



República Federativa do Brasil
Ministério da Economia
Instituto Nacional da Propriedade Industrial

(21) BR 112020008499-9 A2



(22) Data do Depósito: 30/10/2018

(43) Data da Publicação Nacional: 20/10/2020

(54) **Título:** COMPOSIÇÃO FARMACÊUTICA PARA PREVENIR OU TRATAR LEUCEMIA MIELOIDE AGUDA OU CÂNCER DE MAMA METASTÁTICO

(51) **Int. Cl.:** C07D 209/40; A61K 31/404; A61K 31/496; C07D 209/34; C07D 403/14.

(30) **Prioridade Unionista:** 31/10/2017 KR 10 2017 0144142.

(71) **Depositante(es):** PELEMED CO., LTD..

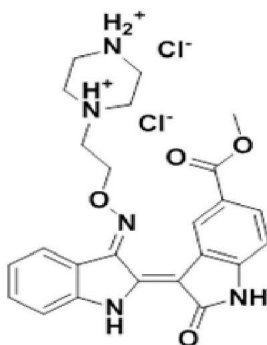
(72) **Inventor(es):** YOUNG CHUL KIM; PYEONG-HWA JEONG.

(86) **Pedido PCT:** PCT KR2018013051 de 30/10/2018

(87) **Publicação PCT:** WO 2019/088677 de 09/05/2019

(85) **Data da Fase Nacional:** 29/04/2020

(57) **Resumo:** COMPOSIÇÃO FARMACÊUTICA PARA PREVENIR OU TRATAR LEUCEMIA MIELOIDE AGUDA OU CÂNCER DE MAMA METASTÁTICO. A presente invenção refere-se a uma composição farmacêutica para prevenir ou tratar leucemia mieloide aguda ou câncer de mama metastático, compreendendo, como um ingrediente ativo, um derivado de indirubina. Quando o composto da presente invenção é usado, ele pode inibir efetivamente a atividade da FLT3 quinase e pode ser utilizado de maneira útil para prevenir ou tratar leucemia mieloide aguda ou câncer de mama metastático.



LDD-1937

COMPOSIÇÃO FARMACÊUTICA PARA PREVENIR OU TRATAR LEUCEMIA MIELOIDE AGUDA OU CÂNCER DE MAMA METASTÁTICO

Campo técnico

[001] A presente invenção refere-se a uma composição farmacêutica para prevenir ou tratar leucemia mieloide aguda ou câncer de mama metastático, compreendendo, como um ingrediente ativo, um derivado de indirubina.

Técnica anterior

[002] A tirosina quinase-3 similar a FMS (FLT-3), uma tirosina quinase receptora que pertence à família RTK do tipo III, desempenha uma função importante na sobrevivência e proliferação de células hematopoiéticas [1]. A ativação de FLT3 é iniciada pela ligação do ligando de FLT3, que é expressado por células estromais, para o receptor. Como resultado, a dimerização do receptor FLT3 e a autofosforilação acionam as vias de sinalização de downstream, que são categorizadas em vias de sinalização PI3K/AKT, RAS/MAPK e STAT5 [2]. O receptor FLT3 é expressado em níveis elevados em 70 a 100% das células de LMA. A importância de FLT3 na leucemia tem sido amplamente investigada, e a população das mutações de FLT3 tem sido informada como aproximadamente 1/3 de todos os pacientes de LMA [3]. Dois tipos importantes de mutações de FLT3 têm sido identificados até agora: mutações de duplicação sequencial (ITD) na região justamembrana e mutações pontuais no domínio da quinase [4]. Essas mutações têm uma influência de prognóstico adverso na falha da quimioterapia e recidiva [5-8]. Além disso, estudos recentes têm mostrado que as mutações de FLT3-ITD representam uma mutação driver para a progressão da LMA e alvos terapêuticos válidos na LMA [9-10]. Portanto, muitos pesquisadores e empresas farmacêuticas têm se empenhado na tentativa de encontrar inibidores de FLT3 como possíveis agentes terapêuticos para LMA.

[003] Têm sido informados vários candidatos clínicos direcionados à FLT3, incluindo [11], midostaurin [12], tandutinib [13], sorafenib [14], KW-2449 [15] equizartinib [16]. Entre eles, lestaurtinib e midostaurin são derivados de indolocarbazol e inibidores de tirosina quinase multialvo bem

conhecidos. Tandutinib, um composto de piperazinil-quinazolina, inibe a FLT3 bem como c-Kit e PDGFR. A maioria desses inibidores foi redirecionada para a LMA pela inibição da mutação de FLT3-ITD a partir de seu propósito inicial de atingir outras quinases. Além disso, o palbociclib, que foi usado como um agente terapêutico para o câncer de mama como um inibidor de FLT3 tem sido considerado eficaz no tratamento dos pacientes de LMA e, assim, pode ser considerado que os inibidores de FLT3 podem ser usados para o câncer de mama e a leucemia mieloide aguda.

[004] Parece que a maioria dos inibidores de FLT3 atuais são ineficazes principalmente devido à baixa eficácia e seletividade desejada, exceto para quizartinib [17-20]. Portanto, o desenvolvimento dos potentes inibidores de quinase FLT3 é fortemente necessário atualmente.

[005] Vários documentos e patentes têm sido citados em toda a presente especificação e suas citações têm sido indicadas. O conteúdo dos documentos e patentes citados é incorporado aqui por referência em sua integridade, e o nível do campo técnico ao qual a presente invenção pertence e o conteúdo da presente invenção serão descritos com mais clareza.

Documentos da técnica anterior

Documentos que não são de patentes

[1] S.D. Lyman, L. James, J. Zappone, P.R. Sleath, M.P. Beckmann, T. Bird, Characterization of the protein encoded by the *flt3* (*flk2*) receptor-like tyrosine kinase gene, *Oncogene*. 8 (1993) 815-822.

[2] D.L. Stirewalt, J.P. Radich, The role of FLT3 in haematopoietic malignancies, *Nat. Rev. Cancer*. 3 (2003) 650-665.

[3] M. Nakao, S. Yokota, T. Iwai, H. Kaneko, S. Horiike, K. Kashima, Y. Sonoda, T. Fujimoto, S. Misawa, Internal tandem duplication of the *flt3* gene found in acute myeloid leukemia, *Leukemia*. 10 (1996) 1911-1918.

[4] Y. Yamamoto, H. Kiyoi, Y. Nakano, R. Suzuki, Y. Kadera, S. Miyawaki, N. Asou, K. Kuriyama, F. Yagasaki, C. Shimazaki, H. Akiyama, K. Saito, M. Nishimura, T. Motoji, K. Shinagawa, A.

Takeshita, H. Saito, R. Ueda, R. Ohno, T. Naoe, Activating mutation of D835 within the activation loop of FLT3 in human hematologic malignancies, *Blood*. 97 (2001) 2434-2439. doi:10.1182/blood.V97.8.2434.

[5] C. Thiede, C. Steudel, B. Mohr, M. Schaich, U. Schäkel, U. Platzbecker, M. Wermke, M. Bornhäuser, M. Ritter, A. Neubauer, G. Ehninger, T. Illmer, Analysis of FLT3-activating mutations in 979 patients with acute myelogenous leukemia: association with FAB subtypes and identification of subgroups with poor prognosis, *Blood*. 99 (2002).

[6] S. Schnittger, C. Schoch, M. Dugas, W. Kern, P. Staib, C. Wuchter, H. Löffler, C.M. Sauerland, H. Serve, T. Büchner, T. Haferlach, W. Hiddemann, Analysis of FLT3 length mutations in 1003 patients with acute myeloid leukemia: correlation to cytogenetics, FAB subtype, and prognosis in the AMLCG study and usefulness as a marker for the detection of minimal residual disease, *Blood*. 100 (2002).

[7] F.M. Abu-Duhier, A.C. Goodeve, G.A. Wilson, M.A. Gari, I.R. Peake, D.C. Rees, E.A. Vandenberghe, P.R. Winship, J.T. Reilly, FLT3 internal tandem duplication mutations in adult acute myeloid leukaemia define a high-risk group, *Br. J. Haematol*. 111 (2000) 190-195. doi:10.1046/j.1365-2141.2000.02317.x.

[8] L.-Y. Shih, C.-F. Huang, J.-H. Wu, T.-L. Lin, P. Dunn, P.-N. Wang, M.-C. Kuo, C.-L. Lai, H.-C. Hsu, Internal tandem duplication of FLT3 in relapsed acute myeloid leukemia: a comparative analysis of bone marrow samples from 108 adult patients at diagnosis and relapse, *Blood*. 100 (2002).

[9] C.C. Smith, Q. Wang, C.-S. Chin, S. Salerno, L.E. Damon, M.J. Levis, A.E. Perl, K.J. Travers, S. Wang, J.P. Hunt, P.P. Zarrinkar, E.E. Schadt, A. Kasarskis, J. Kuriyan, N.P. Shah, Validation of ITD mutations in FLT3 as a therapeutic target in human acute myeloid leukaemia, *Nature*. 485 (2012) 260-263. doi:10.1038/nature11016.

[10] J.S. Welch, T.J. Ley, D.C. Link, C.A. Miller, D.E. Larson, D.C. Koboldt, L.D. Wartman, T.L. Lamprecht, F. Liu, J. Xia, C. Kandoth, R.S. Fulton, M.D. McLellan, D.J. Dooling, J.W. Wallis,

K. Chen, C.C. Harris, H.K. Schmidt, J.M. Kalicki-Veizer, C. Lu, Q. Zhang, L. Lin, M.D. O'Laughlin, J.F. McMichael, K.D. Delehaunty, L.A. Fulton, V.J. Magrini, S.D. McGrath, R.T. Demeter, T.L. Vickery, J. Hundal, L.L. Cook, G.W. Swift, J.P. Reed, P.A. Alldredge, T.N. Wylie, J.R. Walker, M.A. Watson, S.E. Heath, W.D. Shannon, N. Varghese, R. Nagarajan, J.E. Payton, J.D. Baty, S. Kulkarni, J.M. Klco, M.H. Tomasson, P. Westervelt, M.J. Walter, T.A. Graubert, J.F. DiPersio, L. Ding, E.R. Mardis, R.K. Wilson, The Origin and Evolution of Mutations in Acute Myeloid Leukemia, Cell. 150 (2012) 264-278. doi:10.1016/j.cell.2012.06.023.

[11] B.D. Smith, M. Levis, M. Beran, F. Giles, H. Kantarjian, K. Berg, K.M. Murphy, T. Dausen, J. Allebach, D. Small, Single-agent CEP-701, a novel FLT3 inhibitor, shows biologic and clinical activity in patients with relapsed or refractory acute myeloid leukemia, Blood. 103 (2004).

[12] R.M. Stone, D.J. DeAngelo, V. Klimek, I. Galinsky, E. Estey, S.D. Nimer, W. Grandin, D. Lebwohl, Y. Wang, P. Cohen, E.A. Fox, D. Neuberg, J. Clark, D.G. Gilliland, J.D. Griffin, Patients with acute myeloid leukemia and an activating mutation in FLT3 respond to a small-molecule FLT3 tyrosine kinase inhibitor, PKC412, Blood. 105 (2004).

[13] D.J. DeAngelo, R.M. Stone, M.L. Heaney, S.D. Nimer, R.L. Paquette, R.B. Klisovic, M.A. Caligiuri, M.R. Cooper, J.-M. Lecerf, M.D. Karol, S. Sheng, N. Holford, P.T. Curtin, B.J. Druker, M.C. Heinrich, Phase 1 clinical results with tandutinib (MLN518), a novel FLT3 antagonist, in patients with acute myelogenous leukemia or high-risk myelodysplastic syndrome: safety, pharmacokinetics, and pharmacodynamics, Blood. 108 (2006).

[14] W. Zhang, M. Konopleva, Y. Shi, T. McQueen, D. Harris, X. Ling, Z. Estrov, A. Quintás-Cardama, D. Small, J. Cortes, M. Andreeff, Mutant FLT3: a direct target of sorafenib in acute myelogenous leukemia., J. Natl. Cancer Inst. 100 (2008) 184-98. doi:10.1093/jnci/djm328.

- [15] Y. Shiotsu, H. Kiyoi, Y. Ishikawa, R. Tanizaki, M. Shimizu, H. Umehara, K. Ishii, Y. Mori, K. Ozeki, Y. Minami, A. Abe, H. Maeda, T. Akiyama, Y. Kanda, Y. Sato, S. Akinaga, T. Naoe, KW-2449, a novel multikinase inhibitor, suppresses the growth of leukemia cells with FLT3 mutations or T315I-mutated BCR/ABL translocation, *Blood*. 114 (2009).
- [16] P.P. Zarrinkar, R.N. Gunawardane, M.D. Cramer, M.F. Gardner, D. Brigham, B. Belli, M.W. Karaman, K.W. Pratz, G. Pallares, Q. Chao, K.G. Sprankle, H.K. Patel, M. Levis, R.C. Armstrong, J. James, S.S. Bhagwat, AC220 is a uniquely potent and selective inhibitor of FLT3 for the treatment of acute myeloid leukemia (AML), *Blood*. 114 (2009).
- [17] S. Knapper, A.K. Burnett, T. Littlewood, W.J. Kell, S. Agrawal, R. Chopra, R. Clark, M.J. Levis, D. Small, A phase 2 trial of the FLT3 inhibitor lestaurtinib (CEP701) as first-line treatment for older patients with acute myeloid leukemia not considered fit for intensive chemotherapy, *Blood*. 108 (2006).
- [18] D.J. De Angelo, R.M. Stone, M.L. Heaney, S.D. Nimer, R. Paquette, R. Bruner-Klisovic, M.A. Caligiuri, M.R. Cooper, J.-M. LeCerf, G. Iyer, M.C. Heinrich, B.J. Druker, Phase II Evaluation of the Tyrosine Kinase Inhibitor MLN518 in Patients with Acute Myeloid Leukemia (AML) Bearing a FLT3 Internal Tandem Duplication (ITD) Mutation., *Blood*. 104 (2015).
- [19] F. Ravandi, J.E. Cortes, D. Jones, S. Faderl, G. Garcia-Manero, M.Y. Konopleva, S. O'Brien, Z. Estrov, G. Borthakur, D. Thomas, S.R. Pierce, M. Brandt, A. Byrd, B.N. Bekele, K. Pratz, R. Luthra, M. Levis, M. Andreeff, H.M. Kantarjian, Phase I/II study of combination therapy with sorafenib, idarubicin, and cytarabine in younger patients with acute myeloid leukemia., *J. Clin. Oncol.* 28 (2010) 1856-62. doi:10.1200/JCO.2009.25.4888.
- [20] K.W. Pratz, J. Cortes, G.J. Roboz, N. Rao, O. Arowojolu, A. Stine, Y. Shiotsu, A. Shudo, S. Akinaga, D. Small, J.E. Karp, M. Levis, A pharmacodynamic study of the FLT3 inhibitor KW-2449 yields insight into the basis for clinical response, *Blood*. 113 (2009).

- [21] S.J. Choi, M.J. Moon, S.D. Lee, S.-U. Choi, S.-Y. Han, Y.-C. Kim, Indirubin derivatives as potent FLT3 inhibitors with anti-proliferative activity of acute myeloid leukemic cells, 2010. doi:10.1016/j.bmcl.2010.01.039.
- [22] T.-C. Chou, Theoretical Basis, Experimental Design, and Computerized Simulation of Synergism and Antagonism in Drug Combination Studies, Pharmacol. Rev. 58 (2006).
- [23] K. Pratz, M. Levis, Incorporating FLT3 inhibitors into acute myeloid leukemia treatment regimens, Leuk. Lymphoma. 49 (2008) 852-863. doi:10.1080/10428190801895352.
- [24] J.T. DiPiro, R.L. Talbert, G.C. Yee, B.G. Wells, L.M. Posey, Pharmacotherapy A Pathophysiologic Approach 9/E, McGraw-Hill Education 2014.
- [25] D. Small, FLT3 mutations: biology and treatment., Hematol. Am. Soc. Hematol. Educ. Progr. 2006 (2006) 178-84. doi:10.1182/asheducation-2006.1.178.
- [26] S.K. Tasian, J.A. Pollard, R. Aplenc, Molecular Therapeutic Approaches for Pediatric Acute Myeloid Leukemia, Front. Oncol. 4 (2014) 55. doi:10.3389/fonc.2014.00055.
- [27] K.W. Pratz, S.M. Luger, Will FLT3 inhibitors fulfill their promise in acute myeloid leukemia, Curr. Opin. Hematol. 21 (2014) 72-78. doi:10.1097/MOH.0000000000000022.

Divulgação

Problema técnico

[006] Os presentes inventores empenharam grandes esforços para descobrir novos compostos possuindo uma capacidade inibidora de FLT3 quinase. Como resultado, eles identificaram que compostos derivados de indirubina predeterminados podem inibir efetivamente a FLT3 quinase, completando assim a presente invenção.

[007] Portanto, um objetivo da presente invenção é fornecer um novo composto que tem uma capacidade inibidora de FLT3, um sal aceitável farmacologicamente, um solvato ou um hidrato do mesmo.

[008] Outro objetivo da presente invenção é fornecer uma composição farmacêutica para prevenir ou tratar a leucemia mieloide aguda.

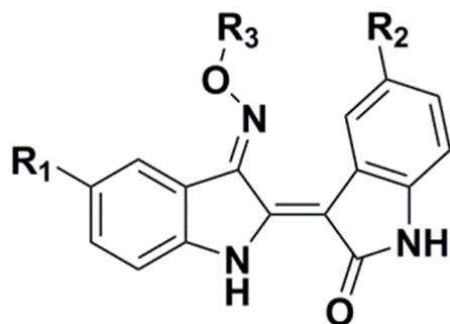
[009] Ainda outro objetivo da presente invenção é fornecer uma composição farmacêutica para prevenir ou tratar o câncer de mama metastático.

[010] Outros objetivos e vantagens da presente invenção serão evidentes com base na descrição detalhada juntamente com as reivindicações e desenhos anexos.

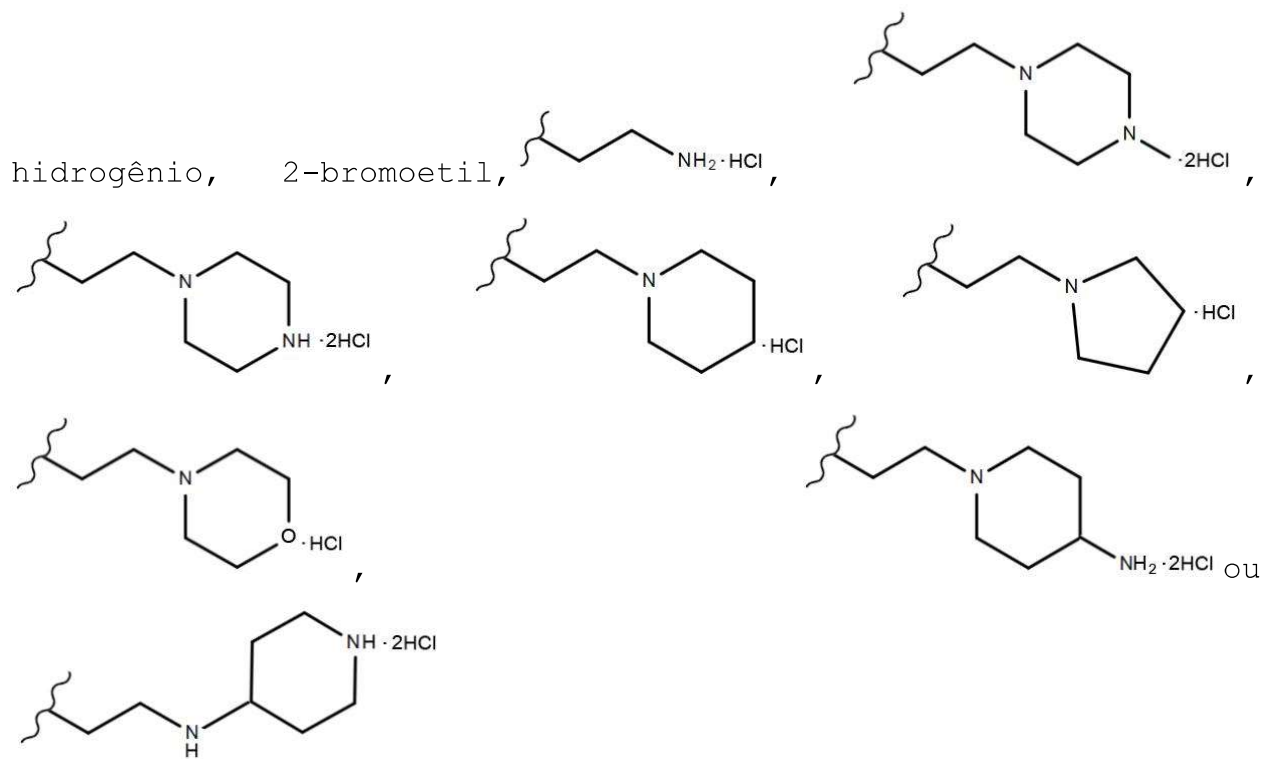
Solução técnica

[011] De acordo com um aspecto da presente invenção, a presente invenção fornece um composto representado pela Fórmula Química 1 abaixo, um sal farmacêuticamente aceitável, um solvato ou um hidrato do mesmo:

Fórmula química 1

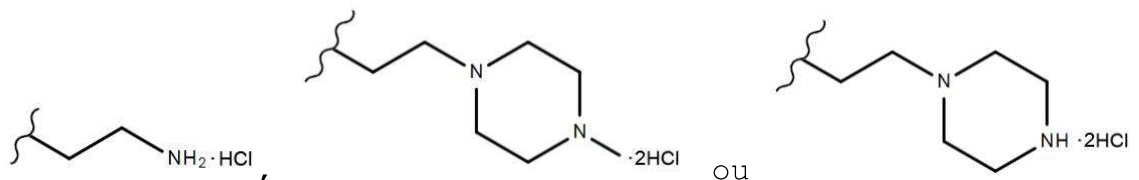


[012] Na fórmula química 1, R₁ é hidrogênio, fluoro ou hidroxil, R₂ é hidrogênio, halógeno, nitro, carboxil, C₁-C₄ alquil éster ou C₁-C₄ alcoxi substituído ou não substituído por halógeno e R₃ é

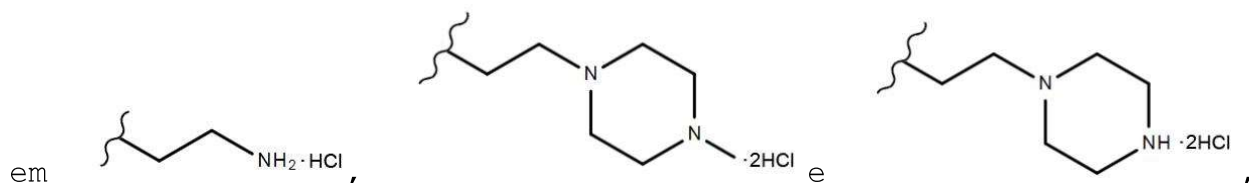


[013] Os presentes inventores empenharam grandes esforços para desenvolver novos inibidores de FLT3 quinase e, como resultado, eles identificaram que compostos derivados de indirubina predeterminados podem inibir efetivamente a FLT3 quinase.

