

(12) NACH DEM VERTRAG ÜBER DIE INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES
PATENTWESENS (PCT) VERÖFFENTLICHTE INTERNATIONALE ANMELDUNG

(19) Weltorganisation für geistiges Eigentum
Internationales Büro



(43) Internationales Veröffentlichungsdatum
24. Juli 2008 (24.07.2008)

PCT

(10) Internationale Veröffentlichungsnummer
WO 2008/086857 A1

(51) Internationale Patentklassifikation:

C07D 249/12 (2006.01) A61K 31/4196 (2006.01)
C07F 9/09 (2006.01) A61P 35/00 (2006.01)
C07H 15/26 (2006.01)

(74) Gemeinsamer Vertreter: MERCK PATENT GMBH;
Frankfurter Strasse 250, 64293 Darmstadt (DE).

(21) Internationales Aktenzeichen: PCT/EP2007/010775

(22) Internationales Anmeldedatum:
11. Dezember 2007 (11.12.2007)

(25) Einreichungssprache: Deutsch

(26) Veröffentlichungssprache: Deutsch

(81) Bestimmungsstaaten (*soweit nicht anders angegeben, für jede verfügbare nationale Schutzrechtsart*): AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KM, KN, KP, KR, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PG, PH, PL, PT, RO, RS, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, SV, SY, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW.

(30) Angaben zur Priorität:
10 2007 002 715 .1 18. Januar 2007 (18.01.2007) DE

(84) Bestimmungsstaaten (*soweit nicht anders angegeben, für jede verfügbare regionale Schutzrechtsart*): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LS, MW, MZ, NA, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), eurasisches (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), europäisches (AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MT, NL, PL, PT, RO, SE, SI, SK, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

(71) Anmelder (*für alle Bestimmungsstaaten mit Ausnahme von US*): MERCK PATENT GMBH [DE/DE]; Frankfurter Strasse 250, 64293 Darmstadt (DE).

(72) Erfinder; und

(75) Erfinder/Anmelder (*nur für US*): EGGENWEILER, Hans-Michael [DE/DE]; Kafkastrasse 4, 64291 Darmstadt (DE). WOLF, Michael [DE/DE]; Nussbaumallee 59, 64297 Darmstadt (DE). BUCHSTALLER, Hans-Peter [AT/DE]; Neckarstrasse 6, 64347 Griesheim (DE). SIRRENBERG, Christian [DE/DE]; Taunusstrasse 10, 64289 Darmstadt (DE).

Veröffentlicht:

- mit internationalem Recherchenbericht
- vor Ablauf der für Änderungen der Ansprüche geltenden Frist; Veröffentlichung wird wiederholt, falls Änderungen eintreffen



WO 2008/086857 A1

(54) Title: TRIAZOLE DERIVATIVE AS AN HSP 90 INHIBITOR

(54) Bezeichnung: TRIAZOLDERIVAT ALS HSP 90 INHIBITOR

(57) Abstract: 5-[4-(2-Methyl-phenyl)-3-hydroxy-4H-[1,2,4]triazol-5-yl]-2,4-dihydroxy- Λ -methyl- Λ -butyl-benzamide is an HSP90 inhibitor and can be used for producing a medicament for treating diseases in which the inhibition, regulation and/or modulation of HSP90 plays a role.

(57) Zusammenfassung: 5-[4-(2-Methyl-phenyl)-3-hydroxy-4H-[1,2,4]triazol-5-yl]-2,4-dihydroxy- Λ -methyl- Λ -butyl-benzamid ist ein HSP90-Inhibitor und kann zur Herstellung eines Arzneimittels zur Behandlung von Krankheiten, bei denen die Hemmung, Regulierung und/oder Modulation von HSP90 eine Rolle spielt, verwendet werden.

TRIAZOLDERIVAT ALS HSP90 INHIBITOR

HINTERGRUND DER ERFINDUNG

Der Erfindung lag die Aufgabe zugrunde, neue Verbindungen mit wertvollen Eigenschaften aufzufinden, insbesondere solche, die zur Herstellung von Arzneimitteln verwendet werden können.

Die vorliegende Erfindung betrifft eine Verbindung, bei denen die Hemmung, Regulierung und/oder Modulation von HSP90 eine Rolle spielt, ferner pharmazeutische Zusammensetzungen, die diese Verbindung enthalten, sowie die Verwendung der Verbindung zur Behandlung von Krankheiten, bei denen HSP90 eine Rolle spielt.

Die korrekte Faltung und Konformation von Proteinen in Zellen wird durch molekulare Chaperone gewährleistet und ist kritisch für die Regulation des Gleichgewichts zwischen Protein Synthese und Degradation. Chaperone sind wichtig für die Regulation vieler zentraler Funktionen von Zellen wie z.B. Zellproliferation und Apoptose (Jolly and Morimoto, 2000; Smith et al., 1998; Smith, 2001).

Hitzeschock-Proteine (heat shock proteins, HSPs)

Die Zellen eines Gewebes reagieren auf äußerlichen Stress wie z.B. Hitze, Hypoxie, oxidativem Stress, oder Giftstoffen wie Schwermetallen oder Alkoholen mit der Aktivierung einer Reihe von Chaperonen, welche unter der Bezeichnung „heat shock proteins“ (HSPs) bekannt sind. Die Aktivierung von HSPs schützt die Zelle gegen Verletzungen, die durch solche Stressfaktoren ausgelöst werden, beschleunigt die Wiederherstellung des physiologischen Zustands und führt zu einem stress-toleranten Zustand der Zelle.

Neben diesem ursprünglich entdeckten durch HSPs vermittelten Schutzmechanismus bei äußerlichem Stress wurden im Laufe der Zeit

weitere wichtige Chaperon-Funktionen für einzelne HSPs auch unter normalen stressfreien Bedingungen beschrieben. So regulieren verschiedene HSPs beispielsweise die korrekte Faltung, die intrazelluläre Lokalisierung und Funktion oder den geregelten Abbau einer Reihe biologisch wichtiger Proteine von Zellen.

HSPs bilden eine Genfamilie mit individuellen Genprodukten, deren Zellulärexpression, Funktion und Lokalisierung in verschiedenen Zellen sich unterscheidet. Die Benennung und Einteilung innerhalb der Familie erfolgt aufgrund ihres Molekulargewichts z.B. HSP27, HSP70, and HSP90.

Einigen menschlichen Krankheiten liegt eine falsche Proteinfaltung zugrunde (siehe Review z.B. Tytell et al., 2001; Smith et al., 1998). Die Entwicklung von Therapien, welche in den Mechanismus der Chaperon abhängigen Proteinfaltung eingreift, könnte daher in solchen Fällen nützlich sein. Beispielsweise führen bei der Alzheimer-Erkrankung, Prionenerkrankungen oder dem Huntington Syndrom falsch gefaltete Proteine zu einer Aggregation von Protein mit neurodegenerativem Verlauf. Durch falsche Proteinfaltung kann auch ein Verlust der Wildtyp-Funktion entstehen, der eine fehlregulierte molekulare und physiologische Funktion zur Folge haben kann.

HSPs wird auch eine grosse Bedeutung bei Tumorerkrankungen beigemessen. Es gibt z.B. Hinweise, dass die Expression bestimmter HSPs im Zusammenhang mit dem Stadium der Progression von Tumoren steht (Martin et al., 2000; Conroy et al., 1996; Kawanishi et al., 1999; Jameel et al., 1992; Hoang et al., 2000; Lebeau et al., 1991).

Die Tatsache, dass HSP90 bei mehreren zentralen onkogenen Signalwegen in der Zelle eine Rolle spielt und gewisse Naturstoffe mit krebshemmender Aktivität HSP90 targetieren, führte zu dem Konzept, dass eine Hemmung der Funktion von HSP90 bei der Behandlung von Tumorerkrankungen sinnvoll wäre.

Ein HSP90 Inhibitor, 17- Allylamino-17-demethoxygeldanamycin (17AAG), ein Derivat von Geldanamycin, befindet sich gegenwärtig in klinischer Prüfung.

HSP90

HSP90 repräsentiert ungefähr 1-2% der gesamten zellulären Proteinsmasse. Es liegt in der Zelle gewöhnlich als Dimer vor und ist mit einer Vielzahl von Proteinen, sogenannten Co-chaperonen assoziiert (siehe z.B. Pratt, 1997). HSP90 ist essentiell für die Vitalität von Zellen (Young et al., 2001) und spielt eine Schlüsselrolle in der Antwort auf zellulären Stress durch Interaktion mit vielen Proteinen, deren native Faltung durch äußerlichen Stress, wie z.B. Hitzeschock, verändert wurde, um die ursprüngliche Faltung wiederherzustellen oder die Aggregation der Proteine zu verhindern (Smith et al., 1998).

Es gibt auch Hinweise, dass HSP90 als Puffer gegen die Auswirkungen von Mutationen eine Bedeutung hat, vermutlich durch die Korrektur falscher Proteinfaltung, die durch die Mutation hervorgerufen wurde (Rutherford and Lindquist, 1998).

Darüber hinaus hat HSP90 auch eine regulatorische Bedeutung. Unter physiologischen Bedingungen spielt HSP90, zusammen mit seinem Homolog im Endoplasmatischen Retikulum, GRP94, eine Rolle im Zellhaushalt, um die Stabilität der Konformation und Reifung verschiedener „client“ Schlüsselproteine zu gewährleisten. Diese können in drei Gruppen unterteilt werden: Rezeptoren für Steroidhormone, Ser/Thro Tyrosinkinasen (z.B. ERBB2, RAF-1, CDK4 und LCK) und einer Sammlung unterschiedlicher Proteine wie z.B. mutiertes p53 oder die katalytische Untereinheit der Telomerase hTERT. Jedes dieser Proteine nimmt eine Schlüsselrolle in der Regulation physiologischer und biochemischer Prozesse von Zellen ein.

Die konservierte HSP90-Familie des Menschen besteht aus vier Genen, dem zytosolischen HSP90 α , der induzierbaren HSP90 β Isoform (Hickey et

al., 1989), dem GRP94 im Endoplasmatischen Retikulum (Argon et al., 1999) und dem HSP75/TRAP1 in der mitochondrialen Matrix (Felts et al., 2000). Es wird angenommen, dass alle Mitglieder der Familie eine ähnliche Wirkweise haben, aber, je nach ihrer Lokalisierung in der Zelle, an unterschiedliche „client“ Proteine binden. Beispielsweise ist ERBB2 ein spezifisches „client“ Protein von GRP94 (Argon et al., 1999), während der Typ1 Rezeptor des Tumornekrosefaktors (TNFR1) oder das Retinoblastom Protein (Rb) als „clients“ von TRAP1 nachgewiesen wurden (Song et al., 1995; Chen et al., 1996).

HSP90 ist an einer Reihe von komplexen Interaktionen mit einer grossen Zahl von „client“ Proteinen und regulatorischen Proteinen beteiligt (Smith, 2001). Obwohl präzise molekulare Details noch nicht geklärt sind, haben biochemische Experimente und Untersuchungen mit Hilfe der Röntgenkristallographie in den letzten Jahren zunehmend Details der Chaperonfunktion von HSP90 entschlüsseln können (Prodromou et al., 1997; Stebbins et al., 1997). Danach ist HSP90 ein ATP-abhängiges molekulares Chaperon (Prodromou et al., 1997), wobei die Dimerisierung wichtig für die ATP Hydrolyse ist. Die Bindung von ATP resultiert in der Formation einer toroidalen Dimerstruktur, bei der die beiden N-terminalen Domänen in engem Kontakt zueinander kommen und einen „switch“ in der Konformation bewirken. (Prodromou and Pearl, 2000).

Bekannte HSP90 Inhibitoren

Die erste Klasse von HSP90 Inhibitoren, die entdeckt wurde, waren Benzochinon-Ansamycine mit den Verbindungen Herbimycin A und Geldanamycin. Ursprünglich wurde mit ihnen die Reversion des malignen Phänotyps bei Fibroblasten nachgewiesen, die durch Transformation mit dem v-Src Onkogen induziert worden war (Uehara et al., 1985).

Später wurde eine starke antitumorale Aktivität in vitro (Schulte et al., 1998) und in vivo in Tiermodellen gezeigt (Supko et al., 1995).

Immunpräzipitation und Untersuchungen an Affinitätsmatrices zeigten dann, dass der Hauptwirkmechanismus von Geldanamycin eine Bindung an HSP90 involviert (Whitesell et al., 1994; Schulte and Neckers, 1998). Darüber hinaus wurde durch röntgenkristallographische Untersuchungen gezeigt, dass Geldanamycin um die ATP-Bindestelle kompetitiert und die intrinsische ATPase Aktivität von HSP90 hemmt (Prodromou et al., 1997; Panaretou et al., 1998). Dadurch wird die Entstehung des multimeren HSP90 Komplexes, mit seiner Eigenschaft als Chaperon für „client“ Proteine zu fungieren, verhindert. Als Konsequenz werden „client“ Proteine über den Ubiquitin-Proteasom-Weg abgebaut.

Das Geldanamycin Derivat 17- Allylamino-17-demethoxygeldanamycin (17AAG) zeigte unveränderte Eigenschaft bei der Hemmung von HSP90, der Degradation von „client“ Proteinen und antitumoraler Aktivität in Zellkulturen und in Xenograft Tumormodellen (Schulte et al, 1998; Kelland et al, 1999), hatte aber eine deutlich geringere Leberzytotoxizität als Geldanamycin (Page et all 1997). 17AAG wird gegenwärtig in Phase I/II klinischen Studien geprüft.

Radicalol, ein makrozyklisches Antibiotikum, zeigte ebenfalls Revision des v-Src und v-Ha-Ras induzierten malignen Phänotyps von Fibroblasten (Kwon et all 1992; Zhao et al, 1995). Radicalol degradiert eine Vielzahl von Signalproteinen als Konsequenz der HSP90 Hemmung (Schulte et al., 1998). Röntgenkristallographische Untersuchungen zeigten, dass Radicalol ebenfalls an die N-terminale Domäne von HSP90 bindet und die intrinsische ATPase Aktivität hemmt (Roe et al., 1998).

Antibiotika vom Coumarin Typ binden bekannterweise an die ATP Bindestelle des HSP90 Homologs DNA Gyrase in Bakterien. Das Coumarin, Novobiocin, bindet an das Carboxy-terminale Ende von HSP90, also an eine andere Stelle bei HSP90 als die Benzochinon-

Ansamycine und Radicol, welche an das N-terminale Ende von HSP90 binden. (Marcu et al., 2000b).

Die Hemmung von HSP90 durch Novobiocin resultiert in der Degradation einer großen Zahl von HSP90-abhängigen Signalproteinen (Marcu et al., 2000a).

Mit PU3, einem von Purinen abgeleiteten HSP90 Inhibitor konnte die Degradation von Signalproteinen z.B. ERBB2, gezeigt werden. PU3 verursacht Zellzyklus-Arrest und Differenzierung in Brustkrebs-Zelllinien (Chiosis et al., 2001).

HSP90 als therapeutisches Target

Durch die Beteiligung von HSP90 an der Regulation einer großen Zahl von Signalwegen, die entscheidende Bedeutung am Phänotyp eines Tumors haben, und der Entdeckung, dass gewisse Naturstoffe ihren biologischen Effekt durch Hemmung der Aktivität von HSP90 ausüben, wird HSP90 gegenwärtig als neues Target für die Entwicklung eines Tumortheraeutikum geprüft (Neckers et al., 1999).

Der Hauptmechanismus der Wirkweise von Geldanamycin, 17AAG, und Radicol beinhaltet die Hemmung der Bindung von ATP an die ATP-Bindestelle am N-terminalen Ende des Proteins und die daraus resultierende Hemmung der intrinsischen ATPase-Aktivität von HSP90 (siehe z.B. Prodromou et al., 1997; Stebbins et al., 1997; Panaretou et al., 1998). Die Hemmung der ATPase-Aktivität von HSP90 verhindert die Rekrutierung von Co-chaperonen und favorisiert die Bildung eines HSP90 Heterokomplexes, der „client“ Proteine über den Ubiquitin-Proteasom-Weg der Degradation zuführt (siehe, z.B. Neckers et al., 1999; Kelland et al., 1999). Die Behandlung von Tumorzellen mit HSP90 Inhibitoren führt zur selektiven Degradation wichtiger Proteine mit fundamentaler Bedeutung für Prozesse wie Zellproliferation, Regulation des Zellzyklus und Apoptose.

Diese Prozesse sind häufig in Tumoren dereguliert (siehe z.B. Hostein et al., 2001).

Eine attraktive Rationale für die Entwicklung eines Inhibitors von HSP90 ist, dass durch gleichzeitige Degradation mehrerer Proteine, die mit dem transformierten Phänotyp im Zusammenhang stehen, eine starke tumortherapeutische Wirkung erreicht werden kann.

Im einzelnen betrifft die vorliegende Erfindung eine Verbindung, die HSP90 hemmt, reguliert und/oder moduliert, Zusammensetzungen, die diese Verbindung enthalten, sowie Verfahren zu ihrer Verwendung zur Behandlung von HSP90-bedingten Krankheiten, wie Tumorerkrankungen, virale Erkrankungen wie z.B. Hepatitis B (Waxman, 2002); Immunsuppression bei Transplantationen (Bijlmakers, 2000 and Yorgin, 2000); Entzündungsbedingte Erkrankungen (Bucci, 2000) wie Rheumatoide Arthritis, Asthma, Multiple Sklerose, Typ 1 Diabetes, Lupus Erythematodes, Psoriasis und Inflammatory Bowel Disease; Zystische Fibrose (Fuller, 2000); Erkrankungen im Zusammenhang mit Angiogenese (Hur, 2002 and Kurebayashi, 2001) wie z.B. diabetische Retinopathie, Hämangiome, Endometriose und Tumorangiogenese; infektiöse Erkrankungen; Autoimmunerkrankungen; Ischämie; Förderung der Nervenregeneration (Rosen et al., WO 02/09696; Degranco et al., WO 99/51223; Gold, US 6,210,974 B1); fibrogenetische Erkrankungen, wie z.B. Sklerodermie, Polymyositis, systemischer Lupus, Leberzirrhose, Keloidbildung, interstitielle Nephritis und pulmonare Fibrose (Strehlow, WO 02/02123).

Die Erfindung betrifft auch die Verwendung der erfindungsgemäßen Verbindung zum Schutz normaler Zellen gegen Toxizität, die durch Chemotherapie verursacht ist, sowie die Verwendung bei Krankheiten, wobei Proteinfehlfaltung oder Aggregation ein Hauptkausalfaktor ist, wie z.B. Skrapie, Creutzfeldt-Jakob-Krankheit, Huntington oder Alzheimer (Sittler, Hum. Mol. Genet., 10, 1307, 2001; Tratzelt et al., Proc. Nat. Acad. Sci., 92, 2944, 1995; Winklhofer et al., J. Biol. Chem., 276, 45160, 2001).

A. Kamal et al. beschreiben in Trends in Molecular Medicine, Vol. 10 No. 6 June 2004, therapeutische und diagnostische Anwendungen der HSP90 Aktivierung, u.a. zur Behandlung von Krankheiten des Zentralnervensystems und von Herz-Kreislaufkrankungen.

Die Identifikation von kleinen Verbindungen, die HSP90 spezifisch hemmen, regulieren und/oder modulieren, ist daher wünschenswert und ein Ziel der vorliegenden Erfindung.

Es wurde gefunden, daß 5-[4-(2-Methyl-phenyl)-3-hydroxy-4*H*-[1,2,4]triazol-5-yl]-2,4-dihydroxy-*N*-methyl-*N*-butyl-benzamid und seine Salze bei guter Verträglichkeit sehr wertvolle pharmakologische Eigenschaften besitzen.

Insbesondere zeigt es inhibierende Eigenschaften des HSP90.

Gegenstand der vorliegenden Erfindung ist deshalb 5-[4-(2-Methyl-phenyl)-3-hydroxy-4*H*-[1,2,4]triazol-5-yl]-2,4-dihydroxy-*N*-methyl-*N*-butyl-benzamid als Arzneimittel und/oder Arzneimittelwirkstoff bei der Behandlung und/oder Prophylaxe der genannten Erkrankungen und die Verwendung von 5-[4-(2-Methyl-phenyl)-3-hydroxy-4*H*-[1,2,4]triazol-5-yl]-2,4-dihydroxy-*N*-methyl-*N*-butyl-benzamid zur Herstellung eines Pharmazeutikums für die Behandlung und/oder Prophylaxe der genannten Erkrankungen wie auch ein Verfahren zur Behandlung der genannten Erkrankungen umfassend die Verabreichung von 5-[4-(2-Methyl-phenyl)-3-hydroxy-4*H*-[1,2,4]triazol-5-yl]-2,4-dihydroxy-*N*-methyl-*N*-butyl-benzamid an einen Patienten mit Bedarf an einer derartigen Verabreichung.

