

ÖZET

KARACİĞER KANSERİNİN TEDAVİSİNDE KULLANILMAYA YÖNELİK ORGANİK BİLEŞİK

5

Hepatosellüler karsinom ya da karaciğer kanserinin tedavisinde kullanılmak üzere farmasötik bileşimlerin üretilmesi için 4-amino-5-floro-3-[6-(4-metilpiperazin-1-il)-1H-benzimidazol-2-il]-1H-kinolin-2-on veya farmasötik olarak kabul edilebilir tuzun veya tautomerinin veya bir hidrat ya da bir solvatının kullanılmasıdır.

10

İSTEMLER

1. Hepatosellüler karsinom tedavisinde kullanılmak üzere farmasötik bileşimlerin üretilmesi için 4-amino-5-floro-3-[6-(4-metilpiperazin-1-il)-1H-benzimidazol-2-il]-1H-kinolin-2-on veya bunun bir tautomerinin veya farmasötik olarak kabul edilebilir tuzunun veya bir hidratı veya bir solvatının kullanımı olup, özelliği; 4-amino-5-floro-3-[6-(4-metilpiperazin-1-il)-1H-benzimidazol-2-il]-1H-kinolin-2-on veya bunun bir tautomeri veya farmasötik olarak kabul edilebilir bir tuzu veya bir hidratı veya bir solvatının tek etkin bileşen olarak kullanılmasıdır.

2. Hepatosellüler karsinom tedavisinde kullanılmak üzere 4-amino-5-floro-3-[6-(4-metilpiperazin-1-il)-1H-benzimidazol-2-il]-1H-kinolin-2-on veya bunun bir tautomeri veya farmasötik olarak kabul edilebilir tuzu veya bir hidratı veya bir solvatı olup, özelliği; 4-amino-5-floro-3-[6-(4-metilpiperazin-1-il)-1H-benzimidazol-2-il]-1H-kinolin-2-on veya bunun bir tautomeri veya farmasötik olarak kabul edilebilir bir tuzu veya bir hidratı veya bir solvatının tek etkin bileşen olarak kullanılmasıdır.

3. 4-amino-5-floro-3-[6-(4-metilpiperazin-1-il)-1H-benzimidazol-2-il]-1H-kinolin-2-on veya bunun bir tautomerini veya farmasötik olarak kabul edilebilir tuzunu veya bir hidratı veya bir solvatını içeren hepatosellüler karsinom tedavisinde kullanılmak üzere bir farmasötik preparat olup, özelliği; 4-amino-5-floro-3-[6-(4-metilpiperazin-1-il)-1H-benzimidazol-2-il]-1H-kinolin-2-on veya bunun bir tautomeri veya farmasötik olarak kabul edilebilir bir tuzu veya bir hidratı veya bir solvatının tek etkin bileşen olarak kullanılmasıdır.

4. İstem 1'e göre kullanım veya İstem 2'ye göre 4-amino-5-floro-3-[6-(4-metilpiperazin-1-il)-1H-benzimidazol-2-il]-1H-kinolin-2-on kullanımı olup, özelliği; haftalık 200 ila 3000 mg 4-amino-

5-floro-3-[6-(4-metilpiperazin-1-il)-1H-benzimidazol-2-il]-1H-kinolin-2-on veya bunun bir tautomeri veya farmasötik olarak kabul edilebilir bir tuzu veya bir hidratı veya bir solvatının hastaya uygulanmasıdır.

5

5. Kullanım veya istem 4'e göre 4-amino-5-floro-3-[6-(4-metilpiperazin-1-il)-1H-benzimidazol-2-il]-1H-kinolin-2-on kullanımı olup, özelliği; haftalık dozun, 5 gün boyunca 500 mg'lık günlük bir dozda uygulanması ve iki gün boyunca uygulanmamasından oluşmasıdır.

6. İstem 1, 4 veya 5'e göre kullanım veya İstem 2, 4 veya 5'e göre 4-amino-5-floro-3-[6-(4-metilpiperazin-1-il)-1H-benzimidazol-2-il]-1H-kinolin-2-on kullanımı olup, özelliği; HCC'nin Barcelona HCC Aşama C, hipertansiyonu olan ve/veya el-ayak sendromu veya el-ayak deri reaksiyonu geliştiren hastaların veya cerrahi olarak çıkartılması mümkün olmayan HCC sahibi, cerrahi tedaviye uygun olmayan, lokorejyonel cerrahi için uygun olmayan veya cerrahi sonrası hastalığın progresyonu görülen hasta grubundan seçilmesidir.

7. Kullanım veya istem 6'ya göre 4-amino-5-floro-3-[6-(4-metilpiperazin-1-il)-1H-benzimidazol-2-il]-1H-kinolin-2-on kullanımı olup, özelliği; el-ayak sendromu veya el ayak deri reaksiyonunun, hastanın başka bir tedavisi altında meydana gelmesidir.

8. Kullanım veya istem 7'e göre 4-amino-5-floro-3-[6-(4-metilpiperazin-1-il)-1H-benzimidazol-2-il]-1H-kinolin-2-on kullanımı olup, özelliği; diğer tedavinin sorafenib olmasıdır.

9. Kullanım veya istem 4 veya 5'e göre 4-amino-5-floro-3-[6-(4-metilpiperazin-1-il)-1H-benzimidazol-2-il]-1H-kinolin-2-on kullanımı olup, özelliği; hastanın, başka bir HCC tedavisine intoleransının olması veya sorafenib'e intoleransının olması

veya başka bir HCC tedavisine veya sorafenib'e cevap vermemesi veya başka bir HCC tedavisine veya sorafenib'e karşı dirençli olmasıdır.

