

ÖZET

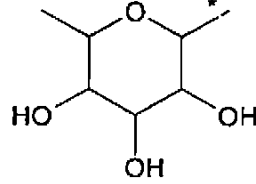
YAŞLANMA İZLEYİCİLERİ

- 5 Mevcut buluş, hücre yaşlanmasını görselleştirmek için faydalı yeni bileşikler ve bu bileşiklerin hazırlanması ve kullanımına ilişkindir. Özellikle, bu buluş yaşlanma izlerinde ve bunların hazırlanmasında yararlı olan yeni fukoz ve aminokinolin türevleri ile ilgilidir.

İSTEMLER

1. A-L-M (I) formül bileşiği, bunların tuzları, solvatları ve tuzların solvatları olup, özelliği;

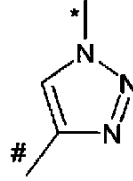
5 A'nın,



burada;

* ifadesinin L ile temsil edilen tortuya bağlanma bölgesini temsil etmesi,

10 L'nin, *Y-(CH₂)_n-# 'yi temsil etmesi veya



Y ifadesinin O, N, S, SO ve SO₂'den oluşan gruptan seçilmesi, n'nin, 2 ila 6 arasında bir tam sayı olması,

15 * ifadesinin A ile temsil edilen tortuya bağlanma bölgesini temsil etmesi, ve

ifadesinin M ile temsil edilen tortuya bağlanma bölgesini temsil etmesi ve M'in en az ¹⁸F içeren bir tortuyu temsil etmesidir.

20 2. İstem 1'e göre bir bileşik olup, özelliği n'nin 2, 3 veya 4 olması ile **karakterize edilmesidir.**

3. İstem 1 veya 2'ye göre bir bileşik içeren ilaç olup, özelliği; en az bir inert, toksik olmayan, farmasötik olarak uygun eksipiyan ile kombinasyon halinde olmasıdır.

25

4. İstem 1 veya 2'ye göre bir bileşik olup, özelliği; hücre yaşlanmasının in vitro olarak saptanması için kullanılmasıdır.

5. İstem 1 veya 2'ye göre bir bileşik olup, özelliği; kanser tedavisinin etkinliğini in vitro olarak belirlemek için kullanılmasıdır.

5

6. Hücre yaşlanmasını saptama yöntemi olup, özelliği; hücrelerin İstem 1 veya 2'ye göre in vitro olarak bir bileşik ile temas ettirilmesini içermesidir.

10 7. Kanser tedavisinin etkinliğini belirleme yöntemi olup, özelliği; hücrelerin İstem 1 veya 2'ye göre in vitro olarak bir bileşik ile temas ettirilmesini içermesidir.

TARİFNAME

YAŞLANMA İZLEYİCİLERİ

5 Bu buluş, hücre yaşlanmasını görselleştirmek için faydalı yeni bileşikler ve bu bileşiklerin kullanımına ilişkindir. Özellikle, bu buluş yaşlanma izleri olarak faydalı yeni fukoz türevleri ile ilgilidir.

Hücre yaşlanması, genel olarak hücresel proliferasyonun 10 durdurulduğu ve hücrelerin hücre döngüsünün durduğu genel biyolojik program olarak tanımlanmaktadır. Bu nedenle yaşlanmaya hücresel metabolizmada belirgin değişiklikler eşlik etmektedir.

Son yıllarda yaşlanmanın kanser tedavisi ve tedavi direncinde 15 önemli bir rol oynadığı ve kanser evrelemesi ve prognozu hakkında bir fikir verdiği kabul edilmektedir. Tedaviyle ilişkili yaşlanma, kemoterapötik başarısının bir ölçüsü olabilir ve yaşlanan hücrelerin tespiti, ayrıca, preneoplastik lezyonların saptanması için teşhis olanakları sunabilir.

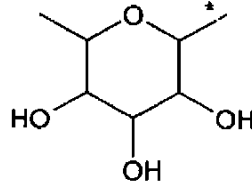
20 Yaşlanmış hücre için en yaygın kullanılan markırlardan biri yaşlanma ile ilişkili (SA) -e-galaktosidazdır (β -gal). Birkaç β -gal substrat geliştirilmiştir ve şu anda ex-vivo ve in-vitro olarak β -gal ekspresyonu göstermek için kullanılmaktadır. Chen ve Chang (1987), Biyokimyasal ve Biyofiziksel Araştırma 25 İletişimleri, Cilt. 142, No. 3, s. 767-774'te yaşlanan fibroblastlarda fukozilasyonda bir artış olduğunu ve in vitro olarak radyoaktif izotop 3H 'nin kullanılmasına bağlı olduğunu açıklamaktadır. Ancak, hücre yaşlanması için izleyici olarak işlev görebilecek gelişmiş bileşiklere hala ihtiyaç 30 duyulmaktadır, özellikle bu izleyicilerin, bu izleyicilerin görselleştirilmesi için invazif olmayan yöntemler kullanılarak in vivo teşhis bileşikleri olarak kullanılabilmesi yararlı olacaktır.

Son zamanlarda, a-fukosidaz (α -fuc) ekspresyonunun, hücre 35 yaşlanmasının daha spesifik bir göstergesi olduğu ortaya

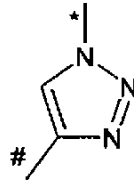
çıkıştır. Ayrıca, β -gal ve α -fuc gibi glikosidazların lizozomlarda eksprese edildiği ve bu lizozomların sıklıkla yaşlanan hücrelerde belirgin şekilde genişlediği bilinmektedir.

5 Mevcut buluş sahipleri, flüoresan etiketler veya radyo etiketler taşıyan bazı fukoz türevlerinin yaşlanma hücrelerinde biriktiğini ve yaşlanan hücrelerin hem in vitro hem de in vivo olarak güvenilir bir şekilde işaretlenmesi ve saptanması için kullanılabileceğini bulmuşlardır. Mevcut buluş
10 formül bileşikleri ile ilgili olup,

burada,
A'nın,



15 burada;
X'in bir halo-ikame edici olduğu, ve
*'ın L ile temsil edilen tortuya bağlanma bölgesini temsil ettiği A-L-M (I) formülüne sahip bileşiklerle ilgilidir.
L, *Y-(CH₂)_n-# 'yi veya



20 burada;
Y ifadesinin O, N, S, SO and SO₂'den oluşan gruptan seçildiği,

n'nin 2 ila 6 arasından seçilen bir tam sayı olduğu,

25 * ifadesinin, A ile temsil edilen tortuya bağlanma bölgesini temsil ettiği ve # ifadesinin, M ile temsil edilen tortuya bağlanma bölgesini temsil ettiği; ve
M'nin, ¹⁸F'yi temsil ettiği,

bunların solvatları ve solvatların tuzlarını temsil etmektedir.

Buluşun bileşikleri (I), (Ia), (Ib), (Ic) ve (Id) formüllerinin bileşikleri ve bunların tuzları, solvatları ve tuzlarının solvatları ve aynı zamanda bileşikleri formülle kapsanan bileşiklerdir, (I), (Ia), (Ib), (Ic) ve (Id) ve bundan sonra örnek yapılanma (lar) olarak anılacaktır, ve bunların tuzları, solvatları ve tuzlarının solvatları, formül ile kapsanan bileşikler olduğundan dolayı (I), (Ia), (Ib), (Ic) ve (Id) ve bundan sonra bahsedilecek bileşikler hali hazırda tuzlar, solvatlar ve tuzların solvatları değildir.

Buluşun bileşikleri, yapılarına bağlı olarak, stereoizomerik formlarda (enantiyomerler, diastereomerler) bulunabilir. Dolayısıyla buluş, enantiyomerleri veya diastereomerleri ve bunların karışımlarını da kapsar. Stereoizomerik olarak homojen bileşenler, bu tür enantiyomerlerin ve/veya diastereomerlerin karışımlarından bilinen bir şekilde izole edilebilir.

Bu fukosidil tortusu doğal L konfigürasyonunda ise, A'nın bir fukosidil tortusu olduğu buluşun bileşimlerinde tercih edilebilir.

Buluşun bileşikleri totomerik formlarda ortaya çıkabilirse, mevcut buluş tüm totomerik formları kapsar.

Mevcut buluşun amaçları için tercih edilen tuzlar, buluşa ait bileşiklerin fizyolojik olarak kabul edilebilir tuzlarıdır. Bununla birlikte, farmasötik uygulamalar için uygun olmayan ancak örneğin buluşa ait bileşiklerin izolasyonu veya saflaştırılması için kullanılabilen tuzlar da dahildir.

Formül (I) bileşiklerinin farmasötik olarak kabul edilebilir tuzlarının örnekleri arasında, amonyum tuzları, alkali metal tuzları, özellikle sodyum ya da potasyum tuzları, alkalik toprak metal tuzları, özellikle magnezyum ya da kalsiyum tuzları gibi inorganik bazların tuzları; organik bazların tuzları, özellikle de sikloheksilamin, benzilamin, oktilamin, etanolamin, dietanolamin, dietilamin, trietilamin,

etilendiamin, prokain, morfolin, pirolin, piperidin, N-etilpiperidin, N-metilmorfolin, piperazin gibi organik bazlar veya bazik amino asitler, özellikle lizin, arginin, ornitin ve histidin içeren tuzlar vardır.

5 Formül (I) bileşiklerinin farmasötik olarak kabul edilebilir tuzlarının örnekleri ayrıca hidrokloritler, hidrobromitler, sülfatlar, fosfatlar veya fosfonatlar gibi inorganik asitlerin tuzlarını; özellikle asetatlar, formatlar, propiyonatlar, laktatlar, sitratlar, fumaratlar, maleatlar, benzoatlar, 10 tartratlar, malatlar, metansülfonatlar, etansülfonatlar, tolüensülfonatlar veya benzensülfonatlar gibi organik asitlerin tuzları; veya özellikle aspartat veya glutamat gibi asidik amino asitler içeren tuzlar vardır.

Buluşun amaçları için solvatlar, katı veya sıvı halde solvent 15 molekülleri ile koordinasyon içinde bir kompleks oluşturan, buluşa ait bileşiklerin durumlarını belirtir. Hidratlar, koordinasyonun suyla gerçekleştiği belirli bir solvat şeklidir.

