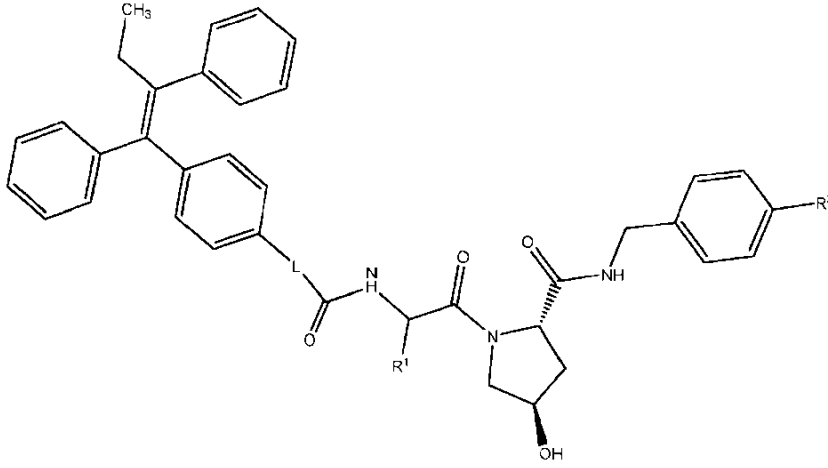


**OZET****YENİ BİLEŞİKLER**

- 5 Bu buluş, formül (I) ile temsil edilen bir bileşik ya da onun farmasötik açıdan kabul edilebilir bir tuzuyla, bahsi geçen bileşikler içeren bileşimler, kombinasyonlar ve ilaçlarla ve bunları hazırlama amacına yönelik proseslerle ilgilidir. Bu buluş, ayrıca, bahsi geçen bileşikler, kombinasyonlar, bileşimler ve ilaçların östrojen reseptörünün aracılık ettiği hastalıkların ve durumların tedavisinde örneğin östrojen reseptörünü bozundurma işlevini de kapayan östrojen reseptörü aktivitesinin inhibitörleri olarak kullanılmasıyla da ilgilidir.
- 10





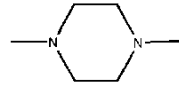
2. İstem 1'e uygun bir bileşik ya da onun farmasötik açıdan kabul edilebilir bir tuzu olup, burada  $R^2$  simgesi 4-metiltiyazol-5-il'dir.

5 3. İstem 1 ya da istem 2'ye uygun bir bileşik ya da onun farmasötik açıdan kabul edilebilir bir tuzu olup, burada bağlayıcı grup formül (ii) ile temsil edilir:



10

burada, her bir  $R^3$  simgesi birbirinden bağımsız olarak -O-, -NH-, -N(CH<sub>3</sub>)- ya da



arasından seçilir

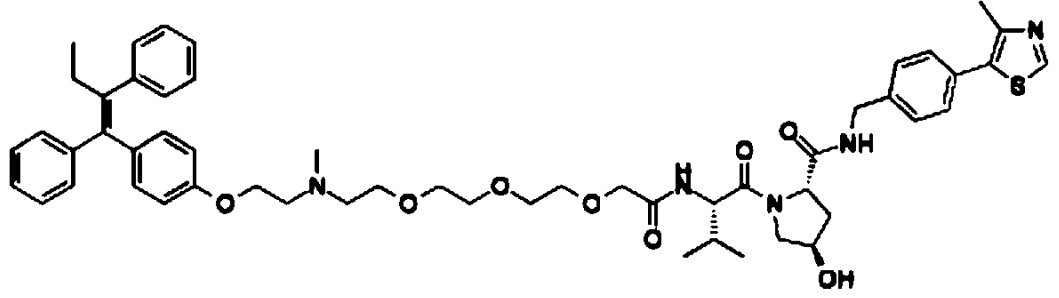
15

ve x simgesi 2-4'tür.

4. İstem 3'e uygun bir bileşik ya da onun farmasötik açıdan kabul edilebilir bir tuzu olup, burada en az bir  $R^3$  simgesi -N(CH<sub>3</sub>)'tür.

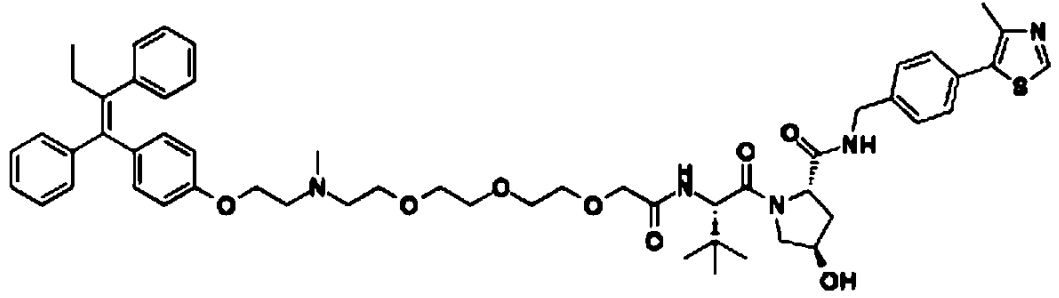
20 5. İstem 1'e uygun bir formül (I) bileşiği olup,  
(2S,4R)-1-((S)-17-(4-((Z)-1,2-Difenilbut-1-en-1-il)fenoksi)-2-izopropil-15-metil-4-okso-6,9,12-trioksa-3,15-diazaheptadekan-1-ol)-4-hidroksi-N-(4-(4-metiltiyazol-5-il)benzil)pirrolidin-2-karboksamid,

25



(2S,4R)-1-((S)-2-(tert-Bütil)-17-(4-((Z)-1,2-difenilbut-1-en-1-il)fenoksi)-15-metil-4-okso-6,9,12-trioksa-3,15-diazaheptadekan-1-ol)-4-hidroksi-N-(4-(4-metiltiyazol-5-il)benzil)pirrolidin-2-karboksamid

5



ve bunların farmasötik açıdan kabul edilebilir tuzlarıdır.

10

6. Terapi yoluyla tedavi yönteminde kullanma amacına yönelik, istem 1 – istem 5'e uygun formül (I) ile temsil edilen bir bileşik ya da onun farmasötik açıdan kabul edilebilir bir tuzu.

15

7. Meme kanseri, uterin kanseri ya da endometriyozun en az birisinin tedavisinde kullanmak için istem 6'ya uygun bir bileşik.

20

8. Meme kanserinin tedavisinde kullanmak için istem 7'ye uygun bir bileşik.

9. İstem 1 – istem 5’e uygun formül (I) ile temsil edilen bir bileşiği ya da onun farmasötik açıdan kabul edilebilir bir tuzunu ve en az bir ilave terapötik ajan içeren bir kombinasyon.
- 5 10. İstem 9’a uygun bir kombinasyon olup, burada en az bir ilave terapötik ajan, en az bir anti-neoplastik ajanı kapsar.
11. Terapi yoluyla tedavi yönteminde kullanma amacına yönelik, istem 9 ya da istem 10’a uygun bir kombinasyon.
- 10 12. Meme kanseri, uterin kanseri ya da endometriyozun en az birisinin tedavisinde kullanmak için istem 11’e uygun bir kombinasyon.
- 15 13. Meme kanserinin tedavisinde kullanmak için istem 12’ye uygun bir kombinasyon.
14. İstem 1 – istem 5’e uygun formül (I) ile temsil edilen bir bileşiği ya da onun farmasötik açıdan kabul edilebilir bir tuzunu ve farmasötik açıdan kabul edilebilir bir veya daha fazla taşıyıcı, seyreltici ve yardımcı madde içeren bir farmasötik bileşim.
- 20 14. İstem 1 – istem 5’e uygun formül (I) ile temsil edilen bir bileşiği ya da onun farmasötik açıdan kabul edilebilir bir tuzunu ve farmasötik açıdan kabul edilebilir bir veya daha fazla taşıyıcı, seyreltici ve yardımcı madde içeren bir farmasötik bileşim.
- 25 15. İstem 9 ya da istem 10’a uygun bir kombinasyon ve farmasötik açıdan kabul edilebilir bir veya daha fazla taşıyıcı, seyreltici ve yardımcı madde içeren farmasötik bileşim.

25316

**TARİFNAME****YENİ BİLEŞİKLER**

5

**BULUŞUN ALANI**

Bu buluş, bileşiklerle, bu bileşikleri içeren bileşimler, kombinasyonlar ve ilaçlarla ve bunları hazırlama amacına yönelik proseslerle ilgilidir.

10 Bu buluş, ayrıca, östrojen reseptörünün aracılık ettiği hastalıkların ve durumların tedavisinde, özellikle de meme kanserinin tedavisinde kullanmak için örneğin östrojen reseptörünü bozundurarak östrojen reseptörü aktivitesinin inhibörleri olarak işlev gören bahsi geçen bileşiklerle, kombinasyonlarla, bileşimlerle ve ilaçlarla ilgilidir.

15

**BULUŞ HAKKINDA ÖN BİLGİ**

Ostrojen reseptörü (ER), nükleer hormon reseptörü ailesinin bir üyesidir ve gen ekspresyonunun yukarı ve aşağı regülasyonunda rol oynayan bir ligandla aktive edilmiş transkripsiyon faktörü olarak işlev görür. Östrojen reseptörü için doğal hormon, B17-estradiol (E2) ve yakın ilişkili metabolitleridir. Estradiolün östrojen reseptörüne bağlanması, reseptörün dimerizasyonuna sebep olur ve dimer de DNA üzerinde östrojen cevabı elementlerine (ERE'ler) bağlanır.

20 ERDNA kompleksi, ERE'den downstream pozisyonda DNA'nın transkripsiyonundan sorumlu olan başka transkripsiyon faktörlerini, nihayetinde proteine dönüştürülen mRNA içine alır. Alternatif olarak,

25

ER'nin DNA'yla etkileşimi, özellikle de fos ve jun gibi başka transkripsiyon faktörleri aracılığıyla dolaylı olabilir. Çok sayıda genin ekspresyonu östrojen reseptörü tarafından regüle edildiğinden dolayı ve östrojen reseptörü birçok hücre tipinde eksprese edildiğinden 5 dolayı, doğal hormonların ya da sentetik ER ligandlarının bağlanması yoluyla östrojen reseptörünün modülasyonu, organizmanın fizyolojisi ve patofizyolojisi üzerinde büyük etkiler yapabilir.

Çeşitli farklı hastalıklar, ER'nin aracılık ettiği etiyolojiye ve/veya patolojiye sahiptir. Bu hastalıklar bir bütün olarak östrojen-bağımlı 10 hastalıklar olarak adlandırılır. Östrojenler kadınlarda cinsel gelişim için kritiktir. Ek olarak, östrojenler, kemik yoğunluğunun korunmasında ve kan lipid seviyelerinin regülasyonunda önemli bir rol oynamakta ve nöroprotektif etkilere sahip gibi gözükmektedirler. Sonuçta, postmenopozal kadınlarda östrojen üretiminin azalması, 15 osteoporoz, ateroskleroz, depresyon ve kognitif bozukluklar gibi bir dizi hastalıkla ilişkilendirilir. Bunun aksine, meme ve rahim kanseri ve endometriyoz gibi bazı proliferatif hastalık tipleri, östrojenler tarafından stimüle edilir ve bundan dolayı, antiöstrojenlerin (yani, östrojen antagonistleri) bu tip bozuklukların önlenmesinde ve 20 tedavisinde faydası vardır.

Genellikle  $\alpha$  ve  $\beta$  olarak anılan ve her biri ayrı bir gen tarafından kodlanan östrojen reseptörünün iki farklı formu (sırasıyla ESR1 ve ESR2) vardır.

25 Her iki ER de farklı doku tiplerinde yaygın olarak eksprese edilir; bununla birlikte, ekspresyon paternlerinde bazı belirgin farklar vardır. ER $\alpha$ , endometriyum, meme kanseri hücreleri, yumurtalık stroma hücreleri ve hipotalamusta bulunur. Erkeklerde, ER $\alpha$  proteini, efferent

kanalların epitelinde bulunur. ER $\beta$  proteini ekspresyonu, böbrek, beyin, kemik, kalp, akciğerler, intestinal mukoza, prostat ve endotelyal hücrelerde belgelenmiştir. Bu nedenle selektif ligandların gelişimi östrojenin faydalı yönlerini koruyabilir.

- 5 Meme Kanseri, tüm dünyada kadınları etkileyen en yaygın malignitedir ve hastalık insidansı artmaktadır. Östrojenler, özellikle, meme kanserlerinin en az üçte biri için endokrin büyüme faktörleri olarak işlev görürler ve tümörü bu uyarandan yoksun bırakmak, ilerlemiş hastalık için kabul görmüş bir tedavi yöntemidir. Bu,
- 10 premenopozal kadınlarda yumurtalık fonksiyonunun cerrahi, radyoterapötik veya medikal yollarla ve postmenopozal kadınlarda aromataz inhibitörlerinin kullanımıyla ablasyonu yoluyla sağlanır. Östrojen çekilmesine alternatif bir yaklaşım, östrojeni antiöstrojenlerle antagonize etmektir. Bunlar, östrojene duyarlı dokuda bulunan
- 15 östrojen reseptörlerine (ER) bağlanan ve onlar için rekabet eden ilaçlardır. Tamoksifen gibi geleneksel nonsteroidal antiöstrojenler, ER bağlanması için etkin bir şekilde rekabet ederler, fakat bunların etkinliği çoğunlukla sergiledikleri kısmi agonizmle sınırlanır, bu da östrojen aracılı aktivitenin tamamlanmamış bir blokaıyla sonuçlanır.
- 20 ER için yüksek afiniteye sahip ve herhangi bir agonist etkisi olmayan spesifik veya "saf" bir antiöstrojen, östrojene bağımlı hastalığın tedavisinde geleneksel nonsteroidal anti östrojenler üzerinde avantajlara sahip olabilir. Fulvestrant, güçlü saf anti östrojenlerin yeni sınıfının ilk örneğidir ve tamoksifen gibi halihazırda mevcut
- 25 antiöstrojenlerle ilişkilendirilen kısmi agonist östrojen benzeri aktivitesinden tamamen arınmış durumdadır.

ER reseptörünü antagonize etmek için başka yaklaşımların

araştırılması arzu edilir.

Bir yaklaşım, transkript veya protein seviyesinde ER ekspresyonunu azaltan selektif ER aşağı regülatörleri veya bozundurucuları geliştirmek olacaktır.

Bir spesifik E3 ubiquitin ligazına bağlanan bir liganda bağlı hedef proteini tanıyan bir ligand içeren proteolizi hedef alan kimerik moleküller de (PROTAC'ler) dahil protein seviyelerinin manipülasyonu için birkaç yöntem vardır. ER'yi ve bir E3 ubiquitin ligazını eşzamanlı olarak bağlayabilen ve ER'nin ubiquitinasyonu hızlandıran ve Proteozom tarafından ER'nin bozundurulmasına yol açan küçük bir moleküle sahip olmak arzu edilir. Uygun bir E3 ubiquitin ligazı, von Hippel-Lindau tümör supresörüdür (VHL). “Cyrus et al., ChemMedChem. 2010; 5(7): 979-985” referansında, östrojen reseptörünü hedef alan PROTAC'lerin tasarımında bağlayıcı lokasyonunun optimize edilmesi tarif edilmektedir. “Burke et al., J. Med. Chem., 2004, 47(5): 1193-1206” referansında, meme kanserini hedef alan doksorubisin-formaldehid konjugatları tarif edilmektedir. “Willson et al., J. Med. Chem., 1994, 37(11): 1550-1552” referansında, bir non-steroidal östrojen tarif edilmektedir. WO 2013/106643 numaralı dokümanda, hedeflenen proteinlerin bir E3 ubiquitin ligaz tarafından bozundurulmasında artış için bileşikler tarif edilmektedir.

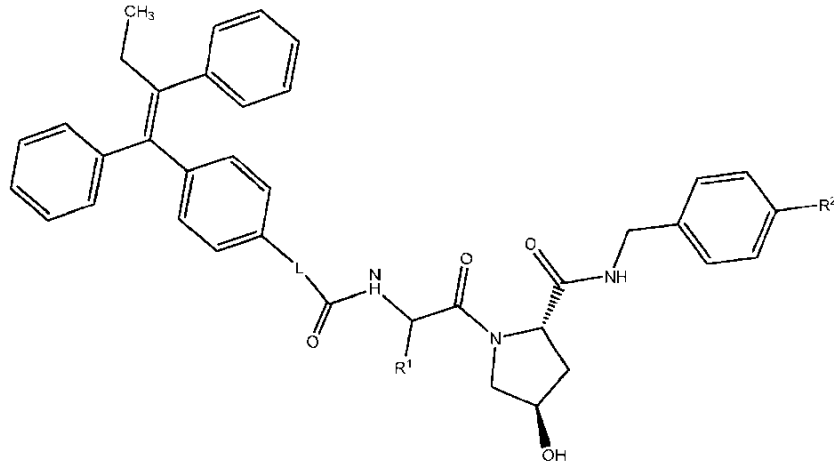
25

Bu buluşun sahipleri, östrojen reseptörünü bozunduran bileşikler de dahil olmak üzere östrojen reseptör fonksiyonunu inhibe edebilen bileşikler tanımlamışlardır.

## **BULUŞUN ÖZETİ**

Bu buluşun bir özelliğinde, formül (I) ile temsil edilen bir bileşik ya da onun farmasötik açıdan kabul edilebilir bir tuzu sunulmaktadır:

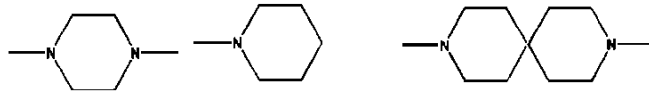
5



Burada;

10 L simgesi bir bağlayıcı gruptur; burada, bağlayıcı grup, 8 ilâ 16 karbon atomundan oluşan bir düz zincirli alkilen grubudur; burada bağlayıcı gruptaki bir veya daha fazla karbon atomu, -O-, -NH-, -N(CH<sub>3</sub>)- ve aşağıda gösterilenler arasından bağımsız şekilde seçilen bir grup üyesiyle ikame edilir:

15



R<sup>1</sup> simgesi düz ya da dallanmış C<sub>1-6</sub>alkil, C<sub>3-6</sub> sikloalkildir;

R<sup>2</sup> simgesi 4-metiltiyazol-5-il, oksazol-5-ildir.

