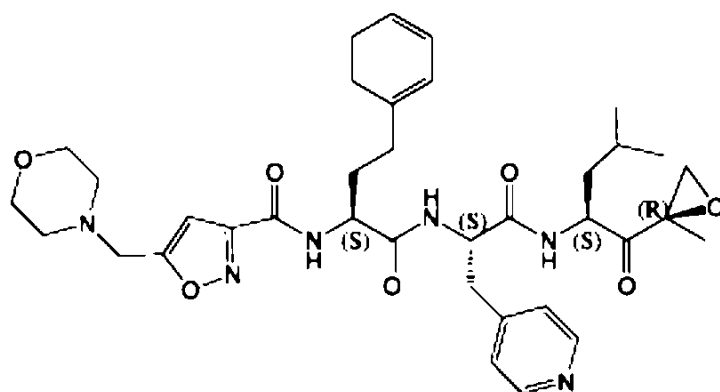


ÖZET**ENZİM İNHİBİSYONU İÇİN ETOKSİKETON BİLEŞİKLERİ**

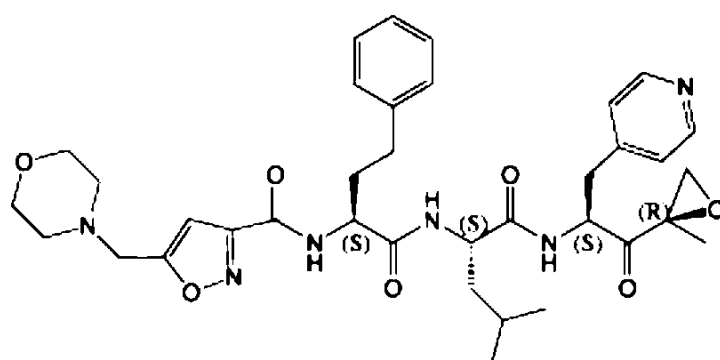
5 Mevcut tarifname, proteazomların inhibitörleri olarak yararlı olan yeni bileşikler ve bunların farmasötik bileşimleri ile ilgilidir. Burada sağlanan bileşikler, gelişmiş proteazom potansiyeline ve seçiciliğe ve artmış sulu çözünürlüğe sahiptir ve proteazomlar ile ilişkili çeşitli rahatsızlıkların veya hastalıkların tedavisinde kullanışlıdır.

İSTEMLER

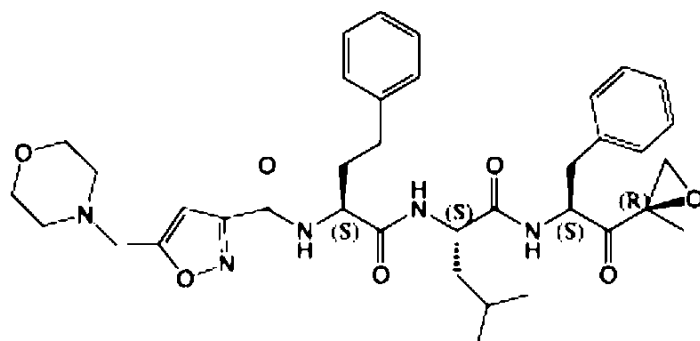
1. Aşağıda gösterilen bir yapıya sahip olan bir bileşik ve bunun farmasötik olarak kabul edilebilir tuzu veya solvatu



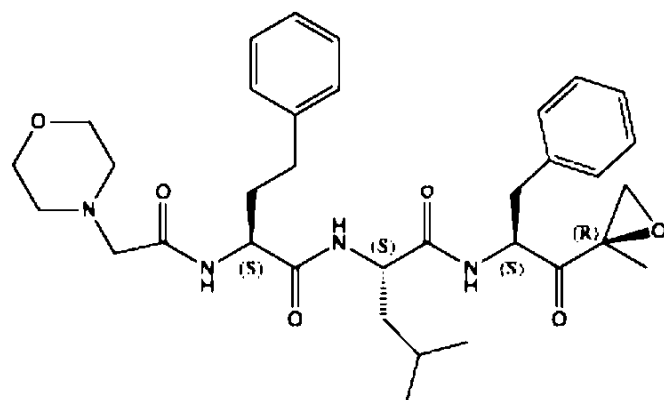
CX13-103.



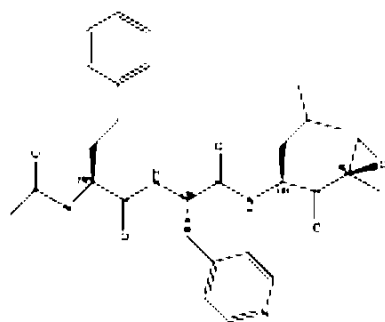
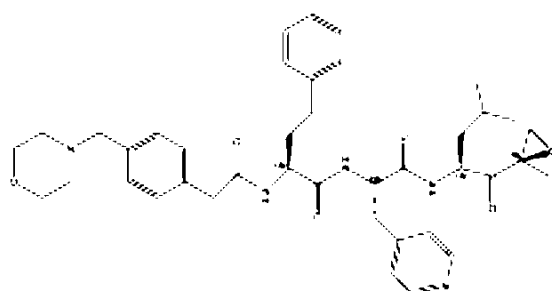
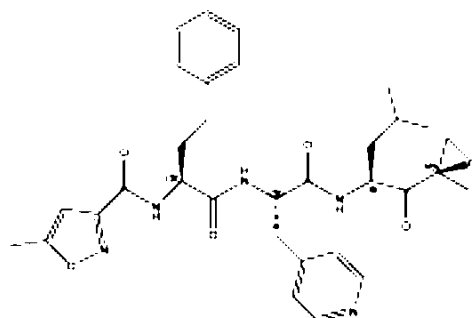
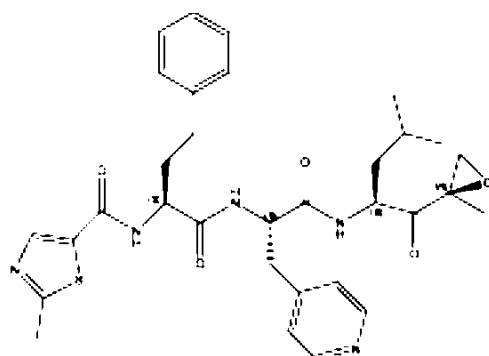
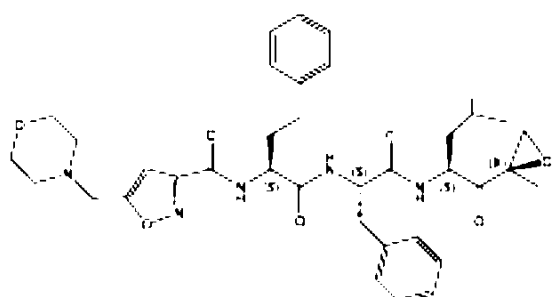
CX13-104.

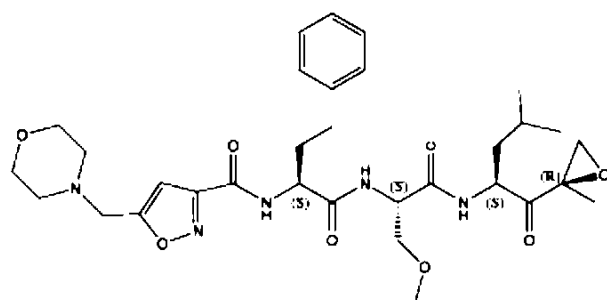


CX13-105.

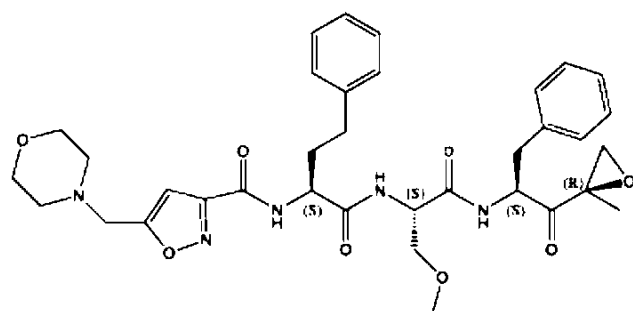


CX13-107.

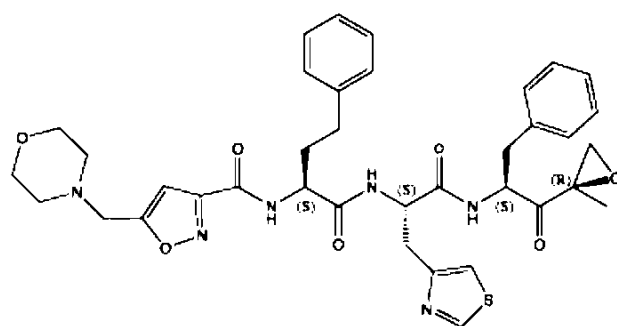
**CX13-130.****CX13-133.****CX13-135****CX13-137.****CX13-600.**



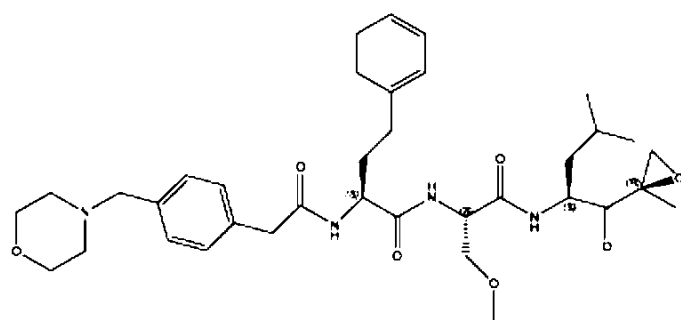
CX13-601,



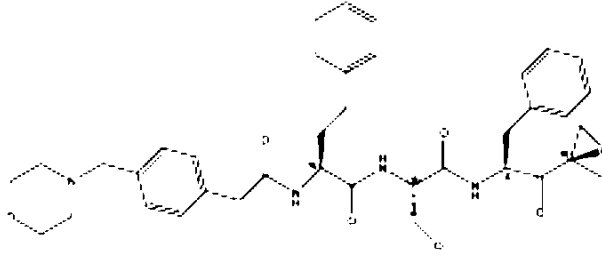
CX13-603,



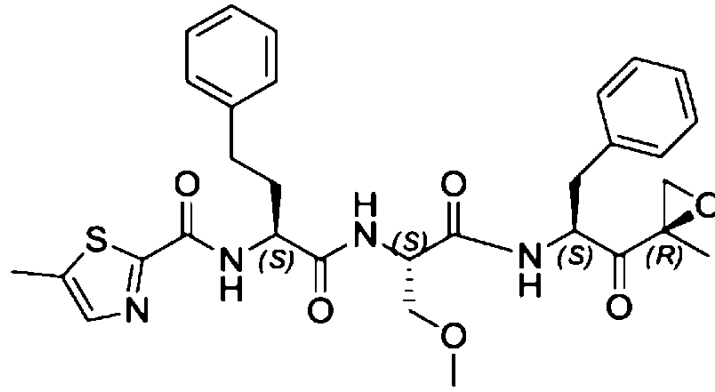
CX13-605,



CX13-606,

**CX13-608.**

veya

**CX13-705.**

5

2. Bir farmasötik bileşim olup, İstem 1'e göre bir bileşik ve farmasötik olarak kabul edilebilir bir taşıyıcı içermektedir.

10

3. İstem 1'e göre bileşik olup, 20S proteozamın katalitik aktivitesini spesifik olarak inhibe etmeye ve proteazom ile ilişkili bir hastalığı veya koşulu tedavi etmeye ilişkin bir yöntemde kullanıma yöneliktir.

15

4. İstem 3'e göre kullanıma yönelik bileşik olup, burada 20S proteazomun CT-L aktivitesi ve T-L aktivitesi eş zamanlı olarak inhibe edilmektedir.

5. İstem 4'e göre kullanıma yönelik bileşik olup, burada bileşik bir parenteral yol aracılığıyla uygulanmaktadır.

20

6. İstem 5'e göre kullanıma yönelik bileşik olup, burada bileşik subkütanöz olarak, intravenöz olarak, intramüsküler olarak, intraarterial olarak, intraatekal olarak, intrakapsüler olarak, intraorbital olarak, intra kardiyak olarak, intradermal olarak,

intraperitoneal olarak, transtrakeal olarak, subkutikular olarak, intraartikular olarak, subkapsüler olarak, subaraknoid olarak, intraspinal olarak, intraasternal olarak veya infüzyon aracılığıyla uygulanmaktadır.

- 5 7. İstem 4'e göre kullanıma yönelik bileşik olup, burada bileşik bir parenteral olmayan yol aracılığıyla uygulanmaktadır.
- 10 8. İstem 7'ye göre kullanıma yönelik bileşik olup, burada bileşik oral olarak, enteral olarak, bukkal olarak, nazal olarak, intranazal olarak, transmukozal olarak, epidermal olarak, transdermal olarak, dermal olarak, oftalmisil olarak, pulmonaril olarak, sublingual olarak, rektal olarak, vajinal olarak veya topikal olarak uygulanmaktadır.
- 15 9. İstem 1'e göre bir bileşiğin 20S proteozom ile ilişkili bir hastalığı veya koşulu tedavi etmek için bir ilacın üretiminde kullanımıdır.
- 20 10. İstemler 3-8'den herhangi birinin kullanımına yönelik bileşik veya İstem 9'a göre kullanım olup, burada 20S proteazom ile ilişkili hastalık veya koşul kanser, nörotoksik/dejeneratif hastalık, Alzheimer hastalığı, iskemik koşul, inflamasyon, bağışıklıkla ilişkili hastalık, HIV enfeksiyon, organ graft reddi, septik şok, antijen sunumunun inhibisyonu, viral gen ekspresyonunun azalması, parazitik enfeksiyon, asidoz ile bağlantılı koşul, maküler dejenerasyon, pulmoner koşul, kas atrofi, fibrotik hastalık ve kemik ve saç büyüme hastalıklarından oluşan gruptan seçilmektedir.

TARİFNAME

ENZİM İNHİBİSYONU İÇİN ETOKSİKETON BİLEŞİKLERİ

İLGİLİ BAŞVURULARA ÇAPRAZ REFERANS

5

Mevcut başvuru 14 Haziran 2014'te dosyalanan 62/024,024 sayılı ABD geçici patent başvurusu karşısında rüçhan talep etmektedir.

BULUŞUN SAHASI

10

Mevcut buluş peptit epoksiketon yapısının bir omurgasına sahip olan bileşikler ile ilgilidir. Bu bileşikler örneğin proteazomları inhibe etmekte faydalıdır.

ALT YAPI

15

Proteazom hücre içi proteinlerin regüle edilmiş bozunmasına aracılık etmekte kritik bir rol oynayan bir multikatalitik proteaz kompleksidir. İn vivo proteazom kompleksinin 26S proteazom olarak mevcut olduğuna inanılmakta olup, bu da moleküler ağırlık açısından yaklaşık 2000 kDa olan ve bir 20S çekirdek parçacıktan (20S proteazom) ve iki 19S regülatör parçacıktan oluşmaktadır. Çekirdeğin içi boştur ve proteinleri içinde bozunduğu kapalı bir kavite sağlamaktadır. Çekirdek parçacığının her bir ucu birden çok ATPaz aktif alanlar ve ubikuitin bağlama alanlarını içeren, poliubikuitinlenmiş proteinleri ayırt eden ve bunları katalitik çekirdeğe transfer eden bir 19S regülatör alt birim ile ilişkilidir. 11S parçacık olarak adlandırılan regülatör alt birimin alternatif bir formu esasen 19S parçacık ile aynı şekilde çekirdekle ilişkilidir; 11S yabancı proteinlerin bozunmasında bir rol oynayabilmektedir. Çekirdek parçacık 20S proteazom moleküler ağırlık açısından yaklaşık 700 kDa'dır ve dört halkada organize olan 28 alt birimden oluşmaktadır. Maya ve diğer ökaryotlarda 7 α alt birim iki dış halkanın her birini oluşturmaktadır ve 7 β alt birim iki iç halkanın her birini oluşturmaktadır. Bir α halka 19S veya 11S regülatör kompleks için bağlama alanları aynı zamanda iki β iç halka için bir fiziksel bariyer olarak işlev görmektedir. İki iç β halka aktif proteolitik alan içermektedir. Proteinlerin bozunması iki β halkasının birleşmesi vasıtasıyla oluşturulan merkezi hazne içinde meydana gelmektedir. İn vivo 20S proteazomun inhibisyonu 26S proteazomun inhibisyonu ile direkt olarak ilişkilidir. İki proteazom formu vardır: vücuttaki hücrelerin büyük kısmı tarafından aynı zamanda her yerde bulunarak eksprese edilen

temel yapı proteazom ve hematopoietik hücrelerde ve inflamatuvar sitokinlere maruz kalmış hücrelerde baskın olarak eksprese edilen immünoproteazom. Proteazom aracılı protein bozunması çeşitli hücre içi işlemler için gerekli olan büyük oranda regüle edilmiş bir işlemdir. Farklı peptit substratların kullanımı aracılığıyla ökaryot proteazom için üç ana proteolitik aktivite tanımlanmıştır: büyük hidrofobik kalıntılardan sonra yarılan kimotripsin benzeri aktivite (CT-L); temel kalıntılardan sonra yarılan tripsin benzeri aktivite (T-L) ve asidik kalıntılardan sonra yarılan peptidilglutamil peptit hidrolize edici aktivite (PGPH). Proteazom ilaç gelişimi için çekici bir hedef olarak uzun zaman önce ayırt edilmiştir ve ilk olarak klinik açıdan onkolojide terapötik bir hedef olarak onaylanmıştır (Orlowski and Kuhn, *Clin. Cancer Res.* (2008), 14, 1649-1657).

Proteazom aktivitesini inhibe etmek için peptit boronik asitler, p-laktonlar ve peptit epoksiketonlar dahil olmak üzere çeşitli küçük moleküller kullanılmıştır (Bennett and Kirk, *Current Opinion in Drug Discovery & Development* (2008), 11, 616-625; Borissenko and Groll, *Chem. Rev.* (2007) 107, 687-717). Ancak bu bileşikler genel olarak moleküler, hücresel ve in vivo seviyede proteazomun rollerini tam olarak araştırmak ve açığa çıkartmak için gerekli uygun spesifiteden ve/veya potansiyelden muaftır. Örneğin diğer proteazları inhibe ettikleri bulunmuş olduğundan dolayı peptit boronik asitler ve p-laktonlar proteazom için spesifik değildir (Borissenko and Groll, *Chem. Rev.* (2007) 107, 687-717; Myung et al., *Medicinal Research Reviews* (2001), 21, 245-273). Bu durum bu inhibitörlerin proteazom olmayan hedeflerin inhibisyonu ile bağlantılı olan in vivo hedef dışı aktiviteler sergileyebilme olasılığını arttırmaktadır. Diğer taraftan US8088741B2, US6831099B1, WO2005/105827, CN101044157A, US7687452B2, WO 2014/018807A1, Zhang et al, *Chem.Biol.& Drug Design* (2014) 84, 497-504 ve US2007/0105786A1 sayılı patent belgelerinde açıklandığı üzere peptit epoksiketonlar proteazomların inhibitörleri olarak son derece seçicidir. Ancak bu peptit epoksiketonlar düşük sulu çözünürlüğe ve/veya daha az optimal proteazom inhibitör potansiyeline sahiptir. Dolayısıyla teknikte gelişmiş farmasötik ve/veya biyolojik özelliklere sahip olan yeni proteazom inhibitörleri geliştirmeye yönelik ihtiyaçlar vardır.

30

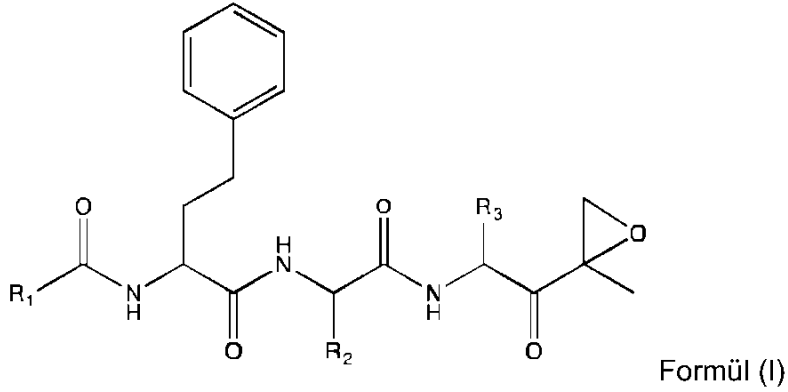
KISA AÇIKLAMA

Burada bir tri-peptit keton epoksi omurgaya sahip olan bileşikler sağlanmaktadır. Ayrıca burada arttırılmış suda çözünürlüğü ve gelişmiş proteazom inhibitör özelliği olan bileşikler açıklanmaktadır.

35

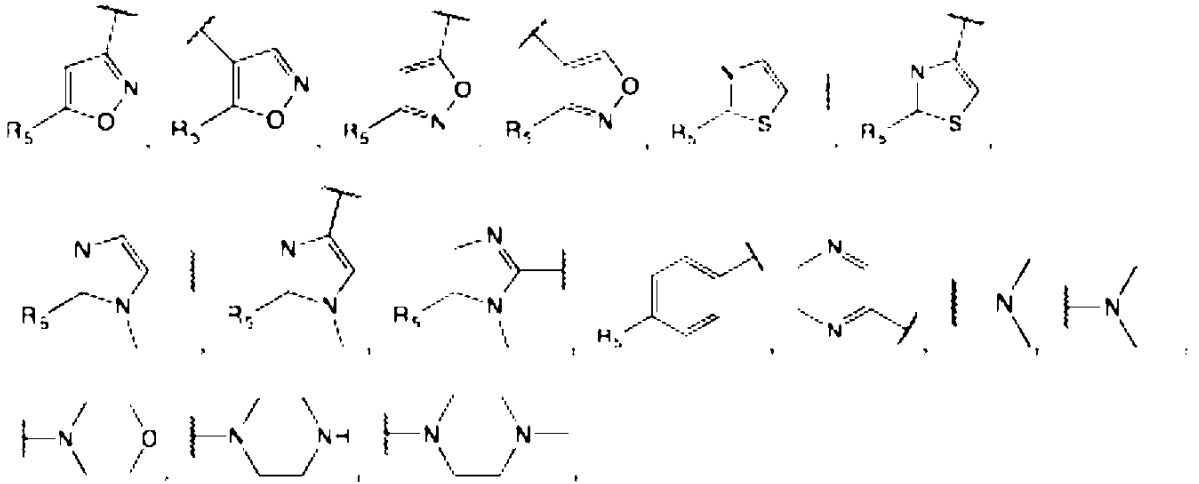
Burada Formül (I)'de gösterilen bir yapıya veya bunun bir enantiyomerine, diastereomerine, tautomerine, farmasötik olarak kabul edilebilir tuzuna veya solvatına veya ön ilacına sahip olan bileşikler açıklanmaktadır:

5



burada R_1 $-(CH_2)_m-R_4$ 'tür, burada $m=0$ veya 1'dir, R_4 aşağıdakilerden oluşan gruptan seçilmektedir, C_{1-10} alkil

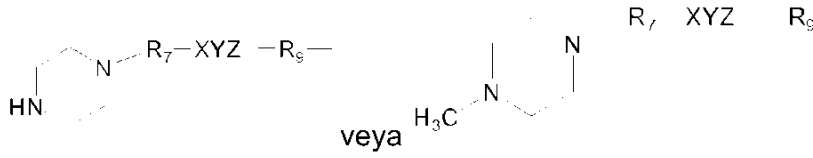
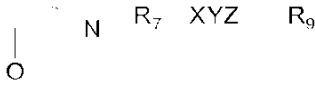
10



burada

15 R_5 'in her biri bağımsız olarak H, hidroksil, C_{1-10} alkil, C_{1-10} alkoksil, C_{1-10} hidroksialkil, C_{1-10} alkiloksialkil, NH_2 , NHR_6 , $-R_7-O(C=O)-R_8$ 'dir,

$-R_7-(C=O)X-R_8$, $-R_7-OPO_3M_1M_2$,



burada

5

R_6 C_{1-10} alkil, fenil, $-(C=O)-C_{1-6}$ alkil veya $-(C=O)$ -fenildir, R_7 ve R_9 'un her biri bağımsız olarak yoktur veya C_{1-10} alkilendir, R_8 'in her biri bağımsız olarak H, hidroksil, metal veya C_{1-10} alkil, $-C_{1-10}$ alkilen, $-NR_{10}R_{11}$ veya $-OPO_3M_1M_2$ 'dir, R_{10} ve R_{11} 'in her biri bağımsız olarak H, C_{1-10} alkil (örneğin C_{1-6} alkil) veya ornatılmış C_{1-10} alkil (örneğin C_{1-6} alkil)'dir,

10 M_1 ve M_2 'nin her biri bağımsız olarak H veya metaldir,

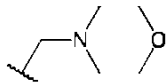
X yoktur veya O'dur,

Y yoktur veya $-(C=O)-$ 'dur,

Z yoktur veya O'dur ve

15 R_2 ve R_3 'ün her biri bağımsız olarak C_{1-10} alkil, C_{1-10} alkenil, C_{1-10} hidroksialkil, C_{1-10} alkoksialkil, aril, C_{1-10} aralkil, heteroaril, C_{1-10} heteroaralkil, heterosiklil, C_{1-10} heterosikloalkil, karbosiklil ve C_{1-10} karbosiklolalkilden seçilmektedir,

burada R_3, R_1

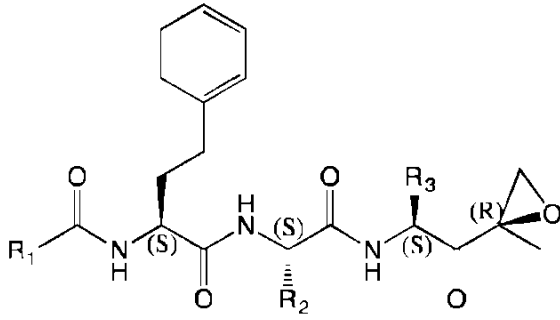


20

olduğunda ve R_2 izobütil olduğunda 4-pridilmetil değildir.

Ayrıca burada Formül (II)'nin bir konfigürasyonuna sahip olacak şekilde burada sağlanan Formül (I)'in bileşiği açıklanmaktadır:

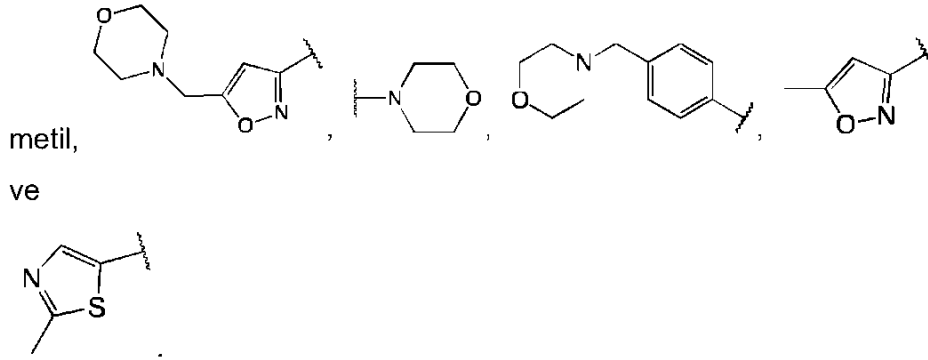
25



Formül (II)

burada R₁, R₂ ve R₃'ün her biri *yukarıda* tanımlandığı gibidir.

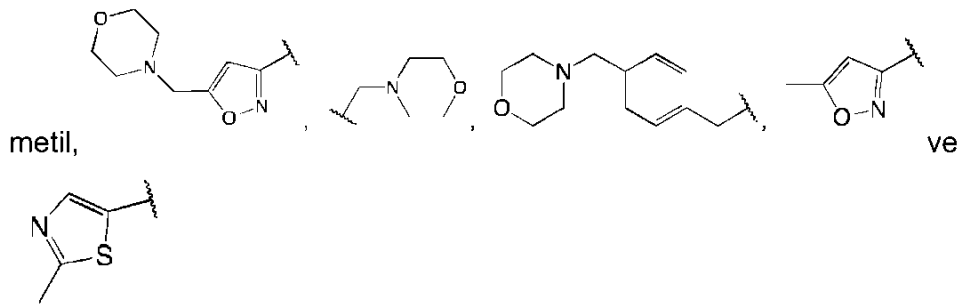
- 5 R₄ aşağıdakilerden oluşan gruptan seçilebilmektedir:



metil,
ve

10

R₁ aşağıdakilerden oluşan gruptan seçilebilmektedir:



metil,

ve

- 15 R₂ C₁₋₁₀alkil, C₁₋₁₀alkoksialkil, aril, heteroaril, C₁₋₁₀aralkil veya C₁₋₁₀heteroaralkil olabilmektedir.

