

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 公表特許公報(A)

(11) 特許出願公表番号

特表2004-507455

(P2004-507455A)

(43) 公表日 平成16年3月11日(2004.3.11)

(51) Int. Cl.⁷

C07D 471/04

A61K 31/437

A61K 45/00

A61P 1/04

A61P 1/16

F I

C07D 471/04

A61K 31/437

A61K 45/00

A61P 1/04

A61P 1/16

106C

テーマコード (参考)

4C065

4C084

4C086

審査請求 未請求 予備審査請求 有 (全 43 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号 特願2001-578438 (P2001-578438)
 (86) (22) 出願日 平成13年4月13日 (2001.4.13)
 (85) 翻訳文提出日 平成14年10月22日 (2002.10.22)
 (86) 国際出願番号 PCT/US2001/012327
 (87) 国際公開番号 W02001/081348
 (87) 国際公開日 平成13年11月1日 (2001.11.1)
 (31) 優先権主張番号 60/199,475
 (32) 優先日 平成12年4月25日 (2000.4.25)
 (33) 優先権主張国 米国 (US)

(71) 出願人 391015708
 ブリストル・マイヤーズ スクイブ カン
 パニー
 BRISTOL-MYERS SQUIB
 B COMPANY
 アメリカ合衆国 ニューヨーク州 101
 54 ニューヨーク パーク アベニュー
 345
 (74) 代理人 100062144
 弁理士 青山 稔
 (74) 代理人 100086405
 弁理士 河宮 治
 (74) 代理人 100068526
 弁理士 田村 恭生

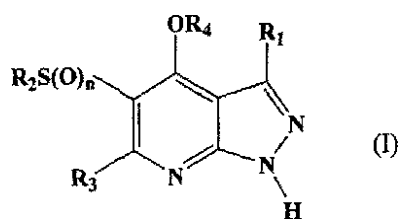
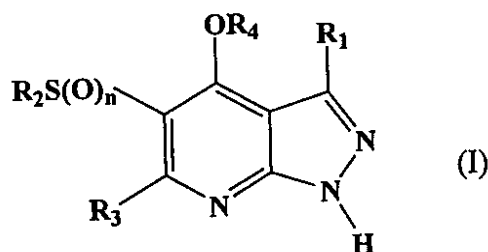
最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 サイクリン依存性キナーゼ阻害剤としての、5-チオー、スルフィニルおよびスルホニルピラ
 ゾロ [3, 4-b] -ピリジンの用途

(57) 【要約】

本発明は、式 (I) :

【化1】



の化合物、およびその医薬的に許容される塩について記載する。

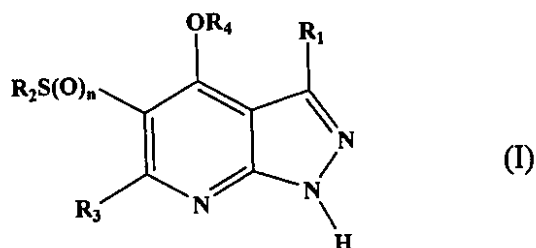
式 (I) の化合物は、プロテインキナーゼ阻害剤であり、増殖性疾患、例えば、癌、炎症および関節炎の治療に有用である。またそれらは、アルツハイマー病および循環器病の治療にも有用であり得る。

【特許請求の範囲】

【請求項 1】

式 I :

【化 1】



10

[式中、

R_1 は水素原子、低級アルキル、塩素原子；

R_2 および R_4 はそれぞれ独立して、アルキル、アリール、アリールアルキル、ヘテロアリール、ヘテロアリールアルキル、シクロアルキル、シクロアルキルアルキル、ヘテロシクロアルキルまたはヘテロシクロアルキルアルキル；

R_3 は水素原子または低級アルキル；および

n は 0、1 または 2]

の化合物または、その医薬的に許容される塩。

20

【請求項 2】

R_1 および R_3 は水素原子；

R_2 はアリールまたはヘテロアリール；

R_4 はアルキル、シクロアルキルまたはシクロアルキルアルキル；および

n は 0、1 または 2 である、請求項 1 に記載の化合物。

【請求項 3】

R_1 および R_3 は水素原子；

R_2 はフェニル、4-ブromo-2,6-ジフルオロフェニル、4-クロロ-2,6-ジフルオロフェニルまたは 2,4,6-トリフルオロフェニルまたは 4-メチル-2,6-ジフルオロフェニル；

R_4 は低級アルキル；および

n は 1 である、請求項 1 に記載の化合物。

30

【請求項 4】

請求項 1 の化合物および医薬的に許容される担体からなる医薬組成物。

【請求項 5】

請求項 1 の化合物と医薬的に許容される担体および所定の用量で処方した抗癌剤との組合せからなる医薬組成物。

【請求項 6】

請求項 1 の化合物と医薬的に許容される担体および所定の用量で処方した p53 トランス活性化修飾因子との組合せからなる医薬組成物。

40

【請求項 7】

請求項 1 の化合物のアポトーシス調節に効果がある量を、それを必要とする哺乳類種に投薬することからなるアポトーシス調節方法。

【請求項 8】

請求項 1 の化合物のプロテインキナーゼ阻害に効果がある量を、それを必要とする哺乳類種に投薬することからなるプロテインキナーゼ阻害方法。

【請求項 9】

請求項 1 の化合物のサイクリン依存性キナーゼ阻害に効果がある量を、それを必要とする哺乳類種に投薬することからなるサイクリン依存性キナーゼ阻害方法。

【請求項 10】

50

請求項1の化合物のcdk2阻害に効果がある量を、それを必要とする哺乳類種に投薬することからなるcdk2（cdk1）阻害方法。

【請求項11】

請求項1の化合物のcdk2阻害に効果がある量を、それを必要とする哺乳類種に投薬することからなるcdk2阻害方法。

【請求項12】

請求項1の化合物のcdk3阻害に効果がある量を、それを必要とする哺乳類種に投薬することからなるcdk3阻害方法。

【請求項13】

請求項1の化合物のcdk4阻害に効果がある量を、それを必要とする哺乳類種に投薬することからなるcdk4阻害方法。 10

【請求項14】

請求項1の化合物のcdk5阻害に効果がある量を、それを必要とする哺乳類種に投薬することからなるcdk5阻害方法。

【請求項15】

請求項1の化合物のcdk6阻害に効果がある量を、それを必要とする哺乳類種に投薬することからなるcdk6阻害方法。

【請求項16】

請求項1の化合物のcdk7阻害に効果がある量を、それを必要とする哺乳類種に投薬することからなるcdk7阻害方法。 20

【請求項17】

請求項1の化合物のcdk8阻害に効果がある量を、それを必要とする哺乳類種に投薬することからなるcdk8阻害方法。

【請求項18】

請求項4の組成物の治療上効果がある量を、それを必要とする哺乳類種に投薬することからなる増殖性疾患の治療方法。

【請求項19】

請求項4の組成物の治療上効果がある量を、それを必要とする哺乳類種に投薬することからなる癌の治療方法。

【請求項20】

請求項4の組成物の治療上効果がある量を、それを必要とする哺乳類種に投薬することからなる炎症、炎症性腸疾患または移植の拒絶反応の治療方法。 30

【請求項21】

請求項4の組成物の治療上効果がある量を、それを必要とする哺乳類種に投薬することからなる関節炎の治療方法。

【請求項22】

請求項5の組成物の治療上効果がある量を、それを必要とする哺乳類種に投薬することからなる増殖性疾患の治療方法。

【請求項23】

請求項5の組成物の治療上効果がある量を、それを必要とする哺乳類種に投薬することからなる癌の治療方法。 40

【請求項24】

請求項6の組成物の治療上効果がある量を、それを必要とする哺乳類種に投薬することからなる増殖性疾患の治療方法。

【請求項25】

請求項6の組成物の治療上効果がある量を、それを必要とする哺乳類種に投薬することからなる癌の治療方法。

【請求項26】

請求項1の少なくとも一つの化合物において効果のある量を、それを必要とする患者に投薬することからなるサイクリン依存性キナーゼ関連障害の治療方法。 50

【請求項 27】

請求項 1 の化合物の治療上効果がある量を、それを必要とする哺乳類種に投薬することを
含む化学療法起因の脱毛症、化学療法起因の血小板減少症、化学療法起因の白血球減少症
または粘膜炎の治療方法。

【発明の詳細な説明】

【0001】

(技術分野)

本発明はサイクリン依存性キナーゼ阻害剤と、それらの増殖性疾患治療用途に関するもの
である。

【0002】

10

(背景技術)

通常の細胞増殖は、細胞周期制御機構を構成する一連のタンパク質で厳格に調節されてい
る。細胞周期の過程を制御するのに重要な役割を担うタンパク質は、サイクリン依存性キ
ナーゼ (CDK) である。CDK は、細胞周期および細胞増殖を支える推進力であるセリ
ン/スレオニン プロテインキナーゼである。活性 CDK 酵素は、少なくとも一つの触媒
サブユニット (CDK) と一つの調節サブユニット (サイクリン) からなる多サブユニッ
ト複合体である。(ブロクスらの文献 [Brooks および La Thangue, D
DT, 4, 455-464 (1999)] 参照。) CDK 活性阻害剤は、増殖性疾患
(例えば癌) の治療に効果があることが見出されている。(ウェブスターらの文献 [We
bster および Kimball, Emerging Drugs, 5, 45-59
(2000)] 参照。)

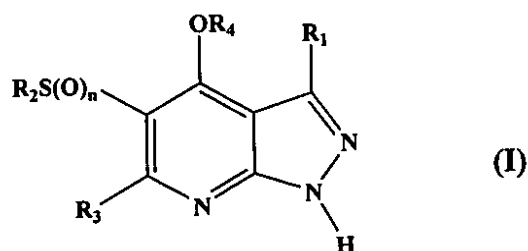
20

【0003】

(発明の開示)

本発明はサイクリン依存性キナーゼの阻害剤として、式：

【化 2】



30

の化合物およびその医薬的に許容される塩の用途に関する。本明細書を通して、式 I にお
いて用いられる記号は、以下の意味である。

R₁ は水素原子、アリールまたは低級アルキル；

R₂ および R₄ はそれぞれ独立して、アルキル、アリール、アリールアルキル、ヘテロア
リール、ヘテロアリールアルキル、シクロアルキル、シクロアルキルアルキル、ヘテロシ
クロアルキルまたはヘテロシクロアルキルアルキル；

R₃ は水素原子または低級アルキル；および

40

n は 0、1 または 2 の整数である。

【0004】

式 I の化合物は、プロテインキナーゼ阻害剤であり、増殖性疾患、例えば、癌、炎症およ
び関節炎の治療および予防に有用である。これらの化合物はまた、アルツハイマー病のよ
うな神経変性疾患、循環器病、ウィルス性疾患および真菌性疾患の治療にも有用であり得
る。

【0005】

本発明は、サイクリン依存性キナーゼ阻害剤としての式 I の化合物の利用方法を提供する
。当該化合物は、増殖性疾患、例えば、これらに限られないが、癌、アルツハイマー病、
関節炎、炎症および循環器病の治療において活性がある。また本発明は、このような化合

50

物に用いるための医薬組成物についても意図している。

【0006】

本発明の化合物を記述するのに用いられる様々な用語の定義は以下に挙げる。これらの定義は、個々にまたはより広範囲で、本明細書全体で用いられる用語に適用される（特定の例で他に限定されている場合を除く）。

【0007】

原子価が空いているヘテロ原子は、水素原子でその原子価をすべて満たすと仮定していることを意味している。

【0008】

カルボン酸陰イオンは、負電荷した基 -COO^- をいう。

10

【0009】

特に定義しなければ、用語「アルキル」または「アルカ（alk）」とは、1～12個の炭素原子を含む基から得られる単価のアルカン（炭化水素）をいう。用語「低級アルキル」とは、1～6個の炭素原子からなるアルキル基をいう。アルキル基は、適宜置換された直鎖、分枝または環状の飽和炭化水素基である。置換されている場合、アルキル基は置換可能なあらゆる位置で、Rとして定義される置換基が4個まで置換されていてもよい。アルキル基がアルキル基で置換されているという場合は、これは互換的に「分枝アルキル基」として用いる。典型的な無置換のそのような基には、メチル、エチル、プロピル、イソプロピル、n-ブチル、t-ブチル、イソブチル、ペンチル、ヘキシル、イソヘキシル、ヘプチル、4,4-ジメチルペンチル、オクチル、2,2,4-トリメチルペンチル、ノニル、デシル、ウンデシル、ドデシルおよびその類似体が含まれる。典型的な置換基には、以下に掲げる基を1またはそれ以上含んでもよい。ただし、これらに限られるものではない。置換基の例としては、ハロ（例えば、フッ素、塩素、臭素またはヨウ素）、ハロアルキル（例えば CCl_3 または CF_3 ）、アルコキシ、アリーロキシ、アルキルS(O)_m（m=0, 1, 2）、アリールS(O)_m（m=0, 1, 2）、ヒドロキシ、カルボキシ（ -COOH ）、アルキルオキシカルボニル（ $\text{-COOR}'$ ）、アルキルカルボニルオキシ（ $\text{-OCOR}'$ ）、アミノ（ -NH_2 ）、四級窒素、カルバモイル（ $\text{-NHCOOR}'$ または $\text{-OCONHR}'$ ）、尿素（ $\text{-NHCONHR}'$ ）、チオール（ -SH ）、シアノまたはニトロである。また定義されるアルキル基には、1またはそれ以上の炭素・炭素の二重結合、または1またはそれ以上の炭素・炭素の三重結合を含んでもよい。