Der Wirt oder Patient kann jeglicher Säugerspezies angehören, z. B. einer Primatenspezies, besonders Menschen; Nagetieren, einschließlich Mäusen, Ratten und Hamstern; Kaninchen; Pferden, Rindern, Hunden, Katzen usw. Tiermodelle sind für experimentelle Untersuchungen von

Interesse, wobei sie ein Modell zur Behandlung einer Krankheit des Menschen zur Verfügung stellen.

STAND DER TECHNIK

In der WO 2006/087077 sind andere Triazol-derivate als HSP90-Inhibitoren beschrieben. Die vorliegende Erfindung ist hierzu als Auswählerfindung zu betrachten. Als nächster Stand der Technik ist daraus die Verbindung 5-[4-(2-Methyl-phenyl)-3-hydroxy-4*H*-[1,2,4]triazol-5-yl]-2,4-dihydroxy-*N*-methyl-*N*-propyl-benzamid ("A47") zu nennen.

In der WO 00/53169 wird die HSP90-Inhibierung mit Coumarin oder einem Coumarinderivat beschrieben.

In der WO 03/041643 A2 sind HSP90-inhibierende Zearalanol-Derivate offenbart.

HSP90-inhibierende Pyrazolderivate, die in 3- oder 5-Stellung durch einen Aromaten substituiert sind, kennt man aus WO 2004/050087 A1 und WO 2004/056782 A1.

In der WO 03/055860 A1 sind 3,4-Diarylpyrazole als HSP90-Inhibitoren beschrieben.

Purinderivate mit HSP90-inhibierenden Eigenschaften sind in der WO 02/36075 A2 offenbart.

In der WO 01/72779 sind Purinverbindungen beschrieben, sowie deren Verwendung zur Behandlung von GRP94 (Homolog oder Paralog zu HSP90)-bedingten Krankheiten, wie Tumorerkrankungen, wobei das Krebsgewebe ein Sarkom oder Karzinom umfasst, ausgewählt aus der Gruppe, bestehend aus Fibrosarkom, Myxosarkom, Liposarkom, Chondrosarkom, osteogenem Sarkom, Chordom, Angiosarkom, Endotheliosarkom, Lymphangiosarkom, Lymphangioendotheliosarkom, Synoviom, Mesotheliom, Ewing-Tumor, Leiosarkom, Rhabdomyosarkom,

Kolonkarzinom, Pankreaskrebs, Brustkrebs, Ovarkrebs, Prostatakrebs, Plattenzellkarzinom, Basalzellkarzinom, Adenokarzinom, Schweißdrüsenkarzinom, Talgdrüsenkarzinom, Papillarkarzinom, Papillaradenokarzinomen, Cystadenokarzinomen, Knochenmarkkarzinom, bronchogenem Karzinom, Nierenzellkarzinom, Hepatom, Gallengangkarzinom, Chorionkarzinom, Seminom, embryonalem Karzinom, Wilms-Tumor, Cervix-Krebs, Hodentumor, Lungenkarzinom, kleinzelligem Lungenkarzinom, Blasenkarzinom, Epithelkarzinom, Gliom, Astrocytom, Medulloblastom, Kraniopharyngiom, Ependymom, Pinealom, Hämangioblastom, akustischem Neurom, Oligodendrogliom, Meningiom, Melanom, Neuroblastom, Retinoblastom, Leukämie, Lymphom, multiplem Myelom, Waldenströms Makroglobulinämie und Schwere-Kettenerkrankung.

In der WO 01/72779 ist weiterhin die Verwendung der dort genannten Verbindungen zur Behandlung von viralen Erkrankungen offenbart, wobei das virale Pathogen ausgewählt ist aus der Gruppe, bestehend aus Hepatitis Typ A, Hepatitis Typ B, Hepatitis Typ C, Influenza, Varicella, Adenovirus, Herpes-Simplex Typ I (HSV-I), Herpes Simplex Typ II (HSV-II), Rinderpest, Rhinovirus, Echovirus, Rotavirus, respiratorischem Synzytialvirus (RSV), Papillomvirus, Papovavirus, Cytomegalievirus, Echinovirus, Arbovirus, Huntavirus, Coxsackievirus, Mumpsvirus, Masernvirus, Rötelnvirus, Poliovirus, menschliches Immunschwächevirus Typ I (HIV-I) und menschliches Immunschwächevirus Typ II (HIV-II).

In der WO 01/72779 ist ferner die Verwendung der dort genannten Verbindungen zur GRP94-Modulation beschrieben, wobei die modulierte biologische GRP94-Aktivität eine Immunreaktion in einem Individuum, Proteintransport vom endoplasmatischen Retikulum, Genesung vom hypoxischen/anoxischen Stress, Genesung von Unterernährung, Genesung von Hitzestress, oder Kombinationen davon, hervorruft, und/oder wobei die Störung eine Art Krebs ist, eine Infektionserkrankung, eine Störung, die mit einem gestörten Proteintransport vom endoplasmatischen Retikulum, einer Störung, die mit Ischämie / Reperfusion

einhergeht, oder Kombinationen davon, wobei die die mit Ischämie / Reperfusion einhergehende Störung eine Folge von Herzstillstand, Asystole und verzögerten ventrikulären Arrhythmien, Herzoperation, kardiopulmonärer Bypass-Operation, Organtransplantation, Rückenmarksverletzung, Kopftrauma, Schlaganfall, thromboembolischem Schlaganfall, hämorrhagischem Schlaganfall, cerebralem Vasospasmus, Hypotonie, Hypoglykämie, Status epilepticus, einem epileptischem Anfall, Angst, Schizophrenie, einer neurodegenerativen Störung, Alzheimer-Krankheit, Chorea Huntington, amyotropher lateraler Sklerose (ALS) oder Stress beim Neugeborenen ist.

In der WO 01/72779 ist schließlich die Verwendung einer wirksamen Menge eines GRP94-Proteinmodulators zur Herstellung eines Medikamentes beschrieben, zum Verändern einer anschließenden zellulären Reaktion auf einen ischämischen Zustand bei einer Gewebestelle in einem Individuum, durch Behandlung der Zellen an der Gewebestelle mit dem GRP94-Proteinmodulator, damit die GRP94-Aktivität in Zellen dermaßen verstärkt wird, dass eine anschließende zelluläre Reaktion auf einen ischämischen Zustand verändert wird, wobei die anschließende ischämische Bedingung vorzugsweise die Folge von Herzstillstand, Asystole und verzögerten ventrikulären Arrhythmien, Herzoperation, kardiopulmonärer Bypass-Operation, Organtransplantation, Rückenmarksverletzung, Kopftrauma, Schlaganfall, thromboembolischem Schlaganfall, hämorrhagischem Schlaganfall, cerebralem Vasospasmus, Hypotonie, Hypoglykämie, Status epilepticus, einem epileptischem Anfall, Angst, Schizophrenie, einer neurodegenerativen Störung, Alzheimer-Krankheit, Chorea Huntington, amyotropher lateraler Sklerose (ALS) oder Stress beim Neugeborenen ist, oder wobei die Gewebestelle das Donatorgewebe für eine Transplantation ist.

In den nachfolgend aufgeführten Schriften sind Kombinationen des HSP90-Inhibitors Geldanamycin mit anderen Arzneimittelwirkstoffen beschrieben:

WO 2004/108080 A2, WO 2005/002506 A2, WO 2005/000211 A2, WO 2005/000212 A2, WO 2005/000213 A2, WO 2005/000214 A2, WO 2005/000314 A1.

Weitere Literatur:

Argon Y and Simen BB. 1999 "Grp94, an ER chaperone with protein and peptide binding properties", *Semin. Cell Dev. Biol.*, Vol. 10, pp. 495-505.

Bijlmakers M-JJE, Marsh M. 2000 "Hsp90 is essential for the synthesis and subsequent membrane association, but not the maintenance, of the Src-kinase p56lck", *Mol. Biol. Cell*, Vol. 11(5), pp. 1585-1595.

Bucci M; Roviezzo F; Cicala C; Sessa WC, Cirino G. 2000 "Geldanamycin, an inhibitor of heat shock protein 90 (Hsp90) mediated signal transduction has anti-inflammatory effects and interacts with glucocorticoid receptor in vivo", *Brit. J. Pharmacol.*, Vol 131(1), pp. 13-16.

Carreras CW, Schirmer A, Zhong Z, Santi VS. 2003 "Filter binding assay for the geldanamycin-heat shock protein 90 interaction", *Analytical Biochem.*, Vol 317, pp 40-46.

Chen C-F, Chen Y, Dai KD, Chen P-L, Riley DJ and Lee W-H. 1996 "A new member of the hsp90 family of molecular chaperones interacts with the retinoblastoma protein during mitosis and after heat shock", *Mol. Cell. Biol.*, Vol. 16, pp. 4691-4699.

Chiosis G, Timaul MN, Lucas B, Munster PN, Zheng FF, Sepp-Loenzino L and Rosen N. 2001 "A small molecule designed to bind to the adenine

nucleotide pocket of HSP90 causes Her2 degradation and the growth arrest and differentiation of breast cancer cells”, *Chem. Biol.*, Vol. 8, pp. 289-299.

Chiosis G, Lucas B, Shtil A, Huezo H, Rosen N 2002 “Development of a purine-scaffold novel class of HSP90 binders that inhibit the proliferation of cancer cells and induce the degradation of her2 tyrosine kinase”. *Bioorganic Med. Chem.*, Vol 10, pp 3555-3564.

Conroy SE and Latchman DS. 1996 “Do heat shock proteins have a role in breast cancer?”, *Brit. J. Cancer*, Vol. 74, pp. 717-721.

Felts SJ, Owen BAL, Nguyen P, Trepel J, Donner DB and Toft DO. 2000 “The HSP90-related protein TRAP1 is a mitochondrial protein with distinct functional properties”, *J. Biol. Chem.*, Vol. 5, pp. 3305-3312.

Fuller W, Cuthbert AW. 2000 “Post-translational disruption of the delta F508 cystic fibrosis transmembrane conductance regulator (CFTR)-molecular Chaperone complex with geldanamycin stabilizes delta F508 CFTR in the rabbit reticulocyte lysate”, *J. Biol. Chem.*, Vol. 275(48), pp. 37462-37468.

Hickey E, Brandon SE, Smale G, Lloyd D and Weber LA. 1999 “Sequence and regulation of a gene encoding a human 89-kilodalton heat shock protein”, *Mol. Cell. Biol.*, Vol. 9, pp. 2615-2626.

Hoang AT, Huang J, Rudra-Gonguly N, Zheng J, Powell WC, Rabindron SK, Wu C and Roy-Burman P. 2000 “A novel association between the human heat shock transcription factor 1 (HSF1) and prostate adenocarcinoma, *Am. J. Pathol.*, Vol. 156, pp. 857-864.

Hostein I, Robertson D, Di Stefano F, Workman P and Clarke PA. 2001 "Inhibition of signal transduction by the HSP90 inhibitor 17-allylamino-17-demethoxygeldanamycin results in cytostasis and apoptosis", *Cancer Res.*, Vol. 61, pp. 4003-4009.

Hur E, Kim H-H, Choi SM, Kim JH, Yim S, Kwon HJ, Choi Y, Kim DK, Lee M-O, Park H. 2002 "Reduction of hypoxia-induced transcription through the repression of hypoxia-inducible factor-1 α /aryl hydrocarbon receptor nuclear translocator DNA binding by the 90-kDa heat-shock protein inhibitor radicicol", *Mol. Pharmacol.*, Vol 62(5), pp. 975-982.

Jameel A, Skilton RA, Campbell TA, Chander SK, Coombes RC and Luqmani YA. 1992 "Clinical

Jolly C and Morimoto RI. 2000 "Role of the heat shock response and molecular chaperones in oncogenesis and cell death", *J. Natl. Cancer Inst.*, Vol. 92, pp. 1564-1572.

Kawanishi K, Shiozaki H, Doki Y, Sakita I, Inoue M, Yano M, Tsujinata T, Shamma A and Monden M. 1999 "Prognostic significance of heat shock proteins 27 and 70 in patients with squamous cell carcinoma of the esophagus", *Cancer*, Vol. 85, pp. 1649-1657.

Kelland LR, Abel G, McKeage MJ, Jones M, Goddard PM, Valenti M, Murrer BA, and Harrap KR. 1993 "Preclinical antitumour evaluation of bis-acetalo-amino-dichloro-cyclohexylamine platinum (IV): an orally active platinum drug", *Cancer Research*, Vol. 53, pp. 2581 - 2586.

Kelland LR, Sharp SY, Rogers PM, Myers TG and Workman P. 1999 "DT-diaphorase expression and tumor cell sensitivity to 17-allylamino,17-demethoxygeldanamycin, an inhibitor of heat shock protein 90", *J. Natl. Cancer Inst.*, Vol. 91, pp. 1940-1949.

Kurebayashi J, Otsuki T, Kurosumi M, Soga S, Akinaga S, Sonoo, H. 2001 "A radicicol derivative, KF58333, inhibits expression of hypoxia-inducible factor-1 α and vascular endothelial growth factor, angiogenesis and growth of human breast cancer xenografts", *Jap. J. Cancer Res.*, Vol. 92(12), 1342-1351.

Kwon HJ, Yoshida M, Abe K, Horinouchi S and Bepple T. 1992 "Radicicol, an agent inducing the reversal of transformed phenotype of src-transformed fibroblasts, *Biosci., Biotechnol., Biochem.*, Vol. 56, pp. 538-539.

Lebeau J, Le Cholony C, Prospero MT and Goubin G. 1991 "Constitutive overexpression of 89 kDa heat shock protein gene in the HBL100 mammary cell line converted to a tumorigenic phenotype by the EJE24 Harvey-ras oncogene", *Oncogene*, Vol. 6, pp. 1125-1132.

Marcu MG, Chadli A, Bouhouche I, Catelli M and Neckers L. 2000a "The heat shock protein 90 antagonist novobiocin interacts with a previously unrecognized ATP-binding domain in the carboxyl terminus of the chaperone", *J. Biol. Chem.*, Vol. 275, pp. 37181-37186.

Marcu MG, Schulte TW and Neckers L. 2000b "Novobiocin and related coumarins and depletion of heat shock protein 90-dependent signaling proteins", *J. Natl. Cancer Inst.*, Vol. 92, pp. 242-248.

Martin KJ, Kritzman BM, Price LM, Koh B, Kwan CP, Zhang X, MacKay A, O'Hare MJ, Kaelin CM, Mutter GL, Pardee AB and Sager R. 2000 "Linking gene expression patterns to therapeutic groups in breast cancer", *Cancer Res.*, Vol. 60, pp. 2232-2238.

Neckers L, Schulte TW and Momnaugh E. 1999 "Geldanamycin as a potential anti-cancer agent: its molecular target and biochemical activity", *Invest. New Drugs*, Vol. 17, pp. 361-373.

Page J, Heath J, Fulton R, Yalkowsky E, Tabibi E, Tomaszewski J, Smith A and Rodman L. 1997 "Comparison of geldanamycin (NSC-122750) and 17-allylaminogeldanamycin (NSC-330507D) toxicity in rats", *Proc. Am. Assoc. Cancer Res.*, Vol. 38, pp. 308.

Panaretou B, Prodromou C, Roe SM, O'Brien R, Ladbury JE, Piper PW and Pearl LH. 1998 "ATP binding and hydrolysis are essential to the function of the HSP90 molecular chaperone in vivo", *EMBO J.*, Vol. 17, pp. 4829-4836.

Pratt WB. 1997 "The role of the HSP90-based chaperone system in signal transduction by nuclear receptors and receptors signalling via MAP kinase", *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.*, Vol. 37, pp. 297-326.

Prodromou C, Roe SM, O'Brien R, Ladbury JE, Piper PW and Pearl LH. 1997 "Identification and structural characterization of the ATP/ADP-binding site in the HSP90 molecular chaperone", *Cell*, Vol. 90, pp. 65-75.

Prodromou C, Panaretou B, Chohan S, Siligardi G, O'Brien R, Ladbury JE, Roe SM, Piper PW and Pearl LH. 2000 "The ATPase cycle of HSP90 drives a molecular "clamp" via transient dimerization of the N-terminal domains", *EMBO J.*, Vol. 19, pp. 4383-4392.

Roe SM, Prodromou C, O'Brien R, Ladbury JE, Piper PW and Pearl LH. 1999 "Structural basis for inhibition of the HSP90 molecular chaperone by

the antitumour antibiotics radicicol and geldanamycin", *J. Med. Chem.*, Vol. 42, pp. 260-266.

Rutherford SL and Lindquist S. 1998 "HSP90 as a capacitor for morphological evolution. *Nature*, Vol. 396, pp. 336-342.

Schulte TW, Akinaga S, Murakata T, Agatsuma T, Sugimoto S, Nakano H, Lee YS, Simen BB, Argon Y, Felts S, Toft DO, Neckers LM and Sharma SV. 1999 "Interaction of radicicol with members of the heat shock protein 90 family of molecular chaperones", *Mol. Endocrinology*, Vol. 13, pp. 1435-1448.

Schulte TW, Akinaga S, Soga S, Sullivan W, Sensgard B, Toft D and Neckers LM. 1998 "Antibiotic radicicol binds to the N-terminal domain of HSP90 and shares important biologic activities with geldanamycin", *Cell Stress and Chaperones*, Vol. 3, pp. 100-108.

Schulte TW and Neckers LM. 1998 "The benzoquinone ansamycin 17-allylamino-17-demethoxygeldanamycin binds to HSP90 and shares important biologic activities with geldanamycin", *Cancer Chemother. Pharmacol.*, Vol. 42, pp. 273-279.

Smith DF. 2001 "Chaperones in signal transduction", in: *Molecular chaperones in the cell* (P Lund, ed.; Oxford University Press, Oxford and NY), pp. 165-178.

Smith DF, Whitesell L and Katsanis E. 1998 "Molecular chaperones: Biology and prospects for pharmacological intervention", *Pharmacological Reviews*, Vol. 50, pp. 493-513.

Song HY, Dunbar JD, Zhang YX, Guo D and Donner DB. 1995 "Identification of a protein with homology to hsp90 that binds the type 1 tumour necrosis factor receptor", *J. Biol. Chem.*, Vol. 270, pp. 3574-3581.

Stebbins CE, Russo A, Schneider C, Rosen N, Hartl FU and Pavletich NP. 1997 "Crystal structure of an HSP90-geldanamycin complex: targeting of a protein chaperone by an antitumor agent", *Cell*, Vol. 89, pp. 239-250.

Supko JG, Hickman RL, Grever MR and Malspeis L. 1995 "Preclinical pharmacologic evaluation of geldanamycin as an antitumour agent", *Cancer Chemother. Pharmacol.*, Vol. 36, pp. 305-315.

Tytell M and Hooper PL. 2001 "Heat shock proteins: new keys to the development of cytoprotective therapies", *Emerging Therapeutic Targets*, Vol. 5, pp. 267-287.

Uehara U, Hori M, Takeuchi T and Umezawa H. 1986 "Phenotypic change from transformed to normal induced by benzoquinoid ansamycins accompanies inactivation of p60src in rat kidney cells infected with Rous sarcoma virus", *Mol. Cell. Biol.*, Vol. 6, pp. 2198-2206.

Waxman, Lloyd H. Inhibiting hepatitis C virus processing and replication. (Merck & Co., Inc., USA). PCT Int. Appl. (2002), WO 0207761

Whitesell L, Mimnaugh EG, De Costa B, Myers CE and Neckers LM. 1994 "Inhibition of heat shock protein HSP90-pp60v-src heteroprotein complex formation by benzoquinone ansamycins: essential role for stress proteins in oncogenic transformation", *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.*, Vol. 91, pp. 8324-8328.

Yorgin et al. 2000 "Effects of geldanamycin, a heat-shock protein 90-binding agent, on T cell function and T cell nonreceptor protein tyrosine kinases", *J. Immunol.*, Vol 164(6), pp. 2915-2923.

Young JC, Moarefi I and Hartl FU. 2001 "HSP90: a specialized but essential protein-folding tool", J. Cell. Biol., Vol. 154, pp. 267-273.

Zhao JF, Nakano H and Sharma S. 1995 "Suppression of RAS and MOS transformation by radicicol", Oncogene, Vol. 11, pp. 161 -173.

ZUSAMMENFASSUNG DER ERFINDUNG

Die Erfindung betrifft die Verbindung 5-[4-(2-Methyl-phenyl)-3-hydroxy-4*H*-[1,2,4]triazol-5-yl]-2,4-dihydroxy-*N*-methyl-*N*-butyl-benzamid sowie seine pharmazeutisch verwendbaren Derivate, Salze, Solvate, Tautomere und Stereoisomere, einschließlich deren Mischungen in allen Verhältnissen.

Die Erfindung betrifft insbesondere die Verbindung 5-[4-(2-Methyl-phenyl)-3-hydroxy-4*H*-[1,2,4]triazol-5-yl]-2,4-dihydroxy-*N*-methyl-*N*-butyl-benzamid sowie seine pharmazeutisch verwendbaren Derivate, Tautomere und Stereoisomere, einschließlich deren Mischungen in allen Verhältnissen.