Bu buluş bağlamında, ikame ediciler aksi belirtilmedikçe 20 aşağıdaki tanımlarla belirtilmektedir.

Alkil terimi genel olarak dallı veya düz zincirli (C₁-C₆)-alkil, tercihen (C₁-C₄)-alkil, örneğin, özellikle metil, etil, propil, butil, izopropil, izobütil ve tert.-butil anlamına gelir.

25 Alkoksi terimi, genel olarak, özellikle metoksi, etoksi, propoksi, bütoksi, izopropoksi, izobutoksi ve tert.-butoksi gibi dallı veya düz zincirli (C₁-C₆)-alkoksi, tercihen (C₁-C₄)-alkoksi anlamına gelir.

Mono- ve dialkilamino terimleri sırasıyla bir veya iki alkil 30 ikame ediciye (birbirinden bağımsız olarak seçilmiş) sahip olan bir alkilamino radikalini, örneğin örnek yoluyla ve tercihen metilamino, etilamino, n-pro-plamino, izopropilamino, tert-butilamino, n-pentilamino, n-heksilamino, N, N-dimetilamino, N, N-dietylamino, N-etil-N-metilamino, N-metil- 35 Nn-propilamino, N-izopropil-N-n-propilamino, N-tert-butil-N-

metilamino, N-etil-N-n-pentilamino ve N-n-heksil-N-metilamino anlamına gelir. Mono- (C₁-C₃)-alkilamino, örneğin 1 ila 3 karbon atomuna sahip bir monoalkilamino radikalini temsil eder. Di-(C₁-C₃)-alkilamino, her bir alkil ikame edicisi için 1
5 ila 3 karbon atomuna sahip bir dialkilamino radikalini temsil eder.

Halojen veya halo terimi, flor, klor, brom veya iyota; tercihen flor, klor veya broma atfen kullanılmıştır. Bazı yapılanmalarda, halojen veya halo terimi tercihen ⁷⁶Br, ⁷⁵Br,
10 ¹⁹F and ¹⁸F anlamına gelir.

A ile temsil edilen grubun formüllerinde, bir * olduğu bitişik çizginin bitiş noktası bir karbon atomu veya bir CH₂ grubu değil, A'nın bağlandığı atomla bağın bir bileşenidir.

L ile temsil edilen grubun formüllerinde, bir * veya # olduğu
15 bitişik çizginin bitiş noktası bir karbon atomu veya bir CH₂ grubu değil, L'nin bağlandığı atomla bağın bir bileşenidir. Buluşun bileşiklerinde M ile temsil edilen tortu, buluş bileşiklerinde L tarafından temsil edilen tortuya eklenebilir. Tercihen, florofor, buluşa ait bileşiklerin kullanıldığı
20 konsantrasyon aralığı içinde esasen toksik değildir.

Buluşun bileşiklerinde M ile temsil edilen tortu, buluşun bileşiklerinde L ile temsil edilen tortuya bağlanabilen ¹⁸F'dir. Tercihen, tortu ¹⁸F, buluşa ait bileşiklerin kullanıldığı konsantrasyon aralığı içinde esasen toksik
25 değildir. En basit formlarından birinde M, ¹⁸F atomudur.

Mevcut buluş ayrıca, X'in C₁'yi temsil ettiği formül (I) bileşikleri ile de ilgilidir.

Mevcut buluş ayrıca, n'nin 2, 3 veya 4 olduğu formül (I) bileşikleri ile de ilgilidir.

30 R₁, hidrojen veya (C₁-C₆)-alkildir,
buradaki alkil, hidroksi, amino, siyano, nitro, halojen, karbonil, (C₁-C₄)-alkoksi, mono (C₁-C₄)-alkilamino ve di-(C₁-C₄) alkilamino bağımsız olarak seçilen bir ila üç ikame edici ile ikame edilebilir,

35 burada R₁, X'in ⁷⁶Br, ⁷⁵Br veya ¹⁸F olmaması durumunda en az bir

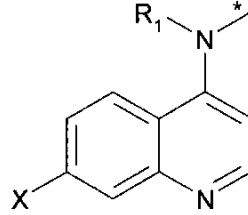
^{76}Br , ^{75}Br , ^{18}F veya ^{11}C içeren isteğe bağlı olarak ikame edilmiş (C₁-C₆)-alkili temsil etmektedir,

R₂ ve R₃ birbirlerinden bağımsız olarak hidrojen veya (C₁-C₆)-alkili temsil etmektedir,

5 buradaki alkil, hidroksi, amino, siyano, nitro, halojen, karbonil, (C₁-C₄)-alkoksi, mono (C₁-C₄)-alkilamino ve di-(C₁-C₄) alkilamino bağımsız olarak seçilen bir ila üç ikame edici ile ikame edilebilir,

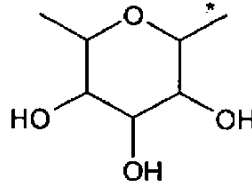
10 burada en az R₂ ve R₃ üzerinde en az bir ^{11}C içeren veya en az bir ^{76}Br , ^{75}Br , ^{18}F veya ^{11}C içeren bir tortu ile ikame edilen bir (C₁-C₃)-alkil'i temsil etmekte ve * ifadesi L ile temsil edilen tortuya bağlanma bölgesini temsil etmektedir.

Bazı yapılanmalarda, M'nin temsil edilmesi durumunda tercih edilebilir

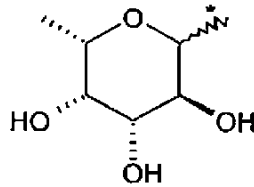


15

Bazı yapılanmalarda, A'nın temsil edilmesi durumunda tercih edilebilir

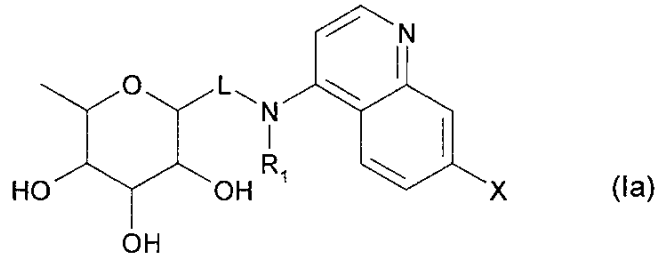


tercihen

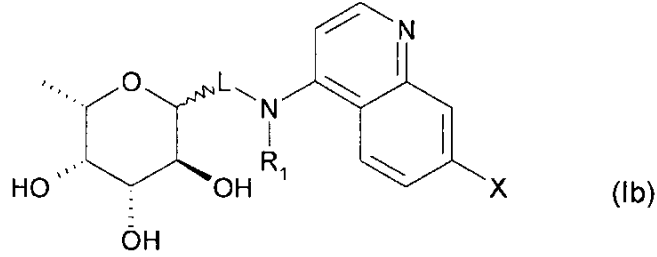


20

Bazı yapılanmalarda, formül (I) bileşiğinin bir formül bileşiği olması tercih edilebilir,

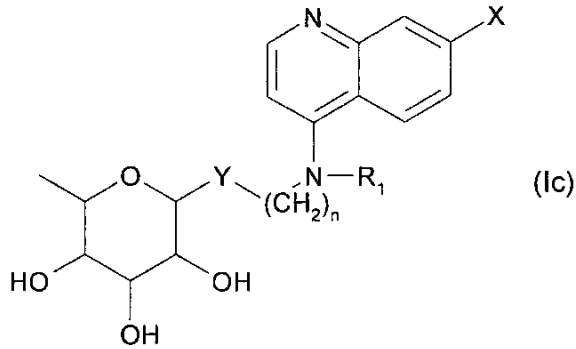


burada R₁, L ve X yukarıda belirtilen anlama gelir, tercihen



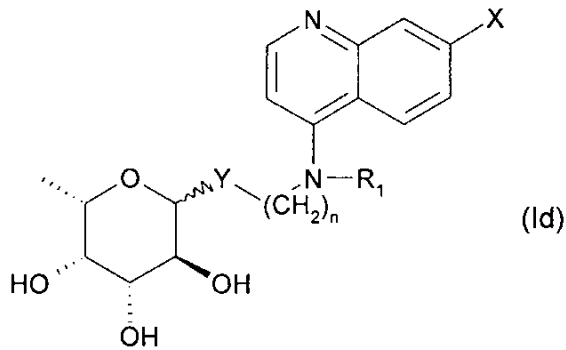
burada R₁, L ve X yukarıda belirtilen anlama gelir.

- 5 Bazı yapılanmalarda, formül (I) bileşiğinin bir formül bileşiği olması tercih edilebilir,



burada R₁, Y, X ve n yukarıda belirtilen anlama gelir ve Y tercihen O veya N'yi temsil eder,

10



Buluşun bileşikleri, A, L ve M'nin kesin doğasına bağlı olarak

çeşitli yollarla hazırlanabilir. Örneğin, korumalı bir fukozdan başlamak ve korunmuş fukozy korumalı bir 2-bromofukoz türevine dönüştürmek mümkündür.

5 Bu tepkime genellikle, isteğe bağlı olarak bir solvent içinde, 0°C ila çözücünün geri akışına kadar olan bir sıcaklıkta bromlaştırıcı bir reaktif varlığında gerçekleştirilir.

Uygun bromlaştırıcı ajanlar, asetik asit içerisinde PBr₃ ve HBr içerir.

10 Tercih edilen solventler, diklorometan veya triklorometan gibi halojenli hidrokarbonlardır.

2-bromofukoz türevi, bir sonraki aşamada, buluşa ait bileşiklerde L ile temsil edilen tortuyu oluşturacak bir bileşik ile tepkimeye sokulabilir.

15 Bu tür bileşiklerin örnekleri arasında etilen glikol, 2-amino-etanol, 1,2-etilendiamin, 1,3-propandiol, 3-amino-1-propanol ve 1,3-diaminopropan bulunur.

Böyle bir birleştirme tepkimesinin koşulları, teknikte uzman bir kişi tarafından iyi bilinmektedir.

20 Bu şekilde elde edilen A-L-konjugatı daha sonra, teknikte uzman bir kişinin bildiği koşullar altında, buluşun bileşiklerinde M ile temsil edilen tortuya karşılık gelen bir bileşiğe tekrar bağlanabilir.

