



(12) **PATENT**

(19) NO

(11) **335685**

(13) **B1**

NORGE

(51) Int Cl.

A61K 31/55 (2006.01)
A61K 31/535 (2006.01)
C07D 498/22 (2006.01)
A61K 31/553 (2006.01)
A61P 19/08 (2006.01)
A61P 35/02 (2006.01)
A61P 43/00 (2006.01)

Patentstyret

(21)	Søknadsnr	20042123	(86)	Int.inng.dag og søknadsnr	2002.10.29 PCT/EP2002/12076
(22)	Inng.dag	2004.05.24	(85)	Videreføringsdag	2004.05.24
(24)	Løpedag	2002.10.29	(30)	Prioritet	2001.10.30, US, 339031 2001.12.07, US, 338185
(41)	Alm.tilgj	2004.07.13			
(45)	Meddelt	2015.01.19			
(73)	Innehaver	Dana Farber Cancer Institute Inc, 44 Binney Street, US-MA02115 BOSTON, USA			
(72)	Oppfinner	Novartis AG, Lichtstrasse 35, CH-4056 BASEL, Sveits			
		Paul William Manley, Bruggweg 12, CH-4144 ARLESHEIM, Sveits			
		James Douglas Griffin, 156 Dean Road, US-MA02445, USA			
(74)	Fullmektig	Zacco Norway AS, Postboks 2003 Vika, 0125 OSLO, Norge			
(54)	Benevnelse	Anvendelse av midostaurin eller et farmasøytiske akseptabelt salt derav for behandling av sykdommer som involverer deregulert FLT3 reseptor tyrosin kinase aktivitet.			
(56)	Anførte publikasjoner	WO 0048571 A EP 0990442 A1 US 5093330 A			
(57)	Sammendrag				

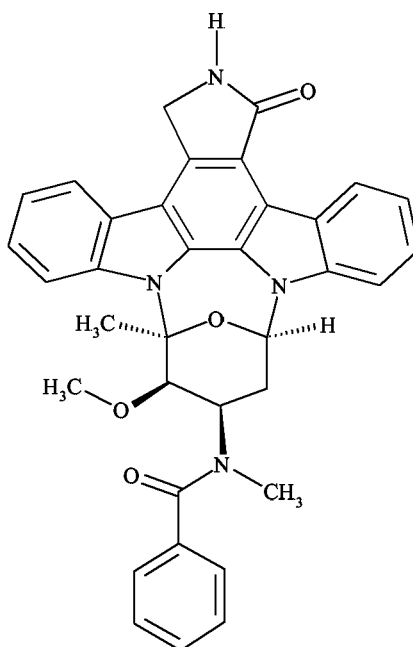
Det beskrives anvendelse av STAUROSPORIN DERIVATER for fremstilling av et medikament for behandling av sykdommer som involverer deregulert FLT3 reseptor tyrosinkinase aktivitet og særlig for kurativ og/eller profylaktisk behandling av leukemier og myelodysplastiske syndromer, og en fremgangsmåte for behandling av sykdommer som involverer deregulert FLT3 reseptor tyrosinkinase aktivitet.

Foreliggende oppfinnelse angår anvendelsen av midostaurin eller et farmasøytisk akseptabelt salt derav for fremstilling av et medikament for behandling av sykdommer som involverer deregulert FLT3 reseptor tyrosinkinase aktivitet, særlig for den kurative og/eller profylaktiske behandling av leukemier og myelodysplastiske syndromer.

5

Det vil si at oppfinnelsen angår anvendelse av et staurosporinderivat, *N*-[(9*S*,10*R*,11*R*,13*R*)-2,3,10,11,12,13-heksahydro-10-metoksy-9-metyl-1-okso-9,13-epoksy-1*H*,9*H*-diindolo[1,2,3-*gh*:3',2',1'-*lm*]pyrrolo[3,4-*j*][1,7]benzodiazonin-11-yl]-*N*-metylbenzamid, med formel (VII):

10



(VII)

eller et salt derav, (heretter angitt som “forbindelse med formel VII”, “STAUROSPORINDERIVATET” eller “MIDOSTAURIN”) for fremstilling av en farmasøytisk sammensetning for behandling av en sykdom som involverer deregulert FLT3 reseptor tyrosinkinase aktivitet, der sykdommen er en leukemi eller myelodysplastisk syndrom.

15

Forbindelser med formel VII er kjent som MIDOSTAURIN [Internasjonalt ikke-eier navn] eller PKC412.

20

MIDOSTAURIN er et derivat av det naturlig forekommende alkaloid staurosporin og er spesielt beskrevet i EP Nr. 0 296 110, publisert 21. desember 1988, så vel som i US Nr.

5,093,330, publisert 3. mars 3, 1992, og JP Nr. 2 708 047, alt i foreliggende søkers navn.

Det er nå overraskende funnet at MIDOSTAURIN har terapeutiske egenskaper som gjør
5 forbindelsen spesielt brukbar som inhibitor av FLT3 reseptorer og særlig ved
behandling og profylakse av leukemier og myelodysplastiske syndromer. Denne
forbindelse viser en uventet høy potens mot FLT3 reseptorkinase.

Stausosporinderivater, for eksempel MIDOSTAURIN, ble opprinnelig identifisert som
10 en inhibitor for proteinkinase C (PKC) (Meyer T, Regenass U, Fabbro D, et al: Int J
Cancer 43: 851-856, 1989).

I en foretrukket utførelsesform angår foreliggende oppfinnelse anvendelsen av
STAUROSPORINDERIVATET for fremstilling av et medikament for behandling av
15 akutt myeloblastisk leukemi og høyrisiko myelodysplastiske syndromer. Mest spesielt
for behandling av akutt myeloblastisk leukemi er høyrisiko myelodysplastiske
syndromer som involverer deregulert FLT3 reseptor tyrosinkinase aktivitet.

Den terapeutisk effektive mengde av forbindelsen med formel VII administreres til et
20 pattedyr individ 7 til 4 ganger per uke eller rundt 100% til rundt 50% av dagene i
tidsperioden, i en periode på en til seks uker, fulgt av en periode på en til tre uker der
middelet ikke administreres og der denne syklus gjentas fra en til flere ganger.

Mest spesielt benyttes oppfinnelsen for behandling av akutt myeloblastisk leukemi og
25 høyrisiko myelodysplastiske syndromer.

STAUROSPORINDERIVATET har brukbare farmakologiske egenskaper. Særlig
inhiberer forbindelsen aktiviteten av FLT3 reseptor tyrosinkinase i konsentrasjoner i
området 0.01 til 1.0 μ M.

30 *In vivo* kan aktiviteten for STAUROSPORINDERIVATET påvises for eksempel i en
enkel, oral administrering per dag til dyr i doser i området 5 til 300 eller 100 til 200
mg/kg kroppsvekt per dag.

STAUROSPORINDERIVATET er derfor meget egnet for behandling av sykdommer som responderer på inhibering av deregulert aktivitet av FLT3 tyrosinkinase reseptorer, for eksempel leukemier og myelodysplastisk syndrom.

- 5 FLT3 er medlem av type III reseptor tyrosinkinase (RTK) familien. FLT3 (fms-lignende tyrosinkinase) er også kjent som FLk-2 (føtal leverkinase 2).

Feilaktig ekspresjon av FLT3 genet har vært dokumentert i både voksne- og barne leukemier inkludert akutt myeloid leukemi (AML), AML med trilineær myelodysplasi (AML/TMDS), akutt lymfoblastisk leukemi (ALL), og myelodysplastisk syndrom (MDS).

Aktivering av mutasjoner av FLT3 reseptoren er funnet i rundt 35% av pasienter med akutt myeloblastisk leukemi (AML), og er assosiert med en dårlig prognose. Den vanligste mutasjon involverer in-frame duplikering innen juxtamembran domenet med ytterligere 5-10% av pasienter med en punktmutasjon på asparagin 835. Begge disse mutasjoner er assosiert med den konstitutive aktivering av tyrosinkinase aktiviteten av FLT3 og resulterer i proliferering og viabilitetssignaler i fravær av ligand. Pasienter som uttrykker den mutante form av reseptoren er påvist å ha en redusert sjanse for helbredelse. Det er således en akkumulerende påvisning for en rolle for hyperaktivert (mutert) FLT3 kinase aktivitet i humane leukemier og myeloplastisk syndrom.

Dette har forårsaket at foreliggende søkere har søkt nye inhibitorer for FLT3 reseptoren som en mulig terapeutisk tilnærmelse i disse pasienter for hvilke dagens medikamentterapier gir liten brukbarhet og for slike pasienter der dagens tilgjengelige medikamentterapier har sviktet og stamcelle transplantasjonsterapier har sviktet.

Uttrykket "sykdommer som involverer deregulert FLT3 reseptor tyrosinkinase aktivitet" inkluderer, slik det benyttes her, men er ikke begrenset til, leukemier inkludert akutt myeloid leukemi (AML), AML med trilineær myelodysplasi (AML/TMDS), akutt lymfoblastisk leukemi (ALL), og myelodysplastisk syndrom (MDS). Dette uttrykket inkluderer også spesifikt sykdommer som resulterer fra FLT3 reseptor mutasjon.