R₂ metil-oksi-metil, 4-piridilmetil, izobütil, benzil veya 4-tiazolil-metil olabilmektedir.

R₃ C₁₋₁₀alkil, aril, heteroaril, C₁₋₁₀aralkil veya C₁₋₁₀heteroaralkil olabilmektedir.

R₃ izobütil, 4-piridilmetil veya benzil olabilmektedir.

- 5 Bir yönde mevcut buluş 20S proteazomun katalitik aktivitesini inhibe edebilen tri-peptit epoksiketonlar sağlamaktadır. Belirli uygulamalarda burada sağlanan tri-peptit epoksiketonlar yaklaşık 500 nM, 250 nM, 100 nM, 50 nM, 10 nM veya 5 nM'nin altında konsantrasyonda 20S proteazomların CT-L katalitik aktivitesinin bir IC₅₀ inhibisyonuna sahiptir.
- 10 Başka bir yönde burada açıklanan bileşikler gelişmiş suda çözünürlüğe sahiptir. Belirli uygulamalarda burada sağlanan tri-peptit epoksiketonlar en az yaklaşık 0,02, 0,05, 0,1, 0,5 veya 1 mg/m'lik suda çözünürlüğe sahiptir.
- 15 Başka bir yönde mevcut buluş farmasötik bileşimler sağlamakta olup, farmasötik olarak kabul edilebilir bir taşıyıcı ve örneğin diğerleri arasından kanser, inflamasyon, nörodejeneratif hastalık (Alzheimer gibi), kas atrofisi hastalığı, kronik bulaşıcı hastalıklar, ateş, kas kullanamama, denervasyon, sinir hasarı ve bağışıklıkla ilgili koşullar dahil olmak üzere insan koşullarının tedavisinde faydalı olan, burada açıklanan
- 20 bir 20S proteazom inhibitörünün terapötik olarak etkili bir miktarını içermektedir.
- Belirli uygulamalarda farmasötik bileşimler burada sağlanan bir bileşiğin yaklaşık 10⁻⁹ g ile yaklaşık 10 g'sini içermektedir. Denek başına günlük uygun dozajlar yaklaşık 0,01 mg ile yaklaşık 5 g olabilmektedir.
- 25 Belirli uygulamalarda burada açıklanan bileşikler veya farmasötik bileşimler ihtiyacı olan bir deneğe bir parenteral yol (örneğin subkütanöz, intravenöz, intramüsküler, intraarterial, intraatekal, intrakapsular, intraorbital, intra kardiyak, intradermal, intraperitoneal, transtrekeal, subkutiküler, intraartikular, subkapsüler, subaraknoik,
- 30 intraspinal, intraternal ve/veya infüzyon) ve bir parenteral olmayan yol (örneğin oral, enteral, bukkal, nazal, intranazal, transmukosal, epidermal, transdermal, dermal, oftalmik, pulmoner, sublingua, rektal, vajinal veya topikal) aracılığıyla iletim için uygun olan bir dozaj formuna formüle edilmektedir.

Mevcut buluşun başka bir yönü 20S proteazom ile bağlantılı bir koşulu tedavi etmeye ilişkin yöntemler ile ilgili olup, burada sağlanan bileşiğin terapötik olarak etkili bir miktarını uygulamayı içermektedir.

- 5 Başka bir yönde mevcut buluş bir peptit epoksiketon yapmaya ilişkin bir yöntem sağlamaktadır.

Mevcut buluşun diğer özellikleri ve avantajları aşağıdaki detaylı açıklamadan ve istemlerden açık hale gelecektir.

10

ŞEKİLLERİN KISA AÇIKLAMASI

- ŞEKİL 1, burada açıklanan bir bileşiğin uygulandığı Balb/c farelerden toplanan kan örneklerindeki proteazom aktivitesinin geriye kalan yüzdesini göstermektedir. Aracın uygulandığı farelerden toplanan kan örneklerindeki proteazom aktivitesi %100 olarak değerlendirilmiştir (kontrol grubu). Geriye kalan aktivite burada açıklanan bir bileşiğin 10 mg/kg'de intravenöz enjeksiyon (IV) aracılığıyla veya 30 mg/kg'de oral besleme (PO) aracılığıyla uygulandığı farelerden toplanan kan örneklerindeki proteazom aktivitesinin kontrol grubu ile karşılaştırılması vasıtasıyla hesaplanmıştır.

20

ŞEKİL 2A, HT-29 insan kolorektal adenokarsinoma ksenograftlarını taşıyan farelerde CX13-103'ün antitümör etkisini göstermektedir. İstatistiksel analiz 2-yönlü ANOVA kullanılarak elde edilmiştir.

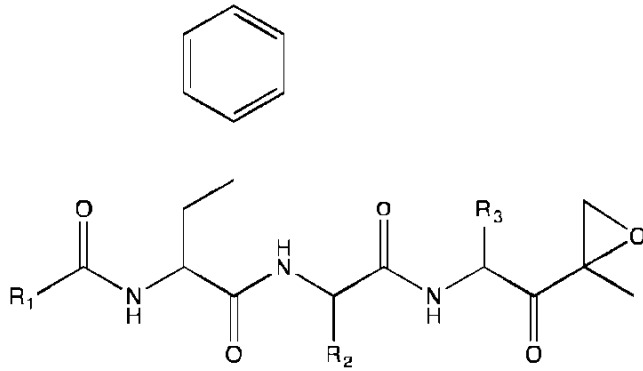
- 25 ŞEKİL 2B, RL insan lenfoma ksenograftlarını taşıyan farelerde CX13-103'ün antitümör etkisini göstermektedir. İstatistiksel analiz 2-yönlü ANOVA kullanılarak elde edilmiştir.

DETAYLI AÇIKLAMA

- 30 Bileşikler ve bunların farmasötik tuzları

Genel olarak burada Formül (I)'in bir yapısına veya bunun bir enantiyomerine, diastereomerine, tautomerine, farmasötik olarak kabul edilebilir tuzuna veya solvatına veya ön ilacına sahip olan bileşikler açıklanmaktadır:

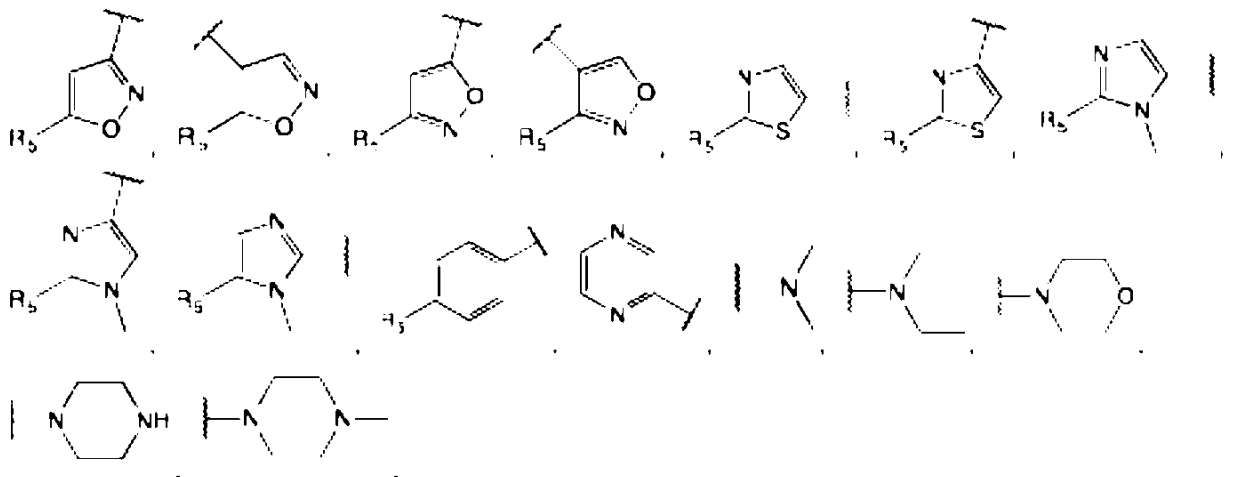
35



Formül (I)

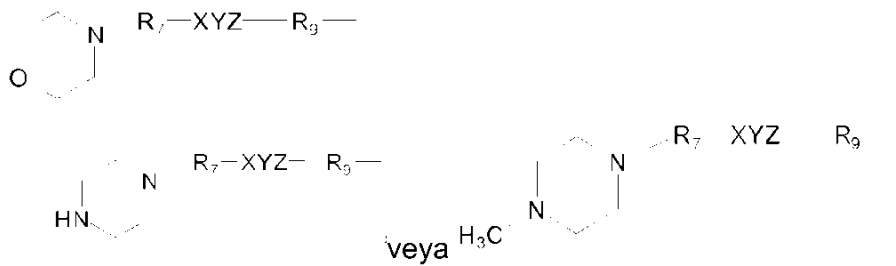
burada R_1 $-(CH_2)_m-R_4$ 'tür, burada $m=0$ veya 1'dir, R_4 C_{1-10} alkilden oluşan gruptan seçilmektedir,

5



burada

- R_5 'in her biri bağımsız olarak şunlardır: H, hidroksil, C_{1-10} alkil, C_{1-10} alkoksil, C_{1-10} hidroksialkil, C_{1-10} alkiloksialkil, NH_2 , NHR_6 , $-R_7-O(C=O)-R_8$, $-R_7-(C=O)X-R_8$, $-R_7-OPO_3M_1M_2$



15 burada

R_6 C_{1-10} alkil, fenil, $-(C=O)-C_{1-6}$ alkil veya $-(C=O)$ -fenildir,

R_7 ve R_9 'un her biri bağımsız olarak yoktur veya C_{1-10} alkilendir,

R_8 'in her biri bağımsız olarak H, hidroksil, metal veya C_{1-10} alkil, $-C_{1-10}$ alkilen, $-NR_{10}R_{11}$ veya $-OPO_3M_1M_2$ 'dir,

- 5 R_{10} ve R_{11} 'nin her biri bağımsız olarak H, C_{1-10} alkil (örneğin C_{1-6} alkil) veya ornatılmış Ci -ioalkil (örneğin C_{1-6} alkil)'dir,

M_1 ve M_2 'nin her biri bağımsız olarak H veya metaldir,

X yoktur veya O'dur,

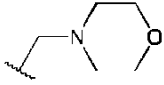
Y yoktur veya $-(C=O)$ -'dur,

- 10 Z yoktur veya O'dur ve

R_2 ve R_3 'ün her biri bağımsız olarak C_{1-10} alkil, C_{1-10} alkenil, C_{1-10} hidroksialkil, C_{1-10} alkoksialkil, aril, C_{1-10} aralkil, heteroaril, C_{1-10} heteroaralkil, heterosiklil, C_{1-10} heterosikloalkil, karbosiklil ve C_{1-10} karbosiklolalkilden seçilmektedir,

15

burada R_3, R_1



olduğunda ve R_2 izobütil olduğunda 4-pidilmetil değildir.

- 20 Özellikle $R_5 -R_7-O(C=O)-R_8$ 'dir ve R_7 ve R_8 *yukarıdaki* gibi tanımlanmaktadır.

Özellikle R_7 yoktur ve R_8 H, C_{1-10} alkil (örneğin C_{1-4} alkil, C_{1-6} alkil), $-C_{1-10}$ alkilen, $-NR_{10}R_{11}$ 'den seçilmektedir, burada R_{10} ve R_{11} *yukarıda* tanımlanmaktadır. Belirli uygulamalarda R_7 C_{1-10} alkilen (örneğin $-CH_2-$, $-C_2H_4-$, $-C_3H_7-$, vb.), ve R_8 H, C_{1-10} alkil (örneğin C_{1-6} alkil), $-C_{1-10}$ alkilen, $-NR_{10}R_{11}$ 'den seçilmekte olup, burada R_{10} ve R_{11} *yukarıda* tanımlanmaktadır.

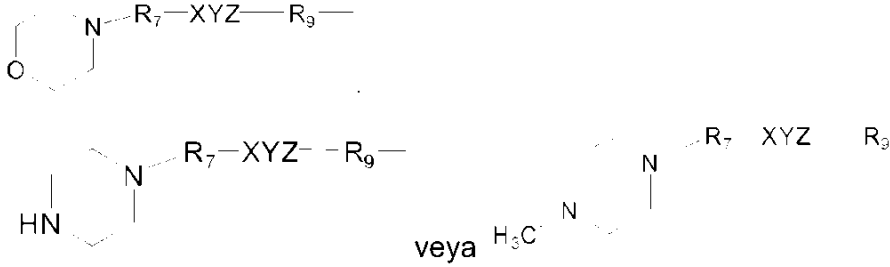
25

Alternatif olarak $R_5 -R_7-(C=O)X-R_8$ 'dir ve R_7 ve R_8 *yukarıdaki* gibi tanımlanmaktadır. Belirli uygulamalarda R_7 yoktur, X O'dur ve R_8 H, metal (örneğin Na ve K), NH_4 , C_{1-10} alkil (örneğin C_{1-6} alkil), $-C_{1-10}$ alkilen ve $-NR_{10}R_{11}$ 'den seçilmektedir, burada R_{10} ve R_{11} *yukarıda* tanımlanmaktadır. Özellikle R_7 yoktur, X yoktur ve $R_8 -NR_{10}R_{11}$ 'den seçilmektedir, burada R_{12} ve R_{13} *yukarıda* tanımlanmaktadır.

30

Alternatif olarak R_5 NH_2 , $NHCOMe$, $NHCOEt$, $NHCOC_3H_7$ veya $NHBoc$ 'dir.

Alternatif olarak R₅ şöyledir:



5

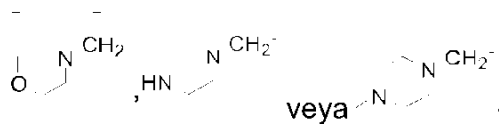
ve R₇, R₉, X, Y ve Z *yukarıdaki* gibi tanımlanmaktadır. Özellikle R₇, R₉, X, Y ve Z'nin en azından biri vardır. Belirli uygulamalarda X, Y, Z ve R₇'nin hiçbiri yoktur ve R₉ C₁₋₁₀alkilendir (örneğin -CH₂-, -C₂H₄-, -C₃H₇- vb.). Özellikle R₇, R₉ ve X'in hiçbiri yoktur, Y -(C=O)-'dur ve Z O'dur. Özellikle R₇ ve X'in ikisi de yoktur, R₉ C₁₋₁₀alkilendir (örneğin -CH₂-, -C₂H₄-, -C₃H₇- vb.), Y -(C=O)-'dur ve Z O'dur. Özellikle R₉ ve X'in ikisi de yoktur, R₇ C₁₋₁₀alkilendir (örneğin -CH₂-, -C₂H₄-, -C₃H₇-, vb.), Y -(C=O)-'dur ve Z O'dur.

10

15

Özellikle X yoktur, R₇ ve R₉'un her ikisi de bağımsız olarak C₁₋₁₀alkilendir (örneğin -CH₂-, -C₂H₄-, -C₃H₇- vb.), Y -(C=O)-'dur ve Z O'dur. R₇, R₉, X ve Z'nin tamamı olmayabilir ve Y -(C=O)-'dur.

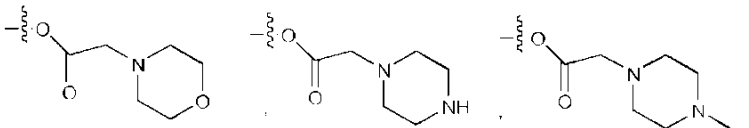
Özellikle R₅'in her biri bağımsız olarak şunlardır: H, -CH₃, -C₂H₅, -C₃H₇,

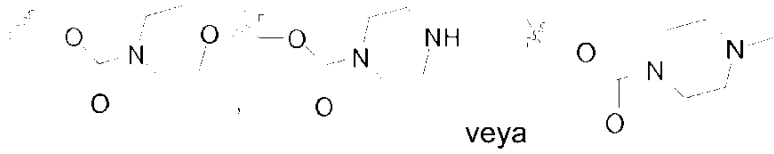


20

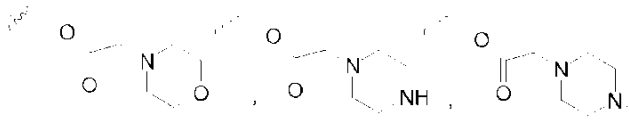
Belirli uygulamalarda R₅'in her biri bağımsız olarak şunlardır: -OH, -OCH₃, -OC₂H₅, -OC₃H₇, -OPO₃Na₂, -OC(=O)CH₃, -OC(=O)C₂H₅, -OC(=O)C₃H₇, -OC(=O)C₄H₉, -OC(=O)CH₂NH₂, -OC(=O)CH₂N(CH₃)₂, -OC(=O)CH₂N(C₂H₅)₂, -OC(=O)NH₂, -OC(=O)N(CH₃)₂, -OC(=O)N(C₂H₅)₂,

25

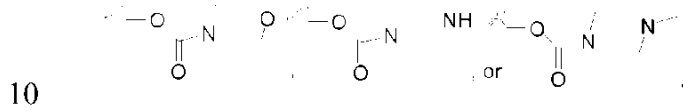




- Özellikle R₅'in her biri bağımsız olarak şunlardır: -CH₂OH, -C₂H₅OH, -C₃H₇OH, -CH₂OC(=O)CH₃, -CH₂OC(=O)C₂H₅, -CH₂OC(=O)C₃H₇, -CH₂OC(=O)C₄H₉, -CH₂OPO₃Na₂, -CH₂OC(=O)CH₂NH₂, -CH₂OC(=O)CH₂N(CH₃)₂, -CH₂OC(=O)CH₂N(C₂H₅)₂,



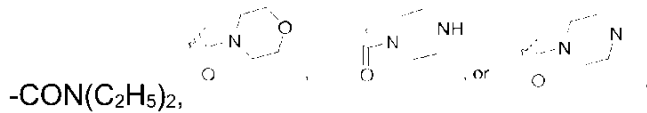
-CH₂OC(=O)NH₂, -CH₂OC(=O)N(CH₃)₂, -CH₂OC(=O)N(C₂H₅)₂,



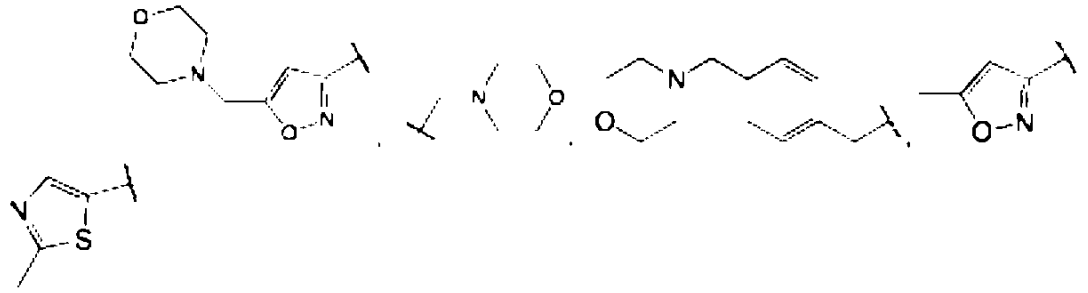
10

R₅'in her biri bağımsız olarak şunlardır: -(C=O)OH, -(C=O)ONa, -(C=O)ONH₄, -(C=O)OCH₃, -(C=O)OC₂H₅, -(C=O)OC₃H₇ veya -(C=O)OC₄H₉.

- 15 Alternatif olarak R₅'in her biri bağımsız olarak şunlardır: -CONH₂, -CON(CH₃)₂,



Özellikle R₁ şunlardan oluşan gruptan seçilmektedir:



metil,
ve

- 5 Özellikle R_2 ve R_3 bağımsız olarak C_{1-10} alkil, C_{1-10} alkoksialkil, aril, heteroaril, C_{1-10} aralkil veya C_{1-10} heteroaralkildir.

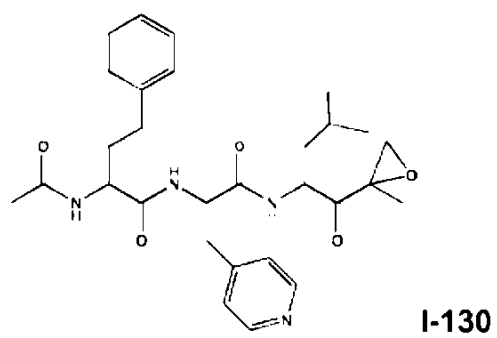
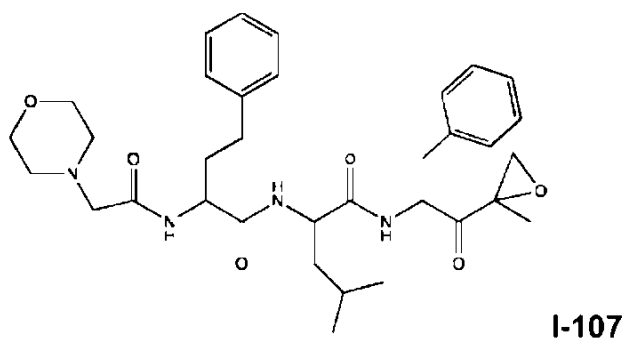
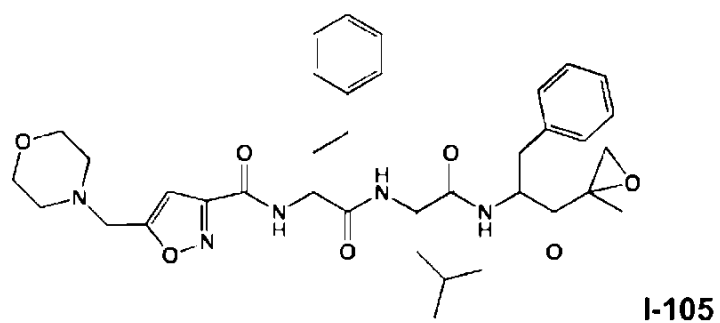
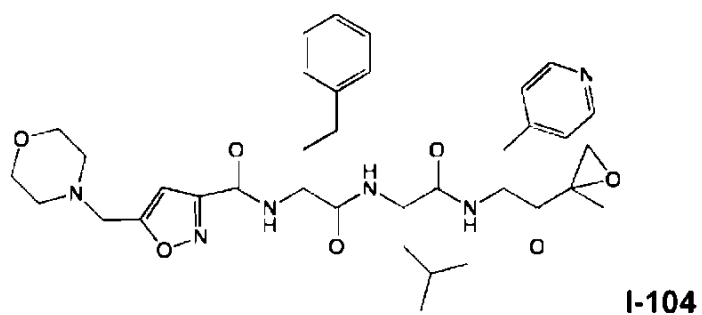
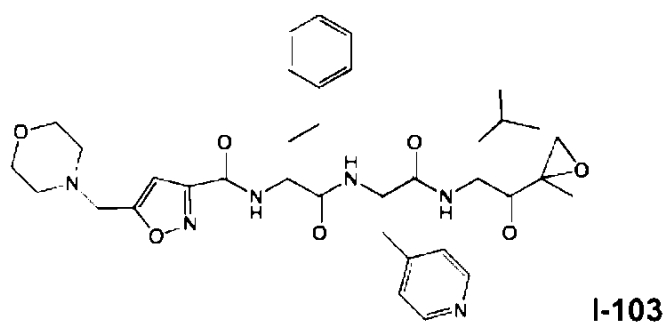
R_2 ve R_3 bağımsız olarak $-(CH_2)_nR_{12}$, R_{12} C_{1-6} alkil, fenil, piridil, $-O-C_{1-6}$ alkil, tiazolil olup, burada $n=0, 1, 2, 3, 4, 5$.

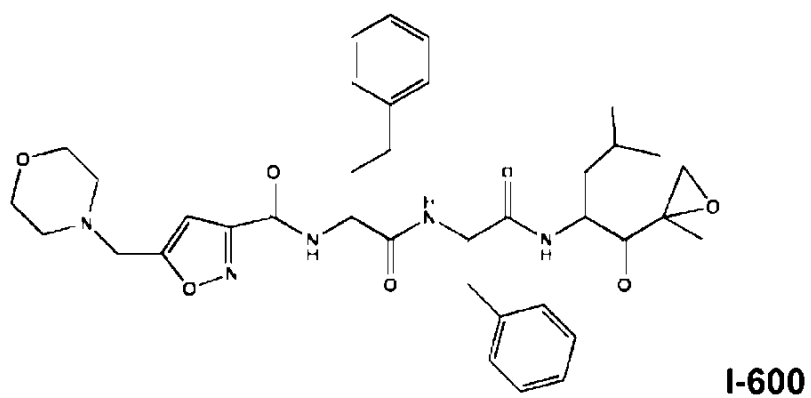
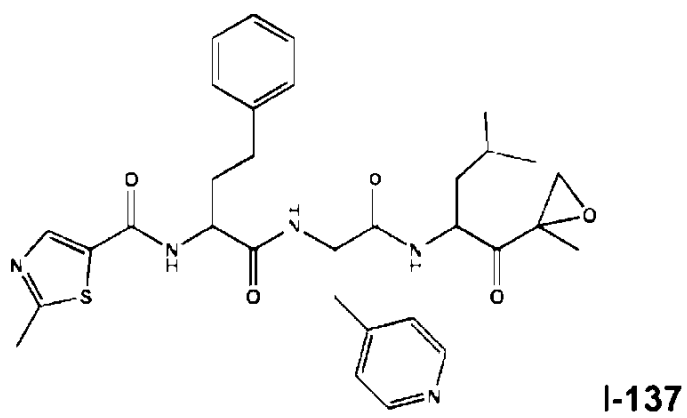
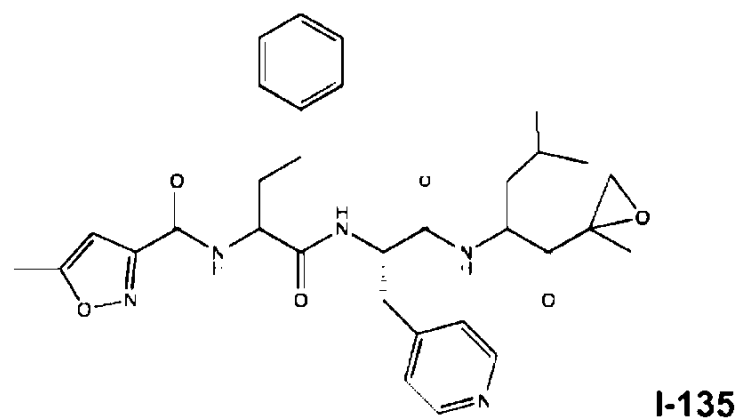
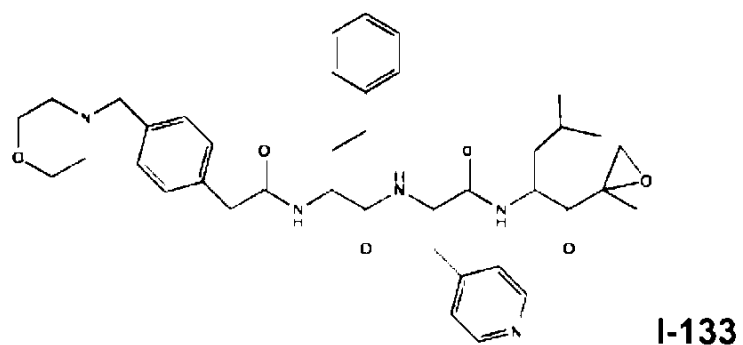
10

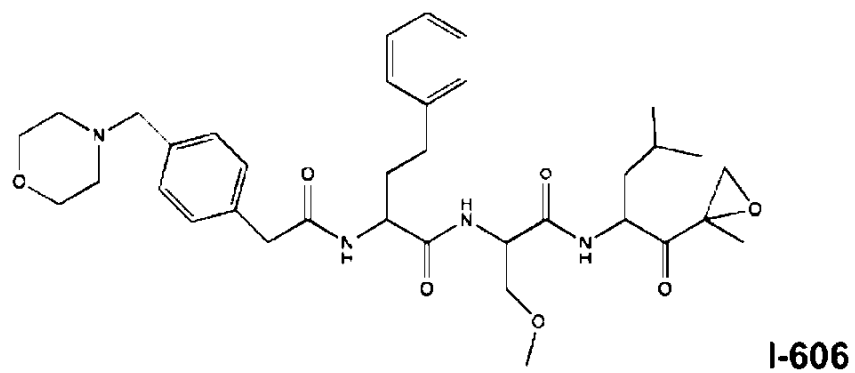
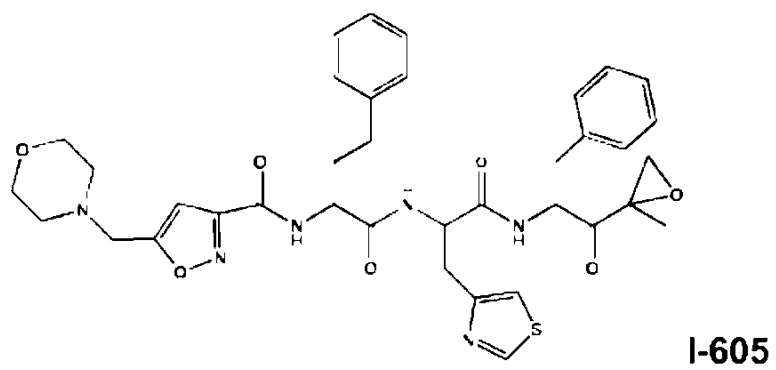
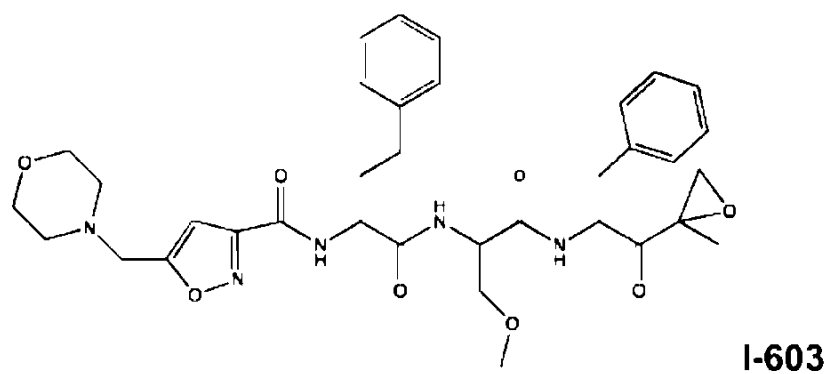
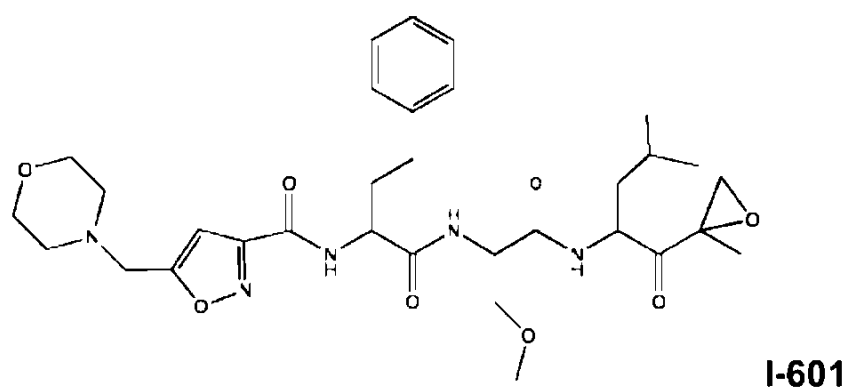
Özellikle R_2 metil-oksi-metil, 4-piridilmetil, izobütil, benzil veya 4-tiazolil-metildir.

