

明 細 書

発明の名称：ピラゾロキノリン誘導体の塩およびその結晶

技術分野

[0001] 本発明は、ホスホジエステラーゼ 9（PDE 9）の阻害活性を有するピラゾロキノリン誘導体の塩およびその結晶に関する。

背景技術

[0002] 細胞内で二次情報伝達物質として働く環状グアノシンーリン酸（以下、cGMP という。）は、学習記憶行動を初めとする様々な生理機能に重要な役割を果たすことが知られている。

[0003] 脳内神経回路のシナプス後部にて、一酸化窒素合成酵素により生合成された一酸化窒素（以下、NO という。）は、cGMP 合成酵素であるグアニル酸シクラーゼを活性化する。活性化されたグアニル酸シクラーゼは、グアノシン三リン酸より cGMP を生合成する。cGMP は様々なシナプス可塑性に関与するタンパク質をリン酸化する cGMP 依存性蛋白質リン酸化酵素（以下、PKG という。）を活性化する。この NO/cGMP/PKG カスケードの活性化は、学習記憶行動の神経基盤と考えられている海馬のシナプス可塑性（Long Term Potentiation；以下、LTP という。）の誘起に関与することが知られている（例えば、非特許文献 1 を参照）。このカスケードのシグナル伝達を活性化する薬剤が海馬の LTP や動物の学習行動を改善することが知られている一方で、このカスケードを阻害する薬剤は、前記の改善作用とは逆の作用を示すことが知られている（非特許文献 2）。したがって、これらの知見より、脳内で cGMP を上昇させることは、学習記憶行動の改善につながると期待される。

[0004] cGMP はホスホジエステラーゼ（以下、PDE という。）により PKG 活性化作用を有しない 5' -GMP に代謝される。PDE には 11 種のファミリーが知られており、PDE 9 は、cGMP を特異的に代謝し、脳や脾臓、小腸等に発現していることが知られている（例えば、非特許文献 3 を参照

()。つまり、PDE9を阻害することにより、脳内でcGMPが増加することと期待される。実際にPDE9阻害剤は、海馬LTPを亢進すること、動物にて新奇物体認識試験・受動的回避学習試験等で学習記憶行動を改善することが報告されている(非特許文献4)。また、臨床上、アルツハイマー病患者では、その上部側頭皮質において、グアニル酸シクラーゼ活性が低下しており、cGMPレベルが減少している可能性が示唆されている(非特許文献5)。したがって、PDE9は、アレキサンダー病、アルパーズ病、アルツハイマー病、筋萎縮性側索硬化症(ALS;ルー・ゲーリツク病または運動ニューロン疾患として知られている)、毛細血管拡張性運動失調、バツナシ病(シユピール・ヤーン・クート・シェーグレン・バツナシ病として知られている)、ピンスヴァンガー認知症(皮質下動脈硬化性脳障害)、双極性障害、ウシ海綿状脳症(BSE)、キャナバン病、化学療法誘発認知症、コケイン症候群、大脳皮質基底核変性症、クロイツフェルト・ヤコブ病、鬱病、ダウン症候群、前頭側頭葉変性症(前頭側頭型認知症、語義認知症および進行性非流暢性失語症を含む)、ゲルストマン・シュトラウスラー・シャインカー病、緑内障、ハンチントン病(舞踏病)、HIV関連認知症、多動、ケネディ病、コルサコフ症候群(健忘一作話症候群)、クラッペ病、レーヴィ小体認知症、進行性l o g o p e n i c失語症、マチャド・ジョセフ病(3型脊髄小脳失調)、多発性硬化症、多発性萎縮症(オリゾ橋小脳萎縮症)、重症筋無力症、パーキンソン病、ペリツエウス・メルツバッハー病、ピック病、初老期認知症(軽度認知障害)、原発性側索硬化症、原発性進行性失語症、放射性誘発認知症、レフサム病(フイタン酸蓄積症)、サン・ボフ病、シルター病、統合失調症、語義認知症、老人性認知症、シャイ・ブレイガー症候群、脊髄小脳失調、棘筋萎縮症、スライル・リチャード・ソール・スエフスキー病(進行性核上麻痺)、血管アミロイドーシスおよび血管性認知症(多発性脳梗塞性認知症)などの神経変性疾患および精神疾患、特に、アルツハイマー病における認知機能障害等の病理学に多くの密接な関係をもっている可能性がある。

先行技術文献

非特許文献

[0005] 非特許文献1: Domek-Lopacinska et al., "Cyclic GMP metabolism and its role in brain physiology", J. Physiol. Pharmacol., vol. 56, Suppl 2: pp.15-34, 2005.

非特許文献2: Wang X., "Cyclic GMP-dependent protein kinase and cellular signaling in the nervous system", J. Neurochem., vol. 68, pp. 443-456, 1997.

非特許文献3: Fisher et al., "Isolation and characterization of PDE9A, a novel human cGMP-specific phosphodiesterase", J. Biol. Chem., vol. 273: pp. 15559-15564, 1998.

非特許文献4: van der Staay et al., "The novel selective PDE9 inhibitor BAY 73-6691 improves learning and memory in rodents", Neuropharmacology, vol. 55: pp. 908-918, 2008.

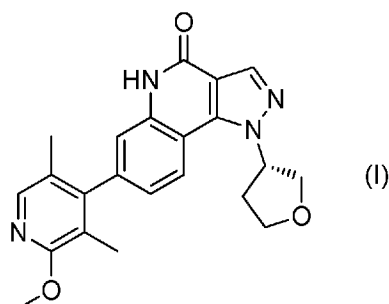
非特許文献5: Bonkale et al., "Reduced nitric oxide responsive soluble guanylyl cyclase activity in the superior temporal cortex of patients with Alzheimer's disease", Neurosci. Lett., vol. 187, pp. 5-8, 1995.

発明の概要

発明が解決しようとする課題

[0006] PDE9阻害作用を有する新たな化合物として、下記式(I)

[化1]



で表される化合物 ((S)-7-(2-メトキシ-3, 5-ジメチルピリジ

ン-4-イル)-1-(テトラヒドロフラン-3-イル)-1H-ピラゾロ
[4, 3-c]キノリン-4(5H)-オン; 以下、化合物(1)という。
)が見出され、それらの発明について特許出願された(PCT/JP201
2/075748)。

[0007] 一般的に、医薬品として利用可能な化合物については、その塩またはその
塩の結晶の物性は、薬物のバイオアベイラビリティ、原薬の純度、製剤の
処方などに大きな影響を与える。

[0008] したがって、本発明の目的は、医薬品の原薬として利用可能性を有する、
溶出性および経口吸収性を改善した化合物(1)の塩またはその結晶を提供
することにある。

課題を解決するための手段

[0009] 本発明者らは、化合物(1)について、上記課題を解決すべく、精力的に
検討を行った結果、化合物(1)の塩またはその結晶を見出し、本発明を完
成した。

[0010] すなわち、本発明は、

[1] 塩酸、臭化水素酸、硫酸、硝酸、リン酸、マロン酸、マレイン酸、
酒石酸、メタンスルホン酸、ベンゼンスルホン酸およびトルエンスルホン酸
からなる群から選択される一つの酸と、(S)-7-(2-メトキシ-3,
5-ジメチルピリジン-4-イル)-1-(テトラヒドロフラン-3-イル)
-1H-ピラゾロ[4, 3-c]キノリン-4(5H)-オンと、からな
る塩;

[2] (S)-7-(2-メトキシ-3, 5-ジメチルピリジン-4-イ
ル)-1-(テトラヒドロフラン-3-イル)-1H-ピラゾロ[4, 3-
c]キノリン-4(5H)-オン・マレイン酸塩;

[3] (S)-7-(2-メトキシ-3, 5-ジメチルピリジン-4-イ
ル)-1-(テトラヒドロフラン-3-イル)-1H-ピラゾロ[4, 3-
c]キノリン-4(5H)-オン・ベンゼンスルホン酸塩;

[4] [1]記載の塩の結晶;

[5] 粉末X線回折において、回折角度 ($2\theta \pm 0.2^\circ$) 10.1° に回折ピークを有する、(S) $-7-(2-\text{メトキシ}-3,5-\text{ジメチルピリジン}-4-\text{イル})-1-(\text{チトラヒドロフラン}-3-\text{イル})-1\text{H}-\text{ピラゾロ}$ [4, 3-c] キノリン-4 (5H) $-\text{オン} \cdot \text{一アレイン酸塩}$ の結晶；

[6] 粉末X線回折において、回折角度 ($2\theta \pm 0.2^\circ$) 9.9° に回折ピークを有する、(S) $-7-(2-\text{メトキシ}-3,5-\text{ジメチルピリジン}-4-\text{イル})-1-(\text{チトラヒドロフラン}-3-\text{イル})-1\text{H}-\text{ピラゾロ}$ [4, 3-c] キノリン-4 (5H) $-\text{オン} \cdot \text{一ベンゼンサルホン酸塩}$ の結晶；

[7] [1] 記載の塩を有効成分として含有する医薬組成物；

[P1] 無機酸、有機カルボン酸および有機サルホン酸からなる群から選択される一つの酸と (S) $-7-(2-\text{メトキシ}-3,5-\text{ジメチルピリジン}-4-\text{イル})-1-(\text{チトラヒドロフラン}-3-\text{イル})-1\text{H}-\text{ピラゾロ}$ [4, 3-c] キノリン-4 (5H) $-\text{オン}$ とからなる塩；

[P2] 酸が、有機カルボン酸である、[P1] 記載の塩；

[P3] 有機カルボン酸が、マロン酸、アレイン酸または酒石酸である、[P2] 記載の塩；

[P4] 酸が、有機サルホン酸である、[P1] 記載の塩；

[P5] 有機サルホン酸が、メタンサルホン酸、ベンゼンサルホン酸またはトルエンサルホン酸である、[P4] 記載の塩；

[P6] 酸が、無機酸である、[P1] 記載の塩；

[P7] 無機酸が、塩酸、臭化水素酸、硫酸、硝酸またはリン酸である、[P6] 記載の塩；

[P8] (S) $-7-(2-\text{メトキシ}-3,5-\text{ジメチルピリジン}-4-\text{イル})-1-(\text{チトラヒドロフラン}-3-\text{イル})-1\text{H}-\text{ピラゾロ}$ [4, 3-c] キノリン-4 (5H) $-\text{オン} \cdot \text{一アレイン酸塩}$ ；

[P9] (S) $-7-(2-\text{メトキシ}-3,5-\text{ジメチルピリジン}-4-\text{イル})-1-(\text{チトラヒドロフラン}-3-\text{イル})-1\text{H}-\text{ピラゾロ}$ [4, 3

ーc] キノリンー4 (5H) -オン・ーベンゼンスルホン酸塩；

[P 1 0] [P 1] 記載の塩の結晶；

[P 1 1] 酸が、マロン酸、マレイン酸、酒石酸、メタンスルホン酸、ベンゼンスルホン酸、トルエンスルホン酸、塩酸、臭化水素酸、硫酸、硝酸またはリン酸である、[P 1 0] 記載の結晶；

[P 1 2] 粉末X線回折において、回折角度 ($2\theta \pm 0.2^\circ$) 10.1° に回折ピークを有する、(S) -7 - (2 -メトキシ -3, 5 -ジメチルピリジン -4 -イル) -1 - (テトラヒドロフラン -3 -イル) -1 H -ピラゾロ [4, 3 -c] キノリンー4 (5H) -オン・ーマレイン酸塩の結晶；

[P 1 2. 1] 粉末X線回折において、回折角度 ($2\theta \pm 0.2^\circ$) 9.1° および 10.1° に回折ピークを有する、(S) -7 - (2 -メトキシ -3, 5 -ジメチルピリジン -4 -イル) -1 - (テトラヒドロフラン -3 -イル) -1 H -ピラゾロ [4, 3 -c] キノリンー4 (5H) -オン・ーマレイン酸塩の結晶；

[P 1 2. 2] 粉末X線回折において、回折角度 ($2\theta \pm 0.2^\circ$) 9.1° 、 10.1° および 11.1° に回折ピークを有する、(S) -7 - (2 -メトキシ -3, 5 -ジメチルピリジン -4 -イル) -1 - (テトラヒドロフラン -3 -イル) -1 H -ピラゾロ [4, 3 -c] キノリンー4 (5H) -オン・ーマレイン酸塩の結晶；

[P 1 2. 3] 粉末X線回折において、回折角度 ($2\theta \pm 0.2^\circ$) 9.1° 、 10.1° 、 11.1° 、 18.2° および 25.8° に回折ピークを有する、(S) -7 - (2 -メトキシ -3, 5 -ジメチルピリジン -4 -イル) -1 - (テトラヒドロフラン -3 -イル) -1 H -ピラゾロ [4, 3 -c] キノリンー4 (5H) -オン・ーマレイン酸塩の結晶；

[P 1 2. 4] 粉末X線回折において、回折角度 ($2\theta \pm 0.2^\circ$) 9.1° 、 10.1° 、 11.1° 、 16.2° 、 17.6° 、 18.2° 、 22.0° 、 22.4° 、 23.8° および 25.8° に回折ピークを有する

、(S)-7-(2-メトキシ-3, 5-ジメチルピリジン-4-イル)-1-(テトラヒドロフラン-3-イル)-1H-ピラゾロ[4, 3-c]キノリン-4(5H)-オン・マレイン酸塩の結晶；

[P 1 2. 5] ^{13}C 固体 NMR スペクトルにおいて、化学シフト (ppm) 13.3、61.9、114.3、138.9 および 172.0 にピークを有する、(S)-7-(2-メトキシ-3, 5-ジメチルピリジン-4-イル)-1-(テトラヒドロフラン-3-イル)-1H-ピラゾロ[4, 3-c]キノリン-4(5H)-オン・マレイン酸塩の結晶；

[P 1 3] 粉末 X 線回折において、回折角度 ($2\theta \pm 0.2^\circ$) 9.9° に回折ピークを有する、(S)-7-(2-メトキシ-3, 5-ジメチルピリジン-4-イル)-1-(テトラヒドロフラン-3-イル)-1H-ピラゾロ[4, 3-c]キノリン-4(5H)-オン・ベンゼンスルホン酸塩の結晶；