Leukemier stammer generelt fra en ervervet (ikke arvet) genetisk skade på DNA i immature hematopoietiske celler i benmargen, lymfeknutene, milten eller andre organer i blod- og immunsystemet. Effektene er: den akselererte vekst og blokkering i

matureringen av celler, noe som resulterer i akkumulering av celler kalt ”leukemiske blaster” som ikke virker som normale blodceller; og en svikt når det gjelder produksjon av normale margceller, noe som fører til en mangel på røde blodlegemer (anemi), plater og normale hvite blodlegemer. Blastceller produseres vanligvis i benmargen og utvikler seg vanligvis til mature blodceller omfattende cirka 1 prosent av alle margceller. Ved leukemi maturerer ikke blastene på riktig måte og akkumuleres i benmargen. Ved akutt myeloid leukemi (AML) kalles disse myeloblaster mens de ved akutt lymfoblastisk leukemi (ALL) er kjent som lymfoblaster.

10 En annen leukemi er MLL (blandet lineær leukemi).

Uttrykket ”AML med trilineær myelodysplasi (AML/TMDS)” angår en uvanlig form av leukemi som karakteriseres ved et dyshematopoietisk bilde som ledsager den akutte leukemi, en dårlig respons på induksjons kjemoterapi og en tendens til relapsering med rent myelodysplastisk syndrom.

Uttrykket ”myelodysplastisk syndrom (MDS)” henviser til en gruppe blodlidelser der benmargen stanser å funksjonere på vanlig måte og resulterer i en mangel på antallet sunne blodlegemer. Sammenlignet med leukemi der en type blodlegemer produseres i stort antall blir en hvilken som helst og noen ganger alle typer blodlegemer påvirket ved MDS. Minst 10,000 nye tilfeller inntreffer per år i USA. Opptil en tredjedel av pasientene som diagnostiseres med MDS fortsetter å utvikle akutt myeloid leukemi. Av denne grunn kalles sykdommen noen ganger preleukemi. Myelodysplastisk syndrom kalles noen ganger også myelodysplasia dysmyelopoiesis eller oligoblastisk leukemi. MDS kalles også ”smoldering” leukemi når et stort antall blastceller forblir i margin.

Myelodysplastisk syndrom er på samme måte som leukemi resultatet av en genetisk skade på DNA i en enkelt celle i benmargen. Visse anormaliteter i kromosomene er tilstede hos MDS pasientene. Disse anormaliteter kalles translokasjoner som inntreffer når en del av et kromosom brytes av og festes til en annen del av et annet kromosom. De samme defekter finnes hyppig ved akutt myeloid leukemi. MDS skiller seg fra leukemi fordi alle pasientenes blodceller er anormale og alle stammer fra den samme skadede stamcelle. Hos leukemipasienter inneholder benmargen en blanding av syke og sunne blodlegemer.

35 AML og fremskredne myelodysplastiske syndromer behandles i dag med høye doser cytotoxiske kjemoterapimedikamenter som cytosin arabinosid og daunorubicin. Denne

type behandlinger induserer omtrent 70% av pasientene til å gå inn i en hematologisk remisjon. Imidlertid vil mer enn halvparten av pasientene som inn i remisjon senere relapsere på tross av administrering av kjemoterapi over lengre tidsrom. Så å si alle pasienter som enten ikke går inn i remisjon i utgangspunktet eller relapserer senere etter

5 oppnådd remisjon, vil til slutt dø på grunn av leukemi. Benmargstransplantasjon kan helbrede opptil 50-60% av pasientene som underkastes denne prosedyre men kun cirka en tredjedel av alle pasienter med AML eller MDS er mottakelige for en transplantering. Nye og effektive medikamenter er tvingende nødvendige for å behandle pasienter som ikke går inn i remisjon med standardterapi, pasienter som senere relapserer og

10 pasienter som ikke er mottakelige for stamcelle transplantasjon. Videre kan et effektivt, nytt medikament føyes til standardterapien med den rimelige forventning at det vil resultere i forbedret induksjonskjemoterapi for alle pasienter.

I foreliggende beskrivelse inkluderer uttrykket ”behandling” eller ”terapi” både

15 profylaktisk og preventiv behandling så vel som kurativ eller sykdoms suppressiv behandling inkludert behandling av pasienter med risiko for å få sykdommen eller som mistenkes for å ha fått sykdommen så vel som syke pasienter. Uttrykket inkluderer videre behandling for å forsinke progresjonen av sykdommen.

20 Uttrykket ”kurativ” slik det benyttes her betyr effektivitet ved behandling av pågående episoder som involverer deregulert FLT3 reseptor tyrosinkinase aktivitet.

Uttrykket ”profylaktisk” betyr prevensjonen av start eller gjenopptreden av sykdommen som involverer deregulert FLT3 reseptor tyrosinkinase aktivitet.

25 Uttrykket ”forsinke progresjonen” eller lignende slik det benyttes her betyr administrering av den aktive forbindelsen til pasienter som er i et fortrinn eller i en tidlig fase av sykdommen som skal behandles, i hvilke pasienter for eksempel en forform av den tilsvarende sykdommen er diagnostisert eller hvilke pasienter befinner seg i en tilstand, for eksempel under en medisinsk behandling eller en tilstand som

30 stammer fra en aksident, under hvilken det er sannsynlig at den tilsvarende sykdom vil utvikles.

Under letingen etter FLT3 innsiktede forbindelser har foreliggende søkere avsøkt de

35 inhibitoriske effekter av flere forbindelser ved to forskjellige anelysetyper.

- Tyrosin proteinkinase analyser med rensset GST-Flt-3 ble gjennomført i et sluttvolum på 30 µL inneholdende 200-1800 ng enzymprotein. Aktiviteten ble analysert i nærvær eller fravær av inhibitorer ved å måle innarbeidingen av ^{33}P fra $[\gamma\text{-}^{33}\text{P}]\text{ATP}$ i egnede substrater. I denne analyse inhiberer MIDOSTAURIN overføringen av γ fosfat fra ATP
5 på OH i tyrosiner i proteinsubstratet ved Flt-3 kinasen i området 0.1 til 1.0 mM.

- En cellebasert analyse benyttes for å identifisere inhibitorer av mutante FLT3 tyrosinkinase reseptorer. Den generelle teknikk involverer sammenligning av effektene av mulige inhibitorer på cellelinjer som var avhengige av mutant FLT3 for proliferering
10 versus cellelinjer som ikke avhenger av mutant FLT3 for proliferering. Cellelinjer som uttrykker to forskjellige former av mutert, aktivert FLT3 benyttes: Ba/F3-FLT3-ITD celler som uttrykker en FLT3 mutant med en "indre tandem duplikering" (ITD) i juxtamembran domenet av reseptoren. Ba/F3-FLT3-D835Y celler uttrykker en FLT3 reseptor inneholdende en mutering som konverterer asparagin ved posisjonen 835 til
15 tyrosin. MIDOSTAURIN inhiberte proliferering av både Ba/F3-FLT3-ITD og Ba/F3-FLT3-D835Y celler ved en IC50 på < 10 nM. MIDOSTAURIN inhiberte ikke veksten av ikke-transformerte Ba/F3 celler ved en konsentrasjon opptil 500 nM og de vekstinhibitoriske effekter av FORBINDELSE I på Ba/F3-FLT3-ITD celler kunne reverseres ved tilsetning av høye konsentrasjoner av IL-3 for å gi et alternativt
20 viabilitetssignal. Ved konsentrasjonene som var krevd for å inhibere prolifereringen av FLT3-avhengige cellelinjer var MIDOSTAURIN ikke cytotoxisk mot flere humane leukemi- og lymfom cellelinjer som ikke hadde mutante FLT3 reseptorer (hyperaktiverede kinaser), noe som antydte at medikamentene hadde en uventet høy grad av spesifisitet som et cytotoxisk middel. Totalt sett indikerte disse resultater at
25 MIDOSTAURIN er en potent inhibitor av mutant FLT3 reseptor tyrosinkinase aktivitet og er en lovende kandidat for testing som et anti-leukemi middel i pasienter med mutante FLT3 reseptorer. Særlig inhiberer den aktiviteten av FLT3 reseptor tyrosinkinase aktiviteten i konsentrasjoner i området 0.01 til 1.0 µM.

30 Dette uforutsette området av egenskaper betyr at bruken av STAUROSPORINDERIVATET er av spesiell interesse for fremstillingen av et medikament for behandling av sykdommer som involverer deregulert FLT3 reseptor tyrosinkinase aktivitet. Denne forbindelse har en høy sikkerhetsmargin, høy affinitet og selektivitet.

Denne effekt kan spesielt være klinisk relevant for pasienter med leukemier, særlig akutt myeloid leukemi (AML) og myelodysplastisk syndrom (MDS).

For å påvise at STAUROSPORINDERIVATET er spesielt egnet for behandling av leukemier eller myelodysplastiske syndromer med god terapeutisk margin og andre fordeler, kan kliniske forsøk gjennomføres på en måte som i og for seg kjent for fagmannen.