- 5 **10.** Kullanım veya istem 6'ya göre 4-amino-5-floro-3-[6-(4-metilpiperazin-1-il)-1H-benzimidazol-2-il]-1H-kinolin-2-on kullanımı olup, özelliği; hastaların ortalama toplam sağkalımının 11 aya eşit veya daha fazla olmasıdır.
- 10 **11.** Kullanım veya istem 10'a göre 4-amino-5-floro-3-[6-(4-metilpiperazin-1-il)-1H-benzimidazol-2-il]-1H-kinolin-2-on kullanımı olup, özelliği; ortalama toplam sağkalımın 12 aydan daha fazla olmasıdır.
- 15 **12.** Kullanım veya istem 11'e göre 4-amino-5-floro-3-[6-(4-metilpiperazin-1-il)-1H-benzimidazol-2-il]-1H-kinolin-2-on kullanımı olup, özelliği; ortalama toplam sağkalımın 13 aydan daha fazla olmasıdır.
- 20 **13.** Kullanım veya istem 7, 8 veya 9'a göre 4-amino-5-floro-3-[6-(4-metilpiperazin-1-il)-1H-benzimidazol-2-il]-1H-kinolin-2-on kullanımı olup, özelliği; hastaların ortalama toplam sağkalımının 6 aya eşit veya daha fazla olmasıdır.
- 25 **14.** Kullanım veya istem 13'e göre 4-amino-5-floro-3-[6-(4-metilpiperazin-1-il)-1H-benzimidazol-2-il]-1H-kinolin-2-on kullanımı olup, özelliği; hastaların ortalama toplam sağkalımının 7 aya eşit veya daha fazla olmasıdır.
- 30 **15.** İstem 1 ve 4 ila 14'ten herhangi birine göre kullanım veya İstem 2 ve 4 ila 14'ten herhangi birine göre 4-amino-5-floro-3-[6-(4-metilpiperazin-1-il)-1H-benzimidazol-2-il]-1H-kinolin-2-on kullanımı ve İstem 3'e göre farmasötik bileşim olup, özelliği; 4-amino-5-floro-3-[6-(4-metilpiperazin-1-il)-1H-benzimidazol-
- 35 2-il]-1H-kinolin-2-onin etkin bileşen olarak laktat tuz formunda

olmasıdır.

TARİFNAME

KARACİĞER KANSERİNİN TEDAVİSİNDE KULLANILMAYA YÖNELİK ORGANİK BİLEŞİK

5

Buluş, 4-amino-5-floro-3-[6-(4-metilpiperazin-1-il)-1H-benzimidazol-2-il]-1H-kinolin-2-on veya bir tautomer ya da hepatosellüler karsinoma (HCC) tedavisinde kullanılmak üzere farmasötik bileşimlerin üretilmesi için farmasötik olarak kabul edilebilir bir tuzu veya bir hidratı veya bir solvatının kullanımına ilişkindir.

10

Hepatosellüler karsinom (HCC) veya karaciğer kanseri tedavisi önemli bir sorundur.

15

HCC gelişimi ve ilerlemesi anjiyogeneze oldukça bağlıdır. VEGF (vasküler endotelyal büyüme faktörü), fibroblast büyüme faktörü (FGF) ve trombosit kaynaklı büyüme faktörü (PDGF) ve reseptörleri HCC neovaskularizasyonu ile ilişkilidir. FGFR3'ün (fibroblast büyüme faktörü reseptörü 3) overekspresyonu (bir genin değerine göre daha çok okunması durumu) HCC'de tarif edilmiştir.

20

Günümüzde ileri derece HCC hastaları için sınırlı tedavi seçenekleri bulunmaktadır. Bugüne kadar HCC için onaylanmış tek bir tedavi yani sorafenib vardır. Bu nedenle hastalar ve doktorlar, özellikle cerrahi olarak çıkartılması mümkün olmayan HCC sahibi, cerrahi tedaviye uygun olmayan, lokorejyonel cerrahi için uygun olmayan veya cerrahi sonrası hastalığın progresyonu görülen hastalar için alternatif tedavilerden açıkça yoksundurlar. Söz konusu hastalar, artık alternatif tedaviye sahip olmadıkları bir durum içerisinde. Sorafenibin yararlarına rağmen, hastalar için ortalama toplam sağkalım bir yılını aşmamaktadır. Cerrahi olarak çıkartılmayan HCC'si olan hastalarda 1. basamak sorafenib tedavisi ile ortalama sağkalım 10,7 ay iken (Llovet ve ark., N Engl J Med; 2008, 359:378-390) Asya-Pasifik bölgesindeki HCC hastalarında, 6.5 aylık ortalama sağkalım ile daha kısadır (Cheng ve ark, 2009, Lancet Oncol 10:

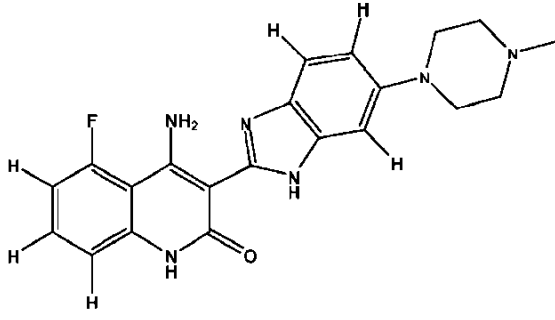
35

25-34). Sorafenib tedavisi gören ileri derecede HCC hastaları için onaylanmış etkili bir tedavi yoktur. Yayınlanmış verilere dayanarak, ikinci basamak tedavi olarak veya örneğin ameliyat sonrasında sorafenib tedavisi uygulanan ileri derece HCC hastalarında ortalama toplam sağkalımın yaklaşık 5 ay olduğu varsayılmaktadır. Ayrıca, örneğin, hipertansiyon ve el-ayak sendromu (HFS) veya el-ayak deri reaksiyonu (HFSR) gibi, bu tedavi ile ilişkili yan etkileri, mümkün olduğunda izlemek ve yönetmek gerekmektedir.

10 Bu nedenle, yüksek mortalite ve morbidite sergileyen bu hasta popülasyonu için daha iyi sistemik tedavi amacıyla henüz karşılanmamış bir tıbbi ihtiyaç söz konusudur.

