



(19) **RU** ⁽¹¹⁾ **2 072 989** ⁽¹³⁾ **C1**
 (51) МПК⁶ **C 07 D 209/04, 209/56, 487/08,**
A 61 K 31/405

РОССИЙСКОЕ АГЕНТСТВО
 ПО ПАТЕНТАМ И ТОВАРНЫМ ЗНАКАМ

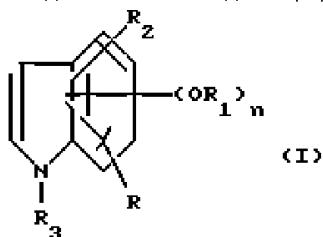
(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ПАТЕНТУ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

(21), (22) Заявка: 93004893/04, 10.07.1992
 (30) Приоритет: 12.07.1991 GB 9115160.5
 (46) Дата публикации: 10.02.1997
 (56) Ссылки: Can. J. Chem.- 1968, v. 46, N 13,
 p.2189 - 2196. Chem. Rev.- 1969, v. 102 (4),
 p.1347 - 1356.
 (86) Заявка PCT:
 EP 92/01569 (10.07.92)

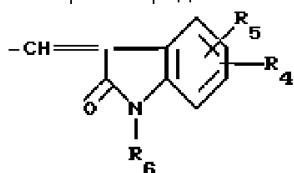
(71) Заявитель:
 Фармиталия Карло Эрба СРЛ (IT)
 (72) Изобретатель: Франко Буццетти[IT],
 Антонио Лонго[IT], Маристелла Коломбо[IT]
 (73) Патентообладатель:
 Фармиталия Карло Эрба СРЛ (IT)

(54) ПРОИЗВОДНЫЕ МЕТИЛЕНОКСИНДОЛА, СПОСОБ ИХ ПОЛУЧЕНИЯ И ФАРМАЦЕВТИЧЕСКАЯ КОМПОЗИЦИЯ

(57) Реферат:
 Изобретение предлагает новые производные метилениндолола формулы (I)



в которой R представляет собой группу



в которой R₄ представляет собой водород, окси-, (C₁-C₆)-алкокси-, (C₂-C₆)-алканоилокси-, карбокси-, нитрогруппу, или группу NHR₇, в которой R₇ представляет собой водород или

(C₁-C₆)-алкил, R₅ представляет собой водород, (C₁-C₆)-алкил или галоген, и R₆ является водородом или (C₁-C₆)-алкилом, равен нулю, 1 или 2, R₁ является водородом, (C₁-C₆)-алкилом или (C₂-C₆)-алканоилом, R₂ представляет собой водород, (C₁-C₆)-алкил, галоген, циано-, карбоксильную, нитро-группу, или группу -NHR₇, в которой R₇ имеет установленные выше значения, R₃ является водородом, (C₁-C₆)-алкилом или (C₂-C₆)-алканоилом, и их фармацевтически приемлемые соли, и в которых, когда одновременно R₂ является водородом, (C₁-C₆)-алкилом, галогеном или цианогруппой и R₃ представляет собой водород, R₁ и имеют установленные выше значения, тогда по крайней мере один из заместителей R₄, R₅ и R₆ является иным, чем водород, и которые используются в качестве ингибиторов тирозинкиназы.



RUSSIAN AGENCY
FOR PATENTS AND TRADEMARKS

(19) **RU** ⁽¹¹⁾ **2 072 989** ⁽¹³⁾ **C1**
(51) Int. Cl.⁶ **C 07 D 209/04, 209/56,**
487/08, A 61 K 31/405

(12) **ABSTRACT OF INVENTION**

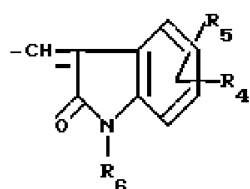
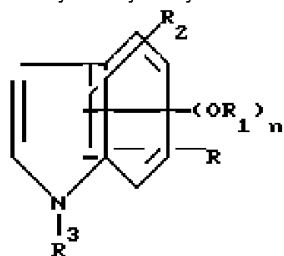
(21), (22) Application: 93004893/04, 10.07.1992
(30) Priority: 12.07.1991 GB 9115160.5
(46) Date of publication: 10.02.1997
(86) PCT application:
EP 92/01569 (10.07.92)

(71) Applicant:
Farmitalia Karlo Ehrba SRL (IT)
(72) Inventor: Franko Buttsetti[IT],
Antonio Longo[IT], Maristella Kolombo[IT]
(73) Proprietor:
Farmitalia Karlo Ehrba SRL (IT)

(54) DERIVATIVES OF METHYLENEHYDROXYINDOLE, METHOD OF THEIR SYNTHESIS AND PHARMACEUTICAL COMPOSITION

(57) Abstract:

FIELD: organic chemistry. SUBSTANCE:
product: new derivatives of
methylenehydroxyindole of the formula
, where R - group



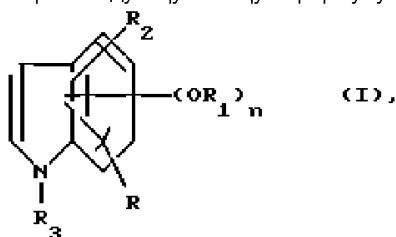
where R₄ - hydrogen,

hydroxy, (C₁-C₆)-alkoxy,
(C₂-C₆)-alkanoylhydroxy, carboxy,
nitro-group or group NHR₇ where R₇ means
hydrogen or (C₁-C₆)-alkyl; R₅ - hydrogen,
(C₁-C₆)-alkyl or halogen; R₆ - hydrogen or
(C₁-C₆)-alkyl; n = 0, 1 or 2; R₁ - hydrogen,
(C₁-C₆)-alkyl or (C₂-C₆)-alkanoyl; R₂ -
hydrogen, (C₁-C₆)-alkyl, halogen, cyano-,
carboxyl, nitro-group or group -NHR₇ where
R₇ - as indicated above; R₃ - hydrogen,
(C₁-C₆)-alkyl or (C₂-C₆)-alkanoyl, and their
pharmaceutically acceptable salts where:
when R₂ is simultaneously hydrogen,
(C₁-C₆)-alkyl, halogen or cyano-group and
R₃ means hydrogen, R₁ and have values
indicated above and then at least one of
substituent R₄, R₅ and R₆ is not hydrogen.
Synthesized compounds were used as tyrosine
kinase inhibitors. EFFECT: improved method
of synthesis.