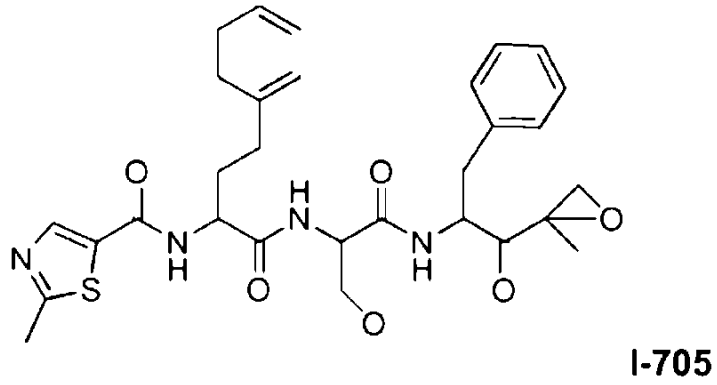
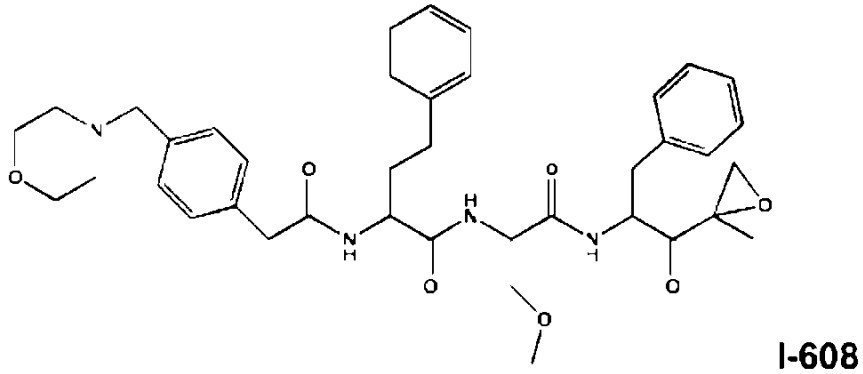
Özellikle R_3 izobütil, 4-piridilmetil veya benzildir.

- 15 Fomül (I)'in bir yapısına sahip olan bileşiklere ilişkin örnekler aşağıda listelenen bileşikler içermektedir:





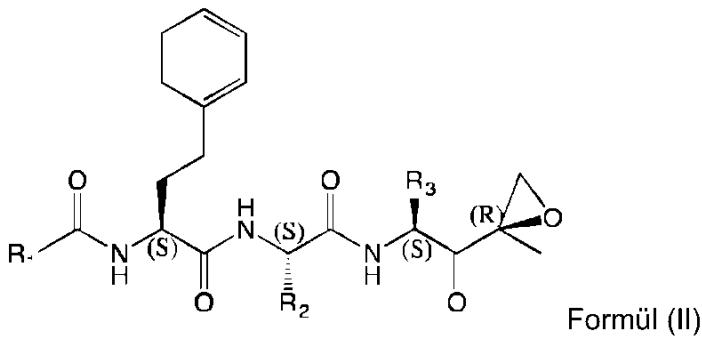




burada Formül (I)'deki kiral karbonların her biri bağımsız olarak R konfigürasyonunda veya S konfigürasyonunda olabilmektedir.

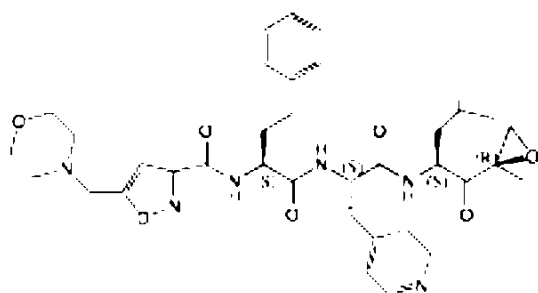
5

Burada açıklandığı üzere Formül (I)'in bir bileşiği Formül (II)'de gösterilen bir konfigürasyona sahip olup, burada R₁, R₂ ve R₃ yukarıda sağlanan tanımlara sahiptir:

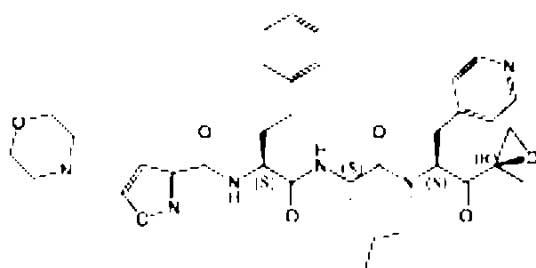


10

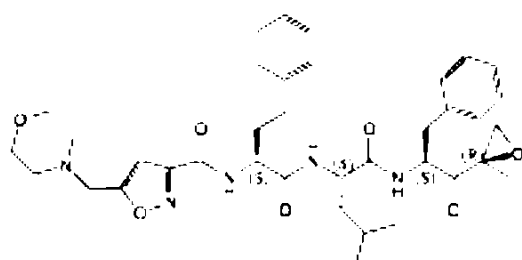
Mevcut buluşa göre burada sağlanan bileşikler aşağıda listelenen bileşiklerden seçilen bir yapı ve enantiyomerleri, diastereomerleri, tautomerler, farmasötik olarak kabul edilebilir tuzlarını veya solvatlarını içermektedir:



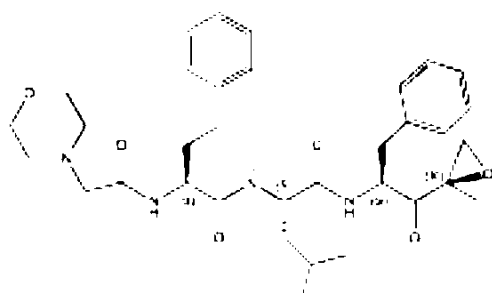
CX13-103,



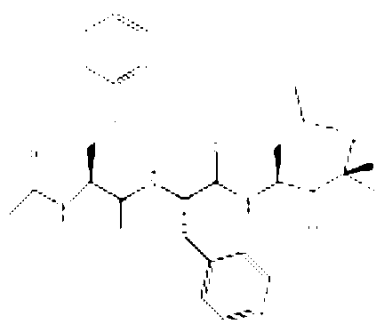
CX13-104,



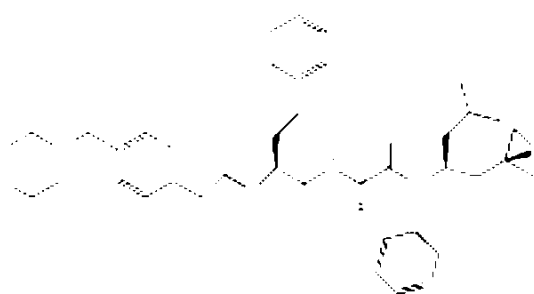
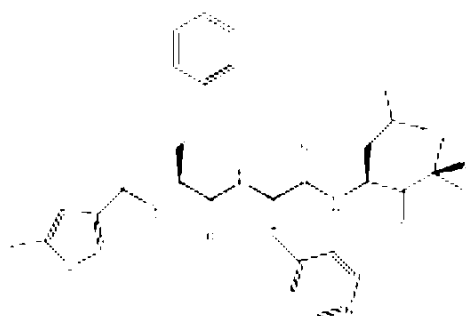
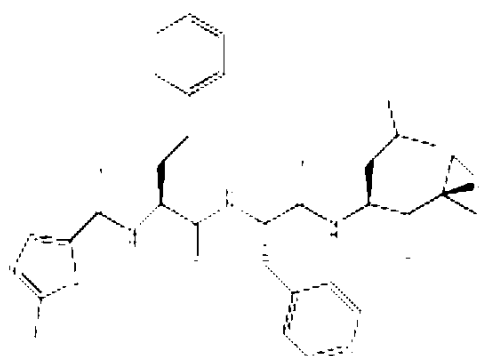
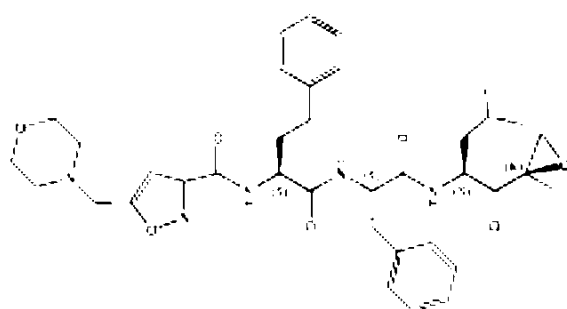
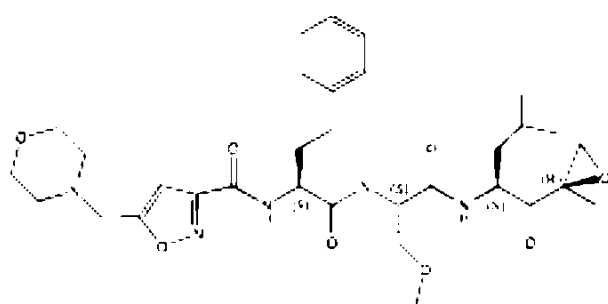
CX13-105,

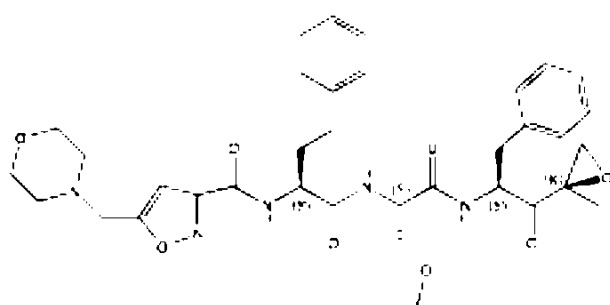
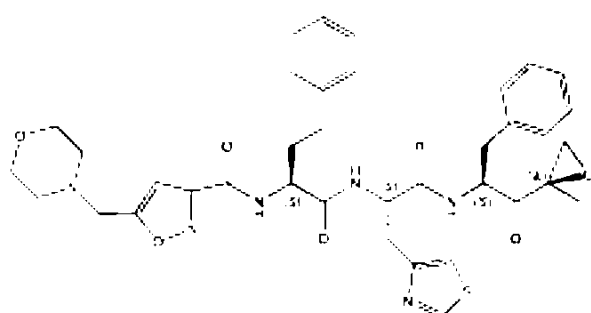
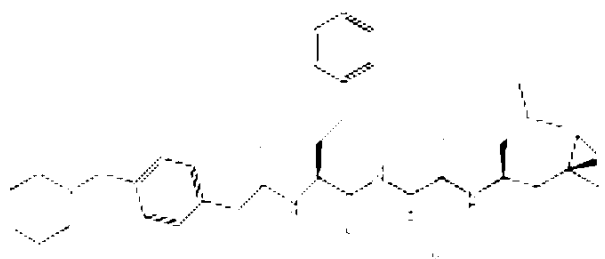
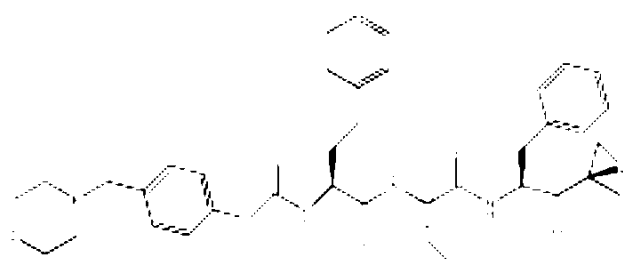
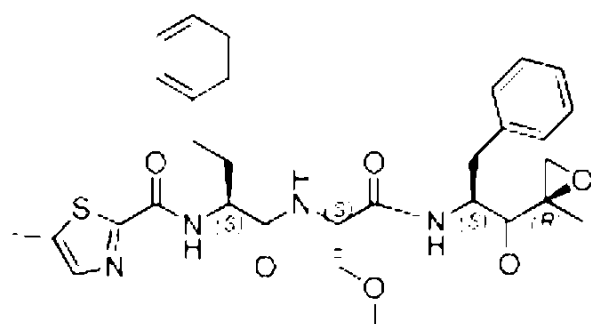


CX13-107,



CX13-130,

**CX13-133,****CX13-135****CX13-137,****CX13-600.****CX13-601,**

**CX13-603.****CX13-605.****CX13-606.****CX13-608.****CX13-705**

Farmasötik olarak kabul edilebilir tuzlar fizyolojik olarak kabul edilebilir olan ve hedeflenen bir hastaya uygulama için uygun olan herhangi bir tuz veya ester olabilmektedir.

- 5 Farmasötik olarak kabul edilebilir tuzlara ilişkin örnekler asit ekleme tuzlarını (örneğin hidroklorür, hidrobromit, hidroidodid, nitrat, sülfat, bisülfat, fosfat, asit fosfat, izonikotinat, asetat, laktat, salisilat, pantoteanat, bitartrat, askorbat, sükkinat, maleat, gentisinat, fumarat, glukonat, glukaronat, sakkarat, format, benzoat, glutamat, methanesulfonat, etanesulfonat, benzensulfonat, p-toluenesulfonat ve pamoat tuzları)
- 10 ve baz tuzlarını (örneğin alüminyum, kalsiyum, lityum, magnezyum, potasyum, sodyum, çinko ve dietanolamin tuzları) içermektedir.

Tanım

- 15 “C_{x-y}alkil” terimi düz zincirli alkil ve dallanmış zincirli alkil grupları dahil olmak üzere zincirde x ile y karbon içeren ornatılmış veya ornatılmamış doymuş hidrokarbon gruplarını ifade etmektedir.

- 20 “C_{2-y}alkenil” ve “C_{2-y}alkinil” terimleri uzunlukça benzer ve yukarıda açıklanan alkiler için muhtemel ornatımlı ancak sırasıyla en az bir çift veya üçlü bağ içeren ornatılmış veya ornatılmamış doymuş alifatik grupları ifade etmektedir.

- 25 “Alkoksi” terimi buraya takılı bir oksijene sahip olan bir alkili ifade etmektedir. Örnek alkoksi grupları metoksi, etoksi, propoksi, tert-bütoksi ve benzerini içermektedir. Bir “eter” bir oksijen tarafından kovalent olarak bağlanan iki hidrokarbondur.

Dolayısıyla bir alkilin, alkilin bir eter olmasını veya bir alkoksiye benzemesini sağlayan ornatımdır.

- 30 “C₁₋₁₀alkoksialkil” terimi bir alkoksi grubu ile ornatılan bir C₁₋₁₀alkil grubunu ifade etmekte, böylelikle bir eter oluşturmaktadır.

Burada kullanıldığı üzere “C₁₋₁₀aralkil” terimi bir aril grubu ile ornatılan bir C₁₋₁₀alkil grubunu ifade etmektedir.

Burada kullanıldığı üzere “C₁₋₁₀heteroaralkil” terimi bir heteroaril grubu ile ornatılan bir C₁₋₁₀alkil grubunu ifade etmektedir.

5 Burada kullanıldığı üzere “aril” terimi 5-, 6- ve 7-elemanlı ornatılmış veya ornatılmamış tek halkalı aromatik grupları içermekte olup, burada halkanın her bir atomu karbondur.

“Heteroaril” terimi ornatılmış veya ornatılmamış aromatik 5- ila 7-elemanlı halka yapıları, daha da tercihen halka yapıları bir ila dört heteroatom içeren 5- ila 6-elemanlı halkaları içermektedir.

10

Burada kullanıldığı üzere “karboksikl” ve “karbosiklil” terimleri aromatik olmayan ornatılmış veya ornatılmamış halkayı ifade etmekte olup, burada halkanın her bir atomu karbondur.

15 “Heterosiklil” veya “heterosiklik grup” terimleri ornatılmış veya ornatılmamış aromatik 3- ila 10-elemanlı halka yapıları, daha da tercihen halka yapıları bir ila dört heteroatom içeren 3- ila 7-elemanlı halkaları ifade etmektedir.

20 “C₁₋₁₀hidroksialkil” terimi bir hidroksi grubu ile ornatılan bir C₁₋₁₀alkil grubunu ifade etmektedir.

25 “Ön ilaç” terimi fizyolojik koşullar altında terapötik olarak aktif ajanlara çevrilen bileşikler kapsamaktadır. Bir ön ilaç yapmaya yönelik yaygın bir yöntem istenen molekülü açığa çıkartmak için fizyolojik koşullar altında hidrolize olan seçilmiş kısımları içermektedir. Diğer uygulamalarda ön ilaç konak hayvanın bir enzimatik aktivitesi vasıtasıyla çevrilebilmektedir.

Biyolojik Aktivite, Seçicilik ve Çözünürlük

30 Burada sağlanan bileşikler proteazomu inhibe etmek konusunda biyolojik aktiviteye sahiptir. 20S proteazomun inhibisyonu teknikte bilinen yöntemler, örneğin Stein et al., *Biochemistry* (1996), 35, 3899-3908; by Lightcap et al., *Clinical Chemistry*, 2000, 46, 673-683; by Kisselev et al., *Journal of Biological Chemistry*. (2006), 281, 8582-8590 yayınlarında U.S. 09/569748 sayılı başvuruda açıklandığı üzere yöntemler ve analizler
35 vasıtasıyla belirlenebilmektedir. 20S proteazomun kimotripsin benzeri (CT-L),

peptidilglutamil peptit hidrolize edici (PGPH) ve tripsin benzeri (T-L) aktiviteleri bir analiz tamponunda substratlar olarak sırasıyla sükkinil-Leu-Leu-Val-Tyr-AMC, Z-Leu-Leu-Glu-AMC ve Boc-Leu-Arg-Arg-AMC kullanan bir florojenik substrat analizi yöntemi ile ölçülmektedir. Substratlardan klevajdan sonra serbest florofor 7-Amino-4-metilkumarin (AMC) bir florometre kullanılarak ölçülmektedir ve 20S proteazomun CT-L, PGPH ve T-L aktivitesi belirlenmektedir.

Burada sağlanan bileşikler faydalıdır çünkü bunlar proteazomun katalitik aktivitelerini inhibe etmektedir.

10

Belirli uygulamalarda burada sağlanan bileşikler yaklaşık 500 nM, 250 nM, 100 nM (örneğin CX13-130), 50 nM (örneğin CX13-104, CX13-137, CX13-601, CX13-603), 10 nM (örneğin CX13-135, CX13-605, CX13-606, CX13-705) veya 5 nM (örneğin CX13-103, CX13-105, CX13-107, CX13-133, CX13-600, CX13-608) altındaki konsantrasyonlarda bulunduğu 20S proteazomun CT-L aktivitesine ilişkin inhibisyon (örneğin en az %50 inhibisyon) göstermektedir. Belirli uygulamalarda burada sağlanan bileşikler ayrıca yaklaşık 500 nM'nin altında (örneğin CX13-133, CX13-606, CX13-608) 20S proteazomun T-L aktivitesine ilişkin inhibisyon göstermektedir.

20 Başka bir yönde burada açıklanan bileşikler gelişmiş suda çözünürlüğe sahiptir. Belirli uygulamalarda burada sağlanan tri-peptit epoksiketonlar en az yaklaşık 0,02, 0,05, 0,1, 0,5 veya 1 mg/mL'lik suda çözünürlüğe sahiptir.

Başka bir yönde burada sağlanan tri-peptit epoksiketonlar hem gelişmiş suda çözünürlüğe hem de proteazom inhibisyonuna sahiptir. Belirli uygulamalarda burada sağlanan bileşikler en az yaklaşık 0,1, 0,5 veya 1 mg/mL'lik suda çözünürlüğe sahiptir ve yaklaşık 100 nM, 50 nM, 10 nM veya 5 nM'nin altındaki konsantrasyonlarda bulunduğu 20S proteazomun CT-L aktivitesine ilişkin inhibisyon göstermektedir.

30 Bileşiklerin kullanımları

Mevcut buluşun başka bir yönü proteazomun aktivitelerini inhibe etmeye ilişkin yöntemler ile ilgili olup, burada sağlanan bir bileşiğin terapötik olarak etkili bir miktarının uygulanmasını içermektedir. Burada kullanıldığı üzere "terapötik olarak etkili miktar" bileşiği alan denekte amaçlanan terapötik etkiyi veya aktiviteyi sağlamak için yeterli

olan bir bileşik miktarı anlamına gelmektedir. Etkili miktar yaş, cinsiyet, deneğin sağlık durumu, bileşiğin dozaj formu, denekte hastalığın yaygınlığı ve vb. gibi çeşitli faktörlere bağlı olarak değişebilmektedir. Terapötik olarak etkili bir miktar diğerleri arasından yukarıda bahsedilen faktörleri dikkate alarak bileşiği hazırlayan bir doktor veya hekim tarafından belirlenebilmektedir.

Mevcut buluşun başka bir yönü proteazom ile bağlantılı bir koşulu tedavi etmeye ilişkin yöntemler ile ilgilidir. Yöntem burada sağlanan bir bileşiğin etkili bir miktarının uygulanmasını içermektedir. Burada sağlanan bileşikler aşağıda listelenenleri içeren ancak bunlarla sınırlı olmayan proteazom ile bağlantılı olan koşulların veya hastalıkların herhangi birini tedavi etmek için kullanılabilir.

Çeşitli koşullara veya hastalıklara proteazomun katalitik fonksiyonların aracılık ettiği bilinmektedir veya buna inanılmaktadır. Proteazom inhibisyonu kanserler, nörotoksik/dejeneratif hastalıklar, Alzheimer hastalığı, iskemik koşullar, inflamasyon, bağışıklıkla ilişkili hastalıklar, HIV enfeksiyonu, organ graft reddi, septik şok, antijen sunumunun inhibisyonu, parazitik enfeksiyon, asidoz ile bağlantılı koşullar, maküler dejenerasyon, pulmoner koşullar, kas atrofi hastalıkları, fibrotik hastalıklar, kemik ve saç büyüme hastalıklarını içeren ancak bunlarla sınırlı olmayan birden çok hastalığa karşı koruma ve/veya tedavi olarak önerilmiştir. Dolayısıyla burada açıklanan peptid epoksiketonlar gibi proteazom inhibitörü bileşimleri bu koşulları olan hastaları tedavi etmeye ilişkin bir araç sağlamaktadır.

Proteazom inhibisyonu bir antitümör terapötik strateji olarak klinik şekilde gösterilmiştir. Dolayısıyla burada açıklanan bileşikler kanserleri tedavi etmek için faydalıdır. Tedavi edilebilen örnek niteliğindeki kanserler lösemi, lenfomayı, miyelomu ve hepatoselüler karsinom vb. gibi karsinomları içermektedir. Burada açıklanan bileşiklerle tedavi edilebilen diğer kanserler adrenokortikal karsinom, AIDS ile ilişkili karsinomlar, astrositoma, kemik karsinomu, osteosarkoma, GBM, malignan fibroz hidriositoma, melanoma, malignan mesoteliom, Feokromositom, pineoblastom ve supratentorial primitif nöroektodermal tümörler, nöroblastoma, uterin sarkoma, safra kanalı kanseri, idrar torbası kanseri, göğüs kanserleri, gastrointestinal kanserler, servikal kanserleri, kolon kanserleri, rektal kanserler, özofajiyal kanserler, göz kanserleri, yumurtalık kanserleri, boyun ve kafa kanserleri, böbrek kanserleri, dudak ve orak boşluk kanserleri, akciğer kanserleri, nazal kavite ve paranasal sinüs kanserleri, penil

kanserleri, geçiş hücresi kanserleri, tükürük bezi kanserleri, yumuşak doku kanserleri, tiroid, paratiroid kanseri ve vajinal kanserleri içermektedir.

Proteazom inhibitörleri NF-kB inhibisyonu ile bağlantılı olmuştur.

5

NF-kB TNF, IL-1, siklooksijenaz, ICAM vb. gibi inflamatuvar moleküller dahil olmak üzere genlerin transkripsiyonuna aracılık eden bir potent transkripsiyon faktörüdür. Dolayısıyla burada sağlanan bileşikler kısıtlama olmaksızın alerji, astım, nakledilen bir organın/dokunun reddi, oto-immün hastalıklar lupus, romatoid artirit, psoriasis, çoklu sikleroz ve inflamatuvar bağırsak hastalıkları gibi inflamatuvar rahatsızlıklarda veya koşullarda faydalı olabilmektedir. Burada sağlanan bileşikler ihtiyacı olan bir hastaya bu koşulları tedavi etmek için etkili bir miktarda, opsiyonel bir farmasötik bileşim şeklinde uygulanabilmektedir.

10

15

Proteazom inhibitörlerinin kas proteinlerinin bozunmasını azalttığı, dolayısıyla kas kaybını ve fiber atropisini inhibe etmekte faydalı olduğu bulunmuştur. Dolayısıyla burada sağlanan bileşikler kaşeksiyi ve kronik bulaşıcı hastalıklar, ateş, kas yanlışı kullanımı ve denervasyon, sinir hasarı, asidoz ile bağlantılı renal bozukluk ve hepatit bozukluk gibi kas atrofisini tedavi etmek için kullanılabilir. Belirli uygulamalarda burada sağlanan bileşikler ihtiyacı olan bir hastaya kas protein bozunmasını, hücre içi protein bozunmasını veya bir hücrede p53 proteini bozunmasını yavaşlatmak veya azaltmak için etkili bir miktarda, opsiyonel bir farmasötik bileşim şeklinde uygulanabilmektedir.

20

25

Burada sağlanan bileşikler ayrıca felci, sinir sistemine iskemik hasarı, nöral travmayı (örneğin perküsif beyin hasarını, omurga hasarını ve sinir sistemine travmatik hasarı), çoklu siklerozu ve diğer bağışıklık aracılı nöropatileri (örneğin Guillain-Barre sendromu ve bunların varyantları, akut motor aksonal nöropati, akut inflamatuvar demiyelinizan polinöroterapi ve Fisher Sendromu), HIV/AIDS, demans kompleksini, aksonomi, diyabetik nöropatiyi, Parkinson hastalığını, Huntington hastalığını, çoklu siklerozu, bakteriyel, parazitik, fungal ve viral menenjit, ensefaliti, vasküler demans, çoklu-enfarkt demans, Lewy vücut demansını, ön lob demansını örneğin Pick hastalığını, subkortikal demansları (Huntington veya progresif supranükleer palsiyi), fokal kortikal atropi sendromlarını (primer afasi gibi), metabolik-toksit demansları ve enfeksiyonların

30

neden olduğu demansları (sifilis veya kronik menenjit gibi) içeren ancak bunlarla sınırlı olmayan nörodejeneratif hastalıkları ve koşulları tedavi etmek için kullanılabilir.

