

(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2004-518633****(P2004-518633A)**(43) 公表日 **平成16年6月24日(2004.6.24)**

(51) Int. Cl. <sup>7</sup>	F I	テーマコード (参考)
<b>C07D 487/14</b>	C O 7 D 487/14	4 C O 5 0
<b>A61K 31/407</b>	A 6 1 K 31/407	4 C O 5 7
<b>A61K 31/7056</b>	A 6 1 K 31/7056	4 C O 7 1
<b>A61P 35/00</b>	A 6 1 P 35/00	4 C O 8 6
<b>A61P 43/00</b>	A 6 1 P 43/00 1 1 1	
審査請求 有 予備審査請求 有 (全 58 頁) 最終頁に続く		

(21) 出願番号	特願2002-532456 (P2002-532456)	(71) 出願人	391015708
(86) (22) 出願日	平成13年9月28日 (2001. 9. 28)		ブリistol-マイヤーズ スクイブ カン
(85) 翻訳文提出日	平成15年4月7日 (2003. 4. 7)		パニー
(86) 国際出願番号	PCT/US2001/042405		B R I S T O L - M Y E R S S Q U I B
(87) 国際公開番号	W02002/028874		B C O M P A N Y
(87) 国際公開日	平成14年4月11日 (2002. 4. 11)		アメリカ合衆国 ニューヨーク州 1 0 1
(31) 優先権主張番号	60/238, 712		5 4 ニューヨーク パーク アベニュー
(32) 優先日	平成12年10月6日 (2000. 10. 6)		3 4 5
(33) 優先権主張国	米国 (US)	(74) 代理人	100081422
			弁理士 田中 光雄
		(74) 代理人	100068526
			弁理士 田村 恭生

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 腫瘍増殖インヒビター

(57) 【要約】

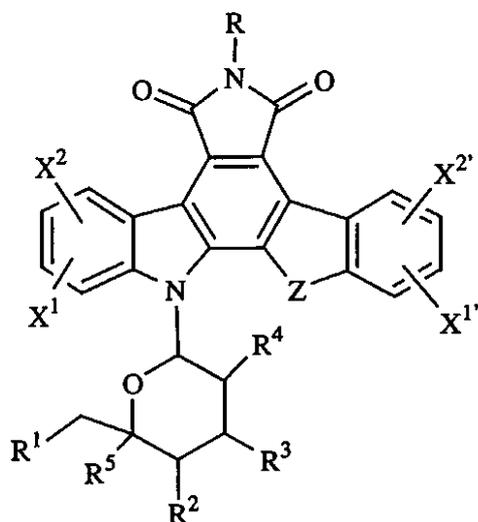
本発明は、インドロカルバゾール化合物の糖誘導体と、該誘導体のトポイソメラーゼ - I 活性を示し、かつ腫瘍細胞の増殖を抑制するのに有用な医薬製剤に関する。

## 【特許請求の範囲】

## 【請求項 1】

トポイソメラーゼ I および腫瘍細胞の増殖を抑制するのに用いる、式 (I) :

## 【化 1】



(I)

10

[ 式中、 $X^1$ 、 $X^{1'}$ 、 $X^2$  および  $X^{2'}$  はそれぞれ独立して、水素、ハロゲン、シアノ、 $OR^6$ 、 $-CF_3$ 、アルキルカルボニル、 $C_{1-7}$  アルキル、ニトロ、 $NR^6R^7$ 、 $SR^6$  および  $C(O)OR^6$  からなる群から選ばれ、ここで、上記  $C_{1-7}$  アルキルは必要に応じて、ハロゲン、 $CN$ 、 $SR^6$ 、 $OR^6$  および  $NR^6R^7$  からなる群から選ばれる置換基の 1 つ以上で置換されてよく；

20

Z は  $NH$ 、 $O$  および  $S$  からなる群から選ばれ；

R は水素、 $OH$ 、 $OC_{1-7}$  アルキル、 $NH_2$ 、 $N(C_{1-3}$  アルキル) $_2$  または  $C_{1-7}$  アルキル、ここで、上記  $C_{1-7}$  アルキルは必要に応じて、ハロゲン、 $CN$ 、 $SR^6$ 、 $OR^6$  および  $NR^6R^7$  からなる群から選ばれる置換基の 1 つ以上で置換されてよく；

$R^1$ 、 $R^2$ 、 $R^3$  および  $R^4$  はそれぞれ独立して、水素、 $C_{1-7}$  アルキル、 $C_{3-7}$  シクロアルキル、ハロゲン、アジド、 $NR^6R^7$ 、 $NHC(O)NR^6R^7$ 、 $NHC(O)OR^6$ 、 $C(O)OR^6$ 、 $SR^6$  および  $OR^6$  からなる群から選ばれ、ここで、上記  $C_{1-7}$  アルキルは必要に応じて、ハロゲン、 $CN$ 、 $SR^6$ 、 $OR^6$  および  $NR^6R^7$  からなる群から選ばれる置換基の 1 つ以上で置換されてよく；

30

$R^5$  は  $C_{1-7}$  アルキル、 $C_{3-7}$  シクロアルキル、ハロゲン、アジド、 $NR^6R^7$ 、 $NHC(O)NR^6R^7$ 、 $NHC(O)OR^6$ 、 $C(O)OR^6$ 、 $SR^6$  および  $OR^6$  からなる群から選ばれ、ここで、上記  $C_{1-7}$  アルキルは必要に応じて、ハロゲン、 $CN$ 、 $SR^6$ 、 $OR^6$  および  $NR^6R^7$  からなる群から選ばれる置換基の 1 つ以上で置換されてよく；および

$R^6$  および  $R^7$  はそれぞれ独立して、水素、 $C_{1-7}$  アルキルおよび  $C_{3-7}$  シクロアルキルからなる群から選ばれ、ここで、上記  $C_{1-7}$  アルキルは必要に応じて、ハロゲン、 $CN$ 、 $OH$ 、 $OC_{1-3}$  アルキル、 $NH_2$  および  $N(C_{1-3}$  アルキル) $_2$  からなる群から選ばれる置換基の 1 つ以上で置換されてよく、あるいは

40

$R^6$  と  $R^7$  はそれらが結合する窒素原子と共に合して、 $O$ 、 $N$  および  $S$  からなる群から選ばれる同一もしくは異なるヘテロ原子の 1 個または 2 個を含有する非芳香族 5 ~ 8 員複素環を形成する]

で示される化合物、またはその医薬的に許容しうる塩もしくは溶媒化合物。

## 【発明の詳細な説明】

## 【0001】

(技術分野)

本発明は、トポイソメラーゼ (topoisomerase) - I 活性を示しかつ腫瘍細胞

50

胞の増殖を抑制するのに有用な、インドロピロロカルバゾール化合物 ( *indolopyrrolo carbazoles* ) の置換糖誘導体に関する。

【0002】

(背景技術)

トポイソメラーゼは、生体核酵素であって、DNAにおけるトポロジーのジレンマ、たとえば、標準的に複製、転写およびことによると他のDNAプロセス中に起こる、オーバーウインドイング ( *overwinding* )、アンダーウインドイング ( *underwinding* ) および連鎖を解決するよう機能する。これらの酵素は、DNAを弛緩させるが、これは、他のDNAストランドの通過用の一時的ゲートまたはピボットポイントとして作用する、酵素 - ブリッジド・ストランド破断の形成による。トポイソメラーゼ - 標的薬物は、このDNAトポイソメラーゼの破損 - 再結合反応を干渉すると思われる。

10

【0003】

トポイソメラーゼ - 活性作用物質の存在下、“開裂性錯体”と呼ばれる頓挫反応中間体が蓄積して複製/転写を阻止し、これは結局、細胞死に導く。従って、トポイソメラーゼI - 活性作用物質の開発は、癌処置のためクリニックで一般に用いられる多様な統制的療法に対し、新しいアプローチを付与する。「*Cancer Chemother. Pharmacol*」(34(増刊)、S41 - S45、1994年)に、臨床実験中のトポイソメラーゼI - 活性化化合物が論じられ、これらの化合物は有効な臨床的抗腫瘍剤であることが認められている。これらの臨床的候補化合物は構造上、アルカロイド・カンプトセシン ( *camptothecin* ) と関係がある。

20

【0004】

インドロ[2, 3 - a]カルバゾール・アルカロイド化合物、たとえばレベッカマイシン ( *rebeccamyacin* ) (U.S.特許No. 4487925および4552842) およびその水溶性の臨床的活性類縁体の、6 - (2 - ジエチルアミノエチル)レベッカマイシン (U.S.特許No. 4785085) は、DNAを標的にする有用な抗腫瘍剤である。さらに、フルオロインドロカルバゾール化合物 (WO98/07433) は、トポイソメラーゼI抑制活性を持つ抗腫瘍性作用物質として開示されている。レベッカマイシン種に関係するインドロ[2, 3 - a]カルバゾール誘導体が開示され [EP出願No. 0545195B1および0602597A2; 「*Cancer Research*」(53、490 - 494、1993年); 「*ibid*」(55、1310 - 1315、1995年)]、かつクレームで抗腫瘍活性を示すことが記載されているが、これら誘導体の作用の主なメカニズムは、トポイソメラーゼI毒薬として作用するカンプトセシンと同じとは思われない。

30

【0005】

また関連インドロカルバゾール化合物も開示され (WO95/30682)、かつクレームで抗腫瘍活性を示すことが記載されている。Hudkinsらは、一連の縮合ピロロカルバゾール化合物を開示し (WO96/11933およびU.S.特許No. 5475110)、幾つかの化合物に対して、インビトロ生物学的活性、たとえばニューロン・コリンアセチルトランスフェラーゼ ( *ChAT* ) の抑制およびたん白キナーゼC ( *PKC* ) 抑制を報告している。U.S.特許No. 5468849に、有用な抗腫瘍剤としての特定フルオロベッカマイシン類縁体、並びにサッカロスリックス・アエロコロニジーンズ ( *Saccharothrix aerocolonigenes* )、好ましくはサッカロスリックス・アエロコロニジーンズC38383 - RK2 (ATCC39243) のリベッカマイシン ( *rebeccamyacin* ) - 産生菌株のフルオロトリプトファン類縁体栄養補給による、上記類縁体の製造法が開示されている。

40

【0006】

Glicksmanらは、インドロカルバゾール・アルカロイド化合物を開示し (U.S.特許No. 5468872)、一方、Kojiriらは、ジサッカライド置換基を有するインドロピロロカルバゾール化合物を開示する (WO96/04293)。MazurおよびHillerは、単純5 - ヒドロキシメチルグリコシド化合物の合成を報告し [「

50

J. Org. Chem.」(62、4471、1997年)]、一方、Danishefskyらは、5-メトキシ置換糖誘導体の合成を記載する[「J. Am. Chem. Soc.」(118、2825、1996年)]。これらの報告にも拘らず、トポイソメラーゼI活性の抑制に有用な、新規で効力ある細胞毒化合物の必要性が残る。

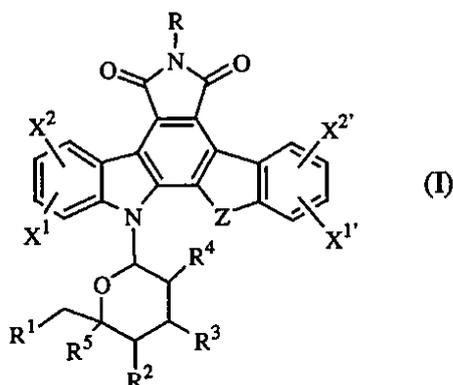
【0007】

(発明の概要)

すなわち、本発明の第1側面の最初の具体例によれば、トポイソメラーゼIおよび腫瘍細胞の増殖の抑制に有用な、下記式(I)で示される化合物およびそれらの医薬的に許容しうる塩および溶媒化合物が提供される。

【化2】

10



20

【0008】

上記式中、 $X^1$ 、 $X^{1'}$ 、 $X^2$  および  $X^{2'}$  はそれぞれ独立して、水素、ハロゲン、シアノ、 $OR^6$ 、 $-CF_3$ 、アルキルカルボニル、 $C_{1-7}$ アルキル、ニトロ、 $NR^6R^7$ 、 $SR^6$  および  $C(O)OR^6$  からなる群から選ばれ、ここで、上記  $C_{1-7}$ アルキルは必要に応じて、ハロゲン、CN、 $SR^6$ 、 $OR^6$  および  $NR^6R^7$  からなる群から選ばれる置換基の1つ以上で置換されてよく；

ZはNH、OおよびSからなる群から選ばれ；

Rは水素、OH、 $OC_{1-7}$ アルキル、 $NH_2$ 、 $N(C_{1-3}$ アルキル) $_2$  または  $C_{1-7}$ アルキル、ここで、上記  $C_{1-7}$ アルキルは必要に応じて、ハロゲン、CN、 $SR^6$ 、 $OR^6$  および  $NR^6R^7$  からなる群から選ばれる置換基の1つ以上で置換されてよく；

30

【0009】

$R^1$ 、 $R^2$ 、 $R^3$  および  $R^4$  はそれぞれ独立して、水素、 $C_{1-7}$ アルキル、 $C_{3-7}$ シクロアルキル、ハロゲン、アジド、 $NR^6R^7$ 、 $NHC(O)NR^6R^7$ 、 $NHC(O)OR^6$ 、 $C(O)OR^6$ 、 $SR^6$  および  $OR^6$  からなる群から選ばれ、ここで、上記  $C_{1-7}$ アルキルは必要に応じて、ハロゲン、CN、 $SR^6$ 、 $OR^6$  および  $NR^6R^7$  からなる群から選ばれる置換基の1つ以上で置換されてよく；

$R^5$  は  $C_{1-7}$ アルキル、 $C_{3-7}$ シクロアルキル、ハロゲン、アジド、 $NR^6R^7$ 、 $NHC(O)NR^6R^7$ 、 $NHC(O)OR^6$ 、 $C(O)OR^6$ 、 $SR^6$  および  $OR^6$  からなる群から選ばれ、ここで、上記  $C_{1-7}$ アルキルは必要に応じて、ハロゲン、CN、 $SR^6$ 、 $OR^6$  および  $NR^6R^7$  からなる群から選ばれる置換基の1つ以上で置換されてよく；および

40

【0010】

$R^6$  および  $R^7$  はそれぞれ独立して、水素、 $C_{1-7}$ アルキルおよび  $C_{3-7}$ シクロアルキルからなる群から選ばれ、ここで、上記  $C_{1-7}$ アルキルは必要に応じて、ハロゲン、CN、OH、 $OC_{1-3}$ アルキル、 $NH_2$  および  $N(C_{1-3}$ アルキル) $_2$  からなる群から選ばれる置換基の1つ以上で置換されてよく、あるいは

$R^6$  と  $R^7$  はそれらが結合する窒素原子と共に合して、O、NおよびSからなる群から選ばれる同一もしくは異なるヘテロ原子の1個または2個を含有する非芳香族5~8員複素環を形成する。

50

## 【 0 0 1 1 】

本発明の第 1 側面の他の具体例によれば、R が水素である式 ( I ) の化合物が提供される。

本発明の第 1 側面の他の具体例によれば、Z が NH である式 ( I ) の化合物が提供される。

本発明の第 1 側面の他の具体例によれば、 $X^1$ 、 $X^{1'}$ 、 $X^2$  および  $X^{2'}$  が共に F である式 ( I ) の化合物が提供される。

## 【 0 0 1 2 】

本発明の第 1 側面の他の具体例によれば、 $X^{2'}$  および  $X^2$  が共に F、 $X^1$  および  $X^{1'}$  が共に H である式 ( I ) の化合物が提供される。

10

本発明の第 1 側面の他の具体例によれば、 $X^2$  が F、 $X^{2'}$ 、 $X^1$  および  $X^{1'}$  が共に H である式 ( I ) の化合物が提供される。

本発明の第 1 側面の他の具体例によれば、 $X^{2'}$  が F、 $X^2$ 、 $X^1$  および  $X^{1'}$  が共に H である式 ( I ) の化合物が提供される。

## 【 0 0 1 3 】

本発明の第 1 側面の他の具体例によれば、 $R^1$ 、 $R^2$ 、 $R^3$ 、 $R^4$  および  $R^5$  がそれぞれ独立して、H、OH、F、アジドおよびアミノからなる群から選ばれる式 ( I ) の化合物が提供される。

本発明の第 1 側面の他の具体例は、上記第 1 側面の具体例の 2 つ以上を適当に組合せてなる式 ( I ) の化合物を提供する。

20

## 【 0 0 1 4 】

本発明の第 2 側面の具体例は、哺乳動物宿主の腫瘍成長を抑制する方法を提供し、該抑制法は、本発明の第 1 側面の具体例で規定される本発明化合物の、腫瘍成長抑制量を上記宿主に投与することから成る。

## 【 0 0 1 5 】

本発明の第 3 側面の具体例は、哺乳動物宿主の腫瘍成長を抑制する方法を提供し、該抑制法は、本発明の第 1 側面の具体例で規定される本発明化合物の医薬配合物 ( 製剤 ) の、腫瘍成長抑制量を上記宿主に投与することから成る。

本発明の他の具体例および側面については、以下に記載の説明に従って明らかであろう。

## 【 0 0 1 6 】

## 発明の詳細

30

ここで、本発明の説明については、化学結合の法則や原理と一致させて解釈すべきである。別の具体例または側面から従属する 1 つの具体例または側面には、それが従属する具体例または側面とは異なる数値および条件を持つ変記号 ( variable ) のみを記載するだろう。

## 【 0 0 1 7 】

すなわち、たとえば、“W が C である、本発明の第 n 側面による式 ( I ) の化合物”と解される具体例は、第 n 側面に規定の数値を持つ残りの全ての変記号を含むと解釈すべきであり、さらに他に特別な指示がない限り、第 n 側面における変記号のどれもこれにも関係する全ての条件を含むと解釈すべきである。記号 “ C ” の後の下付きの数字は、個々の基が含有できる炭素原子の数を規定する。

40

## 【 0 0 1 8 】

たとえば、“ $C_{1-7}$  アルキル” は、1 ~ 7 個の炭素原子を有する直鎖または分枝鎖飽和炭素鎖を意味し、たとえば、これらに制限されるものでなく、メチル、エチル、n - プロピル、イソプロピル、n - ブチル、sec - ブチル、イソブチル、t - ブチル、n - ペンチル、sec - ペンチル、イソペンチル、n - ヘキシルおよび n - ヘプチルが挙げられる。語句 “ ハロゲン ” としては、フルオロ、クロロ、プロモおよびヨードが挙げられる。