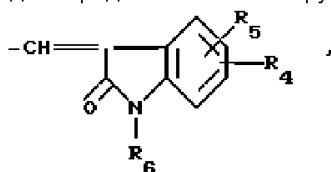
Изобретение относится к новым производным 3-метилден-2-оксиндола, к способу их получения, к фармацевтическим композициям, содержащим эти соединения и к использованию их в качестве терапевтических средств.

Из предшествующего уровня техники известны некоторые метилден-оксиндолные производные. Например, в WO-A-91/13055 описываются производные метилден-оксиндола, ингибирующие тирозинкиназу. В JP-A-3213847 описано использование метилден-оксиндолных производных в качестве материалов для фотографии, при этом нет никаких указаний на наличие у них биологической активности. В публикации [ан. J.Chem. Vol. 46, N 13, стр. 2189-2198 (1968)] сообщается об испытании производных метилден-оксиндола против роста *Bacillus subtilis*, а в публикации Chem. Ber. Vol. 102 (4), 1347-1356 (1969) описывается синтез некоторых оксиндол производных 2- и 3-индола, однако не раскрывается никакая биологическая активность, которой обладали бы эти соединения.

Изобретение представляет соединения, имеющие следующую общую формулу (I),



где R представляет собой группу



в которой R₄ представляет собой водород, гидроксил, (C₁-C₆)-алкокси-(C₂-C₆)-алканоилокси-карбокси-, нитро-, или -NHR₇-группу, в которой R₇ является водородом или (C₁-C₆)-алкилом;

R₅ представляет собой водород, (C₁-C₆)-алкил или галоген; и

R₆ представляет собой водород или (C₁-C₆)-алкил;

n равен нулю, 1 или 2;

R₁ представляет собой водород, (C₁-C₆)-алкил, или (C₂-C₆)-алканоил;

R₂ представляет собой водород, (C₁-C₆)-алкил, галоген, цианогруппу, карбоксил, нитро- или -NHR₇-группу, в которой R₇ имеет значения, указанные выше;

R₃ представляет собой водород, (C₁-C₆)-алкил или (C₂-C₆)-алканоил; и их фармацевтически приемлемые соли; и в которых,

(i) когда в одно и то же время R₂ представляет собой водород, (C₁-C₆)-алкил, галоген или цианогруппу, и R₃ является водородом, R₁ и n имеют значения, указанные выше, тогда по крайней мере один из R₄, R₅ и R₆ является иным, чем

водород;

(ii) когда R связан с положением 3 индольного кольца, n=0 и R₃ и R₆ каждый представляет водород или CH₃, тогда по крайней мере один из R₂, R₄ и R₅ является отличным от водорода;

(iii) когда R связан с положением 2 индольного кольца, n=0 и R₂, R₃, R₄ и R₅ каждый представляет водород, тогда R₆ отличен от метила; и

(iv) когда R связан с положением 2 индольного кольца, n=0, R₂ представляет CH₃ в положении 3 индольного кольца, R₃ представляет CH₃, и R₄ и R₅ водород, тогда R₆ отличен от водорода или CH₃.

В соединениях изобретения каждый из заместителей R, -OR₁ и R₂ может независимо находиться или в бензольной, или в пиррольной части конденсированной системы колец, образующих индол.

Изобретение включает в свой объем все возможные изомеры, стереоизомеры, в частности Z и E изомеры, и их смеси, метаболиты и предшественники метаболитов или биопредшественников (иначе известных как пролекарства) соединений формулы (I).

Предпочтительно, когда заместитель R связан с индольным звеном в положении 2 и 3, в особенности в положении 3.

Когда n равен 2, каждая из групп -OR₁ может быть одинаковой с другой или отличной от нее.

Предпочтительно, когда заместитель -OR₁ присоединен в положении 4, 5, 6 или 7, в особенности в положении 5 или 7.

Предпочтительно, когда заместитель R₂ связан с бензольным кольцом, в частности в положении 5.

Конечно, только один из заместителей R, -OR₁ и R₂ может быть связан с индольной системой колец в одном и том же положении.

Предпочтительно, чтобы заместитель R₄ находился в положении 4 или 5, в особенности в положении 5.

Когда R₄ представляет собой карбоксил, нитрогруппу или группу -NHR₇, в которой R₇ имеет установленные выше значения, предпочтительно, чтобы R₂ не имел такого же значения. Напротив, когда

R₂ представляет собой карбоксил, нитрогруппу или группу -NHR₇, в которой R₇ имеет установленные выше значения, предпочтительно, чтобы заместитель R₄ был иным, чем карбоксильная группа, нитрогруппа или группа -NHR₇.

Алкильные группы и алкильные части алканоильных групп могут представлять собой прямые или разветвленные алкильные цепи. Предпочтительно, когда

(C₁-C₆)-алкильная группа является (C₁-C₄)-алкильной группой, например, метилом, этилом, пропилом, изопропилом, бутилом, втор-бутилом или трет-бутилом, в особенности, метилом или этилом.

Алконоильная группа (C₂-C₆) является предпочтительно (C₂-C₄)-алканоильной группой, в частности, ацетилом, пропионоилом или бутирилом. Галоген предпочтительно представляет собой хлор, бром или фтор, в особенности бром.

Фармацевтически приемлемые соли соединений изобретения включают соли, образовавшиеся при соединении с неорганической кислотой, например, с азотной, соляной, бромистоводородной, серной, хлорной и фосфорной кислотами, или с органической кислотой, например, с уксусной, пропионовой, гликолевой, молочной, щавелевой, малоновой, яблочной, малеиновой, винной, лимонной, бензойной, коричной, миндальной и салициловой кислотами, и соли с неорганическими основаниями, например, с основаниями щелочных металлов, особенно, натрия или калия, или с основаниями щелочно-земельных металлов, особенно, кальция или магния, или с органическими основаниями, например, с алкиламинами, предпочтительно с триэтиламинном.

