



(19)
Bundesrepublik Deutschland
Deutsches Patent- und Markenamt

(10) **DE 600 30 164 T2** 2007.08.30

(12) **Übersetzung der europäischen Patentschrift**

(97) **EP 1 259 234 B1**

(21) Deutsches Aktenzeichen: **600 30 164.8**

(86) PCT-Aktenzeichen: **PCT/US00/18058**

(96) Europäisches Aktenzeichen: **00 943 334.3**

(87) PCT-Veröffentlichungs-Nr.: **WO 2001/049287**

(86) PCT-Anmeldetag: **30.06.2000**

(87) Veröffentlichungstag

der PCT-Anmeldung: **12.07.2001**

(97) Erstveröffentlichung durch das EPA: **27.11.2002**

(97) Veröffentlichungstag

der Patenterteilung beim EPA: **16.08.2006**

(47) Veröffentlichungstag im Patentblatt: **30.08.2007**

(51) Int Cl.⁸: **A61K 31/40** (2006.01)

A61P 35/00 (2006.01)

C07D 403/06 (2006.01)

C07D 487/04 (2006.01)

C07D 209/00 (2006.01)

(30) Unionspriorität:

476232 **30.12.1999** **US**

PCT/US99/31232 **30.12.1999** **WO**

569545 **12.05.2000** **US**

(73) Patentinhaber:

Sugen, Inc., San Francisco, Calif., US

(74) Vertreter:

Viering, Jentschura & Partner, 81675 München

(84) Benannte Vertragsstaaten:

**AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT,
LI, LU, MC, NL, PT, SE**

(72) Erfinder:

**LANGHECKER, J., Peter, Monte Sereno, CA 95030,
US; SHAWVER, K., Laura, San Francisco, CA
94112, US; TANG, C., Peng, Moraga, CA 94556, US;
SUN, Li, Foster City, CA 94404, US**

(54) Bezeichnung: **3-Heteroarylidenyl-2-Indolinon Derivate für die Modulierung der Aktivität einer Proteinkinase und für die Verwendung bei der Chemotherapie von Krebs**

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

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

Beschreibung

Einleitung

[0001] Die vorliegende Erfindung bezieht sich allgemein auf Chemie, Biochemie, Pharmakologie, Medizin und die Behandlung von Krebs. Insbesondere bezieht sie sich auf 3-Heteroarylidenyl-2-Indolinonverbindungen, die die Aktivität von Proteinkinasen (PKs) modulieren und auf Verfahren für ihre Verwendung bei der Behandlung von Erkrankungen, die mit der abnormalen Aktivität von Proteinkinasen in Beziehung stehen, einschließlich Krebs, wobei Kombinationen der Verbindungen mit anderen Chemotherapeutika verwendet werden.

Hintergrund der Erfindung

[0002] Das Folgende wird nur als Hintergrundinformation bereitgestellt und es wird nicht anerkannt, dass es für die vorliegende Erfindung Stand der Technik ist oder solchen beschreibt.

[0003] PKs sind Enzyme, die die Phosphorylierung von Hydroxylgruppen an Tyrosin-, Serin- und Threoninresten von Proteinen katalysieren. Die Konsequenzen dieser scheinbar einfachen Aktivität sind erstaunlich: Zellwachstum, Differenzierung und Proliferation, d.h. im wesentlichen alle Aspekte des Lebens einer Zelle hängen auf die eine oder andere Weise von der Aktivität von PKs ab. Ferner wurde die abnormale Aktivität von PKs mit einer Reihe von Erkrankungen in Verbindung gebracht, die von relativ nicht lebensbedrohlichen Krankheiten, wie zum Beispiel Psoriasis, zu extrem virulenten Krankheiten, wie zum Beispiel einem Glioblastom (Hirnkrebs), reichen.

[0004] Die PKs können zweckmäßigerweise in zwei Klassen unterteilt werden, die Proteintyrosinkinasen (PT-Ks) und die Serin-Threonin Kinasen (STKs).

[0005] Einer der primären Aspekte der PK Aktivität ist ihre Verbindung mit Wachstumsfaktorrezeptoren. Wachstumsfaktorrezeptoren sind Zelloberflächenproteine. Wenn sie durch einen Wachstumsfaktorliganden gebunden werden, werden Wachstumsfaktorrezeptoren in eine aktive Form umgewandelt, die mit Proteinen an der inneren Oberfläche der Zellmembran wechselwirkt. Dies führt zu der Phosphorylierung an Tyrosinresten des Rezeptors sowie an anderen Proteinen und zu der Bildung von Komplexen mit einer Reihe von cytoplasmatischen Signalmolekülen innerhalb der Zelle. Diese Komplexe wiederum beeinflussen eine Vielzahl von zellulären Antworten, wie zum Beispiel Zellteilung (Proliferation), Zelldifferenzierung, Zellwachstum, die Expression von metabolischen Wirkungen auf die extrazelluläre Mikroumgebung, etc. Für eine vollständigere Diskussion, siehe Schlessinger und Ullrich, Neuron, 1992, 9: 303–391.

[0006] Wachstumsfaktorrezeptoren mit PK Aktivität sind als Rezeptortyrosinkinasen bekannt („RTKs“). Sie umfassen eine große Familie von Transmembranrezeptoren mit unterschiedlicher biologischer Aktivität. Derzeit wurden mindestens neunzehn (19) verschiedene Unterfamilien von RTKs identifiziert. Ein Beispiel dafür ist die Unterfamilie, die als „HER“ RTKs bezeichnet wird und die EGFR (epithelialen Wachstumsfaktorrezeptor), HER2, HER3 und HER4 einschließt. Diese RTKs bestehen aus einer extrazellulären glykosylierten ligandenbindenden Domäne, einer Transmembrandomäne und einer intrazellulären cytoplasmatischen katalytischen Domäne, die Tyrosinreste an Proteinen phosphorylieren kann.

[0007] Eine andere RTK Unterfamilie besteht aus dem Insulin-Rezeptor (IR), dem Insulin-ähnlichen Wachstumsfaktor I Rezeptor (IGF-1R) und dem Insulin-Rezeptor ähnlichen Rezeptor (IRR). IR und IGF-1R wechselwirken mit Insulin, IGF-I und IGF-II, um ein Heterotetramer zu bilden, das aus zwei vollständig extrazellulär glykosylierten α Untereinheiten und zwei β Untereinheiten, die die Zellmembran durchqueren, und welche die Tyrosinkinase Domäne enthalten, besteht.

[0008] Eine dritte RTK Unterfamilie wird als die Blutplättchen-Wachstumsfaktorrezeptor („PDGFR“) Gruppe bezeichnet und schließt PDGFR α , PDGFR β , CSF1R, c-kit und c-fms ein. Diese Rezeptoren bestehen aus glykosylierten extrazellulären Domänen, die aus einer variablen Anzahl von Immunglobulin-ähnlichen Schleifen und einer intrazellulären Domäne, in der der Tyrosinkinase Domäne durch damit nicht verwandte Aminosäuresequenzen unterbrochen wird, bestehen.

[0009] Eine andere Gruppe, die, aufgrund ihrer Ähnlichkeit mit der PDGFR Unterfamilie, oftmals unter letztere Gruppe subsummiert wird, ist die fötale Leberkinase („flk“) Rezeptorunterfamilie. Es wird angenommen, dass sich die Gruppe aus Kinase insert Domäne-Rezeptor/fötale Leberkinase-1 (KDR/FLK-1(VEGFR-2)), flk-1R,

flk-4 und fms-ähnlicher Tyrosinkinase 1 (flt-1) zusammensetzt.

[0010] Ein weiteres Mitglied der Familie der Tyrosinkinasewachstumsfaktorrezeptoren ist die Gruppe der Fibroblastenwachstumsfaktor („FGF“)-Rezeptoren. Diese Gruppe besteht aus vier Rezeptoren, FGFR1–FGFR4, und sieben Liganden, FGF1–FGF7. Obwohl sie bisher noch nicht gut charakterisiert ist, scheint es, dass die Rezeptoren ebenfalls aus einer glykosylierten extrazellulären Domäne, die eine variable Anzahl von Immunglobulin-ähnlichen Schleifen enthält, und einer intrazellulären Domäne, in der die PTK Sequenz durch Regionen von damit nicht verwandten Aminosäuresequenzen unterbrochen wird, besteht.

[0011] Eine vollständigere Liste der bekannten RTK Unterfamilien wird in Plowman et al., DN&P, 1994, 7(6): 334–339 beschrieben.

[0012] Zusätzlich zu den RTKs, gibt es ebenfalls eine Familie von vollständig intrazellulären PTKs, die „Nicht-Rezeptor Tyrosinkinasen“ oder „zelluläre Tyrosinkinasen“ genannt werden. Diese letztere Bezeichnung, abgekürzt „CTK“, wird hierin verwendet. CTKs enthalten keine extrazellulären und Transmembrandomänen. Bisher wurden über 24 CTKs in 11 Unterfamilien (Src, Frk, Btk, Csk, Abl, Zap70, Fes, Fps, Fak, Jak und Ack) identifiziert. Die Src Unterfamilie scheint bisher die größte die Gruppe von CTKs zu sein und schließt Src, Yes, Fyn, Lyn, Lck, Blk, Hck, Fgr und Yrk ein. Für eine detaillierte Diskussion von CTKs siehe Bolen, Oncogene, 1993, 8: 2025–2031.

[0013] Die Serin-Threonin Kinasen oder STKs, sind wie die CTKs hauptsächlich intrazellulär, obwohl es einige wenige STK Rezeptorkinasen gibt. STKs sind die häufigsten cytosolischen Kinasen, d.h. Kinasen, die ihre Funktion in dem Zytoplasma außerhalb der cytoplasmatischen Organellen und des Cytoskeletts ausüben. Das Cytosol ist die Region innerhalb der Zelle, in der das meiste des Intermediär-Stoffwechsels und der biosynthetischen Aktivität der Zelle abläuft; so werden zum Beispiel im Cytosol an den Ribosomen die Proteine synthetisiert.

[0014] RTKs, CTKs und STKs sind mit einer Reihe von pathogenen Zuständen einschließlich bezeichnenderweise Krebs, in Verbindung gebracht worden. Andere pathogene Zustände, die mit PTKs in Verbindung gebracht wurden, schließen ohne Beschränkung ein: Psoriasis, Leberzirrhose, Diabetes, Atherosklerose, Angiogenese, Restenose, Augenkrankheiten, rheumatoide Arthritis und andere entzündliche Erkrankungen, Autoimmunkrankheiten und eine Reihe von Nierenkrankheiten.

[0015] Im Hinblick auf Krebs beziehen sich zwei der Haupthypothesen, die vorgebracht wurden, um die exzessive zelluläre Proliferation, die die Tumorentwicklung antreibt, zu erklären, auf Funktionen, für die bekannt ist, dass sie von PKs reguliert werden. Das heißt, es wurde vorgeschlagen, dass bösartiges Zellwachstum durch den Ausfall des Mechanismus, der Zellteilung und/oder Differenzierung kontrolliert, entsteht. Es wurde gezeigt, dass die Proteinprodukte einer Reihe von Proto-Onkogenen an Signaltransduktionswegen beteiligt sind, die Zellwachstum und -differenzierung regulieren. Diese Proteinprodukte von Proto-Onkogenen schließen extrazelluläre Wachstumsfaktoren, transmembrane Wachstumsfaktor PTK Rezeptoren (RTKs), cytoplasmatische PTKs (CTKs) und cytosolische STKs, die oben diskutiert wurden, ein.

[0016] Krebs ist weiterhin einer der Hauptgründe für den Tod von Menschen. Die Mehrzahl der Krebsformen sind feste Tumorformen wie zum Beispiel ohne Beschränkung Eierstockkrebs, Darmkrebs, Hirnkrebs, Leberkrebs, Nierenkrebs, Magenkrebs, Prostatakrebs, Lungenkrebs, Schilddrüsenkrebs, Kaposi's Sarkom und Hautkrebs. Von den soliden Tumorformen ist Darmkrebs eine besonders häufige, bösartige Krebsform; Adenokarzinome des Darms betreffen ungefähr eine von 20 Personen in den Vereinigten Staaten und in den meisten westlichen Ländern. In den Vereinigten Staaten macht Darmkrebs ungefähr 15% aller neu diagnostizierten Krebsarten aus. Obwohl Darmkrebs die dritthäufigste Todesursache von mit Krebs in Verbindung stehenden Todesfällen ist, sind die Prognose und das Ergebnis hochgradig vom Stadium der Krankheit bei der Diagnose abhängig. Wenn er im Frühstadium diagnostiziert wird, ist Darmkrebs unter Verwendung eines multidisziplinären Behandlungskur hochgradig heilbar. Nichtsdestotrotz haben 20–25% der Patienten, bei denen die Krankheit diagnostiziert wird, Metastasen oder werden eine lokal wiederauftretende oder metastasierende Krankheit entwickeln; die Mehrzahl dieser Patienten wird schließlich an der Krankheit sterben.

[0017] Die Hauptbehandlungsarten fester Tumorkrebsarten, einschließlich Darmkrebs, sind Operation, Bestrahlungstherapie und Chemotherapie, einzeln und in Kombination.

[0018] Obwohl die anfängliche Bildung und das Wachstum von Tumoren die Bildung neuer Blutgefäße nicht erfordert, erfordert jedes weitere Wachstum die Neuvaskularisation. Das heißt, damit Tumore über ein Volu-

men von 3 bis 4 mm³ hinauswachsen, muss es zu dem Wachstum neuer Blutgefäße, d.h. Angiogenese, die Bildung neuer Kapillargefäße aus bestehenden Blutgefäßen, kommen. Tatsächlich zeigt die immunhistochemische Analyse von Tumorschnitten von den Rändern von wachsenden Tumoren unabhängig von der Tumorart ein übermäßiges Vorkommen von Blutgefäßen. Um diese Neuvaskularisierung zu erreichen, werden aus hypoxischen Tumorzellen angiogene Faktoren freigesetzt und wandern zu nahe gelegenen Endothelzellen der Blutgefäße, aktivieren diese Zellen dazu morphologische Veränderungen zu durchlaufen, sich zu bewegen und zu teilen. Tumore, denen eine angemessene Blutgefäßversorgung fehlt, werden nekrotisch (Brem, S., et al., *Cancer Res.*, 1976, 36, 2807–12) und/oder apoptotisch (Holmgren, L., et al., *Nature Med.*, 1995, 1: 149–53; Parangi, S., et al., *Cancer Res.*, 1995, 55: 6071–6), wobei Tumore, die die Neubildung von Blutgefäßen durchgemacht haben, nicht nur in eine Phase schnellen Wachstums eintreten können, sondern auch erhöhtes metastatisches Potential zeigen. Zur Unterstützung der Bedeutung der Angiogenese in menschlichen Tumoren haben kürzliche Studien, die den angiogenen Phänotyp und das Überleben in Menschen in Beziehung gesetzt haben, gezeigt, dass die Anzahl von Mikroblutgefäßen in einem Primärtumor prognostische Bedeutung bei Brustkarzinomen (Gasparini, G., und Harris, A. L., *J. Clin. Oncol.*, 1995, 13: 765–82; Toi, M., et al., *Japan J. Cancer Res.*, 1994, 85: 1045–9), Blasenkarzinomen (Dickinson, A. J., et al., *Br. Urol.*, 1994, 74: 762–6), Kolonkarzinomen (Ellis, L. M. et al. *Surgery*, 1996, 120(5): 871–8) und Tumoren der Mundhöhle (Williams, J. K. et al., *Am. J. Surg.* 1994, 168: 373–80) besitzt. Die Angiogenese kann bei dem Wachstum von hematopoetischen Neoplasien und multiplem Myelom ebenfalls eine Rolle spielen (Bellamy, W. T., et al., *Proc. Amer. Assoc. Cancer Res.*, 1998, Abstract #2566).

[0019] Zurzeit wird angenommen, dass der zentrale Mediator der Angiogenese von bösartigen Tumoren das endotheliale Mitogen vaskulärer endothelialer Wachstumsfaktor (VEGF) ist. VEGF ist für viele Arten von Endothelzellen von kleinen und großen Blutgefäßen mitogen. Es induziert die Produktion von Gewebefaktoren, Kollagenase und Plasminogen Aktivatoren und Inhibitoren. Auf VEGF wird manchmal aufgrund seiner Permeabilität erhöhender Wirkungen als „vaskulärer Permeabilitätsfaktor“ Bezug genommen (Landriscina, M., et al., *Brit. J. Cancer*, 1998, 78(6): 765–770). Tatsächlich ist das vaskuläre Permeabilitätsfaktorpotential von VEGF etwa 50.000-fach höher als das von Histamin, das ein gut bekanntes vaskuläres Permeabilisierungsmolekül ist (Dvorak, H. F., et al., *Am. J. Path.*, 1995, 146: 1029–39). Diese erhöhte Permeabilität führt zu der Extravasation von Makromolekülen, wie zum Beispiel Fibrinogen, das ein Fibrinnetzwerk oder ein Substrat für die Migration und Organisierung von Endothelzellen sowie Tumorzellen liefert, aus dem Blutkreislauf (Kumar, H., et al., *Clin. Cancer Res.*, 1998, 4: 1279–85). VEGF Expression wurde in vitro in einer Reihe von menschlichen Krebszelllinien und operativ in entfernten Tumoren des gastrointestinalen Trakts, der Eierstöcke, des Gehirns, der Brust und der Niere gezeigt (Thomas, K. A., *J. Biol. Chem.*, 1996, 271: 603.6).

[0020] VEGF wurde ebenfalls direkt mit der Entwicklung von Darmkrebs in Verbindung gebracht; d.h. in Tumorgewebe von Patienten mit Darmkrebs wurden erhöhte Konzentrationen von VEGF gefunden. Tatsächlich wurde eine starke Korrelation zwischen dem Anstieg von VEGF und dem Stadium und der Tiefe der Invasion in die Intestinalwand beobachtet (C. Barone, et al., *Brit. J. Cancer*, 1998, 78(6): 765–70). Übereinstimmend mit diesem Ergebnis ist die Entdeckung, dass die Serumkonzentration von VEGF signifikant mit dem Dukes Stadium und der Konzentration an Carcinoembryonalem Antigen korrelieren, und dass Patienten mit Leber- und/oder Lymphknotenmetastasen dazu neigen, höhere Serumkonzentrationen an VEGF zu zeigen, als Patienten ohne solche Metastasen (Fujisaki, K., et al., *Am. J. Gastroenterology*, 1998, 93(2): 249–52).

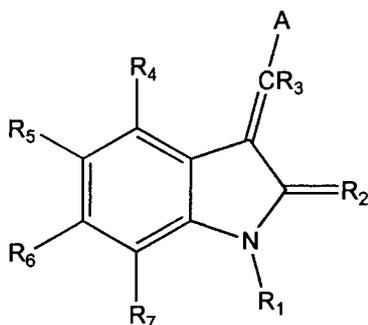
[0021] Angesichts der Notwendigkeit der Neubildung von Blutgefäßen für das Wachstum von soliden Tumoren und der Rolle von VEGF als einem der wichtigsten Mediatoren der Angiogenese, insbesondere in Darmkrebs, würde für Verbindungen, die in der Lage sind, die angiogene Wirkung von VEGF zu hemmen, erwartet, dass sie den Reboundeffekt, der bei der Fluoruracil-basierten Behandlung von Darmkrebs beobachtet wird, abschwächen und dadurch die chemotherapeutische Wirksamkeit von Fluoruracil mit oder ohne Leucovorin erhöhen. Ein zusätzlicher Vorteil eines solchen Verfahrens könnte sein, dass die Verwendung eines angiogenen Inhibitor, der die Fähigkeit des Tumors, neue Blutgefäße zu bilden, verringert und somit eher cytostatisch als cytotoxisch sein würde, die cytotoxische Standard-Chemotherapie ergänzen könnte; d.h. andere Wirkmechanismen zu verwenden, um die Wirksamkeit der cytotoxischen Mittel ohne zusätzliche Toxizität zu erhöhen.

Zusammenfassung der Erfindung

[0022] Unsere Suche nach kleinen organischen Molekülen, die die durch Proteinkinasen vermittelte Signaltransduktion modulieren, hat zu der Entdeckung von 3-Heteroarylidenyl-2-Indolinonen geführt, die die Aktivität von Proteinkinasen (PKs), wie zum Beispiel Rezeptortyrosinkinasen (RTKs), zellulären Tyrosinkinasen (CTKs) und Serin-Threonin Tyrosinkinasen (STKs) modulieren. Die RTKs schließen unter anderem Flk-1, Flt-1, Tie-1 und Tie-2 ein, für die alle gefunden wurde, dass ihre Expression auf endotheliale Zellen beschränkt ist. Von

besonderer Bedeutung mit Bezug auf die vorliegende Erfindung ist die Tatsache, dass angenommen wird, dass Flk-1 bei der Angiogenese eine kritische Rolle spielt und dass diese Rolle durch VEGF vermittelt wird. Das lässt vermuten, dass 3-Heteroarylidenyl-2-Indolinone in der Lage sein sollten, die VEGF-vermittelte Vas-kularisierung und dadurch das Wachstum von Tumoren während des Zeitraums, in dem kein Chemotherapeu-tikum, wie zum Beispiel ohne Beschränkung ein fluoriertes Pyrimidin, an einen Patienten verabreicht wird, zu hemmen und somit die Wirksamkeit des Chemotherapeutikums erhöhen sollten.

[0023] Somit bezieht sich die vorliegende Erfindung in einem ersten Aspekt auf die Verwendung von: (a) the-rapeutisch wirksamen Mengen von mindestens zwei Agenzien ausgewählt aus der Gruppe bestehend aus To-poisomerase I Inhibitoren, Chemotherapeutika, Leucovorin und Kombinationen davon, mit der Maßgabe, dass das Chemotherapeutikum nicht Paclitaxel ist; und (b) eine therapeutisch wirksame Menge einer Verbindung umfassend die chemische Struktur:



wobei

R_1 H oder Alkyl ist;

R_2 O oder S ist;

R_3 Wasserstoff ist;

R_4 , R_5 , R_6 und R_7 jeweils unabhängig ausgewählt werden aus der Gruppe bestehend aus Wasserstoff, Alkyl, Alkoxy, Aryl, Aryloxy, Alkaryl, Alkaryloxy, Halogen, Trihalomethyl, $S(O)R$, SO_2NRR' , SO_3R , SR, NO_2 , NRR' , OH, CN, $C(O)R$, $OC(O)R$, $(CH_2)_nCO_2R$, und $CONRR'$;

A ein fünfgliedriger Heteroarylring ausgewählt aus der Gruppe bestehend aus Thiophen, Pyrrol, Pyrazol, Imi-dazol, 1,2,3-Triazol, 1,2,4-Triazol, Oxazol, Isoxazol, Thiazol, Isothiazol, 2-Sulfonylfuran, 4-Alkylfuran, 1,2,3-Oxadiazol, 1,2,4-Oxadiazol, 1,2,5-Oxadiazol, 1,3,4-Oxadiazol, 1,2,3,4-Oxatriazol, 1,2,3,5-Oxatriazol, 1,2,3-Thiadiazol, 1,2,4-Thiadiazol, 1,2,5-Thiadiazol, 1,3,4-Thiadiazol, 1,2,3,4-Thiatriazol, 1,2,3,5-Thiatriazol und Tetrazol, gegebenenfalls an einer oder mehreren Positionen substituiert mit Alkyl, Alkoxy, Aryl, Aryloxy, Alkaryl, Alkaryloxy, Halogen, Trihalomethyl, $S(O)R$, SO_2NRR' , SO_3R , SR, NO_2 , NRR' , OH, CN, $C(O)R$, $OC(O)R$, $(CH_2)_nCO_2R$ oder $CONRR'$, ist;

n 0–3 ist; und

R und R' unabhängig ausgewählt werden aus der Gruppe bestehend aus Alkyl oder Aryl;

oder ein physiologisch annehmbares Salz oder eine Vorstufe davon für die Herstellung eines Medikaments für die Behandlung von Krebs.

[0024] „Alkyl“ bezieht sich auf geradkettige, verzweigte oder cyclische gesättigte aliphatische Kohlenwasser-stoffe. Vorzugsweise besitzt die Alkylgruppe 1 bis 12 Kohlenstoffatome. Bevorzugter besitzt sie von 1 bis 7 Kohlenstoffatome und am bevorzugtesten ist sie ein Niederalkyl, das ein 1 bis 4 Kohlenstoffatome besitzt. Ty-pische Alkylgruppen schließen Methyl, Ethyl, Propyl, Isopropyl, Butyl, Isobutyl, tertiäres Butyl, Pentyl, Hexyl und ähnliche ein. Die Alkylgruppe kann gegebenenfalls mit einem oder mehreren Substituenten ausgewählt aus der Gruppe bestehend aus Hydroxyl, $-C(O)OR$, Cyano, unsubstituiertem Alkoxy, =O, =S, NO_2 , Halogen, NRR' und SR substituiert sein.

[0025] „Alkenyl“ bezieht sich auf eine Alkylgruppe, die mindestens eine Kohlenstoff-Kohlenstoffdoppelbin-dung enthält.

[0026] „Alkinyl“ bezieht sich auf eine Alkylgruppe, die mindestens eine Kohlenstoff-Kohlenstoff Dreifachbin-dung enthält.

[0027] „Alkoxy“ bezieht sich auf eine „-Oalkyl“ Gruppe, wobei die Alkylgruppe gegebenenfalls mit einer oder mehreren Halogengruppen substituiert sein kann.

[0028] „Aryl“ bezieht sich auf eine Gruppe, die mindestens eine aromatische Ringstruktur besitzt; d.h. einen

Ring, der ein konjugiertes Pi-Elektronen System besitzt, und schließt carbocyclisches Aryl, heterocyclisches Aryl und Biarylgruppen ein. Die Arylgruppen können gegebenenfalls mit einem oder mehreren Substituenten ausgewählt aus der Gruppe bestehend aus Halogen, Trihalogenmethyl, Hydroxyl, SR, Nitro, Cyano, Alkoxy, Alkyl und NRR' substituiert sein.

[0029] „Alkaryl“ bezieht sich auf ein Alkyl, das kovalent mit einer Arylgruppe verbunden ist. Vorzugsweise ist das Alkyl ein unsubstituiertes Niederalkyl.

[0030] „Carbocyclisches Aryl“ bezieht sich auf eine Arylgruppe, bei der die Ringatome Kohlenstoffatome sind.

[0031] „Heterocyclisches Aryl“ bezieht sich auf eine Arylgruppe, die von 1 bis 3 Heteroatome als Ringatome besitzt, wobei der Rest der Ringatome Kohlenstoffatome sind. Heteroatome schließen Sauerstoff, Schwefel und Stickstoff ein. Der Ring kann fünfgliedrig oder sechsgliedrig sein. Beispiele von heterocyclischen Arylgruppen schließen ein Furanyl, Thienyl, Pyridyl, Pyrrolyl, N-Alkylpyrrolyl, Pyrimidyl, Pyrazinyl, Imidazolyl und ähnliche.

[0032] „Amide“ bezieht sich auf $-C(O)NHR^a$, wobei R^a Alkyl, Aryl, Alkylaryl oder Wasserstoff ist.

[0033] „Thioamid“ bezieht sich auf $-C(S)NHR^a$.

[0034] „Amino“ bezieht sich auf eine NRR' Gruppe, in der sowohl R als auch R' Wasserstoff sind „Thioether“ bezieht sich auf eine $-SR^b$ Gruppe, wobei R^b Alkyl, Aryl oder Alkylaryl ist.

[0035] „Halogen“ bezieht sich auf Fluor, Chlor, Brom oder Jod.

[0036] „Sulfonyl“ bezieht sich auf $-S(O)_2R^c$, wobei R^c Aryl, $-C(CN)=C$ -Aryl, $-CH_2CN$, Alkylaryl, $-SO_2NRR'$, $-NH(Alkyl)$, $-NH(Alkylaryl)$ oder $-NH(Aryl)$ ist.

[0037] Beispiele von typischen Indolinon Verbindungen und deren Synthese werden in den folgenden Anmeldungen dargelegt: (1) PCT-Anmeldung Nr. US99/06468, eingereicht am 26. März 1999 durch Fong, et al. und betitelt VERFAHREN ZUR MODULATION VON PROTEINTYROSINKINASEN (Lyon & Lyon docket Nummer 231/250 PCT), (2) provisorische U.S. Anmeldung Nr. 60/131,192 eingereicht am 26. April 1999 von Tang et al. und betitelt DIARYLINDOLINONVERBINDUNGEN ALS KINASEINHIBITOREN (Lyon & Lyon docket Nummer 239/205), (3) provisorische U.S. Anmeldung Nr. 60/132,243, eingereicht am 03. Mai 1999 von Tang et al. und betitelt SYNTHESE VON 4-SUBSTITUIERTEN OXINDOL- UND INDOLINONVERBINDUNGEN UND IHRE VERWENDUNG BEI DER BEHANDLUNG VON KRANKHEITEN (Lyon & Lyon docket Nummer 231/251), (4) US-Anmeldung Nr. 09/283,657, eingereicht am 01. April 1999 von Tang et al. und betitelt VERFAHREN ZUR MODULATION DER FUNKTION VON PROTEINTYROSINKINASEN MIT INDOLINONVERBINDUNGEN (Lyon & Lyon docket Nummer 241/180) und (5) US-Patent Nr. 5,792,783, erteilt am 11. August 1998 von Tang et al. betitelt 3-HETEROARYL-2-INDOLINONVERBINDUNGEN FÜR DIE BEHANDLUNG VON KRANKHEITEN.

[0038] Physiologisch annehmbare Salze und Vorstufen der 3-Heteroarylidenyl-2-Indolinone liegen ebenfalls innerhalb des Umfangs dieser Erfindung.