20 Bu buluşun bir ilave özelliğinde, terapide, özellikle de östrojen

reseptörünün aracılık ettiği hastalıkların ve durumların tedavisinde kullanmak için formül (I) ile temsil edilen bir bileşik ya da onun farmasötik açıdan kabul edilebilir bir tuzu sunulmaktadır.

- 5 Bu buluşun bir ilave özelliğinde, formül (I) ile temsil edilen bir bileşik ya da onun farmasötik açıdan kabul edilebilir bir tuzunu ve farmasötik açıdan kabul edilebilir bir veya daha fazla taşıyıcı, seyreltici ve yardımcı madde içeren bir farmasötik bileşim sunulmaktadır.
- 10 Burada genel olarak tarif edildiği gibi, bir denekte östrojen reseptörünün aracılık ettiği hastalıkları ve durumları tedavi etme amacına yönelik olan ve formül (I) ile temsil edilen bileşik ya da onun farmasötik açıdan kabul edilebilir bir tuzunun terapötik açıdan etkin ve etkili miktarını uygulama basamağını kapsayan bir yöntem sunulmaktadır.
- 15

Burada genel olarak tarif edildiği gibi, formül (I) ile temsil edilen bir bileşik ya da onun farmasötik açıdan kabul edilebilir bir tuzunun östrojen reseptörünün aracılık ettiği hastalıkların ve durumların tedavisinde kullanmak için bir ilaç üretim prosesinde kullanımı sunulmaktadır.

20

Bu buluşun bir ilave özelliğinde, formül (I) ile temsil edilen bir bileşiği ya da onun farmasötik açıdan kabul edilebilir bir tuzunu ve en az bir ilave terapötik ajan içeren bir kombinasyon sunulmaktadır.

25

Bu buluşun bir ilave özelliğinde, terapide, özellikle de östrojen reseptörünün aracılık ettiği hastalıkların ve durumların tedavisinde

kullanmak için formül (I) ile temsil edilen bir bileşiği ya da onun farmasötik açıdan kabul edilebilir bir tuzunu ve en az bir ilave terapötik ajan içeren bir kombinasyon sunulmaktadır.

- 5 Bu buluşun bir ilave özelliğinde, östrojen reseptörünün aracılık ettiği hastalıkların ve durumların tedavisinde kullanmak için formül (I) ile temsil edilen bileşiği ya da onun farmasötik açıdan kabul edilebilir bir tuzunu ve en az bir ilave terapötik ajan içeren bir kombinasyon sunulmaktadır.
- 10 Burada genel olarak tarif edildiği gibi, östrojen reseptörünün aracılık ettiği hastalıkların ve durumların tedavisinde kullanma amacına yönelik olan ve ihtiyacı olan bir insana, formül (I) ile temsil edilen bileşiği ya da onun farmasötik açıdan kabul edilebilir bir tuzunu ve en az bir ilave terapötik ajan içeren bir kombinasyonun terapötik açıdan
- 15 etkin ve etkili bir miktarını uygulama basamağını kapsayan bir yöntem sunulmaktadır.

Burada genel olarak tarif edildiği gibi, östrojen reseptörünün aracılık ettiği hastalıkların ve durumların tedavisi için bir ilaç üretim prosesinde formül (I) ile temsil edilen bir bileşiği ya da onun farmasötik açıdan kabul edilebilir bir tuzunu ve en az bir ilave terapötik ajan içeren bir kombinasyonun kullanımı sunulmaktadır.

Bu buluşun bir ilave özelliğinde, formül (I) ile temsil edilen bir bileşiği ya da onun farmasötik açıdan kabul edilebilir bir tuzunu ve en az bir anti-neoplastik ajan içeren bir kombinasyon sunulmaktadır.

Bu buluşun bir ilave özelliğinde, östrojen reseptörünün aracılık ettiği hastalıklar ve durumlar için uygulananlar başta olmak üzere terapide

kullanmak için formül (I) ile temsil edilen bir bileşiği ya da onun farmasötik açıdan kabul edilebilir bir tuzunu ve en az bir anti-neoplastik ajan içeren bir kombinasyon sunulmaktadır.

- 5 Bu buluşun bir ilave özelliğinde, östrojen reseptörünün aracılık ettiği hastalıklar ve durumların tedavisinde kullanmak için formül (I) ile temsil edilen bir bileşiği ya da onun farmasötik açıdan kabul edilebilir bir tuzunu ve en az bir anti-neoplastik ajan içeren bir kombinasyon sunulmaktadır.
- 10 Burada genel olarak tarif edildiği gibi, östrojen reseptörünün aracılık ettiği hastalıkların ve durumların tedavisi için bir ilaç üretim prosesinde, formül (I) ile temsil edilen bir bileşiği ya da onun farmasötik açıdan kabul edilebilir bir tuzunu ve en az bir anti-neoplastik ajan içeren bir kombinasyonun kullanımı sunulmaktadır.
- 15 Burada genel olarak tarif edildiği gibi, östrojen reseptörünün aracılık ettiği hastalıkları ve durumları tedavi etme amacına yönelik olan ve ihtiyacı olan bir insana, formül (I) ile temsil edilen bir bileşiği ya da onun farmasötik açıdan kabul edilebilir bir tuzunu ve en az bir anti-neoplastik ajan içeren bir kombinasyonun terapötik açıdan etkin ve
- 20 etkili bir miktarını uygulama basamağını kapsayan bir yöntem sunulmaktadır.

Bu buluşun bir ilave özelliğinde, formül (I) ile temsil edilen bir bileşiği ya da onun farmasötik açıdan kabul edilebilir bir tuzunu ve en az bir ilave terapötik ajan, özellikle en az bir anti-neoplastik ajan ve farmasötik açıdan kabul edilebilir taşıyıcı, seyreltici ve yardımcı maddenin biri veya daha fazlasını içeren bir kombinasyonu kapsayan bir farmasötik bileşim sunulmaktadır.

Burada genel olarak tarif edildiği gibi, östrojen reseptörünü bozundurma amacına yönelik olan ve ihtiyacı olan bir insana, formül (I) ile temsil edilen bileşiğin ya da onun farmasötik açıdan kabul edilebilir bir tuzunun terapötik açıdan etkin ve etkili bir miktarını uygulama basamağını kapsayan bir yöntem sunulmaktadır.

### **BULUŞUN DETAYLI TANIMI**

Bu dokümanda kullanıldığı anlamıyla, "bu buluşa konu olan bir bileşik", formül (I) ile temsil edilen bileşiklerin ve onların tuzlarının tüm solvatları, kompleksleri, polimorfları, radyo-etiketli türevleri, stereoizomerleri ve optik izomerlerini kapsar.

Bu dokümanda kullanıldığı anlamıyla "halo" terimi floro (-F), kloro (-Cl), bromo (-Br) ya da iyodo (-I) anlamına gelmektedir.

Bu dokümanda kullanıldığı anlamıyla, "etkin ve etkili miktar" terimi, örneğin bir araştırmacı ya da klinisyen tarafından araştırılan bir doku, sistem, hayvan ya da insanın biyolojik veya tıbbi cevabını gösteren bir ilaç ya da farmasötik ajan miktarı anlamına gelir. Ek olarak, "terapötik açıdan etkin ve etkili miktar" terimi, bu miktarı almamış olan bir mütakabil deneğe kıyasla bir hastalığın, bozukluğun ya da yan etkinin tedavisi, iyileşmesi, önlenmesi ya da hafiflemesinde artış ya da bir hastalık veya bozukluğun ilerleme hızında azalma sağlayan herhangi bir miktar anlamına gelir. Normal fizyolojik fonksiyonu arttırmak için etkin ve etkili miktarlar da bu terimin kapsamı dahilinde yer alır.

Bu dokümanda kullanıldığı anlamıyla, "farmasötik açıdan kabul

edilebilir" terimi, sağlam tıbbi muhakeme kapsamında, makul fayda/risk oranıyla orantılı olarak, aşırı toksisite, iritasyon ya da başka problem veya komplikasyon olmadan insanların ve hayvanların dokularıyla temas halinde kullanmak için uygun bileşikler, malzemeler, bileşimler ve dozaj formlarıyla ilgilidir.

Bu buluşa konu olan bileşikler, katı veya sıvı formda mevcut olabilirler. Katı formda, bu buluşa konu olan bileşik, tamamen amorf'tan tamamen kristaline kadar değişen bir katı hal sürecinde mevcut olabilir. 'Amorf' terimi, malzemenin moleküler seviyede uzun erimli düzen sahip olmadığı ve sıcaklığa bağlı olarak bir katı veya bir sıvının fiziksel özelliklerini sergileyebildiği bir duruma karşılık gelir. Normalde, bu malzemeler ayırt edici X-ışını difraksiyon paternleri vermezler ve bir katı maddenin özelliklerini sergilerken, daha formal şekilde bir sıvı olarak tarif edilirler. Isıtma işleminden sonra, tipik olarak ikinci sıra ('camsı geçiş') bir durum değişikliği ile karakterize edilen katıdan sıvı özelliklerine doğru bir değişim meydana gelir. 'Kristalin' terimi, malzemenin moleküler seviyede düzenli sıralı bir iç yapıya sahip olduğu ve tanımlanmış piklerle bir ayırt edici X-ışını difraksiyon paterni verdiği bir katı faza atıf yapmaktadır. Bu tür malzemeler yeterince ısıtıldığında, bir sıvının özelliklerini de gösterecektir, fakat katıdan sıvıya geçiş, tipik olarak birinci sıra ('erime noktası') bir faz değişimi ile karakterize edilir.

The formül (I) ile temsil edilen bileşik, solvatlı ve solvatlanmamış formlarda mevcut olabilir. Bu dokümanda kullanıldığı anlamıyla, "solvat" terimi, bir solüt (bu buluşta, formül (I) ile temsil edilen bir bileşik ya da onun bir tuzu) ile bir çözücü arasında oluşturulmuş bir değişken stoikiometri kompleksi anlamına gelir. Bu buluşun amacı

doğrultusunda, bu çözücüler, solütün biyolojik aktivitesine müdahale etmeyebilir. Sektörde bilgi ve beceri sahibi kişiler, kristalizasyon esnasında çözücü moleküllerinin kristalin kafese dahil edildiği kristalin bileşikler için farmasötik açıdan kabul edilebilir solvatların oluşturulabileceğini anlayacaklardır. Dahil edilen çözücü molekülleri, su molekülleri ya da örneğin etanol, izopropanol, DMSO, asetik asit, etanolamin ve etil asetat molekülleri gibi aköz olmayan moleküller olabilir. Su moleküllerinin dahil edildiği kristalin kafes, normalde "hidratlar" olarak anılmaktadır. Hidratlar, stoikiometrik hidratları ve değişen miktarlarda su içeren bileşimleri kapsarlar. Bu buluş, bu tür solvatların hepsini kapsar.

Bu buluşa konu olan bileşikler, polimorfizm olarak bilinen bir özellik olan birden fazla formda kristalize olma kabiliyetine sahip olabilirler ve bu polimorfik formların ("polimorflar") bu buluşun kapsamında olduğu anlaşılmaktadır. Polimorfizm genellikle sıcaklıkta veya basınçta ya da her ikisinde değişikliklere bir cevap olarak ortaya çıkabilir ve ayrıca, kristalizasyon prosesinde varyasyonlardan kaynaklanabilir. Polimorflar, x-ışını difraksiyon paternleri, çözünürlük ve erime noktası gibi teknikte bilinen çeşitli fiziksel özelliklerle ayırt edilebilir.

Formül (I) ile temsil edilen bileşiklerin tautomerler oluşturabileceği de not edilmektedir. Bu buluşa konu olan bileşiklerin tautomerleri ve tautomer karışımlarının hepsinin bu buluşa konu olan bileşiklerin kapsamına dahil olduğu anlaşılmaktadır.

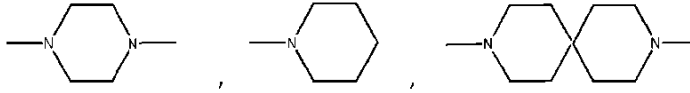
Bu dokümanda kullanıldığı anlamıyla, "östrojen reseptörü inhibitörü"

terimi ya da "inhibitör" terimi, östrojen reseptörünün ekspresyonunu veya aktivitesini inhibe edebilen ya da azaltabilen herhangi bir bileşik ya da tedaviye atıf yapmaktadır. İnhibitör tercihen selektiftir.

5 Bu buluşun bir özelliğinde,  $R^2$  simgesi 4-metiltiyazol-5-il, oksazol-5-ildir.

Bu buluşun bir özelliğinde,  $R^2$  simgesi 4-metiltiyazol-5-ildir;

Bağlayıcı grup, 8 ilâ 16 karbon atomundan oluşan bir düz zincirli alkilen grubudur; burada bir veya daha fazla karbon atomu, her biri -O-, -NH-, -N(CH<sub>3</sub>)- arasından bağımsız şekilde seçilen bir grupla  
10 ikame edilir:

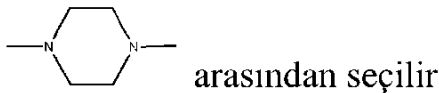


15 Bu buluşun bir özelliğinde, bağlayıcı grup, formula (ii) ile temsil edilir:



burada, her bir  $R^3$  simgesi birbirinden bağımsız olarak -O-, -NH-, -N(CH<sub>3</sub>)- ya da

20



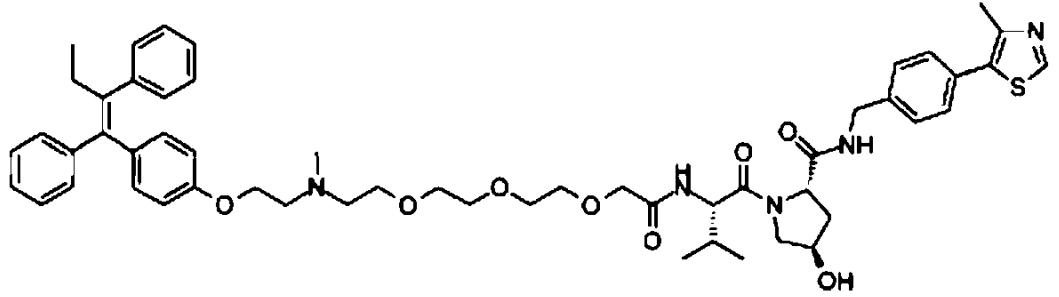
ve x simgesi 2-4'tür; bu buluşun bir özelliğinde, en az bir  $R^3$  simgesi N(CH<sub>3</sub>)'tür.

25 Her değişken için özellikler genellikle her bir değişken için ayrı ayrı yukarıda listelenmiş olmakla birlikte, bu buluş, formül (I)'de birkaç ya

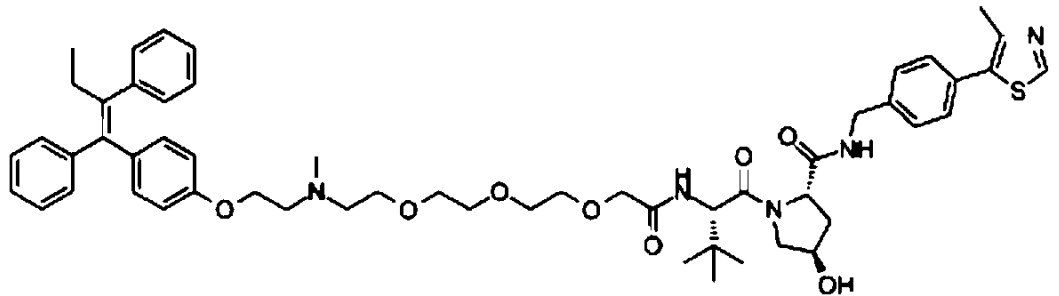
da her bir özelliğin yukarıda listelenen özelliklerin her birinden seçildiği bileşikler kapsamaktadır. Bu nedenle, bu buluş her değişken için tüm özellik kombinasyonlarını içermeyi amaçlamaktadır.

- 5 Bu buluşa konu olan bileşiklere örnek olarak aşağıda açıklananlar gösterilebilir:

- 10 **(2S,4R)-1-((S)-17-(4-((Z)-1,2-Difenilbüt-1-en-1-il)fenoksi)-2-izopropil-15-metil-4-okso-6,9,12-trioksa-3,15-diazaheptadekan-1-ol)-4-hidroksi-N-(4-(4-metiltiyazol-5-il)benzil)pirrolidin-2-karboksamid**



- 15 **(2S,4R)-1-((S)-2-(tert-Bütül)-17-(4-((Z)-1,2-difenilbüt-1-en-1-il)fenoksi)-15-metil-4-okso-6,9,12-trioksa-3,15-diazaheptadekan-1-ol)-4-hidroksi-N-(4-(4-metiltiyazol-5-il)benzil)pirrolidin-2-karboksamid**



Formül (I) ile temsil edilen bileşikler, bir tuz formunda olabilir. Normalde bu buluşa konu olan tuzlar, farmasötik açıdan kabul edilebilir tuzlardır. "Farmasötik açıdan kabul edilebilir tuzlar" terimi 5 kapsamına dahil edilen tuzlar, bu buluşa konu olan bileşiklerin toksik olmayan tuzlarına atıf yapmaktadır. Uygun tuzlara ilişkin bir açıklama için bakınız "Berge et al, J. Pharm. Sci. 1977, 66, 1-19".

Uygun farmasötik açıdan kabul edilebilir tuzlar, asit ilaveli tuzları 10 kapsayabilir. Farmasötik açıdan kabul edilebilir bir asit ilaveli tuz, isteğe bağlı olarak örneğin bir organik çözücü gibi uygun bir çözücü içinde formül (I) ile temsil edilen bir bileşiğin uygun bir inorganik veya organik asitle (örneğin, hidrobromik, hidroklorik, sülfürik, nitrik, fosforik, p-toluensülfonik, benzensülfonik, metansülfonik, 15 etansülfonik, naftalensülfonik, örneğin 2-naftalensülfonik) reaksiyonu yoluyla genellikle örneğin kristalizasyonla ve filtrasyonla izole edilen tuz elde edilerek oluşturulabilir. Formül (I) ile temsil edilen bir bileşiğin farmasötik açıdan kabul edilebilir bir asit ilaveli tuzu örneğin bir hidrobromür, hidroklorür, sülfat, nitrat, fosfat, p-toluensülfonat, 20 benzensülfonat, metansülfonat, etansülfonat, naftalensülfonat (örneğin, 2-naftalensülfonat) tuzu olabilir ya da içerebilir.

