

CRF₁ 受容体選択的拮抗に基づく
新規抗うつ剤・抗不安剤の開発研究

高橋 良典

目次

序章	1
第1章 新規ピラゾロ[1,5- <i>a</i>]ピリジン誘導体の設計と合成展開～E2508の創出	3
第1節 既知 CRF ₁ 受容体拮抗剤からの中心母核デザイン	3
第2節 ピラゾロ[1,5- <i>a</i>]ピリジン誘導体の合成展開	4
第3節 E2508 の薬理的性質およびマウス体内動態試験	11
第4節 ピラゾロ[1,5- <i>a</i>]ピリジン誘導体の合成	16
第5節 第1章まとめ	24
第2章 新規ピラゾロ[5,1- <i>b</i>]チアゾール誘導体の設計と合成展開～E2009の創出	25
第1節 中心母核のデザイン	25
第2節 ピラゾロ[5,1- <i>b</i>]チアゾール誘導体の合成展開	26
第3節 ラット CRF 誘発排便亢進モデルの評価による候補品選択	31
第4節 E2009 の薬理的性質およびラット体内動態試験	32
第5節 ピラゾロ[5,1- <i>b</i>]チアゾール誘導体の合成	34
第6節 第2章まとめ	38
終章	39
実験の章	40
第1章 新規ピラゾロ[1,5- <i>a</i>]ピリジン誘導体の探索研究に関する実験	41
第2章 新規ピラゾロ[5,1- <i>b</i>]チアゾール誘導体の探索研究に関する実験	78
引用文献	99
謝辞	105

序章

現代人は、便利で快適な生活を送っている一方で複雑かつ高度に発達した社会において様々な心理的・社会的ストレスを抱え、少なからず心身の異常に悩んでいる。生体は、ストレスを受けると主に SAM 系 (Sympathetic nervous-Adrenal Medullary system : 交感神経 - 副腎髄質系) および HPA 系 (Hypothalamic-Pituitary-Adrenocortical system : 視床下部 - 下垂体 - 副腎皮質系) を介し、心拍や血糖を亢進させてストレス対応能力を高める。しかしながら、ストレスの負荷が繰り返されると種々の臓器、消化器および免疫系への影響が過剰となり、身体の各所において障害が起きる。

うつ病や不安障害に代表されるストレス性疾患の治療においては、多くの三環形抗うつ薬や選択的セロトニン再取り込み阻害薬 (SSRI) およびセロトニン・ノルアドレナリン再取り込み阻害薬 (SNRI)、ベンゾジアゼピン系抗不安剤が処方されているが、その有効率は決して満足のいくものではない。また、薬効発現までに 4~6 週間を要するうえ再発率が高く、吐き気や性機能障害などの副作用を起こすことも知られている。これらのストレス性疾患におけるアンメットメディカルニーズを充足するため、新規な作用メカニズムに基づく画期的な新薬が切望されている。

コルチコトロピン放出因子 (CRF, corticotropin-releasing-factor) は 41 個のアミノ酸残基からなる神経ペプチドであり、ストレスに応答して視床下部から生成・分泌されるキーマディエーターとして知られている。1981 年に Vale らによって羊の視床下部から単離され¹、次いでラット、ヒトでもその存在およびアミノ酸配列が同じであることが確認された。CRF は、中枢組織においては大脳皮質・小脳等の脳内に広く分布しており、例えば HPA 系では下垂体前葉からの ACTH (adrenocorticotropic hormone : 副腎皮質刺激ホルモン) 分泌を引き起こす²。また、末梢組織においては副腎、肝臓および消化管等に存在することが確認されている。

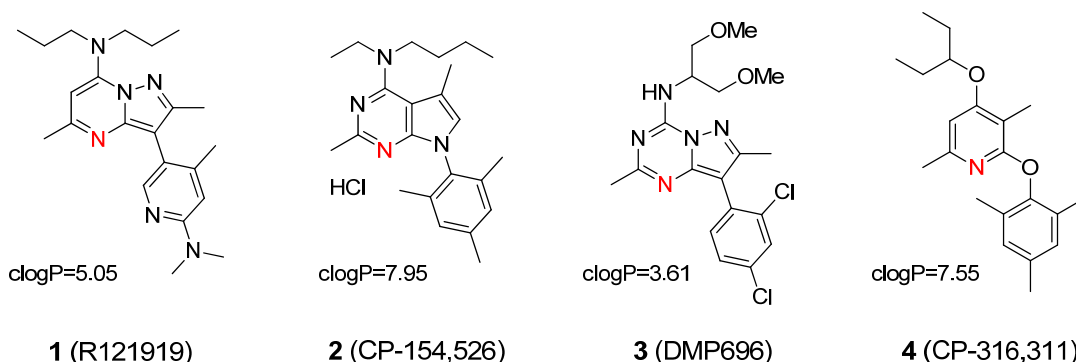
CRF 受容体には、G タンパク質共役受容体 (GPCR) に属する CRF1 型 (CRF₁) 受容体と CRF2 型 (CRF₂) 受容体の 2 つのサブタイプが知られており³⁻⁶、このうち、CRF₁ 受容体は、大脳皮質、小脳、嗅球、下垂体、扁桃核等の中枢組織に多く分布することが報告されている。GPCR は、アミノ酸配列や機能の類似に基づいて幾つかのクラスに分類されており、CRF 受容体はクラス B に属する。内因性リガンドとの結合に関しては、例えばクラス A GPCR では、膜貫通領域に結合ドメインが存在しているのに対し、クラス B GPCR では、N 末端にやや長い細胞外ドメインを有し、そこにリガンド結合ドメインが存在する⁷⁻¹⁰。CRF と CRF₁ 受容体の結合様式に関しては 2 - ドメインモデルが提唱されており、CRF の C 末端が、受容体の N 末端のリガンド結合ドメインと高い親和性を示したのち受容体の構造変化を引き起こし、CRF の N 末端が受容体の膜貫通領域の表面部位に高い親和性を示す^{11,12}。一方、低分子のアロステ

リックリガンドは、内因性リガンドの結合ドメインとは異なる部位、すなわちクラス A では膜貫通領域の表面部位に、クラス B では膜貫通領域(内部)に結合することが知られており⁷⁻¹⁰、既知の CRF₁ 受容体拮抗剤においても CRF の結合部位とは異なる部位に結合しアロステリック作用を示すことが報告されている^{13,14}。

さらに、前臨床および臨床データから CRF および CRF₁ 受容体とストレス性疾患の関連性が示唆され、その有用性が期待されている。例えば、CRF₁ 受容体ノックアウトマウスでは抗不安様作用が確認されている^{15,16}。また、ラットの脳内に CRF を脳室内投与するとうつ・不安様行動が認められる¹⁷。さらに、うつ病患者の脳脊髄液中の CRF は正常人に比べ高値であることも報告されている^{18,19}。これらの結果は CRF₁ 受容体拮抗剤のうつ病や不安障害に対する治療薬としての可能性を示唆するものであり、多くの研究グループがうつ様および不安様動物モデルにおける CRF₁ 受容体拮抗剤の有効性を報告している²⁰⁻²⁷。一方で、CRF₂ 受容体のストレス性疾患に対する役割については十分には解明されていない。

しかしながら、臨床における CRF₁ 受容体拮抗剤の有用性は十分に証明されているとは言い難い。化合物 1 (R121919) が、肝毒性(肝酵素の可逆的な上昇との報告)のため開発中止にはなったが早期第 2 相試験でうつ・不安症状に対し有効であることが報告されコンセプトの妥当性が示唆された一方で^{28,29}、4 (CP-316,311) は臨床試験で効果を得るに至らなかった³⁰(図 1)。私は、これらの結果は、これら化合物自体の医薬品としての物理化学的性質や不十分な薬効などに起因するものであり、CRF₁ 受容体拮抗剤の新規治療概念の有用性を否定するものではないと考えた。このことから、CRF₁ 受容体拮抗剤の薬剤としての有用性を証明するためには、多様な構造を持つ化合物の投入により継続的に臨床試験を行うことが重要であり、臨床で唯一有効性が報告された 1 と同等以上の薬理活性を有する新規な CRF₁ 受容体拮抗剤の創出を目指し本研究に着手した。

図 1. 6,5-縮合環系および単環系母核を有する代表的な既知 CRF₁ 受容体拮抗剤

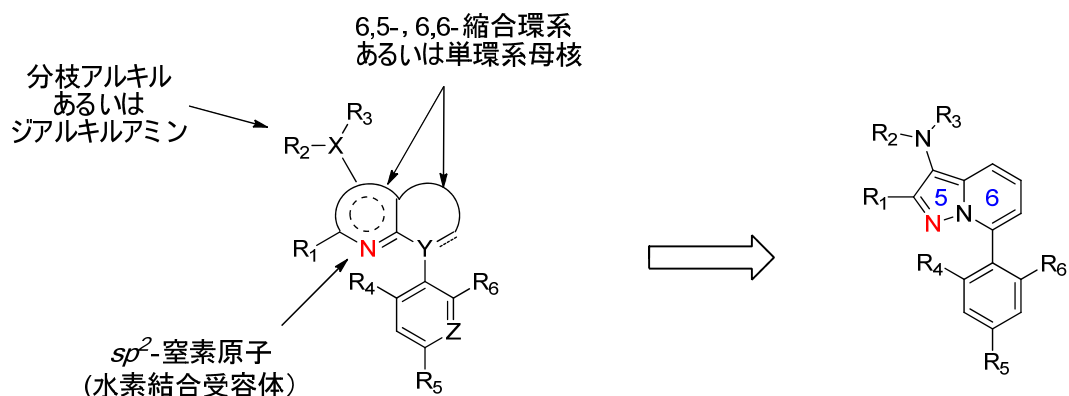


第 1 章 新規ピラゾロ[1,5-*a*]ピリジン誘導体の設計と合成展開 ~ E2508 の創出

第 1 節 既知 CRF₁ 受容体拮抗剤からの中心母核デザイン

CRF₁ 受容体拮抗剤の開発は非常に競合が激しく、既に図 1 に示す 1³¹、2 (CP-154,526)³²、3 (DMP696)³³ および 4³⁴ を始めとする数多くの化合物が報告されている。また、多くの化合物は、図 2 左に示す構造的な共通点を有している³⁵。すなわち、(1) 水素結合受容体として重要と考えられる *sp*²-窒素原子を含む芳香環を母核とし、(2) *sp*²-窒素原子近傍に小さい置換基 (R₁) と (3) 母核の上部に分枝アルキルあるいはジアルキルアミン (-XR₂R₃)、さらに (4) 下部にオルト・パラ位置換の二あるいは三置換芳香環を有する。このように解析された構造活性相関に基づき、多くの研究グループが中心母核の変換に集中した探索研究を行っている。

図 2. 既知 CRF₁ 受容体拮抗剤からの化合物デザイン



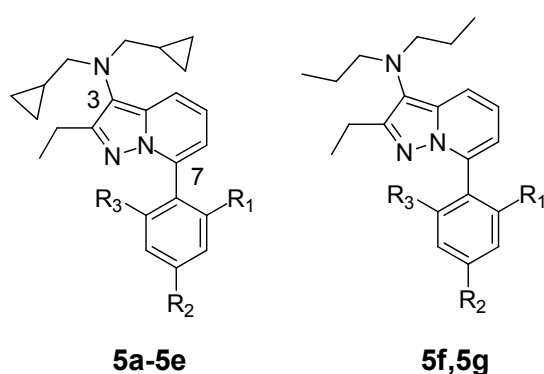
私は、CRF₁ 受容体拮抗剤をデザインするにあたり、中心母核を新規性の高いテンプレートに変換することを基本戦略とし、図 2 左に示す構造要件を満たす化合物として、これまでにほとんど報告例が少ない 5,6 - 縮合環系母核 (5 員環に *sp*²-窒素原子とジアルキルアミノ基を有する構造)に着目した。具体的には、図 2 右に示すピラゾロ[1,5-*a*]ピリジン骨格をデザインし、新規 CRF₁ 受容体拮抗剤の探索を開始した。

第2節 ピラゾロ[1,5-*a*]ピリジン誘導体の合成展開

化合物の *in vitro* 活性として、ヒト CRF₁ 受容体を高発現させた HEK293 細胞を調製し、^[125I]CRF を用いた CRF 結合阻害活性および CRF による細胞内 cAMP 産生に対する抑制効果を評価した⁵⁾。なお、表中の活性値は全て 2 回の測定の平均値を示す。

最初に、既知の CRF₁ 受容体拮抗剤の部分構造として頻繁に見られる側鎖をピラゾロ[1,5-*a*]ピリジン母核の 3 位と 7 位に導入し、CRF₁ 受容体に対する阻害活性を評価した。その結果、100 nM 以下の強い阻害活性が確認され、ピラゾロ[1,5-*a*]ピリジン構造の母核としての有効性が証明された (表 1)。また、3 位ジアルキルアミン側鎖に関して、上段の 5a, 5b および下段の 5f, 5g の比較から、ジシクロプロピルメチル基がより強い活性を示すことが示唆された。この中で、オルト位にメトキシ基を有する三置換フェニル誘導体 5d が最も強い cAMP 産生抑制活性を示したことから、本化合物を起点として構造最適化を行うこととした。

表 1. トリガー化合物の合成

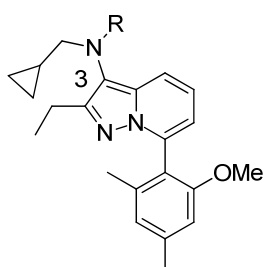


化合物	R ₁	R ₂	R ₃	CRF結合阻害 IC ₅₀ (nM)	cAMP産生抑制 IC ₅₀ (nM)
5a	Cl	OMe	H	10	100
5b	Me	OMe	H	16	150
5c	OMe	Me	H	12	100
5d	OMe	Me	Me	24	59
5e	Me	OMe	Me	13	90
5f	Cl	OMe	H	15	200
5g	Me	OMe	H	57	480

一方、5dの最大の課題はヒト肝ミクロゾーム中での代謝安定性が低く、肝代謝固有クリアランス (hCLint) 値が高いことである。私は、その原因が化合物の高脂溶性にあると考え、まず脂溶性低下による5dの代謝安定化を目指した。

代謝不安定性の原因として3位の脱N-アルキル化を想定し、最初にこの部位の変換を行った(表2)。なお、表中におけるhCLint値は全て6回の測定の平均値を示す。また、脂溶性の指標として用いたclogP値は、Daylight Chemical Information Systems社の計算プログラムを用いて算出した。

表2. 3位ジアルキルアミン部位の変換



化合物	R	CRF結合阻害 IC ₅₀ (nM)	hCLint (mL/min/mg)	clogP
5d		24	1.12	6.8
5h		41	1.69	5.9
5i		20	1.41	6.3
5j		38	1.35	5.7
5k		34	1.23	6.3
5l		22	0.45	6.1

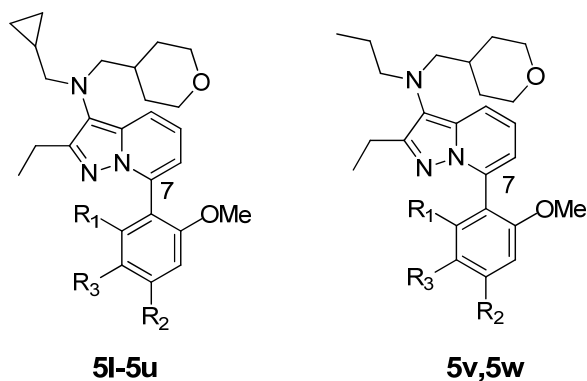
まず、脂溶性低下による改善を狙いエーテル部位を有する側鎖の導入を試みた。しかしながら、メトキシエチル基の導入では、活性は維持するもののhCLintはかえって悪化した(5h)。

この原因として脱メチル化を想定し、それを防ぐ目的で環状エーテルを導入した。その結果、5員環エーテルを有するテトラヒドロフラニルメチル基(5j, 5k)の導入では代謝安定性の改善は見られなかったが、6員環エーテルを有する4-テトラヒドロピラニルメチル(4-THP)基の導入により代謝安定性が大きく改善することを見出した(5l)。表2における代謝安定性の改善については、必ずしもclogPとの相関が得られていないことから脂溶性以外の要因について考察を行った。すなわち、エーテル側鎖を有する誘導体では代謝経路として脱N-アルキル化およびエーテル酸素原子の隣接炭素の酸化が想定されるため、エーテルを有さない5dとは代謝プロファイル自体が変化していると考えた。そのうえで、環状エーテル誘導体では、酸素原子の位置の違いがエーテル環上の代謝の減弱に寄与し、5lにおいてhCLintの改善に好影響を及ぼしたと推測した。また、環状エーテルを有する化合物群の代謝安定性の比較検討を行った引用文献で、酸素原子の位置の違いによる類似の安定性変化が報告されており³⁶、本考察を支持するものと考えている。

次に、代謝安定性が大きく改善された5lを基に溶解性の改善を目指し7位ベンゼン環上の置換基変換を行った(表3)。なお、表中における溶解度(μM)は、化合物の10 mMジメチルスルホキシド溶液を用いた中性緩衝溶液中における溶解度を示す³⁷。

まず、脂溶性低下を志向し7位芳香環上にメトキシ基をもう一つ導入したジメトキシフェニル誘導体5mおよび5nにおいては、パラ位(5n)よりオルト位導入(5m)により溶解度の改善傾向が見られた。そこで、7位芳香環上のオルト位をジメトキシ基に固定しパラ位の変換を行った。その結果、さらなるメトキシ基の導入によっては大きな溶解度の改善を示さなかったのに対し(5o)、ヒドロキシメチル誘導体(5q)では溶解度が大きく改善された。残念ながら5qでは活性が減弱したが中程度の活性を示したことから、その水酸基をメチル化したところ強力なCRF結合阻害活性を示しながら溶解性に加えて代謝安定性も改善された5rを見い出すに至った。この改善には、脂溶性低下の寄与もあると考えている(5r: 4.73 vs 5m: 5.43)。なお、5sの結果からメトキシメチル基のオルト位への導入は有効でないこと、また5uの結果からパラ位置換基自体の必要性も示された。さらに5m, 5rおよび5v, 5wの比較から、3位アルキルアミン部位においては表1の結果と同様な傾向、すなわち、シクロプロピルメチル基が*n*-プロピル基よりも活性のみならず代謝安定性に対しても有利である結果が示された。

表 3. 7 位芳香環部位の構造活性相関

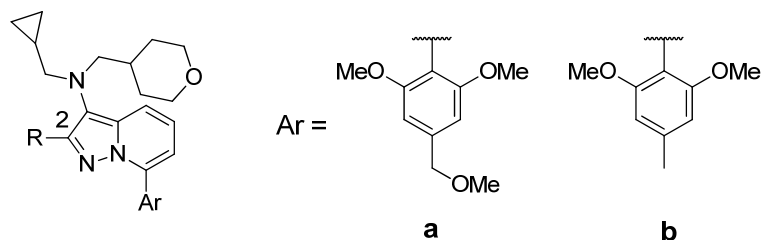


化合物	R ₁	R ₂	R ₃	CRF結合阻害 IC ₅₀ (nM)	溶解度 (μ M)	hCLint (mL/min/mg)
5l	Me	Me	H	22	0	0.45
5m	OMe	Me	H	22	1.6	0.44
5n	Me	OMe	H	40	0	0.45
5o	OMe	OMe	H	42	2.5	0.45
5p	H	OMe	OMe	130	3.6	0.60
5q	OMe	CH ₂ OH	H	200	30	NT
5r	OMe	CH ₂ OMe	H	50	4.8	0.30
5s	CH ₂ OMe	OMe	H	120	2.9	0.53
5t	OMe	CH ₂ OEt	H	49	1.4	0.52
5u	OMe	H	H	105	3.3	0.74
5v	OMe	Me	H	40	1.3	0.89
5w	OMe	CH ₂ OMe	H	90	3.1	0.70

NT = not tested

続いて、5r を基に 2 位の置換基変換を検討した (表 4)。その結果、メトキシ基 (6a) およびシアノ基 (9) の導入では代謝安定性の悪化、またメチル基 (8) の導入では活性の減弱を招いた。一方、メチルチオ誘導体 7a においては溶解度が悪化したが 5r と同等の活性、hCLint が確認された。

表 4. 2 位置換基の効果

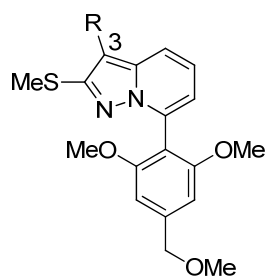


化合物	Ar	R	CRF結合阻害 IC ₅₀ (nM)	溶解度 (μ M)	hCLint (mL/min/mg)	cAMP産生抑制 IC ₅₀ (nM)
5r	a	Et	50	4.8	0.30	23
6a	a	OMe	51	5.5	0.76	110
7a	a	SMe	35	0	0.34	30
8	a	Me	120	21	0.11	50
9	a	CN	52	1.7	1.10	52
5m	b	Et	22	1.6	0.44	20
6b	b	OMe	25	0.5	0.57	140
7b	b	SMe	47	0	NT	39

NT = not tested

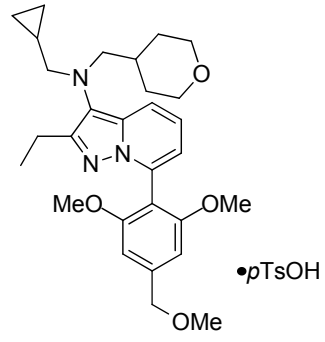
そこで、2 - メチルチオ誘導体 7a の 3 位ジアルキルアミン部位を再度変換することにより溶解性の改善を図った (表 5)。脂溶性低下を志向し、水酸基 (7c)、シアノ基 (7d)、ジオキサソロンや直鎖エーテルなどの水溶性基 (7e、7f、7g) を導入したところ、7e および 7g が、7a と同等の強い CRF 結合阻害活性を維持しつつ溶解性の改善を示した。しかしながら、これらの化合物に関しては cAMP 産生抑制活性が弱いことが判明した (cAMP 産生抑制 7e : IC₅₀ = 180 nM、7g : IC₅₀ = 124 nM)。

表 5. 2 位メチルチオ誘導体における 3 位ジアルキルアミン部位の変換



化合物	R	CRF結合阻害 IC ₅₀ (nM)	溶解度 (μ M)
7a		35	0
7c		98	26
7d		194	4.7
7e		27	5.6
7f		113	4.1
7g		34	13

以上、強い CRF 結合阻害活性を有するトリガー化合物 5d を基に最適化研究を行い、その活性を維持したまま代謝安定性と溶解性を改善した 5r を見出した。5r は開発候補品として選択され、開発研究に向けた塩・結晶化検討を行ったところパラトシル酸塩 (E2508) が最も良質な塩系であることが判明した。E2508 の CRF₁ 受容体に対する CRF 結合阻害活性は $K_i = 11$ nM であり³⁸、ヒト CRF₂ 受容体に対しても高い選択性を示した ($K_i > 10$ μ M)³⁹。なお、対照化合物として測定した 1 (R121919) の結合阻害活性は $K_i = 8.3$ nM であった。



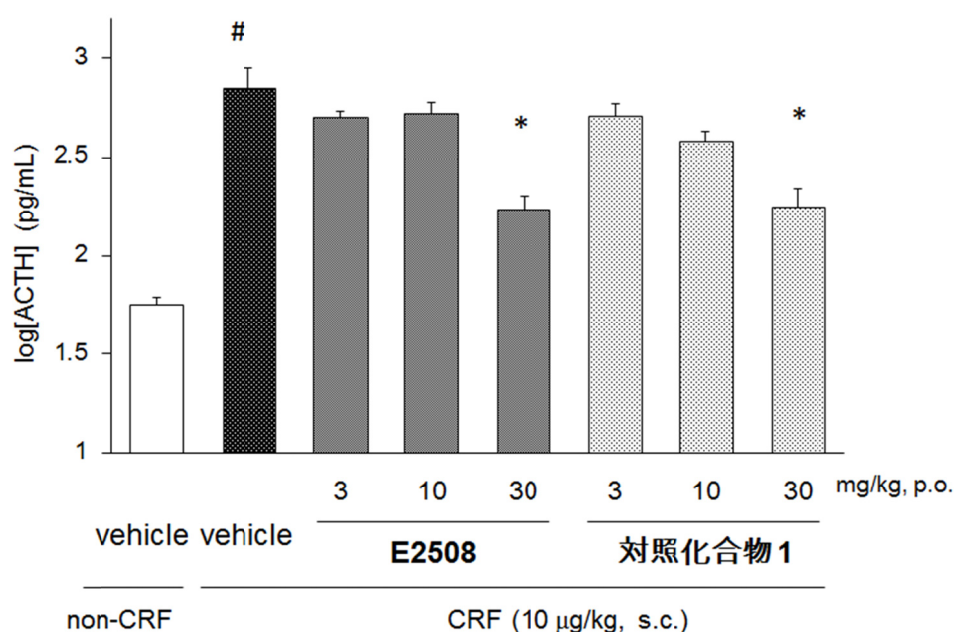
5r (E2508)

第3節 E2508の薬理的性質およびマウス体内動態試験

E2508 (5r) について、経口投与による in vivo 薬理作用を評価した。

ラットに CRF を皮下投与することにより血漿中 ACTH 濃度が上昇することが知られている⁴⁰。本試験は、血漿中 ACTH 上昇に対する化合物の抑制効果を見ることにより、in vivo における CRF₁ 受容体拮抗作用を確認することを目的としたものである。ラットに E2508 を経口投与した 60 分後に CRF (10 µg/kg) を皮下投与し、その 30 分後の血漿中 ACTH 濃度を定量した。その結果、CRF により誘発された血漿中 ACTH 上昇に対し対照化合物 1 に匹敵する抑制作用を示した。(図 3)。この結果は、E2508 の CRF₁ 受容体拮抗作用を明確に示すものである。

図 3. ラット CRF 誘発 ACTH 産生抑制作用 (in vivo CRF₁ 受容体拮抗作用)



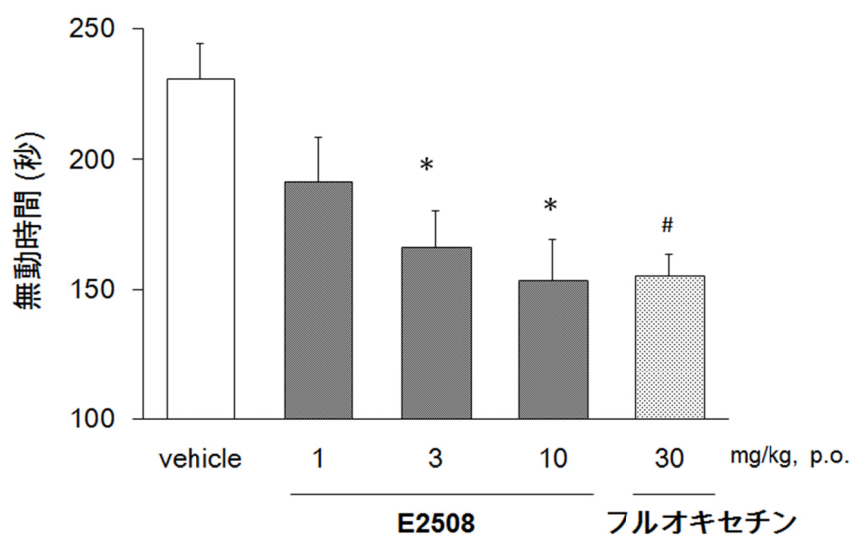
平均値 ± SEM (n=5)、# $P < 0.05$ vs non-CRF control、* $P < 0.05$ vs CRF control

次いで、種々の動物モデルを構築し化合物の作用を評価した。

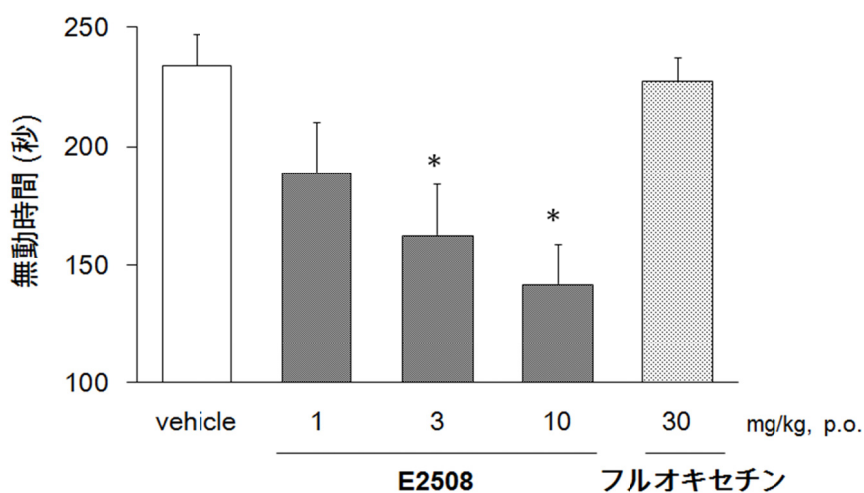
強制水泳試験は、化合物の抗うつ様作用評価に広く用いられる⁴¹。水を張った円筒状の容器にラットを入れ無動時間を測定し、化合物投与による変化を観察する。SSRI などの既存の抗うつ薬は、臨床で効果を発揮するまである程度の服用期間が必要とされているが、動物の強制水泳試験でも連続投与ではじめて効果が認められる。本試験において対照化合物として用いた

フルオキセチンが効果発現に連投を必要としたのに対し、E2508は単回投与においても無動時間（水の中で頭部だけを水面から出して動かない時間）を有意に減少させた（図4）。このことから、E2508は臨床においてもSSRIに比べて早期に効果を発現することが期待される。

図4. E2508のラット強制水泳試験による抗うつ様作用（上：8日連投、下：単回）



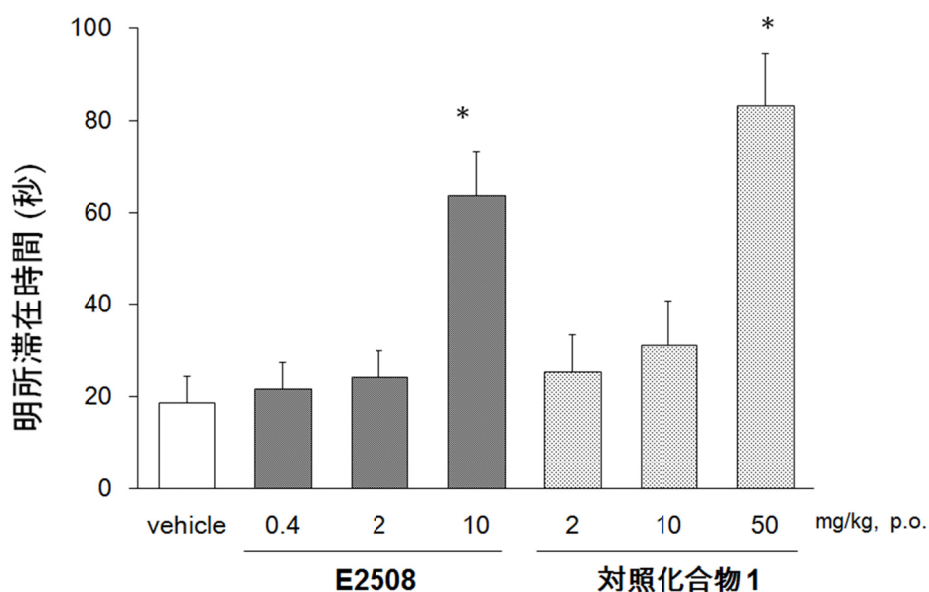
平均値 ± SEM (n=8)、* $P < 0.05$ vs vehicle control、# $P < 0.05$ vs vehicle control



平均値 ± SEM (n=8)、* $P < 0.05$ vs vehicle control

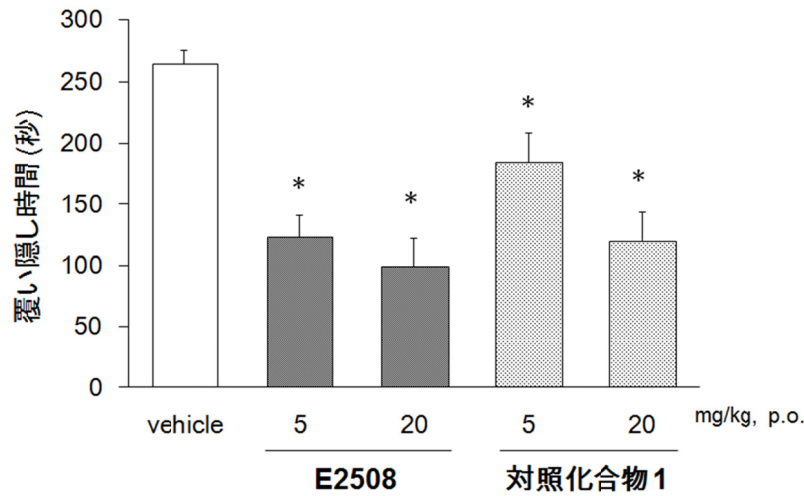
抗不安様作用の評価としては、まずマウス明暗箱試験 (Light-dark test)⁴²を行った。本試験では、抗不安作用を有する薬物の投与により明箱での滞在時間の増加が観察される。E2508は、10 mg/kg (経口投与) で1と同様に明箱での滞在時間を有意に増加した (図5)。また、防御性覆い隠し試験 (Defensive burying test)⁴³においても用量依存性的かつ有意に覆い隠し行動時間を減少させた (図6)。これらの結果は、臨床においても抗不安作用を示す可能性を示唆するものである。

図5. E2508のマウス明暗箱試験による抗不安様作用



平均値 ± SEM (n=24)、* $P < 0.05$ vs vehicle control

図 6. E2508 のラット防御性覆い隠し試験による抗不安様作用



平均値 ± SEM (n=8)、* $P < 0.05$ vs vehicle control

最後に、E2508 を静脈内投与 (3 mg/kg) および経口投与 (10 mg/kg) したマウス体内動態 (PK) 試験の結果を表 6 に示す。静脈内投与では、 $CL = 2.6$ L/h/kg、 $V_{dss} = 3.74$ L/kg と中クリアランス、中分布容積の化合物であった。経口投与の結果は、 $C_{max} = 0.32$ $\mu\text{g/ml}$ 、 $T_{max} = 0.25$ 時間で、B.A.は約 31%であった。マウスおよび他の動物 (ラット、イヌ、サル) の PK 試験 (データ非掲載) におけるトータルクリアランスは、それぞれの動物の *in vitro* のクリアランス (データ非掲載) から計算された肝クリアランスとほぼ同程度であった。これは、E2508 の動物におけるメインの代謝経路が肝代謝であることを示唆する結果であり、ヒトにおいても肝代謝がメインであると予測した。

表 6. E2508 のマウス体内動態データ

静脈内投与 (3 mg/kg)		経口投与 (10 mg/kg)	
CL (L/h/kg)	2.6	C_{max} ($\mu\text{g/mL}$)	0.32
V_{dss} (L/kg)	3.74	T_{max} (h)	0.25
AUC ($\mu\text{g/mL}\cdot\text{h}$)	0.85	AUC ($\mu\text{g/mL}\cdot\text{h}$)	0.87
$T_{1/2}$ (h)	2.2	B.A. (%)	31

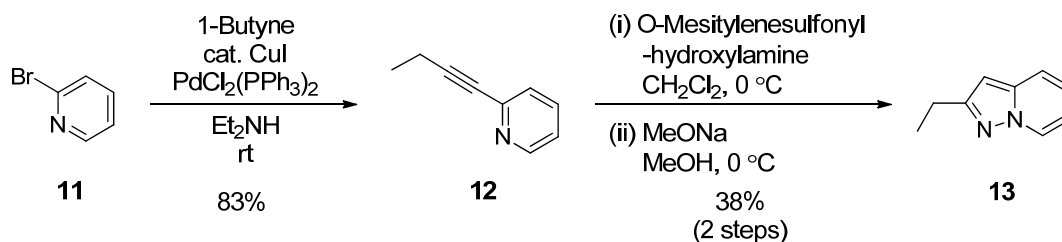
平均値 (n=4)

また、副作用の観点から 75 種の受容体、チャネルおよびトランスポーターへの親和性を測定した。その結果、1 μM では有意な親和性が認められず CRF₁ 受容体への選択性が示された。さらに、E2508 は薬物の中枢移行性や薬物間の相互作用において重要な要因となりうる P-gp の基質でなく、また心臓の副作用の指標である hERG に対する阻害活性も弱かった ($\text{IC}_{50} = 16.3 \mu\text{M}$)。

第 4 節 ピラゾロ[1,5-*a*]ピリジン誘導体の合成

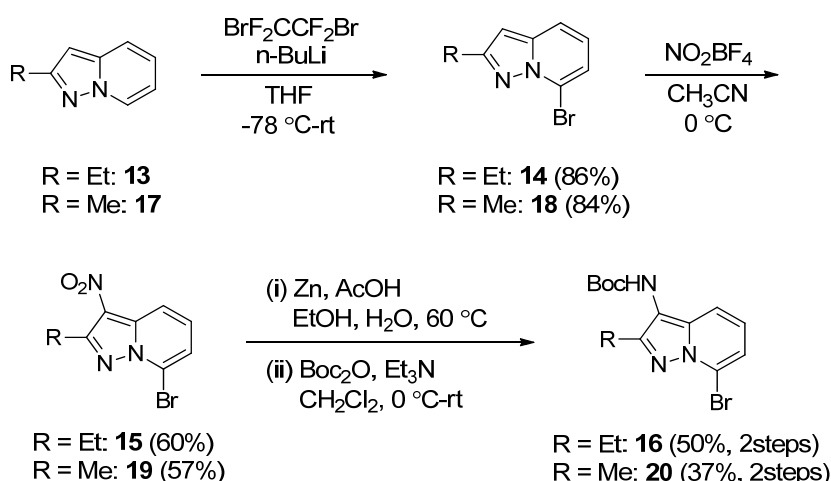
スキーム 1 に、2 位にエチル基を有するピラゾロ[1,5-*a*]ピリジン中間体 13 の合成法を示す。まず、市販の 2 - ブロモピリジン 11 と 1 - ブチンからクロスカップリング反応により 12 を得た。次いで、Tamura らの報告⁴⁴に従い *O*-メシチレン スルホニルヒドロキシルアミン (爆発性注意!) による *N*-アミノ化を行ったのち、塩基存在下の分子内環化反応によりピラゾロ[1,5-*a*]ピリジン骨格を構築し 2 - エチルピラゾロ[1,5-*a*]ピリジン 13 を得た。なお、本環化反応においては、まず Tsuchiya らの報告⁴⁵を参考にし炭酸カリウム / ジメチルホルムアミドの条件を試みたが得られた 13 は非常に低収率 (10%以下) であった。そこで、塩基および溶媒を種々検討した結果、テトラヒドロフラン中カリウム *tert*-ブトキッドを用いる条件により収率が 20%程度まで改善し、最終的にはスキーム 1 に示すとおり中規模合成に耐えうる収率まで向上した。

スキーム 1



得られた 13 に対し *n*-ブチルリチウムを作用させたところ、芳香環導入の足がかりとなるリチオ化およびプロモ化が望みとする 7 位に収率よく進行することを見出した (スキーム 2)。次いで、3 位のニトロ化、およびそれに続く亜鉛還元により得られたアミン部を *tert*-ブトキシカルボニル基で保護することにより中間体 16 を得た。また、Tsuchiya らの報告⁴⁵に従い合成した 2 - メチルピラゾロ[1,5-*a*]ピリジン 17 からも、16 の合成と同様の方法により化合物 20 を得た。

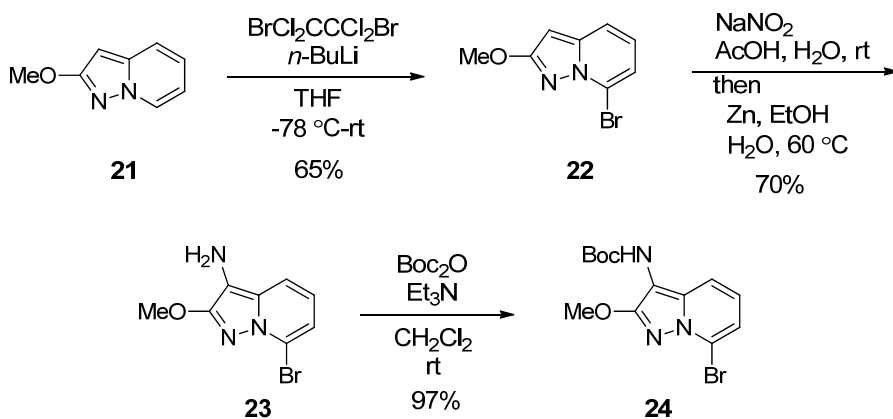
スキーム 2



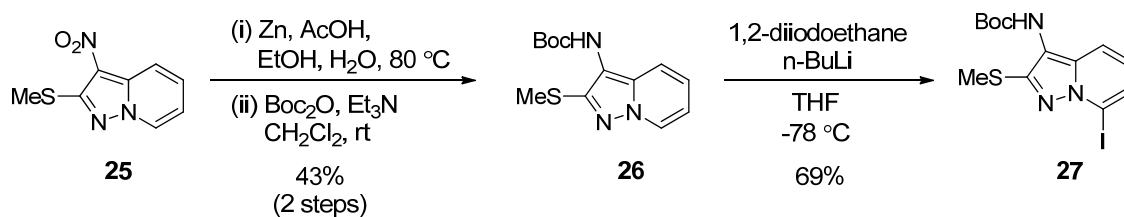
続いて、スキーム 3 および 4 に、2 位にメトキシ基およびメチルチオ基を有する合成中間体 24 および 27 の合成法を示す。まず、Ochi らの報告⁴⁶に従い合成した 21 を用いてスキーム 2 と同様にテトラフルオロホウ酸ニトロニウムによるニトロ化を試みたが反応系は複雑化した。また、硝酸銅(II)三水和物を用いた場合には反応は進行しなかった。これに対し、酢酸中、亜硝酸ナトリウムを作用させたところニトロソ化が進行することがわかり、このニトロソ体を単離することなくワンポットで亜鉛による還元を行った。得られたアミン 23 を保護することにより *tert*-ブチルカーバメート 24 へと導いた。

一方、2 位メチルチオ中間体の場合は、Fujito らの報告⁴⁷に従い合成した 25 のニトロ基を利用し先に *tert*-ブチルカーバメート 26 としたのちに、7 位にヨード基を導入することにより 27 へと導いた。