[P 1 3. 1] 粉末 X 線回折において、回折角度 ($2\theta \pm 0.2^\circ$) 9.9° および 14.6° に回折ピークを有する、(S)-7-(2-メトキシ-3, 5-ジメチルピリジン-4-イル)-1-(テトラヒドロフラン-3-イル)-1H-ピラゾロ[4, 3-c]キノリン-4(5H)-オン・ベンゼンスルホン酸塩の結晶；

[P 1 3. 2] 粉末 X 線回折において、回折角度 ($2\theta \pm 0.2^\circ$) 9.9° 、 13.7° および 14.6° に回折ピークを有する、(S)-7-(2-メトキシ-3, 5-ジメチルピリジン-4-イル)-1-(テトラヒドロフラン-3-イル)-1H-ピラゾロ[4, 3-c]キノリン-4(5H)-オン・ベンゼンスルホン酸塩の結晶；

[P 1 3. 3] 粉末 X 線回折において、回折角度 ($2\theta \pm 0.2^\circ$) 6.6° 、 9.9° 、 13.7° 、 14.6° および 25.7° に回折ピークを有する、(S)-7-(2-メトキシ-3, 5-ジメチルピリジン-4-イル)-1-(テトラヒドロフラン-3-イル)-1H-ピラゾロ[4, 3-c]キノリン-4(5H)-オン・ベンゼンスルホン酸塩の結晶；

[P 1 3. 4] 粉末X線回折において、回折角度 ($2\theta \pm 0.2^\circ$) 6.6° 、 9.9° 、 13.7° 、 14.6° 、 19.0° 、 19.6° 、 20.5° 、 21.7° 、 23.5° および 25.7° に回折ピークを有する、
(S) - 7 - (2 - メトキシ - 3, 5 - ジメチルピリジン - 4 - イル) - 1 -
(テトラヒドロフラン - 3 - イル) - 1 H - ピラゾロ [4, 3 - c] キノ
リン - 4 (5 H) - オン・ベンゼンスルホン酸塩の結晶；

[P 1 3. 5] ^{13}C 固体 NMR スペクトルにおいて、化学シフト (ppm) 16.8 、 67.9 、 114.0 、 137.7 および 160.7 にピーク
を有する、(S) - 7 - (2 - メトキシ - 3, 5 - ジメチルピリジン - 4 -
イル) - 1 - (テトラヒドロフラン - 3 - イル) - 1 H - ピラゾロ [4, 3
- c] キノリン - 4 (5 H) - オン・ベンゼンスルホン酸塩の結晶；

[P 1 4] [P 1] 記載の塩を有効成分として含有する医薬組成物；

[P 1 4. 1] [P 8] または [P 9] 記載の塩を有効成分として含有す
る医薬組成物；

[P 1 4. 2] [P 1 2]、[P 1 2. 1]、[P 1 2. 2]、[P 1 2
. 3]、[P 1 2. 4] または [P 1 2. 5] 記載の結晶を有効成分として
含有する医薬組成物；および

[P 1 4. 3] [P 1 3]、[P 1 3. 1]、[P 1 3. 2]、[P 1 3
. 3]、[P 1 3. 4] または [P 1 3. 5] 記載の結晶を有効成分として
含有する医薬組成物に関する。

発明の効果

[0011] 本発明により提供される、化合物 (I) の塩およびその結晶は、溶出性お
よび経口吸収性を改善し、医薬品の原薬として利用可能性を有する。

図面の簡単な説明

[0012] [図1] 図 1 は、実施例 1 で得られた化合物 (I) ・ マレイン酸塩の結晶の粉
末X線回折パターンである。横軸は回折角 (2θ)、縦軸はピーク強度を示
す。

[図2] 図 2 は、実施例 2 で得られた化合物 (I) ・ ベンゼンスルホン酸塩の

結晶の粉末X線回折パターンである。横軸は回折角 (2θ)、縦軸はピーク強度を示す。

[図3]図3は、実施例3で得られた化合物(1)・塩酸塩の結晶の粉末X線回折パターンである。横軸は回折角 (2θ)、縦軸はピーク強度を示す。

[図4]図4は、実施例4で得られた化合物(1)・臭化水素酸塩の結晶の粉末X線回折パターンである。横軸は回折角 (2θ)、縦軸はピーク強度を示す。

[図5]図5は、実施例5で得られた化合物(1)・p-トルエンスルホン酸塩の結晶の粉末X線回折パターンである。横軸は回折角 (2θ)、縦軸はピーク強度を示す。

[図6]図6は、実施例6で得られた化合物(1)・硝酸塩の結晶の粉末X線回折パターンである。横軸は回折角 (2θ)、縦軸はピーク強度を示す。

[図7]図7は、実施例7で得られた化合物(1)・硫酸塩の結晶の粉末X線回折パターンである。横軸は回折角 (2θ)、縦軸はピーク強度を示す。

[図8]図8は、実施例8で得られた化合物(1)・メタンスルホン酸塩の結晶の粉末X線回折パターンである。横軸は回折角 (2θ)、縦軸はピーク強度を示す。

[図9]図9は、実施例9で得られた化合物(1)・リン酸塩の結晶の粉末X線回折パターンである。横軸は回折角 (2θ)、縦軸はピーク強度を示す。

[図10]図10は、実施例10で得られた化合物(1)・L-酒石酸塩の結晶の粉末X線回折パターンである。横軸は回折角 (2θ)、縦軸はピーク強度を示す。

[図11]図11は、実施例11で得られた化合物(1)・マロン酸塩の結晶の粉末X線回折パターンである。横軸は回折角 (2θ)、縦軸はピーク強度を示す。

[図12]図12は、化合物(1)、実施例1で得られた化合物(1)・ーマレイン酸塩および実施例2で得られた化合物(1)・ーベンゼンスルホン酸塩について行った溶出試験の結果を示すグラフである。横軸は時間(分)、縦

軸は化合物（１）に換算した濃度（ $\mu\text{g}/\text{mL}$ ）を示す。

[図13]図 13 は、化合物（１）および実施例 1 で得られた化合物（１）・マレイン酸塩を犬に経口投与した際の、化合物（１）の血漿中濃度推移を示すグラフである。横軸は時間（時間）、縦軸は化合物（１）に換算した化合物濃度（ $\mu\text{g}/\text{mL}$ ）を示す。

発明を実施するための形態

[0013] 次に、本発明の塩、結晶およびそれらの製造方法について詳細に説明する。

[0014] 本明細書において、「塩」とは、PDE9 阻害作用を有する化合物（１）と薬剤学的に許容される酸とを含む、「通常用いられる意味の塩」または共結晶を意味する。「通常用いられる意味の塩」とは、化合物（１）の塩基の陽性成分と酸の陰性成分とからなる化合物をいう。また、共結晶とは、化合物（１）と酸の分子が結晶格子の中に一定の比率かつ一定の配置で組み込まれた結晶性の複合体をいう。

[0015] 具体的には、本発明の塩は、化合物（１）の、有機カルボン酸、有機スルホン酸および無機酸からなる群から選択される一つの酸とを含む、通常用いられる意味の塩または共結晶である。

[0016] 有機カルボン酸としては、好ましくは、例えば酢酸、シュウ酸、マレイン酸、酒石酸、フマル酸、クエン酸、マロン酸塩などを、より好ましくは、例えばマレイン酸、酒石酸、マロン酸などを挙げることができる。

[0017] 有機スルホン酸としては、好ましくは、例えばメタンスルホン酸、トリフルオロメタンスルホン酸、エタンスルホン酸、ベンゼンスルホン酸、トルエンスルホン酸、カンファースルホン酸などを、より好ましくは、例えばメタンスルホン酸、ベンゼンスルホン酸、トルエンスルホン酸などを挙げることができる。

[0018] 無機酸としては、好ましくは、例えばフッ化水素酸、塩酸、臭化水素酸、ヨウ化水素酸、硫酸、硝酸、過塩素酸、リン酸、炭酸、重炭酸などを、より好ましくは、例えば塩酸、臭化水素酸、硫酸、硝酸、リン酸などを挙げるこ

とができる。

[0019] 本発明の塩は、溶媒和物でもよい。本明細書において、化合物(1)の塩の溶媒和物とは、化合物(1)の塩と溶媒分子とが一緒になって形成する固体をいう。溶媒和物の溶媒としては、たとえば、アセトン、2-ブタノン、シクロヘキサノンなどのケトン系溶媒；酢酸メチル、酢酸エチル等のエステル系溶媒；1,2-ジメトキシエタン、*t*-ブチルメチルエーテルのようなエーテル系溶媒；メタノール、エタノール、1-プロパノール、イソプロパノール等のアルコール系溶媒、*N*-メチル-2-ピロリドン、*N,N*-ジメチルホルムアミド、ジメチルスルホキシド等の極性溶媒；水が挙げられる。

[0020] 本明細書において、「結晶」とは、化合物(1)の塩の結晶を指す。したがって、たとえば化合物(1)・マレイン酸塩の結晶とは、化合物(1)とマレイン酸とで形成される通常用いられる意味の塩の結晶または化合物(1)とマレイン酸とで形成される共結晶を意味する。

[0021] 本明細書において、好ましい結晶としては、粉末X線回折において、
回折角度($2\theta \pm 0.2^\circ$) 10.1° に回折ピークを有する、化合物(1)・マレイン酸塩の結晶；

回折角度($2\theta \pm 0.2^\circ$) 9.1° および 10.1° に回折ピークを有する、化合物(1)・マレイン酸塩の結晶；

回折角度($2\theta \pm 0.2^\circ$) 9.1° 、 10.1° および 11.1° に回折ピークを有する、化合物(1)・マレイン酸塩の結晶；

回折角度($2\theta \pm 0.2^\circ$) 9.1° 、 10.1° 、 11.1° 、 18.2° および 25.8° に回折ピークを有する、化合物(1)・マレイン酸塩の結晶；

回折角度($2\theta \pm 0.2^\circ$) 9.1° 、 10.1° 、 11.1° 、 16.2° 、 17.6° 、 18.2° 、 22.0° 、 22.4° 、 23.8° および 25.8° に回折ピークを有する、化合物(1)・マレイン酸塩の結晶；

回折角度($2\theta \pm 0.2^\circ$) 9.9° に回折ピークを有する、化合物(1)

)・一ベンゼンスルホン酸塩の結晶；

回折角度 ($2\theta \pm 0.2^\circ$) 9.9° および 14.6° に回折ピークを有する、化合物 (I)・一ベンゼンスルホン酸塩の結晶；

回折角度 ($2\theta \pm 0.2^\circ$) 9.9° 、 13.7° および 14.6° に回折ピークを有する、化合物 (I)・一ベンゼンスルホン酸塩の結晶；

回折角度 ($2\theta \pm 0.2^\circ$) 6.6° 、 9.9° 、 13.7° 、 14.6° および 25.7° に回折ピークを有する、化合物 (I)・一ベンゼンスルホン酸塩の結晶；

回折角度 ($2\theta \pm 0.2^\circ$) 6.6° 、 9.9° 、 13.7° 、 14.6° 、 19.0° 、 19.6° 、 20.5° 、 21.7° 、 23.5° および 25.7° に回折ピークを有する、化合物 (I)・一ベンゼンスルホン酸塩の結晶；または、

^{13}C 固体 NMR スペクトルにおいて、化学シフト (ppm) 13.3 、 61.9 、 114.3 、 138.9 および 172.0 にピークを有することを特徴とする、化合物 (I)・一マレイン酸塩の結晶；

^{13}C 固体 NMR スペクトルにおいて、化学シフト (ppm) 16.8 、 67.9 、 114.0 、 137.7 および 160.7 にピークを有することを特徴とする、化合物 (I)・一ベンゼンスルホン酸塩の結晶などを挙げることができる。

[0022] 上記記載の粉末 X 線回折におけるピークは、化合物 (I)・一マレイン酸塩の結晶または化合物 (I)・一ベンゼンスルホン酸塩の結晶にそれぞれ特有なものである。

[0023] 一般に、粉末 X 線回折における回折角度 (2θ) は $\pm 0.2^\circ$ の範囲内で誤差が生じ得るから、上記の回折角度の値は $\pm 0.2^\circ$ 程度の範囲内の数値も含むものとして理解される必要がある。したがって、粉末 X 線回折におけるピークの回折角度が完全に一致する結晶だけでなく、ピークの回折角度が $\pm 0.2^\circ$ 程度の誤差で一致する結晶も本発明に含まれる。

[0024] 従って、本明細書において、例えば、「回折角度 ($2\theta \pm 0.2^\circ$) 10

・ 1° に回折ピークを有する」とは、「回折角度 (2θ) 9.9° ~ 10.3° に回折ピークを有する」ということを意味し、その他の回折角度の場合も同様である。

[0025] 本明細書において、「化学シフト (ppm) 13.3、61.9、114.3、138.9 および 172.0 にピークを有する」とは、「通常の測定条件または本明細書と実質的に同一の条件にて ¹³C 固体 NMR スペクトル測定を行い、それぞれ、化学シフト (ppm) 13.3、61.9、114.3、138.9 および 172.0 と実質的に同等なピークを有すること」を意味する。

[0026] 「実質的に同等なピークを有する」か否かの判断に際して、一般に、¹³C 固体 NMR スペクトルにおける化学シフト (ppm) は、±0.5 ppm の範囲内で誤差が生じ得るから、上記の化学シフトの値は、±0.5 ppm 程度の範囲内の数値も含むものとして理解される必要がある。したがって、¹³C 固体 NMR スペクトルにおける化学シフトが完全に一致する結晶だけでなく、化学シフトが ±0.5 ppm 程度の誤差で一致する結晶も本発明に含まれる。それ故に、本明細書において、例えば、「化学シフト (ppm) 13.3 にピークを有する」とは、「化学シフト (ppm) 12.8 ~ 13.8 にピークを有する」ことを意味し、その他の ¹³C 固体 NMR スペクトルにおける化学シフトの場合も同様である。

[0027] 以下に、本発明の一実施形態である化合物 (1) の塩またはその結晶等の製造方法について説明する。

[0028] 化合物 (1) の製造

本発明にかかる化合物 (1) は、後述する参考例 1 に具体的に記載されているように、3-オキソナトラヒドロフラン、2-フルオロ-5-メチルピリジンおよび 4-プロモ-2-フルオロ安息香酸を出発原料として合成することができる。