Farmasötik açıdan kabul edilebilir olmayan başka tuzlar, örneğin 25 trifloroasetatlar, örneğin bu buluşa konu olan bileşiklerin izolasyonunda kullanılabilir ve bu buluşun kapsamına dahil edilir.

Bu buluşun kapsamında, formül (I) ile temsil edilen bileşiklerin olası tüm stoikiometrik ve non-stoikiometrik formları bulunur.

Terapi yöntemlerinde, bu buluşa konu olan bileşiği ham kimyasal madde olarak kullanabilmek mümkün olduğu kadar, etkin maddeyi bir farmasötik bileşim olarak sunmak da mümkündür. Bu doğrultuda, bu buluş, ek olarak, bu buluşa konu olan bir bileşiği ve farmasötik açıdan kabul edilebilir bir veya daha fazla taşıyıcı, seyreltici ya da yardımcı madde içeren farmasötik bileşimler de sunmaktadır. Taşıyıcı(lar), seyreltici(ler) ya da yardımcı madde(ler), bileşimin diğer bileşenleriyle geçimli olması açısından ve bileşimin uygulanacağı kişi için zararlı olmaması açısından kabul edilebilir nitelikte olmalıdır. Bu buluşun başka bir özelliğine göre, farmasötik açıdan kabul edilebilir bir veya daha fazla taşıyıcı, seyreltici ya da yardımcı maddeyle birlikte ajanı ya da onun farmasötik açıdan kabul edilebilir tuzlarını içeren bir farmasötik bileşimi hazırlama amacına yönelik bir proses de sunulmaktadır. Farmasötik bileşim, burada tarif edilen durumların herhangi birisinin tedavisinde ve/veya profilaksisinde kullanma amacına yönelik olabilir.

Farmasötik bileşimler, beher birim dozda önceden tayin edilmiş bir miktarda etkin madde içeren birim doz formları halinde sunulabilir. Tercih edilen birim dozaj bileşimleri, bir etkin maddenin bir günlük dozunu ya da alt-dozunu ya da bunların uygun bir fraksiyonunu içeren birim dozaj bileşimleridir. Bundan dolayı, bu birim dozlar günde bir defa ya da birden fazla defa uygulanabilir. Bu farmasötik bileşimler, eczacılık sektöründe iyi bilinen yöntemlerin herhangi birisiyle hazırlanabilir.

Farmasötik bileşimler, uygun herhangi bir yolla, örneğin oral (bukkal

ya da sublingual dahil), rektal, inhale, intranazal, topikal (bukkal, sublingual ya da transdermal dahil), vajinal ya da parenteral (subkutan, intramusküler, intravenöz ya da intradermal dahil) yolla uygulamaya adapte edilebilir. Bu bileşimler, eczacılık sektöründe bilinen herhangi bir yöntemle, örneğin etkin maddenin taşıyıcı(lar) ya da yardımcı madde(ler)le birleştirilmesi suretiyle hazırlanabilir.

Oral uygulamaya göre adapte edilen farmasötik bileşimler ayrı birimler halinde, örneğin ayrı kapsüller veya tabletler; tozlar veya granüller; aköz olan veya olmayan sıvılar içerisindeki çözeltiler veya süspansiyonlar; yenilebilir köpükler veya köpük gıdalar ya da su içinde yağ formunda sıvı emülsiyonlar veya yağ içinde su formunda sıvı emülsiyonlar olarak sunulabilirler.

Dolayısıyla, örneğin bir tablet veya kapsül formunda oral uygulama yapılacaksa, etkin bileşen komponenti örneğin etanol, gliserol, su ve benzeri gibi toksik olmayan farmasötik açıdan kabul edilebilir bir oral inert taşıyıcı maddeyle kombine edilebilir. Tozlar, bileşiğin uygun ince ebatlarda ufalanması ve benzer şekilde hazırlanmış olan bir farmasötik taşıyıcı maddeyle, örneğin nişasta veya mannitol gibi bir yenilebilir karbonhidratla karıştırılması yoluyla hazırlanırlar. Bileşime aroma, koruyucu, dağıtıcı ve/veya renklendirici de katılabilir.

Kapsüller, yukarıda açıklandığı gibi bir toz karışımının hazırlanması ve hazırlanan karışımın oluşturulan jelatin kılıfların içerisine doldurulması yoluyla üretilirler. Doldurma işlemi yapılmadan önce toz karışımına kolloidal silika, talk, magnezyum stearat, kalsiyum stearat veya katı polietilen glikol gibi glidantlar ve kayganlaştırıcılar da

eklenebilir. Kapsül yutulduğunda içeriğindeki ilacın ulaşılabilirliğini arttırmak amacıyla agar-agar, kalsiyum karbonat veya sodyum karbonat gibi bir dağıtıcı veya çözünürleştirici ajan da ilave edilebilir.

- 5 Bunların yanı sıra, istenirse veya gerekli görülürse, karışıma uygun bağlayıcılar, glidantlar, kayganlaştırıcılar, tatlandırma ajanları, aromalar, dağıtıcı ajanlar ve renklendirici ajanlar da katılabilir. Uygun bağlayıcılar arasında nişasta, jelatin, doğal şekerler, örneğin glukoz veya beta-laktoz, mısır tatlandırıcıları, doğal ve sentetik zamklar,
- 10 örneğin akasya, tragakant veya sodyum alginat, karboksimetilselüloz, polietilen glikol, mumlar ve benzerleri bulunur. Bu dozaj formlarında kullanılan kayganlaştırıcılar arasında sodyum oleat, sodyum stearat, magnezyum stearat, sodyum benzoat, sodyum asetat, sodyum klorür ve benzeri bulunur. Dağıtıcılar arasında, sadece bunlarla sınırlı
- 15 kalmaksızın, nişasta, metil selüloz, agar, bentonit, ksantan zankı ve benzeri sayılabilir. Tabletler, örneğin bir toz karışımının hazırlanması, granüle edilmesi veya kuru preslenmesi, bir kaydırıcı ve dağıtıcı ilave edilmesi ve tabletler halinde basılması suretiyle formüle edilir. Bir toz
- 20 karışımı, uygun şekilde parçalanmış bileşiğin yukarıda açıklandığı gibi bir seyrelticiyle ya da bazla ve isteğe göre, karboksimetilselüloz, bir aljinat, jelatin ya da polivinil pirrolidon gibi bir bağlayıcıyla, parafin gibi bir çözünme geciktiriciyle, bir kuaterner tuz gibi bir resorpsiyon hızlandırıcıyla ve/veya bentonit, kaolin veya dikalsiyum fosfat gibi bir absorpsiyon ajanıyla karıştırılması suretiyle hazırlanır.
- 25 Toz karışımı, örneğin şurup, nişasta pastası, akasya müsilağı ya da selülozik veya polimerik malzeme çözeltileri gibi bir bağlayıcıyla ıslatılarak ve bir elekten geçirilerek granüle edilebilir. Granülasyon prosesine bir alternatif olarak, toz karışımı, tablet makinesinden

geçirilebilir ve sonuçta, kusurlu oluşan kütleler granüllere ayrılır. Tablet şekillendirme kalıplarına yapışmayı önlemek amacıyla, stearik asit, bir stearat tuzu, talk ya da madeni yağ ilave edilerek granüller kayganlaştırılabilir. Kayganlaştırılan karışım, daha sonra, tabletler  
5 halinde sıkıştırılır. Bu buluşa konu olan bileşikler, bir serbest akışlı inert taşıyıcıyla da kombine edilebilir ve granülasyon ya da kuru presleme basamaklarına tâbi tutulmadan doğrudan doğruya tabletler halinde sıkıştırılabilir. Şellak sızdırmazlık katmanından oluşan bir berrak ya da opak koruyucu kaplama, bir şeker ya da polimerik  
10 malzeme kaplaması ve bir mum parlatma kaplaması da sunulabilir. Farklı birim dozajları ayırt etmek için bu kaplamalara boyar maddeler ilave edilebilir.

Çözeltiler, şuruplar ve eliksirler gibi oral sıvılar, verilen miktar  
15 önceden tayin edilen miktarda bileşik içerecek şekilde dozaj birimi formunda hazırlanabilir. Şuruplar, bileşiğin uygun aromalı aköz çözelti içinde çözündürülmesi suretiyle hazırlanabilir; eliksirler ise toksik olmayan alkollü vehikül kullanılarak hazırlanır. Süspansiyonlar, bileşiğin bir toksik olmayan vehikül içinde disperse  
20 edilmesi suretiyle formüle edilebilir. Etoksillenmiş izostearil alkoller ve polioksi etilen sorbitol eterler gibi çözünürleştiriciler ve emülsifiye ediciler, koruyucular, örneğin nane yağı veya doğal tatlandırıcılar ya da sakarin veya başka yapay tatlandırıcılar gibi aroma katkı maddeleri ve benzerleri de ilave edilebilir.

25

Uygun olması halinde, oral uygulama için dozaj birimi bileşimleri, mikrokapsüllenebilir. Salımı uzatmak ya da sürdürmek amacıyla örneğin partikül malzemenin polimerler, mum ve benzeriyle

kaplanması ya da onların içine gömülmesi suretiyle de bileşim hazırlanabilir.

5 Bu buluşa konu olan bileşikler, örneğin küçük unilamellar veziküller, büyük unilamellar veziküller ve multilamellar veziküller gibi lipozom uygulama sistemleri formunda da uygulanabilir. Lipozomlar, kolesterol, stearilamin ya da fosfatidilkolinler gibi çeşitli farklı fosfolipidlerden oluşturulabilir.

10 Transdermal yoldan uygulanmak üzere uyarlanmış farmasötik bileşimler, hastanın epidermiyle uzun süreli ve yakın temas içinde kalması hedeflenen bağımsız plasterler olarak uygulanmak suretiyle verilebilirler.

15 Topikal uygulamaya adapte edilmiş farmasötik bileşimler, merhemler, kremler, süspansiyonlar, losyonlar, tozlar, çözeltiler, macunlar, jeller, spreyler, aerosoller ya da yağlar formunda formüle edilebilirler.

20 Göz tedavileri ya da ağız ve cilt gibi başka harici dokuların tedavileri için bileşimler tercihen bir topikal merhem ya da krem olarak uygulanır. Bir merhem formunda formüle edildiğinde, etkin madde, parafinik ya da bir suyla-karışabilen merhem bazlı uygulanabilir. Alternatif olarak, etkin madde, bir su-içinde-yağ krem bazlı ya da bir yağ-içinde-su bazlı bir kremde de formüle edilebilir.

25

Göze topikal uygulamalara adapte edilmiş farmasötik bileşimler arasında etkin maddenin uygun bir taşıyıcı içinde, özellikle bir aköz çözücü içinde çözüldürüldüğü ya da süspanse edildiği göz damlaları

vardır.

Ağızda yönelik topikal uygulamaya göre adapte edilen farmsötik bileşimler arasında, lozanjlar, pastiller ve ağız gargaraları bulunur.

5

Rektal uygulamaya göre adapte edilen farmasötik bileşimler, supozituar veya lavman formunda uygulanabilirler.

10 Nazal ya da inhale uygulama için dozaj formları, aerosoller, çözeltiler, süspansiyonlar, damlalar, jeller ya da kuru tozlar formunda uygun şekilde formüle edilebilir.

15 Vajinal uygulamaya göre adapte edilen farmasötik bileşimler, peser, tampon, krem, jel, macun, köpük veya sprey formülasyonları olarak uygulanabilirler.

Parenteral uygulamaya göre adapte edilen farmasötik bileşimler arasında, antioksidanlar, tamponlar, bakteriyostatlar ve solütler ihtiva edebilen ve bileşimin tedavi edilecek alıcının kanıyla izotonik hale gelmesini sağlayan aköz olan ve olmayan steril enjeksiyonluk çözeltiler ve süspansiyon vasatları ve kıvamlaştırıcılar ihtiva edebilecek olan aköz olan ve olmayan steril süspansiyonlar bulunur. Bileşimler tek doz veya çok doz kaplarında, örneğin sızdırmaz kapatılmış ampuller ve flakonlarda sunulabilir ve dondurularak 20 kurutulmuş (liyofilize) bir halde saklanabilirler ve bu durumda, kullanmadan hemen önce bileşimlere yalnızca örneğin enjeksiyonluk su gibi steril sıvı taşıyıcının ilave edilmesi gerekir. Ekstemporane enjeksiyon çözeltileri ve süspansiyonlar; steril tozlar, granüller ve 25

tabletlerden hazırlanabilir.

Bileşimlerde, özellikle yukarıda bahsi geçen bileşenlere ek olarak, söz konusu formülasyon tipiyle ilgili olarak sektörde geleneksel olarak kullanılan başka ajanlar da bulunabileceği anlaşılmalıdır; dolayısıyla 5 örneğin oral uygulamaya uygun bileşimlerde aroma ajanları da bulunabilir.

Ajanın terapötik açıdan etkin ve etkili bir miktarı, aralarında örneğin 10 deneğin yaşı ve kilosu, tedavi edilmesi hedeflenen hastalık ve bu hastalığın şiddeti, kullanılan formülasyonun niteliği ve uygulama yolunun da bulunduğu pek çok faktöre bağlıdır ve nihai olarak, uygulamayı yürüten doktor veya veteriner hekim tarafından tayin edilir. Daha somut ifade etmek gerekirse, tedavi edilecek denek, bir 15 memeli, özellikle bir insandır.

Ajan, günlük dozda uygulanabilir. Bu miktar günlük tek doz olarak verilebileceği gibi, toplam günlük doz aynı olacak şekilde günlük birçok (örneğin iki, üç, dört, beş ya da altı) alt-doz halinde de 20 verilebilir.

Bu buluşa göre uygulanan buluş konusu bileşiğin miktarının günde 0,01 mg ile 1 g aralığından seçilen bir miktar (serbest veya tuzsuz bileşik olarak hesaplanmıştır) olması uygun olacaktır.

25

Bu buluşta açıklanan bileşiklerin veya onların farmasötik açıdan kabul edilebilir bir tuzunun ya da onları içeren farmasötik bileşimlerin östrojen reseptörünü bozundurabildiğini tespit ettik.

Bu doğrultuda, bu buluşa konu olan bileşiklerin tek başına ya da kısmen östrojen reseptörünün aracılık ettiği hastalıkların veya tıbbi durumların tedavisinde potansiyel olarak faydalı ajanlar olmaları  
5 beklenmektedir.

Ostrojen reseptörünün aracılık ettiği hastalıkların, bozuklukların ve durumların tedavisine veya önlenmesine yönelik yöntemler de burada genel olarak tarif edilmektedir. Bir yöntem, bir deneğe, örneğin  
10 ihtiyacı olan bir deneğe, bu buluşa konu olan bir bileşiğin terapötik açıdan etkin ve etkili bir miktarını uygulamayı kapsayabilir.

Sonuçta, bu buluşun bir özelliğinde, terapide kullanmak için bu buluşa konu olan bir bileşik sunulmaktadır.

15

Sonuçta, bu buluşun bir özelliğinde, östrojen reseptörünün aracılık ettiği hastalıklar, bozukluklar ya da durumların tedavisinde kullanmak için bu buluşa konu olan bir bileşik sunulmaktadır. Burada genel olarak tarif edildiği gibi, östrojen reseptörünün aracılık ettiği  
20 hastalıklar, bozukluklar ya da durumların tedavisi için bir ilaç üretim prosesinde bu buluşa konu olan bir bileşiğin kullanımı sunulmaktadır. Burada genel olarak tarif edildiği gibi, bir memelide östrojen reseptörünün aracılık ettiği hastalıklar, bozukluklar ya da durumların tedavisine yönelik olan ve bu buluşa konu olan bir bileşiğin terapötik  
25 açıdan etkin ve etkili miktarını uygulama basamağını kapsayan bir yöntem sunulmaktadır.

Bu buluşa konu olan bileşik, östrojen reseptörüyle ilişkili durumların

tedavisinde kullanışlı ve faydalıdır. Bu dokümanda kullanıldığı anlamıyla, bir "östrojen reseptörüyle ilişkili durum", bir denekte bir östrojen reseptörünün fonksiyonunu veya aktivitesini modüle etmek suretiyle tedavi edilebilecek bir durum ya da bozukluk anlamına gelmektedir; burada, tedavi, durumun ya da bozukluğun önlenmesi, kısmen hafifletilmesi ya da iyileştirilmesini kapsar. Modülasyon, örneğin, deneğin belirli dokularında lokal olarak veya böyle bir durum veya bozukluk için tedavi edilen bir deneğin tüm vücudunda daha yaygın olarak meydana gelebilir.

10

Bu buluşun bir özelliğinde, östrojen aracılık hastalık ya da durum, meme kanseridir.

Bu buluşa konu olan bileşikler, bir veya daha fazla başka terapötik ajanla kombinasyon halinde kullanılabilir ya da onları kapsayabilir ve ayrı ya da kombine farmasötik bileşimler içinde uygun herhangi bir yolla sırayla ya da eşzamanlı uygulanabilir.

Bu buluşa konu olan ilave terapötik ajanların terapötik açıdan etkin ve etkili miktarı örneğin memelinin yaşı ve kilosu, tedavi edilmesi gereken hastalık, bu hastalığın şiddeti, kullanılan formülasyonun niteliği ve uygulama yolunu da kapsayan pek çok faktöre bağlıdır. Nihai olarak, terapötik açıdan etkin ve etkili miktar, uygulamayı yürüten doktor veya veteriner hekim tarafından tayin edilir. İstenen kombine terapötik etkiyi elde etmek için uygulamanın nispi zamanları seçilecektir.