Şimdilerde 4-amino-5-floro-3-[6-(4-metilpiperazin-1-il)-1H-benzimidazol-2-il]-1H-kinolin-2-on veya farmasötik olarak kabul edilebilir bir tuz veya bir hidrat veya solvat hepatoselüler karsinom (HCC) veya karaciğer kanseri için hayvan modellerinde tümör hacmini etkin bir şekilde azalttığından ve bu nedenle HCC veya karaciğer kanseri için yeni bir tedavi seçeneği sağladığı için bu problemleri çözebileceği düşünülmektedir. Söz konusu tedavi, daha önce tedavi görmeyen veya bu tür tedavi seçeneklerinden yoksun olan hasta kategorisine ek tedavi seçeneği getirilmesine olanak sağladığı için avantajlıdır. Örneğin, söz konusu tedavinin hasta için uygun olmaması, örneğin HCC'li hastanın onaylanmış ilaca dirençli olması veya hastanın söz konusu ilaca cevap vermemesi ve/veya sorafenib tedavisi gibi başka bir ilaçla yan etki yaşayan hipertansif hastalar, el-ayak sendromu (HFS) veya el-ayak deri reaksiyonu (HFSR) geliştiren hastalar gibi intoleransı olan hastalar yüzünden bazı hastalar mevcut onaylanmış tedavi, örneğin sorafenib alamamış olabilir.

30 4-Amino-5-floro-3-[6-(4-metilpiperazin-1-il)-1H-benzimidazol-2-il]-1H-kinolin-2-on ya da farmasötik olarak kabul edilebilir bir tuz veya bir hidrat veya bir solvat Formül I'de gösterilen yapıya sahiptir:



Formül I bileşiği, reseptör tirozin kinazlar (RTKlar) gibi çeşitli protein kinazları inhibe eder. Sonuç olarak, Formül I bileşiği ve tuzları, anjiyogenezin önlenmesi ve proliferatif hastalıkların, örneğin hepatoselüler karsinomun veya karaciğer kanserinin tedavi edilmesinde yararlıdır. Mono laktik asit tuzu dahil olmak üzere bu bileşiğin ve tuzlarının hazırlanması, ABD Patentleri No. 6,605,617, 6,774,237, 7,335,774 ve 7,470,709'da ve ABD Patent Başvuruları Seri No. 10/982,757, 10/982,543 ve 10/706,328 ve yayınlanmış PCT başvuruları WO 2006/127926 ve WO2009/115562'de açıklanmaktadır.

Formül I bileşiğinin mono-laktat tuzu, örneğin monohidrat formu ve susuz form dahil olmak üzere çeşitli polimorflarda bulunmaktadır. Polimorflar, aynı bileşimin (hidratları ve solvatları dahil olmak üzere) belirli bir kristal yapıya özgü farklı termodinamik ve fiziksel özellikler ile sonuçlanan farklı bir örgü düzenlemesinde kristalleştiği yerde meydana gelir.

Reseptör tirozin kinazlar (RTKlar), gelişimsel hücre büyümesini ve yetişkin dokuların farklılaşmasını, yeniden şekillenmesini ve rejenerasyonunu düzenleyen transmembran polipeptidleridir. Büyüme faktörleri veya sitokinler olarak bilinen polipeptid ligandlarının, RTKları aktive ettiği bilinmektedir. Sinyal RTKları, ligand bağlanmasını ve reseptörün dış alanında konformasyonda bir değişimi ve dimerizasyonunu içermektedir. Ligandın RTKya bağlanması, spesifik tirozin kalıntılarındaki reseptör trans-fosforilasyonu ve sitoplazmik substratların fosforilasyonu için katalitik alanların sonraki aktivasyonu ile sonuçlanır.

Formül I'in bileşiği tirozin kinazları inhibe etmektedir. Tirozin kinaz bunlarla sınırlı olmamakla birlikte Cdc2 kinaz

(hücre bölünme döngüsü 2 kinaz), Fyn (SRC, FGR, YES ile ilgili FYN onkojen kinaz), Lck (lenfosit spesifik proteoin tirozin kinaz), c-Kit (kök hücre faktörü reseptörü veya mast hücre büyüme faktörü reseptörü), p60src (başlangıçta rous sarkoma virüslerinin v-src onkojeni olarak tanımlanan tirozin kinaz), c-ABL (orijinal olarak Adelson lösemi virüsünden izole edilen bir onkojen ürünü anlamına gelen tirozin kinaz), VEGFR3, PDGFR α (trombosit kaynaklı büyüme faktörü reseptörü α), PDGFR β (platelet kaynaklı büyüme faktörü reseptörü β), FGFR3 (fibroblast büyüme faktörü reseptörü 3), FLT-3 (fms-benzeri tirozin kinaz-3) veya Tie-2 (Ig ve EGF homoloji alanları ile tirozin kinaz) olabilir. Bazı yapılanmalarda, tirozin kinaz Cdc2 kinaz, Fyn, Lck veya Tie-2'dir ve diğer bazı yapılanmalarda, tirozin kinaz c-Kit, c-ABL, p60src, VEGFR3, PDGFR α , PDGFR β , FGFR3 veya FLT-3'tür.

RTK'ların iki alt familyası vasküler endotelyuma özgüdür. Bunlar vasküler endotelyal büyüme faktörü (VEGF) alt familyası ve Tie reseptör alt familyasını içerir. Sınıf III RTK'ları vasküler endotelyal büyüme faktörü reseptörü 1 (VEGFR-1), vasküler endotelyal büyüme faktörü reseptörü 2 (VEGFR-2) ve vasküler endotelyal büyüme faktörü reseptörü 3 (VEGFR-3) içerir.

