



(19)
Bundesrepublik Deutschland
Deutsches Patent- und Markenamt

(10) **DE 603 04 059 T2** 2006.11.16

(12) **Übersetzung der europäischen Patentschrift**

(97) **EP 1 567 151 B1**

(21) Deutsches Aktenzeichen: **603 04 059.4**

(86) PCT-Aktenzeichen: **PCT/GB03/05275**

(96) Europäisches Aktenzeichen: **03 778 583.9**

(87) PCT-Veröffentlichungs-Nr.: **WO 2004/050087**

(86) PCT-Anmeldetag: **04.12.2003**

(87) Veröffentlichungstag

der PCT-Anmeldung: **17.06.2004**

(97) Erstveröffentlichung durch das EPA: **31.08.2005**

(97) Veröffentlichungstag

der Patenterteilung beim EPA: **15.03.2006**

(47) Veröffentlichungstag im Patentblatt: **16.11.2006**

(51) Int Cl.⁸: **A61K 31/415** (2006.01)

C07D 231/14 (2006.01)

A61K 31/496 (2006.01)

A61K 31/5377 (2006.01)

A61K 31/4439 (2006.01)

A61K 31/4155 (2006.01)

C07D 401/12 (2006.01)

C07D 403/12 (2006.01)

(30) Unionspriorität:

0228417 **05.12.2002** **GB**

(73) Patentinhaber:

**Vernalis (Cambridge) Ltd., Abington, Cambridge,
GB; Cancer Research Technology Ltd., London,
GB; Institute of Cancer Research, London, GB**

(74) Vertreter:

HOFFMANN & EITLE, 81925 München

(84) Benannte Vertragsstaaten:

**AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB,
GR, HU, IE, IT, LI, LU, MC, NL, PT, RO, SE, SI, SK,
TR**

(72) Erfinder:

**BESWICK, Mandy Christine, Abington, Cambridge
CB1 6GB, GB; BROUGH, Paul Andrew, Abington,
Cambridge CB1 6GB, GB; DRYSDALE, Martin
James, Abington, Cambridge CB1 6GB, GB;
DYMOCK, Brian William, Abington, Cambridge
CB1 6GB, GB**

(54) Bezeichnung: **3-(2-HYDROXY-PHENYL)-1H-PYRAZOL-4-CARBONSÄUREAMID DERIVATE ALS HSP90 INHIBITOREN ZUR BEHANDLUNG VON KREBS**

Anmerkung: Innerhalb von neun Monaten nach der Bekanntmachung des Hinweises auf die Erteilung des europäischen Patents kann jedermann beim Europäischen Patentamt gegen das erteilte europäische Patent Einspruch einlegen. Der Einspruch ist schriftlich einzureichen und zu begründen. Er gilt erst als eingelegt, wenn die Einspruchsgebühr entrichtet worden ist (Art. 99 (1) Europäisches Patentübereinkommen).

Die Übersetzung ist gemäß Artikel II § 3 Abs. 1 IntPatÜG 1991 vom Patentinhaber eingereicht worden. Sie wurde vom Deutschen Patent- und Markenamt inhaltlich nicht geprüft.

Beschreibung

[0001] Die Erfindung betrifft substituiert Pyrazole mit HSP90 inhibitorischer Aktivität, die Verwendung solcher Verbindungen in der Medizin in Bezug auf Erkrankungen, die auf eine Inhibition der HSP90-Aktivität reagieren, wie z.B. Krebs und pharmazeutische Zusammensetzungen, die solche Verbindungen enthalten.

Hintergrund der Erfindung

[0002] Molekulare Chaperone erhalten sich die geeignete Faltung und Konformation der Proteine und sind Schlüsselemente bei der Regulation des Gleichgewichts zwischen der Proteinsynthese und dem Abbau. Es wurde gezeigt, dass sie auch bei der Regulation vieler wichtiger zellulärer Funktionen, wie z.B. der Zellproliferation und Apoptose wichtig sind (Jolly und Morimoto, 2000; Smith et al., 1998; Smith, 2001).

Hitzeschockproteine (HSPs)

[0003] Das Aussetzen von Zellen gegenüber einer Anzahl von Umweltbelastungen, einschließlich einem Hitzeschock, Alkohol, Schwermetallen und oxidativem Stress führt zu einer zellulären Anhäufung einer Anzahl von Chaperonen, die allgemein als Hitzeschockproteine (HSPs) bekannt sind. Die Induktion der HSPs schützt die Zelle gegen das anfängliche Auftreten der Belastung, erhöht die Erholung und führt zu einem Erhalt eines Stresstoleranzzustands. Es wurde jedoch auch deutlich, dass bestimmte HSPs auch eine wichtige molekulare Chaperon-Rolle unter normalen stressfreien Bedingungen durch Regulation der korrekten Faltung, des Abbaus, der Lokalisierung und Funktion einer wachsenden Liste wichtiger zellulärer Proteine spielen könnten.

[0004] Eine Zahl von Multigenfamilien von HSPs existiert mit individuellen Genprodukten, die im Hinblick auf zelluläre Expression, Funktion und Lokalisierung variieren. Sie werden nach ihrem Molekulargewicht klassifiziert, z.B. HSP70, HSP90 und HSP27.

[0005] Etliche Erkrankungen bei Menschen können als Ergebnis einer Missfaltung beim Protein erworben werden (überblickmäßig dargestellt in Tytell et al., 2001; Smith et al., 1998). Daher könnte sich die Entwicklung von Therapien, die die molekulare Chaperon-Maschinerie aufbrechen, als günstig erweisen. Bei einigen Zuständen (z.B. der Alzheimerschen Erkrankung, Prionen-Erkrankungen und der Huntington'schen Erkrankung) können falsch gefaltete Proteine zu einer Proteinaggregation führen, was zu neurodegenerativen Störungen führt. Außerdem können fehlgefaltete Proteine zu einem Verlust der Wildtyp-Proteinfunktion führen, was zu deregulierten molekularen und physiologischen Funktionen in der Zelle führt.

[0006] HSPs wurden auch mit Krebs impliziert. Es gibt beispielsweise Beweise für eine differenzielle Expression von HSPs, die zu der Stufe der Tumorprogression in Bezug stehen können (Martin et al., 2000; Conroy et al., 1996; Kawanishi et al., 1999; Jameel et al., 1992; Hoang et al., 2000; Lebeau et al., 1991). Als Ergebnis der Beteiligung von HSP90 an verschiedenen kritischen onkogenen Stoffwechselwegen und der Entdeckung, dass bestimmte natürliche Produkte mit einer Anti-Krebs-Aktivität dieses molekulare Chaperon als Ziel haben, wurde das faszinierende neue Konzept entwickelt, dass die Inhibition der HSP-Funktion bei der Behandlung von Krebs nützlich sein könnte. Der erste molekulare Chaperon-Inhibitor durchläuft gegenwärtig die klinischen Versuche.

[0007] HSP90 bildet ungefähr 1-2 % des gesamten zellulären Proteins und liegt üblicherweise in der Zelle als Dimer in Assoziation mit einem von einer Anzahl anderer Proteine vor (siehe beispielsweise Pratt, 1997). Er ist für die Zelllebensfähigkeit essenziell und zeigt duale Chaperonfunktionen (Young et al., 2001). Er spielt eine Schlüsselrolle bei der zellulären Stressreaktion durch Interaktion mit vielen Proteinen, nachdem ihre native Konformation durch verschiedene Umweltbelastungen, wie z.B. Hitzeschocks verändert wurde, stellt eine richtige Proteinfaltung sicher und verhindert eine nicht spezifische Aggregation (Smith et al., 1998). Zusätzlich legen kürzliche Ergebnisse nahe, dass HSP90 auch eine Rolle bei einer Pufferung gegen die Wirkungen einer Mutation spielen kann, vermutlich durch Korrektur einer falschen Faltung mutierter Proteine (Rutherford und Lindquist, 1998). HSP90 hat jedoch auch eine wichtige regulatorische Rolle. Unter normalen physiologischen Bedingungen spielt HSP90 zusammen mit dem endoplasmatischen Retikulumshomolog GRP94 eine Haushälterrolle in der Zelle, erhält die Konformationsstabilität und die Reifung etlicher Schlüssel-Klientenproteine. Diese können in drei Gruppen unterteilt werden: (a) Steroidhormonrezeptoren, (b) Ser/Thr oder Tyrosinkinasen (z.B. ERBB2, RAF-1, CDK4 und LCK) und (c) eine Sammlung von anscheinend nicht in Beziehung stehenden Proteinen, z.B. Mutant p53 und die katalytische Untereinheit der Telomerase hTERT. Alle diese Proteine spielen regulatorische Schlüsselrollen in vielen physiologischen und biochemischen Prozessen in der Zelle. Neue HSP90-Klientenproteine werden kontinuierlich identifiziert.

[0008] Die hoch konservierte HSP90-Familie beim Menschen besteht aus vier Genen, nämlich den Cytosol HSP90 α - und HSP90 β -Isoformen (Hickey et al., 1989), GRP94 im endoplasmatischen Retikulum (Argon et al., 1999) und HSP75/TRAP1 in der Mitochondrienmatrix (Felts et al., 2000). Es wird angenommen, dass alle diese Familienmitglieder einen ähnlichen Wirkungsmodus aufweisen, jedoch an unterschiedliche Klientenproteine binden, abhängig von ihrer Lokalisierung in der Zelle. Es ist beispielsweise bekannt, dass ERBB2 ein spezifisches Klientenprotein von GRP94 ist (Argon et al., 1999) und von dem Typ 1-Tumornekrosefaktorrezeptor (TNFR1) und RB wurde gezeigt, dass sie Klienten von TRAP1 sind (Song et al., 1995; Chen et al., 1996).

[0009] HSP90 nimmt an einer Reihe von komplexen Wechselwirkungen mit einem breiten Bereich von Klienten und regulatorischen Proteinen teil (Smith, 2001). Obwohl die präzisen molekularen Details noch erhellt werden müssen, haben biochemische und röntgenkristallografische Studien (Prodromou et al., 1997; Stebbins et al., 1997), die in den letzten Jahren durchgeführt wurden, immer detailliertere Einblicke in die Chaperon-Funktion von HSP90 gewährt.

[0010] Folgend auf frühere Kontroversen zu diesem Punkt wird es nun deutlich, dass HSP90 ein ATP-abhängiges molekulares Chaperon ist (Prodromou et al., 1997), wobei die Dimerisierung der Nukleotid-Bindungsdomänen für die ATP-Hydrolyse essenziell ist, was wiederum für die Chaperonfunktion essenziell ist (Prodromou et al., 2000a). Die Bindung von ATP führt zur Bildung von toroiden Dimerstrukturen, worin die N-terminalen Domänen in engeren Kontakt miteinander gebracht werden, was zu einer Konformationsverlagerung führt, die als "Clamp-Mechanismus" bekannt ist (Prodromou und Pearl, 2000b).

Bekannte HSP90-Inhibitoren

[0011] Die erste Klasse von HSP90-Inhibitoren, die entdeckt wurde, war die Benzochinon-Ansamycin-Klasse, die die Verbindungen Herbinmycin A und Geldanamycin beinhaltet. Von diesen wurde gezeigt, dass sie den malignen Phänotyp von Fibroblasten umkehren, transformiert durch das v-Src-Onkogen (Uehara et al., 1985) und darauffolgend eine potente Antitumoraktivität sowohl in vitro- (Schulte et al., 1998) als auch in vivo-Tiermodellen (Supko et al., 1995) zeigten.