Burada sağlanan bileşikler ayrıca Alzheimer hastalığının esas nedeni olan β -amiloid proteinin (β -AP) hücre dışı birikmesi ile bağlantılı olan protein işleminin regüle edilmesinde faydalı olabilmektedir. Dolayısıyla burada sağlanan bileşikler Alzheimer hastalığını örneğin β -AP işleme oranını düşürerek, β -AP plak oluşumu oranını düşürerek, β -AP oluşumu oranını düşürerek ve Alzheimer hastalığının klinik semptomlarını azaltarak tedavi etmekte faydalıdır.

10

Proteazom inhibisyonu ayrıca fibrozu azaltmak ile ilişkilendirilmiştir. Dolayısıyla burada sağlanan bileşikler diyabetik nöropati, glomerulosikleroz, IgA nefroopati, siroz, biliyer atrezi, kongestif kap hastalığı, sikleroderma, radyasyon ile indüklenen fibroz, akciğer fibrozu ve kardiyak fibrozu gibi fibroz ile ilişkili koşulların tedavisi için kullanılabilir.

15

Farmasötik Bileşimler ve Uygulama

Başka bir yönde mevcut buluş bir farmasötik bileşim sağlamakta olup, burada sağlanan bir bileşiği ve farmasötik olarak kabul edilebilir bir taşıyıcıyı içermektedir.

20

Burada kullanıldığı üzere "farmasötik olarak kabul edilebilir taşıyıcı" terimi burada sağlanan bir bileşiği bir konumdan, vücut sıvısından, dokudan (dahili veya harici) veya vücudun bir kısmından başka bir konuma, vücut sıvısına, dokuya, organa veya vücut kısmına taşımaya veya nakletmeye dahil olan bir sıvı veya katı dolgu maddesi, seyreltici, eksipiyen, solvent veya kapsülletici malzeme gibi farmasötik olarak kabul edilebilir bir malzeme, bileşim veya araç anlamına gelmektedir. Farmasötik olarak kabul edilebilir taşıyıcılar bir hayvanın dokularına fazla toksisite veya olumsuz etkiler olmadan temas etmek için kullanılabilen araçlar, seyrelticiler, eksipiyenler veya diğer malzemeler olabilmektedir. Örnek farmasötik olarak kabul edilebilir taşıyıcılar şekerleri, nişastayı, selülozları, maltı, tragakantı, jelatini, Ringer solüsyonunu, aljinik asidi, izotonik salini, tamponlama ajanlarını vb. içermektedir.

25

30

Her bir taşıyıcı diğer bileşenler örneğin formülasyonun burada sağlanan bileşimi ile uyumlu ve bir biyolojik deneğin dokusu veya organı ile fazla toksisite, tahriş, alerjik

35

tepki, immünojenesite veya başka problemler veya komplikasyonlar olmadan temas etmekte kullanım için uygun, makul bir fayda/risk oranı ile orantılı olma açısından “farmasötik olarak kabul edilebilirdir”.

- 5 Farmasötik olarak kabul edilebilir taşıyıcılar olarak işlev görebilen malzemelere ilişkin bazı örnekler şunları içermektedir: (1) laktoz, glikoz ve sükroz gibi şekerler; (2) mısır nişastası ve patates nişastası gibi nişastalar; (3) sodyum karboksimetil selüloz, etil selüloz ve selüloz asetat gibi selüloz ve bunun türevleri; (4) toz haline getirilmiş tragakant; (5) malt; (6) jelatin; (7) talk; (8) kakao yağı ve yardımcı mumlar gibi
- 10 eksipiyenler; (9) fıstık yağı, keten tohumu yağı, aspir yağı, susam yağı, zeytinyağı, mısır yağı ve soya fasulyesi yağı gibi yağlar; (10) propilen glikol gibi glikoller; (11) gliserin, sorbitol, mannitol ve polietilen glikol gibi polioller; (12) etil oleat ve etil laurat gibi esterler; (13) agar; (14) magnezyum hidroksit ve alüminyum hidroksit gibi
- 15 tamponlama ajanları; (15) aljinik asit; (16) pirojensiz su; (17) izotonik salin; (18) Ringer solüsyonu; (19) etil alkol ve propan alkol gibi alkol; (20) fosfat tamponu solüsyonları ve (21) aseton gibi farmasötik formülasyonlarda kullanılan toksik olmayan uyumlu başka maddeler.

- Farmasötik bileşimler pH ayarlama gibi fizyolojik koşullar için gerekli farmasötik olarak
- 20 kabul edilebilir yardımcı maddeleri ve tamponlama ajanlarını, toksisite ayarlama ajanlarını ve benzerini, örneğin sodyum asetatı, sodyum klorürü, potasyum klorürü, kalsiyum klorürü ve sodyum laktatı ve benzerini içerebilmektedir.

- Farmasötik bileşim katı dozaj formu (örneğin tabletler, kapsüller, tozlar, granüller ve
- 25 vb.) ve sıvı dozaj formları (örneğin sulu solüsyon, emülsiyon, iksir, şurup vb.) gibi uygun herhangi bir dozaj formunda yapılabilmektedir. Farmasötik bileşimleri hazırlamaya ilişkin yöntemler teknikte iyi bilinmektedir ve örneğin Remington: The Science and Practice of Pharmacy (Gennaro ed. 20th edition, Williams & Wilkins PA, USA) (2000) tarafından açıklanan rutin prosedüre göre uygulanabilmektedir.

30

- Belirli uygulamalarda farmasötik bileşim burada sağlanan bir bileşiğin yaklaşık 10^{-9} g ile yaklaşık 10 g'ını içermektedir (örneğin yaklaşık 0,01 mg ile yaklaşık 10 g, yaklaşık 0,1 mg ile yaklaşık 10 g, yaklaşık 1 mg ile yaklaşık 10 g, yaklaşık 5 mg ile yaklaşık 10 g, yaklaşık 10 mg ile yaklaşık 10 g, yaklaşık 20 mg ile yaklaşık 10 g, yaklaşık 30 mg ile
- 35 yaklaşık 10 g, yaklaşık 40 mg ile yaklaşık 10 g, yaklaşık 50 mg ile yaklaşık 10 g,

yaklaşık 80 mg ila yaklaşık 10 g, yaklaşık 100 mg ila yaklaşık 10 g, yaklaşık 150 mg ila yaklaşık 10 g, yaklaşık 200 mg ila yaklaşık 10 g, yaklaşık 300 mg ila yaklaşık 10 g, yaklaşık 400 mg ila yaklaşık 10 g, yaklaşık 500 mg ila yaklaşık 10 g, yaklaşık 600 mg ila yaklaşık 10 g, yaklaşık 700 mg ila yaklaşık 10 g, yaklaşık 800 mg ila yaklaşık 10 g, yaklaşık 900 mg ila yaklaşık 10 g, yaklaşık 1 g ila yaklaşık 10 g, yaklaşık 10 mg ila yaklaşık 5 g, yaklaşık 10 mg ila yaklaşık 3 g, yaklaşık 10 mg ila yaklaşık 1 g, yaklaşık 10 mg ila yaklaşık 900 mg, yaklaşık 10 mg ila yaklaşık 700 mg, yaklaşık 10 mg ila yaklaşık 500 mg veya yaklaşık 10 mg ila yaklaşık 300 mg). Denek başına günlük uygun dozajlar yaklaşık 0,01 mg ila yaklaşık 5 g olabilmektedir.

10

Belirli uygulamalarda burada açıklanan bileşikler veya farmasötik bileşimler ihtiyacı olan bir deneğe bir parenteral yol (örneğin subkütanöz, intravenöz, intramüsküler, intraarterial, intraatekal, intrakapsular, intraorbital, intra kardiyak, intradermal, intraperitoneal, transtrekeal, subkutiküler, intraartikular, subkapsüler, subaraknoik, intraspinal, intraternal ve/veya infüzyon) ve bir parenteral olmayan yol (örneğin oral, enteral, bukkal, nazal, intranazal, transmukosal, epidermal, transdermal, dermal, oftalmik, pulmoner, sublingua, rektal, vajinal veya topikal) aracılığıyla iletim için uygun olan bir dozaj formuna formüle edilmektedir. Belirli örneklerde burada açıklanan bileşikler veya farmasötik bileşimler ihtiyacı olan bir deneğe iletim için uygun olan bir dozaj formu şeklinde formüle edilmektedir.

20

Uygun dozaj formları kısıtlama olmaksızın enjekte edilebilir emülsiyonlar, solüsyonlar ve süspansiyonlar gibi parenteral kullanıma yönelik formülasyonları, tabletler, kapsüller, haplar, drajeler, tozlar ve granüller gibi oral kullanıma yönelik formülasyonları, spreyler, merhemler, macunlar, kremler, losyonlar, jeller, solüsyonlar, yamalar ve inhalanlar gibi topikal veya transdermal kullanıma yönelik formülasyonları ve fitiller gibi intrarektal veya intravajinal kullanıma yönelik formülasyonları içermektedir. Bu formülasyonlar bileşiğin uygun ekspanyanla uygun koşullarda, Remington: The Science and Practice of Pharmacy (Gennaro ed. 20th edition, Williams & Wilkins PA, USA) (2000) tarafından açıklandığı gibi teknikte bilinen yöntemlere göre birleştirilmesi vasıtasıyla hazırlanabilmektedir.

25

30

Farmasötik bileşimler bir deneğe oral, intravenöz, intranazal, topikal, intramüsküler, intradermal, transdermal veya subkütanöz yollar aracılığıyla gibi uygun herhangi bir uygulama yolu şeklinde uygulanabilmektedir.

35

Belirli uygulamalarda burada sağlanan bileşikler veya farmasötik bileşimler, ihtiyacı olan denekte birleştirici veya hatta sinerjik farmasötik etkilere erişilebileceği şekilde ikinci bir ajanla birlikte uygulanabilmektedir. Örneğin burada sağlanan bileşikler ve

5 ikinci aktif ajan tek bir farmasötik bileşim şeklinde veya ayrı bileşimler şeklinde eş zamanlı olarak veya ayrı bileşimler şeklinde sıralı olarak uygulanabilmektedir. Kanseri tedavisine yönelik mevcut buluşun bileşikleriyle birlikte uygulanabilen ikinci aktif ajan şunları içermektedir ancak bunlarla sınırlı değildir: 5-florourasil, doksorubisin, daunorubisin, tamoksifen, löprolid, goserelin, flutamid, nilutimid, finasterid,

10 deksametazon, lenalidomid aminoglutetimid, amsakrin, anastrozol, asparajinaz, beg, bikalutamid, bleomisin, buserelin, busulfan, kampotesin, kabesitabin, karboplatin, karmustin, klorambusil, sispaltin, kladribin, klodronat, kolşisin, siklofosfamid, temozolomid, siproteron, sitarabin, dakarbazin, daktinomisin, daunorubisin, dienestrol, dietilstilbestrol, dosetaksel, doksorubisin adriamisin, epirubisin, estradiol, estramustin,

15 etoposid, eksemestan, filgrastim, fludarabin, fludrokortizon, florourasil, fluoksimesteron, flutamid, gemesitabin, genistein, goserelin, tamoksifen, teniposid, testosteron, titanosen diklorür, topotekan, trastuzumab, tretinoin, vinblastin, hidroksiüre, idarubisin, ifosfamid, imatinib, interferon, irinotekan, ironotekan, letrozol, lökovorin, pentostatın, plisamisin, porfimer, prokarbazin, raltitredksed, rituksimab, streptozocin, suramin, löprolid,

20 levamisol, lomustin, mekloreteamin, medroksiprogesteron, megestrol, melfalan, merkaptopurin, mesna, metotreksat, mitomisin, mitotan, mitoksantron, nilutamid, nokodazol, oktreotid, oksaliplatin, paklitaksel, pamidronat, tioguanin, tiotepa, titanosen diklorür, topotekan, trastuzumab, tretinoin, vinblastin, vinkristin, vindesin ve vinorelbin.

25 Belirli uygulamalarda mevcut buluşun bir bileşiği kanser tedavisine ilişkin kimyasal olmayan yöntemlerle birlikte uygulanabilmektedir. Belirli uygulamalarda mevcut buluşun bir bileşiği radyasyon terapisi ile birlikte uygulanabilmektedir. Belirli uygulamalarda mevcut buluşun bir bileşiği ameliyatla, termablasyonla, odaklı ultrason terapisiyle, kiroterapiyle veya bunların herhangi biri ile birleşik olarak

30 uygulanabilmektedir.

Belirli uygulamalarda mevcut buluşun bir bileşiği amsinonid, beklometazon, betametazon, budesonid, kloroprednison, klobetasol, klokortolon, kloprednol, kortikosteron, kortizon, sortiazol, desonid, desoksimeazon, deksametazon, diflorason,

35 diflukortolon, difuprednat, enoksolon, fluazakort, flumetazon, flunisolid, flukloronid,

fluokinolon asetonid, fluokinonid, fluokorinbutil, fluokortolon, florometolon, fluperolon asetat, flupredniden asetat, fluprednisolon, flurandrenolid, flutikason propionat, formokortal, halobetasol propionat, halsinonid, halometason, hidrokortizon, loteprednol etabonat, mazipredon, medrizon, meprednizon, metilprednisolon, mometazon furoat, parametazon, prednisolon, deksametazon ve 25-dietilaminoasetat içeren ancak bunlarla sınırlı olmayan bir steroid ile birlikte uygulanmaktadır.

Belirli uygulamalarda mevcut buluşun bir bileşiği verapamil, rapamiskin, mikofenilat mofetil, talidomid, siklofosomid, siklosporin ve monoklonal antikorlar gibi MDR modulatorleri dahil olmak üzere bir immünoterapötik ajan ile birlikte uygulanmaktadır.

ÖRNEKLER

Aşağıdakiler burada açıklanan tri-peptit epoksi ketonlara, bunların sentezine, proteazom aktivitesi inhibitörü özelliğine, anti-tümör aktivitesi özelliğine ve bunların suda çözünürlüğüne ilişkin örneklerdir.

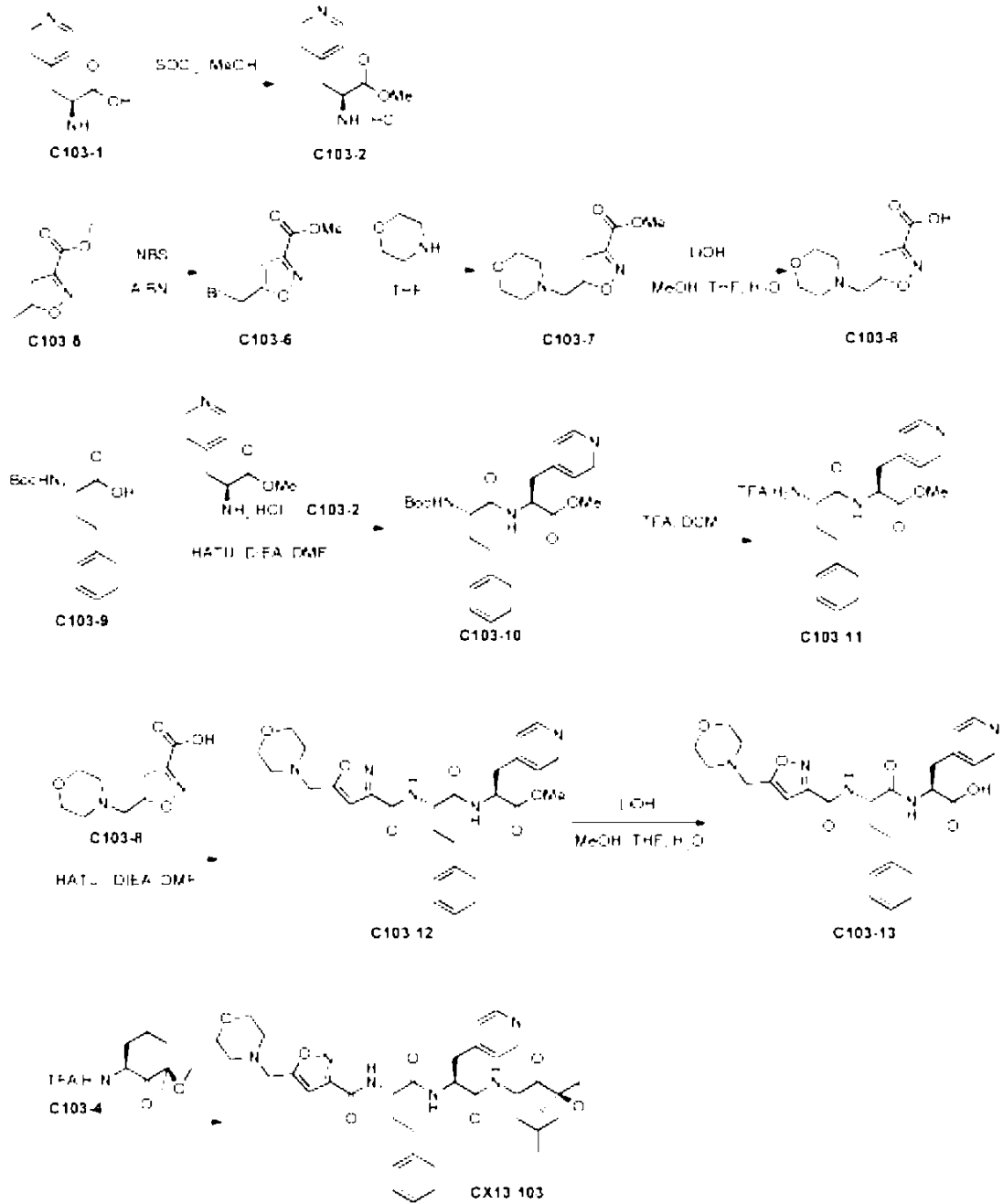
Burada sağlanan bileşiklerin sentezi aşağıdaki örneklerde sentetik şemalarda gösterilmektedir. Bu şemalar sadece açıklayıcıdır ve burada sağlanan bileşikleri hazırlamak için kullanılabilen diğer muhtemel yöntemleri kısıtlamayı amaçlamamaktadır. Ek olarak şemalardaki adımlar daha iyi gösterim içindir ve uygun şekilde değiştirilebilmektedir. Örneklerdeki bileşiklerin uygulamaları araştırma amaçları ve düzenleyici kurullara potansiyel olarak arzı için yurt dışında sentezlenmiştir.

Genel deney yöntemleri için bileşiklerin yapılarına ilişkin bilgiyi almak üzere ¹H-NMR spektrumları kullanılmıştır. Sıvı kromatografi kütle spektrometresi (LC-MS) pozitif elektrosprey iyonizasyon modunda (ESI) çalışan bir dört kutuplu kütle spektrometresi sistemi kullanılarak alınmıştır. Saflik UV tespiti ile yüksek performanslı sıvı kromatografi (HPLC) vasıtasıyla kontrol edilmiştir. İhtiyaç olduğu zaman hazırlayıcı yüksek performanslı sıvı kromatografi (hazırlayıcı HPLC) ayırımı saflaştırmada kullanılmıştır.

ÖRNEK 1

Bileşik CX13-103'ün sentezi

Şema 1. Bileşik CX13-103'ün sentezi



5 Bileşik C103-2'nin sentezi

SOCl_2 (5 mL) MeOH'ye (150 mL) 0 °C'de damlatarak eklenmiştir. Daha sonra C103-1 (10 g, 42 mmol) eklenmiştir, karışım gece boyunca geri akış altında ısıtılmıştır. Oda

sıcaklığına soğutulduktan sonra karışım konsantre edilmiş ve ham ürün C103-2'yi (11 g, nicel.) vermek için vakum altında kurutulmuştur. MS (ESI) m/z : 181 $[M+H]^+$.

Bileşik C103-6'nın sentezi

5

CCl_4 (250 mL) içindeki bir C103-5 (7,05 g, 50 mmol) solüsyonuna NBS (11,5 g, 65 mmol) ve AIBN (820 mg, 5 mmol) eklenmiştir. Reaksiyon karışımı gece boyunca geri akış altında ısıtılmıştır. Oda sıcaklığına soğutulduktan sonra reaksiyon karışımı su içine dökülmüştür; sulu tabaka iki kere DCM ile ekstrakte edilmiştir. Kombine edilmiş tabaka doymuş $NaHCO_3$ ile yıkanmış, Na_2SO_4 üzerinde kurutulmuş ve in vacuo konsantre edilmiştir. Kalıntı yağ C103-6'yi (5,56 g, verim: %51) vermek için silika jel üzerinde flaş kromatografi vasıtasıyla saflaştırılmıştır. MS (ESI) m/z : 221 $[M+H]^+$.

10

Bileşik C103-7'nin sentezi

15

THF (20 mL) içindeki soğutulmuş (0 °C) bir morfin solüsyonuna (4,8 g, 55 mmol) damlatarak THF (20 mL) içinde bir C103-6 (5,56 g, 25,5 mmol) solüsyonu eklenmiştir. Reaksiyon karışımı 30 dakika boyunca 0 °C'de karıştırılmıştır. Reaksiyon karışımı su içine dökülmüştür, sulu tabaka EtOAc ile iki kere ekstrakte edilmiştir. Kombine edilmiş tabaka tuzlu su ile yıkanmış, Na_2SO_4 üzerinde kurutulmuş ve in vacuo konsantre edilmiştir. Kalıntı yağ C103-7'yi (4,03 g, verim: %70) vermek için silika jel üzerinde flaş kromatografi vasıtasıyla saflaştırılmıştır. MS (ESI) m/z : 227 $[M+H]^+$.

20

C103-8'in sentezi

25

THF (30 mL) ve MeOH (30 mL) içindeki soğutulmuş (0 °C) bir C103-7 (4 g, 17,7 mmol) solüsyonuna damlatarak 2 N LiOH (13 mL, 26 mmol) eklenmiştir. Meydana gelen karışım 1 saat boyunca oda sıcaklığında karıştırılmıştır. pH sulu hidroklorürün eklenmesi vasıtasıyla 5'e ayarlanmıştır ve karışım in vacuo konsantre edilmiştir. Kalıntı C103-8'i (2,65 g, verim: %71) vermek için kromatografi vasıtasıyla saflaştırılmıştır. MS (ESI) m/z : 213 $[M+H]^+$.

30

C103-10'un sentezi

DMF (80 mL) içindeki soğutulmuş (0 °C) bir C103-9 (5,81 g, 20,8 mmol) solüsyonuna HATU (8,3 g, 21,8 mmol) ve DIEA (14,3 mL, 85 mmol) eklenmiştir. Karışım 30 dakika boyunca 0 °C'de karıştırılmıştır. C103-2 (5,22 g, 20,8 mmol) daha sonra eklenmiştir. Meydana gelen solüsyon 1 saat boyunca oda sıcaklığında nitrojen altında karıştırılmıştır. Reaksiyon karışımı su içine dökülmüştür ve EtOAc ile iki kere ekstrakte edilmiştir. Kombine edilmiş tabakalar Na₂SO₄ üzerinde kurutulmuş, filtrelenmiş ve in vacuo konsantre edilmiştir. Kalıntı yağ C103-10'u (7,9 g, verim: %86) vermek için hazırlayıcı HPLC vasıtasıyla saflaştırılmıştır. MS (ESI) *m/z*: 442 [M+H]⁺.

10 C103-11'in sentezi

Bileşik C103-10'un (7,9 g, 17,9 mmol) DCM (40 mL) içindeki bir solüsyonuna TFA (10 mL) yavaş bir şekilde 0 °C'de eklenmiştir. Daha sonra reaksiyon karışımının 1 saat boyunca oda sıcaklığında karışması sağlanmıştır. Vakum altında konsantrasyon ham ürünü vermiştir, bu da başka saflaştırma olmadan sonraki adım için kullanılmıştır. MS (ESI) *m/z*: 342 [M+H]⁺.

C103-12'nin sentezi

DMF (50 mL) içindeki soğutulmuş (0 °C) bir C103-8 (2,65 g, 12,5 mmol) solüsyonuna HATU (6,18 g, 16,25 mmol) ve DIEA (10 mL, 60 mmol) eklenmiştir. Karışım 30 dakika boyunca 0 °C'de karıştırılmıştır. C103-11 eklenmiştir. Meydana gelen solüsyon 1 saat boyunca oda sıcaklığında nitrojen altında karıştırılmıştır. Reaksiyon karışımı su içine dökülmüştür ve EtOAc ile iki kere ekstrakte edilmiştir. Kombine edilmiş tabakalar Na₂SO₄ üzerinde kurutulmuş, filtrelenmiş ve in vacuo konsantre edilmiştir. Kalıntı yağ C103-12'yi (5,3 g, verim: %79) vermek için kromatografi vasıtasıyla saflaştırılmıştır. MS (ESI) *m/z*: 536 [M+H]⁺.

C103-13'ün sentezi

30

THF (30 mL) ve MeOH (30 mL) içindeki soğutulmuş (0 °C) bir C103-12 (5,3 g, 9,88 mmol) solüsyonuna 2 N LiOH (7,5 mL, 16 mmol) eklenmiştir. Meydana gelen karışım 1 saat boyunca oda sıcaklığında karıştırılmıştır. pH sulu hidroklorürün eklenmesi vasıtasıyla 5'e ayarlanmıştır ve in vacuo konsantre edilmiştir. Kalıntı C103-13'ü (3,4 g,

verim: %66) vermek için kromatografi vasıtasıyla saflaştırılmıştır. MS (ESI) m/z : 522 $[M+H]^+$.

CX13-103'ün sentezi

5

DMF (20 mL) içindeki soğutulmuş (0 °C) bir C103-13 (3,4 g, 6,53 mmol) solüsyonuna HATU (3,23 g, 8,5 mmol) ve DIEA (5 mL, 30 mmol) eklenmiştir. Karışım 30 dakika boyunca 0 °C'de karıştırılmıştır. Daha sonra C103-4 (C103-4 sentezi için bakınız PCT/US2013/052143 sayılı PCT başvurusu) eklenmiştir. Meydana gelen solüsyon 1

10 saat boyunca oda sıcaklığında nitrojen altında karıştırılmıştır. Reaksiyon karışımı su içine dökülmüştür ve EtOAc ile iki kere ekstrakte edilmiştir. Kombine edilmiş tabakalar Na_2SO_4 üzerinde kurutulmuş, filtrelenmiş ve in vacuo konsantre edilmiştir. Kalıntı yağ CX13-103'ü (1,12 g, verim: %25) vermek için hazırlayıcı HPLC vasıtasıyla saflaştırılmıştır.

15

1H -NMR (400 MHz, Metanol- d_4) δ 8,37 (d, 2H), 7,32 (d, 2H), 7,29-7,25 (m, 2H), 7,20-7,18 (m, 3H), 6,71 (s, 1H), 4,77 (dd, 1H), 4,56-4,51 (m, 2H), 3,82 (s, 2H), 3,74-3,72 (m, 4H), 3,25 (d, 1H), 3,23 (dd, 1H), 3,01 (dd, 1H), 2,95 (d, 1H), 2,70 -2,50 (m, 6H), 2,20-1,95 (m, 2H), 1,80-1,60 (m, 1H), 1,52-1,20 (m, 5H), 0,91 (d, 3H), 0,89 (d, 3H); MS (ESI) m/z : 675 $[M+H]^+$; saflık >%95'dir.

