルートより優れていることが多いとされる。^{1a, 1b}



基選択性に懸念は残るものの、カルボン酸 **12a/12b** とのアミド化により合成できるものと考えた。

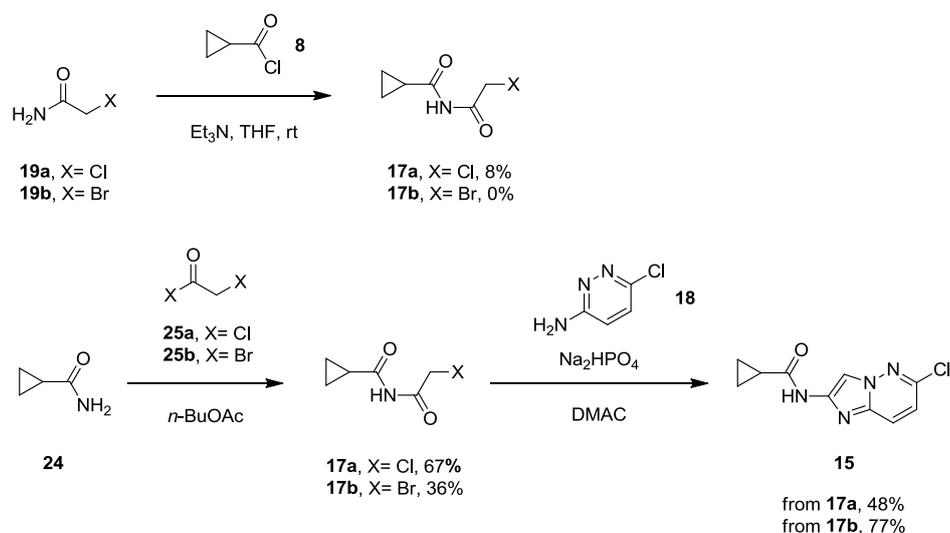
第2項 6-クロロイミダゾ[1,2-*b*]ピリダジン **15** の合成

3-アミノ-6-クロロピリダジン **18** とクロロアセトアミド **19a** との縮合反応については、各種の反応条件を試みたにも関わらず、反応が進行せずに **18** を原料回収したとの報告がなされている。¹⁷ 一方、6-メチル 3-アミノピリダジン **21** と、**19a** のアミノ基が保護されたカルバメート **22** との縮合反応は進行して、対応するイミダゾ[1,2-*b*]ピリダジン誘導体 **23** が得られたと報告されている (Scheme 3)。¹⁸



Scheme 3. イミダゾ[1,2-*b*]ピリダジン-2-アミンの合成例

これらの結果からは、**19a** のアミノ基を保護することが **18** との縮合反応に必要であることが示唆される。**19a** のアミノ基の保護基としては、これまでカルバメートを用いた例しか知られておらず、他の保護基を使用した報告例が存在しなかった。¹⁹ そこで、まずイミド **17a/17b** を合成し、これらを **18** と縮合させることで **15** が得られるかどうかを検証した (Scheme 4)。アセトアミド **19a** を、トリエチルアミン存在下に **8** と THF 中で反応させたところ、**17a** が低収率 (8%) で得られた。一方、ブロモ体 **19b** を用いた場合は、目的物 **17b** は得られなかった。別法として、シクロプロパンカルボキサミド **24** を *n*-BuOAc 中、100 °C で 2-クロロアセチルクロリド **25a** と反応させたところ、**17a** が収率 67% で得られた。**24** と 2-ブロモアセチルブロミド **25b** の反応は、**17b** を収率 36% で与えた。得られた **17a** を Na₂HPO₄ 存在下、*N,N*-ジメチルアセトアミド (DMAC) 中 100 °C で **18** と 4 時間反応させたところ、収率 48% で目的の **15** が得られた。一方、**17b** を Na₂HPO₄ 存在下、DMAC 中 85 °C で 3 時間反応させたところ、収率 77% で化合物 **15** が得られた。いずれの反応においても、反応液中に水を滴下することで **15** の晶析が起こり、濾取することにより容易に **15** を単離することができた。



Scheme 4. **17a/17b** の合成と **18** との縮合反応

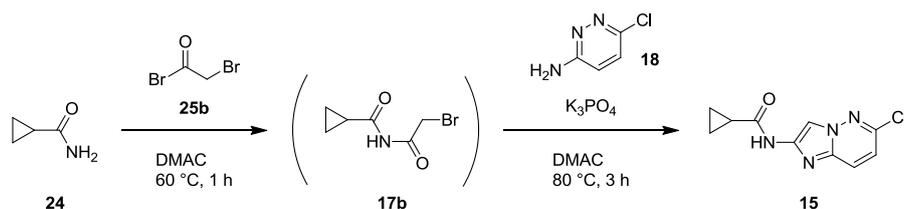
以上のように、**24** から **17a/17b** を経由して、化合物 **15** が合成できることが分かったため、さらに **24** から **15** をワンポットで合成することが可能かどうか検討した。大量合成においては、濃縮、濾過、乾燥等の単位操作に長い時間を要するため、ワンポットで複数の反応を行うことができれば、製造期間の大幅な短縮が可能となる。また、この反応をワンポットで行うことで、刺激性のある α -ハロアミド **17a/17b** の単離操作を回避でき、大量合成時の作業性を大幅に改善することも可能となる。

ワンポット合成の検討については、**17a** ではなく、**17b** を中間体とした。これは、**17a** から **15** を合成した際、単離した **15** の結晶に黒い着色が認められたためである。まず、溶媒を DMAC に固定して、塩基のスクリーニング (Na_2HPO_4 、 K_3PO_4 、 Na_2CO_3 、 NaOAc 、 NaHCO_3) を行った。**24** と **25b** の反応については、塩基非存在下でも反応が進行した。一方、**17b** と **18** の反応については、 NaOAc 、 NaHCO_3 を用いた場合には反応が進行せず、 Na_2HPO_4 、 K_3PO_4 を用いた場合に反応が進行した。系中で副生する HBr を確実に中和するために、ある程度の強さを持つ塩基の添加が必要になると考えられる。そこで、まず **24** を塩基非存在下に **25b** と $60\text{ }^\circ\text{C}$ で 1 時間反応させ、その後、反応液中に **18** と K_3PO_4 を添加して $80\text{ }^\circ\text{C}$ で 3 時間反応させ、室温まで冷却してから反応液に水を添加して **15** の晶析、単離を行うことにした。化合物 **24**、**25b**、 K_3PO_4 の当量を変えて反応を行った際の結果を Table 1 に示す。

1.0 当量の **25b** を用いた場合の収率は、約 20%と低い値となった (entries 1, 2)。**25b** の当量を 1.5 当量まで増やしたところ、収率は 44%まで向上した (entry 3)。一方、**25b** の当量と K_3PO_4 の当量を 2.0 当量まで増やしたところ、収率は低下した (entry 4)。最終的には、2.0 当量の **24**、1.5 当量の **25b**、1.5 当量の K_3PO_4 を用いた場合に、最も高い収率

(45%) が得られた (entry 6)。このワンポット反応で得られた **15** は、単離した **17b** を用いて合成した **15** と比較して品質がやや低かった (標品を用いて HPLC で定量を行ったところ、純度は 91 wt%^{注7} であった)。結晶中への無機塩の混入が疑われたため、DMSO/H₂O から再結晶を行ったところ、高品質の **15** (>99 wt%) が収率 92% で得られた。

Table 1. **15** のワンポット合成



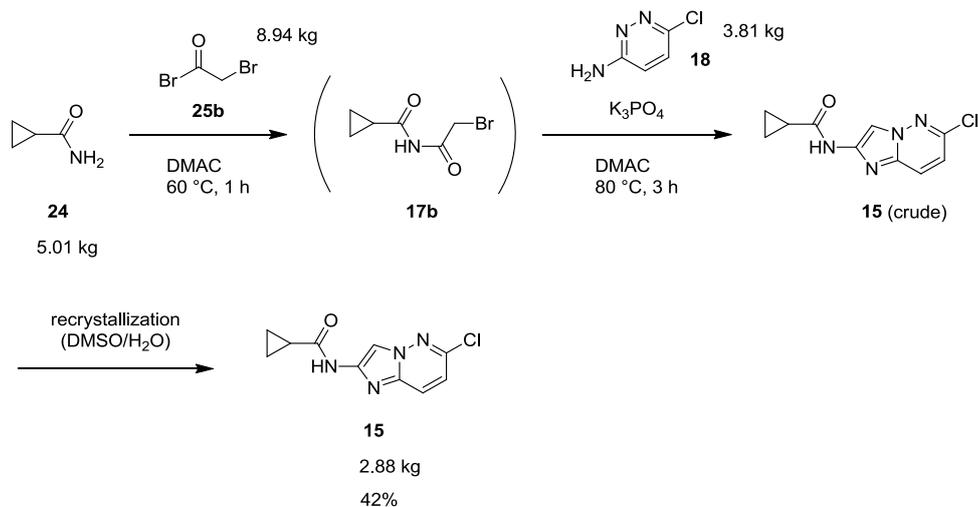
entry	24 → 17b		17b → 15	Yield ^c (%)
	24 (equiv) ^a	25b (equiv) ^a	K ₃ PO ₄ (equiv) ^a	
1	1.5	1.0	1.0	20
2	1.5	1.0	1.5	18
3	1.5	1.5	1.5	44
4	1.5	2.0	2.0	21
5	2.0	1.5	1.0	38
6 ^b	2.0	1.5	1.5	45
7	2.0	1.5	2.0	42

^a Based on the amount of **18**. ^b Insoluble matter was filtered off before addition of H₂O. ^c Isolated yield corrected by the purity (based on **18**).

15 のスケールアップ製造 (3.8 kg の **18** を使用) の際には、品質を安定させるために後処理に分液操作を組み込んだ。ワンポットで反応を行った後、不溶物を濾去して、**15** を EtOAc/THF で抽出して 5%NaHCO₃ 水溶液で洗浄を行った。溶媒を留去後、DMSO/H₂O から結晶化を行って **15** の粗生成物を得た。その後、粗結晶を DMSO/H₂O から再結晶することで、高品質の **15** を収率 42% で得ることができた (Scheme 5, 2.88 kg, >99 wt%)。

注7 ここでは、次のように定義して使用している。

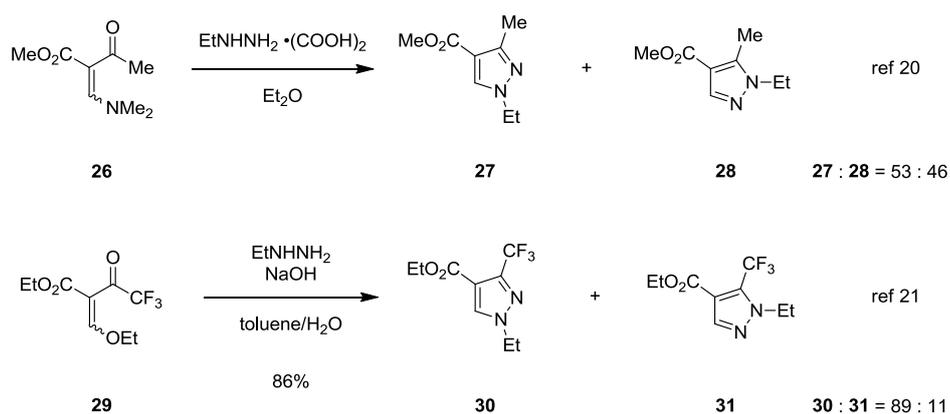
wt% = 標品を用いて HPLC による分析から算出した化合物の正味の質量/化合物の見かけの質量 × 100 (%)



Scheme 5. 15 のスケールアップ合成

第3項 ピラゾールカルボン酸 **12a** の合成

ピラゾールカルボン酸 **12a** (p10, Scheme 2 参照) は、原料として入手することが難しかったため、化合物 **1** のスケールアップ合成を行うためには、**12a** の大量合成法を確立することが必須であった。これまでに Martin らのグループが、エナミン **26** と *N*-エチルヒドラジンのシュウ酸塩を反応させて、**12a** のメチルエステル体 **27** を合成した例を特許に報告している。²⁰ しかし、彼らの方法は反応の位置選択性が低く、53:46 の比率で位置異性体の混合物が得られている (Scheme 6)。^{注8}



Scheme 6. *N*-エチルピラゾールの合成例

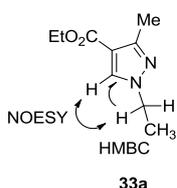
注8 文献 20、文献 21 (いずれも特許) とも、異性体の構造決定に関する記載はなかった。

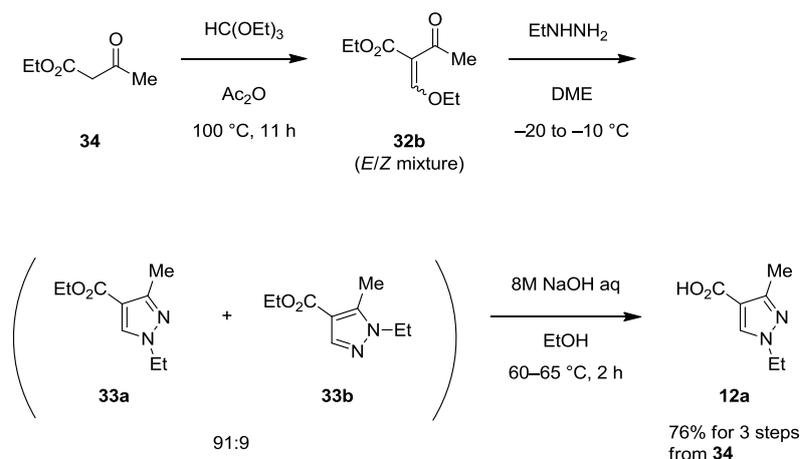
一方、エノールエーテル **29** を NaOH 存在下、toluene/水混合溶媒中で *N*-エチルヒドラジンと反応させたところ、**12a** と同じ置換様式を持った *N*-エチルピラゾール **30** が、89:11 の選択性で主生成物として得られたとの報告がある。²¹ これらの報告例からは、*N*-エチルヒドラジンをを用いた *N*-エチルピラゾールの合成における位置選択性は、基質の構造と反応条件に大きく依存することが分かる。

そこで、Scheme 6 の二例を参考に、*N*-エチルヒドラジンと **32a/32b** を反応させて、**12a** のエチルエステル体に当たる **33a** を合成することにした。^{注9} **32a**²² と **32b**²³ については文献に従って合成を行い、*E/Z* 混合物のまま使用した。これらの基質を用いて溶媒のスクリーニングを行い、溶媒が反応の位置選択性に与える影響を調べることにした (Table 2)。

32a を基質として用いた場合は、THF や toluene、EtOAc 中でおおよそ 70:30 の位置選択性で目的の **33a** が生成した (entries 1, 3, 4)。興味深いことに、EtOH を溶媒とした場合には選択性が逆転して、**33b** が非常に高い選択性 (**33a:33b** = 10:90) で得られた (entry 2)。現在のところ理由は分かっていないが、この結果からはこの条件により、**33b** が選択的に合成できる可能性が示唆される。一方、基質として **32b** を用いた場合は、使用した溶媒に関わらず、高い (**33a/33b** > 84/16) 選択性で **33a** が生成した (entries 9–17)。中でも、最も高い選択性を示した溶媒は 1,2-ジメトキシエタン (DME) で、**33a** を **33a:33b** = 91:9 の選択性で与えた (entries 16, 17)。

注9 化合物 **33a/33b** の構造については、HMBC および NOESY のスペクトルから推定した。Data for **33a**: ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ 1.34 (3H, t, *J* = 7.1 Hz), 1.48 (3H, t, *J* = 7.3 Hz), 2.46 (3H, s), 4.10 (2H, q, *J* = 7.3 Hz), 4.27 (2H, q, *J* = 7.1 Hz), 7.83 (1H, s). Data for **33b**: ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ 1.35 (3H, t, *J* = 7.1 Hz), 1.41 (3H, t, *J* = 7.3 Hz), 2.54 (3H, s), 4.11 (2H, q, *J* = 7.3 Hz), 4.28 (2H, q, *J* = 7.1 Hz), 7.85 (1H, s).

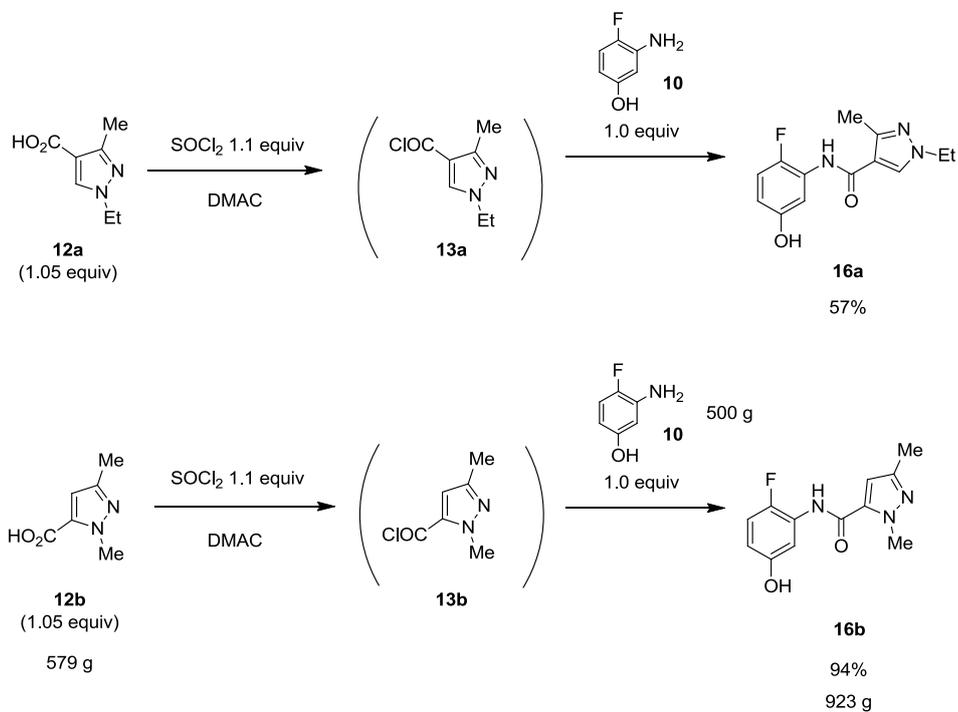




Scheme 7. **12a** の合成

第4項 化合物 **1**、**14** の合成

フェノール **16a/16b** については、アミノフェノール **10** とピラゾールカルボン酸 **12** から調製した酸クロリド **13** との反応で合成した (Scheme 8)。



Scheme 8. **16a/16b** の合成

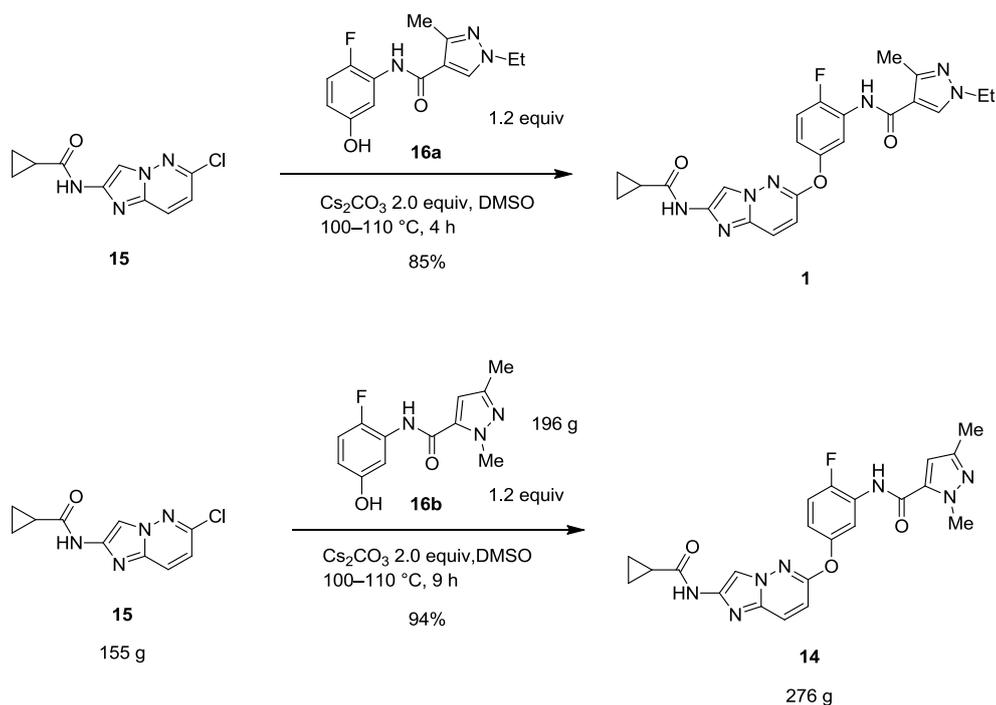
前項に示した合成法で合成したピラゾールカルボン酸 **12a** と、市販のピラゾールカルボン酸 **12b** を DMAC 中、0~10 °C で塩化チオニルと反応させて酸クロリド **13** に変換した後、**10** を分割添加して反応を行った。反応終了後に NaOH 水溶液を添加して中和したところ、結晶の晶析が起こり、この結晶を濾取することにより **16a**、**16b** がそれぞれ収率 57%、94% で得られた。^{注11} この反応において、トリエチルアミンを添加して反応を行った場合には、ヒドロキシ基が反応したエステル体の副生が確認された。一方、塩基を使用しない反応条件ではエステル体の生成はほとんど観察されず、化合物 **10** のアミノ基とヒドロキシ基の官能基選択性の問題をクリアすることができた。

最終工程における **15** と **16a/16b** の S_NAr 反応について、塩基と溶媒のスクリーニングを行ったところ、Cs₂CO₃ と DMSO の組み合わせが最もよく、反応速度が向上することが分かった (Scheme 9)。^{注12} セシウムカチオンは原子半径が大きいため、カウンターアニオンとの原子間距離が大きくなり、カチオン、アニオン間の静電相互作用が弱くなることでカウンターアニオンの求核性が向上することが知られている。このケースでは、さらに非プロトン性極性溶媒の DMSO がセシウムカチオンを効果的に溶媒和することにより、反応性の高い **16a/16b** のフェノキシアニオンが形成され、反応速度の向上につながっていると考えられる。化合物 **15** を 2.0 当量の Cs₂CO₃ の存在下、1.2 当量の **16a** と DMSO 中 100~110 °C で反応させたところ、反応は 4 時間でほぼ終了した。反応終了後、反応液に MeOH と水を添加することで目的物が晶析したため、一度結晶を取得して、MeOH/H₂O (2:1) 中で懸濁攪拌してから再度濾取することで、純度の高い **1** を収率 85% で得ることができた。^{注13} 一方、**15** と **16b** の反応は **16a** との反応と比較して遅く、反応を完結させるために、DMSO 中 100~110 °C で 9 時間反応させる必要があった。反応終了後に、反応液に MeOH と水を添加することで目的物の **14** が晶析し、濾取をすることで **14** を収率 94% で得ることができた。

注11 実験室において数グラムスケールで **16a** を合成した。最終的には **16a** の大量合成を行う機会はなかったが、スケールアップ可能な製造法を確立しており、必要があれば大量合成が可能である。

注12 一例を示すと、塩基 2 当量、反応温度 95 °C、反応時間 5 時間の反応条件では、K₂CO₃/DMSO では転換率 62%、NaOH/DMSO では転換率 89%、K₃PO₄/DMSO では転換率 89%、Cs₂CO₃/DMSO では転換率 96% であった。また、Cs₂CO₃ と DMF、DMAC、NMP の組み合わせでは、同一の反応条件で転換率は 90% 程度に止まった。

注13 実験室において数グラムスケールで **1** を合成した。最終的には **1** の大量合成を行う機会はなかったが、スケールアップ可能な製造法を確立しており、必要があれば大量合成が可能である。



Scheme 9. 1 と 14 の合成

第5項 0.5 フマル酸塩 2 の合成

大学等で行われる通常の有機合成では、目的の化学構造を有する化合物を合成することが当面の目標となるが、医薬品原薬の製造では、溶解度や安定性といった化合物の物理化学的な性質が極めて重要な要素となる。いかに優れた薬効を持っていたとしても、難溶性の化合物の場合にはヒト体内での吸収低下のリスクがあり、吸湿性、光安定性等に問題がある場合には医薬品として開発することは難しい。そのため、医薬品原薬については開発の初期段階から、開発に適した物理化学的な特性を持つ結晶形や塩形の探索研究が行われる。化合物の塩への変換は、化合物の溶解性向上のために最初に検討される手法であるが、目的とする塩を大スケールで再現性よく得ることは必ずしも容易ではない。

14 とフマル酸の反応による、0.5 フマル酸塩 **2** の取得にはかなりの検討が必要となった。創薬化学における合成法 (フマル酸 : 1.05 等量、溶媒 : THF/EtOAc) は小スケールでも非常に再現性が悪く、目的の **2** が得られることもあれば、**2** の溶媒和物が得られることもあった (Table 3, entry 1)。スケールアップのための検討に際しては、**14** の汎用溶媒に対する溶解性が低いいため、まず DMSO を良溶媒として **14** のフマル酸塩 **2** への変換を試みた。

各種の溶媒を貧溶媒^{注14}として用いて検討を行ったが、すべて **14** が低収率で回収されるのみであった (entries 2–6)。他の非プロトン性極性溶媒も試したが、やはりフマル酸塩への変換は起こらず、**14** が回収される結果となった (entries 7–9)。

検討を続けるうちに、THF や 2-butanone に少量の水を添加することで **14** の溶解度が大きく増すことが分かった。2-butanone の場合には、2-butanone 単独では **14** を 70 °C で完全に溶解させるのに 65 v/w^{注15} 以上の溶媒が必要であったが、10%含水 2-butanone の場合には、20 v/w で完全に溶解させることができることが分かった。この知見により、2-butanone を溶媒として用いても、ある程度のバッチ効率で **2** を製造できる目処が立った。そこで、10%含水 2-butanone を溶媒としてさらに検討を続けた。1.05 当量のフマル酸を使用した場合には、やはり結果に再現性が見られず、目的の **2** が得られることもあれば、**2** と **14** の混合物が得られることもあり、熟成温度を 0~10 °C まで下げた場合には、**2** の溶媒和物が得られることが多くなった (entry 10)。さらに試行錯誤を重ねた結果、フマル酸の当量を増やすことが **2** を安定した収率で得るうえで、極めて重要であることが分かった。フマル酸の当量を 2.0~3.0 当量まで増やして反応を行うと、目的の 0.5 フマル酸塩 **2** が再現性良く、よい収率で得られた (entries 11–13)。おそらく、フマル酸の当量を増やして溶液中のフマル酸の濃度を上げることにより、**14** や溶媒和物より 0.5 フマル酸塩が生成しやすいように平衡が移動していると考えられる。entry 13 の条件はスケールアップ製造にも問題なく適用でき、350 g の **14** を 15%含水 2-butanone 中、3.0 当量のフマル酸と反応させることで目的の **2** を収率 75% (295 g) で得ることができた。

注14 貧溶媒 (anti-solvent): 晶析を行う際に用いる、目的とする化合物の溶解性が低い溶媒を指す。目的とする化合物の溶解性が高い溶媒 (良溶媒) に化合物を溶解し、貧溶媒を添加して行う晶析を貧溶媒添加晶析と呼ぶ。(増補版 晶析の強化書 ~有機合成者でもわかる晶析操作と結晶品質の最適化~, 滝山 博志著、S&T 出版、2013.)

注15 v/w: ここでは、化合物 1 kg に対して使用する溶媒量 (L) を表す単位として使用している。65 v/w であれば、化合物 1 kg に対しては 65 L の溶媒、化合物 2 kg に対しては 130 L の溶媒を意味する。

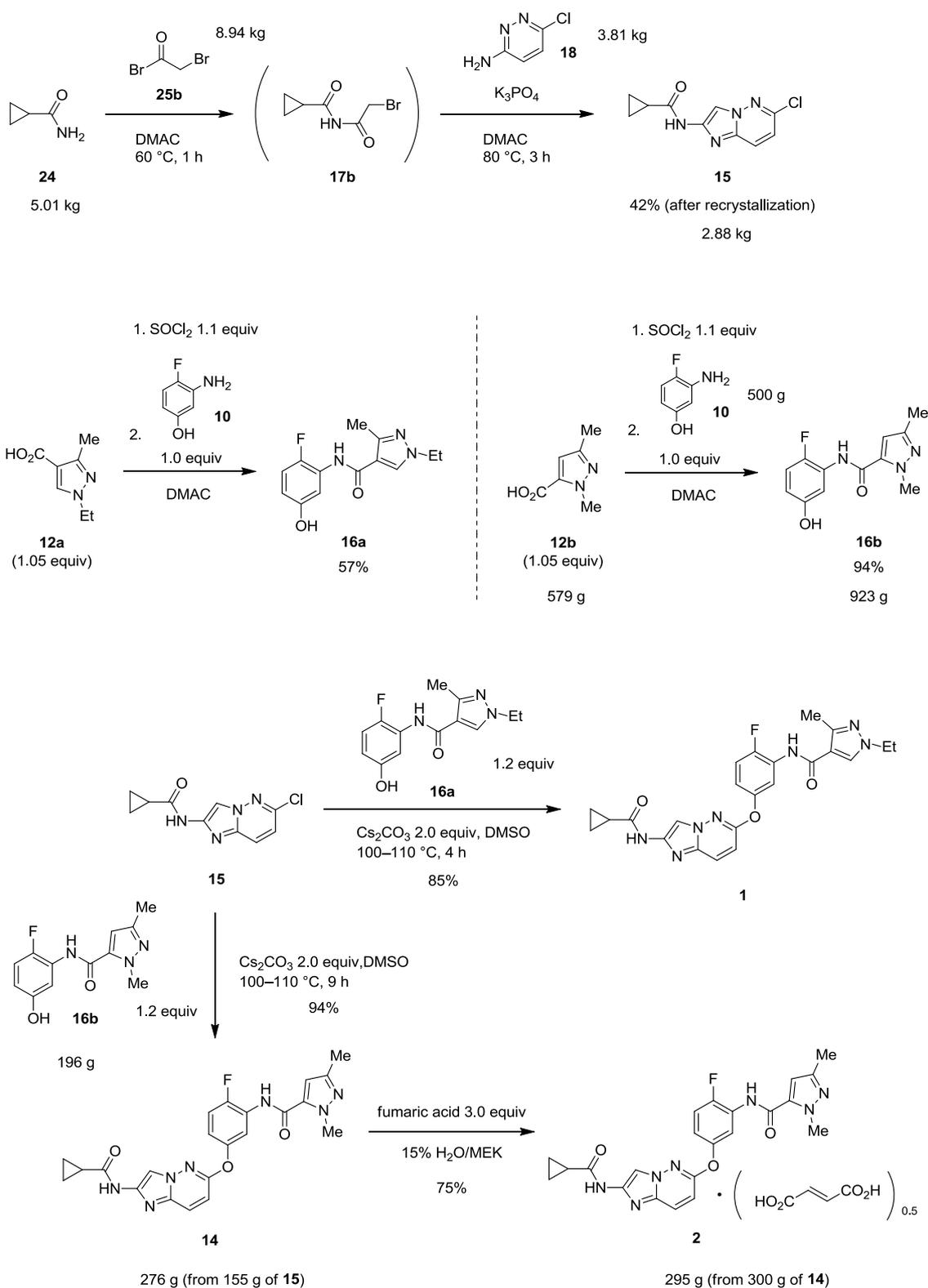
Table 3. 0.5 フマル酸塩 **2** の調製

entry	Solvent (v/w)	fumaric acid (equiv)	obtained product	Yield (%)
1 ^a	THF (28)/EtOAc (40)	1.05	2	71
			solvate of 2 ^c	79 (THF 6.9%, EtOAc 5.1%) ^d
2 ^a	DMSO (2)/EtOAc (10)	1.05	free 14	46
3 ^a	DMSO (2)/acetone (14)	1.05	free 14	40
4 ^a	DMSO (2)/2-butanone (20)	1.05	free 14	10
5 ^a	DMSO (2)/EtOH (8)	1.05	free 14	62
6 ^a	DMSO (2)/2-propanol (8)	1.05	free 14	61
7 ^a	DMF (4)/EtOAc (20)	1.05	free 14	66
8 ^a	NMP (3)/EtOAc (15)	1.05	free 14	54
9 ^a	DMAC (4)/EtOAc (20)	1.05	free 14	72
10 ^b	10% aqueous 2-butanone (20)	1.05	2	49
			solvate of 2 ^c	60 (2-butanone 4.8%) ^d
			free 14 + 2	64
11 ^b	10% aqueous 2-butanone (20)	2.0	2	74
12 ^b	10% aqueous 2-butanone (20)	3.0	2	76
13 ^b	15% aqueous 2-butanone (20)	3.0	2	75

^a After **14** and fumaric acid were dissolved into the solvent, anti-solvent was added at the room temperature. ^b After **14** and fumaric acid were dissolved into the solvent with heating, the solution was gradually cooled to room temperature and aged at the same temperature. ^c Aged at 0 °C. ^d The numbers in parentheses refer to the residual solvent in the product. Residual solvent was determined by ¹H NMR.