[0029] 化合物 (1) の塩の製造方法

化合物 (1) の塩は、通常の塩を製造する方法により得ることができる。

具体的には、例えば、化合物（１）を溶媒に、必要に応じて加温して、懸濁または溶解させ、次いで、得られる懸濁液または溶液に、有機カルボン酸、有機スルホン酸および無機酸からなる群から選択される一つの酸を加え、室温下あるいは氷浴で冷却しながら数分から数日間攪拌することにより、または室温下あるいは氷浴で冷却しながら数分から数日間放置することにより、製造することができる。これらの製造方法により、化合物（１）の塩を、結晶または非晶質として得ることができる。ここで使用する溶媒としては、例えばエタノール、１－プロパノール、イソプロパノール等のアルコール系溶媒；アセトニトリル；アセトン、２－ブタノン等のケトン系溶媒；酢酸エチル等のエステル系溶媒；ヘキサン、ヘプタン等の飽和炭化水素系溶媒；ｔ－ブチルメチルエーテル等のエーテル系溶媒または水を挙げることができる。これらの溶媒は単独で使用してもよく、２種以上を混合して使用してもよい。

[0030] 化合物（１）の塩は、前記した化合物（１）の製造方法において、化合物（１）を合成後に、引き続き、上記した方法を採用することにより製造することもできる。

[0031] 化合物（１）の塩の結晶の製造方法

化合物（１）の塩の結晶は、上述の化合物（１）の塩の製造方法により、または化合物（１）の塩を、溶媒中で加熱溶解し、攪拌下冷却して晶析することにより、製造することができる。

[0032] 晶析に使用する化合物（１）の塩は、どのような形態であってもよく、水和物でも無水物でもよく、非晶質でも結晶質（複数の結晶多形からなるものを含む）でもよく、これらの混合物でもよい。

[0033] 晶析に使用する溶媒は、例えば、メタノール、エタノール、イソプロパノール、１－プロパノール等のアルコール系溶媒；アセトニトリル；N,N-ジメチルホルムアミド等のアミド系溶媒；酢酸エチル等のエステル系溶媒；ヘキサン、ヘプタン等の飽和炭化水素系溶媒；アセトン、２－ブタノン等のケトン系溶媒；ｔ－ブチルメチルエーテル等のエーテル系溶媒または水を挙げ

ることができる。また、これらの溶媒は単独で使用してもよく、2種以上を混合して使用してもよい。

[0034] 溶媒の使用量は、化合物(1)のフリー体またはその塩が加熱により溶解する量または懸濁液が攪拌可能となる量を下限とし、結晶の収量が著しく低下しない量を上限として適宜選択することができる。

[0035] 上記の方法により得られた結晶は単一の結晶形となる。この結晶形は安定であって、容易に他の結晶形や非晶質に転移することがなく、良好な物性を有しており、製剤化にも適している。

[0036] 晶析において、種結晶(所望の化合物(1)の塩の結晶など)を加えても、加えなくてもよい。種結晶を加える温度は、特に限定されないが、好ましくは0～60℃である。

[0037] 化合物(1)の塩を加熱して溶解する場合の温度は、溶媒に応じて化合物(1)が溶解する温度を適宜選択すればよいが、好ましくは再結晶溶媒が還流を開始する温度から50℃の範囲であり、より好ましくは65～55℃である。

[0038] 晶析時の冷却は、急冷すると態様の異なる結晶(多形)を含むものを与えるので、結晶の品質や粒度等への影響を考慮して適宜冷却速度を調整して実施することが望ましく、好ましくは、たとえば40～5℃/時間の速度での冷却である。より好ましくは、たとえば25～5℃/時間の速度での冷却である。

[0039] また、最終的な晶析温度は、結晶の収量と品質等から適宜選択することができるが、好ましくは30～-25℃である。

[0040] 晶析した結晶を通常のろ過操作で分離し、必要に応じてろ別した結晶を溶媒で洗浄し、さらにこれを乾燥して、目的の結晶を得ることができる。結晶の洗浄に使用する溶媒には、晶析溶媒と同様のものを使用できる。好ましくは、例えば、アセトン、2-ブタノン、酢酸エチル、t-ブチルメチルエーテル、ヘキサン/2-ブタノン(容量比で2:3)の混合溶媒である。

[0041] ろ過操作で分離した結晶は、適宜、大気下若しくは窒素気流下に放置する

ことにより、または加熱によって乾燥することができる。

[0042] 乾燥時間は、残留溶媒が所定の量を下回るまでの時間を製造量、乾燥装置、乾燥温度等に応じて適宜選択すればよい。また、乾燥は通風下でも減圧下でも行うことができる。減圧度は、製造量、乾燥装置、乾燥温度等に応じて適宜選択すればよい。得られた結晶は、乾燥後、必要に応じて大気中に放置することもできる。

[0043] 上記した結晶は、上述した化合物（Ⅰ）の製造方法において、化合物（Ⅰ）を合成後に引き続き、更に上述した化合物（Ⅰ）の塩の製造方法、必要に応じて化合物（Ⅰ）の塩の結晶の製造方法を採用することにより製造することもできる。

[0044] 以上に説明した製造方法によって得られる化合物（Ⅰ）の塩およびその結晶は、後述の薬理試験例における活性データに示されているように、PDE 9阻害作用を有することにより、脳内におけるcGMP濃度を上昇させることが期待できる。PDE 9阻害作用や脳内におけるcGMPの上昇は、学習記憶行動の改善につながり、アルツハイマー病における認知機能障害等の治療剤としての利用可能性を有している。

[0045] 化合物（Ⅰ）の塩またはその結晶は、常法により製剤化が可能であり、剤形としては、例えば、経口剤（錠剤、顆粒剤、散剤、カプセル剤、シロップ剤等）、注射剤（静脈内投与用、筋肉内投与用、皮下投与用、腹腔内投与用等）、外用剤（経皮吸収製剤（軟膏剤、貼付剤等）、点眼剤、点鼻剤、坐剤等）とすることができる。

[0046] 経口用固形製剤を製造する場合には、化合物（Ⅰ）の塩またはその結晶に、必要に応じて、賦形剤、結合剤、崩壊剤、滑沢剤、着色剤等の添加剤を添加し、常法により錠剤、顆粒剤、散剤、カプセル剤を製造することができる。また、錠剤、顆粒剤、散剤、カプセル剤等は、必要に応じて、コーティングを施してもよい。

[0047] 賦形剤としては、例えば、乳糖、コーンスターチ、結晶セルロース等を、結合剤としては、例えば、ヒドロキシプロピルセルロース、ヒドロキシプロ

ピルメチルセルロース等が挙げられる。崩壊剤としては、例えば、カルボキシメチルセルロースカルシウム、クロスカルメロースナトリウム等を、滑沢剤としては、例えば、ステアリン酸マグネシウム、ステアリン酸カルシウム等を挙げられる。また、着色剤としては、例えば、酸化チタン等を、コーティング剤としては、例えば、ヒドロキシプロピルセルロース、ヒドロキシプロピルメチルセルロース、メチルセルロース等を挙げられる。使用できる添加剤は、これらに限定される訳ではない。

[0048] これらの錠剤、カプセル剤、顆粒剤、散剤等の固形製剤は、通常、0.001～99.5重量%、好ましくは0.01～90重量%等の化合物(1)の塩またはその結晶を含むことができる。

[0049] 注射剤（静脈内投与用、筋肉内投与用、皮下投与用、腹腔内投与用等）を製造する場合には、化合物(1)の塩またはその結晶に、必要に応じて、pH調整剤、緩衝剤、懸濁化剤、溶解補助剤、抗酸化剤、保存剤（防腐剤）、等張化剤等を添加し、常法により注射剤を製造することができる。また、凍結乾燥して、用時溶解型の凍結乾燥製剤としてもよい。

[0050] pH調整剤および緩衝剤としては、例えば、有機酸または無機酸および／またはその塩等を使用することができる。また、懸濁化剤としては、例えば、メチルセルロース、ポリソルベート80、カルボキシメチルセルロースナトリウム等を使用することができ、溶解補助剤としては、例えば、ポリソルベート80、ポリオキシエチレンソルビタンモノラウレート等を使用することができる。抗酸化剤としては、例えば、 α -トコフェロール等を使用することができ、保存剤としては、例えば、パラオキシ安息香酸メチル、パラオキシ安息香酸エチル等を使用することができ、等張化剤としては、例えば、ブドウ糖、塩化ナトリウム、マンニトール等を使用することができる。pH調整剤、緩衝剤、懸濁化剤、溶解補助剤、抗酸化剤、保存剤（防腐剤）、等張化剤は、もちろんこれらに限定される訳ではない。

[0051] これらの注射剤は、通常、注射剤の全質量に対して、0.000001～99.5質量%、好ましくは0.00001～90質量%等の化合物(1)

の塩またはその結晶を含むことができる。

[0052] 外用剤を製造する場合には、化合物（I）の塩またはその結晶に、基剤原料を添加し、必要に応じて、例えば、保存剤、安定剤、pH調整剤、抗酸化剤、着色剤等を加えて、常法により、例えば、経皮吸収製剤（軟膏剤、貼付剤等）、点眼剤、点鼻剤、坐剤等を製造することができる。

[0053] 使用する基剤原料としては、例えば、医薬品、医薬部外品、化粧品等に通常使用される各種原料を用いることが可能である。具体的には、例えば、動植物油、鉱物油、エステル油、ワックス類、乳化剤、高級アルコール類、脂肪酸類、シリコン油、界面活性剤、リン脂質類、アルコール類、多価アルコール類、水溶性高分子類、粘土鉱物類、精製水等の原料を挙げることができる。

[0054] これらの外用剤は、通常0.000001～99.5重量%、好ましくは0.00001～90重量%等の化合物（I）の塩またはその結晶を含むことができる。

[0055] 化合物（I）の塩またはその結晶の投与量は、症状の程度、年齢、性別、体重、投与形態、塩の種類、疾患の具体的な種類等に応じて異なるが、通常、成人の場合は1日あたり経口投与で約30 μ g～10g、好ましくは100 μ g～5g、さらに好ましくは100 μ g～1gを、注射投与で約30 μ g～1g、好ましくは100 μ g～500mg、さらに好ましくは100 μ g～300mgをそれぞれ1回又は数回に分けて投与する。

実施例

[0056] 以下、参考例および実施例を挙げて本発明を詳細に説明するが、本発明はこれらの参考例および実施例に限定されるものではない。

[0057] 以下の参考例および実施例においては下記の略号を使用する。

CDI：1, 1'-カルボニルジイミダゾール

DCM：ジクロロメタン

DMF-DMA：N,N-ジメチルホルムアミドジメチルアセタール

DMF：N,N-ジメチルホルムアミド

DMSO : ジメチルスルホキシド

DTT : ジチオスレイトール

IPA : イソプロピルアルコール

KTB : カリウム *tert*-ブトキシド

MTBE : *t*-ブチルメチルエーテル

NBS : N-ブロモスクシンイミド

$\text{Pd}(\text{dppf})\text{Cl}_2$: 1, 1'-ビス(ジフェニルホスフィノ)フェロセンジクロロパラジウム(II)

$\text{Pd}(\text{PPh}_3)_4$: テトラキス(トリフェニルホスフィン)パラジウム(0)

TEA : トリエチルアミン

TFA : トリフルオロ酢酸

THF : テトラヒドロフラン

Tris : トリスヒドロキシメチルアミノメタン

[0058] ^1H -NMR (プロトン核磁気共鳴) スペクトルの化学シフトは、テトラメチルシランに対する δ 単位 (ppm) で記録され、カップリング定数はヘルツ (Hz) で記録されている。分裂パターンの略号は以下の通りである。s : シングレット、d : ダブルレット、t : トリプレット、q : カルテット、m : マルチプレット、brs : ブロードシングレット、brd : ブロードダブルレット。

[0059] 以下の実施例において製造された結晶の粉末X線結晶回折は、得られた結晶を、粉末X線回折装置の試料台に載せ、下記の条件で分析した。

[0060] 測定条件

サンプルホルダー : アルミニウム

ターゲット : 銅

検出器 : シンチレーションカウンター

管電圧 : 50 kV

管電流 : 300 mA

スリット：DS 0.5 mm (Height limiting slit 2 mm), SS Open, RS Open

走査速度：10° / 分

サンプリング間隔：0.02°

走査範囲：5 ~ 35°

ゴニオメーター：水平ゴニオメーター

[0061] 結晶の¹³C固体NMRスペクトルは以下の条件で測定した。

測定条件

使用装置：AVANCE 400 (BRUKER社製)

測定温度：室温 (22℃)

基準物質：グリシン (外部基準：176.03 ppm)

測定核：¹³C (100.6248425 MHz)

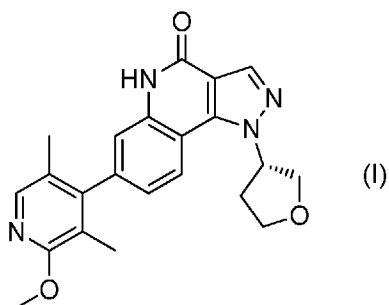
パルス繰り返し時間：3秒

パルスモード：TOSS測定

[0062] 参考例 1

(S)-7-(2-メトキシ-3,5-ジメチルピリジン-4-イル)-1-(テトラヒドロフラン-3-イル)-1H-ピラゾロ[4,3-c]キノリン-4(5H)-オンの合成

[化2]



[0063] (1) ベンジル 2-[ジヒドロフラン-3(2H)-イリデン]ヒドラジンカルボキシレートの合成

3-オキソテトラヒドロフラン (5.70 g) をメタノール (150 mL) に溶解し、ベンジル カルバゼート (10 g) をこの溶液に加えた。混合

物を室温にて12時間撹拌した。反応液を濃縮した。14.8gの残渣を粗生成物として得た。これ以上精製せずに次の反応に用いた。

[0064] (2) (±)-ベンジル 2-(テトラヒドロフラン-3-イル)ヒドラジンカルボキシレートの合成

ベンジル 2-[ジヒドロフラン-3(2H)-イリデン]ヒドラジンカルボキシレート(14.8g)を水(96mL)に懸濁した。この懸濁液に酢酸(42.1mL)を室温にて加えた。この混合物を室温にて1時間撹拌した。懸濁液が溶液になった。この溶液にシアノ水素化ホウ素ナトリウム(4.0g)を少しずつ加えた。この混合液を室温にて2時間撹拌した。反応液を0℃に冷却した。5N水酸化ナトリウム水溶液を加え中和した。この混合物をクロロホルムで抽出した。有機層を無水硫酸マグネシウムで乾燥した後、ろ過した。ろ液を減圧下濃縮した。残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー(メタノール/酢酸エチル, 5%)で精製した。標記化合物(13.9g)を得た。