[014] Em uma representação específica da presente invenção, o R₃ da presente invenção é qualquer um dos substituintes selecionados do grupo que consiste em 2-bromoetil,



[015] Mais preferencialmente, o R₃ da presente invenção é qualquer um dos substituintes selecionados do grupo que consiste



ainda mais preferencialmente,



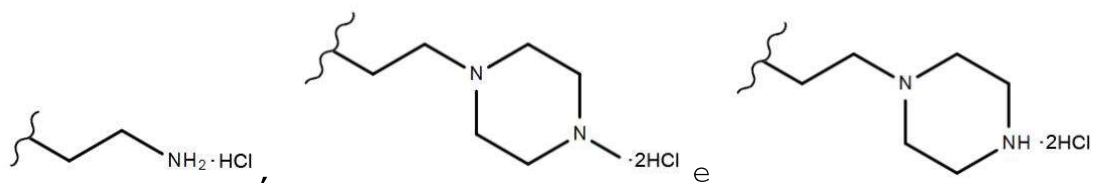
[016] Em uma representação específica da presente invenção, o R₂ da presente invenção é C₁-C₄ alquil éster. O alquil C₁-C₄ substituinte incluído no alquil C₁-C₄ éster de uma representação específica da presente invenção inclui grupos de C₁-C₄ alquil reto ou ramificado e, especificamente, pode ser, por exemplo, metil, etil, n-propil, isopropil, n-butil, sec-butil, iso-butil ou tert-butil. Quando o R₂ da presente invenção é um substituinte alquil éster de um composto em vez de um substituinte carboxil de um composto, ele tem um valor menor de IC₅₀ para a FLT3 quinase e, portanto, pode ser mais eficaz na inibição da FLT3 quinase.

[017] Em uma representação específica da presente invenção, o R_2 da presente invenção é halógeno. Especificamente, o halógeno pode ser flúor, cloro, bromo ou iodo.

[018] Em uma representação específica da presente invenção, o R_2 da presente invenção é C_1 - C_4 alcoxi substituído ou não substituído por halógeno. O C_1 - C_4 alquil substituinte incluído no C_1 - C_4 alcoxi de uma representação específica da presente invenção inclui grupos de C_1 - C_4 alquil reto ou ramificado, especificamente, pode ser, por exemplo, metil, etil, n-propil, iso -propil, n-butil, sec-butil, iso-butil ou tert-butil. Especificamente, o C_1 - C_4 alcoxi substituído por halógeno pode ser C_1 - C_4 alcoxi fluoreto e, mais especificamente, trifluorometoxi.

[019] Em uma representação específica da presente invenção, o éster de C_1 - C_4 alquil da presente invenção é metil éster.

[020] Em uma representação específica da presente invenção, o R_2 da presente invenção é C_1 - C_4 alquil éster e R_3 é qualquer um dos substituintes selecionados do grupo que consiste em



[021] Em uma representação específica da presente invenção, o composto representado pela Fórmula Química da presente invenção pode ser qualquer um selecionado do grupo que consiste nos seguintes compostos: metil (2Z,3E)-2'-oxo-3-((2-(piperazin-1-il)etoxi)imino)-[2,3'-biindolinilideno]-5'-carboxilato di-hidrocloreto (Composto 4), metil (2Z,3E)-3-(hidroxi-imino)-2'-oxo-[2,3'-biindolinilideno]-5'-carboxilato (Composto 1), metil (2Z,3E)-3-((2-bromoetoxi)imino)-2'-oxo-[2,3'-biindolinilideno]-5'-carboxilato (Composto 2), metil (2Z,3E)-3-((2-aminoetoxi)imino)-2'-oxo-[2,3'-biindolinilideno]-5'-carboxilato hidrocloreto (Composto 3), metil (2Z,3E)-3-((2-(4-metilpiperazin-1-il)etoxi)imino)-2'-oxo-[2,3'-biindolinilideno]-5'-carboxilato di-hidrocloreto (Composto 5), metil (2Z,3E)-3-((2-morfolinoetoxi)imino)-2'-oxo-[2,3'-biindolinilideno]-5'-carboxilato hidrocloreto (Composto 6), (2Z,3E)-3-((2-

bromoetoxi) imino)-2'-oxo-[2,3'-biindolinilideno]-5'-ácido
 carboxílico (Composto 8), (2Z,3E)-3-((2-aminoetoxi) imino)-2'-
 oxo-[2,3'-biindolinilideno]-5'-ácido carboxílico hidrocloreto
 (Composto 9), (2Z,3E)-2'-oxo-3-((2-(piperazin-1-il)etoxi) imino)-
 [2,3'-biindolinilideno]-5'-ácido carboxílico di-hidrocloreto
 (Composto 10), (2Z,3E)-3-((2-(4-metilpiperazin-1-
 il)etoxi) imino)-2'-oxo-[2,3'-biindolinilideno]-5'-ácido
 carboxílico di-hidrocloreto (Composto 11), (2Z,3E)-3-((2-
 morfolinoetoxi) imino)-2'-oxo-[2,3'-biindolinilideno]-5'-
 carboxilato hidrocloreto (Composto 12), (2Z,3E)-5-hidroxi-3-((2-
 (4-metilpiperazin-1-il)etoxi) imino)-5'-nitro-[2,3'-
 biindolinilideno]-2'-ona di-hidrocloreto (Composto 14), (2Z,3E)-
 3-((2-aminoetoxi) imino)-5'-nitro-[2,3'-biindolinilideno]-2'-ona
 hidrocloreto (Composto 15), (2Z,3E)-5'-nitro-3-((2-(piperazin-1-
 il)etoxi) imino)-[2,3'-biindolinilideno]-2'-ona di-hidrocloreto
 (Composto 16), (2Z,3E)-5-fluoro-5'-nitro-3-((2-(piperazin-1-
 il)etoxi) imino)-[2,3'-biindolinilideno]-2'-ona di-hidrocloreto
 (Composto 17), (2Z,3E)-5-fluoro-3-((2-(4-metilpiperazin-1-
 il)etoxi) imino)-5'-nitro-[2,3'-biindolinilideno]-2'-ona di-
 hidrocloreto (Composto 18), (2Z,3E)-5-fluoro-5'-nitro-3-((2-
 (piperidin-1-il)etoxi) imino)-[2,3'-biindolinilideno]-2'-ona
 hidrocloreto (Composto 19), (2Z,3E)-5-fluoro-5'-nitro-3-((2-
 (pirrolidin-1-il)etoxi) imino)-[2,3'-biindolinilideno]-2'-ona
 hidrocloreto (Composto 20), (2Z,3E)-5,5'-difluoro-3-((2-
 (piperazin-1-il)etoxi) imino)-[2,3'-biindolinilideno]-2'-ona di-
 hidrocloreto (Composto 21), (2Z,3E)-5,5'-difluoro-3-((2-(4-
 metilpiperazin-1-il)etoxi) imino)-[2,3'-biindolinilideno]-2'-ona
 di-hidrocloreto (Composto 22), (2Z,3E)-5,5'-difluoro-3-((2-
 (piperidin-1-il)etoxi) imino)-[2,3'-biindolinilideno]-2'-ona
 hidrocloreto (Composto 23), (2Z,3E)-5,5'-difluoro-3-((2-
 (pirrolidin-1-il)etoxi) imino)-[2,3'-biindolinilideno]-2'-ona
 hidrocloreto (Composto 24), (2Z,3E)-3-((2-(4-aminopiperidin-1-
 il)etoxi) imino)-5,5'-difluoro-[2,3'-biindolinilideno]-2'-ona di-
 hidrocloreto (Composto 25), (2Z,3E)-5,5'-difluoro-3-((2-
 (piperidin-4-ilamino)etoxi) imino)-[2,3'-biindolinilideno]-2'-ona
 di-hidrocloreto (Composto 26), (2Z,3E)-5,5'-difluoro-3-((2-

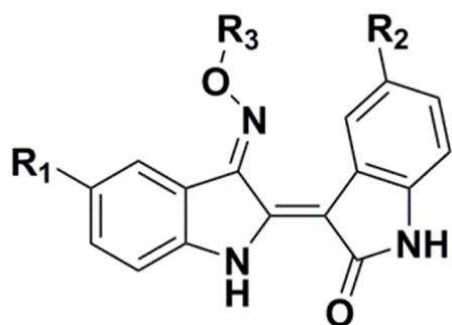
morfolinoetoxi) imino)-[2,3'-biindolinilideno]-2'-ona
 hidrocloreto (Composto 27), (2Z,3E)-5'-fluoro-3-((2-(piperazin-1-il)etoxi)imino)-[2,3'-biindolinilideno]-2'-ona di-hidrocloreto
 (Composto 33), (2Z,3E)-5'-fluoro-3-((2-(4-metilpiperazin-1-il)etoxi)imino)-[2,3'-biindolinilideno]-2'-ona di-hidrocloreto
 (Composto 34), (2Z,3E)-5'-fluoro-3-((2-(piperidin-1-il)etoxi)imino)-[2,3'-biindolinilideno]-2'-ona hidrocloreto
 (Composto 35), (2Z,3E)-5'-fluoro-3-((2-(pirrolidin-1-il)etoxi)imino)-[2,3'-biindolinilideno]-2'-ona hidrocloreto
 (Composto 36), (2Z,3E)-5'-fluoro-3-((2-(piperidin-4-ilamino)etoxi)imino)-[2,3'-biindolinilideno]-2'-ona di-hidrocloreto
 (Composto 37), (2Z,3E)-5'-cloro-3-((2-(piperazin-1-il)etoxi)imino)-[2,3'-biindolinilideno]-2'-ona di-hidrocloreto
 (Composto 38), (2Z,3E)-5'-cloro-3-((2-(4-metilpiperazin-1-il)etoxi)imino)-[2,3'-biindolinilideno]-2'-ona di-hidrocloreto
 (Composto 39), (2Z,3E)-5'-bromo-3-((2-(piperazin-1-il)etoxi)imino)-[2,3'-biindolinilideno]-2'-ona di-hidrocloreto
 (Composto 40), (2Z,3E)-5'-bromo-3-((2-(4-metilpiperazin-1-il)etoxi)imino)-[2,3'-biindolinilideno]-2'-ona di-hidrocloreto
 (Composto 41), (2Z,3E)-5'-iodo-3-((2-(piperazin-1-il)etoxi)imino)-[2,3'-biindolinilideno]-2'-ona di-hidrocloreto
 (Composto 42), (2Z,3E)-5'-iodo-3-((2-(4-metilpiperazin-1-il)etoxi)imino)-[2,3'-biindolinilideno]-2'-ona di-hidrocloreto
 (Composto 43), (2Z,3E)-3-((2-(piperazin-1-il)etoxi)imino)-5'-(trifluorometoxi)-[2,3'-biindolinilideno]-2'-ona di-hidrocloreto
 (Composto 44), (2Z,3E)-3-((2-(4-metilpiperazin-1-il)etoxi)imino)-5'-(trifluorometoxi)-[2,3'-biindolinilideno]-2'-ona di-hidrocloreto
 (Composto 45), (2Z,3E)-5'-metoxi-3-((2-(piperazin-1-il)etoxi)imino)-[2,3'-biindolinilideno]-2'-ona di-hidrocloreto
 (Composto 46) e (2Z,3E)-5'-metoxi-3-((2-(4-metilpiperazin-1-il)etoxi)imino)-[2,3'-biindolinilideno]-2'-ona di-hidrocloreto (Composto 47).

[022] Em uma representação específica da presente invenção, o composto representado pela Fórmula Química 1 da presente invenção pode ter um valor de IC₅₀ para a inibição de FLT3 de 100 nM ou menos. Mais especificamente, o composto representado pela

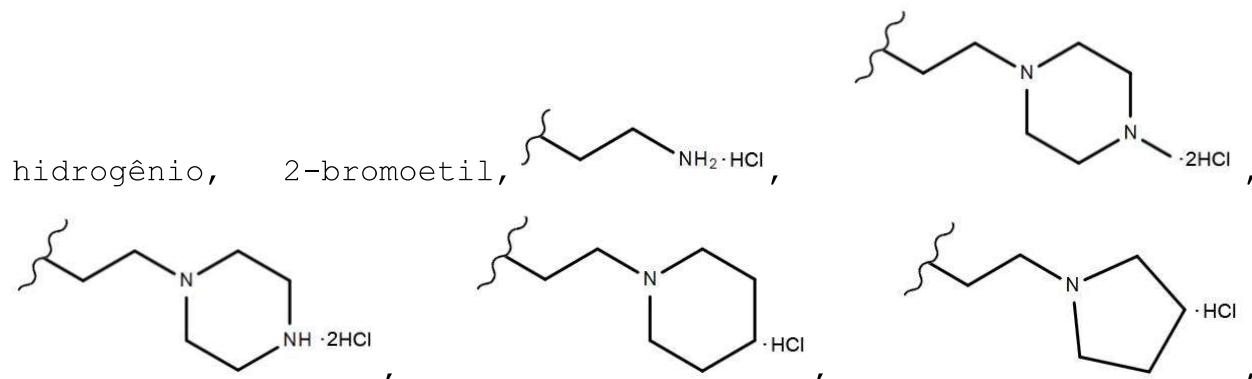
Fórmula Química 1 pode ter um valor de IC_{50} para a inibição de FLT3 de 50 nM ou menos, ainda mais especificamente, 40 nM ou menos, ainda mais especificamente, 35 nM ou menos, ainda mais especificamente, 30 nM ou menos, ainda mais especificamente, 25 nM ou menos, ainda mais especificamente, 20 nM ou menos, ainda mais especificamente, 15 nM ou menos e ainda mais especificamente, 10 nM ou menos.

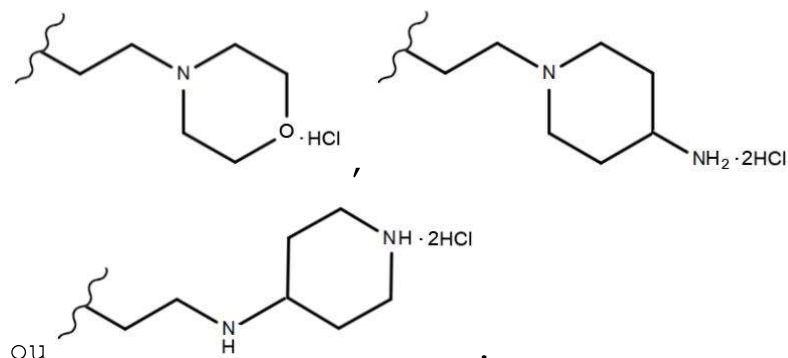
[023] De acordo com outro aspecto da presente invenção, a presente invenção fornece uma composição farmacêutica para prevenir ou tratar leucemia mieloide aguda ou câncer de mama metastático, incluindo: (a) um composto representado pela Fórmula Química 1 abaixo, um sal aceitável farmaceuticamente, um solvato ou um hidrato do mesmo; e (b) um portador aceitável farmaceuticamente:

Fórmula química 1



[024] Na Fórmula química 1, R_1 é hidrogênio, fluoro ou hidroxil, R_2 é hidrogênio, halógeno, nitro, carboxil, C_1 - C_4 alquil éster ou C_1 - C_4 alcoxi substituído ou não substituído por halógeno e R_3 é





[025] De acordo com uma representação da presente invenção, o composto representado pela Fórmula Química 1 pode ser qualquer um selecionado no grupo que consiste nos seguintes compostos:

metil (2Z,3E)-2'-oxo-3-((2-(piperazin-1-il)etoxi)imino)-[2,3'-biindolinilideno]-5'-carboxilato di-hidrocloreto (Composto 4), metil (2Z,3E)-3-(hidroxi imino)-2'-oxo-[2,3'-biindolinilideno]-5'-carboxilato (Composto 1), metil (2Z,3E)-3-((2-bromoetoxi)imino)-2'-oxo-[2,3'-biindolinilideno]-5'-carboxilato (Composto 2), metil (2Z,3E)-3-((2-aminoetoxi)imino)-2'-oxo-[2,3'-biindolinilideno]-5'-carboxilato hidrocloreto (Composto 3), metil (2Z,3E)-3-((2-(4-metilpiperazin-1-il)etoxi)imino)-2'-oxo-[2,3'-biindolinilideno]-5'-carboxilato di-hidrocloreto (Composto 5), metil (2Z,3E)-3-((2-morfolinoetoxi)imino)-2'-oxo-[2,3'-biindolinilideno]-5'-carboxilato hidrocloreto (Composto 6), (2Z,3E)-3-(hidroxi-imino)-2'-oxo-[2,3'-biindolinilideno]-5'-ácido carboxílico (Composto 7), (2Z,3E)-3-((2-bromoetoxi)imino)-2'-oxo-[2,3'-biindolinilideno]-5'-ácido carboxílico (Composto 8), (2Z,3E)-3-((2-aminoetoxi)imino)-2'-oxo-[2,3'-biindolinilideno]-5'-ácido carboxílico hidrocloreto (Composto 9), (2Z,3E)-2'-oxo-3-((2-(piperazin-1-il)etoxi)imino)-[2,3'-biindolinilideno]-5'-ácido carboxílico di-hidrocloreto (Composto 10), (2Z,3E)-3-((2-(4-metilpiperazin-1-il)etoxi)imino)-2'-oxo-[2,3'-biindolinilideno]-5'-ácido carboxílico di-hidrocloreto (Composto 11), (2Z,3E)-3-((2-morfolinoetoxi)imino)-2'-oxo-[2,3'-biindolinilideno]-5'-carboxilato hidrocloreto (Composto 12), (2Z,3E)-5-hidroxi-3-(hidroxi-imino)-5'-nitro-[2,3'-biindolinilideno]-2'-ona (Composto 13), (2Z,3E)-5-hidroxi-3-((2-(4-metilpiperazin-1-il)etoxi)imino)-5'-nitro-[2,3'-biindolinilideno]-2'-ona di-hidrocloreto (Composto 14), (2Z,3E)-

3-((2-aminoetoxi)imino)-5'-nitro-[2,3'-biindolinilideno]-2'-ona
 idroclorato (Composto 15), (2Z,3E)-5'-nitro-3-((2-(piperazin-1-
 il)etoxi)imino)-[2,3'-biindolinilideno]-2'-ona di-idroclorato
 (Composto 16), (2Z,3E)-5-fluoro-5'-nitro-3-((2-(piperazin-1-
 il)etoxi)imino)-[2,3'-biindolinilideno]-2'-ona di-idroclorato
 (Composto 17), (2Z,3E)-5-fluoro-3-((2-(4-metilpiperazin-1-
 il)etoxi)imino)-5'-nitro-[2,3'-biindolinilideno]-2'-ona di-
 idroclorato (Composto 18), (2Z,3E)-5-fluoro-5'-nitro-3-((2-
 (piperidin-1-il)etoxi)imino)-[2,3'-biindolinilideno]-2'-ona
 idroclorato (Composto 19), (2Z,3E)-5-fluoro-5'-nitro-3-((2-
 (pirrolidin-1-il)etoxi)imino)-[2,3'-biindolinilideno]-2'-ona
 idroclorato (Composto 20), (2Z,3E)-5,5'-difluoro-3-((2-
 (piperazin-1-il)etoxi)imino)-[2,3'-biindolinilideno]-2'-ona di-
 idroclorato (Composto 21), (2Z,3E)-5,5'-difluoro-3-((2-(4-
 metilpiperazin-1-il)etoxi)imino)-[2,3'-biindolinilideno]-2'-ona
 di-idroclorato (Composto 22), (2Z,3E)-5,5'-difluoro-3-((2-
 (piperidin-1-il)etoxi)imino)-[2,3'-biindolinilideno]-2'-ona
 idroclorato (Composto 23), (2Z,3E)-5,5'-difluoro-3-((2-
 (pirrolidin-1-il)etoxi)imino)-[2,3'-biindolinilideno]-2'-ona
 idroclorato (Composto 24), (2Z,3E)-3-((2-(4-aminopiperidin-1-
 il)etoxi)imino)-5,5'-difluoro-[2,3'-biindolinilideno]-2'-ona di-
 idroclorato (Composto 25), (2Z,3E)-5,5'-difluoro-3-((2-
 (piperidin-4-ilamino)etoxi)imino)-[2,3'-biindolinilideno]-2'-ona
 di-idroclorato (Composto 26), (2Z,3E)-5,5'-difluoro-3-((2-
 morfolinoetoxi)imino)-[2,3'-biindolinilideno]-2'-ona
 idroclorato (Composto 27), (2Z,3E)-3-((2-(piperazin-1-
 il)etoxi)imino)-[2,3'-biindolinilideno]-2'-ona di-idroclorato
 (Composto 28), (2Z,3E)-3-((2-(4-metilpiperazin-1-
 il)etoxi)imino)-[2,3'-biindolinilideno]-2'-ona di-idroclorato
 (Composto 29), (2Z,3E)-3-((2-(piperidin-1-il)etoxi)imino)-[2,3'-
 biindolinilideno]-2'-ona idroclorato (Composto 30), (2Z,3E)-3-
 ((2-(pirrolidin-1-il)etoxi)imino)-[2,3'-biindolinilideno]-2'-ona
 idroclorato (Composto 31), (2Z,3E)-3-((2-(piperidin-4-
 ilamino)etoxi)imino)-[2,3'-biindolinilideno]-2'-ona di-
 idroclorato (Composto 32), (2Z,3E)-5'-fluoro-3-((2-(piperazin-
 1-il)etoxi)imino)-[2,3'-biindolinilideno]-2'-ona di-idroclorato

(Composto 33), (2Z,3E)-5'-fluoro-3-((2-(4-metilpiperazin-1-il)etoxi)imino)-[2,3'-biindolinilideno]-2'-ona di-hidrocloreto

(Composto 34), (2Z,3E)-5'-fluoro-3-((2-(piperidin-1-il)etoxi)imino)-[2,3'-biindolinilideno]-2'-ona hidrocloreto

(Composto 35), (2Z,3E)-5'-fluoro-3-((2-(pirrolidin-1-il)etoxi)imino)-[2,3'-biindolinilideno]-2'-ona hidrocloreto

(Composto 36), (2Z,3E)-5'-fluoro-3-((2-(piperidin-4-ilamino)etoxi)imino)-[2,3'-biindolinilideno]-2'-ona di-hidrocloreto

(Composto 37), (2Z,3E)-5'-cloro-3-((2-(piperazin-1-il)etoxi)imino)-[2,3'-biindolinilideno]-2'-ona di-hidrocloreto

(Composto 38), (2Z,3E)-5'-cloro-3-((2-(4-metilpiperazin-1-il)etoxi)imino)-[2,3'-biindolinilideno]-2'-ona di-hidrocloreto

(Composto 39), (2Z,3E)-5'-bromo-3-((2-(piperazin-1-il)etoxi)imino)-[2,3'-biindolinilideno]-2'-ona di-hidrocloreto

(Composto 40), (2Z,3E)-5'-bromo-3-((2-(4-metilpiperazin-1-il)etoxi)imino)-[2,3'-biindolinilideno]-2'-ona di-hidrocloreto

(Composto 41), (2Z,3E)-5'-iodo-3-((2-(piperazin-1-il)etoxi)imino)-[2,3'-biindolinilideno]-2'-ona di-hidrocloreto

(Composto 42), (2Z,3E)-5'-iodo-3-((2-(4-metilpiperazin-1-il)etoxi)imino)-[2,3'-biindolinilideno]-2'-ona di-hidrocloreto

(Composto 43), (2Z,3E)-3-((2-(piperazin-1-il)etoxi)imino)-5'-(trifluorometoxi)-[2,3'-biindolinilideno]-2'-ona di-hidrocloreto

(Composto 44), (2Z,3E)-3-((2-(4-metilpiperazin-1-il)etoxi)imino)-5'-(trifluorometoxi)-[2,3'-biindolinilideno]-2'-ona di-hidrocloreto

(Composto 45), (2Z,3E)-5'-metoxi-3-((2-(piperazin-1-il)etoxi)imino)-[2,3'-biindolinilideno]-2'-ona di-hidrocloreto

(Composto 46) e (2Z,3E)-5'-metoxi-3-((2-(4-metilpiperazin-1-il)etoxi)imino)-[2,3'-biindolinilideno]-2'-ona di-hidrocloreto

(Composto 47).