[0039] Ein „physiologisch annehmbares Salz“ bezieht sich auf ein Salz, das für das physische Wohlbefinden eines Patienten, dem es verabreicht wird, nicht schädlich ist. Die physiologisch annehmbaren Salze, die die Verbindungen dieser Erfindung bilden können, schließen negativ oder positiv geladene Arten ein. Beispiele von Salzen, in denen die Verbindung den positiv geladenen Rest bildet, schließen ein ohne Beschränkung quaternäre Ammoniumsalze (hierin woanders definiert), wie zum Beispiel das Hydrochlorid, Sulfat, Carbonat, Laktat, Tartrat, Maleat und Succinat, ein, wobei das Stickstoffatom der quaternären Ammoniumgruppe ein Stickstoff einer ausgewählten Verbindung dieser Erfindung ist, die mit der entsprechenden Säure reagiert hat. Salze, in denen eine Verbindung dieser Erfindung den negativ geladenen Teil bildet, schließen ohne Beschränkung die Natrium-, Kalium-, Calcium- und Magnesiumsalze, die durch die Reaktion einer Carbonsäuregruppe in der Verbindung mit einer entsprechenden Base (zum Beispiel Natriumhydroxyd (NaOH), Kaliumhydroxyd (KOH), Calciumhydroxyd ($Ca(OH)_2$), etc.) gebildet wurden, ein.

[0040] Wie hierin verwendet, schließt ein „quaternäres Amin“ einen quaternisierten Stickstoff (zum Beispiel $-NRR'R''$, wobei jedes von R, R' und R'' unabhängig ausgewählt wird aus H, Aryl, Alkyl und ähnlichen), ein quaternisiertem Stickstoff enthaltendes heterocyclisches Aryl und ähnliche ein.

[0041] Eine „Vorstufe“ bezieht sich auf ein Agens, das in vivo in das Medikament umgewandelt wird. Vorstufen sind oftmals nützlich, da sie in einigen Situationen einfacher zu verabreichen sein können als das Medikament selbst. Sie können zum Beispiel über die orale Verabreichung bioverfügbar sein, während es das tatsächliche Medikament nicht ist. Die Vorstufe kann im Vergleich zum tatsächlichen Medikament auch eine verbesserte Löslichkeit in pharmazeutischen Zusammensetzungen besitzen. Ein nicht beschränkendes Beispiel einer Vorstufe würde eine Verbindung der vorliegenden Erfindung sein, die als ein Ester (die „Vorstufe“) verabreicht wird, um das Überqueren der Zellmembran, bei der die Wasserlöslichkeit für die Mobilität schädlich ist, zu ermöglichen, das aber dann, wenn es sich erst einmal innerhalb der Zelle befindet, wo die Wasserlöslichkeit vorteilhaft ist, metabolisch zur Carbonsäure, der aktiven Form, hydrolisiert wird. Ein weiteres Beispiel einer Vorstufe könnte ein kurzes Polypeptid sein, das an eine Carboxylgruppe gebunden ist, wobei die metabolische Entfernung der Polypeptidgruppe die aktive Verbindung freisetzt.

[0042] Die 3-Heteroarylidenyl-2-Indolinonverbindungen dieser Erfindung können als E oder Z Isomere oder als Kombination davon vorkommen. Alle diese Konfigurationen liegen innerhalb des Umfangs dieser Erfindung. In bevorzugten Ausführungsformen dieser Erfindung sind die 3-Heteroarylidenyl-2-Indolinone hauptsächlich (zu mehr als 90%) das Z-Isomer.

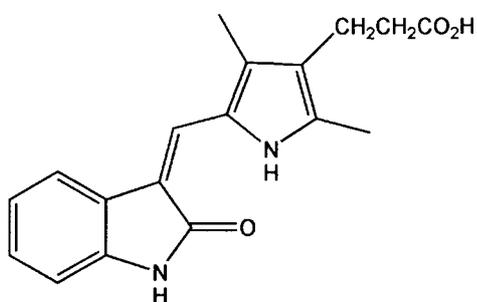
[0043] Mit „hemmen“ ist beseitigen, verringern, eingrenzen, behindern, verhindern, verlangsamen, verzögern und/oder einschränken gemeint. In einer gegenwärtig bevorzugten Ausführungsform dieser Erfindung bezieht sich hemmen auf die Hemmung der Angiogenese oder Vaskulogenese.

[0044] Mit „Angiogenese“ Aktivität ist die Bildung von neuen Blutgefäßen in einem Gewebe gemeint.

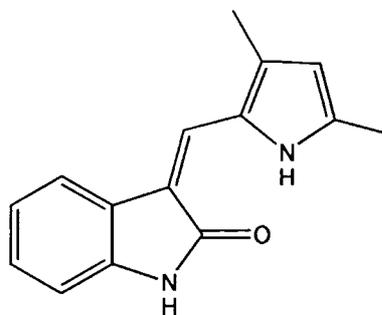
[0045] Mit „Vaskulogenese“ ist die Verbreitung von neuen Blutgefäßen durch ein Gewebe, um ein Blutgefäßsystem zu bilden, gemeint.

[0046] In einem anderen Aspekt ist die 3-Heteroarylidenyl-2-Indolinon Verbindung dieser Erfindung 3-[4-(2-Carboxyethyl-3,5-Dimethylpyrrol-2-yl)methylidenyl]-2-Indolinon (Struktur 1).

[0047] In noch einem anderen Aspekt dieser Erfindung ist das 3-Heteroarylidenyl-2-Indolinon 3-[(2,4-Dimethylpyrrol-5-yl)methylidenyl]-2-Indolinon (Struktur 2).

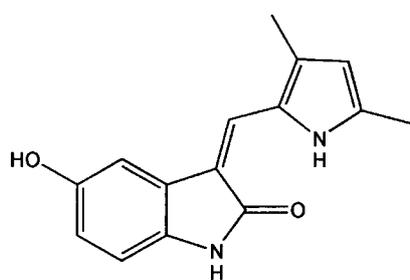
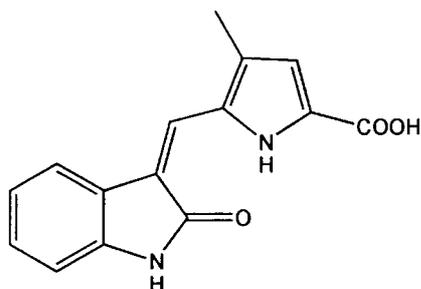
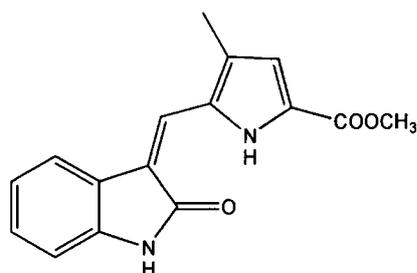
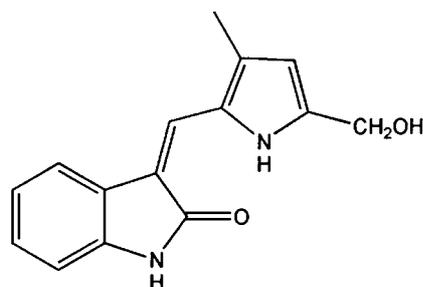
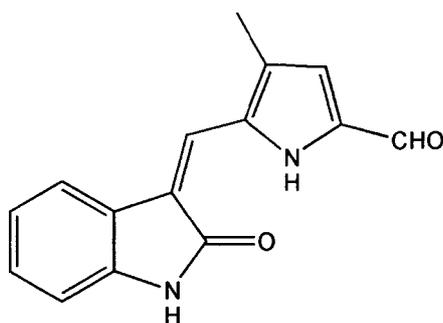


1



2

[0048] Ein weiterer Aspekt dieser Erfindung ist ein 3-Heteroarylidenyl-2-Indolinon ausgewählt aus der Gruppe bestehend aus 5-Hydroxy-3-[(2,4-Dimethylpyrrol-5-yl)methylidenyl]-2-Indolinon (Struktur 3), 4-Methyl-5-(2-oxo-1,2-Dihydroindol-3-ylidenylmethyl)-1H-Pyrrol-2-Carbonsäure (Struktur 4), 4-Methyl-5-(2-oxo-1,2-Dihydroindol-3-ylidenylmethyl)-1H-Pyrrol-2-Carbonsäuremethylester (Struktur 5), 3-(5-Hydroxymethyl-3-Methyl-1H-Pyrrol-2-ylmethyl)-1,3-Dihydroindol-2-on (Struktur 6) und 4-Methyl-5-(2-oxo-1,2-Dihydroindol-3-ylidenmethyl)-1H-Pyrrol-2-Carbaldehyd (Struktur 7). Physiologisch annehmbare Salze und Vorstufen der obigen Verbindungen liegen innerhalb des Umfangs dieser Erfindung.

34567

[0049] Der Ausdruck „Verfahren“ bezieht sich Arten, Mittel, Techniken und Prozesse zum Erreichen einer bestimmten Aufgabe einschließlich aber nicht beschränkt auf solche Arten, Mittel, Techniken und Prozesse, die entweder bekannt oder von bekannten Arten, Mitteln, Techniken und Prozessen durch Anwender auf chemischem, pharmakologischem, biologischem, biochemischem und medizinischem Gebiet einfach abgeleitet werden können.

[0050] Mit Bezug auf Krebs meint der Ausdruck „behandeln“ einfach, dass die Lebenserwartung eines Individuums, das von einem Krebs betroffen ist, erhöht wird, ein Symptom oder mehrere Symptome der Krankheit und/oder ungewünschte Nebenwirkungen der Behandlung der Krankheit verringert werden und/oder dass die Lebensqualität erhöht wird.

[0051] Die Krebsarten, die gemäß den Verfahren der Erfindung behandelt werden können, schließen Brustkrebs, Magenkrebs, Eierstockkrebs, Nierenkrebs, Leberkrebs, Bauchspeicheldrüsenkrebs, Blasenkrebs, Schilddrüsenkrebs, Prostatakrebs, Darmkrebs, feste Tumorkrebsarten (zum Beispiel Eierstockkrebs, Darmkrebs, Hirnkrebs, Leberkrebs, Nierenkrebs, Magenkrebs, Prostatakrebs, Lungenkrebs, Schilddrüsenkrebs, Kaposi's Sarkom, Bauchspeicheldrüsenkrebs, nicht-kleinzelliger Lungenkrebs, Hautkrebs und ähnliche), nicht-kleinzelligen Lungenkrebs und ähnliche ein. In einem Aspekt ist der Krebs eine feste Tumorkrebsform.

[0052] Wie hierin verwendet, bezieht sich „verabreichen“, oder „Verabreichung“ auf die Abgabe einer Verbindung, eines Salzes oder einer Vorstufe der vorliegenden Erfindung oder einer pharmazeutischen Zusammensetzung, die eine Verbindung, ein Salz oder eine Vorstufe dieser Erfindung enthält, an einen Patient zum Zwecke der Behandlung von Krebs oder der Vorbeugung oder Behandlung einer mit einer PK in Verbindung stehenden Erkrankung.

[0053] Es ist beabsichtigt, dass „umfassen“ wie hierin im Zusammenhang mit „verabreichen“ verwendet, bedeutet, dass Medikamente, die gemäß der vorliegenden Erfindung verabreicht werden, einfach als eine Kombination einer 3-Heteroarylidenyl-2-Indolinon Verbindung, eines Chemotherapeutikums und einem zusätzlichen Medikament, für das bekannt ist oder für das erwartet wird, dass es zusätzliche vorteilhafte Eigenschaften bei der Kombination bietet (zum Beispiel anderen Chemotherapeutika, mit der Maßgabe, dass Paclitaxel ausgenommen ist, Leucovorin, Topoisomerase I Inhibitoren und ähnlichen und geeignete Kombinationen von zwei oder mehreren davon), wie zum Beispiel Leucovorin, wenn das Chemotherapeutikum ein fluoriertes Pyrimidin ist, verabreicht werden kann.

[0054] Ein „Patient“ bezieht sich auf jeden höheren Organismus, der gegenüber einer Erkrankung, die mit einer PK in Beziehung steht, einschließlich insbesondere Krebs, empfänglich ist. Vorzugsweise bezieht sich „Patient“ auf ein Säugetier, insbesondere einen Menschen.

[0055] Im Allgemeinen bezieht sich eine „therapeutisch wirksame Menge“ auf die Menge eines Agens oder dessen Metabolit, die wirksam ist die Symptome einer Krankheit und/oder die unerwünschten Nebenwirkungen, die der Behandlung der Krankheit mit einem anderen Agens oder dessen Metabolit zugeschrieben werden können, zu verhindern, lindern, verringern oder verbessern oder das Überleben des behandelten Patienten zu verlängern. Insbesondere bezieht sich eine therapeutisch wirksame Menge in Bezug auf die Behandlung von Krebs auf die Menge, die die Wirkung hat (1) die Größe des Tumors zu verringern (oder vorzugsweise diesen zu beseitigen); (2) die Tumormetastasierung zu hemmen (d.h. zu einem gewissen Ausmaß zu verlangsamten, vorzugsweise zu stoppen); (3) das Tumorwachstums bis zu einem gewissen Ausmaß zu hemmen (d.h. zu einem gewissen Ausmaß zu verlangsamten, vorzugsweise zu stoppen); und/oder (4) ein oder mehrere Symptome, die mit dem Krebs verbunden sind, und/oder eine oder mehrere unerwünschte Nebenwirkungen, die der Behandlung des Krebs mit einem anderen Agens oder dessen Metabolit zugeschrieben werden können, zu einem gewissen Ausmaß zu lindern (oder vorzugsweise zu beseitigen). Nicht beschränkende Beispiele von therapeutisch wirksamen Mengen von bestimmten Agenzien und Verbindungen, die für die Verwendung in der vorliegenden Erfindung in Erwägung gezogen werden, werden unten weiter beschrieben.

[0056] Zusätzlich zu der obigen allgemeinen Definition, ist mit einer „therapeutisch wirksamen Menge“ eines Mittels (zum Beispiel eines Chemotherapeutikums, eines Topoisomerase I Inhibitors, Leucovorin und ähnlichen) jede Menge gemeint, die in jeder Art und Weise und in jeder Behandlungskur, die gegenwärtig auf medizinischem Gebiet anerkannt ist oder als Ergebnis von zukünftigen Entwicklungen bezüglich der Verwendung von diesen Agenzien aufkommen mag. In einer gegenwärtig bevorzugten Ausführungsform dieser Erfindung ist das Agens ein Chemotherapeutikum (zum Beispiel ein fluoriertes Pyrimidin, insbesondere Fluoruracil) und die Behandlungskuren sind solche, die auf dem Gebiet der Chemotherapien für die Verabreichung des Chemotherapeutikums (zum Beispiel Fluoruracil) bekannt sind.

[0057] Eine „Behandlungskur“ bezieht sich auf spezifische Mengen ausgewählter Chemotherapeutika (und gegebenenfalls anderer Agenzien, wie zum Beispiel die 3-Heteroarylidenyl-2-Indolinon Verbindung dieser Erfindung), die an vorgegebenen Zeitpunkten in vorgegebener Art und Weise über einen festgelegten Zeitraum verabreicht werden.

[0058] Ohne Beschränkung umfasst zum Beispiel eine übliche Behandlungskur zur Behandlung von Darmkrebs mit Fluoruracil/Leucovorin die Verabreichung von 425 mg/m² (Milligramm pro Quadratmeter Körperoberfläche, eine Art und Weise die Dosierung von chemotherapeutischen Mitteln zu messen, die dem Durchschnittsfachmann gut bekannt ist) Fluorocil plus 20 mg/m² Leucovorin (spezifische Mengen von ausgewählten Agenzien) täglich für 5 Tage (festgelegte Zeiten) durch intravenöse Zuführung (festgelegte Art und Weise) wiederholt in 4 bis 5 Wochen Intervallen (festgelegter Zeitraum).

[0059] Wenn auf „festgelegte Zeiten“ der Verabreichung innerhalb einer Behandlungskur Bezug genommen wird, bedeutet „aufeinanderfolgende Tage“ aufeinanderfolgende Kalendertage; d.h. Montag, Dienstag, Mittwoch, etc. „Gestaffelte“ Tage bedeutet Kalendertage, zwischen denen andere Kalendertage liegen, zum Beispiel ohne Beschränkung, Montag, Mittwoch, Samstag, etc.

[0060] Ferner mit Bezug auf eine „therapeutisch wirksame Menge eines 3-Heteroarylidenyl-2-Indolinons“, bezieht sich der Ausdruck auf eine Menge der Verbindung, die ausreichend ist, das Wachstum, die Größe und die Vaskularisierung, d.h. die Angiogenese und/oder Vaskulogenese, von Tumoren während der „Erholungs-“Zeiträume, d.h. den Zeiträumen einer Behandlungskur, in denen kein anderes Chemotherapeutikum an einen Patienten verabreicht wird, zu hemmen.

[0061] In einem Aspekt umfasst das Agens, das für die Verwendung in der Erfindung in Erwägung gezogen wird, einen Topoisomerase I Inhibitor. Geeignete Topoisomerase I Inhibitoren schließen Irinotecan (d.h. (4s)-4,11-Diethyl-4-Hydroxy-9-[(4-Piperidino-Piperidino)Carbonyloxy]1H-Pyranol[3',4':6,7]Indolizino[1,2-b]Chinolin-3,14(4H,12H)Dion) und ähnliche, ihre physiologisch annehmbaren Salze (zum Beispiel für Irinotecan, Irinotecanhydrochloridhydrat, das kommerziell unter dem Namen CAMPTOSAR[®] von Pharmacia (Peapack, NJ) erhältlich ist), ihre Vorstufen und ähnliche geeignete Kombinationen von zwei oder mehreren davon, ein. Die Ausdrücke „Irinotecan“, „CAMPTOSAR[®]“ und „CPT11“ werden hierin austauschbar verwendet.

[0062] In einem anderen Aspekt umfasst das Agens, das für die Verwendung in der Erfindung in Erwägung gezogen wird, mindestens ein Chemotherapeutikum. In einer bevorzugten Ausführungsform wird ein Chemotherapeutikum in der Erfindung verwendet. In einer anderen bevorzugten Ausführungsform werden mehr als ein (zum Beispiel 2, 3, 4 oder mehr) Chemotherapeutika in der Erfindung verwendet.

[0063] Ein „Chemotherapeutikum“ bezieht sich auf eine chemische Substanz oder ein Medikament, das verwendet wird, um eine Krankheit zu behandeln; der Ausdruck wird am häufigsten auf solche Substanzen oder Medikamente angewendet, die in erster Linie für die Behandlung von Krebs verwendet werden. Geeignete Chemotherapeutika schließen ein Gemcitabin, Capecitabin, fluorierte Pyrimidin Chemotherapeutika, Carboplatin, Cisplatin, Oxaliplatin, Docetaxel, polyglutamierte Taxane, Thalidomid, Tamoxifen (auch als 2-[4-(1,2-Diphenyl-1-Butenyl)Phenoxy]-N,N-Dimethyl-(Z)-2-Hydroxy-1,2,3-Propantricarboxylat (1:1) (9CI) bekannt), Leuprolid, Angiostatine (d.h. eine Klasse von Proteinen und ihre funktionellen Fragmente, die dazu dienen, die Angiogenese und/oder Vaskulogenese zu hemmen, von denen eine Art unter dem Namen ANGIOS-TATIN[™] von EntreMed (Rockville, MD)) kommerziell vertrieben wird), Endostatine (d.h. eine Klasse von Proteinen und ihren funktionellen Fragmenten, die dazu dienen, die Angiogenese und/oder Vaskulogenese zu hemmen, von denen eine Art unter dem Namen ENDOSTATIN[™] von EntreMed (Rockville, MD) kommerziell vertrieben wird), Matrix Metalloprotease (MMP) Inhibitoren, Interferone, Doxorubicin, liposomales Doxorubicin, Daunorubicin, Metoxantron, Estramucin, ein Vinca Alkaloid, 2-Methoxyestradiol und ähnliche und geeignete Kombinationen von zwei oder mehreren davon. Bevorzugte chemotherapeutische Mittel schließen fluorierte Pyrimidin Chemotherapeutika, Cisplatin und eine Kombination von Cisplatin und Gemcitabin ein.

[0064] In einer bevorzugten Ausführungsform ist das chemotherapeutische Mittel ein fluoriertes Pyrimidin Chemotherapeutikum. „Fluorierte Pyrimidin Chemotherapeutika“ sind dem Durchschnittsfachmann auf dem Gebiet der Chemotherapien gut bekannt; Beispiele, ohne Beschränkung, von fluorierten Pyrimidin Chemotherapeutika, die mit den Verbindungen dieser Erfindung verwendet werden können, schließen ohne Beschränkung ein Carmofur, Doxifluridin, Fluoruracil, Floxuridin, Tegafur, Capecitabin und Uracil-Ftorafur (UFT).

[0065] In einer gegenwärtig bevorzugten Ausführungsform dieser Erfindung ist das fluorierte Pyrimidin Chemotherapeutikum Fluoruracil. Es ist ebenfalls eine gegenwärtig bevorzugte Ausführungsform dieser Erfindung, dass, wenn das fluorierte Pyrimidin Chemotherapeutikum Fluoruracil ist, das Agens, das gemäß der Erfindung verwendet wird, ebenfalls Leucovorin einschließt.

[0066] In einer anderen bevorzugten Ausführungsform ist das chemotherapeutische Mittel Cisplatin.

[0067] In einer weiteren bevorzugten Ausführungsform ist das chemotherapeutische Mittel eine Kombination von Cisplatin und Gemcitabin.

[0068] In einem weiteren Aspekt umfasst das Agens, das für die Verwendung in der vorliegenden Erfindung in Erwägung gezogen wird, Leucovorin.

[0069] In noch einem anderen Aspekt dieser Erfindung wird das 3-Heteroarylidenyl-2-Indolinon, das verwendet wird, um in Kombination mit anderen Chemotherapeutika Krebs zu behandeln, vorzugsweise aus der Gruppe bestehend aus 5-Hydroxy-3-[(2,4-Dimethylpyrrol-5-yl)methylidenyl]-2-Indolinon (Struktur 3), 4-Methyl-5-(2-oxo-1,2-Dihydroindol-3-ylidenylmethyl)-1H-Pyrrol-2-Carbonsäure (Struktur 4), 4-Methyl-5-(2-oxo-1,2-Dihydroindol-3-ylidenylmethyl)-1H-Pyrrol-2-Carbonsäuremethylester (Struktur 5), 3-(5-Hydroxymethyl-3-Methyl-1H-Pyrrol-2-ylmethyl)-1,3-Dihydroindol-2-on (Struktur 6) und 4-Methyl-5-(2-oxo-1,2-Dihydroindol-3-ylidenylmethyl)-1H-Pyrrol-2-Carbaldehyd (Struktur 7) ausgewählt.

[0070] In einem weiteren Aspekt dieser Erfindung ist die 3-Heteroarylidenyl-2-Indolinon Verbindung, die verwendet wird, um in Kombination mit anderen Chemotherapeutika Krebs zu behandeln, vorzugsweise 3-[4-(2-Carboxyethyl-3,5-Dimethylpyrrol-2-yl)methylidenyl]-2-Indolinon (Struktur 1).

[0071] In noch einem anderen Aspekt der Erfindung ist die 3-Heteroarylidenyl-2-Indolinon Verbindung, die in Kombination mit anderen Chemotherapeutika verwendet wird, um Krebs zu behandeln, vorzugsweise 3-[(2,4-Dimethylpyrrol-5-yl)methylidenyl]-2-Indolinon (Struktur 2).

[0072] Obwohl alle Kombinationen von einem oder mehreren spezifischen Bestandteilen, die für die Verwendung in den Verfahren der Erfindung in Erwägung gezogen werden, innerhalb des Umfangs der vorliegenden Erfindung liegen, sind in einem Aspekt der Erfindung die folgenden Kombinationen von spezifischen Krebsformen, spezifischen Agenzien und spezifischen Verbindungen bevorzugt.

[0073] In einem bevorzugten Aspekt ist der Krebs, der gemäß der vorliegenden Erfindung behandelt wird, Darmkrebs. In einer Ausführungsform umfasst das Agens, das für die Verwendung in der Erfindung in Erwägung gezogen wird, einen Topoisomerase I Inhibitor (zum Beispiel Irinotecan und ähnliche), ein Chemotherapeutikum (zum Beispiel Fluoruracil und ähnliche) und gegebenenfalls Leucovorin, und die Verbindung, die für die Verwendung in der Erfindung in Erwägung gezogen wird, umfasst 3-[(2,4-Dimethylpyrrol-5-yl)methylidenyl]-2-Indolinon.

[0074] In einem anderen bevorzugten Aspekt ist der Krebs, der gemäß der vorliegenden Erfindung behandelt wird, ein fester Tumor. In einer Ausführungsform umfasst das Agens, das für die Verwendung gemäß der Erfindung in Erwägung gezogen wird, einen Topoisomerase I Inhibitor (zum Beispiel Irinotecan und ähnliche) und ein Chemotherapeutikum (zum Beispiel Cisplatin und ähnliche), und die Verbindung, die für Verwendung gemäß der Erfindung in Erwägung gezogen wird, umfasst 3-[(2,4-Dimethylpyrrol-5-yl)methylidenyl]-2-Indolinon.

[0075] In einem weiteren bevorzugten Aspekt ist der Krebs, der gemäß der vorliegenden Erfindung behandelt werden soll, ein fester Tumor und/oder Darmkrebs. In einer Ausführungsform umfasst das Agens, das für die Verwendung gemäß der Erfindung in Erwägung gezogen wird, einen Topoisomerase I Inhibitor (zum Beispiel Irinotecan und ähnliche) und die Verbindung, die für die Verwendung gemäß der Erfindung in Erwägung gezogen wird umfasst 3-[4-(2-Carboxyethyl-3,5-Dimethylpyrrol-2-yl)methylidenyl]-2-Indolinon (Struktur 1) oder 3-[(2,4-Dimethylpyrrol-5-yl)methylidenyl]-2-Indolinon (Struktur 2).

[0076] In einem zusätzlich bevorzugten Aspekt ist der Krebs, der gemäß der Erfindung behandelt werden soll, nicht-kleinzelliger Lungenkrebs. In einer Ausführungsform umfasst das Agens, das für die Verwendung gemäß der Erfindung in Erwägung gezogen wird, therapeutisch wirksame Mengen eines Topoisomerase I Inhibitors (zum Beispiel Irinotecan und ähnliche) und eines Chemotherapeutikums (zum Beispiel Cisplatin und ähnliche), und die Verbindung, die für die Verwendung gemäß der Erfindung in Erwägung gezogen wird, umfasst 3-[(2,4-Dimethylpyrrol-5-yl)methylidenyl]-2-Indolinon.

[0077] In einem anderen bevorzugten Aspekt ist der Krebs, der gemäß der Erfindung behandelt werden soll, nicht-kleinzelliger Lungenkrebs. In einer Ausführungsform umfasst das Agens, das für die Verwendung gemäß der Erfindung in Erwägung gezogen wird, eine therapeutisch wirksame Menge eines Chemotherapeutikums (zum Beispiel eine Kombination von Carboplatin und Paclitaxel und ähnliche), und die Verbindung, die für die Verwendung gemäß der Erfindung in Erwägung gezogen wird, umfasst 3-[(2,4-Dimethylpyrrol-5-yl)methylidenyl]-2-Indolinon.

[0078] In einem weiteren bevorzugten Aspekt ist der Krebs, der gemäß der Erfindung behandelt werden soll, ein fester Tumor. In einem Aspekt ist der feste Tumor ein Bauchspeicheldrüsenkrebs oder ein nicht-kleinzelliger Lungenkrebs. In einer Ausführungsform umfasst das Agens, das für die Verwendung gemäß der Erfindung in Erwägung gezogen wird, eine therapeutisch wirksame Menge eines Chemotherapeutikums (zum Beispiel eine Kombination von Cisplatin und Gemcitabin und ähnliche), und die Verbindung, die für die Verwendung gemäß der Erfindung in Erwägung gezogen wird, umfasst 3-[(2,4-Dimethylpyrrol-5-yl)methylidenyl]-2-Indolinon.

[0079] Noch ein anderer Aspekt dieser Erfindung ist die Verwendung einer therapeutisch wirksamen Menge Fluoruracil und einer therapeutisch wirksamen Menge einer Verbindung ausgewählt aus der Gruppe bestehend aus 3-[4-(2-Carboxyethyl-3,5-Dimethylpyrrol-2-yl)methylidenyl]-2-Indolinon und 3-[(2,4-Dimethylpyrrol-5-yl)methylidenyl]-2-Indolinon für die Herstellung eines Medikaments zur Behandlung von Krebs. In einer bevorzugten Ausführungsform ist der Krebs Darmkrebs. In einem anderen Aspekt dieser Erfindung schließt die obige Verwendung die Verabreichung einer therapeutisch wirksamen Menge von Leucovorin ein.

[0080] Ein anderer Aspekt dieser Erfindung ist die Verwendung einer therapeutisch wirksamen Menge 3-[(2,4-Dimethylpyrrol-5-yl)methylidenyl]-2-Indolinon und einer therapeutisch wirksamen Menge von Gemcita-

bin, einer anderen Fluorpyrimidinverbindung, für die Herstellung eines Medikaments zur Behandlung von Krebs. Gemcitabin hat bei der Behandlung von fortgeschrittenem Bauchspeicheldrüsenkrebs besondere Wirksamkeit gezeigt. Ferner hat Gemcitabin in Kombination mit anderen Chemotherapeutika, zum Beispiel Paclitaxel, Carboplatin, Cisplatin, Doxorubicin (insbesondere liposomalem Doxorubicin) und Topotecan beträchtliche Aktivität gegen andere refraktäre feste Tumore, einschließlich fortgeschrittenem Eierstockkrebs, kleinzelligem Lungenkrebs und Nierenkrebs, gezeigt. Die Kombination von Gemcitabin mit 3-[(2,4-Dimethylpyrrol-5-yl)methylidenyl]-2-Indolinon allein oder in weiterer Kombination mit zusätzlichen Chemotherapeutika, wie zum Beispiel den oben angegebenen, sollte aufgrund der in Bezug auf Fluorpyrimidine allgemein diskutierten Gründe, für feste Tumore eine zusätzliche hemmende Funktion besitzen ohne die Toxizität weiter zu erhöhen.

[0081] Kombinationen von 3-[(2,4-Dimethylpyrrol-5-yl)methylidenyl]-2-Indolinon mit Nukleosid-Analoga neben Gemcitabin werden ebenfalls durch die vorliegende Erfindung in Erwägung gezogen.