Mevcut buluş 4-amino-5-floro-3-[6-(4-metilpiperazin-1-il)-1H-benzimidazol-2-il]-1H-kinolin-2-on veya bunların bir tautomeri veya karışımı ya da örneğin ileri derece hepatoselüler karsinoma gibi hepatoselüler karsinom, Barcelona HCC Aşama C, örneğin hipertansiyonu olan HCC hastalarında ya da örneğin başka bir tedavi altında örneğin sorafenib tedavisinde el-ayak sendromu geliştiren ya da geliştirecek veya el-ayak deri reaksiyonu geliştiren hastaların veya cerrahi olarak çıkartılması mümkün olmayan HCC sahibi, cerrahi tedaviye uygun olmayan, lokorejyonel cerrahi için uygun olmayan veya cerrahi sonrası hastalığın progresyonu görülen hastalar veya başka bir HCC'ye veya karaciğer kanseri tedavisine intoleransı olan veya dirençli olan hasta, örn. Sorafenib'e dirençli olan HCC hastaları veya sorafenib'e cevap vermeyen veya sorafenib'e intoleransı olan

hastaların tedavisinde kullanılmak üzere farmasötik bileşimlerin üretimi için farmasötik olarak kabul edilebilir bir tuzu veya bir hidratı veya bir solvatinin kullanımını sağlamaktadır.

5 Esasında terapötik bir tedaviyle ilişkili yan etkiler hastaları rahatsız eder ve bazı hastalar tedaviye başvurmakta bile isteksiz olabilir. Örneğin bir El Ayak sendromu söz konusu olduğunda, kemoterapi tedavisinin kesintiye uğraması veya dozun ayarlanması örneğin azaltılması gerekebilir, örneğin el-ayak sendromunun kötüleşmesini önlemek için, hastanın HHC durumunun 10 yeterince kontrol altına alınmamasına sebep olabilir. Ayrıca, yan etkileri izlemek ve yönetmek için ek maliyetler gerekmektedir.

Mevcut buluşa göre, 4-amino-5-floro-3-[6-(4-metilpiperazin-1-il)-1 H-benzimidazol-2-il]-1 H-kinolin-2-on veya farmasötik 15 olarak kabul edilebilir tuz veya bir tautomeri veya bir karışımı, HCC'ye karşı tek aktif olarak kullanılır.

Mevcut buluş ayrıca Hepatoselüler karsinomun tedavisinde kullanılmak üzere 4-amino-5-floro-3- [6-(4-metilpiperazin-1-il)-1 H-benzimidazol-2-il]-1H-kinolin-2-on veya farmasötik 20 olarak kabul edilebilir bir tuz ya da bir tautomeri veya bir hidrat veya bir solvat sağlayabilir. Mevcut buluşa göre Bileşik I, 4-amino-5-floro-3-[6-(4-metilpiperazin-1-il)-1H-benzimidazol-2-il]-1H-kinolin-2-on veya farmasötik olarak kabul edilebilir bir tuzu veya bir tautomeri, veya bir hidratını veya 25 bir solvatinı, örneğin 4-amino-5-floro-3-[6-(4-metilpiperazin-1-il)-1H-benzimidazol-2-il]-1H-kinolin-2-on, veya örneğin laktat tuzu formunda bir tautomerini belirtmektedir.

Başka bir yönüyle mevcut buluş, 4-amino-5-floro-3-[6-(4-metilpiperazin-1-il)-1H-benzimidazol-2-il]-1H-kinolin-2-on, 30 veya bir tautomeri veya farmasötik olarak kabul edilebilir bir tuzu veya bir hidratı veya bir solvatinı içeren hepatosellüler karsinomun tedavisinde kullanım için bir farmasötik preparat sağlamaktadır.

Tür, yaş, kişisel durum, uygulama şekli ve söz konusu klinik 35 tabloya bağlı olarak, etkili dozlar, 4-amino-5-floro-3-[6-(4-

metilpiperazin-1-il)-1H-benzimidazol-2-il]-1H-kinolin-2-on,
veya bir tautomeri veya farmasötik olarak kabul edilebilir bir
tuzu veya bir hidratı veya bir solvatının örneğinin yaklaşık 200
ila 3000 mg doz olarak haftalık, örneğinin bir haftada 2500 mg doz
5 olarak bir hastaya uygulanabilir. Söz konusu uygulama örneğinin
aşağıdaki gibi yapılabilir: doz, hasta tarafından haftada 5 gün
alınır ve bunu takip eden 2 gün hasta tedavi almaz. Mevcut buluşa
göre, Bileşik I veya bir tautomeri, bir hastaya, haftalık olarak
2500 mg'lık bir dozda uygulanabilir, örneğinin hastaya, 5 gün
10 boyunca 500 mg formül I Bileşiği uygulanır ve ardından iki gün
tedavi uygulanmaz. Günlük doz, örneğinin 250 mg'lık iki tek doz
olarak uygulanabilir.

Mevcut buluş, ayrıca hepatosellüler karsinomu olan bir hastaya
4-amino-5-floro-3-[6-(4-metilpiperazin-1-il)-1H-benzimidazol-
15 2-il]-1H-kinolin-2-on, veya bir tautomeri veya farmasötik olarak
kabul edilebilir bir tuzu veya bir hidratı veya bir solvatını
içeren haftada bir veya daha sık olarak hastaya uygulanan bir
yapılanmayı da sağlamaktadır.

Mevcut buluş, söz konusu hasta popülasyonunda ortalama toplam
20 sağkalımın en az 11 ay veya daha fazla olduğu veya 12 aya eşit
veya daha fazla olduğu veya 13 aya eşit veya daha fazla olduğu
ve söz konusu hastaların örneğinin cerrahi veya lokorejyona
tedaviye uygun olmayan veya lokorejyonal tedavisi veya cerrahi
sonrası hastalık progresyonu izlenen hastalar, Barcelona HCC
25 Aşama C hastaları, cerrahi olarak çıkartılması mümkün olmayan
HCC'li hastalar, hipertansiyon ve/veya HFS veya HFSR olan HCC'li
hastalar olduğu, buradaki 4-Amino-5-floro-3-[6-(4-
metilpiperazin-1-il)-1H-benzimidazol-2-il]-1H-kinolin-2-on
veya farmasötik olarak kabul edilebilir bir tuzun veya
30 tautomerin veya bir karışımı veya bir hidratı veya bir solvatının
ağızdan 500 mg'lık bir dozda haftalık olarak 5 gün alınıp/2 gün
alınmayarak söz konusu hastalara uygulandığı, 4-Amino-5-floro-
3-[6-(4-metilpiperazin-1-il)-1H-benzimidazol-2-il]-1H-kinolin-
2-on ya da farmasötik olarak kabul edilebilir bir tuz, tautomeri
35 veya bir karışımı veya bir hidratı veya bir solvatını

sağlamaktadır.