[026] A composição farmacêutica da presente invenção inclui um veículo aceitável farmaceuticamente além dos ingredientes ativos. O portador aceitável farmaceuticamente incluído na composição farmacêutica da presente invenção geralmente é usado na formulação, e seus exemplos incluem lactose, dextrose, sacarose, sorbitol, manitol, amido, goma acácia, fosfato de cálcio, alginato, gelatina, silicato de cálcio, celulose

microcristalina, polivinilpirrolidona, celulose, água, xarope, metil celulose, metil-hidroxibenzoato, propil-hidroxibenzoato, talco, estearato de magnésio e óleo mineral, etc., mas não estão limitados a eles. A composição farmacêutica da presente invenção pode ainda incluir lubrificantes, agentes umectantes, adoçantes, aromáticos, emulsificantes, suspensões e conservantes etc., além dos componentes acima. Veículos e formulações farmacêuticamente aceitáveis adequados são descritos em detalhes em Remington's Pharmaceutical Sciences (19^a ed., 1995).

[027] Uma dosagem apropriada da composição farmacêutica da presente invenção pode ser prescrita de várias maneiras de acordo com fatores como um método de formulação, um método de administração, idade do paciente, peso, sexo e condição patológica, alimento, tempo de administração, via de administração, velocidade de excreção e sensibilidade da reação. Enquanto isso, a dosagem da composição farmacêutica da presente invenção pode ser preferencialmente 1 a 1000 mg/kg (peso) por dia.

[028] A composição farmacêutica da presente invenção pode ser administrada por via oral ou parenteral, em que no caso da administração parenteral, pode ser aplicada localmente na pele ou administrada através de uma injeção intravenosa, uma injeção subcutânea, uma injeção intramuscular, uma injeção intraperitoneal, uma administração transdérmica, etc. Considerando que a composição farmacêutica da presente invenção é aplicada para o tratamento de leucemia mieloide aguda, a administração é preferencialmente realizada através de uma injeção intravenosa ou administração oral.

[029] A composição farmacêutica da presente invenção pode ser formulada usando um veículo e/ou excipiente aceitável farmacêuticamente, de acordo com um método que pode ser facilmente realizado pelos especialistas na técnica a que a presente invenção pertence, e pode ser preparada em uma dose unitária sendo embalada em um recipiente de doses múltiplas. Em particular, a formulação pode estar na forma de uma solução, uma suspensão ou emulsão em óleo ou meio solúvel em água, ou pode

estar na forma de um extrato, um pó, um grânulo, um comprimido ou uma cápsula, e pode ainda conter um dispersante ou um estabilizador.

[030] A composição farmacêutica da presente invenção pode ser administrada por via oral. Exemplos de uma preparação sólida para administração oral incluem um comprimido, uma pílula, um pó, uma cápsula, uma cápsula, uma pastilha etc., e essas preparações sólidas são formuladas misturando-se o composto da presente invenção com pelo menos um excipiente, como amido, carbonato de cálcio, sacarose ou lactose ou gelatina etc. Além de excipientes simples, também são usados lubrificantes como estearato de magnésio e talco. Exemplos de uma preparação líquida para administração oral podem incluir uma suspensão, um líquido para uso interno, uma emulsão ou um xarope etc. Além dos diluentes simples comumente usados, como água e parafina líquida, vários excipientes, como um agente umectante, um adoçante, um aroma e um conservante etc. podem ser incluídos na preparação líquida.

[031] Exemplos da preparação para administração parenteral incluem uma solução aquosa esterilizada, um solvente não aquoso, um solvente de suspensão, uma emulsão, um agente de liofilização e um supositório, etc. como solvente não aquoso e solvente de suspensão, propileno glicol, polietilenoglicol, um óleo vegetal, como um azeite, um éster injetável, como etilolato etc. pode ser usado. Como base para o supositório, witepsol, macrogol, tween 61, manteiga de cacau, manteiga de laurina, glicerol, gelatina, etc. podem ser usados.

[032] Considerando que a composição farmacêutica da presente invenção é usada para prevenir ou tratar leucemia mieloide aguda ou câncer de mama metastático, pode ser preferencialmente administrada parentalmente, por exemplo, por meio de uma administração intravenosa, uma administração intraperitoneal, uma administração intramuscular, uma administração subcutânea, uma administração local etc.

[033] O derivado de indirubina da presente invenção pode ser usado na forma de um sal aceitável farmaceuticamente e, como

sal, pode ser usado um sal de adição de ácido formado por um ácido livre aceitável farmacêuticamente. O sal de adição de ácido é obtido a partir de: ácidos inorgânicos, como ácido clorídrico, ácido nítrico, ácido fosfórico, ácido sulfúrico, ácido bromídrico, ácido iodídrico, ácido nitroso ou ácido fosforoso; ácidos orgânicos não tóxicos, como mono e dicarboxilato alifático, alcenoato substituído por fenil, hidroxialcenoato e alceno dioato, ácidos aromáticos e ácidos sulfônicos alifáticos e aromáticos; ou ácidos orgânicos, como ácido acético, ácido benzoico, ácido cítrico, ácido láctico, ácido maleico, ácido glucônico, ácido metanossulfônico, ácido 4-toluenossulfônico, ácido tartárico e ácido fumárico. Exemplos de sal farmacêuticamente não tóxico incluem sulfato, pirossulfato, bissulfato, sulfito, bissulfito, nitrato, fosfato, monohidrogênio fosfato, di-hidrogênio fosfato, metafosfato, pirofosfato, cloreto, brometo, iodeto, fluoreto, acetato, propionato, decanoato, caprilato, acrilato, formato, isobutilato, caprato, heptanoato, propiolato, oxalato, malonato, succinato, suberato, sebacato, fumarato, malato, butano-1,4-dioato, hexano-1,6-dioato, benzoato, clorobenzoato, metilbenzoato, dinitrobenzoato, hidroxibenzoato, metoxibenzoato, ftalato, tereftalato, benzenossulfonato, toluenossulfonato, clorobenzenossulfonato, xilenossulfonato, fenilacetato, fenilpropionato, fenilbutilato, citrato, lactato, β -hidroxibutilato, glicolato, malato, tartrato, metanossulfonato, propanossulfonato, naftaleno-1-sulfonato, naftaleno-2-sulfonato ou mandelato, mas não estão limitados a eles.

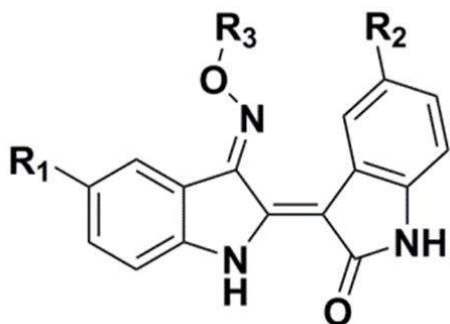
[034] O sal de adição de ácido de acordo com a presente invenção pode ser preparado por um método convencional. Por exemplo, o sal de adição de ácido pode ser preparado dissolvendo o derivado de indirubina da Fórmula Química 1 em um solvente orgânico, como metanol, etanol, acetona, cloreto de metileno, acetonitrila etc., adicionando-se um ácido orgânico ou ácido inorgânico para gerar um precipitado e, em seguida, filtrando e secando o precipitado gerado ou pode ser preparado por destilação de um

solvente e um excesso de ácido sob pressão reduzida, seguido de secagem ou cristalização em um solvente orgânico.

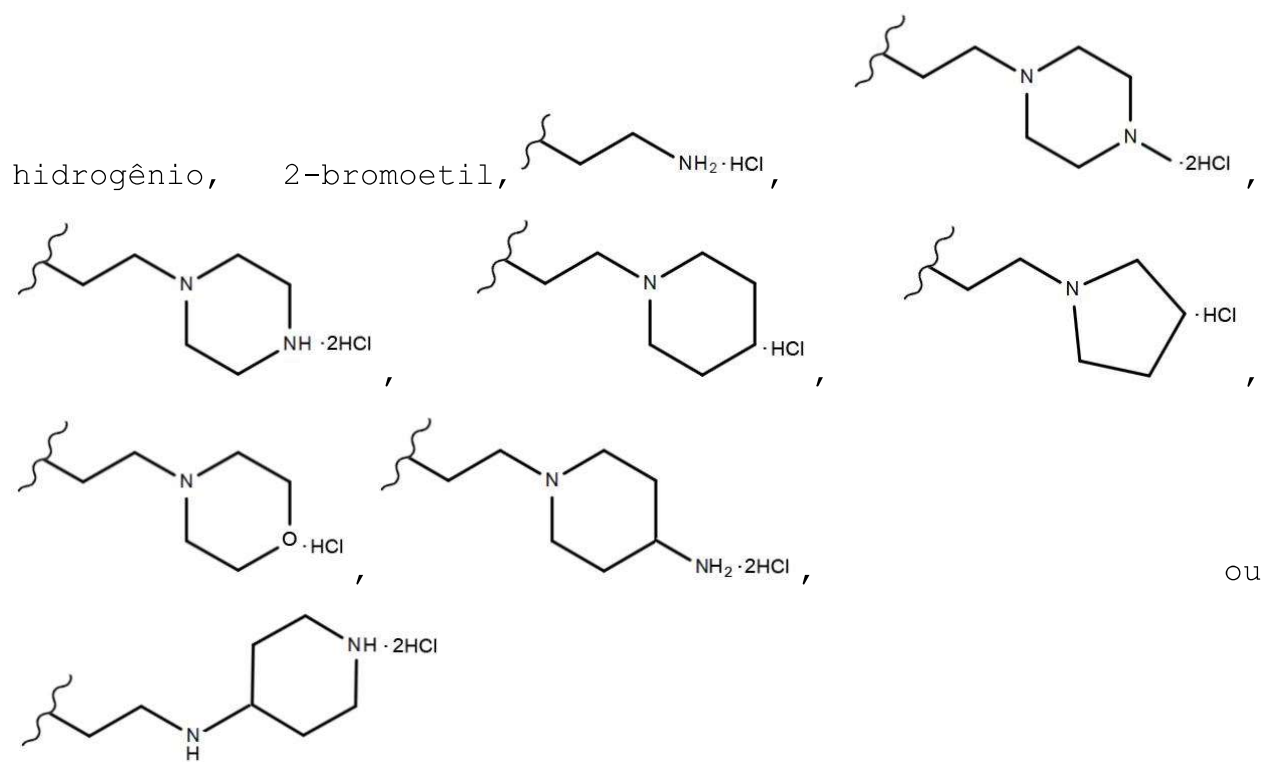
[035] Além disso, um sal metálico aceitável farmacêuticamente pode ser preparado com o uso de uma base. Por exemplo, um sal de metal alcalino ou de metal alcalino-terroso é obtido dissolvendo-se o composto em uma solução excessiva de hidróxido de metal alcalino ou hidróxido de metal alcalino-terroso, filtrando-se um sal composto não solúvel e depois evaporando-se e secando-se o filtrado. Em particular, como o sal metálico, um sal de sódio, potássio ou cálcio é adequadamente preparado a partir de um aspecto farmacêutico. Além disso, o sal de prata correspondente é obtido fazendo reagir um sal de metal alcalino ou de metal alcalino-terroso com um sal de prata adequado (por exemplo, nitrato de prata). Além disso, a presente invenção inclui não apenas o derivado de indirubina representado pela Fórmula Química 1 e um sal aceitável farmacêuticamente do mesmo, mas também um solvato, um hidrato, um estereoisômero etc., que podem ser preparados a partir daí.

[036] De acordo com ainda outro aspecto da presente invenção, a presente invenção fornece um método para prevenir ou tratar leucemia mieloide aguda ou câncer de mama metastático, incluindo: (a) administração de uma composição incluindo um composto representado pela Fórmula Química 1 abaixo, um sal aceitável farmacêuticamente, um solvato ou um hidrato do mesmo a um indivíduo:

[037] Fórmula química 1



na Fórmula química 1, R_1 é hidrogênio, fluoro ou hidroxil, R_2 é hidrogênio, halógeno, nitro, carboxil, C_1 - C_4 alquil éster ou C_1 - C_4 alcoxi substituído ou não substituído por halógeno e R_3 é



[038] Os termos usados neste documento são os explicados acima. Um indivíduo a ser administrado com a formulação de acordo com a presente invenção pode se referir a quaisquer animais, incluindo humanos. Os animais podem incluir pessoas, bem como mamíferos, como vacas, cavalos, ovelhas, porcos, cabras, camelos, antílopes, cães, gatos etc., na necessidade de tratar sintomas semelhantes, mas não estão limitados a eles.

[039] Como usado neste documento, o termo "administração" refere-se à introdução da composição farmacêutica da presente invenção a um paciente por qualquer método apropriado, e a via de administração da presente invenção pode incluir várias vias, como administração oral ou parenteral, desde que seja possível alcançar o tecido desejado. A formulação da presente invenção pode ser preparada de várias formas, dependendo do método de administração desejado.

[040] Ainda de acordo com outro aspecto da presente invenção, a presente invenção permite o uso de um composto representado pela Fórmula Química 1 abaixo, um sal aceitável farmaceuticamente, um solvato ou um hidrato do mesmo, para a preparação de uma composição farmacêutica para prevenir ou tratar leucemia mieloide ou câncer de mama metastático:

de maneira útil para prevenir ou tratar leucemia mieloide aguda ou câncer de mama metastático.

Descrição breve dos desenhos

[043] A fig. 1 mostra a estrutura e o efeito inibitório de LDD1937 (Composto 4) na atividade de FLT3 quinase. (A) mostra a estrutura química de LDD1937 e (B) mostra o efeito de LDD1937 na atividade da FLT3 quinase in vitro. A inibição da atividade de quinase de FLT3 recombinante foi medida por análise de HTRF. A inibição da quinase foi calculada com DMSO a 1% como controle negativo. Os dados são a média $\pm$ SEM de três experimentos independentes.

[044] A fig. 2 mostra a eficácia antitumoral in vivo de LDD1937 (Composto 4). As células MV-4-11 foram inoculadas subcutaneamente em camundongos BALB/c nu/nu. Quando o tumor atingiu um volume médio de 100 mm³, os camundongos foram injetados com 5 mg/kg ou 10 mg/kg de LDD1937 ou PBS (controle) na veia da cauda diariamente por 21 dias. (A) mostra os resultados da medição do tamanho do tumor e do cálculo do volume do tumor. (B) mostra o resultado da medição do peso do tumor e eutanásia dos camundongos no dia 21 após a administração do medicamento. As imagens representativas de uma massa tumoral dissecada do grupo de controle e do grupo 5 mg/kg foram fotografadas (Inset). Os dados representam a média $\pm$ SEM. ** P < 0,01, *** P < 0,001 comparado ao grupo de controle, respectivamente.

[045] A fig. 3 mostra a mudança no peso corporal durante o período de administração de LDD1937. Foi medido o peso de camundongos que receberam 5 mg/kg ou 10 mg/kg de LDD1937 ou PBS (controle) por 21 dias a partir do início do experimento.

[046] A fig. 4 mostra a alteração no peso do tecido do fígado, rim e câncer após a administração dos quatro compostos por 4 semanas. LDD-2614 representa o composto 21, LDD-2633 representa o composto 28, LDD-2634 representa o composto 34 e LDD-2635 representa o composto 33.

[047] A fig. 5 mostra a mudança no volume do tecido canceroso após a administração dos quatro compostos por 4 semanas. LDD-

2614 representa o composto 21, LDD-2633 representa o composto 28, LDD-2634 representa o composto 34 e LDD-2635 representa o composto 33.

[048] A fig. 6 mostra as imagens do tamanho do tecido canceroso após a administração dos quatro compostos por 4 semanas. LDD-2614 representa o composto 21, LDD-2633 representa o composto 28, LDD-2634 representa o composto 34 e LDD-2635 representa o composto 33.

Descrição detalhada das representações

[049] A seguir, a presente invenção será descrita com mais detalhes com exemplos. No entanto, esses exemplos são meramente fornecidos para explicar especificamente a presente invenção, e fica óbvio para os especialistas na técnica que, de acordo com o fundamento da presente invenção, o escopo da presente invenção não se limita a esses exemplos.

Exemplo 1: Cultura celular

[050] MV4; foram compradas 11 células humanas de leucemia mieloide aguda da American Type Culture Collection (ATCC, Rockville, MD, EUA, CRL-9591), e as células foram cultivadas em meio IMDM (Sigma Co., St. Louis, MO, EUA) suplementado com soro fetal bovino a 10%, penicilina/estreptomicina a 1% e L-glutamina 4 mM (Life Technology, Grand Island, NY). As células MDA-MB-231 (câncer de mama metastático, ATCC HTB-26), Jurkat (leucemia linfocítica T aguda humana, ATCC TIB-152) e K-562 (leucemia mielógena crônica humana, ATCC CCL-243) foram cultivadas em RPMI-1640 (Sigma Co.). As células MCF7 (adenocarcinoma de mama humano, ATCC HTB-22) e PC-3 (adenocarcinoma da próstata humano, ATCC CRL-1435) foram cultivadas em meio DMEM (Sigma Co.) suplementado com 10% de soro bovino fetal e 1% de penicilina/estreptomicina. As células cultivadas foram incubadas a 37°C em CO₂ a 5%.

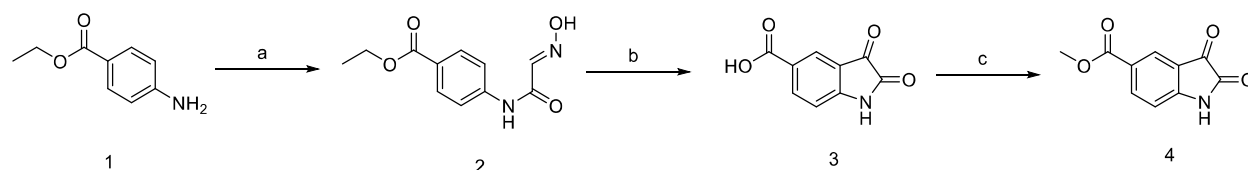
[051] A viabilidade celular foi avaliada por um ensaio à base de tetrazólio, utilizando o kit EZ-Cytox Cell Viability Assay (DaeilLab, Coreia). Resumidamente, 2.000 a 15.000 células foram colocadas em placas de 96 poços em meio de 100 µl. No dia seguinte, as células foram tratadas com compostos juntamente com

dimetilsulfóxido (DMSO) como controle negativo. Três dias (72 horas) após a adição do medicamento, 15 µl do reagente kit EZ-Cytox foram adicionados a cada poço da placa de 96 poços e depois incubados a 37°C em uma incubadora de CO₂ umidificada por 4 horas. Após a incubação, a densidade óptica (DO) foi medida no comprimento de onda de 450 nm, utilizando um leitor de múltiplas etiquetas Victor (Perkin Elmer, Waltham, MA, EUA). O IC₅₀ foi calculado por regressão não linear usando o Prism versão 5.01 (GraphPad, La Jolla, CA, EUA).

Exemplo 2: Síntese e armazenamento de compostos

[052] Os compostos 1 ao composto 47 foram concebidos e sintetizados.