Den nøyaktige dosering av STAUROSPORINDERIVATET som benyttes for inhibering av FLT3 reseptor tyrosinkinase aktiviteten avhenger av flere faktorer inkluderer verten, arten og alvoret av tilstanden som behandles samt administreringsmåten. Imidlertid oppnås generelt tilfredsstillende inhibering av FLT3 reseptor tyrosinkinase aktiviteten når STAUROSPORINDERIVATET administreres (undersøk foretrukket administrering) parenteralt, for eksempel intraperitonealt, intravenøst, intramuskulært, subkutant, intratumoralt, eller rektalt, eller enteralt, for eksempel oralt, fortrinnsvis intravenøst eller oralt, intravenøst ved daglige doser på 1-300 mg/kg kroppsvekt, eller, for de fleste større primater, var en daglig dose på 50-5000, fortrinnsvis 500-3000 mg, i humane prøver en total dose på 225 mg/dag, mest sannsynlig den maksimale tolererte dose (MTD). En foretrukken, intravenøs daglig dose er 1-75 mg/kg kroppsvekt eller, for de fleste større primater, en daglig dose på 50-1500 mg. En typisk intravenøs dose er 20 mg/kg, tre til fem ganger per uke.

Mer spesielt blir STAUROSPORINDERIVATET administrert oralt ved doseringsformer som mikroemulsjoner, myke geler eller faste dispersjoner i doser opptil 150 mg/dag, administrert i en, to eller tre doser.

Vanligvis blir en liten dose administrert i utgangspunktet og dosen så gradvis øket inntil den optimale dosering for verten som behandles er bestemt. Den øvrige doseringsgrense er den som bestemmes av bivirkninger og kan bestemmes ved prøver på verten som behandles.

STAUROSPORINDERIVATET kan kombineres med en eller flere farmasøytisk akseptable bærere, eventuelt en eller flere andre konvensjonelle farmasøytiske adjuvanter og administreres enteralt, for eksempel oralt, i form av tabletter, kapsler, kapletter osv, eller parenteralt, for eksempel intraperitonealt eller intravenøst, i form av

sterile, injiserbare oppløsninger eller suspensjoner. De enterale eller parenterale preparater kan fremstilles på i og for seg kjent måte.

Infusjonsoppløsninger ifølge oppfinnelsen er fortrinnsvis sterile. Dette kan oppnås på
 5 enkel måte, for eksempel ved filtrering gjennom sterile filtreringsmembraner. Aseptisk
 tildanning av et hvilket som helst preparat i flytende form, aseptisk fylling av ampuller
 og/eller kombinerer av et farmasøytisk preparat ifølge oppfinnelsen med en egnet
 diluent under aseptiske betingelser er velkjent for fagfolk.

10 STAUROSPORINDERIVATET kan formuleres til enterale og parenterale,
 farmasøytiske preparater inneholdende en mengde av den aktive substans som er
 effektiv for å inhibere FLT3 reseptor tyrosinkinase aktivitet i det slike preparater i
 enhetsdoseform og slike preparater omfatter en farmasøytisk akseptabel bærer.

15 STAUROSPORINDERIVATET kan benyttes alene eller kombineres med minst en
 annen farmasøytisk aktiv forbindelse for anvendelse i disse patologier. Disse aktive
 forbindelser kan kombineres i det samme farmasøytiske preparat eller i form av
 kombinerte preparater som "sett med deler" ("kit og parts") i den forstand at
 kombinasjonspartnerne kan doseres uavhengig eller ved bruk av forskjellige faste
 20 kombinasjoner med atskilte mengder av kombinasjonspartnerne, det vil si samtidig eller
 til forskjellige tidspunkter. Delene av dette delsett kan så for eksempel administreres
 samtidig eller kronologisk tidsforskutt, det vil si til forskjellige tidspunkter og med like
 eller forskjellige tidsintervaller for en hvilken som helst av delene i settet. Ikke-
 begrensende eksempler på forbindelser som kan angis for bruk i kombinasjon med
 25 STAUROSPORINDERIVATET er cytotoksiske, kjemoterapeutiske medikamenter som
 cytosin arabinosid, daunoribicin, doxorubicin, cyklofosfamid, VP-16 og så videre.
 Videre kan STAUROSPORINDERIVATET kombineres med andre inhibitorer av
 signaltransduksjon eller andre onkogen innsiktete medikamenter med den forventning
 at det vil oppnås en signifikant synergi.

30 Eksempler på brukbare preparater er beskrevet i EP Nr. 0 296 110, No. 0 657 164, No. 0
 296 110, No.0 733 372, No.0 711 556, No.0 711 557, alle i foreliggende søkers navn.

De foretrukne preparater er beskrevet i EP Nr. 0 657 164, publisert 14. juni 1995. De
 35 beskrevne, farmasøytiske preparater omfatter en oppløsning eller dispersjon av
 forbindelser som MIDOSTAURIN i et mettet polyalkylen glykolglyserid hvori

glykolglyseridet er en blanding av glyseryl og polyetyleneglykol estere av en eller flere mettede C8-C18 fettsyrer.

To fremstillingsprosesser for slike preparater er beskrevet nedenfor.

5

Preparat A:

82 deler gelucir 44/14 smeltes ved oppvarming til 60°C. 18 deler pulverformig MIDOSTAURIN settes til det smeltede materialet. Den resulterende blanding homogeniseres og den oppnådde dispersjon innføres i harde gelatinkapsler med
10 forskjellige størrelser slik at noen inneholder en 25 mg dose og andre en 75 mg dose MIDOSTAURIN. De resulterende kapsler er egnet for oral administrering.

Preparat B:

86 deler gelucir 44/14 smeltes ved oppvarming til 60°C. 14 deler pulverformig
15 MIDOSTAURIN settes til det smeltede materialet. Blandingen homogeniseres og den oppnådde dispersjon innføres i harde gelatinkapsler med forskjellig størrelse slik at noen inneholder en 25 mg dose og andre en 75 mg dose av MIDOSTAURIN. De resulterende kapsler er egnet for oral administrering.

20 Gelucir 44/14 er tilgjengelig kommersielt fra Gattefossé og er en blanding av estere av mettede C8-C18 fettsyrer med glycerol og en polyetyleneglykol med en molekylvekt rundt 1500 i det spesifikasjonene for sammensetningen av fettsyre komponenten på vektbasis er 4-10% kaprylsyre, 3-9% kaprinsyre, 40-50% laurinsyre, 14-24% myristinsyre, 4-14% palmitinsyre og 5-15% stearinsyre.

25

Et foretrukket eksempel på en gelucir formulering består av:

Gelucir (44/14): 47 g

MIDOSTAURIN: 3.0 g fylt i en 60 mL Twist off kolbe

30

Et foretrukket eksempel på en myk gel vil inneholde den følgende mikroemulsjon:

Maisolje glycerider	85.0 mg
Polyetyleneglykol 400	128.25 mg
Cremophor RH 40	213.75 mg
35 MIDOSTAURIN	25.0 mg
DL α Tokoferol	0.5 mg

Absolutt etanol	33.9 mg
Sum	486.4 mg

Imidlertid skal det være klart at dette kun er illustrerende.

5

I en foretrukket utførelsesform angår oppfinnelsen bruken eller en metode som beskrevet her der den daglige effektive mengde av forbindelsen med formel VII er 100 til 300 mg, fortrinnsvis 125 til 250 mg, helst 220 til 230 mg og aller helst 225 mg.

- 10 Mest foretrukket blir forbindelsen med formel VII administrert i en, to eller tre ganger per dag for en totaldose på 100 til 300 mg per dag.

I en meget foretrukket utførelsesform blir forbindelsen med formel VII administrert tre ganger daglig med en totaldose på 220 til 230, fortrinnsvis 225 mg daglig, spesielt ved
15 en dose per administrasjon på 70 til 80 mg, og fortrinnsvis 75 mg.

I nok en utførelsesform angår oppfinnelsen et produkt omfattende emballasjemateriale og *N*-[(9*S*,10*R*,11*R*,13*R*)-2,3,10,11,12,13-heksahydro-10-metoksy-9-metyl-1-okso-9,13-epoksy-1*H*,9*H*-diindolo[1,2,3-*gh*:3',2',1'-*lm*]pyrrolo[3,4-*j*][1,7]benzodiazonin-11-yl]-*N*-
20 metylbenzamid med formel VII eller et farmasøytisk akseptabelt salt derav, inneholdt i emballasjematerialet, der emballasjematerialet omfatter merkelapp rettelninger som antyder at forbindelsen med formel VII, eller dens farmasøytisk akseptable salt, skal administreres til pattedyr som lider av sykdommer som involverer deregulert FLT3 reseptor tyrosinkinase aktivitet, i en mengde fra 50 til 500 mg, fortrinnsvis 100 til 300
25 mg, helst 125 til 250 mg, aller helst 225 til 300 mg og spesielt 225 mg ved å følge et spesielt doseregime for å inhibere utvikling av sykdommer som involverer deregulert FLT3 reseptor tyrosinkinase aktivitet.

Fortrinnsvis dreier det seg om en fremstillingsgjenstand der forbindelsen med formel
30 VII administreres tre ganger daglig for en totaldose på 220 til 230 mg, fortrinnsvis 225 mg daglig og aller helst med en dose på 70 til 80 mg og fortrinnsvis 75 mg per administrering for behandling av leukemi og særlig akutt, myeloblastisk leukemi og høyrisiko myelodysplastiske syndromer. En foretrukket utførelsesform angår en fremstillingsgjenstand omfattende myke gelkapsler inneholdende 25 mg av forbindelsen
35 med formel VII.

Effektiviteten for STAUROSPORINDERIVATET for behandling av sykdommer som involverer deregulert FLT3 reseptor tyrosinkinase aktivitet er illustrert ved resultatene av de følgende farmakologiske tester (eksemplene 1 og 2). Disse eksempler illustrerer oppfinnelsen uten på noen måte å begrense den.

