明　細　書

発明の名称 ： ピリジニルピラゾロキノリン化合物

技術分野

[0001] 本発明は、ホスホジエステラーゼ９（ＰＤＥ９）の阻害活性を有するピリジニルピラゾロキノリン化合物およびその薬剤学的に許容される塩ならびにその医薬用途に関する。

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一リン酸（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。

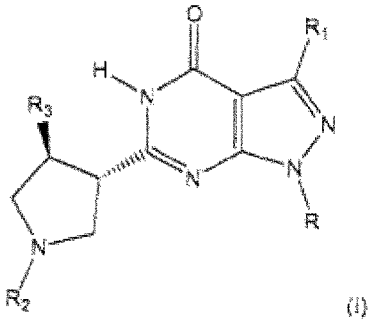
[0004] ｃＧＭＰはホスホジエステラーゼ（以下、ＰＤＥという。）によりＰＫＧ活性化作用を有しない５’－ＧＭＰに代謝される。ＰＤＥには１１種のファミリーが知られており、ＰＤＥ９は、ｃＧＭＰを特異的に代謝し、脳や脾臓

、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が増加することが期待される。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・ゲーリッ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、バッテン病（シュピールマイヤー－フォークト－シェーグレン－バッテン病としても知られている）、ビ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包含）、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―作話症候群）、クラッベ病、レーヴィ小体認知症、進行性ｌｏｇｏｐｅｎｉｃ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（オリーブ橋小脳萎縮症）、重症筋無力症、パーキンソン病、ペリツェウス－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（フィタン酸蓄積症）、サンドホフ病、シルダー病、統合失調症、語義認知症、老人性認知症、シャイ－ドレーガー症候群、脊髄小脳失調、棘筋萎縮症、スティール－リチャードソン－オルスセフスキー病（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。

[0005] 最近では、ＰＤＥ９阻害活性を有し、アルツハイマー病の予防または治療を目的とする以下の化合物が知られている（特許文献１）。

[化1]

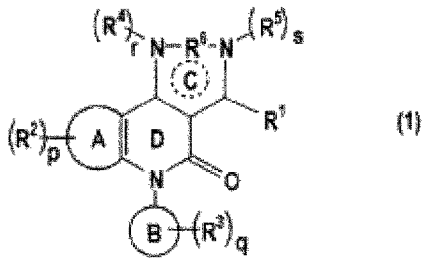


(I)

[0006] 上記化合物はピラゾロピリミジン誘導体であり、ピラゾロキノリン骨格とはまったく異なる構造を有する化合物である。

[0007] 一方、ピラゾロキノリン骨格を有する化合物として、特許文献２に記載の以下の化合物が知られている。

[化2]



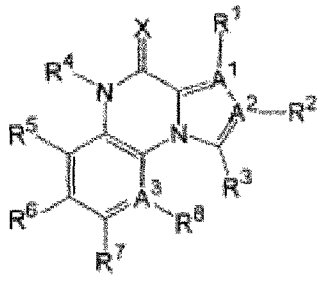
(1)

［式中、環Ａはベンゼン環等であり、Ｒ^{6}は直接結合等である。］

しかしながら、上記化合物において環Ｂはベンゼン環等を示す。また、上記化合物は、ＰＤＥ４の阻害活性を有し、各種炎症性疾患に用いられることが記載されているが、ＰＤＥ９の阻害活性等については記載も示唆もない。

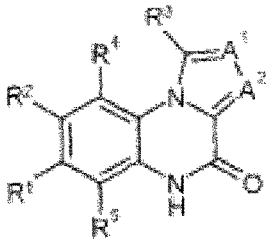
[0008] ＰＤＥ９阻害活性を有する化合物として、特許文献３および特許文献４に記載の以下の化合物が知られている。

[化3]



(I)

[化4]

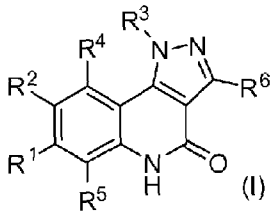


(I)

[0009] 上記化合物はいずれもキノキサリン誘導体であり、ピラゾロキノリン骨格とはまったく異なる構造を有する化合物である。

[0010] ピラゾロキノリン骨格を有しＰＤＥ９阻害活性を有する化合物として、特許文献５に記載の以下の化合物が知られている。

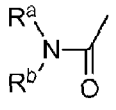
[化5]



(I)

[式中、Ｒ^{1}とＲ^{2}のうち一方は式

[化6]



(II)

の基である。]

[0011] 上記化合物はＲ^{1}またはＲ^{2}が構造的に限定されているため、本願発明化合物とはまったく異なる構造を有する化合物である。

先行技術文献

特許文献

[0012] 特許文献1：国際公開２００８／１３９２９３号

特許文献2：国際公開２００７／０３２４６６号

特許文献3：国際公開２００８／０７２７７９号

特許文献4：国際公開２０１０／１０１２３０号

特許文献5：国際公開２０１２／０３３１４４号

非特許文献

[0013] 非特許文献1：Domek-Lopacinskaet 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：WangX., "Cyclic GMP-dependent protein kinase and cellular signaling in the nervoussystem", J. Neurochem., vol. 68, pp. 443-456, 1997.

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

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

非特許文献5：Bonkaleet al.," Reduced nitric oxide responsive soluble guanylyl cyclase activity inthe 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

[0014] 本発明の課題は、ＰＤＥ９阻害作用を有する新規化合物またはその薬剤学的に許容される塩、およびそれらを含有する医薬組成物を提供することにあ

る。

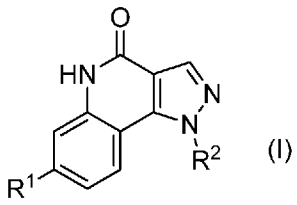
課題を解決するための手段

[0015] 本発明者らは、上記課題を解決すべく、精力的に研究を重ねた結果、ＰＤＥ９阻害作用を有する新規なピリジニルピラゾロキノリン化合物又はその薬剤学的に許容される塩を見出した。

[0016] すなわち、本発明は以下＜１＞から＜１４＞に関する。

＜１＞式（Ｉ）で表わされる化合物またはその薬剤学的に許容される塩。

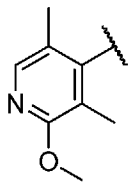
[化7]



(I)

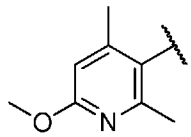
［式中、Ｒ[1]は式

[化8]



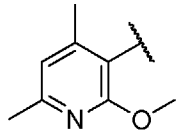
で表わされる基、式

[化9]



で表わされる基または式

[化10]



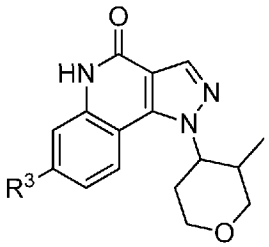
で表わされる基であり、

Ｒ[2]は３－メチルテトラヒドロ－２Ｈ－ピラン－４－イル基または４－メトキ

シシクロヘキシル基である。]

＜２＞式（ＩＩ）で表わされる＜１＞記載の化合物またはその薬剤学的に許容される塩。

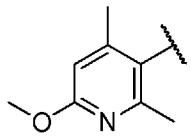
[化11]



(II)

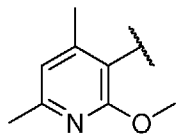
[式中、Ｒ^{3}は式

[化12]



で表わされる基または式

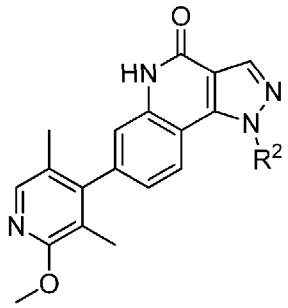
[化13]



で表わされる基である。]

＜３＞式（ＩＩＩ）で表わされる＜１＞記載の化合物またはその薬剤学的に許容される塩。

[化14]



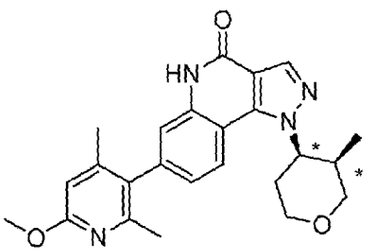
(III)

[式中、Ｒ^{2}は３－メチルテトラヒドロ－２Ｈ－ピラン－４－イル基または４

－メトキシシクロヘキシル基である。］

＜４＞（－）－７－（６－メトキシ－２，４－ジメチルピリジン－３－イル）－１－（（３Ｒ*，４Ｒ*）－３－メチルテトラヒドロ－２Ｈ－ピラン－４－イル）－１Ｈ－ピラゾロ［４，３－ｃ］キノリン－４（５Ｈ）－オン（（－）－ｃｉｓ）またはその薬剤学的に許容される塩。

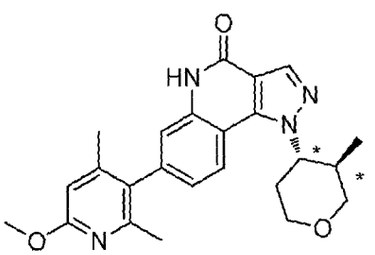
[化15]



* relative stereochemistry chiral

＜５＞（－）－７－（６－メトキシ－２，４－ジメチルピリジン－３－イル）－１－（（３Ｒ*，４Ｓ*）－３－メチルテトラヒドロ－２Ｈ－ピラン－４－イル）－１Ｈ－ピラゾロ［４，３－ｃ］キノリン－４（５Ｈ）－オン（（－）－ｔｒａｎｓ）またはその薬剤学的に許容される塩。

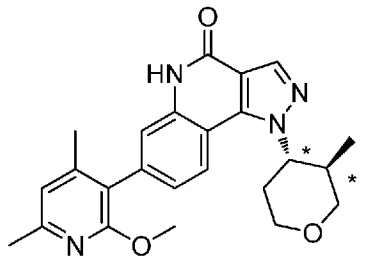
[化16]



* relative stereochemistry chiral

＜６＞（－）－７－（２－メトキシ－４，６－ジメチルピリジン－３－イル）－１－（（３Ｒ*，４Ｓ*）－３－メチルテトラヒドロ－２Ｈ－ピラン－４－イル）－１Ｈ－ピラゾロ［４，３－ｃ］キノリン－４（５Ｈ）－オン（（－）－ｔｒａｎｓ）またはその薬剤学的に許容される塩。

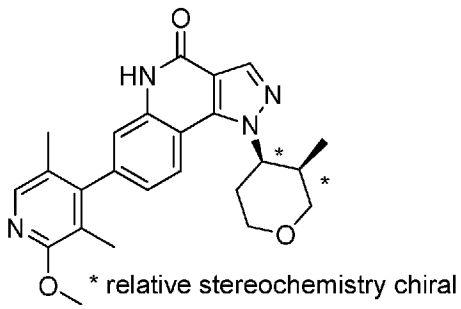
[化17]



* relative stereochemistry chiral

＜７＞（－）－７－（２－メトキシ－３，５－ジメチルピリジン－４－イル）－１－（（３Ｒ＊，４Ｒ＊）－３－メチルテトラヒドロ－２Ｈ－ピラン－４－イル）－１Ｈ－ピラゾロ［４，３－ｃ］キノリン－４（５Ｈ）－オン（（－）－ｃｉｓ）またはその薬剤学的に許容される塩。

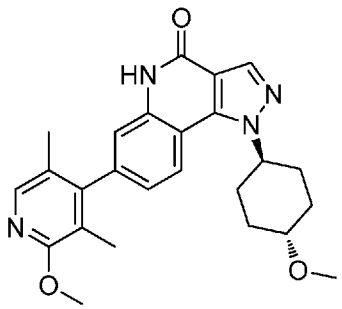
[化18]



* relative stereochemistry chiral

＜８＞７－（２－メトキシ－３，５－ジメチルピリジン－４－イル）－１－（トランス－４－メトキシシクロヘキシル）－１Ｈ－ピラゾロ［４，３－ｃ］キノリン－４（５Ｈ）－オンまたはその薬剤学的に許容される塩。

[化19]



＜９＞＜１＞記載の化合物またはその薬剤学的に許容される塩を有効成分として含有する医薬組成物。

＜１０＞ＰＤＥ９の阻害剤である＜９＞記載の医薬組成物。

＜１１＞脳内ｃＧＭＰ濃度を上昇させるための＜９＞記載の医薬組成物。

＜１２＞＜１＞記載の化合物またはその薬剤学的に許容される塩を含有する、アルツハイマー病における認知機能障害改善剤。

＜１３＞＜１＞記載の化合物またはその薬剤学的に許容される塩を患者に投与する、アルツハイマー病における認知機能障害の改善方法。

＜１４＞アルツハイマー病における認知機能障害の改善に使用される、＜１＞記載の化合物またはその薬剤学的に許容される塩。

発明の効果

[0017] 本発明に係る式（Ｉ）で表されるピリジニルピラゾロキノリン化合物（以下、化合物（Ｉ）という。）および／またはその薬剤学的に許容される塩は、下記の薬理試験例における活性データにて示されているように、ＰＤＥ９阻害作用を有する。本発明の化合物（Ｉ）は、ＰＤＥ９阻害作用として、１０００ｎＭ以下の$ＩＣ_{50}$値を示しているものが殆どであり、１００ｎＭ以下の$ＩＣ_{50}$値を示す化合物が好ましい。

[0018] 本発明の化合物（Ｉ）は、ＰＤＥ９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。ＰＤＥ９阻害作用や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。

発明を実施するための形態

[0019] 以下、本発明の内容について詳細に説明する。

[0020] 本明細書中においては、化合物の構造式が便宜上一定の異性体を表すことがあるが、本発明には化合物の構造上生ずるすべての幾何異性体、光学異性体、立体異性体、互変異性体等の異性体および異性体混合物を含み、便宜上の式の記載に限定されるものではなく、いずれか一方の異性体でも、各異性体を任意の比率で含む混合物でもよい。したがって例えば、本発明の化合物には、光学異性体およびラセミ体が存在することがありえるが、本発明においてはいずれにも限定されず、ラセミ体であっても、各光学活性体のいずれ

かであっても、各光学活性体を任意の比率で含む混合物でもよい。しかしながら、異性体、ラセミ体、異性体混合物のうち、あるものは、他のものよりも活性を示す可能性があると理解されている。

[0021] また、結晶多形が存在することもあるが同様にいずれにも限定されず、いずれかの結晶形の単一物であっても混合物であってもよく、また、本発明には非晶質体も含まれ、そして、本発明にかかる化合物には、無水物と溶媒和物（特に水和物）とが包含される。

[0022] 本発明には、化合物（Ｉ）の同位体標識された化合物も含まれる。同位体標識された化合物は１つ又はそれ以上の原子が自然界に通常見出される原子質量か質量数と異なった原子質量か質量数を有する原子で置き換えられていること以外、化合物（Ｉ）と同一である。本発明の化合物に組み入れることができる同位元素は、例えば、水素、炭素、窒素、酸素、フッ素、リン、硫黄、沃素、および塩素の同位元素であり、^{2}Ｈ、^{3}Ｈ、^{11}Ｃ、^{14}Ｃ、^{15}Ｎ、^{18}Ｏ、^{18}Ｆ、^{32}Ｐ、^{35}Ｓ、^{123}Ｉ、および^{125}Ｉ等が含まれる。

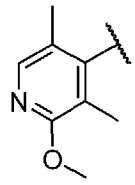
[0023] 上記同位体標識化合物、例えば、^{3}Ｈおよび／または^{14}Ｃなどの放射性同位元素が組み入れられた化合物は医薬および／または基質の組織分布アッセイに有用である。^{3}Ｈと^{14}Ｃはそれらの調製と検出の容易さのため有用と考えられている。同位元素^{11}Ｃおよび^{18}ＦはＰＥＴ（陽電子放射断層撮影）で有用と考えられており、同位元素^{125}ＩはＳＰＥＣＴ（単光子放出コンピュータ断層撮影）で有用と考えられており、脳イメージングですべて有用である。^{2}Ｈなどのより重い同位元素による置換は、より高い代謝的安定性による生体内半減期を増加又は必要用量の減少等のある種の治療上の利点を生じさせ、それ故に、ある状況下では有用と考えられている。上記同位体標識化合物は容易に利用可能な同位体標識された試薬を同位体標識されていない試薬の代わりに用いて、以下の実施例に開示された手順を行うことによって一様に調製することができる。

[0024] 以下に、本明細書において記載する用語、記号等の意義を説明し、本発明を詳細に説明する。

[0025] 式（Ｉ）で表される化合物におけるR^1およびR^2の定義及び好適例について以下に説明する。

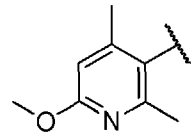
R^1は、式

[化20]



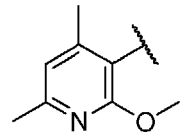
で表わされる基、式

[化21]



で表わされる基または式

[化22]



で表わされる基である。

[0026] R^2は、３－メチルテトラヒドロ－２Ｈ－ピラン－４－イル基または４－メトキシシクロヘキシル基である。

[0027] 本明細書における「薬剤学的に許容される塩」とは、本発明にかかる化合物と塩を形成されるものであれば特に限定されず、具体的には例えば、無機酸塩、有機酸塩、無機塩基塩、有機塩基塩、酸性または塩基性アミノ酸塩等が挙げられる。