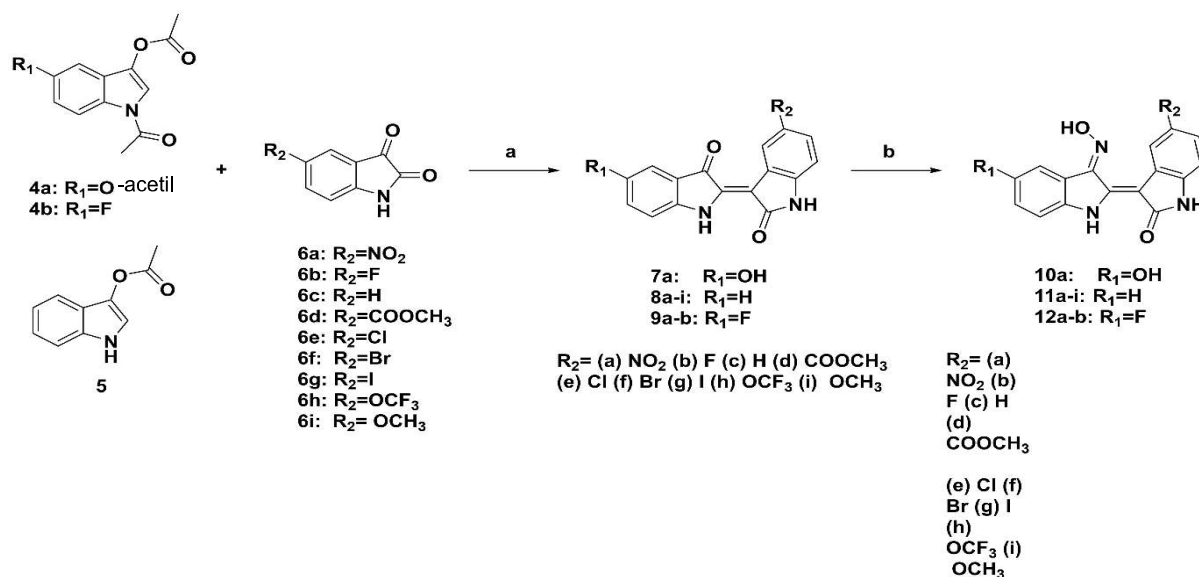
2-1. Diagrama de síntese 1



[053] Condições de reagentes e reação: (a) hidrato de cloral, H₂NOH·HCl, Na₂SO₄, água, H₂SO₄, 100°C, on; (b) Conc. H₂SO₄, 90°C, 25min; (c) H₂SO₄, 60°C, 1 h.

[054] Etil 4-aminobenzoato foi aquecido em hidrato de cloral e solução aquosa de Na₂SO₄ durante 1 hora. Subsequentemente, foi permitido que o produto resultante reagisse com hidroxilamina hidrocloreto e depois resfriado para obter um produto sólido, o qual foi filtrado usando dietil éter para produzir o Produto 2. O produto assim obtido foi aquecido a 90°C sob uma alta concentração de ácido sulfúrico para obter um produto que foi neutralizado com uma solução aquosa de NaOH 1N. Depois disso, o produto resultante foi extraído usando EA e concentrado por evaporação rotativa. A mistura assim obtida foi precipitada com o uso de uma mistura de dietil éter e DCM e depois filtrada para produzir o Produto 3. Foi permitido que este produto reagisse com ácido sulfúrico e metanol para obter precipitados (produtos 4a e 4b).

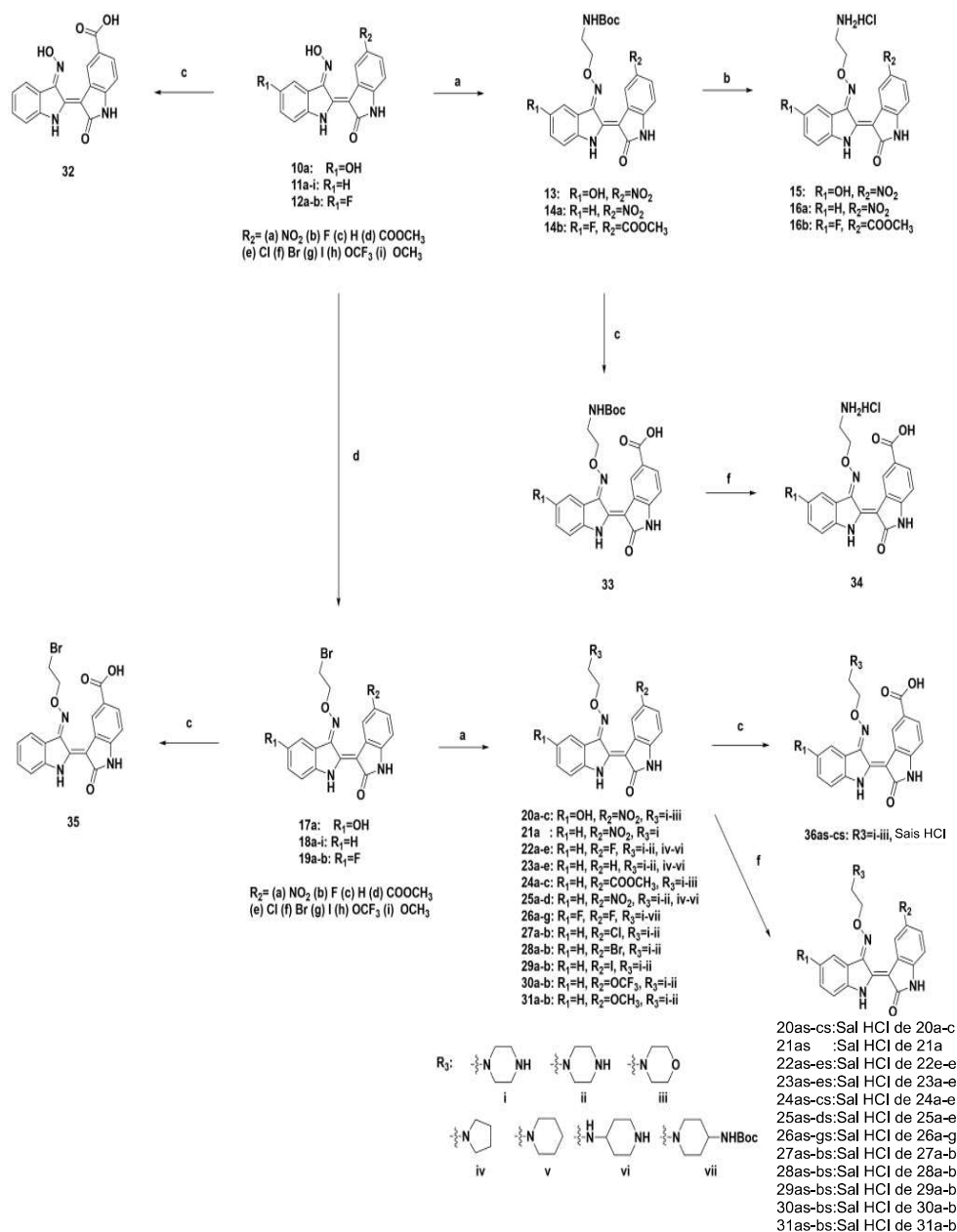
2-2. Diagrama de síntese 2



[055] Reagentes e condições de reação: (a) Na_2CO_3 , metanol:água (2:1), RT (temperatura ambiente), 3 h (b) hidroxilamina hidrocloreto, piridina, refluxo, 6 h

[056] Os análogos de isatina 6a-i dissolvidos em MeOH foram adicionados a indoxil N,O-diacetato 4a-b ou indoxil acetato 5, e a mistura foi agitada por 5 minutos. Em seguida, Na_2CO_3 anídrico (2,5 eq) foi adicionado e agitado em temperatura ambiente por 3 horas. Posteriormente, o produto resultante foi filtrado por adição de água e lavado várias vezes com água fria para obter os Produtos 7a, 8a-i e 9a-b nos quais a posição 5,5 'foi substituída na forma de precipitados. Depois disso, os produtos assim obtidos foram dissolvidos em piridina (0,1 M), adicionados com hidroxilamina hidrocloreto (5 eq) e sofreram refluxo por 6 horas. Em seguida, a mistura foi resfriada e acidificada com HCl IN para produzir precipitados, os quais foram filtrados e lavados várias vezes com água. Por fim, os precipitados assim obtidos foram purificados por solidificação usando DCM e hexano para produzir os Produtos finais 10a, 11a-i e 12a-b.

2-3. Diagrama de síntese 3



[057] Reagentes e condições de reação: (a) 2-(Boc-amino)etil brometo, K_2CO_3 , DMF, RT, durante a noite; (b) HCl 4N em 1,4-dioxano, DCM, RT, 3 h; (c) NaOH 1N, 1,4-dioxano, $40^\circ C$, durante a noite (d) 1,2-dibromoetano, Et_3N , DMF, RT, durante a noite; (e) aminas i-vi, DMF, $50^\circ C$, durante a noite; (f) HCl 4N em 1,4-dioxano, DCM ou THF, $0^\circ C$, 30 min ou TFA, $0^\circ C$, 30 min

[058] Os métodos de síntese representativa para derivados de indirubina obtidos pelo Diagrama de Síntese 3 são os seguintes:

3-1) Aminoação de alquil de derivados de indirubin-3'-oxima

O método de síntese representativo por aminoação de alquil dos derivados de indirubin-3'-oxima obtidos pelo Diagrama de síntese 3 é como segue:

[059] Os derivados de indirubina-3'-oxima foram dissolvidos em DMF (1 ml a 4 ml), adicionados com 2-(Boc-amino)etil brometo (1,2 eq) e K_2CO_3 (2 eq a 3 eq) e depois agitados durante a noite em temperatura ambiente. Depois de confirmar a conclusão da reação, o DMF foi concentrado por evaporação rotativa e, em seguida, foi adicionada água para gerar precipitados, que foram obtidos por filtração. Os precipitados foram purificados por cromatografia em coluna para produzir os produtos 13, 14a e 14b derivados de indirubina. Em seguida, os derivados de indirubina assim obtidos foram dissolvidos em DCM (1 ml), adicionados com HCl 4N em dioxano (6 eq a 18 eq) a 0°C e agitados em temperatura ambiente durante 3 horas. Depois de confirmar que a reação foi concluída, os precipitados resultantes foram lavados várias vezes com DCM através de filtração e secados para se obter como sólido limpo. Os derivados de indirubina foram obtidos na forma de sais (Produtos 15, 16a e 16b).

3-2) Alquilação de derivados de indirubina-3'-oxima

[060] O método de síntese representativo por alquilação de derivados de indirubina-3'-oxima, obtidos pelo Diagrama de síntese 3 é como segue:

[061] Os derivados de indirubina-3'-oxima foram dissolvidos em DMF (15 ml), adicionados com 1,2-dibromoetano (10 eq) e TEA (3 eq a 10 eq) e depois agitados durante a noite em temperatura ambiente. Depois de confirmar que a reação foi concluída, foi adicionada água para gerar precipitados, que foram lavados várias vezes com água por filtração e secados para obter como sólido limpo (Produtos 17a, 18a-i e 19a-b). Em seguida, os derivados de indirubina assim obtidos foram dissolvidos em DMF, adicionados com reagentes de piperazina, morfolina, pirrolidina e piperidina (10 eq a 30 eq) e depois agitados a 50°C durante a noite. Depois de confirmar que a reação estava completa, foi adicionada água à solução misturada para gerar sólido, o qual foi obtido por filtração e lavado várias vezes com água. Posteriormente, as impurezas restantes foram lavadas com acetona e MeOH para obter os produtos desejados (Produtos 20a-c, 21a, 22a-e, 23a-e, 24a-c, 25a-d, 26a-g, 27a-b, 28a-b, 29a-b, 30a-b e

31a-b). Em seguida, os produtos assim obtidos foram dissolvidos em DCM ou THF, adicionados com HCl 4N em dioxano a 0°C e depois agitados por 30 minutos. Após a reação, o sólido resultante foi lavado com DCM por filtração para obter os produtos desejados na forma de sais (Produtos 20as-cs, 21as, 22as-es, 23as-es, 24as-cs, 25as-ds, 26as-fs, 27as-bs, 28as-bs, 29as-bs, 30as-bs e 31as-bs). Além disso, o composto 26gs foi obtido na forma de um sal da mesma maneira usando TFA.

3-3) Derivados de indirubin-3'-oxima ácido carboxílico

[062] O método de síntese representativo para derivados de indirubin-3'-oxima ácido carboxílico obtido pelo Diagrama de síntese 3 é como segue:

[063] Derivados de indirubina-3'-oxima (produtos 11d, 14b, 18d e 24a-24c) foram dissolvidos em 1,4-dioxano, adicionados com NaOH 1N e depois agitados durante a noite a 40°C. Depois de confirmar que a reação foi concluída, o produto resultante foi resfriado em temperatura ambiente e acidificado pela adição de HCl 1N. Depois disso, a água foi concentrada e o NaCl restante após a concentração foi removido por filtração usando MeOH para obter os produtos desejados como sólidos (Produtos 32, 33, 35 e 31as-cs (sal)). Em seguida, o Produto 33 assim obtido foi dissolvido em DCM, adicionado com HCl 4N em dioxano a 0°C e depois agitado por 10 minutos. Após a reação, o sólido resultante foi lavado com DCM por filtração para obter o Produto 34 desejado na forma de um sal.

Confirmação da síntese de compostos

Produto 11d: Metil (2Z,3E)-3-(hidroxi-imino)-2'-oxo-[2,3'-biindolinilideno]-5'-carboxilato (Composto 1)

¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ ppm 11.76 - 11.80 (m, 1 H), 11.05 - 11.10 (m, 1 H), 9.17 - 9.21 (m, 1 H), 8.24 (d, *J*=8.01Hz, 1H), 7.73 - 7.78 (m, 1H), 7.36 - 7.42 (m, 2H), 7.00 - 7.06 (m, 1H), 6.92 - 6.98 (m, 1H), 3.79 - 3.86 (m, 3H).

Produto 18d: Metil (2Z,3E)-3-((2-bromoetoxi)imino)-2'-oxo-[2,3'-biindolinilideno]-5'-carboxilato (Composto 2)

¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ ppm 11.68(s, 1H), 11.18(s, 1H), 9.36(d, *J*=1.6 Hz, 1H), 8.23 (d, *J*=7.6 Hz, 1H), 7.83 (dd, *J*=8.0,

1.6 Hz, 1H), 7.48(m, 2H), 7.10(m, 1H), 7.01(d, $J=8.0$ Hz, 1H), 4.98(t, $J=5.6$ Hz, 2H), 4.06(t, $J=5.6$ Hz, 2H), 3.86 (s, 3H).

Produto 16b: Metil (2Z,3E)-3-((2-aminoetoxi)imino)-2'-oxo-[2,3'-biindolinilideno]-5'-carboxilato hidrocloreto (Composto 3)

^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ ppm 11.66 (s, 1H), 11.18 (s, 1H), 9.30 (d, $J=1.60$ Hz, 1H), 8.24 (d, $J=7.78$ Hz, 1H), 8.17 (brs, 2H), 7.80 (dd, $J=8.13$, 1.72 Hz, 1H), 7.41 - 7.48 (m, 2H), 7.04 (ddd, $J=7.90$, 5.72, 2.63 Hz, 1H), 6.98 (d, $J=8.01$ Hz, 1H), 4.78 - 4.85 (m, 2H), 3.79 - 3.86 (m, 3H), 3.47 (d, $J=4.81$ Hz, 2H).

Produto 24as: Metil (2Z,3E)-2'-oxo-3-((2-(piperazin-1-il)etoxi)imino)-[2,3'-biindolinilideno]-5'-carboxilato di-hidrocloreto (Composto 4, LDD1937)

^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ ppm 11.70 (s, 1H), 11.23 (s, 1H), 9.36 (s, 1H), 8.27 (d, $J=7.6$ Hz, 1H), 7.84 (d, $J=8.4$ Hz, 1H), 7.48 (m, 2H), 7.07 (m, 1H), 7.02 (d, $J=8.8$ Hz, 1H), 5.03 (m, 2H), 3.88 (s, 3H), 3.30 (m, 10H, sobreposto com DMSO).

Produto 24bs: Metil (2Z,3E)-3-((2-(4-metilpiperazin-1-il)etoxi)imino)-2'-oxo-[2,3'-biindolinilideno]-5'-carboxilato di-hidrocloreto (Composto 5)

^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ ppm 11.71 (s, 1H), 11.22 (s, 1H), 9.38 (d, $J=1.6$ Hz, 1H), 8.24 (d, $J=7.6$ Hz, 1H), 7.84 (dd, $J=8.4$, 1.6 Hz, 1H), 7.48 (m, 2H), 7.08 (m, 1H), 7.02 (d, $J=8.4$ Hz, 1H), 4.96 (m, 2H), 3.87 (s, 3H), 3.30 (m, 10H, sobreposto com água).

Produto 24cs: Metil (2Z,3E)-3-((2-morfolinoetoxi)imino)-2'-oxo-[2,3'-biindolinilideno]-5'-carboxilato hidrocloreto (Composto 6)

^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ ppm 11.70 (s, 1H), 11.22 (s, 1H), 10.94 (brs, 1H, morfolina N $^+$ -H), 9.36 (s, 1H), 8.26 (d, $J=7.6$ Hz, 1H), 7.84 (dd, $J=8.0$, 2.0 Hz, 1H), 7.49 (m, 2H), 7.09 (m, 1H), 7.02 (d, $J=8.0$ Hz, 1H), 5.08 (brs, 2H), 3.97 (m, 2H), 3.80 (s, 3H), 3.81 (m, 4H), 3.56 (m, 2H), 3.18 (m, 2H, parcialmente sobreposto com água).

Produto 32: (2Z,3E)-3-(hidroxi-imino)-2'-oxo-[2,3'-biindolinilideno]-5'-ácido carboxílico (Composto 7)

^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ ppm 11.68 (s, 1H), 11.23 (s, 1H), 8.73 - 8.78 (m, 1H), 8.18 (s, 1H), 8.01 (d, $J=5.04$ Hz, 1H), 7.49 (m, 2H), 6.95 (d, $J=8.0$ Hz, 1H).

Produto 35: (2Z,3E)-3-((2-bromoetoxi)imino)-2'-oxo-[2,3'-biindolinilideno]-5'-ácido carboxílico (Composto 8)

¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ ppm 11.66(s, 1H), 11.11(s, 1H), 9.34(s, 1H), 8.22(d, *J*=7.6 Hz, 1H), 7.80(d, *J*=8.0 Hz, 1H), 7.63(m, 2H), 7.08(m, 1H), 6.97(d, *J*=8.4 Hz, 1H), 4.96(t, *J*=5.6 Hz, 2H), 4.03(t, *J*=5.6 Hz, 2H).

Produto 34: (2Z,3E)-3-((2-aminoetoxi)imino)-2'-oxo-[2,3'-biindolinilideno]-5'-ácido carboxílico hidrocloreto (Composto 9)

¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ ppm 11.68(s, 1H), 11.18(s, 1H), 9.35(d, *J*=1.2 Hz, 1H), 8.26(d, *J*=7.6 Hz, 1H), 8.17(s, 3H, H⁺), 7.82(dd, *J*=8.0, 1.6 Hz, 1H), 7.48(m, 2H), 7.08(m, 1H), 7.00(d, *J*=8.4 Hz, 1H), 4.83(t, *J*=5.2 Hz, 2H), 3.45 (t, *J*=5.2 Hz, 2H).

Produto 36as: (2Z,3E)-2'-oxo-3-((2-(piperazin-1-il)etoxi)imino)-[2,3'-biindolinilideno]-5'-ácido carboxílico di-hidrocloreto (Composto 10, LDD1940)

¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ ppm 11.69(s, 1H), 11.17(s, 1H), 9.37(s, 1H), 8.91(brs, 2H, piperazina N⁺-H), 8.23(d, *J*=7.6 Hz, 1H), 7.82(d, *J*=8.4 Hz, 1H), 7.47(m, 2H), 7.07(m, 1H), 7.00(d, *J*=8.4 Hz, 1H), 4.92(brs, 2H), 3.05(m, 10H, sobreposto com água).

Produto 36bs: (2Z,3E)-3-((2-(4-metilpiperazin-1-il)etoxi)imino)-2'-oxo-[2,3'-biindolinilideno]-5'-ácido carboxílico di-hidrocloreto (Composto 11)

¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ ppm 11.68(s, 1H), 11.16(s, 1H), 9.36(s, 1H), 8.23(d, *J*=8.0 Hz, 1H), 7.82(d, *J*=8.0 Hz, 1H), 7.47(m, 2H), 7.07(m, 1H), 6.99(d, *J*=8.0 Hz, 1H), 4.93(brs, 2H), 3.17(m, 10H, sobreposto com água), 2.77 (s, 3H).

Produto 36cs: (2Z,3E)-3-((2-morfolinoetoxi)imino)-2'-oxo-[2,3'-biindolinilideno]-5'-ácido carboxílico hidrocloreto (Composto 12)

¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ ppm 11.67(s, 1H), 11.27(brs, 1H, morfolina N⁺-H), 11.18(s, 1H), 9.34(s, 1H), 8.25(d, *J*=7.6 Hz, 1H), 7.82(d, *J*=8.4 Hz, 1H), 7.48(m, 2H), 7.08(m, 1H), 6.99(d, *J*=8.0 Hz, 1H), 5.06(brs, 2H), 3.96(m, 2H), 3.80(m, 4H), 3.53(m, 2H), 3.24(m, 2H, parcialmente sobreposto com água).

Produto 10a: (2Z,3E)-5-hidroxi-3-(hidroxi-imino)-5'-nitro-[2,3'-biindolinilideno]-2'-ona (Composto 13)

¹H NMR (300MHz, DMSO-d₆) δ 13.87 (1H, s, NOH), 11.78 (1H, s, NH), 11.35 (1H, s, N-H), 9.41 (1H, d, J=2.8 Hz), 9.32 (1H, s, O-H), 8.05 (1H, dd, J=11.6, 2.8 Hz), 7.76 (1H, d, J=3.2 Hz), 7.29 (1H, d, J=11.6 Hz), 7.04 (1H, d, J=11.2 Hz) 6.86 (1H, dd, J=11.2, 3.2 Hz)

Produto 20bs: (2Z,3E)-5-hidroxi-3-((2-(4-metilpiperazin-1-il)etoxi)imino)-5'-nitro-[2,3'-biindolinilideno]-2'-ona di-hidrocloreto (Composto 14)

¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆) δ (ppm); 11.66 (s, 1H), 11.46 (s, 1H), 9.56 (d, J=2.4 Hz, 1H), 9.51 (brs, 1H), 8.10 (dd, J=8.8, 2.4 Hz, 1H), 7.75 (s, 1H), 7.32 (d, J=8.8 Hz, 1H), 7.08 (d, J=8.8 Hz, 1H) 6.93 (dd, J= 8.8, 2.4 Hz, 1H), 5.01 (brs, 2H), 3.27 (m, 10H, parcialmente sobreposto com água), 2.8 (s, 3H).

