

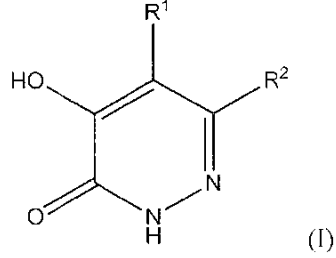
ÖZET

ATAKSİK BİR HASTALIĞIN ÖNLENMESİ VEYA TEDAVİ EDİLMESİNDE KULLANIM İÇİN PİRİDAZİN TÜREVLERİ

- 5 Mevcut buluş, formül (I)'ın bileşimlerini ve bunların farmasötikal olarak kabul edilebilir tuzlarını sağlamakta, (I) burada bulunan R1 ve R2, ataksik bir hastalığın tedavisinde veya önlenmesinde kullanım için tarifnamede belirtilen eğriler olmaktadır.

İSTEMLER

1. Mevcut buluşun bir kullanım alanına göre burada Formül (I)'in bir bileşimi veya bunların farmasötikal olarak kabul edilebilir bir tuzu sağlanmakta:



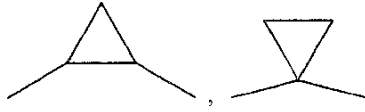
olan ve,

burada yer alan,

R¹'in bir hidrojen veya florin atomu ya da bir trifluorometil grubunu temsil ettiği;

R²'nin bir -X-Y-R³ grubunu temsil ettiği,

10 X ve Y'den her birinin bağımsız olarak bir bağ, bir oksijen atomu veya bir - C(O), - S(O)_n, -C(O)NR⁴, -S(O)₂NR⁴, -NR⁴ grubunu temsil ettiği,



15 veya -CR⁴R⁵-i temsil ettiği, burada sağlanan X ve Y'nin her ikisinin de eş zamanlı olarak bir bağı temsil ettiği ve X ile Y'nin her ikisinin de bir bağdan ayrı olması durumunda X ve Y'den en az biri -CR⁴R⁵-i temsil ettiği;

n'nin 0, 1 veya 2 olduğu;

20 R⁴ 'ün her biri bağımsız olarak bir hidrojen atomu veya bir C₁-C₆alkil ya da C₁-C₆ haloalkil grubunu temsil ettiği;

R⁵ 'in her biri bağımsız olarak bir hidrojen atomu, bir C₁-C₆ alkil veya C₁-C₆ haloalkil grubu yada =CH-'yi temsil ettiği;

25 R³'ün bir 3- ila 10-elemanlı doyurulmuş veya doyurulmamış karbosiklik ya da heterosiklik dolam sistemini temsil ettiği, dolam sisteminin kendisi, halojen, hidroksil, siyano, okso, C₁-C₆ alkil, C₂-C₆ alkenil, C₁-C₆ haloalkil, C₁-C₆ hidroksialkil, C₁-C₆ alkoksi, C₁-C₆haloalkoksi, C₁-C₆ alkiltio, C₁-C₆ alkilsülfinil, C₁-C₆alkilsülfonil, C₁-C₆ alkilkarbonil, C₁-

C₆ alkilkarboniloksi, C₁-C₆ alkoksikarbonil, amino (-NH₂), -CON(R⁶)₂, C₁-C₆ alkilamino, di-(C₁-C₆ alkil)amino, C₃-C₆ sikloalkil, C₃-C₆ sikloalkiloksi, C₃-C₆ sikloalkilmetil, -[O]_p-(CH₂)_q-O-R⁷ ve bir 4- ila 6-elemanlı doyurulmuş veya doyurulmamış heterosiklik dolamdan (C₁-C₄ alkil ve C₁-C₄alkoksiden seçilen en az bir ornatık ile opsiyonel olarak ornatılan) seçilen en

5 az bir ornatık ile opsiyonel olarak ornatıldığı;

R⁶ 'nın her biri bağımsız olarak bir hidrojen atomu veya bir C₁-C₆alkil grubu olduğu; ataksik bir hastalığın tedavisinde veya önlenmesinde kullanım için, özellikle de bir spinoserebellar ataksik hastalığın tedavisinde veya önlenmesinde kullanım için;

10

p'nin 0 veya 1 olduğu;

q'nun 1, 2, 3 veya 4 olduğu ve;

R⁷'nin bir C₁-C₆ alkil grubunu temsil ettiği,

15 formül (I)'in bir bileşimi, veya bunun farmasötikal olarak kabul edilebilir bir tuzu.

2. Bir spinoserebellar ataksik hastalık veya Friedreich ataksinin önlenmesi veya tedavisi için kullanılan istem 1'e göre kullanım amacı ile bir bileşim.

20 3.

4-Hidroksi-6-(2-feniletıl)piridazin-3(2H)-bir;

6-[2-(4-Fluorofenil)etil]-4-hidroksipiridazin-3(2H)-bir;

4-Hidroksi-6-{2-[5-(trifluorometil)piridin-2-il]etil}piridazin-3(2H)-bir;

6-[(4-Klorobenzil)sulfanil]-4-hidroksipiridazin-3(2H)-bir;

25 4-Hidroksi-6-{2-[6-(trifluorometil)piridin-3-il]etil}piridazin-3(2H)-bir;

6-[2-(3-Fluorofenil)etil]-4-hidroksipiridazin-3(2H)-bir;

6-[2-(2-Fluorofenil)etil]-4-hidroksipiridazin-3(2H)-bir;

6-[2-(3,5-Difluorofenil)etil]-4-hidroksipiridazin-3(2H)-bir;

6-[2-(3,4-Difluorofenil)etil]-4-hidroksipiridazin-3(2H)-bir;

30 4-Hidroksi-6-{2-[3-(trifluorometil)fenil]etil}piridazin-3(2H)-bir;

4-Hidroksi-6-{2-[3-(trifluorometil)fenil]etil}piridazin-3(2H)-bir;

4-Hidroksi-6-{2-[5-(trifluorometil)piridin-3-il]etil}piridazin-3(2H)-bir;

6-(2-Sikloheksiletıl)-4-hidroksipiridazin-3(2H)-bir;