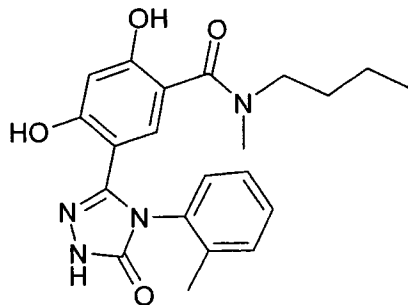
Die Erfindung betrifft besonders bevorzugt die Verbindung 5-[4-(2-Methyl-phenyl)-3-hydroxy-4*H*-[1,2,4]triazol-5-yl]-2,4-dihydroxy-*N*-methyl-*N*-butyl-benzamid sowie seine Mono- und Diphosphorsäurederivate, Thioxoderivate, Mono- und Diglucuronsäurederivate, Tautomere und Stereoisomere, einschließlich deren Mischungen in allen Verhältnissen.

Die Erfindung betrifft ganz besonders bevorzugt die Verbindung 5-[4-(2-Methyl-phenyl)-3-hydroxy-4*H*-[1,2,4]triazol-5-yl]-2,4-dihydroxy-*N*-methyl-*N*-butyl-benzamid.

Gegenstand der Erfindung sind auch die Hydrate und Solvate dieser Verbindung. Unter Solvate der Verbindungen werden Anlagerungen von

inerten Lösungsmittelmolekülen an die Verbindungen verstanden, die sich aufgrund ihrer gegenseitigen Anziehungskraft ausbilden. Solvate sind z.B. Mono- oder Dihydrate oder Alkoholate.

Die erfindungsgemäße Verbindung kann auch in der nachstehenden tautomeren Form vorliegen



Unter pharmazeutisch verwendbaren Derivaten versteht man z.B. die Salze der erfindungsgemäßen Verbindung als auch sogenannte Prodrug-Verbindungen.

Unter Prodrug-Derivaten versteht man die mit z. B. Alkyl- oder Acylgruppen, Zuckern oder Oligopeptiden abgewandelte erfindungsgemäße Verbindung, die im Organismus rasch zu der wirksamen erfindungsgemäßen Verbindung gespalten werden.

Hierzu gehören auch bioabbaubare Polymerderivate der erfindungsgemäßen Verbindung, wie dies z. B. in Int. J. Pharm. 115, 61-67 (1995) beschrieben ist.

Besonders bevorzugte Prodrugs sind die Phosphorsäure-esterderivate, wie z.B. die Mono- und/oder Di-phosphorsäureester-Derivate; Zuckerderivate, wie z.B. die Mono- und/oder Diglucuronide oder die 5-Thioxo-derivate.

Der Ausdruck "wirksame Menge" bedeutet die Menge eines Arzneimittels oder eines pharmazeutischen Wirkstoffes, die eine biologische oder medizinische Antwort in einem Gewebe, System, Tier oder Menschen hervorruft, die z.B. von einem Forscher oder Mediziner gesucht oder erstrebt wird.

Darüberhinaus bedeutet der Ausdruck "therapeutisch wirksame Menge" eine Menge, die, verglichen zu einem entsprechenden Subjekt, das diese Menge nicht erhalten hat, folgendes zur Folge hat:

verbesserte Heilbehandlung, Heilung, Prävention oder Beseitigung einer Krankheit, eines Krankheitsbildes, eines Krankheitszustandes, eines Leidens, einer Störung oder von Nebenwirkungen oder auch die Verminderung des Fortschreitens einer Krankheit, eines Leidens oder einer Störung.

Die Bezeichnung "therapeutisch wirksame Menge" umfaßt auch die Mengen, die wirkungsvoll sind, die normale physiologische Funktion zu erhöhen.

Gegenstand der Erfindung sind auch Mischungen der erfindungsgemäßen Verbindung, z.B. Gemische zweier Diastereomerer z.B. im Verhältnis 1:1, 1:2, 1:3, 1:4, 1:5, 1:10, 1:100 oder 1:1000.

Besonders bevorzugt handelt es sich dabei um Mischungen stereoisomerer Verbindungen.

Die erfindungsgemäße Verbindung und auch die Ausgangsstoffe zu ihrer Herstellung werden im übrigen nach an sich bekannten Methoden hergestellt, wie sie in der Literatur (z.B. in den Standardwerken wie Houben-Weyl, Methoden der organischen Chemie, Georg-Thieme-Verlag, Stuttgart) beschrieben sind, und zwar unter Reaktionsbedingungen, die für die genannten Umsetzungen bekannt und geeignet sind. Dabei kann man auch von an sich bekannten, hier nicht näher erwähnten Varianten Gebrauch machen.

Die Ausgangsstoffe können, falls erwünscht, auch in situ gebildet werden, so daß man sie aus dem Reaktionsgemisch nicht isoliert, sondern sofort weiter zu den erfindungsgemäßen Verbindungen umsetzt.

Die Ausgangsverbindungen sind in der Regel bekannt. Sind sie neu, so können sie aber nach an sich bekannten Methoden hergestellt werden.

Die erfindungsgemäße Verbindung wird vorzugsweise nach Methoden hergestellt wie sie in der WO 2006/087077 beschrieben sind.

Die Umsetzung erfolgt nach Methoden, die dem Fachmann bekannt sind.

Die Reaktion erfolgt in einem geeigneten inerten Lösungsmittel.

Als inerte Lösungsmittel eignen sich z.B. Kohlenwasserstoffe wie Hexan, Petrolether, Benzol, Toluol oder Xylol; chlorierte Kohlenwasserstoffe wie Trichlorethylen, 1,2-Dichlorethan, Tetrachlorkohlenstoff, Chlorform oder Dichlormethan; Alkohole wie Methanol, Ethanol, Isopropanol, n-Propanol, n-Butanol oder tert.-Butanol; Ether wie Diethylether, Diisopropylether, Tetrahydrofuran (THF) oder Dioxan; Glykolether wie Ethylenglykolmonomethyl- oder -monoethylether (Methylglykol oder Ethylglykol), Ethylenglykoldimethylether (Diglyme); Ketone wie Aceton oder Butanon; Amide wie Acetamid, Dimethylacetamid oder Dimethylformamid (DMF); Nitrile wie Acetonitril; Sulfoxide wie Dimethylsulfoxid (DMSO); Schwefelkohlenstoff; Carbonsäuren wie Ameisensäure oder Essigsäure; Nitroverbindungen wie Nitromethan oder Nitrobenzol; Ester wie Ethylacetat oder Gemische der genannten Lösungsmittel.

Als Lösungsmittel besonders bevorzugt ist z.B. Tetrahydrofuran.

Die Reaktionszeit liegt je nach den angewendeten Bedingungen zwischen einigen Minuten und 14 Tagen, die Reaktionstemperatur zwischen etwa -30° und 140° , normalerweise zwischen -10° und 130° , insbesondere zwischen etwa 30° und etwa 125° .

Die Abspaltung der Schutzgruppen erfolgt nach Methoden, die dem Fachmann bekannt sind.

Die Spaltung eines Ethers, z.B. eines Methylethers, erfolgt in einem geeigneten Lösungsmittel, wie oben angegeben, vorzugsweise durch Zugabe von Bortribromid.

Die Reaktion erfolgt besonders bevorzugt in Dichlormethan bei einer Reaktionstemperatur zwischen etwa -30° und 50° , normalerweise zwischen -20° und 20° , insbesondere zwischen etwa -15° und etwa 0° .

Die erfindungsgemäße Verbindung kann ferner erhalten werden, indem man sie aus ihren funktionellen Derivaten durch Solvolyse, insbesondere Hydrolyse, oder durch Hydrogenolyse in Freiheit setzt.

Bevorzugte Ausgangsstoffe für die Solvolyse bzw. Hydrogenolyse sind solche, die anstelle einer oder mehrerer freier Amino- und/oder Hydroxygruppen entsprechende geschützte Amino- und/oder Hydroxygruppen enthalten, vorzugsweise solche, die anstelle eines H-Atoms, das mit einem N-Atom verbunden ist, eine Aminoschutzgruppe tragen, z. B. solche, die der Formel I entsprechen, aber anstelle einer NH_2 -Gruppe eine NHR' -Gruppe (worin R' eine Aminoschutzgruppe bedeutet, z. B. BOC oder CBZ) enthalten.

Ferner sind Ausgangsstoffe bevorzugt, die anstelle des H-Atoms einer Hydroxygruppe eine Hydroxyschutzgruppe tragen, z. B. solche, die der Formel I entsprechen, aber anstelle einer Hydroxyphenylgruppe eine $\text{R}''\text{O}$ -phenylgruppe enthalten (worin R'' eine Hydroxyschutzgruppe bedeutet).

Es können auch mehrere - gleiche oder verschiedene - geschützte Amino- und/oder Hydroxygruppen im Molekül des Ausgangsstoffes vorhanden sein. Falls die vorhandenen Schutzgruppen voneinander verschieden sind, können sie in vielen Fällen selektiv abgespalten werden.

Der Ausdruck "Aminoschutzgruppe" ist allgemein bekannt und bezieht sich auf Gruppen, die geeignet sind, eine Aminogruppe vor chemischen Umsetzungen zu schützen (zu blockieren), die aber leicht entfernbar sind, nachdem die gewünschte chemische Reaktion an anderen Stellen des Moleküls durchgeführt worden ist. Typisch für solche Gruppen sind insbesondere unsubstituierte oder substituierte Acyl-, Aryl-, Aralkoxymethyl- oder Aralkylgruppen. Da die Aminoschutzgruppen nach der gewünschten Reaktion (oder Reaktionsfolge) entfernt werden, ist ihre Art und Größe im übrigen nicht kritisch; bevorzugt werden jedoch solche mit 1-20, insbesondere 1-8 C-Atomen. Der Ausdruck "Acylgruppe" ist im Zusammenhang mit dem vorliegenden Verfahren in weitestem Sinne aufzufassen. Er umschließt von aliphatischen, araliphatischen, aromatischen oder heterocyclischen Carbonsäuren oder Sulfonsäuren abgeleitete Acylgruppen sowie insbesondere Alkoxycarbonyl-, Aryloxycarbonyl- und vor allem Aralkoxycarbonylgruppen. Beispiele für derartige Acylgruppen sind Alkanoyl wie Acetyl, Propionyl, Butyryl; Aralkanoyl wie Phenylacetyl; Aroyl wie Benzoyl oder Toluyll; Aryloxyalkanoyl wie POA; Alkoxycarbonyl wie Methoxycarbonyl, Ethoxycarbonyl, 2,2,2-Trichlorethoxycarbonyl, BOC, 2-Iodethoxycarbonyl; Aralkyloxycarbonyl wie CBZ ("Carbobenzoxy"), 4-Methoxybenzyloxycarbonyl, FMOC; Arylsulfonyl wie Mtr, Pbf oder Pmc. Bevorzugte Aminoschutzgruppen sind BOC und Mtr, ferner CBZ, Fmoc, Benzyl und Acetyl.

Der Ausdruck "Hydroxyschutzgruppe" ist ebenfalls allgemein bekannt und bezieht sich auf Gruppen, die geeignet sind, eine Hydroxygruppe vor chemischen Umsetzungen zu schützen, die aber leicht entfernbar sind, nachdem die gewünschte chemische Reaktion an anderen Stellen des Moleküls durchgeführt worden ist. Typisch für solche Gruppen sind die oben genannten unsubstituierten oder substituierten Aryl-, Aralkyl- oder Acylgruppen, ferner auch Alkylgruppen. Die Natur und Größe der Hydroxyschutzgruppen ist nicht kritisch, da sie nach der gewünschten chemischen Reaktion oder Reaktionsfolge wieder entfernt werden; bevorzugt sind

Gruppen mit 1-20, insbesondere 1-10 C-Atomen. Beispiele für Hydroxy-schutzgruppen sind u.a. Benzyl, p-Nitrobenzoyl, p-Toluolsulfonyl, tert.-Butyl und Acetyl, wobei Benzyl und tert.-Butyl besonders bevorzugt sind. COOH-Gruppen werden bevorzugt in Form ihrer tert.-Butylester geschützt.

Das In-Freiheit-Setzen der erfindungsgemäßen Verbindung aus ihren funktionellen Derivaten gelingt - je nach der benutzten Schutzgruppe - z. B. mit starken Säuren, zweckmäßig mit TFA oder Perchlorsäure, aber auch mit anderen starken anorganischen Säuren wie Salzsäure oder Schwefelsäure, starken organischen Carbonsäuren wie Trichloressigsäure oder Sulfonsäuren wie Benzol- oder p-Toluolsulfonsäure. Die Anwesenheit eines zusätzlichen inerten Lösungsmittels ist möglich, aber nicht immer erforderlich. Als inerte Lösungsmittel eignen sich vorzugsweise organische, beispielsweise Carbonsäuren wie Essigsäure, Ether wie Tetrahydrofuran oder Dioxan, Amide wie DMF, halogenierte Kohlenwasserstoffe wie Dichlormethan, ferner auch Alkohole wie Methanol, Ethanol oder Isopropanol, sowie Wasser. Ferner kommen Gemische der vorgenannten Lösungsmittel in Frage. TFA wird vorzugsweise im Überschuß ohne Zusatz eines weiteren Lösungsmittels verwendet, Perchlorsäure in Form eines Gemisches aus Essigsäure und 70 %iger Perchlorsäure im Verhältnis 9:1. Die Reaktionstemperaturen für die Spaltung liegen zweckmäßig zwischen etwa 0 und etwa 50°, vorzugsweise arbeitet man zwischen 15 und 30° (Raumtemperatur).

Die Gruppen BOC, OBut, Pbf, Pmc und Mtr können z. B. bevorzugt mit TFA in Dichlormethan oder mit etwa 3 bis 5n HCl in Dioxan bei 15-30° abgespalten werden, die FMOC-Gruppe mit einer etwa 5- bis 50 %igen Lösung von Dimethylamin, Diethylamin oder Piperidin in DMF bei 15-30°.

Hydrogenolytisch entfernbare Schutzgruppen (z. B. CBZ oder Benzyl) können z. B. durch Behandeln mit Wasserstoff in Gegenwart eines Katalysators (z. B. eines Edelmetallkatalysators wie Palladium, zweckmäßig auf

einem Träger wie Kohle) abgespalten werden. Als Lösungsmittel eignen sich dabei die oben angegebenen, insbesondere z. B. Alkohole wie Methanol oder Ethanol oder Amide wie DMF. Die Hydrogenolyse wird in der Regel bei Temperaturen zwischen etwa 0 und 100° und Drucken zwischen etwa 1 und 200 bar, bevorzugt bei 20-30° und 1-10 bar durchgeführt. Eine Hydrogenolyse der CBZ-Gruppe gelingt z. B. gut an 5 bis 10 %igem Pd/C in Methanol oder mit Ammoniumformiat (anstelle von Wasserstoff) an Pd/C in Methanol/DMF bei 20-30°.

Pharmazeutische Salze und andere Formen

Die genannten erfindungsgemäße Verbindung läßt sich in ihrer endgültigen Nichtsalzform verwenden. Andererseits umfaßt die vorliegende Erfindung auch die Verwendung dieser Verbindung in Form ihrer pharmazeutisch unbedenklichen Salze, die von verschiedenen organischen und anorganischen Säuren und Basen nach fachbekannten Vorgehensweisen abgeleitet werden können. Pharmazeutisch unbedenkliche Salzformen der erfindungsgemäßen Verbindung werden größtenteils konventionell hergestellt. Ein geeignetes Salz läßt sich dadurch bilden, daß man die Verbindung mit einer geeigneten Base zum entsprechenden Basenadditionssalz umsetzt. Solche Basen sind zum Beispiel Alkalimetallhydroxide, darunter Kaliumhydroxid, Natriumhydroxid und Lithiumhydroxid; Erdalkalimetallhydroxide wie Bariumhydroxid und Calciumhydroxid; Alkalimetallalkoholate, z.B. Kaliummethanolat und Natriumpropanolat; sowie verschiedene organische Basen wie Piperidin, Diethanolamin und N-Methylglutamin. Die Aluminiumsalze der erfindungsgemäßen Verbindung zählen ebenfalls dazu. Es lassen sich auch Säureadditionssalze dadurch bilden, daß man die Verbindung mit pharmazeutisch unbedenklichen organischen und anorganischen Säuren, z.B. Halogenwasserstoffen wie Chlorwasserstoff, Bromwasserstoff oder Jodwasserstoff, anderen Mineralsäuren und ihren entsprechenden Salzen wie Sulfat, Nitrat oder Phosphat und dergleichen sowie Alkyl- und Monoarylsulfonaten wie Ethansulfonat, Toluolsulfonat und Benzolsulfonat, sowie anderen

organischen Säuren und ihren entsprechenden Salzen wie Acetat, Trifluoracetat, Tartrat, Maleat, Succinat, Citrat, Benzoat, Salicylat, Ascorbat und dergleichen behandelt. Dementsprechend zählen zu pharmazeutisch unbedenklichen Säureadditionssalzen der erfindungsgemäßen Verbindung die folgenden: Acetat, Adipat, Alginat, Arginat, Aspartat, Benzoat, Benzolsulfonat (Besylat), Bisulfat, Bisulfit, Bromid, Butyrat, Kampferat, Kampfersulfonat, Caprylat, Chlorid, Chlorbenzoat, Citrat, Cyclopentanpropionat, Digluconat, Dihydrogenphosphat, Dinitrobenzoat, Dodecylsulfat, Ethansulfonat, Fumarat, Galacterat (aus Schleimsäure), Galacturonat, Glucoheptanoat, Gluconat, Glutamat, Glycerophosphat, Hemisuccinat, Hemisulfat, Heptanoat, Hexanoat, Hippurat, Hydrochlorid, Hydrobromid, Hydroiodid, 2-Hydroxyethansulfonat, Iodid, Isethionat, Isobutyrat, Lactat, Lactobionat, Malat, Maleat, Malonat, Mandelat, Metaphosphat, Methansulfonat, Methylbenzoat, Monohydrogenphosphat, 2-Naphthalinsulfonat, Nicotinat, Nitrat, Oxalat, Oleat, Pamoat, Pectinat, Persulfat, Phenylacetat, 3-Phenylpropionat, Phosphat, Phosphonat, Phthalat, was jedoch keine Einschränkung darstellt.

Weiterhin zählen zu den Basensalzen der erfindungsgemäßen Verbindung Aluminium-, Ammonium-, Calcium-, Kupfer-, Eisen(III)-, Eisen(II)-, Lithium-, Magnesium-, Mangan(III)-, Mangan(II), Kalium-, Natrium- und Zinksalze, was jedoch keine Einschränkung darstellen soll. Bevorzugt unter den oben genannten Salzen sind Ammonium; die Alkalimetallsalze Natrium und Kalium, sowie die Erdalkalimetallsalze Calcium und Magnesium. Zu Salzen der erfindungsgemäßen Verbindung, die sich von pharmazeutisch unbedenklichen organischen nicht-toxischen Basen ableiten, zählen Salze primärer, sekundärer und tertiärer Amine, substituierter Amine, darunter auch natürlich vorkommender substituierter Amine, cyclischer Amine sowie basischer Ionenaustauscherharze, z.B. Arginin, Betain, Koffein, Chlorprocain, Cholin, N,N'-Dibenzylethylendiamin (Benzathin), Dicyclohexylamin, Diethanolamin, Diethylamin, 2-Diethylaminoethanol, 2-Dimethylaminoethanol, Ethanolamin, Ethylendiamin, N-Ethylmorpholin, N-

Ethylpiperidin, Glucamin, Glucosamin, Histidin, Hydrabamin, Iso-propylamin, Lidocain, Lysin, Meglumin, N-Methyl-D-glucamin, Morpholin, Piperazin, Piperidin, Polyaminharze, Procain, Purine, Theobromin, Triethanolamin, Triethylamin, Trimethylamin, Tripropylamin sowie Tris-(hydroxymethyl)-methylamin (Tromethamin), was jedoch keine Einschränkung darstellen soll.

Die erfindungsgemäße Verbindung der vorliegenden Erfindung, läßt sich mit Mitteln wie (C₁-C₄) Alkylhalogeniden, z.B. Methyl-, Ethyl-, Isopropyl- und tert.-Butylchlorid, -bromid und -iodid; Di(C₁-C₄)Alkylsulfaten, z.B. Dimethyl-, Diethyl- und Diamylsulfat; (C₁₀-C₁₈)Alkylhalogeniden, z.B. Decyl-, Dodecyl-, Lauryl-, Myristyl- und Stearylchlorid, -bromid und -iodid; sowie Aryl-(C₁-C₄)Alkylhalogeniden, z.B. Benzylchlorid und Phenethylbromid, quarternisieren. Mit solchen Salzen können sowohl wasser- als auch öllösliche erfindungsgemäße Verbindungen hergestellt werden.

Zu den oben genannten pharmazeutischen Salzen, die bevorzugt sind, zählen Acetat, Trifluoracetat, Besylat, Citrat, Fumarat, Gluconat, Hemisuccinat, Hippurat, Hydrochlorid, Hydrobromid, Isethionat, Mandelat, Meglumin, Nitrat, Oleat, Phosphonat, Pivalat, Natriumphosphat, Stearat, Sulfat, Sulfosalicylat, Tartrat, Thiomalat, Tosylat und Tromethamin, was jedoch keine Einschränkung darstellen soll.