[0082] Ein anderes Pyrimidinanalog, das aus der Kombination mit 3-[(2,4-Dimethylpyrrol-5-yl)methylidenyl]-2-Indolinon Nutzen ziehen sollte, ist Capecitabin, das Wirksamkeit gegen metastasierenden Brustkrebs gezeigt hat, wobei eine solche Kombination ein anderer Aspekt dieser Erfindung ist.

[0083] Zusätzlich ist die chemotherapeutische Kombination von 3-[(2,4-Dimethylpyrrol-5-yl)methylidenyl]-2-Indolinon mit jedem der Pyrimidin Chemotherapeutika 5-FU oder UFT oder damit verwandten Derivaten, Analoga oder Agenzien, ein Aspekt dieser Erfindung.

[0084] Ein weiterer Aspekt dieser Erfindung ist die Kombination von 3-[(2,4-Dimethylpyrrol-5-yl)methylidenyl]-2-Indolinon mit Carboplatin, Oxaliplatin, Cisplatin oder verwandten Chemotherapeutika (zum Beispiel Gemcitabin und ähnliche). Carboplatin und Cisplatin sind zurzeit die vorherrschenden Medikamente für die Behandlung von fortgeschrittenem Eierstockkrebs, während Oxaliplatin das führende Chemotherapeutikum bei metastasierendem Darmkrebs ist. Die Verwendung von 3-[(2,4-Dimethylpyrrol-5-yl)methylidenyl]-2-Indolinon in Kombination mit Carboplatin oder Cisplatin kann eine Verringerung der Menge dieser beiden sehr toxischen Chemotherapeutika, die notwendig ist, um den Krebs zu behandeln, erlauben. Eine gegenwärtig bevorzugte chemotherapeutische Kombination umfasst 3-[(2,4-Dimethylpyrrol-5-yl)methylidenyl]-2-Indolinon, Cisplatin und Gemcitabin.

[0085] Ein weiterer Aspekt dieser Erfindung ist die Kombination von 3-[(2,4-Dimethylpyrrol-5-yl)methylidenyl]-2-Indolinon mit Docetaxel oder polyglutaminieren Taxanen. Docetaxel wirkt über einen anderen Mechanismus als die Verbindungen dieser Erfindung, d.h. es blockiert die Fähigkeit einer Zelle, während der Mitose die mitotischen Spindeln abzubauen. Daher kann dieses Medikament mit seinem besonderen Wirkungsmechanismus, kombiniert mit der anti-angiogenen Aktivität von 3-[(2,4-Dimethylpyrrol-5-yl)methylidenyl]-2-Indolinon, zu einer wirksamen tumoriziden/tumoristatischen Kombination führen.

[0086] Noch ein anderer Aspekt dieser Erfindung ist die Kombination von 3-[4-(2-Carboxyethyl-3,5-Dimethylpyrrol-2-yl)methylidenyl]-2-Indolinon (Struktur 1) oder 3-[(2,4-Dimethylpyrrol-5-yl)methylidenyl]-2-Indolinon (Struktur 2) mit CPT11 (Irinotecan), einem Derivat von Camptothecin, das ein Topoisomerase I Inhibitor ist, und das sich als wirksam gegen Darmkrebs erwiesen hat. In einer bevorzugten Ausführungsform wird in der folgenden Erfindung 3-[4-(2-Carboxyethyl-3,5-Dimethylpyrrol-2-yl)methylidenyl]-2-Indolinon (Struktur 1) mit CPT11 (Irinotecan) kombiniert. In einer anderen bevorzugten Ausführungsform wird in der vorliegenden Erfindung 3-[(2,4-Dimethylpyrrol-5-yl)methylidenyl]-2-Indolinon (Struktur 2) mit CPT11 (Irinotecan) kombiniert. Kombinationstherapien mit Chemotherapeutika, die mit CPT11 verwandt sind, werden ebenfalls durch diese Erfindung in Erwägung gezogen. Wiederum kann die Kombination von Wirkungsmechanismen einen beträchtlichen Vorteil bei der Behandlung dieser Form von Krebs haben.

[0087] Noch ein weiterer Aspekt dieser Erfindung ist die Kombination von 3-[(2,4-Dimethylpyrrol-5-yl)methylidenyl]-2-Indolinon mit Thalidomid, das insbesondere gegen refraktäre Myelome, aber auch gegen Glioblastoma multiforma, einen extrem virulenten Hirnkrebs, beträchtliche chemotherapeutische Nützlichkeit zeigt. Andere Krebsformen, die auf diese Kombination ansprechen könnten, schließen Prostata-, Brust- und Hautkrebs (Kaposi's Sarkom) ein.

[0088] Ein Aspekt dieser Erfindung ist eine chemotherapeutische Kombination von 3-[(2,4-Dimethylpyrrol-5-yl)methylidenyl]-2-Indolinon mit COX-2 Inhibitoren. Die Inhibition von Cyclooxygenase-2 verhindert die Produktion von Faktoren, die die Angiogenese fördern. Die Kombination würde einen zweiseitigen Angriff auf die Vaskularisierung bieten, die für die Lebensfähigkeit von Krebszellen essentiell ist.

[0089] Ein Aspekt dieser Erfindung ist eine Kombinationstherapie, die aus 3-[(2,4-Dimethylpyrrol-5-yl)methylidenyl]-2-Indolinon und Tamoxifen oder Derivaten davon besteht. Tamoxifen interferiert mit der Aktivität von Östrogen, für das gezeigt worden ist, dass es das Wachstum von Brustkrebszellen fördert. Die Kombination von 3-[(2,4-Dimethylpyrrol-5-yl)methylidenyl]-2-Indolinon, einer Anti-Angiogenese Verbindung, mit dieser "Anti-Östrogen"-Verbindung könnte eine wirksame zusätzliche Behandlung für Brustkrebs darstellen.

[0090] Ein anderer Aspekt dieser Erfindung ist die Kombination von 3-[(2,4-Dimethylpyrrol-5-yl)methylidenyl]-2-Indolinon mit Leuprolid, einem synthetischen Nonapeptid Analog von natürlich auftretendem Gonadotropin Freisetzungshormon, das insbesondere Wirksamkeit gegen Hodenkrebs, aber auch gegen Eierstock- und Brustkrebs gezeigt hat. Eine Kombinationstherapie, die Agenzien verwendet, die mit Leuprolid verwandt sind, wird ebenfalls durch diese Erfindung in Erwägung gezogen. Wiederum könnte ein wesentlicher Nutzen durch die Kombination der beiden Verbindungen mit verschiedenen Wirkmechanismen erhalten werden.

[0091] Die chemotherapeutische Kombination von 3-[(2,4-Dimethylpyrrol-5-yl)methylidenyl]-2-Indolinon mit Angiostatinen, Endostatinen oder ähnlichen Chemotherapeutika, die Angiogenese durch Apoptose hemmen, ist ebenfalls ein Aspekt dieser Erfindung. Apoptose ist der programmierte Zelltod. Die Kombination von zellabtötender Anti-Angiogenese mit zu Zellstasis führender Anti-Angiogenese könnte eine leistungsfähige chemotherapeutische Kombination sein.

[0092] Zusätzlich ist die chemotherapeutische Kombination von 3-[(2,4-Dimethylpyrrol-5-yl)methylidenyl]-2-Indolinon mit einem Matrix Metalloprotease Inhibitor. Es wurde gezeigt, dass MMPs an vielen Krankheitszuständen einschließlich Krebs beteiligt sind. MMP Inhibitoren, wie zum Beispiel ohne Beschränkung, AG3340, zeigen tumorstatische Wirksamkeit gegen solide Tumoren, wie zum Beispiel nicht-kleinzelligen Lungenkrebs und Hormon-refraktären Prostatakrebs. Die Zugabe eines Angiogenese-Inhibitors könnte eine synergistische Kombination bereitstellen.

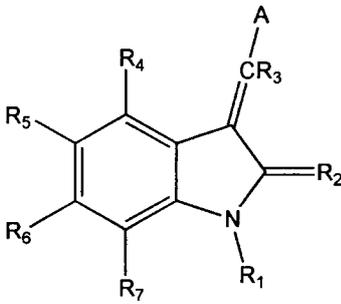
[0093] Die Kombination von 3-[(2,4-Dimethylpyrrol-5-yl)methylidenyl]-2-Indolinon mit einem Interferon ist ein anderer Aspekt dieser Erfindung. Interferon alpha und seine verschiedenen Subtypen (zum Beispiel ohne Beschränkung Interferon alpha A/2a, alpha/2b, alpha B2/alpha 8) sind gut bekannte Chemotherapeutika gegen Krebsformen wie Haarzell-Leukämie, chronische myeloische Leukämie, Nierenkrebs, Melanom, niedriggradige Lymphome, multiple Myelome und Kaposi's Sarkom.

[0094] Ein weiterer Aspekt dieser Erfindung ist die chemotherapeutische Kombination von 3-[(2,4-Dimethylpyrrol-5-yl)methylidenyl]-2-Indolinon mit Doxorubicin, Daunorubicin und anderen antineoplastischen Anthracyclinantibiotika und Derivaten und Rezepturen davon, wie zum Beispiel ohne Beschränkung liposomales Doxorubicin. Doxorubicin wird bei der Behandlung von malignen Lymphomen, Leukämien, Plattenepithelkrebs des Kopfes und des Halses, Brustkrebs und Schilddrüsenkrebs weithin verwendet. Liposomales Doxorubicin wurde für die Behandlung von Kaposi's Sarcom zugelassen. Tumorzellen, die durch die Anti-Angiogenese Aktivität von 3-[(2,4-Dimethylpyrrol-5-yl)methylidenyl]-2-Indolinon geschwächt sind, könnten gegenüber Doxorubicin sehr viel empfindlicher sein. Eine Kombinationstherapie, die 3-[(2,4-Dimethylpyrrol-5-yl)methylidenyl]-2-Indolinon und Metoxantron, ein verwandtes Chemotherapeutikum, verwendet, wird ebenfalls durch diese Erfindung spezifisch in Erwägung gezogen.

[0095] Eine andere chemotherapeutische Kombination, die ein Aspekt dieser Erfindung ist, ist die Kombination von 3-[(2,4-Dimethylpyrrol-5-yl)methylidenyl]-2-Indolinon mit Estramustinen und damit verwandten Chemotherapeutika, die insbesondere bei der Behandlung von refraktärem Prostatakrebs ihre Nützlichkeit gezeigt haben. Estramustin verursacht durch das Interferieren mit der DNA-Synthese den Zelltod. Wiederum kann die Kombination von verschiedenen Wirkmechanismen, der Unterbrechung der DNA-Synthese und der Anti-Angiogenese, eine nützliche chemotherapeutische Kombination liefern.

[0096] Die Kombinationstherapie, die 3-[(2,4-Dimethylpyrrol-5-yl)methylidenyl]-2-Indolinon und Vinca Alkaloide, einschließlich ohne Beschränkung Vincristin und Vinblastin verwendet, wird ebenfalls durch die vorliegende Erfindung in Erwägung gezogen.

[0097] Ein zusätzlicher Aspekt der Erfindung liefert Kombinationen für die Behandlung von Krebs, wobei besagte Kombinationen (a) eine therapeutisch wirksame Menge von mindestens zwei Agenzien ausgewählt aus der Gruppe bestehend aus Topoisomerase I Inhibitoren, Chemotherapeutika, Leucovorin und Kombinationen davon, mit der Maßgabe, dass das Chemotherapeutikum nicht Paclitaxel ist, und (b) eine therapeutisch wirksame Menge von einem 3-Heteroarylidenyl-2-Indolinon umfassen, wobei das 3-Heteroarylidenyl-2-Indolinon die chemische Struktur:



besitzt,

wobei R_1 , R_2 , R_3 , R_4 , R_5 , R_6 , R_7 und A dieselben wie oben angegeben sind.

[0098] Wie hierin verwendet, schließt „Kombination“ neben anderen Bedeutungen die Kombination ein, die durch das entweder räumliche (wie zum Beispiel in einer Packung, einer Einheitsdosisform und ähnlichen) oder zeitliche (zum Beispiel chronologisch (wie zum Beispiel bei der konsekutiven Verabreichung und ähnlichen)) Zusammenbringen von einem oder mehreren bestimmten Elementen gebildet wird, und ähnliche ein.

[0099] Ein anderer Aspekt dieser Erfindung bezieht sich auf die Verwendung einer Kombination gemäß der Erfindung für die Behandlung oder das Vorbeugen einer Erkrankung, die mit einer PK in Beziehung steht, in einem Patient mit Bedarf für eine solche Behandlung, umfassend das Verabreichen einer therapeutisch wirksamen Menge von einer oder mehreren der oben beschriebenen Kombinationen an den Patienten.

[0100] Wie hierin verwendet, beziehen sich „mit einer PK in Beziehung stehende Erkrankung“, „durch eine PK angetriebene Erkrankung“ und „abnormale PK Aktivität“ alle auf einen Zustand, der sich durch unangemessene, d.h. zu niedrige oder häufiger zu hohe katalytische Aktivität der PK auszeichnet, wobei die bestimmte PK eine RTK, eine CTK oder eine STK sein kann. Unangemessene katalytische Aktivität kann als Ergebnis von entweder: (1) PK Expression in Zellen, die normalerweise keine PKs exprimieren; (2) erhöhte PK Expression, die zu unerwünschter Zellproliferation, -differenzierung und/oder -wachstum führt; oder (3) verringerter PK Expression, die zu unerwünschter Verringerung der Zellproliferation, -differenzierung und/oder -wachstum führt, auftreten. Die Überaktivität einer PK bezieht sich entweder auf die Amplifizierung des Gens, das eine bestimmte PK kodiert, oder das Erzeugen eines Grads an PK Aktivität, der mit einer Zellproliferations-, -differenzierungs- und/oder -wachstumserkrankung korreliert (d.h. mit dem Anstieg der Konzentration der PK steigt der Schweregrad von einem oder mehreren der Symptome der zellulären Erkrankung). Unteraktivität ist natürlich das Gegenteil, wobei der Schweregrad von einem oder mehreren Symptomen einer zellulären Erkrankung ansteigt, wenn der Grad der PK Aktivität abnimmt.

[0101] „Behandeln“ oder „Behandlung“ mit Bezug auf eine mit einer PK in Verbindung stehende Erkrankung bezieht sich auf das Lindern oder das Beseitigen der Ursache und/oder der Auswirkungen einer mit einer PK in Verbindung stehenden Erkrankung, oder alternativ das Fördern oder Unterbrechen der abnormalen Wechselwirkung, die durch die mit einer PK in Verbindung stehenden Erkrankung verursacht wird.

[0102] Wie hierin verwendet, beziehen sich die Ausdrücke „verhindern“ und „Verhindern“ auf ein Verfahren einen Organismus daran zu hindern, eine mit einer PK in Beziehung stehende Erkrankung überhaupt erst zu erwerben, oder alternativ die abnormale Wechselwirkung, die durch die mit einer PK in Verbindung stehende Erkrankung verursacht wird, zu fördern oder zu unterbrechen.

[0103] Der Ausdruck „fördert oder unterbricht die abnormale Wechselwirkung“ bezieht sich auf ein Verfahren, das durch das Verabreichen einer Verbindung gemäß der Erfindung an Zellen oder Gewebe in einem Organismus erzielt werden kann. Eine Verbindung kann eine Wechselwirkung zwischen einer Proteinkinase und natürlichen Bindungspartnern fördern, indem sie günstige Wechselwirkungen mit einer Vielzahl von Atomen in der Bindungsstelle des Komplexes bildet. Alternativ kann eine Verbindung eine Interaktion zwischen einer Proteinkinase und natürlichen Bindungspartnern hemmen, indem sie günstige Wechselwirkungen, die sich zwischen Atomen in der Bindungsstelle des Komplexes bilden, beeinträchtigt. In bevorzugten Ausführungsformen bezieht sich die Förderung oder Unterbrechung einer abnormalen Wechselwirkung auf eine Verbindung gemäß der Erfindung, die eine konformationelle Änderung eines der Proteine fördert.

[0104] In einem weiteren Aspekt dieser Erfindung kann die mit einer PK in Verbindung stehende Erkrankung kann aus der Gruppe bestehend aus einer mit einer RTK, einer CTK und einer STK in Verbindung stehenden Erkrankung ausgewählt werden.

[0105] In noch einem anderen Aspekt dieser Erfindung kann die oben erwähnte mit einer PK in Verbindung stehende Erkrankung aus der Gruppe bestehend aus einer mit EGFR in Verbindung stehender Erkrankung, einer mit PDGFR in Verbindung stehender Erkrankung, einer mit IGFR in Verbindung stehender Erkrankung und einer mit flk in Verbindung stehender Erkrankung ausgewählt werden. In einem weiteren Aspekt kann die oben erwähnte mit einer PK in Verbindung stehende Erkrankung aus mit PDGF, flk oder FGF in Verbindung stehenden Erkrankungen ausgewählt werden.

[0106] In einem weiteren Aspekt dieser Erfindung ist die oben angegebene mit Proteinkinasen in Verbindung stehende Erkrankung ein Krebs ausgewählt aus der Gruppe bestehend aus Plattenepithelzellkarzinom, Astrocytom, Glioblastom, Lungenkrebs, Blasenkrebs, Kopf- und Halskrebs, Melanom, Eierstockkrebs, Prostatakrebs, Brustkrebs, kleinzelliger Lungenkrebs, Darmkrebs, Gastrointestinalkrebs, nicht-kleinzelliger Lungenkrebs und Gliom.

[0107] In noch einem anderen Aspekt dieser Erfindung kann die oben angegebene mit Proteinkinasen in Verbindung stehende Erkrankung aus Diabetes, einer Autoimmunkrankheit, einer Hyperproliferationserkrankung, Restenose, Fibrose, Psoriasis, Osteoarthritis, rheumatoider Arthritis, einer entzündlichen Erkrankung, Angiogenese oder ähnlichen ausgewählt werden.

[0108] Andere Erkrankungen, die mit Verbindungen gemäß dieser Erfindung behandelt werden können, schließen ohne Beschränkung immunologische und kardiovaskuläre Erkrankungen wie zum Beispiel Atherosklerose ein.

[0109] Pharmazeutische Zusammensetzungen der obigen Verbindungen und Kombinationen sind ein weiterer Aspekt dieser Erfindung.

[0110] Eine „pharmazeutische Zusammensetzung“ bezieht sich auf eine Mischung von einem oder mehreren der Verbindungen, Agenzien und/oder Medikamente, die hierin beschrieben werden, oder physiologisch annehmbaren Salzen oder Vorstufen davon, mit anderen chemischen Bestandteilen, wie zum Beispiel physiologisch annehmbaren Trägern und Hilfsstoffen. Der Zweck einer pharmazeutischen Zusammensetzung ist es, die Verabreichung einer Verbindung an einen Organismus zu erleichtern.

[0111] Wie hierin verwendet, bezieht sich ein „physiologisch annehmbarer Träger“ auf einen Träger oder ein Verdünnungsmittel, der/das die biologische Aktivität und die Eigenschaften der verabreichten Verbindung nicht außer Kraft setzt, während er/es die Verabreichung durch zum Beispiel Stabilisieren oder Lösen der Verbindung erleichtert. Vorzugsweise verursacht der Träger keine wesentliche Reizung des Organismus.

[0112] Ein „Hilfsstoff“ bezieht sich auf eine Substanz, die zu einer pharmazeutischen Zusammensetzung zugegeben wird, um die Verabreichung einer Verbindung weiter zu erleichtern. Ohne Beschränkung schließen Beispiele von Hilfsstoffen Calciumcarbonat, Calciumphosphat, verschiedene Zucker und Arten von Stärke, Cellulosederivate, Gelatine, pflanzliche Öle, Tenside und Polyethylenglykole ein.

[0113] Eine „Geschwulst“ ist ein abnormales Gewebe, das durch zelluläre Proliferation schneller als normal wächst und selbst nachdem die Reize, die das neue Wachstum ausgelöst haben, verschwunden sind, fortfährt zu wachsen. Eine Geschwulst lässt teilweise oder vollständig die strukturelle Organisation und funktionelle Koordination mit dem normalen Gewebe vermissen und bildet normalerweise eine davon unterscheidbare Gewebsmasse. Solche Massen können gutartig (gutartige Tumore) oder bösartig (feste Tumorkrebsform) sein. Bösartige Geschwulste sind lokal invasiv und zerstörerisch und metastasieren in vielen Fällen (verbreiten sich, dringen in Gewebe ein und zerstören Gewebe in Gebieten des betroffenen Organismus, die abseits der ursprünglichen Stelle liegen). Der Prozess der Geschwulstbildung wird allgemein als „Neoplasie“ bezeichnet; d.h. Neoplasie ist der biochemische Prozess, durch welchen sich eine Geschwulst bildet und wächst.

[0114] Die Ausdrücke „maligne Geschwulst“, „Krebs“, „Tumor“ und „fester Tumorkrebs“ werden hierin austauschbar verwendet, und beziehen sich auf einen Zustand, der dem Durchschnittsfachmann als die lebensbedrohende Krankheit, die gewöhnlich einfach als „Krebs“ bezeichnet wird, bekannt ist.

[0115] Mit Bezug auf die tumorigene Aktivität, bezieht sich „hemmen“ auf das Beseitigen, Verringern, Eingrenzen, Behindern, Verhindern, Verlangsamern, Hinauszögern und/oder Beschränken von Neoplasien.

1. INDIKATIONEN/ZIELKRANKHEITEN

A. Allgemeines

[0116] Die PKs, deren katalytische Aktivität durch die Verbindungen gemäß dieser Erfindung moduliert wird, schließen Proteintyrosinkinasen, von denen es zwei Arten gibt, Rezeptortyrosinkinasen (RTKs) und zelluläre Tyrosinkinasen (CTKs), und Serin-Threonin Kinasen (STKs) ein. Die RTK-vermittelte Signaltransduktion wird durch die extrazelluläre Interaktion mit einem spezifischen Wachstumsfaktor (Ligand) ausgelöst, gefolgt von Rezeptordimerisierung, vorübergehender Stimulation der intrinsischen Proteintyrosinkinaseaktivität und Phosphorylierung. Dadurch werden Bindungsstellen für intrazelluläre Signaltransduktionsmoleküle geschaffen und führen zu der Bildung von Komplexen mit einem Spektrum von cytoplasmatischen Signalmolekülen, die die entsprechende zelluläre Antwort ermöglichen (zum Beispiel Zellteilung, metabolische Auswirkungen auf die extrazelluläre Mikroumgebung, etc.). Siehe Schlessinger und Ulrich, 1992, Neuron 9: 303–391.

[0117] Es wurde gezeigt, dass Tyrosin Phosphorylierungsstellen auf Wachstumsfaktorrezeptoren als hoch affine Bindungsstellen für SH2 (src Homologie) Domänen von Signalmolekülen fungieren. Fantl et al., 1992, Cell 69: 413–423; Songyang et al., 1994, Mol. Cell. Biol. 14: 2777–2785; Songyang et al., 1993, Cell 72: 767–778; und Koch et al.; 1991, Science 252: 668–678. Mehrere intrazelluläre Substratproteine, die mit RTKs assoziieren, wurden identifiziert. Sie können in zwei Hauptgruppen eingeteilt werden: (1) Substrate, die eine katalytische Domäne besitzen; und (2) Substrate, denen eine solche Domäne fehlt, aber die als Adaptermoleküle dienen und mit katalytisch aktiven Molekülen assoziieren. Songyang et al., 1993, Cell 72: 467–778. Die Spezifität der Interaktionen zwischen Rezeptoren und SH2 Domänen ihrer Substrate wird durch die Aminosäurereste, die den phosphorylierten Tyrosinrest direkt umgeben, bestimmt. Unterschiede in den Bindungsaffinitäten zwischen SH2 Domänen und den Aminosäuresequenzen, die die Phosphotyrosinreste auf bestimmten Rezeptoren umgeben, sind mit den beobachteten Unterschieden in den Substratphosphorylierungsprofilen konsistent. Songyang et al., 1993, Cell 72: 467–778. Diese Beobachtungen lassen vermuten, dass die Funktion von jeder RTK nicht nur durch ihr Expressionsmuster und die Verfügbarkeit des Liganden bestimmt wird, sondern auch durch die Anordnung von downstream Signaltransduktionswegen, die durch einen bestimmten Rezeptor aktiviert werden. Somit liefert die Phosphorylierung einen wichtigen regulatorischen Schritt, der die Selektivität von Signalwegen, die durch spezifische Wachstumsfaktorrezeptoren sowie Differenzierungsfaktorrezeptoren rekrutiert werden, bestimmt.

[0118] STKs, die hauptsächlich cytosolisch vorkommen, beeinflussen die Biochemie des Zellinneren oftmals als stromabwärts gelegene Antwort auf ein PTK Ereignis. STKs wurden in dem Signalprozess, der die DNA Synthese initiiert, und der folgenden Mitose, die zur Zellproliferation führt, vermutet.

[0119] Somit führt die PK Signaltransduktion neben anderen Antworten zu Zellproliferation, Differenzierung, Wachstum und Metabolismus. Abnormale Zellproliferation kann zu einer Vielzahl von Erkrankungen und Krankheiten führen, einschließlich der Entwicklung von Neoplasien, wie zum Beispiel Karzinomen, Sarkomen, Glioblastomen und Hämangiomen, Erkrankungen, wie zum Beispiel Leukämien, Psoriasis, Arteriosklerose, Arthritis und diabetischer Retinopathie, und anderen Erkrankungen, die mit unkontrollierter Angiogenese und/oder Vaskulogenese in Verbindung stehen.

[0120] Ein genaues Verständnis des Mechanismus, durch den die Verbindungen dieser Erfindung PKs inhibieren, ist nicht erforderlich, um die vorliegende Erfindung auszuführen. Ohne hierdurch an irgendeinen bestimmten Mechanismus oder eine Theorie gebunden zu sein, wird jedoch angenommen, dass die Verbindungen mit den Aminosäuren in der katalytischen Region von PKs wechselwirken. PKs besitzen typischerweise eine zweilappige Struktur, wobei ATP in der Spalte zwischen den beiden Lappen in einer Region, in der die Aminosäuren unter den PKs konserviert sind, zu binden scheint. Es wird angenommen, dass Inhibitoren von PKs über nicht-kovalente Wechselwirkungen, wie zum Beispiel Wasserstoffbrückenbindungen, van der Waals Kräfte und ionische Wechselwirkungen in derselben allgemeinen Region binden, in der das zuvor erwähnte ATP an die PKs bindet. Insbesondere wird angenommen, dass der 2-Indolinonbestandteil der Verbindungen dieser Erfindung in dem allgemeinen Raum bindet, der normalerweise durch den Adeninring von ATP besetzt wird. Die Spezifität eines bestimmten Moleküls für eine bestimmte PK kann dann als Ergebnis von zusätzlichen Wechselwirkungen zwischen den verschiedenen Substituenten des 2-Indolinonkerns und den Aminosäuredomänen, die für bestimmte PKs spezifisch sind, entstehen. Somit können verschiedenen Indolinon-Substituenten zu einer bevorzugten Bindung an bestimmte PKs beitragen. Die Möglichkeit, Verbindungen auszuwählen, die an verschiedenen ATP(oder anderen Nukleotid)-Bindungsstellen aktiv sind, macht die Verbindungen dieser

Erfindung nützlich, um sie gegen jedes Protein mit solch einer Bindungsstelle zu richten. Die hierin offenbarten Verbindungen können somit als in vitro Assays für solche Proteine einen Nutzen haben sowie in vivo durch die Interaktion mit solchen Proteinen therapeutische Wirkung zeigen.

[0121] In einem anderen Aspekt ist die Proteinkinase, deren katalytische Aktivität durch den Kontakt mit einer Verbindung gemäß dieser Erfindung moduliert wird, eine Proteintyrosinkinase, insbesondere eine Rezeptorproteintyrosinkinase. Unter den Rezeptorproteintyrosinkinasen, deren katalytische Aktivität mit einer Verbindung gemäß dieser Erfindung oder einem Salz davon moduliert werden kann, sind ohne Beschränkung, EGF, HER2, HER3, HER4, IR, IGF-1R, IRR, PDGFR α , PDGFR β , CSFIR, C-Kit, C-fms, Flk-1R, Flk4, KDR/FLK-1 (VEGFR-2), Flt-1, FGFR-1R, FGFR-2R, FGFR-3R und FGFR-4R.

[0122] Die Protein Tyrosinkinase, deren katalytische Aktivität durch den Kontakt mit einer Verbindung gemäß dieser Erfindung oder einem Salz oder einer Vorstufe davon moduliert werden kann, kann ebenfalls eine Nicht-Rezeptor oder zelluläre Proteintyrosinkase (CTK) sein. Somit kann die katalytische Aktivität von CTKs, wie zum Beispiel ohne Beschränkung Src, Frk, Btk, Csk, Abl, ZAP70, Fes, Fps, Fak, Jak, Ack, Yes, Fyn, Lyn, Lck, Blk, Hck, Fgr und Yrk durch Kontakt mit einer Verbindung oder einem Salz dieser Erfindung moduliert werden.

[0123] Noch eine andere Gruppe von PKs, deren katalytische Aktivität durch Kontakt mit einer Verbindung gemäß dieser Erfindung moduliert werden kann, sind die Serin-Threonin Proteinkinasen, wie zum Beispiel ohne Beschränkung CDK2 und Raf.

[0124] In einem anderen Aspekt bezieht sich diese Erfindung auf die Verwendung von einer therapeutisch wirksamen Menge einer Kombination dieser Erfindung für die Herstellung eines Medikamentes für die Behandlung oder Verhinderung einer mit einer PK in Verbindung stehenden Erkrankung durch Verabreichen derselben an einen Organismus.

[0125] Es ist ebenfalls ein Aspekt dieser Erfindung, dass eine pharmazeutische Zusammensetzung, die eine Verbindung gemäß dieser Erfindung oder ein Salz oder eine Vorstufe davon enthält, an einen Organismus zum Zweck der Verhinderung oder Behandlung einer mit einer PK in Verbindung stehenden Erkrankung verabreicht wird.