20

30

【0010】

用語「アルケニル」とは、2～12個の炭素原子を含む直鎖、分枝または環状の炭化水素基で、少なくとも1個の炭素・炭素の二重結合を含むものをいう。

【0011】

用語「アルキニル」とは、2～12個の炭素原子を含む直鎖、分枝または環状の炭化水素基で、少なくとも1個の炭素・炭素の三重結合を含むものをいう。

【0012】

シクロアルキルとは、3～15個の炭素原子を含むアルキルの一種で、炭素原子間で交互するまたは共鳴する二重結合はないものである。それは、1～4環含んでもよい。典型的な無置換のそのような基には、シクロプロピル、シクロブチル、シクロペンチル、シクロヘキシルなどが含まれる。典型的な置換基には以下に掲げる基、すなわちハロゲン、アルキル、アルコキシ、アルキル、ヒドロキシ、アミノ、ニトロ、シアノ、チオールおよび／またはアルキルチオの中から選択される1またはそれ以上の基が含まれる。

40

【0013】

本明細書で用いられる用語「アルコキシ」または「アルキルチオ」とは、酸素結合（ -O- ）または硫黄結合（ -S- ）を介してそれぞれ結合している上述のアルキル基を示す。

【0014】

本明細書で用いられる用語「アルキルオキシカルボニル」とは、カルボニル基を介して結合するアルコキシ基を示す。アルコキシカルボニル基は、式 -C(O)OR で表わされ、

50

この中でR基は直鎖または分枝のC₁ - 6のアルキル基である。

【0015】

用語「アルキルカルボニル」とは、カルボニル基を介して結合しているアルキル基をいう。

【0016】

本明細書で用いられる用語「アルキルカルボニルオキシ」とは、酸素結合を介して結合しているアルキルカルボニル基を示す。

【0017】

本明細書で用いられる用語「アリーラルアルキル」とは、上述のアルキル基を介して結合している芳香族環を示す。

10

【0018】

用語「アリール」とは、単環または二環式環をいい、例えば、フェニル、置換フェニルおよびその類似体、同様に縮合した環状基、例えばナフチル、フェナントレンおよびその類似体をいう。かかるアリール基には少なくとも6原子を有する少なくとも1環が含まれ、上限は、かかる環が5個まで存在し、その中に22個まで原子が含まれ、隣接する炭素または相応するヘテロ原子の間で交互（共鳴）する二重結合を有する場合が含まれる。アリール基としては、それらに限られないが、ハロゲン、アルキル、アルコキシ、ヒドロキシ、カルボキシ、カルバモイル、アルキルオキシカルボニル、ニトロ、トリフルオロメチル、アミノ、シクロアルキル、シアノ、アルキルS(O)_m (m=0, 1, 2) またはチオールを含む1またはそれ以上の基で、適宜置換されていてもよい。

20

【0019】

用語「ヘテロアリール」とは、少なくとも1つのヘテロ原子（酸素、硫黄または窒素）を含む、5個または6個の環上原子を有する単環式芳香族炭化水素基、または8～10個の原子を有する二環式芳香族環基をいう。当該環化合物においては、炭素または窒素が結合する部位であり、そしてさらに別の1または2個の炭素原子が、酸素または硫黄から選ばれるヘテロ原子で適宜置換されていてもよく、さらに1～3個の炭素原子が、窒素ヘテロ原子で適宜置換され、該ヘテロアリール基は、本明細書での記載のように適宜置換されていてもよい。付加の窒素原子は、当初の窒素および酸素または硫黄とともに存在していてもよい。典型的なヘテロアリール基には以下に掲げるものが含まれる。すなわち、チエニル、フリル、ピロリル、ピリジニル、イミダゾリル、ピロリジニル、ピペリジニル、チアゾリル、オキサゾリル、チアゾリル、ピラゾリル、イソキサゾリル、イソチアゾリル、ピラジニル、ピリダジニル、ピリミジナール、トリアジニルアゼピニル、インドリル、イソインドリル、キノリニル、イソキノリニル、ベンゾチアゾリル、ベンズオキサゾリル、ベンズイミダゾリル、ベンズオキサジアゾリル、ベンゾフラザニルおよびテトラヒドロピラニルである。典型的な置換基には、以下に掲げるものが1またはそれ以上含まれる。すなわち、ハロ、アルキル、アルコキシ、ヒドロキシ、シクロアルキル、ニトロ、シアノ、アミノ、アルキルS(O)_m (m=0, 1, 2) またはチオールである。本明細書で用いられる用語「ヘテロアリーラルアルキル」とは、これまでに説明したアルキル基を介して結合しているヘテロアリール環を示す。

30

【0020】

用語「ヘテロアリリウム」とは、四級窒素原子とこれによる陽電荷を有するヘテロアリール基をいう。

40

【0021】

用語「ヘテロシクロアルキル」とは、環上の炭素原子の一つを、酸素、硫黄または窒素から選ばれるヘテロ原子と置換されているシクロアルキル基（非芳香族）をいい、この中で3個までさらに炭素が該ヘテロ原子で置換されてもよい。さらに、硫黄がスルホン（-SO₂-）またはスルホキシド（-SO-）に酸化されていても、窒素が四級化されていてもよい。

【0022】

用語「四級窒素」とは、四価の陽電荷した窒素原子のことをいい、例えばテトラアルキル

50

アンモニウム基の陽電荷した窒素（例えば、テトラメチルアンモニウム、N-メチルピリジニウム）、プロトン化したアンモニウム種の陽電荷した窒素（例えば、トリメチルヒドロアンモニウム、N-ヒドロピリジニウム）、アミンのN-オキシドの陽電荷した窒素原子（例えば、N-メチル-モルホリン-N-オキシド、ピリジン-N-オキシド）、およびN-アミノ-アンモニウム基の陽電荷した窒素原子（例えば、N-アミノピリジニウム）をいう。

【0023】

用語「ヘテロ原子」とは、独立して選択された酸素、硫黄、リンまたは窒素を意味する。

【0024】

用語「ハロゲン」または「ハロ」とは、塩素、臭素、フッ素またはヨウ素をいう。

10

【0025】

用語「PMB」とは、パラ-メトキシベンジルをいう。

【0026】

官能基が「保護された」と記載されているときは、これはその官能基が保護された部位で望まない副反応が起こるのを防ぐような形状に修飾することを意味している。本発明における化合物の好適な保護基としては、当該技術分野の技術のレベルを考慮した本出願から理解されるものであり、そしてグリーンらの著書 [Greene, T. W. et al., *Protective Groups in Organic Synthesis*, Wiley, N. Y. (1991)] のような標準的な教科書も参考になる。

【0027】

無機酸または有機酸による本発明に関する化合物の塩の好適な例としては、塩酸塩、臭化水素酸塩、硫酸塩およびリン酸塩である。医薬的な使用として不適切な塩であるが利用可能な塩、例えば塩フリーである化合物 I または医薬的に許容されるそれらの塩の単離・精製のために用いられるようなものも、これらの塩に含まれる。

20

【0028】

本発明の化合物におけるすべての立体異性体は、混合物または純粋若しくはほぼ純粋の形態のいずれかと考えられる。本発明についての化合物の定義では、すべての可能な立体異性体およびその混合物を含むものである。そして、記載した活性を有するラセミ体および単離された光学活性体を、顕著に含むものである。ラセミ体は物理的方法、例えば分別結晶化、ジアステレオマー誘導体分離または結晶化、または光学活性カラムクロマトグラフィーで分割することができる。個々の光学異性体は、常法、例えば光学活性な酸で塩を形成し、引き続いて結晶化するような方法で、ラセミ化合物から得ることができる。

30

【0029】

本発明には、式 I の化合物におけるプロドラッグの形態が含まれていると理解すべきである。プロドラッグの様々な形態は、当該技術においてよく知られている。このようなプロドラッグ誘導体の例は、以下に掲げる参考文献に記載されている。

(a) H. バンドガードの著書 [Design of Prodrugs, edited by H. Bundgaard (Elsevier, 1985)] および K. ワイダーらの著書 [Methods in Enzymology, Vol. 42, pp. 309-396, edited by K. Widder et al., (Academic Press, 1985)]

40

(b) クロスガード-ラーセンらの著書 [A Textbook of Drug Design and Development, edited by Krosgaard-Larsen and H. Bundgaard, Chapter 5, "Design and Application of Prodrugs," by H. Bundgaard, pp. 113-191 (1991)]

(c) H. バンドガードの文献 [H. Bundgaard, Advanced Drug Delivery Reviews, 8, pp. 1-38 (1992)]

(d) H. バンドガードらの文献 [H. Bundgaard et al., Journal of Pharmaceutical Sciences, 77, 285 (1988)]

50

8)]

(e) N. カイエカからの文献 [N. Kayeka et al., Chem. Pharm. Bull., 32, 692 (1984)]

【0030】

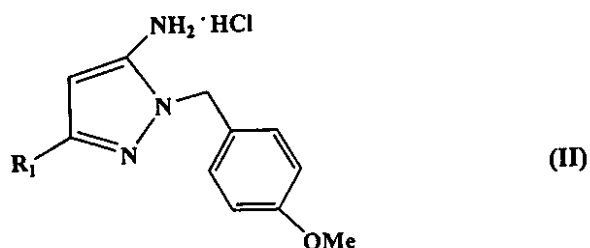
式 I の化合物における溶媒和物（例えば、水和物）もまた、本発明の範囲内であると理解すべきである。溶媒和の方法は、一般的に当該技術において知られている。それゆえ、本発明の化合物は、フリーな形態であっても水和された形態でもよく、以下に掲げる反応式で例示される方法で得ることができる。

【0031】

サイクリン依存性キナーゼ阻害剤として用いられる式 I の化合物は、式 II :

10

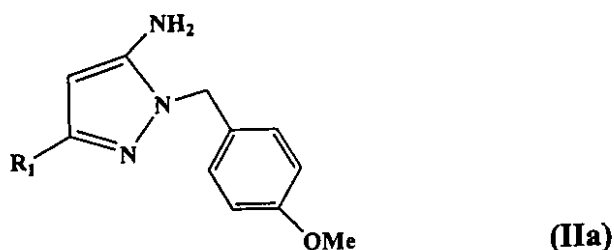
【化3】



の化合物を水酸化ナトリウムまたは炭酸ナトリウムのような塩基と反応させて調製することで、式 IIa :

20

【化4】



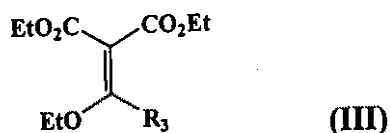
30

の遊離塩基を得ることができる。

【0032】

化合物 IIa は、高温、好ましくは約 130℃で、減圧下、式 III :

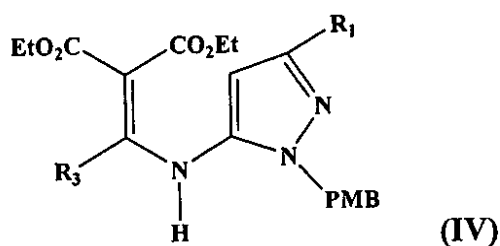
【化5】



の化合物と反応することで、式 IV :

40

【化6】



の化合物を得る。

50

【0033】

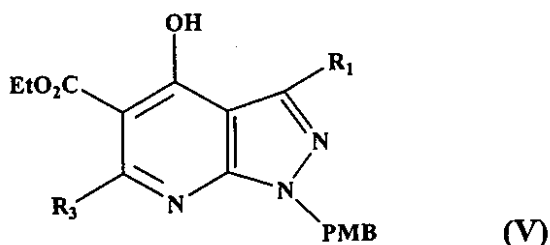
式 I I の出発化合物で、 R_1 が水素である場合、THF のような溶媒中、アクリロニトリルとヒドラジン水和物との反応、それに続く *p*-メトキシベンズアルデヒドの付加により調製される。この反応から得られた化合物を、その後 *n*-ブタノール中の *n*-ブトキシナトリウム混液で反応し、それに続く塩酸の処理で、化合物 I I の初期の鍵中間体が得られる。

【0034】

式 I V の化合物は、その後高温、好ましくは約 220 °C から 260 °C で、ジフェニルエーテルのような溶媒の存在下反応して、式 V :