Şekillerin Kısa Açıklaması:

5 Şekil 1/4, TKI258 ile HUH7 insan HCC ksenogreftlerinin in vivo inhibisyonudur. ■ 10 mL/kg ağızdan, her gün alınan Vehiküldür, ⊖ TKI258 10 mg/kg ağızdan, her gün alınır, ▽ 30 mg/kg ağızdan, her gün alınır, ▼ is 50 mg/ ağızdan, her gün alınır.

Şekil 2/4, TKI258 ile tedavi edilen HUH7 insan HCC ksenografları
10 ile hayvanların vücut ağırlığını göstermektedir.

■10 mL/kg ağızdan, her gün alınan Vehiküldür, ⊖ TKI258 10 mg/kg ağızdan, her gün alınır, ▽ 30 mg/kg ağızdan, her gün alınır, ▼ is 50 mg/kg ağızdan, her gün alınır.

Şekil 3/4, PLC/PFR/5 insan HCC ksenogreftlerinin in vivo
15 inhibisyonunu göstermektedir.

■ 10 mL/kg ağızdan, her gün alınan Vehiküldür, ⊖ TKI258 10 mg/kg ağızdan, her gün alınır ▽ 30 mg/kg ağızdan, her gün alınır, ▼ 50 mg/kg ağızdan, her gün alınır.

Şekil 4/4, TKI258 ile tedavi edilen PLC/PFR/5 insan HCC
20 ksenogreftleri ile hayvanların vücut ağırlığını göstermektedir.

■ 10 mL/kg ağızdan, her gün alınan Vehiküldür, ⊖ TKI258 10 mg/kg ağızdan, her gün alınır, ▽ 30 mg/kg ağızdan, her gün alınır, ▼ 50 mg/kg ağızdan, her gün alınır.

25 Aşağıda, örneklerin bir açıklaması verilmiştir:

Örnek 1: HUH-7 tümörleri, çıplak farelerin sağ tarafına %50 Bazal Membrance Matrisi (BD Matrigel) içeren Sigma'dan 100 ul Hank
30 Dengeli Tuz Çözeltilisi (HBSS) içinde 5×10^6 hücrenin deri altı enjeksiyonu ile oluşturulmuştur. Ebeveyn HUH-7 hepatoma hücre hattı başlangıçta bir erkek insan karaciğer karsinomasından türetilmiştir. HUH-7 hücreleri, %10 Fetal Buzağı Serumu, %5 at serumu, %1 L-glutamin ve %1 Penecillin/Streptavidin ile takviye

edilmiş RPMI 1640 ortamında kültürlenmiştir. Hücre kültürü reaktifleri BioConcept'den (Allschwil, İsviçre) satın alınır.

5 Tümör hücrelerinin enjeksiyonundan 12 gün sonra tümör hacimleri 138 ± 24 mm³'tür. Bu süreçte (çalışmanın 1. günü) Bileşik I ile tedaviye başlanır. Hayvanlara son bileşik uygulamasından 24 saat sonra 21 ardışık günlük tedaviden sonra ötanazi uygulanmaktadır. Vücut ağırlıkları ve tümör hacimleri haftada üç kez kaydedilir. Tümör hacimleri kaliperler ile ölçülür ve uzunluk x genişlik x 10 yükseklik x $\pi/6$ formülüne göre belirlenir. Tedavinin seyri boyunca tümör hacim değişiklikleri sunulmasına ek olarak, antitümör aktivitesi % $\Delta T/\Delta C$ (tedavi edilen hayvanların tümör hacmindeki ortalama değişiklik/kontrol hayvanlarının tümör hacmindeki ortalama değişiklik) x 100 olarak ifade edilir.

15 Bileşik I, bileşiğin su içinde dağıtılmasıyla ve berrak bir çözelti elde edilene kadar vortekslenerek formüle edilir. Bileşik günlük olarak 10, 30 ve 50 mg/kg'lık konsantrasyonlarda, serbest baz eşdeğerlerinde oral gavaj ile uygulanır. Her grupta 20 8 hayvan bulunur. Kontrol grubu, taşıyıcı (vehikül) hayvanlara günlük olarak ağızdan su verilir. Tüm deneylerde uygulama hacimleri 10 ml/kg'dır.

Uygulanabilir olduğunda, veriler ortalama ± SEM olarak sunulmuştur. Tüm testler için anlamlılık düzeyi p <0.05 olarak 25 belirlenmiştir. Tümör büyüklüğündeki ortalama artış için, gruplar ve vehikül kontrol grubu arasındaki karşılaştırmalar, tek yönlü ANOVA ve ardından Dunnett testi kullanılarak yapılmıştır. Deneyin başlangıcı ile bitişi arasında bir grup içinde vücut ağırlığı değişiminin anlamlılık düzeyi 30 eşleştirilmiş bir t-testi kullanılarak belirlenir. Vücut ağırlığı değişiminin tedavi grubu ve vehikül kontrol grubu arasındaki önemi, tek yönlü ANOVA ve ardından Dunnett testi ile belirlenmiştir. Hesaplamalar GraphPad Prism 5.0 (GraphPad Yazılım Şirketi) kullanılarak gerçekleştirilir.

35 Şekil 1/4, sırasıyla, 30 ve 50 mg/kg'da, %75, 40 ve 20 T/C ile,

istatistiksel olarak anlamlı olan, tümör büyümesinin doza bağlı inhibisyonunu göstermektedir. Bileşiğin bu dozları ile tedavi, aracı (vehikül) grubu gibi bileşik ile tedavi edilen hayvan gruplarında da vücut ağırlığındaki bir artışla gösterildiği gibi iyi tolere edilmiştir (Şekil 2/4).