25 Son bağlama adımından sonra, elde edilen bileşikte mevcut olan koruyucu grup, buluşa ait bileşiklerin elde edilmesi için ayrılır.

2-bromofukoz türevinin karşılık gelen azide dönüştürülmesi ve bu azide, bir "klik" tepkimesi için normal şartlar kullanılarak uygun bir alkin ile tepkimeye sokulması ve ardından uygun birleştirme adımları ve (a) korumanın 30 kaldırılması tepkimesi/tepkimleri de mümkündür. Bu durumda L'nin bir triazolü temsil ettiği bileşikler elde edilecektir.

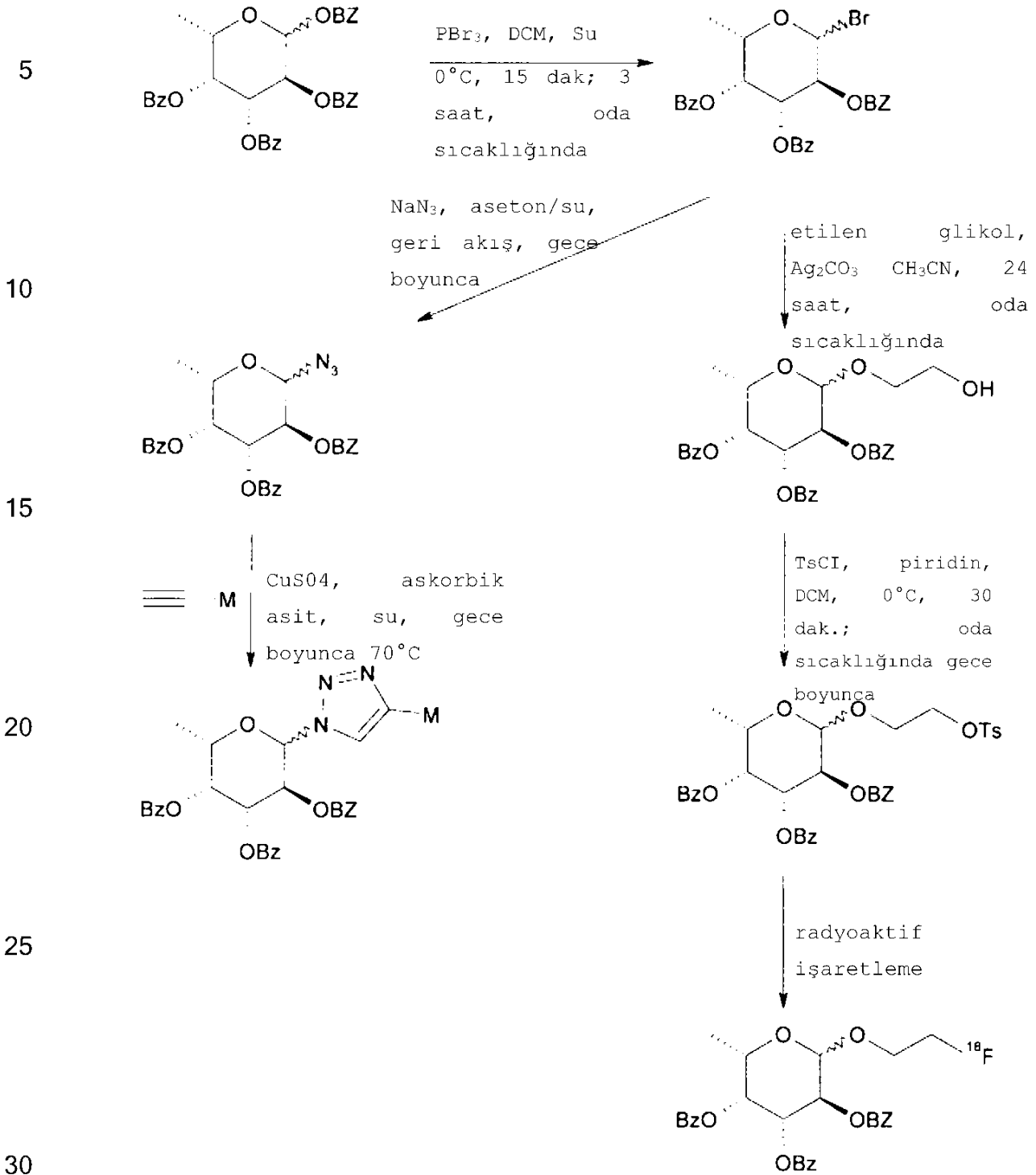
Buluşun bileşiklerine giden bir başka yol, buluşa ait bileşiklerde M ile temsil edilen tortuya karşılık gelen bir bileşiğin, buluşa ait bileşiklerde L ile temsil edilen tortuyu 35 oluşturacak bir bileşik ile tepkimeye sokulmasını içerir. M-L-

konjugatı daha sonra yine buluşa ait bileşiklerde A ile temsil edilen tortuya karşılık gelen bir bileşiğe bağlanabilir, ardından uygun olduğu yerde (a) korumanın kaldırılması tepkimesi/tepkimleri uygulanır.

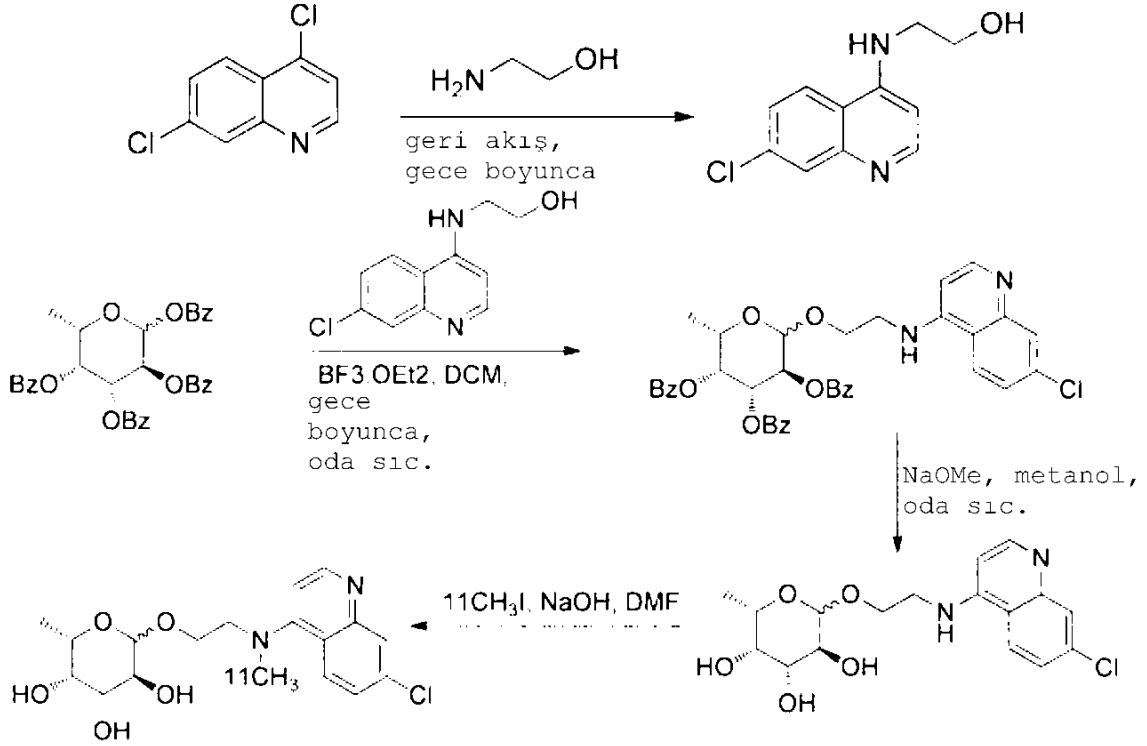
- 5 Buluşun bileşikleri için bazı örnek sınırlayıcı olmayan sentetik yollar aşağıdaki şemalarda gösterilmektedir. Tepkime şeması 1'in tepkimeleri, buluşa ait bileşiklerin elde edilmesi için tepkime şeması 2'de gösterilen son adıma benzer bir yöntemle korumasız hale getirilebilen korumalı bir ara maddeyle sonuçlanır.

Tepkime şeması

1:



Tepkime şeması 2:



Buluşun bileşikleri, önceden tahmin edilemeyen değerli bir farmakolojik etki aralığını göstermektedir. Bu etkiler yaşlanma hücrelerini işaretleme yeteneğine sahiptirler.

5 Dolayısıyla buluş, ayrıca, buluşun bileşiğinin, hücre yaşlanmasının saptanması için bir yöntemde kullanımı ile ilgilidir.

10 Bu nedenle buluş ayrıca, buluşun bileşiğinin, kanser tedavisinin etkinliğini belirleme yönteminin kullanılmasıyla da ilgilidir.

Bu nedenle buluş ayrıca, en az bir inert, toksik olmayan, farmasötik olarak uygun bir ekşiyan ile kombinasyon halinde buluşa göre bir bileşik içeren bir ilaçla da ilgilidir.

15 Buluşun bileşiği, hücre yaşlanmasının saptanması için kullanılabilir.

Buluşun bileşiği, kanser tedavisinin etkinliğini belirlemek için kullanılabilir.

Hücre yaşlanmasını saptama yöntemi, hücrelerin buluşa ait bir

bileşik ile temas ettirilmesini içermektedir.

Kanser tedavisinin etkinliğini belirleme yöntemi, hücrelerin buluşa ait bir bileşik ile temas ettirilmesini içermektedir.

5 Yukarıdaki yöntemler, hem in vivo, örneğin kanser tedavisinin etkinliğini izlemek için bir hastada veya in vitro olarak örneğin yeni ilaçlar için tarama yapmak için gerçekleştirilebilir.

Bileşikler tercihen parenteral olarak uygulanır.

Bu uygulama yolu için buluşa ait bileşikler, uygun uygulama şekillerinde uygulanabilir.