なお、本発明は、他に特別な記載が明記されていない限り、可能性のある立体異性体、幾何異性体、ジアステレオマー、エナンチオマー、配座異性体およびアノマーのいずれかおよび全てを包含することを理解すべきである。

50

## 【0019】

記号“C”の後の下付きの数字は、個々の基が含有できる炭素原子の数を規定する。たとえば、“C<sub>1-6</sub>アルキル”は、1~7個の炭素原子を有する直鎖または分枝鎖飽和炭素鎖を意味し、たとえば、これらに限定されるものでなく、メチル、エチル、n-プロピル、イソプロピル、n-ブチル、sec-ブチル、イソブチル、t-ブチル、n-ペンチル、sec-ペンチル、イソペンチル、n-ヘキシルおよびn-ヘプチルが挙げられる。“アリール”とは、6~10個の炭素原子を有する芳香族炭化水素を意味し、たとえば、フェニルおよびナフチルが挙げられる。

## 【0020】

“置換アリール”または“アラルキル”とは、C<sub>1-6</sub>アルカノイルオキシ、ヒドロキシ、ハロゲン、C<sub>1-6</sub>アルキル、トリフルオロメチル、C<sub>1-6</sub>アルコキシ、C<sub>2-6</sub>アルケニル、C<sub>1-6</sub>アルカノイル、ニトロ、アミノ、シアノ、アジド、C<sub>1-6</sub>アルキルアミノおよびアミドからなる群から選ばれる1~5個（特に1~3個）の基で置換されたアリールまたはアラルキル基を意味する。語句“ハロゲン”としては、フルオロ、クロロ、プロモおよびヨードが挙げられる。

10

## 【0021】

本発明の化合物は、医薬的に許容しうる塩の形状で存在しうる。かかる塩としては、たとえば、塩酸および硫酸などの無機酸や、酢酸、クエン酸、メタンサルホン酸、トルエンサルホン酸、酒石酸およびマレイン酸などの有機酸との付加塩が挙げられる。

## 【0022】

さらに、本発明化合物が酸性の基を含有する場合、該酸性基はたとえば、カリウム塩およびナトリウム塩などのアルカリ金属塩；マグネシウム塩およびカルシウム塩などのアルカリ土類金属塩；およびトリエチルアンモニウム塩およびアルギニン塩などの有機塩基との塩の形状で存在しうる。本発明化合物は、水和されてあるいはそうでなくてもよい。

20

## 【0023】

本発明化合物は、錠剤、カプセル剤（これらは、それぞれ持続放出性（徐放性）もしくは時限放出性の配合を含む）、丸剤、粉剤、顆粒剤、エリキシル剤、チンキ剤、懸濁液、シロップおよびエマルジョンといった経口投与剤形で投与することができる。また本発明化合物は、医薬分野の当業者にとって周知の投与剤形を用い、静脈内、腹腔内、皮下または筋肉内に投与されてもよい。

30

## 【0024】

本発明化合物は単独投与できるが、一般には、選択投与方法や標準医薬実務に基づいて選ばれる医薬用担体といっしょに投与される。また本発明化合物は、適当な鼻腔内ビヒクルの局所使用による鼻腔内剤形で、または経皮パッチを用いる経皮ルートで投与することもできる。本発明化合物を経皮投与すると、投与生活規則を通じて投与量が連続するだろう。

## 【0025】

本発明の1つの側面は、腫瘍を移植したあるいは癌形成を受けやすい哺乳動物に対する、本発明化合物またはその医薬的に許容しうる塩もしくは溶媒化合物の投与を必然的に伴なう。一般にかかる化合物は、約0.01mg/kg~MTD（最大許容量）の用量範囲で投与される。本発明化合物の投与量並びに投与生活規制およびスケジュールについては、各ケースにおいて、信頼できる専門医師の判断を利用し、かつ受容者の年令、体重および状態、投与方法並びに癌疾患状態の種類および程度を考慮して、注意深く調整しなければならない。

40

## 【0026】

本明細書で用いる語句“全身投与”とは、口腔舌下、バツカル、経鼻腔、経皮、直腸、筋肉内、静脈内、心室内、鞘内、および皮下経路を指称する。適正な臨床実務に従って、有害もしくは厄介な副作用のいずれも起こさずに、有効で有益な効きめをもたらす濃度レベルで本化合物を投与することが好ましい。

## 【0027】

50

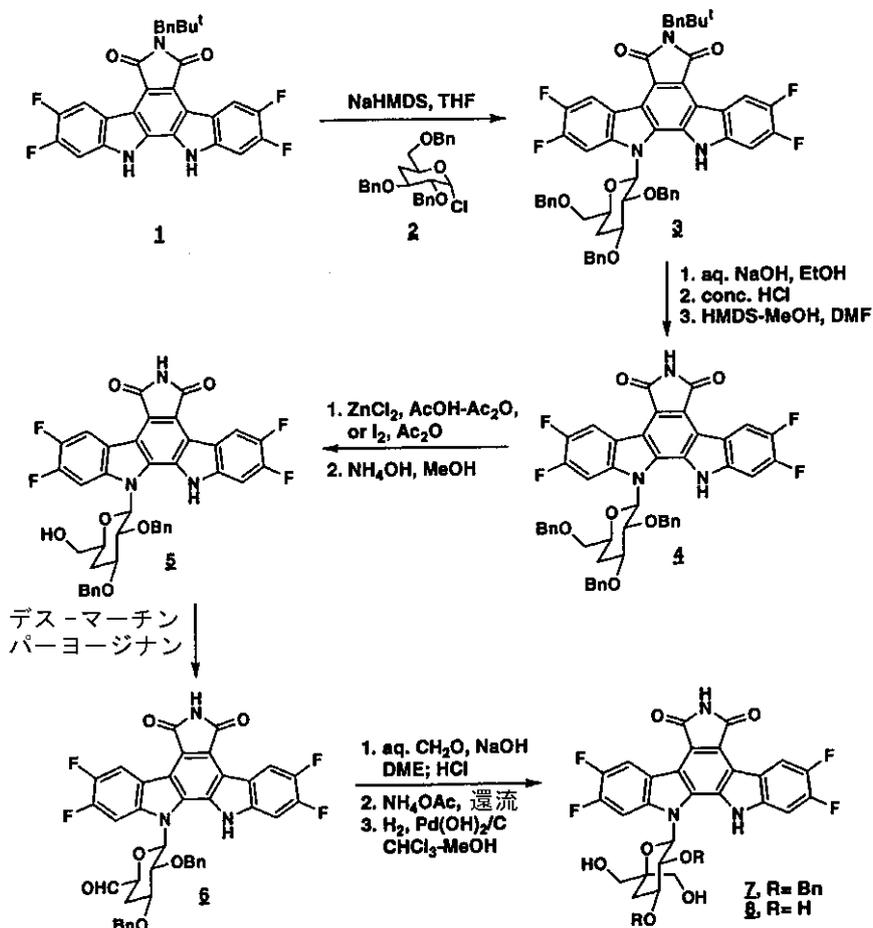
## 特定具体例の説明

式(I)の化合物の製造手順を、下記反応式1~5に例示し、基本中間体/出発物質の製法を下記反応式6に例示する。

【0028】

反応式1:

【化3】



10

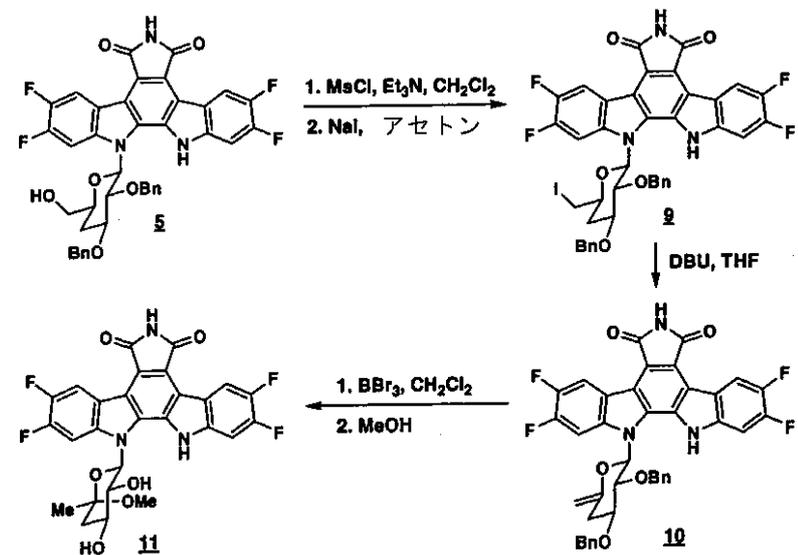
20

30

【0029】

反応式2:

【化4】



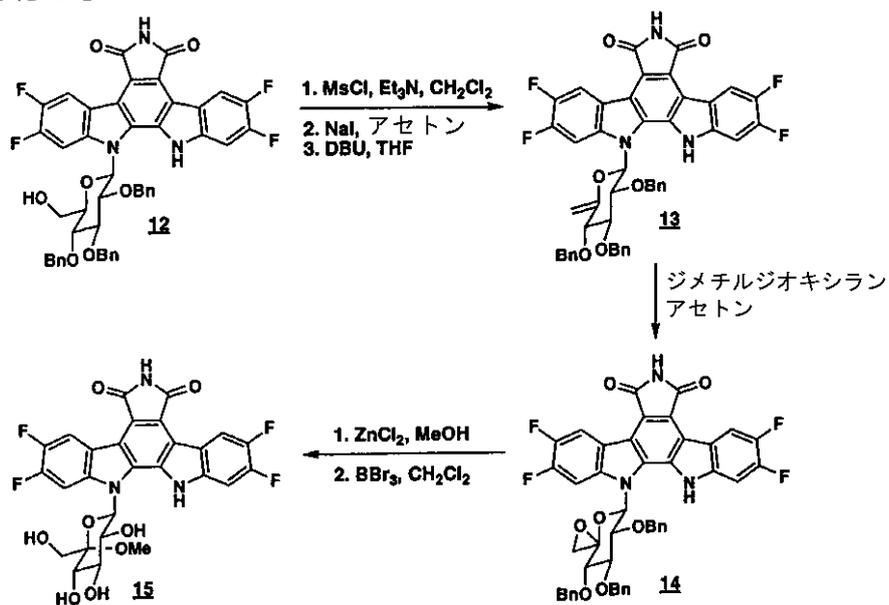
40

【0030】

50

反応式 3 :

【化 5】

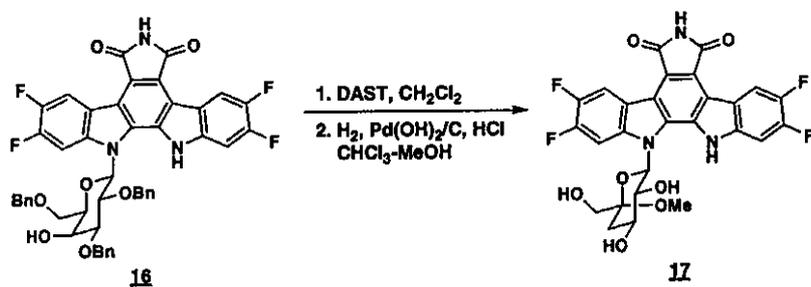


10

【 0 0 3 1】

反応式 4 :

【化 6】



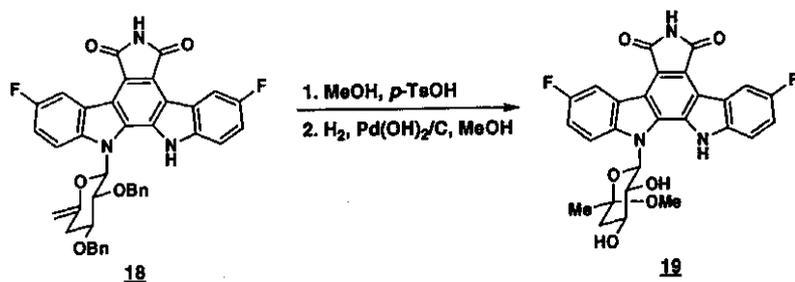
20

30

【 0 0 3 2】

反応式 5 :

【化 7】

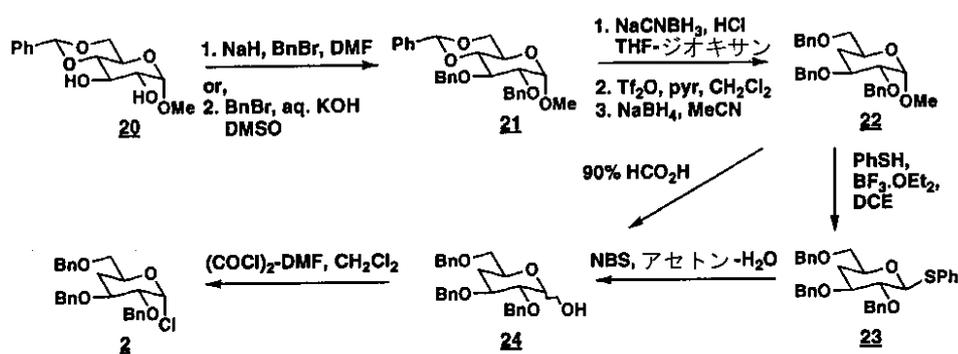


40

【 0 0 3 3】

反応式 6 :

【化 8】



10

## 【0034】

反応式1において、適当な塩基、たとえばヘキサメチルジシラジド・ナトリウムを用いて化合物1のモノまたはジアニオンを生成し、次いでこれをクロロ糖誘導体2でグリコシル化して、保護グリコシド3を得る。イミド成分の脱保護を、塩基-誘発加水分解、次いで酸性化によって行い、中間体無水物を得る。この無水物を適当なアミンを用いてイミドに便宜的に変換し、たとえば、ジメチルホルムアミド中ヘキサメチルジシラザンおよびメタノールの混合物と反応させることによってイミドが得られる[P. D. Davis, R. A. Bitの「Tetrahedron Lett.」(31, 5201, 1990年)参照]。

## 【0035】

次いで、5や12などの選択的に脱保護したグリコシドについては、対応する過ベンジル化グリコシドを、酢酸-無水酢酸中の塩化亜鉛[F. Kongらの「Tetrahedron Lett.」(38, 6725, 1997年)参照]または無水酢酸中のヨウ素[K. P. R. Kartha, R. A. Fieldの「Tetrahedron」(53, 11753, 1997年)参照]で処理した後、中間体アセテートの加水分解によって製造することができる。得られる第一アルコールを緩和な条件下、たとえばデス-マーチン・パーヨージナン(periodinane)等を用いて酸化することにより、対応するアルデヒドを得ることができる。

20

## 【0036】

これらのアルデヒドに、-ヒドロキシメチル化を容易に行った後、水性ホルムアルデヒドおよび水性水酸化ナトリウムの存在下で、自然カニツアロ還元を行って[A. W. Mazur, G. D. Hilerの「J. Org. Chem.」(62, 4471, 1997年)参照]、7などの5'-C-ヒドロキシメチルグリコシドを得る。この反応の過程にイミド成分が加水分解して対応無水物になると、該無水物は適当なアンモニア源、たとえば酢酸アンモニウムの処理によって、元のイミドに容易に変換する。

30

## 【0037】

最後に、パールマン(Pearlman)の触媒(20% Pd(OH)<sub>2</sub>/活性炭)上の水添分解を必要とする通常の手順で、ベンジル保護基の脱離を行って、脱保護グリコシド8を得る。

## 【0038】

反応式2で示されるように、化合物5の6'-ヒドロキシ基を、たとえばそのメシレートに、続いて対応ヨウ化物9に活性化することができ、次いで適当なアミン塩基、たとえば1,8-ジアザピシクロ[5.4.0]ウンデク-7-エン(DBU)を用い、HI成分の除去を行って、ビニルエーテル10を得ることができる。その後、三臭化ホウ素を用いてベンジル保護基の脱離を行った後、反応混合物にメタノールを加えて反応を抑え、5'-C-メトキシグリコシド11を得る。

40

## 【0039】

別法として、たとえば反応式3で示されるように、最終脱保護工程に先立ち、5'-C-メトキシ基の導入を行なうことができる。すなわち、ビニルエーテル13を緩和条件下、ジメチルジオキシラン/アセトンを用いてエポキシ化することができ[S. J. Dani

50

s h e f s k yらの「J . A m . C h e m . S o c . 」( 1 1 8、2 8 2 5、1 9 9 6 年 ) 参照 ]、次いで得られるエポキシド 1 4 に塩化亜鉛の存在下、メタノールによる加溶媒分解に付し、前記最終脱保護を行って、5'-C-メトキシグリコシド 1 5 を得ることができる。

#### 【0040】

また5'-C-メトキシグリコシドの選択具体例も、反応式 4 で示されるようにして製造することができる。すなわち、選択的に脱保護したガラクトシド 1 6 を周知のフッ素化剤、D A S T [ (ジエチルアミノ) 硫黄トリフルオライド ] で処理した後、前記の脱ベンジル化により、予想外の過程を採用して、5'-C-メトキシグリコシド 1 7 を優位に得る。

10

#### 【0041】

別法として、反応式 5 で示されるように、ビニルエーテル 1 8 を少量の酸触媒、たとえば p - トルエンスルホン酸の存在下、アルコール、たとえばメタノールで処理して、保護5'-C-アルコキシグリコシドを得ることができる。この保護5'-C-アルコキシグリコシドを前記の如く脱保護して、5'-C-アルコキシグリコシド(たとえば19)を得る。

#### 【0042】

基本中間体の糖は、反応式 6 で示されるようにして製造する。商業上入手しうるメチル-D-グルコピラノシド 2 0 の4-デオキシグリコシド 2 2 への変換は、B a r r e t t e および G o o d m a n の報告に準じて( J . O r g . C h e m .、4 9、1 7 6、1 9 8 4 年 ) 行なう。アノマー位の脱保護は、2 工程で行なうことができ、すなわち最初、ベンゼンチオールおよびルイス酸、たとえば三フッ化ホウ素エーテレートで処理した後[ L . A . P a q u e t t e、J . A . O p l i n g e r の「J . O r g . C h e m . 」( 5 3、2 9 5 3、1 9 8 8 年 ) 参照 ]、得られるフェニルチオ糖誘導体 2 3 を水の存在下、適当な溶媒、たとえばアセトンまたはアセトニトリル中、N - プロモスクシンイミドで加水分解する[ B . F r a s e r - R e i d らの「J . A m . C h e m . S o c . 」( 1 1 0、2 6 6 2、1 9 8 8 年 ) 参照 ]。