Как установлено выше, изобретение включает в свой объем также фармацевтически приемлемых био-предшественников (иначе известных как пролекарства) соединений формулы (I), т.е. соединения, которые имеют формулу, отличную от приведенной выше формулы (I), но которые, тем не менее, при введении в человеческий организм превращаются прямо или косвенно *in vivo* в соединение формулы (I). Предпочтительными соединениями изобретения являются соединения формулы (I), в которых R является таким, как установлено выше, R₄ представляет собой окси-, amino-, нитроили карбокси-группу, а R₅ и R₆ являются водородами, R₁ представляет собой водород или (C₁-C₆)алкил, n равен нулю или 1, R₂ представляет собой водород, карбокси-, amino- или нитро-группу, R₃ является водородом, и их фармацевтически приемлемые соли.

Более предпочтительными соединениями изобретения являются соединения формулы (I), в которых

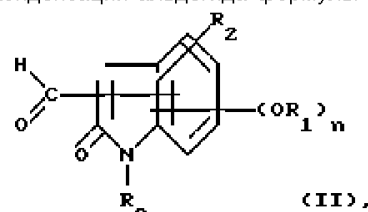
R имеет установленные выше значения, R₄ представляет собой окси-, amino- или карбокси-группу, R₅ и R₆ являются водородами, n равен 0, или 1; R₁ представляет собой водород, R₂ представляет собой водород, amino- или карбокси-группу, R₃ является водородом, и их фармацевтически приемлемые соли.

Примерами характерных соединений изобретения являются следующие соединения, которые соответственно могут быть или Z- или E-диастереоизомерами, или Z-, E-смесью упомянутых диастереоизомеров:

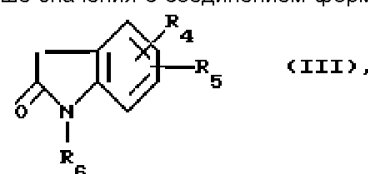
5-окси-3-[(3'-индолил)метил]-2-оксиндол, 3-[(5'-карбокси-3'-индолил)метил]-2-оксиндол, 3-[(5'-амино-3'-индолил)метил]-2-оксиндол, 5-карбокси-3-[(3'-индолил)метил]-2-оксиндол, 5-амино-3-[(3'-индолил)метил]-2-оксиндол, 5-окси-3-[(5'-окси-3'-индолил)метил]-2-оксиндол, 5-окси-3-[(7'-окси-3'-индолил)метил]-2-оксиндол, 3-[(5',7'-диокси-3'-индолил)метил]-2-оксиндол, 5-амино-3-[(5'-окси-3'-индолил)метил]-2-

оксиндол, 5-окси-3-[(5'-амино-3'-индолил)метил]-2-оксиндол, 5-карбокси-3-[(5'-окси-3'-индолил)метил]-2-оксиндол, 5-окси-3-[(5'-карбокси-3'-индолил)метил]-2-оксиндол, 5-амино-3-[(7'-окси-3'-индолил)метил]-2-оксиндол, 5-карбокси-3-[(7'-окси-3'-индолил)метил]-2-оксиндол, и в соответствующих случаях их фармацевтически приемлемые соли.

Соединения изобретения и их фармацевтически приемлемые соли могут быть получены по способу, заключающемуся в конденсации альдегида формулы (II)



где R₁, R₂, R₃ и n имеют установленные выше значения с соединением формулы (III)



в которой R₄, R₅ и R₆ имеют значения, установленные выше: и, если требуется, в превращении соединения формулы (I) в другое соединение формулы (I), и/или, если требуется, в превращении соединения формулы (I) в его фармацевтически приемлемую соль, и/или, если требуется, в превращении соли в свободное соединение, и/или, если требуется, в разделении смеси изомеров соединения формулы (I) на отдельные изомеры. Каждый из заместителей R₂, -OR₁ и -CHO в соединении формулы (II) может независимо находиться или в бензольной, или в пиррольной части индольного кольца.

Взаимодействие соединения формулы (II) с соединением формулы (III) является процессом, который аналогичен процессам, которые могут быть осуществлены в соответствии с известными методами, такими, какие описаны ниже, предпочтительно в присутствии основного катализатора, например, пиридина, пиперидина, диметиламина или подходящего гидроксида или алкоксида щелочного металла.

Например, реакция соединения формулы (II) с соединением формулы (III) может быть выполнена в условиях реакции Кновенагеля, как это описано, например, в G. Toncs, Organic Reactions **15**, 204 (1967).

Подходящим катализатором являются органические основания, такие, как пиридин, пиперидин или диэтиламин. Конденсация может быть выполнена в инертном органическом растворителе, например, в пиридине, этаноле, метаноле, бензоле или диоксане, при температурах, лежащих в области от 0 до 100°C.

Предпочтительно осуществлять реакцию в теплом этанольном растворе в присутствии

пиперидина в качестве катализатора.

Соединение формулы (I) может быть превращено в другое соединение формулы (I) в соответствии с известными методами. Например, дезтерификация соединения формулы (I), в котором один или более заместителей R_1 представляют собой (C_1-C_6) -алкилы, с целью получения соединения формулы (I), в котором один или более заместителей R_1 являются водородом, может быть выполнена методами, хорошо известными в органической химии. В случае простого метилового эфира фенола отщепление может быть выполнено, например, с трибромидом бора, как описано в I.F.N.Mc Omic, Tetrahedron **24**, 2289 (1968).

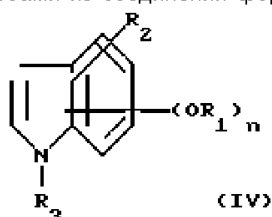
Рекомендуется использовать 1 моль трибромида бора на каждую эфирную группу вместе с молярным избытком реагента на каждую группу, содержащую, возможно, азотистое основание или кислород. Реакция может быть выполнена в инертном органическом растворителе, таком, как метиленхлорид, пентан или бензол, в инертной атмосфере, например, азота, при температурах, лежащих в области от $-70^{\circ}C$ до комнатной температуры.

Ацилирование соединения формулы (I), в которой один или более $-OR_1$ и/или R_4 являются оксигруппами, с целью получения соответствующего соединения формулы (I), в котором один или более $-OR_1$ и/или R_4 являются (C_2-C_6) -алканоилоксигруппами, может быть осуществлено взаимодействием с реактивным производным подходящей карбоновой кислоты, таким, как ангидрид или галоиндангидрид, в присутствии щелочного агента, при температурах, лежащих в области от 0 до $50^{\circ}C$. Предпочтительно выполнять ацилирование взаимодействием с соответствующим ангидридом в присутствии органического основания, такого, как пиридин.