[0028] 本明細書における「薬剤学的に許容される塩」とは、特に限定する記載がない限り、適宜な比で塩を形成しさえすれば、形成された塩において、当該化合物１分子に対する酸の分子数は特に限定されないが、好ましくは該化合物１分子に対して酸は、約０．１～約５分子であり、より好ましくは該化合

物１分子に対して酸は約０．５～約２分子であり、さらに好ましくは、当該化合物１分子に対して酸は、約０．５、約１、または約２分子である。

[0029] 無機酸塩の好ましい例としては、例えば塩酸塩、臭化水素酸塩、硫酸塩、硝酸塩、リン酸塩等があげられ、有機酸塩の好ましい例としては、例えば酢酸塩、コハク酸塩、フマル酸塩、マレイン酸塩、酒石酸塩、クエン酸塩、乳酸塩、ステアリン酸塩、安息香酸塩、メタンスルホン酸塩、ｐ－トルエンスルホン酸塩、ベンゼンスルホン酸塩等があげられる。

[0030] 無機塩基塩の好ましい例としては、例えばナトリウム塩、カリウム塩などのアルカリ金属塩；カルシウム塩、マグネシウム塩などのアルカリ土類金属塩；アルミニウム塩；アンモニウム塩などがあげられ、有機塩基塩の好ましい例としては、例えばジエチルアミン塩、ジエタノールアミン塩、メグルミン塩、Ｎ，Ｎ’－ジベンジルエチレンジアミン塩などがあげられる。

[0031] 酸性アミノ酸塩の好ましい例としては、例えばアスパラギン酸塩、グルタミン酸塩などが挙げられ、塩基性アミノ酸塩の好ましい例としては、例えばアルギニン塩、リジン塩、オルニチン塩などがあげられる。

[0032] ［製剤］ 本発明の一般式（Ｉ）の化合物および／またはその薬剤学的に許容し得る塩は、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。

[0033] 経口用固形製剤を製造する場合には、一般式（Ｉ）の化合物および／またはその薬剤学的に許容し得る塩に、必要に応じて、賦形剤、結合剤、崩壊剤、滑沢剤、着色剤等を添加し、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。

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を、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、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ることができるが、もちろんこれらに限定される訳ではない。

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%等の一般式（Ｉ）の化合物および／またはその薬剤学的に許容し得る塩を含むことができる。

[0034] 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、一般式（Ｉ）の化合物および／またはその薬剤学的に許容し得る塩に、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。

ｐＨ調整剤や緩衝剤としては、例えば、有機酸または無機酸および／またはその塩等を、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、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、抗酸化剤としては、例えば、α－トコフェロール等を、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、等張化剤としては、例えば、ブドウ糖、塩化ナトリウム、マンニトール等を挙げることができるが、もちろんこれらに限定される訳ではない。

これらの注射剤は、通常、０．０００００１～９９．５重量%、好ましくは０．００００１～９０重量%等の一般式（Ｉ）の化合物および／またはその薬剤学的に許容し得る塩を含むことができる。

[0035] 外用剤を製造する場合には、一般式（Ｉ）の化合物および／またはその薬

剤学的に許容し得る塩に、基剤原料を添加し、必要に応じて、前記の例えば、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。

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。

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%等の一般式（Ｉ）の化合物および／またはその薬剤学的に許容し得る塩を含むことができる。

[0036] 本発明の化合物は生理活性低分子化合物の標的タンパクを捕捉するためのケミカルプローブとすることができる。すなわち、本発明の化合物は、当該化合物の活性発現に必須な構造部分とは異なる部分に、Ｊ．　Ｍａｓｓ　Ｓｐｅｃｔｒｕｍ．　Ｓｏｃ．　Ｊｐｎ．　Ｖｏｌ．　５１，　Ｎｏ．　５　２００３，　ｐ４９２－４９８または　ＷＯ２００７／１３９１４９等に記載の手法で標識基、リンカー等を導入することでアフィニティークロマトグラフィー、フォトアフィニティープローブ等に変換することができる。

[0037] ケミカルプローブに用いる標識基、リンカー等は、例えば以下の（１）ないし（５）からなる群に示される基が挙げられる。

（１）光親和性標識基（例えば、ベンゾイル基、ベンゾフェノン基、アジド基、カルボニルアジド基、ジアジリジン基、エノン基、ジアゾ基およびニトロ基等）および化学親和性基（例えば、アルファー炭素原子がハロゲン原子で置換されたケトン基、カルバモイル基、エステル基、アルキルチオ基、α、β－不飽和ケトン、エステル等のマイケル受容体、およびオキシラン基等）等のタンパク質標識基、

（２）－Ｓ－Ｓ－、－Ｏ－Ｓｉ－Ｏ－、単糖（グルコース基、ガラクトース基等）または二糖（ラクトース等）等の開裂可能なリンカー、および酵素反応で開裂可能なオリゴペプチドリンカー、

（３）ビオチン、３－（４，４－ジフルオロ－５，７－ジメチル－４Ｈ－３ａ，４ａ－ジアザ－４－ボラ－ｓ－インダセン－３－イル）プロピオニル基等のフィッシングタグ基、

（４）^{125}Ｉ、^{32}Ｐ、^{3}Ｈ、^{14}Ｃなどの放射性標識基；フルオレセイン、ローダミン、ダンシル、ウンベリフェロン、７－ニトロフラザニル、３－（４，４－ジフルオロ－５，７－ジメチル－４Ｈ－３ａ，４ａ－ジアザ－４－ボラ－ｓ－インダセン－３－イル）プロピオニル基等の蛍光標識基；ルミフェリン、ルミノール等の化学発光基；ランタノイド金属イオン、ラジウムイオン等の重金属イオン等の検出可能なマーカーまたは

（５）ガラスビーズ、ガラスベット、マイクロタイタープレート、アガロースビーズ、アガロースベッド、ポリスチレンビーズ、ポリスチレンベッド、ナイロンビーズ、ナイロンベッド等の固相担体と結合させる基等。

上記の（１）ないし（５）からなる群より選択される標識基等を上記文献に記載の方法等に準じて本発明の化合物に導入して調製されるプローブは、新たな創薬ターゲットの探索等に有用な標識タンパクの同定のためのケミカルプローブとして用いることができる。

実施例

[0038] 本発明の化合物（Ｉ）は、例えば、以下の実施例に記載した方法またはそれに準じた方法により製造することができ、また、当該化合物の効果は、以下の試験例に記載した方法により確認することができる。ただし、これらは例示的なものであって、本発明は、如何なる場合も以下の具体例に制限されるものではなく、また本発明の範囲を逸脱しない範囲で変化させてもよい。

[0039] 文献名等が記載されている化合物は、その文献等に従って製造したことを示す。

[0040] また、本明細書に使用される略号は当業者に周知の慣用的な略号である。

本明細書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

ＤＩＰＥＡ：Ｎ，Ｎ－ジイソプロピルエチルアミン

ＤＭＦ：Ｎ，Ｎ－ジメチルホルムアミド

ＤＭＦ－ＤＭＡ：Ｎ，Ｎ－ジメチルホルムアミドジメチルアセタール

ＤＭＳＯ：ジメチルスルホキシド

ＤＴＴ：ジチオスレイトール

ＥＤＣ：１－エチル－３－（３－ジメチルアミノプロピル）カルボジイミド塩酸塩

ＥＤＴＡ：エチレンジアミン四酢酸

ＥＧＴＡ：グリコールエーテルジアミン四酢酸

ＨＯＢＴ：１－ヒドロキシベンゾトリアゾール

ＫＴＢ：カリウム　ｔｅｒｔ－ブトキシド

ＭＴＢＥ：ｔ－ブチルメチルエーテル

ｎ－：ノルマル

ｐ－：パラ

Ｐｄ（ｄｐｐｆ）Cl_2・ＤＣＭ錯体：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）・ＤＣＭ錯体

Ｐｄ（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）

ｔ－：ターシャリー

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

^{1}Ｈ－ＮＭＲ：プロトン核磁気共鳴スペクトルメトリー

ＬＣ－ＭＳ：液体クロマトグラフィー－マススペクトルメトリー

[0041] 以下の実施例及び製造例中の「室温」は通常約１０℃から約３５℃を示す。％は特記しない限り重量パーセントを示す。

[0042] 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：ブロードダブレット。

[0043] 化合物の光学分割には、Ｂｉｏｔａｇｅ社製Ｐａｒａｌｌｅｘ　ＦｌｅｘTM（カラム：ＤＡＩＣＥＬ社製ＣＨＩＲＡＬＰＡＫ（登録商標）　ＡＤ－Ｈ，ＩＡ，ＩＢ，ＩＣ，ＤＡＩＣＥＬ社製ＣＨＩＲＡＬＣＥＬ（登録商標）　ＯＤ－Ｈ，ＯＪ－Ｈのいずれか、カラムサイズ：２ｃｍφ×２５ｃｍ）、流速１０．０ｍＬ／分を用いた。旋光度（＋／－）は、日本分光ＯＲ－２０９０型旋光度検出器（水銀キセノン（Ｈｇ－Ｘｅ）ランプ、１５０Ｗ）を用いて測定した。

クロマトグラフィーに関して、シリカゲルカラムクロマトグラフィーと記載がある場合は、ＹＡＭＡＺＥＮ社製パラレルプレップ（カラム：ＹＡＭＡＺＥＮ社製　Ｈｉ－Ｆｌａｓｈ™ Ｃｏｌｕｍｎ（Ｓｉｌｉｃａｇｅｌ）、サイズ；Ｓ（１６×６０ｍｍ）、Ｍ（２０×７５ｍｍ）、Ｌ（２６×１００ｍｍ）、２Ｌ（２６×１５０ｍｍ）、３Ｌ（４６×１３０ｍｍ）のいずれか）、富士シリシア化学株式会社製クロマトグラフィー用シリカゲル球状ＰＳＱ　６０Ｂ™、富士シリシア化学株式会社製クロマトグラフィー用シリカゲルＢＷ－３００™、ワコーゲル（登録商標）Ｃ－２００（和光純薬工業）、またはＭｅｒｃｋ　Ｌｔｄ．　Ｊａｐａｎシリカゲル６０（登録商標）（７０～２３０ｍｅｓｈ）を用いた。また、ＮＨシリカゲルカラムクロマトグラフィーと記載がある場合は、ＹＡＭＡＺＥＮ社製パラレルプレップ（カラム：ＹＡＭＡＺＥＮ社製　Ｈｉ－Ｆｌａｓｈ™ Ｃｏｌｕｍｎ（Ａｍｉｎｏ）、サイズ；Ｓ（１６×６０ｍｍ）、Ｍ（２０×７５ｍｍ）、Ｌ（２６×１００ｍｍ）、２Ｌ（２６×１５０ｍｍ）、３Ｌ（４６×１３０ｍｍ）のいずれ

か）、あるいは、ＦＵＪＩ　ＳＩＬＩＳＩＡ　ＣＨＥＭＩＣＡＬ　ＬＴＤ．ＮＨ　ＳＩＬＩＣＡ　ＧＥＬ（２００～３５０ｍｅｓｈ）を用いた。

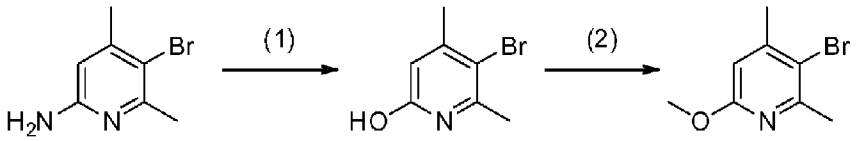
[0044] （±）－はラセミ体を、（＋）－、（－）－はそれぞれエナンチオマーの（＋）型、（－）型であることを示す。

[0045] 以下に示す化合物の命名は、一般的に用いられる試薬を除き、「Ｅ－ノートブック（登録商標）」バージョン１２（パーキンエルマー社）で表示されたものを用いた。

[0046] 製造例１

３－ブロモ－６－メトキシ－２，４－ジメチルピリジンの合成

[化23]



[0047] （１）５－ブロモ－４，６－ジメチルピリジン－２－オールの合成

２－アミノ－５－ブロモ－４，６－ジメチルピリジン（１５ｇ）を硫酸（１４．２ｍＬ）および水（２１２ｍＬ）の混合溶液に溶解させた。得られた溶液に、０℃にて亜硝酸ナトリウム（６．１８ｇ）の水（３１ｍＬ）溶液を加えた。その反応液を室温にて１時間撹拌した後、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させ、乾燥剤をろ過した。ろ液を減圧下濃縮し、残渣にＭＴＢＥを加え固体を析出させた後、ろ過した。得られた固体をＭＴＢＥで洗浄することで、標記化合物（１３．７ｇ）を得た。

ＥＳＩ－ＭＳ　ｍ／ｚ　２０４［Ｍ＋Ｈ］$^{+}$

[0048] （２）３－ブロモ－６－メトキシ－２，４－ジメチルピリジンの合成

５－ブロモ－４，６－ジメチルピリジン－２－オール（７ｇ）、ヨウ化メチル（２１．６ｍＬ）および炭酸銀（１９．１ｇ）の混合物を、クロロホルム（１４０ｍＬ）中、室温にて３６時間撹拌した。反応液をシリカゲルパッドに供し、混合溶媒（酢酸エチル：ｎ－ヘプタン＝２：８）を用いて溶出した。得られたフラクションを減圧下濃縮することで、標記化合物（６．９８

ｇ）を得た。

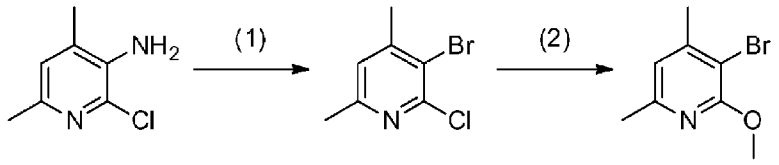
^{1}Ｈ－ＮＭＲ（４００ＭＨｚ，ＣＤＣｌ$_3$）δ（ｐｐｍ）：２．３２－２．３５（ｍ，３Ｈ），２．５６－２．５８（ｍ，３Ｈ），３．８８（ｓ，３Ｈ），６．４３－６．４８（ｍ，１Ｈ）．

ＥＳＩ－ＭＳ　ｍ／ｚ　２１６［Ｍ＋Ｈ］$^+$

[0049] 製造例２

３－ブロモ－２－メトキシ－４，６－ジメチルピリジンの合成

[化24]



[0050] （１）３－ブロモ－２－クロロ－４，６－ジメチルピリジンの合成

２－クロロ－４，６－ジメチルピリジン－３－アミン（２．８５ｇ）を臭化水素酸（１５ｍＬ，４８％水溶液）に溶解させ、０℃に冷却した。その溶液に亜硝酸ナトリウム（１．５１ｇ）の水（２ｍＬ）溶液をゆっくりと滴下し、０℃にて１５分間撹拌した。その溶液に臭化銅（Ｉ）（４．１８ｇ）の臭化水素酸（５ｍＬ，４８％水溶液）懸濁液を滴下し、０℃にて１０分間撹拌した後、６０℃にて１時間撹拌した。反応液を室温に冷却した後、酢酸エチルを用いて抽出した。有機層をそのままＮＨ－シリカゲルパッドに供し、酢酸エチルを用いて溶出した。得られた溶液を減圧下濃縮し、残渣をＮＨシリカゲルカラムクロマトグラフィー（酢酸エチル／ｎ－ヘプタン，０～３０％）で精製し、標記化合物（２．９７ｇ）を得た。

ＥＳＩ－ＭＳ　ｍ／ｚ　２２０［Ｍ＋Ｈ］$^+$

[0051] （２）３－ブロモ－２－メトキシ－４，６－ジメチルピリジンの合成

３－ブロモ－２－クロロ－４，６－ジメチルピリジン（２．９７ｇ）、２８％　ナトリウムメトキシド　メタノール溶液（１１．０ｍＬ）およびＤＭＦ（３０ｍＬ）の混合物を、８０℃にて３６時間撹拌した。反応液に水を加え、ジエチルエーテルで抽出した。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（酢酸エチル／ｎ－ヘプタン，０～１０％）で精製し、標記化合物（２．３３ｇ）を得た。

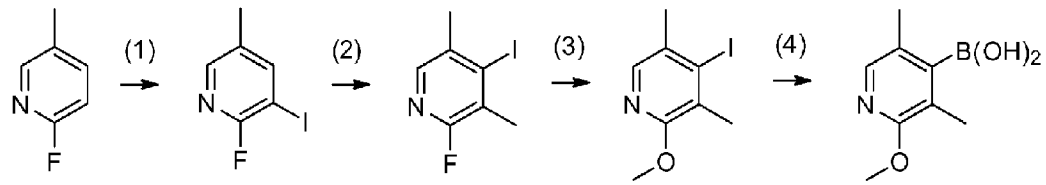
^{1}Ｈ－ＮＭＲ（４００ＭＨｚ，ＣＤＣｌ$_3$）δ（ｐｐｍ）：２．３３－２．３４（ｍ，３Ｈ），２．３６－２．３８（ｍ，３Ｈ），３．９８（ｓ，３Ｈ），６．６１－６．６４（ｍ，１Ｈ）．