20

#### 【0043】

別法として、アノマー位の脱保護は、適当な酸、たとえば90%ギ酸による処理の1 工程で行なうことができ、これによって直接グルコピラノシド 2 4 を得る。2 4 などのグリコピラノシドのグリコピラノシルクロリド 2 への変換は、I v e r s e n および B u n d l e が報告した手順に従って( C a r b . R e s . 1 0 3、2 9、1 9 8 2 年 )、行なうことができる。

30

#### 【0044】

本発明を構成する化合物およびその製造法については、以下に示す実施例の考慮からより十分に明らかとなるだろう。なお、これらの実施例は単に例示を目的とし、いかなる場合も本発明の技術的範囲を制限すると解釈すべきではない。

#### 【0045】

##### 中間体の合成

式( I )の化合物の製造に用いる、幾つかの中間体化合物、並びに他の通常の出発物質(たとえば20)は一般に、商業上入手可能である。それにも拘らず、これら幾つかの化合物の代表的な合成法を以下に記載する。

40

#### 【0046】

無水反応の全ては、商業上入手しうる乾燥溶媒または新たに蒸留した溶媒を用い、窒素またはアルゴンの雰囲気下で行なう。融点は、T h o m a s - H o o v e r 融点測定装置を用い、開毛管中で測定し、修正せず。カラムクロマトグラフィーは、E M S c i e n c e シリカゲル 6 0 ( 2 3 0 ~ 4 0 0 メッシュ ) を用い、溶離剤として指定の溶媒系を用いて行なう。

#### 【0047】

薄層クロマトグラフィーは、E . M e r c k シリカゲル 6 0 F<sub>254</sub> プレート( 0 . 5 m

50

m)にて行なう。HPLC純度測定は、SPD-10AV UV-Vis検出器と、YMC Combiscreen ODS-A(4.6×50mm)またはHP Zorbax SB-C18(4.6×750mm)カラムの1つを持つShimadzu LC-10AS;またはダイオード・アレイ検出器とWaters Nova-Pak C18カラム(3.9×150mm)を持つHP1090DR5を用いて行なう。赤外スペクトルは、薄手フィルムまたはKBrペレットとしてNicolet Protege 400 FTIRに記録する。

【0048】

<sup>1</sup>H-NMRスペクトルは、Bruker AMX-400またはBruker ARX-500 NMR分光計で記録し、化学シフトは内部標準として溶剤を用い、ppm(または )で表示する。カップリング定数はヘルツで示し、多重線は以下の通りである：一重線(s)、二重線(d)、三重線(t)、四重線(q)、多重線(m)、およびブロード(br)。低分解(low resolution)質量スペクトルは、陰イオンモードで作動するFinnigan Matt TSQ-7000トリプル・ステージ四極子分光計(陽/陰ESI)で測定する。

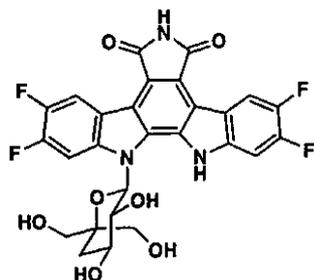
10

【0049】

実施例1: 2, 3, 9, 10-テトラヒドロ-12-[5-C-(ヒドロキシメチル)-4-デオキシ-D-グルコピラノシル]-インドロ[2, 3-a]ピロロ[3, 4-c]カルバゾール-5, 7-ジオン

【化9】

20



【0050】

5 mLの乾燥CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>中のデス-マーチン試薬(0.147g、0.34ミリモル)の溶液に、5 mLの乾燥CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>中の2, 3, 9, 10-テトラフルオロ-12-[2, 3-ジ-O-ベンジル-4-デオキシ-D-グルコピラノシル]-インドロ[2, 3-a]ピロロ[3, 4-c]カルバゾール-5, 7-ジオン(0.125g、0.17ミリモル)の溶液を加え、混合物を室温で2 h攪拌する。得られる混合物を酢酸エチルで希釈し、これを洗浄し(飽和NaHCO<sub>3</sub>、30%Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>3</sub>、塩水)、乾燥し(Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>)、蒸発する。

30

【0051】

粗アルデヒドを直ちに、ジオキサソ(6 mL)に溶解し、37%水性ホルムアルデヒド(1 mL)および1M-NaOH(1 mL)を加え、混合物を室温で18 h攪拌する。次いで溶液を1N-HClで酸性化し、4 h攪拌する。得られる混合物を酢酸エチルで希釈し、水洗し、乾燥し(Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>)、蒸発して2, 3, 9, 10-テトラフルオロ-12-[2, 3-ジ-O-ベンジル-4-デオキシ-5-C-(ヒドロキシメチル)-D-グルコピラノシル]-インドロ[2, 3-a]フラノ[3, 4-c]カルバゾール-5, 7-ジオンを黄色ゴム状物で得る。

40

MS(ESI<sup>+</sup>) m/e 753 (M-H)<sup>+</sup>

【0052】

この粗ゴム状物に、酢酸アンモニウム(1.0g、13ミリモル)を加え、混合物を3 h加熱(油浴)還流する。冷却した混合物を酢酸エチル/水間に分配し、有機相を分離し、洗浄し(塩水)、乾燥し(Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>)、蒸発して粗2, 3, 9, 10-テトラフルオロ-12-[2, 3-ジ-O-ベンジル-4-デオキシ-5-C-(ヒドロキシメチル)

50

- D - グルコピラノシル] - インドロ [ 2 , 3 - a ] ピロロ [ 3 , 4 - c ] カルバゾール - 5 , 7 - ジオン ( 0 . 0 2 5 g ) を得る。

【 0 0 5 3 】

この物質を直ちに 8 m L のメタノール / クロロホルム ( 1 : 1 ) に溶かし、 1 0 % パラジウム / 活性炭 ( 0 . 0 2 5 g ) を加え、混合物を 1 a t m で 2 0 h 水素添加する。得られる混合物をセライト ( C e l i t e ) で濾過し、濾液を減圧濃縮し、残渣をクロマトグラフィ ( ヘキサン / T H F = 1 : 1 ) に付して、標記化合物 ( 0 . 0 0 7 g 、全体で 7 % ) を黄色固体で得る。

【 0 0 5 4 】

I R ( K B r ) : 3 2 8 0 、 1 7 1 6 、 1 7 0 0 、 1 4 7 6 、 1 3 2 0 c m <sup>-1</sup>

<sup>1</sup> H - N M R ( T H F - d <sub>8</sub> 、 4 0 0 M H z ) : 1 2 . 0 5 ( s 、 1 H ) 、 1 0 . 0 8 ( s 、 1 H ) 、 9 . 1 4 ( d d 、 J = 1 1 . 2 、 8 . 5 H z 、 1 H ) 、 9 . 0 3 ( d d 、 J = 1 1 . 2 、 8 . 4 H z 、 1 H ) 、 7 . 7 6 ( d d 、 J = 1 1 . 2 、 6 . 6 H z 、 1 H ) 、 7 . 5 1 ( d d 、 J = 1 0 . 9 、 6 . 8 H z 、 1 H ) 、 6 . 2 0 ( d 、 J = 9 . 2 H z 、 1 H ) 、 5 . 6 8 ( m 、 1 H ) 、 4 . 4 8 - 4 . 3 9 ( m 、 2 H ) 、 4 . 2 1 - 4 . 0 5 ( m 、 2 H ) 、 4 . 0 0 ( d d 、 J = 1 0 . 9 、 4 . 3 H z 、 1 H ) 、 3 . 9 0 ( d d 、 J = 1 1 . 9 、 5 . 8 H z 、 1 H ) 、 3 . 8 2 - 3 . 7 6 ( m 、 1 H ) 、 3 . 6 7 - 3 . 6 0 ( m 、 2 H ) 、 2 . 1 4 ( d d 、 J = 1 3 . 7 、 5 . 3 H z 、 1 H ) 、 1 . 7 9 - 1 . 7 5 ( m 、 1 H )

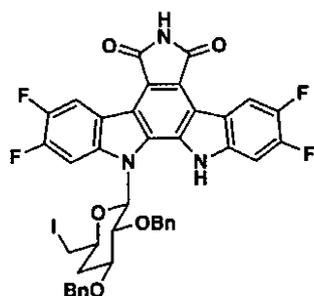
M S ( E S I <sup>-</sup> ) m / e 5 7 2 ( M - H ) <sup>-</sup>

H P L C : 9 5 . 2 % ( 3 2 0 n m )

【 0 0 5 5 】

実施例 2 : 2 , 3 , 9 , 1 0 - テトラフルオロ - 1 2 - ( 2 , 3 - ジ - O - ベンジル - 4 - デオキシ - - D - グルコピラノシル ) - 6 , 7 , 1 2 , 1 3 - テトラヒドロ ( 5 H ) インドロ [ 2 , 3 - a ] ピロロ [ 3 , 4 - c ] カルバゾール - 5 , 7 - ジオン

【 化 1 0 】



【 0 0 5 6 】

1 0 0 m L のジクロロメタン中の 2 , 3 , 9 , 1 0 - テトラフルオロ - 1 2 - ( 2 , 3 - ジ - O - ベンジル - 4 - デオキシ - - D - グルコピラノシル ) - 6 , 7 , 1 2 , 1 3 - テトラヒドロ ( 5 H ) インドロ [ 2 , 3 - a ] ピロロ [ 3 , 4 - c ] カルバゾール - 5 , 7 - ジオン ( 2 . 0 0 g 、 2 . 7 6 ミリモル ) および新たに賦活した微粉状の 4 モレキュラーシーブス ( 0 . 6 0 g ) の混合物を、 A r 下 5 で冷却し、トリエチルアミン ( 0 . 7 7 m L 、 5 . 5 2 ミリモル ) 、 D M A P ( 0 . 2 0 g 、 1 . 6 4 ミリモル ) およびメタンスルホニルクロリド ( 0 . 3 2 m L 、 4 . 1 4 ミリモル ) を連続して加える。混合物を同温度で 2 h 攪拌し、次いでこれを濾過し、濾過ケーキを酢酸エチルで洗う。

【 0 0 5 7 】

濾液を酢酸エチル ( 2 0 0 m L ) およびエーテル ( 5 0 m L ) で希釈し、次いで洗浄し ( H <sub>2</sub> O 2 回、塩水 ) 、乾燥し ( M g S O <sub>4</sub> ) 、蒸発して黄色ガラス状物を得る。この物質を 1 0 0 m L のアセトンに溶かし、 N a I を加え、混合物を A r 下、 1 8 h 加熱還流する。次いで冷却した混合物を蒸発乾固し、残渣を 1 0 m L の酢酸エチルに溶かし、洗浄し (

H<sub>2</sub>O 2回、塩水)、乾燥し(MgSO<sub>4</sub>)、蒸発する。得られる固体をクロマトグラフィー(SiO<sub>2</sub>/2~32%酢酸エチル-ヘキサン)に付して、標記化合物(0.90g、39%)を非晶質黄色固体で得る。

## 【0058】

<sup>1</sup>H-NMR(CDCl<sub>3</sub>, 400MHz): 10.17(s, 1H)、9.10(dd, J=10.6, 8.4Hz, 1H)、9.02(dd, J=10.6, 8.5Hz, 1H)、7.55(m, 2H)、7.35(m, 6H)、6.92(t, J=7.4Hz, 1H)、6.76(t, J=7.6Hz, 2H)、6.20(d, J=7.6Hz, 2H)、5.75(d, J=9.2Hz, 1H)、4.77および4.71(abq, J=11.5Hz, 2H)、4.13(m, 2H)、3.99(t, J=8.7Hz, 1H)、3.80(m, 2H)、3.63(d, J=9.0Hz, 1H)、3.48(d, J=10.8Hz, 1H)、2.42(m, 1H)、2.32(m, 1H)

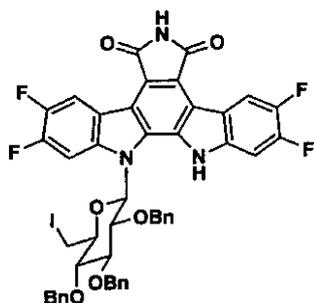
10

MS(ESI<sup>-</sup>) m/e 832 (M-H)<sup>-</sup>

## 【0059】

実施例3: 2, 3, 9, 10-テトラフルオロ-12-(2, 3, 4-トリ-O-ベンジル-6-ヨード-D-グルコピラノシル)-6, 7, 12, 13-テトラヒドロ(5H)インドロ[2, 3-a]ピロロ[3, 4-c]カルバゾール-5, 7-ジオン

## 【化11】



20

## 【0060】

本例化合物は、実施例2の記載に準じ、収率69%の黄色固体で製造した。

30

<sup>1</sup>H-NMR(アセトン-d<sub>6</sub>, 400MHz): 10.13(s, 1H)、9.03(dd, J=10.6, 8.3Hz, 1H)、7.85(s, 1H)、7.52(dd, J=10.2, 6.5Hz, 1H)、7.48-7.29(m, 1H)、6.95(t, J=7.4Hz, 1H)、6.80(t, J=7.6Hz, 2H)、6.16(d, J=7.2Hz, 2H)、5.84(d, J=8.5Hz, 1H)、5.62(dd, J=5.9, 1.9Hz, 2H)、5.16および5.05(abq, J=10.7Hz, 2H)、4.90(s, 2H)、4.15-3.67(m, 5H)、3.24(d, J=10.6Hz, 1H)

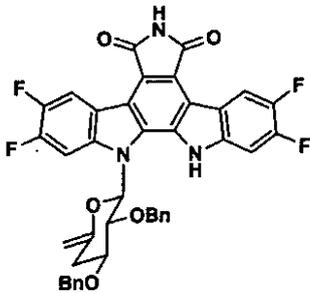
MS(ESI<sup>-</sup>) m/e 938 (M-H)<sup>-</sup>

40

## 【0061】

実施例4: 2, 3, 9, 10-テトラフルオロ-12-(2, 3-ジ-O-ベンジル-4, 6-ジデオキシ-5, 6-アンヒドロ-D-グルコピラノシル)-6, 7, 12, 13-テトラヒドロ(5H)インドロ[2, 3-a]ピロロ[3, 4-c]カルバゾール-5, 7-ジオン

## 【化12】



## 【0062】

20 mLの乾燥THF中の2,3,9,10-テトラフルオロ-12-(2,3-ジ-O-ベンジル-4-デオキシ-6-ヨード-D-グルコピラノシル)-6,7,12,13-テトラヒドロ(5H)インドロ[2,3-a]ピロロ[3,4-c]カルバゾール-5,7-ジオン(0.500g、0.60ミリモル)の氷冷溶液に、DBU(0.27 mL、1.80ミリモル)を加え、溶液を5 で2h保持する。次いで冷却浴を取除き、攪拌を室温で16h続ける。次いで別途DBU(0.27 mL、1.80ミリモル)を加え、さらに反応を24h続ける。

10

## 【0063】

さらにDBU(0.27 mL、1.80ミリモル)を加え、攪拌を24h続ける。得られる混合物を酢酸エチルで希釈し、次いでこれを洗浄し(1N-HCl2回、H<sub>2</sub>O2回、1M-NaHCO<sub>3</sub>2回、H<sub>2</sub>O、塩水)、乾燥し(MgSO<sub>4</sub>)、蒸発してゴム状物を得る。フラッシュクロマトグラフィー(SiO<sub>2</sub>/2~16%酢酸エチル-ヘキサン)を行い、標記化合物(0.297g、70%)を黄色固体で得る。

20

## 【0064】

<sup>1</sup>H-NMR(アセトン-d<sub>6</sub>、400MHz): 9.11(dd、J=11.0、8.5Hz、1H)、8.95(dd、J=11.0、8.5Hz、1H)、7.94(m、1H)、7.46(m、2H)、7.37(m、4H)、6.84(t、J=7.3Hz、1H)、6.69(m、2H)、6.57(d、J=8.5Hz、1H)、6.43(br s、2H)、4.92(d、J=11.4Hz、1H)、4.74(d、J=11.4Hz、1H)、4.69(s、1H)、4.58(s、1H)、4.40(d、J=11.8Hz、1H)、4.26(d、J=5.5Hz、2H)、3.99(d、J=11.8Hz、1H)、3.25(m、1H)

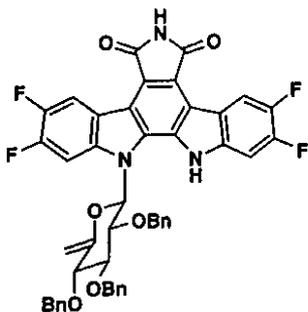
30

MS(ESI<sup>-</sup>)m/e 704(M-H)<sup>-</sup>

## 【0065】

実施例5: 2,3,9,10-テトラフルオロ-12-(2,3,4-トリ-O-ベンジル-6-デオキシ-5,6-アンヒドロ-D-グルコピラノシル)-6,7,12,13-テトラヒドロ(5H)インドロ[2,3-a]ピロロ[3,4-c]カルバゾール-5,7-ジオン

## 【化13】



40

## 【0066】

50

本例化合物は、実施例 4 の記載に準じ、収率 78% の黄色固体で製造した。

$^1\text{H-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ 、400 MHz) : 9.38 (s、1H)、9.13 (t、 $J = 9.3\text{ Hz}$ 、1H)、8.99 (t、 $J = 9.3\text{ Hz}$ 、1H)、7.56 - 7.41 (m、6H)、7.29 (m、2H)、6.90 (t、 $J = 7.1\text{ Hz}$ 、1H)、6.74 (t、 $J = 7.5\text{ Hz}$ 、2H)、6.68 (d、 $J = 7.9\text{ Hz}$ 、1H)、6.43 (d、 $J = 7.2\text{ Hz}$ 、3H)、5.06 (m、2H)、4.84 (d、 $J = 11.6\text{ Hz}$ 、1H)、4.74 (d、 $J = 1.3\text{ Hz}$ 、1H)、4.68 (d、 $J = 10.1\text{ Hz}$ 、1H)、4.58 - 4.54 (m、2H)、4.19 (m、1H)、3.94 (d、 $J = 11.4\text{ Hz}$ 、1H)