スキーム 3

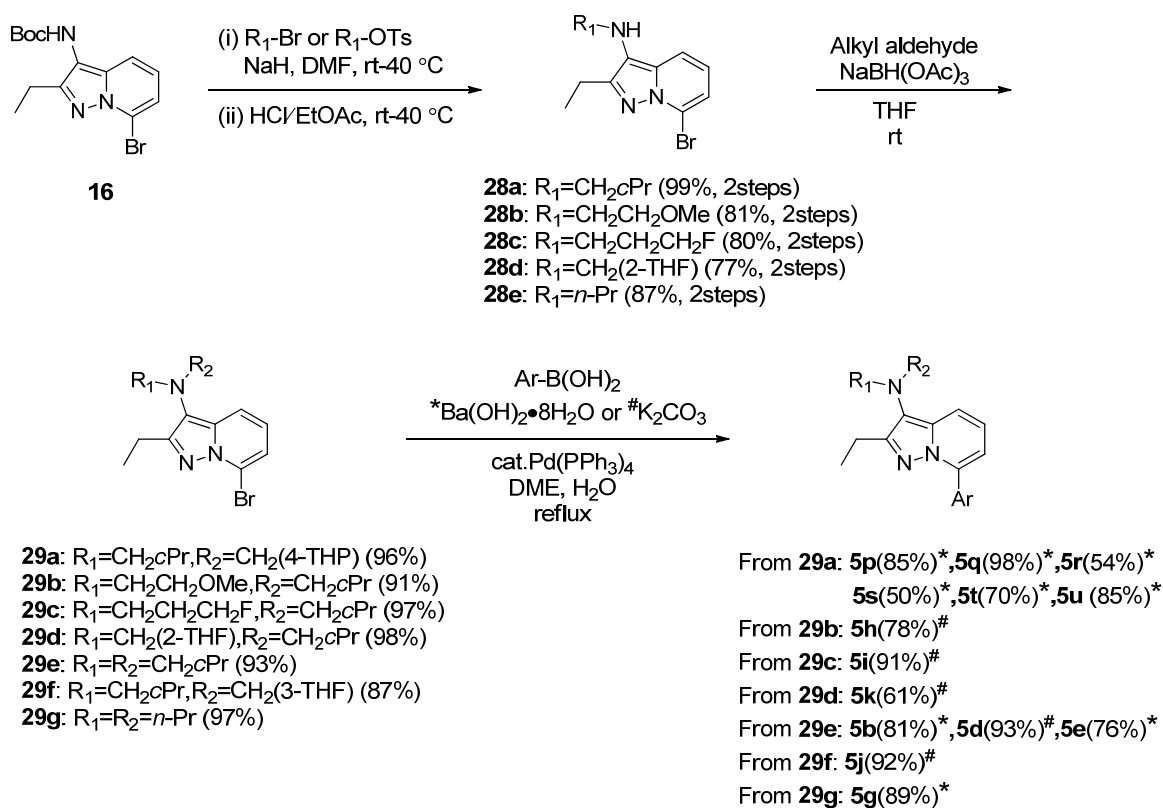


スキーム 4

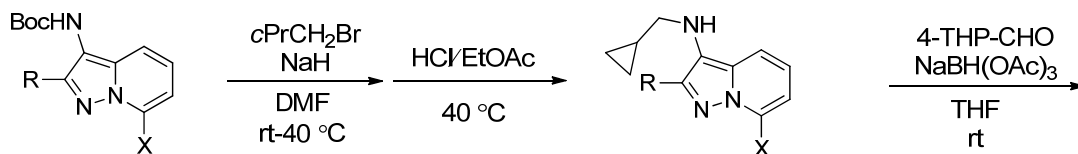


以上により得られた中間体から、スキーム 5 および 6 に示す方法により最終化合物 5、6a、7a および 8 へと変換した。すなわち、水素化ナトリウム存在下、化合物 16 および 24、27、20 に種々アルキル化剤を作用させたのち、酸性条件下で *tert*-ブトキシカルボニル基を除去することにより 2 級アミン 28 および 30、32、34 をそれぞれ得た。次いで、還元的アミノ化により 3 級アミンとしたのち、種々の置換フェニルボロン酸を用いた 7 位の鈴木 - 宮浦カップリングにより目的とするピラゾロ[1,5-*a*]ピリジン誘導体へと導いた。

スキーム 5

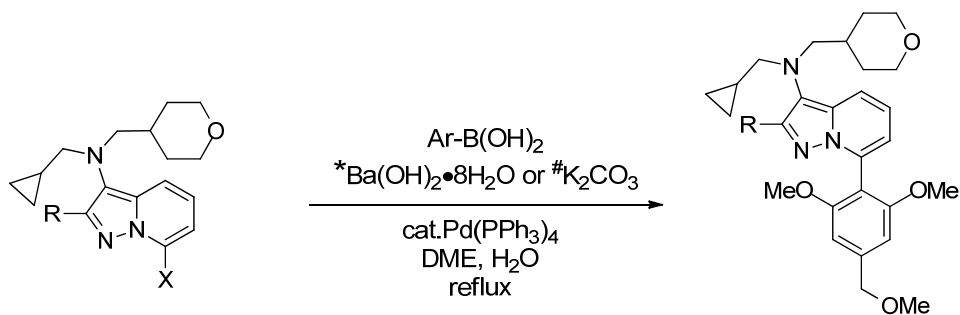


スキーム 6



24: R=OMe, X=Br
27: R=SMe, X=I
20: R=Me, X=Br

30: R=OMe, X=Br (quant, 2steps)
32: R=SMe, X=I (94%, 2steps)
34: R=Me, X=Br (86%, 2steps)

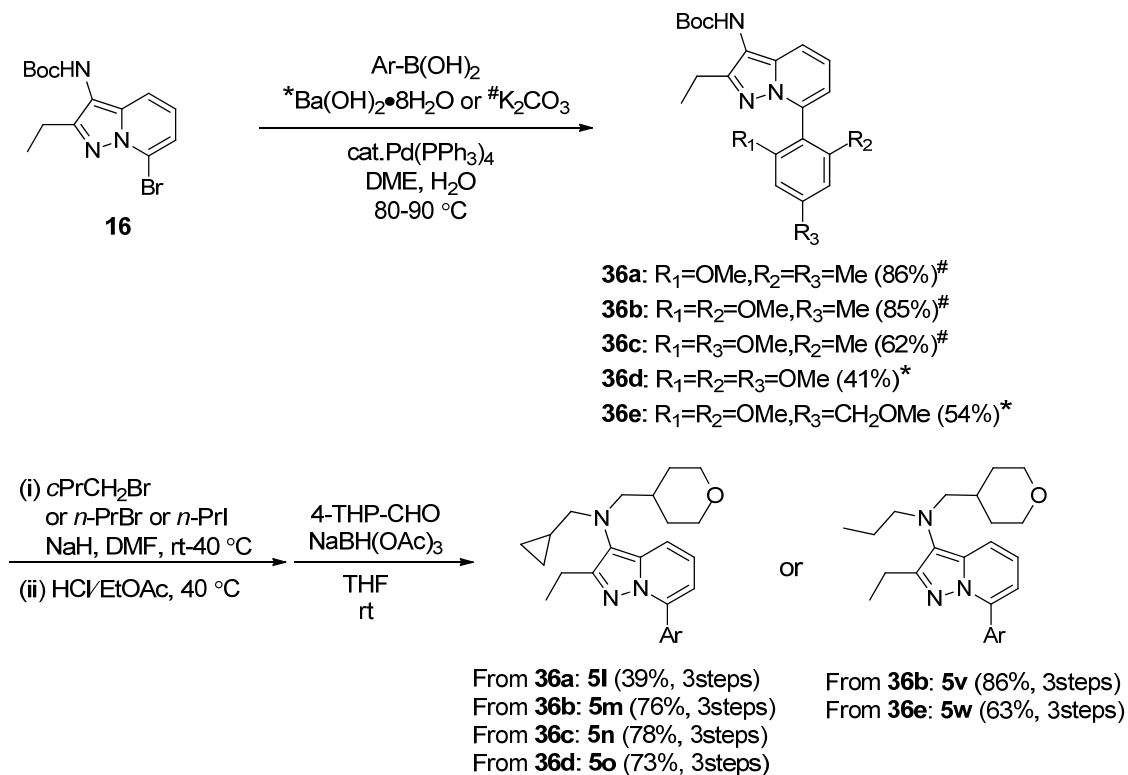


31: R=OMe, X=Br (99%)
33: R=SMe, X=I (58%)
35: R=Me, X=Br (85%)

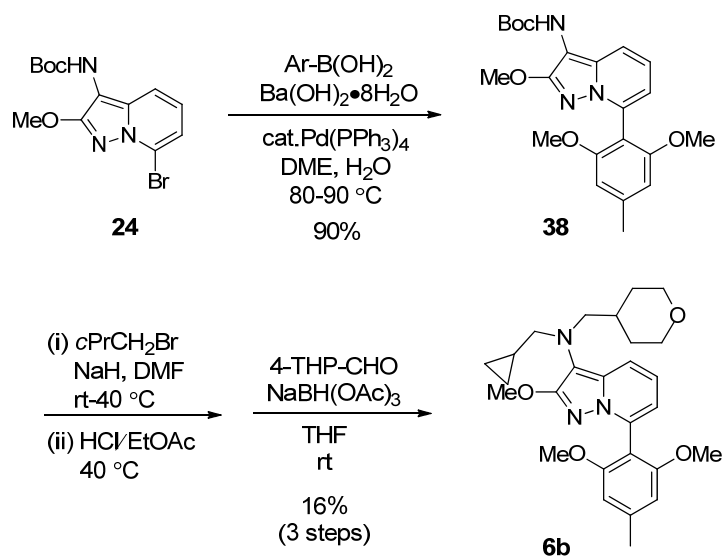
6a: R=OMe (89%)*
7a: R=SMe (37%)*
8: R=Me (61%)*#

また、3 位に *tert*-ブトキシカルボニル基を有する中間体 16、24 および 27 から、先に 7 位へ芳香環 (Ar) を導入したのちに 3 位ジアルキルアミン部位を修飾する方法によっても、最終化合物 5 (スキーム 7) 6b (スキーム 8) および 7 (スキーム 9) を得ている。

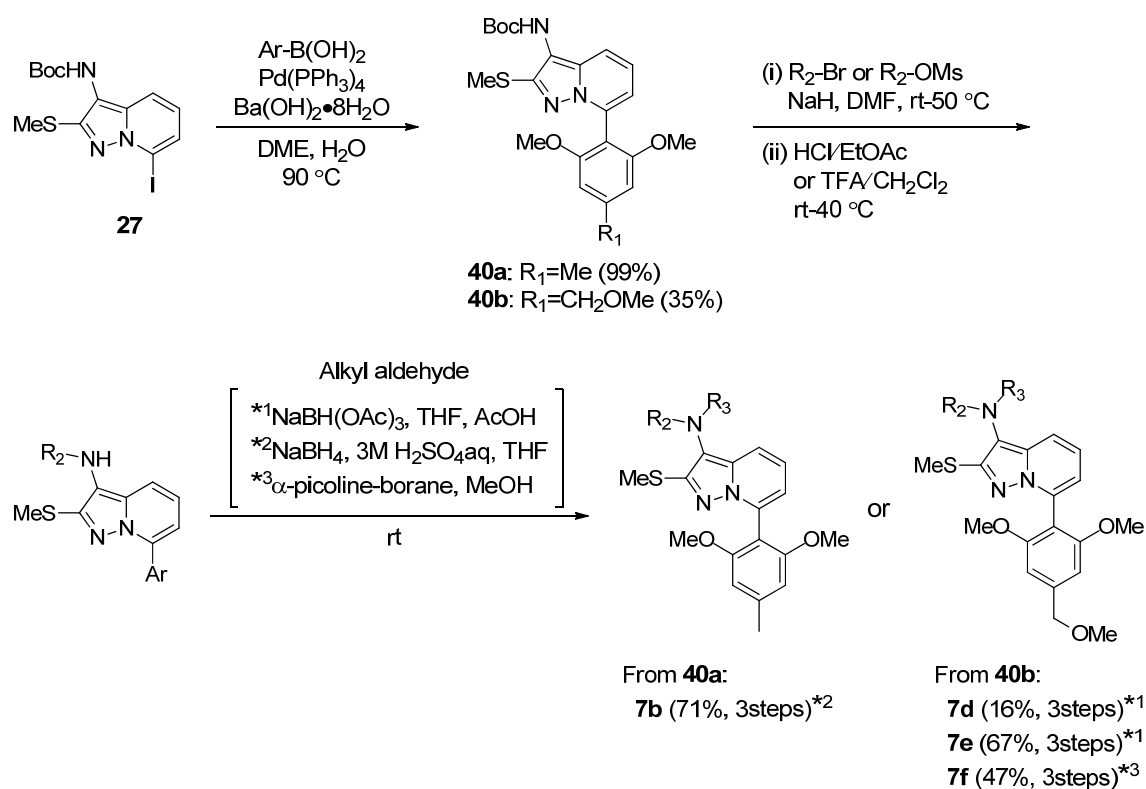
スキーム 7



スキーム 8

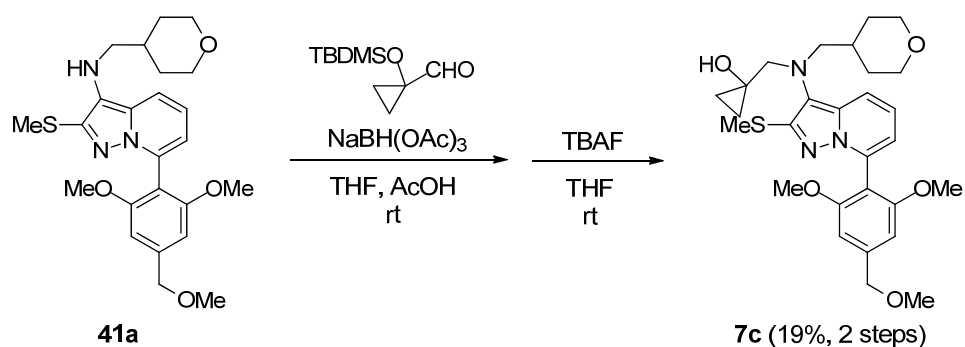


スキーム 9

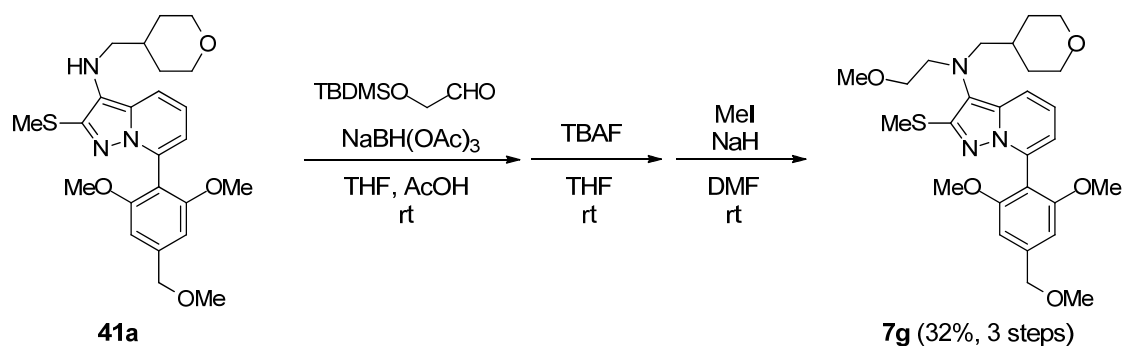


スキーム 10 および 11 に、2 位メチルチオ誘導体 **7c** および **7g** の合成法を示す。シリルエーテル部位を有するアルデヒドと化合物 **41a** の還元的アミノ化を経由して、アルコール体 **7c** およびメチルエーテル体 **7g** を合成した。

スキーム 10

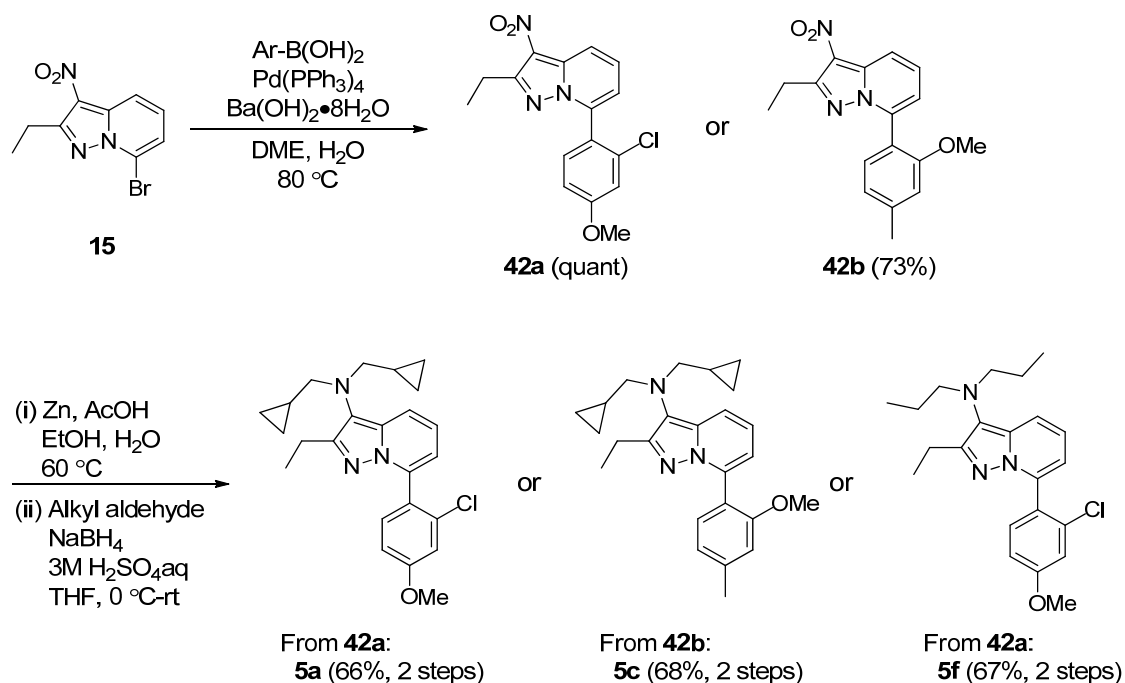


スキーム 11



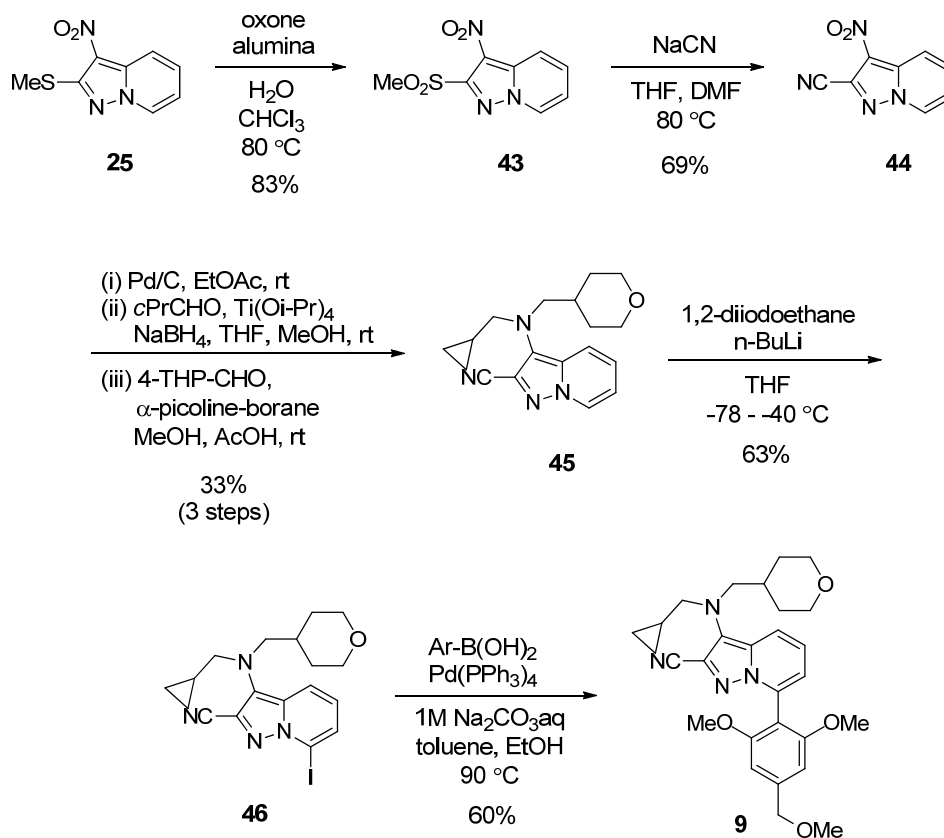
3 位にニトロ基を有する中間体 15 を用いて、先に芳香環を導入したのち最終化合物 5 へと変換する合成法をスキーム 12 に示す。42 のニトロ基の還元により得られる 1 級アミンの還元的アミノ化により、3 位に対称のジアルキルアミノ基を有する 5 が得られる。

スキーム 12



最後に、2位シアノ誘導体 9 の合成法をスキーム 13 に示す。まず化合物 25 の 2 位メチルチオ基の酸化により得たメタンスルホニル基 (43) を脱離基としてシアノ基を導入した (44)。3 位を 3 級アミンへと変換した 45 でも、スキーム 4 と同様の手法により 7 位にヨード基を導入することに成功した。46 の鈴木 - 宮浦カップリングは望みとする化合物 9 を与えた。

スキーム 13



第 5 節 第 1 章まとめ

以上、既存の CRF₁ 受容体拮抗剤の構造の解析から抽出された共通要因から 5,6 - 縮合環系のピラゾロ[1,5-*a*]ピリジン誘導体をデザインし、活性、代謝安定性および物性（脂溶性・溶解度）のパラメータを指標として置換基変換を行った結果、強い活性を有し、かつヒトでの代謝安定性が良好と予想される化合物 5r を見出した。5r は、既存の CRF₁ 受容体拮抗剤に見られないオリジナルの側鎖を有し、種々の動物モデルにおいて対照化合物 1 (R121919) と同等以上の薬理作用を示した。そのトシル酸塩 E2508 は、第一相試験へ進められている。

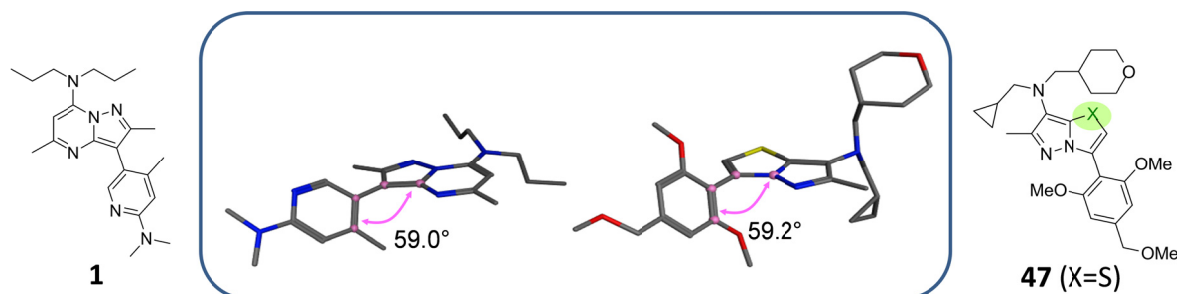
第2章 新規ピラゾロ[5,1-*b*]チアゾール誘導体の設計と合成展開～E2009の創出

第1節 中心母核のデザイン

CRF₁ 受容体拮抗剤の薬剤としての有用性を証明するためには、多様な構造を持つ複数の化合物を臨床導入することが重要と考え探索を継続した。

5r のオリジナル側鎖を利用し、前章と同様に中心母核を新規性の高いテンプレートに変換するという基本戦略のもと、5,6 - 縮合環系よりもさらに新規性が高い 5,5 - 縮合環系の探索に移行した。その際、活性発現の重要な要因と推定される「母核と下部芳香環部による二面体角」に注目し³⁵、ピラゾロ[1,5-*a*]ピリジン母核の右側ピリジン環を 5 員環に置き換えた 5,5 - 縮合環系化合物 (図 7 右) において、右環がチアゾール (X=S: 47)、オキサゾール (X=O)、イミダゾール (X=NH or NMe) の場合の最安定配座における二面体角をそれぞれ計算し、対照化合物 1 (R121919) と比較した。その結果、ピラゾロ[5,1-*b*]チアゾール 47 と対照化合物 1 の二面体角がほぼ同等の値を示したことから、本誘導体の構造活性相関の探索を開始した。

図 7. 化合物 1 (左) と 47 (右) の二面体角の比較

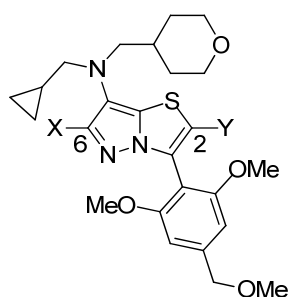


Maestro 9.2 ソフトウェアパッケージ MACROMODEL および JAGUAR (Schrodinger) を使用し、分子力場 (OPLS_2005) を用いた配座解析と密度汎関数法 (B3LYP/6-31G(d,p)) を用いた構造最適化計算により化合物の 3 次元構造を準備した

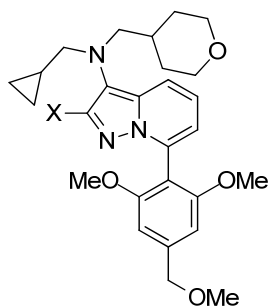
第2節 ピラゾロ[5,1-*b*]チアゾール誘導体の合成展開

最初に、前節で二面体角を計算した 47 を合成したところ、CRF₁ 受容体に対しピラゾロ [1,5-*a*]ピリジン誘導体 5r と同等の結合阻害活性が確認され、本母核も CRF₁ 受容体拮抗剤としての有効性が示された (表 7)。また、47 の 6 位メチル基をメトキシ基に変換した 48a および 2,6 - ジメチル体 49 についても、100 nM 以下の阻害活性を示した。これらの 3 化合物のうち、最も低い脂溶性 (clogP 値) を有する 48a を合成展開の出発化合物とすることが妥当であると考えた。

表 7. トリガー化合物の合成



47, 48a, 49



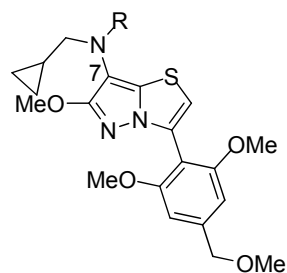
5r, 8, 6a

化合物	X	Y	CRF結合阻害 IC ₅₀ (nM)	clogP
47	Me	H	46	4.2
48a	OMe	H	69	3.6
49	Me	Me	76	4.4
5r	Et	—	50	4.7
8	Me	—	120	4.2
6a	OMe	—	51	3.9

化合物 48a は、比較的高い hCLint を示した。前章での研究からも 7 位の脱 N - アルキル化が主代謝経路と想定されたので、最初にこの部位の変換を行った。結果を表 8 に示す。

まず、脂溶性低下を志向し 48a のテトラヒドロピラニル部位へ水酸基を導入したが、活性の減弱を招いた (48b)。また、推定代謝部位をブロックする目的でのフッ素原子導入 (48c)、テトラヒドロピラン環の位置異性体への変換 (48d, 48e) およびテトラヒドロフラン環への変換 (48f, 48g) も代謝安定化にはつながらなかった。この結果から、環状エーテル部位の構造に関係なく 7 位側鎖の窒素原子に隣接するメチレン部位が主に代謝を受けるのではないかと考えた。そこで、この部位を立体的にブロックする目的でメチレン炭素を介さず直接テトラヒドロピラニル環を導入したところ、期待通り代謝安定性が大きく改善された (48i)。この理由として、減炭による脂溶性の減少も少なからず寄与していると考えている。なお、鎖状エーテルの導入 (48h) による hCLint の大きな悪化は第 1 章のピラゾロ[1,5-*a*]ピリジン誘導体で得られた結果と同様である。48i では若干の *in vitro* 活性の減弱が見られたが、代謝安定性の改善に注目し 7 位のもう一方のアルキル鎖の効果を検討することとした。

表 8. 7 位ジアルキルアミン部位の変換 (1)

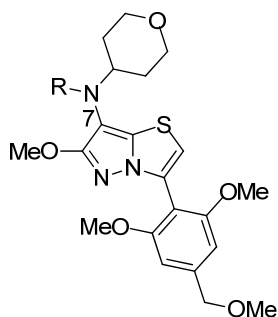


化合物	R	CRF結合阻害 IC ₅₀ (nM)	溶解度 (μ M)	hCLint (mL/min/mg)	clogP
48a		69	6.8	0.46	3.6
48b		223	58	NT	2.2
48c		61	0.9	0.55	3.8
48d		50	15	0.55	3.6
48e		75	6.4	0.87	4.3
48f		48	18	0.53	3.2
48g		43	18	1.02	3.8
48h		48	48	0.96	3.5
48i		101	30	0.18	3.0

NT = not tested

代謝安定性が改善された 48i の活性向上を目的として、7 位のもう一方の側鎖 R の変換を行った (表 9)。その結果、置換基 R の鎖長に相関して活性が向上し、*n*-ブチル基を有する 48m が最も強い活性を示すことを見出した。48m で脂溶性が上昇しているにも関わらず代謝安定性 (hCLint) がほぼ維持されているのは、直結テトラヒドロピラン環の効果が及んでいるためと考えている。一方、48n および 48o は分枝側鎖の導入により直結テトラヒドロピラン環と同様の立体的ブロックによる hCLint への効果も期待したものだが、特に 48n では予想に反し hCLint が大きく影響を受けた。この結果は、導入した分枝側鎖自体が新たな代謝部位を生じてしまったためと考えている。

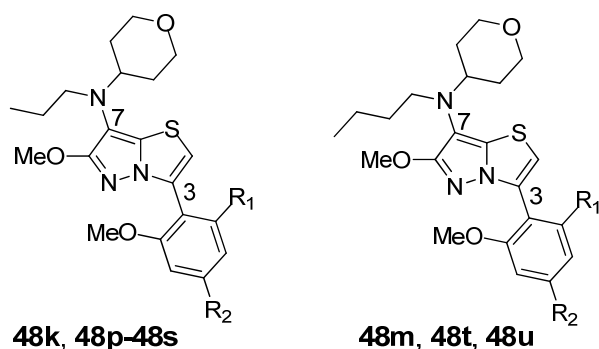
表 9. 7 位ジアルキルアミン部位の変換 (2)



化合物	R	CRF結合阻害 IC ₅₀ (nM)	溶解度 (μ M)	hCLint (mL/min/mg)	clogP
48i		101	30	0.18	3.0
48j		147	38	0.20	2.5
48k		98	25	0.22	3.1
48l		83	12	0.18	3.5
48m		52	13	0.20	3.6
48n		136	53	0.67	2.9
48o		91	0	0.36	3.5

最後に、活性が向上した 48m および良好な溶解度を示した 48k を基に、3 位芳香環の置換基変換を検討した (表 10)。まず、48k のパラ位 (R₂) をエトキシメチル基に変換した 48p で溶解度を維持しつつ活性の向上が、またメトキシメチル部位の脱メチル回避を志向したシアノ体 48q で代謝安定性の改善が認められた。一方で、オルト位のメトキシ基をクロル基に変換した 48r でも活性を維持しているが、溶解性は大きく低下した。さらに、2 置換フェニル体 48s では 48k に比べて活性が 2.5 倍減弱した。48p と 48q の芳香環部を 48m に適用することにより、良好な活性とクリアランスを示す 48t および 48u が得られた。ここで、阻害活性が 100nM 以下の 5 化合物を次節に示す動物モデルでの評価に進めることとした。

表 10. 7 位および 3 位の組み合わせ合成



化合物	R ₁	R ₂	CRF結合阻害 IC ₅₀ (nM)	溶解度 (μ M)	hCLint (mL/min/mg)
48k	OMe	CH ₂ OMe	98	25	0.22
48p	OMe	CH ₂ OEt	65	21	0.34
48q	OMe	CN	126	16	0.15
48r	Cl	CH ₂ OMe	63	6.3	0.37
48s	H	CH ₂ OMe	254	7.9	NT

48m	OMe	CH ₂ OMe	52	13	0.20
48t	OMe	CH ₂ OEt	70	7.1	0.22
48u	OMe	CN	46	3.9	0.15

NT = not tested

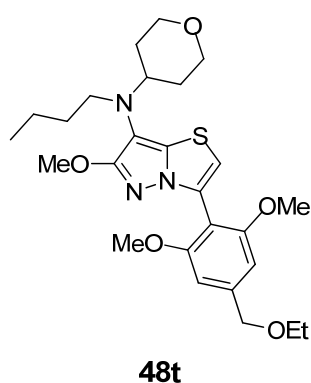
第3節 ラット CRF 誘発排便亢進モデルの評価による候補品選択

ラットに対する CRF の静脈内投与により、排便量が有意に増加することが知られている⁴⁸。前節で得られた IC₅₀ 値が 100nM 以下の 5 化合物について、このラット CRF 誘発排便亢進モデルにより化合物の経口有効性と CRF₁ 受容体を介した in vivo 拮抗作用を評価した⁴⁹。Fischer 系雄性ラットに化合物を経口投与した 1 時間後に CRF (10 µg/kg) を静脈内投与し、4 時間の便重量を測定した。その結果、48r と 48t が CRF 投与により誘発された排便を統計学的有意に抑制した (表 11)。このうち、より代謝安定性が良好な 48t (E2009) を開発候補品として選択し、詳細な薬理試験を実施した。

表 11. ラット CRF 誘発排便亢進モデルにおける化合物の排便抑制効果

化合物	排便量 (g/4時間)		排便抑制率 (%)	hCLint (mL/min/mg)
	CRF 投与	CRF + 化合物投与		
48m	1.48 ± 0.30	0.91 ± 0.24	39	0.20
48p	0.95 ± 0.19	0.44 ± 0.22	54	0.34
48r	1.65 ± 0.20	0.70 ± 0.31*	58	0.37
48t	1.15 ± 0.20	0.40 ± 0.15*	65	0.22
48u	1.15 ± 0.20	0.73 ± 0.20	36	0.15

平均値 ± SEM (n=6)、**P*<0.05 vs CRF-control

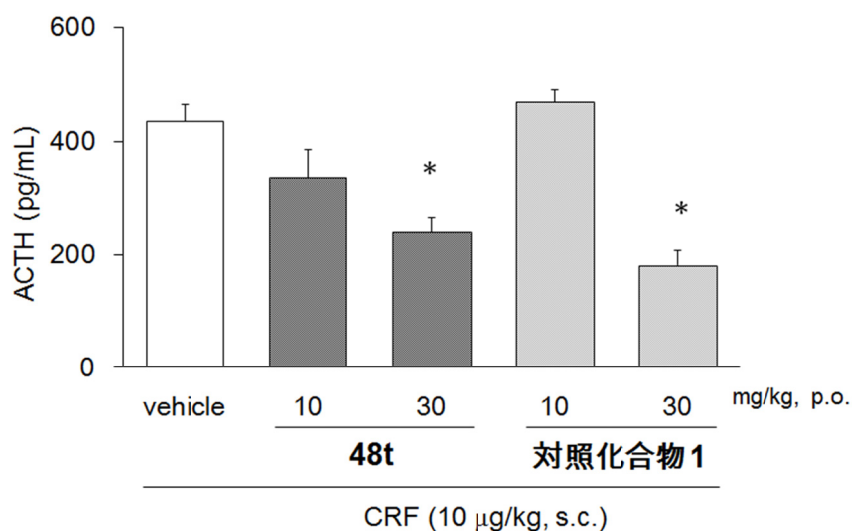


第 4 節 E2009 の薬理的性質およびラット体内動態試験

第 1 章のスクリーニングで用いたヒト CRF₁ 受容体を発現させた HEK293 細胞にかわり、ヒト CRF₁ 受容体を発現させた IMR-32 細胞を用い CRF による細胞内 cAMP 産生に対する 48t (E2009) の抑制効果を評価した⁵⁰。その結果、cAMP 産生抑制活性値は IC₅₀ = 7.1 nM であった。なお、対照化合物として測定した 1 (R121919) の IMR-32 細胞における cAMP 産生抑制活性は IC₅₀ = 4.0 nM であった。また 48t は、ヒト CRF₂ 受容体に対する CRF 結合阻害活性においても高い選択性を示した (IC₅₀ > 10 μM)。

さらに、ラット CRF 誘発 ACTH 産生抑制試験において、48t は 30mg/kg (経口投与) で有意な抑制作用を示し、in vivo における CRF₁ 受容体拮抗作用が確認された (図 8)。

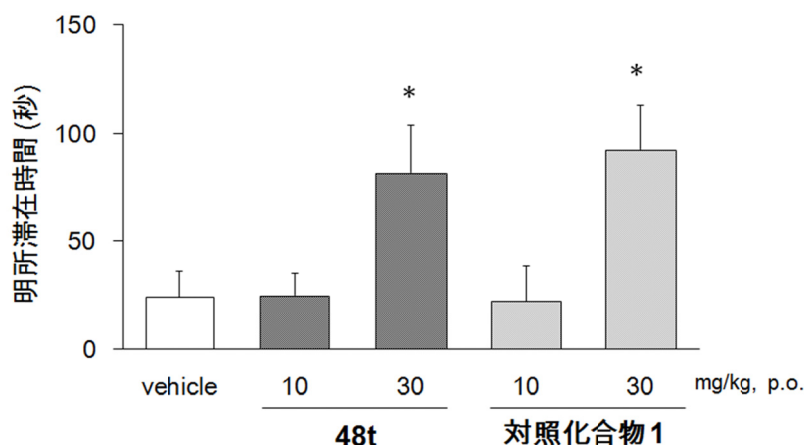
図 8. ラット CRF 誘発 ACTH 産生抑制作用 (in vivo CRF₁ 受容体拮抗作用)



平均値 ± SEM (n=8)、*P<0.05 vs vehicle control

また、マウス明暗箱試験においては用量依存的に明所滞在時間を増加し、30mg/kg（経口投与）で有意に抗不安様作用を示した（図9）。

図9. マウス明暗箱試験による抗不安様作用



平均値 ± SEM (n=12)、* P <0.05 vs vehicle control

最後に、ラットを用いた体内動態試験の結果を表12に示す。E2508と同様に、ラットおよび他の動物（マウス、イヌ、サル）のPK試験におけるトータルクリアランスは、それぞれの動物のin vitroのクリアランスから計算された肝クリアランスとほぼ同程度であった（詳細データ非掲載）。

表12. 48tのラット体内動態データ

静脈内投与 (3 mg/kg)		経口投与 (10 mg/kg)	
CL (L/h/kg)	1.9	C_{max} (μ g/mL)	0.54
V_{dss} (L/kg)	6.32	T_{max} (h)	0.5-1.0
AUC (μ g/mL·h)	1.58	AUC (μ g/mL·h)	1.24
$T_{1/2}$ (h)	5.2	B.A. (%)	23

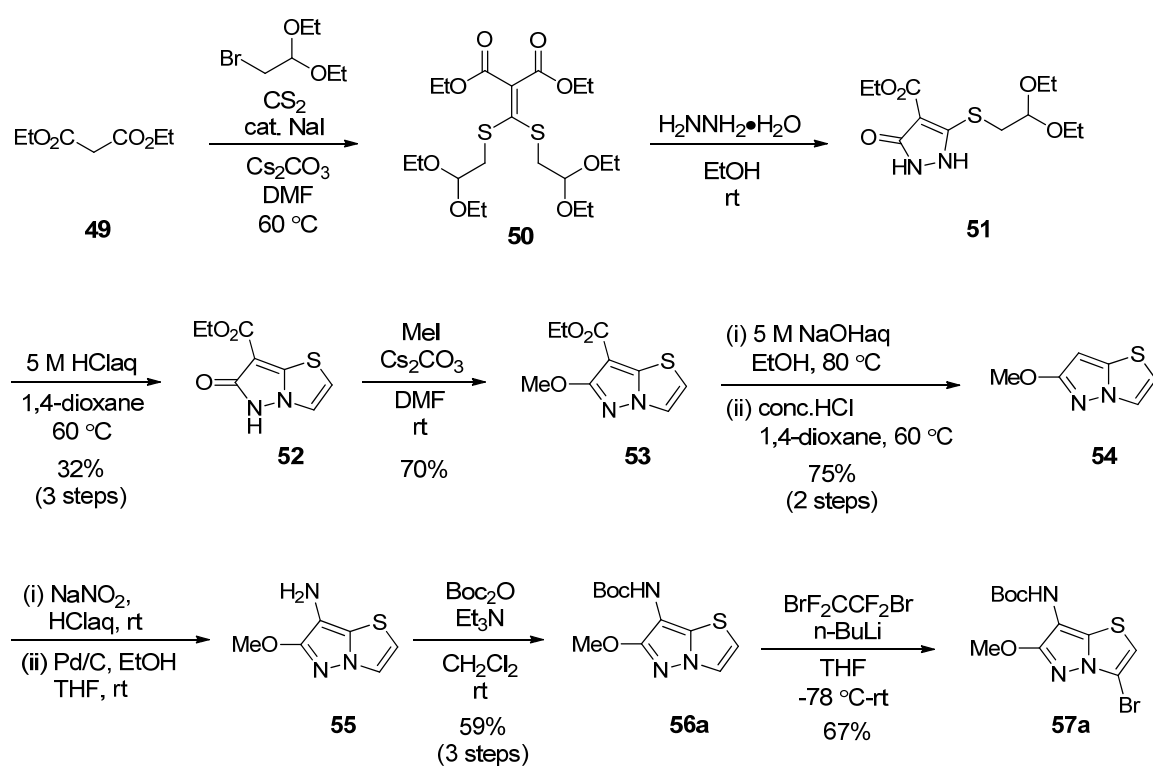
平均値 (n=3)