$^1\text{H-NMR}$ (400MHz, CDCl_3) δ (ppm) : 1.73–1.80 (m, 1H)、1.92–2.06 (m, 1H)、3.66–3.82 (m, 3H)、3.82–4.03 (m, 2H)、5.14 (s, 2H)、7.31–7.40 (m, 5H)。

[0065] (3) (-)-ベンジル 2-(テトラヒドロフラン-3-イル)ヒドラジンカルボキシレートおよび(+)-ベンジル 2-(テトラヒドロフラン-3-イル)ヒドラジンカルボキシレートの合成

(±)-ベンジル 2-(テトラヒドロフラン-3-イル)ヒドラジンカルボキシレート(11.5g)のMTBE(110mL)溶液へ、飽和炭酸水素ナトリウム水溶液(30mL)を加え、室温で10分間撹拌後、有機層を分離した。得られた有機層を飽和炭酸水素ナトリウム、飽和食塩水で順次洗浄し、無水硫酸マグネシウムで乾燥し、乾燥剤をろ過して除去した。ろ液を減圧下に濃縮した。得られた残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー(酢酸エチル/ヘキサン, 25~50%)で精製し、目的画分を濃縮した。

残渣ヘジエチルエーテル（30 mL）とヘキサン（15 mL）を加えた。析出した固体をろ取り、減圧下に乾燥して、純粋な（±）－ベンジル 2－（テトラヒドロフラン－3－イル）ヒドラジンカルボキシレート（6.17 g）を得た。

この物を、エタノールに溶解し、ミリポアフィルターを通して、ろ過した。得られたろ液を2条件で光学分割した。

条件1：DAICEL社製CHIRALCEL（登録商標）OD-H（20 mm φ×250 mm L），20%IPA／ヘキサン，25 mL／分。

条件2：DAICEL社製CHIRALPAK（登録商標）AD-H（20 mm φ×250 mm L），20%IPA／ヘキサン，24 mL／分。

目的画分を濃縮して、短保持時間で（－）の旋光性を有する標記化合物（2.60 g，>99% ee [OD-H，20%IPA／ヘキサン，保持時間：11.2分]）および長保持時間で（＋）の旋光性を有する標記化合物（2.59 g，97.2% ee [OD-H，20%IPA／ヘキサン，保持時間：12.4分]）を得た。

[0066] (4) （S）－（テトラヒドロフラン－3－イル）ヒドラジン・塩酸塩の合成

（－）－ベンジル 2－（テトラヒドロフラン－3－イル）ヒドラジンカルボキシレート（50 g）をメタノール（500 mL）に溶解し、ジ－tertブチルジカルボネート（92.4 g）とパラジウム炭素（50% w e t）（5 g）を加え、水素雰囲気下、25℃で15 p s iで48時間攪拌した。反応液をろ過し、ろ液を減圧下濃縮した。得られた残渣をジイソプロピルエーテル（300 mL）に溶解した。0℃に冷却した後、この溶液に塩酸／ジイソプロピルエーテル（500 mL）加えた。この混合物を10℃で14時間攪拌した。析出した固体をろ取した。（－）－ベンジル 2－（テトラヒドロフラン－3－イル）ヒドラジンカルボキシレート（70 g）から同様の操作を9回行い、（－）－ベンジル 2－（テトラヒドロフラン－3－イル）ヒドラジンカルボキシレート（50 g）から同様の操作を1回行った。得

られた固体をDCM／エタノール（10／1）（1 L）で2時間トリチュレートした。析出した固体をろ取した。得られた固体を減圧下乾燥し、標記化合物（235 g）を得た。

$^1\text{H-NMR}$ （400 MHz, DMSO- d_6 ） δ （ppm）：1.87–2.09（m, 2H）、3.55–3.71（m, 2H）、3.71–3.84（m, 3H）。

なお、得られた標記化合物の絶対配置はX線結晶構造解析により（S）－体であると確認した。

[0067] （5）2-フルオロ-3-ヨード-5-メチルピリジンの合成

THF（1.2 L）にジイソプロピルアミン（92 mL）を加え、窒素雰囲気下、 -18°C に冷却した。この溶液に2.69 M *n*-ブチルリチウムヘキサン溶液（224 mL）を滴下した。滴下終了後、この混合物を撹拌しながら20分かけて -5°C まで昇温した。反応液を -73°C に冷却した。この反応液に2-フルオロ-5-メチルピリジン（61 g）のTHF溶液（240 mL）を滴下した。反応混合物を -75°C にて3時間半撹拌した。この反応液にヨウ素（139 g）のTHF溶液（24 mL）を滴下した。反応混合物を -75°C にて1時間55分撹拌した。反応終了後、同温度で水（220 mL）を反応液に加えた。混合物を5分間同温で撹拌した。反応液を室温に戻した後、水（1.2 L）を加えた。この混合物に、チオ硫酸ナトリウム五水和物（136 g）水溶液（300 mL）と水（300 mL）を加え、10分間撹拌した。この混合物をMTBE（1.2 L）で抽出した。有機層を飽和食塩水（500 mL）で洗浄した。合わせた水層をMTBE（1 L）で抽出した。合わせた有機層を無水硫酸マグネシウムで乾燥した。乾燥剤をろ過して除き、ろ液を減圧下濃縮した。残渣に*n*-ヘプタンを加え、冷却した。析出した固体をろ取した。*n*-ヘプタンで洗浄した。ろ液を冷却し、析出した固体をろ取した。この操作を5回繰り返すことで、標記化合物（109.69 g）を得た。

$^1\text{H-NMR}$ （400 MHz, CDCl_3 ） δ （ppm）：2.29–2.3

1 (m, 3H), 7.93–8.14 (m, 2H).

ESI-MS m/z 238 [M+H]⁺

[0068] (6) 2-フルオロ-4-ヨード-3, 5-ジメチルピリジンの合成

THF (1.2 L) にジイソプロピルアミン (88 mL) を加え、窒素雰囲気下、−18℃に冷却した。この溶液に2.69 M *n*-ブチルリチウムヘキサン溶液 (215 mL) を滴下した。滴下終了後、この混合物を撹拌しながら30分かけて−5℃まで昇温した。反応液を−72℃に冷却した。この反応液に2-フルオロ-3-ヨード-5-メチルピリジン (109.6 g) のTHF溶液 (240 mL) を滴下した。反応混合物を−74℃にて1時間半撹拌した。この反応液にヨウ化メチル (36 mL) のTHF溶液 (160 mL) を滴下した。反応混合物を−70℃〜−74℃にて2時間撹拌した。反応終了後、同温度で水 (200 mL) を反応液に加えた。混合物を2分間同温で撹拌した。反応液を室温に戻した後、水 (1.2 L) を加えた。この混合液を3分間撹拌した。更に水 (300 mL) を加えた。この混合物をMTBE (1.2 L) で抽出した。有機層を飽和食塩水 (500 mL) で洗浄した。合わせた水層をMTBE (1 L) で抽出した。合わせた有機層を無水硫酸マグネシウムで乾燥した。乾燥剤をろ過して除き、ろ液を減圧下濃縮した。残渣に*n*-ヘプタン (100 mL) を加え、冷却した。析出した固体をろ取した。*n*-ヘプタンで洗浄した。ろ液を冷却し、析出した固体をろ取した。この操作を2回繰り返すことで、標記化合物 (86.9 g) を得た。

¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃) δ (ppm) : 2.39–2.40 (m, 6H), 7.80–7.82 (m, 1H).

ESI-MS m/z 252 [M+H]⁺

[0069] (7) 4-ヨード-2-メトキシ-3, 5-ジメチルピリジンの合成

2-フルオロ-4-ヨード-3, 5-ジメチルピリジン (97.4 g) のTHF (954 mL) 溶液に、20℃で、28%ナトリウムメトキシドメタノール溶液 (185 mL) を加えた。この混合物を55℃〜65℃にて2

時間攪拌した。反応液を冷却した後、MTBE（1 L）と水（1 L）を加えて分離した。有機層を飽和食塩水で洗浄した。合わせた水層をMTBE（500 mL × 2）で抽出した。合わせた有機層を無水硫酸マグネシウムで乾燥した。ろ過して乾燥剤を除き、ろ液を減圧下濃縮した。残渣にn-ヘプタン（50 mL）を加え、0℃にて1時間攪拌した。析出した固体をろ取した。冷やしたn-ヘプタン（10 mL）で固体を洗浄した。標記化合物（42.6 g）を得た。ろ液を減圧下濃縮した。残渣にn-ヘプタン（5 mL）を加え、0℃にて30分間攪拌した。析出した固体をろ取した。冷やしたn-ヘプタン（2 mL）で固体を洗浄し、標記化合物（20.2 g）を得た。ろ液を減圧下濃縮した。残渣にn-ヘプタン（5 mL）を加え、0℃にて30分間攪拌した。析出した固体をろ取した。冷やしたn-ヘプタン（2 mL）で固体を洗浄した。標記化合物（10.7 g）を得た。合わせて標記化合物（73.5 g）を得た。

$^1\text{H-NMR}$ （400 MHz, CDCl_3 ） δ （ppm）：2.33–2.34（m, 3H）、2.36–2.38（m, 3H）、3.92（s, 3H）、7.76（s, 1H）。

ESI-MS m/z 264 $[\text{M}+\text{H}]^+$

[0070] （8）エチル 3-（4-ブromo-2-フルオロフェニル）-3-オキソプロパノエートの合成

4-ブromo-2-フルオロ安息香酸（CAS No. 112704-79-7）（10 g）のDCM（97 mL）懸濁液へ、CDI（8.88 g）を加え、室温にて3.5時間攪拌した。この溶液を「溶液1」とする。

別のフラスコ中、カリウム エチルマロネート（15.5 g）のアセトニトリル（303 mL）懸濁液へ、TEA（15.9 mL）、次いで塩化マグネシウム（10.9 g）を加え、室温で3時間10分間攪拌した。この反応混合物へ、先に調製した「溶液1」を25分間かけて滴下した後、反応混合物を室温で終夜攪拌した。反応液を減圧下に半量まで濃縮した。得られた残渣を酢酸エチル（500 mL）で希釈し、氷冷下に5 N塩酸（250 mL）

を加えた後、室温にて1時間撹拌した。有機層を飽和食塩水で洗浄し、無水硫酸マグネシウムで乾燥し、ろ過し、減圧下に濃縮した。得られた残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー（酢酸エチル／*n*-ヘプタン、5～20%）で精製し、標記化合物（12.8g）を得た。

ESI-MS m/z 291 [M+H]⁺

[0071] (9) エチル 5-(4-プロモ-2-フルオロフェニル)-1-[(S)-
 2-トリブトロラン-3-イル]-1H-ピラゾール-4-カルボキシル

ートの合成

エチル 3-(4-プロモ-2-フルオロフェニル)-3-オキソプロパノエート (45g) のDMF-DMA (165mL) 溶液を、50℃で2時間15分間撹拌した。反応液を減圧下に濃縮した。残渣にトルエン (200mL) を加え、再び減圧下濃縮した。残渣にエタノール (950mL) を加え50℃に加温した。その溶液へ (S)- (トリブトロラン-3-イル) ヒドラジン塩酸塩 (21.6g) の水溶液 (60mL) を35分間かけて滴下で加えた。得られた反応混合物を、50℃で2時間10分間撹拌した。

反応液を室温まで冷却した後、減圧下に半分量まで濃縮した。残渣へ水 (200mL) を加え、減圧下にエタノールを留去した。得られた残渣に酢酸エチル (500mL) を加え、有機層を分離した。水層を酢酸エチル (100mL) で抽出した。合わせた有機層を飽和食塩水で洗浄し、無水硫酸マグネシウムで乾燥し、ろ過し、減圧下に濃縮した。残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー（酢酸エチル／*n*-ヘプタン、10%～15%）で精製し、次いでショートパースリカゲル（富士シリシア化学株式会社製のフロピルアミンコーティングシリカゲル）カラムクロマトグラフィー（酢酸エチル／*n*-ヘプタン、33%）で精製し、標記化合物 (43.1g) を得た。

¹H-NMR (400MHz, CDCl₃) δ (ppm) : 1.19 (t, J = 7.2Hz, 3H), 2.19-2.49 (m, 2H), 3.87-4.07 (m, 3H), 4.11-4.25 (m, 3H), 7.17-7.26 (m, 1H), 7.39-7.47 (m, 1H)

, 2 H)、8.06 (s, 1 H).