Необязательное получение соли соединения формулы (I), так же, как и конверсия соли в свободное соединение, и разделение смеси изомеров на отдельные изомеры, может быть выполнено обычными методами.

Например, разделение смеси геометрических изомеров, например, цис- и транс-изомеров, может быть выполнено фракционной кристаллизацией из подходящего растворителя или хроматографией или колоночной хроматографией, или жидкостной хроматографией с высоким давлением.

Соединения формулы (II) могут быть получены в соответствии с известными способами из соединений формулы (IV)



Например, производные 3-формилиндола формулы (II) могут быть получены из соединения формулы (IV) методом формилирования с N-метилформанилидом

с формулы (IV) методом формилирования с N-метилформанилидом и хлорангидридом фосфорной кислоты в соответствии с хорошо известным способом Вильсмайера-Хаака (см. обзор в W. G. Jackson et al. I. Am. Chem. Soc. **1981**, **103**, 533). Когда занимается

положение 3, образуются производные 2-формилиндола.

Соединения формулы (III) и (IV) являются известными, или могут быть получены известными методами из известных соединений.

Фармакология

Соединения изобретения обладают специфическим ингибирующим действием на тирозинкиназу. Следовательно, они могут быть полезны при лечении рака и других паталогических состояний, связанных с разрастаниями, например, для ингибирования развития атеросклеротических бляшек, у млекопитающих, включая человека.

Типичными терапевтическими показаниями, соответствующими последнему случаю применения, являются реокклюзия, следующая за пластической операцией на коронарных сосудах, и при общем ослаблении заболевания коронарной артерии.

Последние исследования на молекулярном уровне опухолевых перерождений идентифицировали семейство генов, соответствующих плану онкогенов, чья искаженная экспрессия вызывает онкогенез. Например, RNA онковирусов обладает такой онкогенной последовательностью, чья экспрессия определяет опухолевую конверсию инфицированных клеток. Некоторые из таких онкогеннозакодированных протеинов, такие, как pp60^{V-Src}, p70^{gag-ges}, p130^{gag-fps} и p70^{gag-fgr}, показывают активность протеина тирозинкиназы, т.е. они катализируют переход γ -фосфата из аденозинтрифосфата (ATP) в остатки тирозина в субстрате протеина. В нормальных клетках активность тирозинкиназы показывают некоторые рецепторы фактора роста, например, рецепторы для PDGF, EGF, α -TGF и инсулина. Связывание фактора роста (GF) активирует рецептор тирозинкиназы для аутофосфорилирования и для осуществления фосфорилирования близкорасположенных молекул на тирозине.

Поэтому полагают, что фосфорилирование этих рецепторов тирозинкиназы играет важную роль в сигнальной трансдукции и что основной функцией активности тирозинкиназы в нормальных клетках является регулирование роста клетки. Пертурбация этой активности онкогенными тирозинкиназами, которые или перепроизведены, и/или показывают измененную специфичность субстрата, может вызвать потерю контроля роста и/или опухолевое разрастание. Соответственно специфический ингибитор тирозинкиназ может быть полезен при исследовании механизма канцерогенеза, разрастания клетки и дифференциаций, и он может быть действенным для предупреждения и химиотерапии рака и других паталогических разросшихся образований.

Специфическая протеиновая активность тирозинкиназы соединений изобретения показана в описанных ниже опытах.

Очистка V-abl-киназы

Используют энзим тирозинкиназы р95^{v-abl} Абельсона (Abelson), который получают и выделяют следующим образом: 1 л культуры НВ-130 клеток в LB-среде, дополненной ампициллином, выращивают при 30°C, как описано в Wang et al. J. Biol. Chem. **260**, 64 (1985). Экспрессию

v-abl-протеина индуцируют сдвигом температуры до 42°C в течение 3-4 ч. Бактериальные клетки собирают на лед, центрифугируют и замораживают в жидком азоте. Клеточный осадок лизируют, как описано в Ferguson et al. J. Biol.

Chem. **260**, 3652 (1985), и в Biochem J. **257**, 321 (1989). Коротко,

бактериальные протеины удаляют дифференциальной солюбилизацией с дексихолятом натрия, NaCl и β-октилглюкопиранозидом на различных стадиях. Нерастворимый v-abl-протеин солюбилизируют 2М KSCN, и подвергают диализу против 100 объемов 50 мМ Трис-HCl, pH 7,5, 1 мМ ЭДТК и 0,1 мМ дитиотреитола (буфер А). Растворимые протеины разделяют хроматографически на анионообменной колонке, набитой Моно-Q, в системе f.p.i.c. Активность v-abl элюируют с линейным градиентом KCl (0-1 М буфера А). Активные фракции объединяют, готовят 50%-ную композицию с глицерином, и хранят небольшими аликвотами при -20°C.

Проверка фосфолирования основных протеинов миелина

Проверка in vitro основного протеина миелина в качестве субстрата выполняют следующим образом: фосфорилирование протеина осуществляют, выдерживая в термостате 40 нг очищенной v-abl-киназы, 1,5 μCi[γ-³²P] ATP, 10 μМ М холодного ATP, 56 μМ М основного протеина миелина в 50 мкл 25 мМ Трис-HCl, pH 8,0, содержащее 10 мМ MgCl₂, 0,1 мМ дитиотреитола (буфер киназы) при 22°C. Реакцию останавливают путем добавления равных объемов буфера для электрофореза двойной концентрации Laemmli [U. K. Laemmli, Nature (London) **230**, 680 (1970). Образцы снова

кипятят в течение 3 мин, и разделяют в SDS-PAGE (15% акриламид). Гели сушат и выдерживают на пленках для автордиографии в течение 15-30 мин при -70 °C. Полосы локализируют автордиографией, вырезают из геля и считают в жидкостном сцинтилляционном счетчике.

Проверка аутофосфорилирования

Для проверки аутофосфорилирования, v-abl-киназу иммуноосаждают антителами антифосфотирозина, и образующийся иммуннокомплекс анализируют в 50 мкл буфера киназы в присутствии 10 мкМ ATP и 10 μCi[γ-³²P] -ATP. После 15-мин выдержки при комнатной температуре реакцию останавливают кипящим Laemmli-буфером. Образцы снова кипятят в течение 3 мин и разделяют в SDS-PAGE (8% акриламида). Гели сушат и выдерживают на пленках для автордиографии до 3 ч при -70°C. Полосы

локализируют автордиографией, вырезают и считают как описано выше.

