

【公報種別】特許法第17条の2の規定による補正の掲載

【部門区分】第3部門第2区分

【発行日】平成16年12月24日(2004.12.24)

【公表番号】特表2004-500308(P2004-500308A)

【公表日】平成16年1月8日(2004.1.8)

【年通号数】公開・登録公報2004-001

【出願番号】特願2000-535620(P2000-535620)

【国際特許分類第7版】

C 0 7 C 233/56  
A 6 1 K 31/196  
A 6 1 K 31/381  
A 6 1 K 31/4035  
A 6 1 K 31/404  
A 6 1 K 31/415  
A 6 1 K 31/42  
A 6 1 K 31/422  
A 6 1 K 31/4245  
A 6 1 K 31/4365  
A 6 1 K 31/44  
A 6 1 K 31/4409  
A 6 1 K 31/444  
A 6 1 K 31/4709  
A 6 1 K 31/4965  
A 6 1 K 31/513  
A 6 1 K 31/5377  
A 6 1 P 3/04  
A 6 1 P 3/10  
A 6 1 P 5/02  
A 6 1 P 11/06  
A 6 1 P 17/00  
A 6 1 P 17/06  
A 6 1 P 19/02  
A 6 1 P 19/10  
A 6 1 P 25/18  
A 6 1 P 25/28  
A 6 1 P 29/00  
A 6 1 P 31/04  
A 6 1 P 35/00  
A 6 1 P 37/06  
A 6 1 P 37/08  
A 6 1 P 43/00  
C 0 7 C 237/22  
C 0 7 D 209/08  
C 0 7 D 209/14  
C 0 7 D 213/79  
C 0 7 D 213/80  
C 0 7 D 231/40  
C 0 7 D 239/54  
C 0 7 D 241/26

C 0 7 D 261/08  
 C 0 7 D 271/10  
 C 0 7 D 333/38  
 C 0 7 D 333/40  
 C 0 7 D 333/66  
 C 0 7 D 333/68  
 C 0 7 D 409/04  
 C 0 7 D 409/06  
 C 0 7 D 413/04  
 C 0 7 D 495/04  
 C 0 7 D 513/04

## 【 F I 】

C 0 7 C 233/56	Z C C
A 6 1 K 31/196	
A 6 1 K 31/381	
A 6 1 K 31/4035	
A 6 1 K 31/404	
A 6 1 K 31/415	
A 6 1 K 31/42	
A 6 1 K 31/422	
A 6 1 K 31/4245	
A 6 1 K 31/4365	
A 6 1 K 31/44	
A 6 1 K 31/4409	
A 6 1 K 31/444	
A 6 1 K 31/4709	
A 6 1 K 31/4965	
A 6 1 K 31/513	
A 6 1 K 31/5377	
A 6 1 P 3/04	
A 6 1 P 3/10	
A 6 1 P 5/02	
A 6 1 P 11/06	
A 6 1 P 17/00	
A 6 1 P 17/06	
A 6 1 P 19/02	
A 6 1 P 19/10	
A 6 1 P 25/18	
A 6 1 P 25/28	
A 6 1 P 29/00	1 0 1
A 6 1 P 31/04	
A 6 1 P 35/00	
A 6 1 P 37/06	
A 6 1 P 37/08	
A 6 1 P 43/00	1 1 1
C 0 7 C 237/22	
C 0 7 D 209/08	
C 0 7 D 209/14	
C 0 7 D 213/79	
C 0 7 D 213/80	

C 0 7 D 231/40  
 C 0 7 D 241/26  
 C 0 7 D 261/08  
 C 0 7 D 271/10  
 C 0 7 D 333/38  
 C 0 7 D 333/40  
 C 0 7 D 333/66  
 C 0 7 D 333/68  
 C 0 7 D 409/04  
 C 0 7 D 409/06  
 C 0 7 D 413/04  
 C 0 7 D 495/04      1 0 5 A  
 C 0 7 D 495/04      1 1 1  
 C 0 7 D 513/04  
 C 0 7 D 239/54                  B

## 【手続補正書】

【提出日】平成12年10月13日(2000.10.13)

## 【手続補正1】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】全文

【補正方法】変更

【補正の内容】

【書類名】明細書

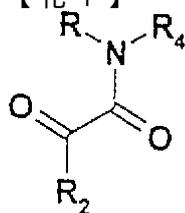
【発明の名称】プロテインチロシンホスアターゼのモジュレーター

【特許請求の範囲】

【請求項1】下記の3つの基準を満足する化合物：

(1) 式Iにより表される構造を有する：

【化1】



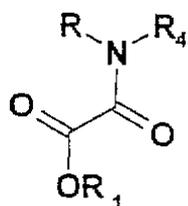
式I

式中、R、R<sub>2</sub>およびR<sub>4</sub>は任意の化学的基または化学的基の組合わせである；

(2) ホスホチロシン認識単位リガンド、好ましくはSH2ドメインを含有する1またはそれ以上のタンパク質またはPTPアーゼのインヒビターまたはモジュレーターとして作用する；そして(3) 2500ダルトンより低いか、あるいはそれに等しい分子量を有する。

【請求項2】式IIにより表される請求項1に記載の化合物：

【化2】

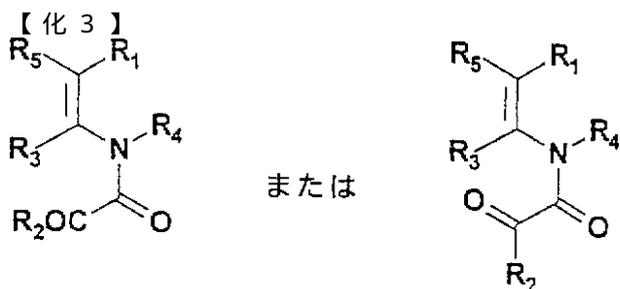


式II

式中、式中、R、R<sub>2</sub> および R<sub>4</sub> は任意の化学的基または化学的基の組合わせであり、そして R<sub>1</sub> は好ましくは H である。

【請求項3】下記の3つの基準を満足する化合物：

(1) 式IIIにより表される構造を有する：

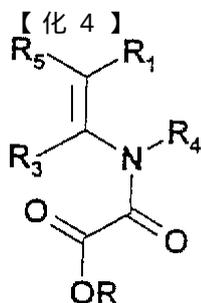


式III

式中、R<sub>1</sub>、R<sub>2</sub>、R<sub>3</sub>、R<sub>4</sub> および R<sub>5</sub> は任意の化学的基または化学的基の組合わせであり、そして R<sub>3</sub> および R<sub>5</sub> は互いに共有結合している；

(2) ホスホチロシン認識単位リガンド、好ましくは SH2 ドメインを含有する1またはそれ以上のタンパク質または PTP アーゼのインヒビターまたはモジュレーターとして作用する；そして (3) 2500 ダルトンより低いか、あるいはそれに等しい分子量を有する。

【請求項4】式IVにより表される請求項3に記載の化合物：

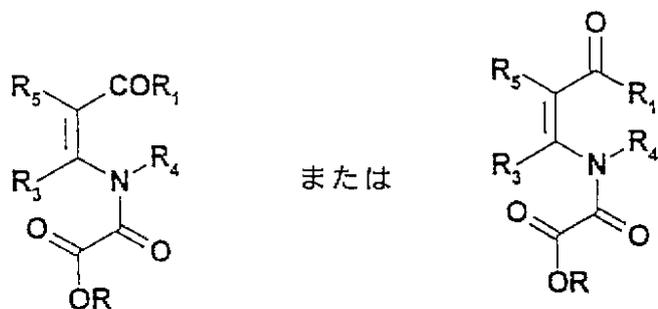


式IV

式中、R<sub>1</sub>、R<sub>3</sub>、R<sub>4</sub> および R<sub>5</sub> は任意の化学的基または化学的基の組合わせであり、R<sub>3</sub> および R<sub>5</sub> は互いに共有結合しており、そして R は好ましくは H である。

【請求項5】式Vにより表される請求項4に記載の化合物：

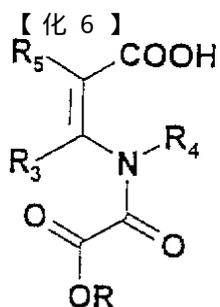
【化5】



式V

式中、 $R_1$ 、 $R_3$ 、 $R_4$  および  $R_5$  は任意の化学的基または化学的基の組合わせであり、 $R_3$  および  $R_5$  は互いに共有結合しており、そして  $R$  は好ましくは  $H$  である。

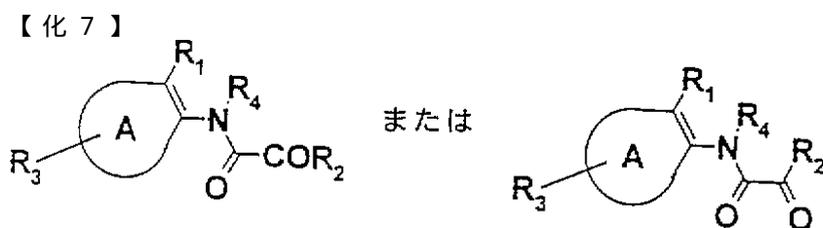
【請求項6】式VIにより表される請求項5に記載の化合物：



式VI

式中、 $R_3$ 、 $R_4$  および  $R_5$  は任意の化学的基または化学的基の組合わせであり、 $R_3$  および  $R_5$  は互いに共有結合しており、そして  $R$  は好ましくは  $H$  である。

【請求項7】式VIIにより表される請求項3に記載の化合物：

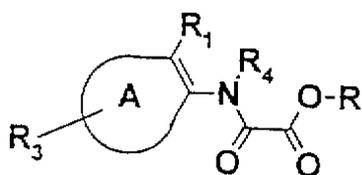


式VII

式中、 $A$  は式VII中の二重結合と一緒に上にて定義した任意のアリールを表し、そして  $R_1$ 、 $R_2$ 、 $R_3$  および  $R_4$  は任意の化学的基または化学的基の組合わせである。

【請求項8】式VIIIにより表される請求項7に記載の化合物：

【化8】

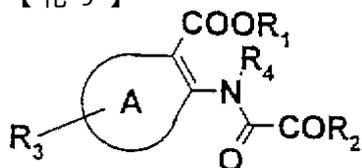


式VIII

式中、A は式VIIII中の二重結合と一緒に上にて定義した任意のアリールを表し、R、R<sub>1</sub>、R<sub>3</sub>およびR<sub>4</sub>は任意の化学的基または化学的基の組合わせであり、そしてRは好ましくはHである。

【請求項9】式IXにより表される請求項7に記載の化合物：

【化9】

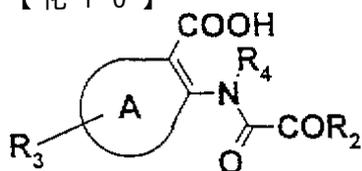


式IX

式中、A は式IX中の二重結合と一緒に上にて定義した任意のアリールを表し、そしてR<sub>1</sub>、R<sub>2</sub>、R<sub>3</sub>およびR<sub>4</sub>は任意の化学的基または化学的基の組合わせである。

【請求項10】式Xにより表される請求項9に記載の化合物：

【化10】

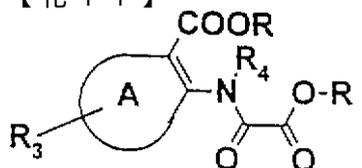


式X

式中、A は式X中の二重結合と一緒に上にて定義した任意のアリールを表し、そしてR<sub>2</sub>、R<sub>3</sub>およびR<sub>4</sub>は任意の化学的基または化学的基の組合わせである。

【請求項11】式XIにより表される請求項10に記載の化合物：

【化11】

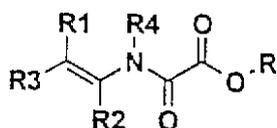


式XI

式中、A は式XI中の二重結合と一緒に上にて定義した任意のアリールを表し、R、R<sub>3</sub>およびR<sub>4</sub>は任意の化学的基または化学的基の組合わせであり、そしてRは好ましくはHである。

【請求項12】式XIIにより表される請求項10に記載の化合物：

【化12】



式XII

式中、 $R_1$  はプロトドナーおよび/またはプロトンアクセプター、好ましくは  $-COOH$ 、5-テトラゾリル、 $-NH_2$ 、 $-CONH_2$  であることができ、そして  $R$ 、 $R_2$ 、 $R_3$  および  $R_4$  は任意の化学的基または化学的基の組合わせである。

【請求項13】1 またはそれ以上の PTP アーゼの古典的、競合インヒビターとして実質的に作用する、前記請求項のいずれか一項に記載の化合物。

【請求項14】1 またはそれ以上の PTP アーゼの混合型インヒビターとして実質的に作用する、請求項1 ~ 12 のいずれか一項に記載の化合物。

【請求項15】チロシンキナーゼシグナリング経路の調節に関係する1 またはそれ以上の PTP アーゼのインヒビターとして実質的に作用する、請求項1 ~ 14 のいずれか一項に記載の化合物。

【請求項16】1 または2 以上の調節 PTP アーゼとの相互作用を介してレセプター-チロシンキナーゼシグナリング経路、好ましくはインスリンレセプターファミリーのインスリンレセプター、IGF-1 レセプターおよび/またはインスリンレセプターの他のメンバーのシグナリング経路、EGF レセプターファミリー、血小板由来成長因子レセプターファミリー、神経成長因子レセプターファミリー、肝細胞成長因子レセプターファミリー、成長因子レセプターファミリーおよび/または他のレセプター型チロシンキナーゼファミリーのメンバーのシグナリング経路を実質的に阻害またはモジュレートする、請求項1 ~ 14 のいずれか一項に記載の化合物。

【請求項17】1 またはそれ以上の調節 PTP アーゼのモジュレーション、好ましくは Src キナーゼファミリーまたは他の細胞内キナーゼのモジュレーションを通して、非レセプターチロシンキナーゼのシグナリングを実質的に阻害またはモジュレートする、請求項1 ~ 14 のいずれか一項に記載の化合物。

【請求項18】シグナルトランスダクション経路を陰性に調節する1 またはそれ以上の PTP アーゼの活性を実質的に阻害またはモジュレートする、請求項1 ~ 14 のいずれか一項に記載の化合物。

【請求項19】シグナルトランスダクション経路を陽性に調節する1 またはそれ以上の PTP アーゼ、好ましくは CD45 の活性を実質的に阻害またはモジュレートする、請求項1 ~ 14 のいずれか一項に記載の化合物。

【請求項20】免疫細胞におけるシグナルトランスダクション経路を陽性に調節する1 またはそれ以上の PTP アーゼの活性を実質的に阻害またはモジュレートする、請求項1 ~ 14 のいずれか一項に記載の化合物。

【請求項21】シグナルトランスダクション経路を陰性に調節する1 またはそれ以上の PTP アーゼの活性を阻害またはモジュレートする、請求項1 ~ 14 のいずれか一項に記載の化合物。

【請求項22】1 またはそれ以上の PTP アーゼの活性部位への結合あるいは前記 PTP アーゼに対する基質の結合に陰性に影響を及ぼす他の部位への結合を介して、1 またはそれ以上の PTP アーゼを阻害する、アロステリックモジュレーターである、請求項1 ~ 14 のいずれか一項に記載の化合物。

【請求項23】酵素の活性部位の外側に位置する構造、好ましくは SH2 ドメインとの相互作用を介して、1 またはそれ以上の PTP アーゼの活性をモジュレートする、請求項1 ~ 14 のいずれか一項に記載の化合物。

【請求項24】非 PTP アーゼシグナリング分子の SH2 ドメインまたは PTB ドメインに対する本発明の化合物の結合を介して、シグナルトランスダクション経路をモジュ

レートする、請求項 1 ~ 14 のいずれか一項に記載の化合物。

【請求項 25】選択的 P T P アーゼインヒビターまたは選択的ホスホチロシン認識単位リガンドである化合物により特徴づけられる、前記請求項のいずれか一項に記載の化合物。

【請求項 26】非選択的 P T P アーゼインヒビターにより特徴づけられる請求項 1 ~ 24 のいずれか一項に記載の化合物。

【請求項 27】少なくとも 4 つの P T P アーゼまたは 4 つの P T P アーゼファミリーのインヒビターまたはモジュレーターにより特徴づけられる請求項 26 に記載の組成物。

【請求項 28】本明細書に記載されていない P T P アーゼに対して選択的であることにより特徴づけられる請求項 25 に記載の化合物。

【請求項 29】表 1 に列挙されている P T P アーゼに対して選択的であることにより特徴づけられる請求項 25 に記載の化合物。

【請求項 30】P T P ファミリーに対して選択的であることにより特徴づけられる請求項 25 に記載の化合物。

【請求項 31】P T P に対して選択的であることにより特徴づけられる請求項 25 に記載の化合物。

【請求項 32】P T P に対して選択的であることにより特徴づけられる請求項 25 に記載の化合物。

【請求項 33】C D 4 5 に対して選択的であることにより特徴づけられる請求項 25 に記載の化合物。

【請求項 34】P T P ファミリーに対して選択的であることにより特徴づけられる請求項 25 に記載の化合物。

【請求項 35】P T P に対して選択的であることにより特徴づけられる請求項 25 に記載の化合物。

【請求項 36】P T P - D E P 1 に対して選択的であることにより特徴づけられる請求項 25 に記載の化合物。

【請求項 37】P T P - L A R ファミリーに対して選択的であることにより特徴づけられる請求項 25 に記載の化合物。

【請求項 38】P T P - L A R に対して選択的であることにより特徴づけられる請求項 25 に記載の化合物。

【請求項 39】P T P に対して選択的であることにより特徴づけられる請求項 25 に記載の化合物。

【請求項 40】P T P に対して選択的であることにより特徴づけられる請求項 25 に記載の化合物。

【請求項 41】P T P  $\mu$  ファミリーに対して選択的であることにより特徴づけられる請求項 25 に記載の化合物。

【請求項 42】P T P  $\mu$  に対して選択的であることにより特徴づけられる請求項 25 に記載の化合物。

【請求項 43】P T P に対して選択的であることにより特徴づけられる請求項 25 に記載の化合物。

【請求項 44】P T P 1 B ファミリーに対して選択的であることにより特徴づけられる請求項 25 に記載の化合物。

【請求項 45】P T P 1 B に対して選択的であることにより特徴づけられる請求項 25 に記載の化合物。

【請求項 46】T C - P T P に対して選択的であることにより特徴づけられる請求項 25 に記載の化合物。

【請求項 47】S H P - P T P ファミリーに対して選択的であることにより特徴づけられる請求項 25 に記載の化合物。

【請求項 48】S H P - 1 に対して選択的であることにより特徴づけられる請求項 25 に記載の化合物。

【請求項 49】SHP-2 に対して選択的であることにより特徴づけられる請求項 25 に記載の化合物。

【請求項 50】PTP ファミリーに対して選択的であることにより特徴づけられる請求項 25 に記載の化合物。

【請求項 51】PTP に対して選択的であることにより特徴づけられる請求項 25 に記載の化合物。

【請求項 52】PTP に対して選択的であることにより特徴づけられる請求項 25 に記載の化合物。

【請求項 53】PTP-PESTファミリーに対して選択的であることにより特徴づけられる請求項 25 に記載の化合物。

【請求項 54】PTPH1 ファミリーに対して選択的であることにより特徴づけられる請求項 25 に記載の化合物。

【請求項 55】PTPH1 に対して選択的であることにより特徴づけられる請求項 25 に記載の化合物。

【請求項 56】PTPD1 に対して選択的であることにより特徴づけられる請求項 25 に記載の化合物。

【請求項 57】PTPD2 に対して選択的であることにより特徴づけられる請求項 25 に記載の化合物。

【請求項 58】PTPMEG1 に対して選択的であることにより特徴づけられる請求項 25 に記載の化合物。

【請求項 59】IA-2ファミリーに対して選択的であることにより特徴づけられる請求項 25 に記載の化合物。

【請求項 60】IA-2 に対して選択的であることにより特徴づけられる請求項 25 に記載の化合物。

【請求項 61】IA-2 に対して選択的であることにより特徴づけられる請求項 25 に記載の化合物。

【請求項 62】PTP ファミリーに対して選択的であることにより特徴づけられる請求項 25 に記載の化合物。

【請求項 63】PTP に対して選択的であることにより特徴づけられる請求項 25 に記載の化合物。

【請求項 64】PTP に対して選択的であることにより特徴づけられる請求項 25 に記載の化合物。

【請求項 65】PTP に対して選択的であることにより特徴づけられる請求項 25 に記載の化合物。

【請求項 66】1000ダルトンより小さい、好ましくは100ダルトンより大きい分子量を有する前記請求項のいずれか一項に記載の化合物。

【請求項 67】1 またはそれ以上のPTPアーゼに対して200  $\mu$ M より小さい $K_i$ 値を有する前記請求項のいずれか一項に記載の化合物。

【請求項 68】1 またはそれ以上のPTPアーゼに対して2  $\mu$ M より小さい $K_i$ 値を有する前記請求項のいずれか一項に記載の化合物。

【請求項 69】1 またはそれ以上のPTPアーゼに対して100 nM より小さい $K_i$ 値を有する前記請求項のいずれか一項に記載の化合物。

【請求項 70】1 またはそれ以上のホスホチロシン認識単位をもつ1 またはそれ以上の分子に対して200  $\mu$ M より小さい $IC_{50}$ 値を有する前記請求項のいずれか一項に記載の化合物。

【請求項 71】1 またはそれ以上のホスホチロシン認識単位をもつ1 またはそれ以上の分子に対して2  $\mu$ M より小さい $IC_{50}$ 値を有する前記請求項のいずれか一項に記載の化合物。

【請求項 72】1 またはそれ以上のホスホチロシン認識単位をもつ1 またはそれ以上の分子に対して100 nM より小さい $IC_{50}$ 値を有する前記請求項のいずれか一項に記

載の化合物。

【請求項73】1 つまたは2 のPTPアーゼまたはPTPアーゼファミリーに対して  $< 2 \mu\text{M}$  の  $K_i$  値および少なくとも2 つの他のPTPアーゼまたはPTPアーゼファミリーに対して  $> 50 \mu\text{M}$  の  $K_i$  値を有する、請求項1 ~ 66のいずれか一項に記載の化合物。

【請求項74】1 つまたは2 つPTPアーゼまたはPTPアーゼファミリーに対して  $< 100 \text{nM}$  の  $K_i$  値および少なくとも2 つの他のPTPアーゼまたはPTPアーゼファミリーに対して  $> 10 \mu\text{M}$  の  $K_i$  値を有する、請求項1 ~ 66のいずれか一項に記載の化合物。

【請求項75】1 またはそれ以上のPTPアーゼあるいは1 またはそれ以上のホスホチロシン認識単位をもつ1 またはそれ以上の分子の活性をモジュレートする薬物を製造するための前記請求項のいずれか一項に記載の化合物の使用。

【請求項76】糖尿病I型、糖尿病II型、障害されたグルコース耐性 (tolerance)、インスリン耐性 (resistance)、肥満症、免疫不全、例えば、自己免疫およびAIDS、凝固系の機能障害を有する疾患、アレルギー性疾患、オステオポロシス、増殖性障害、例えば、癌および乾癬、成長ホルモンの合成または作用が減少または増加した疾患、成長ホルモンの放出/それに対する応答を調節するホルモンまたはサイトカインの合成または作用が減少または増加した疾患、脳疾患、例えば、アルツハイマー病および精神分裂病、および感染症を管理、治療または予防する薬剤を製造するための、請求項1 ~ 74のいずれか一項に記載の化合物の使用。

【請求項77】糖尿病I型、糖尿病II型、障害されたグルコース耐性、インスリン耐性、および/または肥満症を管理、治療または予防する薬剤を製造するための、請求項1 ~ 74のいずれか一項に記載の化合物の使用。

【請求項78】免疫不全、例えば、慢性関節リウマチ、全身のエリテマトーデスのような自己免疫を管理、治療または予防する薬剤を製造するための、請求項1 ~ 74のいずれか一項に記載の化合物の使用。

【請求項79】免疫抑制剤として使用する薬剤を製造するための、請求項1 ~ 74のいずれか一項に記載の化合物の使用。

【請求項80】免疫不全、例えば、AIDSを有する症状管理または治療する薬剤を製造するための、請求項1 ~ 74のいずれか一項に記載の化合物の使用。

【請求項81】アレルギー性疾患、例えば、ぜん息およびアレルギー性皮膚疾患を管理、治療または予防する薬剤を製造するための、請求項1 ~ 74のいずれか一項に記載の化合物の使用。

【請求項82】増殖性障害、例えば、癌を管理、治療または予防する薬剤を製造するための、請求項1 ~ 74のいずれか一項に記載の化合物の使用。

【請求項83】オステオポロシスを管理、治療または予防する薬剤を製造するための、請求項1 ~ 74のいずれか一項に記載の化合物の使用。

【請求項84】乾癬を管理、治療または予防する薬剤を製造するための、請求項1 ~ 74のいずれか一項に記載の化合物の使用。

【請求項85】成長ホルモンの合成または作用が減少または増加した疾患、成長ホルモンの放出/それに対する応答を調節するホルモンまたはサイトカインの合成または作用が減少または増加した疾患を管理、治療または予防する薬剤を製造するための、請求項1 ~ 74のいずれか一項に記載の化合物の使用。

【請求項86】凝固系の機能障害を有する疾患を管理、治療または予防する薬剤を製造するための、請求項1 ~ 74のいずれか一項に記載の化合物の使用。

【請求項87】脳疾患、例えば、アルツハイマー病および精神分裂病を管理、治療または予防する薬剤を製造するための、請求項1 ~ 74のいずれか一項に記載の化合物の使用。

【請求項88】感染症を管理、治療または予防する薬剤を製造するための、請求項1 ~ 74のいずれか一項に記載の化合物の使用。

【請求項 89】請求項 1 ~ 74 のいずれか一項に記載の化合物と、薬学上許容される担体または希釈剤とを含んでなる医薬組成物。

【請求項 90】0.5 mg ~ 1000 mg / 単位の請求項 1 ~ 74 のいずれか一項に記載の化合物を含んでなる請求項 89 に記載の医薬組成物。

【請求項 91】管理を必要とする被検体に、有効量の請求項 1 ~ 74 のいずれか一項に記載の化合物または組成物を投与することからなる、前記被検体における 1 またはそれ以上の P T P アーゼまたは 1 またはそれ以上のホスホチロシン認識単位をもつ他の分子の活性をモジュレートする方法。

【請求項 92】適当な固相マトリックスにカップリングされた請求項 1 ~ 74 のいずれか一項に記載の化合物。

【請求項 93】下記の工程からなる、生物学的試料から請求項 1 ~ 74 のいずれか一項に記載の化合物に対するアフィニティーを有するタンパク質または糖タンパク質を単離する方法：

- ・ 請求項 89 に記載の固定化化合物を前記生物学的試料と接触させて、前記固定化化合物が前記タンパク質または糖タンパク質との結合により複合体を形成するようにさせ、
- ・ 前記生物学的試料から非結合物質を除去し、前記複合体を単離し、そして
- ・ 前記タンパク質または糖タンパク質を前記複合体から抽出する。

【請求項 94】下記の工程からなる、生物学的試料から請求項 1 ~ 74 のいずれか一項に記載の化合物に対するアフィニティーを有するタンパク質 - チロシンホスファターゼを単離する方法：

- ・ 請求項 89 に記載の固定化化合物を前記生物学的試料と接触させて、前記固定化化合物が前記タンパク質 - チロシンホスファターゼとの結合により複合体を形成するようにさせ、
- ・ 前記生物学的試料から非結合物質を除去し、前記複合体を単離し、そして
- ・ 前記タンパク質 - チロシンホスファターゼを抽出する。

【請求項 95】下記の工程からなる、生物学的試料から前記請求項のいずれか一項に記載の化合物に対するアフィニティーを有する、Src 相同性 2 ドメイン含有タンパク質またはホスホチロシン結合ドメイン含有タンパク質を単離する方法：

- ・ 請求項 89 に記載の固定化化合物を前記生物学的試料と接触させて、前記固定化化合物が前記 Src 相同性 2 ドメイン含有タンパク質またはホスホチロシン結合ドメイン含有タンパク質との結合により複合体を形成するようにさせ、
- ・ 前記生物学的試料から非結合物質を除去し、前記複合体を単離し、そして
- ・ 前記 Src 相同性 2 ドメイン含有タンパク質またはホスホチロシン結合ドメイン含有タンパク質を前記複合体から抽出する。

【請求項 96】蛍光または放射性分子にカップリングされた請求項 1 ~ 74 のいずれか一項に記載の化合物。

【請求項 97】下記の工程からなる、生物学的試料から請求項 1 ~ 74 のいずれか一項に記載の化合物に蛍光または放射性分子をカップリングさせる方法：

- ・ 前記化合物を前記蛍光または放射性分子と反応混合物中で接触させて複合体を産生し、
- ・ 非複合物質を除去し、そして前記複合体を反応混合物から単離する。

【請求項 98】下記の工程からなる、請求項 93 に記載の化合物を使用して細胞または被検体においてプロテイン - チロシンホスファターゼあるいは 1 またはそれ以上のホスホチロシン認識単位をもつ他の分子を検出する方法：

- ・ 細胞またはその抽出物または前記被検体からの生物学的試料を接触させるか、あるいは前記化合物を前記被検体の中に注入して、前記化合物が前記プロテイン - チロシンホスファターゼまたは 1 またはそれ以上のホスホチロシン認識単位をもつ前記分子と複合体を産生するようにさせ、
- ・ 前記複合体を検出し、これにより前記プロテイン - チロシンホスファターゼまたは 1 またはそれ以上のホスホチロシン認識単位をもつ前記他の分子の存在を検出する。

【請求項 99】下記の工程からなる、請求項 93 に記載の化合物を使用して細胞または被検体においてプロテイン - チロシンホスファターゼあるいは 1 またはそれ以上のホスホチロシン認識単位をもつ他の分子を定量する方法：

- ・ 細胞またはその抽出物または前記被検体からの生物学的試料を接触させるか、あるいは前記化合物を前記被検体の中に注入して、前記化合物が前記プロテイン - チロシンホスファターゼまたは 1 またはそれ以上のホスホチロシン認識単位をもつ前記分子と複合体を産生するようにさせ、
- ・ 前記複合体の量を測定し、これにより前記プロテイン - チロシンホスファターゼまたは 1 またはそれ以上のホスホチロシン認識単位をもつ前記分子の存在を検出する。

【請求項 100】下記の工程からなる、請求項 93 に記載の化合物を使用して細胞または被検体においてプロテイン - チロシンホスファターゼの所定のタンパク質 - チロシンホスファターゼまたはグループあるいは 1 またはそれ以上のホスホチロシン認識単位をもつ他の分子を定量する方法：

- ・ 細胞またはその抽出物または前記被検体からの生物学的試料を接触させるか、あるいは前記化合物を前記被検体の中に注入して、前記化合物が前記プロテイン - チロシンホスファターゼまたは 1 またはそれ以上のホスホチロシン認識単位をもつ前記分子と複合体を産生するようにさせ、
- ・ 前記複合体により誘導される生物学的作用を測定する。

【請求項 101】細胞または哺乳動物における吸収後、請求項 1 ~ 71 のいずれか一項に規定した構造または機能を有する化合物。

【発明の詳細な説明】

【0001】

発明の分野

本発明は、新規な化合物、新規な組成物、それらの使用方法、およびそれらの同定方法に関し、ここでこのような化合物はプロテインチロシンホスファターゼ (PTPアーゼ、PTP) の薬学上有用なインヒビター、例えば、PTP1B、TC-PTP、CD45、SHP-1、SHP-2、PTP、PTP、PTP $\mu$ 、PTP、PTP、PTP、PTPD1、PTPD2、PTPH1、PTP-MEG1、PTP-LAR、およびHePTPまたはホスホチロシン単位のリガンドである。これらの化合物は広い範囲の疾患、自己免疫疾患、急性および慢性の炎症、オステオポロシス、種々の型の癌および悪性疾患、およびI型糖尿病およびII型糖尿病の管理および治療において適用される。

【0002】

発明の背景

プロテインチロシンホスファターゼ (PTPアーゼ)、例えば、下記の非限定的例、PTP、LAR、TC-PTP、SHP-1、SHP-2、PTP、CD45、PTP1B、HePTPの*in vivo*活性の定義によれば、それらの独特の活性は代謝、成長、増殖および分化に関する基本的細胞シグナリングメカニズムの細胞内モジュレーションおよび調節において主要な役割を演ずることが見出された (Flint et al., The EMBO J. 12: 1937-46, 1993; Fischer et al., Science 253: 401-6, 1991)。チロシンホスファターゼの過度の発現または活性の変更もまた種々の疾患の症状および進行に寄与することがある (Wiener et al., J. Natl. Cancer Inst. 86: 372-8, 1994; Hunter および Cooper, Ann. Rev. Biochem. 54: 897-930, 1985)。さらに、これらのPTPアーゼがある種の型の疾患、例えば、糖尿病、自己免疫疾患、急性および慢性の炎症および種々の型の癌の治療を促進できるという証拠が増加しつつある。

【0003】

現在、タンパク質のリン酸化は細胞の機能の異なる段階の間にシグナルをトランスデュースするために細胞が利用する重要なメカニズムとしてよく認識されている (Fische

r et al.、Science 253:401-6、1991; Flint et al.、The EMBO J. 12:1937-46、1993)。ホスファターゼの少なくとも2つの主要なクラスが存在する:(1) セリンまたはスレオニン部分上に1またはそれ以上のホスフェート基を含有するタンパク質(またはペプチド)を脱リン酸化するもの(Ser/Thrホスファターゼと命名される)および(2) アミノ酸チロシンから1またはそれ以上のホスフェート基を除去するもの(プロテインチロシンホスファターゼまたはPTPアーゼと命名される)。PTPアーゼは2つのグループに分類することができる酵素の1ファミリーである;a) 細胞内または非トランスメンブランPTPアーゼおよびb) レセプター型またはトランスメンブランPTPアーゼ。

#### 【0004】

細胞内PTPアーゼ:最も知られている細胞内型PTPアーゼは、220~240アミノ酸残基から成る、単一の保存された触媒ホスファターゼを含有する。PTPアーゼドメインの外側領域は、細胞内PTPアーゼを細胞レベル以下に局在化することにおいて重要な役割を演ずると考えられる(Mauro、L. J. およびDixon、J. E. TIBS 19:151-155(1994))。精製しかつ特性決定すべき第1細胞内PTPアーゼは、ヒト胎盤から単離されたPTP1Bであった(Tonks et al.、J. Biol. Chem. 263:6722-6730(1988))。その後まのなくして、PTP1Bはクローニングされた(Charbonneau et al.、Proc. Natl. Acad. Sci. USA 86:5252-5256(1989); Chernoff et al.、Proc. Natl. Acad. Sci. USA 87:2735-2789(1989))。

#### 【0005】

細胞内PTPアーゼの他の例は次の通りである:(1) T細胞PTPアーゼ(Booll et al.、Proc. Natl. Acad. Sci. USA 86:5257-5261(1989))、(2) ラット脳PTPアーゼ(Guan et al.、Proc. Natl. Acad. Sci. USA 87:1501-1502(1990))、(3) ニューロンホスファターゼSTEP(Lombroso et al.、Proc. Natl. Acad. Sci. USA 88:7242-7246(1991))、

#### 【0006】

(4) エズリンドメイン含有PTPアーゼ:PTPMEG1(Guet al.、Proc. Natl. Acad. Sci. USA 88:5867-57871(1991))、PTPH1(YangおよびTonks、Proc. Natl. Acad. Sci. USA 88:5949-5953(1991))、PTPD1およびPTPD2(Muller et al.、Proc. Natl. Acad. Sci. USA 91:7477-7481(1994))、FAP-1/BAS(Sato et al.、Science 268:411-415(1995)); Banville et al.、J. Biol. Chem. 269:22320-22327(1994); Maekawa et al.、FEBS Letters 337:200-206(1994))、およびSH2ドメイン含有PTPアーゼ:PTP1C/SH-PTP1/SHP-1(Plutzky et al.、Proc. Natl. Acad. Sci. USA 89:1123-1127(1992); Shen et al.、Nature Lond. 352:736-739(1991))およびPTP1D//SH-PTP2/SHP-2(Vogel et al.、Science 259:1611-1614(1993); Feng et al.、Science 259:1607-1611(1993); Bastein et al.、Biochem. Biophys. Res. Commun. 196:124-133(1993))。

#### 【0007】

低いホスホチロシン-プロテインホスファターゼ(LMW-PTPアーゼ)は、前述の細胞内PTPアーゼに対して非常にわずかの配列の同一性を示す。しかしながら、この

酵素は下記の特性的のために P T P アーゼに属する：( i ) それは P T P アーゼ活性部位モチーフを有する：C y s - X x x - X x x - X x x - X x x - X x x - A r g ( C i r r i e t a l . , E u r . J . B i o c h e m . 2 1 4 : 6 4 7 - 6 5 7 ( 1 9 9 3 ) ) ; ( i i ) この C y s 残基は「古典的」P T P アーゼを使用する状況に類似する触媒反応の間にホスホ中間体を形成する ( C i r r i e t a l . , s u p r a ; C h i a r u g i e t a l . , F E B S L e t t . 3 1 0 : 9 - 1 2 ( 1 9 9 2 ) ) ; ( i i i ) この分子の全体のフォルディングは P T P 1 B およびエルシニア ( Y e r s i n i a ) P T P のそれに対する驚くべき類似度を示す ( S u e t a l . , N a t u r e 3 7 0 : 5 7 5 - 5 7 8 ( 1 9 9 4 ) ) 。

【0008】

レセプター型 P T P アーゼは、a ) 推定上のリガンド結合細胞外ドメイン、b ) トランスマンブランセグメント、および c ) 細胞内触媒領域から成る。レセプター型 P T P アーゼの推定上のリガンド結合細胞外ドメインの構造およびサイズは非常に発散性である。対照的に、レセプター型 P T P アーゼの細胞内触媒領域は互いに対してかつ細胞内 P T P アーゼに対して非常に相同的である。大部分のレセプター型 P T P アーゼは 2 つの縦列に重複した触媒 P T P アーゼドメインを有する。

【0009】

同定すべき第 1 レセプター型 P T P アーゼは次の通りであった：( 1 ) C D 4 5 / L C A ( R a l p h , S . J . , E M B O J . 6 : 1 2 5 1 - 1 2 5 7 ( 1 9 8 7 ) ) および ( 2 ) L A R ( S t r e u l i e t a l . , J . E x p . M e d . 1 6 8 : 1 5 2 3 - 1 5 3 0 ( 1 9 8 8 ) ) これらは P T P 1 B に対する相同性に基づく酵素のこのクラスに属すると認識された ( C h a r b o n n e a u e t a l . , P r o c . N a t l . A c a d . S c i . U S A 8 6 : 5 2 5 2 - 5 2 5 6 ( 1 9 8 6 ) ) 。 C D 4 5 は高分子量の糖タンパク質の 1 ファミリーであり、最も豊富な白血球細胞表面の糖タンパク質の 1 つであり、そして造血系の細胞上で独占的に発現されるように思われる ( T r o w b r i d g e および T h o m a s , A n n . R e v . I m m u n o l . 1 2 : 8 5 - 1 1 6 ( 1 9 9 4 ) ) 。

【0010】

C D 4 5 および L A R が P T P アーゼファミリーのメンバーとして同定された後、レセプター型 P T P アーゼグループのいくつかの異なるメンバーが直ぐに同定およびクローニングされた。こうして、( 3 ) P T P 、( 4 ) P T P 、( 5 ) P T P 、( 6 ) P T P 、および ( 7 ) P T P が 1 つの初期の研究において同定された ( K r u e g e r e t a l . , E M B O J . 9 : 3 2 4 1 - 3 2 5 2 ( 1 9 9 0 ) ) 。レセプター型 P T P アーゼの他の例は次の通りである：( 8 ) P T P ( B a r n e a e t a l . , M o l . C e l l . B i o l . 1 3 : 1 4 9 7 - 1 5 0 6 ( 1 9 9 5 ) ) これは、P T P ( K r u e g e r および S a i t o , P r o c . N a t l . A c a d . S c i . U S A 8 9 : 7 4 1 7 - 7 4 1 2 ( 1 9 9 2 ) ) と同様に、細胞外領域に炭酸無水物様ドメインを含有する、( 9 ) P T P  $\mu$  ( G e b b i n k e t a l . , F E B S L e t t e r s 2 9 0 : 1 2 3 - 1 3 0 ( 1 9 9 1 ) ) 、( 1 0 ) P T P ( J i a n g e t a l . , M o l . C e l l . B i o l . 1 3 : 2 9 4 2 - 2 9 5 1 ( 1 9 9 3 ) ) 。

【0011】

構造の差に基づいて、レセプター型 P T P アーゼはサブタイプに分類することができる ( F i s c h e r e t a l . , S c i e n c e 2 5 3 : 4 0 1 - 4 0 6 ( 1 9 9 1 ) ) : ( I ) C D 4 5 ; ( I I ) L A R , P T P 、( 1 1 ) P T P ; ( I I I ) P T P 、( 1 2 ) S H P - 1 ( M a t o z a k i e t a l . , J . B i o l . C h e m . 2 6 9 : 2 0 7 5 - 2 0 8 1 ( 1 9 9 4 ) ) 、( 1 3 ) P T P - U 2 / G L E P P I ( S e i m i y a e t a l . , O n c o g e n e 1 0 : 1 7 3 1 - 1 7 3 8 ( 1 9 9 5 ) ; T h o m a s e t a l . , J . B i o l . C h e m . 2 6 9 : 1 9 9 5 3 - 1 9 9 6 2 ( 1 9 9 4 ) ) 、および ( 1 4 ) D E P - 1 : ( I V ) P T P 、

\_\_ P T P \_\_。すべてのレセプター型 P T P アーゼは、I I I 型を除外して、2 つの P T P アーゼドメインを含有する。新規な P T P アーゼは連続的に同定され、そして 5 0 0 より多い異なる種がヒトゲノムにおいて、すなわち、プロテインチロシンキナーゼスーパーファミリーの予測されたサイズに近いサイズで、見出されることが期待される ( H a n k s および H u n t e r 、 F A S E B J . 9 : 5 7 6 - 5 9 6 ( 1 9 9 5 ) ) 。

【 0 0 1 2 】

P T P アーゼはプロテインチロシンキナーゼ ( P T K ) に対する生物学的対応物である。したがって、P T P アーゼの 1 つの重要な機能は P T K の活性をコントロール、ダウンレギュレートすることである。しかしながら、P T P アーゼの機能のいっそう複雑な映像が今回出現する。いくつかの研究において、いくつかの P T P アーゼは細胞のシグナリングの陽性メディエーターとして実際に作用することができることが示された。

【 0 0 1 3 】

1 例として、S H 2 ドメインドメイン含有 S H P - 2 はインスリン刺激 R a s 活性化 ( N o g u c h i e t a l . 、 M o l . C e l l . B i o l . 1 4 : 6 6 7 4 - 6 6 8 d 2 ( 1 9 9 4 ) ) においておよび成長因子誘導突マイトジェンのシグナルトランスダクション ( X i a o e t a l . 、 J . B i o l . C h e m . 2 6 9 : 2 1 2 4 4 - 2 1 2 4 8 ( 1 9 9 4 ) ) の陽性メディエーターとして作用するように思われるが、相同的 S H P - 1 は成長因子刺激された増殖の陰性レギュレーターとして作用するように思われる ( B i g n o n および S i m i n o v i t c h 、 C a n c e r I m m u n o l . I m m u n o p a t h o l . 7 3 : 1 6 8 - 1 7 9 ( 1 9 9 4 ) ) 。陽性レギュレーターとして P T P アーゼの他の例は、チロシンキナーゼの S r c ファミリーの活性化を定めるように設計された研究により提供された。特に、いくつかの証拠が示すように、C D 4 5 は、多分 F y n および L c k の C 末端チロシンの脱リン酸化により、造血細胞を積極的に活性化している ( C h a n e t a l . 、 A n n . R e v . I m m u n o l . 1 2 : 5 5 5 - 5 9 2 ( 1 9 9 4 ) ) 。

【 0 0 1 4 】

二重特異的プロテインチロシンホスファターゼ ( d s P T P アーゼ ) は、ホスホルチロシンならびにホスホル - セリン / スレオニンからのホスフェートを加水分解できる P T P アーゼファミリー内のサブクローンを定める。d s P T P アーゼは P T P アーゼの構造配列を含有する : C y s - X x x - X x x - X x x - X x x - X x x - A r g 。少なくとも 3 つの P T P アーゼは、細胞外シグナル調節キナーゼ ( E R K ) / マイトジェン活性化プロテインキナーゼ ( M A P K ) を脱リン酸化しかつ不活性化ことが示された : M A P K ホスファターゼ ( C L 1 0 0 、 3 C H 1 3 4 ) ( C h a r l e s e t a l . 、 P r o c . N a t l . A c a d . S c i . U S A 9 0 : 5 2 9 2 - 5 2 9 6 ( 1 9 9 3 ) ) ; P A C - 1 ( W a r d e t a l . 、 N a t u r e 3 6 7 : 6 5 1 - 6 5 4 ( 1 9 9 4 ) ) ; r V H 6 ( M o u r e y e t a l . 、 J . B i o l . C h e m . 2 7 1 : 3 7 9 5 - 3 8 0 2 ( 1 9 9 6 ) ) 。

【 0 0 1 5 】

d s P T P アーゼの転写は異なる刺激、例えば、酸化的ストレスまたは熱ショックにより誘導される ( I s h i b a s h i e t a l . 、 J . B i o l . C h e m . 2 6 9 : 2 9 8 9 7 - 2 9 9 0 2 ( 1 9 9 4 ) ; K e y s e および E m s l i e 、 N a t u r e 3 5 9 : 6 4 4 - 6 4 7 ( 1 9 9 2 ) ) 。さらに、それらを細胞周期の調節に関係づけることができる : c d c 2 5 ( M i l l a r および R u s s e l l 、 C e l l 6 8 : 4 0 7 - 4 1 0 ( 1 9 9 2 ) ) ; K A P ( H a n n o n e t a l . 、 P r o c . N a t l . A c a d . S c i . U S A 9 1 : 1 7 3 1 - 1 7 3 5 ( 1 9 9 4 ) ) 。興味深いことには、二重特異的ホスファターゼ c d c 2 5 により c d c 2 のチロシン脱リン酸化は酵母における有糸分裂の誘導のために必要とされる ( 下記の文献において概観されている : W a l t o n および D i x o n 、 A n n . R e v . B i o c h e m . 6 2 : 1 0 1 - 1 2 0 ( 1 9 9 3 ) ) 。

【 0 0 1 6 】

PTPアーゼは本来種々の人工基質を使用して組織ライゼイトから同定され、精製され、したがって、それらの脱リン酸化機能はよく知られていなかった。チロシンキナーゼによるチロシンリン酸化は細胞増殖、細胞形質転換および細胞分化に通常に関連づけられるので、PTPアーゼもまたこれらの事象に関連づけられると仮定された。この関連は現在多数のPTPアーゼを使用する事例であることが証明された。PTP1B、すなわち、その構造が最近解明されたホスファターゼ (Barford et al., Science 263: 1397-1404 (1994)) はインスリン誘導卵母細胞成熟に関係することが示され (Flint et al., The EMBO J. 12: 1937-46 (1993)) そして、最近、この酵素の過度の発現は p185<sup>c-erbB2</sup> 関連乳癌および卵巣癌に関係づけることができることが示唆された (Wierner et al., J. Natl. Cancer Inst. 86: 372-8 (1994); Wierner et al., Am. J. Obstet. Gynecol. 170: 1177-883 (1994))。

#### 【0017】

インスリン誘導卵母細胞成熟メカニズムは、S6キナーゼの活性化をブロックするPTP1Bの能力に相関された。癌との関連は最近の証拠であり、これはPTP1Bの過度の発現が乳癌および卵巣癌におけるp185<sup>c-erbB2</sup>レベルの増加に統計的に相関されることを示唆する。疾患の病因学および進行におけるPTP1Bの役割はまだ明らかにされていない。したがって、PTP1Bのインヒビターは癌におけるPTP1Bの役割の解明を促進し、ある場合において、ある型の癌についての療法的処置を提供することができる。

#### 【0018】

多数の他の新しく論じられたホスファターゼの活性は現在研究されている。これらの2つ: SHP-1 および Syp/PTP1D/SHPTP2/PTP2C/SHP-2 は、最近、血小板由来成長因子および表皮成長因子が誘導する応答の活性化に関係づけられた (Li et al., Mol. Cell. Biol. 14: 509-17 (1994))。双方の成長因子は正常の細胞プロセッシングならびに疾患の状態、例えば、癌およびアテローム性動脈硬化症に関係づけられるので、これらのホスファターゼのインヒビターもまた治療効能を示すことが仮定された。したがって、本発明の化合物は、種々のPTPアーゼに対して阻害活性を示し、前述の疾患の治療または管理において適用される。

#### 【0019】

##### PTPアーゼ: インスリンレセプターシグナリング経路/糖尿病

インスリンは種々の代謝プロセスの重要なレギュレーターであり、そして血液グルコースのコントロールにおいて主要な役割を演ずる。その合成またはシグナリングに関係する欠陥は真性糖尿病に導く。インスリンがそのレセプターに結合すると、b-サブ単位の細胞内部分中のいくつかのチロシン残基の急速な(自己)リン酸化が生ずる。

#### 【0020】

インスリンレセプター基質-1 (IGF-1) を包含する他の細胞基質のチロシンリン酸化により、シグナルをさらに下流に伝送するインスリンレセプターチロシンキナーゼ (IRTK) を完全に活性化するためには、3つの密接に位置するチロシン残基 (チロシン-1150ドメイン) のすべてをリン酸化しなくてはならない (Wilden et al., J. Biol. Chem. 267: 16660-16668 (1992); Myers および White, Diabetes 42: 643-650 (1993); Lee および Pilch, Am. J. Physiol. 266: C319-C334 (1994); White et al., J. Biol. Chem. 263: 2969-2980 (1988))。チロシン-1150がその非リン酸化状態で自己阻害性であることを示した、最近のX線結晶学の研究により、チロシン-トリプレットの機能についての構造的基準が提供された (Hubbard et al., Nature 372: 746-754 (1994))。

#### 【0021】

いくつかの研究において、自己リン酸化 IRTK の活性を *in vitro* 脱リン酸化により逆転できることが明瞭に示され ( 下記の文献において概観されている : Goldstein, Receptor 3 : 1 - 15 ( 1993 ) ; Mooney および Anderson, J. Biol. Chem. 264 : 6850 - 6857 ( 1989 ) ) 三リン酸化チロシン - 1150 ドメインは二および一リン酸化型に比較してプロテインチロシンホスファターゼ ( PTP アーゼ ) の最も感受性のターゲットである ( King et al., Biochem. J. 275 : 413 - 418 ( 1991 ) ) 。したがって、このチロシン - トリプレットが IRTK 活性のコントロールスイッチとして機能することを推測することが試みられている。

#### 【 0022 】

事実、IRTK は PTP 仲介 *in vivo* 脱リン酸化により厳密に調節されるように思われる ( Khan et al., J. Biol. Chem. 264 : 12931 - 12940 ( 1989 ) ; Faure et al., J. Biol. Chem. 267 : 11215 - 11221 ( 1992 ) ; Rothenberg et al., J. Biol. Chem. 266 : 8302 - 8311 ( 1991 ) ) 。インスリンがラット肝癌細胞 ( Meyerovitch et al., Biochemistry 31 : 10338 - 10344 ( 1992 ) ) およびアロキササン糖尿病のラット ( Boylan et al., J. Clin. Invest. 90 : 174 - 179 ( 1992 ) ) 中の PTP アーゼ活性を示差的に調節するという発見により、インスリンシグナリング経路への PTP アーゼの緊密なカップリングはさらに証明される。

#### 【 0023 】

IRTK 調節に関係する PTP アーゼの同一性は比較的ほとんど知られていない。しかしながら、インスリンレセプターに対する活性をもつ PTP アーゼの存在は上に示したように証明することができる。さらに、強い PTP アーゼインヒビターのパーバナデートを全細胞に添加するとき、脂肪細胞 ( Fantus et al., Biochemistry 28 : 8864 - 8871 ( 1989 ) ; Eriksson et al., Diabetologia 39 : 235 - 242 ( 1995 ) ) および骨格筋 ( Leighton et al., Biochem. J. 276 : 289 - 292 ( 1991 ) ) においてほとんど完全なインスリンの応答を得ることができる。さらに、最近の研究において、パーオキシバナジウム化合物の新しいクラスは *in vivo* の効力がある低血糖化合物として作用することが示された ( Posner et al., supra ) 。これらの化合物のうち 2 つは、EGF レセプターよりも効力があるインスリンレセプターの脱リン酸化インヒビターであることが証明された。

#### 【 0024 】

最近、偏在的に発現された SH2 ドメインを含有する PTP アーゼ、SHP - 2 ( Vogel et al., 1993, supra ) は IGF - 1 に関連し、それを脱リン酸化するが、明らかに IR それ自体に関連しないことが見出された ( Kuhne et al., J. Biol. Chem. 269 : 15833 - 15837 ( 1994 ) ) 。以前の研究によれば、IRTK 調節に関係する PTP アーゼは膜関連分子 ( Faure et al., J. Biol. Chem. 267 : 11215 - 11221 ( 1992 ) ) およびグリコシル化分子 ( Hring et al., Biochemistry 23 : 3298 - 3306 ( 1984 ) ; Sale, Adv. Prot. Phosphatases 6 : 159 - 186 ( 1991 ) ) のクラスに属することが示唆される。組換え PTP 1B ならびに LAR および PTPa の細胞質ドメインを使用して、精製された IR の脱リン酸化 / 不活性化のラットを比較することによって、それらの結論に到達された。

#### 【 0025 】

最近、ラット肝癌細胞系統におけるインスリンシグナリングに対する LAR の作用を研究するために、アンチセンス阻害が使用された ( Kulas et al., J. Biol. Chem. 270 : 2435 - 2438 ( 1995 ) ) 。LAR タンパク質レベル

の約50%の抑制は、インスリン誘導自己リン酸化のほぼ150%の増加と平行した。しかしながら、わずかに適度の35%のIRTK活性の増加が観測されたが、インスリン依存性ホスファチジルイノシトール3-キナーゼ(PI3-キナーゼ)活性は350%だけ有意に増加した。LARレベルの減少はIRTKチロシンリン酸化または活性の基底レベルを変更しなかった。インスリンレセプターそれ自体または下流の基質に対するPI3-キナーゼの活性化に重大であるチロシン残基を、LARは特異的に脱リン酸化することを著者らは推測している。

#### 【0026】

以前の報告はsrc活性化(Zheng et al., Nature 359:336-339(1992); den Hertog et al., EMBO J. 12:3789-3798(1993))およびGRB-2との相互作用(den Hertog et al., EMBO J. 13:3020-3032(1994); Su et al., J. Biol. Chem. 269:18731-18734(1994))によるシグナルトランスダクションにおけるPTPの役割を示すが、このホスファターゼおよびその密接に関係するPTPがインスリンレセプターシグナルの陰性レギュレーターとして機能することを最近の研究は示唆している(Müller et al., 1995, supra)。

#### 【0027】

また、この研究が示すように、レセプター様PTPアーゼはIRTKの調節において有意な役割を演ずるが、細胞内PTPアーゼは、示したとしても、わずかの活性をインスリンレセプターに対して示すように思われる。PTPアーゼおよびの陰性調節活性のターゲットはレセプターそれ自体であるように見えるが、細胞内TC-PTPのダウンモジュレート作用はIR活性化シグナルにおける下流の機能のためであるように思われる。PTP1BおよびTC-PTPは密接に関係するが、PTP1Bはインスリン処理細胞のリン酸化パターンに対して影響をほとんど及ぼさなかった。

#### 【0028】

双方のPTPアーゼは、それらの細胞レベル以下の局在化を決定し、これにより定められた細胞基質へのそれらのアクセスを決定する、明確な構造的特徴を有する(Frangione et al., Cell 68:545-560(1992); Faure および Posner, Glia 9:311-314(1993))。したがって、IRTKに対するPTP1BおよびTC-PTPの活性の欠如は、少なくとも一部分、それらが活性化インスリンレセプターと共局在化しないという事実により説明することができる。この概観を支持して、細胞レベル以下の局在化の研究に基づく肝細胞におけるIR関連PTPアーゼの候補として、PTP1BおよびTC-PTPは排除された(Faure et al., J. Biol. Chem. 267:11215-11221(1992))。

#### 【0029】

トランスメンブランPTPアーゼCD45は、造血細胞特異的であると考えられ、最近の研究において、ヒト多重骨髄腫細胞系統U266においてインスリンレセプターチロシンキナーゼを陰的に調節することが見出された(Kulas et al., J. Biol. Chem. 271:755-760(1996))。

#### 【0030】

多数の場合において特異的遺伝子の重要性を解明するとき、ノックアウト(K.O.)マウスは有用であった。上に提示された結果から期待されるように、特にLAR K.O.マウス、PTP K.O.マウスおよびPTP1B K.O.マウスは、それぞれ、インスリンシグナリングに関して重要情報を提供することができるであろう。2つのグループはLAR K.O.マウスを発生させた(Schaapveld et al., Developmental Biology 188:134-146(1997); Skarnes et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 92:6592-6596(1995))。Goldstein および共同研究者らはSkarn

es et al. (supra) からの LAR K.O. マウスを分析し、そしてこれらのマウスはグルコース - ホメオスタシスにおいて深遠な欠陥を示すことを主張した (Ren et al., Diabetes 47: 493 - 497 (1998))。

【0031】

しかしながら、この研究における対照マウスは K.O. マウスよりも消化遺伝的バックグラウンドを有した。Schaapveld et al. (supra) が実施した LAR K.O. マウスを使用する他の研究は、Ren et al. (supra) (A. R. Sorensen et al., Diabetologia 40 (Suppl 1): 556 - 556 (1997)) が得た結果を確認しなかった。

【0032】

最近の徹底的な研究において、PTP1B K.O. マウス (すなわち、PTP1B - / - マウス) が同一遺伝的バックグラウンドの + / + および + / - マウスと比較された (Elcheby et al., Science 283: 1544 - 1548 (1999))。この後者の研究 (Elcheby et al., supra)、PTP1B をコードする遺伝子の崩壊は健康なマウスを生ずることが見出され、これらのマウスは、飼料供給された状態において、それらの PTP1B + / + 同腹子におけるよりもわずかに低い血液グルコースレベルを有しそして前記同腹子において見出される濃度の約 1 / 2 のインスリン濃度を有した。さらに、インスリンおよびグルコース双方の耐性試験は PTP K.O. マウスにおいて増強されたインスリン感受性を示した。

【0033】

高脂肪食事で、PTP1B - / - マウスおよび PTP1B - / + マウスは体重増加に対して耐性であり、インスリン感受性に止まった。対照的に、PTP1B + / + マウスは急速に体重を増加し、インスリン耐性となった。インスリンレセプターおよびインスリンレセプター基質 - 1 (IGF - 1) のチロシンリン酸化レベルを分析すると、PTP1B + / + マウスと比較して、PTP1B - / - マウス (肝臓および筋肉) におけるこれらのタンパク質のリン酸化は増加することが示された。これらの結果のすべては、前述の *in vitro* 研究と対照的に、PTP1B がインスリンレセプターシグナリング経路の陰性レギュレーターとして主要な役割を演ずるようであるという見解に従う。著者らは、「これらの結果は PTP1B を II 型糖尿病および肥満症の処理のための潜在的療法上のターゲットとする」と結論した (Elcheby et al., supra)。

【0034】

PTP アーゼ: ソマトスタチン

ソマトスタチンは、細胞増殖を包含する、いくつかの生物学的機能を阻害する (Lamberts et al., Molec. Endocrinol. 8: 1289 - 1297 (1994))。ソマトスタチンの抗増殖活性の一部はホルモンおよび成長因子の分泌 (例えば、成長ホルモンおよび表皮成長因子) のその阻害に対して二次的であるが、ソマトスタチンの他の抗増殖作用はターゲット細胞に対する直接的作用のためである。1 例として、ソマトスタチンアナログは、細胞における PTP アーゼレベルの一般的活性化よりむしろ、多分単一 PTP アーゼ、または PTP アーゼのサブセットの刺激を介して、膵臓癌の増殖を阻害する (Liebow et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 86: 2003 - 2007 (1989); Colas et al., Eur. J. Biochem. 207: 1017 - 1024 (1992))。

【0035】

最近の研究において、CHO - k1 細胞において安定に発現されるソマトスタチンレセプター SSRT2 ではなく、SSRT1 のソマトスタチン刺激は PTP アーゼ活性を刺激することができ、そしてこの刺激は百日咳トキシン感受性であることが見出された。ホルモンおよび成長因子の分泌に対するソマトスタチンの阻害作用がホルモン産生細胞における PTP アーゼ活性なので同様な刺激により引き起こされるかどうかはまだ決定されていない。

【0036】

P T P アーゼ：免疫系 / 自己免疫

レセプター型 P T P アーゼ C D 4 5 は T 細胞活性化に対してばかりでなく、かつまた T 細胞レセプター仲介シグナリングカスケードの維持に対して重大な役割を演ずることは、いくつかの研究により示唆される。これらの研究は下記の文献において概観されている：Weiss A.、*Annu. Rev. Genet.* 25: 487 - 510 (1991)；Chan et al.、*Ann. Rev. Immunol.* 12: 555 - 592 (1994)；Trowbridge および Thomas、*Ann. Rev. Immunol.* 12: 85 - 116 (1994)。C D 4 5 は細胞表面の糖タンパク質のうちの最も豊富なものの 1 つであり、造血細胞上でもっぱら発現される。

## 【0037】

T 細胞において、C D 4 5 はリンパ球のシグナルトランスダクション機構の重要成分の 1 つであることが示された。特に、抗原が T 細胞レセプターに結合した後、C D 4 5 ホスファターゼは T リンパ球の抗原刺激増殖において重要な役割を演ずることを証拠は示唆した (Trowbridge、*Ann. Rev. Immunol.* 12: 85 - 116 (1994))。いくつかの研究が示唆するように、C D 4 5 の P T P アーゼ活性は L c k、すなわち、S r c ファミリーのタンパク質チロシンキナーゼのリンパ球特異的メンバーの活性化においてある役割を演ずる (Mustelin et al.、*Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 86: 6302 - 6306 (1989)；Ostergaard et al.、*Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 86: 8959 - 8963 (1989))。C D 4 5 のホスファターゼ活性は C 末端チロシン残基の脱リン酸化により L c k を活性化し、次いでこれを T 細胞活性化に関係づけることができることを、これらの著者らは仮定した。

## 【0038】

最近の研究において、組換え p 5 6 l c k は組換え C D 4 5 細胞質ドメインのタンパク質と特異的にアソシエートするが、関係する P T P a の細胞質ドメインとアソシエートしないことが見出された (Ng et al.、*J. Biol. Chem.* 271: 1295 - 1300 (1996))。p 5 6 l c k - C D 4 5 の相互作用は、ホスホチロシンを必要としない非形式的 S H 2 ドメインの相互作用を介して仲介されるように思われる。未熟 B 細胞において、S r c ファミリーのプロテインチロシンキナーゼの他のメンバーである F y n は、L c k および S y k に比較して、C D 4 5 のための選択的基質であると思われる (Katagiri et al.、*J. Biol. Chem.* 270: 27987 - 27990 (1995))。

## 【0039】

C D 4 5 - エクソン 6 に対する突然変異をもつトランスジェニックマウスを使用する研究は成熟 T 細胞の欠如を示した。これらのマウスは、典型的な T 細胞仲介応答を使用する抗原チャレンジに対する応答しなかった (Kishihara et al.、*Cell* 74: 143 - 56 (1993))。したがって、C D 4 5 ホスファターゼのインヒビターは自己免疫疾患に関連する症状における有効な治療剤である。

## 【0040】

また、C D 4 5 はマスト細胞の抗体仲介脱顆粒のために必須であることが示された (Berger et al.、*J. Exp. Med.* 180: 471 - 6 (1994))。これらの研究は、また、C D 4 5 欠乏マウスを使用して実施された。この場合において、I g E 仲介脱顆粒は野生型において証明されたが、マウスからの C D 4 5 欠乏 T 細胞において証明されなかった。これらのデータが示唆するように、C D 4 5 インヒビターはアレルギー性障害の症状の処置または治療においてある役割を演ずることができるであろう。

## 【0041】

他の最近発見された P T P アーゼ、すなわち、誘導可能なリンパ系特異的プロテインチロシンホスファターゼ (H e P T P) もまた免疫応答に関係づけられた。このホスファターゼは休止 T リンパ球および B リンパ球の双方において発現されるが、非造血細胞において発現されない。これらの細胞を刺激すると、H e P T P 遺伝子からの m R N A レ

ベルは10~15倍に増加する(Zanke et al., Eur. J. Immunol. 22:235-239(1992))。T細胞およびB細胞の双方において、HePTPは持続された刺激の間に特異的残基の脱リン酸化を通して免疫応答をモジュレートする機能をすることができる。しかしながら、その正確な役割はまだ定められていない。

#### 【0042】

同様に、造血細胞特異的SHP-1は陰性レギュレーターとして作用し、造血細胞の発生において必須の役割を演ずるように思われる。こうして、SHP-1はエリトロポイエチングナリング経路の調節において有意な役割を演じ、これは完全なSHP-1を欠如するマウスにおいて増強される(Schultz et al., Cell 73:1445-1454)。前述のCD45、HePTPおよびSHP-1の重要な機能に従い、選択的PTPアーゼインヒビターは免疫抑制因子および免疫刺激因子として魅力的な薬剤の候補ならびに造血系のインヒビターおよび刺激因子であることができる。1つの最近の研究は、T細胞に比較して見掛けのB細胞選択的アポトーシスを誘導する、パナジウムをベースとするPTPアーゼインヒビター、BML0V、の能力を証明することによって、免疫調節因子としてのPTPアーゼインヒビターの可能性を例示する(Schieven et al., J. Biol. Chem. 270:20824-20831(1995))。

#### 【0043】

##### PTPアーゼ：細胞-細胞の相互作用/癌

適当な基質上で繊維芽細胞が増殖するとき、特異的接触点が形成される*in vitro*現象である、フォーカル接着プラークは、少なくとも一部分、細胞および細胞の自然の取り囲みを模倣するように思われる。繊維芽細胞が細胞外マトリックスに接着し、その上で広がるとき、いくつかのフォーカル接着性タンパク質はチロシン残基上でリン酸化される(Gumbiner et al., Neuron 11:551-564(1993))。しかしながら、これらのタンパク質の異常なチロシンリン酸化は細胞の形質転換に導くことがある。

#### 【0044】

PTPアーゼとフォーカル接着との間の緊密な関連は、エズリン様N末端ドメインをもついくつかの細胞内PTPアーゼ、例えば、PTPMEG1(Guet al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 88:5867-5871(1991))、PTPH1(YangおよびTonks, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 88:5949-5953(1991))およびPTPD1(Muller et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 91:7477-7481(1994))の発見により支持される。エズリン様ドメインは、細胞膜と細胞骨格との間の結合として作用すると考えられるいくつかのタンパク質に対して、類似性を示す。PTPD1は*in vitro*においてc-srcによりリン酸化されかつそれとアソシエートし、加水分解されてフォーカル接着のリン酸化の調節に関係する(Muller et al., supra)。

#### 【0045】

PTPアーゼはフォーカル接着タンパク質のリン酸化を担うものを包含する、チロシンキナーゼの作用に対抗し、したがって、形質転換の自然インヒビターとして機能することができる。TC-PTP、および特にこの酵素のトランケート型(Cool et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 87:7280-7284(1990))は、v-erbおよびv-fmsの形質転換活性を阻害することができる(Lammers et al., J. Biol. Chem. 268:22456-22462(1993); Zander et al., Oncogene 8:1175-1182(1993))。そのうえ、HER2/neu遺伝子のオンコジーン型による形質転換は、PTP1Bを過度に発現するNIH3T3繊維芽細胞において抑制されることが見出された(Brown-Shimer et al., Cancer Res. 52:4

78-482(1992))。

【0046】

PTP1Bの発現レベルは、neuで形質転換された哺乳動物細胞系において増加されることが見出された(Zhay et al., Cancer Res. 53:2272-2278(1993))。c-neuおよびv-Ha-rasを過度に発現するが、c-mycまたはint-2を発現しないトランスジェニックマウスにおけるネズミ哺乳動物腫瘍において、PTPが高度に発現されるという最近の発見により、癌の発生におけるチロシンキナーゼとPTPアーゼとの間の緊密な関係はさらに証明される(EllsonおよびLeder, J. Biol. Chem. 270:26116-26122(1995))。さらに、PTPgをコードするヒト遺伝子は3p21にマッピングされ、この領域は腎臓および肺の癌腫において頻繁に欠失される染色体領域である(LaForgia et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 88:5036-5040(1991))。