ESI-MS m/z 407 [M+Na]⁺

[0072] (10) エチル 5-[2-フルオロ-4-(4,4,5,5-テトラメチル-1,3,2-ジオキサボロラン-2-イル)フェニル]-1-[(S)-テトラヒドロフラン-3-イル]-1H-ピラゾール-4-カルボキシレートの合成

エチル 5-(4-ブロモ-2-フルオロフェニル)-1-[(S)-テトラヒドロフラン-3-イル]-1H-ピラゾール-4-カルボキシレート (43.1 g)、ビス(ピナコラト)ジボロン (34.3 g)、Pd(dppf)Cl₂·DCM錯体 (4.59 g) および酢酸カリウム (33.1 g) の混合物を、真空ポンプ減圧下に1時間乾燥した。乾燥残渣のDMF (430 mL) 溶液を、80℃で3時間10分間攪拌した。反応液を室温に戻した後、セライト™ろ過した。ろ液を減圧下に濃縮した。残渣へ酢酸エチル (430 mL) と飽和食塩水 (200 mL) を加え、5分間攪拌した。不溶物をセライト™を通してろ去した。ろ液から有機層を分配した。水層を酢酸エチル (50 mL) で再抽出した。あわせた有機層を無水硫酸マグネシウム上で乾燥し、ろ過し、ろ液を減圧下に濃縮した。残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (酢酸エチル/n-ヘプタン, 10~15%) で精製し、標記化合物 (51.9 g) を得た。

¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃) δ (ppm) : 1.16 (t, J = 7.2 Hz, 3 H)、1.37 (s, 12 H)、2.15-2.49 (m, 2 H)、3.85-4.06 (m, 3 H)、4.14 (q, J = 7.2 Hz, 2 H)、4.20 (dd, J = 15.6, 8.4 Hz, 1 H)、4.57-4.66 (m, 1 H)、7.30 (t, J = 7.2 Hz, 0.5 H)、7.35 (t, J = 7.2 Hz, 0.5 H)、7.63 (dd, J = 5.6, 2.0 Hz, 1 H)、7.70 (dd, J = 7.2, 2.0 Hz, 1 H)、8.06 (s, 1 H)。

[0073] (11) エチル 5-[2-フルオロ-4-(2-メトキシ-3,5-ジメ

チルピリジン-4-イル) フェニル] -1- [(S)-テトラヒドロフラン-3-イル] -1H-ピラゾール-4-カルボキシレートの合成

エチル 5- [2-フルオロ-4- (4, 4, 5, 5-テトラメチル-1, 3, 2-ジオキサボロラン-2-イル) フェニル] -1- [(S)-テトラヒドロフラン-3-イル] -1H-ピラゾール-4-カルボキシレート (51.9 g) の1, 4-ジオキサン (500 mL) 溶液へ、水 (170 mL)、4-ヨード-2-メトキシ-3, 5-ジメチルピリジン (35.6 g)、Pd (PPh₃)₄ (6.52 g) および炭酸セシウム (110 g) を加え、反応混合物を110℃で6時間反応した。反応液を室温に戻した後、有機層を分離した。有機層を減圧下濃縮した。得られた残渣へ、水層、酢酸エチル (700 mL) および水 (100 mL) を加え、有機層を分離した。水層を酢酸エチル (50 mL) で再抽出した。あわせた有機層を、水および飽和食塩水で順次洗浄し、無水硫酸マグネシウム上で乾燥し、ろ過し、減圧下に濃縮した。残渣をNHシリカゲルカラムクロマトグラフィー (酢酸エチル/n-ヘプタン, 5~14%) で精製した。ついで、再度NHシリカゲルカラムクロマトグラフィー (酢酸エチル/n-ヘプタン, 2~10%) で精製し、標記化合物 (43.5 g) を得た。

¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃) δ (ppm) : 1.16 (t, J = 7.2 Hz, 1.5 H)、1.17 (t, J = 7.2 Hz, 1.5 H)、1.97 (s, 1.5 H)、1.98 (s, 1.5 H)、1.99 (s, 1.5 H)、2.00 (s, 1.5 H)、2.25-2.55 (m, 2 H)、3.92-4.27 (m, 6 H)、3.99 (s, 1.5 H)、4.00 (s, 1.5 H)、4.65-4.75 (m, 1 H)、7.01 (d, J = 9.2 Hz, 1 H)、7.05 (d, J = 7.2 Hz, 1 H)、7.39 (t, J = 7.2 Hz, 0.5 H)、7.45 (t, J = 7.2 Hz, 0.5 H)、7.93 (s, 1 H)、8.12 (s, 1 H)。

ESI-MS m/z 440 [M+H]⁺

[0074] (12) 5- [2-フルオロ-4- (2-メトキシ-3, 5-ジメチルピリ

ジン-4-イル)フェニル]-1-[(S)-テトラヒドロフラン-3-イル]-1H-ピラゾール-4-カルボン酸の合成

エチル 5-[2-フルオロ-4-(2-メトキシ-3,5-ジメチルピリジン-4-イル)フェニル]-1-[(S)-テトラヒドロフラン-3-イル]-1H-ピラゾール-4-カルボキシレート (43.2 g) のエタノール (574 mL) 溶液へ、室温で5N水酸化ナトリウム水溶液 (79 mL) を加え、反応混合物を60℃で2時間10分間攪拌した。反応液を室温まで冷却した後、減圧下に半量まで濃縮した。残渣へ水 (300 mL) を加え、減圧下にエタノールを留去した。得られた残渣にMTBE (130 mL) を加え、水層を分配した。有機層を水 (30 mL) で抽出した。あわせた水層を、氷冷下に5N塩酸 (78 mL) にて酸性化後、酢酸エチルで2回抽出した。合わせた有機層を無水硫酸マグネシウムで乾燥し、ろ過し、減圧下に濃縮して標記化合物 (39.0 g) を得た。

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ (ppm) : 1.91 (s, 1.5 H)、1.94 (s, 1.5 H)、1.98 (s, 1.5 H)、2.01 (s, 1.5 H)、2.25-2.56 (m, 2 H)、3.92-4.17 (m, 3 H)、3.96 (s, 1.5 H)、4.00 (s, 1.5 H)、4.23 (dd, $J=16.0, 8.0$ Hz, 1 H)、4.65-4.77 (m, 1 H)、6.99 (brd, $J=10.0$ Hz, 1 H)、7.03 (brd, $J=7.6$ Hz, 1 H)、7.38 (t, $J=7.6$ Hz, 0.5 H)、7.44 (t, $J=7.6$ Hz, 0.5 H)、7.90 (s, 0.5 H)、7.94 (s, 0.5 H)、8.14 (s, 1 H) .

ESI-MS m/z 434 $[\text{M}+\text{Na}]^+$

[0075] (13) 5-[2-フルオロ-4-(2-メトキシ-3,5-ジメチルピリジン-4-イル)フェニル]-1-[(S)-テトラヒドロフラン-3-イル]-1H-ピラゾール-4-カルボキサミドの合成

5-[2-フルオロ-4-(2-メトキシ-3,5-ジメチルピリジン-4-イル)フェニル]-1-[(S)-テトラヒドロフラン-3-イル]-

1H-ピラゾール-4-カルボン酸 (38.7 g) のDMF (290 mL) 溶液へ、室温下にCDI (21.4 g) を一度に加え、室温で95分間撹拌した。この反応混合物へ、28%アンモニア水 (95 mL) を加え、室温で35分間撹拌した。反応液へ再度28%アンモニア水 (95 mL) を加え、室温で90分間撹拌した。反応混合物を減圧下に濃縮した。得られた残渣へクロロホルム (250 mL) と水 (80 mL) を加え、有機層を分離した。水層をクロロホルム (50 mL) で再抽出した。合わせた有機層を、飽和塩化アンモニウム水溶液 (60 mL、3回) および飽和食塩水で順次洗浄し、無水硫酸マグネシウムで乾燥し、ろ過した。ろ液を、シリカパッド (NH-シリカゲル) に通過させた。ろ液を減圧下に濃縮して、標記化合物 (37.2 g) を得た。

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ (ppm) : 1.98 (brs, 6H)、2.24–2.60 (m, 2H)、3.90–4.20 (m, 3H)、3.99 (s, 3H)、4.23 (dd, $J=16.0, 8.0$ Hz, 1H)、4.62–4.71 (m, 1H)、5.32 (brs, 2H)、7.05 (brd, $J=10.0$ Hz, 1H)、7.10 (dd, $J=7.6, 1.2$ Hz, 1H)、7.42–7.56 (m, 1H)、7.94 (brs, 1H)、8.03 (s, 1H)。

ESI-MS m/z 411 $[\text{M}+\text{H}]^+$

[0076] (14) (S)-7-(2-メトキシ-3,5-ジメチルピリジン-4-イル)-1-(テトラヒドロフラン-3-イル)-1H-ピラゾロ[4,3-c]キノリン-4(5H)-オンの合成

5-[2-フルオロ-4-(2-メトキシ-3,5-ジメチルピリジン-4-イル)フェニル]-1-[(S)-テトラヒドロフラン-3-イル]-1H-ピラゾール-4-カルボキサミド (37.2 g) のDMSO (186 mL) 溶液へ、室温下に、水酸化ナトリウム粉末 (9.43 g) を一度に加えた。反応混合物を、同温で50分間、次いで70℃で45分間撹拌した。水冷下に、反応液へ水 (600 mL) を滴下に加え、次いで氷酢酸 (13.

5 mL) を滴下で加えた。析出した粉末をろ取した。ろ取した物を水および MTBE で洗浄後、減圧下に乾燥して、標記化合物 (34.0 g) を得た。

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ (ppm) : 1.92–1.94 (m, 3H)、1.94–1.96 (m, 3H)、2.55–2.66 (m, 1H)、2.76–2.86 (m, 1H)、4.00 (s, 3H)、4.09–4.16 (m, 1H)、4.24–4.37 (m, 2H)、4.39–4.45 (m, 1H)、5.61–5.68 (m, 1H)、7.04 (d, $J=1.5\text{ Hz}$, 1H)、7.08 (dd, $J=1.5\text{ Hz}$, 8.3 Hz, 1H)、7.94 (s, 1H)、8.13 (d, $J=8.3\text{ Hz}$, 1H)、8.31 (s, 1H)、8.86 (s, 1H)。

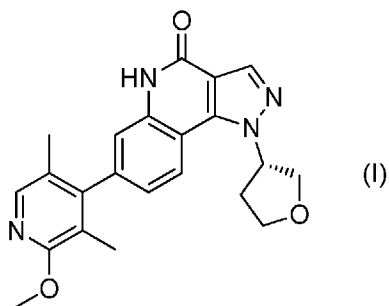
ESI-MS m/z 391 $[\text{M}+\text{H}]^+$

なお、標記化合物は (–) の旋光性を示し、その光学純度は 99% ee 以上 [AD-H, 100% エタノール、保持時間: 9.7 分] であった。

[0077] 参考例 2

(–) – 7 – (2 – メトキシ – 3, 5 – ジメチルピリジン – 4 – イル) – 1 – (テトラヒドロフラン – 3 – イル) – 1H – ピラゾロ [4, 3 – c] キノリン – 4 (5H) – オンの合成

[化3]



[0078] (±) – 5 – (2, 4 – ジメトキシベンジル) – 1 – (テトラヒドロフラン – 3 – イル) – 7 – (4, 4, 5, 5 – テトラメチル – 1, 3, 2 – ジオキサボロラン – 2 – イル) – 1H – ピラゾロ [4, 3 – c] キノリン – 4 (5H) – オンの合成

[0079] (1) エチル 3 – (4 – ブロモ – 2 – クロロフェニル) – 3 – オキシプロ

ピオネートの合成

4-ブロモ-2-クロロ安息香酸 (1 g) を DCM (10 mL) に懸濁した。その懸濁液に、CDI (960 mg) を加え室温にて4時間攪拌した。この溶液を「溶液1」とする。別のフラスコに、窒素雰囲気下、カリウムエチルマロネート (1.1 g) をアセトニトリル (20 mL) に懸濁し、TEA (1.5 mL) を加えた。この溶液を0℃に冷却し、塩化マグネシウム (805 mg) を少しずつ加えた後、室温にて2時間攪拌した。この反応液を0℃に冷却し、先に調製した「溶液1」を滴下した。滴下終了後、室温にて17時間攪拌した。さらに50℃で9時間攪拌した。反応液を減圧下濃縮しDCMを除去した。得られた残渣を0℃に冷却し、酢酸エチル (50 mL) と2N塩酸 (20 mL) を加え、室温にて1時間攪拌した。有機層を分離した。水層を酢酸エチルで抽出した。有機層を合わせ、無水硫酸マグネシウムで乾燥した。乾燥剤をろ去し、ろ液を減圧下濃縮した。得られた残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (酢酸エチル/n-ヘプタン, 0~10%) で精製し、標記化合物 (1.2 g) を得た。

ESI-MS m/z 307 $[M+H]^+$

[0080] (2) (±)-エチル 5-(4-ブロモ-2-クロロフェニル)-1-(テトラヒドロフラン-3-イル)-1H-ピラゾール-4-カルボキシレート
の合成

エチル 3-(4-ブロモ-2-クロロフェニル)-3-オキソプロピオネート (2.00 g) をDMF-DMA (6.96 mL) に溶解し、室温にて1.5時間攪拌した。反応液を減圧下濃縮し、残渣をエタノール (40 mL) に溶解した。その溶液に(±)-(テトラヒドロフラン-3-イル)ヒドラジン・塩酸塩 (998 mg) を加え、2時間加熱還流した。反応液を室温に冷却した後、減圧下濃縮した。残渣を酢酸エチルで抽出し、有機層をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (酢酸エチル/n-ヘプタン, 10~30%) で精製し、標記化合物 (1.05 g) を得た。

ESI-MS m/z 401 $[M+H]^+$

[0081] (3) (±) - 5 - (4 - ブロモ - 2 - クロロフェニル) - 1 - (テトラヒドロフラン - 3 - イル) - 1 H - ピラゾール - 4 - カルボン酸の合成

(±) - エチル 5 - (4 - ブロモ - 2 - クロロフェニル) - 1 - (テトラヒドロフラン - 3 - イル) - 1 H - ピラゾール - 4 - カルボキシレート (1.05 g) および 5 N 水酸化ナトリウム水溶液 (1.58 mL) の混合物をエタノール (20 mL) と水 (5 mL) の混合溶媒中、60℃にて3時間撹拌した。反応液を室温に冷却した後、減圧下濃縮した。残渣に 5 N 塩酸を加え、酢酸エチルで抽出した。有機層を無水硫酸マグネシウムで乾燥させ、乾燥剤をろ過した。ろ液を減圧下濃縮することで、標記化合物 (1 g) を得た。

ESI-MS m/z 371 $[M+H]^+$

[0082] (4) (±) - 5 - (4 - ブロモ - 2 - クロロフェニル) - N - (2, 4 - ジメトキシベンジル) - 1 - (テトラヒドロフラン - 3 - イル) - 1 H - ピラゾール - 4 - カルボキサミドの合成

(±) - 5 - (4 - ブロモ - 2 - クロロフェニル) - 1 - (テトラヒドロフラン - 3 - イル) - 1 H - ピラゾール - 4 - カルボン酸 (1 g) を DCM (20 mL) に溶解し、CDI (611 mg) を加え、室温にて1時間撹拌した。反応液に 2, 4 - ジメトキシベンジルアミン (0.809 mL) を加え、室温にて2時間撹拌した。反応液に飽和炭酸水素ナトリウム水溶液を加え、DCMで抽出した。有機層を減圧下濃縮し、残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (酢酸エチル / n - ヘプタン, 10 ~ 40%) で精製し、標記化合物 (1.26 g) を得た。

ESI-MS m/z 522 $[M+H]^+$

[0083] (5) (±) - 7 - ブロモ - 5 - (2, 4 - ジメトキシベンジル) - 1 - (テトラヒドロフラン - 3 - イル) - 1 H - ピラゾロ [4, 3 - c] キノリン - 4 (5 H) - オンの合成

(±) - 5 - (4 - ブロモ - 2 - クロロフェニル) - N - (2, 4 - ジメトキシベンジル) - 1 - (テトラヒドロフラン - 3 - イル) - 1 H - ピラゾ