Ниже соединение, представляющее изобретение, сравнивается с соответствующим негидроксированным аналогом, который охватывается общей формулой заявки на патент ВОИС 91/13055. Сравнение показывает, что введение гидроксильной группы существенно усиливает ингибиторную активность при аутофосфорилировании, в то время как действенность по отношению к экзогенным субстратам возрастает только немного.

Проверка фосфорилирования основного протеина миелина, IC₅₀ (мкМ) (мМ)

5-окси-3-[(3'-индолил)метил]-2-оксиндол

0,4

3-[(3'-индолил)метил]-2-оксиндол 0,6

Проверка аутофосфорилирования,

IC₅₀ (мкМ) (мМ)

5-окси-3-[(3'-индолил)метил]-2-оксиндол 0,4

3-[(3'-индолил)метил]-2-оксиндол 10

Ввиду их высокой активности и низкой токсичности, соединения изобретения можно безопасно применять в медицине. Например, найдено, что острая токсичность (IC₅₀) соединений изобретения для мышей, определенная путем разового введения возрастающих доз и измеренная на седьмой день после обработки, является незначительной.

Соединения изобретения могут вводиться в различных лекарственных формах, например, при оральном введении в виде таблеток, капсул, таблеток, покрытых сахаром или пленкой, жидких растворов или суспензий, при ректальном введении

в виде суппозитория, при парентеральном введении в виде внутримышечных или внутривенных инъекций или вливаний, или локально.

Дозировка зависит от возраста, веса, состояния пациента и способа введения, например, дозировка, принятая для взрослого человека, при оральном введении, может составлять от 10 до 150-200 мг на дозу при приеме 1-5 раз в день. Конечно, схема приема лекарства может быть отрегулирована таким образом, чтобы получить оптимальный терапевтический отклик.

Изобретение включает в себя фармацевтические композиции, содержащие соединение формулы (I), или его фармацевтически приемлемую соль, в соединении с фармацевтически приемлемым наполнителем (который может быть носителем или разбавителем).

Целью изобретения является также применение соединения формулы (I), определение которой дано выше, или его фармацевтически приемлемой соли, для производства лекарственного препарата для использования в качестве ингибитора тирозинкиназы, в частности как противоракового средства или средства, препятствующего разрастанию (антипролиферативного). Фармацевтические композиции, содержащие соединения изобретения, обычно получают традиционными методами и назначают в фармацевтически подходящей форме.

Например, твердые оральные формы могут содержать, наряду с активным соединением, разбавители, например,

лактозу, глюкозу, сахарозу, целлюлозу, кукурузный или картофельный крахмал, связывающие вещества, например, двуокись кремния, тальк, стеариновую кислоту, стеарат магния или кальция, и/или полиэтиленгликоли, связующие вещества, например, крахмалы, арабийскую камедь, желатин, метилцеллюлозу, карбоксиметилцеллюлозу или поливинилпирролидон, дезагрегирующие вещества, например, крахмал, альгиновую кислоту, альгинаты или крахмал гликолят натрия, смеси, бурно выделяющие газы, подслащивающие вещества, смачиватели, такие как лецитин, полисорбаты, лаурилсульфаты и вообще нетоксические и фармакологически неактивные вещества, которые используются в технологии приготовления лекарственных средств. Упомянутые фармацевтические препараты могут быть получены известным способом, например, посредством смешения, гранулирования, таблетирования, способами, включающими нанесение сахарного и пленочного покрытия. Жидкая дисперсия для орального применения может быть, например, сиропом, эмульсией или суспензией.

Сироп может содержать такой носитель, как, например, сахароза, или сахароза с глицерином и/или маннитом, и/или сорбитом.

Суспензии и эмульсии могут содержать такие носители, как, например, натуральная камедь, агар, альгинат натрия, пектин, метилцеллюлоза, карбоксиметилцеллюлоза или поливиниловый спирт.

Суспензии или растворы для внутримышечных инъекций могут содержать, вместе с активным соединением, фармацевтически приемлемый носитель, например, стерильную воду, оливковое масло, этилолеат, гликоли, например, пропиленгликоль, и, если желательно, подходящее количество хлористоводородного лидокаина.

Растворы для внутривенных инъекций или вливаний могут содержать такие носители, как, например, стерильная вода, или предпочтительно они могут быть в виде стерильных, водных, изотонических солевых растворов.

Суппозитории могут содержать, вместе с активным соединением, фармацевтически приемлемый носитель, например, масло какао, полиэтиленгликоль, поверхностноактивный сложный эфир полиоксиэтиленсорбитана и жирной кислоты, или лецитин.

Композиции для локального применения, например, кремы, лосьоны или пасты, могут быть получены смешением активного ингредиента с обычным маслянистым или эмульсифицирующим инертным наполнителем.

Еще одной целью изобретения является комбинированный способ лечения рака млекопитающих, включая человека, при необходимости такого лечения, причем упомянутый способ включает введение: 1) соединения формулы (I), или его фармацевтически приемлемой соли, и 2) дополнительного противоопухолевого средства, в достаточном количестве и почти вместе в течение времени, достаточного для получения полезного лечебного эффекта.

Целью изобретения является также

предложить продукты, содержащие соединение формулы (I), или его фармацевтически приемлемую соль, и дополнительное противоопухолевое средство как комбинированный препарат для одновременного, раздельного или последующего применения при антираковой терапии. Термин "противоопухолевое средство" означает, что он охватывает как одно лекарственное средство, так и "коктейли", т.е. смесь таких лекарственных средств, соответствующих клинической практике.

Противоопухолевыми средствами, которые могут входить в состав препаратов, содержащих соединение изобретения, или, напротив, могут назначаться при комбинированном способе лечения, являются, например, доксорубин, дауномицин, эпирубин, идарубин, этопозид, флюкроурацил, мефалан, циклофосфамид, блеомицин, винбластин и митомицин, или смесь двух или более этих соединений.

Соединения изобретения могут, следовательно, использоваться при лечении для уменьшения интенсивности рака. Они могут назначаться пациенту, страдающему излечимой формой рака, с противоопухолевым средством, например, с гликозидом антрациклина, таким, как доксорубин, дауномицин, эпирубин или идарубин, как упоминалось выше, вместе с антипролиферативным средством.