【化 7】

10



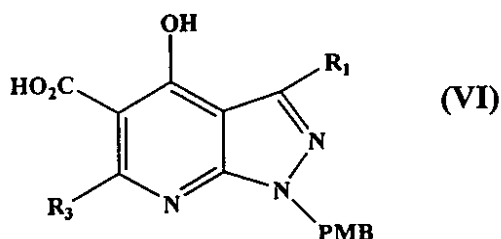
の化合物を得る。

【0035】

その後、化合物 V は、高温、好ましくは約 95 °C で、水酸化ナトリウム水溶液または水酸化カリウム水溶液のような水溶性の塩基と反応して、式 V I :

20

【化 8】



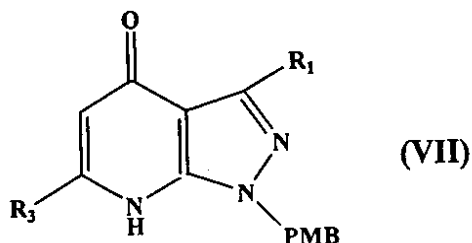
の化合物を得る。

30

【0036】

化合物 V I は、高温、好ましくは約 230 °C で攪拌して、式 V I I :

【化 9】



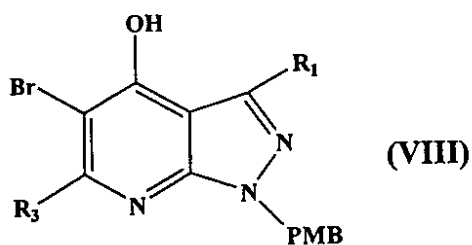
40

の化合物を得る。

【0037】

式 V I I の化合物は、エタノールのような溶媒の存在下、好ましくは約 0 °C で、臭素と反応して、式 V I I I :

【化 10】



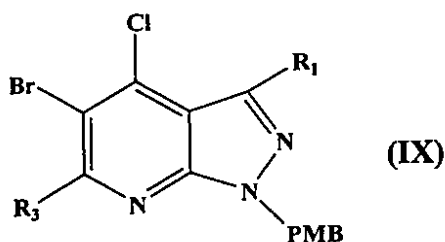
の化合物を得る。

【0038】

10

その後、化合物VIIIは、約25℃から130℃の温度で、オキシ塩化リンと反応して、式IX：

【化11】



20

の化合物を得る。

【0039】

化合物IXは、テトラヒドロフラン、R4OHおよびその類似体のような溶媒の存在下、約25℃から90℃の温度で、式X：

MOR4 (X)

〔式中、

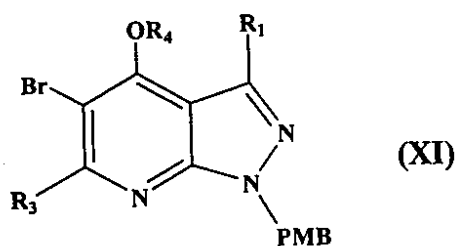
Mはナトリウムまたはカリウムのようなアルカリ金属であり、

R4は上記のとおりである〕

の化合物と反応して、式XI：

30

【化12】



の化合物を形成する。

40

【0040】

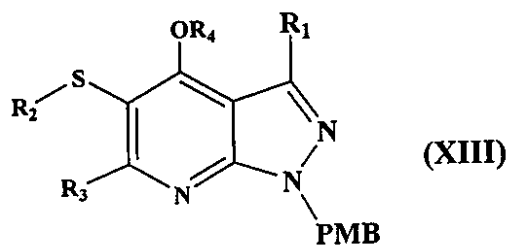
式XIの化合物は、約-90℃から-20℃の温度で、テトラヒドロフラン、エーテルおよびその類似体のような溶媒中、n-ブチルリチウムのような有機リチウム試薬と反応し、それに続く式XII：

R2SSR2 (XII)

〔式中、R2は上記のとおりである〕

の化合物との処理により、式XIII：

【化13】



の化合物を得る。

【0041】

10

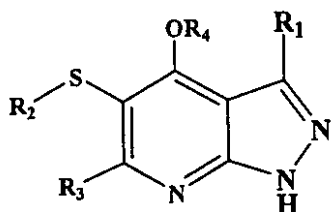
式X I I Iの化合物は、その後、

(1) 約25℃から90℃の温度でトリフルオロ酢酸(TFA)のような酸と反応するか、または、

(2) パラジウム炭素のような触媒の存在下、水素と反応して、

式I：

【化14】



20

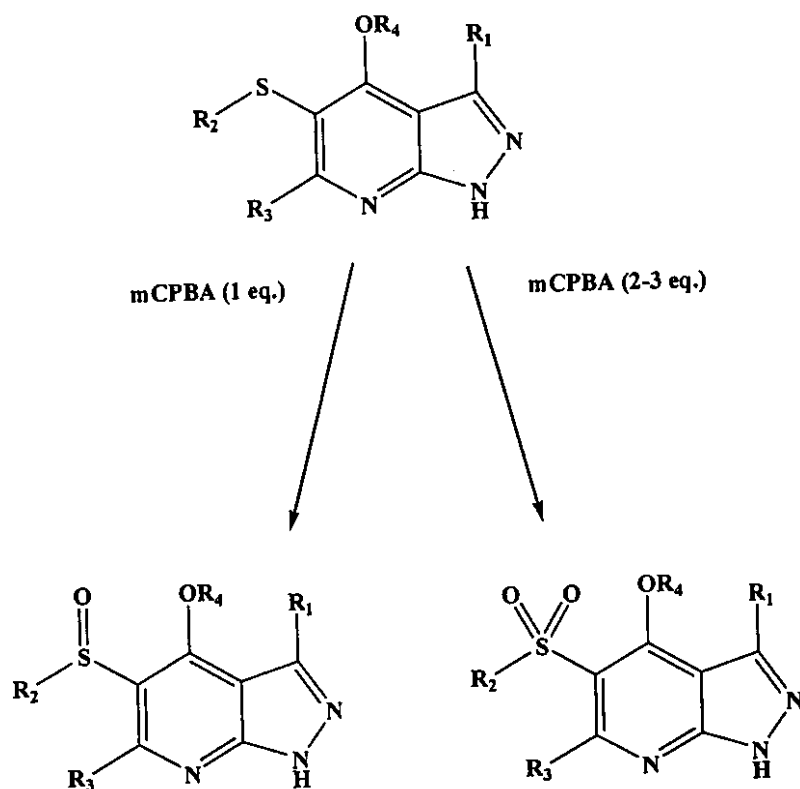
(式中nは0)の化合物を得る。

【0042】

式I(式中nは1または2)の化合物は、塩化メチレンのような溶媒の存在下、m-クロロ過安息香酸(mCPBA)やその類似体のような酸化剤を用いて、式I(式中nは0)の化合物を酸化することで、調製され得る。一般に、1当量の酸化剤を用いれば、式I(式中nは1)の化合物が得られ、2当量またはそれ以上の酸化剤を用いれば、式I(式中nは2)の化合物が得られる。

30

【化15】



10

20

【0043】

本発明の中間体は、米国特許第3,828,057号、第3,966,746号、第3,979,399号および第3,985,757号（これらは本明細書の引例を構成する）に開示された方法によっても調製され得る。さらには、式I Iの中間体は、ホーエンの文献[Hoe hn, H., Z. Chem. 10, pp. 386-388 (1970)]に記載された方法で調製され得る。

【0044】

式I IおよびI I Iの化合物は購入可能であり、また当該技術における通常の技法の一つとして知られる方法により調製され得る。

30

【0045】

他のすべての化合物は、本明細書に記載の方法の変法で調製され得る。

【0046】

式Iの好適な化合物は、式中、

R₁ および R₃ が水素；

R₂ がアリールまたはヘテロアリール；

R₄ がアルキル、シクロアルキルまたはシクロアルキルアルキル；および

nが0、1または2の整数である、

化合物である。

【0047】

式Iのさらにより好適な化合物は、式中、

R₁ および R₃ が水素；

R₂ がフェニル、4-ブromo-2,6-ジフルオロフェニル、4-クロロ-2,6-ジフルオロフェニル、2,4,6-トリフルオロフェニルまたは4-メチル-2,6-ジフルオロフェニル；

R₄ が低級アルキル；および

nが1である、

化合物である。

【0048】

本発明に関する化合物は、薬理的特性がある。特に式Iの化合物は、サイクリン依存性キ

40

50

ナーゼ (c d k) (例えば c d c 2 (c d k 1)、c d k 2 および c d k 4) のようなプロテインキナーゼの阻害剤である。新規な式 I の化合物は、癌、炎症、関節炎、アルツハイマー病および循環器病のような増殖性疾患の治療に有効であると期待されている。これらの化合物はまた、局所または全身性真菌感染の治療にも有用であり得る。

【0049】

とりわけ、式 I の化合物は、下記を含む様々な癌の治療に有用である（ただし、これらに限られない）。

—癌（膀胱癌、乳癌、大腸癌、腎臓癌、肝臓癌、肺癌、卵巣癌、膵臓癌、胃癌、頸部癌、甲状腺癌、前立腺癌、皮膚癌）

—リンパ系の造血系腫瘍（急性リンパ性白血病、B細胞リンパ腫、バーキットリンパ腫） 10

—骨髄系の造血系腫瘍（急性および慢性骨髄性白血病、前骨髄球性白血病）

—間葉由来の腫瘍（線維肉腫、横紋筋肉腫）

—その他の腫瘍（メラノーマ、精上皮腫、奇形癌腫、骨肉腫、神経芽細胞腫、神経膠腫）

【0050】

一般に細胞増殖の制御における c d k の重要な役割によって、阻害剤は、異常細胞増殖、例えば、神経線維腫症、アテローム性動脈硬化症、肺線維症、関節炎、乾癬、糸球体腎炎、血管形成術または血管外科手術の後に起こる再狭窄、肥大性瘢痕形成、炎症性腸疾患、移植の拒絶反応、血管形成、およびエンドトキシンショックに特徴的であるあらゆる疾病過程の治療に有用であるような、可逆性細胞分裂停止剤として作用するかも知れない。

【0051】

式 I の化合物は、c d k 5 がタウタンパク質のリン酸化において含まれるという最近の発見に示されているように、アルツハイマー病の治療にも有用であり得る (J. Biochem, 117, 741-749 (1995))。 20

【0052】

式 I の化合物は、他のプロテインキナーゼ、例えば、プロテインキナーゼ C、h e r 2、r a f 1、M E K 1、M A P キナーゼ、E G F 受容体、P D G F 受容体、I G F 受容体、P I 3 キナーゼ、w e e 1 キナーゼ、S r c、A b l、V E G F および l c k の阻害剤としても作用し得る。従って、他のプロテインキナーゼと関連のある疾患の治療にも効果があり得る。

【0053】

式 I の化合物はまた、通常の発育および恒常性維持に危機をもたらす生理的細胞死過程であるアポトーシスを誘発または阻害もする。アポトーシス経路が変化することは、ヒトの様々な疾病の病原論に役立つものである。アポトーシスの修飾物質である式 I の化合物は、癌（これらに限られないが、特に、濾胞性リンパ腫、p 5 3 変異による癌、乳房、前立腺および卵巣のホルモン依存性腫瘍、および家族性大腸ポリープ症のような前癌性病変）、ウイルス感染（これらに限られないが、ヘルペスウイルス、ポックスウイルス、エプスタインバーウイルス、シンドビスウイルスおよびアデノウイルスを含む）、自己免疫疾患（これらに限られないが、全身性エリテマトーデス、免疫性糸球体腎炎、関節リウマチ、乾癬、炎症性腸疾患および自己免疫性糖尿病を含む）、神経変性障害（これらに限られないが、アルツハイマー病、A I D S 関連痴呆症、パーキンソン病、筋萎縮性側索硬化症 40、網膜色素変性症、脊髄性筋萎縮症および小脳変性を含む）、A I D S、脊髄形成異常症候群、再生不良性貧血、心筋梗塞、脳卒中および再灌流傷害に関連する虚血性傷害、不整脈、アテローム性動脈硬化症、毒素誘発性またはアルコール誘発性肝疾患、血液病（これらに限られないが、慢性貧血および再生不良性貧血を含む）、筋骨格組織の変性疾患（これらに限られないが、骨粗鬆症および関節炎）、アスピリン感受性副鼻腔炎、嚢胞性線維症、多発性硬化症、腎臓疾患、および癌疼痛を含むアポトーシスにおける異常を伴った様々なヒトの疾病の治療に有用となる。

【0054】

本発明の化合物は、放射線療法のような公知の抗癌治療との併用にも有用となり得る。また、細胞分裂停止薬および細胞障害性薬、例えば、これらに限られないが、シスプラチン 50