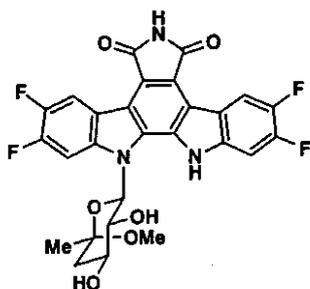
MS (ESI $^-$ ) m/e 810 (M - H) $^-$

10

【0067】

実施例 6 : 2, 3, 9, 10 - テトラフルオロ - 12 - (4, 6 - ジデオキシ - 5 - メトキシ -  $\beta$  - D - グルコピラノシル) - 6, 7, 12, 13 - テトラヒドロ (5H) インドロ [2, 3 - a] ピロロ [3, 4 - c] カルバゾール - 5, 7 - ジオン

【化 14】



20

【0068】

10 mL のジクロロメタン中の 2, 3, 9, 10 - テトラフルオロ - 12 - (2, 3 - ジ - O - ベンジル - 4, 6 - ジデオキシ - 5, 6 - アンヒドロ -  $\beta$  - D - グルコピラノシル) - 6, 7, 12, 13 - テトラヒドロ (5H) インドロ [2, 3 - a] ピロロ [3, 4 - c] カルバゾール - 5, 7 - ジオン (0.100 g、0.14 ミリモル) の溶液を、Ar 下 - 78 で冷却し、 $\text{BBr}_3$  溶液 ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  中 1M、1.12 mL、1.12 ミリモル) を加える。反応混合物を - 78 で 1 h 保持し、次いでメタノール (1 mL) で反応を抑えた後、蒸発乾固する。

30

【0069】

得られる残渣を分取 tlc (20 cm x 20 cm x 0.5 mm  $\text{SiO}_2$  プレート、THF / ヘキサン = 1 : 1、三重発現) で精製して、標記化合物 (0.064 g、87%) を黄色固体で得る。

IR (KBr) : 1752、1717、1476  $\text{cm}^{-1}$

$^1\text{H-NMR}$  (THF -  $d_8$ 、400 MHz) : 10.42 (s、1H)、10.15 (br s、1H)、9.16 (m、1H)、9.05 (m、1H)、7.83 - 7.55 (m、2H)、6.23 (d、 $J = 9.4\text{ Hz}$ 、0.3H)、6.03 (d、 $J = 9.0\text{ Hz}$ 、0.7H)、4.74 - 4.26 (m、2H)、4.12 (m、1H)、3.77 (m、1H)、3.45 (s、3H)、2.35 - 2.00 (m、2H)、1.88 (s、3H)

40

MS (ESI $^-$ ) m/e 556 (M - H) $^-$

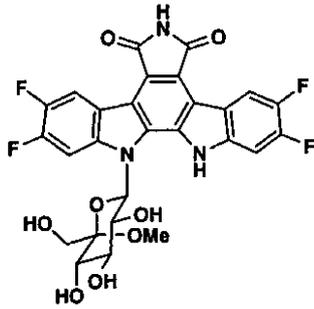
HPLC : 99.1% (320 nm)

【0070】

実施例 7 : 2, 3, 9, 10 - テトラフルオロ - 12 - (5 - メトキシ -  $\beta$  - D - グルコピラノシル) - 6, 7, 12, 13 - テトラヒドロ (5H) インドロ [2, 3 - a] ピロロ [3, 4 - c] カルバゾール - 5, 7 - ジオン

【化 15】

50



## 【0071】

10

5 mL のジクロロメタン中の 2, 3, 9, 10 - テトラフルオロ - 12 - ( 2, 3, 4 - トリ - O - ベンジル - 6 - デキオシ - 5, 6 - アンヒドロ - D - グルコピラノシル ) - 6, 7, 12, 13 - テトラヒドロ ( 5 H ) インドロ [ 2, 3 - a ] ピロロ [ 3, 4 - c ] カルバゾール - 5, 7 - ジオン ( 0.160 g、0.20 ミリモル ) の溶液に Ar 下 0 にて、ジメチルジオキシランの氷冷溶液 ( アセトン中約 0.1 M、6.0 mL、0.60 ミリモル ) を加える。得られる混合物を 0 で 1.5 h 保持し、次いでこれを減圧蒸発して、黄色ゴム状物を得る。

## 【0072】

このゴム状物の一部 ( 0.020 g、0.024 ミリモル ) をジクロロメタン ( 2 mL ) に溶かし、次いで塩化亜鉛 ( ジエチルエーテル中 1 M、0.050 mL、0.050 ミリモル ) を加えた後、メタノール ( 0.10 mL ) を加える。得られる混合物を室温で 18 h 攪拌し、次いでこれを蒸発乾固して、黄色ゴム状物を得る。

20

MS (ESI<sup>-</sup>) m/e 858 (M-H)<sup>-</sup>

## 【0073】

上記粗ゴム状物をメタノール ( 5 mL ) に溶かし、パールマン触媒 ( 0.010 g ) を加え、混合物を 1 atm で 2 h 水素添加する。次いで混合物を濾過し、濾過ケーキを THF で洗う。次いで濾液を蒸発し、残渣を分取 tlc ( 20 cm x 20 cm x 0.5 mm SiO<sub>2</sub> プレート、THF / ヘキサン = 4 : 1 ) で精製して、標記化合物 ( 0.00058 g、全体収率 4% ) を黄色固体で得る。

## 【0074】

30

<sup>1</sup>H-NMR (アセトン-d<sub>6</sub>、400 MHz) : 9.13 (t、J = 11.3 Hz、1H)、9.00 (t、J = 11.2 Hz、1H)、7.96 (m、1H)、7.61 (dd、J = 6.8、6.5 Hz、1H)、6.19 (d、J = 9.3 Hz、1H)、4.30 (d、J = 9.4 Hz、1H)、4.21 (d、J = 10.8 Hz、1H)、4.13 (d、J = 10.5 Hz、1H)、4.03 (t、J = 8.9 Hz、1H)、3.83 (t、J = 8.7 Hz、1H)、3.29 (s、3H)

MS (ESI<sup>-</sup>) m/e 588 (M-H)<sup>-</sup>

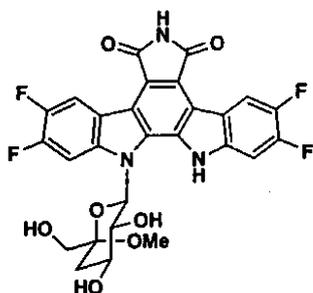
HPLC : 95.8% (320 nm)

## 【0075】

実施例 8 : 2, 3, 9, 10 - テトラヒドロ - 12 - ( 4 - デキオシ - 5 - メトキシ - D - グルコピラノシル ) - 6, 7, 12, 13 - テトラヒドロ ( 5 H ) インドロ [ 2, 3 - a ] ピロロ [ 3, 4 - c ] カルバゾール - 5, 7 - ジオン

40

## 【化 16】



## 【0076】

10

20 mLの乾燥ジクロロメタン中の2,3,9,10-テトラフルオロ-12-(2,3,6-トリ-O-ベンジル-D-ガラクトピラノシル)-6,7,12,13-テトラヒドロ(5H)インドロ[2,3-a]ピロロ[3,4-c]カルバゾール-5,7-ジオン(0.606g、0.73ミリモル)の溶液に、(ジエチルアミノ)硫黄トリフルオライド(DAST)(0.50mL、3.66ミリモル)をAr下-45で滴下する。次いで反応混合物を室温で1h攪拌してから、-45で再冷却し、MeOH(2mL)で反応を抑える。

## 【0077】

混合物を蒸発し、残渣をシリカゲルのプラグで濾過する(ヘキサン/酢酸エチル=1:1で溶離)。濾液を蒸発し、残渣を20mLのCHCl<sub>3</sub>/MeOH(1:1)に溶かし、これに無水HCl溶液(ジオキサン中4M、2.0mL、8.0ミリモル)および20%Pd(OH)<sub>2</sub>/C(0.60g)を加える。得られる混合物を室温で4日間水素添加し(バルーン圧)、次いでこれをシリカゲルのプラグで濾過する(THFで溶離)。濾液を蒸発し、残渣をクロマトグラフィー(SiO<sub>2</sub>、ヘキサン/THF=1:1)に付して、標記化合物(0.080g、20%)を黄色固体で得る。

20

## 【0078】

<sup>1</sup>H-NMR(DMSO-d<sub>6</sub>、400MHz): 11.77(s、1H)、11.29(s、1H)、9.01(dd、J=11.0、8.5Hz、1H)、8.93(dd、J=11.0、8.5Hz、1H)、8.17(dd、J=11.9、6.8Hz、1H)、7.64(dd、J=11.0、7.1Hz、1H)、6.63(m、1H)、5.97(d、J=9.1Hz、1H)、5.46(d、J=5.8Hz、1H)、4.97(d、J=5.8Hz、1H)、4.01(m、2H)、3.58(m、2H)、3.46(s、3H)、2.43(m、1H)、2.08(m、1H)

30

MS(ESI<sup>-</sup>)m/e 572(M-H)<sup>-</sup>

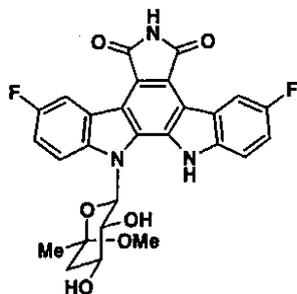
HPLC: 88.1%(320nm)

## 【0079】

実施例9: 3,9-ジフルオロ-12-(4,6-ジデオキシ-5-メトキシ-D-グルコピラノシル)-6,7,12,13-テトラヒドロ(5H)インドロ[2,3-a]ピロロ[3,4-c]カルバゾール-5,7-ジオン

## 【化17】

40



## 【0080】

50

10 mLのメタノール中の3,9-ジフルオロ-12-(2,3-ジ-O-ベンジル-4,6-ジデオキシ-5,6-アンヒドロ-D-グルコピラノシル)-6,7,12,13-テトラヒドロ(5H)インドロ[2,3-a]ピロロ[3,4-c]カルバゾール-5,7-ジオン(0.091g、0.136ミリモル)の溶液に、p-トルエンスルホン酸モノ水和物(0.002g、0.01ミリモル)を加え、混合物を室温で17h攪拌する。

## 【0081】

次いでトリエチルアミン(2滴)を加え、混合物を蒸発乾固する。残渣をジクロロメタンに溶かし、溶液をショート・シリカゲルカラムに加える。ジクロロメタン/アセトニトリル(95:5)で溶離して、純粋な3,9-ジフルオロ-12-(2,3-ジ-O-ベン

10

MS(ESI<sup>-</sup>)m/e700(M-H)<sup>-</sup>

## 【0082】

この化合物と20%Pd(OH)<sub>2</sub>/C(0.114g)の20mLのメタノール中の混合物を、1atm圧で18h水素添加する。次いで混合物を濾過し(セライト)、濾過ケーキをメタノール、次いでTHFで洗う。濾液を蒸発し、得られる黄色ガラス状物をLH-20カラムにて、メタノールで溶離して精製する。これによって残渣を得、これを最小容量のメタノールと共にトリチュレートして、標記化合物(0.035g、67%)をオ

20

## 【0083】

<sup>1</sup>H-NMR(THF-d<sub>8</sub>, 400MHz): 10.82(s, 0.35H)、10.42(s, 0.65H)、10.14(s, 0.65H)、10.09(s, 0.35H)、9.07(dd, J=2.5, 9.6Hz, 0.35H)、9.03(dd, J=2.9, 9.6Hz, 0.65H)、8.97(dd, J=2.5, 9.6Hz, 0.65H)、8.93(dd, J=2.5, 9.6Hz, 0.35H)、7.94(dd, J=4.3, 8.6Hz, 0.35H)、7.78(dd, J=4.1, 9.1Hz, 0.65H)、7.72(dd, J=4.3, 9.0Hz, 0.65H)、7.67(dd, J=4.1, 8.9Hz, 0.35H)、7.37-7.24(m, 2H)、6.28(dd, J=2.0, 9.1Hz, 0.35H)、6.13(d, J=9.1Hz, 0.65H)、5.53(d, J=5.1Hz, 0.35H)、4.76(d, J=4.1Hz, 0.65H)、4.61(d, J=5.0Hz, 0.65H)、4.51(d, J=3.9Hz, 0.35H)、4.33-3.68(m, 2H)、3.44(s, 3H)、2.50-1.82(m, 2H)、1.79(s, 3H)

30

MS(ESI<sup>-</sup>)m/e520(M-H)<sup>-</sup>

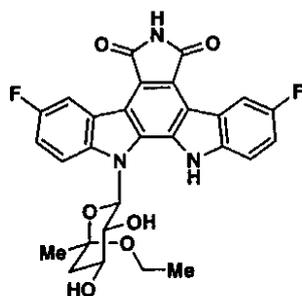
HPLC: 100%(320nm)

## 【0084】

実施例10: 3,9-ジフルオロ-12-(4,6-ジデオキシ-5-エトキシ-D-グルコピラノシル)-6,7,12,13-テトラヒドロ(5H)インドロ[2,3-a]ピロロ[3,4-c]カルバゾール-5,7-ジオン

40

## 【化18】



## 【0085】

10

本例化合物は、反応溶媒としてエタノールを用いる以外は、実施例9の記載と同様にして製造した。最終単離物は、全収率37%の黄色凍結乾燥物である。

$^1\text{H-NMR}$  (THF- $d_8$ , 400MHz): 10.53 (s, 0.3H), 10.46 (s, 0.7H), 10.12 (s, 0.7H), 10.07 (s, 0.3H), 9.03 (dd,  $J=2.5, 9.7$  Hz, 1H), 8.91 (dd,  $J=2.6, 9.8$  Hz, 1H), 7.92 (dd,  $J=4.4, 9.0$  Hz, 0.3H), 7.68 (m, 1.7H), 7.54 (dd,  $J=3.2, 5.8$  Hz, 0.3H), 7.37-7.26 (m, 1.7H), 6.33 (d,  $J=9.1$  Hz, 0.3H), 6.15 (d,  $J=9.1$  Hz, 0.7H), 4.75 (d,  $J=4.1$  Hz, 1H), 4.61 (d,  $J=5.1$  Hz, 1H), 4.23-3.64 (m, 4H), 2.46-1.88 (m, 2H), 1.80 (s, 3H), 1.33 (t,  $J=7.1$  Hz, 3H)

20

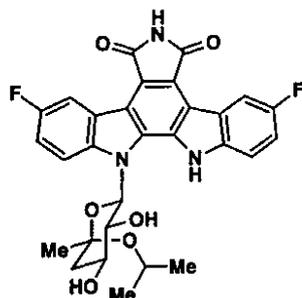
MS (ESI $^-$ )  $m/e$  534 (M-H) $^-$

HPLC: 97.9% (320nm)

## 【0086】

実施例11: 3, 9-ジフルオロ-12-(4, 6-ジデオキシ-5-イソプロポキシ-D-グルコピラノシル)-6, 7, 12, 13-テトラヒドロ(5H)インドロ[2, 3-a]ピロロ[3, 4-c]カルバゾール-5, 7-ジオン

## 【化19】



30

本例化合物は、反応溶媒としてイソプロパノールを用いる以外は、実施例9の記載と同様にして製造した。最終単離物は、全収率43%の黄色凍結乾燥物である。

## 【0087】

40

$^1\text{H-NMR}$  (THF- $d_8$ , 400MHz): 10.66 (s, 0.75H), 10.63 (s, 0.25H), 10.12 (s, 0.75H), 10.08 (s, 0.25H), 9.03 (dd,  $J=2.7, 9.6$  Hz, 1H), 8.91 (dd,  $J=2.6, 9.7$  Hz, 1H), 7.71 (dd,  $J=3.9, 9.0$  Hz, 0.75H), 7.67 (m, 1.25H), 7.53 (dd,  $J=3.0, 5.6$  Hz, 0.75H), 7.33 (m, 1.25H), 6.48 (d,  $J=9.3$  Hz, 0.25H), 6.28 (d,  $J=9.2$  Hz, 0.75H), 4.89 (d,  $J=4.0$  Hz, 1H), 4.69 (d,  $J=5.0$  Hz, 1H), 4.24-3.86 (m, 3H), 2.43-2.16 (m, 2H), 1.85 (s, 3H), 1.25 (d,  $J=6.0$  Hz, 2.25H), 1.21 (d,  $J=6.0$  Hz, 2.25H), 1.07 (d,  $J=6.1$  Hz, 0.7

50

5 H)、0.97 (d、J = 0.75 H)

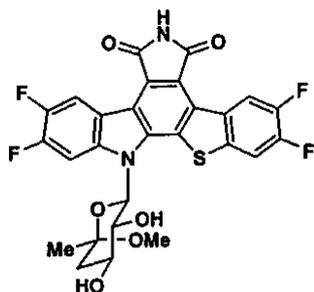
MS (ESI<sup>-</sup>) m/e 548 (M - H)<sup>-</sup>

HPLC: 94.9% (320 nm)

【0088】

実施例 12: 2, 3, 9, 10 - テトラヒドロ - 12 - (4, 6 - ジデオキシ - 5 - メトキシ - D - グルコピラノシル) - 6, 7, 12, 13 - テトラヒドロ (5 H) ベンゾ [b] チエノ [2, 3 - a] ピロロ [3, 4 - c] カルバゾール - 5, 7 - ジオン

【化 20】



10

本例化合物は、実施例 9 の記載と同様にして製造し、全収率 70% の黄色凍結乾燥物で単離した。

【0089】

20

IR (KBr): 3433、1709、1475 cm<sup>-1</sup>

<sup>1</sup>H - NMR (THF - d<sub>8</sub>、400 MHz): 10.52 (s、1 H)、10.06 (dd、J = 8.1、13.1 Hz、1 H)、9.28 (dd、J = 8.6、11.1 Hz、1 H)、8.11 (dd、J = 7.6、10.1 Hz、1 H)、7.90 (dd、J = 7.1、11.1 Hz、1 H)、6.55 (d、J = 8.6 Hz、1 H)、4.78 (d、J = 4.5 Hz、1 H)、4.55 (br s、1 H)、4.20 - 4.02 (m、2 H)、3.41 (s、3 H)、2.33 - 1.98 (m、2 H)、1.55 (s、3 H)

MS (ESI<sup>-</sup>) m/e 573 (M - H)<sup>-</sup>

30

HPLC: 99.5% (320 nm)

【0090】

#### 生物学的活性

本発明化合物は、抗腫瘍特性を持つ有用な薬理学的作用物質である。トポイソメラーゼ I 活性特性を持つ化合物は、抗腫瘍剤として使用することができる。近年、多数の報告が文献に見かけられ、トポイソメラーゼ I 標的薬物の役割は、共有結合 DNA - トポイソメラーゼ I 複合体を安定させて、酵素 - 連鎖 DNA 単一ストランド破断を生成することが示唆されている。