25

Bu buluşa konu olan bileşikler ve ilave terapötik ajan(lar), her iki

bileşigi de kapsayan bir üniter farmasötik bileşim içinde eşzamanlı uygulama yoluyla kombinasyon halinde verilebilirler. Alternatif olarak, kombinasyon, her biri sıralı bir biçimde bileşiklerden birini içeren ayrı farmasötik bileşimler içerisinde ayrı ayrı uygulanabilir; 5 burada, örneğin, bu buluşa konu olan bileşik birinci sırada, diğeri ikinci sırada uygulanır ya da bunun tam tersi de mümkündür. Bu sıralı uygulama birbirine yakın zamanda (örneğin, aynı anda) veya birbirine uzak zamanda olabilir. Ek olarak, bileşiklerin aynı dozaj formunda uygulanıp uygulanmaması da önemli değildir; örneğin, bir bileşik 10 topikal olarak uygulanabilirken, diğeri bileşik oral olarak uygulanabilir. Her iki bileşimin oral yoldan uygulanması uygundur.

Kombinasyonlar, bir kombinasyon kiti olarak sunulabilir. "Kombinasyon kiti" ya da "parça kiti", bu dokümanda kullanıldığı 15 anlamıyla, bu buluşa göre kombinasyonu uygulamak için kullanılan farmasötik bileşim ya da bileşimler anlamına gelir. Her iki bileşik de eşzamanlı uygulandığında, kombinasyon kiti, örneğin bir tablet gibi tek bir farmasötik bileşim içerisinde ya da ayrı farmasötik bileşimler içerisinde her iki bileşigi içerebilir. Bileşikler eşzamanlı 20 uygulanmadıklarında, kombinasyon kiti, her bir bileşigi, tek bir paket içerisinde ayrı farmasötik bileşimlerde ya da ayrı paketler içerisinde ayrı farmasötik bileşimlerde içerecektir.

Kombinasyon kiti, dozaj ve uygulama talimatları gibi talimatlarla da 25 sunulabilir. Bu dozaj ve uygulama talimatları, örneğin bir ilaç ürün etiketiyle bir doktora verilen türde olabilir ya da bir hastaya verilen talimatlar gibi bir doktor tarafından sağlanan türden olabilir.

Kombinasyon, önce birinin ve sonra diğèrinin verildiği ya da tam tersi uygulamanın yapıldığı sıralı bir şekilde ayrı ayrı uygulandığında, bu sıralı uygulama birbirine yakın zamanlarda veya birbirinden uzak zamanlarda olabilir. Örneğin, birinci ajan uygulandıktan birkaç dakika sonra ilâ birkaç düzine dakika sonra diğè ajanın uygulanması, birinci ajan uygulandıktan birkaç saat sonra ilâ birkaç gün sonra diğè ajanın uygulanması bu kapsama girer; burada, zaman boşluğu konusunda herhangi bir sınırlandırma yoktur. Örneğin, bir ajan günde bir defa uygulanabilir ve diğè ajan günde 2 ya da 3 defa uygulanabilir ya da bir ajan haftada bir defa uygulanabilir ve diğè ajan günde bir defa ve benzeri sürelerde uygulanabilir.

Sektörde bilgi ve beceri sahibi bir kişi, uygun olması halinde, başka terapötik bileşen(ler) tuzlar formunda, örneğin alkali metal ya da amin tuzları formunda veya asit ilaveli tuzlar formunda ya da ön-ilaçlar formunda ya da esterler formunda, örneğin daha düşük alkil esterler formunda ya da solvatlar, örneğin hidratlar formunda kullanılarak terapötik bileşenin aktivitesi ve/veya stabilitesi ve/veya fiziksel özellikleri, örneğin çözünürlüğünün optimize edilebileceğini açıkça görecektir. Uygun olması halinde, terapötik bileşenlerin optik olarak saf formda kullanılabileceği de açıktır.

Aynı bileşim içinde kombine edildiğinde, iki bileşiğin stabil ve birbirleriyle ve bileşimin diğè bileşenleriyle uyumlu olması ve uygulama için formüle edilebileceği takdir edilecektir. Ayrı olarak formüle edildiklerinde, bunlar, uygun olan herhangi bir bileşimde, teknikte bu gibi bileşikler için bilinen şekilde uygun biçimde sağlanabilirler.

Formül (I) ile temsil edilen bileşik, aynı hastalık, durum ya da bozukluğa karşı aktif bir ikinci terapötik ajanla kombinasyon halinde kullanıldığında, her bir bileşiğin dozu, bileşik tek başına kullanıldığında verilen dozdan farklı olabilir. Uygun dozlar, sektörde 5 bilgi ve beceri kişilerce kolaylıkla belirlenecektir.

Bu buluşun bir yapısında, formül (I) ile temsil edilen bileşik ya da onun farmasötik açıdan kabul edilebilir bir tuzu, kanser tedavisinin 10 başka terapötik yöntemlerinde kullanılabilir. Daha somut ifade etmek gerekirse, anti-neoplastik tedavide, başka kemoterapötik ajanlar, hormonal ajanlar, antikor ajanlarıyla kombinasyon tedavisi ve yanı sıra, yukarıda bahsi geçenler haricinde cerrahi işlemler ve/veya radyasyon işlemleri öngörülmektedir.

15

Bu buluşun bir yapısında, ek anti-kanser tedavisi, cerrahi müdahale ve/veya radyoterapidir.

Bu buluşun bir yapısında, ek anti-kanser tedavisi, en az bir ilave anti-neoplastik ajandır. 20

Tedavi edilmekte olan duyarlı bir tümöre karşı aktivitesi olan herhangi bir anti-neoplastik ajan kombinasyonda kullanılabilir. Kullanılabilecek tipik anti-neoplastik ajanlar arasında, sadece bunlarla sınırlı 25 kalmaksızın, anti-mikrotübül ajanları, örneğin diterpenoidler ve vinka alkaloidleri; platin koordinasyon kompleksleri; alkilleme ajanları, örneğin nitrojen mustardlar, oksazafosforinler, alkilsülfonatlar, nitrozoüreler ve triazenler; antibiyotik ajanları, örneğin antrasiklinler,

aktinomisinler ve bleomisinler; topoizomeraz II inhibitörleri, örneğin epipodofillotoksinler; antimetabolitler, örneğin pürin ve pirimidin analogları ve anti-folat bileşikleri; topoizomeraz I inhibitörler, örneğin kamptotesinler; hormonlar ve hormonal analoglar; sinyal transdüksiyon yolağı inhibitörleri; reseptör olmayan tirozin anjiyogenez inhibitörleri; immünoterapötik ajanlar; proapoptotik ajanlar ve hücre döngüsü sinyalleme inhibitörleri sayılabilir.

### **Anti-mikrotübül ajanları ya da anti-mitotik ajanlar:**

10

Anti-mikrotübül ajanları ya da anti-mitotik ajanlar, hücre döngüsünün M ya da mitoz fazı esnasında tümör hücrelerinin mikrotübüllerine karşı aktif halde faz spesifik ajanlardır. Anti-mikrotübül ajanlarına örnek olarak, sadece bunlarla sınırlı kalmaksızın, diterpenoidler ve vinka alkaloidleri gösterilebilir.

15

Doğal kaynaklardan elde edilen diterpenoidler, hücre döngüsünün G<sub>2</sub>/M fazlarında işlev gören faz spesifik anti-kanser ajanlarıdır. Diterpenoidlerin mikrotübüllerin  $\beta$ -tübülün alt-birimini, bu proteinle bağlanarak stabilize ettiğine inanılmaktadır. Proteinin ayrılması, mitozun durdurulması ve takiben hücre ölümünün meydana gelmesiyle inhibe ediliyor gözükmektedir. Diterpenoidlere örnek olarak, sadece bunlarla sınırlı kalmaksızın, paklitaksel ve onun analogu dosetaksel gösterilebilir.

25

(2R,3S)-N-benzoil-3-fenilisoserin içeren 5 $\beta$ ,20-epoksi-1,2 $\alpha$ ,4,7 $\beta$ ,10 $\beta$ ,13 $\alpha$ -heksa-hidroksitaks-11-en-9-on 4,10-diasetat 2-benzoat 13-ester olan paklitaksel, Taxus brevifolia Pasifik porsuk

ağacından izole edilen bir doğal diterpen ürünüdür ve TAXOL® enjeksiyonluk çözeltisi olarak ticari piyasada mevcuttur. Terpenler taksan ailesinin bir üyesidir. Paklitakselin, ABD’de refraktör yumurtalık kanserinin tedavisinde (Markman et al., Yale Journal of Biology and Medicine, 64:583, 1991; McGuire et al., Ann. Intern. Med., 111:273,1989) ve meme kanserinin tedavisinde (Holmes et al., J. Nat. Cancer Inst., 83:1797,1991.) klinik kullanımı onaylanmıştır. Ciltte neoplazmaların (Einzig et. al., Proc. Am. Soc. Clin. Oncol., 20:46) ve baş ve boyun karsinomlarının (Forastire et. al., Sem. Oncol., 20:56, 1990) tedavisi için bir potansiyel adaydır. Bu bileşik, ayrıca, polikistik böbrek hastalığı (Woo et. al., Nature, 368:750. 1994), akciğer kanseri ve malarya tedavisi için de potansiyel teşkil etmektedir. Hastaların paklitakselle tedavisi, bir eşik konsantrasyonun (50 nM) (Kearns, C.M. et. al., Seminars in Oncology, 3(6) sayfa 16-23, 1995) üzerinde dozlama süresiyle ilgili olarak kemik iliği supresyonuna yol açmaktadır (multiple cell lineages, Ignoff, R.J. et. al, Cancer Chemotherapy Pocket Guide, 1998).

5β-20-epoksi-1,2α,4,7β,10β,13α-heksahidroksitaks-11-en-9-on 4-asetat 2-benzoat, trihidrat içeren (2R,3S)- N-karboksi-3-fenilisoserin, N-tert-bütül ester, 13-ester olan Dasetaksel, TAXOTERE® ismiyle bir enjeksiyonluk çözelti olarak ticari piyasada mevcuttur. Dasetaksel, meme kanserinin tedavisinde endikedir. Dasetaksel, Avrupa Porsuk ağacının iğnesinden ekstrakte edilen bir doğal prekürsör, 10-deasetil-baccatin III kullanılarak hazırlanan paklitaksel q.v. yarı sentetik türevidir.

Vinka alkaloidleri, cezayir menekşesinden türetilen faz spesifik anti-

neoplastik ajanlardır. Vinca alkaloidleri, hücre döngüsünün M fazında (mitoz) tübülüne spesifik bağlanarak işlev görür. Sonuçta, bağlı tübülün molekülü, mikrotübüllere polimerize olamaz. Mitozun takip eden hücre ölümüyle birlikte metafazda durdurulduğuna inanılmaktadır.

- 5 Vinca alkaloidlerinin örnekleri arasında, sadece bunlarla sınırlı kalmaksızın, vinblastin, vinkristin ve vinorelbin vardır.

Vinblastin, yani vinkalökoblastin sülfat, VELBAN® ismiyle bir enjeksiyonluk çözelti olarak ticari piyasada mevcuttur. Çeşitli katı  
10 tümörlerin ikinci sıra tedavisi olarak olası endikasyona sahip olmasına rağmen, öncelikle testis kanserinin ve Hodgkin Hastalığı ve lenfositik ve histiyositik lenfomalar da dahil çeşitli lenfomaların tedavisinde endikedir. Miyelosupresyon, vinblastinin doz sınırlayıcı yan etkisidir.

- 15 Vinkristin, yani vinkalökoblastin, 22-okso-, sülfat, ONCOVIN® ismiyle bir enjeksiyonluk çözelti olarak ticari piyasada mevcuttur. Vinkristin, akut lösemilerin tedavisinde endikedir ve ayrıca, Hodgkin ve non-Hodgkin malign lenfomaları için tedavi rejimlerinde kullanımı da tespit edilmiştir. Alopesi ve nörolojik etkiler, vinkristinin en yaygın  
20 görülen yan etkileridir ve daha az oranda miyelosupresyon ve gastrointestinal mukozit etkileri ortaya çıkar.

Vinorelbin tartrat (NAVELBINE®) enjeksiyonluk çözeltisi olarak ticari piyasada mevcut olan Vinorelbin, yani 3',4'-didehidro -4'-deoksi-  
25 C'-norvinkalökoblastin [R-(R\*,R\*)-2,3-dihidroksibütanedioat (1:2)(tuz)], bir yarı-sentetik vinka alkaloididir. Vinorelbin, çeşitli farklı katı tümörlerin, özellikle de küçük hücreli olmayan akciğer, ilerlemiş meme ve hormon refraktör prostat kanserlerinin tedavisi için

bir tekli ajan olarak ya da cisplatin gibi başka kemoterapötik ajanlarla kombinasyon halinde endikedir. Miyelosupresyon, vinorelbinin en yaygın görülen doz sınırlayıcı yan etkisidir.

#### 5 **Platin koordinasyon kompleksleri:**

Platin koordinasyon kompleksleri, DNA ile etkileşime giren, faz-dışı spesifik anti-kanser ajanlarıdır. Platin kompleksleri, tümör hücrelerine girer; aquation reaksiyonuna uğrar ve DNA ile iplikçik-içi ya da iplikçikler-arası çapraz bağlar oluşturur ve bu da, tümöre yönelik advers biyolojik etkilere neden olur. Platin koordinasyon komplekslerinin örnekleri arasında, sadece bunlarla sınırlı kalmaksızın, oksaliplatin, cisplatin ve karboplatin vardır.

15 Cisplatin, yani cis-diammindikloroplatin, PLATINOL® ismiyle bir enjeksiyonluk çözelti olarak ticari piyasada mevcut. Cisplatin öncelikle metastatik testis ve yumurtalık kanseri ve ileri mesane kanseri tedavisinde endikedir.

20 Karboplatin, yani platin, diammin [1,1-siklobütan-dikarboksilat(2-)-O,O'], PARAPLATIN® ismiyle bir enjeksiyonluk çözelti olarak ticari piyasada mevcuttur. Karboplatin öncelikle ileri yumurtalık karsinomunun birinci ve ikinci sıra tedavisinde endikedir.

#### 25 **Alkilleme ajanları:**

Alkilleme ajanları, faz-dışı anti-kanser spesifik ajanlar ve güçlü elektrofillerdir. Normalde, alkilleme ajanları, fosfat, amino, sülfhidril,

hidroksil, karboksil ve imidazol grupları gibi DNA molekülü nükleofilik moiyeteleri aracılığıyla alkilasyon yoluyla DNA'ya kovalent bağlar oluştururlar. Bu alkilasyon, nükleik asit fonksiyonunu bozarak hücre ölümüne neden olur. Alkilleme ajanlarının örnekleri arasında, sadece bunlarla sınırlı kalmaksızın, siklofosfamid, melfalan ve klorambusil gibi nitrojen mustardlar; busülfan gibi alkil sülfonatlar; karmustin gibi nitrozoüreler ve dakarbazin gibi triazenler vardır.

Siklofosfamid, 2-[bis(2-kloroetil)amino]tetrahidro-2H-1,3,2-oksazafosforin 2-oksit monohidrat, CYTOKSAN® ismiyle enjeksiyonluk çözelti ya da tabletler olarak ticari piyasada mevcuttur. Siklofosfamid, malign lenfomalar, multipl miyelom ve lösemilerin tedavisinde bir tekli ajan olarak ya da başka kemoterapötik ajanlarla kombinasyon halinde endikedir.

15

Melfalan, yani 4-[bis(2-kloroetil)amino]-L-fenilalanin, ALKERAN® ismiyle enjeksiyonluk çözelti ya da tabletler olarak ticari piyasada mevcuttur. Melfalan, yumurtalıkta non-rezektabl epitelyal karsinomunun ve multipl miyelomun palyatif tedavisi için endikedir. Kemik iliği supresyonu, melfalanın en yaygın görülen doz sınırlayıcı yan etkisidir.

Klorambusil, yani 4-[bis(2-kloroetil)amino]benzenbütanoik asit, LEUKERAN® tabletler olarak ticari piyasada mevcuttur. Klorambusil, kronik lenfatik lösemnin ve lenfosarkom, dev foliküler lenfoma ve Hodgkin hastalığı gibi malign lenfomaların palyatif tedavisi için endikedir.

25

Busülfan, yani 1,4-bütandiöl dimetansülfonat, MYLERAN® TABLETLER olarak ticari piyasada mevcuttur. Busülfan, kronik miyelogenöz lösemninin palyatif tedavisi için endikedir.

- 5 Karmustin, yani 1,3-[bis(2-kloroetil)-1-nitrozoüre, BiCNU® ismiyle liyofilize malzeme tekli flakonları olarak ticari piyasada mevcuttur. Karmustin, beyin tümörleri, multipl miyelom, Hodgkin hastalığı ve non-Hodgkin lenfomaların palyatif tedavisinde bir tekli ajan olarak ya da başka ajanlarla kombinasyon halinde endikedir.

10

Dakarbazin, yani 5-(3,3-dimetil-1-triazeno)-imidazol-4-karboksamid, DTIC-Dome® ismiyle malzeme tekli flakonları olarak ticari piyasada mevcuttur. Dakarbazin, metastatik malign melanoma tedavisi için ve Hodgkin Hastalığının ikinci sıra tedavisi için başka ajanlarla

15 kombinasyon halinde endikedir.

### **Antibiyotik anti-neoplastikler:**

- Antibiyotik anti-neoplastikler, DNA ile bağlanan veya interkalasyon yapan faz-dışı spesifik ajanlardır. Normalde, bu tür etkinlikler, nükleik asitlerin olağan fonksiyonunu bozarak hücre ölümüne neden olan stabil DNA kompleksleri veya iplikçik kopmasına yol açar. Antibiyotik anti-neoplastik ajanlarına örnek olarak, sadece bunlarla sınırlı kalmaksızın, daktinomisin gibi aktinomisinler, daunorubisin ve
- 25 doksorubisin gibi antrosiklinler ve bleomisinler gösterilebilir.

Aktinomisin D olarak da bilinen daktinomisin, COSMEGEN® ismiyle enjeksiyonluk formda ticari piyasada mevcuttur.

Daktinomisin, Wilm tümörünün ve rabdomiyosarkomun tedavisinde endikedir.

Daunorubisin, yani (8S-cis-)-8-asetil-10-[(3-amino-2,3,6-trideoksi- $\alpha$ -L-likso-heksopiranosil)oksi]-7,8,9,10-tetrahidro-6,8,11-trihidroksi-1-  
 5 L-likso-heksopiranosil)oksi]-7,8,9,10-tetrahidro-6,8,11-trihidroksi-1-  
 metoksi-5,12 naftasendion hidroklorür, DAUNOKSOME® ismiyle  
 lipozomal enjeksiyonluk formda ya da CERUBIDINE® ismiyle  
 enjeksiyonluk formda ticari piyasada mevcuttur. Daunorubisin, akut  
 non-lenfositik lösemi ve ileri HIV ilişkili Kaposi sarkomunun  
 10 tedavisinde remisyon indüksiyonu için endikedir.