またはドキシソルピシンのようなDNA相互作用薬、米国特許第6,011,029号に記載されているようなファルネシルプロテイントランスフェラーゼ、エトポシドのようなトポイソメラーゼII阻害剤、CPT-11またはトポテカンのようなトポイソメラーゼI阻害剤、パクリタキセル、ドセタキセルまたはエポチロン類のようなチューブリン安定化剤、タモキシフェンのようなホルモン剤、5-フルオロウラシルのようなチミジル酸合成酵素阻害剤、メトトレキサートのような代謝拮抗剤、アンジオスタチンまたはエンドスタチンのような血管新生阻害剤、およびher2特異抗体のようなキナーゼ阻害剤との合剤にも有用となり得る。本発明の式Iの化合物はまた、p53トランス活性化修飾因子との合剤に有用でもあり得る。さらに、式Iの化合物は、化学療法起因の脱毛症、化学療法起因の血小板減少症、化学療法起因の白血球減少症または粘膜炎の治療にも用いられ得る。化学療法起因の脱毛症の治療には、式Iの化合物が、ゲル、シャンプー、エアゾル、粉塵、クリーム、軟膏、溶液、分散またはペーストのような薬物の処方において、好適に局所で適用される。

10

【0055】

所定の用量で処方するなら、かかる合剤は、本発明の化合物を後述の用量の範囲内で用い、他の医薬活性剤を認可された用量の範囲で用いる。例えば、cdc2阻害剤オロムシンは、アポトーシスを引き起こす公知の細胞障害性薬と相乗的に作用することが見出されている[J. Cell Sci., 108, 2897 (1995)]。式Iの化合物は、合剤処方が不適当な場合は、公知の抗癌剤または細胞障害剤と連続的に用いられ得る。

20

【0056】

cdc2／サイクリンB1キナーゼアッセイ

cdc2／サイクリンB1キナーゼ活性は、ヒストンHIへの³²Pの取り込みをモニターして測定した。反応物は、GST-cdc2で表されるバキュロウイルス50ng、GST-サイクリンB1で表されるバキュロウイルス75ng、ヒストンHI（ベリンガー マンハイム）1μg、³²P γ-ATP 0.2μCiおよびキナーゼ緩衝液（50mMトリス、pH8.0, 10mM MgCl₂, 1mM EGTA, 0.5mM DTT）中のATP 25μMより構成した。反応物を30℃で30分間インキュベートし、その後、冷トリクロロ酢酸（TCA）を最終的に15%の濃度になるまで加えて反応を終了し、氷上20分間インキュベートした。反応液をGF/Cユニフィルタートレー（パッカー）上で、パッカー フィルターメイト ユニバーサル ハーベスタを用いて収集し、フィルターをパッカー トップカウント96穴液体シンチレーションカウンターでカウントした（マルシャクの文献参照[Marshak, D. R., Vanderberg, M. T., Bae, Y. S., Yu, I. J., J. Cellular Biochemistry, 45, 391-400 (1991)]、これらは本明細書の引例を構成する）。

30

【0057】

cdk2／サイクリンEキナーゼアッセイ

cdk2／サイクリンEキナーゼ活性は、網膜芽細胞腫タンパク質への³²Pの取り込みをモニターして測定した。反応物は、GST-cdk2／サイクリンEで表されるバキュロウイルス2.5ng、細菌的に生成したGST-網膜芽細胞腫タンパク質（aa 776-928）500ng、³²P γ-ATP 0.2μCiおよびキナーゼ緩衝液（50mMヘプス、pH8.0, 10mM MgCl₂, 5mM EGTA, 2mM DTT）中のATP 25μMより構成した。反応液を30℃で30分間インキュベートし、その後、冷トリクロロ酢酸（TCA）を最終的に15%の濃度になるまで加えて反応を終了し、氷上20分間インキュベートした。反応物をGF/Cユニフィルタートレー（パッカー）上で、パッカー フィルターメイト ユニバーサル ハーベスタを用いて収集し、フィルターをパッカー トップカウント96穴液体シンチレーションカウンターでカウントした。

40

【0058】

cdk4／サイクリンD1キナーゼ活性

50

cdk4 /サイクリンD1キナーゼ活性は、網膜芽細胞腫タンパク質への ^{32}P の取り込みをモニターして測定した。反応物は、GST-cdk4で表されるバキュロウイルス165ng、S標識サイクリンD1として細菌的に表されるもの500ng、細菌的に生成したGST-網膜芽細胞腫タンパク質 (aa 776-928) 500ng、 ^{32}P γ -ATP 0.2 μCi およびキナーゼ緩衝液 (50mMヘセス, pH8.0, 10mM MgCl_2 , 5mM EGTA, 2mM DTT) 中のATP 25 μM より構成した。反応物を30℃で1時間インキュベートし、その後、冷トリクロロ酢酸 (TCA) を最終的に15%の濃度になるまで加えて反応を終了し、氷上20分間インキュベートした。反応液をGF/Cユニフィルタプレート (パックカード) 上で、パックカード フィルターメイ

ト ユニバーサル ハーベスタを用いて収集し、フィルターをパックカードトップカウンタ96穴液体シンチレーションカウンタでカウントした (コレマンらの文献参照 [Coleman, K. G., Wautlet, B. S., Morrissey, D, Mulheron, J. G., Sedman, S., Brinkley, P., Price, S., Webster, K. R. (1997) Identification of CDK4 Sequences involved in cyclin D, and p16 binding. J. Biol. Chem. 272, 30: 18869-18874]、これらは本明細書の引例を構成する)。

10

【0059】

さらに、本発明の課題事項は、癌、炎症および関節炎の制御を含む上記のような使用のための医薬品も含み、それらには、上記で定義した式Iの化合物の少なくとも1つ、または医薬的に許容できる酸付加塩の少なくとも1つを含み、癌、炎症および/または関節炎に対して含まれる、先に記載しているような増殖性疾患に対する活性を有する医薬品の調製方法として上記に定義されているような式Iの化合物の使用も含む。

20

【0060】

次に掲げる実施例は、限定例を示すのでなく、むしろ実例を示している。本明細書に書き添えられている請求項で定義された発明の意図および範囲には、他の具体例が含まれる得ることを認識すべきである。

【0061】

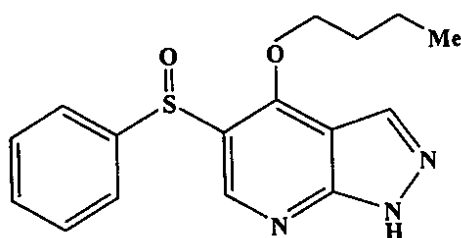
実施例

実施例 1

1-(4-ブトキシ-1H-ピラゾロ [3, 4-b] ピリジン-5-イル)-1'-フェニルスルホキシド

30

【化16】



40

【0062】

A. 4-ヒドロキシ-1-[(4-メトキシフェニル)メチル]-1H-ピラゾロ [3, 4-b] ピリジン-5-カルボン酸
4-ヒドロキシ-1-[(4-メトキシフェニル)メチル]-1H-ピラゾロ [3, 4-b] ピリジン-5-カルボン酸エチルエステル (5.20g, 15.9mmol, 調製方法はWO 99/30710参照。)のエタノール (20mL) と1M水酸化ナトリウム水溶液 (60mL) との溶液を95℃で18時間攪拌した。反応混液を室温まで冷却し、1M塩酸水溶液 (~70mL) を加えてpH=1まで酸性にした。生じた沈殿物をろ過して単離した。その固形物を水で洗浄し、100℃で終夜減圧乾燥し、パートAの化合物を白

50

色固形物として得た (4.48 g, 94%)。融点: 220°C (分解)

【0063】

B. 1-[(4-メトキシフェニル)メチル]-1H-ピラゾロ[3,4-b]ピリジン-4-オン

パートAの化合物 (3.18 g, 10.6 mmol) をアルゴン雰囲気下15分間230°Cに加熱した。加熱下、当該固形物は融解し、気体の放散が観察された。当該物質を室温まで冷却して、パートBの化合物をこはく色のガラス状として得た (2.71 g, 100%)。

【0064】

C. 5-ブロモ-4-ヒドロキシ-1-[(4-メトキシフェニル)メチル]-1H-ピラゾロ[3,4-b]ピリジン

水浴で冷やしたパートBの化合物 (2.70 g, 10.6 mmol) の無水エタノール (60 mL) 溶液に、臭素 (2.0 g, 12 mmol) のエタノール (5 mL) 溶液を5分間かけて滴下して加えた。沈殿物が生じた。反応は完結しておらず、1時間後に臭素 (0.3 mL) を追加した。反応混液さらに1時間攪拌し、その後5%重曹水50 mLをゆっくり加えた。反応液を室温まで加温し、15分後減圧濃縮してスラリー状物を得た。固体物質をろ過して集め、水で洗浄し、その後90°Cで終夜減圧乾燥し、パートCの化合物を淡ベージュ色の固形物として得た (3.43 g, 97%)。融点: 209°C (軟化)

【0065】

D. 5-ブロモ-4-クロロ-1-[(4-メトキシフェニル)メチル]-1H-ピラゾロ[3,4-b]ピリジン

オキシ塩化リン (20 mL) 中のパートCの化合物 (2.92 g, 8.74 mmol) の混合物を110°Cで1時間加熱した。反応混合物を室温まで冷却した後水浴につけて、氷 (300 g) をゆっくり加えた。15分後、酢酸エチル (150 mL) を加えた後50%水酸化ナトリウム溶液 (~50 mL) をゆっくり加えてpH=7にした。反応混液をすべて分液ロートに移した。水層を分離し、酢酸エチル (100 mL) で抽出した。有機層合わせて食塩水 (100 mL) で洗浄し、乾燥し (無水硫酸ナトリウム)、減圧濃縮して、その後90°Cで減圧乾燥して、パートDの化合物を黄褐色の固形物として得た (2.94 g, 95%)。

【0066】

E. 5-ブロモ-4-ブトキシ-1-[(4-メトキシフェニル)メチル]-1H-ピラゾロ[3,4-b]ピリジン

水素化ナトリウム分散系 (660 mg, 油状中60%, 16 mmol) からヘキサンで3回洗浄して油を除き、その後乾燥THF (30 mL) で覆った。当該混合物を50°Cに加熱して、2回に分けて合計2.3 mL (25 mmol) の無水n-ブタノールを加えた。反応混合液を気体が放散し終わるまで攪拌し (~30分)、その後室温まで冷却した。生じた溶液にパートDの化合物 (2.92 g, 8.28 mmol) を加え、60°Cで2時間攪拌し、その後室温まで冷却し減圧乾燥して固形物を得た。当該固形物を水 (50 mL) と酢酸エチル (50 mL) で分割した。有機層を分離し、食塩水 (50 mL) で洗浄し、乾燥し (無水硫酸ナトリウム)、減圧濃縮して、褐色の固形物を得た。当該粗固形物をフ

【0067】

F. 4-ブトキシ-5-チオフェニル-1-[(4-メトキシフェニル)メチル]-1H-ピラゾロ[3,4-b]ピリジン

-78°Cに冷却したパートEの化合物 (195 mg, 0.50 mmol) の乾燥THF (4 mL) 溶液に、n-ブチルリチウム溶液 (2.5 Mヘキサン溶液, 0.30 mL, 0.75 mmol) を滴下して加えた。0.5時間後、二硫化フェニル (218 mg, 1.0 mmol) のTHF (1 mL) 溶液を加えた。反応混液を-78°Cで6時間攪拌した後、

10

20

30

40

50

硫酸水素ナトリウム水溶液を加えてクエンチした。反応混液を重曹水と塩化メチレンで分割した。有機層を分離し、乾燥し（無水硫酸ナトリウム）、減圧濃縮した。当該粗物質をフラッシュクロマトグラフィー（シリカゲル、酢酸エチル／ヘキサン 1：19で、その後1：4）で精製し、パートFの化合物を黄色油状物として得た（60mg, 29%）。

【0068】

G. 4-ブトキシ-5-チオフェニル-1H-ピラゾロ[3,4-b]ピリジン パートFの化合物（60mg, 0.15mmol）のトリフルオロ酢酸（1mL）溶液を、65℃で2.5時間加熱した後、室温に冷却して減圧濃縮した。飽和重曹水を当該残渣に加えた。生じた固形物をろ過して集めた後、再結晶（酢酸エチル／ヘキサン）してパートGの化合物を得た（28mg, 62%）。

10

【0069】

H. 1-（4-ブトキシ-1H-ピラゾロ[3,4-b]ピリジン-5-イル）-1'-フェニルスルホキシド

水浴で冷やしたパートGの化合物（9mg, 0.03mmol）の塩化メチレン（15mL）溶液に、m-クロロ過安息香酸（理論純度80%, 6mg, 0.03mmol）を加えた。反応混液を40分間攪拌した後、重曹水を加え、塩化メチレンで抽出した。有機抽出物を乾燥し（無水硫酸ナトリウム）、減圧濃縮して、粗生成物を得た。当該粗物質を結晶化（酢酸エチル／ヘキサン）して、標題化合物を黄色の固形物として得た（7mg, 74%）。

20

LC-MS: 316 (M+H)⁺

HPLC: T_R (YMC S3 ODS-A, 150×6.0mm, 1.5mL/分, 緩衝液Aと緩衝液Bとの濃度勾配法で、緩衝液Bを20分間で0から100%に勾配をかける。緩衝液A=メタノール／水／リン酸(10:90:0.2), 緩衝液B=メタノール／水／リン酸(90:10:0.2))=18.5分, 220nmで面積百分率: 88%