Die Säureadditionssalze der erfindungsgemäßen Verbindung werden dadurch hergestellt, daß man die freie Basenform mit einer ausreichenden Menge der gewünschten Säure in Kontakt bringt, wodurch man auf übliche Weise das Salz darstellt. Die freie Base läßt sich durch In-Kontakt-Bringen der Salzform mit einer Base und Isolieren der freien Base auf übliche Weise regenerieren. Die freien Basenformen unterscheiden sich in gewissem Sinn von ihren entsprechenden Salzformen in bezug auf bestimmte physikalische Eigenschaften wie Löslichkeit in polaren Lösungsmitteln; im

Rahmen der Erfindung entsprechen die Salze jedoch sonst ihren jeweiligen freien Basenformen.

Wie erwähnt werden die pharmazeutisch unbedenklichen Basenadditionssalze der erfindungsgemäßen Verbindung mit Metallen oder Aminen wie Alkalimetallen und Erdalkalimetallen oder organischen Aminen gebildet. Bevorzugte Metalle sind Natrium, Kalium, Magnesium und Calcium. Bevorzugte organische Amine sind N,N'-Dibenzylethylendiamin, Chlorprocain, Cholin, Diethanolamin, Ethylendiamin, N-Methyl-D-glucamin und Procain.

Die Basenadditionssalze werden dadurch hergestellt, daß man die freie Säureform mit einer ausreichenden Menge der gewünschten Base in Kontakt bringt, wodurch man das Salz auf übliche Weise darstellt. Die freie Säure läßt sich durch In-Kontakt-Bringen der Salzform mit einer Säure und Isolieren der freien Säure auf übliche Weise regenerieren. Die freien Säureformen unterscheiden sich in gewissem Sinn von ihren entsprechenden Salzformen in bezug auf bestimmte physikalische Eigenschaften wie Löslichkeit in polaren Lösungsmitteln; im Rahmen der Erfindung entsprechen die Salze jedoch sonst ihren jeweiligen freien Säureformen.

Im Hinblick auf das oben Gesagte sieht man, daß unter dem Ausdruck "pharmazeutisch unbedenkliches Salz" im vorliegenden Zusammenhang ein Wirkstoff zu verstehen ist, der eine erfindungsgemäße Verbindung in der Form eines ihrer Salze enthält, insbesondere dann, wenn diese Salzform dem Wirkstoff im Vergleich zu der freien Form des Wirkstoffs oder irgendeiner anderen Salzform des Wirkstoffs, die früher verwendet wurde, verbesserte pharmakokinetische Eigenschaften verleiht. Die pharmazeutisch unbedenkliche Salzform des Wirkstoffs kann auch diesem Wirkstoff erst eine gewünschte pharmakokinetische Eigenschaft verleihen, über die er früher nicht verfügt hat, und kann sogar die Pharmakodynamik

dieses Wirkstoffs in bezug auf seine therapeutische Wirksamkeit im Körper positiv beeinflussen.

Gegenstand der Erfindung ist ferner die Verwendung der erfindungsgemäßen Verbindung und/oder ihrer physiologisch unbedenklichen Salze zur Herstellung eines Arzneimittels (pharmazeutische Zubereitung), insbesondere auf nicht-chemischem Wege. Hierbei können sie zusammen mit mindestens einem festen, flüssigen und/oder halbflüssigen Träger- oder Hilfsstoff und gegebenenfalls in Kombination mit einem oder mehreren weiteren Wirkstoffen in eine geeignete Dosierungsform gebracht werden.

Gegenstand der Erfindung sind ferner Arzneimittel, enthaltend 5-[4-(2-Methyl-phenyl)-3-hydroxy-4H-[1,2,4]triazol-5-yl]-2,4-dihydroxy-N-methyl-N-butyl-benzamid und/oder seine pharmazeutisch verwendbaren Derivate, Salze, Solvate, Tautomere und Stereoisomere, einschließlich deren Mischungen in allen Verhältnissen, sowie gegebenenfalls Träger- und/oder Hilfsstoffe.

Pharmazeutische Formulierungen können in Form von Dosiseinheiten, die eine vorbestimmte Menge an Wirkstoff pro Dosiseinheit enthalten, dargereicht werden. Eine solche Einheit kann beispielsweise 0,1 mg bis 3 g, vorzugsweise 1 mg bis 700 mg, besonders bevorzugt 5 mg bis 100 mg einer erfindungsgemäßen Verbindung enthalten, je nach dem behandelten Krankheitszustand, dem Verabreichungsweg und dem Alter, Gewicht und Zustand des Patienten, oder pharmazeutische Formulierungen können in Form von Dosiseinheiten, die eine vorbestimmte Menge an Wirkstoff pro Dosiseinheit enthalten, dargereicht werden. Bevorzugte Dosierungseinheitsformulierungen sind solche, die eine Tagesdosis oder Teildosis, wie oben angegeben, oder einen entsprechenden Bruchteil davon eines Wirkstoffs enthalten. Weiterhin lassen sich solche pharmazeutischen Formulierungen mit einem der im pharmazeutischen Fachgebiet allgemein bekannten Verfahren herstellen.

Pharmazeutische Formulierungen lassen sich zur Verabreichung über einen beliebigen geeigneten Weg, beispielsweise auf oralem (einschließlich buccalem bzw. sublingualem), rektalem, nasalem, topischem (einschließlich buccalem, sublingualem oder transdermale), vaginalem oder parenteralem (einschließlich subkutanem, intramuskulärem, intravenösem oder intradermale) Wege, anpassen. Solche Formulierungen können mit allen im pharmazeutischen Fachgebiet bekannten Verfahren hergestellt werden, indem beispielsweise der Wirkstoff mit dem bzw. den Trägerstoff(en) oder Hilfsstoff(en) zusammengebracht wird.

An die orale Verabreichung angepaßte pharmazeutische Formulierungen können als separate Einheiten, wie z.B. Kapseln oder Tabletten; Pulver oder Granulate; Lösungen oder Suspensionen in wäßrigen oder nichtwäßrigen Flüssigkeiten; eßbare Schäume oder Schaumspeisen; oder Öl-in-Wasser-Flüssigemulsionen oder Wasser-in-Öl-Flüssigemulsionen dargereicht werden.

So läßt sich beispielsweise bei der oralen Verabreichung in Form einer Tablette oder Kapsel die Wirkstoffkomponente mit einem oralen, nicht-toxischen und pharmazeutisch unbedenklichen inerten Trägerstoff, wie z.B. Ethanol, Glycerin, Wasser u.ä. kombinieren. Pulver werden hergestellt, indem die Verbindung auf eine geeignete feine Größe zerkleinert und mit einem in ähnlicher Weise zerkleinerten pharmazeutischen Trägerstoff, wie z.B. einem eßbaren Kohlenhydrat wie beispielsweise Stärke oder Mannit vermischt wird. Ein Geschmacksstoff, Konservierungsmittel, Dispersionsmittel und Farbstoff können ebenfalls vorhanden sein.

Kapseln werden hergestellt, indem ein Pulvergemisch wie oben beschrieben hergestellt und geformte Gelatinehüllen damit gefüllt werden. Gleit- und Schmiermittel wie z.B. hochdisperse Kieselsäure, Talkum,

Magnesiumstearat, Kalziumstearat oder Polyethylenglykol in Festform können dem Pulvergemisch vor dem Füllvorgang zugesetzt werden. Ein Sprengmittel oder Lösungsvermittler, wie z.B. Agar-Agar, Kalziumcarbonat oder Natriumcarbonat, kann ebenfalls zugesetzt werden, um die Verfügbarkeit des Medikaments nach Einnahme der Kapsel zu verbessern.

Außerdem können, falls gewünscht oder notwendig, geeignete Bindungs-, Schmier- und Sprengmittel sowie Farbstoffe ebenfalls in das Gemisch eingearbeitet werden. Zu den geeigneten Bindemitteln gehören Stärke, Gelatine, natürliche Zucker, wie z.B. Glukose oder Beta-Lactose, Süßstoffe aus Mais, natürliche und synthetische Gummi, wie z.B. Akazia, Traganth oder Natriumalginat, Carboxymethylzellulose, Polyethylenglykol, Wachse, u.ä. Zu den in diesen Dosierungsformen verwendeten Schmiermitteln gehören Natriumoleat, Natriumstearat, Magnesiumstearat, Natriumbenzoat, Natriumacetat, Natriumchlorid u.ä. Zu den Sprengmitteln gehören, ohne darauf beschränkt zu sein, Stärke, Methylzellulose, Agar, Bentonit, Xanthangummi u.ä. Die Tabletten werden formuliert, indem beispielsweise ein Pulvergemisch hergestellt, granuliert oder trockenverpreßt wird, ein Schmiermittel und ein Sprengmittel zugegeben werden und das Ganze zu Tabletten verpreßt wird. Ein Pulvergemisch wird hergestellt, indem die in geeigneter Weise zerkleinerte Verbindung mit einem Verdünnungsmittel oder einer Base, wie oben beschrieben, und gegebenenfalls mit einem Bindemittel, wie z.B. Carboxymethylzellulose, einem Alginat, Gelatine oder Polyvinylpyrrolidon, einem Lösungsverlangsamer, wie z.B. Paraffin, einem Resorptionsbeschleuniger, wie z.B. einem quaternären Salz und/oder einem Absorptionmittel, wie z.B. Bentonit, Kaolin oder Dikalziumphosphat, vermischt wird. Das Pulvergemisch läßt sich granulieren, indem es mit einem Bindemittel, wie z.B. Sirup, Stärkepasta, Acadia-Schleim oder Lösungen aus Zellulose- oder Polymermaterialien benetzt und durch ein Sieb gepreßt wird. Als Alternative zur Granulierung kann man das Pulvergemisch durch eine Tablettiermaschine laufen lassen, wobei ungleichmäßig geformte Klumpen entstehen, die in

Granulate aufgebrochen werden. Die Granulate können mittels Zugabe von Stearinsäure, einem Stearatsalz, Talkum oder Mineralöl gefettet werden, um ein Kleben an den Tablettengußformen zu verhindern. Das gefettete Gemisch wird dann zu Tabletten verpreßt. Die erfindungsgemäße Verbindung kann auch mit einem freifließenden inerten Trägerstoff kombiniert und dann ohne Durchführung der Granulierungs- oder Trockenverpressungsschritte direkt zu Tabletten verpreßt werden. Eine durchsichtige oder undurchsichtige Schutzschicht, bestehend aus einer Versiegelung aus Schellack, einer Schicht aus Zucker oder Polymermaterial und einer Glanzschicht aus Wachs, kann vorhanden sein. Diesen Beschichtungen können Farbstoffe zugesetzt werden, um zwischen unterschiedlichen Dosierungseinheiten unterscheiden zu können.

Orale Flüssigkeiten, wie z.B. Lösung, Sirupe und Elixiere, können in Form von Dosierungseinheiten hergestellt werden, so daß eine gegebene Quantität eine vorgegebene Menge der Verbindung enthält. Sirupe lassen sich herstellen, indem die Verbindung in einer wäßrigen Lösung mit geeignetem Geschmack gelöst wird, während Elixiere unter Verwendung eines nichttoxischen alkoholischen Vehikels hergestellt werden.

Suspensionen können durch Dispersion der Verbindung in einem nichttoxischen Vehikel formuliert werden. Lösungsvermittler und Emulgiermittel, wie z.B. ethoxylierte Isostearylalkohole und Polyoxyethylensorbitolether, Konservierungsmittel, Geschmackszusätze, wie z.B. Pfefferminzöl oder natürliche Süßstoffe oder Saccharin oder andere künstliche Süßstoffe, u.ä. können ebenfalls zugegeben werden.

Die Dosierungseinheitsformulierungen für die orale Verabreichung können gegebenenfalls in Mikrokapseln eingeschlossen werden. Die Formulierung läßt sich auch so herstellen, daß die Freisetzung verlängert oder retardiert wird, wie beispielsweise durch Beschichtung oder Einbettung von partikulärem Material in Polymere, Wachs u.ä.

Die erfindungsgemäße Verbindung und/oder seine pharmazeutisch verwendbaren Derivate, Salze, Solvate, Tautomere und Stereoisomere, einschließlich deren Mischungen in allen Verhältnissen, sowie gegebenenfalls Träger- und/oder Hilfsstoffe, sowie Salze, Solvate und physiologisch funktionelle Derivate davon lassen sich auch in Form von Liposomenzuführsystemen, wie z.B. kleinen unilamellaren Vesikeln, großen unilamellaren Vesikeln und multilamellaren Vesikeln, verabreichen. Liposomen können aus verschiedenen Phospholipiden, wie z.B. Cholesterin, Stearylamin oder Phosphatidylcholinen, gebildet werden.

Die erfindungsgemäße Verbindung sowie die Salze, Solvate und physiologisch funktionellen Derivate davon können auch unter Verwendung monoklonaler Antikörper als individuelle Träger, an die die Verbindungsmoleküle gekoppelt werden, zugeführt werden. Die Verbindungen können auch mit löslichen Polymeren als zielgerichtete Arzneistoffträger gekoppelt werden. Solche Polymere können Polyvinylpyrrolidon, Pyran-Copolymer, Polyhydroxypropylmethacrylamidphenol, Polyhydroxyethylaspartamidphenol oder Polyethylenoxidpolylysin, substituiert mit Palmitoylresten, umfassen. Weiterhin können die Verbindungen an eine Klasse von biologisch abbaubaren Polymeren, die zur Erzielung einer kontrollierten Freisetzung eines Arzneistoffs geeignet sind, z.B. Polymilchsäure, Polyepsilon-Caprolacton, Polyhydroxybuttersäure, Polyorthoester, Polyacetale, Polydihydroxypyran, Polycyanoacrylate und quervernetzte oder amphipatische Blockcopolymere von Hydrogelen, gekoppelt sein.

An die transdermale Verabreichung angepaßte pharmazeutische Formulierungen können als eigenständige Pflaster für längeren, engen Kontakt mit der Epidermis des Empfängers dargereicht werden. So kann beispielsweise der Wirkstoff aus dem Pflaster mittels Iontophorese zugeführt werden, wie in *Pharmaceutical Research*, 3(6), 318 (1986) allgemein beschrieben.

An die topische Verabreichung angepaßte pharmazeutische Verbindungen können als Salben, Cremes, Suspensionen, Lotionen, Pulver, Lösungen, Pasten, Gele, Sprays, Aerosole oder Öle formuliert sein.

Für Behandlungen des Auges oder anderer äußerer Gewebe, z.B. Mund und Haut, werden die Formulierungen vorzugsweise als topische Salbe oder Creme appliziert. Bei Formulierung zu einer Salbe kann der Wirkstoff entweder mit einer paraffinischen oder einer mit Wasser mischbaren Cremebasis eingesetzt werden. Alternativ kann der Wirkstoff zu einer Creme mit einer Öl-in-Wasser-Cremebasis oder einer Wasser-in-Öl-Basis formuliert werden.

Zu den an die topische Applikation am Auge angepaßten pharmazeutischen Formulierungen gehören Augentropfen, wobei der Wirkstoff in einem geeigneten Träger, insbesondere einem wäßrigen Lösungsmittel, gelöst oder suspendiert ist.

An die topische Applikation im Mund angepaßte pharmazeutische Formulierungen umfassen Lutschtabletten, Pastillen und Mundspülmittel.

An die rektale Verabreichung angepaßte pharmazeutische Formulierungen können in Form von Zäpfchen oder Einläufen dargereicht werden.

An die nasale Verabreichung angepaßte pharmazeutische Formulierungen, in denen die Trägersubstanz ein Feststoff ist, enthalten ein grobes Pulver mit einer Teilchengröße beispielsweise im Bereich von 20-500 Mikrometern, das in der Art und Weise, wie Schnupftabak aufgenommen wird, verabreicht wird, d.h. durch Schnellinhalation über die Nasenwege aus einem dicht an die Nase gehaltenen Behälter mit dem Pulver. Geeignete Formulierungen zur Verabreichung als Nasenspray oder

Nasentropfen mit einer Flüssigkeit als Trägersubstanz umfassen Wirkstofflösungen in Wasser oder Öl.

An die Verabreichung durch Inhalation angepaßte pharmazeutische Formulierungen umfassen feinpartikuläre Stäube oder Nebel, die mittels verschiedener Arten von unter Druck stehenden Dosierspendern mit Aerosolen, Verneblern oder Insufflatoren erzeugt werden können.

An die vaginale Verabreichung angepaßte pharmazeutische Formulierungen können als Pessare, Tampons, Cremes, Gele, Pasten, Schäume oder Sprayformulierungen dargereicht werden.

Zu den an die parenterale Verabreichung angepaßten pharmazeutischen Formulierungen gehören wäßrige und nichtwäßrige sterile Injektionslösungen, die Antioxidantien, Puffer, Bakteriostatika und Solute, durch die die Formulierung isotonisch mit dem Blut des zu behandelnden Empfängers gemacht wird, enthalten; sowie wäßrige und nichtwäßrige sterile Suspensionen, die Suspensionsmittel und Verdicker enthalten können. Die Formulierungen können in Einzeldosis- oder Mehrfachdosisbehältern, z.B. versiegelten Ampullen und Fläschchen, dargereicht und in gefriergetrocknetem (lyophilisiertem) Zustand gelagert werden, so daß nur die Zugabe der sterilen Trägerflüssigkeit, z.B. Wasser für Injektionszwecke, unmittelbar vor Gebrauch erforderlich ist. Rezepturmäßig hergestellte Injektionslösungen und Suspensionen können aus sterilen Pulvern, Granulaten und Tabletten hergestellt werden.

Es versteht sich, daß die Formulierungen neben den obigen besonders erwähnten Bestandteilen andere im Fachgebiet übliche Mittel mit Bezug auf die jeweilige Art der Formulierung enthalten können; so können beispielsweise für die orale Verabreichung geeignete Formulierungen Geschmacksstoffe enthalten.

Eine therapeutisch wirksame Menge der erfindungsgemäßen Verbindung hängt von einer Reihe von Faktoren ab, einschließlich z.B. dem Alter und Gewicht des Menschen oder Tiers, dem exakten Krankheitszustand, der der Behandlung bedarf, sowie seines Schweregrads, der Beschaffenheit der Formulierung sowie dem Verabreichungsweg, und wird letztendlich von dem behandelnden Arzt bzw. Tierarzt festgelegt. Jedoch liegt eine wirksame Menge der erfindungsgemäßen Verbindung für die Behandlung im allgemeinen im Bereich von 0,1 bis 100 mg/kg Körpergewicht des Empfängers (Säugers) pro Tag und besonders typisch im Bereich von 1 bis 10 mg/kg Körpergewicht pro Tag. Somit läge für einen 70 kg schweren erwachsenen Säuger die tatsächliche Menge pro Tag für gewöhnlich zwischen 70 und 700 mg, wobei diese Menge als Einzeldosis pro Tag oder üblicher in einer Reihe von Teildosen (wie z.B. zwei, drei, vier, fünf oder sechs) pro Tag gegeben werden kann, so daß die Gesamttagesdosis die gleiche ist. Eine wirksame Menge eines Salzes oder Solvats oder eines physiologisch funktionellen Derivats davon kann als Anteil der wirksamen Menge der erfindungsgemäßen Verbindung *per se* bestimmt werden. Es läßt sich annehmen, daß ähnliche Dosierungen für die Behandlung der anderen, obenerwähnten Krankheitszustände geeignet sind.

Gegenstand der Erfindung sind ferner Arzneimittel enthaltend mindestens eine erfindungsgemäße Verbindung und/oder seine pharmazeutisch verwendbaren Derivate, Solvate und Stereoisomere, einschließlich deren Mischungen in allen Verhältnissen, und mindestens einen weiteren Arzneimittelwirkstoff.

Als weitere Arzneimittelwirkstoffe sind Chemotherapeutika bevorzugt, insbesondere solche, die Angiogenese hemmen und dadurch das Wachstum und die Verbreitung von Tumorzellen inhibieren; bevorzugt sind dabei VEGF-Rezeptorinhibitoren, beinhaltend Robozyme und Antisense, die auf VEGF-Rezeptoren gerichtet sind, sowie Angiostatin und Endostatin.

Beispiele antineoplastischer Agenzien, die in Kombination mit den erfindungsgemäßen Verbindungen verwendet werden können, beinhalten im allgemeinen alkylierende Agenzien, Antimetaboliten; Epidophyllotoxin; ein antineoplastisches Enzym; einen Topoisomerase-Inhibitor; Procarbazin; Mitoxantron oder Platin-Koordinationskomplexe.

Antineoplastische Agenzien sind vorzugsweise ausgewählt aus den folgenden Klassen:

Anthracycline, Vinca-Arzneistoffe, Mitomycine, Bleomycine, cytotoxische Nukleoside, Epothilone, Discodermolide, Pteridine, Diynene und Podophyllotoxine.