[0012] Immunpräzipitation und Affinitätsmatrixstudien haben gezeigt, dass der Hauptmechanismus der Wirkung von Geldanamycin die Bindung an HSP90 involviert (Whitesell et al., 1994; Schulte und Neckers, 1998). Weiterhin haben röntgenkristallografische Studien gezeigt, dass Geldanamycin an der ATP-Bindungsstelle kompetiert und die intrinsische ATPase-Aktivität von HSP90 inhibiert (Prodromou et al., 1997; Panaretou et al., 1998). Dies verhindert wiederum die Bildung der reifen multimeren HSP90-Komplexe, die die Klientenproteine beschützen können. Als Ergebnis sind die Klientenproteine das Ziel für einen Abbau über den Ubiquitin-Proteasom-Weg. 17-Allylamino, 17-Demethoxygeldanamycin (17AAG) erhält sich die Eigenschaft der HSP90-Inhibition, was zu einer Klientenprotein-Depletion und Antitumoraktivität in Zellkultur und Xenograft-Modellen führt (Schulte et al., 1998; Kelland et al., 1999), hat jedoch eine geringere Hepatotoxizität als Geldanamycin (Page et al., 1997). 17AAG wird gegenwärtig in Phase I-klinischen Versuchen bewertet.

[0013] Radicicol ist ein makrocyclisches Antibiotikum, von dem gezeigt wurde, dass es den malignen Phänotyp von v-Src und v-Ha-Ras transformierten Fibroblasten umkehrt (Kwon et al., 1992; Zhao et al., 1995). Es wurde gezeigt, dass es eine Anzahl von Signalproteinen als Konsequenz einer HSP90-Inhibition abbaut (Schulte et al., 1998). Röntgenkristallografische Daten bestätigten, dass Radicicol auch an die N-terminale Domäne von HSP90 bindet und die intrinsische ATPase-Aktivität inhibiert (Roe et al., 1998). Radicicol fehlt eine Antitumoraktivität in vivo aufgrund der instabilen chemischen Natur der Verbindung.

[0014] Von Coumarin-Antibiotika ist es bekannt, dass sie an die bakterielle DNA-Gyrase an einer ATP-Bindungsstelle binden, die zu der von HSP90 homolog ist. Das Coumarin, Novobiocin, bindet bekanntlich an den Carboxyterminus von HSP90, d.h. an eine unterschiedliche Stelle als die, die von den Benzochinon-Ansamycinen und Radicicol besetzt wird, die an den N-Terminus binden (Marcu et al., 2000b). Dies führte jedoch immer noch zu einer Inhibition der HSP90-Funktion und einem Abbau einer Zahl von HSP90-beschützten Signalproteinen (Marcu et al., 2000a). Geldanamycin kann nicht an HSP90, folgend auf Novobiocin binden; dies legt nahe, dass irgendeine Wechselwirkung zwischen den N- und C-terminalen Domänen existieren muss und ist mit der Ansicht konsistent, dass beide Stellen für die HSP90-Chaperon-Eigenschaften wichtig sind.

[0015] Ein auf Purin basierender HSP90-Inhibitor, PU3, führt bekanntlich zu einem Abbau von Signalmolekülen, einschließlich ERBB2 und zu einem Zellzyklus-Anhalten und einer Differenzierung bei Brustkrebszellen (Chiosis et al., 2001).

HSP90 als therapeutisches Ziel

[0016] Aufgrund seiner Beteiligung an der Regulation einer Zahl von Signalwegen, die bei dem Antrieb des Phänotyps eines Tumors eine Schlüsselrolle spielen und der Entdeckung, dass bestimmte bioaktive natürliche Produkte ihre Wirkungen über die HSP90-Aktivität ausüben, wird das molekulare Chaperon HSP90 gegenwärtig als neues Ziel für eine Antikrebs-Arzneimittelentwicklung bewertet (Neckers et al., 1999).

[0017] Der vorherrschende Wirkungsmechanismus von Geldanamycin, 17AAG, und Radicol involviert die Bindung an HSP90 an der ATP-Bindungsstelle, die in der N-terminalen Domäne des Proteins lokalisiert ist, was zu einer Inhibition der intrinsischen ATPase-Aktivität von HSP90 führt (siehe z.B. Prodromou et al., 1997; Stebins et al., 1997; Panaretou et al., 1998).

[0018] Die Inhibition der HSP90-ATPase-Aktivität verhindert ein Heranziehen von Co-Chaperonen und ermöglicht die Bildung eines Typs eines HSP90-Heterokomplexes, von dem diese Klientenproteine für den Abbau über den Ubiquitin-Proteasomweg als Ziel vorgesehen sind (siehe z.B. Neckers et al., 1999; Kelland et al., 1999).

[0019] Die Behandlung mit HSP90-Inhibitoren führt zu einem selektiven Abbau von wichtigen Proteinen, die an der Zellproliferation, der Zellzyklusregulation und Apoptose beteiligt sind, Prozessen, die für Krebs fundamental wichtig sind.

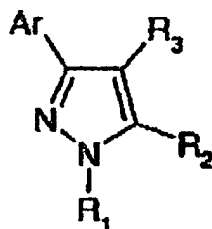
[0020] Es wurde gezeigt, dass die Inhibition der HSP90-Funktion einen selektiven Abbau von wichtigen Signalproteinen auslöst, die an der Zellproliferation, Zellzyklusregulation und Apoptose beteiligt sind, Prozessen, die fundamental wichtig sind und die bei Krebs üblicherweise dereguliert sind (siehe z.B. Hosten et al., 2001). Ein attraktiver Denkansatz zur Entwicklung von Arzneimitteln gegen dieses Ziel zur Verwendung in der Klinik ist derjenige, dass, indem simultan Proteine, die mit dem transformierten Phänotyp assoziiert sind, depletiert werden, man eine stärkere Antitumorwirkung erreichen könnte und einen therapeutischen Vorteil gegen Krebszellen gegenüber normalen Zellen. Diese Ereignisse stromabwärts der HSP90-Inhibition sollten für die Antitumoraktivität der HSP90-Inhibitoren in Zellkultur und Tiermodellen verantwortlich sein (siehe z.B. Schulte et al., 1998; Kelland et al., 1999).

Kurze Beschreibung der Erfindung

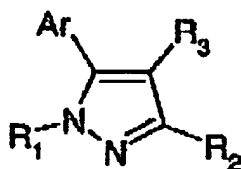
[0021] Die gegenwärtige Erfindung stellt eine neue Klasse substituierter Pyrazolverbindungen bereit, die HSP90-Inhibitoren sind und die die Krebs-Zellproliferation inhibieren. Eine 2-Hydroxy-aromatische Substitution an einem Ring-Kohlenstoffatom und eine Amidosubstitution an einem benachbarten Ring-Kohlenstoffatom sind die wesentlichen charakterisierenden Merkmale der Verbindungen der Erfindung.

Detaillierte Beschreibung der Erfindung

[0022] Gemäß der vorliegenden Erfindung wird eine Verbindung der Formel (IA) oder (IB) oder ein Salz, N-Oxid, Hydrat oder Solvat davon bereitgestellt:



(IA)



(IB)

worin

Ar ein Aryl- oder Heteroarylrest ist, der über einen Ring-Kohlenstoff gebunden ist, und der mit einer Hydroxygruppe an einem Kohlenstoff in der 2-Stellung substituiert ist, und der ansonsten entweder unsubstituiert oder gegebenenfalls substituiert ist;

R₁ Wasserstoff oder gegebenenfalls substituiertes C₁₋₆-Alkyl ist;

R₂ Wasserstoff, gegebenenfalls substituiertes Cycloalkyl, Cycloalkenyl, C₁₋₆-Alkyl, C₁₋₆-Alkenyl oder C₁₋₆-Alkynyl; oder eine Carboxyl-, Carboxamid- oder Carboxylestergruppe ist; und

R₃ eine Carboxamidgruppe ist.

[0023] Wenn R_1 in den Verbindungen IA und IB Wasserstoff ist, dann sind die Verbindungen IA und IB tautomere Formen derselben Verbindung.

[0024] Wie verwendet, bedeutet die Bezeichnung "Carboxylgruppe" eine Gruppe der Formel $-\text{COOH}$; die Bezeichnung "Carboxylestergruppe" bedeutet eine Gruppe der Formel $-\text{COOR}$, worin R ein Rest ist, der tatsächlich oder theoretisch von der Hydroxyverbindung ROH abgeleitet ist und die Bezeichnung "Carboxamidgruppe" bezeichnet eine Gruppe der Formel $-\text{CONR}_a\text{R}_b$, worin $-\text{NR}_a\text{R}_b$ eine primäre oder sekundäre (einschließlich cyclische) Aminogruppe ist, die tatsächlich oder theoretisch von Ammoniak oder dem Amin HNR_aR_b abgeleitet ist.

[0025] Wie hier verwendet, betrifft die Bezeichnung " $(\text{C}_1\text{-C}_6)$ -Alkyl" einen linearen oder verzweigten Alkylrest mit 1 bis 6 Kohlenstoffatomen, einschließlich beispielsweise Methyl, Ethyl, n-Propyl, Isopropyl, n-Butyl, Isobutyl, sec-Butyl, t-Butyl, n-Pentyl und n-Hexyl.

[0026] Wie hier verwendet, betrifft die Bezeichnung " $(\text{C}_1\text{-C}_6)$ -Alkenyl" einen linearen oder verzweigten Alkenylrest mit 2 bis 6 Kohlenstoffatomen und enthaltend mindestens eine Doppelbindung der E- oder Z-Konfiguration, beinhaltend beispielsweise Ethenyl und Allyl.

[0027] Wie hier verwendet, bezeichnet die Bezeichnung " $(\text{C}_1\text{-C}_6)$ -Alkynyl" einen linearen oder verzweigten Alkynylrest mit 2 bis 6 Kohlenstoffatomen und enthaltend mindestens eine Dreifachbindung, beinhaltend beispielsweise Ethinyl und Prop-2-ynyl.

[0028] Wie hier verwendet, bezeichnet die Bezeichnung "Cycloalkyl" einen gesättigten carbocyclischen Rest mit 3 bis 8 Kohlenstoffatomen und beinhaltet beispielsweise Cyclopropyl, Cyclobutyl, Cyclopentyl, Cyclohexyl, Cycloheptyl und Cyclooctyl.

[0029] Wie hier verwendet, betrifft die Bezeichnung "Cycloalkenyl" einen carbocyclischen Rest mit 3 bis 8 Kohlenstoffatomen, enthaltend mindestens eine Doppelbindung und beinhaltet beispielsweise Cyclopentenyl, Cyclohexenyl, Cycloheptenyl und Cyclooctenyl.

[0030] Wie hier verwendet, betrifft die Bezeichnung "Aryl" einen mono-, bi- oder tricyclischen carbocyclischen aromatischen Rest. Illustrativ für solche Reste sind Phenyl, Biphenyl und Naphthyl.

[0031] Wie hier verwendet, betrifft die Bezeichnung "carbocyclisch" einen cyclischen Rest, dessen Ringatome alle Kohlenstoff sind und beinhaltet monocyclische Aryl-, Cycloalkyl- und Cycloalkenylreste.

[0032] Wie hier verwendet, betrifft die Bezeichnung "Heteroaryl" einen mono-, bi- oder tricyclischen aromatischen Rest, der ein oder mehr Heteroatome, gewählt aus S, N und O, enthält.

[0033] Illustrativ für solche Reste sind Thienyl, Benzthienyl, Furyl, Benzfuryl, Pyrrolyl, Imidazolyl, Benzimidazolyl, Thiazolyl, Benzthiazolyl, Isothiazolyl, Benzisothiazolyl, Pyrazolyl, Oxazolyl, Benzoxazolyl, Isoxazolyl, Benzisoxazolyl, Isothiazolyl, Triazolyl, Benztriazolyl, Thiadiazolyl, Oxadiazolyl, Pyridinyl, Pyridazinyl, Pyrimidinyl, Pyrazinyl, Triazinyl, Indolyl und Indazolyl.