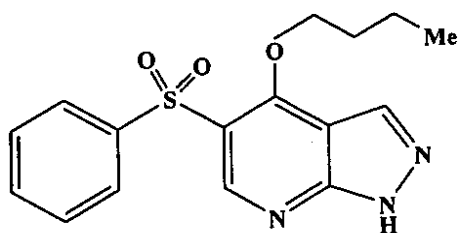
【0070】

実施例2

1-（4-ブトキシ-1H-ピラゾロ[3,4-b]ピリジン-5-イル）-1'-フェニルスルホン

【化17】

30



【0071】

A. 1-（4-ブトキシ-1H-ピラゾロ[3,4-b]ピリジン-5-イル）-1'-フェニルスルホン

実施例1のパートGの化合物（28mg, 0.094mmol）の塩化メチレン（25mL）溶液に、室温でm-クロロ過安息香酸（理論純度80%, 56mg, 0.26mmol）を加えた。反応混液を1時間攪拌した後、重曹水を加えて2時間後反応混合物を乾燥し（無水硫酸ナトリウム）、減圧濃縮して、粗生成物を得た。当該粗物質を結晶化（塩化メチレン／ヘキサン）して、標題化合物を白色の固形物として得た（24mg, 78%）。

40

LC-MS: 332 (M+H)⁺

HPLC: T_R (YMC S3 ODS-A, 150×6.0mm, 1.5mL/分, 緩衝液Aと緩衝液Bとの濃度勾配法で、緩衝液Bを20分間で0から100%に勾配をかける。緩衝液A=メタノール／水／リン酸(10:90:0.2), 緩衝液B=メタノール／水／リン酸(90:10:0.2))=18.1分, 220nmで面積百分率: 90%

50

【国際公開パンフレット】

(12) INTERNATIONAL APPLICATION PUBLISHED UNDER THE PATENT COOPERATION TREATY (PCT)

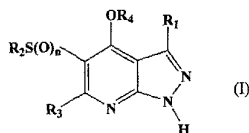
(19) World Intellectual Property Organization
International Bureau(43) International Publication Date
1 November 2001 (01.11.2001)

PCT

(10) International Publication Number
WO 01/81348 A1

- (51) International Patent Classification⁷: C07D 487/04, A61K 31/437, A61P 35/00 // (C07D 487/04, 231:00, 221:00)
- (21) International Application Number: PCT/US01/12327
- (22) International Filing Date: 13 April 2001 (13.04.2001)
- (25) Filing Language: English
- (26) Publication Language: English
- (30) Priority Data: 60/199,475 25 April 2000 (25.04.2000) US
- (71) Applicant (for all designated States except US): BRISTOL-MYERS SQUIBB COMPANY [US/US]; P.O. BOX 4000, Princeton, NJ 08543-4000 (US).
- (72) Inventor; and
- (75) Inventor/Applicant (for US only): MISRA, Raj, N. [US/US]; 12 Eaton Place, Hopewell, NJ 08525 (US).
- (74) Agents: PATEL, Rena et al.; Bristol-Myers Squibb Company, P.O. Box 4000, Princeton, NJ 08543-4000 (US).
- (81) Designated States (national): AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EE, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MZ, NO, NZ, PL, PT, RO, RU, SD, SE, SG, SI, SK, SL, TJ, TM, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VN, YU, ZA, ZW.
- (84) Designated States (regional): ARIPO patent (GH, GM, KE, LS, MW, MZ, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZW), Eurasian patent (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), European patent (AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE, TR), OAPI patent (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).
- Published:**
— with international search report
— before the expiration of the time limit for amending the claims and to be republished in the event of receipt of amendments
- For two-letter codes and other abbreviations, refer to the "Guidance Notes on Codes and Abbreviations" appearing at the beginning of each regular issue of the PCT Gazette.

(54) Title: USE OF 5-THIO-, SULFINYL- AND SULFONYLPYRAZOLO[3,4-b]-PYRIDINES AS CYCLIN DEPENDENT KINASE INHIBITORS



(57) Abstract: The present invention describes compounds of formula (I) and pharmaceutically acceptable salts thereof. Compounds of formula (I) are protein kinase inhibitors and are useful in the treatment of proliferative diseases, for example, cancer, inflammation and arthritis. They may also be useful in the treatment of Alzheimer's disease and cardiovascular disease.

WO 01/81348 A1

WO 01/81348

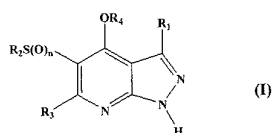
PCT/US01/12327

USE OF 5-THIO-, SULFINYL- AND SULFONYLPYRAZOLO[3,4-b]-
PYRIDINES AS CYCLIN DEPENDENT KINASE INHIBITORS

The present invention relates to inhibitors of cyclin dependent kinase and their
5 use in the treatment of proliferative diseases.

Normal cellular proliferation is stringently regulated by a series of proteins
that constitute the cell cycle machinery. Proteins that play a key role in controlling
cell cycle progression are the cyclin dependent kinases (CDKs). CDKs are
10 serine/threonine protein kinases that are the driving force behind the cell cycle and
cell proliferation. The active CDK enzyme is a multi-subunit complex composed of
at least one catalytic (CDK) subunit and one regulatory (cyclin) subunit. *See*, Brooks
and La Thangue, DDT, 4, 455-464 (1999). It has been found that inhibitors of CDK
activity are effective for the treatment of proliferative diseases (*e.g.*, cancer). *See*,
15 Webster and Kimball, Emerging Drugs, 5, 45-59 (2000).

The present invention is directed to the use of compounds of formula



20 and pharmaceutically acceptable salts thereof as inhibitors of cyclin dependent
kinases. As used in formula I, and throughout the specification, the symbols have the
following meanings:

25 R₁ is hydrogen, aryl or lower alkyl;
R₂ and R₄ are each independently alkyl, aryl, arylalkyl, heteroaryl,
heteroarylalkyl, cycloalkyl, cycloalkylalkyl, heterocycloalkyl or heterocycloalkylalkyl;
R₃ is hydrogen or lower alkyl; and
n is an integer of 0, 1 or 2.

30 The compounds of formula I are protein kinase inhibitors and are useful in the
treatment and prevention of proliferative diseases, for example, cancer, inflammation

WO 01/81348

PCT/US01/12327

and arthritis. They may also be useful in the treatment of neurodegenerative diseases such as Alzheimer's disease, cardiovascular diseases, viral diseases and fungal diseases.

The present invention provides for a method of using compounds of formula I as inhibitors of cyclin dependent kinases, which are active in the treatment of proliferative diseases, such as for example, but not limited to, cancer, Alzheimer's disease, arthritis, inflammation, and cardiovascular disease. The present invention also contemplates pharmaceutical compositions employing such compounds.

Listed below are definitions of various terms used to describe the compounds of the instant invention. These definitions apply to the terms as they are used throughout the specification (unless they are otherwise limited in specific instances) either individually or as part of a larger group.

It should be noted that any heteroatom with unsatisfied valences is assumed to have hydrogen atoms sufficient to satisfy the valences.

Carboxylate anion refers to a negatively charged group $-\text{COO}^-$.

The term "alkyl" or "alk" refers to a monovalent alkane (hydrocarbon) derived radical containing from 1 to 12 carbon atoms unless otherwise defined. The term "lower alkyl" refers to an alkyl group of 1 to 6 carbon atoms. An alkyl group is an optionally substituted straight, branched or cyclic saturated hydrocarbon group. When substituted, alkyl groups may be substituted with up to four substituent groups, R as defined, at any available point of attachment. When the alkyl group is said to be substituted with an alkyl group, this is used interchangeably with "branched alkyl group". Exemplary unsubstituted such groups include methyl, ethyl, propyl, isopropyl, n-butyl, t-butyl, isobutyl, pentyl, hexyl, isohexyl, heptyl, 4,4-dimethylpentyl, octyl, 2,2,4-trimethylpentyl, nonyl, decyl, undecyl, dodecyl, and the like. Exemplary substituents may include but are not limited to one or more of the following groups: halo (such as F, Cl, Br or I), haloalkyl (such as CCl_3 or CF_3), alkoxy, aryloxy, alkyl $\text{S}(\text{O})_m$ ($m = 0, 1, 2$), aryl $\text{S}(\text{O})_m$ ($m = 0, 1, 2$), hydroxy, carboxy ($-\text{COOH}$), alkylloxycarbonyl ($-\text{COOR}'$), alkylcarbonyloxy ($-\text{OCOR}'$), amino ($-\text{NH}_2$), quaternary nitrogen, carbamoyl ($-\text{NHCOOR}'$ - or $-\text{OCONHR}'$ -), urea

WO 01/81348

PCT/US01/12327

(-NHCONHR'-), thiol (-SH), cyano or nitro. Alkyl groups as defined may also comprise one or more carbon to carbon double bonds or one or more carbon to carbon triple bonds.

5 The term "alkenyl" refers to a hydrocarbon radical straight, branched or cyclic containing from 2 to 12 carbon atoms and at least one carbon to carbon double bond.

The term "alkynyl" refers to a hydrocarbon radical straight, branched or cyclic containing from 2 to 12 carbon atoms and at least one carbon to carbon triple bond.

10 Cycloalkyl is a type of alkyl containing from 3 to 15 carbon atoms, without alternating or resonating double bonds between carbon atoms. It may contain from 1 to 4 rings. Exemplary unsubstituted such groups include cyclopropyl, cyclobutyl, cyclopentyl, cyclohexyl, etc. Exemplary substituents include one or more of the following groups: halogen, alkyl, alkoxy, alkyl, hydroxy, amino, nitro, cyano, thiol and/or alkylthio.

15 The terms "alkoxy" or "alkylthio", as used herein, denote an alkyl group as described above bonded through an oxygen linkage (-O-) or a sulfur linkage (-S-), respectively.

The term "alkyloxycarbonyl", as used herein, denotes an alkoxy group bonded through a carbonyl group. An alkoxy carbonyl radical is represented by the formula -C(O)OR, where the R group is a straight or branched C₁₋₆ alkyl group.

20 The term "alkylcarbonyl" refers to an alkyl group bonded through a carbonyl group.

The term "alkylcarbonyloxy", as used herein, denotes an alkylcarbonyl group which is bonded through an oxygen linkage.

25 The term "arylalkyl", as used herein, denotes an aromatic ring bonded through an alkyl group as described above.

30 The term "aryl" refers to monocyclic or bicyclic aromatic rings, e.g., phenyl, substituted phenyl and the like, as well as groups which are fused, e.g., naphthyl, phenanthrenyl and the like. An aryl group thus contains at least one ring having at least 6 atoms, with up to five such rings being present, containing up to 22 atoms therein, with alternating (resonating) double bonds between adjacent carbon atoms or suitable heteroatoms. Aryl groups may optionally be substituted with one or more groups including, but not limited to, halogen, alkyl, alkoxy, hydroxy, carboxy,

WO 01/81348

PCT/US01/12327

carbamoyl, alkyloxycarbonyl, nitro, trifluoromethyl, amino, cycloalkyl, cyano, alkylS(O)_m (m = 0, 1, 2), or thiol.

The term "heteroaryl" refers to a monocyclic aromatic hydrocarbon group having 5 or 6 ring atoms, or a bicyclic aromatic group having 8 to 10 atoms, containing at least one heteroatom, O, S, or N, in which a carbon or nitrogen atom is the point of attachment, and in which one or two additional carbon atoms is optionally replaced by a heteroatom selected from O or S, and in which from 1 to 3 additional carbon atoms are optionally replaced by nitrogen heteroatoms, said heteroaryl group being optionally substituted as described herein. Additional nitrogen atoms may be present together with the first nitrogen and oxygen or sulfur. Exemplary heteroaryl groups include the following: thienyl, furyl, pyrrolyl, pyridinyl, imidazolyl, pyrrolidinyl, piperidinyl, thiazolyl, oxazolyl, triazolyl, pyrazolyl, isoxazolyl, isothiazolyl, pyrazinyl, pyridazinyl, pyrimidinal, triazinylazepinyl, indolyl, isoindolyl, quinolyl, isoquinolyl, benzothiazolyl, benzoxazolyl, benzimidazolyl, benzoxadiazolyl, benzofurazanyl and tetrahydropyranyl. Exemplary substituents include one or more of the following: halo, alkyl, alkoxy, hydroxy, cycloalkyl, nitro, cyano, amino, alkylS(O)_m (m=0, 1, 2), or thiol. The term "heteroarylalkyl", as used herein denotes a heteroaryl ring bonded through an alkyl group as described hereinabove.

The term "heteroarylium" refers to heteroaryl groups bearing a quaternary nitrogen atom and thus a positive charge.