第 5 節 ピラゾロ[5,1-*b*]チアゾール誘導体の合成

研究開始当初、6 - メトキシピラゾロ[5,1-*b*]チアゾール骨格自体の合成報告例が極めて少なく、多検体の最適化合成に適した合成法の開発が必須であった。

スキーム 14 に、ピラゾロ[5,1-*b*]チアゾールの 3 位および 7 位における効率的な置換基変換を可能とする鍵中間体 57a の新規合成法を示す。

スキーム 14

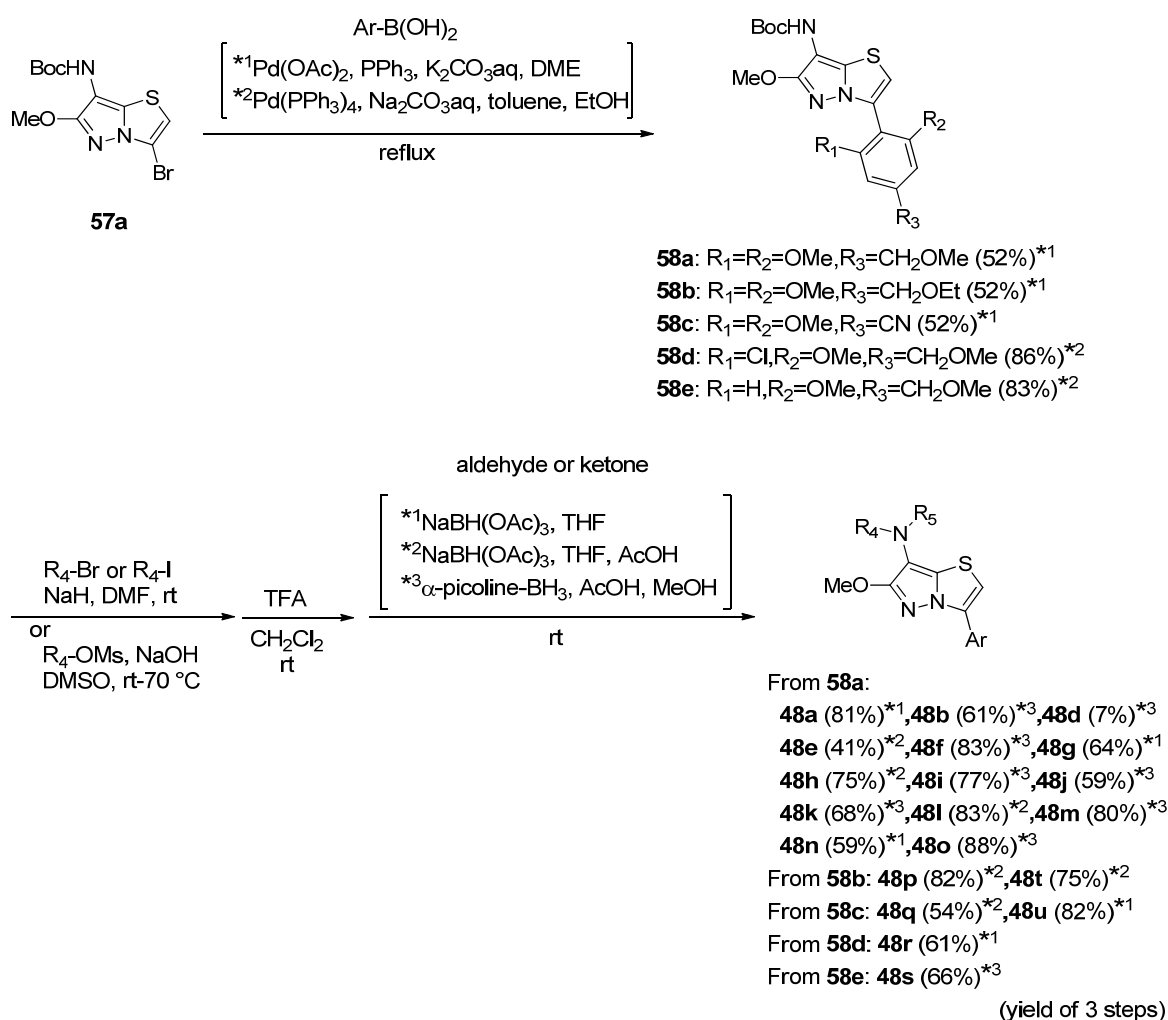


市販のマロン酸ジエチル 49 に、触媒量のヨウ化ナトリウム存在下、塩基として炭酸セシウムを用い二硫化炭素とプロモアセトアルデヒド ジエチルアセタールをワンポットで作用させ 50 を得た。50 とヒドラジン水和物との縮合環化反応によりピラゾロン 51 としたのち、酸性条件下、加熱処理することによりアセタール部位の加水分解およびそれに続く分子内環化反応を経て 5,5 - 縮合環化合物 52 の合成ルートを構築することに成功した。52 のメチル化は酸素原子上で進行し、目的とする 6 - メトキシピラゾロ[5,1-*b*]チアゾール中間体 53 を与え、次いで 7 位エステル部位のアルカリ加水分解および酸性条件下での脱炭酸反応により 54 へと導いた。54 の 7 位への *tert*-ブトキシカルボニルアミノ基の導入は、前章で示した方法とほぼ同

様の方法により行い化合物 56a を得た。56a のプロモ化は、*n*-ブチルリチウムによる水素引き抜き反応により望みとする 3 位に進行し 57a を与えた。なお、炭酸水素ナトリウム存在下での臭素、あるいは N-プロモスクシンイミドを用いたプロモ化は、反応系が複雑化した。

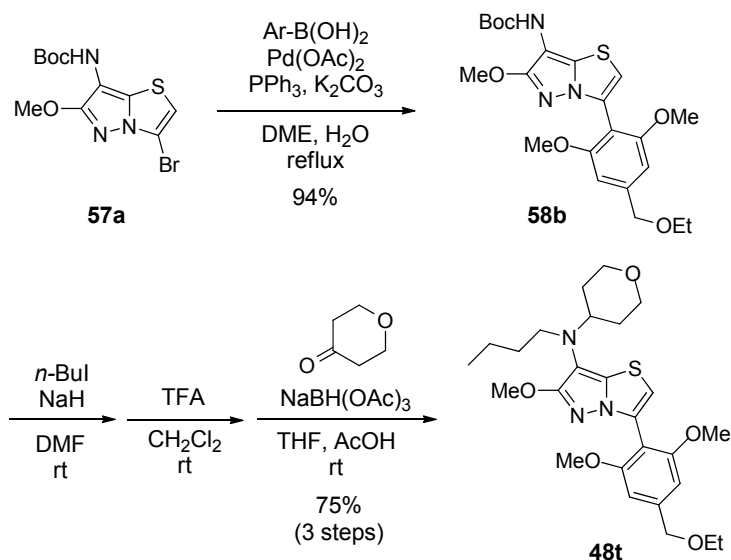
スキーム 14 で得られた中間体 57a から最終化合物 48 への変換をスキーム 15 に示す。まず、鈴木-宮浦カップリングにより 57a の 3 位へ芳香環を導入し 58 とした。次いで、前章で示した手法と同様の方法、すなわち 7 位の N-アルキル化、脱保護および還元的アミノ化により、目的とする 6-メトキシピラゾロ[5,1-*b*]チアゾール誘導体 48 へと導いた。

スキーム 15



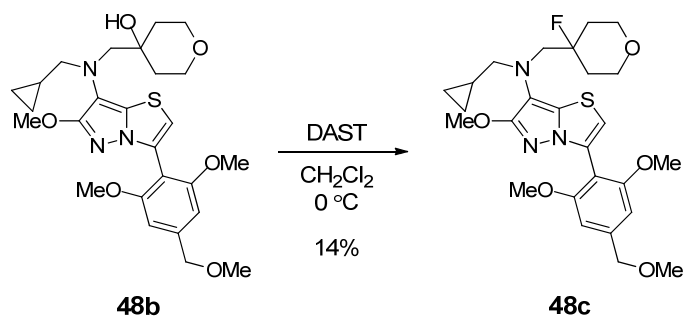
スキーム 15 から化合物 48t の合成法を抜粋し、スキーム 16 に示す。

スキーム 16



スキーム 15 で得られた化合物 48b の水酸基をフルオロ基に変換することにより、化合物 48c を得た (スキーム 17)。

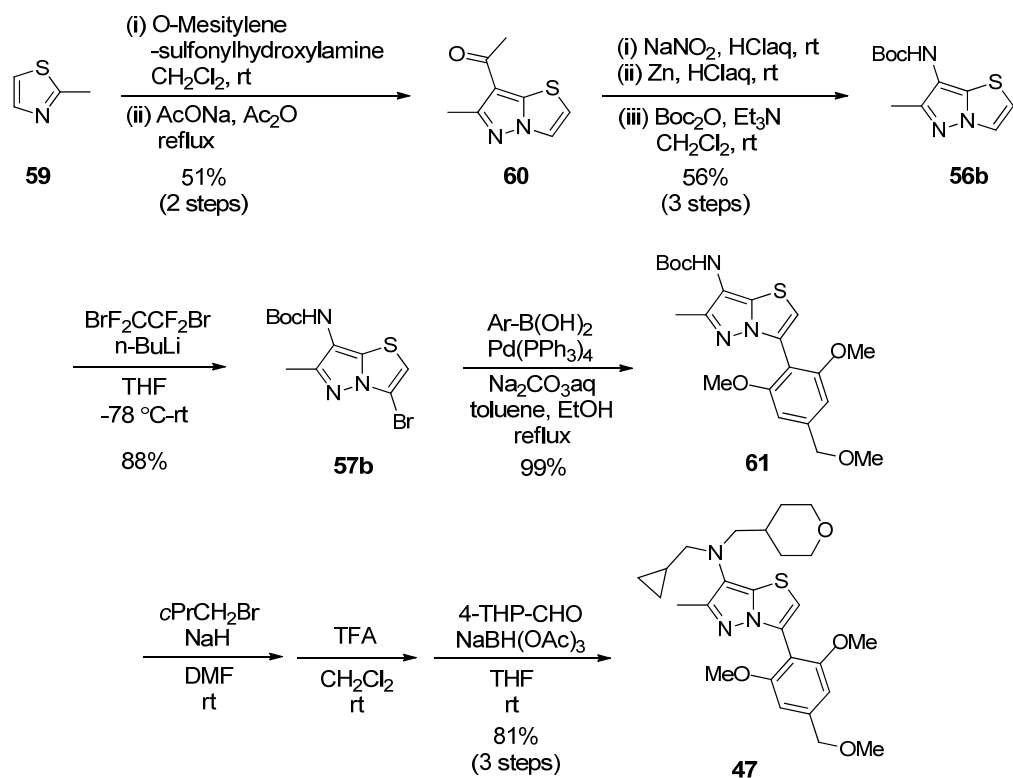
スキーム 17



スキーム 18 に、6 位にメチル基を有するピラゾロ[5,1-*h*]チアゾール誘導体の合成法を示す。Koga らの報告⁵¹ に従い *O*-メシチレン スルホニルヒドロキシルアミンによりチアゾール 59 の *N*-アミノ化を行ったのち、酢酸ナトリウム存在下の環化反応により 7-アセチル-6-メチルピラゾロ[5,1-*h*]チアゾール 60 を得た。得られた 60 から、塩酸中、亜硝酸ナトリウムを作用させることによりワンポットで脱アセチル化およびニトロソ化を行い、亜鉛による還元反応を経て *tert*-ブチルカーバメート 56b へと変換した。56b から、スキーム 14 および 15 と同様の方法によりプロモ化および芳香環導入を行い 61 へと導いた。61 から、48t (スキーム 16)

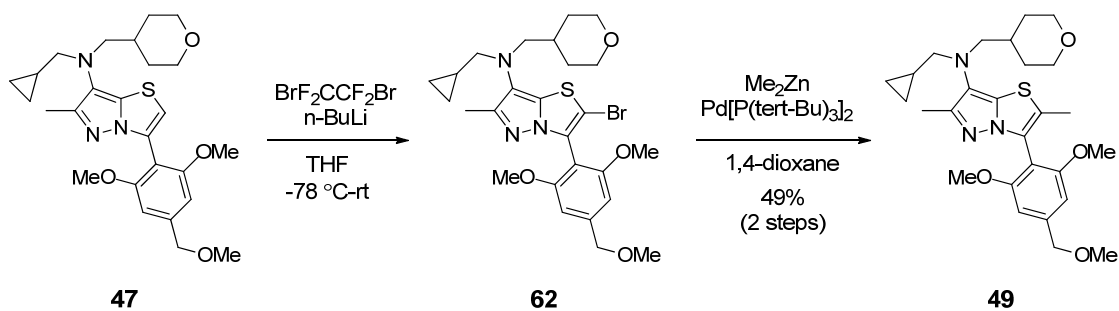
と同様の方法により 7 位にアルキル側鎖を導入し、目的とする 6 - メチルピラゾロ[5,1-*b*]チアゾール誘導体 47 を得た。

スキーム 18



3 位に芳香環を有する 47 に対しては、*n*-ブチルリチウムを用いたプロモ化が 2 位に進行することを見出し (スキーム 19) 得られた 62 からジメチル亜鉛を用いたパラジウムカップリング反応により 2, 6 - ジメチルピラゾロ[5,1-*b*]チアゾール誘導体 49 を得た。

スキーム 19



第 6 節 第 2 章まとめ

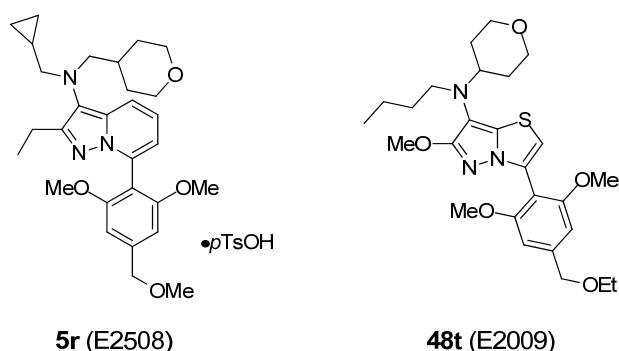
以上、ピラゾロ[1,5-*a*]ピリジン誘導体の探索で見出したオリジナル側鎖を利用して研究を継続し、二面体角を用いた考察から CRF₁ 受容体拮抗剤として極めて報告が少ない 5,5 - 縮合環系のピラゾロ[5,1-*b*]チアゾール母核の構造活性相関の探索を行った。特に 6 位への脂溶性の低下を志向したメトキシ基の導入および 7 位の代謝ブロックを志向した直結テトラヒドロピラン環の導入を経て、強い活性と良好な代謝安定性を示す 48t (E2009) を見出した。48t は、対照化合物 1 と同等の薬理作用を示した。

また、研究開始当初、母核自体の合成法の報告例が極めて少なく構造最適化に適した合成法の開発が必須であった。種々の検討により、6 - メトキシピラゾロ[5,1-*b*]チアゾール骨格の新規合成ルート開拓に成功し、48t を始めとする多検体の効率的な合成を可能にした。

終章

私は、うつ病や不安障害などのストレス性疾患の治療に有用と考えられる新規な CRF₁ 受容体拮抗剤の探索を行った。

中心母核を新規性の高いテンプレートに変換することを基本戦略とし、第 1 章ではこれまでにほとんど報告例の無い 5,6 - 縮合環系母核に着目した。活性はもちろんのこと、化合物の代謝安定性および脂溶性と溶解度を重視した最適化を行った結果、新規なピラゾロ[1,5-*a*]ピリジン誘導体 **5r** の創出に成功し、そのトシル酸塩 **E2508** は臨床開発品として第一相試験へ進められた。続いて、第 2 章では他の CRF₁ 受容体拮抗剤に見られない **5r** のオリジナルな側鎖を活用して探索研究を継続し、二面体角による考察からさらに新規性の高い 5,5 - 縮合環系に属するピラゾロ[5,1-*b*]チアゾール母核に着目した。その結果、本母核の新規合成ルートを構築するとともに **E2508** をフォローする化合物として新規な **48t** (**E2009**) を見出した。



これらは、*in vitro* 活性はもとより抗不安様作用を評価する動物モデル(マウス明暗箱試験、ラット防御性覆い隠し試験)において、臨床試験で唯一有効性が確認された対照化合物 1 (R121919) と同等以上の薬理作用を示した。さらに、ラット強制水泳試験において **E2508** が単回経口投与で抗うつ様作用を示したことは、ストレス性疾患治療薬としての可能性を示すのみならず既存薬に対する優位性を示唆するものである。

また、第 2 章における、オリジナル側鎖の強みを活かし新規母核探索に焦点を置いた創薬戦略は、CRF₁ 受容体拮抗剤のみならず他の創薬ターゲットに対しても汎用性の期待できる創薬方法論を提示するものであるとともに、ピラゾロ[5,1-*b*]チアゾール骨格の効率的合成法は、他の医薬品探索に対しても新規な骨格を提供でき、創薬化学の発展に貢献するものである。

ストレス性疾患の治療においては数多くの薬剤が存在するにも関わらず、その有効性および副作用の観点から未だアンメットメディカルニーズが存在し、画期的な新薬の創出が期待されている。本研究において見出された化合物が、既存薬では十分に満足が得られないストレス性疾患に苦しむ患者様に大きく貢献できるものと信じている。

実験の章

^1H -核磁気共鳴スペクトルは、Bruker Avance spectrometer (600 MHz) あるいは Varian Mercury 400(400 MHz) で、また ^{13}C -核磁気共鳴スペクトルは、Bruker Avance spectrometer (150 MHz) あるいは JEOL JNM α 400 spectrometer (100 MHz) で測定した。化学シフト値 δ (ppm) は、使用する重溶媒に基づく内部標準 (CDCl_3 中の CHCl_3 シグナル: $\delta_{\text{H}} = 7.26$ ppm および $\delta_{\text{C}} = 77.0$ ppm, $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$ 中の $\text{C}_5\text{HD}_4\text{N}$ シグナル: $\delta_{\text{H}} = 8.71$ ppm および $\delta_{\text{C}} = 123.5$ ppm, CD_3SOCD_3 中の $\text{CD}_3\text{SOCD}_2\text{H}$ シグナル: $\delta_{\text{H}} = 2.49$ ppm および $\delta_{\text{C}} = 40.0$ ppm) を基に計算し、結合定数は hertz (Hz) で示した。略号は以下の通りである。s=singlet, d=doublet, t=triplet, q=quartet, m=multiplet, br=broad。高分解能質量スペクトル (HRMS) は、ThermoFisherScientific LTQ-Orbitrap XL spectrometer を用いて ESI 法により測定した。

シリカゲルカラムクロマトグラフィーは、Silica gel 60 (Merck, 230-400 mesh) あるいは BW silica gel (富士シリシア化学, 200-400 mesh) あるいは NH Silica gel (富士シリシア化学, 200-350 mesh) を用いた。薄層クロマトグラフィー (TLC) は、Silica gel 60 F₂₅₄ (Merck) を用いた。高速液体クロマトグラフィー (HPLC) による精製は、CAPCELL PAK C18 ACR (資生堂, 20 mm \times 50 mm, 5 μm) を取り付けた Waters のシステムを用いて行った。

なお、薬理活性を評価した化合物に関しては、HPLC による純度測定を行った。以下の測定条件下、UV クロマトグラム (254 nm) のピークエリアから算出した純度が、測定したすべての化合物において 95% 以上であることを確認した。

カラム: Accucore RP-MS column (2.1 \times 50 mm, 2.6 μm)、移動相 A: 0.1% ギ酸 / 水、移動相 B: 0.1% ギ酸 / アセトニトリル、グラジエント: B%, 0% (0–1 min), 0–100% (1–4 min), 100% (4–8 min), 0% (8–11 min)、流速: 0.4 mL/min、UV 検出: 254 nm

第 1 章 新規ピラゾロ[1,5-*a*]ピリジン誘導体の探索研究に関する実験

第 1 節 合成中間体およびピラゾロ[1,5-*a*]ピリジン誘導体の合成

7-(2-クロロ-4-メトキシフェニル)-*N,N*-ビス(シクロプロピルメチル)-2-エチルピラゾロ[1,5-*a*]ピリジン-3-アミン (5a)

化合物 42a (115 mg, 0.35 mmol) をエタノール (5 mL) と水 (5 mL) および酢酸 (0.1 mL) に懸濁させ、室温で銅粉末 (115 mg, 1.67 mol) をゆっくり加えたのち 60 °C で 30 分間攪拌した。反応液を冷却し、セライトろ過により不溶物を除去した。溶媒を減圧下留去し、得られた水層を酢酸エチルで抽出した。有機層を飽和食塩水で洗浄後、無水硫酸マグネシウムで乾燥し、溶媒を減圧下留去した。

得られた粗生成物のテトラヒドロフラン (8 mL) 溶液に、シクロプロパンカルボアルデヒド (0.13 mL, 1.74 mmol) および 3 M 硫酸 (0.58 mL, 1.74 mmol) を加えたのち、氷冷下、激しく攪拌しながら水素化ほう素ナトリウム (53 mg, 1.39 mmol) を 5 回に分けて加え、さらに 20 分間攪拌した。反応液に水を加え、酢酸エチルで抽出した。有機層を飽和食塩水で洗浄後、無水硫酸マグネシウムで乾燥し、溶媒を減圧下留去した。残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (*n*-ヘキサン:酢酸エチル = 20:1) に供し、標記化合物 5a (94 mg, 66%, 2 steps) を黄色油状物として得た。¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 0.02–0.06 (m, 4H), 0.30–0.38 (m, 4H), 0.77–0.90 (m, 2H), 1.26 (t, *J* = 7.5 Hz, 3H), 2.80 (q, *J* = 7.5 Hz, 2H), 2.99 (d, *J* = 6.6 Hz, 4H), 3.86 (s, 3H), 6.55 (dd, *J* = 1.3, 6.8 Hz, 1H), 6.92 (dd, *J* = 2.6, 8.6 Hz, 1H), 6.99 (dd, *J* = 6.8, 9.0 Hz, 1H), 7.06 (d, *J* = 2.4 Hz, 1H), 7.47 (d, *J* = 8.4 Hz, 1H), 7.49 (dd, *J* = 1.3, 8.8 Hz, 1H). ¹³C NMR (150 MHz, CDCl₃) δ 160.6, 154.5, 137.5, 135.1, 132.3, 125.7, 121.1, 120.9, 116.4, 115.3, 112.8, 112.2, 60.7, 55.6, 19.8, 14.2, 10.6, 3.6. HRMS calcd for (C₂₄H₂₈ClN₃O) [M + H]⁺ 410.1994; found 410.1997.

N,N-ビス(シクロプロピルメチル)-2-エチル-7-(4-メトキシ-2-メチルフェニル)ピラゾロ[1,5-*a*]ピリジン-3-アミン (5b)

化合物 5r の合成法に準じ、化合物 29c (27 mg, 0.078 mmol) から標記化合物 5b (25 mg, 81%) を茶色油状物として得た。¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 0.02–0.06 (m, 4H), 0.30–0.38 (m, 4H), 0.78–0.90 (m, 2H), 1.26 (t, *J* = 7.5 Hz, 3H), 2.08 (s, 3H), 2.81 (q, *J* = 7.5 Hz, 2H), 3.00 (d, *J* = 6.6 Hz, 4H), 3.86 (s, 3H), 6.49 (dd, *J* = 1.4, 6.7 Hz, 1H), 6.80–6.90 (m, 2H), 6.99 (dd, *J* = 6.8, 9.0 Hz, 1H), 7.34 (d, *J* = 8.2 Hz, 1H), 7.48 (dd, *J* = 1.4, 8.9 Hz, 1H). ¹³C NMR (150 MHz, CDCl₃) δ 160.1, 154.7, 140.6, 139.7, 137.5, 131.1, 126.8, 121.1, 120.8, 115.7, 115.6, 111.6,

111.0, 60.7, 55.2, 19.9, 19.7, 14.3, 10.6, 3.6. HRMS calcd for (C₂₅H₃₁N₃O) [M + H]⁺ 390.2540; found 390.2541.

***N,N*-ビス(シクロプロピルメチル)-2-エチル-7-(2-メトキシ-4-メチルフェニル)ピラゾロ[1,5-*a*]ピリジン-3-アミン (5c)**

化合物 5a の合成法に準じ、化合物 42b(70 mg, 0.22 mmol)から標記化合物 5c(58 mg, 68%, 2 steps) を黄色油状物として得た。¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 0.00–0.05 (m, 4H), 0.32–0.38 (m, 4H), 0.80–0.90 (m, 2H), 1.26 (t, *J* = 7.6 Hz, 3H), 2.43 (s, 3H), 2.80 (q, *J* = 7.6 Hz, 2H), 2.99 (d, *J* = 6.8 Hz, 4H), 3.75 (s, 3H), 6.59 (dd, *J* = 0.8, 6.8 Hz, 1H), 6.86 (s, 1H), 6.89 (br d, *J* = 7.6 Hz, 1H), 6.98 (dd, *J* = 6.8, 8.8 Hz, 1H), 7.41 (d, *J* = 7.6 Hz, 1H), 7.45 (dd, *J* = 0.8, 8.8 Hz, 1H). ¹³C NMR (150 MHz, CDCl₃) δ 157.6, 154.0, 140.8, 137.9, 137.5, 130.9, 121.3, 121.0, 120.7, 120.7, 115.7, 112.7, 111.8, 60.7, 55.7, 21.8, 19.8, 14.2, 10.7, 3.6. HRMS calcd for (C₂₅H₃₁N₃O) [M + H]⁺ 390.2540; found 390.2544.

***N,N*-ビス(シクロプロピルメチル)-2-エチル-7-(2-メトキシ-4,6-ジメチルフェニル)ピラゾロ[1,5-*a*]ピリジン-3-アミン (5d)**

化合物 5h の合成法に準じ、化合物 29c(40 mg, 0.12 mmol)から標記化合物 5d(43 mg, 93%) を淡黄色油状物として得た。¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ -0.02–0.04 (m, 4H), 0.30–0.36 (m, 4H), 0.80–0.90 (m, 2H), 1.22 (t, *J* = 7.6 Hz, 4H), 1.97 (s, 3H), 2.39 (s, 3H), 2.72–2.84 (m, 2H), 2.99 (d, *J* = 6.4 Hz, 2H), 3.68 (s, 3H), 6.48 (dd, *J* = 1.2, 6.8 Hz, 1H), 6.69 (s, 1H), 6.77 (s, 1H), 6.99 (dd, *J* = 6.8, 8.8 Hz, 1H), 7.46 (dd, *J* = 1.2, 8.8 Hz, 1H). ¹³C NMR (150 MHz, CDCl₃) δ 157.6, 154.3, 139.8, 139.0, 137.5, 136.7, 123.4, 120.9, 120.5, 120.5, 115.5, 112.3, 110.0, 60.7, 55.9, 21.8, 19.7, 19.2, 14.5, 10.7, 3.6, 3.5. HRMS calcd for (C₂₆H₃₃N₃O) [M + H]⁺ 404.2696; found 404.2701.

***N,N*-ビス(シクロプロピルメチル)-2-エチル-7-(4-メトキシ-2,6-ジメチルフェニル)ピラゾロ[1,5-*a*]ピリジン-3-アミン (5e)**

化合物 5r の合成法に準じ、化合物 29c(40 mg, 0.12 mmol)から標記化合物 5e(35 mg, 76%) を黄色油状物として得た。¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ -0.02–0.06 (m, 4H), 0.30–0.40 (m, 4H), 0.81–0.94 (m, 2H), 1.24 (t, *J* = 7.5 Hz, 3H), 2.04 (s, 6H), 2.81 (q, *J* = 7.5 Hz, 2H), 3.03 (d, *J* = 6.6 Hz, 4H), 3.87 (s, 3H), 6.45 (dd, *J* = 1.5, 6.8 Hz, 1H), 6.73 (s, 2H), 7.02 (dd, *J* = 6.8, 8.8 Hz, 1H), 7.49 (dd, *J* = 1.4, 8.9 Hz, 1H). ¹³C NMR (150 MHz, CDCl₃) δ 159.6, 154.8, 139.1,

138.9, 137.5, 126.5, 121.0, 120.6, 115.5, 112.9, 111.9, 60.7, 55.1, 19.9, 19.6, 14.5, 10.6, 3.5.

HRMS calcd for (C₂₆H₃₃N₃O) [M + H]⁺ 404.2696; found 404.2699.

7-(2-クロロ-4-メトキシフェニル)-2-エチル-*N,N*-ジプロピルピラゾロ[1,5-*a*]ピリジン-3-アミン (5f)

化合物 5a の合成法に準じ、化合物 42a (90 mg, 0.27 mmol) から標記化合物 5f (70 mg, 67%, 2 steps) を淡黄色油状物として得た。¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 0.88 (t, *J* = 7.6 Hz, 6H), 1.23 (t, *J* = 7.6 Hz, 3H), 1.34–1.44 (m, 4H), 2.76 (q, *J* = 7.6 Hz, 2H), 3.02 (t, *J* = 7.6 Hz, 4H), 3.87 (s, 3H), 6.56 (dd, *J* = 1.6, 6.4 Hz, 1H), 6.92 (dd, *J* = 2.8, 8.6 Hz, 1H), 6.99 (dd, *J* = 6.4, 8.6 Hz, 1H), 7.06 (d, *J* = 2.8 Hz, 1H), 7.32 (d, *J* = 8.6 Hz, 1H), 7.45 (dd, *J* = 1.6, 8.6 Hz, 1H). ¹³C NMR (150 MHz, CDCl₃) δ 160.6, 154.3, 137.6, 137.4, 135.0, 132.4, 125.6, 120.9, 120.6, 116.2, 115.3, 112.8, 112.4, 58.2, 55.6, 22.1, 19.9, 14.3, 11.7. HRMS calcd for (C₂₃H₂₈ClN₃O) [M + H]⁺ 386.1994; found 386.1992.

2-エチル-7-(4-メトキシ-2-メチルフェニル)-*N,N*-ジプロピルピラゾロ[1,5-*a*]ピリジン-3-アミン (5g)

化合物 5r の合成法に準じ、化合物 29g (40 mg, 0.12 mmol) から標記化合物 5g (40 mg, 89%) を黄色油状物として得た。¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 0.88 (t, *J* = 7.6 Hz, 6H), 1.23 (t, *J* = 7.6 Hz, 3H), 1.34–1.44 (m, 4H), 2.10 (s, 3H), 2.75 (q, *J* = 7.6 Hz, 2H), 3.01 (t, *J* = 7.6 Hz, 4H), 3.86 (s, 3H), 6.49 (dd, *J* = 1.6, 6.8 Hz, 1H), 6.82 (dd, *J* = 2.8, 8.4 Hz, 1H), 6.86 (d, *J* = 2.8 Hz, 1H), 6.99 (dd, *J* = 6.8, 8.8 Hz, 1H), 7.32 (d, *J* = 8.4 Hz, 1H), 7.45 (dd, *J* = 1.6, 8.8 Hz, 1H). ¹³C NMR (150 MHz, CDCl₃) δ 160.1, 154.5, 140.5, 139.7, 137.6, 131.2, 126.8, 121.2, 120.3, 115.6, 115.5, 111.8, 111.0, 58.3, 55.2, 22.1, 20.0, 19.8, 14.3, 11.7. HRMS calcd for (C₂₆H₃₃N₃O₂) [M + H]⁺ 366.2540; found 366.2538.

N-(シクロプロピルメチル)-2-エチル-7-(2-メトキシ-4,6-ジメチルフェニル)-*N*-(2-メトキシエチル)ピラゾロ[1,5-*a*]ピリジン-3-アミン (5h)

化合物 29b (40 mg, 0.11 mmol) (2-メトキシ-4,6-ジメチルフェニル)ボロン酸 (41 mg, 0.23 mmol) 炭酸カリウム (47 mg, 0.34 mmol) および Pd(PPh₃)₄ (20 mg, 0.017 mmol) を 1,2-ジメトキシエタン (1 mL) および水 (0.5 mL) に溶解し、窒素雰囲気下、90 °C で 14 時間加熱した。反応液を冷却し、水を加えたのち酢酸エチルで抽出した。有機層を飽和食塩水で洗浄後、無水硫酸マグネシウムで乾燥し、溶媒を減圧下留去した。残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (*n*-ヘキサン : 酢酸エチル = 7 : 1) に供し、標記化合物 5h (36 mg, 78%) を淡

黄色油状物として得た。¹H NMR (600 MHz, CDCl₃) δ 0.07–0.05 (m, 2H), 0.28–0.40 (m, 2H), 0.79–0.94 (m, 1H), 1.16–1.25 (m, 3H), 1.97 (s, 3H), 2.39 (s, 3H), 2.68–2.85 (m, 2H), 2.94–3.05 (m, 2H), 3.29 (s, 3H), 3.33–3.43 (m, 4H), 3.68 (s, 3H), 6.50 (d, *J* = 6.8 Hz, 1H), 6.69 (s, 1H), 6.76 (s, 1H), 7.01 (dd, *J* = 6.8, 8.7 Hz, 1H), 7.45 (d, *J* = 8.7 Hz, 1H). ¹³C NMR (150 MHz, CDCl₃) δ 157.6, 154.3, 139.9, 139.0, 137.6, 136.7, 123.4, 121.3, 120.3, 119.6, 115.2, 112.6, 109.9, 71.9, 61.9, 58.7, 55.9, 54.8, 21.8, 19.5, 19.3, 14.4, 10.6, 3.5, 3.4. HRMS calcd for (C₂₅H₃₃N₃O₂) [M + H]⁺ 408.2646; found 408.2640.

***N*-(シクロプロピルメチル)-2-エチル-*N*-(3-フルオロプロピル)-7-(2-メトキシ-4,6-ジメチルフェニル)ピラゾロ[1,5-*a*]ピリジン-3-アミン (5i)**

化合物 5h の合成法に準じ、化合物 29d (40 mg, 0.11 mmol) から標記化合物 5i (42 mg, 91%) を淡黄色油状物として得た。¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 0.02–0.02 (m, 2H), 0.32–0.38 (m, 2H), 0.80–0.90 (m, 2H), 1.20 (t, *J* = 7.6 Hz, 3H), 1.70–1.82 (m, 2H), 1.97 (s, 3H), 2.39 (s, 3H), 2.74 (q, *J* = 7.6 Hz, 2H), 2.92 (d, *J* = 6.8 Hz, 2H), 3.30 (t, *J* = 6.8 Hz, 2H), 3.68 (s, 3H), 4.55 (td, *J* = 6.0, 47.2 Hz, 2H), 6.51 (dd, *J* = 1.2, 6.8 Hz, 1H), 6.69 (s, 1H), 6.77 (s, 1H), 7.02 (dd, *J* = 6.8, 8.8 Hz, 1H), 7.44 (dd, *J* = 1.2, 8.8 Hz, 1H). ¹³C NMR (150 MHz, CDCl₃) δ 157.6, 154.1, 139.9, 139.0, 137.5, 136.8, 123.4, 121.4, 120.3, 119.3, 115.1, 112.6, 109.9, 82.5 (d, *J* = 163.7 Hz), 61.8, 55.9, 50.9 (d, *J* = 5.5 Hz), 30.0 (d, *J* = 18.8 Hz), 21.8, 19.7, 19.3, 14.4, 10.5, 3.6, 3.5. HRMS calcd for (C₂₅H₃₂FN₃O) [M + H]⁺ 410.2602; found 410.2600.

***N*-(シクロプロピルメチル)-2-エチル-7-(2-メトキシ-4,6-ジメチルフェニル)-*N*[(テトラヒドロフラン-3-イル)メチル]ピラゾロ[1,5-*a*]ピリジン-3-アミン (5j)**

化合物 5h の合成法に準じ、化合物 29f (40 mg, 0.11 mmol) から標記化合物 5j (42 mg, 92%) を淡黄色油状物として得た。¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 0.02–0.03 (m, 2H), 0.33–0.40 (m, 2H), 0.80–0.90 (m, 1H), 1.21 (t, *J* = 7.2 Hz, 3H), 1.60–1.70 (m, 1H), 1.88–1.98 (m, 1H), 1.99 (s, 3H), 2.23–2.32 (m, 1H), 2.40 (s, 3H), 2.76 (q, *J* = 7.2 Hz, 2H), 2.92 (d, *J* = 6.4 Hz, 2H), 3.06–3.13 (m, 1H), 3.21–3.28 (m, 1H), 3.60–3.65 (m, 1H), 3.66–3.72 (m, 4H), 3.73–3.86 (m, 2H), 6.52 (br d, *J* = 6.8 Hz, 1H), 6.70 (s, 1H), 6.78 (s, 1H), 7.03 (dd, *J* = 6.8, 8.8 Hz, 1H), 7.45 (br d, *J* = 8.8 Hz, 1H). ¹³C NMR (150 MHz, CDCl₃) δ 157.6, 154.0, 139.9, 139.0, 137.6, 136.8, 123.4, 121.3, 120.2, 119.6, 115.1, 112.6, 109.9, 67.7, 58.7, 55.9, 38.7, 30.4, 21.8, 19.7, 19.3, 14.4, 10.6, 3.6, 3.6. HRMS calcd for (C₂₇H₃₅N₃O₂) [M + H]⁺ 434.2802; found 434.2807.

***N*-(シクロプロピルメチル)-2-エチル-7-(2-メトキシ-4,6-ジメチルフェニル)-*N*'[(テトラヒドロフラン-2-イル)メチル]ピラゾロ[1,5-*a*]ピリジン-3-アミン (5k)**

化合物 5h の合成法に準じ、化合物 29d (40 mg, 0.11 mmol) から標記化合物 5k (28 mg, 61%) を淡黄色油状物として得た。¹H NMR (600 MHz, CDCl₃) δ 0.06–0.03 (m, 2H), 0.28–0.38 (m, 2H), 0.80–0.91 (m, 1H), 1.17–1.25 (m, 3H), 1.62–1.71 (m, 1H), 1.75–1.95 (m, 3H), 1.97 (br s, 3H), 2.39 (s, 3H), 2.70–2.83 (m, 2H), 2.93–3.00 (m, 2H), 3.03–3.11 (m, 1H), 3.40–3.46 (m, 1H), 3.65–3.74 (m, 1H), 3.67 (s, 3H), 3.80–3.93 (m, 2H), 6.50 (d, *J* = 6.8 Hz, 1H), 6.69 (s, 1H), 6.76 (s, 1H), 7.01 (dd, *J* = 6.8, 8.5 Hz, 1H), 7.48 (bd, *J* = 8.5 Hz, 1H). HRMS calcd for (C₂₇H₃₅N₃O₂) [M + H]⁺ 434.2802; found 434.2802.

***N*-(シクロプロピルメチル)-2-エチル-7-(2-メトキシ-4,6-ジメチルフェニル)-*N*'[(テトラヒドロ-2*H*ピラン-4-イル)メチル]ピラゾロ[1,5-*a*]ピリジン-3-アミン (5l)**

化合物 36a (300 mg, 0.76 mmol) の *N, N*-ジメチルホルムアミド (5 mL) 溶液に、室温で水素化ナトリウム (60%, 46 mg, 1.14 mmol) および (プロモメチル)シクロプロパン (87 mg, 0.91 mmol) を順次加え 40 °C で 1 時間攪拌した。反応液を冷却し水を加えたのち、酢酸エチルで抽出した。有機層を飽和食塩水で洗浄後、無水硫酸マグネシウムで乾燥し、溶媒を減圧下留去した。得られた粗生成物は精製することなく次の反応に用いた。

得られた粗生成物を酢酸エチル (10 mL) に溶解し、室温で 4M 塩化水素 / 酢酸エチル溶液 (20 mL) を加え 40 °C で 1 時間攪拌した。反応液を冷却し、5M 水酸化ナトリウム水溶液を加えたのち酢酸エチルで抽出した。有機層を飽和食塩水で洗浄後、無水硫酸マグネシウムで乾燥し、溶媒を減圧下留去した。得られた粗生成物は精製することなく次の反応に用いた。

得られた粗生成物のテトラヒドロフラン (2 mL) 溶液に、テトラヒドロ-2*H*ピラン-4-カルボアルデヒド (173 mg, 1.52 mmol)、水素化トリアセトキシほう素ナトリウム (241 mg, 1.14 mmol) を順次加え、室温で 1 時間攪拌した。反応液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。有機層を飽和食塩水で洗浄後、無水硫酸マグネシウムで乾燥し、溶媒を減圧下留去した。残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (*n*-ヘキサン : 酢酸エチル = 5 : 1) に供し、標記化合物 5l (134 mg, 39%, 3 steps) を黄色油状物として得た。¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 0.04–0.00 (m, 2H), 0.31–0.35 (m, 2H), 0.76–0.88 (m, 1H), 1.20 (t, *J* = 7.6 Hz, 3H), 1.24–1.34 (m, 2H), 1.54–1.65 (m, 1H), 1.72–1.80 (m, 2H), 1.98 (s, 3H), 2.39 (s, 3H), 2.74 (dq, *J* = 1.6, 7.6 Hz, 2H), 2.88 (d, *J* = 6.8 Hz, 2H), 3.04 (d, *J* = 6.8 Hz, 2H), 3.31 (dt, *J* = 2.0, 11.6 Hz, 2H), 3.68 (s, 3H), 3.92–3.98 (m, 2H), 6.51 (dd, *J* = 1.6, 6.8 Hz, 1H), 6.69 (s, 1H), 6.77 (s, 1H), 7.01 (dd, *J* = 6.8, 8.8 Hz, 1H), 7.44 (dd, *J* = 1.6, 8.8 Hz, 1H). ¹³C NMR (150 MHz, CDCl₃) δ 157.6, 153.9, 139.9, 139.0, 137.5, 136.7, 123.4, 121.2, 120.6, 120.3, 115.2, 112.6,

109.9, 68.0, 62.0, 55.9, 34.5, 31.6, 21.8, 19.7, 19.3, 14.4, 10.6, 3.6. HRMS calcd for (C₂₈H₃₇N₃O₂) [M + H]⁺ 448.2959; found 448.2951.

***N*-(シクロプロピルメチル)-7-(2,6-ジメトキシ-4-メチルフェニル)-2-エチル-*N*[(テトラヒドロ-2*H*-ピラン-4-イル)メチル]ピラゾロ[1,5-*a*]ピリジン-3-アミン (5m)**

化合物 5l の合成法に準じ、化合物 36b (420 mg, 1.0 mmol) から標記化合物 5m (353 mg, 76%, 3 steps) を黄色油状物として得た。¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 0.01–0.03 (m, 2H), 0.34–0.40 (m, 2H), 0.80–0.90 (m, 1H), 1.23 (t, *J* = 7.6 Hz, 3H), 1.20–1.34 (m, 2H), 1.56–1.62 (m, 1H), 1.74–1.80 (m, 2H), 2.45 (s, 3H), 2.77 (q, *J* = 7.6 Hz, 2H), 2.89 (d, *J* = 6.4 Hz, 2H), 3.06 (d, *J* = 6.8 Hz, 2H), 3.32 (dt, *J* = 2.0, 11.6 Hz, 2H), 3.71 (s, 6H), 3.92–3.98 (m, 2H), 6.53 (s, 2H), 6.60 (dd, *J* = 1.2, 6.8 Hz, 1H), 7.01 (dd, *J* = 6.8, 8.8 Hz, 1H), 7.45 (dd, *J* = 1.2, 8.8 Hz, 1H). ¹³C NMR (150 MHz, C₅D₅N) δ 158.4, 152.8, 140.9, 137.2, 134.8, 121.1, 120.8, 115.2, 113.2, 109.5, 105.0, 67.2, 61.5, 61.3, 55.1, 34.1, 31.3, 21.4, 19.5, 13.8, 10.4, 3.4. HRMS calcd for (C₂₈H₃₇N₃O₃) [M + H]⁺ 464.2908; found 464.2908.