Örnek 2: PLC/ PFR/5 tümörleri, çıplak farelerin sağ tarafına %50 Bazal Membran Matrisi (BD Matrigel) içeren Sigma'dan 100 ul Hank Dengeli Tuz Çözeltisi (HBSS) içinde 5×10^6 hücrenin deri altı enjeksiyonu ile oluşturulmuştur. Ebeveyn PLC/PFR/5 karsinom hücre hattı başlangıçta bir erkek insan karaciğer karsinomasından türetilmiştir. PLC/ PFR/ 5 hücreleri, %10 Fetal Buzağı Serumu, %5 at serumu, %1 L-glutamin ve %1 Penicillin/Streptavidin ile takviye edilmiş RPMI 1640 ortamında kültürlenmiştir. Hücre kültürü reaktifleri BioConcept'den (Allschwil, İsviçre) satın alınır.

Tümör hücrelerinin enjeksiyonundan 14 gün sonra tümör hacimleri $145 \pm 20 \text{ mm}^3$ 'tür. Bu süreçte (çalışmanın 1. günü) Bileşik I ile tedaviye başlanır. Hayvanlara son bileşik uygulamasından 24 saat sonra 24 ardışık günlük tedaviden sonra ötanazi uygulanmaktadır. Vücut ağırlıkları ve tümör hacimleri haftada üç kez kaydedilir. Tümör hacimleri kaliperler ile ölçülür ve uzunluk x genişlik x yükseklik x $\pi/6$ formülüne göre belirlenir. Tedavinin seyri boyunca tümör hacim değişiklikleri sunulmasına ek olarak, antitümör aktivitesi $\% \Delta T/\Delta C$ (tedavi edilen hayvanların tümör hacmindeki ortalama değişiklik/kontrol hayvanlarının tümör hacmindeki ortalama değişiklik) x 100 olarak ifade edilir.

Bileşik I, bileşiğin su içinde dağıtılmasıyla ve berrak bir çözelti elde edilene kadar vortekslenerek formüle edilir. Bileşik günlük olarak 10, 30 ve 50 mg/kg'lık konsantrasyonlarda, serbest baz eşdeğerlerinde oral gavaj ile uygulanır. Her grupta 8 hayvan bulunur. Kontrol grubu, taşıyıcı (vehikül) hayvanlara günlük olarak ağızdan su verilir. Tüm deneylerde uygulama hacimleri 10 ml/kg'dır.

Uygulanabilir olduğunda, veriler ortalama \pm SEM olarak

sunulmuştur. Tüm testler için anlamlılık düzeyi $p < 0.05$ olarak belirlenmiştir. Tümör büyüklüğündeki ortalama artış için, gruplar ve vehikül kontrol grubu arasındaki karşılaştırmalar, tek yönlü ANOVA ve ardından Dunnett testi kullanılarak yapılmıştır. Deneyin başlangıcı ile bitişi arasında bir grup içinde vücut ağırlığı değişiminin anlamlılık düzeyi eşleştirilmiş bir t-testi kullanılarak belirlenir. Vücut ağırlığı değişiminin tedavi grubu ve vehikül kontrol grubu arasındaki önemi, tek yönlü ANOVA ve ardından Dunnett testi ile belirlenmiştir. Hesaplamalar GraphPad Prism 5.0 (GraphPad Yazılım Şirketi) kullanılarak gerçekleştirilir. Şekil 3/4, sırasıyla, 50 mg/kg'da, %67, 47 ve 19 T/C ile, istatistiksel olarak anlamlı olan, tümör büyümesinin doza bağlı inhibisyonunu göstermektedir. Bileşiğin bu dozları ile tedavi, vehikül ile tedavi edilen gruba kıyasla vücut ağırlığı üzerinde anlamlı bir etkiye sahip değildir (Şekil 4/4).

Örnek 3: Birinci Hat Tedavisi Olarak Hepatoselüler Karsinomlu Erişkin Hastalarda Sorafenib'e karşı Dovitinib Çalışması Çalışma tasarımı İleri derece HCC'li hastalarda 1. basamak tedaviye karşı Bileşik I ve sorafenib'in güvenlik ve etkinliğini karşılaştırmak için Asya Pasifik bölgesinde bir randomize faz II açık, çok merkezli çalışma.

Yaklaşık 150 hasta randomize edilecektir (1:1 oranda). Hastalar hastalık ilerleyene veya kabul edilemez toksisiteye ulaşıncaya kadar Bileşik I veya sorafenib alırlar. Tümör değerlendirmeleri, güvenlik izleme protokolünü takip eder.

Hasta popülasyonu: ileri derece HCC'si olan veya cerrahi veya lokorejyonel tedavi sonrası hastalık progresyonu olan yetişkin hastalar.

Birincil amaç: Bileşik I'in sorafenib ile toplam sağkalım üzerindeki tedavi etkisi.

İkincil amaç: İki tedavi kolunun tümör progresyonuna kadar olan süreye göre değerlendirilmesi
Çalışma tedavisi: Bileşik I 500 mg, 5 gün alınıp/2 gün alınmayacak, Sorafenib ağızdan 400 mg.

Örnek 4: Sorafenib tedavisinin başarısızlığından sonra ileri derece HCC'li yetişkinlerde plaseboya karşı en iyi destekleyici bakım ve en iyi destekleyici bakımın etkinliğini ve güvenliğini değerlendirmek için randomize, çift kör bir plasebo çalışması. Çalışma tasarımı Daha önce sorafenib ile tedavi edilen ve sorafenib tedavisi sırasında veya sonrasında hastalığı ilerleyen HCC'li hastalarda, Bileşik I/BSC'nin plasebo/BSC'nin güvenliğini ve etkinliğini karşılaştıran bir randomize, Faz II, çift kör, plasebo kontrollü uluslararası çalışma.