Doksorubisin, yani (8S,10S)-10-[(3-amino-2,3,6-trideoksi- $\alpha$ -L-likso-  
 heksopiranosil)oksi]-8-glikoloil, 7,8,9,10-tetrahidro-6,8,11-  
 trihidroksi-1-metoksi-5,12 naftasendion hidroklorür, RUBEX® ya da  
 15 ADRIAMYCIN RDF® ismiyle enjeksiyonluk formda ticari piyasada  
 mevcuttur. Doksorubisin öncelikle akut lenfoblastik lösemi ve akut  
 miyeloblastik lösemnin tedavisi için endikedir, fakat aynı zamanda  
 bazı katı tümörlerin ve lenfomaların tedavisinde de kullanışlı ve  
 faydalı bir bileşendir.

20

Bleomisin, yani bir *Streptomyces verticillus* suşundan izole edilen  
 sitotoksik glikopeptid antibiyotiklerinin bir karışımı,  
 BLENOKSANE® ismiyle ticari piyasada mevcuttur. Bleomisin, bir  
 tekli ajan olarak veya başka ajanlarla kombinasyon halinde, skuamöz  
 25 hücreli karsinom, lenfomalar ve testiküler karsinomların bir palyatif  
 tedavisinde endikedir.

### **Topoizomeraz II inhibitörleri:**

Topoizomeraz II inhibitörleri arasında, sadece bunlarla sınırlı kalmaksızın, epipodofillotoksinler vardır.

Epipodofillotoksinler, adamotu bitkisinden türetilmiş faz spesifik anti-neoplastik ajanlardır. Epipodofillotoksinler, tipik olarak, topoizomeraz II ve DNA ile DNA iplikçığı kırılmalarına yol açan bir üçlü kompleks oluşturmak suretiyle hücre döngüsünün S ve G<sub>2</sub> fazlarında yer alan hücreleri etkilerler. İplikçik kırılmaları birikir ve ardından, hücre ölümü gerçekleşir. Epipodofillotoksinlere verilebilecek örnekler, sadece bunlarla sınırlı kalmaksızın, etoposid ve teniposidi içermektedirler.

Etoposid, yani 4'-demetil-epipodofillotoksin 9[4,6-0-(R)-etiliden-β-D-glukopiranosid], VePESID® adı altındaki bir enjekte edilebilir çözelti veya kapsül formunda ticari piyasada mevcuttur ve genelde VP-16 olarak bilinmektedir. Etoposid, testiküler ve küçük hücreli olmayan akciğer kanserlerinin tedavisinde tek bir ajan olarak ya da başka kemoterapi ajanlarıyla kombinasyon halinde endikedir.

Teniposid, yani 4'-demetil-epipodofillotoksin 9[4,6-0-(R)-teniliden-β-D-glukopiranosid], VUMON® adı altındaki bir enjekte edilebilir çözelti formunda ticari piyasada mevcuttur ve genelde VM-26 olarak bilinmektedir. Teniposid, çocuklarda akut lösemi tedavisinde tek bir ajan olarak ya da başka kemoterapi ajanlarıyla kombinasyon halinde endikedir.

**Antimetabolit neoplastik ajanlar:**

Antimetabolit neoplastik ajanlar, DNA sentezini inhibe etmek ya da pürin veya pirimidin bazı sentezini inhibe ederek DNA sentezini sınırlamak suretiyle hücre döngüsünün S fazında (DNA sentezi) faaliyet gösteren faz spesifik anti-neoplastik ajanlardır. Sonuç olarak, S fazı devam etmez ve bunu hücre ölümü izler. Antimetabolit anti-neoplastik ajanlara verilebilecek örnekler, sadece bunlarla sınırlı kalmaksızın, floroürasili, metotreksatı, sitarabini, mekaptopürini, tiyoguanini ve gemsitabini içerirler.

5-floroürasil, yani 5-floro-2,4-(1H,3H)pirimidindion, floroürasil olarak ticari piyasada mevcuttur. 5-floroürasil uygulaması timidilat sentezinin inhibe olmasına yol açar ve ayrıca, hem RNA hem de DNA bünyesine katılır. Sonuç genelde hücre ölümüdür. 5-floroürasil; meme, kolon, rektum, mide ve pankreas karsinomlarının tedavisinde tek bir ajan olarak ya da başka kemoterapi ajanlarıyla kombinasyon halinde endikedir. Diğer floropirimidin analogları arasında 5-floro deoksiüridin (floksüridin) ve 5-florodeoksiüridin monofosfat vardır.

Sitarabin, yani 4-amino-1- $\beta$ -D-arabinofüranosil-2(1H)-pirimidinon, CYTOSAR-U® adı altında ticari piyasada mevcuttur ve genelde Ara-C olarak bilinmektedir. Sitarabinin büyüyen DNA zincirine terminal inkorporasyonu DNA zinciri elongasyonunu inhibe ederek S-fazda hücre fazı spesifitesi gösterdiğine inanılmaktadır. Sitarabin, akut lösemi tedavisinde tek bir ajan olarak ya da başka kemoterapi ajanlarıyla kombinasyon halinde endikedir. Diğer sitidin analogları arasında 5-azasitidin ve 2',2'-diflorodeoksisitidin (gemsitabin) vardır.

Merkaptopürin, yani 1,7-dihidro-6H-pürin-6-tiyon monohidrat,

PURINETHOL® adı altında ticari olarak mevcuttur. Merkaptopürin, DNA sentezini şu an itibariyle açıkça belirtilmemiş bir mekanizmayla inhibe etmek suretiyle S-fazında hücre fazı spesifisitesi göstermektedir. Merkaptopürin, akut lösemi tedavisinde tek bir ajan olarak ya da başka kemoterapi ajanlarıyla kombinasyon halinde endikedir. Azatiyoprin, faydalı bir merkaptopürin analogudur.

Tiyoguanin, yani 2-amino-1,7-dihidro-6H-pürin-6-tiyon, TABLOID® adı altında ticari piyasada mevcuttur. Tiyoguanin, DNA sentezini şu an itibariyle açıkça belirtilmemiş bir mekanizmayla inhibe etmek suretiyle S-fazında hücre fazı spesifisitesi göstermektedir. Tiyoguanin, akut lösemi tedavisinde tek bir ajan olarak ya da başka kemoterapi ajanlarıyla kombinasyon halinde endikedir. Diğer pürin analogları arasında pentostatın, eritrohidroksinoniladenin, fludarabin fosfat ve kladribin sayılabilir.

Gemsitabin, yani 2'-deoksi-2', 2'-diflorositidin monohidroklorür ( $\beta$ -izomeri), GEMZAR® adı altında ticari piyasada mevcuttur. Gemsitabin, G1/S sınırı aracılığıyla hücrelerin ilerlemesini bloke ederek S-fazında hücre fazı spesifisitesi göstermektedir. Gemsitabin, lokal ilerlemiş küçük hücreli olmayan akciğer kanserinin tedavisinde sisplatinle kombinasyon halinde ve lokal ilerlemiş pankreatik kanserinin tedavisinde tek başına endikedir.

Metotreksat, yani N-[4[[[2,4-diamino-6-pteridinil) metil]metilamino]benzoil]-L-glutamik asit, metotreksat sodyum olarak ticari piyasada mevcuttur. Metotreksat, pürin nükleotidleri ve timidilat sentezi için gerekli olan dihidrofolik asit redüktazı inhibisyonuyla DNA sentezi,

onarımı ve/veya replikasyonunu inhibe etmek suretiyle spesifik olarak S-fazında hücre fazı etkileri göstermektedir. Metotreksat; koryokarsinomun, meninjiyal lösemnin, non-Hodgkin lenfomasının ve ayrıca, meme, baş, boyun, yumurtalık ve mesane karsinomlarının tedavisinde tek bir ajan olarak ya da başka kemoterapi ajanlarıyla kombinasyon halinde endikedir.

### **Topoizomeraz I inhibitörleri:**

10 Kamptotesin ve kamptotesin türevleri de dâhil olmak üzere kamptotesinler, Topoizomeraz I inhibitörleri olarak ticari piyasada mevcuttur ya da geliştirilmektedirler. Kamptotesin sitotoksik aktivitesinin kendi Topoizomeraz I inhibitör aktivitesiyle ilgili olduğu düşünülmektedir. Kamptotesinlere verilebilecek örnekler arasında, 15 sadece bunlarla sınırlı kalmaksızın irinotekan, topotekan ve ayrıca, 7-(4-metilpiperazino-metilen)-10,11-etilendioksi-20-kamptotesinin aşağıda tarif edilen çeşitli optik formları bulunmaktadır.

İrinotekan HCl, yani (4S)-4,11-dietil-4-hidroksi-9-[(4-piperidinopiperidino) karboniloksi]-1H-pirano[3',4',6,7]indolizino[1,2-b]kinolin-3,14(4H,12H)-dion hidroklorür, CAMPTOSAR® adı altında bir enjekte edilebilir çözelti formunda ticari piyasada mevcuttur. İrinotekan, kendi aktif metaboliti SN-38'le birlikte topoizomeraz I - DNA kompleksine bağlanan bir kamptotesin türevidir. Sitotoksitenin, 25 topoizomeraz I : DNA : irintikan veya SN-38 üçlü kompleksinin replikasyon enzimleriyle etkileşime girmesi sonucunda meydana gelen onarılması mümkün olmayan çift iplikçik kırılmalarının bir sonucu olarak gerçekleştiğine inanılmaktadır. İrinotekan, metastatik kolon

veya rektum kanseri tedavisi için endikedir.

Topotekan HCl, yani (S)-10-[(dimetilamino)metil]-4-etil-4,9-dihidroksi-1H-pirano[3',4',6,7]indolizino[1,2-b]kinolin-3,14-(4H,12H)-dion monohidroklörür, HYCAMTIN® adı altında bir enjekte edilebilir çözelti formunda ticari piyasada mevcuttur. Topotekan, topoizomeraz I - DNA kompleksine bağlanan ve DNA molekülünün torsiyonal iplikçığıne cevap olarak Topoizomeraz I'in sebep olduğu tek iplikçik kırılmalarının tekrar ligasyonunu önleyen bir kamptotesin türevidir. Topotekan, yumurtalık ve küçük hücreli akciğer kanserinin metastatik karsinomunun ikinci sıra tedavisi için endikedir.

### **Hormonlar ve hormonal analoglar:**

15

Hormonlar ve hormonal analoglar, hormon(lar) ve kanserin çoğalması ve/veya çoğalmaması arasında bir ilişki bulunması durumunda kanserleri tedavi etmek için faydalı bileşiklerdir.

20

Kanser tedavisinde faydalı hormonlara ve hormonal analoglara verilebilecek örnekler, sadece bunlarla sınırlı kalmaksızın, örneğin prednizon ve prednisolon gibi çocuklarda malignan lenfoma ve akut lösemi tedavisinde faydalı adrenokortikosteroidleri; örneğin anastrozol, letrazol, vorazol ve eksemestan gibi adrenokortikal karsinom ve östrojen reseptörlerini içeren hormona bağımlı meme karsinomu tedavisinde faydalı aminoglutetimid ve diğer aromataz inhibitörlerini; örneğin megestrol asetat gibi hormona bağımlı meme kanseri ve endometriyal karsinom tedavisinde faydalı progesterinleri;

25

prostatik karsinom ve benign prostatik hipertrofi tedavisinde faydalı olan, örneğin fulvestrant, flutamid, nilutamid, bikalutamid, siproteron asetat gibi östrojenleri ve anti-östrojenleri ve ayrıca, örneğin finasterid ve dutasterid gibi  $5\alpha$ -redüktazları; hormona bağımlı meme karsinomu ve diğer duyarlı kanserlerin tedavisinde faydalı olan, örneğin tamoksifen, toremifen, raloksifen, droloksifen, iyodoksifen gibi anti-östrojenleri ve ayrıca, 5.681.835, 5.877.219 ve 6.207.716 sayılı ABD Patentlerinde tarif edilenler gibi selektif östrojen reseptörü modülatörlerini (SERM'ler) ve ayrıca, örneğin goserelin asetat ve lüprolid gibi LHRH agonistleri ve antagagonistleri gibi prostatik karsinom tedavisine yönelik olan lötimize etme hormonunun (LH) ve/veya folikül stimüle edici hormonun salımını stimüle eden gonadotropin serbest bırakan hormonu (GnRH) ve onun analoglarını içermektedir.

15

### **Sinyal transdüksiyon yolağı inhibitörleri:**

Sinyal transdüksiyon yolağı inhibitörleri, bir intraselüler değişikliği anımsatan bir kimyasal prosesi bloke eden veya inhibe eden inhibitörlerdir. Bu dokümanda kullanıldığı anlamıyla, bu değişiklik, hücre proliferasyonu veya farklılaşmasıdır. Mevcut buluşta faydalı olan sinyal transdüksiyon inhibitörleri; reseptör tirozin kinazlarının, reseptör olmayan tirozin kinazlarının, SH2/SH3domain blokerlerinin, serin/treonin kinazlarının, fosfotidil inositol-3 kinazlarının, miyo- inositol sinyalleme ve Ras onkogenlerinin inhibitörlerini içermektedirler.

25

Birtakım protein tirozin kinazları, hücre çoğalması regülasyonuna

katılan çeşitli proteinlerdeki spesifik tirozil artıklarının fosforilasyonunu katalize ederler. Bu tür protein tirozin kinazları genel olarak reseptör veya reseptör olmayan kinazlar olarak sınıflandırılabilirler.

5

Reseptör tirozin kinazları bir ekstraselüler ligand bağlama domainine, bir transmembran domainine ve bir tirozin kinaz domainine sahip transmembran proteinleridirler. Reseptör tirozin kinazları, hücre çoğalması regülasyonuna katılırlar ve genelde büyüme faktörü reseptörleri olarak adlandırılırlar. Bu kinazlardan çoğunun, örneğin aşırı ekspresyon veya mutasyonla uygun olmayan veya kontrol edilmeyen aktivasyonunun, yani aberan kinaz büyüme faktörü reseptör aktivitesinin kontrol edilmeyen hücre büyümesiyle sonuçlandığı gösterilmiştir. Bu doğrultuda, bu tür kinazların aberan aktivitesi, malignan doku çoğalmasıyla bağlantılıdır. Sonuç olarak, bu tür kinazların inhibitörleri, kanser tedavi yöntemleri sağlayabilirler. Büyüme faktörü reseptörleri, örneğin epidermal büyüme faktörü reseptörünü (EGFr), trombositten türetilmiş büyüme faktörü reseptörünü (PDGFr), erbB2'yi, erbB4'ü, reti, vasküler endotelial büyüme faktörü reseptörünü (VEGFr), immüoglobülin benzeri ve epidermal büyüme faktörü homoloji domainlerine sahip tirozin kinazını (TIE-2), insülin büyüme faktörü-I (IGFI) reseptörünü, makrofaj kolonisi stimüle edici faktörü (cfms), BTK'yi, ckiti, cmeti, fibroblast büyüme faktörü (FGF) reseptörlerini, Trk reseptörlerini (TrkA, TrkB ve TrkC), efrin (eph) reseptörlerini ve RET protoonkogenini içermektedirler. Birtakım büyüme reseptörü inhibitörleri geliştirme sürecindedirler ve ligand antagonistlerini, antikoları, tirozin kinaz inhibitörlerini ve anti-sens

25

oligonükleotidlerini içerirler. Büyüme faktörü reseptörleri ve büyüme faktörü reseptörü fonksiyonunu inhibe eden ajanlar, örneğin “Kath, John C., Exp. Opin. Ther. Patents (2000) 10(6):803-818; Shawver et al DDT Cilt 2, No. 2 Şubat 1997” ve “Lofts, F. J. et al, "Growth factor receptors as targets", New Molecular Targets for Cancer Chemotherapy, ed. Workman, Paul and Kerr, David, CRC press 1994, London” referanslarında tarif edilmektedirler.

Büyüme faktörü reseptör kinazı olmayan tirozin kinazları, reseptör olmayan tirozin kinazları olarak adlandırılırlar. Bu buluşta faydalı olan ve anti-kanser ilaçlarının hedefi veya potansiyel hedefi olan reseptör olmayan tirozin kinazları arasında cSrc, Lck, Fyn, Yes, Jak, cAbl, FAK (Fokal adezyon kinazı), Brutons tirozin kinazı ve Bcr-Abl vardır. Bu tür reseptör olmayan kinazlar ve reseptör olmayan tirozin kinazı fonksiyonunu inhibe eden ajanlar “Sinh, S. and Corey, S.J., (1999) Journal of Hematotherapy and Stem Cell Research 8 (5): 465 - 80” ve “Bolen, J.B., Brugge, J.S., (1997) Annual review of Immunology. 15: 371-404” referansında tarif edilmektedirler. SH2/SH3 domain blokerleri; PI3-K p85 alt-ünitesi, Src ailesi kinazları, adaptör molekülleri (Shc, Crk, Nck, Grb2) ve Ras-GAP de dâhil olmak üzere, çeşitli enzim veya adaptör proteinlerindeki SH2 veya SH3 domaini bağlanmasını engelleyen ajanlardır. Anti-kanser ilaçları için hedef halindeki SH2/SH3 domainleri “Smithgall, T.E. (1995), Journal of Pharmacological and Toxicological Methods. 34(3) 125-32” referansında ele alınmaktadır.