【0091】

薬理学的見地から、トポイソメラーゼ I を標的にする利点が存在し；第 1 に、増殖する細胞および静態の細胞両方における比較的高レベルのその出現は、その機能が細胞の成長速度と無関係であることを示唆し、そして第 2 に、トポイソメラーゼ I 活性作用物質は、ゆっくり増殖する腫瘍並びに急速に増殖する腫瘍に有効となりうる。結腸腫瘍からの細胞は、正常な粘膜細胞より高い細胞内レベルのトポイソメラーゼ I を含有することが認められており、このことは、選択的な細胞毒利点の可能性を示唆する。

40

【0092】

すなわち、本発明化合物による腫瘍細胞の増殖抑制は最初に、ヒト・トポイソメラーゼ I の有効な抑制によって証明した。また本発明の特定化合物、通常トポイソメラーゼ I アッセイで 10 μM 以下の EC<sub>50</sub> 値を有する化合物について、ヒト/マウス腫瘍細胞増殖アッセイの抑制を試験した。

【0093】

50

トポイソメラーゼ I 活性 (インビトロ)

トポイソメラーゼ I 活性を、下記の手順で測定する。DNA において化合物 - 誘発の、トポイソメラーゼ I - 仲介単一ストランド破断を検定する手順は、本質的に H s i a n g らの「J. Biol. Chem.」(260、14873 - 14878、1985年)に記載されている。100% DMSO に 10  $\mu$ M または 10 mg/ml 溶液で溶解したサンプルは、他に特別な記載がない限り、Tris - EDTA 緩衝剤で希釈する。

## 【0094】

またマリン (marine) バクテリオファージ PM2 DNA (Boehringer Mannheim) は、Tris - EDTA 緩衝剤で 0.02  $\mu$ g/ $\mu$ l 濃度に希釈する。希釈の異なる被評価化合物を、希釈 DNA と混合し、該混合物を、2 倍の反応緩衝剤中の精製したヒト・トポイソメラーゼ I (Topogen) の 1000 ユニット (1 ユニットの酵素活性は、100 ng のスーパーコイル化 DNA を 37 で約 30 分内で弛緩しうる量として規定する) のアリコートに加え、反応を開始する。

10

## 【0095】

化合物 - DNA - 酵素混合物を、37 で 30 分間培養してから、ドデシル硫酸ナトリウムおよびプロテイナーゼ K (Sigma) を含有する温ストップ緩衝剤で反応を停止する。これらの混合物をさらに 37 で 10 分間培養させ、この時、混合物をウォーターバスから取出し、クロロホルム/イソアミルアルコール (24:1) 混合物で抽出する。

## 【0096】

遠心分離を行ってから、水性相のアリコートを、0.5  $\mu$ g/ml のエチジウムブロマイド含有の Tris - ボレート緩衝剤中の 0.9% アガロース (SeaKem) ゲルのウェルに入れ、15 時間電気泳動に付して、異なるトポロジ - 異性体とニックおよび破断した DNAs を分離する。水中でゲルのよごれを除いた後、ゲルを UV 照射にさらすことによって、エチジウムブロマイド染色 DNA 反応産物を可視化する。

20

## 【0097】

照射したゲルの写真のネガを、濃度計でスキャンし、各サンプルの単一ストランド DNA 破断形成のパーセントを得るために、ピーク下の面積を計算する。得られる用量 - 効果曲線のポイント間の補間によって、各化合物の中間有効濃度 ( $EC_{50}$ ) を得るが、これは、DNA においてトポイソメラーゼ I - 仲介単一ストランド破断を誘発する、化合物の効果の潜在力を規定する。

30

## 【0098】

本発明の選択化合物のトポイソメラーゼ I 活性を、下記表 I に示す。

表 I :

## 【表 1】

実施例 No.	$EC_{50}$ ( $\mu$ M)
1	0.04
6	0.07
7	0.27
8	0.05

40

## 【0099】

表 I における置換糖誘導体で例示する、本発明の新規化合物は、重要なトポイソメラーゼ I 活性を示す。

## 【0100】

細胞に基づく細胞毒活性 (インビトロ)

ネズミ P388 細胞系に対する増殖抑制活性を、以下の手順で測定する。ヒトおよび他の

50

腫瘍細胞系を用い、「Cancer Res.」(48、4827-4833、1988年)に記載の手順に従って、細胞成長および培養中の薬物感受性の可溶性テトラゾリウム/ホルマザン・アッセイの評価を行なう。

【0101】

細胞を96ウェル・マイクロタイター平板にて、4000細胞/ウェルで培養し、24h後に薬物を加え、連続して希釈する。細胞を37℃で72h培養し、この時、メト硫酸フェナジン含有のテトラゾリウム染料、XTTを加える。生きている細胞中のデヒドロゲナーゼ酵素でXTTを還元して、450nmで光を吸収する形状とし、これを分光光度計で定量分析することができる。吸光度が増大すればするほど、生存細胞の数が増大する。

【0102】

結果を $IC_{50}$ で表示するが、これは、細胞増殖(すなわち、450nmでの吸光度)を、未処置対照細胞のその50%に抑制するのに必要な薬物濃度である。本発明の選択化合物の結果を下記表IIに示す。

【0103】

表II:

【表2】

実施例 No.	$IC_{50}$ ( $\mu M$ )
1	0.035
6	0.050
7	0.25
8	0.035
9	0.007
10	0.055
11	0.20
12	0.069

10

20

30

## 【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  
11 April 2002 (11.04.2002)

PCT

(10) International Publication Number  
**WO 02/28874 A2**(51) International Patent Classification: C07H 17/02, H3T 1G1 (CA), BACHAND, Carol [CA/CA]; 119 Pl. Mercure, Candiac, Québec J5R 1B1 (CA).  
A61K 31/7056, A61P 35/00

(21) International Application Number: PCT/US01/42405 (74) Agents: PEIST, Kenneth et al.; Bristol-Myers Squibb Company, P.O. Box 4000, Princeton, NJ 08543-4000 (US).

(22) International Filing Date: 28 September 2001 (28.09.2001) (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, EC, 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, PH, PL, PT, RO, RU, SD, SE, SG, SI, SK, SL, TJ, TM, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VN, YU, ZA, ZW.

(25) Filing Language: English

(26) Publication Language: English

(30) Priority Data: 60/238,712 6 October 2000 (06.10.2000) US

(71) Applicants (for all designated States except US): BRISTOL-MYERS SQUIBB COMPANY [US/US]; P. O. Box 4000, Route 206 and Provinceline Road, Princeton, NJ 08543-4000 (US). RUEDIGER, Edward, H. [CA/CA]; 133 St. Charles Road, Greenfield Park, Québec J4V 2K3 (CA). BEAULIEU, Francis [CA/CA]; 370 Leotable Dubuc, Laprairie, Québec J5R 5M4 (CA).

(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, BI, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

(71) Applicant and (72) Inventor: BALASUBRAMANIAN, Neekakantan [US/US]; 26 Horsebarn Lane, Madison, CT 06443 (US).

Published: — without international search report and to be republished upon receipt of that report

(72) Inventors; and (75) Inventors/Applicants (for US only): MAHLER, Mikael [CA/CA]; 30 Willowale, App. 205, Outremont, Québec

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.



WO 02/28874 A2

(54) Title: TUMOR PROLIFERATION INHIBITORS

(57) Abstract: The present invention concerns novel sugar derivatives of indolocarbazoles and pharmaceutical formulations thereof which exhibit topoisomerase-I activity and are useful in inhibiting the proliferation of tumor cells.

**TUMOR PROLIFERATION INHIBITORS**Related Applications

This application claims priority benefit under Title 35 § 119(e) of United  
5 States provisional Application No. 60/238,712, filed October 6, 2000.

Field of the Invention

The present invention describes substituted sugar derivatives of  
indolopyrrolocarbazoles which exhibit topoisomerase-I activity and are useful in  
inhibiting the proliferation of tumor cells.

10

Background

Topoisomerases are vital nuclear enzymes which function to resolve  
topological dilemmas in DNA, such as overwinding, underwinding and  
catenation, which normally arise during replication, transcription and perhaps  
15 other DNA processes. These enzymes allow DNA to relax by forming enzyme-  
bridged strand breaks that act as transient gates or pivotal points for the passage  
of other DNA strands. Topoisomerase-targeting drugs appear to interfere with  
this breakage-reunion reaction of DNA topoisomerases. In the presence of  
topoisomerase-active agents, an aborted reaction intermediate, termed a 'cleavable  
20 complex', accumulates and results in replication/transcription arrest, which  
ultimately leads to cell death. The development of topoisomerase I-active agents  
therefore offers a new approach to the multi-regimental arsenal of therapies  
currently used in the clinic for the treatment of cancer. An article in *Cancer  
Chemother. Pharmacol* [1994, 34 (suppl): S 41-S 45] discusses topoisomerase I-  
25 active compounds that are in clinical studies and these have been found to be

WO 02/28874

PCT/US01/42405

effective clinical anti-tumor agents. Structurally these clinical candidates are related to the alkaloid camptothecin.

Indolo[2,3-a]carbazole alkaloids such as rebeccamycin (U.S. 4,487,925 and 4,552,842) and its water-soluble, clinically-active analog, 6-(2-  
5 diethylaminoethyl)rebeccamycin (U.S. 4,785,085), are useful antitumor agents which target DNA. Furthermore, fluorindolocarbazoles (WO 98/07433) have been disclosed as antineoplastic agents with topoisomerase I inhibitory activity. Indolo[2,3-a]carbazole derivatives related to the Rebeccamycin class are disclosed (EP Appl. 0 545 195 B1 and 0,602,597 A2; *Cancer Research* 1993, 53,  
10 490-494; *ibid.*, 1995, 55, 1310-1315) and claimed to exhibit anti-tumor activity; however the major mechanism of action of these derivatives may not be like camptothecin, which acts as a topoisomerase I poison. Related indolocarbazoles are also disclosed (WO 95/30682) and claimed to exhibit anti-tumor activity. Hudkins, *et al.* have disclosed a series of fused pyrrolocarbazoles (WO 96/11933  
15 and U.S. 5,475,110) and reported *in vitro* biological activity such as inhibition of neuronal choline acetyltransferase (ChAT) and protein kinase C (PKC) inhibition for some compounds. U.S. 5,468,849 discloses certain fluororebeccamycin analogs as useful antitumor agents, along with a process for their production by fluorotryptophan analog feeding of a rebeccamycin-producing strain of  
20 *Saccharothrix aerocolonigenes*, preferably *Saccharothrix aerocolonigenes* C38,383-RK2 (ATCC 39243). Glicksman, *et al.* disclose indolocarbazole alkaloids (U.S. Patent No, 5,468,872), while Kojiri, *et al.* disclose indolopyrrolocarbazoles having a disaccharide substituent (WO 96/04293). Mazur and Hiller report the synthesis of simple 5-hydroxymethyl glycosides (*J.*

WO 02/28874

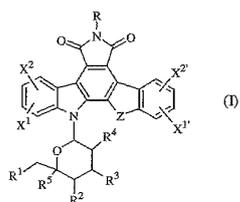
PCT/US01/42405

*Org. Chem.* 1997, 62, 4471), while Danishefsky, *et al.* (*J. Am. Chem. Soc.* 1996, 118, 2825) describe the synthesis of 5-methoxy substituted sugar derivatives. Despite these reports, there remains the need for novel and potent cytotoxic compounds useful for inhibiting topoisomerase I activity.

5

Summary of the Invention

Thus according to a first embodiment of the first aspect of the present invention are provided compounds of Formula (I) and pharmaceutically acceptable salts and solvates thereof, useful for inhibiting topoisomerase I and the proliferation of tumor cells,



wherein,

- 15 X<sup>1</sup>, X<sup>1'</sup>, X<sup>2</sup> and X<sup>2'</sup> are independently selected from the group consisting of hydrogen, halogen, cyano, OR<sup>6</sup>, -CF<sub>3</sub>, alkylcarbonyl, C<sub>1-7</sub>alkyl, nitro, NR<sup>6</sup>R<sup>7</sup>, SR<sup>6</sup> and C(O)OR<sup>6</sup>; wherein said C<sub>1-7</sub>alkyl is optionally substituted with one or more substituents selected from the group consisting of halogen, CN, SR<sup>6</sup>, OR<sup>6</sup> and NR<sup>6</sup>R<sup>7</sup>;
- 20 Z is selected from the group consisting of NH, O and S;

WO 02/28874

PCT/US01/42405

R is hydrogen, OH, OC<sub>1-7</sub>alkyl, NH<sub>2</sub>, N(C<sub>1-3</sub>alkyl)<sub>2</sub> or C<sub>1-7</sub>alkyl, wherein said C<sub>1-</sub>

<sub>7</sub>alkyl is optionally substituted with one or more substituents selected from

the group consisting of halogen, CN, SR<sup>6</sup>, OR<sup>6</sup> and NR<sup>6</sup>R<sup>7</sup>;

R<sup>1</sup>, R<sup>2</sup>, R<sup>3</sup>, and R<sup>4</sup> are each independently selected from the group consisting of

5 hydrogen, C<sub>1-7</sub>alkyl, C<sub>3-7</sub>cycloalkyl, halogen, azido, NR<sup>6</sup>R<sup>7</sup>,

NHC(O)NR<sup>6</sup>R<sup>7</sup>, NHC(O)OR<sup>6</sup>, C(O)OR<sup>6</sup>, SR<sup>6</sup> and OR<sup>6</sup>, wherein said C<sub>1-</sub>

<sub>7</sub>alkyl is optionally substituted with one or more substituents selected from

the group consisting of halogen, CN, SR<sup>6</sup>, OR<sup>6</sup> and NR<sup>6</sup>R<sup>7</sup>; and

R<sup>5</sup> is selected from the group consisting of C<sub>1-7</sub>alkyl, C<sub>3-7</sub>cycloalkyl, halogen,

10 azido, NR<sup>6</sup>R<sup>7</sup>, NHC(O)NR<sup>6</sup>R<sup>7</sup>, NHC(O)OR<sup>6</sup>, C(O)OR<sup>6</sup>, SR<sup>6</sup> and OR<sup>6</sup>,

wherein said C<sub>1-7</sub>alkyl is optionally substituted with one or more

substituents selected from the group consisting of halogen, CN, SR<sup>6</sup>, OR<sup>6</sup>

and NR<sup>6</sup>R<sup>7</sup>; and

R<sup>6</sup> and R<sup>7</sup> are independently selected from the group consisting of hydrogen, C<sub>1-</sub>

15 <sub>7</sub>alkyl and C<sub>3-7</sub>cycloalkyl, wherein said C<sub>1-7</sub>alkyl is optionally substituted

with one or more substituents selected from the group consisting of

halogen, CN, OH, OC<sub>1-3</sub>alkyl, NH<sub>2</sub> or N(C<sub>1-3</sub>alkyl)<sub>2</sub>; or

R<sup>6</sup> and R<sup>7</sup> together with the nitrogen atom to which they are attached form

a non-aromatic 5-8 membered heterocycle containing one or two

20 of the same or different heteroatoms selected from the group

consisting of O, N and S.

According to another embodiment of the first aspect of the present invention are provided compounds of Formula (I) wherein R is hydrogen.

WO 02/28874

PCT/US01/42405

According to another embodiment of the first aspect of the present invention are provided compounds of Formula (I) wherein Z is NH.

According to another embodiment of the first aspect of the present invention are provided compounds of Formula (I) wherein  $X^1$ ,  $X^1$ ,  $X^2$  and  $X^2$  are  
5 each F.

According to another embodiment of the first aspect of the present invention are provided compounds of Formula (I) wherein  $X^2$  and  $X^2$  are each F and  $X^1$  and  $X^1$  are each H.

According to another embodiment of the first aspect of the present  
10 invention are provided compounds of Formula (I) wherein  $X^2$  is F and  $X^2$ ,  $X^1$  and  $X^1$  are each H.

According to another embodiment of the first aspect of the present invention are provided compounds of Formula (I) wherein  $X^2$  is F and  $X^2$ ,  $X^1$  and  $X^1$  are each H.

According to another embodiment of the first aspect of the present  
15 invention are provided compounds of Formula (I) wherein  $R^1$ ,  $R^2$ ,  $R^3$ ,  $R^4$  and  $R^5$  are independently selected from the group consisting of H, OH, F, azido and amino.

Other embodiments of the first aspect of the present invention provide  
20 compounds of Formula (I) comprising two or more of the above embodiments of the first aspect suitably combined.

Embodiments of a second aspect of the present invention provide a method for inhibiting tumor growth in a mammalian host which comprises the administration to said host of a tumor-growth inhibiting amount of a compound of

WO 02/28874

PCT/US01/42405

the present invention as defined in the emodiments of the first aspect of the invention.

Embodiments of a third aspect of the present invention provide a method for inhibiting tumor growth in a mammalian host which comprises the administration to said host of a tumor-growth inhibiting amount of a pharmaceutical formulation of a compound of the present invention as defined in the emodiments of the first aspect of the invention.

Other embodiments and aspects of the invention will be apparent according to the description provided below.

10

#### Detailed Description of the Invention

The description of the invention herein should be construed in congruity with the laws and principals of chemical bonding. An embodiment or aspect which depends from another embodiment or aspect, will describe only the variables having values and provisos that differ from the embodiment or aspect from which it depends. Thus, for example, an embodiment which reads "the compound of formula (I) according to the  $n^{\text{th}}$  aspect of the invention, wherein W is C" should be read to include all remaining variables with values defined in the  $n^{\text{th}}$  aspect and should be read to further include all the provisos, unless otherwise indicated, pertaining to each and every variable in the  $n^{\text{th}}$  aspect. The numbers in the subscript after the symbol "C" define the number of carbon atoms a particular group can contain. For example "C<sub>1-7</sub>alkyl" means a straight or branched saturated carbon chain having from one to seven carbon atoms, including without limitation groups such as methyl, ethyl, n-propyl, isopropyl, n-butyl, sec-butyl,

WO 02/28874

PCT/US01/42405

isobutyl, t-butyl, n-pentyl, sec-pentyl, isopentyl, n-hexyl and n-heptyl. The term "halogen" includes fluoro, chloro, bromo and iodo.

It is to be understood that the present invention includes any and all possible stereoisomers, geometric isomers, diastereoisomers, enantiomers, 5 conformational isomers and anomers, unless a particular description specifies otherwise.