[0126] Diese Erfindung richtet sich daher auf Verbindungen, die die PK Signaltransduktion durch das Beeinflussen der enzymatischen Aktivität von RTKs, CTKs und/oder STKs modulieren und dadurch mit den Signalen, die durch solche Proteine weitergeleitet werden, interferieren. Insbesondere richtet sich die vorliegende Erfindung auf Verbindungen, die RTK, CTK und/oder STK vermittelte Signaltransduktionswege modulieren, als einen therapeutischen Ansatz, um viele Arten von festen Tumoren, einschließlich, aber nicht beschränkt auf Karzinome, Sarkome, einschließlich Kaposi's Sarkom, Erythroblastome, Glioblastome, Meningiome, Astrocytome, Melanome und Myoblastome, zu heilen. Die Behandlung oder Verhinderung von nicht festen Tumorkrebsformen, wie zum Beispiel Leukämien, wird ebenfalls durch diese Erfindung in Erwägung gezogen. Indikationen können einschließen aber sind nicht beschränkt auf Hirnkrebs, Blasenkrebs, Eierstockkrebs, Magenkrebs, Bauchspeicheldrüsenkrebs, Darmkrebs, Blutkrebs, Lungenkrebs und Knochenkrebs.

[0127] Ohne Beschränkung sind weitere Beispiele der Arten von Erkrankungen, die mit unangemessener PK-Aktivität in Verbindung stehen, für deren Verhinderung, Behandlung und Studium die hierin beschriebenen Verbindungen nützlich sein können, sind zellproliferative Erkrankungen, fibrotische Erkrankungen und metabolische Erkrankungen.

[0128] Zellproliferative Erkrankungen, die durch die vorliegende Erfindung verhindert, behandelt oder weiter studiert werden können, schließen Krebs, proliferative Erkrankungen der Blutgefäße und proliferative Erkrankungen von Mesangialzellen ein.

[0129] Proliferative Erkrankungen von Blutgefäßen beziehen sich auf Erkrankungen, die mit abnormaler Vasculogenese (Blutgefäßbildung) und Angiogenese (Verbreitung von Blutgefäßen) in Verbindung stehen. Während Vasculogenese und Angiogenese in einer Reihe von normalen physiologischen Prozessen, wie zum Beispiel Embryoentwicklung, Bildung des corpus luteum, Wundheilung und Organregeneration eine wichtige Rolle spielen, spielen sie ebenfalls eine entscheidende Rolle bei der Krebsentwicklung, in der sie zu der Bildung von neuen Kapillargefäßen führen, die benötigt werden, um einen Tumor am Leben zu erhalten. Andere Beispiele von proliferativen Erkrankungen von Blutgefäßen schließen Arthritis, bei der neue kapillare Blutgefäße in ein Gelenk eindringen und Knorpelgewebe zerstören, und Augenkrankheiten, wie diabetische Retinopathie, bei

der neue KapillargefäÙe in der Netzhaut in den Glaskörper eindringen und Blutungen und Blindheit verursachen, ein.

[0130] Umgekehrt werden Erkrankungen, die mit dem Schrumpfen, der Kontraktion oder dem Verschluss von BlutgefäÙen in Verbindung stehen, wie zum Beispiel Restenose, ebenfalls in Erwägung gezogen und können durch die Verfahren dieser Erfindung behandelt oder verhindert werden.

[0131] Fibrotische Erkrankungen beziehen sich auf die abnormale Bildung von extrazellulären Matrizen. Beispiele von fibrotischen Erkrankungen schließen Leberzirrhose und proliferative Erkrankungen von Mesangialzellen ein. Leberzirrhose zeichnet sich durch den Anstieg von Bestandteilen der extrazellulären Matrix aus, was zu der Bildung einer Lebernarbe führt. Eine erhöhte extrazelluläre Matrix, die zu einer Lebernarbe führt, kann ebenfalls durch eine virale Infektion, wie zum Beispiel Hepatitis, verursacht werden. Es scheint, dass Lipozyten eine wesentliche Rolle bei der Leberzirrhose spielen. Andere in Betracht gezogene fibrotische Erkrankungen schließen Atherosklerose ein.

[0132] Proliferative Erkrankungen von Mesangialzellen beziehen sich auf Erkrankungen, die durch die abnormale Proliferation von Mesangialzellen verursacht werden. Proliferative Erkrankungen von Mesangialzellen schließen verschiedene menschliche Nierenkrankheiten, wie zum Beispiel Glomerulonephritis, diabetische Nephropathie und bösartige Nephrosklerose sowie Erkrankungen wie thrombotische Mikroangiopathiesyndrome, TransplantatabstoÙung und Glomerulopathien ein. Die RTK PDGFR wurde mit der Aufrechterhaltung der Proliferation von Mesangialzellen in Verbindung gebracht. Floege et al., 1993, *Kidney International*, 43: 47S–54S.

[0133] Ferner ist die Verwendung von Indolinonen als anti-infektiöse Agenzien (zum Beispiel antimikrobielle Agenzien, Antipilzagenzien und ähnliche) ein weiterer Aspekt der Erfindung und Infektionen (zum Beispiel mikrobielle, Pilz- und ähnliche) können durch die Verwendung und Kombinationen der Erfindung behandelt oder verhindert werden.

[0134] Viele Krebsarten sind zellproliferative Erkrankungen und, wie zuvor angemerkt, wurden PKs mit zellproliferativen Erkrankungen in Verbindung gebracht. Somit ist es nicht überraschend, dass PKs, wie zum Beispiel Mitglieder der RTK-Familie, mit der Entwicklung von Krebs in Verbindung gebracht worden sind. Einige dieser Rezeptoren, wie EGFR (Tuzi et al., *Br. J. Cancer*, 1992, 63: 227–233; Torp et al., 1992, *APMIS* 100: 713–719), HER2/neu (Slamon et al., *Science*, 1989, 244: 707–712) und PDGFR-R (Kumabe et al., *Oncogene*, 1992, 7: 627–633) werden in vielen Tumoren überexprimiert und/oder durch autokrine Schleifen ständig aktiviert. Tatsächlich wurden in den häufigsten und schwersten Krebsformen Überexpressionen dieser Rezeptoren (Akbasak und Sumer-Akbasak et al., *J. Neurol. Sci.* 1992, 111: 119–133; Dickson et al., *Cancer Treatment Res.*, 1992, 61: 249–273; Korc et al., *J. Clin. Invest.*, 1992, 90: 1352–1360) und autokrine Schleifen (Lee und Donoghue, *J. Cell. Biol.*, 1992, 118: 1057–1070; Korc et al., *supra*; Akbasak und Sumer-Akbasak et al., *supra*) gezeigt. Zum Beispiel wurde EGFR mit Plattenepithelzellkarzinom, Astrocytom, Glioblastom, Kopf- und Halskrebs, Lungenkrebs und Blasenkrebs in Verbindung gebracht. HER2 wurde mit Brust-, Eierstock-, Magen-, Lungen-, Bauchspeicheldrüsen- und Blasenkrebs in Verbindung gebracht. PDGFR wurde mit Glioblastom und Melanom sowie mit Lungen-, Eierstock- und Prostatakrebs in Verbindung gebracht. Die RTK c-met wurde ebenfalls mit der Bildung von bösartigen Tumoren in Verbindung gebracht. Zum Beispiel wurde c-met neben anderen Krebsformen mit Darm-, Schilddrüsen-, Bauchspeicheldrüsen-, Magen- und Leberkarzinomen und Lymphomen in Verbindung gebracht. Zusätzlich wurde c-met mit Leukämien in Verbindung gebracht. Eine Überexpression des c-met Gens wurde ebenfalls in Patienten mit Hodgkin Krankheit und Burkitt Krankheit gefunden.

[0135] Flk wurde ebenfalls mit einem breiten Spektrum von Tumoren in Verbindung gebracht, einschließlich ohne Beschränkung Brust-, Eierstock- und Lungentumore sowie Gliome, wie zum Beispiel Glioblastom.

[0136] IGF-IR wurde, zusätzlich dazu, dass es mit der Nährstoffversorgung und Typ-II Diabetes in Verbindung gebracht wurde, ebenfalls mit verschiedenen Arten von Krebs in Verbindung gebracht. Zum Beispiel wurde IGF-I als autokriner Wachstumsstimulator mit verschiedenen Tumorarten, zum Beispiel menschlichen Brustkrebskarzinomzellen (Arteaga et al., *J. Clin. Invest.*, 1989, 84: 1418–1423) und kleinen Lungentumorzellen (Macauley et al., *Cancer Res.*, 1989, 50: 2511–2517) in Zusammenhang gebracht. Zusätzlich scheint IGF-I, obwohl es wesentlich an dem normalen Wachstum und der Differenzierung des Nervensystems beteiligt ist, ebenfalls ein autokriner Stimulator von humanen Gliomen zu sein. Sandberg-Nordqvist et al., *Cancer Res.*, 1993, 53: 2475–2478. Die Wichtigkeit von IGF-IR und seinen Liganden bei der Zellproliferation wird ferner durch die Tatsache unterstützt, dass viele Zellarten in Kultur (Fibroblasten, epitheliale Zellen, glatte Muskelzel-

len, T-Lymphozyten, myeloische Zellen, Chondrozyten und Osteoblasten (die Stammzellen des Knochenmarks)) durch IGF-I zum Wachstum stimuliert werden. Goldring und Goldring, *Eukaryotic Gene Expression*, 1991, 1: 301–326. In einer Reihe von kürzlichen Publikationen schlägt Baserga vor, dass IGF-1R eine zentrale Rolle beim Mechanismus der Transformation spielt und als solches ein bevorzugtes Ziel für therapeutische Eingriffe bei einem breiten Spektrum von bösartigen menschlichen Tumoren sein könnte. Baserga, *Cancer Res.*, 1995, 55: 249–252; Baserga, *Cell*, 1994, 79: 927–930; Coppola et al., *Mol. Cell. Biol.*, 1994, 14: 4588–4595.

[0137] STKs wurden mit vielen Arten von Krebs einschließlich, bemerkenswerterweise Brustkrebs in Verbindung gebracht (Cance, et al., *Int. J. Cancer*, 1993, 54: 571–77).

[0138] Die Verbindung zwischen abnormaler PK Aktivität und Krankheit ist nicht auf Krebs beschränkt. Zum Beispiel wurden RTKs ebenfalls mit Krankheiten wie zum Beispiel Psoriasis, Diabetes mellitus, Endometriose, Angiogenese, Plaqueentwicklung an der Gefäßwand, Alzheimer's Krankheit, epidermaler Hyperproliferation, neurodegenerativen Krankheiten, altersverbundener makularer Degeneration und Hämangiomen in Verbindung gebracht. Zum Beispiel wurde angedeutet, dass EGFR an der kornealen und dermalen Wundheilung beteiligt ist. Defekte in dem Insulin-R und IGF-1R zeigen sich in Typ-II Diabetes mellitus. Eine vollständigere Korrelation zwischen spezifischen RTKs und ihren therapeutischen Indikationen wird in Plowman et al., *DN&P*, 1994, 7: 334–339 dargelegt.

[0139] Wie zuvor erwähnt, sind nicht nur RTKs sondern auch CTKs, einschließlich, aber nicht beschränkt auf src, abl, fps, yes, fyn, lyn, lck, blk, hck, fgr und yrk (eine Übersicht wird von Bolen et al., *FASEB J.*, 1993, 6: 3403–3409 gegeben), an dem proliferativen und metabolischen Signaltransduktionsweg beteiligt und es kann somit erwartet werden, und wurde gezeigt, dass sie an vielen PTK-vermittelten Erkrankungen, auf die sich die vorliegende Erfindung richtet, beteiligt sind. Zum Beispiel wurde gezeigt, dass mutiertes src (v-src) in Hühnern ein Onkoprotein (pp60^{v-src}) ist. Außerdem übermittelt sein zelluläres Homolog, das Proto-Onkogen pp60^{c-src} onkogene Signale von vielen Rezeptoren. Die Überexpression von EGFR oder HER2/neu in Tumoren führt zu der konstitutiven Aktivierung von pp60^{c-src}, was charakteristisch für bösartige Tumorzellen ist, aber in normalen Zellen fehlt. Auf der anderen Seite zeigen Mäuse, denen die Expression von c-src fehlt, einen osteopetroti-schen Phänotyp, was anzeigt, dass c-src bei der Funktion der Osteoklasten eine Schlüsselrolle spielt und auf eine mögliche Verwicklung in verwandte Erkrankungen hindeutet.

[0140] Auf die gleiche Weise wurde Zap70 mit T-Zell-Signalwegen in Verbindung gebracht, was mit Autoimmunerkrankungen in Verbindung stehen könnte.

[0141] STKs wurden mit Entzündung, Autoimmunerkrankungen, Immunantworten und Hyperproliferationserkrankungen, wie zum Beispiel Restenose, Fibrose, Psoriasis, Osteoarthritis und rheumatoider Arthritis in Verbindung gebracht.

[0142] PKs wurden ebenfalls mit der Einnistung des Embryos in Verbindung gebracht. Somit können die Verbindungen dieser Erfindung ein wirksames Verfahren zur Verhinderung einer solchen Embryoeinnistung liefern und somit als Mittel zur Geburtskontrolle nützlich sein.

[0143] Schließlich stehen sowohl RTKs als auch CTKs zurzeit unter Verdacht, an Hyperimmunerkrankungen beteiligt zu sein.

B. VEGF und Flk-1/KDR (gewöhnlich als VEGFR-2 bezeichnet) in der Angiogenese und Darmkrebs

[0144] Tumorzellen stimulieren endotheliale Zellen im Ruhezustand sich zu teilen und neue Blutgefäße zu bilden, indem sie Wachstumsfaktoren freisetzen, die an nahe gelegene Endothelzellen binden (ein parakriner Wirkmechanismus). Die Bindung von vaskulärem endotheliale Wachstumsfaktor („VEGF“) an einen seiner Rezeptoren startet die Signalkaskade, die zelluläre Ereignisse reguliert, die an der Bildung von neuen Blutgefäßen beteiligt sind.

[0145] Es wird angenommen, dass eine Reihe von Rezeptortyrosinkinasen direkt oder indirekt an der Angiogenese beteiligt sind. Die Suche nach dem Rezeptor, dessen selektive Inhibition das Wachstum von neuen Blutgefäßen um wachsende Tumore zu unterstützen verhindert, war für die letzten zehn Jahre der Brennpunkt der Grundlagenforschung. Obwohl es viele Rezeptoren gibt, deren Expression auf endotheliale Zellen beschränkt ist (einschließlich Flk-1, Flt-1, Tie-1 und Tie-2), wird angenommen, dass der Flk-1 Rezeptor bei der Angiogenese eine kritische Rolle spielt.

[0146] Die zeitlichen und räumlichen Expressionsmuster von VEGF und seinen Rezeptoren unterstützen für diese eine Rolle bei der normalen Angiogenese während der embryonalen Entwicklung. VEGF, Flt-1 und Flk-1 wurden ebenfalls mit pathologischer Angiogenese, die das Wachstum von vielen festen Tumoren, einschließlich Gliomen, Brustkrebs, Blasenkrebs, Darmkrebs und anderen Krebsformen des gastrointestinalen Trakts unterstützt, in Verbindung gebracht. Zwischen der VEGF Expression und der Dichte von Blutgefäßen in Brusttumoren, Karzinomen von Nierenzellen und Darmkrebs wurde eine Korrelation beobachtet. In hoch vaskularisierten Glioblastomen wurden durch in situ Hybridisierung Transkripte für VEGF und seine Rezeptoren identifiziert; in weniger vaskularisierten, niedriggradigen Gliomen oder in normalem Gehirngewebe wurden die Transkripte nicht entdeckt. In diesem Szenario (das einen parakrinen Wirkmechanismus unterstützt), wurden in den Endothelzellen der Blutgefäße Flk-1 Rezeptoren nachgewiesen, während in den Tumorzellen VEGF lokalisiert wurde. Die Expression von VEGF und seinen Rezeptoren wurde für hämatopoetische Tumorzelllinien, einschließlich dem multiplen Myelom, gezeigt.

[0147] VEGF ist für endotheliale Zellen in vitro mitogen. In solch einem System hemmen neutralisierende Antikörper gegen Flk-1 die Mitogenese. Auf gleiche Weise verringern Ribozyme, die flk-1 oder flt-1 mRNAs spalten, das Wachstum von menschlichen Mikroblutgefäßendothelzellen, vermutlich durch Verringern der Anzahl von Rezeptoren auf den Zellen.

[0148] Eine Reihe von in vivo Techniken wurde verwendet, um die Rolle von VEGF Signalgebung in der Tumorangio-genese zu untersuchen. Flk-1 Rezeptoren, denen die intrazelluläre Kinasedomäne fehlt, blockieren die Aktivierung der endogenen Flk-1 Rezeptoraktivität in kultivierten Zellen und hemmen das Wachstum von Tumoren, die subkutan in Nacktmäuse implantiert worden sind. Jeder Tumor, der sich in diesem Tiermodell bildete, enthielt deutlich verringerte Dichte an Blutgefäßen. Die Verringerung der VEGF Expression mit Antisense Konstrukten hemmt ebenfalls das Wachstum von C6 Ratten Gliomzellen in Nacktmäusen mit einer gleichzeitig in diesen Tumoren reduzierten Blutgefäßdichte und hemmt das Wachstum von menschlichen Melanomzellen in Nackt/SCID-Mäusen. Auf die gleiche Weise hemmt die Verringerung von VEGF Konzentrationen mit neutralisierenden Antikörpern das Wachstum von menschlichen Rhabdomyosarkomen, Glioblastoma multiforme und Leiomyosarkomen in Nacktmäusen und Fibrosarkomen in BALBc/Nacktmäusen.

[0149] Zusammengefasst liefern diese Ergebnisse starke Beweise für eine kritische Rolle der VEGF Signalgebung über Flk-1 in der Angiogenese und dem Wachstum fester Tumore. Ein Inhibitor von Flk-1 kann für Krebspatienten therapeutischen Nutzen besitzen.

2. PHARMAKOLOGIE

A. Präklinische Studien mit 3-[(2,4-Dimethylpyrrol-5-yl)methylidenyl]-2-Indolinon

[0150] In einem zellbasierten Assay wurde gefunden, dass 3-[(2,4-Dimethylpyrrol-5-yl)methylidenyl]-2-Indolinon die Rezeptorphosphorylierung, die typischerweise der Interaktion von VEGF mit seinem Rezeptor folgt, hemmt. In vitro Studien mit 3-[(2,4-Dimethylpyrrol-5-yl)methylidenyl]-2-Indolinon haben die Fähigkeit gezeigt, die Autophosphorylierung von Flk-1 mit IC_{50} Werten von ungefähr $1 \mu\text{M}$ zu hemmen. Zusätzlich hemmt 3-[(2,4-Dimethylpyrrol-5-yl)methylidenyl]-2-Indolinon die mit VEGF induzierte Proliferation von Endothelzellen in vitro mit IC_{50} Werten von ungefähr $0,07 \mu\text{M}$. In diesem Assay zeigt 3-[(2,4-Dimethylpyrrol-5-yl)methylidenyl]-2-Indolinon einen zeitabhängigen Anstieg der Wirksamkeit, wobei eine messbare Aktivität zuerst nach einer 5 minütigen Exposition gegenüber dem Medikament beobachtet wird. Eine einstündige Exposition gegenüber 3-[(2,4-Dimethylpyrrol-5-yl)methylidenyl]-2-Indolinon führt in vitro für 3 bis 4 Tage danach zu antiproliferativer Aktivität. Bei Konzentrationen von bis zu $50 \mu\text{M}$ besitzt 3-[(2,4-Dimethylpyrrol-5-yl)methylidenyl]-2-Indolinon keine direkte inhibitorische Wirkung auf eine Reihe von Tumorzelllinien.

[0151] In in vivo Studien mit 3-[(2,4-Dimethylpyrrol-5-yl)methylidenyl]-2-Indolinon, in denen eine Reihe von Tumorzelllinien subkutan in immunkompromittierte Mäuse implantiert wurden, zeigt 3-[(2,4-Dimethylpyrrol-5-yl)methylidenyl]-2-Indolinon eine signifikante Unterdrückung des Tumorwachstums in einem breiten Spektrum von Tumorarten, deren Wachstum durch verschiedene Wachstumsfaktoren, wie zum Beispiel PDGF, EGF und Her2 angetrieben wird. Die tägliche intraperitoneale Dosierung (im Bereich von $12,5\text{--}25 \text{ mg/kg/Tag}$ über 28 Tage) führte zu $30\text{--}80\%$ Inhibition des Tumorwachstums. In anfänglichen Studien wurde die Verabreichung von 3-[(2,4-Dimethylpyrrol-5-yl)methylidenyl]-2-Indolinon an Tag 1 nach der Tumorumplantation gestartet. Spätere Studien, in denen die Verabreichung von 3-[(2,4-Dimethylpyrrol-5-yl)methylidenyl]-2-Indolinon verzögert wurde, bis die Tumore auf ein Volumen von ungefähr 50 mm^3 herangewachsen waren, zeigten bei der Unterdrückung des Tumorwachstums eine vergleichbare Wirksamkeit.

[0152] Dosiswirkungsstudien mit 3-[(2,4-Dimethylpyrrol-5-yl)methylidenyl]-2-Indolinon (mit Dosen zwischen 6,25–25 mg/kg/Tag) wurden mit menschlichen Melanomzellen durchgeführt, die athymischen Mäusen subkutan implantiert worden waren. Die tägliche Verabreichung von 3-[(2,4-Dimethylpyrrol-5-yl)methylidenyl]-2-Indolinon in so niedrigen Dosen wie 1 mg/kg/Tag führte zu der dosisabhängigen Inhibition dieser Zellen. Zusätzliche Studien in athymischen Mäusen mit intraperitonealer Dosierung von 3-[(2,4-Dimethylpyrrol-5-yl)methylidenyl]-2-Indolinon unter Verwendung einer weniger häufigen Verabreichung (einschließlich zweimal wöchentlich über vier Wochen), führten verglichen mit der täglichen intraperitonealen Verabreichung zu einer vergleichbaren Inhibition des Tumorwachstums (77% bei der zweimal wöchentlichen Dosierung gegenüber 68% bei täglicher Dosierung).

[0153] Es wurde ebenfalls gezeigt, dass die tägliche Verabreichung von 3-[(2,4-Dimethylpyrrol-5-yl)methylidenyl]-2-Indolinon (25 mg/kg/Tag) das Wachstum von Tumorzellen, die chirurgisch unter die Serosa des Colons implantiert worden waren, signifikant hemmt. Die Behandlung mit 3-[(2,4-Dimethylpyrrol-5-yl)methylidenyl]-2-Indolinon führt sowohl zu verringerter Tumorgöße als auch verringerter Vaskularisierung, wie durch das helle Erscheinungsbild von Tumoren in Tieren, die mit 3-[(2,4-Dimethylpyrrol-5-yl)methylidenyl]-2-Indolinon behandelt wurden, bewiesen wird.

B. Pharmakokinetiken von 3-[(2,4-Dimethylpyrrol-5-yl)methylidenyl]-2-Indolinon

[0154] In vitro Auswaschexperimente haben eine Zielhalbwertszeit von 96 Stunden gezeigt, was eine sehr feste kompetitive Bindung von 3-[(2,4-Dimethylpyrrol-5-yl)methylidenyl]-2-Indolinon an die ATP-Bindungsstelle der Rezeptortyrosinkinase vermuten lässt. Die intravenösen in vivo Pharmakokinetiken von 3-[(2,4-Dimethylpyrrol-5-yl)methylidenyl]-2-Indolinon zeichneten sich durch die schnelle Beseitigung der Stammverbindung aus dem Blutkreislauf in Mäusen, Ratten und Hunden aus. Für Ratten wurde im Vergleich zu Mäusen und Hunden eine etwas längere Eliminationshalbwertszeit bestimmt (Daten nicht gezeigt).

[0155] Bei höheren intravenösen Dosen sind die Pharmakokinetiken von 3-[(2,4-Dimethylpyrrol-5-yl)methylidenyl]-2-Indolinon in Ratten dosisabhängig. Bei Dosen zwischen 29,5–97,9 mg/m² steigt die Eliminationshalbwertszeit von 3-[(2,4-Dimethylpyrrol-5-yl)methylidenyl]-2-Indolinon mit dem Anstieg der Dosis linear an; mit nur einem 3-fachen Anstieg der Dosis steigt der AUC 10-fach.

[0156] Subchronische toxikokinetische Studien (28 Tage Toxizitätsstudien) in Ratten und Hunden zeigten, dass das Medikament bei wiederholter Verabreichung nicht im Plasma akkumuliert.

[0157] Eine Gesamtkörper-Autoradiographie unter Verwendung von [¹⁴C]-3-[(2,4-Dimethylpyrrol-5-yl)methylidenyl]-2-Indolinon zeigte eine weite Gewebsverteilung von 3-[(2,4-Dimethylpyrrol-5-yl)methylidenyl]-2-Indolinon gefolgt von schneller Elimination nach der intravenösen Injektion, wobei die höchsten Konzentrationen in dem Inhalt des Dünndarms und dem Urin vorhanden sind (wobei zusätzlich 3-[(2,4-Dimethylpyrrol-5-yl)methylidenyl]-2-Indolinon in der Leber, der Niere, der Haut, den Hoden, braunem Fett, der Harderschen Drüse und den Nasenmuscheln beobachtet wurde). Die in 24 Stunden zurückgewonnene Gesamtdosis entsprach 92% der gesamten verabreichten Dosis, wobei 72% mit dem Stuhl und 16% mit dem Urin ausgeschieden wurden. Es wird angenommen, dass die Ausscheidung über die Galle der Haupteliminationsweg ist.

[0158] Studien mit kaltem und [¹⁴C]-markiertem 3-[(2,4-Dimethylpyrrol-5-yl)methylidenyl]-2-Indolinon zeigten, dass die Verbindung nach der intravenösen Verabreichung in Ratten schnell metabolisiert wird. Der Nachweis des Radiometaboliten zeigte, dass innerhalb von 3 Stunden nach der intravenösen Verabreichung mehr als 90% des [¹⁴C]-3-[(2,4-Dimethylpyrrol-5-yl)methylidenyl]-2-Indolinons metabolisiert wurden. Die Daten zur Identifizierung des Metaboliten deuten darauf hin, dass bei einem Metaboliten zu einer der Methylgruppen an dem Pyrrolring eine Carboxylgruppe hinzugefügt wurde, wobei ein zweiter Metabolit eine zu der Carboxylgruppe hinzugefügte Methylgruppe aufweist.

[0159] Vorläufige pharmakokinetische Daten aus einer Phase 1 Studie in Patienten mit fortgeschrittenen bösartigen Tumoren, in der die Patienten mit Dosen zwischen 4,4–190 mg/m² behandelt wurden, zeigen, dass das Medikament in Menschen eine Halbwertszeit von ungefähr 60 Minuten besitzt. Die einfache Halbwertszeit ist mit einem Durchschnitt von 5,8 ± 1,9 Minuten kurz.

[0160] Die beta Halbwertszeit oder Eliminationsphase hat einen Durchschnittswert von 43,4 ± 21,9 Minuten und reicht von 10 bis 111 Minuten. Die Beseitigung von 3-[(2,4-Dimethylpyrrol-5-yl)methylidenyl]-2-Indolinon aus dem systemischen Blutkreislauf ist, mit einem Mittelwert von 1857 ± 1016 Litern Plasma pro Tag, die von 3-[(2,4-Dimethylpyrrol-5-yl)methylidenyl]-2-Indolinon befreit werden, schnell. Bei diesen Konzentrationen war

die Elimination unabhängig von der Dosis. Die individuelle Elimination, die basierend auf BSA berechnet wurde, betrug $41,8 \pm 22,1$ l/Stunde/m². Nach acht Infusionen von 3-[(2,4-Dimethylpyrrol-5-yl)methylidenyl]-2-Indolinon, stieg in allen Patienten die Rate der Elimination um 50–300%. Das gesamte Verteilungsvolumen von 3-[(2,4-Dimethylpyrrol-5-yl)methylidenyl]-2-Indolinon, das mit einem Ein-Kompartiment Modell berechnet wurde, beträgt $53,6 \pm 11,3$ Liter, was anzeigt, dass das Medikament in der gesamten Körperflüssigkeit verteilt wird. Bei den Dosen, die in Menschen bis heute getestet wurden, steigen AUC und C_{MAX} linear mit der Dosis an.

[0161] Der primäre Weg für den Metabolismus von 3-[(2,4-Dimethylpyrrol-5-yl)methylidenyl]-2-Indolinon führt über die sequentiellen Oxidationsreaktionen der 5-Methylgruppe am Pyrrolring. Im Serum sind vier Metaboliten messbar, die alle die seriellen Oxidationen an dieser Methylgruppe am Pyrrolring einschließen. Daten aus in vitro Metabolismusstudien zeigen, dass 3-[(2,4-Dimethylpyrrol-5-yl)methylidenyl]-2-Indolinon über P-450 Leberenzyme, am wahrscheinlichsten über CYP1A2 und CYP3A4, die beide induzierbare Enzyme sind, metabolisiert wird. Insbesondere CYP3A4 wird durch viele Xenobiotika, einschließlich Dexamethason, das daher als eine Prämedikation vor allen 3-[(2,4-Dimethylpyrrol-5-yl)methylidenyl]-2-Indolinon Injektionen verabreicht werden kann, induziert.

C. Fluoruracil und Fluoruracil/Leucovorin – Allgemeines

[0162] Die chemische Struktur von Fluoruracil ist 5-Fluor-2,4(1H,3H)-Pyrimidindion. Obwohl der genaue Wirkmechanismus von Fluoruracil nicht klar ist, wird angenommen, dass das Medikament auf mindestens drei Arten als Antimetabolit wirkt. In einem Aspekt inhibiert das Medikament als Desoxyribonukleotidderivat 5-Fluor-2'-Deoxyuridin-5'-Phosphat (F-dUMP) die Thymidylat Synthetase, was zu der Inhibition der Methylierung von Desoxyuridylsäure zu Thymidylsäure führt. Dies wiederum interferiert mit der Synthese von DNA. In einem zweiten Aspekt wird gefunden, dass Fluoruracil in einem Ausmaß in die RNA eingebaut wird, der obwohl klein, ausreichend ist, um eine starke Auswirkung auf sowohl die Prozessierung als auch die Funktionen der RNA zu haben. Schließlich wurde in einem dritten Aspekt gezeigt, dass Fluoruracil die Uracil Phosphatase blockiert und somit die Verwendung von vorgebildetem Uracil bei der RNA-Synthese hemmt (Goodman und Gilman's „The Pharmacological Basis of Therapeutics“, 1985, Seiten 1268–1271).