20

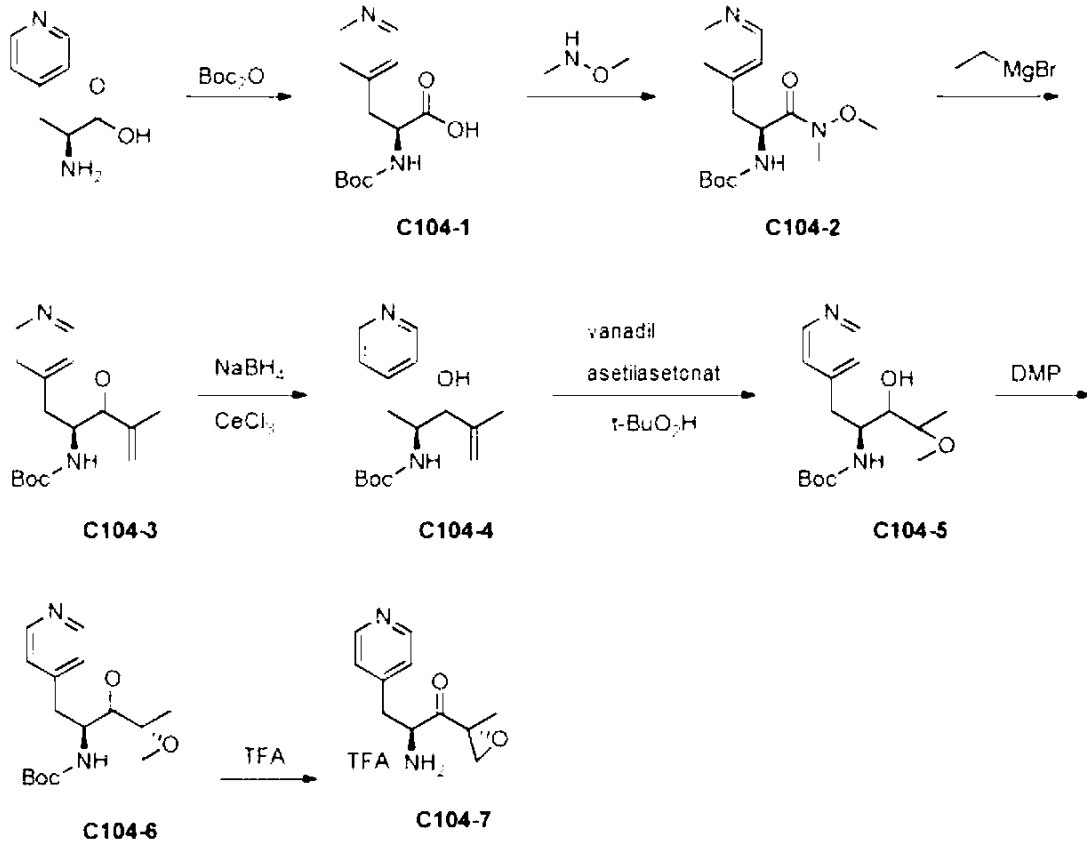
ÖRNEK 2

Bileşik CX13-104'ün sentezi

25

Ara ürün C104-7'nin sentezi

Şema 2: ara ürün C104-7'nin hazırlanması



C104-1'in sentezi

- 5 9,6 g (40 mmol) L-3-(4-piridil)alanin.2HCl'ye 200 ml'lik bir 1N sulu sodyum hidroksit solüsyonunun ve 200 ml THF eklenmiştir. Karıştırırken 20 ml di-*t*-bütil dikarbonat damlatarak eklenmiştir ve karışım 2 saat boyunca karıştırılmıştır. Meydana gelen reaksiyon karışımına 300 ml su eklenmiştir ve meydana gelen karışım etil asetat (2x200 ml) ile yıkanmıştır. Sulu tabakaya karışımın pH'ını yaklaşık 4'e ayarlamak için
- 10 bir %5 sulu potasyum hidrojen sülfat solüsyonu eklenmiştir ve daha sonra karışım *n*-bütanol (4x200 ml) ile ekstrakte edilmiştir. Organik tabaka indirgenmiş basınç altında konsantre edilmiştir. Katı filtrasyon vasıtasıyla toplanmış ve beyaz katı olarak 8,0 g C104-1 elde etmek için kurutulmuştur. MS (ESI) m/z : 267,2 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

15 C104-02'nin sentezi

8,0 g (30 mmol) C104-1 DMF (100 ml) içinde oda sıcaklığında çözünmüştür ve 4 °C'ye soğutulmuştur. N, O-dimetilhidroksilamin hidroklorür (4,4 g, 45 mmol) eklenmiştir, bunu

HBTU (17 g, 45 mmol), HOBt (6,1 g, 45 mmol) ve DIEA (12 ml, 90 mmol) takip etmiştir. Reaksiyonun yavaş bir şekilde oda sıcaklığına ısıtılmasına olanak sağlanmıştır ve gece boyunca karıştırılmıştır, bundan sonra EtOAc (300 ml) ile seyreltilmiş ve arka arkaya doymuş sodyum klorür (2x100ml) ile yıkanmıştır. Organik tabaka Na₂SO₄ ile kurutulmuş, filtrelenmiş ve indirgenmiş basınç altında konsantre edilmiştir. Kolon kromatografi (DCM (%1TEA)) vasıtasıyla saflaştırma sarı yağ (6,2 g, %66) olarak C104-2'yi bileşik vermiştir. MS (ESI) *m/z*: 310,3 [M+H]⁺.

C104-3'ün sentezi

10

Bileşik C104-2 (6,2 g, 20 mmol) THF (200 ml) içinde çözünmüş ve 0 °C'ye soğutulmuştur (buz artı tuzlu su). İzopropenil magnezyum bromid (THF içinde 0,5 M; 200 ml; 100 mmol) 20 dakikalık sürede yavaş bir şekilde eklenmiştir. Reaksiyon 4 saat boyunca 0 °C'de karıştırılmıştır, bundan sonra 0 °C'de doymuş bir sulu amonyum klorür içine yavaş bir şekilde dökülmüştür. THF indirgenmiş basınç altında uzaklaştırılmıştır ve karışım EtOAc (3x100 ml) ile ekstrakte edilmiştir. Kombine edilmiş organik tabakalar doymuş sodyum bikarbonat, su ve doymuş sulu sodyum klorür ile yıkanmıştır. Organik tabaka Na₂SO₄ ile kurutulmuş, filtrelenmiş ve indirgenmiş basınç altında konsantre edilmiştir. Kolon kromatografi (DCM (%1TEA)) vasıtasıyla saflaştırma sarı yağ (5,0 g, %86) olarak bileşiği (3) vermiştir. MS (ESI) *m/z*: 291,4 [M+H]⁺.

20

C104-4'ün sentezi

Bileşik C104-3 (5,0 g, 17 mmol) metanol (100 ml) içinde çözünmüş ve 0 °C'ye soğutulmuştur. Seryum (III) klorür heptahidrat (8,2 g, 22 mmol) eklenmiştir, bunu sodyum borohidritin (0,85 g, 22 mmol) eklenmesi takip etmiştir. Reaksiyon karışımı 3 saat boyunca 0 °C'de karıştırılmıştır. Karışım 0 °C'de doymuş bir sulu amonyum klorür (200 ml) içine yavaş bir şekilde dökülmüş ve EtOAc (4x100 ml) ile ekstrakte edilmiştir. Kombine edilmiş organik tabakalar daha sonra doymuş sodyum bikarbonat, su ve deniz suyu ile yıkanmıştır. Organik tabaka Na₂SO₄ ile kurutulmuş, filtrelenmiş ve indirgenmiş basınç altında konsantre edilmiştir. Kolon kromatografi (DCM (%1TEA)) vasıtasıyla saflaştırma sarı yağ (4,5 g, %90) olarak C104- 4 vermiştir. MS (ESI) *m/z*: 293,4 [M+H]⁺.

35

C104-5'in sentezi

Bileşik C104-4 (4,5 g, 15 mmol) DCM (100 ml) içinde çözünmüş ve 0 °C'ye soğutulmuştur. Vanadil asetilasetonat (0,12 g, 0,45 mmol) ve daha sonra tert-Bütil hidroksiperoksit (dekan içinde 5,0-6,0 M; 12 ml, 60 mmol) eklenmiştir. Reaksiyonun
 5 gece boyunca oda sıcaklığına yavaş bir şekilde ısınmasına olanak sağlanmıştır. Karışımlar daha sonra doymuş sodyum bikarbonat, su ve deniz suyu ile yıkanmıştır. Organik tabaka Na₂SO₄ ile kurutulmuş, filtrelenmiş ve sonraki adımda herhangi bir saflaştırma olmadan kullanılan C104-5'i vermek için indirgenmiş basınç altında konsantre edilmiştir. MS (ESI) *m/z*: 309,4 [M+H]⁺.

10

C104-6'nın sentezi

Bileşik C104-5 (4,5 g, 15 mmol) DCM (100 ml) içinde çözünmüş ve 0 °C'ye soğutulmuştur.

15

Dess-Martin periodinan (13 g, 30 mmol) eklenmiştir. Reaksiyonun oda sıcaklığına ve 24 saat sonra yavaş bir şekilde ısınmasına olanak sağlanmıştır. Karışım daha sonra 4 °C'ye soğutulmuştur ve daha fazla Dess-Martin periodinan (6,4 g, 15 mmol) eklenmiştir. Solüsyonun oda sıcaklığına yavaş bir şekilde ısınmasına olanak
 20 sağlanmıştır. 3 saat sonra karışım Celite aracılığıyla filtrelenmiş, filtrat daha sonra doymuş sodyum hiposüfit, doymuş sodyum bikarbonat, su ve deniz suyu ile yıkanmıştır. Organik tabaka Na₂SO₄ ile kurutulmuş, filtrelenmiş ve indirgenmiş basınç altında konsantre edilmiştir. Kolon kromatografi (DCM (%2MeOH)) vasıtasıyla saflaştırma kahverengi yağ olarak bileşik C104-6'yı (0,35 g, %7,5) vermiştir:

25

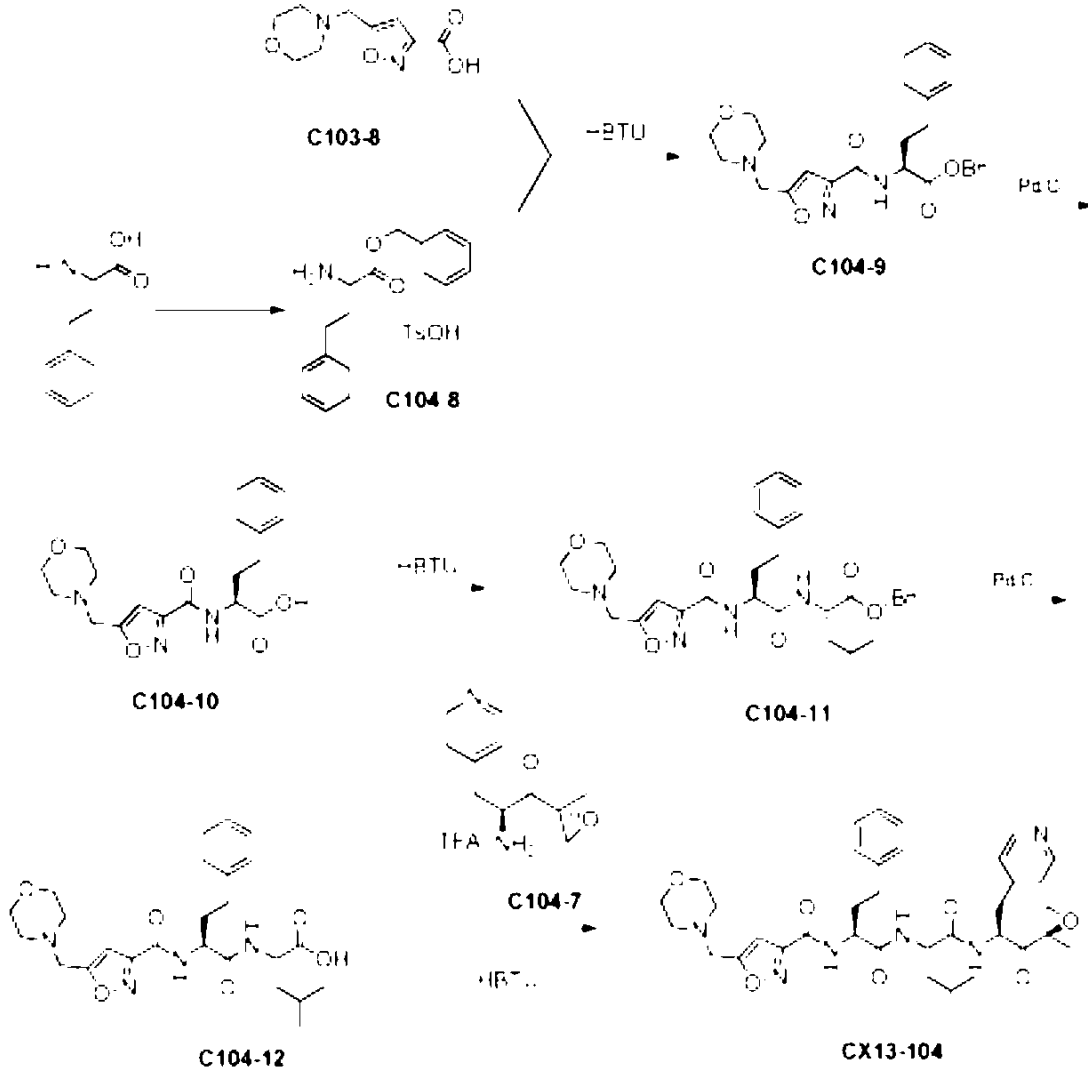
¹H-NMR (KLOROFORM-d) δ (ppm): 8,37 - 8,61 (m, 2H), 7,13 (d, J = 5,2 Hz, 2H), 5,13 (br. s., 1H), 4,61 (d, 1H), 3,19 (d, 1H), 2,68 -2,90 (m, 3H), 1,54 (s, 3H), 1,39 (s, 9H). MS (ESI) *m/z*: 307,4 [M+H]⁺.

30

C104-7'nin sentezi

Bileşik C104-6 (1,3 g, 4,2 mmol) DCM (50 ml) içinde çözünmüş ve 0 °C'ye soğutulmuştur. TFA (50 ml) eklenmiştir. Reaksiyonun oda sıcaklığına yavaş bir şekilde ısınmasına olanak sağlanmıştır. Karışım TFA tuzu olarak C104-7'yi vermek için
 35 indirgenmiş basınç altında konsantre edilmiştir. MS (ESI) *m/z*: 207,4 [M+H]⁺.

Şema 3: CX13-104'ün hazırlanması



5

C104-8'in sentezi

Bir (S)-2-amino-4-fenilbutanoik asit (5,0 g, 28 mmol), benzil alkol (6,0 g, 55 mmol), p-toluensülfonik asit monohidrat (9,5 g, 55 mmol) ve toluen (200 mL) karışımı bir Dean-Stark kapalı ile 16 saat boyunca geri akış altında ısıtılmıştır. Benzen solüsyonu %5 sulu NaHCO_3 , tuzlu su ile yıkanmış, MgSO_4 üzerinde kurutulmuş, filtrelenmiş ve kuruyana kadar indirgenmiş basınç altında buharlaştırılmıştır. Kalıntı renksiz iğneler olarak C104-8'i (9,0 g, %80) vermek için heksanda kristalize edilmiştir. MS (ESI) m/z: 270,5 (M+H)⁺.

15

C104-9'un sentezi

DMF (20 ml) içindeki C103-8 (1,8 g, 8,5 mmol), C104-8 (3,7 g, 8,5 mmol) HBTU (4,8 g, 13 mmol) karışımına DIEA (3 mL) bir ekleme hunisi aracılığıyla eklenmiştir. Reaksiyon
 5 16 saat boyunca aynı sıcaklıkta tutulmuştur ve daha sonra EtOAc (20 mL) ve tuzlu su (20 mL) ile seyreltilmiştir. Tabakalar ayrılmış ve sulu tabaka EtOAc (2x30 mL) ile ekstrakte edilmiştir. Organik tabakalar kombine edilmiş ve Na₂SO₄ üzerinde kurutulmuştur. Katı filtrasyon vasıtasıyla uzaklaştırılmış ve uçucular indirgenmiş basınç altında uzaklaştırılmış ve beyaz katı olarak C104-9'u (2,4 g, %61 verim) vermek için
 10 silika jel kromatografi (PE:EA = 5:1) vasıtasıyla saflaştırılmıştır. MS (ESI) m/z: 463,5 (M+H)⁺.

C104-10'un sentezi

15 THF içindeki C104-9'a (2,4 g) Pd/C (0,24 g) eklenmiştir, 2 saat boyunca H₂ atmosferi altında karıştırılmıştır. Karışım filtrelenmiş ve sonraki adımda saflaştırma olmadan kullanılan 104-5'i vermek için konsantre edilmiştir. MS (ESI) m/z: 374,5 (M+H)⁺.

C104-11'in sentezi

20 DMF (20 ml) içindeki C104-10 (1,8 g, 8,5 mmol), (S)-benzil 2-amino-4-metilpentanoat (1,9 g, 8,5 mmol) HBTU (4,8 g, 13 mmol) karışımına DIEA (3 mL) bir ekleme hunisi aracılığıyla eklenmiştir. Reaksiyon 16 saat boyunca oda sıcaklığında tutulmuştur ve daha sonra EtOAc (20 mL) ve tuzlu su (20 mL) ile seyreltilmiştir. Sulu tabaka EtOAc
 25 (2x30 mL) ile ekstrakte edilmiştir. Organik tabakalar kombine edilmiş ve Na₂SO₄ üzerinde kurutulmuştur. Katı filtrasyon vasıtasıyla uzaklaştırılmış ve uçucular indirgenmiş basınç altında uzaklaştırılmış ve beyaz katı olarak 104-11'i (2,4 g, %61 verim) vermek için silika jel kromatografi (PE:EA = 5:1) vasıtasıyla saflaştırılmıştır. MS (ESI) m/z: 577,5 (M+H)⁺.

30

C104-12'nin sentezi

THF içindeki C104-11'e (2,4 g) Pd/C (0,24 g) eklenmiştir. Karışım 2 saat boyunca H₂ atmosferi altında karıştırılmış, filtrelenmiş ve sonraki adımda saflaştırma olmadan
 35 kullanılan C104-12'yi vermek için konsantre edilmiştir. MS (ESI) m/z: 487,5 (M+H)⁺.

CX13-104'ün sentezi

THF (5 mL) içindeki C104-12 (0,40 g, 0,82 mmol), C104-7 (0,17 g, 0,82 mmol) HOBt
 5 (0,20 g 1,5 mmol) ve HBTU (0,56 g, 1,5 mmol) karışımı -5 °C'de tutulmuştur ve DIEA
 eklenmiştir (1 mL). Reaksiyon 0,5 saat boyunca -5 °C'de tutulmuştur ve daha sonra
 EtOAc (10 mL) ve tuzlu su (10 mL) ile seyreltilmiştir. Tabakalar ayrılmış ve sulu tabaka
 EtOAc (2x5 mL) ile ekstrakte edilmiştir. Organik tabakalar kombine edilmiş ve Na₂SO₄
 üzerinde kurutulmuştur. Katı filtrasyon vasıtasıyla uzaklaştırılmış ve uçucular
 10 indirgenmiş basınç altında uzaklaştırılmıştır. Ham ürün bileşik CX13-104'ü (50 mg,
 %6,2) vermek için silika jel kromatografi (DCM:MeOH = 50:1) ve hazırlayıcı HPLC
 vasıtasıyla saflaştırılmıştır.

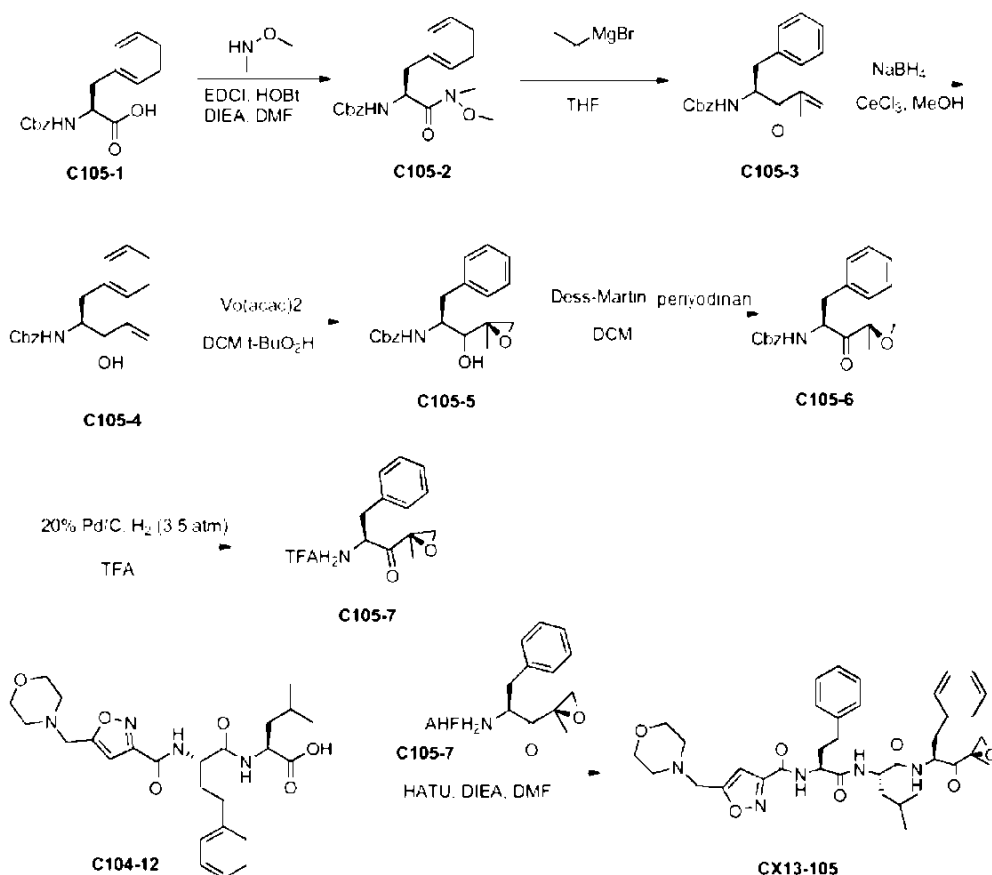
¹H-NMR (400 MHz, METANOL-d₄) δ (ppm): 0,88 - 0,99 (m, 7 H) 1,26 -1,35 (m, 2 H)
 15 1,40 -1,47 (m, 1 H) 1,49 -1,55 (m, 4 H) 1,64 (d, J=6,45 Hz, 1 H) 1,98 -2,18 (m, 2 H)
 2,53 - 2,67 (m, 6 H) 2,79 (dd, J=13,97, 9,94 Hz, 1 H) 2,99 (d, J=4,84 Hz, H) 3,18 (dd,
 J=14,10, 3,63 Hz, 1 H) 3,30 (s, 1 H) 3,67 - 3,77 (m, 4 H) 3,79 - 3,87 (m, 1 H) 4,42 (dd,
 J=8,73, 6,31 Hz, 1 H) 4,53 (dd, J=8,33, 5,64 Hz, 1 H) 4,79 (dd, J=9,81, 3,63 Hz, 1 H)
 6,73 (s, 1 H) 7,16 - 7,22 (m, 3 H) 7,22 - 7,32 (m, 3 H) 7,37 (d, J=5,91 Hz, 2 H) 8,40 (d,
 20 J=5,37 Hz, 2 H). MS (ESI) m/z: 675,5 (M+H)⁺.

ÖRNEK 3

Bileşik CX13-105'in sentezi

25

Şema 4: CX13-105'in hazırlanması



C105-2'nin sentezi

- 5 DMF (40 mL) içindeki soğutulmuş (0 °C) bir C105-1 (10 g, 33,2 mmol), EDCI (8,3 g, 43,2 mmol), HOBt (7 g, 51,1 mmol) solüsyonuna DIEA (14,3 mL, 85,2 mmol) eklenmiştir. Karışım 30 dakika boyunca 0 °C'de karıştırılmıştır, daha sonra N, O-dimetil-hidroksilamin hidroklorür (3,2 g, 33,2 mmol) eklenmiştir. Meydana gelen solüsyon 1 saat boyunca oda sıcaklığında nitrojen altında karıştırılmıştır. Reaksiyon
- 10 karışımı su içine dökülmüştür ve EtOAc ile iki kere ekstrakte edilmiştir. Kombine edilmiş tabakalar Na₂SO₄ üzerinde kurutulmuş, filtrelenmiş ve in vacuo konsantre edilmiştir. Kalıntı yağ C105-2 (8,0 g, verim: %72,7) başlık bileşiğini vermek için silika jel kolon vasıtasıyla saflaştırılmıştır. MS (ESI) *m/z*: 343 [M+H]⁺.

15 C105-3'ün sentezi

THF (50 mL) içindeki soğutulmuş (0 °C) bir C105-2 (8 g, 23,2 mmol) solüsyonuna izopropenil magnezyum bromid (0.5 M in THF, 200 mL, 100 mmol) 0 °C'de eklenmiştir.

Meydana gelen karışım 3 saat boyunca 0 °C'de karıştırılmıştır. Reaksiyon karışımı doymuş NH₄Cl solüsyon içine yavaş bir şekilde dökülmüştür. Solüsyonun pH seviyesi konsantre edilmiş HCl kullanılarak 1.5'e ayarlanmıştır. Karışım EtOAc ile ekstrakte edilmiştir. Kombine edilmiş tabakalar Na₂SO₄ üzerinde kurutulmuş, filtrelenmiş ve in vacuo konsantre edilmiştir. Kalıntı yağ C105-3 (5,8 g, verim: %77) başlık bileşiğini vermek için silika jel kolon vasıtasıyla saflaştırılmıştır.

C105-4'ün sentezi

10 MeOH (mL) ve THF (20 mL) içindeki soğutulmuş (0 °C) bir C105-3 (5,8 g, 18 mmol) solüsyonuna NaBH₄ (1,21 g, 31,8 mmol) ve CeCl₃.7H₂O (11,8 g, 31,8 mmol) 0 °C'de eklenmiştir. Meydana gelen solüsyon 3 saat boyunca 0 °C'de nitrojen altında karıştırılmıştır. Su (5 mL) reaksiyonu söndürmek için eklenmiştir. İn vacuo bütün uçucuların uzaklaşmasından sonra kalıntı EtOAc ile ekstrakte edilmiştir. Kombine edilmiş tabakalar Na₂SO₄ üzerinde kurutulmuş, filtrelenmiş ve in vacuo konsantre edilmiştir. Kalıntı yağ C105-4 (4,37 g, verim: %72) başlık bileşiğini vermek için silika jel kolon vasıtasıyla saflaştırılmıştır. MS (ESI) *m/z*: 326 [M+H]⁺.

C105-5'in sentezi

20 DCM (20 mL) içindeki soğutulmuş (0 °C) bir C105-4 (4,37 g, 13,4 mmol) solüsyonuna Vo(acac)₂ (344 mg, 1,3 mmol) ve t-BuO₂H (dekan içinde 5,5 M solüsyon, 2,6 mL, 14,3 mmol) eklenmiştir. Meydana gelen karışım 2 saat boyunca oda sıcaklığında karıştırılmıştır. Su (5 mL) reaksiyonu söndürmek için eklenmiştir. Karışım celite aracılığıyla filtrelenmiştir. Sulu tabaka DCM ile ekstrakt edilmiştir. Kombine edilmiş tabakalar sulu dosyum bisülfite solüsyonu ve tuzlu su ile yıkanmış, Na₂SO₄ üzerinde kurutulmuş, filtrelenmiş ve in vacuo konsantre edilmiştir. Kalıntı yağ saflaştırma olmadan sonraki adım için kullanılmıştır. MS (ESI) *m/z*: 342 [M+H]⁺.

C105-6'nın sentezi

30 DMF (20 mL) içindeki soğutulmuş (0 °C) bir C105-5 solüsyonuna Dess-Martin periodinan (13 g, 32,5 mmol) eklenmiştir. Meydana gelen karışım 1 saat boyunca oda sıcaklığında karıştırılmıştır. Meydana gelen karışım celite aracılığıyla filtrelenmiştir, 35 filtrelenmiş kek DCM ile iki kere yıkanmıştır. Kombine edilmiş tabakalar sulu sodyum

bisülfid solüsyonu, doymuş sodyum bikarbonat tuzlu su ile yıkanmış, Na₂SO₄ üzerinde kurutulmuş ve in vacuo konsantre edilmiştir. Kalıntı yağ C105-6 (2 g, verim: %29) başlık bileşimini vermek için silika jel kolon vasıtasıyla saflaştırılmıştır. MS (ESI) *m/z*: 340 [M+H]⁺.

5

C105-7'nin sentezi

MeOH (10 mL) ve TFA (1 mL) içindeki soğutulmuş (0 °C) bir C105-6 (2 g, 5,88 mmol) solüsyonuna kömür üstünde paladyum (400 mg, ağırlıkça %40) eklenmiştir. Süspansiyon hidrojen atmosferi (3,5 atm) altında 6 saat boyunca 0 °C'de karıştırılmıştır ve daha sonra reaksiyon karışımı celite aracılığıyla filtrelenmiştir. Filtrat sonraki adım için ayrıca saflaştırma olmadan kullanılan istenen ham ürünü sağlamak için in vacuo konsantre edilmiştir. MS (ESI) *m/z*: 206 [M+H]⁺.

15 CX13-105'in sentezi

DMF (5 mL) içindeki soğutulmuş (0 °C) bir C104-7 (311 mg, 0,74 mmol), HATU (422 mg, 1,11 mmol) solüsyonuna DIEA (0,62 mL, 3,7 mmol) eklenmiştir. Karışım 30 dakika boyunca 0 °C'de karıştırılmıştır. DCM (2 mL) içinde bir C-105-7 solüsyonu eklenmiştir. Meydana gelen solüsyon 1 saat boyunca oda sıcaklığında nitrojen altında karıştırılmıştır. Reaksiyon karışımı su içine dökülmüştür ve EtOAc ile iki kere ekstrakte edilmiştir. Kombine edilmiş tabakalar Na₂SO₄ üzerinde kurutulmuş, filtrelenmiş ve in vacuo konsantre edilmiştir. Kalıntı yağ CX13-105'i (70 mg, verim: %16) vermek için hazırlayıcı HPLC vasıtasıyla saflaştırılmıştır.