10 Parenteral uygulama, bir absorpsiyon aşamasından kaçınarak (örneğin, intravenöz, intraarteriyel, intrakardiyak, intraspinal veya intralumbar) veya bir absorpsiyon aşamasının dahil edilmesiyle (örneğin intramüsküler, deri altı, intrakütan, perkütan veya intraperitoneal) yapılabilir. Parenteral uygulamaya

15 uygun uygulama şekilleri, diğerlerinin yanı sıra çözeltiler, süspansiyonlar, emülsiyonlar, liyofilizatlar veya steril tozlar formunda enjeksiyon ve infüzyon için preparasyonlardır. Buluşa ait bileşikler, belirtilen uygulama şekillerine dönüştürülebilir. Bu, inert, toksik olmayan, farmasötik olarak kabul edilebilir

20 ekspiyanlarla karıştırılarak bilinen bir şekilde gerçekleştirilebilir. Bu ekspiyanlar arasında diğerlerinin yanı sıra taşıyıcılar (örneğin mikrokristalin selüloz, laktoz, manitol), solventler (örneğin sıvı polietilen glikoller), emülgatörler ve dağıtıcılar veya ıslatıcı maddeler (örneğin

25 sodyum dodesil sülfat, polioksisorbitan oleat), bağlayıcılar (örneğin polivinilpiridonil) sentetik ve doğal polimerler (örneğin albümin), stabilizatörler (örneğin askorbik asit gibi antioksidanlar), renkler (örneğin, demir oksitler gibi inorganik pigmentler) ve tat ve/veya koku düzenleyiciler bulunmaktadır.

30 Aşağıdaki testler ve örneklerdeki yüzde verileri, aksi belirtilmediği sürece, ağırlıkça yüzdendir; parçalar ağırlıkça verilen parçalardır. Solvent oranları, seyreltme oranları ve sıvı/sıvı çözeltilerin konsantrasyon verileri her durumda hacme dayanmaktadır. "A/h" ifadesi "ağırlık/hacim" anlamına

gelmektedir. Dolayısıyla, örneğin, "%10 a/h" şu anlama gelir: 100 ml çözelti veya süspansiyon, 10 g madde içerir.

ÖRNEKLER

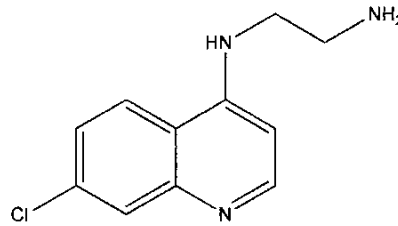
5

Genel yöntemler

Tüm LCMS verileri (aksi belirtilmedikçe), bir Fenomenex (Luna C-18, 250 x 4.60 mm, 5 mikron) kolonu olan bir Agilent ESI/APCI HPLC-ms sistemi kullanılarak elde edilmiştir. Numuneler, 2 dakika boyunca su içinde %5 CH₃CN gradyanı (+% 0.1 AcOH) kullanılarak işlenmiş ve daha sonra 26 dakika boyunca %100 CH₃CN'ye çıkarılmıştır; daha sonra solvent, 2 dakika daha %100 CH₃CN'de tutulmuştur.

Başlangıç malzemeleri ve ara ürünler

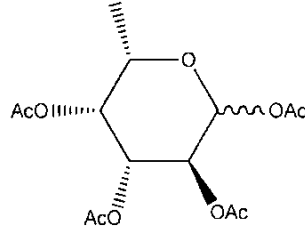
15 Örnek 1A:



N1-(7-klorokinolin-4-il)etan-1,2-diamin

Etilendiamin (15 g, 250 mmol) içindeki bir 4,7-diklorokinolin (5.0 g, 25.2 mmol) çözeltisi, Argon altında gece boyunca karıştırılarak 90°C'ye ısıtılmıştır. TLC, başlangıçtaki kinolin tüketiminin, noktadan noktaya daha polar bir ürüne dönüşmesiyle, tamamen tükendiğini göstermiştir. 6M NaOH (30 mL) ilave edilmiş ve organik materyal, DCM'ye (3 x 100 mL) özümlemiş. Tuzlu suyla (2 x 100 mL) yıkadıktan sonra, MgSO₄ üzerinde kurutulduktan sonra çözücüler vakum altında çıkarılmış ve 2.0 g renksiz kristalli bir katı elde edilmiştir, Kimlik ve saflık, tek bir UV aktif tepe noktasını (3.47 dakika, m/z 221.7 [M]⁺) ortaya çıkaran LCMS kullanılarak doğrulanmıştır.

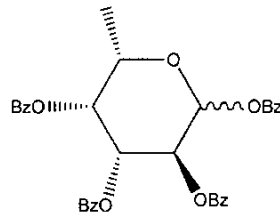
Örnek 2A:



(3S,4R,5R,6S)-6-metiltetrahidro-2H-piran-2,3,4,5-tetraail tetraasetat

- 5 Kaynayan bir asetik anhidrit (35 mL) ve NaOAc (2.5 g, 30.5 mmol) çözeltilisine küçük miktarlarda L-fukoz (5 g, 30.5 mmol) ilave edilmiştir. Solüsyon yarı saydam hale geldiğinde, ısıdan alınmış ve soğutma üzerine kısmen katılaştırılmıştır. Tortular, kırılmış buz (50 g) üzerine dökülmüş ve gaz çıkışı duruncaya kadar katı
- 10 sodyum bikarbonat ilave edilmiştir. Organik malzeme EtOAc (3 x 100 mL) içine özümlemiş, sodyum bikarbonat (100 mi) ve tuzlu su (100 mL) ile yıkanmış ve MgSO₄ üzerinde kurutulmuştur. Solventlerin vakum altında çıkarılması sarı bir şurup sonucu vermiştir (10,1 g, %99,6).

15 **Örnek 3A:**

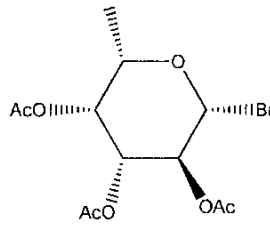


(3S,4R,5R,6S)-6-metiltetrahidro-2H-piran-2,3,4,5-tetraail tetrabenzoat

- 20 L-fukoz (2.0 g, 12.2 mmol) piridin (15 mL) içinde çözülmüş ve bir buz banyosunda 0°C'ye kadar soğutulmuştur. Benzoil klorür (7.1 mL, 60.1 mmol), 5 dakika boyunca bir damlalık hunisi ile ilave edilmiş, daha sonra buz banyosundan çıkarılmış ve tepkime, oda sıcaklığında 3 saat karışmaya bırakılmıştır. Tepkime karışımı
- 25 buzlu suya (100 mL) dökülmüş ve EtOAc (3 x 100 mL) içine

özütlenmiştir. Tortular buz soğukluğunda 1 M HCl (2 x 100 mL) ve tuzlu suyla (100 mL) yıkanmış, ardından MgSO₄ üzerinde kurutulmuştur. Solventlerin vakum altında çıkarılmasından sonra, elde edilen yarı katı, kristalli renksiz bir katı (6.9 g, %93) verecek şekilde silis jel kolon kromatografisi (EtOAc: PE = 3: 7) kullanılarak saflaştırılmıştır.

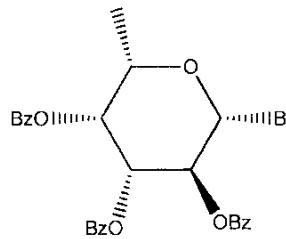
Örnek 4A:



10 (2R,3S,4R,5R,6S)-2-bromo-6-methyltetrahydro-2H-pyran-3,4,5-triyl triasetat

Bir HBr çözeltisine (10 mL, AcOH içinde %33), Örnek 2A'nın bileşiği (2.1 g, 6.3 mmol) ilave edilmiştir. Tepkime, oda sıcaklığında 2 saat karışmaya bırakılmış daha sonra kırılmış buz (50 g) üzerine dökülmüştür. DCM'ye (3 x 30 mL) ekstraksiyondan sonra, birleşik organik fazlar nötr olana kadar tekrar tekrar sodyum bikarbonat (3 ila 7 x 50 mi) miktarları ile yıkanmıştır. MgSO₄ üzerinde kurutma ve solventlerin vakum altında çıkarılması, bromürü kalın turuncu bir şurup halinde sonuçlandırmıştır. Dayanıksız olması nedeniyle, daha fazla saflaştırılmamış, 20 doğrudan aşağıdaki tepkimelerde kullanılmıştır.

Örnek 5A:

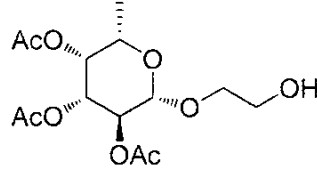


(2R,3S,4R,5R,6S)-2-bromo-6-methyltetrahydro-2H-pyran-3,4,5-triyl

tribenzoat

Kuru DCM (6 mL) içindeki Örnek 3A'nın bileşiği (1.1 g, 1.9 mmol), bir kauçuk septum ile donatılmış bir RBF'de 0°C'ye soğutulmuştur. Gazın alınmasından ve kabın Argon ile doldurulmasından sonra, 5 PBr₃ (0.285 mL, 3.1 mmol) ve ardından ayrı tek kullanımlık şırıngalardan damla damla su (0.190 mL, 10.5 mmol) ilave edilmiştir. 0°C'de 15 dakika karıştırıldıktan sonra, buz banyosundan çıkarılmış ve tepkime, oda sıcaklığında 3 saat karışmaya bırakılmıştır. Ardından DCM (50 mL) ve daha sonra su 10 ilave edilmiştir. Tortular ayrıca DCM (2 x 30 mL) içine özütlenmiş, sodyum bikarbonat (2 x 50 mL), tuzlu su (50 mL) ile yıkanmış ve MgSO₄ üzerinde kurutulmuştur. Solvent vakum altından çıkarıldıktan sonra, TLC ile saf olarak gösterilen renksiz katı ortaya çıkmıştır (1.0 g, % 98).