ＥＳＩ－ＭＳ　ｍ／ｚ　２１６［Ｍ＋Ｈ］$^+$

[0052] 製造例３

（２－メトキシ－３，５－ジメチルピリジン－４－イル）ボロン酸の合成

[化25]



[0053] （１）２－フルオロ－３－ヨード－５－メチルピリジンの合成

２．６９Ｍ　ｎ－ブチルリチウム　ヘキサン溶液（２２４ｍＬ）を、ジイソプロピルアミン（９２ｍＬ）およびＴＨＦ（１．２Ｌ）の混合物に、窒素雰囲気下、－１８℃にて滴下した。滴下終了後、この混合物を撹拌しながら２０分かけて－５℃まで昇温した。反応液を－７３℃に冷却し、この反応液に２－フルオロ－５－メチルピリジン（６１ｇ）のＴＨＦ溶液（２４０ｍＬ）を滴下した。反応混合物を－７５℃にて３時間半撹拌した。この反応液にヨウ素（１３９ｇ）のＴＨＦ溶液（２４ｍＬ）を滴下した。反応混合物を－７５℃にて１時間５５分撹拌した。反応終了後、同温で水（２２０ｍＬ）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（１．２Ｌ）を加えた。この混合物に、チオ硫酸ナトリウム五水和物（１３６ｇ）水溶液（３００ｍＬ）と水（３００ｍＬ）を加え、１０分間撹拌した。この混合物をＭＴＢＥ（１．２Ｌ）で抽出した。有機層を飽和食塩水（５００ｍＬ）で洗浄した。合わせた水層をＭＴＢＥ（１Ｌ）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、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（１０９．６９ｇ）得た。

^{1}Ｈ－ＮＭＲ（４００ＭＨｚ，ＣＤＣｌ$_3$）δ（ｐｐｍ）：２．２９－２．３１（ｍ，３Ｈ），７．９３－８．１４（ｍ，２Ｈ）．

ＥＳＩ－ＭＳ　ｍ／ｚ　２３８［Ｍ＋Ｈ］$^+$

[0054] （２）２－フルオロ－４－ヨード－３，５－ジメチルピリジンの合成

２．６９Ｍ　ｎ－ブチルリチウム　ヘキサン溶液（２１５ｍＬ）を、ジイソプロピルアミン（８８ｍＬ）およびＴＨＦ（１．２Ｌ）の混合物に、窒素雰囲気下、－１８℃にて滴下した。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、この反応液に２－フルオロ－３－ヨード－５－メチルピリジン（１０９．６９ｇ）のＴＨＦ溶液（２４０ｍＬ）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（３６ｍＬ）のＴＨＦ溶液（１６０ｍＬ）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、同温で水（２００ｍＬ）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（１．２Ｌ）を加えた。得られた混合物を３分間撹拌し、更に水（３００ｍＬ）を加えた。この混合物をＭＴＢＥ（１．２Ｌ）で抽出した。有機層を飽和食塩水（５００ｍＬ）で洗浄した。合わせた水層をＭＴＢＥ（１Ｌ）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（１００ｍＬ）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（８６．９ｇ）得た。

^{1}Ｈ－ＮＭＲ（４００ＭＨｚ，ＣＤＣｌ$_3$）δ（ｐｐｍ）：２．３９－２．４０（ｍ，６Ｈ），７．８０－７．８２（ｍ，１Ｈ）．

ＥＳＩ－ＭＳ　ｍ／ｚ　２５２［Ｍ＋Ｈ］$^+$

[0055] （３）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（９７．４ｇ）のＴＨＦ（９５４ｍＬ）に、２０℃で、２８％ナトリウムメトキシド　メタノール溶液（１８５ｍＬ）を加えた。この混合物を５５℃～６５℃にて２時間撹拌した。反応液を冷却した後、ＭＴＢＥ（１Ｌ）と水（１Ｌ）を加えて分配した。有機層を飽和食塩水で洗浄した。合わせた水層をＭＴＢＥ（５００ｍＬ×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（５０ｍＬ）を加え、０℃にて１時間撹拌した。析出した固体をろ取した。冷やしたｎ－ヘプタン（１０ｍＬ）で固体を洗浄し、標記化合物（４２．６ｇ）を得た。ろ液を減圧下濃縮した。残渣にｎ－ヘプタン（５ｍＬ）を加え、０℃にて３０分間撹拌した。析出した固体をろ取した。冷やしたｎ－ヘプタン（２ｍＬ）で固体を洗浄し、標記化合物（２０．２ｇ）を得た。ろ液を減圧下濃縮した。残渣にｎ－ヘプタン（５ｍＬ）を加え、０℃にて３０分間撹拌した。析出した固体をろ取した。冷やしたｎ－ヘプタン（２ｍＬ）で固体を洗浄し、標記化合物（１０．７ｇ）を得た。合わせて標記化合物（７３．５ｇ）を得た。

^{1}Ｈ－ＮＭＲ（４００ＭＨｚ，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［Ｍ＋Ｈ］$^{+}$

[0056] （４）<u>（２－メトキシ－３，５－ジメチルピリジン－４－イル）ボロン酸の合成</u>

２．６９Ｍ　ｎ－ブチルリチウム　ヘキサン溶液（６．５ｍＬ）を、４－ヨード－２－メトキシ－３，５－ジメチルピリジン（２．０ｇ）およびＴＨＦ（４０ｍＬ）の混合物に、－７８℃にて、１０分間かけて滴下した。この混合物を－７８℃にて２０分間撹拌した。この混合物にホウ酸トリイソプロピル（５．２６ｍＬ）を５分間かけて滴下した。この混合物を１．５時間かけて２０℃まで昇温しながら撹拌した。反応液に水を加えて酢酸エチルで抽

出した。得られた水層をクエン酸で中和し、酢酸エチルで抽出した。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去した後、ろ液を減圧下濃縮した。残渣にＭＴＢＥを加えトリチュレートした。析出した固体をろ取した。この固体を一番晶とする。ろ液を減圧下濃縮した。残渣にＭＴＢＥを加えトリチュレートした。析出した標記化合物（５５１ｍｇ）をろ取した。一番晶を酢酸エチルに懸濁した。少量のＭＴＢＥを加えトリチュレートした。析出した標記化合物（５５３．３ｍｇ）をろ取した。ろ液を減圧下濃縮した。残渣にＭＴＢＥを加えトリチュレートした。析出した標記化合物（１２１．１ｍｇ）をろ取した。合わせて標記化合物（１．２３ｇ）を得た。

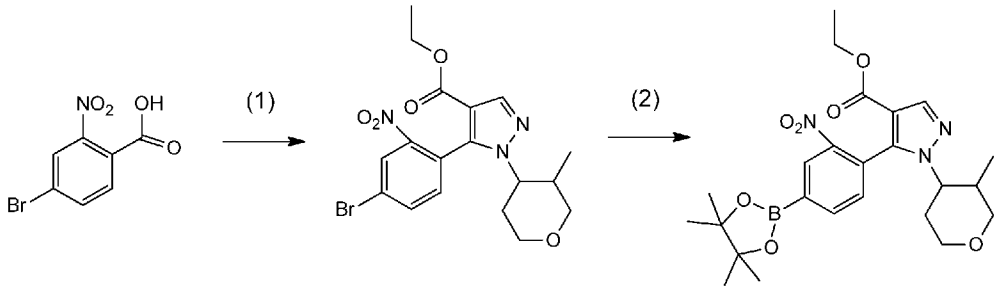
^{1}Ｈ－ＮＭＲ（４００ＭＨｚ，ＣＤＣｌ$_{3}$）δ（ｐｐｍ）：２．１９－２．２０（ｍ，３Ｈ），２．２３－２．２４（ｍ，３Ｈ），３．９１（ｓ，３Ｈ），４．９４（ｂｒｓ，２Ｈ），７．７４（ｓ，１Ｈ）．

ＥＳＩ－ＭＳ　ｍ／ｚ　１８２［Ｍ＋Ｈ］$^{+}$

[0057] 製造例４

エチル　１－（３－メチルテトラヒドロ－２Ｈ－ピラン－４－イル）－５－［２－ニトロ－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］－１Ｈ－ピラゾール－４－カルボキシレートの合成

[化26]



[0058] （１）エチル　５－（４－ブロモ－２－ニトロフェニル）－１－（３－メチルテトラヒドロ－２Ｈ－ピラン－４－イル）－１Ｈ－ピラゾール－４－カルボキシレートの合成

塩化チオニル（１．９ｍＬ）を、４－ブロモ－２－ニトロ安息香酸（６ｇ）およびアセトニトリル（６０ｍＬ）の混合物に加え、５０℃にて２時間撹拌した。反応液にトリエチルアミン（６．８ｍＬ）およびエチル　３－ジメチルアミノアクリレート（３．９ｍＬ）を氷冷下、滴下した。室温で２時間撹拌した後、反応液をろ過した。ろ液を減圧下濃縮した。残渣に酢酸エチルを加え、得られた懸濁液をろ過した後、ろ液を減圧下濃縮した。この操作をさらに２回繰り返した。得られたろ液を減圧下濃縮し、エチル　２－（４－ブロモ－２－ニトロベンゾイル）－３－（ジメチルアミノ）アクリレート（１１ｇ）を粗生成物として得た。このエチル　２－（４－ブロモ－２－ニトロベンゾイル）－３－（ジメチルアミノ）アクリレート（２．９５ｇ）をアセトニトリル（２０ｍＬ）に溶解した。この溶液に、（３－メチルテトラヒドロ－２Ｈ－ピラン－４－イル）ヒドラジン　塩酸塩（１．３ｇ）（Ｇｉｏｖａｎｎｉｎｉ，　ＲｉｃｃａｒｄｏらＰＣＴ　Ｉｎｔ．　Ａｐｐｌ．（２００９），ＷＯ２００９１２１９１９／Ｅｘａｍｐｌｅ８ＣＡ，８ＣＢに準じて合成した。）と水（２ｍＬ）を加えた。この反応混合物を室温にて一晩撹拌した後、９０℃にて２時間撹拌した。反応液を室温まで冷却した後、減圧下濃縮した。残渣に酢酸エチルと水を加え、有機層を分離した。水層を酢酸エチルで抽出した。合わせた有機層を無水硫酸マグネシウムで乾燥し、乾燥剤をろ過した。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（酢酸エチル／ｎ－ヘプタン，１０～１００％）で精製し、標記化合物（０．６６ｇ）を得た。

ＥＳＩ－ＭＳ　ｍ／ｚ　４６０［Ｍ＋Ｎａ］$^{+}$

[0059] （２）エチル　１－（３－メチルテトラヒドロ－２Ｈ－ピラン－４－イル）－５－［２－ニトロ－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］－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－ニトロフェニル）－１－（３－メチルテトラヒドロ－２Ｈ－ピラン－４－イル）－１Ｈ－ピラゾール－４－カルボキ

シレート（３９８ｍｇ）、ビス（ピナコラト）ジボロン（２７７ｍｇ）、酢酸カリウム（２６７ｍｇ）およびＰｄ（ｄｐｐｆ）Cl_2・ＤＣＭ錯体（３７．１ｍｇ）を１，４－ジオキサン（１０ｍＬ）に加えた。この混合物を９０℃で窒素雰囲気下２時間撹拌した。反応液を室温まで冷却した後、セライトろ過した。ろ液に酢酸エチル（５０ｍＬ）と水（５０ｍＬ）を加え、有機層と水層を分離した。水層を酢酸エチル（５０ｍＬ）で抽出した。合わせた有機層を飽和食塩水（５０ｍＬ）で洗浄し、無水硫酸マグネシウムを用いて乾燥後、乾燥剤をろ過した。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（酢酸エチル／ｎ－ヘプタン，１０～８０％）で精製し、標記化合物（４４１．０ｍｇ）を粗生成物として得た。

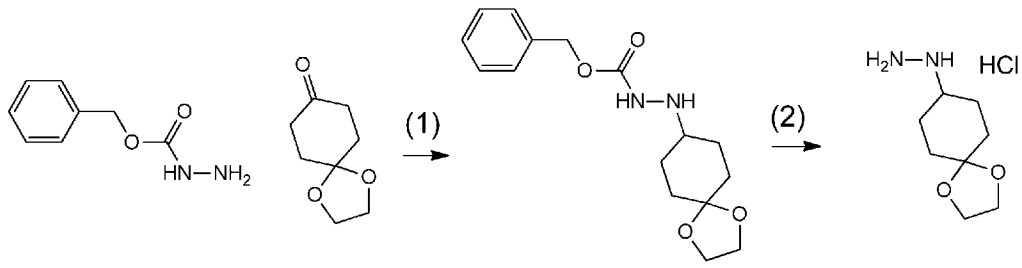
ＥＳＩ－ＭＳ　ｍ／ｚ　４０５［Ｍ－C_6H_{10}＋Ｈ］$^+$

標記化合物の４，４，５，５－テトラメチル－１，３，２－ジオキサボロラン構造が分解し、ボロン酸（Ｂ（ＯＨ）$_2$）となった化合物の分子量が検出された。

[0060] 製造例５

<u>（１，４－ジオキサスピロ［４．５］デカン－８－イル）ヒドラジン　塩酸塩の合成</u>

[化27]



[0061] （１）<u>ベンジル　２－（１，４－ジオキサスピロ［４．５］デカン－８－イル）ヒドラジンカルボキシレートの合成</u>

１，４－シクロヘキサンジオン　モノエチレンケタール（ＣＡＳ　Ｎｏ．４７４６－９７－８，５．０ｇ）のメタノール（１００ｍＬ）溶液に、ベンジル　カルバゼート（ＣＡＳ　Ｎｏ．５３３１－４３－１，５．３２ｇ）を

加え、室温で１時間撹拌した。反応液を濃縮した。得られた残渣をＴＨＦに溶解し、再度濃縮した。得られた残渣のＴＨＦ（８０ｍＬ）溶液に、水素化ホウ素ナトリウム（２．４２ｇ）を室温で加え、同温で１５分間撹拌した。反応液を氷冷した後、反応液へ、メタノール（１０ｍＬ）を３０分間かけて滴下で加え、反応液を室温で１．５時間撹拌した。次いで反応液へ水（１５ｍＬ）を１５分間かけて滴下で加えた後、反応液を室温で５分間撹拌した。さらに反応液へ水（１５ｍＬ）を加えた後、反応液を室温で１０分間撹拌した。反応液からＴＨＦを減圧下に留去した。得られた残渣へ酢酸エチルを加え、混合物を１５分間撹拌した後、有機層を分液した。得られた有機層を飽和食塩水で洗浄し、無水硫酸マグネシウム上で乾燥した。乾燥剤をろ過し、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／ｎ－ヘプタン，５０％）で精製し、ＭＴＢＥとヘキサンの混合溶媒（１：１）でトリチュレートした。得られた粉末をろ過し、減圧下に乾燥して、標記化合物（７．５２ｇ）を得た。

^{1}Ｈ－ＮＭＲ（４００ＭＨｚ，CD_3OD）δ（ｐｐｍ）：１．４０－１．５５（ｍ，４Ｈ），１．７０－１．８５（ｍ，４Ｈ），２．８４（ｂｒｓ，１Ｈ），３．９０（ｓ，４Ｈ），５．１０（ｓ，２Ｈ），７．２４－７．４０（ｍ，５Ｈ）．

ＥＳＩ－ＭＳ　ｍ／ｚ　３２９［Ｍ＋Ｎａ］$^{+}$

[0062] （２）（１，４－ジオキサスピロ［４．５］デカン－８－イル）ヒドラジン　塩酸塩の合成

ベンジル　２－（１，４－ジオキサスピロ［４，５］デカン－８－イル）ヒドラジンカルボキシレート（４．０ｇ）のエタノール（４０ｍＬ）－クロロホルム（３．１６ｍＬ）懸濁液へ、１０％パラジウム－炭素（含水率５０％，４００ｍｇ）を加え、水素雰囲気下に室温で２３．５時間撹拌した。反応液からパラジウム－炭素をろ去した。ろ液を減圧下に濃縮し、標記化合物（３．０６ｇ）を得た。

^{1}Ｈ－ＮＭＲ（４００ＭＨｚ，CD_3OD）δ（ｐｐｍ）：１．５７－１．９

０（ｍ，８Ｈ），３．０６（ｂｒｓ，１Ｈ），３．９１（ｓ，４Ｈ）．

[0063] 実施例１ａ

（＋）－７－（６－メトキシ－２，４－ジメチルピリジン－３－イル）－１－（（３Ｒ*，４Ｒ*）－３－メチルテトラヒドロ－２Ｈ－ピラン－４－イル）－１Ｈ－ピラゾロ［４，３－ｃ］キノリン－４（５Ｈ）－オン（（＋）－ｃｉｓ）

実施例１ｂ

（－）－７－（６－メトキシ－２，４－ジメチルピリジン－３－イル）－１－（（３Ｒ*，４Ｒ*）－３－メチルテトラヒドロ－２Ｈ－ピラン－４－イル）－１Ｈ－ピラゾロ［４，３－ｃ］キノリン－４（５Ｈ）－オン（（－）－ｃｉｓ）