第3節 結論

筆者は、極めてコンバージョンかつ堅牢性の高い、VEGFR-2 キナーゼ阻害薬候補化合物 **1** と **2** の合成法を開発した。Scheme 10 に化合物 **1** および **2** の最終製造法を示す。入手の容易な化合物 **18**、**24**、**25b** のワンポット反応と続く再結晶により、純度のよい **15** をシリカゲルカラムクロマトグラフィーによる精製を行うことなく合成する方法を見出した。これは、イミドと 3-アミノピリダジン誘導体を縮合して、イミダゾ[1,2-*b*]ピリダジン-2-アミン骨格を合成した最初の例となる。基質と溶媒のスクリーニングを行うことにより、*N*-エチルピラゾール合成における位置選択性が向上し、容易に入手可能な原料から、ピラゾールカルボン酸 **12a** をシリカゲルカラムクロマトグラフィーによる精製なしに効率的に合成する方法を確立した。最終工程における **15** と **16a/16b** の S_NAr



Scheme 10. 化合物 1 および 2 の最終製造法

反応は、DMSO/Cs₂CO₃を用いることで、100~110 °C という反応温度で良好に進行することを明らかにした。さらに、MeOH と H₂O を反応液中に加えることで晶析が起こり、濾取することで **1** と **14** をよい収率で簡便に得ることができた。また、再現性の高い **14** の 0.5 フマル酸塩への変換方法を開発し、スケールアップを行っても **2** が確実に製造できるようになった。本合成法を用いて、最終的に数キログラムの化合物 **2** が合成され、化合物の開発に必要な各種の試験に供給された。^{注16} 本合成法はシリカゲルカラムクロマトグラフィーを必要とせず、ワンポット合成や、反応液に貧溶媒を加えることで目的物の晶析を行って、後処理時の分液操作を回避するなど操作を大幅に簡略化しており、グリーンケミストリーの観点からも魅力的であると考えられる。

注16 化合物 **1** については、最終的には大量合成を行う機会はなかったが、スケールアップ可能な製造法を確立しており、必要があれば大量合成が可能である。

第2章 [1,2,4]トリアゾロ[1,5-a]ピリジン-2-アミン骨格を有する VEGFR-2 キナーゼ阻害薬開発におけるプロセス化学研究

第1節 序論

化合物 **3** は、1 章において詳述した化合物 **1**、および **2** とは異なるケモタイプとなる、[1,2,4]トリアゾロ[1,5-a]ピリジン-2-アミンを母核とする VEGFR-2 キナーゼ阻害薬の候補化合物である (Figure 5)。²⁴ VEGFR-2 キナーゼに対する IC₅₀ は 2.0 nM、HUVEC の増殖阻害活性は IC₅₀ = 5.0 nM であり、いずれに対しても非常に強い阻害活性を持つ。

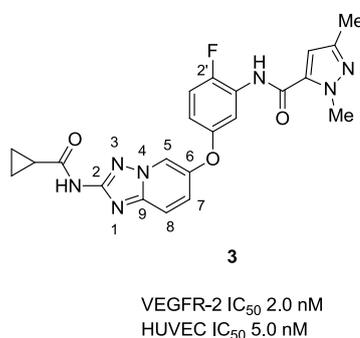


Figure 5. VEGFR-2 キナーゼ阻害薬候補化合物 **3**

中央のベンゼン環上の 2'位の置換基は、VEGFR-2 キナーゼに対する阻害活性には大きな影響は与えないものの、HUVEC の増殖阻害活性には必須であり、置換基をフッ素原子とすることで化合物の溶解度が向上することが分かっている。また、末端のジメチルピラゾール部位については、HUVEC の増殖阻害活性と化合物の溶解度に寄与することが示されている。フッ素原子とジメチルピラゾール部位を導入することにより、VEGFR-2 キナーゼに対する阻害活性を落とすことなく化合物の溶解度が向上し、良好な最高血漿中濃度 (C_{max}) と AUC が達成されて薬物動態が大きく改善されている。

化合物 **3** のキナーゼ選択性を調べたところ、VEGFR キナーゼだけでなく、PDGFR (血小板由来成長因子受容体: platelet-derived growth factor receptor) のキナーゼファミリーに対しても阻害活性を示すことが分かった。PDGF (血小板由来成長因子: platelet-derived growth factor) と PDGFR の相互作用によるシグナル伝達は、血管新生の際の血管周皮細胞の集積に必須であり、この相互作用を阻害することは末期癌における腫瘍の更なる増殖を防ぐ有効な手段であることが示されている。²⁵ したがって、VEGFR と PDGFR を同時に阻害することで、血管新生阻害による抗腫瘍剤として協同効果が得られる可能性がある。一方、化合物 **3** の HER2 (ヒト上皮成長因子受容体 2: human epidermal growth factor

receptor 2)、EGFR (上皮成長因子受容体: epidermal growth factor receptor)、インスリン受容体、PKC θ (タンパク質キナーゼ C θ : protein kinase C θ) に対する結合能は低く、キナーゼの選択性に問題はなかった。

化合物 **3** の抗腫瘍活性を、ヒト前立腺癌 (DU145) と非小細胞肺癌 (A549) を異種移植したヌードマウスを用いて検証したところ、経口で 10 mg/kg/day (5 mg/kg を 1 日 2 回) を 14 日間投与することで、対照群と比較して DU145 の場合で 27%、A549 の場合で 14% 腫瘍の大きさが減少し、かつ顕著な体重減少も毒性の兆候も認められなかった。

以上のように、非常に有望なデータが得られた化合物 **3** について、さらなる前臨床研究を推進するために、早期に数百グラム～数キログラムのバルクを供給することが求められた。そこで、筆者は安価、かつ簡便で大量合成に適用可能な製造法を開発すべく検討を開始した。

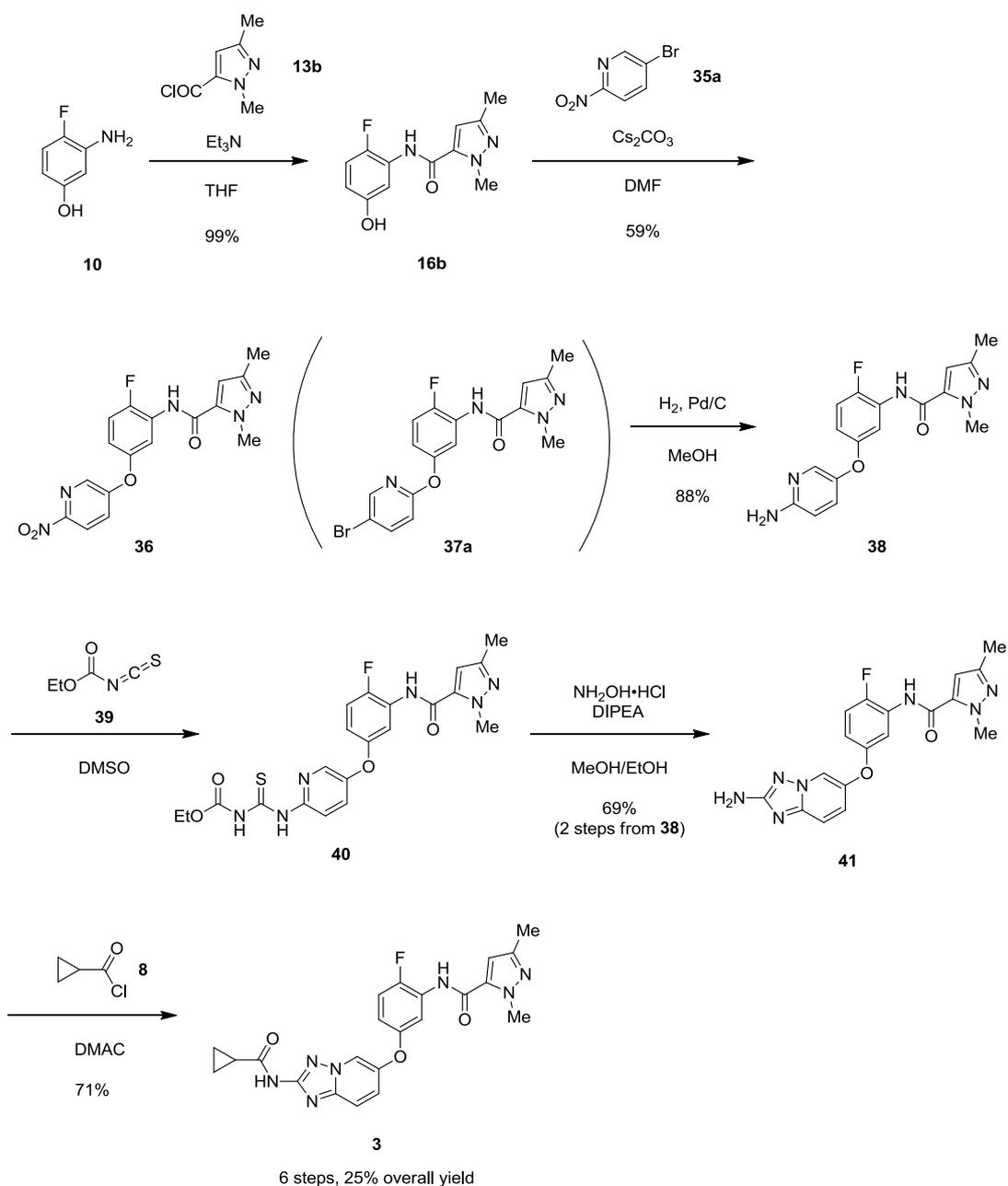
第2節 VEGFR-2 キナーゼ阻害薬候補化合物 **3** のプロセス化学研究

第1項 創薬化学の合成法とプロセス合成戦略

創薬化学における合成法は、計 6 工程からなるリニアな合成法であり、総収率は 25%に止まっている (Scheme 11)。^{26b} まず、フェノール **10** とピラゾールカルボニルクロリド **13b** のアシル化反応により、第 1 章で述べた化合物 **16b** を得ている。得られた **16b** と 5-ブロモ-2-ニトロピリジン **35a** の S_NAr 反応を行うと、目的の **36** と 5-ブロモピリジン **37a** の混合物が得られるため、シリカゲルカラムクロマトグラフィーにより **36** を単離精製する。**36** のニトロ基を接触還元により還元し、得られた **38** をイソチオシアネート **39** と反応させることによりチオウレア **40** を合成する。チオウレア **40** を、ジイソプロピルエチルアミン (DIPEA) 存在下に過剰量のヒドロキシルアミン塩酸塩と反応させることにより、環化反応が進行して **41** が生成する。²⁶ 最後にシクロプロパンカルボニルクロリド **8** とのアシル化反応を行って目的の **3** を得ている。

この合成法は実験室で小スケールの合成を行う上では問題はないものの、キログラムスケールのバルク製造を行うには、(1) リニアな合成法であり、総収率が低い、(2) 化合物 **10** の大量入手が難しい、^{注17} (3) **16b** と **35a** の S_NAr 反応における選択性が低く (**36** : **37a** = 60 : 40)、シリカゲルカラムクロマトグラフィーによる精製が必要である、(4) 高価、かつ催涙性のあるイソチオシアネート **39** を使用している、という問題点が存在した。

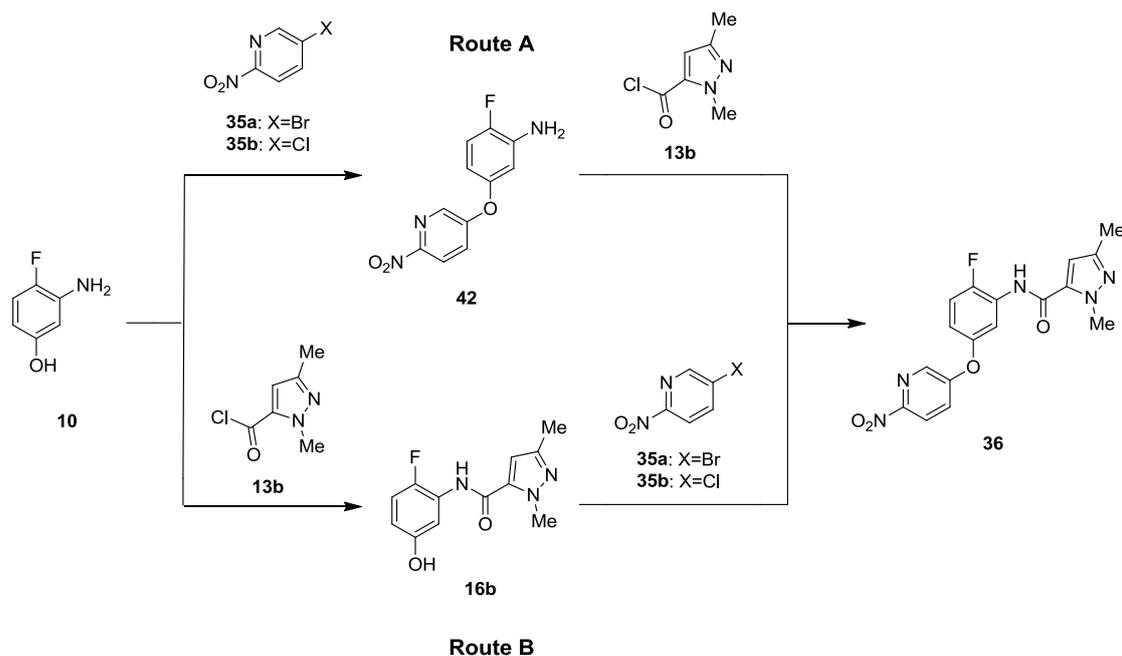
注17 著者が化合物 **3** のプロセス化学研究を開始した時点では、**10** は試薬として購入することができなかった。現在は、**10** はいくつかのメーカーから購入可能である。



Scheme 11. 創薬化学における **3** の合成法

筆者は、創薬化学の合成ルートはいくつかの鍵となる問題点を改良することができれば、大量合成に適用できると考えた。まず、出発原料となるフェノール **10** について、入手可能な化合物を原料とする大量合成法の開発を行うことにした。化合物 **10** は第 1 章の化合物 **1**、**2** の合成の際にも用いているが、化合物 **3** の合成においてより主要な出発物質となっている。そのため、化合物 **10** の合成法の改良は化合物 **3** の合成時に行った。

36 の合成については、**10** から **36** への 2 通りのルート (Route A, Route B) について検討を行った (Scheme 12)。それぞれのルートについて、5-ハロピリジン **35a/35b** との S_NAr 反応条件の最適化を行うことで選択性を向上させ、シリカゲルカラムによる精製の回避を試みた。2つのルートを最適化した結果を比較して、最終的によりよい結果を与えたルートを選択する方針とした。



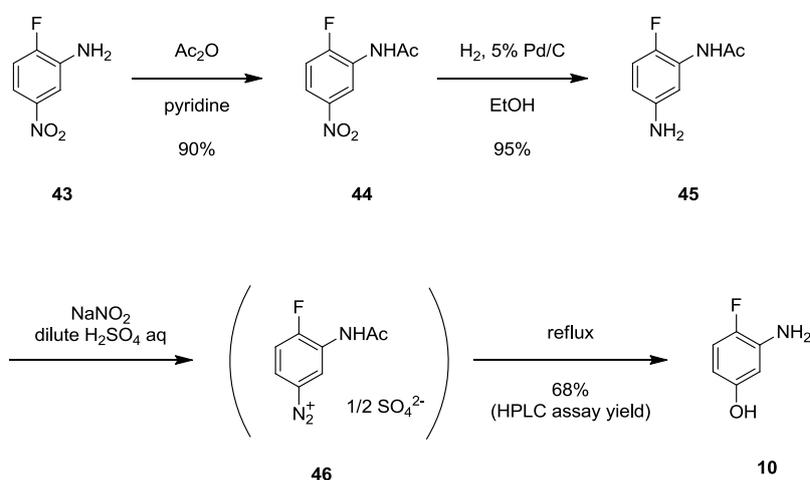
Scheme 12. **36** のスケールアップ製造に向けたルートの選択

チオウレア**40**の合成については、イソチオシアネート**39**を安価で入手の容易な化合物から*in situ*で調製し、単離することなくワンポットで使用する方法を検討した。最終工程における、収率の低いアシル化反応の収率向上についても検討を行った。さらに、各工程を大量合成の観点からブラッシュアップし、高純度の**3**が高収率、かつ容易に得られる合成法を確立することにした。

第2項 化合物 **10** の大量合成法の開発

これまでに報告されている**10**の合成法^{27, 28, 29}のうち、大量合成に適用できる可能性のある2つの合成法について追試を行って、その可能性を検証することにした。最初の方法は、ジアゾニウム塩**46**の加水分解に基づくルートである (Scheme 13)。²⁸ 大量入手可能な化合物**43**から容易に合成することのできるアニリン誘導体**45**を、希硫酸中、亜硝酸ナトリウムと反応させることで**46**を合成した。生成した**46**を単離することなく、反応液

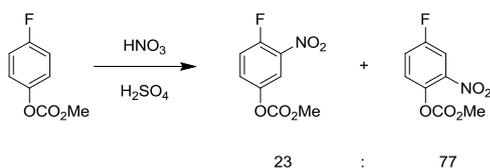
を昇温して還流条件下に**46**の加水分解を行うことで、目的の**10**をHPLC定量収率68%で得ることができた。この方法では実験室レベルでは確かに**10**が得られたものの、**46**の加水分解の最中に大量の不溶物が生じたため、大量合成への適用は難しいと判断した。

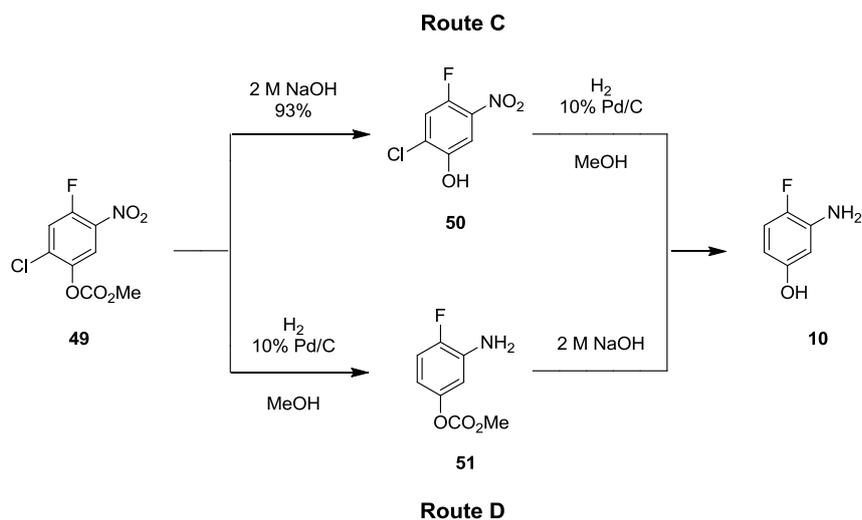
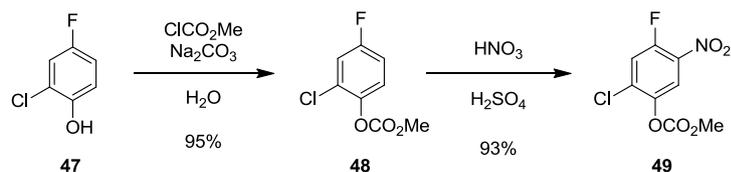


Scheme 13. **43**からの**10**の合成

2つ目の方法は、化合物**49/50**の接触還元に基づく方法である (Scheme 14)。^{29, 30} 大量入手可能な2-クロロ-4-フルオロフェノール**47**とクロロ炭酸メチルを、 Na_2CO_3 存在下に水中で反応させ、反応中に析出した結晶を濾取することで炭酸エステル**48**を収率95%で得た。得られた**48**の結晶は、加温下 ($>40^\circ\text{C}$) に減圧乾燥すると昇華することが分かり、乾燥には注意が必要であった。いくつかの乾燥条件を検討した結果、乾燥温度を 30°C 、減圧度を -0.1 MPa に設定した。続く濃硫酸と濃硝酸を用いたニトロ化反応は位置選択的に進行して、化合物**49**を収率93%で与えた。^{注18} さらに、**49**から2通りのルート (Scheme 14, Route C, Route D) で**10**への変換を試みた。

注18 塩素原子はこの位置選択的なニトロ化に必須であった。塩素原子がない基質では、目的物と異性体の比率は23:77であった。





Scheme 14. 47 からの 10 の合成

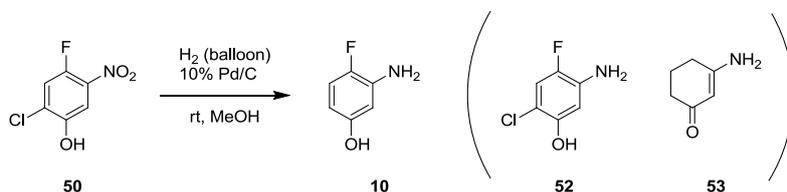
まず、**49**をMeOH中、2 M NaOH水溶液で加水分解することで化合物**50**を得た (Route C)。得られた**50**について、Pd/Cを用いた接触還元を何度か試みたが、収率は60~70%程度に止まった。文献の検索を行ったところ、同じ基質**50**の接触還元については特許に二件の報告例があったが、いずれも収率は中程度であった。^{注19} この還元反応では原料である**50**が完全に消費されているため、なんらかの副生成物が生成することで収率が低下していると推測された。そこで、収率低下の原因と収率向上の手段を探るため、**50**の接触還元反応について、添加剤の添加や触媒量を含めて詳細に検討を行った (Table 4)。

10% Pd/C (Pd: 3 mol%) を用い、室温で4時間反応を行ったところ、**10** が収率 64% で得られた (entry 1)。この条件下ではニトロ基の還元は非常に速く、反応1時間の段階で原料 **50** はほぼ完全に消費された。一方、クロロ基の還元は遅く、反応4時間後でも中間体 **52**^{注20} が4%残存した。

注19 H₂ (50 psi), 10% Pd/C, 12 h, 収率 70%^{29b}, H₂ (balloon), Pd(OH)₂/C, 8 h, 収率 67%^{29c}.

注20 化合物 **52** の構造は単離して決定した。¹H NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆) δ 5.13 (brs, 2H), 6.37 (d, ⁴J_{HF} = 8.6 Hz, 1H), 6.95 (d, ³J_{HF} = 11.0 Hz, 1H), 9.52 (brs, 1H, OH); ¹³C NMR (75 MHz, DMSO-*d*₆) δ 103.3 (d, ³J_{CF} = 4.3 Hz), 104.5 (d, ³J_{CF} = 9.7 Hz), 115.7 (d, ²J_{CF} = 22.6 Hz), 136.17 (d, ²J_{CF} = 14.10 Hz), 144.0 (d, ¹J_{CF} = 231.09 Hz), 149.7 (d, ⁴J_{CF} = 1.9 Hz); Anal. Calcd for C₆H₅ClFNO: C, 44.60; H, 3.12; Cl, 21.94; F, 11.76; N, 8.67; O, 9.90. Found: C, 44.37; H, 3.24; N, 8.73.

Table 4. **50** の接触還元反応の最適化 (Route C)



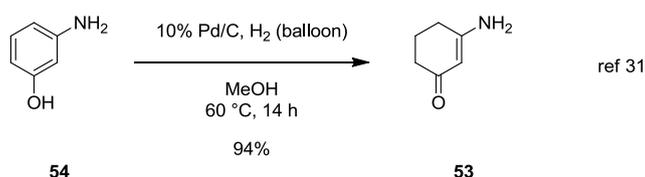
entry	Pd loading (mol %)	additive (equiv)	time (h)	HPLC assay yield (%)			
				10	52	53	50
1	3	–	4	64	4	2	0
2	3	AcOH (2.0)	4	78	6	2	0
3	3	c.HCl (2.0)	4	8	80	0.2	0
4	3	NaOAc (2.0)	3	87	0.1	10	0.
5	3	Na ₂ CO ₃ (2.0)	3	37	0	58	0
6	3	8 M NaOH (2.0)	3	8	7	37	0
7	3	MeONa (2.0)	3	67	0	29	0
8	3	NaOAc (1.1)	3	85	0.5	5	0
9	5	NaOAc (1.1)	3	77	0.7	4	0
10	10	NaOAc (1.1)	3	53	1	3	0
11	2	NaOAc (1.1)	3	88 (86 ^a)	0.4	4	0

^a Isolated yield after column chromatography.

続いて、添加剤として数種の酸・塩基を加えて反応を行い、その効果を検証した。酢酸を添加した場合は収率が78%に向上した (entry 2)。興味深いことに、濃塩酸 (c.HCl) を2.0当量添加して還元反応を行うと**52**の脱クロロ化が大きく阻害され、収率が8%にまで低下した (entry 3)。この結果からは、**52**の脱クロロ化によって反応系中に生じる塩化水素が、**52**の脱クロロ化を阻害していると推測された。すなわち、**52**、塩化水素および**10**が平衡状態にあり、系中に副生物である塩化水素の量が増えることで、平衡が**52**の方に傾くと考えられた。そのため、反応系中に塩基を添加することにより、**52**の脱クロロ化によって副生する塩化水素が中和され、**52**の脱クロロ化が促進されるのではないかと考えた。実際、NaOAcを添加して反応を行うことで、**52**の残存量は0.1%まで減少し、**10**が収率87%で得られた (entry 4)。

一方、 Na_2CO_3 と NaOMe を添加した場合は、**52** の残存量は大きく減少したものの、**10** のベンゼン環の還元が進行して化合物 **53**^{注21} が大量に生成する結果となった (entries 5, 7)。³¹ 添加剤の検討を行うなかで、Pd 触媒の量も反応に大きな影響を与えることが分かった。使用する Pd の量を 3 mol% から 5 mol%、10 mol% と増やしたところ、収率は 85% から 77% と 53% へとそれぞれ低下した (entries 9, 10)。さらに検討を続けた結果、最適な触媒量が 2 mol% であることが分かった。2 mol% の Pd を用い、1.1 当量の NaOAc を添加して反応を行うことで収率は 88% まで向上した (entry 11)。

この還元反応における収率低下の要因は、ベンゼン環が還元された副生成物 **53** の生成と、**53** が生成物 **10** と副反応を起こすことにあると考えられる。これまでに、3-アミノフェノール **54** のベンゼン環が還元されて **53** が得られたとの報告はあるが (Scheme 15)、³¹ 化合物 **10** のベンゼン環の還元が、脱フッ素化を伴いながら進行することについては報告例がない。

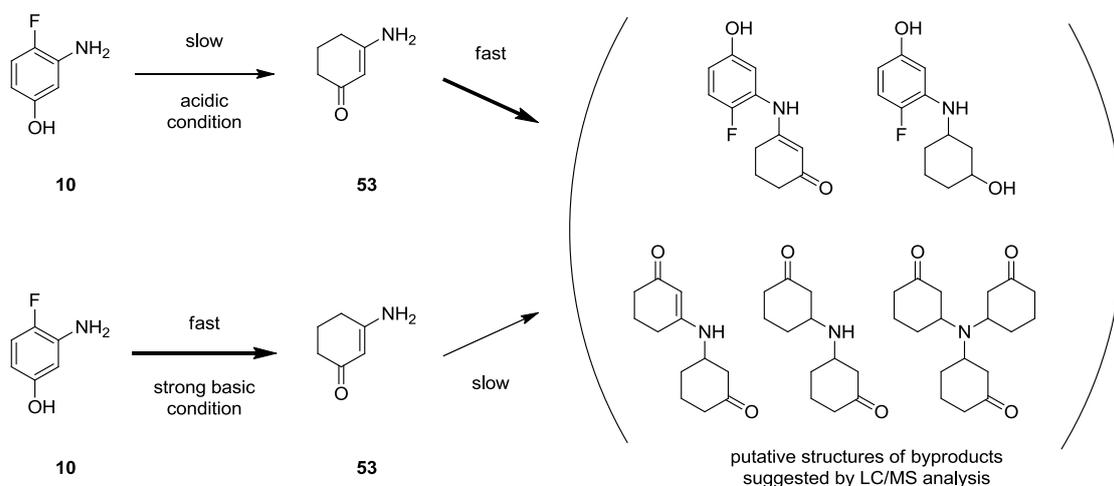


Scheme 15. 3-アミノフェノール **54** の還元

反応液を LC/MS で分析したところ、**53** と **10** が反応してできた副生成物が数種類観察された (Scheme 16、構造は推定構造)。^{注22} 酸性条件下では **10** が **53** と反応し、それがさらに還元されることで他の副生成物が生じて、**10** の収率が低下するものと考えられる。一方、強い塩基性条件下では **10** から **53** への還元は早いものの、**10** と **53** の反応が遅く、**53** が大量に生成したと推測される。Pd 触媒の量を増やすことにより **10** の収率が低下したのも、**10** から **53** への還元反応が加速されたことが原因であると考えられる。**50** の還元反応を塩基非存在下に行うと、クロロ基の還元によって副生する塩化水素によって反応液が次第に酸性になる (pH 3~4)。 NaOAc のような弱塩基を適当量加えて反応を行うことで、反応液の pH が適当な範囲にコントロールされ、系が強塩基性となって **10** のベンゼン環の還元が促進されることなく、また系が酸性となって **10** が **53** と副反応を起こすこともなく、収率よく **10** が得られるものと推察される。

注21 化合物 **53** の構造は、 $^1\text{H NMR}$ と LC/MS の測定を行い、文献 31 および市販の試薬 (Alfa Aesar 社から購入) とスペクトルデータが一致することで確認した。

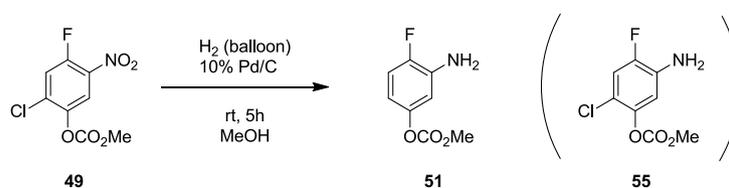
注22 HPLC による分析では、これらの副生成物は非常に小さいピークとして検出された。これらの副生成物の中には、非常に弱い UV 吸収しか持たない化合物が含まれるため、UV 検出器を用いた HPLC 分析ではこれらの副生成物の正確な量を定めることは難しかった。



Scheme 16. 化合物 **53** の生成とその副反応

このタイプのベンゼン環の還元は、3-アミノフェノール構造を持つ化合物に特有であると考えられるため、ヒドロキシ基が保護された化合物 **49** の還元反応 (Scheme 14, Route D) については、このようなベンゼン環の還元は起こらないものと推測された (Table 5)。

Table 5. **49** の **51** への還元反応 (Route D)

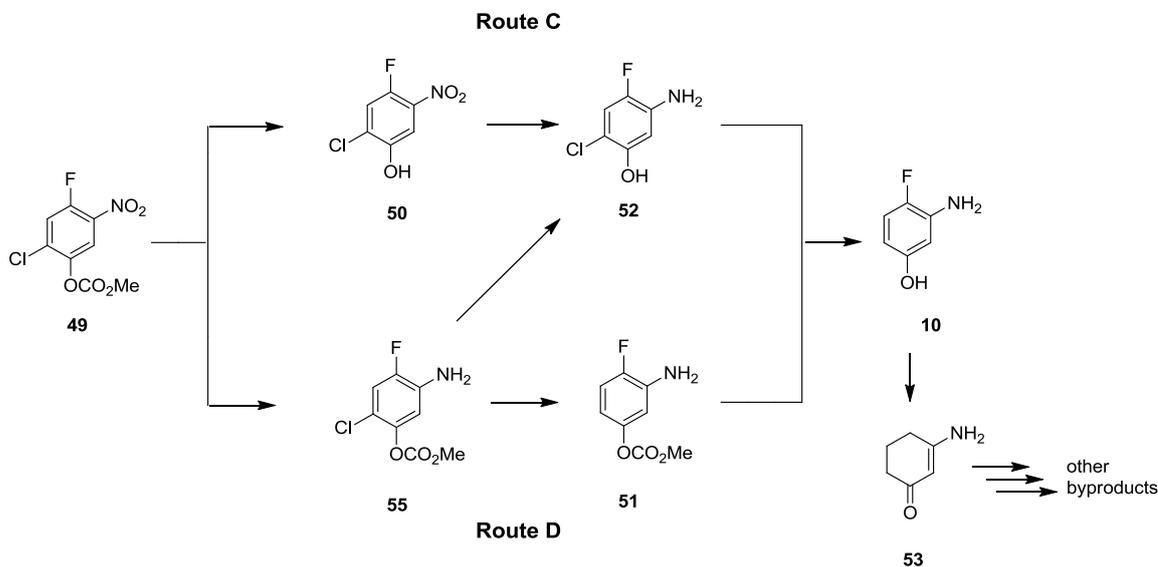


entry	additive (equiv)	conversion (%)
1	-	29
2	NaOAc (1.0)	88

実際に中性条件下で **49** の接触還元反応を行ったところ (entry 1)、中間体 **55**^{注23} のクロロ基の還元が非常に遅く、目的の **51** への変換率は 29% に止まった。一方、NaOAc を添加した弱塩基性条件下で反応を行ったところ、変換率は 88% まで向上した (entry 2)。しかし、NaOAc の添加によって、反応中に基質 **49**、中間体 **55** および生成物 **51** のメト

注23 Data for **55**: ¹H NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆) δ 3.83 (s, 3H), 5.58 (brs, 2H), 6.74 (d, ³J_{HF} = 10.9 Hz, 1H), 7.27 (d, ⁴J_{HF} = 8.31 Hz, 1H); ¹³C NMR (75 MHz, DMSO-*d*₆) δ 56.01, 109.9 (d, ³J_{CF} = 5.78 Hz), 110.0 (sd, ³J_{CF} = 12.6 Hz), 116.2 (d, ²J_{CF} = 23.6 Hz), 137.0 (d, ²J_{CF} = 14.4 Hz), 143.3 (d, ⁴J_{CF} = 2.66 Hz), 148.0 (d, ¹J_{CF} = 239.7 Hz), 153.0.

キシカルボニル基の脱保護が一部進行して、Route C の中間体にあたる **50**、**52** と目的物の **10** が生成することが分かった (Scheme 17)。注²⁴



Scheme 17. 塩基存在下での **49** の還元反応における中間体と副生成物

この脱保護により、反応系中に多くの中間体と副生成物が生じることになり、反応追跡と各中間体の量を管理することが難しくなった。通常、大スケールでの反応では、品質管理のためにプロセスパラメーターの厳密な管理が要求される。そのため、化合物 **10** のスケールアップ合成には Route D ではなく Route C を選択することにした。

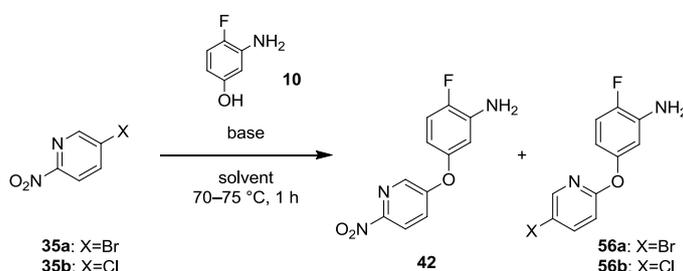
最適化した反応条件 (p30, Table 4 entry 11) はキログラムスケールでの製造にも適用することができた。基質 **50** を 5.4 kg 仕込み、2.0 mol % の Pd/C、1.1 当量の NaOAc を用いて 0.1 MPa の水素圧で 4 時間反応を行った。触媒を濾去した後に溶媒を EtOAc に置換し、食塩水で洗浄してから、EtOAc/*n*-heptane (1:4) から結晶化することにより収率 80% で化合物 **10** を 2.85 kg 得ることができた。

注²⁴ NaOAc の添加時、非添加時の化合物 **49** の MeOH 中での安定性を調べた。MeOH 溶媒に 1.1 当量の NaOAc と **49** を加えて攪拌を行ったところ、20 °C では 1 時間当たり 8%、40 °C では 1 時間当たり 30% の **49** が脱保護されて **50** へと変換された。一方、NaOAc 非存在下では、25 °C でも 40 °C でも **49** の脱保護は観察されなかった。

第3項 化合物 **36** の合成

化合物 **36** の合成については、まず原料として購入可能な 5-ハロ-2-ニトロピリジン **35a/35b** と **10** との S_NAr 反応の検討を行った (p27, Scheme12, Route A, Table 6)。^{注25} 塩基性条件下では、**10** のフェノキシドが優先的に反応してエーテル体のみが生成し、官能基選択性に問題はなかった。塩基と溶媒のスクリーニングを行ったところ、 Cs_2CO_3 、 K_2CO_3 、 K_3PO_4 は DMSO 中で同等の選択性を与えた (entries 3–5)。このうち、副生成物が最も少ない K_3PO_4 を塩基として使用することにした。

Table 6. **10** と **35a/35b** との S_NAr 反応の最適化 (Route A)^a



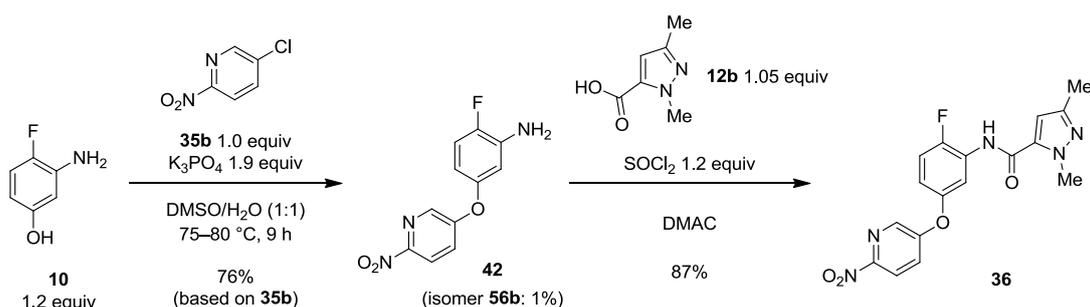
entry	substrate	base	solvent	ratio ^{b,c} 42 : 56
1	35a	Cs_2CO_3	THF	21 : 79
2	35a	Cs_2CO_3	DMAC	59 : 41
3	35a	Cs_2CO_3	DMSO	62 : 38
4	35a	K_2CO_3	DMSO	65 : 35
5	35a	K_3PO_4	DMSO	62 : 38
6	35a	<i>t</i> -BuONa	DMSO	48 : 52
7	35a	8 M NaOH	DMSO	59 : 41
8 ^d	35a	K_3PO_4	DMSO/H ₂ O (2:1)	75 : 25
9 ^e	35b	K_3PO_4	DMSO/H ₂ O (1:1)	86 : 14 (74) ^f

^a The reaction was carried out using 1.0 equiv of **35a/35b**, 1.2 equiv of **10** and 1.25 equiv of bases at 70–75 °C for 1 h. ^b Molar ratio determined by HPLC analysis of the reaction mixture. ^c Yields were not determined in entries 1–8. ^d The reaction was carried out for 10 h. ^e The reaction was carried out using 1.9 equiv of K_3PO_4 at 75–80 °C for 9 h. ^f Isolated yield of **42**.

注25 Data for **56a**: ¹H NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆) δ 5.29 (brs, 2H), 6.24 (ddd, $J_{HF} = 6.5$ Hz, $J = 8.7, 2.9$ Hz, 1H), 6.51 (dd, $J_{HF} = 7.7$ Hz, $J = 2.9$ Hz, 1H), 6.94 (d, $J = 8.7$ Hz, 1H), 6.99 (dd, $J_{HF} = 10.2$ Hz, $J = 8.7$ Hz, 1H), 8.00 (dd, $J = 8.7, 2.6$ Hz, 1H), 8.27 (d, $J = 2.6$ Hz, 1H); ¹³C NMR (75 MHz, DMSO-*d*₆) δ 107.9 (d, $^3J_{CF} = 6.9$ Hz), 108.7 (d, $^3J_{CF} = 4.9$ Hz), 113.3, 113.39, 115.5 (d, $^2J_{CF} = 20.2$ Hz), 137.7 (d, $^2J_{CF} = 14.8$ Hz), 142.5, 148.0 (d, $^1J_{CF} = 233.9$ Hz), 148.1, 150.1 (d, $^4J_{CF} = 1.9$ Hz), 162.6. MS (ESI): m/z 283, 285 [M+H]⁺. **56b** については LC/MS 分析から構造を推定した。MS (ESI): m/z 239 [M+H]⁺.

検討を行ううち、溶媒として含水 DMSO (DMSO/H₂O 2:1) を用いると、反応速度は低下するものの DMSO を単独で溶媒に用いた場合よりも選択性が向上することが分かった。また、基質については、**35a** を用いるよりも **35b** を用いるほうがよい選択性を与えた。最終的には基質として **35b** を用い、DMSO/H₂O (1:1) 溶媒中、1.9 等量の K₃PO₄、1.2 当量の **10** を用いて 75~80 °C で 9 時間反応させることで最適な結果が得られた (entry 9)。選択性は **42**:**56b** = 86:14 まで向上し、後処理後にジイソプロピルエーテルから晶析を行うことで、1% (mol 比) の **56b** を含む **42** が収率 76% で得られた (Scheme 18)。得られた **42** について、ピラゾールカルボン酸 **12b** と塩化チオニルから *in situ* で調製した酸クロリドと反応させ、EtOAc/*n*-heptane から結晶化することで **36** を収率 87% で得た。得られた **36** には **56b** に由来する異性体は含まれていなかった。

このルートについては、小スケールでは高品質の **36** を収率よく与えたものの、**10** と **35b** の S_NAr 反応中にかなりの量の不溶物の生成が認められた。これは、S_NAr 反応条件下でアニリン **10** が不安定なためと推測され、この点がスケールアップを行う場合の懸念材料として残った。



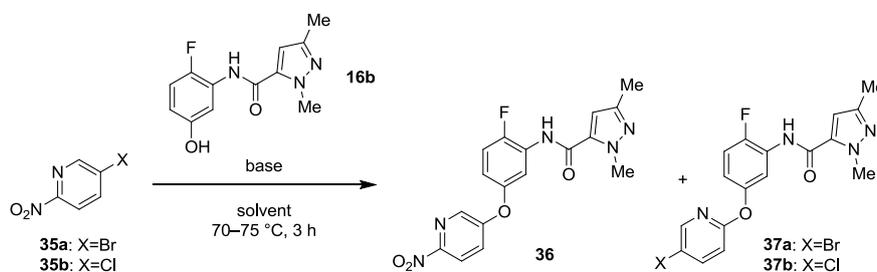
Scheme 18. Route A の最適化の結果

Route B (p27, Scheme 12) については、まず **10** と **12b** から **16b** を合成し、その後 **35a**/**35b** との S_NAr 反応の検討を行った (Table 7)。^{注26} **10** と **35** の反応 (Table 6) と同様に、基質としては **35a** より **35b** の方がよい選択性を与えた。スクリーニングを行った塩基と溶媒のうち、K₂CO₃ と DMSO の組み合わせが最もよい結果を与えた (entry 13, **36**:**37b** = 80:20)。また、この反応においても水を添加することで選択性の向上が認められた (entry 14)。**16b** を 1.05 当量の **35b** と 1.1 当量の K₂CO₃ 存在下、DMSO/H₂O (5:1) 中 75~85 °C で 6 時

注26 Data for **37a**: ¹H NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆) δ 2.20 (s, 3H), 3.99 (s, 3H), 6.86 (s, 1H), 7.05-7.10 (m, 2H), 7.36 (dd, *J*_{HF} = 9.9 Hz, *J* = 9.9 Hz, 1H), 7.44 (dd, *J*_{HF} = 6.4 Hz, *J* = 2.9, 1H), 8.07 (dd, *J* = 8.8, 2.5 Hz, 1H), 8.29 (d, *J* = 2.5 Hz, 1H), 10.1 (brs, 1H); ¹³C NMR (75 MHz, DMSO-*d*₆) δ 13.2, 38.8, 107.9, 113.7 (d, ³*J*_{CF} = 2.5 Hz), 116.8 (d, ²*J*_{CF} = 22.2 Hz), 119.7, 119.9 (d, ³*J*_{CF} = 8.0 Hz), 125.9 (d, ²*J*_{CF} = 14.0 Hz), 135.1, 142.8, 145.7, 147.9, 149.2, 152.68 (d, ¹*J*_{CF} = 244.6 Hz), 158.3, 162.2. MS (ESI): *m/z* 405,407 [M+H]⁺. **37b** については LC/MS 分析から構造を推定した。MS (ESI): *m/z* 361 [M+H]⁺.