【0047】

これに関して、PTPアーゼは繊維芽細胞の増殖のコントロールに関係するようと思われることは意味があるようである。最近の研究において、高い密度で収集されたSwiss 3T3細胞は膜関連PTPアーゼを含有し、その活性は平均すると低いあるいは中程度の密度で収集された細胞のそれよりも8倍高いことが見出された(PallenおよびTong, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 88:6996-7000(1991))。著者らの仮説によると、細胞増殖の密度依存的阻害は問題の1またはそれ以上のPTPアーゼの活性増大の調節を含む。この見解に従うと、新規な膜結合レセプター型PTPアーゼDEP-1は、WI-38ヒト胚肺繊維芽細胞およびAG1518繊維芽細胞系統の細胞密度が増加すると、発現レベルを増大する(>=10倍)ことを示した(Oestman et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 91:9680-9684(1994))。

【0048】

2つの密接に関係するレセプター型PTPアーゼ、PTPおよびPTP $\mu$ は、非附着性昆虫細胞において発現されるとき、同種親和性細胞-細胞相互作用を仲介することができ、これらのPTPアーゼが細胞-細胞のシグナリングにおいて正常の生理学的機能を有しうることが示唆される(Zondag et al., J. Biol. Chem. 270:14247-14250(1995))。前述の研究から明らかのように、PTPアーゼは正常細胞増殖の調節において重要な役割を演ずる。

【0049】

しかしながら、上に指摘したように、最近の研究において、PTPアーゼはまた細胞内シグナリングの陽性メディエーターとして機能することができ、これによりマイトジェン応答を誘導または増強することができることが示された。したがって、ある種のPTPアーゼ活性の増加は細胞の形質転換および腫瘍の形成を生ずることがある。事実、1つの研究において、PTPの過度の発現はラット胚繊維芽細胞の形質転換に導くことが見出された(Zheng, supra)。さらに、新規なPTP、すなわち、SAP-1は膵臓癌および結腸直腸癌の細胞において高度に発現されることが見出された。

【0050】

SAP-1は染色体19領域q13.4にマッピングされ、19q13.2にマッピングされた癌胎児性抗原に関係づけることができる(Uchida et al., J. Biol. Chem. 269:1220-12228(1994))。さらに、dsPTPアーゼ、cdc25、はcdc2をThr14/Thr-15において脱リン酸化し、これにより有糸分裂の陽性レギュレーターとして機能する(Hunter, Cell 80:225-236(1995))において概観されている)。したがって、特異的PTPアーゼのインヒビターはある種の型の癌の治療において有意な療法上の価値を有するであろう。

【0051】

PTP アーゼ：血小板凝集

最近の研究はPTP アーゼが血小板凝集に中心的に関係することを示す。アゴニスト誘導血小板活性化はPTP1B をカルパイン触媒切断反応を生じ、同時にPTP アーゼ活性を2 倍刺激する(Frangioni et al.、EMBO J. 12:4843-4856(1993))。PTP1B の切断は酵素の細胞レベル以下の再置換に導き、血小板に富んだ血漿中の可逆的から不可逆的血小板凝集への転移と相関する。さらに、SH2 ドメイン含有PTP アーゼ、SHP-1/SH-PTP1 は、凝集依存的方法でトロンピン刺激後に血小板中の細胞骨格に転位することが見出された(Li et al.、FEBS Lett. 343:89-93(1994))。

## 【0052】

上の2 つの研究において多少の詳細が最近問題となったが、PTP1B およびSHP-1 は血小板凝集において有意な機能的役割を演ずるという全体の一致が存在する(Ezumi et al.、J. Biol. Chem. 270:11927-11934(1995))。これらの観察に従い、PTP アーゼインヒビターパーバナデートで血小板を処理すると、チロシンリン酸化、分泌および凝集が有意に増加する(Pumiglia et al.、Biochem. J. 286:441-449(1992))。

## 【0053】

PTP アーゼ：オステオポロシス

骨の形成速度は骨芽細胞の数および活性により決定され、そして骨芽細胞の数および活性は、それぞれ、骨芽細胞の祖先細胞の増殖および分化の速度により決定される。組織形態学的研究において、骨芽細胞数はヒトにおける骨の形成速度の一次的決定因子であることが示された(Gruber et al.、Mineral Electrolyte Metab. 12:246-254(1987); Lau et al.、Biochem. J. 257:23-36(1989)において概観されている)。酸性ホスファターゼ/PTP アーゼを骨芽細胞増殖の陰性調節に関係づけることができる。

## 【0054】

こうして、ホスファターゼ阻害活性を有するフッ化物は、骨芽細胞増殖を増加させることによって脊髄骨密度を増加することが見出された(Lau et al.、supra)。この観察と一致して、PTP アーゼ活性を有する骨芽細胞の酸性ホスファターゼがフッ化物のミトジェン濃度に対して高度に感受性であることが見出された(Lau et al.、J. Biol. Chem. 260:4653-4660(1985); Lau et al.、J. Biol. Chem. 262:1389-1397(1987); Lau et al.、Adv. Protein Phosphatases 4:165-198(1987))。興味深いことには、骨芽細胞様細胞系統UMR106.06 をコラーゲン型-1マトリックス上で成長させたとき、非被覆組織培養プレートに比較して、膜結合PTP アーゼ活性のレベルは劇的に増加することが最近見出された。

## 【0055】

PTP アーゼ活性の有意な増加は密度依存的成長阻止線維芽細胞において観測された(Pallen およびTong、Proc. Natl. Acad. Sci. USA 88:6996-7000(1991))ので、PTP アーゼ活性の増加は細胞成長を直接的に阻害することを推測することができる。こうして、フッ化物およびホスファターゼインヒビター(モリブデートおよびバナデート)のミトジェン作用は、骨芽細胞の細胞増殖を陰的に調節する酸性ホスファターゼ/PTP アーゼのそれらの阻害により説明することができる。

## 【0056】

骨および精巢において発現された、新規な副甲状腺調節された、レセプター様PTP アーゼ、すなわち、OST-PPが最近同定されたことにより、骨形成におけるPTP アーゼの掛かり合いの複雑な特質はさらに示唆される(Mauro et al.、J. Biol. Chem. 269:30659-30667(1994))。OST-PPは一次骨芽細胞の分化および基質形成後にアップレギュレートされ、引き続いて培養において

骨を積極的に無機質化する骨芽細胞においてダウンレギュレートされる。

【0057】

ホスファターゼインヒビターはOST-PPまたは他のPTPアーゼの阻害を介して分化を妨害し、これにより連続する増殖に導くと仮定することができる。これは前述のフッ化物の作用と一致し、かつチロシンホスファターゼインヒビターオルトバナデートが骨芽細胞の増殖およびマトリックスの形成を増強するように思われるという観察と一致するであろう(Lau et al., *Endocrinology* 116:2463-2468(1988))。さらに、バナデート、バナジルおよびパーバナデートのすべては骨芽細胞様細胞系統UMR106の増殖を増加することが最近観測された。バナジルおよびパーバナデートはバナデートよりも強い細胞増殖の刺激因子である。細胞アルカリ性ホスファターゼ活性により測定して、バナデートのみが細胞分化を調節することができる(Cortizo et al., *Mol. Cell. Biol.* 145:97-102(1995))。

【0058】

PTPアーゼ：微生物

PTPアーゼがエルシニア(*Yersinia*)の病原性において主要な因子でありうるという事実を、Dixonおよび共同研究者らは指摘している(Clemens et al., *Molecular Microbiology* 5:2617-2620(1991))において概観されている)。チロシンホスフェートが細菌の中に存在しないと考えられるるので、この発見はむしろ驚くべきことである。

【0059】

エルシニア(*Yersinia*)属は3種からなる：エルシニア・ペスティス(*Y. pestis*) (腺ペストに関係する)、エルシニア・シュードツベルクローシス(*Y. pseudotuberculosis*)およびエルシニア・エンテロコリチカ(*Y. enterocolitica*) (腸炎および腸間膜リンパ節炎を引き起こす)。興味深いことには、二重特異的ホスファターゼVH1はワクシニアウイルスにおいて同定された(Guan et al., *Nature* 350:359-263(1991))。これらの観察が示すように、PTPアーゼは微生物および寄生物の感染において重大な役割を演じ、さらに感染症の新規な、推定上の治療原理としてホスファターゼインヒビターを暗示する。

【0060】

発明の簡単な説明

前述したように、PTPアーゼは種々の細胞のシグナリングプロセスにおいて必須因子である。したがって、これらの酵素のインヒビターまたはモジュレーター、またはPTPアーゼのサブセット、またはさらに1つの特異的PTPアーゼは、魅力的な薬剤候補である。しかしながら、現在まで制限された組のインヒビターのみが文献に報告されている。最も効力があるインヒビターのいくつかはチロシンリン酸化ペプチドのアナログであり、したがって、経口的使用に適当ではない。

【0061】

I. バナデートおよびパーバナデート

バナデートおよびパーバナデート/パーオキシバナジウム化合物は、細胞および動物においてインスリン様作用を誘導する。バナデートの処方を使用する、わずかの逸話的、臨床研究は、II型糖尿病のヒトにおいて陽性作用を示した。細胞レベルにおける作用メカニズムはPTPアーゼの阻害を介すると考えられる。最近、パーバナデート(バナデートおよび過酸化水素の複合体)は、活性部位の触媒システインの酸化を介するPTPアーゼの不可逆的インヒビターであることが見出された(Huyer et al., *J. Biol. Chem.* 272:843-851(1997))。

【0062】

さらに、作用はアッセイ構成成分、例えば、EDTAおよび還元剤(例えば、ジチオスレイトール、DTT)に対して非常に感受性である。バナデートおよびパーオキシバナジ

ウムをベースとする化合物は広い範囲のPTPアーゼを阻害することに注意すべきである。特定のPTPアーゼを選択的に阻害する化合物を開発することを試みるとき、作用のメカニズム、すなわち、活性部位システインの酸化は実質的な問題を引き起こすであろうことが考えられる。さらに、パナデート、パーパナデートおよびパーオキソパナジウムをベースとするインヒビターの毒性作用は、慢性疾患、例えば、糖尿病の治療のために、それらを使用することを妨害するようである。

【0063】

#### II. ビスホスホネート

ビスホスホネートは骨障害、例えば、オステオポロシスおよびパジェット病を治療する治療剤として首尾よく使用されてきている。ビスホスホネートは、骨のターンオーバーの減少および骨のミネラル密度の正味増加が存在する破骨吸収を阻害する（概観については、下記の文献を参照のこと：RodanおよびFleisch、*J. Clin. Invest.* 97:2692-2696(1996)）。細胞レベルにおける作用のメカニズムはPTPアーゼ器官移植ビスホスホネートの阻害活性を介する（破骨において）と現在考えられている（Skorey et al., *J. Biol. Chem.* 272:22472-22480(1997); Opas et al., *Biochemical Pharmacology* 54:721-727(1997)）。しかしながら、アレンドロネートの阻害作用はアッセイ構成成分、例えば、EDTAおよびDTTに対して非常に感受性であることが見出された。

【0064】

さらに、阻害は時間依存的であることが示された。生化学的レベルにおける作用のメカニズムは、活性部位における触媒システインの酸化を介することが最近示された（Skorey et al., *vide supra*）。ビスホスホネートは広い範囲のPTPアーゼを阻害することに注意すべきである。特定のPTPアーゼを選択的に阻害するビスホスホネートを開発することを試みるとき、作用のメカニズム、すなわち、活性部位システインの酸化は実質的な問題を引き起こすであろうことが考えられる。

【0065】

#### III. 金化合物

自己免疫および炎症障害の治療において首尾よく使用されてきている二ナトリウムアウロチオマレート（AuTM）は、ホスファターゼインヒビターとして作用ことが最近示された（Wang et al., *Biochemical Pharmacology* 54:703-711(1997)）。しかしながら、AuTMはこれらの酵素中の活性部位の求核システインとの相互作用を介してPTPアーゼを阻害するようと思われる。ジチオスレートはこの阻害を妨害するか、あるいはほとんど完全に妨害することがあり、これは本発明の化合物と対照的である。ビスホスホネートについてのように、金化合物を選択性インヒビターの開発に使用しようとする場合、このような問題が生ずるようである。

【0066】

前述のインヒビターは非選択的である。観測された毒性作用または副作用のあるものは、少なくとも一部分、それらが選択性を欠如することにより、引き起こされるようである。こうして、効力のある、選択性インヒビターにさらに最適化するために使用できる、非ペプチドの、競合的または混合型、可逆的古典的ホスファターゼインヒビターまたは化合物が強く要求されている。

【0067】

発明の詳細な説明

PTP1B および合成、ビオチニル化、<sup>33</sup>Pリン酸化ペプチドを基質として使用して、高い処理量のスクリーニングシンチレーション近接アッセイ（SPA - Amer sham）を開発した。このペプチド基質はインスリンレセプターキナーゼの活性化ループ、すなわち、Thr-Arg-Asp-Ile-Tyr-Glu-Thr-Asp-Tyr-Tyr-Arg-Lys-NH<sub>2</sub>、に対応し、そしてインスリンレセプターチロシンキ

ナーゼを使用してこの基質をチロシン残基上で<sup>33</sup>Pリン酸化した。化合物のライブラリーをスクリーニングし、多数のヒットが同定された。

【0068】

驚くべきことには、これらのヒットの1つ、すなわち、オキサリル-アミノ安息香酸は古典的、競合的、可逆的活性部位特異的インヒビター（下文参照）として作用することが証明された。2-(オキサリル-ルアミノ)安息香酸は下記の文献に最初に記載された：Friedlaender et al.、Chem. Ber. 14:1921(1881)。しかしながら、この化合物は数十年間知られてきているが、PTPアーゼインヒビター活性を示すという報告は存在しない。

【0069】

第1に、我々は下記の文献に記載されている古典的定常状態の酵素反応速度論的方法を使用して、2-(オキサリル-ルアミノ)安息香酸およびそのアナログの阻害モードを分析した：R. A. Copeland、Enzymes - A Practical Introduction to Structure, Mechanism and Data Analysis、VCH Publishers, Inc.、New York、1996(第1図)。例示はいかなる方法においても本発明の範囲を限定することを意図しない。特に、本発明の範囲はいかなる時間依存性を示さないインヒビターに限定されることを意図しない。同様に、本発明の範囲は古典的、競合的インヒビターに限定されることを意図しない。

【0070】

第1図から明らかのように、本発明の化合物のあるもの(オキサリルアミノ安息香酸により例示される)はPTP1Bの可逆的、古典的競合的インヒビターとして挙動する(インヒビター濃度と見掛けのKmとの間の直線の関係(第1図(B)); Vmaxに対する影響なし(第1図(C))。Ki値は約30 μMであることが見出された。Kiの計算は詳細に後述され、さらに「定義」の節における例により例示される。

我々は、また、前述したように、これらの条件は他のPTPアーゼインヒビターの阻害に有意に影響を及ぼすことが従来見出された、アッセイ構成成分の影響を研究した。EDTAをアッセイ緩衝液に添加し、そしてジチオスレイトールの代わりにグルタチオンを使用した(第2図)。

【0071】

第2図から明らかのように、本発明のインヒビターは、重要な特徴として、前述のインヒビターと鋭いコントラストなし、アッセイ構成成分、例えば、EDTAおよび還元剤に対して不感受性である(インヒビター濃度と見掛けのKmとの間の直線の関係(第2図(B)); Vmaxに対する影響なし(第2図(C))。Ki値は約50 μMであることが見出された。Vmaxがインヒビター濃度に対して独立であるという事実により、阻害プロセスの可逆的特質は明瞭に示される。

さらに、本発明の化合物のあるものは時間依存性の徴候を示さないことは第3図において証明される。再び、これは本発明の可逆的特質を示す。

【0072】

我々は、1組の新規な化学的アナログを分析することによって、PTPアーゼの阻害能力を定める化学的因子を正確に同定することにした。重要なことには、下記において例示するように、このヒット(すなわち、2-(オキサリル-ルアミノ)安息香酸)のアナログは同一酵素の反応速度論的プロファイルを保持した、すなわち、古典的競合的阻害と同様に挙動する。こうして、この分野においてよく知られている手法を使用して、PTPアーゼの活性部位に結合し/それを阻害し/モジュレートしおよび/またはpTy r認識単位をもつ他の分子に結合するために必要な因子を系統的方法で変化させることによって、本発明の化合物を誘導することができる。

【0073】

2-(オキサリル-ルアミノ)安息香酸アナログの酵素との反応速度論的挙動の例は、第4図および第5図に示されている。驚くべきことには、これらの新規化合物は、2

- ( オキサリ - ルアミノ ) 安息香酸を使用して観測されるインヒビターの古典的競合モードを保持する。これから明らかなように、プロテインチロシンホスファターゼのインヒビターとしてなお作用する本来の化合物の新規なアナログを当業者は作ることができる。いかなる方法においても本発明の範囲を限定することを意図しない1例として、2 - ( オキサリ - ルアミノ ) 安息香酸を置換基を付加し、これにより効能および選択性を変化させて本発明の他の好ましい化合物を製造することができる。

【0074】

このような新規化合物は、プロテインチロシンホスファターゼまたは p T y r 認識単位をもつ他の化合物のインヒビターまたはモジュレーターであることができ、そして古典的、競合的インヒビターまたは混合型インヒビターであることができる。こうして、本発明は、プロテインチロシンホスファターゼを包含する、p T y r 認識単位をもつ分子の非選択的および選択的インヒビターおよびモジュレーターを製造する方法を提供する。本発明の化合物はさらにプロドラッグとして作用するように修飾することができる。

【0075】

化合物、例えば、酵素インヒビターが生化学的アッセイにおいて非常に効力がありかつ選択的であり、しかも *i n v i v o* において不活性であるということは、薬剤発見におけるよく知られている問題である。このいわゆる生物学的利用能の欠如は、多数の困難な因子、例えば、消化管中の吸収の欠如または低さ、肝臓における第1通過代謝、細胞における低い吸収に帰属されることがある。生物学的利用能を決定する因子は完全には理解されていないが、生化学的アッセイにおいて効力がありかつ選択的であるが、*i n v i v o* において低い活性を示すか、あるいは示さない化合物を、生物学的に活性な化合物の修飾する方法について、この分野においてよく知られている、多数の例が科学的文献の中に存在する。

【0076】

細胞または哺乳動物における吸収が促進されるような方法において、前記化合物の生物学的利用能を改良する化学的基を結合させることによって、「もとの化合物」と命名する、本発明の化合物を修飾することは本発明の範囲内に入る。いかなる方法においても本発明の範囲を限定することを意図しない、前記修飾の例は、1 またはそれ以上のカルボキシ基をエステル（例えば、メチルエステル、エチルエステル、アセトキシメチルエステルまたは他のアシルオキシメチルエステル）に変化させることを包含する。化学的基をさせることによって、このような修飾された、本発明の化合物、すなわち、もとの化合物、は「修飾された化合物」と命名される。

【0077】

前記化学的基は本発明の請求の範囲において明らかであるか、あるいは明らかでないことがある。いかなる方法においても本発明の範囲を限定することを意図しない、修飾された化合物の他の例は、特定位置において環化された化合物、いわゆる「環状化合物」であり、これらは細胞または哺乳動物の中に吸収されたとき、分子中の1 またはそれ以上の同一特定位置において加水分解されて、本発明の化合物、すなわち、もとの化合物（これは次いで「非環状」と言われる）を生ずる。疑いを回避するために、多くの場合において後者の化合物は、細胞または哺乳動物において吸収された後、加水分解されない他の環状またはヘテロサイクル構造を含有するであろうことが理解される。

【0078】

一般に、前記修飾された化合物は、もとの化合物、すなわち、結合した化学的基または前記修飾を含まない本発明の対応する化合物のそれに類似する挙動を生化学的アッセイにおいて示さないであろう。前記修飾された化合物は生化学的アッセイにおいて不活性であることさえある。しかしながら、細胞または哺乳動物の中に吸収された後、修飾された化合物のこれらの結合した化学的基は引き続いて自発的に、あるいは内因的酵素または酵素合成により除去して、本発明の化合物、すなわち、もとの化合物を生ずる。細胞または哺乳動物における吸収後および前記結合基の除去または前記環状化合物の加水分解後、化合物はもとの化合物と同一構造を有することができ、これによりそれらの活性を再獲得し、そ

れゆえ吸収後細胞および/または *in vivo* 中で活性となる。

【0079】

この分野においてよく知られている多数の手順を使用して、結合した化学的基が除去されたこと、あるいは環状化合物が細胞または哺乳動物の中に吸収された後加水分解されたことを確認することができる。いかなる方法においても本発明の範囲を限定することを意図しない。例は下記に記載されている。アメリカン・ティッシュ・コレクション (American Tissue Collection) から入手できる哺乳動物細胞系を、前記修飾された化合物とインキュベートする。この分野においてよく知られている条件下でインキュベートした後、細胞を適当に洗浄し、溶解し、ライゼイトを単離する。この分野においてよく知られている適当な対照を含めなくてはならない。

【0080】

この分野においてよく知られている多数の異なる手順を引き続いて使用して、前記ライゼイトから前記化合物を抽出し、精製することができる。前記環状化合物は結合した化学的基を保持するか、しないことができるか、あるいは前記環状化合物加水分解されているか、されてきていないことができる。同様に、この分野においてよく知られている多数の手順を使用して、前記精製された化合物を構造的かつ化学的に特性決定することができる。

【0081】

前記精製された化合物は前記細胞ライゼイトから単離され、それゆえ前記細胞系統により吸収されているので、前記構造的かつ化学的に特性決定された化合物をもとの未修飾化合物 (すなわち、前記結合した化学的基または前記非環状化合物を含まない) との比較は、結合した化学的基が細胞中で除去されているかどうか、あるいは環状化合物が加水分解されているかどうかについての情報を直ちに提供するであろう。

【0082】

それ以上の分析として、前記精製された化合物を本発明において詳細に記載されているように酵素反応速度論的分析に付した。反応速度論的プロファイルが前記結合した化学的基を含まないが、前記修飾された化合物と異なるもとの化合物のそれに類似する場合、これにより前記化学的基が除去されているか、あるいは前記環状化合物が加水分解されていることが確認される。同様な技術を使用して、全動物または哺乳動物において本発明の化合物を分析することができる。

【0083】

好ましいプロドラッグは、下記の一般的手順により製造できる本発明の化合物のアセトキシメチルエステルである (C. Schultz et al., The Journal of Biological Chemistry, 1993, 268: 6316-6322)。

カルボン酸 (1当量) を乾燥アセトニトリル (2 ml / 0.1 mmol) の中に懸濁させる。ジイソプロピルアミン (3当量) を添加し、次いでプロモメチルアセテート (1.5当量) を添加する。この混合物を窒素雰囲気下に一夜室温において攪拌する。アセトニトリルを真空下に除去して油を生成し、これを酢酸エチル中で希釈し、水 (3x) で洗浄する。有機層を無水硫酸マグネシウム上で乾燥する。濾過し、次いで溶媒を真空下に除去すると、粗製油が得られる。生成物をシリカゲル上のクロマトグラフィーにより精製し、適当な溶媒系を使用する。

【0084】

定義

シグナル伝達は、所定の細胞または組織の活性化を追跡するすべての細胞プロセスを規定するために使用する集合的用語である。いかなる方法においても本発明の範囲を限定することを意図しない、シグナル伝達の例は、ポリペプチドのホルモンおよび成長 (例えば、インスリン、インスリン様成長因子 I および II、成長ホルモン、表皮成長因子、血小板由来成長因子)、サイトカイン (例えば、インターロイキン)、細胞外マトリックス成分、および細胞-細胞相互作用である。

【0085】

ホスホチロシン認識単位 / チロシンホスフェート認識単位 / p T y r 認識単位は、リン酸化ホスホチロシン残基 ( p T y r ) を含有する分子に対するアフィニティーを有するタンパク質または糖タンパク質の領域またはドメインである。いかなる方法においても本発明の範囲を限定することを意図しない、p T y r 認識単位の例は次の通りである：P T P アーゼ、S H 2 ドメインおよびP T B ドメイン。さらに、いくつかのレセプター型P T P アーゼまたはレセプター様P T P アーゼにおいて、第2ドメイン ( C 末端ドメイン ) は触媒活性をもたない可能性が最も少ないであろう。

【0086】

非限定的例として、C D 4 5 の第2ドメインは活性P T P アーゼとして作用ように思われない ( K a s h i o e t a l . , J . B i o l . C h e m . 2 7 3 : 3 3 8 5 6 - 2 2 8 6 3 ( 1 9 9 8 ) および本明細書における参考文献参照 ) 。しかしながら、C D 4 5 の第2ドメインはホスホチロシン認識単位として重要な役割を演じ、そしてi n v i v o におけるインターロイキン - 2 の分泌およびT C R z の基質レクルートメントのために重要である ( K a s h i o e t a l . , s u p r a ) 。こうして、この場合におけるC D 4 5 の第2ドメインはS H 2 ドメインと同様な役割を演じ、それゆえホスホチロシン認識単位として作用する。形式的に証明されないが、P T P アーゼに類似する他の分子、例えば、I A - 1 およびI R - 2 b はp T y r 認識単位として作用する。

【0087】

ホスホチロシン認識単位を有するタンパク質は、ホスホチロシン認識単位を含有するタンパク質または糖タンパク質として定義される。

リガンドは、他の分子に結合する分子または化合物として定義される。いかなる方法においても本発明の範囲を限定することを意図しない、リガンド例は、タンパク質または糖タンパク質に結合する、2500ダルトンに等しいか、あるいはそれより低い分子量を有する非ペプチド分子である。

【0088】

ホスホチロシン認識単位リガンドは、1 またはそれ以上のホスホチロシン認識単位をもつタンパク質または糖タンパク質の1 またはそれ以上のホスホチロシン認識単位に結合する分子として定義される。こうして、ホスホチロシン認識単位リガンドの非限定的例は、P T P アーゼインヒビターおよび / またはP T P アーゼモジュレーターを包含する。ホスホチロシン認識単位リガンドの他の非限定的例は、S H 2 ドメインおよび / またはP T B ドメインに結合する化合物である。

【0089】

P T P アーゼは、p T y r を含有するタンパク質または糖タンパク質を脱リン酸化する能力を有する酵素である。いかなる方法においても本発明の範囲を限定することを意図しない、P T P アーゼの例は次の通りである：「古典的」P T P アーゼ ( 細胞内P T P アーゼ ( 例えば、P T P 1 B 、 T C - P T P 、 P T P 1 C 、 P T P 1 D 、 P T P D 1 、 P T P D 2 ) およびレセプター型P T P アーゼ ( 例えば、P T P 、 P T P 、 P T P 、 P T P 、 C D 4 5 、 P T P 、 P T P μ ) 、二重特異的ホスファターゼ ( V H 1 、 V H R 、 c d c 2 5 ) 、 L M W - P T P アーゼまたは酸性ホスファターゼ。G e n B a n k に報告されている現在知られている古典的および他のP T P アーゼのリストを表1 ~ 表8 に示す ( 適当な受け入れ番号が示されている ) 。

【0090】

【表1】

表 1

## PTP アーゼ (部分のおよび全長のcDNA) のリスト

名 称	受け入れ番号			
ウシ				
bPTPBA14		U20807		
Chicken				
cLAR		L32780		
cPTP1B		U86410		
cPTPalpha		Z32749, L22437		
cPTPcryp2		U65891		
cPTPgamma		U38349		
cPTPlambda		L13285, Z21960		
cPTPsyp		U38620		
cPTPzeta		L27625		
ヒト				
hCD45	Y00638	Y00062	p08575	
hchPTP1	U42361			
hGLEPP1	U20489			
HLAR	Y00815			
hLCPTP	D11327			
hLyPTP1	AFC01846			
hLyPTP2	AFC01847			
hMEG1	M68941			
hMEG2	M83738			
hPCPTP1	D64053	U42361		
hPEST	D13380	M93425		
hPTP1B	M31724	M33689		
hSHP1	M74903	X62055	M77273	X82817* X82818**
hSHP2	X70766	L08807	D13540	L03535 L07527
hPTP1E	U12128	D21209	D21210	D21211
hPTPalpha	M34668	X54130	X54890	X53364
hPTPBDF1	X79568			
hPTPbeta	X54131			
hPTPch1g	U77917	U77916*		
hPTPCOM1	Z79693			
hPTPD1	X79510			
hPTPD2	X82676			
hPTPdelta	X54133	L38929		
hPTPDEF1	U10886	D37781		
hPTPEC	X82635	E09724*		
hPTPepsilon	X54134			

【 0 0 9 1 】

【 表 2 】

表 2

## PTP アーゼ (部分のおよび全長のcDNA) のリスト

名 称	受け入れ番号				
hPTPFMI	X95712				
hPTPgama	L09247	X54132			
hPTPH1	M64572				
hPTPHE	M64322				
hPTPIA2	L18983	Z48226			
hPTPIA2beta	U65065				
hPTPIAR	AF007555	L76258			
hPTPICA512	X62899				
hPTPkappa	L77886	Z70660			
hPTPL1	X80289				
hPTPmu	X58288				
hPTPPCP2	X97198				
hPTPpi	U81561				
hPTPPNP1	X79676				
hPTPps1	U60289	U73727			
hPTPrho	AF043644	AL024473	AL022239	AQ02047	
hPTPRO	U71075				
hPTPS31	I32035	I32036	I32037	I32038	I32039
hPTPSAP1	D15049				
hPTPsigma	U35234	U40317	U41725		
hPTPU2	Z48541				
hPTPzeta	M93426	X54135	U88967		
hTCPTP	M25393	M81478	M80737		
hPTP-af007118	AF007118				
hchPTP	U42361				
マウス					
mCD45	M14342	M92933	M33482		
mDFZPTP	D28529				
mLAR	Z37988				
mMEG2	Af013490				
mPEP	M90388				
mPEST	X86781				
mPTP1B	M97590	U24700			
mPTP1C	M68902	M90389			
mPTP1D	L08563	D84372			
mPTP35	X74438				
mPTP36	D31842				
mPTPalpha	M33671	M36033			

【 0 0 9 2 】

【 表 3 】

表 3

## PTP アーゼ (部分のおよび全長のcDNA) のリスト

名 称	受け入れ番号			
mPTPbeta	X58289			
mPTPBL	Z32740			
mPTPBR7	D31898			
mPTPbyp	E45212			
mPTPdelta	D13903	E09890	E09891	E09892
mPTPepsilon	U35368	U35758	D83484	U62387 U40280
mPTPesp	U36488			
mPTPFLP1	U52523	U49853		
mPTPftpl	D88187			
mPTPgamma	L09562			
mPTPGMC1	AF073998	AF073999		
mPTPGMC1	AF073998	AF073999		
mPTPHA2	L40595			
mPTPIA2	U11812			
mPTPK1	U35124			
mPTPkappa	L10106			
mPTPlambda	U55057			
mPTPmu	X58287			
mPTPNP	U57345			
mPTPP19	X63440	S35169		
mPTPphi	U37467	U37466	U37465	
mPTPRIP	D83966			
mPTPRL10	D37801	D83072		
mPTPNU3	X82288			
mPTPT9	D28530	D28531*		
mPTPSL	Z30313	Z23058		
mPTPtestis	D64141			
mSTEP61	U28217	S80329	U28216	
mTCPTP	S52655	M81477	M80739	
ラット				
rCBPTP	M10072	Y00055		
rLAR	L11586	U00477	X83546	X83505
rLCPTP	U28356			
rPC12PTP1	U14914			
rPTP- E10496	E10496			
rPTP-E09723	E09723			
rPTP1B	M33962			
rPTP1D	U09307	U05963		
rPTP20	U69673			

【 0 0 9 3 】

【 表 4 】

表 4

## PTP アーゼ (部分のおよび全長のcDNA) のリスト

名 称	受け入れ番号		
rPTP2E	U17971	U18293	
rPTPalpha	L01702		
rPTPBEM1 (partial cds)		D45412	
rPTPBEM2	D45413		
rPTPBEM3	D45414		
rPTPD30 (complet cds)		U28938	
rPTPDEP1	U40790		
rPTPepsilon	D78610	D78613	
rPTPGMC1	AF063249		
rPTPICAL35	X92563	D38222	
rPTPNE6	U73458	Z50735	
rPTPOST	L36884		
rPTPP1	L19180		
rPTPPS	L19181		
rPTPpsi	U66566		
rPTPsigma	L11587	L12329	L19933
rPTPzeta	U09357		
rRKPTP	D38072		
rSTEP	S49400		
rSHP1	U77038		
rTCPTP	X58828		
rPTPTD14	AF077000		
ウサギ			
rabPTP-oc	U32587		
=====			
他の PTPアーゼ			
=====			
VHL-様 (すなわち dual+tyrosineの両者)			
hCL100	X68277	S46269	
hMKP-2	U48807		
hMKP-4	Y08302		
hPAC-1	U23853	L11329	
hPTEN	U93051	AF000731	AF000732 AF000733
		AF000734	
hPTPpyst1	X93920		
hPTPpyst2	X93921		
hPTPTH2	AF019083		

【 0 0 9 4 】

【 表 5 】

表 5

## PTP アーゼ (部分的小よび全長のcDNA) のリスト

名 称	受け入れ番号	
hTYP1	S80532	
hVH1	???	
hVH2	U21108	
hVH5	U27193	
hVHR	???	
mERP	S64851	
mI29-PAC1	U09268	
mMKP-1	X61940	
mNTP1	X95518	
mPAC-1	L11330	
mPRL-1	U84411	
mSty	U11054	
mSTYX	U34973	
mVH1	X61940	
myxomaPTP	L31960	
nostocPTP	L11332	
raccPTP	L13165	
rCL100	S81478	X84004
rMKP-2	U23438	
RPRL-1	L27843	
ru02553	U02553	
rVH6	U42627	
shopePTP	L32180	
yVH1	L04673	
hPRL3	AF041434	
<b>LMW</b>		
bPTP1mw	M83656	
hRBC1mw	M83653	M83654
yLMPTP1	L33929	
yLTP1	U11057	L48604
<b>cdc25- ファミリー :</b>		
hPTPcdc25a	M81933	
hPTPcdc25b2	268092	
hcdc14B	AF023158	

【 0 0 9 5 】

【 表 6 】

表 6

## PTP アーゼ (部分的小および全長のcDNA) のリスト

名 称	受け入れ番号
未分類哺乳動物PTPアーゼ:	
hPTPCAAX1	U48296
hPTPCAAX2	U48297
hPTPCIP2	L25876
hPTPCdi1	UG2681
hPTPICAAR	Y08569
hPTPTEP1	U96180
hPTPkiaa0283	AB006621
hPTPPRL-1	AF051160
hPTPPRL-3	AF041434
hPTP_putative_	AF007118
mPTP-IF1	Y17345
mPTP-IF2	Y17344
mPTP-IF2P	Y17343
微生物PTPアーゼ (すなわち、細菌およびウイルス)	
autovPTP	M96763
salmPTP	U63292
strepPTP	U37580
ラシブルシア (Rachiplusia) ・ オウ ・ 核多菌ウイルス	
npvPTP	AF068270
他の真核生物 (すなわち、ショウジョバエ、酵母、真菌、クセノプスおよびその他)	
アラビドプシス・タリアナ (Arabidopsis thaliana)	
atPTP1	AF055635
atPTP1-イントロ	AJ006309
セノルハブディティス・エレガンス (Caenorhabditis elegans)	
ceCosmid	Z80216
cePTP2	AF015882
cePTP6	Z70284
cePTPclr-1	AF047880
cePTPPRL-1	AF063401

【 0 0 9 6 】

【 表 7 】

表 7

## PTP アーゼ (部分的小よび全長のcDNA) のリスト

名 称	受け入れ番号			
ショウジョバエ ( <i>Drosophila</i> )				
dLAR	M27700			
dPTP10D	M80465	M80538		
dPTP4E	L20894			
dPTP61F	L11253	L14849	L11252	L11251
dPTP69D	M27699			
dPTP99A	M80464	M80539	M81795	
dPTPcork	U19909			
dPTPPRL-1	AF047880	AF047881		
ディコチオステリウム・ジスコイデム ( <i>Dictyostelium discoideum</i> )				
dictPTP	L07125			
dictPTP2	L15420			
dictPTP3	U38197			
エメリセラ・ニツランス ( <i>Emericella nidulans</i> )				
ePTPncdc25	X64601	S37934		
トリコモナス・フェツス ( <i>Tritrichomonas foetus</i> )				
triPTP.pep	U66070			
シゾサッカラムセス・ポンベ ( <i>Schizosaccharomyces pombe</i> )				
yPTP1	Z73100			
yPTPcand	LJ1038			
yPTPMSG5	D17548			
yPTPpyp1	M63257			
yPTPpyp2	X59599	S51320		
yPTPpyp3	X69994	S51385		
yPTPrna	X75077			

【 0 0 9 7 】

【 表 8 】

表 8

## PTP アーゼ (部分のおよび全長のcDNA) のリスト

名 称	受け入れ番号
エルシネア・セリビシエ ( <i>Yersinea cervisiae</i> )	
yscPTP	M64062
yscPTP2	M38723 M82872
yscPTP3	AF006304
クセノプス ( <i>Xenopus</i> )	
xCD45	AF024438
xPTP-SH2	U15287
xPTPalpha	U09135
xPTPX1	L33098
xPTPX10	L33099
ヒルド・メディシナリス ( <i>Hirudo medicinalis</i> )	
hmLar1	AF017084
hmLar2	AF017083
ピスム・サティブム ( <i>Pisum sativum</i> ) (エンドウ)	
peaPTP1	AJ005589
グリシネ・マックス ( <i>Glycine max</i> ) (ダイズ)	
soybeanPTP1	AJ006308

## 【 0 0 9 8 】

PTP アーゼモジュレーターは、PTP アーゼ活性の変化を引き起こす化合物である。PTP アーゼモジュレーターはPTP アーゼ活性を低くするか、あるいは高くすることができる。PTP アーゼモジュレーターは、本発明によれば、PTP アーゼの活性部位に結合するか、あるいはPTP アーゼの活性部位の外側領域に結合する(いわゆるアロステリックモジュレーター)ことができる。PTP アーゼモジュレーターの他の非限定的例は、PTP アーゼの基質特異性を変更する化合物である。

## 【 0 0 9 9 】

PTP アーゼドメインは、典型的には、しかし常にではないが、特徴的酵素活性、すなわち、pTyrを含有するタンパク質または糖タンパク質を脱リン酸化する能力、を有する完全なPTP アーゼ分子である。古典的PTP アーゼのPTP アーゼドメインは典型的には220 ~ 350 アミノ酸残基から成り、PTP1Bのアミノ酸残基番号30 ~ 270 に対応する。PTP アーゼドメインは、真核および原核の発現系において、ドメインそれ自体としてまたは融合タンパク質の一部として発現されることができる。

## 【 0 1 0 0 】

SH2 ドメイン Src 相対性 2 (SH2) ドメインは、pTyr (ホスホチロシン残基) を含有するタンパク質に結合する非触媒タンパク質モジュールである、すなわち、SH2 ドメインはpTyr 認識単位である。SH2 ドメインは、約100 アミノ酸残基から成り、シグナル伝達プロセスに関係する多数の異なる分子の中に見出される。SH2 ドメインを含有するタンパク質の非限定的例は次の通りである: Src、Hck、Lck、Syk、Zap70、SHP-1、SHP-2、STATs、Grb-2、Shc、p85/P13K、Gap、vav (下記の文献を参照のこと: Russell et al., FEBS Lett. 304: 15-20 (1992); Paws

on、Nature 373:573-580(1995); Sawyer、Biopolymers (Peptide Science) 47:243-261(1998); および本明細書中の参考文献)。

#### 【0101】

SH2 ドメイン/pTyrタンパク質の相互作用のための構造的要件は、合成、チロシンリン酸化ペプチドを使用して分析され、さらにX線結晶学およびNMRにより解明されてきている。特徴のモチーフ、FLVRES(単一アミノ酸コード)はpTyrのための結合ポケットの一部を形成する。さらに、1またはそれ以上の他のポケットはアフィニティーおよび選択的決定においてある役割を演ずる。こうして、Src SH2ドメインにおいて、疎水性ポケットはpTyr残基に対して3残基C末端に位置するアミノ酸に結合する(すなわち、pY+3)。多数の研究はpTyr残基に対してC末端に位置する残基の重要性を指摘した(概観については、Pawson、supra参照)。

#### 【0102】

SH2ドメインに結合するリガンドの決定 SH2ドメインへの非ホスフェート含有リガンドの結合を評価するために有用な、当業者によく知られている、いくつかの方法が開発されてきている。いかなる方法においても本発明の範囲を限定することを意図しない、1つの例は、最近、Yaoおよび共同研究者らにより発表された(Yao et al.、J. Med. Chem. 42:25-35(1999))。これらの著者らは、Grb2 SH2ドメイン結合(IC<sub>50</sub>)に対する非ホスフェート含有リガンドの阻害能力を測定する表面プラズモン共鳴方法を使用した。

#### 【0103】

簡単に述べると、組換えGST-Grb2 SH2ドメインを種々の量のリガンドとインキュベートし、表面結合SHCホスホペプチド、DDPSPYVNVQ(単一アミノ酸コード、ここでpYはホスホチロシン残基を示す)を横切って流れさせた。平衡結合(Ru(max))量を測定し、リガンドの非存在下の結合と比較した。上記SHCホスホペプチド、DDPSPYVNVQを対照として使用した。同様に、この分野においてよく知られている適当な表面結合チロシンリン酸化ペプチドを使用して、他のSH2ドメインについてリガンドの結合を測定することができる。

#### 【0104】

SH2ドメインに結合するペプチドリガンドを評価する他の非限定的アプローチは、いくつかの研究所により開発されてきている(Fantl et al.、Cell 69:413-423(1992); Ward et al.、J. Biol. Chem. 271:5603-5609(1996); および本明細書中の参考文献)。また、当業者によりよく理解されているわずかの修飾を有するSH2ドメインに対する非ペプチドリガンドを評価するために、このようなアッセイを使用することができる。

#### 【0105】

PTBドメイン 最近、新規な型のpTyr認識単位(PTPドメイン=ホスホチロシン結合ドメイン)がshcにおいて同定され、これはアダプタータンパク質である(KavanaughおよびWilliams、Science 266:1862-1865)。PTBドメインはSH2ドメイン(約190残基)より長い。shcPTBドメインに結合するリガンドについてのアッセイは最近Kavanaughおよび共同研究者らにより開発された(Kavanaugh et al.、Science 268:1177-1179(1995); Laminet et al.、J. Biol. Chem. 271:264-269(1996))。

#### 【0106】

PTPアーゼファミリーは、構造的に関係するPTPアーゼの1グループとして定義された。こうして、PTPアーゼファミリーを定める1つの許容された方法は、1またはそれ以上のPTPアーゼドメインの外側のPTPアーゼの一次構造または他の全体の構造に基づく(Fisher et al.(1991) Science 253:40

1 - 406 ; B . J . Goldstein ( 1995 ) in Protein Profile , Vol . 2 , No . 13 , Academic Press Ltd . , London ) 。このように方法において定義された P T P アーゼファミリーの非限定的例は、次の通りである :

【 0 1 0 7 】

( a ) S H 2 ドメインを含有する P T P アーゼ、S H P ファミリー : S H P - 1 ; S H P - 2

( b ) P T P 1 B ファミリー : P T P 1 B ; T C - P T P

( c ) エズリン含有 P T P ファミリー : P T P H 1 ; P T P D 1 ; P T P D 2 ; P T P M E G

( d ) P T P - B S A ファミリー

( e ) プロリン - グルタミン酸 - セリン - スレオニン ( P E S T ) を含有する P T P アーゼ : P T P - P E S T ; P E P

( f ) 非常に小さい、高度にグリコシル化細胞外領域を含有する P T P アーゼ、P T P ファミリー : P T P ; P T P

( g ) 1 つの細胞内 P T P ドメインを有するレセプター型 P T P アーゼ、P T P ファミリー : P T P 、 P E P - 1 、 G L E P P - 1 、 S A P - 1

【 0 1 0 8 】

( h ) 免疫グロブリン様ドメインおよびフィブロネクチン I I I 様ドメインを有する細胞外領域を有する P T P アーゼ、P T P - L A R ファミリー : P T P - L A R ; P T P ; P T P

( i ) M A M ドメインを有する細胞外領域を含有する P T P アーゼ、P T P  $\mu$  ファミリー : P T P  $\mu$  ; P T P

( j ) 炭酸無水物に類似する細胞外領域を含有する P T P アーゼ、P T P ファミリー : P T P 、 P T P

( k ) I A - 2 ファミリー

( l ) P T P ファミリー

( m ) C D 4 5 ファミリー

【 0 1 0 9 】

すべての P T P アーゼがいずれかのファミリーに分類されてきているか、あるいは分類することができるわけではいことに注意すべきである。

別方法として、P T P アーゼはまた一次配列の配列整列に基づいてファミリーに分割することができる ( Goldstein vide supra ) 。この分野においてよく知られているコンピュータープログラム ( 例えば、G C G University of Wisconsin 、 refs ) を使用して、このような整列を実施することができる。いわゆる系統樹を生ずるコンピュータープログラム、例えば、C L U S T A L X を使用して、それ以上の分析を実施した。

【 0 1 1 0 】

前記系統樹の 1 例は第 7 図に示されている。P T P アーゼをファミリーに分割する前述の方法はかなりのオーバーラップを示すことに注意すべきである。ファミリーへの P T P アーゼの好ましい定義は P T P アーゼの一次配列整列に基づく。なぜなら、所定の P T P アーゼファミリーまたは特定のファミリーのメンバーと選択的に反応する P T P アーゼインヒビターまたはモジュレーターの開発を可能とするアッセイを確立するために、この定義を引き続いて使用することができるからである ( すなわち、選択的インヒビター ) 。

【 0 1 1 1 】

細胞プロセスのモジュレーションは、1 ) 進行している、正常または異常な、シグナル伝達を増加または減少させる、2 ) 正常のシグナル伝達を開始する、および 3 ) 異常なシグナル伝達を開始する、本発明の化合物の能力として定義される。

【 0 1 1 2 】

p T y r 仲介シグナル伝達のもジュレーション / p T y r 認識単位を有する分子の活性のもジュレーションは、1) p T y r 認識単位 (例えば、P T P アーゼ、S H 2 ドメインまたはP T B ドメイン) を有するタンパク質または糖タンパク質の活性を増加または減少させるか、あるいは2) p T y r 認識部位に対する直接的作用を介してまたは間接的メカニズムを介して、p T y r 認識単位を有するタンパク質または糖タンパク質とのp T y r 含有分子のアソシエーションを減少または増加させる、本発明の化合物の能力として定義される。

#### 【0113】

いかなる方法においても本発明の範囲を限定することを意図しない、p T y r 仲介シグナル伝達のもジュレーション / p T y r 認識単位を有する分子の活性のもジュレーションの例は次の通りである：a) 進行している細胞プロセスのシグナル伝達を増加または減少させるP T P アーゼ活性の阻害；b) 正常または異常な細胞活性を開始させるP T P アーゼ活性の阻害；c) 進行している細胞プロセスのシグナル伝達を増加または減少させるP T P アーゼ活性の刺激；d) 正常または異常な細胞活性を開始させるP T P アーゼ活性の刺激；e) 進行している細胞プロセスのシグナル伝達を増加または減少させるp T y rをもつタンパク質または糖タンパク質へのS H 2 ドメインまたはP T B ドメインの結合の阻害；f) 正常または異常な細胞活性を開始させるp T y rをもつタンパク質または糖タンパク質へのS H 2 ドメインまたはP T B ドメインの結合の阻害。

被検体は、ヒトを包含する任意の哺乳動物種として定義される。

#### 【0114】

##### 本発明によるP T P アーゼ阻害の定義

化合物は、下記の条件を満足する場合、P T P アーゼインヒビターとして定義される：(a) 阻害能力は以後詳細に記載するように決定しなくてはならず、そして阻害定数 $K_i$ は $1000 \mu M$ 以下でなくてはならない；(b) 少なくとも1つのP T P アーゼは本発明の化合物により阻害されなくてはならない。任意のP T P アーゼを分析に使用することができる。P T P アーゼの非限定的例は次の通りである：P T P 1 B ; S H P - 1 ; S H P - 2 ; P T P - P E S T ; P T P ; P T P  $\mu$  ; L A R ; C D 4 5。それ以上の例は表1に記載されている。さらに、本明細書に記載されていないP T P アーゼを使用することができる。

#### 【0115】

##### 阻害定数の決定

阻害定数 ( $K_i$  値) は、インヒビター蛍光クエンチングを含む多数の異なる実験手順に従い決定することができる。すべての場合において、本発明の化合物を評価するために、このような方法は酵素の触媒活性に対する化合物の作用を測定する手順に従い補足することができる。このようなアッセイの条件を下に例示する。

#### 【0116】

##### P T P アーゼ

分析に使用するP T P アーゼは、無傷の分子またはP T P アーゼドメインとして発現されなくてはならない。

#### 【0117】

##### アッセイ条件

アッセイ条件は酵素安定性を保証するように選択しなくてはならない、すなわち、酵素は基質の非存在下にアッセイ期間にわたって初期活性の少なくとも50%を保持しなくてはならない。

#### 【0118】

##### 緩衝液系

本発明の化合物の分析のために、この分野においてよく知られている任意の緩衝液系を選択することができる。

##### 緩衝液1

100mM のNaAc (酢酸ナトリウム) pH 5.5

0.1%のBSA(ウシ血清アルブミン)

15mMのDTT(ジチオスレイトール)

緩衝液 2

100mMのNaAc pH 5.5

50mMのNaCl

0.1%のBSA

5mMのDTT

【0119】

緩衝液 3

100mMのNaAc pH 5.5

50mMのNaCl

0.1%のBSA

5mMのGSH(グルタチオン)

1mMのEDTA

緩衝液 4

50mMのHEPES pH 7.0

100mMのNaCl

0.1%のBSA

5mMのDTT

【0120】

緩衝液 5

50mMのHEPES pH 7.0

100mMのNaCl

0.1%のBSA

5mMのGSH

1mMのEDTA

緩衝液 6

20mMのMES pH 6.0

150mMのNaCl

5mMのDTT

0.1%のBSA

【0121】

緩衝液 7

(Ellis & Morrison (1982) Methods Enzymol. 117: 301-342に記載されている一定強度の緩衝液) 50mMのTris

50mMのBis-Tris

100mMの酢酸塩

pH範囲: 4.5 ~ 9.0

還元剤(DTT、GSH、2-メルカプトエタノール)を含むか、あるいは含まない  
担体タンパク質(例えば、BSA、ゼラチン)を含むか、あるいは含まない

【0122】

反応時間

反応時間は2 ~ 60分が好ましい。

反応温度

本発明の化合物の分析のために、この分野においてよく知られている任意の反応温度を選択することができる。好ましい温度は4 ~ 37の範囲である。

【0123】

基質

反応において使用する基質は下記から選択される: (a) p-ニトロホスフェート(pNPP); (b) チロシンリン酸化ペプチド; (c) 自然基質(例えば、自己リン酸

化インスリンレセプター) またはその一部分(例えば、インスリンレセプターの自己リン酸化チロシンキナーゼドメイン)。pNPPを基質として使用するとき、ほぼ405nmの波長における光学密度の測定により、酵素反応を追跡する。(b) および(c)の場合において、解放されたホスフェートの測定によるか、あるいはこの分野においてよく知られている手順に従う分光光度測定/蛍光測定法により、酵素反応を追跡する。

#### 【0124】

##### 化合物および基質の濃度

阻害定数の最適な決定を保証するために、基質およびインヒビターの濃度を下記のガイドラインに従い独立に変化させなくてはならない。

基質の濃度範囲は好ましい最大、最終アッセイ濃度とともに変化させなくてはならない。この最終アッセイ濃度は同一条件下に決定された酵素についての $K_m$ 値のその少なくとも10倍である。最小最終アッセイ濃度は、同一条件下に決定された酵素についての $K_m$ 値のそれに等しいか、あるいはそれより低いことが好ましい。

少なくとも2つの異なるインヒビター濃度を使用しなくてはならない。濃度は実際の化合物に依存するが、非線形回帰分析が当業者に受容される正確度で阻害定数の決定を可能とするような方法において、濃度を選択しなくてはならない。

#### 【0125】

##### 阻害定数 $K_i$ の計算

###### 定義

$V_o$ 、初期速度は時間ゼロに対応する反応である。

$K_m$ は、酵素の完全基質濃度において最大の得ることができる速度( $V_{max}$ )の50%に対応する初期速度を得るために使用される基質濃度である。 $K_m$ はインヒビターを添加しないで測定される。

#### 【0126】

$V_{max}$ は、酵素の完全基質濃度において決定された最大の得ることができる初期速度(制限速度)である。

$K_{app}$ は、インヒビターの存在下に決定された見掛けの $K_m$ 値である。

$V_{app}$ は、インヒビターの存在下に決定された見掛けの $V_{max}$ 値である。

競合インヒビターは、酵素の基質結合部位に結合する化合物または基質結合部位を閉塞するために十分に密接して存在する化合物として定義される。真の競合的インヒビター(また、古典的競合インヒビターと命名される)は、 $V_{max}$ に作用しないで、 $K_{app}$ を増加させる。

#### 【0127】

混合型インヒビターは、 $K_m$ および $V_{max}$ の双方に影響を与えるインヒビターとして定義される。

非競合インヒビターは、 $K_m$ に作用しないで、 $V_{app}$ を減少させるインヒビターとして定義される。

古典的ミカエリス・メンテン反応速度論に従うと、競合インヒビターの阻害定数 $K_i$ は下記方程式から計算することができる：

$$K_{app} = (K_m / K_i) \times [i] + K_m \quad (\text{方程式 1})$$

ここで $[i]$ はインヒビター濃度である。

#### 【0128】

混合型インヒビター $K_i$ の競合部分 $K_{ic}$ は下記方程式から計算することができる：

$$K_{ic} = i / ((V_m / K_m) \times (K_{app} / V_{app}) - 1) \quad (\text{方程式 2})$$

混合型インヒビター $K_i$ の非競合部分 $K_{iu}$ は下記方程式から計算することができる：

$$K_{iu} = i / (V_{max} / V_{app} - 1) \quad (\text{方程式 3})$$

競合または混合型阻害を仮定して、上記において定義した古典的ミカエリス・メンテン酵素反応速度論のモデルに適合する線形変換手法または非線形回帰を使用して、所定化合物についての $K_i$ 値を計算することができる。本発明の好ましい化合物は、競合または混合型インヒビターのクラスに属する。

## 【0129】

上記酵素反応速度論のパラメーターの定義についての情報は酵素反応速度論の参考書の中に見出される。このような参考書の非限定的例は次の通りである：(a) Copeland (vide supra)；(b) M. Dixon & E. C. Webb、Enzymes、第2版、Longmans、London、1996；(c) A. Cornish-Bowden、Fundamentals of Enzyme Kinetics、Portland Press、1995。

## 【0130】

阻害定数の計算 - 実施例

K<sub>i</sub> 値の計算は、いかなる方法においても本発明の範囲を限定することを意図しない、下記実施例によりいっそう明らかとなるであろう。

PTP1B を本発明の化合物（実施例2に記載されている）とインキュベートした。N末端321アミノ酸に対応するPTP1Bのトランケート型を大腸菌（E. coli）中で発現させ、この分野においてよく知られている発表された手法を使用して均質に精製した。本質的にBurke et al.、Biochemistry 35；15989-15996（1996）に記載されている条件下に、酵素反応を実施した。アッセイ条件は次の通りである。96ウェルのプレートの半分をこの実験のために使用した。

## 【0131】

p-ニトロホスフェート（pNPP）を基質として使用した（表2参照）。pNPPの下記最終アッセイ濃度を使用した：10mM（行A中のすべてのウェルに添加した）、5mM（行B中のすべてのウェルに添加した）、2.5mM（行C中のすべてのウェルに添加した）、1.25mM（行D中のすべてのウェルに添加した）、0.63mM（行E中のすべてのウェルに添加した）、0.31mM（行F中のすべてのウェルに添加した）、0.16mM（行G中のすべてのウェルに添加した。基質を行Hに添加しなかった（pNPPのそれに対応するアッセイ緩衝液の体積を行Hに添加した））。

## 【0132】

DMSO中に溶解した3-(オキサリル-アミノ)ナフタレン-2-カルボン酸（実施例2）をインヒビターとして使用し、下記最終アッセイ濃度で使用した：100μM（列A中のすべてのウェルに添加した）、33.3μM（列2中のすべてのウェルに添加した）、11.1μM（列3中のすべてのウェルに添加した）、3.7μM（列4中のすべてのウェルに添加した）。アッセイ緩衝液をインヒビターの代わりに列5および6に添加した（列1～4におけるインヒビターと同一体積）。アッセイ緩衝液（最終アッセイ濃度）：100mMの酢酸ナトリウムpH5.5、50mMのNaCl、5mMのグルタチオン、1mMのEDTA、および0.1%のウシ血清アルブミン。

## 【0133】

反応を酵素PTP1Bの添加により開始した。アッセイ緩衝液をインヒビターの代わりに列6に添加した（列1～5におけるインヒビターと同一体積）。各ウェル中の総体積は100μlであり、10μlのDMSO中に溶解したインヒビターまたはインヒビターを含まない対照ウェルに添加した10μlのDMSOを含んだ。温度は25であった。60分後、NaOHを添加し、吸収を405nmにおいて測定した。結果を表9示す。

## 【0134】

## 【表9】

表 9

405nm において測定した吸収

	1	2	3	4	5	6
A	1.226	1.369	1.445	1.461	1.469	0.124
B	0.929	1.172	1.33	1.35	1.429	0.084
C	0.623	0.971	1.17	1.25	1.311	0.064
D	0.426	0.718	0.948	1.047	1.139	0.053
E	0.254	0.45	0.651	0.755	0.837	0.048
F	0.142	0.266	0.394	0.454	0.501	0.044
G	0.095	0.159	0.226	0.259	0.287	0.044
H	0.043	0.041	0.044	0.042	0.043	0.044

【 0 1 3 5 】

K<sub>i</sub> 値の計算

表 9 からの実際のデータを表 10 にアッセイの構成とともに示す。

【表 10】

表 10

pNPP	インヒビター					無酵素
	100.0	33.3	11.1	3.7	0.0	0.0
10.00	1.226	1.369	1.445	1.461	1.469	0.124
5.00	0.929	1.172	1.33	1.35	1.429	0.084
2.50	0.623	0.971	1.17	1.25	1.311	0.064
1.25	0.426	0.718	0.948	1.047	1.139	0.053
0.63	0.254	0.45	0.651	0.755	0.837	0.048
0.31	0.142	0.266	0.394	0.454	0.501	0.044
0.16	0.095	0.159	0.226	0.259	0.287	0.044
0	0.043	0.041	0.044	0.042	0.043	0.044

【 0 1 3 6 】

第 1 に、吸収の測定値は、表 11 に示すように、対照ウェル 6 から誘導された O D<sub>405</sub> 値について補正しなくてはならない。

【表 11】

表 11

pNPP	インヒビター					無酵素
	100.0	33.3	11.1	3.7	0.0	0.0
10.00	1.182	1.325	1.401	1.417	1.425	0.08
5.00	0.885	1.128	1.286	1.306	1.385	0.04
2.50	0.579	0.927	1.126	1.206	1.267	0.02
1.25	0.382	0.674	0.904	1.003	1.095	0.009
0.63	0.21	0.406	0.607	0.711	0.793	0.004
0.31	0.098	0.222	0.35	0.41	0.457	0
0.16	0.051	0.115	0.182	0.215	0.243	0
0	-0.001	-0.003	0	-0.002	-0.001	0

ウェルH1～H5中の値は、インヒビターそれ自体に由来するいずれかの色(OD<sub>405</sub>)を示す。この実施例において、インヒビターはOD<sub>405</sub>値を発生しなかった。列6中の値は基質の吸収によるOD<sub>405</sub>値を示す。したがって、表4中の補正されたOD<sub>405</sub>値は、表12に示すように、インヒビターおよび/または基質により引き起こされる405nmにおける吸収についてさらに補正しなくてはならない。

【0137】

【表12】

表12

pNPP	インヒビター					無酵素
	100.0	33.3	11.1	3.7	0.0	
10.00	1.103	1.248	1.321	1.339	1.346	0
5.00	0.846	1.091	1.246	1.268	1.346	0
2.50	0.56	0.91	1.106	1.188	1.248	0
1.25	0.374	0.668	0.895	0.996	1.087	0
0.63	0.207	0.405	0.603	0.709	0.79	0
0.31	0.099	0.225	0.35	0.412	0.458	0
0.16	0.052	0.118	0.182	0.217	0.244	0
0	0	0	0	0	0	0

分析したインヒビター濃度(それぞれ、100、33.3、11.1および3.7 μM)の各々においてインヒビターのK<sub>i</sub>値を計算するために、表5中の補正された値をここで使用する。これらのデータの古典的ミカエリス・メンテンのプロットを第4図(A)に示す。表5中のデータの非線形回帰解析を使用して、各インヒビター濃度について、見掛けのK<sub>m</sub>値(mM; K<sub>app</sub>)および見掛けのV<sub>max</sub>値(OD<sub>405</sub>値; V<sub>app</sub>)を計算する(表13)。

【0138】

【表13】

表13

インヒビター	100	33.3	11.1	3.70	0
K <sub>app</sub>	4.30	1.53	0.89	0.69	0.59
V <sub>app</sub>	1.57	1.44	1.47	1.46	1.50

これらのデータは第4図(B)および(C)にグラフで示されている。

表6中のデータおよび方程式1(上を参照)を使用して、各インヒビター濃度についてK<sub>i</sub>値を計算する(表14)。

【0139】

【表14】

表14

インヒビター濃度(μM)	100.0	33.3	11.1	3.7
K <sub>i</sub> (μM)	16.0	21.1	22.5	23.0

インヒビター濃度に関係なく、K<sub>i</sub>値はほとんど同一であるように見える。これをインヒビターがV<sub>max</sub>値を変化させないという事実と組み合わせると、このインヒビターは古典的、競合インヒビターであると結論することができる。さらに、これは、混合型インヒビターを仮定しかつ方程式2(上を参照)を使用して、K<sub>i</sub>の競合部分(K<sub>ic</sub>)を計算することによって例示される。インヒビターが混合型である場合、計算されたK<sub>ic</sub>値は表7におけるK<sub>i</sub>値と有意に異なるであろう。本発明のインヒビターについてのK<sub>i</sub>

c 値を表 15 に示す。

【0140】

【表 15】

表 15

インヒビター濃度 ( $\mu\text{M}$ )	100.0	33.3	11.1	3.7
K <sub>ic</sub>	17.0	19.8	21.1	19.9

表 8 中の K<sub>ic</sub> 値は表 7 中の K<sub>i</sub> 値とほとんど同一であるように見える。

インヒビターの特異性は、ある種の 1 またはそれ以上の PTP アーゼを他の PTP アーゼよりも効率よく阻害またはモジュレートする、このような化合物の性質として定義される。選択的インヒビターは 1 つの PTP アーゼのみまたは 1 つの PTP アーゼファミリーのみを阻害することができる。しかしながら、他の選択的インヒビターは、また、ある組のいくつかの PTP アーゼまたは PTP アーゼファミリーを他の組の PTP アーゼまたは PTP アーゼファミリーよりも効率よく阻害する化合物を包含する。

【0141】

いかなる方法においても本発明の範囲を限定することを意図しない、選択性を有する 1 例は、PTP1B に対して 50  $\mu\text{M}$  の K<sub>i</sub> 値および PTP に対して 500  $\mu\text{M}$  またはそれ大きい K<sub>i</sub> 値を有する競合インヒビターである。いかなる方法においても本発明の範囲を限定することを意図しない、選択的モジュレーターの例は、PTP の活性に影響を与えないで、SHP-1 の活性を 2 倍増加させるモジュレーターである。

【0142】

インヒビターの潜在能力の評価における異なる PTP アーゼの使用をさらに例示するために、他の PTP 構築物を作りかつ発現させる方法を簡単に説明する。当業者は、この説明を読むと、PTP アーゼインヒビターの潜在能力ならびに選択的（下文参照）の評価に使用できる他の PTP アーゼドメインを発現させ、精製することができるであろう。簡単に述べると、組織または細胞または細胞系統の適当な源を使用して RNA（全体のまたはメッセンジャー RNA）を単離する。非限定的例として、RNA を胎盤、肝臓、骨格筋、脂肪組織、および末梢血白血球から単離することができる。

【0143】

この分野においてよく知られている標準的手順（Ausubel, F. M. et al. (編)、SHORT PROTOCOLS IN MOLECULAR BIOLOGY、第 2 版：A compendium of methods from Current Protocols in Molecular Biology、John Wiley & Sons, Inc., New York ISBN 0-471-57735-9 (1992)；Ausubel, Frederick M. Current Protocols on CD-ROM User's Guide；Current protocols in molecular biology、John Wiley & Sons, Inc. (1998)）を使用して、適当な RNA 調製物から cDNA を製造した。このような cDNA 調製物を引き続いてポリメラーゼ連鎖反応（PCR）のための鋳型として使用した。

【0144】

さらに、適当な cDNA 鋳型は商業的源、例えば、クロンテック（Clontech）（1020 East Meadow Circle, Palo Alto, CA 94303）から入手できることに注意すべきである。PCR 技術を使用して下記 PTP アーゼドメインに対応する cDNA を製造した（Ausubel et al., supra）：PTP1B；PTP ドメイン 1；PTP ドメイン 1；CD45 ドメイン 1 および 2。適当な発現ベクターの中へのクローニングを可能とするために、オリゴヌクレオチドの中に適当な制限部位を含めた。いかなる方法においても本発明の範囲を限定することを意図しない、これらの実施例において、pGEX 発現ベクター（Pharmacia）

を使用した。

【0145】

他の発現ベクターの中に好都合にクローニングするために（本明細書において示されていない）、構築物（M）として示す）のいくつかの中に追加のN末端メチオニン（Met-M）を含めた。双方の鎖の配列決定により、すべての配列は確認された。それ以上の詳細は表9に記載されている。PCRのために使用したオリゴヌクレオチドについての情報および問題の特定のPTPアーゼについてのGenBankの受け入れ番号により、これらのPTPアーゼドメインをコードするcDNAを得ることができる。適当な発現ベクターの中に挿入するために、上記グルタチオン-S-トランスフェラーゼ（GST）融合タンパク質をコードする発現ベクターで大腸菌（*Escherichia coli*）を形質転換させた。

【0146】

一夜の培養物を1:25に希釈し、37において3時間成長させた。次いで、イソプロピル-1-チオ-b-D-ガラクトピラノシドの添加によりGST融合タンパク質の発現を誘導させ、培養物を室温においてさらに3時間成長させた。製造業者の使用説明書（Pharmacia）に従い、最小の変更を加えて、GST融合タンパク質を精製した。簡単に述べると、すべての精製工程をほぼ4において実施した。窒素圧（>2000psi）下にパール（Parr）細胞崩壊ボンベ中で、溶解前に、細胞ペレットを溶解緩衝液（50mMのイミダゾール、5mMのEDTA、0.1%のb-メルカプトエタノール、10%のグリセロール、10µg/mlのアプロチニン、0.1%のリゾチームおよび1mMのPMSF；pH7.2）の中に1時間攪拌することによって懸濁（5ml/g）させた。

【0147】

トリトン-X100（0.1%）をライゼイトに添加し、1時間攪拌した後、40000gにおいて30分間遠心した。GST平衡化緩衝液（50mMのイミダゾール、1mMのEDTA、150mMのNaClおよび10%のグリセロール；pH7.2）と平衡化したグルタチオンセファローズカラム（Pharmacia）に上清を適用し、最初に同一緩衝液で洗浄した。流れ方向を変化させ、洗浄を洗浄緩衝液（50mMのTris、1mMのEDTAおよび10%のグリセロール；pH8）で続けた。最後に、結合したタンパク質を洗浄緩衝液中の10mMのグルタチオンで溶離した。CD45融合タンパク質をG25およびモノQカラム（Pharmacia）でさらに精製した。

【0148】

精製されたPTPドメインを使用するまで-80において貯蔵した。使用直前に、酵素調製物を適当に希釈した。この分野においてよく知られている同様な方法を使用して、表1に示す分子の触媒ドメインを得ることができることに注意すべきである。PTP1Bについて本質的に前述されたようにPTPアーゼインヒビターの潜在能力および選択性を評価するために、GST-PTPアーゼ融合タンパク質を使用する。これらのアッセイをさらに例示するために、PTPドメイン1を使用する非限定的実施例を記載する。他のPTPアーゼドメインのために、同様な手順を使用することができる。

【0149】

96ウェルのプレートの半分をこの実験のために使用した。p-ニトロホスフェート（pNPP）を基質として使用した。pNPPの下記最終アッセイ濃度を使用した：20mM、10mM、5mM、2.5mM、1.25mM、0.63mM、0.31mM。ジメチルスルホキシド（DMSO）中に溶解した化合物5-（1,3-ジオキソ-1,3-ジヒドロ-イソインドール-2-イルメチル）-2-（オキサリル-アミノ）-4,7-ジヒドロ-5H-チエノ[2,3-c]ピラン-3-カルボン酸を3-（オキサリル-アミノ）ナフタレン-2-カルボン酸をインヒビターとして使用し、下記最終アッセイ濃度で使用した：200µM、66.6µM、22.2µM、7.4µM。PTP1Bについて詳細に前述したように、アッセイ緩衝液を酵素、および/または基質の代わりに対照ウェルに添加した。