The term "heterocycloalkyl" refers to a cycloalkyl group (nonaromatic) in which one of the carbon atoms in the ring is replaced by a heteroatom selected from O, S or N, and in which up to three additional carbon atoms may be replaced by said heteroatoms. In addition, the sulfur may be oxidated to the sulfone (-SO₂-) or sulfoxide (-SO-) and the nitrogen may be quaternary.

The term "quaternary nitrogen" refers to a tetravalent positively charged nitrogen atom including, e.g., the positively charged nitrogen in a tetraalkylammonium group (e.g., tetramethylammonium, N-methylpyridinium), the positively charged nitrogen in protonated ammonium species (e.g., trimethylhydroammonium, N-hydropyridinium), the positively charged nitrogen in

WO 01/81348

PCT/US01/12327

amine N-oxides (e.g. N-methyl-morpholine-N-oxide, pyridine-N-oxide), and the positively charged nitrogen in an N-amino-ammonium group (e.g., N-aminopyridinium).

The term "heteroatom" means O, S, P or N, selected on an independent basis.

5 The term "halogen" or "halo" refers to chlorine, bromine, fluorine or iodine.

The term "PMB" refers to para-methoxybenzyl.

10 When a functional group is termed "protected", this means that the group is in modified form to preclude undesired side reactions at the protected site. Suitable protecting groups for the compounds of the present invention will be recognized from the present application taking into account the level of skill in the art, and with reference to standard textbooks, such as Greene, T. W. et al., *Protective Groups in Organic Synthesis*, Wiley, N.Y. (1991).

15 Suitable examples of salts of the compounds according to the invention with inorganic or organic acids are hydrochloride, hydrobromide, sulfate, phosphate. Salts which are unsuitable for pharmaceutical uses but which can be employed, for example, for the isolation or purification of free compounds I or their pharmaceutically acceptable salts, are also included.

20 All stereoisomers of the compounds of the instant invention are contemplated, either in admixture or in pure or substantially pure form. The definition of the compounds according to the invention embraces all possible stereoisomers and their mixtures. It very particularly embraces the racemic forms and the isolated optical isomers having the specified activity. The racemic forms can be resolved by physical methods, such as, for example, fractional crystallization, separation or crystallization of diastereomeric derivatives or separation by chiral column chromatography. The individual optical isomers can be obtained from the racemates by conventional methods, such as, for example, salt formation with an optically active acid followed by crystallization.

It should be understood that the present invention includes prodrug forms of the compounds of formula I. Various forms of prodrugs are well known in the art.

30 Examples of such prodrug derivatives are provided in the following references:

(a) Design of Prodrugs, edited by H. Bundgaard (Elsevier, 1985); and Methods in Enzymology, Vol. 42, pp. 309-396, edited by K. Widder et al., (Academic Press, 1985);

35 (b) A Textbook of Drug Design and Development, edited by Krosgaard-Larsen and H. Bundgaard, Chapter 5, "Design and Application of Prodrugs," by H. Bundgaard, pp. 113-191 (1991);

(c) H. Bundgaard, Advanced Drug Delivery Reviews, 8, pp. 1-38 (1992);

WO 01/81348

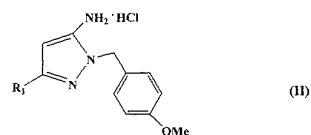
PCT/US01/12327

(d) H. Bundgaard *et al.*, Journal of Pharmaceutical Sciences, **77**, 285 (1988); and
 (e) N. Kayeka *et al.*, Chem. Phar. Bull., **32**, 692 (1984).

It should be understood that solvates (e.g., hydrates) of the compounds of
 formula I are also within the scope of the present invention. Methods of solvation are
 5 generally known in the art. Accordingly, the compounds of the instant invention may
 be in the free or hydrate form, and may be obtained by methods exemplified by the
 following schemes.

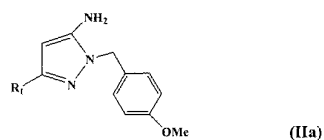
Compounds of formula I for use as inhibitors of cyclin dependent kinases can
 be prepared by reacting a compound of formula II

10



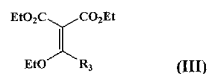
with a base such as sodium hydroxide or sodium carbonate to give a free base of
 formula IIa

15



Compound IIa is reacted with a compound of formula III

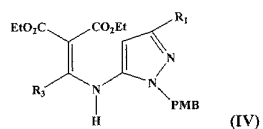
20



at an elevated temperature, preferably about 130°C, under reduced pressure to obtain
 compounds of formula IV

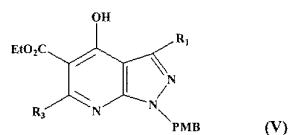
WO 01/81348

PCT/US01/12327

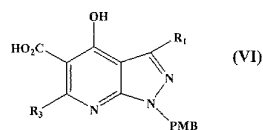


The starting compound of formula II, where R₁ is hydrogen is prepared by reacting acrylonitrile with hydrazine hydrate in a solvent such as THF, followed by addition of p-methoxybenzaldehyde. The compound which results from this reaction is then reacted with a mixture of sodium n-butoxide in n-butanol followed by HCl to provide the key early intermediate of compound II.

Compounds of formula IV are then reacted at an elevated temperature, preferably from about 220°C to 260°C, in the presence of a solvent such as diphenyl ether to obtain a compound of formula V



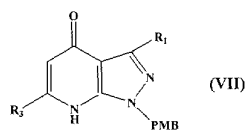
Compound V is then reacted with an aqueous base such as aqueous sodium hydroxide or aqueous potassium hydroxide at an elevated temperature, preferably about 95°C, to obtain a compound of formula VI



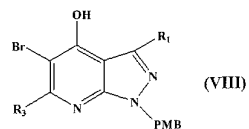
Compound VI is stirred at an elevated temperature, preferably about 230°C, to obtain a compound of formula VII

WO 01/81348

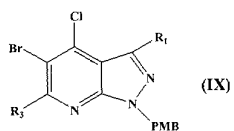
PCT/US01/12327



The formula VII compound is reacted with bromine in the presence of a solvent such as ethanol, preferably at a temperature of about 0°C, to obtain a
 5 compound of formula VIII



Compound VIII is then reacted with phosphorous oxychloride at a temperature
 10 from about 25° to 130 °C to obtain a compound of formula IX



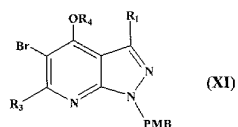
Compound IX is reacted with a compound of formula X
 15



wherein M is an alkali metal such as sodium or potassium, and R₄ is as described
 hereinabove in the presence of a solvent such as tetrahydrofuran, R₄OH and the like at
 20 a temperature from about 25°C to 90°C to form a compound of formula XI

WO 01/81348

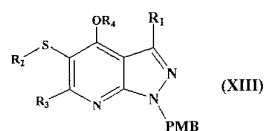
PCT/US01/12327



The formula XI compound is reacted with an organolithium reagent such as n-butyllithium in a solvent such as tetrahydrofuran, ether and the like at a temperature from about -90° to -20°C followed by treatment with a compound of formula XII

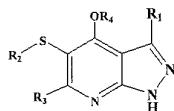


10 wherein R₂ is as described hereinabove to obtain a compound of formula XIII



Compounds of formula XIII are then reacted with:

- 15 (1) an acid, such as trifluoroacetic acid (TFA), at a temperature from about 25°C to 90°C, or
- (2) hydrogen in the presence of a catalyst, such as palladium on carbon, to obtain compounds of formula I wherein n is 0



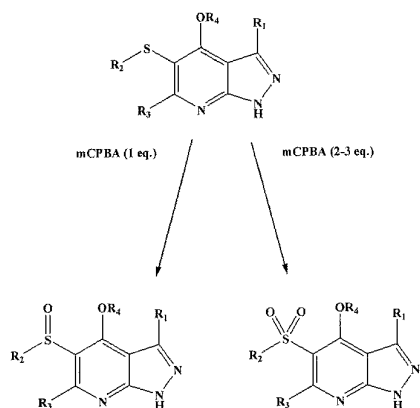
20

Compounds of formula I wherein n is 1 or 2 may be prepared by oxidizing compounds of formula I wherein n is 0 with an oxidizing agent such as m-chloroperoxybenzoic acid (mCPBA) and the like in the presence of a solvent such as dichloromethane. Generally one equivalent of the oxidizing agent is used to obtain

WO 01/81348

PCT/US01/12327

compounds of formula I wherein n is 1, and two or more equivalents of the oxidizing agent are used to obtain compounds of formula I wherein n is 2.



5

Intermediates of this invention may also be prepared by processes disclosed in U.S. Patent Nos. 3,828,057, 3,966,746, 3,979,399, and 3,985,757 which are incorporated by reference herein. More specifically, intermediates of formula II may be prepared by procedures described in Hoehn, H., Z. Chem. 10, pp. 386-388 (1970).

10

Compounds of formulas II and III are commercially available or may be prepared by methods known to one of ordinary skill in the art.

All other compounds may be prepared by modification of the procedures described herein.

The preferred compounds of formula I are those wherein:

15

- R₁ and R₃ are hydrogen;
- R₂ is aryl or heteroaryl;
- R₄ is alkyl, cycloalkyl or cycloalkylalkyl; and
- n is an integer of 0, 1 or 2.

More preferred compounds of formula I are those wherein:

20

- R₁ and R₃ are hydrogen;

WO 01/81348

PCT/US01/12327

R₂ is phenyl, 4-bromo-2,6-difluorophenyl, 4-chloro-2,6-difluorophenyl, 2,4,6-trifluorophenyl or 4-methyl-2,6-difluorophenyl;
 R₄ is lower alkyl; and

5 n is 1.

The compounds according to the invention have pharmacological properties; in particular, the compounds of formula I are inhibitors of protein kinases such as the cyclin dependent kinases (cdks), for example, cdc2 (cdk1), cdk2, and cdk4. The novel
 10 compounds of formula I are expected to be useful in the therapy of proliferative diseases such as cancer, inflammation, arthritis, Alzheimer's disease and cardiovascular disease. These compounds may also be useful in the treatment of topical and systemic fungal infections.

More specifically, the compounds of formula I are useful in the treatment of a
 15 variety of cancers, including (but not limited to) the following:

- carcinoma, including that of the bladder, breast, colon, kidney, liver, lung, ovary, pancreas, stomach, cervix, thyroid, prostate, and skin;
- hematopoietic tumors of lymphoid lineage, including acute lymphocytic leukemia, B-cell lymphoma, and Burkett's lymphoma;
- 20 -hematopoietic tumors of myeloid lineage, including acute and chronic myelogenous leukemias and promyelocytic leukemia;
- tumors of mesenchymal origin, including fibrosarcoma and rhabdomyosarcoma; and
- 25 -other tumors, including melanoma, seminoma, teratocarcinoma, osteosarcoma, neuroblastoma and glioma.

Due to the key role of cdks in the regulation of cellular proliferation in general, inhibitors could act as reversible cytostatic agents which may be useful in the treatment of any disease process which features abnormal cellular proliferation, e.g.,
 30 neuro-fibromatosis, atherosclerosis, pulmonary fibrosis, arthritis, psoriasis, glomerulonephritis, restenosis following angioplasty or vascular surgery, hypertrophic scar formation, inflammatory bowel disease, transplantation rejection, angiogenesis, and endotoxic shock.

WO 01/81348

PCT/US01/12327

Compounds of formula I may also be useful in the treatment of Alzheimer's disease, as suggested by the recent finding that cdk5 is involved in the phosphorylation of tau protein (*J. Biochem.*, 117, 741-749 (1995)).

Compounds of formula I may also act as inhibitors of other protein kinases, e.g., protein kinase C, her2, raf1, MEK1, MAP kinase, EGF receptor, PDGF receptor, IGF receptor, PI3 kinase, weel kinase, Src, Abl, VEGF, and lck, and thus be effective in the treatment of diseases associated with other protein kinases.

Compounds of formula I also induce or inhibit apoptosis, a physiological cell death process critical for normal development and homeostasis. Alterations of apoptotic pathways contribute to the pathogenesis of a variety of human diseases. Compounds of formula I, as modulators of apoptosis, will be useful in the treatment of a variety of human diseases with aberrations in apoptosis including cancer (particularly, but not limited to, follicular lymphomas, carcinomas with p53 mutations, hormone dependent tumors of the breast, prostate and ovary, and precancerous lesions such as familial adenomatous polyposis), viral infections (including, but not limited to, herpesvirus, poxvirus, Epstein-Barr virus, Sindbis virus and adenovirus), autoimmune diseases (including, but not limited to, systemic lupus, erythematosis, immune mediated glomerulonephritis, rheumatoid arthritis, psoriasis, inflammatory bowel diseases, and autoimmune diabetes mellitus), neurodegenerative disorders (including, but not limited to, Alzheimer's disease, AIDS-related dementia, Parkinson's disease, amyotrophic lateral sclerosis, retinitis pigmentosa, spinal muscular atrophy and cerebellar degeneration), AIDS, myelodysplastic syndromes, aplastic anemia, ischemic injury associated myocardial infarctions, stroke and reperfusion injury, arrhythmia, atherosclerosis, toxin-induced or alcohol induced liver diseases, hematological diseases (including, but not limited to, chronic anemia and aplastic anemia), degenerative diseases of the musculoskeletal system (including, but not limited to, osteoporosis and arthritis), aspirin-sensitive rhinosinusitis, cystic fibrosis, multiple sclerosis, kidney diseases, and cancer pain.