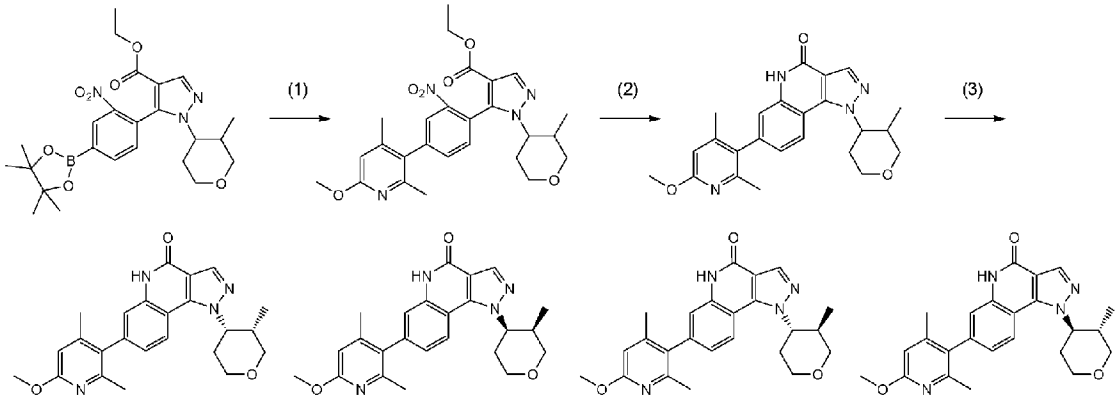
実施例１ｃ

（＋）－７－（６－メトキシ－２，４－ジメチルピリジン－３－イル）－１－（（３Ｒ*，４Ｓ*）－３－メチルテトラヒドロ－２Ｈ－ピラン－４－イル）－１Ｈ－ピラゾロ［４，３－ｃ］キノリン－４（５Ｈ）－オン（（＋）－ｔｒａｎｓ）

実施例１ｄ

（－）－７－（６－メトキシ－２，４－ジメチルピリジン－３－イル）－１－（（３Ｒ*，４Ｓ*）－３－メチルテトラヒドロ－２Ｈ－ピラン－４－イル）－１Ｈ－ピラゾロ［４，３－ｃ］キノリン－４（５Ｈ）－オン（（－）－ｔｒａｎｓ）の合成

[化28]



[0064] （１）エチル　５－［４－（６－メトキシ－２，４－ジメチルピリジン－３－イル）－２－ニトロフェニル］－１－（３－メチルテトラヒドロ－２Ｈ－ピラン－４－イル）－１Ｈ－ピラゾール－４－カルボキシレートの合成

製造例４で得られたエチル　１－（３－メチルテトラヒドロ－２Ｈ－ピラン－４－イル）－５－［２－ニトロ－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］－１Ｈ－ピラゾール－４－カルボキシレート（２２０ｍｇ）、製造例１で得られた３－ブロモ－６－メトキシ－２，４－ジメチルピリジン（１９６ｍｇ）および炭酸ナトリウム（１４４ｍｇ）を、１，４－ジオキサン（３．９ｍＬ）および水（０．８ｍＬ）の混合液に２０℃で加えた。この混合液に$Pd(PPh_3)_4$（５２．４ｍｇ）を加え、１１０℃にて２時間撹拌した。反応液を室温まで冷却した後、反応液に酢酸エチルを加えた。有機層と水層を分離した。水層を酢酸エチルで抽出した（１０ｍＬ×２）。合わせた有機層を飽和食塩水（１０ｍＬ）で洗浄し、無水硫酸マグネシウムで乾燥、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（酢酸エチル／ｎ－ヘプタン，３０～７０％）で精製し、標記化合物（１３７ｍｇ）を得た。

ＥＳＩ－ＭＳ　ｍ／ｚ　４９５［Ｍ＋Ｈ］$^+$

[0065] （２）７－（６－メトキシ－２，４－ジメチルピリジン－３－イル）－１－（３－メチルテトラヒドロ－２Ｈ－ピラン－４－イル）－１Ｈ－ピラゾロ［４，３－ｃ］キノリン－４（５Ｈ）－オンの合成

エチル　５－［４－（６－メトキシ－２，４－ジメチルピリジン－３－イル）－２－ニトロフェニル］－１－（３－メチルテトラヒドロ－２Ｈ－ピラン－４－イル）－１Ｈ－ピラゾール－４－カルボキシレート（１３５ｍｇ）を酢酸（１．６ｍＬ）に溶解した。この溶液に２０℃にて鉄粉（４５．７ｍｇ）を加えた。この混合物を９０℃にて４時間撹拌した。反応液に酢酸エチル（１０ｍＬ）を加えて希釈し、炭酸水素ナトリウム水溶液を加えて中和した。有機層と水層を分離した。水層を酢酸エチルで抽出した（２５ｍＬ×２）。合わせた有機層を飽和食塩水（１０ｍＬ）で洗浄し、無水硫酸マグネシ

ウムで乾燥し、乾燥剤をろ過した。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（酢酸エチル／ｎ－ヘプタン，５０～１００％）で精製し、標記化合物（７６ｍｇ）を得た。

ＥＳＩ－ＭＳ　ｍ／ｚ　４１９［Ｍ＋Ｈ］$^+$

[0066] （３）（＋）－７－（６－メトキシ－２，４－ジメチルピリジン－３－イル）－１－（（３Ｒ*，４Ｒ*）－３－メチルテトラヒドロ－２Ｈ－ピラン－４－イル）－１Ｈ－ピラゾロ［４，３－ｃ］キノリン－４（５Ｈ）－オン、（－）－７－（６－メトキシ－２，４－ジメチルピリジン－３－イル）－１－（（３Ｒ*，４Ｒ*）－３－メチルテトラヒドロ－２Ｈ－ピラン－４－イル）－１Ｈ－ピラゾロ［４，３－ｃ］キノリン－４（５Ｈ）－オン、（＋）－７－（６－メトキシ－２，４－ジメチルピリジン－３－イル）－１－（（３Ｒ*，４Ｓ*）－３－メチルテトラヒドロ－２Ｈ－ピラン－４－イル）－１Ｈ－ピラゾロ［４，３－ｃ］キノリン－４（５Ｈ）－オンおよび（－）－７－（６－メトキシ－２，４－ジメチルピリジン－３－イル）－１－（（３Ｒ*，４Ｓ*）－３－メチルテトラヒドロ－２Ｈ－ピラン－４－イル）－１Ｈ－ピラゾロ［４，３－ｃ］キノリン－４（５Ｈ）－オンの合成

７－（６－メトキシ－２，４－ジメチルピリジン－３－イル）－１－（３－メチルテトラヒドロ－２Ｈ－ピラン－４－イル）－１Ｈ－ピラゾロ［４，３－ｃ］キノリン－４（５Ｈ）－オン（１２ｍｇ）をエタノール（１０ｍＬ）に溶解した。この溶液をキラルＨＰＬＣ（カラム：ＤＡＩＣＥＬ社製ＣＨＩＲＡＬＰＡＫ（登録商標）　ＩＡ、移動相：エタノール）の条件で分割した。最初のフラクションとして（＋）－７－（６－メトキシ－２，４－ジメチルピリジン－３－イル）－１－（（３Ｒ*，４Ｓ*）－３－メチルテトラヒドロ－２Ｈ－ピラン－４－イル）－１Ｈ－ピラゾロ［４，３－ｃ］キノリン－４（５Ｈ）－オン（ｔｒａｎｓ）と（－）－７－（６－メトキシ－２，４－ジメチルピリジン－３－イル）－１－（（３Ｒ*，４Ｓ*）－３－メチルテトラヒドロ－２Ｈ－ピラン－４－イル）－１Ｈ－ピラゾロ［４，３－ｃ］キノリン－４（５Ｈ）－オン（ｔｒａｎｓ）の混合物（８ｍｇ）を得た。２番

目のフラクションとして（＋）－７－（６－メトキシ－２，４－ジメチルピリジン－３－イル）－１－（（３Ｒ*，４Ｒ*）－３－メチルテトラヒドロ－２Ｈ－ピラン－４－イル）－１Ｈ－ピラゾロ［４，３－ｃ］キノリン－４（５Ｈ）－オン（（＋）－ｃｉｓ）（３ｍｇ）を得た。３番目のフラクションとして（－）－７－（６－メトキシ－２，４－ジメチルピリジン－３－イル）－１－（（３Ｒ*，４Ｒ*）－３－メチルテトラヒドロ－２Ｈ－ピラン－４－イル）－１Ｈ－ピラゾロ［４，３－ｃ］キノリン－４（５Ｈ）－オン（（－）－ｃｉｓ）（３ｍｇ）を得た。上記ｔｒａｎｓ－体の混合物（８ｍｇ）をキラルＨＰＬＣ（カラム：ＤＡＩＣＥＬ社製ＣＨＩＲＡＬＣＥＬ（登録商標）　ＯＤ－Ｈ、移動相：エタノール）の条件で分割した。最初のフラクションとして（－）－７－（６－メトキシ－２，４－ジメチルピリジン－３－イル）－１－（（３Ｒ*，４Ｓ*）－３－メチルテトラヒドロ－２Ｈ－ピラン－４－イル）－１Ｈ－ピラゾロ［４，３－ｃ］キノリン－４（５Ｈ）－オン（（－）－ｔｒａｎｓ）（１ｍｇ）、２番目のフラクションとして（＋）－７－（６－メトキシ－２，４－ジメチルピリジン－３－イル）－１－（（３Ｒ*，４Ｓ*）－３－メチルテトラヒドロ－２Ｈ－ピラン－４－イル）－１Ｈ－ピラゾロ［４，３－ｃ］キノリン－４（５Ｈ）－オン（（＋）－ｔｒａｎｓ）（１ｍｇ）を得た。

（＋）－７－（６－メトキシ－２，４－ジメチルピリジン－３－イル）－１－（（３Ｒ*，４Ｒ*）－３－メチルテトラヒドロ－２Ｈ－ピラン－４－イル）－１Ｈ－ピラゾロ［４，３－ｃ］キノリン－４（５Ｈ）－オン（（＋）－ｃｉｓ）

^{1}Ｈ－ＮＭＲ（４００ＭＨｚ，ＣＤＣｌ$_{3}$）δ（ｐｐｍ）：０．９３（ｄ，Ｊ＝６．６Ｈｚ，３Ｈ），２．０１－２．０９（ｍ，４Ｈ），２．２１－２．２３（ｍ，３Ｈ），２．４５－２．５４（ｍ，１Ｈ），２．９３－３．０７（ｍ，１Ｈ），３．６３－３．７３（ｍ，１Ｈ），３．８２－３．８９（ｍ，１Ｈ），３．９７（ｓ，３Ｈ），３．９８－４．０３（ｍ，１Ｈ），４．２３－４．３１（ｍ，１Ｈ），５．１８－５．２６（ｍ，１Ｈ），６．５５

（ｓ，１Ｈ），７．１２（ｄｄ，Ｊ＝８．２Ｈｚ，１．６Ｈｚ，１Ｈ），７．１８－７．３１（ｍ，１Ｈ），８．０１（ｄ，Ｊ＝８．２Ｈｚ，１Ｈ），８．３０（ｓ，１Ｈ），１０．１５（ｂｒｓ，１Ｈ）．

ＥＳＩ－ＭＳ　ｍ／ｚ　４１９［Ｍ＋Ｈ］$^{+}$

カラム：ＤＡＩＣＥＬ社製ＣＨＩＲＡＬＰＡＫ（登録商標）　ＩＡ，移動相：エタノール，保持時間：１７．１分

（－）－７－（６－メトキシ－２，４－ジメチルピリジン－３－イル）－１－（（３Ｒ*，４Ｒ*）－３－メチルテトラヒドロ－２Ｈ－ピラン－４－イル）－１Ｈ－ピラゾロ［４，３－ｃ］キノリン－４（５Ｈ）－オン（（－）－ｃｉｓ）

カラム：ＤＡＩＣＥＬ社製ＣＨＩＲＡＬＰＡＫ（登録商標）　ＩＡ，移動相：エタノール，保持時間：２０．４分

（－）－ｃｉｓ体の^{1}Ｈ－ＮＭＲのデータは、対応する（＋）－ｃｉｓ体の^{1}Ｈ－ＮＭＲのデータと一致した。

（－）－７－（６－メトキシ－２，４－ジメチルピリジン－３－イル）－１－（（３Ｒ*，４Ｓ*）－３－メチルテトラヒドロ－２Ｈ－ピラン－４－イル）－１Ｈ－ピラゾロ［４，３－ｃ］キノリン－４（５Ｈ）－オン（（－）－ｔｒａｎｓ）

^{1}Ｈ－ＮＭＲ（４００ＭＨｚ，ＣＤＣｌ$_{3}$）δ（ｐｐｍ）：０．７６（ｄ，Ｊ＝６．６Ｈｚ，３Ｈ），２．０２－２．０５（ｍ，３Ｈ），２．１０－２．１８（ｍ，１Ｈ），２．２１－２．２４（ｍ，３Ｈ），２．３４－２．４８（ｍ，１Ｈ），２．７９－２．９２（ｍ，１Ｈ），３．３１（ｔ，Ｊ＝１１．５Ｈｚ，１Ｈ），３．６６－３．７５（ｍ，１Ｈ），３．９７（ｓ，３Ｈ），４．１３（ｄｄ，Ｊ＝１１．９Ｈｚ，４．５Ｈｚ，１Ｈ），４．１８－４．２６（ｍ，１Ｈ），４．６８（ｔｄ，Ｊ＝１０．９Ｈｚ，４．３Ｈｚ，１Ｈ），６．５５（ｓ，１Ｈ），７．１２（ｄｄ，Ｊ＝８．２Ｈｚ，１．６Ｈｚ，１Ｈ），７．２６（ｄ，Ｊ＝１．６Ｈｚ，１Ｈ），８．０８（ｄ，Ｊ＝８．２Ｈｚ，１Ｈ），８．３６（ｓ，１Ｈ），１０．５７（ｂｒｓ，１Ｈ

）．

ＥＳＩ－ＭＳ　ｍ／ｚ　４１９［Ｍ＋Ｈ］$^{+}$

カラム：ＤＡＩＣＥＬ社製ＣＨＩＲＡＬＣＥＬ（登録商標）　ＯＤ－Ｈ，移動相：エタノール，保持時間：１３．３分

（＋）－７－（６－メトキシ－２，４－ジメチルピリジン－３－イル）－１－（（３Ｒ*，４Ｓ*）－３－メチルテトラヒドロ－２Ｈ－ピラン－４－イル）－１Ｈ－ピラゾロ［４，３－ｃ］キノリン－４（５Ｈ）－オン（（＋）－ｔｒａｎｓ）

カラム：ＤＡＩＣＥＬ社製ＣＨＩＲＡＬＣＥＬ（登録商標）　ＯＤ－Ｈ，移動相：エタノール，保持時間：１９．７分

（＋）－ｔｒａｎｓ体の^{1}Ｈ－ＮＭＲのデータは、対応する（－）－ｔｒａｎｓ体の^{1}Ｈ－ＮＭＲのデータと一致した。

[0067] 実施例２ａ

（＋）－７－（２－メトキシ－４，６－ジメチルピリジン－３－イル）－１－（（３Ｒ*，４Ｓ*）－３－メチルテトラヒドロ－２Ｈ－ピラン－４－イル）－１Ｈ－ピラゾロ［４，３－ｃ］キノリン－４（５Ｈ）－オン（（＋）－ｔｒａｎｓ）

実施例２ｂ

（－）－７－（２－メトキシ－４，６－ジメチルピリジン－３－イル）－１－（（３Ｒ*，４Ｒ*）－３－メチルテトラヒドロ－２Ｈ－ピラン－４－イル）－１Ｈ－ピラゾロ［４，３－ｃ］キノリン－４（５Ｈ）－オン（（－）－ｃｉｓ）

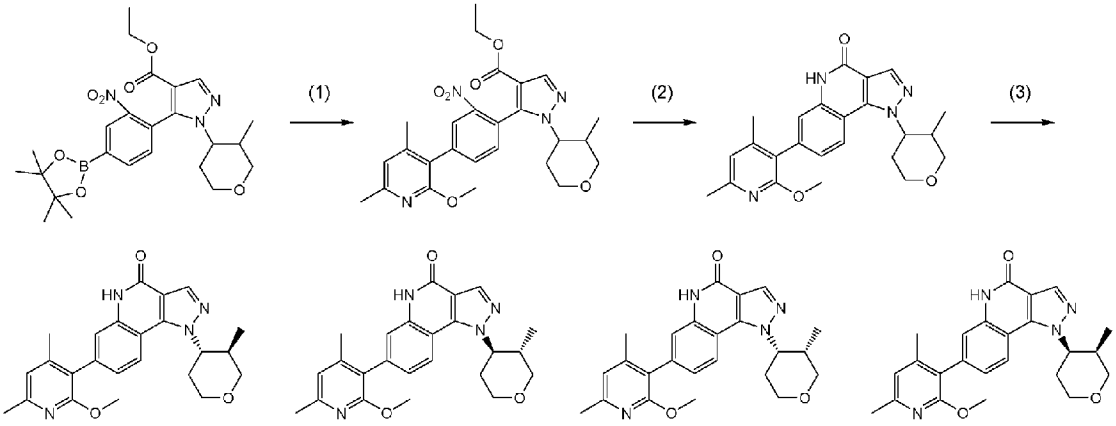
実施例２ｃ

（＋）－７－（２－メトキシ－４．６－ジメチルピリジン－３－イル）－１－（（３Ｒ*，４Ｒ*）－３－メチルテトラヒドロ－２Ｈ－ピラン－４－イル）－１Ｈ－ピラゾロ［４，３－ｃ］キノリン－４（５Ｈ）－オン（（＋）－ｃｉｓ）