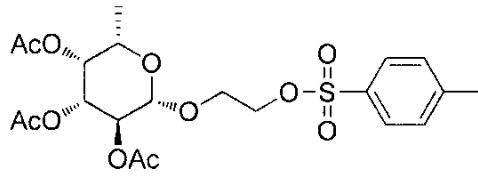
15 **Örnek 6A:**



(2S,3S,4R,5R,6S)-2-(2-hidroksietoksi)-6-metiltetrahidro-2H-piran-3,4,5-triil triasetat

20 Kuru CH₃CN (25 mL) içindeki Örnek 4A (4.0 g, 11.3 mmol), etilen glikol (7.0 g, 112.7 mmol) ve Ag₂CO₃ (4.7 g, 16.9 mmol) bileşiği, bir kalsiyum klorür kurutma tüpü altında 24 saat oda sıcaklığında karıştırılmıştır. Çözelti, bütün katı materyali çıkarmak için bir selit pedinden süzölmüş; daha sonra sodyum bikarbonat (150 mL) 25 ilave edilmiş ve organik materyal, DCM (3 x 100 mL) içerisine özütlenmiştir. MgSO₄ üzerinde kurutulduktan ve solventler vakum altında çıkarıldıktan sonra, elde edilen turuncu renkli yağ, silika-jel kolon kromatografisi (EtOAc: PE = 2: 5) kullanılarak saflaştırılarak başlıktaki bileşik turuncu rengi bir yağ halinde 30 elde edilmiştir (1.5 g, %40).

Örnek 7A:

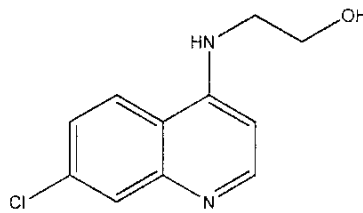


(2S,3R,4R,5S,6S)-2-metil-6-(2-(tosiloksi)etoksi)tetrahidro-2H-
5 piran-3,4,5-triil triasetat

Tosil klorür (1.1 g, 3.0 mmol), Örnek 6A'nın bir bileşiğine (1.0 g, 3.0 mmol) ve piridine (1 mL) DCM (15 mL) içindeki bir çözeltiye ilave edilmiş, 0°C'de 30 dakika karıştırılmıştır.

10 Tepkimenin daha sonra oda sıcaklığına kadar ılıması sağlanmış ve gece boyunca karıştırılmıştır, daha sonra sodyum bikarbonat (50 mL) ilave edilmiş ve organik materyal, DCM (3 x 50 mL) içerisinde özütlenmiştir. Tuzlu suyla (2 x 30 mL) ve sulu %10 bakır sülfatla yıkandıktan sonra, ham ürün MgSO₄ üzerinde kurutulmuş, vakum altında konsantre edilmiş ve başlıktaki kristalimsi beyaz bir
15 katı halindeki (0.43 g, % 29) bileşiği vermek üzere silika-jel kolon kromatografisi (EtOAc: PE = 2: 5) kullanılarak saflaştırılmıştır.

Örnek 8A:



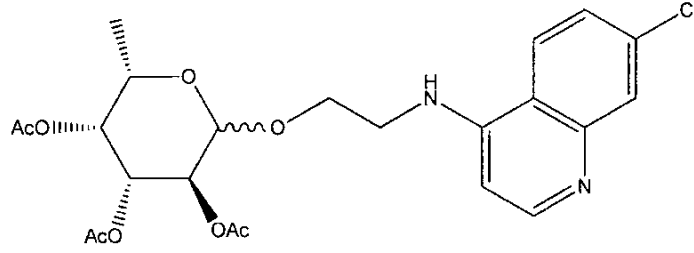
20 2-((7-klorokinolin-4-il)amino)etanol

2-aminoetanolda (45 mL, 1.37 mol) içinde 4,7-diklorokinolin (11.6 g, 58.6 mmol), Argon altında gece boyunca geri akıtılmıştır. Oda sıcaklığına soğutulduktan sonra 1M NaOH (100 mL) ilave edilmiş ve

25 10 dakika karışması sağlanmıştır. Elde edilen sarı katı materyal bir Büchner hunisi kullanılarak toplanmış, suyla (5 x 100 mL) yıkanmış ve açık sarı bir katı (12.27 g, %94) halinde başlıktaki

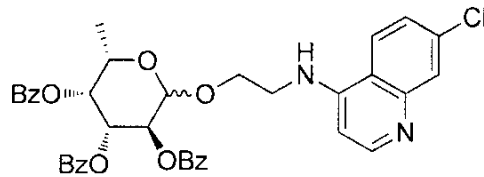
bileşiği verecek şekilde vakum altında iyice kurutulmuştur.

Örnek 9A:



(3S,4R,5R,6S)-2-(2-((7-klorokinolin-4-il) amino)etoksi)-6-
5 metiltetrahidro-2H-piran-3,4,5-triil triasetat içeren A çözeltisi
Örnek 2A'nın bileşiği (2.0 g, 6.0 mmol), Örnek 8A'nın bileşiği
(2.0 g, 9.0 mmol) ve kuru DCM (15 mL) içindeki mol elek 4A (5 g)
hazırlanmış, gazı giderilmiş ve argon altında bir buz banyosunda
0°C'de 10 dakika karışmaya bırakılmıştır. BF₃OEt₂ (2.6 g, 18.2
10 mmol), bir kauçuk bölme aracılığıyla ilave edilmiş ve tepkime, 30
dakika daha 0°C'de tutulmuş; daha sonra buz banyosundan
çıkarılmış ve tepkime, gece boyunca oda sıcaklığında karışmaya
bırakılmıştır. Ertesi gün, tepkime karışımı bir selit pedinden
süzülmüş ve DCM (3 x 20 mL) ile iyice yıkanmıştır. Organik tortu
15 nötr olana kadar sodyum bikarbonatla (3 x 50 mL) yıkanmış,
ardından tuzlu suyla (50 mL) yıkanmış, MgSO₄ üzerinde kurutulmuş
ve solvent vakum altından uzaklaştırılmıştır. Ham karışım silika
jel kolon kromatografisi (MeOH: EtOAc: NEt₃ = 10: 90: 1)
kullanılarak saflaştırılmış, bu başlıktaki bileşiği sarı bir yarı
20 katı madde halinde vermiştir (0.6 g, % 20). Özdeşlik LCMS ile
doğrulanmıştır (10.58 dakika, m/z 494.6 [M]⁺).

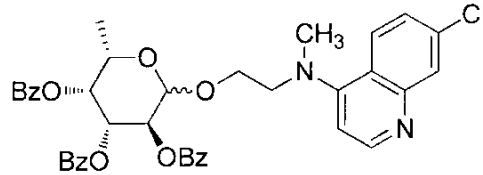
Örnek 10A:



25 (3S,4R,5R,6S)-2-(2-((7-klorokinolin-4-il) amino)etoksi)-6-

metiltetrahidro-2H-piran-3,4,5-triil tribenzoat içeren A
çözeltisi Örnek 3A'nın bileşiği (2.0 g, 5.7 mmol), Örnek 8A'nın
bileşiği (2.0 g, 8.3 mmol) ve kuru DCM (30 mL) içindeki mol elek
4A (10 g) hazırlanmış, gazı giderilmiş ve argon altında bir buz
5 banyosunda 0°C'de 10 dakika karışmaya bırakılmıştır. BF₃OEt₂ (4.8
g, 35.06 mmol), bir kauçuk bölme aracılığıyla ilave edilmiş ve
tepkime, 30 dakika daha 0°C'de tutulmuş; daha sonra buz
banyosundan çıkarılmış ve tepkime, gece boyunca oda sıcaklığında
karışmaya bırakılmıştır. Ertesi gün, tepkime karışımı bir selit
10 pedinden süzölmüş ve DCM (3 x 30 mL) ile iyice yıkanmıştır.
Organik tortu nötr olana kadar sodyum bikarbonatla (3 x 50 mL)
yıkanmış, ardından tuzlu suyla (50 mL) yıkanmış, MgSO₄ üzerinde
kurutulmuş ve solvent vakum altından uzaklaştırılmıştır. Ham
karışım silika jel kolon kromatografisi (MeOH: EtOAc: NEt₃ = 10:
15 90: 1) kullanılarak saflaştırılmış, bu başlıktaki bileşiği sarı
bir yarı katı madde halinde vermiştir (0.9 g, %23). Özdeşlik LCMS
ile doğrulanmıştır (13.29 dakika, m/z 680.6 [M]).

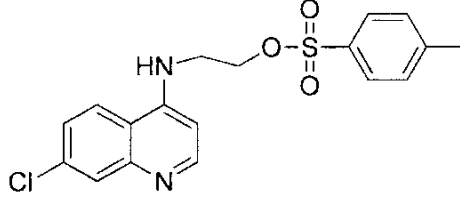
Örnek 11A:



20 (3S,4R,5R,6S)-2-(2-((7-klorokinolin-4-il)(metil)amino)etoksi)-6-
metiltetrahidro-2H-piran-3,4,5-triil tribenzoat DMF (5 mL)
içindeki Örnek 11A'nın bileşiğine (107 mg, 0.17 mmol) ve K₂CO₃'ün
(40 mg, 0.29 mmol) çözeltisine, oda sıcaklığında argon altında
25 karıştırılarak CH₃I (50 mg, 0.35 mmol) ilave edilmiştir. Tepkime,
1 saat süreyle 90°C'ye ısıtılmıştır. Tepkime karışımı, doymuş bir
sodyum bikarbonat çözeltisine (50 mL) dökülmüş, DCM (3 x 50 mL)
içine özütlenmiş ve tuzlu suyla (50 mL) yıkanmıştır.
MgSO₄ üzerinde kurutulması ve solventin vakum altından
30 çıkarılması, ara maddeyi sarı bir yağ halinde vermiştir.
Saflaştırma işlemi denenmemiş ve ham reaksiyon karışımı bir

sonraki aşamaya taşınmıştır. Özdeşlik LCMS ile doğrulanmıştır (13.64 dakika, m/z 695.7 [M]+).

Örnek 12A:



5

2-((7-klorokinolin-4-il)amino)etil 4-metilbenzensülfonat

DCM (13 mL) içindeki bir Örnek 8A bileşiği (1.0 g, 4.5 mmol) ve piridin (1 mL, 12.4 mmol) çözeltisi hazırlanmış ve bir buz banyosunda karıştırılarak soğutulmuştur. Tosil klorür (0.9 g, 4.7

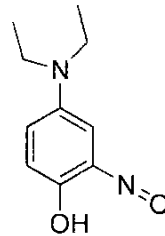
10 mmol) eklenmiş ve tepkime oda sıcaklığına ılınmaya bırakılmıştır.