## 【0150】

アッセイ緩衝液（最終アッセイ濃度）：100 mM の酢酸ナトリウム pH 5.5、50 mM の NaCl、5 mM のグルタチオン、1 mM の EDTA、および 0.1 % のウシ血清アルブミン。反応を酵素 GST - PTP ドメイン 1（最終希釈 1 : 10000）の添加により開始した。各ウェル中の総体積は 100  $\mu$ l であり、10  $\mu$ l の DMSO 中に溶解したインヒビターまたはインヒビターを含まない対照ウェルに添加した 10  $\mu$ l の DMSO を含んだ。温度は 25 であった。60 分後、10  $\mu$ l の 0.5 M の水酸化ナトリウム溶液（50 %（v/v）のエタノール中の）を各ウェルに添加し、吸収を 405 nm において測定した。

## 【0151】

結果を第 6 A 図に示す。計算した  $K_i$  値は 4  $\mu$ M（メジアン値）である。同一化合物（5 - (1, 3 - ジオキソ - 1, 3 - ジヒドロ - イソインドール - 2 - イルメチル) - 2 - (オキサリル - アミノ) - 4, 7 - ジヒドロ - 5 H - チエノ [2, 3 - c] ピラン - 3 - カルボン酸）を下記緩衝液中の PTP（最終希釈 1 : 2000）に対して試験したときの結果を第 6 B 図に示す：50 mM の HEPES pH 7.0、100 mM の NaCl、5 mM のグルタチオン、1 mM の EDTA、および 0.1 % のウシ血清アルブミン。60 分後、20  $\mu$ l の 0.5 M の水酸化ナトリウム溶液（50 %（v/v）のエタノール中の）を各ウェルに添加し、吸収を 405 nm において測定した。それ以外、条件は第 6 A 図について記載した通りである。これらの条件下の計算した  $K_i$  値は約 70 mM（メジアン値）である。

## 【表 16】

表 1 6

表 9

PTPア-モ	ベクター	アミノ酸 no.	ヌクレオチド no.	GenBank Acc.no.	前方向PCRプライマー	逆方向PCRプライマー
PTP1B	pGEX	1-321	92-1052	M31724	5' CG CCCTGGCCCATATGGA- GATGGAAAAGGAGTTCGAG 3'	5' AACTCTAGAGGATCC- TAATTGTGTGGCTCCAGGATTCCG 3'
PTPα ヌメイ1	pGEX-4T-1	(M)R206-499	649-1531	X54130	5' CCCCCGGGCATATGAG- GAAATACCCACCCCTGC 3'	CTAGAGATCTCACATTACAGTTCTGTAT C
PTPε ヌメイ1	pGEX-5X-2	(M)K 110-402	379-1257	X54234	5' TCACGGATCCGGATGAAGAAG- TATTTCCCATCCCGTGG 3'	5' ACGGAGAAGCTTCA- CAGCTCTGTGTCCCGTAGAGCATC 3'
PTPβ	pGEX-5X-2	(M)Q 1644- 1998	4961-6021	X54131	5' GTTGCCTTACATATGGGGATC- CAGAAAGTGAGCCCATGGTCGAG 3'	5' CCGCTCGA- GATCTCAATGCCCTTGAATAGACTGGA TC 3'
CD45 ヌメイ1+2	pGEX-5X-2	467-1145	1539-3575	Y00062	5' GAGAGATCTCTCATAT- GAATGTGGAGCCCAATCCATGC 3'	5' CCGCTCGAGATCTAT- GAACCTTGATTAAAGGCTGG 3'

## 【 0 1 5 2 】

選択的インヒビターは選択性を示すインヒビターとして定義される。

非選択的インヒビターは選択性を示さないインヒビターとして定義される。

選択的モジュレーターは選択性を示すインヒビターとして定義される。

選択的および非選択的インヒビターの概念をさらに例示するために、それぞれ、非選択的および選択的インヒビターの例を表 1 7 に記載する。表 1 0 中の実施例はいかなる方法においても本発明の範囲を限定することを意図しないことを強調すべきである。

## 【 0 1 5 3 】

## 【 表 1 7 】

表 17

PTP アーゼインヒビターの選択性の分析。アッセイ条件は第4 図において使用した条件と本質的に同一である。与えた数値は $K_i$ 値 ( $\mu\text{M}$ )である。

	実施例 82 の化合物	実施例 83 の化合物
PTP1B	10	2
PTP-LAR	1000	>1000
PTP $\epsilon$	50	1000
CD45	50	300
PTP $\beta$	30	>1000

## 【 0 1 5 4 】

表 17 から明らかなように、実施例 82 の化合物は非選択的インヒビターの 1 例であるが、実施例 83 の化合物は選択的インヒビターとして挙動する。実施例 83 における化合物は、他の PTP アーゼに対して試験したとき、これらの PTP アーゼに対して阻害性であることができることに注意すべきである。しかも、この定義によれば、実施例 83 における化合物は、それが表 10 中の試験した他の PTP アーゼに対して作用しないで、PTP1B を阻害するという事実のために、選択的インヒビターである。また、この定義によれば、実施例 82 における化合物は、もつとしても、PTP-LAR に対して弱い活性を有するが、いくつかの PTP アーゼに対して阻害能力を有するために、非選択的インヒビターである。

## 【 0 1 5 5 】

化学的基は、任意の単一の原子または共有結合した原子の任意の基または分子として定義され、それらのラジカルを包含する。

用語「ハロゲン」または「ハロ」は、フッ素、塩素、臭素、およびヨウ素を包含する。

用語「アルキル」は、 $C_1 - C_6$  直鎖状飽和および  $C_2 - C_6$  不飽和脂肪族炭化水素基、 $C_1 - C_6$  分枝鎖状飽和および  $C_2 - C_6$  不飽和脂肪族炭化水素基、 $C_3 - C_6$  環状飽和および  $C_5 - C_6$  不飽和脂肪族炭化水素基、および特定した数の炭素原子を有する  $C_3 - C_6$  環状飽和および不飽和脂肪族炭化水素基で置換されている  $C_1 - C_6$  直鎖状もしくは分枝鎖状および  $C_2 - C_6$  直鎖状もしくは分枝鎖状不飽和脂肪族炭化水素基を包含する。

## 【 0 1 5 6 】

例えば、この定義は下記のものを含むが、これらに限定されない：メチル (Me)、エチル (Et)、プロピル (Pr)、ブチル (Bu)、ペンチル、ヘキシル、ヘプチル、エテニル、プロペニル、ブテニル、ペネチル、ヘキセニル、イソプロピル (i-Pr)、i-ブチル (i-Bu)、t-ブチル (t-Bu)、s-ブチル (s-Bu)、イソペンチル、ネオペンチル、シクロプロピル、シクロブチル、シクロペンチル、シクロヘキシル、シクロペンテニル、シクロヘキセニル、メチルシクロプロピル、エチルシクロヘキセニル、ブテニルシクロペンチル、およびその他。

## 【 0 1 5 7 】

用語「置換アルキル」は、置換基が下記のものから独立して選択される、上に定義したアルキル基を表す：ハロ、シアノ、ニトロ、トリハロメチル、カルバモイル、ヒドロキシ、 $COR_5$ 、 $C_1 - C_6$  アルキル、 $C_1 - C_6$  アルキルオキシ、アリールオキシ、アリール  $C_1 - C_6$  アルキルオキシ、チオ、 $C_1 - C_6$  アルキルチオ、アリールチオ、アリール  $C_1 - C_6$  アルキルチオ、 $NR_7R_8$ 、 $C_1 - C_6$  アルキルアミノ、アリールアミノ、アリール  $C_1 - C_6$  アルキルアミノ、ジ (アリール  $C_1 - C_6$  アルキル) アミノ、 $C_1 - C_6$  アルキルカルボニル、アリール  $C_1 - C_6$  アルキルカルボニル、 $C_1 - C_6$  アルキルカルボキシ、アリール  $C_1 - C_6$  アルキルカルボキシ、

## 【 0 1 5 8 】

$C_1 - C_6$  アルキルカルボニルアミノ、 $C_1 - C_6$  アルキル - アミノ  $COR_{11}$ 、アリール  $C_1 - C_6$  アルキルカルボニルアミノ、テトラヒドロフラン、モルホリニル、ピペラジニル、 $-CONR_7R_8$ 、 $-C_1 - C_6$  アルキル  $CONR_7R_8$ 、または飽和または部分的飽和環状 5、6 または 7 員アミンまたはラクタム；ここで  $R_{11}$  はヒドロキシ、 $C_1 - C_6$  アルキル、アリール、アリール  $C_1 - C_6$  アルキル、アリールオキシ、アリール  $C_1 - C_6$  アルキルオキシであり、そして  $R_5$  は上記において定義した通りであるか、あるいは  $NR_6R_8$  であり、ここで  $R_7$ 、 $R_8$  は上記において定義した通りである。

## 【0159】

用語「アルキルオキシ」（例えば、メトキシ、エトキシ、プロポキシ、アリルオキシ、シクロヘキシルオキシ）は酸素架橋を通して結合した示した数の炭素原子を有する上に定義した「アルキル」基を表す。用語「アルキルオキシアルキル」は示した数の炭素原子を有する上に定義した「アルキル」基を通して結合した「アルキルオキシ」基を表す。

用語「アリールオキシ」（例えば、フェノキシ、ナフチルオキシおよびその他）は、酸素架橋を通して結合した下記において定義するアリール基を表す。

## 【0160】

用語「アリールアルキルオキシ」（例えば、フェネチルオキシ、ナフチルメチルオキシおよびその他）は、酸素架橋を通して結合した下記において定義する「アリールアルキル」基を表す。

用語「アリールアルキルオキシアルキル」は、示した数の炭素原子を有する上に定義した「アルキル」基を通して結合した上に定義した「アリールアルキルオキシ」基を表す。

用語「アリールチオ」（例えば、フェニルチオ、ナフチルチオおよびその他）は、硫黄架橋を通して結合した下記において定義する「アリール」基を表す。

## 【0161】

用語「アルキルオキシカルボニル」（例えば、メチルフォルミルト、エチルフォルミルトおよびその他）は、カルボニル基を通して結合した上に定義した「アルキルオキシ」基を表す。

用語「アリールオキシカルボニル」（例えば、フェニルフォルミルト、2 - チアゾリルフォルミルトおよびその他）は、カルボニル基を通して結合した上に定義した「アリールオキシ」基を表す。

用語「アリールアルキルオキシカルボニル」（例えば、ベンジルフォルミルト、フェネチルフォルミルトおよびその他）は、カルボニル基を通して結合した上に定義した「アリールアルキルオキシ」基を表す。

## 【0162】

用語「アルキルオキシカルボニルアルキル」は、示した数の炭素原子を有する上に定義した「アルキル」基を通して結合した上に定義した「アルキルオキシカルボニル」基を表す。

用語「アリールアルキルオキシカルボニルアルキル」は、示した数の炭素原子を有する上に定義した「アルキル」基を通して結合した上に定義した「アリールアルキルオキシカルボニル」基を表す。

用語「アルキルチオ」（例えば、メチルチオ、エチルチオ、プロピルチオ、シクロヘキセルチオおよびその他）は、硫黄架橋を通して結合した示した数の炭素原子を有する上に定義した「アルキル」基を表す。

## 【0163】

用語「アリールアルキルチオ」（例えば、フェニルメチルチオ、フェニルエチルチオ、およびその他）は、硫黄架橋を通して結合した示した数の炭素原子を有する上に定義した「アリールアルキル」基を表す。

用語「アルキルチオアルキル」は、示した数の炭素原子を有する上に定義したアルキル基を通して結合した「アルキルチオ」基を表す。

用語「アリールアルキルチオアルキル」は、示した数の炭素原子を有する上に定義したア

ルキル基を通して結合した「アリールアルキルチオ」基を表す。

【0164】

用語「アルキルアミノ」(例えば、メチルアミノ、ジエチルアミノ、ブチルアミノ、N-プロピル-N-ヘキシルアミノ、(2-シクロペンチル)プロピルアミノ、ヘキセニルアミノ、ピロリジニル、ピペリジニルおよびその他)は、アミン架橋を通して結合した示した数の炭素原子を有する上に定義した1または2つの「アルキル」基を表す。

【0165】

2つのアルキル基はそれらが結合する窒素原子と一緒にあって3~14個の炭素原子および0~3個の窒素、酸素または硫黄から選択される追加のヘテロ原子を含有する飽和、部分的飽和または芳香族環状、二環式または三環式環系を形成することができ、環系は少なくとも1つのC<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>アルキル、アリール、アリールC<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>アルキル、ヒドロキシ、オキソ、C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>アルキルオキシ、C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>アルキルオキシC<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>アルキル、NR<sub>9</sub>R<sub>10</sub>、C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>アルキルアミノC<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>アルキル置換基で置換されていてもよく、ここでアルキルおよびアリール基は定義の節において定義したように置換されていてもよく、そしてR<sub>9</sub>およびR<sub>10</sub>は上記において定義した通りである。

【0166】

用語「アリールアルキルアミノ」(例えば、ベンジルアミノ、ジフェニルエチルアミノおよびその他)は、アミン架橋を通して結合した示した数の炭素原子を有する上に定義した1または2つの「アリールアルキル」基を表す。2つの「アリールアルキル」基はそれらが結合する窒素原子と一緒にあって3~14個の炭素原子および0~3個の窒素、酸素または硫黄から選択される追加のヘテロ原子を含有する飽和、部分的飽和または芳香族環状、二環式または三環式環系を形成することができ、環系は少なくとも1つのC<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>アルキル、アリール、アリールC<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>アルキル、ヒドロキシ、オキソ、C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>アルキルオキシ、C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>アルキルオキシC<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>アルキル、NR<sub>9</sub>R<sub>10</sub>、C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>アルキルアミノC<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>アルキル置換基で置換されていてもよく、ここでアルキルおよびアリール基は定義の節において定義したように置換されていてもよく、そしてR<sub>9</sub>およびR<sub>10</sub>は上記において定義した通りである。

【0167】

用語「アルキルアミノアルキル」は、示した数の炭素原子を有する上に定義したアルキル基を通して結合した「アルキルアミノ」基を表す。

用語「アリールアルキルアミノアルキル」は、示した数の炭素原子を有する上に定義したアルキル基を通して結合した「アリールアルキルアミノ」基を表す。

用語「アリールアルキル」(例えば、ベンジル、フェニルエチル)は、示した数の炭素原子を有するアルキルまたは上に定義した置換アルキル基を通して結合した下記において定義する「アリール」基を表す。

用語「アルキルカルボニル」(例えば、シクロオクチルカルボニル、ペンチルカルボニル、3-ヘキセニルカルボニルおよびその他)は、カルボニル基を通して結合した示した数の炭素原子を有する上に定義した「アルキル」基を表す。

【0168】

用語「アリールアルキルカルボニル」(例えば、フェニルシクロプロピルカルボニル、フェニルエチルカルボニルおよびその他)は、カルボニル基を通して結合した示した数の炭素原子を有する上に定義した「アリールアルキル」基を表す。

用語「アルキルカルボニルアルキル」は、示した数の炭素原子を有する上に定義した「アルキル」基を通して結合した「アルキルカルボニル」基を表す。

用語「アリールアルキルカルボニルアルキル」は、示した数の炭素原子を有する上に定義したアルキル基を通して結合した「アリールアルキルカルボニル」基を表す。

【0169】

用語「アルキルカルボキシ」(例えば、ヘプチルカルボキシ、シクロプロピルカルボキシ、3-ペンテニルカルボキシ)は、カルボニルが引き続いて酸素架橋を通して結合してい

る、上に定義した「アルキルカルボニル」基を表す。

用語「アリールアルキルカルボキシ」（例えば、ベンジルカルボキシ、フェニルシクロプロピルカルボキシおよびその他）は、カルボニルが引き続いて酸素架橋を通して結合している、上に定義した「アリールアルキルカルボニル」基を表す。

【0170】

用語「アルキルカルボキシアルキル」は、示した数の炭素原子を有する上に定義した「アルキル」基を通して結合した「アルキルカルボキシ」基を表す。

用語「アリールアルキルカルボキシアルキル」は、示した数の炭素原子を有する上に定義した「アルキル」基を通して結合した「アリールアルキルカルボキシ」基を表す。

用語「アルキルカルボニルアミノ」（例えば、ヘキシルカルボニルアミノ、シクロペンチルカルボニル - アミノメチル、メチルカルボニルアミノフェニルおよびその他）は、カルボニルが引き続いてアミノ基の窒素原子を通して結合している、上に定義した「アルキルカルボニル」基を表す。窒素原子はそれ自体アルキルまたはアリール基で置換されることができる。

【0171】

用語「アリールアルキルカルボニルアミノ」（例えば、ベンジルカルボニルアミノおよびその他）は、カルボニルが引き続いてアミノ基の窒素原子を通して結合している、上に定義した「アリールアルキルカルボニル」基を表す。窒素原子はそれ自体アルキルまたはアリール基で置換されることができる。

用語「アルキルカルボニルアミノアルキル」は、示した数の炭素原子を有する上に定義した「アルキル」基を通して結合した「アルキルカルボニルアミノ」基を表す。窒素原子はそれ自体アルキルまたはアリール基で置換されることができる。

【0172】

用語「アリールアルキルカルボニルアミノアルキル」は、示した数の炭素原子を有する上に定義した「アルキル」基を通して結合した「アリールアルキルカルボニルアミノ」基を表す。窒素原子はそれ自体アルキルまたはアリール基で置換されることができる。

用語「アルキルカルボニルアミノアルキルカルボニル」は、カルボニル基を通して結合したアルキルカルボニルアミノアルキル基を表す。窒素原子はさらに「アルキル」または「アリール」基で置換されることができる。

【0173】

用語「アリール」は、安定な結合を形成できる任意の環位置において共有結合した非置換、1、2 または3 置換の1 環式、多環式、ビアリールおよびヘテロサイクル芳香族基を表し、ある種の好ましい結合点は当業者にとって明らかであろう（例えば、3 - インドリル、4 - イミダゾリル）。アリール置換基は下記の基から成る群より独立して選択される：ハロ、シアノ、ニトロ、トリハロメチル、 $C_1 - C_6$  アルキル、アリール、アリール $C_1 - C_6$  アルキルオキシ、ヒドロキシ、 $COR_5$ 、 $C_1 - C_6$  アルキルオキシ、 $C_1 - C_6$  アルキルオキシ $C_1 - C_6$  アルキル、アリールオキシ、アリール $C_1 - C_6$  アルキルオキシ、アリール $C_1 - C_6$  アルキルオキシ $C_1 - C_6$  アルキル、

【0174】

チオ、 $C_1 - C_6$  アルキルチオ、 $C_1 - C_6$  アルキルチオ、 $C_1 - C_6$  アルキルチオ $C_1 - C_6$  アルキル、アリールチオ、アリール $C_1 - C_6$  アルキルチオ、アリール $C_1 - C_6$  アルキルチオ $C_1 - C_6$  アルキル、 $NR_7R_8$ 、 $C_1 - C_6$  アルキルアミノ、 $C_1 - C_6$  アルキルアミノ $C_1 - C_6$  アルキル、アリールアミノ、アリール $C_1 - C_6$  アルキルアミノ、アリール $C_1 - C_6$  アルキルアミノ $C_1 - C_6$  アルキル、ジ（アリール $C_1 - C_6$  アルキル）アミノ $C_1 - C_6$  アルキル、 $C_1 - C_6$  アルキルカルボニル、 $C_1 - C_6$  アルキルカルボニル $C_1 - C_6$  アルキル、アリール $C_1 - C_6$  アルキルカルボニル、アリール $C_1 - C_6$  アルキルカルボニル $C_1 - C_6$  アルキル、 $C_1 - C_6$  アルキルカルボキシ、

【0175】

$C_1 - C_6$  アルキルカルボキシ $C_1 - C_6$  アルキル、アリール $C_1 - C_6$  アルキルカ

ルボキシ、アリール  $C_1 - C_6$  アルキルカルボキシ  $C_1 - C_6$  アルキル、カルボキシ  $C_1 - C_6$  アルキルオキシ、 $C_1 - C_6$  アルキルカルボニルアミノ、 $C_1 - C_6$  アルキルカルボニルアミノ  $C_1 - C_6$  アルキル、-カルボニル  $NR_7 C_1 - C_6$  アルキル  $CO R_{11}$ 、アリール  $C_1 - C_6$  アルキルカルボニルアミノ、アリール  $C_1 - C_6$  アルキルカルボニルアミノ  $C_1 - C_6$  アルキル、-  $CONR_7 R_8$ 、または  $-C_1 - C_6$  アルキル  $-CONR_7 R_8$ 、ここで  $R_7$ 、 $R_8$ 、 $R_9$ 、および  $R_{11}$  は上記において定義した通りであり、そしてアルキルおよびアリールは定義の節において上に定義したように置換されていてもよい。

【0176】

アリールの定義は下記のものを含むが、これらに限定されない：フェニル、ピフェニル、インデニル、フルオレニル、ナフチル（1 - ナフチル、2 - ナフチル）、ピロリル（3 - ピロリル）、インダゾリル（1 - インダゾリル、2 - インダゾリル、4 - インダゾリル、5 - インダゾリル）、トリアゾリル（1, 2, 3 - トリアゾル - 1 - イル、1, 2, 3 - トリアゾル - 2 - イル、1, 2, 3 - トリアゾル - 4 - イル、1, 2, 4 - トリアゾル - 3 - イル）、オキサゾリル（2 - オキサゾリル、4 - オキサゾリル、5 - オキサゾリル）、イソキサゾリル（3 - イソキサゾリル、4 - イソキサゾリル、5 - イソキサゾリル）、チアゾリル（2 - チアゾリル、4 - チアゾリル、5 - チアゾリル）、

【0177】

チオフェニル（2 - チオフェニル、3 - チオフェニル、4 - チオフェニル、5 - チオフェニル）、フラニル（2 - フラニル、3 - フラニル、4 - フラニル、5 - フラニル）、ピリジル（2 - ピリジル、3 - ピリジル、4 - ピリジル、5 - ピリジル）、ピリミジニル（2 - ピリミジニル、4 - ピリミジニル、5 - ピリミジニル、6 - ピリミジニル）、ピラジニル、ピリダジニル（3 - ピリダジニル、4 - ピリダジニル、5 - ピリダジニル）、キノリル（2 - キノリル、3 - キノリル、4 - キノリル、5 - キノリル、6 - キノリル、7 - キノリル、8 - キノリル）、イソキノリル（1 - イソキノリル、3 - イソキノリル、4 - イソキノリル、5 - イソキノリル、6 - イソキノリル、7 - イソキノリル、8 - イソキノリル）、

【0178】

ベンゾ [b] フラニル（2 - ベンゾ [b] フラニル、3 - ベンゾ [b] フラニル、4 - ベンゾ [b] フラニル、5 - ベンゾ [b] フラニル、6 - ベンゾ [b] フラニル、7 - ベンゾ [b] フラニル）、2, 3 - ジヒドロ - ベンゾ [b] フラニル（2 - (2, 3 - ジヒドロ - ベンゾ [b] フラニル)、3 - (2, 3 - ジヒドロ - ベンゾ [b] フラニル)、4 - (2, 3 - ジヒドロ - ベンゾ [b] フラニル)、5 - (2, 3 - ジヒドロ - ベンゾ [b] フラニル)、6 - (2, 3 - ジヒドロ - ベンゾ [b] フラニル)、7 - (2, 3 - ジヒドロ - ベンゾ [b] フラニル)）、ベンゾ [b] チオフェニル（2 - ベンゾ [b] チオフェニル、3 - ベンゾ [b] チオフェニル、4 - ベンゾ [b] チオフェニル、5 - ベンゾ [b] チオフェニル、

【0179】

6 - ベンゾ [b] チオフェニル、7 - ベンゾ [b] チオフェニル）、2, 3 - ジヒドロ - ベンゾ [b] - チオフェニル（2 - (2, 3 - ジヒドロ - ベンゾ [b] - チオフェニル)、3 - (2, 3 - ジヒドロ - ベンゾ [b] - チオフェニル)、4 - (2, 3 - ジヒドロ - ベンゾ [b] - チオフェニル)、5 - (2, 3 - ジヒドロ - ベンゾ [b] - チオフェニル)、6 - (2, 3 - ジヒドロ - ベンゾ [b] - チオフェニル)、7 - (2, 3 - ジヒドロ - ベンゾ [b] - チオフェニル)）、4, 5, 6, 7 - テトラヒドロ - ベンゾ [b] チオフェニル（2 - (4, 5, 6, 7 - テトラヒドロ - ベンゾ [b] チオフェニル)、3 - (4, 5, 6, 7 - テトラヒドロ - ベンゾ [b] チオフェニル)）、

【0180】

4 - (4, 5, 6, 7 - テトラヒドロ - ベンゾ [b] チオフェニル)、5 - (4, 5, 6, 7 - テトラヒドロ - ベンゾ [b] チオフェニル)、6 - (4, 5, 6,

7 - テトラヒドロ - ベンゾ [ b ] チオフェニル)、7 - ( 4 , 5 , 6 , 7 - テトラヒドロ - ベンゾ [ b ] チオフェニル )、4 , 5 , 6 , 7 - テトラヒドロ - ベンゾ [ 2 , 3 - c ] ピリジル ( 2 - ( 4 , 5 , 6 , 7 - テトラヒドロ - ベンゾ [ 2 , 3 - c ] ピリジル )、3 - ( 4 , 5 , 6 , 7 - テトラヒドロ - ベンゾ [ 2 , 3 - c ] ピリジル )、4 - ( 4 , 5 , 6 , 7 - テトラヒドロ - ベンゾ [ 2 , 3 - c ] ピリジル )、5 - ( 4 , 5 , 6 , 7 - テトラヒドロ - ベンゾ [ 2 , 3 - c ] ピリジル )、

【 0 1 8 1 】

6 - ( 4 , 5 , 6 , 7 - テトラヒドロ - ベンゾ [ 2 , 3 - c ] ピリジル )、7 - ( 4 , 5 , 6 , 7 - テトラヒドロ - ベンゾ [ 2 , 3 - c ] ピリジル )、インドリル ( 1 - インドリル、2 - インドリル、3 - インドリル、4 - インドリル、5 - インドリル、6 - インドリル、7 - インドリル )、インダゾール ( 1 - インダゾール、2 - インダゾール、3 - インダゾール、4 - インダゾール、5 - インダゾール、6 - インダゾール、7 - インダゾール )、ベンズイミダゾリル ( 1 - ベンズイミダゾリル、2 - ベンズイミダゾリル、3 - ベンズイミダゾリル、4 - ベンズイミダゾリル、5 - ベンズイミダゾリル、6 - ベンズイミダゾリル、7 - ベンズイミダゾリル、8 - ベンズイミダゾリル )、ベンゾキサゾリル ( 1 - ベンゾキサゾリル、2 - ベンゾキサゾリル )、

【 0 1 8 2 】

ベンゾチアゾリル ( 1 - ベンゾチアゾリル、2 - ベンゾチアゾリル、3 - ベンゾチアゾリル、4 - ベンゾチアゾリル、5 - ベンゾチアゾリル、6 - ベンゾチアゾリル、7 - ベンゾチアゾリル )、カルバゾリル ( 1 - カルバゾリル、2 - カルバゾリル、3 - カルバゾリル、4 - カルバゾリル )、5 H - ジベンズ [ b , f ] アゼピン ( 5 H - ジベンズ [ b , f ] アゼピン - 1 - イル、5 H - ジベンズ [ b , f ] アゼピン - 2 - イル、5 H - ジベンズ [ b , f ] アゼピン - 3 - イル、5 H - ジベンズ [ b , f ] アゼピン - 4 - イル、5 H - ジベンズ [ b , f ] アゼピン - 5 - イル )、10 , 11 - ジヒドロ - ジベンズ [ b , f ] アゼピン ( 10 , 11 - ジヒドロ - ジベンズ [ b , f ] アゼピン - 1 - イル、10 , 11 - ジヒドロ - ジベンズ [ b , f ] アゼピン - 2 - イル、

【 0 1 8 3 】

10 , 11 - ジヒドロ - ジベンズ [ b , f ] アゼピン - 3 - イル、10 , 11 - ジヒドロ - ジベンズ [ b , f ] アゼピン - 4 - イル、10 , 11 - ジヒドロ - ジベンズ [ b , f ] アゼピン - 5 - イル )、ピペリジニル ( 2 - ピペリジニル、3 - ピペリジニル、4 - ピペリジニル )、ピロリジニル ( 1 - ピロリジニル、2 - ピロリジニル、3 - ピロリジニル )、フェニルピリジル ( 2 - フェニルピリジル、3 - フェニルピリジル、4 - フェニルピリジル )、フェニルピリミジニル ( 2 - フェニルピリミジニル、4 - フェニルピリミジニル、5 - フェニルピリミジニル、6 - フェニルピリミジニル )、フェニルピラジニル、フェニルピリダジニル ( 3 - フェニルピリダジニル、4 - フェニルピリダジニル、5 - フェニルピリダジニル )。

【 0 1 8 4 】

用語「アリアルカルボニル」(例えば、2 - チオフェニルカルボニル、3 - メトキシ - アントリルカルボニル、オキサゾリルカルボニルおよびその他)は、カルボニル基を通して結合した上に定義した「アリアル」基を表す。

用語「アリアルアルキルカルボニル」(例えば、( 2 , 3 - ジメトキシフェニル ) - プロピルカルボニル、( 2 - クロロナフチル ) ペンテニルカルボニル、イミダゾリルシクロペンチルカルボニル)は、「アルキル」基引き続いてカルボニルを通して結合している、上に定義した「アリアルアルキル」基を表す。

不斉中心を有する本発明の化合物は、ラセミ体、ラセミ体混合物、および個々の鏡像異性体またはジアステレオマーとして存在することができ、すべての異性体型ならびにそれらの混合物は本発明に包含される。

【 0 1 8 5 】

塩基性または酸性基が構造の中に存在する、本発明の化合物の薬学上許容される塩は、ま

た、本発明の範囲内に入る。酸性置換基、例えば、 $-COOH$ 、5-テトラゾリルおよび $P(O)(OH)_2$ が存在するとき、投与形態として使用するための、アンモニウム、ナトリウム、カリウム、カルシウム塩を生成することができる。塩基性基、例えば、アミノまたは塩基性ヘテロアリアル基、特にピリジル基が存在するとき、酸性塩、例えば、塩酸塩、臭化水素酸塩、酢酸塩、マレイン酸塩、パルミチン酸塩、メタンサルホン酸塩、*p*-トルエンサルホン酸塩、およびその他を投与形態として使用することができる。

【0186】

また、 $-COOH$  または  $P(O)(OH)_2$  が存在するとき、薬学上許容されるエステル、例えば、メチルエステル、*t*-ブチルエステル、ピパロイルオキシメチルエステル、およびその他、および持続放出またはプロドラッグ処方物として使用するために溶解度または加水分解濃塩酸を変更するこの分野において知られているエステルを使用することができる。

さらに、本発明の化合物のあるものは水または普通の有機溶媒との溶媒和物を形成することができる。このような溶媒和物は本発明の範囲内に入る。

用語「治療的に有効な量」は、研究者、獣医学者、医師およびその他が探求する組織、システム、動物、または人間の生物学的または医学的応答を誘発する、薬物または薬剤の量を意味する。

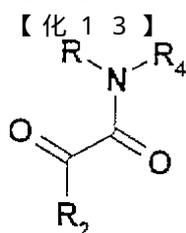
【0187】

#### 発明の説明

ある種の構造的フラグメントからなる化合物は1 またはそれ以上のPTPアーゼあるいは1 またはそれ以上のホスホチロシン認識単位をもつ分子に対して阻害またはモジュレーション能力を有することが、驚くべきことには示された。

したがって、本発明は、下記の3つの基準を満足する化合物に関する：

(1) 式Iにより表される構造を有する：



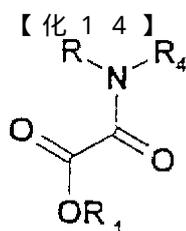
式I

式中、 $R$ 、 $R_2$  および  $R_4$  は任意の化学的基または化学的基の組合わせである；

(2) ホスホチロシン認識単位リガンド、好ましくはSH2ドメインを含有する1 またはそれ以上のPTPアーゼまたはタンパク質のインヒビターまたはモジュレーターとして作用する；そして(3) 2500ダルトンより低いか、あるいはそれに等しい分子量を有する。

【0188】

好ましい態様において、本発明の化合物は、式IIにより表される：



式II

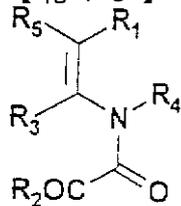
式中、式中、 $R$ 、 $R_2$  および  $R_4$  は任意の化学的基または化学的基の組合わせであり、そして  $R_1$  は好ましくはHである。

【0189】

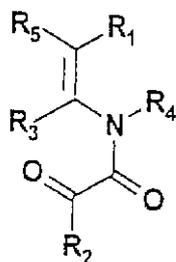
他の好ましい態様において、化合物は下記の3つの基準を満足する：

(1) 式Iにより表される構造を有する：

【化15】



または



式III

式中、 $R_1$ 、 $R_2$ 、 $R_3$ 、 $R_4$  および  $R_5$  は任意の化学的基または化学的基の組合わせであり、そして  $R_3$  および  $R_5$  は互いに共有結合している；

【0190】

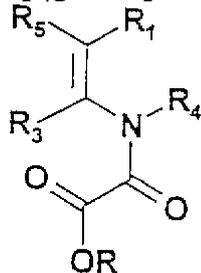
(2) ホスホチロシン認識単位リガンド、好ましくはSH2ドメインを含有する1またはそれ以上のPTPアーゼまたはタンパク質のインヒビターまたはモジュレーターとして作用する；そして

(3) 2500ダルトンより低いか、あるいはそれに等しい分子量を有する。

【0191】

他の好ましい態様において、本発明の化合物は、式IVにより表される：

【化16】



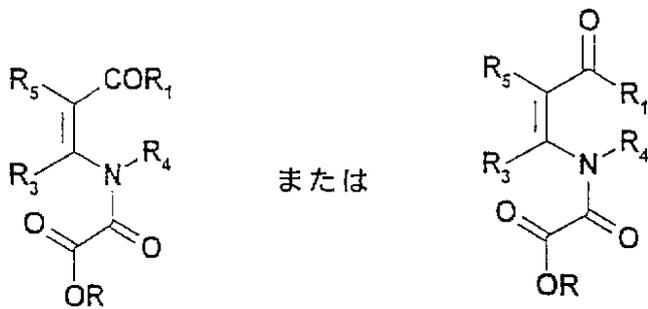
式IV

式中、 $R_1$ 、 $R_3$ 、 $R_4$  および  $R_5$  は任意の化学的基または化学的基の組合わせであり、 $R_3$  および  $R_5$  は互いに共有結合しており、そして  $R$  は好ましくはHである。

【0192】

他の好ましい態様において、本発明の化合物は、式Vにより表される：

【化17】



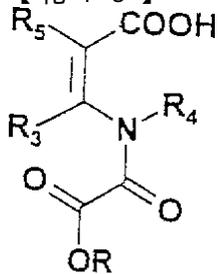
## 式V

式中、 $R_1$ 、 $R_3$ 、 $R_4$  および  $R_5$  は任意の化学的基または化学的基の組合わせであり、 $R_3$  および  $R_5$  は互いに共有結合しており、そして  $R$  は好ましくは  $H$  である。

【0193】

他の好ましい態様において、本発明の化合物は、式V Iにより表される：

【化18】



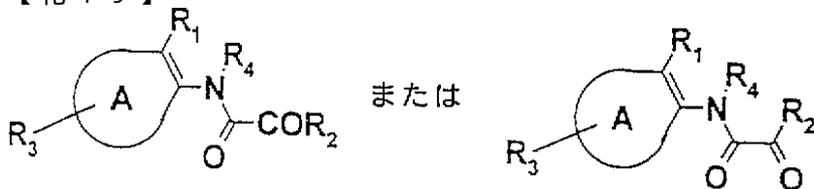
## 式VI

式中、 $R_3$ 、 $R_4$  および  $R_5$  は任意の化学的基または化学的基の組合わせであり、 $R_3$  および  $R_5$  は互いに共有結合しており、そして  $R$  は好ましくは  $H$  である。

【0194】

他の好ましい態様において、本発明の化合物は、式V I Iにより表される：

【化19】



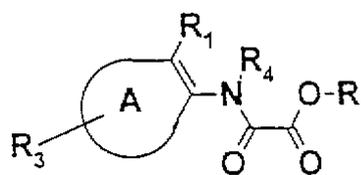
## 式VII

式中、 $A$  は式V I I中の二重結合と一緒に上にて定義した任意のアリールを表し、そして  $R_1$ 、 $R_2$ 、 $R_3$  および  $R_4$  は任意の化学的基または化学的基の組合わせである。

【0195】

他の好ましい態様において、本発明の化合物は、式V I I Iにより表される：

【化20】



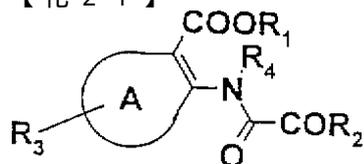
式VIII

式中、A は式VIIII中の二重結合と一緒に上にて定義した任意のアリールを表し、R、R<sub>1</sub>、R<sub>3</sub> およびR<sub>4</sub> は任意の化学的基または化学的基の組合わせであり、そしてR は好ましくはH である。

【0196】

他の好ましい態様において、本発明の化合物は、式IXにより表される：

【化21】



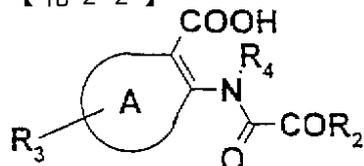
式IX

式中、A は式IX中の二重結合と一緒に上にて定義した任意のアリールを表し、そしてR<sub>1</sub>、R<sub>2</sub>、R<sub>3</sub> およびR<sub>4</sub> は任意の化学的基または化学的基の組合わせである。

【0197】

他の好ましい態様において、本発明の化合物は、式Xにより表される：

【化22】



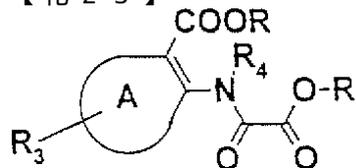
式X

式中、A は式X中の二重結合と一緒に上にて定義した任意のアリールを表し、そしてR<sub>2</sub>、R<sub>3</sub> およびR<sub>4</sub> は任意の化学的基または化学的基の組合わせである。

【0198】

他の好ましい態様において、本発明の化合物は、式XIにより表される：

【化23】

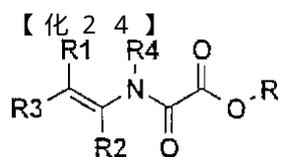


式XI

式中、A は式XI中の二重結合と一緒に上にて定義した任意のアリールを表し、R、R<sub>3</sub> およびR<sub>4</sub> は任意の化学的基または化学的基の組合わせであり、そしてR は好ましくはH である。

【0199】

他の好ましい態様において、本発明の化合物は、式XIIにより表される：

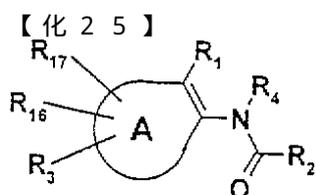


## 式XII

式中、 $R_1$  はプロトドナーおよび/またはプロトンアクセプター、好ましくは  $-COOH$ 、5-テトラゾリル、 $-NH_2$ 、 $-CONH_2$  であることができ、そして  $R$ 、 $R_2$ 、 $R_3$  および  $R_4$  は任意の化学的基または化学的基の組合わせである。

【0200】

他の好ましい態様において、本発明の化合物は、式XXにより表される：



## 式XX

式中、

A は式 I 中の二重結合と一緒にフェニル、ビフェニル、インデニル、フルオレニル、フルオレニル-9-オン、ナフチル、ピリジル、ピリダジニル、ピリミジルまたはピラジニルを形成するか、あるいは

【0201】

A は式 I 中の二重結合と一緒にインドリル、ベンゾ[b]チオフェニル、ベンゾ[b]フラニル、インダゾリル、ベンゾ[b]イソキサゾリル、ベンズイミダゾリル、ベンゾチアゾリル、ベンゾキサゾリル、9H-チエノ[2,3-c]クロメニル、4,5,6,7-テトラヒドロ-ベンゾ[b]チオフェニル、4,5,6,7-テトラヒドロ-チエノ[2,3-b]ピリジル、4,5,6,7-テトラヒドロ-チエノ[2,3-c]ピリジル、4,5,6,7-テトラヒドロ-チエノ[3,2-c]ピリジル、4,5,6,7-テトラヒドロ-チエノ[3,2-b]ピリジル、4,7-ジヒドロ-5H-チエノ[2,3-c]ピラニル、4,7-ジヒドロ-5H-チエノ[2,3-c]チオピラニルまたは4,5,6,7-テトラヒドロ-4,7-エタノン-チエノ[2,3-b]ピリジルを形成するか、あるいは

【0202】

A は式 I 中の二重結合と一緒にフラニル、チオフェニル、ピロリル、オキサゾリル、チアゾリル、イミダゾリル、イソキサゾリル、イソチアゾリル、1,2,3-オキサジアゾリル、フラザニルまたは1,2,3-トリアジリルを形成するか、あるいは

【0203】

A は式 I 中の二重結合と一緒にフロ[2,3-b]ピリジル、チエノ[2,3-b]ピリジル、ピロロ[2,3-b]ピリジル、チエノ[2,3-c]ピリジル、ピロロ[2,3-c]ピリジル、フロ[3,2-c]ピリジル、チエノ[3,2-c]ピリジル、ピロロ[3,2-c]ピリジル、フロ[3,2-d]ピリジル、チエノ[3,2-d]ピリジル、ピロロ[3,2-d]ピリジル、フロ[2,3-d]ピリミジニル、チエノ[2,3-d]ピリミジニル、ピロロ[2,3-d]ピリミジニル、フロ[2,3-d]ピラジニル、チエノ[2,3-d]ピラジニル、ピロロ[2,3-d]ピラジニル、フロ[2,3-c]ピリダジニル、チエノ[2,3-c]ピリダジニル、ピロロ[2,3-c]ピリダジニル、フロ[2,3-d]

ピリダジニル、

【0204】

チエノ[2, 3-c]ピリダジニル、ピロロ[2, 3-d]ピリダジニル、フロ[3, 2-c]ピリダジニル、チエノ[3, 2-c]ピリダジニル、ピロロ[3, 2-c]ピリダジニル、キノリジニル、キノリニル、イソキノリニル、シンノリニル、フタラジニル、キナゾリニル、キノキサリニル、1, 8-ナフチリジニル、クロマニル、チオクロマニル、イソクロマニル、イソチオクロマニル、2, 3-ジヒドロ-チエノ[2, 3-b]フラニル、4, 6-ジヒドロ-チエノ[2, 3-c]フラニル、2, 3-ジヒドロ-チエノ[3, 2-b]フラニル、4, 5-ジヒドロ-チエノ[2, 3-b]チオフェニル、4, 6-ジヒドロ-チエノ[3, 4-b]チオフェニル、5, 6-ジヒドロ-チエノ[3, 2-b]チオフェニル、

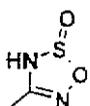
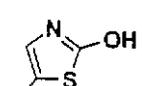
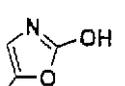
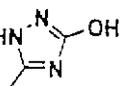
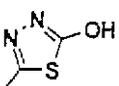
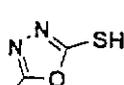
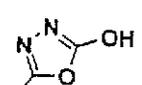
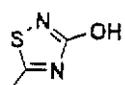
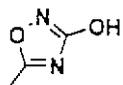
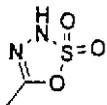
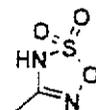
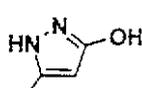
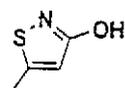
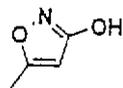
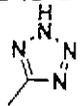
【0205】

4, 5-ジヒドロ-チエノ[2, 3-b]ピロリル、チエノ[3, 2-d]イソチアゾリル、チエノ[3, 2-d]チアゾリル、チエノ[2, 3-d]チアゾリル、チエノ[2, 3-c]ピロリル-4, 6-ジオン、1H-チエノ[2, 3-d]イミダゾリル、6H-チエノ[2, 3-b]ピロリル、5, 6-ジヒドロ-4H-チエノ[2, 3-c]ピロリルまたは4H-チエノ[3, 2-b]ピロリルを形成し、

【0206】

$R_1$  および  $R_2$  は  $CO R_5$ 、 $OR_6$ 、 $CF_3$ 、ニトロ、シアノ、 $SO_3 H$ 、 $SO_2 NR_7$ 、 $R_8$ 、 $PO(OH)_2$ 、 $CH_2 PO(OH)_2$ 、 $CHFPO(OH)_2$ 、 $CF_2 PO(OH)_2$ 、 $C(=NH)NH_2$ 、 $NR_7 R_8$ 、および下記の5員のヘテロサイクルから成る群より独立して選択される：

【化26】



【0207】

$R_3$ 、 $R_{16}$  および  $R_{17}$  は、水素、ハロ、ニトロ、シアノ、トリハロメチル、 $C_1 - C_6$  アルキル、アリール、アリール  $C_1 - C_6$  アルキル、ヒドロキシ、カルボキシ、カルボキシ  $C_1 - C_6$  アルキル、 $C_1 - C_6$  アルコキシカルボニル、アリールオキシカルボニル、アリール  $C_1 - C_6$  アルキルオキシカルボニル、 $C_1 - C_6$  アルキルオキシ、 $C_1 - C_6$  アルキルオキシ  $C_1 - C_6$  アルキル、アリールオキシ、アリール  $C_1 - C_6$  アルキルオキシ、アリール  $C_1 - C_6$  アルキルオキシ  $C_1 - C_6$  アルキル、チオ、 $C_1 - C_6$  アルキルチオ、 $C_1 - C_6$  アルキルチオ  $C_1 - C_6$  アルキル、アリールチオ、

【0208】

アリール  $C_1 - C_6$  アルキルチオ、アリール  $C_1 - C_6$  アルキルチオ  $C_1 - C_6$  アルキル、 $NR_7 R_8$ 、 $C_1 - C_6$  アルキルアミノ  $C_1 - C_6$  アルキル、アリール  $C_1 -$

C<sub>6</sub> アルキルアミノ C<sub>1</sub> - C<sub>6</sub> アルキル、ジ(アリーール C<sub>1</sub> - C<sub>6</sub> アルキル)アミノ  
 C<sub>1</sub> - C<sub>6</sub> アルキル、C<sub>1</sub> - C<sub>6</sub> アルキルカルボニル、C<sub>1</sub> - C<sub>6</sub> アルキルカルボニル  
 C<sub>1</sub> - C<sub>6</sub> アルキル、アリーール C<sub>1</sub> - C<sub>6</sub> アルキルカルボニル、アリーール C<sub>1</sub> - C<sub>6</sub>  
 アルキルカルボニル C<sub>1</sub> - C<sub>6</sub> アルキル、C<sub>1</sub> - C<sub>6</sub> アルキルカルボキシ、C<sub>1</sub> - C<sub>6</sub>  
 アルキルカルボキシ C<sub>1</sub> - C<sub>6</sub> アルキル、アリーールカルボキシ、アリーール C<sub>1</sub> - C<sub>6</sub>  
 アルキルカルボキシ、

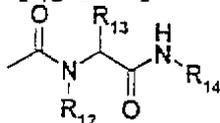
## 【0209】

アリーール C<sub>1</sub> - C<sub>6</sub> アルキルカルボキシ C<sub>1</sub> - C<sub>6</sub> アルキル、C<sub>1</sub> - C<sub>6</sub> アルキルカル  
 ボニルアミノ、C<sub>1</sub> - C<sub>6</sub> アルキルカルボニルアミノ C<sub>1</sub> - C<sub>6</sub> アルキル、-カル  
 ボニル NR<sub>7</sub> C<sub>1</sub> - C<sub>6</sub> アルキル COR<sub>11</sub>、アリーール C<sub>1</sub> - C<sub>6</sub> アルキルカルボニル  
 アミノ、アリーール C<sub>1</sub> - C<sub>6</sub> アルキルカルボニルアミノ C<sub>1</sub> - C<sub>6</sub> アルキル、CONR<sub>7</sub>  
 R<sub>8</sub>、または C<sub>1</sub> - C<sub>6</sub> アルキル CONR<sub>7</sub> R<sub>8</sub>、ここでアルキルおよびアリーール  
 基は置換されていてもよく、そして R<sub>11</sub> は NR<sub>7</sub> R<sub>8</sub> または C<sub>1</sub> - C<sub>6</sub> アルキル N  
 R<sub>7</sub> R<sub>8</sub> であるか、あるいは R<sub>16</sub> および R<sub>17</sub> は水素であり、R<sub>3</sub> は A - B - C -  
 D - C<sub>1</sub> - C<sub>6</sub> アルキルであり、ここで

## 【0210】

A は C<sub>1</sub> - C<sub>8</sub> アルキル、アリーールまたはアリーール C<sub>1</sub> - C<sub>6</sub> アルキルであり、  
 B はアミノ、チオ、SO、SO<sub>2</sub> またはオキソであり、  
 C は C<sub>1</sub> - C<sub>8</sub> アルキル、アミノであり、  
 D は化学的結合、アミノまたは C<sub>1</sub> - C<sub>8</sub> アルキルであり、ここでアルキルまたはアリー  
 ール基は置換されていてもよいか、あるいは

## 【化27】



であり、ここで R<sub>12</sub>、R<sub>13</sub> および R<sub>14</sub> は独立して水素、C<sub>1</sub> - C<sub>6</sub> アルキル、  
 アリーール、アリーール C<sub>1</sub> - C<sub>6</sub> アルキルであり、そしてアルキルおよびアリーールは置換  
 されていてもよく、

## 【0211】

R<sub>4</sub> は水素、ヒドロキシ、C<sub>1</sub> - C<sub>6</sub> アルキル、アリーール、アリーール C<sub>1</sub> - C<sub>6</sub> アルキ  
 ル、NR<sub>7</sub> R<sub>8</sub>、C<sub>1</sub> - C<sub>6</sub> アルキルオキシであり、ここでアルキルおよびアリーールは  
 置換されていてもよく、

R<sub>5</sub> はヒドロキシ、C<sub>1</sub> - C<sub>6</sub> アルキル、アリーール、アリーール C<sub>1</sub> - C<sub>6</sub> アルキル、C  
 F<sub>3</sub>、NR<sub>7</sub> R<sub>8</sub> であり、ここでアルキルおよびアリーールは置換されていてもよく、

R<sub>6</sub> は水素、C<sub>1</sub> - C<sub>6</sub> アルキル、アリーール、アリーール C<sub>1</sub> - C<sub>6</sub> アルキルであり、こ  
 こでアルキルおよびアリーールは置換されていてもよく、

## 【0212】

R<sub>7</sub> および R<sub>8</sub> は独立して水素、C<sub>1</sub> - C<sub>6</sub> アルキル、アリーール、アリーール C<sub>1</sub> - C<sub>6</sub>  
 アルキル、C<sub>1</sub> - C<sub>6</sub> アルキルカルボニル、アリーールカルボニル、アリーール C<sub>1</sub> - C<sub>6</sub>  
 アルキルカルボニル、C<sub>1</sub> - C<sub>6</sub> アルキルカルボキシまたはアリーール C<sub>1</sub> - C<sub>6</sub> アルキ  
 ルカルボキシから選択され、ここでアルキルおよびアリーールは置換されていてもよいか、  
 あるいは

## 【0213】

R<sub>7</sub> および R<sub>8</sub> はそれらが結合する窒素原子と一緒に 3 ~ 14 個の炭素原子およ  
 び 0 ~ 3 個の窒素、酸素または硫黄から選択される追加のヘテロ原子を含有する飽和、  
 部分的飽和または芳香族環状、二環式または三環式環系を形成することができ、環系は少  
 なくとも 1 つの C<sub>1</sub> - C<sub>6</sub> アルキル、アリーール、アリーール C<sub>1</sub> - C<sub>6</sub> アルキル、ヒド  
 ロキシ、オキソ、C<sub>1</sub> - C<sub>6</sub> アルキルオキシ、アリーール C<sub>1</sub> - C<sub>6</sub> アルキルオキシ、C  
<sub>1</sub> - C<sub>6</sub> アルキルオキシ C<sub>1</sub> - C<sub>6</sub> アルキル、NR<sub>9</sub> R<sub>10</sub> または C<sub>1</sub> - C<sub>6</sub> アルキ

ルアミノ $C_1 - C_6$  アルキル置換基で置換されていてもよく、

【0214】

ここで $R_9$  および $R_{10}$  は水素、 $C_1 - C_6$  アルキル、アリール、アリール $C_1 - C_6$  アルキル、 $C_1 - C_6$  アルキルカルボニル、アリールカルボニル、アリール $C_1 - C_6$  アルキルカルボニル、 $C_1 - C_6$  アルキルカルボキシまたはアリール $C_1 - C_6$  アルキルカルボキシから成る群より独立して選択され、ここでアルキルおよびアリールは置換されていてもよいか、あるいは

$R_7$  および $R_8$  は独立して飽和または部分的飽和の環状5、6または7員のアミン、イミドまたはラクタムである。

【0215】

本発明の化合物は、プロテインチロシンホスファターゼまたは1またはそれ以上のホスホチロシン認識単位をもつ他の分子の活性を種々の作用メカニズムを介してモジュレートまたは阻害することができる。いかなる方法においても本発明の範囲を限定することを意図しない、このような作用メカニズムの例は、上記において定義した(a) 古典的競合的阻害；(b) 非競合的阻害；(c) 混合型阻害。

さらに、本発明は、細胞または哺乳動物において吸収された後、上記において定義した構造を有する化合物に関する。

【0216】

1つの好ましい態様において、本発明の化合物は、1またはそれ以上のPTPアーゼの古典的、競合インヒビターとして実質的に作用する。

他の好ましい態様において、本発明の化合物は、1またはそれ以上のPTPアーゼの混合型インヒビターとして作用する。

1つの好ましい態様において、本発明の化合物は、チロシンキナーゼシグナリング経路の調節に関係する1またはそれ以上のPTPアーゼのインヒビターとして実質的に作用する。

【0217】

他の好ましい態様において、本発明の化合物は、1または2以上の調節PTPアーゼとの相互作用を介してレセプター-チロキナーゼシグナリング経路、好ましくはインスリンレセプターファミリーのインスリンレセプター、IGF-1レセプターおよび/または他のメンバーのシグナリング経路、EGFレセプターファミリー、血小板由来成長因子レセプターファミリー、神経成長因子レセプターファミリー、肝細胞成長因子レセプターファミリー、成長因子レセプターファミリーおよび/または他のレセプター型チロシンキナーゼファミリーのメンバーのシグナリング経路を実質的に阻害またはモジュレートする。

【0218】

他の好ましい態様において、1またはそれ以上の調節PTPアーゼのモジュレーション、好ましくはSrcキナーゼファミリーまたは他の細胞内キナーゼのモジュレーションを通して、非レセプターチロシンキナーゼのシグナリングを実質的に阻害またはモジュレートする。

他の好ましい態様において、本発明の化合物は、シグナルトランスダクション経路を陰性に調節する1またはそれ以上のPTPアーゼの活性を実質的に阻害またはモジュレートする。

他の好ましい態様において、本発明の化合物は、シグナルトランスダクション経路を陽性に調節する1またはそれ以上のPTPアーゼ、好ましくはCD45の活性を実質的に阻害またはモジュレートする。

【0219】

他の好ましい態様において、本発明の化合物は、免疫細胞におけるシグナルトランスダクション経路を陽性に調節する1またはそれ以上のPTPアーゼの活性を実質的に阻害またはモジュレートする。

他の好ましい態様において、本発明の化合物は、シグナルトランスダクション経路を陰性

に調節する 1 またはそれ以上の P T P アーゼの活性を阻害またはモジュレートする。  
他の好ましい態様において、本発明の化合物は、1 またはそれ以上の P T P アーゼの活性部位への結合あるいは前記 P T P アーゼに対する基質の結合に陰性に影響を及ぼす他の部位への結合を介して、1 またはそれ以上の P T P アーゼを阻害する、アロステリックモジュレーターである。

【0220】

他の好ましい態様において、本発明の化合物は、酵素の活性部位の外側に位置する構造、好ましくは S H 2 ドメインとの相互作用を介して、1 またはそれ以上の P T P アーゼの活性をモジュレートする。

他の好ましい態様において、本発明の化合物は、非 P T P アーゼシグナリング分子の S H 2 ドメインまたは P T B ドメインに対する本発明の化合物の結合を介して、シグナルトランスダクション経路をモジュレートする。

1 つの態様において、本発明の化合物は、選択的 P T P アーゼインヒビターまたは選択的ホスホチロシン認識単位リガンドである化合物により特徴づけられる。

本発明の化合物は、例えば、本明細書に記載しない P T P アーゼ、または、好ましくは表 1 に列挙する P T P アーゼ、に対して選択的であることができる。

【0221】

他の好ましい態様において、本発明の化合物は、非選択的 P T P アーゼインヒビター、例えば、少なくとも 4 つの P T P アーゼまたは 4 つの P T P アーゼファミリーのインヒビターまたはモジュレーターにより特徴づけられる。

1 つの好ましい態様において、本発明の化合物は P T P ファミリーに対して選択的である。

他の好ましい態様において、本発明の化合物は P T P に対して選択的である。

他の好ましい態様において、本発明の化合物は P T P に対して選択的である。

他の好ましい態様において、本発明の化合物は C D 4 5 に対して選択的である。

1 つの好ましい態様において、本発明の化合物は P T P ファミリーに対して選択的である。

【0222】

他の好ましい態様において、本発明の化合物は P T P に対して選択的である。

他の好ましい態様において、本発明の化合物は P T P - D E P 1 に対して選択的である。

1 つの好ましい態様において、本発明の化合物は P T P - L A R ファミリーに対して選択的である。

1 つの好ましい態様において、本発明の化合物は P T P - L A R に対して選択的である。

1 つの好ましい態様において、本発明の化合物は P T P に対して選択的である。

1 つの好ましい態様において、本発明の化合物は P T P に対して選択的である。

1 つの好ましい態様において、本発明の化合物は P T P  $\mu$  ファミリーに対して選択的である。

【0223】

1 つの好ましい態様において、本発明の化合物は P T P  $\mu$  に対して選択的である。

1 つの好ましい態様において、本発明の化合物は P T P に対して選択的である。

1 つの好ましい態様において、本発明の化合物は P T P 1 B ファミリーに対して選択的である。

1 つの好ましい態様において、本発明の化合物は P T P 1 B に対して選択的である。

1 つの好ましい態様において、本発明の化合物は T C - P T P に対して選択的である。

1 つの好ましい態様において、本発明の化合物は S H P - P T P ファミリーに対して選択的である。

1 つの好ましい態様において、本発明の化合物は S H P - 1 に対して選択的である。

1 つの好ましい態様において、本発明の化合物は S H P - 2 に対して選択的である。

【0224】

1 つの好ましい態様において、本発明の化合物は P T P ファミリーに対して選択的である。

他の好ましい態様において、本発明の化合物は P T P に対して選択的である。

1 つの好ましい態様において、本発明の化合物は P T P - P E S T ファミリーに対して選択的である。

1 つの好ましい態様において、本発明の化合物は P T P H 1 ファミリーに対して選択的である。

1 つの好ましい態様において、本発明の化合物は P T P H 1 に対して選択的である。

1 つの好ましい態様において、本発明の化合物は P T P D 1 に対して選択的である。

#### 【0225】

1 つの好ましい態様において、本発明の化合物は P T P D 2 に対して選択的である。

1 つの好ましい態様において、本発明の化合物は P T P M E G 1 に対して選択的である。

1 つの好ましい態様において、本発明の化合物は I A - 2 ファミリーに対して選択的である。

1 つの好ましい態様において、本発明の化合物は I A - 2 に対して選択的である。

1 つの好ましい態様において、本発明の化合物は I A - 2 に対して選択的である。

1 つの好ましい態様において、本発明の化合物は P T P ファミリーに対して選択的である。

#### 【0226】

他の好ましい態様において、本発明の化合物は P T P に対して選択的である。

他の好ましい態様において、本発明の化合物は P T P に対して選択的である。

他の好ましい態様において、本発明の化合物は P T P に対して選択的である。

他の好ましい態様において、本発明の化合物は 1000 ダルトンより小さい、好ましくは 100 ダルトンより大きい分子量を有する。

1 つの好ましい態様において、本発明の化合物は 1 またはそれ以上の P T P アーゼに対して 200  $\mu$ M より小さい  $K_i$  値を有する。

他の好ましい態様において、本発明の化合物は 1 またはそれ以上の P T P アーゼに対して 2  $\mu$ M より小さい  $K_i$  値を有する。

#### 【0227】

他の好ましい態様において、本発明の化合物は 1 またはそれ以上の P T P アーゼに対して 100 nM より小さい  $K_i$  値を有する。

他の好ましい態様において、本発明の化合物は 1 つまたは 2 つ P T P アーゼまたは P T P アーゼファミリーに対して < 2  $\mu$ M の  $K_i$  値および少なくとも 2 つの他の P T P アーゼまたは P T P アーゼファミリーに対して > 50  $\mu$ M の  $K_i$  値を有する。

他の好ましい態様において、本発明の化合物は 1 つまたは 2 つ P T P アーゼまたは P T P アーゼファミリーに対して < 100 nM の  $K_i$  値および少なくとも 2 つの他の P T P アーゼまたは P T P アーゼファミリーに対して > 10  $\mu$ M の  $K_i$  値を有する。

#### 【0228】

1 つの好ましい態様において、本発明の化合物は 1 またはそれ以上のホスホチロシン認識単位をもつ 1 またはそれ以上の分子に対して 200  $\mu$ M より小さい  $I C_{50}$  値を有する。

他の好ましい態様において、本発明の化合物は 1 またはそれ以上のホスホチロシン認識単位をもつ 1 またはそれ以上の分子に対して 2  $\mu$ M より小さい  $I C_{50}$  値を有する。

他の好ましい態様において、本発明の化合物は 1 またはそれ以上のホスホチロシン認識単位をもつ 1 またはそれ以上の分子に対して 100 nM より小さい  $I C_{50}$  値を有する。

#### 【0229】

1 つの好ましい態様において、本発明の化合物は 1 またはそれ以上の P T P アーゼ、例えば、チロシンキナーゼシグナリング経路の調節に関係するタンパク質チロシンホスフ

ァターゼのインヒビターとして作用する。好ましい態様は、調節 P T P アーゼとの相互作用を介してレセプター - チロキナーゼシグナリング経路、例えば、インスリンレセプターファミリーのインスリンレセプター、I G F - 1 レセプターおよび他のメンバーのシグナリング経路、E G F レセプターファミリー、血小板由来成長因子レセプターファミリー、神経成長因子レセプターファミリー、肝細胞成長因子レセプターファミリー、成長因子レセプターファミリーおよび他のレセプター型チロシンキナーゼファミリーのメンバーのシグナリング経路をモジュレートすることを包含する。

【 0 2 3 0 】

本発明のそれ以上の好ましい態様は、調節 P T P アーゼのモジュレーションによる非レセプターチロシンキナーゼシグナリングのモジュレーション、例えば、S r c キナーゼファミリーおよび他の非レセプターチロシンキナーゼのメンバーのモジュレーションである。本発明の好ましい態様の 1 つの型は、シグナル伝達プロセスを陰性に調節する P T P アーゼ活性のモジュレーションに関する。いかなる方法においても本発明の範囲を限定することを意図しない例は、エリトロポイエチンシグナリング経路を陰性に調節する S H P - 1 である。

【 0 2 3 1 】

本発明の好ましい態様の他の型は、シグナル伝達プロセスを陽性に調節する P T P アーゼ活性のモジュレーションに関する。いかなる方法においても本発明の範囲を限定することを意図しない後者の例は、S r c ファミリーのチロシンキナーゼを脱リン酸化し、これにより造血系からの細胞中のシグナリングにおいて重積極的役割を演ずる C D 4 5 である。T リンパ球および/または B リンパ球を包含する、リンパ球の活性を調節するために、好ましい C D 4 5 インヒビターの 1 つの型を使用することができる。

【 0 2 3 2 】

他の好ましい態様において、本発明の化合物は 1 またはそれ以上の P T P アーゼの活性部位のモジュレーターまたはインヒビターとして作用する。他の好ましい態様において、本発明の化合物は、酵素の活性部位の外側に位置する構造、好ましくは S H 2 ドメインとの相互作用を介して 1 またはそれ以上の P T P アーゼの活性をモジュレートする。他の好ましい態様は、非 P T P アーゼシグナリング分子の S H 2 ドメインまたは P T B ドメインへの本発明の化合物の結合を介して、シグナル伝達をモジュレートすることを包含する。

好ましい態様において、本発明の化合物は、1 つの P T P アーゼファミリーに対して他の P T P ファミリーに対するよりも 1 0 倍より高い効力を有する選択的インヒビターである。

【 0 2 3 3 】

1 つの態様において、本発明の化合物は、糖尿病 I 型、糖尿病 I I 型、障害されたグルコース耐性、インスリン耐性、肥満症、免疫不全、例えば、自己免疫および A I D S、凝固系の機能障害を有する疾患、アレルギー性疾患、オステオポロシス、増殖性障害、例えば、癌および乾癬、成長ホルモンの合成または作用が減少または増加した疾患、成長ホルモンの放出/それに対する応答を調節するホルモンまたはサイトカインの合成または作用が減少または増加した疾患、脳疾患、例えば、アルツハイマー病および精神分裂病、および感染症を管理、治療または予防する薬剤を製造するために使用することができる。

【 0 2 3 4 】

他の態様において、本発明の化合物は次のように使用することができる。

他の態様において、本発明の化合物は、糖尿病 I 型、糖尿病 I I 型、障害されたグルコース耐性、インスリン耐性、および/または肥満症を管理、治療または予防するために使用することができる。

他の態様において、本発明の化合物は、免疫不全、例えば、慢性関節リウマチ、全身的エリテマトーデスのような自己免疫を管理、治療または予防するために使用することができる。

他の態様において、本発明の化合物は、免疫抑制剤として使用することができる。

## 【 0 2 3 5 】

他の態様において、本発明の化合物は、免疫不全、例えば、A I D S を有する症状管理または治療するために使用することができる。

他の態様において、本発明の化合物は、アレルギー性疾患、例えば、ぜん息およびアレルギー性皮膚疾患を管理、治療または予防するために使用することができる。

他の態様において、本発明の化合物は、増殖性障害、例えば、癌を管理、治療または予防するために使用することができる。

他の態様において、本発明の化合物は、オステオポロシスを管理、治療または予防するために使用することができる。

## 【 0 2 3 6 】

他の態様において、本発明の化合物は、乾癬を管理、治療または予防するために使用することができる。

他の態様において、本発明の化合物は、成長ホルモンの合成または作用が減少または増加した疾患、成長ホルモンの放出 / それに対する応答を調節するホルモンまたはサイトカインの合成または作用が減少または増加した疾患を管理、治療または予防するために使用することができる。

他の態様において、本発明の化合物は、凝固系の機能障害を有する疾患を管理、治療または予防するために使用することができる。

他の態様において、本発明の化合物は、脳疾患、例えば、アルツハイマー病および精神分裂病を管理、治療または予防するために使用することができる。

## 【 0 2 3 7 】

他の態様において、本発明の化合物は、感染症を管理、治療または予防するために使用することができる。

さらに、本発明の化合物は、前述の疾患および障害を管理、治療または予防する薬剤の製造に使用することができる。

他の好ましい態様は、細胞 - 細胞の相互作用ならびに細胞 - マトリックスの相互作用をモジュレートするために使用することができる。

本発明は、さらに、活性成分として、少なくとも 1 種の本発明の化合物と、薬学上許容される担体または希釈剤とを含んでなる医薬組成物に関する。必要に応じて、医薬組成物は、異なる活性を示す本発明の化合物の少なくとも 1 種、例えば、抗生物質的にまたは薬理的に活性な物質を含むことができる。

## 【 0 2 3 8 】

好ましい態様として、本発明の化合物は、糖尿病 I 型、糖尿病 II 型、障害されたグルコース耐性、インスリン耐性、および肥満症を有する患者におけるインスリンレセプターチロシンキナーゼシグナリング経路の調節に関係する 1 またはそれ以上の P T P アーゼを阻害またはモジュレートする治療剤として使用することができる。他の好ましい態様は、P T P アーゼ活性の一般的または特異的機能障害、例えば、増殖的障害、特に乾癬または新形成性疾患を有する患者の管理するための本発明の化合物の使用を包含する。他の態様として、本発明の化合物は、オステオポロシスの管理のための医薬製剤において使用することができる。

## 【 0 2 3 9 】

さらに、本発明の好ましい態様は、1 またはそれ以上の P T P アーゼの活性をモジュレートするか、あるいは成長ホルモンおよび I G F - 1 および I G F - 2 を包含するそのアナログまたはソマトメジンまたは調節分子の活性のコントロールまたは誘導に関係するホスホチロシンに対するアフィニティーを有する他のシグナル伝達分子の活性をモジュレートすることによって、これらのホルモンおよび任意の調節分子の分泌または作用を増加する医薬製剤において、本発明の化合物を使用することを包含する。