間反応させると、97%を越える変換率、**36:37b** = 82:18 の選択性で反応が進行した。

Table 7. **16b** と **35a/35b** の S_NAr 反応の最適化 (Route B)^a

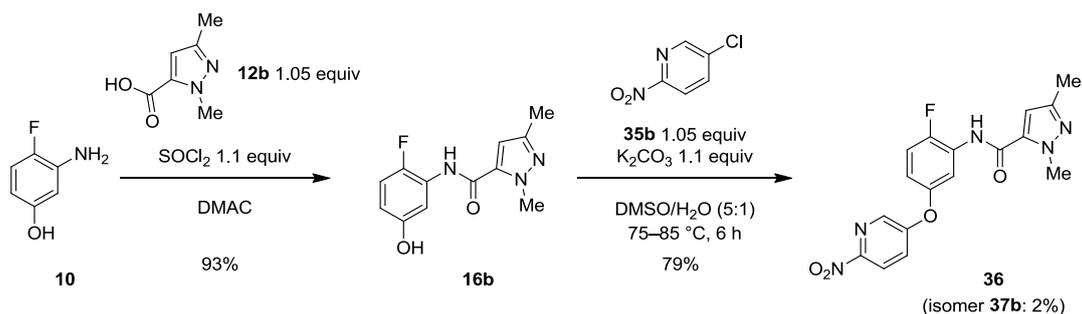


entry	substrate	base	solvent	ratio ^{b,c} 36 : 37
1	35a	Cs ₂ CO ₃	THF	30 : 70
2	35a	Cs ₂ CO ₃	DMF	60 : 40
3	35a	Cs ₂ CO ₃	DMAC	56 : 44
4	35a	Cs ₂ CO ₃	NMP	57 : 43
5	35a	Cs ₂ CO ₃	DMSO	66 : 34 (54) ^e
6	35a	K ₂ CO ₃	DMSO	69 : 31
7	35a	<i>t</i> -BuONa	DMSO	64 : 36
8	35b	Cs ₂ CO ₃	DMF	72 : 28
9	35b	Cs ₂ CO ₃	DMAC	70 : 30 (65) ^e
10	35b	Cs ₂ CO ₃	NMP	69 : 31 (65) ^e
11	35b	Cs ₂ CO ₃	DMSO	77 : 23 (72) ^e
12	35b	K ₃ PO ₄	DMSO	79 : 21 (72) ^e
13	35b	K ₂ CO ₃	DMSO	80 : 20 (76) ^e
14 ^d	35b	K ₂ CO ₃	DMSO/H ₂ O (5:1)	82 : 18 (80) ^e

^a The reaction was carried out using 1.0 equiv of **35a/35b**, 1.05 equiv of **16b** and 1.1 equiv of bases at 70–75 °C for 3 h. ^b Molar ratio determined by HPLC analysis of the reaction mixture. ^c Yields were not determined unless otherwise noted. ^d The reaction was carried out for 6 h. ^e HPLC assay yield of **36**.

EtOAc で抽出して水洗後、EtOAc/*n*-heptane (1:3) から晶析することで 2% (mol 比) の **37b** を含む **36** を収率 79% で得た (Scheme 19)。**37b** については次の **36** の接触還元工程の後処理の際に除去される (<0.1%) ことが分かったため、これ以上の精製は必要ないと判断した。^{注27}

注27 化合物 **36** を EtOAc/*n*-heptane (1:3) から再結晶したところ、収率 91% で **36** が得られ、**37b** は 0.6% 未満にまで削減することができた。

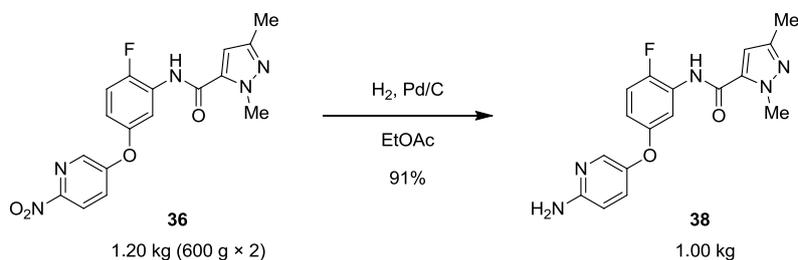


Scheme 19. Route B の最適化の結果

Route A と Route B の最適化を行った結果、2 工程の通算収率はほぼ同等であったが、スケールアップに向けた懸念のない Route B を最終的な製法として選択した。Route B に基づいてスケールアップ製造を行った結果、802 g の **35b**、1.20 kg の **16b** から 1.39 kg の **36** (**37b**: 1.6 area%^{注28}) を収率 78% で得ることができた。

第4項 化合物 **40** のワンポット合成

前項にて得られた **36** について、MeOH 溶媒中、10%Pd/C (Pd: 2 mol%) を用いて接触還元を行ったところ、反応初期に大きな発熱が認められた。そこで、溶媒の検討を行ったところ、EtOAc を溶媒に用いると反応がより温和に進行することが分かった。**36** の接触還元のスケールアップ (600 g の **36** を用いて 2 回に分けて反応を行った)^{注29} は EtOAc 中、10% Pd/C (Pd: 2 mol%) を用いて 15~30 °C で 3 時間、40~45 °C で 3 時間反応を行った (Scheme 20)。反応終了後に触媒を濾去し、EtOAc/*n*-heptane (2:5) から晶析することにより、収率 91% で 1.00 kg の 2-アミノピリジン誘導体 **38** を得た。



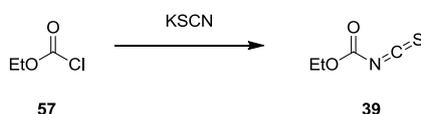
Scheme 20. **36** の接触還元

注28 実験項に記載の分析条件で化合物/反応液を HPLC で測定した際の、面積百分値を表す。

注29 600 g の **36** を原料として 2 回反応を行った後、反応液をひとつにまとめて後処理操作を行った。

続いて、高価かつ催涙性のあるイソチオシアネート **39** を、安価なクロロ炭酸エチル **57** とイソチオシアン酸カリウム (KSCN) から *in situ* で合成し、**38** とワンポットで反応させる検討を行った (Table 8)。**57** を 1.04 当量の KSCN と THF 中 50 °C で反応させたところ、**39** は得られなかった (entry 1)。文献では、触媒量の塩基の添加が **39** の調製に必要であると報告されている。³² 検討した塩基の中では TMEDA が最も効果的であり、**39** を収率 70% で与えた (entry 2)。一方、他の溶媒の使用を検討したところ、MeCN と acetone を溶媒に用いた場合には、塩基を添加することなく **39** がそれぞれ収率 73%、57% で得られた (entries 6, 7)。

Table 8. クロロ炭酸エチル **57** とイソチオシアン酸カリウムからの **39** の *in situ* 調製

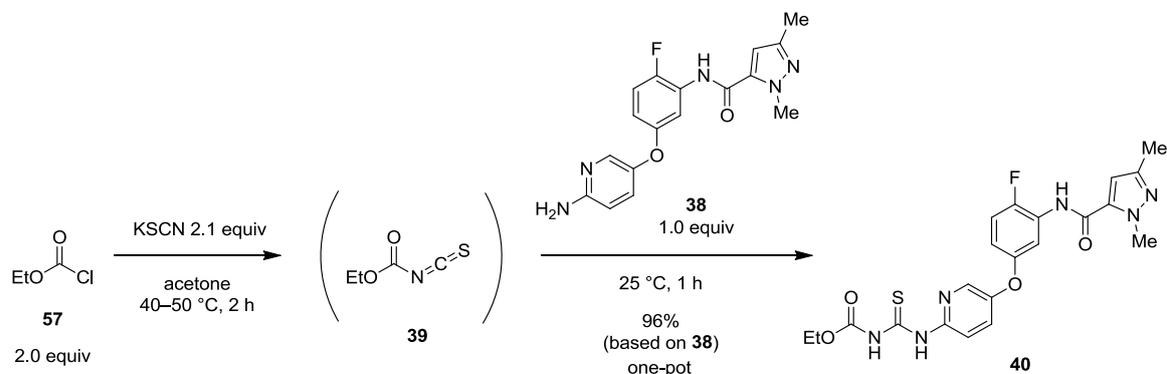


entry	KSCN (equiv)	base (equiv)	solvent	temp (°C)	time (h)	GC assay yield of 39 (%)
1	1.04	–	THF	50	2	ND ^a
2	1.2	TMEDA (0.1)	THF	rt	5	70
3	1.2	Et ₃ N (0.1)	THF	rt	5	38
4	1.2	pyridine (0.1)	THF	rt	5	58
5	1.2	DMAP (0.1)	THF	rt	5	59
6	1.04	–	MeCN	70	2	73
7	1.04	–	acetone	50	1.5	57

^a Not detected.

さらに、得られた **39** を単離することなくワンポットで **38** と反応させることを試みた。化合物 **38** を、Table 8 entry 2 の条件で調製した **39** の THF 溶液中に添加したところ、反応は円滑に進行して **40** が生成した。しかし、反応液中に水を滴下することで化合物 **40** を晶析させることを試みたものの、油状物を与える結果となった。Table 8 entry 6 の MeCN を溶媒とした場合も、反応液に水を滴下すると **40** が油状物となったが、Table 8 entry 7 の acetone を溶媒とした場合には反応液中に水を滴下すると **40** が結晶化し、濾取することで **40** を容易に単離することができた。acetone を溶媒にした際には、**38** を **40** に完全に変換するために 2.0 当量の **57** と 2.1 当量の KSCN が必要となった。acetone 中で **39** を調製した後、**38** を反応液中に固体として加えて 25 °C で 1 時間攪拌した。反応液に水を滴下することで **40** が晶析し、濾取をして EtOH/H₂O (1:1) で洗浄することで化合物 **40** が収率 96% で得られた (Scheme 21)。得られた結晶中には **38** と **57** や KSCN と

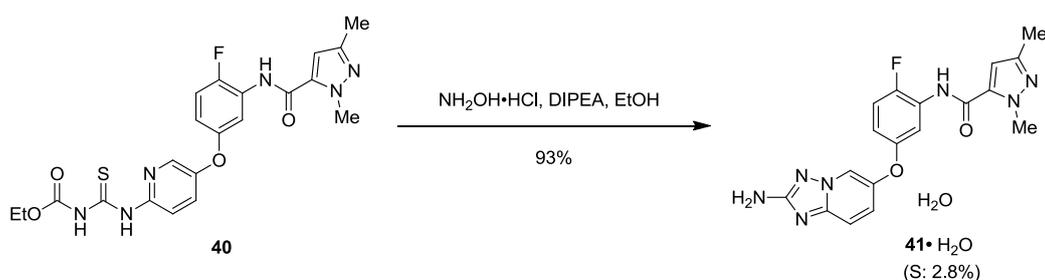
の反応由来と思われる副生成物は認められず、高品質の **40** が簡便な操作で得られるようになった。^{注30}



Scheme 21. *in situ* 調製した **39** を用いた **40** のワンポット合成

第5項 化合物 **3** の合成

化合物 **41** は、チオウレア **40** を 5 当量のヒドロキシルアミン塩酸塩と 3 当量の DIPEA と EtOH 中、50~55 °C で 6 時間反応させることにより容易に合成することができた。水を反応液中に滴下することで結晶化が起こり、濾取をすることで **41** の水和物 (**41**·H₂O) が収率 93% で得られた (Scheme 22)。



Scheme 22. **41** の合成

しかし、得られた **41**·H₂O の元素分析を行ったところ、予期せぬことに 2.8% の硫黄を含有していることが分かった。この硫黄は、反応中に生成する H₂S が空気酸化されることによって生成するものと推測された。H₂S の酸化を防ぐために反応を窒素雰囲気下で

注30 さらに実験を重ねると、得られた **40** は乾燥を行うことなく次工程に使用できることが分かった。大量合成時には乾燥にも時間がかかるため、乾燥操作を省略できると製造時間の短縮につながる。そのため、スケールアップ合成については **40** の湿結晶をそのまま次工程に用いることにした。

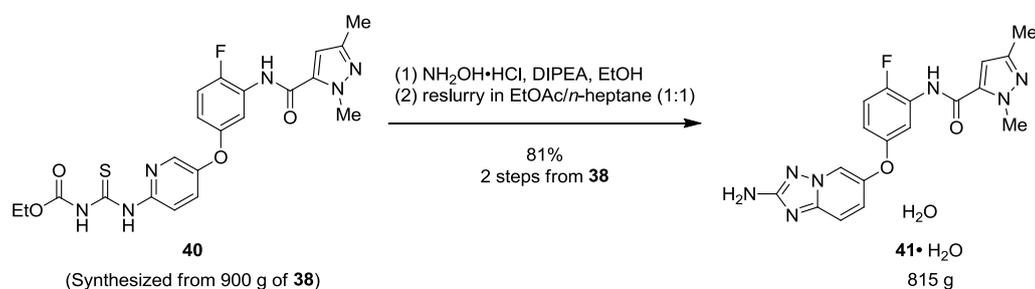
行ったところ、残留硫黄の量は 1.5%まで減少したものの、硫黄の結晶中への残留を完全に防ぐことは難しいと考えられた。そこで、得られた **41**·H₂O を各種溶媒中で懸濁攪拌し、残留硫黄を除く検討を行った (Table 9)。³³ EtOH/H₂O (1:1) のような含水溶媒は全く効果がなかったが (entry 1)、脂溶性の高い溶媒については硫黄除去の効果があることが分かった。toluene 中での懸濁攪拌は特に効果的で、残留硫黄が<0.05%となり、かつ 96%の回収率で **41**·H₂O を回収することができたが (entry 3)、スケーリング^{注31} が認められた。一方、EtOAc を用いた場合にはスケーリングは起こらず、残留硫黄も 0.39%まで減少したものの、回収率が 85%と低い値となった (entry 4)。最終的には混合溶媒 EtOAc/*n*-heptane (1:1) が最もよい結果を与え、残留硫黄が<0.05%となり、スケーリングを起こすことなく回収率は 94%と高い値となった (entry 5)。

Table 9. **41**·H₂O の各種溶媒中での懸濁攪拌と残留硫黄の除去^a

entry	initial amount of residual sulfur (%) ^b	solvent	temp (°C)	recovery (%)	amount of residual sulfur after reslurry (%) ^b
1	2.8	EtOH/H ₂ O (1:1)	rt	96	2.8
2	1.5	diisopropyl ether	60	98	0.55
3	1.5	toluene	90	96	<0.05
4	1.5	EtOAc	60	85	0.39
5	1.5	EtOAc/ <i>n</i> -heptane (1:1)	60	94	<0.05

^a Crude **41**·H₂O was suspended in each solvent and stirred for 1 h at the temperature described in the table. After cooling to room temperature, the slurry was stirred for 1 h, and then **41**·H₂O was collected by filtration. ^b Determined by elemental analysis.

スケールアップ製造の際には、900 g の **38** から合成した **40** の湿結晶を用いて反応を行い、この手法を組み込むことで高純度 (残留硫黄<0.05%) の **41**·H₂O が **38** からの 2 工程通算収率 81% で 815 g 得られた (Scheme 23)。



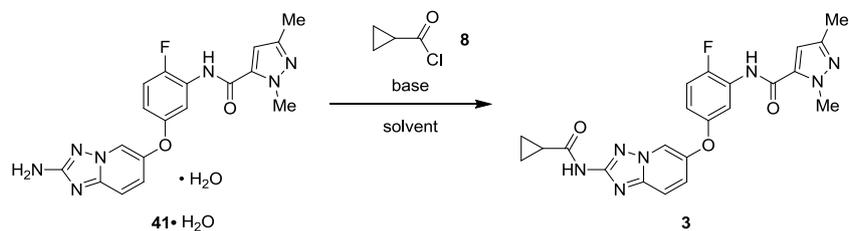
Scheme 23. **41** のスケールアップ合成

注31 反応器の壁面へ結晶が大量に付着する現象のこと。

創薬化学における化合物 **41** と **8** とのアシル化反応の収率は、71%に止まっている (Scheme 11)。最終工程の収率は、全体の製造コストに大きな影響を与えるため、収率向上のために若干の検討を行うことにした (Table 10)。化合物 **41**·H₂O の汎用溶媒に対する溶解性が極めて低いため、DMAC、NMP、DMF のような非プロトン性極性溶媒を用いて反応を行った。**41**·H₂O と 3.0 当量の **8** を、DMAC、もしくは NMP を溶媒として 40 °C で 4~5 時間反応させたところ、目的の **3** が 95 area%以上生成した (entries 1, 2)。一方、DMF を溶媒として用いて反応を行ったところ、**3** の生成は 10.4 area%に止まり、LC/MS による分析から **58** と推定される化合物が 89.1 area%生成した。高価な試薬である **8** の使用量を、3.0 当量から 1.5 当量まで減らしたところ、**3** の生成率は大幅に減少した (entry 4, 63.9 area%)。そこで、反応を促進するために塩基の添加を検討した。1.2 当量のトリエチルアミンを加えて反応を行うと、LC/MS による分析から、ビスアシル化体 **59** と推定される化合物が 39.1 area%生成した (entry 5)。スクリーニングを行った塩基のうち、ピリジンの添加が最も転換率の向上に有効であった (entry 9, 10)。**41**·H₂O を 2.0 当量の **8** と 3.0 当量のピリジン存在下に、25~40 °C で 2 時間反応させたところ、**3** の生成率は 99.2 area% まで向上した (entry 10)。この最適化条件は、**3** のスケールアップ合成 (890 g の **41**·H₂O を使用) にも適用することができた (Scheme 24)。反応終了後に水と種晶 (**3** の水和物: **3**·H₂O) を加え、2 M の NaOH 水溶液を滴下して pH を 6~8 に調整したところ、**3**·H₂O の結晶が晶析した。^{注32} 結晶を濾取し、水で洗浄することで、1.04 kg の高純度 (99.2 area%) の **3**·H₂O を高い収率 (99%) で得ることができた。

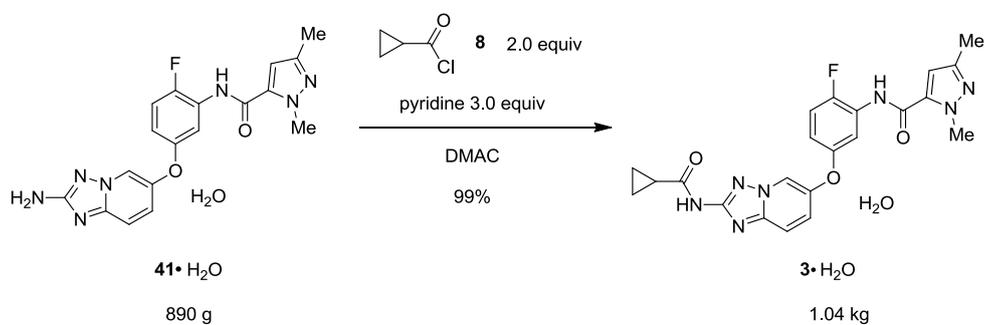
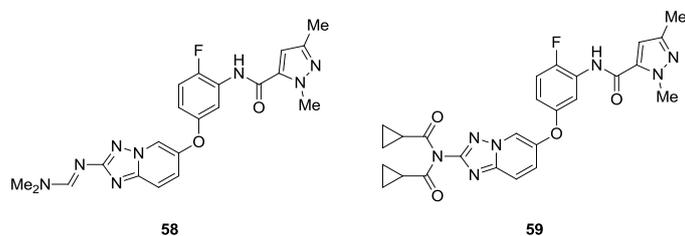
注32 結晶化の際に form A の種晶を使うことで、**3** を無水物 (form A)として取得することは可能であったが、無水物 (form A) の場合には濾過性が悪く、濾取をするのに非常に長い時間を要した。一方、水和物 (**3**·H₂O) の場合には濾過速度が速く、結晶を容易に単離することができた。

Table 10. 41·H₂O のアシル化反応の最適化



entry	8 (equiv)	solvent	base (equiv)	temp (°C)	time (h)	3 (area %) ^a	41·H ₂ O (area %) ^a
1	3.0	DMAC	—	40	4	96.8	2.2
2	3.0	NMP	—	40	5	95.2	4.1
3 ^b	3.0	DMF	—	40	3	10.4	<1
4	1.5	DMAC	—	50	5	63.9	34.6
5 ^c	1.5	DMAC	Et ₃ N (1.2)	50	3	40.8	18.1
6 ^d	1.5	DMAC	DBU (1.2)	50	3	44.8	50.9
7	1.5	DMAC	<i>t</i> -BuOK (1.2)	50	3	35.3	27.5
8	1.5	DMAC	K ₂ CO ₃ (1.2)	50	3	71.3	26.3
9	1.5	DMAC	pyridine (1.2)	50	3	83.1	16.5
10	2.0	DMAC	pyridine (3.0)	25–40	2	99.2	<1

^a Area % in HPLC analysis of the reaction mixture. ^b 89.1 area % of **58** was observed. ^c 39.1 area % of **59** was observed. ^d 2.2 area % of **59** was observed.



Scheme 24. 3·H₂O のスケールアップ合成

第6項 化合物 3 の再結晶

医薬品原薬は複雑な化学構造を持つため、複数の結晶形 (結晶多形) を持つことが多いことが知られている。結晶多形は同一分子でありながら、それぞれが異なる結晶構造を持ち、溶解性や安定性等の物理化学的な性質が異なる。一般に、熱力学的に最も安定な結晶形は、他の結晶形 (準安定形) と比較して製造時の制御が容易で、長期保存した際の固相転移の可能性が低いために、開発形として選択されることが多い。しかし、目的の結晶形を確実に得ることは必ずしも容易ではなく、目的とは別の結晶形が得られたり、複数の結晶形の混合物が得られたりするケースが多々ある。そのため、大スケールでも確実に目的の結晶形が得られるような製造法を確立するために、再結晶溶媒の選択、貧溶媒の選択と使用量および滴下温度、種晶の添加温度、結晶の熟成温度および熟成時間^{注33}等のパラメーターについて入念な検討が必要となる。

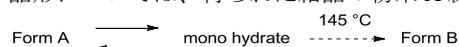
化合物 3 には2つの結晶形 (form A、form B) と1つの擬多形^{注34} (1水和物: 3·H₂O) が見つかっているが、熱力学的に最も安定な結晶形である form A が開発形として選択された。^{24(a)} そのため、form A が確実に得られるような堅牢な再結晶方法の開発が必要となった。^{注35}

3 の汎用溶媒に対する溶解度が極めて低い (<0.3 wt%) ため、まずは DMSO を良溶媒とした再結晶方法の検討を行った (Table 11)。^{注36} 化合物 3 を DMSO/H₂O から再結晶したところ、目的の form A が得られたものの、結晶中に DMSO が 1.5% 残留した (entry 1)。DMSO に対する水の比率を上げて (DMSO/H₂O 1:5) 再結晶を行ったが、残留 DMSO の量はほとんど減少しなかった (1.4%, entry 2)。そこで、EtOH と H₂O を貧溶媒として用いたところ、3 の水和物が得られる結果となった (entry 3)。以上の結果から、DMSO を良溶媒とした再結晶を断念し、EtOH を良溶媒とした再結晶を試みることにした。

注33 熟成時間 (aging time), 熟成温度 (aging temperature): 結晶を含む溶液を懸濁攪拌する温度および時間のこと。結晶形の転移や残留溶媒の量に大きく影響する。

注34 溶媒和によって形成される、溶媒を含む結晶形。溶媒が水の場合を水和物と呼ぶ。

注35 Form B の結晶は、1水和物を 145 °C 以上に加熱した際に得られた。Form A、form B、1水和物の各結晶形については、得られた結晶の粉末 X 線回折の測定を行い、そのシグナルのパターンにより識別した。



注36 化合物 3 の 25 °C での汎用溶媒に対する溶解度は次の通りである。EtOH, 0.28 wt %; acetone, 0.19 wt %; 2-butanone, 0.16 wt %; 2-propanol, 0.08 wt %; EtOAc, 0.07 wt %; MeOAc, 0.11 wt %.

Table 11. **3** の再結晶の検討 ^{a, b}

entry	solvent (v/w)	anti-solvent (v/w)	aging temp (°C)	yield (%)	crystal form	residual solvent (%) ^j
1 ^{c, d}	DMSO (5)	H ₂ O (10)	rt	89	A	DMSO: 1.5
2 ^{c, e}	DMSO (5)	H ₂ O (25)	rt	95	A	DMSO: 1.4
3 ^{c, f}	DMSO (5)	EtOH (10) H ₂ O (10)	rt	95	monohydrate	DMSO: 0.08
4 ^g	6 wt % H ₂ O	–	0–5	78	A	EtOH: 0.36
5 ^g	12 wt % H ₂ O	–	rt	79	A	EtOH: 0.30
6 ^g	18 wt % H ₂ O	–	rt	68	A	EtOH: 0.23
7 ^{h, i}	20 wt % H ₂ O	H ₂ O (17)	0–5	94	monohydrate	EtOH: 0.14

^a In entries 1–3 and 7, **3** was used as a substrate. In entries 4–6, **3**·H₂O was used as a substrate. ^b In all experiments, seeds for form A (0.1 wt %) were added before addition of anti-solvent or lowering the temperature. ^c After dissolving **3** into DMSO at 40–50 °C, seeds were added at 40–45 °C. ^d H₂O was added at 35–40 °C. ^e H₂O was added at 45–55 °C. ^f EtOH was added first, and then H₂O was added at 45–55 °C. ^g **3**·H₂O was suspended in the solvent and heated to 65–75 °C. After confirming that **1**·H₂O completely dissolved into the solvent, the solution was gradually cooled to 55 °C. At this point, seeds were added and the mixture was aged at 45–55 °C for 3–4 h. Then the slurry was gradually cooled to 0–5 °C or room temperature, and aged for 9–12 h. ^h After dissolving **3** into 20 wt % H₂O/EtOH at 60–65 °C, seeds were added at 50–55 °C. Then H₂O was added at 55–65 °C. ⁱ After addition of H₂O (17 v/w), the composition of the solvent became approximately 50 wt % H₂O/EtOH. ^j Determined by ¹H NMR analysis.

これは**3**·H₂OのEtOHに対する溶解度が他のクラス3 (ICHのガイドライン^{注37}による) 溶媒に対する溶解度よりも高いことによる。

まず、form A、form B、**3**·H₂Oの結晶の、含水EtOHへの溶解度を調べることにした (Figure 6)。興味深いことに、少量 (5~20%) の水が存在することで、**3**のEtOHに対する溶解度が大幅に向上し (2倍以上)、**3**を完全に溶解させるのに必要な溶媒量を大幅に削減することが可能となることが分かった。また、含水率が15 wt%を超えると、**3**·H₂Oの溶解度がform Aの溶解度より低い値となることも分かった。これは含水率が15 wt%を超える条件では、**3**·H₂Oの方が安定的に存在することを意味する。したがって、form A

注37 ICH (international conference on harmonization of technical requirements for registration of pharmaceuticals for human use) は、新薬の承認審査資料関連規制の整合化を図って、データの国際的な相互受け入れを実現することにより、承認審査の迅速化と新薬の研究開発を促進し、優れた新薬をより早く患者の手元に届けることを目的としている。ICHにより「医薬品の残留溶媒ガイドライン」が作成されている。このガイドラインの目的は、患者の安全のために医薬品中の残留溶媒の許容量を示すことであり、その毒性の度合いによって、クラス1、クラス2、クラス3の3段階のクラスに分類されている。クラス1の溶媒は、医薬品製造において使用を避けるべき溶媒で、ヒトにおける発がん性が強く疑われる溶媒および環境に有害な影響を与える溶媒が含まれる。クラス2の溶媒は、医薬品中の残留量を規制すべき溶媒で、遺伝毒性は示さないが動物実験で発がん性を示した溶媒、神経毒性や催奇形性など発がん性以外の可逆的な毒性を示した溶媒、およびその他の重大ではあるが可逆的な毒性が疑われる溶媒が含まれる。クラス3の溶媒は低毒性の溶媒で、ヒトに対して低毒性と考えられる溶媒が含まれる。医薬品原薬における残留値の基準は基本的に5000 ppm (0.5%) 以下である (文献 1(a)から抜粋)。

の結晶を確実に得るために、含水率を 15 wt%以下に保って再結晶を行うことにした。**3** を 6 wt%含水 EtOH (entry 4)、12 wt%含水 EtOH (entry 5) から再結晶したところ、期待通りに form A の結晶が得られ、残留 EtOH は 0.4%以下であった。**3** を 18 wt%含水 EtOH から再結晶した場合にも、form A の種晶の添加した効果もあり、form A の結晶が得られた (entry 6)。一方、約 50 wt%含水 EtOH から再結晶を行ったところ、Figure 6 の溶解度曲線から支持されるように水和物が得られた (entry 7)。最終的に entry 5 の条件をスケールアップ (750 g の $3 \cdot H_2O$ を使用) したところ、小スケールでの実験結果を完全に再現でき、form A の **3** を収率 77%で 553 g (99.9 area%、残留 EtOH: 0.16%) 得ることができた。

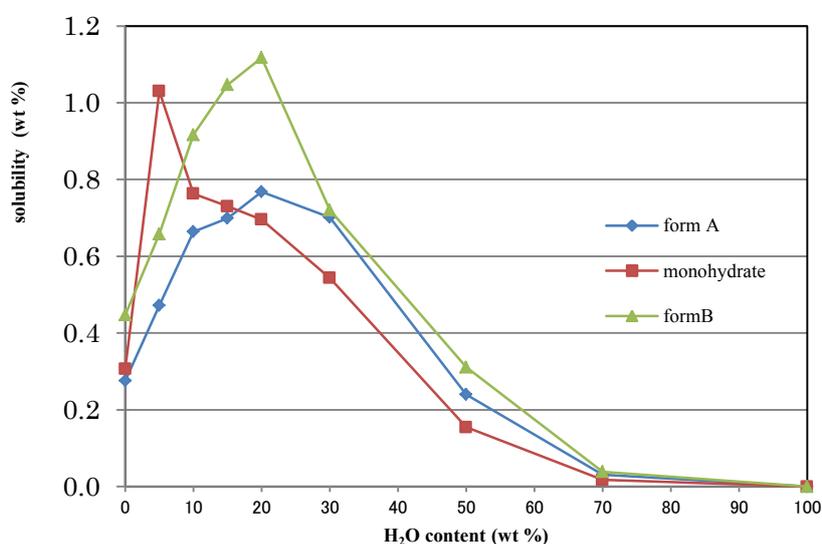
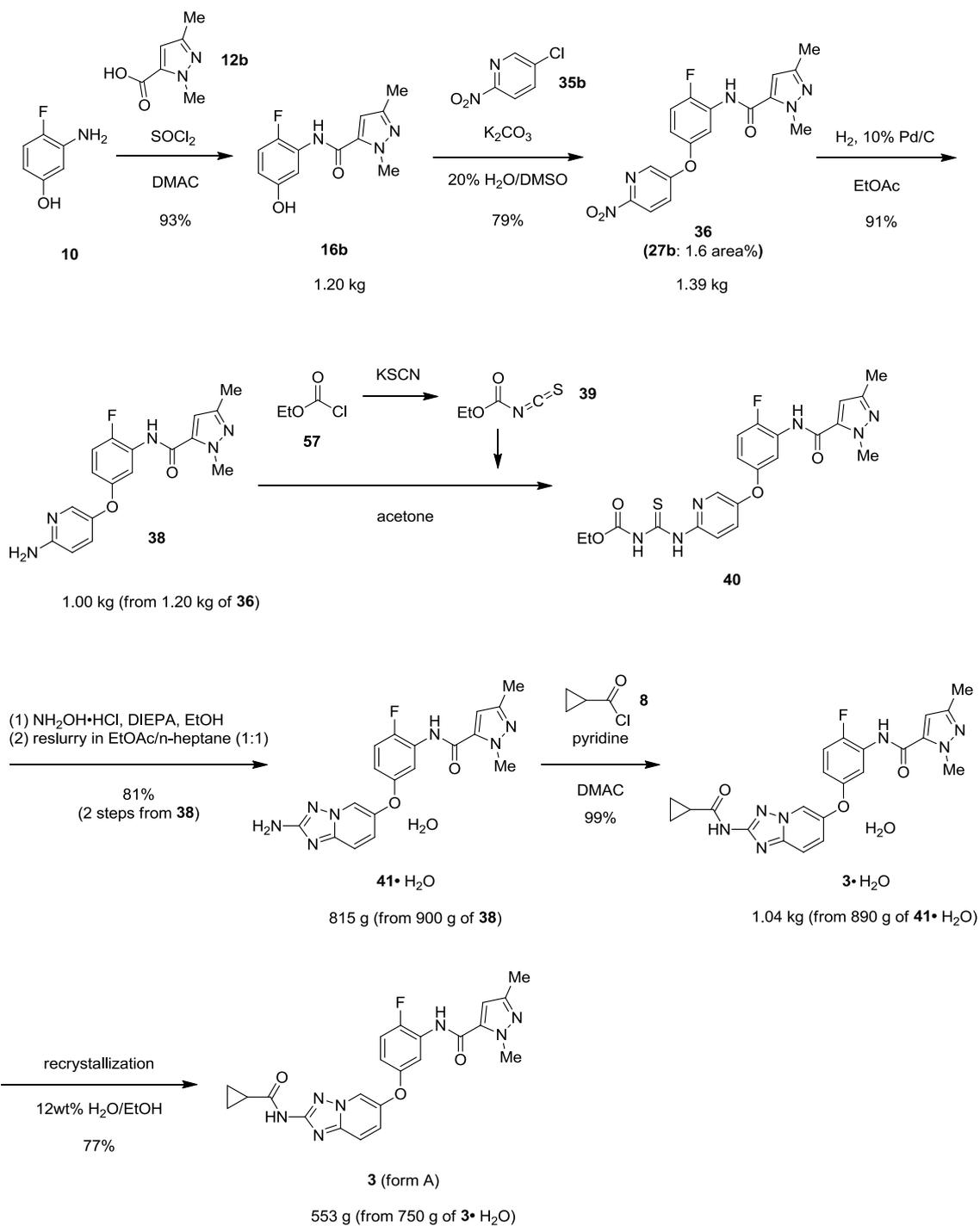


Figure 6. form A、form B、 $3 \cdot H_2O$ の EtOH /H₂O 混合溶媒中での溶解度 (25 °C)

第3節 結論

筆者は、スケールアップ製造に適応可能な効率的な **3** の合成法を開発した (Scheme 25)。化合物 **50** の接触還元反応を詳しく検討することにより、NaOAc の添加と Pd 触媒の量を最適化することで副生成物の生成量を大幅に減らし、収率を向上させることが可能となることを見出した。その結果、大量入手可能な原料を用いて、キログラムスケールで出発原料 **8** を合成する製造法を確立した。化合物 **35b** と **16b** の S_NAr 反応の選択性は、塩基として K₂CO₃、溶媒として含水 DMSO を用いることで向上し、シリカゲルカラムクロマトグラフィーによる精製を行うことなしに目的の **36** を収率よく得ることが可能となった。さらにイソチオシアネート **39** を安価な原料から *in situ* で調製し、**38** と



Scheme 25. 化合物 **3** の最終製造法とスケールアップ合成の結果

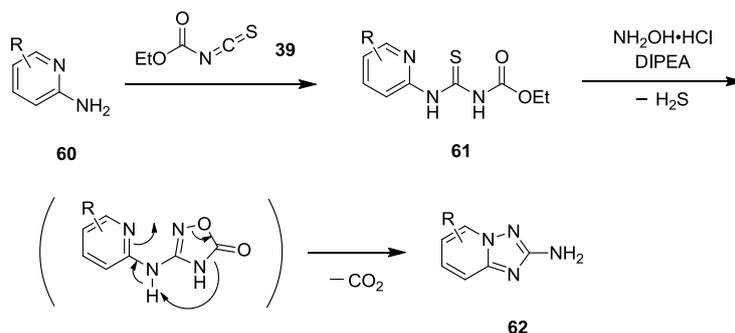
ワンポットで反応させることでチオウレア **40** が安価、安全、かつ簡便に合成できるようになり、大量合成に適した製法を確立した。最終工程については、ピリジンを塩基として使用することで **41**·H₂O のアシル化反応の収率が大きく向上し、最終的に 1 kg 以上の **3**·H₂O を高収率、高品質に合成することができた。以上の詳細な検討の結果、総収率は 54% にまで向上し、実験室レベルのスケールで行われた創薬化学の合成における総収率 (Scheme 11, 25%) の 2 倍以上の値となり、極めて効率的な合成法を完成させることができた。さらに、これまでに見つかった 3 つの結晶形のうち、目的の form A を与える堅牢な再結晶方法を確立し、数百グラムスケールでの製造に適用して form A の化合物 **3** を得ることに成功した。