***N*-(シクロプロピルメチル)-7-(2,4-ジメトキシ-6-メチルフェニル)-2-エチル-*N*[(テトラヒドロ-2*H*-ピラン-4-イル)メチル]ピラゾロ[1,5-*a*]ピリジン-3-アミン (5n)**

化合物 5l の合成法に準じ、化合物 36c (80 mg, 0.19 mmol) から標記化合物 5n (70 mg, 78%, 3 steps) を黄色油状物として得た。¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 0.05–0.00 (m, 2H), 0.31–0.36 (m, 2H), 0.77–0.87 (m, 1H), 1.21 (t, *J* = 7.6 Hz, 3H), 1.22–1.32 (m, 2H), 1.56–1.64 (m, 1H), 1.72–1.80 (m, 2H), 2.00 (s, 3H), 2.72–2.79 (m, 2H), 2.87 (d, *J* = 6.4 Hz, 2H), 3.04 (d, *J* = 6.8 Hz, 2H), 3.27–3.35 (m, 2H), 3.67 (s, 3H), 3.85 (s, 3H), 3.90–3.96 (m, 2H), 6.43 (d, *J* = 2.0 Hz, 1H), 6.47 (d, *J* = 2.0 Hz, 1H), 6.49 (dd, *J* = 1.2, 6.8 Hz, 1H), 6.99 (dd, *J* = 6.8, 8.8 Hz, 1H), 7.43 (dd, *J* = 1.2, 8.8 Hz, 1H). ¹³C NMR (150 MHz, CDCl₃) δ 161.0, 158.9, 153.8, 140.2, 137.5, 136.6, 121.2, 120.6, 115.9, 115.2, 112.9, 106.8, 96.7, 68.0, 62.0, 55.9, 55.3, 34.5, 31.6, 31.6, 19.8, 19.7, 14.4, 10.6, 3.6. HRMS calcd for (C₂₈H₃₇N₃O₃) [M + H]⁺ 464.2908; found 464.2913.

***N*-(シクロプロピルメチル)-2-エチル-*N*[(テトラヒドロ-2*H*-ピラン-4-イル)メチル]-7-(2,4,6-トリメトキシフェニル)ピラゾロ[1,5-*a*]ピリジン-3-アミン (5o)**

化合物 5l の合成法に準じ、化合物 36d (100 mg, 0.23 mmol) から標記化合物 5o (82 mg, 73%, 3 steps) を淡黄色油状物として得た。¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 0.02–0.03 (m, 2H), 0.34–0.40 (m, 2H), 0.80–0.90 (m, 1H), 1.23 (t, *J* = 7.6 Hz, 3H), 1.23–1.34 (m, 2H), 1.54–1.64

(m, 1H), 1.73–1.80 (m, 2H), 2.78 (q, $J = 7.6$ Hz, 2H), 2.89 (d, $J = 6.8$ Hz, 2H), 3.05 (d, $J = 6.8$ Hz, 2H), 3.27–3.36 (m, 2H), 3.71 (s, 6H), 3.89 (s, 3H), 3.92–3.97 (m, 2H), 6.26 (s, 2H), 6.59 (dd, $J = 1.6, 6.8$ Hz, 1H), 7.00 (dd, $J = 6.8, 8.8$ Hz, 1H), 7.43 (dd, $J = 1.6, 8.8$ Hz, 1H). ^{13}C NMR (150 MHz, CDCl_3) δ 162.2, 159.5, 153.2, 137.4, 134.1, 121.0, 120.4, 115.2, 113.4, 105.2, 91.4, 68.0, 62.2, 62.0, 56.0, 55.4, 34.5, 31.6, 19.7, 14.4, 10.6, 3.6. HRMS calcd for $(\text{C}_{28}\text{H}_{37}\text{N}_3\text{O}_4)$ $[\text{M} + \text{H}]^+$ 480.2857; found 480.2862.

***N*-(シクロプロピルメチル)-2-エチル-*N*'[(テトラヒドロ-2*H*-ピラン-4-イル)メチル]-7-(2,4,5-トリメトキシフェニル)ピラゾロ[1,5-*a*]ピリジン-3-アミン (5p)**

化合物 5r の合成法に準じ、化合物 29a (60 mg, 0.15 mmol) から標記化合物 5p (62 mg, 85%) を黄色油状物として得た。 ^1H NMR (600 MHz, CDCl_3) δ -0.02–0.06 (m, 2H), 0.34–0.41 (m, 2H), 0.78–0.88 (m, 1H), 1.19–1.36 (m, 2H), 1.27 (t, $J = 7.6$ Hz, 3H), 1.52–1.63 (m, 1H), 1.71–1.79 (m, 2H), 2.79 (q, $J = 7.6$ Hz, 2H), 2.86–2.91 (m, 2H), 3.02–3.07 (m, 2H), 3.27–3.34 (m, 2H), 3.77 (s, 3H), 3.86 (s, 3H), 3.90–3.96 (m, 2H), 3.96 (s, 3H), 6.67 (s, 1H), 6.68 (d, $J = 7.0$ Hz, 1H), 7.01 (dd, $J = 7.0, 8.6$ Hz, 1H), 7.22 (s, 1H), 7.44 (d, $J = 8.6$ Hz, 1H). ^{13}C NMR (150 MHz, CDCl_3) δ 153.5, 152.3, 150.6, 142.9, 137.7, 137.2, 121.3, 120.8, 115.3, 114.5, 114.3, 112.4, 98.3, 68.0, 62.1, 61.9, 56.8, 56.4, 56.1, 34.4, 31.6, 19.8, 14.1, 10.6, 3.7. HRMS calcd for $(\text{C}_{28}\text{H}_{37}\text{N}_3\text{O}_4)$ $[\text{M} + \text{H}]^+$ 480.2858; found 480.2857.

[4-(3-((シクロプロピルメチル)[(テトラヒドロ-2*H*-ピラン-4-イル)メチル]アミノ)-2-エチルピラゾロ[1,5-*a*]ピリジン-7-イル)-3,5-ジメトキシフェニル]メタノール (5q)

化合物 5r の合成法に準じ、化合物 29a (250 mg, 0.64 mmol) から標記化合物 5q (300 mg, 98%) を淡黄色固体として得た。 ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ -0.03–0.05 (m, 2H), 0.32–0.40 (m, 2H), 0.80–0.90 (m, 1H), 1.22 (t, $J = 7.5$ Hz, 3H), 1.22–1.35 (m, 2H), 1.53–1.66 (m, 1H), 1.72–1.81 (m, 2H), 1.96 (t, $J = 5.6$ Hz, 1H), 2.78 (q, $J = 7.5$ Hz, 2H), 2.86–2.92 (m, 2H), 3.02–3.09 (m, 2H), 3.28–3.38 (m, 2H), 3.74 (s, 6H), 3.90–4.00 (m, 2H), 4.76 (d, $J = 5.6$ Hz, 2H), 6.61 (dd, $J = 1.3, 6.8$ Hz, 1H), 6.72 (s, 2H), 7.02 (dd, $J = 6.8, 8.8$ Hz, 1H), 7.46 (dd, $J = 1.3, 8.8$ Hz, 1H). ^{13}C NMR (150 MHz, CDCl_3) δ 158.8, 153.4, 144.4, 137.4, 134.0, 121.2, 120.6, 115.4, 113.3, 110.9, 102.7, 68.0, 65.2, 62.1, 62.0, 56.1, 34.5, 31.6, 19.6, 14.4, 10.6, 3.6. HRMS calcd for $(\text{C}_{28}\text{H}_{37}\text{N}_3\text{O}_4)$ $[\text{M} + \text{H}]^+$ 480.2857; found 480.2848.

N(シクロプロピルメチル)-7-[2,6-ジメトキシ-4-(メトキシメチル)フェニル]-2-エチル-***N'***[(テトラヒドロ-2*H*-ピラン-4-イル)メチル]ピラゾロ[1,5-*a*]ピリジン-3-アミン (5r).

化合物 29a (60 mg, 0.15 mmol) λ [2,6-ジメトキシ-4-(メトキシメチル)フェニル]ボロン酸 (45 mg, 0.20 mmol) λ 水酸化バリウム 8 水和物 (72 mg, 0.23 mmol) および Pd(PPh₃)₄ (35 mg, 0.030 mmol) を 1,2-ジメトキシエタン (2 mL) と水 (1 mL) に溶解し、窒素雰囲気下、90 °C で 4 時間加熱した。反応液を冷却し水を加えたのちセライトろ過により不溶物を除去した。ろ液を分配し、水層を酢酸エチルで抽出した。有機層を飽和食塩水で洗浄後、無水硫酸マグネシウムで乾燥し、溶媒を減圧下留去した。残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (*n*-ヘキサン : 酢酸エチル = 1 : 1) に供し、標記化合物 5r (40 mg, 54%) を淡黄色固体として得た。¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ -0.02–0.04 (m, 2H), 0.34–0.38 (m, 2H), 0.80–0.90 (m, 1H), 1.22 (t, *J* = 7.6 Hz, 3H), 1.24–1.34 (m, 2H), 1.54–1.64 (m, 1H), 1.74–1.80 (m, 2H), 2.77 (q, *J* = 7.6 Hz, 2H), 2.88 (d, *J* = 6.8 Hz, 2H), 3.05 (d, *J* = 7.2 Hz, 2H), 3.31 (t, *J* = 11.6 Hz, 2H), 3.49 (s, 3H), 3.73 (s, 6H), 3.90–4.00 (m, 2H), 4.53 (s, 2H), 6.59 (dd, *J* = 1.2, 6.8 Hz, 1H), 6.67 (s, 2H), 7.00 (dd, *J* = 6.8, 8.8 Hz, 1H), 7.44 (dd, *J* = 1.2, 8.8 Hz, 1H). ¹³C NMR (150 MHz, CDCl₃) δ 158.7, 153.3, 141.4, 137.3, 134.0, 121.0, 120.4, 115.4, 113.1, 111.3, 103.6, 74.9, 68.0, 62.2, 62.0, 58.4, 56.1, 34.5, 31.6, 19.7, 14.3, 10.6, 3.6. HRMS calcd for (C₂₉H₃₉N₃O₄) [M + H]⁺ 494.3013; found 494.3019.

N(シクロプロピルメチル)-7-[2,4-ジメトキシ-6-(メトキシメチル)フェニル]-2-エチル-***N'***[(テトラヒドロ-2*H*-ピラン-4-イル)メチル]ピラゾロ[1,5-*a*]ピリジン-3-アミン (5s)

化合物 5r の合成法に準じ、化合物 29a (60 mg, 0.15 mmol) から標記化合物 5s (38 mg, 50%) を淡黄色固体として得た。¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ -0.04–0.02 (m, 2H), 0.30–0.36 (m, 2H), 0.78–0.88 (m, 1H), 1.20 (t, *J* = 7.6 Hz, 3H), 1.20–1.32 (m, 2H), 1.52–1.64 (m, 1H), 1.72–1.80 (m, 2H), 2.70–2.80 (m, 2H), 2.87 (d, *J* = 6.8 Hz, 2H), 3.04 (d, *J* = 6.8 Hz, 2H), 3.19 (s, 3H), 3.28–3.34 (m, 2H), 3.68 (s, 3H), 3.88 (s, 3H), 3.90–3.98 (m, 2H), 3.98 (d, *J* = 12.8 Hz, 1H), 4.21 (d, *J* = 12.8 Hz, 1H), 6.51 (d, *J* = 2.4 Hz, 1H), 6.54 (dd, *J* = 1.6, 6.8 Hz, 1H), 6.76 (d, *J* = 2.4 Hz, 1H), 6.99 (dd, *J* = 6.8, 8.8 Hz, 1H), 7.44 (dd, *J* = 1.2, 8.8 Hz, 1H). ¹³C NMR (150 MHz, CDCl₃) δ 161.5, 158.7, 153.8, 140.4, 137.5, 135.4, 121.1, 120.7, 115.5, 114.7, 113.1, 103.8, 98.5, 71.9, 68.0, 62.0, 62.0, 58.1, 56.0, 55.4, 34.5, 31.6, 31.6, 19.7, 14.3, 10.6, 3.6, 3.6. HRMS calcd for (C₂₉H₃₉N₃O₄) [M + H]⁺ 494.3013; found 494.3019.

***N*-(シクロプロピルメチル)-7-[4-(エトキシメチル)-2,6-ジメトキシフェニル]-2-エチル-*N*'[(テトラヒドロ-2*H*-ピラン-4-イル)メチル]ピラゾロ[1,5-*a*]ピリジン-3-アミン (5t)**

化合物 5r の合成法に準じ、化合物 29a (67 mg, 0.17 mmol) から標記化合物 5t (61 mg, 70%) を黄色固体として得た。¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 0.02–0.06 (m, 2H), 0.34–0.43 (m, 2H), 0.80–0.94 (m, 1H), 1.24 (t, *J* = 7.5 Hz, 3H), 1.33 (t, *J* = 7.0 Hz, 3H), 1.20–1.38 (m, 2H), 1.54–1.68 (m, 1H), 1.74–1.84 (m, 2H), 2.78 (q, *J* = 7.5 Hz, 2H), 2.90 (d, *J* = 6.6 Hz, 2H), 3.07 (d, *J* = 7.0 Hz, 2H), 3.33 (dt, *J* = 1.6, 12.0 Hz, 2H), 3.66 (q, *J* = 7.0 Hz, 2H), 3.75 (s, 6H), 3.92–4.02 (m, 2H), 4.59 (s, 2H), 6.61 (br d, *J* = 6.8 Hz, 1H), 6.71 (s, 2H), 7.03 (dd, *J* = 7.0, 8.8 Hz, 1H), 7.46 (br d, *J* = 8.8 Hz, 1H). ¹³C NMR (150 MHz, CDCl₃) δ 158.7, 153.3, 141.8, 137.3, 134.0, 121.0, 120.4, 115.4, 113.1, 111.2, 103.7, 73.0, 68.0, 66.0, 62.2, 62.0, 56.1, 34.5, 31.6, 19.7, 15.3, 14.3, 10.6, 3.6. HRMS calcd for (C₃₀H₄₁N₃O₄) [M + H]⁺ 508.3170; found 508.3167.

***N*-(シクロプロピルメチル)-7-(2,6-ジメトキシフェニル)-2-エチル-*N*'[(テトラヒドロ-2*H*-ピラン-4-イル)メチル]ピラゾロ[1,5-*a*]ピリジン-3-アミン (5u)**

化合物 5r の合成法に準じ、化合物 29a (50 mg, 0.12 mmol) から標記化合物 5u (46 mg, 85%) を淡黄色油状物として得た。¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 0.05–0.05 (m, 2H), 0.31–0.40 (m, 2H), 0.79–0.90 (m, 1H), 1.20–1.36 (m, 2H), 1.21 (t, *J* = 7.6 Hz, 3H), 1.53–1.65 (m, 1H), 1.71–1.80 (m, 2H), 2.76 (q, *J* = 7.6 Hz, 2H), 2.85–2.91 (m, 2H), 3.01–3.08 (m, 2H), 3.26–3.35 (m, 2H), 3.71 (s, 6H), 3.87–4.00 (m, 2H), 6.60 (d, *J* = 6.4 Hz, 1H), 6.69 (d, *J* = 8.4 Hz, 2H), 7.01 (dd, *J* = 6.4, 8.7 Hz, 1H), 7.39 (t, *J* = 8.4 Hz, 1H), 7.44 (d, *J* = 8.7 Hz, 1H). ¹³C NMR (150 MHz, CDCl₃) δ 158.8, 153.3, 137.3, 134.1, 130.7, 121.0, 120.5, 115.4, 113.1, 112.2, 104.6, 68.0, 62.2, 62.0, 56.1, 34.5, 31.6, 19.7, 14.3, 10.6, 3.6. HRMS calcd for (C₂₇H₃₅N₃O₃) [M + H]⁺ 450.2751; found 450.2754.

7-(2,6-ジメトキシ-4-メチルフェニル)-2-エチル-*N*-プロピル-*N*'[(テトラヒドロ-2*H*-ピラン-4-イル)メチル]ピラゾロ[1,5-*a*]ピリジン-3-アミン (5v)

化合物 5l の合成法に準じ、化合物 36b (120 mg, 0.29 mmol) から標記化合物 5v (111 mg, 86%, 3 steps) を黄色油状物として得た。¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 0.87 (t, *J* = 7.3 Hz, 3H), 1.20 (t, *J* = 7.6 Hz, 3H), 1.22–1.32 (m, 2H), 1.39 (ddq, *J* = 7.3, 7.3, 7.3 Hz, 2H), 1.51–1.63 (m, 1H), 1.70–1.78 (m, 2H), 2.43 (s, 3H), 2.74 (q, *J* = 7.6 Hz, 2H), 2.93–2.98 (m, 2H), 2.97 (dd, *J* = 7.3, 7.3 Hz, 2H), 3.26–3.35 (m, 2H), 3.70 (s, 6H), 3.90–3.97 (m, 2H), 6.51 (s, 2H), 6.59 (dd, *J* = 1.3, 6.8 Hz, 1H), 7.00 (dd, *J* = 6.8, 8.8 Hz, 1H), 7.41 (dd, *J* = 1.3, 8.8 Hz, 1H). ¹³C NMR (150 MHz, CDCl₃) δ 158.5, 153.3, 141.1, 137.3, 134.2, 121.0, 120.3, 115.2, 113.2, 109.3,

105.5, 68.0, 62.8, 59.1, 56.0, 34.5, 31.7, 22.4, 22.1, 19.7, 14.5, 11.7. HRMS calcd for (C₂₇H₃₇N₃O₃) [M + H]⁺ 452.2908; found 452.2900.

7-[2,6-ジメトキシ-4-(メトキシメチル)フェニル]-2-エチル-N-プロピル-N'[(テトラヒドロ-2H-ピラン-4-イル)メチル]ピラゾロ[1,5-a]ピリジン-3-アミン (5w)

化合物 5l の合成法に準じ、化合物 36e (70 mg, 0.16 mmol) から標記化合物 5w (49 mg, 63%, 3 steps) を淡黄色固体として得た。¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 0.87 (t, *J* = 7.6 Hz, 3H), 1.20 (t, *J* = 7.2 Hz, 3H), 1.23–1.32 (m, 2H), 1.36–1.45 (m, 2H), 1.52–.62 (m, 1H), 1.72–1.78 (m, 2H), 2.73 (q, *J* = 7.2 Hz, 2H), 2.96–3.00 (m, 4H), 3.27–3.35 (m, 2H), 3.49 (s, 3H), 3.73 (s, 6H), 3.90–3.97 (m, 2H), 4.53 (s, 2H), 6.60 (dd, *J* = 1.6, 6.8 Hz, 1H), 6.68 (s, 2H), 7.01 (dd, *J* = 6.8, 8.8 Hz, 1H), 7.42 (dd, *J* = 1.6, 8.8 Hz, 1H). ¹³C NMR (150 MHz, CDCl₃) δ 158.7, 153.3, 141.4, 137.3, 134.0, 121.0, 120.3, 115.3, 113.2, 111.2, 103.6, 74.9, 68.0, 62.8, 59.1, 58.5, 56.1, 34.5, 31.7, 22.1, 19.7, 14.4, 11.7. HRMS calcd for (C₂₈H₃₉N₃O₄) [M + H]⁺ 482.3013; found 482.3005.

N-(シクロプロピルメチル)-7-[2,6-ジメトキシ-4-(メトキシメチル)フェニル]-2-メトキシ-N'[(テトラヒドロ-2H-ピラン-4-イル)メチル]ピラゾロ[1,5-a]ピリジン-3-アミン (6a)

化合物 5r の合成法に準じ、化合物 31 (48 mg, 0.12 mmol) から標記化合物 6a (53 mg, 89%) を黄色油状物として得た。¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ -0.02–0.04 (m, 2H), 0.30–0.36 (m, 2H), 0.80–0.92 (m, 1H), 1.24–1.36 (m, 2H), 1.52–1.64 (m, 1H), 1.74–1.82 (m, 2H), 2.84 (d, *J* = 6.8 Hz, 2H), 2.97 (d, *J* = 6.8 Hz, 2H), 3.32 (td, *J* = 2.0, 11.6 Hz, 2H), 3.51 (s, 3H), 3.76 (s, 6H), 3.87 (s, 3H), 3.90–3.98 (m, 2H), 4.55 (s, 2H), 6.51 (dd, *J* = 1.6, 6.8 Hz, 1H), 6.69 (s, 2H), 7.04 (dd, *J* = 7.2, 8.8 Hz, 1H), 7.33 (dd, *J* = 1.6, 8.8 Hz, 1H). ¹³C NMR (150 MHz, CDCl₃) δ 161.2, 158.8, 141.3, 139.2, 133.7, 122.2, 114.0, 111.5, 111.3, 105.9, 103.4, 75.0, 68.1, 61.7, 61.2, 58.5, 56.1, 56.0, 34.2, 31.6, 10.4, 3.4. HRMS calcd for (C₂₈H₃₇N₃O₅) [M + H]⁺ 496.2806; found 496.2798.

N-(シクロプロピルメチル)-7-(2,6-ジメトキシ-4-メチルフェニル)-2-メトキシ-N'[(テトラヒドロ-2H-ピラン-4-イル)メチル]ピラゾロ[1,5-a]ピリジン-3-アミン (6b)

化合物 5l の合成法に準じ、化合物 38 (250 mg, 0.61 mmol) から標記化合物 6b (45 mg, 16%, 3 steps) を黄色固体として得た。¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ -0.04–0.08 (m, 2H), 0.28–0.40 (m, 2H), 0.80–0.94 (m, 1H), 1.20–1.38 (m, 2H), 1.52–1.70 (m, 1H), 1.74–1.84 (m, 2H), 2.47 (s, 3H), 2.84 (d, *J* = 6.6 Hz, 2H), 2.97 (d, *J* = 6.9 Hz, 2H), 3.33 (dt, *J* = 2.0, 12.0 Hz, 2H), 3.75

(s, 6H), 3.89 (s, 3H), 3.90–4.00 (m, 2H), 6.52 (dd, $J=1.4, 6.9$ Hz, 1H), 6.54 (s, 2H), 7.04 (dd, $J=6.8, 8.8$ Hz, 1H), 7.33 (dd, $J=1.4, 8.8$ Hz, 1H). ^{13}C NMR (150 MHz, CDCl_3) δ 161.2, 158.6, 141.0, 139.2, 133.9, 122.2, 113.8, 111.6, 109.4, 105.8, 105.3, 68.1, 61.7, 61.2, 56.0, 56.0, 34.2, 31.6, 22.4, 10.4, 3.4. HRMS calcd for ($\text{C}_{27}\text{H}_{35}\text{N}_3\text{O}_4$) $[\text{M} + \text{H}]^+$ 466.2700; found 466.2694.

***N*-(シクロプロピルメチル)-7-[2,6-ジメトキシ-4-(メトキシメチル)フェニル]-2-(メチルチオ)-*N*'[(テトラヒドロ-2*H*-ピラン-4-イル)メチル]ピラゾロ[1,5-*a*]ピリジン-3-アミン (7a)**

化合物 5r の合成法に準じ、化合物 33 (50 mg, 0.19 mmol) から標記化合物 7a (36 mg, 37%) を黄色油状物として得た。 ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ -0.02–0.04 (m, 2H), 0.30–0.38 (m, 2H), 0.82–0.92 (m, 1H), 1.22–1.34 (m, 2H), 1.52–1.64 (m, 1H), 1.76–1.82 (m, 2H), 2.44 (s, 3H), 2.90 (d, $J=6.8$ Hz, 2H), 3.06 (d, $J=7.2$ Hz, 2H), 3.32 (td, $J=2.0, 12.0$ Hz, 2H), 3.50 (s, 3H), 3.74 (s, 6H), 3.90–3.98 (m, 2H), 4.54 (s, 2H), 6.59 (dd, $J=1.6, 7.2$ Hz, 1H), 6.67 (s, 2H), 7.05 (dd, $J=7.2, 8.8$ Hz, 1H), 7.41 (dd, $J=1.6, 8.8$ Hz, 1H). ^{13}C NMR (150 MHz, CDCl_3) δ 158.8, 146.3, 141.5, 138.7, 133.8, 121.9, 120.8, 114.6, 113.0, 110.9, 103.2, 74.9, 68.0, 61.3, 61.2, 58.4, 56.0, 34.3, 31.6, 14.8, 10.4, 3.5. HRMS calcd for ($\text{C}_{28}\text{H}_{37}\text{N}_3\text{O}_4\text{S}$) $[\text{M} + \text{H}]^+$ 512.2578; found 512.2582.

***N*-(シクロプロピルメチル)-7-(2,6-ジメトキシ-4-メチルフェニル)-2-(メチルチオ)-*N*'[(テトラヒドロ-2*H*-ピラン-4-イル)メチル]ピラゾロ[1,5-*a*]ピリジン-3-アミン (7b)**

化合物 40a (340 mg, 0.79 mmol) の *N, N*-ジメチルホルムアミド (5 mL) 溶液に、室温で水素化ナトリウム (60%, 44 mg, 1.1 mmol) および (プロモメチル)シクロプロパン (91 μL , 0.95 mmol) を順次加え、40 °C で 30 分間攪拌した。反応液を冷却したのち水を加え、酢酸エチルで抽出した。有機層を飽和食塩水で洗浄後、無水硫酸マグネシウムで乾燥し、溶媒を減圧下留去した。得られた粗生成物は精製することなく次の反応に用いた。

得られた粗生成物を、酢酸エチル (5 mL) に溶解し、室温で 4M 塩化水素 / 酢酸エチル溶液 (10 mL) を加え、40 °C で 1 時間攪拌した。反応液を冷却し、4M 水酸化ナトリウム水溶液を加えたのち酢酸エチルで抽出した。有機層を飽和食塩水で洗浄後、無水硫酸マグネシウムで乾燥し、溶媒を減圧下留去した。得られた粗生成物は精製することなく次の反応に用いた。

得られた粗生成物 (50 mg, 0.13 mmol) をテトラヒドロフラン (2 mL) に溶解し、氷冷下、テトラヒドロ-2*H*-ピラン-4-カルボアルデヒド (45 mg, 0.39 mmol) 3M 硫酸 (0.13 mL, 0.39 mmol) および水素化ほう素ナトリウム (10 mg, 0.26 mmol) を順次加え、同温で 20 分間攪拌した。反応液に水を加え、酢酸エチルで抽出した。有機層を飽和食塩水で洗浄後、無水硫酸

マグネシウムで乾燥し、溶媒を減圧下留去した。残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (*n*-ヘキサン : 酢酸エチル = 3 : 1) に供し、標記化合物 **7b** (45 mg, 71%, 3 steps) を黄色油状物として得た。¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ -0.02–0.00 (m, 2H), 0.32–0.38 (m, 2H), 0.82–0.92 (m, 1H), 1.24–1.35 (m, 2H), 1.55–1.60 (m, 1H), 1.87–1.95 (m, 2H), 2.46 (s, 6H), 2.90 (d, *J* = 6.8 Hz, 2H), 3.06 (d, *J* = 7.2 Hz, 2H), 3.32 (dt, *J* = 2.0, 12.0 Hz, 2H), 3.72 (s, 6H), 3.92–3.98 (m, 2H), 6.52 (s, 2H), 6.60 (dd, *J* = 1.6, 6.8 Hz, 1H), 7.05 (dd, *J* = 6.8, 8.8 Hz, 1H), 7.41 (dd, *J* = 1.6, 8.8 Hz, 1H). ¹³C NMR (150 MHz, CDCl₃) δ 158.5, 146.2, 141.1, 138.7, 134.0, 121.9, 120.9, 114.5, 113.1, 109.0, 105.2, 68.0, 61.3, 61.2, 55.9, 34.3, 31.6, 22.4, 14.9, 10.4, 3.5. HRMS calcd for (C₂₇H₃₅N₃O₃S) [M + H]⁺ 482.2472; found 482.2473.

1-[(7-[2,6-ジメトキシ-4-(メトキシメチル)フェニル]-2-(メチルチオ)ピラゾロ[1,5-*a*]ピリジン-3-イル)](テトラヒドロ-2*H*-ピラン-4-イル)メチル]アミノ)メチル]シクロプロパノール (**7c**)

化合物 **41a** (80 mg, 0.17 mmol) のテトラヒドロフラン (1 mL) 溶液に、酢酸 (10 μL) 1-[(*tert*-ブチルジメチルシリル)オキシ]シクロプロパンカルボアルデヒド (42 mg, 0.21 mmol) および水素化トリアセトキシほう素ナトリウム (74 mg, 0.35 mmol) を順次加え、室温で一晩攪拌した。飽和炭酸水素ナトリウム水溶液を加えたのち酢酸エチルで抽出した。有機層を飽和食塩水で洗浄後、無水硫酸マグネシウムで乾燥し、溶媒を減圧下留去した。残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (*n*-ヘキサン : 酢酸エチル = 2 : 1) に供し、シリルエーテル体の粗生成物を得た。

得られた粗生成物にテトラブチルアンモニウムフルオリド (1M テトラヒドロフラン溶液, 0.26 mL, 0.26 mmol) を加え、室温で3時間攪拌した。水を加えたのち酢酸エチルで抽出した。有機層を飽和食塩水で洗浄後、無水硫酸マグネシウムで乾燥し、溶媒を減圧下留去した。残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (*n*-ヘキサン : 酢酸エチル = 1 : 1) に供し、標記化合物 **7c** (17 mg, 19%, 2 steps) を淡黄色油状物として得た。¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 0.02–0.10 (m, 2H), 0.53–0.61 (m, 2H), 1.21–1.36 (m, 2H), 1.55–1.70 (m, 1H), 1.78–1.88 (m, 2H), 2.44 (s, 3H), 3.04–3.10 (m, 2H), 3.17 (br s, 2H), 3.28–3.37 (m, 2H), 3.48 (s, 3H), 3.72 (s, 6H), 3.90–3.98 (m, 2H), 4.53 (s, 2H), 6.63 (d, *J* = 7.0 Hz, 1H), 6.65 (s, 2H), 7.07 (dd, *J* = 7.0, 8.8 Hz, 1H), 7.30 (d, *J* = 8.8 Hz, 1H). ¹³C NMR (150 MHz, CDCl₃) δ 158.7, 147.4, 141.7, 137.1, 134.7, 122.5, 120.5, 114.1, 113.5, 110.5, 103.1, 74.9, 67.9, 63.4, 63.2, 58.5, 55.9, 53.5, 34.4, 31.6, 15.1, 11.0. HRMS calcd for (C₂₈H₃₇N₃O₅S) [M + H]⁺ 528.2527; found 528.2525.

1-[(7-[2,6-ジメトキシ-4-(メトキシメチル)フェニル]-2-(メチルチオ)ピラゾロ[1,5-*a*]ピリジン-3-イル)](テトラヒドロ-2*H*-ピラン-4-イル)メチル]アミノ)メチル]シクロプロパンカルボニトリル (7d)

化合物 40b (100 mg, 0.22 mmol) の *N,N*-ジメチルホルムアミド (1.7 mL) 溶液に、室温で水素化ナトリウム (60%, 13 mg, 0.33 mmol) および (1-シアノシクロプロピル)メチルメタンスルホネート (42 mg, 0.24 mmol) を順次加えた。2 時間攪拌したのち水を加え、酢酸エチルで抽出した。有機層を飽和食塩水で洗浄後、無水硫酸マグネシウムで乾燥し、溶媒を減圧下留去した。得られた粗生成物は精製することなく次の反応に用いた。

得られた粗生成物を、室温で過剰の 4M 塩化水素 / 酢酸エチル溶液に溶解し、室温で 1 時間攪拌した。反応液に飽和炭酸水素ナトリウム水溶液を加えたのち酢酸エチルで抽出した。有機層を飽和食塩水で洗浄後、無水硫酸マグネシウムで乾燥し、溶媒を減圧下留去した。得られた粗生成物は精製することなく次の反応に用いた。

得られた粗生成物をテトラヒドロフラン (1 mL) に溶解し、酢酸 (10 μ L)、テトラヒドロ-2*H*-4-ピランカルボアルデヒド (39 mg, 0.34 mmol) および水素化トリアセトキシほう素ナトリウム (48 mg, 0.23 mmol) を順次加え、室温で 2 時間攪拌した。飽和炭酸水素ナトリウム水溶液を加えたのち酢酸エチルで抽出した。有機層を飽和食塩水で洗浄後、無水硫酸マグネシウムで乾燥し、溶媒を減圧下留去した。残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (*n*-ヘキサン - 酢酸エチル系) に供し、標記化合物 7d (9.6 mg, 16%, 3 steps) を黄色油状物として得た。¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 0.50–0.62 (m, 2H), 0.94–1.06 (m, 2H), 1.21–1.37 (m, 2H), 1.54–1.68 (m, 1H), 1.81–1.92 (m, 2H), 2.43 (s, 3H), 2.98–3.06 (m, 2H), 3.14 (s, 2H), 3.27–3.37 (m, 2H), 3.48 (s, 3H), 3.71 (s, 6H), 3.90–3.99 (m, 2H), 4.52 (s, 2H), 6.63 (d, *J* = 6.8 Hz, 1H), 6.65 (s, 2H), 7.12 (dd, *J* = 6.8, 8.8 Hz, 1H), 7.61 (d, *J* = 8.8 Hz, 1H). ¹³C NMR (150 MHz, CDCl₃) δ 158.8, 145.4, 141.6, 139.5, 133.7, 123.7, 123.0, 119.3, 114.6, 113.6, 110.6, 103.2, 74.9, 67.9, 62.6, 60.2, 58.4, 56.0, 34.5, 31.6, 14.7, 12.2, 10.6. HRMS calcd for (C₂₉H₃₆N₄O₄S) [M + H]⁺ 537.2530; found 537.2531.

N[(1,4-ジオキサン-2-イル)メチル]-*N*(シクロプロピルメチル)-7-[2,6-ジメトキシ-4-(メトキシメチル)フェニル]-2-(メチルチオ)ピラゾロ[1,5-*a*]ピリジン-3-アミン (7e)

化合物 40b (100 mg, 0.22 mmol) の *N,N*-ジメチルホルムアミド (2 mL) 溶液に、室温で水素化ナトリウム (60%, 17 mg, 0.44 mmol) および (1,4-ジオキサン-2-イル)メチルメタンスルホネート (51 mg, 0.26 mmol) を順次加えた。50 °C で 2 時間、室温で一晩攪拌したのち、氷水を加え酢酸エチルで抽出した。有機層を飽和食塩水で洗浄後、無水硫酸マグネシウムで乾燥し、溶媒を減圧下留去した。得られた粗生成物は精製することなく次の反応に用いた。

得られた粗生成物を、室温で適量の塩化メチレンと過剰量のトリフルオロ酢酸に溶解し、室温で2時間攪拌した。反応液を減圧下濃縮し酢酸エチルを加えた。飽和炭酸水素ナトリウム水溶液および飽和食塩水で順次洗浄後、無水硫酸マグネシウムで乾燥し、溶媒を減圧下留去した。得られた粗生成物(150mg)は精製することなく次の反応に用いた。

得られた粗生成物の3分の1量(50mg)をテトラヒドロフランおよび酢酸に溶解し、シクロプロパンカルボアルデヒド(50 μ L, 0.67 mmol)および水素化トリアセトキシほう素ナトリウム(50 mg, 0.24 mmol)を順次加え、室温で一晩攪拌した。水を加えたのち酢酸エチルで抽出した。有機層を飽和食塩水で洗浄後、無水硫酸マグネシウムで乾燥し、溶媒を減圧下留去した。残渣をNHシリカゲルカラムクロマトグラフィー(*n*-ヘキサン-酢酸エチル系)に供し、標記化合物7e(25 mg, 67%, 3 steps)を黄色固体として得た。¹H NMR(400 MHz, CD₃OD) δ -0.04–0.06 (m, 2H), 0.28–0.40 (m, 2H), 0.78–0.90 (m, 1H), 2.41 (s, 3H), 2.86–3.00 (m, 2H), 3.04–3.12 (m, 1H), 3.32–3.41 (m, 2H), 3.45 (s, 3H), 3.48–3.66 (m, 4H), 3.69 (s, 6H), 3.94–4.01 (m, 1H), 4.54 (s, 2H), 6.57 (d, *J* = 6.8 Hz, 1H), 6.75 (s, 2H), 7.13 (dd, *J* = 6.8, 8.8 Hz, 1H), 7.47 (d, *J* = 8.8 Hz, 1H). ¹³C NMR(150 MHz, CDCl₃) δ 158.8, 146.3, 141.5, 138.7, 133.8, 122.3, 120.3, 114.5, 113.2, 110.8, 103.2, 74.9, 74.1, 70.9, 66.7, 66.6, 61.5, 58.4, 56.1, 56.0, 14.8, 10.4, 3.7, 3.3. HRMS calcd for (C₂₇H₃₅N₃O₅S) [M + H]⁺ 514.2370; found 514.2367.

N[(1,3-ジオキサン-2-イル)メチル]-*N*(シクロプロピルメチル)-7-[2,6-ジメトキシ-4-(メトキシメチル)フェニル]-2-(メチルチオ)ピラゾロ[1,5-*a*]ピリジン-3-アミン (7f)

化合物40b(200 mg, 0.44 mmol)の*N,N*-ジメチルホルムアミド(10 mL)溶液に、室温で水素化ナトリウム(60%, 87 mg, 2.2 mmol)(1,3-ジオキサン-2-イル)メチルメタンスルホネート(394 mg, 2.2 mmol)およびヨウ化カリウム(7.2 mg, 0.044 mmol)を順次加えた。50 °Cで5時間、次いで室温で一晩攪拌したのち、氷水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し、溶媒を減圧下留去した。得られた粗生成物は精製することなく次の反応に用いた。

得られた粗生成物を、室温で塩化メチレン(5 mL)とトリフルオロ酢酸(1 mL)に溶解し、1時間攪拌した。反応液を減圧下濃縮し、そのまま次の反応に用いた。

得られた粗生成物を適量のメタノールに溶解し、室温でシクロプロパンカルボアルデヒド(500 μ L, 6.7 mmol)および α -ピコリン-ボラン(200 mg, 1.9 mmol)を順次加え、一晩攪拌した。反応液に飽和塩化アンモニウム水溶液を加えたのち酢酸エチルで抽出した。有機層を飽和食塩水で洗浄後、無水硫酸マグネシウムで乾燥し、溶媒を減圧下留去した。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:酢酸エチル = 4:1)シリカゲルカラムクロ

マトグラフィー (*n*-ヘプタン : 酢酸エチル = 4 : 1) に順次供し、標記化合物 **7f** (106 mg, 47%, 3 steps) を黄緑色固体として得た。¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 0.03–0.04 (m, 2H), 0.26–0.33 (m, 2H), 0.80–0.90 (m, 1H), 1.22–1.34 (m, 1H), 2.00–2.15 (m, 1H), 2.44 (s, 3H), 3.00–3.06 (m, 2H), 3.30 (d, *J* = 4.6 Hz, 2H), 3.48 (s, 3H), 3.64–3.71 (m, 2H), 3.72 (s, 6H), 4.04–4.12 (m, 2H), 4.50 (t, *J* = 4.6 Hz, 1H), 4.53 (s, 2H), 6.58 (d, *J* = 6.8 Hz, 1H), 6.66 (s, 2H), 7.05 (dd, *J* = 6.8, 8.8 Hz, 1H), 7.44 (d, *J* = 8.8 Hz, 1H). ¹³C NMR (150 MHz, CDCl₃) δ 158.8, 146.4, 141.4, 138.9, 133.7, 122.0, 120.7, 114.8, 113.2, 110.9, 103.3, 101.7, 74.9, 66.8, 60.7, 58.8, 58.4, 56.0, 25.9, 15.0, 10.5, 3.3. HRMS calcd for (C₂₇H₃₅N₃O₅S) [M + H]⁺ 514.2370; found 514.2374.

7-[2,6-ジメトキシ-4-(メトキシメチル)フェニル]-*N*-(2-メトキシエチル)-2-(メチルチオ)-*N*[(テトラヒドロ-2*H*-ピラン-4-イル)メチル]ピラゾロ[1,5-*a*]ピリジン-3-アミン (**7g**)

化合物 **41a** (300 mg, 0.66 mmol) のテトラヒドロフラン (6 mL) 溶液に、酢酸 (60 μL) (*tert*-ブチルジメチルシリルオキシ)アセトアルデヒド (90%, 209 μL, 0.98 mmol) および水素化トリアセトキシほう素ナトリウム (278 mg, 1.3 mmol) を順次加え、室温で一晩攪拌した。反応液に飽和炭酸水素ナトリウム水溶液を加えたのち、酢酸エチルで抽出した。有機層を飽和食塩水で洗浄後、無水硫酸マグネシウムで乾燥し、溶媒を減圧下留去した。残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (*n*-ヘプタン : 酢酸エチル = 2 : 1) に供し、*N*{2-[(*tert*-ブチルジメチルシリル)オキシ]エチル}-7-[2,6-ジメトキシ-4-(メトキシメチル)フェニル]-2-(メチルチオ)-*N*[(テトラヒドロ-2*H*-ピラン-4-イル)メチル]ピラゾロ[1,5-*a*]ピリジン-3-アミン (175 mg, 43%) を黄色油状物として得た。¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 0.00 (s, 6H), 0.87 (s, 9H), 1.17–1.31 (m, 2H), 1.51–1.64 (m, 1H), 1.73–1.83 (m, 2H), 2.42 (s, 3H), 2.99–3.06 (m, 2H), 3.18 (t, *J* = 6.8 Hz, 2H), 3.26–3.36 (m, 2H), 3.48 (s, 3H), 3.61 (t, *J* = 6.8 Hz, 2H), 3.72 (s, 6H), 3.88–3.97 (m, 2H), 4.52 (s, 2H), 6.58 (dd, *J* = 1.2, 6.8 Hz, 1H), 6.65 (s, 2H), 7.03 (dd, *J* = 6.8, 8.8 Hz, 1H), 7.38 (dd, *J* = 1.2, 8.8 Hz, 1H).