5

EKSEMPEL 1: Flt-3 (Fremstilling og måling av aktivitet)

Bakulovirus donor vektoren pFbacG01 ble benyttet for å generere en rekombinant bakulovirus som uttrykker aminosyre området med aminosyrene 563-993 av de intra-
 10 cytoplasmiske kinasedomener i human Flt-3. De kodene sekvenser for det cytoplasmiske domenet av Flt-3 ble forsterket ved PCR fra human c-DNA biblioteker (Clontech). De forsterkede DNA fragmenter og pFbacG01 vektoren ble gjort kompatible for ligering ved digestering med BamH1 og Hind III. Ligering av disse DNA fragmenter resulterte i bakulovirus donor plasmidet Flt-3(1.1). Produksjonen av
 15 virusene, ekspresjonen av proteinene i Sf9 celler og rensing av de GST-fuserte proteiner ble gjennomført som følger:

(Generering av Bac-til-Bac GST-fusjonsvektorer); pFbacG01, pFbacGST2T og pFbacGSTx3 Bac-til-Bac™ donorvektorer ble generert fra pAcG1, pAcG2T og
 20 pAcG3X, noe som lettet ekspresjonen av GST-fusjonsproteinene med muligheten for spalting med trombin (pFbacGT2) eller faktor Xa (pFbacGSTx3) mens pFbacG01 ikke uttrykker noe proteolytisk spaltingssete. Disse var generelt tilgjengelige i huset ved isolering av DNA fragmentet inneholdende genet for GST med C-terminal proteasen og restriksjonssetet ved restriksjonsenzym digestering av den relevante PharMingen
 25 bakulovirus donorvektor med EcoRV og EcoRI. Dette EcoRV/EcoRI fragment ble ligert inn i pFastBac1 vektoren som var restriksjonsdigestert med BamHI, stump-endet ved Klenow reaksjon og deretter digestert med EcoRI for å generere en stump-endet/EcoRI vektor.

30 Fremstilling av virus: overføringsvektorer inneholdende kinase domenene ble transfektert inn i DH10Bac cellelinjen (GIBCO) og brakt på plate på selektive agar plater. Kolonier uten innføring av funksjonssekvensen i det virale genom (båret av bakterien) er blå. Det enkle, hvite kolonier ble plukket ut og viral DNA (bakmid) isolert fra bakterien ved standard plasmid renseprosedyrer. Sf9 celler eller Sf21 celler ble så
 35 transfektert i 25 cm² kolbe med den virale DNA ved bruk av Cellfektin reagens.

Bestemmelse av småskala protein ekspresjon i Sf9 celler: Virus inneholdende media ble samlet fra den transfekterte cellekultur og benyttet for infeksjon for å øke dens titer. Virus inneholdende media oppnådd etter to infeksjonsrunder ble benyttet for storskala protein ekspresjon. For storskala protein ekspresjon ble 100 cm² runde vevkultur plater sådd med 5 x 10⁷ celler/plate og infektet med 1 mL virus-holdig medium (cirka 5
 5 MOI'er). Etter 3 dager ble cellene skrapet av platen og sentrifugert ved 500 omdreininger i 5 minutter. Celle pellets fra 10-20, 100 cm² plater ble resuspendert i 50 mL iskald lyseringsbuffer (25 mM Tris-HCl, pH 7.5, 2 mM EDTA, 1% NP-40, 1 mM DTT, 1 mM P MSF). Cellene ble omrørt på is i 15 minutter og så sentrifugert ved 5000
 10 omdreininger per minutt i 20 minutter.

Rensing av GST-merkede proteiner: Det sentrifugerte celle lysat ble fylt på en 2 mL glutation-sefarose kolonne (Pharmacia) og vasket tre ganger med 10 mL 25 mM Tris-HCl, pH 7.5, 2 mM EDTA, 1 mM DTT, 200 mM NaCl. De GST-merkede proteiner ble
 15 så eluert med 10 applikasjoner (1 mL hver) av 25 mM Tris-HCl, pH 7.5, 10 mM redusert-glutation, 100 mM NaCl, 1 mM DTT, 10 % Glycerol og lagret ved -70°C.

Tyrosin proteinkinase analyser med rensset GST-Flt-3 ble gjennomført i et sluttvolum på 30 µL inneholdende 200-1800 ng enzymprotein (avhengig av den spesifikke aktivitet),
 20 20 mM Tris-HCl, pH 7.6, 3 mM MnCl₂, 3 mM MgCl₂, 1 mM DTT, 10 µM Na₃VO₄, 3 µg/mL poly(Glu,Tyr) 4:1, 1 % DMSO, 8.0 µM ATP, [γ^{33} P] ATP 0.1 µCi). Aktiviteten ble analysert i nærvær eller fravær av inhibitorer ved å måle innarbeidingen av ³³P fra [γ^{33} P] ATP i egnede substrater. Analysen (30 µL) ble gjennomført i 96-brønners plater ved omgivelsestemperatur i 20 minutter under betingelser som beskrevet nedenfor og
 25 avsluttet ved tilsetning av 20 µL 125 mM EDTA. Deretter ble 40 µL av reaksjonsblandingen overført til Immobilon-PVDF membran (Millipore, Bedford, MA, USA) som på forhånd var bløtet i 5 minutter med metanol, skylt med vann og så bløtet i 5 minutter med 0.5 % H₃PO₄ og montert på en vakuum manifold med frakoblede vakuumkilder. Etter spotting av alle prøver ble vakuum koblet til og hver brønn skyllet
 30 med 200 µL 0.5% H₃PO₄. Membranene ble fjernet og vasket 4 ganger på en ryster med 1.0 % H₃PO₄, en gang med etanol. Membranene ble tellet etter tørking ved omgivelsestemperatur og montert i Packard TopCount 96-brønners ramme og det ble tilsatt 10 µL/brønn MicroscintTM (Packard). IC₅₀ verdiene ble beregnet ved lineære regresjonsanalyser av den prosentuale inhibering av hver forbindelse i duplikat, ved fire
 35 konsentrasjoner (vanligvis 0.01, 0.1, 1 og 10 µM). En enhet protein kinase aktivitet

defineres som 1 nmole ^{33}P ATP overført fra $[\gamma^{33}\text{P}]$ ATP til substratproteinet per minutt per mg protein ved 37°C .

Aktiviteten ble analysert i nærvær eller fravær av inhibitorer ved å måle innarbeidingen av ^{33}P fra $[\gamma^{33}\text{P}]$ ATP i de relevante substrater. I denne analyse inhiberer MIDOSTAURIN overføringen av γ fosfat fra ATP på OH i tyrosinene til proteinsubstratet ved hjelp av Flt-3 kinase i området 0.1 til 1.0 μM .

EKSEMPEL 2: Avsøkingsanalyse for inhibitorer av FLT3

En cellebasert analyse benyttes for å identifisere inhibitorer av mutant FLT3 tyrosinkinase reseptorer. Den generelle teknikk involverer sammenligning av effektene av mulige inhibitorer på cellelinjer som avhenger av mutant FLT3 for proliferering versus cellelinjer som ikke avhenger av mutant FLT3 for proliferering. Forbindelser som har forskjellig aktivitet (lik mer enn 10 ganger forskjellen i sensitivitet mellom FLT3+ cellelinjer og FLT3- cellelinjer) velges for videre studier.

Cellelinjene som benyttes for den første avsøking er sublinjer av Ba/F3 celler som er konstruert for å uttrykke mutant eller overuttrykke villtype (ikke-mutert) FLT3 etter infeksjon med en retrovirus som uttrykker de relevante FLT3 cDNA'er. Opphavs cellelinjen, Ba/F3 er anhengig av interleukin-3 for proliferering og når IL-3 mangler slutter cellene hurtig å proliferere og de dør. Retrovirusen uttrykker FLT3 fra den retrovirale LTR og neo genet fra et IRES sete. Ba/F3 celler ble selektert i G418 og analysert for ekspresjon av FLT3 ved fluorescens aktivert celledatering (FACS). Cellelinjer med to forskjellige FLT3 mutasjoner benyttes. En mutant uttrykker en FLt-3 som har en 14 aminosyre duplikering i nabo membran området kodet av exon 11 i det den spesifikke duplikering erVDFREYEYDLKWEF.... (angitt som Ba/F3-FLT3-ITD). Den andre mutasjon har en punktmutasjon som konverterer asparaginer i posisjon 835 til tyrosin (kalt Ba/F3-FLT3-D835Y). Begge mutasjoner øker Flt-3 kinase aktiviteten og gjør den uavhengig av IL-3. Ba/F3 celler som uttrykker vill-type FLT3 genereres på tilsvarende måte og brukes som "kontroll" cellelinje. Den parentale (ikke infektete) cellelinje, og vill-type "kontroll" cellelinje forblir avhengig av interleukin-3 for proliferering. Cellene som uttrykker en hvilken som helst av mutantene blir uavhengige av interleukin-3 for proliferering. Disse cellelinjer ble oppnådd fra Gary Gilliland, M.D., Brigham og Womens' Hospital, Boston, MA. En ytterligere Ba/F3

cellelinje som uttrykker en annen tandem duplikasjons mutant av FLT3 er generert ved bruk av tilsvarende teknikker.