- 6-(2-Siklopropyletil)-4-hidroksipiridazin-3(2H)-bir;
 6-(2-Siklopentyletil)-4-hidroksipiridazin-3(2H)-bir;
 4-Hidroksi-6-[2-(4-metoksisikloheksil)etil]piridazin-3(2H)-bir;
 6-[2-(2,4-Difluorofenil)etil]-4-hidroksipiridazin-3(2H)-bir;
 5 6-{2-[3-(Difluorometil)fenil]etil}-4-hidroksipiridazin-3(2H)-bir;
 6-Benzil-4-hidroksipiridazin-3(2H)-bir;
 6-[2-(3-Klorofenil)etil]-4-hidroksipiridazin-3(2H)-bir;
 4-Hidroksi-6-(1-fenilsiklopropil)piridazin-3(2H)-bir;
 4-[2-(5-Hidroksi-6-okso-1,6-dihidropiridazin-3-il)etil]benzonitrile;
 10 6-[2-(3-Fluoro-4-metilfenil)etil]-4-hidroksipiridazin-3(2H)-bir;
 6-[2-(4-Fluoro-3-metilfenil)etil]-4-hidroksipiridazin-3(2H)-bir;
 6-[2-(3,4-Dimethoksifenil)etil]-4-hidroksipiridazin-3(2H)-bir;
 6-[2-(4-Klorofenil)etil]-4-hidroksipiridazin-3(2H)-bir;
 6-[2-(2-Klorofenil)etil]-4-hidroksipiridazin-3(2H)-bir;
 15 4-Hidroksi-6-{2-[2-(trifluorometil)fenil]etil}piridazin-3(2H)-bir;
 6-(4-(Difluoromethoksi)phenetil)-4-hidroksipiridazin-3(2H)-bir;
 6-(4-(Trifluoromethoksi)phenetil)-4-hidroksipiridazin-3(2H)-bir;
 6-(3-(Difluoromethoksi)phenetil)-4-hidroksipiridazin-3(2H)-bir;
 6-[1-(4-Fluorofenil)siklopropil]-4-hidroksipiridazin-3(2H)-bir;
 20 6-[1-(4-Fluorofenil)etil]-4-hidroksipiridazin-3(2H)-bir;
 4-Hidroksi-6-{1-[3-(trifluorometil)fenil]etil}piridazin-3(2H)-bir;
 4-Hidroksi-6-{2-[4-(trifluorometil)fenil]etil}piridazin-3(2H)-bir;
 6-((Siklopropilmetil)(metil)amino)-4-hidroksipiridazin-3(2H)-bir;
 6-((Sikloheksilmetil)(metil)amino)-4-hidroksipiridazin-3(2H)-bir;
 25 6-(3-Klorobenzil)-4-hidroksipiridazin-3(2H)-bir;
 6-(4-Klorobenzil)-4-hidroksipiridazin-3(2H)-bir;
 6-(Sikloheksilmetil)-4-hidroksipiridazin-3(2H)-bir;
 6-(4-Fluorobenzil)-4-hidroksipiridazin-3(2H)-bir;
 6-(2-Kloro-6-fluorobenzil)-4-hidroksipiridazin-3(2H)-bir;
 30 6-(2-Klorobenzil)-4-hidroksipiridazin-3(2H)-bir;
 6-(3-Fluorobenzil)-4-hidroksipiridazin-3(2H)-bir;
 6-(2-Fluorobenzil)-4-hidroksipiridazin-3(2H)-bir;
 6-(4-Metilbenzil)-4-hidroksipiridazin-3(2H)-bir;

- 6-(3-Metilbenzil)-4-hidroksipiridazin-3(2H)-bir;
4-Hidroksi-6-(3-(trifluorometil)benzil)piridazin-3(2H)-bir;
4-Hidroksi-6-[2-(oksan-4-il)etil]piridazin-3(2H)-bir;
6-{[(4-Fluorofenil)metil](metil)amino}-4-hidroksi-piridazin-3(2H)-bir;
5 6-[2-(2,6-Difluorofenil)etil]-4-hidroksi-piridazin-3(2H)-bir;
6-[2-(2-Kloro-6-fluorofenil)etil]-4-hidroksi-piridazin-3(2H)-bir;
6-{[3,5-bis(Trifluorometil)fenil]metil}-4-hidroksipiridazin-3(2H)-bir;
6-(1-Feniletil)-4-hidroksipiridazin-3(2H)-bir;
6-(Siklopropilmetil)-4-hidroksi-2,3-dihidropiridazin-3-bir;
10 4-Hidroksi-6-{1-[4-(trifluorometil)fenil]siklopropil}-2,3-dihidropiridazin-3-bir;
6-{2-[2-Kloro-4-(trifluorometil)fenil]etil}-4-hidroksi-2,3-dihidropiridazin-3-bir;
6-{2-[2-Fluoro-4-(trifluorometil)fenil]etil}-4-hidroksi-2,3-dihidropiridazin-3-bir;
6-{2-[3,5-bis(Trifluorometil)fenil]etil}-4-hidroksi-2,3-dihidropiridazin-3-bir;
6-{2-[2,4-bis(Trifluorometil)fenil]etil}-4-hidroksi-2,3-dihidro-piridazin-3-bir;
15 6-{2-[3,4-bis(Trifluorometil)fenil]etil}-4-hidroksi-2,3-dihidropiridazin-3-bir;
4-Hidroksi-6-(3-metil-4-(trifluorometil)phenetil)piridazin-3(2H)-bir;
4-Hidroksi-6-{2-[2-metil-4-(trifluorometil)fenil]etil}-2,3-dihidropiridazin-3-bir;
6-{2-[3,5-Difluoro-4-(trifluorometil)fenil]etil}-4-hidroksi-2,3-dihidropiridazin-3-bir;
6-{2-[3-Fluoro-4-(trifluorometil)fenil]etil}-4-hidroksi-2,3-dihidropiridazin-3-bir;
20 ve bunların farmasötikal olarak kabul edilebilir tuzlarından seçilen,
istem 1 veya istem 2'ye göre kullanım için bir bileşim.

4. 6-[2-(4-Fluorofenil)etil]-4-hidroksipiridazin-3(2H)-bir olan istem 1 ile 3'ten herhangi birine göre kullanım için Formül (I)'in bir bileşimi.

25

5. 4-Hidroksi-6-{2-[4-(trifluorometil)fenil]etil}piridazin-3(2H)-bir olan istem 1 ile 3'ten herhangi birine göre kullanım için Formül (I)'in bir bileşimi.

6. 6-(4-Klorobenzil)-4-hidroksipiridazin-3(2H)-bir olan istem 1 ile 3'ten herhangi birine göre kullanım için Formül (I)'in bir bileşimi.

30

7. 6-(2-Fluorobenzil)-4-hidroksipiridazin-3(2H)-bir olan istem 1 ile 3'ten herhangi birine göre kullanım için Formül (I)'in bir bileşimi.

8. Ataksik bir hastalık riskini azaltmak için istem 1 ve 3 ile 7'den herhangi birinde tanımlanan Formül (I)'in bir bileşimi veya bunun farmasötikal olarak kabul edilebilir bir tuzu.

5 **9.** Ataksik bir hastalığın tedavisinde veya önlenmesinde kullanım için farmasötikal olarak kabul edilebilir bir adjuvan, seyreltici veya taşıyıcı ile ilişkili olarak istem 1 ve 3 ile 7'den herhangi birinde tanımlanan Formül (I)'in bir bileşimi veya bunun farmasötikal olarak kabul edilebilir bir tuzunu ihtiva eden farmasötikal bir kompozisyon.