得られたシリルエーテル体 (175 mg, 0.28 mmol) をテトラヒドロフラン (3 mL) に溶解し、室温でテトラブチルアンモニウムフルオリド (1M テトラヒドロフラン溶液, 0.43 mL, 0.43 mmol) を加え 3 時間攪拌した。溶媒を減圧下留去し、残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (*n*-ヘキサン : 酢酸エチル = 1 : 1) に供し、2-[(7-[2,6-ジメトキシ-4-(メトキシメチル)フェニル]-2-(メチルチオ)ピラゾロ[1,5-*a*]ピリジン-3-イル)][(テトラヒドロ-2*H*-ピラン-4-イル)メチル]アミノ)エタノール (111 mg, 78%) を淡黄色固体として得た。¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 1.20–1.35 (m, 2H), 1.51–1.66 (m, 1H), 1.74–1.84 (m, 2H), 2.42 (s, 3H), 2.97–3.03 (m, 2H), 3.08 (t, *J* = 6.4 Hz, 2H), 3.24 (dd, *J* = 3.6, 6.0 Hz, 2H), 3.27–3.37 (m, 2H), 3.46 (ddd,

$J = 3.6, 6.0, 6.4$ Hz, 2H), 3.48 (s, 3H), 3.72 (s, 6H), 3.88–3.98 (m, 2H), 4.52 (s, 2H), 6.63 (dd, $J = 1.2, 6.8$ Hz, 1H), 6.65 (s, 2H), 7.08 (dd, $J = 6.8, 8.8$ Hz, 1H), 7.34 (dd, $J = 1.2, 8.8$ Hz, 1H).

得られたアルコール体 (101 mg, 0.20 mmol) を *N,N*-ジメチルホルムアミド (2 mL) に溶解し、室温で水素化ナトリウム (60%, 9.7 mg, 0.24 mmol) およびヨードメタン (15 μ L, 0.24 mmol) を順次加え、4時間攪拌した。飽和塩化アンモニウム水溶液を加え、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し、溶媒を減圧下留去した。残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (*n*-ヘキサン : 酢酸エチル = 1 : 1) に供し、標記化合物 7g (97 mg, 94%) を黄色油状物として得た。 ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 1.18–1.34 (m, 2H), 1.49–1.62 (m, 1H), 1.73–1.81 (m, 2H), 2.42 (s, 3H), 2.99–3.06 (m, 2H), 3.24 (t, $J = 6.0$ Hz, 2H), 3.25–3.34 (m, 2H), 3.28 (s, 3H), 3.37 (t, $J = 6.0$ Hz, 2H), 3.47 (s, 3H), 3.72 (s, 6H), 3.88–3.96 (m, 2H), 4.52 (s, 2H), 6.58 (d, $J = 6.8$ Hz, 1H), 6.65 (s, 2H), 7.05 (dd, $J = 6.8, 8.8$ Hz, 1H), 7.37 (d, $J = 8.8$ Hz, 1H). ^{13}C NMR (150 MHz, CDCl_3) δ 158.8, 146.5, 141.5, 138.7, 133.8, 122.2, 120.1, 114.4, 113.2, 110.7, 103.2, 74.9, 71.8, 68.0, 62.3, 58.7, 58.4, 56.0, 55.4, 34.5, 31.5, 14.7. HRMS calcd for $(\text{C}_{27}\text{H}_{37}\text{N}_3\text{O}_5\text{S})$ $[\text{M} + \text{H}]^+$ 516.2527; found 516.2528.

N-(シクロプロピルメチル)-7-[2,6-ジメトキシ-4-(メトキシメチル)フェニル]-2-メチル-*N'*[(テトラヒドロ-2*H*-ピラン-4-イル)メチル]ピラゾロ[1,5-*a*]ピリジン-3-アミン (8)

化合物 5h の合成法に準じ、化合物 35 (40 mg, 0.11 mmol) から標記化合物 8 (31 mg, 61%) を淡黄色固体として得た。 ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ -0.05–0.02 (m, 2H), 0.31–0.36 (m, 2H), 0.78–0.88 (m, 1H), 1.20–1.32 (m, 2H), 1.54–1.64 (m, 1H), 1.72–1.78 (m, 2H), 2.34 (s, 3H), 2.85 (d, $J = 7.2$ Hz, 2H), 3.03 (d, $J = 7.2$ Hz, 2H), 3.26–3.34 (m, 2H), 3.47 (s, 3H), 3.71 (s, 6H), 3.90–3.96 (m, 2H), 4.51 (s, 2H), 6.53 (dd, $J = 1.2, 6.8$ Hz, 1H), 6.66 (s, 2H), 7.00 (dd, $J = 6.8, 8.8$ Hz, 1H), 7.42 (dd, $J = 1.2, 8.8$ Hz, 1H). ^{13}C NMR (150 MHz, CDCl_3) δ 158.7, 148.0, 141.5, 137.6, 133.9, 121.3, 121.0, 115.1, 113.0, 111.3, 103.6, 74.9, 68.0, 61.9, 61.7, 58.4, 56.1, 34.4, 31.6, 12.7, 10.5, 3.5. HRMS calcd for $(\text{C}_{28}\text{H}_{37}\text{N}_3\text{O}_4)$ $[\text{M} + \text{H}]^+$ 480.2857; found 480.2856.

3-[(シクロプロピルメチル)][(テトラヒドロ-2*H*-ピラン-4-イル)-7-[2,6-ジメトキシ-4-(メトキシメチル)フェニル]ピラゾロ[1,5-*a*]ピリジン-2-カルボニトリル (9)

化合物 46 (103 mg, 0.24 mmol) をトルエン (2 mL) およびエタノール (1 mL) に溶解し、[2,6-ジメトキシ-4-(メトキシメチル)フェニル]ボロン酸 (103 mg, 0.45 mmol), $\text{Pd}(\text{PPh}_3)_4$ (27 mg, 0.024 mmol) および 1M 炭酸ナトリウム水溶液 (0.47 mL, 0.47 mmol) を加え、窒素雰囲気下、90 $^\circ\text{C}$ で3時間攪拌した。放冷後、水を加え酢酸エチルで抽出した。有機層を飽和食

塩水で洗浄後、無水硫酸マグネシウムで乾燥し、溶媒を減圧下留去した。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 : 酢酸エチル = 2 : 1) およびシリカゲルカラムクロマトグラフィー (*n*-ヘプタン : 酢酸エチル = 1 : 1) に順次供し、標記化合物 **9** (70 mg, 60%) を黄色油状物として得た。¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ -0.07–0.03 (m, 2H), 0.35–0.44 (m, 2H), 0.85–0.97 (m, 1H), 1.22–1.36 (m, 2H), 1.59–1.73 (m, 1H), 1.73–1.83 (m, 2H), 2.95–3.02 (m, 2H), 3.17–3.24 (m, 2H), 3.26–3.36 (m, 2H), 3.48 (s, 3H), 3.73 (s, 6H), 3.89–3.98 (m, 2H), 4.53 (s, 2H), 6.87 (d, *J* = 6.8 Hz, 1H), 6.68 (s, 2H), 7.18 (dd, *J* = 6.8, 8.8 Hz, 1H), 7.55 (d, *J* = 8.8 Hz, 1H). ¹³C NMR (150 MHz, CDCl₃) δ 158.7, 142.6, 136.9, 134.7, 129.9, 123.1, 122.4, 117.6, 116.3, 115.1, 109.2, 103.2, 74.8, 67.9, 62.0, 60.6, 58.5, 56.0, 34.1, 31.3, 9.8, 3.5. HRMS calcd for (C₂₈H₃₄N₄O₄) [M + H]⁺ 491.2653; found 491.2660.

***N*-(シクロプロピルメチル)-7-[2,6-ジメトキシ-4-(メトキシメチル)フェニル]-2-エチル-*N*'[(テトラヒドロ-2*H*ピラン-4-イル)メチル]ピラゾロ[1,5-*a*]ピリジン-3-アミン 4-メチルベンゼンスルホネート (E2508)**

化合物 **5r** (1.6 g, 3.2 mmol) を酢酸エチル (25 mL) に溶解し、室温で *p*-トシル酸 1 水和物 (617 mg, 3.2 mmol) を加え攪拌した。析出した結晶をろ取り粗結晶 (2.18 g) とした。tert-ブチル メチルエーテル (640 mL) および酢酸エチル (770 mL) の混合溶媒から再結晶することにより、標記化合物 (1.9 g, 89%) を白色結晶として得た。¹H NMR (400 MHz, C₅D₅N) δ -0.03–0.07 (m, 2H), 0.30–0.40 (m, 2H), 0.70–0.82 (m, 1H), 1.22 (dddd, *J* = 5, 12, 13, 13 Hz, 2H), 1.32 (t, *J* = 8 Hz, 3H), 1.56 (ttt, *J* = 4, 7, 13 Hz, 1H), 1.68 (br d, *J* = 13 Hz, 2H), 2.16 (s, 3H), 2.79 (d, *J* = 7 Hz, 2H), 2.87 (q, *J* = 8 Hz, 2H), 2.95 (d, *J* = 7 Hz, 2H), 3.22 (ddd, *J* = 5, 12, 12 Hz, 2H), 3.38 (s, 3H), 3.52 (s, 6H), 3.95 (br dd, *J* = 2, 12 Hz, 2H), 4.50 (s, 2H), 6.85 (s, 2H), 6.88 (dd, *J* = 1, 7 Hz, 1H), 7.18 (d, *J* = 8 Hz, 2H), 7.21 (dd, *J* = 7, 9 Hz, 1H), 7.63 (dd, *J* = 1, 9 Hz, 1H), 8.37 (d, *J* = 8 Hz, 2H). ¹³C NMR (100 MHz, C₅D₅N) δ 159.3, 153.5, 145.8, 142.7, 139.4, 137.9, 135.2, 129.0, 126.9, 121.8, 121.6, 116.1, 113.8, 111.8, 103.7, 74.7, 67.9, 67.9, 62.2, 62.0, 58.2, 55.8, 34.8, 32.0, 32.0, 21.1, 20.2, 14.5, 11.1, 4.1, 4.1. IR (KBr, cm⁻¹) 2629 (w), 1638 (w), 1612 (w), 1583 (w), 1542 (w), 1224 (m), 1159 (m), 1131 (m), 1119 (m), 1031 (w). Anal. Calcd for C₃₆H₄₇N₃O₇S: C, 64.94%, H, 7.11%, N, 6.31%; Found: C, 64.77%, H, 7.11%, N, 6.22%. mp 201 °C.

2-(1-ブチニル)ピリジン (12)

2-ブロモピリジン (504.6 g, 3.2 mol) をジエチルアミン (5 L) に溶解し、PdCl₂(PPh₃)₂ (22.5 g, 32 mmol) とヨウ化銅(I) (3.0 g, 16 mmol) を加え、室温で気体の 1-ブチン (400 g, 7.4 mol)

を反応液に導入しながら 10 時間攪拌した。反応液に 40 分間窒素を導入したのち、不溶物をセライトろ過により除去した。ろ液を減圧下濃縮し、残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (*n*-ヘキサン : 酢酸エチル = 5 : 2) に供し、標記化合物 12 (380.5 g, 83%) を茶色油状物として得た。¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 1.26 (t, *J* = 7.6 Hz, 3H), 2.45 (q, *J* = 7.6 Hz, 2H), 7.16–7.20 (m, 1H), 7.35–7.38 (m, 1H), 7.59–7.63 (m, 1H), 8.53–8.54 (m, 1H).

2-エチルピラゾロ[1,5-*a*]ピリジン (13)

化合物 12 (260 g, 1.98 mol) を塩化メチレン (1.6 L) に溶解し、氷冷下、*O*-メシチレン スルホニルヒドロキシルアミン (724 g, 2.6 mol) の塩化メチレン (900 mL) 溶液をゆっくりと加え、一時間攪拌した。反応液にジエチルエーテル (14 L) を加え、生じた固体をろ取したのち、減圧下乾燥することにより、*N*-アミノ-2-(1-ブチニル)ピリジニウム メシチレンスルホネートの粗生成物を淡黄色固体として得た。

得られた粗生成物をメタノール (1.4 L) に溶解し、氷冷下、ナトリウムメトキシドのメタノール溶液 (28%, 309 mL, 1.6 mol) を滴下し、30 分間激しく攪拌した。反応液に氷水 (1.4 L) を加えたのち、メタノールを減圧下留去した。得られた水層を酢酸エチルで抽出し、有機層を無水硫酸マグネシウムで乾燥後、溶媒を減圧下留去した。残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (*n*-ヘキサン : 酢酸エチル = 10 : 1) に供し、標記化合物 13 (88.2 g, 38%, 2 steps) を淡黄色油状物として得た。¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 1.36 (t, *J* = 7.6 Hz, 3H), 2.86 (q, *J* = 7.6 Hz, 2H), 6.30 (s, 1H), 6.65 (ddd, *J* = 1.6, 6.8, 6.8 Hz, 1H), 7.04 (ddd, *J* = 1.2, 6.8, 8.8 Hz, 1H), 7.41 (ddd, *J* = 1.2, 1.2, 8.8 Hz, 1H), 8.37 (ddd, *J* = 1.2, 1.2, 6.8 Hz, 1H). ¹³C NMR (150 MHz, CDCl₃) δ 157.8, 141.1, 128.2, 123.1, 117.3, 110.7, 94.5, 21.8, 13.9. HRMS calcd for (C₉H₁₀N₂) [M + H]⁺ 147.0917; found 147.0919.

7-プロモ-2-エチルピラゾロ[1,5-*a*]ピリジン (14)

化合物 13 (25.6 g, 175 mmol) をテトラヒドロフラン (750 mL) に溶解し、窒素雰囲気下、⁻⁷⁸ で *n*-ブチルリチウム (1.56 M ヘキサン溶液 : 146 mL, 228 mmol) を滴下し、同温で 1 時間攪拌した。反応液に、1,2-ジプロモ-1,1,2,2-テトラフルオロエタン (59.2 g, 228 mmol) のテトラヒドロフラン (10 mL) 溶液を滴下し、10 分後に 0 °C まで昇温した。飽和塩化アンモニウム水溶液を注意深く加え、酢酸エチルで抽出した。有機層を飽和食塩水で洗浄後、無水硫酸マグネシウムで乾燥し、溶媒を減圧下留去した。残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (*n*-ヘキサン : 酢酸エチル = 11 : 1) に供し、標記化合物 14 (33.8 g, 86%) を淡黄色油状物として得た。¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 1.36 (t, *J* = 7.6 Hz, 3H), 2.93 (q, *J* = 7.6 Hz,

2H), 6.49 (s, 1H), 6.94 (dd, $J=7.2, 8.4$ Hz, 1H), 6.99 (dd, $J=1.6, 7.2$ Hz, 1H), 7.44 (dd, $J=1.6, 8.4$ Hz, 1H).

7-プロモ-2-エチル-3-ニトロピラゾロ[1,5-*a*]ピリジン (15)

化合物 14 (102.9 g, 457.2 mmol) をアセトニトリル (880 mL) に溶解し、氷冷下、テトラフルオロホウ酸ニトロニウム (76.7 g, 548.6 mmol) を加え、10 分間攪拌した。反応液を砕いた氷に注ぎ、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し、溶媒を減圧下留去した。残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (*n*-ヘキサン : 酢酸エチル = 3 : 2) に供したのち、得られた固体を *n*-ヘキサンで洗浄することにより標記化合物 15 (74.6 g, 60%) を淡緑色固体として得た。¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 1.42 (t, $J=7.6$ Hz, 3H), 3.27 (q, $J=7.6$ Hz, 2H), 7.39 (dd, $J=1.2, 7.6$ Hz, 1H), 7.50 (dd, $J=7.6, 8.8$ Hz, 1H), 8.38 (dd, $J=1.2, 8.8$ Hz, 1H).

tert-ブチル *N*-(7-プロモ-2-エチルピラゾロ[1,5-*a*]ピリジン-3-イル)カーバメート (16)

化合物 15 (74.6 g, 276 mmol) をエタノール (1.3 L) 水 (650 mL) および酢酸 (65 mL) に懸濁させ、室温で銅粉末 (75 g, 1.09 mol) をゆっくり加えたのち、60 °C で 20 分間攪拌した。反応液を冷却し、セライトろ過により不溶物を除去した。溶媒を減圧下留去し、得られた水層を酢酸エチルで抽出した。有機層を飽和食塩水で洗浄後、無水硫酸マグネシウムで乾燥し、溶媒を減圧下留去した。残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (*n*-ヘキサン : 酢酸エチル = 4 : 1) に供し、7-プロモ-2-エチルピラゾロ[1,5-*a*]ピリジン-3-アミン (39.6 g, 60%) を暗褐色固体として得、すぐに次の反応に用いた。

得られた 7-プロモ-2-エチルピラゾロ[1,5-*a*]ピリジン-3-アミン (39.6 g, 165 mmol) の塩化メチレン (330 mL) 溶液に、氷冷下、トリエチルアミン (34.6 mL, 248 mmol) および二炭酸ジ-*tert*-ブチル (45.5 mL, 198 mmol) を順次加え、室温で 16 時間攪拌した。反応液に飽和炭酸水素ナトリウム水溶液と酢酸エチルを加え、セライトろ過により不溶物を除去した。溶媒を減圧下留去し、得られた水層を酢酸エチルで抽出した。有機層を飽和食塩水で洗浄後、無水硫酸マグネシウムで乾燥し、溶媒を減圧下留去した。残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (*n*-ヘキサン : 酢酸エチル = 4 : 1) に供し、標記化合物 16 (46.8 g, 83%) を白色固体として得た。¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 1.34 (t, $J=7.6$ Hz, 3H), 1.52 (br s, 9H), 2.87 (q, $J=7.6$ Hz, 2H), 5.91 (br s, 1H), 6.92–7.04 (m, 2H), 7.40 (d, $J=9.0$ Hz, 1H). ¹³C NMR (150 MHz, CDCl₃) δ 154.4, 153.3, 138.2, 123.4, 118.7, 115.3, 115.1, 108.0, 80.5, 28.3, 19.6, 13.4. HRMS calcd for (C₁₄H₁₈BrN₃O₂) [M + H]⁺ 340.0655; found 340.0660.

7-プロモ-2-メチルピラゾロ[1,5-*a*]ピリジン (18)

化合物 14 の合成法に準じ、2-メチルピラゾロ[1,5-*a*]ピリジン 17⁴⁶ (1.0 g, 7.6 mmol) および 1,2-ジプロモ-1,1,2,2-テトラクロロエタン (2.7 g, 8.3 mmol) から標記化合物 18 (1.3 g, 84%) を黄色油状物として得た。¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 2.55 (s, 3H), 6.45 (s, 1H), 6.93 (dd, *J* = 7.2, 8.4 Hz, 1H), 6.97 (dd, *J* = 1.6, 7.2 Hz, 1H), 7.41 (dd, *J* = 1.6, 8.4 Hz, 1H).

7-プロモ-2-メチル-3-ニトロピラゾロ[1,5-*a*]ピリジン (19)

化合物 15 の合成法に準じ、化合物 18 (1.3 g, 6.2 mmol) から標記化合物 19 (900 mg, 57%) を黄色固体として得た。¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 2.85 (s, 3H), 7.38 (dd, *J* = 1.2, 7.6 Hz, 1H), 7.49 (dd, *J* = 7.6, 8.8 Hz, 1H), 7.35 (dd, *J* = 1.2, 8.8 Hz, 1H).

tert-ブチル (7-プロモ-2-メチルピラゾロ[1,5-*a*]ピリジン-3-イル)カーバメート (20)

化合物 16 の合成法に準じ、化合物 19 (890 mg, 3.5 mmol) から 7-プロモ-2-メチルピラゾロ[1,5-*a*]ピリジン-3-アミン (371 mg, 47%) を褐色油状物として得た。そのものを、塩化メチレン (5 mL) に溶解し、氷冷下、トリエチルアミン (0.34 mL, 2.5 mmol)、二炭酸ジ-*tert*-ブチル (429 mg, 2.0 mmol) を順次加え、室温で一晩攪拌した。反応液に水を加え、酢酸エチルで抽出した。有機層を飽和食塩水で洗浄後、無水硫酸マグネシウムで乾燥し、溶媒を減圧下留去した。残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (*n*-ヘプタン : 酢酸エチル = 5 : 1) に供し、標記化合物 20 (420 mg, 79%) を淡褐色油状物として得た。¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 1.52 (br s, 9H), 2.47 (s, 3H), 5.88–5.92 (m, 1H), 6.94–7.00 (m, 2H), 7.37–7.42 (m, 1H). ¹³C NMR (150 MHz, CDCl₃) δ 154.3, 148.2, 137.9, 123.4, 118.5, 115.3, 115.1, 108.9, 80.6, 28.3, 11.5. HRMS calcd for (C₁₃H₁₆BrN₃O₂) [M + H]⁺ 326.0499; found 326.0501.

7-プロモ-2-メトキシピラゾロ[1,5-*a*]ピリジン (22)

化合物 14 の合成法に準じ、2-メトキシピラゾロ[1,5-*a*]ピリジン 21⁴⁷ (7.2 g, 48.3 mmol) および 1,2-ジプロモ-1,1,2,2-テトラクロロエタン (18.9 g, 58.0 mmol) から標記化合物 22 (7.1 g, 65%) を黄色油状物として得た。¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 4.03 (s, 3H), 6.02 (s, 1H), 6.91–6.97 (m, 2H), 7.31 (dd, *J* = 2.4, 7.6 Hz, 1H).

7-プロモ-2-メトキシピラゾロ[1,5-*a*]ピリジン-3-アミン (23)

化合物 22 (1.0 g, 4.4 mmol) の酢酸 (10 mL) 溶液に、室温で、亜硝酸ナトリウム (334 mg, 4.8 mmol) を水 (5 mL) に溶解した水溶液を加え、20 分間攪拌した。反応液に、エタノール (60 mL)、水 (30 mL)、銅粉末 (1.0 g, 15.3 mmol) を順次加え、60 °C で 30 分間攪拌した。

反応液を放冷し、不溶物をセライトろ過により除去した。ろ液に水を加え、酢酸エチルで抽出した。有機層を飽和食塩水で洗浄後、無水硫酸マグネシウムで乾燥し、溶媒を減圧下留去した。残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (*n*-ヘプタン : 酢酸エチル = 3 : 1) に供し、標記化合物 **23** (750 mg, 70%) を褐色固体として得た。¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 4.13 (s, 3H), 6.78 (dd, *J* = 1.6, 6.8 Hz, 1H), 6.81 (dd, *J* = 6.8, 8.4 Hz, 1H), 7.24 (dd, *J* = 1.6, 8.4 Hz, 1H).

***tert*-ブチル (7-プロモ-2-メトキシピラゾロ[1,5-*a*]ピリジン-3-イル)カーバメート (24)**

化合物 **23** (810 mg, 3.3 mmol) の塩化メチレン (20 mL) 溶液に、氷冷下、トリエチルアミン (0.69 mL, 5.0 mmol) および二炭酸ジ-*tert*-ブチル (0.92 mL, 4.4 mmol) を順次加え、室温で一晩攪拌した。反応液に水を加え、酢酸エチルで抽出した。有機層を飽和食塩水で洗浄後、無水硫酸マグネシウムで乾燥し、溶媒を減圧下留去した。残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (*n*-ヘキサン : 酢酸エチル = 10 : 1) に供し、標記化合物 **24** (1.1 g, 97%) を黄色固体として得た。¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 1.49 (s, 9H), 4.12 (s, 3H), 6.89 (dd, *J* = 1.2, 7.6 Hz, 1H), 6.94 (dd, *J* = 7.6, 8.8 Hz, 1H), 7.30–7.39 (m, 1H).

***tert*-ブチル [2-(メチルチオ)ピラゾロ[1,5-*a*]ピリジン-3-イル]カーバメート (26)**

化合物 **16** の合成法に準じ、2-メチルチオ-3-ニトロピラゾロ[1,5-*a*]ピリジン **25**⁴⁸ (400 mg, 1.9 mmol) から標記化合物 **26** (230 mg, 43%, 2 steps) を黄色油状物として得た。¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 1.53 (br s, 9H), 2.60 (s, 3H), 6.00–6.15 (m, 1H), 6.69 (t, *J* = 6.8 Hz, 1H), 7.11 (t, *J* = 8.0 Hz, 1H), 7.40–7.50 (m, 1H), 8.83 (d, *J* = 6.8 Hz, 1H).

***tert*-ブチル [7-ヨード-2-(メチルチオ)ピラゾロ[1,5-*a*]ピリジン-3-イル]カーバメート (27)**

化合物 **14** の合成法に準じ、化合物 **26** (21.6 g, 77.3 mmol) および 1,2-ジヨードエタン (24.0 g, 85.1 mmol) から標記化合物 **27** (21.5 g, 69%) を淡黄色固体として得た。¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 1.52 (s, 9H), 2.64 (s, 3H), 6.02–6.10 (m, 1H), 6.81 (dd, *J* = 7.2, 8.8 Hz, 1H), 7.22 (dd, *J* = 1.2, 7.2 Hz, 1H), 7.42–7.50 (m, 1H). ¹³C NMR (150 MHz, CDCl₃) δ 153.9, 145.3, 136.7, 123.7, 123.1, 116.5, 110.4, 91.9, 80.8, 28.2, 15.5. HRMS calcd for (C₁₃H₁₆IN₃O₂S) [M + H]⁺ 406.0081; found 406.0085.

7-プロモ-*N*-(シクロプロピルメチル)-2-エチルピラゾロ[1,5-*a*]ピリジン-3-アミン (28a)

化合物 **16** (46.8 g, 138 mmol) の *N,N*-ジメチルホルムアミド (1 L) 溶液に、窒素雰囲気下、室温で水素化ナトリウム (60%, 6.6 g, 179 mmol) をゆっくりと加え、20 分間攪拌した。同温で、(プロモメチル)シクロプロパン (22.4g, 166 mmol) を加え、40 °C で 1 時間攪拌した。反

応液を冷却し、氷をゆっくりと加えたのち酢酸エチルで抽出した。有機層を飽和食塩水で洗浄後、無水硫酸マグネシウムで乾燥し、溶媒を減圧下留去した。得られた粗生成物は精製することなく次の反応に用いた。

得られた粗生成物を、室温で 4M 塩化水素 / 酢酸エチル溶液 (500 mL) に溶解し、40 °C で 30 分間攪拌した。反応液を冷却し、5M 水酸化ナトリウム水溶液を加えたのち酢酸エチルで抽出した。有機層を飽和食塩水で洗浄後、無水硫酸マグネシウムで乾燥し、溶媒を減圧下留去した。残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (*n*-ヘキサン : 酢酸エチル = 3 : 1) に供し、標記化合物 **28a** (40.2 g, 99%, 2 steps) を黄色油状物として得た。¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 0.14-0.22 (m, 2H), 0.47-0.56 (m, 2H), 0.96-1.10 (m, 1H), 1.37 (t, *J* = 7.6 Hz, 3H), 2.88 (d, *J* = 6.8 Hz, 2H), 2.90 (q, *J* = 7.6 Hz, 2H), 6.83 (dd, *J* = 7.0, 8.8 Hz, 1H), 6.90 (dd, *J* = 1.3, 7.1 Hz, 1H), 7.43 (dd, *J* = 1.3, 8.8 Hz, 1H). ¹³C NMR (150 MHz, CDCl₃) δ 150.5, 135.8, 121.2, 120.6, 118.4, 115.0, 114.4, 56.0, 19.4, 14.0, 12.0, 3.4. HRMS calcd for (C₁₃H₁₆BrN₃) [M + H]⁺ 294.0600; found 294.0604.

7-プロモ-2-エチル-*N*-(2-メトキシエチル)ピラゾロ[1,5-*a*]ピリジン-3-アミン (28b)

化合物 **28a** の合成法に準じ、化合物 **16** (300 mg, 0.88 mmol) から標記化合物 **28b** (214 mg, 81%, 2 steps) を黄色油状物として得た。¹H NMR (600 MHz, CDCl₃) δ 1.38 (t, *J* = 7.6 Hz, 3H), 2.90 (q, *J* = 7.6 Hz, 2H), 3.22 (t, *J* = 4.9 Hz, 2H), 3.41 (s, 3H), 3.46 (t, *J* = 4.9 Hz, 2H), 6.84 (dd, *J* = 7.2, 8.7 Hz, 1H), 6.92 (d, *J* = 7.2 Hz, 1H), 7.43 (d, *J* = 8.7 Hz, 1H). ¹³C NMR (150 MHz, CDCl₃) δ 150.8, 136.0, 121.4, 119.8, 118.5, 114.8, 114.5, 71.2, 58.8, 50.1, 19.3, 14.0. HRMS calcd for (C₁₂H₁₆BrN₃O) [M + H]⁺ 298.0550; found 298.0555.

7-プロモ-2-エチル-*N*-(3-フルオロプロピル)ピラゾロ[1,5-*a*]ピリジン-3-アミン (28c)

化合物 **28a** の合成法に準じ、化合物 **16** (300 mg, 0.88 mmol) から標記化合物 **28c** (213 mg, 80%, 2 steps) を黄色油状物として得た。¹H NMR (600 MHz, CDCl₃) δ 1.37 (t, *J* = 7.6 Hz, 3H), 1.95 (ddt, *J* = 5.8, 6.8, 27.0 Hz, 2H), 2.89 (q, *J* = 7.6 Hz, 2H), 3.24 (t, *J* = 6.8 Hz, 2H), 4.64 (dt, *J* = 5.8, 47.4 Hz, 2H), 6.85 (dd, *J* = 7.2, 8.7 Hz, 1H), 6.92 (d, *J* = 7.2 Hz, 1H), 7.42 (d, *J* = 8.7 Hz, 1H). ¹³C NMR (150 MHz, CDCl₃) δ 151.0, 136.2, 121.5, 119.9, 118.6, 114.8, 114.5, 82.4 (d, *J* = 163.7 Hz), 47.1 (d, *J* = 4.4 Hz), 31.3 (d, *J* = 18.8 Hz), 19.5, 14.0. HRMS calcd for (C₁₂H₁₅BrFN₃) [M + H]⁺ 300.0506; found 300.0511.

7-プロモ-2-エチル-*N*[(テトラヒドロフラン-2-イル)メチル]ピラゾロ[1,5-*a*]ピリジン-3-アミン (28d)

化合物 28a の合成法に準じ、化合物 16 (300 mg, 0.88 mmol) から標記化合物 28d (221 mg, 77%, 2 steps) を黄色油状物として得た。¹H NMR (600 MHz, CDCl₃) δ 1.37 (t, *J* = 7.7 Hz, 3H), 1.52–1.72 (m, 1H), 1.83–2.07 (m, 3H), 2.91 (q, *J* = 7.7 Hz, 2H), 3.02–3.17 (m, 3H), 3.77–3.85 (m, 1H), 3.89–3.97 (m, 1H), 3.99–4.07 (m, 1H), 6.83 (dd, *J* = 7.2, 8.7 Hz, 1H), 6.91 (d, *J* = 7.2 Hz, 1H), 7.47 (d, *J* = 8.7 Hz, 1H). ¹³C NMR (150 MHz, CDCl₃) δ 150.8, 135.9, 121.3, 120.3, 118.4, 115.0, 114.4, 77.8, 68.0, 55.0, 28.8, 25.9, 19.4, 14.0. HRMS calcd for (C₁₄H₁₈BrN₃O) [M + H]⁺ 324.0706; found 324.0712.

7-プロモ-2-エチル-*N*-プロピルピラゾロ[1,5-*a*]ピリジン-3-アミン (28e)

化合物 28a の合成法に準じ、化合物 16 (500 mg, 1.5 mmol) から標記化合物 28e (360 mg, 87%, 2 steps) を黄色油状物として得た。¹H NMR (600 MHz, CDCl₃) δ 0.99 (t, *J* = 7.3 Hz, 3H), 1.37 (t, *J* = 7.7 Hz, 3H), 1.59 (sxt, *J* = 7.3 Hz, 2H), 2.89 (q, *J* = 7.7 Hz, 2H), 3.05 (t, *J* = 7.3 Hz, 2H), 6.83 (dd, *J* = 7.2, 8.8 Hz, 1H), 6.91 (d, *J* = 7.2 Hz, 1H), 7.42 (d, *J* = 8.8 Hz, 1H). ¹³C NMR (150 MHz, CDCl₃) δ 150.4, 135.7, 121.2, 120.6, 118.4, 115.0, 114.4, 52.7, 23.8, 19.5, 14.0, 11.5. HRMS calcd for (C₁₂H₁₆BrN₃) [M + H]⁺ 282.0600; found 282.0606.

7-プロモ-*N*-(シクロプロピルメチル)-2-エチル-*N*[(テトラヒドロ-2*H*-ピラン-4-イル)メチル]ピラゾロ[1,5-*a*]ピリジン-3-アミン (29a)

化合物 28a (40.2 g, 136.6 mmol) のテトラヒドロフラン (680 mL) 溶液にテトラヒドロ-2*H*-ピラン-4-カルボアルデヒド (31.2 g, 273.2 mmol) のテトラヒドロフラン (30 mL) 溶液、水素化トリアセトキシほう素ナトリウム (40.5 g, 191.2 mmol) を順次加え、室温で 30 分間攪拌した。反応液に氷を加え、酢酸エチルで抽出した。有機層を飽和食塩水で洗浄後、無水硫酸マグネシウムで乾燥し、溶媒を減圧下留去した。残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (*n*-ヘキサン : 酢酸エチル = 5 : 1) に供し、標記化合物 29a (51.5 g, 96%) を黄色油状物として得た。¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ -0.02–0.06 (m, 2H), 0.33–0.43 (m, 2H), 0.75–0.88 (m, 1H), 1.20–1.34 (m, 2H), 1.38 (t, *J* = 7.6 Hz, 3H), 1.48–1.62 (m, 1H), 1.69–1.78 (m, 2H), 2.88 (d, *J* = 6.8 Hz, 2H), 2.91 (q, *J* = 7.6 Hz, 2H), 3.04 (d, *J* = 7.0 Hz, 2H), 3.30 (dt, *J* = 2.1, 12.0 Hz, 2H), 3.90–4.00 (m, 2H), 6.88 (dd, *J* = 7.1, 8.8 Hz, 1H), 6.96 (dd, *J* = 1.3, 7.1 Hz, 1H), 7.49 (dd, *J* = 1.3, 8.8 Hz, 1H). ¹³C NMR (150 MHz, CDCl₃) δ 155.0, 138.9, 122.6, 122.0, 119.1, 115.7, 114.6, 67.9, 62.0, 61.8, 34.4, 31.6, 20.0, 14.0, 10.4, 3.7. HRMS calcd for (C₁₉H₂₆BrN₃O) [M + H]⁺ 392.1332; found 392.1336.

7-プロモ-N(シクロプロピルメチル)-2-エチル-N(2-メトキシエチル)ピラゾロ[1,5-a]ピリジン-3-アミン (29b)

化合物 29a の合成法に準じ、化合物 28b(178 mg, 0.60 mmol)から標記化合物 29b(192 mg, 91%)を黄色油状物として得た。¹H NMR (600 MHz, CDCl₃) δ-0.06–0.06 (m, 2H), 0.31–0.41 (m, 2H), 0.75–0.87 (m, 1H), 1.36 (t, *J* = 7.6 Hz, 3H), 2.90 (q, *J* = 7.6 Hz, 2H), 2.94–2.99 (m, 2H), 3.27 (s, 3H), 3.33 (s, 4H), 6.86 (dd, *J* = 7.0, 8.7 Hz, 1H), 6.94 (d, *J* = 7.0 Hz, 1H), 7.49 (d, *J* = 8.7 Hz, 1H). ¹³C NMR (150 MHz, CDCl₃) δ 155.5, 139.0, 122.1, 121.6, 119.0, 115.7, 114.6, 71.6, 61.7, 58.7, 54.6, 19.8, 14.0, 10.5, 3.6. HRMS calcd for (C₁₆H₂₂BrN₃O) [M + H]⁺ 352.1019; found 352.1027.

7-プロモ-N(シクロプロピルメチル)-2-エチル-N(3-フルオロプロピル)ピラゾロ[1,5-a]ピリジン-3-アミン (29c)

化合物 29a の合成法に準じ、化合物 28c(170 mg, 0.57 mmol)から標記化合物 29c(194 mg, 97%)を黄色油状物として得た。¹H NMR (600 MHz, CDCl₃) δ-0.04–0.07 (m, 2H), 0.31–0.43 (m, 2H), 0.74–0.87 (m, 1H), 1.36 (t, *J* = 7.7 Hz, 3H), 1.73 (ddt, *J* = 5.9, 7.0, 26.4 Hz, 2H), 2.88 (q, *J* = 7.7 Hz, 2H), 2.88–2.93 (m, 2H), 3.28 (t, *J* = 7.0 Hz, 2H), 4.51 (dt, *J* = 5.9, 47.2 Hz, 2H), 6.86 (dd, *J* = 7.2, 8.7 Hz, 1H), 6.94 (d, *J* = 7.2 Hz, 1H), 7.47 (d, *J* = 8.7 Hz, 1H). ¹³C NMR (150 MHz, CDCl₃) δ 155.3, 138.9, 122.1, 121.5, 119.1, 115.6, 114.6, 82.2 (d, *J* = 163.7 Hz), 61.6, 50.8 (d, *J* = 5.5 Hz), 29.9 (d, *J* = 19.9 Hz), 19.9, 14.0, 10.3, 3.7. HRMS calcd for (C₁₆H₂₁BrFN₃) [M + H]⁺ 354.0976; found 354.0980.

7-プロモ-N(シクロプロピルメチル)-2-エチル-N[(テトラヒドロフラン-2-イル)メチル]ピラゾロ[1,5-a]ピリジン-3-アミン (29d)

化合物 29a の合成法に準じ、化合物 28d(180 mg, 0.56 mmol)から標記化合物 29d(206 mg, 98%)を黄色油状物として得た。¹H NMR (600 MHz, CDCl₃) δ-0.05–0.06 (m, 2H), 0.27–0.42 (m, 2H), 0.74–0.88 (m, 1H), 1.37 (t, *J* = 7.6 Hz, 3H), 1.53–1.67 (m, 1H), 1.73–1.95 (m, 3H), 2.91 (q, *J* = 7.6 Hz, 2H), 2.93–2.98 (m, 2H), 3.02–3.08 (m, 1H), 3.35–3.42 (m, 1H), 3.64–3.71 (m, 1H), 3.78–3.82 (m, 2H), 6.86 (dd, *J* = 7.2, 8.7 Hz, 1H), 6.92 (d, *J* = 7.2 Hz, 1H), 7.52 (d, *J* = 8.7 Hz, 1H). ¹³C NMR (150 MHz, CDCl₃) δ 155.1, 139.0, 122.4, 122.0, 119.0, 115.8, 114.6, 78.2, 67.9, 61.9, 59.8, 29.8, 25.5, 19.8, 14.0, 10.4, 3.8, 3.4. HRMS calcd for (C₁₈H₂₄BrN₃O) [M + H]⁺ 378.1176; found 378.1178.

7-ブロモ-*N,N*-ビス(シクロプロピルメチル)-2-エチルピラゾロ[1,5-*a*]ピリジン-3-アミン (29e)

化合物 29a の合成法に準じ、化合物 28a (150 mg, 0.51 mmol) から標記化合物 29e (166 mg, 93%) を淡黄色油状物として得た。¹H NMR (600 MHz, CDCl₃) δ -0.04–0.07 (m, 4H), 0.28–0.40 (m, 4H), 0.72–0.86 (m, 2H), 1.37 (t, *J* = 7.6 Hz, 3H), 2.92 (q, *J* = 7.7 Hz, 2H), 2.92–3.02 (m, 4H), 6.83 (dd, *J* = 7.2, 8.7 Hz, 1H), 6.91 (d, *J* = 7.2 Hz, 1H), 7.49 (d, *J* = 8.7 Hz, 1H). ¹³C NMR (150 MHz, CDCl₃) δ 155.5, 139.0, 122.6, 121.7, 119.0, 115.9, 114.4, 60.6, 19.9, 14.0, 10.5, 3.6. HRMS calcd for (C₁₇H₂₂BrN₃) [M + H]⁺ 348.1070; found 348.1070.

7-ブロモ-*N*-(シクロプロピルメチル)-2-エチル-*N*'[(テトラヒドロフラン-3-イル)メチル]ピラゾロ[1,5-*a*]ピリジン-3-アミン (29f)

化合物 29a の合成法に準じ、化合物 28a (150 mg, 0.51 mmol) から標記化合物 29f (167 mg, 87%) を淡黄色油状物として得た。¹H NMR (600 MHz, CDCl₃) δ -0.05–0.07 (m, 2H), 0.32–0.43 (m, 2H), 0.73–0.87 (m, 1H), 1.37 (t, *J* = 7.6 Hz, 3H), 1.56–1.66 (m, 1H), 1.84–1.93 (m, 1H), 2.15–2.25 (m, 1H), 2.88 (q, *J* = 7.6 Hz, 2H), 2.85–2.92 (m, 2H), 3.03–3.10 (m, 1H), 3.17–3.23 (m, 1H), 3.58–3.69 (m, 1H), 3.70–3.76 (m, 1H), 3.77–3.84 (m, 1H), 6.87 (dd, *J* = 7.2, 8.7 Hz, 1H), 6.94 (d, *J* = 7.2 Hz, 1H), 7.46 (d, *J* = 8.7 Hz, 1H). ¹³C NMR (150 MHz, CDCl₃) δ 155.2, 139.0, 122.1, 121.7, 119.1, 115.6, 114.6, 72.1, 67.7, 62.0, 58.5, 38.5, 30.3, 19.9, 14.0, 10.4, 3.7, 3.7. HRMS calcd for (C₁₈H₂₄BrN₃O) [M + H]⁺ 378.1176; found 378.1180.

7-ブロモ-2-エチル-*N,N*-ジプロピルピラゾロ[1,5-*a*]ピリジン-3-アミン (29g)

化合物 29a の合成法に準じ、化合物 28e (310 mg, 1.1 mmol) から標記化合物 29g (346 mg, 97%) を淡黄色油状物として得た。¹H NMR (600 MHz, CDCl₃) δ 0.88 (t, *J* = 7.4 Hz, 6H), 1.37 (t, *J* = 7.6 Hz, 3H), 1.38 (sxt, *J* = 7.4 Hz, 2H), 2.89 (q, *J* = 7.6 Hz, 2H), 3.01 (t, *J* = 7.4 Hz, 4H), 6.85 (dd, *J* = 7.2, 8.7 Hz, 1H), 6.94 (d, *J* = 7.2 Hz, 1H), 7.47 (d, *J* = 8.7 Hz, 1H). ¹³C NMR (150 MHz, CDCl₃) δ 155.3, 139.0, 122.1, 121.8, 119.0, 115.8, 114.5, 58.1, 22.0, 20.0, 14.1, 11.6. HRMS calcd for (C₁₅H₂₂BrN₃) [M + H]⁺ 324.1070; found 324.1076.

7-ブロモ-*N*-(シクロプロピルメチル)-2-メトキシピラゾロ[1,5-*a*]ピリジン-3-アミン (30)

化合物 28a の合成法に準じ、化合物 24 (350 mg, 1.0 mmol) から標記化合物 30 (300 mg, quant, 2 steps) を黄色油状物として得た。¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 0.12–0.21 (m, 2H), 0.44–0.53 (m, 2H), 0.98–1.08 (m, 1H), 2.82–2.91 (m, 2H), 4.12 (s, 3H), 6.78 (d, *J* = 7.2 Hz, 1H), 6.82 (dd, *J* = 7.2, 8.4 Hz, 1H), 7.30 (d, *J* = 8.4 Hz, 1H).