## 【 0 2 4 0 】

本発明の化合物は、正常または混乱した免疫機能、例えば、自己免疫反応の刺激因子または抑制因子として、免疫系の種々の障害を管理する医薬製剤において使用することができる。

る。本発明のそれ以上の態様は、アレルギー性疾患、例えば、ぜん息、皮膚反応、結膜炎管理するための本発明の化合物の使用を包含する。

他の態様において、本発明の化合物は、免疫抑制に使用される医薬製剤において使用することができる。このような使用の非限定的例は、器官および/または組織の移植においてである。

他の態様において、本発明の化合物は、血小板凝集を予防または誘導するための医薬製剤において使用することができる。

#### 【0241】

なお他の態様において、本発明の化合物は、感染症を管理するための医薬製剤において使用することができる。特に、本発明の化合物は、エルシニア (Yersinia) および他の細菌により引き起こされる感染症ならびにウイルスまたは他の微生物により引き起こされる障害を管理するために使用することができる。

本発明の化合物は、動物、例えば、商業的に重要な動物における疾患の管理または予防にさらに使用することができる。

#### 【0242】

また、この分野においてよく知られている手法を使用して固定化された本発明の化合物の使用に基づくアフィニティー精製手法を介する、PTPアーゼを単離する方法は本発明の範囲内に入る。当業者によく知られている、このような方法は、新規なPTPアーゼまたはホスホチロシン認識単位をもつ他の分子を同定するために使用することができる。非限定的例として、本発明の化合物は固相へのカップリングにより固定化することができる。本発明の化合物とカップリングさせた固相の上に、当業者によく知られている方法により列挙として調製された組織試料または細胞系統からの試料を通過させることができる。

#### 【0243】

前記固相に非特異的に結合する物質を除去するように設計された適当な手法で洗浄した後、当業者によく知られている標準的手法を使用して、大部分のPTPアーゼまたはホスホチロシン認識単位をもつ他の分子を本発明の化合物に結合させる。前記PTPアーゼまたはホスホチロシン認識単位をもつ他の分子を引き続いてこの分野においてよく知られている手法により解放させ、当業者によく知られている標準的手法に従いアミノ酸配列分析に付すことができる。対応するcDNAのヌクレオチド配列への逆翻訳を適当な遺伝暗号により推定することができる。

#### 【0244】

前記ヌクレオチド配列を使用して同等オリゴヌクレオチドを設計し、製造し、次いでこれを使用して、単離されたPTPアーゼまたはpTy r認識単位をもつ分子に対応するか、あるいはそれに類似するタンパク質または糖タンパク質をコードする適当なcDNAライブラリーからの部分的または全長のcDNAクローンを同定することができる。1 またはそれ以上の前記オリゴヌクレオチドまたは単離されたcDNAクローンを同様に使用して、前記cDNAクローンに対応するゲノムクローンを単離することができる。当業者によく知られている手法により、前記部分的または全長のcDNAクローンを適当なベクターの中に挿入し、タンパク質を発現させ、精製することができる。

#### 【0245】

前記精製されたタンパク質、の中に挿入PTPアーゼを使用して、記載した本発明の化合物の阻害能力および選択性をさらに分析することができる。

さらに、本発明は、適当な固相マトリックス、例えば、ワング (Wang) 樹脂またはリンク (Link) 樹脂にカップリングされた本発明の化合物に関する。

さらに、本発明は、下記の工程からなる、生物学的試料から本発明による化合物に対するアフィニティーを有するタンパク質または糖タンパク質を単離する方法に関する：

#### 【0246】

・ 適当な固相マトリックスへのカップリングにより固定化された本発明の化合物を前記生物学的試料と接触させて、前記固定化化合物が前記タンパク質または糖タンパク質との

結合により複合体を形成するようにさせ、

- ・ 前記生物学的試料から非結合物質を除去し、前記複合体を単離し、そして
- ・ 前記タンパク質または糖タンパク質を前記複合体から抽出する。

【0247】

さらに、本発明は、下記の工程からなる、生物学的試料から本発明による化合物に対するアフィニティーを有するタンパク質 - チロシンホスファターゼを単離する方法に関する：

・ 適当な固相マトリックスへのカップリングにより固定化された本発明の化合物を前記生物学的試料と接触させて、前記固定化化合物が前記タンパク質 - チロシンホスファターゼとの結合により複合体を形成するようにさせ、

- ・ 前記生物学的試料から非結合物質を除去し、前記複合体を単離し、そして
- ・ 前記タンパク質 - チロシンホスファターゼを抽出する。

【0248】

さらに、本発明は、下記の工程からなる、生物学的試料から本発明による化合物に対するアフィニティーを有する、Src 相同性 2 ドメイン含有タンパク質またはホスホチロシン結合ドメイン含有タンパク質を単離する方法に関する：

・ 適当な固相マトリックスへのカップリングにより固定化された本発明の化合物を前記生物学的試料と接触させて、前記固定化化合物が前記 Src 相同性 2 ドメイン含有タンパク質またはホスホチロシン結合ドメイン含有タンパク質との結合により複合体を形成するようにさせ、

- ・ 前記生物学的試料から非結合物質を除去し、前記複合体を単離し、そして
- ・ 前記 Src 相同性 2 ドメイン含有タンパク質またはホスホチロシン結合ドメイン含有タンパク質を前記複合体から抽出する。

【0249】

本発明は、また、蛍光または放射性分子にカップリングされた本発明の化合物に関する。

さらに、本発明は、下記の工程からなる、生物学的試料から請求項 1 ~ 74 のいずれか一項に記載の化合物に蛍光または放射性分子をカップリングさせる方法に関する：

- ・ 前記化合物を前記蛍光または放射性分子と反応混合物中で接触させて複合体を産生し、
- ・ 非複合化物質を除去し、そして前記複合体を反応混合物から単離する。

【0250】

さらに、本発明は、下記の工程からなる、本発明の化合物を使用して細胞または被検体においてタンパク質 - チロシンホスファターゼあるいは 1 またはそれ以上のホスホチロシン認識単位をもつ他の分子を検出する方法に関する：

・ 細胞またはその抽出物または前記被検体からの生物学的試料を接触させるか、あるいは前記化合物を前記被検体の中に注入して、前記化合物が前記タンパク質 - チロシンホスファターゼまたは 1 またはそれ以上のホスホチロシン認識単位をもつ前記分子と複合体を産生するようにさせ、

- ・ 前記複合体を検出し、これにより前記タンパク質 - チロシンホスファターゼまたは 1 またはそれ以上のホスホチロシン認識単位をもつ前記他の分子の存在を検出する。

【0251】

さらに、本発明は、下記の工程からなる、本発明の化合物を使用して細胞または被検体においてタンパク質 - チロシンホスファターゼあるいは 1 またはそれ以上のホスホチロシン認識単位をもつ他の分子を定量する方法に関する：

・ 細胞またはその抽出物または前記被検体からの生物学的試料を接触させるか、あるいは前記化合物を前記被検体の中に注入して、前記化合物が前記タンパク質 - チロシンホスファターゼまたは 1 またはそれ以上のホスホチロシン認識単位をもつ前記分子と複合体を産生するようにさせ、

- ・ 前記複合体の量を測定し、これにより前記タンパク質 - チロシンホスファターゼまたは 1 またはそれ以上のホスホチロシン認識単位をもつ前記分子の存在を検出する。

【0252】

また、本発明は、下記の工程からなる、本発明の化合物を使用して細胞または被検体においてタンパク質 - チロシンホスファターゼの所定のタンパク質 - チロシンホスファターゼまたはグループあるいは 1 またはそれ以上のホスホチロシン認識単位をもつ他の分子を定量する方法に関する：

- ・ 細胞またはその抽出物または前記被検体からの生物学的試料を接触させるか、あるいは前記化合物を前記被検体の中に注入して、前記化合物が前記タンパク質 - チロシンホスファターゼまたは 1 またはそれ以上のホスホチロシン認識単位をもつ前記分子と複合体を産生するようにさせ、
- ・ 前記複合体により誘導される生物学的作用を測定する。

#### 【0253】

##### 薬理学的的方法

上記適用について、投与量は使用する本発明の化合物、投与モードおよび所望の療法に依存して変化するであろう。しかしながら、一般に、約 0.5 mg ~ 約 1000 mg、好ましくは約 1 mg ~ 約 500 mg の本発明の化合物の投与量を、好都合には 1 ~ 5 回 / 日、必要に応じて持続放出性形態で使用すると、満足すべき結果が得られる。通常、経口投与に適切な投与形態は、薬学上許容される担体または希釈剤と混合された、約 0.5 mg ~ 約 1000 mg、好ましくは約 1 mg ~ 約 500 mg の本発明の化合物を含んでなる。

#### 【0254】

本発明の化合物は、その薬学上許容される付加塩の形態で、または可能ならば金属塩または  $C_{1-6}$  アルキルアンモニウム希釈剤として投与することができる。このような塩の形態は、遊離酸形態とほぼ同程度の活性を示す。

本発明は、また、本発明の化合物またはその薬学上許容される塩を含んでなる医薬組成物に関し、通常、継代培養化合物は、また、薬学上許容される担体または希釈剤を含有する。本発明の化合物を含有する組成物は慣用技術により製造することができ、そして、好都合な形態、例えば、カプセル剤、錠剤、溶液または懸濁液の形態を取ることができる。

#### 【0255】

使用する薬学上の担体は慣用の固体または液体の担体であることができる。固体の担体の例は、ラクトース、白陶土、スクロース、タルク、ゼラチン、寒天、ペクチン、アカシアゴム、ステアリン酸マグネシウムおよびステアリン酸である。液体の担体の例は、シロップ、落花生油、オリーブ油および水である。

同様に、担体または希釈剤は、この分野において知られている任意の時間遅延物質、例えば、グリセリルモノステアレートまたはグリセリルジステアレートの単独、またはそれとワックスとの混合物を包含することができる。

#### 【0256】

経口投与のために固体の担体を使用する場合、調製物を錠剤化し、硬質ゼラチンカプセルの中に粉末またはペレットの形態で入れるか、あるいはそれはトローチ剤または口ゼンジの形態であることができる。固体の担体の例は広く変化するが、通常約 25 mg ~ 約 1 g である。液体の担体を使用する場合、調製物はシロップ、乳濁液、軟質ゼラチンカプセルまたは無菌の注射可能な液体、例えば、水性または非水性液状懸濁液または溶液の形態であることができる。

#### 【0257】

一般に、本発明の化合物を 10 ~ 200 mg / 単位投与量の活性成分と薬学上許容される担体とを含んでなる単位投与形態で小出しされる。

患者、例えば、人間に薬剤として投与するとき、本発明による化合物の投与量は 1 ~ 500 mg / 日、例えば、約 100 mg / 投与量である。

慣用の錠剤化技術により製造できる典型的な錠剤は下記の成分を含有する：

#### 【0258】

コア：

活性化合物（遊離化合物として）	100mg
コロイド状二酸化ケイ素(Areosil <sup>®</sup> )	1.5mg
セルロース、微結晶質 (Avicel <sup>®</sup> )	70mg
変性セルロースガム (Ac-Di-Sol <sup>®</sup> )	7.5mg
ステアリン酸マグネシウム	

被覆：  
HPMC 約9mg

\*Mywaxett R 9-40T 約0.9mg

\* フィルム被覆のための可塑剤として使用されるアシル化モノグリセリド

#### 【0259】

投与経路は、活性化合物を適当なまたは所望の作用部位に効果的に輸送する任意の経路、例えば、経口または非経口、特に経直腸、経皮、皮下、鼻内、筋肉内、局所、静脈内、尿管内、眼用溶液または軟膏であることができ、経口経路は好ましい。

#### 【0260】

本発明の化合物を製造する方法を下記の実施例により例示する。これらの実施例は本発明を限定しない。

#### 実施例

以後、TLCは薄層クロマトグラフィーであり、CDCl<sub>3</sub>はデュウテリオクロロホルムであり、CD<sub>3</sub>ODはテトラデュウテリオメタノールである、そしてDMSO-d<sub>6</sub>ヘキサデュウテリオジメチルスルホキシドである。化合物の構造は元素分析またはNMRにより確証し、ここで標題化合物中の特性プロトンに帰属されるピークを必要に応じて示す。

#### 【0261】

<sup>1</sup>H NMRシフト (  $\delta$  ) は内部参照標準としてテトラメチルシランからのダウンフィールドの部 / 百万部 ( ppm ) で与えられる。M. p. は融点であり、 $\delta$  で与えられており、補正されていない。カラムクロマトグラフィーは下記の文献に記載されている技術を使用してメルク ( Merck ) シリカゲル60 ( Art. 9385 ) 上の実施された : W. C. Still et al. , J. Org. Chem. 43 : 2923 ( 1978 ) 。 HPLC分析は、実験の節において説明されたように、5  $\mu$ mol の C18 x 250mm カラムを使用して実施され、水およびアセトニトリルの種々の混合物で溶離された、流速 = 1ml / 分。

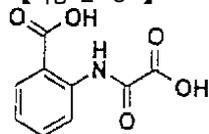
#### 【0262】

出発物質として使用した化合物は既知の化合物であるか、あるいはそれ自体知られている方法により容易に製造できる化合物である。ワング ( Wang ) 樹脂は4 - ヒドロキシメチルフェノールエーテルのリンカーを有するポリスチレンである。2 - アミノチオフエンは、Gewald et al. , Chem. Ber. 99 : 94 ( 1966 ) に従い製造される。3 - アミノチオフエンは、H. HartmannおよびJ. Liebscher , Synthesis 275 ( 1984 ) に従い製造される。

#### 【0263】

#### 実施例 1

#### 【化28】



#### 2 - ( オキサリル - アミノ ) 安息香酸 :

#### 【0264】

乾燥テトラヒドロフラン ( 250ml ) 中のアントラニル酸 ( 20.1g , 0.15mmol ) の攪拌溶液に、エチルオキサリルクロライド ( 10.0g , 0.073mol ) を滴下した。生ずる混合物を室温において15分間攪拌し、濾過し、溶媒を真空蒸

発させると、粗製 16.4 g (94%) の 2 - ( エトキシオキサリル - アミノ ) 安息香酸が油として得られた。

エタノール (350 ml) 中の上記安息香酸 (10.0 g、0.042 mol) の溶液に、水 (100 ml) 中の水酸化ナトリウム (3.7 g、0.092 mol) の溶液を添加した。生ずる反応溶液を室温において 60 時間攪拌した。濃塩酸を pH = 1 に添加し、沈澱を濾過し、水 (3 × 100 ml)、ジエチルエーテル (3 × 80 ml) で洗浄し、真空乾燥すると、7.1 g (81%) の標題化合物が固体として得られた。

【0265】

M. p. : 214 - 215 ;

$C_9H_7NO_5$ ,  $0.2H_2O$  についての計算値 ;

C, 51.68% ; H, 3.37% ; N, 6.70% .

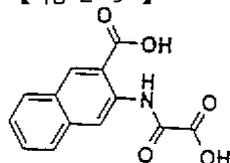
実測値 C, 50.96% ; H, 3.32% ; N, 6.52% .

【0266】

実施例 1 に記載される手順と同様にして、下記の化合物が製造された。

実施例 2

【化 29】



3 - ( オキサリル - アミノ ) ナフタレン - 2 - カルボン酸 :

M. p. : 227 - 228 ;

$C_{13}H_9NO_5$  についての計算値 ;

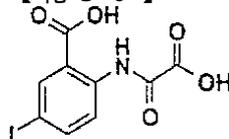
C, 60.24% ; H, 3.50% ; N, 5.40% .

測定値 C, 59.98% ; H, 3.46% ; N, 5.25% .

【0267】

実施例 3

【化 30】



2 - ( オキサリル - アミノ ) - 5 - ヨード - 安息香酸 :

MS (ES) : m / z = 326 (M + 1)

$C_9H_6NI_2O_5$ ,  $0.75 \times H_2O$  についての計算値 ;

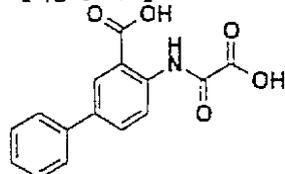
C, 31.01% ; H, 2.17% ; N, 4.02% .

測定値 C, 31.14% ; H, 2.33% ; N, 3.76% .

【0268】

実施例 4

【化 31】



4 - ( オキサリル - アミノ ) - ビフェニル - 3 - 安息香酸 :

5 - プロモ - 2 - アミノ - 安息香酸メチルエステル (3.0 g、13.01 mmol)、テトラキス(トリフェニルホスフィン)パラジウム (0) (0.5 g、0.44 mmol)、トルエン (40 ml) および 2 N 水性炭酸ナトリウム (14.8 ml) の懸

濁液に、室温においてメタノール ( 10 ml ) 中のフェニルホウ酸 ( 2.2 g、17.3 mmol ) の溶液を添加した。生ずる混合物を還流温度に 4 時間加熱し、冷却し、水 ( 50 ml ) で希釈した。

【0269】

不溶性物質を濾過し、相を分離した。水相を酢酸エチル ( 100 ml ) で抽出し、一緒にした有機相を水 ( 2 × 80 ml )、希薄水性アンモニア ( 80 ml ) および飽和塩化ナトリウム溶液 ( 80 ml ) で洗浄した。有機相を乾燥 ( MgSO<sub>4</sub> ) し、濾過し、真空蒸発させると、3.4 g の粗製 4 - アミノ - ビフェニル - 3 - カルボン酸メチルエステルが得られ、これをシリカゲル ( 1 リットル ) 上に精製し、溶離剤として酢酸エチルおよびヘプタン ( 1 : 3 ) の混合物を使用した。純粋な画分を収集し、真空蒸発させると、2.7 g ( 91 % ) の 4 - アミノ - ビフェニル - 3 - カルボン酸メチルエステル得られた。

【0270】

4 - アミノ - ビフェニル - 3 - カルボン酸メチルエステルを実施例 1 に記載される手順と同様にして標題化合物に変換した。

M. p. : 223 - 224 .

C<sub>15</sub>H<sub>11</sub>NO<sub>5</sub>, 0.5 × H<sub>2</sub>O についての計算値 ;

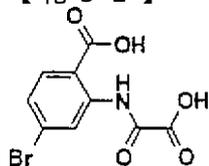
C, 61.23 % ; H, 4.11 % ; N, 4.76 % .

測定値 C, 60.96 % ; H, 4.01 % ; N, 4.62 % .

【0271】

#### 実施例 5

【化 3 2】



#### 4 - ブロモ - 2 - ( オキサリル - アミノ ) 安息香酸 :

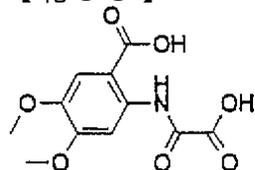
<sup>1</sup>HNMR ( 400 MHz, CD<sub>3</sub>OD ) 8.71 ( d, J = 7.5 Hz, 1 H ), 8.25 ( s, 1 H ), 7.80 ( d, J = 7.5 Hz, 1 H ).

MS : ES1 ( - ) : 288 [ M - 1 ( <sup>81</sup>Br ) ], 287 ( M - 1 ( <sup>79</sup>Br ) ) .

【0272】

#### 実施例 6

【化 3 3】



#### 4 , 5 - ジメトキシ - 2 - ( オキサリル - アミノ ) 安息香酸 :

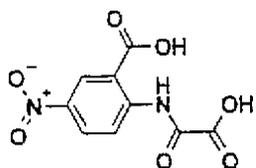
<sup>1</sup>HNMR ( 400 MHz, CD<sub>3</sub>OD ) 8.42 ( s, 1 H ), 7.60 ( s, 1 H ), 3.95 ( s, 3 H ), 3.86 ( s, 3 H ).

MS : ES1 ( - ) : 268 [ M - 1 ] .

【0273】

#### 実施例 7

【化 3 4】



5 - ニトロ - 2 - ( オキサリル - アミノ ) 安息香酸 :

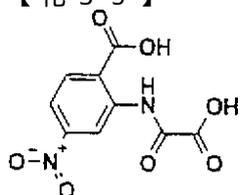
$^1\text{H NMR}$  ( 400 MHz ,  $\text{CD}_3\text{OD}$  ) 8.90 ( d ,  $J = 7.5\text{ Hz}$  , 2 H ) , 8.42 ( s , 1 H ) .

MS : ES1 ( - ) : 253 [ M - 1 ] .

【 0274 】

実施例 8

【 化 35 】



4 - ニトロ - 2 - ( オキサリル - アミノ ) 安息香酸 :

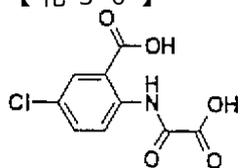
$^1\text{H NMR}$  ( 400 MHz ,  $\text{CD}_3\text{OD}$  ) 9.60 ( s , 1 H ) , 8.36 ( m , 1 H ) , 8.02 ( m , 1 H ) .

MS : ES1 ( - ) : 253 [ M - 1 ] .

【 0275 】

実施例 9

【 化 36 】



5 - クロロ - 2 - ( オキサリル - アミノ ) 安息香酸 :

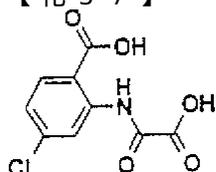
$^1\text{H NMR}$  ( 400 MHz ,  $\text{CD}_3\text{OD}$  ) 8.72 ( d ,  $J = 7.5\text{ Hz}$  , 1 H ) , 8.10 ( s , 1 H ) , 7.60 ( d ,  $J = 7.5\text{ Hz}$  , 1 H ) .

MS : ES1 ( - ) : 242 [ M - 1 (  $^{35}\text{Cl}$  ) ] , 244 [ M - 1 (  $^{37}\text{Cl}$  ) ] .

【 0276 】

実施例 10

【 化 37 】



4 - クロロ - 2 - ( オキサリル - アミノ ) 安息香酸 :

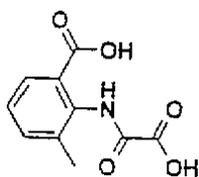
$^1\text{H NMR}$  ( 400 MHz ,  $\text{CD}_3\text{OD}$  ) 8.80 ( s , 1 H ) , 8.10 ( d ,  $J = 7.5\text{ Hz}$  , 1 H ) , 7.22 ( d ,  $J = 7.5\text{ Hz}$  , 1 H ) .

MS : ES1 ( - ) : 242 [ M - 1 (  $^{35}\text{Cl}$  ) ] , 244 [ M - 1 (  $^{37}\text{Cl}$  ) ] .

【 0277 】

実施例 11

【 化 38 】



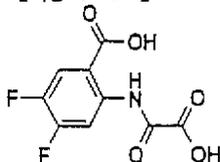
3 - メチル - 2 - ( オキサリル - アミノ ) 安息香酸 :

$^1\text{H NMR}$  ( 400 MHz , DMSO -  $d_6$  ) 2.2 ( s , 3 H ) , 7.2 - 7.7 ( m , 3 H ) , 10.5 ( s , 1 H ) , 12.9 ( s , 1 H ) .

【 0 2 7 8 】

実施例 1 2

【 化 3 9 】



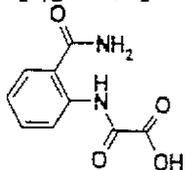
4 , 5 - ジフルオロ - 2 - ( オキサリル - アミノ ) 安息香酸 :

$^1\text{H NMR}$  ( 300 MHz , DMSO -  $d_6$  ) 8.03 ( m , 1 H ) , 8.61 ( d d , 1 H ) , 12.55 ( s , 1 H , NHCO ) .

【 0 2 7 9 】

実施例 1 3

【 化 4 0 】



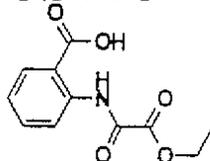
N - ( 2 - カルバモイル - フェニル ) - オキサリルミン酸 :

$^1\text{H NMR}$  ( 300 MHz , DMSO -  $d_6$  ) 7.20 ( t , 1 H ) , 7.55 ( t , 1 H ) , 7.73 ( b s , 1 H , CONH<sub>2</sub> ) , 7.83 ( d , 1 H ) , 8.30 ( b s , 1 H , CONH<sub>2</sub> ) , 8.52 ( d , 1 H ) , 12.9 ( s , 1 H , NHCO ) .

【 0 2 8 0 】

実施例 1 4

【 化 4 1 】



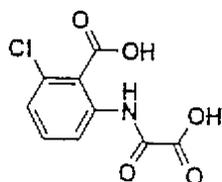
2 - ( エトキシオキサリル - アミノ ) - 安息香酸 :

$^1\text{H NMR}$  ( 300 MHz , DMSO -  $d_6$  ) 1.33 ( t , 3 H ) , 4.30 ( q , 2 H ) , 7.24 ( t , 1 H ) , 7.65 ( t , 1 H ) , 8.03 ( d , 1 H ) , 8.56 ( d , 1 H ) , 12.6 ( s , 1 H , NHCO ) .

【 0 2 8 1 】

実施例 1 5

【 化 4 2 】



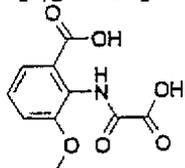
6 - クロロ - 2 - ( オキサリル - アミノ ) 安息香酸 :

$^1\text{H NMR}$  ( 400 MHz , DMSO -  $d_6$  ) 10.68 ( bs , 1H ) , 8.06 ( d ,  $J = 9\text{ Hz}$  , 1H ) , 7.43 ( t ,  $J = 9\text{ Hz}$  , 1H ) , 7.27 ( d ,  $J = 9\text{ Hz}$  , 1H ) .

【 0282 】

実施例 16

【 化 43 】



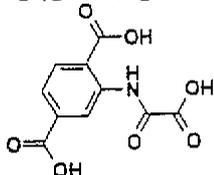
3 - メトキシ - 2 - ( オキサリル - アミノ ) 安息香酸 :

$^1\text{H NMR}$  ( 400 MHz , DMSO -  $d_6$  ) 9.98 ( bs , 1H ) , 7.37 - 7.25 ( m , 3H ) , 3.80 ( s , 3H ) .

【 0283 】

実施例 17

【 化 44 】



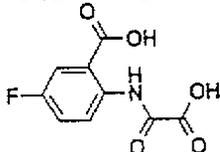
2 - ( オキサリル - アミノ ) - テレフタル酸 :

$^1\text{H NMR}$  ( 400 MHz , DMSO -  $d_6$  ) 7.28 ( s , 1H ) , 8.22 ( d ,  $J = 9\text{ Hz}$  , 1H ) , 7.75 ( d ,  $J = 9\text{ Hz}$  , 1H ) .

【 0284 】

実施例 18

【 化 45 】



5 - フルオロ - 2 - ( オキサリル - アミノ ) 安息香酸 :

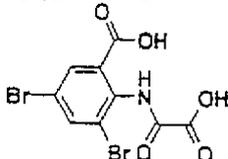
$^1\text{H NMR}$  ( 400 MHz ,  $\text{CD}_3\text{OD}$  ) 7.50 ( m , 1H ) , 7.25 ( m , 1H ) , 7.22 ( m , 1H ) .

MS m/z 227.2 ( M - 1 )

【 0285 】

実施例 19

【 化 46 】



3, 5 - ジブromo - 2 - (オキサリル - アミノ) 安息香酸 :

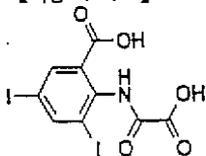
$^1\text{H NMR}$  (400 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ) 8.08 (s, 1H), 8.05 (s, 1H).

MS m/z 366.1 (M - 1).

【0286】

## 実施例 20

【化47】

3, 5 - ジヨード - 2 - (オキサリル - アミノ) 安息香酸 :

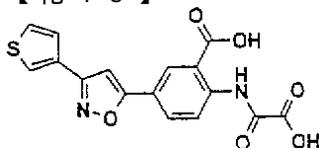
$^1\text{H NMR}$  (400 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ) 8.45 (s, 1H), 8.25 (s, 1H).

MS m/z 460.1 (M - 1).

【0287】

## 実施例 21

【化48】

2 - (オキサリル - アミノ) - 5 - (3 - チオフェン - 3 - イル - イソキサゾル - 5 - イル) - 安息香酸 :

1, 4 - ジオキサン (6.0 ml) 中のチオフェン - 3 - カルボキシアリデヒド (2.0 g, 1.8 mmol) の溶液に、ヒドロキシルアミン塩酸塩 (1.24 g, 1.8 mmol) およびトリエチルアミン (2.5 ml, 1.8 mmol) を添加した。この混合物を 0.5 時間超音波処理し、室温において 116 時間、35 において 48 時間攪拌した。溶媒を真空除去し、残留物をジクロロメタン中に溶解し、水で洗浄し、乾燥 ( $\text{MgSO}_4$ ) し、真空蒸発させると、1.97 g (87%) のチオフェン - 3 - カルボアルデヒドオキシムが油として得られた。

【0288】

室温において攪拌したテトラヒドロフラン (2.5 ml) 中のチオフェン - 3 - カルボアルデヒドオキシム (120 mg, 0.99 mmol) および 2 - (t - ブトキシオキサリル - アミノ) - 5 - エチル - 安息香酸メチルエステル (100 mg, 0.33 mmol) の溶液に、0.75 M の漂白剤 (1.3 ml, 0.99 mmol) を添加した。この溶液をまず室温において 24 時間攪拌し、次いで 35 において 24 時間攪拌した。溶媒を真空蒸発させ、残留物をジクロロメタン中に溶解し、水、ブラインで洗浄し、乾燥 ( $\text{MgSO}_4$ ) し、濾過し、真空蒸発させた。

【0289】

残留フィルムを調製用 TLC で精製すると、21 mg (15%) の 2 - (t - ブトキシオキサリル - アミノ) - 5 - (3 - チオフェン - 3 - イルイソキサゾル - 5 - イル) - 安息香酸メチルエステルが油として得られた。

$^1\text{H NMR}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) 12.75 (s, 1H), 8.92 (d, 1H,  $J = 11\text{ Hz}$ ), 8.59 (s, 1H), 8.06 (d, 1H,  $J = 11\text{ Hz}$ ), 7.91 (s, 1H), 7.59 (d, 1H,  $J = 7\text{ Hz}$ ), 7.28 (d, 1H,  $J = 7\text{ Hz}$ ), 6.90 (s, 1H), 4.07 (s, 3H), 1.65 (s, 9H).

【0290】

上記 2 - (t - ブトキシオキサリル - アミノ) - 5 - (3 - チオフェン - 3 - イルイ

ソキサゾル - 5 - イル) - 安息香酸メチルエステル (10 mg、0.23 mmol) を 20% のトリフルオロ酢酸 / ジクロロメタン (0.3 ml) 中に溶解し、室温において 21 時間攪拌した。溶媒を真空除去すると、8.4 mg (98%) の 2 - (オキサリル - アミノ) - 5 - (3 - チオフェン - 3 - イルイソキサゾル - 5 - イル) - 安息香酸メチルエステルが固体として得られた。

$^1\text{H NMR}$  (400 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ) 12.75 (s, 1H), 8.95 (d, 1H,  $J = 11\text{ Hz}$ ), 8.62 (s, 1H), 8.18 (d, 1H,  $J = 11\text{ Hz}$ ), 7.75 (m, 1H), 7.65 (m, 1H), 7.60 (s, 1H), 4.07 (s, 3H).

【0291】

室温においてメタノール (1.5 ml) およびテトラヒドロフラン (0.5 ml) 中の 2 - (オキサリル - アミノ) - 5 - (3 - チオフェン - 3 - イルイソキサゾル - 5 - イル) - 安息香酸メチルエステル (8.4 mg、0.23 mmol) の溶液に、1 N 水酸化リチウム (90  $\mu\text{l}$ 、0.090 mmol) に添加した。この溶液を 48 時間攪拌した。溶媒を真空除去し、残留物を水中に再溶解した。この溶液を 1 N 塩酸で pH = 1 に酸性化し、酢酸エチルで抽出した。一緒にした抽出液を真空蒸発させると、6.4 mg (79%) の標題化合物が固体として得られた。

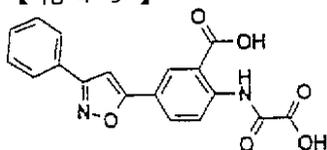
$^1\text{H NMR}$  (400 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ) 8.75 (d, 1H,  $J = 11\text{ Hz}$ ), 8.70 (s, 1H), 7.95 (s, 1H), 7.82 (d, 1H,  $J = 11\text{ Hz}$ ), 7.70 (m, 1H), 7.60 (m, 1H).

MS m/z 357 (M - 1).

【0292】

実施例 22

【化 49】



2 - (オキサリル - アミノ) - 5 - (3 - フェニル - イソキサゾル - 5 - イル) - 安息香酸 :

1, 4 - ジオキサン (6.0 ml) 中のベンズアルデヒド (2.0 g、19 mmol) の溶液に、ヒドロキシルアミン塩酸塩 (1.3 g、19 mmol) およびトリエチルアミン (2.6 ml、19 mmol) を添加した。この混合物を 0.5 時間超音波処理し、室温において 116 時間、35 において 24 時間攪拌した。溶媒を真空除去し、残留物をジクロロメタン中に溶解し、水で洗浄し、乾燥 ( $\text{MgSO}_4$ ) し、真空蒸発させると、1.9 g (84%) のベンズアルデヒドオキシムが油として得られた。

$^1\text{H NMR}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) 8.18 (s, 1H), 7.60 (m, 2H), 7.41 (m, 3H).

【0293】

室温において攪拌したテトラヒドロフラン (2.5 ml) 中のベンズアルデヒドオキシム (120 mg、0.99 mmol) および 2 - (t - ブトキシオキサリル - アミノ) - 5 - エチル - 安息香酸メチルエステル (100 mg、0.33 mmol) の溶液に、0.75 M の漂白剤 (1.3 ml、0.99 mmol) を添加した。この溶液をまず室温において 24 時間攪拌し、次いで 35 において 24 時間攪拌した。溶媒を真空蒸発させ、残留物をジクロロメタン中に溶解した。

【0294】

この溶液を水、ブラインで洗浄し、乾燥 ( $\text{MgSO}_4$ ) し、濾過し、真空蒸発させた。残留物をジエチルエーテルで洗浄すると、固体状沈澱が得られ、これを濾過すると、59 mg (42%) の 2 - (t - ブトキシオキサリル - アミノ) - 5 - (3 - フェニル - イソキサゾル - 5 - イル) - 安息香酸メチルエステルが固体として得られた。

$^1\text{H NMR}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) 12.75 (s, 1H), 8.85 (d, 1H,  $J = 11\text{ Hz}$ ), 8.62 (s, 1H), 8.06 (d, 1H,  $J = 11\text{ Hz}$ ), 7.91 (m, 2H), 7.52 (m, 3H), 6.90 (s, 1H), 4.07 (s, 3H), 1.65 (s, 9H).

## 【0295】

上記2-(t-ブトキシオキサリル-アミノ)-5-(3-フェニル-イソキサゾル-5-イル)-安息香酸メチルエステル(28 mg、0.07 mmol)を20%のトリフルオロ酢酸/ジクロロメタン(0.5 ml)中に溶解し、室温において6時間撹拌した。溶媒を真空除去すると、25 mg(100%)の2-アミノ-5-(3-フェニル-イソキサゾル-5-イル)-安息香酸メチルエステルが固体として得られた。

$^1\text{H NMR}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) 12.75 (s, 1H), 8.85 (d, 1H,  $J = 11\text{ Hz}$ ), 8.62 (s, 1H), 8.15 (d, 1H,  $J = 11\text{ Hz}$ ), 7.91 (m, 2H), 7.52 (m, 3H), 6.90 (s, 1H), 4.07 (s, 3H)

## 【0296】

室温においてメタノール(2.5 ml)およびテトラヒドロフラン(1.0 ml)中の上記2-アミノ-5-(3-フェニル-イソキサゾル-5-イル)-安息香酸メチルエステル(8.4 mg、0.23 mmol)の溶液に、1N水酸化リチウム(1.4 ml、0.136 mmol)に添加した。この溶液を12時間撹拌した。溶媒を真空除去した。残留物を水中に溶解し、1N塩酸で $\text{pH} = 1$ に酸性化し、水、ブラインで洗浄し、乾燥( $\text{MgSO}_4$ )し、濾過し、溶媒を真空蒸発させると、7.7 mg(64%)の標題化合物が固体として得られた。

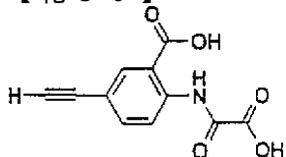
$^1\text{H NMR}$  (400 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ) 8.91 (d, 1H,  $J = 11\text{ Hz}$ ), 8.62 (s, 1H), 8.15 (d, 1H,  $J = 11\text{ Hz}$ ), 7.91 (m, 2H), 7.49 (m, 3H), 7.25 (s, 1H), 4.07 (s, 3H).

LC/MS m/z: 351 (M-1).

## 【0297】

## 実施例 23

## 【化50】



## 5-エチニル-2-(オキサリル-アミノ)-安息香酸:

トルエン(100 ml)中の2-(t-ブトキシオキサリル-アミノ)-5-ヨード-安息香酸(5.0 g、12.8 mmol)およびN,N-ジメチルホルムアミドジ-t-ブチルアセテート(12 ml、51.2 mmol)の溶液を20時間加熱還流させた。

## 【0298】

反応を室温に冷却し、真空濃縮し、残留物を酢酸エチル(150 ml)中に溶解した。酢酸エチル相を水(3×35 ml)、ブライン(20 ml)で洗浄し、揮発性物質を真空蒸発させた。残留物をシリカゲルのクロマトグラフィーにより精製し、25%酢酸エチル/ヘキサンを溶離剤として使用した。純粋な画分を一緒にし、真空濃縮すると、2.3 gの2-(t-ブトキシオキサリル-アミノ)-5-ヨード-安息香酸t-ブチルエステルが固体として得られた。

$^1\text{H NMR}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) 8.54 (d,  $J = 9\text{ Hz}$ , 1H), 8.27 (s, 1H), 7.83 (d,  $J = 9\text{ Hz}$ , 1H), 1.62 (s, 18H).

## 【0299】

2-(t-ブトキシオキサリル-アミノ)-5-ヨード-安息香酸t-ブチルエステ

ル ( 0 . 8 3 g 、 1 . 8 6 m m o l ) 、 トリメチルシリルアセテート ( 2 m l ) およびトリエチルアミン ( 1 m l 、 7 . 4 4 m m o l ) を N , N - ジメチルホルムアミド ( 5 m l ) 中に溶解し、溶液をアルゴンでパージした。ジクロロビス ( トリフェニルホスフィン ) パラジウム ( II ) ( 2 6 m g 、 0 . 1 5 m m o l ) およびヨウ化銅 ( I ) ( 4 m g 、 0 . 1 5 m m o l ) を添加し、反応混合物を 6 0 °C において 5 時間撹拌した。粗製混合物を酢酸エチル ( 4 0 m l ) で希釈し、水 ( 3 × 1 0 m l ) およびブライン ( 2 × 1 0 m l ) で洗浄した。溶媒を真空蒸発させると、0 . 7 7 g ( 9 9 % ) の 2 - ( t - ブトキシオキサリル - アミノ ) - 5 - トリメチルシラニルエチニル - 安息香酸 t - ブチルエステルが得られた。

<sup>1</sup>HNMR ( 4 0 0 M H z , C D C l <sub>3</sub> ) 1 2 . 5 9 ( s , 1 H ) , 8 . 7 1 ( d , J = 9 H z , 1 H ) , 8 . 0 7 ( d , J = 9 H z , 1 H ) , 1 . 6 2 ( s , 9 H ) , 1 . 6 1 ( s , 9 H ) , 0 . 2 5 ( s , 9 H ) .

【 0 3 0 0 】

2 - ( t - ブトキシオキサリル - アミノ ) - 5 - トリメチルシラニルエチニル - 安息香酸 t - ブチルエステル ( 0 . 5 7 g 、 1 . 3 7 m m o l ) をテトラヒドロフラン ( 5 m l ) 中に溶解し、テトラヒドロフラン ( 1 . 7 m l 、 1 . 5 1 m m o l ) 中のテトラブチルアンモニウムフルオライドおよび酢酸 ( 2 : 3 ) の 0 . 9 M 溶液で 3 時間処理した。揮発性物質を真空蒸発させ、粗製物質を酢酸エチル ( 3 5 m l ) の中に抽出した。酢酸エチル抽出液を 1 M 塩酸 ( 5 m l ) 、飽和重硫酸ナトリウム溶液 ( 5 m l ) 、ブライン ( 5 m l ) で洗浄し、真空蒸発させると、0 . 3 6 g ( 7 6 % ) の 2 - ( t - ブトキシオキサリル - アミノ ) - 5 - エチニル - 安息香酸 t - ブチルエステルが油として得られた。

<sup>1</sup>HNMR ( 4 0 0 M H z , C D C l <sub>3</sub> ) 8 . 7 4 ( d , J = 1 0 H z , 1 H ) , 8 . 1 2 ( s , 1 H ) , 7 . 6 5 ( d , J = 1 0 H z , 1 H ) , 3 . 0 8 ( s , 1 H ) , 1 . 6 2 ( s , 9 H ) , 1 . 5 8 ( s , 9 H ) .

【 0 3 0 1 】

2 - ( t - ブトキシオキサリル - アミノ ) - 5 - エチニル - 安息香酸 t - ブチルエステル ( 0 . 3 6 g 、 1 . 0 4 m m o l ) を、室温において 5 0 % トリフルオロ酢酸 / ジクロロメタン ( 1 5 m l ) で 3 時間処理した。反応混合物を真空濃縮し、残留物を水およびジエチルエーテルで洗浄すると、乾燥後、0 . 2 1 g ( 8 6 % ) の標題化合物が得られた。

<sup>1</sup>HNMR ( 4 0 0 M H z , D M S O - d <sub>6</sub> ) 8 . 2 3 ( d , J = 1 0 H z , 1 H ) , 8 . 0 5 ( s , 1 H ) , 7 . 7 6 ( d , J = 1 0 H z , 1 H ) , 4 . 2 4 ( s , 1 H )

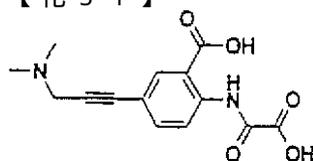
LC / MS [ M - H ] : 2 3 2 . 0 7

HPLC ( 2 5 4 . 4 n m ) : 3 . 1 1 2 s , ( 4 9 % ) .

【 0 3 0 2 】

実施例 2 4

【 化 5 1 】



5 - ( 3 - ジメチルアミノ - プロ - 1 - イニル ) - 2 - ( オキサリル - アミノ ) - 安息香酸

無水テトラヒドロフラン ( 4 0 m l ) 中の 5 - ヨードアントラニル酸 ( 3 . 0 g 、 1 1 . 4 m m o l ) および N , N - ジイソプロピルエチルアミン ( 4 m l 、 2 2 . 8 m m o l ) の溶液に、インダゾル - 1 - イル - オキソ - 酢酸 t - ブチルエステル ( 4 . 4 7 g 、 2 2 . 8 m m o l ) を添加した。

【 0 3 0 3 】

反応を室温において3時間攪拌した。溶媒を真空蒸発させ、粗製混合物を酢酸エチル(70 ml)の中に抽出した。有機抽出液を1%塩酸(2 × 15 ml)およびブライン(10 ml)で洗浄し、真空蒸発させると、2.8 g(63%)の2-(t-ブトキシオキサリル-アミノ)-5-ヨード-安息香酸が固体として得られた。

$^1\text{H NMR}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) 8.57 (d,  $J = 9\text{ Hz}$ , 1H), 8.43 (d,  $J = 2\text{ Hz}$ , 1H), 8.00 (d,  $J = 9\text{ Hz}$ , 2H), 1.59 (s, 9H) .

#### 【0304】

窒素雰囲気下にジクロロメタン(15 ml)中の2-(t-ブトキシオキサリル-アミノ)-5-ヨード-安息香酸(2.1 g, 5.37 mmol)の溶液に、トリエチルアミン(3.75 g, 26.85 mmol)およびN,N-ジメチルアミノピリジン(0.1 g)を添加した。メトキシメチルクロライド(1.2 ml, 16.11 mmol)を添加し、反応混合物を4時間攪拌し、最小体積に真空濃縮し、これをシリカゲルのカラムに直接負荷し、50%酢酸エチル/ヘキサンで溶離した。純粋な画分を一緒にし、濃縮すると、1.5 g(64%)の2-(t-ブトキシオキサリル-アミノ)-5-ヨード-安息香酸メトキシメチルエステルが固体として得られた。

$^1\text{H NMR}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) 8.56 (d,  $J = 9\text{ Hz}$ , 1H), 8.42 (s, 1H), 7.89 (d,  $J = 9\text{ Hz}$ , 1H), 5.54 (s, 2H), 3.60 (s, 3H), 1.61 (s, 9H) .

#### 【0305】

2-(t-ブトキシオキサリル-アミノ)-5-ヨード-安息香酸メトキシメチルエステル(0.16 g, 1.11 mmol)、トリエチルアミン(51  $\mu\text{l}$ , 0.37 mmol)および1-ジメチルアミノ-2-プロピン(0.12 ml, 1.11 mmol)の溶液を無水アセトニトリル(3 ml)中で調製し、アルゴンでパージした。ジクロロビス(トリフェニルホスフィン)パラジウム(II)(5 mg, 0.0074 mmol)およびヨウ化銅(I)(1 mg, 0.0074 mmol)を添加し、反応をアルゴン雰囲気下に18時間攪拌した。揮発性物質を真空蒸発させ、残留物を酢酸エチル(10 ml)中に再溶解した。有機相を1%塩酸(5 ml)で洗浄し、水相を追加の酢酸エチルで抽出した。

#### 【0306】

一緒にした有機抽出液をブライン(5 ml)で洗浄し、乾燥( $\text{Na}_2\text{SO}_4$ )し、濃縮すると、油が得られた。粗製油をジクロロメタン中に溶解し、シリカゲルのクロマトグラフィにより精製し、5%メタノール/ジクロロメタン/0.1%トリエチルアミンを溶離剤として使用した。純粋な画分を一緒にすると、81 mg(60%)の2-(t-ブトキシオキサリル-アミノ)-5-(3-ジメチルアミノ-プロプ-1-イニル)-安息香酸メトキシメチルエステルが油として得られた。

$^1\text{H NMR}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) 12.52 (s, 1H), 8.75 (d,  $J = 9\text{ Hz}$ , 1H), 8.21 (s, 1H), 7.64 (d,  $J = 9\text{ Hz}$ , 1H), 5.53 (s, 2H), 3.59 (s, 3H), 3.46 (s, 2H), 2.38 (s, 6H), 1.61 (s, 9H) .

#### 【0307】

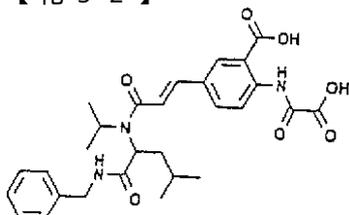
2-(t-ブトキシオキサリル-アミノ)-5-(3-ジメチルアミノ-プロプ-1-イニル)-安息香酸メトキシメチルエステル(32.3 g)を、室温において50%トリフルオロ酢酸/ジクロロメタン(3 ml)で処理した。この混合物を固体に濃縮し、生ずる固体をジクロロメタンで洗浄すると、20 mg(83%)の標題化合物が固体として得られた。

$^1\text{H NMR}$  (400 MHz,  $\text{DMSO}-d_6$ ) 8.60 (d,  $J = 9\text{ Hz}$ , 1H), 8.05 (s, 1H), 7.60 (d,  $J = 9\text{ Hz}$ , 1H), 4.07 (s, 2H), 2.73 (s, 6H) .

#### 【0308】

## 実施例 2 5

## 【化 5 2】



5 - ( 2 - ( ( 1 - ベンジルカルバモイル - 3 - メチル - ブチル ) - イソプロピル - カルバモイル ) - ビニル ) - 2 - ( オキサリル - アミノ ) - 安息香酸

5 - ( 2 - ( ( 1 - ベンジルカルバモイル - 3 - メチル - ブチル ) - イソプロピル - カルバモイル ) - ビニル ) - 2 - ( t - ブトキシオキサリル - アミノ ) - 安息香酸メトキシメチルエステル ( 0 . 4 1 g 、 0 . 2 2 m m o l ) を、50%トリフルオロ酢酸/ジクロロメタン ( 6 m l ) の溶液で 2 . 5 時間処理した。この混合物を真空濃縮し、水から沈澱させた。生ずる結晶質固体を濾過し、真空乾燥すると、0 . 1 0 g ( 8 5 % ) の標題化合物が固体として得られた。

## 【0309】

$^1\text{H NMR}$  ( 4 0 0 M H z ,  $\text{CD}_3\text{OD}$  ) 8 . 7 6 ( d ,  $J = 9 \text{ Hz}$  , 1 H ) , 8 . 3 1 ( s , 1 H ) , 7 . 9 4 ( d ,  $J = 9 \text{ Hz}$  , 1 H ) , 7 . 4 9 ( d ,  $J = 1 6 \text{ Hz}$  , 1 H ) , 7 . 4 6 - 7 . 3 8 ( m , 5 H ) , 7 . 1 3 ( d ,  $J = 1 6 \text{ Hz}$  , 1 H ) , 4 . 4 9 ( m , 1 H ) , 4 . 1 0 ( s , 2 H ) , 3 . 9 5 ( m , 1 H ) , 2 . 4 9 ( m , 1 H ) , 1 . 9 0 ( m , 1 H ) , 1 . 5 6 ( m , 1 H ) , 1 . 3 8 ( d ,  $J = 6 \text{ Hz}$  , 3 H ) , 1 . 3 5 ( d ,  $J = 7 \text{ Hz}$  , 3 H ) , 0 . 9 7 ( d ,  $J = 6 \text{ Hz}$  , 6 H ) .

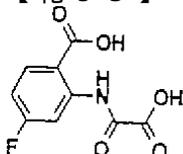
LC / MS [ M - H ]<sup>-</sup> : 5 2 2 . 5 5 .

## 【0310】

下記の化合物を実施例 1 におけるのと同様な方法で製造した。

## 実施例 2 6

## 【化 5 3】



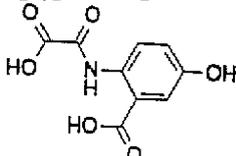
4 - フルオロ - 2 - ( オキサリル - アミノ ) - 安息香酸 :

$^1\text{H NMR}$  ( 3 0 0 M H z ,  $\text{DMSO}-d_6$  ) 7 . 1 1 ( m , 1 H ) , 8 . 1 2 ( m , 1 H ) , 8 . 4 2 ( d d , 1 H ) , 1 2 . 6 2 ( s , 1 H ,  $\text{NHCO}$  ) .

## 【0311】

## 実施例 2 7

## 【化 5 4】



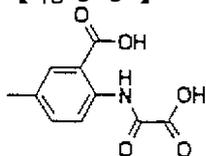
5 - ヒドロキシ - 2 - ( オキサリル - アミノ ) - 安息香酸 :

$^1\text{H NMR}$  ( 4 0 0 M H z ,  $\text{DMSO}-d_6$  ) 1 2 . 1 9 ( s , 1 H ) , 9 . 7 8 ( b s , 1 H ) , 8 . 4 4 ( d ,  $J = 1 0 \text{ Hz}$  , 1 H ) , 7 . 4 2 ( d ,  $J = 2 \text{ Hz}$  , 1 H ) , 7 . 0 5 ( d d ,  $J = 1 0 \text{ Hz}$  , 2 H z ) .

## 【0312】

## 実施例 2 8

## 【化 5 5】



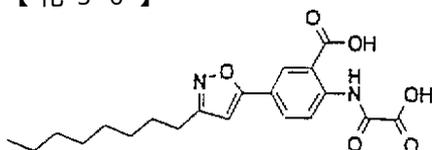
## 5 - メチル - 2 - ( オキサリル - アミノ ) - 安息香酸 :

$^1\text{H NMR}$  ( 400 MHz , DMSO -  $d_6$  ) 12.20 ( s , 1H ) , 8.51 ( d ,  $J = 10\text{ Hz}$  , 1H ) , 7.83 ( d ,  $J = 2\text{ Hz}$  , 1H ) , 7.42 ( d d ,  $J = 10\text{ Hz}$  , 2 Hz , 1H ) , 2.29 ( s , 3H ) .

## 【 0 3 1 3 】

## 実施例 2 9

## 【化 5 6】



## 5 - ( 3 - オクチル - イソキサゾール - 5 - イル ) - 2 - ( オキサリル - アミノ ) - 安息香酸 :

アセトン ( 15 ml ) 中の 2 - ( t - ブトキシオキサリル - アミノ ) - 5 - ヨード - 安息香酸 ( 1.8 g 、 4.6 mmol ) および炭酸カリウム ( 1.6 g 、 11.5 mmol ) の溶液に、ヨードメタン ( 3 g ) を添加した。反応を 2 時間加熱還流させ、次いで TLC 分析に反応が完結したことがわかった。粗製混合物を酢酸エチル ( 75 ml ) で希釈し、水 ( 2 × 15 ml ) およびブライン ( 10 ml ) で洗浄した。有機相を真空濃縮すると、1.8 g ( 94 % ) の 2 - ( t - ブトキシオキサリル - アミノ ) - 5 - ヨード - 安息香酸メチルエステルが得られた。

$^1\text{H NMR}$  ( 400 MHz ,  $\text{CDCl}_3$  ) 12.52 ( s , 1H ) , 8.53 ( d ,  $J = 9\text{ Hz}$  , 1H ) , 8.39 ( s , 1H ) , 8.87 ( d ,  $J = 9\text{ Hz}$  , 1H ) , 3.98 ( s , 3H ) , 1.61 ( s , 9H ) .

## 【 0 3 1 4 】

2 - ( t - ブトキシオキサリル - アミノ ) - 5 - ヨード - 安息香酸メチルエステル ( 0.86 g 、 2.12 mmol ) 、トリメチルシリルアセチレン ( 2 ml ) およびトリエチルアミン ( 1.2 ml 、 8.48 mmol ) を N , N - ジメチルホルムアミド ( 5 ml ) 中に溶解し、この溶液をアルゴンでパージした。ジクロロピス ( トリフェニルホスフィン ) パラジウム ( II ) ( 30 mg 、 0.42 mmol ) およびヨウ化銅 ( I ) ( 4 mg , 0.021 mmol ) を添加し、反応をアルゴン雰囲気下に 3 時間撹拌した。粗製混合物を酢酸エチル ( 40 ml ) で希釈し、水 ( 3 × 10 ml ) およびブライン ( 2 × 10 ml ) で洗浄した。有機相を真空蒸発させると、0.8 g ( 99 % ) の 2 - ( t - ブトキシオキサリル - アミノ ) - 5 - トリメチルシラニルエチニル - 安息香酸メチルエステルが得られ、これをそれ以上精製しないで使用した。

## 【 0 3 1 5 】

2 - ( t - ブトキシオキサリル - アミノ ) - 5 - トリメチルシラニルエチニル - 安息香酸メチルエステル ( 0.15 g 、 0.4 mmol ) をテトラヒドロフラン ( 2 ml ) 中に溶解し、テトラヒドロフラン ( 0.44 ml 、 0.4 mmol ) 中のテトラブチルアンモニウムフルオライドおよび酢酸 ( 2 : 3 ) の 0.9 M 溶液で 3 時間処理した。揮発性物質を真空蒸発させ、粗製物質を酢酸エチル ( 25 ml ) の中に抽出した。酢酸エチル抽出液を 1 M 塩酸 ( 5 ml ) 、飽和重硫酸ナトリウム溶液 ( 5 ml ) で洗浄し、真空蒸発させると、0.1 g ( 83 % ) の 2 - ( t - ブトキシオキサリル - アミノ ) - 5 - エチニル - 安息香酸メチルエステルが油として得られた。

## 【 0 3 1 6 】

テトラヒドロフラン ( 3 ml ) 中の 2 - ( t - ブトキシオキサリル - アミノ ) - 5 -

エチニル - 安息香酸メチルエステル (0.1 g、0.33 mmol) およびノナルドキシム (0.15 g、0.99 mmol) の溶液を漂白剤 (0.75 M、1.3 ml、0.99 mmol) で処理した。反応を室温において24時間攪拌した。TLC分析により、出発物質の存在が示されたので、反応を35°Cに12時間加熱した。溶媒を真空除去し、粗製物質を酢酸エチル (35 ml) 中に溶解し、水 (2 × 10 ml) およびブライン (10 ml) で洗浄した。

【0317】

有機抽出液を真空蒸発させると、0.1 g (66%) の2-(t-ブトキシオキサリル-アミノ)-5-(3-オクチル-イソキサゾリル-4-イル)-安息香酸メチルエステルが油として得られた。

<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) 8.89 (d, J = 10 Hz, 1H), 8.52 (d, J = 1 Hz, 1H), 7.97 (dd, J = 10, 1 Hz, 1H), 6.41 (s, 1H), 4.02 (s, 3H), 2.73 (t, J = 8 Hz, 2H), 1.70 (m, 2H), 1.62 (s, 9H), 1.37 - 1.25 (bm, 12H), 0.89 (t, J = 8 Hz, 3H).

【0318】

50%メタノール/テトラヒドロフラン (2 ml) 中の上記 (イソキサゾリル-4-イル)-安息香酸メチルエステル (9.1 mg、0.02 mmol) の溶液に、1 N水酸化リチウム (60 μl、0.06 mmol) を添加し、生ずる混合物を室温において48時間攪拌した。TLC分析 (30%メタノール/ジクロロメタン) により反応の完結が示され、追加の1 N水酸化リチウムを添加した (20 μl、0.002 mmol)。反応をさらに72時間攪拌した。反応混合物のpHを1 N塩酸の添加により約0に調節した。

【0319】

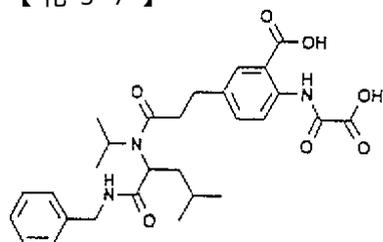
この混合物を真空濃縮し、粗製物質を酢酸エチル (20 ml) 中に溶解した。有機層をブライン (2 × 5 ml) で洗浄し、真空濃縮すると、5.4 mg (70%) の標題化合物が固体として得られた。

<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CD<sub>3</sub>OD) 8.87 (d, J = 10 Hz, 1H), 8.55 (s, 1H), 8.04 (d, J = 10 Hz, 1H), 6.74 (s, 1H), 2.70 (t, J = 8 Hz, 2H), 1.72 (m, 2H), 1.38 - 1.20 (bm, 12H), 0.90 (t, J = 8 Hz, 3H).

【0320】

実施例30

【化57】



5-(2-((1-ベンジルカルバモイル-3-メチル-ブチル)-イソプロピル-カルバモイル)-エチル)-2-(オキサリル-アミノ)-安息香酸:

メタノール (5 ml) 中のイソプロピルアミン (0.43 ml、5.0 mmol) の溶液に、イソバレラルデヒド (0.54 ml、5.0 mmol) を添加した。15分間攪拌した後、テトラヒドロフラン中のベンジルイソシアニドの溶液 (1 M、5 ml、5.0 mmol) を添加し、次いでアクリル酸 (0.34 ml、5.0 mmol) を添加した。反応を室温において72時間攪拌し、揮発性物質を真空除去し、生ずる油を酢酸エチル (40 ml) 中に溶解した。

【0321】

有機混合物を1N塩酸(10ml)およびブライン(10ml)で洗浄し、乾燥( $\text{Na}_2\text{SO}_4$ )し、溶媒を真空蒸発させた。粗製残留物をクロマトグラフィーにより精製し、30%酢酸エチル/ヘキサンから50%酢酸エチル/ヘキサンからまでの勾配を使用した。純粋な画分を収集し、溶媒を真空蒸発させると、1.5g(100%)のN-(1-ベンジルカルバモイル-3-メチル-ブチル)-N-イソプロピル-アクリルアミドが油として得られた。

$^1\text{HNMR}$  (400MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) 8.13 (bs, 1H), 7.30 - 7.19 (m, 5H), 6.49 (dd,  $J = 16\text{ Hz}$ , 12 Hz, 1H), 6.25 (d,  $J = 16\text{ Hz}$ , 1H), 5.66 (d,  $J = 12\text{ Hz}$ , 1H), 4.38 (d,  $J = 6\text{ Hz}$ , 2H), 4.10 - 4.02 (m, 1H), 2.22 - 2.13 (m, 1H), 1.76 - 1.70 (m, 1H), 1.62 - 1.54 (m, 2H), 1.25 (d,  $J = 7\text{ Hz}$ , 3H), 1.20 (d,  $J = 7\text{ Hz}$ , 3H), 0.94 (d,  $J = 7\text{ Hz}$ , 3H), 0.90 (d,  $J = 7\text{ Hz}$ , 3H).

【0322】

N, N-ジメチルホルムアミド中のN-(1-ベンジルカルバモイル-3-メチル-ブチル)-N-イソプロピル-アクリルアミド(0.55g、1.74mmol)、2-(t-ブトキシオキサリル-アミノ)-5-ヨード-安息香酸メチルエステル(0.5g、1.15mmol)、酢酸パラジウム(3.0mg、0.023mmol)およびトリ(o-トリル)ホスフィン(10.0mg、0.07mmol)の溶液をアルゴン雰囲気下に、攪拌しながら、100℃に3時間加熱した。反応を室温に冷却し、酢酸エチル(50ml)中で希釈した。有機相を水(2×15ml)およびブライン(10ml)で洗浄し、乾燥( $\text{Na}_2\text{SO}_4$ )し、真空蒸発させた。粗製油質をクロマトグラフィーにより精製し、30%酢酸エチル/ヘキサンを溶離剤として使用した。

【0323】

純粋な画分を収集し、溶媒を真空蒸発させると、0.15g(20%)の5-(2-(1-ベンジルカルバモイル-3-メチル-ブチル)-イソプロピル-カルバモイル)-ビニル)-2-(t-ブトキシオキサリル-アミノ)-安息香酸メトキシメチルエステルが油として得られた。

$^1\text{HNMR}$  (400MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) 12.58 (s, 1H), 8.82 (d,  $J = 9\text{ Hz}$ , 1H), 8.22 (s, 1H), 7.80 (d,  $J = 9\text{ Hz}$ , 1H), 7.60 (d,  $J = 16\text{ Hz}$ , 1H), 7.30 - 7.22 (m, 5H), 6.80 (d,  $J = 16\text{ Hz}$ , 1H), 5.58 (s, 2H), 4.43 (bs, 2H), 4.21 - 4.15 (m, 1H), 3.60 (s, 3H), 2.21 - 2.16 (m, 1H), 1.82 - 1.78 (m, 1H), 1.61 (s, 9H), 1.61 - 1.58 (m, 1H), 1.35 (d,  $J = 7\text{ Hz}$ , 3H), 1.24 (t,  $J = 7\text{ Hz}$ , 3H), 0.99 (d,  $J = 7\text{ Hz}$ , 3H), 0.94 (d,  $J = 7\text{ Hz}$ , 3H).

【0324】

メタノール(1ml)中の5-(2-(1-ベンジルカルバモイル-3-メチル-ブチル)-イソプロピル-カルバモイル)-ビニル)-2-(t-ブトキシオキサリル-アミノ)-安息香酸メトキシメチルエステル(10.7mg、0.017mmol)の溶液に、5%パラジウム/炭素(2.2ng)を添加し、生ずる混合物を水素ガス(30psi)下に3時間攪拌した。この混合物をセライトを通して濾過し、真空蒸発させた。NMRにより反応が完結しないことが示されるので、それを水素化条件にさらに4時間付した。再び、この混合物を濾過し、真空蒸発させると、5-(2-(1-ベンジルカルバモイル-3-メチル-ブチル)-イソプロピル-カルバモイル)-エチル)-2-(t-ブトキシオキサリル-アミノ)-安息香酸メトキシメチルエステルが油として得られた。

【0325】

$^1\text{HNMR}$  (400MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) 12.41 (s, 1H), 8.68 (d

,  $J = 9 \text{ Hz}$ , 1H), 8.07 (bs, 1H), 7.98 (s, 1H), 7.43 (d,  $J = 9 \text{ Hz}$ , 1H), 7.30 - 7.22 (m, 5H), 5.52 (s, 2H), 4.45 - 4.33 (m, 2H), 4.04 - 3.96 (m, 2H), 3.58 (s, 3H), 2.95 (t,  $J = 7 \text{ Hz}$ , 2H), 2.72 - 2.61 (m, 2H), 2.30 (m, 1H), 1.62 (s, 9H), 1.59 (m, 1H partially obscured by neighboring singlet), 1.22 (d,  $J = 6 \text{ Hz}$ , 6H), 0.95 (d,  $J = 7 \text{ Hz}$ , 3H), 0.91 (d,  $J = 7 \text{ Hz}$ , 3H).

## 【0326】

5 - (2 - ((1 - ベンジルカルバモイル - 3 - メチル - ブチル) - イソプロピル - カルバモイル) - エチル) - 2 - (t - ブトキシオキサリル - アミノ) - 安息香酸メトキシメチルエステル (4 mg、0.0064 mmol) をアセトン (3 ml) 中に溶解し、3 滴の 1 N 塩酸で処理した。反応を 2 日間攪拌し、次いでアセトンを真空蒸発させた。残留物を酢酸エチル (10 ml) 中に溶解し、ブライン (2 × 2 ml) で洗浄し、真空蒸発させた。生ずる油を 20% トリフルオロ酢酸 / ジクロロメタン (3 ml) で 3 加熱処理した。揮発性物質を真空蒸発させると、2 mg (61%) の標題化合物が油として得られた。

## 【0327】

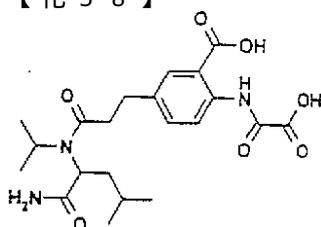
$^1\text{H NMR}$  (400 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ) 8.64 (d,  $J = 9 \text{ Hz}$ , 1H), 8.00 (s, 1H), 7.51 (d,  $J = 9 \text{ Hz}$ , 1H), 7.50 - 7.40 (m, 5H), 4.17 (t,  $J = 8 \text{ Hz}$ , 1H), 4.14 (s, 2H), 3.73 (m, 1H), 2.95 (t,  $J = 6 \text{ Hz}$ , 2H), 2.82 - 2.63 (m, 2H), 2.42 (m, 1H), 1.80 (m, 1H), 1.30 (m, 1H), 1.26 (d,  $J = 6 \text{ Hz}$ , 3H), 1.10 (d,  $J = 6 \text{ Hz}$ , 3H), 0.90 (d,  $J = 6 \text{ Hz}$ , 6H).

LC/MS [M - H]<sup>-</sup> : 524.74

## 【0328】

実施例 31

## 【化 58】



5 - (2 - ((1 - カルバモイル - 3 - メチル - ブチル) - イソプロピル - カルバモイル) - エチル) - 2 - (オキサリル - アミノ) - 安息香酸 :

## 【0329】

5 - (2 - ((1 - ベンジルカルバモイル - 3 - メチル - ブチル) - イソプロピル - カルバモイル) - ビニル) - 2 - (オキサリル - アミノ) - 安息香酸 (33 ng、0.063 mmol) および 105% パラジウム / 炭素をメタノール (3 ml) 中で混合し、水素ガス (1 気圧) 下に 18 時間攪拌した。この混合物をセライトを通して濾過し、揮発性物質を真空蒸発させると、27 mg (99%) の標題化合物が得られた。

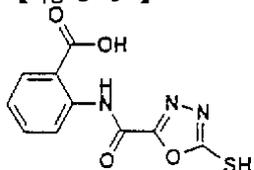
$^1\text{H NMR}$  (400 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ) 8.64 (d,  $J = 9 \text{ Hz}$ , 1H), 8.00 (s, 1H), 7.51 (d,  $J = 9 \text{ Hz}$ , 1H), 4.17 (t,  $J = 8 \text{ Hz}$ , 1H), 3.72 (m, 1H), 2.96 (t,  $J = 6 \text{ Hz}$ , 2H), 2.82 - 2.63 (m, 2H), 2.41 (m, 1H), 1.80 (m, 1H), 1.30 (m, 1H), 1.25 (d,  $J = 6 \text{ Hz}$ , 3H), 1.13 (d,  $J = 6 \text{ Hz}$ , 3H), 0.90 (d,  $J = 6 \text{ Hz}$ , 6H).