[0034] Wie hier verwendet, betrifft die unqualifizierte Bezeichnung "Heterocyclyl" oder "heterocyclisch" "Heteroaryl", wie oben definiert und bedeutet insbesondere einen mono-, bi- oder tricyclischen nicht-aromatischen Rest, enthaltend ein oder mehr Heteroatome, gewählt aus S, N und O und Gruppen, bestehend aus einem monocyclischen nicht-aromatischen Rest, enthaltend ein oder mehr solcher Heteroatome, kovalent gebunden an einen anderen solchen Rest oder einen monocyclischen carbocyclischen Rest. Illustrativ für solche Reste sind Pyrrolyl, Furanyl, Thienyl, Piperidinyl, Imidazolyl, Oxazolyl, Isoxazolyl, Thiazolyl, Thiadiazolyl, Pyrazolyl, Pyridinyl, Pyrrolidinyl, Pyrimidinyl, Morpholinyl, Piperazinyl, Indolyl, Morpholinyl, Benzfuranlyl, Pyranlyl, Isoxazolyl, Benzimidazolyl, Methylenedioxyphenyl, Ethylenedioxyphenyl, Maleimido und Succinimidgruppen.

[0035] Wenn in dem Kontext, in dem diese Bezeichnung auftritt, nicht anders angegeben, bedeutet die Bezeichnung "substituiert", wie auf jeden Bestandteil hier angewandt, substituiert mit bis zu vier Substituenten, die jeweils unabhängig beispielsweise $(\text{C}_1\text{-C}_6)$ -Alkyl, $(\text{C}_1\text{-C}_6)$ -Alkoxy, Hydroxy, Hydroxy $(\text{C}_1\text{-C}_6)$ alkyl, Mercapto, Mercapto $(\text{C}_1\text{-C}_6)$ alkyl, $(\text{C}_1\text{-C}_6)$ -Alkylthio, Halogen (einschließlich Fluor und Chlor), Trifluormethyl, Trifluormethoxy, Nitro, Nitril $(-\text{CN})$, Oxo, Phenyl, $-\text{COOH}$, $-\text{COOR}^A$, $-\text{COR}^A$, $-\text{SO}_2\text{R}^A$, $-\text{CONH}_2$, $-\text{SO}_2\text{NH}_2$, $-\text{CONHR}^A$, $-\text{SO}_2\text{NHR}^A$, $-\text{CONR}^A\text{R}^B$, $-\text{SO}_2\text{NR}^A\text{R}^B$, $-\text{NH}_2$, $-\text{NHR}^A$, $-\text{NR}^A\text{R}^B$, $-\text{OCONH}_2$, $-\text{OCONHR}^A$, $-\text{OCONR}^A\text{R}^B$, $-\text{NHCOR}^A$, $-\text{NHCOOR}^A$, $-\text{NR}^B\text{COOR}^A$, $-\text{NHSO}_2\text{OR}^A$, $-\text{NR}^B\text{SO}_2\text{OR}^A$, $-\text{NHCONH}_2$, $-\text{NR}^A\text{CONH}_2$, $-\text{NHCONHR}^B$, $-\text{NR}^A\text{CON-}$

HR^{B} , $-\text{NHCONR}^{\text{A}}\text{R}^{\text{B}}$ oder $-\text{NR}^{\text{A}}\text{CONR}^{\text{A}}\text{R}^{\text{B}}$ sein können, worin R^{A} und R^{B} unabhängig eine ($\text{C}_1\text{-C}_6$)-Alkylgruppe sind.

[0036] Wie hier verwendet, beinhaltet die Bezeichnung "Salz" Basenadditions-, Säureadditions- und quaternäre Salze. Verbindungen der Erfindung, die sauer sind, können Salze bilden, einschließlich pharmazeutisch oder veterinärmedizinisch annehmbarer Salze, mit Basen, wie z.B. Alkalimetallhydroxiden, z.B. Natrium- und Kaliumhydroxiden; Erdalkalimetallhydroxiden, z.B. Calcium-, Barium- und Magnesiumhydroxiden; mit organischen Basen, z.B. N-Ethylpiperidin, Dibenzylamin und ähnlichen. Diejenigen Verbindungen (I), die basisch sind, können Salze bilden, einschließlich pharmazeutisch oder veterinärmedizinisch annehmbarer Salze mit anorganischen Säuren, z.B. mit Hydrohalogensäure, wie z.B. Salzsäure oder Hydrobromsäuren, Schwefelsäure, Salpetersäure oder Phosphorsäure und ähnlichen und mit organischen Säuren, z.B. mit Essigsäure, Weinsäure, Bernsteinsäure, Fumarsäure, Maleinsäure, Äpfelsäure, Salicylsäure, Zitronensäure, Methansulfonsäure und p-Toluolsulfonsäuren und ähnlichen.

[0037] Einige Verbindungen der Erfindung enthalten ein oder mehr tatsächliche oder potenzielle chirale Zentren aufgrund der Gegenwart asymmetrischer Kohlenstoffatome. Die Gegenwart etlicher asymmetrischer Kohlenstoffatome führt zu einer Zahl von Diastereoisomeren mit R- oder S-Stereochemie an jedem chiralen Zentrum. Die Erfindung beinhaltet alle solche Diastereoisomere und Mischungen daraus.

[0038] In den Verbindungen der Erfindung kann:

Ar beispielsweise eine 2-Hydroxyphenylgruppe sein, die weiter substituiert ist, beispielsweise durch ein oder mehr Hydroxy-, Ethyl-, Isopropyl-, Chlor-, Brom- oder Phenylgruppen. Spezifisch kann Ar eine 2,4-Dihydroxy-5-chlorphenylgruppe sein;

R_1 und R_2 können beispielsweise Wasserstoff, Methyl, Ethyl, n- oder iso-Propyl oder Hydroxyethyl sein. Wasserstoff wird gegenwärtig für den Fall von R_1 bevorzugt und Wasserstoff oder Methyl für den Fall von R_2 ;

R_3 ist beispielsweise eine Carboxamidgruppe der Formel $-\text{CONR}^{\text{B}}(\text{Alk})_n\text{R}^{\text{A}}$, worin

Alk ein divalenter Alkylen-, Alkenylen oder Alkinylenrest ist, beispielsweise ein $-\text{CH}_2-$, $-\text{CH}_2\text{CH}_2-$, $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2-$, $-\text{CH}_2\text{CH}=\text{CH}-$ oder $-\text{CH}_2\text{CCCH}_2-$ -Rest und der Alk-Rest kann optional substituiert sein,

n ist 0 oder 1,

R^{B} ist Wasserstoff oder eine $\text{C}_1\text{-C}_6$ -Alkyl oder $\text{C}_2\text{-C}_6$ -Alkenylgruppe, beispielsweise Methyl, Ethyl, n- oder iso-Propyl oder Allyl,

R^{A} ist Hydroxy oder eine optional substituierte Carbonsäure, beispielsweise optional substituiertes Phenyl oder Heterocyclyl, beispielsweise Pyridyl, Furyl, Thienyl, N-Piperazinyl oder N-Morpholinyl, wobei alle diese heterocyclischen Ringe substituiert sein können; optionale Substituenten für jeden der vorstehenden beinhalten OH, $\text{CH}_3\text{O}-$, Cl, F, $\text{NH}_2\text{CO}-$, $\text{NH}_2\text{CO}-$, $\text{CH}_3\text{NHCO}-$, $-\text{COOH}$, $-\text{COOCH}_3$, $-\text{CH}_2\text{COOH}$, $-\text{CH}_2\text{COOCH}_3$, $-\text{CH}_3$, $-\text{CF}_3$, $-\text{SO}_2\text{CH}_3$, $-\text{SO}_2\text{NH}_2$, 3,4-Methylenedioxy und 3,4-Ethylendioxy

oder R^{A} und R^{B} bilden zusammen mit dem Stickstoff, an den sie gebunden sind, einen N-heterocyclischen Ring, der optional ein oder mehr zusätzliche Heteroatome, gewählt aus O, S und N enthalten kann und der optional an einem oder mehr Ring-C- oder N-Atomen substituiert sein kann, Beispiele für solche N-heterocyclischen Ringe beinhalten Morpholino, Piperidiny, Piperazinyl und N-Phenylpiperazinyl.

[0039] In einer spezifischen Subklasse von Verbindungen der Erfindung können R_1 und R_2 Wasserstoff, Ar eine 2,4-Dihydroxy-5-chlorphenylgruppe, Alk $-\text{CH}_2-$, n 0 oder 1, R^{B} Wasserstoff und R^{A} Phenyl, optional substituiert durch mindestens einen von OH, $\text{CH}_3\text{O}-$, Cl, F, $\text{NH}_2\text{CO}-$, $-\text{COOH}$, $-\text{CH}_2\text{COOH}$, $-\text{CH}_3$, $-\text{CF}_3$, $-\text{SO}_2\text{CH}_3$ und 3,4-Methylenedioxy sein.

[0040] Spezifische Verbindungen der Erfindung beinhalten diejenigen der hier aufgeführten Beispiele, insbesondere die folgenden und Salze davon:

3-(5-Chlor-2,4-dihydroxy-phenyl)-1H-pyrazol-4-carbonsäure(4-acetyl-phenyl)-amid,

3-(5-Chlor-2,4-dihydroxy-phenyl)-1H-pyrazol-4-carbonsäurephenyl-amid,

3-(5-Chlor-2,4-dihydroxy-phenyl)-1H-pyrazol-4-carbonsäure(4-methoxyphenyl)-amid,

3-(5-Chlor-2,4-dihydroxy-phenyl)-1H-pyrazol-4-carbonsäure(4-chlor-phenyl)-amid,

3-(5-Chlor-2,4-dihydroxy-phenyl)-1H-pyrazol-4-carbonsäure(4-acetylamino-phenyl)-amid;

3-(5-Chlor-2,4-dihydroxy-phenyl)-1H-pyrazol-4-carbonsäure-4-sulfamoyl-benzylamid,

3-(5-Chlor-2,4-dihydroxy-phenyl)-1H-pyrazol-4-carbonsäure(4-methoxy-phenyl)-amid,

3-(5-Chlor-2,4-dihydroxy-phenyl)-1H-pyrazol-4-carbonsäure(4-chlor-phenyl)-amid,

3-(5-Chlor-2,4-dihydroxy-phenyl)-1H-pyrazol-4-carbonsäure(4-acetylamino-phenyl)-amid,

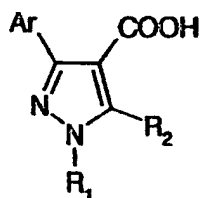
3-(5-Chlor-2,4-dihydroxy-phenyl)-1H-pyrazol-4-carbonsäure-4-sulfamoyl-benzylamid,

3-(5-Chlor-2,4-dihydroxy-phenyl)-1H-pyrazol-4-carbonsäure(4-carbamoyl-phenyl)-amid,

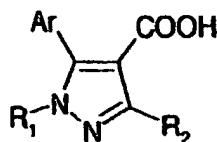
4-({[3-(5-Chlor-2,4-dihydroxy-phenyl)-1H-pyrazol-4-carbonyl]-amino}-methyl)-benzoesäure.

3-(5-Chlor-2,4-dihydroxy-phenyl)-1H-pyrazol-4-carbonsäure-4-methyl-benzylamid,
 3-(5-Chlor-2,4-dihydroxy-phenyl)-1H-pyrazol-4-carbonsäure-4-methoxy-benzylamid,
 3-(5-Chlor-2,4-dihydroxy-phenyl)-1H-pyrazol-4-carbonsäure-4-fluor-benzylamid,
 3-(5-Chlor-2,4-dihydroxy-phenyl)-1H-pyrazol-4-carbonsäure-4-chlor-benzylamid,
 3-(5-Chlor-2,4-dihydroxy-phenyl)-1H-pyrazol-4-carbonsäure-3-methoxy-benzylamid,
 3-(5-Chlor-2,4-dihydroxy-phenyl)-1H-pyrazol-4-carbonsäure-3-trifluormethyl-benzylamid,
 3-(5-Chlor-2,4-dihydroxy-phenyl)-1H-pyrazol-4-carbonsäure-4-methansulfonyl-benzylamid.

[0041] Verbindungen der Erfindung, die durch Amidieren einer Carbonsäure der Formel (IIA) oder (IIB) hergestellt werden können:



(IIA)



(IIB)

[0042] Typische Reaktionsschemata und Bedingungen für eine solche Amidierung sind in den Beispielen dargestellt.