The compounds of this invention may also be useful in combination with known anti-cancer treatments such as radiation therapy or with cytostatic and cytotoxic agents, such as, for example, but not limited to, DNA interactive agents, such as cisplatin or doxorubicin; inhibitors of farnesyl protein transferase, such as

WO 01/81348

PCT/US01/12327

those described in U.S. Patent No. 6,011,029, topoisomerase II inhibitors, such as etoposide; topoisomerase I inhibitors, such as CPT-11 or topotecan; tubulin stabilizing agents, such as paclitaxel, docetaxel or the epothilones; hormonal agents, such as tamoxifen; thymidilate synthase inhibitors, such as 5-fluorouracil; and

5 antimetabolites, such as methotrexate; antiangiogenic agents, such as angiostatin or endostatin; and kinase inhibitors, such as her2 specific antibodies. The formula I compounds of this invention may also be useful in combination with modulators of p53 transactivation. In addition, the formula I compounds may be used for treating chemotherapy-induced alopecia, chemotherapy-induced thrombocytopenia,

10 chemotherapy-induced leukopenia or mucocitis. In the treatment of chemotherapy-induced alopecia, the formula I compound is preferably topically applied in the form of a medicament such as a gel, shampoo, aerosol, dust, cream, ointment, solution, dispersion or paste.

If formulated as a fixed dose, such combination products employ the

15 compounds of this invention within the dosage range described below and the other pharmaceutically active agent within its approved dosage range. For example, the cdc2 inhibitor olomucine has been found to act synergistically with known cytotoxic agents in inducing apoptosis (*J. Cell Sci.*, 108, 2897 (1995)). Compounds of formula I may be used sequentially with known anti-cancer or cytotoxic agents when a

20 combination formulation is inappropriate.

cdc2/cyclin B1 Kinase Assay

cdc2/cyclin B1 kinase activity was determined by monitoring the incorporation of ^{32}P into histone H1. The reaction consisted of 50 ng baculovirus expressed GST-

25 cdc2, 75 ng baculovirus expressed GST-cyclin B1, 1 μg histone H1 (Boehringer Mannheim), 0.2 μCi of ^{32}P γ -ATP and 25 μM ATP in kinase buffer (50 mM Tris, pH 8.0, 10 mM MgCl_2 , 1 mM EGTA, 0.5 mM DTT). The reaction was incubated at 30 $^\circ\text{C}$ for 30 minutes and then stopped by the addition of cold trichloroacetic acid (TCA) to a final concentration of 15% and incubated on ice for 20 minutes. The reaction was

30 harvested onto GF/C unfilter plates (Packard) using a Packard Filtermate Universal harvester, and the filters were counted on a Packard TopCount 96-well liquid

WO 01/81348

PCT/US01/12327

scintillation counter (Marshak, D.R., Vanderberg, M.T., Bae, Y.S., Yu, I.J., *J. Cellular Biochemistry*, 45, 391-400 (1991), incorporated by reference herein).

cdk2/cyclin E Kinase Assay

- 5 cdk2/cyclin E kinase activity was determined by monitoring the incorporation of ^{32}P into the retinoblastoma protein. The reaction consisted of 2.5 ng baculovirus expressed GST-cdk2/cyclin E, 500 ng bacterially produced GST-retinoblastoma protein (aa 776-928), 0.2 μCi ^{32}P γ -ATP and 25 μM ATP in kinase buffer (50 mM Hepes, pH 8.0, 10 mM MgCl_2 , 5 mM EGTA, 2 mM DTT). The reaction was
- 10 incubated at 30 °C for 30 minutes and then stopped by the addition of cold trichloroacetic acid (TCA) to a final concentration of 15% and incubated on ice for 20 minutes. The reaction was harvested onto GF/C unfilter plates (Packard) using a Packard Filtermate Universal harvester, and the filters were counted on a Packard TopCount 96-well liquid scintillation counter.

15

cdk 4/cyclin D1 Kinase Activity

- cdk4/cyclin D1 kinase activity was determined by monitoring the incorporation of ^{32}P in to the retinoblastoma protein. The reaction consisted of 165 ng baculovirus expressed as GST-cdk4, 282 ng bacterially expressed as S-tag cyclin D1,
- 20 500 ng bacterially produced GST-retinoblastoma protein (aa 776-928), 0.2 μCi ^{32}P γ -ATP and 25 μM ATP in kinase buffer (50 mM Hepes, pH 8.0, 10 mM MgCl_2 , 5 mM EGTA, 2 mM DTT). The reaction was incubated at 30 °C for 1 hour and then stopped by the addition of cold trichloroacetic acid (TCA) to a final concentration of 15% and incubated on ice for 20 minutes. The reaction was harvested onto GF/C
- 25 unfilter plates (Packard) using a Packard Filtermate Universal harvester, and the filters were counted on a Packard TopCount 96-well liquid scintillation counter (Coleman, K.G., Wautlet, B.S., Morissey, D., Mulheron, J.G., Sedman, S., Brinkley, P., Price, S., Webster, K.R. (1997) Identification of CDK4 Sequences involved in cyclin D, and p16 binding. *J. Biol. Chem.* 272,30:18869-18874, incorporated by
- 30 reference herein).

Further subject matter of the invention also includes pharmaceuticals for use as described above including controlling cancer, inflammation and arthritis, which

WO 01/81348

PCT/US01/12327

contain at least one compound of formula I as defined above or at least one of its pharmacologically acceptable acid addition salts, and the use of a compound of formula I as defined above for the preparation of a pharmaceutical having activity against proliferative diseases as described previously including against cancer,
5 inflammation and/or arthritis.

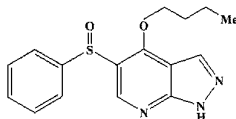
The following examples are illustrative rather than limiting. It should be understood that there may be other embodiments which fall within the spirit and scope of the invention as defined by the claims appended hereto.

WO 01/81348

PCT/US01/12327

ExamplesExample 1

5

1-(4-Butoxy-1H-pyrazolo[3,4-b]pyridin-5-yl)-1'-phenylsulfoxide

10

A. 4-Hydroxy-1-[(4-methoxyphenyl)methyl]-1H-pyrazolo[3,4-b]pyridine-5-carboxylic acid.

15 A solution of 5.20 g (15.9 mmol) of 4-hydroxy-1-[(4-methoxyphenyl)methyl]-1H-pyrazolo[3,4-b]pyridine-5-carboxylic acid ethyl ester (see WO 99/30710 for preparation) in 20 mL of ethanol and 60 mL of 1M aq NaOH solution was stirred at 95°C for 18 hr. The reaction mixture was cooled to room temperature and acidified to pH=1 by addition of 1M aq HCl solution (~70 mL). A precipitate formed which was isolated by filtration. The solid was washed with water then dried under vacuum at 200°C overnight to afford 4.48 g (94%) of Part A compound as a white solid, mp 220°C (dec).

20

B. 1-[(4-Methoxyphenyl)methyl]-1H-pyrazolo[3,4-b]pyridin-4-one.

25 A 3.18 g (10.6 mmol) portion of Part A compound was heated under argon to 230°C for 15 minutes. Upon heating the solid melted and gas evolution was observed. The material was cooled to room temperature to afford 2.71 g (100%) of Part B compound as an amber glass.

25

C. 5-Bromo-4-hydroxy-1-[(4-methoxyphenyl)methyl]-1H-pyrazolo[3,4-b]pyridine.

30 To a solution of 2.70 g (10.6 mmol) of part B compound in 60 mL of absolute ethanol cooled in an ice-bath was added dropwise a solution of 2.0 g (12 mmol) of bromine in 5 mL of ethanol over 5 min. A precipitate formed. The reaction was incomplete and after 1 hr an additional 0.3 mL of bromine was added. The mixture was stirred for an additional 1 hr then slowly 50 mL of 5% aq sodium bicarbonate solution was added. The reaction was warmed to room temperature and after 15 min concentrated in vacuo to give a slurry. The solid material was collected by filtration, washed with water then dried under vacuum at 90°C overnight to give 3.43 g (97%) of Part C compound as a light beige solid, mp 209°C (softens).

35

40

WO 01/81348

PCT/US01/12327

D. 5-Bromo-4-chloro-1-[(4-methoxyphenyl)methyl]-1H-pyrazolo[3,4-b]pyridine.

5 A mixture of 2.92 g (8.74 mmol) of Part C compound in 20 mL of phosphorous
oxychloride was heated at 110°C for 1 hr. The reaction mixture was cooled to room
temperature then in an ice-bath and added slowly to 300 g of ice. After 15 min, 150
mL of EtOAc was added then slowly ~50 mL of 50% NaOH solution until the pH=7.
The entire mixture was transferred to a separatory funnel. The aqueous layer was
10 separated and extracted with 100 mL of EtOAc. The organic layers were combined,
washed with 100 mL of brine, dried (sodium sulfate) and concentrated in vacuo then
dried under vacuum at 90°C to afford 2.94 g (95%) of Part D compound as a yellow-
brown solid.

E. 5-Bromo-4-butoxy-1-[(4-methoxyphenyl)methyl]-1H-pyrazolo[3,4-b]pyridine.

15 The oil was removed from a 660 mg (60% in oil, 16 mmol) portion of sodium
hydride dispersion by three washes with hexane then covered with 30 mL of dry THF.
The mixture was heated to 50° then, in two portions, a total of 2.3 mL (25 mmol) of
anhydrous n-butanol was added. The reaction mixture was stirred until gas evolution
20 ceased, ~30 min, then cooled to room temperature. To the resulting solution was
added 2.92 g (8.28 mmol) of Part D compound and stirred at 60°C for 2 hr then
cooled to room temperature and concentrated in vacuo to give a solid. The solid was
partitioned between 50 mL of water and 50 mL of EtOAc. The organic layer was
separated, washed with 50 mL of brine, dried (sodium sulfate) and concentrated in
25 vacuo to give a brown solid. The crude solid was purified by flash chromatography
(silica gel, 1:5 EtOAc/hexane) to afford 2.75 g (86%) of Part E compound as a white
solid, mp 81-83°C.

F. 4-Butoxy-5-thiophenyl-1-[(4-methoxyphenyl)methyl]-1H-pyrazolo[3,4-b]pyridine.

30 To a solution of 195 mg (0.50 mmol) of Part E compound in 4 mL of dry THF
cooled to -78°C was added dropwise 0.30 mL (2.5M in hexane, 0.75 mmol) of n-
butyllithium solution. After 0.5 hr a solution of 218 mg (1.0 mmol) of phenyl
disulfide in 1 mL of THF was added. The reaction mixture was stirred at -78°C for 6
35 hr then quenched by addition of aqueous sodium bisulfate solution. The mixture was
partitioned between aqueous sodium bicarbonate and methylene chloride. The
organic layer was separated, dried (sodium sulfate) and concentrated in vacuo. The
crude material was purified by flash chromatography (silica, 1:19 then 1:4
40 EtOAc/hexane) to give 60 mg (29%) of Part F compound as a yellow oil.

G. 4-Butoxy-5-thiophenyl-1H-pyrazolo[3,4-b]pyridine.

45 A solution of 60 mg (0.15 mmol) of Part F compound in 1 mL of trifluoroacetic
acid was heated to 65°C for 2.5 hr then cooled to room temperature and concentrated
in vacuo. An aqueous saturated sodium bicarbonate solution was added to the

WO 01/81348

PCT/US01/12327

residue. The solid which formed was collected by filtration then recrystallized (EtOAc/hexane) to afford 28 mg (62%) of Part G compound.

H. 1-(4-Butoxy-1H-pyrazolo[3,4-b]pyridin-5-yl)-1'-phenylsulfoxide.

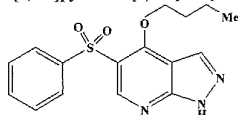
To a solution of 9 mg (0.03 mmol) of Part G compound in 15 mL of methylene chloride cooled in an ice-bath was added 6 mg (tech 80%, 0.03 mmol) of m-chloroperoxybenzoic acid. The reaction mixture was stirred for 40 minutes then aqueous sodium bicarbonate solution was added and extracted with methylene chloride. The organic extract was dried (sodium sulfate) and concentrated in vacuo to give the crude product. Crystallization (EtOAc/hexane) of the crude material afforded 7 mg (74%) of the title compound as a yellow solid.

LC-MS: 316 (M+H)⁺.

HPLC: T_R (YMC S3 ODS-A, 150 x 6.0 mm, 1.5 mL/min, gradient 0-100%B over 20 min, Buffer A = MeOH/water/phosphoric acid (10:90:0.2), Buffer B = MeOH/water/phosphoric acid (90:10:0.2)) = 18.5 min, 88% of total peak area at 220 nM.