LC/MS [M - H]<sup>-</sup> : 435.66

【0330】

## 実施例 3 2

【化 5 9】



2 - ( ( 5 - メルカプト - [ 1 . 3 . 4 ] オキサジアゾール - 2 - カルボニル ) - アミノ ) - 安息香酸 :

エタノール ( 7 5 m l ) 中の 2 - ( エトキシオキサリル - アミノ ) - 安息香酸 ( 2 . 0 g 、 8 . 4 3 m m o l ) の溶液に、ヒドラゾンハイドレート ( 0 . 8 g 、 1 6 . 8 6 m m o l ) を添加した。生ずる混合物を還流温度において 3 時間攪拌した。冷却した反応混合物に水 ( 2 0 0 m l ) を添加し、この混合物を 1 N 塩酸で p H = 4 に酸性化した。沈澱を濾過し、水で洗浄し、5 0 において 1 6 時間真空乾燥し、これにより 1 . 4 g ( 6 9 % ) の 2 - ( ヒドラジノオキサリル - アミノ ) - 安息香酸が固体として得られた。

【0331】

0 において冷却したメタノール ( 2 0 m l ) 中の上記 2 - ( ヒドラジノオキサリル - アミノ ) - 安息香酸 ( 1 . 0 g 、 4 . 1 5 m m o l ) の溶液に、水酸化カリウム ( 0 . 5 g 、 8 . 7 2 m m o l ) および二硫化炭素 ( 0 . 7 g 、 9 . 5 4 m m o l ) を添加した。生ずる混合物を低温において 6 時間攪拌した。冷却した反応混合物に、水 ( 1 0 0 m l ) を添加し、この混合物を 1 N 塩酸で p H = 1 に酸性化した。沈澱を濾過し、水およびヘプタンで洗浄し、5 0 において真空乾燥した。乾燥した生成物 ( 0 . 6 5 g ) をシリカゲル ( 4 0 0 m l ) のクロマトグラフィーにより精製し、酢酸エチル中の 5 % 酢酸を溶離剤として使用した。純粋な画分を収集し、揮発性物質を真空蒸発させた。

【0332】

残留物水で洗浄し、5 0 において 1 6 時間真空乾燥すると、0 . 4 g ( 3 6 % ) の標題化合物が固体として得られた。

M . p . : 2 2 6 - 2 3 7

C<sub>10</sub>H<sub>7</sub>N<sub>3</sub>O<sub>4</sub>S についての計算値 ;

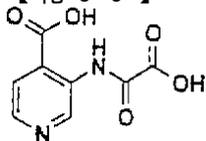
C , 4 5 . 2 8 % ; H , 2 . 6 6 % ; N , 1 5 . 8 4 % .

測定値 ; C , 4 5 . 4 8 % ; H , 2 . 6 6 % ; N , 1 5 . 3 6 % .

【0333】

## 実施例 3 3

【化 6 0】



3 - ( オキサリル - アミノ ) - イソニコチン酸 :

0 において乾燥テトラヒドロフラン ( 5 0 m l ) 中の 3 - アミノ - イソニコチン酸 ( 0 . 5 g 、 3 . 6 2 m m o l ) およびトリエチルアミン ( 1 m l ) の攪拌溶液に、エチルオキサリルクロライド ( 0 . 5 g 、 3 . 6 9 m m o l ) を滴下した。生ずる反応混合物を室温において 3 時間攪拌し、濾過し、揮発性物質を真空蒸発させた。残留物に、水 ( 5 0 m l ) を添加し、生ずる混合物をジエチルエーテル ( 2 × 5 0 m l ) で抽出した。

【0334】

有機相を飽和塩化ナトリウム水溶液 ( 5 0 m l ) で洗浄し、乾燥 ( M g S O<sub>4</sub> ) し、溶媒を真空蒸発させると、0 . 4 g ( 4 6 % ) の 3 - ( エトキシオキサリル - アミノ )

- イソニコチン酸が固体として得られた。

エタノール (25 ml) 中の上記イソニコチン酸 (0.4 g、1.7 mmol) の溶液に、水 (10 ml) 中の水酸化ナトリウム (141 mg、3.53 mmol) の溶液を添加した。生ずる反応混合物を室温において18時間攪拌した。揮発性物質を真空蒸発させ、残留物を水 (50 ml) 中に溶解し、ジエチルエーテル (50 ml) で洗浄した。水相に1N塩酸をpH = 1に添加した。沈澱を濾過し、50において18時間真空乾燥した。

【0335】

乾燥した固体残留物を沸騰するアセトン (50 ml) で5分間洗浄し、濾過し、50において真空乾燥すると、80 mg (22%) の標題化合物が固体として得られた。

M. p. : > 250 ;

C<sub>8</sub>H<sub>6</sub>N<sub>2</sub>O<sub>5</sub> についての計算値 ;

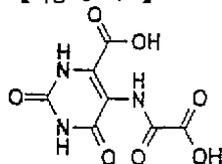
C, 45.72% ; H, 2.88% ; N, 13.33% .

測定値 ; C, 45.62% ; H, 2.98% ; N, 13.04% .

【0336】

実施例 34

【化61】



5 - ( オキサリル - アミノ ) - 2 , 6 - ジオキソ - 1 , 2 , 3 , 6 - テトラヒドロ - ピリミジン - 4 - カルボン酸 :

テトラヒドロフラン (1 ml) 中の5-アミノオロチン酸 (61.1 mg、0.36 mmol) の溶液に、イミダゾール-1-イル-オキソ-酢酸 t-ブチルエステル (140 mg、0.71 mmol) およびトリエチルアミン (50 μl、0.36 mmol) を添加した。この混合物を室温において20時間攪拌した。

【0337】

溶媒を真空除去し、残留物を酢酸エチル (5.0 ml) 中に溶解し、1%塩酸 (2 × 2 ml) で洗浄し、次いで水 (2 × 2 ml) で洗浄した。有機相を乾燥 (MgSO<sub>4</sub>) し、濾過し、溶媒を真空蒸発させた。残留物を調製用TLC (Kieselgel 60 F<sub>254</sub>、0.5 mm、ヘキサン : 酢酸エチル、80 : 20) により精製すると、30 mg (28%) の5-(t-ブトキシオキサリル-アミノ)-2,6-ジオキソ-1,2,3,6-テトラヒドロ-ピリミジン-4-カルボン酸が固体として得られた。

<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) 1.80 (s, 9H), 7.56 (s, 2H), 8.96 (s, 1H) .

【0338】

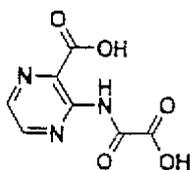
5-(t-ブトキシオキサリル-アミノ)-2,6-ジオキソ-1,2,3,6-テトラヒドロ-ピリミジン-4-カルボン酸 (28 mg、0.094 mmol) を、室温においてジクロロメタン中の20%トリフルオロ酢酸 (1.0 ml) 中で2時間攪拌した。反応混合物をトルエンと真空共蒸発乾固させると、22.6 mg (100%) の標題化合物が固体として得られた。

<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CD<sub>3</sub>OD) 7.30 (s, 2H) .

【0339】

実施例 35

【化62】



### 3 - ( オキサリル - アミノ ) - ピラジン - 2 - カルボン酸 :

テトラヒドロフラン ( 1 m l ) 中の 3 - アミノピラジン - 2 - カルボン酸 ( 6 4 . 2 m g 、 0 . 4 6 m m o l ) の溶液に、イミダゾル - 1 - イル - オキソ - 酢酸 t - ブチルエステル ( 1 8 0 m g 、 0 . 9 2 m m o l ) およびトリエチルアミン ( 6 4 . 3  $\mu$  l 、 0 . 4 6 m m o l ) を添加した。この混合物を室温において 2 0 時間攪拌した。

#### 【 0 3 4 0 】

溶媒を真空除去し、残留物を酢酸エチル ( 5 . 0 m l ) 中に溶解し、1 % 塩酸 ( 2  $\times$  2 m l ) で洗浄し、次いで水 ( 2  $\times$  2 m l ) で洗浄した。有機相を乾燥 ( M g S O <sub>4</sub> ) し、濾過し、溶媒を真空蒸発させた。残留物をジエチルエーテル ( 4  $\times$  1 . 0 m l ) で洗浄すると、4 8 m g ( 3 9 % ) の 3 - ( t - ブトキシオキサリル - アミノ ) - ピラジン - 2 - カルボン酸が固体として得られた。

<sup>1</sup> H N M R ( C D C l <sub>3</sub> + C D <sub>3</sub> O D ) 1 . 7 0 ( s , 9 H ) , 8 . 0 2 ( d , 1 H , J = 1 . 5 H z ) , 8 . 3 6 ( d , 1 H , J = 1 . 5 H z ) .

#### 【 0 3 4 1 】

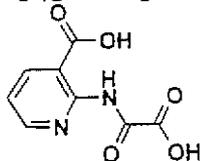
3 - ( t - ブトキシオキサリル - アミノ ) - ピラジン - 2 - カルボン酸 ( 3 1 . 7 m g 、 0 . 1 2 m m o l ) を、室温においてジクロロメタン中の 2 0 % トリフルオロ酢酸 ( 1 . 0 m l ) 中で 2 時間攪拌した。揮発性物質を真空蒸発させ、残留物をトルエンと真空共蒸発乾固させると、2 5 m g ( 1 0 0 % ) の標題化合物が固体として得られた。

<sup>1</sup> H N M R ( 4 0 0 M H z , C D C l <sub>3</sub> ) 7 . 8 0 ( d , 1 H , J = 1 . 5 H z ) , 8 . 1 5 ( d , 1 H , J = 1 . 5 H z ) , 8 . 6 2 ( s , 1 H ) .

#### 【 0 3 4 2 】

### 実施例 3 6

#### 【 化 6 3 】



### 2 - ( オキサリル - アミノ ) - ニコチン酸 :

テトラヒドロフラン ( 1 m l ) 中の 2 - アミノニコチン酸 ( 6 1 . 4 m g 、 0 . 4 5 m m o l ) の溶液に、イミダゾル - 酢酸 1 - イル - オキソ - t - ブチルエステル ( 1 7 4 . 2 m g 、 0 . 8 9 m m o l ) およびトリエチルアミン ( 6 2  $\mu$  l 、 0 . 4 5 m m o l ) を添加した。この混合物を室温において 2 0 時間攪拌した。

#### 【 0 3 4 3 】

溶媒を真空除去し、残留物を酢酸エチル ( 5 . 0 m l ) 中に溶解し、1 % 塩酸 ( 2  $\times$  2 m l ) で洗浄し、次いで水 ( 2  $\times$  2 m l ) で洗浄した。有機相を乾燥 ( M g S O <sub>4</sub> ) し、濾過し、溶媒を真空蒸発させた。残留物 ( 1 2 5 m g ) を調製用 T L C ( K i e s e l g e l 6 0 F <sub>2 5 4</sub> 、 1 m m 、 C H <sub>2</sub> C l <sub>2</sub> / M e O H 、 8 0 / 2 0 ) により精製すると、7 . 9 m g ( 7 % ) の 2 - ( t - ブトキシオキサリル - アミノ ) - ニコチン酸が固体として得られた。

<sup>1</sup> H N M R ( 4 0 0 M H z , C D <sub>3</sub> O D ) 1 . 8 0 ( s , 9 H ) , 7 . 4 0 ( m , 1 H ) , 8 . 5 0 - 8 . 7 0 ( m , 2 H ) .

#### 【 0 3 4 4 】

2 - ( t - ブトキシオキサリル - アミノ ) - ニコチン酸 ( 7 . 1 m g 、 0 . 0 3 m m o l ) を、室温においてジクロロメタン中の 2 0 % トリフルオロ酢酸 ( 0 . 5 m l ) 中で

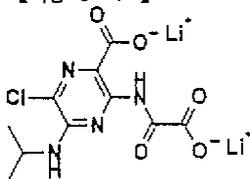
2 時間攪拌した。揮発性物質を真空共蒸発乾固させると、5.6 mg (100%) の標題化合物が固体として得られた。

$^1\text{H NMR}$  (400 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ) 7.40 (m, 1H), 8.50 - 8.70 (m, 2H).

【0345】

### 実施例 37

【化 6 4】



### 6 - クロロ - 5 - イソプロピルアミノ - 3 - ( オキサリル - アミノ ) - ピラジン - 2 - カルボン酸 :

テトラヒドロフラン (1 ml) 中の 3 - アミノ - 6 - クロロ - 5 - イソプロピルアミノ - ピラジン - 2 - カルボン酸 (65.4 mg, 0.27 mmol) の溶液に、イミダゾール - 1 - イル - オキソ - 酢酸 t - ブチルエステル (104.8 mg, 0.54 mmol) およびトリエチルアミン (37.4  $\mu\text{l}$ , 0.27 mmol) を添加した。この混合物を室温において 20 時間攪拌し、次いで 50 に 1.5 時間加熱した。

【0346】

溶媒を真空除去し、残留物を酢酸エチル (5.0 ml) 中に溶解し、1% 塩酸 (2 x 2 ml) で洗浄し、次いで水 (2 x 2 ml) で洗浄した。有機相を乾燥 ( $\text{MgSO}_4$ ) し、濾過し、溶媒を真空蒸発させた。粗製の 97 mg (97%) の 3 - (t - ブトキシオキサリル - アミノ) - 6 - クロロ - 5 - イソプロピルアミノ - ピラジン - 2 - カルボン酸が固体として得られた。

$^1\text{H NMR}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) 1.50 (d, 6H), 1.80 (s, 9H), 4.10 (s, 3H), 4.40 (m, 1H).

【0347】

3 - (t - ブトキシオキサリル - アミノ) - 6 - クロロ - 5 - イソプロピルアミノ - ピラジン - 2 - カルボン酸 (30 mg, 0.1 mmol) をテトラヒドロフラン (1 ml) 中に溶解し、室温において 1.0 N 水酸化リチウム (1 ml, 1 mmol) を添加した。反応混合物を室温において 3 日間攪拌した。溶媒を真空除去した後、残留物を酢酸エチル (20 ml) 中に溶解し、水 (4 x 3.0 ml) で洗浄した。有機相を乾燥 ( $\text{Na}_2\text{SO}_4$ ) し、濾過し、溶媒を真空蒸発させると、21 mg (82%) の標題化合物が固体として得られた。

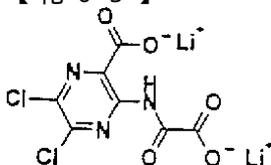
$^1\text{H NMR}$  (400 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ) 1.42 (d, 6H), 4.50 (m, 1H).

MS m/z 228 (M - 74).

【0348】

### 実施例 38

【化 6 5】



### 5, 6 - ジクロロ - 3 - ( オキサリル - アミノ ) - ピラジン - 2 - カルボン酸・ジリチウム塩 :

テトラヒドロフラン (0.5 ml) 中の 3 - アミノ - 5, 6 - ジクロロ - ピラジン - 2 - カルボン酸 (57 mg, 0.26 mmol) の溶液に、イミダゾール - 1 - イル -

オキシノ - 酢酸 t - ブチルエステル ( 1 0 0 . 6 m g 、 0 . 5 1 3 m m o l ) およびトリエチルアミン ( 3 5 . 8  $\mu$  l 、 0 . 2 6 m m o l ) を添加した。この混合物を室温において 2 0 時間攪拌し、次いで 4 0  $^{\circ}$ C に 4 時間加熱した。

【 0 3 4 9 】

溶媒を真空除去し、残留物を酢酸エチル ( 5 . 0 m l ) 中に溶解し、1 % 塩酸 ( 2  $\times$  2 m l ) で洗浄し、次いで水 ( 2  $\times$  2 m l ) で洗浄した。有機相を乾燥 ( M g S O <sub>4</sub> ) し、濾過し、溶媒を真空蒸発させた。残留油を調製用 TLC ( K i e s e l g e l 6 0 F 2 5 4 、 1 m m 、ヘキサン / 酢酸エチル、1 : 1 ) により精製すると、2 3 . 6 m g ( 2 6 % ) の 3 - ( t - ブトキシオキサリル - アミノ ) - 5 , 6 - ジクロロ - ピラジン - 2 - カルボン酸が油として得られた。

<sup>1</sup> H N M R ( 4 0 0 M H z , C D C l <sub>3</sub> ) 1 . 5 8 ( s , 9 H ) , 1 . 8 0 ( s , 9 H ) , 3 . 9 0 ( s , 3 H ) .

【 0 3 5 0 】

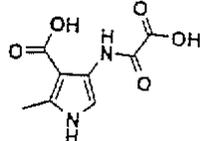
テトラヒドロフラン ( 0 . 5 m l ) 中の 3 - ( t - ブトキシオキサリル - アミノ ) - 5 , 6 - ジクロロ - ピラジン - 2 - カルボン酸 ( 2 3 m g 、 0 . 0 7 m l ) の溶液に、水酸化リチウム ( 0 . 5 m l ) の 1 . 0 N 溶液を添加し、生ずる混合物を 3 日間攪拌した。溶媒を真空除去した後、残留物を酢酸エチル ( 2 0 m l ) 中に溶解し、水 ( 4  $\times$  3 . 0 m l ) で洗浄した。有機相を乾燥 ( N a <sub>2</sub> S O <sub>4</sub> ) し、濾過し、溶媒を真空蒸発させると、1 4 m g ( 8 0 % ) の標題化合物が固体として得られた。

M S m / z 2 9 0 . 3 ( M - 7 4 ) .

【 0 3 5 1 】

実施例 3 9

【 化 6 6 】



2 - メチル - 4 - ( オキサリル - アミノ ) - 1 H - ピロール - 3 - カルボン酸 :

ジクロロメタン ( 2 0 m l ) 中の 4 - ( メトキシオキサリル - アミノ ) - 2 - メチル - 1 H - ピロール - 3 - カルボン酸 t - ブチルエステル ( 2 . 0 g 、 7 . 0 9 m m o l ) の攪拌溶液に、トリフルオロ酢酸 ( 1 0 m l ) を添加した。生ずる反応混合物を室温において 2 時間攪拌した。揮発性物質を真空蒸発させると、1 . 6 g ( 1 0 0 % ) の 4 - ( メトキシオキサリル - アミノ ) - 2 - メチル - 1 H - ピロール - 3 - カルボン酸が固体として得られた。

【 0 3 5 2 】

エタノール ( 1 0 0 m l ) 中の上記ピロール - 3 - カルボン酸 ( 1 . 2 g 、 5 . 3 1 m m o l ) の溶液に、水 ( 5 0 m l ) 中の水酸化ナトリウム ( 0 . 4 7 g 、 1 1 . 7 m m o l ) の溶液を添加した。生ずる反応混合物を室温において 1 8 時間攪拌した。揮発性物質を真空蒸発させ、残留物を水 ( 1 0 0 m l ) 中に溶解した。水相に濃塩酸を p H = 1 に添加した。この懸濁液を酢酸エチル ( 5 0 m l ) およびジクロロメタン ( 5 0 m l ) で洗浄し、沈澱を濾過し、5 0  $^{\circ}$ C において 2 時間真空乾燥した。固体をイソプロパノール ( 1 0 0 m l ) 中に溶解し、濾過し、真空蒸発させると、0 . 4 g ( 3 6 % ) の標題化合物が固体として得られた。

C <sub>8</sub> H <sub>8</sub> N <sub>2</sub> O <sub>5</sub> , 0 . 1  $\times$  H <sub>2</sub> O としての計算値 ;

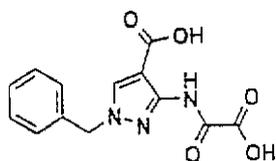
C , 4 4 . 9 1 % ; H , 3 . 8 6 % ; N , 1 2 . 9 8 % .

測定値 C , 4 5 . 0 6 % ; H , 3 . 8 9 % ; N , 1 2 . 7 2 % .

【 0 3 5 3 】

実施例 4 0

【 化 6 7 】



1 - ベンジル - 3 - ( オキサリル - アミノ ) - 1 H - ピラゾール - 4 - カルボン酸 :  
 0 の乾燥テトラヒドロフラン ( 150 ml ) 中の 3 - アミノ - 1 H - ピラゾール - 4 - カルボン酸エチルエステル ( 5.0 g, 0.032 mmol ) の攪拌溶液に、エチルオキサリルクロライド ( 5.3 g, 0.039 mmol ) を滴下した。生ずる反応混合物を室温において 18 時間攪拌した。エチルオキサリルクロライド ( 5.3 g, 0.039 mmol ) の追加の部分滴下し、反応混合物を室温においてさらに 18 時間攪拌した。

【 0354 】

揮発性物質を真空蒸発させ、残留物を水 ( 200 ml ) と酢酸エチル ( 200 ml ) との混合物中に溶解した。未溶解物質を濾過し、50 において 18 時間真空乾燥すると、4.0 g ( 49 % ) の 3 - ( エトキシオキサリル - アミノ ) - 1 H - ピラゾール - 4 - カルボン酸エチルエステルが固体として得られた。有機相を分離し、飽和塩化ナトリウム水溶液 ( 100 ml ) で洗浄し、乾燥 ( MgSO<sub>4</sub> ) し、濾過し、溶媒を真空蒸発させると、3.7 g ( 45 % ) の 3 - ( エトキシオキサリル - アミノ ) - 1 H - ピラゾール - 4 - カルボン酸エチルエステルが固体として得られた。7.7 g ( 94 % ) の総収率が得られた。

【 0355 】

乾燥 N, N - ジメチルホルムアミド ( 75 ml ) 中の上記ピラゾール - 4 - カルボン酸エチルエステル ( 3.7 g, 0.015 mol ) の溶液に、水素化ナトリウム ( 640 mg, 0.016 mol, 鉱油中の 60 % ) を添加した。生ずる反応混合物を室温において 0.5 時間攪拌した。この反応混合物に、ベンジルブロミド ( 2.7 g, 0.016 mol ) を添加し、この混合物を 50 において 4 時間攪拌した。水 ( 100 ml ) を添加し、反応混合物をジエチルエーテル ( 2 × 100 ml ) で抽出した。

【 0356 】

一緒にした有機抽出液を水 ( 100 ml ) 、飽和塩化ナトリウム水溶液 ( 2 × 50 ml ) で洗浄し、乾燥 ( MgSO<sub>4</sub> ) し、濾過し、溶媒を真空蒸発させた。残留物 ( 3.8 g ) をシリカゲル ( 800 ml ) 上に精製し、酢酸エチルとヘプタンの混合物 ( 1 : 1 ) を溶離剤として使用した。純粋な画分を収集し、溶媒を真空蒸発させると、0.9 g ( 18 % ) の 1 - ベンジル - 3 - ( エトキシオキサリル - アミノ ) - 1 H - ピラゾール - 4 - カルボン酸エチルエステルが固体として得られた。

【 0357 】

純粋でない画分を収集し、溶媒を真空蒸発させた。残留物 ( 1.0 g ) をジエチルエーテル ( 30 ml ) 結晶化させ、濾過し、50 において 2 時間真空乾燥すると、0.9 g ( 18 % ) の 1 - ベンジル - 3 - ( エトキシオキサリル - アミノ ) - 1 H - ピラゾール - 4 - カルボン酸エチルエステルが固体として得られた。1.8 g ( 36 % ) の総収率が得られた。

エタノール ( 50 ml ) 中の上記 1 H - ピラゾール - 4 - カルボン酸エチルエステル ( 0.9 g, 2.61 mmol ) の溶液に、水 ( 25 ml ) 中の水酸化ナトリウム ( 0.26 g, 6.51 mol ) の溶液を添加した。生ずる反応混合物を室温において 60 時間攪拌した。揮発性物質を真空蒸発させ、残留物を水 ( 100 ml ) 中に溶解した。

【 0358 】

水相に濃塩酸を pH = 1 に添加した。沈澱を濾過し、50 において 18 時間真空乾燥すると、0.55 g ( 73 % ) の標題化合物が固体として得られた。

M. p. : 189 - 191 ;

C<sub>13</sub>H<sub>11</sub>N<sub>3</sub>O<sub>5</sub>, 1.75 × H<sub>2</sub>O としての計算値 ;

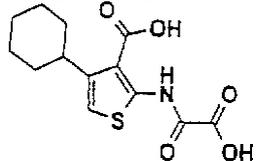
C, 48.68 % ; H, 4.56 % ; N, 13.10 % .

測定値 C, 48.81%; H, 4.17%; N, 12.84%.

【0359】

実施例 4 1

【化 6 8】



4 - シクロヘキシル - 2 - ( オキサリル - アミノ ) - チオフェン - 3 - カルボン酸 :

エタノール ( 10 ml ) 中の 4 - シクロヘキシル - 2 - ( エトキシオキサリル - アミノ ) - チオフェン - 3 - カルボン酸 ( 60 mg, 0.18 mmol ) の溶液に、水 ( 5 ml ) 中の 1 N 水酸化ナトリウム ( 0.5 ml ) の溶液を添加した。生ずる反応混合物を室温において 18 時間攪拌した。この反応混合物に、濃塩酸を pH = 1 に添加した。沈澱を濾過し、50 において 18 時間真空乾燥すると、30 mg ( 55% ) の標題化合物が固体として得られた。

M. p. : > 250 :

$C_{13}H_{15}NO_5S$ , 1.5 x  $H_2O$  としての計算値 ;

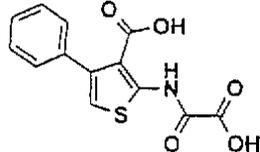
C, 48.14%; H, 5.59%; N, 4.32%.

測定値 C, 47.84%; H, 9.92%; N, 4.21%.

【0360】

実施例 4 2

【化 6 9】



2 - ( オキサリル - アミノ ) - 4 - フェニル - チオフェン - 3 - カルボン酸 :

エタノール ( 50 ml ) 中の 4 - フェニル - 2 - ( エトキシオキサリル - アミノ ) - チオフェン - 3 - カルボン酸エチルエステル ( 2.2 g, 6.33 mmol ) の溶液に、水 ( 25 ml ) 中の水酸化ナトリウム ( 630 mg, 15.83 mmol ) を添加した。

【0361】

生ずる反応混合物を室温において 18 時間攪拌し、揮発性物質を真空蒸発させ、残留物を水 ( 100 ml ) 中に溶解し、ジエチルエーテル ( 2 x 100 ml ) で洗浄した。水相に濃塩酸を pH = 1 に添加し、生ずる混合物をジエチルエーテル ( 2 x 100 ml ) で抽出した。一緒にした有機相を飽和塩化ナトリウム水溶液 ( 100 ml ) で洗浄し、乾燥 (  $MgSO_4$  ) し、真空蒸発させると、NMR によれば、0.8 g のモノエチルエステルおよび標題化合物の混合物が得られた。生成物の混合物をエタノール ( 40 ml )、水 ( 20 ml ) および水酸化ナトリウム ( 400 ml ) の混合物中に溶解し、生ずる混合物を室温において 18 時間攪拌し、揮発性物質を真空蒸発させ、残留物を水 ( 50 ml ) 中に溶解し、ジエチルエーテル ( 50 ml ) で洗浄した。

【0362】

水相に濃塩酸を pH = 1 に添加し、沈澱を濾過し、ジエチルエーテルで洗浄し、2 - プロパノール ( 25 ml ) 中に溶解した。未溶解物質を濾過し、有機相を真空蒸発させると、180 mg ( 10% ) の標題化合物が固体として得られた。

M. p. : 196 - 198 :

$C_{13}H_9NO_5S$ , 0.5  $H_2O$  についての計算値 ;

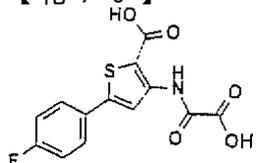
C, 52.00%; H, 3.36%; N, 4.66%.

測定値 C, 52.21%; H, 3.44%; N, 4.50%.

【0363】

実施例 4 3

【化 7 0】

5 - ( 4 - フルオロ - フェニル ) - 2 - ( オキサリル - アミノ ) - チオフェン - 2 - カルボン酸 :

乾燥テトラヒドロフラン ( 4 0 m l ) 中の 5 - ( 4 - フルオロ - フェニル ) - 3 - アミノチオフェン - 2 - カルボン酸メチルエステル ( 1 . 0 g 、 4 . 0 m m o l ) およびトリエチルアミン ( 1 1 . 1 m l 、 8 0 m m o l ) の溶液を氷上で冷却し、エチルオキサリルクロライド ( 1 . 2 g 、 9 . 0 m m o l ) を滴下した。

【 0 3 6 4 】

2 時間攪拌した後、反応混合物を溶媒を真空蒸発させた。残留物をジクロロメタン中に溶解し、0 . 1 N 塩酸 ( 2 x - d i c a r e d ) で洗浄した。有機相を乾燥 ( M g S O <sub>4</sub> ) し、濾過し、溶媒を真空蒸発させた。残留物をフラッシュクロマトグラフィーにかけ、トルエン / 酢酸エチル ( 1 9 : 1 ) を溶離剤として使用すると、1 . 1 9 g ( 8 5 % ) の 5 - ( 4 - フルオロ - フェニル ) - 3 - ( エトキシオキサリル - アミノ ) - チオフェン - 2 - カルボン酸エチルエステルが得られた。

【 0 3 6 5 】

メタノール ( 1 5 0 m l ) 中の 5 - ( 4 - フルオロ - フェニル ) - 3 - ( エトキシオキサリル - アミノ ) - チオフェン - 2 - カルボン酸エチルエステル ( 1 . 1 9 g 、 3 . 4 m m o l ) の溶液に、2 N 水酸化ナトリウム ( 2 0 m l ) を添加した。反応混合物を 6 0 において 1 8 時間攪拌した。揮発性物質を真空蒸発させた。残留物に水および 1 N 塩酸を p H = 1 に添加し、生成物をジクロロメタン / 2 - プロパノールの混合物で抽出した。有機相を乾燥 ( M g S O <sub>4</sub> ) し、濾過し、溶媒を真空蒸発させた。生成物をメタノール / 水から再結晶化させると、6 1 9 m g ( 6 7 % ) の標題化合物が固体として得られた。

C<sub>13</sub>H<sub>8</sub>FN<sub>2</sub>O<sub>5</sub>S, 0 . 5 H<sub>2</sub>O としての計算値 ;

C, 4 9 . 0 6 % ; H, 2 . 8 3 % ; N, 4 . 4 0 % .

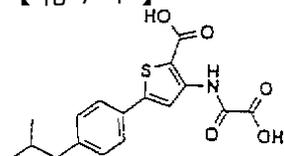
測定値 C, 4 9 . 0 6 % ; H, 2 . 7 2 % ; N, 4 . 3 1 % .

【 0 3 6 6 】

実施例 4 3 に記載する方法に類似する方法において、下記の化合物を製造した。

実施例 4 4

【化 7 1】

5 - ( 4 - イソブチル - フェニル ) - 3 - ( オキサリル - アミノ ) - チオフェン - 2 - カルボン酸 :

C<sub>17</sub>H<sub>17</sub>NO<sub>5</sub>S, 0 . 3 3 x H<sub>2</sub>O としての計算値 ;

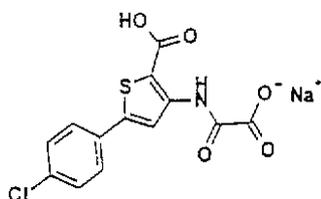
C, 5 7 . 7 9 % ; H, 5 . 0 0 % ; N, 3 . 9 6 % .

測定値 C, 5 7 . 7 9 % ; H, 5 . 0 8 % ; N, 3 . 8 9 % .

【 0 3 6 7 】

実施例 4 5

【化 7 2】



5 - ( 4 - クロロ - フェニル ) - 3 - ( オキサリル - アミノ ) - チオフェン - 2 -  
カルボン酸・ナトリウム塩 :

M . p . : > 2 5 0 :

$C_{13}H_7ClNO_5SNa$  ,  $1 \times H_2O$  としての計算値 ;

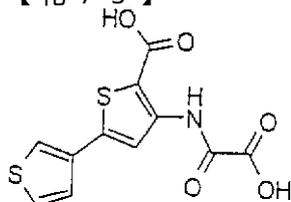
C , 42.63 % ; H , 2.52 % ; N , 3.55 % .

測定値 C , 42.69 % ; H , 2.48 % ; N , 3.83 % .

【 0 3 6 8 】

実施例 4 6

【 化 7 3 】



4 - ( オキサリル - アミノ ) - [ 2 . 3 ] - ビチオフェニル - 5 - カルボン酸 :

M . p . : 2 2 0 - 2 2 2 :

$C_{11}H_7NO_5S_2$  としての計算値 ;

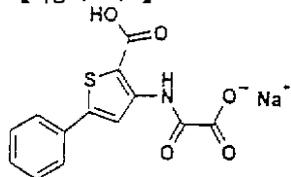
C , 44.44 % ; H , 2.37 % ; N , 4.71 % .

測定値 C , 44.17 % ; H , 2.43 % ; N , 4.54 % .

【 0 3 6 9 】

実施例 4 7

【 化 7 4 】



3 - ( オキサリル - アミノ ) - 5 - フェニル - チオフェン - 2 - カルボン酸・ナト  
リウム塩 :

M . p . : > 2 5 0 :

$C_{13}H_8NO_5SNa$  ,  $1.6 \times H_2O$  としての計算値 ;

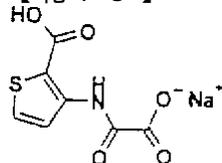
C , 45.64 % ; H , 3.30 % ; N , 4.09 % .

測定値 C , 45.25 % ; H , 2.93 % ; N , 3.92 % .

【 0 3 7 0 】

実施例 4 8

【 化 7 5 】



3 - ( オキサリル - アミノ ) - チオフェン - 2 - カルボン酸・ナトリウム塩 :

M . p . : > 2 5 0 :

$C_7H_7NO_5SNa$  ,  $1.5 \times H_2O$  としての計算値 ;

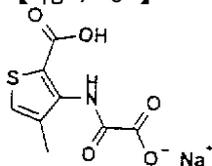
C, 31.83%; H, 2.67%; N, 5.30%.

測定値 C, 32.23%; H, 3.14%; N, 5.15%.

【0371】

実施例 49

【化76】



4 - メチル - 3 - ( オキサリル - アミノ ) - チオフェン - 2 - カルボン酸 ・ ナトリウム塩 :

M.p. : 232 - 234 :

$C_8H_6NO_5SNa$ ,  $1.5 \times H_2O$  としての計算値 ;

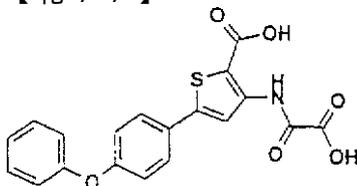
C, 34.54%; H, 3.26%; N, 5.03%.

測定値 C, 34.58%; H, 3.30%; N, 4.81%.

【0372】

実施例 50

【化77】



3 - ( オキサリル - アミノ ) - 5 - ( 4 - フェノキシ - フェニル ) - チオフェン - 2 - カルボン酸 :

M.p. : 230 (分解)

$C_{19}H_{13}NO_6S$ ,  $1.25 \times H_2O$  としての計算値

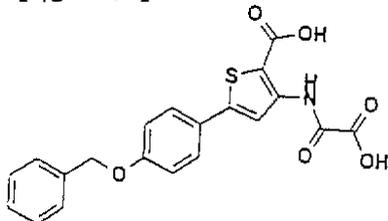
C, 56.22%; H, 3.85%; N, 3.45%.

測定値 C, 56.00%; H, 3.57%; N, 3.39%.

【0373】

実施例 51

【化78】



5 - ( 4 - ベンジルオキシ - フェニル ) - 3 - ( オキサリル - アミノ ) - チオフェン - 2 - カルボン酸 :

M.p. : 210 (分解)

$C_{20}H_{15}NO_6S$  としての計算値

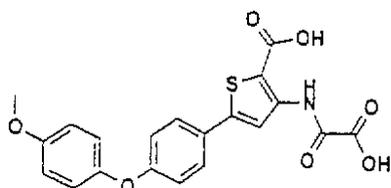
C, 60.45%; H, 3.80%; N, 3.52%.

測定値 C, 59.94%; H, 3.79%; N, 4.45%.

【0374】

実施例 52

【化79】



5 - ( 4 - ( 4 - メトキシ - フェノキシ ) - フェニル ) - 3 - ( オキサリル - アミノ ) - チオフェン - 2 - カルボン酸 :

M . p . : 215 ( 分解 )

$C_{20}H_{15}NO_7S$  , 1.5  $H_2O$  としての計算値

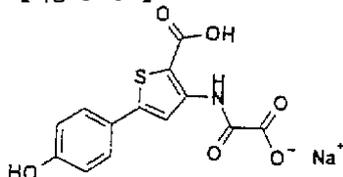
C , 54.54 % ; H , 4.12 % ; N , 3.18 % .

測定値 C , 54.80 % ; H , 3.88 % ; N , 3.15 % .

【 0375 】

実施例 53

【 化 80 】



5 - ( 4 - ヒドロキシ - フェニル ) - 3 - ( オキサリル - アミノ ) - チオフェン - 2 - カルボン酸・ナトリウム塩

M . p . : 205 - 206

$C_{13}H_9NO_6SNa$  , 0.75 x  $H_2O$  としての計算値

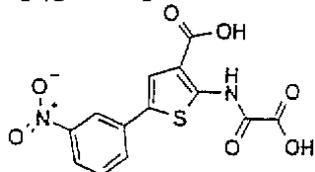
C , 45.42 % ; H , 3.08 % ; N , 4.07 % .

測定値 C , 45.11 % ; H , 3.16 % ; N , 3.98 % .

【 0376 】

実施例 54

【 化 81 】



5 - ( 3 - ニトロ - フェニル ) - 2 - ( オキサリル - アミノ ) - チオフェン - 3 - カルボン酸 :

室温において窒素雰囲気下にジクロロメタン ( 2.2 ml ) 中の 3 - ニトロフェネチルアルコール ( 102 mg 、 0.61 mmol ) に、ジクロロメタン ( 2.7 ml ) 中の デス・マーチン ( Dess - Martin ) パーイオディナン試薬 ( 285 mg 、 0.67 mmol ) の溶液を添加した。反応混合物を室温において窒素雰囲気下に 45 分間攪拌し、この時 TLC 分析 ( ヘキサン / 酢酸エチル、50 / 50 ) により反応の完結が示された。

【 0377 】

ジエチルエーテル ( 5.0 ml ) を添加し、次いで 10 % 硫酸ナトリウム / 飽和重炭酸ナトリウム ( 1 : 1 、 5.0 ml ) の溶液を添加した。10 分間静置後、このエマルジョンは透明な不均質溶液になった。追加のジクロロメタンを添加し、有機相を水 ( 5 ml ) で洗浄し、乾燥 (  $MgSO_4$  ) し、濾過し、真空蒸発させると、100 mg ( 100 % ) の 3 - ニトロフェニル - アセトアルデヒドが透明な油として得られた。

$^1H$  NMR ( 400 MHz ,  $CDCl_3$  ) 3.90 ( s , 2H ) , 7.65 ( d ,

2 H), 8.20 (s, 1H), 8.25 (m, 1H), 9.90 (s, 1H).

【0378】

N, N - ジメチルホルムアミド (0.5 ml) 中の t - ブチルシアノアセテート (67 mg、0.48 mmol)、3 - ニトロフェニル - アセトアルデヒド (86 mg、0.52 mmol)、トリエチルアミン (73  $\mu$ l、0.52 mmol) および元素状硫黄 (17 mg、0.52 mmol) の混合物を 60 において 1.5 時間攪拌した。室温に冷却した後、暗色溶液を酢酸エチルで希釈し、水 (3  $\times$  5 ml) で洗浄した。有機層を乾燥 (MgSO<sub>4</sub>) し、濾過し、溶媒を真空蒸発させると、粗製 2 - アミノ - 5 - (3 - ニトロ - フェニル) - チオフェン - 3 - カルボン酸 t - ブチルエステル (191 mg) が得られた。

【0379】

調製用 TLC (ヘキサン / 酢酸エチル、80 / 20) により精製すると、74 mg (49%) の 2 - アミノ - 5 - (3 - ニトロ - フェニル) - チオフェン - 3 - カルボン酸 t - ブチルエステルが固体として得られた。

<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) 1.56 (s, 9H), 6.05 (s, 2H), 7.20 (s, 1H), 7.40 (t, 1H), 7.68 (d, 1H), 7.90 (d, 1H), 8.25 (s, 1H).

【0380】

テトラヒドロフラン (0.5 ml) 中の 2 - アミノ - 5 - (3 - ニトロ - フェニル) - チオフェン - 3 - カルボン酸 t - ブチルエステル (66 mg、0.21 mmol)、イミダゾル - 1 - イル - オキソ - 酢酸 t - ブチルエステル (202 mg、1.03 mmol) およびトリエチルアミン (40.4  $\mu$ l、0.21 mmol) の溶液を室温において 3 時間攪拌した。揮発性物質を真空蒸発させ、残留物を酢酸エチル中に溶解し、水 (3  $\times$  5 ml) およびブライン (5 ml) で連続的に洗浄した。有機層を乾燥 (Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) し、濾過し、溶媒を真空蒸発させると、粗生成物が得られた。

【0381】

調製用 TLC により精製すると、91 mg (98%) の 2 - (t - ブトキシオキサリル - アミノ) - 5 - (3 - ニトロ - フェニル) - チオフェン - 3 - カルボン酸 t - ブチルエステルが固体として得られた。

<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) 1.54 (s, 9H), 1.62 (s, 9H), 7.5 (s, 1H), 7.55 (t, 1H, J = 8.4 Hz), 7.84 (d, 2H, J = 8.4 Hz), 8.16 (d, 1H, J = 8.4 Hz), 8.45 (s, 1H).

MS m/z : 447 (M - 1).

【0382】

上記 3 - ニトロフェニル - チオフェン (85 mg、0.19 mmol) をジクロロメタン (3.0 ml) 中のトリフルオロ酢酸の 20% 溶液中に溶解し、室温において 6 時間攪拌した。この溶液をトルエンと真空共蒸発乾固させると、64 mg (100%) の標題化合物が得られた。

<sup>1</sup>H - NMR (400 MHz, CD<sub>3</sub>OD) 7.71 (t, 1H, J = 8.25 Hz), 7.8 (s, 1H), 8.1 (d, 1H, J = 7.5 Hz), 8.2 (d, 1H, J = 9 Hz), 7.86 (m, 1H).

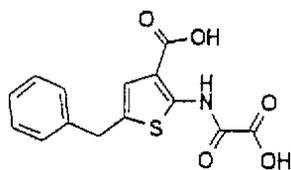
MS m/z : 335 (M - 1).

【0383】

実施例 54 に記載する方法に類似する方法において、下記の化合物を製造した。

実施例 55

【化 82】



2 - ( オキサリル - アミノ ) - 5 - ( フェニル - メチル ) チオフェン - 3 - カルボン酸 :

M . p . : 230 - 231

C<sub>14</sub>H<sub>11</sub>NO<sub>5</sub>Sとしての計算値

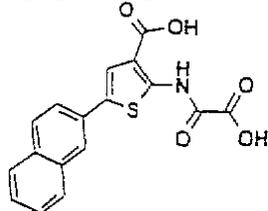
C, 54.89%; H, 3.63%; N, 4.40% .

測定値 C, 54.94%; H, 3.63%; N, 4.43% .

【0384】

実施例 56

【化83】



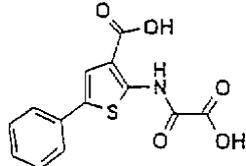
5 - ( ナフタレン - 2 - イル ) - 2 - ( オキサリル - アミノ ) - チオフェン - 3 - カルボン酸 :

<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CD<sub>3</sub>OD) 7.42 - 7.49 (m, 2H), 7.66 (d, 1H, J = 4.5 Hz), 7.75 (m, 1H), 7.8 - 7.9 (m, 3H), 8.04 (d, 1H, J = 7.5 Hz) .

【0385】

実施例 57

【化84】



2 - ( オキサリル - アミノ ) - 5 - フェニル - チオフェン - 3 - カルボン酸 :

M . p . : 238 - 240

<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CD<sub>3</sub>OD) 7.3 (t, 1H, J = 4.5 Hz), 7.38 (t, 1H, J = 4.5 Hz), 7.54 (s, 1H), 7.61 (m, 3H) .

C<sub>13</sub>H<sub>9</sub>NO<sub>5</sub>S, 1 x H<sub>2</sub>O としての計算値 ;

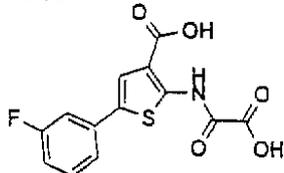
C, 47.13%; H, 3.04%; N, 4.23% .

測定値 C, 47.34%; H, 3.53%; N, 4.20% .

【0386】

実施例 58

【化85】



5 - ( 2 - フルオロ - フェニル ) - 2 - ( オキサリル - アミノ ) - チオフェン - 3 -

カルボン酸：

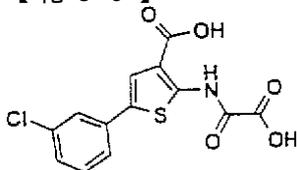
$^1\text{H NMR}$  (400 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ) 7.18 - 7.23 (m, 2H), 7.30 (m, 1H), 7.63 - 7.69 (m, 2H).

$\text{MS m/z}$  : 308 (M - 1).

【0387】

実施例 59

【化86】



5 - ( 3 - クロロ - フェニル ) - 2 - ( オキサリル - アミノ ) - チオフェン - 3 - カルボン酸：

収率：99%。

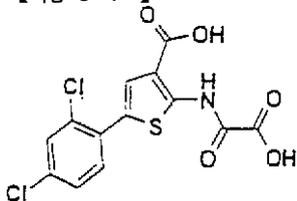
$^1\text{H NMR}$  (400 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ) 7.28 (m, 1H), 7.38 (m, 1H), 7.52 - 7.61 (m, 3H).

$\text{MS m/z}$  : 324 (M - 1).

【0388】

実施例 60

【化87】



5 - ( 2 , 4 - ジクロロ - フェニル ) - 2 - ( オキサリル - アミノ ) - チオフェン - 3 - カルボン酸：

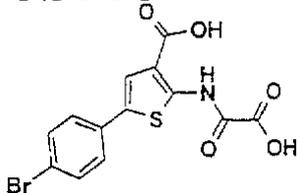
$^1\text{H NMR}$  (400 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ) 7.37 (m, 1H), 7.39 (m, 1H), 7.52 - 7.58 (m, 3H).

$\text{MS m/z}$  : 358 (M - 1).

【0389】

実施例 61

【化88】



5 - ( 4 - ブロモ - フェニル ) - 2 - ( オキサリル - アミノ ) - チオフェン - 3 - カルボン酸：

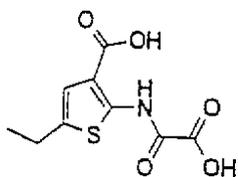
$^1\text{H NMR}$  (400 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ) 7.51 (s, 4H), 7.54 (s, 1H).

$\text{MS m/z}$  : 370 (M - 1).

【0390】

実施例 62

【化89】



5 - エチル - 2 - ( オキサリル - アミノ ) - チオフェン - 3 - カルボン酸 :

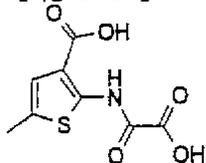
$^1\text{HNMR}$  (400 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ) 1.35 (t, 3H,  $J = 3.75$ ), 2.95 (q, 2H), 7.05 (s, 1H).

$\text{MSm/z}$ : 170.2 (M-73) (-COCOOH), 228.1 (M-1).

【0391】

実施例 63

【化90】



5 - メチル - 2 - ( オキサリル - アミノ ) - チオフェン - 3 - カルボン酸 :

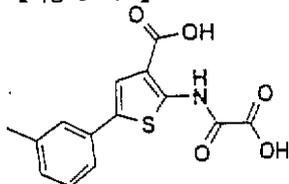
$^1\text{HNMR}$  (400 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ) 2.6 (s, 3H), 7.05 (s, 1H).

$\text{MSm/z}$ : 228 (M-1).

【0392】

実施例 64

【化91】



5 - ( 3 - メチル - フェニル ) - 2 - ( オキサリル - アミノ ) - チオフェン - 3 - カルボン酸 :

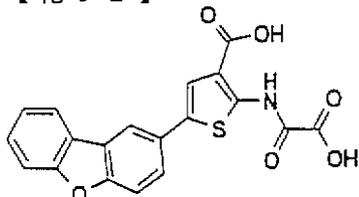
$^1\text{HNMR}$  (400 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ) 2.39 (s, 3H), 7.12 (d, 1H,  $J = 8\text{ Hz}$ ), 7.25 (t, 1H,  $J = 7.5\text{ Hz}$ ), 7.4 (m, 2H), 7.5 (s, 1H).

$\text{MSm/z}$ : 304, 232 (M-1).

【0393】

実施例 65

【化92】



5 - ジベンゾフラン - 2 - イル - 2 - ( オキサリル - アミノ ) - チオフェン - 3 - カルボン酸 :

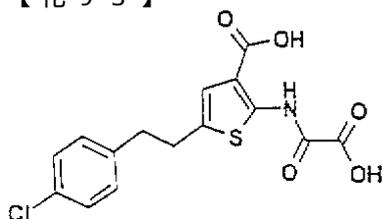
$^1\text{HNMR}$  (400 MHz,  $\text{CD}_3\text{COCD}_3$ ) 7.4 (t, 1H,  $J = 2\text{ Hz}$ ), 7.52 (t, 1H,  $J = 2\text{ Hz}$ ), 7.7 (m, 3H), 7.9 (t, 1H,  $J = 2\text{ Hz}$ ), 8.25 (d, 1H,  $J = 2\text{ Hz}$ ), 8.5 (s, 1H).

$\text{MSm/z}$ : 380.5 (M-1).

【0394】

## 実施例 66

【化93】



5 - ( 2 - ( 4 - クロロ - フェニル ) - エチル ) - チオフェン - 3 - カルボン酸・ナトリウム塩 :

M . p . : &gt; 2 5 0

C<sub>15</sub> H<sub>11</sub> N<sub>1</sub> Cl<sub>1</sub> O<sub>5</sub> S<sub>1</sub> Na<sub>1</sub> , 0 . 7 5 x H<sub>2</sub> Oとしての計算値

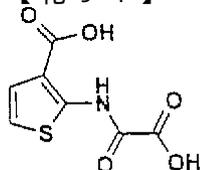
C , 4 6 . 2 8 % ; H , 3 . 2 4 % ; N , 3 . 6 0 % .

測定値 C , 4 6 . 1 7 % ; H , 3 . 3 8 % ; N , 3 . 4 0 % .

【0395】

## 実施例 67

【化94】



2 - ( オキサリル - アミノ ) - チオフェン - 3 - カルボン酸 :

M . p . : 2 2 5 - 2 2 8

C<sub>7</sub> H<sub>5</sub> N<sub>1</sub> O<sub>5</sub> S<sub>1</sub> , 1 . 2 5 x H<sub>2</sub> Oとしての計算値

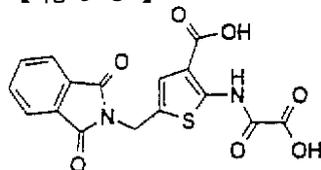
C , 3 5 . 3 7 % ; H , 3 . 1 8 % ; N , 5 . 8 9 % .

測定値 C , 3 5 . 5 3 % ; H , 2 . 8 2 % ; N , 5 . 7 2 % .

【0396】

## 実施例 68

【化95】



5 - ( 1 , 3 - ジオキソ - 1 , 3 - ジヒドロ - イソインドール - 2 - イルメチル ) - 2 - ( オキサリル - アミノ ) チオフェン - 3 - カルボン酸 :

ジクロロメタン ( 1 m l ) 中の 2 - ( 3 - ヒドロキシ - プロピル ) - イソインドール - 1 , 3 - ジオン ( 0 . 2 g 、 0 . 9 7 m m o l ) 、 0 . 7 N 臭化ナトリウム ( 0 . 7 m l 、 0 . 4 6 m m o l ) 、 2 , 2 , 6 , 6 - テトラメチル - 1 - ピペリジニルオキシ、遊離基 TEMPO ( 3 . 0 m g 、 0 . 0 2 m m o l ) の 0 の 攪拌混合物に、漂白剤 ( 2 . 1 m l , 4 . 9 m m o l ) および炭酸水素ナトリウム ( 1 1 7 m g 、 1 . 4 m m o l ) の溶液を滴下した。添加完了後、混合物を 0 において 2 時間攪拌した。

【0397】

この混合物を酢酸エチル ( 3 x 2 0 m l ) で抽出した。一緒にした有機抽出液を 1 0 % チオ硫酸ナトリウム ( 3 x 1 0 m l ) 、ブライン ( 1 0 m l ) で洗浄し、乾燥 ( M g S O<sub>4</sub> ) し、溶媒を真空蒸発させた。残留物を酢酸エチル ( 2 x 1 m l ) で洗浄すると、乾燥後、1 6 1 m g ( 8 1 % ) の 3 - ( 1 , 3 - ジオキソ - 1 , 3 - ジヒドロ - イソ

インドール - 2 - イル) - プロピオンアルデヒドが固体として得られた。

$^1\text{H NMR}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) 9.82 (s, 1H), 7.85 (dd, 2H,  $J = 5.6, 2.8$  Hz), 7.73 (dd, 2H,  $J = 5.6, 2.8$  Hz), 4.04 (t, 2H,  $J = 7.2$  Hz), 2.89 (t, 2H,  $J = 7.2$  Hz) .

【0398】

ジクロロメタン (10 ml) 中の上記 (150 mg、0.74 mmol)、トリエチルアミン (113 ml、0.81 mmol) および硫黄 (24 mg、0.81 mmol) の溶液に、室温において *t*-ブチルシアノアセテート (114 mg、0.81 mmol) を添加した。この混合物を攪拌し、窒素雰囲気下に2時間加熱還流させた。室温に冷却した後、沈澱を濾過し、189 mgの2-アミノ-5-(1,3-ジオキソ-1,3-ジヒドロ-イソインドール-2-イルメチル)-チオフェン-3-カルボン酸 *t*-ブチルエステルが固体として得られた。

【0399】

濾液を真空蒸発させ、残留物を酢酸エチル (50 ml) 中に取り、0.5 N塩酸 (2 × 10 ml)、飽和重亜硫酸ナトリウム溶液 (2 × 10 ml)、ブライン (10 ml) で洗浄し、乾燥 ( $\text{MgSO}_4$ ) し、濾過した。溶媒を真空蒸発させ、残留物を冷酢酸エチル (2 × 1 ml) で洗浄すると、52 mgの2-アミノ-5-(1,3-ジオキソ-1,3-ジヒドロ-イソインドール-2-イルメチル)-チオフェン-3-カルボン酸 *t*-ブチルエステルが固体として得られた。241 g (91%) の総収率が得られた。

$^1\text{H NMR}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) 7.86 (dd, 2H,  $J = 7.2, 4$  Hz), 7.72 (dd, 2H,  $J = 7.2, 4$  Hz), 6.97 (s, 1H), 5.83 (s, 2H,  $\text{NH}_2$ ), 4.78 (s, 2H), 1.56 (s, 9H)

【0400】

テトラヒドロフラン (2 ml) 中の上記チオフェン (100 mg、0.28 mmol) の攪拌溶液に、テトラヒドロフラン (1 ml) 中のイミダゾール-1-イル-オキソ-酢酸 *t*-ブチルエステル (60 mg、0.31 mmol) の溶液を添加した。この混合物を室温において3時間攪拌した。溶媒を真空蒸発させた。残留物を酢酸エチル (50 ml) 中に溶解し、0.5 N塩酸 (2 × 5 ml)、飽和重炭酸ナトリウム溶液 (2 × 5 ml)、ブライン (5 ml) で洗浄し、乾燥 ( $\text{MgSO}_4$ ) し、濾過した。溶媒を真空蒸発させると、130 mg (96%) の2-(*t*-ブトキシオキサリル-アミノ)-5-(1,3-ジオキソ-1,3-ジヒドロ-イソインドール-2-イルメチル)-チオフェン-3-カルボン酸 *t*-ブチルエステルが固体として得られた。

$^1\text{H NMR}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) 12.23 (s, 1H), 7.87 (dd, 2H,  $J = 7.2, 4$  Hz), 7.73 (dd, 2H,  $J = 7.2, 4$  Hz), 7.24 (s, 1H), 4.93 (s, 2H), 1.60 (s, 9H), 1.57 (s, 9H) .

【0401】

ジクロロメタン (1 ml) 中のトリフルオロ酢酸 (1 ml) の溶液に、上記 *t*-ブチルエステル (100 mg, 0.21 mmol) を添加した。この溶液を室温において1時間攪拌した。残留物をジクロロメタン (3 × 1 ml) で洗浄すると、63 mg (82%) の標題化合物が固体として得られた。

$^1\text{H NMR}$  (400 MHz,  $\text{DMSO}-d_6$ ) 12.05 (s, 1H), 7.89 (m, 2H), 7.87 (m, 2H), 7.10 (s, 1H), 4.83 (s, 2H) .

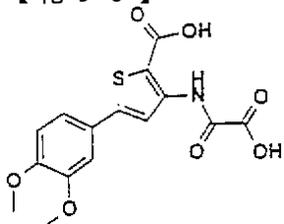
$\text{MS m/z}$  : 373 (M - 1) .

【0402】

実施例43に記載する方法に類似する方法において、下記の化合物を製造した。

実施例69

## 【化96】



5 - ( 3 , 4 - ジメトキシ - フェニル ) - 3 - ( オキサリル - アミノ ) - チオフェン - 2 - カルボン酸 :

M . p . : 230 - 231

$C_{15}H_{13}N_1O_7S_1$  ,  $1 \times H_2O$  として計算

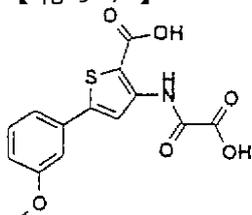
C , 48.78% ; H , 4.09% ; N , 3.79% .

測定値 C , 49.01% ; H , 3.75% ; N , 3.79% .

## 【0403】

## 実施例70

## 【化97】



5 - ( 3 - メチル - フェニル ) - 3 - ( オキサリル - アミノ ) - チオフェン - 2 - カルボン酸 :

M . p . : 217 - 218

$C_{14}H_{11}N_1O_6S_1$  ,  $0.75 \times H_2O$  として計算

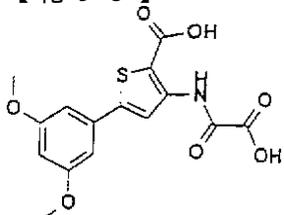
C , 50.22% ; H , 3.76% ; N , 4.18% .

測定値 C , 50.02% ; H , 3.73% ; N , 4.16% .

## 【0404】

## 実施例71

## 【化98】



5 - ( 3 , 5 - ジメトキシ - フェニル ) - 3 - ( オキサリル - アミノ ) - チオフェン - 2 - カルボン酸 :

M . p . : 223 - 225

$C_{15}H_{13}N_1O_7S_1$  ,  $1.25 \times H_2O$  としての計算値

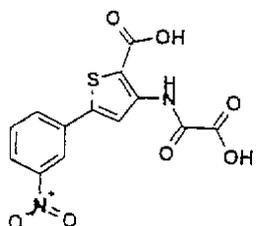
C , 48.19% ; H , 4.18% ; N , 3.75% .

測定値 C , 48.25% ; H , 4.10% ; N , 3.39% .

## 【0405】

## 実施例72

## 【化99】



5 - ( 3 - ニトロ - フェニル ) - 3 - ( オキサリル - アミノ ) - チオフェン - 2 -  
カルボン酸 :

M . p . : > 2 5 0

$C_{13}H_7N_1O_7S_1Na_1$  ,  $1.25 \times H_2O$  としての計算値

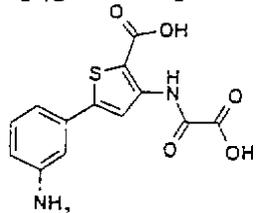
C , 41.01% ; H , 2.51% ; N , 7.36% .

測定値 C , 41.03% ; H , 2.38% ; N , 7.17% .

【 0 4 0 6 】

実施例 7 3

【 化 1 0 0 】



5 - ( 3 - アミノ - フェニル ) - 3 - ( オキサリル - アミノ ) - チオフェン - 2 -  
カルボン酸 :

M . p . : > 2 5 0

$C_{13}H_{10}N_2O_5S_1$  ,  $0.5 \times H_2O$  としての計算値

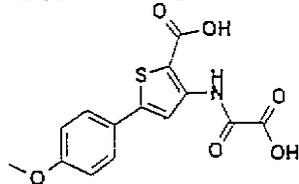
C , 49.52% ; H , 3.52% ; N , 8.88% .

測定値 C , 49.48% ; H , 3.44% ; N , 8.71% .

【 0 4 0 7 】

実施例 7 4

【 化 1 0 1 】



5 - ( 4 - メトキシ - フェニル ) - 3 - ( オキサリル - アミノ ) - チオフェン - 2 -  
カルボン酸 :

M . p . : 2 2 0 - 2 2 1

$C_{14}H_{11}N_1O_6S_1$  ,  $0.4 \times H_2O$  としての計算値

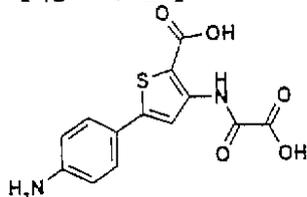
C , 51.19% ; H , 3.62% ; N , 4.62% .

測定値 C , 51.29% ; H , 3.53% ; N , 3.96% .

【 0 4 0 8 】

実施例 7 5

【 化 1 0 2 】



5 - ( 4 - アミノ - フェニル ) - 3 - ( オキサリル - アミノ ) - チオフェン - 2 - カルボン酸 :

$C_{13}H_{10}N_2O_5S_1$  ,  $0.5 \times H_2O$  としての計算値

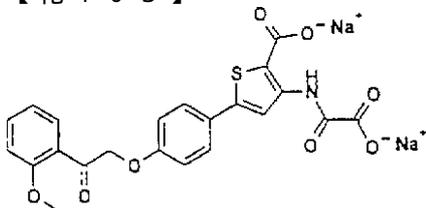
C , 49.52 % ; H , 3.52 % ; N , 8.88 % .

測定値 C , 49.40 % ; H , 3.87 % ; N , 8.23 % .

【 0 4 0 9 】

実施例 7 6

【 化 1 0 3 】



5 - ( 4 - ( 2 - ( 2 - メトキシ - フェニル ) - 2 - オキシ - エトキシ ) - フェニル ) - 3 - ( オキサリル - アミノ ) - チオフェン - 2 - カルボン酸 :

N , N - ジメチルホルムアミド ( 3 5 m l ) 中の 3 - ( エトキシオキサリルアミノ ) - 5 - ( 4 - ヒドロキシフェニル ) チオフェン - 2 - カルボン酸メチルエステル ( 5 2 4 m g 、 1 . 5 m m o l ) および炭酸カリウム ( 2 7 5 m g 、 2 . 0 m m o l ) の溶液に、窒素雰囲気下に - プロモ - 2 - メトキシアセトフェノン ( 4 6 0 m g 、 2 . 0 m m o l ) を添加した。3 時間攪拌した後、沈澱の粗製 3 - ( エトキシオキサリルアミノ ) - 5 - ( 4 - ( 2 - ( 2 - メトキシフェニル ) - 2 - オキシ - エトキシ ) フェニル ) - チオフェン - 2 - カルボン酸メチルエステル ( 1 . 0 g ) を濾過した。

【 0 4 1 0 】

メタノール ( 1 5 m l ) 中の粗製 3 - ( エトキシオキサリルアミノ ) - 5 - ( 4 - ( 2 - ( 2 - メトキシフェニル ) - 2 - オキシエトキシ ) フェニル ) - チオフェン - 2 - カルボン酸メチルエステル ( 0 . 5 g ) の溶液に、1 N 水酸化ナトリウム ( 1 0 m l ) を添加した。6 5 において 3 時間攪拌した後、生成物を濾過により単離し、水およびエタノールの混合物 ( 1 : 1 ) で洗浄すると、2 9 0 m g の標題化合物が固体として得られた。

M . p . : 2 8 6 - 2 8 7 .

$C_{22}H_{18}N_2O_9S_1Na_2$  としての計算値 ;

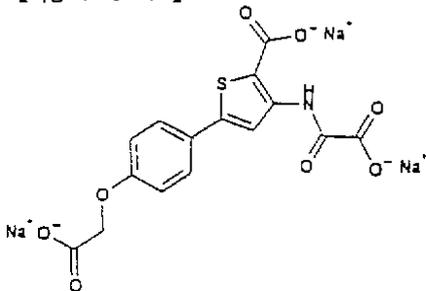
C , 50.19 % ; H , 3.42 % ; N , 2.66 % .

測定値 C , 51.18 % ; H , 3.42 % ; N , 2.58 % .

【 0 4 1 1 】

実施例 7 7

【 化 1 0 4 】



5 - ( 4 - カルボキシメトキシ - フェニル ) - 3 - ( オキサリル - アミノ ) - チオフェン - 2 - カルボン酸・三ナトリウム塩 :

N , N - ジメチルホルムアミド ( 5 m l ) 中の 3 - ( エトキシオキサリルアミノ ) - 5 - ( 4 - ヒドロキシフェニル ) チオフェン - 2 - カルボン酸メチルエステル ( 3 0 7 m g 、 1 . 0 m m o l ) および炭酸カリウム ( 1 6 6 m g 、 1 . 2 m m o l ) の溶液

に、窒素雰囲気下に 2 - プロモアセトアミド ( 165 mg、1.2 mmol ) を添加した。50 において 16 時間攪拌した後、水の添加により反応混合物を急冷し、沈澱 5 - ( 4 - カルバモイルメトキシ - フェニル ) - 3 - ( エトキシオキサリルアミノ ) - チオフェン - 2 - カルボン酸メチルエステル ( 70 mg ) が濾過により単離された。

【0412】

濾液の pH を 1 N 塩酸で 1 ~ 2 に調節し、半加水分解生成物、5 - ( 4 - カルバモイルメトキシ - フェニル ) - 3 - ( オキサリルアミノ ) - チオフェン - 2 - カルボン酸メチルエステル ( 300 mg ) が濾過により単離された。メタノール ( 5 ml ) および水 ( 5 ml ) 中の 5 - ( 4 - カルバモイルメトキシ - フェニル ) - 3 - ( オキサリルアミノ ) - チオフェン - 2 - カルボン酸メチルエステル ( 295 mg、0.78 mmol ) の懸濁液に、1 N 水酸化ナトリウム ( 2 ml ) を添加した。5 日間攪拌した後、沈澱を濾過すると、105 mg ( 88% ) の標題化合物が固体として得られた。

M.p. : > 300 .

C<sub>15</sub>H<sub>12</sub>N<sub>1</sub>O<sub>10</sub>S<sub>1</sub>Na<sub>3</sub> としての計算値

C, 38.56% ; H, 2.59% ; N, 3.00% .

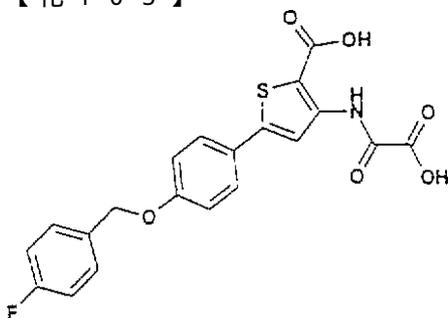
測定値 ; C, 38.73% ; H, 2.74% ; N, 3.06% .

【0413】

実施例 77 に記載する方法に類似する方法において、下記の化合物を製造した。

実施例 78

【化 105】



5 - ( 4 - ( 4 - フルオロ - ベンジルオキシ ) - フェニル ) - 3 - ( オキサリル - アミノ ) - チオフェン - 2 - カルボン酸 :

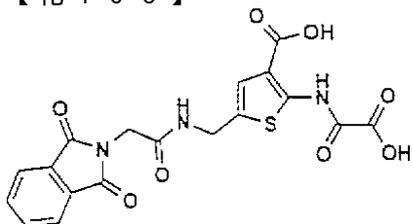
<sup>1</sup>H NMR ( 300 MHz, DMSO - d<sub>6</sub> ) 5.15 ( s, 2H ), 7.1 ( d, 2H ), 7.25 ( t, 2H ), 7.55 ( q, 2H ), 7.7 ( d, 2H ), 8.2 ( s, 1H ) .

SP / MS : 415 ( M+, 12% ), 372, 353, 299, 218, 190, 162, 109 ( 100% ) .