Besonders bevorzugt sind in den genannten Klassen z.B. Carminomycin, Daunorubicin, Aminopterin, Methotrexat, Methopterin, Dichlormethotrexat, Mitomycin C, Porfiromycin, 5-Fluoruracil, 5-Fluordeoxyuridin Monophosphat, Cytarabine, 5-Azacytidin, Thioguanin, Azathioprine, Adenosin, Pentostatin, Erythrohydroxynonyladenin, Cladribine, 6-Mercaptopurin, Gemcitabine, Cytosinarabinosid, Podophyllotoxin oder Podophyllotoxinderivate, wie z.B. Etoposide, Etoposide Phosphat oder Teniposide, Melphalan, Vinblastine, Vinorelbine, Vincristine, Leurosidine, Vindesine, Leurosine, Docetaxel und Paclitaxel. Andere bevorzugte antineoplastische Agenzien sind ausgewählt aus der Gruppe Discodermolide, Epothilone D, Estramustine, Carboplatin, Cisplatin, Oxaliplatin, Cyclophosphamid, Bleomycin, Gemcitabine, Ifosamide, Melphalan, Hexamethylmelamin, Thiotepa, Idatrexate, Trimetrexate, Dacarbazine, L-Asparaginase, Camptothecin, CPT-11, Topotecan, Arabinosyl-Cytosin, Bicalutamide, Flutamide, Leuprolide, Pyridobenzindolderivate, Interferone und Interleukine.

Als weitere Arzneimittelwirkstoffe sind Antibiotica bevorzugt. Bevorzugte Antibiotica sind ausgewählt aus der Gruppe

Dactinomycin, Daunorubicin, Idarubicin, Epirubicin, Mitoxantrone, Bleomycin, Plicamycin, Mitomycin.

Als weitere Arzneimittelwirkstoffe sind Enzyminhibitoren bevorzugt. Bevorzugte Enzyminhibitoren sind ausgewählt aus der Gruppe der Histon-Deacetylierungs-Inhibitoren (z.B. suberoylanilide hydroxamic acid [SAHA]) und der Tyrosinkinase-Inhibitoren (z.B. ZD 1839 [Iressa]).

Als weitere Arzneimittelwirkstoffe sind Nuclear-Export-Inhibitoren bevorzugt. Nuclear-Export-Inhibitoren verhindern die Ausschleusung von Biopolymeren (z.B. RNA) aus dem Zellkern. Bevorzugte Nuclear-Export-Inhibitoren sind ausgewählt aus der Gruppe Callystatin, Leptomycin B, Ratjadone.

Als weitere Arzneimittelwirkstoffe sind Nuclear-Export-Inhibitoren bevorzugt. Nuclear-Export-Inhibitoren verhindern die Ausschleusung von Biopolymeren (z.B. RNA) aus dem Zellkern. Bevorzugte Nuclear-Export-Inhibitoren sind ausgewählt aus der Gruppe Callystatin, Leptomycin B, Ratjadone.

Als weitere Arzneimittelwirkstoffe sind Immunsuppressiva bevorzugt. Bevorzugte Immunsuppressiva sind ausgewählt aus der Gruppe Rapamycin, CCI-779 (Wyeth), RAD001 (Novartis), AP23573 (Ariad Pharmaceuticals).

Gegenstand der Erfindung ist auch ein Set (Kit), bestehend aus getrennten Packungen von

- (a) einer wirksamen Menge an der erfindungsgemäßen Verbindung und/oder ihrer pharmazeutisch verwendbaren Derivate, Solvate und Stereoisomere, einschließlich deren Mischungen in allen Verhältnissen, und

(b) einer wirksamen Menge eines weiteren Arzneimittelwirkstoffs.

Das Set enthält geeignete Behälter, wie Schachteln oder Kartons, individuelle Flaschen, Beutel oder Ampullen. Das Set kann z.B. separate Ampullen enthalten, in denen jeweils eine wirksame Menge an einer erfindungsgemäßen Verbindung und/oder seiner pharmazeutisch verwendbaren Derivate, Solvate und Stereoisomere, einschließlich deren Mischungen in allen Verhältnissen, und einer wirksamen Menge eines weiteren Arzneimittelwirkstoffs gelöst oder in lyophilisierter Form vorliegt.

VERWENDUNG

Die vorliegende Verbindung eignet sich als pharmazeutischer Wirkstoff für Säugetiere, insbesondere für den Menschen, bei der Behandlung von Krankheiten, bei denen HSP90 eine Rolle spielt.

Gegenstand der Erfindung ist somit die Verwendung von 5-[4-(2-Methylphenyl)-3-hydroxy-4*H*-[1,2,4]triazol-5-yl]-2,4-dihydroxy-*N*-methyl-*N*-butylbenzamid, sowie seiner pharmazeutisch verwendbaren Derivate, Solvate und Stereoisomere, einschließlich deren Mischungen in allen Verhältnissen, zur Herstellung eines Arzneimittels zur Behandlung von Krankheiten, bei denen die Hemmung, Regulierung und/oder Modulation von HSP90 eine Rolle spielt.

Die vorliegende Erfindung umfasst die Verwendung von 5-[4-(2-Methylphenyl)-3-hydroxy-4*H*-[1,2,4]triazol-5-yl]-2,4-dihydroxy-*N*-methyl-*N*-butylbenzamid und/oder seiner physiologisch unbedenklichen Salze und Solvate zur Herstellung eines Arzneimittels zur Behandlung von Tumorerkrankungen, wie z.B. Fibrosarkom, Myxosarkom, Liposarkom, Chondrosarkom, osteogenem Sarkom, Chordom, Angiosarkom, Endotheliosarkom, Lymphangiosarkom, Lymphangioendotheliosarkom,

Synoviom, Mesotheliom, Ewing-Tumor, Leiosarkom, Rhabdomyosarkom, Kolonkarzinom, Pankreaskrebs, Brustkrebs, Ovarkrebs, Prostatakrebs, Plattenzellkarzinom, Basalzellkarzinom, Adenokarzinom, Schweißdrüsenkarzinom, Talgdrüsenkarzinom, Papillarkarzinom, Papillaradenokarzinomen, Cystadenokarzinomen, Knochenmarkkarzinom, bronchogenem Karzinom, Nierenzellkarzinom, Hepatom, Gallengangkarzinom, Chorionkarzinom, Seminom, embryonalem Karzinom, Wilms-Tumor, Cervix-Krebs, Hodentumor, Lungenkarzinom, kleinzelligem Lungenkarzinom, Blasenkarzinom, Epithelkarzinom, Gliom, Astrocytom, Medulloblastom, Kraniopharyngiom, Ependymom, Pinealom, Hämangioblastom, akustischem Neurom, Oligodendrogliom, Meningiom, Melanom, Neuroblastom, Retinoblastom, Leukämie, Lymphom, multiples Myelom, Waldenströms Makroglobulinämie und Schwere-Kettenerkrankung; viralen Erkrankungen, wobei das virale Pathogen ausgewählt ist aus der Gruppe, bestehend aus Hepatitis Typ A, Hepatitis Typ B, Hepatitis Typ C, Influenza, Varicella, Adenovirus, Herpes-Simplex Typ I (HSV-I), Herpes Simplex Typ II (HSV-II), Rinderpest, Rhinovirus, Echovirus, Rotavirus, respiratorischem Synzytialvirus (RSV), Papillomvirus, Papovavirus, Cytomegalievirus, Echinovirus, Arbovirus, Huntavirus, Coxsackievirus, Mumpsvirus, Masernvirus, Rötelnvirus, Poliovirus, menschliches Immunschwächevirus Typ I (HIV-I) und menschliches Immunschwächevirus Typ II (HIV-II); zur Immunsuppression bei Transplantationen; entzündungsbedingten Erkrankungen, wie Rheumatoide Arthritis, Asthma, Multiple Sklerose, Typ 1 Diabetes, Lupus Erythematodes, Psoriasis und Inflammatory Bowel Disease; Zystische Fibrose; Erkrankungen im Zusammenhang mit Angiogenese wie z.B. diabetische Retinopathie, Hämangiome, Endometriose, Tumorangiogenese; infektiösen Erkrankungen; Autoimmunerkrankungen; Ischämie; Förderung der Nervenregeneration; fibrogenetischen Erkrankungen, wie z.B. Sklerodermie, Polymyositis, systemischer Lupus, Leberzirrhose, Keloidbildung, interstitielle Nephritis und pulmonare Fibrose;

5-[4-(2-Methyl-phenyl)-3-hydroxy-4*H*-[1,2,4]triazol-5-yl]-2,4-dihydroxy-*N*-methyl-*N*-butyl-benzamid kann insbesondere das Wachstum von Krebs, Tumorzellen und Tumormetastasen hemmen und ist deshalb für die Tumorthherapie geeignet.

Die vorliegende Erfindung umfasst weiterhin die Verwendung von 5-[4-(2-Methyl-phenyl)-3-hydroxy-4*H*-[1,2,4]triazol-5-yl]-2,4-dihydroxy-*N*-methyl-*N*-butyl-benzamid und/oder seiner physiologisch unbedenklichen Salze und Solvate zur Herstellung eines Arzneimittels zum Schutz normaler Zellen gegen Toxizität, die durch Chemotherapie verursacht ist, sowie zur Behandlung von Krankheiten, wobei Proteinefehlfaltung oder Aggregation ein Hauptkausalfaktor ist, wie z.B. Skrapie, Creutzfeldt-Jakob-Krankheit, Huntington oder Alzheimer.

Die Erfindung betrifft auch die Verwendung von 5-[4-(2-Methyl-phenyl)-3-hydroxy-4*H*-[1,2,4]triazol-5-yl]-2,4-dihydroxy-*N*-methyl-*N*-butyl-benzamid und/oder seiner physiologisch unbedenklichen Salze und Solvate zur Herstellung eines Arzneimittels zur Behandlung von Krankheiten des Zentralnervensystems, von Herz-Kreislaufkrankungen und Kachexie.

Die Erfindung betrifft in einer weiteren Ausführungsform auch die Verwendung von 5-[4-(2-Methyl-phenyl)-3-hydroxy-4*H*-[1,2,4]triazol-5-yl]-2,4-dihydroxy-*N*-methyl-*N*-butyl-benzamid und/oder seiner physiologisch unbedenklichen Salze und Solvate zur Herstellung eines Arzneimittels zur HSP90-Modulation, wobei die modulierte biologische HSP90-Aktivität eine Immunreaktion in einem Individuum, Proteintransport vom endoplasmatischen Retikulum, Genesung vom hypoxischen/anoxischen Stress, Genesung von Unterernährung, Genesung von Hitzestress, oder Kombinationen davon, hervorruft, und/oder wobei die Störung eine Art Krebs ist, eine Infektionserkrankung, eine Störung, die mit einem gestörten

Proteintransport vom endoplasmatischen Retikulum, einer Störung, die mit Ischämie / Reperfusion einhergeht, oder Kombinationen davon, wobei die die mit Ischämie / Reperfusion einhergehende Störung eine Folge von Herzstillstand, Asystole und verzögerten ventrikulären Arrhythmien, Herzoperation, kardiopulmonärer Bypass-Operation, Organtransplantation, Rückenmarksverletzung, Kopftrauma, Schlaganfall, thromboembolischem Schlaganfall, hämorrhagischem Schlaganfall, cerebralem Vasospasmus, Hypotonie, Hypoglykämie, Status epilepticus, einem epileptischem Anfall, Angst, Schizophrenie, einer neurodegenerativen Störung, Alzheimer-Krankheit, Chorea Huntington, amyotropher lateraler Sklerose (ALS) oder Stress beim Neugeborenen ist.

Die Erfindung betrifft in einer weiteren Ausführungsform auch die Verwendung von 5-[4-(2-Methyl-phenyl)-3-hydroxy-4*H*-[1,2,4]triazol-5-yl]-2,4-dihydroxy-*N*-methyl-*N*-butyl-benzamid und/oder seiner physiologisch unbedenklichen Salze und Solvate zur Herstellung eines Arzneimittels zur Behandeln von Ischämie als Folge von Herzstillstand, Asystole und verzögerten ventrikulären Arrhythmien, Herzoperation, kardiopulmonärer Bypass-Operation, Organtransplantation, Rückenmarksverletzung, Kopftrauma, Schlaganfall, thromboembolischem Schlaganfall, hämorrhagischem Schlaganfall, cerebralem Vasospasmus, Hypotonie, Hypoglykämie, Status epilepticus, einem epileptischem Anfall, Angst, Schizophrenie, einer neurodegenerativen Störung, Alzheimer-Krankheit, Chorea Huntington, amyotropher lateraler Sklerose (ALS) oder Stress beim Neugeborenen ist.

Testverfahren zur Messung von HSP90 Inhibitoren

Die Bindung von Geldanamycin oder 17- Allylamino-17-demethoxygeldanamycin (17AAG) und deren kompetitive Hemmung an HSP90 kann benutzt werden, um die inhibitorische Aktivität der erfindungsgemäßen Verbindungen zu bestimmen (Carreras et al. 2003, Chiosis et al. 2002).

Im speziellen Fall wird ein Radioligand-Filterbindungstest verwendet. Als Radioligand wird dabei mit Tritium markiertes 17-Allylamino-geldanamycin, [3H]17AAG, verwendet. Dieser Filter-Bindungstest erlaubt eine gezielte Suche nach Inhibitoren, die mit der ATP-Bindestelle interferieren.

Material

Rekombinantes humanes HSP90 α (E. coli exprimiert, 95% Reinheit);
[3H]17AAG (17-Allylamino-geldanamycin, [allylamino-2,3-³H. Spezifische Aktivität: $1,11 \times 10^{12}$ Bq/mmol (Moravek, MT-1717);
HEPES Filterpuffer (50 mM HEPES, pH 7,0, 5mM MgCl₂, BSA 0.01%)
Multiscreen-FB (1 μ m) Filterplatte (Millipore, MAFBNOB 50).

Methode

Die 96 well Mikrotiter-Filterplatten werden zunächst gewässert und mit 0,1% Polyethylenimin beschichtet.

Der Test wird unter folgenden Bedingungen durchgeführt:

Reaktionstemperatur 22 °C

Reaktionszeit: 30 min., Schütteln bei 800 upm

Testvolumen: 50 μ l

Endkonzentrationen:

50 mM HEPES-HCl, pH7,0, 5 mM MgCl₂, 0,01 % (w/v) BSA

HSP90: 1,5 μ g/assay

[3H]17AAG: 0,08 μ M.

Am Ende der Reaktion wird der Überstand in der Filterplatte mit Hilfe eines Vakuum-Manifolds (Multiscreen Separation System, Millipore) abgesaugt und der Filter zweimal gewaschen.

Die Filterplatten werden dann in einem Beta-counter (Microbeta, Wallac) mit Szintillator (Microscint 20, Packard) gemessen.

Aus den „counts per minutes“-Werten wird „% der Kontrolle“ ermittelt und daraus der IC₅₀ Wert einer Verbindung kalkuliert.

In der nachfolgenden Tabelle sind Vergleichsmessungen der erfindungsgemäßen Verbindung mit der Verbindung "A47" aus dem nächsten Stand der Technik angegeben.

Die erfindungsgemäße Verbindung "C1" weist bei der HSP90 Inhibierung eine ca. 10fach höhere Aktivität auf.

Testergebnisse

Tabelle I

HSP90-Inhibierung

Verbindung	IC ₅₀ [mol/l]
5-[4-(2-Methyl-phenyl)-3-hydroxy-4H-[1,2,4]triazol-5-yl]-2,4-dihydroxy-N-methyl-N-propyl-benzamid ("A47")	1.60E-07
5-[4-(2-Methyl-phenyl)-3-hydroxy-4H-[1,2,4]triazol-5-yl]-2,4-dihydroxy-N-methyl-N-butyl-benzamid ("C1")	2.90E-08

Vor- und nachstehend sind alle Temperaturen in °C angegeben. In den nachfolgenden Beispielen bedeutet "übliche Aufarbeitung": Man gibt, falls erforderlich, Wasser hinzu, stellt, falls erforderlich, je nach Konstitution des Endprodukts auf pH-Werte zwischen 2 und 10 ein, extrahiert mit Ethylacetat oder Dichlormethan, trennt ab, trocknet die organische Phase über Natriumsulfat, dampft ein und reinigt durch Chromatographie an Kieselgel und /oder durch Kristallisation. Rf-Werte an Kieselgel; Laufmittel: Ethylacetat/Methanol 9:1.

LC-MS Bedingungen

Hewlett Packard System der HP 1100 Serie mit den folgenden Merkmalen:

Ionenquelle: Elektrospray (positive mode); Scan: 100-1000 m/z;

Fragmentier-Spannung: 60 V; Gas-Temperatur: 300°C, DAD: 220 nm.

Flussrate: 2.4 ml/Min. Der verwendete Splitter reduzierte nach dem DAD die Flussrate für das MS auf 0,75ml/Min.

Säule: Chromolith SpeedROD RP-18e 50-4.6

Lösungsmittel: LiChrosolv-Qualität der Fa. Merck KGaA

Lösungsmittel A: H₂O (0.01% TFA)

Lösungsmittel B: ACN (0.008% TFA)

Gradient:

20% B → 100% B: 0 min bis 2.8 min

100% B: 2.8 min bis 3.3 min

100%B → 20%B: 3.3 min bis 4 min

Die in den nachfolgenden Beispielen angegebenen Retentionszeiten R_r bzw. R_t [min] und $M+H^+$ -Daten MW sind die Meßergebnisse der LC-MS-Messungen.

Referenzbeispiel 1

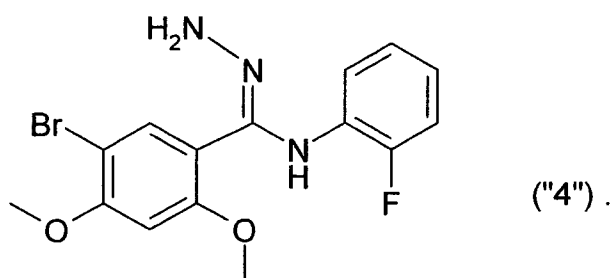
Herstellung von 5-(2,4-Dihydroxy-5-phenethyl-phenyl)-4-(2-fluorphenyl)-3-hydroxy-4H-[1,2,4]triazol ("A1"):

1.1 Eine Lösung von 15 g 5-Brom-2,4-dihydroxy-benzoesäure, 14,4 ml Iodmethan und 62,9 g Cäsiumcarbonat in 100 ml N,N-Dimethylformamid (DMF) wird 16 Stunden unter Rückfluß erhitzt. Man arbeitet wie üblich auf und erhält 16,7 g 5-Brom-2,4-dimethoxy-benzoesäure ("1").

1.2 Eine Mischung von 4 g "1" und 2 Tropfen DMF in 40 ml Thionylchlorid wird bei Raumtemperatur 16 Stunden gerührt. Nach Entfernung des Lösungsmittels erhält man 4,3 g 5-Brom-2,4-dimethoxybenzoylchlorid ("2"), R_f 1.610; MW 280.5. Das Produkt wird ohne weitere Aufreinigung umgesetzt.

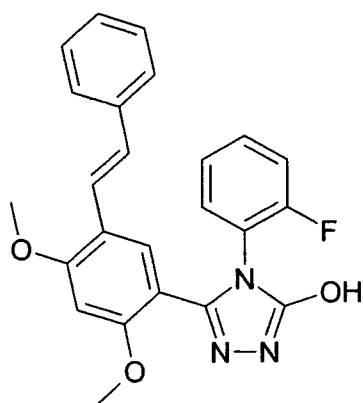
1.3 Zu einer Lösung von 1,314 ml 2-Fluoranilin und 1,13 ml Pyridin in 25 ml Dichlormethan wird unter Eiskühlung eine Lösung von 3,8 g "2" in 25 ml Dichlormethan zugetropft und 5 Stunden bei Raumtemperatur gerührt. Nach üblicher Aufarbeitung und Kristallisation aus Isopropanol erhält man 4,5 g 5-Brom-*N*-(2-fluorphenyl)-2,4-dimethoxybenzamid ("3"), R_f 2.217; MW 355.2.

1.4 Zu einer Lösung von 4,5 g "3" in 60 ml Toluol gibt man unter Stickstoffatmosphäre 2,9 g PCl_5 und erhitzt 3 Stunden unter Rückfluß. Man entfernt das Lösungsmittel, löst den Rückstand in 100 ml THF und tropft die Lösung bei 0° zu 138 ml einer 1M Hydrazin-Lösung in THF. Man rührt 16 Stunden nach, arbeitet wie üblich und kristallisiert aus Isopropanol. Man erhält 3,6 g *N*-(2-Fluorphenyl)-3-brom-4,6-dimethoxybenzamid-hydrazon ("4"), R_f 0.952; MW 369.2

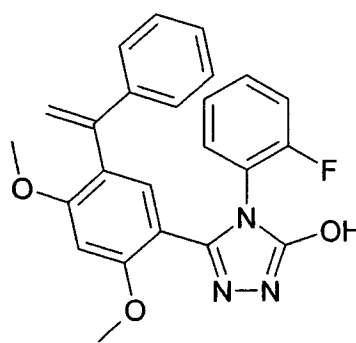


1.5 Zu einer Lösung von 3,6 g "4" in 300 ml THF gibt man 1,86 g 1,1'-Carbonyldiimidazol ("5") und rührt 16 Stunden nach. Man arbeitet wie üblich auf, kocht den Rückstand mit MTB-Ether auf, kühlt ab und trennt die Kristalle ab. Man erhält 700 mg 5-(2,4-Dimethoxy-5-brom-phenyl)-4-(2-fluorphenyl)-3-hydroxy-4*H*-[1,2,4]triazol ("6"), R_f 1.413; MW 395.2.