5

ECOG'a göre yaklaşık 150 hasta randomize (2:1 oranda) edilmiştir (0'a karşılık 1 veya 2). Hastalar hastalık ilerleyene veya kabul edilemez toksisiteye ulaşıncaya kadar Bileşik I/BSC veya Plasebo/BSC alırlar. Tümör değerlendirmeleri, güvenlik izleme ve diğer çalışma prosedürleri protokol tanımlı programı takip etmelidir. Ara analiz yapılmayacaktır.

10

Hasta popülasyonu: Histolojik olarak veya sitolojik olarak doğrulanmış HCC tanısı olan ve sorafenib tedavisi sırasında veya sonrasında hastalığı ilerleyen yetişkin hastalar

20

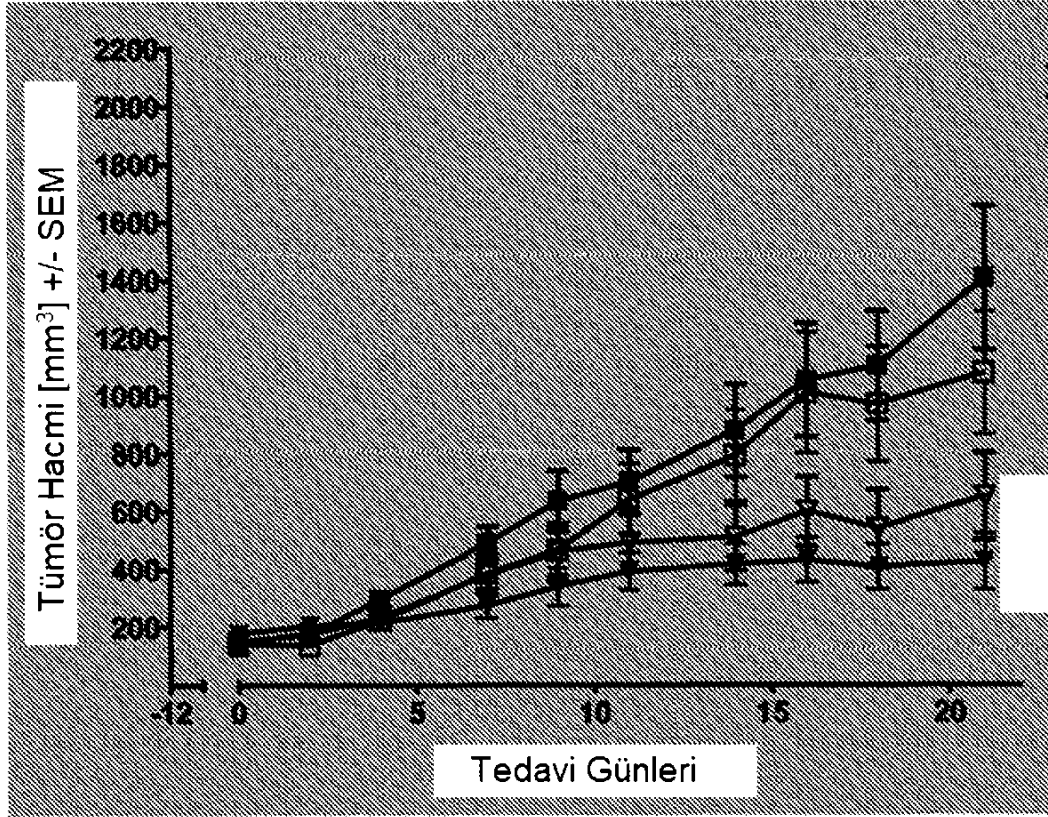
Birincil amaç: Sorafenib tedavisi sırasında veya sonrasında hastalığı ilerleyen veya sorafenib'e karşı intoleransı olan ileri derece HCC hastalarında, plasebo/BSC'nin toplam sağkalımına karşı Bileşik I/BSC'nin tedavi etkisini tahmin etmek.

25

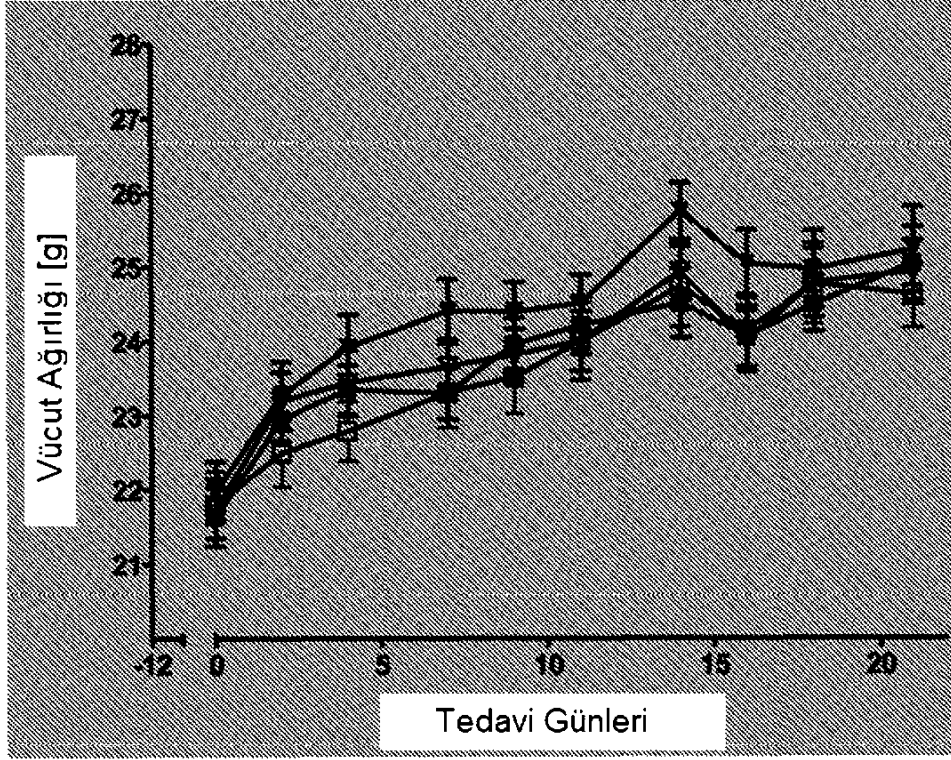
Başlıca ikincil amaç: İki tedavi kolunu progresyona kadar geçen süre (TTP) açısından değerlendirmek (radyolojik değerlendirme). Başlıca hariç tutma ölçütleri: HCC için araştırma ajanları veya hedefe yönelik tedavi ile herhangi bir sistemik tedavi almış hastalar (sorafenib hariç)