【0414】

実施例 79

【化 106】



5 - ( ( 2 - ( 1, 3 - ジオキソ - 1, 3 - ジヒドロ - イソインドール - 2 - イル ) - アセチルアミノ ) - メチル ) - 2 - ( オキサリル - アミノ ) - チオフェン - 3 - カルボン酸 :

ジクロロメタン ( 2 ml ) 中の 2 - ( t - ブトキシオキサリル - アミノ ) - 5 - ( 1, 3 - ジオキソ - 1, 3 - ジヒドロ - イソインドール - 2 - イル - メチル ) - チオフェン - 3 - カルボン酸 tve ( 0.4 g、0.82 mmol、実施例 30 に記載され

ているようにして製造した)の溶液に、無水ヒドラジン(28 ml、0.9 mmol)を添加し、この混合物を周囲温度において窒素雰囲気下に19時間撹拌した。

【0415】

ヒドラジン(84 ml、2.7 mmol)およびジクロロメタン(5.5 ml)の追加の部分を添加し、さらに88時間撹拌した。ジクロロメタン(50 ml)を添加し、反応混合物をソニケーター中に20分間入れ、セライトを通して濾過した。濾液を真空蒸発させると、0.24 g(82%)の5-アミノメチル-2-(*t*-ブトキシオキサリル-アミノ)-チオフェン-3-カルボン酸*t*-ブチルエステルが固体として得られ、これをそれ以上精製しないで次の工程において使用した。

【0416】

窒素雰囲気下に氷浴中で冷却した乾燥アセトニトリル(10 ml)中の(1,3-ジオキソ-1,3-ジヒドロ-イソインドール-2-イル)-酢酸(0.17 g、0.82 mmol)、1-ヒドロキシベンゾトリアゾール(0.133 g、0.98 mmol)および2,6ルチジン(0.4 ml)の溶液に、1-(3-ジメチルアミノプロピル)-3-エチルカーボジイミド塩酸塩(0.21 g、1.1 mmol)を添加し、この溶液を0.5時間撹拌した。5-アミノメチル-2-(*t*-ブトキシオキサリル-アミノ)-チオフェン-3-カルボン酸*t*-ブチルエステル(0.24 g、0.68 mmol)を添加し、冷却浴を除去し、この溶液を周囲温度において20時間撹拌した。揮発性物質を真空蒸発させ、残留物をジクロロメタン中に溶解し、飽和水性重炭酸ナトリウム溶液および1N塩酸で洗浄し、乾燥( $\text{Na}_2\text{SO}_4$ )し、溶媒を真空蒸発させた。

【0417】

残留物(0.18 g)を窒素雰囲気下に乾燥テトラヒドロフラン(6 ml)中に溶解し、イミダゾル-1-イル-オキソ-酢酸*t*-ブチルエステル(0.25 g、1.3 mmol)を添加し、この溶液を周囲温度において17時間撹拌し、溶媒を真空蒸発させ、残留物をジクロロメタンと飽和水性重炭酸ナトリウム溶液との混合物中に溶解した。有機層を乾燥( $\text{Na}_2\text{SO}_4$ )し、溶媒を真空蒸発させた。残留物をシリカゲルのクロマトグラフィーにかけると、0.1 gの2-(*t*-ブトキシオキサリル-アミノ)-5-(2-(1,3-ジオキソ-1,3-ジヒドロ-イソインドール-2-イル)-アセチルアミノ)-メチル)-チオフェン-3-カルボン酸*t*-ブチルエステルが得られた。

$^1\text{H NMR}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) 12.3 (bs, 1H), 7.9 (m, 2H), 7.8 (m, 2H), 7.1 (s, 1H), 6.5 (m, 1H), 4.6 (m, 2H), 4.4 (s, 2H), 1.8 (s, 9H), 1.6 (s, 9H).

【0418】

2-(*t*-ブトキシオキサリル-アミノ)-5-(2-(1,3-ジオキソ-1,3-ジヒドロ-イソインドール-2-イル)-アセチルアミノ)-メチル)-チオフェン-3-カルボン酸*t*-ブチルエステル(0.1 g、0.18 mmol)に、ジクロロメタン(4 ml)中の20%トリフルオロ酢酸を添加し、反応混合物を窒素雰囲気下に周囲温度において14時間撹拌した。揮発性物質を真空蒸発させ、固体が残るまで、残留物をジクロロメタンで粉砕した。沈澱を濾過し、18時間真空乾燥すると、標題化合物が定量的に固体として得られた。

M.p.: 243-244 (分解).

MS m/z: 430 (M-1).

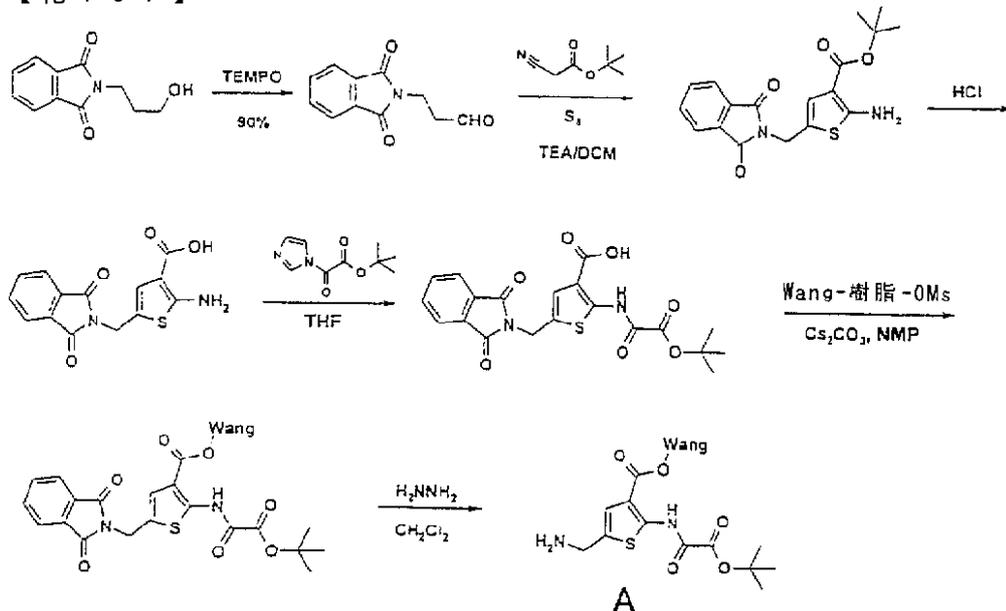
$^1\text{H NMR}$  (400 MHz,  $\text{DMSO}-d_6$ ) 12.1 (s, 1H), 8.9 (s, 1H), 7.8-7.9 (m, 4H), 7.1 (s, 1H), 4.4 (m, 2H), 4.2 (s, 2H).

【0419】

実施例 80

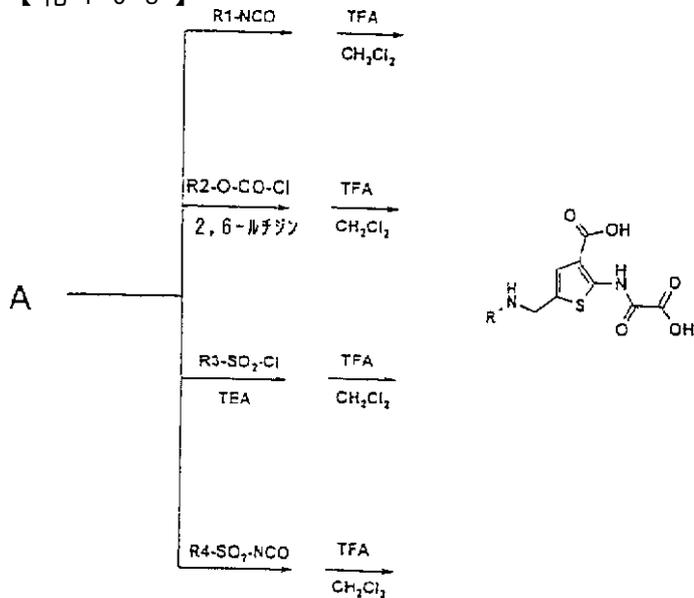
固相化学のアプローチを使用して、64メンバーのライブラリーを下記のスキームに従い合成した。

## 【化107】



## 【0420】

## 【化108】



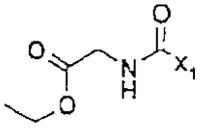
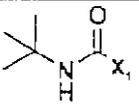
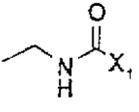
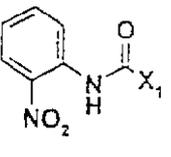
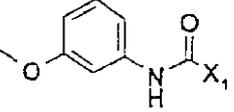
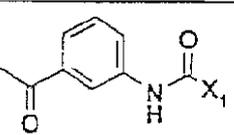
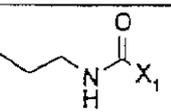
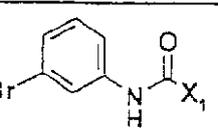
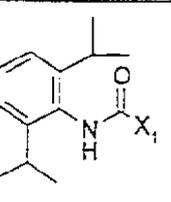
$X_1$  は R 基の結合点を示す。

百分率は 220 nm における HPLC のピークの面積を意味する。

## 【0421】

## 【表18】

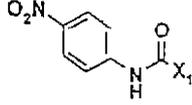
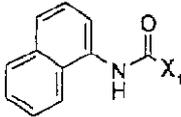
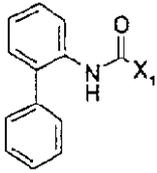
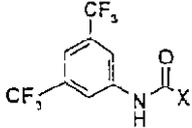
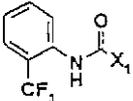
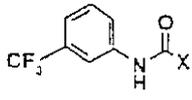
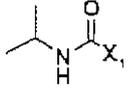
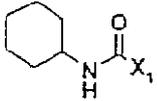
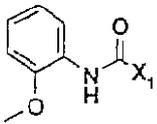
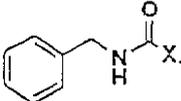
表 1 8

R-基	式	Mw	LC/MS
	C13H15N3O8S	373.34	ヒットなし
	C13H17N3O6S	343.36	ヒットなし
	C11H13N3O6S	315.31	ヒットなし
	C15H12N4O8S	408.35	407 (M-H, 44%)
	C16H15N3O7S	393.38	ヒットなし
	C17H15N3O7S	405.39	ヒットなし
	C12H15N3O6S	329.33	ヒットなし
	C15H12BrN3O6S	442.25	442 (M-H, 50%)
	C21H25N3O6S	447.51	446 (M-H, 92%)

【 0 4 2 2 】

【 表 1 9 】

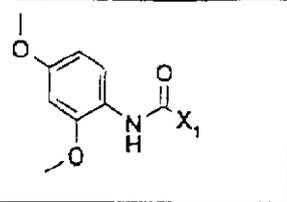
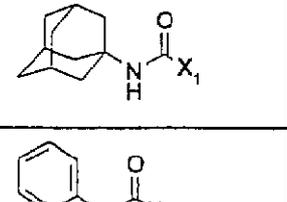
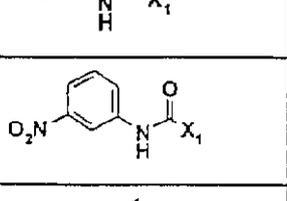
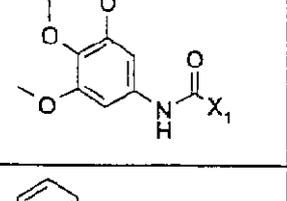
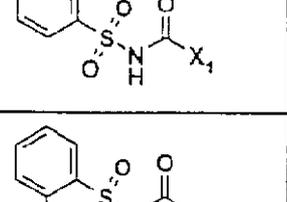
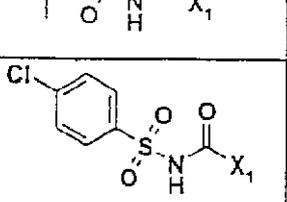
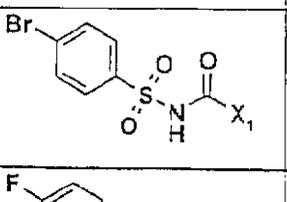
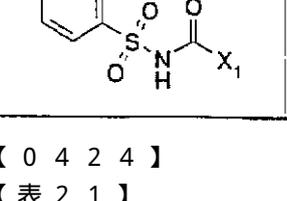
表 1 9

	C15H12N4O8S	408.35	407 (M-H,48%)
	C19H15N3O6S	413.41	412 (M-H,49%)
	C21H17N3O6S	439.45	438 (M-H,81%)
	C17H11F6N3O6S	499.35	498 (M-H,83%)
	C16H12F3N3O6S	431.35	ヒットなし
	C16H12F3N3O6S	431.35	430 (M-H,48%)
	C12H15N3O6S	329.33	328 (M-H,94%)
	C15H19N3O6S	369.40	368 (M-H,85%)
	C16H15N3O7S	393.38	ヒットなし
	C16H15N3O6S	377.38	376 (M-H,86%)

【 0 4 2 3 】

【 表 2 0 】

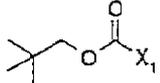
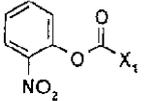
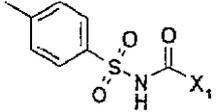
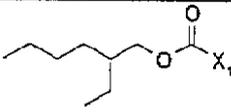
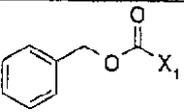
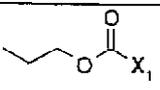
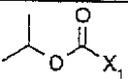
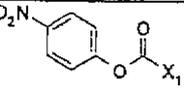
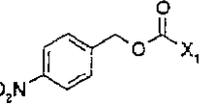
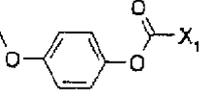
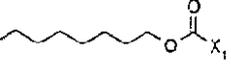
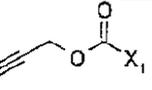
表 2 0

	C17H17N3O8S	423.40	422 (M-H, 39%)
	C19H23N3O6S	421.48	420 (M-H, 29%)
	C15H13N3O6S	363.35	362 (M-H, 26%)
	C15H12N4O8S	408.35	407 (M-H, 44%)
	C18H19N3O9S	453.43	452 (M-H, 34%)
	C15H13N3O8S2	427.41	426 (M-H, 62%)
	C16H15N3O8S2	441.44	440 (M-H, 89%)
	C15H12ClN3O8S2	461.86	460 (M-H, 41%)
	C15H11BrN2O7S	443.23	442 (M-H, 71%)
	C15H11FN2O7S	382.33	381 (M-H, 82%)

【 0 4 2 4 】

【 表 2 1 】

表 2 1

	C14H18N2O7S	358.37	357 (M-H, 70%)
	C15H11N3O9S	409.33	408 (M-H, 87%)
	C16H15N3O8S2	441.44	ヒットなし
	C17H24N2O7S	400.45	399 (M-H, 68%)
	C16H14N2O7S	378.36	377 (M-H, 63%)
	C12H14N2O7S	330.32	329 (M-H, 54%)
	C12H14N2O7S	330.32	329 (M-H, 76%)
	C15H11N3O9S	409.33	408 (M-H, 82%)
	C16H13N3O9S	423.36	422 (M-H, 63%)
	C16H14N2O8S	394.36	393 (M-H, 78%)
	C17H24N2O7S	400.45	399 (M-H, 78%)
	C12H10N2O7S	326.29	325 (M-H, 92%)

【 0 4 2 5 】

【 表 2 2 】

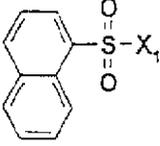
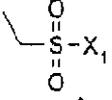
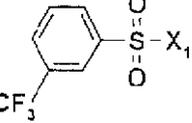
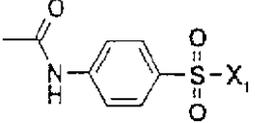
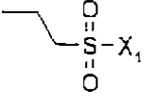
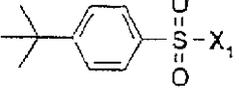
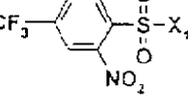
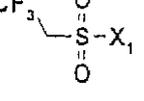
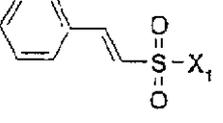
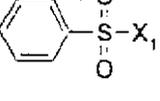
表 2 2

	C11H12N2O7S	313.29	315 (M-H, 70%)
	C13H16N2O7S	344.35	343 (M-H, 86%)
	C12H12N2O7S	328.30	327 (M-H, 73%)
	C13H14N2O7S	342.33	341 (M-H, 74%)
	C14H11BrN2O7S2	463.28	362 (M-H, 45%)
	C10H10N2O7S	302.26	301 (M-H, 72%)
	C15H12N2O7S	364.34	363 (M-H, 82%)
	C15H13N3O9S2	443.41	442 (M-H, 94%)
	C15H11F3N2O8S2	468.39	467 (M-H, 62%)
	C14H11ClN2O7S2	418.83	417 (M-H, 31%)
	C11H14N2O7S2	350.37	349 (M-H, 89%)
	C14H11FN2O7S2	402.38	401 (M-H, 34%)
	C9H10N2O7S2	322.32	321 (M-H, 50%)

【 0 4 2 6 】

【 表 2 3 】

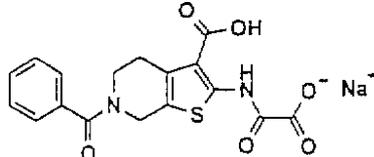
表 2 3

	C18H14N2O7S2	434.45	433 (M-H, 42%)
	C10H12N2O7S2	336.34	335 (M-H, 46%)
	C15H11F3N2O7S2	452.39	451 (M-H, 82%)
	C16H15N3O8S2	441.44	440 (M-H, 42%)
	C11H14N2O7S2	350.37	349 (M-H, 57%)
	C18H20N2O7S2	440.50	439 (M-H, 42%)
	C15H10F3N3O9S2	497.38	496 (M-H, 68%)
	C10H9F3N2O7S2	390.32	389 (M-H, 92%)
	C16H14N2O7S2	410.43	409 (M-H, 46%)
	C14H12N2O7S2	384.39	383 (M-H, 42%)

【 0 4 2 7 】

実施例 8 1

【 化 1 0 9 】



6 - ベンゾイル - 2 - ( オキサリル - アミノ ) - 4 , 5 , 6 , 7 - テトラヒドロ -  
チエノ [ 2 , 3 - c ] ピリジン - 3 - カルボン酸、一ナトリウム塩：

【 0 4 2 8 】

ベンゼン (100 ml) 中の N - ベンゾイル - 4 - ピペリドン (20.0 g、0.1 mol)、エチルシアノアセテート (10.9 ml、0.1 mol)、酢酸アンモニウム (2.0 g) および酢酸 (6 ml) の混合物を、ディーン・スターク水トラップを装備した 3 首反応フラスコ中で還流温度に 1 時間加熱させた。冷却した反応混合物を酢酸エチル (100 ml) で希釈し、水 (3 × 100 ml)、飽和塩化ナトリウム水溶液 (80 ml) で洗浄し、乾燥 (MgSO<sub>4</sub>) し、真空蒸発させると、定量的収率で (1 - ベンゾイル - ピペリジン - 4 - イリデン) - シアノ - 酢酸エチルエステルがゆっくり結晶化する油として得られた。

## 【0429】

エタノール (35 ml) 中の上記ベンゾイル - ピペリジン - 4 - イリデン (10.0 g、0.034 mol)、硫黄 (1.13 g、0.035 mol)、モルホリン (6.5 ml) の混合物を 50 に 2 時間加熱し、室温において一夜攪拌した。沈澱を濾過し、96%エタノール (3 × 50 ml)、ジエチルエーテル (3 × 50 ml) で洗浄し、真空乾燥すると、9.27 g (84%) の 2 - アミノ - 6 - ベンゾイル - 4, 5, 6, 7 - テトラヒドロ - チエノ [2, 3 - c] ピリジン - 3 - カルボン酸エチルエステルが固体として得られた。

## 【0430】

0 において乾燥テトラヒドロフラン (30 ml) 中の上記 4, 5, 6, 7 - テトラヒドロ - チエノ [2, 3 - c] ピリジン - 3 - カルボン酸エチルエステル (5.0 g、0.015 mol)、トリエチルアミン (4.21 ml、0.03 mol) の攪拌溶液に、乾燥テトラヒドロフラン (20 ml) 中のエチルオキサリルクロライド (1.9 ml、0.017 mol) の溶液を滴下した。生ずる反応混合物を室温において 18 時間攪拌し、氷水 (300 ml) 中に注ぎ、酢酸エチル (3 × 100 ml) で抽出した。一緒にした有機抽出液を飽和塩化ナトリウム水溶液 (100 ml) で洗浄し、乾燥 (MgSO<sub>4</sub>) し、真空蒸発させると、4.2 g (84%) の 6 - ベンゾイル - 2 - (エトキシオキサリル - アミノ) - 4, 5, 6, 7 - テトラヒドロ - チエノ [2, 3 - c] ピリジン - 3 - カルボン酸エチルエステルが結晶化する油として得られた。

## 【0431】

エタノール (100 ml) 中の上記 [2, 3 - c] ピリジン - 3 - カルボン酸エチルエステル (4.2 g、9.76 mmol) の溶液に、水 (100 ml) 中の水酸化ナトリウム (0.9 g、21.46 mmol) の溶液を添加した。生ずる反応混合物を室温において 18 時間攪拌した。揮発性物質を真空蒸発させ、残留物を水 (100 ml) 中に溶解し、酢酸エチル (2 × 100 ml) で洗浄した。水相に濃塩酸を pH = 1 に添加し、沈澱を濾過し、水 (2 × 50 ml)、ジエチルエーテル (2 × 30 ml) で洗浄し、50 において真空乾燥すると、2.9 g (79%) の標題化合物が固体として得られた。

## 【0432】

M. p. : 非晶質 :

C<sub>17</sub>H<sub>13</sub>N<sub>2</sub>O<sub>6</sub>S<sub>1</sub>Na<sub>1</sub>, 1 × H<sub>2</sub>O としての計算値 ;

C, 49.28% ; H, 3.65% ; N, 6.76% .

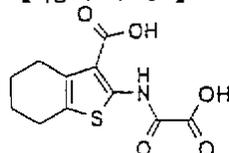
測定値 ; C, 49.31% ; H, 3.86% ; N, 6.53% .

## 【0433】

実施例 8 1 に記載する方法に類似する方法において、下記の化合物を製造した。

## 実施例 8 2

## 【化 1 1 0】



2 - ( オキサリル - アミノ ) - 4 , 5 , 6 , 7 - テトラヒドロ - ベンゾ [ b ] チ

オフエン - 3 - カルボン酸 :

M . p . : 230 - 231 :

C<sub>11</sub>H<sub>11</sub>NO<sub>5</sub>S としての計算値 ;

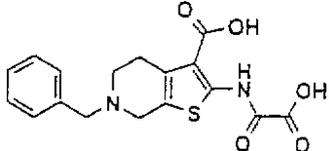
C , 49.07 % ; H , 4.12 % ; N , 5.20 % .

測定値 ; C , 49.87 % ; H , 4.37 % ; N , 5.06 % .

【0434】

実施例 83

【化111】

6 - ベンゾイル - 2 - ( オキサリル - アミノ ) - 4 , 5 , 6 , 7 - テトラヒドロ - チエノ [ 2 , 3 - c ] ピリジン - 3 - カルボン酸 :C<sub>17</sub>H<sub>16</sub>N<sub>2</sub>O<sub>5</sub>S<sub>1</sub> , 1.75 H<sub>2</sub>O についての計算値 ;

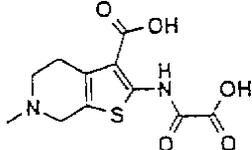
C , 52.10 % ; H , 5.01 % ; N , 7.15 % .

測定値 ; C , 52.11 % ; H , 4.81 % ; N , 7.01 % .

【0435】

実施例 84

【化112】

6 - メチル - 2 - ( オキサリル - アミノ ) - 4 , 5 , 6 , 7 - テトラヒドロ - チエノ [ 2 , 3 - c ] ピリジン - 3 - カルボン酸 :

M . p . : &gt; 250

C<sub>11</sub>H<sub>12</sub>N<sub>2</sub>O<sub>5</sub>S , 0.6 H<sub>2</sub>O についての計算値 ;

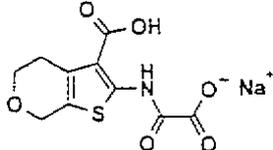
C , 44.77 % ; H , 4.51 % ; N , 9.49 % .

測定値 ; C , 44.54 % ; H , 4.17 % ; N , 9.21 % .

【0436】

実施例 85

【化113】

2 - ( オキサリル - アミノ ) - 4 , 7 - ジヒドロ - 5 H - チエノ [ 2 , 3 - c ] ピラン - 3 - カルボン酸 - ナトリウム塩 :

M . p . : &gt; 250

C<sub>10</sub>H<sub>8</sub>N<sub>1</sub>O<sub>6</sub>SNa , 0.75 x H<sub>2</sub>O についての計算値 ;

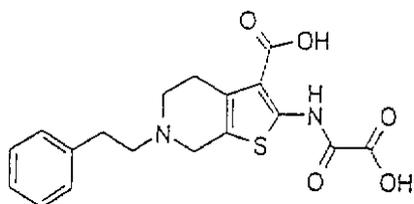
C , 39.16 % ; H , 3.12 % ; N , 4.57 % .

測定値 ; C , 39.29 % ; H , 3.67 % ; N , 4.41 % .

【0437】

実施例 86

【化114】



2 - ( オキサリル - アミノ ) - 4 , 5 , 6 , 7 - テトラヒドロ - チエノ [ 2 , 3 - c ] ピリジン - 3 - カルボン酸 :

$C_{18}H_{18}N_2O_5S$ ,  $1 \times H_2O$  についての計算値 ;

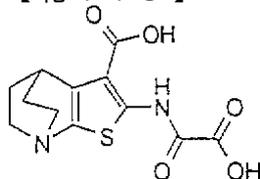
C, 55.09% ; H, 5.14% ; N, 7.14% .

測定値 ; C, 55.47% ; H, 5.04% ; N, 7.07% .

【 0 4 3 8 】

実施例 8 7

【 化 1 1 5 】



2 - ( オキサリル - アミノ ) - 4 , 5 , 6 , 7 - テトラヒドロ - 4 , 7 - エタノ - チエノ [ 2 , 3 - c ] ピリジン - 3 - カルボン酸 :

$C_{12}H_{12}N_2O_5S$ ,  $0.75 \times H_2O$  についての計算値 ;

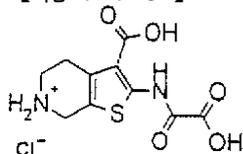
C, 46.52% ; H, 4.39% ; N, 9.04% .

測定値 ; C, 46.48% ; H, 4.79% ; N, 8.87% .

【 0 4 3 9 】

実施例 8 8

【 化 1 1 6 】



2 - ( オキサリル - アミノ ) - 4 , 5 , 6 , 7 - テトラヒドロ - チエノ [ 2 , 3 - c ] ピリジン - 3 - カルボン酸、塩酸塩 :

4 - オキソ - ピペリジンカルボン酸 t - ブチルエステルを出発物質として使用した。ジクロロメタン中の 25% トリフルオロ酢酸を使用して Boc 基を除去した。

$C_{10}H_{10}N_2O_5S$ ,  $1HCl$ ,  $0.5 \times H_2O$  についての計算値 ;

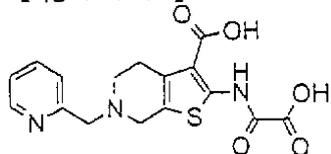
C, 38.35% ; H, 4.34% ; N, 8.64% .

測定値 ; C, 38.04% ; H, 3.83% ; N, 8.87% .

【 0 4 4 0 】

実施例 8 9

【 化 1 1 7 】



2 - ( オキサリル - アミノ ) - 6 - ピリジン - 2 - イルメチル - 4 , 5 , 6 , 7 - テトラヒドロ - チエノ [ 2 , 3 - c ] ピリジン - 3 - カルボン酸 :

アセトン ( 40 ml ) 中の 2 - ( エトキシオキサリル - アミノ ) - 4 , 5 , 6 , 7 -

テトラヒドロ - チエノ [ 2 , 3 - c ] ピリジン - 3 - カルボン酸エチルエステルトリフルオロ酢酸塩 ( 1.5 g、3.40 mmol )、炭酸カリウム ( 2.4 g、17.

1 mmol) の混合物に、2 - ピコリルクロライド塩酸塩 (0.61 g、3.7 mmol) を添加した。

【0441】

生ずる混合物を還流温度において18時間攪拌し、濾過し、真空蒸発させた。残留物をジエチルエーテルで粉砕し、固体を濾過し、シリカゲル (300 ml) 上に精製し、酢酸エチル/エタノール/トリエチルアミン (3:1:0.4) の混合物を溶離剤として使用した。純粋な画分を収集し、溶離剤を真空蒸発させると、650 mg (39%) の2 - (エトキシオキサリル - アミノ) - 6 - ピリジン - 2 - イルメチル - 4, 5, 6, 7 - テトラヒドロ - チエノ [2, 3 - c] ピリジン - 3 - カルボン酸トリエチルアンモニウム塩が固体として得られた。

【0442】

エタノール (15 ml) 中の上記トリエチルアンモニウム塩 (650 mg, 1.40 mmol) の溶液に、1 N 水性水酸化ナトリウム溶液 (4.1 ml, 4.1 mmol) を添加し、次いで水 (15 ml) を添加した。生ずる反応混合物を室温において18時間攪拌した。揮発性物質を真空蒸発させ、残留物を水 (中に溶解し、ジエチルエーテル (2 x 10 ml) で洗浄した。水相に1 N 塩酸を pH = 1 に添加し、水相を真空蒸発させた。残留物を2 - プロパノール/水 (1:1, 40 ml) の混合物中に懸濁させ、1時間攪拌し、固体を濾過し、2 - プロパノール (2 x 15 ml) で洗浄し、50 °Cにおいて真空乾燥すると、181 mg (38%) の粗製標題化合物が得られた。

【0443】

粗生成物 (181 mg) を水 (10 ml) および5 N 水酸化ナトリウム (10 ml) の混合物中に溶解し、ジエチルエーテル (2 x 10 ml) で洗浄した。水相を1 N 塩酸で pH = 3 に酸性化し、沈澱を濾過し、水 (3 x 20 ml) で洗浄し、50 °Cにおいて真空乾燥すると、51 mg (11%) の標題化合物が固体として得られた。

M. p. : 238 - 244

C<sub>16</sub>H<sub>15</sub>N<sub>3</sub>O<sub>5</sub>S, 2.5 x H<sub>2</sub>O についての計算値 ;

C, 47.29% ; H, 4.96% ; N, 10.34% .

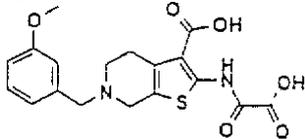
測定値 ; C, 47.43% ; H, 4.84% ; N, 10.00% .

【0444】

実施例89に記載する方法に類似する方法において、下記の化合物を製造した。

実施例90

【化118】



6 - (3 - メトキシ - ベンジル) - 2 - (オキサリル - アミノ) - 4, 5, 6, 7 - テトラヒドロ - チエノ [2, 3 - c] ピリジン - 3 - カルボン酸 :

M. p. : 233 - 237

C<sub>18</sub>H<sub>18</sub>N<sub>2</sub>O<sub>6</sub>S, 1 x H<sub>2</sub>O についての計算値 ;

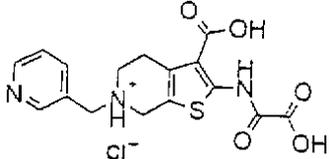
C, 52.93% ; H, 4.94% ; N, 6.86% .

測定値 ; C, 52.79% ; H, 4.99% ; N, 6.42% .

【0445】

実施例91

【化119】



2 - ( オキサリル - アミノ ) - 6 - ピリジン - 2 - イルメチル - 4 , 5 , 6 , 7 -  
テトラヒドロ - チエノ [ 2 , 3 - c ] ピリジン - 3 - カルボン酸・塩酸塩 :

M . p . : 234 - 238

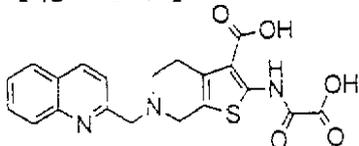
$C_{16}H_{15}N_3O_5S$  ,  $1 \times HCl$  ,  $0.5 \times H_2O$  についての計算値 ;  
 C , 47.24 % ; H , 4.21 % ; N , 10.33 % .

測定値 ; C , 47.35 % ; H , 4.10 % ; N , 10.35 % .

【 0446 】

実施例 9 2

【 化 1 2 0 】



2 - ( オキサリル - アミノ ) - 6 - キノリン - 2 - イルメチル - 4 , 5 , 6 , 7 -  
テトラヒドロ - チエノ [ 2 , 3 - c ] ピリジン - 3 - カルボン酸

M . p . : > 250

$C_{20}H_{17}N_3O_5S$  ,  $1 \times H_2O$  についての計算値 ;

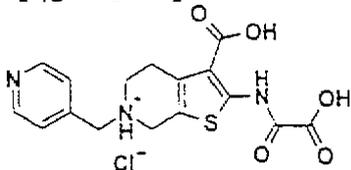
C , 55.95 % ; H , 4.22 % ; N , 9.61 % .

測定値 ; C , 55.94 % ; H , 4.46 % ; N , 9.78 % .

【 0447 】

実施例 9 3

【 化 1 2 1 】



2 - ( オキサリル - アミノ ) - 6 - ピリジン - 2 - イルメチル - 4 , 5 , 6 , 7 -  
テトラヒドロ - チエノ [ 2 , 3 - c ] ピリジン - 3 - カルボン酸、塩酸塩 :

M . p . : 230 - 235

$C_{16}H_{15}N_3O_5S$  ,  $1 \times HCl$  ,  $1 \times H_2O$  についての計算値 ;

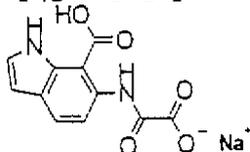
C , 46.21 % ; H , 4.36 % ; N , 10.10 % .

測定値 ; C , 45.82 % ; H , 4.42 % ; N , 10.02 % .

【 0448 】

実施例 9 4

【 化 1 2 2 】



6 - ( オキサリル - アミノ ) - 1 H - インドール - 7 - カルボン酸・一ナトリウム塩  
:

乾燥テトラヒドロフラン ( 100 ml ) 中の 6 - アミノ - 1 H - インドール - 7 - カルボン酸エチルエステル ( 1.5 g 、 7.3 mmol 、 J . Org . Chem . 61 : 1155 - 1158 ( 1996 ) に記載されているようにして製造した ) 、 トリエチルアミン ( 1.55 ml 、 11.0 mmol ) の攪拌溶液に、乾燥テトラヒドロフラン ( 10 ml ) 中のエチルオキサリルクロライド ( 980  $\mu$ l 、 88.0 mmol ) の溶液を滴下した。生ずる反応混合物を室温において 2 時間攪拌し、氷水 ( 300 ml ) 中に注ぎ、沈澱を濾過し、50 において真空乾燥すると、2.25 g ( 100 % ) の 6 - ( エトキシオキサリル - アミノ ) - 1 H - インドール - 7 - カルボン酸エチルエステル

が油として得られた。

【0449】

エタノール(30 ml)中の上記1H-インドール-7-カルボン酸エチルエステル(2.0 g、6.60 mmol)の溶液に、水(30 ml)中の1N水性水酸化ナトリウム溶液(16.4 ml、16.4 mmol)を添加した。生ずる反応混合物を室温において18時間攪拌した。揮発性物質を真空蒸発させ、残留水相を1N塩酸でpH=1に酸性化した。沈澱を濾過し、水(2×50 ml)、ジエチルエーテル(2×30 ml)で洗浄し、50において真空乾燥すると、1.34 g(82%)の標題化合物が固体として得られた。

M.p.: >250

C<sub>11</sub>H<sub>7</sub>N<sub>2</sub>O<sub>5</sub>Na, 1.5×H<sub>2</sub>Oについての計算値;

C, 44.46%; H, 3.39%; N, 9.43%.

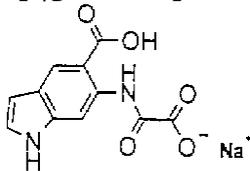
測定値; C, 44.31%; H, 3.34%; N, 9.00%.

【0450】

実施例94に記載する方法に類似する方法において、下記の化合物を製造した。

実施例95

【化123】



6-(オキサリル-アミノ)-1H-インドール-5-カルボン酸・ナトリウム塩

6-アミノ-1H-インドール-5-カルボン酸エチルエステルは、J. Org. Chem. 61:1155-1158(1996)に記載されているようにして製造した。

M.p.: >250

C<sub>11</sub>H<sub>7</sub>N<sub>2</sub>O<sub>5</sub>Na, 1.5×H<sub>2</sub>Oについての計算値;

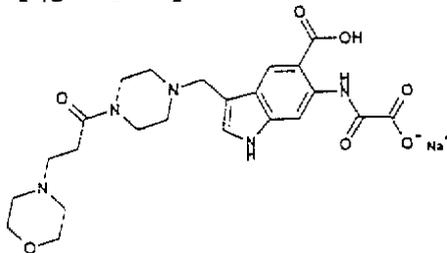
C, 44.46%; H, 3.39%; N, 9.43%.

測定値; C, 44.44%; H, 3.68%; N, 9.00%.

【0451】

実施例96

【化124】



3-[4-(3-モルホリン-4-イル-プロピオニル)-ピペラジン-1-イルメチル]-6-(オキサリル-アミノ)-1H-インドール-5-カルボン酸・ナトリウム塩

酢酸(8 ml)中の37%水性ホルムアルデヒド(2.7 g、33.0 mmol)の氷冷溶液に、ピペラジン-1-カルボン酸t-ブチルエステル(2.7 g、15 mmol)の溶液を滴下した。15分間攪拌した後、酢酸(80 ml)およびテトラヒドロフラン(80 ml)の混合物中の6-(エトキシオキサリル-アミノ)-1H-インドール-5-カルボン酸(4.0 g、13.0 mmol)の溶液を添加し、生ずる反応混合物を室温において18時間攪拌した。

【0452】

揮発性物質を真空蒸発させ、残留物に水(100 ml)を添加した。水相を酢酸エチル(2×100 ml)で抽出し、一緒にした有機抽出液を水(2×100 ml)、飽和水性塩化アンモニウム溶液(1×80 ml)で洗浄し、乾燥(MgSO<sub>4</sub>)し、濾過し、真空蒸発させた。残留物をジエチルエーテル(50 ml)で粉碎し、沈澱を濾過し、ジエチルエーテルで洗浄し、50 において真空乾燥すると、3.4 g(51%)の3-(4-ブトキシカルボニル-ペラジン-1-イルメチル)-6-(エトキシオキサリル-アミノ)-1H-インドール-5-カルボン酸エチルエステルが固体として得られた。

#### 【0453】

ジクロロメタン(20 ml)中の上記6-(エトキシオキサリル-アミノ)-1H-インドール-5-カルボン酸エチルエステルの溶液に、室温においてトリフルオロ酢酸(20 ml)を添加した。生ずる混合物を1時間攪拌し、揮発性物質を真空蒸発させ、残留物に水(50 ml)を添加し、生ずる混合物を30分間攪拌した。沈澱を濾過し、水(50 ml)で洗浄し、ジエチルエーテル(50 ml)中に溶解し、50 において真空乾燥すると、3.6 g(100%)の6-(エトキシオキサリル-アミノ)-3-ピペラジン-1-イルメチル-1H-インドール-5-カルボン酸エチルエステルトリフルオロ酢酸塩が固体として得られた。

#### 【0454】

ジクロロメタン(100 ml)およびトリエチルアミン(2.5 ml)中の上記ピペラジン(3.0 g, 5.81 mmol)の氷冷混合物に、ジクロロメタン(10 ml)中のクロロプロピオニル塩化物(0.6 ml, 6.39 mmol)の混合物を滴下した。生ずる混合物を室温において1時間攪拌し、水(50 ml)で洗浄し、乾燥(MgSO<sub>4</sub>)し、濾過し、真空蒸発させると、1.8 g(68%)の3-(4-アクリロイル-ペラジン-1-イルメチル)-6-(エトキシオキサリル-アミノ)-1H-インドール-5-カルボン酸エチルエステルが油として得られた。

#### 【0455】

エタノール(50 ml)中の上記アクリロイル-ピペラジン(0.5 g, 1.1 mmol)の溶液に、モルホリン(0.24 g, 2.74 mmol)を添加した。生ずる反応混合物を室温において18時間攪拌し、揮発性物質を真空蒸発させた。残留物を水(50 ml)中に溶解し、pHを1N塩酸で2に調節し、酢酸エチル(2×50 ml)で洗浄した。水相を1N水酸化ナトリウムで中和し、沈澱を濾過し、水で洗浄し、50 において3時間真空乾燥すると、0.3 g(50%)の6-(エトキシオキサリル-アミノ)-3-[4-(3-モルホリン-4-イル-プロピオニル)-ピペラジン-1-イルメチル]-1H-インドール-5-カルボン酸エチルエステルが固体として得られた。

#### 【0456】

エタノール(5 ml)中の上記1H-インドール-5-カルボン酸エチルエステル(0.2 g, 0.37 mmol)の溶液に、水(15 ml)中の水酸化ナトリウム(45 mg, 1.10 mmol)を添加した。生ずる反応混合物を室温において18時間攪拌し、1N塩酸の添加によりpHを1に調節した。水相を酢酸エチル(×25 ml)で洗浄し、1N塩酸の添加によりpHを5に調節し、次いでジクロロメタン(25 ml)を添加した。沈澱を濾過し、水(50 ml)で洗浄し、50 において真空乾燥すると、30 mg(17%)の標題化合物が固体として得られた。

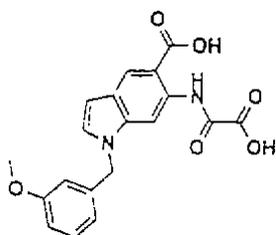
M.p.: > 250

LC-MS (E<sup>+</sup>) M/Z 488

#### 【0457】

### 実施例 97

#### 【化125】



1 - ( 3 - メトキシ - ベンジル ) - 6 - ( オキサリル - アミノ ) - 1 H - インドール - 5 - カルボン酸 :

乾燥 N , N - ジメチルホルムアミド ( 4 0 m l ) 中の 6 - アミノ - 1 H - インドール - 7 - カルボン酸エチルエステル ( 1 . 0 g , 3 . 3 0 m m o l ; J . O r g . C h e m . 6 1 : 1 1 5 5 - 1 1 5 8 ( 1 9 9 6 ) に記載されているようにして製造した ) の溶液に、水酸化ナトリウム ( 0 . 2 8 g , 7 . 3 m m o l ; 鉱油中の 6 0 % ) を添加した。

【 0 4 5 8 】

反応混合物を 1 . 5 時間攪拌し、乾燥 N , N - ジメチルホルムアミド ( 2 . 5 m l ) 中の 3 - メトキシベンジルクロライド ( 0 . 5 m l , 3 . 6 m m o l ) の溶液を滴下した。生ずる混合物を 1 . 5 時間攪拌し、水 ( 3 0 0 m l ) 中に注ぎ、ジエチルエーテル ( 3 × 1 0 0 m l ) で洗浄した。未溶解物質を濾過し、水相を 1 N 塩酸の添加により p H = 4 酸性化した。沈澱を濾過し、水で洗浄し、5 0 において真空乾燥すると、4 0 0 m g ( 2 9 % ) の 6 - ( エトキシオキサリル - アミノ ) - 1 - ( 3 - メトキシ - ベンジル ) - 1 H - インドール - 5 - カルボン酸エチルエステルが固体として得られた。

【 0 4 5 9 】

エタノール ( 1 0 m l ) 中の上記 1 H - インドール - 5 - カルボン酸エチルエステル ( 0 . 3 g , 0 . 7 m m o l ) の溶液に、1 N 水酸化ナトリウム ( 2 . 1 m l , 2 . 1 m m o l ) および水 ( 1 0 m l ) を添加した。生ずる反応混合物を室温において 1 8 時間攪拌した。揮発性物質を真空蒸発させ、1 N 塩酸の添加により p H を 2 に調節し、沈澱を濾過し、水で洗浄し、5 0 において真空乾燥すると、2 3 0 m g ( 8 9 % ) の標題化合物が固体として得られた。M . p . : 2 2 2 - 2 2 6

C<sub>19</sub>H<sub>16</sub>N<sub>2</sub>O<sub>6</sub>, 0 . 4 × H<sub>2</sub>O としての値算値 ;

C , 6 0 . 7 7 % ; H , 4 . 5 1 % ; N , 7 . 4 6 % .

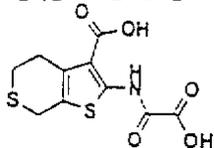
測定値 ; C , 6 0 . 9 6 % ; H , 4 . 4 4 % ; N , 7 . 2 8 % .

【 0 4 6 0 】

実施例 8 1 に記載する方法に類似する方法において、下記の化合物を製造した。

実施例 9 8

【 化 1 2 6 】



2 - ( オキサリル - アミノ ) - 4 , 7 - ジヒドロ - 5 H - チエノ [ 2 , 3 - c ] チオピラン - 3 - カルボン酸 :

C<sub>10</sub>H<sub>9</sub>NO<sub>5</sub>S<sub>2</sub> としての計算値 ;

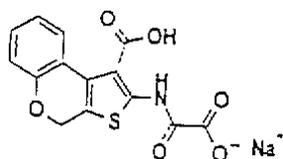
C , 4 1 . 8 0 % ; H , 3 . 1 6 % ; N , 4 . 8 8 % .

測定値 ; C , 4 1 . 9 7 % ; H , 3 . 2 0 % ; N , 4 . 6 9 % .

【 0 4 6 1 】

実施例 9 9

【 化 1 2 7 】



2 - ( オキサリル - アミノ ) - 9 H - チエノ [ 2 , 3 - c ] クロメン - 3 - カルボン酸・ナトリウム塩 :

【 0 4 6 2 】

ベンゼン ( 5 0 0 m l ) 中の 4 - クロマノン ( 2 0 g 、 0 . 1 4 m m o l ) 、 エチルシアノアセテート ( 1 6 . 8 g 、 0 . 1 5 m m o l ) および酢酸アンモニウム ( 1 1 . 4 g 、 0 . 1 5 m m o l ) の溶液に、酢酸 ( 5 m l ) を添加し、生ずる反応混合物を室温において 1 8 時間攪拌し、生成した水をディーン・スターク水トラップの中に集めた。酢酸アンモニウムの追加の部分 ( 1 0 g 、 0 . 1 3 m m o l ) を添加し、さらに 8 時間加熱還流させた。揮発性物質を真空蒸発させ、残留物に水 ( 5 0 0 m l ) を添加し、水相を酢酸エチル ( 2 × 2 0 0 m l ) で抽出した。一緒にした有機抽出液を水 ( 2 × 1 0 0 m l ) 、飽和塩化ナトリウム水溶液 ( 1 0 0 m l ) で洗浄し、乾燥 ( M g S O <sub>4</sub> ) し、濾過し、真空蒸発させると、2 8 g の未変化出発物質とクロマン - 4 - イリデン - シアノノ - 酢酸エチルエステルが油として得られた。

【 0 4 6 3 】

エタノール ( 2 5 0 m l ) 中の粗生成物の溶液に、硫黄 ( 2 . 5 g 、 0 . 0 0 8 m o l ) およびモルホリン ( 1 5 m l ) を添加した。生ずる混合物を 5 0 において 4 時間攪拌し、室温に冷却し、濾過した。揮発性物質を真空蒸発させると、3 0 g の粗生成物が得られた。

生成物を 2 つの部分分割し、酢酸エチル / ヘプタン ( 1 : 3 ) 混合物を使用してシリカゲル ( 9 0 0 m l ) 上に半精製した。半純粋画分を収集し、溶媒を真空蒸発させると、粗製油が得られ、これをジエチルエーテル ( 8 0 m l ) 中に溶解し、ヘプタン ( 1 2 5 m l ) の添加により結晶化させた。沈澱を濾過し、ヘプタンで洗浄し、5 0 において真空乾燥すると、8 . 9 g ( 2 4 % ) の 2 - アミノ - 9 H - チエノ [ 2 , 3 - c ] クロメン - 3 - カルボン酸エチルエステルが固体として得られた。

【 0 4 6 4 】

0 の乾燥テトラヒドロフラン ( 1 0 0 m l ) 中の上記 2 - アミノ - 9 H - チエノ [ 2 , 3 - c ] クロメン - 3 - カルボン酸エチルエステル ( 2 . 9 g 、 1 0 . 5 3 m m o l ) 、トリエチルアミン ( 3 m l ) の攪拌溶液に、乾燥テトラヒドロフラン ( 2 0 m l ) 中のエチルオキサリルクロライド ( 1 . 6 g 、 1 1 . 6 m m o l ) の溶液を滴下した。生ずる混合物を室温において 1 . 5 時間攪拌し、氷水 ( 2 0 0 m l ) 中に注ぎ、沈澱を濾過し、5 0 において真空乾燥すると、2 . 6 g ( 6 6 % ) の 2 - ( エトキシオキサリル - アミノ ) - 9 H - チエノ [ 2 , 3 - c ] クロメン - 3 - カルボン酸エチルエステルが固体として得られた。

【 0 4 6 5 】

エタノール ( 2 5 m l ) 中の上記エチルエステル ( 1 . 5 g 、 4 . 0 m m o l ) の溶液に、水酸化ナトリウム ( 4 8 0 m g 、 1 2 m m o l ) および水 ( 5 0 m l ) を添加した。生ずる反応混合物を室温において 4 2 時間攪拌した。水 ( 1 0 0 m l ) を添加し、この混合物をジエチルエーテル ( 1 0 0 m l ) で洗浄した。濃塩酸の添加により pH を 1 に調節し、沈澱を濾過し、水で洗浄し、5 0 において真空乾燥すると、0 . 6 g ( 4 7 % ) の標題化合物が固体として得られた。

M . p . : 2 2 7 - 2 2 8

C<sub>14</sub> H<sub>9</sub> N O<sub>6</sub> S N a , 0 . 5 H<sub>2</sub> O としての計算値 ;

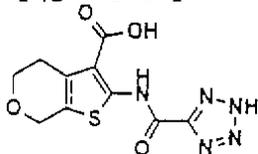
C , 4 8 . 0 1 % ; H , 2 . 5 9 % ; N , 4 . 0 0 % .

測定値 ; C , 4 8 . 3 9 % ; H , 2 . 9 3 % ; N , 3 . 9 3 % .

【 0 4 6 6 】

実施例 1 0 0

## 【化 1 2 8】



2 - ( ( 2 - H - テトラゾル - 5 - カルボニル ) アミノ ) - 4 , 7 - ジヒドロ - 5 H - チエノ [ 2 , 3 - c ] ピラン - 3 - カルボン酸 :

## 【 0 4 6 7 】

- 20 に冷却した N, N - ジメチルホルムアミド ( 1 . 6 m l ) およびアセトニトリル ( 5 m l ) の混合物に、アセトニトリル ( 1 m l ) 中の塩化オキサリル ( 0 . 8 g 、 6 . 3 1 m m o l ) の混合物を滴下した。生ずる混合物を 1 5 分間攪拌し、テトラゾール - 5 - カルボン酸二カリウム塩 ( 1 g 、 5 . 2 5 m m o l 、 J . M e d . C h e m . 2 9 : 5 3 8 - 5 4 9 ( 1 9 8 6 ) に記載されているようにして製造した ) を添加し、生ずる混合物をさらに 2 0 分間攪拌した。

## 【 0 4 6 8 】

この混合物に、2 - アミノ - 4 , 5 - ジヒドロ - 7 H - チエノ [ 2 , 3 - c ] ピラン - 3 - カルボン酸 t - ブチルエステル ( 1 . 3 g 、 5 . 2 5 m m o l ) 、ピリジン ( 2 . 2 m l ) およびアセトニトリル ( 2 . 5 m l ) の溶液を 2 時間かけて滴下した。反応混合物を室温に到達させ、次いでそれを還流温度に 0 . 5 時間加熱した。冷却した混合物を水 ( 1 0 0 m l ) 中に注ぎ、濃塩酸の添加により pH を 1 に調節した。沈澱を濾過し、ヘプタンで洗浄し、50 において 1 8 時間真空乾燥すると、1 . 3 g ( 7 0 % ) の 2 - ( ( 1 H - テトラゾール - 5 - カルボニル ) アミノ ) - 4 , 5 - ジヒドロ - 5 H - チエノ [ 2 , 3 - c ] ピラン - 3 - カルボン酸 t - ブチルエステルが固体として得られた。

## 【 0 4 6 9 】

上記 t - ブチルエステル ( 0 . 6 g 、 1 . 7 1 m m o l ) をジクロロメタン ( 5 m l ) 中に溶解し、トリフルオロ酢酸 ( 5 m l ) を添加した。生ずる反応混合物を室温において 4 0 分間攪拌した。揮発性物質を真空蒸発させ、残留物にジエチルエーテル ( 5 0 m l ) 、水 ( 2 5 m l ) および 1 N 水酸化ナトリウム ( 2 m l ) を添加した。相を分離し、水相をジエチルエーテル ( 5 0 m l ) で洗浄し、濃塩酸の添加により pH を 1 に調節した。沈澱を濾過し、水 ( 2 5 m l ) で洗浄し、50 において 1 8 時間真空乾燥すると、1 8 0 m g ( 3 8 % ) の標題化合物が固体として得られた。

M . p . : > 2 5 0

C<sub>10</sub>H<sub>9</sub>N<sub>5</sub>O<sub>4</sub>S, 0 . 2 5 x H<sub>2</sub>O としての計算値 ;

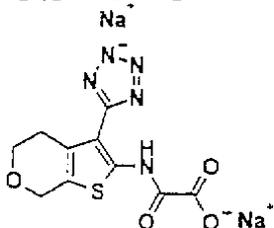
C, 4 0 . 0 7 % ; H, 3 . 1 9 % ; N, 2 3 . 3 6 % .

測定値 ; C, 4 0 . 3 9 % ; H, 3 . 1 8 % ; N, 2 2 . 9 2 % .

## 【 0 4 7 0 】

実施例 1 0 1

## 【化 1 2 9】



N - ( 3 - ( 2 H - テトラゾル - 5 - イル ) - 4 , 7 - ジヒドロ - 5 H - チエノ [ 2 , 3 - c ] ピラジン - 2 - イル ) オキサリルミン酸 ・ ニナトリウム塩 :

2 - アミノ - 4 , 5 - ジヒドロ - 7 H - チエノ [ 2 , 3 - c ] ピラン - 3 - カルボン酸エチルエステル ( 2 6 g 、 0 . 1 1 4 m o l ) をホルムアミド ( 2 0 0 m l ) 中に溶解し、生ずる混合物を還流温度において 1 . 5 時間攪拌した。室温に冷却した後、沈澱

を濾過し、水(2×80 ml)で洗浄し、50において18時間真空乾燥すると、10.0 g(42%)の5,6-ジヒドロ-8H-ピラノ[4',3':4,5]チエノ[2,3-d]ピリミジン-4-オンが固体として得られた。

【0471】

オキシ塩化リン(70 ml)に、上記ピリミジン-4-オン(7.0 g、0.04 mol)およびN,N-ジメチルホルムアミド(0.2 ml)を添加した。生ずる混合物を還流温度において2時間加熱し、氷水(700 ml)上に注いだ。沈澱を濾過し、酢酸エチル(400 ml)および水(250 ml)の混合物中に懸濁させ、15分間搅拌した。水相を濾過し、有機相を飽和塩化ナトリウム水溶液(100 ml)で洗浄し、乾燥(MgSO<sub>4</sub>)し、濾過し、真空蒸発させると、5.2 g(68%)の4-クロロ-5,6-ジヒドロ-8H-ピラノ[4',3':4,5]チエノ[2,3-d]ピリミジンが固体として得られた。

【0472】

エタノール(40 ml)中の上記チエノ-ピリミジン(4.5 g、0.02 mol)の加温溶液に、エタノール(20 ml)中のヒドラゾンハイドレート(10.0 ml)の溶液を滴下した。生ずる溶液を2時間加熱還流させ、室温に冷却し、沈澱を濾過し、エタノール(20 ml)で洗浄し、50において1.5時間真空乾燥すると、3.2 g(73%)の5,6-ジヒドロ-8H-ピラノ[4',3':4,5]チエノ[2,3-d]ピリミジン-4-イルヒドラジンが固体として得られた。

【0473】

氷浴の中で冷却した50%水性酢酸(100 ml)中のヒドラジン(3.0 g、0.014 mol)の溶液に、水(10 ml)中の亜硝酸ナトリウム(1.0 g、0.015 mol)の溶液を滴下した。反応混合物を2時間搅拌し、沈澱を濾過し、水(25 ml)で洗浄し、50において1時間真空乾燥すると、3.0 g(95%)の10,11-ジヒドロ-8H-ピラノ[4',3':4,5]チエノ[3,2-e]テトラゾロ[5,1-c]ピリミジンが固体として得られた。

【0474】

ジオキサン(30 ml)中の上記テトラゾロ(2.5 g)の溶液に、1N水酸化ナトリウム(25 ml)を滴下した。反応混合物を3時間搅拌し、氷水(100 ml)中に注ぎ、酢酸の添加によりpHを4調節した。沈澱を濾過し、水(25 ml)で洗浄し、50において18時間真空乾燥すると、2.2 g(82%)のN-(3-(2H-テトラゾル-5-イル)-4,7-ジヒドロ-5H-チエノ[2,3-c]ピラジン-2-イル)ホルムアミドが固体として得られた。

【0475】

上記ホルムアミド(0.6 g、2.7 mmol)を乾燥テトラヒドロフラン(50 ml)中に溶解し、トリエチルアミン(1 ml)を添加した。生ずる混合物に氷浴の中で冷却し、これに乾燥テトラヒドロフラン(5 ml)中のエチルオキサリルクロライド(0.4 g、2.98 mmol)の溶液を滴下した。生ずる反応混合物を室温において2時間搅拌し、揮発性物質を真空蒸発させた。残留物に水(50 ml)、ジエチルエーテル(50 ml)および1N塩酸をpH=2に添加し、小さい沈澱を濾過した。有機相を分離し、乾燥(Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>)し、濾過し、真空蒸発させた。残留物(0.4 g)をジクロロメタン(20 ml)中に懸濁させ、1時間搅拌し、固体物質を濾過し、50において真空乾燥すると、0.16 g(18%)のN-(3-(2H-テトラゾル-5-イル)-4,7-ジヒドロ-5H-チエノ[2,3-c]ピラジン-2-イル)オキサリルミン酸エチルエステルが固体として得られた。

【0476】

エタノール(15 ml)中の上記オキサリルミン酸エチルエステル(0.16 g、0.49 mmol)の溶液に、1N水酸化ナトリウム(1.0 ml, 1.01 mmol)を添加した。生ずる反応混合物を室温において2時間搅拌した。沈澱を濾過し、エタノール(10 ml)で洗浄し、50において48時間真空乾燥すると、40 mg(83%)

の標題化合物が固体として得られた。

M . p . : > 2 5 0

$C_{10}H_9N_5O_4SNa_2$  ,  $3 \times H_2O$  としての計算値 ;

C , 30.54 % ; H , 3.33 % ; N , 17.81 % .

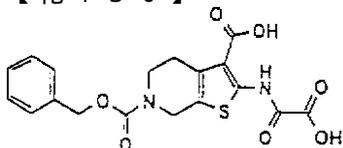
測定値 ; C , 30.70 % ; H , 3.35 % ; N , 17.49 % .

【 0 4 7 7 】

実施例 8 1 に記載する方法に類似する方法において、下記の化合物を製造した。

実施例 1 0 2

【 化 1 3 0 】



2 - ( オキサリル - アミノ ) - 4 , 7 - ジヒドロ - 5 H - チエノ [ 2 , 3 - c ] ピリジン - 3 , 6 - ジカルボン酸 6 - ベンジルエステル :

M . p . : > 2 5 0

$C_{18}H_{16}N_2O_7S$  としての計算値 ;

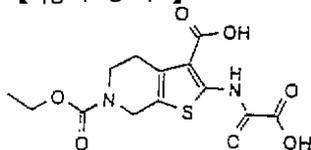
C , 53.46 % ; H , 3.99 % ; N , 6.93 % .

測定値 ; C , 53.44 % ; H , 4.15 % ; N , 6.69 % .

【 0 4 7 8 】

実施例 1 0 3

【 化 1 3 1 】



2 - ( オキサリル - アミノ ) - 4 , 7 - ジヒドロ - 5 H - チエノ [ 2 , 3 - c ] ピリジン - 3 , 6 - ジカルボン酸 6 - エチルエステル :

M . p . : 2 4 5 - 2 4 7

$C_{13}H_{14}N_2O_7S$  としての計算値 ;

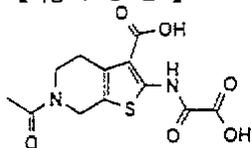
C , 45.61 % ; H , 4.12 % ; N , 8.18 % .

測定値 ; C , 45.71 % ; H , 4.31 % ; N , 7.86 % .

【 0 4 7 9 】

実施例 1 0 4

【 化 1 3 2 】



6 - アセチル - 2 - ( オキサリル - アミノ ) - 4 , 5 , 6 , 7 - テトラヒドロ - チエノ [ 2 , 3 - c ] ピリジン - 3 - カルボン酸 :

M . p . : 2 4 2 - 2 4 4

$C_{12}H_{12}N_2O_6S$  ,  $0.25 \times H_2O$  としての計算値 ;

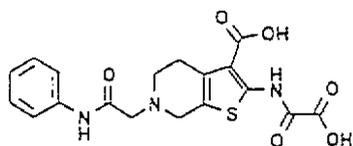
C , 45.50 % ; H , 3.98 % ; N , 8.84 % .

測定値 ; C , 45.64 % ; H , 3.97 % ; N , 8.51 % .

【 0 4 8 0 】

実施例 1 0 5

【 化 1 3 3 】



2 - ( オキサリル - アミノ ) - 6 - フェニルカルバモイルメチル - 4 , 5 , 6 , 7 - テトラヒドロ - チエノ [ 2 , 3 - c ] クロメン - 3 - カルボン酸 :

M . p . : 2 4 2 - 2 4 6

C<sub>18</sub> H<sub>17</sub> N<sub>3</sub> O<sub>6</sub> S , 1 x H<sub>2</sub> O としての計算値 ;

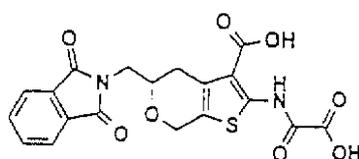
C , 5 1 . 3 0 % ; H , 4 . 5 4 % ; N , 9 . 9 7 % .

測定値 ; C , 5 1 . 0 8 % ; H , 4 . 5 2 % ; N , 9 . 6 3 % .

【 0 4 8 1 】

実施例 1 0 6

【 化 1 3 4 】



5 - ( 1 , 3 - ジオキソ - 1 , 3 - ジヒドロ - イソインドール - 2 - イル - メチル ) - 2 - ( オキサリル - アミノ ) - 4 , 7 - ジヒドロ - 5 H - チエノ [ 2 , 3 - c ] ピリジン - 3 - カルボン酸

【 0 4 8 2 】

ベンゼン ( 8 0 m l ) 中のベンジルオキシアセトアルデヒド ( 8 . 3 g 、 0 . 0 6 m o l ) の混合物に、1 - メトキシ - 3 - トリメチルシリルオキシ - 1 , 3 - ブタジエン ( 1 0 . 6 g 、 0 . 0 6 m o l ) を添加した。反応混合物を窒素雰囲気下に 1 5 分間攪拌し、0 に冷却し、0 . 2 M 塩化亜鉛 ( 5 5 m l 、 0 . 0 3 m l ) の溶液を滴下した。反応混合物を 1 6 時間かけて室温に放温した。生ずる油を酢酸エチル ( 1 0 0 m l ) で希釈し、1 N 塩酸 ( 3 x 5 0 m l ) で洗浄し、飽和重炭酸ナトリウム溶液 ( 3 x 5 0 m l ) 、ブライン ( 3 x 5 0 m l ) で洗浄し、乾燥 ( M g S O<sub>4</sub> ) し、真空蒸発させた。

【 0 4 8 3 】

生ずる油をフラッシュクロマトグラフィーにかけ、酢酸エチル / ヘキサン ( 1 : 2 ) を溶離剤として使用した。純粋な画分を収集し、真空蒸発後、7 . 1 g ( 6 0 % ) のベンジルオキシメチル - 2 , 3 - ジヒドロ - ピラン - 4 - オンが油として得られた。

<sup>1</sup> H N M R ( 4 0 0 M H z , C D C l<sub>3</sub> ) 7 . 3 9 - 7 . 3 1 ( m , 6 H ) , 5 . 4 2 ( d d , J = 6 . 1 H z , 1 H ) , 4 . 6 1 ( d , J = 3 H z , 1 H ) , 4 . 5 7 ( m , 1 H ) , 3 . 7 0 ( m , 2 H ) , 2 . 7 4 ( d d , J = 1 7 H z , 1 4 H z , 1 H ) , 2 . 4 1 ( d d d , J = 1 7 H z , 2 H z , 1 H z , 1 H ) .

【 0 4 8 4 】

酢酸エチル ( 5 0 m l ) 中の上記 2 , 3 - ジヒドロ - ピラン - 4 - オン ( 7 . 1 g 、 0 . 0 3 2 m o l ) および 1 0 % 炭素担持パラジウム ( 0 . 4 g ) をパール ( P a r r ) ボンベ震盪機中に入れ、3 0 p s i において水素化した。反応混合物を 2 時間震盪し、この時 T L C 分析 ( メタノール / ジクロロメタン 1 : 9 ) により反応の完結が示された。反応混合物をシリカのパッドを通して濾過し、揮発性物質を真空蒸発させた。残留物をフラッシュカラムクロマトグラフィーにかけ、酢酸エチルを溶離剤として使用した。純粋な画分を収集すると、3 . 0 g ( 7 5 % ) の 2 - ヒドロキシメチル - テトラヒドロ - ピラン - 4 - オンが固体として得られた。

<sup>1</sup> H N M R ( 4 0 0 M H z , C D C l<sub>3</sub> ) 4 . 3 6 - 4 . 2 9 ( m , 1 H ) , 3 . 7 7 - 3 . 6 6 ( m , 3 H ) , 3 . 6 1 - 3 . 5 4 ( m , 1 H ) , 2 . 6 5 - 2 . 4

3 (m, 2H), 2.34 - 2.27 (m, 2H), 2.04 (bs, 1H, CH<sub>2</sub>OH).

**【0485】**

上記テトラヒドロ - ピラン - 4 - オン (1.90 g, 0.015 mol)、t - ブチルシアノアセテート (2.7 g, 0.019 mol)、硫黄 (0.51 g, 0.016 mol) およびモルホリン (2.55 ml, 0.03 mol) を無水エタノール (20 ml) 中に溶解し、50 °C に16時間加熱した。反応混合物を冷却し、濾過し、濾液を真空蒸発させた。生ずる油を酢酸エチル (50 ml) 中に溶解し、水 (2 × 50 ml)、ブライン (2 × 50 ml) で洗浄し、乾燥 (MgSO<sub>4</sub>) した。

**【0486】**

溶媒を真空蒸発させ、残留物をフラッシュカラムクロマトグラフィーにかけ、酢酸エチル / ヘキサン (1 : 1) を溶離剤として使用した。純粋な画分を収集し、真空蒸発後、3.7 g (90%) の2 - アミノ - 5 - ヒドロキシメチル - 4, 7 - ジヒドロ - 5 H - チエノ [2, 3 - c] ピラン - 3 - カルボン酸 t - ブチルエステルが固体として得られた。

<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) 4.64 (s, 2H), 3.80 - 3.67 (m, 3H), 2.77 - 2.72 (m, 1H), 2.57 - 2.53 (m, 1H), 1.54 (s, 9H).

**【0487】**

上記カルボン酸 t - ブチルエステル (3.0 g, 0.015 mol)、フタルイミド (2.10 g, 0.014 mol) およびトリフェニルホスフィン (3.68 g, 0.014 mol) を乾燥テトラヒドロフラン (60 ml) 中に溶解し、窒素雰囲気下にて0 °C に冷却した。ジイソプロピルアゾジカルボキシレート (DIAD) (2.71 ml, 0.014 mol) を0 °C においてを滴下し、この溶液を一夜攪拌し、室温にゆっくり放温した。揮発性物質を真空蒸発させ、生ずる固体を酢酸エチル (60 ml) 中に溶解した。有機相をブライン (2 × 50 ml) で洗浄し、乾燥 (MgSO<sub>4</sub>) し、真空蒸発させた。残留物をフラッシュカラムクロマトグラフィーにかけ、最初に酢酸エチル / ヘキサン (1 : 3) を溶離剤として使用した。

**【0488】**

生成物がいったん溶離し始めると、溶離混合物を酢酸エチル / ヘキサン (1 : 2) に切り替えた。純粋な画分を収集し、真空蒸発後、2.90 g (47%) の2 - アミノ - 5 - (1, 3 - ジオキソ - 1, 3 - ジヒドロ - イソインドール - 2 - イルメチル) - 4, 7 - ジヒドロ - 5 H - チエノ [2, 3 - c] ピラン - 3 - カルボン酸 t - ブチルエステルが固体として得られた。

<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) 7.87 - 7.85 (m, 2H), 7.83 - 7.71 (m, 2H), 5.94 (bs, 2H), 4.59 (d, J = 14 Hz, 1H), 4.52 (d, J = 14 Hz, 1H), 4.0 - 3.98 (m, 2H), 3.83 - 3.79 (m, 1H), 2.87 (d, J = 17 Hz, 1H), 2.58 (dd, J = 17 Hz, 9 Hz, 1H), 1.50 (s, 9H).

**【0489】**

ジクロロメタン (5 ml) 中の上記4, 7 - ジヒドロ - 5 H - チエノ [2, 3 - c] ピラン - 3 - カルボン酸 t - ブチルエステル (0.5 g, 1.2 mmol) に、窒素雰囲気下にトリエチルアミン (0.33 ml, 2.4 mmol) およびイミダゾル - 1 - イル - オキソ - 酢酸 t - ブチルエステル (0.47 g, 2.4 mmol) を添加した。反応混合物を室温において18時間攪拌した。揮発性物質を真空蒸発させ、固体残留物を酢酸エチル (20 ml) 中に溶解した。有機相を1%塩酸 (2 × 10 ml)、ブライン (2 × 10 ml) で洗浄し、乾燥 (MgSO<sub>4</sub>) した。

**【0490】**

有機相を真空蒸発させると、0.64 g (99%) の2 - (t - ブトキシオキサリル - アミノ) - 5 - (1, 3 - ジオキソ - 1, 3 - ジヒドロ - イソインドール - 2 - イ

ルメチル) - 4, 7 - ジヒドロ - 5H - チエノ[2, 3 - c]ピラン - 3 - カルボン酸 t - ブチルエステルが固体として得られた。

$^1\text{H NMR}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) 12.48 (s, 1H, NHCO), 7.88 - 7.86 (m, 2H), 7.74 - 7.72 (m, 2H), 4.78 (d,  $J = 19\text{ Hz}$ , 1H), 4.65 (d,  $J = 19\text{ Hz}$ , 1H), 4.07 - 3.90 (m, 2H), 3.88 - 3.80 (m, 1H), 2.97 (d,  $J = 17\text{ Hz}$ , 1H), 2.68 (dd,  $J = 17\text{ Hz}$ ,  $9\text{ Hz}$ , 1H), 1.58 (s, 9H), 1.54 (s, 9H) .