[0163] Fluoruracil kann allein oder in Kombination mit anderen Medikamenten verabreicht werden. Die häufigste Kombination schließt die Verwendung von Leucovorin (Folinsäure) ein. Leucovorin verstärkt die cytotoxische Wirkung von Fluoruracil durch, so wird angenommen, dass Erhöhen der extrazellulären Konzentration von reduzierten Folaten, die wiederum den kovalenten ternären Komplex, der durch (F-dUMP), 5,10-Methylentetrahydrofolat und Thymidin Synthetase gebildet wird, zu stabilisieren scheinen. Die Stabilisierung dieses Komplexes verstärkt die Inhibition der Synthetase und erhöht dadurch die Wirksamkeit von Fluoruracil.

[0164] Andere chemotherapeutische Kombinationen mit Fluoruracil die für die Behandlung von Darmkrebs in fortgeschrittenem Stadium verwendet worden sind, schließen ohne Beschränkungen ein: Kombinationen von Fluoruracil mit Methotrexat allein (Blijham, G., et al., J. Clin. Oncol., 1996, 14(8): 2266–73) und in Kombination mit Leucovorin (Romero, A. O., et al., Am. J. Clin. Oncol., 1998, 21(1): 94–8), mit Interferon alfa-2a (Greco, F. A., et al., J. Clin. Oncol., 1996, 14(10): 2674–81), mit Interferon alpha 2b plus Leucovorin (Kohne, C. H., Oncology, 1997, 54(2): 96–101), mit Platinverbindungen, wie zum Beispiel Cisplatin und Oxaliplatin in Verbindung mit Leucovorin (Schleithauer, W., et al., Cancer, 1994, 73(6): 1562–68), mit Carboplatin plus Methotrexat (vor der Fluoruracil Verabreichung) (Pronzato, P., J. Chemother., 1998, 10(3): 254–57 und Bleiberg, H. und Gramont, A., Semin. Oncol., 1998, 25 (2 Suppl. 5): 32–39), mit Lavamisole (Bandealy, M. T., Clin. Cancer Res., 1998, 4(4): 935–38), mit Methyl-Lomustin und Leucovorin (Jones, Jr., D. V., Cancer, 1995, 76(10): 1709–14), und mit Irinotecan, einem Topoisomerase-I Inhibitor (nach Vorbehandlung mit Fluoruracil/Leucovorin) (Rougier, P. et al., J. Clin. Oncol., 1997, 15(1): 251–260).

[0165] Obwohl die Verwendung der obigen Kombinationen zunimmt, scheint zurzeit keine von ihnen gegenüber Fluoruracil allein oder Fluoruracil in Kombination mit Leucovorin einen deutlichen Vorteil zu liefern; letztere bleibt die anfängliche Standardbehandlung für Patienten mit metastasierendem Darmkrebs. Als einzelnes Agens verursacht es Ansprechraten von ungefähr 15% mit einer mittleren Überlebensrate von sechs Monaten. In Kombination mit Leucovorin wird die Aktivität von Fluoruracil erhöht, so dass in fortgeschrittenem (Stadium D) Darmkrebs Ansprechraten von ungefähr 20% und mittlere Überlebensraten von 11–13 Monaten beobachtet werden (Wolmark, N., et al., J. Clin. Oncol., 1993, 11: 1879–1887).

[0166] Fluoruracil kann entweder über intravenöse Bolusinjektion oder über kontinuierliche Infusion verabreicht werden. Das Verteilungsvolumen ist etwas größer als der extrazelluläre Raum. Intravenöse Bolusdosen von 370 bis 720 mg/m² erzeugen eine Eliminationshalbwertszeit von 8–14 Minuten, wobei Plasmakonzentrationen

onen unter 1 μM , was ein ungefährender Schwellenwert für cytotoxische Wirkung ist, innerhalb von 2 Stunden erreicht werden. Weniger als 10% des Medikaments werden im Urin ausgeschieden, während der Rest über metabolische Wege beseitigt wird.

[0167] Häufig verwendete Verabreichungspläne schließen kurze Bolusinjektion über drei bis fünf Tage alle 3–4 Wochen, kontinuierliche intravenöse Infusionen von 96–120 Stunden Dauer alle 4 Wochen und wöchentliche Infusionen für sechs Wochen in einem Zeitraum von jeweils acht Wochen ein. Die Inzidenz schwerer klinischer Toxizität tendiert dazu, mit höherer systemischer Exposition (zum Beispiel mit höheren steady-state Plasmakonzentrationen bei konstanten Infusionen und höherer AUC bei der Bolusverabreichung) anzusteigen.

[0168] Bemerkenswerterweise schließt jeder der obigen Behandlungspläne umfangreiche Intervalle ein, während denen kein Fluoruracil verabreicht wird. Das ist hauptsächlich auf die inhärente Toxizität von Fluoruracil zurückzuführen, die durch die Zugabe von Leucovorin verschlimmert wird. Unglücklicherweise reduziert dieses Zeitintervall die Wirksamkeit von Fluoruracil wesentlich. Das heißt die anfängliche Behandlung eines Patienten mit Fluoruracil oder Fluoruracil/Leucovorin erzeugt eine Verringerung in der Anzahl an Tumoren und der Tumorgroße von ungefähr drei logarithmischen Einheiten (drei Größenordnungen oder 1000-fach). Während der Nichtbehandlungs- („Erholungs“-)Phase kehren die Anzahl der Tumore und die Tumorgroße bis zu einem Ausmaß von ungefähr zwei logarithmischen Einheiten (100-fach) zurück. Somit beträgt der Gesamteffekt einer Behandlungskur mit Fluoruracil nur ungefähr eine logarithmische Einheit (eine ungefähr 10-fache Abnahme in Tumoranzahl und -größe) pro Verabreichung von Fluoruracil. Die anhaltende Behandlung mit Fluoruracil verursacht nicht nur ein Problem hinsichtlich der Kosten der Behandlung, der Lebensqualität des Patienten, etc., sondern kann zu einer sekundären Resistenz gegenüber dem Medikament führen. Die Verfahren dieser Erfindung richten sich auf das Aufrechterhalten eines wesentlichen Teils der Wirkung von jeder Verabreichung von Fluoruracil während der Erholungsphase. Folgende Verabreichungen in der vollen Behandlungskur werden somit mit Tumoren mit verringerter Größe und einer geringeren Anzahl an Tumoren konfrontiert und erhöhen somit die Gesamtwirksamkeit von Fluoruracil.

D. Klinische Versuche mit Fluoruracil und Fluoruracil/Leucovorin bei fortgeschrittenem Darmkrebs

[0169] Häufig verwendete kontinuierliche Infusionspläne schließen kurze Bolusinjektion über drei bis fünf Tage alle 3–4 Wochen, kontinuierliche intravenöse Infusionen über 96–120 Stunden alle 4 Wochen und wöchentliche Infusionen für sechs Wochen in einem Zeitraum von acht Wochen ein. Die Inzidenz schwerer klinischer Toxizität tendiert dazu, mit höherer systemischer Exposition (zum Beispiel mit höheren steady-state Plasmakonzentrationen bei konstanten Infusionen und höherer AUC bei der Bolusverabreichung) anzusteigen.

[0170] In einer randomisierten klinischen Studie, durchgeführt von der Mayo Klinik und der North Central Cancer Treatment Group (Mayo/NCCTG), an Patienten mit fortgeschrittenem metastasierendem Darmkrebs, wurden drei Behandlungskuren verglichen: Leucovorin (Leucovorin) 200 mg/m^2 und Fluoruracil 370 mg/m^2 gegenüber Leucovorin 20 mg/m^2 und Fluoruracil 425 mg/m^2 gegenüber Fluoruracil 500 mg/m^2 . Alle Medikamente wurden über langsame intravenöse Infusion täglich wiederholt über 5 Tage alle 28–35 Tage verabreicht. Die Ansprechraten betragen 26% ($p = 0,04$ gegenüber Fluoruracil allein), 43% ($p = 0,001$ gegenüber Fluoruracil allein) bzw. 10% für die Gruppe mit einer hohen Dosis Leucovorin, einer niedrigen Dosis Leucovorin bzw. Fluoruracil allein. Die entsprechenden mittleren Überlebenszeiten betragen 12,2 Monate ($p = 0,037$), 12 Monate ($p = 0,050$), und 7,7 Monate. Die niedrig dosierte Leucovorinkur ergab eine statistisch bedeutsame Verbesserung bei der Gewichtszunahme um mehr als 5%, der Linderung von Symptomen und einer Verbesserung bei der Leistungsfähigkeit. Die hochdosierte Leucovorinkur ergab eine statistisch bedeutsame Verbesserung bei der Leistungsfähigkeit und tendiert zu einer Verbesserung bei der Gewichtszunahme und bei der Linderung von Symptomen, die aber nicht statistisch signifikant waren.

[0171] In einer zweiten randomisierten klinischen Mayo/NCCTG Studie wurde die Behandlung mit Fluoruracil allein durch eine Kur von sequentiell verabreichtem Methotrexat (MTX), Fluoruracil und Leucovorin ersetzt. Die Ansprechraten mit Leucovorin 200 mg/m^2 und Fluoruracil 370 mg/m^2 gegenüber Leucovorin 20 mg/m^2 und Fluoruracil 425 mg/m^2 gegenüber sequentiell MTX, Fluoruracil und Leucovorin betragen jeweils 31% ($p < 0,01$), 42% ($p < 0,01$) und 14%. Die entsprechenden mittleren Überlebensraten betragen 12,7 Monate ($p < 0,04$), 12,7 Monate ($p < 0,01$) und 8,4 Monate. Zwischen den Behandlungen wurde bei der Gewichtszunahme um mehr als 5% oder bei der Verbesserung der Leistungsfähigkeit kein statistisch bedeutsamer Unterschied gesehen.

[0172] In einer dritten Studie, die das Ergebnis und die Toxizitäten von niedrig- (20 mg/m²) und hochdosiertem (200 mg/m²) Leucovorin verglich, erhielten Patienten eine 1-stündige Infusion von 400 mg/m²/Tag Fluoruracil zusätzlich zu Leucovorin alle 4 Wochen. Die beiden Gruppen wurden abgeglichen, so dass keine statistisch signifikanten Unterschiede im Geschlechterverhältnis, in der Lage des Primärtumors, bei der Leistungsfähigkeit und bei dem Tumorausmaß bestanden. Die Toxizität in beiden Behandlungskuren war niedrig und zwischen den beiden Gruppen nicht signifikant unterschiedlich. Die gesamte mittlere Überlebensrate war zwischen den beiden Gruppen nicht signifikant unterschiedlich: 346 Tage für die Patienten, die niedrig dosiert Leucovorin erhielten, und 323 Tage für die Patienten, die hochdosiert Leucovorin erhielten. Nach 1 Jahr war der Äquivalenztest signifikant ($p < 0,01$), und zeigte, dass der hochdosierten Kur mehr als 20% Nutzen bei dem 1 jährigem Überleben fehlt. Die Verwendung von hochdosiertem Leucovorin kombiniert mit Fluoruracil in den 5-Tageskuren erhöht die Gesamtüberlebensrate für Patienten, die metastasierenden Darmkrebs haben, nicht signifikant.

[0173] Schließlich wurden in einer vierten großen randomisierten Studie zwei der häufigsten Pläne von Fluoruracil/Leucovorin bei der Behandlung von fortgeschrittenem Darmkrebs verglichen, da für jeden dieser Dosierungsverabreichungspläne in vorausgegangenen kontrollierten Versuchen gezeigt worden war, dass er Einzelagens Bolus Fluoruracil überlegen ist. Dreihundertzweiundsiebzig Patienten mit metastasierendem Darmkrebs wurden anhand der Leistungsfähigkeit und dem Vorhandensein und der Lokalisation von allen messbaren Indikatorläsionen eingeteilt und randomisiert, um eine Chemotherapie mit einer der beiden Kuren zu erhalten: (1) Intensivkur Fluoruracil plus niedrig dosiertes Leucovorin (Fluoruracil 425 mg/m² plus Leucovorin 20 mg/m² intravenöse [IV] Injektion täglich für 5 Tage, wobei der Ablauf in 4–5 Wochen Intervallen wiederholt wird) oder (2) wöchentlich Fluoruracil plus hochdosiertes Leucovorin (Fluoruracil 600 mg/m² IV Injektion plus Leucovorin 500 mg/m² als eine 2-Stunden Infusion wöchentlich für 6 Wochen, wobei der Ablauf alle 8 Wochen wiederholt wird). Zwischen den beiden Fluoruracil/Leucovorin Behandlungskuren, die getestet wurden, bestanden mit Bezug auf die folgenden Parameter keine signifikanten Unterschiede: objektive Tumorantwort (35% gegenüber 31%), Überlebensrate (mittlere 9,3 gegenüber 10,7 Monaten) und Linderungswirkung (durch die Beseitigung von Symptomen, verbesserte Leistungsfähigkeit und Gewichtszunahme eingeschätzt). Es gab signifikante ($P < 0,05$) Unterschiede in der Toxizität, wobei bei der Intensivkurbehandlung (Tag 1–5) mehr Leukopenie und Stomatitis gefunden und bei den wöchentlichen Kuren mehr Diarrhöe und ein erhöhtes Erfordernis für die Hospitalisierung, um die Toxizität zu behandeln, beobachtet wurde. Eine Intensivkur mit Fluoruracil plus niedrig dosiertem Leucovorin scheint bei ähnlicher therapeutischer Wirksamkeit aber mit einer verringertem Notwendigkeit der Hospitalisierung, um die Toxizität der Chemotherapie zu bewältigen, verglichen mit wöchentlicher Verabreichung von Fluoruracil plus hochdosiertem Leucovorin bei Verwendung der Dosierungsverabreichungspläne, die in dieser Studie angewandt wurden, einen besseren therapeutischen Index zu haben.

3. PHARMAZEUTISCHE ZUSAMMENSETZUNGEN UND VERWENDUNGEN

[0174] Eine Verbindung oder Kombination der vorliegenden Erfindung, eine Vorstufe davon oder ein physiologisch annehmbares Salz von entweder der Verbindung oder ihrer Vorstufe kann als solche an einen menschlichen Patient verabreicht werden oder kann in pharmazeutischen Zusammensetzungen, in denen die vorangegangenen Materialien mit geeigneten Trägern oder Hilfsstoffen gemischt werden, verabreicht werden. Techniken für die Formulierung und Verabreichung von Medikamenten können in „Remington's Pharmacological Sciences“, Mack Publishing Co., Easton, PA, letzte Ausgabe, gefunden werden.

A. Verabreichungswege

Allgemeines

[0175] Geeignete Verabreichungswege können ohne Beschränkung orale, rektale, transmukosale oder intestinale Verabreichung oder intramuskuläre, subkutane, intramedulläre, intrathekale, direkte intraventrikuläre, intravenöse, intraperitoneale, intranasale oder intraokulare Injektionen einschließen. Die bevorzugten Verabreichungswege sind oral und parenteral.

[0176] Alternativ kann man die Verbindung in einer lokalen anstelle einer systemischen Art und Weise verabreichen, zum Beispiel über Injektion der Verbindung direkt in einen festen Tumor, oftmals in Form einer Depotformulierung oder einer Formulierung zur verzögerten Freisetzung.

[0177] Ferner kann man das Medikament in einem zielgerichteten Medikamentenabgabesystem, zum Beispiel einem Liposom, das mit einem tumorspezifischen Antikörper beschichtet ist, verabreichen. Die Liposomen richten sich auf den Tumor und werden von diesem selektiv aufgenommen.

[0178] In noch einem anderen Aspekt dieser Erfindung können Chemotherapeutika (zum Beispiel Fluoruracil und ähnliche), Topoisomerase I Inhibitoren (zum Beispiel Irinotecan und ähnliche) und Leucovorin typischerweise als eine intravenöse Bolus Injektion oder als eine kontinuierliche intravenöse Infusion verabreicht werden.

[0179] In einer bevorzugten Ausführungsform wird die Verabreichung des Topoisomerase I Inhibitors (zum Beispiel Irinotecan und ähnliche) oral durchgeführt. In einer anderen bevorzugten Ausführungsform wird eine solche Verabreichung parenteral durchgeführt.

B. Zusammensetzung/Formulierung

Allgemeines

[0180] Pharmazeutische Zusammensetzungen der vorliegenden Erfindung können mittels Verfahren, die im Stand der Technik gut bekannt sind, zum Beispiel mittels konventioneller Mischungs-, Auflösungs-, Granulierungs-, Dragee-herstellender, Verreibungs-, Emulgierungs-, Verkapselungs-, Einschließungs- oder Lyophilisierungsverfahren, hergestellt werden.

[0181] Pharmazeutische Zusammensetzungen zur Verwendung gemäß der vorliegenden Erfindung können auf konventionelle Art und Weise unter Verwendung eines oder mehrerer physiologisch annehmbarer Trägern, die Träger und Hilfsstoffe, die die Weiterverarbeitung der aktiven Verbindungen in Präparaten, die pharmazeutisch verwendet werden können, ermöglichen, umfassen, formuliert werden. Die richtige Formulierung ist von dem gewählten Verabreichungsweg abhängig.

[0182] Für die Injektion können die Verbindungen der Erfindung in wässrigen Lösungen, vorzugsweise in physiologisch kompatiblen Puffern, wie zum Beispiel Hanks Lösung, Ringers Lösung oder physiologischem Kochsalzpuffer formuliert werden. Für die transmukosale Verabreichung werden in der Formulierung Durchdringungsmittel verwendet, die der zu durchdringenden Barriere angemessen sind. Solche Durchdringungsmittel sind allgemein im Stand der Technik bekannt.

[0183] Für die orale Verabreichung können die Verbindungen durch die Kombination der aktiven Verbindungen mit pharmazeutisch annehmbaren Trägern, die im Stand der Technik gut bekannt sind, formuliert werden. Solche Träger ermöglichen es den Verbindungen der Erfindung als Tabletten, Pillen, Lutschpastillen, Dragees, Kapseln, Flüssigkeiten, Gelen, Sirups, Aufschlammungen, Suspensionen und ähnlichen für die orale Aufnahme durch einen Patienten formuliert zu werden. Pharmazeutische Präparate für die orale Verwendung können unter Verwendung eines festen Hilfsstoffes, gegebenenfalls das Mahlen der resultierenden Mischung, und Weiterverarbeitung der Mischung von Körnchen, wenn gewünscht nach der Zugabe von anderen geeigneten Hilfsstoffen, um Tabletten oder Drageekerne zu erhalten, hergestellt werden. Nützlich Trägerstoffe sind insbesondere Füllstoffe, wie zum Beispiel Zucker, einschließlich Laktose, Saccharose, Mannitol oder Sorbitol; Cellulosepräparate, wie zum Beispiel Maisstärke, Weizenstärke, Reisstärke und Kartoffelstärke und andere Materialien, wie zum Beispiel Gelatine, Tragantgummi, Methylcellulose, Hydroxypropylmethylcellulose, Natriumcarboxymethylcellulose und/oder Polyvinylpyrrolidon (PVP). Wenn gewünscht, können Auflösungsmittel, wie zum Beispiel quervernetztes Polyvinylpyrrolidon, Agar oder Alginsäure zugegeben werden. Ein Salz, wie zum Beispiel Natriumalginat, kann ebenfalls verwendet werden.

[0184] Drageekerne werden mit geeigneten Beschichtungen bereitgestellt. Zu diesem Zweck können konzentrierte Zuckerlösungen verwendet werden, die gegebenenfalls Gummi arabicum, Talkum, Polyvinylpyrrolidon, Carbopol Gel, Polyethylenglykol und/oder Titandioxid, Lacklösungen und geeignete organische Lösungsmittel oder Lösungsmittelmischungen enthalten, verwendet werden. Farbstoffe oder Pigmente können für die Identifizierung oder um verschiedene Kombinationen von aktiven Verbindungsdosen zu kennzeichnen zu den Tabletten oder Drageebeschichtungen zugegeben werden.

[0185] Pharmazeutische Zusammensetzungen, die oral verwendet werden können, schließen druckfeste Kapseln, die aus Gelatine hergestellt sind, sowie weiche, versiegelte Kapseln, die aus Gelatine und einem Weichmacher, wie zum Beispiel Glycerol oder Sorbitol hergestellt sind, ein. Die druckfesten Kapseln können die aktiven Inhaltsstoffe in Mischungen mit einem Füllstoff, wie zum Beispiel Laktose, einem Bindemittel, wie zum Beispiel Stärke und/oder einem Gleitmittel, wie zum Beispiel Talkum oder Magnesiumstearat, und gegebenenfalls Stabilisatoren enthalten. In weichen Kapseln können die aktiven Verbindungen in geeigneten Flüssigkeiten, wie zum Beispiel fettigen Ölen, flüssigem Paraffin oder flüssigen Polyethylenglykolen aufgelöst oder suspendiert sein. Auch zu diesen Formulierungen können Stabilisatoren zugegeben werden.

[0186] Für die bukkale Verabreichung können die Zusammensetzungen die Form von Tabletten oder Lutschpastillen, die auf konventionelle Art und Weise formuliert werden, annehmen.

[0187] Für die Verabreichung durch Inhalation werden die Verbindungen für die Verwendung gemäß der vorliegenden Erfindung bequemerweise in Form eines Aerosolsprays unter Verwendung einer unter Druck stehenden Verpackung oder eines Zerstäubers und einem geeigneten Treibmittel, zum Beispiel ohne Beschränkung Dichlordifluormethan, Trichlorfluormethan, Dichlortetrafluorethan oder Kohlendioxid, bereitgestellt. Im Fall eines unter Druck stehenden Aerosols kann eine Dosierungseinheit durch das Bereitstellen eines Ventils, um eine abgemessene Menge abzugeben, kontrolliert werden. Kapseln und Kartuschen aus, zum Beispiel, Gelatine für die Verwendung in einem Inhalator oder einem Insufflator können so hergestellt werden, dass sie eine Pulvermischung der Verbindung und eine geeignete Pulverbasis, wie zum Beispiel Laktose oder Stärke enthalten.

[0188] Die Verbindungen können ebenfalls für die parenterale Verabreichung, zum Beispiel durch Bolus Injektion oder kontinuierliche Infusion, formuliert werden. Formulierungen für die Injektion können in Einheitsdosisform, zum Beispiel in Ampullen oder Multidosisbehältern, mit einem zugesetzten Konservierungsmittel, geliefert werden. Die Zusammensetzungen können Formen wie Suspensionen, Lösungen oder Emulsionen in öligen oder wässrigen Trägerstoffen annehmen und können Formulierungsmittel, wie zum Beispiel Suspensions-, Stabilisierungs- und/oder Dispersionsmittel enthalten.

[0189] Pharmazeutische Zusammensetzungen für die parenterale Verabreichung schließen wässrige Lösungen einer wasserlöslichen Form, wie zum Beispiel ohne Beschränkung einem Salz der aktiven Verbindung, ein. Zusätzlich können Suspensionen der aktiven Verbindungen in einem lipophilen Träger hergestellt werden. Geeignete lipophile Träger schließen fettige Öle, wie zum Beispiel Sesamöl, synthetische Fettsäureester, wie zum Beispiel Ethyloleat und Triglyceride, oder Materialien, wie zum Beispiel Liposomen, ein. Wässrige Injektions-suspensionen können Substanzen enthalten, die die Viskosität der Suspension erhöhen, wie zum Beispiel Natriumcarboxymethylcellulose, Sorbitol oder Dextran. Gegebenenfalls kann die Suspension auch geeignete Stabilisatoren und/oder Agenzien enthalten, die die Löslichkeit der Verbindungen erhöhen, um die Herstellung von hochkonzentrierten Lösungen zu erlauben.

[0190] Alternativ kann der aktive Inhaltsstoff für die Herstellung mit einem geeigneten Träger, zum Beispiel sterilem, pyrogen-freiem Wasser, vor der Verwendung in Pulverform sein.

[0191] Die Verbindungen können ebenfalls in rektalen Zusammensetzungen, wie zum Beispiel Zäpfchen oder Bleibeklistiers, zum Beispiel unter Verwendung von konventionellen Zäpfchenbasen, wie zum Beispiel Kakao-butter oder anderen Glyceriden, formuliert werden.

[0192] Zusätzlich zu den zuvor beschriebenen Formulierungen können die Verbindungen ebenfalls als Depotpräparate formuliert werden. Solche langwirkenden Formulierungen können durch Implantation (zum Beispiel subkutan oder intramuskulär) oder durch intramuskuläre Injektion verabreicht werden. Eine Verbindung dieser Erfindung kann für diesen Verabreichungsweg mit geeigneten Polymeren oder hydrophoben Materialien (zum Beispiel in einer Emulsion mit einem pharmakologisch annehmbaren Öl), mit Ionenaustauscherharzen oder als ein schwer lösliches Derivat, wie zum Beispiel ohne Beschränkung ein schwer lösliches Salz, formuliert werden.

[0193] Ein nicht beschränkendes Beispiel eines pharmazeutischen Trägers für die hydrophoben Verbindungen der Erfindung ist ein Ko-Lösungsmittelsystem umfassend Benzylalkohol, ein nichtpolares Tensid, ein wassermischbares organisches Polymer und eine wässrige Phase, wie zum Beispiel das VPD Ko-Lösungsmittelsystem. VPD ist eine Lösung von 3 Gew.-% Benzylalkohol, 8 Gew.-% des nichtpolaren Tensids Polysorbat 80TM und 65 Gew.-% Polyethylenglykol 300, auf das Endvolumen aufgefüllt mit absolutem Ethanol. Das VPD Ko-Lösungsmittelsystem (VPD:D5W) besteht aus 1:1 Verdünnung von VPD mit einer 5%-igen Dextroselösung in Wasser. Dieses Ko-Lösungsmittelsystem löst hydrophobe Verbindungen gut auf und erzeugt selbst bei der systemischen Verabreichung eine niedrige Toxizität. Die Anteile von solch einem Ko-Lösungsmittelsystem können beträchtlich variiert werden, ohne seine Löslichkeits- und Toxizitätseigenschaften zu zerstören. Ferner kann die Identität der Bestandteile des Ko-Lösungsmittels variiert werden: zum Beispiel können anstelle von Polysorbat 80TM andere niedrig toxische nicht-polare Tenside verwendet werden; die Fraktionsgröße von Polyethylenglykol kann variiert werden; andere biokompatible Polymere, zum Beispiel Polyvinylpyrrolidon, können Polyethylenglykol ersetzen; und andere Zucker oder Polysaccharide können Dextrose ersetzen.

[0194] Alternativ können andere Abgabesysteme für hydrophobe pharmazeutische Verbindungen verwendet

werden. Liposome und Emulsionen sind gut bekannte Beispiele von Abgabehikeln oder Trägern für hydrophobe Medikamente. Zusätzlich können auch bestimmte organische Lösungsmittel, wie zum Beispiel Dimethylsulfoxid verwendet werden, obwohl oftmals auf Kosten einer größeren Toxizität.

[0195] Zusätzlich können die Verbindungen unter Verwendung eines Systems zur verzögerten Freisetzung, wie zum Beispiel semi-permeablen Matrizen von festen hydrophoben Polymeren, die das therapeutische Mittel enthalten, abgegeben werden. Verschiedene Materialien für die verzögerte Freisetzung haben sich bewährt und sind dem Durchschnittsfachmann gut bekannt. Kapseln für die verzögerte Freisetzung können abhängig von ihrem chemischen Aufbau, die Verbindungen über wenige Wochen bis zu 100 Tage freisetzen. Abhängig von dem chemischen Aufbau und der biologischen Stabilität des therapeutischen Reagenz können zusätzliche Strategien für die Protein stabilisierung verwendet werden.

[0196] Die hierin beschriebenen pharmazeutischen Zusammensetzungen können ebenfalls geeignete feste oder gelphasige Träger oder Hilfsstoffe umfassen. Beispiele von solchen Trägern oder Hilfsstoffen schließen ein aber sind nicht beschränkt auf Calciumcarbonat, Calciumphosphat, verschiedene Zucker, Stärken, Cellulose derivative, Gelatine und Polymere, wie zum Beispiel Polyethylenglykole.

[0197] Viele der Verbindungen der Erfindung können als Salze mit pharmazeutisch kompatiblen Gegenionen bereitgestellt werden. Pharmazeutisch kompatible Salze können mit vielen Säuren, einschließlich aber nicht beschränkt auf Salzsäure, Schwefelsäure, Essigsäure, Milchsäure, Weinsäure, Äpfelsäure, Bernsteinsäure, etc. gebildet werden. Salze neigen dazu, in wässrigen oder anderen protonischen Lösungsmitteln löslicher zu sein als die korrespondierenden freien Basenformen.

3-[(2,4-Dimethylpyrrol-5-yl)methylidenyl]-2-Indolinon Zusammensetzung

[0198] Diese Verbindung kann als jede der Zusammensetzungen und Formulierungen, die oben beschrieben sind, formuliert werden. Eine gegenwärtig bevorzugte Formulierung umfasst jedoch 3-[(2,4-Dimethylpyrrol-5-yl)methylidenyl]-2-Indolinon einer ausreichend sterilen parenteralen Lösung, um eine Endkonzentration von 4,5 mg/ml zu ergeben. Zusätzliche Bestandteile der Formulierung schließen Polyethylenglykol 400, Polyoxyl 35 Castoröl (Cremophor®), Benzylalkohol und wasserfreien Alkohol ein. Es sollte angemerkt werden, dass diese Formulierung, da sie Cremophor® enthält, nicht mit üblichen PVC-beschichteten Spritzen, intravenösen Beuteln und Verabreichungssets kompatibel ist.