第3章 1-(ピリジン-2-イル)グアニジン誘導体の酸化的閉環反応による [1,2,4]トリアゾロ[1,5-*a*]ピリジン-2-アミン誘導体の新規合成法の開発

第1節 序論

N-縮合複素環は、数多くの天然物や生理活性化合物に見られる構造である。これらの *N*-縮合複素環のうち、[1,2,4]トリアゾロ[1,5-*a*]ピリジン-2-アミン誘導体はその特有の生理活性のために、医薬品の候補化合物として多くの注目を集めてきた。実際、近年だけでも、[1,2,4]トリアゾロ[1,5-*a*]ピリジン-2-アミン骨格を持つ化合物が、PI3K γ 阻害剤³⁴、JAK2 阻害剤³⁵、CRK3 阻害剤³⁶、DNA ジャイレース/トポイソメラーゼ IV 阻害薬³⁷、PDE10A 阻害薬³⁸、TYK2 阻害薬³⁹、Src キナーゼ阻害薬⁴⁰ として報告されている。

最も一般的な[1,2,4]トリアゾロ[1,5-*a*]ピリジン-2-アミン誘導体の合成法を Scheme 26 に示す。⁴¹ 2-アミノピリジン **60** をイソチオシアナトギ酸エチル **39** と反応させてチオウレア **61** を合成し、**61** をヒドロキシルアミン塩酸塩と DIPEA と反応させると、H₂S と CO₂ の生成を伴いながら環化反応が進行して、**62** がよい収率で得られる。²⁶ この合成法は非常に堅牢であり、第2章で述べた VEGFR-2 キナーゼ阻害薬候補化合物 **3** の中間体 **41** の数百グラムスケールでの合成にも適用することができた。しかし、この合成法は、収率がよく堅牢性も高いものの、悪臭を持ち、毒性、腐食性、可燃性を有する H₂S が副生するという非常に大きな問題点がある。そのため、筆者は、スケールアップ製造に適用可能な[1,2,4]トリアゾロ[1,5-*a*]ピリジン-2-アミン誘導体の代替合成法の開発を行うことにした。

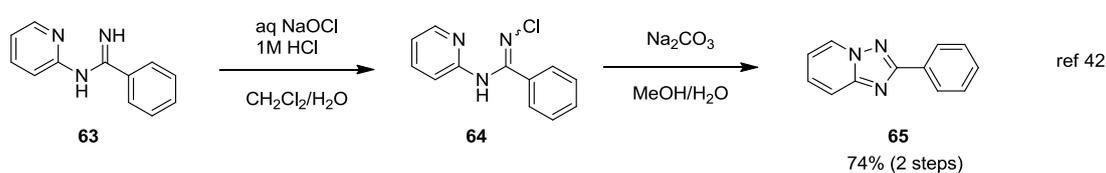


Scheme 26. [1,2,4]トリアゾロ[1,5-*a*]ピリジン-2-アミン誘導体の一般的な合成方法

第2節 1-(ピリジン-2-イル)グアニジン誘導体の酸化的閉環反応の研究

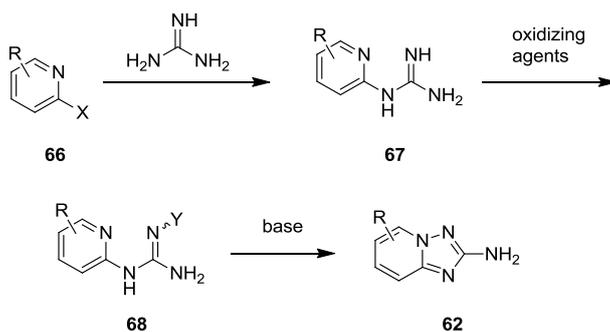
第1項 [1,2,4]トリアゾロ[1,5-*a*]ピリジン-2-アミン誘導体の新規合成法の開発

Grenda らは、*N*-(ピリジン-2-イル)ベンズイミダミド **63** が NaOCl と 1 M HCl で処理することにより塩素化を受けること、得られた *N*-クロロアミジン **64** を Na₂CO₃ で処理することにより環化が起こり、[1,2,4]トリアゾロ[1,5-*a*]ピリジン **65** が生成することを報告している (Scheme 27)。⁴²



Scheme 27. Grenda らによる[1,2,4]トリアゾロ[1,5-*a*]ピリジン **65** の合成

筆者は、Grenda らと同様の手法を用いることで、1-(ピリジン-2-イル)グアニジン **67** から **62** が合成できるのではないかと考えた (Scheme 28)。すなわち、**67** については 2-ハロピリジン **66** とグアニジンの S_NAr 反応で合成し、得られた **67** を酸化することにより中間体 **68** を得て、これを塩基で処理することにより環化させて **62** を得るルートを考案した。



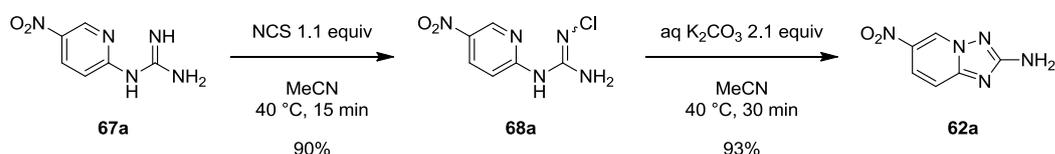
Scheme 28. 1-(ピリジン-2-イル)グアニジン **67** からの **62** の合成

著者の知る限り、**67** の酸化と続く **68** の塩基処理による閉環反応はこれまでに報告例がない。そこで、このコンセプトの妥当性を検証するために、まずは既知化合物である 1-(5-ニトロピリジン-2-イル)グアニジン **67a**⁴³ の NCS による塩素化と、中間体 **68a** の K₂CO₃ 水溶液による閉環反応の検討を行った (Scheme 29)。67a の MeCN 懸濁液を 1.1

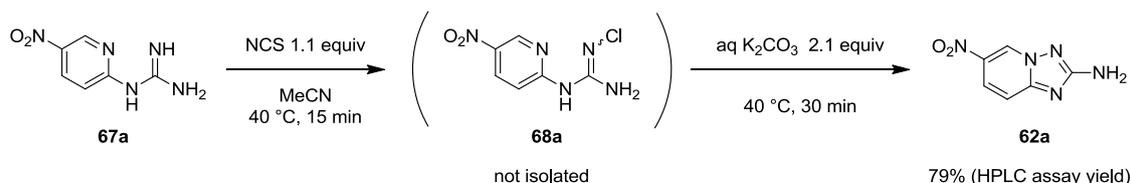
当量の NCS と 40 °C で反応させたところ、数分で黄色の固体が析出したため、室温まで冷却してこの黄色固体を濾取した。高分解能質量分析 (HRMS) と NMR による分析により、得られた化合物は **67a** が塩素化された化合物で、その構造は **68b**、**68c** ではなく **68a** であることが分かった (Figure 7)。^{44, 注38} **68a** の MeCN 溶液に 2.1 当量の K₂CO₃ 水溶液を添加することで、**68a** の環化反応が期待通りに進行し、**62a** が収率 93% で得られた (Scheme 29 (a))。化合物 **62a** については、別途 2-アミノ-5-ニトロピリジンから Scheme 26 に記載した方法に従って合成を行い、これら 2 通りの方法で合成した **62a** のスペクトルデータが一致することを確認した。⁴⁵

この **62a** の合成においては、**67a** の塩素化、**68a** の閉環反応のいずれについても、MeCN 溶媒中で反応を行うことが可能であった。この結果から、著者は MeCN 溶媒中、**67a** から **62a** をワンポットで合成できるのではないかと考えた。そこで、実際に MeCN 中、**67a** を 1.1 当量の NCS と 40 °C で 15 分反応させた後、2.1 当量の K₂CO₃ 水溶液を添加して同温度で 30 分間攪拌させた。EtOAc で抽出後、有機層を 10% 食塩水で洗浄し、標品を用いて HPLC にて定量を行ったところ、**62a** が収率 79% で得られたことが分かった (Scheme 29 (b))。

(a) sequential reaction



(b) one-pot reaction



Scheme 29. **67a** からの **68a** を介した **62a** の合成

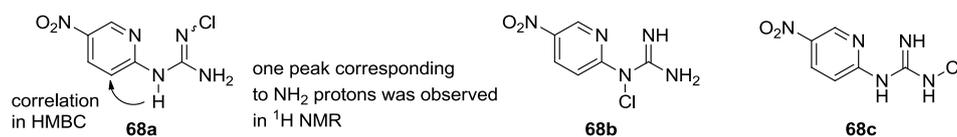


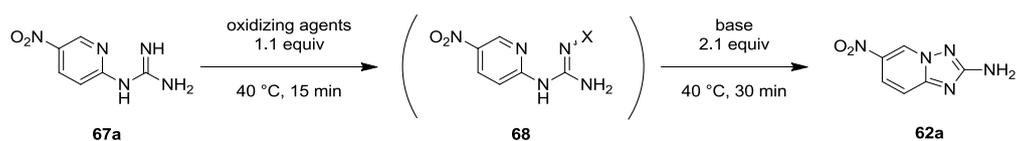
Figure 7. **68a** の構造決定

注38 DMSO-*d*₆ 中で HMBC 測定 (約 30 分) を行ったところ、**68a** の分解 (約 10%) が観察された。**68a** の溶解度が非常に低いため、CDCl₃ や MeOH-*d*₄ といった他の重溶媒は使用することができなかった。

第2項 酸化閉環反応の最適化検討

以上のように、**67a** から **62a** をワンポットで合成できることが分かったため、さらに酸化剤、塩基、溶媒のスクリーニングを行って反応条件の最適化を行った (Table 12)。塩素化剤では、*t*-BuOCl が NCS と同程度の高い収率 (80%) で **62a** を与えた (entry 5)。NaOCl 水溶液、クロラミン T、トリクロロイソシアヌル酸 (TCCA)、1,3-ジクロロ-5,5-ジメチルヒダントイン (NDDH) を用いた場合には、いずれも収率は低下した (entries 1-4)。他の酸化剤についても検討を行った。NBS を用いた場合は、**62a** が低収率 (13%) で得られたものの (entry 6)、NIS を用いた場合には目的物は得られなかった (entry 7)。取り扱いの容易さと価格を考慮し、以後の検討では酸化剤として NCS を用いることにした。

Table 12. **62a** のワンポット合成の最適化



entry	oxidizing agent	solvent	base	yield ^a (%)
1	aq NaOCl	MeCN	aq K ₂ CO ₃	41
2	chloramine-T	MeCN	aq K ₂ CO ₃	42
3	TCCA ^b	MeCN	aq K ₂ CO ₃	69
4	NDDH	MeCN	aq K ₂ CO ₃	42
5	<i>t</i> -BuOCl	MeCN	aq K ₂ CO ₃	80
6	NBS	MeCN	aq K ₂ CO ₃	13
7	NIS	MeCN	aq K ₂ CO ₃	0
8	NCS	MeCN	pyridine	32
9	NCS	MeCN	NEt ₃	15
10	NCS	MeCN	DBU	51
11	NCS	MeCN	K ₂ CO ₃	34
12	NCS	MeCN	1M NaOH	77
13	NCS	MeCN	aq KOAc	5
14	NCS	MeOH	aq K ₂ CO ₃	87 ^c
15	NCS	EtOH	aq K ₂ CO ₃	74 ^c
16	NCS	<i>i</i> -PrOH	aq K ₂ CO ₃	68 ^c

^a HPLC assay yield. ^b 0.37 equiv of TCCA was used for the reaction. ^c Isolated yield.

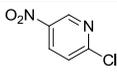
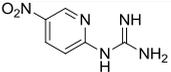
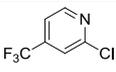
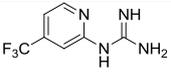
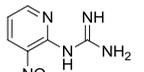
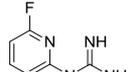
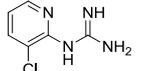
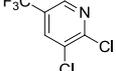
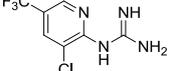
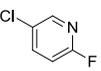
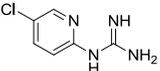
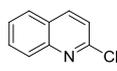
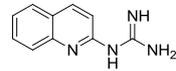
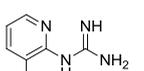
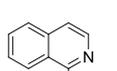
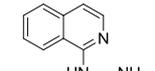
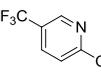
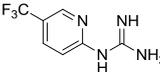
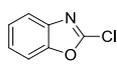
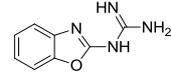
ピリジン、トリエチルアミン、DBU といった有機塩基を用いた場合は、 K_2CO_3 水溶液を用いた場合と比較して収率が低下した (entries 8–10)。また、水溶液ではなく固体の K_2CO_3 を塩基として使用した場合には収率が大きく低下した (34%, entry 11)。1 M NaOH 水溶液を用いた場合には、 K_2CO_3 水溶液を用いた場合と同程度の収率で **62a** が得られた (77%, entry 12)。一方、KOAc 水溶液を用いた場合には、収率は 5%と低い値となった (entry 13)。以上の結果からは、塩基性の強い無機塩と水の存在が、**68a** から **62a** への変換に重要であることが分かる。

この反応では、アルコールも溶媒として使用することが可能であることが分かった (entries 14–16)。アルコール溶媒を用いた場合、 K_2CO_3 水溶液を添加すると生成した **62a** が反応液中に固体となって析出した。反応溶液に貧溶媒として水を滴下し、結晶を濾取することで、**62a** を容易に単離することが可能であった。最も収率がよかったのは MeOH を溶媒とした場合で、収率は 87%まで向上した (entry 14)。

第3項 酸化閉環反応の適用範囲の検討

この酸化閉環反応の適用可能範囲を検証するため、Scheme 28 に示した方法に従って、2-ハロピリジン誘導体およびハロベンゾオキサゾール **67** と、グアニジン炭酸塩/グアニジン塩酸塩の S_NAr 反応により、グアニジン誘導体 **67a-67m** を合成した (Table 13)。基質として様々な 2-ハロピリジン誘導体を用いて反応を試みたが、2-ハロピリジン誘導体が電子求引基を有している場合にのみ、グアニジンとの S_NAr 反応が進行して **67** を与えた。**67** の汎用溶媒に対する溶解性が極めて低いため、**67** の単離にはかなり煩雑な後処理が必要となり、収率は中程度に止まった。

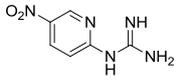
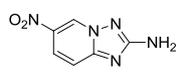
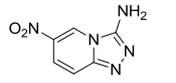
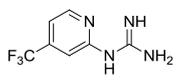
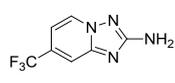
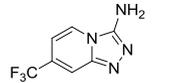
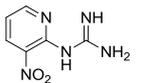
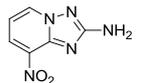
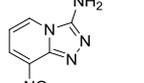
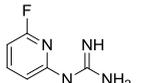
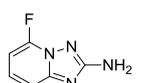
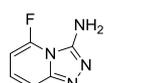
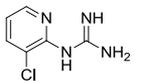
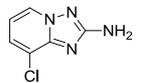
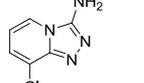
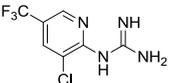
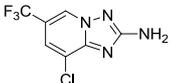
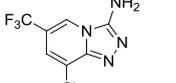
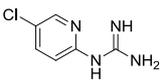
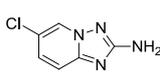
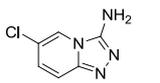
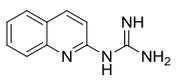
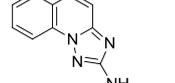
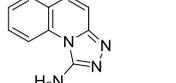
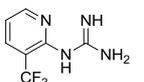
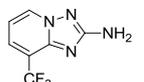
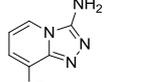
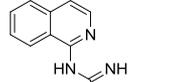
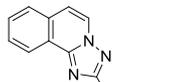
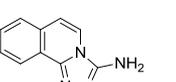
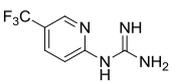
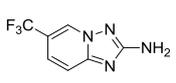
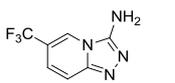
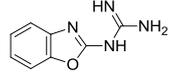
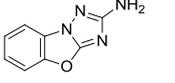
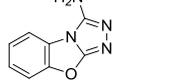
Table 13. グアニジン誘導体 **67** の合成

entry	reaction condition ^a	substrate	product	yield ^b (%)	entry	reaction condition ^a	substrate	product	yield ^b (%)
1	A			25	7	B			47
2	A			32	8	D			37
3	B			39	9	C			36
4	B			47	10	B			50
5	B			12	11	B			58
6	C			39 ^c	12	C			57

^a Reaction conditions described in the table are as follows: A guanidine hydrochloride (10 equiv), K₂CO₃ (15 equiv), *t*-BuOH, reflux. B guanidine carbonate (3 equiv), K₂CO₃ (5 equiv), 1-methylpyrrolidin-2-one (NMP), 120–140 °C. C guanidine carbonate (1 equiv), K₂CO₃ (3 equiv), NMP, 100–120 °C. D guanidine carbonate (3 equiv), K₂CO₃ (5 equiv), *N,N*-dimethylacetamide, 120 °C. ^b Isolated yield. ^c 0.9 NMP solvate was obtained.

得られた基質 **67b–67m** を用いて、酸化的閉環反応の検討を行った (Table 14)。1-(3-ニトロピリジン-2-イル)グアニジン **67b** を基質として、ワンポットでの塩素化–環化反応を行ったところ、生成物が反応液中に析出するのが確認された。水を貧溶媒として反応液に加え、濾取することにより **62b** を収率 86% で単離することができた (entry 2)。対照的に、1-(3-クロロピリジン-2-イル)グアニジン **67c** を基質として用いた場合には、**67a**、**67b** の場合とは全く異なる結果が得られた (entry 3)。**67c** を 1.1 当量の NCS で処理したところ、塩素化反応が進行して単一の化合物が生成した。しかし、この塩素化された化合物に対して K₂CO₃ 水溶液を添加したところ、いくつかの少量の副生成物とともに、2 つの主生成物が観察された。

Table 14. 1-(ピリジン-2-イル)グアニジン誘導体 **67** の酸化的閉環反応 ^a

entry	substrate	product	entry	substrate	product		
1	 67a	 62a 87%	 69a ND ^b	7	 67g	 62g 16%	 69g 50%
2	 67b	 62b 86%	 69b ND	8	 67h	 62h ND	 69h ND
3	 67c	 62c 27%	 69c 19%	9	 67i	 62i 57%	 69i 9%
4	 67d	 62d trace	 69d 50%	10	 67j	 62j 20%	 69j 39%
5	 67e	 62e 44%	 69e 20%	11	 67k	 62k 35%	 69k 13%
6 ^c	 67f	 62f 23%	 69f 52%	12	 67m	 62m ND	 69m ND

^a The substrates in MeOH were treated with 1.1 equiv of NCS at 40 °C for 15 min. Then 2.1 equiv of K₂CO₃ in H₂O was added, and the reaction mixture was stirred at 40 °C for 30 min. ^b Not Detected. ^c 0.9 NMP solvate of **67f** was used as the substrate.

この2つの主生成物について、シリカゲルカラムクロマトグラフィーで単離、精製を行い、HRMSとNMRで分析を行った。興味深いことに、HRMS分析の結果、この2つの化合物は分子式 C₆H₅ClN₄ に相当する全く同一の精密質量を持つことが分かった。加えて、2つの化合物の ¹H NMR のスペクトルは、ケミカルシフトの値は異なるものの同様のカップリングパターン (芳香環領域に1つの triplet like のピークと2つの doublet like のピーク、NH₂ プロトンに対応する1つのピーク) を示した。これらの結果からは、塩

素化された中間体を K_2CO_3 水溶液で処理することにより、何らかの予期せぬ反応機構を経て、目的の **62c** だけでなく、**62c** と同様の構造を持つ化合物が生成していることが示唆された。これら 2 種の化合物について、HMBC や NOESY といった 2 次元 NMR を用いて構造を詳細に検討した結果、目的の **62c** とは異なる生成物の構造は、Figure 8 に示した **69c** であると示唆された。⁴⁶ この酸化的閉環反応で得られた **62c** と **69c** の構造については、文献既知の方法で合成した **62c** と **69c** とスペクトルデータが一致することにより確認することができた (Scheme 30)。^{41, 47}

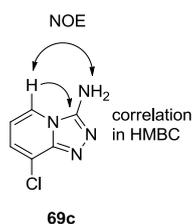
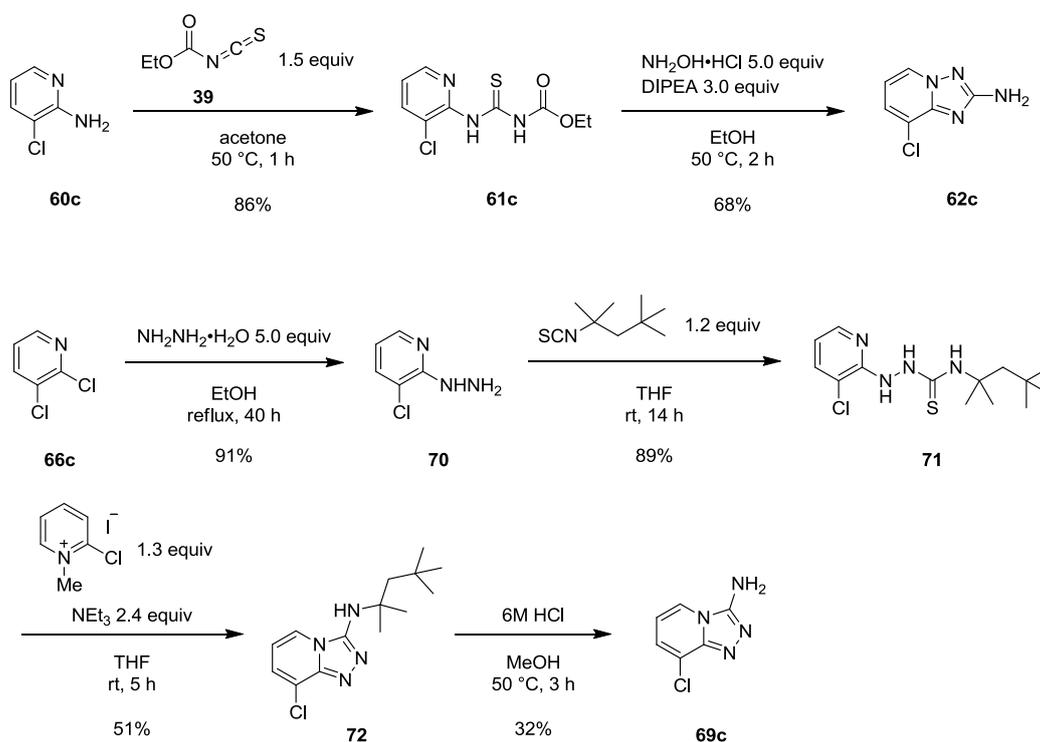


Figure 8. **69c** の構造決定



Scheme 30. 文献既知の方法による **62c** と **69c** の合成

1-(5-クロロピリジン-2-イル)グアニジン **67d** を基質とした場合には、**69d** が主生成物

として収率 50%で得られ、**62d** の生成は痕跡量に止まった (p54, Table 14, entry 4)。次に、異なる位置にトリフルオロメチル基を持つ 3 種の 1-(ピリジン-2-イル)グアニジンに対して本反応を適用した。3-CF₃ 基を持つ **67e** は、**62e** を収率 44%、**69e** を収率 20%で与えた (entry 5)。一方、4-CF₃ 基と 5-CF₃ 基を持つ基質では、**69** が主生成物となった。**67f** は **52f** を収率 52%で与え (entry 6)、**67g** は **69g** を収率 50%で与えた (entry 7)。意外なことに、2 位にフッ素原子を持つ **67h** からは、**62h** も **69h** も得られなかった (entry 8)。**67h** の塩素化は進行したものの、K₂CO₃ 水溶液を添加すると反応液が濃紫色の溶液となり、数種類の構造不明の化合物の生成が確認された。3 位に塩素原子と 5 位に CF₃ 基という 2 つの置換基を持つ **67i** については、収率 57%で **62i** を主生成物として与えた (entry 9)。

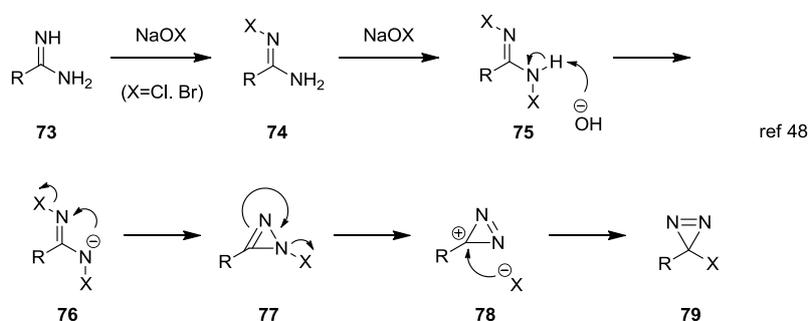
本反応を、2 環性化合物である 1-(キノリン-2-イル)グアニジン **67j** と、1-(イソキノリン-1-イル)グアニジン **67k** にも適用した。**67j** と **67k** は NCS と反応させることでいずれも塩素化を受け、K₂CO₃ 水溶液を添加すると三環性化合物を与えた。**67j** については、**69j** が主生成物として得られた (39%, entry 10)。一方、**67k** については **62k** が主生成物として収率 35%で得られた (entry 11)。期待に反して、1-(ベンゾ[d]オキサゾール-2-イル)グアニジン **67m** を基質とした場合には、環化生成物は得られなかった (entry 12)。

第4項 酸化的閉環反応の反応機構に関する考察

Table 14 に示した通り、ピリジン環の 3 位に電子求引基を持つ化合物 (**67b**、**67c**、**67e**) を基質とした反応では、**62** が主生成物として得られた。一方、5 位に電子求引基を持つ **67d** と **67f** の反応では、**69** が主生成物となったが、強い電子求引基であるニトロ基を 5 位に持つ **67a** の反応では、**62a** のみが得られた。また、5 位に CF₃ 基を持つ化合物 **67f** は主に **69f** を与えたが、5 位に CF₃ 基、3 位に塩素原子を持つ化合物 **67i** は、**62i** を主生成物として与えた。これらの結果からは、置換基の種類、位置、数が反応機構に大きく関与していることが示唆されるが、2 位のグアニジル基に対して誘起効果、共鳴効果を介して、より効率的に電子求引基として働く置換基を持つ基質では、**62** が主生成物となる傾向が認められる。

第 1 項に述べた通り、1-(ピリジン-2-イル)グアニジン **67** を酸化して、塩基で閉環させる反応についてはこれまでに報告例がない。一方、文献によると、アミジン **73** を NaOCl、もしくは NaOBr 水溶液で処理すると、3-ハロ-3 置換ジアジリン **79** が興味深いメカニズムで生成することが報告されている (Scheme 31)。⁴⁸ 最初に Graham によって報告されたこのジアジリンの生成では、*N*-クロロアミジン **74** と *N,N*-ジクロロアミジン **75** 以外の生成物は直接観察されていない。⁴⁹ したがって、窒素アニオンが窒素原子を直接攻撃してジアジリンが生成しているのか、イミノナイトレンを経由してジアジリンが生成しているかは分かっていない。Moss らは、本反応について詳細な研究を行い、*N*-クロロアミジン **74** と *N,N,N*-トリクロロアミジンはジアジリンを与えず、*N,N'*-ジクロ

ロアミジン **75** の生成が、ジアジリンの生成に不可欠であると報告している。⁵⁰ おそらく、末端のアミノ基で2度目の塩素化が起こることにより、塩素原子が電子求引基として働いて、NHプロトンの塩基による脱プロトン化を促進しているものと考えられる。

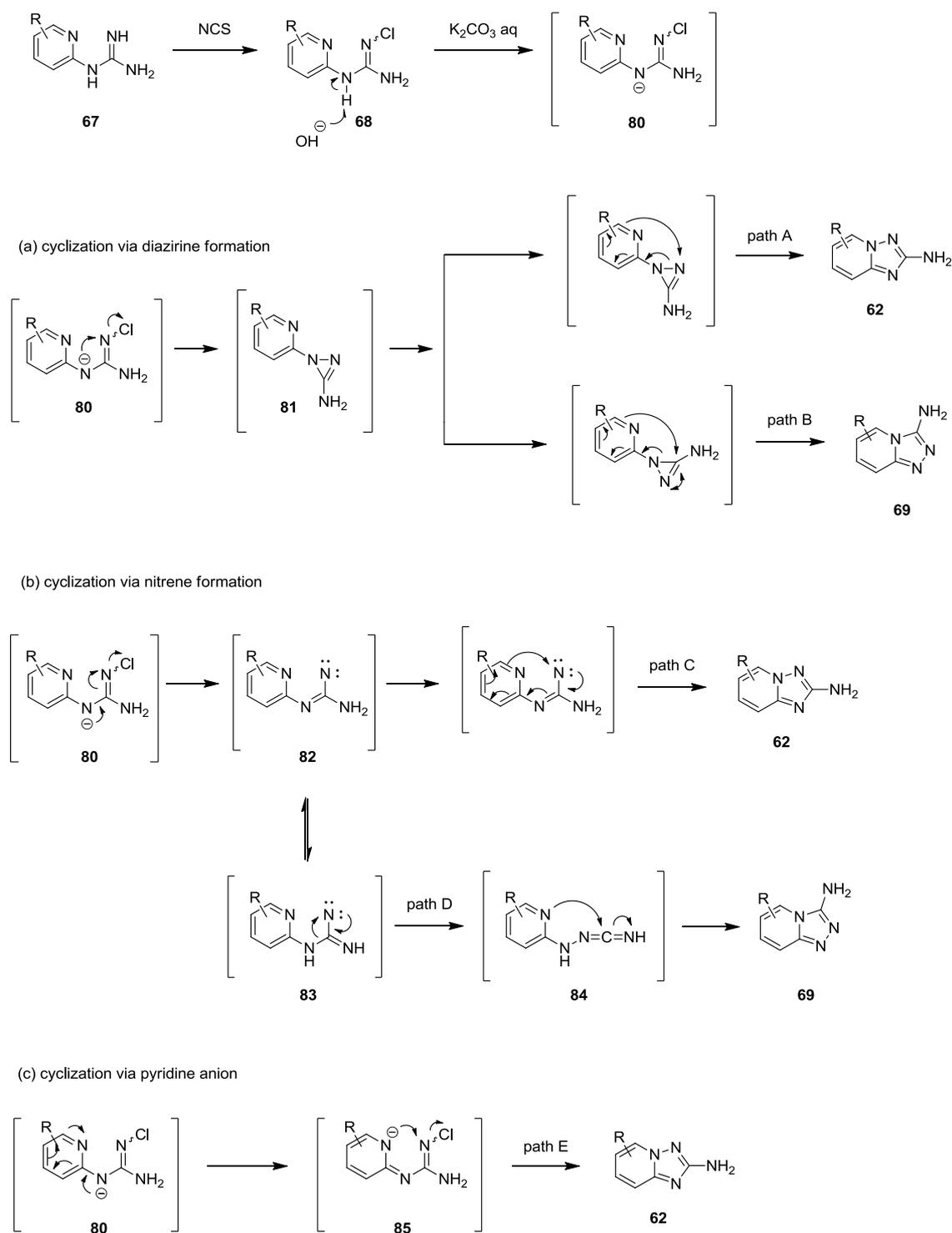


Scheme 31. Graham の方法による 3-ハロ-3-置換ジアジリン **79** の生成

以上の文献を参考にして、反応機構について以下の考察を行った (Scheme 32)。67 を基質とした反応では、電子不足のピリジン環が、隣接する NH プロトンの酸性度を向上させ、これが塩基による **80** を経由した、ジアジリン **81** の生成を促進していると考えられる (Scheme 32 (a))。81 の開環反応は、2 種の経路を通るものと推測される。ピリジン環の窒素原子が、ジアジリンの窒素原子を攻撃すると、N-N 結合の開裂を伴って **62** が得られると考えられる (path A)。一方、ピリジン環の窒素原子が、ジアジリンの CN 二重結合の炭素原子を攻撃すると、C-N 結合の開裂を伴って **69** が得られると考えられる (path B)。

もうひとつ考えられる反応機構は、ナイトレンを経由するものである (Scheme 32 (b))。アニオン **80** が、塩素原子の脱離を伴ってナイトレン **82** となり、これがそのまま閉環すると **62** を与える (path C)。一方、ナイトレン **82** がナイトレン **83** に異性化し、クルチウス転位と同様の反応機構で、カルボジイミド **84** を与える可能性も考えられる。^{51,52} ピリジン環の窒素原子が、カルボジイミド **84** の炭素原子を攻撃すると、**69** が生成することになる (path D)。

この他に、アニオン **80** の負電荷が、電子不足のピリジン環上に非局在化し、生成したアニオン **85** がグアニジンの窒素原子を攻撃することで、**62** を与える経路も考えられる (Scheme 32 (c), path E)。前述の通り、2 位のグアニジル基に対して誘起効果、共鳴効果を介して、より効率的に電子求引基として働く置換基を持つ基質では、**62** が主生成物となる傾向が認められる。これは、ジアジリン **81** やナイトレン **82** が形成するよりも速く、電子求引基の効果によって負電荷がピリジン環上に非局在化して **85** を与え、閉環して **62** が生成するのではないかと推測される。



Scheme 32. 67 の酸化的閉環反応の推定反応機構

現在のところ、どのような基質の場合に、どのような反応経路をとりやすいかについてははっきりとしたことは分かっておらず、詳細な反応機構は不明である。

第3節 結論

筆者は、1-(5-ニトロピリジン-2-イル)グアニジン **67a** を NCS で塩素化し、塩素化された化合物を K_2CO_3 水溶液で処理することにより、環化反応が進行して、6-ニトロ[1,2,4]トリアゾロ[1,5-*a*]ピリジン-2-アミン **62a** が得られることを明らかにした。さらに MeOH を溶媒とすることにより、塩素化と環化をワンポットで行うことが可能であることを見出した。このワンポットでの 1-(ピリジン-2-イル)グアニジン誘導体 **67** の酸化的閉環反応の適用可能範囲を調べる過程で、基質によっては目的の[1,2,4]トリアゾロ[1,5-*a*]ピリジン-2-アミン誘導体 **62** だけでなく、[1,2,4]トリアゾロ[4,3-*a*]ピリジン-3-アミン誘導体 **69** を与えることを明らかにした。今後の研究により正確な反応機構が解明されて **62** と **69** の作り分けができるようになれば、本手法は[1,2,4]トリアゾロ[1,5-*a*]ピリジン-2-アミン誘導体と[1,2,4]トリアゾロ[4,3-*a*]ピリジン-3-アミン誘導体の有用な合成方法となると考えられる。

結語

VEGFR-2 キナーゼ阻害薬の候補化合物である、化合物 **1**、**2** および **3** の効率的な製造法開発を目指してプロセス化学研究を行い、下記の知見を得た。

1. 入手の容易な化合物 **18**、**24**、**25b** を用いたワンポット反応により、6-クロロイミダゾ[1,2-*b*]ピリダジン-2-シクロプロピルアミド **15** が、簡便かつ効率的に合成できることを見出した。これは、イミドと 3-アミノピリダジン誘導体を縮合して、イミダゾ[1,2-*b*]ピリダジン-2-アミン骨格を合成した最初の例となる。さらに、*N*-エチルピラゾール **12a** の、シリカゲルカラムクロマトグラフィー精製を必要としない合成法を確立した。また、化合物 **15** とフェノール **16a/16b** の S_NAr 反応を、比較的温和な条件で進行させる反応条件を見出した。化合物 **14** の 0.5 フマル酸塩への誘導については、含水 2-butanone 中、3.0 当量のフマル酸を用いることで、再現性よく 0.5 フマル酸塩に変換できることを明らかにした。
2. 大量入手することが難しかったアミノフェノール **10** の製法検討を行い、キログラムスケールで製造を行うことが可能な、堅牢な合成法を確立した。5-クロロ-2 ニトロピリジン **35b** と、フェノール **16b** の S_NAr 反応によるエーテル化の検討を行い、含水 DMSO/ K_2CO_3 を用いた系で反応を行うことで、5 位での反応選択性が向上することを見出した。イソチオシアネート **39** を安価な原料から *in situ* で調製し、さらにアミン **38** とワンポットで反応させることで、チオウレア **40** を安価、安全、簡便に合成することに成功した。また、化合物 **3** の再結晶において、目的の form A の結晶が最も安定となるような含水率の EtOH を溶媒として使用することで、再現性よく目的の form A が得られる再結晶方法を確立した。
3. 化合物 **3** の中心骨格となる、[1,2,4]トリアゾロ[1,5-*a*]ピリジン-2-アミン誘導体の新規合成法の開発を行った。その結果、1-(5-ニトロピリジン-2-イル)グアニジン **67a** を、MeOH 中 NCS を用いて塩素化し、 K_2CO_3 水溶液を加えることによりワンポットで酸化的閉環反応が進行して、6-ニトロ[1,2,4]トリアゾロ[1,5-*a*]ピリジン-2-アミン **62a** が収率よく得られることを見出した。このワンポットでの酸化的閉環反応の基質適用範囲を調べる過程で、電子求引基を持つ 1-(ピリジン-2-イル)グアニジン誘導体を基質とした場合、生成物として目的の[1,2,4]トリアゾロ[1,5-*a*]ピリジン-2-アミンだけでなく、[1,2,4]トリアゾロ[4,3-*a*]ピリジン-3-アミンが生成することがあるという新規の知見を得た。

以上の知見を基にして、化合物 **1** および **3** について、実際に数百グラム～キログラムオーダーのスケールで製造を行い、設定通りの収率、純度で目的物を得ることに成功した。製造した化合物は、医薬品原薬としてこれらの化合物の初期の開発に使用された。今回得られた知見、および製造法は、今後のこれらの化合物の開発に向けた医薬品原薬の供給に貢献するものと期待される。

謝辞

本論文の執筆に際し御懇篤なご指導、御高配を賜りました神戸薬科大学 薬品化学研究室 宮田興子教授に厚くお礼申し上げます。

本研究論文の審査にあたり、有益なご助言とご指導を賜りました神戸薬科大学 棚橋孝雄教授、小林典裕教授、和田昭盛教授に厚くお礼申し上げます。

本研究は終始、武田薬品工業株式会社 製薬研究所主席研究員 池本朋己博士のご指導、ご鞭撻の下に遂行されたものであり、心より感謝申し上げます。

本研究の機会を与えて頂きました武田薬品工業株式会社 元製薬研究所長 梶野正博博士、元製薬研究所長 橋本秀雄氏に深く感謝致します。

有益なご助言とご指導を賜りました武田薬品工業株式会社 元製薬研究所リサーチマネージャー 残華淳彦博士、製薬研究所リサーチマネージャー 藤谷敏彦氏、製薬研究所リサーチマネージャー 水船秀哉博士に深く感謝致します。

本研究において共に実験を行い、様々な点でご指導、ご助言を頂きました共同研究者の製薬研究所 長田敏明博士、澤井泰宏氏、福田直弘博士、村林美香氏に深く感謝致します。

LC/MS 分析を行って頂きました製薬研究所 岡頭一氏、藤岡陽子氏、元素分析の測定を行って下さいました元化学研究所 中瀬伊津子氏に深く感謝致します。

英語論文の作成に際しまして、貴重なご助言を頂きました製薬研究所主席研究員 David Cork 博士に深く感謝致します。また、学位論文の作成に際し、ご助言を頂きまして西口敦子博士に深く感謝致します。

実験の部

すべての試薬、溶媒は一般のサプライヤーから購入し、精製せずに使用した。NH シリカゲル (CHROMATOREX) については富士シリシアから購入した。融点は、Büchi Melting Point B-540、もしくは Stanford Research Systems OptiMelt MPA 100 で測定して未補正である。¹H と ¹³C NMR、HMBC、NOESY スペクトルはテトラメチルシランを内部標準として BRUKER AVANCE 500 spectrometer、もしくは BRUKER AVANCE 600 spectrometer で測定した。ケミカルシフトは ppm で記載した。化合物の HPLC 分析については、Shimadzu SPD-10A/LC-10AT と SPD-7A/LC-7、もしくは Shimadzu LC-2010C_{HT} を使用して行った。GC 分析については Shimadzu GC14B を用いて行った。高分解能質量分析 (HRMS) については Shimadzu Prominence UFLC system と ThermoFisher LTQ Orbitrap Discovery を用いて行った。IR スペクトルは Thermo Electron FT-IR Nicolet 4700 (ATR)、もしくは Shimadzu IR Prestige-21 (nujol) を用いて行った。元素分析については Elementar vario MICRO cube (CHN) と Mitsubishi Chemical Analytech XS-2100H/Dionex ICS-1600 (ハロゲン) を用いて行うか、もしくは旧株式会社武田分析研究所 (現住化分析センター淀川事業所) で測定を行った。

第 1 章の実験

[HPLC conditions]

(A) Inertsil ODS-3 column, 5 μ m, 150 mm \times 4.6 mm i.d.; UV detector at 254 nm; isocratic elution with CH₃CN/50 mM aqueous KH₂PO₄ (pH 7.0) (40:60) at 1.0 mL/min flow rate; column temperature: 25 °C. Retention times: **2** (7.9 min), **14** (7.9 min), **15** (5.2 min), **18** (2.0 min).