10

10. D-serin, D-serine etil ester, D-sikloserin, amantadin, amantadin hidroklorid, buspiron, asetazolamid, topiramat, divalproeks sodyum, L-dopa, propranolol, primidon, klonazepam, levetiracetam, karbamazepin, gabapentin, baklofen, ondansetron, tizanidin veya pramipeksolu da ayrıca içeren istem 9'a göre kullanım için farmasötikal bir kompozisyon.

15

11. Ataksik bir hastalığın riskini azaltmada kullanım için farmasötikal olarak kabul edilebilir bir adjuvan, seyreltici veya taşıyıcı ile ilişkili olarak istem 1 ve 3 ile 7'den herhangi birinde tanımlanan formül (I)'in bir bileşimi veya bunun farmasötikal olarak kabul edilebilir bir tuzunu içeren farmasötikal bir kompozisyon.

20

12. Farmasötikal bir kompozisyonun D-serin, D-serine etil ester, D-sikloserin, amantadin, amantadin hidroklorid, buspiron, asetazolamid, topiramat, divalproeks sodyum, L-dopa, propranolol, primidon, klonazepam, levetirasetam, karbamazepin, gabapentin, baklofen, ondansetron, tizanidine veya pramipeksolu da ayrıca içerdiği istem 11'e göre kullanım için farmasötikal bir kompozisyon.

25

13. Ataksik bir hastalık ile ilişkili semptomları azaltmayı kapsayan tedavide istem 9'a veya istem 10'a göre kullanım için farmasötikal bir kompozisyon veya istem 1 ile 7'den herhangi birine göre kullanım için bir bileşim.

30

14. Tedavinin, yürüyüş, denge, uzuv koordinasyonu ve/veya konuşmanın geliştirilmesini sağladığı istem 13'e göre kullanım için bir bileşim veya farmasötikal kompozisyon.

15. Tedavinin ataksilik hastalığın episodları arasındaki zaman periyodunu artırması ile sonuçlandığı istem 9'a veya istem 10'a göre kullanım için farmasötikal bir kompozisyon veya istem 1 ila 7'den herhangi birine göre kullanım için bir bileşim.

5

10

15

20

TARİFNAME

ATAKSİK BİR HASTALIĞIN ÖNLENMESİ VEYA TEDAVİ EDİLMESİNDE KULLANIM İÇİN PİRİDAZİN TÜREVLERİ

5 Tanım

Mevcut buluş, ataksik hastalıkların önlenmesi veya tedavisinde enzim D-amino asit oksidazın belirli inhibitörlerinin kullanımına ilişkin olmakta, bilhassa Friedreich ataksi ve spinoserebellar ataksilerin önlenmesi veya tedavisinde enzim D-amino asit oksidazın belirli inhibitörlerinin kullanımına ilişkin olmaktadır.

10

Ataksi, hastanın gönüllü hareketin uygulanması için kasları koordine edemediği bir merkezi sinir sistemi bozukluğudur. Ataksinin tipik belirtileri yürüyüş disfonksiyonları, dengesizlik, uzuv koordinasyon bozukluğu ve konuşma bozukluklarıdır. Ataksi bozukluklarının çoğunda ataksi, serebellar korteksin hasar görmesi veya dejenerasyonuna ve bunun aferent veya efferent fiber bağlantılarına bağlı olmakta; etkilenmiş tipik beyin bölgeleri beyincik, arka kolon, piramidal yollar ve bazal gangliyonlar olmaktadır. Hasar, yaralanma veya hastalık (edinilmiş ataksi durumunda olduğu gibi) veya serebellum veya omurilik dejenerasyonları (kalıtsal ataksi durumunda olduğu gibi) nedeniyle meydana gelebilmektedir.

15

20

Edinilmiş ataksi, şiddetli kafa travması (örneğin, bir araba kazası veya düşme sonucu meydana gelebilecek yaralanma tipi) dahil olmak üzere çok çeşitli potansiyel nedenlere sahip olabilmekte; menenjit veya ensefalit gibi bakteriyel beyin enfeksiyonu; inme gibi veya; serebral palsi gibi viral enfeksiyon; uzun süreli uzun süreli alkol kullanımı; aktif olmayan tiroid bezi gibi çoklu skleroz; ve kanser gibi kanama veya geçici iskemik atak gibi beyne kan beslemesini bozan koşullardan kaynaklanabilmektedir.

25

Hereditör ataksi, Friedreich ataksı ve ataksi-telanjiyektaziden sorumlu mutasyonlar veya bazı spinoserebellar ataksi vakalarından sorumlu mutasyonlarda olduğu gibi otozomal dominantlar gibi otozomal resesif geçişli genetik anormalliklerden kaynaklanmaktadır.

30

Spinoserebellar ataksiler (SCA), serebelluma verilen hasardan kaynaklanan bir ataksiler grubu olmaktadır (Dueñas ve ark., "Spinoserebellar ataksilerin moleküler patogenezi", Brain, 2006, 129, 1357-1370). Beyincik denge ve koordinasyonu kontrol etmektedir. Bu nedenle, SCA'dan etkilenen bireyler genellikle denge ve koordinasyon kaybına uğramakta ve genellikle hareket veya yürüyüş yürüyüşlerindeki değişiklikler ile kendini göstermektedir (HY Zoghbi, "Spinoserebellar ataksiler", Nörobiyoloji Hastalığı, 2000, 7 (5), 523-527).

SCA'lar genetik olarak kalıtsal olmaktadır. Şu anda en az 31 bilinen SCA tipi bulunmaktadır. Bunlar SCA 1-8 ve SCA 10-32 olarak bilinmektedir (şu anda SCA9 ile ilişkili bir durum yoktur, ancak isim ayrılmıştır). SCA'lar, gendeki mutasyon türüne göre üç ana gruba ayrılabilir. Bunlardan ilki genişletilmiş poliglutamin ataksidir (SCA 1, 2, 3, 6, 7 ve 17). İkincisi kodlama tekrarlayan ataksiler (SCA 8, 10 ve 12). Üçüncüsü diğer gen mutasyonlarının neden olduğu ataksidir (SCA 5, 13, 14 ve 27) (Soong & Paulson, "Spinoserebellar ataksiler: bir güncelleme", Nörolojide Güncel Görüş, 2007, 20, 438-446).

Genleşmiş poliglutamin spinoserebellar ataksiler grubu, hatalı gendeki anormallik amino asit glutamini kodlayan CAG dizileri ile ilgilidir. Normal genlerde, CAG sekansları 6-35 kez tekrarlanabilmekte, ancak SCA'da bu tekrarlar 40-100 tekrarı içerecek şekilde genişletilmektedir (Zoghbi, 2000). Bu tekrarlar, genlerin kodlama bölgelerinde bulunmakta ve amino asit glutaminin uzun uzantıları içeren proteinlerin oluşumuna yol açmaktadır. Bu proteinlerin bir 'toksik etkisi' var gibi görünmektedir. CAG tekrarı sayısı arttıkça, SCA'nın başlangıcı daha erken olmakta ve SCA daha şiddetli bir hale gelmektedir (Soong ve Paulson, 2007).