30

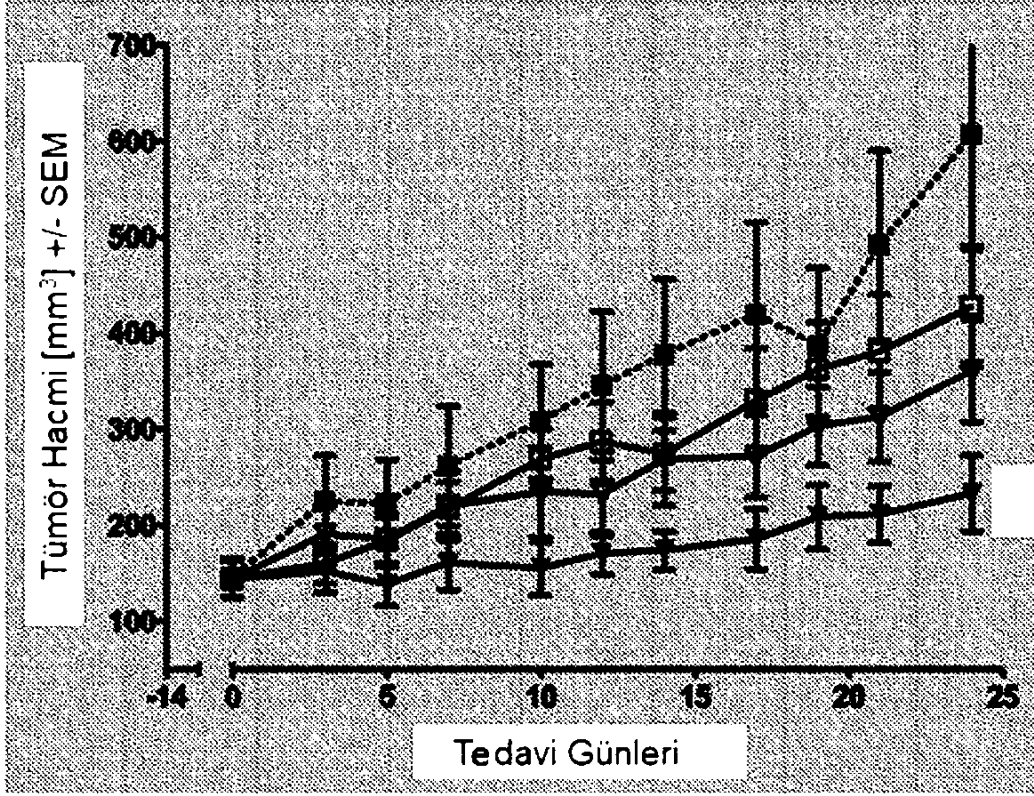
Çalışma tedavisi: Bileşik I (500 mg, 5 gün alınıp/2 gün alınmayacak) / BSC, Kontrol, eşleşen plasebo/BSC'yi ifade etmektedir.



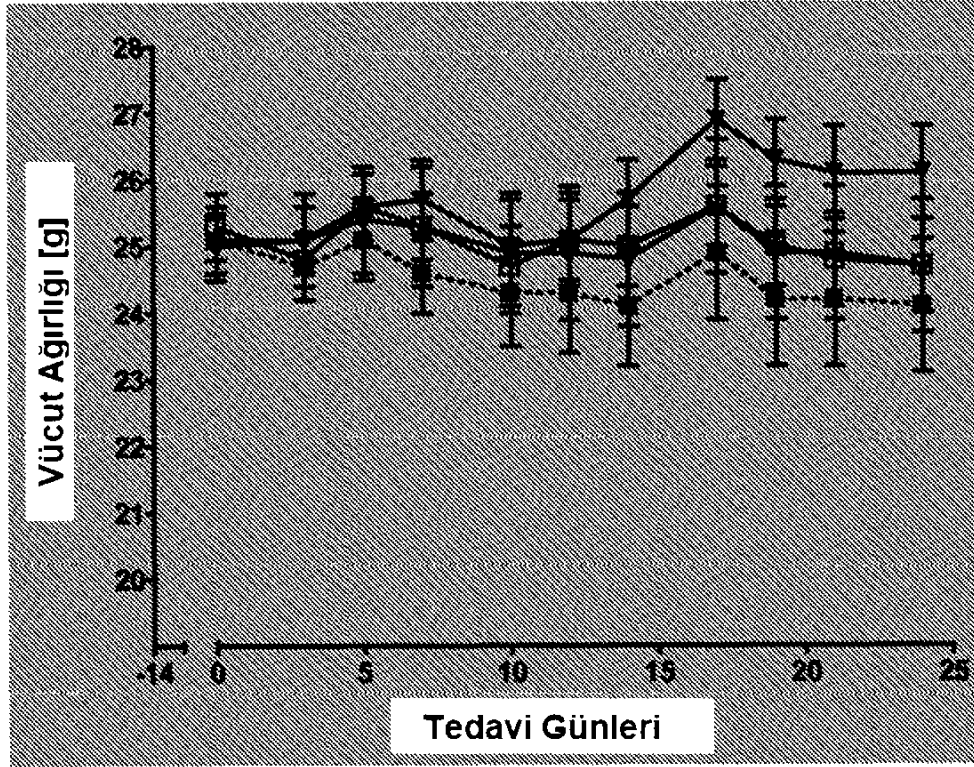
Şekil 1/4



Şekil 2/4



Şekil 3/4



Şekil 4/4