(B) Inertsil ODS-3 column, 5 μ m, 150 mm \times 4.6 mm i.d.; UV detector at 254 nm; isocratic elution with CH₃CN/50 mM aqueous KH₂PO₄ (30:70) at 1.0 mL/min flow rate; column temperature: 25 °C. Retention times: **1** (23.7 min), **10** (3.5 min), **12a** (2.3 min), **15** (10.0 min), **16a** (5.6 min), **32a** (3.1 min), **32b** (7.1 min, 8.2 min), **33a** (10.9 min), **33b** (11.9 min).

(C) Inertsil ODS-3 column, 5 μ m, 150 mm \times 4.6 mm i.d.; UV detector at 254 nm; isocratic elution with CH₃CN/50 mM aqueous KH₂PO₄ (40:60) at 1.0 mL/min flow rate; column temperature: 25 °C. Retention times: **10** (2.8 min), **12b** (1.6 min), **16b** (3.8 min).

***N*-(2-Chloroacetyl)cyclopropanecarboxamide (17a)**

To a suspension of cyclopropanecarboxamide **24** (2.00 g, 23.5 mmol) in *n*-butyl acetate (*n*-BuOAc, 20 mL) at room temperature was added 2-chloroacetyl chloride **25a** (2.92 g, 25.9 mmol) dropwise, and the mixture was heated to 100 °C and stirred for 3 h. After cooling to

room temperature, the mixture was stirred for 1 h, and then filtered. Wet solids were washed with *n*-BuOAc (10 mL) and dried *in vacuo* at 50 °C to give the *title compound 17a* (2.55 g, 67%) as a white solid; Mp 156–157 °C; ¹H NMR (500 MHz, DMSO-*d*₆) δ 0.83–0.86 (m, 2H), 0.88–0.92 (m, 2H), 1.98–2.03 (m, 1H), 4.50 (s, 2H), 11.30 (s, 1H); ¹³C NMR (125 MHz, DMSO-*d*₆) δ 9.1 (2C), 14.1, 45.3, 167.4, 173.9; IR (ATR) 3255, 3174, 3023, 2983, 2944, 1744, 1698, 1515, 1448, 1408, 1394, 1314, 1210, 1173, 1158, 1105, 1060, 1027, 973, 940, 925, 889, 852, 825, 801, 776, 708, 604, 559 cm⁻¹; Anal. Calcd for C₆H₈NO₂Cl; C, 44.60; H, 4.99; N, 8.67; Cl, 21.94. Found: C, 44.49; H, 4.99; N, 8.76; Cl, 22.15.

***N*-(2-Bromoacetyl)cyclopropanecarboxamide (17b)**

To a suspension of **24** (2.00 g, 23.5 mmol) in *n*-BuOAc (20 mL) at 40–50 °C was added 2-bromoacetyl bromide **25b** (5.23 g, 25.9 mmol) dropwise, and the mixture was heated to 80 °C and stirred for 5 min. After cooling to room temperature, the mixture was stirred for 0.5 h, and then filtered. Wet solids were washed with *n*-BuOAc (5 mL) and dried *in vacuo* at 60 °C to give the *title compound 17b* (1.73 g, 36%) as a white solid; Mp 153–154 °C; ¹H NMR (500 MHz, DMSO-*d*₆) δ 0.84–0.88 (m, 2H), 0.89–0.93 (m, 2H), 2.02–2.07 (m, 1H), 4.33 (s, 2H), 11.27 (s, 1H); ¹³C NMR (125 MHz, DMSO-*d*₆) δ 9.2 (2C), 14.2, 31.7, 167.0, 173.9; IR (ATR) 3255, 3174, 3018, 2947, 1741, 1697, 1513, 1450, 1392, 1283, 1175, 1144, 1103, 1059, 1025, 972, 937, 886, 848, 824, 797, 701, 581, 551, 419 cm⁻¹; Anal. Calcd for C₆H₈NO₂Br; C, 34.98; H, 3.91; N, 6.80; Br, 38.78. Found: C, 34.83; H, 3.78; N, 6.80; Br, 38.95.

***N*-(6-Chloroimidazo[1,2-*b*]pyridazin-2-yl)cyclopropanecarboxamide (15)**

To a 100 L-glass lined vessel at 20–30 °C were added **24** (5.01 kg, 58.9 mol) and DMAC (19.0 L), and the mixture was cooled to 0–10 °C. To this solution at 0–10 °C was added **25b** (8.94 kg, 44.3 mol) dropwise over 1 h, followed by addition of DMAC (3.8 L). The mixture was heated to 60 °C and stirred for 1 h, and then cooled to 0–10 °C. To this mixture at 0–10 °C were added K₃PO₄ (9.37 kg, 44.2 mol) and 3-amino-6-chloropyridazine **18** (3.81 kg, 29.4 mol), followed by addition of DMAC (7.6 L). The mixture was heated to 80 °C and stirred for 1 h, and then cooled to 25 °C. To this mixture was added THF (15.2 L), and the mixture was stirred at 25 °C for 1 h, and then filtered to remove insoluble matter. After addition of THF (22.9 L), EtOAc (76.9 L) and 5% aqueous NaHCO₃ (114.3 L) were added to the combined filtrate, and then layers were separated. The organic layer was washed with H₂O (38.1 L), and concentrated under reduced pressure. To the resulting residue was added DMSO (7.6 L), and the mixture was heated to 70 °C and stirred until the mixture became a homogeneous solution. The solution was cooled to 65 °C, and at this point **15** (3.81 g) was added as seed. The mixture was gradually cooled to 25 °C over 1 h, and H₂O (0.76 L) was slowly added at this temperature. The resulting slurry was

cooled to 0 °C and stirred for 2 h, and then filtered. Wet solids were washed with DMSO/H₂O (1:4, 3.8 L) and H₂O (22.9 L), and dried *in vacuo* at 60 °C to give crude **15** (3.17 kg) as a brown solid. To a 20 L-glass flask were added crude **15** and DMSO (8.5 L), and the mixture was heated to 70 °C and stirred until the mixture became a homogeneous solution. The solution was cooled to 65 °C, and at this point **15** (2.87 g) was added as seed. The mixture was gradually cooled to 25 °C over 1 h, and H₂O (0.85 L) was slowly added at this temperature. The slurry was cooled to 0 °C and stirred for 2 h, and then filtered. Wet solids were washed with DMSO/H₂O (1:4, 2.8 L) and H₂O (17.1 L), and dried *in vacuo* at 60 °C to give the *title compound* **15** (2.88 kg, 41%) as a pale yellow solid; Mp. 190–191 °C; ¹H NMR (500 MHz, DMSO-*d*₆) δ 0.82–0.88 (m, 4H), 1.95–1.99 (m, 1H), 7.33 (d, *J* = 9.0 Hz, 1H), 8.06 (dd, *J* = 9.5, 0.5 Hz, 1H), 8.25 (s, 1H), 11.25 (s, 1H); ¹³C NMR (125 MHz, DMSO-*d*₆) δ 7.6 (2C), 13.6, 105.3, 118.3, 125.4, 133.9, 142.9, 144.9, 171.4; IR (ATR) 3337, 3118, 1667, 1618, 1536, 1514, 1441, 1402, 1329, 1279, 1233, 1205, 1190, 1163, 1130, 1096, 1064, 1044, 1010, 964, 939, 883, 844, 818, 793, 779, 711, 668, 636, 611, 590, 516 cm⁻¹; Anal. Calcd for C₁₀H₉N₄OCl: C, 50.75; H, 3.83; N, 23.67; Cl, 14.98. Found: C, 50.62; H, 3.83; N, 23.51; Cl, 15.08.

1-Ethyl-3-methyl-1*H*-pyrazole-4-carboxylic acid (12a)

To a solution of ethyl acetoacetate **34** (2.00 g, 15.4 mmol) in acetic anhydride (7.86 g, 77.0 mmol) was added triethyl orthoformate (4.55 g, 30.7 mmol), and the mixture was refluxed for 11 h. After cooling to room temperature, the mixture was concentrated under reduced pressure to give crude **32b**. To a solution of crude **32b** in 1,2-dimethoxyethane (20 mL) at –20 to –10 °C was added ethylhydrazine (1.39 g, 23.1 mmol) dropwise, and the mixture was stirred at 0–10 °C for 1 h, and then at room temperature overnight. The mixture was concentrated under reduced pressure to give a mixture of **33a** and **33b** (molar ratio 91:9) as an oil. To this oil were added EtOH (2.6 mL) and 8 M NaOH (2.6 mL), and the mixture was heated to 60–65 °C and stirred for 2 h. After cooling to room temperature, the solution was concentrated under reduced pressure until the weight of the solution became 6.3 g. To this solution was added 6 M HCl and the pH was adjusted to 4.0–4.5. The resulting slurry was stirred at room temperature for 1 h, and then filtered. Wet solids were washed with H₂O (6 mL) and dried *in vacuo* at 50 °C to give the *title compound* **12a** (1.79 g, 76% for 3 steps from **34**) as a white solid; Mp. 156–157 °C; ¹H NMR (500 MHz, DMSO-*d*₆) δ 1.35 (t, *J* = 7.3 Hz, 3H), 2.31 (s, 3H), 4.06 (q, *J* = 7.3 Hz, 2H), 8.13 (s, 1H), 12.07 (s, 1H); ¹³C NMR (125 MHz, DMSO-*d*₆) δ 13.1, 15.1, 46.1, 111.4, 133.8, 149.4, 164.5; IR (ATR) 3126, 2765, 2703, 2557, 2494, 2167, 2026, 1990, 1921, 1682, 1541, 1486, 1472, 1407, 1379, 1355, 1334, 1254, 1233, 1166, 1118, 1086, 1032, 954, 904, 783, 776, 711, 673, 636, 621, 556, 457 cm⁻¹; Anal. Calcd for C₇H₁₀N₂O₂: C, 54.54; H, 6.54; N, 18.17. Found: C, 54.42; H, 6.41; N, 18.19.

1-Ethyl-N-(2-fluoro-5-hydroxyphenyl)-3-methyl-1H-pyrazole-4-carboxamide (16a)

To a solution of **12a** (4.60 g, 29.8 mmol) in DMAC (15.8 mL) at 0 °C was added thionyl chloride (3.72 g, 31.2 mmol) dropwise, maintaining the temperature below 20 °C. After addition of DMAC (1.8 mL), the mixture was stirred at 15–25 °C for 1 h. To this mixture was added 3-amino-4-fluorophenol **10** (3.50 g, 28.4 mmol) portionwise, and the mixture was stirred at 15–25 °C for 1 h. Then, H₂O (7 mL), 4 M NaOH (15.6 mL) and H₂O (19.3 mL) were successively added. At this point, to this mixture was added a small amount of **16a** as seed, followed by slow addition of H₂O (21 mL). The resulting slurry was stirred at room temperature for 1 h and then filtered. Wet solids were washed with H₂O (10.5 mL) and dried *in vacuo* at 50 °C to give the *title compound* **16a** (4.29 g, 57%) as a white solid; Mp. 157–158 °C; ¹H NMR (500 MHz, DMSO-*d*₆) δ 1.39 (t, *J* = 7.3 Hz, 3H), 2.35 (s, 3H), 4.09 (q, *J* = 7.3 Hz, 2H), 6.53 (ddd, ⁴*J*_{HF} = 3.5 Hz, *J* = 9.0, 3.5 Hz, 1H), 7.03 (dd, ³*J*_{HF} = 10.5 Hz, *J* = 9.0 Hz, 1H), 7.18 (dd, ⁴*J*_{HF} = 6.5 Hz, *J* = 3.0 Hz, 1H), 8.36 (s, 1H), 9.27 (s, 1H), 9.36 (s, 1H); ¹³C NMR (125 MHz, DMSO-*d*₆) δ 13.3, 15.1, 46.3, 111.4 (³*J*_{CF} = 7.5 Hz), 111.9, 113.8, 115.5 (²*J*_{CF} = 21.3 Hz), 126.2 (²*J*_{CF} = 13.8 Hz), 131.2, 148.2 (¹*J*_{CF} = 233.8 Hz), 148.9, 153.2, 161.5; IR (ATR) 3459, 3129, 2988, 1644, 1634, 1608, 1555, 1480, 1460, 1444, 1402, 1378, 1366, 1357, 1334, 1299, 1287, 1258, 1236, 1195, 1163, 1120, 1103, 1081, 1038, 1018, 1004, 974, 954, 888, 872, 852, 815, 795, 753, 731, 637, 615, 600, 554, 531, 462, 451, 440 cm⁻¹; Anal. Calcd for C₁₃H₁₄N₃O₂F: C, 59.31; H, 5.36; N, 15.96; F, 7.22. Found: C, 59.16; H, 5.29; N, 15.90; F, 7.06.

N-(2-Fluoro-5-hydroxyphenyl)-1,3-dimethyl-1H-pyrazole-5-carboxamide (16b)

To a solution of **12b** (578.8 g, 4.13 mol) in DMAC (2.0 L) at 0 °C was added thionyl chloride (514.7 g, 4.33 mol) dropwise, maintaining the temperature below 15 °C. After addition of DMAC (0.25 L), the mixture was stirred at 0–15 °C for 0.5 h. To this mixture was added **10** (500.0 g, 3.93 mol) portionwise, maintaining the temperature below 40 °C. After addition of DMAC (0.75 L), the mixture was stirred at 15–40 °C for 1 h. Then, H₂O (1.0 L), NaOH (346.1 g, 8.65 mol) in H₂O (4.5 L), and H₂O (3.5 L) were successively added dropwise at 15–40 °C. The resulting slurry was stirred for 2 h, and then filtered. Wet solids were washed with H₂O (1.5 L) and dried *in vacuo* at 50 °C to give the *title compound* **16b** (923 g, 94%) as a pale brown solid; Mp 188–189 °C; ¹H NMR (500 MHz, DMSO-*d*₆) δ 2.19 (s, 3H), 3.98 (s, 3H), 6.62 (ddd, ⁴*J*_{HF} = 3.3 Hz, *J* = 8.5, 3.3 Hz, 1H), 6.83 (s, 1H), 7.02 (dd, ⁴*J*_{HF} = 6.5 Hz, *J* = 3.0 Hz, 1H), 7.07 (dd, ³*J*_{HF} = 10.0 Hz, *J* = 9.0 Hz, 1H), 9.48 (br s, 1H), 9.85 (s, 1H); ¹³C NMR (125 MHz, DMSO-*d*₆) δ 13.0, 38.5, 107.5, 112.9, 112.9, 115.8 (²*J*_{CF} = 21.3 Hz), 125.0 (²*J*_{CF} = 12.5 Hz), 135.2, 145.4, 149.0 (¹*J*_{CF} = 235.0 Hz), 153.3 (³*J*_{CF} = 1.3 Hz), 158.0; IR (ATR) 3229, 1651, 1625, 1547, 1531, 1504, 1452, 1377, 1303, 1274, 1260, 1226, 1178, 1109, 1056, 1024, 973, 893, 850, 817, 804, 788, 771, 746, 678, 638, 624, 595, 527, 510, 461, 451, 432, 422, 412 cm⁻¹; Anal.

Calcd for C₁₂H₁₂N₃O₂F: C, 57.83; H, 4.85; N, 16.86. Found: C, 57.62; H, 4.69; N, 16.88.

***N*-(5-{{2-(Cyclopropanecarboxamido)imidazo[1,2-*b*]pyridazin-6-yl}oxy}-2-fluorophenyl)-1-ethyl-3-methyl-1*H*-pyrazole-4-carboxamide (1)**

To a solution of **15** (1.50 g, 6.33 mmol) in DMSO (7.5 mL) were added **16a** (2.00 g, 7.60 mmol) and cesium carbonate (4.12 g, 12.7 mmol), and the mixture was heated to 100–110 °C and stirred for 4 h. To this mixture at 45–55 °C were added MeOH (15 mL) and H₂O (30 mL) dropwise in this sequence. The resulting slurry was stirred at room temperature for 2 h, and then filtered. Wet solids were suspended in MeOH/H₂O (2:1, 45 mL) and stirred at 50 °C for 1 h. After cooling to room temperature, the resulting slurry was filtered. Wet solids were washed with H₂O (50 mL) and dried *in vacuo* at 50 °C to give the *title compound 1* (2.49 g, 85%) as a pale brown solid; Mp. 192–193 °C; ¹H NMR (500 MHz, DMSO-*d*₆) δ 0.78–0.82 (m, 4H), 1.39 (t, *J* = 7.3 Hz, 3H), 1.91–1.94 (m, 1H), 2.34 (s, 3H), 4.10 (q, *J* = 7.3 Hz, 2H), 7.07 (d, *J* = 9.5 Hz, 1H), 7.11 (ddd, ⁴*J*_{HF} = 3.5 Hz, *J* = 9.0, 3.5 Hz, 1H), 7.37 (dd, ³*J*_{HF} = 9.5 Hz, *J* = 9.5 Hz, 1H), 7.68 (dd, ⁴*J*_{HF} = 6.3 Hz, *J* = 2.8 Hz, 1H), 7.95 (s, 1H), 8.04 (d, *J* = 9.5 Hz, 1H), 8.40 (s, 1H), 9.54 (s, 1H), 11.08 (s, 1H); ¹³C NMR (125 MHz, DMSO-*d*₆) δ ; 7.4 (2C), 13.2, 13.6, 15.1, 46.3, 105.2, 110.6, 113.5, 116.3 (²*J*_{CF} = 22.5 Hz), 117.5, 117.5, 126.7, 127.1 (²*J*_{CF} = 13.8 Hz), 131.4, 133.4, 141.9, 148.8, 149.0, 151.7 (¹*J*_{CF} = 241.3 Hz), 159.0, 161.6, 171.1; IR (ATR) 3450, 3249, 3077, 1673, 1665, 1656, 1626, 1529, 1477, 1451, 1434, 1377, 1334, 1320, 1290, 1242, 1228, 1179, 1148, 1106, 1083, 1039, 1010, 984, 961, 880, 859, 804, 791, 756, 734, 708, 671, 628, 603, 536, 490, 447, 424, 416, 401 cm⁻¹; HRMS-ESI (*m/z*): [M+H]⁺ calcd for C₂₃H₂₃N₇O₃F, 464.1841; found, 464.1840.

***N*-(5-{{2-(Cyclopropanecarboxamido)imidazo[1,2-*b*]pyridazin-6-yl}oxy}-2-fluorophenyl)-1,3-dimethyl-1*H*-pyrazole-5-carboxamide (14)**

To a 5 L-flask equipped with a mechanical stirrer, a reflux condenser with argon gas inlet, and a thermometer was added DMSO (775 mL), **15** (155.0 g, 0.66 mol), **16b** (196.0 g, 0.79 mol) and cesium carbonate (427.0 g, 1.31 mol) with consecutive evacuation and backfilling with argon gas. The mixture was heated to 100–110 °C and stirred for 9 h under argon atmosphere. After cooling to 45–55 °C, the mixture was transferred to a 10 L flask, followed by rinsing with MeOH (465 mL). To this mixture were added MeOH (1085 mL) and H₂O (3.1 L) dropwise in this sequence. The mixture was stirred at 20–30 °C for 1 h and stored at 15–25 °C overnight. After stirring for an additional 1 h, the slurry was filtered. Wet solids were washed with H₂O (3 × 1.55 L) and dried *in vacuo* at 60 °C to give the *title compound 14* (276.4 g, 94%) as a pale brown solid; Mp 237–238 °C; ¹H NMR (500 MHz, DMSO-*d*₆) δ 0.78–0.84 (m, 4H), 1.91–1.96 (m, 1H), 2.20 (s, 3H), 3.99 (s, 3H), 6.86 (s, 1H), 7.07 (d, *J* = 9.5 Hz, 1H), 7.22 (ddd, ⁴*J*_{HF} = 3.5

Hz, $J = 9.0, 3.5$ Hz, 1H), 7.40 (dd, $^3J_{\text{HF}} = 9.8$ Hz, $J = 9.3$ Hz, 1H), 7.55 (dd, $^4J_{\text{HF}} = 6.5$ Hz, $J = 3.0$ Hz, 1H), 7.95 (s, 1H), 8.04 (d, $J = 9.5$ Hz, 1H), 10.10 (s, 1H), 11.08 (s, 1H); ^{13}C NMR (125 MHz, DMSO- d_6) δ 7.4 (2C), 13.0, 13.6, 38.5, 105.2, 107.7, 110.6, 116.7 ($^2J_{\text{CF}} = 21.3$ Hz), 118.9, 119.1 ($^3J_{\text{CF}} = 8.8$ Hz), 125.8 ($^2J_{\text{CF}} = 13.8$ Hz), 126.8, 133.4, 134.9, 141.9, 145.5, 148.9, 152.6 ($^1J_{\text{CF}} = 242.5$ Hz), 158.1, 159.0, 171.1; IR (nujol) 3443, 3254, 3177, 3084, 1697, 1657, 1628, 1541, 1466, 1439, 1377, 1333, 1294, 1225, 1180, 1150, 1109, 1009, 959, 887, 810, 746, 727, 677 cm^{-1} ; Anal. Calcd for $\text{C}_{22}\text{H}_{20}\text{N}_7\text{O}_3\text{F}$: C, 58.79; H, 4.49; N, 21.82. Found: C, 58.80; H, 4.53; N, 21.67.

***N*-(5-[(2-(Cyclopropanecarboxamido)imidazo[1,2-*b*]pyridazin-6-yl)oxy]-2-fluorophenyl)-1,3-dimethyl-1*H*-pyrazole-5-carboxamide hemifumarate (2)**

To a 10 L flask equipped with a mechanical stirrer, a reflux condenser, and a thermometer was added 2-butanone (3.85 L), H_2O (1.05 L), and fumaric acid (271 g, 2.34 mol). To this solution was added **14** (350.0 g, 0.78 mol), followed by addition of 2-butanone (0.7 L). The mixture was heated to 70 °C and stirred until **14** completely dissolved into the solution. The resulting solution was suction filtered at 70 °C through a glass filter to remove insoluble matter, followed by washing with 2-butanone (1.4 L), and transferred to a 10 L flask. The solution was cooled to room temperature and stirred for 3 h, and then filtered. Wet solids were washed with 2-butanone (1.05 L) and dried *in vacuo* at 60 °C to give the *title compound 2* (295 g, 75%) as a white solid; Mp. 220 °C (DSC); ^1H NMR (500 MHz, DMSO- d_6) δ 0.78–0.84 (m, 4H), 1.91–1.96 (m, 1H), 2.20 (s, 3H), 3.98 (s, 3H), 6.65 (s, 1H), 6.86 (s, 1H), 7.08 (d, $J = 9.5$ Hz, 1H), 7.22 (ddd, $^4J_{\text{HF}} = 3.5$ Hz, $J = 9.0, 3.5$ Hz, 1H), 7.41 (dd, $^3J_{\text{HF}} = 9.5$ Hz, $J = 9.5$ Hz, 1H), 7.55 (dd, $^4J_{\text{HF}} = 6.5$ Hz, $J = 3.0$ Hz, 1H), 7.95 (s, 1H), 8.05 (d, $J = 9.5$ Hz, 1H), 10.10 (s, 1H), 11.08 (s, 1H), 13.13 (br s, 1H); ^{13}C NMR (125 MHz, DMSO- d_6) δ 7.4 (2C), 13.0, 13.6, 38.5, 105.2, 107.7, 110.6, 116.7 ($^2J_{\text{CF}} = 22.5$ Hz), 118.9, 119.1 ($^3J_{\text{CF}} = 8.8$ Hz), 125.8 ($^2J_{\text{CF}} = 15.0$ Hz), 126.8, 133.4, 133.9 (C=C fumaric acid), 134.9, 141.9, 145.5, 148.9, 152.6 ($^1J_{\text{CF}} = 243.8$ Hz), 158.1, 159.0, 165.9 (C=O fumaric acid), 171.1; IR (nujol) 3429, 3275, 3213, 1688, 1626, 1558, 1537, 1523, 1464, 1431, 1377, 1346, 1296, 1244, 1221, 1188, 1155, 1123, 1103, 1038, 1013, 982, 959, 928, 822, 743 cm^{-1} ; Anal. Calcd for $\text{C}_{48}\text{H}_{44}\text{N}_{14}\text{O}_{10}\text{F}_2$: C, 56.80; H, 4.37; N, 19.32. Found: C, 56.87; H, 4.39, N, 19.28.

第2章の実験

[HPLC conditions]

(A) Inertsil ODS-3 column, 5 μm , 150 mm \times 4.6 mm i.d.; UV detector at 254 nm; isocratic elution with $\text{CH}_3\text{CN}/50$ mM aqueous KH_2PO_4 (40:60) at 1.0 mL/min flow rate; column

temperature: 25 °C. Retention times: **3** (4.6 min), **10** (2.8 min), **16b** (3.8 min), **38** (2.8 min), **40** (12.7 min), **41** (3.6 min), **49** (22.0 min), **50** (9.7 min), **51** (6.2 min), **52** (4.3 min), **53** (1.5 min), **55** (13.3 min), **12b** (1.6 min), **58** (4.1 min), **59** (21.8 min).

(B) Inertsil ODS-3 column, 5 μm, 150 mm × 4.6 mm i.d.; UV detector at 254 nm; isocratic elution with CH₃CN/50 mM aqueous KH₂PO₄ (50:50) at 1.0 mL/min flow rate; column temperature: 25 °C. Retention times: **10** (2.3 min), **16b** (2.7 min), **35a** (4.7 min), **35b** (4.3 min), **36** (6.2 min), **37a** (11.8 min), **37b** (10.5 min), **42** (6.0 min), **56a** (9.8 min), **56b** (8.8 min).

(C) Inertsil ODS-3 column, 5 μm, 150 mm × 4.6 mm i.d.; UV detector at 254 nm; isocratic elution with CH₃CN/50 mM aqueous KH₂PO₄ (60:40) at 1.0 mL/min flow rate; column temperature: 25 °C. Retention times: **47** (3.5 min), **48** (5.6 min).

(D) Inertsil ODS-3 column, 5 μm, 150 mm × 4.6 mm i.d.; UV detector at 254 nm; isocratic elution with CH₃CN/10 mM aqueous AcONH₄ (40:60) at 1.0 mL/min flow rate; column temperature: 25 °C. Retention times: **16b** (12.7 min), **38** (4.6 min).

(E) Inertsil ODS-3 column, 5 μm, 150 mm × 4.6 mm i.d.; UV detector at 254 nm; isocratic elution with MeOH/50 mM aqueous KH₂PO₄ (50:50) at 1.0 mL/min flow rate; column temperature at 25 °C. Retention times: **48** (22.1 min), **49** (19.4 min).

[GC conditions]

GC conditions. SPB-5 column, 30 m × 0.53 mm i.d., 5 μm film; FID detector, He carrier gas (approximately 6 mL/min); oven heating 80 °C for 5 min, 3 °C/min to 125 °C for 1 min. Retention times: **57** (3.7 min), **39** (14.0 min).

2-Chloro-4-fluorophenyl Methyl Carbonate (**48**)

A 300 L glass lined (GL) vessel was charged with 2-chloro-4-fluorophenol **47** (10.0 kg, 68.2 mol), Na₂CO₃ (7.96 kg, 75.1 mol) and H₂O (100 L). The mixture was heated to 40–45 °C and stirred for 1 h. Then the reaction mixture was cooled to 10 °C and methyl chloroformate (1.23 kg, 13.0 mol) was slowly added at 10–25 °C. At this point, **48** (30.0 g) was added as seeds, followed by slow addition of methyl chloroformate (6.51 kg, 68.9 mol) at 10–25 °C. The resulting slurry was stirred at 10–25 °C for 1 h and then filtered. The wet cake was washed with H₂O (60 L) and chilled EtOH/H₂O (1:3, 40 L), and dried *in vacuo* (–0.08 to –0.10 MPa) at 30 °C to afford **48** as a white solid (13.2 kg, 95%). Mp 74–75 °C; ¹H NMR (500 MHz, DMSO-*d*₆) δ 3.90 (s, 3H), 7.32 (ddd, ³J_{HF} = 8.0 Hz, *J* = 9.0, 3.0 Hz, 1H), 7.53 (dd, ⁴J_{HF} = 5.0 Hz, *J* = 9.0 Hz, 1H), 7.64 (dd, ³J_{HF} = 8.5 Hz, *J* = 3.0 Hz, 1H); ¹³C NMR (125 MHz, DMSO-*d*₆) δ 56.0 (q), 115.5 (dd, ²J_{CF} = 22.5 Hz), 117.4 (dd, ²J_{CF} = 27.5 Hz), 125.0 (dd, ³J_{CF} = 10.0 Hz), 126.7 (sd, ³J_{CF} = 11.3 Hz), 143.2 (sd, ⁴J_{CF} = 2.5 Hz), 152.6 (s), 159.5 (sd, ¹J_{CF} = 245.0 Hz); IR (ATR) 1768, 1758, 1597, 1493, 1438, 1400, 1268, 1245, 1184, 1072, 1041, 949, 932, 914, 858, 825,

798, 774, 735, 688, 677, 577, 555, 518, 452, 438 cm^{-1} ; Anal. Calcd for $\text{C}_8\text{H}_6\text{ClFO}_3$: C, 46.97; H, 2.96; Cl, 17.33; F, 9.29. Found: C, 46.94; H, 3.03; Cl, 17.08; F, 8.99.

2-Chloro-4-fluoro-5-nitrophenyl Methyl Carbonate (49)

A 300 L GL vessel was charged with concentrated sulfuric acid (47 L) and **48** (13.2 kg, 64.5 mol). The mixture was cooled to 0–5 °C and nitric acid (65%, 7.51 kg, 77.5 mol) was slowly added, maintaining the temperature below 15 °C. The reaction mixture was stirred at 0–10 °C for 1 h and then slowly poured into H_2O (132 L), maintaining the temperature below 25 °C. The resulting slurry was stirred at 0–10 °C for 1 h and then filtered. After washing with H_2O (3×60 L), the crude product was suspended in H_2O (46 L). The slurry was stirred at room temperature for 1 h and then filtered. The wet cake was washed with H_2O (3×60 L) and dried *in vacuo* to afford **49** as a yellow solid (15.0 kg, 93%). Mp 57–59 °C; ^1H NMR (300 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ 3.90 (s, 3H), 8.10 (d, $^3J_{\text{HF}} = 10.8$ Hz, 1H), 8.44 (d, $^4J_{\text{HF}} = 7.2$ Hz, 1H); ^{13}C NMR (75 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ 56.6 (q), 120.6 (dd, $^2J_{\text{CF}} = 26.1$ Hz), 121.6 (dd, $^3J_{\text{CF}} = 1.9$ Hz), 133.6 (sd, $^3J_{\text{CF}} = 10.7$ Hz), 136.0 (sd, $^2J_{\text{CF}} = 8.6$ Hz), 142.9 (sd, $^4J_{\text{CF}} = 3.8$ Hz), 152.3 (s), 152.6 (sd, $^1J_{\text{CF}} = 264.4$ Hz); IR (ATR) 3459, 3371, 2362, 2337, 1756, 1639, 1508, 1464, 1443, 1304, 1261, 1227, 1190, 1170, 1070, 1003, 937, 862, 839, 815, 778, 732, 669, 653, 628, 528, 490, 480, 469, 455, 442, 433, 419 cm^{-1} ; Anal. Calcd for $\text{C}_8\text{H}_5\text{ClFNO}_5$: C, 38.50; H, 2.02; Cl, 14.21; F, 7.61; N, 5.61. Found: C, 38.42; H, 2.08; Cl, 14.19; F, 7.54; N, 5.67.

2-Chloro-4-fluoro-5-nitrophenol (50)

A 300 L GL vessel was charged with **49** (15.0 kg, 60.0 mol), MeOH (30 L) and 2 M NaOH (45 L). The mixture was stirred at 20–40 °C for 10 min. Then additional 2 M NaOH (15 L) was added, and the mixture was stirred at 30–40 °C for 1.5 h. The mixture was cooled to room temperature, and toluene (45 L) and H_2O (15 L) were added. After phase separation, the aqueous layer was concentrated under reduced pressure until approximately 30 L of solvent was removed. To this solution, 2 M HCl (60 L) was slowly added and the pH was adjusted to approximately 1, maintaining the temperature below 30 °C. The resulting slurry was cooled to 0–10 °C and stirred for 1 h, and then filtered. The wet cake was washed with H_2O (3×30 L) and dried *in vacuo* at 40 °C to afford **50** as a yellow solid (10.8 kg, 94%). Mp 109–112 °C; ^1H NMR (300 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ 7.59 (d, $^4J_{\text{HF}} = 7.0$ Hz, 1H), 7.70 (d, $^3J_{\text{HF}} = 11.0$ Hz, 1H), 11.1 (br s, 1H); ^{13}C NMR (75 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ 111.9 (dd, $^3J_{\text{CF}} = 2.5$ Hz), 119.8 (dd, $^2J_{\text{CF}} = 25.5$ Hz), 127.4 (sd, $^3J_{\text{CF}} = 9.3$ Hz), 135.4 (sd, $^2J_{\text{CF}} = 8.4$ Hz), 147.7 (sd, $^1J_{\text{CF}} = 256.2$ Hz), 150.1 (sd, $^4J_{\text{CF}} = 2.8$ Hz); IR (ATR) 3376, 3116, 3062, 1616, 1591, 1524, 1487, 1420, 1359, 1349, 1334, 1293, 1232, 1198, 1184, 1099, 1022, 1004, 901, 865, 844, 799, 756, 705, 637, 599, 556, 494, 468, 455, 433, 417 cm^{-1} ; MS (ESI): m/z 192 $[\text{M}+\text{H}]^+$; Anal. Calcd for $\text{C}_6\text{H}_3\text{ClFNO}_3$: C, 37.62; H, 1.58; Cl,

18.51; F, 9.92; N, 7.31. Found: C, 37.51; H, 1.76; Cl, 18.54; F, 9.87; N, 7.39.