[0043] Die Verbindungen der Erfindung sind Inhibitoren von HSP90 und sind so für die Behandlung von Erkrankungen nützlich, die auf eine Inhibition der HSP90-Aktivität reagieren, wie z.B. Krebs; virale Erkrankungen, wie z.B. Hepatitis C (HCV) (Waxman, 2002); eine Immunsuppression, wie z.B. bei einer Transplantation (Bijl-makers, 2000 und Yorgin, 2000); entzündliche Erkrankungen (Bucci, 2000), wie z.B. die rheumatoide Arthritis, Asthma, MS, Type I-Diabetes, Lupus, Psoriasis und entzündliche Verdauungstrakterkrankungen; zystische Fibrose (Fuller, 2000); Angiogenese-verwandte Erkrankungen (Hur, 2002 und Kurebayashi, 2001); Diabetes-Retinopathie, Hämangiome, Psoriasis, Endometriose und Tumor-Angiogenese.

[0044] Dementsprechend stellt die Erfindung auch folgendes bereit:

- (i) Ein Verfahren zur Behandlung von Erkrankungen oder Zuständen, die auf die Inhibition der HSP90-Aktivität bei Säugern reagieren, insbesondere bei Menschen, wobei das Verfahren das Verabreichen einer effektiven Menge der Verbindung der Formel (IA) oder (IB) oben an den Säuger umfasst und
- (ii) eine Verbindung der Formel (IA) oder (IB) oben zur Verwendung in der menschlichen oder veterinärmedizinischen Medizin, insbesondere für die Behandlung von Erkrankungen oder Zuständen, die auf eine Inhibition der HSP90-Aktivität reagieren und
- (iii) die Verwendung einer Verbindung der Formel (IA) oder (IB) oben bei der Herstellung eines Mittels für das Management (damit ist Behandlung oder Prophylaxe gemeint) von Erkrankungen oder Zuständen, die auf eine Inhibition der HSP90-Aktivität reagieren.

[0045] Es sollte verstanden werden, dass das spezifische Dosisniveau für jeden bestimmten Patienten von einer Vielzahl von Faktoren abhängen wird, einschließlich der Aktivität der verwendeten spezifischen Verbindung, dem Alter, dem Körpergewicht, der allgemeinen Gesundheit, dem Geschlecht, der Diät, dem Zeitpunkt der Verabreichung, dem Verabreichungsweg, der Ausscheidungsrate, der Arzneimittelkombination und dem auslösenden Mechanismus sowie der Schwere der bestimmten Erkrankung, die therapiert wird.

[0046] Im allgemeinen wird eine geeignete Dosis für oral verabreichbare Formulierungen in der Regel in einem Bereich von 0,1 bis 3.000 mg einmal, zweimal oder dreimal täglich liegen oder einer äquivalenten täglichen Menge, die durch Infusion oder auf einem anderen Weg verabreicht wird. Optimale Dosierungsniveaus und die Häufigkeit der Dosis wird jedoch durch klinische Versuche, wie üblich auf dem Gebiet, bestimmt werden.

[0047] Die Verbindungen, mit denen sich die Erfindung befasst, können zur Verabreichung auf jedem Weg hergestellt werden, der mit ihren pharmakokinetischen Eigenschaften übereinstimmt. Die oral verabreichbaren Zusammensetzungen können in Form von Tabletten, Kapseln, Pulvern, Körnern, Pastillen, flüssigen oder Gelpräparationen, wie z.B. oralen, topischen oder sterilen parenteralen Lösungen oder Suspensionen vorliegen. Tabletten und Kapseln für die orale Verabreichung können in Einheitsdosispräsentationsform vorliegen und können konventionelle Exzipienzien enthalten, wie z.B. Bindemittel, beispielsweise Sirup, Akazin, Gelatine, Sorbit, Tragacanth oder Polyvinylpyrrolidon; Füllstoffe, beispielsweise Lactose, Zucker, Maisstärke, Calcium-

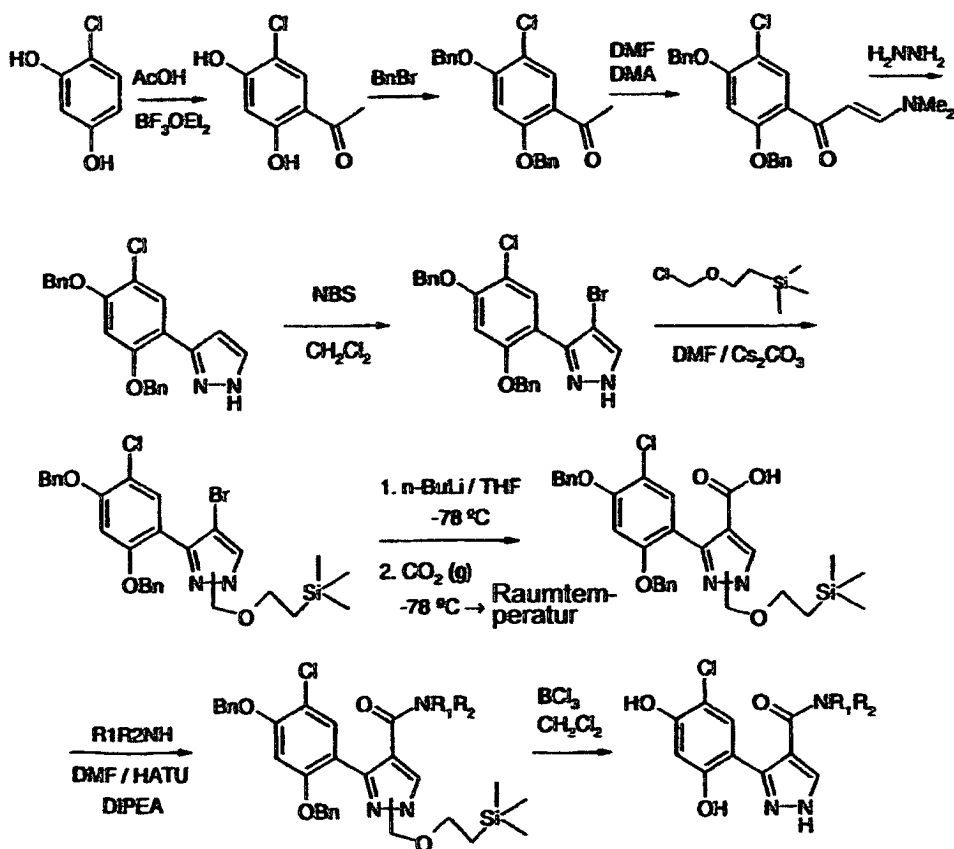
phosphat, Sorbit oder Glycin; Tablettierungsgleithilfen, beispielsweise Magnesiumstearat, Talk, Polyethylenglycol oder Siliciumdioxid; Desintegrationsmittel, beispielsweise Kartoffelstärke oder akzeptable Benetzungsmittel, wie z.B. Natriumlaurylsulfat. Die Tabletten können gemäß Verfahren, die in der normalen pharmazeutischen Praxis wohlbekannt sind, beschichtet werden. Orale flüssige Präparationen können beispielsweise in Form wässriger oder ölgiger Suspensionen, Lösungen, Emulsionen, Sirups oder Elixiere vorliegen oder können als Trockenprodukt für eine Rekonstitution mit Wasser oder einem anderen geeigneten Vehikel vor der Verwendung präsentiert werden. Solche flüssigen Präparationen können konventionelle Additive, wie z.B. Suspensionsmittel, beispielsweise Sorbit, Sirup, Methylcellulose, Glucosesirup, Gelatine, hydrierte essbare Fette; Emulgatoren, beispielsweise Lecithin, Sorbitanmonooleat oder Akazin; nicht-wässrige Vehikel (die essbare Öle beinhalten können), beispielsweise Mandelöl, fraktioniertes Kokosnussöl, ölige Ester, wie z.B. Glycerin, Propylenglycol, oder Ethylalkohol; Konservierungsmittel, beispielsweise Methyl- oder Propyl-p-hydroxybenzoat oder Sorbinsäure und, falls gewünscht, konventionelle Geschmacks- oder Färbemittel enthalten.

[0048] Für die topische Anwendung auf die Haut kann das Arzneimittel in eine Creme, Lotion oder Salbe formuliert werden. Creme- und Salben-Formulierungen, die für Arzneimittel verwendet werden können, sind auf dem Gebiet wohlbekannte konventionelle Formulierungen, wie beispielsweise in Standard-Textbüchern für Pharmazeutika, wie z.B. der Britischen Pharmacopöe beschrieben.

[0049] Der Wirkstoff kann auch parenteral in einem sterilen Medium verabreicht werden. Abhängig von verwendetem Vehikel und Konzentration kann das Arzneimittel entweder suspendiert oder in dem Vehikel gelöst werden. Vorteilhafterweise können Adjuvantien, wie z.B. Lokalanästhetika, Konservierungsmittel und Puffer in dem Vehikel gelöst werden.

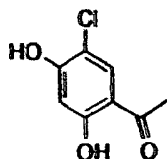
[0050] Die folgenden Beispiele illustrieren die Präparation und Aktivitäten spezifischer Verbindungen der Erfindung:

Schema 1:



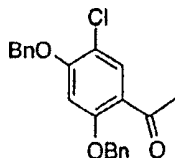
Beispiel 1

Schritt 1: 1-(5-Chlor-2,4-dihydroxy-phenyl)-ethanon



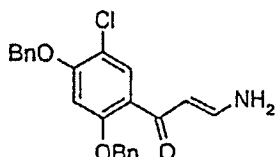
[0051] Essigsäure (17,5 ml) wurde tropfenweise zu einer Suspension aus 4-Chlorresorcinol (42,5 g, 0,293 mmol) in Bortrifluoridetherat (200 ml) unter Stickstoffatmosphäre zugefügt. Die Reaktionsmischung wurde für 3,5 Stunden auf 90°C erwärmt und man ließ sie dann auf Raumtemperatur abkühlen. Ein Feststoff hatte sich nach ungefähr 1 Stunde Kühlen gebildet. Die Mischung wurde in 700 ml einer 10%igen G/V wässrigen Natriumacetatlösung gegossen. Diese Mischung wurde kräftig 2,5 Stunden gerührt. Ein hellbrauner Feststoff hatte sich gebildet, der gefiltert, mit Wasser gewaschen und über Nacht luftgetrocknet wurde, um 1-(5-Chlor-2,4-dihydroxyphenyl)-ethanon (31,6 g, 58 %) zu ergeben. LCMS: $[M-H]^+$ 185.

Schritt 2: 1-(2,4-Bis-benzyloxy-5-chlor-phenyl)-ethanon



[0052] Benzylbromid (30 ml) wurde zu einer Mischung aus 1-(5-Chlor-2,4-dihydroxyphenyl)-ethanon (20 g, 0,107 mol) und Kaliumcarbonat (37 g, 2,5 äquiv.) in Acetonitril (350 ml) zugefügt. Die Mischung wurde dann 6 Stunden im Rückfluss erhitzt und man ließ sie dann über Nacht abkühlen und es wurde gerührt. Die Mischung wurde gefiltert und die Feststoffe mit Dichlormethan (3×100 ml) gewaschen. Die kombinierten organischen Extrakte wurden im Vakuum verdampft, um einen schwach gelben Feststoff zu hinterlassen, der mit einer Mischung aus Hexan (350 ml)/Ethylacetat (15 ml) pulverisiert wurde und gefiltert wurde, um einen gebrochen weißen Feststoff zu ergeben, 1-(2,4-Bis-benzyloxy-5-chlorphenyl)-ethanon (35,4 g, 90 %). $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz), konsistent mit der Struktur.