Ba/F3 celler (-kontroll, -FLT3- ITD, eller -FLT3-D835Y) dyrkes ved 50,000 celler/mL i 2 mL kulturer med RPMI 1640 med 10% føtalt kalve serum som kulturmedium. Medium for kontrollcellene (men ikke de mutante-FLT3 celler) inneholder 10 volum % kondisjonert medium fra WEHI-3B cellelinjen som en kilde for interleukin-3. En 10 mM "forråds" oppløsning av hver forbindelse tildannes i dimetylsulfoksid (DMSO). Fortynninger foretas så i RPMI 1640 med 10% føtalt kalve serum for å danne sluttmedikament konsentrasjoner som går fra typisk en nanomolar til 10 mikromolar. Tilsvarende fortynninger foretas av DMSO som skal tjene som bærer kontroller. 24, 48, og 72 timer etter tilsetning av forbindelsene blir alikvoter av celler fjernet og tellet manuelt i et hemocytometer kammer etter farging med 1% trypan blått i fosfat bufret saltoppløsning.

Forbindelser som er selektivt mer toksiske mot Ba/F3-FLT3-ITD celler enn mot vill-type kontroll Ba/F3 celler studeres videre mot de ytterligere FLT3-mutant uttrykkende celler. Også benyttes det antistoffer mot FLT3 for å immunopresipitere FLT3 proteinene før henholdsvis etter eksponering til forskjellige konsentrasjoner av aktive forbindelser. De immunopresipiterte proteiner separeres med natrium dodecyl sulfat polyakrylamid geler, overføres elektroforetisk til papir og immunoblottes med et antistoff mot fosfotyrosin. Denne analyse bestemmer hvorvidt forbindelser reduserte "autofosforyleringen" av FLT3 som er karakteristisk for den muterte form av reseptoren.

MIDOSTAURIN inhiberte proliferering av både Ba/F3-FLT3-ITD og Ba/F3-D835Y celler ved en IC₅₀ på <10 nM og induserte både G1 celle syklusstans og apoptose i løpet av 24-72 timer. MIDOSTAURIN inhiberte ikke veksten av ikke-transformerte Ba/F3 celler ved konsentrasjoner opp til 500 nM og de vekstinhibitoriske effekter av MIDOSTAURIN på Ba/F3-FLT3-ITD celler kunne reverseres ved tilsetning av høye konsentrasjoner av IL-3 for å gi et alternativt levedyktighetssignal. Ved de konsentrasjoner som var nødvendig for å inhibere proliferering av FLT3-avhengige cellelinjer var MIDOSTAURIN ikke cytotoxisk mot flere human leukemi- og lymfom-cellelinjer som ikke hadde mutante FLT3 reseptorer, noe som antyder at medikamentet har en uventet høy grad av spesifisitet som cytotoxisk middel. Totalt sett antyder disse resultater at MIDOSTAURIN er en potent inhibitor av mutant FLT3 reseptor

tyrosinkinase aktivitet og er en lovende kandidat for testing som anti-leukemi middel hos pasienter med mutante FLT3 reseptorer.

Biologiske data oppnådd som prosent inhibering av Flt3 kinase aktivitet ved 1.0

- 5 mikromolar konsentrasjon er gitt for forbindelser nevnt i tabell I nedenfor.

TABELL I:

“Chem.Abstr“ registr.nr.	Flt3 inhibition	Navn
62996-74-1	100%	(9S,10R,11R,13R)-2,3,10,11,12,13-heksahydro-10-metoksy-9-metyl-11-(metylamino)-9,13-epoksy-1H,9H-diindol[1,2,3-gh:3',2',1'-lm]pyrrolo[3,4-j][1,7]benzodiazonin-1-on,
120685-21-4	82%	[9S-(9a,10b,11b,13a)]-N-(2,3,10,11,12,13-heksahydro-10-metoksy-9-metyl-1-okso-9,13-epoksy-1H,9H-diindolo[1,2,3-gh:3',2',1'-lm]pyrrolo[3,4-j][1,7]benzodiazonin-11-yl)-N-metyl-glycin, metyl ester,
120685-22-5	98%	[9S-(9a,10b,11b,13a)]-N-(2,3,10,11,12,13-heksahydro-10-metoksy-9-metyl-1-okso-9,13-epoksy-1H,9H-diindolo[1,2,3-gh:3',2',1'-lm]pyrrolo[3,4-j][1,7]benzodiazonin-11-yl)-N-metyl-glycin,
120685-26-9	97%	[9S-(9a,10b,11b,13a)]-2,3,10,11,12,13-heksahydro-10-metoksy-N,N,N,9-tetrametyl-1-okso-9,13-epoksy-1H,9H-diindolo[1,2,3-gh:3',2',1'-lm]pyrrolo[3,4-j][1,7]benzodiazonin-11-aluminium jodid
120685-12-3	66%	2,2,2-trifluor-N-[(9S,10R,11R,13R)-2,3,10,11,12,13-heksahydro-10-metoksy-9-metyl-1-okso-9,13-epoksy-1H,9H-diindolo[1,2,3-gh:3',2',1'-lm]pyrrolo[3,4-j][1,7]benzodiazonin-11-yl)-N-metyl-acetamid,
120685-13-4	91%	(9a,10b,11b,13a)-N-(2,3,10,11,12,13-heksahydro-10-metoksy-9-metyl-1-okso-9,13-epoksy-1H,9H-diindolo[1,2,3-gh:3',2',1'-lm]pyrrolo[3,4-j][1,7]benzodiazonin-11-yl)-N,N'-dimetyl-tiourea
120685-39-4	93%	(9a,10b,11b,13a)-N-(2,3,10,11,12,13-heksahydro-10-metoksy-9-metyl-1-okso-9,13-epoksy-1H,9H-diindolo[1,2,3-gh:3',2',1'-lm]pyrrolo[3,4-j][1,7]benzodiazonin-11-yl)-N-metyl-N'-2-propenyl-tiourea
120685-10-1	98%	[9S-(9a,10b,11b,13a)]-4-[(2,3,10,11,12,13-heksahydro-10-metoksy-9-metyl-1-okso-9,13-epoksy-1H,9H-diindolo[1,2,3-gh:3',2',1'-lm]pyrrolo[3,4-j][1,7]benzodiazonin-11-yl)metylamino]-4-okso-butansyre, natriumsalt,

120685-28-1	100%	N-etyl-[9S-(9a,10b,11b,13a)]-2,3,10,11,12,13-heksahydro-10-metoksy-N,N,9-trimetyl-1-okso-9,13-epoksy-1H,9H-diindolo [1,2,3-gh:3',2',1'-lm]pyrrolo[3,4-j][1,7]benzodiazonin-11-aluminium jodid,
120685-17-8	33%	[9S-(9a,10b,11b,13a)]-(2,3,10,11,12,13-heksahydro-10-metoksy-9-metyl-1-okso-9,13-epoksy-1H,9H-diindolo [1,2,3-gh:3',2',1'-lm]pyrrolo[3,4-j][1,7]benzodiazonin-11-yl)metyl-karbaminsyre, 1,1-dimetyletyl ester
120685-15-6	74%	(9a,10b,11b,13a)-N-(2,3,10,11,12,13-heksahydro-10-metoksy-9-metyl-1-okso-9,13-epoksy-1H,9H-diindolo [1,2,3-gh:3',2',1'-lm]pyrrolo[3,4-j][1,7]benzodiazonin-11-yl)-N-metyl-3-nitro-benzamid
120685-44-1	55%	(9a,10b,11b,13a)-4-fluoro-N-(2,3,10,11,12,13-heksahydro-10-metoksy-9-metyl-1-okso-9,13-epoksy-1H,9H-diindolo [1,2,3-gh:3',2',1'-lm]pyrrolo[3,4-j][1,7]benzodiazonin-11-yl)-N-metyl-benzamid
157318-74-6		[9S-(9a,10b,11b,13a)]-4-[(2,3,10,11,12,13-heksahydro-10-metoksy-9-metyl-1-okso-9,13-epoksy-1H,9H-diindolo [1,2,3-gh:3',2',1'-lm]pyrrolo[3,4-j][1,7]benzodiazonin-11-yl)metylamino]karbonyl)-benzosyre
120751-44-2	90%	[9S-(9a,10b,11b,13a)]-4-[(2,3,10,11,12,13-heksahydro-10-metoksy-9-metyl-1-okso-9,13-epoksy-1H,9H-diindolo [1,2,3-gh:3',2',1'-lm]pyrrolo[3,4-j][1,7]benzodiazonin-11-yl)metylamino]karbonyl)-benzosyre, mononatriumsalt
120685-16-7	60%	(9a,10b,11b,13a)-3-fluoro-N-(2,3,10,11,12,13-heksahydro-10-metoksy-9-metyl-1-okso-9,13-epoksy-1H,9H-diindolo [1,2,3-gh:3',2',1'-lm]pyrrolo[3,4-j][1,7]benzodiazonin-11-yl)-N-metyl-benzamid
120685-46-3	81%	(9a,10b,11b,13a)-N-(2,3,10,11,12,13-heksahydro-10-metoksy-9-metyl-1-okso-9,13-epoksy-1H,9H-diindolo [1,2,3-gh:3',2',1'-lm]pyrrolo[3,4-j][1,7]benzodiazonin-11-yl)-N-metyl-4-nitro-benzamid
120685-18-9	63%	[9S-(9a,10b,11b,13a)]-N-(2,3,10,11,12,13-heksahydro-10-metoksy-9-metyl-1-okso-9,13-epoksy-1H,9H-diindolo [1,2,3-gh:3',2',1'-lm]pyrrolo[3,4-j][1,7]benzodiazonin-11-yl)-N-metyl-3,5-dinitro-benzamid
124078-43-9	65%	[9S-(9a,10b,11b,13a)]-[2-[(2,3,10,11,12,13-heksahydro-10-metoksy-9-metyl-1-okso-9,13-epoksy-1H,9H-diindolo [1,2,3-gh:3',2',1'-lm]pyrrolo[3,4-j][1,7]benzodiazonin-11-yl)metylamino]-2-