【0491】

上記 t - ブチルエステル (2.8 g、5.16 mol) をトリフルオロ酢酸およびジクロロメタン (1 : 5) の混合物 (36 ml) 中に溶解した。反応を室温において 6 時間撹拌した。沈澱を濾過し、ジエチルエーテルで洗浄し、50 において真空乾燥すると、1.26 g (57%) の標題化合物が固体として得られた。

M. p. : 245.2 - 245.6 .

$^1\text{H NMR}$  (300 MHz,  $\text{DMSO}-d_6$ ) 12.32 (s, 1H, NHCO), 7.95 - 7.80 (m, 4H), 4.75 (d,  $J = 20\text{ Hz}$ , 1H), 4.62 (d,  $J = 20\text{ Hz}$ , 1H), 3.96 - 3.69 (m, 3H), 3.01 (d,  $J = 18\text{ Hz}$ , 1H), 2.60 (dd,  $J = 18\text{ Hz}$ ,  $9\text{ Hz}$ , 1H) .

$\text{C}_{19}\text{H}_{14}\text{N}_2\text{O}_8\text{S}$  としての計算値 ;

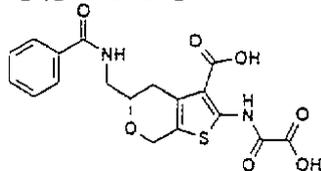
C, 53.02% ; H, 3.28% ; N, 6.51% .

測定値 ; C, 53.01% ; H, 3.31% ; N, 6.41% .

【0492】

#### 実施例 107

【化 135】



6 - (ベンゾイルアミノ - メチル) - 2 - (オキサリル - アミノ) - 4, 7 - ジヒドロ - 5H - チエノ[2, 3 - c]ピラン - 3 - カルボン酸 :

2 - (t - ブトキシオキサリル - アミノ) - 5 - (1, 3 - ジオキソ - 1, 3 - ジヒドロ - イソインドール - 2 - イルメチル) - 4, 7 - ジヒドロ - 5H - チエノ[2, 3 - c]ピラン - 3 - カルボン酸を、エタノール (2 ml) およびジクロロメタン (3 ml) の溶液中に溶解した。

【0493】

ヒドラジン (28  $\mu\text{l}$ 、0.9 mmol) を添加し、反応を窒素雰囲気下に室温において 24 時間撹拌した。TLC 分析により、出発物質がまだ存在することが示された。ヒドラジンの追加の部分 (28  $\mu\text{l}$ 、0.9 mmol) を添加し、反応を室温において 16 時間撹拌し、次いで 45 において 5 時間撹拌した。この混合物を真空濃縮し、ジクロロメタン中に再溶解し、不溶性物質を濾過した。濾液を収集し、真空濃縮すると、粗製 5 - アミノメチル - 2 - (t - ブトキシオキサリル - アミノ) - 4, 7 - ジヒドロ - 5H - チエノ[2, 3 - c]ピラン - 3 - カルボン酸 t - ブチルエステルが固体として得られ、これをそれ以上精製しないで次の工程において使用した。

【0494】

上記粗製 5H - チエノ[2, 3 - c]ピラン - 3 - カルボン酸 t - ブチルエステル (0.25 g、0.60 mmol) を、ジクロロメタンおよびアセトニトリル (1 : 1、5 ml) 中に懸濁させた。トリエチルアミン (0.25 ml、1.8 mmol) を添加し、次いで 1 - ヒドロキシ - ベンゾトリアゾールハイドレート (0.10 g、0.72 mmol) および 1 - (3 - ジメチルアミノプロピル) - 3 - エチルカーボジイミド塩

酸塩 (0.14 g、0.72 mmol) を固体として添加した。不均質反応混合物を室温において2時間攪拌し、その後この混合物は均質であった。

【0495】

溶媒を真空蒸発させ、残留物をジクロロメタン中に溶解し、1 M塩酸で2回洗浄し、次いで飽和重炭酸ナトリウム溶液で洗浄した。有機相を乾燥 (Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) し、濾過し、真空濃縮すると、固体が得られ、これをフラッシュクロマトグラフィーにより精製し、酢酸エチル/ヘキサン (1:1) 混合物を溶離剤として使用した。純粋な画分を収集し、真空蒸発させると、50 mg (2工程にわたって16%) の5-(ベンゾイルアミノ-メチル)-4,7-ジヒドロ-5H-チエノ[2,3-c]ピラン-3-カルボン酸 t-ブチルエステルが固体として得られた。

<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) 12.46 (s, 1H), 7.81 (d, J = 7 Hz, 2H), 7.51 - 7.42 (m, 3H), 6.72 (bs, 1H), 4.83 (d, J = 17 Hz, 1H), 4.74 (d, J = 17 Hz, 1H), 4.05 - 3.98 (m, 1H), 3.86 - 3.78 (m, 1H), 3.45 - 3.38 (m, 1H), 2.97 (d, J = 19 Hz, 1H), 2.68 (dd, J = 19 Hz, 9 Hz, 1H), 1.61 (s, 9H), 1.58 (s, 9H).

【0496】

上記ベンゾイルアミノ-メチル-チエノ[2,3-c]ピラン (40 mg、0.078 mmol) を、ジクロロメタン (2 ml) 中の2%トリフルオロ酢酸で4時間処理した。揮発性物質を真空蒸発させ、ジクロロメタンで粉砕すると、沈澱が形成し、これを濾過し、乾燥すると、30 mg (95%) の標題化合物が固体として得られた。

<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) 12.31 (s, 1H), 8.63 (t, J = 4 Hz, 1H), 7.86 (d, J = 7 Hz, 2H), 7.51 - 7.43 (m, 3H), 4.80 (d, J = 17 Hz, 1H), 4.64 (d, J = 17 Hz, 1H), 3.82 (m, 1H), 3.44 (m, 2H), 2.95 (d, J = 18, 1H), 2.52 (dd, J = 18 Hz, 9 Hz, 1H).

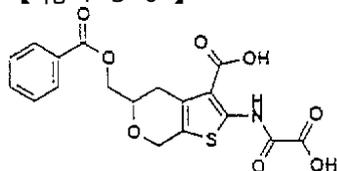
LC/MS [M-H]: 403.39.

HPLC (254.4 nm): 2.99 s, 84%.

【0497】

実施例 108

【化136】



5-ベンゾイルオキシメチル-2-(オキサリル-アミノ)-4,7-ジヒドロ-5H-チエノ[2,3-c]ピラン-3-カルボン酸:

【0498】

2-アミノ-5-ヒドロキシメチル-4,7-ジヒドロ-5H-チエノ[2,3-c]ピラン-3-カルボン酸 t-ブチルエステル (0.23 g、0.87 mmol)、安息香酸 (0.10 g、0.96 mmol) およびトリエチルアミン (0.23 ml、1.7 mmol) をジクロロメタン (4 ml) 中に溶解し、窒素雰囲気下に攪拌した。1-(3-ジメチルアミノプロピル)-3-エチルカーボジイミド塩酸塩 (0.17 g、0.96 mmol) および1-ヒドロキシベンゾトリアゾールハイドレート (0.12 g、0.96 mmol) を固体として添加した。反応混合物を室温において2日間攪拌し、次いで溶媒を真空蒸発させた。粗製混合物を酢酸エチル中に溶解し、1 N塩酸、飽和重炭酸ナトリウム溶液、ブラインで洗浄し、乾燥 (Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) した。

【0499】

溶媒を真空蒸発させると、黄色固体が得られ、これをフラッシュクロマトグラフィーにより精製し、酢酸エチル/ヘキサン(1:1)混合物を溶離剤として使用した。純粋な画分を収集し、真空蒸発させると、0.22g(70%)の2-アミノ-5-ベンゾイルオキシメチル-4,7-ジヒドロ-5H-チエノ[2,3-c]ピラン-3-カルボン酸t-ブチルエステルが固体として得られた。

$^1\text{H NMR}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) 8.06 (d,  $J = 7\text{ Hz}$ , 2H), 7.55 (t,  $J = 7\text{ Hz}$ , 1H), 7.42 (t,  $J = 7\text{ Hz}$ , 2H), 4.64 (s, 2H), 4.44 (d,  $J = 5\text{ Hz}$ , 2H), 4.03 - 3.97 (m, 1H), 2.88 (d,  $J = 18\text{ Hz}$ , 1H), 2.64 (dd,  $J = 17\text{ Hz}$ , 10 Hz, 1H), 1.50 (s, 9H).

LC/MS [M+H]: 390.48

【0500】

乾燥テトラヒドロフラン(5 ml)中に溶解した上記カルボン酸t-ブチルエステル(0.18g、0.45 mmol)に、窒素雰囲気下にトリエチルアミン(0.18 ml、1.4 mmol)およびイミダゾール-1-イル-オキシ-酢酸t-ブチルエステル(0.26g、1.4 mmol)を添加した。反応混合物を室温において3時間攪拌した。揮発性物質を真空蒸発させ、生ずる固体を酢酸エチル(10 ml)中で再構成した。有機層を1%塩酸(2 x 10 ml)、ブライン(2 x 10 ml)で洗浄し、乾燥( $\text{Na}_2\text{SO}_4$ )し、濾過し、溶媒を真空蒸発させた。

【0501】

生ずる油をフラッシュクロマトグラフィーにより精製し、酢酸エチル/ヘキサン(1:1)混合物を溶離剤として使用すると、0.20g(90%)の5-ベンゾイルオキシメチル-2-(t-ブトキシオキサリル-アミノ)-4,7-ジヒドロ-5H-チエノ[2,3-c]ピラン-3-カルボン酸t-ブチルエステルが固体として得られた。

$^1\text{H NMR}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) 8.07 (d,  $J = 7\text{ Hz}$ , 2H), 7.56 (t,  $J = 7\text{ Hz}$ , 1H), 7.44 (t,  $J = 7\text{ Hz}$ , 2H), 4.85 (d,  $J = 15\text{ Hz}$ , 1H), 4.77 (d,  $J = 15\text{ Hz}$ , 1H), 4.49 (d,  $J = 5\text{ Hz}$ , 2H), 4.03 - 3.99 (m, 1H), 2.99 (d,  $J = 17\text{ Hz}$ , 1H), 2.72 (dd,  $J = 17\text{ Hz}$ , 11 Hz, 1H), 1.58 (s, 9H), 1.60 (s, 9H).

【0502】

上記t-ブチルエステル(0.15g、0.29 mmol)をジクロロメタン(3 ml)中の20%トリフルオロ酢酸中に溶解した。直ちに溶液は暗いオレンジ色化し、これは急速に赤色となった。反応を室温において1.5時間攪拌した。揮発性物質を真空蒸発させると、褐色固体が得られ、これをジエチルエーテルおよび水で2回洗浄した。生ずる固体を真空乾燥すると、30mg(25%)の標題化合物が固体として得られた。

$^1\text{H NMR}$  (400 MHz,  $\text{DMSO}-d_6$ ) 12.40 (s, 1H), 7.98 (d,  $J = 7\text{ Hz}$ , 2H), 7.67 (t,  $J = 7\text{ Hz}$ , 1H), 7.54 (t,  $J = 7\text{ Hz}$ , 2H), 4.83 (d,  $J = 15\text{ Hz}$ , 1H), 4.70 (d,  $J = 15\text{ Hz}$ , 1H), 4.44 (d,  $J = 5\text{ Hz}$ , 2H), 4.02 - 3.99 (m, 1H), 2.99 (d,  $J = 16\text{ Hz}$ , 1H), 2.70 (dd,  $J = 16\text{ Hz}$ , 9 Hz, 1H).

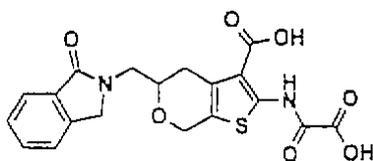
LC/MS [M-H]: 404.05.

HPLC (254.4 nm): 7.16 s, 90%.

【0503】

実施例109

【化137】



2 - ( オキサリル - アミノ ) - 5 - ( 1 - オキソ - 1 , 3 - ジヒドロ - イソインドール - 2 - イルメチル ) - 4 , 7 - ジヒドロ - 5 H - チエノ [ 2 , 3 - c ] ピラン - 3 - カルボン酸 :

【0504】

無水エタノール ( 5 m l ) 中の 2 - アミノ - 5 - ( 1 , 3 - ジオキソ - 1 , 3 - ジヒドロ - イソインドール - 2 - イルメチル ) - 4 , 7 - ジヒドロ - 5 H - チエノ [ 2 , 3 - c ] ピラン - 3 - カルボン酸 t - ブチルエステル ( 0 . 3 0 8 g 、 1 . 4 8 m m o l ) の溶液に、ヒドラジン ( 4 7  $\mu$  l 、 1 . 4 8 m m o l ) を添加した。反応を 8 0 において 4 時間攪拌し、次いで室温においてさらに 1 2 時間攪拌した。形成した沈澱を濾過し、濾液を真空濃縮した。油状残留物にジクロロメタン ( 1 5 m l ) を添加し、形成した沈澱を濾過した。濾液を真空濃縮すると、0 . 1 9 g ( 9 0 % ) の 2 - アミノ - 5 - アミノメチル - 4 , 7 - ジヒドロ - 5 H - チエノ [ 2 , 3 - c ] ピラン - 3 - カルボン酸 t - ブチルエステルが固体として得られた。

$^1$ HNMR ( 4 0 0 M H z , C D C l <sub>3</sub> ) 5 . 9 1 ( b s , 2 H ) , 4 . 6 2 ( s , 2 H ) , 3 . 6 4 - 3 . 6 0 ( m , 1 H ) , 2 . 9 2 - 2 . 8 4 ( m , 2 H ) , 2 . 8 0 - 2 . 7 5 ( m , 1 H ) , 2 . 5 2 - 2 . 4 5 ( m , 1 H ) , 1 . 5 3 ( s , 9 H ) .

LC - MS [ M + H ] <sup>+</sup> : 2 8 5

【0505】

フタルジカルボキシアルデヒド ( 5 2 m g 、 0 . 3 6 m m o l ) を無水アセトニトリル ( 2 m l ) および酢酸 ( 4 4  $\mu$  l 、 0 . 7 2 m m o l ) の混合物中に溶解した。上記 2 - アミノ - 5 - アミノメチル - 4 , 7 - ジヒドロ - 5 H - チエノ [ 2 , 3 - c ] ピラン - 3 - カルボン酸 t - ブチルエステル ( 0 . 1 1 g 、 0 . 3 6 m m o l ) を添加し、反応を室温において 2 0 分間攪拌した。揮発性物質を真空蒸発させ、残留物を酢酸エチル ( 2 5 m l ) 中に溶解した。有機混合物を飽和重炭酸ナトリウム溶液 ( 5 m l ) 、 1 % 塩酸 ( 5 m l ) 、 ブライン ( 5 m l ) で洗浄し、乾燥 ( N a <sub>2</sub> S O <sub>4</sub> ) し、濾過し、真空蒸発させた。

【0506】

残留物をクロマトグラフィーにより精製し、1 5 % 酢酸エチル / ジクロロメタン ~ 1 7 % 酢酸エチル / ジクロロメタンの勾配を溶離剤として使用すると、4 5 m g ( 3 0 % ) の 2 - アミノ - 5 - ( 1 - オキソ - 1 , 3 - ジヒドロ - イソインドール - 2 - イルメチル ) - 4 , 7 - ジヒドロ - 5 H - チエノ [ 2 , 3 - c ] ピラン - 3 - カルボン酸 t - ブチルエステルが固体として得られた。

$^1$ HNMR ( 4 0 0 M H z , C D C l <sub>3</sub> ) 7 . 8 5 ( d , J = 7 H z , 1 H ) , 7 . 5 3 ( t , J = 7 H z , 1 H ) , 7 . 4 7 - 7 . 4 3 ( m , 2 H ) , 4 . 6 8 ( d , J = 1 7 H z , 1 H ) , 4 . 5 8 - 4 . 5 1 ( m , 3 H ) , 3 . 9 9 ( d d , J = 1 4 H z , 3 H z , 1 H ) , 3 . 9 3 - 3 . 8 9 ( m , 1 H ) , 3 . 6 6 - 3 . 6 1 ( m , 1 H ) , 2 . 8 8 ( d , J = 1 7 H z , 1 H ) , 2 . 5 5 ( d d , J = 1 7 H z , 1 1 H z , 1 H ) , 1 . 5 2 ( s , 9 H ) .

【0507】

無水ジクロロメタン ( 4 m l ) 中の 2 - アミノ - 5 - ( 1 - オキソ - 1 , 3 - ジヒドロ - イソインドール - 2 - イルメチル ) - 4 , 7 - ジヒドロ - 5 H - チエノ [ 2 , 3 - c ] ピラン - 3 - カルボン酸 t - ブチルエステル ( 4 5 m g 、 1 . 1 m m o l ) の溶液に、イミダゾル - 1 - イル - オキソ - 酢酸 t - ブチルエステル ( 7 3 m g 、 3 . 3 m m o l ) およびトリエチルアミン ( 1 7  $\mu$  l 、 1 . 1 m m o l ) を添加した。反応を窒素雰囲気下に室温において 5 時間攪拌した。溶媒を真空蒸発させ、粗製物質を酢酸エ

チル ( 2 0 m l ) 中に溶解した。

【 0 5 0 8 】

有機溶液を 0 . 5 N 塩酸 ( 3 m l ) 、飽和重炭酸ナトリウム溶液 ( 3 m l ) 、ブライン ( 5 m l ) で洗浄し、乾燥 (  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  ) し、濾過し、溶媒を真空蒸発させた。残留物をクロマトグラフィーにより精製し、ジクロロメタン ( 1 0 0 % ) 、次いで 1 7 % 酢酸エチル / ジクロロメタンを溶離剤として使用すると、5 4 m g ( 9 1 % ) の 2 - ( t - ブトキシオキサリル - アミノ ) - 5 - ( 1 - オキソ - 1 , 3 - ジヒドロ - イソインドール - 2 - イルメチル ) - 4 , 7 - ジヒドロ - 5 H - チエノ [ 2 , 3 - c ] ピラン - 3 - カルボン酸 t - ブチルエステルが固体として得られた。

【 0 5 0 9 】

$^1\text{H NMR}$  ( 4 0 0 M H z ,  $\text{CDCl}_3$  ) 1 2 . 5 0 ( s , 1 H ) , 7 . 8 4 ( d ,  $J = 8 \text{ Hz}$  , 1 H ) , 7 . 5 3 ( t ,  $J = 7 \text{ Hz}$  , 1 H ) , 7 . 4 7 - 7 . 4 3 ( m , 2 H ) , 4 . 8 1 - 4 . 6 5 ( m , 3 H ) , 4 . 5 3 ( d ,  $J = 1 7 \text{ Hz}$  , 1 H ) , 4 . 0 1 ( d d ,  $J = 1 4 \text{ Hz}$  , 3 H z , 1 H ) , 3 . 9 6 - 3 . 8 9 ( m , 1 H ) , 3 . 6 9 - 3 . 6 2 ( m , 1 H ) , 2 . 9 7 ( d ,  $J = 1 7 \text{ Hz}$  , 1 H ) , 2 . 6 3 ( d d ,  $J = 1 7 \text{ Hz}$  , 1 1 H z , 1 H ) , 1 . 5 9 ( s , 9 H ) , 1 . 5 6 ( s , 9 H ) .

A P C I - M S [ M + H ]  $^+$  : 5 2 9 . 5

【 0 5 1 0 】

上記 2 - ( t - ブトキシオキサリル - アミノ ) - 5 - ( 1 - オキソ - 1 , 3 - ジヒドロ - イソインドール - 2 - イルメチル ) - 4 , 7 - ジヒドロ - 5 H - チエノ [ 2 , 3 - c ] ピラン - 3 - カルボン酸 t - ブチルエステル ( 5 2 m g 、 0 . 0 9 8 m m o l ) を、室温において 5 0 % トリフルオロ酢酸 / ジクロロメタン ( 3 m l ) の溶液で処理した。揮発性物質を真空蒸発させ、残留物をジクロロメタン ( 1 0 m l ) で 3 回粉碎した。形成した固体を濾過し、ジクロロメタンで洗浄すると、2 8 m g ( 7 0 % ) の標題化合物が固体として得られた。

【 0 5 1 1 】

$^1\text{H NMR}$  ( 4 0 0 M H z ,  $\text{DMSO}-d_6$  ) 1 2 . 3 2 ( s , 1 H ) , 7 . 6 9 ( d ,  $J = 8 \text{ Hz}$  , 1 H ) , 7 . 6 1 - 7 . 5 9 ( m , 2 H ) , 7 . 5 1 - 7 . 4 5 ( m , 1 H ) , 4 . 8 1 ( d ,  $J = 1 5 \text{ Hz}$  , 1 H ) , 4 . 6 5 ( d ,  $J = 1 5 \text{ Hz}$  , 1 H ) , 4 . 6 0 ( s , 2 H ) , 3 . 9 5 - 3 . 9 2 ( m , 1 H ) , 3 . 7 5 ( d ,  $J = 5 \text{ Hz}$  , 2 H ) , 2 . 9 4 ( d ,  $J = 1 6 \text{ Hz}$  , 1 H ) , 2 . 5 6 ( d d ,  $J = 1 6 \text{ Hz}$  , 1 0 H z , 1 H ) .

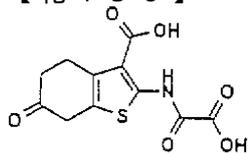
A P C I - M S [ M + H ]  $^+$  : 4 1 7 . 3

H P L C ( 2 5 4 . 4 n m ) : 3 . 0 7 9 s ( 1 0 0 % )

【 0 5 1 2 】

実施例 1 1 0

【 化 1 3 8 】



2 - ( オキサリル - アミノ ) - 6 - オキソ - 4 , 5 , 6 , 7 - テトラヒドロ - ベンゾ [ b ] チオフェン - 3 - カルボン酸 :

2 - ( エトキシオキサリル - アミノ ) - 6 - オキソ - 4 , 5 , 6 , 7 - テトラヒドロ - ベンゾ [ b ] チオフェン - 3 - カルボン酸 ( 3 . 0 g 、 0 . 0 1 3 m m o l ) を、室温において水 ( 4 0 m l ) 、エタノール ( 2 0 m l ) およびテトラヒドロフラン ( 2 0 m l ) の混合物中に溶解した。生ずる混合物に、1 N 水酸化ナトリウム ( 2 0 . 2 4 m l 、 2 0 . 2 4 m m o l ) を添加した。

## 【0513】

生ずる反応混合物を室温において72時間攪拌し、濃塩酸の添加によりpHを3に調節した。沈澱を濾過し、水(2×15ml)、ジエチルエーテル(2×15ml)で洗浄し、真空乾燥すると、1.96g(73%)の標題化合物が固体として得られた。

M.p.: >230

C<sub>11</sub>H<sub>9</sub>NO<sub>6</sub>S についての計算値;

C, 46.64%; H, 3.30%; N, 4.94%.

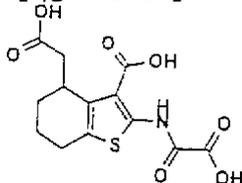
測定値; C, 46.97%; H, 3.30%; N, 5.80%.

## 【0514】

実施例1に記載される手順と同様にして、下記の化合物が製造された。

## 実施例111

## 【化139】



4 - カルボキシメチル - 2 - (オキサリル - アミノ) - 4 , 5 , 6 , 7 - テトラヒドロ - ベンゾ [ b ] チオノフェン - 3 - カルボン酸 :

2 - カルボメトキシメチルシクロヘキサノンは、2 - カルボエトキシ - メチルシクロヘキサノンについて J . A m . C h e m . S o c . 8 1 : 3 9 5 5 - 3 9 5 9 ( 1 9 5 9 ) に記載されているのと同方法で製造した。

M.p.: >250

C<sub>13</sub>H<sub>13</sub>N<sub>1</sub>O<sub>7</sub>S<sub>1</sub>, 0.75H<sub>2</sub>O についての計算値;

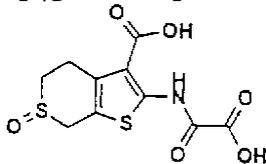
C, 45.81%; H, 4.29%; N, 4.11%.

測定値; C, 45.79%; H, 4.02%; N, 4.08%.

## 【0515】

## 実施例112

## 【化140】



2 - ( オキサリル - アミノ ) - 6 - オキソ - 4 , 7 - ジヒドロ - 5 H - チエノ [ 2 , 3 - c ] チオピラン - 3 - カルボン酸 :

1 - オキソ - 2 , 3 , 5 , 6 - テトラヒドロ - 4 H - チオピラン - 4 - オンは、J . O r g . C h e m . 2 7 : 2 8 2 - 2 8 4 ( 1 9 6 2 ) に記載されているように製造した。

M.p.: >250

C<sub>10</sub>H<sub>9</sub>N<sub>1</sub>O<sub>6</sub>S<sub>2</sub>, 0.2xNaCl についての計算値;

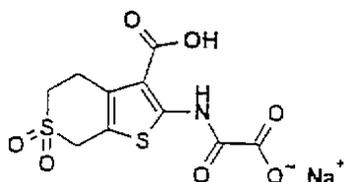
C, 38.13%; H, 2.88%; N, 4.45%.

測定値; C, 37.98%; H, 2.82%; N, 4.29%.

## 【0516】

## 実施例113

## 【化141】



2 - ( オキサリル - アミノ ) - 6 , 6 - ジオキソ - 4 , 7 - ジヒドロ - 5 H - チエノ [ 2 , 3 - c ] チオピラン - 3 - カルボン酸 :

1 , 1 - ジオキソ - 2 , 3 , 5 , 6 - テトラヒドロ - 4 H - チオピラン - 4 - オン  
は、J . Org . Chem . 60 : 1665 - 1673 ( 1965 ) に記載されている  
ように製造した。

M . p . : > 250

C<sub>10</sub>H<sub>8</sub>N<sub>1</sub>O<sub>7</sub>S<sub>2</sub>Na<sub>1</sub> , 1 x H<sub>2</sub>O についての計算値 ;

C , 33.43 % ; H , 2.81 % ; N , 3.90 % .

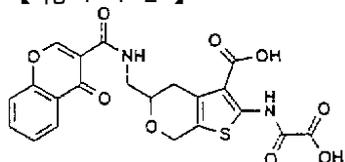
測定値 ; C , 33.43 % ; H , 2.78 % ; N , 3.76 % .

実施例 107 に記載する方法に類似する方法において、下記の化合物を製造した。

【 0517 】

実施例 114

【 化 142 】



2 - ( オキサリル - アミノ ) - 5 - ( ( ( 4 - オキソ - クロメン - 4 H - 3 - カルボ  
ニル ) アミノ ) メチル ) - 4 , 7 - ジヒドロ - 5 H - チエノ [ 2 , 3 - c ] ピラン  
- 3 - カルボン酸 :

【 0518 】

<sup>1</sup>HNMR ( 400 MHz , DMSO - d<sub>6</sub> ) 12.32 ( s , 1 H ) , 9.47  
( t , J = 4 Hz , 1 H ) , 9.08 ( s , 1 H ) , 8.19 ( dd , J = 8 Hz  
, 2 Hz , 1 H ) , 7.90 ( dt , J = 8 Hz , 2 Hz , 1 H ) , 7.78 ( d ,  
J = 8 Hz , 1 H ) , 7.60 ( t , J = 8 Hz , 1 H ) , 4.88 ( d ,  
J = 15 Hz , 1 H ) , 4.70 ( d , J = 15 Hz , 1 H ) , 3.83 - 3.7  
9 ( m , 1 H ) , 3.72 - 3.66 ( m , 1 H ) , 3.55 - 3.48 ( m , 1  
H ) , 2.95 ( d , J = 15 Hz , 1 H ) , 2.60 ( dd , J = 15 Hz , 8  
Hz , 1 H ) .

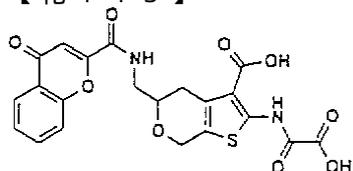
LC / MS [ M - H ]<sup>-</sup> : 471.4

HPLC ( 254.4 nm ) : 3.105 s , 94 % .

【 0519 】

実施例 115

【 化 143 】



2 - ( オキサリル - アミノ ) - 5 - ( ( ( 4 - オキソ - クロメン - 4 H - 2 - カルボ  
ニル ) アミノ ) メチル ) - 4 , 7 - ジヒドロ - 5 H - チエノ [ 2 , 3 - c ] ピラン  
- 3 - カルボン酸 :

【 0520 】

<sup>1</sup>HNMR ( 400 MHz , DMSO - d<sub>6</sub> ) 12.32 ( s , 1 H ) , 9.33

(t, J = 4 Hz, 1H), 8.05 (d, J = 8 Hz, 1H), 7.89 (t, J = 8 Hz, 1H), 7.76 (d, J = 8 Hz, 1H), 7.53 (t, J = 8 Hz, 1H), 6.84 (s, 1H), 4.83 (d, J = 15 Hz, 1H), 4.66 (d, J = 15 Hz, 1H), 3.89 - 3.84 (m, 1H), 3.56 - 3.45 (m, 2H), 2.98 (d, J = 18 Hz, 1H), 2.63 - 2.52 (m, 1H, DMSOにより部分的に不明瞭).

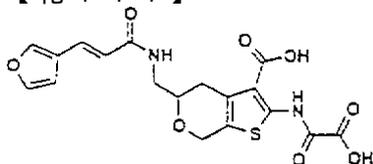
LC/MS [M - H]<sup>-</sup> : 471.4

HPLC (254.4 nm) : 2.886 s, 95%.

【0521】

実施例 116

【化144】



5 - ( ( 3 - フラン - 3 - イル - アクリロイルアミノ ) - メチル ) - 2 - ( オキサリル - アミノ ) - 4 , 7 - ジヒドロ - 5 H - チエノ [ 2 , 3 - c ] ピラン - 3 - カルボン酸 :

【0522】

<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, DMSO - d<sub>6</sub>) 12.32 (s, 1H), 8.20 (t, J = 5 Hz, 1H), 7.99 (s, 1H), 7.71 (s, 1H), 7.33 (d, J = 15 Hz, 1H), 6.68 (s, 1H), 6.42 (d, J = 15 Hz, 1H), 4.81 (d, J = 15 Hz, 1H), 4.65 (d, J = 15 Hz, 1H), 3.74 - 3.67 (m, 1H), 3.44 - 3.34 (m, 2H), 2.91 (d, J = 17 Hz, 1H), 2.53 (dd, 1H, DMSOにより部分的に不明瞭).

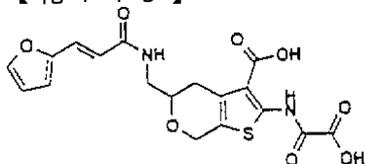
LC/MS [M - H]<sup>-</sup> : 419.4

HPLC (254.4 nm) : 2.822 s, 91%

【0523】

実施例 117

【化145】



5 - ( ( 3 - フラン - 2 - イル - アクリロイルアミノ ) - メチル ) - 2 - ( オキサリル - アミノ ) - 4 , 7 - ジヒドロ - 5 H - チエノ [ 2 , 3 - c ] ピラン - 3 - カルボン酸 :

【0524】

<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, DMSO - d<sub>6</sub>) 12.32 (s, 1H), 8.37 (t, 1H), 7.77 (s, 1H), 7.23 (d, J = 15 Hz, 1H), 6.76 (d, J = 3 Hz, 1H), 6.57 (dd, J = 3 Hz, 2 Hz, 1H), 6.50 (d, J = 15 Hz, 1H), 4.81 (d, J = 15 Hz, 1H), 4.65 (d, J = 15 Hz, 1H), 3.74 - 3.67 (m, 1H), 3.48 - 3.32 (m, 2H), 2.91 (d, J = 17 Hz, 1H), 2.53 (dd, 1H, DMSOにより部分的に不明瞭).

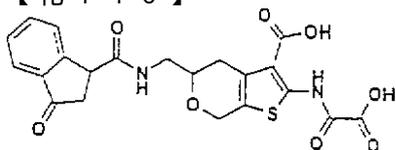
[M - H]<sup>-</sup> : 419.3

HPLC (254.4 nm) : 2.815 s, 86%

【0525】

実施例 118

【化146】



2 - ( オキサリル - アミノ ) - 5 - ( ( ( 3 - オキソ - インダン - 1 n - カルボニル ) アミノ ) メチル ) - 4 , 7 - ジヒドロ - 5 H - チエノ [ 2 , 3 - c ] ピラン - 3 - カルボン酸 :

【0526】

$^1\text{H NMR}$  (400 MHz, DMSO- $d_6$ ) 12.33 (s, 1H), 8.81 (bs, 1H), 7.74 - 7.62 (m, 3H), 7.47 (t,  $J = 7\text{ Hz}$ , 1H), 4.83 (d,  $J = 15\text{ Hz}$ , 1H), 4.67 (d,  $J = 15\text{ Hz}$ , 1H), 4.29 (t,  $J = 5\text{ Hz}$ , 1H), 3.41 - 3.25 (m, 3H), 2.91 (d,  $J = 15\text{ Hz}$ , 1H), 2.77 (d,  $J = 5\text{ Hz}$ , 2H), 2.58 - 2.51 (m, 1H, DMSOにより部分的に不明瞭).

LC/MS [M - H] $^-$  : 457.5

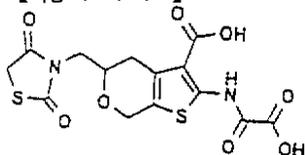
HPLC (254.4 nm) : 2.634 s, 97%.

【0527】

実施例 106 に記載する方法に類似する方法において、下記の化合物を製造した。

実施例 119

【化147】



5 - ( 2 , 4 - ジオキソ - チアゾリジン - 3 - イルメチル ) - 2 - オキサリル - アミノ ) - 4 , 7 - ジヒドロ - 5 H - チエノ [ 2 , 3 - c ] ピラン - 3 - カルボン酸 :

$^1\text{H NMR}$  (400 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$  and DMSO- $d_6$ ) 4.88 (m, 2H), 3.97 - 3.89 (m, 3H), 3.72 - 3.69 (m, 2H), 3.08 (m, 1H), 3.02 (m, 1H).

MS (ESI (-)) : 399.

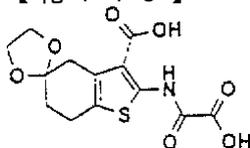
HPLC (254.4 nm) : 2.67, s, 100%.

【0528】

実施例 81 に記載する方法に類似する方法において、下記の化合物を製造した。

実施例 120

【化148】



2 - ( オキサリル - アミノ ) - 5 - ( 2 ' - スピロ [ 1 ' , 3 ' ] ジオキソラン ) - 6 , 7 - ジヒドロ - 4 H - ベンゾ [ b ] チオフェン - 3 - カルボン酸 :

M. p. : 232 - 234

$\text{C}_{13}\text{H}_{13}\text{NO}_7\text{S}$ ,  $1 \times \text{H}_2\text{O}$  としての計算値 ;

C, 45.22% ; H, 4.38% ; N, 4.06% .

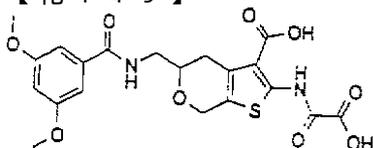
測定値 ; C, 45.24% ; H, 4.39% ; N, 3.98% .

実施例 107 に記載する方法に類似する方法において、下記の化合物を製造した。

【0529】

## 実施例 1 2 1

## 【化 1 4 9】



5 - ( ( 3 , 5 - ジメトキシ - ベンゾイルアミノ ) - メチル ) - 2 - ( オキサリル - アミノ ) - 4 , 7 - ジヒドロ - 5 H - チエノ [ 2 , 3 - c ] ピラン - 3 - カルボン酸 :

## 【 0 5 3 0 】

<sup>1</sup>HNMR ( 4 0 0 MHz , DMSO - d<sub>6</sub> ) 1 2 . 3 1 ( s , 1 H ) , 8 . 6 3 ( t , J = 5 Hz , 1 H ) , 7 . 0 2 ( s , 2 H ) , 6 . 6 2 ( s , 1 H ) , 4 . 8 0 ( d , J = 1 5 Hz , 1 H ) , 4 . 6 4 ( d , J = 1 5 Hz , 1 H ) , 3 . 8 2 - 3 . 7 9 ( m , 1 H ) , 3 . 7 7 ( s , 6 H ) , 3 . 4 7 - 3 . 4 5 ( m , 2 H ) , 2 . 9 4 ( d , J = 1 7 Hz , 1 H ) , 2 . 5 3 ( dd , J = 1 7 Hz , 1 1 Hz , 1 H ) .

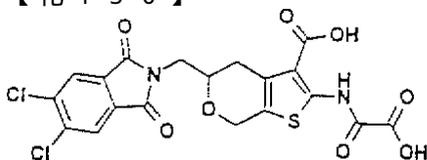
LC / MS [ M - H ]<sup>-</sup> : 4 6 3 . 4

HPLC ( 2 5 4 . 4 nm ) : 3 . 1 6 1 s , 9 3 %

## 【 0 5 3 1 】

## 実施例 1 2 2

## 【化 1 5 0】



5 - ( 5 , 6 - ジクロロ - 1 , 3 - ジオキソ - 1 , 3 - ジヒドロ - イソインドール - 2 - イルメチル ) - 2 - ( オキサリル - アミノ ) - 4 , 7 - ジヒドロ - 5 H - チエノ [ 2 , 3 - c ] ピラン - 3 - カルボン酸 :

## 【 0 5 3 2 】

ピリジン ( 7 7 8 μ l 、 9 . 6 2 mmol ) およびクロロホルム ( 6 . 0 ml ) の混合物中の 2 - ヒドロキシメチル - テトラヒドロ - ピラン - 4 - オン ( 6 2 5 mg 、 4 . 8 1 mmol ) の溶液に、0 において窒素雰囲気下に、4 - ニトロベンゼンスルホンクロライド ( 1 . 6 0 g 、 7 . 2 2 mmol ) をゆっくり添加した。この混合物を室温に放温し、3 時間攪拌した。クロロホルム ( 3 0 ml ) を添加し、この溶液を 2 . 0 N 塩酸 ( 3 × 1 0 ml ) 、 5 % NaHCO<sub>3</sub> ( 3 × 1 0 ml ) および水 ( 3 × 1 0 ml ) で洗浄した。有機相を乾燥 ( Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> ) し、濾過し、溶媒を真空蒸発させた。

## 【 0 5 3 3 】

固体残留物をシリカゲルのカラムクロマトグラフィーにより精製し、ジクロロメタン / ヘキサン / 酢酸エチル ( 1 : 1 : 0 ~ 8 : 0 : 2 ) を溶離剤として使用した。純粋な画分を収集し、揮発性物質を真空蒸発させると、0 . 9 8 g ( 6 5 % ) の 4 - ニトロベンゼンスルホン酸 4 - オキソ - ピラン - 2 - イルメチルエステルが固体として得られた。

<sup>1</sup>HNMR ( 4 0 0 MHz , CDCl<sub>3</sub> ) 2 . 3 7 ( d , 2 H , J = 7 . 8 Hz ) , 2 . 5 7 ( m , 1 H ) , 3 . 6 3 ( m , 1 H ) , 3 . 8 9 ( m , 1 H ) , 4 . 2 0 - 4 . 2 6 ( m , 3 H ) , 8 . 1 4 ( dd , 2 H , J = 0 . 6 Hz , J = 9 Hz ) , 8 . 4 2 ( dd , 2 H , J = 0 . 6 Hz , J = 9 Hz ) .

MS m / z : 3 1 5 . 3 ( M + ) .

## 【 0 5 3 4 】

4 - ニトロベンゼンスルホン酸 4 - オキソ - ピラン - 2 - イルメチルエステル ( 0 . 5 g 、 1 . 5 9 mmol ) 、エチレングリコール ( 9 8 6 mg 、 1 5 . 9 mmol ) お

よび p - トルエンスルホン酸 ( 61 mg、0.32 mmol ) をヘキサン ( 20 ml ) 中で還流させた。溶媒を真空除去すると、固体が得られた。固体をジクロロメタン ( 30 ml ) 中に溶解し、連続的に飽和重炭酸ナトリウム溶液 ( 2 × 5 ml ) および水 ( 2 × 5 ml ) で洗浄した。有機相を乾燥 ( Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> ) し、濾過し、溶媒を真空除去すると、582 mg ( 100 % ) の 4 - ニトロベンゼンスルホン酸 1, 4, 8 - トリオキサ - スピロ [ 4, 5 ] デク - 7 - イルメチルエステルが固体として得られた。

<sup>1</sup>HNMR ( 400 MHz, CDCl<sub>3</sub> ) 1.53 - 1.73 ( m, 4H ), 3.54 ( m, 1H ), 3.8 ( m, 2H ), 3.96 ( m, 4H ), 4.15 ( m, 2H ), 8.12 ( dd, 2H, J = 1.5 Hz, J = 9.0 Hz ), 8.40 ( dd, 4H, J = 1.5 Hz, J = 9.0 Hz ) .

MS m/z : 359.3 .

【 0535 】

3, 4 - ジクロロフタルイミド ( 90, 2 mg、0.42 mmol ) を室温において N, N - ジメチルホルムアミド ( 2.0 ml ) 中に溶解した。水素化ナトリウム ( 17 mg、0.42 mmol ) を窒素雰囲気下に添加した。4 - ニトロベンゼンスルホン酸 1, 4, 8 - トリオキサ - スピロ [ 4, 5 ] デク - 7 - イルメチルエステル ( 100 mg、0.28 mmol ) を添加し、この混合物を 140 °C に 3 時間加熱した。室温に冷却した後、反応混合物を氷水 ( 5 ml ) に添加し、この混合物を酢酸エチル ( 3 × 15 ml ) で抽出した。一緒にした酢酸エチル抽出液を 1.0 N 塩酸 ( 2 × 5 ml )、水 ( 2 × 5 ml )、飽和重炭酸ナトリウム溶液 ( 2 × 5 ml ) および水 ( 2 × 5 ml ) で洗浄した。

【 0536 】

乾燥 ( Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> ) し、次いで濾過した後、溶媒を真空蒸発させると、97 mg ( 94 % ) の 5, 6 - ジクロロ - 2 - ( 1, 4, 8 - トリオキサ - スピロ [ 4, 5 ] デク - 7 - イルメチル ) - イソインドール - 1, 3 - ジオンが固体として得られた。

<sup>1</sup>HNMR ( 400 MHz, CDCl<sub>3</sub> ) 1.60 ( m, 2H ), 1.78 ( m, 2H ), 3.54 ( m, 1H ), 3.64 ( m, 1H ), 3.88 ( m, 2H ), 3.95 ( m, 4H ), 7.95 ( d, 2H, J = 3 Hz ) .

MS m/z : 373.7 ( M+ ) .

【 0537 】

5, 6 - ジクロロ - 2 - ( 1, 4, 8 - トリオキサ - スピロ [ 4, 5 ] デク - 7 - イルメチル ) - イソインドール - 1, 3 - ジオン ( 87 mg、0.234 mmol ) をテトラヒドロフラン ( 2.5 ml ) 中に溶解した。1.0 N 塩酸 ( 1.0 ml ) をこの溶液に添加し、この混合物を 75 °C に 20 時間加熱した。不均質混合物を真空蒸発乾固し、生ずる固体をジクロロメタン ( 10 ml ) 中に溶解し、水 ( 2 × 2 ml ) で洗浄した。有機層を乾燥 ( MgSO<sub>4</sub> ) し、濾過し、溶媒を真空蒸発させると、62.1 mg ( 81 % ) の 5, 6 - ジクロロ - 2 - ( 4 - オキソ - テトラヒドロ - ピラン - 2 - イルメチル ) - イソインドール - 1, 3 - ジオンが固体として得られた。

<sup>1</sup>HNMR ( 400 MHz, CDCl<sub>3</sub> ) 2.31 - 2.41 ( m, 2H ), 2.48 ( t, 1H, J = 2.0 Hz ), 2.62 ( m, 1H ), 3.60 ( m, 1H ), 3.72 ( m, 1H ), 3.99 ( m, 2H ), 4.29 ( m, 1H ), 7.96 ( d, 2H, J = 2.7 Hz ) .

MS m/z : 331.1 ( M+ ) .

【 0538 】

5, 6 - ジクロロ - 2 - ( 4 - オキソ - テトラヒドロ - ピラン - 2 - イルメチル ) - イソインドール - 1, 3 - ジオン ( 60 mg、0.24 mmol ) を 50 °C においてエタノール中の t - ブチルシアノアセテート ( 33.5 mg、0.24 mmol )、元素状硫黄 ( 6.44 mg、0.20 mmol ) およびモルホリン ( 32.4 μl、0.37 mmol ) とともに 20 時間攪拌した。揮発性物質を真空蒸発させ、生ずる固体をジクロロメタン ( 30 ml ) 中に溶解し、水 ( 2 × 10 ml ) で洗浄した。有機相を乾

燥 (MgSO<sub>4</sub>) し、濾過し、溶媒を真空蒸発させた。残留物 (111 mg) を調製用 TLC (Kieselgel 60 F<sub>254</sub>, 1 mm) により精製し、ヘキサン/酢酸エチル (1:1) 混合物を溶離剤として使用した。

【0539】

溶媒を真空蒸発させた後、純粋な化合物: 28 mg (32%) の 2-アミノ-5-(5, 6-ジクロロ-1, 3-ジオキソ-1, 3-ジヒドロ-イソインドール-2-イルメチル)-4, 7-ジヒドロ-5H-チエノ[2, 3-c]ピラン-3-カルボン酸 t-ブチルエステルが固体として得られた。

<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) 1.54 (s, 9H), 2.90 (m, 1H), 3.35 (m, 2H), 2.60 (m, 2H), 2.90 (m, 1H), 4.62 (m, 1H), 7.95 (d, 2H, J = 1.8 Hz).

MS m/z: 483.3 (M<sup>+</sup>), 427 (M - 57).

【0540】

テトラヒドロフラン (2 ml) 中の 2-アミノ-5-(5, 6-ジクロロ-1, 3-ジオキソ-1, 3-ジヒドロ-イソインドール-2-イルメチル)-4, 7-ジヒドロ-5H-チエノ[2, 3-c]ピラン-3-カルボン酸 t-ブチルエステル (27.5 mg, 0.057 mmol)、イミダゾル-1-イル-オキソ-酢酸 t-ブチルエステル (55.8 mg, 0.29 mmol) およびトリエチルアミン (16 μl, 0.114 mmol) の混合物を室温において 20 時間攪拌した。揮発性物質を真空蒸発させ、生ずるシロップをジクロロメタン (15 ml) 中に溶解し、水 (3 × 3 ml) で洗浄した。有機相を乾燥 (MgSO<sub>4</sub>) し、濾過し、溶媒を真空蒸発させた。

【0541】

残留物 (35.7 mg) を調製用 TLC (Kieselgel 60 F<sub>254</sub>, 0.5 mm) により精製し、ヘキサン/酢酸エチル (8:2) 混合物を溶離剤として使用した。単離後、8.5 mg (24%) の 2-(t-ブトキシオキサリル-アミノ)-5-(5, 6-ジクロロ-1, 3-ジオキソ-1, 3-ジヒドロ-イソインドール-2-イルメチル)-4, 7-ジヒドロ-5H-チエノ[2, 3-c]ピラン-3-カルボン酸 t-ブチルエステルが得られた。

<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) 1.58 (s, 18H), 2.68 (m, 1H), 2.97 - 3.02 (m, 1H), 3.82 (m, 1H), 4.63 - 4.68 (m, 1H), 4.77 - 4.82 (m, 1H), 7.97 (d, 2H, J = 2.1 Hz).

MS m/z 611.4 (M<sup>+</sup>).

【0542】

2-(t-ブトキシオキサリル-アミノ)-5-(5, 6-ジクロロ-1, 3-ジオキソ-1, 3-ジヒドロ-イソインドール-2-イルメチル)-4, 7-ジヒドロ-5H-チエノ[2, 3-c]ピラン-3-カルボン酸 t-ブチルエステル (3.5 mg, 5.7 × 10<sup>-3</sup> mmol) をジクロロメタン (1.0 ml) 中の 20% トリフルオロ酢酸中に溶解し、室温において 2 時間攪拌した。揮発性物質を真空蒸発させると、2.7 mg (95%) の標題化合物が固体として得られた。

<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CD<sub>3</sub>OD) 2.66 (m, 1H), 3.10 (m, 1H), 3.80 (m, 1H), 3.98 (m, 2H), 4.66 (m, 1H), 4.74 (m, 1H).

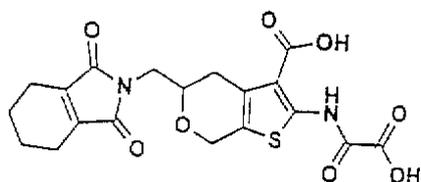
MS m/z 498.3 (M<sup>-</sup>).

【0543】

実施例 122 に記載する方法に類似する方法において、下記の化合物を製造した。

実施例 123

【化 151】



5 - ( 1 , 3 - ジオキソ - 1 , 3 , 4 , 5 , 6 , 7 - ヘキサヒドロ - イソインドール - 2 - イルメチル ) - 2 - ( オキサリル - アミノ ) - 4 , 7 - ジヒドロ - 5 H - チエノ [ 2 , 3 - c ] ピラン - 3 - カルボン酸 :

73.1 mg (62%) の 2 - ( 1 , 4 , 8 - トリオキサ - スピロ [ 4 , 5 ] デク - 7 - イルメチル ) - 4 , 5 , 6 , 7 - テトラヒドロ - イソインドール - 1 , 3 - ジオンが油として得られた。

【0544】

<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) 1.42 - 1.58 (m, 2H), 2.24 (m, 2H), 2.62 (m, 2H), 3.10 (m, 2H), 3.50 (m, 2H), 3.71 (m, 3H), 3.94 (m, 6H), 5.9 (m, 2H)

50 mg (92%) の 2 - ( 4 - オキソ - テトラヒドロ - ピラン - 2 - イルメチル ) - 4 , 5 , 6 , 7 - テトラヒドロ - イソインドール - 1 , 3 - ジオンが固体として得られた。

<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) 0.86 (m, 2H), 1.64 (m, 2H), 2.22 (m, 1H), 2.34 (m, 2H), 2.61 (m, 3H), 3.13 (m, 2H), 3.79 (m, 1H), 3.95 (m, 1H), 4.28 (m, 1H), 5.92 (m, 2H).

【0545】

調製用 TLC (Kieselgel 60 F<sub>254</sub>, 1 mm、ヘキサン/酢酸エチル、1 : 1) により精製した後、36 mg (47%) の 2 - アミノ - 5 - ( 1 , 3 - ジオキソ - 1 , 3 , 4 , 5 , 6 , 7 - ヘキサヒドロ - イソインドール - 2 - イルメチル ) - 4 , 7 - ジヒドロ - 5 H - チエノ [ 2 , 3 - c ] ピラン - 3 - カルボン酸 t - ブチルエステルが固体として得られた。

<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) 1.53 (s, 9H), 2.22 (m, 2H), 2.62 (m, 2H), 2.83 (m, 1H), 3.11 (m, 2H), 3.56 (m, 1H), 3.83 (m, 2H), 4.50 (m, 2H), 5.89 (m, 2H).

MS m/z 419.5 (M<sup>+</sup>), 363.4 (M - 57).

【0546】

調製用 TLC (Kieselgel 60 F<sub>254</sub>, 0.5 mm、ヘキサン/酢酸エチル、8 : 2) により精製後、2 - ( t - ブトキシオキサリル - アミノ ) - 5 - ( 1 , 3 - ジオキソ - 1 , 3 , 4 , 5 , 6 , 7 - ヘキサヒドロ - イソインドール - 2 - イルメチル ) - 4 , 7 - ジヒドロ - 5 H - チエノ [ 2 , 3 - c ] ピラン - 3 - カルボン酸 t - ブチルエステルが得られた。

<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) 1.60 (s, 18H), 2.24 (m, 2H), 2.92 (m, 3H), 3.14 (m, 2H), 3.90 (m, 2H), 4.11 (m, 1H), 4.63 (m, 1H), 4.78 (m, 1H), 5.91 (m, 2H).

MS m/z 545.4 (M<sup>-</sup>), 489.4 (M - 57).

【0547】

17.2 mg (定量的収率) の標題化合物が固体として得られた。

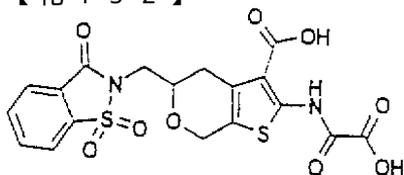
<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CD<sub>3</sub>OD) 2.28 (m, 2H), 2.55 (m, 2H), 2.97 (m, 2H), 3.31 (m, 2H), 3.56 - 3.93 (m, 3H), 4.70 (m, 2H), 5.91 (m, 2H).

MS m/z 433.3 (M<sup>-</sup>).

【0548】

実施例 124

【化152】



2 - ( オキサリル - アミノ ) - 5 - ( 1 , 1 , 3 , - トリオキソ - 1 , 3 - ジヒドロ - 1 H - ベンゾ [ d ] イソチアゾル - 2 - イルメチル ) - 4 , 7 - ジヒドロ - 5 H - チエノ [ 2 , 3 - c ] ピラン - 3 - カルボン酸 :

<sup>1</sup>H NMR ( 400 MHz , CD<sub>3</sub>OD ) 8 . 09 - 7 . 8 ( m , 4 H ) , 4 . 85 - 4 . 67 ( m , 3 H ) , 4 . 21 - 4 . 12 ( m , 1 H ) , 4 . 02 - 3 . 94 ( m , 1 H ) , 3 . 11 - 3 . 06 ( m , 1 H ) , 2 . 90 - 2 . 80 ( m , 1 H ) .

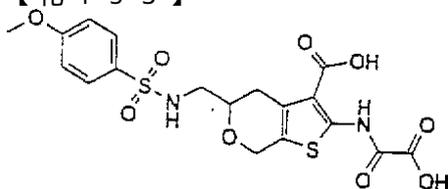
MS ( ESI ( - ) ) : 465 .

HPLC ( 254 . 4 nm ) : 2 . 31 , s , 99 % .

【0549】

実施例 125

【化153】



5 - [ ( 4 - メトキシ - ベンゼンスルホニルアミノ ) - メチル ] - 2 - ( オキサリル - アミノ ) - 4 , 7 - ジヒドロ - 5 H - チエノ [ 2 , 3 - c ] ピラン - 3 - カルボン酸 :

【0550】

ジクロロメタン ( 1 ml ) 中の 2 - アミノ - 5 - アミノメチル - 4 , 7 - ジヒドロ - 5 H - チエノ [ 2 , 3 - c ] ピラン - 3 - カルボン酸 t - ブチルエステル ( 101 mg , 0 . 35 mmol ) の溶液に、ピリジン ( 32 μl , 0 . 39 mmol ) および 4 - メトキシベンゼンスルホニルクロライド ( 82 mg , 0 . 38 mmol ) を添加した。反応混合物を室温において 48 時間攪拌した。反応混合物をジクロロメタン ( 2 ml ) で希釈し、調製用 TLC ( ヘキサン / 酢酸エチル、1 : 1 ) にかけると、10 mg ( 10 % ) の 2 - アミノ - 5 - ( ( 4 - メトキシ - ベンゼンスルホニルアミノ ) - メチル ) - 4 , 7 - ジヒドロ - 5 H - チエノ [ 2 , 3 - c ] ピラン - 3 - カルボン酸 t - ブチルエステルが固体として得られた。

【0551】

<sup>1</sup>H NMR ( 400 MHz , CDCl<sub>3</sub> ) 7 . 82 ( d , J = 9 Hz , 2 H ) , 6 . 93 ( d , J = 9 Hz , 2 H ) , 5 . 3 ( bs , 2 H ) , 4 . 57 ( s , 2 H ) , 3 . 84 ( s , 3 H ) , 3 . 72 ( m , 1 H ) , 3 . 10 - 3 . 06 ( m , 1 H ) , 2 . 95 - 2 . 87 ( m , 1 H ) , 2 . 69 - 2 . 64 ( m , 1 H ) , 2 . 41 - 2 . 32 ( m , 1 H ) , 1 . 47 ( s , 9 H ) .

MS : APCI ( - ) : 453 [ M - H ] .

【0552】

ジクロロメタン ( 1 ml ) 中の 2 - アミノ - 5 - ( ( 4 - メトキシ - ベンゼンスルホニルアミノ ) - メチル ) - 4 , 7 - ジヒドロ - 5 H - チエノ [ 2 , 3 - c ] ピラン - 3 - カルボン酸 t - ブチルエステル ( 8 mg , 0 . 017 mmol ) の溶液に、トリエ

チルアミン (7.4  $\mu$ l、0.051 mmol) およびイミダゾル-1-イル-オキソ-酢酸 t-ブチルエステル (10 mg、0.051 mmol) を添加し、室温において16時間攪拌した。揮発性物質を真空除去し、残留物にジクロロメタン (2 ml) を添加した。

【0553】

この溶液を調製用 TLC (10%メタノール/90%ジクロロメタン) により精製すると、10 mg (100%) の2-(t-ブトキシオキサリル-アミノ)-5-((4-メトキシ-ベンゼンスルホニルアミノ)-メチル)-4,7-ジヒドロ-5H-チエノ[2,3-c]ピラン-3-カルボン酸 t-ブチルエステルが固体として得られた。

$^1$ HNMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) 7.83 (d, J = 9 Hz, 2H), 6.93 (d, J = 9 Hz, 2H), 4.68 (m, 2H), 3.85 (s, 3H), 3.7 (m, 3H), 3.29-3.22 (m, 1H), 2.80-2.75 (m, 1H), 2.53-2.43 (m, 1H), 1.56 (s, 18H).

MS: APCI (+): 582.8 [M+H], 527 (-1 tert-Bu).

【0554】

2-(t-ブトキシオキサリル-アミノ)-5-((4-メトキシ-ベンゼンスルホニルアミノ)-メチル)-[2,3-c]ピラン-3-カルボン酸 t-ブチルエステル (10 mg、0.017 mmol) を、ジクロロメタン (2 ml) 中の25%トリフルオロ酢酸の溶液に添加した。反応混合物を室温において2時間攪拌し、この時、溶媒を真空除去した。ジエチルエーテルの添加により残留物を沈澱させ、ジエチルエーテルで2回洗浄すると、乾燥後、2 mg (25%) の標題化合物が固体として得られた。

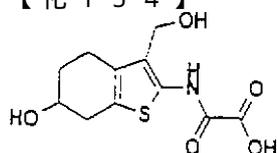
$^1$ HNMR (400 MHz, CD<sub>3</sub>OD) 7.78 (d, J = 9 Hz, 2H), 7.02 (d, J = 9 Hz, 2H), 4.76-4.63 (m, 2H), 3.84 (s, 3H), 3.75 (m, 1H), 3.50-3.47 (m, 2H), 2.89-2.83 (m, 1H), 2.52-2.42 (m, 1H).

MS: APCI (+): 471 [M+H];

【0555】

実施例 126

【化154】



N-(6-ヒドロキシ-3-ヒドロキシメチル-4,5,6,7-テトラヒドロ-ベンゾ[b]チオフェン-2-イル)-オキサラム酸:

【0556】

2-(エトキシオキサリル-アミノ)-6-(2'-スピロ[1',3']ジオキソラン)-6,7-ジヒドロ-4H-ベンゾ[b]チオフェン-3-カルボン酸 t-ブチルエステル (20 g、0.05 mol) を、0 において水 (1 ml) を含有するトリフルオロ酢酸とジクロロメタン (200 ml) との (1:4) 混合物中に溶解した。反応混合物を 0 において1時間攪拌し、室温において20時間攪拌した。揮発性物質を真空蒸発させ、固体残留物をジエチルエーテル (2 x 100 ml) で粉砕し、真空乾燥すると、15.08 mg (100%) の2-(エトキシオキサリル-アミノ)-6-オキソ-4,5,6,7-テトラヒドロ-ベンゾ[b]チオフェン-3-カルボン酸が固体として得られた。

【0557】

エタノール (50 ml) とジクロロメタン (50 ml) との混合物に、2-(エトキシオキサリル-アミノ)-6-オキソ-4,5,6,7-テトラヒドロ-ベンゾ[b]チオフェン-3-カルボン酸 (2.0 g、6.43 mmol) を添加し、次いでホウ

水素化ナトリウム（124 mg、ペレット）を添加した。生ずる混合物を室温において1時間攪拌し、追加のホウ水素化ナトリウムのペレットを添加した。さらに4時間攪拌した後、反応混合物を0の水（100 ml）とギ酸（100 ml）との混合物の添加により反応を急冷した。水相を酢酸エチル（2 × 100 ml）で抽出し、一緒にした有機相をブライン（100 ml）で洗浄し、乾燥（Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>）し、濾過し、真空蒸発させると、860 mg（43%）の標題化合物が固体として得られた。

【0558】

18時間放置した後、水相を濾過し、濾過ケーキを水（2 × 15 ml）、ジエチルエーテル（2 × 15 ml）で洗浄し、真空乾燥すると、追加の部分の710 mg（48%）の標題化合物が固体として得られた。

C<sub>11</sub>H<sub>13</sub>N<sub>1</sub>O<sub>5</sub>S<sub>1</sub>, 0.5 × H<sub>2</sub>O についての計算値；

C, 47.14%；H, 5.03%；N, 5.00%。

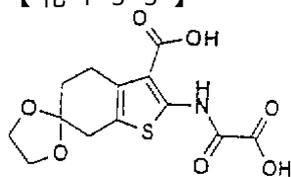
測定値；C, 47.19%；H, 5.00%；N, 4.94%。

【0559】

実施例81に記載する方法に類似する方法において、下記の化合物を製造した。

実施例127

【化155】



2-(オキサリル-アミノ)-6-(2'-スピロ[1',3']ジオキソラン)-6,7-ジヒドロ-4H-ベンゾ[b]チオフェン-3-カルボン酸：

M.p. : > 250 .

C<sub>13</sub>H<sub>13</sub>NO<sub>7</sub>S についての計算値；

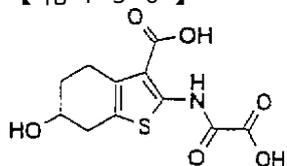
C, 47.70%；H, 4.00%；N, 4.28%。

測定値；C, 47.93%；H, 4.09%；N, 4.27%。

【0560】

実施例128

【化156】



6-ヒドロキシ-2-(オキサリル-アミノ)-4,5,6,7-テトラヒドロ-ベンゾ[b]チオフェン-3-カルボン酸：

【0561】

2-(エトキシオキサリル-アミノ)-6-(2'-スピロ[1',3']ジオキソラン)-6,7-ジヒドロ-4H-ベンゾ[b]チオフェン-3-カルボン酸エチルエステル（8.7 g、22.7 mmol）を、ジクロロメタン（100 ml）中の25%トリフルオロ酢酸の氷浴冷却混合物中に溶解し、エタノール（0.5 ml）を添加した。反応混合物を0において2時間攪拌し、室温において48時間攪拌した。揮発性物質を真空蒸発させ、残留物をエタノール（100 ml）中に溶解し、真空蒸発（2回）させた。固体残留物をジエチルエーテル（80 ml）で洗浄し、50において真空乾燥すると、6.68 g（88%）の2-(エトキシオキサリル-アミノ)-6-オキソソ-4,5,6,7-テトラヒドロ-ベンゾ[b]チオフェン-3-カルボン酸エチルエステルが固体として得られた。

【0562】

ジクロロメタン (40 ml) とエタノール (40 ml) との混合物中の 2 - ( エトキシオキサリル - アミノ ) - 6 - オキソ - 4 , 5 , 6 , 7 - テトラヒドロ - ベンゾ [ b ] チオフェン - 3 - カルボン酸エチルエステル ( 2 . 0 g , 5 . 8 9 mmol ) この溶液をホウ水素化ナトリウム ( 6 4 mg , 1 . 7 7 mmol ) を添加した。反応混合物を室温において 6 4 時間攪拌し、追加のホウ水素化ナトリウム ( 2 2 . 3 mg , 0 . 5 9 mmol ) を添加し、さらに 1 8 時間攪拌した。さらに 6 時間攪拌しながら、2 つの部分のホウ水素化ナトリウム ( 2 3 mg および 1 5 mg ) を添加した。この反応混合物に、氷冷飽和塩化アンモニウム溶液 ( 5 0 ml ) を添加し、生ずる混合物を酢酸エチル ( 3 × 5 0 ml ) で抽出した。一緒にした有機抽出液を乾燥 (  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  ) し、濾過し、真空蒸発させた。

## 【 0 5 6 3 】

残留物を 2 回酢酸エチル ( 1 0 0 ml ) 中に溶解し、真空蒸発させた。固体残留物をジエチルエーテル ( 8 0 ml ) で洗浄し、5 0 において真空乾燥すると、1 . 4 6 g ( 7 5 % ) の 2 - ( エトキシオキサリル - アミノ ) - 6 - ヒドロキシ - 4 , 5 , 6 , 7 - テトラヒドロ - ベンゾ [ b ] チオフェン - 3 - カルボン酸エチルエステルが固体として得られた。1 . 3 5 g のこの物質をカラムクロマトグラフィー ( シリカゲル ) にかき、酢酸エチル / ヘキサン ( 1 : 1 ) 混合物を溶離剤として使用した。純粋な画分を収集し、溶媒を真空蒸発させると、0 . 9 g の純粋な 2 - ( エトキシオキサリル - アミノ ) - 6 - ヒドロキシ - 4 , 5 , 6 , 7 - テトラヒドロ - ベンゾ [ b ] チオフェン - 3 - カルボン酸エチルエステルが固体として得られた。

$^1\text{H NMR}$  ( 3 0 0 MHz ,  $\text{CDCl}_3$  ) 1 . 4 2 ( m , 6 H ) , 1 . 8 6 ( m , 2 H ) , 2 . 0 2 ( m , 1 H ) , 2 . 7 1 ( dd , 1 H ) , 2 . 8 5 ( m , 1 H ) , 3 . 0 0 ( m , 2 H ) , 4 . 1 9 ( bs , 1 H ) , 4 . 4 0 ( dq , 4 H ) , 1 2 . 4 5 ( bs , 1 H ,  $\text{NHCO}$  ) .

## 【 0 5 6 4 】

エタノール ( 1 0 ml ) 中の上記ジエチルエステル ( 0 . 3 g , 0 . 8 8 mmol ) の溶液に、1 N 水酸化ナトリウム ( 3 . 1 ml , 3 . 0 8 mmol ) を添加した。生ずる反応混合物を室温において 1 6 時間攪拌した。水相を濃塩酸の添加により  $\text{pH} = 1$  に酸性化し、反応混合物をもとの体積の 1 / 2 に真空蒸発させた。沈澱を濾過し、小さい部分のジエチルエーテルで洗浄し、5 0 において 1 6 時間真空乾燥すると、1 3 0 mg ( 5 2 % ) の標題化合物が固体として得られた。

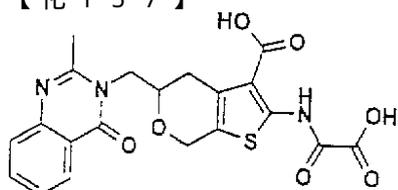
$^1\text{H NMR}$  ( 3 0 0 MHz ,  $\text{DMSO}-d_6$  ) 1 . 6 3 ( m , 1 H ) , 1 . 8 6 ( m , 1 H ) , 2 . 5 ( m , 1 H , partly obscured by  $\text{DMSO}$  ) , 2 . 7 1 ( m , 1 H ) , 2 . 8 6 ( m , 2 H ) , 3 . 9 1 ( m , 1 H ) , 4 . 8 7 ( bs , 1 H ) , 1 2 . 3 5 ( bs , 1 H ,  $\text{NHCO}$  ) .