Соединение изобретения и противоопухолевое средство, такое, как гликозид антрациклина, могут назначаться для улучшения состояния пациента, имеющего лейкемию, такую, как миелобластную лейкемию, лимфому, саркому, нейтробластому, опухоль Вильмса, или злокачественное образование мочевого пузыря, молочной железы, легкого или щитовидной железы.

Пример 1.

5-Окси-3-[(3'-индолил)метил]-2-оксиндол [1, R как определен, n=0, R₂=R₃=R₅=R₆=H, R₄=5-OH]

Раствор 3-индолкарбоксальдегида (145 мг, 1 ммол), 5-окси-2-оксиндола (149 мг, 1 ммол) и пиперидина (60 мг, 0,7 ммол) в абсолютном этаноле (10 мл) нагревают в течение 3 ч при 60°C в атмосфере азота. Затем реакционную смесь охлаждают и выпаривают в вакууме досуха. Остаток подвергают колоночной хроматографии на силикагеле, используя в качестве элюента метилхлорид с 4% этанола. Таким образом получают чистое соединение, названное в заголовке, с 60% выходов (166 мг). По другому способу реакционную смесь концентрируют в вакууме, и затем охлаждают до 0-5°C, осадок отфильтровывают, остаток промывают охлажденным льдом этанолом и, наконец, высушивают в вакууме. Более чистые соединения получают последующей кристаллизацией из этанола.

C₁₇H₁₂N₂O₂ содержит, C 79,89, H 4,38, N 10,14

найденно, C 73,51, H 4,21, N 9,92

Масс-спектр m/z: 276.

ИКС см⁻¹ (KBr): 3600-2500 (NH, OH), 1650 (CO), 1600, 1580, 1530, 1480 (C=C).

Т.пл. 293°C (с разлож.).

В соответствии с вышеописанной методикой могут быть получены следующие соединения:

5-карбокси-3-[(3-индолил)метилден]-2-оксиндол,
5-амино-3-[(3-индолил)метилден]-2-оксиндол,
5-окси-3-[(5'-окси-3'-индолил)метилден]-2-оксиндол,
Масс-спектр m/z: 282,
ИКС см⁻¹ (KBr): 3600-2600 (NH, OH)- 1655 (CO), 1605, 1585, 1535 (C=C),
5-окси-3-[(7'-окси-3'-индолил)метилден]-2-оксиндол,
3-[(5-7'-диокси-3'-индолил)метилден]-2-оксиндол,
5-амино-3-[(5'-окси-3'-индолил)метилден]-2-оксиндол,
5-окси-3-[(5'-амино-3'-индолил)метилден]-2-оксиндол,
5-карбокси-3-[(5'-окси-3'-индолил)метилден]-2-оксиндол,
5-окси-3-[(5'-карбокси-3'-индолил)метилден]-2-оксиндол,
5-амино-3-[(7'-окси-3'-индолил)метилден]-2-оксиндол,
5-карбокси-3-[(7'-окси-3'-индолил)метилден]-2-оксиндол,
5-метокси-3-[(5'-метокси-3'-индолил)метилден]-2-оксиндол,
5-ацетокси-3-[(5'-ацетокси-3'-индолил)метилден]-2-оксиндол,
3-[(5'-карбокси-3'-индолил)метилден]-2-оксиндол,
C₁₈H₁₂N₂O₃ содержит, С 71,04, Н 3,98, N 9,21
найденно, С 70,83, Н 4,6, N 8,85.
Масс-спектр m/z: 304.
Т.пл. >330°C (разл.).
ИКС см⁻¹ (KBr) 3600-3000 (NH), 3000-2100 (OH), 1710 (CO), 1640, 1620, 1600, 1550 (аром):
3-[(5'-амино-3'-индолил)метилден]-2-оксиндол,
C₁₇H₁₃N₃O содержит, С 74,14, Н 4,71, N 15,26
найденно, С 73,88, Н 4,51, N 14,91
Масс-спектр m/z: 275.
Т.пл. 250°C (с разлож.).
ИКС см⁻¹ (KBr): 3300, 2380 (NH), 1670 (CO), 1600, 1510 (C=C),
3-[(5'-нитро-3'-индолил)метилден]-оксиндол,
C₁₇H₁₁N₃O₃ содержит, С 66,88, Н 3,63, N 13,76
найденно, С 66,58, Н 3,74, N 13,64
Масс-спектр m/z: 305.
Т.пл. >350°C
ИКС см⁻¹ (KBr): 3350, 3230 (NH), 1680 (CO), 1620, 1605, 1580 (C=C), 1530, 1340 (NO₂),
3-[(1'-метил-3'-индолил)метилден]-2-оксиндол,
C₁₈H₁₄N₂O содержит, С 78,81, Н 5,14, N 10,21,
найденно, С 78,42, Н 5,17, N 10,00,
Масс-спектр m/z: 274.
Т.пл. 230°C (с разлож.).
ИКС см⁻¹ (KBr): 3300-2000 (NH), 1680 (CO), 1610, 1600, 1570, 1500 (C=C),
3-[(3'-индолил)метилден]-1-метилден-2-оксиндол,
C₁₈H₁₄N₂O содержит, С 78,81, Н 5,14, N 10,21

найденно, С 78,61, Н 5,16, N 10,23,

Масс-спектр m/z: 274.

Т.пл. 274°C

ИКС см⁻¹ (KBr): 3220 (NH), 1676 (CO), 1605, 1500, 1490 (C=C).

Пример 2.

5-Окси-3-[(5'-окси-3'-индолил)метилден]-2-оксиндол

[1, R имеет установленное выше значение, n=1, R₁=R₂=R₃=R₅=R₆=H, R₄=5-OH]

Исходным материалом для дезтерификации в этом примере является 5-метокси-3-[(5'-метокси-3'-индолил)метилден]-2-оксиндол, который может быть получен в соответствии с методикой, описанной в примере 1.