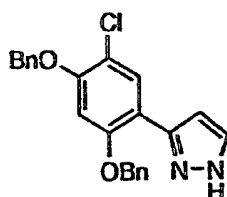
Schritt 3: 3-Amino-1-(2,4-bis-benzyloxy-5-chlor-phenyl)-propenon



[0053] Eine Lösung aus Dimethylformamiddimethylacetal (13,5 ml, 1,1 äquiv. und 1-(2,4-Bis-benzyloxy-5-chlor-phenyl)-ethanon (34 g, 0,09 mol) wurde 2 Stunden im Rückfluss bei 150°C erwärmt. Weitere 10 ml Dimethylformamiddimethylacetal wurden zugefügt und die Erwärmung 3 Stunden fortgesetzt. Man ließ die Mischung abkühlen und das Dimethylformamid wurde verdampft, um einen orange/roten Feststoff zu hinterlassen, der gefiltert und luftgetrocknet wurde, um 3-Amino-1-(2,4-bis-benzyloxy-5-chlor-phenyl)-propenon (33 g, 84 %) zu ergeben.

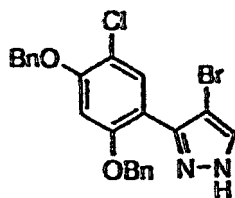
LCMS: eine Komponente; $[M+H]^+$ 422, 424.

Schritt 4: 3-(2,4-Bis-benzyloxy-5-chlor-phenyl)-1H-pyrazol



[0054] Hydrazinhydrat (4,76 g, 1,1 äquiv.) wurde zu einer Suspension aus 3-Amino-1-(2,4-bis-benzyloxy-5-chlor-phenyl)-propenon (30,88 g, 0,07 mol) in Ethanol (300 ml) hinzugefügt. Die Reaktionsmischung wurde 4,5 Stunden im Rückfluss erwärmt, dann wurden weitere 200 ml Hydrazin zugefügt und das Erwärmen wurde für 45 Minuten fortgesetzt. Man ließ die Mischung auf Raumtemperatur abkühlen und es wurde über Nacht gerührt. Der gebrochen weiße Feststoff wurde gefiltert und mit kaltem Ethanol gewaschen, um 3-(2,4-Bis-benzyloxy-5-chlor-phenyl)-1H-pyrazol (24 g) zu ergeben. Das Filtrat wurde verdampft und der Rest mit Ethanol pulverisiert und gefiltert, um eine weitere Ernte von 3-(2,4-Bis-benzyloxy-5-chlor-phenyl)-1H-pyrazol (2,77 g) zu ergeben. Gesamtertrag 92 %. $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz), konsistent mit der Struktur.

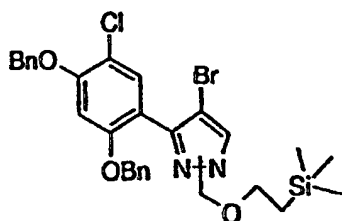
Schritt 5: 3-(2,4-Bis-benzyloxy-5-chlor-phenyl)-4-brom-1H-pyrazol



[0055] N-Bromsuccinimid (4,70 g, 26 mmol) wurde in Portionen über 5 Minuten zu einer gerührten Lösung von 3-(2,4-Bis-benzyloxy-5-chlor-phenyl)-1H-pyrazol (10,29 g, 26 mmol) in Dichlormethan (200 ml) zugefügt. Die Reaktionsmischung wurde bei Umgebungstemperatur 2 Stunden gerührt, dann wurde Wasser (200 ml) zugefügt und das kräftige Rühren für 10 Minuten fortgesetzt. Die Phasen wurden getrennt und die organische Phase mit Wasser (3 × 100 ml) gewaschen, mit gesättigter wässriger Natriumchloridlösung (2 × 100 ml) und über Natriumsulfat getrocknet. Die Mischung wurde filtriert und Filtratlösungsmittel wurden im Vakuum entfernt, um einen gebrochen weißen Feststoff zu ergeben, der mit einer Ethylacetat/Hexan (1:20) -Mischung pulverisiert wurde, um 3-(2,4-Bis-benzyloxy-5-chlor-phenyl)-4-brom-1H-pyrazol (11,80 g, 97 %) als gebrochen weißen Feststoff zu ergeben. LC-Retentionszeit 2,80 Minuten $[\text{M}+\text{H}]^+$ 471, 469 (Laufzeit 3,75 Minuten).

Schritt 6:

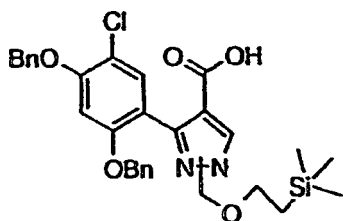
3-(2,4-Bis-benzyloxy-5-chlor-phenyl)-4-brom-1-(2-trimethylsilyl-ethoxymethyl)-1H-pyrazol/3-(2,4-Bis-benzyloxy-5-chlorphenyl)-4-brom-2-(2-trimethylsilyl-ethoxymethyl)-1H-pyrazol



[0056] Cäsiumcarbonat (16,3 g, 50 mmol) wurde zu einer Lösung aus 3-(2,4-Bis-benzyloxy-5-chlor-phenyl)-4-brom-1H-pyrazol (11,80 g, 25 mmol) in DMF (70 ml) zugefügt. (2-Trimethylsilyl)-ethoxymethylchlorid (4,93 ml, 32 mmol) wurde in Chargen von ca. 500 μl über 4 Stunden zugefügt und die Mischung wurde bei Umgebungstemperatur 16 Stunden gerührt. Der Hauptteil von DMF wurde im Vakuum entfernt und die restliche Mischung zwischen Ethylacetat (400 ml) und Wasser (400 ml) geteilt. Die Phasen wurden getrennt und die organische Phase wurde mit Wasser (2 × 250 ml), gesättigter wässriger Natriumchloridlösung (2 × 250 ml) gewaschen und über Natriumsulfat getrocknet. Die Mischung wurde gefiltert und die Filtratlösungsmittel wurden im Vakuum entfernt, um ein gelbes Öl zu ergeben, das durch Flashchromatographie auf Silikagel (100 g) gereinigt wurde, wobei mit 5 % Ethylacetat in Hexan eluiert wurde. Dies ergibt 3-(2,4-Bis-benzyloxy-5-chlor-phenyl)-4-brom-1-(2-trimethylsilyl-ethoxymethyl)-1H-pyrazol (15,0 g, 99 %) als hellgelbes Öl. Die $^1\text{H-NMR}$ -Analyse zeigt das Produkt als Mischung von Regioisomeren. LC-Retentionszeit 3,35 Minuten $[\text{M}+\text{H}]^+$ 601, 599 (Laufzeit 3,75 Minuten).

Schritt 7:

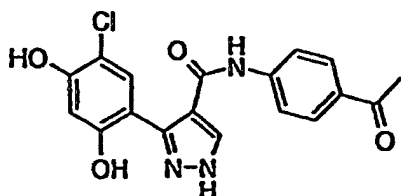
3-(2,4-Bis-benzyloxy-5-chlor-phenyl)-1-(2-trimethylsilanyl-ethoxymethyl)-1H-pyrazol-4-carbonsäure/3-(2,4-Bis-benzyloxy-5-chlor-phenyl)-2-(2-trimethylsilanyl-ethoxymethyl)-1H-pyrazol-4-carbonsäure



[0057] n-Butyllithiumlösung (1,6 M, 7,8 ml, 12,4 mmol) wurde tröpfchenweise über 10 Minuten zu einer -78°C -Lösung von 3-(2,4-Bis-benzyloxy-5-chlor-phenyl)-4-brom-1-(2-trimethylsilanyl-ethoxymethyl)-1H-pyrazol (5,98 g, 9,97 mmol) in wasserfreiem THF (60 ml) unter Stickstoffatmosphäre zugefügt. Die resultierende orange-gefärbte Lösung wurde bei -78°C 15 Minuten gerührt, dann wurde ein Überschuss an Kohlendioxidgas durch die Reaktionsmischung für zwei Minuten geblasen (die Lösung entfärbt sich sofort). Das Kühlbad wurde entfernt und die Reaktionsmischung ließ man sich auf Umgebungstemperatur erwärmen und es wurde durch Zugabe einer gesättigten wässrigen Ammoniumchloridlösung (100 ml) gelöscht. Die Reaktionsmischung wurde mit Ethylacetat (2×150 ml) extrahiert und die kombinierten organischen Phasen mit Wasser (1×150 ml) und gesättigter wässriger Natriumchloridlösung (2×250 ml) gewaschen und über Natriumsulfat getrocknet. Die Mischung wurde filtriert und die Filtratlösungsmittel im Vakuum entfernt, um einen hellgelben Feststoff zu ergeben, der aus Ethylacetat-Hexan umkristallisiert wurde, um 2,2 g des Produkts als farblosen Feststoff und als Mischung von Regioisomeren zu ergeben. Die Ausgangsflüssigkeiten von der Kristallisation wurden im Vakuum verdampft und das restliche Öl durch Flashchromatographie auf Silikagel (50 g) gereinigt, wobei mit 10 bis 50 % Ethylacetat in Hexan eluiert wurde, um 0,316 g des Produkts als Mischung von Regioisomeren zu ergeben. Gesamtertrag 2,516 g (45 %).

[0058] LC-Retentionszeit 3,15 Minuten $[\text{M}+\text{H}]^+$ 565 (Laufzeit 3,75 Minuten).

Schritt 8: 3-(5-Chlor-2,4-dihydroxy-phenyl)-1H-pyrazol-4-carbonsäure-(4-acetylphenyl)-amid

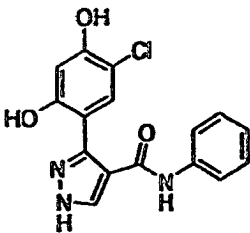
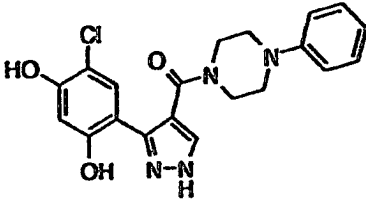
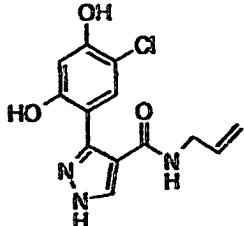
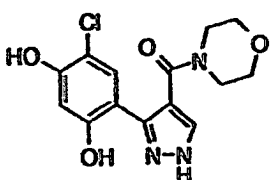
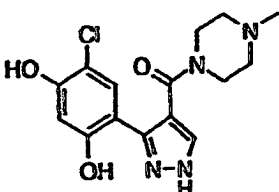
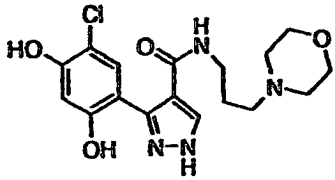
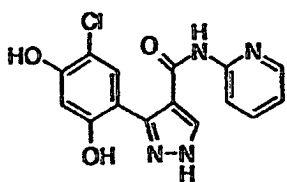