3-Amino-4-fluorophenol (**10**)

A 300 L GL vessel was charged with MeOH (108 L), **50** (5.40 kg, 28.2 mol) and NaOAc (2.54 kg, 30.6 mol). After the reaction vessel was evacuated and backfilled with nitrogen, 10% Pd/C (PE type, 52.7% H₂O wet, 1.32 kg, 0.587 mol as Pd) was quickly added to the solution. The reaction vessel was evacuated and backfilled with nitrogen, and then evacuated and backfilled with hydrogen three times. The reaction mixture was stirred at 15–25 °C for 4 h while maintaining hydrogen pressure at 0.1 MPa. The hydrogen was vented and the reaction vessel was evacuated and backfilled with nitrogen. The reaction mixture was filtered and the cake was washed with MeOH (32 L). The combined filtrate was concentrated under reduced pressure. EtOAc (22 L) was added to the residue and concentrated under reduced pressure again. Then EtOAc (54 L) and H₂O (27 L) were added, and the layers were separated. After washing with 5% aqueous NaCl (27 L), the organic layer was concentrated to 10.8 L under reduced pressure. EtOAc (43 L) was added, and the solution was concentrated to 10.8 L under reduced pressure again. To this solution was slowly added *n*-heptane (43 L), and the resulting slurry was stirred at 15–25 °C for 30 min. After cooling to 0–10 °C, the slurry was stirred for 2 h, and then filtered. The wet cake was washed with EtOAc/*n*-heptane (1:4, 10.8 L) and dried *in vacuo* at 50 °C to afford **10** as a pale brown solid (2.85 kg, 80%). Mp 143–145 °C; ¹H NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆) δ 4.91 (br s, 2H, NH₂), 5.86 (ddd, ⁴J_{HF} = 6.4 Hz, *J* = 8.6, 3.1 Hz, 1H), 6.18 (dd, ⁴J_{HF} = 7.9 Hz, *J* = 3.1 Hz, 1H), 6.69 (dd, ³J_{HF} = 11.4 Hz, *J* = 8.6 Hz, 1H), 9.10 (br s, 1H, OH); ¹³C NMR (75 MHz, DMSO-*d*₆) δ 102.4 (dd, ³J_{CF} = 6.6 Hz), 103.0 (dd, ³J_{CF} = 3.7 Hz), 115.0 (dd, ²J_{CF} = 19.5 Hz), 137.0 (sd, ²J_{CF} = 14.3 Hz), 145.1 (sd, ¹J_{CF} = 226.6 Hz), 154.1 (s); IR (ATR) 3387, 3295, 3045, 2953, 2832, 2723, 2362, 1631, 1605, 1509, 1360, 1317, 1208, 1159, 1132, 1080, 966, 837, 770, 726, 696, 616, 597, 595, 442 cm⁻¹; MS (ESI): *m/z* 128 [M+H]⁺; Anal. Calcd for C₆H₆FNO: C, 56.69; H, 4.76; F, 14.95; N, 11.02. Found: C, 56.67; H, 4.84; F, 14.91; N, 10.99.

2-Fluoro-5-[(6-nitropyridin-3-yl)oxy]aniline (**42**)

A flask was charged with H₂O (50 mL), DMSO (50 mL), 5-chloro-2-nitropyridine **35b** (10.0 g, 63.1 mmol), **10** (9.62 g, 75.7 mmol) and K₃PO₄ (25.4 g, 120 mmol). The mixture was heated to 75–80 °C and stirred for 9 h. After the mixture was cooled to room temperature, toluene (200 mL) and 1 M NaOH (100 mL) were added, and then layers were separated. The organic layer was washed with H₂O (100 mL) and concentrated under reduced pressure. The residue was suspended in diisopropyl ether (50 mL) and stirred at 50 °C for 1 h. The slurry was cooled to room temperature and stirred for 1 h, and then filtered. The wet cake was washed with

diisopropyl ether (20 mL) and dried *in vacuo* at 50 °C to afford **42** as a white solid (11.9 g, 76%, residual **56b**: 1%). An analytical sample was prepared by recrystallization from EtOAc/*n*-heptane (1:2). Mp 96–97 °C; ¹H NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆) δ 5.48 (br s, 2H), 6.33 (ddd, ⁴*J*_{HF} = 6.5 Hz, *J* = 8.7, 2.9 Hz, 1H), 6.57 (dd, ⁴*J*_{HF} = 7.6 Hz, *J* = 2.9 Hz, 1H), 7.09 (dd, ³*J*_{HF} = 11.2 Hz, *J* = 8.7 Hz, 1H), 7.58 (dd, *J* = 9.0, 2.9 Hz, 1H), 8.32 (d, *J* = 9.0 Hz, 1H), 8.38 (d, *J* = 2.9 Hz, 1H); ¹³C NMR (75 MHz, DMSO-*d*₆) δ 106.6 (dd, ³*J*_{CF} = 7.1 Hz), 107.3 (dd, ³*J*_{CF} = 5.2 Hz), 116.2 (dd, ²*J*_{CF} = 20.4 Hz), 120.6 (d), 126.2 (d), 138.3 (d), 138.6 (sd, ²*J*_{CF} = 14.9 Hz), 148.2 (sd, ¹*J*_{CF} = 235.1 Hz), 150.6 (sd, ⁴*J*_{CF} = 2.0 Hz), 150.9 (s), 159.0 (s); IR (ATR) 3499, 3402, 1635, 1567, 1513, 1453, 1396, 1352, 1286, 1235, 1198, 1150, 1140, 1111, 972, 911, 873, 853, 841, 810, 767, 747, 710, 690, 627, 607, 472, 451, 416, 406 cm⁻¹; Anal. Calcd for C₁₁H₈FN₃O₃: C, 53.02; H, 3.24; N, 16.86. Found: C, 52.99; H, 3.26; N, 16.60.

***N*-{2-Fluoro-5-[(6-nitropyridin-3-yl)oxy]phenyl}-1,3-dimethyl-1*H*-pyrazole-5-carboxamide (36)**

Preparation via route A.

A flask was charged with 1,3-dimethyl-1*H*-pyrazole-5-carboxylic acid **12b** (1.18 g, 8.43 mmol) and DMAC (9 mL). To the mixture was slowly added SOCl₂ (1.18 g, 9.93 mmol) at 0–15 °C. The mixture was stirred at 10 °C for 1 h, and then **42** (2.00 g, 8.03 mmol) was added portionwise, followed by addition of DMAC (3 mL). The reaction mixture was stirred at room temperature for 1 h, and H₂O (20 mL), 8 M NaOH (2.2 mL) and EtOAc (40 mL) were added in this sequence. After phase separation, the organic layer was washed with H₂O (10 mL) and concentrated under reduced pressure. The crude product was suspended in EtOAc (10 mL), followed by slow addition of *n*-heptane (30 mL). The resulting slurry was stirred at room temperature for 1 h and then filtered. The wet cake was washed with *n*-heptane (10 mL) and dried *in vacuo* at 50 °C to afford **36** as a pale yellow solid (2.60 g, 87%). Mp 132–133 °C; ¹H NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆) δ 2.20 (s, 3H), 3.99 (s, 3H), 6.88 (s, 1H), 7.20 (ddd, *J* = 6.9, 3.2, 3.2 Hz, 1H), 7.47 (t like, *J* = 9.1 Hz, 1H), 7.59 (dd, *J* = 6.3, 3.0 Hz, 1H), 7.66 (dd, *J* = 9.0, 2.9 Hz, 1H), 8.36 (d, *J* = 8.9 Hz, 1H), 8.44 (d, *J* = 2.7 Hz, 1H), 10.2 (br s, 1H); ¹³C NMR (75 MHz, DMSO-*d*₆) δ 13.2 (q), 38.8 (q), 108.0 (d), 117.7 (dd, ²*J*_{CF} = 22.2 Hz), 118.3 (d), 118.5 (dd, ³*J*_{CF} = 8.2 Hz), 120.7 (d), 126.7 (d), 126.8 (sd, ²*J*_{CF} = 14.0 Hz), 135.0 (s), 138.5 (d), 145.7 (s), 149.8 (sd, ⁴*J*_{CF} = 2.6 Hz), 151.2 (s), 152.8 (sd, ¹*J*_{CF} = 252.8 Hz), 158.3 (s), 158.6 (s); IR (ATR) 1686, 1624, 1573, 1541, 1523, 1433, 1348, 1242, 1190, 1167, 1111, 1014, 972, 877, 865, 855, 825, 813, 759, 745, 692, 667, 646, 610, 592, 507 cm⁻¹; MS (ESI): *m/z* 372 [M+H]⁺; Anal. Calcd for C₁₇H₁₄FN₅O₄: C, 54.99; H, 3.80; N, 18.86. Found: C, 55.00; H, 3.82; N, 18.73.

Preparation via route B.

A 10 L separable flask was charged with DMSO (3.6 L), **16b** (1.20 kg, 4.81 mol), **35b** (802 g, 5.06 mol), K₂CO₃ (732 g, 5.30 mol) and H₂O (720 mL). The reaction mixture was heated to 75–85 °C and stirred for 6 h. After the mixture was cooled to room temperature, EtOAc (15.6 L) and 5% aqueous NaCl (9.6 L) were added, and then layers were separated. The organic layer was washed with 5% aqueous NaCl (2 × 9.6 L) and concentrated to 8.4 L under reduced pressure. To this solution was added EtOAc (15.6 L) and the solution was concentrated to 6.0 L under reduced pressure. The mixture was stirred at 20–25 °C for 1 h, and then *n*-heptane (16.8 L) was slowly added over 1 h. The resulting slurry was stirred at 20–25 °C for 1 h and then filtered. The wet cake was washed with chilled EtOAc/*n*-heptane (1:5, 10.2 L) and dried *in vacuo* at 50 °C to afford **36** as a pale brown solid (1.39 kg, 78%, HPLC analysis, **36**: 97.2 area %, **37b**: 1.6 area %).

***N*-{5-[(6-Aminopyridin-3-yl)oxy]-2-fluorophenyl}-1,3-dimethyl-1*H*-pyrazole-5-carboxamide (38)**

A 20 L separable flask was charged with **36** (600 g, 1.62 mol) and EtOAc (11.4 L). Nitrogen was introduced to the solution via glass tube, and nitrogen bubbling was continued for 10 min. After 10% Pd/C (PE type, 55.5% H₂O wet, 77.9 g, 32.3 mmol as Pd) was quickly added to the mixture, hydrogen was introduced via glass tube. Under hydrogen bubbling, the mixture was stirred at 15–30 °C for 3 h and at 40–45 °C for 3 h. Then, the reaction mixture was filtered and the cake was washed with EtOAc (1.8 L). This hydrogenation was conducted twice and the filtrate was combined for work-up. The combined filtrate was concentrated to 5.4 L under reduced pressure, followed by dropwise addition of *n*-heptane (12 L). The resulting slurry was stirred at 20–25 °C for 0.5 h and then filtered. The wet cake was washed with EtOAc/*n*-heptane (2:5, 3.6 L) and dried *in vacuo* at 50 °C to afford **38** as a white solid (1.00 kg, 91%). Mp 141–142 °C; ¹H NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆) δ 2.20 (s, 3H), 3.99 (s, 3H), 5.92 (br s, 2H), 6.53 (dd, *J* = 8.9, 0.4 Hz, 1H), 6.80–6.86 (m, 2H), 7.15 (dd, *J* = 6.3, 3.1 Hz, 1H), 7.23 (ddd, *J* = 8.9, 2.9, 1.8 Hz, 1H), 7.27 (d, *J* = 8.9 Hz, 1H), 7.79 (d, *J* = 2.6 Hz, 1H), 9.97 (br s, 1H); ¹³C NMR (75 MHz, DMSO-*d*₆) δ 13.2 (q), 38.8 (q), 107.9 (d), 108.9 (d), 114.2 (d), 114.6 (dd, ³*J*_{CF} = 7.6 Hz), 116.7 (dd, ²*J*_{CF} = 21.9 Hz), 125.9 (sd, ²*J*_{CF} = 14.0 Hz), 130.5 (d), 135.2 (d), 139.8 (s), 143.4 (s), 145.7 (s), 150.9 (sd, ¹*J*_{CF} = 241.8 Hz), 154.7 (sd, ⁴*J*_{CF} = 2.1 Hz), 157.3 (s), 158.2 (s); IR (ATR) 3470, 3424, 3291, 3158, 1684, 1633, 1609, 1538, 1524, 1493, 1435, 1398, 1369, 1328, 1310, 1284, 1248, 1233, 1174, 1146, 1132, 1101, 1046, 1012, 972, 922, 888, 871, 830, 801, 788, 748, 720, 658, 644, 634, 605, 592, 552, 526, 518, 503, 471, 449, 423, 403 cm⁻¹; MS (ESI): *m/z* 342 [M+H]⁺; Anal. Calcd for C₁₇H₁₆FN₅O₂: C, 59.82; H, 4.72; N, 20.52. Found: C, 59.70; H, 4.69; N, 20.55.

***N*-{5-[(2-Amino-[1,2,4]triazolo[1,5-*a*]pyridin-6-yl)oxy]-2-fluorophenyl}-1,3-dimethyl-1*H*-pyrazole-5-carboxamide Hydrate (**41**·H₂O)**

A 20 L separable flask was charged with acetone (6.8 L) and potassium thiocyanate (538 g, 5.54 mol). The mixture was warmed to 40–45 °C and ethyl chloroformate **57** (572 g, 5.27 mol) was slowly added at this temperature. The reaction mixture was stirred at 40–45 °C for 2 h, and then cooled to room temperature. To this mixture was added **38** (900 g, 2.64 mol), followed by addition of acetone (0.45 L). The mixture was stirred at 20–25 °C for 1 h, and then H₂O (7.2 L) was slowly added. The resulting slurry was stirred at 20–25 °C for 1 h and then filtered. The wet cake was washed with EtOH/H₂O (1:1, 2.7 L) to give ethyl {[5-(3-[(1,3-dimethyl-1*H*-pyrazol-5-yl)carbonyl]amino)-4-fluorophenoxy]pyridine-2-yl] carbamothioyl} carbamate **40** as a white solid. **40** was used for the next reaction without drying. A 20 L separable flask was charged with wet solids of **40**, EtOH (9.0 L), hydroxylamine hydrochloride (916 g, 13.2 mol) and DIPEA (1.02 kg, 7.91 mol). The mixture was heated to 50–55 °C and stirred for 6 h (**CAUTION**: generation of H₂S occurs). To this mixture was slowly added H₂O (9.0 L) at 50–55 °C over 0.5 h. The reaction mixture was cooled to room temperature and stirred for 1 h. The resulting slurry was filtered and washed with EtOH/H₂O (1:1, 2.7 L). The obtained solids were suspended in EtOAc/*n*-heptane (1:1, 9.0 L), and the slurry was heated to 50–55 °C and stirred for 1 h. After cooling to 20–25 °C, the slurry was stirred for 1 h and then filtered. The wet cake was washed with EtOAc/*n*-heptane (1:1, 2.7 L) and dried *in vacuo* at 50 °C to afford **41**·H₂O as a white solid (815 g, 81% yield over 2 steps from **38**).

40: Mp 156–157 °C; ¹H NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆) δ 1.26 (t, *J* = 7.1 Hz, 3H), 2.19 (s, 3H), 3.97 (s, 3H), 4.23 (q, *J* = 7.1 Hz, 2H), 6.83 (s, 1H), 6.98–7.05 (m, 1H), 7.30–7.37 (m, 2H), 7.62 (dd, *J* = 9.1, 3.0 Hz, 1H), 8.23 (d, *J* = 3.0 Hz, 1H), 8.63 (br s, 1H), 10.1 (s, 1H), 11.5 (br s, 1H), 12.1 (br s, 1H); ¹³C NMR (75 MHz, DMSO-*d*₆) δ 13.2 (q), 14.3 (q), 38.8 (q), 62.4 (t), 107.9 (d), 116.4 (d), 116.7 (d), 116.9 (d), 117.0 (d), 117.3 (s), 117.3 (d), 126.3 (sd, ²*J*_{CF} = 14.0 Hz), 128.1–128.2 (s, br m), 135.1 (s), 139.2 (s, br m), 145.7 (s), 148.6 (sd, ¹*J*_{CF} = 243.2 Hz), 150.8 (s), 152.2 (sd, ⁴*J*_{CF} = 2.2 Hz), 153.4–153.7 (s, br m), 158.2 (s); IR (ATR) 3420, 3155, 2997, 1716, 1694, 1623, 1519, 1485, 1431, 1409, 1373, 1320, 1229, 1184, 1147, 1106, 1039, 970, 950, 917, 883, 852, 834, 785, 766, 746, 678, 660, 632, 606, 549, 529, 487, 457, 445, 424, 409, 401 cm⁻¹; MS (ESI): *m/z* 473 [M+H]⁺; Anal. Calcd for C₂₁H₂₁FN₆O₄S: C, 53.38; H, 4.48; N, 17.79. Found: C, 53.29; H, 4.56; N, 17.64.

41·H₂O: Mp 153 °C; ¹H NMR (500 MHz, DMSO-*d*₆) δ 2.19 (s, 3H), 3.35 (s, 2H, H₂O), 3.97 (s, 3H), 6.03 (br s, 2H), 6.82 (s, 1H), 6.96 (ddd, *J* = 8.8, 3.8, 3.8 Hz, 1H), 7.26–7.34 (m, 3H), 7.42 (dd, *J* = 9.5, 1.0 Hz, 1H), 8.62 (dd, *J* = 2.5, 0.6 Hz, 1H), 10.0 (s, 1H); ¹³C NMR (125 MHz,

DMSO-*d*₆) δ 13.5 (q), 39.1 (q), 108.2 (d), 113.1 (d), 115.4 (d), 115.7 (dd, ³*J*_{CF} = 8.8 Hz), 117.2 (dd, ²*J*_{CF} = 21.3 Hz), 120.5 (d), 124.4 (d), 126.4 (sd, ²*J*_{CF} = 12.5 Hz), 135.5 (s), 143.7 (s), 146.0 (s), 148.9 (s), 151.8 (sd, ¹*J*_{CF} = 241.3 Hz), 154.1 (sd, ⁴*J*_{CF} = 2.5 Hz), 158.5 (s), 167.2 (s); IR (ATR) 3464, 3389, 3214, 1688, 1638, 1564, 1535, 1521, 1510, 1434, 1376, 1347, 1326, 1272, 1239, 1179, 1170, 1138, 1117, 1043, 1013, 979, 917, 888, 877, 849, 817, 798, 781, 754, 741, 658, 633, 604, 589, 512, 466, 454, 439, 409 cm⁻¹; MS (ESI): *m/z* 382 [M+H]⁺ for anhydrate; Anal. Calcd for C₁₈H₁₈FN₇O₃: C, 54.13; H, 4.54; N, 24.55. Found: C, 54.02; H, 4.51; N, 24.65.

***N*-[5-({2-[(Cyclopropylcarbonyl)amino][1,2,4]triazolo[1,5-*a*]pyridin-6-yl}oxy)-2-fluorophenyl]-1,3-dimethyl-1*H*-pyrazole-5-carboxamide Hydrate (3·H₂O)**

A 20 L separable flask was charged with 41·H₂O (890 g, 2.23 mol), pyridine (529 g, 6.69 mol) and DMAC (3.56 L). To this solution was slowly added cyclopropanecarbonyl chloride **8** (466 g, 4.46 mol) at 25–40 °C, and the reaction mixture was stirred at this temperature for 1 h. Then H₂O (780 mL) was slowly added to the reaction mixture at 30–40 °C. At this point, 3·H₂O (2.23 g) was added as seeds, followed by dropwise addition of H₂O (1 L). 2 M NaOH (2.67 L) was slowly added to the mixture to adjust pH to 6.0–8.0, maintaining the temperature below 40 °C. Then H₂O (5.34 L) was added at 40–45 °C, and the resulting slurry was stirred for 1 h at this temperature. After cooling to 20–30 °C, the slurry was stirred for 2 h and then filtered. The wet cake was washed with H₂O (4.45 L) and dried *in vacuo* at 50 °C to afford 3·H₂O as a white solid (1.04 kg, 99%). Mp 128–129 °C; ¹H NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆) δ 0.95 (br d, *J* = 5.1 Hz, 4H), 1.98 (br s, 1H), 2.19 (s, 3H), 3.34 (s, 2H, H₂O), 3.98 (s, 3H), 6.84 (s, 1H), 6.97 (ddd, *J* = 9.0, 3.6, 3.6 Hz, 1H), 7.30–7.37 (m, 2H), 7.54 (dd, *J* = 9.6, 2.3 Hz, 1H), 7.75 (dd, *J* = 10.1, 0.5 Hz, 1H), 8.89 (d, *J* = 1.7 Hz, 1H), 10.0 (s, 1H), 11.2 (br s, 1H); ¹³C NMR (75 MHz, DMSO-*d*₆) δ 8.0 (t, 2C), 13.2 (q), 14.1 (d), 38.8 (q), 107.9 (d), 115.3 (d), 115.6 (dd like), 115.9 (dd, ³*J*_{CF} = 7.3 Hz), 117.0 (dd, ²*J*_{CF} = 22.1 Hz), 120.8 (d), 125.8 (s), 126.2 (sd, ²*J*_{CF} = 14.2 Hz), 135.1 (d), 145.3 (s), 145.7 (s), 147.3 (s), 151.8 (sd, ¹*J*_{CF} = 243.2 Hz), 153.2 (s), 158.2 (s), 159.1 (s), 171.4 (s); IR (ATR); 3434, 3297, 3262, 3089, 3016, 1718, 1654, 1619, 1570, 1550, 1509, 1490, 1426, 1398, 1369, 1314, 1299, 1286, 1273, 1252, 1185, 1155, 1133, 1116, 1049, 1035, 1014, 970, 949, 886, 806, 786, 733, 689, 657, 592, 531, 511, 457, 443, 412 cm⁻¹; MS (ESI): *m/z* 450 [M+H]⁺ for anhydrate; Anal. Calcd for C₂₂H₂₂FN₇O₄: C, 56.53; H, 4.74; F, 4.06; N, 20.97. Found: C, 56.48; H, 4.71; F, 4.00; N, 21.01.

Recrystallization of 3.

A 20 L separable flask was charged with 3·H₂O (750 g, 1.60 mol), EtOH (12.2 L), and H₂O (1.35 L). The mixture was heated to 65–75 °C and stirred until 3·H₂O completely dissolved into the solvent. Then the solution was filtered through 0.45 μm filter, followed by washing with

EtOH/H₂O (9:1, 1.5 L). The combined filtrate was heated to 65–75 °C and then cooled to 50–55 °C. At this point, seeds (form A, 1.50 g) were added, and the slurry was aged for 1 h at this temperature. The mixture was heated to 60 °C again and stirred for 15 min. The mixture was cooled to 45–55 °C and stirred for 4 h, and then cooled to room temperature and stirred for 12 h. The slurry was heated to 45–55 °C again and stirred for 3 h, and then cooled to room temperature and filtered. The wet cake was washed with EtOH/H₂O (9:1, 1.5 L) and dried *in vacuo* at 50 °C to afford **3** as a white solid (553 g, 77%, form A, residual EtOH: 1600 ppm). Mp 217 °C; ¹H NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆) δ 0.95 (br d, *J* = 5.1 Hz, 4H), 1.98 (br s, 1H), 2.19 (s, 3H), 3.98 (s, 3H), 6.84 (s, 1H), 6.97 (ddd, *J* = 9.0, 3.6, 3.6 Hz, 1H), 7.30–7.37 (m, 2H), 7.54 (dd, *J* = 9.6, 2.3 Hz, 1H), 7.75 (dd, *J* = 10.1, 0.5 Hz, 1H), 8.89 (d, *J* = 1.7 Hz, 1H), 10.0 (s, 1H), 11.2 (br s, 1H); ¹³C NMR (75 MHz, DMSO-*d*₆) δ 8.0 (t, 2C), 13.2 (q), 14.1 (d), 38.8 (q), 107.9 (d), 115.3 (d), 115.6 (dd), 115.9 (dd, ³*J*_{CF} = 7.3 Hz), 117.0 (dd, ²*J*_{CF} = 22.1 Hz), 120.8 (d), 125.8 (s), 126.2 (sd, ²*J*_{CF} = 14.2 Hz), 135.1 (d), 145.3 (s), 145.7 (s), 147.3 (s), 151.8 (sd, ¹*J*_{CF} = 243.2 Hz), 153.2 (s), 158.2 (s), 159.1 (s), 171.4 (s); IR (ATR): 3298, 3247, 3087, 3028, 1660, 1621, 1550, 1538, 1510, 1492, 1470, 1432, 1408, 1376, 1330, 1309, 1285, 1273, 1243, 1189, 1172, 1116, 1086, 1048, 1035, 1015, 980, 965, 949, 900, 881, 852, 831, 820, 807, 786, 764, 756, 746, 714, 683, 658, 642, 601, 589, 536, 507, 459 cm⁻¹; MS (ESI): *m/z* 450 [M+H]⁺; Anal. Calcd for C₂₂H₂₀FN₇O₃: C, 58.79; H, 4.49; F, 4.23; N, 21.82. Found: C, 58.69; H, 4.46; F, 4.12; N, 21.84.

第 3 章の実験

[HPLC conditions]

Inertsil ODS-3 column, 5 μm, 250 mm × 4.6 mm i.d.; UV detector at 254 nm; isocratic elution with CH₃CN/50 mM aqueous KH₂PO₄ (pH 7) (30:70) at 1.0 mL/min flow rate; column temperature: 25 °C. Retention times: **67a** (3.9 min), **62a** (4.9 min).

General procedure for the one-pot oxidative cyclization

To a solution of 1-(3-chloropyridin-2-yl)guanidine **67c** (1.00 g, 5.86 mmol) in MeOH (100 mL) was added *N*-chlorosuccinimide (861 mg, 6.45 mmol) at 40 °C, and the mixture was stirred at the same temperature for 15 min. To the resulting slurry was added K₂CO₃ (1.70 g, 12.3 mmol) in H₂O (20 mL) at 40 °C, and the mixture was stirred at the same temperature for 30 min. After cooling to room temperature, the solvent was concentrated *in vacuo*. To the residue were added EtOAc (100 mL) and 10% aqueous NaCl (50 mL), and the layers were separated. The aqueous layer was extracted with EtOAc (2 × 100 mL), and the combined organic layer was washed with 10% aqueous K₂CO₃ (2 × 50 mL) and 10% aqueous NaCl (50 mL). The organic layer was concentrated *in vacuo* and the residue was purified by column chromatography (NH silica gel,

1:4 EtOAc/*n*-hexane to 3:97 MeOH/EtOAc) to give crude **62c** (275 mg) and **69c** (190 mg, 19%, pale brown solid). Crude **62c** (150 mg) was triturated with EtOAc/hexane (1:1, 2 mL) and filtered to give **62c** (148 mg, 27%) as a pale brown solid.

Syntheses of 1-(pyridin-2-yl)guanidine derivatives 67

1-(5-Nitropyridin-2-yl)guanidine (67a)⁴³

To a suspension of 2-chloro-5-nitropyridine **66a** (5.00 g, 31.5 mmol) and guanidine hydrochloride (30.1 g, 315 mmol) in *t*-BuOH (250 mL) was added K₂CO₃ (65.3 g, 473 mmol), and the mixture was refluxed for 50 h. The solvent was removed by evaporation, and H₂O (200 mL) was added to the residue. The slurry was stirred at room temperature for 1 h and then filtered. The wet cake was washed with H₂O (2 × 10 mL). The resulting solids were suspended in EtOH/H₂O (1:6, 11 mL), and the mixture was stirred at 60 °C for 1 h. The mixture was cooled by ice bath and stirred for 1 h, and then filtered. The wet cake was washed with H₂O (3 × 2 mL) and dried *in vacuo* to give the crude product (3.69 g). The crude product (3.00 g) was suspended in EtOAc/*n*-hexane (1:2, 27 mL), and the mixture was stirred at 50 °C for 30 min. The mixture was cooled to room temperature and stirred for 1 h, and then filtered. The obtained solids were suspended in EtOAc/*n*-hexane (1:1, 12 mL), and the mixture was stirred at 50 °C for 30 min. The mixture was cooled to room temperature and stirred for 1 h, and then filtered to give **67a** as an orange solid (1.16 g, 25%). Mp 228 °C; ¹H NMR (500 MHz, DMSO-*d*₆) δ 6.58 (d, *J* = 9.5 Hz, 1H), 7.30 (br s, 4H), 8.10 (dd, *J* = 9.3, 3.0 Hz, 1H), 8.93 (d, *J* = 2.8 Hz, 1H); ¹³C NMR (125 MHz, DMSO-*d*₆) δ 118.0, 131.3, 134.8, 144.6, 159.7, 167.2; IR (ATR) 3406, 3033, 1664, 1599, 1563, 1509, 1461, 1412, 1313, 1262, 1111, 992, 947, 934, 864, 836, 771, 726, 713, 531, 496, 452, 420 cm⁻¹; HRMS-ESI (*m/z*): [*M* + *H*]⁺ calcd for C₆H₈N₅O₂, 182.0678; found, 182.0673.

1-(3-Nitropyridin-2-yl)guanidine (67b)

To a suspension of 2-chloro-3-nitropyridine **66b** (5.00 g, 31.5 mmol) and guanidine hydrochloride (30.1 g, 315 mmol) in *t*-BuOH (150 mL) was added K₂CO₃ (65.4 g, 473 mmol), and the mixture was refluxed for 40 h. The solvent was removed by evaporation, and EtOAc (500 mL) was added to the residue. The suspension was filtered through a pad of NH silica gel, and the pad was washed with EtOAc (2 × 100 mL). The combined filtrate was washed with saturated brine (3 × 15 mL) and 10% aqueous NaCl (2 × 15 mL), and concentrated *in vacuo*. The resulting solids were suspended in EtOAc/*n*-hexane (1:2, 45 mL) and stirred at 50 °C for 1 h. The mixture was cooled to room temperature and stirred for 1 h, and then filtrated to give the crude product (3.99 g). The crude product (1.00 g) was suspended in EtOAc/*n*-hexane (1:2, 9 mL), and the mixture was stirred at 50 °C for 30 min. The mixture was cooled to room

temperature and stirred for 1 h, and then filtrated to give **67b** as a yellow solid (462 mg, 32%). Mp 140–141 °C (lit.⁵³ 143–144 °C); ¹H NMR (500 MHz, DMSO-*d*₆) δ 6.73 (dd, *J* = 7.6, 5.0 Hz, 1H), 6.96 (br s, 4H), 7.86 (dd, *J* = 7.9, 1.9 Hz, 1H), 8.21 (dd, *J* = 4.7, 1.9 Hz, 1H); ¹³C NMR (125 MHz, DMSO-*d*₆) δ 111.9, 130.8, 140.3, 148.8, 154.7, 158.4; IR (ATR) 3458, 3412, 3128, 2362, 1651, 1581, 1536, 1491, 1417, 1348, 1325, 1257, 1044, 877, 837, 760, 730, 714, 586, 555, 527, 447 cm⁻¹; HRMS-ESI (*m/z*): [M + H]⁺ calcd for C₆H₈N₅O₂, 182.0678; found, 182.0670.

1-(3-Chloropyridin-2-yl)guanidine (**67c**)

To a suspension of 2,3-dichloropyridine **66c** (4.50 g, 30.4 mmol) and guanidine carbonate (16.4 g, 91.2 mmol) in 1-methylpyrrolidin-2-one (NMP) (40 mL) was added K₂CO₃ (21.0 g, 152 mmol), and the mixture was heated to 140 °C and stirred for 30 h. The mixture was filtered through a glass filter at approximately 100 °C, and the cake was washed with EtOAc (5 × 90 mL). The combined filtrate was washed with H₂O (45 mL) and 10% aqueous NaCl (3 × 45 mL), and concentrated *in vacuo*. The residue was suspended in EtOAc/*n*-hexane (1:2, 45 mL), and the mixture was stirred at 50 °C for 1 h. The mixture was cooled by ice bath and stirred for 1 h, and then filtered. The obtained solids were suspended in H₂O (45 mL), and the slurry was stirred at 50 °C for 1 h. The mixture was cooled by ice bath and stirred for 1 h, and then filtered to give **67c** (2.01 g, 39%) as a white solid. Mp 138 °C; ¹H NMR (500 MHz, DMSO-*d*₆) δ 6.63 (dd, *J* = 7.7, 4.9 Hz, 1H), 6.83 (br s, 4H), 7.61 (dd, *J* = 7.7, 1.7 Hz, 1H), 7.98 (dd, *J* = 4.9, 1.7 Hz, 1H); ¹³C NMR (125 MHz, DMSO-*d*₆) δ 113.8, 123.0, 136.9, 144.1, 157.8, 159.2; IR (ATR) 3474, 3365, 3148, 2357, 1609, 1555, 1512, 1421, 1311, 1230, 1154, 1121, 1036, 997, 951, 855, 764, 731, 668, 646, 558, 523, 476, 455, 431, 405 cm⁻¹; HRMS-ESI (*m/z*): [M + H]⁺ calcd for C₆H₈ClN₄, 171.0437; found, 171.0432.

1-(5-Chloropyridin-2-yl)guanidine (**67d**)

To a suspension of 5-chloro-2-fluoropyridine **66d** (5.00 g, 38.0 mmol) and guanidine carbonate (20.5 g, 114 mmol) in NMP (50 mL) was added K₂CO₃ (26.3 g, 190 mmol), and the mixture was heated to 130 °C and stirred for 8 h. To the mixture at room temperature were added EtOAc (100 mL) and H₂O (200 mL), and the layers were separated. The aqueous layer was extracted with EtOAc (3 × 100 mL), and the combined organic layer was washed with 10% aqueous NaCl (3 × 50 mL) and concentrated *in vacuo*. To the resulting residue was added EtOAc (500 mL), and the solution was filtered through a pad of NH silica gel. The filtrate was evaporated, and the residue was suspended in EtOAc/*n*-hexane (1:3, 40 mL). The mixture was stirred at 40 °C for 1 h. The mixture was cooled to room temperature and stirred for 1 h, and then filtered. The obtained solids were dissolved into H₂O (15 mL) at 50 °C, and the solution was gradually cooled to room temperature. The slurry was stirred at room temperature for 1 h, and then filtered

to give **67d** (3.03 g, 47%) as a white solid. Mp 162–163 °C; ¹H NMR (500 MHz, DMSO-*d*₆) δ 6.60 (dd, *J* = 8.8, 0.6 Hz, 1H), 6.75 (br s, 4H), 7.48 (dd, *J* = 8.8, 2.8 Hz, 1H), 8.04 (d, *J* = 2.5 Hz, 1H); ¹³C NMR (125 MHz, DMSO-*d*₆) δ 119.3, 120.0, 136.5, 143.7, 157.6, 162.1; IR (ATR) 3468, 3414, 2362, 1627, 1573, 1543, 1518, 1463, 1370, 1314, 1278, 1229, 1133, 1110, 1004, 914, 857, 834, 756, 730, 614, 572, 520 459, 436, 405 cm⁻¹; HRMS-ESI (*m/z*): [*M* + *H*]⁺ calcd for C₆H₈CIN₄ 171.0437; found, 171.0432.

1-[3-(Trifluoromethyl)pyridin-2-yl]guanidine (**67e**)

To a suspension of 2-chloro-3-(trifluoromethyl)pyridine **66e** (10.0 g, 55.3 mmol) and guanidine carbonate (29.9 g, 166 mmol) in NMP (100 mL) was added K₂CO₃ (38.2 g, 277 mmol), and the mixture was heated to 120 °C and stirred for 40 h. The mixture was filtered through a glass filter at approximately 100 °C, and the cake was washed with EtOAc (5 × 200 mL). The combined filtrate was washed with H₂O (100 mL) and 10% aqueous NaCl (3 × 100 mL), and concentrated *in vacuo*. The residue was purified by column chromatography (NH silica gel, EtOAc/*n*-hexane 1:10 to 2:3) to give the crude product. To the crude product in EtOAc (200 mL) was added activated carbon (500 mg), and the mixture was stirred at room temperature for 30 min. The activated carbon was filtered off, and the filtrate was concentrated *in vacuo*. The residue was dissolved into EtOAc (100 mL), and 4M HCl in EtOAc (14 mL, 55.3 mmol) was added at 5 °C. The mixture was stirred at 5 °C for 30 min, and then filtered. To the obtained solids were added EtOAc (200 mL) and aqueous 5% NaHCO₃ (50 mL), and the layers were separated. The aqueous layer was extracted with EtOAc (100 mL), and the combined organic layer was concentrated *in vacuo*. To the residue was added EtOAc/*n*-hexane (1:3, 10 mL), and the slurry was stirred at 5 °C for 1 h, and then filtered to give **67e** (1.31 g, 12%) as a white solid. Mp 128–130 °C; ¹H NMR (500 MHz, DMSO-*d*₆) δ 6.72 (dd, *J* = 7.4, 4.9 Hz, 1H), 6.87 (br s, 4H), 7.78 (dd, *J* = 7.6, 1.9 Hz, 1H), 8.23 (dd, *J* = 5.0, 1.6 Hz, 1H); ¹³C NMR (125 MHz, DMSO-*d*₆) δ 111.9, 115.8 (q, ²*J*_{CF} = 28.8 Hz), 124.3 (q, ¹*J*_{CF} = 270.0 Hz), 135.1 (q, ³*J*_{CF} = 6.3 Hz), 149.7, 157.7, 160.5; IR (ATR) 3483, 3449, 3384, 3164, 1614, 1592, 1561, 1513, 1430, 1334, 1301, 1256, 1226, 1158, 1127, 1102, 1070, 1027, 965, 859, 806, 779, 742, 695, 615, 583, 543, 483, 471, 448, 435, 422 cm⁻¹; HRMS-ESI (*m/z*): [*M* + *H*]⁺ calcd for C₇H₈F₃N₄, 205.0701; found, 205.0696.