К перемешиваемому раствору 5-метокси-3-[(5'-метокси-3'-индолил)метилден]-2-оксиндола (310 мг, 1 ммоль) в безводном дихлорметане (10 мл) при -78°C, в атмосфере азота, в течение 10 мин, добавляют 1,0 М раствор трехбромистого бора в дихлорметане (3 мл, 3 ммоль). Образовавшуюся смесь перемешивают еще в течение 1 ч при -78°C, и затем позволяют нагреваться до комнатной температуры. После перемешивания в течение 1,5 ч при 20-25°C смесь охлаждают до -10°C и затем гасят добавлением по каплям воды 910 мл) в течение 10 мин. После добавления этилацетата органический слой отделяют, промывают водой, сушат над Na₂SO₄ и упаривают в вакууме досуха. Остаток кристаллизуют из этанола, и получают, таким образом, 198 мг чистого соединения, названного в заголовке (выход 70%).

C₁₇H₁₂N₂O₃ содержит, С 72,33, Н 4,29, N 6,38

найденно, С 71,22, Н 4,07, N 6,29

Масс-спектр m/z: 282.

ИКС см⁻¹ (KBr): 3600-2600 (NH, OH), 1655 (CO), 1605, 1585, 1535 (C=C).

В соответствии с вышеописанной процедурой и принимая за исходные соединения соответствующие простые метиловые эфиры, можно получить гидроксильные соединения, упомянутые в примере 1.

Пример 3.

5-Ацетокси-3-[(5'-ацетокси-3'-индолил)метилден]-2-оксиндол

[1, R имеет установленное выше значение, n=1, R₁=Ac, R₄=5-O Ac, R₂=R₃=R₅=R₆=H]

Исходным материалом для ацилирования в этом примере является 5-окси-3-[(5'-окси-3'-индолил)метилден]-2-оксиндол, который может быть получен в соответствии с процедурами, описанными в примерах 1 и 2.

К охлажденному раствору 5-окси-3-[(5'-окси-3'-индолил)-метилден]-2-оксиндола (282 мг, 1 ммоль) в сухом пиридине (0,5 мл) добавляют ангидрид уксусной кислоты (306 мг, 3 ммоль), смесь выдерживают при 0-5 °C в течение ночи. После этого смесь концентрируют в вакууме, остаток растворяют в дихлорметане, органический слой промывают водой и затем упаривают при уменьшенном давлении. Сырой продукт кристаллизуют из смеси хлороформ-метанол, и получают чистое соединение, названное в заголовке, с 80%-ным выходом (301 мг).

C₂₁H₁₆N₂H₅ содержит, С 67,02, Н 4,29, N

7,44

найдено, С 66,91, Н 4,05, N 7,29

Масс-спектр m/z: 376.

ИКС см.₁ (KBr): 3600-3200 (NH), 1750 (ОН₃COO), 1650 (CONH), 1600, 1580, 1530 (C=C).

В соответствии с процедурой, описанной выше, гидроксильные соединения, получение в примерах 1 и 2, могут быть превращены в соответствующие

(С₂-С₆)-алканойлоксипроизводные.

Пример 4. 5-Нитро-3-индолальдегид

[11, n=0, R₂=5-NO₂= R₂=H]

Смесь N-метилформанилида (176 мг, 1,3 ммол) и хлорангидрида фосфорной кислоты (199 мг, 1,3 ммол) перемешивают в течение 15 мин при 20-25°C в атмосфере азота, затем добавляют раствор 5-нитроиндола (162 мг, 1 ммол) в 1,2-дихлорэтано (5 мл), и смесь нагревают при температуре кипения с обратным холодильником в течение 3 ч. После охлаждения смесь выливают в ледяную воду, осадок отфильтровывают и промывают водой. После этого остаток хроматографируют на силикагеле, используя в качестве элюента бензол.

C₉H₆N₂O₃ содержит, С 56,85, Н 3,18, N 14,73

найдено, С 56,79, Н 3,01, N 14,51

Масс-спектр m/z: 190.

ИКС см.⁻¹ (KBr): 3140, 3090 (NH), 1650 (CO), 1511, 1345 (NO₂)

Эти промежуточные нитросоединения, кроме того, что они приводят к конечным продуктам формулы (I) с группой R₂=NO₂, могут также дать начало конечным продуктам с группой R₂=NH₂, которые возможно получить из первых восстановлением.

Аналогичным образом можно получить следующие соединения, содержащие защитную группу, которые, после удаления защитной группы на соответствующей стадии синтеза, также дают в результате продукт формулы (I) со свободной карбоксильной (R₂=COOH) и свободной гидроксильной группой (R₂=OH) соответственно: 3-карбометокси-3-индолальдегид и 3-метокси-3-индолальдегид.

Пример 5. Получают следующие таблетки, каждая из которых весит 0,150 г и содержит 25 мг активного соединения:

Состав (на 10000 таблеток):

5-окси-3-[(3'-индолил)метил]-2-оксиндол 250 г

лактоза 800 г

кукурузный крахмал 415 г

порошок талька 30 г

стеарат магния 5 г

Смешивают

5-окси-3-[(3'-индолил)метил]-2-оксиндол, лактозу, и половину кукурузного крахмала, смесь затем просеивают через сито с размером отверстий 0,5 мм. Кукурузный крахмал (10 г) суспендируют в теплой воде (90 мл), полученную пасту используют для гранулирования порошка. Гранулы сушат, измельчают на сите с размером пор 1,4 мм, затем добавляют оставшееся количество крахмала, тальк и стеарат магния, тщательно перемешивают и перерабатывают в таблетки.

Пример 6. Готовят капсулы, каждая из которых содержит дозу 0,200 г, в том числе 20 мг активного вещества.

Состав для 500 капсул:

3-[(5'-амино-3'-индолил)метил]-2-оксиндол 10 г

лактоза 80 г

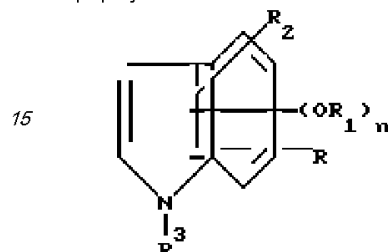
кукурузный крахмал 5 г

стеарат магния 5 г

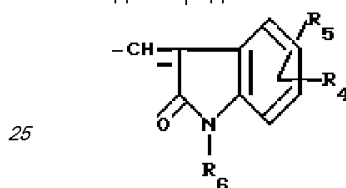
Эту формулировку инкапсулируют в твердые желатиновые капсулы, состоящие из двух частей, и дозируют по 0,200 г в каждую капсулу.