ールー４－カルボキサミド（１．２６ｇ）をＴＨＦ（２５ｍＬ）に溶解し、０℃にてＫＴＢ（５９７ｍｇ）を加え、少しずつ室温に昇温させながら１２時間攪拌した。反応液を０℃に冷却し、水を加え、ろ過した。ろ取した物を別途保管した。ろ液を酢酸エチルで抽出し、有機層を減圧下濃縮した。残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー（酢酸エチル／ｎ－ヘプタン，１０～７０％）で精製した。得られたフラクションを先ほど得られた濾物と合わせて濃縮することで、標記化合物（４８８ｍｇ）を得た。

$^1\text{H-NMR}$ （４００ＭＨｚ， CDCl_3 ） δ （ｐｐｍ）：２．５０－２．６２（ｍ，１Ｈ）、２．７２－２．８２（ｍ，１Ｈ）、３．７６（ｓ，３Ｈ）、４．０２（ｓ，３Ｈ）、４．０７－４．１５（ｍ，１Ｈ）、４．１９－４．３２（ｍ，２Ｈ）、４．３５－４．４２（ｍ，１Ｈ）、５．４６－５．５７（ｍ，３Ｈ）、６．３４（ｄｄ， $J=8.6\text{ Hz}$ ， 2.2 Hz ，１Ｈ）、６．５２（ｄ， $J=2.2\text{ Hz}$ ，１Ｈ）、６．９９（ｄ， $J=8.6\text{ Hz}$ ，１Ｈ）、７．３８（ｄｄ， $J=8.6\text{ Hz}$ ， 1.8 Hz ，１Ｈ）、７．８２（ｄ， $J=1.8\text{ Hz}$ ，１Ｈ）、７．８９（ｄ， $J=8.6\text{ Hz}$ ，１Ｈ）、８．３２（ｓ，１Ｈ）。

ESI-MS m/z ５０６ $[\text{M}+\text{Na}]^+$

[0084] （６）（±）－５－（２，４－ジメトキシベンジル）－１－（テトラヒドロフラン－３－イル）－７－（４，４，５，５－テトラメチル－１，３，２－ジオキサボロラン－２－イル）－１Ｈ－ピラゾロ〔４，３－ｃ〕キノリン－４（５Ｈ）－オンの合成

（±）－７－ブロモ－５－（２，４－ジメトキシベンジル）－１－（テトラヒドロフラン－３－イル）－１Ｈ－ピラゾロ〔４，３－ｃ〕キノリン－４（５Ｈ）－オン（３００ｍｇ）、ビス（ピナコラト）ジボロン（２０４ｍｇ）、 $\text{Pd}(\text{dppf})\text{Cl}_2 \cdot \text{DCM}$ 錯体（１３．６ｍｇ）および酢酸カリウム（１８２ｍｇ）の混合物を１，４－ジオキササン（１５ｍＬ）と DMSO （１ｍＬ）の混合溶媒中にて、マイクロウェーブ反応装置を用い、１３０℃にて３時間反応させた。反応液を室温に冷却した後、減圧下濃縮した。残渣を

酢酸エチルで抽出し、有機層を減圧下濃縮した。残渣をシリカゲルパッドに供し、酢酸エチルで溶出することで標記化合物（428 mg）を粗生成物として得た。

ESI-MS m/z 532 $[M+H]^+$

[0085] (7) 3, 5-ジブromo-2-メトキシピリジン-4-アミンの合成

2-メトキシ-ピリジン-4-イルアミン（15 g）とNBS（47.3 g）の混合物を酢酸（150 mL）溶媒中、室温にて3時間攪拌した。反応液を減圧下濃縮し、残渣に0℃にて5 N水酸化ナトリウム水溶液（200 mL）を加え、ジエチルエーテルで抽出した。有機層をそのままシリカゲルパッド（酢酸エチル／*n*-ヘプタン，10%）で精製し、標記化合物（32.4 g）を得た。

ESI-MS m/z 283 $[M+H]^+$

[0086] (8) 2-メトキシ-3, 5-ジメチルピリジン-4-アミンの合成

3, 5-ジブromo-2-メトキシピリジン-4-アミン（16 g）、トリメチルボロキシン（19.8 mL）、Pd(dppf)Cl₂・DCM錯体（4.15 g）および炭酸カリウム（23.5 g）の混合物を、1, 4-ジオキサン（320 mL）および水（32 mL）の混合溶媒中で12時間加熱還流した。反応液を室温に冷却した後、減圧下濃縮した。残渣に水と酢酸エチルを加え、セライト™を用いてろ過した。ろ液を酢酸エチルで抽出し、有機層をシリカゲルパッド（NH-シリカゲル）に供し、酢酸エチルで溶出した。得られた溶液にNH-シリカゲル（30 g）を加え、減圧下濃縮した。残渣をNHシリカゲルカラムクロマトグラフィー（酢酸エチル／*n*-ヘプタン，0～30%）で精製し、標記化合物（4.43 g）を得た。

ESI-MS m/z 153 $[M+H]^+$

[0087] (9) 4-ブromo-2-メトキシ-3, 5-ジメチルピリジンの合成

臭化銅（I）（12.1 g）と亜硝酸 *t*-ブチル（7.07 mL）の混合物をアセトニトリル（80 mL）溶媒中、70℃にて10分攪拌した。その反応液に同温度にて2-メトキシ-3, 5-ジメチルピリジン-4-アミン

(3.9 g) のアセトニトリル (40 mL) 溶液を滴下し、70℃にて1時間攪拌した。反応液を室温に冷却した後、減圧下濃縮した。残渣に酢酸エチルおよび飽和炭酸水素ナトリウム水溶液を加え、室温にて30分攪拌した。反応液をセライト™を用いてろ過し、ろ液を酢酸エチルで抽出した。有機層を減圧下濃縮し、残渣をNHシリカゲルカラムクロマトグラフィー (n-ヘプタン, 100%、続いてNH-シリカゲルパッド, n-ヘプタン, 100%、) で精製し、標記化合物 (4.3 g) を得た。

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ (ppm) : 2.28–2.29 (m, 3H)、2.29–2.31 (m, 3H)、3.93 (s, 3H)、7.77–7.84 (m, 1H) .

ESI-MS m/z 216 $[\text{M}+\text{H}]^+$

[0088] (10) (±)-7-(2-メトキシ-3,5-ジメチルピリジン-4-イル)-1-(テトラヒドロフラン-3-イル)-1H-ピラゾロ[4,3-c]キノリン-4(5H)-オンの合成

(±)-5-(2,4-ジメトキシベンジル)-1-(テトラヒドロフラン-3-イル)-7-(4,4,5,5-テトラメチル-1,3,2-ジオキサボロラン-2-イル)-1H-ピラゾロ[4,3-c]キノリン-4(5H)-オン (219 mg)、4-ブロモ-2-メトキシ-3,5-ジメチルピリジン (134 mg)、Pd(PPh_3)₄ (23.8 mg) および炭酸セシウム (403 mg) の混合物を、1,4-ジオキササン (8 mL) および水 (2 mL) の混合溶媒中、マイクロウェーブ反応装置を用い130℃にて70分間反応させた。反応液を室温に冷却した後、そのままシリカゲルカラムクロマトグラフィー (酢酸エチル/n-ヘプタン, 10%~90%) で精製した。得られたカップリング体をTFA (4 mL) に溶解し、70℃にて2時間攪拌した。反応液を室温に冷却した後、減圧下濃縮した。残渣に飽和炭酸水素ナトリウム水溶液を加え、酢酸エチルで抽出した。有機層を減圧下濃縮し、残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (DCM, 100%、続いて、酢酸エチル/n-ヘプタン, 50%~100%) で精製することで標

記化合物 (78 mg) を得た。

ESI-MS m/z 391 $[M+H]^+$

[0089] (11) (+) - 7 - (2-メトキシ-3, 5-ジメチルピリジン-4-イル) - 1 - (テトラヒドロフラン-3-イル) - 1H-ピラゾロ [4, 3-c] キノリン-4 (5H) - オンおよび (-) - 7 - (2-メトキシ-3, 5-ジメチルピリジン-4-イル) - 1 - (テトラヒドロフラン-3-イル) - 1H-ピラゾロ [4, 3-c] キノリン-4 (5H) - オンの合成

(±) - 7 - (2-メトキシ-3, 5-ジメチルピリジン-4-イル) - 1 - (テトラヒドロフラン-3-イル) - 1H-ピラゾロ [4, 3-c] キノリン-4 (5H) - オンのキラルカラム分析 [AD-H (0.46 cmφ × 15 cm)、移動層: 100%エタノール] を行い、(+) - 体を7.8分、(-) - 体を9.7分確認し、光学分割可能であることを確認した。(±) - 7 - (2-メトキシ-3, 5-ジメチルピリジン-4-イル) - 1 - (テトラヒドロフラン-3-イル) - 1H-ピラゾロ [4, 3-c] キノリン-4 (5H) - オン (78 mg) をエタノール (12 mL) およびメタノール (12 mL) の混合溶媒に溶解し、綿栓ろ過した。ろ液をキラルカラムクロマトグラフィー [DAICEL社製キラルカラム: AD-Hカラム, 溶出溶媒: 100%-エタノール, 流速: 10 mL/分, 溶出時間: 80分/回, インジェクション: 2 mL/回, 短保持時間: (+) - 体, 長保持時間: (-) - 体] で光学分割することで、標記化合物 (+) - 体 (26.4 mg) および (-) - 体 (25.2 mg) を得た。

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ (ppm): 1.92-1.94 (m, 3H)、1.94-1.96 (m, 3H)、2.55-2.66 (m, 1H)、2.76-2.86 (m, 1H)、4.00 (s, 3H)、4.09-4.16 (m, 1H)、4.24-4.37 (m, 2H)、4.39-4.45 (m, 1H)、5.61-5.68 (m, 1H)、7.04 (d, $J=1.5\text{ Hz}$, 1H)、7.08 (dd, $J=1.5\text{ Hz}$, 8.3 Hz, 1H)、7.94 (s, 1H)、8.13 (d, $J=8.3\text{ Hz}$, 1H)

)、8.31 (s, 1H)、8.86 (s, 1H)。

ESI-MS m/z 391 [M+H]⁺

[0090] 上記参考例1に準じて合成した(S)-7-(2-メトキシ-3,5-ジメチルピリジン-4-イル)-1-(テトラヒドロフラン-3-イル)-1H-ピラゾロ[4,3-c]キノリン-4(5H)-オンを以下の塩の合成に用いた。

[0091] 実施例1

(S)-7-(2-メトキシ-3,5-ジメチルピリジン-4-イル)-1-(テトラヒドロフラン-3-イル)-1H-ピラゾロ[4,3-c]キノリン-4(5H)-オン・マレイン酸塩の合成

(S)-7-(2-メトキシ-3,5-ジメチルピリジン-4-イル)-1-(テトラヒドロフラン-3-イル)-1H-ピラゾロ[4,3-c]キノリン-4(5H)-オン(576.32mg)にマレイン酸(243.97mg)とt-ブチルメチルエーテル(6mL)を加え、懸濁液を室温で2日間攪拌した。固体をろ取して、室温で減圧乾燥することにより、表題化合物(713.04mg)を白色固体として得た。

¹H-NMR(600MHz, DMSO-d₆) δ(ppm): 1.87(s, 3H)、1.91(s, 3H)、2.52-2.56(m, 2H)、3.89(s, 3H)、3.93(ddd, J=8, 7, 6Hz, 1H)、4.03(ddd, J=8, 8, 7, 2Hz, 1H)、4.16(ddd, J=9, 5, 3Hz, 1H)、4.21(dd, J=9, 6Hz, 1H)、5.85-5.89(m, 1H)、6.25(s, 2H)、7.09(dd, J=8, 1Hz, 1H)、7.21(d, J=1Hz, 1H)、7.96(s, 1H)、8.18(s, 1H)、8.35(d, J=8Hz, 1H)、11.51(s, 1H)。

¹³C-NMR(100MHz, solid state) δ(ppm): 13.3、16.1、16.7、29.5、35.9、57.2、58.0、61.9、67.4、69.7、74.6、111.8、114.3、12

2. 5、123. 2、125. 7、126. 9、127. 9、132. 7、
133. 8、136. 0、138. 9、154. 8、156. 2、157.
8、158. 9、162. 0、163. 4、164. 7、172. 0
粉末X線回折ピーク ($2\theta \pm 0. 2^\circ$) : 9. 1°、10. 1°、11. 1
°、16. 2°、17. 6°、18. 2°、22. 0°、22. 4°、23
. 8°、25. 8°.

[0092] 上記方法により得られた (S) -7- (2-メトキシ-3, 5-ジメチルピリジン-4-イル) -1
ピリジン-4-イル) -1- (チトラクロラソ-3-イル) -1H-ピラゾロ [4, 3-c] キノリン-4 (5H) -オソ・一アライソ酸塩の結晶
の粉末X線回折パターンを図1に示す。

[0093] 実施例2

(S) -7- (2-メトキシ-3, 5-ジメチルピリジン-4-イル) -1
- (チトラクロラソ-3-イル) -1H-ピラゾロ [4, 3-c] キノ
リン-4 (5H) -オソ・一ベンゼンホルソ酸塩の合成

(S) -7- (2-メトキシ-3, 5-ジメチルピリジン-4-イル) -
1- (チトラクロラソ-3-イル) -1H-ピラゾロ [4, 3-c] キ
ノリン-4 (5H) -オソ (991. 7mg) に2-ブタソ (10mL)
とベンゼンホルソ酸一水和物 (708. 0mg) を加え、懸濁液を室温で
2日間攪拌した。固形物を取り、減圧下室温で乾燥することにより、表
題化合物 (1393. 9mg) を白色固体として得た。

$^1\text{H-NMR}$ (600MHz, DMSO- d_6) δ (ppm) : 1. 87 (s
, 3H)、1. 91 (s, 3H)、2. 52-2. 56 (m, 2H)、3.
89 (s, 3H)、3. 93 (ddd, $J=8, 7, 6\text{Hz}$, 1H)、4.
01-4. 05 (m, 1H)、4. 16 (ddd, $J=9, 5, 3\text{Hz}$, 1
H)、4. 21 (dd, $J=9, 6\text{Hz}$, 1H)、5. 85-5. 89 (m
, 1H)、7. 09 (dd, $J=8, 1\text{Hz}$, 1H)、7. 22 (d, $J=$
1Hz, 1H)、7. 32-7. 26 (m, 3H)、7. 59-7. 57 (m,
2H)、7. 96 (s, 1H)、8. 18 (s, 1H)、8. 35 (d

, $J = 8 \text{ Hz}$, 1H)、11.51 (s, 1H) .