実施例２ｄ

（－）－７－（２－メトキシ－４，６－ジメチルピリジン－３－イル）－１－（（３Ｒ*，４Ｓ*）－３－メチルテトラヒドロ－２Ｈ－ピラン－４－イル）－１Ｈ－ピラゾロ［４，３－ｃ］キノリン－４（５Ｈ）－オン（（－）－ｔｒａｎｓ）の合成

[化29]



[0068] （１）エチル　５－［４－（２－メトキシ－４，６－ジメチルピリジン－３－イル）－２－ニトロフェニル］－１－（３－メチルテトラヒドロ－２Ｈ－ピラン－４－イル）－１Ｈ－ピラゾール－４－カルボキシレートの合成

製造例４で得られたエチル　１－（３－メチルテトラヒドロ－２Ｈ－ピラン－４－イル）－５－［２－ニトロ－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］－１Ｈ－ピラゾール－４－カルボキシレート（２２０ｍｇ）、製造例２で得られた３－ブロモ－２－メトキシ－４，６－ジメチルピリジン（１９６ｍｇ）および炭酸ナトリウム（１４４ｍｇ）を、１，４－ジオキサン（３．９ｍＬ）および水（０．８ｍＬ）の混合液に２０℃で加えた。この混合液にＰｄ（ＰＰｈ$_3$）$_4$（５２．４ｍｇ）を加え、１１０℃にて２時間撹拌した。反応液を室温まで冷却した後、反応液に酢酸エチルを加えた。有機層と水層を分離した。水層を酢酸エチルで抽出した（１０ｍＬ×２）。合わせた有機層を飽和食塩水（１０ｍＬ）で洗浄し、無水硫酸マグネシウムで乾燥、乾燥剤をろ過した。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（酢酸エチル／ｎ－ヘプタン，３０～７０％）で精製し、標記化合物（１３３ｍｇ）を得

た。

ＥＳＩ－ＭＳ　ｍ／ｚ　４９５［Ｍ＋Ｈ］$^+$

[0069] （２）７－（２－メトキシ－４，６－ジメチルピリジン－３－イル）－１－（３－メチルテトラヒドロ－２Ｈ－ピラン－４－イル）－１Ｈ－ピラゾロ［４，３－ｃ］キノリン－４（５Ｈ）－オンの合成

エチル　５－［４－（２－メトキシ－４，６－ジメチルピリジン－３－イル）－２－ニトロフェニル］－１－（３－メチルテトラヒドロ－２Ｈ－ピラン－４－イル）－１Ｈ－ピラゾール－４－カルボキシレート（１３３ｍｇ）を酢酸（１．５ｍＬ）に溶解した。この溶液に２０℃にて鉄粉（４５．１ｍｇ）を加えた。この混合物を９０℃にて４時間撹拌した。反応液に酢酸エチル（１０ｍＬ）を加えて希釈し、炭酸水素ナトリウム水溶液を加えて中和した。有機層と水層を分離した。水層を酢酸エチル（２５ｍＬ×２）で抽出した。合わせた有機層を飽和食塩水（１０ｍＬ）で洗浄し、無水硫酸マグネシウムで乾燥、乾燥剤をろ過した。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（酢酸エチル／ｎ－ヘプタン，５０～１００％）で精製し、標記化合物（７３ｍｇ）を得た。

ＥＳＩ－ＭＳ　ｍ／ｚ　４１９［Ｍ＋Ｈ］$^+$

[0070] （３）（＋）－７－（２－メトキシ－４，６－ジメチルピリジン－３－イル）－１－（（３Ｒ*，４Ｓ*）－３－メチルテトラヒドロ－２Ｈ－ピラン－４－イル）－１Ｈ－ピラゾロ［４，３－ｃ］キノリン－４（５Ｈ）－オン（（＋）－ｔｒａｎｓ）、（－）－７－（２－メトキシ－４，６－ジメチルピリジン－３－イル）－１－（（３Ｒ*，４Ｒ*）－３－メチルテトラヒドロ－２Ｈ－ピラン－４－イル）－１Ｈ－ピラゾロ［４，３－ｃ］キノリン－４（５Ｈ）－オン（（－）－ｃｉｓ）、（－）－７－（２－メトキシ－４，６－ジメチルピリジン－３－イル）－１－（（３Ｒ*，４Ｓ*）－３－メチルテトラヒドロ－２Ｈ－ピラン－４－イル）－１Ｈ－ピラゾロ［４，３－ｃ］キノリン－４（５Ｈ）－オン（（－）－ｔｒａｎｓ）および（＋）－７－（２－メトキシ－４，６－ジメチルピリジン－３－イル）－１－（（３Ｒ*，４Ｒ*）

－３－メチルテトラヒドロ－２Ｈ－ピラン－４－イル）－１Ｈ－ピラゾロ［４，３－ｃ］キノリン－４（５Ｈ）－オン（（＋）－ｃｉｓ）の合成

７－（２－メトキシ－４，６－ジメチルピリジン－３－イル）－１－（３－メチルテトラヒドロ－２Ｈ－ピラン－４－イル）－１Ｈ－ピラゾロ［４，３－ｃ］キノリン－４（５Ｈ）－オン（３０ｍｇ）をエタノール（５ｍＬ）に溶解した。この溶液をキラルＨＰＬＣ（カラム：ＤＡＩＣＥＬ社製ＣＨＩＲＡＬＰＡＫ（登録商標）　ＡＤ－Ｈ、移動相：エタノール）の条件で分割した。最初のフラクションとして（＋）－７－（２－メトキシ－４，６－ジメチルピリジン－３－イル）－１－（（３Ｒ*，４Ｒ*）－３－メチルテトラヒドロ－２Ｈ－ピラン－４－イル）－１Ｈ－ピラゾロ［４，３－ｃ］キノリン－４（５Ｈ）－オン（ｃｉｓ）と（－）－７－（２－メトキシ－４，６－ジメチルピリジン－３－イル）－１－（（３Ｒ*，４Ｓ*）－３－メチルテトラヒドロ－２Ｈ－ピラン－４－イル）－１Ｈ－ピラゾロ［４，３－ｃ］キノリン－４（５Ｈ）－オン（ｔｒａｎｓ）の混合物（１４ｍｇ）を得た。２番目のフラクションとして（＋）－７－（２－メトキシ－４，６－ジメチルピリジン－３－イル）－１－（（３Ｒ*，４Ｓ*）－３－メチルテトラヒドロ－２Ｈ－ピラン－４－イル）－１Ｈ－ピラゾロ［４，３－ｃ］キノリン－４（５Ｈ）－オン（（＋）－ｔｒａｎｓ）（３ｍｇ）を得た。３番目のフラクションとして（－）－７－（２－メトキシ－４，６－ジメチルピリジン－３－イル）－１－（（３Ｒ*，４Ｒ*）－３－メチルテトラヒドロ－２Ｈ－ピラン－４－イル）－１Ｈ－ピラゾロ［４，３－ｃ］キノリン－４（５Ｈ）－オン（（－）－ｃｉｓ）（３ｍｇ）を得た。上記の混合物（１４ｍｇ）をキラルＨＰＬＣ（カラム：ＤＡＩＣＥＬ社製ＣＨＩＲＡＬＣＥＬ（登録商標）　ＯＤ－Ｈ、移動相：エタノール／ｎ－ヘキサン（７０％））の条件で分割した。最初のフラクションとして（－）－７－（２－メトキシ－４，６－ジメチルピリジン－３－イル）－１－（（３Ｒ*，４Ｓ*）－３－メチルテトラヒドロ－２Ｈ－ピラン－４－イル）－１Ｈ－ピラゾロ［４，３－ｃ］キノリン－４（５Ｈ）－オン（（－）－ｔｒａｎｓ）（５ｍｇ）、２番目のフラクショ

ンとして（＋）－７－（２－メトキシ－４，６－ジメチルピリジン－３－イル）－１－（（３Ｒ*，４Ｒ*）－３－メチルテトラヒドロ－２Ｈ－ピラン－４－イル）－１Ｈ－ピラゾロ［４，３－ｃ］キノリン－４（５Ｈ）－オン（（＋）－ｃｉｓ）（５ｍｇ）を得た。

（＋）－７－（２－メトキシ－４，６－ジメチルピリジン－３－イル）－１－（（３Ｒ*，４Ｓ*）－３－メチルテトラヒドロ－２Ｈ－ピラン－４－イル）－１Ｈ－ピラゾロ［４，３－ｃ］キノリン－４（５Ｈ）－オン（（＋）－ｔｒａｎｓ）

^{1}Ｈ－ＮＭＲ（４００ＭＨｚ，ＣＤＣｌ$_3$）δ（ｐｐｍ）：０．７５（ｄ，Ｊ＝６．６Ｈｚ，３Ｈ），２．１１（ｓ，３Ｈ），２．１１－２．１９（ｍ，１Ｈ），２．２９－２．４９（ｍ，１Ｈ），２．４８（ｓ，３Ｈ），２．７８－２．８９（ｍ，１Ｈ），３．２９（ｔ，Ｊ＝１１．３Ｈｚ，１Ｈ），３．６４－３．７１（ｍ，１Ｈ），３．８６（ｓ，３Ｈ），４．０８－４．１５（ｍ，１Ｈ），４．１７－４．２５（ｍ，１Ｈ），４．６２－４．７１（ｍ，１Ｈ），６．７４（ｓ，１Ｈ），７．１８（ｄ，Ｊ＝８．０Ｈｚ，１Ｈ），７．２７（ｓ，１Ｈ），８．０６（ｄ，Ｊ＝８．０Ｈｚ，１Ｈ），８．３４（ｓ，１Ｈ），１０．０３（ｂｒｓ，１Ｈ）．

ＥＳＩ－ＭＳ　ｍ／ｚ　４１９［Ｍ＋Ｈ］$^+$

カラム：ＤＡＩＣＥＬ社製ＣＨＩＲＡＬＰＡＫ（登録商標）　ＡＤ－Ｈ，移動相：エタノール、保持時間：２３．８分

（－）－７－（２－メトキシ－４，６－ジメチルピリジン－３－イル）－１－（（３Ｒ*，４Ｒ*）－３－メチルテトラヒドロ－２Ｈ－ピラン－４－イル）－１Ｈ－ピラゾロ［４，３－ｃ］キノリン－４（５Ｈ）－オン（（－）－ｃｉｓ）

ＥＳＩ－ＭＳ　ｍ／ｚ　４１９［Ｍ＋Ｈ］$^+$

カラム：ＤＡＩＣＥＬ社製ＣＨＩＲＡＬＰＡＫ（登録商標）　ＡＤ－Ｈ，移動層：エタノール、保持時間：３１．４分

（－）－ｃｉｓ体の^{1}Ｈ－ＮＭＲのデータは、対応する（＋）－ｃｉｓ体の^1

Ｈ－ＮＭＲのデータと一致した。

（－）－７－（２－メトキシ－４，６－ジメチルピリジン－３－イル）－１－（（３Ｒ*，４Ｓ*）－３－メチルテトラヒドロ－２Ｈ－ピラン－４－イル）－１Ｈ－ピラゾロ［４，３－ｃ］キノリン－４（５Ｈ）－オン（（－）－ｔｒａｎｓ）

カラム：ＤＡＩＣＥＬ社製ＣＨＩＲＡＬＣＥＬ（登録商標）　ＯＤ－Ｈ、移動相：エタノール／ｎ－ヘキサン（７０％）、保持時間：１３分

（－）－ｔｒａｎｓ体の^{1}Ｈ－ＮＭＲのデータは、対応する（＋）－ｔｒａｎｓ体の^{1}Ｈ－ＮＭＲのデータと一致した。

（＋）－７－（２－メトキシ－４，６－ジメチルピリジン－３－イル）－１－（（３Ｒ*，４Ｒ*）－３－メチルテトラヒドロ－２Ｈ－ピラン－４－イル）－１Ｈ－ピラゾロ［４，３－ｃ］キノリン－４（５Ｈ）－オン（（＋）－ｃｉｓ）

^{1}Ｈ－ＮＭＲ（４００ＭＨｚ，ＣＤＣｌ$_{3}$）δ（ｐｐｍ）：０．９０（ｄ，Ｊ＝７．２Ｈｚ，３Ｈ），２．００－２．０９（ｍ，１Ｈ），２．１０（ｓ，３Ｈ），２．４９（ｓ，３Ｈ），２．４８－２．５５（ｍ，１Ｈ），２．９４－３．０５（ｍ，１Ｈ），３．６４－３．７１（ｍ，１Ｈ），３．７７－３．８９（ｍ，１Ｈ），３．８６（ｓ，３Ｈ），３．９６－４．００（ｍ，１Ｈ），４．２４－４．３０（ｍ，１Ｈ），５．１９－５．２４（ｍ，１Ｈ），６．７４（ｓ，１Ｈ），７．１９（ｄｄ，Ｊ＝８．４Ｈｚ，１．６Ｈｚ，１Ｈ），７．３１（ｄ，Ｊ＝１．６Ｈｚ，１Ｈ），７．９８（ｄ，Ｊ＝８．４Ｈｚ，１Ｈ），８．２９（ｓ，１Ｈ），１０．４３（ｂｒｓ，１Ｈ）．

カラム：ＤＡＩＣＥＬ社製ＣＨＩＲＡＬＣＥＬ（登録商標）　ＯＤ－Ｈ、移動相：エタノール／ｎ－ヘキサン（７０％）、保持時間：１４．９分

[0071] 実施例３ａ

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

ｃｉｓ）

実施例３ｂ

（＋）－７－（２－メトキシ－３，５－ジメチルピリジン－４－イル）－１－（（３Ｒ*，４Ｒ*）－３－メチルテトラヒドロ－２Ｈ－ピラン－４－イル）－１Ｈ－ピラゾロ［４，３－ｃ］キノリン－４（５Ｈ）－オン（（＋）－ｃｉｓ）

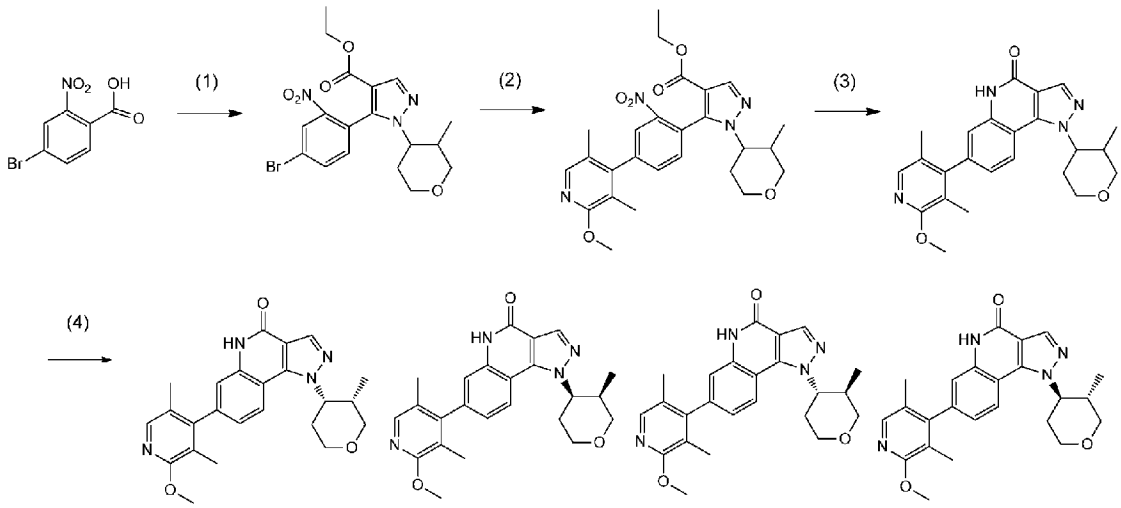
実施例４ａ

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

実施例４ｂ

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

[化30]



[0072] （１）エチル　５－（４－ブロモ－２－ニトロフェニル）－１－（３－メチルテトラヒドロ－２Ｈ－ピラン－４－イル）－１Ｈ－ピラゾール－４－カルボキシレートの合成