Produto 16a: (2Z,3E)-3-((2-aminoetoxi)imino)-5'-nitro-[2,3'-biindolinilideno]-2'-ona hidrocloreto (Composto 15)

¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆) δ 11.66 (s, 1 H) 11.18 (s, 1 H) 9.30 (d, J=1.60 Hz, 1 H) 8.24 (d, J=7.78 Hz, 1 H) 8.17 (br. s., 2 H) 7.80 (dd, J=8.13, 1.72 Hz, 1 H) 7.41 - 7.48 (m, 2 H) 7.04 (ddd, J=7.90, 5.72, 2.63 Hz, 1 H) 6.98 (d, J=8.01 Hz, 1 H) 4.78 - 4.85 (m, 2 H) 3.79 - 3.86 (m, 3 H) 3.47 (d, J=4.81 Hz, 2 H)

Produto 21as: (2Z,3E)-5'-nitro-3-((2-(piperazin-1-il)etoxi)imino)-[2,3'-biindolinilideno]-2'-ona di-hidrocloreto (Composto 16)

¹H NMR (400MHz, DMSO-d₆) δ (ppm); 11.70 (s, 1H), 11.25 (s, 1H), 9.45 (d, J=2.4 Hz, 1H), 8.23 (d, J=8.4 Hz, 2H), 8.03 (m, 1H), 7.50 (d, J=2.4 Hz, 1H), 7.43 (m, 1H), 7.04 (m, 2H), 4.82 (m, 2 H) 3.81 (m, 3 H) 3.42 (m, 2 H)

Produto 15as: (2Z,3E)-5-fluoro-5'-nitro-3-((2-(piperazin-1-il)etoxi)imino)-[2,3'-biindolinilideno]-2'-ona di-hidrocloreto (Composto 17)

¹H NMR (400MHz, DMSO-d₆) δ (ppm); 11.66 (s, 1H), 11.47 (s, 1H), 9.51 (d, J=2.4 Hz, 1H), 9.48 (s, 1H), 8.24 (brs, 3H), 8.09 (dd, J=8.4, 2.4 Hz, 1H), 7.78 (d, J=2.4 Hz, 1H), 7.30 (d, J=8.4 Hz, 1H), 7.07 (d, J=8.8 Hz, 1H), 6.95 (dd, J=8.4, 2.4 Hz, 1H), 4.87 (t, J=4.4 Hz, 2H), 3.49 (t, J=4.4 Hz, 2H).

Produto 25bs: (2Z,3E)-5-fluoro-3-((2-(4-metilpiperazin-1-il)etoxi)imino)-5'-nitro-[2,3'-biindolinilideno]-2'-ona di-hidrocloreto (Composto 18)

¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆) δ (ppm); 9.58(1H, d, J=2.1 Hz), 8.14(1H, m), 7.97(1H, dd, J=8.9, 2.4 Hz), 7.57(1H, m), 7.41(1H, m), 7.08(1H, m), 4.87(2H, m), 2.96(2H, m), 2.38(4H, m), 2.15(3H, m).

Produto 25ds: (2Z,3E)-5-fluoro-5'-nitro-3-((2-(piperidin-1-il)etoxi)imino)-[2,3'-biindolinilideno]-2'-ona hidrocloreto (Composto 19)

¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆) δ (ppm); 11.80(m, 1H), 10.79(s, 1H), 8.46(dd, J=11.3, 2.4 Hz, 1H), 8.19(m, 1H), 7.48(m, 2H), 7.08(m, 1H), 7.01(m, 1H), 6.90(m, 1H), 4.69(t, J=6.1 Hz, 2H), 2.90(m, 2H), 2.24(s, 2H), 1.94(m, 1H), 1.58(m, 3H), 1.40(m, 2H)

Produto 25cs: (2Z,3E)-5-fluoro-5'-nitro-3-((2-(pirrolidin-1-il)etoxi)imino)-[2,3'-biindolinilideno]-2'-ona hidrocloreto (Composto 20)

¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆) δ (ppm); 9.56(s, 1H), 8.07 d, J= 8.8 Hz, 1H), 7.88(d, J=8.8 Hz, 1H), 7.48(s, 1H), 7.34(s, 1H), 7.03(d, J=9.6 Hz, 1H), 4.84(m, 2H), 4.12(m, 2H).

Produto 26as: (2Z,3E)-5,5'-difluoro-3-((2-(piperazin-1-il)etoxi)imino)-[2,3'-biindolinilideno]-2'-ona di-hidrocloreto (Composto 21)

¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆) δ (ppm); 11.80(m, 1H), 10.83(m, 1H), 8.44(m, 1H), 8.01(m, 1H), 7.49(m, 1H), 7.38(m, 1H), 7.01(m, 1H), 6.87(dd, J=4.9 Hz, 1H), 4.75(m, 2H), 2.90(m, 2H), 2.74(m, 3H), 2.47(m, 3H).

Product 26bs: (2Z,3E)-5,5'-difluoro-3-((2-(4-metilpiperazin-1-il)etoxi)imino)-[2,3'-biindolinilideno]-2'-ona di-hidrocloreto (Composto 22)

¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆) δ (ppm); 11.77(m, 1H), 10.81(m, 1H), 8.44(m, 1H), 7.99(dd, J=8.9, 2.8 Hz, 1H), 7.47(dd, J=8.9, 4.6 Hz, 1H), 7.34(td, J=9.0, 2.8 Hz, 1H), 6.98(td, J=8.9, 2.8 Hz, 1H), 6.89(m, 1H), 4.74(m, 2H), 2.92(m, 2H), 2.38(m, 3H), 2.15(m, 3H).

Produto 26es: (2Z,3E)-5,5'-difluoro-3-((2-(piperidin-1-il)etoxi)imino)-[2,3'-biindolinilideno]-2'-ona hidrocloreto (Composto 23)

¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆) δ (ppm); 11.78(m, 1H), 10.79(brs, 1H), 8.41(dd, J=11.3, 2.8 Hz, 1H), 7.97(dd, J=8.7, 2.6 Hz, 1H), 7.47(dd, J=8.7, 4.4 Hz, 1H), 7.38(m, 1H), 7.01(m, 1H), 6.89(m, 1H), 4.69(t, J=6.0 Hz, 2H), 2.85(t, J=6.1 Hz, 2H), 1.51(q, J=5.5 Hz, 4H), 1.42 (m, 2H).

Produto 26ds: (2Z,3E)-5,5'-difluoro-3-((2-(pirrolidin-1-il)etoxi)imino)-[2,3'-biindolinilideno]-2'-ona hidrocloreto (Composto 24)

¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆) δ (ppm); 10.86(m, 1H), 8.41(dd, J=11.3, 2.8 Hz, 1H), 7.92(dd, J=8.6, 2.8 Hz, 1H), 7.47 (dd, J=8.9, 4.6 Hz, 1H), 7.34(td, J=9.1, 2.6 Hz, 1H), 6.97(td, J=8.8, 2.6 Hz, 1H), 6.89(m, 1H), 4.70(t, J=6.0 Hz, 1H), 3.00 (t, J=6.0 Hz, 2H), 2.60(m, 4H), 1.69 (dt, J=6.6, 3.1 Hz, 4H).

Produto 26gs: (2Z,3E)-3-((2-(4-aminopiperidin-1-il)etoxi)imino)-5,5'-difluoro-[2,3'-biindolinilideno]-2'-ona di-hidrocloreto (Composto 25)

¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆) δ (ppm); 8.32(dd, J=11.1, 2.6 Hz, 1H), 8.01(dd, J=8.7, 2.6 Hz, 1H), 7.48(d, J=8.9, 4.6 Hz, 1H), 7.40(m, 1H), 7.04(m, 1H), 6.88(dd, J=8.6, 4.9 Hz, 1H), 5.01(m, 2H), 3.37 (m, 4H), 2.96(dd, J=11.6 Hz, 2H), 2.15 (m, 4H), 1.73 (m, 1H).

Produto 26fs: (2Z,3E)-5,5'-difluoro-3-((2-(piperidin-4-ilamino)etoxi)imino)-[2,3'-biindolinilideno]-2'-ona di-hidrocloreto (Composto 26)

¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆) δ (ppm); 8.41(dd, J=11.3, 2.8 Hz, 1H), 7.96(dd, J=8.7, 2.6 Hz, 1H), 7.47(dd, J=8.9, 4.3 Hz, 1H), 7.38(1H, m), 6.97(dd, J=9.2, 2.8 Hz, 1H), 6.86(dd, J=8.6, 4.9 Hz, 1H), 4.69(t, J=6.0 Hz, 2H), 2.93(m, 4H), 2.15(m, 2H), 1.72(m, 2H), 1.33(m, 2H).

Produto 26cs: (2Z,3E)-5,5'-difluoro-3-((2-morfolinoetoxi)imino)-[2,3'-biindolinilideno]-2'-ona hidrocloreto (Composto 27)

¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆) δ (ppm); 9.59(d, J=2.4 Hz, 1H), 8.13(m, 1H), 7.97(d, J=6.1 Hz, 1H), 7.51(s, 1H), 7.37(s, 1H),

7.07(d, $J=8.6$ Hz, 1H), 4.83(t, $J=5.8$ Hz, 1H), 3.17(s, 2H), 2.94(m, 4H), 1.53(m, 5H), 1.38(dd, $J=5.3, 0.8$ Hz, 3H).

Produto 23as: (2Z,3E)-3-((2-(piperazin-1-il)etoxi)imino)-[2,3'-biindolinilideno]-2'-ona di-hidrocloreto (Composto 28)

^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ (ppm); 11.84(1H, m, N-H), 10.78(1H, s, N-H), 8.62(1H, d, $J=7.9$ Hz), 8.17(1H, d, $J=7.6$ Hz), 7.46(2H, m), 7.15(1H, td, $J=7.6, 1.2$ Hz), 7.03(1H, m), 6.99(1H, m), 6.90(1H, d, $J=7.6$ Hz), 4.69(2H, t, $J=6.0$ Hz), 3.46(4H, m), 2.84(2H, t, $J=6.1$ Hz), 2.69(2H, t, $J=4.7$ Hz), 2.45(2H, m).

Produto 23bs: (2Z,3E)-3-((2-(4-metilpiperazin-1-il)etoxi)imino)-[2,3'-biindolinilideno]-2'-ona di-hidrocloreto (Composto 29)

^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ (ppm); 11.70(1H, m, N-H), 10.78(1H, s), 8.64(1H, m), 8.17(1H, d, $J=7.9$ Hz), 7.42(1H, d, $J=1.2$ Hz), 7.16(1H, td, $J=7.6, 1.2$ Hz), 7.06(1H, m), 7.00(1H, m), 6.93(1H, m), 4.69(2H, t, $J=6.1$ Hz), 2.96(2H, m), 2.54(4H, m), 2.39(4H, m), 2.14(3H, s).

Produto 23ds: (2Z,3E)-3-((2-(piperidin-1-il)etoxi)imino)-[2,3'-biindolinilideno]-2'-ona hidrocloreto (Composto 30)

^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ (ppm); 8.61(1H, d, $J=6.0$ Hz), 8.16(1H, d, $J=6.0$ Hz), 7.43(1H, m), 7.15(1H, m), 7.03(1H, s), 6.97(1H, m), 6.89(1H, d, $J=6.0$ Hz), 4.69(2H, m), 2.86(2H, m), 2.08(4H, s), 1.52(3H, m), 1.43(2H, m).

Produto 23cs: (2Z,3E)-3-((2-(pirrolidin-1-il)etoxi)imino)-[2,3'-biindolinilideno]-2'-ona hidrocloreto (Composto 31)

^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ (ppm); 11.69(1H, s, br), 10.76(1H, s), 8.66(1H, m), 8.18(1H, m), 7.46(2H, m), 7.18(1H, m), 7.06(1H, m), 6.98(1H, td, $J=7.7, 1.1$ Hz), 6.91(1H, dd, $J=7.7, 0.6$ Hz), 4.69(2H, t, $J=6.0$ Hz), 2.99(2H, t, $J=6.0$ Hz), 2.59(4H, m), 1.69(4H, dt, $J=6.9, 3.2$ Hz).

Produto 23es: (2Z,3E)-3-((2-(piperidin-4-ilamino)etoxi)imino)-[2,3'-biindolinilideno]-2'-ona di-hidrocloreto (Composto 32)

^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ (ppm); 8.62(1H, d, $J=7.6$ Hz), 8.17(1H, d, $J=7.7$ Hz), 7.46(2H, m), 7.15(1H, td, $J=7.56, 1.2$ Hz), 7.03(1H, td, $J=7.2, 1.6$ Hz), 7.01(1H, m), 6.91(1H, d, $J=7.7$ Hz), 4.68(2H, t, $J=6.1$ Hz), 2.92(4H, m), 2.17(2H, m).

Produto 22as: (2Z,3E)-5'-fluoro-3-((2-(piperazin-1-il)etoxi)imino)-[2,3'-biindolinilideno]-2'-ona di-hidrocloreto (Composto 33)

¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆) δ (ppm); 11.83(1H, m, N-H), 10.84(1H, m, N-H), 8.45(1H, dd, J=11.3, 2.8 Hz), 8.21(1H, m), 7.47(2H, m), 7.09(1H, m), 6.99(1H, m), 6.87(1H, dd, J=8.4, 5.0 Hz), 4.76(3H, m), 2.91(2H, m), 2.70(4H, m), 2.47(3H, m).

Produto 22bs: (2Z,3E)-5'-fluoro-3-((2-(4-metilpiperazin-1-il)etoxi)imino)-[2,3'-biindolinilideno]-2'-ona di-hidrocloreto (Composto 34)

¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆) δ (ppm); 11.84(1H, m, N-H), 10.81(1H, m, N-H), 8.47(1H, dd, J=11.3, 2.7 Hz), 8.20(1H, m), 7.46(2H, m), 7.13 (1H,m), 6.99(1H, m), 6.85(1H, dd, J=8.4, 5.0 Hz), 4.74(3H, m), 2.90(2H, m), 2.72(4H, m), 2.45(3H, m), 2.14(3H, m).

Produto 22ds: (2Z,3E)-5'-fluoro-3-((2-(piperidin-1-il)etoxi)imino)-[2,3'-biindolinilideno]-2'-ona hidrocloreto (Composto 35)

¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆) δ (ppm); 11.80(m, 1H), 10.79(s, 1H), 8.46 (dd, J=11.3, 2.4 Hz, 1H), 8.19(m, 1H), 7.48(m, 2H), 7.08(m, 1H), 7.01(m, 1H), 6.90(m, 1H), 4.69(t, J=6.1 Hz, 2H), 2.90(m, 2H), 2.24(s, 2H), 1.94(m, 1H), 1.58(m, 3H), 1.40(m, 2H).

Produto 22cs: (2Z,3E)-5'-fluoro-3-((2-(pirrolidin-1-il)etoxi)imino)-[2,3'-biindolinilideno]-2'-ona hidrocloreto (Composto 36)

¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆) δ (ppm); 10.78(1H, s, br), 8.46(1H, dd, J=11.1, 2.6 Hz), 8.18(1H, m), 7.47(2H, m), 7.09(1H, m), 6.96(1H, dd, J=9.0, 2.6 Hz), 6.87(1H, dd, J=8.4, 5.0 Hz), 4.69(2H, t, J=6.1 Hz), 3.01(2H, t, J=6.0 Hz), 2.61(4H, m), 1.68(4H, dt, J=7.0, 3.2 Hz).

Produto 22es: (2Z,3E)-5'-fluoro-3-((2-(piperidin-4-ilamino)etoxi)imino)-[2,3'-biindolinilideno]-2'-ona di-hidrocloreto (Composto 37)

¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆) δ (ppm); 8.48(1H, m), 8.17(1H, dd, J=7.6, 0.9 Hz), 7.46 (2H, m), 6.98(1H, d, J=2.8 Hz), 6.89(1H, m), 4.68(2H, t, J=6.1 Hz), 2.93 (4H, m), 2.15(2H, m).

Produto 27a: (2Z,3E)-5'-cloro-3-((2-(piperazin-1-il)etoxi)imino)-[2,3'-biindolinilideno]-2'-ona di-hidrocloreto (Composto 38)

^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ 11.83 (s, 1H), 10.84 (s, 1H), 8.60 (s, 1H), 8.24 (d, J = 7.6 Hz, 1H), 7.45 (m, 2H), 7.14 (m, 2H), 6.88 (d, J = 7.9 Hz, 1H), 4.69 (t, J =6.0 Hz, 2H), 3.46 (m, 4H), 2.84 (t, J =6.1 Hz, 2H), 2.69 (t, J =4.7 Hz, 2H), 2.45 (m, 2H).

Produto 27b: (2Z,3E)-5'-cloro-3-((2-(4-metilpiperazin-1-il)etoxi)imino)-[2,3'-biindolinilideno]-2'-ona di-hidrocloreto (Composto 39)

^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ 11.85 (s, 1H), 10.82 (s, 1H), 8.59 (s, 1H), 8.19 (d, J = 7.6 Hz, 1H), 7.65 (m, 2H), 7.14 (m, 2H), 6.90 (d, J = 7.9 Hz, 1H), 4.74 (m, 2H), 2.91 (m, 2H), 2.40 (m, 3H), 2.15 (m, 3H).

Produto 28a: (2Z,3E)-5'-bromo-3-((2-(piperazin-1-il)etoxi)imino)-[2,3'-biindolinilideno]-2'-ona di-hidrocloreto (Composto 40)

^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ 11.82 (s, 1H), 10.76 (s, 1H), 8.65 (s, 1H), 8.19 (d, J = 8.0 Hz, 1H), 7.45 (m, 2H), 7.28 (d, J =8.2 Hz, 1H), 7.08 (m, 1H), 6.88 (d, J = 8.0 Hz, 1H), 4.72 (m, 3H), 2.87 (m, 2H), 2.70 (m, 4H), 2.47 (m, 3H).

Produto 28b: (2Z,3E)-5'-bromo-3-((2-(4-metilpiperazin-1-il)etoxi)imino)-[2,3'-biindolinilideno]-2'-ona di-hidrocloreto (Composto 41)

^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ 11.82 (s, 1H), 10.77 (s, 1H), 8.65 (s, 1H), 8.19 (d, J = 8.0 Hz, 1H), 7.45 (m, 2H), 7.28 (d, J =8.2 Hz, 1H), 7.08 (m, 1H), 6.88 (d, J = 8.0 Hz, 1H), 4.74 (m, 3H), 2.93 (m, 2H), 2.75 (m, 4H), 2.45 (m, 3H), 2.17 (m, 3H).

Produto 29a: (2Z,3E)-5'-iodo-3-((2-(piperazin-1-il)etoxi)imino)-[2,3'-biindolinilideno]-2'-ona di-hidrocloreto (Composto 42)

^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ 11.83 (s, 1H), 10.80 (s, 1H), 8.85 (s, 1H), 8.20 (d, J = 8.0 Hz, 1H), 7.45 (m, 3H), 7.06 (m, 1H), 6.75 (d, J = 8.0 Hz, 1H), 4.75 (m, 3H), 2.85 (m, 2H), 2.71 (m, 4H), 2.45 (m, 3H).

Produto 29b: (2Z,3E)-5'-iodo-3-((2-(4-metilpiperazin-1-il)etoxi)imino)-[2,3'-biindolinilideno]-2'-ona di-hidrocloreto (Composto 43)

^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ 11.82 (s, 1H), 10.77 (s, 1H), 8.66 (s, 1H), 8.21 (d, J = 8.0 Hz, 1H), 7.46 (m, 3H), 7.08 (m, 1H), 6.74 (d, J = 8.0 Hz, 1H), 4.75 (m, 3H), 2.90 (m, 2H), 2.72 (m, 4H), 2.42 (m, 3H), 2.17 (m, 3H).

Produto 30a: (2Z,3E)-3-((2-(piperazin-1-il)etoxi)imino)-5'-(trifluorometoxi)-[2,3'-biindolinilideno]-2'-ona di-hidrocloreto (Composto 44)

^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ (ppm) 11.73 (s, 1H), 10.79 (s, 1H), 8.57 (s, 1H), 8.27 (d, J = 7.5 Hz, 1H), 7.41 (m, 2H), 6.99 (m, 2H), 6.94 (d, J = 8.4 Hz, 1H), 4.73 (m, 2H), 2.87 (m, 2H), 2.76 (m, 3H), 2.45 (m, 3H).

Produto 30b: (2Z,3E)-3-((2-(4-metilpiperazin-1-il)etoxi)imino)-5'-(trifluorometoxi)-[2,3'-biindolinilideno]-2'-ona di-hidrocloreto (Composto 45)

^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ (ppm) 11.68 (s, 1H), 10.88 (s, 1H), 8.60 (s, 1H), 8.24 (1H, d, J = 7.5 Hz), 7.40 (2H, m), 7.01 (2H, m), 6.94 (1H, d, J = 8.4 Hz), 4.82 (2H, m), 2.98 (2H, m), 2.41 (4H, m), 2.18 (3H, m).

Produto 31a: (2Z,3E)-5'-metóxi-3-((2-(piperazin-1-il)etoxi)imino)-[2,3'-biindolinilideno]-2'-ona di-hidrocloreto (Composto 46)

^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ (ppm) 11.74 (s, 1H), 10.49 (s, 1H), 8.35 (d, J = 2.2 Hz, 1H), 8.22 (d, J = 7.4 Hz, 1H), 7.40 (m, 2H), 7.02 (m, 1H), 6.75 (d, J = 8.3 Hz, 1H), 6.70 (dd, J = 7.6 Hz, 2.4 Hz, 1H), 4.75 (m, 2H), 3.72 (s, 3H), 2.90 (m, 2H), 2.74 (m, 3H), 2.47 (m, 3H).