^{13}C -NMR (100MHz, solid state) δ (ppm) : 12.8、16.8、31.3、35.2、59.1、61.0、61.6、62.0、67.9、70.1、70.6、74.7、111.6、114.0、117.5、122.7、125.4、126.8、128.8、130.1、137.7、139.2、146.4、157.8、159.6、160.7

粉末X線回折ピーク ($2\theta \pm 0.2^\circ$) : 6.6° 、 9.9° 、 13.7° 、 14.6° 、 19.0° 、 19.6° 、 20.5° 、 21.7° 、 22.7° 、 23.5° 、 25.7° .

[0094] 上記方法により得られた (S)-7-(2-メトキシ-3,5-ジメチルピリジン-4-イル)-1-(テトラヒドロフラン-3-イル)-1H-ピラゾロ[4,3-c]キノリン-4(5H)-オン・ベンゼンスルホン酸塩の結晶の粉末X線回折パターンを図2に示す。

[0095] 実施例3

(S)-7-(2-メトキシ-3,5-ジメチルピリジン-4-イル)-1-(テトラヒドロフラン-3-イル)-1H-ピラゾロ[4,3-c]キノリン-4(5H)-オン・塩酸塩の合成

(S)-7-(2-メトキシ-3,5-ジメチルピリジン-4-イル)-1-(テトラヒドロフラン-3-イル)-1H-ピラゾロ[4,3-c]キノリン-4(5H)-オン (984.6 mg) にアセトン (20 mL) と 5 N 塩酸 (620 μL) を加え、懸濁液を室温で2日間攪拌した。固形物をろ取して、減圧下室温で乾燥することにより、表題化合物 (1100.21 mg) を白色固体として得た。

粉末X線回折ピーク ($2\theta \pm 0.2^\circ$) : 11.2° 、 12.4° 、 12.7° 、 17.1° 、 23.5° 、 26.5° 、 29.4° .

[0096] 上記方法により得られた (S)-7-(2-メトキシ-3,5-ジメチルピリジン-4-イル)-1-(テトラヒドロフラン-3-イル)-1H-ピラゾロ[4,3-c]キノリン-4(5H)-オン・塩酸塩の結晶の粉末X線回折パターンを図2に示す。

ラゾロ [4, 3-c] キノリン-4 (5H) -オン・塩酸塩の結晶の粉末X線回折パターンを図3に示す。

[0097] 実施例4

(S) - 7 - (2 - メトキシ - 3, 5 - ジメチルピリジン - 4 - イル) - 1 - (テトラヒドロフラン - 3 - イル) - 1 H - ピラゾロ [4, 3 - c] キノリン - 4 (5H) - オン・臭化水素酸塩の合成

(S) - 7 - (2 - メトキシ - 3, 5 - ジメチルピリジン - 4 - イル) - 1 - (テトラヒドロフラン - 3 - イル) - 1 H - ピラゾロ [4, 3 - c] キノリン - 4 (5H) - オン (614.45 mg) にアセトン (6 mL) と 47% 臭化水素酸 (220 μ L) を加え、懸濁液を室温で一晩撹拌した。固形物をろ取して、減圧下室温で乾燥することにより、表題化合物 (719.23 mg) を白色固体として得た。

粉末X線回折ピーク ($2\theta \pm 0.2^\circ$) : 5.6° 、 11.1° 、 12.3° 、 18.5° 、 19.3° 、 22.9° 、 23.4° 、 26.3° 、 29.2° 。

[0098] 上記方法により得られた (S) - 7 - (2 - メトキシ - 3, 5 - ジメチルピリジン - 4 - イル) - 1 - (テトラヒドロフラン - 3 - イル) - 1 H - ピラゾロ [4, 3 - c] キノリン - 4 (5H) - オン・臭化水素酸塩の結晶の粉末X線回折パターンを図4に示す。

[0099] 実施例5

(S) - 7 - (2 - メトキシ - 3, 5 - ジメチルピリジン - 4 - イル) - 1 - (テトラヒドロフラン - 3 - イル) - 1 H - ピラゾロ [4, 3 - c] キノリン - 4 (5H) - オン・p - トルエンスルホン酸塩の合成

(S) - 7 - (2 - メトキシ - 3, 5 - ジメチルピリジン - 4 - イル) - 1 - (テトラヒドロフラン - 3 - イル) - 1 H - ピラゾロ [4, 3 - c] キノリン - 4 (5H) - オン (100.6 mg) に2 - ブタノン (4 mL) と p - トルエンスルホン酸 (65.1 mg) を加え、懸濁液を室温で一晩撹拌した。固形物をろ取して、減圧下室温で乾燥することにより、表題化合物 (

- 153.15mg)を白色固体として得た。
- 粉末X線回折ピーク ($2\theta \pm 0.2^\circ$): 6.5° , 8° , 9.8° , 13.9° , 14.4° , 15.3° , 18.5° , 19.3° , 20.3° , 22.8° , 23.3° , 25.4° , 28.2° .
- [0100] 上記方法により得られた (S) -7- (2-メトキシ-3,5-ジメチルピリジン-4-イル) -1-ピリジン-4-イル) -1- (チトラヒドロラソ-3-イル) -1H-ピラゾロ [4,3-c] キノラゾロ [4,3-c] キノリン-4 (5H) -オン・ポルトルエンアルホソ酸塩の結晶の粉末X線回折パターンを図5に示す。
- [0101] 実施例6

(S) -7- (2-メトキシ-3,5-ジメチルピリジン-4-イル) -1- (チトラヒドロラソ-3-イル) -1H-ピラゾロ [4,3-c] キノリン-4 (5H) -オン・硝酸塩の合成

(S) -7- (2-メトキシ-3,5-ジメチルピリジン-4-イル) -1- (チトラヒドロラソ-3-イル) -1H-ピラゾロ [4,3-c] キノリン-4 (5H) -オン (22.80mg) に酢酸エチル (300 μ L) と60%硝酸 (5.3 μ L) を加え、懸濁液を室温で一晩攪拌した。固形物をろ取して、減圧下室温で乾燥することにより、表題化合物 (14.97mg) を白色固体として得た。

粉末X線回折ピーク ($2\theta \pm 0.2^\circ$): 11.1° , 11.7° , 14.8° , 15.3° , 16.4° , 19.2° , 23.6° , 24.2° , 25.8° .

- [0102] 上記方法により得られた (S) -7- (2-メトキシ-3,5-ジメチルピリジン-4-イル) -1- (チトラヒドロラソ-3-イル) -1H-ピラゾロ [4,3-c] キノリン-4 (5H) -オン・硝酸塩の結晶の粉末X線回折パターンを図6に示す。
- [0103] 実施例7

(S) -7- (2-メトキシ-3,5-ジメチルピリジン-4-イル) -1- (チトラヒドロラソ-3-イル) -1H-ピラゾロ [4,3-c] キノ

リンー4 (5H) -オン・硫酸塩の合成

(S) -7 - (2 -メトキシ -3, 5 -ジメチルピリジン -4 -イル) -1 - (テトラヒドロフラン -3 -イル) -1 H -ピラゾロ [4, 3 -c] キノリン -4 (5H) -オン (23. 53 mg) に2 -ブタノン (300 μ L) と95%硫酸 (4 μ L) を加え、懸濁液を室温で一晩攪拌した。固形物をろ取して、減圧下室温で乾燥することにより、表題化合物 (27. 34 mg) を白色固体として得た。

粉末X線回折ピーク ($2\theta \pm 0. 2^\circ$) : 10. 7 $^\circ$ 、14. 0 $^\circ$ 、14. 5 $^\circ$ 、16. 2 $^\circ$ 、19. 1 $^\circ$ 、20. 0 $^\circ$ 、22. 8 $^\circ$ 、23. 6 $^\circ$ 、25. 3 $^\circ$.

[0104] 上記方法により得られた (S) -7 - (2 -メトキシ -3, 5 -ジメチルピリジン -4 -イル) -1 - (テトラヒドロフラン -3 -イル) -1 H -ピラゾロ [4, 3 -c] キノリン -4 (5H) -オン・硫酸塩の結晶の粉末X線回折パターンを図7に示す。

[0105] 実施例8

(S) -7 - (2 -メトキシ -3, 5 -ジメチルピリジン -4 -イル) -1 - (テトラヒドロフラン -3 -イル) -1 H -ピラゾロ [4, 3 -c] キノリン -4 (5H) -オン・メタンスルホン酸塩の合成

(S) -7 - (2 -メトキシ -3, 5 -ジメチルピリジン -4 -イル) -1 - (テトラヒドロフラン -3 -イル) -1 H -ピラゾロ [4, 3 -c] キノリン -4 (5H) -オン (22. 52 mg) に2 -ブタノン (300 μ L) とメタンスルホン酸 (4. 5 μ L) を加え、懸濁液を室温で一晩攪拌した。固形物をろ取して、減圧下室温で乾燥することにより、表題化合物 (28. 69 mg) を白色固体として得た。

粉末X線回折ピーク ($2\theta \pm 0. 2^\circ$) : 12. 7 $^\circ$ 、14. 8 $^\circ$ 、17. 8 $^\circ$ 、18. 7 $^\circ$ 、23. 4 $^\circ$ 、29. 8 $^\circ$.

[0106] 上記方法により得られた (S) -7 - (2 -メトキシ -3, 5 -ジメチルピリジン -4 -イル) -1 - (テトラヒドロフラン -3 -イル) -1 H -ピ

ラゾロ [4, 3-c] キノリン-4 (5H) -オソ・メタン・ホルホン酸塩の結晶の粉末X線回折パターンを図8に示す。

[0107] 実施例 9

(S) -7-(2-メトキシ-3, 5-ジメチルピリジン-4-イル) -1-(チトラヒドロラソ-3-イル) -1H-ピラゾロ [4, 3-c] キノリン-4 (5H) -オソ・リン酸塩の合成

(S) -7-(2-メトキシ-3, 5-ジメチルピリジン-4-イル) -1-(チトラヒドロラソ-3-イル) -1H-ピラゾロ [4, 3-c] キノリン-4 (5H) -オソ (22. 29 mg) に2-ブタノソ (300 μ L) とリン酸 (4. 6 μ L) を加え、懸濁液を室温で一晩撹拌した。さらにヘキサソ (200 μ L) 添加して撹拌後、固形物をろ取して、減圧下室温で乾燥することにより、表題化合物 (23. 09 mg) を白色固体として得た。

粉末X線回折ピーク ($2\theta \pm 0. 2^\circ$) : 9. 5°, 11. 3°, 15. 2°, 16. 7°, 18. 4°, 23. 5°, 24. 0°.

[0108]

上記方法により得られた (S) -7-(2-メトキシ-3, 5-ジメチルピリジン-4-イル) -1-(チトラヒドロラソ-3-イル) -1H-ピラゾロ [4, 3-c] キノリン-4 (5H) -オソ・リン酸塩の結晶の粉末X線回折パターンを図9に示す。

[0109] 実施例 10

(S) -7-(2-メトキシ-3, 5-ジメチルピリジン-4-イル) -1-(チトラヒドロラソ-3-イル) -1H-ピラゾロ [4, 3-c] キノリン-4 (5H) -オソ・リン酸塩の合成

(S) -7-(2-メトキシ-3, 5-ジメチルピリジン-4-イル) -1-(チトラヒドロラソ-3-イル) -1H-ピラゾロ [4, 3-c] キノリン-4 (5H) -オソ (27. 42 mg) にアセトソ (300 μ L) とリン酸 (20. 18 mg) を加え、懸濁液を室温で3日間撹拌した。固形物をろ取して、減圧下室温で乾燥することにより、表題化合物 (34. 89 mg) を白色固体として得た。

粉末X線回折ピーク ($2\theta \pm 0.2^\circ$) : 10.1° 、 14.1° 、 16.7° 、 17.4° 、 18.2° 、 20.6° 、 23.4° 、 24.0° 、 24.3° 、 26.5° 。

[0110] 上記方法により得られた (S)-7-(2-メトキシ-3,5-ジメチルピリジン-4-イル)-1-(テトラヒドロフラン-3-イル)-1H-ピラゾロ[4,3-c]キノリン-4(5H)-オン・L-酒石酸塩の結晶の粉末X線回折パターンを図10に示す。

[0111] 実施例11

(S)-7-(2-メトキシ-3,5-ジメチルピリジン-4-イル)-1-(テトラヒドロフラン-3-イル)-1H-ピラゾロ[4,3-c]キノリン-4(5H)-オン・マロン酸塩の合成

(S)-7-(2-メトキシ-3,5-ジメチルピリジン-4-イル)-1-(テトラヒドロフラン-3-イル)-1H-ピラゾロ[4,3-c]キノリン-4(5H)-オン (27.70 mg) にアセトン (300 μ L) とマロン酸 (26.65 mg) を加え、懸濁液を室温で3日間攪拌した。固形物をろ取して、減圧下室温で乾燥することにより、表題化合物 (30.49 mg) を白色固体として得た。

粉末X線回折ピーク ($2\theta \pm 0.2^\circ$) : 10.5° 、 16.8° 、 17.4° 、 17.8° 、 18.3° 、 18.9° 、 21.7° 、 22.8° 、 24.2° 、 25.2° 、 26.4° 。

[0112] 上記方法により得られた (S)-7-(2-メトキシ-3,5-ジメチルピリジン-4-イル)-1-(テトラヒドロフラン-3-イル)-1H-ピラゾロ[4,3-c]キノリン-4(5H)-オン・マロン酸塩の結晶の粉末X線回折パターンを図11に示す。

[0113] 実施例12

(S)-7-(2-メトキシ-3,5-ジメチルピリジン-4-イル)-1-(テトラヒドロフラン-3-イル)-1H-ピラゾロ[4,3-c]キノリン-4(5H)-オン・マレイン酸塩の合成