1.6 Man gibt in ein 10 ml Gläschen 600 mg "6", 178,4 μ l Styrol (stabilisiert), 430,2 μ l Triethylamin, 14,1 mg Palladium(II)-acetat (47% Pd), 19,17 mg Tri-o-tolylphosphin und 4 ml Acetonitril. Man bestrahlt 30 Minuten bei 170° in der Mikrowelle. Man gibt noch etwas Katalysator zu und bestrahlt noch zweimal. Das Gemisch wird mit Toluol versetzt und es wird mehrmals mit Wasser extrahiert. Die organische Phase wird getrocknet und eingeeengt. Der Rückstand wird über RP-Chromatographie gereinigt. Man erhält 140 mg "7", R_f 1,765; MW 418.4 und 40 mg "8"

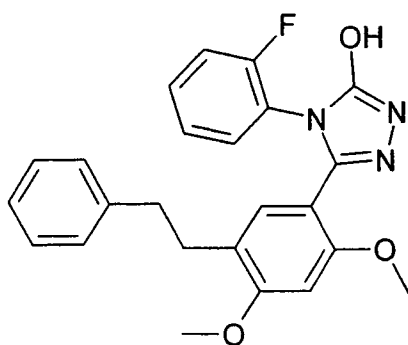


"7"



"8"

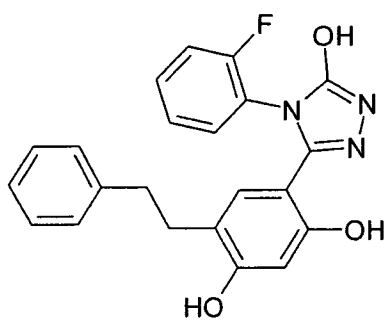
1.7 140 mg "7" wird in 10 ml THF in Anwesenheit von 0,14 g Pt-C (5%) unter Standardbedingungen hydriert. Der Katalysator wird anschließend abgetrennt und wie üblich aufgearbeitet. Man erhält 140 mg "9", R_f 1.920, MW 420.5



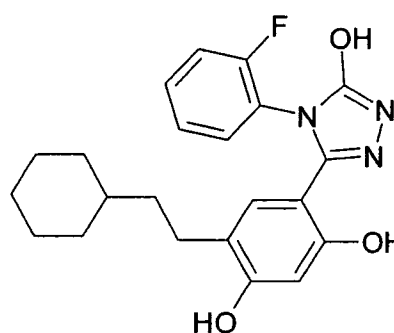
"9"

1.8 Zu einer Lösung von 140 mg "9" in 2 ml Dichlormethan gibt man bei -10° 158,5 μ l Bortribromid und rührt 16 Stunden bei Raumtemperatur nach. Man gibt bei 0° Methanol, trennt die Lösungsmittel ab und reinigt den Rückstand über RP-Chromatographie.

Man erhält 74 mg "A1", R_f 1.537; MW 392.4 und 27 mg "A2", R_f 1.884; MW 398.4



"A1"

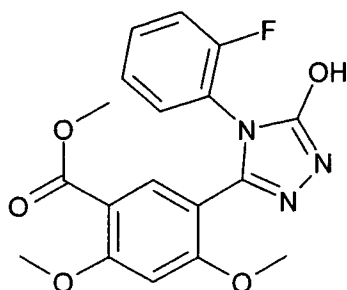


"A2"

Referenzbeispiel 2

Herstellung von 5-[4-(2-Fluor-phenyl)-3-hydroxy-4*H*-[1,2,4]triazol-5-yl]-2,4-dihydroxy-*N*-methyl-*N*-propyl-benzamid ("A46")

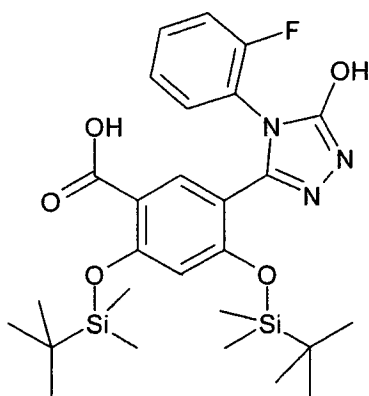
2.1 Eine Lösung von 100 mg 5-(2,4-Dimethoxy-5-brom-phenyl)-4-(2-fluorphenyl)-3-hydroxy-4-*H*-[1,2,4]triazol ("6"), 7 mg [(*R*)-(+)-2,2'-Bis-(diphenylphosphino)-1,1'-binaphthyl]palladium(II)-chlorid, 5.7 ml Kohlenmonoxid und 35 μ l Triethylamin in 20 ml Methanol wird in einem Autoklaven für 20 h bei 100°C und 7.5 bar behandelt. Anschließend wird die erhaltene Lösung eingeeengt und aus Ethanol kristallisiert. Man erhält 91 mg 5-[4-(2-Fluor-phenyl)-3-hydroxy-4*H*-[1,2,4]triazol-5-yl]-2,4-dimethoxybenzoesäuremethylester



, R_t 1.057 min, m/z 374.

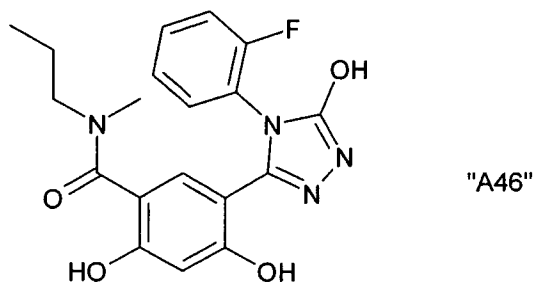
2.2 Analog Beispiel 1.8 erhält man durch Umsetzung von 90 mg 5-[4-(2-Fluor-phenyl)-3-hydroxy-4H-[1,2,4]triazol-5-yl]-2,4-dimethoxybenzoensäuremethylester 57,2 mg der Verbindung 5-[4-(2-Fluor-phenyl)-3-hydroxy-4H-[1,2,4]triazol-5-yl]-2,4-dihydroxybenzoensäure, R_t 0.598 min, m/z 332.

2.3 55 mg 5-[4-(2-Fluor-phenyl)-3-hydroxy-4H-[1,2,4]triazol-5-yl]-2,4-dihydroxybenzoensäure, 2 moläquivalent t-Butyldimethylchlorsilan und 3 moläquivalent Imidazol in 2 ml THF wird für 3 h bei Raumtemperatur gerührt. Man erhält



2.4 Das in 2.3 erhaltene Produkt wird in 1.5 ml THF gelöst und mit 2 eq. 1-(3-Dimethylaminopropyl)-3-ethylcarbodiimid Hydrochlorid versetzt. Nach 1h bei Raumtemperatur werden 1.2 eq. Propylmethylamin zugesetzt und 18 h weitergerührt. Anschließend werden 3 eq. Tetramethylammoniumfluorid dazugegeben und für 2 h bei Raumtemperatur gerührt.

Nach Einengen wird das Produkt abgetrennt. Man erhält 42 mg "A46"; R_t 1.139 min, m/z 387; MW 386



Analog wird die nachstehende Verbindung erhalten

5-[4-(2-Methyl-phenyl)-3-hydroxy-4H-[1,2,4]triazol-5-yl]-2,4-dihydroxy-*N*-methyl-*N*-propyl-benzamid ("A47"), MW 383.4;

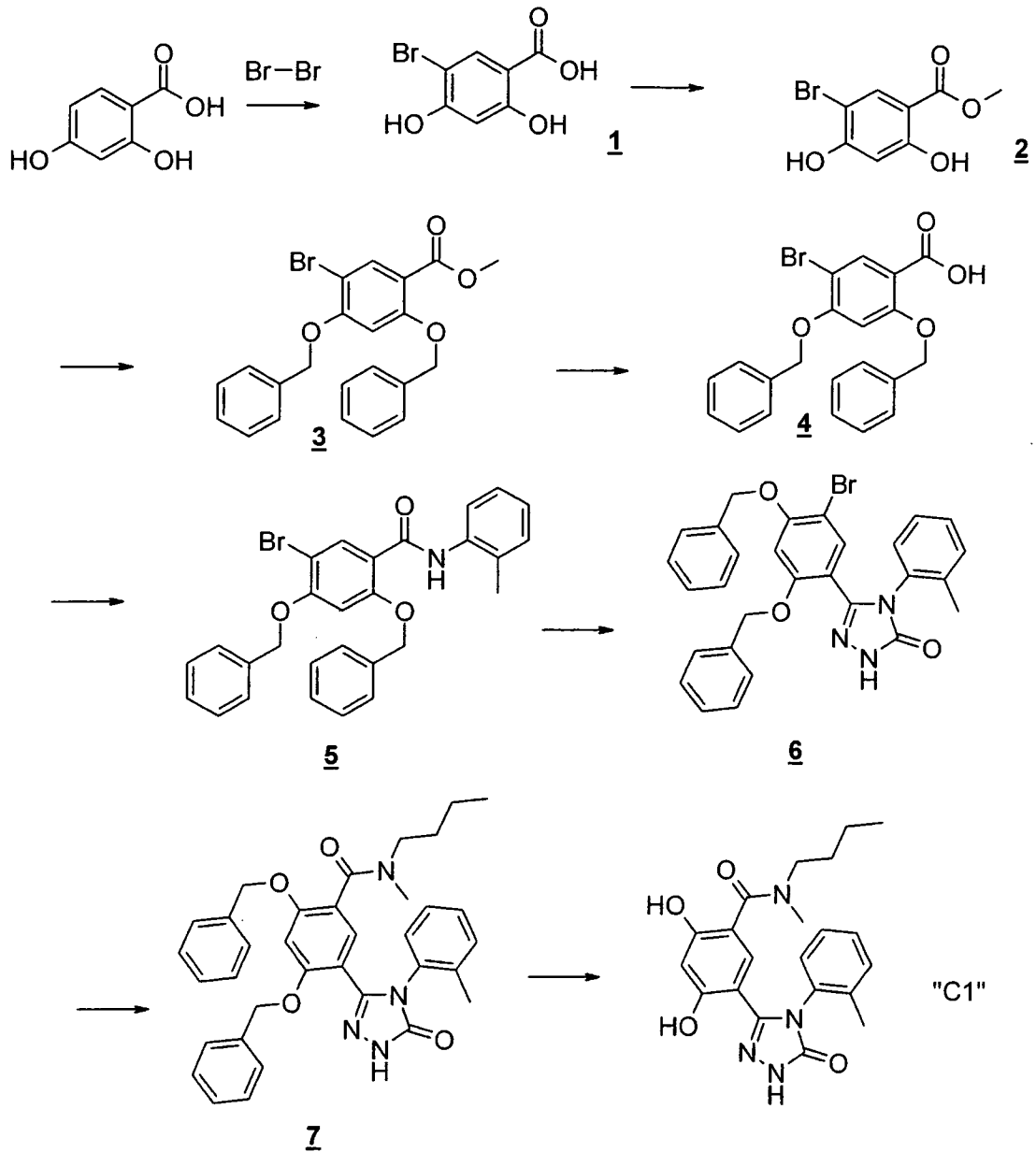
Beispiel 1

Analog der Herstellung von "A47" erhält man die erfindungsgemäße Verbindung 5-[4-(2-Methyl-phenyl)-3-hydroxy-4H-[1,2,4]triazol-5-yl]-2,4-dihydroxy-*N*-methyl-*N*-butyl-benzamid ("C1");

$^1\text{H NMR}$ (500 MHz, DMSO- d_6) δ 11.86 (s, 1H), 9.92 (s, 1H), 7.28-7.23 (m, 2H), 7.14-7.10 (m, 1H), 7.03-7.01 (m, 1H), 6.88 (s, 1H), 6.26 (s, 1H), 3.16 (broad m, 2H), 2.73 (broad s, 3H), 2.14 (s, 3H), 1.40 (broad m, 2H), 1.15 (broad m, 2H), 0.81 (broad m, 3H).

Beispiel 2

Die Synthese von "C1" kann wie folgt durchgeführt werden:



2.1 5-Brom-2,4-dihydroxy-benzoessäure (**1**):

3,55 kg 2,4-Dihydroxybenzoessäure werden in 30 l Eisessig gelöst.

Anschließend wird bei 15°C eine Lösung von 1060 ml Brom in 10 l

Eisessig über einen Zeitraum von 8 h zugetropft. Danach wird bei 20°C 16

h weitergerührt, im Vakuum eingengt und der kristalline Rückstand in 20 l

Dichlormethan aufgeschlämmt und 1 h gerührt. Filtration und Trocknen an

Luft liefert 4,9 kg weißes Rohprodukt. Umkristallisieren aus 30 l Toluol /

Acetonitril (1:1) liefert nach Trocknen 3,549 kg (66% Ausbeute) 5-Brom-2,4-dihydroxy-benzoesäure (F. 210-211,5°C; MW 233.0).

2.2 5-Brom-2,4-dihydroxy-benzoesäuremethylester (2):

8.9 kg 5-Brom-2,4-dihydroxy-benzoesäure werden in 70 l Methanol gelöst und auf 55°C erhitzt. Anschließend werden 800 ml Schwefelsäure (w=95-98%) zudosiert und 4 Tage bei leichtem Rückfluß gerührt, wobei täglich weitere 500 ml Schwefelsäure (w=95-98%) zugesetzt werden (3mal). Das Reaktionsgemisch wird in eine gekühlte Lösung (5°C) von 9 kg Natriumhydrogencarbonat in 100 l Wasser eingerührt. Filtration und Trocknen im Vakuum bei 50°C liefert 7,87 kg (83%) 5-Brom-2,4-dihydroxy-benzoesäuremethylester (weiße Kristalle), MW 247.1.

2.3 2,4-Bis-benzyloxy-5-brom-benzoesäuremethylester (3):

7,86 kg (83%) 5-Brom-2,4-dihydroxy-benzoesäuremethylester und 9,65 kg Kaliumcarbonat werden bei 0°C in 100 l Acetonitril suspendiert. Anschließend wird auf 80°C erhitzt und über einen Zeitraum von 40 min werden 7575 ml Benzylbromid über einen Tropftrichter zugesetzt. Nach 16 h Rühren bei 80°C wird filtriert und das gesammelte Filtrat im Vakuum eingeeengt: 12,95 kg (95%) 2,4-Bis-benzyloxy-5-brom-benzoesäuremethylester (leicht gelbe Kristalle); MW 427.3.

2.4 2,4-Bis-benzyloxy-5-brom-benzoesäure (4):

Zu einer Lösung von 3 kg Natriumhydroxid in 30 l Wasser werden 6,4 kg 2,4-Bis-benzyloxy-5-brom-benzoesäuremethylester in 18 l THF zugegeben. Nach Rühren über Nacht bei 68°C wird auf 10°C gekühlt und mit 7.5 l HCl (w:37%) über einen Tropftrichter versetzt (pH 1). Es wird 1 h nachgerührt und anschließend abfiltriert. Der Rückstand wird im Vakuum bei 60°C zur Massenkonstanz getrocknet; 5.687 kg (91%) 2,4-Bis-benzyloxy-5-brom-benzoesäure (F. 150-152°C; MW 413.3).

2.5 2,4-Bis-benzyloxy-5-brom-N-o-tolyl-benzamid (5):

Zu 42 L Thionylchlorid werden 80 ml DMF zugesetzt. Es wird auf 2-9°C gekühlt und über einen Zeitraum von 1 h 11,55 kg 2,4-Bis-benzyloxy-5-brom-benzoesäure zugegeben. Es wird noch 1 h bei dieser Temperatur weitergerührt und dann 16 h bei 25°C. Danach wird Thionylchlorid im Vakuum (300 mbar, 46°C) abdestilliert. Der erhaltene Rückstand wird noch weitere dreimal mit je 3 l Toluol versetzt und erneut zur Trockne eingengt. Das erhaltene Produkt wird ohne weitere Reinigung für die folgende Reaktion eingesetzt. 13,6 kg (plus Toluol).

Zu 50 l Dichlormethan werden bei 3°C 2,8 l o-Toluidin und 2,5 l Pyridin eingefüllt. Zu dieser Lösung werden 13,6 kg 2,4-Bis-benzyloxy-5-brom-benzoesäurechlorid (toluolfeucht) in 35 l Dichlormethan suspendiert, innerhalb 2 h zugegeben. Anschließend wird bei 23°C über Nacht gerührt, abfiltriert und mit Dichlormethan nachgewaschen (2x mit je 5 l). Das so erhaltene Rohprodukt (8 kg) wurde in 40 l Dichlormethan gelöst und nacheinander mit 40 l destilliertem Wasser, 50 l Salzsäure (~1 mol/l; hergestellt aus 5 l HCl w:37% und 50 l Wasser) extrahiert. Anschließend wird die organische Phase mit 50 l Wasser gewaschen. Die organische Phase wurde mit 6 kg Natriumsulfat 3 Tage getrocknet. Das Trockenmittel wird über eine Nutsche abgesaugt und das Filtrat im Rotationsverdampfer zum festen Rückstand eingengt. Umkristallisation aus Ethanol (35 l, 65°C) liefert nach Trocknen (50°C / 35 mbar) zur Massenkonzanz 10,84 kg (82%) 2,4-Bis-benzyloxy-5-brom-N-o-tolyl-benzamid (F. 174,5°C-176°C; MW 502.4).

2.6 5-(2,4-Bis-benzyloxy-5-brom-phenyl)-4-(2-methylphenyl)-3-hydroxy-4-H-[1,2,4]triazol (6):

Zu 3,5 kg 2,4-Bis-benzyloxy-5-brom-N-o-tolyl-benzamid in 60 l Toluol werden bei 3°C 1,75 kg Phosphorpentachlorid gegeben. Anschließend wird für 4 h auf 135°C erhitzt und dann 16 h bei 25°C weitergerührt. Einengen im Vakuum liefert 3,6 kg kristallines Material. Es wird in 18 l THF aufgenommen und über 1,5 h bei 3°C zu einer Lösung von 1,38 kg Boc-Hydrazin in 30 l THF gegeben. Nach Erwärmen auf 25°C und 16 h Rühren

wird abgesaugt (4,3 kg weißes Produkt - THF-feucht) und direkt in der folgenden Reaktion eingesetzt.

Das Produkt wird in 30 l THF gelöst und bei 1°C innerhalb von 20 min mit 7 l Salzsäure (w:37%) versetzt. Man lässt 16 h bei 23°C rühren, kühlt auf -5°C ab und tropft über 1,5 h 7,5 l Natronlauge (w:32%) zu. Die Phasen werden getrennt und die organische Phase wird mit 25 l gesättigter Natriumchlorid-Lösung (hergestellt aus 8,75 kg Natriumchlorid und 25 l Wasser) gewaschen. Die organische Phase wird mit 6 kg Natriumsulfat getrocknet, das Trockenmittel abgesaugt und das Filtrat im Rotationsverdampfer zum Rückstand eingeeengt. Zum Rückstand werden 2x je 5 l Toluol eingegeben und „scharf“ abdestilliert, um verbliebenes Wasser „abzuschleppen“. Der so erhaltene Rückstand wird direkt weiter umgesetzt.

1,3 kg Carbonyldiimidazol (CDI) werden in 100 l THF gelöst. Nach Abkühlen auf 3°C wird das Produkt aus der vorhergehenden Reaktion in 25 l THF langsam zugetropft. Anschließend wird 16 h bei 25°C gerührt, mit 30 l gesättigter Natriumchlorid-Lösung extrahiert und anschließend die organische Phase mit 25 l 1N HCl extrahiert. Danach wird die organische Phase mit 25 l gesättigter Natriumchlorid-Lösung gewaschen und mit 10 kg Natriumsulfat getrocknet. Filtration und Einengen der organischen Phase im Vakuum liefert einen festen Rückstand, der in 5 l Toluol aufgenommen wird und erneut im Vakuum zur Trockne eingeeengt wird. Umkristallisieren aus 20 l 2-Propanol bei 70°C liefert 2,7 kg (76%) 5-(2,4-Bis-benzyloxy-5-brom-phenyl)-4-(2-methylphenyl)-3-hydroxy-4-H-[1,2,4]triazol, MW 542,4.