Produto 31b: (2Z,3E)-5'-metóxi-3-((2-(4-metilpiperazin-1-il)etoxi)imino)-[2,3'-biindolinilideno]-2'-ona di-hidrocloreto (Composto 47)

^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ (ppm) 11.76 (s, 1H), 10.51 (s, 1H), 8.38 (d, J = 2.1 Hz, 1H), 8.23 (d, J = 7.4 Hz, 1H), 7.42 (m, 2H), 7.02 (m, 1H), 6.75 (d, J = 8.3 Hz, 1H), 6.72 (m, 1H), 4.75 (m, 2H), 3.72 (s, 3H), 2.94 (m, 2H), 2.36 (m, 3H), 2.17 (m, 3H).

[064] Os compostos assim obtidos foram dissolvidos em DMSO (Fisher, Waltham, MA, EUA) a uma concentração de 10 mmol/L e armazenados a -20°C.

Exemplo 3: Análise de quinase in vitro

[065] A inibição da atividade de FLT3 quinase foi medida por meio de ensaios homogêneos de fluorescência determinados pelo tempo (HTRF). As proteínas recombinantes contendo o domínio de FLT3 quinase foram adquiridas com a Carna biosciences (Japão). As concentrações ideais de enzima, ATP e substrato foram estabelecidas usando o kit HTRF KinEASE (Cisbio, França) de acordo com as instruções do fabricante. As enzimas FLT3 foram misturadas em sequência com compostos diluídos e substratos peptídicos em um tampão de reação de quinase (HEPES 50 mM (pH 7,0), ATP 500 μ M, ATP 500 μ M, ortovanadato de sódio 0,1 mM, MgCl₂ 5 mM, DTT 1 mM, albumina de soro bovino a 0,01% (BSA) e NaN₃ a 0,02%). Após a adição dos reagentes para detecção, o sinal de TR-FRET foi medido usando um leitor de múltiplas etiquetas Victor (Perkin Elmer, Waltham, MA, EUA). O IC₅₀ foi calculado por regressão não linear usando o Prism versão 5.01 (GraphPad). Os ensaios de JAK2, JAK3, cMET e RET de quinase in vitro também foram realizados usando o ensaio HTRF.

[066] A análise de quinase in vitro para IRAK4 foi realizada utilizando o ensaio de atividade de ultra quinase LANCE (Perkin Elmer) incluindo o peptídeo ULight-p70S6K (Thr389) (motivo de fosforilação FLGFTYVAP). Os ensaios consistiram de enzimas misturadas com compostos sequencialmente diluídos, peptídeo ULight-p70S6K (Thr389) 50 nM e ATP 500 μ M, que foram pré-diluídos em tampão de quinase (HEPES 50 mM (pH 7,5), MgCl₂ 10 mM, EGCl 1 mM, 2 mM DTT e 0,01% de Tween20). A reação de quinase foi incubada a 25°C por 90 minutos e finalizada pela adição de EDTA de 10 mM. Para a detecção do substrato fosfo, o anticorpo Eu-anti-fosfo-p70S6K (Thr389) diluído com tampão de detecção foi adicionado a uma concentração final de 2 nM e os produtos reagidos foram incubados a 25°C por 1 hora. O sinal foi medido com um leitor de etiquetas múltiplas EnVision.

Exemplo 4: Xenoenxerto de tumor de camundongo (Xenoenxerto MV4; 11)

[067] MV4; 11 células foram inoculadas subcutaneamente no flanco de camundongos fêmeas BALB/c nu/nu (nu atímico) (5×10^6 células/camundongo). Quando o tumor atingiu um volume médio de 100 mm^3 (aproximadamente 14 dias após a inoculação), os camundongos foram divididos aleatoriamente em 3 grupos ($n = 10$ para o grupo controle, $n = 6$ para grupos de 5 mg/kg ou 10 mg/kg) e injetados com 5 mg/kg ou 10 mg/kg de LDD1937 a 20 ml/kg em PBS ou PBS puro (controle) na veia da cauda. O medicamento ou o controle PBS foi injetado diariamente por um período de 21 dias. O tamanho do tumor foi medido duas vezes por semana, durante 21 dias, e o volume do tumor foi calculado com a seguinte equação: $V \text{ (volume)} = X \text{ (comprimento)} \times D \text{ (largura)}^2 / 2$. Após 21 dias, os ratos foram sacrificados e os pesos dos tumores foram medidos.

Exemplo 5: Xenoenxerto de tumor de camundongo (Xenoenxerto MDA-MB-231)

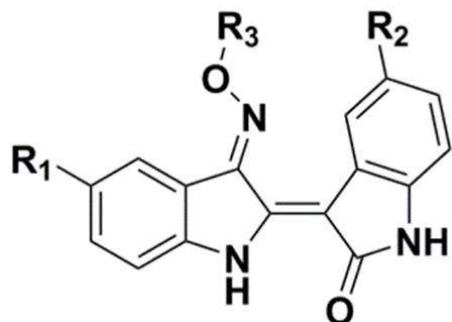
[068] Camundongos Balb/c nu/nu de 6 semanas de idade (fêmeas) foram adquiridos no Central Lab. Animal Inc. para serem usados. A linhagem celular MDA-MB-231 foi adquirida da ATCC para ser usada. 1×10^7 de células foram inoculadas para cada camundongo, a fim de criar um modelo de camundongo portador de tumor, e 100 μL de uma solução de mistura de matrigel/PBS em conserva foram utilizados como solvente. A administração do medicamento foi iniciada quando o volume do tumor atingiu 200 mm^3 a 300 mm^3 (em princípio, o volume do tumor foi medido diariamente e o volume foi calculado pela seguinte equação: $V \text{ (volume)} = X \text{ (comprimento)} \times D \text{ (largura)}^2 / 2$).

[069] As substâncias candidatas LDD-2614 (Composto 21), 2633 (Composto 28), 2634 (Composto 34), 2635 (Composto 33) foram administradas a 20 mg/kg/po/dia, e foi administrada doxorubicina, que era um controle, foi administrada a 5 mg/kg/ip (uma vez por semana) por 4 semanas.

Resultados experimentais

1. LDD1937 como inibidor da atividade de FLT3 quinase

[070] A tabela 1 mostra a atividade inibitória contra FLT3 e MV4;11.



[Tabela 1]

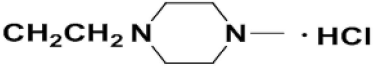
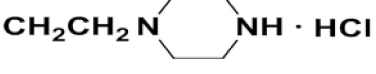
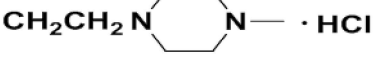
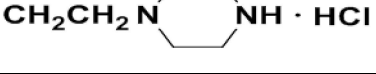
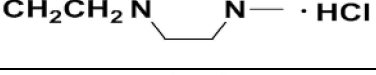
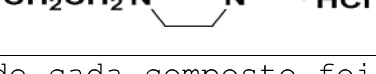
Composto	R ₁	R ₂	R ₃	IC ₅₀ (nM)	
				FLT3 ^a	MV4;11 ^a
1	H	COOCH ₃	H	2890	41
2	H	COOCH ₃	CH ₂ CH ₂ Br	19	51
3	H	COOCH ₃	CH ₂ CH ₂ NH ₂ · HCl	5	15
4(LDD1937)	H	COOCH ₃	CH ₂ CH ₂ N  · 2HCl	3	1
5	H	COOCH ₃	CH ₂ CH ₂ N  · 2HCl	11	11
6	H	COOCH ₃	CH ₂ CH ₂ N  · HCl	253	53
7	H	COOH	H	8	4020
8	H	COOH	CH ₂ CH ₂ Br	13	340
9	H	COOH	CH ₂ CH ₂ NH ₂ · HCl	3	150
10(LDD1940)	H	COOH	CH ₂ CH ₂ N  · 2HCl	3	40
11	H	COOH	CH ₂ CH ₂ N  · 2HCl	3	176
12	H	COOH	CH ₂ CH ₂ N  · HCl	8	1000
CEP-701				3	33

[071] A Tabela 2 mostra a atividade inibidora dos Compostos 13 a 37 contra FLT3, MV4; 11 e MDA-MB-231.

[Tabela 2]

Composto	R ₁	R ₂	R ₃	IC ₅₀ (nM)	GI ₅₀ (nM)	GI ₅₀ (nM)
				FLT3 ^a	MV4;11	MDA-MB-231
13	OH	NO ₂	H	23, 4	170	567, 6
14	OH	NO ₂	CH ₂ CH ₂ N  · 2HCl	18, 9	50	29, 10
15	H	NO ₂	CH ₂ CH ₂ NH ₂ · HCl	N. A	N. A	> 1
16	H	NO ₂	CH ₂ CH ₂ N  · 2HCl	13, 2	7, 01	74, 30

17	F	NO ₂	<chem>CH2CH2N1CCCCC1NH\cdot 2HCl</chem>	35,5	10,2	88,80
18	F	NO ₂	<chem>CH2CH2N1CCCCC1N\cdot 2HCl</chem>	35,5	118,1	69,70
19	F	NO ₂	<chem>CH2CH2N1CCCCC1\cdot HCl</chem>	453	1,49	804,10
20	F	NO ₂	<chem>CH2CH2N1CCCC1\cdot HCl</chem>	112	446,7	144,1
21	F	F	<chem>CH2CH2N1CCCCC1NH\cdot 2HCl</chem>	26,2	8,9	120,6
22	F	F	<chem>CH2CH2N1CCCCC1N\cdot 2HCl</chem>	40,4	N. A	600,4
23	F	F	<chem>CH2CH2N1CCCCC1\cdot HCl</chem>	45	3,19	> 1
24	F	F	<chem>CH2CH2N1CCCC1\cdot HCl</chem>	116	633,9	346,90
25	F	F	<chem>CH2CH2N1CCCCC1N\cdot HCl</chem>	81,5	85,67	> 1
26	F	F	<chem>CH2CH2N1CCCCC1NH\cdot 2HCl</chem>	45,2	8,47	972,2
27	F	F	<chem>CH2CH2N1CCCCC1O\cdot HCl</chem>	939	115,5	> 10
28	H	H	<chem>CH2CH2N1CCCCC1NH\cdot 2HCl</chem>	2,7	0,51	275,5
29	H	H	<chem>CH2CH2N1CCCCC1N\cdot 2HCl</chem>	7,42	54,8	483,4
30	H	H	<chem>CH2CH2N1CCCCC1\cdot HCl</chem>	251	138,5	> 1
31	H	H	<chem>CH2CH2N1CCCC1\cdot HCl</chem>	51,9	103,5	313,10
32	H	H	<chem>CH2CH2N1CCCCC1NH\cdot 2HCl</chem>	50,9	15,1	320,30
33	H	F	<chem>CH2CH2N1CCCCC1NH\cdot 2HCl</chem>	0,9	1,0	116,6
34	H	F	<chem>CH2CH2N1CCCCC1N\cdot 2HCl</chem>	3,2	11,09	126,6
35	H	F	<chem>CH2CH2N1CCCCC1\cdot HCl</chem>	142	263,3	804,8
36	H	F	<chem>CH2CH2N1CCCC1\cdot HCl</chem>	267	212	805
37	H	F	<chem>CH2CH2N1CCCCC1NH\cdot 2HCl</chem>	9,47	11,9	362,12
38	H	Cl	<chem>CH2CH2N1CCCCC1NH\cdot HCl</chem>	1,3	11,0	-
39	H	Cl	<chem>CH2CH2N1CCCCC1N\cdot HCl</chem>	2,4	37,0	-

40	H	Br		1,0	10,0	-
41	H	Br		4,8	25,0	-
42	H	I		1,8	9,0	-
43	H	I		5,8	32,0	-
44	H	OCF ₃		40,2	20,0	-
45	H	OCF ₃		5,6	22,0	-
46	H	OCH ₃		12,4	17,0	-
47	H	OCH ₃		2,1	7,0	-

[072] A atividade de cada composto foi testada 3 vezes.

[073] Os presentes inventores relataram anteriormente que uma série de derivados de indirubina substituída em 5 são como inibidores potentes de FLT3, que inibem efetivamente o crescimento de células de leucemia mieloide aguda [21]. Embora a indirubina tenha um potente efeito inibidor da quinase, sua baixa solubilidade na água causou alguns problemas fisiológicos. A fim de abordar os problemas de solubilidade desses derivados de indirubina, os presentes inventores projetaram e sintetizaram novos análogos tendo grupos funcionais hidrofílicos nas moléculas.

[074] Recentemente, os presentes inventores descobriram que o derivado de 5-carboxi-indirubina 7 inibiu fortemente a FLT3 quinase ($IC_{50} = 8$ nM) sem atividade antiproliferativa contra a linhagem celular de leucemia humana MV4; 11, que expressa FLT3-ITD (ver Tabela 1). Curiosamente, o correspondente análogo 1 de 5-carboxi éster mostrou atividade potente anti-proliferativa contra MV4; 11 células ($IC_{50} = 41$ nM) apesar da atividade inibidora de FLT3 muito fraca. Portanto, os presentes inventores tentaram otimizar para aumentar a atividade inibidora do

crescimento de FLT3 quinase e MV4; 11, realizando derivatização adicional na posição 3' da espinha dorsal da indirubina.

[075] Foi relatado que a substituição de 3'-alquil de derivados de indirubina oxima por outras cinases confere vantagens como maior potência e solubilidade em água. Embora não tenha havido relatos de derivados de indirubina oxima substituídos por 3'-alquil com grupos de 5-ácido carboxílico ou éster como inibidores de FLT3, os presentes inventores sintetizaram esses análogos para obter a vantagem da substituição de alquil na posição da oxima 3'. O efeito inibitório dos análogos de indirubina substituídos em 3' é descrito na Tabela 1. Em geral, os compostos substituídos por alquil mostraram uma atividade inibidora aumentada contra FLT3 e MV4; 11 em comparação com os compostos 1 e 7. Os análogos do composto 1 substituído por 5-éster mostraram uma atividade inibidora potente contra a FLT3-quinase, bem como MV4; 11 células. No entanto, os derivados de 5-carboxi (9-12) mostraram uma atividade inibidora ligeiramente inferior à dos análogos de 5-éster (3-6), apesar de uma forte atividade inibidora contra a FLT3 quinase. Os efeitos inibidores contra FLT3 e MV4; 11 dependiam do substituinte na posição R. A atividade inibidora contra FLT3 aumentou na ordem de morfolina, etil brometo < N-metil piperazina < amina, piperazina, enquanto a atividade inibidora contra MV4; 11 aumentou na seguinte ordem: morfolina, etil brometo < amina, N-metil piperazina < piperazina. As substituições de etil brometo e morfolina na posição R (Compostos 2, 6, 8 e 12) não tiveram um efeito crucial na capacidade inibidora contra FLT3 e MV4; 11) Os compostos 4 e 10 de etil piperazina mostraram a atividade inibidora mais potente contra FLT3 ($IC_{50}=3$ nM) e MV4; 11 ($IC_{50}=1$ nM e 40nM) em cada série. Além disso, o composto 4 inibiu mais potentemente o crescimento de células MV4; 11 que o CEP-701, um conhecido inibidor de FLT3. Surpreendentemente, todas as séries substituídas por alquil do composto 1 de 5-metil éster mostraram uma atividade inibidora significativamente aumentada contra a FLT3-quinase. O composto 4 substituído por etil piperazina mostrou a atividade mais potente contra FLT3 ($IC_{50}=3$ nM) e MV4;

11 ($IC_{50}=1$ nM), cuja atividade foi aumentada em 1000 e 40 vezes, respectivamente, em comparação com o composto 1 inicial. Além disso, a introdução de um alquil substituinte na posição 3'-oxima de indirubina 7 de 5-ácido carboxílico melhorou significativamente o efeito inibidor contra MV4; 11. Semelhante à família de 5-metil éster, o composto 10 substituído por piperazina mostrou o efeito inibidor mais potente contra FLT3 e MV4; 11. No entanto, o composto 10 mostrou uma atividade inibidora moderada apenas contra células MV4; 11, apesar de sua potente atividade inibidora contra FLT3 quinase. Os presentes inventores previram que os derivados de 5-ácido carboxílico seriam polares demais para passar através da membrana celular.

[076] No processo de identificação dos inibidores da tirosina quinase receptora, vários análogos da indirubina foram sintetizados e sua relação de atividade da estrutura foi investigada (Tabela 1). Entre 12 compostos, o Composto 4 (LDD1937, FIG. 1A), metil (2Z,3E)-2'-oxo-3-((2-(piperazin-1-il)etoxi)imino)-[2,3'-biindolinilideno]-5'-carboxilato di-hidrocloreto foi selecionado e ainda caracterizado. Como mostrado na FIG. 1B, o IC_{50} do Composto 4 (LDD1937) contra a atividade de FLT3 quinase foi de 3 nM. Os valores de IC_{50} do Composto 4 em relação a outras atividades de quinase também foram medidos (Tabela 3). Havia pelo menos uma diferença de 170 vezes no IC_{50} entre FLT3 e outras quinases.

[Tabela 3]

Quinase	IC_{50} (μ M)
FLT3	0.003 ± 0.00052
JAK2	0.52 ± 0.0727
JAK3	0.69 ± 0.0599
cMET	0.25 ± 0.074
IRAK4	0.30 -

Os dados indicaram a média $\pm$ S.D.

2. Inibição de proliferação de célula MV4; 11 e indução de morte celular apoptótica seletiva de LDD1937.

[077] As células MV4; 11 são células de leucemia com uma mutação na tirosina quinase FLT3 receptora. O MV4; 11 células abrigam

uma mutação de FLT3 (FLT3-ITD) com uma duplicação sequencial interna (ITD) no domínio justamembrana, o que causa a ativação constitutiva da atividade de FLT3 [3]. O crescimento e a sobrevivência da célula MV4; 11 dependem da atividade de FLT3 [23]. A citotoxicidade por LDD1937 foi medida e apresentada na Tabela 4. As células Jurkat de linfócitos T imortalizadas, células PC-3 de câncer de próstata, células MCF-7 de câncer de mama e células K562 de eritropoiese também foram usadas para o ensaio de citotoxicidade. As células MV4; 11 apresentaram uma alta sensibilidade ao tratamento de LDD1937 ($GI_{50} = 1$ nM) em comparação com outras linhas celulares. Em termos dos valores do GI_{50} , o LDD1937 foi de 1000 a 2000 vezes mais potentes nas células MV4;11 do que em outras linhas celulares.

[Tabela 4]

Linhagem celular	GI_{50} (μ M)
MV-4-11	0.0012 $\pm$ 0.00015
Jurkat	1.44 $\pm$ 0.29
PC-3	1.1 $\pm$ 0.14
MCF-7	2.14 $\pm$ 0.16
K562	1.21 $\pm$ 0.33

Os dados indicaram a média $\pm$ S.D.

3. Inibição do Crescimento Tumoral de LDD1937 in vivo

[078] Para examinar a eficácia do LDD1937 in vivo, um estudo de xenoenxerto de MV4; 11 foi realizado. As células MV4; 11 foram injetadas por via subcutânea em camundongos BALB/c nu/nu para fazer crescer tumores com um tamanho de aproximadamente 100 mm³. Além disso, o LDD1937 ou o controle de PBS foi administrado por via intravenosa por 3 semanas. Como mostrado na FIG. 2A, o tamanho do tumor do grupo de LDD1937 foi significativamente menor do que o do grupo controle. Em particular, no grupo de 10 mg/kg, o tumor desapareceu a partir do dia 3, que foi baseado no volume medido do tumor (FIG. 2A). A dissecação do local de injeção do tumor confirmou o desaparecimento completo da massa tumoral no grupo de 10 mg/kg. Portanto, o peso do tumor só pôde ser medido no grupo controle e no grupo 5 mg/kg, e houve uma diminuição significativa no peso do tumor no grupo 5 mg/kg do

LDD1937 (FIG. 2B). Além disso, não houve diferença significativa no peso corporal entre os grupos durante o período de administração (FIG. 3).

4. Efeito anticancerígeno in vivo de 4 compostos

[079] Para examinar a eficácia in vivo de quatro derivados de indirubina, foi realizado um estudo de xenoenxerto de MDA-MB-231. As células cultivadas foram cultivadas em camundongos BALB/c nu/nu (fêmea) até um tamanho de tumor de aproximadamente 200 mm³ a 300 mm³. Além disso, quatro derivados de indirubina, LDD-2614 (Composto 21), 2633 (Composto 28), 2634 (Composto 34) e 2635 (Composto 33) foram administrados cada um a 20 mg/kg. Como grupo comparativo, a doxorrubicina foi administrada a 5 mg/kg por 4 semanas. Como mostrado na FIG. 4, não houve diferença significativa nos pesos do fígado e dos rins após a administração dos quatro compostos, mas houve alguma diferença no peso do tecido canceroso. Durante o mesmo período, foi confirmado que o volume de tecido canceroso foi reduzido para um nível semelhante ao do grupo de controle (FIG. 5). A dissecação do local de injeção do tumor confirmou que três compostos de 2633 (Composto 28), 2634 (Composto 34) e 2635 (Composto 33) apresentaram efeitos anticâncer semelhantes ao Grupo Comparativo (FIG. 6)

[080] A tirosina quinase receptora similar a FMS (FLT3) pertence à família da tirosina quinase receptora (RTK), e mutações de FLT3 foram observadas em 1/3 dos pacientes com leucemia mieloide aguda (LMA). Como descrito acima, os presentes inventores identificaram um inibidor LDD1937 potente de FLT3, que inclui um esqueleto de indirubina. A potente atividade inibidora de LDD1937 contra FLT3 foi demonstrada com um ensaio de quinase in vitro ($IC_{50} = 3 \text{ nM}$). O composto LDD1937 inibiu seletivamente o crescimento de células MV4; 11 ($GI_{50} = 1 \text{ nM}$) e induziu a morte celular apoptótica. O LDD1937 causou parada do ciclo celular na fase G₂/M e aumentou a população de células na fase sub-G₁. A fosforilação de STAT5, uma sinalização downstream de FLT3, foi significativamente reduzida por LDD1937 de uma maneira dependente da dose. As propriedades farmacocinéticas de LDD1937

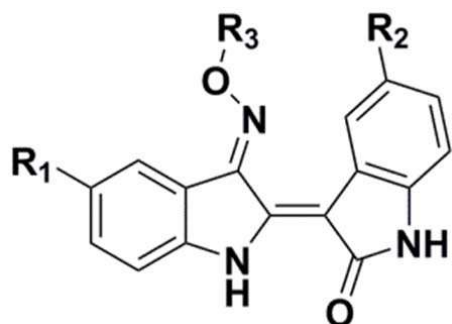
foram investigadas em camundongos. Além disso, o efeito antitumoral in vivo foi avaliado usando xenoenxertos de MV4; 11. O volume e o peso do tumor diminuíram significativamente em comparação com o grupo de controle com a administração intravenosa de 5 mg/kg e 10 mg/kg em camundongos nu/nu.