(S) - 7 - (2 - メトキシ - 3, 5 - ジメチルピリジン - 4 - イル) - 1 - (テトラヒドロフラン - 3 - イル) - 1 H - ピラゾロ [4, 3 - c] キノリン - 4 (5 H) - オン (500 mg) に酢酸エチル (2 mL) を加え 25℃にて20分間攪拌した。マレイン酸 (223.0 mg) を酢酸エチル (7.5 mL) にて完全溶解させた溶液を先の懸濁液に加え 25℃にて7日間攪拌した。固体をろ取して、酢酸エチル (1 mL) にて結晶洗浄し、40℃にて減圧乾燥することにより、表題化合物 (366.9 mg) を白色固体として得た。

得られた標記化合物は、実施例1と同一の粉末X線回折ピークを示した。

[0114] [試験例]

PDE9阻害活性試験

1) ヒトリコンビナントPDE9タンパク質の調製

GenBankデータベースに登録されているhsPDE9A1の塩基配列 (Accession No. : AF048837) を基に、以下の配列 (北海道システム・サイエンス社) をプライマーとして、また、Human hippocampus cDNAライブラリー (CLONTECH社) を鋳型DNAとして、Pfu50 DNA polymerase (Invitrogen社) を用いて、以下の条件のポリメラーゼチェーンリアクション (PCR) によりhsPDE9A1 cDNAフラグメントを増幅した。

hPDE9-1プライマー: AGGATGGGATCCGGCTCCTCCA (配列番号1)

hPDE9A-3プライマー: CAGGCACAGTCTCCTTCACTG (配列番号2)

PCRの条件: [96℃、5分] × 1サイクル、[(96℃、10秒)、(57℃、5秒)、(72℃、2分)] × 30サイクル。

[0115] 得られたhsPDE9A1 cDNAフラグメントをTOPO-TA cloning vector (Invitrogen社) に組込み、塩基配列を確認した後、pcDNA3.1/myc His-tag vector

(invitrogen社)に導入し、哺乳動物細胞用ヒトPDE9発現ベクターとした。哺乳動物細胞用ヒトPDE9発現ベクターをLIPOFETAMINE 2000 Reagent (GIBCO社)を用いてHEK293細胞に一過性発現導入した。この細胞でPDE9Aが発現していることをWestern blot法で確認した後、ヒトPDE9A1 cDNAフラグメントをpYNG vector (片倉工業株式会社)に導入し昆虫細胞発現ベクターとした。カイコにより大量発現されたカイコ破碎上清をバッファーA (20 mmol/L Tris-HCl pH8.0、1 mmol/L DTT、10 mmol/L イミダゾール) にて平衡化したNiカラムにて精製した。上清とNiカラムを1時間混和後、バッファーB (20 mmol/L Tris-HCl pH8.0、1 mmol/L DTT) にて洗浄し、バッファーC (20 mmol/L Tris-HCl pH8.0、1 mmol/L DTT、100 mmol/L イミダゾール) にて溶出を行った。溶出画分を分取しPDE9酵素溶液を得た。

[0116] 2) PDE9阻害作用の測定

[³H] -cGMP (1 mCi/mL) を0.5 μ Ci/mLの濃度で含むバッファーD (40 mmol/L Tris-HCl、pH7.4、10 mmol/L MgCl₂、1 mM DTT、2 μ M cGMP) 溶液100 μ Lに、氷冷下にて評価化合物溶液 (化合物をDMSOに溶解し、DMSO濃度が5%となるように希釈したもの) 10 μ L及び上記で調製したPDE9酵素溶液をバッファーE (40 mmol/L Tris-HCl pH7.4、10 mmol/L MgCl₂、1 mM DTT、1 mmol/L EGTA) にて希釈した溶液90 μ Lを加えた。この混合溶液を30°Cにて10分間インキュベートした後、沸騰水中で2分間加熱することにより、PDE9の酵素反応を停止させた。次に、室温に戻して、50 μ Lの5' -Nucleotidase (BIOMOL社、10 units/mL) を加え、30°Cにて10分間インキュベートすることにより、先の反応で生成した [³H] -5' -GMPを [³H] -グアノシンに変換した。この反応液に、陰イオ

ン交換樹脂（Bio-Rad AG1-X2 resin、mesh size 200-400、 $H_2O : resin = 2 : 1$ ）を500 μL 添加し、10分間の放置後に遠心分離（2000 rpm、10分）し、 $[^3H]$ -グアニシンの存在する上清をLumaPlate（パーキンエルマー社）に移し、放射活性をTopCount NXTマイクロプレートシンチレーション・ルミネッセンスカウンター（パーキンエルマー社）で測定した。

[0117] 評価化合物のPDE 9抑制率は、評価化合物を含まないコントロールの放射活性を（A）、酵素を含まないブランクの放射活性を（B）及び評価化合物の放射活性を（C）とし、以下の式を用いて算出した。

$$\text{抑制率} = 100 - \{ [(C) - (B)] / [(A) - (B)] \} \times 100 (\%)$$

また、評価化合物のPDE 9に対する IC_{50} 値は、種々の濃度における抑制率より求めた。参考例2に準じて合成した化合物（I）のPDE 9に対する IC_{50} 値は、0.00943 μM であった。

[0118] げっ歯類脳脊髄液cGMPに対する作用

ICR系雄性マウス（日本チャールズリバー社）、Sprague-Dawley（SD）系雄性ラット（日本チャールズリバー社）、またはLong-Evans（LE）系雄性ラット（（財）動物繁殖研究所）に評価化合物投与後、ペントバルビタール麻酔下に脳脊髄液を採取し、 $-20^{\circ}C$ にて保管した。脳脊髄液中のcGMPの測定はcGMP EIAキット（GE Healthcare社）のAcetylation EIA Procedure、またはcGMP EIAキット（Cayman社）のNon-acetylation Procedureにしたがって行った。結果はvehicle投与群のcGMP量（A）に対しての評価化合物投与群のcGMP量（B）の増加量（C）とし、以下の式を用いて算出した。

$$cGMP \text{ 増加量 } (C) = [(B) - (A)] / (A) \times 100 (\%)$$

参考例1に準じて合成した化合物（I）のcGMP増加量はLE系ラットに10 mg/kg投与したとき1時間後に274%であった。

[0119] げっ歯類海馬 c G M P に対する作用

S D 系雄性ラット（日本チャールズリバー社）、または L E 系雄性ラット（（財）動物繁殖研究所）に評価化合物投与後、ペントバルビタール麻酔下にマイクロウェーブ処置をおこない海馬を摘出し湿重量を測定後、液体窒素にて凍結し -80°C にて保管した。海馬中 c G M P の測定では、湿重量をもとに 5 % (w / v) となるように 0. 5 M 過塩素酸 / 1 m M E D T A 溶液を添加し破碎した。破碎後、遠心分離 (1 0 0 0 0 r p m、1 5 分) をおこない、上清を採取した。採取した上清を 2 M 炭酸水素カリウム溶液により中和し、遠心分離 (1 3 0 0 0 r p m、1 0 分) をおこなった。上清中の c G M P 濃度を c G M P E I A キット (G E H e a l t h c a r e 社) の N o n - a c e t y l a t i o n E I A P r o c e d u r e にしたがって行った。結果は v e h i c l e 投与群の c G M P 量 (A) に対しての評価化合物投与群の c G M P 量 (B) の増加量 (C) とし、以下の式を用いて算出した。

$$\text{c G M P 増加量 (C)} = [(B) - (A)] / (A) \times 100 (\%)$$

参考例 1 に準じて合成した化合物 (I) の c G M P 増加量は L E 系ラットに 1 0 m g / k g 投与したとき 1 時間後に 5 8 % であった。

[0120] 溶出試験

化合物 (I) (5 0 m g)、実施例 1 の化合物 (3 0 m g)、実施例 2 の化合物 (3 0 m g) をそれぞれ等重量のラクトース一水和物とともにヒドロキシプロピルメチルセルロースカプセルに充填した。溶出試験器には A g i l e n t T e c h n o l o g i e s 社製 7 0 8 - D S に小型攪拌パドルと小型ベッセルを装着したものをを用いた。それぞれの薬物充填カプセルを 37°C に加温した 5 0 m L の絶食下ヒト小腸シミュレート液 (f a s t e d s t a t e s i m u l a t e d i n t e s t i n a l f l u i d、0. 7 5 m M のレシチンと 3 m M のタウロコール酸ナトリウムを含む p H 6. 5 のリン酸緩衝液) に投入し、攪拌パドルを 5 0 r p m の速度で回転させて薬物を溶出させた。経時的に溶出液をサンプリングし、H P L C により薬物濃

度を測定した。このような絶食下ヒト小腸シミュレート液を使用した溶出試験は薬物の溶解性および吸収性の評価によく用いられている（たとえば、Takano et al., "Oral absorption of poorly water-soluble drugs: computation of fraction absorbed in humans from a miniscale dissolution test", Pharm Res., vol. 23, p. 1144-1156, 2006.）。結果を表1に、グラフを図12に示す。化合物（1）を用いた場合の化合物濃度に対して、実施例2の化合物を用いた場合は化合物濃度が約2倍、実施例1の化合物を用いた場合は化合物濃度が約4〜5倍高い値を示した。

[表1]

濃度 (μg/mL)		時間 (分)		
化合物(1)	実施例1	6	0.1	6.4
	実施例2	6	0.1	0.0
240	5.4	10	0.3	11.8
	5.2	10	0.5	0.5
180	5.1	15	1.8	20.8
120	5.1	20	3.2	23.3
90	5.2	30	4.4	27.9
60	5.0	60	25.0	10.7
30	5.2	90	23.9	10.6
15	22.1	120	5.1	10.7
7.5	18.8	180	5.2	9.4
3.75	18.8	240	5.4	9.0

[0121] イヌ経口吸収性試験

化合物（1）（100mg）、実施例1の化合物（130mg：一アレイン酸塩、フリー体換算で100mg）をそれぞれヒドロキシプロピルメチルセルロースカプセルに充填したものを投与検体とした。4頭のビーグル犬に対してカプセル剤を少量の水と共に投与後、0.5、1、2、4、6、8、24時間の時点で血液を採取した。遠心分離により得た血漿中の薬物濃度はLC-MS/MSにより測定した。一週間の休薬期間を置き、同一個体に対して化合物（1）および実施例1の化合物についてそれぞれクロスオーバー

で投与を行い、血漿中の薬物濃度の推移を比較した。結果を表2に、グラフを図13に示す。BQLは定量限界以下を、NCは未計算を意味する。血漿中薬物濃度－時間曲線下面積（AUC）の値を表3に示す。化合物（I）を投与した場合の平均AUC値は $1.88 \pm 0.95 \mu\text{g} \cdot \text{h} / \text{mL}$ であったのに対し、実施例1の化合物を投与した場合の平均AUC値は $4.00 \pm 0.45 \mu\text{g} \cdot \text{h} / \text{mL}$ であり、実施例1の化合物の方が吸収率が高く、数値のばらつきも小さかった。

したがって、本発明の塩・結晶は医薬品の原料として好ましい溶出性および経口吸収性が示された。

[表2]

時間 (時間)	血漿濃度($\mu\text{g/mL}$)					
	Dog.1	Dog.2	Dog.3	Dog.4	平均	標準偏差
	化合物(I)					
0.25	BQL	BQL	BQL	BQL	NC	NC
0.5	0.005	0.029	0.034	BQL	0.023	0.015
1	0.055	0.067	0.142	0.017	0.070	0.052
2	0.094	0.061	0.133	0.227	0.129	0.036
4	0.064	0.051	0.104	0.208	0.106	0.028
6	0.045	0.045	0.077	0.164	0.083	0.019
8	0.043	0.041	0.074	0.151	0.077	0.019
24	0.234	0.007	0.009	0.028	0.069	0.130
	実施例1					
0.25	BQL	BQL	0.279	BQL	NC	NC
0.5	0.428	0.140	0.377	0.006	0.315	0.199
1	0.506	0.457	0.422	0.422	0.452	0.039
2	0.343	0.469	0.337	0.401	0.388	0.074
4	0.219	0.313	0.272	0.322	0.282	0.047
6	0.158	0.224	0.217	0.248	0.212	0.036
8	0.134	0.199	0.147	0.210	0.172	0.035
24	0.102	0.023	0.020	0.074	0.055	0.046

[0122]

[表3]

	血漿中濃度-時間曲線下面積 ($\mu\text{g}\cdot\text{h}/\text{mL}$)	
	化合物(I)	実施例1
Dog 1	2.66	3.83
Dog 2	0.77	4.16
Dog 3	1.43	3.49
Dog 4	2.68	4.54
平均	1.88	4.00
標準偏差	0.95	0.45

請求の範囲

- [請求項1] 塩酸、臭化水素酸、硫酸、硝酸、リン酸、マロン酸、マレイン酸、酒石酸、メタンスルホン酸、ベンゼンスルホン酸およびトルエンスルホン酸からなる群から選択される一つの酸と、(S)-7-(2-メトキシ-3,5-ジメチルピリジン-4-イル)-1-(テトラヒドロフラン-3-イル)-1H-ピラゾロ[4,3-c]キノリン-4(5H)-オンと、からなる塩。
- [請求項2] (S)-7-(2-メトキシ-3,5-ジメチルピリジン-4-イル)-1-(テトラヒドロフラン-3-イル)-1H-ピラゾロ[4,3-c]キノリン-4(5H)-オン・マレイン酸塩。
- [請求項3] (S)-7-(2-メトキシ-3,5-ジメチルピリジン-4-イル)-1-(テトラヒドロフラン-3-イル)-1H-ピラゾロ[4,3-c]キノリン-4(5H)-オン・ベンゼンスルホン酸塩。
- [請求項4] 請求項1記載の塩の結晶。
- [請求項5] 粉末X線回折において、回折角度($2\theta \pm 0.2^\circ$) 10.1° に回折ピークを有する、(S)-7-(2-メトキシ-3,5-ジメチルピリジン-4-イル)-1-(テトラヒドロフラン-3-イル)-1H-ピラゾロ[4,3-c]キノリン-4(5H)-オン・マレイン酸塩の結晶。
- [請求項6] 粉末X線回折において、回折角度($2\theta \pm 0.2^\circ$) 9.9° に回折ピークを有する、(S)-7-(2-メトキシ-3,5-ジメチルピリジン-4-イル)-1-(テトラヒドロフラン-3-イル)-1H-ピラゾロ[4,3-c]キノリン-4(5H)-オン・ベンゼンスルホン酸塩の結晶。
- [請求項7] 請求項1記載の塩を有効成分として含有する医薬組成物。