４－ブロモ－２－ニトロ安息香酸（６ｇ）をアセトニトリル（６０ｍＬ）に溶解した。その溶液に、塩化チオニル（１．９ｍＬ）を加え５０℃にて２時間撹拌した。トリエチルアミン（６．８ｍＬ）を氷冷下、反応混合物に滴下した。さらに、エチル　３－ジメチルアミノアクリレート（３．９ｍＬ）を反応混合物に滴下した。室温で２時間撹拌した後、反応液をろ過した。ろ液を減圧下濃縮した。残渣に酢酸エチルを加え、生じた懸濁液をろ過した。ろ液を減圧下濃縮した。残渣に酢酸エチルを加え、生じた懸濁液をろ過した。ろ液を減圧下濃縮した。残渣に酢酸エチルを加え、生じた懸濁液をろ過した。ろ液を減圧下濃縮し、エチル　２－（４－ブロモ－２－ニトロベンゾイル）－３－（ジメチルアミノ）アクリレート（１１ｇ）を粗生成物として得た。得られたエチル　２－（４－ブロモ－２－ニトロベンゾイル）－３－（ジメチルアミノ）アクリレート（２．９５ｇ）をアセトニトリル（２０ｍＬ）に溶解した。この溶液に、（３－メチルテトラヒドロ－２Ｈ－ピラン－４－イル）ヒドラジン　塩酸塩（１．３ｇ）（Ｇｉｏｖａｎｎｉｎｉ，　ＲｉｃｃａｒｄｏらＰＣＴ　Ｉｎｔ．　Ａｐｐｌ．（２００９），ＷＯ２００９１２１９１９／Ｅｘａｍｐｌｅ８ＣＡ，８ＣＢに準じて合成した。）と水（２ｍＬ）を加えた。この反応混合物を室温にて一晩撹拌した後、９０℃にて２時間撹拌した。反応液を室温まで冷却した後、減圧下濃縮した。残渣に酢酸エチルと水を加えた。有機層を分離した。水層を酢酸エチルで抽出した。合わせた有機層を無水硫酸マグネシウムで乾燥、乾燥剤をろ過した。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（酢酸エチル／ｎ－ヘプタン，１０～１００％）で精製し、標記化合物（０．６６ｇ）を得た。

ＥＳＩ－ＭＳ　ｍ／ｚ　４６０［Ｍ＋Ｎａ］$^{+}$

[0073] （２）エチル　５－［４－（２－メトキシ－３，５－ジメチルピリジン－４－イル）－２－ニトロフェニル］－１－（３－メチルテトラヒドロ－２Ｈ－ピラン－４－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－ニトロフェニル）－１－（３－メチルテ

トラヒドロ－２Ｈ－ピラン－４－イル）－１Ｈ－ピラゾール－４－カルボキシレート（３２０．８ｍｇ）の１，４－ジオキサン（５ｍＬ）と水（１．５ｍＬ）の混合液に、製造例３で得られた（２－メトキシ－３，５－ジメチルピリジン－４－イル）ボロン酸（２６５ｍｇ）、Ｐｄ（ＰＰｈ$_3$）$_4$（８５ｍｇ）および炭酸セシウム（７１５ｍｇ）を加え、窒素雰囲気下、反応混合物を１１０℃で２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。残渣を酢酸エチルで希釈し、水で洗浄した。有機層を無水硫酸マグネシウムで乾燥し、乾燥剤をろ過した。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（酢酸エチル／ｎ－ヘプタン，１０～１００％）で粗精製し、標記化合物（３８２．８ｍｇ）を粗生成物として得た。

ＥＳＩ－ＭＳ　ｍ／ｚ　４９５［Ｍ＋Ｈ］$^+$

[0074] （３）７－（２－メトキシ－３，５－ジメチルピリジン－４－イル）－１－（３－メチルテトラヒドロ－２Ｈ－ピラン－４－イル）－１Ｈ－ピラゾロ［４，３－ｃ］キノリン－４（５Ｈ）－オンの合成

エチル　５－［４－（２－メトキシ－３，５－ジメチルピリジン－４－イル）－２－ニトロフェニル］－１－（３－メチルテトラヒドロ－２Ｈ－ピラン－４－イル）－１Ｈ－ピラゾール－４－カルボキシレート（１１２．３ｍｇ）を酢酸（２．５ｍＬ）および水（０．２５ｍＬ）に溶解し、窒素雰囲気下８０℃にて１５分撹拌した。この反応液に鉄粉（７６ｍｇ）を一度に加え、反応液を窒素雰囲気下８０℃にて２時間撹拌した後、窒素雰囲気下９０℃にて一晩撹拌した。反応液を室温まで冷却した後、酢酸エチルで希釈し、減圧下濃縮した。残渣をクロロホルムで希釈し、飽和炭酸水素ナトリウム水溶液で洗浄した。有機層を無水硫酸マグネシウムで乾燥し、乾燥剤をろ過した。ろ液を減圧下濃縮した。残渣をショートシリカゲルカラムクロマトグラフィー（酢酸エチル）で精製し、標記化合物（９１．２ｍｇ）を得た。

^{1}Ｈ－ＮＭＲ（４００ＭＨｚ，ＣＤＣｌ$_3$）δ（ｐｐｍ）：０．７５－０．９４（ｍ，３Ｈ），１．９３－２．００（ｍ，６Ｈ），２．０５－２．２３（ｍ，１Ｈ），２．３０－２．５５（ｍ，１Ｈ），２．８０－３．０８（ｍ，

１Ｈ），３．３２（ｔ，Ｊ＝１２Ｈｚ，０．３３Ｈ），３．６５－３．７５（ｍ，１Ｈ），３．８３－３．９０（ｍ，０．６６Ｈ），３．９７－４．００（ｍ，０．６６Ｈ），４．０１（ｓ，３Ｈ），４．１０－４．１５（ｍ，０．３３Ｈ），４．１７－４．３２（ｍ，１Ｈ），４．６３－４．７３（ｍ，０．３３Ｈ），５．２０－５．２７（ｍ，０．６６Ｈ），７．０７－７．１０（ｍ，１Ｈ），７．３８（ｓ，１Ｈ），７．９５（ｓ，１Ｈ），８．０３－８．１３（ｍ，１Ｈ），８．３１（ｓ，０．６６Ｈ），８．３６（ｓ，０．３３Ｈ），１１．９２－１１．９６（ｍ，１Ｈ）．

ＥＳＩ－ＭＳ　ｍ／ｚ　４１９［Ｍ＋Ｈ］$^{+}$

[0075] （４）（－）－７－（２－メトキシ－３，５－ジメチルピリジン－４－イル）－１－（（３Ｒ*，４Ｒ*）－３－メチルテトラヒドロ－２Ｈ－ピラン－４－イル）－１Ｈ－ピラゾロ［４，３－ｃ］キノリン－４（５Ｈ）－オン（（－）－ｃｉｓ）、（＋）－７－（２－メトキシ－３，５－ジメチルピリジン－４－イル）－１－（（３Ｒ*，４Ｒ*）－３－メチルテトラヒドロ－２Ｈ－ピラン－４－イル）－１Ｈ－ピラゾロ［４，３－ｃ］キノリン－４（５Ｈ）－オン（（＋）－ｃｉｓ）、（－）－７－（２－メトキシ－３，５－ジメチルピリジン－４－イル）－１－（（３Ｒ*，４Ｓ*）－３－メチルテトラヒドロ－２Ｈ－ピラン－４－イル）－１Ｈ－ピラゾロ［４，３－ｃ］キノリン－４（５Ｈ）－オン（（－）－ｔｒａｎｓ）および（＋）－７－（２－メトキシ－３，５－ジメチルピリジン－４－イル）－１－（（３Ｒ*，４Ｓ*）－３－メチルテトラヒドロ－２Ｈ－ピラン－４－イル）－１Ｈ－ピラゾロ［４，３－ｃ］キノリン－４（５Ｈ）－オン（（＋）－ｔｒａｎｓ）の合成

７－（２－メトキシ－３，５－ジメチルピリジン－４－イル）－１－（３－メチルテトラヒドロ－２Ｈ－ピラン－４－イル）－１Ｈ－ピラゾロ［４，３－ｃ］キノリン－４（５Ｈ）－オン（９１．２ｍｇ）を５％クロロホルム／エタノール（１０．５ｍＬ）に溶解した。この溶液をキラルＨＰＬＣ（カラム：ＤＡＩＣＥＬ社製ＣＨＩＲＡＬＰＡＫ（登録商標）　ＩＡ、移動相：エタノール／ｎ－ヘキサン（５０％））の条件で分割した。（－）－７－（

２－メトキシ－３，５－ジメチルピリジン－４－イル）－１－（（３Ｒ*，４Ｓ*）－３－メチルテトラヒドロ－２Ｈ－ピラン－４－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－（（３Ｒ*，４Ｓ*）－３－メチルテトラヒドロ－２Ｈ－ピラン－４－イル）－１Ｈ－ピラゾロ［４，３－ｃ］キノリン－４（５Ｈ）－オン（（±）－ｔｒａｎｓ）の混合物（１７．７ｍｇ）を最初のフラクションとして得た。２番目のフラクションとして（＋）－７－（２－メトキシ－３，５－ジメチルピリジン－４－イル）－１－（（３Ｒ*，４Ｒ*）－３－メチルテトラヒドロ－２Ｈ－ピラン－４－イル）－１Ｈ－ピラゾロ［４，３－ｃ］キノリン－４（５Ｈ）－オン（（＋）－ｃｉｓ）（２５．９ｍｇ）を得た。３番目のフラクションとして（－）－７－（２－メトキシ－３，５－ジメチルピリジン－４－イル）－１－（（３Ｒ*，４Ｒ*）－３－メチルテトラヒドロ－２Ｈ－ピラン－４－イル）－１Ｈ－ピラゾロ［４，３－ｃ］キノリン－４（５Ｈ）－オン（（－）－ｃｉｓ）（２５．９ｍｇ）を得た。

上記（±）－ｔｒａｎｓの混合物（１７．７ｍｇ）をキラルＨＰＬＣ（カラム：ＤＡＩＣＥＬ社製ＣＨＩＲＡＬＰＡＫ（登録商標）　ＩＢ、移動相：エタノール／ｎ－ヘキサン（１５％））の条件で分割した。最初のフラクションとして（－）－７－（２－メトキシ－３，５－ジメチルピリジン－４－イル）－１－（（３Ｒ*，４Ｓ*）－３－メチルテトラヒドロ－２Ｈ－ピラン－４－イル）－１Ｈ－ピラゾロ［４，３－ｃ］キノリン－４（５Ｈ）－オン（（－）－ｔｒａｎｓ）（３．７ｍｇ）、２番目のフラクションとして（＋）－７－（２－メトキシ－３，５－ジメチルピリジン－４－イル）－１－（（３Ｒ*，４Ｓ*）－３－メチルテトラヒドロ－２Ｈ－ピラン－４－イル）－１Ｈ－ピラゾロ［４，３－ｃ］キノリン－４（５Ｈ）－オン（（＋）－ｔｒａｎｓ）（３．６ｍｇ）を得た。

（－）－７－（２－メトキシ－３，５－ジメチルピリジン－４－イル）－１－（（３Ｒ*，４Ｒ*）－３－メチルテトラヒドロ－２Ｈ－ピラン－４－イル

）－１Ｈ－ピラゾロ［４，３－ｃ］キノリン－４（５Ｈ）－オン（（－）－ｃｉｓ）

^{1}Ｈ－ＮＭＲ（４００ＭＨｚ，ＣＤＣｌ$_3$）δ（ｐｐｍ）：０．８８－０．９５（ｍ，３Ｈ），１．９１－２．００（ｍ，６Ｈ），２．０３－２．１３（ｍ，１Ｈ），２．４５－２．５５（ｍ，１Ｈ），２．９５－３．０７（ｍ，１Ｈ），３．６５－３．７３（ｍ，１Ｈ），３．８３－３．８９（ｍ，１Ｈ），３．９７－４．００（ｍ，１Ｈ），４．０１（ｓ，３Ｈ），４．２４－４．３２（ｍ，１Ｈ），５．２０－５．２７（ｍ，１Ｈ），７．０７－７．１０（ｍ，１Ｈ），７．３３（ｓ，１Ｈ），７．９５（ｓ，１Ｈ），８．０４（ｄ，Ｊ＝８．４Ｈｚ，１Ｈ），８．３１（ｓ，１Ｈ）．１１．４７（ｂｒｓ，１Ｈ）．

ＥＳＩ－ＭＳ　ｍ／ｚ　４１９［Ｍ＋Ｈ］$^+$

カラム：ＤＡＩＣＥＬ社製ＣＨＩＲＡＬＰＡＫ（登録商標）　ＩＡ，移動相：エタノール／ｎ－ヘキサン（２０％）），保持時間：１５分

（＋）－７－（２－メトキシ－３，５－ジメチルピリジン－４－イル）－１－（（３Ｒ*，４Ｒ*）－３－メチルテトラヒドロ－２Ｈ－ピラン－４－イル）－１Ｈ－ピラゾロ［４，３－ｃ］キノリン－４（５Ｈ）－オン（（＋）－ｃｉｓ）

カラム：ＤＡＩＣＥＬ社製ＣＨＩＲＡＬＰＡＫ（登録商標）　ＩＡ，移動相：エタノール／ｎ－ヘキサン（２０％）），保持時間：１２．５分

（＋）－ｃｉｓ体の^{1}Ｈ－ＮＭＲのデータは、対応する（－）－ｃｉｓ体の^{1}Ｈ－ＮＭＲのデータと一致した。

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

^{1}Ｈ－ＮＭＲ（４００ＭＨｚ，ＣＤＣｌ$_3$）δ（ｐｐｍ）：０．７５－０．７７（ｍ，３Ｈ），１．９３－１．９８（ｍ，６Ｈ），２．０９－２．１８（

ｍ，１Ｈ），２．３４－２．４８（ｍ，１Ｈ），２．７８－２．９２（ｍ，１Ｈ），３．３１（ｔ，Ｊ＝１１．４Ｈｚ，１Ｈ），３．６０－３．７５（ｍ，１Ｈ），４．００（ｓ，３Ｈ），４．０８－４．１７（ｍ，１Ｈ），４．２０－４．２５（ｍ，１Ｈ），４．６３－４．７０（ｍ，１Ｈ），７．０６－７．０８（ｍ，１Ｈ），７．１６－７．１８（ｍ，１Ｈ），７．９５（ｓ，１Ｈ），８．１１（ｄ，Ｊ＝１１．４Ｈｚ，１Ｈ），８．３６（ｓ，１Ｈ），１０．１２（ｂｒｓ，１Ｈ）．

ＥＳＩ－ＭＳ　ｍ／ｚ　４１９［Ｍ＋Ｈ］$^{+}$

カラム：ＤＡＩＣＥＬ社製ＣＨＩＲＡＬＰＡＫ（登録商標）　ＩＢ，移動相：エタノール／ｎ－ヘキサン（１０％）），保持時間：６．３分

（＋）－７－（２－メトキシ－３，５－ジメチルピリジン－４－イル）－１－（（３Ｒ*，４Ｓ*）－３－メチルテトラヒドロ－２Ｈ－ピラン－４－イル）－１Ｈ－ピラゾロ［４，３－ｃ］キノリン－４（５Ｈ）－オン（（＋）－ｔｒａｎｓ）

カラム：ＤＡＩＣＥＬ社製ＣＨＩＲＡＬＰＡＫ（登録商標）　ＩＢ，移動相：エタノール／ｎ－ヘキサン（１０％）），保持時間：７．８分

（＋）－ｔｒａｎｓ体の^{1}Ｈ－ＮＭＲのデータは、対応する（－）－ｔｒａｎｓ体の^{1}Ｈ－ＮＭＲのデータと一致した。

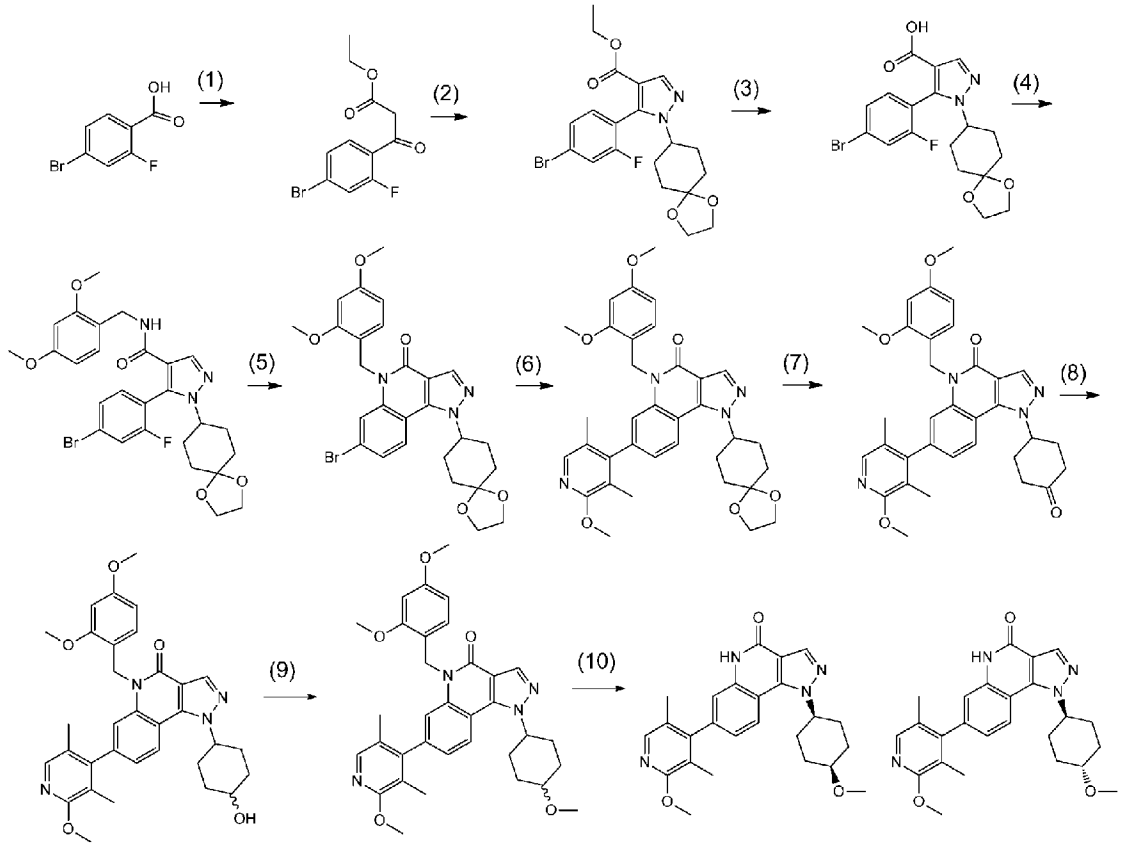
[0076] 実施例５ａ

７－（２－メトキシ－３，５－ジメチルピリジン－４－イル）－１－（シス－４－メトキシシクロヘキシル）－１Ｈ－ピラゾロ［４，３－ｃ］キノリン－４（５Ｈ）－オンの合成

実施例５ｂ

７－（２－メトキシ－３，５－ジメチルピリジン－４－イル）－１－（トランス－４－メトキシシクロヘキシル）－１Ｈ－ピラゾロ［４，３－ｃ］キノリン－４（５Ｈ）－オンの合成