Kodlayıcı olmayan tekrar spinoserebellar ataksiler grubunda, önceki grupta olduğu gibi, nükleotid sekanslarının anormal tekrarları bulunmakta, fakat tekrarlar, genlerin kodlayıcı olmayan bölgelerinde oluşmakta ve bu anormalliklerin SCA'ya nasıl neden olduğu belirsizliğini korumaktadır.

Son olarak, SCA 5, 13, 14 ve 27 de dahil olmak üzere üçüncü üçüncü spinoserebellar ataksiler grubunda anormalliğe, bir nükleotid bazın delesyonu veya sokulması veya bir nükleotid bazının diğeri için değiştirilmesi gibi geleneksel gen mutasyonları neden olmakta; belirli bir protein için yanlış amino asit üretiminin (Soong ve Paulson, 2007) sonucu olarak ortaya

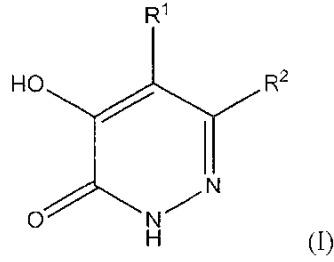
çıkılmaktadır. N-metil-D-aspartat tipi glutamat (NMDA) reseptörlerinin ve bozulmuş glutamat aracılı sinyallemenin, insanlarda ve hayvan modellerinde spinoserebellar ataksi patogenezinde ve progresyonunda rol oynadığı öne sürülmüştür. D-serin, NMDA reseptörlerinin endojen bir modülatörü olmakta ve Saigoh ve ark. ("D-serin etilester ve D-sikloserin, ataksik mutant farelerde stereo-spesifik etkisi", Brain Research, 1998, 808, 42-47) D-serin türevlerinin, D-serin etilester ve D- sikloserin, kalıtsal veya kimyasal olarak indüklenen ataksi mutasyonlarını taşıyan farelerde ataksi üzerinde iyileştirici bir etkiye sahip olmakta ve serebellumda endojen D-serin konsantrasyonunda bir artış ortaya çıkarmaktadır.

- 10 D-Amino asit oksidaz (DAAO), tarif edilen ilk enzimlerden ve 1930'ların ortalarında keşfedilecek ikinci flavoproteinlerden biri olmuştur. DAAO, D-amino asitleri karşılık gelen a-keto asitlerine dönüşmektedir. Bunu, D-amino asitlerin imino muadillerine ve azaltılmış bir flavin-ürün kompleksine dehidrojenasyonunu katalize ederek yapmaktadır. Azaltılmış flavin, daha sonra dioksigen tarafından FADox ve H₂O₂ elde etmek için yeniden oksitlenmekte, 15 bununla birlikte imino asit, keto asit ve NH₄⁺ya kendiliğinden hidrolize olmaktadır.

- DAAO çoğu organizmada ve memeli dokularında bulunmaktadır. DAAO'nun bir aksiyonu, nörotransmitter D-serini katabolize etmektir. Bu enzimin hareketlerini inhibe ederek, endojen D-serinin konsantrasyonunun artacağı beklenmektedir. Bu bağlamda Hashimoto ve ark. ("D-amino asit oksidaz aktivitesine sahip olmayan fareler, MK-801 tarafından uyarılan stereotipik ve ataksi ile belirgin bir zayıflama sergilemiştir", Brain Research, 2005, 1033 (2), 210-215), mutant DAAO -/- farelerinin MK-801 (hiperlocomotion, sterotypy ve ataksi dahil olmak üzere davranışları kimyasal olarak indükleyen bir NMDA reseptör antagonisti) benzer şekilde muamele edilmiş vahşi tip DAAO +/+ farelerine kıyasla azaltılmış ataksi sergiler. ile tedavi edildiğini göstermiştir. 25

- Ayrıca, Yayınlanmış Uluslararası Başvuru No. WO 03/047558 (Genset S.A.), ataksi tedavisinde belirli DAAO inhibitörlerinin kullanılmasını önermesine rağmen, uygulama, söz konusu inhibitörlerin böyle bir etki gösterip göstermediğini teyit eden hiçbir test verisi 30 içermemektedir.

Mevcut buluşun bir kullanım alanına göre burada Formül (I)'in bir bileşimi veya bunların farmasötikal olarak kabul edilebilir bir tuzu sağlanmakta:



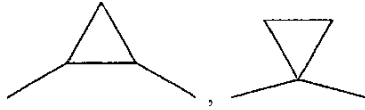
5 burada yer alan,

R^1 , bir hidrojen veya florin atomu ya da bir trifluorometil grubunu temsil etmekte;

R^2 , bir $-X-Y-R^3$ grubunu temsil etmekte;

X ve Y'den her biri bağımsız olarak bir bağ, bir oksijen atomu veya bir $-C(O)$, $-S(O)_n$, $-C(O)NR^4$, $-S(O)_2NR^4$, $-NR^4$ grubunu temsil etmekte,

10



veya $-CR^4R^5-$ 'i temsil etmekte, burada sağlanan X ve Y'nin her ikisi de eş zamanlı olarak bir bağı temsil etmekte ve X ile Y'nin her ikisinin de bir bağdan ayrı olması durumunda X ve

15 Y'den en az biri $-CR^4R^5-$ 'i temsil etmektedir;

n, 0, 1 veya 2 olmakta;

R^4 'ün her biri bağımsız olarak bir hidrojen atomu veya bir C_1-C_6 alkil ya da C_1-C_6 haloalkil grubunu temsil etmekte;

20 R^5 'in her biri bağımsız olarak bir hidrojen atomu, bir C_1-C_6 alkil veya C_1-C_6 haloalkil grubu yada $=CH-$ 'yi temsil etmektedir;

R^3 , bir 3- ila 10-elemanlı doyurulmuş veya doyurulmamış karbosiklik ya da heterosiklik dolam sistemini temsil etmekte, dolam sisteminin kendisi, halojen, hidroksil, siyano, okso, C_1-C_6 alkil, C_2-C_6 alkenil, C_1-C_6 haloalkil, C_1-C_6 hidroksialkil, C_1-C_6 alkoksi, C_1-C_6 haloalkoksi, C_1-C_6 alkiltio, C_1-C_6 alkilsülfinil, C_1-C_6 alkilsülfonil, C_1-C_6 alkilkarbonil, C_1-C_6 alkilkarboniloksi, C_1-C_6 alkoksikarbonil, amino ($-NH_2$), $-CON(R^6)_2$, C_1-C_6 alkilamino, di-
25 (C_1-C_6 alkil)amino, C_3-C_6 sikloalkil, C_3-C_6 sikloalkiloksi, C_3-C_6 sikloalkilmetil, $-[O]_p-(CH_2)_q-O-R^7$ ve bir 4- ila 6-elemanlı doyurulmuş veya doyurulmamış heterosiklik dolamdan (C_1-

C₄ alkil ve C₁-C₄alkoksiden seçilen en az bir ornatık ile opsiyonel olarak ornatılan) seçilen en az bir ornatık ile opsiyonel olarak ornatılmakta;

R⁶ 'nın her biri bağımsız olarak bir hidrojen atomu veya bir C₁-C₆alkil grubu olmakta;

- 5 ataksik bir hastalığın tedavisinde veya önlenmesinde kullanım için, özellikle de bir spinoserebellar ataksik hastalığın tedavisinde veya önlenmesinde kullanım için;

p, 0 veya 1 olmakta;

q 1, 2, 3 veya 4 olmakta ve;

- 10 R⁷, bir C₁-C₆ alkil grubunu temsil etmektedir.