Fluoruracil/Leucovorin Zusammensetzung

[0199] Fluoruracil ist kommerziell in Zusammensetzungen und Formulierungen erhältlich, die dem Durchschnittsfachmann auf dem Gebiet der Chemotherapie bekannt sind, und kann in den Verfahren dieser Erfindung in Form dieser Zusammensetzungen/Formulierungen verabreicht werden. Beispiele von solchen Zusammensetzungen/Formulierungen werden in der Packungsbeilage gezeigt, die kommerziell erhältlichem Fluoruracil beigefügt ist, und die hierin durch Bezugnahme so eingeschlossen ist, als ob sie hierin vollständig dargelegt würde. Die Verwendung von jeder anderen oder dazu unterschiedlichen Zusammensetzung/Formulierung, wie sie in Zukunft entwickelt werden oder verfügbar werden könnte, liegt ebenfalls innerhalb des Umfangs dieser Erfindung.

[0200] Gleichermaßen ist Leucovorin ebenfalls in Zusammensetzungen/Formulierungen, die dem Durchschnittsfachmann auf dem Gebiet der Chemotherapie bekannt sind, kommerziell erhältlich und kann in Form dieser Zusammensetzungen/Formulierungen ebenfalls in den Verfahren dieser Erfindung verabreicht werden. Beispiele von solchen Zusammensetzungen/Formulierungen werden in der Packungsbeilage, die kommerziell erhältlichem Leucovorin beigefügt ist, und die hierin so eingeschlossen ist, als wenn sie hierin vollständig dargelegt wäre, gezeigt. Wie oben, liegt jede andere oder dazu unterschiedliche Zusammensetzung/Formulierung, wie sie der in der Zukunft entwickelt werden oder verfügbar werden könnte, ebenfalls innerhalb des Umfangs dieser Erfindung.

4. DOSIERUNG

A. Allgemeines

[0201] Verbindungen, Kombinationen und pharmazeutische Zusammensetzungen, die für die Verwendung in der vorliegenden Erfindung geeignet sind, schließen Zusammensetzungen ein, in denen die aktiven Inhaltsstoffe in einer Menge enthalten sind, die ausreichend ist, um den beabsichtigten Zweck zu erzielen; d.h. die

Modulierung der PK Aktivität oder der Behandlung oder Prävention einer mit einer PK in Verbindung stehenden Erkrankung.

[0202] Insbesondere bedeutet eine therapeutisch wirksame Menge eine Menge einer Verbindung, die wirksam ist, Symptome einer Krankheit zu verhindern, zu lindern oder zu verbessern oder das Überleben des behandelten Subjekts zu verlängern.

[0203] Die Bestimmung einer therapeutisch wirksamen Menge liegt gut innerhalb der Möglichkeiten des Durchschnittsfachmanns, insbesondere im Lichte der hierin bereitgestellten detaillierten Offenbarung.

[0204] Für jede Verbindung, die in den Verfahren der Erfindung verwendet wird, kann die therapeutisch wirksame Menge oder Dosis zu Beginn aus Zellkulturassays abgeschätzt werden. Dann kann die Dosierung für die Verwendung in Tiermodellen formuliert werden, um so einen Konzentrationsbereich im Blutkreislauf zu erzielen, der den in der Zellkultur bestimmten IC_{50} (d.h. die Konzentration der Testverbindung, die eine halbmaximale Inhibition der PK Aktivität erzielt) einschließt. Eine solche Information kann dann verwendet werden, um nützliche Dosen in Menschen genauer zu bestimmen.

[0205] Die Toxizität und therapeutische Wirksamkeit der hierin beschriebenen Verbindungen kann über pharmazeutische Standardverfahren in Zellkulturen oder Versuchstieren, zum Beispiel über die Bestimmung des IC_{50} und des LD_{50} (die beide woanders hierin diskutiert werden) für eine Probenverbindung, bestimmt werden. Die Daten, die aus diesen Zellkulturassays und Tierstudien erhalten werden, können bei der Formulierung eines Dosierungsbereiches für die Verwendung in Menschen verwendet werden. Die Dosierung kann abhängig von der verwendeten Dosierungsform und dem verwendeten Dosierungsweg variiert werden. Die exakte Formulierung, der Verabreichungsweg und die Dosierung kann von dem einzelnen Arzt angesichts des Zustandes des Patienten gewählt werden. (Siehe z. B. Fingl, et al., 1975 in "The Pharmacological Basis of Therapeutics", Kapitel 1 Seite 1).

[0206] Therapeutische Verbindungen sollten beim Hemmen der Rezeptortyrosinkinase wirksamer sein als beim Ausüben einer cytotoxischen Wirkung. Ein Maß der Wirksamkeit und der Zelltoxizität einer Verbindung kann durch das Bestimmen des therapeutischen Indexes, d.h. IC_{50}/LD_{50} , erhalten werden. IC_{50} , die Dosis, die erforderlich ist, um 50% Inhibition zu erzielen, kann unter Verwendung von Standardtechniken, wie zum Beispiel denen, die hierin beschrieben werden, bestimmt werden. LD_{50} , die Dosis, die zu 50% Toxizität führt, kann ebenfalls über Standardtechniken (Mossman, 1983, J. Immunol. Methods, 65: 55–63), durch das Messen der Menge an freigesetztem LDH (Korzeniewski und Callewaert, 1983, J. Immunol. Methods, 64: 313; Decker und Lohmann-Matthes, 1988, J. Immunol. Methods, 115: 61) oder durch das Messen der letalen Dosis in Tiermodellen bestimmt werden. Verbindungen mit großem therapeutischem Index werden bevorzugt. Somit erfordert in einem Aspekt der Erfindung eine bevorzugte Dosierung der Verbindungen, Agenzien, Kombinationen und pharmazeutischen Zusammensetzungen, die für die Verwendung in der Erfindung in Erwägung gezogen werden, dass der therapeutischen Index von jedem aktiven Bestandteil größer als 2, vorzugsweise mindestens 10, bevorzugter mindestens 50 ist.

[0207] Dosismenge und Intervall können individuell angepasst werden, um Plasmakonzentrationen des aktiven Stoffes bereitzustellen, die ausreichend sind, um die Kinase modulierenden Wirkungen aufrecht zu erhalten. Auf diese Plasmakonzentrationen wird minimale wirksame Konzentrationen (MECs) Bezug genommen. Die MEC wird für jede Verbindung variieren, kann aber aus in vitro Daten abgeschätzt werden; zum Beispiel kann die Konzentration, die notwendig ist, um 50–90% Inhibition einer Kinase zu erhalten, unter Verwendung der hierin beschriebenen Assays festgestellt werden. Die Dosierungen, die notwendig sind, um die MEC zu erzielen, hängen von Einzeleigenschaften und dem Verabreichungsweg ab. HPLC Assays oder Bioassays können verwendet werden, um Plasmakonzentrationen zu bestimmen.

[0208] Dosierungsintervalle können ebenfalls unter Verwendung des MEC Werts bestimmt werden. Verbindungen sollten in einer Kur verabreicht werden, die die Plasmakonzentration für 10–90% der Zeit, vorzugsweise zwischen 30–90% der Zeit und am bevorzugtesten zwischen 50–90% der Zeit über dem MEC hält.

[0209] In Fällen der lokalen Verabreichung oder der selektiven Aufnahme kann die wirksame lokale Konzentration des Medikaments nicht mit der Plasmakonzentration in Beziehung gesetzt werden und es können andere Verfahren, die im Stand der Technik bekannt sind, verwendet werden, um die korrekte Dosierungsmenge und das korrekte Dosierungsintervall zu bestimmen.

[0210] Die Menge einer verabreichten Zusammensetzung wird natürlich von dem behandelten Subjekt, dem

Schweregrad des Betroffenseins, der Art der Verabreichung, der Beurteilung des verschreibenden Arztes, etc. abhängig sein.

[0211] Therapeutisch wirksame Mengen von chemotherapeutischen Mitteln, Topoisomerase I Inhibitoren und Leucovorin, die für die Verwendung bei der Anwendung der Erfindung in Erwägung gezogen werden, können einfach bestimmt werden. Siehe zum Beispiel DeVita, Jr., V. et al., Cancer: Principles und Practice of Oncology, (5th Edn 1997).

B. Dosierung von 3-[(2,4-Dimethylpyrrol-5-yl)methylidenyl]-2-Indolinon

[0212] Basierend auf den pharmakologischen Daten, die für 3-[(2,4-Dimethylpyrrol-5-yl)methylidenyl]-2-Indolinon (siehe oben) erhalten wurden, kann die Verbindung in Dosen, die von ungefähr 4 mg/m² bis ungefähr 195 mg/m² reichen, verabreicht werden. In einer gegenwärtig bevorzugten Ausführungsform liegt die Dosis zwischen ungefähr 72,5 mg/m² und ungefähr 145 mg/m². In einer anderen bevorzugten Ausführungsform umfassen therapeutisch wirksame Mengen von 3-[(2,4-Dimethylpyrrol-5-yl)methylidenyl]-2-Indolinon von ungefähr 4 bis ungefähr 190 mg/m², vorzugsweise von ungefähr 72 bis 145 mg/m² der Verbindung pro Behandlung.

[0213] Die Verdünnung, die in dem oben stehenden Teil zur Zusammensetzung beschrieben ist, kann mit einer Rate von ungefähr 50 bis ungefähr 350 cc/Stunde an einen Patienten verabreicht werden. Vorzugsweise beträgt die Rate von ungefähr 150 bis ungefähr 250 cc/Stunde. Am bevorzugtesten beträgt sie von ungefähr 175 bis ungefähr 225 cc/Stunde.

[0214] Mit „ungefähr“, wo auch immer der Ausdruck hierin auftaucht, ist ±10% gemeint; d.h. ungefähr 175 cc/Stunde bedeutet von 157,5 cc/Stunde bis 192,5 cc/Stunde, etc.

[0215] In einer gegenwärtig bevorzugten Ausführungsform wird die Dosis von 3-[(2,4-Dimethylpyrrol-5-yl)methylidenyl]-2-Indolinon während Ruheperioden verabreicht, in denen kein Fluoruracil oder Fluoruracil/Leucovorin an einen Patienten verabreicht wird. Wie durch die Beispiele in dem obigen Teil zur Pharmakologie offensichtlich geworden ist, können Fluoruracil oder Fluoruracil/Leucovorin in zahlreichen Behandlungskuren verabreicht werden, deren Auswahl innerhalb des Wissens und der Kompetenz des behandelnden Arztes liegt.

C. Dosierung von Fluoruracil und Fluoruracil/Leucovorin

[0216] Im Allgemeinen umfassen therapeutisch wirksame Mengen von Fluoruracil von ungefähr 300 bis ungefähr 800 mg/m², vorzugsweise von ungefähr 375 bis ungefähr 600 mg/m² und bevorzugter von ungefähr 400 bis ungefähr 500 mg/m² Fluoruracil pro Behandlung. Andere bevorzugte therapeutisch wirksame Mengen von Fluoruracil pro Behandlung schließen Mengen im Bereich (a) von ungefähr 375 bis ungefähr 600 mg/m², (b) von ungefähr 400 bis ungefähr 575 mg/m², (c) von ungefähr 425 bis ungefähr 550 mg/m², (d) von ungefähr 450 bis ungefähr 525 mg/m² und (e) von ungefähr 475 bis ungefähr 500 mg/m² ein. In einem Aspekt wird die Verabreichung von Fluoruracil einmal wöchentlich durchgeführt.

[0217] Typischerweise umfassen therapeutisch wirksame Mengen von Leucovorin von ungefähr 20 bis ungefähr 500 mg/m², vorzugsweise von ungefähr 20 bis ungefähr 200 mg/m² der Verbindung pro Behandlung. Andere bevorzugte therapeutisch wirksame Mengen von Leucovorin pro Behandlung schließen Mengen im Bereich (a) von ungefähr 40 bis ungefähr 180 mg/m², (b) von ungefähr 60 bis ungefähr 160 mg/m², (c) von ungefähr 80 bis ungefähr 140 mg/m², (d) von ungefähr 100 bis ungefähr 120 mg/m² und (e) von ungefähr 105 bis ungefähr 115 mg/m² ein. In einem Aspekt wird die Verabreichung von Leucovorin einmal wöchentlich durchgeführt.

[0218] Wie in den oben beschriebenen klinischen Studien mit Fluoruracil und Fluoruracil/Leucovorin gesehen werden kann, gibt es gegenwärtig eine Reihe von Plänen, die für die Verabreichung von Fluoruracil oder Fluoruracil/Leucovorin bei fortgeschrittenem Darmkrebs verwendet werden. Bei der Verwendung von verschiedenen Verabreichungsdosen und -plänen von Fluoruracil und Fluoruracil/Leucovorin gibt es jedoch ein bemerkenswertes Fehlen von Unterschieden im Ergebnis, wobei die meisten Kuren in wechselndem Ausmaß Leukopenie, Diarrhöe und Mukositis erzeugen. Daher werden, obwohl Fluoruracil in Dosen verabreicht werden kann, die von ungefähr 300 mg/m² bis ungefähr 800 mg/m² reichen können, Pläne von Fluoruracil, die eine Dosisintensität von ungefähr 400–500 mg/m²/Woche bereitstellen, gegenwärtig als die optimale Therapie betrachtet. Wenn Leucovorin bei der Behandlung eingeschlossen ist, sind die Unterschiede in dem klinischen Ergebnis für niedrig dosiertes und hochdosiertes Leucovorin minimal, so dass angesichts der zusätzlichen Toxizität der hochdosierten Kur die niedrig dosierte Kur gegenwärtig am angemessensten erscheint.

[0219] Daher ist es, obwohl Fluoruracil oder Fluoruracil/Leucovorin innerhalb des Umfangs dieser Erfindung in jeder gegenwärtig anerkannten Art und Weise oder in jeder Art und Weise, für die in Zukunft gefunden wird, dass sie wirksam ist, verabreicht werden kann, angesichts der obigen Daten eine gegenwärtig bevorzugte Ausführungsform dieser Erfindung Fluoruracil in einer Dosis von ungefähr 400 bis 500 mg/m² als eine intravenöse Bolus Injektion an den Tagen 1–5 eines 4 Wochen Zyklus zu verabreichen. Der 4-Wochen Zyklus kann falls notwendig oder bis gegenteiligen Nebenwirkungen auftreten, die durch den Arzt, der die Behandlung durchführt, erkannt werden, wiederholt werden.

[0220] Leucovorin kann mit dem Fluoruracil verabreicht werden. Leucovorin kann in Dosen von ungefähr 20 bis ungefähr 500 mg/m², vorzugsweise von ungefähr 20 bis ungefähr 200 mg/m² und in einer gegenwärtig bevorzugten Ausführungsform dieser Erfindung als eine niedrig dosierte Verabreichung von ungefähr 20 mg/m², ebenfalls als eine Bolus Injektion mit jeder Verabreichung von Fluoruracil verabreicht werden.

D. Fluoruracil oder Fluoruracil/Leucovorin in Kombination mit 3-[(2,4-Dimethylpyrrol-5-yl)methylidenyl]-2-Indolinon

[0221] Es ist ein Aspekt dieser Erfindung, dass wenn 3-[(2,4-Dimethylpyrrol-5-yl)methylidenyl]-2-Indolinon in Kombination mit Fluoruracil oder Fluoruracil/Leucovorin verabreicht wird, die Verbindungen gemäß einer Behandlungskur, die berechnet wurde, um den maximalen Nutzen aus den Eigenschaften jedes Bestandteils zu ziehen, gleichzeitig, sequentiell, kontinuierlich, abwechselnd, etc. verabreicht werden.

[0222] Ein noch weiterer Aspekt dieser Erfindung ist eine Behandlungskur, die die Verabreichung von ungefähr 400 bis ungefähr 500 mg/m² Fluoruracil an einem oder mehreren Tagen, die konsekutiv oder gestaffelt sein können, nach der von ungefähr 72 bis ungefähr 145 mg/m² 3-[(2,4-Dimethylpyrrol-5-yl)methylidenyl]-2-Indolinon an einem oder mehreren Tagen, wobei diese Tage ebenfalls konsekutiv oder gestaffelt sein können, verabreicht werden, umfasst.

[0223] In einem anderen Aspekt können 20 mg/m² Leucovorin auch an den Tagen, an denen Fluoruracil verabreicht wird, verabreicht werden.

[0224] In einer gegenwärtig bevorzugten Ausführungsform dieser Erfindung ist die obige Behandlungskur eine vierwöchige Behandlungskur, wobei Fluoruracil (und gegebenenfalls Leucovorin) als eine intravenöse Bolus Injektion an den Tagen 1, 2, 3, 4 und 5 der ersten Woche der Behandlungskur verabreicht werden, während das 3-[(2,4-Dimethylpyrrol-5-yl)methylidenyl]-2-Indolinon als intravenöse Bolus Injektion zweimal wöchentlich während den Wochen 2, 3 und 4 der Behandlungskur verabreicht wird.

[0225] In einer gegenwärtig bevorzugten Ausführungsform wird 3-[(2,4-Dimethylpyrrol-5-yl)methylidenyl]-2-Indolinon an Tagen verabreicht, an denen kein Fluoruracil oder Fluoruracil/Leucovorin verabreicht wird. Somit wird in einer Ausführungsform dieser Erfindung die oben beschriebene Dosis von 3-[(2,4-Dimethylpyrrol-5-yl)methylidenyl]-2-Indolinon in jedem gewünschten Muster verabreicht; zum Beispiel ohne Beschränkung an jedem Tag, jedem zweiten Tag, jedem dritten Tag etc. einer Behandlungskur, die für Fluoruracil oder Fluoruracil/Leucovorin ausgewählt worden ist, an dem Fluoruracil oder Fluoruracil/Leucovorin nicht verabreicht wird. Das 3-[(2,4-Dimethylpyrrol-5-yl)methylidenyl]-2-Indolinon kann als eine intravenöse Bolus Injektion oder als eine kontinuierliche intravenöse Infusion verabreicht werden. Basierend auf den in vitro Daten kann 3-[(2,4-Dimethylpyrrol-5-yl)methylidenyl]-2-Indolinon jedoch über einen relativ kurzen Zeitraum (5 bis 30 Minuten) verabreicht werden und übt für 3 bis 4 Tage danach antiproliferative Aktivität auf die endothelialen Zellen aus. Die in vivo Daten zeigen ebenfalls, dass die Dosierung mit 3-[(2,4-Dimethylpyrrol-5-yl)methylidenyl]-2-Indolinon in 3 bis 4 Tagen Intervallen ausreichend war, um das Tumorwachstum ohne Toxizität zu hemmen. Ferner wurde in Phase I Dosissteigerungsstudien mit bis zu 52 Wochen Behandlung in den behandelten Patienten keine kumulative Toxizität beobachtet. Daher wird in einer gegenwärtig bevorzugten Ausführungsform dieser Erfindung die angegebene Dosis von 3-[(2,4-Dimethylpyrrol-5-yl)methylidenyl]-2-Indolinon zweimal wöchentlich in den Wochen 2–4 jeder vierwöchentlichen Behandlungskur verabreicht.

[0226] Es ist selbstverständlich, dass während sich die obige Beschreibung auf die Verwendung von 3-[(2,4-Dimethylpyrrol-5-yl)methylidenyl]-2-Indolinon in Kombination mit Fluoruracil oder Fluoruracil/Leucovorin bezieht, andere Verbindungen dieser Erfindung, insbesondere 3-[4-(2-Carboxyethyl-3,5-Dimethylpyrrol-2-yl)methylidenyl]-2-Indolinon, in Kombination mit Fluoruracil oder Fluoruracil/Leucovorin ebenfalls innerhalb des Umfangs und des Gedankens dieser Erfindung liegen.

E. Andere Chemotherapeutika und/oder Topoisomerase I Inhibitoren in Kombination mit 3-[(2,4-Dimethylpyrrol-5-yl)methylidenyl]-2-Indolinon

[0227] Basierend auf der hierin enthaltenden Offenbarung kann für 3-[(2,4-Dimethylpyrrol-5-yl)methylidenyl]-2-Indolinon erwartet werden, auch in Kombination mit anderen Chemotherapeutika zu funktionieren.

[0228] Zum Beispiel kann die Kombination von 3-[(2,4-Dimethylpyrrol-5-yl)methylidenyl]-2-Indolinon mit anderen alkylierenden Mitteln eine synergistische Aktivität ohne gleichzeitig erhöhte Toxizität erlauben. Solche alkylierenden Mittel können ohne Beschränkung die Alkylsulfonate; zum Beispiel Busulfan (verwendet für die Behandlung von chronischer granulozytischer Leukämie), Improsulfan und Pipsolfan; die Aziridine, zum Beispiel Benzodepa, Carboquon, Meturedpa und Uredpa; die Ethylenimine und Methylmelamine, zum Beispiel Altretamin, Triethylenmelamin, Triethylenphosphoramid, Triethylthiophosphoramid und Trimethylolmelamin und die Stickstoffsäureverbindungen, zum Beispiel Chlorambucil (verwendet in der Behandlung von chronischer lymphozytischer Leukämie, primärer Makroglobulinämie und Nicht-Hodgkin Lymphomen), Cyclophosphamid (verwendet in der Behandlung von Hodkins Krankheit, multiple Myelom, Neuroblastom, Brustkrebs, Eierstockkrebs, Lungenkrebs, Wilms Tumor und Rhabdomyosarcom), Estramustin, Ifosfamid, Novembrichin, Prednimustin und Uracilsenf (für primäre Thrombozytose, Nicht-Hodgkin Lymphom, Hodgkins Krankheit und Eierstockkrebs); und die Triazine, zum Beispiel Dacarbazin (verwendet für Weichgewebssarcome), einschließen.

[0229] 3-[(2,4-Dimethylpyrrol-5-yl)methylidenyl]-2-Indolinon könnte ebenfalls in Kombination mit anderen Antimetabolit Chemotherapeutika, wie zum Beispiel ohne Beschränkung Folsäureanaloga (zum Beispiel Methotrexat (verwendet in der Behandlung von akuter lymphozytischer Leukämie, Choriokarzinom, Mycosis fungoides, Brust-, Hals- und Kopf- und Lungen-Krebs, osteogenes Sarkom) und Pteropterin) und Purinanaloga, wie zum Beispiel Mercaptopurin und Thioguanin, die in der Behandlung von akuter granulozytischer, akuter lymphozytischer und chronischer granulozytischer Leukämie Verwendung finden, eine günstige Wirkung haben.

[0230] 3-[(2,4-Dimethylpyrrol-5-yl)methylidenyl]-2-Indolinon könnte sich ebenfalls in Verbindung mit Chemotherapeutika aus natürlichen Produkten, wie zum Beispiel ohne Beschränkung den Vinca Alkaloiden (Vinblastin (verwendet für Brust- und Hodenkrebs), Vincristin, Vindesin), den Epipodophylotoxinen (Etoposid, Teniposid (beide werden in der Behandlung von Hodenkrebs und Kaposi Sarkom verwendet)), den antibiotischen Chemotherapeutika (Daunorubicin, Doxorubicin, Bleomycin, Mitomycin (verwendet für Magen-, Gebärmutterhals-, Darm-, Brust-, Blasen- und Bauchspeicheldrüsenkrebs), Dactinomycin, Plicamycin, Bleomycin (verwendet für Haut-, Speiseröhren- und Krebs des Harn- und Geschlechtstraktes) und enzymatischen Chemotherapeutika, wie zum Beispiel L-Asparaginase, als wirksam erweisen.

[0231] Basierend auf der Offenbarung dieser Erfindung könnte 3-[(2,4-Dimethylpyrrol-5-yl)methylidenyl]-2-Indolinon ebenfalls der Aktivität von Chemotherapeutika wie zum Beispiel koordinierten Platinkomplexen (Cisplatin, etc.), substituierten Harnstoffen (Hydroxyharnstoff), Methylhydrazinderivaten (Procarbazin), adrenocortikalen Suppressoren (Mitotan, Aminoglutethimid) sowie Hormonen und Antagonisten, wie zum Beispiel Adrenocorticosteroiden (Prednison), Progestinen (Hydroxyprogesteroncaproat), Östrogenen (Diethylstilbestrol), Anti-Östrogenen (Tamoxifen) und Androgenen (Testosteronpropionat) zunutze kommen.

[0232] Schließlich könnte erwartet werden, dass die Kombination von 3-[(2,4-Dimethylpyrrol-5-yl)methylidenyl]-2-Indolinon mit Mitoxantron oder Paclitaxel insbesondere bei der Behandlung von festen Tumoren oder Leukämien, wie zum Beispiel ohne Beschränkung akute myelogene (nichtlymphozytische) Leukämie, nützliche Ergebnisse zeigt.

[0233] Daher sind therapeutisch wirksame Mengen von Irinotecan, Cisplatin, Paclitaxel, Gemcitabin und Carboplatin in einem anderen Aspekt der Erfindung wie folgt.

[0234] Im Allgemeinen umfassen therapeutisch wirksame Menge von Irinotecan von ungefähr 75 bis ungefähr 400 mg/m² Irinotecan pro Behandlung. Für die einmal wöchentliche Verabreichung liegen bevorzugte therapeutisch wirksame Mengen von Irinotecan pro Behandlung im Bereich von ungefähr 75 bis ungefähr 150 mg/m² Irinotecan und schließen Mengen in den bevorzugten Bereichen (a) von ungefähr 75 bis ungefähr 140 mg/m², (b) von ungefähr 90 bis ungefähr 135 mg/m², (c) von ungefähr 100 bis ungefähr 130 mg/m² und (e) von ungefähr 115 bis ungefähr 125 mg/m² ein. Für die Verabreichung alle drei Wochen liegen bevorzugte therapeutisch wirksame Mengen von Irinotecan pro Behandlung im Bereich von ungefähr 250 bis ungefähr 400 mg/m² Irinotecan, und schließen Mengen in bevorzugten Bereichen (a) von ungefähr 275 bis ungefähr 375 mg/m², (b) von ungefähr 300 bis ungefähr 350 mg/m², und (c) von ungefähr 320 bis ungefähr 330 mg/m² ein.

[0235] Typischerweise umfassen therapeutisch wirksame Mengen von Cisplatin von ungefähr 40 bis ungefähr 175 mg/m² Cisplatin pro Behandlung. Für die einmal wöchentliche Verabreichung liegen bevorzugte therapeutisch wirksame Mengen von Cisplatin pro Behandlung im Bereich von ungefähr 40 bis ungefähr 110 mg/m² Cisplatin und schließen Mengen in den bevorzugten Bereichen (a) von ungefähr 50 bis ungefähr 100 mg/m², (b) von ungefähr 60 bis ungefähr 90 mg/m², (c) von ungefähr 65 bis ungefähr 85 mg/m² und (d) von ungefähr 70 bis ungefähr 80 mg/m² ein. Für die Verabreichung alle drei Wochen liegen bevorzugte therapeutisch wirksame Mengen von Cisplatin pro Behandlung im Bereich von ungefähr 75 bis ungefähr 175 mg/m² Cisplatin und schließen Mengen in den bevorzugten Bereichen (a) von ungefähr 90 bis ungefähr 160 mg/m², (b) von ungefähr 100 bis ungefähr 150 mg/m², (c) von ungefähr 110 bis ungefähr 140 mg/m² und (d) von ungefähr 70 bis ungefähr 80 mg/m² ein.

[0236] Im Allgemeinen umfassen therapeutisch wirksame Mengen von Paclitaxel von ungefähr 80 bis ungefähr 225 mg/m² Paclitaxel pro Behandlung. Bevorzugte therapeutische Mengen von Paclitaxel pro Behandlung schließen Mengen in den bevorzugten Bereichen (a) von ungefähr 90 bis ungefähr 220 mg/m², (b) von ungefähr 100 bis ungefähr 200 mg/m², (c) von ungefähr 120 bis ungefähr 180 mg/m² und (d) von ungefähr 140 bis ungefähr 160 mg/m² ein. In einem Aspekt wird die Verabreichung von Paclitaxel einmal wöchentlich durchgeführt.

[0237] Typischerweise umfassen therapeutisch wirksame Mengen von Gemcitabin von ungefähr 750 bis ungefähr 1250 mg/m² Gemcitabin pro Behandlung. Bevorzugte therapeutisch wirksame Mengen von Gemcitabin pro Behandlung schließen Mengen in den bevorzugten Bereichen (a) von ungefähr 800 bis ungefähr 1200 mg/m², (b) von ungefähr 850 bis ungefähr 1150 mg/m², (c) von ungefähr 900 bis ungefähr 1100 mg/m² und (d) von ungefähr 950 bis ungefähr 1150 mg/m² ein. In einem Aspekt wird die Verabreichung von Gemcitabin einmal wöchentlich durchgeführt.

[0238] Im Allgemeinen umfassen therapeutisch wirksame Mengen von Carboplatin eine Dosis pro Behandlung, die ausreichend ist, eine AUC (unter Verwendung der Calvert Formel) von ungefähr 4 bis ungefähr 8 mg/min/ml zu erzeugen, mit einer bevorzugten Dosis, die ausreichend ist, um eine AUC (unter Verwendung der Calvert Formel) von ungefähr 6 mg/min/ml zu erzeugen. In einem Aspekt wird die Verabreichung von Carboplatin einmal wöchentlich durchgeführt.

5. VERPACKUNG

[0239] Die Zusammensetzungen können, wenn gewünscht, in einer Packungs- oder Spendereinheit, wie zum Beispiel einem von der FDA zugelassenen Kit, angeboten werden, der eine oder mehrere Einheitsdosisformen, die den aktiven Inhaltsstoff enthalten, enthalten kann. Die Verpackung kann zum Beispiel Metall- oder Plastikfolie, wie zum Beispiel eine Blisterpackung, umfassen. Die Verpackungs- oder Spendereinheit kann von Gebrauchsanweisungen für die Verabreichung begleitet werden. Die Verpackung oder der Spender kann ebenfalls von einem Hinweis, der mit dem Behälter in einer Form verbunden ist, die durch eine Regierungsbehörde, die die Herstellung, Verwendung oder den Verkauf von Pharmazeutika reguliert, vorgeschrieben ist, wobei dieser Hinweis die Zulassung der Form der Zusammensetzungen oder der humanen oder veterinären Verabreichung durch die Behörde widerspiegelt. Ein solcher Hinweis kann zum Beispiel ein Etikett, das von der US Food and Drug Administration für verschreibungspflichtige Medikamente zugelassen ist, oder eine zugelassene Produktbeilage sein. Zusammensetzungen, die eine Verbindung der Erfindung, die in einem kompatiblen pharmazeutischen Träger formuliert ist, umfassen, können ebenfalls hergestellt, in einem entsprechenden Behälter platziert und für die Behandlung einer angegebenen Erkrankung gekennzeichnet werden. Geeignete Erkrankungen, die auf dem Etikett angegeben sind, können die Behandlung eines Tumors, die Inhibition der Angiogenese, die Behandlung von Fibrose, Diabetes und ähnliche einschließen.