1-[5-(Trifluoromethyl)pyridin-2-yl]guanidine 0.9 1-methylpyrrolidin-2-one solvate (**67f**)

To a suspension of 2-chloro-5-(trifluoromethyl)pyridine **66f** (8.00 g, 44.1 mmol) and guanidine carbonate (7.94 g, 44.1 mmol) in NMP (80 mL) was added K₂CO₃ (18.3 g, 132 mmol), and the mixture was heated to 120 °C and stirred for 7 h. The mixture was filtered through a glass filter at approximately 100 °C, and the cake was washed with EtOAc (5 × 160 mL). The combined

filtrate was washed with H₂O (80 mL) and 10% aqueous NaCl (3 × 80 mL), and concentrated *in vacuo*. To the residue was added EtOAc/*n*-hexane (1:2, 40 mL), and the mixture was stirred at 50 °C for 1 h. The mixture was cooled by ice bath and stirred for 1 h, and then filtered to give the crude product (6.13 g). The crude product (1.00 g) was suspended in EtOAc/*n*-hexane (1:2, 9 mL), and the mixture was stirred at 50 °C for 1 h. The mixture was cooled to room temperature and stirred for 1 h, and then filtered to give **67f** (829 mg, 39%) as a white solid. Mp 95–97 °C; ¹H NMR (500 MHz, DMSO-*d*₆) δ 1.85–1.96 (m, 1.8H, NMP), 2.18 (t, *J* = 8.0 Hz, 1.8H, NMP), 2.70 (s, 2.7H, NMP), 3.30 (t, *J* = 6.9 Hz, 1.8H, NMP), 6.66 (d, *J* = 8.8 Hz, 1H), 7.01 (br s, 4H), 7.67 (dd, *J* = 8.8, 2.5 Hz, 1H), 8.35 (br s, 1H); ¹³C NMR (125 MHz, DMSO-*d*₆) δ 17.2 (NMP), 28.9 (NMP), 30.1 (NMP), 48.4 (NMP), 113.9 (q, ²*J*_{CF} = 32.1 Hz), 118.3, 124.9 (q, ¹*J*_{CF} = 268.3 Hz), 133.1 (q, ³*J*_{CF} = 2.5 Hz), 143.5 (q, ³*J*_{CF} = 5.0 Hz), 158.8, 166.1, 173.7 (NMP); IR (ATR) 3483, 3449, 3384, 3163, 1614, 1591, 1561, 1512, 1430, 1334, 1301, 1256, 1226, 1158, 1127, 1102, 1070, 1027, 965, 859, 806, 779, 742, 695, 651, 614, 584, 542, 480, 470, 448, 435, 422, 410 cm⁻¹; HRMS-ESI (*m/z*): [M + H]⁺ calcd for C₇H₈F₃N₄, 205.0701; found, 205.0694; Anal. Calcd for C_{11.5}H_{15.1}N_{4.9}F₃O_{0.9}: C, 47.08; H, 5.19; N, 23.39. Found: C, 46.96 H, 5.13; N, 23.17.

1-[4-(Trifluoromethyl)pyridin-2-yl]guanidine (**67g**)

To a suspension of 2-chloro-4-(trifluoromethyl)pyridine **66g** (4.50 g, 24.8 mmol) and guanidine carbonate (13.4 g, 74.4 mmol) in NMP (45 mL) was added K₂CO₃ (17.1 g, 124 mmol), and the mixture was heated to 120 °C and stirred for 18 h. The mixture was filtered through a glass filter at approximately 100 °C, and the cake was washed with EtOAc (5 × 90 mL). The combined filtrate was washed with H₂O (45 mL) and 10% aqueous NaCl (3 × 45 mL), and concentrated *in vacuo*. The residue was suspended in EtOAc/*n*-hexane (1:2, 23 mL), and the mixture was stirred at 50 °C for 1 h. The mixture was cooled by ice bath and stirred for 1 h, and then filtered. The obtained solids were suspended in H₂O (13 mL) and the slurry was stirred at 50 °C for 1 h. The mixture was gradually cooled by ice bath and stirred for 1 h, and then filtered to give **67g** (2.39 g, 47%) as a white solid. Mp 141–142 °C; ¹H NMR (500 MHz, DMSO-*d*₆) δ 6.75 (s, 1H), 6.85 (dd, *J* = 5.4, 1.6 Hz, 1H), 6.92 (br s, 4H), 8.25 (d, *J* = 5.4 Hz, 1H); ¹³C NMR (125 MHz, DMSO-*d*₆) δ 107.5 (q, ³*J*_{CF} = 2.5 Hz), 113.9 (q, ³*J*_{CF} = 3.8 Hz), 123.2 (q, ¹*J*_{CF} = 271.3 Hz), 137.3 (q, ²*J*_{CF} = 32.5 Hz), 147.7, 158.3, 164.2; IR (ATR) 3388, 3045, 1663, 1595, 1527, 1411, 1335, 1293, 1271, 1171, 1145, 1122, 1078, 980, 871, 817, 793, 758, 731, 689, 667, 561, 536, 467, 444, 421, 401 cm⁻¹; HRMS-ESI (*m/z*): [M + H]⁺ calcd for C₇H₈F₃N₄, 205.0701; found, 205.0693.

1-(6-Fluoropyridin-2-yl)guanidine (**67h**)

To a suspension of 2,6-difluoropyridine **66h** (4.00 g, 34.8 mmol) and guanidine carbonate (12.5

g, 69.6 mmol) in *N,N*-dimethylacetamide (80 mL) was added K_2CO_3 (14.4 g, 104 mmol), and the mixture was heated to 120 °C and stirred for 6 h. At this point, guanidine carbonate (6.27 g, 34.8 mmol) and K_2CO_3 (9.62 g, 69.6 mmol) were added, and the mixture was stirred at 120 °C for an additional 3 h. After cooling to room temperature, EtOAc (160 mL) and H_2O (240 mL) were added, and the layers were separated. The aqueous layer was extracted with EtOAc (5×40 mL), and the combined organic layer was washed with saturated brine (2×40 mL) and 10% aqueous NaCl (3×40 mL), and concentrated *in vacuo*. The resulting residue was purified by column chromatography (NH silica gel, EtOAc/*n*-hexane 1:1). The obtained solids were suspended in EtOAc/*n*-hexane (1:2, 36 mL), and the mixture was stirred at 50 °C for 1 h. The mixture was cooled to room temperature and stirred for 1 h, and then filtered. The obtained solids were suspended in H_2O (12 mL), and the mixture was stirred at 50 °C for 1 h. The mixture was cooled to room temperature and stirred for 1 h, and then filtered to give the crude product (2.31 g). The crude product (1.00 g) was suspended in EtOAc/*n*-hexane (1:3, 5 mL), and the slurry was stirred at 50 °C for 1 h. The mixture was gradually cooled to room temperature and stirred for 1 h, and then filtered to give **67h** (866 mg, 37%) as a white solid. Mp 121–122 °C; 1H NMR (500 MHz, DMSO- d_6) δ 6.27 (dd, $J = 7.6, 2.2$ Hz, 1H), 6.48 (dd, $J = 8.0, 2.1$ Hz, 1H), 6.67 (br s, 4H), 7.56 (dt, $J = 9.8, 7.9$ Hz, 1H); ^{13}C NMR (125 MHz, DMSO- d_6) δ 96.4 (d, $^2J = 36.3$ Hz), 115.6 (d, $^4J_{HF} = 5.0$ Hz), 141.5 (d, $^3J_{HF} = 6.3$ Hz), 158.0, 161.2 (d, $^1J_{HF} = 233.8$ Hz), 162.6 (d, $^3J_{HF} = 12.6$ Hz); IR (ATR) 3485, 3310, 3137, 2255, 2179, 1709, 1635, 1608, 1564, 1537, 1487, 1464, 1416, 1334, 1260, 1243, 1222, 1151, 1055, 1035, 988, 957, 866, 781, 726, 696, 673, 596, 572, 555, 472, 422, 404 cm^{-1} ; HRMS-ESI (m/z): $[M + H]^+$ calcd for $C_6H_8FN_4$, 155.0733; found, 155.0725.

1-[3-Chloro-5-(trifluoromethyl)pyridin-2-yl]guanidine (**67i**)

To a suspension of 2,3-dichloro-5-(trifluoromethyl)pyridine **66i** (10.0 g, 46.3 mmol) and guanidine carbonate (8.34 g, 46.3 mmol) in NMP (100 mL) was added K_2CO_3 (19.2 g, 139 mmol), and the mixture was heated to 100 °C and stirred for 5 h. The mixture was filtered through a glass filter at approximately 100 °C, and the cake was washed with EtOAc (200 mL). To the combined filtrate was added 10% aqueous NaCl (100 mL), and the layers were separated. The aqueous layer was extracted with EtOAc (3×100 mL). The combined organic layer was washed with 10% aqueous NaCl (3×100 mL) and concentrated *in vacuo*. To the residue was added EtOAc (100 mL), and the solution was cooled by ice bath. To the solution was added 4M HCl in EtOAc (23 mL, 92.6 mmol), and the mixture was stirred for 2 h, and then filtered. To the obtained solids were added EtOAc (200 mL), H_2O (50 mL) and 8M NaOH (12 mL, 92.6 mL), and the layers were separated. The aqueous layer was extracted with EtOAc (3×100 mL). The combined organic layer was concentrated *in vacuo*. The residue was purified by column

chromatography (NH silica gel, EtOAc/*n*-hexane 1:3 to 1:1) to give the crude product. To the crude product was added H₂O (10 mL), and the mixture was stirred at 60 °C for 1 h. The mixture was cooled to room temperature and stirred for 1 h, and then filtered to give **67i** (4.02 g, 36%) as a white solid. Mp 146–149 °C; ¹H NMR (500 MHz, DMSO-*d*₆) δ 7.14 (br s, 4H), 7.91 (d, *J* = 2.2 Hz, 1H), 8.30 (dd, *J* = 2.4, 1.1 Hz, 1H); ¹³C NMR (125 MHz, DMSO-*d*₆) δ 113.9 (q, ²*J*_{CF} = 32.5 Hz), 122.8, 124.0 (q, ¹*J*_{CF} = 268.8 Hz), 132.9 (q, ³*J*_{CF} = 2.5 Hz), 141.7 (q, ³*J*_{CF} = 5.0 Hz), 159.2, 161.5; IR (ATR) 3511, 3457, 3405, 3324, 1624, 1600, 1542, 1519, 1461, 1405, 1382, 1331, 1307, 1257, 1153, 1112, 1088, 1054, 999, 937, 910, 878, 809, 773, 721, 670, 641, 598, 543, 481, 465, 421, 405 cm⁻¹; HRMS-ESI (*m/z*): [*M* + *H*]⁺ calcd for C₇H₇ClF₃N₄, 239.0311; found, 239.0309.

1-(Quinolin-2-yl)guanidine (**67j**)

To a suspension of 2-chloroquinoline **66j** (4.50 g, 27.5 mmol) and guanidine carbonate (14.9 g, 82.5 mmol) in NMP (45 mL) was added K₂CO₃ (19.0 g, 138 mmol), and the mixture was heated to 120 °C and stirred for 17 h. After cooling to room temperature, EtOAc (90 mL) was added, and the mixture was filtered through a glass filter. The cake was washed with EtOAc (4 × 90 mL). To the combined filtrate was added H₂O (45 mL), and the layers were separated. The organic layer was washed with 10% aqueous NaCl (2 × 45 mL) and concentrated *in vacuo*. The residue was suspended in EtOAc/*n*-hexane (1:2, 45 mL), and the mixture was stirred at 50 °C for 1 h. The mixture was cooled to room temperature and stirred for 1 h, and then filtered. The obtained solids were suspended in H₂O (14 mL), and the mixture was stirred at 50 °C for 1 h. The mixture was cooled by ice bath and stirred for 1 h, and then filtered to give **67j** (2.54 g, 50%) as a white solid. Mp 218–219 °C; ¹H NMR (500 MHz, DMSO-*d*₆) δ 6.80 (d, *J* = 8.8 Hz, 1H), 7.18 (br s, 4H), 7.22 (td, *J* = 7.4, 1.3 Hz, 1H), 7.43–7.53 (m, 1H), 7.59 (d, *J* = 8.5 Hz, 1H), 7.65 (dd, *J* = 8.0, 1.1 Hz, 1H), 7.90 (d, *J* = 8.8 Hz, 1H); ¹³C NMR (125 MHz, DMSO-*d*₆) δ 121.7, 122.2, 123.4, 125.7, 127.1, 128.6, 135.9, 146.4, 158.9, 162.9; IR (ATR) 3411, 2997, 1657, 1620, 1585, 1535, 1491, 1444, 1417, 1378, 1349, 1309, 1284, 1246, 1212, 1142, 1119, 1016, 1003, 974, 944, 929, 828, 788, 763, 752, 684, 640, 593, 550, 478, 467, 447, 416 cm⁻¹; HRMS-ESI (*m/z*): [*M* + *H*]⁺ calcd for C₁₀H₁₁N₄, 187.0984; found, 187.0976.

1-(Isoquinolin-1-yl)guanidine (**67k**)

To a suspension of 1-chloroisoquinoline **66k** (4.50 g, 27.5 mmol) and guanidine carbonate (14.9 g, 82.5 mmol) in NMP (45 mL) was added K₂CO₃ (19.0 g, 138 mmol), and the mixture was heated to 120 °C and stirred for 15 h. The mixture was filtered through a glass filter at approximately 100 °C, and the cake was washed with EtOAc (5 × 90 mL). To the combined filtrate was added H₂O (45 mL) and the layers were separated. The organic layer was washed

with 10% aqueous NaCl (3 × 45 mL) and concentrated *in vacuo*. The residue was purified by column chromatography (NH silica gel, EtOAc/*n*-hexane 1:1). The obtained solids were suspended in H₂O (45 mL) and the slurry was stirred at 50 °C for 1 h. The mixture was cooled to room temperature and stirred for 1 h, and then filtered to give the crude product (3.30 g). The crude product (700 mg) was suspended in EtOAc/*n*-hexane (1:2, 11 mL), and the mixture was stirred at 50 °C for 1 h. The mixture was cooled to room temperature and stirred for 1 h, and then filtered to give **67k** (0.627 g, 58%) as a white solid. Mp 193–194 °C; ¹H NMR (500 MHz, DMSO-*d*₆) δ 6.98 (d, *J* = 6.0 Hz, 1H), 7.11 (br s, 4H), 7.43 (ddd, *J* = 8.2, 6.9, 1.3 Hz, 1H), 7.58 (ddd, *J* = 7.6, 7.6, 1.3 Hz, 1H), 7.61–7.67 (m, 1H), 7.90 (d, *J* = 5.7 Hz, 1H), 8.62 (d, *J* = 8.5 Hz, 1H); ¹³C NMR (125 MHz, DMSO-*d*₆) δ 111.3, 125.5, 125.6, 126.0, 126.8, 130.0, 137.3, 140.4, 158.9, 162.0; IR (ATR) 3382, 3046, 2179, 1586, 1519, 1489, 1443, 1390, 1363, 1315, 1277, 1211, 1139, 1089, 1020, 964, 950, 877, 810, 797, 757, 728, 682, 658, 584, 520, 463, 425, 404 cm⁻¹; HRMS-ESI (m/z): [M + H]⁺ calcd for C₁₀H₁₁N₄, 187.0984; found, 187.0976.

1-(Benzo[*d*]oxazol-2-yl)guanidine (**67m**)

To a suspension of 2-chlorobenzo[*d*]oxazole **66m** (4.50 g, 29.3 mmol) and guanidine carbonate (5.28 g, 29.3 mmol) in NMP (90 mL) was added K₂CO₃ (12.1 g, 87.9 mmol), and the mixture was heated to 100 °C and stirred for 1 h. After cooling to room temperature, EtOAc (135 mL) and H₂O (225 mL) were added, and the layers were separated. The aqueous layer was extracted with EtOAc (3 × 90 mL). The combined organic layer was washed with 10% aqueous NaCl (3 × 23 mL) and concentrated *in vacuo*. The residue was purified by column chromatography (NH silica gel, EtOAc/*n*-hexane 1:3 to 1:1). The obtained solids were suspended in H₂O (23 mL) and the mixture was stirred at 40 °C for 1 h. The mixture was cooled by ice bath and stirred for 1 h, and then filtered to give the crude product (3.83 g). The crude product (700 mg) was suspended in EtOAc/*n*-hexane (1:2, 11 mL), and the mixture was stirred at 50 °C for 1 h. The mixture was cooled to room temperature and stirred for 1 h, and then filtered to give **67m** as a white solid (535 mg, 57%). Mp 185–186 °C (lit.⁵⁴ 186 °C); ¹H NMR (500 MHz, DMSO-*d*₆) δ 7.03 (dd, *J* = 7.7, 1.1 Hz, 1H), 7.07–7.20 (m, 1H), 7.18 (br s, 4H), 7.20–7.30 (m, 1H), 7.30–7.40 (m, 1H); ¹³C NMR (125 MHz, DMSO-*d*₆) δ 108.5, 115.3, 120.8, 123.0, 142.5, 146.6, 159.8, 166.4; IR (ATR) 3448, 3340, 3196, 3056, 1609, 1547, 1455, 1344, 1316, 1251, 1177, 1101, 1029, 1007, 962, 919, 755, 728, 504, 434, 416, 409 cm⁻¹; HRMS-ESI (m/z): [M + H]⁺ calcd for C₈H₉N₄O, 177.0776; found, 177.0768.

2-Chloro-1-(5-nitropyridin-2-yl)guanidine (**68a**)

To a suspension of **67a** (544 mg, 3.00 mmol) in MeCN (27 mL) was added *N*-chlorosuccinimide (NCS, 441 mg, 3.30 mmol) at 40 °C, and the mixture was stirred at this temperature for 15 min.

The mixture was cooled by ice bath and stirred for 30 min, and then filtered to give **68a** (584 mg, 90%) as a pale yellow solid. Mp 154–155 °C; ¹H NMR (500 MHz, DMSO-*d*₆) δ 7.35 (d, *J* = 9.5 Hz, 1H), 7.58 (br s, 2H), 8.44 (dd, *J* = 9.5, 2.8 Hz, 1H), 9.05 (d, *J* = 2.5 Hz, 1H), 10.3 (s, 1H); ¹³C NMR (125 MHz, DMSO-*d*₆) δ 111.2, 133.7, 137.8, 144.5, 157.5, 157.9; IR (ATR) 3461, 3228, 3056, 1659, 1599, 1562, 1523, 1478, 1413, 1322, 1287, 1243, 1159, 1111, 1014, 978, 954, 889, 850, 833, 756, 723, 697, 609, 528, 499, 416 cm⁻¹; HRMS (ESI): [M+H]⁺ calcd for C₆H₇N₅O₂Cl, 216.0288; found, 216.0287.

Syntheses of [1,2,4]triazolo[1,5-*a*]pyridin-2-amines **62** and [1,2,4]triazolo[4,3-*a*]pyridin-3-amines **69**

6-Nitro[1,2,4]triazolo[1,5-*a*]pyridin-2-amine (62a)

Synthesis from **68a**

To a suspension of **68a** (431 mg, 2.00 mmol) in MeCN (22 mL) was added K₂CO₃ (581 mg, 4.20 mmol) in H₂O (9 mL) at 40 °C, and the mixture was stirred at this temperature for 30 min. After cooling to room temperature, H₂O (35 mL) was added, and the mixture was cooled by ice bath and stirred for 30 min, and then filtered to give **62a** (332 mg, 93%) as a yellow solid. Mp 311–312 °C (lit.⁴⁵ 310 °C); ¹H NMR (600 MHz, DMSO-*d*₆) δ 6.68 (s, 2H), 7.47 (d, *J* = 9.5 Hz, 1H), 8.16 (dd, *J* = 9.4, 2.3 Hz, 1H), 9.64 (d, *J* = 1.9 Hz, 1H); ¹³C NMR (150 MHz, DMSO-*d*₆) δ 110.9, 123.8, 126.9, 135.1, 152.6, 168.7; IR (ATR) 3449, 3320, 3237, 3110, 3070, 3033, 1633, 1561, 1522, 1488, 1448, 1422, 1328, 1290, 1256, 1205, 1139, 1081, 1038, 946, 888, 831, 760, 744, 725, 697, 610, 582, 550, 489, 424 cm⁻¹; HRMS (ESI): [M+H]⁺ calcd for C₆H₆N₅O₂, 180.0521; found, 180.0514.

One-pot synthesis from **67a**

To a suspension of **67a** (362 mg, 2.00 mmol) in MeOH (36 mL) was added NCS (294 mg, 2.20 mmol) at 40 °C, and the mixture was stirred at this temperature for 15 min. To the resulting slurry was added K₂CO₃ (581 mg, 4.20 mmol) in H₂O (7 mL) at 40 °C, and the mixture was stirred at this temperature for 30 min. After cooling to room temperature, H₂O (29 mL) was added, and the mixture was stirred for 30 min, and then filtered to give **62a** (312 mg, 87%) as a yellow solid.

8-Nitro[1,2,4]triazolo[1,5-*a*]pyridin-2-amine (62b)

Compound **62b** was synthesized from **67b** (544 mg, 3.00 mmol) according to the procedure described for the one-pot synthesis of **62a**. Yellow solid, 461 mg, 86% yield. Mp 350 °C (decompose); ¹H NMR (600 MHz, DMSO-*d*₆) δ 6.71 (s, 2H), 7.04 (dd, *J* = 7.5, 7.5 Hz, 1H), 8.41 (dd, *J* = 8.3, 1.1 Hz, 1H), 8.99 (dd, *J* = 6.4, 1.1 Hz, 1H); ¹³C NMR (150 MHz, DMSO-*d*₆) δ

109.2, 127.2, 132.7, 133.4, 145.2, 167.7; IR (ATR) 3361, 3309, 3220, 3173, 3101, 1631, 1561, 1519, 1442, 1413, 1340, 1272, 1194, 1149, 1077, 1038, 984, 898, 841, 835, 795, 752, 738, 686, 596, 563, 543, 474, 452 cm^{-1} ; HRMS (ESI): $[\text{M}+\text{H}]^+$ calcd for $\text{C}_6\text{H}_6\text{N}_5\text{O}_2$, 180.0521; found, 180.0513.

8-Chloro[1,2,4]triazolo[1,5-*a*]pyridin-2-amine (62c)

Mp 225 °C; ^1H NMR (600 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ 6.25 (s, 2H), 6.86 (dd, $J = 7.7, 6.6$ Hz, 1H), 7.60 (dd, $J = 7.7, 0.9$ Hz, 1H), 8.55 (dd, $J = 6.8, 1.1$ Hz, 1H); ^{13}C NMR (150 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ 110.9, 116.9, 126.7, 128.1, 148.4, 166.1; IR (ATR) 3323, 3164, 1641, 1627, 1544, 1506, 1407, 1308, 1221, 1203, 1136, 1121, 1062, 1029, 962, 907, 794, 779, 772, 749, 675, 635, 579, 561, 537, 408 cm^{-1} ; HRMS (ESI): $[\text{M}+\text{H}]^+$ calcd for $\text{C}_6\text{H}_6\text{ClN}_4$, 169.0281; found, 169.0273.

8-Chloro[1,2,4]triazolo[4,3-*a*]pyridin-3-amine (69c)

Mp 270-271 °C (decompose) (lit.⁴⁶ 275–276 °C); ^1H NMR (600 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ 6.56 (s, 2H), 6.75 (dd, $J = 7.0, 7.0$ Hz, 1H), 7.28 (d, $J = 7.1$ Hz, 1H), 8.06 (dd, $J = 6.8, 0.8$ Hz, 1H); ^{13}C NMR (150 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ 111.2, 120.0, 121.6, 124.0, 143.2, 149.8; IR (ATR) 3265, 3106, 1658, 1629, 1575, 1517, 1500, 1439, 1414, 1378, 1331, 1154, 1128, 1043, 1036, 943, 935, 882, 868, 781, 758, 727, 687, 651, 568, 557, 539, 510, 409, 404 cm^{-1} ; HRMS (ESI): $[\text{M}+\text{H}]^+$ calcd for $\text{C}_6\text{H}_6\text{ClN}_4$, 169.0281; found, 169.0273.

6-Chloro[1,2,4]triazolo[4,3-*a*]pyridin-3-amine (69d)

Compound **67d** (512 mg, 3.00 mmol) in MeOH (51 mL) was treated with NCS (441 mg, 3.30 mmol) and K_2CO_3 (871 mg, 6.3 mmol) in H_2O (10 mL), and work-up was conducted according to the general procedure. The residue obtained after evaporation of the organic layer was purified by column chromatography (NH silica gel, EtOAc/*n*-hexane 1:1 to EtOAc) to give crude **69d** (262 mg). Crude **69d** (150 mg) was triturated with EtOAc/*n*-hexane (2:1, 2 mL) and filtered to give **69d** (145 mg, 50%) as a pale yellow solid. Mp 256 °C (decompose); ^1H NMR (600 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ 6.48 (s, 2H), 7.08 (dd, $J = 9.8, 1.9$ Hz, 1H), 7.50 (dd, $J = 9.8, 0.8$ Hz, 1H), 8.34 (dd, $J = 1.7, 0.9$ Hz, 1H); ^{13}C NMR (150 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ 116.5, 118.3, 120.1, 125.8, 144.1, 148.5; IR (ATR) 3248, 3094, 1664, 1630, 1578, 1509, 1447, 1391, 1359, 1337, 1165, 1137, 1034, 928, 851, 824, 817, 790, 734, 676, 572, 540, 416 cm^{-1} ; HRMS (ESI): $[\text{M}+\text{H}]^+$ calcd for $\text{C}_6\text{H}_6\text{ClN}_4$, 169.0281; found, 169.0279.

8-(Trifluoromethyl)[1,2,4]triazolo[1,5-*a*]pyridin-2-amine (62e)

Compound **67e** (817 mg, 4.00 mmol) in MeOH (82 mL) was treated with NCS (588 mg, 4.40 mmol) and K_2CO_3 (1.16 g, 8.40 mmol) in H_2O (16 mL), and work-up was conducted according

to the general procedure. The residue obtained after evaporation of the organic layer was purified by column chromatography (NH silica gel, EtOAc/*n*-hexane 1:4 to EtOAc) to give crude **62e** (473 mg) and crude **69e** (189 mg). Crude **62e** (200 mg) was purified by column chromatography (NH silica gel, EtOAc/*n*-hexane 1:4 to 1:1), and the obtained solids were triturated with EtOAc/*n*-hexane (1:1, 1 mL) and filtered to give **62e** (151 mg, 44%) as a white solid. Mp 221 °C; ¹H NMR (600 MHz, DMSO-*d*₆) δ 6.44 (s, 2H), 7.00 (t, *J* = 7.2 Hz, 1H), 7.84 (d, *J* = 7.6 Hz, 1H), 8.84 (d, *J* = 6.8 Hz, 1H); ¹³C NMR (150 MHz, DMSO-*d*₆) δ 109.9, 112.6 (q, ²*J*_{CF} = 33.0 Hz), 122.9 (q, ¹*J*_{CF} = 270.0 Hz), 127.2 (q, ³*J*_{CF} = 4.5 Hz), 131.2, 146.8, 166.8; IR (ATR) 3342, 3209, 1640, 1582, 1524, 1509, 1460, 1421, 1352, 1330, 1303, 1226, 1199, 1166, 1112, 1068, 1028, 959, 929, 906, 807, 794, 762, 717, 667, 593, 526, 507 cm⁻¹; HRMS (ESI): [M+H]⁺ calcd for C₇H₆F₃N₄, 203.0545; found, 203.0540.

8-(Trifluoromethyl)[1,2,4]triazolo[4,3-*a*]pyridin-3-amine (69e)

Crude **69e** (100 mg) was triturated with EtOAc/*n*-hexane (1:1, 1 mL) and filtered to give **69e** (87 mg, 20%) as a yellow solid. Mp 258 °C (decompose); ¹H NMR (600 MHz, DMSO-*d*₆) δ 6.64 (s, 2H), 6.88 (t, *J* = 7.0 Hz, 1H), 7.58 (d, *J* = 6.8 Hz, 1H), 8.30 (d, *J* = 7.2 Hz, 1H); ¹³C NMR (150 MHz, DMSO-*d*₆) δ 109.9, 115.9 (q, ²*J*_{CF} = 33.0 Hz), 122.5 (q, ¹*J*_{CF} = 270.0 Hz), 125.0 (q, ³*J*_{CF} = 6.0 Hz), 126.6, 140.6, 149.2; IR (ATR) 3304, 3153, 1661, 1637, 1585, 1558, 1508, 1450, 1424, 1390, 1338, 1313, 1240, 1163, 1139, 1114, 1046, 1031, 946, 872, 773, 742, 733, 690, 642, 611, 564, 520, 504 cm⁻¹; HRMS (ESI): [M+H]⁺ calcd for C₇H₆F₃N₄, 203.0545; found, 203.0540.

6-(Trifluoromethyl)[1,2,4]triazolo[1,5-*a*]pyridin-2-amine (62f)

Compound **67f** (1.17 g, 4.00 mmol) in MeOH (117 mL) was treated with NCS (588 mg, 4.40 mmol) and K₂CO₃ (1.16 g, 8.40 mmol) in H₂O (23 mL), and work-up was conducted according to the general procedure. The residue obtained after evaporation of the organic layer was purified by column chromatography (NH silica gel, EtOAc/*n*-hexane 1:1 to 4:1) to give **62f** (184 mg, 23%) as a white solid and crude **69f** (454 mg). Mp 182 °C; ¹H NMR (600 MHz, DMSO-*d*₆) δ 6.37 (s, 2H), 7.52 (d, *J* = 9.4 Hz, 1H), 7.68 (dd, *J* = 9.1, 1.9 Hz, 1H), 9.18 (s, 1H); ¹³C NMR (150 MHz, DMSO-*d*₆) δ 112.8, 113.4 (q, ²*J*_{CF} = 33.5 Hz), 123.7 (q, ¹*J*_{CF} = 269.0 Hz), 124.9 (q, ³*J*_{CF} = 3.0 Hz), 126.6 (q, ³*J*_{CF} = 4.5 Hz), 151.4, 167.5; IR (ATR) 3343, 3172, 2360, 2341, 1648, 1564, 1543, 1522, 1428, 1358, 1331, 1307, 1181, 1120, 1058, 1034, 938, 864, 809, 761, 740, 674, 639, 562, 537, 438, 415 cm⁻¹; HRMS (ESI): [M+H]⁺ calcd for C₇H₆F₃N₄, 203.0545; found, 203.0538.

6-(Trifluoromethyl)[1,2,4]triazolo[4,3-*a*]pyridin-3-amine (69f)

Crude **69f** (200 mg) was dissolved in EtOAc and washed with 5% aqueous K₂CO₃. After evaporation of the solvent, the obtained solids were triturated with EtOAc/*n*-hexane (1:1, 2 mL) and filtered to give **69f** (184 mg, 52%) as a yellow solid. Mp 249 °C (decompose); ¹H NMR (600 MHz, DMSO-*d*₆) δ 6.72 (s, 2H), 7.23 (dd, *J* = 9.8, 1.5 Hz, 1H), 7.63 (d, *J* = 9.8 Hz, 1H), 8.77 (d, *J* = 1.5 Hz, 1H); ¹³C NMR (150 MHz, DMSO-*d*₆) δ 114.0 (q, ²*J*_{CF} = 33.5 Hz), 117.0, 119.8 (q, ³*J*_{CF} = 3.0 Hz), 123.2 (q, ³*J*_{CF} = 6.0 Hz), 123.6 (q, ¹*J*_{CF} = 269.0 Hz), 144.7, 149.5; IR (ATR) 3257, 3105, 1666, 1650, 1588, 1531, 1450, 1405, 1376, 1322, 1170, 1119, 1031, 930, 889, 833, 801, 777, 743, 651, 633, 584, 566, 542, 522, 425, 410 cm⁻¹; HRMS (ESI): [M+H]⁺ calcd for C₇H₆F₃N₄, 203.0545; found, 203.0539.

7-(Trifluoromethyl)[1,2,4]triazolo[1,5-*a*]pyridin-2-amine (62g)

Compound **67g** (817 mg, 4.00 mmol) in MeOH (82 mL) was treated with NCS (588 mg, 4.40 mmol) and K₂CO₃ (1.16 g, 8.40 mmol) in H₂O (16 mL), and work-up was conducted according to the general procedure. The residue obtained after evaporation of the organic layer was purified by column chromatography (NH silica gel, EtOAc/*n*-hexane 1:4 to 10:1) to give **62g** (131 mg, 16%) as a pale yellow solid and crude **69g** (496 mg). Mp 167–168 °C; ¹H NMR (600 MHz, DMSO-*d*₆) δ 6.35 (s, 2H), 7.15 (dd, *J* = 7.0, 2.1 Hz, 1H), 7.82 (s, 1H), 8.78 (d, *J* = 7.2, 1H); ¹³C NMR (150 MHz, DMSO-*d*₆) δ 106.7 (q, ³*J*_{CF} = 3.0 Hz), 109.7 (q, ³*J*_{CF} = 3.8 Hz), 123.3 (q, ¹*J*_{CF} = 270.8 Hz), 128.7 (q, ²*J*_{CF} = 33.0 Hz), 128.7, 149.5, 167.4; IR (ATR) 3327, 3166, 1650, 1556, 1523, 1509, 1483, 1326, 1272, 1256, 1211, 1180, 1119, 1057, 1035, 951, 860, 789, 758, 740, 673, 582, 568, 544, 443, 413 cm⁻¹; HRMS (ESI): [M+H]⁺ calcd for C₇H₆F₃N₄, 203.0545; found, 203.0539.

7-(Trifluoromethyl)[1,2,4]triazolo[4,3-*a*]pyridin-3-amine (69g)

Crude **69g** (200 mg) was dissolved in EtOAc and washed with 10% aqueous NH₄Cl and H₂O. After evaporation of the solvent, the obtained solids were triturated with EtOAc/*n*-hexane (1:1, 4 mL) and filtered to give **69g** (162 mg, 50%) as a white solid. Mp 275 °C (decompose); ¹H NMR (600 MHz, DMSO-*d*₆) δ 6.71 (s, 2H), 6.99 (dd, *J* = 7.6, 1.5 Hz, 1H), 7.99 (s, 1H), 8.25 (d, *J* = 7.6 Hz, 1H); ¹³C NMR (150 MHz, DMSO-*d*₆) δ 106.6 (q, ³*J*_{CF} = 3.0 Hz), 114.6 (q, ³*J*_{CF} = 5.5 Hz), 123.3 (q, ¹*J*_{CF} = 270.5 Hz), 124.1, 124.8 (q, ²*J*_{CF} = 33.0 Hz), 143.9, 149.4; IR (ATR) 3272, 3081, 1651, 1572, 1509, 1481, 1428, 1371, 1336, 1293, 1263, 1145, 1050, 1035, 937, 887, 826, 793, 779, 741, 731, 688, 674, 639, 606, 576, 526, 459, 433, 407 cm⁻¹; HRMS (ESI): [M+H]⁺ calcd for C₇H₆F₃N₄, 203.0545; found, 203.0540.

8-Chloro-6-(trifluoromethyl)[1,2,4]triazolo[1,5-*a*]pyridin-2-amine (62i)

Compound **67i** (716 mg, 3.00 mmol) in MeOH (72 mL) was treated with NCS (441 mg, 3.30 mmol) and K₂CO₃ (871 mg, 6.30 mmol) in H₂O (14 mL), and work-up was conducted according to the general procedure. The residue obtained after evaporation of the organic layer was purified by column chromatography (NH silica gel, EtOAc/*n*-hexane 1:5 to 5:1) to give crude **62i** (420 mg) and crude **69i** (129 mg). Crude **62i** (200 mg) was triturated with EtOAc/*n*-hexane (1:1, 2 mL) and filtered to give **62i** (193 mg, 57%) as a white solid. Mp 238–239 °C; ¹H NMR (600 MHz, DMSO-*d*₆) δ 6.62 (s, 2H), 7.99 (d, *J* = 1.5 Hz, 1H), 9.22 (s, 1H); ¹³C NMR (150 MHz, DMSO-*d*₆) δ 113.3 (q, ²*J*_{CF} = 34.5 Hz), 117.5, 123.1 (q, ¹*J*_{CF} = 268.5 Hz), 124.2 (q, ³*J*_{CF} = 1.5 Hz), 125.9 (q, ³*J*_{CF} = 4.5 Hz), 149.5, 167.3; IR (ATR) 3379, 3299, 3165, 3111, 1627, 1542, 1401, 1351, 1321, 1306, 1219, 1170, 1116, 1074, 1031, 975, 920, 883, 869, 841, 758, 691, 652, 628, 551, 532, 502, 449, 410 cm⁻¹; HRMS (ESI): [M+H]⁺ calcd for C₇H₅ClF₃N₄, 237.0155; found, 237.0148.

8-Chloro-6-(trifluoromethyl)[1,2,4]triazolo[4,3-*a*]pyridin-3-amine (69i)

Crude **69i** (129 mg) was triturated with EtOAc/*n*-hexane (1:1, 1 mL) and filtered to give **69i** (72 mg, 9%) as a white solid. Mp 266 °C (decompose); ¹H NMR (600 MHz, DMSO-*d*₆) δ 6.89 (s, 2H), 7.58 (d, *J* = 1.1 Hz, 1H), 8.79 (s, 1H); ¹³C NMR (150 MHz, DMSO-*d*₆) δ 113.9 (q, ²*J*_{CF} = 34.0 Hz), 119.0 (q, ³*J*_{CF} = 2.7 Hz), 121.7, 122.6 (q, ³*J*_{CF} = 6.0 Hz), 123.0 (q, ¹*J*_{CF} = 269.5 Hz), 142.5, 150.9; IR (ATR) 3472, 3297, 3228, 3104, 2998, 1647, 1572, 1542, 1518, 1441, 1377, 1345, 1312, 1234, 1163, 1115, 1069, 1037, 948, 905, 884, 873, 865, 831, 754, 732, 685, 651, 630, 550, 446, 424 cm⁻¹; HRMS (ESI): [M+H]⁺ calcd for C₇H₅ClF₃N₄, 237.0155; found, 237.0151.