		oksoetyl]-karbaminsyre, 1,1-dimetyletyl ester
124151-42-4	97%	[9S-(9a,10b,11b,13a)]-2-amino-N-(2,3,10,11,12,13-heksahydro-10-metoksy-9-metyl-1-okso-9,13-epoksy-1H,9H-diindolo [1,2,3-gh:3',2',1'-lm]pyrrolo[3,4-j][1,7]benzodiazonin-11-yl)-N-metyl-acetamid, monohydroklorid,
125035-78-1	52%	(9a,10b,11b,13a)-[2-[(2,3,10,11,12,13-heksahydro-10-metoksy-9-metyl-1-okso-9,13-epoksy-1H,9H-diindolo [1,2,3-gh:3',2',1'-lm]pyrrolo[3,4-j][1,7]benzodiazonin-11-yl)metylamino]-2-oksoetyl]-karbaminsyre, fenylmetyl ester
154590-03-1	49%	[9S-(9a,10b,11b,13a)]-(2,3,10,11,12,13-heksahydro-10-metoksy-9-metyl-1-okso-9,13-epoksy-1H,9H-diindolo [1,2,3-gh:3',2',1'-lm]pyrrolo[3,4-j][1,7]benzodiazonin-11-yl)metyl-karbaminsyre, 2-metylpropyl ester
154589-96-5	63%	[9S-(9a,10b,11b,13a)]- N-(2,3,10,11,12,13-heksahydro-10-metoksy-9-metyl-1,3-diokso-9,13-epoksy-1H,9H-diindolo [1,2,3-gh:3',2',1'-lm]pyrrolo[3,4-j][1,7]benzodiazonin-11-yl)-N-metyl-benzamid
174291-07-7		[9R-(9a,10b,11b,13a)]-10,11,12,13-tetrahydro-10-metoksy-9-metyl-11-(metylamino)-9,13-epoksy-1H,9H-diindolo [1,2,3-gh:3',2',1'-lm]pyrrolo[3,4-j][1,7]benzodiazonin-1,3(2H)-dion,
154589-93-2	67%	[9S-(9a,10b,11b,13a)]-(2,3,10,11,12,13-heksahydro-10-metoksy-9-metyl-1,3-diokso-9,13-epoksy-1H,9H-diindolo [1,2,3-gh:3',2',1'-lm]pyrrolo[3,4-j][1,7]benzodiazonin-11-yl)metyl-karbaminsyre, 1,1-dimetyletyl ester,
112953-11-4		(3R,9S,10R,11R,13R)-2,3,10,11,12,13-heksahydro-3-hidroksy-10-metoksy-9-metyl-11-(metylamino)-9,13-epoksy-1H,9H-diindolo [1,2,3-gh:3',2',1'-lm]pyrrolo[3,4-j][1,7]benzodiazonin-1-on
126221-76-9	83%	(9S,10R,11Z,13R)-2,3,9,10,12,13-heksahydro-10-metoksy-9-metyl-9,13-epoksy-1H,11H-diindolo [1,2,3-gh:3',2',1'-lm]pyrrolo[3,4-j][1,7]benzodiazonin-1,11-dion, 11-oksim
149622-43-5	66%	11-[[N-acetyl-1-O-metyl-4,6-O-(fenylmetylen)-a-normuramoyl]metylamino]-2,3,10,11,12,13-heksahydro-10-metoksy-9-metyl-9,13-epoksy-1H,9H-diindolo[1,2,3-gh:3',2',1'-lm]pyrrolo[3,4-j][1,7]benzodiazonin-1-on

178276-05-6		(9S,10S,13R)-2,3,9,10,12,13-heksahydro-10-metoksy-9-metyl-9,13-epoksy-1H,11H-diindolo[1,2,3-gh:3',2',1'-lm]pyrrolo[3,4-j][1,7]benzodiazonin-1,11-dion
178276-05-6	88%	(9S,10S,13R)-2,3,9,10,12,13-heksahydro-10-metoksy-9-metyl-9,13-Epoksy-1H,11H-diindolo[1,2,3-gh:3',2',1'-lm]pyrrolo[3,4-j][1,7]benzodiazonin-1,11-dion
149622-59-3	77%	(9a,10b,11b,13a)-11-[[N-acetyl-4,6-O-(1-metyletyilden)-1-O-(fenylmetyl)-a-isomuramoyl]metylamino]-2,3,10,11,12,13-heksahydro-9-metyl-10-metoksy-9,13-epoksy-1H,9H-diindolo[1,2,3-gh:3',2',1'-lm]pyrrolo[3,4-j][1,7]benzodiazonin-1-on
178955-60-7	89%	N-[(9S,10R,11R,13R)-2,3,10,11,12,13-heksahydro-10-metoksy-9-metyl-1-okso-9,13-epoksy-1H,9H-diindolo[1,2,3-gh:3',2',1'-lm]pyrrolo[3,4-j][1,7]benzodiazonin-11-yl]-2-hidroksy-N-metylbenzamid
165815-73-6	91%	N-[(9S,10R,11R,13R)-2,3,10,11,12,13-heksahydro-10-metoksy-9-metyl-1-okso-9,13-epoksy-1H,9H-diindolo[1,2,3-gh:3',2',1'-lm]pyrrolo[3,4-j][1,7]benzodiazonin-11-yl]-4-hidroksy-N-metylbenzamid,
149622-39-9	72%	(9a,10b,11b,13a)-11-[[N-acetyl-1-O-(fenylmetyl)-a-muramoyl]metylamino]-2,3,10,11,12,13-heksahydro-10-metoksy-9-metyl-9,13-epoksy-1H,9H-diindolo[1,2,3-gh:3',2',1'-lm]pyrrolo[3,4-j][1,7]benzodiazonin-1-on
129623-30-9		(9S,10R,11R,13R)-11-(dimetylamino)-2,3,10,11,12,13-heksahydro-10-metoksy-9-metyl-9,13-epoksy-1H,9H-diindolo[1,2,3-gh:3',2',1'-lm]pyrrolo[3,4-j][1,7]benzodiazonin-1-on,
112953-11-4		(3R,9S,10R,11R,13R)-2,3,10,11,12,13-heksahydro-3-hidroksy-10-metoksy-9-metyl-11-(metylamino)-9,13-epoksy-1H,9H-diindolo[1,2,3-gh:3',2',1'-lm]pyrrolo[3,4-j][1,7]benzodiazonin-1-on
155848-16-1	89%	[9S-(9a,10b,11b,13a)]-N-(2,3,10,11,12,13-heksahydro-10-metoksy-9-metyl-1-okso-9,13-epoksy-1H,9H-diindolo[1,2,3-gh:3',2',1'-lm]pyrrolo[3,4-g][1,7]benzodiazonin-11-yl)-N-metyl-3-pyridinkarboksamid
155848-17-2	85%	[9S-(9a,10b,11b,13a)]-N-(2,3,10,11,12,13-heksahydro-10-metoksy-9-metyl-1-okso-9,13-epoksy-1H,9H-diindolo[1,2,3-gh:3',2',1'-lm]pyrrolo[3,4-g][1,7]benzodiazonin-11-yl)-N-metylpyrazinkarboksamid