Başka bir yönüyle bu buluş, ataksik bir hastalık riskini azaltmada kullanım için daha önce tanımlandığı gibi Formül (I) 'in bir bileşimini veya bunun farmasötik olarak kabul edilebilir bir tuzunu sağlamaktadır.

15

Formül (I)'in birleşimleri ve bunların farmasötik olarak kabul edilebilir tuzları WO 2013/027000'den bilinmektedir. Formül (I)'in bileşimlerinin, radyo-görüntüleme analizlerinde beynin serebellar bölgesinde yoğunlaştığı ve sonuç olarak etkilerini öncelikle beyincik ve omurilikte gösterdiği bulunmuştur. Bu nedenle formül (I)'in bileşimlerinin ataksik

20 hastalıkların tedavisinde yararlı olma potansiyeli bulunmaktadır.

20

Formül (I)'in bileşimlerinin farmasötikal olarak kabul edilebilir tuzları arasında, inorganik asitler ve organik asitler, örneğin asetat, aspartat, benzoat, besilat, bromür/hidrobromür, bikarbonat/karbonat, bisülfat/sülfat, kamforsülforat ile oluşturulabilen asit ilaveli tuzlar,

25 klorür/hidroklorür, klorteofilonat, sitrat, ethandisülfonat, fumarat, gluseptat, glukonat, glukuronat, hippürat, hidroiyodür/iyodür, isetiyonat, laktat, laktobionat, laurilsülfat, malat, maleat, malonat, mandelat, mesilat, metilsülfat, naftoat, napslat, nikotinat nitrat, oktadekanoat, oleat, oksalat, palmitat, pamoat, fosfat/hidrojen fosfat/dihidrojen fosfat, poligalakturonat, propiyonat, stearat, süksinat, sülfosalisilat, tartrat, tosilat ve trifloroasetat

30 tuzları bulunmaktadır.

30

Bu tarifnamede kullanıldığı haliyle, herhangi bir hastalığın "tedavi edilmesi", "müdahale edilmesi" ya da "tedavisi" terimi, bir uygulamada, hastalığın iyileştirilmesi (örneğin, hastalığın gelişiminin yavaşlatılması ya da durdurulması ya da klinik semptomların en azından bir tanesinin azaltılması) anlamına gelmektedir.

5

Başka bir uygulamada "tedavi etme", "tedavi" veya "iyileştirme", hasta tarafından fark edilemeyenler dahil olmak üzere en az bir fiziksel parametrenin hafifletilmesi veya iyileştirilmesi anlamına gelmektedir.

10 Yine başka bir uygulamada "tedavi etme", "tedavi" veya "iyileştirme", fiziksel olarak (örneğin, ayırt edilebilir bir semptomun stabilizasyonu), fizyolojik olarak (örn., bir fiziksel parametrenin stabilizasyonu) veya her ikisinin birden hem fizyolojik hem de fiziksel olarak iyileştirilmesini ifade etmektedir.

15 Dolayısıyla "tedavi", örneğin, yürüyüş, denge, uzuv koordinasyonu ve/veya konuşmanın iyileştirilmesi dahil olmak üzere, ataksik bir hastalık ile ilişkili semptomlarda bir azalma sağlayabilmekte; veya ataksik hastalığın atakları arasındaki süreyi artırabilmektedir. Bu tarifnamede kullanıldığı haliyle, herhangi bir özel hastalığın "önlenmesi" terimi, bu buluşun bir bileşiminin, bu hastalığın herhangi bir semptomunun ortaya çıkmasından önce bir hastaya
20 uygulanmasını ifade etmektedir.

Burada kullanılan haliyle, bir hasta bu tür bir tedaviden biyolojik olarak, tıbbi olarak fayda sağlaması veya yaşam kalitesini artırmak için fayda sağlaması amacı ile bir tedaviye "ihtiyaç duymaktadır".

25

Mevcut buluşa ait bir bileşimin "terapötik olarak etkili bir miktarı" terimi, bir hastanın biyolojik veya tıbbi yanıtını, örneğin enzim aktivitesinin azaltılmasını veya inhibe edilmesini sağlayacak olan, bu buluşun bileşiminin bir miktarını belirtmekte, bu miktar hastalık semptomlarını hafifletir, koşulları hafifletmekte, bir hastalığın ilerlemesini yavaşlatmakta
30 veya geciktirmekte veya bir rahatsızlığı önlemektedir.

Buluşun bir uygulamasında Formül (I)'in bileşimi aşağıdakilerden seçilmektedir:

- 4-Hidroksi-6-(2-feniletıl)piridazin-3(2H)-bir;
- 5 6-[2-(4-Fluorofenil)etil]-4-hidroksipiridazin-3(2H)-bir;
- 4-Hidroksi-6-{2-[5-(trifluorometil)piridin-2-il]etil}piridazin-3(2H)-bir;
- 6-[(4-Klorobenzil)sulfanil]-4-hidroksipiridazin-3(2H)-bir;
- 4-Hidroksi-6-{2-[6-(trifluorometil)piridin-3-il]etil}piridazin-3(2H)-bir;
- 6-[2-(3-Fluorofenil)etil]-4-hidroksipiridazin-3(2H)-bir;
- 10 6-[2-(2-Fluorofenil)etil]-4-hidroksipiridazin-3(2H)-bir;
- 6-[2-(3,5-Difluorofenil)etil]-4-hidroksipiridazin-3(2H)-bir;
- 6-[2-(3,4-Difluorofenil)etil]-4-hidroksipiridazin-3(2H)-bir;
- 4-Hidroksi-6-{2-[3-(trifluoromethoksi)fenil]etil}piridazin-3(2H)-bir;
- 4-Hidroksi-6-{2-[3-(trifluorometil)fenil]etil}piridazin-3(2H)-bir;
- 15 4-Hidroksi-6-{2-[5-(trifluorometil)piridin-3-il]etil}piridazin-3(2H)-bir;
- 6-(2-Siklohekziletil)-4-hidroksipiridazin-3(2H)-bir;
- 6-(2-Siklopropiletil)-4-hidroksipiridazin-3(2H)-bir;
- 6-(2-Siklopentyletil)-4-hidroksipiridazin-3(2H)-bir;
- 4-Hidroksi-6-[2-(4-methoksisiklohekzil)etil]piridazin-3(2H)-bir;
- 20 6-[2-(2,4-Difluorofenil)etil]-4-hidroksipiridazin-3(2H)-bir;
- 6-{2-[3-(Difluorometil)fenil]etil}-4-hidroksipiridazin-3(2H)-bir;
- 6-Benzil-4-hidroksipiridazin-3 (2H)-bir;
- 6-[2-(3-Klorofenil)etil]-4-hidroksipiridazin-3(2H)-bir;
- 4-Hidroksi-6-(1-fenilsiklopropil)piridazin-3(2H)-bir;
- 25 4-[2-(5-Hidroksi-6-okso-1,6-dihidropiridazin-3-il)etil]benzonitrile;
- 6-[2-(3-Fluoro-4-metilfenil)etil]-4-hidroksipiridazin-3(2H)-bir;
- 6-[2-(4-Fluoro-3-metilfenil)etil]-4-hidroksipiridazin-3(2H)-bir;
- 6-[2-(3,4-Dimethoksifenil)etil]-4-hidroksipiridazin-3(2H)-bir;
- 6-[2-(4-Klorofenil)etil]-4-hidroksipiridazin-3(2H)-bir;
- 30 6-[2-(2-Klorofenil)etil]-4-hidroksipiridazin-3(2H)-bir;
- 4-Hidroksi-6-{2-[2-(trifluorometil)fenil]etil}piridazin-3(2H)-bir;
- 6-(4-(Difluoromethoksi)phenetil)-4-hidroksipiridazin-3(2H)-bir;
- 6-(4-(Trifluoromethoksi)phenetil)-4-hidroksipiridazin-3(2H)-bir;

- 6-(3-(Difluoromethoksi)phenetil)-4-hidroksipiridazin-3(2H)-bir;
 6-[1-(4-Fluorofenil)siklopropil]-4-hidroksipiridazin-3(2H)-bir;
 6-[1-(4-Fluorofenil)etil]-4-hidroksipiridazin-3(2H)-bir;
 4-Hidroksi-6-{1-[3-(trifluorometil)fenil]etil}piridazin-3(2H)-bir;
 5 4-Hidroksi-6-{2-[4-(trifluorometil)fenil]etil}piridazin-3(2H)-bir;
 6-((Siklopropilmetil)(metil)amino)-4-hidroksipiridazin-3(2H)-bir;
 6-((Sikloheksilmetil)(metil)amino)-4-hidroksipiridazin-3(2H)-bir;
 6-(3-Klorobenzil)-4-hidroksipiridazin-3(2H)-bir;
 6-(4-Klorobenzil)-4-hidroksipiridazin-3 (2H)-bir;
 10 6-(Sikloheksilmetil)-4-hidroksipiridazin-3(2H)-bir;
 6-(4-Fluorobenzil)-4-hidroksipiridazin-3(2H)-bir;
 6-(2-Kloro-6-fluorobenzil)-4-hidroksipiridazin-3 (2H)-bir;
 6-(2-Klorobenzil)-4-hidroksipiridazin-3(2H)-bir;
 6-(3-Fluorobenzil)-4-hidroksipiridazin-3(2H)-bir;
 15 6-(2-Fluorobenzil)-4-hidroksipiridazin-3(2H)-bir;
 6-(4-Metilbenzil)-4-hidroksipiridazin-3(2H)-bir;
 6-(3-Metilbenzil)-4-hidroksipiridazin-3(2H)-bir;
 4-Hidroksi-6-(3-(trifluorometil)benzil)piridazin-3(2H)-bir;
 4-Hidroksi-6-[2-(oksan-4-il)etil]piridazin-3(2H)-bir;
 20 6-{[(4-Fluorofenil)metil](metil)amino}-4-hidroksi-piridazin-3(2H)-bir;
 6-[2-(2,6-Difluorofenil)etil]-4-hidroksi-piridazin-3(2H)-bir;
 6-[2-(2-Kloro-6-fluorofenil)etil]-4-hidroksi-piridazin-3(2H)-bir;
 6-{[3,5-bis(Trifluorometil)fenil]metil}-4-hidroksipiridazin-3(2H)-bir;
 6-(1-Feniletil)-4-hidroksipiridazin-3(2H)-bir;
 25 6-(Siklopropilmetil)-4-hidroksi-2,3-dihidropiridazin-3-bir;
 4-Hidroksi-6-{1-[4-(trifluorometil)fenil]siklopropil}-2,3-dihidropiridazin-3-bir;
 6-{2-[2-Kloro-4-(trifluorometil)fenil]etil}-4-hidroksi-2,3-dihidropiridazin-3-bir;
 6-{2-[2-Fluoro-4-(trifluorometil)fenil]etil}-4-hidroksi-2,3-dihidropiridazin-3-bir;
 6-{2-[3,5-bis(Trifluorometil)fenil]etil}-4-hidroksi-2,3-dihidropiridazin-3-bir;
 30 6-{2-[2,4-bis(Trifluorometil)fenil]etil}-4-hidroksi-2,3-dihidro-piridazin-3-bir;
 6-{2-[3,4-bis(Trifluorometil)fenil]etil}-4-hidroksi-2,3-dihidropiridazin-3-bir;
 4-Hidroksi-6-(3-metil-4-(trifluorometil)phenetil)piridazin-3(2H)-bir;
 4-Hidroksi-6-{2-[2-metil-4-(trifluorometil)fenil]etil}-2,3-dihidropiridazin-3-bir;

6-{2-[3,5-Difluoro-4-(trifluorometil)fenil]etil}-4-hidroksi-2,3-dihidropiridazin-3-bir; ve
6-{2-[3-Fluoro-4-(trifluorometil)fenil]etil}-4-hidroksi-2,3-dihidropiridazin-3-bir.

5 Buluşun bir diğer uygulamasında Formül (I)'in bileşimi aşağıdakilerden seçilmektedir:

6-[2-(4-Fluorofenil)etil]-4-hidroksipiridazin-3(2H)-bir;
4-Hidroksi-6-{2-[4-(trifluorometil)fenil]etil}piridazin-3(2H)-bir;
6-(4-Klorobenzil)-4-hidroksipiridazin-3(2H)-bir; ve
6-(2-Fluorobenzil)-4-hidroksipiridazin-3(2H)-bir.

10

Formül (I)'in bileşimleri ve bunların farmasötikal olarak kabul edilebilir tuzları tek başlarına kullanılabilmekte, ancak genellikle formül (I)'in bileşiminin/tuzunun (aktif bileşen) bir arada olduğu farmasötikal bir bileşim şeklinde uygulanmakta, farmasötik olarak kabul edilebilir bir adjuvan, seyreltici veya taşıyıcı ile birlikte kullanılabilmektedir.