25

¹H-NMR (400 MHz, Metanol-d₄) δ 7,32-7,09 (m, 10H), 6,72 (s, 1H), 4,76 (dd, 1H), 4,55 (dd, 1H), 4,46 (dd, 1H), 3,83 (s, 2H), 3,73-3,71 (m, 4H), 3,28 (d, 1H), 3,11 (dd, 1H), 2,94 (d, 1H), 2,76-2,60 (m, 3H), 2,59-2,55 (m, 4H), 2,11 -2,02 (m, 2H), 1,65-1,61 (m, 1H), 1,54-1,51 (m, 2H), 1,45 (s, 3H), 0,94 (d, 3H), 0,90 (d, 3H); MS (ESI) *m/z*: 674 [M+H]⁺. saflık >%95'tir.

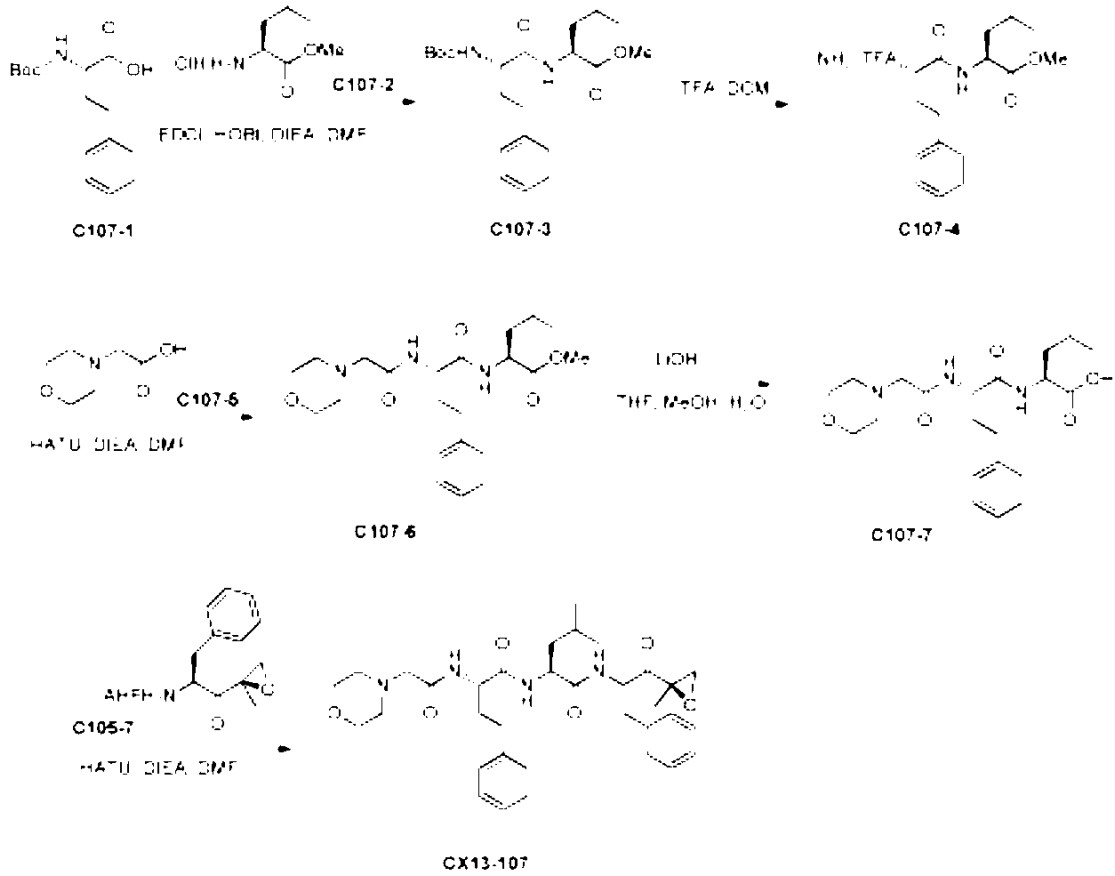
30

ÖRNEK 4

Bileşik CX13-107'nin sentezi

35

Şema 5: CX13-107'nin hazırlanması

5 C107-3'ün sentezi

- DMF (40 mL) içindeki soğutulmuş (0 °C) bir C107-1 (10 g, 35,8 mmol) solüsyonuna EDCI (8,5 g, 44,3 mmol), HOBT (7 g, 51,1 mmol), DIEA (14,3 ml, 85,2 mmol) eklenmiştir. Karışım 30 dakika boyunca 0 °C'de karıştırılmıştır, daha sonra C107-2 (6,2 g, 34,1 mmol) eklenmiştir. Meydana gelen solüsyon 1 saat boyunca oda sıcaklığında nitrojen altında karıştırılmıştır. Reaksiyon karışımı su içine dökülmüştür ve EtOAc ile iki kere ekstrakte edilmiştir. Kombine edilmiş tabakalar Na₂SO₄ üzerinde kurutulmuş, filtrelenmiş ve in vacuo konsantre edilmiştir. Kalıntı yağ C107-3'ü (13,5 g, verim: %97,8) vermek için silika jel üzerinde flaş kromatografi vasıtasıyla saflaştırılmıştır. MS (ESI) m/z : 351 [M+H-55]⁺.

C107-4'ün sentezi

DCM (50 mL) içindeki soğutulmuş (0 °C) bir C107-3 (13,5 g, 33,3 mmol) solüsyonuna TFA (20 mL) eklenmiştir. Reaksiyon karışımı 1 saat boyunca oda sıcaklığında karıştırılmıştır. Vakum altında konsantrasyon ham ürünü vermiştir, bu da başka
5 saflaştırma olmadan sonraki adım için kullanılmıştır. MS (ESI) m/z : 307 $[M+H]^+$

C107-6'nın sentezi

DMF (20 mL) içindeki soğutulmuş (0 °C) bir C107-5 (1,8 g, 12,4 mmol) solüsyonuna
10 HATU (5,8 g, 15,3 mmol), DIEA (10 mL, 60 mmol) eklenmiştir. Karışım 30 dakika boyunca 0 °C'de karıştırılmıştır. Daha sonra C107-4 eklenmiştir. Meydana gelen solüsyon 1 saat boyunca oda sıcaklığında nitrojen altında karıştırılmıştır. Reaksiyon karışımı su içine dökülmüştür ve EtOAc ile iki kere ekstrakte edilmiştir. Kombine edilmiş tabakalar Na_2SO_4 üzerinde kurutulmuş, filtrelenmiş ve in vacuo konsantre edilmiştir.
15 Kalıntı yağ C107-6'yı (4,5 g, verim: %88) vermek için silika jel üzerinde flaş kromatografi vasıtasıyla saflaştırılmıştır. MS (ESI) m/z : 434 $[M+H]^+$.

C107-7'nin sentezi

20 THF (10 mL) ve MeOH (10 mL) içindeki soğutulmuş (0 °C) bir C107-6 (4,5 g, 10,1 mmol) solüsyonuna 2 N LiOH (10 mL, 20 mmol) eklenmiştir. Meydana gelen karışım 1 saat boyunca oda sıcaklığında karıştırılmıştır. pH sulu hidroklorürün eklenmesi vasıtasıyla 5'e ayarlanmıştır. Meydana gelen katı toplanmış su ile yıkanmış ve başlık bileşimini (3,8 g, verim: %90) vermek için vakum altında kurutulmuştur.

25

CX13-107'nin sentezi

30 dakika boyunca 0 °C'de karıştırılan DMF (5 mL) içindeki bir C107-7 (311 mg, 0,74 mmol), HATU (445 mg, 1,17 mmol), DIEA (0,5 mL, 2,2 mmol) solüsyonuna C-105-7
30 eklenmiştir. Meydana gelen solüsyon 1 saat boyunca oda sıcaklığında nitrojen altında karıştırılmıştır. Reaksiyon karışımı su içine dökülmüştür ve EtOAc ile iki kere ekstrakte edilmiştir. Kombine edilmiş tabakalar Na_2SO_4 üzerinde kurutulmuş, filtrelenmiş ve in vacuo konsantre edilmiştir. Kalıntı yağ CX13-107'yi (70 g, verim: %16) vermek için hazırlayıcı HPLC vasıtasıyla saflaştırılmıştır.

35

¹H-NMR (400 MHz, Metanol-d₄), δ 7,20-6,98 (m, 10H), 4,67 (dd, 1H), 4,36-4,31 (m, 2H), 3,68-3,62 (m, 4H), 3,21 (d, 1H), 3,02 (dd, 1H), 2,96 (dd, 2H), 2,85 (d, 1H), 2,63 (dd, 1H), 2,50-2,40 (m, 6H), 1,96-1,78 (m, 2H), 1,55-1,43 (m, 1H), 1,43-1,36 (m, 2H), 1,22 (s, 3H), 0,85 (d, 3H), 0,81 (d, 3H); MS (ESI) *m/z*: 607 [M+H]⁺. saflık >%95'tir.

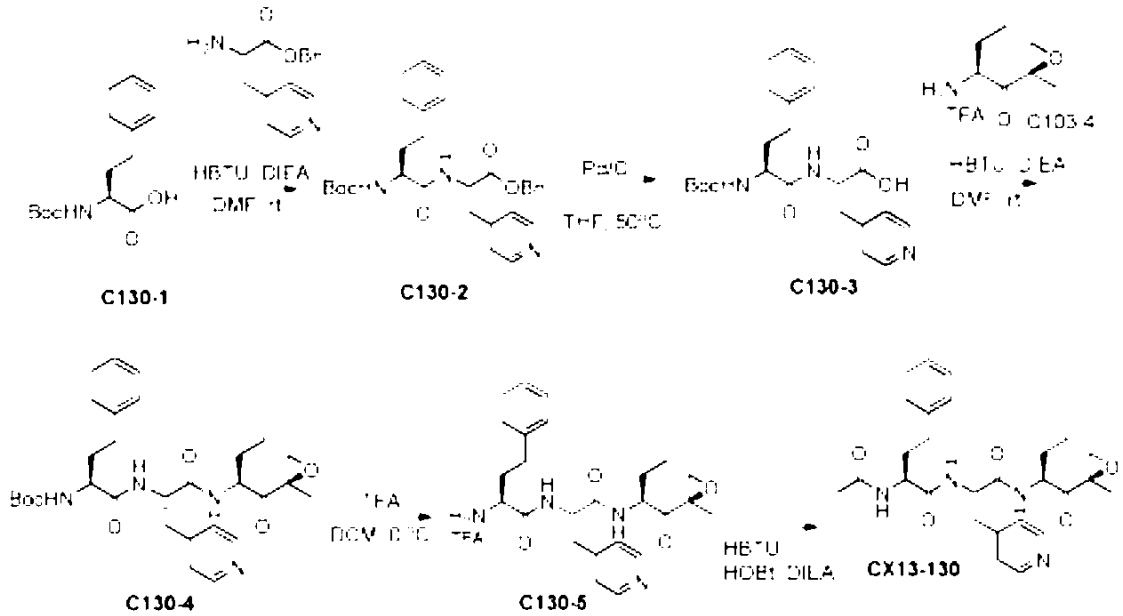
5

ÖRNEK 5

Bileşik CX13-130'un sentezi

10

Şema 6: CX13-130'un hazırlanması



C130-2'nin sentezi

15

Bileşik C130-1'in (1,5 g, 5,4 mmol) DMF (30 mL) içindeki karışımına (S)-benzil 2-amino-3-(piridin-4-il)propanoat (1,38 g, 5,4 mmol), HBTU (3,1 g, 8,1 mmol) ve DIEA (4 mL) oda sıcaklığında eklenmiştir. Reaksiyon 16 saat boyunca aynı sıcaklıkta tutulmuştur ve daha sonra EtOAc (80 mL) ve tuzlu su (40 mL) ile seyreltilmiştir. Tabakalar ayrılmış ve sulu tabaka EtOAc (2x40 mL) ile ekstrakte edilmiştir. Organik tabakalar kombine edilmiş ve Na₂SO₄ üzerinde kurutulmuştur. Katı filtrasyon vasıtasıyla uzaklaştırılmış ve uçucular indirgenmiş basınç altında uzaklaştırılmış ve beyaz bir katı

20

olarak 130-2'yi (2,0 g, %72 verim) vermek için silika jel kromatografi (PE:EA=10:1) vasıtasıyla saflaştırılmıştır. MS (ESI) m/z : 518,3 (M+H)⁺.

C130-3'ün sentezi

5

THF (25 mL) içindeki bileşik C130-2'ye (1,5 g, 2,9 mmol) Pd/C (0,15 g, karbonda %10) eklenmiştir ve karışım 16 saat boyunca 50 °C'de H₂ atmosferi altında karıştırılmıştır. Karışım filtrelenmiş ve sonraki adımda saflaştırılmadan kullanılan C130-3 (1100 mg, %90 verim) bileşiğini vermek için konsantre edilmiştir. MS (ESI) m/z : 428,3 (M+H)⁺.

10

C130-4'ün sentezi

Bileşik C130-3'ün (1,1 g, 2,6 mmol) DMF (15 mL) içindeki karışımına (S)-2-amino-4-metil-1-((R)-2-metiloksiran-2-il)pentan-1-on (0,69 g, 2,6 mmol), HBTU (1,5 g, 3,9 mmol), HOBt (0,53 g, 3,9 mmol) ve DIEA (2 mL) eklenmiştir. Reaksiyon 16 saat boyunca oda sıcaklığında karıştırılmıştır ve daha sonra EtOAc (60 mL) ve tuzlu su (20 mL) ile seyreltilmiştir. Tabakalar ayrılmış ve sulu tabaka EtOAc (2x30 mL) ile ekstrakte edilmiştir. Organik tabakalar kombine edilmiş ve Na₂SO₄ üzerinde kurutulmuştur. Katı filtrasyon vasıtasıyla uzaklaştırılmış ve uçucular indirgenmiş basınç altında uzaklaştırılmış ve beyaz katı olarak C130-4 (510 mg, %34 verim) bileşiğini vermek için silika jel kromatografi (PE:EA=1:1) vasıtasıyla saflaştırılmıştır. MS (ESI) m/z : 581,4 (M+H)⁺.

20

C130-5'in sentezi

25

Bileşik C130-4'ün (510 mg, 0,88 mmol) DCM (10 mL) içindeki karışımına TFA (4 mL) 0 °C'de eklenmiştir. Reaksiyon 2 saat boyunca 0 °C'de tutulmuştur ve uçucular beyaz bir katı olarak 130-5 (500 mg, %100 verim) bileşiğini vermek için indirgenmiş basınç altında uzaklaştırılmıştır. MS (ESI) m/z : 481,4 (M+H)⁺.

30

CX13-130'un sentezi

Bileşik C130-5'in (110 mg, 0,19 mmol) DMF (2 mL) içindeki karışımına asetik asit (14 mg, 0,23 mmol), HBTU (108 mg, 0,29 mmol), HOBt (39 mg, 0,29 mmol) ve DIEA (0,2 mL) oda sıcaklığında eklenmiştir. Reaksiyon 16 saat boyunca oda sıcaklığında

35

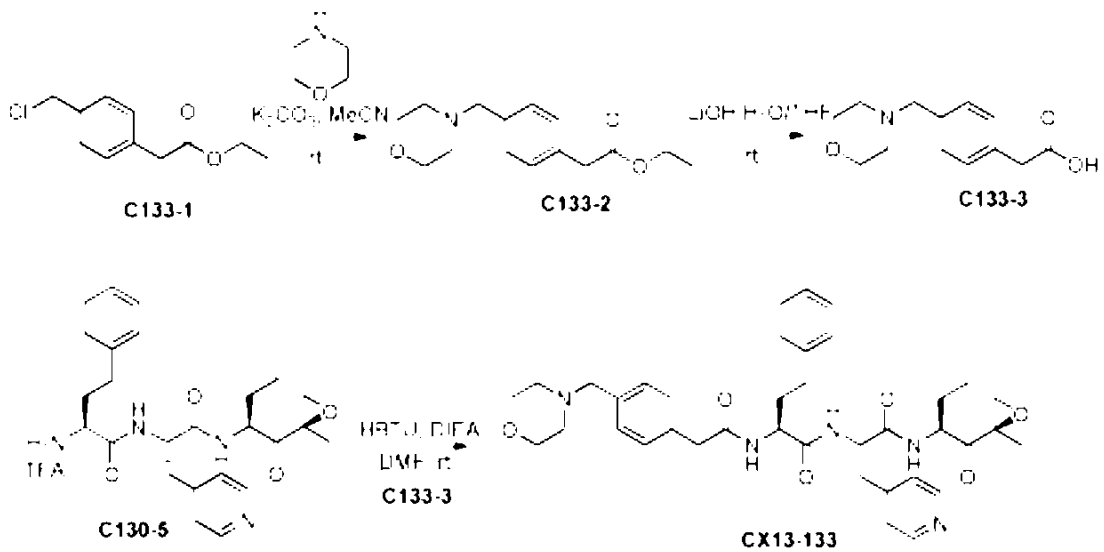
tutulmuştur ve daha sonra EtOAc (40 mL) ve tuzlu su (10 mL) ile seyreltilmiştir. Tabakalar ayrılmış ve sulu tabaka EtOAc (2x20 mL) ile ekstrakte edilmiştir. Organik tabakalar kombine edilmiş ve Na₂SO₄ üzerinde kurutulmuştur. Katı filtrasyon vasıtasıyla uzaklaştırılmış ve uçucular indirgenmiş basınç altında uzaklaştırılmış ve beyaz bir katı olarak CX13-130'u (25 mg, %21) vermek için silikajel kromatografi (DCM:MeOH = 40:1) ve hazırlayıcı HPLC vasıtasıyla saflaştırılmıştır.

¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 8,50 (s, 2H), 7,38 - 7,25 (m, 4H), 7,21 (t, J = 7,3 Hz, 1H), 7,17 (t, J = 10,3 Hz, 3H), 6,83 (d, J = 7,6 Hz, 1H), 6,19 (d, J = 7,3 Hz, 1H), 4,81 (dd, J = 13,9, 7,7 Hz, 1H), 4,57 (t, J = 7,6 Hz, 1H), 4,38 (dd, J = 14,0, 7,3 Hz, 1H), 3,25 (dd, J = 16,9, 5,1 Hz, 2H), 3,05 (dd, J = 14,2, 8,2 Hz, 1H), 2,92 (d, J = 4,9 Hz, 1H), 2,65 (dd, J = 14,7, 6,3 Hz, 2H), 2,13 (dd, J = 14,1, 7,5 Hz, 2H), 1,93 (s, 4H), 1,67 - 1,47 (m, 5H), 1,30 (dd, J = 16,6, 6,8 Hz, 2H), 0,92 (dd, J = 8,9, 6,5 Hz, 6H). MS (ESI) *m/z*: 523,7 (M+H)⁺.

ÖRNEK 6

Bileşik CX13-133'ün sentezi

Şema 7: CX13-133'ün hazırlanması



C133-2'nin sentezi

MeCN (20 mL) içindeki bir morfolin (456 mg, 5,6 mmol) solüsyonuna K₂CO₃ (841 mg, 6,1 mmol) ve C133-1 (1 g, 4,7 mmol) oda sıcaklığında eklenmiştir. Karışım 4 saat boyunca 50 °C'de karıştırılmıştır. Katı filtrasyon vasıtasıyla uzaklaştırılmış ve uçucular indirgenmiş basınç altında uzaklaştırılmış ve renksiz bir yağ olarak C133-2 (1,0 g, %81 verim) bileşiğini vermek için silika jel kromatografi (PE:EA=4:1) vasıtasıyla saflaştırılmıştır. MS (ESI) *m/z*: 264,2 (M+H)⁺.

C133-3'ün sentezi

10

THF (16 mL) ve su (8 mL) içindeki bir bileşik C133-2 (1000 mg, 3,8 mmol) solüsyonuna LiOH.H₂O (477 mg, 11,4 mmol) oda sıcaklığında eklenmiştir. Karışım 16 saat boyunca oda sıcaklığında karıştırılmıştır. Daha sonra karışım pH = 5'e asidifiye edilmiş, konsantre edilmiş ve beyaz katı olarak C133-3'ü (750 mg, %84 verim) vermek için kromatografi vasıtasıyla saflaştırılmıştır. MS (ESI) *m/z*: 236,2 (M+H)⁺.

15

CX13-133'ün sentezi

Bileşik C130-5'in (110 mg, 0,19 mmol) DMF (2 mL) içindeki karışımına 133-3 (54 mg, 0,23 mmol), HBTU (108 mg, 0,29 mmol), HOBt (39 mg, 0,29 mmol) ve DIEA (0,2 mL) oda sıcaklığında eklenmiştir. Reaksiyon 16 saat boyunca oda sıcaklığında tutulmuştur ve daha sonra EtOAc (40 mL) ve tuzlu su (10 mL) ile seyreltilmiştir. Tabakalar ayrılmış ve sulu tabaka EtOAc (2x20 mL) ile ekstrakte edilmiştir. Organik tabakalar kombine edilmiş ve Na₂SO₄ üzerinde kurutulmuştur. Katı filtrasyon vasıtasıyla uzaklaştırılmış ve uçucular indirgenmiş basınç altında uzaklaştırılmış ve beyaz bir katı olarak CX13-133'ü (55 mg, %41) vermek için silikajel kromatografi (DCM:MeOH = 40:1) ve hazırlayıcı HPLC vasıtasıyla saflaştırılmıştır.

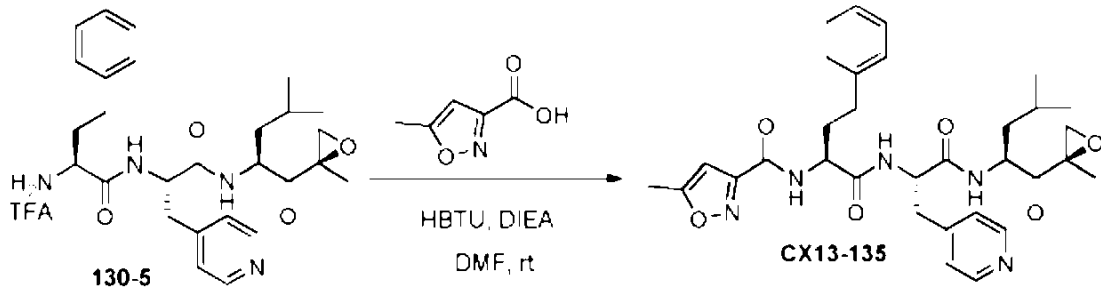
25

¹H NMR (400 MHz, METANOL-d₄) δ ppm 0,86 -1,01 (dd, 6 H) 1,43 (t J=6,98 Hz, 4 H) 1,47 -1,64 (m, 1 H) 1,88 -1,96 (m, 2 H) 2,56 (m, 6H) 2,96 (m, 9,94 Hz, 2 H) 3,18 (dd, J=9,94 Hz, 1 H) 3,22 (d, J=5,2Hz, 1 H) 3,4-3,6 (m, 4 H) 3,6-3,66 (m, 4 H) 4,26-4,28 (m, 1 H) 4,46 (d, J=4,84 1 H) 4,71 -4,75 (m, 1 H) 7,06 (d, J=5,2Hz 1 H) 7,16 -7,20 (m, 1 H) 7,20 - 7,24 (m, 2H) 7,26 - 7,32 (m, 2H) 7,34 (s, 4H) 8,36 - 8,38 (m, 2 H). MS (ESI) *m/z*: 698,4 (M+H)⁺.

35

ÖRNEK 7

Bileşik CX13-135'in sentezi

5 Şema 8: CX13-135'in hazırlanması

10 Bileşik C130-5'in (110 mg, 0,19 mmol) DMF (2 mL) içindeki karışımına 5-metilisoksazol-3-karboksilik asit (40 mg, 0,23 mmol), HBTU (108 mg, 0,29 mmol), HOBt (39 mg, 0,29 mmol) ve DIEA (0,2 mL) oda sıcaklığında eklenmiştir.

15 Reaksiyon 16 saat boyunca oda sıcaklığında tutulmuştur ve daha sonra EtOAc (40 mL) ve tuzlu su (10 mL) ile seyreltilmiştir. Tabakalar ayrılmış ve sulu tabaka EtOAc (2x20 mL) ile ekstrakte edilmiştir. Organik tabakalar kombine edilmiş ve Na₂SO₄ üzerinde kurutulmuştur. Katı filtrasyon vasıtasıyla uzaklaştırılmış ve uçucular indirgenmiş basınç altında uzaklaştırılmış ve beyaz bir katı olarak CX13-135'i (18 mg, %16) vermek için silikajel kromatografi (DCM:MeOH = 40:1) ve hazırlayıcı HPLC vasıtasıyla saflaştırılmıştır.

20

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 8,38 (s, 2H), 7,35 (d, J = 7,9 Hz, 1H), 7,33-7,23 (m, 3H), 7,20 (t, J = 7,3 Hz, 1H), 7,16 - 7,08 (m, 4H), 6,96 (d, J = 8,0 Hz, 1H), 6,68 (d, J = 7,7 Hz, 1H), 6,43 (d, J = 0,7 Hz, 1H), 4,75 (dd, J = 14,2, 7,5 Hz, 1H), 4,62 -4,43 (m, 2H), 3,26 (d, J = 4,9 Hz, 1H), 3,12 (dd, J = 14,1, 6,2 Hz, 1H), 2,98 (dd, J = 14,1, 7,5 Hz, 1H), 2,91 (d, J = 5,0 Hz, 1H), 2,67 (t, J = 7,8 Hz, 2H), 2,58-2,45 (m, 3H), 2,21 (dt, J = 14,0, 7,7 Hz, 2H), 2,04 (td, J = 15,6, 7,9 Hz, 1H), 1,64 - 1,42 (m, 5H), 1,37 - 1,16 (m, 2H), 0,89 (dd, J = 13,1, 6,3 Hz, 6H). MS (ESI) *m/z*: 590,4 (M+H)⁺.

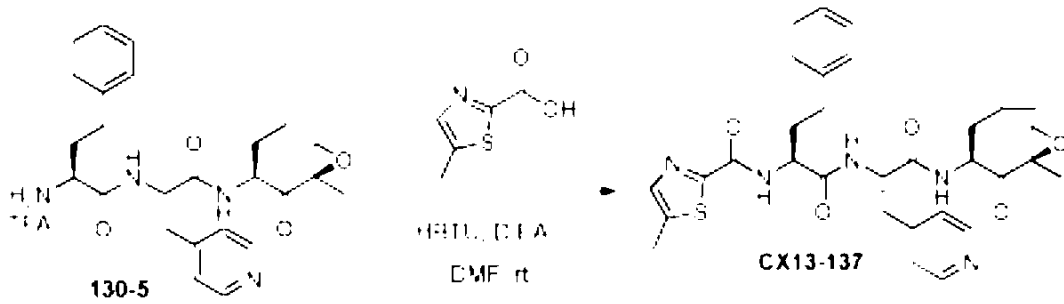
25

ÖRNEK 8

Bileşik CX13-137'nin sentezi

Şema 9: CX13-137'nin hazırlanması

5



Bileşik C130-5'in (110 mg, 0,19 mmol) DMF (2 mL) içindeki karışımına 5-metiltiazol-2-karboksilik asit (41 mg, 0,23 mmol), HBTU (108 mg, 0,29 mmol), HOBt (39 mg, 0,29 mmol) ve DIEA (0,2 mL) oda sıcaklığında eklenmiştir. Reaksiyon 16 saat boyunca oda sıcaklığında tutulmuştur ve daha sonra EtOAc (40 mL) ve tuzlu su (10 mL) ile seyreltilmiştir. Tabakalar ayrılmış ve sulu tabaka EtOAc (2x20 mL) ile ekstrakte edilmiştir.