178276-00-1		2,3,9,10,12,13-heksahydro-3-hidroksy-10-metoksy-9-metyl-9,13-epoksy-1H,11H-diindolo[1,2,3-gh:3',2',1'-lm]pyrrolo[3,4-j][1,7]benzodiazonin-1,11-dion, 11-oksim
161927-20-4		[9S-(9a,10b,11a,13a)]-N-(2,3,10,11,12,13-heksahydro-10-metoksy-9-metyl-1-okso-9,13-epoksy-1H,9H-diindolo[1,2,3-gh:3',2',1'-lm]pyrrolo[3,4-j][1,7]benzodiazonin-11-yl)-N-hidroksy-formamid,
179237-49-1	41%	N-(2,3,10,11,12,13-heksahydro-3-hidroksy-10-metoksy-9-metyl-1-okso-9,13-epoksy-1H,9H-diindolo[1,2,3-gh:3',2',1'-lm]pyrrolo[3,4-j][1,7]benzodiazonin-11-yl)-N-metyl-benzamid
155848-20-7		[3R-(3a,9b,10a,11a,13b)]-N-(2,3,10,11,12,13-heksahydro-3-hidroksy-10-metoksy-9-metyl-1-okso-9,13-epoksy-1H,9H-diindolo[1,2,3-gh:3',2',1'-lm]pyrrolo[3,4-j][1,7]benzodiazonin-11-yl)-N-metyl-benzamid
149622-41-3	51%	(9a,10b,11b,13a)-11-[[N-acetyl-6-O-(metylsulfonyl)-1-O-(fenylmetyl)-a-muramoyl]metylamino]-2,3,10,11,12,13-heksahydro-10-metoksy-9-metyl-, 9,13-epoksy-1H,9H-diindolo[1,2,3-gh:3',2',1'-lm]pyrrolo[3,4-j][1,7]benzodiazonin-1-on
149713-64-4	76%	(9a,10b,11b,13a)-11-[[N-acetyl-1-O-(fenylmetyl)-a-isomuramoyl]metylamino]-2,3,10,11,12,13-heksahydro-10-metoksy-9-metyl-9,13-epoksy-1H,9H-diindolo[1,2,3-gh:3',2',1'-lm]pyrrolo[3,4-j][1,7]benzodiazonin-1-on,
149622-54-8	94%	(9a,10b,11b,13a)-11-[[N-acetyl-6-O-(metylsulfonyl)-a-muramoyl]metylamino]-2,3,10,11,12,13-heksahydro-10-metoksy-9-metyl-9,13-epoksy-1H,9H-diindolo[1,2,3-gh:3',2',1'-lm]pyrrolo[3,4-j][1,7]benzodiazonin-1-on,
149622-53-7	91%	(9a,10b,11b,13a)-11-[(N-acetyl-a-muramoyl)metylamino]-2,3,10,11,12,13-heksahydro-10-metoksy-9-metyl-9,13-epoksy-1H,9H-diindolo[1,2,3-gh:3',2',1'-lm]pyrrolo[3,4-j][1,7]benzodiazonin-1-on
149622-42-4	61%	(9a,10b,11b,13a)-11-[[N-acetyl-6-azido-6-deoksy-1-O-(fenylmetyl)-a-muramoyl]metylamino]-2,3,10,11,12,13-heksahydro-10-metoksy-9-metyl-,9,13-epoksy-1H,9H-diindolo[1,2,3-gh:3',2',1'-lm]pyrrolo[3,4-j][1,7]benzodiazonin-1-on,
150622-14-3	99%	(9a,10b,11b,13a)-11-[[N-acetyl-6-amino-6-deoksy-1-O-(fenylmetyl)-a-muramoyl]metylamino]-2,3,10,11,12,13-heksahydro-10-metoksy-9-metyl-9,13-epoksy-1H,9H-diindolo[1,2,3-gh:3',2',1'-lm]pyrrolo[3,4-j][1,7]benzodiazonin-1-on, monometansulfonat

149622-56-0	100%	(9a,10b,11b,13a)-11-[(N-acetyl-6-amino-6-deoksy-a-isomuramoyl)metylamino]-2,3,10,11,12,13-heksahydro-10-metoksy-9-metyl-9,13-epoksy-1H,9H-diindolo[1,2,3-gh:3',2',1'-lm]pyrrolo[3,4-j][1,7]benzodiazonin-1-on,
149713-77-9	96%	(9a,10b,11b,13a)-11-[(N-acetyl-6-amino-6-deoksy-b-muramoyl)metylamino]-2,3,10,11,12,13-heksahydro-10-metoksy-9-metyl-9,13-epoksy-1H,9H-diindolo[1,2,3-gh:3',2',1'-lm]pyrrolo[3,4-j][1,7]benzodiazonin-1-on
149622-55-9	85%	(9a,10b,11b,13a)-11-[(N-acetyl-a-normuramoyl)metylamino]-2,3,10,11,12,13-heksahydro-10-metoksy-9-metyl-9,13-epoksy-1H,9H-diindolo[1,2,3-gh:3',2',1'-lm]pyrrolo[3,4-j][1,7]benzodiazonin-1-on
149622-45-7	43%	[9a,10b,11b(S*),13a]-fenylmetyl 2-(acetylamino)-2-deoksy-3-O-[1-[(2,3,10,11,12,13-heksahydro-10-metoksy-9-metyl-1-okso-9,13-epoksy-1H,9H-diindolo[1,2,3-gh:3',2',1'-lm]pyrrolo[3,4-j][1,7]benzodiazonin-11-yl)metylamino]karbonyl]propyl]-a-D-Glykopyranosid
149622-60-6	76%	[9a,10b,11b(S*),13a]-2-(acetylamino)-2-deoksy-3-O-[1-[(2,3,10,11,12,13-heksahydro-10-metoksy-9-metyl-1-okso-9,13-epoksy-1H,9H-diindolo[1,2,3-gh:3',2',1'-lm]pyrrolo[3,4-j][1,7]benzodiazonin-11-yl)metylamino]karbonyl]propyl]-a-D-Glykopyranose
149622-61-7	70%	(9a,10b,11b,13a)-11-[[N-acetyl-4,6-di-O-acetyl-1-O-(fenylmetyl)-a-muramoyl)metylamino]-2,3,10,11,12,13-heksahydro-10-metoksy-9-metyl-9,13-epoksy-1H,9H-diindolo[1,2,3-gh:3',2',1'-lm]pyrrolo[3,4-j][1,7]benzodiazonin-1-on,
149622-62-8	22%	(9a,10b,11b,13a)-11-[[N-acetyl-4-O-acetyl-6-O-(1-oksooktadecyl)-1-O-(fenylmetyl)-a-muramoyl)metylamino]-2,3,10,11,12,13-heksahydro-10-metoksy-9-metyl-9,13-epoksy-1H,9H-diindolo[1,2,3-gh:3',2',1'-lm]pyrrolo[3,4-j][1,7]benzodiazonin-1-on
160335-31-9	90%	[9S-[9a,10b,11b(R*),13a]]-N-(2,3,10,11,12,13-heksahydro-10-metoksy-9-metyl-1-okso-9,13-epoksy-1H,9H-diindolo[1,2,3-gh:3',2',1'-lm]pyrrolo[3,4-j][1,7]benzodiazonin-11-yl)-N-metyl-2-[(tetrahydro-2H-pyran-4-yl)oksy]-propanamid
149622-49-1	74%	11-[[N-acetyl-1-deoksy-4,6-O-(fenylmetylene)muramoyl)metylamino]-2,3,10,11,12,13-heksahydro-10-metoksy-9-metyl-9,13-epoksy-1H,9H-diindolo[1,2,3-gh:3',2',1'-lm]pyrrolo[3,4-j][1,7]benzodiazonin-1-on

149622-63-9	98%	(9a,10b,11b,13a)-11-[(N-acetyl-1-deoksymuramoyl)metylamino]-2,3,10,11,12,13-heksahydro-10-metoksy-9-metyl-9,13-epoksy-1H, 9H-diindolo[1,2,3-gh:3',2',1'-lm]pyrrolo[3,4-j][1,7]benzodiazonin-1-on
149622-64-0	27%	(9a,10b,11b,13a)-11-[[N-acetyl-4-O-acetyl-6-O-(1-oksooktadecyl)-a-muramoyl)metylamino]-2,3,10,11,12,13-heksahydro-10-metoksy-9-metyl-9,13-epoksy-1H, 9H-diindolo[1,2,3-gh:3',2',1'-lm]pyrrolo[3,4-j][1,7]benzodiazonin-1-on
149622-65-1	74%	(9a,10b,11b,13a)-11-[(N-acetyl-4,6-di-O-acetyl-a-muramoyl)metylamino]-2,3,10,11,12,13-heksahydro-10-metoksy-9-metyl-9,13-epoksy-1H, 9H-diindolo[1,2,3-gh:3',2',1'-lm]pyrrolo[3,4-j][1,7]benzodiazonin-1-on,
149622-66-2		(9a,10b,11b,13a)-11-[[N-acetyl-1,4-di-O-acetyl-6-O-(1-oksooktadecyl)-a-muramoyl)metylamino]-2,3,10,11,12,13-heksahydro-10-metoksy-9-metyl-9,13-epoksy-1H, 9H-diindolo[1,2,3-gh:3',2',1'-lm]pyrrolo[3,4-j][1,7]benzodiazonin-1-on
126572-73-4		(9S,10R,11R,13R)-2,3,10,11,12,13-heksahydro-11-hidroksy-10-metoksy-9-metyl-9,13-epoksy-1H, 9H-diindolo[1,2,3-gh:3',2',1'-lm]pyrrolo[3,4-j][1,7]benzodiazonin-1-on
187457-76-7		[9S-(9a,10b,13a)]-[[2,3,9,10,12,13-heksahydro-10-metoksy-9-metyl-1-okso-9,13-epoksy-1H,11H-diindolo[1,2,3-gh:3',2',1'-lm]pyrrolo[3,4-j][1,7]benzodiazonin-11-ylidene)amino]oksy]-eddiksyre
149622-68-4	93%	(9a,10b,11b,13a)-11-[(N-acetyl-6-O-acetyl-1-deoksymuramoyl)metylamino]-2,3,10,11,12,13-heksahydro-10-metoksy-9-metyl-, 11-[(N-acetyl-6-O-acetyl-1-deoksymuramoyl)metylamino]-2,3,10,11,12,13-heksahydro-10-metoksy-9-metyl-9,13-epoksy-1H, 9H-diindolo[1,2,3-gh:3',2',1'-lm]pyrrolo[3,4-j][1,7]benzodiazonin-1-on
149622-70-8	67%	(9a,10b,11b,13a)-11-[[N-acetyl-1-deoksy-6-O-(4-metylfenyl)sulfonyl]muramoyl)metylamino]-2,3,10,11,12,13-heksahydro-10-metoksy-9-metyl-, 9,13-epoksy-1H, 9H-diindolo[1,2,3-gh:3',2',1'-lm]pyrrolo[3,4-j][1,7]benzodiazonin-1-on
150654-80-1	97%	(9a,10b,11b,13a)-11-[(N-acetyl-6-amino-1,6-dideoksymuramoyl)metylamino]-2,3,10,11,12,13-heksahydro-10-metoksy-9-metyl-9,13-epoksy-1H, 9H-diindolo[1,2,3-gh:3',2',1'-lm]pyrrolo[3,4-j][1,7]benzodiazonin-1-on, monometanesulfonat