2.7 5-[4-(2-Methyl-phenyl)-3-hydroxy-4H-[1,2,4]triazol-5-yl]-2,4-bis-benzyloxy-N-methyl-N-butyl-benzamid (7):

Eine Lösung von 2 kg 5-(2,4-Bis-benzyloxy-5-brom-phenyl)-4-(2-methylphenyl)-3-hydroxy-4-H-[1,2,4]triazol, 90 g (1,1'-Bis(diphenylphosphino)-ferrocen)palladium(II)-chlorid, 83 l Kohlenmonoxid, 479 g Triethylamin, 400 g N-Methylbutylamin in 25 l THF wird in einem

Autoklaven für 20 h bei 120°C und 5-10 bar behandelt. Anschließend wird die erhaltene Lösung eingeengt und aus Ethanol kristallisiert. Man erhält 1,4 kg (70%) 5-[4-(2-Methyl-phenyl)-3-hydroxy-4H-[1,2,4]triazol-5-yl]-2,4-bis-benzyloxy-N-methyl-N-butyl-benzamid, MW 476.7.

2.8 5-[4-(2-Methyl-phenyl)-3-hydroxy-4H-[1,2,4]triazol-5-yl]-2,4-dihydroxy-N-methyl-N-butyl-benzamid ("A1"):

Eine Lösung von 1,1 kg 5-[4-(2-Methyl-phenyl)-3-hydroxy-4H-[1,2,4]triazol-5-yl]-2,4-bis-benzyloxy-N-methyl-N-butyl-benzamid, Pd-C-5% (50,5% Wasser) und 85 l Wasserstoff in 10 l THF wird in einem Autoklaven für 7 h bei 23°C behandelt. Anschließend wird die erhaltene Lösung eingeengt und aus Ethanol kristallisiert. Man erhält 738 g (95%) 5-[4-(2-Methyl-phenyl)-3-hydroxy-4H-[1,2,4]triazol-5-yl]-2,4-dihydroxy-N-methyl-N-butyl-benzamid ("C1"); MW 396.5.

Von der erfindungsgemäßen Verbindung "C1" können zwei polymorphe Formen A1 und A2 isoliert werden.

Schmelzpunkte:

Form A1: F. 238,5 ± 0,1 °C (n =6)

Form A2: F. 209,6 ± 0,2 °C (n =6)

Form A1 ist die thermodynamisch stabilere Form.

Pulver-Röntgendiffraktometrie-Spektren der beiden polymorphen Formen sind in Fig.1 abgebildet.

Die Form A2 läßt sich in A1 umwandeln, z.B. durch Rühren in Lösungsmitteln wie Methanol, Ethanol, Aceton, DMF, Essigsäure, Ameisensäure, THF oder Isopropanol.

Daten der Pulver-XRD-Spektren der Polymorphen A1 und A2:

10 charakteristische Peaks wurden jeweils zur Auswertung herangezogen.

Probe	XRD Rohdaten
Batch 7, Form A1	RT 162-07
Batch 12, Form A2	RT 2214-07

Vorgehensweise und Resultate:

X-Ray Pulver Diffraction (XRD)

Alle Proben wurden durch XRD gemessen

RT 162-07:

- D5000 diffractometer [Bruker AXS]
- Transmission mode
- Generator power 30kV/40mA
- CuK α 1-radiation 1.5406 Å (primary monochromator)
- Position sensitive detector

Messbedingungen XRD:

Range: 3-65 °2 θ

Resolution: 0.05 °2 θ

Step time: 1.4s

RT 2214-07:

- Stoe Powder-X-ray-diffractometer system STADIP 611 KL
- Transmission mode
- Generator power 40 kV/40 mA
- Cu-K α 1 radiation 1.5406 Å (primary monochromator)
- Position-sensitive detector

Messbedingungen XRD:

Range: 3 – 65 °2 θ

Resolution: 0.5 °2 θ

Step time: 15 s

Form A1; RT 162-07:

No.	d[Å]	2 θ	I/I ₀
1	9,3	9,5	100
2	6,8	13,0	43
3	5,3	16,8	60

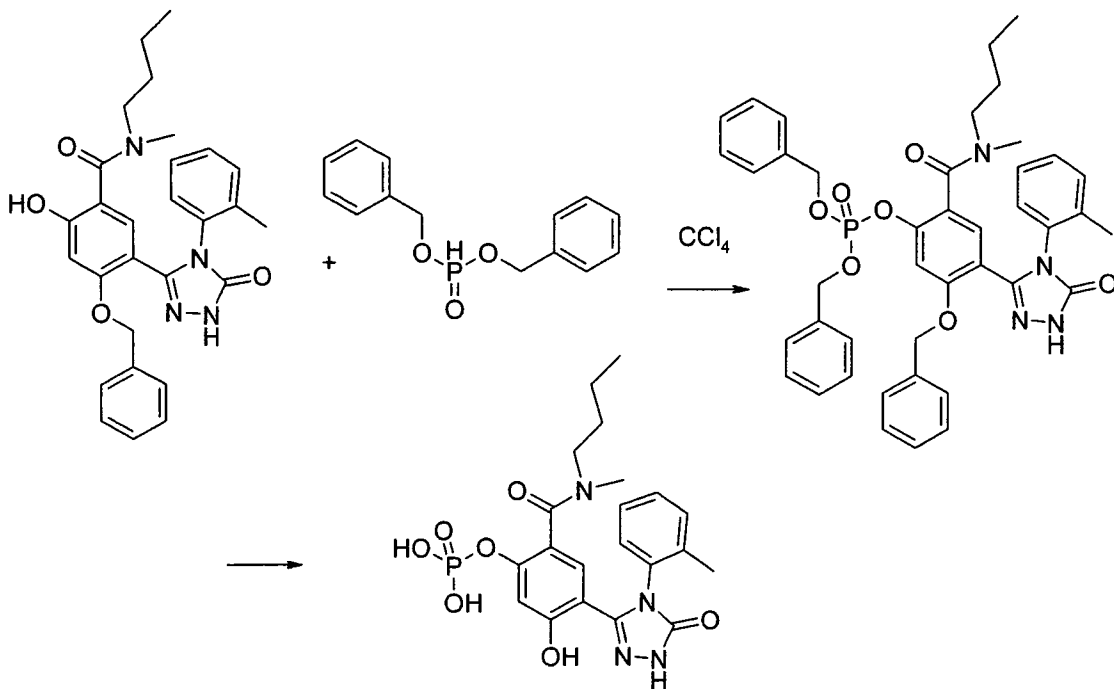
4	4,7	18,9	50
5	4,6	19,5	75
6	4,1	21,8	15
7	3,6	24,7	96
8	3,4	26,4	21
9	3,2	27,8	16
10	2,5	36,6	11

Form A2; RT 2214-07:

No.	d[Å]	2 θ	I/I ₀
1	11,8	7,5	38
2	8,4	10,5	100
3	5,4	16,4	32
4	4,4	20,2	60
5	4,2	20,9	64
6	4,0	22,4	46
7	3,8	23,5	28
8	2,9	31,2	11
9	2,3	38,8	13
10	2,2	41,3	9

Herstellung von Prodrug-Verbindungen**Beispiel 3**

Herstellung von Phosphorsäure-mono-[2-(butyl-methyl-carbamoyl)-5-hydroxy-4-(5-oxo-4-o-tolyl-4,5-dihydro-1H-[1,2,4]triazol-3-yl)-phenyl]-ester



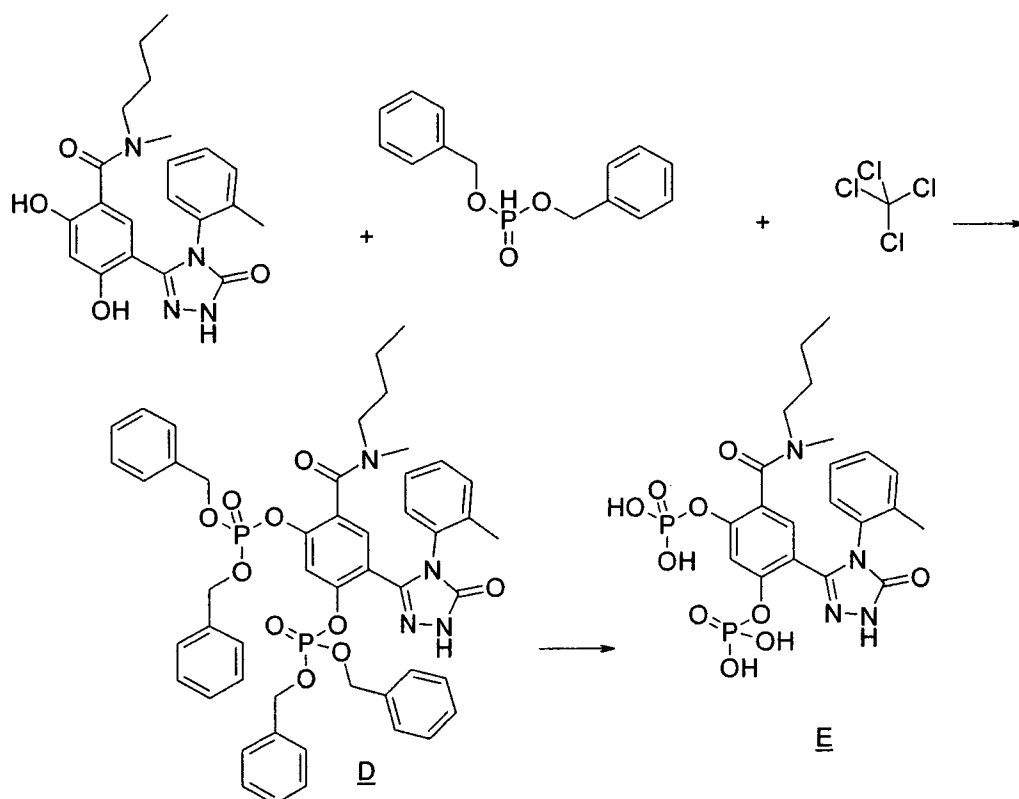
700 mg 5-[4-(2-Methyl-phenyl)-3-hydroxy-4H-[1,2,4]triazol-5-yl]-4-benzyloxy-2-hydroxy-N-methyl-N-butyl-benzamid wird in 20 ml Acetonitril unter Kühlung vorgelegt und mit 10 ml Tetrachlorkohlenstoff versetzt. Nun wird 0.5 ml N-Ethyldiisopropylamin und 50 mg 4-(Dimethylamino)-pyridin und bei -10°C langsam 326 μl Phosphonigsäuredibenzylester zugetropft. Es wird weitere 30 min bei dieser Temperatur gerührt, mit 10 ml einer 0,5 M KH_2PO_4 -Lösung in Wasser versetzt und mit Ethylether extrahiert, über Natriumsulfat getrocknet, filtriert und eingeeengt. Säulenchromatographie liefert 550 mg (51%) 5-[4-(2-Methyl-phenyl)-3-hydroxy-4H-[1,2,4]triazol-5-yl]-4-benzyloxy-2-(phosphorsäure-dibenzylester)-N-methyl-N-butyl-benzamid (R_f 2.196 min; MW 746.8).

Eine Lösung von 550 mg 5-[4-(2-Methyl-phenyl)-3-hydroxy-4H-[1,2,4]triazol-5-yl]-4-benzyloxy-2-(phosphorsäure-dibenzylester)-N-methyl-N-butyl-benzamid, Pd-C-5% (50,5% Wasser) und 49.5 ml Wasserstoff in 10 ml THF wird in einem Autoklaven für 19 h bei 23°C behandelt. Anschließend wird die erhaltene Lösung eingeeengt und aus Ethylether kristallisiert; 280 mg (79.8%) Phosphorsäure-mono-[2-(butyl-methyl-

carbamoyl)-5-hydroxy-4-(5-oxo-4-o-tolyl-4,5-dihydro-1H-[1,2,4]triazol-3-yl)-phenyl]-ester (Rf 0.645 min; MW 476.4).

Beispiel 4

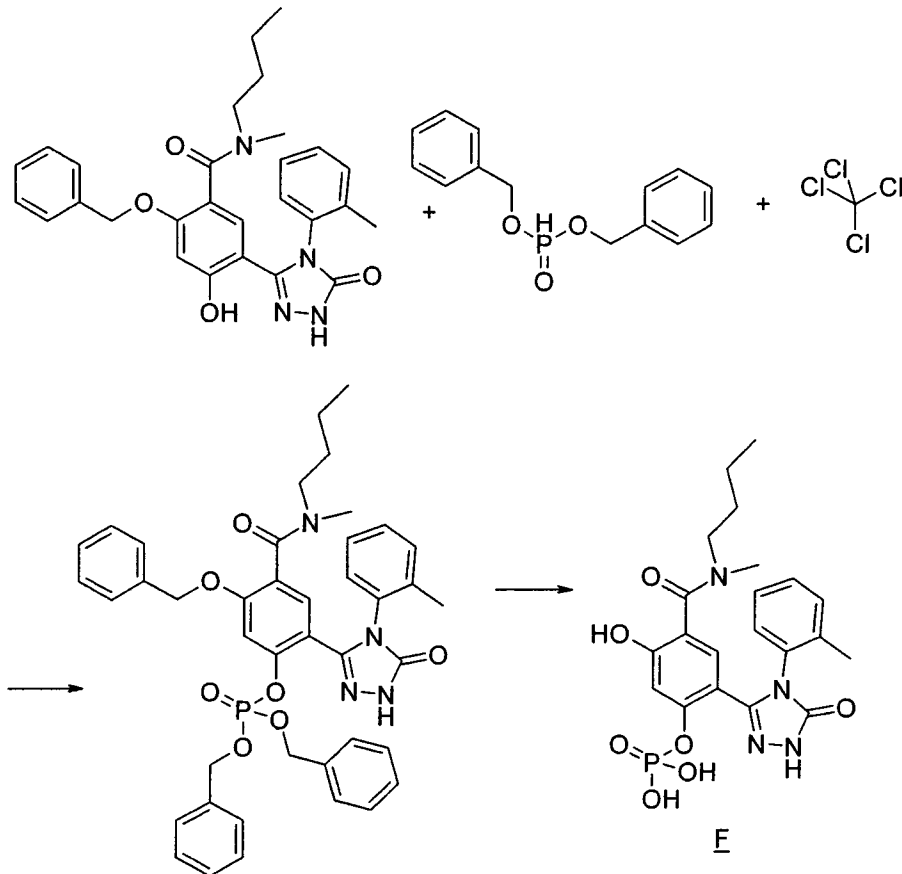
Herstellung von Phosphorsäure-mono-[4-(butyl-methyl-carbamoyl)-2-(5-oxo-4-o-tolyl-4,5-dihydro-1H-[1,2,4]triazol-3-yl)-5-phosphonoxy-phenyl]-ester (E)



Die Synthese erfolgt analog zu Beispiel 3; D: MW 916; Rf 2.335 min E: MW 556.4; Rf 0.883 min.

Beispiel 5

Herstellung von Phosphorsäure-mono-[4-(butyl-methyl-carbamoyl)-5-hydroxy-2-(5-oxo-4-o-tolyl-4,5-dihydro-1H-[1,2,4]triazol-3-yl)-phenyl]-ester (E)

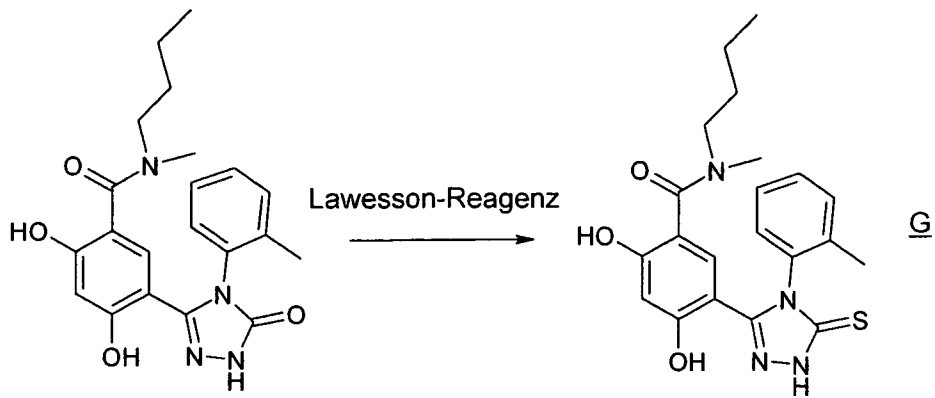


Die Synthese erfolgt analog zu Beispiel 3:

E: MW 476.4; Rf 1.321 min.

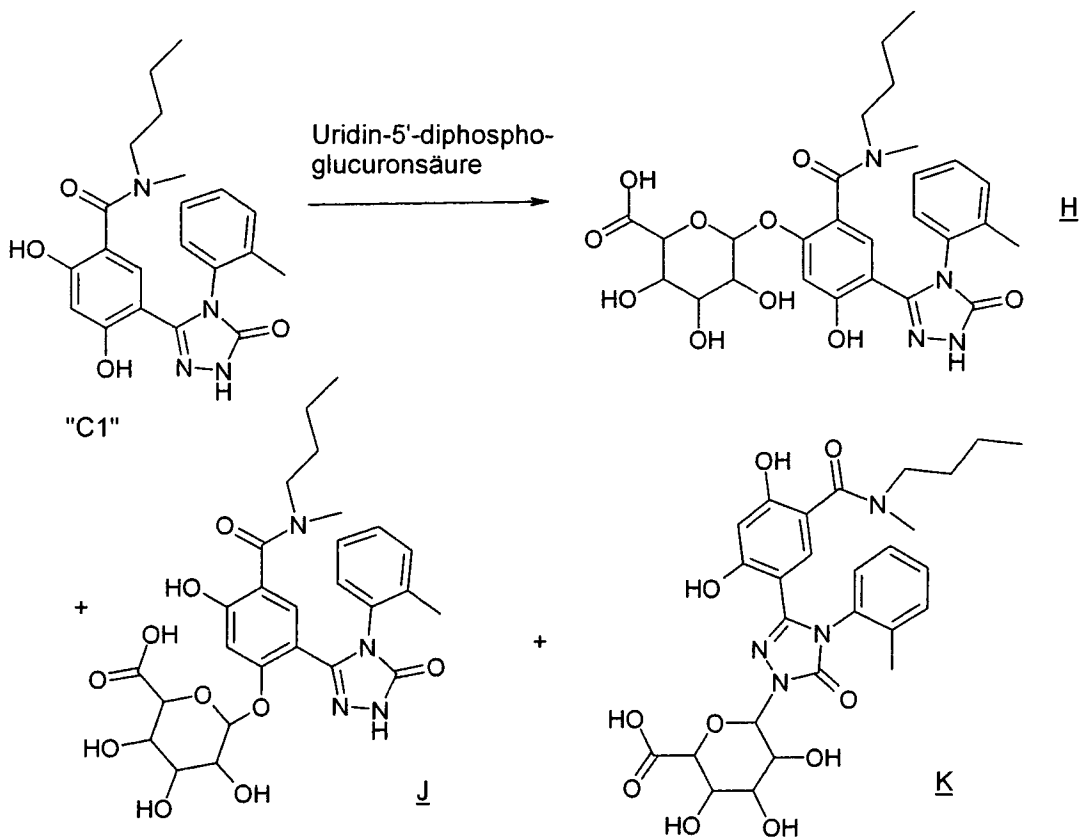
Beispiel 6

Herstellung von N-Butyl-2,4-dihydroxy-N-methyl-5-(5-thioxo-4-o-tolyl-4,5-dihydro-1H-[1,2,4]triazol-3-yl)-benzamide (G)



Beispiel 7

Herstellung von Glucuronsäurederivaten von "C1"



In ein Probengläschen gibt man 4 ml Kaliumphosphatpuffer (0.1 M / pH 7.4 mit 1.0 mM MgCl₂), 100 mg Uridin-5'-diphosphoglucuronsäure Natriumsalz, 10 mg "C1" (suspendiert in 1 ml 20 %igem Acetonitril) und 1 ml Schweineleberhomogenat. Der Ansatz wird bei 37° inkubiert. Nach 24 h wird mit Acetonitril versetzt, abzentrifugiert, und danach werden die Überstände bis zur Trockne eingengt.

Die Trennung und Analyse der drei Regioisomeren erfolgt mittels LC-MS.

LC-MS Bedingungen

Hewlett Packard System der HP 1100 Serie mit den folgenden Merkmalen:

Ionenquelle: Elektrospray (positive mode); Scan: 100-1000m/z;

Fragmentier-Spannung: 60 V; Gas-Temperatur: 300°C;

DAD: 220 nm.

Flussrate: 2.4 ml/Min. Der verwendete Splitter reduziert nach dem DAD die Flussrate für das MS auf 0,75 ml/Min.

Säule: Chromolith SpeedROD RP-18e 50-4.6

Lösungsmittel: LiChrosolv-Qualität der Fa. Merck KGaA

Lösungsmittel A: H₂O (0.01% TFA)

Lösungsmittel B: Acetonitril (0.008% TFA)

Gradient polar:

5% B → 100% B: 0 min bis 3.0 min

100% B: 3.0 min bis 3.3 min

100% B → 20% B: 3.3 min bis 4 min.