The numbers in the subscript after the symbol "C" define the number of carbon atoms a particular group can contain. For example "C<sub>1-6</sub>alkyl" means a straight or branched saturated carbon chain having from one to seven carbon 10 atoms including without limitation groups such as methyl, ethyl, n-propyl, isopropyl, n-butyl, sec-butyl, isobutyl, t-butyl, n-pentyl, sec-pentyl, isopentyl, n-hexyl and n-heptyl. "Aryl" means an aromatic hydrocarbon having from six to ten carbon atoms; examples include phenyl and naphthyl. "Substituted aryl" or "substituted aralkyl" means an aryl or aralkyl group independently substituted 15 with one to five (but particularly one to three) groups selected from the group consisting of C<sub>1-6</sub>alkanoyloxy, hydroxy, halogen, C<sub>1-6</sub> alkyl, trifluoromethyl, C<sub>1-6</sub>alkoxy, C<sub>2-6</sub>alkenyl, C<sub>1-6</sub>alkanoyl, nitro, amino, cyano, azido, C<sub>1-6</sub> alkylamino and amido. The term "halogen" includes fluoro, chloro, bromo and iodo.

The compounds of this invention can exist in the form of pharmaceutically 20 acceptable salts. Such salts include addition salts with inorganic acids such as, for example, hydrochloric acid and sulfuric acid, and with organic acids such as, for example, acetic acid, citric acid, methanesulfonic acid, toluenesulfonic acid, tartaric acid and maleic acid. Further, in case the compounds of this invention contain an acidic group, the acidic group can exist in the form of alkali metal salts

WO 02/28874

PCT/US01/42405

such as, for example, a potassium salt and a sodium salt; alkaline earth metal salts such as, for example, a magnesium salt and a calcium salt; and salts with organic bases such as a triethylammonium salt and an arginine salt. The compounds of the present invention may be hydrated or non-hydrated.

5           The compounds of this invention can be administered in such oral dosage forms as tablets, capsules (each of which includes sustained release or timed release formulations), pills, powders, granules, elixirs, tinctures, suspensions, syrups and emulsions. The compounds of this invention may also be administered intravenously, intraperitoneally, subcutaneously, or intramuscularly,  
10 all using dosage forms well known to those skilled in the pharmaceutical arts. The compounds can be administered alone but generally will be administered with a pharmaceutical carrier selected on the basis of the chosen route of administration and standard pharmaceutical practice. Compounds of this invention can also be administered in intranasal form by topical use of suitable  
15 intranasal vehicles, or by transdermal routes, using transdermal skin patches. When compounds of this invention are administered transdermally the dosage will be continuous throughout the dosage regimen.

          One aspect of the present invention involves administration of the compounds of the present invention, or pharmaceutically acceptable salts or  
20 solvates thereof, to a mammal implanted with a tumor or susceptible to cancer formation. In general the compound would be given in a dose range of from about 0.01mg/kg to about the MTD (maximum tolerated dose). The dosage and dosage regimen and scheduling of a compound of the present invention must in each case be carefully adjusted, utilizing sound professional judgment and

WO 02/28874

PCT/US01/42405

considering the age, weight and condition of the recipient, the route of administration and the nature and extent of the cancer disease condition. The term "systemic administration" as used herein refers to oral sublingual, buccal, transnasal, transdermal, rectal, intramuscular, intravenous, intraventricular, intrathecal, and subcutaneous routes. In accordance with good clinical practice, it is preferred to administer the instant compounds at a concentration level which will produce effective beneficial effects without causing any harmful or untoward side effects.

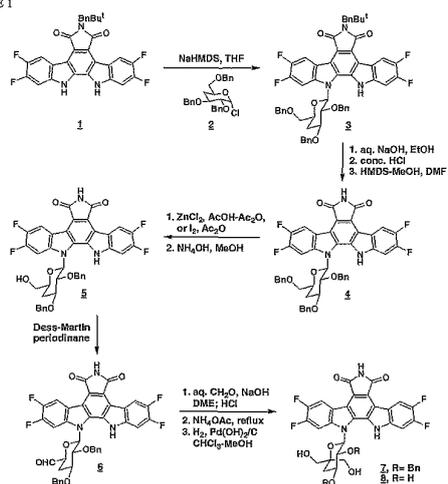
10            **DESCRIPTION OF THE SPECIFIC EMBODIMENTS**

Procedures for the preparation of compounds of Formula (I) are illustrated in Schemes 1-5 and the preparation of the key intermediates/starting materials is illustrated in Scheme 6.

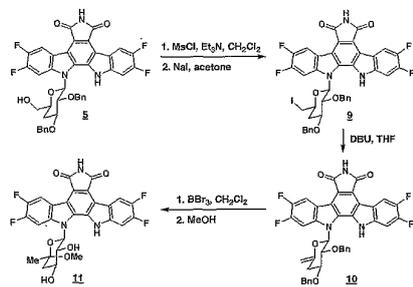
WO 02/28874

PCT/US01/42405

SCHEME 1



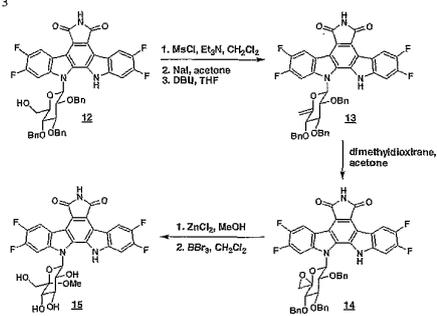
5 SCHEME 2



WO 02/28874

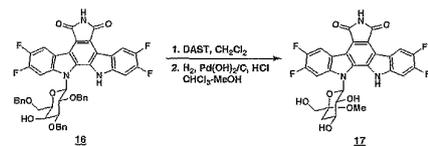
PCT/US01/42405

SCHEME 3

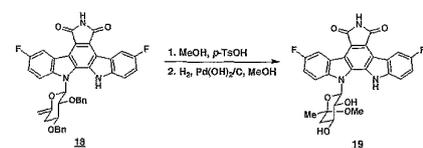


SCHEME 4

5



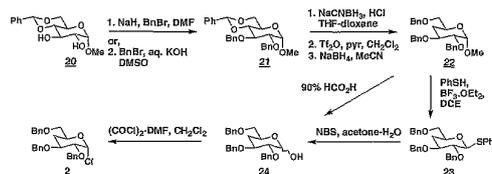
SCHEME 5



WO 02/28874

PCT/US01/42405

SCHEME 6



- In Scheme 1, the mono- or dianion of **1** was generated using a suitable base, such as sodium hexamethyldisilazide, and was glycosylated with a chlorosugar derivative like **2** to give a protected glycoside (**3**). Deprotection of the imide moiety was done by base-induced hydrolysis, followed by acidification to give an intermediate anhydride. The latter was conveniently converted to an imide using a suitable amine, such as that provided by reaction with a mixture of hexamethyldisilazane and methanol in dimethylformamide (*cf.* P.D Davis, R.A. Bit *Tetrahedron Lett.* 1990, 31, 5201). Selectively deprotected glycosides like **5** and **12** could then be prepared by treatment of the corresponding perbenzylated glycosides with zinc chloride in acetic acid-acetic anhydride (*cf.* F. Kong, *et al. Tetrahedron Lett.* 1997, 38, 6725) or with iodine in acetic anhydride (*cf.* K.P.R. Kartha, R.A. Field *Tetrahedron* 1997, 53, 11753), followed by hydrolysis of the intermediate acetates. The resulting primary alcohols could be oxidized under mild conditions, for example using Dess-Martin periodinane or the like, to give the corresponding aldehyde. These aldehydes readily underwent  $\alpha$ -hydroxymethylation followed by spontaneous Cannizzaro reduction in the presence of aqueous formaldehyde and aqueous sodium hydroxide (*cf.* A.W. Mazur, G.D. Hiler *J. Org. Chem.* 1997, 62, 4471) to give 5'-C-hydroxymethylglycosides such as **7**. If during the course of this reaction the imide moiety was hydrolyzed to the corresponding anhydride, this was readily converted back to an imide by treatment with a suitable source of ammonia, such as ammonium acetate. Finally,

WO 02/28874

PCT/US01/42405

removal of the benzyl protecting groups was then done using a conventional procedure involving hydrogenolysis over Pearlman's catalyst (20% Pd(OH)<sub>2</sub> on charcoal), to give a deprotected glycoside (**8**).

As shown in Scheme 2, the 6'-hydroxyl group of **5** may also be activated, for example as its mesylate and subsequently as the corresponding iodide (**9**), which may then undergo elimination of the element of HI using a suitable amine base, such as 1,8-diazabicyclo[5.4.0]undec-7-ene (DBU), to give a vinyl ether (**10**). Subsequent removal of the benzyl protecting groups using boron tribromide, followed by quenching of the reaction mixture with methanol, affords a 5'-C-methoxyglycoside such as **11**. Alternatively, as shown for example in Scheme 3, introduction of a 5'-C-methoxy group could precede the final deprotection step. Thus, a vinyl ether (**13**) can be epoxidized under mild conditions using dimethyldioxirane in acetone (*cf.* S.J. Danishefsky, *et al.* *J. Am. Chem. Soc.* 1996, 118, 2825), and the resulting epoxide (**14**) can undergo solvolysis with methanol in the presence of zinc chloride and final deprotection as before to give a 5'-C-methoxyglucoside (**15**).

Selected examples of 5'-C-methoxyglycosides could also be prepared as shown in Scheme 4. Thus, treatment of a selectively deprotected galactoside (**16**) with the well-known fluorinating agent DAST [(diethylamino)sulfur trifluoride], followed by debenylation as before, takes an unexpected course to give predominantly the 5'-C-methoxyglycoside **17**.

Alternatively, as shown in Scheme 5, a vinyl ether (**18**) may be treated with an alcohol, for example methanol, in the presence of a small amount of an acid catalyst, such as *p*-toluenesulfonic acid, to give a protected 5'-C-alkoxyglycoside. The latter was deprotected as before to give a 5'-C-alkoxyglycoside (*e.g.*, **19**).

A key intermediate sugar was prepared as shown in Scheme 6. Conversion of a commercially available methyl- $\alpha$ -D-glucopyranoside (**20**) to a 4-

WO 02/28874

PCT/US01/42405

deoxyglycoside (**22**) was done as reported by Barrette and Goodman (*J. Org. Chem.* 1984, *49*, 176). Deprotection of the anomeric position could be done in two steps, first by treatment with benzenethiol and a Lewis acid, such as boron trifluoride etherate (*cf.* L.A. Paquette, J. A. Oplinger *J. Org. Chem.* 1988, *53*, 5 2953), followed by hydrolysis of the resulting phenylthio sugar derivative (**23**) using N-bromosuccinimide in a suitable solvent, such as acetone or acetonitrile, in the presence of water (*cf.* B. Fraser-Reid, *et al.* *J. Am. Chem. Soc.* 1988, *110*, 2662). Alternatively, deprotection of the anomeric position could be effected in one step by treatment with a suitable acid, such as 90% formic acid, to give the 10 glucopyranoside (**24**) directly. Conversion of a glycopyranoside, such as **24**, to a glycopyranosyl chloride (**2**) could be done according to a procedure reported by Iversen and Bundle (*Carb. Res.* 1982, *103*, 29).

The compounds which constitute this invention and their methods of preparation will appear more fully from a consideration of the following examples 15 which are given for the purpose of illustration only and are not to be construed as in any way limiting the scope of the invention.

#### **Synthesis of Intermediates**

Several intermediate compounds, as well as other conventional starting 20 materials (*e.g.*, **20**), used in the preparation of compounds of Formula (I) were generally commercially available. Representative syntheses of some of these compounds are provided hereinbelow nevertheless.

All anhydrous reactions were performed under an atmosphere of nitrogen or argon using either commercially available dry solvents or freshly distilled 25 solvents. Melting points were determined in an open capillary tube with a Thomas-Hoover melting point apparatus and are uncorrected. Column chromatography was performed using EM Science silica gel 60 (230-400 mesh)

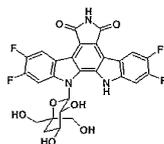
WO 02/28874

PCT/US01/42405

with the designated solvent system as eluant. Thin-layer chromatography was done on E. Merck silica gel 60 F<sub>254</sub> plates (0.5 mm). Hplc purity determinations were done using either a Shimadzu LC-10AS with a SPD-10AV UV-Vis detector and one of the following columns; YMC Combiscreen ODS-A (4.6 x 50 mm), or 5 HP Zorbax SB-C18 (4.6 x 750 mm); or, an HP 1090 DR5 with a diode array detector and a Waters Nova-Pak C18 column (3.9 x 150 mm). Infrared spectra were recorded on a Nicolet Protégé 460 FTIR as thin films or KBr pellets. <sup>1</sup>HNMR spectra were recorded on either a Bruker AMX-400 or a Bruker ARX-500 NMR spectrometer and chemical shifts are expressed in parts per million 10 (ppm or δ) with the solvent in use as internal standard. Coupling constants are given in hertz and multiplets are designated as follows; singlet (s), doublet (d), triplet (t), quartet (q), multiplet (m), and broad (br). Low resolution mass spectra were determined on a Finnigan Matt TSQ-7000 triple stage quadrupole spectrometer (positive/negative ESI) operated in the negative ion mode.

15

Example 1: 2, 3, 9, 10-Tetrafluoro-12-[5-C-(hydroxymethyl)-4-deoxy-β-D-glucopyranosyl]-indolo[2, 3-a]pyrrolo[3, 4-c]carbazole-5, 7-dione



To a solution of Dess-Martin reagent (0.147 g, 0.34 mmol) in 5 mL of dry 20 CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> was added a solution of 2, 3, 9, 10-tetrafluoro-12-(2, 3-di-O-benzyl-4-deoxy-β-D-glucopyranosyl)-indolo[2, 3-a]pyrrolo[3, 4-c]carbazole-5, 7-dione (0.125 g, 0.17 mmol) in 5 mL of dry CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> and the mixture was stirred at room temperature for 2 h. The resulting mixture was diluted with ethyl acetate and then it was washed (sat. NaHCO<sub>3</sub>, 30% Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>3</sub>, brine), dried (Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) and

WO 02/28874

PCT/US01/42405

evaporated. The crude aldehyde was immediately dissolved in dioxane (6 mL), 37% aqueous formaldehyde (1 mL) and 1 M NaOH (1 mL) were added and the mixture was stirred at room temperature for 18h. The solution was then acidified with 1N HCl and stirred for 4h. The resulting mixture was diluted with ethyl acetate, washed with water, dried (Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) and evaporated to give 2, 3, 9, 10-tetrafluoro-12-[2, 3-di-O-benzyl-4-deoxy-5-C-(hydroxymethyl)-β-D-glucopyranosyl]-indolo-[2, 3-a]furano[3, 4-c]carbazole-5, 7-dione as a yellow gum:

MS (ESI<sup>-</sup>) m/e 753 (M-H)<sup>-</sup>.

10 To this crude gum was added ammonium acetate (1.0 g, 13 mmol) and the mixture was heated (oil bath) to reflux for 3 h. The cooled mixture was partitioned with ethyl acetate-water and the organic phase was separated, washed (brine), dried (Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) and evaporated to give crude 2, 3, 9, 10-tetrafluoro-12-[2, 3-di-O-benzyl-4-deoxy-5-C-(hydroxymethyl)-β-D-glucopyran-osyl]-indolo[2, 3-a]pyrrolo[3, 4-c]carbazole-5, 7-dione (0.025 g). This material was immediately taken up in 8 mL of methanol-chloroform (1:1), 10% palladium on charcoal (0.025 g) was added and the mixture was hydrogenated at 1 atm for 20 h. The resulting mixture was filtered (Celite), the filtrate was concentrated *in vacuo* and the residue was chromatographed (hexane-THF, 1:1) to afford the title compound

20 (0.007 g, 7% overall) as a yellow solid:

IR (KBr) 3280, 1716, 1700, 1476, 1320 cm<sup>-1</sup>;

<sup>1</sup>H NMR (THF-d<sub>6</sub>, 400 MHz) δ 12.05 (s, 1H), 10.08 (s, 1H), 9.14 (dd, J=11.2, 8.5 Hz, 1H), 9.03 (dd, J=11.2, 8.4 Hz, 1H), 7.76 (dd, J=11.2, 6.6 Hz, 1H), 7.51 (dd, J=10.9, 6.8 Hz, 1H), 6.20 (d, J=9.2 Hz, 1H), 5.68 (m, 1H), 4.48-4.39 (m, 2H),

25 4.21-4.05 (m, 2H), 4.00 (dd, J=10.9, 4.3 Hz, 1H), 3.90 (dd, J=11.9, 5.8 Hz, 1H), 3.82-3.76 (m, 1H), 3.67-3.60 (m, 2H), 2.14 (dd, J= 13.7, 5.3 Hz, 1H), 1.79-1.75 (m, 1H).

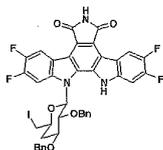
MS (ESI<sup>-</sup>) m/e 572 (M-H)<sup>-</sup>.

WO 02/28874

PCT/US01/42405

HPLC: 95.2% (320 nm).