[0240] Zusätzliche Verfahren zur Herstellung von pharmazeutischen Formulierungen der Verbindungen, Verfahren zur Bestimmung der Mengen von Verbindungen, die an einen Patienten verabreicht werden, und Wege, Verbindungen an einen Organismus zu verabreichen, werden in der US-Anmeldung mit der Seriennummer 08/702,232 von Tang et al. und betitelt „Indolinone Combinatorial Libraries and Related Products and Methods for the Treatment of Disease“, eingereicht am 23. August 1996 und der Internationalen Patentveröffentlichung Nr. WO 96/22976 von Buzzetti, et al., und betitelt „Hydrosoluble 3-Arylidene-2-Oxindole Derivatives as Tyrosine Kinase Inhibitors“, veröffentlicht am 01. August 1996, offenbart.

BEISPIELE

[0241] Die unten stehenden Beispiele sind nicht beschränkend und sind für verschiedene Aspekte und Merk-

male der vorliegenden Erfindung nur beispielhaft. Die Beispiele beschreiben typische Verfahren für die Synthesisierung von Verbindungen der Erfindung, Verfahren zum Messen der Wirkung einer Verbindung auf die Funktion von Proteinkinasen, Verfahren zum Messen der Wirkung einer Verbindung unter in vivo Bedingungen und modellhafte Anwendungen für bestimmte Kombinationstherapien, die Verbindungen der Erfindung und ein oder mehrere andere Agenzien umfassen, bei verschiedenen Krebsformen in klinischen Versuchen mit Menschen.

[0242] Die Zellen, die in den Verfahren verwendet werden, sind kommerziell oder von akademischen Laboren erhältlich oder wurden aus kommerziell erhältlichen Zellen hergestellt. Die Nukleinsäurevektoren, die in den Zellen enthalten sind, sind ebenfalls kommerziell erhältlich und die Sequenzen der Gene für die verschiedenen Proteinkinasen sind in Sequenzdatenbanken einfach zugänglich. Daher kann eine Person mit durchschnittlichen Fähigkeiten auf dem Gebiet einfach die Zelllinien in einer zeitgerechten Art und Weise durch Kombinieren der kommerziell erhältlichen Zellen, der kommerziell erhältlichen Nukleinsäurevektoren und der Proteinkinasegene unter Verwendung von Techniken, die dem Durchschnittsfachmann einfach zugänglich sind, neu erzeugen.

BEISPIEL 1. SYNTHESE

[0243] Die Verbindungen dieser Erfindung sowie die Vorstufen 2-Oxindole und Aldehyde können einfach unter Verwendung von Techniken, die auf chemischem Gebiet gut bekannt sind, synthetisiert werden. Es wird von dem Durchschnittsfachmann erkannt werden, dass andere Synthesewege zum Herstellen der Verbindungen der Erfindung verfügbar sind und dass das Folgende beispielhaft und nicht als Beschränkung angeführt wird.

A. 4-Methyl-5-(2-oxo-1,2-Dihydroindol-3-ylidenmethyl)-1H-Pyrrol-2-Carboxylsäuremethylester

[0244] Phosphoroxchlorid (0,186 ml, 1,44 mmol) wurde bei 0°C tropfenweise zu einer Lösung von Dimethylformamid (0,15 ml, 1,44 mmol) in Dichlormethan (4 ml) zugegeben. Die Mischung wurde auf Raumtemperatur erwärmt und für 30 Minuten gerührt und dann auf 0°C abgekühlt. 4-Methyl-2-Pyrrolcarboxylatmethylester (100 mg, 0,72 mmol) wurde portionsweise zugegeben und die Mischung dann bei 40–50°C für 4 Stunden gerührt. Natriumhydroxyd (10% wässrige Lösung, 2 ml) wurde zugegeben und die Reaktionsmischung für 30 Minuten gerührt. Die basische Lösung wurde dann mit Ethylacetat (3×) extrahiert und die organische Schicht mit Lauge bis pH 6–7 gewaschen, über wasserfreiem Natriumsulfat getrocknet und unter Unterdruck konzentriert, um 115,9 mg (96%) 4-Methyl-5-Formyl-2-Pyrrolcarboxylatmethylester als gelbes Öl zu ergeben.

[0245] Eine Mischung von Oxindol (105 mg, 0,79 mmol), 4-Methyl-5-Formyl-2-Pyrrolcarboxylatmethylester (110 mg, 0,67 mmol) und Piperidin (2 Tropfen) in Ethanol (2 ml) wurde bei 90°C für 3 Stunden gerührt. Das Präzipitat wurde durch Vakuumfiltration gesammelt, mit Ethanol gewaschen und unter Unterdruck getrocknet, um 153,2 mg (81%) 4-Methyl-5-(2-oxo-1,2-Dihydroindol-3-ylidenmethyl)-1H-Pyrrol-2-Carbonsäuremethylester zu ergeben.

¹HNMR (360 MHz, DMSO-d₆): 13.98 (s, br, 1H, NH), 10.97 (s, br, 1H, NH), 7.82 (d, J = 7,6 Hz, 1H), 7.67 (s, 1H, H-Vinyl), 7.2 (dt, J = 1.2, 7.7 Hz, 1H), 7.01 (dt, J = 1.2, 7.7 Hz, 1H), 6.90 (d, J = 7.6 Hz, 1H), 6.77 (d, J = 2 Hz, 1H).

MS (ES) 283 [M + 1] (100%).

B. 4-Methyl-5-(2-oxo-1,2-Dihydroindol-3-ylidenmethyl)-1H-Pyrrol-2-Carbonsäure

[0246] Phosphoroxchlorid (0,66 mL, 7,2 mmol) wurde tropfenweise zu einer eiskalten Lösung von Dimethylformamid (0,6 ml, 7,2 mmol) in Dichlormethan (30 ml) zugegeben. Die Mischung wurde bei Raumtemperatur für 30 Minuten gerührt und dann in einem Eisbad gekühlt. 4-Methyl-2-Pyrrolcarboxylatethylester (919 mg, 6 mmol) wurde langsam zu der Reaktionsmischung zugegeben. Die resultierende Reaktionsmischung wurde dann bei Raumtemperatur für 2,4 Stunden gerührt. Die Mischung wurde dann in einem Eisbad gekühlt und 2 N Natriumhydroxyd zugegeben und die Mischung für 30 Minuten gerührt. Die wässrige Mischung wurde mit Ethylacetat (2×) extrahiert, die organischen Schichten kombiniert und mit Salzlauge gewaschen und dann über wasserfreiem Natriumsulfat getrocknet und bei Unterdruck konzentriert. Der pinkfarbene Feststoff, der erhalten wurde, wurde bei Unterdruck bei Raumtemperatur für 3 Tage getrocknet, um 1,05 g (96%) 4-Methyl-5-Formyl-2-Pyrrolcarboxylatethylester zu ergeben. Das Produkt wurde ohne weitere Reinigung verwendet.

MS (APCI) [M – 1]⁺ 180 (80%), [M – 34]⁺ 146 (100%)

[0247] Eine Mischung von 4-Methyl-5-Formyl-2-Pyrrolcarboxylatethylester (543,57 mg, 3 mmol) in 2 N Natriumhydroxyd (1,2 g in 15 ml Wasser) wurde für ½ Stunde unter Rückfluss erhitzt. Die Reaktionsmischung wurde

dann auf Raumtemperatur abgekühlt und in Eiswasser gegossen. Sie wurde dann mit 2 N Salzsäure auf einen pH von ~3,5 angesäuert und mit Ethylacetat extrahiert (2×). Die organische Schicht wurde mit Salzlauge gewaschen, über wasserfreiem Natriumsulfat getrocknet und bei Unterdruck konzentriert. Der erhaltene Feststoff wurde bei Unterdruck bei 40°C für 2 Stunden getrocknet, um 410 mg (89%) 4-Methyl-5-Formyl-2-Pyrrolcarbonsäure als weißen Feststoff zu ergeben.

[0248] Eine Mischung von Oxindol (133,15 mg, 1 mmol), 4-Methyl-5-Formyl-2-Pyrrolcarbonsäure (153,14 mg, 1 mmol), Piperidin (2 Tropfen) in Ethanol (2 ml) wurde für 3 Stunden unter Rückfluss erhitzt. Das Präzipitat wurde durch Vakuumfiltration gesammelt, mit Ethanol gewaschen, mit 2 N Salzsäure neutralisiert, mit Wasser gewaschen und getrocknet, um 268,5 mg (100%) 4-Methyl-5-(2-Oxo-1,2-Dihydroindol-3-ylidenmethyl)-1H-Pyrrol-2-Carbonsäure als orange/roten Feststoff zu ergeben.

¹NMR (360 MHz, DMSO-d₆): 13.84 (s, br, 1H, NH), 12.84 (s, br, 1H, COOH), 10.98 (s, br, 1H, NH), 7.82 (d, J = 7.5 Hz, 1H), 7.67 (s, 1H, H-Vinyl), 7.18 (t, J = 7.5 Hz, 1H), 7.01 (t, J = 7.5 Hz, 1H), 6.88 (d, J = 7.5 Hz, 1H), 6.71 (d, J = 2.2 Hz, 1H), 2.32 (s, 3H, CH₃).

MS (negativer Modus) 266.8 [M - 1]⁺.

C. 3-(5-Hydroxymethyl-3-methyl-1H-pyrrol-2-ylmethyl)-1,3-dihydroindol-2-on und D. 4-Methyl-5-(2-oxo-1,2-Dihydro-Indol-3-ylidenmethyl)-1H-Pyrrol-2-Carboxaldehyd

[0249] Zu einer Suspension von 4-Methyl-5-(2-oxo-1,2-Dihydroindol-3-ylidenmethyl)-1H-Pyrrol-2-Carbonsäure (4,02 g, 15 mmol) in Tetrahydrofuran (50 ml) wurde bei 0°C langsam Oxalylchlorid (3,80 g, 30 mmol) zugegeben. Nachdem die Zugabe abgeschlossen war, wurde die resultierende Suspension bei Raumtemperatur für 2 Stunden gerührt. Natriumborhydrid (1,14 g, 30 mmol) wurde dann portionsweise zu der Mischung zugegeben und die Suspension weiter bei Raumtemperatur für 1 Tag gerührt. Zu diesem Zeitpunkt wurde eine zweite Portion von 1,14 g Natriumborhydrid zugegeben, gefolgt von 10 ml Dimethylformamid, um die Feststoffe aufzulösen, und die Reaktionsmischung wurde für einen weiteren Tag bei Raumtemperatur gerührt. Eiswasser wurde zu der eiskalten Reaktionsmischung zugegeben, bis kein Gas mehr entwich. Die wässrige Schicht wurde mit Ethylacetat extrahiert. Das Präzipitat, das sich zwischen der organischen und wässrigen Schicht bildete, wurde filtriert, mit Wasser und Ethylacetat gewaschen und getrocknet, um 2,5 g (60%) eines roten Feststoffs zu ergeben. Die organische Schicht wurde mit Salzlauge gewaschen, über wasserfreiem Natriumsulfat getrocknet, konzentriert und auf einer Kieselgelsäule, die mit Ethylacetat-Hexan eluiert wurde, gereinigt, um 340 mg (9%) 3-(5-Hydroxymethyl-3-Methyl-1H-Pyrrol-2-ylmethyl)-1,3-Dihydroindol-2-on als gelben Feststoff und 540 mg (14%) 4-Methyl-5-(2-oxo-1,2-Dihydroindol-3-ylidenmethyl)-1H-Pyrrol-2-Carbaldehyd als einen orangefarbenen Feststoff zu ergeben.

3-(5-Hydroxymethyl-3-Methyl-1H-Pyrrol-2-ylmethyl)-1,3-Dihydroindol-2-on:

¹HNMR (360 MHz, DMSO-d₆): 13.39 (s, br, 1H, NH), 10.69 (s, br, 1H, NH), 7.70 (d, J = 7.6 Hz, 1H), 7.56 (s, 1H, H-Vinyl), 7.09 (t, J = 7.6 Hz, 1H), 6.96 (t, J = 7.6 Hz, 1H), 6.86 (d, J = 7.6 Hz, 1H), 6.06 (d, J = 2.1 Hz, 1H), 5.33 (t, J = 5,6 Hz, 1H, OH), 4.51 (d, J = 5,6 Hz, 2H, CH₂OH), 2.31 (s, 3H, CH₃).

MS 251 [M - 1]⁺ (100%)

Schmelzpunkt > 350°C

4-Methyl-5-(2-oxo-1,2-Dihydroindol-3-ylidenmethyl)-1H-Pyrrol-2-Carbaldehyd:

¹HNMR (360 MHz, DMSO-d₆) δ: 13.87 (s, br, 1H, NH), 11.05 (s, br, 1H, NH), 9.61 (s, 1H, CHO), 7.85 (d, J = 7.5 Hz, 1H), 7.71 (s, 1H, H-Vinyl), 7.23 (t, J = 7.5 Hz, 1H), 7.03 (t, J = 7.5 Hz, 1H), 6.97 (d, J = 2.2 Hz, 1H), 6.9 (d, J = 7.5 Hz, 1H), 2.36 (s, 3H, CH₃).

MS 237.4 [M - OH]⁺ (100%).

Schmelzpunkt 267.3–268.4°C.

Beispiel 2. Messen der Wirkung der Verbindung auf die Funktion von PKs

[0250] Es wird anerkannt werden, dass in jeder gegebenen Reihe von Verbindungen ein Spektrum von biologischen Aktivitäten erhalten wird. In seinen bevorzugten Ausführungsformen bezieht sich diese Erfindung auf neue 3-Heteroarylidenyl-2-Indolinone, die die Fähigkeit zeigen, RTK, CTK und STK Aktivität zu modulieren. Die folgenden Assays werden verwendet, um die Verbindungen auszuwählen, die einen optimalen Grad der gewünschten Aktivität zeigen.

A. Assayverfahren

[0251] In vitro Assays können verwendet werden, um den Grad der Aktivität und die Wirkung der verschiedenen Verbindungen der vorliegenden Erfindung auf eine oder mehrere der PKs zu bestimmen. Ähnliche Assays können dementsprechend für jede PK unter Verwendung von Techniken, die im Stand der Technik gut bekannt sind, entworfen werden.

[0252] Die zellulären/katalytischen Assays, die hierin beschrieben werden, werden in einem ELISA Format durchgeführt. Das allgemeine Vorgehen ist wie folgt: eine Verbindung wird in Zellen, die die Testkinase entweder natürlich oder rekombinant exprimieren, für einen ausgewählten Zeitraum eingebracht, wonach, wenn die Testkinase ein Rezeptor ist, ein Ligand, für den bekannt ist, dass er den Rezeptor aktiviert, zugegeben wird. Die Zellen werden lysiert und das Lysat in die Vertiefungen einer ELISA Platte übertragen, die zuvor mit einem spezifischen Antikörper, der das Substrat der enzymatischen Phosphorylierungsreaktion erkennt, beschichtet worden sind. Nicht-Substratbestandteile des Zellysats werden gewaschen und die Menge an Phosphorylierung des Substrats wird mit einem Antikörper bestimmt, der spezifisch Phosphotyrosin erkennt, und mit Kontrollzellen, die nicht mit einer Testverbindung in Kontakt gebracht wurden, verglichen. Die hierin beschriebenen zellulären biologischen Assays messen die Menge an DNA, die als Antwort auf die Aktivierung einer Testkinase hergestellt wird, was ein allgemeines Maß für eine proliferative Antwort ist. Das generelle Vorgehen für diesen Assay ist wie folgt: eine Verbindung wird für einen ausgewählten Zeitraum in Zellen eingeführt, die die Testkinase entweder natürlich oder rekombinant exprimieren, wonach, wenn die Testkinase ein Rezeptor ist, ein Ligand, für den bekannt ist, dass er den Rezeptor aktiviert, zugegeben wird. Nach der Inkubation mindestens über Nacht wird ein DNA Markierungsreagenz, wie zum Beispiel Bromdesoxyuridin (BrdU) oder 3H-Thymidin zugegeben. Die Menge an markierter DNA wird mit entweder einem anti-BrdU Antikörper oder durch Messen der Radioaktivität bestimmt und wird mit Kontrollzellen, die nicht mit einer Testverbindung in Kontakt gebracht wurden, verglichen.

B. Zelluläre/Katalytische Assays

[0253] Enzym-verbundene Immunosorbentassays (ELISA) können verwendet werden, um das Vorhandensein von PK Aktivität zu bestimmen und zu messen. Der ELISA kann gemäß bekannten Protokollen, die zum Beispiel in Voller, et al., 1980, „Enzyme-Linked Immunosorbent Assay,“ in: Manual of Clinical Immunology, 2-te Ausgabe, editiert von Rose und Friedman, Seiten 359–371 Am. Soc. Of Microbiology, Washington, D. C. beschrieben werden, durchgeführt werden.

[0254] Die offenbarten Protokolle können hinsichtlich der Bestimmung der Aktivität einer spezifischen PK angepasst werden. Das heißt, die bevorzugten Protokolle zum Durchführen der ELISA Experimente für spezifische PKs wird unten bereitgestellt. Die Anpassung dieser Protokolle zur Bestimmung der Aktivität einer Verbindung für andere Mitglieder der RTK Familie, sowie für CTKs und STKs liegt jedoch innerhalb des Umfangs des Wissens des Durchschnittsfachmanns.

Beispiel 3. In Vivo Tiermodelle

A. Tiermodelle mit der Transplantation körperfremden Gewebes

[0255] Die Fähigkeit von menschlichen Tumoren als körperfremde Transplantate in athymischen Mäusen (z. B. Balb/c, nu/nu) zu wachsen, liefert ein nützliches in vivo Modell für das Studium der biologischen Antwort auf Therapien für menschliche Tumore. Seit der ersten erfolgreichen Xenotransplantation von menschlichen Tumoren in athymischen Mäuse (Rygaard und Povlsen, 1969, Acta Pathol. Microbiol. Scand. 77: 758–760), wurden viele verschiedene menschliche Tumorzelllinien (z. B. Brust-, Lungen-, Urogenital-, Gastrointestinal-, Kopf- und Halskrebs, Glioblastom, Knochenkrebs und malignes Melanom) transplantiert und erfolgreich in Nacktmäusen wachsen gelassen. Die folgenden Assays können verwendet werden, um den Grad an Aktivität, Spezifität und die Wirkung der verschiedenen Verbindungen der vorliegenden Erfindung zu bestimmen. Drei allgemeine Arten von Assays sind zur Bewertung der Verbindungen nützlich: zellulär/katalytisch, zellulär/biologisch und in vivo. Das Ziel der zellulären/katalytischen Assays ist es, die Wirkung einer Verbindung auf die Fähigkeit einer TK Tyrosine auf einem bekannten Substrat einer Zelle zu phosphorylieren zu bestimmen. Das Ziel der zellulären biologischen Assays ist es, die Wirkung einer Verbindung auf die biologische Antwort, die durch eine TK in einer Zelle stimuliert wird, zu bestimmen. Das Ziel der in vivo Assays ist es, die Wirkung einer Verbindung auf eine bestimmte Krankheit, wie zum Beispiel Krebs, in einem Tiermodell zu bestimmen.

[0256] Geeignete Zelllinien für subkutane Xenograft-Experimente schließen C6 Zellen (Gliom, ATCC # CCL

107), A375 Zellen (Melanom, ATCC # CRL 1619), A431 Zellen (epidermoides Karzinom, ATCC # CRL 1555), Calu 6 Zellen (Lunge, ATCC # HTB 56), PC3 Zellen (Prostata, ATCC # CRL 1435), SKOV3TP5 Zellen und NIH 3T3 Fibroblasten, die genetisch verändert sind, so dass sie EGFR, PDGFR, IGF-1R oder jede andere Testkinase überexprimieren, ein. Das folgende Protokoll kann verwendet werden, um Xenograft-Experimente durchzuführen:

Weibliche athymische Mäuse (BALB/c, nu/nu) werden von Simonsen Laboratories (Gilroy, CA) erhalten. Alle Tiere werden unter Reinraumbedingungen in Mikro-Isolator Käfigen mit Alpha-dri Streu gehalten. Sie erhalten steriles Nagetierfutter und Wasser ad libitum.

[0257] Zelllinien werden in einem angemessenen Medium wachsen gelassen (zum Beispiel MEM, DMEM, Hams F10 oder Hams F12 plus 5–10% fötalem Kälberserum (FBS) und 2 mM Glutamin (GLN)). Alle Zellkulturmedien, Glutamin und fötales Kälberserum werden, sofern nicht anders spezifiziert, von Gibco Life Technologies (Grand Island, NY) erworben. Alle Zellen werden in einer feuchten Atmosphäre mit 90–95% Luftfeuchtigkeit und 5–10% CO₂ bei 37°C wachsen gelassen. Alle Zellen werden routinemäßig zweimal wöchentlich subkultiviert und sind, wie mittels des Mycotect Verfahrens (Gibco) bestimmt, mycoplasmennegativ.

[0258] Die Zellen werden bei oder nahe der Konfluenz mit 0,05% Trypsin-EDTA geerntet und bei 450 × g für 10 Minuten pelletiert. Die Pellets werden in sterilem PBS oder Medium (ohne FBS) bis zu einer bestimmten Konzentration resuspendiert und die Zellen in die Hinterflanke der Mäuse (8–10 Mäuse pro Gruppe, 2–10 × 10⁶ Zellen/Tier) implantiert. Das Tumorstadium wird über 3 bis 6 Wochen unter Verwendung von Schieblehren gemessen. Tumorstadiumen werden, sofern nicht anders angegeben, als Produkt der Länge × Breite × Höhe berechnet. P Werte werden unter Verwendung des Students t-Tests berechnet. Testverbindungen in 50–100 µl Trägerstoff (DMSO oder VPD:D5W) können durch IP Injektion mit verschiedenen Konzentrationen im Allgemeinen beginnend an Tag eins nach der Implantation zugeführt werden.

B. Tumorinvasionsmodell

[0259] Es wurde das folgende Tumorinvasionsmodell entwickelt, das für die Bewertung des therapeutischen Werts und der Wirksamkeit der identifizierten Verbindungen selektiv den KDR/FLK-1 (VEGFR-2) Rezeptor zu hemmen, verwendet werden kann.

Verfahren

[0260] 8 Wochen alte Nacktmäuse (weiblich) (Simonsen Inc.) werden als Versuchstiere verwendet. Die Implantation von Tumorzellen kann in einem Abzug durchgeführt werden. Für die Anästhesie wird ein Xylazin/Ketamin Cocktail (100 mg/kg Ketamin und 5 mg/kg Xylazin) intraperitoneal verabreicht. Ein Mittellinieneinschnitt wird durchgeführt, um die Bauchhöhle freizulegen (ungefähr 1,5 cm in Länge) und um 10⁷ Tumorzellen in einem Volumen von 100 µl Medium zu injizieren. Die Zellen werden entweder direkt in den duodenalen Lappen der Bauchspeicheldrüse oder unter die Serosa des Darms injiziert. Das Peritoneum und die Muskeln werden mit einer kontinuierlichen Naht mit 6-0 Seide und die Haut durch die Verwendung von Wundclips geschlossen. Die Tiere werden täglich beobachtet.

Analyse

[0261] Nach 2–6 Wochen, abhängig von der oberflächlichen Beobachtung der Tiere, werden die Mäuse getötet, und die lokalen Tumormetastasen in verschiedenen Organen (Lunge, Leber, Gehirn, Magen, Milz, Herz, Muskel) entnommen und analysiert (Messung der Tumorstadiumgröße, Grad der Invasion, Immunchemie, in situ Hybridisierungsbestimmung, etc.).

Beispiel 4. Humane klinische Anwendungsmodelle

[0262] Die folgenden Beispiele stellen nicht beschränkende bevorzugte Ausführungsformen von Verabreichungskuren für spezifische Mittel und Verbindungen, um spezifische Krebsformen gemäß den erfindungsgemäßen Verfahren in menschlichen klinischen Anwendungsmodellen zu behandeln oder zu verhindern, dar. Die Dosierungen und Dosierungskuren der verschiedenen Agenzien können wie notwendig oder gewünscht variiert werden und die Dosierungen und Dosierungskuren der Indolinon-Verbindung, die unten dargestellt ist (d.h. 3-[(2,4-Dimethylpyrrol-5-yl)methylidanyl]-2-Indolinon (Struktur 2)), kann auf die Verabreichung von anderen 3-Heteroarylidenyl-2-Indolinon Verbindungen, die gemäß der vorliegenden Erfindung angewendet werden, angewandt werden. Insbesondere wird 3-[4-(2-Carboxyethyl-3,5-Dimethylpyrrol-2-yl)methylidanyl]-2-Indolinon (Struktur 1) für die Verwendung in den Dosierungen und Dosierungskuren, die unten für 3-[(2,4-Dimethylpyr-

rol-5-yl)methylidenyl]-2-Indolinon (Struktur 2) angegeben sind, in Erwägung gezogen.

A. Verabreichung einer Kombination von Struktur 2, CPT11, 5-FU und Leucovorin für die Behandlung von Darmkrebs

[0263] Patienten mit Darmkrebs können mit 3-[(2,4-Dimethylpyrrol-5-yl)methylidenyl]-2-Indolinon (Struktur 2) zusammen verabreicht mit Irinotecanhydrochlorid (CPT11), Fluoruracil (5-FU) und Leucovorin behandelt werden.

[0264] Die Verabreichung von CPT11 kann über eine kontinuierliche Infusion über 90 Minuten in einer Dosis von 125 mg/m², gefolgt von der Verabreichung von 500 mg/m² 5-FU und 20 mg/m² Leucovorin (entweder als ein IV Bolus oder über kontinuierliche Infusion über 30–90 Minuten) wöchentlich für vier Wochen in einem Zeitraum von sechs Wochen erfolgen.

[0265] Die Verabreichung von 3-[(2,4-Dimethylpyrrol-5-yl)methylidenyl]-2-Indolinon (Struktur 2) kann mit einer Dosis von ungefähr 4,4 bis ungefähr 190 mg/m², und bevorzugt mit Dosen von ungefähr 85 mg/m² bis ungefähr 145 mg/m², zweimal wöchentlich über intravenöse Infusion über 30–60 Minuten, beginnend an Tag 1 jedes Sechs-Wochen Zyklus erfolgen. Wenn 3-[(2,4-Dimethylpyrrol-5-yl)methylidenyl]-2-Indolinon (Struktur 2) an demselben Tag wie CPT11, 5-FU und Leucovorin verabreicht wird, geht die 3-[(2,4-Dimethylpyrrol-5-yl)methylidenyl]-2-Indolinon (Struktur 2) Infusion der der anderen Medikamente voraus.

[0266] Prämedikationen für [(2,4-Dimethylpyrrol-5-yl)methylidenyl]-2-Indolinon (Struktur 2) können 30–60 Minuten vor der Verabreichung von 3-[(2,4-Dimethylpyrrol-5-yl)methylidenyl]-2-Indolinon (Struktur 2) an Patienten verabreicht werden und schließen 25 mg Diphenhydramin, 20 mg Famotidin und 2–10 mg Dexamethason ein.

[0267] Die Bewertung des Fortschritts der Behandlung kann alle 6 Wochen erfolgen (nach 4 Behandlungen mit der Chemotherapie).

B. Verabreichung einer Kombination von Struktur 2, CPT11 und Cisplatin für die Behandlung von festen Tumoren

[0268] Patienten mit festen Tumoren können mit (2,4-Dimethylpyrrol-5-yl)methylidenyl]-2-Indolinon (Struktur 2) zusammen verabreicht mit Irinotecanhydrochlorid (CPT11) und Cisplatin behandelt werden.

[0269] Verabreichung von CPT11 kann über eine kontinuierliche Infusion über 90 Minuten mit einer Dosis von 125 mg/m², gefolgt von einer Verabreichung von ungefähr 100 mg/m² Cisplatin (entweder als ein IV Bolus oder über eine kontinuierliche Infusion über 30–90 Minuten) wöchentlich für vier Wochen in einem Zeitraum von jeweils sechs Wochen erfolgen.

[0270] Die Verabreichung von 3-[(2,4-Dimethylpyrrol-5-yl)methylidenyl]-2-Indolinon (Struktur 2) kann über eine intravenöse Infusion über 30–60 Minuten mit einer Dosis von ungefähr 4,4 bis ungefähr 190 mg/m² und vorzugsweise mit Dosen von ungefähr 85 mg/m² bis ungefähr 145 mg/m² zweimal wöchentlich beginnend an Tag 1 jedes sechswöchigen Zyklus erfolgen. Wenn 3-[(2,4-Dimethylpyrrol-5-yl)methylidenyl]-2-Indolinon (Struktur 2) an demselben Tag wie CPT11 und Cisplatin verabreicht wird, geht die 3-[(2,4-Dimethylpyrrol-5-yl)methylidenyl]-2-Indolinon (Struktur 2) Infusion der der anderen Medikamente voraus.

[0271] Prämedikationen für 3-[(2,4-Dimethylpyrrol-5-yl)methylidenyl]-2-Indolinon (Struktur 2) können 30–60 Minuten vor der Verabreichung von 3-[(2,4-Dimethylpyrrol-5-yl)methylidenyl]-2-Indolinon (Struktur 2) an Patienten verabreicht werden und schließen 25 mg Diphenhydramin, 20 mg Famotidin und 2–10 mg Dexamethason ein.

[0272] Die Bewertung des Fortschritts der Behandlung kann alle 6 Wochen erfolgen (nach 4 Behandlungen mit der Chemotherapie).

C. Verabreichung einer Kombination von Struktur 2 und CPT11 für die Behandlung von Darmkrebs

[0273] Patienten mit Darmkrebs können mit 3-[(2,4-Dimethylpyrrol-5-yl)methylidenyl]-2-Indolinon (Struktur 2) zusammen verabreicht mit Irinotecanhydrochlorid (CPT11) behandelt werden.