[081] Embora partes específicas da presente invenção tenham sido descritas em detalhes, será evidente para os especialistas na técnica que essas técnicas específicas são apenas uma modalidade preferencial e que o escopo da presente invenção não está limitado a elas. Portanto, o escopo essencial da presente invenção será definido pelas reivindicações anexas e seus equivalentes.

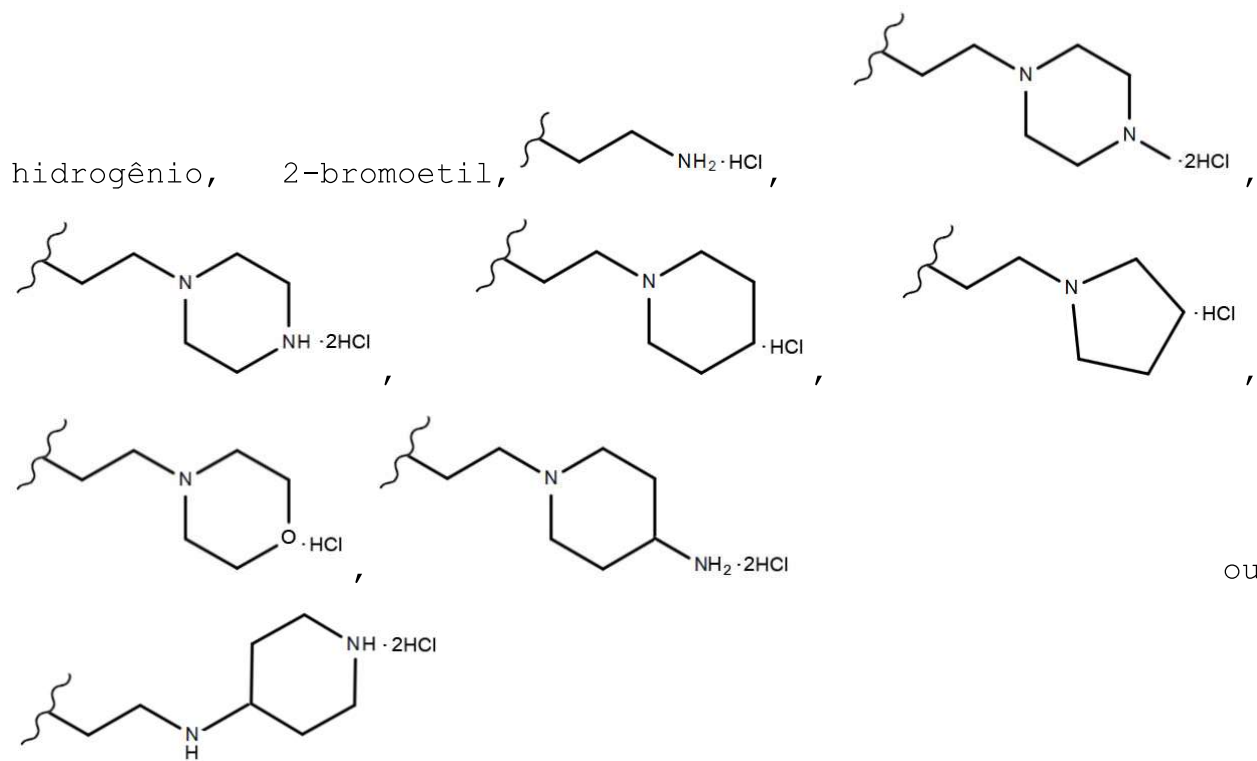
Reivindicações

1. Um composto caracterizado por ser representado pela Fórmula Química 1 abaixo, um sal aceitável farmaceuticamente, um solvato ou um hidrato do mesmo:

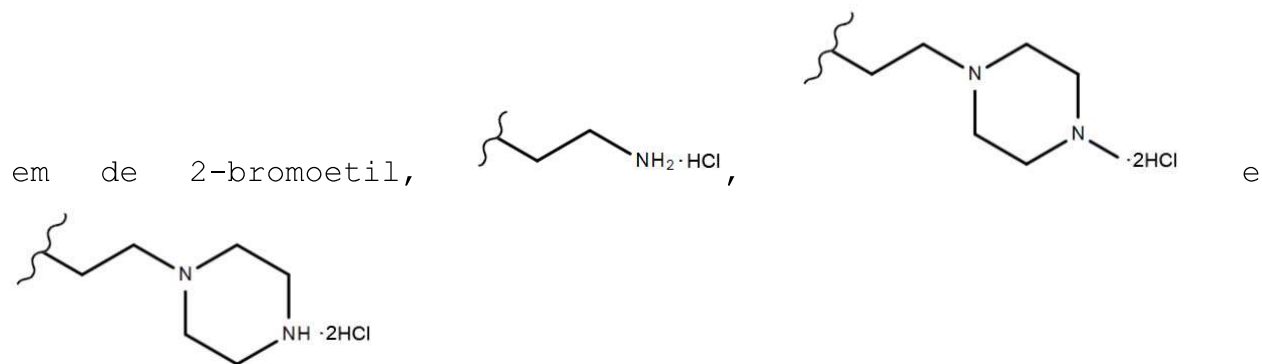
Fórmula química 1



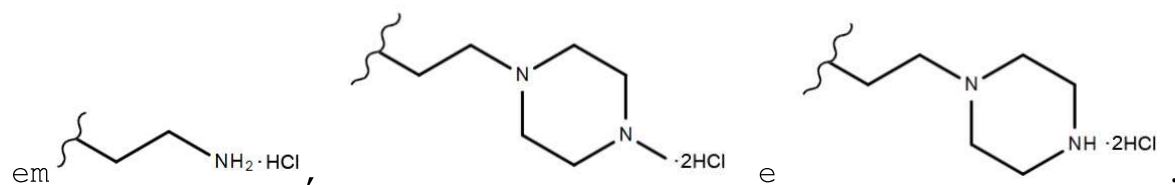
Na Fórmula química 1, R_1 é hidrogênio, fluoro ou hidroxil, R_2 é hidrogênio, halógeno, nitro, carboxil, C_1 - C_4 alquil éster ou C_1 - C_4 alcoxi substituído ou não substituído por halógeno e R_3 é



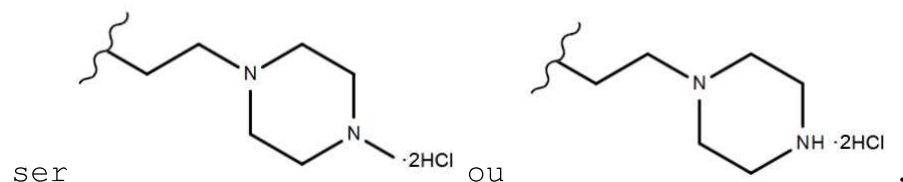
2. O composto, um sal aceitável farmaceuticamente, um solvato ou um hidrato da reivindicação 1, caracterizado por R_3 ser qualquer um dos substituintes selecionados no grupo que consiste



3. O composto, um sal aceitável farmacêuticamente, um solvato ou um hidrato da reivindicação 1, caracterizado por R_3 ser qualquer um dos substituintes selecionados no grupo que consiste



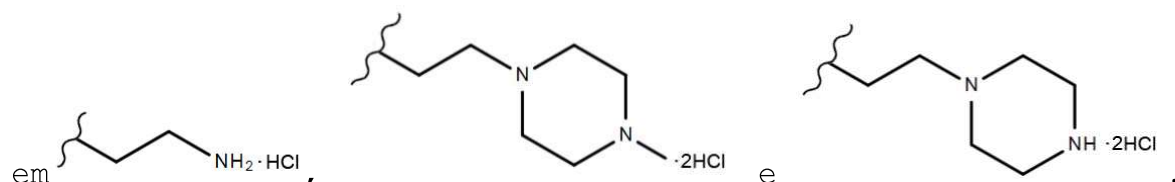
4. O composto, um sal aceitável farmacêuticamente, um solvato ou hidrato da reivindicação 1, caracterizado por R_3



5. O composto, um sal aceitável farmacêuticamente, um solvato ou um hidrato de qualquer uma das reivindicações 1 a 4, caracterizado por R_2 ser C_1 - C_4 alquil éster.

6. O composto, um sal aceitável farmacêuticamente, um solvato ou um hidrato da reivindicação 5, caracterizado por C_1 - C_4 alquil éster ser metil éster.

7. O composto, um sal aceitável farmacêuticamente, um solvato ou um hidrato da reivindicação 5, caracterizado por R_3 ser qualquer um dos substituintes selecionados no grupo que consiste



8. O composto, um sal aceitável farmacêuticamente, um solvato ou um hidrato da reivindicação 1, caracterizado pelo composto representado pela Fórmula Química 1 ser qualquer um selecionado

do grupo que consiste nos seguintes componentes: metil (2Z,3E)-2'-oxo-3-((2-(piperazin-1-il)etoxi)imino)-[2,3'-biindolinilideno]-5'-carboxilato hidrocloreto (Composto 4), metil (2Z,3E)-3-(hidroxi-imino)-2'-oxo-[2,3'-biindolinilideno]-5'-carboxilato (Composto 1), metil (2Z,3E)-3-((2-bromoetoxi)imino)-2'-oxo-[2,3'-biindolinilideno]-5'-carboxilato (Composto 2), metil (2Z,3E)-3-((2-aminoetoxi)imino)-2'-oxo-[2,3'-biindolinilideno]-5'-carboxilato hidrocloreto (Composto 3), metil (2Z,3E)-3-((2-(4-metilpiperazin-1-il)etoxi)imino)-2'-oxo-[2,3'-biindolinilideno]-5'-carboxilato di-hidrocloreto (Composto 5), metil (2Z,3E)-3-((2-morfolinoetoxi)imino)-2'-oxo-[2,3'-biindolinilideno]-5'-carboxilato hidrocloreto (Composto 6), (2Z,3E)-3-((2-bromoetoxi)imino)-2'-oxo-[2,3'-biindolinilideno]-5'-ácido carboxílico (Composto 8), (2Z,3E)-3-((2-aminoetoxi)imino)-2'-oxo-[2,3'-biindolinilideno]-5'-ácido carboxílico hidrocloreto (Composto 9), (2Z,3E)-2'-oxo-3-((2-(piperazin-1-il)etoxi)imino)-[2,3'-biindolinilideno]-5'-ácido carboxílico di-hidrocloreto (Composto 10), (2Z,3E)-3-((2-(4-metilpiperazin-1-il)etoxi)imino)-2'-oxo-[2,3'-biindolinilideno]-5'-ácido carboxílico di-hidrocloreto (Composto 11), (2Z,3E)-3-((2-morfolinoetoxi)imino)-2'-oxo-[2,3'-biindolinilideno]-5'-carboxilato hidrocloreto (Composto 12), (2Z,3E)-5-hidroxi-3-(hidroxi-imino)-5'-nitro-[2,3'-biindolinilideno]-2'-ona (Composto 13), (2Z,3E)-5-hidroxi-3-((2-(4-metilpiperazin-1-il)etoxi)imino)-5'-nitro-[2,3'-biindolinilideno]-2'-ona di-hidrocloreto (Composto 14), (2Z,3E)-3-((2-aminoetoxi)imino)-5'-nitro-[2,3'-biindolinilideno]-2'-ona hidrocloreto (Composto 15), (2Z,3E)-5'-nitro-3-((2-(piperazin-1-il)etoxi)imino)-[2,3'-biindolinilideno]-2'-ona di-hidrocloreto (Composto 16), (2Z,3E)-5-fluoro-5'-nitro-3-((2-(piperazin-1-il)etoxi)imino)-[2,3'-biindolinilideno]-2'-ona di-hidrocloreto (Composto 17), (2Z,3E)-5-fluoro-3-((2-(4-metilpiperazin-1-il)etoxi)imino)-5'-nitro-[2,3'-biindolinilideno]-2'-ona di-hidrocloreto (Composto 18), (2Z,3E)-5-fluoro-5'-nitro-3-((2-(piperidin-1-il)etoxi)imino)-[2,3'-biindolinilideno]-2'-ona hidrocloreto (Composto 19), (2Z,3E)-5-fluoro-5'-nitro-3-((2-(pirrolidin-1-il)etoxi)imino)-

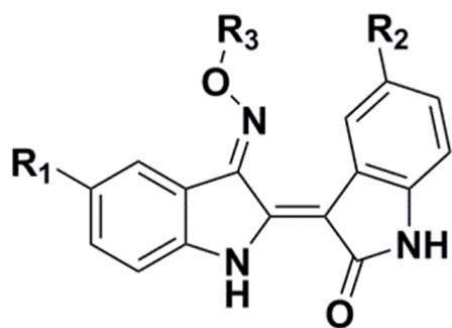
[2,3'-biindolinilideno]-2'-ona idroclorato (Composto 20), (2Z,3E)-5,5'-difluoro-3-((2-(piperazin-1-il)etossi)imino)-[2,3'-biindolinilideno]-2'-ona di-idroclorato (Composto 21), (2Z,3E)-5,5'-difluoro-3-((2-(4-metilpiperazin-1-il)etossi)imino)-[2,3'-biindolinilideno]-2'-ona di-idroclorato (Composto 22), (2Z,3E)-5,5'-difluoro-3-((2-(piperidin-1-il)etossi)imino)-[2,3'-biindolinilideno]-2'-ona idroclorato (Composto 23), (2Z,3E)-5,5'-difluoro-3-((2-(pirrolidin-1-il)etossi)imino)-[2,3'-biindolinilideno]-2'-ona idroclorato (Composto 24), (2Z,3E)-3-((2-(4-aminopiperidin-1-il)etossi)imino)-5,5'-difluoro-[2,3'-biindolinilideno]-2'-ona di-idroclorato (Composto 25), (2Z,3E)-5,5'-difluoro-3-((2-(piperidin-4-ilamino)etossi)imino)-[2,3'-biindolinilideno]-2'-ona di-idroclorato (Composto 26), (2Z,3E)-5,5'-difluoro-3-((2-morfolinoetossi)imino)-[2,3'-biindolinilideno]-2'-ona idroclorato (Composto 27), (2Z,3E)-3-((2-(piperazin-1-il)etossi)imino)-[2,3'-biindolinilideno]-2'-ona di-idroclorato (Composto 28), (2Z,3E)-3-((2-(4-metilpiperazin-1-il)etossi)imino)-[2,3'-biindolinilideno]-2'-ona di-idroclorato (Composto 29), (2Z,3E)-3-((2-(piperidin-1-il)etossi)imino)-[2,3'-biindolinilideno]-2'-ona idroclorato (Composto 30), (2Z,3E)-3-((2-(pirrolidin-1-il)etossi)imino)-[2,3'-biindolinilideno]-2'-ona idroclorato (Composto 31), (2Z,3E)-3-((2-(piperidin-4-ilamino)etossi)imino)-[2,3'-biindolinilideno]-2'-ona di-idroclorato (Composto 32), (2Z,3E)-5'-fluoro-3-((2-(piperazin-1-il)etossi)imino)-[2,3'-biindolinilideno]-2'-ona di-idroclorato (Composto 33), (2Z,3E)-5'-fluoro-3-((2-(4-metilpiperazin-1-il)etossi)imino)-[2,3'-biindolinilideno]-2'-ona di-idroclorato (Composto 34), (2Z,3E)-5'-fluoro-3-((2-(piperidin-1-il)etossi)imino)-[2,3'-biindolinilideno]-2'-ona idroclorato (Composto 35), (2Z,3E)-5'-fluoro-3-((2-(pirrolidin-1-il)etossi)imino)-[2,3'-biindolinilideno]-2'-ona idroclorato (Composto 36), (2Z,3E)-5'-fluoro-3-((2-(piperidin-4-ilamino)etossi)imino)-[2,3'-biindolinilideno]-2'-ona di-idroclorato (Composto 37), (2Z,3E)-5'-cloro-3-((2-(piperazin-1-il)etossi)imino)-[2,3'-biindolinilideno]-2'-ona di-idroclorato (Composto 38), (2Z,3E)-5'-cloro-3-((2-(4-metilpiperazin-1-

il)etoxi)imino)-[2,3'-biindolinilideno]-2'-ona di-hidrocloreto
 (Composto 39), (2Z,3E)-5'-bromo-3-((2-(piperazin-1-il)etoxi)imino)-[2,3'-biindolinilideno]-2'-ona di-hidrocloreto
 (Composto 40), (2Z,3E)-5'-bromo-3-((2-(4-metilpiperazin-1-il)etoxi)imino)-[2,3'-biindolinilideno]-2'-ona di-hidrocloreto
 (Composto 41), (2Z,3E)-5'-iodo-3-((2-(piperazin-1-il)etoxi)imino)-[2,3'-biindolinilideno]-2'-ona di-hidrocloreto
 (Composto 42), (2Z,3E)-5'-iodo-3-((2-(4-metilpiperazin-1-il)etoxi)imino)-[2,3'-biindolinilideno]-2'-ona di-hidrocloreto
 (Composto 43), (2Z,3E)-3-((2-(piperazin-1-il)etoxi)imino)-5'-(trifluorometoxi)-[2,3'-biindolinilideno]-2'-ona di-hidrocloreto
 (Composto 44), (2Z,3E)-3-((2-(4-metilpiperazin-1-il)etoxi)imino)-5'-(trifluorometoxi)-[2,3'-biindolinilideno]-2'-ona di-hidrocloreto
 (Composto 45), (2Z,3E)-5'-metoxi-3-((2-(piperazin-1-il)etoxi)imino)-[2,3'-biindolinilideno]-2'-ona di-hidrocloreto
 (Composto 46) e (2Z,3E)-5'-metoxi-3-((2-(4-metilpiperazin-1-il)etoxi)imino)-[2,3'-biindolinilideno]-2'-ona di-hidrocloreto (Composto 47).

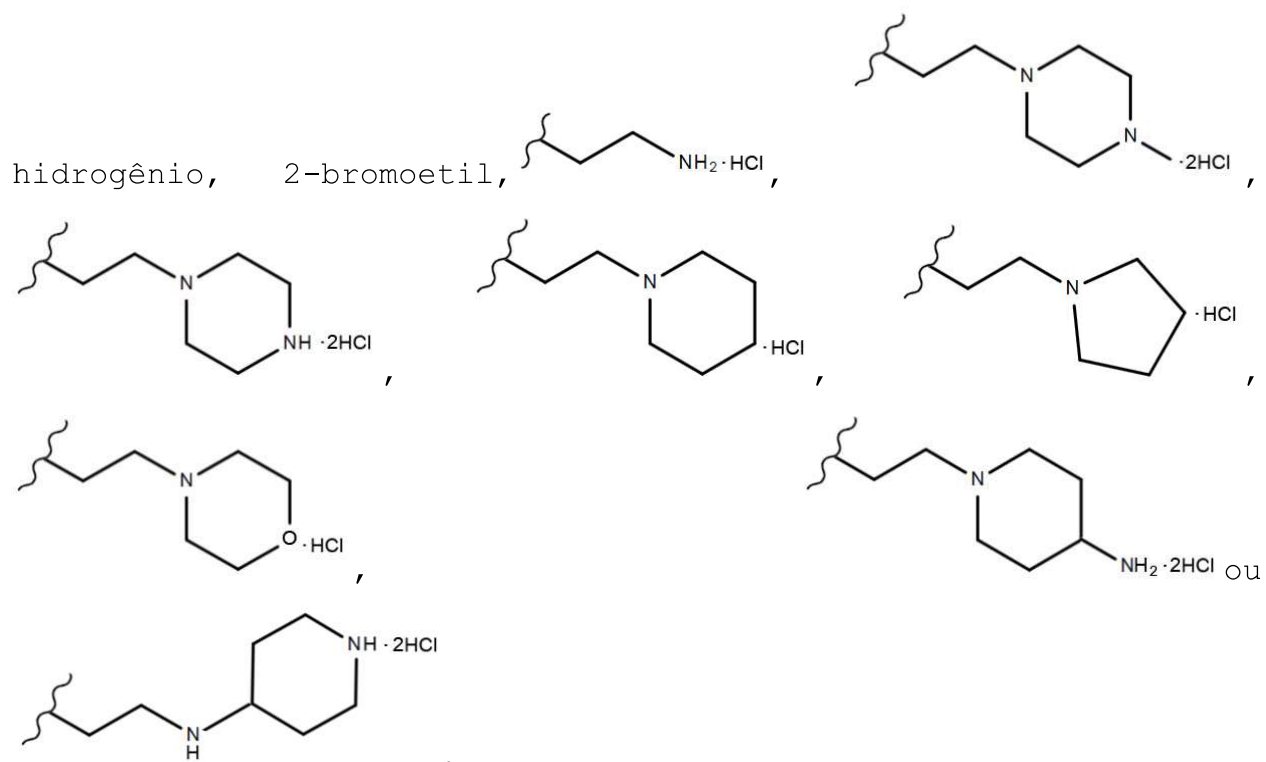
9. O composto, um sal aceitável farmacêuticamente, um solvato ou um hidrato de qualquer uma das reivindicações, caracterizado pelo composto representado pela Fórmula Química 1 ter um valor de IC₅₀ para a inibição de FLT3 de 100 nM ou menos.

10. O composto, um sal aceitável farmacêuticamente, um solvato ou um hidrato de qualquer uma das reivindicações, caracterizado pelo composto representado pela Fórmula Química 1 ter um valor de IC₅₀ para a inibição de FLT3 de 20 nM ou menos.