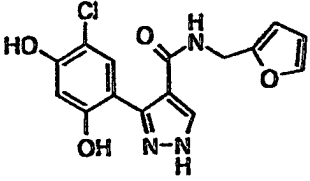
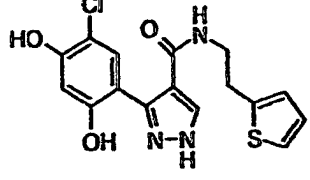
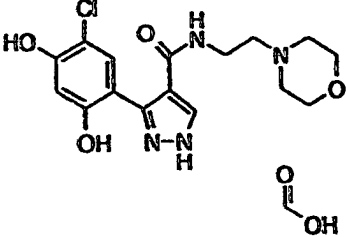
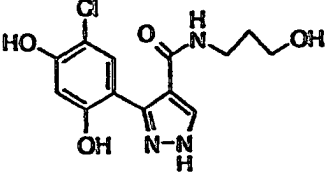
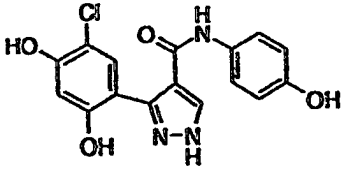
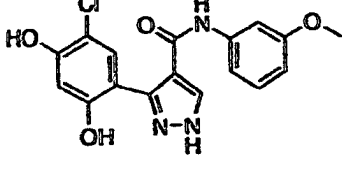
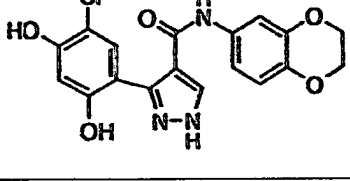
[0059] O-(7-Azabenzotriazol-yl)N,N,N',N'-tetramethyluronium-hexafluorophosphat (100 mg, 0,27 mmol) wurde zu einer Mischung aus 3-(2,4-Bis-benzyloxy-5-chlor-phenyl)-1-(2-trimethylsilanyl-ethoxymethyl)-1H-pyrazol-4-carbonsäure und 3-(2,4-Bis-benzyloxy-5-chlorphenyl)-2-(2-trimethylsilanyl-ethoxymethyl)-1H-pyrazol-4-carbonsäure (150 mg, 0,27 mol) zugefügt. N,N-Dimethylformamid (2,5 ml) wurde zugefügt, gefolgt von 4-Aminoacetophenon (43 mg, 0,32 mmol) und Diisopropylethylamin (0,14 ml, 0,81 mmol). Die Reaktionsmischung wurde 5 Minuten auf 100°C erwärmt, wobei eine Mikrowellenerwärmung verwendet wurde und man ließ sie bei Umgebungstemperatur 2 Stunden stehen. Die Lösungsmittel wurden im Vakuum entfernt und der Rest zwischen Dichlormethan (8 ml) und einer wässrigen Natriumchloridlösung (5 ml) geteilt. Die Mischung wurde kräftig 10 Minuten gerührt und die Phasen getrennt. Die organische Phase wurde über wasserfreiem Natriumsulfat getrocknet und gefiltert und die Filtratlösungsmittel im Vakuum entfernt, um ein braunes Öl zu ergeben. Das rohe Amidprodukt wurde in Dichlormethan (2 ml) wiederum gelöst und unter eine Stickstoffatmosphäre platziert. Bortrichlorid (1,0 M Lösung in Dichlormethan, 1,35 ml, 1,35 mmol) wurde tröpfchenweise zugefügt und es bildete sich ein braunes Präzipitat. Die Reaktionsmischung wurde über Nacht gerührt, dann durch vorsichtige Zugabe einer gesättigten wässrigen Natriumbicarbonatlösung (4 ml) gelöscht. Die Reaktionsmischung wurde mit Ethylacetat extrahiert und die Phasen getrennt. Die organische Phase wurde mit Sole gewaschen, dann über Natriumsulfat getrocknet, gefiltert und die Filtratlösungsmittel im Vakuum entfernt, um einen braunen Feststoff zu ergeben, der durch präparative HPLC gereinigt wurde, um 3-(5-Chlor-2,4-dihydroxy-phenyl)-1H-pyrazol-4-carbonsäure-(4-acetylphenyl)-amid (3 mg) als gebrochen weißen Feststoff zu ergeben.

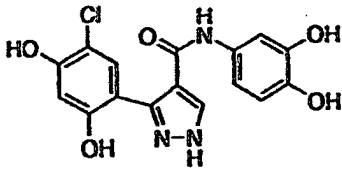
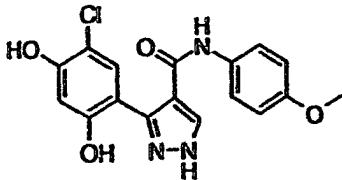
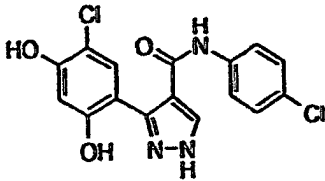
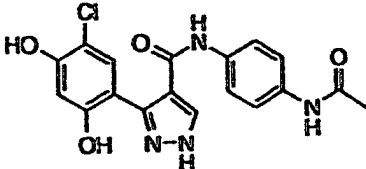
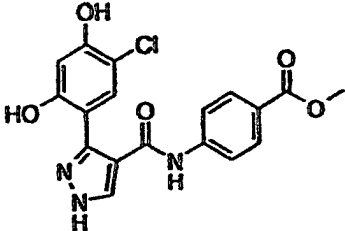
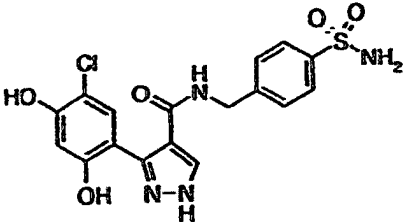
[0060] LC-Retentionszeit 1,97 Minuten $[\text{M}+\text{H}]^+$ 372 (Laufzeit 3,75 Minuten).

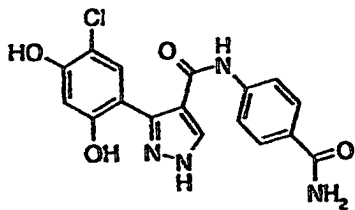
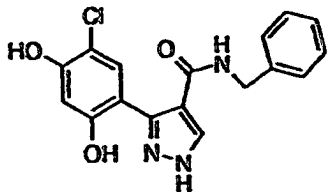
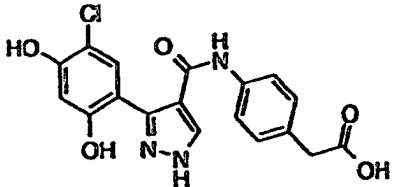
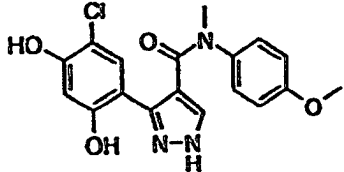
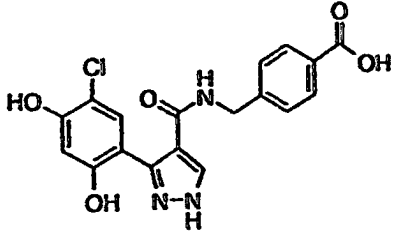
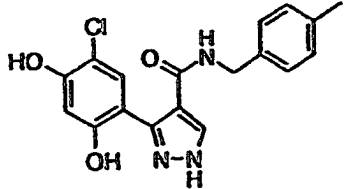
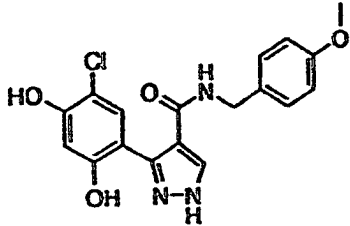
[0061] Die Verbindung von Beispiel 1 hatte eine Aktivität im Bereich "A", wenn sie in dem Malachit-Grün-Assay getestet wurde, der in dem biologischen Ergebnisbereich unten beschrieben wird.

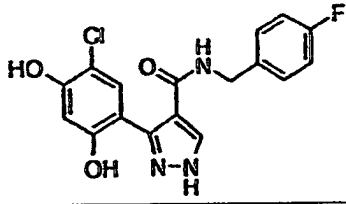
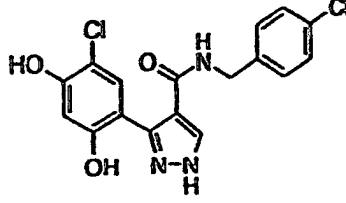
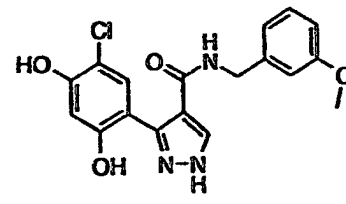
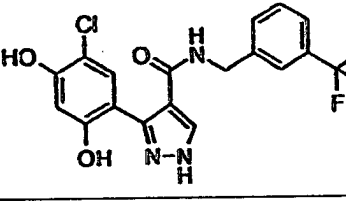
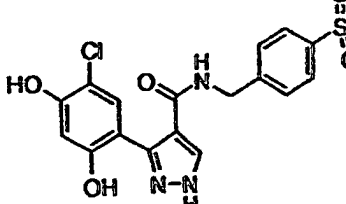
[0062] Die folgenden weiteren Beispiele für die erfindungsgemäße Verbindungen wurden durch analoge Verfahren zur der Herstellung der Verbindung von Beispiel 1 hergestellt. In der folgenden Tabelle enthält die Spalte, über der "HSP90 IC50" steht, den Aktivitätsbereich der Verbindungen, wenn diese in dem Malachit-Grün-Assay getestet wurden, der in dem biologischen Ergebnisbereich unten beschrieben wird.

Beispiel	Struktur	MH+	Hsp90 IC50
2		330	B
3		400	B
4		294	B
5		324	B
6		337	B
7		381	B
8		332	B

Beispiel	Struktur	MH+	Hsp90 IC50
9		335	A
10		364	A
11		414	B
12		313	B
13		347	A
14		361	A
15		389	A

Beispiel	Struktur	MH+	Hsp90 IC50
16		363	B
17		361	A
18		365	B
19		388	B
20		389	A
21		424	A

Beispiel	Struktur	MH+	Hsp90 IC50
22		373	A
23		344	B
24		388	B
25		374	B
26		388	A
27		358	A
28		374	A

Beispiel	Struktur	MH+	Hsp90 IC50
29		362	A
30		378	A
31		374	A
32		412	A
33		422	A

Biologische Ergebnisse

[0063] Die intrinsische ATPase-Aktivität von HSP90 kann unter Verwendung von Hefe HSP90 als Modellsystem gemessen werden. Der Assay, der auf der Verwendung von Malachit-Grün zur Messung von anorganischem Phosphat basiert, wurde verwendet, um die HSP90-inhibitorische Aktivität der Verbindungen der Beispiele zu testen.

Malachit-Grün-ATPase-Assay

Materialien

[0064] Die Chemikalien haben höchste kommerziell erhältliche Reinheit und alle wässrigen Lösungen wurden in AR-Wasser hergestellt. Aufgrund der Notwendigkeit, die Kontamination mit anorganischem Phosphat zu minimieren, sollte man Vorsicht walten lassen im Hinblick auf die Lösungen und die Apparate, die in den Assays verwendet werden. Die Glasware und pH-Messvorrichtungen wurden mit doppelt destilliertem oder deionisiertem Wasser vor der Verwendung gespült und wenn immer möglich, sollten Kunststoffe verwendet werden. Für alle Prozeduren werden Handschuhe getragen.

- (1) Greiner 384-well (Greiner 781101) oder Costar 384-well Flachboden-Polystyrol-Multivertiefungsplatten (VWR).
- (2) Assay-Puffer aus (a) 100 mM Tris-HCl, pH 7,4, (b) 150 mM KCl, (c) 6 mM MgCl₂. Gelagert bei Raumtemperatur.

- (3) 0,0812 % (G/V) Malachit-Grün (M 9636, Sigma Aldrich Ltd., Poole, GB). Gelagert bei Raumtemperatur.
- (4) 2,32 % (G/V) Polyvinylalkohol USP (P 1097, Sigma Aldrich Ltd., Poole, GB) in siedendem Wasser (siehe Kommentar 1), man lässt dies abkühlen und lagert bei Raumtemperatur.
- (5) 5,72 % (G/V) Ammoniummolybdat in 6 M Salzsäure. Gelagert bei Raumtemperatur.
- (6) 34 % (G/V) Natriumcitrat. Gelagert bei Raumtemperatur.
- (7) 100 mM ATP, Dinatriumsalz, spezielle Qualität (47699, Sigma Aldrich). Gelagert bei -20°C .
- (8) E. coli exprimiertes Hefe-HSP90-Protein, mehr als 95 % gereinigt (siehe z.B. Panaretou et al., 1998) und in 50 μl Aliquots bei -80°C gelagert.