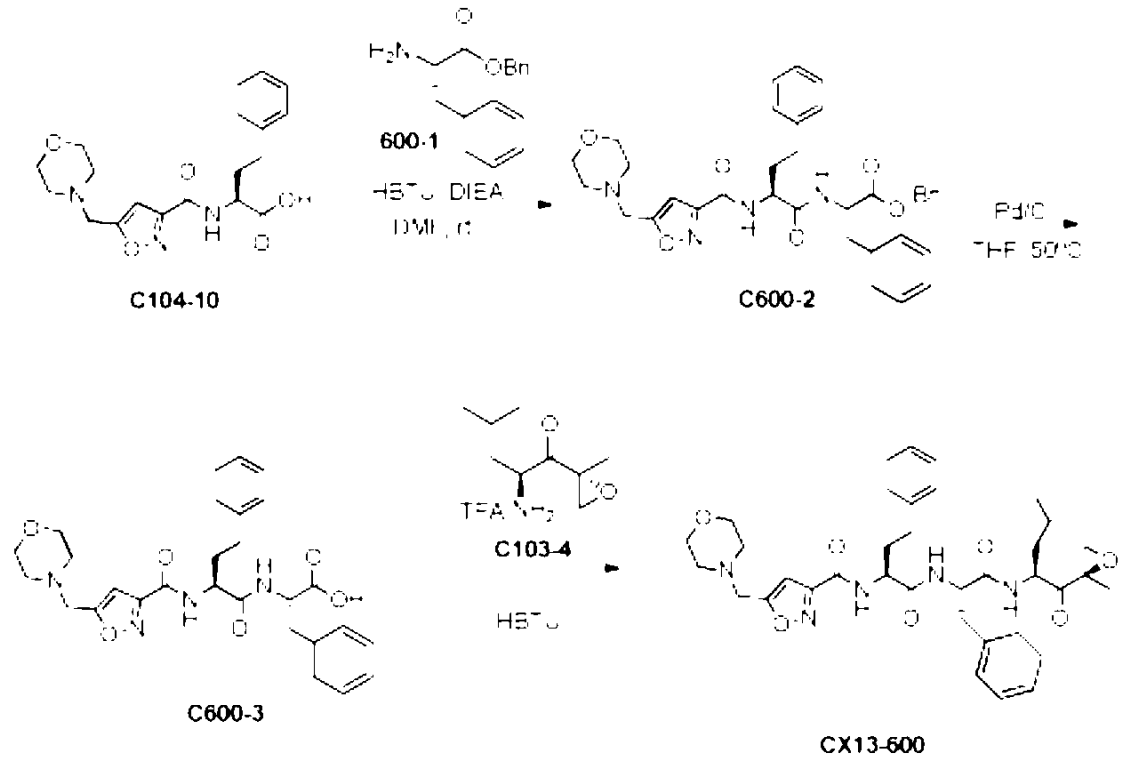
Organik tabakalar kombine edilmiş ve Na₂SO₄ üzerinde kurutulmuştur. Katı filtrasyon vasıtasıyla uzaklaştırılmış ve uçucular indirgenmiş basınç altında uzaklaştırılmış ve beyaz bir katı olarak CX13-137'yi (36 mg, %31) vermek için kromatografi vasıtasıyla saflaştırılmıştır.

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 8,32 (d, J = 5,6 Hz, 2H), 8,05 (s, 1H), 7,41 (dd, J = 29,1, 17,6 Hz, 3H), 7,20 (dt, J = 24,4, 7,1 Hz, 3H), 7,13 - 7,02 (m, 3H), 4,79 (dd, J = 13,9, 8,0 Hz, 1H), 4,71 - 4,49 (m, 2H), 3,25 (d, J = 4,9 Hz, 1H), 3,11 (dd, J = 13,7, 5,3 Hz, 1H), 2,98 - 2,81 (m, 2H), 2,76 (s, 3H), 2,63 (t, J = 7,7 Hz, 2H), 2,23 - 1,93 (m, 2H), 1,76 - 1,41 (m, 5H), 1,30 (ddd, J = 14,3, 8,6, 4,5 Hz, 2H), 0,87 (dd, J = 17,5, 6,4 Hz, 6H). MS (ESI) m/z: 606,3 (M+H)⁺.

ÖRNEK 9

Bileşik CX13-600'ün sentezi

Şema 10: CX13-600'ün hazırlanması



5

C600-2'nin sentezi

- Bileşik C104-10'un (2,0 g, 5,4 mmol) DMF (30 mL) içindeki karışımına C600-1 (1,38 g, 5,4 mmol), HBTU (3,1 g, 8,1 mmol) ve DIEA (4 mL) oda sıcaklığında eklenmiştir.
- 10 Reaksiyon 16 saat boyunca oda sıcaklığında tutulmuştur ve daha sonra EtOAc (80 mL) ve tuzlu su (40 mL) ile seyreltilmiştir. Tabakalar ayrılmış ve sulu tabaka EtOAc (2x40 mL) ile ekstrakte edilmiştir. Organik tabakalar kombine edilmiş ve Na₂SO₄ üzerinde kurutulmuştur. Katı filtrasyon vasıtasıyla uzaklaştırılmış ve uçucular indirgenmiş basınç altında uzaklaştırılmış ve beyaz bir katı olarak C600-2 (1,8 g, %69 verim) bileşiğini
- 15 vermek için silika jel kromatografi (PE:EA=10:1) vasıtasıyla saflaştırılmıştır. MS (ESI) *m/z*: 611,7 (M+H)⁺.

C600-3'ün sentezi

- 20 THF (20 mL) içindeki bileşik C600-2'ye (1,77 g, 2,9 mmol) Pd/C (0,15 g, karbonda %10) eklenmiştir ve karışım 16 saat boyunca 50 °C'de H₂ atmosferi altında

kariştırılmıştır. Karişım filtrelenmiş ve sonraki adımda saflaştırılmadan kullanılan C600-3 (1,35 g, %90 verim) bileşiğini vermek için konsantre edilmiştir. MS (ESI) m/z : 521,3 (M+H)⁺.

5 CX13-600'ün sentezi

DMF (4 mL) içinde soğuk (-5 °C) bir C600-3 (150 mg, 0,29 mmol), C103-4 (78 mg, 0,29 mmol), HOBt (60 g, 0,51 mmol) ve HBTU (165 g, 0,51 mmol) karişımına DIEA (0,2 mL) eklenmiştir. Reaksiyon 1 saat boyunca -5 °C'de tutulmuştur ve daha sonra EtOAc (10 mL) ve tuzlu su (10 mL) ile seyreltilmiştir. Tabakalar ayrılmış ve sulu tabaka EtOAc (2x10 mL) ile ekstrakte edilmiştir. Organik tabakalar kombine edilmiş ve Na₂SO₄ üzerinde kurutulmuştur. Katı filtrasyon vasıtasıyla uzaklaştırılmış ve uçucular indirgenmiş basınç altında uzaklaştırılmıştır. Ham rn bileşik CX13-600' (98 mg, %51,0) vermek için kromatografi vasıtasıyla saflaştırılmıştır.

15

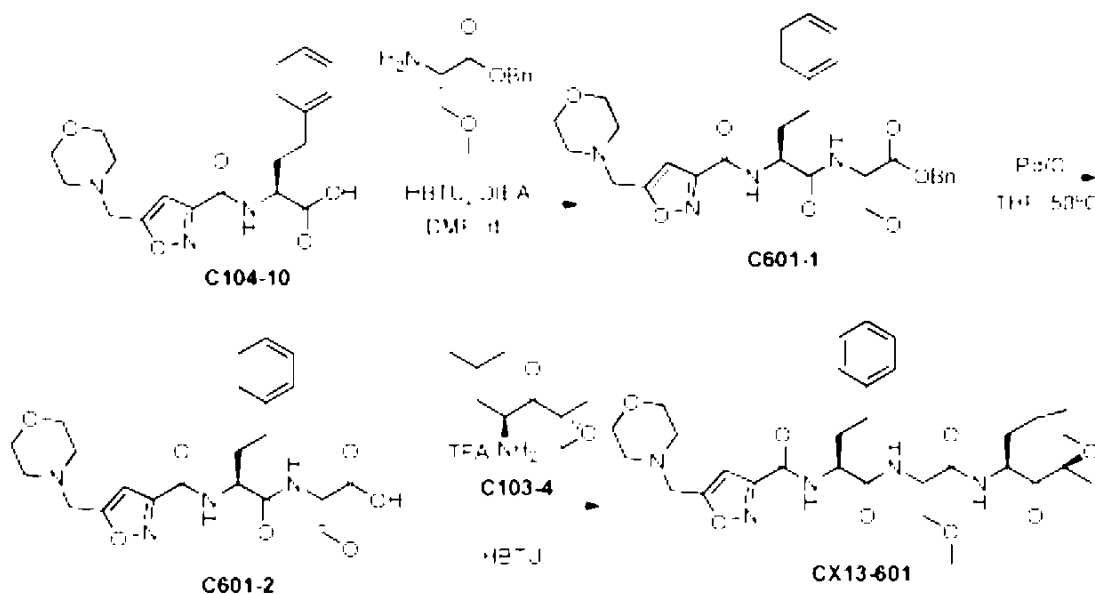
¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 7,30 (br. s, 1 H), 7,13 - 7,28 (m, 10 H), 6,57 - 6,73 (m, 2 H), 6,16 (br. s., 1 H), 4,66 (d, J=7,25 Hz, 1 H), 4,47 - 4,59 (m, 2 H), 3,59 - 3,89 (br, 6 H), 3,25 (d, J=5,10 Hz, 1 H), 3,05 (dd, J=6,72, 3,49 Hz, 2 H), 2,90 (d, J=4.84Hz, 1 H), 2,48 - 2,74 (m, 6 H), 2,18-2,29 (m, 1 H), 1,96-2,11 (m, 1 H), 1,55(s,3H), 1,41 - 1,54 (m, 2 H), 1,20 (t, J=9,94 Hz, 1 H), 0,88 (dd, J=13,30, 5,78 Hz, 6 H). MS (ESI) m/z : 674,3 (M+H)⁺.

20

ÖRNEK 10

25 CX13-601'in sentezi

şema 11: CX13-601'in hazırlanması



C601-1'in sentezi

- 5 DMF (50 mL) içindeki C104-10 (500 mg, 1,3 mmol), (S)-benzil 2-amino-4-metilpentanoat (335 mg, 1,6 mmol) TBTU (516 mg, 13 mmol) karışımına bir ekleme hunisi aracılığıyla oda sıcaklığında DIEA (0,3 mL) eklenmiştir. Reaksiyon 16 saat boyunca oda sıcaklığında tutulmuştur ve daha sonra EtOAc (10 mL) ve tuzlu su (10 mL) ile seyreltilmiştir. Tabakalar ayrılmış ve sulu tabaka EtOAc (2x10 mL) ile ekstrakte edilmiştir. Organik tabakalar kombine edilmiş ve Na₂SO₄ üzerinde kurutulmuştur. Katı filtrasyon vasıtasıyla uzaklaştırılmış ve uçucular indirgenmiş basınç altında uzaklaştırılmış ve beyaz katı olarak 601-1'i (660 g, %87 verim) vermek için silika jel kromatografi (PE:EA = 5:1) vasıtasıyla saflaştırılmıştır. MS (ESI) *m/z*: 565,2 (M+H)⁺.

C601 -2'nin sentezi

- THF içindeki bileşik C601-1'e (660mg) Pd/C (66mg) eklenmiştir ve karışım 12 saat boyunca H₂ atmosferi altında karıştırılmıştır. Karışım filtrelenmiş ve sonraki adımda saflaştırılmadan kullanılan C601-2'yi vermek için konsantre edilmiştir. MS (ESI) *m/z*: 475,2 (M+H)⁺.

CX13-601'in sentezi

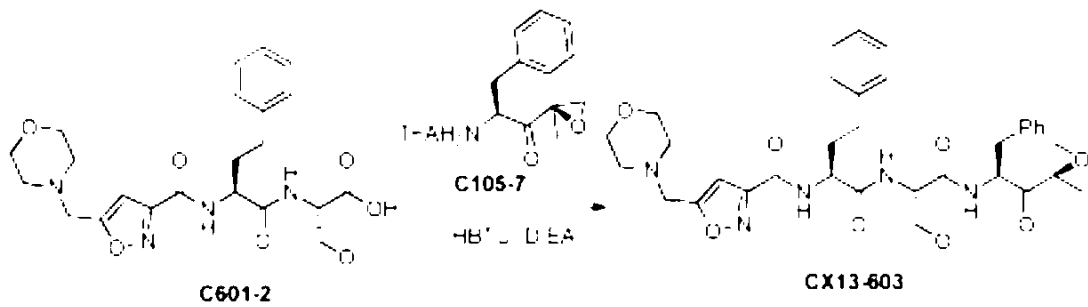
DMF (5 mL) içinde soğuk (-5 °C) bir C601-2 (150 mg, 0,32mmol), C103-4 (102 mg, 0,38 mmol), HOBt (51 g, 0,51 mmol) ve HBTU (144 g, 0,51 mmol) DIEA (0,2 mL) eklenmiştir. Reaksiyon 1 saat boyunca -5 °C'de tutulmuştur ve daha sonra EtOAc (15 mL) ve tuzlu su (15 mL) ile seyreltilmiştir. Tabakalar ayrılmış ve sulu tabaka EtOAc (2x10 mL) ile ekstrakte edilmiştir. Organik tabakalar kombine edilmiş ve Na₂SO₄ üzerinde kurutulmuştur. Katı filtrasyon vasıtasıyla uzaklaştırılmış ve uçucular indirgenmiş basınç altında uzaklaştırılmıştır. Ham ürün bileşik CX13-601'i (70 mg, %35,3) vermek için kromatografi vasıtasıyla saflaştırılmıştır.

¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 7,33 (d, J=9,94 Hz, 2 H), 7,17 - 7,26 (m, 3 H), 6,89 (d, J=8,33 Hz, 1 H), 6,74 (d, J=6,72 Hz, 1 H), 6,66 (s, 1 H), 4,58 - 4,67 (m, 2 H), 4,50 (m, 1 H), 3,69 - 3,83 (m, 7 H), 3,35 - 3,47 (m, 4 H), 3,30 (d, J=4,84 Hz, 1 H), 2,92 (d, J=4,84 Hz, 1 H), 2,76 (t, J=7,92 Hz, 2 H), 2,49 - 2,60 (m, 4 H), 2,24 - 2,37 (m, 1 H), 2,12 (m, 1 H), 1,53 - 1,67 (m, 2 H), 1,49-1,58 (m, 4 H) 0,89 - 0,98 (m, 6H) MS (ESI) *m/z*: 628,3 (M+H)⁺.

ÖRNEK 11

Bileşik CX13-603'ün sentezi

Şema 12: CX13-603'ün hazırlanması



DMF (5 mL) içinde soğuk (-5 °C) bir C601-2 (200 mg, 0,42 mmol), C105-7 (0,17 g, 0,82 mmol), HOBt (69 mg, 0,51 mmol) ve HBTU (191 mg, 0,51 mmol) karışımına DIEA (0,5 mL) eklenmiştir. Reaksiyon 1 saat boyunca -5 °C'de tutulmuştur ve daha sonra EtOAc (10 mL) ve tuzlu su (10 mL) ile seyreltilmiştir. Tabakalar ayrılmış ve sulu tabaka EtOAc (2x10 mL) ile ekstrakte edilmiştir. Organik tabakalar kombine edilmiş ve Na₂SO₄ üzerinde kurutulmuştur. Katı filtrasyon vasıtasıyla uzaklaştırılmış ve uçucular

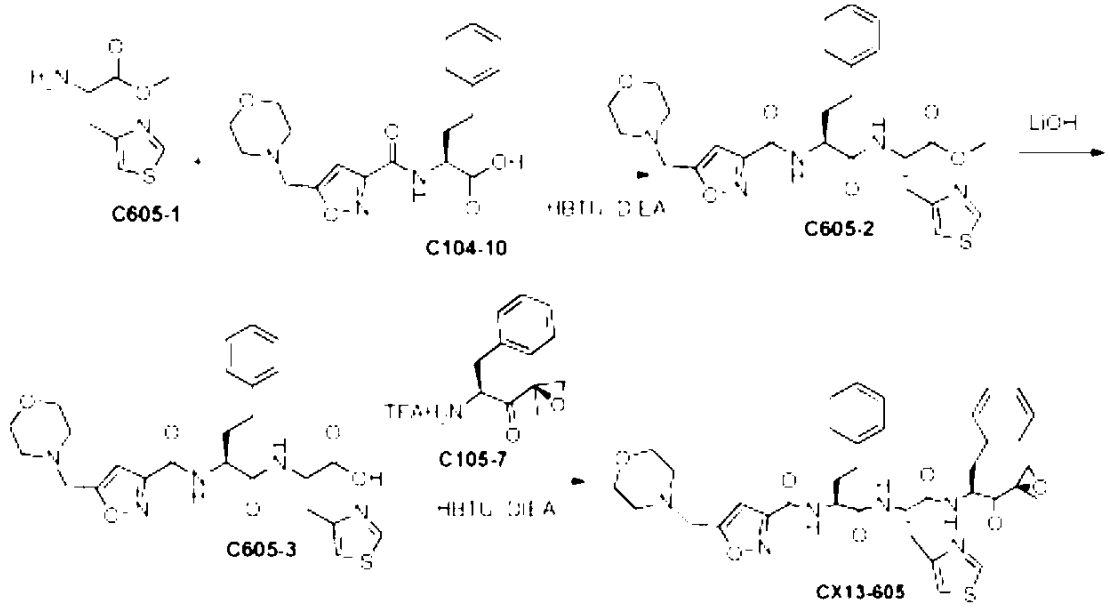
indirgenmiş basınç altında uzaklaştırılmıştır. Ham ürün bileşik CX13-603'ü (60 mg, %21,6) vermek için kromatografi vasıtasıyla saflaştırılmıştır.

$^1\text{H-NMR}$ (400MHz, CDCl_3) δ 7,35-7,23 (m, 7H), 7,22 - 7,13 (m, 4H), 7,02 (d, J = 7,6 Hz, 1H), 6,81 (b, 1H), 6,64 (d, J = 6,5 Hz, 1H), 4,81 (td, J = 7,6, 4,9 Hz, 1H), 4,58 (dd, J = 13,6, 7,9 Hz, 1H), 4,42 (td, J = 7,3, 3,9 Hz, 1H), 3,85 (b, 5H), 3,74 (dd, J = 9,1, 3,8 Hz, 1H), 3,35 (s, 3H), 3,32 (d, J = 5,1 Hz, 1H), 3,17 (dd, J = 14,0, 4,9 Hz, 1H), 2,95 (d, J = 4,9 Hz, 1H), 2,86 (dd, J = 14,0, 7,7 Hz, 1H), 2,71 (t, J = 7,8 Hz, 2H), 2,63(b, 4H), 2,23 (m, 1H), 2,07 (m, 1H), 1,54 (s, 3H). MS (ESI) m/z : 662,3 ($\text{M}+\text{H}$) $^+$.

ÖRNEK 12

Bileşik CX13-605'in sentezi

Şema 13: CX13-605'in hazırlanması



C605-2'nin sentezi

DMF (10 mL) içindeki bir C104-10 (240 mg, 0,64 mmol), C605-1 (143 mg, 0,77 mmol) HBTU (245 mg, 0,77 mmol) karışımına bir ekleme hunisi aracılığıyla yavaş bir şekilde DIEA (0,5 mL) eklenmiştir. Reaksiyon 16 saat boyunca oda sıcaklığında tutulmuştur ve

daha sonra EtOAc (10 mL) ve tuzlu su (10 mL) ile seyreltilmiştir. Tabakalar ayrılmış ve sulu tabaka EtOAc (2x10 mL) ile ekstrakte edilmiştir. Organik tabakalar kombine edilmiş ve Na₂SO₄ üzerinde kurutulmuştur.

- 5 Katı filtrasyon vasıtasıyla uzaklaştırılmış ve uçucular indirgenmiş basınç altında uzaklaştırılmış ve beyaz katı olarak C605-2'yi (310 g, %89 verim) vermek için kromatografi vasıtasıyla saflaştırılmıştır. MS (ESI) *m/z*: 542,0 (M+H)⁺.

C605-3'ün sentezi

10

THF içindeki bir C605-2(270 mg, 2,3 mmol) solüsyonuna LiOH (97,4 mg, 3,5 mmol) eklenmiştir. Solüsyon 2 saat boyunca oda sıcaklığında karıştırılmıştır. Karışım konsantre edilmiş ve pH = 5'e asidifiye edilmiş ve beyaz katı olarak C605-3'ü (150 mg, %61) vermek için kromatografi vasıtasıyla saflaştırılmıştır. LC-MS: *m/z* 528,1 (M+H)⁺.

15

CX13-605'in hazırlanması

- DMF (5 mL) içinde soğuk (-5 °C) bir C605-3 (150 mg, 0,28 mmol), C105-7 (87 mg, 0,28 mmol), HOBt (58 g, 0,42 mmol) ve HBTU (160 g, 0,42 mmol) DIEA (0,3 mL) eklenmiştir. Reaksiyon 1 saat boyunca -5 °C'de tutulmuştur ve EtOAc (10 mL) ve tuzlu su (10 mL) ile seyreltilmiştir. Tabakalar ayrılmış ve sulu tabaka EtOAc (2x10 mL) ile ekstrakte edilmiştir. Organik tabakalar kombine edilmiş ve Na₂SO₄ üzerinde kurutulmuştur. Katı filtrasyon vasıtasıyla uzaklaştırılmış ve uçucular indirgenmiş basınç altında uzaklaştırılmıştır. Ham ürün bileşik CX13-605'i (50 mg, %25.1) vermek için kromatografi vasıtasıyla saflaştırılmıştır.

- ¹H-NMR(400MHz, CDCl₃) δ 8,82 (s, 1 H), 7,15 - 7,41 (m, 10 H), 7,11 (d, J = 4,30 Hz, 1 H), 6,75 (s, 1 H), 4,67 - 4,78 (m, 2 H), 4,49 (d, J=3,49 Hz, 1 H), 3,91 (s, 2 H), 3,67 - 3,79 (m, 4 H), 3,21 - 3,29 (d, J=5,10 Hz, 2 H), 3,03 - 3,16 (m, 2 H), 2,94 (d, J=5,10 Hz, 1 H), 2,51 - 2,80 (m, 7 H). 1,91-2,09(m, 2H), 1,44(s, 3H). MS (ESI) *m/z*: 715,3 (M+H)⁺.

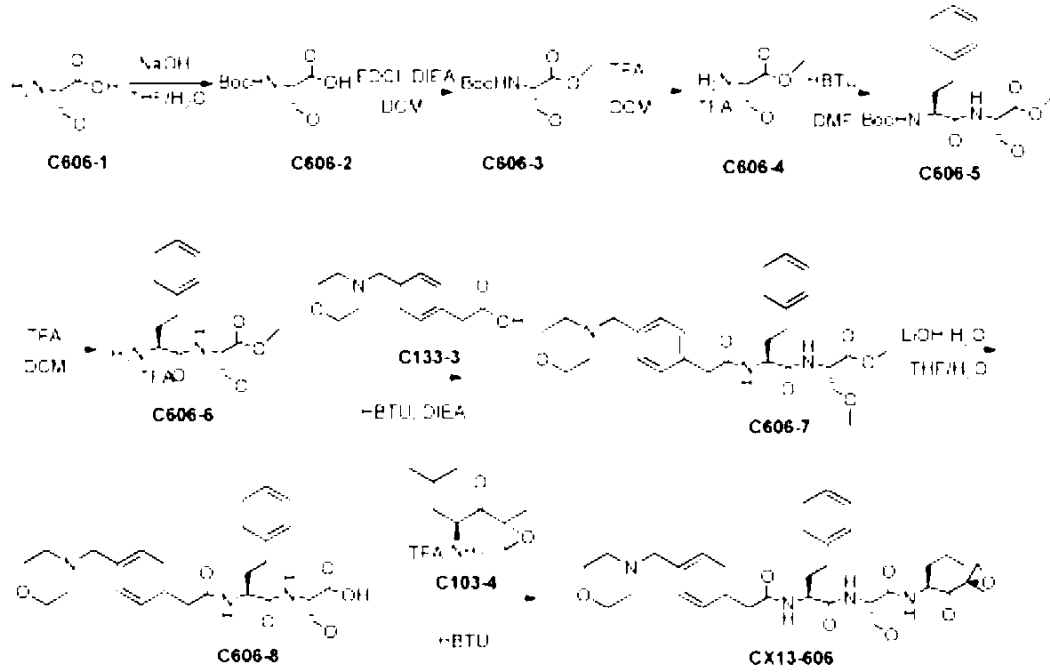
30

ÖRNEK 13

Bileşik CX13-606'nın sentezi

35

Şema 14: CX13-606'nın hazırlanması

5 C606-4'ün sentezi

C606-3'ün (800 mg, 3,4 mmol) DCM (8 mL) içindeki karışımına TFA (2 mL) 0 °C'de eklenmiştir. Reaksiyon karışımı 2 saat boyunca 0 °C'de tutulmuş ve uçucular beyaz bir katı olarak C606-4 (790 mg, %100 verim) bileşiğini vermek için indirgenmiş basınç altında uzaklaştırılmıştır. MS (ESI) m/z : 134,1 (M+H)⁺.

C606-5'in sentezi

Bileşik C606-4'ün (790 mg, 3,4 mmol) DMF (10 mL) içindeki karışımına (S)-2-(tert-butoksikarbonilamino)-4-fenilbutanoik asit (950 mg, 3,4 mmol), HBTU (1950 mg, 5,15 mmol), HOBt (695 mg, 5,15 mmol) ve DIEA (2 mL) oda sıcaklığında eklenmiştir. Reaksiyon 16 saat boyunca oda sıcaklığında tutulmuştur ve daha sonra EtOAc (40 mL) ve tuzlu su (10 mL) ile seyreltilmiştir. Tabakalar ayrılmış ve sulu tabaka EtOAc ile ekstrakte edilmiştir. Organik tabakalar kombine edilmiş ve Na₂SO₄ üzerinde kurutulmuştur. Katı filtrasyon vasıtasıyla uzaklaştırılmış ve uçucular indirgenmiş basınç altında uzaklaştırılmış ve beyaz bir katı olarak C606-5'i (1,2 g, %89) vermek için kromatografi vasıtasıyla saflaştırılmıştır. MS (ESI) m/z : 395,2 (M+H)⁺.

C606-6'nin sentezi

Bileşik C606-5'in (600 mg, 1,5 mmol) DCM (6 mL) içindeki karışımına TFA (2 mL) 0 °C'de eklenmiştir. Reaksiyon karışımı 2 saat boyunca 0 °C'de tutulmuş ve uçucular beyaz bir katı olarak 606-6'yı (595 mg, %100 verim) vermek için indirgenmiş basınç altında uzaklaştırılmıştır. MS (ESI) m/z : 295,2 (M+H)⁺.

C606-7'nin sentezi

10

Bileşik C606-6'nın (595 mg, 1,5 mmol) DMF (5 mL) içindeki karışımına C133-3 (360 mg, 1,5 mmol), HBTU (870 mg, 2,3 mmol), HOBt (311 mg, 2,3 mmol) ve DIEA (1 mL) oda sıcaklığında eklenmiştir. Reaksiyon 16 saat boyunca oda sıcaklığında tutulmuştur ve daha sonra EtOAc (30 mL) ve tuzlu su (10 mL) ile seyreltilmiştir. Tabakalar ayrılmış ve sulu tabaka EtOAc (2x20 mL) ile ekstrakte edilmiştir. Organik tabakalar kombine edilmiş ve Na₂SO₄ üzerinde kurutulmuştur. Katı filtrasyon vasıtasıyla uzaklaştırılmış ve uçucular indirgenmiş basınç altında uzaklaştırılmış ve beyaz bir katı olarak 608-7'yi (490 mg, %63) vermek için kromatografi vasıtasıyla saflaştırılmıştır. MS (ESI) m/z : 512,3 (M+H)⁺.

20

C606-8'in sentezi

THF (6 mL) ve su (2 mL) içindeki bir bileşik C606-7 (490 mg, 0,96 mmol) solüsyonuna LiOH.H₂O (101 mg, 2,4 mmol) oda sıcaklığında eklenmiştir. Karışım 16 saat boyunca oda sıcaklığında karıştırılmıştır. Daha sonra karışım pH=5'e kadar asidifiye edilmiş, EtOAc (100 mL) ile ekstrakte edilmiş, Na₂SO₄ üzerinde kurutulmuştur. Katı filtrasyon vasıtasıyla uzaklaştırılmış ve uçucular beyaz bir katı olarak 606-8'i (440 mg, %92 verim) vermek için indirgenmiş basınç altında uzaklaştırılmıştır. MS (ESI) m/z : 498,3 (M+H)⁺.

30

CX13-606'nin sentezi

Bileşik C606-8'in (200 mg, 0,4 mmol) DMF (3 mL) içindeki karışımına C103-4 (107 mg, 0,4 mmol), HBTU (227 mg, 0,6 mmol), HOBt (82 mg, 0,6 mmol) ve DIEA (0,2 mL) oda sıcaklığında eklenmiştir. Reaksiyon 16 saat boyunca oda sıcaklığında tutulmuştur ve

35

daha sonra EtOAc (30 mL) ve tuzlu su (10 mL) ile seyreltilmiştir. Tabakalar ayrılmış ve sulu tabaka EtOAc (2x20 mL) ile ekstrakte edilmiştir. Organik tabakalar kombine edilmiş ve Na₂SO₄ üzerinde kurutulmuştur. Katı filtrasyon vasıtasıyla uzaklaştırılmış ve uçucular indirgenmiş basınç altında uzaklaştırılmış ve beyaz bir katı olarak CX13-606'yı (100 mg, %38) vermek için kromatografi vasıtasıyla saflaştırılmıştır.