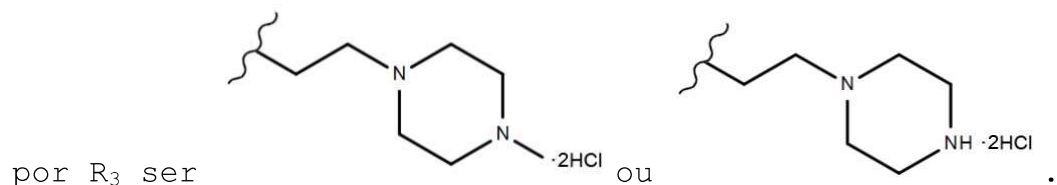
11. Uma composição farmacêutica para evitar ou tratar leucemia mieloide aguda ou câncer de mama metastático caracterizada por compreender: (a) um composto representado pela Fórmula Química 1 abaixo, um sal aceitável farmacêuticamente, um solvato ou um hidrato do mesmo; e (b) um portador aceitável farmacêuticamente:
 Fórmula química 1



Na Fórmula Química 1, R_1 é hidrogênio, fluoro ou hidroxil, R_2 é hidrogênio, halógeno, nitro, carboxil, C_1 - C_4 alquil éster ou C_1 - C_4 alcoxi substituído ou não substituído por halógeno, e R_3 é



12. A composição farmacêutica da reivindicação 11, caracterizada



por R_3 ser

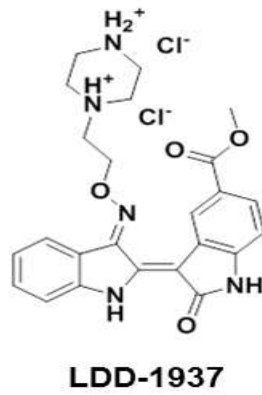
13. A composição farmacêutica da reivindicação 11, caracterizada pelo composto representado pela Fórmula Química 1 ser qualquer um selecionado no grupo que consiste os seguintes compostos: metil (2Z,3E)-2'-oxo-3-((2-(piperazin-1-il)etoxi)imino)-[2,3'-biindolinilideno]-5'-carboxilato di-hidrocloreto (Composto 4), metil (2Z,3E)-3-(hidroxil-imino)-2'-oxo-[2,3'-biindolinilideno]-5'-carboxilato (Composto 1), metil (2Z,3E)-3-((2-

bromoetoxi) imino)-2'-oxo-[2,3'-biindolinilideno]-5'-carboxilato
 (Composto 2), metil (2Z,3E)-3-((2-aminoetoxi) imino)-2'-oxo-
 [2,3'-biindolinilideno]-5'-carboxilato hidrocloreto (Composto
 3), metil (2Z,3E)-3-((2-(4-metilpiperazin-1-il)etoxi) imino)-2'-
 oxo-[2,3'-biindolinilideno]-5'-carboxilato di-hidrocloreto
 (Composto 5), metil (2Z,3E)-3-((2-morfolinoetoxi) imino)-2'-oxo-
 [2,3'-biindolinilideno]-5'-carboxilato hidrocloreto (Composto
 6), (2Z,3E)-3-(hidroxi-imino)-2'-oxo-[2,3'-biindolinilideno]-5'-
 ácido carboxílico (Composto 7), (2Z,3E)-3-((2-bromoetoxi) imino)-
 2'-oxo-[2,3'-biindolinilideno]-5'-ácido carboxílico (Composto
 8), (2Z,3E)-3-((2-aminoetoxi) imino)-2'-oxo-[2,3'-
 biindolinilideno]-5'-ácido carboxílico hidrocloreto (Composto
 9), (2Z,3E)-2'-oxo-3-((2-(piperazin-1-il)etoxi) imino)-[2,3'-
 biindolinilideno]-5'-ácido carboxílico di-hidrocloreto (Composto
 10), (2Z,3E)-3-((2-(4-metilpiperazin-1-il)etoxi) imino)-2'-oxo-
 [2,3'-biindolinilideno]-5'-ácido carboxílico di-hidrocloreto
 (Composto 11), (2Z,3E)-3-((2-morfolinoetoxi) imino)-2'-oxo-[2,3'-
 biindolinilideno]-5'-carboxilato hidrocloreto (Composto 12),
 (2Z,3E)-5-hidroxi-3-(hidroxi-imino)-5'-nitro-[2,3'-
 biindolinilideno]-2'-ona (Composto 13), (2Z,3E)-5-hidroxi-3-((2-
 (4-metilpiperazin-1-il)etoxi) imino)-5'-nitro-[2,3'-
 biindolinilideno]-2'-ona di-hidrocloreto (Composto 14), (2Z,3E)-
 3-((2-aminoetoxi) imino)-5'-nitro-[2,3'-biindolinilideno]-2'-ona
 hidrocloreto (Composto 15), (2Z,3E)-5'-nitro-3-((2-(piperazin-1-
 il)etoxi) imino)-[2,3'-biindolinilideno]-2'-ona di-hidrocloreto
 (Composto 16), (2Z,3E)-5-fluoro-5'-nitro-3-((2-(piperazin-1-
 il)etoxi) imino)-[2,3'-biindolinilideno]-2'-ona di-hidrocloreto
 (Composto 17), (2Z,3E)-5-fluoro-3-((2-(4-metilpiperazin-1-
 il)etoxi) imino)-5'-nitro-[2,3'-biindolinilideno]-2'-ona di-
 hidrocloreto (Composto 18), (2Z,3E)-5-fluoro-5'-nitro-3-((2-
 (piperidin-1-il)etoxi) imino)-[2,3'-biindolinilideno]-2'-ona
 hidrocloreto (Composto 19), (2Z,3E)-5-fluoro-5'-nitro-3-((2-
 (pirrolidin-1-il)etoxi) imino)-[2,3'-biindolinilideno]-2'-ona
 hidrocloreto (Composto 20), (2Z,3E)-5,5'-difluoro-3-((2-
 (piperazin-1-il)etoxi) imino)-[2,3'-biindolinilideno]-2'-ona di-
 hidrocloreto (Composto 21), (2Z,3E)-5,5'-difluoro-3-((2-(4-

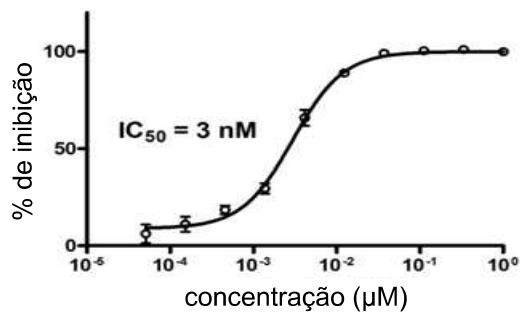
metilpiperazin-1-il)etoxi)imino)-[2,3'-biindolinilideno]-2'-ona
 di-idrocloro (Composto 22), (2Z,3E)-5,5'-difluoro-3-((2-
 (piperidin-1-il)etoxi)imino)-[2,3'-biindolinilideno]-2'-ona
 idrocloro (Composto 23), (2Z,3E)-5,5'-difluoro-3-((2-
 (pirrolidin-1-il)etoxi)imino)-[2,3'-biindolinilideno]-2'-ona
 idrocloro (Composto 24), (2Z,3E)-3-((2-(4-aminopiperidin-1-
 il)etoxi)imino)-5,5'-difluoro-[2,3'-biindolinilideno]-2'-ona di-
 idrocloro (Composto 25), (2Z,3E)-5,5'-difluoro-3-((2-
 (piperidin-4-ilamino)etoxi)imino)-[2,3'-biindolinilideno]-2'-ona
 di-idrocloro (Composto 26), (2Z,3E)-5,5'-difluoro-3-((2-
 morfolinoetoxi)imino)-[2,3'-biindolinilideno]-2'-ona
 idrocloro (Composto 27), (2Z,3E)-3-((2-(piperazin-1-
 il)etoxi)imino)-[2,3'-biindolinilideno]-2'-ona di-idrocloro
 (Composto 28), (2Z,3E)-3-((2-(4-metilpiperazin-1-
 il)etoxi)imino)-[2,3'-biindolinilideno]-2'-ona di-idrocloro
 (Composto 29), (2Z,3E)-3-((2-(piperidin-1-il)etoxi)imino)-[2,3'-
 biindolinilideno]-2'-ona idrocloro (Composto 30), (2Z,3E)-3-
 ((2-(pirrolidin-1-il)etoxi)imino)-[2,3'-biindolinilideno]-2'-ona
 idrocloro (Composto 31), (2Z,3E)-3-((2-(piperidin-4-
 ilamino)etoxi)imino)-[2,3'-biindolinilideno]-2'-ona di-
 idrocloro (Composto 32), (2Z,3E)-5'-fluoro-3-((2-(piperazin-
 1-il)etoxi)imino)-[2,3'-biindolinilideno]-2'-ona di-idrocloro
 (Composto 33), (2Z,3E)-5'-fluoro-3-((2-(4-metilpiperazin-1-
 il)etoxi)imino)-[2,3'-biindolinilideno]-2'-ona di-idrocloro
 (Composto 34), (2Z,3E)-5'-fluoro-3-((2-(piperidin-1-
 il)etoxi)imino)-[2,3'-biindolinilideno]-2'-ona idrocloro
 (Composto 35), (2Z,3E)-5'-fluoro-3-((2-(pirrolidin-1-
 il)etoxi)imino)-[2,3'-biindolinilideno]-2'-ona idrocloro
 (Composto 36), (2Z,3E)-5'-fluoro-3-((2-(piperidin-4-
 ilamino)etoxi)imino)-[2,3'-biindolinilideno]-2'-ona di-
 idrocloro (Composto 37), (2Z,3E)-5'-cloro-3-((2-(piperazin-1-
 il)etoxi)imino)-[2,3'-biindolinilideno]-2'-ona di-idrocloro
 (Composto 38), (2Z,3E)-5'-cloro-3-((2-(4-metilpiperazin-1-
 il)etoxi)imino)-[2,3'-biindolinilideno]-2'-ona di-idrocloro
 (Composto 39), (2Z,3E)-5'-bromo-3-((2-(piperazin-1-
 il)etoxi)imino)-[2,3'-biindolinilideno]-2'-ona di-idrocloro

(Composto 40), (2Z,3E)-5'-bromo-3-((2-(4-metilpiperazin-1-il)etoxi)imino)-[2,3'-biindolinilideno]-2'-ona di-idroclorato
 (Composto 41), (2Z,3E)-5'-iodo-3-((2-(piperazin-1-il)etoxi)imino)-[2,3'-biindolinilideno]-2'-ona di-idroclorato
 (Composto 42), (2Z,3E)-5'-iodo-3-((2-(4-metilpiperazin-1-il)etoxi)imino)-[2,3'-biindolinilideno]-2'-ona di-idroclorato
 (Composto 43), (2Z,3E)-3-((2-(piperazin-1-il)etoxi)imino)-5'-(trifluorometoxi)-[2,3'-biindolinilideno]-2'-ona di-idroclorato
 (Composto 44), (2Z,3E)-3-((2-(4-metilpiperazin-1-il)etoxi)imino)-5'-(trifluorometoxi)-[2,3'-biindolinilideno]-2'-ona di-idroclorato (Composto 45), (2Z,3E)-5'-metoxi-3-((2-(piperazin-1-il)etoxi)imino)-[2,3'-biindolinilideno]-2'-ona di-idroclorato (Composto 46) e (2Z,3E)-5'-metoxi-3-((2-(4-metilpiperazin-1-il)etoxi)imino)-[2,3'-biindolinilideno]-2'-ona di-idroclorato (Composto 47).

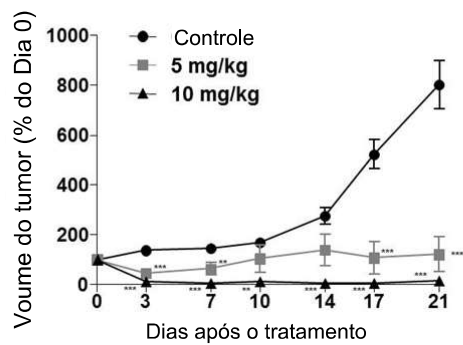
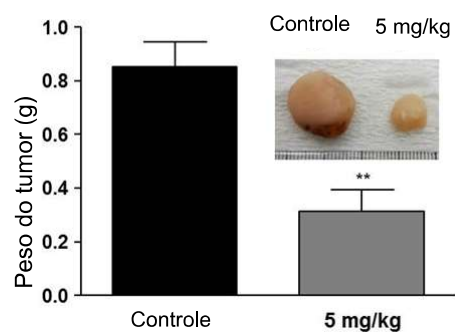
[Fig. 1]

A**B**

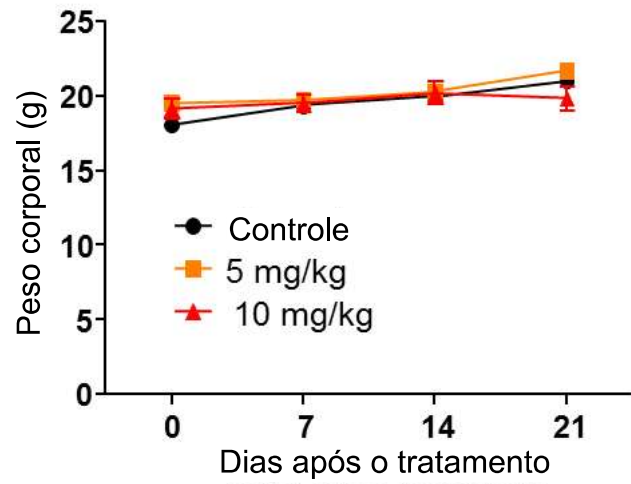
Atividade de FLT3 quinase



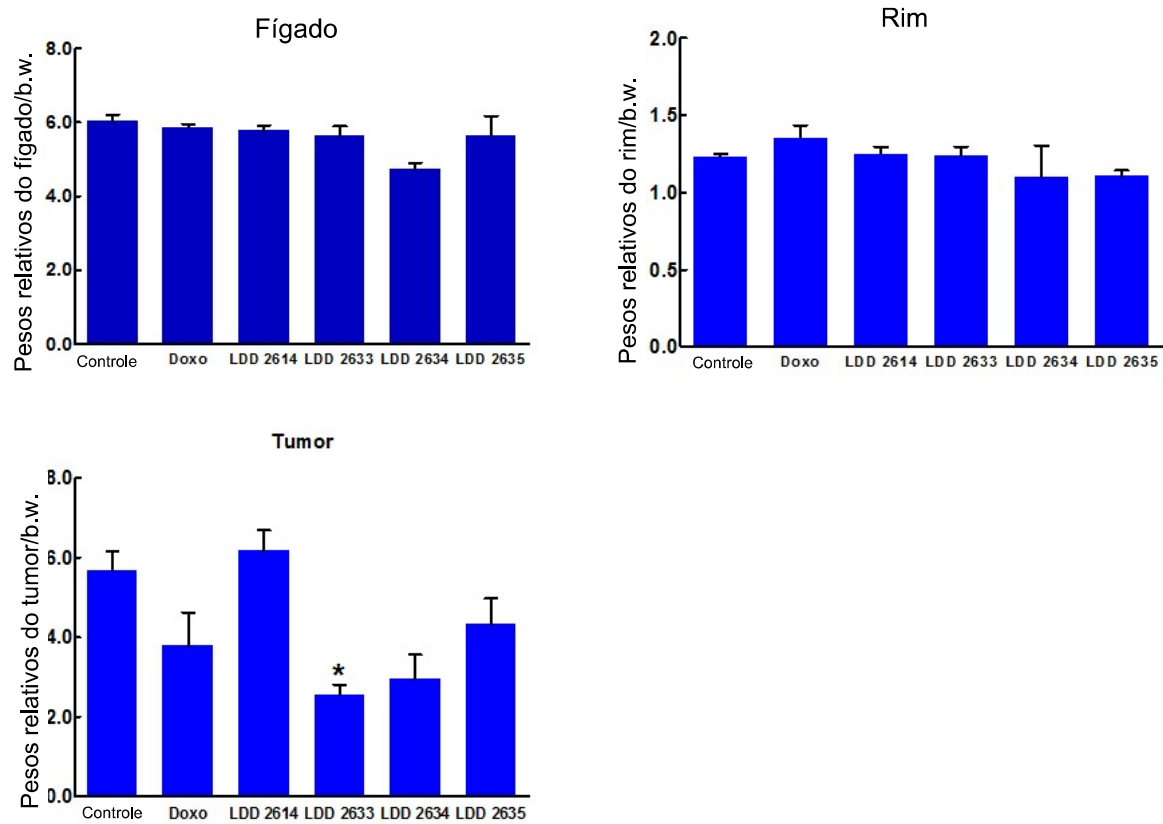
[Fig. 2]

A**B**

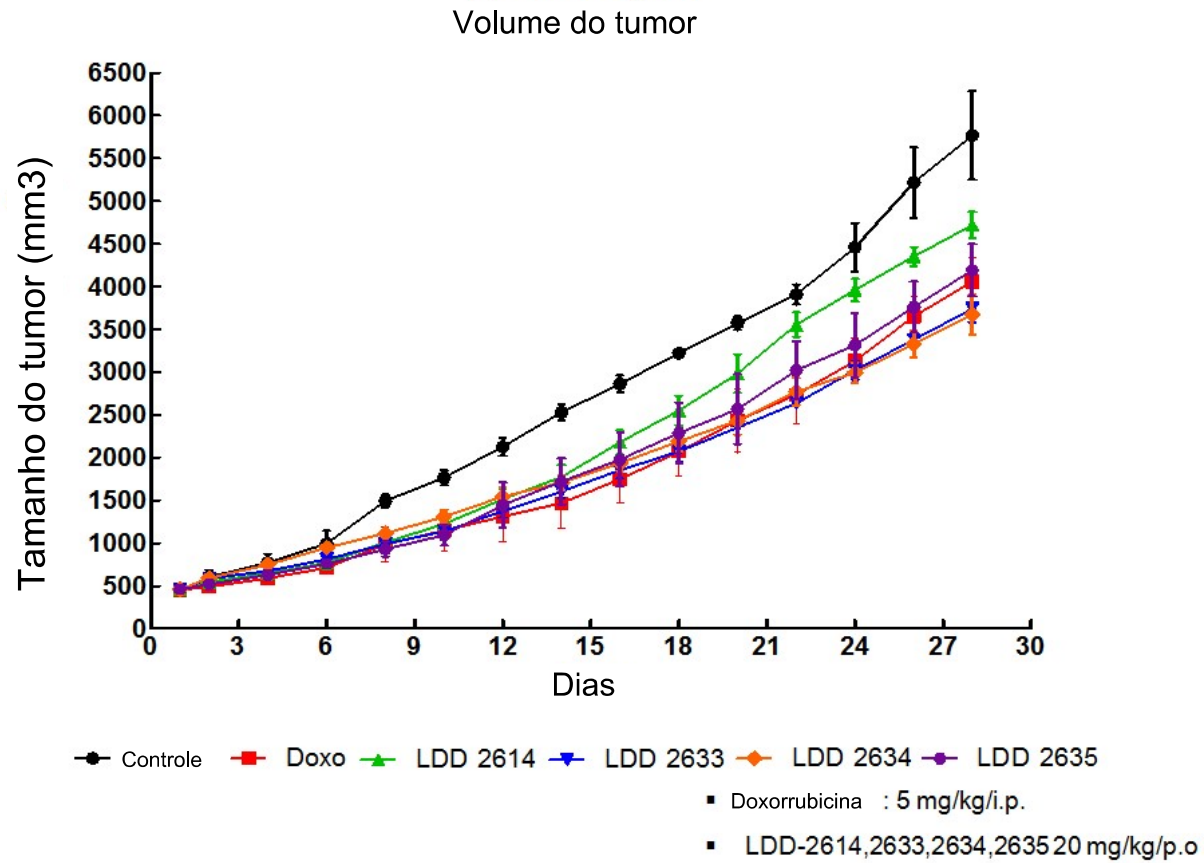
[Fig. 3]



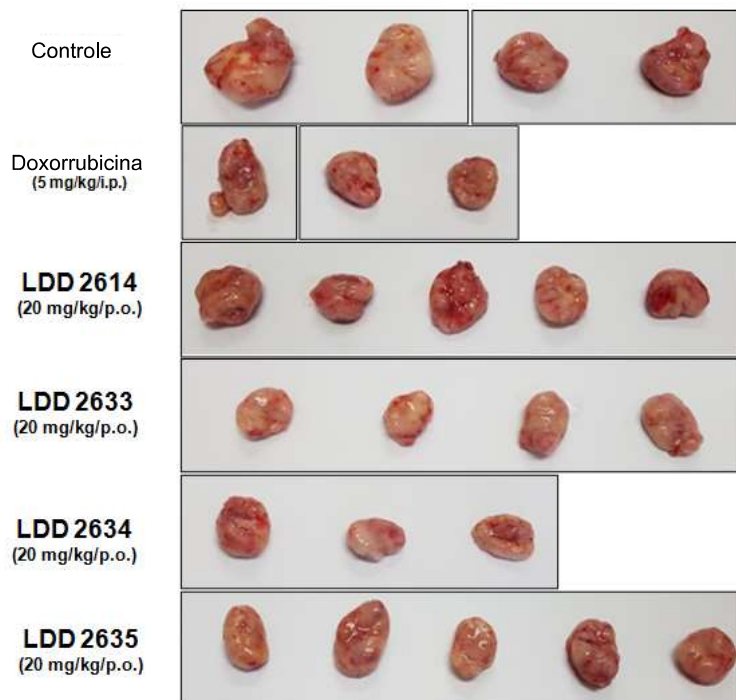
[Fig. 4]



[Fig. 5]



[Fig. 6]



Resumo

COMPOSIÇÃO FARMACÊUTICA PARA PREVENIR OU TRATAR LEUCEMIA MIELOIDE AGUDA OU CÂNCER DE MAMA METASTÁTICO. A presente invenção refere-se a uma composição farmacêutica para prevenir ou tratar leucemia mieloide aguda ou câncer de mama metastático, compreendendo, como um ingrediente ativo, um derivado de indirubina. Quando o composto da presente invenção é usado, ele pode inibir efetivamente a atividade da FLT3 quinase e pode ser utilizado de maneira útil para prevenir ou tratar leucemia mieloide aguda ou câncer de mama metastático.