239785-03-6	100%	(9R,10S,11S,13S)-2,3,10,11,12,13-heksahydro-10-hidroksy-9-metyl-11-(metylamino)-,9,13-epoksy-1H,9H-diindolo [1,2,3-gh:3',2',1'-lm]pyrrolo[3,4-j][1,7]benzodiazonin-1-on
187457-78-9	77%	[9S-(9a,10b,13a)]-2,3,9,10,12,13-heksahydro-10-metoksy-9-metyl-9,13-epoksy-1H,11H-diindolo[1,2,3-gh:3',2',1'-lm]pyrrolo [3,4-j][1,7]benzodiazonin-1,11-dion, 11-(O-acetyloksim)
126221-77-0	96%	(9S,10R,11R,13R)-11-amino-2,3,10,11,12,13-heksahydro-10-metoksy-9-metyl-9,13-epoksy-1H,9H-diindolo[1,2,3-gh:3',2',1'-lm] pyrrolo[3,4-j][1,7]benzodiazonin-1-on,
160251-50-3	89%	[9S-[9a,10b,11b(S*),13a]]-N-(2,3,10,11,12,13-heksahydro-10-metoksy-9-metyl-1-okso-9,13-epoksy-1H,9H-diindolo [1,2,3-gh:3',2',1'-lm]pyrrolo[3,4-j][1,7]benzodiazonin-11-yl)-N-metyl-2-[(tetrahydro-2H-pyran-4-yl)oksy]-propanamid
160251-52-5	94%	[9S-(9a,10b,11b,13a)]-N-(2,3,10,11,12,13-heksahydro-10-metoksy-9-metyl-1-okso-9,13-epoksy-1H,9H-diindolo [1,2,3-gh:3',2',1'-lm]pyrrolo[3,4-j][1,7]benzodiazonin-11-yl)-N-metyl-2-[(tetrahydro-2H-pyran-4-yl)oksy]-acetamid
187457-79-0		[9S-(9a,10b,13a)]-2,3,9,10,12,13-heksahydro-10-metoksy-9-metyl-11-[(O-metylsulfonyl)oksim], 9,13-epoksy-1H,11H-diindolo [1,2,3-gh:3',2',1'-lm]pyrrolo[3,4-j][1,7]benzodiazonin-1,11-dion,
149109-23-9		(9S,10R,11R,13R)-11-(dimetyloksidoamino)-2,3,10,11,12,13-heksahydro-10-metoksy-9-metyl-9,13-epoksy-1H,9H-diindolo [1,2,3-gh:3',2',1'-lm]pyrrolo[3,4-j][1,7]benzodiazonin-1-on,
160251-55-8	85%	[9S-(9a,10b,11b,13a)]-N-(2,3,10,11,12,13-heksahydro-10-metoksy-9-metyl-1-okso-9,13-epoksy-1H,9H-diindolo[1,2,3-gh:3',2',1'-lm] pyrrolo[3,4-j][1,7]benzodiazonin-11-yl)-N,2-dimetyl-2-[(tetrahydro-2H-pyran-4-yl)oksy]-propanamid
187457-73-4	89%	[9S-(9a,10b,13a)]-2,3,9,10,12,13-heksahydro-10-hidroksy-9-metyl-9,13-epoksy-1H,11H-diindolo[1,2,3-gh:3',2',1'-lm]pyrrolo [3,4-j][1,7]benzodiazonin-1,11-dion, 11-oksim,
187457-73-4		som ovenfor
406703-32-0		(9S,10R,11R,13R)-11-amino-2,3,10,11,12,13-heksahydro-10-hidroksy-9-metyl-9,13-epoksy-1H,9H-diindolo [1,2,3-gh:3',2',1'-lm]pyrrolo[3,4-j][1,7]benodiazonin-1-on

120685-11-2		N-[(9S,10R,11R,13R)-2,3,10,11,12,13-heksahydro-10-metoksy-9-metyl-1-okso-9,13-epoksy-1H,9H-diindolo [1,2,3-gh:3',2',1'-lm]pyrrolo[3,4-j][1,7]benzodiazonin-11-yl]-N-metyl-benzamid
187457-71-2		[9S-(9a,10b,11E,13a)]-2,3,9,10,12,13-heksahydro-10-metoksy-9-metyl-9,13-epoksy-1H,11H-diindolo[1,2,3-gh:3',2',1'-lm] pyrrolo[3,4-j][1,7]benzodiazonin-1,11-dion, 11-[O-(fenylmetyl)oksim],
187457-75-6		[9S-(9a,10b,13a)]-2,3,9,10,12,13-heksahydro-10-hidroksy-9-metyl-9,13-epoksy-1H,11H-diindolo[1,2,3-gh:3',2',1'-lm]pyrrolo [3,4-j][1,7]benzodiazonin-1,11-dion
120685-37-2		(9a,10b,11b,13a)-(2,3,10,11,12,13-heksahydro-10-metoksy-9-metyl-1-okso-9,13-epoksy-1H,9H-diindolo[1,2,3-gh:3',2',1'-lm] pyrrolo[3,4-j][1,7]benzodiazonin-11-yl)metyl-karbaminsyre, fenyl ester,
120685-47-4		(9a,10b,11b,13a)-4-[[[(2,3,10,11,12,13-heksahydro-10-metoksy-9-metyl-1-okso-9,13-epoksy-1H,9H-diindolo [1,2,3-gh:3',2',1'-lm]pyrrolo[3,4-j][1,7]benzodiazonin-11-yl)metylamino]karbonyl]-benzosyre, metyl ester
157318-74-6		[9S-(9a,10b,11b,13a)]-4-[[[(2,3,10,11,12,13-heksahydro-10-metoksy-9-metyl-1-okso-9,13-epoksy-1H,9H-diindolo [1,2,3-gh:3',2',1'-lm]pyrrolo[3,4-j][1,7]benzodiazonin-11-yl)metylamino]karbonyl]-benzosyre
159404-67-8	64%	(2,3,10,11,12,13-heksahydro-10-metoksy-9-metyl-1-okso-9,13-epoksy-1H,9H-diindolo[1,2,3-gh:3',2',1'-lm]pyrrolo [3,4-j][1,7]benzodiazonin-11-yl)metyl-karbaminsyre, fenylmetyl ester
124078-41-7	99%	[9S-(9a,10b,11b,13a)]-3-amino-N-(2,3,10,11,12,13-heksahydro-10-metoksy-9-metyl-1-okso-9,13-epoksy-1H,9H-diindolo [1,2,3-gh:3',2',1'-lm]pyrrolo[3,4-j][1,7]benzodiazonin-11-yl)-N-metyl-propanamid, monohidroklorid,
124078-44-0	87%	[9S-(9a,10b,11b,13a)]-3-[(2,3,10,11,12,13-heksahydro-10-metoksy-9-metyl-1-okso-9,13-epoksy-1H,9H-diindolo [1,2,3-gh:3',2',1'-lm]pyrrolo[3,4-j][1,7]benzodiazonin-11-yl)metylamino]-3-oksopropyl]-karbaminsyre, 1,1-dimetyletyl ester
62996-74-1	100%	(9S,10R,11R,13R)-2,3,10,11,12,13-heksahydro-10-metoksy-9-metyl-11-(metylamino)-9,13-epoksy-1H,9H-diindolo [1,2,3-gh:3',2',1'-lm]pyrrolo[3,4-j][1,7]benzodiazonin-1-on

Oppfinnelsen støttes videre av de data som er beskrevet av Weisberg E, Boulton C, Kelly LM, Manley P, Fabbro D, Meyer T, Gilliland DG and Griffin JD i tidsskriftet **“Cancer Cell”** (“Inhibition of mutant FLT3 receptors in leukemia cells by the small molecule tyrosine kinase inhibitor PKC412”; 2002 Jun;1(5):433-43), og denne artikkel

5 ansees som en del av foreliggende beskrivelse.

P a t e n t k r a v

1.

Anvendelse av midostaurin eller et farmasøytiske akseptabelt salt derav for fremstilling
5 av en farmasøytisk sammensetning for behandling av en sykdom som involverer
deregulert FLT3 reseptor tyrosin kinase aktivitet, der sykdommen er en leukemi eller
myelodysplastisk syndrom.

2.

10 Anvendelse ifølge krav 1, der nevnte leukemi er akutt myeloid leukemi (AML).

3.

Anvendelse ifølge krav 1, der nevnte leukemi er akutt myeloid leukemi med
«trilineage» myelodysplasi (AML-TMD).

15

4.

Anvendelse ifølge krav 1, der nevnte leukemi er akutt lymfoblastisk leukemi (ALL).

5.

20 Anvendelse ifølge krav 1, der nevnte leukemi er blandet «lineage» leukemi (MLL).

6.

Anvendelse ifølge krav 1, der den farmasøytiske sammensetningen omfatter 50-500 mg
midostaurin eller et farmasøytisk akseptabelt salt.

25

7.

Anvendelse ifølge krav 6, der sykdommen er akutt myeloid leukemi (AML).