5 **Example 2:** 2,3,9,10-Tetrafluoro-12-(2,3-di-O-benzyl-4-deoxy-6-iodo-β-D-glucopyranosyl)-6,7,12,13-tetrahydro(5H)indolo[2,3-a]pyrrolo[3,4-c]carbazole-5,7-dione



A mixture of 2,3,9,10-tetrafluoro-12-(2,3-di-O-benzyl-4-deoxy-β-D-glucopyranosyl)-6,7,12,13-tetrahydro(5H)indolo[2,3-a]pyrrolo[3,4-c]carbazole-5,7-dione (2.00 g, 2.76 mmol) and freshly activated and pulverized 10 4A molecular sieves (0.60 g) in 100 mL of dichloromethane was cooled at 5°C under Ar and triethylamine (0.77 mL, 5.52 mmol), DMAP (0.20 g, 1.64 mmol) and methanesulfonyl chloride (0.32 mL, 4.14 mmol) were added sequentially. The mixture was stirred at the same temperature for 2 h and then it was filtered and the filter-cake was washed with ethyl acetate. The filtrate was diluted with 15 ethyl acetate (200 mL) and ether (50 mL) and then it was washed (H<sub>2</sub>O x2, brine), dried (MgSO<sub>4</sub>) and evaporated to give a yellow glass. This material was taken up in 100 mL of acetone, NaI ( ) was added and the mixture was heated to reflux under Ar for 18 h. The cooled mixture was then evaporated to dryness and the residue was taken up in 10 mL of ethyl acetate, washed (H<sub>2</sub>O x2, brine) dried 20 (MgSO<sub>4</sub>) and evaporated. The resulting solid was chromatographed (SiO<sub>2</sub>/2-32% ethyl acetate-hexane) to give the title compound (0.90 g, 39%) as an amorphous yellow solid:

<sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz) δ 10.17 (s, 1H), 9.10 (dd, J= 10.6, 8.4 Hz, 1H), 9.02 (dd, J= 10.6, 8.5 Hz, 1H), 7.55 (m, 2H), 7.35 (m, 6H), 6.92 (t, J= 7.4 Hz, 1H),

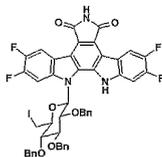
WO 02/28874

PCT/US01/42405

6.76 (t, J= 7.6 Hz, 2H), 6.20 (d, J= 7.6 Hz, 2H), 5.75 (d, J= 9.2 Hz, 1H), 4.77 and 4.71 (ab q, J= 11.5 Hz, 2H), 4.13 (m, 2H), 3.99 (t, J= 8.7 Hz, 1H), 3.80 (m, 2H), 3.63 (d, J= 9.0 Hz, 1H), 3.48 (d, J= 10.8 Hz, 1H), 2.42 (m, 1H), 2.32 (m, 1H).  
MS (ESI<sup>-</sup>) m/e 832 (M-H)<sup>-</sup>.

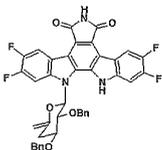
5

**Example 3:** 2,3,9,10-Tetrafluoro-12-(2,3,4-tri-O-benzyl-6-iodo-β-D-glucopyranosyl)-6,7,12,13-tetrahydro(5H)indolo[2,3-a]pyrrolo[3,4-c]carbazole-5,7-dione



- 10 Prepared as described for **Example 2** as a yellow solid in 69% yield:  
<sup>1</sup>H NMR (acetone-d<sub>6</sub>, 400 MHz) δ 10.13 (s, 1H), 9.03 (dd, J= 10.6, 8.3 Hz, 1H), 8.95 (dd, J= 10.6, 8.3 Hz, 1H), 7.85 (s, 1H), 7.52 (dd, J= 10.2, 6.5 Hz, 1H), 7.48-7.29 (m, 11H), 6.95 (t, J= 7.4 Hz, 1H), 6.80 (t, J= 7.6 Hz, 2H), 6.16 (d, J= 7.2 Hz, 2H), 5.84 (d, J= 8.5 Hz, 1H), 5.62 (dd, J= 5.9, 1.9 Hz, 2H), 5.16 and 5.05 (ab q, J= 10.7 Hz, 2H), 4.90 (s, 2H), 4.15-3.67 (m, 5H), 3.24 (d, J= 10.6 Hz, 1H).  
MS (ESI<sup>-</sup>) m/e 938 (M-H)<sup>-</sup>.

- 15 **Example 4:** 2,3,9,10-Tetrafluoro-12-(2,3-di-O-benzyl-4,6-dideoxy-5,6-anhydro-β-D-glucopyranosyl)-6,7,12,13-tetrahydro(5H)indolo[2,3-a]pyrrolo[3,4-c]carbazole-5,7-dione



WO 02/28874

PCT/US01/42405

To an ice-cold solution of 2,3,9,10-tetrafluoro-12-(2,3-di-O-benzyl-4-deoxy-6-iodo- $\beta$ -D-glucopyranosyl)-6,7,12,13-tetrahydro(5*H*)indolo[2,3-*a*]pyrrolo[3,4-*c*]carbazole-5,7-dione (0.500 g, 0.60 mmol) in 20 mL of dry THF was added DBU (0.27 mL, 1.80 mmol) and the solution was kept at 5°C for 2 h.

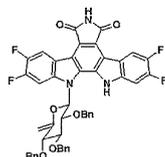
- 5 The cooling bath was then removed and stirring was continued at room temperature for 16 h. Another portion of DBU (0.27 mL, 1.80 mmol) was then added and the reaction was allowed to continue for another 24 h. A further portion of DBU (0.27 mL, 1.80 mmol) was added and stirring was continued for an additional 24 h. The resulting mixture was diluted with ethyl acetate and then
- 10 it was washed (1 N HCl x2, H<sub>2</sub>O x2, 1 M NaHCO<sub>3</sub> x2, H<sub>2</sub>O, brine), dried (MgSO<sub>4</sub>) and evaporated to give a gum. Flash chromatography (SiO<sub>2</sub>/2-16% ethyl acetate-hexane) afforded the title compound (0.297 g, 70%) as a yellow solid:

- <sup>1</sup>H NMR (acetone-d<sub>6</sub>, 400 MHz)  $\delta$  9.11 (dd, J= 11.0, 8.5 Hz, 1H), 8.95 (dd, J= 11.0, 8.5 Hz, 1H), 7.94 (m, 1H), 7.46 (m, 2H), 7.37 (m, 4H), 6.84 (t, J= 7.3 Hz, 1H), 6.69 (m, 2H), 6.57 (d, J= 8.5 Hz, 1H), 6.43 (br s, 2H), 4.92 (d, J= 11.4 Hz, 1H), 4.74 (d, J= 11.4 Hz, 1H), 4.69 (s, 1H), 4.58 (s, 1H), 4.40 (d, J= 11.8 Hz, 1H), 4.26 (d, J= 5.5 Hz, 2H), 3.99 (d, J= 11.8 Hz, 1H), 3.25 (m, 1H).

MS (ESI<sup>-</sup>) m/e 704 (M-H)<sup>-</sup>.

20

**Example 5:** 2,3,9,10-Tetrafluoro-12-(2,3,4-tri-O-benzyl-6-deoxy-5,6-anhydro- $\beta$ -D-glucopyranosyl)-6,7,12,13-tetrahydro(5*H*)indolo[2,3-*a*]pyrrolo[3,4-*c*]carbazole-5,7-dione



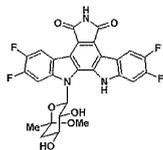
WO 02/28874

PCT/US01/42405

Prepared as described for **Example 4** as a yellow solid in 78% yield:

<sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz) δ 9.38 (s, 1H), 9.13 (t, J=9.3 Hz, 1H), 8.99 (t, J=9.3 Hz, 1H), 7.56-7.41 (m, 6H), 7.29 (m, 2H), 6.90 (t, J=7.1 Hz, 1H), 6.74 (t, J=7.5 Hz, 2H), 6.68 (d, J= 7.9 Hz, 1H), 6.43 (d, J= 7.2 Hz, 3H), 5.06 (m, 2H), 4.84 (d, J= 11.6 Hz, 1H), 4.74 (d, J= 1.3 Hz, 1H), 4.68 (d, J= 10.1 Hz, 1H), 4.58-4.54 (m, 2H), 4.19 (m, 1H), 3.94 (d, J= 11.4 Hz, 1H).  
MS (ESI<sup>-</sup>) m/e 810 (M-H)<sup>-</sup>.

**Example 6:** 2,3,9,10-Tetrafluoro-12-(4,6-dideoxy-5-methoxy-β-D-glucopyranosyl)-6,7,12,13-tetrahydro(5H)indolo[2,3-a]pyrrolo[3,4-c]carbazole-5,7-dione



A solution of 2,3,9,10-tetrafluoro-12-(2,3-di-O-benzyl-4,6-dideoxy-5,6-anhydro-β-D-glucopyranosyl)-6,7,12,13-tetrahydro(5H)indolo[2,3-a]pyrrolo[3,4-c]carbazole-5,7-dione (0.100 g, 0.14 mmol) in 10 mL of dichloromethane was cooled at -78°C under Ar and a solution of BBr<sub>3</sub> (1 M in CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, 1.12 mL, 1.12 mmol) was added. The reaction mixture was kept at -78°C for 1 h and then it was quenched with methanol (1 mL) and subsequently evaporated to dryness. The resulting residue was purified by prep. tlc (20 cm x 20 cm x 0.5 mm SiO<sub>2</sub> plates/THF-hexane, 1:1; triple development) to give the title compound (0.064 g, 87%) as a yellow solid:

IR (KBr) 1752, 1717, 1476 cm<sup>-1</sup>.

<sup>1</sup>H NMR (THF-d<sub>8</sub>, 400 MHz) δ 10.42 (s, 1H), 10.15 (br s, 1H), 9.16 (m, 1H), 9.05 (m, 1H), 7.83-7.55 (m, 2H), 6.23 (d, J= 9.4 Hz, 0.3H), 6.03 (d, J= 9.0 Hz, 0.7H),

WO 02/28874

PCT/US01/42405

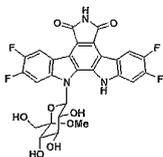
4.74-4.26 (m, 2H), 4.12 (m, 1H), 3.77 (m, 1H), 3.45 (s, 3H), 2.35-2.00 (m, 2H),  
1.88 (s, 3H).

MS (ESI<sup>-</sup>) m/e 556 (M-H)<sup>-</sup>.

HPLC: 99.1% (320 nm).

5

**Example 7:** 2,3,9,10-Tetrafluoro-12-(5-methoxy-β-D-glucopyranosyl)-6,7,12,13-tetrahydro(5H)indolo[2,3-a]pyrrolo[3,4-c]carbazole-5,7-dione



To a solution of 2,3,9,10-tetrafluoro-12-(2,3,4-tri-O-benzyl-6-deoxy-5,6-anhydro-β-D-glucopyranosyl)-6,7,12,13-tetrahydro(5H)indolo[2,3-a]pyrrolo[3,4-c]carbazole-5,7-dione (0.160 g, 0.20 mmol) in 5 mL of dichloromethane, at 0°C under Ar, was added an ice-cold solution of dimethyldioxirane (ca. 0.1 M in acetone, 6.0 mL, 0.60 mmol). The resulting mixture was kept at 0°C for 1.5 h and then it was evaporated *in vacuo* to give a yellow gum.

A portion of this gum (0.020 g, 0.024 mmol) was taken up in dichloromethane (2 mL) and then zinc chloride (1 M in diethyl ether, 0.050 mL, 0.050 mmol) was added, followed by methanol (0.10 mL). The resulting mixture was stirred at room temperature for 18 h and then it was evaporated to dryness to give a yellow gum: MS (ESI<sup>-</sup>) m/e 858 (M-H)<sup>-</sup>.

The crude gum was taken up in methanol (5 mL), Pearlman's catalyst (0.010 g) was added and the mixture was hydrogenated at 1 atm for 2 h. The mixture was then filtered and the filter-cake was washed with THF. The filtrate was then evaporated and the residue purified by prep tlc (20 cm x 20 cm x 0.5

WO 02/28874

PCT/US01/42405

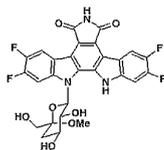
mm SiO<sub>2</sub> plates/THF-hexane, 4:1) to give the title compound (0.00058 g, 4% overall yield) as a yellow solid:

<sup>1</sup>H NMR (acetone-d<sub>6</sub>, 400 MHz) δ 9.13 (t, J= 11.3 Hz, 1H), 9.00 (t, J= 11.2 Hz, 1H), 7.96 (m, 1H), 7.61 (dd, J= 6.8, 6.5 Hz, 1H), 6.19 (d, J= 9.3 Hz, 1H), 4.30 (d, J= 9.4 Hz, 1H), 4.21 (d, J= 10.8 Hz, 1H), 4.13 (d, J= 10.5 Hz, 1H), 4.03 (t, J= 8.9 Hz, 1H), 3.83 (t, J= 8.7 Hz, 1H), 3.29 (s, 3H).

MS (ESI<sup>-</sup>) m/e 588 (M-H)<sup>-</sup>.

HPLC: 95.8% (320 nm).

10 **Example 8:** 2,3,9,10-Tetrafluoro-12-(4-deoxy-5-methoxy-β-D-glucopyranosyl)-6,7,12,13-tetrahydro(5H)indolo[2,3-a]pyrrolo[3,4-c]carbazole-5,7-dione



To a solution of 2,3,9,10-tetrafluoro-12-(2,3,6-tri-O-benzyl-β-D-galactopyranosyl)-6,7,12,13-tetrahydro(5H)indolo[2,3-a]pyrrolo[3,4-c]carbazole-5,7-dione (0.606 g, 0.73 mmol) in 20 mL of dry dichloromethane was added (diethylamino)sulfur trifluoride (DAST) (0.50 mL, 3.66 mmol) dropwise at -45°C under Ar. The reaction mixture was then stirred at room temperature for 1 h before being recooled at -45°C and quenched with MeOH (2 mL). The mixture was evaporated and the residue was filtered through a plug of silica gel (elution with hexane-ethyl acetate, 1:1). The filtrate was evaporated and the residue was taken up in 20 mL of CHCl<sub>3</sub>-MeOH (1:1), to which was added a solution of anhydrous HCl (4 M in dioxane, 2.0 mL, 8.0 mmol) and 20% Pd(OH)<sub>2</sub>/C (0.60 g). The resulting mixture was hydrogenated (balloon pressure)

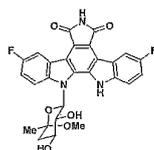
WO 02/28874

PCT/US01/42405

at room temperature for 4 days and then it was filtered through a plug of silica gel (elution with THF). The filtrate was evaporated and the residue was chromatographed (SiO<sub>2</sub>/hexane-THF, 1:1) to give the title compound (0.080 g, 20%) as a yellow solid:

- 5 <sup>1</sup>H NMR (DMSO-d<sub>6</sub>, 400 MHz) δ .11.77 (s, 1H), 11.29 (s, 1H), 9.01 (dd, J= 11.0, .5 Hz, 1H), 8.93 (dd, J= 11.0, 8.5 Hz, 1H), 8.17 (dd, J= 11.9, 6.8 Hz, 1H), 7.64 (dd, J= 11.0, 7.1 Hz, 1H), 6.63 (m, 1H), 5.97 (d, J= 9.1 Hz, 1H), 5.46 (d, J= 5.8 Hz, 1H), 4.97 (d, J= 5.8 Hz, 1H), 4.01 (m, 2H), 3.58 (m, 2H), 3.46 (s, 3H), 2.43 (m, 1H), 2.08 (m, 1H).
- 10 MS (ESI<sup>-</sup>) m/e 572 (M-H)<sup>-</sup>.  
HPLC: 88.1% (320 nm).

**Example 9:** 3,9-Difluoro-12-(4,6-dideoxy-5-methoxy-β-D-glucopyranosyl)-6,7,12,13-tetrahydro(5H)indolo[2,3-a]pyrrolo[3,4-c]carbazole-5,7-dione



15

- To a solution of 3,9-difluoro-12-(2,3-di-O-benzyl-4,6-dideoxy-5,6-anhydro-β-D-glucopyranosyl)-6,7,12,13-tetrahydro(5H)indolo[2,3-a]pyrrolo[3,4-c]carbazole-5,7-dione (0.091 g, 0.136 mmol) in 10 mL of methanol was added *p*-toluenesulfonic acid monohydrate (0.002 g, 0.01 mmol) and the mixture was stirred at room temperature for 17 h. Triethylamine (2 drops) was then added and the mixture was evaporated to dryness. The residue was taken up in dichloromethane and the solution was applied to a short silica gel column. Elution with dichloromethane-acetonitrile (95:5) afforded pure 3,9-difluoro-12-(2,3-di-O-benzyl-4,6-dideoxy-5-methoxy-β-D-glucopyranosyl)-6,7,12,13-
- 20

WO 02/28874

PCT/US01/42405

tetrahydro(5*H*)indolo[2,3-*a*]pyrrolo[3,4-*c*]carbazole-5,7-dione (0.075 g, 79%) as a yellow solid: MS (ESI<sup>-</sup>) *m/e* 700 (M-H)<sup>-</sup>.

A mixture of this compound and 20% Pd(OH)<sub>2</sub>/C (0.114 g) in 20 mL of methanol was hydrogenated at 1 atm pressure for 18 h. The mixture was then filtered (Celite) and the filter-cake was washed with methanol and then THF. The filtrate was evaporated and the resulting yellow glass was purified on an LH-20 column, eluting with methanol. This afforded a residue which was triturated with a minimum volume of methanol to give the title compound (0.035 g, 67%) as an orange-yellow powder:

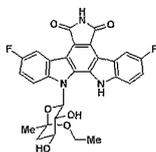
<sup>1</sup>H NMR (THF-*d*<sub>8</sub>, 400 MHz) δ 10.82 (s, 0.35H), 10.42 (s, 0.65H), 10.14 (s, 0.65H), 10.09 (s, 0.35H), 9.07 (dd, *J*= 2.5, 9.6 Hz, 0.35H), 9.03 (dd, *J*= 2.9, 9.6 Hz, 0.65H), 8.97 (dd, *J*= 2.5, 9.6 Hz, 0.65H), 8.93 (dd, *J*= 2.5, 9.6 Hz, 0.35H), 7.94 (dd, *J*= 4.3, 8.6 Hz, 0.35H), 7.78 (dd, *J*= 4.1, 9.1 Hz, 0.65H), 7.72 (dd, *J*= 4.3, 9.0 Hz, 0.65H), 7.67 (dd, *J*= 4.1, 8.9 Hz, 0.35H), 7.37-7.24 (m, 2H), 6.28 (dd, *J*= 2.0, 9.1 Hz, 0.35H), 6.13 (d, *J*= 9.1 Hz, 0.65H), 5.53 (d, *J*= 5.1 Hz, 0.35H), 4.76 (d, *J*= 4.1 Hz, 0.65H), 4.61 (d, *J*= 5.0 Hz, 0.65H), 4.51 (d, *J*= 3.9 Hz, 0.35H), 4.33-3.68 (m, 2H), 3.44 (s, 3H), 2.50-1.82 (m, 2H), 1.79 (s, 3H).

MS (ESI<sup>-</sup>) *m/e* 520 (M-H)<sup>-</sup>.

HPLC: 100% (320 nm).