15

Bu nedenle, başka bir kullanım alanı ile bu buluş, burada daha önce ifade edildiği üzere, ataksik bir hastalığın tedavisinde veya önlenmesinde kullanım için farmasötikal olarak kabul edilebilir adjuvan, seyreltici veya taşıyıcı ile ilişkili olan Formül (I)'in bir bileşimi veya bunun farmasötikal olarak kabul edilebilir bir tuzunu içeren farmasötikal bir kompozisyonu sağlamaktadır.

20

Hali hazırda başka bir kullanım alanında mevcut buluş, burada daha önce tanımlandığı üzere, ataksik bir hastalığın riskini azaltmak için kullanılan farmasötikal olarak kabul edilebilir bir adjuvan, seyreltici veya taşıyıcı ile ilişkili olan Formül (I)'in bir bileşimi veya bunun farmasötikal olarak kabul edilebilir bir tuzunu içeren farmasötikal bir kompozisyonu sağlamaktadır.

25

Buluşun bileşimleri (formül (I)'in bileşimleri ve bunların farmasötikal olarak kabul edilebilir tuzları), ayrıca ataksik bir hastalık önleme veya tedavisi için kullanılan diğer bileşimlerle birlikte de uygulanabilmektedir.

30

Mevcut buluşu bu nedenle ayrıca buluşun bir bileşiminin veya ataksik bir hastalığın önlenmesi veya tedavi edilmesi için ajanlar veya diğer terapötik ajanlar ile birlikte uygulanan buluşun bir bileşimini ihtiva eden farmasötikal bir kompozisyonun tedavi amacı ile kombine edilmesi ile de ilişkili olmaktadır.

5

Bu terapötik maddeler, D-serin, D-serin etil ester, D-sikloserin, amantadin veya amantadin hidroklorür ("Symmetrel"), buspiron ("Buspar"), asetazolamid ("Diamox"), topiramet ("Topamax"), divalproeks sodyum ("Depakote"), L-dopa ("Sinemet"), propranolol ("Inderal"), primidon ("Mysoline"), klonazepam ("Klonopin"), levetirasetam ("Keppra"), karbamazepin ("Tegretol"), gabapentin ("Neurontin"), baklofen ("Lioresal"), ondansetron ("Zofran"), tizanidin ("Zanaflex") ve pramipeksol ("Mirapex") arasından seçilebilmektedir.

10

Kombinasyon terapisi, buluşun bir bileşiminin ve bir veya daha fazla başka terapötik maddenin sabit bir doz kombinasyonunu içerebilmektedir. Alternatif olarak kombinasyon terapisi, buluşun bir bileşimi olan bir ilk aktif terkip maddesinin bir preparasyonunu ve bir hastaya eş zamanlı, sıralı veya ayrı bir uygulama için ikinci bir aktif bileşenin (örneğin daha önce tarif edildiği gibi bir terapötik madde) hazırlanmasını içerebilmektedir.

15

Buluşa göre farmasötik kompozisyonlar ve kombinasyonlar, sistemik olarak, örn. tabletler, kapsüller, şuruplar, tozlar veya granüller formunda oral yoldan uygulama; veya steril bir çözelti formunda parenteral uygulama, süspansiyon için süspansiyon veya emülsiyon (intravenöz, subkutan, intramüsküler, intravasküler veya infüzyon dahil); ya da fitiller biçiminde rektal uygulama ile sunulabilmektedir.

20

Tercihen farmasötikal bileşimler ve kombinasyonlar, tabletler, haplar ve kapsüller gibi birim dozaj formlarında olmaktadır.

25

Tabletler gibi prepadolam katı bileşimler için, buluşun bir bileşimi, bir farmasötik taşıyıcı ile, örn. mısır nişastası, laktoz, sükroz, sorbitol, talk, stearik asit, magnezyum stearat, dikalsiyum fosfat veya zamklar ve diğer farmasötik seyrelticiler gibi geleneksel tabletleme maddeleri ve örn. buluşun bileşiminin homojen bir karışımını içeren katı bir ön formülasyon bileşimi oluşturmak için su ile karıştırılabilmektedir. Bu ön formülasyon kompozisyonu homojen olarak uygulandığı zaman, buluşun bileşiminin (ana aktif bileşen) kompozisyon boyunca

30

tabletler, haplar ve kapsüllerde eşit bir şekilde dağıldığı, böylece bileşimin, örneğin, eşit derecede etkili birim dozaj formlarına kolaylıkla ayrılabilceği anlamına gelmektedir. Bu katı ön formülasyon bileşimi daha sonra, yukarıda tarif edilen ve buluşun bileşiminin 0.1 ila yaklaşık 500 mg'ını ihtiva eden tipte birim dozaj formlarına bölünmektedir. Tabletler veya haplar, teknikte bilinen yöntemlere göre film kaplı veya enterik kaplı olabilmektedir.

Buluşa ait farmasötikal kompozisyonlar, oral uygulama için sıvı formda sulu çözeltileri, uygun aromalı şurupları, sulu veya yağlı süspansiyonları ve pamuk yağı, susam yağı, hindistancevizi yağı, yerfıstığı yağı veya soya fasulyesi yağı gibi yenebilir yağlar ile aromalı emülsiyonları içermektedir. Sulu süspansiyonlar için uygun dağıtıcı veya süspanse edici ajanlar arasında tragakant, akasya, aljinat, dekstran, sodyum karboksimetilselüloz, metilselüloz, polivinil-pirrolidon veya jelatin gibi sentetik ve doğal zamlar bulunmaktadır.

Uygun farmasötik formülasyonların seçimi ve hazırlanması için geleneksel prosedürler, örneğin, "Farmasötikler - Dozaj Form Tasarımının Bilimi", M. E. Aulton, Churchill Livingstone, 1988'de tarif edilmektedir.

Anlaşılabacağı üzere, buluşun bileşiminin miktarları ve eğer varsa, bir veya daha fazla başka bir terapötik ajanın gerekli olan bir veya daha fazla başka bir terapötik ajana ihtiyaç duyması, sadece bu buluşun özel bileşimi veya başka terapötik ajan(lar) ile değişmekte, aynı zamanda uygulama yolu, tedavi edilen durumun doğası ve hastanın yaşı ve durumu ile birlikte seçilmekte ve sonuçta hastanın doktoru veya eczacının takdirine bağlı olmaktadır. Oral olarak uygulandığında, buluşun bileşiminin günlük dozajı, vücut ağırlığının kilogramı başına 0.01 mikrogram ($\mu\text{g/kg}$) ila kilogram vücut ağırlığı başına 100 miligram (mg/kg) arasında olabilmektedir.

Mevcut buluş, şimdi aşağıda yer alan açıklayıcı örneklere referansla daha detaylı bir şekilde açıklanacaktır.