Формула изобретения:

1. Производные метиленоксиндола общей формулы



где R представляет собой группу



где R₄ водород, гидроксигруппа, C₁-C₆-алкокси-, C₂-C₆-аканоилокси-, карбокси-, нитрогруппа или группа NHR₇, в которой R₇ является водородом или C₁-C₆-алкилом;

R₅- водород, (C₁-C₆)-алкил или галоген;

R₆- водород или C₁-C₆-алкил;

n 0,1 или 2;

R₁ водород, C₁-C₆-алкил или C₂-C₆-алканойл;

R₂ водород, C₁-C₆-алкил, галоген, цианогруппа, карбокси, нитрогруппа или группа NHR₇, в которой R₇ имеет указанные выше значения;

R₃ водород, C₁-C₆-алкил или C₂-C₆-алканойл,

причем в случае, когда R₂ водород, C₁-C₆-алкил, галоген или цианогруппа, тогда R₃ водород, R и n имеют определенные выше значения и по крайней мере один из заместителей R₄, R₅ и R₆ отличен от водорода;

в случае, когда R присоединен в положении 3 индольного кольца, n 0 и R₃ и R₆ каждый представляет собой водород или CH₃, тогда по крайней мере один из R₂, R₄ и R₅ отличен от водорода; в случае, когда R присоединен в положении 2 индольного кольца, n 0 и R₂, R₃, R₄ и R₅ каждый представляет собой водород, тогда R₆ отличен от метила, и в случае, когда R присоединен в положении 2 индольного кольца, n 0, R₂ CH₃ в положении 3 индольного кольца, R₃ CH и R₄ и R₅ представляют собой водород, тогда R₆ отличен от водорода или метила,

и его фармацевтически приемлемые соли.

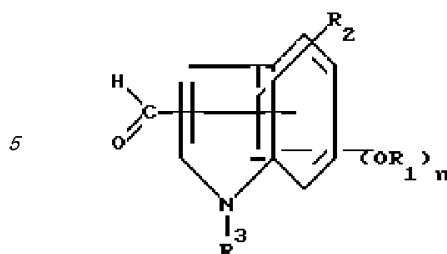
2. Соединение по п.1, в котором R имеет значения, определенные в п.1, R₄ представляет собой гидроксигруппу, амино-, нитро- или карбоксигруппу, и R₅ и

R₆ являются водородом, R₁ представляет собой водород или C₁ C₆-алкил, n 0 или 1, R₂ представляет собой водород, карбокси-, amino или нитрогруппу, R₃ представляет собой водород, или их фармацевтически приемлемые соли.

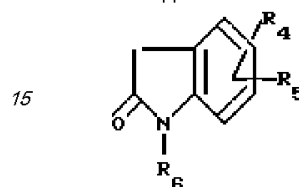
3. Соединение по п.1, в котором R имеет значения, определенные в п.1, R₄ представляет собой гидроксид-, amino- или карбоксигруппу, R₅ и R₆ представляет собой водород, n 0 или 1, R₁ водород, R₂ представляет собой водород, amino-или карбоксигруппу, R₃-водород, и его фармацевтически приемлемые соли.

4. Соединение, выбранное из группы 5-гидрокси-3-[(3'-индолил) метил]-2-оксиндол, 3-[(5'-карбокси-3'-индолил)метил]-2-оксиндол, 3-[(5'-амино-3'-индолил)метил]-2-оксиндол, 5-карбокси-3-[(3'-индолил)метил]-2-оксиндол, 5-амино-3-[(3'-индолил)метил]-2-оксиндол, 5-гидрокси-3-[(5'-гидрокси-3'-индолил)метил]-2-оксиндол, 5-гидрокси-3-[(7'-гидрокси-3'-индолил)метил]-2-оксиндол, 5-амино-3-[(5'-гидрокси-3'-индолил)метил]-2-оксиндол, 5-гидрокси-3-[(5'-амино-3'-индолил)метил]-2-оксиндол, 5-карбокси-3-[(5'-гидрокси-3'-индолил)метил]-2-оксиндол, 5-гидрокси-3-[(5'-карбокси-3'-индолил)метил]-2-оксиндол, 5-амино-3-[(7'-гидрокси-3'-индолил)метил]-2-оксиндол, 5-метокси-3-[(5'-метокси-3'-индолил)метил]-2-оксиндол, 5-ацетокси-3-[(5'-ацетокси-3'-индолил)метил]-2-оксиндол, 3-[(5'-карбокси-3'-индолил)метил]-2-оксиндол, 3-[(5'-амино-3'-индолил)метил]-2-оксиндол, 3-[(5'-нитро-3'-индолил)метил]-2-оксиндол, или их фармацевтически приемлемые соли.

5. Способ получения соединения формулы I, или его фармацевтически приемлемой соли, отличающийся тем, что осуществляют концентрацию альдегида общей формулы II



10 где R₁, R₂, R₃ и n имеют значения, определенные в п.1, с соединением общей формулы III



20 где R₄, R₅ и R₆ имеют значения, определенные в п.1, с последующей в случае необходимости простой диэтерификацией полученного продукта, где одна или более из групп -OR₁ представляет собой C₁ C₆-алкокси, с получением соединения формулы I, где одна или более из групп OR₁ гидрокси, и/или последующим ацилированием полученного продукта, где одна или более из групп OR₁ и/или R₄ гидрокси, с получением соединения формулы I, где одна или более из групп -OR₁ и/или R₄-алканойлокси.

25 6. Фармацевтическая композиция, обладающая ингибирующей тирозинкиназу активностью, содержащая активное вещество и фармацевтически приемлемый наполнитель, отличающаяся тем, что в качестве активного вещества содержит соединение формулы I по п.1 или его фармацевтически приемлемую соль в эффективном количестве.

30 7. Фармацевтическая композиция по п.6, отличающаяся тем, что она содержит в качестве активного вещества соединение, выбранное из 3-[(3'-индолил)метил]-1-метил-2-оксиндола и их фармацевтически приемлемых солей.

35 8. Соединение или его соль по п.1 обладающее ингибирующей тирозинкиназу активностью.

40 9. Соединение или его соль по п.1, обладающее антипролиферативной активностью.

45 10. Соединение или его соль по п.1, обладающее противораковой активностью или активностью при лечении заболевания коронарной артерии.

55

60