7-プロモ-N(シクロプロピルメチル)-2-メトキシ-N[(テトラヒドロ-2Hピラン-4-イル)メチル]ピラゾロ[1,5-a]ピリジン-3-アミン (31)

化合物29aの合成法に準じ、化合物30(300 mg, 1.0 mmol)から標記化合物31(390 mg, 99%)を黄色油状物として得た。¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 0.02–0.10 (m, 2H), 0.20–0.40 (m, 2H), 0.70–0.90 (m, 1H), 1.10–1.39 (m, 2H), 1.40–1.60 (m, 1H), 1.62–1.80 (m, 2H), 2.81 (d, *J* = 6.4 Hz, 2H), 2.95 (d, *J* = 7.2 Hz, 2H), 3.27 (dt, *J* = 2.0, 12.0 Hz, 2H), 3.80–4.00 (m, 2H), 4.11 (s, 3H), 6.80–6.95 (m, 2H), 7.33 (dd, *J* = 1.6, 8.4 Hz, 1H).

N(シクロプロピルメチル)-7-ヨード-2-(メチルチオ)ピラゾロ[1,5-a]ピリジン-3-アミン (32)

化合物28aの合成法に準じ、化合物27(600 mg, 1.5 mmol)から標記化合物32(506 mg, 94%, 2 steps)を黄色油状物として得た。¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 0.16–0.24 (m, 2H), 0.48–0.56 (m, 2H), 1.00–1.10 (m, 1H), 2.60 (s, 3H), 2.96 (d, *J* = 6.0 Hz, 2H), 3.00–3.24 (m, 1H), 6.68 (ddd, *J* = 1.2, 6.8, 8.8 Hz, 1H), 7.17 (dd, *J* = 1.2, 6.8 Hz, 1H), 7.43 (dd, *J* = 1.2, 8.8 Hz, 1H).

N(シクロプロピルメチル)-7-ヨード-2-(メチルチオ)-N[(テトラヒドロ-2Hピラン-4-イル)メチル]ピラゾロ[1,5-a]ピリジン-3-アミン (33)

化合物29aの合成法に準じ、化合物32(300 mg, 1.0 mmol)から標記化合物33(50 mg, 58%)を黄色油状物として得た。精製することなく次の反応に用いた。¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ -0.06–0.04 (m, 2H), 0.30–0.38 (m, 2H), 0.74–0.86 (m, 1H), 1.20–1.32 (m, 2H), 1.40–1.60 (m, 1H), 1.66–1.80 (m, 2H), 2.69 (s, 3H), 2.85 (d, *J* = 6.8 Hz, 2H), 3.02 (d, *J* = 7.2 Hz, 2H), 3.22–3.32 (m, 2H), 3.86–3.94 (m, 2H), 6.72 (dd, *J* = 7.2, 8.8 Hz, 1H), 7.15 (dd, *J* = 1.2, 7.2 Hz, 1H), 7.40 (dd, *J* = 1.2, 8.8 Hz, 1H). ¹³C NMR (150 MHz, CDCl₃) δ 148.3, 139.0, 123.0, 122.5, 121.8, 115.6, 92.4, 67.9, 61.1, 60.7, 34.2, 31.5, 14.3, 10.2, 3.6. HRMS calcd for (C₁₈H₂₄IN₃OS) [M + H]⁺ 458.0758; found 458.0764.

7-プロモ-N(シクロプロピルメチル)-2-メチルピラゾロ[1,5-a]ピリジン-3-アミン (34)

化合物28aの合成法に準じ、化合物20(270 mg, 0.83 mmol)から標記化合物34(200 mg, 86%, 2 steps)を黄色油状物として得た。¹H NMR (600 MHz, CDCl₃) δ 0.13–0.22 (m, 2H), 0.44–0.60 (m, 2H), 0.92–1.13 (m, 1H), 2.51 (s, 3H), 2.85–2.95 (m, 2H), 6.85 (dd, *J* = 7.0, 8.9 Hz, 1H), 6.91 (d, *J* = 7.0 Hz, 1H), 7.43 (d, *J* = 8.9 Hz, 1H). ¹³C NMR (150 MHz, CDCl₃) δ 145.4, 135.8, 121.4, 121.1, 118.2, 114.8, 114.4, 55.8, 11.9, 11.4, 3.4. HRMS calcd for (C₁₂H₁₄BrN₃) [M + H]⁺ 280.0444; found 280.0445.

7-プロモ-N(シクロプロピルメチル)-2-メチル-N[(テトラヒドロ-2Hピラン-4-イル)メチル]ピラゾロ[1,5-a]ピリジン-3-アミン (35)

化合物 29a の合成法に準じ、化合物 34 (170 mg, 0.61 mmol) から標記化合物 35 (196 mg, 85%) を黄色油状物として得た。¹H NMR (600 MHz, CDCl₃) δ 0.04–0.08 (m, 2H), 0.32–0.43 (m, 2H), 0.74–0.88 (m, 1H), 1.20–1.36 (m, 2H), 1.46–1.62 (m, 1H), 1.66–1.78 (m, 2H), 2.52 (s, 3H), 2.87 (d, *J* = 6.8 Hz, 2H), 3.03 (d, *J* = 6.8 Hz, 2H), 3.30 (dt, *J* = 2.0, 12.0 Hz, 2H), 3.89–3.99 (m, 2H), 6.88 (dd, *J* = 1.4, 6.8 Hz, 1H), 6.95 (dd, *J* = 6.8, 8.8 Hz, 1H), 7.47 (dd, *J* = 1.4, 8.8 Hz, 1H). ¹³C NMR (150 MHz, CDCl₃) δ 149.8, 139.0, 123.0, 122.2, 118.7, 115.4, 114.6, 67.9, 61.8, 61.5, 34.3, 31.5, 12.7, 10.2, 3.6. HRMS calcd for (C₁₈H₂₄BrN₃O) [M + H]⁺ 378.1176; found 378.1177.

***tert*-ブチル [2-エチル-7-(2-メトキシ-4,6-ジメチルフェニル)ピラゾロ[1,5-a]ピリジン-3-イル]カーバメート (36a)**

化合物 5h の合成法に準じ、化合物 16 (40 mg, 0.12 mmol) から標記化合物 36a (40 mg, 86%) を淡黄色固体として得た。¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 1.21 (t, *J* = 7.6 Hz, 3 H), 1.54 (br s., 6H), 1.98 (s, 3H), 2.39 (s, 3H), 2.73 (q, *J* = 7.6 Hz, 2H), 3.65 (s, 3H), 5.88 (br s., 1H), 6.56 (d, *J* = 6.6 Hz, 1H), 6.68 (s, 1H), 6.76 (s, 1H), 7.13 (dd, *J* = 8.8, 6.6 Hz, 1H), 7.37 (d, *J* = 8.8 Hz, 1H). ¹³C NMR (150 MHz, C₅D₅N) δ 157.6, 155.0, 151.7, 139.6, 138.5, 136.7, 136.6, 122.6, 122.0, 120.0, 114.8, 112.8, 109.4, 107.8, 78.3, 54.9, 27.8, 20.9, 19.6, 18.7, 13.1. HRMS calcd for (C₂₃H₃₀N₃O₃) [M + H]⁺ 396.2282; found 396.2278.

***tert*-ブチル [7-(2,6-ジメトキシ-4-メチルフェニル)-2-エチルピラゾロ[1,5-a]ピリジン-3-イル]カーバメート (36b)**

化合物 5h の合成法に準じ、化合物 16 (40 mg, 0.12 mmol) から標記化合物 36b (41 mg, 85%) を淡黄色固体として得た。¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 1.22 (t, *J* = 7.2 Hz, 3H), 1.54 (br s, 9H), 2.42 (s, 3H), 2.75 (q, *J* = 7.2 Hz, 2H), 3.68 (s, 6H), 5.88 (br s, 1H), 6.50 (s, 2H), 6.64 (d, *J* = 6.8 Hz, 1H), 7.14 (dd, *J* = 6.8, 8.8 Hz, 1H), 7.36 (d, *J* = 8.8 Hz, 1H). ¹³C NMR (150 MHz, C₅D₅N) δ 158.5, 155.0, 151.2, 140.9, 136.7, 134.5, 121.9, 114.7, 113.6, 109.2, 107.6, 105.0, 78.2, 55.1, 27.8, 21.4, 19.6, 13.1. HRMS calcd for (C₂₃H₃₀N₃O₄) [M + H]⁺ 412.2231; found 412.2232.

***tert*-ブチル [7-(2,4-ジメトキシ-6-メチルフェニル)-2-エチルピラゾロ[1,5-*a*]ピリジン-3-イル]カーバメート (36c)**

化合物 5h の合成法に準じ、化合物 16 (40 mg, 0.12 mmol) から標記化合物 36c (30 mg, 62%) を淡黄色固体として得た。¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 1.21 (t, *J* = 7.6 Hz, 3H), 1.54 (br s, 9H), 2.00 (s, 3H), 2.74 (q, *J* = 7.6 Hz, 2H), 3.65 (s, 3H), 3.85 (s, 3H), 5.88 (br s, 1H), 6.43 (d, *J* = 2.0 Hz, 1H), 6.47 (d, *J* = 2.0 Hz, 1H), 6.56 (d, *J* = 6.6 Hz, 1H), 7.12 (dd, *J* = 8.6, 6.7 Hz, 1H), 7.37 (d, *J* = 8.6 Hz, 1H). ¹³C NMR (150 MHz, C₅D₅N) δ 161.1, 158.8, 155.0, 151.6, 139.8, 136.8, 136.5, 122.0, 115.6, 114.8, 113.2, 107.8, 106.6, 96.1, 78.3, 54.9, 54.6, 27.8, 19.6, 19.1, 13.1. HRMS calcd for (C₂₃H₃₀N₃O₄) [M + H]⁺ 412.2231; found 412.2234.

***tert*-ブチル [2-エチル-7-(2,4,6-トリメトキシフェニル)ピラゾロ[1,5-*a*]ピリジン-3-イル]カーバメート (36d)**

化合物 5r の合成法に準じ、化合物 16 (2.0 g, 5.9 mmol) から標記化合物 36d (1.0 g, 41%) を淡褐色固体として得た。¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 1.22 (t, *J* = 7.6 Hz, 3H), 1.54 (br s, 9H), 2.73 (q, *J* = 7.6 Hz, 2H), 3.67 (s, 6H), 3.87 (s, 3H), 5.83–5.89 (m, 1H), 6.22 (s, 2H), 6.58–6.63 (m, 1H), 7.10 (dd, *J* = 7.2, 8.8 Hz, 1H), 7.33 (dd, *J* = 1.2, 8.8 Hz, 1H).

***tert*-ブチル {7-[2,6-ジメトキシ-4-(メトキシメチル)フェニル]-2-エチルピラゾロ[1,5-*a*]ピリジン-3-イル}カーバメート (36e)**

化合物 5r の合成法に準じ、化合物 16 (200 mg, 0.59 mmol) から標記化合物 36e (140 mg, 54%) を淡黄色固体として得た。¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 1.21 (t, *J* = 7.6 Hz, 3H), 1.54 (br s, 9H), 2.72 (q, *J* = 7.6 Hz, 2H), 3.47 (s, 3H), 3.69 (s, 6H), 4.51 (s, 2H), 5.82–5.90 (m, 1H), 6.58–6.65 (m, 1H), 6.65 (s, 2H), 7.08–7.14 (m, 1H), 7.32–7.38 (m, 1H). ¹³C NMR (150 MHz, C₅D₅N) δ 158.7, 155.0, 151.3, 142.0, 136.7, 134.3, 121.9, 114.8, 113.5, 110.9, 107.7, 103.0, 78.2, 74.0, 57.5, 55.2, 27.8, 19.6, 13.1. HRMS calcd for (C₂₄H₃₂N₃O₅) [M + H]⁺ 442.2336; found 442.2332.

***tert*-ブチル [7-(2,6-ジメトキシ-4-メチルフェニル)-2-メトキシピラゾロ[1,5-*a*]ピリジン-3-イル]カーバメート (38)**

化合物 5r の合成法に準じ、化合物 24 (214 mg, 0.63 mmol) から標記化合物 38 (233 mg, 90%) を黄色固体として得た。¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 1.53 (br s, 9H), 2.44 (s, 3H), 3.68 (s, 6H), 3.89 (s, 3H), 5.83 (br s, 1H), 6.48 (s, 2H), 6.54 (d, *J* = 6.8 Hz, 1H), 7.11 (dd, *J* = 6.8, 8.8 Hz, 1H), 7.27 (d, *J* = 8.8 Hz, 1H).

***tert*-ブチル [7-(2,6-ジメトキシ-4-メチルフェニル)-2-(メチルチオ)ピラゾロ[1,5-*a*]ピリジン-3-イル]カーバメート (40a)**

化合物 5r の合成法に準じ、化合物 27 (2.0 g, 4.9 mmol) から標記化合物 40a (2.1 g, 99%) を淡褐色固体として得た。¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 1.54 (br s, 9H), 2.426 (s, 3H), 2.438 (s, 3H), 3.67 (s, 6H), 6.07 (br s, 1H), 6.48 (s, 2H), 6.65 (d, *J* = 6.8 Hz, 1H), 7.14 (dd, *J* = 6.8, 8.8 Hz, 1H), 7.44 (d, *J* = 8.8 Hz, 1H).

***tert*-ブチル {7-[2,6-ジメトキシ-4-(メトキシメチル)フェニル]-2-(メチルチオ)ピラゾロ[1,5-*a*]ピリジン-3-イル}カーバメート (40b)**

化合物 5r の合成法に準じ、化合物 27 (1.0 g, 2.5 mmol) から標記化合物 40b (0.40 g, 35%) を淡緑色固体として得た。¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 1.54 (s, 9H), 2.42 (s, 3H), 3.48 (s, 3H), 3.69 (s, 6H), 4.52 (s, 2H), 6.64 (s, 2H), 6.65 (d, *J* = 6.8 Hz, 1H), 7.14 (dd, *J* = 6.8, 8.8 Hz, 1H), 7.45 (d, *J* = 8.8 Hz, 1H). ¹³C NMR (150 MHz, CDCl₃) δ 158.8, 154.2, 144.0, 141.7, 136.8, 134.0, 123.0, 115.2, 114.3, 110.6, 108.6, 103.2, 80.4, 74.9, 58.4, 55.9, 28.3, 16.2. HRMS calcd for (C₂₃H₃₀N₃O₅S) [M + H]⁺ 460.1901; found 460.1902.

7-[2,6-ジメトキシ-4-(メトキシメチル)フェニル]-2-(メチルチオ)-*N*[(テトラヒドロ-2*H*ピラン-4-イル)メチル]ピラゾロ[1,5-*a*]ピリジン-3-アミン (41a)

化合物 40b (395 mg, 0.86 mmol) の *N,N*-ジメチルホルムアミド (20 mL) 溶液に、室温で水素化ナトリウム (60%, 52 mg, 1.29 mmol) (テトラヒドロ-2*H*ピラン-4-イル)メチルメタンサルホネート (200 mg, 1.03 mmol) を順次加え、50 °C で 3 時間攪拌した。反応液を放冷し水を加え、酢酸エチルで抽出した。有機層を飽和食塩水で洗浄した後、無水硫酸マグネシウムで乾燥し、溶媒を減圧下留去した。残渣を少量のシリカゲルでろ過 (*n*-ヘプタン : 酢酸エチル = 3 : 1) し、*tert*-ブチル {7-[2,6-ジメトキシ-4-(メトキシメチル)フェニル]-2-(メチルチオ)ピラゾロ[1,5-*a*]ピリジン-3-イル}[(テトラヒドロ-2*H*ピラン-4-イル)メチル]カーバメートの粗生成物を得た。

得られた粗生成物を、室温で過剰量の 4M 塩化水素/酢酸エチル溶液に溶解し、1 時間攪拌した。反応液を減圧下濃縮し、飽和炭酸水素ナトリウム水溶液を加えたのち酢酸エチルで抽出した。有機層を飽和食塩水で洗浄後、無水硫酸マグネシウムで乾燥し、溶媒を減圧下留去し、標記化合物 41 (410 mg, quant., 2 steps) を黄色油状物として得た。このものは精製することなく次の反応に用いた。¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 1.31–1.46 (m, 2H), 1.63–1.72 (m, 1H), 1.72–1.85 (m, 2H), 2.39 (s, 3H), 3.34–3.45 (m, 2H), 3.47 (s, 3H), 3.70 (s, 6H), 3.95–4.04 (m,

2H), 4.51 (s, 2H), 6.58 (d, $J=6.8$ Hz, 1H), 6.64 (s, 2H), 7.01 (dd, $J=6.8, 9.2$ Hz, 1H), 7.37 (d, $J=9.2$ Hz, 1H).

7-(2-クロロ-4-メトキシフェニル)-2-エチル-3-ニトロピラゾロ[1,5-*a*]ピリジン (42a)

化合物 5r の合成法に準じ、化合物 15 (94 mg, 0.35 mmol) から標記化合物 42a (115 mg, quant.) を黄色固体として得た。¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 1.30 (t, $J=7.6$ Hz, 3H), 3.15 (q, $J=7.6$ Hz, 2H), 3.90 (s, 3H), 6.96 (dd, $J=2.4, 8.4$ Hz, 1H), 7.07 (dd, $J=1.6, 7.2$ Hz, 1H), 7.10 (d, $J=2.4$ Hz, 1H), 7.40 (d, $J=8.4$ Hz, 1H), 7.68 (dd, $J=7.2, 8.8$ Hz, 1H), 8.40 (dd, $J=1.6, 8.8$ Hz, 1H).

2-エチル-7-(2-メトキシ-4-メチルフェニル)-3-ニトロピラゾロ[1,5-*a*]ピリジン (42b)

化合物 42a の合成法に準じ、化合物 15 (80 mg, 0.30 mmol) から標記化合物 42b (70 mg, 73%) を淡黄色固体として得た。¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 1.30 (t, $J=7.6$ Hz, 3H), 2.47 (s, 3H), 3.15 (q, $J=7.6$ Hz, 2H), 3.76 (s, 3H), 6.88 (s, 1H), 6.93 (d, $J=7.6$ Hz, 1H), 7.08 (d, $J=7.2$ Hz, 1H), 7.33 (d, $J=7.6$ Hz, 1H), 7.66 (dd, $J=7.6, 8.8$ Hz, 1H), 8.36 (d, $J=8.8$ Hz, 1H).

2-(メチルスルホニル)-3-ニトロピラゾロ[1,5-*a*]ピリジン (43)

酸化アルミニウム (57.2 g, 561 mmol) と水 (11.4 mL) の混合物を均一になるまで攪拌したのち、室温で、化合物 25 (14.3 g, 68.4 mmol) のクロロホルム (343 mL) 溶液およびペルオキソ-硫酸カリウム (126 g, 205 mmol) を順次加え、80 °C で 8 時間攪拌した。反応液を冷却し、セライトろ過により不溶物を除去した。ろ液を減圧下濃縮し、化合物 43 (13.7 g, 83%) の粗生成物を黄色固体として得た。このものは精製することなく次の反応に用いた。¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 4.21 (s, 3H), 7.08 (dd, $J=6.8, 8.4$ Hz, 1H), 7.63 (dd, $J=8.4, 8.8$ Hz, 1H), 8.27 (d, $J=8.8$ Hz, 1H), 8.34 (d, $J=6.8$ Hz, 1H).

3-ニトロピラゾロ[1,5-*a*]ピリジン-2-カルボニトリル (44)

化合物 43 (2.1 g, 8.6 mmol) をテトラヒドロフラン (16 mL) および *N,N*-ジメチルホルムアミド (3 mL) に溶解し、室温でシアン化ナトリウム (508 mg, 10.4 mmol) を加えたのち、80 °C で 6 時間攪拌した。反応液を冷却し、セライトろ過により不溶物を除去した。ろ液を減圧下濃縮し水を加えた。析出した固体をろ取り、水で洗浄することにより化合物 44 (1.1 g, 69%) の粗生成物を茶色固体として得た。¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 7.34 (dd, $J=6.8, 6.8$ Hz, 1H), 7.81 (dd, $J=6.8, 9.2$ Hz, 1H), 8.43 (d, $J=9.2$ Hz, 1H), 8.61 (d, $J=6.8$ Hz, 1H).

3-[(シクロプロピルメチル)][(テトラヒドロ-2*H*-ピラン-4-イル)メチル]アミノ]ピラゾロ[1,5-*a*]ピリジン-2-カルボニトリル (45)

化合物 44 (1.1 g, 6.0 mmol) の酢酸エチル (30 mL) 溶液に、10%パラジウム - 炭素 (0.98 g, 50% 含水) を加え、水素雰囲気下、常圧、室温で 2 時間攪拌した。反応液をセライトろ過したのち、ろ液を減圧下濃縮することにより、還元体 (843 mg, 89%) の粗生成物を黄色固体として得た。

得られた粗生成物 (527 mg, 3.3 mmol) をテトラヒドロフラン (11 mL) に溶解し、シクロプロパンカルボアルデヒド (249 μ L, 3.3 mmol) およびテトライソプロポキシチタン (IV) (1.2 mL, 4.0 mmol) を順次加え、室温で 7 時間攪拌した。氷冷下、反応液に、メタノール (11 mL) および水素化ほう素ナトリウム (126 mg, 3.3 mmol) を順次加え、さらに室温で 3 時間攪拌したのち、水と少量の濃アンモニア水を加えた。セライトろ過により不溶物を除去したのち、ろ液を酢酸エチルで抽出した。有機層を飽和食塩水で洗浄後、無水硫酸マグネシウムで乾燥し、溶媒を減圧下留去した。残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (*n*-ヘキサン : 酢酸エチル = 1 : 1) に供し、不純物を含む 2 級アミンを得た。

得られたアミンをメタノール (7 mL) および酢酸 (0.7 mL) に溶解し、室温でテトラヒドロ-2*H*-ピラン-4-カルボアルデヒド (317 mg, 2.8 mmol) および α -ピコリンボラン (223 mg, 2.1 mmol) を順次加え、16 時間攪拌した。反応液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。有機層を飽和食塩水で洗浄後、無水硫酸マグネシウムで乾燥し、溶媒を減圧下留去した。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 : 酢酸エチル = 1 : 1) に供し、標記化合物 45 (378 mg, 37%, 2 steps) を黄色油状物として得た。¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ -0.03-0.05 (m, 2H), 0.38-0.47 (m, 2H), 0.83-0.95 (m, 1H), 1.22-1.37 (m, 2H), 1.56-1.70 (m, 1H), 1.71-1.81 (m, 2H), 2.96-3.02 (m, 2H), 3.18-3.24 (m, 2H), 3.26-3.35 (m, 2H), 3.90-3.98 (m, 2H), 6.92 (dd, *J* = 6.8, 7.2 Hz, 1H), 7.15 (dd, *J* = 6.8, 9.2 Hz, 1H), 7.58 (d, *J* = 9.2 Hz, 1H), 8.35 (d, *J* = 7.2 Hz, 1H).

3-[(シクロプロピルメチル)][(テトラヒドロ-2*H*-ピラン-4-イル)メチル]アミノ]-7-ヨードピラゾロ[1,5-*a*]ピリジン-2-カルボニトリル (46)

化合物 45 (222 mg, 0.72 mmol) のテトラヒドロフラン (4 mL) 溶液に、窒素雰囲気下、-90 °C で、*n*-ブチルリチウム (1.59 M *n*-ヘキサン溶液; 0.54 mL, 0.86 mmol) を滴下し、同温で 30 分間攪拌した。-78 °C で、1,2-ジヨードエタン (263 g, 0.93 mmol) のテトラヒドロフラン (4 mL) 溶液を滴下したのち、2 時間かけて -40 °C まで昇温させた。反応液に飽和塩化アンモニウム水溶液を注意深く加え、室温まで昇温させたのち、酢酸エチルで抽出した。有機層を飽和食塩水で洗浄後、無水硫酸マグネシウムで乾燥し、溶媒を減圧下留去した。残渣をシリカゲル

カラムクロマトグラフィー(*n*-ヘプタン:酢酸エチル = 2:1)に供し、標記化合物 **46**(198 mg, 63%) を黄色油状物として得た。¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ-0.03-0.06 (m, 2H), 0.38-0.48 (m, 2H), 0.82-0.96 (m, 1H), 1.22-1.37 (m, 2H), 1.55-1.80 (m, 3H), 2.97-3.04 (m, 2H), 3.19-3.36 (m, 4H), 3.89-3.99 (m, 2H), 6.91 (dd, *J*= 7.0, 8.8 Hz, 1H), 7.52 (d, *J*= 7.0 Hz, 1H), 7.62 (d, *J*= 8.8 Hz, 1H).

第 2 節 各種薬理データに関する実験

CRF₁ 受容体阻害実験

実験には、Chen らの方法⁵ に従い調製したヒト CRF₁ 受容体を発現させた HEK293 細胞の膜画分を用いた。96 穴プレートを用い、シンチレーション近接アッセイ法 (SPA 法, Amersham Pharmacia, UK) により行った。WGA (コムギ胚芽凝集素) でコーティングした SPA ビーズ (1 mg/well) HEK293 細胞膜画分 (5 µg/well) および 0.1 nM [¹²⁵I] human/rat CRF を、被験化合物存在下 150 µL の緩衝液 (137 mM NaCl, 8.1 mM Na₂HPO₄, 2.7 mM KCl, 1.5 mM KH₂PO₄, 10 mM MgCl₂, 2 mM EGTA, 1.5% ウシ血清アルブミン (BSA), pH 7.0) に懸濁し、室温で 2 時間以上インキュベートした。遠心 (260 xg, 5 分間, 室温) 後、各 well の放射活性を TopCount で 1 well あたり 1 分の計数時間で測定した。それぞれの値から 0.2 µM の非ラベル化 sauvagine を加えた場合の非特異的結合の放射活性を差し引き、非ラベル化 sauvagine を加えていない全結合量の放射活性に対する各値の割合を % で表した。IC₅₀ 値は、被験化合物の濃度を横軸に、全結合量の放射活性に対する各値の割合 (%) を縦軸にした結合阻害曲線より算出した。

化合物 E2508 および 1 (R121919) については、Okuyama らの方法³⁸ を一部改変したフィルター法でも実験を行った。HEK293 細胞膜画分 (5 µg/well) および 0.1 nM [¹²⁵I] human/rat CRF を、被験化合物存在下 150 µL の緩衝液 (0.2% BSA, 50 mM Tris-HCl, 10 mM MgCl₂, 2 mM EGTA, プロテアーゼ阻害剤カクテル, pH 7.1) に懸濁し、室温で 2 時間以上インキュベートした。反応液をグラスファイバーフィルター (Whatman, GF/C, 1% BSA/PBS (-) に予浸) を用いて吸引濾過し、5 mL の PBS (-) で洗浄し、フィルター上の放射能をガンマカウンター (ARC-1000 M, Aloka) で測定した。非特異的結合量は 0.4 µM の非ラベル化 sauvagine を用いて測定し、全結合量と非特異的結合の差を特異的結合量として、上記と同様に IC₅₀ 値を計算した。K_i 値は、チェン - プルソフ (Cheng-Prusoff) 式 $K_i = IC_{50} / (1 + L/K_d)$ (式中、L = [¹²⁵I] CRF 濃度、K_d = 放射性リガンドの解離定数) に従い算出した。

cAMP 産生抑制実験

Chen らの方法⁵ に従いクローン化したヒト CRF₁ 受容体を高発現した HEK293 細胞を用い、CRF により誘発される細胞内 cAMP 産生に対する被験化合物の産生抑制活性の評価を行った。

cAMP 産生は、酵素免疫測定キット (EIA 法, Amersham Pharmacia, UK) あるいは cAMP キット (HTRF 法, CIS bio international, France) を用い測定した。1 mM の 3-イソブチル-1-メチルキサンチン (ホスフォジエステラーゼ阻害剤) 存在下、0.1 % のウシ胎仔血清含有

Dulbecco 変法イーグル (D-MEM) 培地に調製した HEK293 細胞 (50000 cells/well) を 96 穴プレートに分注した。30 分間プレインキュベーションした後、被験化合物の溶液を加え、さらに 37 °C で 30 分間インキュベートした。1 nM human/rat CRF を加え 37 °C にて 30 分間インキュベートした後、遠心分離 (630 xg, 5 分間, 4 °C) した。培地を吸引除去した後、細胞を Lysis buffer で溶解し、キットの測定マニュアルに従い細胞内 cAMP を測定した。それぞれの cAMP 産生量の値から CRF 未添加時の cAMP 産生量を差し引いた値を CRF 刺激時の cAMP 産生量に対する割合 (%) で表し、濃度反応曲線から IC₅₀ 値を算出した。

CRF 誘発血中 ACTH 産生抑制試験

試験には、雄性 Fischer 344 ラット (n = 5 / 群, 非絶食, 日本チャールズリバー) を用いた。CRF (10 µg/kg) あるいはそれと同量の水 (2 mL/kg) を皮下注射する一時間前に被験化合物を経口投与した。CRF 非投与 (non-CRF) および CRF 投与対照群には、同量の投与媒体 (0.5% メチルセルロース, 5 mL/kg) のみを経口投与した。CRF 投与の 30 分後に断頭し 2 mL 以上の血液サンプルと 100 mg/mL EDTA 2Na 溶液 (100 µL) に混合し攪拌し氷冷した。遠心分離 (1,000 xg, 4 °C, 5 分間) により血漿サンプルを 200 µL ずつ得た。血漿中 ACTH 濃度は、ACTH IRMA キット (免疫放射定量測定法, 三菱化学メディエンス) を用いて決定した。 [¹²⁵I]ACTH 抗体 (100 µL) を血漿サンプルあるいは標準 ACTH 溶液 (200 µL) に加え、攪拌後、抗体固相化ビーズ 1 個を加えた。20 時間後、吸引ろ過しビーズを水 (3 mL) で 2 回洗浄、その放射活性をガンマカウンター (ARC-1000M, ALOKA) を用いて測定した。ACTH 濃度は、標準 ACTH 溶液を用いて検量線を作成し算出した。

マウス明暗箱試験

実験には、雄性 BALB/c マウス (n = 24 / 群, 非絶食, 日本チャールズリバー) を用い、Belzung らの方法⁴²を改変して行った。

装置は、フタ付き黒色アクリル箱 (暗箱; 10 × 15 × 20 cm) および上面開放白色アクリル箱 (明箱; 20 × 15 × 20 cm) が黒色アクリルのトンネル (7 × 10 × 4.5 cm) で連結され、照明は明箱床面の照度が 150 lux になるように設定した。投与媒体 (0.5%メチルセルロース, 10 mL/kg) もしくは被験化合物は、試験開始の一時間前に経口投与した。実験は、マウスを暗箱に入れることで開始し、その後 5 分間のマウスの行動をビデオカメラにて録画して観察した。マウスの抗不安様作用は、明箱での滞在時間を指標とした。

ラット防御性覆い隠し試験 (Defensive burying test)

実験には、雄性 Fischer 344 ラット (n = 8 / 群、日本チャールズリバー) を用い、Treit らの方法⁴³を改変して行った。

装置は、電気ショックプローブを取り付けた上部開放の黒色アクリル箱 (40 × 30 × 40 cm で、約 5 cm のウッドチップの床敷きを均一に敷いたもの) を用いた。

ラットは、試験前の 3 日間、電極を装着していない試験箱で馴化させた。投与媒体 (0.5% メチルセルロース, 5 mL/kg) もしくは被験化合物は、試験開始の一時間前に経口投与した。ラットは、試験箱内で電気ショックプローブと反対を向いて置かれ、最初の電気ショックを受けてから 15 分間の行動をビデオカメラにて撮影した。覆い隠し行動を起こすまでの時間 (latency) および 15 分間における覆い隠し行動時間 (burying time) を測定し、抗不安様作用の指標とした。

強制水泳試験

実験には、雄性 SD (Sprague-Dawley) ラット (n = 8 / 群、非絶食、日本チャールズリバー) を用いた。アクリル製シリンダー容器 (直径 18 cm x 高さ 45 cm) に深さ 25 cm まで水を入れ、水温を 24 °C に保った。

【連投】ラットを一匹ずつ容器に入れ、15 分間泳がせた (プレテスト)。プレテスト終了後、シリンダー容器からラットを取り出し、ペーパータオルでラットに付着した水を拭き取り飼育ケージに戻し白熱灯にて温め、強制水泳終了の約 15 分後に被験化合物あるいは投与媒体 (0.5%メチルセルロース, 5 mL/kg) を経口投与した。プレテストの翌日からさらに投与を 7 日間、一日一回ずつ繰り返した。最終投与の 1 時間後に水を入れたシリンダー容器にラットを入れ 5 分間の強制水泳試験を実施し、ラットの行動をビデオカメラで撮影し無動時間を測定した。水の中で頭部だけを水面から出して動かない時間を無動時間とし、抗うつ様作用の指標とした。

【単回】連投試験と同様の操作を行うが、7 日目までは全てのラットに投与媒体のみを経口投与 (各 5 mL/kg) し、8 日目に被験化合物あるいは投与媒体を経口投与した (各 5 mL/kg)。投与の 1 時間後に水を入れたシリンダー容器にラットを入れ 5 分間の強制水泳試験を実施し、ラットの行動をビデオカメラで撮影した。

第3節 薬物動態および溶解性に関する実験

ヒト肝ミクロゾーム分画を用いた代謝試験

ヒト肝代謝固有クリアランスは酵素反応溶液中の被験物質の消失より求めた。

実験は、最終濃度 0.1 mg/mL のヒト肝ミクロゾーム (n = 150, BD, USA) 100 mmol/L リン酸バッファー (pH 7.4) 0.1 mmol/L EDTA および被験化合物 (最終濃度 0.3 μmol/L, 0.03% ジメチルスルホキシド) を含む溶液に NADPH 生成系を添加して行った。なお、NADPH 生成系は β-NADP⁺ (3.3 mmol/L) G6P (80 mmol/L) MgCl₂ (60 mmol/L) および G6PDH (1 unit/mL) を混合して調製した。NADPH 生成系添加後、37 °C で 0 分または 15 分間インキュベーションしたのち、内部標準を含むアセトニトリル/メタノール混合溶媒を加え反応を停止した。遠心分離後得られた上澄みを LC/MS/MS により分析した。

マウス PK 試験

雄性 CD1 (ICR) マウス (n = 4, 絶食下、日本チャールズリバー) を用い、静脈内注射 (3 mg/kg, 10 mL/kg) および経口投与 (10 mg/kg, 10 mL/kg) による PK 試験を行った。投与媒体として、静脈内注射にはジメチルスルホキシド : 5% グルコース / 5M 塩酸 (体積比 v/v = 1/250) = 1 : 19、経口投与にはジメチルスルホキシド : 5% グルコース / 5M 塩酸 (体積比 v/v = 1/250) = 1 : 9 を用いた。静脈内注射では、投与後 5 分および 0.25, 0.5, 1, 2, 4, 6, 8 時間後に、経口投与では、投与後 0.25, 0.5, 1, 2, 4, 6, 8 時間後に大静脈から採血を行った。遠心分離を行うことにより血漿試料を得、分析まで凍結保存した。化合物の血漿中濃度の測定は、HPLC 蛍光検出法により行った。血漿試料 (50 μL) 内部標準溶液 (50 μL) および 0.1 mol/L リン酸バッファー (500 μL, pH 7.4) の混合液に、イソプロパノール / n-ヘキサン (2 mL, 3:97 v/v) を加え 10 分間攪拌したのち遠心分離した。有機層を新しいチューブに移し、0.2 mol/L 塩酸 (500 μL) を加え、さらに 10 分間攪拌したのち遠心分離した。得られた水層 (50 μL) を逆相クロマトグラフィーに供した。カラムは、Mightysil RP-8 GP (4.6 mm i.d. × 150 mm, 関東化学) を用い、移動相は A : 水 / アセトニトリル / 60% HClO₄ / NaClO₄ (800:200:1:5, v/v/v/w) B : 水 / アセトニトリル / 60% HClO₄ / NaClO₄ (200:800:1:5, v/v/v/w) とし、流速 : 1 mL/min、グラジエントを [B%, 40% (0-9 min), 40-80% (9-9.1 min), 80% (9.1-12 min), 80-40% (12-12.1 min), 40% (12.1-15 min)] の条件で溶出させた。被験化合物と内部標準は蛍光検出器 (励起波長 : 305 nm, 蛍光波長 : 410 nm) によりモニターした。

溶解性測定

96 穴フィルタープレートに Dulbecco's リン酸緩衝生理食塩水 250 μL を分注し、被験化合物の 10 mM ジメチルスルホキシド溶液 2.5 μL を加えた。このフィルタープレートを室温で 15 分間旋回振とうして平衡化させた後、吸引ろ過によりろ液を別の 96 穴マイクロプレートに回収し試料溶液とした。

別に、96 穴マイクロプレートにジメチルスルホキシド (250 μL) を分注し、被験化合物の 10 mM ジメチルスルホキシド溶液 (2.5 μL) を加えて標準溶液とした。

試料溶液および標準溶液を HPLC にて分析し、得られたピーク面積から溶解性を求めた。

第 2 章 新規ピラゾロ[5,1-*b*]チアゾール誘導体の探索研究に関する実験

第 1 節 合成中間体およびピラゾロ[5,1-*b*]チアゾール誘導体の合成

N-(シクロプロピルメチル)-3-[2,6-ジメトキシ-4-(メトキシメチル)フェニル]-6-メチル-*N*-(テトラヒドロ-2*H*-ピラン-4-イル)メチル]ピラゾロ[5,1-*b*][1,3]チアゾール-7-アミン (47)

化合物 48a の合成法に準じ、化合物 61 (2.4 g, 5.5 mmol) から標記化合物 47 (1.5 g, 57%, 3 steps) を白色固体として得た。¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 0.01–0.05 (m, 2H), 0.38–0.44 (m, 2H), 0.81–0.92 (m, 1H), 1.22–1.34 (m, 2H), 1.49–1.61 (m, 1H), 1.71–1.78 (m, 2H), 2.28 (s, 3H), 2.74 (d, *J* = 6.8 Hz, 2H), 2.88 (d, *J* = 7.2 Hz, 2H), 3.36 (br dd, *J* = 10.4, 11.6 Hz, 2H), 3.45 (s, 3H), 3.76 (s, 6H), 3.93 (br dd, *J* = 2.8, 11.2 Hz, 2H), 6.52 (s, 1H), 6.64 (s, 2H). ¹³C NMR (150 MHz, CDCl₃) δ 159.5, 150.0, 142.4, 131.9, 128.3, 123.4, 108.8, 105.6, 103.3, 74.7, 67.9, 61.9, 60.8, 58.4, 56.1, 33.8, 31.5, 12.4, 9.7, 3.6. HRMS calcd for (C₂₆H₃₆N₃O₄S) [M + H]⁺ 486.2421; found 486.2422.

N-(シクロプロピルメチル)-3-[2,6-ジメトキシ-4-(メトキシメチル)フェニル]-6-メトキシ-*N*[(テトラヒドロ-2*H*-ピラン-4-イル)メチル]ピラゾロ[5,1-*b*][1,3]チアゾール-7-アミン (48a)

化合物 58a (100 mg, 0.22 mmol) の *N, N*-ジメチルホルムアミド (2.5 mL) 溶液に、水バスで冷却しながら水素化ナトリウム (60%, 12 mg, 0.30 mmol) を加え 10 分間攪拌した。(ブロモメチル)シクロプロパン (26 μL, 0.27 mmol) を加え室温で 1 時間攪拌したのち、氷冷下、水を加え酢酸エチルで抽出した。有機層を飽和食塩水で洗浄後、無水硫酸マグネシウムで乾燥し、溶媒を減圧下留去した。得られた粗生成物は精製することなく次の反応に用いた。

得られた粗生成物を、室温で塩化メチレン (3 mL) およびトリフルオロ酢酸 (1 mL) に溶解し、室温で 1 時間攪拌した。反応液を減圧下濃縮しそのまま次の反応に用いた。

得られた粗生成物をテトラヒドロフラン (2 mL) に溶解し、テトラヒドロ-2*H*-ピラン-4-カルボアルデヒド (51 mg, 0.45 mmol) および水素化トリアセトキシほう素ナトリウム (94 mg, 0.45 mmol) を順次加え、室温で 1 時間攪拌した。飽和炭酸水素ナトリウム水溶液を加えたのち酢酸エチルで抽出した。有機層を飽和食塩水で洗浄後、無水硫酸マグネシウムで乾燥し、溶媒を減圧下留去した。残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (*n*-ヘプタン : 酢酸エチル = 3 : 2) に供し、標記化合物 48a (90 mg, 81%, 3 steps) を白色固体として得た。¹H NMR (600 MHz, CDCl₃) δ 0.33–0.48 (m, 2H), 0.85–0.98 (m, 1H), 1.22–1.38 (m, 2H), 1.55–1.69 (m, 1H), 1.72–1.83 (m, 2H), 2.78–2.85 (m, 2H), 2.87–2.94 (m, 2H), 3.30–3.39 (m, 2H), 3.48 (s, 3H), 3.80 (s, 6H), 3.88 (s, 3H), 3.91–3.98 (m, 2H), 4.52 (s, 2H), 6.42 (s, 1H), 6.66 (s, 2H). ¹³C NMR

(150 MHz, CDCl₃) δ 161.7, 159.4, 142.0, 133.4, 128.2, 110.3, 105.9, 105.7, 103.4, 74.8, 68.0, 61.4, 60.5, 58.5, 56.3, 56.1, 33.9, 31.5, 9.6, 3.4. HRMS calcd for (C₂₆H₃₅N₃O₅S) [M + H]⁺ 502.2370; found 502.2379.