Doymuş sulu sodyum bikarbonat (100 mL) ilave edilmiş ve organik maddeler DCM (3 x 50 mL) içine özütlenmiştir, ardından daha fazla sodyum bikarbonat (2 x 50 mL) ve tuzlu suyla (50 mL) yıkanmıştır.

15 Organik malzeme MgSO₄ üzerinde kurutulmuş, solventler vakum

altından uzaklaştırılmış ve silika jel kolon kromatografisi kullanılarak başlıktaki bileşiği sarı bir katı olarak (0.55 g, % 33) elde etmek üzere saflaştırılmıştır (MeOH: EtOAc: NEt₃ = 5: 95: 1 - MeOH: EtOAc: NEt₃ = 10: 90: 1).

20 **Örnek 13A:**



4-(dietilamino)-2-nitrosofenol

Konsantre HCl (100 mL) içinde 3-dietilaminofenol (15.0 g, 90.7 mmol) içeren bir çözelti hazırlanmış ve bir buz banyosunda 0°C'ye

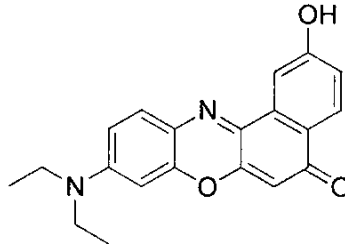
25 soğutulmuştur. Su (50 mL) içindeki NaNO₂ (6.9 g, 100.0 mmol), 40

5 dakika boyunca yavaş yavaş ilave edilmiş, böylece kahverengi NOx buharları gözlenmemiştir. Tepkime 2 saat karışmaya bırakılmış, ardından kalın çökelti bir Buchner hunisi kullanılarak süzölmüş ve küçük bir miktar suyla (3 x 50 mL) yıkanmıştır. Katıyı Buchner

5 hunisinde 1 saat kuruttuktan sonra katı madde EtOH (70 mL) içinde çözülmüş, Et₂O (35 mL) eklenmiş ve çözelti kristalleşmeyi sağlamak için gece boyunca -20°C'de tutulmuştur. Ertesi gün, katı madde bir Buchner hunisi kullanılarak vakumla süzölerek toplanmış ve hava ile kurutulmuştur. Ürün

10 turuncu/kırmızı bir katıdır (8.8 g, %50).

Örnek 14A:

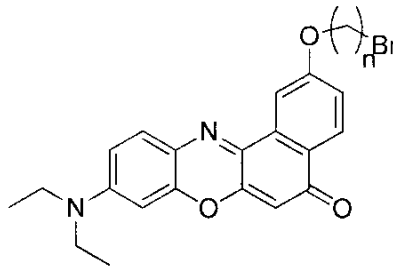


9-(diethylamino)-2-hidroksi-5H-benzo[a]fenoksazin-5-bir

15 Örnek 13A'nın bileşiği (7.0 g, 36.0 mmol) ve 1,6-dihidroksinaftalen (5.9 g, 36.1 mmol), DMF (100 mL) içerisinde 3 saat boyunca geri akıtılmıştır. Solventler vakum altından çıkarıldıktan sonra tortu, metanol içerisinde yeniden çözüldürölmüş ve silis üzerine adsorbe edilmiş ve koyu mor bir

20 katı halinde başlıktaki bileşiği verecek şekilde silis jel kolon kromatografisi (MeOH: NEt = 50: 1) kullanılarak saflaştırılmıştır (11.1 g, % 92).

Örnek 15A:

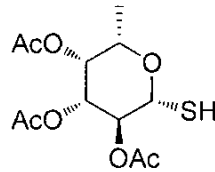


25

2-(bromometoksi)-9-(diethylamino)-5H-benzo[a]fenoksazin-5-bir
DMF (30 mL) içindeki Örnek 14A (4.2 g, 12.6 mmol), K₂CO₃ (2.5 g,
18.1 mmol) ve 1,3-dibromopropan (25.2 g, 126 mmol) bileşliğini
içeren bir çözelti, 2 saat boyunca geri akıtılmıştır. Solvent
5 vakum altından çıkarılmış ve ham katı, başlıktaki bileşiği mor
bir katı halinde (1.1 g, %19) verecek şekilde silis jel kolon
kromatografisi (EtOAc: Pet Ether: NEt₃ = 40: 60: 1) kullanılarak
saflaştırılmıştır. LCMS, ürünü uv zirvesiyle doğrulamıştır (21.40
dakika, m/z 454.6 [M+H]⁺).

10

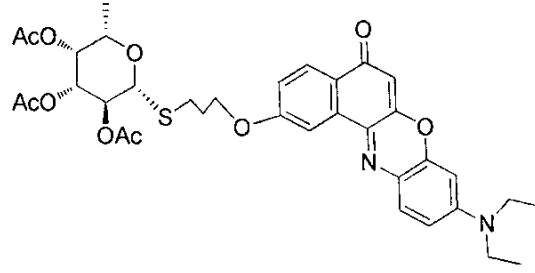
Örnek 16A:



(2R,3S,4R,5R,6S)-2-merkapto-6-metiltetrahydro-2H-piran-3,4,5-
15 triil triasetat

Örnek 4A'nın bileşiği (1.5 g, 4.3 mmol) ve tiyüre (0.4 g, 5.5
mmol), 1 saat boyunca kuru gaz giderilmiş asetonitrilde (20 mL)
geri akıtılmış, ardından şişe, bir buz banyosunda 30 dakika
soğutulmuştur. Katı madde bir Buchner hunisi ile toplanmış, soğuk
20 asetonitril ile yıkanmış ve 30 dakika (0.9 g) havayla
kurutulmuştur. DCM (10 mL) içindeki izotiouronyum tuzu (0.9 g,
2.5 mmol), tamamen gazı giderilmiş su (20 mL) içeren 3 boyunlu
bir şişeye ilave edilmiştir. Buna, Na₂S₂O₅ (0.6 g, 2.5 mmol)
ilave edilmiş; daha sonra çözelti, argon altında 50°C'de 30
25 dakika boyunca geri akıtılmış ve daha sonra 10 dakika daha
soğumaya bırakılmıştır. DCM (3 x 50 mL) kullanılarak bir
özütlenme yapılması, Na₂S₂O₄ üzerinde kurutma, ardından
çözücülerin vakum altından çıkarılması, yarı saydam bir katı
halinde başlıktaki bileşiği (0.5 g, %37) vermiştir.

Örnek 17A:



Örnek 15A'ya ait bileşik (450 mg, 0.99 mmol), Örnek 16A'ya ait
5 bileşik (470 mg, 1.53 mmol) ve K₂C₀3 (260 mg, 1.88 mmol),
asetonitril (20 mL) içerisinde 1 saat boyunca geri akıtılmıştır.
TLC, Nil kırmızı-bromürünün daha polar floresan bir ürüne
noktadan noktaya dönüşümünü ortaya çıkarmıştır. Silika jel kolon
kromatografisi (EtOAc: Pet Ether: NEt₃ = 1: 1) kullanılarak
10 saflaştırıldıktan sonra başlıktaki bileşik, mor bir katı halinde
(450 mg, %67 mmol) sonuç vermiştir.

Örnek bileşikler

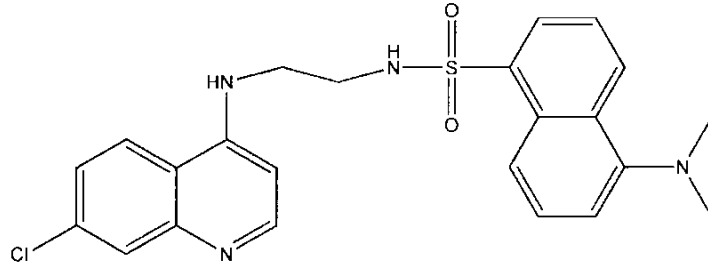
Örnek 1

15 (3S,4R,5S,6S)-2-(2-((7-klorokinolin-4-il) (metil)amino)etoksi)-6-
dimetiltetrahidro-2H-piran-3,4,5-triol,

Örnek 12A'nın saflaştırılmamış bileşiği kuru metanolde (5 mL)
çözündürülmüş, daha sonra NaOMe (MeOH içerisinde %30-40, 0.1 mL)
20 ilave edilmiş ve tepkime, 90 dakika boyunca bir kurutma tüpü
altında karışmaya bırakılmıştır. PH'ı 4-6'ya düşürmek için AcOH
(metanol içinde %30) damla damla eklenmiştir. NaOMe'yi
söndürdükten sonra, solventler, başlıktaki bileşiği verecek
şekilde vakum altından çıkarılmıştır. Özdeşlik LCMS ile
25 doğrulanmıştır (8.91 dakika, m/z 382.7 [M]⁺).

Bu bileşik, istem 1'in kapsamına girmemektedir, ancak buluşun
11C-etiketli bileşikleri için bir model olarak sağlanmaktadır.

Örnek 2

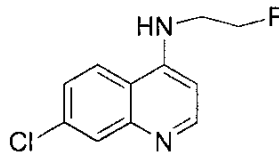


N-(2-((7-klorokinolin-4-il) amino)etil)-5-(dimetilamino)naftalin-
5 1-sülfonamido

Örnek 1A'nın bileşiği (0.5 g, 2.3 mmol), NEt₃ (1 mL, 6.9 mmol) içeren DCM (10 mL) içerisinde çözündürülmüş ve çözelti, bir buz banyosu içerisinde 0°C'ye kadar soğutulmuştur. Dansil klorür (0.6 g, 2.3 mmol) katı halde eklenmiş ve tepkime kalsiyum klorür
10 dolgulu kurutma tüpü altında karıştırılırken oda sıcaklığına alınmaya bırakılmıştır. Sodyum bikarbonat (10 mL) ilave edilmiş ve organik tortu DCM (3 x 15 mL) içine özütlenmiştir. Birleştirilen organik materyal, suyla (10 mL) ve sonra tuzlu suyla (10 mL) yıkanmış, MgSO₄ üzerinde kurutulmuş ve solventler
15 vakum altından çıkarılmıştır. Silika jel kolon kromatografisi kullanılarak saflaştırma (MeOH:

EtOAc: NEt₃ = 10: 90: 1) başlıktaki bileşiği sarı bir katı halinde (1.0 g, % 96) vermiştir. Özdeşlik LCMS ile doğrulanmıştır
20 (10.94 dakika, m/z 454.7 [M]⁺).