[化31]



[0077] （１）エチル　３－（４－ブロモ－２－フルオロフェニル）－３－オキソプロパノエートの合成

４－ブロモ－２－フルオロ安息香酸（ＣＡＳ　Ｎｏ．１１２７０４－７９－７）（１０ｇ）のＤＣＭ（９７ｍＬ）懸濁液へ、ＣＤＩ（８．８８ｇ）を加え、室温にて３．５時間撹拌した。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（１５．５ｇ）のアセトニトリル（３０３ｍＬ）懸濁液へ、ＴＥＡ（１５．９ｍＬ）および塩化マグネシウム（１０．９ｇ）を加え、得られた混合物を室温で３時間１０分間撹拌した。この反応混合物へ、先に調製した「溶液１」を２５分かけて滴下した後、反応混合物を室温で終夜撹拌した。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（５００ｍＬ）で希釈し、氷冷下に５Ｎ塩酸（２５０ｍＬ）を加えた後、室温にて１時間撹拌した。有機層を分液した。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、乾燥剤をろ過し

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／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］$^{+}$

[0078] （２）エチル　５－（４－ブロモ－２－フルオロフェニル）－１－（１，４－ジオキサスピロ［４．５］デカン－８－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－フルオロフェニル）－３－オキソプロパノエート（１．５ｇ）のＤＭＦ－ＤＭＡ（６．８９ｍＬ）溶液を、５０℃で２．５時間撹拌した。反応液を減圧下に濃縮した。残渣をトルエン（７ｍＬ）に溶解し、得られた溶液を減圧下に濃縮し、この操作を再度繰り返した。残渣のエタノール（１０ｍＬ）溶液を、製造例５で得られた（１，４－ジオキサスピロ［４．５］デカン－８－イル）ヒドラジン　塩酸塩（３．０６ｇ）とＴＥＡ（３ｍＬ）とのエタノール（３０ｍＬ）溶液へ加えた。反応混合物を８０℃で２．５時間撹拌した後、室温に冷却した。反応混合物を減圧下に濃縮した。残渣へ酢酸エチルと水を加え、有機層を分配した。有機層を飽和炭酸水素ナトリウム水溶液、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、乾燥剤をろ過した。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，１５％）で精製し、標記化合物（２．１０ｇ）を得た。

^{1}Ｈ－ＮＭＲ（４００ＭＨｚ，ＣＤＣｌ$_{3}$）δ（ｐｐｍ）：１．１８（ｔ，Ｊ＝６．８Ｈｚ，３Ｈ），１．４９－１．６０（ｍ，２Ｈ），１．７３－１．９４（ｍ，４Ｈ），２．３０－２．４５（ｍ，２Ｈ），３．７９－３．８９（ｍ，１Ｈ），３．９０－４．００（ｍ，４Ｈ），４．１５（ｑ，Ｊ＝６．８Ｈｚ，２Ｈ），７．１９（ｔ，Ｊ＝８．０Ｈｚ，１Ｈ），７．４０－７．４６（ｍ，２Ｈ），８．０３（ｓ，１Ｈ）．

ＥＳＩ－ＭＳ　ｍ／ｚ　４７５［Ｍ＋Ｎａ］$^{+}$

[0079] （３）５－（４－ブロモ－２－フルオロフェニル）－１－（１，４－ジオキ

サスピロ［４．５］デカン－８－イル）－１Ｈ－ピラゾール－４－カルボン酸の合成

エチル　５－（４－ブロモ－２－フルオロフェニル）－１－（１，４－ジオキサスピロ［４．５］デカン－８－イル）－１Ｈ－ピラゾール－４－カルボキシレート（２．１ｇ）のエタノール（２０ｍＬ）懸濁液へ、５Ｎ水酸化ナトリウム水溶液（２．７８ｍＬ）を加え５０℃で６時間撹拌した。反応液を室温に冷却した後、反応液を減圧下に濃縮した。得られた水性残渣へ、水とＭＴＢＥを加え、水層を分液した。得られた水層を、５Ｎ塩酸で酸性化した後、酢酸エチルで抽出した（２回）。合わせた酢酸エチル抽出層を、水と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、乾燥剤をろ過した。ろ液を減圧下に濃縮して、標記化合物（２．０３ｇ）を得た。

^{1}Ｈ－ＮＭＲ（４００ＭＨｚ，ＣＤＣｌ$_3$）δ（ｐｐｍ）：１．４８－１．６０（ｍ，２Ｈ），１．７２－１．９４（ｍ，４Ｈ），２．２８－２．４５（ｍ，２Ｈ），３．７７－３．８８（ｍ，１Ｈ），３．９０－３．９９（ｍ，４Ｈ），７．１８（ｔ，Ｊ＝８．０Ｈｚ，１Ｈ），７．３９－７．４５（ｍ，２Ｈ），８．０７（ｓ，１Ｈ）．

ＥＳＩ－ＭＳ　ｍ／ｚ　４４９［Ｍ＋Ｎａ］$^+$

[0080] （４）５－（４－ブロモ－２－フルオロフェニル）－Ｎ－（２，４－ジメトキシベンジル）－１－（１，４－ジオキサスピロ［４．５］デカン－８－イル）－１Ｈ－ピラゾール－４－カルボキサミドの合成

５－（４－ブロモ－２－フルオロフェニル）－１－（１，４－ジオキサスピロ［４．５］デカン－８－イル）－１Ｈ－ピラゾール－４－カルボン酸（１．９０ｇ）のＤＭＦ（４０ｍＬ）溶液へ、２，４－ジメトキシベンジルアミン（７４７ｍｇ）、ＤＩＰＥＡ（１．５６ｍＬ）、ＨＯＢＴ（７２４ｍｇ）およびＥＤＣ（１．０３ｇ）を順次加え、反応混合物を終夜撹拌した。反応液を減圧下に約１／３量まで濃縮した。得られた残渣へ酢酸エチルと水と飽和炭酸水素ナトリウム水溶液を加え、有機層を分液した。有機層を水と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、乾燥剤をろ過した

。ろ液を減圧下に濃縮して、標記化合物（２．５１ｇ）を得た。

^{1}Ｈ－ＮＭＲ（４００ＭＨｚ，ＣＤＣｌ$_3$）δ（ｐｐｍ）：１．４５－１．６０（ｍ，２Ｈ），１．６５－１．９４（ｍ，４Ｈ），２．２３－２．４５（ｍ，２Ｈ），３．７０－３．８０（ｍ，１Ｈ），３．７５（ｓ，３Ｈ），３．８０（ｓ，３Ｈ），３．９０－３．９９（ｍ，４Ｈ），４．３６（ｔ，Ｊ＝６．４Ｈｚ，２Ｈ），５．８６（ｔ，Ｊ＝６．４Ｈｚ，１Ｈ），６．３８－６．４４（ｍ，２Ｈ），７．１０（ｄ，Ｊ＝８．４Ｈｚ，１Ｈ），７．１８（ｔ，Ｊ＝８．０Ｈｚ，１Ｈ），７．３４－７．４１（ｍ，２Ｈ），７．８７（ｓ，１Ｈ）．

ＥＳＩ－ＭＳ　ｍ／ｚ　５７４［Ｍ＋Ｈ］$^+$

[0081] （５）７－ブロモ－５－（２，４－ジメトキシベンジル）－１－（１，４－ジオキサスピロ［４．５］デカン－８－イル）－１Ｈ－ピラゾロ［４，３－ｃ］キノリン－４（５Ｈ）－オンの合成

氷冷下、５－（４－ブロモ－２－フルオロフェニル）－Ｎ－（２，４－ジメトキシベンジル）－１－（１，４－ジオキサスピロ［４．５］デカン－８－イル）－１Ｈ－ピラゾール－４－カルボキサミド（２．５１ｇ）のＴＨＦ（３０ｍＬ）溶液へ、ＫＴＢ（７３５ｍｇ）加え、同温で５分間、次いで室温で２時間撹拌した。さらに、反応混合物へＫＴＢ（４００ｍｇ）を加え、４０分間撹拌した。反応混合物へ飽和塩化アンモニウム水溶液、酢酸エチルと水を順次加え、有機層を分液した。水層を酢酸エチルで再抽出した。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、乾燥剤をろ過し、減圧下に濃縮した。得られた残渣へ酢酸エチル（３ｍＬ）とＭＴＢＥ（９ｍＬ）を加えた。得られた固体をろ取し、減圧下に乾燥して、標記化合物（２．０４ｇ）を得た。

^{1}Ｈ－ＮＭＲ（４００ＭＨｚ，ＣＤＣｌ$_3$）δ（ｐｐｍ）：１．８１（ｔｄ，Ｊ＝１４．０，４．０Ｈｚ，２Ｈ），１．９７－２．０６（ｍ，２Ｈ），２．１５－２．２４（ｍ，２Ｈ），２．４３－２．５５（ｍ，２Ｈ），３．７６（ｓ，３Ｈ），４．０１（ｓ，７Ｈ），４．７３－４．８３（ｍ，１Ｈ）

，５．５０（ｂｒｓ，２Ｈ），６．３４（ｄｄ，Ｊ＝８．４，２．４Ｈｚ，１Ｈ），６．５２（ｄ，Ｊ＝２．４Ｈｚ，１Ｈ），６．９９（ｄ，Ｊ＝８．４Ｈｚ，１Ｈ），７．３９（ｄｄ，Ｊ＝８．８，１．６Ｈｚ，１Ｈ），７．８０（ｄ，Ｊ＝１．６Ｈｚ，１Ｈ），７．８２（ｄ，Ｊ＝８．８Ｈｚ，１Ｈ），８．２９（ｓ，１Ｈ）．

ＥＳＩ－ＭＳ　ｍ／ｚ　５７６［Ｍ＋Ｎａ］$^{+}$

[0082] （６）５－（２，４－ジメトキシベンジル）－７－（２－メトキシ－３，５－ジメチルピリジン－４－イル）－１－（１，４－ジオキサスピロ［４．５］デカン－８－イル）－１Ｈ－ピラゾロ［４，３－ｃ］キノリン－４（５Ｈ）－オンの合成

製造例１で得られた（２－メトキシ－３，５－ジメチルピリジン）ボロン酸（７８３ｍｇ）と７－ブロモ－５－（２，４－ジメトキシベンジル）－１－（１，４－ジオキサスピロ［４．５］デカン－８－イル）－１Ｈ－ピラゾロ［４，３－ｃ］キノリン－４（５Ｈ）－オン（１．５０ｇ）との１，４－ジオキサン（１０ｍＬ）溶液へ、水（２．５ｍＬ）、Ｐｄ（ＰＰｈ$_3$）$_4$（３１３ｍｇ）および炭酸セシウム（２．６４ｇ）を加えた。反応混合物を、マイクロウェーブ反応装置を用いて１３０℃で３時間撹拌した。反応液を室温に冷却した後、反応混合物へ酢酸エチルおよび水を加え、有機層を分液した。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、乾燥剤をろ過した。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，４０％）で精製した。濃縮残渣へ酢酸エチルとＭＴＢＥを加えた。得られた固体をろ取し、減圧下に乾燥して、標記化合物（１．５２ｇ）を得た。

^{1}Ｈ－ＮＭＲ（４００ＭＨｚ，ＣＤＣｌ$_3$）δ（ｐｐｍ）：１．７３（ｓ，３Ｈ），１．７６（ｓ，３Ｈ），１．８７（ｔｄ，Ｊ＝１４．０，４．０Ｈｚ，２Ｈ），２．００－２．０８（ｍ，２Ｈ），２．２２－２．３２（ｍ，２Ｈ），２．４９－２．６２（ｍ，２Ｈ），３．６８（ｓ，３Ｈ），３．７３（ｓ，３Ｈ），３．９７（ｓ，３Ｈ），４．０２（ｓ，４Ｈ），４．８５－

４．９５（ｍ，１Ｈ），５．４０－５．６０（ｍ，２Ｈ），６．２９（ｄｄ，Ｊ＝８．４，２．４Ｈｚ，１Ｈ），６．４２（ｄ，Ｊ＝２．４Ｈｚ，１Ｈ），６．８３（ｄ，Ｊ＝８．４Ｈｚ，１Ｈ），７．０５（ｄ，Ｊ＝８．４Ｈｚ，１Ｈ），７．２４（ｓ，１Ｈ），７．８７（ｓ，１Ｈ），８．０７（ｄ，Ｊ＝８．４Ｈｚ，１Ｈ），８．３３（ｓ，１Ｈ）．

ＥＳＩ－ＭＳ　ｍ／ｚ　６１１［Ｍ＋Ｈ］$^{+}$

[0083] （７）５－（２，４－ジメトキシベンジル）－７－（２－メトキシ－３，５－ジメチルピリジン－４－イル）－１－（４－オキソシクロヘキシル）－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）－７－（２－メトキシ－３，５－ジメチルピリジン－４－イル）－１－（１，４－ジオキサスピロ［４．５］デカン－８－イル）－１Ｈ－ピラゾロ［４，３－ｃ］キノリン－４（５Ｈ）－オン（１．３０ｇ）のＴＨＦ（２０ｍＬ）溶液へ、２Ｎ塩酸（２０ｍＬ）を加え、反応混合物を室温で１９．５時間撹拌した。反応液を飽和炭酸水素ナトリウム水溶液（６０ｍＬ）へ注ぎ込んだ後、酢酸エチルで抽出した。得られた有機層を、飽和食塩水で洗浄し、無水硫酸マグネシウムで乾燥し、乾燥剤をろ過した。ろ液を減圧下に濃縮して、標記化合物（１．１２ｇ）を得た。

^{1}Ｈ－ＮＭＲ（４００ＭＨｚ，ＣＤＣｌ$_{3}$）δ（ｐｐｍ）：１．７３（ｓ，３Ｈ），１．７６（ｓ，３Ｈ），２．５２－２．８７（ｍ，８Ｈ），３．６８（ｓ，３Ｈ），３．７４（ｓ，３Ｈ），３．９７（ｓ，３Ｈ），５．２７－５．３７（ｍ，１Ｈ），５．３７－５．６２（ｍ，２Ｈ），６．２９（ｄｄ，Ｊ＝８．８，２．４Ｈｚ，１Ｈ），６．４２（ｄ，Ｊ＝２．４Ｈｚ，１Ｈ），６．８４（ｄ，Ｊ＝８．８Ｈｚ，１Ｈ），７．０６（ｄ，Ｊ＝８．４Ｈｚ，１Ｈ），７．２８（ｓ，１Ｈ），７．８８（ｓ，１Ｈ），８．１０（ｄ，Ｊ＝８．４Ｈｚ，１Ｈ），８．３５（ｓ，１Ｈ）．

ＥＳＩ－ＭＳ　ｍ／ｚ　５６７［Ｍ＋Ｈ］$^{+}$

[0084] （８）５－（２，４－ジメトキシベンジル）－１－（４－ヒドロキシシクロ

ヘキシル）－７－（２－メトキシ－３，５－ジメチルピリジン－４－イル）－１Ｈ－ピラゾロ［４，３－ｃ］キノリン－４（５Ｈ）－オンの合成

氷冷下、５－（２，４－ジメトキシベンジル）－７－（２－メトキシ－３，５－ジメチルピリジン－４－イル）－１－（４－オキソシクロヘキシル）－１Ｈ－ピラゾロ［４，３－ｃ］キノリン－４（５Ｈ）－オン（５７０ｍｇ）のＴＨＦ（２０ｍＬ）－メタノール（１０ｍＬ）溶液へ、水素化ホウ素ナトリウム（５７．１ｍｇ）を加え、同温で５分間、次いで室温で１時間撹拌した。反応液を氷冷し、反応液へ１Ｎ塩酸（２ｍＬ）を加えた。反応液を約１／４量まで濃縮後、残渣へ酢酸エチルと水を加え、有機層を分液した。有機層を飽和炭酸水素ナトリウム水溶液と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、乾燥剤をろ過した。ろ液をショートシリカゲルカラムクロマトグラフィー（酢酸エチル）に付し、標記化合物（５９７ｍｇ）を得た。