[1,2,4]Triazolo[1,5-*a*]quinolin-2-amine (62j)

Compound **67j** (745 mg, 4.00 mmol) in MeOH (75 mL) was treated with NCS (588 mg, 4.40 mmol) and K₂CO₃ (1.16 g, 8.40 mmol) in H₂O (15 mL), and work-up was conducted according to the general procedure. The residue obtained after evaporation of the organic layer was purified by column chromatography (NH silica gel, EtOAc/*n*-hexane 1:5 to EtOAc/MeOH 99:5) to give crude **62j** (168 mg) and crude **69j** (370 mg). Crude **62j** (130 mg) was purified by column chromatography (NH silica gel, EtOAc/*n*-hexane 1:2), and the obtained solids were triturated with EtOAc/*n*-hexane (1:3, 3 mL) and filtered to give **62j** (115 mg, 20%) as a pale pink solid. Mp 196 °C; ¹H NMR (600 MHz, DMSO-*d*₆) δ 6.09 (s, 2H), 7.45–7.54 (m, 2H), 7.78 (t, *J* = 7.9 Hz, 1H), 7.94 (d, *J* = 9.4 Hz, 1H), 8.02 (d, *J* = 7.6 Hz, 1H), 8.15 (d, *J* = 8.3 Hz, 1H); ¹³C NMR (150 MHz, DMSO-*d*₆) δ 113.2, 114.5, 121.9, 124.0, 129.0, 129.7, 130.2, 132.5, 148.5, 165.6; IR (ATR) 3328, 3178, 1651, 1611, 1561, 1530, 1449, 1418, 1392, 1355, 1330, 1215, 1092, 1054,

810, 767, 756, 745, 691, 643, 615, 554, 522, 508, 477, 424, 409 cm^{-1} ; HRMS (ESI): $[\text{M}+\text{H}]^+$ calcd for $\text{C}_{10}\text{H}_9\text{N}_4$, 185.0827; found, 185.0820.

[1,2,4]Triazolo[4,3-*a*]quinolin-1-amine (69j)

Crude **69j** (300 mg) was purified by column chromatography (NH silica gel, EtOAc), and the obtained solids were triturated with EtOAc/*n*-hexane (1:1, 3 mL) and filtered to give **69j** (231 mg, 39%) as a pink solid. Mp 255–256 (lit.⁵⁵ 175–177 °C, lit.⁵⁶ 250–253 °C); ^1H NMR (600 MHz, DMSO-*d*₆) δ 6.31 (br s, 2H), 7.40 (d, $J = 9.4$ Hz, 1H), 7.45–7.55 (m, 2H), 7.65 (t, $J = 7.6$ Hz, 1H), 7.87 (d, $J = 7.6$ Hz, 1H), 8.52 (d, $J = 8.3$ Hz, 1H); ^{13}C NMR (150 MHz, DMSO-*d*₆) δ 115.1, 115.9, 124.0, 125.3, 127.4, 128.5, 128.6, 131.9, 146.1, 151.5; IR (ATR) 3292, 3126, 1654, 1612, 1567, 1546, 1539, 1471, 1449, 1440, 1390, 1341, 1329, 1278, 1214, 1171, 1150, 1126, 1065, 1039, 1008, 968, 930, 879, 854, 803, 754, 739, 691, 680, 609, 565, 536, 509, 440, 418 cm^{-1} ; HRMS (ESI): $[\text{M}+\text{H}]^+$ calcd for $\text{C}_{10}\text{H}_9\text{N}_4$, 185.0827; found, 185.0820.

[1,2,4]Triazolo[5,1-*a*]isoquinolin-2-amine (62k)

Compound **67k** (745 mg, 4.00 mmol) in MeOH (75 mL) was treated with NCS (588 mg, 4.40 mmol) and K_2CO_3 (1.16 g, 8.40 mmol) in H_2O (15 mL), and work-up was conducted according to the general procedure. The residue obtained after evaporation of the organic layer was purified by column chromatography (NH silica gel, EtOAc/*n*-hexane 1:2 to EtOAc/MeOH 98:2) to give crude **62k** (361 mg) and crude **69k** (141 mg). Crude **62k** (300 mg) was purified by column chromatography (NH silica gel, EtOAc/*n*-hexane 1:2), and the obtained solids were triturated with EtOAc/*n*-hexane (2:1, 9 mL) and filtered to give **62k** (212 mg, 35%) as an orange solid. Mp 193–195 °C; ^1H NMR (600 MHz, DMSO-*d*₆) δ 6.03 (s, 2H), 7.27 (d, $J = 7.2$ Hz, 1H), 7.70 (td, $J = 7.5, 1.3$ Hz, 2H), 7.95 (d, $J = 7.5$ Hz, 1H), 8.29 (d, $J = 7.7$ Hz, 1H), 8.37 (d, $J = 7.2$ Hz, 1H); ^{13}C NMR (150 MHz, DMSO-*d*₆) δ 110.7, 120.1, 123.1, 124.6, 127.3, 127.7, 129.2, 131.0, 148.1, 165.3; IR (ATR) 3320, 3175, 1638, 1556, 1537, 1523, 1486, 1434, 1400, 1370, 1330, 1298, 1258, 1137, 1095, 1058, 904, 823, 778, 747, 704, 682, 659, 613, 570, 548, 509, 416 cm^{-1} ; HRMS (ESI): $[\text{M}+\text{H}]^+$ calcd for $\text{C}_{10}\text{H}_9\text{N}_4$, 185.0827; found, 185.0820.

[1,2,4]Triazolo[3,4-*a*]isoquinolin-3-amine (69k)

Crude **69k** (141 mg) was purified by column chromatography (NH silica gel, EtOAc/*n*-hexane 1:1 to EtOAc), and the obtained solids were triturated with EtOAc/*n*-hexane (1:1, 2 mL) and filtered to give **69k** (98 mg, 13%) as an orange solid. Mp 263 °C (decompose); ^1H NMR (600 MHz, DMSO-*d*₆) δ 6.47 (s, 2H), 7.07 (d, $J = 7.2$ Hz, 1H), 7.63 (dt, $J = 7.7$ Hz, 2H), 7.79 (d, $J = 7.0$ Hz, 1H), 7.90 (d, $J = 7.6$ Hz, 1H), 8.31 (d, $J = 7.1$ Hz, 1H); ^{13}C NMR (150 MHz, DMSO-*d*₆) δ 112.1, 119.8, 121.6, 122.0, 127.3, 128.5, 129.0 (2C), 143.7, 149.9; IR (ATR) 3311, 3139, 1644,

1567, 1557, 1525, 1480, 1459, 1437, 1370, 1325, 1303, 1132, 1044, 982, 926, 896, 783, 769, 750, 741, 708, 700, 679, 636, 560, 507, 484, 471, 462, 443, 432, 421, 405 cm^{-1} ; HRMS (ESI): $[\text{M}+\text{H}]^+$ calcd for $\text{C}_{10}\text{H}_9\text{N}_4$, 185.0827; found, 185.0821.

Synthesis of **62a** from 5-nitropyridin-2-amine

To a stirred solution of 5-nitropyridin-2-amine (1.00 g, 7.19 mmol) in acetone (10 mL) was added ethoxycarbonyl isothiocyanate (1.41 g, 10.8 mmol), and the mixture was stirred at 50 °C for 22 h. After cooling to room temperature, H_2O (10 mL) was slowly added to the mixture. The slurry was stirred at room temperature for 1 h and then filtered to give ethyl [(5-nitropyridin-2-yl)carbamothioyl]carbamate (1.46 g, 75%) as a brown solid. Mp 178–179 °C; ^1H NMR (600 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ 1.28 (t, $J = 7.2$ Hz, 3H), 4.25 (q, $J = 7.2$ Hz, 2H), 8.69 (dd, $J = 9.2, 3.0$ Hz, 1H), 8.90 (d, $J = 9.4$ Hz, 1H), 9.22 (d, $J = 2.6$ Hz, 1H), 12.0 (br s, 1H), 12.5 (br s, 1H); ^{13}C NMR (150 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ 14.0, 62.5, 113.9, 134.2, 140.8, 144.6, 153.3, 155.2, 177.9; IR (ATR) 3162, 2994, 1720, 1579, 1529, 1508, 1455, 1355, 1311, 1243, 1192, 1143, 1110, 1038, 1004, 949, 870, 840, 799, 757, 734, 714, 700, 628, 596, 525, 501, 436, 412 cm^{-1} ; HRMS (ESI): $[\text{M}+\text{H}]^+$ calcd for $\text{C}_9\text{H}_{11}\text{N}_4\text{O}_4\text{S}$, 271.0501; found, 271.0497.

To a stirred solution of ethyl [(5-nitropyridin-2-yl)carbamothioyl]carbamate (1.00 g, 3.70 mmol) in EtOH (10 mL) were added *N,N*-diisopropylethylamine (1.43 g, 11.1 mmol) and hydroxylamine hydrochloride (1.29 g, 18.5 mmol), and the mixture was stirred at 50 °C for 1.5 h. After cooling to room temperature, H_2O (10 mL) was slowly added to the mixture. The slurry was stirred at room temperature for 1 h and then filtered. The wet solids were suspended in EtOAc/*n*-heptane (1:1, 10 mL), and the mixture was stirred at 50 °C for 30 min. The mixture was cooled to room temperature and stirred for 1 h, and then filtered to give **62a** (587 mg, 89%) as a yellow solid.

Synthesis of **62c** from 3-chloropyridin-2-amine **60c**

Ethyl [(3-Chloropyridin-2-yl)carbamothioyl]carbamate (61c**)**

To a stirred solution of 3-chloropyridin-2-amine **60c** (800 mg, 6.22 mmol) in acetone (8 mL) was added ethoxycarbonyl isothiocyanate (1.22 g, 9.33 mmol), and the mixture was stirred at 50 °C for 1 h. After cooling to room temperature, H_2O (16 mL) was slowly added, and the mixture was stirred at 40 °C for 30 min. The mixture was cooled to room temperature and stirred for 1 h, and then filtered to give **61c** (1.39 g, 86%) as a white solid. Mp 126–128 °C; ^1H NMR (600 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ 1.27 (t, $J = 7.2$ Hz, 3H), 4.23 (q, $J = 7.2$ Hz, 2H), 7.42 (dd, $J = 8.1, 4.7$ Hz, 1H), 8.04 (dd, $J = 7.9, 1.5$ Hz, 1H), 8.45 (dd, $J = 4.5, 1.5$ Hz, 1H), 11.4–11.5 (m, 2H); ^{13}C NMR (150 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ 14.1, 62.1, 124.4, 128.5, 138.7, 147.1, 148.5, 153.4, 180.0; IR (ATR) 3152, 2989, 1723, 1578, 1510, 1474, 1447, 1423, 1370, 1321, 1266, 1235,

1171, 1137, 1068, 1041, 1031, 870, 795, 769, 753, 736, 708, 680, 647, 598, 551, 534, 418 cm^{-1} ; HRMS (ESI): $[\text{M}+\text{H}]^+$ calcd for $\text{C}_9\text{H}_{11}\text{ClN}_3\text{O}_2\text{S}$, 260.0261; found, 260.0258.

Synthesis of 62c from 61c

To a stirred solution of **61c** (1.00 g, 3.85 mmol) in EtOH (10 mL) were added *N,N*-diisopropylethylamine (1.49 g, 11.6 mmol) and hydroxylamine hydrochloride (1.34 g, 19.3 mmol), and the mixture was stirred at 50 °C for 2 h. After cooling to room temperature, H_2O (10 mL) was slowly added to the mixture. The slurry was stirred at room temperature for 1 h and then filtered. The wet solids were suspended in EtOAc/*n*-heptane (1:1, 10 mL), and the mixture was stirred at 50 °C for 30 min. The mixture was cooled to room temperature and stirred for 1 h, and then filtered to give **62c** (443 mg, 68%) as a white solid.

Synthesis of 69c from 2,3-dichloropyridine 66c

3-Chloro-2-hydrazinylpyridine (70)⁵⁷

To a stirred solution of **66c** (5.00 g, 33.8 mmol) in EtOH (25 mL) was added hydrazine monohydrate (6.77 g, 135 mmol), and the mixture was heated to reflux for 20 h. At this point, additional hydrazine monohydrate (1.69 g, 33.8 mmol) was added, and the mixture was heated to reflux for 20 h. The mixture was cooled by ice bath and stirred for 1 h, and then filtered to give **70** (4.40 g, 91%) as a white solid. Mp 164–166 °C (lit.⁵⁷ 163–164 °C); ^1H NMR (600 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ 4.22 (br s, 2H), 6.61 (dd, $J = 7.6, 4.9$ Hz, 1H), 7.52–7.64 (m, 2H), 8.05 (dd, $J = 4.7, 1.3$ Hz, 1H); ^{13}C NMR (150 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ 113.2, 113.6, 136.2, 145.7, 155.7; IR (ATR) 3284, 3195, 1592, 1494, 1455, 1412, 1343, 1264, 1122, 1033, 991, 968, 957, 930, 787, 761, 750, 726, 634, 610, 543, 497, 438, 423, 416 cm^{-1} ; HRMS (ESI): $[\text{M}+\text{H}]^+$ calcd for $\text{C}_5\text{H}_7\text{ClN}_3$, 144.0328; found, 144.0323.

2-(3-Chloropyridin-2-yl)-*N*-(2,4,4-trimethylpentan-2-yl)hydrazinecarbothioamide (71)

To a stirred solution of **70** (3.00 g, 20.9 mmol) in THF (150 mL) was added 2-isothiocyanato-2,4,4-trimethylpentane (4.30 g, 25.1 mmol), and the mixture was stirred at room temperature for 14 h. The mixture was concentrated *in vacuo*, and the residue was purified by column chromatography (EtOAc/*n*-hexane 1:5) to give the crude product. The crude product was suspended in *n*-hexane (35 mL), and the mixture was stirred at 50 °C for 30 min. The mixture was cooled to room temperature and stirred for 1 h, and then filtered to give **71** (5.84 g, 89%) as a white solid. Mp 105–106 °C; ^1H NMR (600 MHz, CDCl_3) δ 0.93 (s, 9H), 1.60 (s, 6H), 1.91 (s, 2H), 6.86 (m, 2H), 7.11 (br s, 1H), 7.52–7.63 (m, 2H), 8.18 (d, $J = 4.5$ Hz, 1H); ^{13}C NMR (150 MHz, CDCl_3) δ 28.9 (2C), 31.4 (3C), 31.5, 52.3, 57.6, 116.3, 118.1, 137.3, 146.5, 152.5, 181.9; IR (ATR) 3360, 3332, 3208, 2954, 1586, 1567, 1533, 1503, 1472, 1454, 1402,

1387, 1365, 1323, 1266, 1225, 1156, 1127, 1101, 1065, 1034, 1005, 979, 791, 754, 735, 668, 596, 553, 441, 412, 401 cm^{-1} ; HRMS (ESI): $[\text{M}+\text{H}]^+$ calcd for $\text{C}_{14}\text{H}_{24}\text{ClN}_4\text{S}$, 315.1410; found, 315.1405.

8-Chloro-*N*-(2,4,4-trimethylpentan-2-yl)-[1,2,4]triazolo[4,3-*a*]pyridin-3-amine (72)

To a stirred solution of **71** (3.80 g, 12.1 mmol) in THF (114 mL) were added triethylamine (4.01 g, 29.0 mmol) and 2-chloro-1-methylpyridinium iodide (4.01 g, 15.7 mmol), and the mixture was stirred at room temperature for 5 h. To the mixture were added EtOAc (228 mL) and H_2O (38 mL), and the layers were separated. The organic layer was washed with 5% aqueous NaHCO_3 (2×38 mL) and H_2O (2×38 mL). To the organic layer was added activated carbon (380 mg), and the mixture was stirred at room temperature for 30 min. The mixture was filtered and the filtrate was concentrated *in vacuo*. The residue was purified by column chromatography twice (EtOAc/*n*-hexane 1:10 to 1:1, then EtOAc/*n*-hexane 1:3) to give the crude product. The crude product was suspended in EtOAc/*n*-hexane (1:5, 114 mL), and the mixture was stirred at 50 °C for 30 min. The mixture was cooled to room temperature and stirred for 1 h, and then filtered to give **72** (1.72 g, 51%) as a pale brown solid. Mp 182–183 °C; ^1H NMR (600 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ 0.92 (s, 9H), 1.51 (s, 6H), 1.93 (s, 2H), 6.22 (s, 1H), 6.73 (t, $J = 7.0$ Hz, 1H), 7.29 (d, $J = 6.8$ Hz, 1H), 8.26 (d, $J = 7.2$ Hz, 1H); ^{13}C NMR (150 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ 29.4 (3C), 31.1 (2C), 31.4, 49.9, 55.3, 110.9, 120.0, 121.8, 124.3, 142.9, 148.3; IR (ATR) 3360, 3332, 3209, 2953, 1586, 1567, 1533, 1503, 1471, 1454, 1402, 1387, 1365, 1323, 1266, 1225, 1156, 1127, 1101, 1065, 1033, 1005, 979, 791, 754, 735, 667, 593, 553, 442, 413 cm^{-1} ; HRMS (ESI): $[\text{M}+\text{H}]^+$ calcd for $\text{C}_{14}\text{H}_{22}\text{ClN}_4$, 281.1533; found, 281.1530.

Synthesis of 69c from 72

To a stirred solution of **72** (500 mg, 1.78 mmol) in MeOH (2.5 mL) was added 6M HCl (2.5 mL), and the mixture was stirred at 50 °C for 5 h. At this point, MeOH (2.5 mL) and 6M HCl (2.5 mL) were added, and the mixture was stirred at 50 °C for 2 h. Then additional MeOH (2.5 mL) and 6M HCl (2.5 mL) were added, and the mixture was stirred at 50 °C for 1.5 h. The mixture was concentrated *in vacuo*. To the residue were added EtOAc (100 mL) and 5% aqueous NaHCO_3 (50 mL), and the layers were separated. The aqueous phase was extracted with EtOAc (2×100 mL). The combined organic layer was washed with 5% aqueous NaHCO_3 (2×20 mL) and 10% aqueous NaCl (20 mL) and concentrated *in vacuo*. The resulting residue was suspended in EtOAc/*n*-hexane (1:1, 10 mL), and the mixture was stirred at 50 °C for 30 min. The mixture was cooled to room temperature and stirred for 1 h, and then filtered to give **69c** (97.0 mg, 32%) as a white solid.

参考文献およびノート

- (a) 日本プロセス化学会編、医薬品のプロセス化学、化学同人、**2005**. (b) 日本プロセス化学会編、実践プロセス化学、化学同人、**2013**. (c) プロセス化学 第2版、Neal G. Anderson、丸善出版、**2014**. (d) 創薬化学入門、久能祐子 監修、佐藤健太郎 著、オーム社、**2011**. (e) 有機合成化学協会編、トップドラッグから学ぶ創薬化学、東京化学同人、**2012**. (f) 医薬品評価概説 ー有用な医薬品開発のためのー、内山充、豊島聰 監修、小野俊介、宇山佳明 編、東京化学同人、**2009**. (g) 医薬品のレギュラトリーサイエンス、豊島聰、黒川達夫 編著、南山堂、**2014**. (h) 創薬化学 ー有機合成からのアプローチー、北泰行、平岡哲夫 編、東京化学同人、**2004**.
- (a) Yancopoulos, G. D.; Davis, S.; Gale, N. W.; Rudge, J. S.; Wiegand, S. J.; Holash, J. *Nature* **2000**, *407*, 242–248. (b) Ferrara, N. *Nat. Rev. Cancer* **2002**, *2*, 795–803. (c) Ferrara, N.; Gerber, H-P.; LeCouter, J. *Nat. Med.* **2003**, *9*, 669–676. (d) Coultas, L.; Chawengsaksophak, K.; Rossant, J. *Nature* **2005**, *438*, 937–945. (e) Olsson, A-K.; Dimberg, A.; Kreuger, J.; Claesson-Welsh, L. *Nat. Rev. Mol. Cell. Biol.* **2006**, *7*, 359–371. (f) Koch, S.; Tugues, S.; Li, X.; Gualandi, L.; Claesson-Welsh, L. *Biochem. J.* **2011**, *437*, 169–183. (g) Saharinen, P.; Eklund, L.; Pulkki, K.; Bono, P.; Alitalo, K. *Trends in Molecular Medicine* **2011**, *17*, 347–362.
- (a) Folkman, J. *J. Natl. Cancer Inst.* **1990**, *82*, 4–7. (b) Folkman, J. *Nat. Med.* **1995**, *1*, 27–30. (c) Folkman, J. *N. Engl. J. Med.* **1995**, *333*, 1757–1763. (d) Folkman, J.; Kalluri, R. *Nature* **2004**, *427*, 787.
- (a) Kerbel, R.; Folkman, J. *Nat. Rev. Cancer* **2002**, *2*, 727–739. (b) Eskens, F. A. L. M.; Verweij, J. *Eur. J. Cancer* **2006**, *42*, 3127–3139. (c) Kiselyov, A.; Balakin, K. V.; Tkachenko, S. E. *Expert Opin. Invest. Drugs* **2007**, *16*, 83–107. (d) Ivy, S. P.; Wick, J. Y.; Kaufman, B. M. *Nat. Rev. Clin. Oncol.* **2009**, *6*, 569–579. (e) Pennell, N. A.; Lynch, T. J. Jr. *Oncologist* **2009**, *14*, 399–411. (f) Bhargava, P.; Robinson, M. O. *Curr. Oncol. Rep.* **2011**, *13*, 103–111. (g) Bruce, D.; Tan, P. H. *Expert Opin. Invest. Drugs* **2011**, *20*, 1413–1434. (h) Tugues, S.; Koch, S.; Gualandi, L.; Li, X.; Claesson-Welsh, L. *Molecular Aspects of Medicine* **2011**, *32*, 88–111.
- Hodgson, S. T.; Jenkins, D. C.; Knick, V.; Rapson, E.; Watts, S. D. M. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **1992**, *2*, 1257–1262.
- (a) Barlin, G. B.; Davies, L. P.; Glenn, B.; Harrison, P. W.; Ireland, S. J. *Aust. J. Chem.* **1994**, *47*, 609–621. (b) Barlin, G. B.; Davies, L. P.; Harrison, P. W.; Ireland, S. J.; Willis, A. C. *Aust. J. Chem.* **1996**, *49*, 451–461. (c) Barlin, G. B.; Davies, L. P.; Harrison, P. W. *Aust. J. Chem.* **1997**, *50*, 61–67.

7. (a) Kuwahara, M.; Kawano, Y.; Shimazu, H.; Yamamoto, H.; Ashida, Y.; Miyake, A. *Chem. Pharm. Bull.* **1995**, *43*, 1516–1522. (b) Kuwahara, M.; Kawano, Y.; Shimazu, H.; Ashida, Y.; Miyake, A. *Chem. Pharm. Bull.* **1996**, *44*, 122–131.
8. Sacchi, A.; Laneri, S.; Arena, F.; Abignente, E.; Gallitelli, M.; D'amico, M.; Filippelli, W.; Rossi, F. *Eur. J. Med. Chem.* **1999**, *34*, 1003–1008.
9. Ishikawa, T.; Iizawa, Y.; Okonogi, K.; Miyake, A. *J. Antibiot.* **2000**, *53*, 1053–1070.
10. Hamdouchi, C.; Sanchez-Martinez, C.; Gruber, J.; del Prado, M.; Lopez, J.; Rubio, A.; Heinz, B. A. *J. Med. Chem.* **2003**, *46*, 4333–4341.
11. Enguehard-Gueiffier, C.; Hübner, H. Hakmaoui, A. E.; Allouchi, H.; Gmeiner, P.; Argiolas, A.; Melis, M. R.; Gueiffier, A. *J. Med. Chem.* **2006**, *49*, 3938–3947.
12. Bouloc, N.; Large, J. M.; Smiljanic, E.; Whalley, D.; Ansell, K. H.; Edlin, C.D.; Bryans, J. S. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2008**, *18*, 5294–5298.
13. Shimizu, H.; Yasumatsu, I.; Hamada, T.; Yoneda, Y.; Yamasaki, T.; Tanaka, S.; Toki, T.; Yokoyama, M.; Morishita, K.; Iimura, S. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2011**, *21*, 904–908.
14. Stec, M. M.; Andrews, K. L.; Booker, S. K.; Caenepeel, S.; Freeman, D. J.; Jiang, J.; Liao, H.; McCarter, J.; Mullady, E. L.; San Miguel, T. S.; Subramanian, R.; Tamayo, N.; Wang, L.; Yang, K.; Zalameda, L. P.; Zhang, N.; Hughes, P.E.; Norman, M. H. *J. Med. Chem.* **2011**, *54*, 5174–5184.
15. (a) Hodgson, S. T. U.S. Patent 5,091,531, Feb 25, 1992. (b) Uchikawa, O.; Sakai, N.; Terao, Y.; Suzuki, H. Eur. Pat. Appl. EP 2 058 309 A1, May 13, 2009. (c) Durand-Reville, T.; Jewell, C.; Hammond, C.; Chin, D. WO 2008/030579 A2, Mar 13, 2008. (d) Christos, T. E.; Amato, G. S.; Atkinson, R. N.; Barolli, M. G.; Wolf-Gouveia, L.; Suto, M. J. U.S. Pat. Appl. US 2009/0062290 A1, Mar 5, 2009. (e) Taniyama, D.; Kano, K.; Okamoto, K.; Fujioka, M.; Mitsuoka, Y. Eur. Pat. Appl. EP 2 277 881 A1, Jan 26, 2011. (f) Durand-Reville, T.; Jewell, C.; Hammond, C.; Chin, D. U.S. Pat. Appl. US 2011/0021513 A1, Jan 27, 2011.
16. (a) Sakai, N.; Imamura, S.; Miyamoto, N.; Hirayama, T. U.S. Pat. Appl. US 2009/0137595 A1, May 28, 2009. (b) Miyamoto, N.; Sakai, N.; Hirayama, T.; Miwa, K.; Oguro, Y.; Oki, H.; Okada, K.; Takagi, T.; Iwata, H.; Awazu, Y.; Yamasaki, S.; Takeuchi, T.; Miki, H.; Hori, A.; Imamura, S. *Bioorg. Med. Chem.* **2013**, *21*, 2333–2345.
17. Mourad, A. E.; Wise, D. S.; Townsend, L. B. *J. Heterocycl. Chem* **1993**, *30*, 1365–1372.
18. (a) Mourad, A. E.; Wise, D. S.; Townsend, L. B. *J. Heterocycl. Chem.* **1992**, *29*, 1583–1592. (b) Denyer, C. V.; Reddy, M. T.; Jenkins, D. C.; Rapson, E.; Watts, S. D. M. *Archiv der Pharmazie* **1994**, *327*, 95–98. (c) Lizos, D.; Weiler, S.; Stiefel, N. J. U.S. Pat. Appl. US 2010/0204235 A1, Aug 12, 2010.
19. 著者らの研究成果に基づいて、**17b** と 3-アミノピリダジン誘導体との反応例を含む特許が武田薬品工業から出願されている。この特許にはワンポット反応については

- 記載されていない。Bressi, J. C.; Chu, S.; Erickson, P.; Komandla, M.; Kwok, L.; Lawson, J. D.; Stafford, J. A.; Wallace, M. B.; Zhang, Z.; Das, S. WO 2010/019899 A1, Feb 18, 2010.
20. (a) Martin, S. W.; Bergstrom, C. P.; Gentles, R. G.; Yeung, K-S. WO 2009/029384 A2, Mar 5, 2009 (b) Martin, S. W.; Bergstrom, C. P.; Gentles, R. G.; Yeung, K-S. WO 2010/093359 A1, Aug 19, 2010.
21. Aihara, H.; Yokota, W.; Yamakawa, T.; Hirai, K. Eur. Pat. Appl. EP 1 854 788 A1, Nov 14, 2007.
22. (a) Crombie, L.; Games, D. E.; James, A. W. G. *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 1* **1979**, 464–471. (b) Coates, R. M.; Hobbs, S. J. *J. Org. Chem.* **1984**, *49*, 140–152. (c) Doleschall G.; Seres, P. *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 1* **1988**, 1875–1879.
23. (a) Menozzi, G.; Mosti, L.; Schenone, P. *J. Heterocycl. Chem.* **1987**, *24*, 1669–1675. (b) Beck, J. R.; Lynch, M. P. *J. Heterocycl. Chem.* **1987**, *24*, 693–695. (c) McCombie, S. W.; Metz, W. A.; Nazareno, D.; Shankar, B. B.; Tagat, J. *J. Org. Chem.* **1991**, *56*, 4963–4967.
24. (a) Oguro, Y.; Imamura, S.; Cary, D. R.; Okaniwa, M. WO 2008/150015 A1, 2008. (b) Oguro, Y.; Cary, D. R.; Miyamoto, N.; Tawada, M.; Iwata, H.; Miki, H.; Hori, A.; Imamura, S. *Bioorg. Med. Chem.* **2013**, *21*, 4714–4729.
25. (a) Östman, A. *Cytokine Growth Factor Rev.* **2004**, *15*, 275–286. (b) Board, R.; Jayson, G. *C. Drug Resistance Updates* **2005**, *8*, 75–83. (c) Östman, A.; Heldin, C-H. *Advances in Cancer Research* **2007**, *97*, 247–274. (d) Dai, Y. *Expert Opin. Ther. Patents* **2010**, *20*, 885–907. (e) Ball, S. G.; Shuttleworth, C. A.; Kielty, C. M. *Expert Opin. Biol. Ther.* **2010**, *10*, 57–71.
26. (a) Verček, B.; Ogorevc, B.; Stanovnik, B.; Tišler, M. *Monatsh. Chem.* **1983**, *114*, 789–798. (b) Nettekoven, M.; Püllmann, B.; Schmitt, S. *Synthesis* **2003**, 1649–1652.
27. Gee, K. R.; Poot, M.; Klaubert, D. H.; Sun, W-C.; Haugland, R. P.; Mao, F. U.S. Patent 6,162,931, 19 Dec, 2000.
28. (a) Takemoto, I. U.S. Patent 4,563,535, 7 Jan, 1986. (b) Cramp, M. C.; Arienzo, R.; Hynd, G.; Crackett, P.; Griffon, Y.; Harrison, T. K.; Ray, N. C.; Finch, H.; Montana, J. G. WO 2007/036743 A2, 2007.
29. (a) Thomas, A. P.; Johnstone, C.; Hennequin, L. F. A. U.S. Patent 6,291,455 B1, Sep 18, 2001. (b) Flynn, D. L.; Petillo, P. A.; Kaufman, M. D. U.S. Pat. Appl. US 2008/0090856 A1, Apr 17, 2008. (c) Sakai, N.; Imamura, S.; Miyamoto, N.; Hirayama, T. U.S. Pat. Appl. US 2009/0137595 A1, May 28, 2009.
30. 化合物 **49** の合成については文献記載の方法に改良を加えた。Hennequin, L. F.; Thomas, A. P.; Johnstone, C.; Stokes, E. S. E.; Plé, P. A.; Lohmann, J-J. M.; Ogilvie, D. J.;

- Dukes, M.; Wedge, S. R.; Curwen, J. O.; Kendrew, J.; Brempt, C. L. *J. Med. Chem.* **1999**, *42*, 5369–5389.
31. Sajiki, H.; Ikawa, T.; Hirota, K. *Org. Process Res. Dev.* **2005**, *9*, 219–220.
 32. (a) Dixon, A. E.; Taylor, J. *J. Chem. Soc., Trans.* **1908**, *93*, 2148–2163. (b) Gensler, W. J.; Chan, S.; Ball, D. B. *J. Org. Chem.* **1981**, *46*, 3407–3415. (c) Wei, T-B.; Lin, Q.; Zhang, Y-M.; Wang, H. *Synth. Commun.* **2004**, *34*, 2205–2213.
 33. (a) Taylor, E. C.; Berger, J. G. *J. Org. Chem.* **1967**, *32*, 2376–2378. (b) McCullough, R. D.; Belot, J. A.; Seth, J. *J. Org. Chem.* **1993**, *58*, 6480–6482.
 34. Bergamini, G.; Bell, K.; Shimamura, S.; Werner, T.; Cansfield, A.; Müller, K.; Perrin, J.; Rau, C.; Ellard, K.; Hopf, C.; Doce, C.; Leggate, D.; Mangano, R.; Mathieson, T.; O'Mahony, A.; Plavec, I.; Rharbaoui, F.; Reinhard, F.; Savitski, M. M.; Ramsden, N.; Hirsch, E.; Drewes, G.; Rausch, O.; Bantscheff, M.; Neubauer, G. *Nat. Chem. Biol.* **2012**, *8*, 576–582.
 35. Dugan, B. J.; Gingrich, D. E.; Mesaros, E. F.; Milkiewicz, K. L.; Curry, M. A.; Zulli, A. L.; Dobrzanski, P.; Serdikoff, C.; Jan, M.; Angeles, T. S.; Albom, M. S.; Mason, J. L.; Aimone, L. D.; Meyer, S. L.; Huang, Z.; Wells-Knecht, K. J.; Ator, M. A.; Ruggeri, B. A.; Dorsey, B. D. *J. Med. Chem.* **2012**, *55*, 5243–5254.
 36. Cleghorn, L. A. T.; Woodland, A.; Collie, I. T.; Torrie, L. S.; Norcross, N.; Luksch, T.; Mpamhanga, C.; Walker, R. G.; Mottram, J. C.; Brenk, R.; Frearson, J. A.; Gilbert, I. H.; Wyatt, P. G. *ChemMedChem* **2011**, *6*, 2214–2224.
 37. East, S. P.; White, C. B.; Barker, O.; Barker, S.; Bennett, J.; Brown, D.; Boyd, E. A.; Brennan, C.; Chowdhury, C.; Collins, I.; Convers-Reignier, E.; Dymock, B. W.; Fletcher, R.; Haydon, D. J.; Gardiner, M.; Hatcher, S.; Ingram, P.; Lancett, P.; Mortenson, P.; Papadopoulos, K.; Smee, C.; Thomaidis-Brears, H. B.; Tye, H.; Workman, J.; Czaplowski, L. G. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2009**, *19*, 894–899.
 38. Flohr, A.; Gobbi, L.; Groebke, Z. K.; Koerner, M.; Peters, J-U. PCT Int. Appl. WO 2012076430, 2012.
 39. Ellard, K.; Ramsden, N. PCT Int. Appl. WO 2012000970, 2012.
 40. Middlemiss, D.; Leriche, C. PCT Int. Appl. WO 2011161159, 2011.
 41. (a) Oehlrich, D.; Rombouts, F. J. R.; Berthelot, D.; Bischoff, F. P.; De Cleyn, M. A. J.; Jaroskova, L.; Macdonald, G.; Mercken, M.; Surkyn, M.; Trabanco, A. A.; Tresadern, G.; Van Brandt, S.; Velter, A. I.; Wu, T.; Gijssen, H. J. M. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2013**, *23*, 4794–4800. (b) Siu, M.; Pastor, R.; Liu, W.; Barrett, K.; Berry, M.; Blair, W. S.; Chang, C.; Chen, J. Z.; Eigenbrot, C.; Ghilardi, N.; Gibbons, P.; He, H.; Hurley, C. A.; Kenny, J. R.; Khojasteh, S. C.; Le, H.; Lee, L.; Lyssikatos, J. P.; Magnuson, S.; Pulk, R.; Tsui, V.; Ultsch, M.; Xiao, Y.; Zhu, B-Y.; Sampath, D. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2013**, *23*, 5014–

5021. (c) Oguro, Y.; Cary, D. R.; Miyamoto, N.; Tawada, M.; Iwata, H.; Miki, H.; Hori, A.; Imamura, S. *Bioorg. Med. Chem.* **2013**, *21*, 4714–4729.
42. Grenda, V. J.; Jones, R. E.; Gal, G.; Sletzing, M. *J. Org. Chem.* **1965**, *30*, 259–261.
43. (a) Allen, D. A.; McGee, D. P. C.; Spencer, J. R. WO01/44172 A1, 2001. (b) Spencer, J. R.; McGee, D.; Allen, D.; Katz, B. A.; Luong, C.; Sendzik, M.; Squires, N.; Mackman, R. L. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2002**, *12*, 2023–2026.
44. フリーのアミノ基をもつグアニジル基の塩素化については一例だけ報告例がある。 Ying, C.; Xing-Zhu, G.; Xiu-Min, S.; Jian, W. *Chin. J. Chem.* **2005**, *23*, 448–453.
45. 化合物 **62a** を別の合成法で合成した報告例はあるが、NMR のデータは示されていない。 Potts, K. T.; Surapaneni, C. R. *J. Heterocycl. Chem.* **1970**, *7*, 1019–1027.
46. 化合物 **69c** を別の合成法で合成した報告例はあるが、NMR のデータは示されていない。 Potts, K. T.; Husain, S. *J. Org. Chem.* **1970**, *35*, 808–811.
47. Comas, H.; Bernardinelli, G.; Swinnen, D. *J. Org. Chem.* **2009**, *74*, 5553–5558.
48. Graham, W. H. *J. Am. Chem. Soc.* **1965**, *87*, 4396–4397.
49. Moss, R. A.; Wlostowska, J.; Guo, W.; Fedorynski, M.; Springer, J. P.; Hirshfield, J. M. *J. Org. Chem.* **1981**, *46*, 5048–5050.
50. Moss, R. A.; Terpinski, J.; Cox, D. P.; Denny, D. Z.; Krogh-Jespersen, K. *J. Am. Chem. Soc.* **1985**, *107*, 2743–2748.
51. Bégué, D.; Qiao, G. G.; Wentrup, C. *J. Am. Chem. Soc.* **2012**, *134*, 5339–5350.
52. カルボジイミドが Tiemann 転移のような反応機構で生成している可能性も考えられる。 (a) Tiemann, F. *Ber. Dtsch. Chem. Ges.* **1891**, *24*, 4162–4147. (b) Yamamoto, Y.; Mizuno, H.; Tsuritani, T.; Mase, T. *Tetrahedron Lett.* **2009**, *50*, 5813–5815.
53. Carbon, J. A.; Tabata, S. H. *J. Org. Chem.* **1962**, *27*, 2504–2509.
54. Dolzhenko, A. V.; Chui, W-K.; Dolzhenko, A. V. *Synthesis* **2006**, 597–602.
55. Ramalingam, T.; Murty, M. S. R.; Nageswar, Y. V. D.; Sattur, P. B. *J. Heterocyclic Chem.* **1990**, *27*, 981–982.
56. Dreikorn, B. A.; Kramer, K. E. U.S. Patent 3,953,457, 27 Apr, 1976.
57. Zhao, Y.; Wang, G.; Dong, W.; Shi, Y.; Li, B.; Wang, S.; Li, Z. *ARKIVOC*, **2010**, *2*, 16–30.