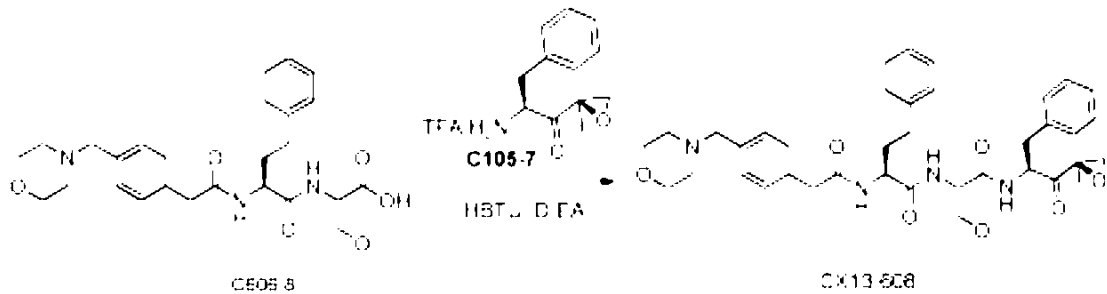
¹H-NMR (400 MHz, MeOD) δ 7,33 (s, 4H), 7,24 (t, J = 7,3 Hz, 2H), 7,15 (dd, J = 20,9, 7,1 Hz, 3H), 4,63 - 4,48 (m, 2H), 4,37 (dd, J = 8,3, 4,9 Hz, 1H), 3,65 (dd, J = 8,8, 4,1 Hz, 4H), 3,60 (dd, J = 6,1, 3,7 Hz, 3H), 3,54 (d, J = 6,0 Hz, 2H), 3,24 (d, J = 5,1 Hz, 1H), 2,93 (d, J = 5,1 Hz, 1H), 2,69 - 2,52 (m, 2H), 2,46 (s, 4H), 2,18 - 2,04 (m, 1H), 2,01 - 1,85 (m, 1H), 1,76 - 1,63 (m, 1H), 1,54 - 1,42 (m, 4H), 1,35 (ddd, J = 13,9, 9,0, 3,7 Hz, 1H), 0,91 (dd, J = 9,7, 6,6 Hz, 6H). MS (ESI) *m/z*: 652,0 (M+H)⁺.

ÖRNEK 14

15

Bileşik CX13-608'in sentezi

Şema 15: CX13-608'in hazırlanması



20

DMF (3 mL) içindeki bileşik C606-8'e (200 mg, 0,4 mmol) C105-7 (107 mg, 0,4 mmol), HBTU (227 mg, 0,6 mmol), HOBt (82 mg, 0,6 mmol) ve DIEA (0,2 mL) oda sıcaklığında eklenmiştir. Reaksiyon 16 saat boyunca oda sıcaklığında tutulmuştur. Daha sonra EtOAc (30 mL) ve tuzlu su (10 mL) ile seyreltilmiştir. Tabakalar ayrılmış ve sulu tabaka EtOAc (2x20 mL) ile ekstrakte edilmiştir. Organik tabakalar kombine edilmiş ve Na₂SO₄ üzerinde kurutulmuştur. Katı filtrasyon vasıtasıyla uzaklaştırılmış ve uçucular indirgenmiş basınç altında uzaklaştırılmış ve beyaz bir katı olarak CX13-608'i (100 mg, %36) vermek için kromatografi vasıtasıyla saflaştırılmıştır.

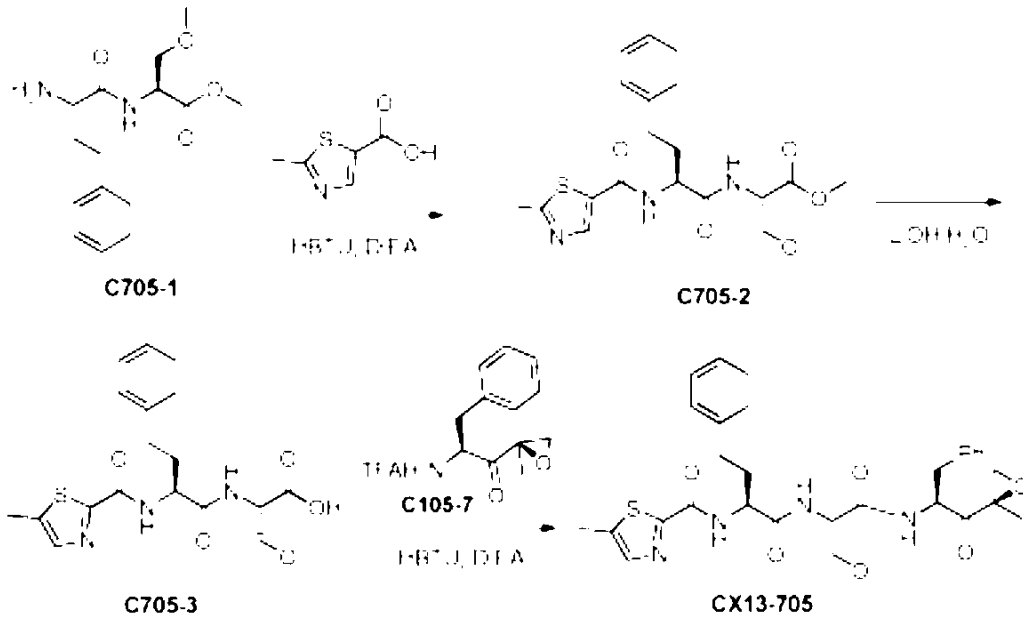
¹H-NMR(400MHz, MeOD) δ 7,32 (s, 4H), 7,27 - 7,12 (m, 8H), 7,11 - 7,08 (m, 2H), 4,79 (dd, J = 8,6, 4,6 Hz, 1H), 4,47 (t, J = 5,3 Hz, 1H), 4,33 (dd, J = 9,2, 5,0 Hz, 1H), 3,64 (t, J = 4,8 Hz, 4H), 3,51-3,59 (m, 4H), 3,50 (s, 2H), 3,30 (s, 3H), 3,25 (d, J = 5,0 Hz, 1H), 3,07 (dd, J = 13,9, 4,6 Hz, 1H), 2,93 (d, J = 5,0 Hz, 1H), 2,76 (dd, J = 13,9, 8,7 Hz, 1H), 2,64-2,49 (m, 2H), 2,43 (t, J = 4,8 Hz, 4H), 2,05 (m, 1H), 1,91 (m, 1H), 1,43 (s, 3H). MS (ESI) *m/z*: 685,3 (M+H)⁺.

ÖRNEK 15

10

Bileşik CX13-705'in sentezi

Şema 16: CX13-705'in hazırlanması



15

C705-2'nin sentezi

C705-1'in (239 mg, 0,81 mmol) DMF (5 mL) içindeki karışımına 5-metiltiazol-2-karboksilik asit (116 mg, 0,81 mmol), HBTU (370 mg, 0,97mmol), HOBT (131 mg, 0,97mmol) ve DIEA (0,73 mL) oda sıcaklığında eklenmiştir. Reaksiyon 12 saat boyunca oda sıcaklığında tutulmuştur. Daha sonra EtOAc (20 mL) ve tuzlu su (10 mL) ile seyreltilmiştir. Tabakalar ayrılmış ve sulu tabaka EtOAc (2x150 mL) ile ekstrakte

20

edilmiştir. Organik tabakalar kombine edilmiş ve Na₂SO₄ üzerinde kurutulmuştur. Katı filtrasyon vasıtasıyla uzaklaştırılmış ve uçucular indirgenmiş basınç altında uzaklaştırılmış ve beyaz bir katı olarak 705-2'yi (300 mg, %88) vermek için kromatografi vasıtasıyla saflaştırılmıştır. LC-MS: *m/z* 420.1 (M+H)⁺.

5

C705-3'ün sentezi

THF (6 mL) ve su (2 mL) içindeki bir C705-2 (340 mg, 0,81 mmol) solüsyonuna LiOH.H₂O (68mg, 1,62 mmol) RT'de eklenmiştir. Karışım 2 saat boyunca oda sıcaklığında karıştırıldı. Daha sonra karışım pH=5'e kadar asidifiye edilmiş, EA (20 mL) ile ekstrakte edilmiş, Na₂SO₄ üzerinde kurutulmuştur. Katı filtrasyon vasıtasıyla uzaklaştırılmış ve uçucular beyaz bir katı olarak 705-3'ü (265 mg, %78 verim) vermek için indirgenmiş basınç altında uzaklaştırılmıştır. MS (ESI) *m/z*: 406,1 (M+H)⁺.

15 CX13-705'in hazırlanması

C705-3'ün (265 mg, 0,65 mmol) DMF (3 mL) içindeki karışımına C105-7 (130 mg, 0,72 mmol), HBTU (300 mg, 0,79 mmol), HOBt (106 mg, 0,79 mmol) ve DIEA (0,6 mL) oda sıcaklığında eklenmiştir. Reaksiyon 4 saat boyunca oda sıcaklığında tutulmuştur. Daha sonra EtOAc (20 mL) ve tuzlu su (10 mL) ile seyreltilmiştir. Tabakalar ayrılmış ve sulu tabaka EtOAc (2x20 mL) ile ekstrakte edilmiştir. Organik tabakalar kombine edilmiş ve Na₂SO₄ üzerinde kurutulmuştur. Katı filtrasyon vasıtasıyla uzaklaştırılmış ve uçucular indirgenmiş basınç altında uzaklaştırılmış ve beyaz bir katı olarak CX13-705'i (90mg, %23) vermek için kromatografi vasıtasıyla saflaştırılmıştır.

25

¹H-NMR(400MHz, MeOD) δ 8,22 (s, 1H), 7,31-7,13 (m, 10H), 4,80 (dd, J = 8,8, 4,8 Hz, 1H), 4,57- 4,48 (m, 2H), 3,66-3,52 (m, 2H), 3,25 (d, J=4,84 Hz, 1 H), 3,10 (dd, J=13,97, 4,57 Hz, 1 H), 2,94 (d, J=5,10 Hz, 1 H), 2,66 - 2,82 (m, 6 H), 2,02 -2,16 (m, 2 H); MS (ESI) *m/z*: 593,0 (M+H)⁺.

30

ÖRNEK 16

Bileşiklerin proteazom-aktivitesi inhibitör özelliği

Enzimatik analizlerde 20S proteazomun kimotripsin benzeri (CT-L) peptidilglutamil peptit hidrolize edici aktivitesinin (PGPH) ve tripsin benzeri (T-L) aktivitelerinin inhibisyonu sırasıyla 25 mM HEPES (pH 7.5), 0,5 mM EDTA, %0,002 sodyum dodesil sülfat (SDS) ve %0,05 NP-40 içinde 2, 4 ve 8 mmol/L'de insanlaştırılmış insan 20S proteazomu olan substratlar olarak sırasıyla sükkinil-Leu-Leu-Val-Tyr-AMC (10 µmol/L), Z-Leu-Leu-Glu-AMC (10 µmol/L) ve Boc-Leu-Arg-Arg-AMC (50 µmol/L) kullanılarak belirlenmiştir. Burada açıklanan 20S proteazom inhibitörlerinin stok solüsyonları dimetil sülfoksitte (DMSO) hazırlanmıştır ve analiz karışımındaki nihai DMSO konsantrasyonu %1 olmuştur. Reaksiyon bir saat boyunca oda sıcaklığında gerçekleştirilmiştir. Proteazom aktivitesi substratlardan bir plaka bazlı spektrofloreometre ile klevajdan sonra florofor 7-Amino-4-metilkumarin (AMC) tespitine bağlı olarak ölçülmüştür. IC₅₀ 20S proteazomun katalitik aktivitesinin %50 inhibe edildiği bir inhibitörün konsantrasyonunu belirten bir nicel ölçüdür. Belirli uygulamalarda bileşiklerin proteazom inhibitör potansiyeli burada Tablo 1'de açıklanmaktadır.

15

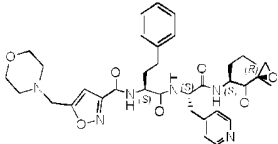
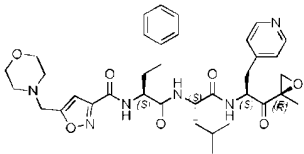
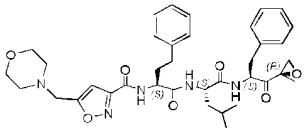
ÖRNEK 17

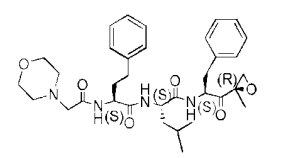
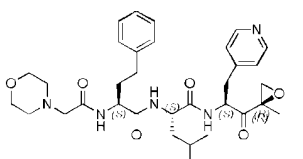
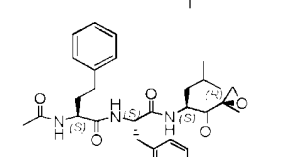
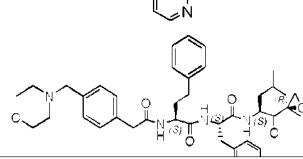
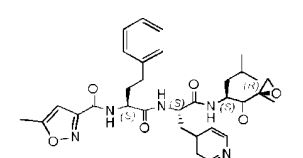
Bileşiklerin suda çözünürlüğü

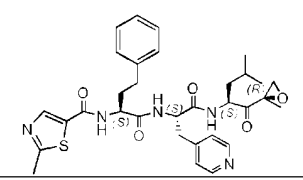
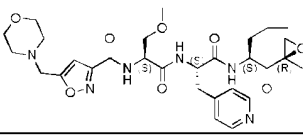
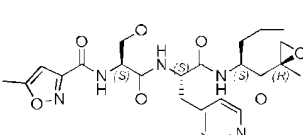
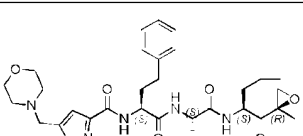
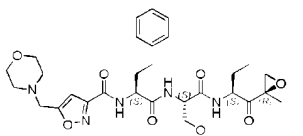
20 Bileşiklerin çözünürlüğünü belirlemek için bir bileşiğin 1-5 mg'ı bir şişede tartılmıştır. 1 ml sulu tampon (pH 4.0'da 50 mM sitrat) eklenmiştir. Şişe 24 saat boyunca 25 °C'de çalkalanmıştır ve daha sonra 10000 rpm'de 10 dakika boyunca santrifüjlenmiştir. Süpernatant bir 0,45 µm membran filtresi aracılığıyla filtrelenmiştir ve bileşiğin konsantrasyonuna yönelik analiz edilmiştir. Belirli uygulamalarda bileşiklerin suda çözünürlüğü burada Tablo 1'de açıklanmaktadır.

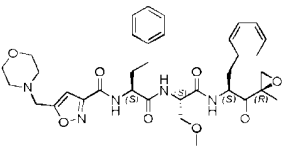
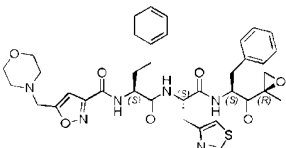
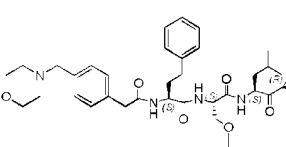
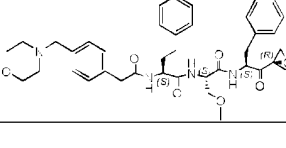
25

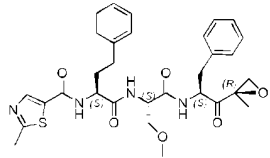
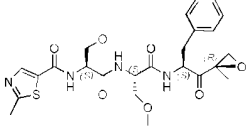
Tablo 1. Proteazom aktivitesi inhibitörü potansiyeli (IC₅₀) ve suda çözünürlük

Bileşik		Proteazom inhibisyonu IC ₅₀ (nM)						pH 4.0'da (50 mM sitrat) suda çözünürlük (mg/mL)
Yapı	Kimlik numarası	20S İmmünoproteazom			Temel yapı 20S proteazom			
		CT-L	PGPH	T-L	CT-L	PGPH	T-L	
	CX13-103	0,92	>20000	14405	1,09	>20000	15334	2,88
	CX13-104	33,6	>20000	>20000	33,3	>20000	>20000	1,44
	CX13-105	1,34	>20000	>20000	0,97	>20000	>20000	0,021

	CX13-107	5,1	>20000	6225	4,74	>20000	9947	0,083
	CX13-109	>500	>20000	>20000	>500	>20000	>20000	3,49
	CX13-130	248	>20000	1648	62,4	>20000	3601	1,36
	CX13-133	4,65	>20000	455	3,58	>20000	443	6,36
	CX13-135	28,1	>20000	6450	6,56	>20000	13384	1,16

	CX13-137	60,4	>20000	5859	13,5	>20000	11857	0,91
	CX13-500	170	>20000	>20000	121	>20000	>20000	>2,35
	CX13-501	392	>20000	>20000	113	>20000	>20000	4,48
	CX13-600	7,41	>20000	19921	4,28	>20000	>20000	0,02
	CX13-601	31,7	>20000	>20000	16	>20000	>20000	0,48

	CX13-603	11,1	>20000	>20000	14,2	>20000	>20000	0,52
	CX13-605	6,81	>20000	>20000	12,2	>20000	>20000	0,12
	CX13-606	59,3	>20000	186	6,1	>20000	297	3,73
	CX13-608	4,26	>20000	542	3,73	>20000	490	1,43

	CX13-705	15,3	>20000	>20000	9,75	>20000	15778	0,02
	CX13-709	256	>20000	>20000	124	>20000	>20000	0,57

ÖRNEK 18

Burada açıklanan bir bileşiğin tolere edilen bir dozda uygulandığı farelerden toplanan kan örneklerindeki proteazom aktivitesinin inhibisyonu.

5

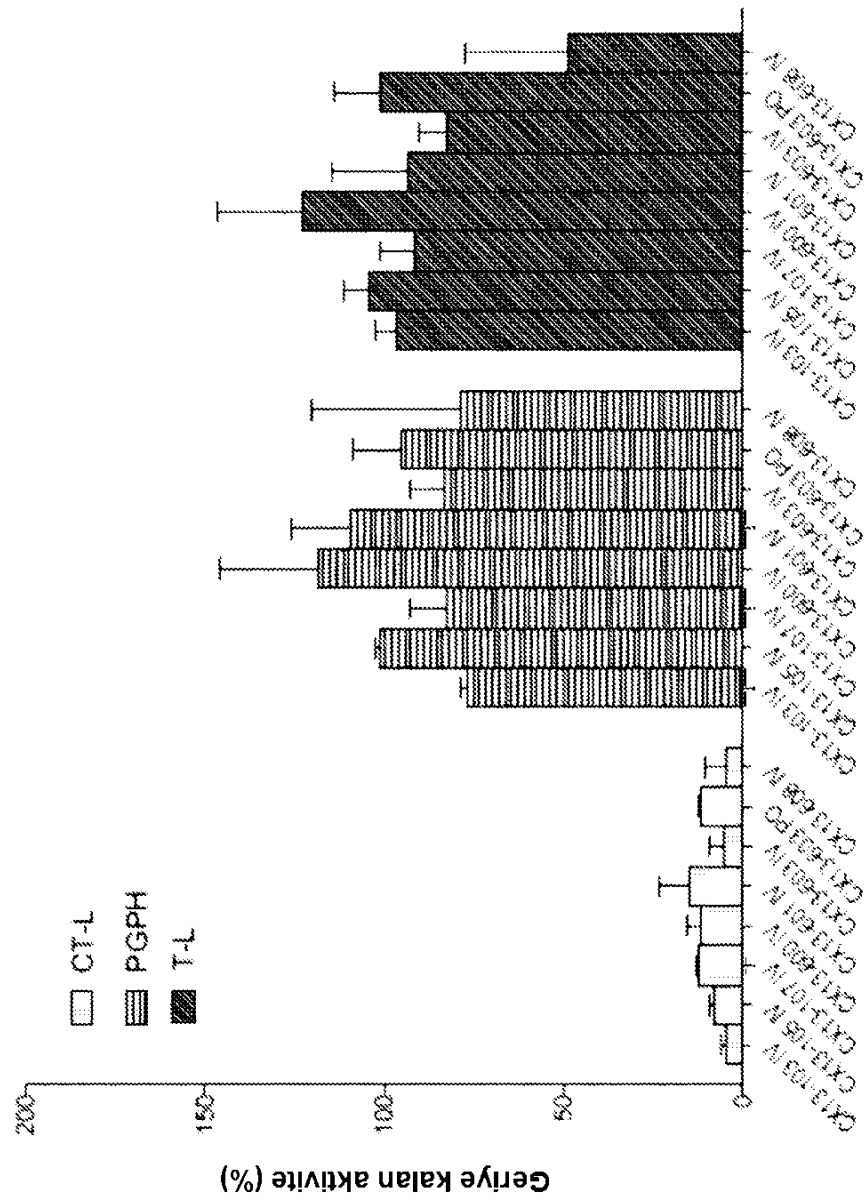
Balb/c farelere ya bir araç (pH 3.5'te 10 mM sodyum sitrat içinde %20 (w/v) hidroksipropil-p-siklodekstrin) veya burada açıklanan bir bileşik 10 mg/kg'de intravenöz enjeksiyon aracılığıyla veya 30 mg/kg'de oral besleme aracılığıyla tolere edilen bir dozda uygulanmıştır. Dozlamadan bir saat sonra tam kan örnekleri kardiyak kesik vasıtasıyla sodyum heparin içeren tüplere toplanmış ve 5 dakika boyunca 4 °C'de 150 xg santrifüjlenmiştir. Meydana gelen pelet soğuk fosfat tamponlanmış salin (PBS) kullanılarak üç kere yıkanmıştır. Her seferinde pelet 1 ml soğuk PBS'de yeniden süspansiyon haline getirilmiş ve 10 dakika boyunca 4 °C'de 6000 xg'de santrifüjlenmiştir. Son yıkamadan sonra peletlenen hücreler 1 saat boyunca 100 µL lizis tamponunun (5 mM EDTA içeren PBS, pH 7.4) eklenmesi vasıtasıyla parçalanmış ve daha sonra 10 dakika boyunca 4 °C'de 6000 xg'de santrifüjlenmiştir. Süpematant yeni bir tüpe transfer edilmiş ve hücre peleti atılmıştır. Kan lizatının konsantrasyonu BCA yöntemi vasıtasıyla ölçülmüştür. 10 µg protein CT-L ölçümü için kullanılmıştır ve 30 µg protein PGPH ve T-L aktivitelerinin ölçümü için kullanılmıştır. Sükkinil-Leu-Leu-Val-Tyr-AMC (25 µmol/L), Z -Leu-Leu-Glu-AMC (10 µmol/L) veya Boc-Leu-Arg-Arg-AMC (10 µmol/L) daha sonra sırasıyla CT-L, PGPH veya T-L için substrat olarak eklenmiştir. Karışım 60 dakika boyunca 37 °C'de inkübe edilmiştir. Serbest AMC floresan 20S proteazomun CT-L, PGPH veya T-L aktivitelerini ölçmek için bir florometrede ayarlanmış bir 360/460 nm filtre seti kullanılarak ölçülmüştür. Proteazom aktivitesinin yüzde inhibisyonu burada açıklanan bir bileşik uygulanan farelerden toplanan örneklerin aracın uygulandığı farelerden toplanan örneklerle karşılaştırılması vasıtasıyla hesaplanmıştır. Proteazom aktivitelerinin yüzde inhibisyonu burada ŞEKİL 1'de açıklanmaktadır. ŞEKİL 1'de gösterildiği üzere test edilen bileşikler kan örneklerindeki CT-L aktivitesini inhibe etmiştir. Özellikle oral besleme aracılığıyla uygulanan CX 13-603 kan örneklerindeki CT-L aktivitesini inhibe etmiştir. CX13-608 eş zamanlı olarak kan örneklerindeki proteazomun hem CT-L hem de T-L aktivitesini inhibe etmiştir.

35

ÖRNEK 19

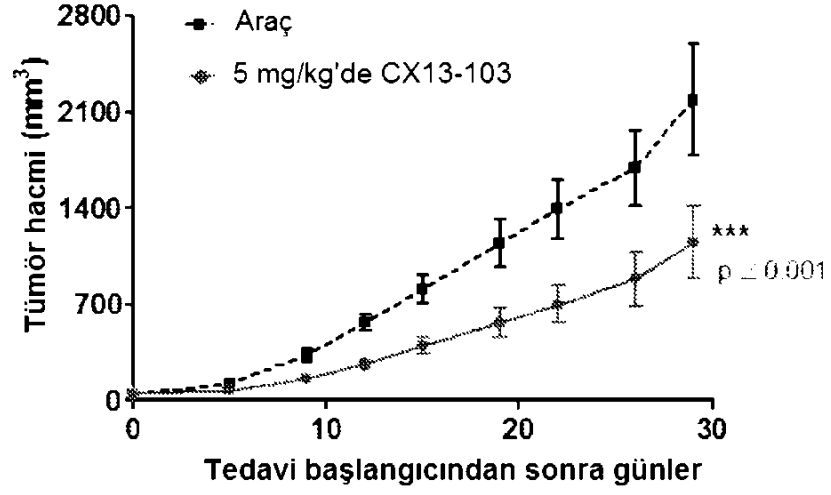
İnsan tümör ksenograftlarını taşıyan farelerde burada açıklanan bileşiklerin anti-tümör etkisi.

- Dişi fareler (Charles River Laboratuvarlarından satın alınan NIH III HO çıplak fareler (yaklaşık 20 g, 5-6 haftalık) deney süresi boyunca kafeslerde korunmuştur. 100 µL fosfat tamponu salin içindeki ATCC® (HTB-38™) 3×10^6 insan kolon kanseri hücresi (HT-29) veya ATCC® (CRL38™) 1×10^7 insan B hücre lenfoması hücreleri (RL) farelerin sağ böğrüne subkütanöz olarak enjekte edilmiştir. Ortalama tümör büyüklüğü HT29 için yaklaşık 20-30 mm³'e veya RL için 60-90 mm³'e eriştiği zaman tümörleri olan hayvanlar bütün grupların eşit bir tümör büyüklüğü dağılımına sahip olacağı şekilde farklı gruplara (her grupta 7-10 fare) rastgele ayrılmıştır. Hayvanlara bir araç (%10 (ağırlıkça/hacimce) hidroksipropil-p-siklodekstrin, 10 mM sitrat, pH 4.0) veya araçta hazırlanan CX13-103 içeren bir solüsyon intravenöz enjeksiyon aracılığıyla uygulanmıştır. Hayvanlara 4-5 hafta boyunca 1, 2 ve 5. günlerde haftada üç kere uygulanmıştır. Tümör büyüklükleri her hafta kaliper 2 veya 3 vasıtasıyla ölçülmüştür. Tümör hacmi şu formül vasıtasıyla hesaplanmıştır: $\text{uzunluk} \times \text{genişlik}^2 / 2$. İstatistiksel analiz 2-yönlü ANOVA kullanılarak elde edilmiştir. ŞEKİL 2A ve ŞEKİL 2B'de gösterildiği üzere CX13-103 uygulaması tümör büyümesini önemli ölçüde baskılamıştır.



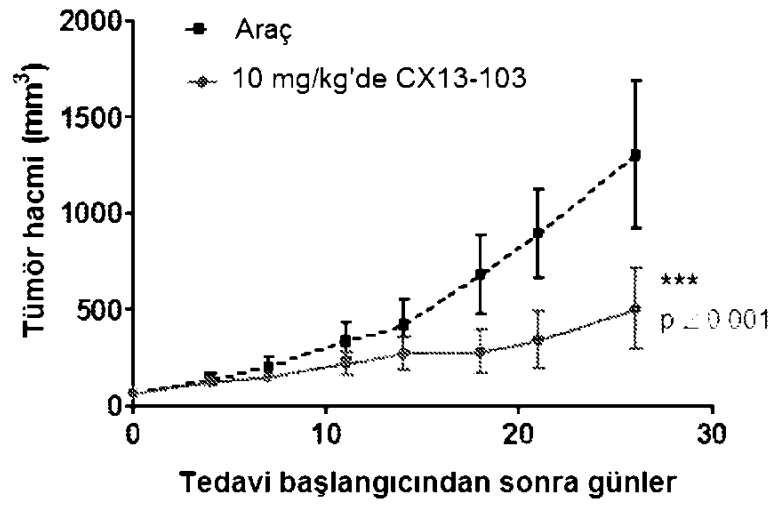
ŞEKİL 1

HT-29 insan kolorektal
adenokarsinom ksenograft modeli



ŞEKİL 2A

RL insan lenfoma ksenograft modeli



ŞEKİL 2B