## 【 0 5 6 5 】

実施例 1 0 7 に記載する方法に類似する方法において、下記の化合物を製造した。

実施例 1 2 9

## 【 化 1 5 7 】



5 - ( 2 - メチル - 4 - オキソ - 4 H - キナゾリン - 3 - イルメチル ) - 2 - ( オキサリル - アミノ ) - 4 , 7 - ジヒドロ - 5 H - チエノ [ 2 , 3 - c ] ピラン - 3 - カルボン酸 :

## 【 0 5 6 6 】

$^1\text{H NMR}$  ( 4 0 0 MHz ,  $\text{DMSO}-d_6$  ) 1 2 . 3 2 ( s , 1 H ) , 8 . 1 0 ( d ,  $J = 8 \text{ Hz}$  , 1 H ) , 7 . 8 0 ( t ,  $J = 7 \text{ Hz}$  , 1 H ) , 7 . 5 9 ( d ,

$J = 8 \text{ Hz}$ ,  $1 \text{ H}$ ),  $7.49$  (t,  $J = 7 \text{ Hz}$ ,  $1 \text{ H}$ ),  $4.78$  (d,  $J = 15 \text{ Hz}$ ,  $1 \text{ H}$ ),  $4.53$  (d,  $J = 15 \text{ Hz}$ ,  $1 \text{ H}$ ),  $4.39$  (d,  $J = 15 \text{ Hz}$ ,  $1 \text{ H}$ ),  $4.21$  (dd,  $J = 15 \text{ Hz}$ ,  $9 \text{ Hz}$ ,  $1 \text{ H}$ ),  $4.00 - 3.94$  (m,  $1 \text{ H}$ ),  $3.05$  (d,  $J = 17 \text{ Hz}$ ,  $1 \text{ H}$ ),  $2.74 - 2.65$  (m,  $1 \text{ H}$ 、付近の架橋により部分的に不明瞭)。

$^{13}\text{C NMR}$  ( $100.6 \text{ MHz}$ ,  $\text{DMSO}-d_6$ )  $167.7$ ,  $162.8$ ,  $161.6$ ,  $157.6$ ,  $156.1$ ,  $148.3$ ,  $146.9$ ,  $136.0$ ,  $130.5$ ,  $127.9$ ,  $127.8$ ,  $126.5$ ,  $121.4$ ,  $115.0$ ,  $74.4$ ,  $65.9$ ,  $49.8$ ,  $31.4$ ,  $25.0$ 。

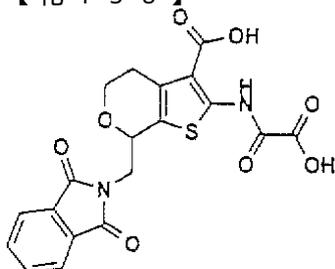
[M - H]<sup>-</sup> : 442.1

HPLC ( $254.4 \text{ nm}$ ):  $2.631 \text{ s}$ ,  $81\%$ 。

【0567】

#### 実施例 130

【化158】



7-(1,3-ジオキソ-1,3-ジヒドロ-イソインドール-2-イルメチル)-2-(オキサリル-アミノ)-4,7-ジヒドロ-5H-チエノ[2,3-c]ピラン-3-カルボン酸:

【0568】

フタルイミドアセトアルデヒドジエチルアセタール ( $100 \text{ g}$ ,  $0.38 \text{ mol}$ ) および  $1 \text{ N}$  塩酸 ( $600 \text{ ml}$ ) の混合物を還流温度において5分間攪拌するか、あるいは均質溶液が得られるまで攪拌した。反応混合物を冷却し、沈澱を濾過し、 $50^\circ\text{C}$  において16時間真空乾燥すると、 $63.3 \text{ g}$  ( $88\%$ ) のフタルイミド-アセトアルデヒドが固体として得られた。

$^1\text{H NMR}$  ( $300 \text{ MHz}$ ,  $\text{CDCl}_3$ )  $4.58$  (s,  $2 \text{ H}$ ),  $7.76 - 7.78$  (m,  $2 \text{ H}$ ),  $7.90 - 7.92$  (m,  $2 \text{ H}$ ),  $9.67$  (s,  $1 \text{ H}$ )。

【0569】

ベンゼン ( $600 \text{ ml}$ ) 中のフタルイミドアセトアルデヒド ( $64 \text{ g}$ ,  $0.34 \text{ mol}$ ) およびトランス-1-メトキシ-3-(トリメチルシリル)-1,3-ブタジエン ( $81.5 \text{ g}$ ,  $0.38 \text{ mol}$ ) の混合物を15分間攪拌し、これに $0^\circ\text{C}$  においてジクロロメタン ( $55.5 \text{ ml}$ ,  $0.17 \text{ mol}$ ) 中の塩化亜鉛ジエチルエーテル錯体の45%溶液を滴下した。反応を一夜室温放温した。反応混合物に水 ( $500 \text{ ml}$ ) を添加し、生ずる混合物を酢酸エチル ( $200 \text{ ml}$ ) で抽出した。有機抽出液を連続的に $1.0 \text{ N}$  塩酸 ( $2 \times 200 \text{ ml}$ ) およびブライン ( $200 \text{ ml}$ ) を示した。有機相を乾燥 ( $\text{Na}_2\text{SO}_4$ ) し、濾過し、溶媒を真空蒸発させると、ゆっくり結晶化する油 ( $98 \text{ g}$ ) が得られた。

【0570】

この固体に、酢酸エチルとジエチルエーテルとの混合物 ( $400 \text{ ml}$ ,  $1:1$ ) を添加し、生ずる沈澱を濾過し、小さい部分のジエチルエーテルで洗浄し、 $50^\circ\text{C}$  において1時間真空乾燥すると、 $59.8 \text{ g}$  ( $69\%$ ) の2-(4-オキソ-3,4-ジヒドロ-2H-ピラン-2-イルメチル)-イソインドール-1,3-ジオンが固体として得られた。濾液を真空蒸発させ、残留物をシリカゲル ( $1$  リットル) のカラムクロマトグラフィーにより精製し、酢酸エチル/ヘキサン ( $1:2$ ) 混合物を溶離剤として使用した。

## 【0571】

純粋な画分を収集し、溶媒をほとんど乾固まで真空蒸発させ、固体を濾過し、50において16時間真空乾燥すると、追加の15g(17%)の2-(4-オキソ-3,4-ジヒドロ-2H-ピラン-2-イルメチル)-イソインドール-1,3-ジオンが固体として得られた。

<sup>1</sup>H NMR (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>) 2.61 (d, 2H), 3.85 (dd, 1H), 4.18 (dd, 1H), 4.76 (m, 1H), 5.43 (d, 1H), 7.28 (d, 1H), 7.69-7.77 (m, 2H), 7.84-7.88 (m, 2H).

## 【0572】

2-(4-オキソ-3,4-ジヒドロ-2H-ピラン-2-イルメチル)-イソインドール-1,3-ジオン(13g、0.051mol)を酢酸エチル(250ml)中に溶解し、パール(Parr)壺中に入れた。10%Pd/C(1.5g)を注意して添加し、この混合物を30psiの水素圧力に6.5時間震盪した(パール装置)。濾過し、次いで酢酸エチルを真空蒸発させると、11.5gの次工程のために十分に純粋な粗製2-(4-オキソ-テトラヒドロ-ピラン-2-イルメチル)-イソインドール-1,3-ジオンが得られた。

## 【0573】

小さい試料(250mg)をシリカゲルのカラムクロマトグラフィーにより精製し、ヘキサン/酢酸エチルの勾配(100/0から50/50まで)を使用することによって、分析的に純粋な化合物を得ることができた。純粋な画分を収集し、溶媒を真空蒸発させると、142mg(55%)の2-(4-オキソ-テトラヒドロ-ピラン-2-イルメチル)-イソインドール-1,3-ジオンが固体として得られた。

<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) 2.30-2.68 (m, 4H), 3.62 (m, 1H), 3.74 (m, 1H), 4.00 (m, 2H), 7.75 (m, 2H), 7.88 (m, 2H).

## 【0574】

エタノール中の2-(4-オキソ-テトラヒドロ-ピラン-2-イルメチル)-イソインドール-1,3-ジオン(18.7g、0.072mol)、t-ブチルシアノアセテート(11.2g、0.079mol)および元素状硫黄(2.5g、0.079mol)の攪拌混合物にモルホリン(20ml)を添加し、生ずる混合物を50において3時間真空乾燥した。冷却した反応混合物を濾過し、揮発性物質を真空蒸発させた。残留物に水(200ml)およびジエチルエーテル(100ml)を添加した。沈澱を濾過し、50において真空乾燥すると、9.1g(30%)の2-アミノ-5-(1,3-ジオキソ-1,3-ジヒドロ-イソインドール-2-イルメチル)-4,7-ジヒドロ-5H-チエノ[2,3-c]ピラン-3-カルボン酸t-ブチルエステルが固体として得られた。

## 【0575】

濾液を酢酸エチル(2×150ml)で抽出し、ブライン(100ml)で洗浄し、乾燥(MgSO<sub>4</sub>)し、濾過し、溶媒を真空蒸発させた。残留物(20g)をシリカゲル(1リットル)のカラムクロマトグラフィーにより精製し、ヘキサン/酢酸エチル(1:2)混合物を溶離剤として使用した。純粋な画分を収集し、溶媒を真空蒸発させた。残留物をジエチルエーテルで洗浄し、固体を濾過し、50において真空乾燥すると、2.2g(7%)の2-アミノ-5-(1,3-ジオキソ-1,3-ジヒドロ-イソインドール-2-イルメチル)-4,7-ジヒドロ-5H-チエノ[2,3-c]ピラン-3-カルボン酸t-ブチルエステルが固体として得られた。

## 【0576】

濾液を真空蒸発させると、10.2g(34%)の2-アミノ-7-(1,3-ジオキソ-1,3-ジヒドロ-イソインドール-2-イルメチル)-4,7-ジヒドロ-5H-チエノ[2,3-c]ピラン-3-カルボン酸t-ブチルエステルが固体とし

て得られた。

2 - アミノ - 5 - ( 1 , 3 - ジオキソ - 1 , 3 - ジヒドロ - イソインドール - 2 - イルメチル ) - 4 , 7 - ジヒドロ - 5 H - チエノ [ 2 , 3 - c ] ピラン - 3 - カルボン酸 t - ブチルエステル

$^1\text{H NMR}$  ( 300 MHz ,  $\text{CDCl}_3$  ) 1.50 ( s , 9 H ) , 2.54 - 2.63 ( m , 1 H ) , 2.84 - 2.90 ( m , 1 H ) , 3.79 ( q , 1 H ) , 3.96 - 4.04 ( m , 2 H ) , 4.48 - 4.62 ( m , 2 H ) , 5.91 ( bs , 2 H ,  $\text{NH}_2$  ) , 7.70 ( m , 2 H ) , 7.84 ( m , 2 H ) .

【 0577 】

2 - アミノ - 7 - ( 1 , 3 - ジオキソ - 1 , 3 - ジヒドロ - イソインドール - 2 - イルメチル ) - 4 , 7 - ジヒドロ - 5 H - チエノ [ 2 , 3 - c ] ピラン - 3 - カルボン酸 t - ブチルエステル

$^1\text{H NMR}$  ( 300 MHz ,  $\text{CDCl}_3$  ) 1.50 ( s , 9 H ) , 2.71 - 2.90 ( m , 2 H ) , 3.67 - 3.77 ( m , 2 H ) , 4.02 - 4.15 ( m , 2 H ) , 4.90 ( m , 1 H ) , 6.04 ( bs , 2 H ,  $\text{NH}_2$  ) , 7.70 ( m , 2 H ) , 7.84 ( m , 2 H ) .

【 0578 】

乾燥テトラヒドロフラン ( 150 ml ) 中の 2 - アミノ - 7 - ( 1 , 3 - ジオキソ - 1 , 3 - ジヒドロ - イソインドール - 2 - イルメチル ) - 4 , 7 - ジヒドロ - 5 H - チエノ [ 2 , 3 - c ] ピラン - 3 - カルボン酸 t - ブチルエステル ( 10.2 g 、 0.25 mol ) 、 イミダゾル - 1 - イル - オキソ - 酢酸 t - ブチルエステル ( 7.2 g 、 0.37 mol ) の混合物を室温において 4 時間攪拌した。追加の部分のイミダゾル - 1 - イル - オキソ - 酢酸 t - ブチルエステル ( 2.0 g 、 0.01 mol ) を添加し、生ずる混合物を室温において 16 時間攪拌した。

【 0579 】

沈澱を濾過し、小さい部分のジエチルエーテルで洗浄し、真空乾燥すると、3.5 g ( 26 % ) の 2 - ( t - ブトキシオキサリル - アミノ ) - 7 - ( 1 , 3 - ジオキソ - 1 , 3 - ジヒドロ - イソインドール - 2 - イルメチル ) - 4 , 7 - ジヒドロ - 5 H - チエノ [ 2 , 3 - c ] ピラン - 3 - カルボン酸 t - ブチルエステルが固体として得られた。濾液を真空蒸発させ、残留物に水 ( 100 ml ) および酢酸エチル ( 100 ml ) を添加した。

【 0580 】

沈澱を濾過し、50 において真空乾燥すると、追加の 0.8 g ( 6 % ) の 2 - ( t - ブトキシオキサリル - アミノ ) - 7 - ( 1 , 3 - ジオキソ - 1 , 3 - ジヒドロ - イソインドール - 2 - イルメチル ) - 4 , 7 - ジヒドロ - 5 H - チエノ [ 2 , 3 - c ] ピラン - 3 - カルボン酸 t - ブチルエステルが固体として得られた。

$^1\text{H NMR}$  ( 300 MHz ,  $\text{CDCl}_3$  ) 1.60 ( s , 9 H ) , 1.62 ( s , 9 H ) , 2.79 - 2.97 ( m , 2 H ) , 3.73 ( m , 1 H ) , 3.83 - 3.88 ( dd , 1 H ) , 4.07 - 4.16 ( m , 2 H ) , 5.09 ( m , 1 H ) , 7.71 ( m , 2 H ) , 7.85 ( m , 2 H ) , 12.55 ( bs , 1 H ,  $\text{NHCO}$  ) .

【 0581 】

上記 2 - ( t - ブトキシオキサリル - アミノ ) - 7 - ( 1 , 3 - ジオキソ - 1 , 3 - ジヒドロ - イソインドール - 2 - イルメチル ) - 4 , 7 - ジヒドロ - 5 H - チエノ [ 2 , 3 - c ] ピラン - 3 - カルボン酸 t - ブチルエステル ( 0.8 g 、 1.47 mmol ) を、ジクロロメタン ( 30 ml ) 中の 25 % トリフルオロ酢酸の溶液を添加した。この混合物を室温において 6 時間攪拌し、この時、溶媒を真空除去した。ジエチルエーテルの添加により残留物を沈澱させ、濾過し、50 において真空乾燥すると、0.5 g ( 79 % ) の標題化合物が固体として得られた。

M . p . : > 250 .

$C_{19}H_{14}N_2O_8S$ ,  $0.5 \times H_2O$ としての計算値;

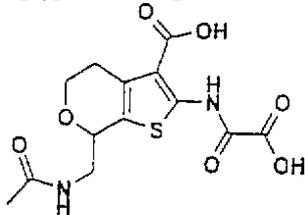
C, 51.94%; H, 3.44%; N, 6.38%.

測定値; C, 52.02%; H, 3.37%; N, 6.48%.

【0582】

実施例131

【化159】



7 - ( アセチルアミノ - メチル ) - 2 - ( オキサリル - アミノ ) - 4 , 7 - ジヒドロ - 5 H - チエノ [ 2 , 3 - c ] ピラン - 3 - カルボン酸 :

【0583】

エタノール ( 100 ml ) 中の 2 - アミノ - 7 - ( 1 , 3 - ジオキソ - 1 , 3 - ジヒドロ - イソインドール - 2 - イルメチル ) - 4 , 7 - ジヒドロ - 5 H - チエノ [ 2 , 3 - c ] ピラン - 3 - カルボン酸 t - ブチルエステル ( 6.0 g 、 0.014 mol ) の混合物に、ヒドラゾンハイドレート ( 1.4 ml 、 0.028 mol ) を添加した。反応混合物を 1 時間加熱還流させ、冷却し、沈澱を濾過した。濾液を真空蒸発させ、残留物に水 ( 100 ml ) を添加し、生ずる混合物をジエチルエーテル ( 2 × 100 ml ) で抽出した。

【0584】

一緒にした有機抽出液をブライン ( 100 ml ) で洗浄し、乾燥 (  $Na_2SO_4$  ) し、溶媒を真空蒸発させると、2.9 g ( 71 % ) の 2 - アミノ - 7 - アミノメチル - 4 , 7 - ジヒドロ - 5 H - チエノ [ 2 , 3 - c ] ピラン - 3 - カルボン酸 t - ブチルエステルが油として得られた。

$^1H$  NMR ( 300 MHz ,  $CDCl_3$  ) 1.55 ( s , 9 H ) , 2.70 - 2.97 ( m , 4 H ) , 3.69 - 3.78 ( m , 1 H ) , 4.13 ( m , 1 H ) , 4.50 ( m , 1 H ) , 6.09 ( bs , 2 H , thiophen -  $NH_2$  ) .

【0585】

ジクロロメタン ( 50 ml ) 中の上記 2 - アミノ - 7 - アミノメチル - 4 , 7 - ジヒドロ - 5 H - チエノ [ 2 , 3 - c ] ピラン - 3 - カルボン酸 t - ブチルエステル ( 1.5 g 、 5.27 mmol ) およびトリエチルアミン ( 1.5 ml ) の氷冷溶液に、アセチルクロライド ( 0.46 g 、 5.80 mmol ) を滴下した。反応混合物を室温に到達させ、さらに 0.5 時間攪拌した。反応混合物を水 ( 2 × 25 ml ) で洗浄し、乾燥 (  $Na_2SO_4$  ) し、濾過し、溶媒を真空蒸発させた。残留物をシリカゲル ( 1 リットル ) のカラムクロマトグラフィーにより精製し、まず酢酸エチル、後に酢酸エチル / エタノール ( 20 : 1 ) 混合物を溶離剤として使用した。

【0586】

純粋な画分を収集し、溶媒を真空蒸発させると、0.3 g ( 17 % ) の 7 - ( アセチルアミノ - メチル ) - 2 - アミノ - 4 , 7 - ジヒドロ - 5 H - チエノ [ 2 , 3 - c ] ピラン - 3 - カルボン酸 t - ブチルエステルが固体として得られた。

$^1H$  NMR ( 300 MHz ,  $CDCl_3$  ) 1.56 ( s , 9 H ) , 1.99 ( s , 3 H ) , 2.77 ( m , 2 H ) , 3.19 ( m , 1 H ) , 3.67 - 3.79 ( m , 2 H ) , 4.09 - 4.16 ( m , 1 H ) , 4.63 ( m , 1 H ) , 5.91 ( bs , 1 H ) , 6.10 ( bs , 2 H ) .

【0587】

テトラヒドロフラン ( 40 ml ) 中の上記 7 - ( アセチルアミノ - メチル ) - 2 - アミノ - 4 , 7 - ジヒドロ - 5 H - チエノ [ 2 , 3 - c ] ピラン - 3 - カルボン酸 t - ブ

チルエステル (0.3 g、0.92 mmol) の混合物に、乾燥テトラヒドロフラン (5 ml) 中のイミダゾル - 1 - イル - オキソ - 酢酸 t - ブチルエステル (0.22 g、1.10 mmol) の混合物を滴下した。この混合物を室温において3時間攪拌した。揮発性物質を真空蒸発させ、残留物を酢酸エチル (100 ml) 中に溶解し、水 (50 mmol) およびブライン (50 ml) で洗浄した。有機相を乾燥 (Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) し、濾過し、真空蒸発させた。

【0588】

残留物 (0.4 g) をジイソプロピルエーテル (5 ml) およびジエチルエーテル (5 ml) の混合物とともに攪拌した。沈澱を濾過し、濾液を真空蒸発させると、0.25 g (60%) の7 - (アセチルアミノ - メチル) - 2 - (t - ブトキシオキサリル - アミノ) - 4, 7 - ジヒドロ - 5H - チエノ [2, 3 - c] ピラン - 3 - カルボン酸 t - ブチルエステルが油として得られた。

M. p. : 220 - 222 .

<sup>1</sup>H NMR (300 MHz, DMSO - d<sub>6</sub>) 1.87 (s, 3H), 2.82 (bs, 2H), 3.19 (m, 1H), 3.51 (m, 1H), 3.67 (m, 1H), 4.07 (m, 1H), 4.69 (m, 1H), 8.14 (t, 1H, NHCOMe), 12.3 (s, 1H, NHCOCOOH) .

【0589】

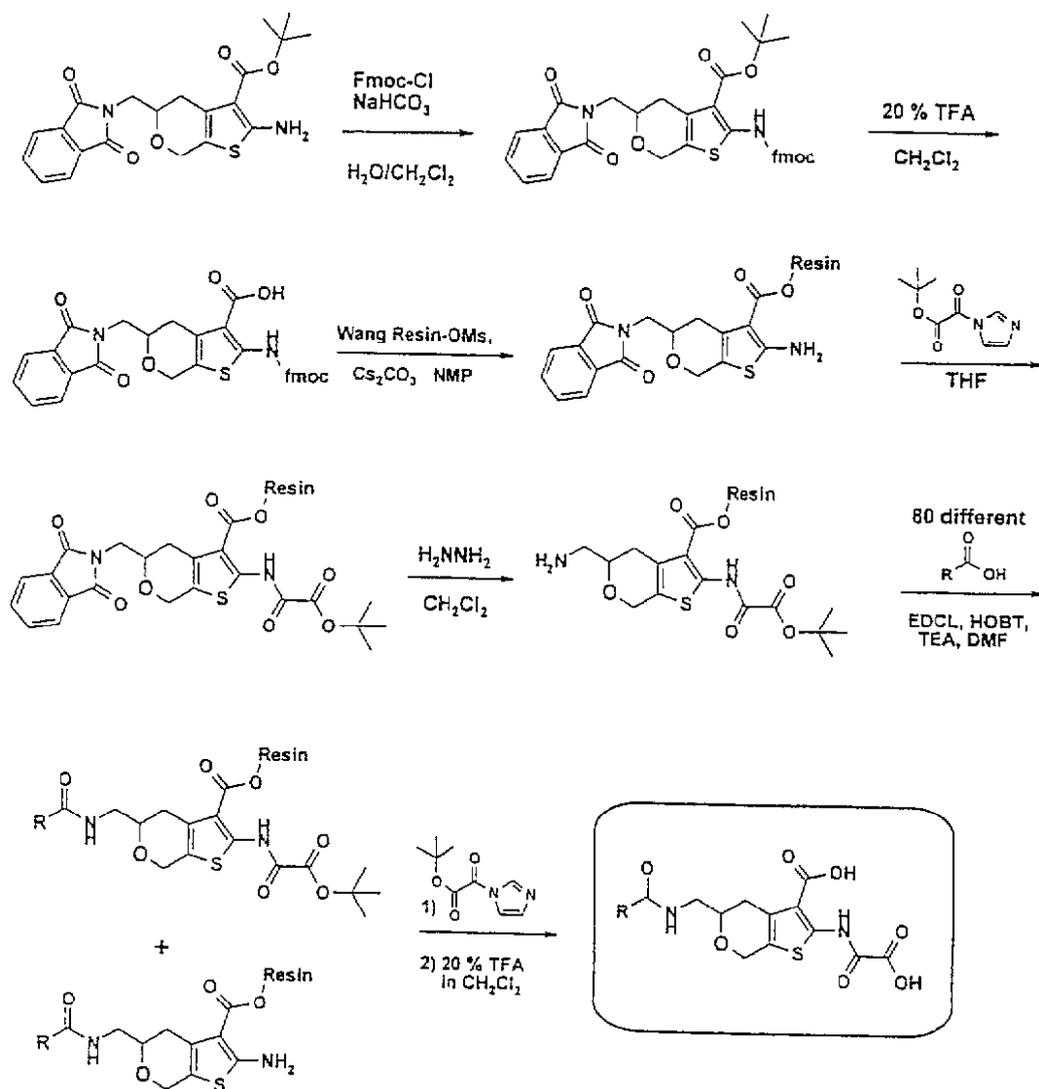
上記7 - (アセチルアミノ - メチル) - 2 - (t - ブトキシオキサリル - アミノ) - 4, 7 - ジヒドロ - 5H - チエノ [2, 3 - c] ピラン - 3 - カルボン酸 t - ブチルエステル (0.2 g、0.44 mmol) を、ジクロロメタン (20 ml) 中の25% トリフルオロ酢酸の溶液を添加した。反応混合物を室温において4時間攪拌し、この時、溶媒を真空除去した。ジエチルエーテルの添加により残留物を沈澱させ、濾過し、50において真空乾燥すると、0.11 g (73%) の標題化合物が固体として得られた。

<sup>1</sup>H NMR (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>) 1.64 (s, 9H), 1.65 (s, 9H), 2.02 (s, 3H), 2.87 (m, 2H), 3.29 (m, 1H), 3.74 (m, 1H), 3.89 (ddd, 1H), 4.18 (m, 1H), 4.78 (m, 1H), 5.93 (bs, 1H, NHCOMe), 12.5 (s, 1H, NHCOCOOH) .

【0590】

実施例 132

【化160】



## 【0591】

ジクロロメタン (30 ml) 中に溶解した 2 - アミノ - 5 - (1, 3 - ジオキソ - 1, 3 - ジヒドロ - イソインドール - 2 - イルメチル) - 4, 7 - ジヒドロ - 5H - チエノ [2, 3 - c] ピラン - 3 - カルボン酸 t - ブチルエステル (4.5 g、0.0011 mol) に、水 (16 ml) 中に溶解した重炭酸ナトリウム (1.0 g、0.0011 mol) を添加した。反応混合物を 0 に冷却し、9 - フルオレニルメチルクロロホルメート (3.0 g、0.012 mol) を添加した。5 分間攪拌した後、反応混合物を室温に加温し、16 時間激しく攪拌した。有機層を分離し、ブライン (10 ml) で洗浄した。

## 【0592】

水相をジクロロメタン (2 x 20 ml) で抽出し、一緒にした有機相を乾燥 ( $\text{MgSO}_4$ ) し、濾過し、真空蒸発させると、オレンジ色固体が得られ、これをフラッシュクロマトグラフィーにより精製し、ジクロロメタンを溶離剤として使用した。純粋な画分を収集し、真空蒸発させると、5.6 g (81%) の 5 - (1, 3 - ジオキソ - 1, 3 - ジヒドロ - イソインドール - 2 - イルメチル) - 2 - (9H - フルオレン - 9 - イルメトキシカルボニルアミノ) - 4, 7 - ジヒドロ - 5H - チエノ [2, 3 - c] ピラン - 3 - カルボン酸 t - ブチルエステルが固体として得られた。

## 【0593】

$^1\text{H NMR}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) 10.60 (bs, 1H), 7.87 - 7.84 (m, 2H), 7.75 (d,  $J = 8 \text{ Hz}$ , 2H), 7.73 - 7.70 (m, 2H), 7.60 (d,  $J = 8 \text{ Hz}$ , 2H), 7.39 (t,  $J = 8 \text{ Hz}$ , 2H), 7.30 (t,  $J = 8 \text{ Hz}$ , 2H), 4.74 (d,  $J = 14 \text{ Hz}$ , 1

H), 4.62 (d, J = 14 Hz, 1H), 4.48 (d, J = 7 Hz, 2H), 4.27 (t, J = 7 Hz, 1H), 4.05 - 4.00 (m, 2H), 3.86 - 3.80 (m, 1H), 2.92 (d, J = 17 Hz, 1H), 2.64 (dd, J = 17.9 Hz, 1H), 1.52 (s, 9H).

LC/MS [M+H]<sup>+</sup>: 637.49

【0594】

上記 F-moc 保護チエノ[2, 3-c]ピラン(5.5g、8.6mmol)を0においてジクロロメタン(30ml)中の20%トリフルオロ酢酸の溶液に添加した。反応を室温において4時間撈拌した。揮発性物質を真空蒸発させ、残留物をジエチルエーテルで沈澱させ、濾過し、乾燥すると、4.2g(85%)の5-(1, 3-ジオキソ-1, 3-ジヒドロ-イソインドール-2-イルメチル)-2-(9H-フルオレン-9-イルメトキシ-カルボニルアミノ)-4, 7-ジヒドロ-5H-チエノ[2, 3-c]ピラン-3-カルボン酸が固体として得られた。

<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) 10.22 (brs, 1H), 7.88 (d, J = 5 Hz, 2H), 7.88 - 7.82 (m, 4H), 7.66 (d, J = 5 Hz, 2H), 7.40 (t, J = 5 Hz, 2H), 7.32 (t, J = 5 Hz, 2H), 4.68 - 4.48 (m, 4H), 4.34 (t, J = 5 Hz, 1H), 3.90 - 3.81 (m, 2H), 3.72 - 3.67 (m, 1H), 2.87 (m, 1H), 2.51 (m, 1H).

【0595】

ワング樹脂(Wang-Resin)(3.75g、4.5mmol)にジクロロメタン(50ml)を添加し、この混合物を窒素雰囲気下に0に冷却した。ジイソプロピルエチルアミン(25ml)を添加し、次いでメタンスルホニルクロライド(2.25ml、2.9mmol)を添加した。反応を0において0.5撈拌し、次いで室温においてさらに0.5時間撈拌した。樹脂を濾過し、ジクロロメタン(2×30ml)、N-メチルピロリドン(20ml)で洗浄し、再びジクロロメタン(2×30ml)で洗浄した。ワング樹脂メタンスルホニルエステルを2時間真空乾燥し、次の工程において直接使用した。

【0596】

ワング樹脂メタンスルホニルエステルおよび5-(1, 3-ジオキソ-1, 3-ジヒドロ-イソインドール-2-イルメチル)-2-(9H-フルオレン-9-イルメトキシ-カルボニルアミノ)-4, 7-ジヒドロ-5H-チエノ[2, 3-c]ピラン-3-カルボン酸(4.85g、8.4mmol)に、N-メチルピロリドン(45ml)を添加した。炭酸カルシウム(2.2g、6.7mmol)を添加し、反応を窒素雰囲気下に16時間撈拌し、次いで80において36時間撈拌した。この混合物を室温に冷却し、樹脂を濾過し、水、メタノール、およびジクロロメタンで反復して洗浄し、2時間真空乾燥すると、5-(1, 3-ジオキソ-1, 3-ジヒドロ-イソインドール-2-イルメチル)-2-(9H-フルオレン-9-イルメトキシ-カルボニルアミノ)-4, 7-ジヒドロ-5H-チエノ[2, 3-c]ピラン-3-カルボン酸ワング樹脂エステルが得られた。

【0597】

上記ワング樹脂エステル(4.85%)を、テトラヒドロフラン(20ml)中の20%ピペリジンの溶液中で45分間撈拌した。次いで樹脂を濾過し、テトラヒドロフラン(2×20ml)、メタノール(2×20ml)、およびジクロロメタン(3×20ml)で洗浄し、3時間真空乾燥すると、2-アミノ-5-(1, 3-ジオキソ-1, 3-ジヒドロ-イソインドール-2-イルメチル)-4, 7-ジヒドロ-5H-チエノ[2, 3-c]ピラン-3-カルボン酸ワング樹脂エステルが得られた。

【0598】

上記ワング樹脂エステル(4.85g)をジクロロメタン(50ml)およびトリエチルアミン(30ml)の混合物中に懸濁させた。イミダゾール-1-イル-オキソ-酢酸

t - ブチルエステル ( 4 . 2 g 、 0 . 0 2 1 m o l ) を窒素雰囲気下に添加し、反応を室温において16時間攪拌した。樹脂を濾過し、メタノール ( 3 0 m l ) 、次いでジクロロメタン ( 3 0 m l ) で洗浄し、このプロセスを2回反復した。樹脂を数時間真空乾燥すると、2 - ( t - プトキシオキサリル - アミノ ) - 5 - ( 1 , 3 - ジオキソ - 1 , 3 - ジヒドロ - イソインドール - 2 - イルメチル ) - 4 , 7 - ジヒドロ - 5 H - チエノ [ 2 , 3 - c ] ピラン - 3 - カルボン酸ワング樹脂が得られた。

**【0599】**

上記ワング樹脂エステルの小さい試料をジクロロメタン ( 3 m l ) 中の20%トリフルオロ酢酸で1時間処理した。樹脂を濾過し、濾液を真空濃縮した。残留物をジクロロメタンから2回蒸発させると、30mgの固体が得られ、これは実施例106において合成した化合物と一致する<sup>1</sup>H NMRおよびMSを有した。こうしてワング樹脂の負荷は0.6 mmol / g であると決定された。

**【0600】**

上記ワング樹脂エステル ( 3 . 0 g 、 1 . 8 m m o l ) をジクロロメタン ( 2 5 m l ) 中に懸濁させた。ヒドラジン ( 0 . 1 4 m l 、 4 . 5 m m o l ) を添加し、反応を窒素雰囲気下に室温において24時間攪拌した。樹脂を濾過し、メタノールおよびジクロロメタンで交互に多数回洗浄した。濾液を収集し、濃縮すると、260mgの固体が得られた。副生物の分析により反応は不完全であると決定され、この時、樹脂を再びジクロロメタン ( 1 5 m l ) 中に懸濁させ、ヒドラジン ( 5 0 μ l ) でさらに16時間処理した。

**【0601】**

前述したように樹脂を濾過しかつ洗浄すると、濾液から追加の30gの副生物が得られた。この時点において、反応は完結したと判定され、樹脂を3時間真空乾燥すると、2.67gの5 - アミノメチル - 2 - ( t - プトキシオキサリル - アミノ ) - 4 , 7 - ジヒドロ - 5 H - チエノ [ 2 , 3 - c ] ピラン - 3 - カルボン酸 t - ブチルエステルワング樹脂が得られた。この樹脂はアミンについて陽性のニンヒドリン試験を与えた。

**【0602】**

上記ワング樹脂 ( 2 . 6 7 g ) をテトラヒドロフラン / ジクロロメタン ( 1 : 1 、 9 0 m l ) , 混合物中に懸濁させ、オントブロック ( O n t o B l o c k ) ( 8 0 ウェル、0.02 mmol / ウェル ) に分配させた。ブロックを排液した。そうしている間に、80のカルボン酸を個々のバイアル ( 0 . 0 4 4 m m o l / バイアル ) の中に秤量して入れた。1 - ( 3 - ジメチルアミノプロピル ) - 3 - エチルカーボジイミド塩酸塩 ( 0 . 8 5 g 、 4 . 4 m m o l ) 、 1 - ヒドロキシ - ベンゾトリアゾールハイドレート ( 0 . 6 g 、 4 . 4 m m o l ) 、 およびトリエチルアミン ( 1 . 1 m l 、 8 . 0 m m o l ) の溶液をN , N - ジメチルホルムアミド ( 1 0 0 m l ) 中で調製した。

**【0603】**

この溶液を各バイアル ( 1 m l / バイアル ) に添加し、次いで各バイアルの内容物をオントブロック ( O n t o B l o c k ) のウェルに移した ( 時々バイアルを超音波処理して完全な溶解を達成した ) 。次いでブロックを2日間震盪させた。この時において、ブロックを排液し、メタノールおよびジクロロメタンで洗浄した。次いでブロックを真空デシケーターの中に2時間入れ、次いで1mlのイミダゾル - 1 - イル - オキソ - 酢酸 t - ブチルエステル ( ジクロロメタン中の0.2 M ) を各ウェルに添加した。次いでブロックを16時間震盪させた。

**【0604】**

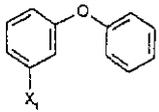
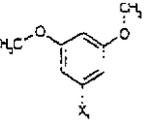
再び、上記方法に従い、ブロックを洗浄した。洗浄後、ジクロロメタン中の20%トリフルオロ酢酸溶液の1mlを各ウェルに添加し、45分間放置した。ウェルを追加の0.5mlのジクロロメタン中の20%トリフルオロ酢酸溶液で処理し、濾液を再び収集した。揮発性物質を真空蒸発させると、80の化合物がマクロタイタープレートの中に固体として得られた。プレートを質量分析により分析し、ここでウェルのうちの66は分子イオンとして期待した生成物を示した。

X<sub>1</sub> は結合点である。

百分率は 220 nm における HPLC のピークの面積を意味する。

【表 2 4】

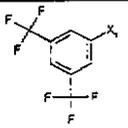
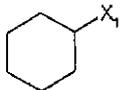
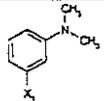
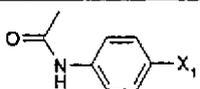
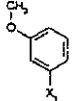
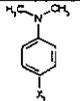
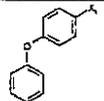
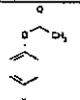
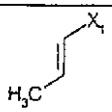
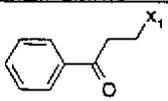
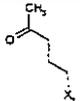
表 2 4

R	式	Mw	LC/MS
	$C_{24}H_{20}N_2O_8S$	496,50	495 (M-H,21%)
	$C_{20}H_{20}N_2O_9S$	464,45	463 (M-H,30%)

【 0 6 0 5 】

【表 2 5】

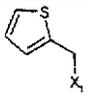
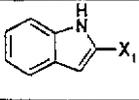
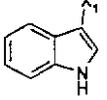
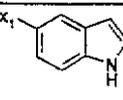
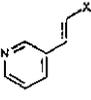
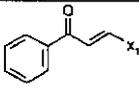
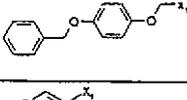
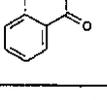
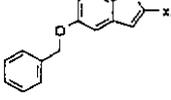
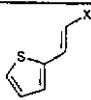
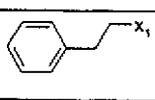
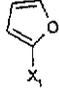
表 2 5

	C20H14F6N2O7S	540,40	539 (M-H,16%)
	C18H22N2O7S	410,45	409 (M-H,33%)
	C20H21N3O7S	447,47	446 (M-H,39%)
	C20H19N3O8S	461,45	460 (M-H,38%)
	C18H20N2O7S	408,43	407 (M-H,40%)
	C19H18N2O8S	434,43	433 (M-H,49%)
	C20H21N3O7S	447,47	446 (M-H,38%)
	C24H20N2O8S	496,50	495 (M-H,47%)
	C20H18N2O9S	462,44	444 (M-H2O)
	C15H16N2O7S	368,37	367 (M-H,33%)
	C21H20N2O8S	460,47	459 (M-H,31%)
	C17H20N2O8S	412,42	411 (M-H,30%)

【 0 6 0 6 】

【 表 2 6 】

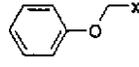
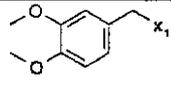
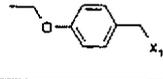
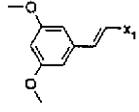
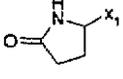
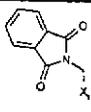
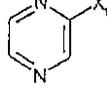
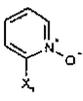
表 2 6

	C17H16N2O7S2	424,45	423 (M-H, 16%)
	C20H17N3O7S	443,44	557 (M+TFA, 36%)
	C20H17N3O7S	443,44	442 (M-H, 37%)
	C20H17N3O7S	443,44	425 (M-H2O, 23%)
	C19H17N3O7S	431,43	430 (M-H, 48%)
	C21H18N2O8S	458,45	414 (M-CO2, 24%)
	C26H24N2O9S	540,55	539 (M-H, 17%)
	C21H16N2O9S	472,43	471 (M-H, 35%)
	C27H23N3O8S	549,56	663 (M+TFA, 36%)
	C18H16N2O7S2	436,47	437 (M+H, 45%)
	C20H20N2O7S	432,46	431 (M-H, 20%)
	C16H14N2O8S	394,36	393 (M-H, 43%)

【 0 6 0 7 】

【 表 2 7 】

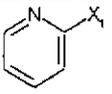
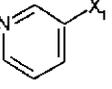
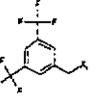
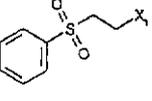
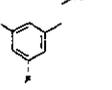
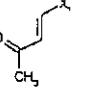
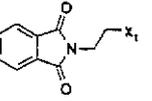
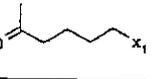
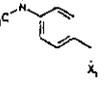
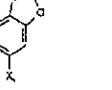
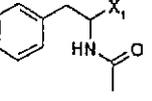
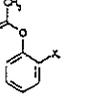
表 2 7

	C22H18N2O7S	454,46	453 (M-H,42%)
	C19H18N2O8S	434,43	433 (M-H,22%)
	C19H18N2O7S	418,43	417 (M-H,28%)
	C21H22N2O9S	478,48	477 (M-H,25%)
	C21H22N2O8S	462,48	461 (M-H,33%)
	C20H18N2O7S	430,44	429 (M-H,57%)
	C22H22N2O9S	490,49	446 (M-CO2,42%)
	C16H17N3O8S	411,39	410 (M-H,14%)
	C16H14N2O8S	394,36	393 (M-H, 39%)
	C16H14N2O7S2	410,43	409 (M-H,51%)
	C21H17N3O9S	487,45	486 (M-H,17%)
	C16H14N4O7S	406,38	405 (M-H,17%)
	C17H15N3O8S	421,39	420 (M-H,18%)

【 0 6 0 8 】

【 表 2 8 】

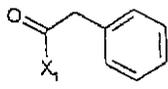
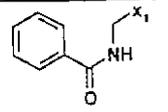
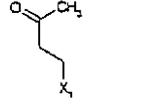
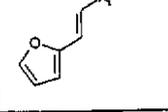
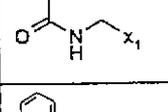
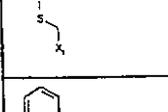
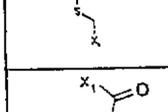
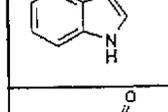
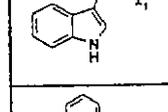
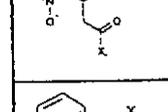
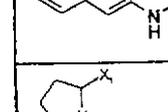
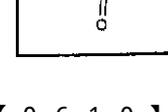
表 2 8

	C17H15N3O7S	405,39	404 (M-H,43%)
	C17H15N3O7S	405,39	404 (M-H,41%)
	C21H16F6N2O7S	554,43	553 (M-H,18%)
	C20H20N2O9S2	496,52	495 (M-H,51%)
	C20H16F2N2O7S	466,42	465 (M-H,43%)
	C16H16N2O8S	396,38	510 (M+TFA,21%)
	C22H19N3O9S	501,48	500 (M-H,23%)
	C18H22N2O8S	426,45	425 (M-H,24%)
	C21H23N3O7S	461,50	460 (M-H,23%)
	C19H16N2O9S	448,41	447 (M-H,42%)
	C22H23N3O8S	489,51	488 (M-H,33%)
	C20H18N2O9S	462,44	418 (M-CO2,27%)

【 0 6 0 9 】

【 表 2 9 】

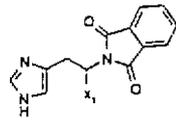
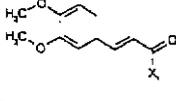
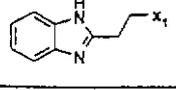
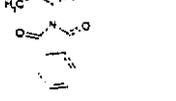
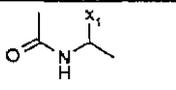
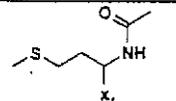
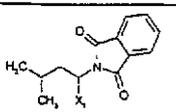
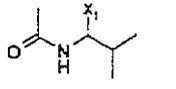
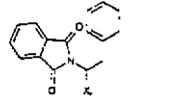
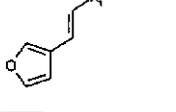
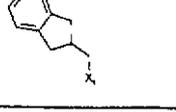
表 2 9

	C20H18N2O8S	446,44	445 (M-H,16%)
	C20H19N3O8S	461,45	460 (M-H,21%)
	C16H18N2O8S	398,39	380 (M-H2O,25%)
	C18H16N2O8S	420,40	421 (M+H,39%)
	C15H17N3O8S	399,38	398 (M-H,19%)
	C19H18N2O7S2	450,49	449 (M-H,23%)
	C20H20N2O7S2	464,52	463 (M-H,31%)
	C21H17N3O8S	471,45	470 (M-H,32%)
	C22H19N3O8S	485,48	ヒットなし
	C20H17N3O10S	491,44	ヒットなし
	C22H21N3O8S	487,49	486 (M-H,17%)
	C18H21N3O8S	439,45	438 (M-H,30%)

【 0 6 1 0 】

【 表 3 0 】

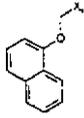
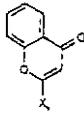
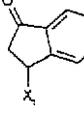
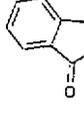
表 3 0

	C25H21N5O9S	567,54	566 (M-H,32%)
	C23H22N2O10S	518,50	519 (M+H,15%)
	C21H20N4O7S	472,48	471 (M-H,41%)
	C23H21N3O9S	515,50	514 (M-H,45%)
	C16H19N3O8S	413,41	412 (M-H,26%)
	C18H23N3O8S2	473,53	472 (M-H,31%)
	C25H25N3O9S	543,56	542 (M-H,20%)
	C18H23N3O8S	441,46	440 (M-H,28%)
	C28H23N3O9S	577,57	576 (M-H,17%)
	C18H16N2O8S	420,40	419 (M-H,34%)
	C22H22N2O7S	458,49	457 (M-H,22%)
	C26H18N2O9S	534,51	ヒットなし

【 0 6 1 1 】

【 表 3 1 】

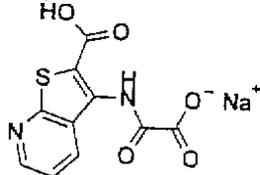
表 3 1

	C23H20N2O8S	484,49	ヒットなし
	C21H16N2O9S	472,43	471 (M-H,30%)
	C21H18N2O8S	458,45	457 (M-H,27%)
	C22H19N3O9S	501,48	500 (M-H,30%)

【 0 6 1 2 】

実施例 1 3 3

【 化 1 6 1 】



3 - ( オキサリル - アミノ ) - チエノ [ 2 , 3 - b ] ピリジン - 2 - カルボン酸 ・ ナトリウム塩 :

【 0 6 1 3 】

0 の乾燥テトラヒドロフラン ( 5 0 m l ) 中の 3 - アミノ - チエノ [ 2 , 3 - b ] ピリジン - 2 - カルボン酸メチルエステル ( 1 . 0 g , 4 . 8 m m o l ) 、 トリエチルアミン ( 1 . 0 m l , 7 . 2 0 m m o l ) の攪拌溶液に、乾燥テトラヒドロフラン ( 5 m l ) 中のエチルオキサリルクロライド ( 0 . 8 g , 5 . 7 6 m m o l ) の溶液を滴下した。生ずる反応混合物を室温において 3 時間攪拌し、氷水 ( 2 0 0 m l ) 中に注いだ。沈澱を濾過し、5 0 において真空乾燥すると、0 . 9 g ( 6 1 % ) の 3 - ( エトキシオキサリル - アミノ ) - チエノ [ 2 , 3 - b ] ピリジン - 2 - カルボン酸メチルエステルが固体として得られた。

【 0 6 1 4 】

エタノール ( 2 0 m l ) 中の上記チエノ [ 2 , 3 - b ] ピリジン - 2 - カルボン酸メチルエステル ( 0 . 5 g , 1 . 6 2 m m o l ) の溶液に、水 ( 1 0 m l ) 中の水酸化ナトリウム ( 0 . 2 g , 4 . 8 7 m m o l ) の溶液を添加した。生ずる反応混合物を室温において 1 8 時間攪拌し、1 N 塩酸の添加により pH を約 2 に調節し、沈澱を濾過し、水 ( 2 x 5 0 m l ) 、ジエチルエーテル ( 2 x 3 0 m l ) で洗浄し、5 0 において真空乾燥すると、1 3 0 m g ( 3 0 % ) の標題化合物が固体として得られた。

M . p . : &gt; 2 5 0

C<sub>10</sub>H<sub>5</sub>N<sub>2</sub>O<sub>5</sub>S<sub>1</sub>Na<sub>1</sub> , 1 x H<sub>2</sub>O についての計算値 ;

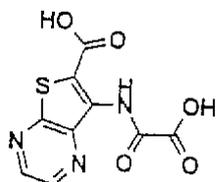
C , 3 9 . 2 2 % ; H , 2 . 3 0 % ; N , 9 . 1 5 % .

測定値 ; C , 3 9 . 3 2 % ; H , 2 . 3 5 % ; N , 8 . 8 9 % .

【 0 6 1 5 】

実施例 1 3 4

【 化 1 6 2 】



7 - ( オキサリル - アミノ ) - チエノ [ 2 , 3 - b ] ピラジン - 6 - カルボン酸 :

テトラヒドロフラン ( 0 . 5 m l ) 中の 6 - アセチル - チエノ [ 2 , 3 - b ] ピラジン - 7 - カルボン酸メチルエステル ( 6 2 . 7 m l , 0 . 3 m m o l ) の溶液に、イミダゾル - 1 - イル - オキソ - 酢酸 t - ブチルエステル ( 1 1 7 . 6 m g , 0 . 6 m m o l ) およびトリエチルアミン ( 4 2 μ l , 0 . 3 m m o l ) を添加した。

【 0 6 1 6 】

生ずる混合物を室温において 2 0 時間攪拌した。揮発性物質を真空蒸発させ、残留物を酢酸エチル ( 5 . 0 m l ) 中に溶解し、1 % 塩酸 ( 2 × 2 m l )、水 ( 2 × 2 m l ) で洗浄し、乾燥 ( M g S O <sub>4</sub> ) し、濾過し、溶媒を真空蒸発させると、9 6 m g ( 9 5 % ) の 6 - ( t - ブトキシオキサリル - アミノ ) - チエノ [ 2 , 3 - b ] ピラジン - 7 - カルボン酸メチルエステルが固体として得られた。

<sup>1</sup> H N M R ( 4 0 0 M H z , C D C l <sub>3</sub> ) 1 . 6 0 ( s , 9 H ) , 3 . 8 0 ( s , 3 H ) , 8 . 6 0 ( d , 1 H , J = 1 . 5 H z ) , 8 . 7 0 ( d , 1 H , J = 1 . 5 H z ) .

【 0 6 1 7 】

ジオキサン ( 1 . 2 m l ) 中の上記 6 - ( t - ブトキシオキサリル - アミノ ) - チエノ [ 2 , 3 - b ] ピラジン - 7 - カルボン酸メチルエステル ( 3 7 . 8 m g , 0 . 1 2 2 m m o l ) の溶液に、水酸化リチウム ( 4 5 m g ) および水 ( 0 . 6 m l ) を添加し、この混合物を室温において 2 0 時間攪拌した。揮発性物質を真空蒸発させ、残留物を酢酸エチル ( 3 0 m l ) 中に溶解し、1 . 0 N 塩酸 ( 3 × 3 m l )、水 ( 3 × 3 m l ) で洗浄し、乾燥 ( N a <sub>2</sub> S O <sub>4</sub> ) し、濾過し、溶媒を真空蒸発させると、2 0 m g ( 6 7 % ) の標題化合物が固体として得られた。

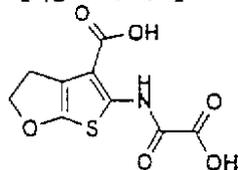
<sup>1</sup> H N M R ( 4 0 0 M H z , C D <sub>3</sub> O D ) 8 . 6 4 ( d , 1 H , J = 1 . 5 H z ) , 8 . 6 6 ( 1 H , d , J = 1 . 5 H z ) .

M S m / z 1 5 0 . 0 ( M - 1 1 7 ) C O O H および C O C O O H の解放。

【 0 6 1 8 】

実施例 1 3 5

【 化 1 6 3 】



5 - ( オキサリル - アミノ ) - 2 , 3 - ジヒドロ - チエノ [ 2 , 3 - b ] フラン - 4 - カルボン酸 :

エタノール ( 2 0 0 m l ) 中のジヒドロ - フラン - 3 - オン ( 1 1 . 5 g , 0 . 1 3 4 m o l , O r g . S y n . C o l l . V o l . 5 , 8 6 6 に記載されているように製造した ) の溶液に、エチルシアノアセテート ( 1 6 . 6 g , 0 . 1 4 7 m o l ) 、硫黄 ( 4 . 7 g , 0 . 1 4 7 m o l ) およびモルホリン ( 1 5 m l ) を添加した。

【 0 6 1 9 】

適度な発熱反応を 4 5 において 1 時間攪拌した。反応混合物を冷却し、濾過し、濾液を真空蒸発させた。生ずる油を酢酸エチル ( 4 0 0 m l ) 中に溶解し、水 ( 2 × 1 0 0 m l )、ブライン ( 1 0 0 m l ) で洗浄し、乾燥 ( N a <sub>2</sub> S O <sub>4</sub> ) した。溶媒を真空蒸発させ、残留物 ( 2 8 g ) をフラッシュクロマトグラフィー ( 1 リットルシリカゲル ) にかき、酢酸エチル / ヘキサン ( 1 : 1 ) 混合物を溶離剤として使用した。半純粋な画

分を収集すると、蒸発後、8.4 gの5 - アミノ - 2 , 3 - ジヒドロ - チエノ [ 2 , 3 - b ] フラン - 4 - カルボン酸エチルエステルが油として得られた。

【0620】

乾燥テトラヒドロフラン ( 150 ml ) 中の上記5 - アミノ - 2 , 3 - ジヒドロ - チエノ [ 2 , 3 - b ] フラン - 4 - カルボン酸エチルエステルに、トリエチルアミン ( 10 ml ) を添加し、乾燥テトラヒドロフラン ( 25 ml ) 中のエチルオキサリルクロライド ( 4.9 g , 0.043 mol ) の混合物を窒素雰囲気下に0 においてを滴下した。反応混合物を室温において18時間攪拌した。揮発性物質を真空蒸発させ、残留物を酢酸エチル ( 400 ml ) 中に溶解した。有機相を水 ( 200 ml ) 、ブライン ( 100 ml ) で洗浄し、乾燥 (  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  ) し、濾過し、有機相を真空蒸発させた。

【0621】

残留物をシリカゲルの通路に通過させて濾過し、酢酸エチル / ヘキサン ( 1 : 1 ) 混合物を溶離剤として使用した。溶媒を真空蒸発させ、残留物をフラッシュクロマトグラフィー ( 1 リットルシリカゲル ) にかき、酢酸エチル / ヘキサン混合物 ( 1 : 2 ) を溶離剤として使用した。純粋な画分を収集し、真空蒸発させ、ジエチルエーテルで洗浄すると、0.5 g ( 1.2 % ) の5 - ( エトキシオキサリル - アミノ ) - 2 , 3 - ジヒドロ - チエノ [ 2 , 3 - b ] フラン - 4 - カルボン酸エチルエステルが油として得られた。

【0622】

エタノール ( 10 ml ) および水 ( 25 ml ) の混合物中の上記5 - ( エトキシオキサリル - アミノ ) - 2 , 3 - ジヒドロ - チエノ [ 2 , 3 - b ] フラン - 4 - カルボン酸エチルエステル ( 0.4 g , 1.2 mmol ) の溶液に、1 N水酸化ナトリウム ( 3.8 ml , 3.8 mmol ) の溶液を添加した。この混合物を室温において20時間攪拌した。反応混合物を水 ( 50 ml ) で希釈し、酢酸エチル ( 50 ml ) で洗浄した。水相を1 N塩酸でpH = 2 に酸性化した。沈澱を濾過し、水で洗浄し、50 において真空乾燥すると、NMR によれば、0.2 gの5 - ( オキサリル - アミノ ) - 2 , 3 - ジヒドロ - チエノ [ 2 , 3 - b ] フラン - 4 - カルボン酸エチルエステルが得られた。

【0623】

このモノ - エステルを水 ( 40 ml ) とエタノール ( 10 ml ) の混合物中に溶解し、この混合物に1 N水酸化ナトリウム ( 3 ml , 3 mmol ) を添加した。反応混合物を室温において20時間攪拌した。この混合物を1 N塩酸でpH = 2 に酸性化し、沈澱を濾過し、水で洗浄し、50 において真空乾燥すると、150 mg ( 465 - ( オキサリル - アミノ ) - 標題化合物が固体として得られた。

M . p . : > 250 .

$^1\text{H NMR}$  ( 300 MHz ,  $\text{DMSO-d}_6$  ) 3.12 ( t , 2 H ) , 4.89 ( t , 2 H ) , 12.0 ( bs , 1 H ,  $\text{NHCO}$  ) .

【図面の簡単な説明】

【図1】

第1 図は、定常状態の酵素の反応速度論的分析の結果を示す。異なる濃度の基質、p - ニトロフェニルホスフェート ( p N P P ) 、およびインヒビター、2 - ( オキサリルアミノ ) 安息香酸 ( 0 , 7.4 , 22.2 , 66.7 および 200  $\mu\text{M}$  - 最終アッセイ濃度 ) と96 ウェルのプレート中でP T P 1 B をインキュベートした。緩衝液 : 100 mM の酢酸ナトリウム pH 5.5 , 50 mM の  $\text{NaCl}$  , 5 mM のジチオスレイトール、0.1 % ( w / v ) のウシ血清アルブミン。インキュベーション時間 : 45 分。温度 : 25 。水酸化ナトリウムを添加し、吸収を405 nm において読む。( A ) ミカエリス・メンテン ( Michaelis Menten ) のプロット ; ( B ) 見掛けの  $K_m$  値 / インヒビター濃度のプロット ; ( C ) 見掛けの  $V_{max}$  / インヒビター濃度のプロット。それ以上の詳細については、「定義」の節を参照のこと。実験 No . 1230 - 5 .

【図2】

第2 図は、定常状態の酵素の反応速度論的分析の結果を示す。緩衝液が次の通りである以外、第2 図における条件（最終アッセイ濃度）：100 mM の酢酸ナトリウム pH 5.5、50 mM の NaCl、5 mM のグルタチオン、1 mM の EDTA、および 0.1 % のウシ血清アルブミン。インキュベーション時間：60 分。実験 No. 1167-3。

【図3】

第3 図は、時間経過の実験の結果を示す。(A) 下記の化合物を含有する緩衝液中で 2.5 mM の p-ニトロフェニルホスフェート (pNPP) と室温において 96 ウェルのプレート中で PTP1B をインキュベートした。化合物、2-(オキサリルアミノ)安息香酸を 250、125 および 62.5  $\mu$ M の最終アッセイ濃度で添加した。反応を酵素の添加により開始し、示した時間において NaOH の添加により反応を停止させた。最後に、405 nm における吸収をすべてのウェルにおいて測定した。(B) EDTA を 1  $\mu$ M の最終濃度で添加した以外、(A) における通りであった。

【図4】

第4 図は、定常状態の酵素の反応速度論的分析の結果を示す。異なる濃度の基質、p-ニトロフェニルホスフェート、およびインヒビター、3-(オキサリル-アミノ)ナフタレン-2-カルボン酸 (0、3.7、11.1、33.3 および 100  $\mu$ M - 最終アッセイ濃度) と 96 ウェルのプレート中で PTP1B をインキュベートした。緩衝液 (最終アッセイ濃度)：100 mM の酢酸ナトリウム pH 5.5、50 mM の NaCl、5 mM のグルタチオン、1 mM の EDTA、および 0.1 % (w/v) のウシ血清アルブミン。インキュベーション時間：60 分。温度：25。水酸化ナトリウムを添加し、吸収を 405 nm において読む。(A) ミカエリス・メンテンのプロット；(B) 見掛けの  $K_m$  値 / インヒビター濃度のプロット；(C) 見掛けの  $V_{max}$  / インヒビター濃度のプロット。それ以上の詳細については、「定義」の節を参照のこと。

【図5】

第5 図は、定常状態の酵素の反応速度論的分析の結果を示す。異なる濃度の基質、p-ニトロフェニルホスフェート、およびインヒビター、2-(オキサリル-アミノ)-4,5,6,7-テトラヒドロ-ベンゾ[b]チオフェン-3-カルボン酸 (0、18.5、55.6、166.7 および 500  $\mu$ M - 最終アッセイ濃度) と 96 ウェルのプレート中で PTP1B をインキュベートした。緩衝液 (最終アッセイ濃度)：100 mM の酢酸ナトリウム pH 5.5、50 mM の NaCl、5 mM のジチオスレイトール、および 0.1 % (w/v) のウシ血清アルブミン。インキュベーション時間：60 分。温度：25。水酸化ナトリウムを添加し、吸収を 405 nm において読む。(A) ミカエリス・メンテンのプロット；(B) 見掛けの  $K_m$  値 / インヒビター濃度のプロット；(C) 見掛けの  $V_{max}$  / インヒビター濃度のプロット。それ以上の詳細については、「定義」の節を参照のこと。

【図6】

第6 図は、定常状態の酵素の反応速度論的分析の結果を示す。(A) ミカエリス・メンテンのプロット。異なる濃度の基質 (pNPP)、p-ニトロフェニルホスフェート (pNPP)、およびインヒビター、5-(1,3-ジオキソ-1,3-ジヒドロ-イソインドール-2-イルメチル)-2-(オキサリル-アミノ)-4,7-ジヒドロ-5H-チエノ[2,3-c]ピラン-3-カルボン酸 (0、7.4、22.2、66.7 および 200  $\mu$ M - 最終アッセイ濃度) と 96 ウェルのプレート中で PTP をインキュベートした。緩衝液 (最終アッセイ濃度)：100 mM の酢酸ナトリウム pH 5.5、50 mM の NaCl、5 mM のグルタチオン、1 mM の EDTA、および 0.1 % のウシ血清アルブミン。温度：25。60 分後、10  $\mu$ l の 0.5 M の水酸化ナトリウム溶液 (50 % (v/v) エタノール中の) を各ウェルに添加し、吸収を 405 nm において読む。(B) ミカエリス・メンテンのプロット。異なる濃度の基質 (pNPP)、p-ニトロフェニルホスフェート、およびインヒビター、5-(1,3-ジオキソ-1,3-ジヒドロ-イソインドール-2-イルメチル)-2-(オ

キサリル - アミノ) - 4 , 7 - ジヒドロ - 5 H - チエノ [ 2 , 3 - c ] ピラン - 3 - カルボン酸 ( 0 , 3 7 , 1 1 1 . 1 , 3 3 3 . 3 および 1 0 0 0 μ M - 最終アッセイ濃度 ) と 9 6 ウェルのプレート中で P T P をインキュベートした。緩衝液 ( 最終アッセイ濃度 ) : 5 0 m M の H E P E S p H 7 . 0 , 1 0 0 m M の N a C l , 5 m M のグルタチオン、 1 m M の E D T A , および 0 . 1 % のウシ血清アルブミン。温度 : 2 5 。 6 0 分後、 2 0 μ l の 0 . 5 M の水酸化ナトリウム溶液 ( 5 0 % ( v / v ) エタノール中の ) を各ウェルに添加し、吸収を 4 0 5 n m において読む。それ以上の詳細については、「定義」の節を参照のこと。

【 図 7 】

第 7 図は、 P T P アーゼドメイン I の多重配列整列に基づく相同性樹を示す。

【 手続補正 2 】

【 補正対象書類名 】 図面

【 補正対象項目名 】 全図

【 補正方法 】 変更

【 補正の内容 】

【 図 1 】

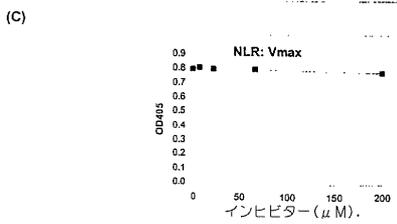
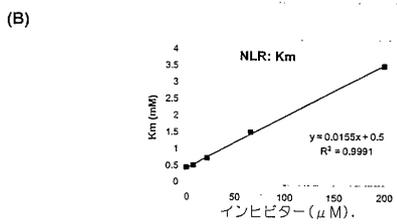
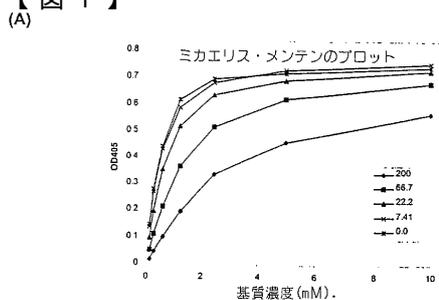


Figure 1 (実験1230-5)

【 図 2 】

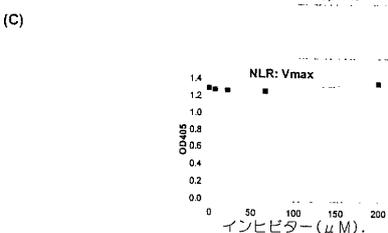
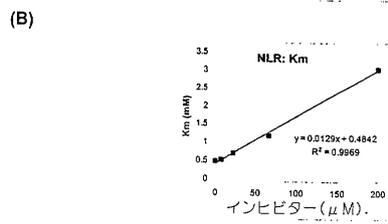
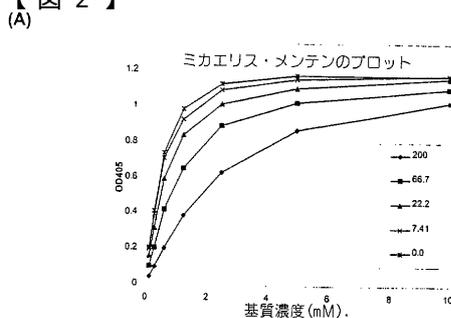


Figure 2 (実験 No. 1167-3)

【 図 3 】

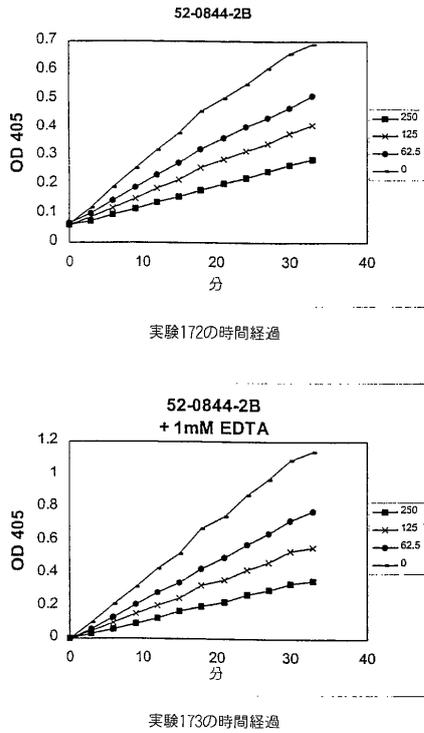


Figure 3

【 図 4 】

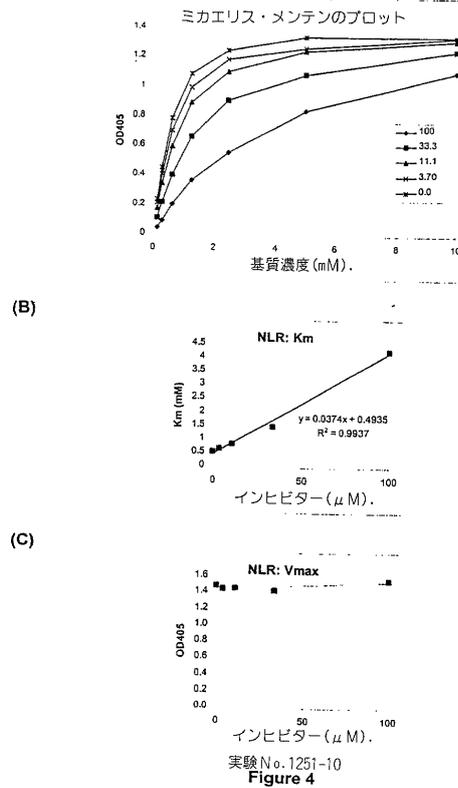


Figure 4

【 図 5 】

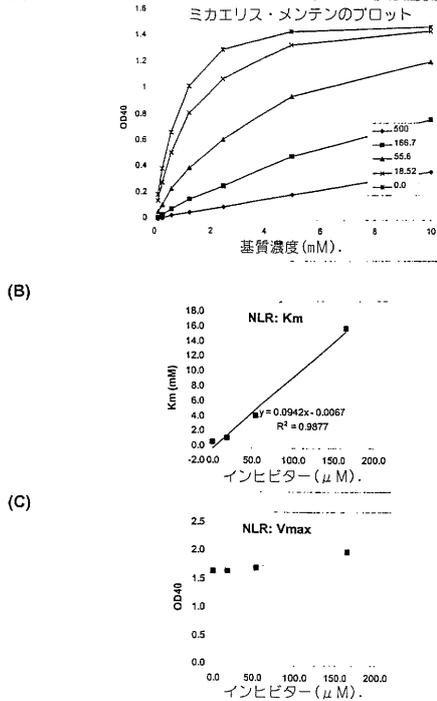


Figure 5

【 図 6 】

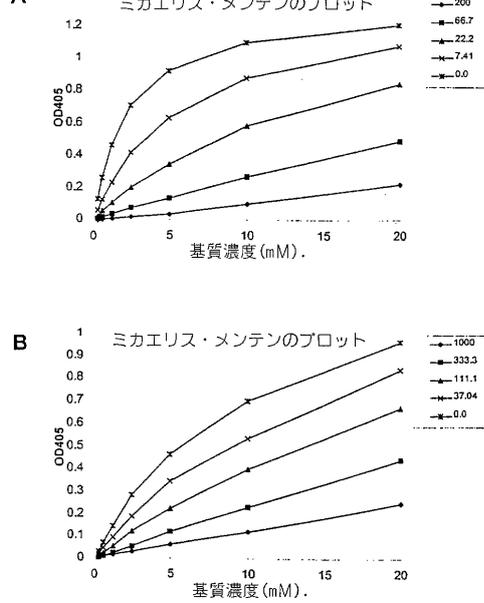


Figure 6

【 図 7 】

Figure 7. PTPアーゼドメインの多重配列  
整列に基づく相同性樹