ＥＳＩ－ＭＳ　ｍ／ｚ　５６９［Ｍ＋Ｈ］$^{+}$

[0085] （９）５－（２，４－ジメトキシベンジル）－７－（２－メトキシ－３，５－ジメチルピリジン－４－イル）－１－（４－メトキシシクロヘキシル）－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－（４－ヒドロキシシクロヘキシル）－７－（２－メトキシ－３，５－ジメチルピリジン－４－イル）－１Ｈ－ピラゾロ［４，３－ｃ］キノリン－４（５Ｈ）－オン（３００ｍｇ）のＴＨＦ（５ｍＬ）溶液へ、０℃で６０％水素化ナトリウム（オイルディスパージョン，３１．７ｍｇ）を加えた後、室温で１０分間撹拌した。反応混合液へ、ヨードメタン（０．１ｍＬ）を加え、室温で１．５時間、５０℃で２時間撹拌した。次いで反応混合物へヨードメタン（０．１ｍＬ）加え、５０℃で終夜撹拌した。反応混合物へ水と酢酸エチルを加え、有機層を分液した。水層を酢酸エチルで再抽出した。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、乾燥剤をろ過し、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（メタノール／クロロホル

ム，２％）で精製し、標記化合物（１１０ｍｇ）を得た。

ＥＳＩ－ＭＳ　ｍ／ｚ　５８３［Ｍ＋Ｈ］$^{+}$

[0086] （１０）７－（２－メトキシ－３，５－ジメチルピリジン－４－イル）－１－（シス－４－メトキシシクロヘキシル）－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－（トランス－４－メトキシシクロヘキシル）－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）－７－（２－メトキシ－３，５－ジメチルピリジン－４－イル）－１－（４－メトキシシクロヘキシル）－１Ｈ－ピラゾロ［４，３－ｃ］キノリン－４（５Ｈ）－オン（１０９ｍｇ）のＴＦＡ（１．５ｍＬ）溶液へトリエチルシラン（０．０９ｍＬ）を加え、反応混合物を６０℃で４．２５時間撹拌した。反応液を減圧下に濃縮した。残渣へクロロホルムと飽和炭酸水素ナトリウム水溶液を加え、有機層を分液した。水層をクロロホルムで再抽出した。合わせた有機層を、無水硫酸マグネシウム上で乾燥し、乾燥剤をろ過し、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（クロロホルム、次いで酢酸エチル）で精製し、標記化合物のシス－トランス混合物（６８ｍｇ）を得た。

この混合物をクロロホルム（１．１ｍＬ）－エタノール（４．４ｍＬ）に溶解し、ミリポアフィルターでろ過した。ろ液を、ＤＡＩＣＥＬ社製ＣＨＩＲＡＬＣＥＬ（登録商標）　ＩＢ（２０ｍｍφ×２５０ｍｍ），エタノール１００％，１０ｍＬ／分の条件で精製し、シス体の標記化合物（１０．１ｍｇ）、およびトランス体の標記化合物（４７．０ｍｇ）を得た。

シス体

^{1}Ｈ－ＮＭＲ（４００ＭＨｚ，ＣＤＣｌ$_{3}$）δ（ｐｐｍ）：１．６３－１．７４（ｍ，２Ｈ），１．９４（ｓ，３Ｈ），１．９７（ｓ，３Ｈ），２．００－２．０９（ｍ，２Ｈ），２．２２－２．３０（ｍ，２Ｈ），２．４７－２．６０（ｍ，２Ｈ），３．３９（ｓ，３Ｈ），３．６０（ｂｒｓ，１Ｈ），４．００（ｓ，３Ｈ），４．８０－４．８９（ｍ，１Ｈ），７．０６（ｄｄ

，Ｊ＝８．４，１．６Ｈｚ，１Ｈ），７．２０（ｄ，Ｊ＝１．６Ｈｚ，１Ｈ），７．９４（ｓ，１Ｈ），８．０６（ｄ，Ｊ＝８．４Ｈｚ，１Ｈ），８．３０（ｓ，１Ｈ），１０．４２（ｂｒｓ，１Ｈ）．

ＥＳＩ－ＭＳ　ｍ／ｚ　４３３［Ｍ＋Ｈ］$^{+}$

トランス体

^{1}Ｈ－ＮＭＲ（４００ＭＨｚ，ＣＤＣｌ$_{3}$）δ（ｐｐｍ）：１．４８－１．６０（ｍ，２Ｈ），１．９４（ｓ，３Ｈ），１．９７（ｓ，３Ｈ），２．１７－２．４０（ｍ，６Ｈ），３．３２－３．４２（ｍ，１Ｈ），３．４３（ｓ，３Ｈ），４．０１（ｓ，３Ｈ），４．７９－４．８９（ｍ，１Ｈ），７．０８（ｄ，Ｊ＝８．４Ｈｚ，１Ｈ），７．２５（ｓ，１Ｈ），７．９４（ｓ，１Ｈ），８．０４（ｄ，Ｊ＝８．４Ｈｚ，１Ｈ），８．２９（ｓ，１Ｈ），１０．９５（ｂｒｓ，１Ｈ）．

ＥＳＩ－ＭＳ　ｍ／ｚ　４３３［Ｍ＋Ｈ］$^{+}$

[0087] ［薬理試験例］

ＰＤＥ９阻害活性試験例

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ｈｓＰＤＥ９Ａ１ｃＤＮＡ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。

[0088] 得られたｈｓＰＤＥ９Ａ１ｃＤＮＡ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ＰＤＥ９Ａ１ｃＤＮＡ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砕上清をバッファーＡ（２０ｍｍｏｌ／Ｌ Ｔｒｉｓ－ＨＣｌ ｐＨ８．０、１ｍｍｏｌ／Ｌ ＤＴＴ、１０ｍｍｏｌ／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（２０ｍｍｏｌ／Ｌ Ｔｒｉｓ－ＨＣｌ ｐＨ８．０、１ｍｍｏｌ／Ｌ ＤＴＴ）にて洗浄し、バッファーＣ（２０ｍｍｏｌ／Ｌ Ｔｒｉｓ－ＨＣｌ ｐＨ８．０、１ｍｍｏｌ／Ｌ ＤＴＴ、１００ｍｍｏｌ／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。

[0089] ２）ＰＤＥ９阻害作用の測定

［^{3}Ｈ］－ｃＧＭＰ（１ｍＣｉ／ｍＬ）を０．５μＣｉ／ｍＬの濃度で含むバッファーＤ（４０ｍｍｏｌ／Ｌ Ｔｒｉｓ－ＨＣｌ、ｐＨ７．４、１０ｍｍｏｌ／Ｌ $MgCl_2$、１ｍＭ ＤＴＴ、２μＭ ｃＧＭＰ）溶液１００μＬ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）１０μＬ及び上記で調製したＰＤＥ９酵素溶液をバッファーＥ（４０ｍｍｏｌ／Ｌ Ｔｒｉｓ－ＨＣｌ ｐＨ７．４、１０ｍｍｏｌ／Ｌ $MgCl_2$、１ｍＭ ＤＴＴ、１ｍｍｏｌ／Ｌ ＥＧＴＡ）で希釈した溶液９０μＬを加えた。この混合溶液を３０℃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、５０μＬの５’－Ｎｕｃｌｅｏｔｉｄａｓｅ（ＢＩＯＭＯＬ社、１０ｕｎｉｔｓ／ｍＬ）を加え、３０℃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［^{3}Ｈ］－５’－ＧＭＰを［^{3}Ｈ］－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５００μＬ添加し、１０分間の放置後に遠心分離（２０００ｒｐｍ、１０分）し、［^{3}Ｈ］－グアノ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。

[0090] 評価化合物のＰＤＥ９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。

抑制率＝１００－｛［（Ｃ）－（Ｂ）］／［（Ａ）－（Ｂ）］｝×１００（％）

また、評価化合物のＰＤＥ９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。各評価化合物におけるIC_{50}値を表１に示す。

[0091] [表1]

実施例No.	PDE9 IC50 μM
1a	0.0480
1b	0.0136
1c	0.0872
1d	0.0069
2a	0.0116
2b	0.0037
2c	0.0123
2d	0.0013
3a	0.0069
3b	0.0256
4a	0.0058
4b	0.0391
5a	0.0098
5b	0.0127

[0092] ３）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℃にて保管した。脳脊髄液中のｃＧＭＰの測定はｃＧＭＰＥＩＡキット（ＧＥ Ｈｅａｌｔｈｃａｒｅ社）のＡｃｅｔｙｌａｔｉｏｎ ＥＩＡ Ｐｒｏｃｅｄｕｒｅ、あるいはｃＧＭＰ ＥＩＡキット（Ｃａｙｍａｎ社）のＮｏｎ－ａｃｅｔｙｌａｔｉｏｎ Ｐｒｏｃｅｄｕｒｅに従っておこなった。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増加量（Ｃ）＝［（Ｂ）－（Ａ）］／（Ａ） ｘ １００（％）

各評価化合物におけるｃＧＭＰ増加量を表２に示す。

[0093] [表2]

実施例No.	% CSF cGMP increase from vehicle control	species	Dose (mg/kg, p.o.)	Sampling time (hr)
1b	147	rat (LE)	10	2
1d	206	rat (LE)	10	2
2d	183	rat (LE)	10	2
3a	200	rat (LE)	10	2
5b	167	rat (LE)	10	2

[0094] ４）げっ歯類海馬ｃＧＭＰに対する作用

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マイクロウェーブ処置をおこない海馬を摘出した。湿重量を測定後、液体窒素にて凍結し、－８０℃にて保管した。海馬中ｃＧＭＰの測定では、湿重量をもとに５％（ｗ／ｖ）となるように０．５Ｍ 過塩素酸／１ｍＭ ＥＤＴＡ溶液を添加し破砕した。破砕後、遠心分離（１００００ｒｐｍ、１５分）をおこない、上清を採取した。採取した上清を２Ｍ 炭酸水素カリウム溶液により中和

し、遠心分離（１３０００ｒｐｍ、１０分）をおこなった。上清中のｃＧＭＰ濃度をｃＧＭＰＥＩＡキット（ＧＥ　Ｈｅａｌｔｈｃａｒｅ社）のＮｏｎ－ａｃｅｔｙｌａｔｉｏｎ　ＥＩＡ　Ｐｒｏｃｅｄｕｒｅに従っておこなった。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増加量（Ｃ）＝［（Ｂ）－（Ａ）］／（Ａ）　ｘ　１００（％）

各評価化合物におけるｃＧＭＰ増加量を表３に示す。

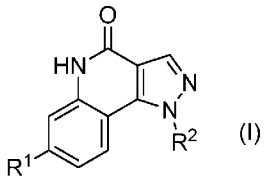
[0095] [表3]

実施例No.	% hippocampal cGMP increase from vehicle control	species	Dose (mg/kg, p.o.)	Sampling time (hr)
1b	44	rat (LE)	10	2
1d	61	rat (LE)	10	2
2d	23	rat (LE)	10	2
3a	58	rat (LE)	10	2
5b	41	rat (LE)	10	2

請求の範囲

[請求項1] 式（Ｉ）で表わされる化合物またはその薬剤学的に許容される塩。

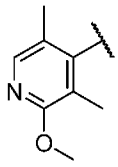
[化1]



(I)

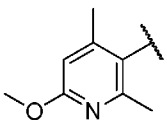
［式中、Ｒ[1]は式

[化2]



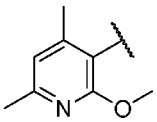
で表わされる基、式

[化3]



で表わされる基または式

[化4]

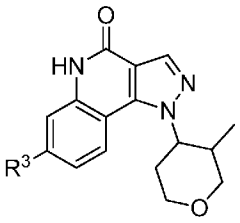


で表わされる基であり、

Ｒ[2]は３－メチルテトラヒドロ－２Ｈ－ピラン－４－イル基または４－メトキシシクロヘキシル基である。］

[請求項2] 式（ＩＩ）で表わされる請求項１記載の化合物またはその薬剤学的に許容される塩。

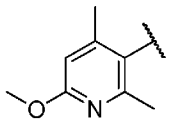
[化5]



(II)

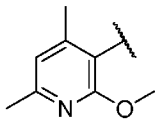
［式中、Ｒ^{3}は式

[化6]



で表わされる基または式

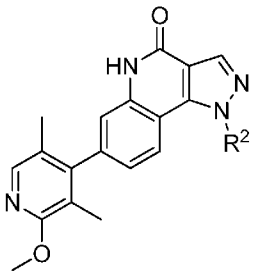
[化7]



で表わされる基である。］

[請求項3] 式（ＩＩＩ）で表わされる請求項１記載の化合物またはその薬剤学的に許容される塩。

[化8]



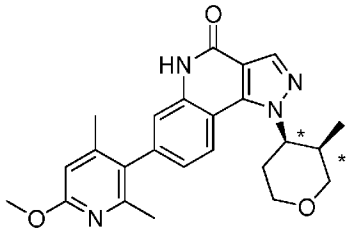
(III)

［式中、Ｒ^{2}は３－メチルテトラヒドロ－２Ｈ－ピラン－４－イル基または４－メトキシシクロヘキシル基である。］

[請求項4] （－）－７－（６－メトキシ－２，４－ジメチルピリジン－３－イル）－１－（（３Ｒ*，４Ｒ*）－３－メチルテトラヒドロ－２Ｈ－ピラン－４－イル）－１Ｈ－ピラゾロ［４，３－ｃ］キノリン－４（５Ｈ）－オン（（－）－ｃｉｓ）またはその薬剤学的に許容される塩

。

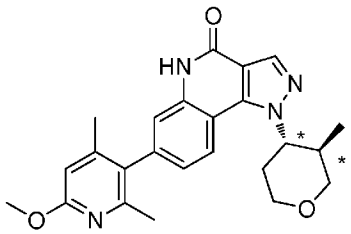
[化9]



* relative stereochemistry chiral

[請求項5] （－）－７－（６－メトキシ－２，４－ジメチルピリジン－３－イル）－１－（（３Ｒ*，４Ｓ*）－３－メチルテトラヒドロ－２Ｈ－ピラン－４－イル）－１Ｈ－ピラゾロ［４，３－ｃ］キノリン－４（５Ｈ）－オン（（－）－ｔｒａｎｓ）またはその薬剤学的に許容される塩。

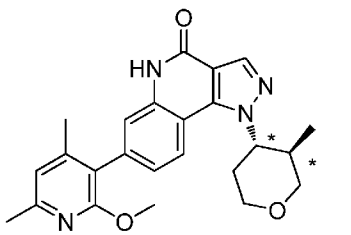
[化10]



* relative stereochemistry chiral

[請求項6] （－）－７－（２－メトキシ－４，６－ジメチルピリジン－３－イル）－１－（（３Ｒ*，４Ｓ*）－３－メチルテトラヒドロ－２Ｈ－ピラン－４－イル）－１Ｈ－ピラゾロ［４，３－ｃ］キノリン－４（５Ｈ）－オン（（－）－ｔｒａｎｓ）またはその薬剤学的に許容される塩。

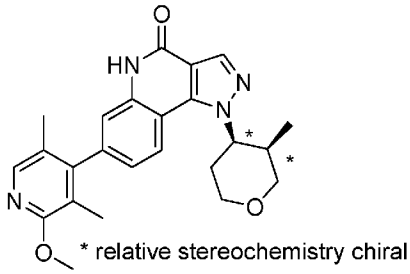
[化11]



* relative stereochemistry chiral

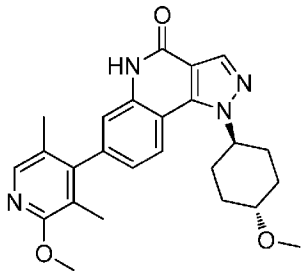
[請求項7] （－）－７－（２－メトキシ－３，５－ジメチルピリジン－４－イル）－１－（（３Ｒ*，４Ｒ*）－３－メチルテトラヒドロ－２Ｈ－ピラン－４－イル）－１Ｈ－ピラゾロ［４，３－ｃ］キノリン－４（５Ｈ）－オン（（－）－ｃｉｓ）またはその薬剤学的に許容される塩。

[化12]



[請求項8] ７－（２－メトキシ－３，５－ジメチルピリジン－４－イル）－１－（トランス－４－メトキシシクロヘキシル）－１Ｈ－ピラゾロ［４，３－ｃ］キノリン－４（５Ｈ）－オンまたはその薬剤学的に許容される塩。

[化13]



[請求項9] 請求項１記載の化合物またはその薬剤学的に許容される塩を有効成分として含有する医薬組成物。

[請求項10] ＰＤＥ９の阻害剤である請求項９記載の医薬組成物。

[請求項11] 脳内ｃＧＭＰ濃度を上昇させるための請求項９記載の医薬組成物。

[請求項12] 請求項１記載の化合物またはその薬剤学的に許容される塩を含有する、アルツハイマー病における認知機能障害改善剤。

[請求項13] 請求項１記載の化合物またはその薬剤学的に許容される塩を患者に投与する、アルツハイマー病における認知機能障害の改善方法。

[請求項14] アルツハイマー病における認知機能障害の改善に使用される、請求項１記載の化合物またはその薬剤学的に許容される塩。