Serin/Treonin Kinazı İnhibitörleri; Raf kinazlarının (rafk), Mitojen veya Ekstraselüler Regüle Kinazın (MEK’ler) ve Ekstraselüler Regüle

Kinazların (ERK'ler) blokerlerini kapsayan MAP kinaz kaskad blokerlerini ve ayrıca, PKC'lerin (alfa, beta, gamma, epsilon, mu, lambda, yota, zeta) blokerleri de dâhil olmak üzere Protein kinaz C ailesinin üye blokerlerini kapsar. Ikb kinaz ailesi (IKKa, IKKb), PKB ailesi kinazları, akt kinaz ailesi üyeleri ve TGF beta reseptör kinazları. Bu tür Serin/Treonin kinazları ve onların inhibitörleri “Yamamoto, T., Taya, S., Kaibuchi, K., (1999), *Journal of Biochemistry*. 126 (5) 799-803; Brodt, P, Samani, A., and Navab, R. (2000), *Biochemical Pharmacology*, 60. 1101-1107; Massague, J., Weis-Garcia, F. (1996) 10 *Cancer Surveys*. 27:41-64; Philip, P.A., and Harris, A.L. (1995), *Cancer Treatment and Research*. 78: 3-27, Lackey, K. et al *Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters*, (10), 2000, 223-226; 6.268.391 sayılı ABD Patenti ve Martinez-Iacaci, L., et al, *Int. J. Cancer* (2000), 88(1), 44-52” referanslarında tarif edilmektedirler.

15

PI3-kinazı, ATM, DNA-PK ve Ku blokerleri de dâhil olmak üzere, Fosfotidil inositol-3 Kinaz aile üyelerinin inhibitörleri de bu buluş için faydalı ve kullanışlıdır. Bu tür kinazlar “Abraham, R.T. (1996), *Current Opinion in Immunology*. 8 (3) 412-8”; “Canman, C.E., Lim, D.S. (1998), *Oncogene* 17 (25) 3301-3308”; “Jackson, S.P. (1997), *International Journal of Biochemistry and Cell Biology*. 29 (7):935-8” ve Zhong, H. et al, *Cancer res*, (2000) 60(6), 1541-1545” referanslarında ele alınmaktadır.

25 Fosfolipaz C blokerleri ve Miyoinositol analogları gibi Miyo-inositol sinyalleme inhibitörleri de bu buluşta kullanışlı ve faydalıdır. Bu tür sinyal inhibitörleri, “Powis, G., and Kozikowski A., (1994) *New Molecular Targets for Cancer Chemotherapy* ed., Paul Workman and

David Kerr, CRC press 1994, London” referansında tarif edilmektedirler.

Başka bir sinyal transdüksiyon yolağı inhibitörleri grubu, Ras  
 5 Onkogen inhibitörleridir. Bu tür inhibitörler anti-sens oligonükleotidlerinin, ribozimlerin ve immünoterapinin yanı sıra, farnesiltransferaz, geranil-geranil transferaz ve CAAX proteazları inhibitörlerini de içerirler. Bu tür inhibitörlerin yabani tip ras içeren hücrelerde ras aktivasyonunu bloke ettikleri ve bu yolla  
 10 antiproliferasyon ajanları olarak faaliyet gösterdikleri gösterilmiştir. Ras onkogen inhibisyonu “Scharovsky, O.G., Rozados, V.R., Gervasoni, S.I. Matar, P. (2000), Journal of Biomedical Science. 7(4) 292-8”; “Ashby, M.N. (1998), Current Opinion in Lipidology. 9 (2) 99 - 102” ve “BioChim. Biophys. Acta, (19899) 1423(3):19-30”  
 15 referanslarında ele alınmaktadır.

Yukarıda da bahsedildiği üzere, reseptör kinaz ligand bağlanmasına karşı antikor antagonistleri de sinyal transdüksiyon inhibitörü işlevi görebilirler. Bu sinyal transdüksiyon yolağı inhibitörleri grubu,  
 20 reseptör tirozin kinazlarının ekstraselüler ligand bağlanma domainine karşı hümanize antikorlar kullanılmasını içermektedir. Örnek olarak Imclone C225 EGFR spesifik antikorunu (bakınız: Green, M.C. et al, Monoclonal Antibody Therapy for Solid Tumors, Cancer Treat. Rev., (2000), 26(4), 269-286); Herceptin® erbB2 antikorunu (bakınız: Tirozin  
 25 Kinase Signalling in Breast cancer:erbB Family Reseptör Tirozin Kinases, Breast cancer Res., 2000, 2(3), 176-183) ve ayrıca, 2CB VEGFR2 spesifik antikorunu (bakınız: Brekken, R.A. et al, Selective Inhibition of VEGFR2 Activity by a monoclonal Anti-VEGF antibody

blocks tumor growth in mice, *Cancer Res.* (2000) 60, 5117-5124) gösterilebilir.

### **Anti-anjiyojenik ajanlar:**

5

(i) Reseptör olmayan MEK anjiyogenez inhibitörleri de dâhil olmak üzere, anti-anjiyojenik ajanlar da faydalı ve kullanışlı olabilirler. Vasküler endotelyal büyüme faktörünün etkilerini inhibe edenler gibi anti-anjiyojenik ajanlar (örneğin anti-vasküler endotelyal hücre büyüme faktörü antikoru bevasizumab [Avastin™]) ve başka mekanizmalarla faaliyet gösteren bileşikler (örneğin linomid, integrin  $\alpha\beta 3$  fonksiyonu inhibitörleri, endostatin ve anjiyostatin);

10

### **15 İmmünoterapötik ajanlar:**

İmmünoterapötik rejimlerde kullanılan ajanlar, formül (I)'e konu olan bileşiklerle kombinasyon halinde de kullanışlı ve faydalı olabilirler. İmmünoterapi yaklaşımları, örneğin interlökin 2, interlökin 4 veya granülosit-makrofaj kolonisi stimüle edici faktör gibi sitokinlerle transfeksiyon gibi hasta tümör hücrelerinin immünojenisitesini artırmak için benimsenen ex-vivo ve in-vivo yaklaşımlar; T-hücreleri anerjisini azaltmak için benimsenen yaklaşımlar; sitokinle transfekte edilmiş dendritik hücreler gibi transfekte edilmiş immün hücrelerin kullanılması içeren yaklaşımlar; sitokinle transfekte edilmiş tümör hücre hatlarının kullanılmasını içeren yaklaşımlar ve anti-idiotipik antikolar kullanılmasını içeren yaklaşımları kapsar.

20

25

### **Proapoptotik ajanlar:**

Proapoptotik rejimlerde kullanılan ajanlar da (örneğin bcl-2 antisens oligonükleotidleri) bu buluşa konu olan kombinasyonda kullanılabilir.

5

### **Hücre döngüsü sinyalleme inhibitörleri**

Hücre döngüsü sinyalleme inhibitörleri, hücre döngüsü kontrolüne katılan molekülleri inhibe ederler. Sikline bağımlı kinazlar (CDK'ler) olarak adlandırılan bir protein kinazları ailesi ve onların siklin olarak adlandırılan bir protein ailesiyle etkileşimi, ökaryotik hücre döngüsü aracılığıyla progresyonu kontrol eder. Farklı siklin/CDK komplekslerinin koordinat aktivasyonu ve inaktivasyonu, hücre döngüsüyle normal progresyon için gereklidir. Birtakım hücre döngüsü sinyalleme inhibitörleri geliştirme aşamasındadırlar. Örneğin, CDK2, CDK4 ve CDK6 de dâhil olmak üzere sikline bağımlı kinazlara ve ayrıca, onların inhibitörlerine verilebilecek örnekler, örneğin "Rosania et al, Exp. Opin. Ther. Patents (2000) 10(2):215-230" referansında tarif edilmektedirler.

20

Bu buluşun bir yapısında, bu buluşa konu olan kombinasyon, formül I ile temsil edilen bir bileşikten ya da onun bir tuzu veya solvatından ve anti-mikrotübül ajanları, platin koordinasyon kompleksleri, alkilleme ajanları, antibiyotik ajanları, topoizomeraz II inhibitörleri, antimetabolitler, topoizomeraz I inhibitörleri, hormonlar ve hormonal analoglar, sinyal transdüksiyon yolağı inhibitörleri, reseptör olmayan tirozin MEK anjiyogenez inhibitörleri, immünoterapötik ajanlar, proapoptotik ajanlar ve hücre döngüsü sinyalleme inhibitörleri

25

arasından seçilmiş en az bir anti-neoplastik ajandan oluşmaktadır.

Bu buluşun bir yapısında, bu buluşa konu olan kombinasyon, formül I ile temsil edilen bir bileşikten ya da onun bir tuzu veya solvatından ve 5 diterpenoidler ve vinka alkaloidler arasından seçilmiş bir anti-mikrotübül ajanı olan en az bir anti-neoplastik ajandan oluşmaktadır.

Bu buluşun ilave bir yapısında, en az bir anti-neoplastik ajan, bir diterpenoiddir.

10

Bu buluşun ilave bir yapısında, en az bir anti-neoplastik ajan, bir vinka alkaloiddir.

Bu buluşun bir yapısında, bu buluşa konu olan kombinasyon, formül I ile temsil edilen bir bileşikten ya da onun bir tuzu veya solvatından ve 15 bir platin koordinasyon kompleksi olan en az bir anti-neoplastik ajandan oluşmaktadır.

Bu buluşun ilave bir yapısında, en az bir anti-neoplastik ajan 20 paklitaksel, karboplatin veya vinorelbindir.

Bu buluşun ilave bir yapısında, en az bir anti-neoplastik ajan karboplatindir.

25 Bu buluşun ilave bir yapısında, en az bir anti-neoplastik ajan vinorelbindir.

Bu buluşun ilave bir yapısında, en az bir anti-neoplastik ajan

paklitakseldir.

Bu buluşun bir yapısında, bu buluşa konu olan kombinasyon, formül I ile temsil edilen bir bileşikten ya da onun bir tuzu veya solvatından ve  
5 bir sinyal transdüksiyon yolağı inhibitörü olan en az bir anti-neoplastik ajandan oluşmaktadır.

Bu buluşun ilave bir yapısında, sinyal transdüksiyon yolağı inhibitörü bir büyüme faktörü reseptör kinazı VEGFR2, TIE2, PDGFR, BTK,  
10 erbB2, EGFr, IGFR-1, TrkA, TrkB, TrkC veya c-fms inhibitörüdür.

Bu buluşun ilave bir yapısında, sinyal transdüksiyon yolağı inhibitörü bir serin/treonin kinazı rafk, akt veya PKC-zeta inhibitörüdür.

15 Bu buluşun ilave bir yapısında, sinyal transdüksiyon yolağı inhibitörü, kinazların src ailesinden seçilmiş bir reseptör olmayan tirozin kinaz inhibitörüdür.

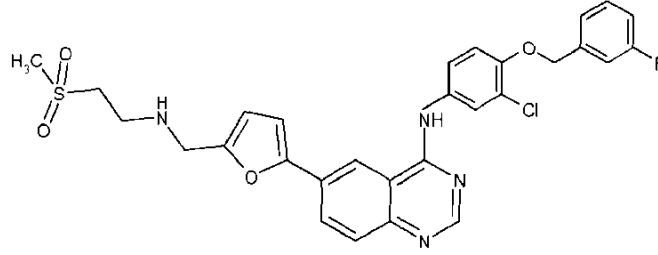
Bu buluşun ilave bir yapısında, sinyal transdüksiyon yolağı inhibitörü  
20 bir c-src inhibitörüdür.

Bu buluşun ilave bir yapısında, sinyal transdüksiyon yolağı inhibitörü, farnesil transferaz ve geranilgeranil transferaz inhibitörleri arasından seçilmiş bir Ras onkogen inhibitörüdür.  
25

Bu buluşun ilave bir yapısında, sinyal transdüksiyon yolağı inhibitörü, PI3K'den oluşan gruptan seçilmiş bir serin/treonin kinazı inhibitörüdür.

Bu buluşun ilave bir yapısında, sinyal transdüksiyon yolağı inhibitörü, örneğin N-{3-Kloro-4-[(3-florobenzil) oksifenil]-6-[5-({2-(metansülfonil) etil]amino}metil)-2-füril]-4-kinazolinamin (aşağıdaki yapı) gibi bir ikili EGFr/erbB2 inhibitörüdür:

5



Bu buluşun bir yapısında, bu buluşa konu olan kombinasyon, formül I ile temsil edilen bir bileşikten ya da onun bir tuzu veya solvatından ve bir hücre döngüsü sinyalleme inhibitörü olan en az bir anti-neoplastik ajandan oluşmaktadır.

Bu buluşun ilave bir yapısında, hücre döngüsü sinyalleme inhibitörü bir CDK2, CDK4 veya CDK6 inhibitörüdür.

15

Kombinasyon terapisinin belirli bileşenleri, tamoksifen ve/veya fulvestrant da dâhil olmak üzere, başka anti-östrojenlerle kombinasyonları içermektedirler.

Bu buluşun bir yapısında, bu buluşa konu olan yöntemler ve kullanımlardaki memeli bir insandır.

20

### **Genel Sentez Yöntemleri**

Genel formül (I) ile temsil edilen bileşikler, aşağıda tarif edilen

spesifik Orneklerde öngörüldüğü gibi organik sentez sektöründe bilinen yöntemlerle hazırlanabilirler. Bu yöntemlerin hepsinde, duyarlı veya reaktif gruplar için koruyucu grupların kimyanın genel prensipleri uyarınca gerektiği durumlarda kullanılabilecekleri iyi anlaşılmalıdır. Koruyucu gruplar, standart organik sentez yöntemlerine göre manipüle edilirler (T. W. Green and P. G. M. Wuts (1999) Protective Groups in Organic Synthesis, 3rd edition, John Wiley & Sons). Bu gruplar, sektörde bilgi ve beceri sahibi kişilerin kolayca anlayabilecekleri yöntemler kullanılarak bileşik sentezinin uygun bir aşamasında çıkartılırlar. Hem proseslerin, hem de reaksiyon koşulları ve yürütme sıralarının seçimi, Formül (I) ile temsil edilen bileşiklerin hazırlanmasıyla tutarlı olmalıdır.

## Deneyler

15

### Kısaltmalar:

DCM: diklorometan.

DIPEA: N,N-diizopropiletilamin.

20 

DMF: N,N-dimetilformamid.

h: saat.

HATU: 2-(7-aza-1H-benzotriazol-1-il)-1,1,3,3-tetrametilüronyum heksaflorofosfat.

HPLC: yüksek performanslı sıvı kromatografisi.

25 

LCMS: sıvı kromatografisi - kütle spektrometrisi

Min: dakika.

NMR: Nükleer manyetik rezonans.

RT: alıkonma süresi.

tBu: tert-bütoksit.

TFA: trifloroasetik asit.

THF: tetrahidrofuran.

## 5 **LCMS Yöntemi A:**

Analiz, 40°C sıcaklıkta bir Acquity UPLC BEH C18 kolonunda (50 mm x 2,1 mm iç çap, 1,7 µm doldurma çapı) yapıldı.

Kullanılan çözücüler şunlardı:

10

A = su içinde formik asidin %0,1 h/h çözeltisi.

B = asetonitril içinde formik asidin %0,1 h/h çözeltisi.

Uygulanan gradiyent aşağıda gösterildiği gibiydi:

15

| Zaman (dakika) | Akış Hızı (mL/dakika) | % A | % B |
|----------------|-----------------------|-----|-----|
| 0              | 1                     | 97  | 3   |
| 1,5            | 1                     | 0   | 100 |
| 1,9            | 1                     | 0   | 100 |
| 2,0            | 1                     | 97  | 3   |

UV belirlemesi 210 nm'den 350 nm'ye kadar olan dalgaboyundan alınan bir ortalama sinyaldi ve kütle spektrumları, alternatif tarama pozitif ve negatif mod elektrosprey iyonizasyonu kullanılarak bir kütle spektrometresine kaydedildi.

20

## **LCMS Yöntemi B:**

Analiz, 40°C sıcaklıkta bir Acquity UPLC BEH C18 kolonunda (50 mm x 2,1 mm iç çap 1,7 µm doldurma çapı) yapıldı.

Kullanılan çözücüler şunlardı:

- 5 A = amonyak çözeltisiyle pH değeri 10'a ayarlanmış su içinde  
10 mM amonyum bikarbonat çözeltisi.  
B = asetonitril

Uygulanan gradiyent aşağıda gösterildiği gibiydi:

10

| Zaman (dakika) | Akış Hızı (mL/dakika) | % A | % B |
|----------------|-----------------------|-----|-----|
| 0              | 1                     | 99  | 1   |
| 1,5            | 1                     | 3   | 97  |
| 1,9            | 1                     | 3   | 97  |
| 2,0            | 1                     | 99  | 1   |

- UV belirlemesi 210 nm'den 350 nm'ye kadar olan dalgaboyundan alınan bir ortalama sinyaldi ve kütle spektrumları, alternatif tarama pozitif ve negatif mod elektrosprey iyonizasyonu kullanılarak bir kütle spektrometresine kaydedildi.
- 15

Bileşikler kütle yönlendirmeli otopreparatif HPLC yöntemiyle saflaştırma basamağına tabi tutulduğunda kullanılan mobil fazlar ve gradiyentler aşağıda gösterilmektedir.

20

**Kütle Yönlendirmeli Otopreparatif HPLC (Formik Asit Modifiye Edici)**

HPLC analizi, ortam sıcaklığında bir Sunfire C18 kolonunda (150 mm x 30 mm iç çap, 5 µm doldurma çapı) gerçekleştirildi.

Kullanılan çözücüler şunlardı:

5

A = su içinde formik asidin %0,1 h/h çözeltisi.

B = asetonitril içinde formik asidin %0,1 h/h çözeltisi.

**Kütle Yönlendirmeli Otopreparatif HPLC (Trifloroasetik Asit Modifiye edici)**

10

HPLC analizi, ortam sıcaklığında bir Sunfire C18 kolonunda (150 mm x 30 mm iç çap, 5 µm doldurma çapı) gerçekleştirildi.

15 Kullanılan çözücüler şunlardı:

A = su içinde trifloroasetik asidin %0,1 h/h çözeltisi.

B = asetonitril içinde trifloroasetik asidin %0,1 h/h çözeltisi.

**Kütle Yönlendirmeli Otopreparatif HPLC (Amonyum Bikarbonat Modifiye Edici)**

20

HPLC analizi, ortam sıcaklığında bir XBridge C18 kolonda (150 mm x 30 mm iç çap, 5 µm doldurma çapı) gerçekleştirildi.

25

Kullanılan çözücüler şunlardı:

A = amonyak çözeltisiyle pH değeri 10'a ayarlanmış su içinde  
10 mM amonyum bikarbonat.

B = asetonitril.