[0274] Die Verabreichung von CPT11 kann über eine kontinuierliche Infusion über 90 Minuten mit einer Dosis von 125 mg/m² wöchentlich für vier Wochen in einem Zeitraum von sechs Wochen erfolgen.

[0275] Verabreichung von 3-[(2,4-Dimethylpyrrol-5-yl)methylidenyl]-2-Indolinon (Struktur 2) kann zweimal wöchentlich über eine intravenöse Infusion über 30–60 Minuten beginnend an Tag 1 von jedem sechswöchigen Zyklus mit einer Dosis von ungefähr 4,4 bis ungefähr 190 mg/m² und vorzugsweise mit Dosen von ungefähr 85 mg/m² bis ungefähr 145 mg/m² erfolgen. Wenn 3-[(2,4-Dimethylpyrrol-5-yl)methylidenyl]-2-Indolinon (Struktur 2) an demselben Tag wie CPT11 verabreicht wird, geht die 3-[(2,4-Dimethylpyrrol-5-yl)methylidenyl]-2-Indolinon (Struktur 2) Infusion der der anderen Medikamente voraus.

[0276] Prämedikationen für 3-[(2,4-Dimethylpyrrol-5-yl)methylidenyl]-2-Indolinon (Struktur 2) können 30–60 Minuten vor der Verabreichung von 3-[(2,4-Dimethylpyrrol-5-yl)methylidenyl]-2-Indolinon (Struktur 2) an Patienten verabreicht werden und schließen 25 mg Diphenhydramin, 20 mg Famotidin und 2–10 mg Dexamethason ein.

[0277] Die Bewertung des Fortschritts der Behandlung kann alle 6 Wochen erfolgen (nach 4 Behandlungen mit der Chemotherapie).

[0278] Diese Art der Behandlung ist insbesondere für Patienten mit Darmkrebs nützlich, bei denen die 5-FU Therapie gescheitert ist.

D. Verabreichung einer Kombination von Struktur 2, CPT11 und Cisplatin für die Behandlung von nicht-kleinzelligem Lungenkrebs

[0279] Patienten mit nicht-kleinzelligem Lungenkrebs können mit 3-[(2,4-Dimethylpyrrol-5-yl)methylidenyl]-2-Indolinon (Struktur 2) zusammen verabreicht mit Irinotecanhydrochlorid (CPT11) und Cisplatin behandelt werden.

[0280] Die Verabreichung von CPT11 kann über eine kontinuierliche Infusion über 90 Minuten mit einer Dosis von 125 mg/m², gefolgt von einer Verabreichung von ungefähr 100 mg/m² Cisplatin (entweder als ein IV Bolus oder über eine kontinuierliche Infusion über 30–90 Minuten) wöchentlich für vier Wochen in einem Zeitraum von jeweils sechs Wochen erfolgen.

[0281] Die Verabreichung von 3-[(2,4-Dimethylpyrrol-5-yl)methylidenyl]-2-Indolinon (Struktur 2) kann zweimal wöchentlich über eine intravenöse Infusion über 30–60 Minuten beginnend an Tag 1 jedes sechswöchigen Zyklus mit einer Dosis von ungefähr 4,4 bis ungefähr 190 mg/m² und vorzugsweise mit Dosen von ungefähr 85 mg/m² bis ungefähr 145 mg/m² erfolgen. Wenn 3-[(2,4-Dimethylpyrrol-5-yl)methylidenyl]-2-Indolinon (Struktur 2) an demselben Tag wie CPT11 und Cisplatin verabreicht wird, geht die 3-[(2,4-Dimethylpyrrol-5-yl)methylidenyl]-2-Indolinon (Struktur 2) Infusion der der anderen Medikamente voraus.

[0282] Prämedikationen für 3-[(2,4-Dimethylpyrrol-5-yl)methylidenyl]-2-Indolinon (Struktur 2) können 30–60 Minuten vor der Verabreichung von 3-[(2,4-Dimethylpyrrol-5-yl)methylidenyl]-2-Indolinon (Struktur 2) an Patienten verabreicht werden und schließen 25 mg Diphenhydramin, 20 mg Famotidin und 2–10 mg Dexamethason ein.

[0283] Die Bewertung des Fortschritts der Behandlung kann alle 6 Wochen erfolgen (nach 4 Behandlungen mit der Chemotherapie).

E. Verabreichung einer Kombination von Struktur 2, Carboplatin und Paclitaxel für die Behandlung von nicht-kleinzelligem Lungenkrebs

[0284] Patienten mit nicht-kleinzelligem Lungenkrebs können mit 3-[(2,4-Dimethylpyrrol-5-yl)methylidenyl]-2-Indolinon (Struktur 2) zusammen verabreicht mit Carboplatin und Paclitaxel behandelt werden.

[0285] Die Verabreichung von CPT11 kann über eine kontinuierliche Infusion über 90 Minuten mit einer Dosis von 125 mg/m², gefolgt von der Verabreichung von Paclitaxel und Carboplatin wie folgt erfolgen: Paclitaxel mit einer Dosis von 225 mg/m² alle drei Wochen als eine dreistündige Infusion gefolgt von Carboplatin über die Calvert Formel dosiert auf eine AUC von 6 mg/min/ml alle drei Wochen (über eine 15 Minuten Infusion).

[0286] Die Verabreichung von 3-[(2,4-Dimethylpyrrol-5-yl)methylidenyl]-2-Indolinon (Struktur 2) kann zweimal

wöchentlich über eine intravenöse Infusion über 30–60 Minuten beginnend an Tag 1 jedes sechswöchigen Zyklus mit einer Dosis von ungefähr 4,4 bis ungefähr 190 mg/m² und vorzugsweise mit Dosen von ungefähr 85 mg/m² bis ungefähr 145 mg/m² erfolgen. Wenn 3-[(2,4-Dimethylpyrrol-5-yl)methylidenyl]-2-Indolinon (Struktur 2) an demselben Tag wie CPT11, Carboplatin und Paclitaxel verabreicht wird, geht die 3-[(2,4-Dimethylpyrrol-5-yl)methylidenyl]-2-Indolinon (Struktur 2) Infusion der der anderen Medikamente voraus.

[0287] Prämedikationen für 3-[(2,4-Dimethylpyrrol-5-yl)methylidenyl]-2-Indolinon (Struktur 2) können 30–60 Minuten vor der Verabreichung von 3-[(2,4-Dimethylpyrrol-5-yl)methylidenyl]-2-Indolinon (Struktur 2) an Patienten verabreicht werden und schließen 25 mg Diphenhydramin, 20 mg Famotidin und 2–10 mg Dexamethason ein.

[0288] Die Bewertung des Fortschritts der Behandlung kann alle 9 Wochen erfolgen (nach 3 Behandlungen mit der Chemotherapie).

F. Verabreichung einer Kombination von Struktur 2, Cisplatin und Gemcitabin für die Behandlung von festen Tumorkrebsarten

[0289] Patienten mit festen Tumorkrebsformen können mit 3-[(2,4-Dimethylpyrrol-5-yl)methylidenyl]-2-Indolinon (Struktur 2) zusammen verabreicht mit Cisplatin und Gemcitabin behandelt werden.

[0290] Die Verabreichung von Cisplatin und Gemcitabin kann einmal wöchentlich wie folgt erfolgen: Cisplatin mit einer Dosis von ungefähr 100 mg/m², gefolgt von Gemcitabin mit einer Dosis von ungefähr 1000 mg/m².

[0291] Die Verabreichung von 3-[(2,4-Dimethylpyrrol-5-yl)methylidenyl]-2-Indolinon (Struktur 2) kann zweimal wöchentlich über eine intravenöse Infusion über 30–60 Minuten beginnend an Tag 1 jedes sechswöchigen Zyklus mit einer Dosis von ungefähr 4,4 bis ungefähr 190 mg/m² und vorzugsweise mit Dosen von ungefähr 85 mg/m² bis ungefähr 145 mg/m² erfolgen. Wenn 3-[(2,4-Dimethylpyrrol-5-yl)methylidenyl]-2-Indolinon (Struktur 2) an demselben Tag wie Cisplatin und Gemcitabin verabreicht wird, geht die 3-[(2,4-Dimethylpyrrol-5-yl)methylidenyl]-2-Indolinon (Struktur 2) Infusion der der anderen Medikamente voraus.

[0292] Prämedikationen für 3-[(2,4-Dimethylpyrrol-5-yl)methylidenyl]-2-Indolinon (Struktur 2) können 30–60 Minuten vor der Verabreichung von 3-[(2,4-Dimethylpyrrol-5-yl)methylidenyl]-2-Indolinon (Struktur 2) an Patienten verabreicht werden und schließen 25 mg Diphenhydramin, 20 mg Famotidin und 2–10 mg Dexamethason ein.

[0293] Die Bewertung des Fortschritts der Behandlung kann alle 6 Wochen erfolgen (nach 6 Behandlungen mit der Chemotherapie).

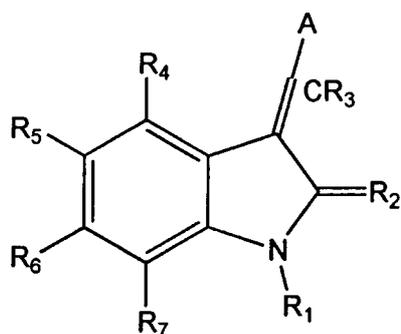
SCHLUSSFOLGERUNG

[0294] Es wird somit anerkannt werden, dass für 3-Heteroarylidenyl-2-Indolinone erwartet werden kann, dass sie einen günstigen Effekt auf die chemotherapeutische Wirksamkeit von verschiedenen Chemotherapeutika und Topoisomerase I Inhibitoren, insbesondere Irinotecan (CPT11) und/oder fluoridierte Pyrimidin Verbindungen, haben. Ferner wird erwartet, dass 3-[(2,4-Dimethylpyrrol-5-yl)methylidenyl]-2-Indolinon zusammen mit CPT11 oder Fluoruracil/Leucovorin eine wirksame chemotherapeutische Kombination für die Behandlung von Darmkrebs ist.

[0295] Es wird ebenfalls anerkannt werden, dass für die Verbindungen, Verfahren und pharmakologischen Zusammensetzungen der vorliegenden Erfindung erwartet werden kann, dass sie die RTK und CTK Aktivität modulieren und daher als therapeutische Mittel gegen mit RTKs und CTKs in Verbindung stehende Erkrankungen wirksam sind.

Patentansprüche

1. Verwendung von: (a) therapeutisch wirksamen Mengen von mindestens zwei Mitteln ausgewählt aus der Gruppe bestehend aus Topoisomerase I Inhibitoren, Chemotherapeutika, Leucovorin und Kombinationen davon, unter der Bedingung, dass das Chemotherapeutikum nicht Paclitaxel ist; und (b) eine therapeutisch wirksame Menge einer Verbindung, die die chemische Struktur:



umfasst,

wobei:

R_1 H oder Alkyl ist;

R_2 O oder S ist;

R_3 Wasserstoff ist;

R_4 , R_5 , R_6 und R_7 jeweils unabhängig ausgewählt werden aus der Gruppe bestehend aus Wasserstoff, Alkyl, Alkoxy, Aryl, Aryloxy, Alkaryl, Alkaryloxy, Halogen, Trihalomethyl, S(O)R, SO₂NRR', SO₃R, SR, NO₂, NRR', OH, CN, C(O)R, OC(O)R, (CH₂)_nCO₂R und CONRR';

A ein fünfgliedriger Heteroarylring ist, der ausgewählt wird aus der Gruppe bestehend aus Thiophen, Pyrrol, Pyrazol, Imidazol, 1,2,3-Triazol, 1,2,4-Triazol, Oxazol, Isoxazol, Thiazol, Isothiazol, 2-Sulfonylfuran, 4-Alkylfuran, 1,2,3-Oxadiazol, 1,2,4-Oxadiazol, 1,2,5-Oxadiazol, 1,3,4-Oxadiazol, 1,2,3,4-Oxatriazol, 1,2,3,5-Oxatriazol, 1,2,3-Thiadiazol, 1,2,4-Thiadiazol, 1,2,5-Thiadiazol, 1,3,4-Thiadiazol, 1,2,3,4-Thiatriazol, 1,2,3,5-Thiatriazol und Tetrazol, gegebenenfalls an einer oder mehreren Positionen substituiert mit Alkyl, Alkoxy, Aryl, Aryloxy, Alkaryl, Alkaryloxy, Halogen, Trihalomethyl, S(O)R, SO₂NRR', SO₃R, SR, NO₂, NRR', OH, CN, C(O)R, OC(O)R, (CH₂)_nCO₂R, oder CONRR';

n 0–3 ist; und

R und R' unabhängig aus der Gruppe bestehend aus H, Alkyl oder Aryl ausgewählt werden;

oder ein physiologisch annehmbares Salz oder eine Vorstufe davon, für die Herstellung eines Medikaments zur Behandlung von Krebs.

2. Die Verwendung gemäß Anspruch 1, wobei besagte Verbindung ausgewählt wird aus der Gruppe bestehend aus 5-Hydroxy-3-[2,4-Dimethylpyrrol-5-yl)methylidenyl]-2-Indolinon, 4-Methyl-5-(2-oxo-1,2-Dihydroindol-3-ylidenmethyl)-1H-Pyrrol-2-Carbonsäure, 4-Methyl-5-(2-oxo-1,2-Dihydroindol-3-ylidenmethyl)-1H-Pyrrol-2-Carbonsäuremethylester, 3-(5-Hydroxymethyl-3-Methyl-1H-Pyrrol-2-ylmethylen)-1,2-Dihydroindol-2-on und 4-Methyl-5-(2-oxo-1,2-Dihydroindol-3-ylidenmethyl)-1H-Pyrrol-2-Carbaldehyd und physiologisch annehmbaren Salzen oder Vorstufen davon.

3. Die Verwendung gemäß Anspruch 1, wobei besagte Verbindung 3-[4-(2-Carboxyethyl-3,5-Dimethylpyrrol-2-yl)methylidenyl]-2-Indolinon, oder 3-[(2,4-Dimethylpyrrol-5-yl)methylidenyl]-2-Indolinon ist.

4. Die Verwendung gemäß Anspruch 1, wobei besagtes Mittel einen Topoisomerase I Inhibitor umfasst.

5. Die Verwendung gemäß Anspruch 4, wobei besagter Topoisomerase I Inhibitor Irinotecan ist.

6. Die Verwendung gemäß Anspruch 5, wobei besagtes Irinotecan oral oder parenteral verabreicht wird.

7. Die Verwendung gemäß Anspruch 1, wobei besagtes Mittel ein Chemotherapeutikum ausgewählt aus der Gruppe bestehend aus Capecitabin, fluorierten Pyrimidin Chemotherapeutika, Carboplatin, Cisplatin, Oxaliplatin, Docetaxel, polyglutamierten Taxanen, Thalidomid, Tamoxifen, Leuprolid, Angiostatinen, Endostatinen, Matrix-Metalloprotease Inhibitoren, Interferonen, Doxorubicin, liposomalem Doxorubicin, Daunorubicin, Metoxantron, Estramucin, einem Vinca Alkaloid, Gemcitabin, 2-Methoxyestradiol und Kombinationen davon ausgewählt wird.

8. Die Verwendung gemäß Anspruch 7, wobei besagtes Chemotherapeutikum ausgewählt wird aus der Gruppe bestehend aus Cisplatin, einer Kombination aus Carboplatin und einem fluorierten Pyrimidin-Chemotherapeutikum und einer Kombination aus Cisplatin und Gemcitabin.

9. Die Verwendung gemäß Anspruch 8, wobei besagtes fluoriertes Pyrimidin-Chemotherapeutikum aus der Gruppe bestehend aus Carmofur, Doxifluridin, Fluoruracil, Floxuridin, Tegafur, Capecitabin und Uracil-Fto-

rafur ausgewählt wird.

10. Die Verwendung gemäß Anspruch 8, wobei besagtes fluoriertes Pyrimidin-Chemotherapeutikum Fluoruracil ist.

11. Die Verwendung gemäß Anspruch 1, wobei besagter Krebs ein solider Tumor ist.

12. Die Verwendung gemäß Anspruch 1, wobei besagter Krebs ausgewählt wird aus der Gruppe bestehend aus Brustkrebs, Magenkrebs, Eierstockkrebs, Nierenkrebs, Leberkrebs, Bauchspeicheldrüsenkrebs, Blasenkrebs, Prostatakrebs, Darmkrebs und nicht-kleinzelligem Lungenkrebs.

13. Die Verwendung gemäß Anspruch 1, wobei besagter Krebs ein Darmkrebs ist, wobei besagte Mittel einen Topoisomerase I Inhibitor, ein Chemotherapeutikum und Leucovorin umfassen, und wobei besagte Verbindung 3-[(2,4-Dimethylpyrrol-5-yl)methylidenyl]-2-Indolinon ist.

14. Die Verwendung gemäß Anspruch 13, wobei besagter Topoisomerase I Inhibitor Irinotecan und besagtes Chemotherapeutikum Fluoruracil ist.

15. Die Verwendung gemäß Anspruch 14, wobei die therapeutisch wirksame Menge von besagter Verbindung im Bereich von ungefähr 4 mg/m² bis ungefähr 195 mg/m² pro Behandlung liegt.

16. Die Verwendung gemäß Anspruch 15, wobei die therapeutisch wirksame Menge von Irinotecan im Bereich von ungefähr 75 mg/m² bis ungefähr 400 mg/m² pro Behandlung liegt, die therapeutisch wirksame Menge von Fluoruracil im Bereich von ungefähr 375 mg/m² bis ungefähr 600 mg/m² pro Behandlung liegt und die therapeutisch wirksame Menge von Leucovorin im Bereich von ungefähr 20 mg/m² bis ungefähr 200 mg/m² pro Behandlung liegt.

17. Die Verwendung gemäß Anspruch 1, wobei besagter Krebs ein solider Tumor ist, besagtes Mittel einen Topoisomerase I Inhibitor und ein Chemotherapeutikum umfasst, und besagte Verbindung 3-[(2,4-Dimethylpyrrol-5-yl)methylidenyl]-2-Indolinon ist.

18. Die Verwendung gemäß Anspruch 17, wobei besagter Topoisomerase I Inhibitor Irinotecan ist.

19. Die Verwendung gemäß Anspruch 18, wobei besagtes Chemotherapeutikum Cisplatin ist.

20. Die Verwendung gemäß Anspruch 19, wobei die therapeutisch wirksame Menge von besagter Verbindung im Bereich von ungefähr 4 mg/m² bis ungefähr 195 mg/m² pro Behandlung liegt.

21. Die Verwendung gemäß Anspruch 20, wobei die therapeutisch wirksame Menge von Irinotecan im Bereich von ungefähr 75 mg/m² bis ungefähr 400 mg/m² pro Behandlung liegt und die therapeutisch wirksame Menge von Cisplatin im Bereich von ungefähr 40 mg/m² bis ungefähr 175 mg/m² pro Behandlung liegt.

22. Die Verwendung gemäß Anspruch 1, wobei besagter Krebs ein solider Tumor ist, besagtes Mittel einen Topoisomerase I Inhibitor umfasst und besagte Verbindung 3-[(2,4-Dimethylpyrrol-5-yl)methylidenyl]-2-Indolinon ist.

23. Die Verwendung gemäß Anspruch 1, wobei besagter Krebs ein Darmkrebs ist, besagtes Mittel einen Topoisomerase I Inhibitor umfasst und besagte Verbindung 3-[(2,4-Dimethylpyrrol-5-yl)methylidenyl]-2-Indolinon ist.

24. Die Verwendung gemäß Anspruch 23, wobei besagter Topoisomerase I Inhibitor Irinotecan ist.

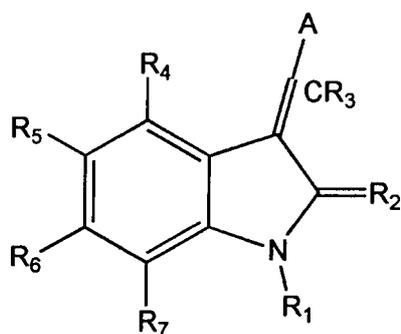
25. Die Verwendung gemäß Anspruch 24, wobei die therapeutisch wirksame Menge von besagter Verbindung im Bereich von ungefähr 4 mg/m² bis ungefähr 195 mg/m² pro Behandlung liegt.

26. Die Verwendung gemäß Anspruch 25, wobei die therapeutisch wirksame Menge von Irinotecan im Bereich von ungefähr 75 mg/m² bis ungefähr 400 mg/m² pro Behandlung liegt.

27. Die Verwendung gemäß Anspruch 1, wobei besagter Krebs ein nicht-kleinzelliger Lungenkrebs ist, besagtes Mittel einen Topoisomerase I Inhibitor umfasst und besagte Verbindung 3-[(2,4-Dimethylpyrrol-5-yl)me-

thylidenyl]-2-Indolinon ist.

28. Die Verwendung gemäß Anspruch 27, wobei besagtes Mittel ferner ein Chemotherapeutikum umfasst.
29. Die Verwendung gemäß Anspruch 28, wobei besagter Topoisomerase I Inhibitor Irinotecan ist.
30. Die Verwendung gemäß Anspruch 29, wobei besagtes Chemotherapeutikum Cisplatin ist.
31. Die Verwendung gemäß Anspruch 30, wobei die therapeutisch wirksame Menge von besagter Verbindung im Bereich von ungefähr 4 mg/m² bis ungefähr 195 mg/m² pro Behandlung liegt.
32. Die Verwendung gemäß Anspruch 31, wobei die therapeutisch wirksame Menge von Irinotecan im Bereich von ungefähr 75 mg/m² bis ungefähr 400 mg/m² pro Behandlung liegt und die therapeutisch wirksame Menge von Cisplatin im Bereich von ungefähr 40 mg/m² bis ungefähr 175 mg/m² pro Behandlung liegt.
33. Die Verwendung gemäß einem der Ansprüche 16, 21, 26 oder 32, wobei die therapeutisch wirksame Menge von Irinotecan im Bereich von ungefähr 75 mg/m² bis ungefähr 150 mg/m² pro Behandlung liegt und wobei die Behandlung mit Irinotecan einmal wöchentlich erfolgt, oder wobei die therapeutisch wirksame Menge von Irinotecan im Bereich von ungefähr 250 mg/m² bis ungefähr 400 mg/m² pro Behandlung liegt und wobei die Behandlung mit Irinotecan einmal alle drei Wochen erfolgt.
34. Die Verwendung gemäß Anspruch 21 oder 32, wobei die therapeutisch wirksame Menge von Cisplatin im Bereich von ungefähr 40 mg/m² bis ungefähr 110 mg/m² pro Behandlung liegt und wobei die Behandlung mit Cisplatin einmal wöchentlich erfolgt, oder wobei die therapeutisch wirksame Menge von Cisplatin im Bereich von ungefähr 75 mg/m² bis ungefähr 175 mg/m² pro Behandlung liegt und wobei die Behandlung mit Cisplatin einmal alle drei Wochen erfolgt.
35. Die Verwendung gemäß einem der Ansprüche 14, 19, 24 oder 30, wobei besagtes Irinotecan oral oder parenteral verabreicht wird.
36. Die Verwendung gemäß Anspruch 1, wobei besagter Krebs ein nicht-kleinzelliger Lungenkrebs ist, besagtes Mittel ein Chemotherapeutikum umfasst, und besagte Verbindung 3-[(2,4-Dimethylpyrrol-5-yl)methylidenyl]-2-Indolinon ist.
37. Die Verwendung gemäß Anspruch 1, wobei besagter Krebs ein solider Tumor ist, besagtes Mittel eine therapeutisch wirksame Menge eines Chemotherapeutikums umfasst und besagte Verbindung 3-[(2,4-Dimethylpyrrol-5-yl)methylidenyl]-2-Indolinon ist.
38. Die Verwendung gemäß Anspruch 37, wobei besagter solider Tumor Bauchspeicheldrüsenkrebs oder ein nicht-kleinzelliger Lungenkrebs ist.
39. Die Verwendung gemäß Anspruch 38, wobei besagtes Chemotherapeutikum eine Kombination von Cisplatin und Gemcitabin umfasst.
40. Die Verwendung gemäß Anspruch 39, wobei die therapeutisch wirksame Menge von besagter Verbindung im Bereich von ungefähr 4 mg/m² bis ungefähr 195 mg/m² pro Behandlung liegt.
41. Die Verwendung gemäß Anspruch 40, wobei die therapeutisch wirksame Menge von Cisplatin im Bereich von ungefähr 40 mg/m² bis ungefähr 175 mg/m² pro Behandlung liegt und die therapeutisch wirksame Menge von Gemcitabin im Bereich von ungefähr 750 mg/m² bis ungefähr 1250 mg/m² pro Behandlung liegt.
42. Die Verwendung gemäß einem der Ansprüche 13, 19, 24 oder 39, wobei die Verabreichung als kontinuierliche Infusion oder als IV Bolus durchgeführt wird.
43. Eine Kombination für die Behandlung von Krebs umfassend: (a) therapeutisch wirksame Menge(n) von mindestens zwei Mitteln ausgewählt aus der Gruppe bestehend aus Topoisomerase I Inhibitoren, Chemotherapeutika, Leucovorin und Kombinationen davon, mit der Bedingung, dass das Chemotherapeutika nicht Pacitaxel ist; und (b) eine therapeutisch wirksame Menge einer Verbindung, die die chemische Struktur:



besitzt,

wobei:

R_1 H oder Alkyl ist;

R_2 O oder S ist;

R_3 Wasserstoff ist;

R_4 , R_5 , R_6 und R_7 jeweils unabhängig ausgewählt werden aus der Gruppe bestehend aus Wasserstoff, Alkyl, Alkoxy, Aryl, Aryloxy, Alkaryl, Alkaryloxy, Halogen, Trihalomethyl, $S(O)R$, SO_2NRR' , SO_3R , SR, NO_2 , NRR' , OH, CN, $C(O)R$, $OC(O)R$, $(CH_2)_nCO_2R$, und $CONRR'$;

A ein fünfgliedriger Heteroaryling ist ausgewählt aus der Gruppe bestehend aus Thiophen, Pyrrol, Pyrazol, Imidazol, 1,2,3-Triazol, 1,2,4-Triazol, Oxazol, Isoxazol, Thiazol, Isothiazol, 2-Sulfonylfuran, 4-Alkylfuran, 1,2,3-Oxadiazol, 1,2,4-Oxadiazol, 1,2,5-Oxadiazol, 1,3,4-Oxadiazol, 1,2,3,4-Oxatriazol, 1,2,3,5-Oxatriazol, 1,2,3-Thiadiazol, 1,2,4-Thiadiazol, 1,2,5-Thiadiazol, 1,3,4-Thiadiazol, 1,2,3,4-Thiatriazol, 1,2,3,5-Thiatriazol und Tetrazol, gegebenenfalls an einer oder mehreren Positionen substituiert mit Alkyl, Alkoxy, Aryl, Aryloxy, Alkaryl, Alkaryloxy, Halogen, Trihalomethyl, $S(O)R$, SO_2NRR' , SO_3R , SR, NO_2 , NRR' , OH, CN, $C(O)R$, $OC(O)R$, $(CH_2)_nCO_2R$, oder $CONRR'$;

n 0–3 ist; und

R und R' unabhängig ausgewählt werden aus der Gruppe bestehend aus H, Alkyl oder Aryl;

oder ein physiologisch annehmbares Salz oder eine Vorstufe davon.

44. Verwendung einer Kombination gemäß Anspruch 43 für die Herstellung eines Medikamentes für die Behandlung oder das Vorbeugung von einer Erkrankung, die mit einer Proteinkinase in Verbindung steht, in einem Patienten, wobei die Verwendung die Verabreichung einer therapeutisch wirksamen Menge besagter Kombination an besagten Patienten umfasst.

45. Die Verwendung gemäß Anspruch 44, wobei besagte Erkrankung, die mit einer Proteinkinase in Verbindung steht, ausgewählt wird aus der Gruppe bestehend aus einer Erkrankung, die mit einer Rezeptor-Proteintyrosinkinase in Verbindung steht, einer Erkrankung, die mit einer zellulären Tyrosinkinase in Verbindung steht, und einer Erkrankung, die mit einer Serin-Threoninkinase in Verbindung steht, oder wobei besagte Erkrankung, die mit einer Proteinkinase in Verbindung steht, ein Krebs ist, ausgewählt aus der Gruppe bestehend aus Plattenepithelkarzinom, Astrocytom, Glioblastom, Lungenkrebs, Blasenkrebs, Kopf- und Halskrebs, Melanom, Eierstockkrebs, Prostatakrebs, Brustkrebs, kleinzelliger Lungenkrebs, Darmkrebs, nicht-kleinzelliger Lungenkrebs und Gliom, oder wobei besagte Erkrankung, die mit einer Proteinkinase in Verbindung steht, ausgewählt wird aus der Gruppe bestehend aus Diabetes, einer Autoimmunerkrankung, einer Hyperproliferationserkrankung, Restenose, Fibrose, Psoriasis, Osteoarthritis, rheumatoider Arthritis, einer entzündlichen Erkrankung und Angiogenese.

46. Die Verwendung einer Kombination gemäß Anspruch 43 für die Herstellung eines Medikamentes für die Behandlung von Krebs, die das Verabreichen einer therapeutisch wirksamen Menge von besagter Kombination an einen Patienten, der diese benötigt, umfasst.

47. Die Verwendung gemäß Anspruch 46, wobei besagter Krebs Bauchspeicheldrüsenkrebs ist.

48. Die Verwendung gemäß Anspruch 43, wobei besagtes Mittel ein Chemotherapeutikum umfasst, das ausgewählt wird aus der Gruppe bestehend aus Carboplatin, liposomalem Doxorubicin, Topotecan und Kombinationen davon.

49. Die Verwendung gemäß Anspruch 48, wobei besagter Krebs ausgewählt wird aus der Gruppe bestehend aus Eierstock-, kleinzelligem Lungen- und Nierenkrebs.

50. Eine pharmazeutische Zusammensetzung, die eine Kombination gemäß Anspruch 43 und einen pharmazeutisch annehmbaren Träger oder Hilfsstoff umfasst.

Es folgt kein Blatt Zeichnungen