20

**Example 10:** 3,9-Difluoro-12-(4,6-dideoxy-5-ethoxy-δ-D-glucopyranosyl)-6,7,12,13-tetrahydro(5*H*)indolo[2,3-*a*]pyrrolo[3,4-*c*]carbazole-5,7-dione



WO 02/28874

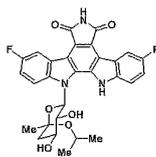
PCT/US01/42405

Prepared as for **Example 9**, except that ethanol was used as reaction solvent throughout. Final isolation was as a yellow lyophilate in 37% overall yield:

- <sup>1</sup>H NMR (THF-d<sub>8</sub>, 400 MHz) δ 10.53 (s, 0.3H), 10.46 (s, 0.7H), 10.12 (s, 0.7H), 10.07 (s, 0.3H), 9.03 (dd, J=2.5, 9.7 Hz, 1H), 8.91 (dd, J=2.6, 9.8 Hz, 1H), 7.92 (dd, J=4.4, 9.0 Hz, 0.3H), 7.68 (m, 1.7H), 7.54 (dd, J=3.2, 5.8 Hz, 0.3H), 7.37-7.26 (m, 1.7H), 6.33 (d, J=9.1 Hz, 0.3H), 6.15 (d, J=9.1 Hz, 0.7H), 4.75 (d, J=4.1 Hz, 1H), 4.61 (d, J=5.1 Hz, 1H), 4.23-3.64 (m, 4H), 2.46-1.88 (m, 2H), 1.80 (s, 3H), 1.33 (t, J=7.1 Hz, 3H).
- 10 MS (ESI<sup>-</sup>) m/e 534 (M-H)<sup>-</sup>.  
HPLC: 97.9% (320 nm).

**Example 11:** 3,9-Difluoro-12-(4,6-dideoxy-5-isopropoxy-β-D-glucopyranosyl)-6,7,12,13-tetrahydro(5H)indolo[2,3-a]pyrrolo[3,4-c]carbazole-5,7-dione

15



Prepared as for **Example 9**, except that isopropanol was used as reaction solvent throughout. Final isolation was as a yellow lyophilate in 43% overall yield:

- 20 <sup>1</sup>H NMR (THF-d<sub>8</sub>, 400 MHz) δ 10.66 (s, 0.75H), 10.63 (s, 0.25H), 10.12 (s, 0.75H), 10.08 (s, 0.25H), 9.03 (dd, J=2.7, 9.6 Hz, 1H), 8.91 (dd, J=2.6, 9.7 Hz, 1H), 7.71 (dd, J=3.9, 9.0 Hz, 0.75H), 7.67 (m, 1.25H), 7.53 (dd, J=3.0, 5.6 Hz, 0.75H), 7.33 (m, 1.25H), 6.48 (d, J=9.3 Hz, 0.25H), 6.28 (d, J=9.2 Hz, 0.75H), 4.89 (d, J=4.0 Hz, 1H), 4.69 (d, J=5.0 Hz, 1H), 4.24-3.86 (m, 3H), 2.43-2.16 (m,

WO 02/28874

PCT/US01/42405

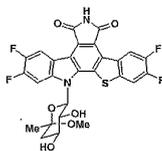
2H), 1.85 (s, 3H), 1.25 (d, J= 6.0 Hz, 2.25H), 1.21 (d, J= 6.0 Hz, 2.25H), 1.07 (d, J= 6.1 Hz, 0.75H), 0.97 (d, J= 0.75H).

MS (ESI<sup>-</sup>) m/e 548 (M-H)<sup>-</sup>.

HPLC: 94.9% (320 nm).

5

**Example 12:** 2, 3, 9, 10-Tetrafluoro-12-(4, 6-dideoxy-5-methoxy- $\delta$ -D-glucopyranosyl)-6, 7, 12, 13-tetrahydro(5H)benzof[thieno[2, 3-a]pyrrolo[3, 4-c]carbazole-5, 7-dione



10

Prepared as for **Example 9** and isolated as a yellow lyophilate in 70% overall yield:

IR (KBr) 3433, 1709, 1475 cm<sup>-1</sup>.

<sup>1</sup>H NMR (THF-d<sub>8</sub>, 400 MHz)  $\delta$  10.52 (s, 1H), 10.06 (dd, J= 8.1, 13.1 Hz, 1H),

15 9.28 (dd, J= 8.6, 11.1 Hz, 1H), 8.11 (dd, J= 7.6, 10.1 Hz, 1H), 7.90 (dd, J= 7.1,

11.1 Hz, 1H), 6.55 (d, J= 8.6 Hz, 1H), 4.78 (d, J= 4.5 Hz, 1H), 4.55 (br s, 1H),

4.20-4.02 (m, 2H), 3.41 (s, 3H), 2.33-1.98 (m, 2H), 1.55 (s, 3H).

MS (ESI<sup>-</sup>) m/e 573 (M-H)<sup>-</sup>.

HPLC: 99.5% (320 nm).

20

#### Biological Activity

The compounds of the present invention are useful pharmacologic agents with anti-tumor properties. With topoisomerase I active properties, the compounds can be useful as anti-tumor agents. In recent years, numerous reports  
25 have appeared in the literature suggesting that the role of topoisomerase I

WO 02/28874

PCT/US01/42405

targeting drugs is to stabilize a covalent DNA-topoisomerase I complex to yield enzyme-linked DNA single-strand breaks. From a pharmacologic standpoint, there are advantages to target Topoisomerase I; first, its occurrence at relatively high levels in both proliferating and quiescent cells suggests that its function may be independent of cellular growth rate, and; second, topoisomerase I active agents may be effective in slow-growing as well as rapidly proliferating tumors. Cells from colon tumors have been shown to contain higher intracellular levels of topoisomerase I than normal mucosal cells, suggesting the possibility for a selective cytotoxic advantage. Thus, inhibition of proliferation of tumor cells by compounds of the present invention was initially demonstrated by effective inhibition of human topoisomerase I. Certain compounds of the invention, usually having EC<sub>50</sub> values less than 10 μM in the topoisomerase I assay, were also tested in an inhibition of human/mouse tumor cell proliferation assay.

15 Topoisomerase I Activity (*In Vitro*)

Topoisomerase I activity was measured as described below. The procedure for assaying compound-induced, topoisomerase I-mediated single strand breaks in DNA was essentially that described by Hsiang, *et al.*, (*J. Biol. Chem.* 1985, 260,14873-14878). Samples dissolved in 100% DMSO as either 10 μM or 10 mg/ml solutions, unless otherwise stated, were diluted in Tris-EDTA buffer. Marine bacteriophage PM2 DNA (Boehringer Mannheim) was also diluted in Tris-EDTA buffer to a concentration of 0.02 μg/μl. Different dilutions of compound being evaluated were mixed with diluted DNA and this mixture was added to 1000 unit (one unit of enzyme activity is defined as the amount capable of relaxing 100 ng of supercoiled DNA in approximately 30 minutes at 37°C) aliquots of purified human topoisomerase I (Topogen) in 2X reaction buffer to start the reaction. The compound - DNA - enzyme mixture was incubated for 30 minutes at 37°C before stopping the reaction with warm stop buffer containing

WO 02/28874

PCT/US01/42405

sodium dodecyl sulfate and proteinase K (Sigma). These mixtures were allowed to incubate at 37°C for another 10 minutes, at which time the mixtures were removed from the waterbath and extracted with a 24:1 mixture of chloroform/isoamyl alcohol. Following centrifugation, aliquots of the aqueous phases were placed in wells of a 0.9% agarose (SeaKem) gel in Tris-borate buffer containing 0.5 µg/ml of ethidium bromide and subjected to electrophoresis for 15 hours to separate the different topological isomers and nicked and broken DNAs. After destaining the gel in water, the ethidium bromide stained DNA reaction products were visualized by exposing the gel to UV irradiation. Negatives of photographs of the irradiated gels were scanned with a densitometer and areas under the peaks were calculated in order to obtain percent single strand DNA break formation for each sample. A median effective concentration (EC<sub>50</sub>) was obtained for each compound by interpolation between points of the resulting dose-effect curve which defines the potency of the compound for its effect in inducing topoisomerase I-mediated single strand breaks in DNA. The topoisomerase I activity for selected compounds of the present invention is shown below in Table I.

Table I

Example No.	EC <sub>50</sub> (µM)
1	0.04
6	0.07
7	0.27
8	0.05

20

The novel compounds of the present invention, as exemplified by substituted sugar derivatives in Table I, show significant topoisomerase I activity.

WO 02/28874

PCT/US01/42405

Cell-Based Cytotoxicity Activity (*In Vitro*)

The proliferation inhibition activity against murine P388 cell line was measured as follows. Evaluation of a soluble tetrazolium/formazan assay for cell growth and drug sensitivity in culture, using human and other tumor cell lines, was done according to the procedure described in *Cancer Res.* 1988, 48, 4827-4833. Cells were plated at 4000 cells/well in 96 well microtiter plates and 24 h later drugs were added and serially diluted. The cells were incubated at 37°C for 72 h, at which time a tetrazolium dye, XTT, containing phenazine methosulfate was added. A dehydrogenase enzyme in live cells reduced the XTT to a form that absorbs light at 450 nm, which could be quantitated spectrophotometrically. The greater the absorbance the greater the number of live cells. The results are expressed as an IC<sub>50</sub>, which is the drug concentration required to inhibit cell proliferation (*i.e.*, absorbance at 450 nm) to 50% of that of untreated control cells. The results for selected compounds of the present invention are shown in Table II.

Table II

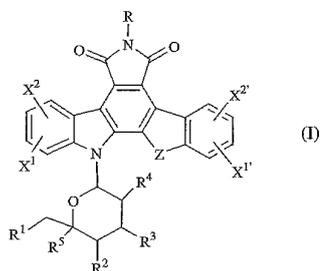
Example No.	IC <sub>50</sub> (μM)
1	0.035
6	0.050
7	0.25
8	0.035
9	0.007
10	0.055
11	0.20
12	0.069

WO 02/28874

PCT/US01/42405

**What is claimed is:**

1. A compound of Formula (I) or a pharmaceutically acceptable salt or solvate thereof, useful for inhibiting topoisomerase I and the proliferation of
- 5 tumor cells,



wherein,

- $X^1$ ,  $X^{1'}$ ,  $X^2$  and  $X^{2'}$  are independently selected from the group consisting of hydrogen, halogen, cyano,  $OR^6$ ,  $-CF_3$ , alkylcarbonyl,  $C_{1-7}$ alkyl, nitro,  $NR^6R^7$ ,  $SR^6$  and  $C(O)OR^6$ ; wherein said  $C_{1-7}$ alkyl is optionally substituted with one or more substituents selected from the group consisting of halogen, CN,  $SR^6$ ,  $OR^6$  and  $NR^6R^7$ ;
- 10  $Z$  is selected from the group consisting of NH, O and S;
- $R$  is hydrogen, OH,  $OC_{1-7}$ alkyl,  $NH_2$ ,  $N(C_{1-3}alkyl)_2$  or  $C_{1-7}$ alkyl, wherein said  $C_{1-7}$ alkyl is optionally substituted with one or more substituents selected from the group consisting of halogen, CN,  $SR^6$ ,  $OR^6$  and  $NR^6R^7$ ;
- 15

WO 02/28874

PCT/US01/42405

R<sup>1</sup>, R<sup>2</sup>, R<sup>3</sup>, and R<sup>4</sup> are each independently selected from the group consisting of hydrogen, C<sub>1-7</sub>alkyl, C<sub>3-7</sub>cycloalkyl, halogen, azido, NR<sup>6</sup>R<sup>7</sup>, NHC(O)NR<sup>6</sup>R<sup>7</sup>, NHC(O)OR<sup>6</sup>, C(O)OR<sup>6</sup>, SR<sup>6</sup> and OR<sup>6</sup>, wherein said C<sub>1-7</sub>alkyl is optionally substituted with one or more substituents selected from the group consisting of halogen, CN, SR<sup>6</sup>, OR<sup>6</sup> and NR<sup>6</sup>R<sup>7</sup>; and

R<sup>5</sup> is selected from the group consisting of C<sub>1-7</sub>alkyl, C<sub>3-7</sub>cycloalkyl, halogen, azido, NR<sup>6</sup>R<sup>7</sup>, NHC(O)NR<sup>6</sup>R<sup>7</sup>, NHC(O)OR<sup>6</sup>, C(O)OR<sup>6</sup>, SR<sup>6</sup> and OR<sup>6</sup>, wherein said C<sub>1-7</sub>alkyl is optionally substituted with one or more substituents selected from the group consisting of halogen, CN, SR<sup>6</sup>, OR<sup>6</sup> and NR<sup>6</sup>R<sup>7</sup>; and

R<sup>6</sup> and R<sup>7</sup> are independently selected from the group consisting of hydrogen, C<sub>1-7</sub>alkyl and C<sub>3-7</sub>cycloalkyl, wherein said C<sub>1-7</sub>alkyl is optionally substituted with one or more substituents selected from the group consisting of halogen, CN, OH, OC<sub>1-3</sub>alkyl, NH<sub>2</sub> or N(C<sub>1-3</sub>alkyl)<sub>2</sub>; or

R<sup>6</sup> and R<sup>7</sup> together with the nitrogen atom to which they are attached form a non-aromatic 5-8 membered heterocycle containing one or two of the same or different heteroatoms selected from the group consisting of O, N and S.

## 【 国際公開パンフレット ( コレクション ) 】

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

(19) World Intellectual Property Organization  
International Bureau(43) International Publication Date  
11 April 2002 (11.04.2002)

PCT

(10) International Publication Number  
WO 02/028874 A3

- (51) International Patent Classification: C07H 19/23, H3T 1G1 (CA), BACHAND, Carol [CA/CA]; 119 PL A61K 31/7056, A61P 35/00 Mercure, Candiac, Québec J5R 1B1 (CA).
- (21) International Application Number: PCT/US01/42405 (74) Agents: PEIST, Kenneth et al.; Bristol-Myers Squibb Company, P.O. Box 4000, Princeton, NJ 08543-4000 (US).
- (22) International Filing Date: 28 September 2001 (28.09.2001) (81) Designated States (national): AU, AG, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EC, 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, PH, PL, PT, RO, RU, SD, SE, SG, SI, SK, SL, TJ, TM, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VN, YU, ZA, ZW.
- (25) Filing Language: English (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, HU, IT, LU, MC, NL, PT, SE, TR), OAPI patent (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).
- (26) Publication Language: English
- (30) Priority Data: 60/238,712 6 October 2000 (06.10.2000) US
- (71) Applicants (for all designated States except US): BRISTOL-MYERS SQUIBB COMPANY [US/US]; P. O. Box 4000, Route 206 and Provincetown Road, Princeton, NJ 08543-4000 (US). RUEDIGER, Edward, H. [CA/CA]; 133 St. Charles Road, Greenfield Park, Québec J4V 2K3 (CA). BEAULIEU, Francis [CA/CA]; 370 Leotable Dubuc, Laprairie, Québec J5R 5M4 (CA).
- (72) Inventor: BALASUBRAMANIAN, Neekakantan [US/US]; 26 Horsebarn Lane, Madison, CT 06443 (US).
- (72) Inventors and (75) Inventors/Applicants (for US only): MAHLER, Mikael [CA/CA]; 50 Willowale, App. 205, Outremont, Québec
- Published: with international search report
- (88) Date of publication of the international search report: 31 October 2002



WO 02/028874 A3

(54) Title: TUMOR PROLIFERATION INHIBITORS

(57) Abstract: The present invention concerns novel sugar derivatives of indolocarbazoles and pharmaceutical formulations thereof which exhibit topoisomerase-I activity and are useful in inhibiting the proliferation of tumor cells.

## 【 国際調査報告 】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT		International Application No. PC17/US 01/42405
<b>A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER</b> IPC 7 C07H19/23 A61K31/7056 A61P35/00		
According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC		
<b>B. FIELDS SEARCHED</b> Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) IPC 7 C07H 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) EPO-Internal, WPI Data, CHEM ABS Data		
<b>C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT</b>		
Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	WO 98 07433 A (SQUIBB BRISTOL MYERS CO) 26 February 1998 (1998-02-26) the whole document	1
<input type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of box C.		
<input checked="" type="checkbox"/> 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 ** 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 which 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	Date of mailing of the international search report	
9 July 2002	17/07/2002	
Name and mailing address of the ISA European Patent Office, P. B. 5818 Patentlaan 2 NL - 2201 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Tx: 31 651 epo nl, Fax: (+31-70) 340-3016	Authorized officer  de Nooy, A	

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International Application No.  
PC1/US 01/42405

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 9807433	A	26-02-1998	AT 210988 T 15-01-2002
			AU 710669 B2 23-09-1999
			AU 4155897 A 06-03-1998
			BR 9711306 A 17-08-1999
			CN 1228704 A 15-09-1999
			DE 69709407 D1 31-01-2002
			DE 69709407 T2 29-05-2002
			DK 971717 T3 25-03-2002
			EP 0971717 A1 19-01-2000
			HU 9903931 A2 28-03-2000
			JP 2000516250 T 05-12-2000
			NO 990789 A 19-02-1999
			NZ 333536 A 28-10-1999
			PL 331709 A1 02-08-1999
			RU 2167880 C2 27-05-2001
			WO 9807433 A1 26-02-1998

## フロントページの続き

(51) Int.Cl. <sup>7</sup>	F I	テーマコード(参考)
C 0 7 D 495/14	C 0 7 D 495/14	C
C 0 7 H 19/23	C 0 7 H 19/23	

(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, GQ, 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, EC, 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, PH, PL, PT, R O, RU, SD, SE, SG, SI, SK, SL, TJ, TM, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VN, YU, ZA, ZW

(72) 発明者 エドワード・エイチ・リューディガー  
カナダ、ジェイ4ブイ・2ケイ3、ケベック、グリーンフィールド・パーク、セント・チャールズ  
・ロード133番

(72) 発明者 ニーラカント・バラスブラマニアン  
アメリカ合衆国06443コネチカット州マディソン、ホースバーン・レイン26番

(72) 発明者 ミカエル・マーラー  
カナダ、エイチ3ティ・1ジー1、ケベック、ウトルモン、アパルトマン205、ウィローデイル  
50番

(72) 発明者 キャロル・バシャン  
カナダ、ジェイ5アール・1ビー1、ケベック、カンディアク、プラス・メルキュール119番

(72) 発明者 フランシス・ポーリュ  
カナダ、ジェイ5アール・5エム4、ケベック、ラブレイリー、レオタブル・ドゥバク370番

Fターム(参考) 4C050 AA01 AA08 BB04 CC04 DD01 EE03 FF01 GG03 HH02  
4C057 BB02 CC01 DD01 DD03 LL50  
4C071 AA01 AA08 CC02 CC21 EE13 FF03 HH08 JJ06 KK14 LL01  
4C086 AA01 AA02 AA03 CB03 EA11 MA01 MA04 ZB26 ZC41