- 5 Kütle yönlendirmeli otopreparatif saflaştırmaların her biri için, kullanılan modifiye ediciden bağımsız olarak, kullanılan gradiyent, analitik LCMS'de kaydedildiği gibi saflaştırma basamağına tâbi tutulan belirli bileşiğin alıkonma süresine bağımlı ve bağılıydı ve aşağıdaki gibiydi:
- 10 Analitik LCMS alıkonma süresi 0,6 dakikadan düşük olan bileşikler için aşağıdaki gradiyent kullanıldı.

| Zaman (dakika) | Akış Hızı (mL/dakika) | % A | % B |
|----------------|-----------------------|-----|-----|
| 0              | 40                    | 99  | 1   |
| 1              | 40                    | 99  | 1   |
| 10             | 40                    | 70  | 30  |
| 11             | 40                    | 1   | 99  |
| 15             | 40                    | 1   | 99  |

- 0,6 ile 0,9 dakika arasında bir analitik LCMS alıkonma süresine sahip
- 15 bileşikler için, aşağıdaki gradiyent kullanıldı:

| Zaman (dakika) | Akış Hızı (mL/dakika) | % A | % B |
|----------------|-----------------------|-----|-----|
| 0              | 40                    | 85  | 15  |
| 1              | 40                    | 85  | 15  |

| <b>Zaman (dakika)</b> | <b>Akış Hızı (mL/dakika)</b> | <b>% A</b> | <b>% B</b> |
|-----------------------|------------------------------|------------|------------|
| 10                    | 40                           | 45         | 55         |
| 11                    | 40                           | 1          | 99         |
| 15                    | 40                           | 1          | 99         |

0,9 ile 1,2 dakika arasında bir analitik LCMS alıkonma süresine sahip bileşikler için, aşağıdaki gradiyent kullanıldı:

| <b>Zaman (dakika)</b> | <b>Akış Hızı (mL/dakika)</b> | <b>% A</b> | <b>% B</b> |
|-----------------------|------------------------------|------------|------------|
| 0                     | 40                           | 70         | 30         |
| 1                     | 40                           | 70         | 30         |
| 10                    | 40                           | 15         | 85         |
| 11                    | 40                           | 1          | 99         |
| 15                    | 40                           | 1          | 99         |

5

1,2 ile 1,4 dakika arasında bir analitik LCMS alıkonma süresine sahip bileşikler için, aşağıdaki gradiyent kullanıldı:

| <b>Zaman (dakika)</b> | <b>Akış Hızı (mL/dakika)</b> | <b>% A</b> | <b>% B</b> |
|-----------------------|------------------------------|------------|------------|
| 0                     | 40                           | 50         | 50         |
| 1                     | 40                           | 50         | 50         |
| 10                    | 40                           | 1          | 99         |
| 11                    | 40                           | 1          | 99         |
| 15                    | 40                           | 1          | 99         |

Analitik LCMS alıkonma süresi 1,4 dakikadan fazla olan (LCMS Yöntemi A) ya da 3,6 dakikadan fazla olan (LCMS yöntemi B) bileşikler için, aşağıdaki gradiyent kullanıldı:

| Zaman (dakika) | Akış Hızı (mL/dakika) | % A | % B |
|----------------|-----------------------|-----|-----|
| 0              | 40                    | 20  | 80  |
| 1              | 40                    | 20  | 80  |
| 10             | 40                    | 1   | 99  |
| 11             | 40                    | 1   | 99  |
| 15             | 40                    | 1   | 99  |

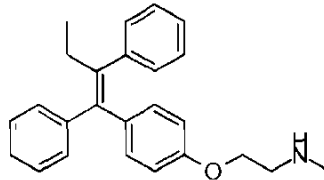
5

UV belirlemesi 210 nm'den 350 nm'ye kadar olan dalgaboyundan alınan bir ortalama sinyaldi ve kütle spektrumları, alternatif tarama pozitif ve negatif mod elektrosprey iyonizasyonu kullanılarak bir kütle spektrometresine kaydedildi.

10

Kimyasal isimler, Advanced Chemistry Development, Inc. firmasından temin edilen ACD Name Pro versiyon 6.02 kullanılarak oluşturuldu.

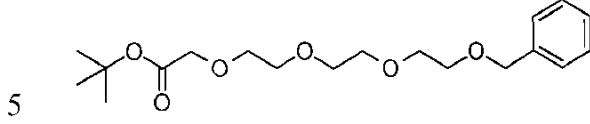
15



(Z)-2-(4-(1,2-Difenilbüt-1-en-1-il)fenoksi)-N-metiletanamin,  
 “Dreaden, Erik C. et al. Bioconjugate Chem. 2009,20, 2247-2253”

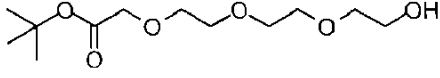
referansında tarif edilen prosese göre hazırlanabilir.

**tert-Bütil 1-fenil-2,5,8,11-tetraoksatridekan-13-olat**



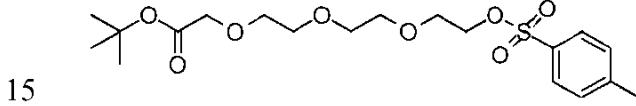
Tert-bütanol (200 mL) içinde 2-(2-(2-(benziloksi)etoksi)etoksi)etanol (örneğin Fluorochem firmasından ticari olarak temin edilebilir) (15 g, 62,4 mmol) karışık çözeltisine, potasyum tert-bütoksit (örneğin Aldrich firmasından ticari olarak temin edilebilir) (7,71 g, 68,7 mmol) ilave edildi ve reaksiyon karışımı oda sıcaklığında 2 saat süreyle karıştırıldı. Reaksiyon karışımı, 0°C sıcaklığa kadar soğutuldu; tert-bütil 2-bromoasetat (örneğin Aldrich firmasından ticari olarak temin edilebilir) (16,59 mL, 112 mmol) ilave edildi ve karışım oda sıcaklığında gece boyunca karıştırıldı. DCM (300 mL) ilave edildi ve organik faz, suyla (300 mL) ve ardından, tuzlu suyla (2 x 200 mL) yıkandı. Organik ekstre, bir hidrofobik frit kullanılarak kurutuldu ve indirgenmiş basınç altında konsantre edilerek sarı renkte bir yağ formunda ham ürün elde edildi. Ürün, sikloheksan içinde %0'dan %100'e kadar metil tert-bütil eter gradiyent elüsyonu kullanılarak silika üzerinde kromatografi yoluyla saflaştırıldı ve böylece, başlıkta atıf yapılan bileşik (13,3 g, 37,5 mmol, %60 verim) elde edildi. LCMS (Yöntem A) RT= 1,10 dakika, ES+ve m/z 372,4 [M+NH<sub>4</sub>]<sup>+</sup>.

25 **tert-Bütil 2-(2-(2-(2-hidroksietoksi) etoksi) etoksi)asetat**



Etanol (200 mL) içinde tert-bütül 1-fenil-2,5,8,11-tetraoksatridekan-  
 13-olat (13,3 g, 37,5 mmol) ve karbon üzerinde paladyum (%10 a/a,  
 5 11,38 g, 10,69 mmol) karışımı oda sıcaklığında bir hidrojen atmosferi  
 altında 1,5 saat süreyle karıştırıldı. Karbon üzerinde paladyum, Celite  
 filtreyle filtrelendi ve filtrat, indirgenmiş basınç altında  
 buharlaştırılarak sarı renkte bir yağ formunda başlıkta atıf yapılan  
 bileşik (9,74 g, 36,8 mmol, %98 verim) elde edildi. <sup>1</sup>H NMR  
 10 (400MHz, DMSO-d<sub>6</sub>)  $\delta$  = 4,54 (s, 1H), 3,99 (s, 2H), 3,60 - 3,40 (m,  
 12H), 1,43 (s, 9H).

#### tert-Bütül 2-(2-(2-(2-(tosyloksi)etoksi)etoksi)etoksi)asetat

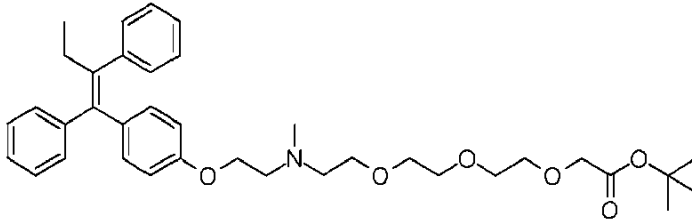


15

Piridin (150 mL) içinde tert-bütül 2-(2-(2-(2-  
 hidroksietoksi)etoksi)etoksi)asetat (9,74 g, 36,8 mmol) soğutulmuş  
 çözeltilisine (0°C), tosilklorür (örneğin Aldrich firmasından ticari  
 20 olarak temin edilebilir) (11,94 g, 62,6 mmol) ilave edildi. Reaksiyon  
 oda sıcaklığında 16 saat süreyle karıştırıldı. Reaksiyon karışımı, etil  
 asetat (300 mL) ile aköz HCl (2M, 300 mL) arasında bölüştürüldü.  
 Organik ekstre, ilave aköz HCl (2M, 300 mL), doymuş K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (100  
 mL) ve tuzlu suyla (100 mL) yıkandı. Organik ekstre,  
 25 MgSO<sub>4</sub> kullanılarak kurutuldu ve indirgenmiş basınç altında konsantre  
 edilerek sarı renkte bir yağ formunda başlıkta atıf yapılan bileşik (10,3

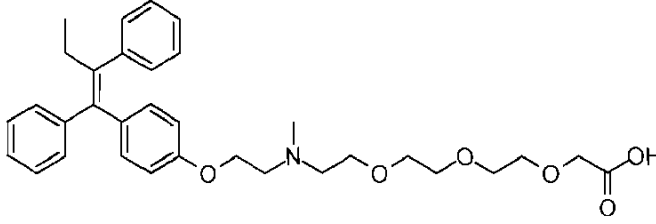
g, 24,6 mmol, %67 verim) elde edildi. LCMS (Yöntem A) RT= 1,14 min, ES+ve 436,2 [M+NH<sub>4</sub>]<sup>+</sup>.

**(Z)-tert-Bütül 1-(4-(1,2-difenilbüt-1-en-1-il)fenoksi)-3-metil-6,9,12-trioksa-3-azatetradekan-14-oat**



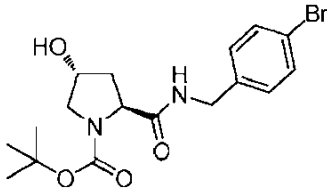
DMF (5 mL) içinde (Z)-2-(4-(1,2-difenilbüt-1-en-1-il)fenoksi)-N-  
 10 metiletanamin (141 mg, 0,394 mmol), tert-bütül 2-(2-(2-(2-(  
 (tosiloksi)etoksi)etoksi)etoksi)asetat (0,187 mL, 0,592 mmol) ve  
 K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (545 mg, 3,94 mmol) karışımı, 85°C sıcaklıkta 16 saat süreyle  
 ısıtıldı. Reaksiyon, oda sıcaklığına kadar soğutuldu ve EtOAc (30 mL)  
 ile su (30 mL) arasında bölüştürüldü. Organik ekstre, bir hidrofobik  
 15 frit kullanılarak kurutuldu ve indirgenmiş basınç altında konsantre  
 edildi. Urün, sikloheksan içinde %0'dan %100'e kadar EtOAc ve  
 ardından, diklorometan içinde %0'dan %25'e kadar metanol gradiyent  
 elüsyonu kullanılarak silika üzerinde kromatografi yoluyla saflaştırıldı  
 ve böylece, renksiz bir cam formunda başlıkta atıf yapılan bileşik (141  
 20 mg, 0,234 mmol, %59 verim) elde edildi. LCMS (Yöntem B) RT=  
 1,63 dakika, ES+ve m/z 604,2 [M+H]<sup>+</sup>.

**(Z)-1-(4-(1,2-Difenilbüt-1-en-1-il)fenoksi)-3-metil-6,9,12-trioksa-3-azatetradekan-14-oik asit**



DCM (1 mL) içinde (Z)-tert-bütül 1-(4-(1,2-difenilbüt-1-en-1-  
 il)fenoksi)-3-metil-6,9,12-trioksa-3-azatetradekan-14-oat (141 mg,  
 5 0,234 mmol) ve TFA (1 mL, 12,98 mmol) karışımı oda sıcaklığında  
 1,5 saat süreyle karıştırıldı. Reaksiyon karışımı indirgenmiş basınç  
 altında buharlaştırıldı ve daha sonra, elde edilen artık, kütle  
 yönlendirmeli otomatik preparatif HPLC (amonyum karbonat  
 modifiye edici) yöntemiyle saflaştırma işlemine tâbi tutularak renksiz  
 10 bir cam formunda başlıkta atıf yapılan bileşik (81 mg, 0,148 mmol,  
 %63 verim) elde edildi. LCMS (Yöntem B) RT= 1,14 dakika, ES+ve  
 m/z 548,2 [M+H]+.

**(2S,4R)-tert-Bütül 2-((4-bromobenzil)karbamoil)-4-  
 15 hidrokspirrolidin-1-karboksilat**

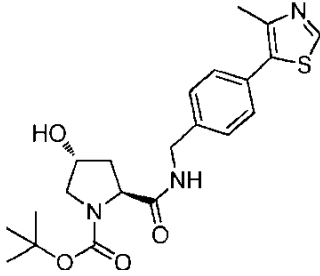


DMF (200 mL) içinde (2S,4R)-1-(tert-bütoksikarbonil)-4-  
 20 hidrokspirrolidin-2-karboksilik asit (örneğin Aldrich firmasından  
 ticari olarak temin edilebilir) (7,95 g, 34,4 mmol) ve (4-  
 bromofenil)metanamin (örneğin FluroChem firmasından ticari olarak  
 temin edilebilir) (6,4 g, 34,4 mmol) bileşenlerinin buzla soğutulmuş

bir karışımı, DIPEA (18,02 mL, 103 mmol) ile ve ardından, HATU (14,39 g, 37,8 mmol) ile işleme tâbi tutuldu ve karışım ortam sıcaklığında 30 dakika süreyle karıştırıldı. Reaksiyon, suyla (200 mL) söndürüldü ve etil asetatla (2 x 200 mL) ekstrakte edildi. Kombine organik tabakalar, doymuş aköz sodyum bikarbonatla (2 x 300 mL), suyla (100 mL) ve tuzlu suyla (200 mL) yıkandı; magnezyum sülfat üzerinde kurutuldu ve kuruyana kadar buharlaştırıldı. Ürün, DCM içinde %0'dan %10'a kadar metanol gradiyent elüsyonu kullanılarak silika üzerinde kromatografi yoluyla saflaştırıldı ve böylece, başlıkta atıf yapılan bileşik (12,9 g, 32,3 mmol, %94 verim) elde edildi. LCMS (Yöntem A) RT= 0,87 dakika, ES+ve m/z 399,2/401,2 [M+H]<sup>+</sup>.

**(2S,4R)-tert-bütil 4-hidroksi-2-((4-(4-metiltiyazol-5-il)benzil)karbamoil)pirrolidin-1-karboksilat**

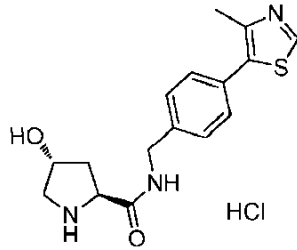
15



N-metil-2-pirrolidon (80 mL) içinde (2S,4R)-tert-bütil 2-((4-bromobenzil)karbamoil)-4-hidroksipirrolidin-1-karboksilat (12,9 g, 32,3 mmol), 4-metiltiyazol (örneğin Aldrich firmasından ticari olarak temin edilebilir) (5,88 mL, 64,6 mmol), paladyum(II) asetat (örneğin Aldrich firmasından ticari olarak temin edilebilir) (0,145 g, 0,646 mmol) ve potasyum asetat (6,34 g, 64,6 mmol) karışımı, 120°C sıcaklıkta nitrojen altında 18 saat süreyle karıştırıldı. Su (100 ml) ilave

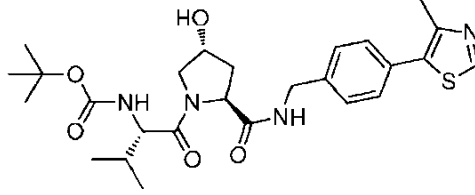
edildi ve ürün, etil asetatla (4 x 300 mL) ekstrakte edildi. Kombine organik faz, tuzlu suyla (5 x 200 mL) yıkandı; magnezyum sülfat üzerinde kurutuldu ve kuruyana kadar buharlaştırıldı. Ürün, DCM içinde %0'dan %10'a kadar metanol gradiyent elüsyonu kullanılarak silika üzerinde kromatografi yoluyla saflaştırıldı ve böylece, başlıkta atıf yapılan bileşik (8 g, 19,2 mmol, verim %59) elde edildi. LCMS (Yöntem A) RT= 0,75 dakika, ES+ve m/z 418,4 [M+H]<sup>+</sup>.

**(2S,4R)-4-Hidroksi-N-(4-(4-metiltiyazol-5-il)benzil)pirrolidin-2-karboksamid, hidroklorür**



(2S,4R)-tert-Bütil 4-hidroksi-2-((4-(4-metiltiyazol-5-il)benzil)karbamoil)pirrolidin-1-karboksilat (8 g, 19,16 mmol) bileşiği, metanol (30 mL) ve DCM (20 mL) içinde çözündürüldü ve dioksan içinde HCl (4M, 8,08 mL, 32,3 mmol) ile işleme tâbi tutuldu. Reaksiyon karışımı ortam sıcaklığında 2 saat süreyle karıştırıldı. Çözücü, indirgenmiş basınç altında çıkartıldı ve elde edilen artık, DCM ile tritüre edildi; filtrelendi ve indirgenmiş basınç altında kurularak başlıkta atıf yapılan bileşik (6,7 g, 18,9 mmol, %99 verim) elde edildi. LCMS (Yöntem A) RT= 0,49 dakika, ES+ve m/z 318,3 [M+H]<sup>+</sup>.