Verfahren

1. Verdünne die Testverbindungen auf 500 μM in AR-Wasser (die DMSO-Konzentration wird 2,5 % sein). Übertrage 2,5 μl dieser Verbindungen direkt von der Tochterplatte auf die Assay-Platte, was eine endgültige Assay-Konzentration von 100 μM ergibt. Um 12-Punkt-IC₅₀-Werte zu erhalten, führe serielle Verdünnungen 1:2 durch, um einen Bereich von Assay-Konzentrationen von 100 μM bis 97,6 nM (2,5 % DMSO) zu erzeugen und übertrage 2,5 μl jeder Konzentration in die Assay-Platte. Spalte 1 in der Assay-Platte enthält keine Verbindung, als Negativkontrolle. Eine zusätzliche Reihe ohne Verbindung wird ebenfalls als Hintergrund verwendet.
2. Stelle ATP durch Verdünnung einer 100 mM Grundlösung auf 925 μM mit Assay-Puffer her und verteile 5 μl Aliquots von verdünntem ATP auf jede Vertiefung einschließlich den Kontrollen (endgültige Assay-Konzentration 370 μM).
3. Füge 5 μl Puffer der Hintergrundreihe zu.
4. Verdünne die Enzympräparation auf 1,05 μM mit Assay-Puffer und verteile Aliquots von 5 μl in jede Verbindungsvertiefung und die negative Kontrollsäule.
5. Sammle die Reagenzien auf dem Boden der Vertiefung, bedecke die Platte mit einem Plattensiegel und inkubiere bei 37°C über Nacht.
6. Stelle als erstes am nächsten Morgen das Malachit-Grün-Reagenz her. Füge 2 Teile Malachit-Grün-Lösung, ein Teil Polyvinylalkohollösung, 1 Teil Ammonium-Molybdat-Lösung und 2 Teile AR-Wasser zu.
7. Drehe um zum Mischen und lasse ungefähr 1 Stunde stehen, bis sich die Farbe von braun zu goldgelb verändert.
8. Füge 40 μl Malachit-Grün-Reagenz jeder Vertiefung zu, und lasse 5 Minuten zur Entwicklung der Farbe stehen.
9. Füge 5 μl Natriumcitrat-Reagenz jeder Vertiefung zu (siehe Kommentar 2).
10. Bedecke wieder mit einem Plattensiegel und schüttle auf dem Plattenschüttler für mindestens 15 Minuten.
11. Messe die Absorption bei 620 nM unter Verwendung eines geeigneten Platteablesers (z.B. Victor, Perkin Elmer Life Sciences, Milton Keynes, GB). Unter diesen Bedingungen ist die Kontrollabsorption 0,9 bis 1,4 und der Hintergrund 0,2 bis 0,35, was ein Signal-zu-Hintergrundverhältnis von ungefähr 12 ergibt. Der aus diesen Daten, erhalten unter Verwendung dieser Bedingungen errechnete Z'-Faktor liegt zwischen 0,6 und 0,9.

Kommentare

- (1) Der Polyvinylalkohol löst sich in siedendem Wasser nur mit Schwierigkeiten und 2- bis 3-stündiges Rühren ist nötig.
- (2) Das Zeitintervall zwischen der Addition des Malachit-Grün-Reagenzes und des Natriumcitrats sollte so kurz wie möglich gehalten werden, um die nicht-enzymatische Hydrolyse von ATP zu reduzieren. Sobald das Natriumcitrat zugefügt wurde, ist die Farbe für bis zu 4 Stunden bei Raumtemperatur stabil.
- (3) Verbindungen können den Assay-Platten unter Verwendung eines Biomek FX Robot (Beckman Coulter) zugefügt werden. Ein Multidrop 384 Dispenser (Thermo Labsystems, Basingstoke, GB) kann in geeigneter Weise verwendet werden, um Reagenzien der Platte zuzufügen.
- (4) Die Assay-Bedingungen wurden im Hinblick auf Zeit, Protein- und Substratkonzentration optimiert, um eine minimale Proteinkonzentration zu erreichen, während das Signal zu Hintergrunddifferenzial erhalten blieb.
- (5) Signal zu Hintergrund (S/N) wird unter Verwendung der folgenden Gleichung berechnet:

$$(S-B)/A/\sqrt{(SD \text{ von } S)^2 + (SD \text{ von } B)^2}$$

- (6) Um die spezifische Aktivität von HSP90 zu bestimmen, wird ein Bereich von anorganischen Phosphatkonzentrationen (0 bis 10 μM) hergestellt und die Absorption bei 620 nm, wie beschrieben, gemessen. Die

spezifische Aktivität wird aus der resultierenden Kalibrierungskurve berechnet.

[0065] Die in dem obigen Assay getesteten Verbindungen wurden zu einem von zwei Aktivitätsbereichen, nämlich A = <50 μM ; B = >50 μM zugeordnet und diese Zuordnungen werden oben berichtet.

[0066] Außerdem wurde ein Wachstumsinhibitions-Assay für die Bewertung von möglichen HSP90-Inhibitoren verwendet:

Bewertung der Cytotoxizität von durch den Sulforhodamin B (SRB) -Assay: Berechnung der 50%igen inhibitorischen Konzentration (IC_{50}).

Tag 1

- 1) Bestimme die Zellzahl durch ein Häemocytometer.
- 2) Unter Verwendung einer 8 Kanal-Multipipettenvorrichtung füge 160 μl der Zellsuspension (3.600 Zellen/Vertiefung oder 2×10^4 Zellen/ml) jeder Vertiefung einer Mikrotiterplatte mit 96 Vertiefungen zu.
- 3) Inkubiere über Nacht bei 37°C in einem CO_2 -Inkubator.

Tag 2

- 4) Grundlösungen der Arzneimittel werden hergestellt und serielle Verdünnungen von jedem Arzneimittel werden in einem Medium durchgeführt, um Endkonzentrationen in den Vertiefungen zu ergeben.
- 5) Unter Verwendung einer Multipipette werden 40 μl Arzneimittel (bei 5x der Endkonzentration) den Vierfach-Vertiefungen zugefügt.
- 6) Kontrollvertiefungen befinden sich an jeder Seite der Mikrotiterplatten mit 96 Vertiefungen, worin 40 μl Medium zugefügt wurde.
- 7) Inkubiere die Platten in einem CO_2 -Inkubator 4 Tage (48 Stunden).

Tag 6

- 8) Gieße Medium in eine Spüle ab und tauche die Platte langsam in 10%ige eiskalte Trichloressigsäure (TCA). Lasse dies für ungefähr 30 Minuten auf Eis.
- 9) Wasche die Platten dreimal in Leitungswasser durch Eintauchen der Platten in Bäder von Leitungswasser und Abgießen.
- 10) Trockne im Inkubator.
- 11) Füge 100 μl 0,4 5 SRB in 1%iger Essigsäure jeder Vertiefung zu (außer der letzten Reihe (rechts) der Mikrotiterplatte mit 96 Vertiefungen, dies ist die 0 % Kontrolle, d.h. ohne Arzneimittel, ohne Färbung. Die erste Reihe wird die 100 % Kontrolle ohne Arzneimittel, jedoch mit Färbung sein). Lasse dies 15 Minuten.
- 12) Wasche ungebundene SRB-Färbung mit vier Waschungen von 1%iger Essigsäure ab.
- 13) Trockne die Platten im Inkubator.
- 14) Löse SRB unter Verwendung von 100 μl 10 mM Tris-Base und stelle die Platten für 5 Minuten auf einen Plattenschüttler.
- 15) Bestimme die Absorption bei 540 nm unter Verwendung eines Plattenlesers. Berechne die mittlere Absorption für Vierfachvertiefungen und drücke als Prozentsatz des Werts für die unbehandelten Kontrollvertiefungen aus.
- 16) Trage die prozentualen Absorptionswerte gegen die log-Arzneimittelkonzentration auf und bestimme den IC_{50} .

[0067] Die Verbindung von Beispiel 1 ergab einen IC_{50} im "B"-Bereich für den SRB-Wachstums-Stop-Assay.

Literaturliste

Eine Anzahl von Veröffentlichungen werden oben zitiert, um die Erfindung und auch den Stand der Technik, den die Erfindung betrifft, genauer zu beschreiben und zu offenbaren. Genaue Zitate für diese Referenzen sind unten bereitgestellt. Jede dieser Referenzen ist hier durch Inbezugnahme in ihrer Gesamtheit in die gegenwärtige Offenbarung eingeschlossen.

Argon Y und Simen BB. 1999 "Grp94, an ER chaperone with protein and peptide binding properties", Semin. Cell Dev. Biol., Band 10, Seiten 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-kinasep56lck", Molecular Biology of the Cell, Band 11 (5), Seiten

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.*, Band 131 (1), Seiten 13-16.
- Chen C-F, Chen Y, Dai KD, Chen P-L, Riley DJ und Lee W-H. 1996 "A new member of the hsp90 family of molecular Chaperone interacts with the retinoblastoma protein during mitosis and after heat shock", *Mol. Cell. Biol.*, Band 16, Seiten 4691-4699.
- Chiosis G, Timaul MN, Lucas B, Munster PN, Zheng FF, Sepp-Loenzino L und 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.*, Band 8, Seiten 289-299.
- Conroy SE und Latchman DS. 1996 "Do heat shock proteins have a role in breast cancer?", *Brit. J. Cancer*, Band 74, Seiten 717-721.
- Felts SJ, Owen BAL, Nguyen P, Trepel J, Donner DB und Toft DO. 2000 "The HSP90-related protein TRAP1 is a mitochondrial protein with distinct functional properties", *J. Biol. Chem.*, Band 5, Seiten 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.*, Band 275 (48), Seiten 37462-37468.
- Hickey E, Brandon SE, Smale G, Lloyd D und Weber LA. 1999 "Sequence and regulation of a gene encoding a human 89-kilodalton heat shock protein", *Mol. Cell. Biol.*, Band 9, Seiten 2615-2626.
- Hoang AT, Huang J, Rudra-Gonguly N, Zheng J, Powell WC, Rabindron SK, Wu C und Roy-Burman P. 2000 "A novel association between the human heat shock transcription factor I (HSF1) and prostate adenocarcinoma", *Am. J. Pathol.*, Band 156, Seiten 857-864.
- Hostein I, Robertson D, Di Stefano F, Workman P und Clarke PA. 2001 "Inhibition of signal transduction by the HSP90 inhibitor 17-allylamino-17-demethoxygeldanamycin results in cytostasis and apoptosis", *Cancer Res.*, Band 61, Seiten 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.*, Band 62 (5), Seiten 975-982.
- Jameel A, Skilton RA, Campbell TA, Chander SK, Coombes RC und Luqmani YA. 1992 "Clinical and biological significance of HSP89a in human breast cancer", *Int. J. Cancer*, Band 50, Seiten 409-415.
- Jolly C und Morimoto RI. 2000 "Role of the heat shock response and molecular chaperones in oncogenesis and cell death", *J. Natl. Cancer Inst.*, Band 92, Seiten 1564-1572.
- Kawanishi K, Shiozaki H, Doki Y, Sakita I, Inoue M, Yano M, Tsujinata T, Shamma A und Monden M. 1999 "Prognostic significance of heat shock proteins 27 and 70 in patients with squamous cell carcinoma of the esophagus", *Cancer*, Band 85, Seiten 1649-1657.
- Kelland LR, Abel G, McKeage MJ, Jones M, Goddard PM, Valenti M, Murrer BA und Harrap KR. 1993 "Preclinical antitumour evaluation of bis-acetalo-amino-dichloro-cyclohexylamine platinum (IV): an orally active platinum drug", *Cancer Research*, Band 53, Seiten 2581-2586.
- Kelland LR, Sharp SY, Rogers PM, Myers TG und 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.*, Band 91, Seiten 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.*, Band 92 (12), 1342-1351.
- Kwon HJ, Yoshida M, Abe K, Horinouchi S und Bepple T. 1992 "Radicicol, an agent inducing the reversal of transformed phenotype of src-transformed fibroblasts", *Biosci. Biotechnol., Biochem.*, Band 56, Seiten 538-539.
- Lebeau J, Le Cholony C, Prosperi MT und 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 EJ/T24 Harvey-ras oncogene", *Oncogene*, Band 6, Seiten 1125-1132.
- Marcu MG, Chadli A, Bouhouche I, Catelli M und 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.*, Band 275, Seiten 37181-37186.
- Marcu MG, Schulte TW und Neckers L. 2000b "Novobiocin and related coumarins and depletion of heat shock protein 90-dependent signaling proteins", *J. Natl. Cancer Inst.*, Band 92, Seiten 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 und Sager R. 2000 "Linking gene expression patterns to therapeutic groups in breast cancer", *Cancer Res.*, Band 60, Seiten 2232-2238.
- Neckers L, Schulte TW und Momnaugh E. 1999 "Geldanamycin as a potential anti-cancer agent: its molecular

target and biochemical activity", Invest. New Drugs, Band 17, Seiten 361-373.