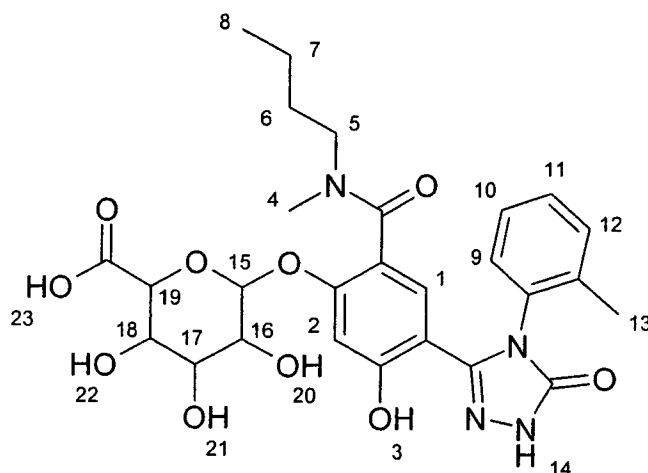
Für drei massengleiche Verbindungen werden folgende R_T-Werte gefunden: 1.307, 1.406 und 1.465 min.

Durch NMR-Spektroskopie konnte das Isomer H eindeutig identifiziert werden.

Das eindimensionale $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum, sowie zwei-dimensionale HSQC-, HMBC- and ROESY-Spektren wurden unter folgenden Bedingungen erhalten:

Bruker DRX 500 Spektrometer; DMSO-d_6 , 303 K, TMS als Standard.

Zuordnung des $^1\text{H-NMR}$ -Spektrums:



δ (1H) [ppm]	Multiplizität	Intensität	Zuordnung
11.97	s	1H	H14
10.2	broad	1H	H3
7.35-7.0	m	4H	H9, H10, H11, H12
6.99, 6.94	s	1H	H1
6.50	s	1H	H2
5.30-5.05	broad	2H	2 OH-groups of the sugar ring
4.88	d	1H	H15
3.76	d	1H	H19
3.60-3.10	m	5H	H5, H16, H17, H18, H_2O
2.95	m	1H	H5'
2.87, 2.63	s	3H	H4
2.50	m		DMSO-d_5
2.17, 2.16, 2.14	s	3H	H13
1.55-0.95	m	4H	H6, H7
0.91, 0.69	m	3H	H8
0.00	s		TMS

Die nachfolgenden Beispiele betreffen pharmazeutische Zubereitungen:

Beispiel A: Injektionsgläser

Eine Lösung von 100 g des erfindungsgemäßen Wirkstoffes und 5 g Dinatriumhydrogenphosphat wird in 3 l zweifach destilliertem Wasser mit 2 n Salzsäure auf pH 6,5 eingestellt, steril filtriert, in Injektionsgläser abgefüllt, unter sterilen Bedingungen lyophilisiert und steril verschlossen. Jedes Injektionsglas enthält 5 mg Wirkstoff.

Beispiel B: Suppositorien

Man schmilzt ein Gemisch von 20 g des erfindungsgemäßen Wirkstoffes mit 100 g Sojalecithin und 1400 g Kakaobutter, gießt in Formen und läßt erkalten. Jedes Suppositorium enthält 20 mg Wirkstoff.

Beispiel C: Lösung

Man bereitet eine Lösung aus 1 g des erfindungsgemäßen Wirkstoffes, 9,38 g $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2 \text{H}_2\text{O}$, 28,48 g $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12 \text{H}_2\text{O}$ und 0,1 g Benzalkoniumchlorid in 940 ml zweifach destilliertem Wasser. Man stellt auf pH 6,8 ein, füllt auf 1 l auf und sterilisiert durch Bestrahlung. Diese Lösung kann in Form von Augentropfen verwendet werden.

Beispiel D: Salbe

Man mischt 500 mg des erfindungsgemäßen Wirkstoffes mit 99,5 g Vaseline unter aseptischen Bedingungen.

Beispiel E: Tabletten

Ein Gemisch von 1 kg Wirkstoff, 4 kg Lactose, 1,2 kg Kartoffelstärke, 0,2 kg Talk und 0,1 kg Magnesiumstearat wird in üblicher Weise zu Tabletten verpreßt, derart, daß jede Tablette 10 mg Wirkstoff enthält.

Beispiel F: Dragees

Analog Beispiel E werden Tabletten gepreßt, die anschließend in üblicher Weise mit einem Überzug aus Saccharose, Kartoffelstärke, Talk, Tragant und Farbstoff überzogen werden.

Beispiel G: Kapseln

2 kg Wirkstoff werden in üblicher Weise in Hartgelatine kapseln gefüllt, so daß jede Kapsel 20 mg des Wirkstoffs enthält.

Beispiel H: Ampullen

Eine Lösung von 1 kg des erfindungsgemäßen Wirkstoffes in 60 l zweifach destilliertem Wasser wird steril filtriert, in Ampullen abgefüllt, unter sterilen Bedingungen lyophilisiert und steril verschlossen. Jede Ampulle enthält 10 mg Wirkstoff.

Patentansprüche

1. Die Verbindung
5-[4-(2-Methyl-phenyl)-3-hydroxy-4*H*-[1,2,4]triazol-5-yl]-2,4-dihydroxy-*N*-methyl-*N*-butyl-benzamid,
sowie seine pharmazeutisch verwendbaren Derivate, Salze, Solvate, Tautomere und Stereoisomere, einschließlich deren Mischungen in allen Verhältnissen.
2. Verbindung nach Anspruch 1, worin die pharmazeutisch verwendbaren Derivate ausgewählt sind aus der Gruppe
Mono- und Diphosphorsäurederivate, Thioxo-derivate, Mono- und Diglucuronsäurederivate.
3. Arzneimittel, enthaltend 5-[4-(2-Methyl-phenyl)-3-hydroxy-4*H*-[1,2,4]triazol-5-yl]-2,4-dihydroxy-*N*-methyl-*N*-butyl-benzamid und/oder seine pharmazeutisch verwendbaren Derivate, Salze, Solvate, Tautomere und Stereoisomere, einschließlich deren Mischungen in allen Verhältnissen, sowie gegebenenfalls Träger- und/oder Hilfsstoffe.
4. Verwendung von 5-[4-(2-Methyl-phenyl)-3-hydroxy-4*H*-[1,2,4]triazol-5-yl]-2,4-dihydroxy-*N*-methyl-*N*-butyl-benzamid sowie seiner pharmazeutisch verwendbaren Derivate, Salze, Solvate, Tautomere und Stereoisomere, einschließlich deren Mischungen in allen Verhältnissen, zur Herstellung eines Arzneimittels zur Behandlung und/oder Prophylaxe von Krankheiten, bei denen die Hemmung, Regulierung und/oder Modulation von HSP90 eine Rolle spielt.
5. Verwendung nach Anspruch 4 von 5-[4-(2-Methyl-phenyl)-3-hydroxy-4*H*-[1,2,4]triazol-5-yl]-2,4-dihydroxy-*N*-methyl-*N*-butyl-benzamid sowie

seiner pharmazeutisch verwendbaren Derivate, Salze, Solvate, Tautomere und Stereoisomere, einschließlich deren Mischungen in allen Verhältnissen, zur Herstellung eines Arzneimittels zur Behandlung oder Vorbeugung von Tumorerkrankungen, viralen Erkrankungen, zur Immunsuppression bei Transplantationen, entzündungsbedingten Erkrankungen, Zystische Fibrose, Erkrankungen im Zusammenhang mit Angiogenese, infektiösen Erkrankungen, Autoimmunerkrankungen, Ischämie, fibrogenetischen Erkrankungen, zur Förderung der Nervenregeneration, zur Hemmung des Wachstums von Krebs, Tumorzellen und Tumormetastasen, zum Schutz normaler Zellen gegen Toxizität, die durch Chemotherapie verursacht ist, zur Behandlung von Krankheiten, wobei Proteinfehlfaltung oder Aggregation ein Hauptkausalfaktor ist.

6. Verwendung nach Anspruch 5, wobei es sich bei den Tumorerkrankungen um Fibrosarkom, Myxosarkom, Liposarkom, Chondrosarkom, osteogenem Sarkom, Chordom, Angiosarkom, Endotheliosarkom, Lymphangiosarkom, Lymphangioendotheliosarkom, Synoviom, Mesotheliom, Ewing-Tumor, Leiosarkom, Rhabdomyosarkom, Kolonkarzinom, Pankreaskrebs, Brustkrebs, Ovarkrebs, Prostatakrebs, Plattenzellkarzinom, Basalzellkarzinom, Adenokarzinom, Schweißdrüsenkarzinom, Talgdrüsenkarzinom, Papillarkarzinom, Papillaradenokarzinomen, Cystadenokarzinomen, Knochenmarkkarzinom, bronchogenem Karzinom, Nierenzellkarzinom, Hepatom, Gallengangkarzinom, Chorionkarzinom, Seminom, embryonalem Karzinom, Wilms-Tumor, Cervix-Krebs, Hodentumor, Lungenkarzinom, kleinzelligem Lungenkarzinom, Blasenkarzinom, Epithelkarzinom, Gliom, Astrocytom, Medulloblastom, Kraniopharyngiom, Ependymom, Pinealom,

Hämangioblastom, akustischem Neurom, Oligodendrogliom, Meningiom, Melanom, Neuroblastom, Retinoblastom, Leukämie, Lymphom, multiplem Myelom, Waldenströms Makroglobulinämie und Schwere-Kettenerkrankung handelt.

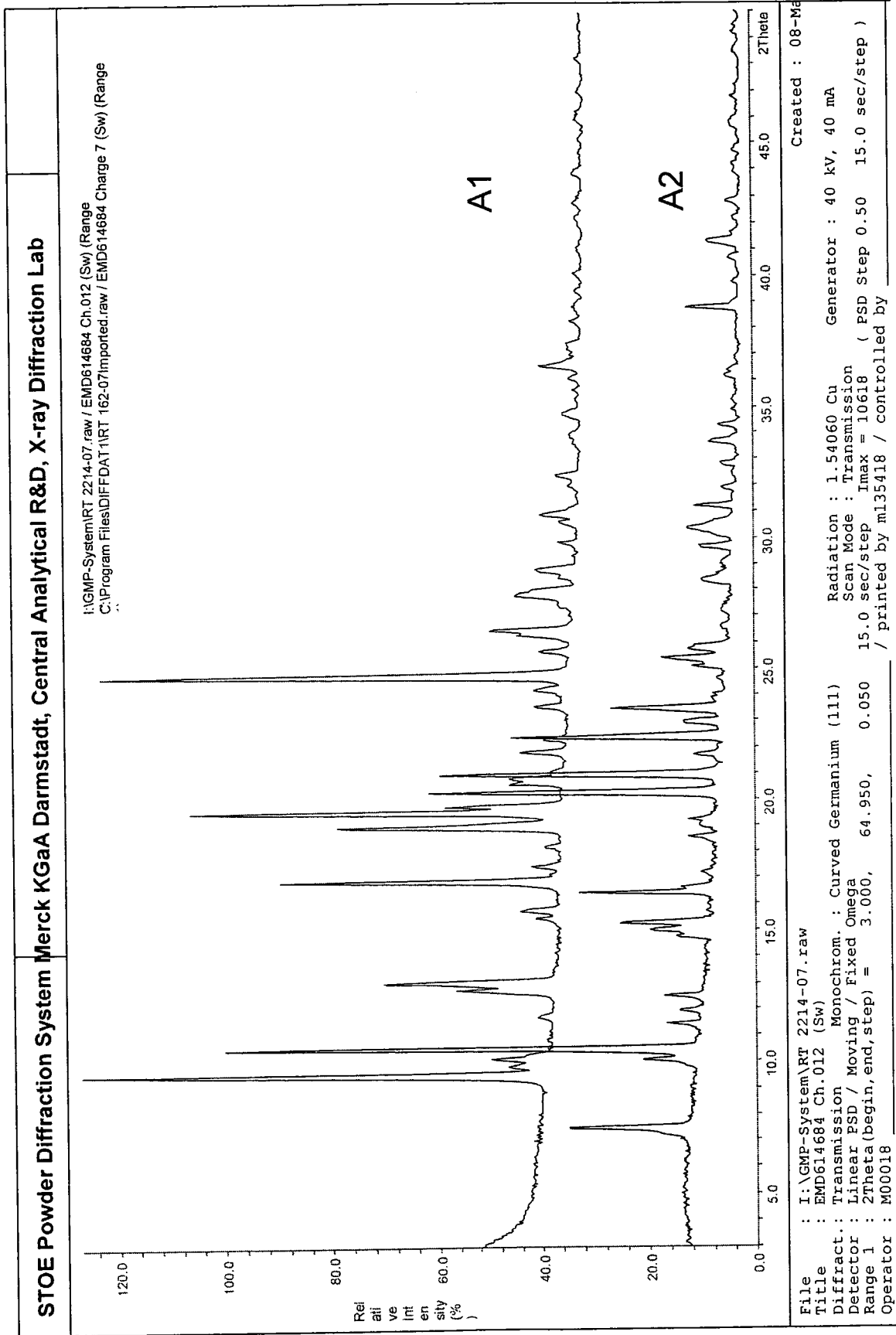
7. Verwendung nach Anspruch 5, wobei das virale Pathogen der viralen Erkrankungen ausgewählt ist aus der Gruppe, bestehend aus Hepatitis Typ A, Hepatitis Typ B, Hepatitis Typ C, Influenza, Varicella, Adenovirus, Herpes-Simplex Typ I (HSV-I), Herpes Simplex Typ II (HSV-II), Rinderpest, Rhinovirus, Echovirus, Rotavirus, respiratorischem Synzytialvirus (RSV), Papillomvirus, Papovavirus, Cytomegalievirus, Echinovirus, Arbovirus, Huntavirus, Coxsackievirus, Mumpsvirus, Masernvirus, Rötelnvirus, Poliovirus, menschliches Immunschwächevirus Typ I (HIV-I) und menschliches Immunschwächevirus Typ II (HIV-II).
8. Verwendung nach Anspruch 5, wobei es sich bei den entzündungsbedingten Erkrankungen um Rheumatoide Arthritis, Asthma, Multiple Sklerose, Typ 1 Diabetes, Lupus Erythematodes, Psoriasis und Inflammatory Bowel Disease handelt.
9. Verwendung nach Anspruch 5, wobei es sich bei den Erkrankungen im Zusammenhang mit Angiogenese um diabetische Retinopathie, Hämangiome, Endometriose und Tumorangiogenese handelt.
10. Verwendung nach Anspruch 5, wobei es sich bei den fibrogenetischen Erkrankungen um Sklerodermie, Polymyositis, systemischer Lupus, Leberzirrhose, Keloidbildung, interstitielle Nephritis und pulmonare Fibrose handelt.
11. Verwendung nach Anspruch 5, wobei es sich bei den Krankheiten, bei denen Proteinefehlfaltung oder Aggregation ein Hauptkausalfaktor

ist, um Skrapie, Creutzfeldt-Jakob-Krankheit, Huntington oder Alzheimer handelt.

12. Arzneimittel enthaltend 5-[4-(2-Methyl-phenyl)-3-hydroxy-4*H*-[1,2,4]triazol-5-yl]-2,4-dihydroxy-*N*-methyl-*N*-butyl-benzamid und/oder seine pharmazeutisch verwendbaren Derivate, Salze, Solvate, Tautomere und Stereoisomere, einschließlich deren Mischungen in allen Verhältnissen, und mindestens einen weiteren Arzneimittelwirkstoff.

13. Set (Kit), bestehend aus getrennten Packungen
 - (a) einer wirksamen Menge an 5-[4-(2-Methyl-phenyl)-3-hydroxy-4*H*-[1,2,4]triazol-5-yl]-2,4-dihydroxy-*N*-methyl-*N*-butyl-benzamid und/oder seiner pharmazeutisch verwendbaren Derivate, Salze, Solvate, Tautomere und Stereoisomere, einschließlich deren Mischungen in allen Verhältnissen, und
 - (b) einer wirksamen Menge eines weiteren Arzneimittelwirkstoffs.

Fig.1 P-XRD der Formen A1 und A2 von "C1"



INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No PCT/EP2007/010775

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
 INV. C07D249/12 C07F9/09 C07H15/26 A61K31/4196 A61P35/00

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)
 C07D C07F C07H

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

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	WO 2006/087077 A (MERCK PATENT GMBH [DE]; EGGENWEILER HANS-MICHAEL [DE]; WOLF MICHAEL [D] 24 August 2006 (2006-08-24) cited in the application claim 1; example A47 -----	1-13

Further documents are listed in the continuation of Box C.
 See patent family annex.

* Special categories of cited documents :

<p>*A* document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance</p> <p>*E* earlier document but published on or after the international filing date</p> <p>*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)</p> <p>*O* document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means</p> <p>*P* document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed</p>	<p>*T* later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention</p> <p>*X* document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone</p> <p>*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.</p> <p>*Z* document member of the same patent family</p>
--	--

Date of the actual completion of the international search 14 Mai 2008	Date of mailing of the international search report 27/05/2008
---	---

Name and mailing address of the ISA/ European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl, Fax: (+31-70) 340-3016	Authorized officer <p style="text-align: center; font-size: 1.2em;">Grassi, Damian</p>
---	--

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No

PCT/EP2007/010775

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 2006087077 A	24-08-2006	AR 052482 A1	21-03-2007
		AU 2006215902 A1	24-08-2006
		CA 2598017 A1	24-08-2006
		CN 101119978 A	06-02-2008
		DE 102005007304 A1	24-08-2006
		EP 1853570 A2	14-11-2007
		KR 20070106720 A	05-11-2007

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Internationales Aktenzeichen
PCT/EP2007/010775

A. KLASSIFIZIERUNG DES ANMELDUNGSGEGENSTANDES
 INV.: C07D249/12 C07F9/09 C07H15/26 A61K31/4196 A61P35/00

Nach der Internationalen Patentklassifikation (IPC) oder nach der nationalen Klassifikation und der IPC

B. RECHERCHIERTE GEBIETE
 Recherchiertes Mindestprüfstoff (Klassifikationssystem und Klassifikationssymbole)
 C07D C07F C07H

Recherchierte, aber nicht zum Mindestprüfstoff gehörende Veröffentlichungen, soweit diese unter die recherchierten Gebiete fallen

Während der internationalen Recherche konsultierte elektronische Datenbank (Name der Datenbank und evtl. verwendete Suchbegriffe)
 EPO-Internal

C. ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN

Kategorie*	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
A	WO 2006/087077 A (MERCK PATENT GMBH [DE]; EGGENWEILER HANS-MICHAEL [DE]; WOLF MICHAEL [D]) 24. August 2006 (2006-08-24) in der Anmeldung erwähnt Anspruch 1; Beispiel A47	1-13

Weitere Veröffentlichungen sind der Fortsetzung von Feld C zu entnehmen Siehe Anhang Patentfamilie

- * Besondere Kategorien von angegebenen Veröffentlichungen :
- *A* Veröffentlichung, die den allgemeinen Stand der Technik definiert, aber nicht als besonders bedeutsam anzusehen ist
- *E* älteres Dokument, das jedoch erst am oder nach dem internationalen Anmeldedatum veröffentlicht worden ist
- *L* Veröffentlichung, die geeignet ist, einen Prioritätsanspruch zweifelhaft erscheinen zu lassen, oder durch die das Veröffentlichungsdatum einer anderen im Recherchenbericht genannten Veröffentlichung belegt werden soll oder die aus einem anderen besonderen Grund angegeben ist (wie ausgeführt)
- *O* Veröffentlichung, die sich auf eine mündliche Offenbarung, eine Benutzung, eine Ausstellung oder andere Maßnahmen bezieht
- *P* Veröffentlichung, die vor dem internationalen Anmeldedatum, aber nach dem beanspruchten Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist
- *T* Spätere Veröffentlichung, die nach dem internationalen Anmeldedatum oder dem Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist und mit der Anmeldung nicht kollidiert, sondern nur zum Verständnis des der Erfindung zugrundeliegenden Prinzips oder der ihr zugrundeliegenden Theorie angegeben ist.
- *X* Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann allein aufgrund dieser Veröffentlichung nicht als neu oder auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden
- *Y* Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann nicht als auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden, wenn die Veröffentlichung mit einer oder mehreren anderen Veröffentlichungen dieser Kategorie in Verbindung gebracht wird und diese Verbindung für einen Fachmann naheliegend ist
- *&* Veröffentlichung, die Mitglied derselben Patentfamilie ist

Datum des Abschlusses der internationalen Recherche	Absenddatum des internationalen Recherchenberichts
14. Mai 2008	27/05/2008

Name und Postanschrift der Internationalen Recherchenbehörde Europäisches Patentamt, P.B. 5818 Patentlaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl, Fax: (+31-70) 340-3016	Bevollmächtigter Bediensteter Grassi, Damian
---	---

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Angaben zu Veröffentlichungen, die zur selben Patentfamilie gehören

Internationales Aktenzeichen

PCT/EP2007/010775

Im Recherchenbericht angeführtes Patentdokument	Datum der Veröffentlichung	Mitglied(er) der Patentfamilie	Datum der Veröffentlichung
WO 2006087077 A	24-08-2006	AR 052482 A1	21-03-2007
		AU 2006215902 A1	24-08-2006
		CA 2598017 A1	24-08-2006
		CN 101119978 A	06-02-2008
		DE 102005007304 A1	24-08-2006
		EP 1853570 A2	14-11-2007
		KR 20070106720 A	05-11-2007