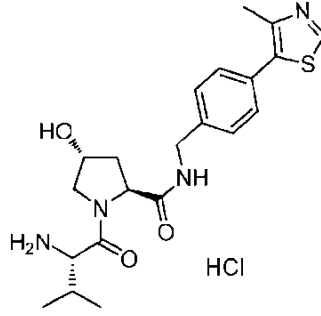
**tert-Bütil ((S)-1-((2S,4R)-4-hidroksi-2-((4-(4-metiltiyazol-5-il)benzil)karbamoil)pirrolidin-1-il)-3-metil-1-oksobütan-2-il) karbamat**



5

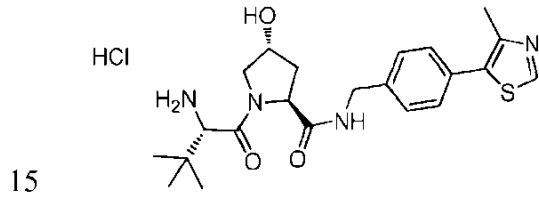
DMF (0,9 mL) içinde (2S,4R)-4-hidroksi-N-(4-(4-metiltiyazol-5-il)benzil)pirrolidin-2-karboksamid, hidroklorür (125 mg, 0,35 mmol) ve (S)-2-((tert-bütoksikarbonil)amino)-3-metilbütanoik asit (örneğin Aldrich firmasından ticari olarak temin edilebilir) (77 mg, 0,35 mmol) bileşenlerinin bir çalkalanmış karışımı, DIPEA (0,22 mL, 1,3 mmol) ile ve ardından, HATU (134 mg, 0,35 mmol) ile işleme tâbi tutuldu ve karışım ortam sıcaklığında 1 saat süreyle karıştırıldı. Reaksiyon karışımı, doğrudan doğruya kütle yönlendirmeli otomatik preparatif HPLC (formik asit modifiye edici) yöntemiyle saflaştırma işlemine tâbi tutuldu ve böylece, başlıkta atıf yapılan bileşik (120 mg, 0,232 mmol, %72 verim) elde edildi. LCMS (Yöntem A) RT= 0,87 dakika, ES+ve m/z 517,3 [M+H]<sup>+</sup>.

20 **(2S,4R)-1-((S)-2-Amino-3-metilbutanoil)-4-hidroksi-N-(4-(4-metiltiyazol-5-il)benzil)pirrolidin-2-karboksamid, hidroklorür**



THF (5 mL) içinde tert-bütül ((S)-1-((2S,4R)-4-hidroksi-2-((4-(4-  
 5 oksobütan-2-il)karbamat (287 mg, 0,56 mmol) çözeltisi, 1,4-dioksan  
 içinde HCl (4M, 10 mL, 40 mmol) ile işleme tâbi tutuldu ve ortam  
 sıcaklığında 2 saat süreyle karıştırıldı. Karışım kuruyana kadar  
 buharlaştırıldı ve böylece, başlıkta atıf yapılan bileşik (224 mg, 0,49  
 mmol, kantitatif) elde edildi. LCMS (Yöntem A) RT= 0,55 dakika,  
 10 ES+ve m/z 417,3 [M+H]<sup>+</sup>.

**(2S,4R)-1-((S)-2-Amino-3,3-dimetilbütanoil)-4-hidroksi-N-(4-(4-  
 metiltiyazol-5-il)benzil)pirrolidin-2-karboksamid, hidroklorür**

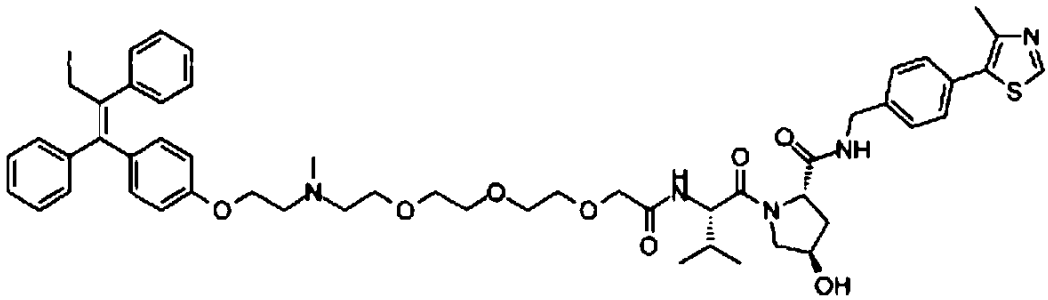


DMF (1 mL) içinde (2S,4R)-4-hidroksi-N-(4-(4-metiltiyazol-5-  
 il)benzil)pirrolidin-2-karboksamid, hidroklorür (70 mg, 0,20 mmol) ve  
 (S)-2-((tert-bütoksikarbonil)amino)-3,3-dimetilbütanoik asit (örneğin  
 20 Fluka firmasından ticari olarak temin edilebilir) (50 mg, 0,22 mmol)  
 bileşenlerinin bir çalkalanmış karışımı, DIPEA (0,14 mL, 0,79 mmol)

ile ve ardından, HATU (90 mg, 0,24 mmol) ile işleme tâbi tutuldu ve ortam sıcaklığında 30 dakika süreyle karıştırıldı. Reaksiyon karışımı, doğrudan doğruya kütle yönlendirmeli otomatik preparatif HPLC (formik asit modifiye edici) yöntemiyle saflaştırma işlemine tâbi tutuldu ve böylece, ara boc-korumalı ürün elde edildi. Daha sonra, bu ara ürün, bir diklorometan (0,5 mL) ve metanol (0,1 mL) karışımı içinde çözündürüldü ve 1,4-dioksan içinde HCl (4M, 0,25 mL, 1,0 mmol) ile işleme tâbi tutuldu. Ortam sıcaklığında 1 saat süreyle karıştırma işleminden sonra, reaksiyon karışımı kuruyana kadar buharlaştırıldı ve elde edilen artık, diklorometanla bir katıya tritüre edildi ve vakum altında kurutularak başlıkta atıf yapılan bileşik (76 mg, 0,163 mmol, %82 verim) elde edildi. LCMS (Yöntem A) RT= 0,58 dakika, ES+ve m/z 431,2 [M+H]<sup>+</sup>.

### 15 **Örnek 1**

(2S,4R)-1-((S)-17-(4-((Z)-1,2-Difenilbüt-1-en-1-il)fenoksi)-2-izopropil-15-metil-4-okso-6,9,12-trioksa-3,15-diazaheptadekan-1-oil)-4-hidroksi-N-(4-(4-metiltiyazol-5-il)benzil)pirrolidin-2-karboksamid N26699-42



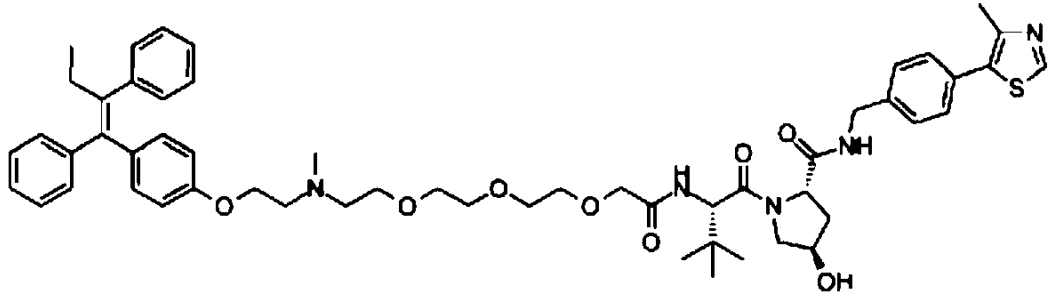
DMF (0,8 mL) içinde (2S,4R)-1-((S)-2-amino-3-metilbütanoil)-4-

hidroksi-N-(4-(4-metiltiyazol-5-il)benzil)pirrolidin-2-karboksamid, hidroklorür, (25 mg, 0,055 mmol), (Z)-1-(4-(1,2-difenilbut-1-en-1-il)fenoksi)-3-metil-6,9,12-trioksa-3-azatetradekan-14-oik asit (27 mg, 0,049 mmol) ve DIPEA (0,05 mL, 0,286 mmol) karışımına, HATU (26 mg, 0,068 mmol) ilave edildi. Reaksiyon oda sıcaklığında 10 dakika süreyle karıştırıldı. Çözelti, doğrudan doğruya kütle yönlendirmeli otomatik preparatif HPLC (amonyum karbonat modifiye edici) yöntemiyle saflaştırma işlemine tâbi tutuldu ve böylece, başlıkta atıf yapılan bileşik (36 mg, 0,038 mmol, %77 verim) elde edildi. LCMS (Yöntem B) RT= 1,44 dakika, ES+ve m/z 946,2 [M+H]<sup>+</sup>.

## **Ornek 2**

**(2S,4R)-1-((S)-2-(tert-Bütil)-17-(4-((Z)-1,2-difenilbut-1-en-1-il)fenoksi)-15-metil-4-okso-6,9,12-trioksa-3,15-diazaheptadekan-1-oil)-4-hidroksi-N-(4-(4-metiltiyazol-5-il)benzil)pirrolidin-2-karboksamid N26699-42**

20



DMF (0,8 mL) içinde (2S,4R)-1-((S)-2-amino-3,3-dimetilbütanoil)-4-hidroksi-N-(4-(4-metiltiyazol-5-il)benzil)pirrolidin-2-karboksamid, hidroklorür (25 mg, 0,054 mmol), (Z)-1-(4-(1,2-difenilbüt-1-en-1-

il)fenoksi)-3-metil-6,9,12-trioksa-3-azatetradekan-14-oik asit (27 mg, 0,049 mmol) ve DIPEA (0,05 mL, 0,286 mmol) karışımına, HATU (26 mg, 0,068 mmol) ilave edildi. Reaksiyon oda sıcaklığında 10 dakika süreyle karıştırıldı. Çözelti, doğrudan doğruya kütle  
5 yönlendirmeli otomatik preparatif HPLC (amonyum karbonat modifiye edici) yöntemiyle saflaştırma işlemine tâbi tutuldu ve böylece, başlıkta atıf yapılan bileşik (14 mg, 0,014 mmol, %30 verim) elde edildi. LCMS (Yöntem B) RT= 1,48 dakika, ES+ve m/z 960,2 [M+H]<sup>+</sup>.

10

### **Ostrojen reseptörü alfa (ERa) bozunması ve hücre sayısı görüntüleme eseyi**

Bileşikler, yüksek içerikli görüntüleme kullanılarak bir MCF-7 hücre  
15 hattında ERa bozunması ve hücre sayısı etkileri açısından değerlendirildi. Vasat içerisinde 50ul MCF-7 hücre süspansiyonu, 0,03 uM ile 30 uM konsantrasyon aralığını kapsayan, DMSO içinde çözüldürülmüş bir tanımlanmış test bileşiği konsantrasyonunu içeren, siyah duvarlı, şeffaf tabanlı, PDL kaplı plakaların her bir kuyucuğuna  
20 dağıtıldı. Hücreler, bileşiğin varlığında 37°C sıcaklıkta ve %5 CO<sub>2</sub> koşullarında 24 saat süreyle inkübe edildi ve ardından, hücreler fikse edildi. Fiksatif çözeltiyle (%4 formaldehid) inkübasyondan sonra, kuyucuklar aspire edildi ve deterjan içeren bir çözelti ilave edilerek hücreler permeabilize edildi ve ardından, %1 BSA (bovin serum albümini) içeren bloklama çözeltisi ilave edilerek spesifik  
25 olmayan bağlanma yerleri bloke edildi. İlave 1 saat süreyle inkübasyondan sonra, bu çözelti, kuyucuklardan aspire edildi ve 1 ug/ml konsantrasyonda bloklama çözeltisi içinde seyreltilmiş ERa

- spesifik antikor (anti ERa, katalog no. sc-543, Santa Cruz) ilave edildi. 2 saat süreyle antikorla inkübasyonun ardından, hücreler, 2 ug/ml konsantrasyonda bir sekonder anti tavşan floresan-etiketli Alexa Fluor 488 keçi antikorunu (katalog no. 11008, Invitrogen) ve 1 ug/ml konsantrasyonda bir nükleer lekeleme boyası Hoechst33342 (katalog no. H3570, invitrogen) ilave edilmeden önce bir PBS-bazlı çözeltiyle yıkandı. İlave 1 saat süreyle inkübasyondan sonra, hücreler, PBS-bazlı çözeltiyle yeniden yıkandı. Daha sonra, plakalar görüntülendi ve nükleusta ERa lekeleme yoğunluğu ve hücre sayısı ölçüldü. ERa bozunma aktivitesi, %0 oranında bozunma gösteren DMSO'ya göre ve %100 aktivite gösteren olarak sınıflandırılan bir şirket-içi bozundurma molekülüne göre ifade edilmiştir. Hücre sayısı azalması, %0 azalma olarak sınıflandırılan DMSO'ya göre ifade edilmiştir.
- 15 Örnekler, 1uM konsantrasyonda DMSO kontrolüne kıyasla bu eseyde ERa bozunmasına ilişkin kanıtları göstermektedir.

## TARİFNAME İÇERİSİNDE ATIF YAPILAN REFERANSLAR

Başvuru sahibi tarafından atıf yapılan referanslara ilişkin bu liste, yalnızca okuyucunun yardımı içindir ve Avrupa Patent Belgesinin bir kısmını oluşturmaz. Her ne kadar referansların derlenmesine büyük önem verilmiş olsa da, hatalar veya eksiklikler engellenememektedir ve EPO bu bağlamda hiçbir sorumluluk kabul etmemektedir.

### Tarifname içerisinde atıfta bulunulan patent dökümanları:

- WO 2013106643 A [0005]
- US 5681835 A [0113]
- US 5877219 A [0113]
- US 6207716 B [0113]
- US 6268391 B [0118]

### Tarifnamede belirtilen patentleştirilmemiş literatür:

10

- **CYRUS et al.** ChemMedChem., 2010, vol. 5 (7), 979-985 [0005]
- **BURKE et al.** J. Med. Chem., 2004, vol. 47 (5), 1193-1206 [0005]
- **WILLSON et al.** J. Med. Chem., 1994, vol. 37 (11), 1550-1552 [0005]
- **BERGE et al.** J. Pharm. Sci., 1977, vol. 66, 1-19 [0030]
- **MARKMAN et al.** Yale Journal of Biology and Medicine, 1991, vol. 64, 583 [0078]
- **MCGUIRE et al.** Ann. Intern. Med., 1989, vol. 111, 273 [0078]
- **HOLMES et al.** J. Nat. Cancer Inst., 1991, vol. 83, 1797 [0078]
- **EINZIG.** Proc. Am. Soc. Clin. Oncol., vol. 20, 46 [0078]
- **FORASTIRE.** Sem. Oncol., 1990, vol. 20, 56 [0078]
- **WOO.** Nature, 1994, vol. 368, 100-101 [0078]
- **MASSAGUE, J. ; WEIS-GARCIA, F.** Cancer Surveys., 1996, vol. 27, 41-64 [0118]
- **PHILIP, P.A. ; HARRIS, A.L.** Cancer Treatment and Research., 1995, vol. 78, 3-27 [0118]
- **LACKEY, K. et al.** Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters, 2000, vol. 10, 223-226 [0118]
- **MARTINEZ-IACACI, L. et al.** Int. J. Cancer, 2000, vol. 88 (1), 44-52 [0118]
- **ABRAHAM, R.T.** Current Opinion in Immunology, 1996, vol. 8 (3), 412-8 [0119]
- **CANMAN, C.E. ; LIM, D.S.** Oncogene, 1998, vol. 17 (25), 3301-3308 [0119]
- **JACKSON, S.P.** International Journal of Biochemistry and Cell Biology., 1997, vol. 29 (7), 935-8 [0119]

750 [0078]

- **IGNOFF, R.J.** Cancer Chemotherapy Pocket Guide, 1998 [0078]
- **KEARNS, C.M.** Seminars in Oncology, 1995, vol. 3 (6), 16-23 [0078]
- **KATH, JOHN C.** Exp. Opin. Ther. Patents, 2000, vol. 10 (6), 803-818 [0116]
- **SHAWVER et al.** DDT, February 1997, vol. 2 (2) [0116]
- Growth factor receptors as targets. **LOFTS, F. J. et al.** New Molecular Targets for Cancer Chemotherapy. CRC press, 1994 [0116]
- **SINH, S. ; COREY, S.J.** Journal of Hematotherapy and Stem Cell Research, 1999, vol. 8 (5), 465-80 [0117]
- **BOLEN, J.B.; BRUGGE, J.S.** Annual review of Immunology, 1997, vol. 15, 371-404 [0117]
- **SMITHGALL, T.E.** Journal of Pharmacological and Toxicological Methods, 1995, vol. 34 (3), 125-32 [0117]
- **YAMAMOTO, T. ; TAYA, S. ; KAIBUCHI, K.** Journal of Biochemistry., 1999, vol. 126 (5), 799-803 [0118]
- **BRODT, P ; SAMANI, A. ; NAVAB, R.** Biochemical Pharmacology, 2000, vol. 60, 1101-1107 [0118]
- **ZHONG, H. et al.** Cancer res, 2000, vol. 60 (6), 1541-1545 [0119]
- **POWIS, G. ; KOZIKOWSKI A.** New Molecular Targets for Cancer Chemotherapy. CRC press, 1994 [0120]
- **SCHAROVSKY, O.G. ; ROZADOS, V.R. ; GERVASONI, S.I. ; MATAR, P.** Journal of Biomedical Science, 2000, vol. 7 (4), 292-8 [0121]
- **ASHBY, M.N.** Current Opinion in Lipidology., 1998, vol. 9 (2), 99-102 [0121]
- BioChim. Biophys. Acta, vol. 1423 (3), 19-30 [0121]
- **GREEN, M.C. et al.** Monoclonal Antibody Therapy for Solid Tumors. Cancer Treat. Rev., 2000, vol. 26 (4), 269-286 [0122]
- Tyrosine Kinase Signalling in Breast cancer:erbB Family Receptor Tyrosine Kinases. Breast cancer Res., 2000, vol. 2 (3), 176-183 [0122]
- **BREKKEN, R.A. et al.** Selective Inhibition of VEGFR2 Activity by a monoclonal Anti-VEGF antibody blocks tumor growth in mice. Cancer Res., 2000, vol. 60, 5117-5124 [0122]
- **ROSANIA et al.** Exp. Opin. Ther. Patents, 2000, vol. 10 (2), 215-230 [0126]
- **T. W. GREEN ; P. G. M. WUTS.** Protective Groups in Organic Synthesis. John Wiley & Sons, 1999 [0147]
- **DREADEN, ERIK C. et al.** Bioconjugate Chem., 2009, vol. 20, 2247-2253 [0167]