Example 2

1-(4-Butoxy-1H-pyrazolo[3,4-b]pyridin-5-yl)-1'-phenylsulfone



A. 1-(4-Butoxy-1H-pyrazolo[3,4-b]pyridin-5-yl)-1'-phenylsulfone

To a solution of 28 mg (0.094 mmol) of Example 1, Part G compound in 25 mL of methylene chloride at room temperature was added 56 mg (tech 80%, 0.26 mmol) of m-chloroperoxybenzoic acid. The reaction mixture was stirred for 1 hr, aqueous sodium bicarbonate solution was added then after 2 hr the mixture was dried (sodium sulfate) and concentrated in vacuo to give the crude product. Crystallization (methylene chloride/hexane) of the crude material afforded 24 mg (78%) of the title compound as a white solid.

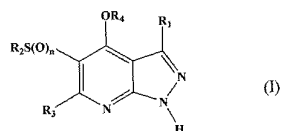
LC-MS: 332 (M+H)⁺.

HPLC: T_R (YMC S3 ODS-A, 150 x 6.0 mm, 1.5 mL/min, gradient 0-100%B over 20 min, Buffer A = MeOH/water/phosphoric acid (10:90:0.2), Buffer B = MeOH/water/phosphoric acid (90:10:0.2)) = 18.1 min, 90% of total peak area at 220 nM.

WO 01/81348

PCT/US01/12327

1. A compound of formula I:



5

or a pharmaceutically acceptable salt thereof wherein:

R₁ is hydrogen, lower alkyl, Cl;

each R₂ and R₄ is, independently, alkyl, aryl, arylalkyl, heteroaryl,

10 heteroarylalkyl, cycloalkyl, cycloalkylalkyl, heterocycloalkyl or heterocycloalkylalkyl;

R₃ is hydrogen or lower alkyl; and

n is 0, 1 or 2.

2. The compound according to claim 1 wherein:

15 R₁ and R₃ are hydrogen;

R₂ is aryl or heteroaryl;

R₄ is alkyl, cycloalkyl or cycloalkylalkyl; and

n is 0, 1 or 2.

3. The compound according to claim 1 wherein:

R₁ and R₃ are hydrogen;

R₂ is phenyl, 4-bromo-2,6-difluorophenyl, 4-chloro-2,6-difluorophenyl or 2,4,6-trifluorophenyl or 4-methyl-2,6-difluorophenyl;

R₄ is lower alkyl; and

25 n is 1.

4. A pharmaceutical composition comprising a compound of claim 1 and a pharmaceutically acceptable carrier.

WO 01/81348

PCT/US01/12327

5. A pharmaceutical composition comprising a compound of claim 1 in combination with a pharmaceutically acceptable carrier and an anti-cancer agent formulated as a fixed dose.
- 5 6. A pharmaceutical composition comprising a compound of claim 1 in combination with a pharmaceutically acceptable carrier and a modulator of p53 transactivation formulated at a fixed dose.
7. A method of modulating apoptosis comprising administering to a
10 mammalian specie in need thereof an effective apoptosis modulating amount of a compound of claim 1.
8. A method of inhibiting protein kinases comprising administering to a mammalian specie in need thereof an effective protein kinase inhibiting amount of a
15 compound of claim 1.
9. A method of inhibiting cyclin dependent kinases comprising administering to a mammalian specie in need thereof an effective cyclin dependent kinase inhibiting amount of a compound of claim 1.
- 20 10. A method of inhibiting cdc2 (cdk1) comprising administering to a mammalian specie in need thereof an effective cdc2 inhibiting amount of a compound of claim 1.
- 25 11. A method of inhibiting cdk2 comprising administering to a mammalian specie in need thereof an effective cdk2 inhibiting amount of a compound of claim 1.
12. A method of inhibiting cdk3 comprising administering to a mammalian specie in need thereof an effective cdk3 inhibiting amount of a compound of claim 1.
- 30 13. A method of inhibiting cdk4 comprising administering to a mammalian specie in need thereof an effective cdk4 inhibiting amount of a compound of claim 1.

WO 01/81348

PCT/US01/12327

14. A method of inhibiting cdk5 comprising administering to a mammalian
specie in need thereof an effective cdk5 inhibiting amount of a compound of claim 1.
- 5 15. A method of inhibiting cdk6 comprising administering to a mammalian
specie in need thereof an effective cdk6 inhibiting amount of a compound of claim 1.
16. A method of inhibiting cdk7 comprising administering to a mammalian
specie in need thereof an effective cdk7 inhibiting amount of a compound of claim 1.
- 10 17. A method of inhibiting cdk8 comprising administering to a mammalian
specie in need thereof an effective cdk8 inhibiting amount of a compound of claim 1.
18. A method for treating proliferative diseases comprising administering to a
15 mammalian specie in need thereof a therapeutically effective amount of a composition
of claim 4.
19. A method for treating cancer comprising administering to a mammalian
specie in need thereof a therapeutically effective amount of a composition of claim 4.
- 20 20. A method for treating inflammation, inflammatory bowel disease, or
transplantation rejection, comprising administering to a mammalian specie in need
thereof a therapeutically effective amount of a composition of claim 4.
- 25 21. A method for treating arthritis comprising administering to a mammalian
specie in need thereof a therapeutically effective amount of a composition of claim 4.
22. A method for treating proliferative diseases comprising administering to a
mammalian specie in need thereof a therapeutically effective amount of a composition
30 of claim 5.

WO 01/81348

PCT/US01/12327

23. A method for treating cancer comprising administering to a mammalian
specie in need thereof a therapeutically effective amount of a composition of claim 5.
24. A method for treating proliferative diseases comprising administering to a
5 mammalian specie in need thereof a therapeutically effective amount of a composition
of claim 6.
25. A method for treating cancer comprising administering to a mammalian
specie in need thereof a therapeutically effective amount of a composition of claim 6.
- 10 26. A method for the treatment of a cyclin dependent kinase-associated
disorder comprising administering to a subject in need thereof an amount effective
therefor of at least one compound of claim 1.
- 15 27. A method for treating chemotherapy-induced alopecia, chemotherapy-
induced thrombocytopenia, chemotherapy-induced leukopenia or mucocitis
comprising administering to a mammalian specie in need thereof a therapeutically
effective amount of a compound of claim 1.

【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No.
PCT/US 01/12327

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER IPC 7 C07D487/04 A61K31/437 A61P35/00 //(C07D487/04,231:00, 221:00)		
According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC		
B. FIELDS SEARCHED Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) IPC 7 C07D A61K A61P		
Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched		
Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used) WPI Data, EPO-Internal, CHEM ABS Data		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	US 3 903 096 A (DENZEL THEODOR ET AL) 2 September 1975 (1975-09-02) examples 9 (33-37), 12 column 5, line 48 -column 6, line 7; claim 1	1,4
A	WO 95 34563 A (PFIZER) 21 December 1995 (1995-12-21) claims 1,12	1,4,5,20
A	WO 99 30710 A (SQUIBB BRISTOL MYERS CO) 24 June 1999 (1999-06-24) claims 1,13-42	1,4,5,9, 20
☐ Further documents are listed in the continuation of box C. ☒ Patent family members are listed in annex.		
* Special categories of cited documents: "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance "E" earlier document but published on or after the international filing date "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified) "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed "T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention "X" document of particular relevance: the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone "Y" document of particular relevance: the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art "Z" document member of the same patent family		
Date of the actual completion of the international search 28 September 2001		Date of mailing of the international search report 09/10/2001
Name and mailing address of the ISA European Patent Office, P.O. 5818 Patentlaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel: (+31-70) 340-2040, Tx: 31 651 epo nl, Fax: (+31-70) 340-3016		Authorized officer Alfaro Faus, I

Form PCT/ISA/210 (second sheet) (July 1992)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International Application No.

PCT/US 01/12327

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
US 3903096	A	02-09-1975	CA 999586 A1 09-11-1976 DE 2512974 A1 09-10-1975 FR 2265374 A1 24-10-1975 GB 1508222 A 19-04-1978
WO 9534563	A	21-12-1995	AT 182332 T 15-08-1999 AU 687196 B2 19-02-1998 AU 2350595 A 05-01-1996 BR 9502707 A 04-06-1996 CA 2192820 A1 21-12-1995 CN 1150803 A ,B 28-05-1997 CZ 9603670 A3 15-10-1997 DE 69510940 D1 26-08-1999 DE 69510940 T2 11-11-1999 DK 765327 T3 29-11-1999 EP 0765327 A1 02-04-1997 ES 2135062 T3 16-10-1999 FI 965022 A 13-12-1996 GR 3031166 T3 31-12-1999 HU 75776 A2 28-05-1997 WO 9534563 A1 21-12-1995 IL 114003 A 31-12-1999 JP 2891544 B2 17-05-1999 JP 9507855 T 12-08-1997 KR 235277 B1 15-12-1999 NO 965378 A 13-12-1996 NZ 284846 A 23-12-1998 PL 317705 A1 28-04-1997 RU 2135498 C1 27-08-1999 US 6248753 B1 19-06-2001 ZA 9504679 A 09-12-1996
WO 9930710	A	24-06-1999	AU 1629799 A 05-07-1999 EP 1043998 A1 18-10-2000 WO 9930710 A1 24-06-1999 US 6107305 A 22-08-2000

Form PCT/ISA(210) (patent family annex) (July 1995)

フロントページの続き

(51)Int.Cl. ⁷	F I	テーマコード (参考)
A 6 1 P 3/10	A 6 1 P 3/10	
A 6 1 P 7/00	A 6 1 P 7/00	
A 6 1 P 9/00	A 6 1 P 9/00	
A 6 1 P 9/06	A 6 1 P 9/06	
A 6 1 P 9/10	A 6 1 P 9/10	
A 6 1 P 13/12	A 6 1 P 9/10	1 0 1
A 6 1 P 17/06	A 6 1 P 13/12	
A 6 1 P 17/14	A 6 1 P 17/06	
A 6 1 P 19/02	A 6 1 P 17/14	
A 6 1 P 19/10	A 6 1 P 19/02	
A 6 1 P 21/00	A 6 1 P 19/10	
A 6 1 P 25/00	A 6 1 P 21/00	
A 6 1 P 25/16	A 6 1 P 25/00	
A 6 1 P 25/28	A 6 1 P 25/16	
A 6 1 P 29/00	A 6 1 P 25/28	
A 6 1 P 31/10	A 6 1 P 29/00	
A 6 1 P 31/12	A 6 1 P 29/00	1 0 1
A 6 1 P 35/00	A 6 1 P 31/10	
A 6 1 P 37/02	A 6 1 P 31/12	
A 6 1 P 43/00	A 6 1 P 35/00	
	A 6 1 P 37/02	
	A 6 1 P 43/00	1 1 1

(81)指定国 AP(GH,GM,KE,LS,MW,MZ,SD,SL,SZ,TZ,UG,ZW),EA(AM,AZ,BY,KG,KZ,MD,RU,TJ,TM),EP(AT,BE,CH,CY,DE,DK,ES,FI,FR,GB,GR,IE,IT,LU,MC,NL,PT,SE,TR),OA(BF,BJ,CF,CG,CI,CM,GA,GN,GW,ML,MR,NE,SN,TD,TG),AE,AG,AL,AM,AT,AU,AZ,BA,BB,BG,BR,BY,BZ,CA,CH,CN,CO,CR,CU,CZ,DE,DK,DM,DZ,EE,ES,FI,GB,GD,GE,GH,GM,HR,HU,ID,IL,IN,IS,JP,KE,KG,KP,KR,KZ,LC,LK,LR,LS,LT,LU,LV,MA,MD,MG,MK,MN,MW,MX,MZ,NO,NZ,PL,PT,RO,RU,SD,SE,SG,SI,SK,SL,TJ,TM,TR,TT,TZ,UA,UG,US,UZ,VN,YU,ZA,ZW

(72)発明者 ラジ・エヌ・ミスラ

アメリカ合衆国 0 8 5 2 5 ニュージャージー州ホープウェル、イートン・プレイス 1 2 番

Fターム(参考) 4C065 AA04 BB05 CC01 DD03 EE02 JJ03 JJ09 KK01 LL01 PP03

QQ04 QQ05

4C084 AA16 MA02 NA05 NA14 ZA022 ZA162 ZA362 ZA452 ZA512 ZA682
ZA752 ZA812 ZA922 ZA962 ZA972 ZB072 ZB112 ZB152 ZB262 ZB322
ZB332 ZC202 ZC412 ZC542

4C086 AA01 AA02 AA03 CB05 MA01 MA02 MA04 MA05 MA13 MA17
MA27 MA28 MA63 NA05 NA14 ZA02 ZA16 ZA36 ZA45 ZA51
ZA68 ZA75 ZA81 ZA92 ZA96 ZA97 ZB07 ZB11 ZB15 ZB26
ZB32 ZB33 ZC20 ZC41 ZC54