Örnek 3

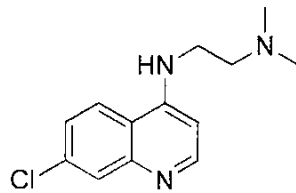


7-kloro-N-(2-floroetil) kinolin-4-amin

25 DCM (15 mL) içerisinde Örnek 12A'nın bileşiğini (0.83 g, 3.75 mmol) içeren bir süspansiyon hazırlanmıştır. Bu süspansiyon, oda

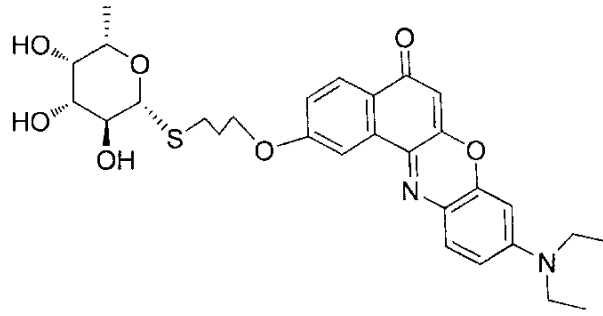
sıcaklığında deoksoflor içeren (THF'de %50, 1.79 mL, 4.1 mmol) argon altında karıştırılarak 3 boyunlu bir şişeye eklenmiştir. Doymuş sulu sodyum bikarbonat (50 mL) ilave edilmiş ve tortular DCM (3 x 30 mL) içine özütlenmiş, nötr olana kadar daha fazla sodyum bikarbonat ile yıkanmıştır. Organik malzeme MgSO₄ üzerinde kurutulmuş, solventler vakum altından uzaklaştırılmış ve ham madde silika jel kolon kromatografisi kullanılarak başlıktaki bileşiği sarı bir katı olarak (0.37 g, %44) elde etmek üzere saflaştırılmıştır (MeOH: EtOAc: NEt₃ = 10: 90: 1). Özdeşlik LCMS ile doğrulanmıştır (9.29 dakika, m/z 224.7 [M]⁺). Bu bileşik, istem 1'in kapsamına girmemektedir, ancak buluşun 18F-etiketli bileşikleri için bir model olarak sağlanmaktadır.

Örnek 4



N1-(7-klorokinolin-4-il)-N2, N2-dimetiletan-1,2-diamin 4,7-diklorokinolin (3.0 g, 15.1 mmol) ve N, N-dimetiletildiamin (10.0 g, 113.4 mmol) gece boyunca 115 °C'ye ısıtılmıştır. 6M NaOH (20 mL) ilave edilmiş ve organikler, DCM'ye (3 x 50 mL) özümlemişdir. Tuzlu suyla (2 x 100 mL) yıkandıktan ve MgSO₄ üzerinde kurutulduktan sonra solventler vakum altından çıkarılmış ve açık kahverengi bir katı halinde başlıktaki bileşik elde edilmiştir (3.7 g, %98). Ürünün saflığı LCMS ile doğrulanmıştır (2.83 dakika, m/z 249.7 [M]⁺). Bu bileşik, istem 1'in kapsamına girmemektedir, ancak buluşun 11C-etiketli bileşikleri için bir model olarak sağlanmaktadır.

Örnek 5



9-(diethylamino)-2-(3-(((2R,3S,4R,5S,6S)-3,4,5-trihidroksi-6-dimetiltetrahidro-2H-piran-2-il)tio)propoksi)-5H-Ben-zo[a]

5 fenoksazin-5-bir

Örnek 17A'nın bileşiği (450 mg, 0.7 mmol) kuru metanolde (10 mL) çözülmüş, buna sodyum metoksit (metanolde %30-40, 0.1 mL) ilave edilmiştir. Tepkimenin oda sıcaklığında 5 saat devam etmesi sağlanmış, ardından asetik asit (0.5 mL) ilave edilmiş, solventler vakum altından çıkarılmış ve ham tortu, JC106 siyah bir yağ halinde (356 mg, %96 mmol) verecek şekilde silis jel kolon kromatografisi (EtOAc: metanol = 4: 1) kullanılarak saflaştırılmıştır.

15 Farmakolojik aktivitenin değerlendirilmesi

Buluşun bileşiklerinin farmakolojik aktivitesi, aşağıdakileri gösteren ekteki çizime referans olarak aşağıda açıklanmaktadır:

20 Şekil 1: Örnek 5'e ait bileşiğin, HCT116 hücrelerinde (kolorektal karsinoma hücre hattı) ve MCF7 hücrelerinde (meme kanseri hücre hattı), 250 nM Doksorubisin muamelesi olan ve olmayan FACS analiz verileri.

Şekil 2: β -gal boyalı HCT116 ve MCF7 hücrelerinin 250 nM Doksorubisin muamelesi olan ve olmayan ışık mikroskobu resimleri.

25 Muamele edilen hücreler, özellikle MCF7 hücreleri, güçlü β -gal ekspresyonu göstermiştir.

Şekil 3: Hem Doksorubisin'in varlığında hem de yokluğunda LysoTracker® ile boyanmış HCT116 ve MCF7 hücreleri için elde edilen boyama sinyallerinin bir grafiği.

Şekil 4: HCT116 ve MCF7 hücrelerinde Örnek 2'nin bileşiği için (yaşlanma +) ve 250 nM Doksorubisin tedavisi olan ve olmayan FACS analiz verileri. Hücreler 20 dakika 37°C'de %5 CO₂ ile inkübe edilmiştir. Hücreler, 40 ng/ml Örnek 2'nin bileşiği ile etiketlenmiştir. Bununla birlikte, Doksorubisin ile muamele edilen HCT116 ve MCF7 hücreleri, etiketli molekülün geçirgen hale getirilmeden arttırılmış şekilde zenginleştirildiğini göstermiştir.

Buluş bileşiklerinin yaşlanmış hücreleri işaretleme ve görselleştirme yeteneğini göstermek için, HCT116 hücreleri (kolorektal karsinoma hücre hattı) ve MCF7 hücreleri (meme kanseri hücre hattı) varlığında %5 CO₂ ile 37°C'de 20 dakika Doksorubisin varlığında ve yokluğunda kuluçkada tutulmuştur. Hücreler daha sonra 40 ng/ml Örnek 5 bileşiğiyle etiketlenmiştir. Doksorubisin ile muamele edilen MCF7 hücreleri, PerCP-A yönünde bir kayma ile belirtilen Örnek 5 inhibitörünün bileşiğinin arttırılmış bir zenginliğini göstermiştir. Bu, Örnek 5'in bileşiğinin yaşlanan hücrelere bağlanma ve görselleştirme yeteneğini göstermektedir.

HCT116 (kolorektal karsinoma hücre hattı) hücreleri ve MCF7 (meme kanseri hücre hattı) hücrelerinin, yaşlanma β-galaktosidaz boyanmasını uyarmak için, hücreler 24 saat 250nM Doksorubisin ile muamele edilmiştir. Doksorubisin, DNA ile araya girerek etkileşime girer ve topoizomera II enziminin ilerlemesini inhibe eder. Şekil 2, 250 nM Doksorubisin muamelesi olan ve olmayan β-gal boyalı HCT116 ve MCF7 hücrelerinin temsili ışık mikroskobu resimlerini göstermektedir. Doksorubisin ile muamele edilmiş hücreler, yaşlanmada genişlemektedir ve esas olarak MCF7 hücreleri, yaşlanma hücrelerinin varlığını gösteren güçlü β-gal (mavi) ekspresyonu göstermiştir(bakınız Şekil 2).

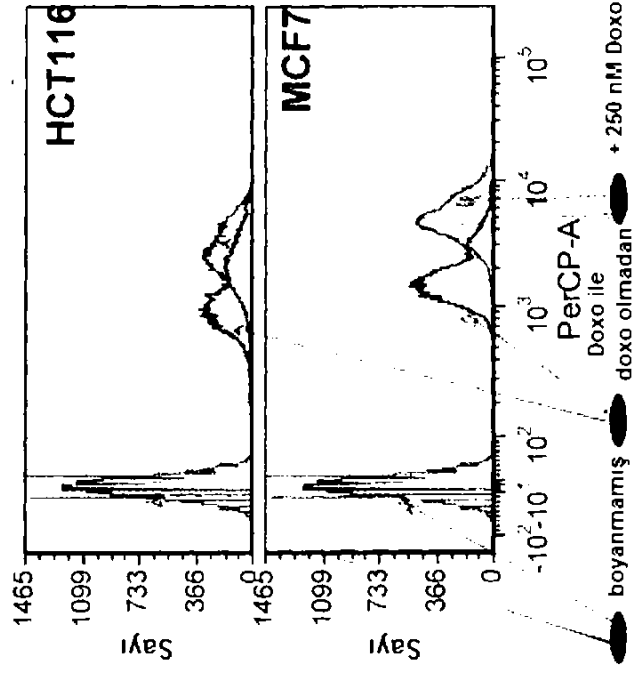
Şekil 3'te, hem Doksorubisin varlığında hem de yokluğunda HCT116 (kolorektal karsinoma hücre hattı) hücrelerinin ve MCF7 (meme kanseri hücre hattı) hücrelerinin lizozom boyamasından elde edilen sinyali gösteren bir grafik görüntülenmektedir. Bu grafik

tekrar, Doksorubisin muamelesi olmayan hücrelere (tedavi edilmemiş hücreler) kıyasla, yaşlanmış hücrelerin varlığını gösteren, arttırılmış bir pozitif lizozom boyamasını göstermektedir.