4-[(シクロプロピルメチル){3-[2,6-ジメトキシ-4-(メトキシメチル)フェニル]-6-メトキシピラゾロ[5,1-*b*][1,3]チアゾール-7-イル}アミノ]メチル}テトラヒドロ-2*H*-ピラン-4-オール (48b)

化合物 58a (100 mg, 0.22 mmol) の *N,N*-ジメチルホルムアミド (6 mL) 溶液に、室温で水素化ナトリウム (60%, 11.6 mg, 0.29 mmol) を加え 30 分間攪拌した。(プロモメチル)シクロプロパン (28 μ L, 0.29 mmol) を加え室温で 1 時間攪拌したのち、氷冷下、水を加え酢酸エチルで抽出した。有機層を飽和食塩水で洗浄後、無水硫酸マグネシウムで乾燥し、溶媒を減圧下留去した。得られた粗生成物は精製することなく次の反応に用いた。

得られた粗生成物を、室温で塩化メチレン (5 mL) およびトリフルオロ酢酸 (1 mL) に溶解し、室温で一晩攪拌した。反応液を減圧下濃縮しそのまま次の反応に用いた。

得られた粗生成物をメタノール (8 mL) および酢酸 (1 mL) に溶解し、4-ヒドロキシテトラヒドロ-2*H*-ピラン-4-カルボアルデヒド (289 mg, 2.2 mmol) および α -ピコリンボラン (238 mg, 2.2 mmol) を順次加え、室温で 14 時間攪拌した。5 M 水酸化ナトリウム水溶液をアルカリ性になるまで加えたのち酢酸エチルで抽出した。有機層を飽和食塩水で洗浄後、無水硫酸マグネシウムで乾燥し、溶媒を減圧下留去した。残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (*n*-ヘプタン : 酢酸エチル = 1 : 2) に供し、標記化合物 48b (70 mg, 61%, 3 steps) を白色固体として得た。¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 0.02–0.10 (m, 2H), 0.38–0.48 (m, 1H), 0.84–0.98 (m, 1H), 1.38–1.62 (m, 4H), 2.84 (d, *J* = 6.8 Hz, 2H), 3.02 (s, 2H), 3.47 (s, 3H), 3.77 (s, 6H), 3.64–3.83 (m, 4H), 3.88 (s, 3H), 4.50 (s, 2H), 6.44 (s, 1H), 6.64 (s, 2H). HRMS calcd for (C₂₆H₃₆N₃O₆S) [M + H]⁺ 518.2319; found 518.2314.

***N*-(シクロプロピルメチル)-3-[2,6-ジメトキシ-4-(メトキシメチル)フェニル]-*N'*[(4-フルオロテトラヒドロ-2*H*-ピラン-4-イル)メチル]-6-メトキシピラゾロ[5,1-*b*][1,3]チアゾール-7-アミン (48c)**

化合物 48b (65 mg, 0.12 mmol) の塩化メチレン (4 mL) 溶液に、氷冷下、三フッ化 *N,N*-ジエチルアミノ硫黄 (25 μ L, 0.19 mmol) を加え 5 分間攪拌した。飽和炭酸水素ナトリウム水溶液を加えたのち酢酸エチルで抽出した。有機層を飽和食塩水で洗浄後、無水硫酸マグネシウムで乾燥し、溶媒を減圧下留去した。残渣を HPLC で精製し、標記化合物 48c (8.9 mg, 14%) を無色油状物として得た。¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 0.01–0.10 (m, 2H), 0.36–0.44 (m, 2H), 0.83–0.98 (m, 1H), 2.16–2.25 (m, 2H), 2.80 (d, *J* = 6.8 Hz, 2H), 3.47 (s, 3H), 3.59 (s, 2H),

3.74 (t, $J = 5.6$ Hz, 2H), 3.77 (s, 6H), 3.87 (s, 3H), 4.04–4.10 (m, 2H), 4.50 (s, 2H), 5.58–5.64 (m, 1H), 6.40 (s, 1H), 6.64 (s, 2H). ^{13}C NMR (150 MHz, CDCl_3) δ 161.3, 159.5, 142.0, 134.2, 128.3, 111.6, 105.9, 105.6, 103.4, 94.6 (d, $J = 172.8$ Hz), 74.8, 63.7 (d, $J = 1.3$ Hz), 62.5 (d, $J = 23.0$ Hz), 61.9, 58.5, 56.2, 56.1, 33.6 (d, $J = 21.3$ Hz), 10.1, 3.4. HRMS calcd for ($\text{C}_{26}\text{H}_{35}\text{FN}_3\text{O}_5\text{S}$) $[\text{M} + \text{H}]^+$ 520.2276; found 520.2272.

N(シクロプロピルメチル)-3-[2,6-ジメトキシ-4-(メトキシメチル)フェニル]-6-メトキシ-*N*[(テトラヒドロ-2*H*-ピラン-3-イル)メチル]ピラゾロ[5,1-*b*][1,3]チアゾール-7-アミン (48d)

化合物 48b の合成法に準じ、化合物 58a (100 mg, 0.22 mmol) から標記化合物 48d (7.5 mg, 7%, 3 steps) を白色固体として得た。 ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 0.00–0.06 (m, 2H), 0.35–0.45 (m, 2H), 0.83–0.95 (m, 1H), 1.48–1.68 (m, 2H), 1.68–1.81 (m, 2H), 1.81–1.92 (m, 1H), 2.76 (dd, $J = 6.4, 13.6$ Hz, 1H), 2.81 (m, 2H), 2.93 (dd, $J = 6.4, 12.4$ Hz, 1H), 3.17 (dd, $J = 9.6, 11.6$ Hz, 1H), 3.35–3.43 (m, 1H), 3.47 (s, 3H), 3.79 (s, 6H), 3.80–3.86 (m, 1H), 3.86 (s, 3H), 4.01–4.07 (m, 1H), 4.50 (s, 2H), 6.39 (s, 1H), 6.64 (s, 2H). ^{13}C NMR (150 MHz, CDCl_3) δ 161.7, 159.5, 142.0, 133.5, 128.2, 110.0, 105.9, 105.8, 103.4, 74.8, 72.5, 68.7, 61.3, 58.5, 56.7, 56.4, 56.1, 34.8, 28.0, 25.5, 9.5, 3.5, 3.5. HRMS calcd for ($\text{C}_{26}\text{H}_{35}\text{N}_3\text{O}_5\text{S}$) $[\text{M} + \text{H}]^+$ 502.2370; found 502.2372.

N(シクロプロピルメチル)-3-[2,6-ジメトキシ-4-(メトキシメチル)フェニル]-6-メトキシ-*N*[(テトラヒドロ-2*H*-ピラン-2-イル)メチル]ピラゾロ[5,1-*b*][1,3]チアゾール-7-アミン (48e)

化合物 58a (90 mg, 0.20 mmol) および (テトラヒドロ-2*H*-ピラン-2-イル)メチル メタンスルホネート (51 mg, 0.26 mmol) をジメチルスルホキシド (3 mL) に溶解し、室温で水酸化ナトリウム (10 mg, 0.26 mmol) を加え 70 °C で 2 時間攪拌した。氷冷下、水を加え酢酸エチルで抽出した。有機層を飽和食塩水で洗浄後、無水硫酸マグネシウムで乾燥し、溶媒を減圧下留去した。得られた粗生成物は精製することなく次の反応に用いた。

得られた粗生成物を、室温で塩化メチレン (2 mL) およびトリフルオロ酢酸 (1 mL) に溶解し、室温で 1 時間攪拌した。反応液を減圧下濃縮しそのまま次の反応に用いた。

得られた粗生成物をテトラヒドロフラン (10 mL) および酢酸 (1 mL) に溶解し、シクロプロパンカルボアルデヒド (30 μL , 0.40 mmol) および水素化トリアセトキシほう素ナトリウム (85 mg, 0.40 mmol) を順次加え、室温で 2 時間攪拌した。飽和炭酸水素ナトリウム水溶液を加えたのち酢酸エチルで抽出した。有機層を飽和食塩水で洗浄後、無水硫酸マグネシウムで乾燥し、溶媒を減圧下留去した。残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (*n*-ヘプタン : 酢酸エチル = 3 : 2) に供し、標記化合物 48e (41 mg, 41%, 3 steps) を淡黄色固体として得た。

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 0.02–0.08 (m, 2H), 0.34–0.42 (m, 2H), 0.86–0.94 (m, 1H), 1.38–1.49 (m, 1H), 1.49–1.61 (m, 4H), 1.70–1.83 (m, 1H), 2.81–2.93 (m, 2H), 2.95 (dd, J = 5.6, 12.8 Hz, 1H), 3.17 (dd, J = 6.4, 12.8 Hz, 1H), 3.29–3.37 (m, 1H), 3.38 (dt, J = 2.4, 11.6 Hz, 1H), 3.47 (s, 3H), 3.79 (s, 3H), 3.87 (s, 6H), 3.92–4.00 (m, 1H), 4.50 (s, 2H), 6.41 (s, 1H), 6.65 (s, 2H). ^{13}C NMR (150 MHz, CDCl_3) δ 161.6, 159.5, 142.0, 133.6, 128.1, 110.3, 106.0, 105.8, 103.4, 76.4, 74.8, 68.4, 61.1, 59.9, 58.5, 56.3, 56.1, 30.2, 26.3, 23.4, 9.7, 3.6, 3.2. HRMS calcd for ($\text{C}_{26}\text{H}_{35}\text{N}_3\text{O}_5\text{S}$) $[\text{M} + \text{H}]^+$ 502.2370; found 502.2372.

***N*-(シクロプロピルメチル)-3-[2,6-ジメトキシ-4-(メトキシメチル)フェニル]-6-メトキシ-*N*[(テトラヒドロフラン-3-イル)メチル]ピラゾロ[5,1-*b*][1,3]チアゾール-7-アミン (48f)**

化合物 48b の合成法に準じ、化合物 58a (30 mg, 0.067 mmol) から標記化合物 48f (27 mg, 83%, 3 steps) を白色固体として得た。 ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 0.02–0.10 (m, 2H), 0.36–0.46 (m, 2H), 0.84–0.98 (m, 1H), 1.56–1.71 (m, 1H), 1.90–2.02 (m, 1H), 2.26–2.42 (m, 1H), 2.81 (d, J = 6.4 Hz, 2H), 2.95 (dd, J = 8.4, 12.0 Hz, 1H), 3.06 (dd, J = 6.8, 12.0 Hz, 1H), 3.47 (s, 3H), 3.56 (dd, J = 6.0, 8.4 Hz, 1H), 3.64–3.74 (m, 1H), 3.78 (s, 6H), 3.75–3.90 (m, 2H), 3.87 (s, 3H), 4.50 (s, 2H), 6.41 (s, 1H), 6.64 (s, 2H). ^{13}C NMR (150 MHz, CDCl_3) δ 161.9, 159.4, 142.0, 133.9, 128.3, 109.6, 105.8, 105.7, 103.4, 74.8, 72.4, 67.7, 61.2, 58.5, 57.5, 56.3, 56.1, 38.4, 30.6, 9.7, 3.5, 3.5. HRMS calcd for ($\text{C}_{25}\text{H}_{33}\text{N}_3\text{O}_5\text{S}$) $[\text{M} + \text{H}]^+$ 488.2214; found 488.2223.

***N*-(シクロプロピルメチル)-3-[2,6-ジメトキシ-4-(メトキシメチル)フェニル]-6-メトキシ-*N*[(テトラヒドロフラン-2-イル)メチル]ピラゾロ[5,1-*b*][1,3]チアゾール-7-アミン (48g)**

化合物 48a の合成法に準じ、化合物 58a (100 mg, 0.22 mmol) から標記化合物 48g (69 mg, 64%, 3 steps) を淡褐色固体として得た。 ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 0.02–0.10 (m, 2H), 0.33–0.45 (m, 2H), 0.85–0.94 (m, 1H), 1.56–1.68 (m, 1H), 1.74–1.92 (m, 2H), 1.89–2.01 (m, 1H), 2.85 (dd, J = 6.8, 13.3 Hz, 1H), 2.92 (dd, J = 6.4, 13.3 Hz, 1H), 3.00 (dd, J = 6.8, 12.8 Hz, 1H), 3.25 (dd, J = 6.0, 12.8 Hz, 1H), 3.46 (s, 3H), 3.68–3.74 (m, 1H), 3.78 (s, 6H), 3.81–3.87 (m, 1H), 3.87 (s, 3H), 3.89–3.97 (m, 1H), 4.50 (s, 2H), 6.40 (s, 1H), 6.64 (s, 2H). ^{13}C NMR (150 MHz, CDCl_3) δ 161.6, 159.5, 142.0, 133.6, 128.2, 110.1, 105.9, 105.8, 103.4, 77.8, 74.8, 67.9, 61.1, 58.7, 58.5, 56.3, 56.1, 30.0, 25.5, 9.6, 3.6, 3.2. HRMS calcd for ($\text{C}_{25}\text{H}_{33}\text{N}_3\text{O}_5\text{S}$) $[\text{M} + \text{H}]^+$ 488.2214; found 488.2210.

N(シクロプロピルメチル)-3-[2,6-ジメトキシ-4-(メトキシメチル)フェニル]-6-メトキシ-*N*-(2-メトキシエチル)ピラゾロ[5,1-*b*][1,3]チアゾール-7-アミン (48h)

化合物 58a (100 mg, 0.22 mmol) および 2-プロモエチルメチルエーテル (27 μ L, 0.29 mmol) を *N,N*-ジメチルホルムアミド (2 mL) に溶解し、室温で水素化ナトリウム (60%, 14 mg, 0.29 mmol) を加え 4 時間半攪拌した。氷冷下、水を加えジエチルエーテルで抽出した。有機層を飽和食塩水で洗浄後、無水硫酸マグネシウムで乾燥し、溶媒を減圧下留去した。得られた粗生成物は精製することなく次の反応に用いた。

得られた粗生成物を、室温で塩化メチレン (5 mL) およびトリフルオロ酢酸 (2 mL) に溶解し、室温で 1 時間攪拌した。反応液を減圧下濃縮しそのまま次の反応に用いた。

得られた粗生成物をテトラヒドロフラン (10 mL) および酢酸 (1 mL) に溶解し、シクロプロパンカルボアルデヒド (33 μ L, 0.44 mmol) および水素化トリアセトキシほう素ナトリウム (94 mg, 0.44 mmol) を順次加え、室温で 1 時間攪拌した。飽和炭酸水素ナトリウム水溶液を加えたのち酢酸エチルで抽出した。有機層を飽和食塩水で洗浄後、無水硫酸マグネシウムで乾燥し、溶媒を減圧下留去した。残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (*n*-ヘプタン : 酢酸エチル = 3 : 2) に供し、標記化合物 48h (77 mg, 75%, 3 steps) を黄色固体として得た。

$^1\text{H NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ 0.03–0.10 (m, 2H), 0.36–0.45 (m, 2H), 0.89–0.98 (m, 1H), 2.87 (d, $J = 6.8$ Hz, 2H), 3.25 (t, $J = 6.4$ Hz, 2H), 3.33 (s, 3H), 3.41–3.50 (m, 5H), 3.78 (s, 6H), 3.87 (s, 3H), 4.50 (s, 2H), 6.41 (s, 1H), 6.65 (s, 2H). $^{13}\text{C NMR}$ (150 MHz, CDCl_3) δ 161.6, 159.5, 142.0, 133.3, 128.2, 109.7, 105.9, 105.8, 103.4, 74.8, 71.3, 60.9, 58.9, 58.5, 56.3, 56.1, 53.6, 9.5, 3.4. HRMS calcd for ($\text{C}_{23}\text{H}_{31}\text{N}_3\text{O}_5\text{S}$) [$\text{M} + \text{H}$] $^+$ 462.2057; found 462.2065.

N(シクロプロピルメチル)-3-[2,6-ジメトキシ-4-(メトキシメチル)フェニル]-6-メトキシ-*N*-(テトラヒドロ-2*H*-ピラン-4-イル)ピラゾロ[5,1-*b*][1,3]チアゾール-7-アミン (48i)

化合物 48b の合成法に準じ、化合物 58a (60 mg, 0.13 mmol) から標記化合物 48i (50 mg, 77%, 3 steps) を白色固体として得た。 $^1\text{H NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ -0.02–0.06 (m, 2H), 0.29–0.40 (m, 2H), 0.78–0.92 (m, 1H), 1.50–1.66 (m, 2H), 1.78–1.88 (m, 2H), 2.88 (d, $J = 6.8$ Hz, 2H), 3.10–3.22 (m, 1H), 3.39 (td, $J = 1.6, 11.6$ Hz, 2H), 3.47 (s, 3H), 3.79 (s, 6H), 3.87 (s, 3H), 3.92–4.03 (m, 2H), 4.50 (s, 2H), 6.41 (s, 1H), 6.65 (s, 2H). $^{13}\text{C NMR}$ (150 MHz, CDCl_3) δ 162.9, 159.5, 142.0, 135.5, 128.3, 107.3, 105.9, 105.6, 103.4, 74.8, 67.5, 59.6, 58.5, 56.3, 56.1, 55.8, 31.3, 10.2, 3.4. HRMS calcd for ($\text{C}_{25}\text{H}_{33}\text{N}_3\text{O}_5\text{S}$) [$\text{M} + \text{H}$] $^+$ 488.2214; found 488.2216.

3-[2,6-ジメトキシ-4-(メトキシメチル)フェニル]-*N*-エチル-6-メトキシ-*N*-(テトラヒドロ-2*H*-ピラン-4-イル)ピラゾロ[5,1-*b*][1,3]チアゾール-7-アミン (48j)

化合物 48b の合成法に準じ、化合物 58a から標記化合物 48j (61 mg, 59%, 3 steps) を白色固体として得た。¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 0.99 (t, *J* = 7.2 Hz, 3H), 1.53–1.67 (m, 2H), 1.78–1.88 (m, 2H), 3.00–3.14 (m, 3H, involving a quartet at 3.05, *J* = 7.2 Hz), 3.32–3.45 (m, 2H), 3.47 (s, 3H), 3.79 (s, 6H), 3.86 (s, 3H), 3.94–4.03 (m, 2H), 4.51 (s, 2H), 6.42 (s, 1H), 6.65 (s, 2H). ¹³C NMR (150 MHz, CDCl₃) δ 163.1, 159.5, 142.1, 134.8, 128.3, 106.1, 105.8, 105.8, 103.3, 74.8, 67.5, 60.4, 58.5, 56.3, 56.1, 44.9, 31.1, 13.6. HRMS calcd for (C₂₃H₃₁N₃O₅S) [M + H]⁺ 462.2057; found 462.2058.

3-[2,6-ジメトキシ-4-(メトキシメチル)フェニル]-6-メトキシ-*N*-プロピル-*N*-(テトラヒドロ-2*H*-ピラン-4-イル)ピラゾロ[5,1-*b*][1,3]チアゾール-7-アミン (48k)

化合物 48b の合成法に準じ、化合物 58a (100 mg, 0.22 mmol) から標記化合物 48k (72 mg, 68%, 3 steps) を白色固体として得た。¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 0.87 (t, *J* = 7.2 Hz, 3H), 1.32–1.45 (m, 2H), 1.53–1.66 (m, 2H), 1.78–1.88 (m, 2H), 2.90–2.99 (m, 2H), 3.00–3.12 (m, 1H), 3.38 (td, *J* = 2.0, 12.0 Hz, 2H), 3.47 (s, 3H), 3.79 (s, 6H), 3.86 (s, 3H), 3.94–4.03 (m, 2H), 4.50 (s, 2H), 6.42 (s, 1H), 6.65 (s, 2H). ¹³C NMR (150 MHz, CDCl₃) δ 162.9, 159.5, 142.0, 135.0, 128.2, 106.6, 105.8, 105.7, 103.3, 74.8, 67.5, 60.7, 58.5, 56.3, 56.1, 52.8, 31.1, 21.8, 11.7. HRMS calcd for (C₂₄H₃₃N₃O₅S) [M + H]⁺ 476.2214; found 476.2209.

***N*-(2-シクロプロピルエチル)-3-[4-(エトキシメチル)-2,6-(ジメトキシメチル)フェニル]-6-メトキシ-*N*-(テトラヒドロ-2*H*-ピラン-4-イル)ピラゾロ[5,1-*b*][1,3]チアゾール-7-アミン (48l)**

化合物 48e の合成法に準じ、化合物 58a から標記化合物 48l (78 mg, 83%, 3 steps) を無色油状物として得た。¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ -0.03–0.04 (m, 2H), 0.34–0.43 (m, 2H), 0.63–0.74 (m, 1H), 1.20–1.37 (m, 2H), 1.54–1.69 (m, 2H), 1.86 (d, *J* = 12.0 Hz, 2H), 3.02–3.15 (m, 3H), 3.40 (t, *J* = 12.0 Hz, 2H), 3.49 (s, 3H), 3.81 (s, 6H), 3.87 (s, 3H), 3.96–4.04 (m, 2H), 4.52 (s, 2H), 6.44 (s, 1H), 6.67 (s, 2H). ¹³C NMR (150 MHz, CDCl₃) δ 162.9, 159.5, 142.0, 134.9, 128.2, 106.6, 105.8, 105.8, 103.3, 74.8, 67.6, 61.0, 58.5, 56.3, 56.1, 50.8, 33.9, 31.0, 8.9, 4.2. HRMS calcd for (C₂₆H₃₅N₃O₅S) [M + H]⁺ 502.2370; found 502.2373.

***N*-ブチル-3-[2,6-ジメトキシ-4-(メトキシメチル)フェニル]-6-メトキシ-*N*-(テトラヒドロ-2*H*-ピラン-4-イル)ピラゾロ[5,1-*b*][1,3]チアゾール-7-アミン (48m)**

化合物 48b の合成法に準じ、化合物 58a (70 mg, 0.16 mmol) から標記化合物 48m (61 mg, 80%, 3 steps) を白色固体として得た。¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 0.86 (t, *J* = 7.2 Hz, 3H), 1.22–1.42 (m, 4H), 1.56–1.68 (m, 2H), 1.77–1.88 (m, 2H), 2.97 (t, *J* = 7.2 Hz, 2H), 3.00–3.11 (m, 1H), 3.33 (td, *J* = 1.6, 11.6 Hz, 2H), 3.47 (s, 3H), 3.79 (s, 6H), 3.86 (s, 3H), 3.92–4.03 (m, 2H), 4.50 (s, 2H), 6.42 (s, 1H), 6.65 (s, 2H). ¹³C NMR (150 MHz, CDCl₃) δ 163.0, 159.5, 142.0, 135.0, 128.2, 106.7, 105.8, 105.8, 103.3, 74.8, 67.5, 60.7, 58.5, 56.3, 56.1, 50.6, 31.1, 30.7, 20.4, 14.0. HRMS calcd for (C₂₅H₃₅N₃O₅S) [M + H]⁺ 490.2370; found 490.2363.

3-[2,6-ジメトキシ-4-(メトキシメチル)フェニル]-*N*-イソプロピル-6-メトキシ-*N*-(テトラヒドロ-2*H*-ピラン-4-イル)ピラゾロ[5,1-*b*][1,3]チアゾール-7-アミン (48n)

化合物 48a の合成法に準じ、化合物 58a (100 mg, 0.22 mmol) から標記化合物 48n (62 mg, 59%, 3 steps) を淡黄色固体として得た。¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 1.30 (d, *J* = 6.0 Hz, 6H), 1.80–1.98 (m, 4H), 3.39–3.47 (m, 2H), 3.48 (s, 3H), 3.78 (s, 6H), 3.90 (s, 3H), 3.97–4.03 (m, 1H), 3.99–4.07 (m, 2H), 4.11–4.21 (m, 1H), 4.51 (s, 2H), 6.58 (s, 1H), 6.65 (s, 2H). HRMS calcd for (C₂₄H₃₃N₃O₅S) [M + H]⁺ 476.2214; found 476.2213.

3-[2,6-ジメトキシ-4-(メトキシメチル)フェニル]-*N*-イソブチル-6-メトキシ-*N*-(テトラヒドロ-2*H*-ピラン-4-イル)ピラゾロ[5,1-*b*][1,3]チアゾール-7-アミン (48o)

化合物 48b の合成法に準じ、化合物 58a から標記化合物 48o (67 mg, 88%, 3 steps) を淡黄色固体として得た。¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 0.88 (d, *J* = 6.8 Hz, 3H), 1.44–1.67 (m, 3H), 1.75–1.86 (m, 2H), 2.74 (d, *J* = 7.2 Hz, 2H), 2.90–3.06 (m, 1H), 3.36 (td, *J* = 2.0, 12.0 Hz, 2H), 3.47 (s, 3H), 3.79 (s, 6H), 3.85 (s, 3H), 3.92–4.02 (m, 2H), 4.50 (s, 2H), 6.41 (s, 1H), 6.64 (s, 2H). ¹³C NMR (150 MHz, CDCl₃) δ 162.9, 159.5, 142.0, 135.6, 128.2, 107.1, 105.9, 105.7, 103.3, 74.8, 67.7, 61.2, 58.8, 58.5, 56.3, 56.1, 31.2, 27.3, 20.6. HRMS calcd for (C₂₅H₃₅N₃O₅S) [M + H]⁺ 490.2370; found 490.2369.

3-[4-(エトキシメチル)-2,6-ジメトキシフェニル]-6-メトキシ-*N*-プロピル-*N*-(テトラヒドロ-2*H*-ピラン-4-イル)ピラゾロ[5,1-*b*][1,3]チアゾール-7-アミン (48p)

化合物 48h の合成法に準じ、化合物 58b (60 mg, 0.13 mmol) から標記化合物 48p (52 mg, 82%, 3 steps) を白色固体として得た。¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 0.87 (t, *J* = 7.6 Hz, 3H), 1.30 (t, *J* = 6.8 Hz, 3H), 1.30–1.44 (m, 2H), 1.52–1.66 (m, 2H), 1.78–1.88 (m, 2H), 2.94 (dd,

$J = 7.2, 7.6$ Hz, 2H), 3.00–3.11 (m, 1H), 3.38 (td, $J = 2.0, 12.0$ Hz, 2H), 3.62 (q, $J = 7.2$ Hz, 2H), 3.79 (s, 6H), 3.86 (s, 3H), 3.93–4.03 (m, 2H), 4.54 (s, 2H), 6.40 (s, 1H), 6.66 (s, 2H). ^{13}C NMR (150 MHz, CDCl_3) δ 162.9, 159.5, 142.4, 135.0, 128.3, 106.6, 105.8, 105.7, 103.4, 72.9, 67.5, 66.1, 60.7, 56.3, 56.1, 52.8, 31.1, 21.8, 15.3, 11.7. HRMS calcd for $(\text{C}_{25}\text{H}_{36}\text{N}_3\text{O}_5\text{S})$ $[\text{M} + \text{H}]^+$ 490.2370; found 490.2367.

3,5-ジメトキシ-4-{6-メトキシ-7-[プロピル(テトラヒドロ-2*H*ピラン-4-イル)アミノ]ピラゾロ[5,1-*b*][1,3]チアゾール-3-イル}ベンゾニトリル (48q)

化合物 48h の合成法に準じ、化合物 58c (93 mg, 0.22 mmol) から標記化合物 48q (53 mg, 54%, 3 steps) を黄色固体として得た。 ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 0.88 (t, $J = 7.2$ Hz, 3H), 1.30–1.44 (m, 2H), 1.50–1.66 (m, 2H), 1.78–1.88 (m, 2H), 2.94 (t, $J = 7.2$ Hz, 2H), 3.00–3.12 (m, 1H), 3.38 (t, $J = 12.0$ Hz, 2H), 3.82 (s, 6H), 3.85 (s, 3H), 3.94–4.03 (m, 2H), 6.49 (s, 1H), 6.93 (s, 2H). ^{13}C NMR (150 MHz, CDCl_3) δ 163.2, 159.6, 135.2, 126.3, 118.6, 114.4, 111.8, 108.0, 107.0, 106.9, 67.5, 60.7, 56.4, 56.3, 52.8, 31.1, 21.8, 11.7. HRMS calcd for $(\text{C}_{23}\text{H}_{29}\text{N}_4\text{O}_4\text{S})$ $[\text{M} + \text{H}]^+$ 457.1904; found 457.1898.

3-[2-クロロ-6-メトキシ-4-(メトキシメチル)フェニル]-6-メトキシ-*N*-プロピル-*N*-(テトラヒドロ-2*H*ピラン-4-イル)ピラゾロ[5,1-*b*][1,3]チアゾール-7-アミン (48r)

化合物 48a の合成法に準じ、化合物 58d (148 mg, 0.33 mmol) から標記化合物 48r (95 mg, 61%, 3 steps) を白色固体として得た。 ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 0.88 (t, $J = 7.2$ Hz, 3H), 1.32–1.44 (m, 2H), 1.52–1.66 (m, 2H), 1.79–1.86 (m, 2H), 2.92–2.97 (m, 2H), 3.02–3.11 (m, 1H), 3.34–3.41 (m, 2H), 3.47 (s, 3H), 3.80 (s, 3H), 3.85 (s, 3H), 3.96–4.02 (m, 2H), 4.49 (s, 2H), 6.46 (s, 1H), 6.93 (br s, 1H), 7.09 (br s, 1H). ^{13}C NMR (150 MHz, CDCl_3) δ 163.3, 159.9, 142.3, 136.1, 135.1, 128.8, 120.6, 116.5, 108.6, 107.0, 106.4, 73.9, 67.5, 67.5, 60.6, 58.6, 56.4, 56.3, 52.7, 31.2, 31.1, 21.8, 11.7. HRMS calcd for $(\text{C}_{23}\text{H}_{31}\text{ClN}_3\text{O}_4\text{S})$ $[\text{M} + \text{H}]^+$ 480.1718; found 480.1715.

6-メトキシ-3-[2-メトキシ-4-(メトキシメチル)フェニル]-*N*-プロピル-*N*-(テトラヒドロ-2*H*ピラン-4-イル)ピラゾロ[5,1-*b*][1,3]チアゾール-7-アミン (48s)

化合物 48b の合成法に準じ、化合物 58e (100 mg, 0.24 mmol) から標記化合物 48s (66 mg, 66%, 3 steps) を淡黄色油状物として得た。 ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 0.88–0.92 (m, 3H), 1.29–1.43 (m, 2H), 1.49–1.66 (m, 2H), 1.77–1.88 (m, 2H), 2.89–3.13 (m, 3H), 3.30–3.42 (m, 2H), 3.44 (s, 3H), 3.90–4.04 (m, 8H, involving a singlet at 3.93 and a singlet at 3.97), 4.52 (s,

2H), 6.99 (s, 1H), 7.04 (s, 2H), 7.05 (d, $J = 8.0$ Hz, 1H), 8.43 (d, $J = 8.0$ Hz, 1H). ^{13}C NMR (150 MHz, CDCl_3) δ 162.8, 157.2, 140.4, 136.0, 130.3, 129.5, 119.5, 116.9, 110.2, 106.7, 106.6, 74.4, 67.4, 60.6, 58.3, 56.3, 55.7, 52.6, 31.2, 21.7, 11.7. HRMS calcd for ($\text{C}_{23}\text{H}_{32}\text{N}_3\text{O}_4\text{S}$) $[\text{M} + \text{H}]^+$ 446.2108; found 446.2101.

***N*-ブチル-3-[4-(エトキシメチル)-2,6-ジメトキシフェニル]-6-メトキシ-*N*-(テトラヒドロ-2*H*-ピラン-4-イル)ピラゾロ[5,1-*b*][1,3]チアゾール-7-アミン (48t)**

化合物 48h の合成法に準じ、化合物 58b (100 mg, 0.22 mmol) から標記化合物 48t (81 mg, 75%, 3 steps) を白色固体として得た。 ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 0.87 (t, $J = 6.8$ Hz, 3H), 1.30 (t, $J = 6.8$ Hz, 3H), 1.24–1.40 (m, 4H), 1.52–1.67 (m, 2H), 1.78–1.87 (m, 2H), 2.97 (t, $J = 6.8$ Hz, 2H), 2.99–3.11 (m, 1H), 3.38 (td, $J = 1.6, 11.6$ Hz, 2H), 3.63 (q, $J = 7.2$ Hz, 2H), 3.79 (s, 6H), 3.86 (s, 3H), 3.94–4.03 (m, 2H), 4.55 (s, 2H), 6.41 (s, 1H), 6.66 (s, 2H). ^{13}C NMR (150 MHz, CDCl_3) δ 163.0, 159.5, 142.4, 135.0, 128.3, 106.7, 105.8, 105.7, 103.4, 72.9, 67.5, 66.1, 60.7, 56.3, 56.1, 50.6, 31.1, 30.7, 20.4, 15.3, 14.0. HRMS calcd for ($\text{C}_{26}\text{H}_{37}\text{N}_3\text{O}_5\text{S}$) $[\text{M} + \text{H}]^+$ 504.2527; found 504.2519.

4-{7-[ブチル(テトラヒドロ-2*H*-ピラン-4-イル)アミノ]-6-メトキシピラゾロ[5,1-*b*][1,3]チアゾール-3-イル}-3,5-ジメトキシベンゾニトリル (48u)

化合物 58c (90 mg, 0.21 mmol) および 1-ヨードブタン (36 μL , 0.32 mmol) をジメチルスルホキシド (0.8 mL) に溶解し、室温で水酸化ナトリウム (17 mg, 0.42 mmol) を加え 1 時間攪拌した。飽和塩化アンモニウム水溶液を加え酢酸エチルで抽出した。有機層を飽和食塩水で洗浄後、無水硫酸マグネシウムで乾燥し、溶媒を減圧下留去した。得られた粗生成物は精製することなく次の反応に用いた。

得られた粗生成物を、室温で塩化メチレン (0.6 mL) およびトリフルオロ酢酸 (0.2 mL) に溶解し、室温で 2 時間攪拌した。反応液を減圧下濃縮しそのまま次の反応に用いた。

得られた粗生成物をテトラヒドロフラン (1 mL) に溶解し、テトラヒドロ-4*H*-ピラン-4-オン (36 mg, 0.32 mmol) および水素化トリアセトキシほう素ナトリウム (67 mg, 0.32 mmol) を順次加え、室温で 2 時間攪拌した。飽和炭酸水素ナトリウム水溶液を加えたのち酢酸エチルで抽出した。有機層を飽和食塩水で洗浄後、無水硫酸マグネシウムで乾燥し、溶媒を減圧下留去した。残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (*n*-ヘプタン : 酢酸エチル = 3 : 2) に供し、標記化合物 48u (81 mg, 82%, 3 steps) を淡黄色固体として得た。 ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 0.82–0.92 (m, 3H), 1.22–1.38 (m, 4H), 1.50–1.64 (m, 2H), 1.78–1.86 (m, 2H), 2.94–3.01 (m, 2H), 3.06 (tt, $J = 4.0, 11.2$ Hz, 1H), 3.38 (dt, $J = 2.0, 12.0$ Hz, 2H), 3.82 (s, 6H),

3.85 (s, 3H), 3.95–4.02 (m, 2H), 6.49 (s, 1H), 6.93 (s, 2H). ^{13}C NMR (150 MHz, CDCl_3) δ 163.2, 159.6, 135.2, 126.3, 118.6, 114.4, 111.8, 108.0, 107.1, 106.9, 67.5, 60.8, 56.4, 56.3, 50.6, 31.1, 30.7, 20.4, 14.0. HRMS calcd for ($\text{C}_{24}\text{H}_{30}\text{N}_4\text{O}_4\text{S}$) [$\text{M} + \text{H}$] $^+$ 471.2061; found 471.2058.

エチル 6-オキソ-5,6-ジヒドロピラゾロ[5,1-*b*][1,3]チアゾール-7-カルボキシレート (52)

マロン酸ジエチル 49 (100 g, 624 mmol)、炭酸セシウム (488 g, 1.5 mol) および二硫化炭素 (45.3 mL, 749 mmol) を *N,N*-ジメチルホルムアミド (900 mL) に溶解した。室温でプロモアセトアルデヒド ジエチルアセタール (290 mL, 1.87 mol) を滴下したのち、ヨウ化ナトリウム (9.34 g, 62.4 mmol) を加え、60 °C で 8 時間攪拌した。放冷後、反応液をろ過し、ろ液に水を加えたのち、ジエチルエーテルで抽出した。有機層を飽和食塩水で洗浄後、無水硫酸マグネシウムで乾燥し、溶媒を減圧下留去した。得られた粗生成物 50 は精製することなく次の反応に用いた。

得られた粗生成物をエタノール (900 mL) に溶解し、水バスで冷却しながらヒドラジン水和物 (60.7 mL, 1.25 mol) を加え、室温で 13 時間攪拌した。反応液をろ過し、ろ液を減圧下留去した。得られた粗生成物 51 は精製することなく次の反応に用いた。

得られた粗生成物を 1,4-ジオキサソ (1 L) に溶解し、5 M 塩酸 (200 mL) を加え、60 °C で 4 時間攪拌した。放冷後、減圧下溶媒を留去した。反応液に水を加え、生じた固体をろ取したのち、減圧下乾燥することにより標記化合物 52 (42.5g, 32%, 3 steps) を淡黄色固体として得た。 ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 1.41 (t, $J = 7.0$ Hz, 3H), 4.40 (q, $J = 7.0$ Hz, 2H), 6.89 (d, $J = 4.0$ Hz, 1H), 7.69 (d, $J = 4.4$ Hz, 1H). ^{13}C NMR (150 MHz, CDCl_3) δ 167.0, 164.6, 141.8, 123.0, 111.2, 89.9, 60.7, 14.5. HRMS calcd for ($\text{C}_8\text{H}_8\text{N}_2\text{O}_3\text{S}$) [$\text{M} + \text{H}$] $^+$ 213.0328; found 213.0332.

エチル 6-メトキシピラゾロ[5,1-*b*][1,3]チアゾール-7-カルボキシレート (53)

化合物 52 (41.3 g, 195 mmol) を *N,N*-ジメチルホルムアミド (624 mL) に溶解し、室温で、炭酸セシウム (127 g, 389 mmol) およびヨードメタン (24.2 mL, 389 mmol) を順次加えたのち 1 時間攪拌した。反応液に、水および酢酸エチルとジエチルエーテル (1 : 1) の混合溶媒を加えたのち有機層を分離した。有機層を飽和食塩水で洗浄後、無水硫酸マグネシウムで乾燥し、溶媒を減圧下留去した。残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (*n*-ヘプタン : 酢酸エチル = 1 : 2.3) に供し、標記化合物 53 (30.7 g, 70%) を褐色固体として得た。 ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 1.39 (t, $J = 7.0$ Hz, 3H), 4.08 (s, 3H), 4.35 (q, $J = 7.0$ Hz, 2H), 6.87 (d, $J = 4.4$ Hz, 1H), 7.66 (d, $J = 4.4$ Hz, 1H). ^{13}C NMR (150 MHz, CDCl_3) δ 166.1, 161.9, 145.1, 122.6,

111.3, 92.0, 60.1, 56.8, 14.5. HRMS calcd for (C₉H₁₀N₂O₃S) [M + H]⁺ 227.0485; found 227.0488.

6-メトキシピラゾロ[5,1-*b*][1,3]チアゾール (54)

化合物 53 (30.7 g, 136 mmol) をエタノール (407 mL) に溶解し、室温で、5 M 水酸化ナトリウム水溶液 (136 mL, 680 mmol) を加え、80 °C で 2 時間攪拌した。氷冷下、5M 塩酸で反応液を中性とし、減圧下エタノールを留去した。生じた固体をろ過し、水で洗浄したのち、減圧下乾燥した。得られた粗生成物は精製することなく次の反応に用いた。

得られた粗生成物を 1,4-ジオキサン (400 mL) に溶解し、濃塩酸 (200 mL) を加え、60 °C で 1 時間半攪拌した。反応液を減圧下濃縮したのち、氷冷下、水酸化ナトリウムで液性を弱酸性に調整した。水層を酢酸エチルで抽出し、有機層を無水硫酸マグネシウムで乾燥後、溶媒を減圧下留去した。残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (*n*-ヘプタン : 酢酸エチル = 2.3 : 1) に供し、標記化合物 54 (15.8 g, 75%, 2 steps) を褐色油状物として得た。¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 3.95 (s, 3H), 5.81 (d, *J* = 0.8 Hz, 1H), 6.60 (d, *J* = 4.0 Hz, 1H), 7.58 (dd, *J* = 0.8, 4.4 Hz, 1H). ¹³C NMR (150 MHz, CDCl₃) δ 167.7, 140.5, 122.2, 107.8, 81.7, 56.5. HRMS calcd for (C₆H₆N₂O₃S) [M + H]⁺ 155.0274; found 155.0276.

tert-ブチル (6-メトキシピラゾロ[5,1-*b*][1,3]チアゾール-7-イル)カーバメート (56a)

化合物 54 (15.8 g, 103 mmol) を 5 M 塩酸 (350 mL) に溶解し、氷冷下、亜硝酸ナトリウム (10.6 g, 154 mmol) および水 (115 mL) を加えた。室温で 30 分間攪拌したのち、氷冷下、5 M 水酸化ナトリウム水溶液で液性を中性に調整した。生じた固体をろ取および乾燥し、次の反応に用いた。

得られた粗生成物をエタノール (200 mL) およびテトラヒドロフラン (300 mL) に溶解し、10%パラジウム - 炭素 (含水 50% : 16 g) を加え、水素雰囲気下、室温、常圧で 5 時間攪拌した。セライトでろ過したのち減圧下濃縮し、そのまま次の反応に用いた。

得られた粗生成物 55 を塩化メチレン (425 mL) に溶解し、室温でトリエチルアミン (17.8 mL, 128 mmol) および二炭酸ジ-*tert*-ブチル (24.1 g, 111 mmol) を順次加え、11 時間攪拌した。減圧下、反応液を濃縮し、残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (*n*-ヘプタン : 酢酸エチル = 2 : 1) に供し、標記化合物 56a (16.5 g, 59%, 3 steps) を淡桃色固体として得た。¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 1.51 (s, 9H), 3.98 (s, 3H), 6.12 (br s, 1H), 6.54 (d, *J* = 4.0 Hz, 1H), 7.48 (d, *J* = 4.4 Hz, 1H). ¹³C NMR (150 MHz, CDCl₃) δ 157.6, 153.1, 131.5, 122.1, 108.9, 98.9, 80.7, 56.5, 28.3. HRMS calcd for (C₁₁H₁₅N₃O₃S) [M + H]⁺ 270.0907; found 270.0910.