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

Panaretou B, Prodromou C, Roe SM, O'Brien R, Ladbury JE, Piper PW und Pearl LH. 1998 "ATP binding and hydrolysis are essential to the function of the HSP90 molecular chaperone in vivo", EMBO J., Band 17, Seiten 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., Band 37, Seiten 297-326.

Prodromou C und Pearl LH. 2000a "Structure and in vivo function of HSP90", Curr. Opin. Struct. Biol., Band 10, Seiten 46-51.

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

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

Roe SM, Prodromou C, O'Brien R, Ladbury JE, Piper PW und Pearl LH. 1999 "Structural basis for inhibition of the HSP90 molecular chaperone by the antitumour antibiotics radicicol and geldanamycin", J. Med. Chem., Band 42, Seiten 260-266.

Rutherford SL und Lindquist S. 1998 "HSP90 as a capacitor for morphological evolution". Nature, Band 396, Seiten 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 und Sharma SV. 1999 "Interaction of radicicol with members of the heat shock protein 90 family of molecular chaperones", Mol. Endocrinology, Band 13, Seiten 1435-1448.

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

Schulte TW und Neckers LM. 1998 "The benzoquinone ansamycin 17-allylamino-17-deemthoxygeldanamycin binds to HSP90 and shares important biologic activities with geldanamycin", Cancer Chemother. Pharmacol., Band 42, Seiten 273-279.

Smith DF. 2001 "Chaperones in signal transduction", in: Molecular chaperones in the cell (P Lund, Hrsg.; Oxford University Press, Oxford und NY), Seiten 165-178.

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

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

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

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

Tytell M und Hooper PL. 2001 "Heat shock proteins: new keys to the development of cytoprotective therapies", Emerging Therapeutic Targets, Band 5, Seiten 267-287.

Uehara U, Hori M, Takeuchi T und 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., Band 6, Seiten 2198-2206.

Waxinan, 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 und 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., Band 91, Seiten 8324-8328.

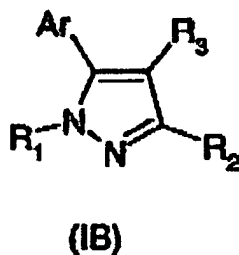
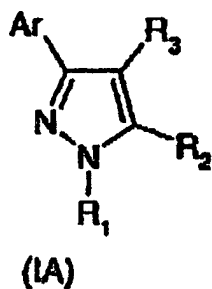
Yorgin et al. 2000 "Effects of geldanamycin, a heat-shock protein 90-binding agent, on T cell function and T cell nonreceptor protein tyrosine kinases", J. Immunol., Band 164 (6), Seiten 2915-2923.

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

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

Patentansprüche

1. Verbindung der Formel (IA) oder (IB) oder Salz, N-Oxid, Hydrat oder Solvat davon:



worin

Ar ein Aryl- oder Heteroarylrest ist, der über einen Ring-Kohlenstoff gebunden ist, und der mit einer Hydroxygruppe an einem Kohlenstoff in der 2-Stellung substituiert ist, und der ansonsten entweder unsubstituiert oder gegebenenfalls substituiert ist;

R₁ Wasserstoff oder gegebenenfalls substituiertes C₁₋₆-Alkyl ist;

R₂ Wasserstoff, gegebenenfalls substituiertes Cycloalkyl, Cycloalkenyl, C₁₋₆-Alkyl, C₁₋₆-Alkenyl oder C₁₋₆-Alkynyl; oder eine Carboxyl-, Carboxamid- oder Carboxylestergruppe ist; und

R₃ eine Carboxamidgruppe ist.

2. Verbindung gemäß Anspruch 1, worin Ar eine 2-Hydroxyphenylgruppe ist, die gegebenenfalls weiter substituiert ist.

3. Verbindung gemäß Anspruch 1, worin Ar eine 2-Hydroxyphenylgruppe ist, die weiter mit einer oder mehreren Hydroxy-, Ethyl-, Isopropyl-, Chlor-, Brom- oder Phenylgruppen substituiert ist.

4. Verbindung gemäß Anspruch 1, worin Ar eine 2,4-Dihydroxy-5-chlorphenylgruppe ist.

5. Verbindung gemäß einem der vorhergehenden Ansprüche, worin R₁ und R₂ unabhängig Wasserstoff, Methyl, Ethyl, n- oder Isopropyl oder Hydroxyethyl sind.

6. Verbindung gemäß einem der Ansprüche 1 bis 4, worin R₁ Wasserstoff ist und R₂ Wasserstoff oder Methyl ist.

7. Verbindung gemäß einem der vorhergehenden Ansprüche, worin R₃ eine Carboxamidgruppe der Formel -CONR^B(Alk)_nR^A ist, worin:

Alk ein gegebenenfalls substituierter zweiwertiger Alkylen-, Alkenylen- oder Alkinylenrest ist, n 0 oder 1 ist,

R^B Wasserstoff oder eine C₁₋₆-Alkyl- oder C₂₋₆-Alkenylgruppe ist,

R^A Hydroxy oder eine gegebenenfalls substituierte carbocyclische oder heterocyclische Gruppe ist.

8. Verbindung gemäß Anspruch 7, worin Alk -CH₂-, -CH₂CH₂-, -CH₂CH₂CH₂-, -CH₂CH=CH- oder -CH₂CCCH₂- ist, R^B Wasserstoff oder Methyl, Ethyl, n- oder Isopropyl oder Allyl ist und R^A Hydroxy oder gegebenenfalls substituiertes Phenyl, Pyridyl, Furyl, Thienyl, N-Piperazinyl oder N-Morpholinyl ist.

9. Verbindung gemäß Anspruch 7 oder 8, worin R^A Phenyl ist, das gegebenenfalls mit wenigstens einem aus OH, CH₃O-, Cl, F, NH₂CO-, NH₂CO-, CH₃NHCO-, -COOH, -COOCH₃, -CH₂COOH, -CH₂COOCH₃, -CH₃, -CF₃, -SO₂CH₃, -SO₂NH₂, 3,4-Methyldioxy und 3,4-Ethyldioxy substituiert ist.

10. Verbindung gemäß Anspruch 7, worin R₁ und R₂ Wasserstoff sind, Ar eine 2,4-Dihydroxy-5-chlorphenylgruppe ist, Alk -CH₂- ist, n 0 oder 1 ist, R^B Wasserstoff ist und R^A Phenyl ist, das gegebenenfalls mit wenigstens einem aus OH, CH₃O-, Cl, F, NH₂CO-, NH₂CO-, CH₃NHCO-, -COOH, -COOCH₃, -CH₂COOH, -CH₂COOCH₃, -CH₃, -CF₃, -SO₂CH₃, -SO₂NH₂, 3,4-Methyldioxy und 3,4-Ethyldioxy substituiert ist.

11. Verbindung gemäß Anspruch 7, worin R^A und R^B zusammen mit dem Stickstoff, an den sie gebunden sind, einen N-heterocyclischen Ring bilden, der gegebenenfalls ein oder mehrere zusätzliche Heteroatome enthält, die aus O, S und N ausgewählt sind, und der gegebenenfalls an einem oder mehreren C- oder N-Ringatomen substituiert ist.

12. Verbindung gemäß Anspruch 11, worin R^A und R^B zusammen mit dem Stickstoff, an den sie gebunden sind, einen Morpholino-, Piperidiny-, Piperaziny- oder N-Phenylpiperazinyling bilden, der gegebenenfalls an einem oder mehreren C- oder N-Ringatomen substituiert ist.

13. Verbindung gemäß Anspruch 1, die ein Mitglied der Gruppe ist, die aus:

3-(5-Chlor-2,4-dihydroxy-phenyl)-1H-pyrazol-4-carbonsäure(4-acetyl-phenyl)-amid,
 3-(5-Chlor-2,4-dihydroxy-phenyl)-1H-pyrazol-4-carbonsäurephenyl-amid,
 3-(5-Chlor-2,4-dihydroxy-phenyl)-1H-pyrazol-4-carbonsäure(4-methoxyphenyl)-amid,
 3-(5-Chlor-2,4-dihydroxy-phenyl)-1H-pyrazol-4-carbonsäure(4-chlor-phenyl)-amid,
 3-(5-Chlor-2,4-dihydroxy-phenyl)-1H-pyrazol-4-carbonsäure(4-acetylamino-phenyl)-amid;
 3-(5-Chlor-2,4-dihydroxy-phenyl)-1H-pyrazol-4-carbonsäure-4-sulfamoyl-benzylamid,
 3-(5-Chlor-2,4-dihydroxy-phenyl)-1H-pyrazol-4-carbonsäure(4-methoxy-phenyl)-amid,
 3-(5-Chlor-2,4-dihydroxy-phenyl)-1H-pyrazol-4-carbonsäure(4-chlor-phenyl)-amid,
 3-(5-Chlor-2,4-dihydroxy-phenyl)-1H-pyrazol-4-carbonsäure(4-acetylamino-phenyl)-amid,
 3-(5-Chlor-2,4-dihydroxy-phenyl)-1H-pyrazol-4-carbonsäure-4-sulfamoyl-benzylamid,
 3-(5-Chlor-2,4-dihydroxy-phenyl)-1H-pyrazol-4-carbonsäure(4-carbamoyl-phenyl)-amid,
 4-({[3-(5-Chlor-2,4-dihydroxy-phenyl)-1H-pyrazol-4-carbonyl]-amino}-methyl)-benzoesäure,
 3-(5-Chlor-2,4-dihydroxy-phenyl)-1H-pyrazol-4-carbonsäure-4-methyl-benzylamid,
 3-(5-Chlor-2,4-dihydroxy-phenyl)-1H-pyrazol-4-carbonsäure-4-methoxy-benzylamid,
 3-(5-Chlor-2,4-dihydroxy-phenyl)-1H-pyrazol-4-carbonsäure-4-fluor-benzylamid,
 3-(5-Chlor-2,4-dihydroxy-phenyl)-1H-pyrazol-4-carbonsäure-4-chlor-benzylamid,
 3-(5-Chlor-2,4-dihydroxy-phenyl)-1H-pyrazol-4-carbonsäure-3-methoxy-benzylamid,
 3-(5-Chlor-2,4-dihydroxy-phenyl)-1H-pyrazol-4-carbonsäure-3-trifluormethyl-benzylamid,
 3-(5-Chlor-2,4-dihydroxy-phenyl)-1H-pyrazol-4-carbonsäure-4-methansulfonyl-benzylamid,
 und Salzen, N-Oxiden, Hydraten und Solvaten davon besteht.

14. Verbindung gemäß einem der Ansprüche 1 bis 13 zur Verwendung in der Human- oder Veterinärmedizin.

15. Verbindung gemäß einem der Ansprüche 1 bis 13 zur Verwendung in der Behandlung von Krankheiten oder Zuständen, die auf Inhibierung von HSP90-Aktivität ansprechen.

16. Verwendung einer Verbindung gemäß einem der Ansprüche 1 bis 13 in der Herstellung eines Mittels zur Versorgung von Krankheiten oder Zuständen, die auf Inhibierung von HSP90-Aktivität ansprechen.

17. Verbindung zur Verwendung gemäß Anspruch 14 oder 15, oder Verwendung gemäß Anspruch 16, worin die Krankheit oder der Zustand Krebs ist.

18. Verbindung zur Verwendung gemäß Anspruch 14 oder 15, oder Verwendung gemäß Anspruch 16, worin die Krankheit oder der Zustand eine virale Krankheit, Transplantatabstoßung, Entzündungskrankheit, Asthma, multiple Sklerose, Typ I-Diabetes, Lupus, Psoriasis, entzündliche Darmkrankheit, Mukoviszidose, Angiogenesebezogene Krankheit, diabetische Retinopathie, Hämangiom oder Endometriose ist.

Es folgt kein Blatt Zeichnungen