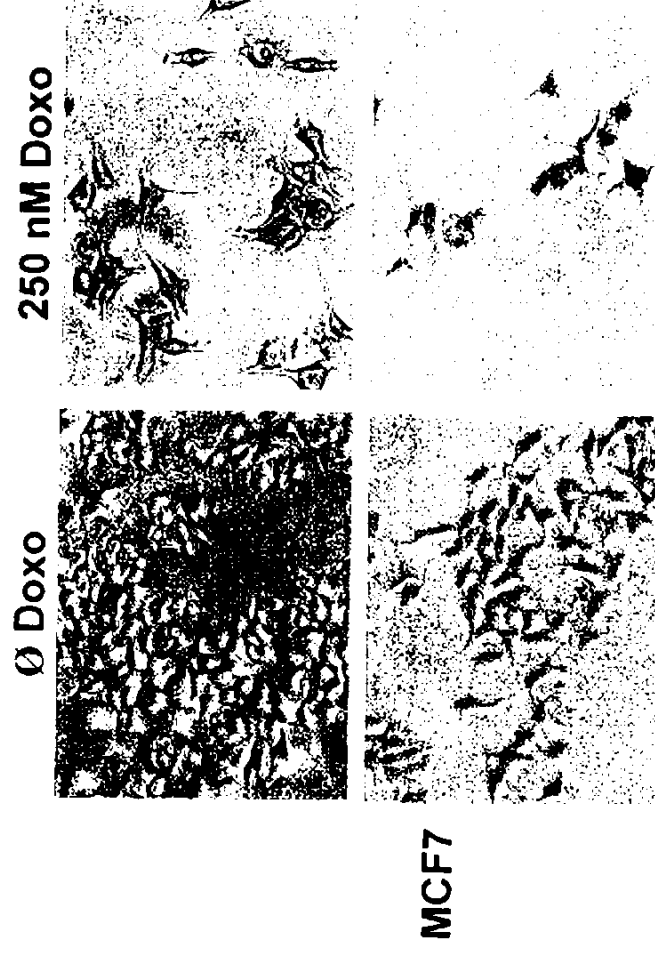
- 5 Buluş bileşiklerinin yaşlanmış hücreleri işaretleme ve görselleştirme kabiliyetini göstermek için, HCT116 hücreleri (kolorektal karsinoma hücre hattı) ve MCF7 hücreleri (meme kanseri hücre hattı) varlığında %5 CO₂ ile 37°C'de 20 dakika kuluçkada tutulmuştur. Hücreler daha sonra 40 ng/ml Örnek 2
- 10 bileşiğiyle etiketlenmiştir. Doksorubisin ile muamele edilen hem HCT116 hem de MCF7 hücreleri, etiketlenmiş molekülün geçirgenleştirilmeye gerek kalmadan arttırılmış bir zenginleşme gösterdiğini göstermiştir (bakınız Şekil 4). Bu, Örnek 2'ye ait bileşiğin, geçirgen olmayan hücrelerde bile yaşlanan hücrelere
- 15 bağlanma ve görselleştirme yeteneğini göstermektedir.

Özet

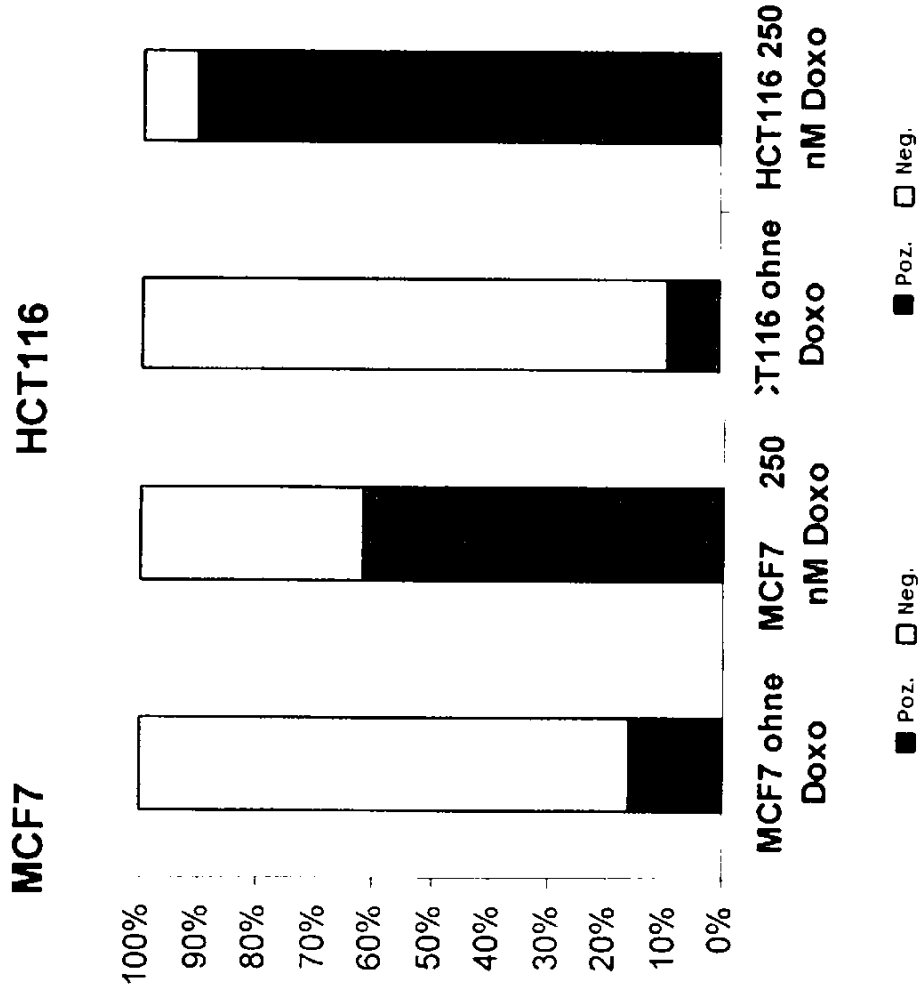
- Şekil 2 ve Şekil 3'te gösterilen veriler, Doksorubisin ile muamele edilen hücre hatlarında yaşlanan hücrelerin varlığını
- 20 açıkça göstermektedir. Şekil 1 ve Şekil 4, buluşun bileşiklerinin yaşlanan hücrelerde biriktiğini ve ölçülebilir bir sinyal ürettiğini açıkça göstermektedir. Bu, buluşa ait bileşiklerin yaşlanmış hücreler için markır olarak işlev görebileceğini ve optik görüntüleme yöntemleriyle tespit edilebileceğini
- 25 göstermektedir.



Şekil 1: HCT116 ve MCF7 hücrelerinde Nil kırmızısı işaretli Fukozidaz inhibitörü için FACS verileri

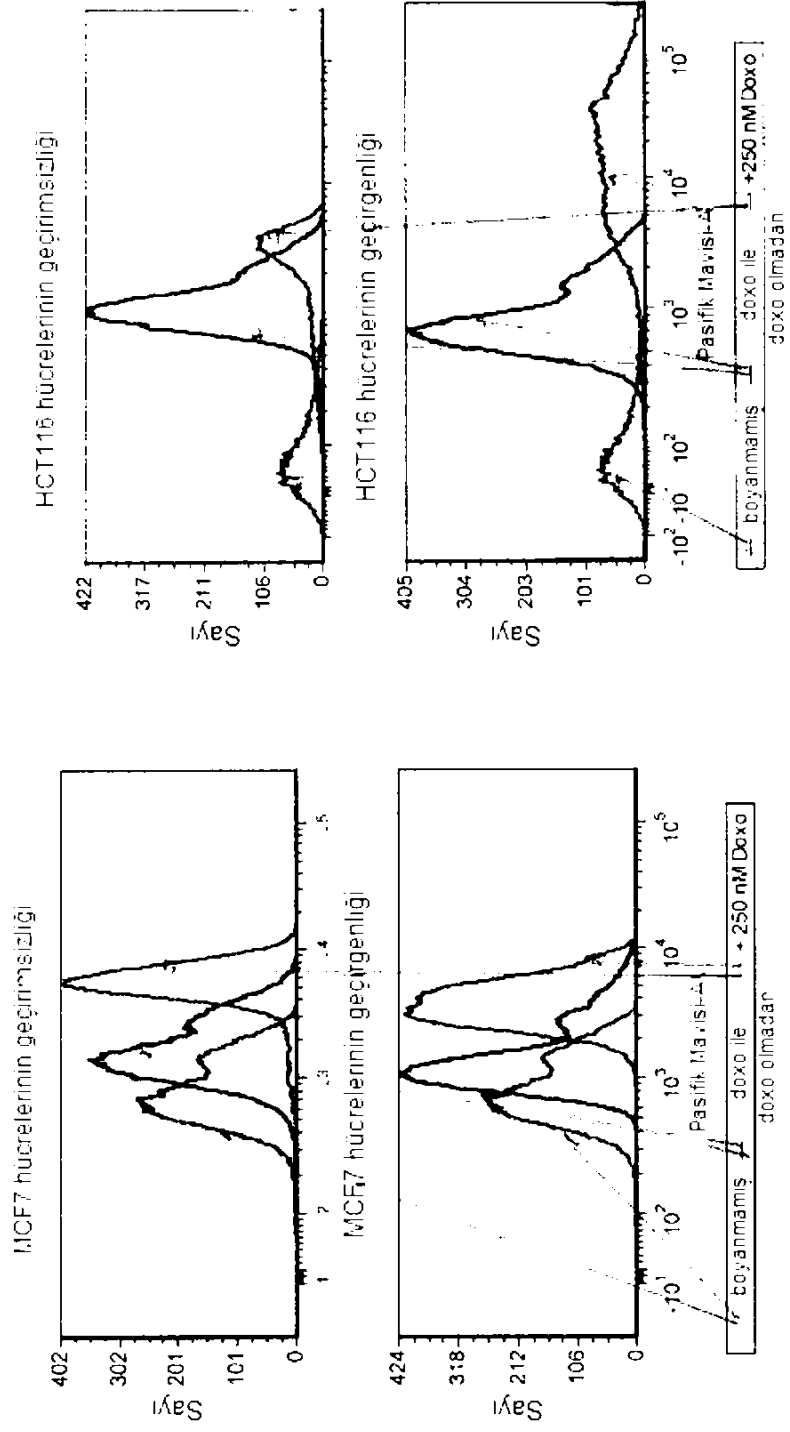


Şekil 2: HCT116 ve MCF7 hücrelerinde β -GAL boyama analizlerinin ışık mikroskopu resimleri



Şekil 3: LysoTracker® ile HCT116 ve MCF7'nin lizozomla boyanması

EP 2 890 981 B1



Şekil 4: HCT116 ve MCF7'deki dansil etiketli aminokinolin için FACS verileri