***tert*-ブチル (6-メチルピラゾロ[5,1-*b*][1,3]チアゾール-7-イル)カーバメート (56b)**

化合物 60 (1.0 g, 5.7 mmol) を 5 M 塩酸 (24 mL) に溶解し、氷冷下、亜硝酸ナトリウム (0.78 g, 11.3 mmol) および水 (1.5 mL) の混合液を加えた。2 時間後、室温に戻し一晩攪拌した。氷冷下、5 M 水酸化ナトリウム水溶液で液性をアルカリ性に調整したのち、生じた固体をろ取、水で洗浄し、精製することなく次の反応に用いた。

得られた粗生成物を 2 M 塩酸 (22 mL) に溶解し、亜鉛粉末 (0.37 g, 5.7 mmol) を加え、室温で 15 分間攪拌した。亜鉛粉末 (0.37 g, 5.7 mmol) を追加し、さらに室温で 1 時間攪拌した。不溶物をセライトろ過により除去したのち、5 M 水酸化ナトリウム水溶液で液を中性にした。酢酸エチルで抽出し、有機層を飽和食塩水で洗浄後、無水硫酸マグネシウムで乾燥し、溶媒を減圧下留去した。得られた粗生成物は精製することなく次の反応に用いた。

得られた粗生成物を塩化メチレン (20 mL) に溶解し、室温で、トリエチルアミン (0.83 mL, 5.9 mmol) および二炭酸ジ-*tert*-ブチル (0.95 g, 4.4 mmol) を順次加え、一晩攪拌した。水を加え塩化メチレンで抽出し、有機層を無水硫酸マグネシウムで乾燥後、溶媒を減圧下留去した。残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (*n*-ヘプタン : 酢酸エチル = 1 : 1) に供し、標記化合物 56b (0.81 g, 56%, 3 steps) を淡黄色固体として得た。¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 1.53 (s, 9H), 2.33 (s, 3H), 6.03 (br s, 2H), 6.71 (d, J = 4.0 Hz, 1H), 7.59 (d, J = 4.0 Hz, 1H). ¹³C NMR (150 MHz, CDCl₃) δ 153.2, 144.6, 132.0, 121.9, 112.0, 110.6, 80.8, 28.3, 11.7. HRMS calcd for (C₁₁H₁₆N₃O₂S) [M + H]⁺ 254.0958; found 254.0957.

***tert*-ブチル (3-プロモ-6-メトキシピラゾロ[5,1-*b*][1,3]チアゾール-7-イル)カーバメート (57a)**

化合物 56a (16.5 g, 61.4 mmol) をテトラヒドロフラン (410 mL) に溶解し、窒素雰囲気下、-78 °C で *n*-ブチルリチウム (2.77 M *n*-ヘキサン溶液: 62.1 mL, 172 mmol) を滴下し、室温で 40 分間攪拌した。反応液に 1,2-ジプロモ-1,1,2,2-テトラフルオロエタン (10.2 mL, 86 mmol) を滴下し、2 時間かけて室温まで昇温した。飽和塩化アンモニウム水溶液および酢酸エチルを加えたのち、酢酸で弱酸に調整し、酢酸エチルで抽出した。有機層を飽和食塩水で洗浄後、無水硫酸マグネシウムで乾燥し、溶媒を減圧下留去した。残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (*n*-ヘキサン : 酢酸エチル = 4 : 1) に供し、標記化合物 57a (14.3 g, 67%) を淡黄色固体として得た。¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 1.51 (s, 9H), 4.04 (s, 3H), 6.16 (br s, 1H), 6.50 (s, 1H). ¹³C NMR (150 MHz, CDCl₃) δ 157.2, 152.9, 129.6, 106.6, 103.6, 101.0, 81.0, 56.8, 28.3. HRMS calcd for (C₁₁H₁₄BrN₃O₃S) [M + H]⁺ 348.0012; found 348.0020.

***tert*-ブチル (3-ブromo-6-メチルピラゾロ[5,1-*b*][1,3]チアゾール-7-イル)カーバメート (57b)**

化合物 57a の合成法に準じ、化合物 56b (1.2 g, 4.7 mmol)、1,2-ジブromotetraフルオロエタン (0.62 mL, 5.2 mmol) および *n*-ブチルリチウム (1.57 M *n*-ヘキサン溶液: 6.6 mL, 10.4 mmol) から標記化合物 57b (1.4 g, 88%) を淡黄色固体として得た。¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 1.52 (s, 9H), 2.37 (s, 3H), 6.07 (br s, 2H), 6.68 (s, 1H)。¹³C NMR (150 MHz, CDCl₃) δ 153.0, 144.1, 130.1, 112.7, 110.0, 103.2, 81.2, 28.3, 11.8. HRMS calcd for (C₁₁H₁₅BrN₃O₂S) [M + H]⁺ 332.0063; found 332.0058.

***tert*-ブチル {3-[2,6-ジメトキシ-4-(メトキシメチル)フェニル]-6-メトキシピラゾロ[5,1-*b*][1,3]チアゾール-7-イル}カーバメート (58a)**

化合物 57a (998 mg, 2.87 mmol)、[2,6-ジメトキシ-4-(メトキシメチル)フェニル]ボロン酸 (973 mg, 4.31 mmol)、炭酸カリウム (791 mg, 5.74 mmol)、トリフェニルホスフィン (374 mg, 1.43 mmol) および酢酸パラジウム (64.5 mg, 0.285 mmol) を 1,2-ジメトキシエタン (107 mL) および水 (36 mL) に懸濁させ、窒素雰囲気下、90 °C で 1 時間半攪拌した。放冷後、水を加え酢酸エチルで抽出した。有機層を飽和食塩水で洗浄後、無水硫酸マグネシウムで乾燥し、溶媒を減圧下留去した。残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (*n*-ヘプタン : 酢酸エチル = 1 : 1) に供し、標記化合物 58a (1.22 g, 95%) を黄色油状物として得た。¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 1.52 (s, 9H), 3.46 (s, 3H), 3.75 (s, 6H), 3.88 (s, 3H), 4.49 (s, 2H), 6.08 (br s, 1H), 6.43 (s, 1H), 6.63 (s, 2H)。¹³C NMR (150 MHz, CDCl₃) δ 159.5, 157.1, 153.2, 142.0, 131.0, 127.9, 107.7, 106.1, 103.3, 98.3, 80.4, 74.8, 58.4, 56.8, 56.0, 28.3. HRMS calcd for (C₂₁H₂₇N₃O₆S) [M + H]⁺ 450.1693; found 450.1703.

***tert*-ブチル {3-[4-(エトキシメチル)-2,6-ジメトキシフェニル]-6-メトキシピラゾロ[5,1-*b*][1,3]チアゾール-7-イル}カーバメート (58b)**

化合物 58a の合成法に準じ、化合物 57a (2.0 g, 5.7 mmol) および [4-(エトキシメチル)-2,6-ジメトキシフェニル]ボロン酸 (2.1 g, 8.6 mmol) から標記化合物 58b (2.5 g, 94%) を白色固体として得た。¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 1.29 (t, *J* = 7.2 Hz, 3H), 1.52 (s, 9H), 3.61 (q, *J* = 7.2 Hz, 2H), 3.75 (s, 6H), 3.87 (s, 3H), 4.53 (s, 2H), 6.09 (br s, 1H), 6.42 (s, 1H), 6.64 (s, 2H)。¹³C NMR (150 MHz, CDCl₃) δ 159.5, 157.2, 153.2, 142.4, 131.0, 127.9, 107.7, 106.0, 103.4, 98.3, 80.4, 72.9, 66.1, 56.8, 56.0, 28.3, 15.2. HRMS calcd for (C₂₂H₂₉N₃O₆S) [M + H]⁺ 464.1850; found 464.1851.

***tert*-ブチル {3-(4-シアノ-2,6-ジメトキシフェニル)-6-メトキシピラゾロ[5,1-*b*][1,3]チアゾール-7-イル}カーバメート (58c)**

化合物 58a の合成法に準じ、化合物 57a (461 mg, 1.3 mmol) および (4-シアノ-2,6-ジメトキシフェニル)ボロン酸 (412 mg, 2.0 mmol) から標記化合物 58c (296 mg, 52%) を黄色固体として得た。¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 1.52 (s, 9H), 3.78 (s, 6H), 3.87 (s, 3H), 6.11 (br s, 1H), 6.50 (s, 1H), 6.91 (s, 2H). ¹³C NMR (150 MHz, CDCl₃) δ 159.6, 157.1, 153.2, 130.7, 125.9, 118.7, 114.3, 112.0, 109.0, 108.0, 98.7, 80.6, 56.8, 56.3, 28.3. HRMS calcd for (C₂₀H₂₃N₄O₅S) [M + H]⁺ 431.1384; found 431.1381.

***tert*-ブチル {3-[2-クロロ-6-メトキシ-4-(メトキシメチル)フェニル]-6-メトキシピラゾロ[5,1-*b*][1,3]チアゾール-7-イル}カーバメート (58d)**

化合物 57a (250 mg, 0.72 mmol) と [2-クロロ-6-メトキシ-4-(メトキシメチル)フェニル]ボロン酸 (248 mg, 1.1 mmol) および Pd(PPh₃)₄ (83 mg, 0.072 mmol) をトルエン (5 mL)、エタノール (2.5 mL) および 1 M 炭酸ナトリウム水溶液 (1.4 mL, 1.4 mmol) に溶解し、窒素雰囲気下、3 時間加熱還流した。放冷後、水を加え酢酸エチルで抽出した。有機層を飽和食塩水で洗浄後、無水硫酸マグネシウムで乾燥し、溶媒を減圧下留去した。残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (*n*-ヘプタン : 酢酸エチル = 1 : 1) に供し、標記化合物 58d (281 mg, 86%) を黄色固体として得た。¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 1.52 (s, 9H), 3.46 (s, 3H), 3.76 (s, 3H), 3.87 (s, 3H), 4.48 (s, 2H), 6.13 (br s, 1H), 6.48 (s, 1H), 6.91 (s, 1H), 7.08 (s, 1H). ¹³C NMR (150 MHz, CDCl₃) δ 159.9, 157.2, 153.2, 142.3, 136.1, 130.6, 128.4, 120.5, 116.8, 108.6, 108.5, 98.9, 80.5, 73.9, 58.6, 56.9, 56.2, 28.3. HRMS calcd for (C₂₀H₂₄ClN₃O₅S) [M + H]⁺ 454.1198; found 454.1196.

***tert*-ブチル {6-メトキシ-3-[2-メトキシ-4-(メトキシメチル)フェニル]ピラゾロ[5,1-*b*][1,3]チアゾール-7-イル}カーバメート (58e)**

化合物 58d の合成法に準じ、化合物 57a (150 mg, 0.43 mmol) および [2-メトキシ-4-(メトキシメチル)フェニル]ボロン酸 (127 mg, 0.65 mmol) から標記化合物 58e (150 mg, 83%) を白色固体として得た。¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 1.52 (s, 9H), 3.43 (s, 3H), 3.90 (s, 3H), 3.98 (s, 3H), 4.51 (s, 2H), 6.12 (br s, 1H), 6.96 (s, 1H), 7.02 (d, *J* = 7.6 Hz, 1H), 7.03 (s, 1H), 8.25 (d, *J* = 7.6 Hz, 1H). ¹³C NMR (150 MHz, CDCl₃) δ 157.3, 156.9, 153.1, 140.5, 131.5, 130.3, 129.5, 119.5, 117.3, 110.3, 108.4, 98.4, 80.5, 74.4, 58.3, 56.7, 55.7, 28.3. HRMS calcd for (C₂₀H₂₅N₃O₅S) [M + H]⁺ 420.1588; found 420.1582.

1-(6-メチルピラゾロ[5,1-*b*][1,3]チアゾール-7-イル)エタノン (60)

2-メチルチアゾール (5.8 g, 58.2 mmol) を塩化メチレン (35 mL) に溶解し、氷冷下、*o*-メシチレン スルホニルヒドロキシルアミン (12.5 g, 58.2 mmol) の塩化メチレン (35 mL) 溶液を加え、室温で9時間半攪拌した。反応液を減圧下濃縮したのち一晚乾燥した。得られた粗生成物は精製することなく次の反応に用いた。

得られた粗生成物(15.6 g)に無水酢酸(125 mL)および酢酸ナトリウム(6.1 g, 74.4 mmol) を順次加え、5時間加熱還流した。放冷後、減圧下濃縮したのち水を加えた。氷冷下、飽和炭酸カリウム水溶液を加え、酢酸エチルで抽出した。有機層を飽和食塩水で洗浄後、無水硫酸マグネシウムで乾燥し、溶媒を減圧下留去した。残渣をジイソプロピルエーテル(40 mL)に懸濁させ、超音波処理およびろ過により、標記化合物 60 (5.3 g, 51%, 2 steps) を褐色固体として得た。¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 1.51 (s, 3H), 2.65 (s, 3H), 7.00 (d, *J* = 4.0 Hz, 1H), 7.76 (d, *J* = 4.0 Hz, 1H). ¹³C NMR (150 MHz, CDCl₃) δ 190.2, 155.3, 145.2, 122.1, 114.2, 114.0, 28.9, 15.5. HRMS calcd for (C₈H₉N₂OS) [M + H]⁺ 181.043; found 181.0428.

tert-ブチル {3-[2,6-ジメトキシ-4-(メトキシメチル)フェニル]-6-メチルピラゾロ[5,1-*b*][1,3]チアゾール-7-イル}カーバメート (61)

化合物 58d の合成法に準じ、化合物 57b (1.8 g, 5.5 mmol) および [2,6-ジメトキシ-4-(メトキシメチル)フェニル]ボロン酸 (1.9 g, 8.2 mmol) から標記化合物 61 (2.4 g, 99%) を淡黄色固体として得た。¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 1.54 (s, 9H), 2.27 (s, 3H), 3.44 (s, 3H), 3.73 (s, 6H), 4.48 (s, 2H), 5.99 (br s, 1H), 6.55 (s, 1H), 6.61 (s, 2H). ¹³C NMR (150 MHz, CDCl₃) δ 159.5, 153.4, 144.3, 142.4, 132.0, 127.9, 110.4, 110.0, 105.6, 103.2, 80.5, 74.7, 58.4, 56.0, 28.3, 11.9. HRMS calcd for (C₂₁H₂₇N₃O₅S) [M + H]⁺ 434.1744; found 434.1742.

N-(シクロプロピルメチル)-3-[2,6-ジメトキシ-4-(メトキシメチル)フェニル]-2,6-ジメチル-*N*-(テトラヒドロ-2*H*-ピラン-4-イルメチル)ピラゾロ[5,1-*b*][1,3]チアゾール-7-アミン (49)

化合物 47 (120 mg, 0.25 mmol) をテトラヒドロフラン (2 mL) に溶解し、窒素雰囲気下、-78 °C で *n*-ブチルリチウム (2.69 M *n*-ヘキサン溶液: 0.10 mL, 0.27 mmol) を滴下し、同温で20分間攪拌した。反応液に1,2-ジブromo-1,1,2,2-テトラフルオロエタン (0.034 mL, 0.28 mmol) を滴下し、1時間かけて室温まで昇温した。飽和塩化アンモニウム水溶液を加え、酢酸エチルで抽出した。有機層を飽和食塩水で洗浄後、無水硫酸マグネシウムで乾燥し、溶媒を減圧下留去した。得られた粗生成物は精製することなく次の反応に用いた。

得られた粗生成物、ジエチル亜鉛 (1.0 M *n*-ヘキサン溶液: 0.49 mL, 0.49 mmol) および Pd[P(*tert*-Bu)₃]₂ (5 mg, 0.010 mmol) を1,4-ジオキサン (1.5 mL) に溶解し、窒素雰囲気下、

65 °C で 1 時間攪拌した。放冷後、飽和塩化アンモニウム水溶液を加え、酢酸エチルで抽出した。有機層を飽和食塩水で洗浄後、無水硫酸マグネシウムで乾燥し、溶媒を減圧下留去した。残渣を HPLC で精製し標記化合物 49(60 mg, 49%, 2 steps)を白色固体として得た。¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ-0.04–0.07 (m, 2H), 0.34–0.46 (m, 2H), 0.78–0.94 (m, 1H), 1.20–1.37 (m, 2H), 1.48–1.62 (m, 1H), 1.67–1.84 (m, 2H), 2.14 (s, 3H), 2.25 (s, 3H), 2.67–2.76 (m, 2H), 2.81–2.90 (m, 2H), 3.26–3.39 (m, 2H), 3.47 (s, 3H), 3.76 (s, 3H), 3.87–3.99 (m, 2H), 4.49 (s, 2H), 6.64 (s, 2H). ¹³C NMR (150 MHz, CDCl₃) δ159.4, 148.3, 142.3, 130.3, 124.5, 122.9, 120.6, 105.1, 103.4, 74.9, 68.0, 62.0, 60.8, 58.5, 56.1, 33.8, 31.5, 13.3, 12.3, 9.6, 3.6. HRMS calcd for (C₂₇H₃₈N₃O₄S) [M + H]⁺ 500.2578; found 500.2576.

第 2 節 各種薬理データに関する実験

受容体結合阻害実験

実験には、Chen らの方法⁵ に従い調製したヒト CRF₁ 受容体を発現させた HEK293 細胞の膜画分を用いた。96 穴プレートを用い、シンチレーション近接アッセイ法 (SPA 法, Amersham Pharmacia, UK) により行った。WGA (コムギ胚芽凝集素) でコーティングした SPA ビーズ (1 mg/well) HEK293 細胞膜画分 (5 µg/well) および 0.1 nM [¹²⁵I] human/rat CRF を、被験化合物存在下 150 µL の緩衝液 (137 mM NaCl, 8.1 mM Na₂HPO₄, 2.7 mM KCl, 1.5 mM KH₂PO₄, 10 mM MgCl₂, 2 mM EGTA, 1.5%ウシ血清アルブミン[BSA], pH 7.0) に懸濁し、室温で 2 時間以上インキュベートした。遠心 (260 xg, 5 分間, 室温) 後、各 well の放射活性を TopCount で 1 well あたり 1 分の計数時間で測定した。それぞれの値から、0.4 µM の非ラベル化 sauvagine を加えた場合の非特異的結合の放射活性を差し引き、非ラベル化 sauvagine を加えていない全結合量の放射活性に対する各値の割合を%で表した。IC₅₀ 値は、被験化合物の濃度を横軸に、全結合量の放射活性に対する各値の割合 (%) を縦軸にした結合阻害曲線より算出した。

ヒト CRF_{2α} 受容体に対する結合実験は、Liaw らの方法³⁹ に従い調製したヒト CRF_{2α} 受容体を発現させた HEK293 細胞の膜画分を用いた。上記の CRF₁ 受容体に対する実験と同様の手法により ([¹²⁵I] human/rat CRF の代わりに 0.1 nM [¹²⁵I] sauvagine を用い) 行った。

cAMP 産生抑制実験

Dieterich らの方法⁵⁰ を一部改良し、ヒト神経芽腫細胞株である IMR-32 細胞を用い、CRF により誘発される細胞内 cAMP 産生に対する被験化合物の産生抑制活性の評価を行った。

cAMP 産生は、酵素免疫測定キット (EIA 法, Amersham Pharmacia, UK) を用いて測定した。1 mM の 3-イソブチル-1-メチルキサンチン存在下、10%ウシ胎仔血清含有 MEM Earle 培地に IMR-32 細胞 (100000 cells/well) を 96 穴プレートに蒔いた。30 分間プレインキュベーションした後、被験化合物の溶液を加え、さらに 37 °C で 30 分間インキュベーションした。1 nM human/rat CRF を加え 37 °C にて 30 分間細胞を刺激した後、遠心分離 (630 xg, 5 分間, 4 °C) した。培地を吸引除去した後、細胞を Lysis buffer で溶解し、キットの測定マニュアルに従い細胞内 cAMP を測定した。それぞれの cAMP 産生量の値から、CRF 非投与の cAMP 産生量をバックグラウンドとして差し引き、化合物存在下の cAMP 量を化合物未添加時の cAMP 量に対する割合 (%) として示した。濃度反応曲線から IC₅₀ 値を算出した。

ラット CRF 誘発排便亢進抑制試験

試験には、雄性 Fischer 344 ラット (n = 6 / 群, 非絶食, 日本チャールズリバー) を用いた。被験化合物を経口投与した一時間後にラットをエーテルで軽く麻酔し、尾静脈から CRF (10 µg/kg) を静脈内注射した。CRF 対照群には、同量の投与媒体 (ジメチルスルホキシド / cremophor / 生理食塩水 (5:5:90, v/v/v), 5 mL/kg) のみを経口投与した。その後、ラットを個別ケージに入れ、4 時間後に排便量 (g) を測定した。結果は、CRF 対照群に対する化合物投与群の排便量の割合 (%) で表した。

CRF 誘発血中 ACTH 産生抑制試験

試験には、雄性 Fischer 344 ラット (n = 8 / 群, 非絶食, 日本チャールズリバー) を用いた。被験化合物を経口投与した一時間後に、CRF (10 µg/kg) を皮下注射した。対照群には、同量の投与媒体 (0.5%メチルセルロース, 5 mL/kg) のみを経口投与した。CRF 投与の 30 分後に断頭することにより血液サンプルを採取し、氷冷しながら 100 mg/mL EDTA 2Na 溶液 (100 µL) と混合し攪拌した後、氷冷した。遠心分離 (1,000 xg, 4 °C, 5 分間) により得られた血漿サンプル中の ACTH 濃度は ACTH IRMA キット (免疫放射定量測定法, 三菱化学メディエンス) を用いて決定し、その放射活性はシンチレーションカウンター (ARC-1000M, ALOKA) を用いて測定した。ACTH 濃度は標準溶液を用いて検量線を作成し算出した。

マウス明暗箱試験

実験は、雄性 BALB/c マウス (n = 12 / 群, 日本チャールズリバー) を用い、74 ページと同様の方法で行った。

第3節 薬物動態に関する実験

ヒト肝ミクロゾーム分画を用いた代謝試験

ヒト肝代謝固有クリアランスは酵素反応溶液中の被験物質の消失より求めた。

実験は、最終濃度 0.1 mg/mL のヒト肝ミクロゾーム (n = 150, BD, USA)、100 mmol/L リン酸バッファー (pH 7.4)、0.1 mmol/L EDTA および被験化合物 (最終濃度 0.3 μmol/L, 0.03% ジメチルスルホキシド) を含む溶液に NADPH 生成系を添加して行った。なお、NADPH 生成系は β-NADP⁺ (3.3 mmol/L)、G6P (80 mmol/L)、MgCl₂ (60 mmol/L) および G6PDH (1 unit/mL) を混合して調製した。NADPH 生成系添加後、37 °C で 0 分または 15 分間インキュベーションしたのち、内部標準を含むアセトニトリル/メタノール混合溶媒を加え反応を停止した。遠心分離後得られた上澄みを LC/MS/MS により分析した。

ラットPK試験

雄性SDラット (n = 3, 絶食下, 日本チャールズリバー) を用い、静脈内注射 (3 mg/kg) および経口投与 (10 mg/kg) によるPK試験を行った。静脈投与用の投与液は、1%エタノール-0.1 mol/L 塩酸-グルコースにより3 mg/mLになるように調製した。経口投与用の投与液は、5% エタノール-0.1 mol/L 塩酸-グルコースにより2 mg/mLになるように調製した。静脈内注射では、投与後5分および 0.25, 0.5, 1, 2, 4, 6, 8 時間後に、経口投与では、投与後 0.25, 0.5, 1, 2, 4, 6, 8 時間後に採血を行った。遠心分離を行うことにより血漿試料を得、分析まで凍結保存した。化合物の血漿中濃度の測定は LC/MS/MS 法により行った。血漿試料(100 μL)に内部標準(イミプラミン)を含むアセトニトリル(250 μL)を加え除タンパクを行い遠心分離したのち、得られた上澄み(5 μL)を逆相クロマトグラフィーに供した。カラムは、CAPCELL PAK C18 MGIII (2.0 mm i.d. × 150 mm, 資生堂) を用い、移動相はA : 0.1%ギ酸 / 水、B : 0.1%ギ酸 / アセトニトリルとし、流速 : 0.5 mL/min、グラジエントを[B%, 30% (0–1 min), 30–95% (1–3 min), 95% (3–5 min)]とした。イオン化にESI法(ポジティブモード)を利用し、被験化合物は504.26 > 419.2、内部標準は281.1 > 86.1のparent-daughterピークをモニターした。

略号

Ac	acetyl
ACTH	adrenocorticotropic hormone
Ar	aryl
Boc	<i>tert</i> -butoxycarbonyl
Bu	butyl
<i>c</i> Pr	cyclopropyl
cAMP	adenosine-3',5'-cyclic monophosphate
CRF	corticotropin-releasing factor
DAST	<i>N,N</i> -diethylaminosulfur trifluoride
DME	1,2-dimethoxyethane
DMF	<i>N,N</i> -dimethylformamide
DMSO	dimethylsulfoxide
Et	ethyl
GPCR	G protein-coupled receptor
hCLint	intrinsic clearance in human liver microsomes
HPA	hypothalamic-pituitary-adrenocortical
HPLC	high-pressure liquid chromatography
HRMS	high-resolution mass spectroscopy
Me	methyl
NMR	nuclear magnetic resonance
Ms	methanesulfonyl
<i>n</i> -	normal-
Ph	phenyl
PK	pharmacokinetics
rt	room temperature
SAM	sympathetic nervous-adrenal medullary
SEM	standard error of the mean
SSRI	selective serotonin reuptake inhibitors
SNRI	serotonin-noradrenaline reuptake inhibitors
TBAF	tetra- <i>n</i> -butylammonium fluoride
TBDMS	<i>tert</i> -butyldimethylsilyl

<i>tert</i>	tertiary
TFA	trifluoroacetic acid
THF	tetrahydrofuran
THP	tetrahydropyranyl
Ts	<i>p</i> -toluenesulfonyl

引用文献

1. Vale, W.; Spiess, J.; Rivier, C.; Rivier, J. Characterization of a 41-residue ovine hypothalamic peptide that stimulates secretion of corticotropin and beta-endorphin. *Science* **1981**, *213*, 1394–1397.
2. Owens, M. J.; Nemeroff, C. B. Physiology and Pharmacology of Corticotropin-releasing Factor. *Pharmacol. Rev.* **1991**, *43*, 425–473.
3. Spiess, J.; Dautzenberg, F. M.; Sydow, S.; Hauger, R. L.; Rühmann, A.; Blank, T.; Radulovic, J. Molecular Properties of the CRF Receptor. *Trends Endocrinol. Metab.* **1998**, *9*, 140–145.
4. Kostich, W. A.; Chen, A.; Sperle, K.; Largent, B. L. Molecular Identification and Analysis of a Novel Human Corticotropin-Releasing Factor (CRF) Receptor: The CRF_{2y} Receptor. *Mol. Endocrinol.* **1998**, *12*, 1077–1085.
5. Chen, R.; Lewis, K. A.; Perrin, M. H.; Vale, W. W. Expression cloning of a human corticotropin-releasing-factor receptor. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **1993**, *90*, 8967–8971.
6. Perrin, M. H.; Grace, C. R. R.; Riek, R.; Vale, W. W. The Three-Dimensional Structure of the N-Terminal Domain of Corticotropin-Releasing Factor Receptors. Sushi Domains and the B1 Family of G Protein–Coupled Receptors. *Ann. N.Y. Acad. Sci.* **2006**, *1070*, 105–119.
7. Conn, P. J.; Christopoulos, A.; Lindsley, C. W. Allosteric modulators of GPCRs: a novel approach for the treatment of CNS disorders. *Nat. Rev. Drug Discovery* **2009**, *8*, 41–54.
8. Bridges, T. M.; Lindsley, C. W. G-Protein-Coupled Receptors: From Classical Modes of Modulation to Allosteric Mechanisms. *ACS Chem. Biol.* **2008**, *3*, 530–541.
9. Christopoulos, A.; Kenakin, T. G Protein-Coupled Receptor Allosterism and Complexing. *Pharmacol. Rev.* **2002**, *54*, 323–374.
10. Christopoulos, A. Allosteric binding sites on cell-surface receptors: Novel targets for drug discovery. *Nat. Rev. Drug Discovery* **2002**, *1*, 198–210.
11. Hoare, S.R. Mechanisms of peptide and nonpeptide ligand binding to Class B G-protein-coupled receptors. *Drug Discov. Today* **2005**, *10*, 417–427
12. Hoare, S.R.; Sullivan, S, K.; Schwarz, D, A.; Ling, N.; Vale, W, W.; Crowe, P, D.; Grigoriadis, D, E. Ligand affinity for amino-terminal and juxtamembrane domains of

- the corticotropin releasing factor type I receptor: regulation by Gprotein and nonpeptide antagonists. *Biochemistry* **2004**, *43*, 3996–4011
13. Li, Y. -W.; Fitzgerald, L.; Wong, H.; Lelas, S.; Zhang, G.; Lindner, M. D.; Wallace, T.; McElroy, J.; Lodge, N. J.; Gilligan, P.; Zaczek, R. The Pharmacology of DMP696 and DMP904, Non-Peptidergic CRF₁ Receptor Antagonists. *CNS Drug Rev* **2005**, *11*, 21–52.
 14. Hoare, S.R.; Fleck, B. A.; Gross, R, S.; Crowe, P. D.; Williams, J. P.; Grigoriadis, D, E. Allosteric Ligands for the Corticotropin Releasing Factor Type 1 Receptor Modulate Conformational States Involved in Receptor Activation. *Mol. Pharmacol.* **2008**, *73*, 1371–1380.
 15. Smith, G. W.; Aubry, J.-M.; Dellu, F.; Contrarino, A.; Bilezikjian, L. M.; Gold, L. H.; Chen, R.; Marchuk, Y.; Hauser, C.; Bentley, C. A.; Sawchenko, P. E.; Koob, G. F.; Vale, W.; Lee, K.-F. Corticotropin Releasing Factor Receptor 1-Deficient Mice Display Decreased Anxiety, Impaired Stress Response, and Aberrant Neuroendocrine Development. *Neuron* **1998**, *20*, 1093–1102.
 16. Timpl, P.; Spanagel, R.; Sillaber, I.; Kresse, A.; Reul, J. M. H. M.; Stalla, G. K.; Blanquet, V.; Steckler, T.; Holsboer, F.; Wurst, W. Impaired stress response and reduced anxiety in mice lacking a functional corticotropin-releasing hormone receptor 1. *Nat. Genet.* **1998**, *19*, 162–166.
 17. Dunn, A. J.; Berridge, C. W. Physiological and behavioral responses to corticotropin-releasing factor administration: is CRF a mediator of anxiety or stress responses? *Brain Res. Rev.* **1990**, *15*, 71–100.
 18. Nemeroff, C. B.; Widerlov, E.; Bissette, G.; Walleus, H.; Karlsson, I.; Eklund, K.; Kilts, C. D.; Loosen, P. T.; Vale, W. Elevated concentrations of CSF corticotropin-releasing factor-like immunoreactivity in depressed patients. *Science* **1984**, *226*, 1342–1344.
 19. Arborelius, L.; Owens, M. J.; Plotsky, P. M.; Nemeroff, C. B. The role of corticotropin-releasing factor in depression and anxiety disorders. *J. Endocrinol.* **1999**, *160*, 1–12.
 20. Zorrilla, E. P.; Koob, G. F. Progress in corticotropin-releasing factor-1 antagonist development. *Drug Discov. Today* **2010**, *15*, 371–383.
 21. Ising, M.; Zimmermann, U. S.; Künzel, H. E.; Uhr, M.; Foster, A. C.; Learned-Coughlin, S. M.; Holsboer, F.; Grigoriadis, D. E. High-Affinity CRF₁ Receptor Antagonist

- NBI-34041: Preclinical and Clinical Data Suggest Safety and Efficacy in Attenuating Elevated Stress Response. *Neuropsychopharmacology* **2007**, *32*, 1941–1949.
22. Heinrichs, S. C.; De Souza, E. B.; Schulteis, G.; Lapsansky, J. L.; Grigoriadis, D. E. Brain Penetrance, Receptor Occupancy and Antistress In Vivo Efficacy of a Small Molecule Corticotropin Releasing Factor Type I Receptor Selective Antagonist. *Neuropsychopharmacology* **2002**, *27*, 194–202.
 23. Gutman, D. A.; Owens, M. J.; Skelton, K. H.; Thirivikraman, K. V.; Nemeroff, C. B. The Corticotropin-Releasing Factor₁ Receptor Antagonist R121919 Attenuates the Behavioral and Endocrine Responses to Stress. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **2003**, *304*, 874–880.
 24. Mansbach, R. S.; Brooks, E. N.; Chen, Y. L. Antidepressant-like effects of CP-154,526, a selective CRF₁ receptor antagonist. *Eur. J. Pharmacol.* **1997**, *323*, 21–26.
 25. Arborelius, L.; Skelton, K. H.; Thirivikraman, K. V.; Plotsky, P. M.; Schulz, D. W.; Owens, M. J. Chronic Administration of the Selective Corticotropin-Releasing Factor 1 Receptor Antagonist CP-154,526: Behavioral, Endocrine and Neurochemical Effects in the Rat. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **2000**, *294*, 588–597.
 26. Schulz, D. W.; Mansbach, R. S.; Sprouse, J.; Braselton, J. P.; Collins, J.; Corman, M.; Dunaiskis, A.; Faraci, S.; Schmidt, A. W.; Seeger, T.; Seymour, P.; Tingley, F. D. III.; Winston, E. N.; Chen, Y. L.; Heym, J. CP-154,526: A potent and selective nonpeptide antagonist of corticotropin releasing factor receptors. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **1996**, *93*, 10477–10482.
 27. Li, Y.-W.; Hill, G.; Wong, H.; Kelly, N.; Ward, K.; Pierdomenico, M.; Ren, S.; Gilligan, P.; Grossman, S.; Trainor, G.; Taub, R.; McElroy, J.; Zazcek, R. Receptor Occupancy of Nonpeptide Corticotropin-Releasing Factor 1 Antagonist DMP696: Correlation with Drug Exposure and Anxiolytic Efficacy. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **2003**, *305*, 86–96.
 28. Chen, C.; Grigoriadis, D. E. NBI 30775 (R121919), an Orally Active Antagonist of the Corticotropin-releasing Factor (CRF) Type-1 Receptor for the Treatment of Anxiety and Depression. *Drug Dev. Res.* **2005**, *65*, 216–226.
 29. Zobel, A. W.; Nickel, T.; Künzel, H. E.; Ackl, N.; Sonntag, A.; Ising, M.; Holsboer, F. Effects of the high-affinity corticotropin-releasing hormone receptor 1 antagonist R121919 in major depression: the first 20 patients treated. *J. Psychiatric Res.* **2000**, *34*, 171–181.

30. Binneman, B.; Feltner, D.; Kolluri, S.; Shi, Y.; Qiu, R.; Stiger, T. A 6-Week Randomized, Placebo-Controlled Trial of CP-316,311 (a Selective CRH₁ Antagonist) in the Treatment of Major Depression. *Amer. J. Psychiatry* **2008**, *165*, 617–620.
31. Chen, C.; Wilcoxon, K. M.; Huang, C. Q.; Xie, Y.-F.; McCarthy, J. R.; Webb, T. R.; Zhu, Y.-F.; Saunders, J.; Liu, X.-J.; Chen, T.-K.; Bozigian, H.; Grigoriadis, D. E. Design of 2,5-dimethyl-3-(6-dimethyl-4-methylpyridin-3-yl)-7-dipropylaminopyrazolo[1,5-*a*]pyrimidine (NBI 30775/R121919) and structure-activity relationships of a series of potent and orally active corticotropin-releasing factor receptor antagonists. *J. Med. Chem.* **2004**, *47*, 4787–4798.
32. Chen, Y. L.; Mansbach, R. S.; Winter, S. M.; Brooks, E.; Collins, J.; Corman, M. L.; Dunaiskis, A. R.; Faraci, W. S.; Gallaschun, R. J.; Schmidt, A.; Schulz, D. W. Synthesis and Oral Efficacy of a 4-(Butylethylamino)pyrrolo[2,3-*d*]pyrimidine: A Centrally Active Corticotropin-Releasing Factor₁ Receptor Antagonist. *J. Med. Chem.* **1997**, *40*, 1749–1754.
33. He, L.; Gilligan, P. J.; Zaczek, R.; Fitzgerald, L. W.; McElroy, J.; Shen, H.-S. L.; Saye, J. A.; Kalin, N. H.; Shelton, S.; Christ, D.; Trainor, G.; Hartig, P. 4-(1,3-Dimethoxyprop-2-ylamino)-2,7-dimethyl-8-(2,4-dichlorophenyl)-pyrazolo[1,5-*a*]-1,3,5-triazine: a potent, orally bioavailable CRF₁ receptor antagonist. *J. Med. Chem.* **2000**, *43*, 449–456.
34. Chen, Y. L.; Braselton, J.; Forman, J.; Gallaschun, R. J.; Mansbach, R.; Schmidt, A. W.; Seeger, T. F.; Sprouse, J. F.; Tingley, F. D.; Winston, E. III; Schulz, D. W. Synthesis and SAR of 2-aryloxy-4-alkoxy-pyridines as potent orally active corticotropin-releasing factor 1 receptor antagonists. *J. Med. Chem.* **2008**, *51*, 1377–1384.
35. Gilligan, P. J.; Robertson, D. W.; Zaczek, R. Corticotropin Releasing Factor (CRF) Receptor Modulators: Progress and Opportunities for New Therapeutic Agents. *J. Med. Chem.* **2000**, *43*, 1641–1660.
36. Metabolism-Directed Design of Oxetane-Containing Arylsulfonamide Derivatives as γ -Secretase Inhibitors. Stepan, A. F.; Karki, K.; McDonald, W. S.; Dorff, P. H.; Dutra, J. K.; DiRico, K. J.; Won, A.; Subramanyam, C.; Efremov, I. V.; O'Donnell, C. J.; Nolan, C. E.; Becker, S. L.; Pustilnik, L. R.; Sneed, B.; Sun, H.; Lu, Y.; Robshaw, A. E.; Riddell, D.; O'Sullivan, T. J.; Sibley, E.; Capetta, S.; Atchison, K.; Hallgren, A. J.; Miller, E.; Wood, A.; Obach, R. S. *J. Med. Chem.* **2011**, *54*, 7772–7783.

37. Sugaya, Y.; Yoshiba, T.; Kajima, T.; Ishihama, Y. Development of Solubility Screening Methods in Drug Discovery. *YAKUGAKU ZASSHI* **2002**, *122*, 237–246.
38. Okuyama, S.; Chaki, S.; Kawashima, N.; Suzuki, Y.; Ogawa, A.; Nakazato, A., Kumagai, T., Okubo, T.; Tomisawa K. Receptor binding, behavioral, and electrophysiological profiles of nonpeptide corticotropin-releasing factor subtype 1 receptor antagonists CRA1000 and CRA1001. *J. Pharm. Exp. Ther.* **1999**, *289*, 926–935.
39. Liaw, C. W.; Lovenberg, T. W.; Barry, G.; Oltersdorf, T.; Grigoriadis, D. E.; de Souza, E. B. Cloning and characterization of the human corticotropin-releasing factor-2 receptor complementary deoxyribonucleic acid. *Endocrinology* **1996**, *137*, 72–77.
40. Rivier, C.; Brownstein, M.; Spiess, J.; Rivier, J.; Vale, W. In Vivo Corticotropin-Releasing Factor-Induced Secretion of Adrenocorticotropin, β -Endorphin, and Corticosterone. *Endocrinology* **1982**, *110*, 272–278.
41. Detke, M. J.; Johnson, J.; Lucki, I. Acute and chronic antidepressant drug treatment in the rat forced swimming test model of depression. *Experimental and Clinical Psychopharmacology* **1997**, *5*, 107–12.
42. Belzung, C.; Misslin, R.; Vogel, E. Behavioural effects of the benzodiazepine receptor partial agonist RO 16-6028 in mice. *Psychopharmacology* **1989**, *97*, 388–391.
43. Treit, D.; Pinel, J.P.J.; Fibiger, H. Conditioned defensive burying: A new paradigm for the study of anxiolytic agents. *Pharmac. Biochem. Behav.* **1981**, *15*, 619–626.
44. Tamura, Y.; Minamikawa, J.; Sumoto, K.; Fujii, S.; Ikeda, M. Synthesis and some properties of O-acyl and O-nitrophenylhydroxylamines. *J. Org. Chem.* **1973**, *38*, 1239–1241.
45. Tsuchiya, T.; Sashida, H.; Konoshita, A. Thermal Rearrangements of Cyclic Amine Ylides. III. Intramolecular Cyclization of 2-Ethynylpyridine N-Imides to 3-Azaindolizine Derivatives. *Chem. Pharm. Bull.* **1983**, *31*, 4568–5572.
46. Ochi, H.; Miyasaka, T.; Kanada, K.; Arakawa, K. Studies of Heterocyclic Compounds. VIII. Synthesis and Tautomerism of 2-Hydroxypyrazolo[1,5-*a*]pyridine. *Bull. Chem. Soc. Japan* **1976**, *49*, 1980–1984.
47. Fujito, H.; Tominaga, Y.; Matsuda, Y.; Kobayashi, G. Reaction of Pyridinium and Isoquinolinium N-imines with Ketenethioacetals. *Heterocycles* **1977**, *6*, 379–382.

48. Williams, C. L.; Peterson, J. M.; Villar, R. G.; Burks, T. F. Corticotropin-releasing factor directly mediates colonic responses to stress. *Am. J. Physiol.* **1987**, *253*, G582–G586.
49. Saunders, P. R.; Maillot, C.; Million, M.; Tache, Y. Peripheral corticotropin-releasing factor induces diarrhea in rats: role of CRF₁ receptor in fecal watery excretion. *European Journal of Pharmacology* **2002**, *435*, 231–235.
50. Dieterich, K. D.; De Souza, E. B. Functional corticotropin-releasing factor receptors in human neuroblastoma cells. *Brain Res.* **1996**, *733*, 113–118.
51. Koga, H.; Hirobe, M.; Okamoto, T. Syntheses of Novel Antimicrobial Compounds: Pyrazolo[5,1-*b*]thiazole, Imidazo[1,2-*b*]pyrazole, and Thiazolo[3,2-*b*]dihydro-1,2-diazepine. *Chem. Pharm. Bull.* **1974**, *22*, 482–484.

謝辞

本論分の発表にあたり、終始ご指導とご鞭撻を賜りました東京大学薬学系研究科 岩坪 威教授に謹んで感謝の意を表します。

本論分をまとめるにあたり、非常に有益なご助言と御校閲を賜りました東京大学薬学系研究科 松木 則夫教授、東京大学薬学系研究科 大和田 智彦教授、東京大学薬学系研究科 金井 求教授に感謝申し上げます。

本研究を行う機会を与えていただきましたエーザイ株式会社 内藤 晴夫 代表取締役社長、木村 禎治部長、北澤 則孝課長に厚く御礼申し上げます。

本研究の共同研究者として、絶大なるご協力をいただきました以下の方々に対し、深く感謝の意を表します(順不同)。合成系において、日比 滋樹氏、慎 光玉氏、菊池 浩一氏、星野 偉久氏、寺内 太郎氏、橋爪 みな子氏、武田 邦稔氏、薬理系において、柴田 寿氏、伊野 充洋氏、田口 良太氏、志方 幸道氏、体内動態研究において、藤澤 正枝氏、物性研究において、村田 薫氏。

さらに、分析研究、計算科学領域を始めとする多くの方々が本研究にご協力下さいました。ここに篤く御礼申し上げます。

博士号取得に際し、本論分の作成開始時から終始ご支援を賜りました東京大学薬学系研究科 世永 雅弘客員教授に心より感謝申し上げます。