Örnek 1

Dengeli Yürüyüş Testi

Friedreich ataksi (FRDA), FXN geninin intron 1'inde GAA tekrar genişleme mutasyonunun neden olduğu, frataksin proteininin azalmış seviyesine yol açan otozomal resesif bir nörodejeneratif bozukluktur. Normal bireyler 5 ila 40 GAA tekrar dizilerine sahip olmakta, buna karşın hastalıktan etkilenen bireyler yaklaşık 70 ila 1000 GAA tekrar dizisinden daha fazlasına maruz kalmaktadır. Frataksin, demir-kükürt kümelenmesi ve heme biyosentezinde rol oynayan bir mitokondriyal proteindir. Frataksin ekspresyonundaki azalma oksidatif strese, mitokondriyal demir birikimine ve sonuçta hücre ölümüne, esas olarak dorsal kök gangliyonlarının nöronlarına ve serebellumun dentat çekirdeğine yol açmaktadır. Beyaz ırkı 1: 50,000 oranında etkileyen en yaygın kalıtsal ataksi olan FRDA, nörodejenerasyon, kardiyomiyopati, diabetes mellitus ve iskelet deformiteleri ile karakterize edilmektedir (Pandolfo M., "Friedreich Ataksi", Arch Neurol., 2008, 10, 1296-1303).

15

Hayvan Modeli

FRDA moleküler hastalık mekanizmalarını ve terapisini araştırmak için, bir insan FXN YAC transgenik fare modeli kurulmuş: YG8sR, 120 ila 220 GAA tekrar dizileri içerecek şekilde YG8R'den yetiştirilmiştir (Anjomani Virmouni, S., ", " Friedreich ataksi'nin YAC transgenik fare modellerinin hücresel, moleküler ve fonksiyonel karakterizasyonu", "PLoS One, 2014, 9, 1-13).

YG8R fare çizgisinde FXN transgen kopya sayısını belirlemek için bir TaqMan qPCR tahlilinin kullanılması, YG8R hattının FXN transgenin iki kopyasına sahip olduğunu göstermiştir. YG8sR fare çizgisi, FXN transgeninin bir kopyasından daha az bir kopyasını göstermiş, bu da FXN transgenin bir kopyasının potansiyel olarak silinmesini dikkate değer hale getirmiştir. Tüm transgenlerin tek entegrasyon bölgeleri, metafaz ve interfaz kromozomlarının floresan in situ hibridizasyon (FISH) analizi ile doğrulanmıştır (bkz. Anjomani Virmouni, S., 2013, Brunel Üniversitesi Sağlık Bilimleri ve Sosyal Bakım Doktora Tezi, Genotip ve Friedreich'in fenotip karakterizasyonu ataksi fare modelleri ve hücreleri", <http://bura.brunel.ac.uk/handle/2438/7831>)

30

Metot

Erkek ve dişi fareler kullanılmış ve test sırasında bu fareler 4-5 aylık olmuştur. Dengeli yürüme testi, 90 cm uzunluğunda, 22 mm çapında, ahşap kiriş kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Kiriş, tezgah yüzeyinin 50 cm uzağında, bir ucu 60 W'lık bir lamba ile dar bir destek üzerine monte edilmiş iken, kirişin diğer ucunda koyu renkli bir kaçış kutusu yerleştirilmiştir. Koordinasyon kabiliyeti, farelerin ışınları geçmesi ve kaçış kutusuna girmesi için geçen süreleri kapsayacak şekilde ölçülmüştür. Fareler, iki başlangıç eğitim seansı almış ve daha sonra, kiriş üzerinde dengeli yürüme kabiliyetleri dört kez değerlendirilmiştir (Test 1). Farelerin ışıktan geçerken gecikme süreleri kaydedilmiştir. Farelere daha sonra araçla oral yoldan uygulama sağlanmıştır (aköz %1 poloksietilenilsorbitan monooleat (ticari olarak "Tween 80" ticari markası altında satılan)/10mL/kg'lık bir doz hacminde %0.5 metil selüloz veya Formül (I)'in bir DAAO inhibitörü ile uygulama gerçekleştirilmiş), yukarıdaki bir bileşimde (yukarıdaki uygulamada askıya alınmış olan 0.3, 1.0 veya 3.0 mg/kg'lık bir dozda ve 10 mL/kg'lık bir doz hacminde) uygulama sağlanmış ve fareler kafeslerine geri döndürülmüştür. Beş saat sonra fareler ışın demeti üzerinde dengeli şekilde yürüme kabiliyetlerine göre dört kez daha değerlendirilmiş ve ışın demetinden geçme gecikmeleri kaydedilmiştir (Test 2).

Dört grubun her birinde teste tabi tutulan on fare bulunmaktadır:

20

Grup A, araç ile tek uygulama gerçekleştirilmiş ve kontrol grubunu temsil etmiştir.

Grup B, 0.3 mg/kg'lık bir dozda DAAO inhibitörü uygulanmıştır.

Grup C, 1.0 mg/kg'lık bir dozda DAAO inhibitörü uygulanmıştır.

Grup D, 3.0 mg/kg'lık bir dozda DAAO inhibitörü uygulanmıştır.

25

30

Elde edilen sonuçlar aşağıda yer alan Tablo 1’de gösterilmektedir:

Tablo 1

Test No.	Çapraz ışıında ortalama gecikme (saniyeler)			
	Grup A	Grup B	Grup C	Grup D
1	5.7	6.1	5.5	6.9
2	5.4	5.1	4.6	4.5

5

Sonuçların istatistiksel bir analizi, tek başına araçla tedavi edilen farelere kıyasla 3 mg/kg'lık Formül (I)’in DAAO inhibitörü ile tedavi edilen farelerin performansında önemli bir iyileşme göstermiştir ($p < 0.05$).

Örnek 2

10 Gecikmiş Göz Kırpma Koşullandırma Testi

Göz kırpma koşullandırması (EBC), öğrenme ve hafızanın altında yatan nöral yapıları ve mekanizmaları incelemek için yaygın olarak kullanılan bir klasik koşullandırma şeklidir. Prosedür, örneğin, aşağıda açıklandığı gibi, paidolamın bir işitsel veya görsel uyarandan (koşullu uyarıcı (CS)) bir göz temasıyla uyarılmamış uyarıcı (US) (örneğin, korneaya veya hafif bir şoka doğru hafif bir nefes) oluşturmayı kapsamaktadır, örneğin, Weeks A. ve ark., "Göz kırpma klasik koşullandırmanın, tavşan serebellumunun interpositus çekirdeği üzerinde sinaptik ultra yapısındaki değişikliklerle ilişkilidir", *Öğrenme & Hafıza*, 2007, 14, 385-389.

Teste tabi tutulmamış hayvanlar başlangıçta US başlangıcını izleyen bir refleksif, koşulsuz yanıt (UR) (örneğin, göz kırpma veya ince-membranın uzantısı) oluşturmaktadır. Birçok CS-US paidolamından sonra, öğrenilen bir göz kırpma ya da koşullu yanıt (CR), US başlangıcından önce ortaya çıkmaktadır.

Gecikme ve iz olmak üzere iki deneysel EBC prosedürü bulunmaktadır. Gecikmede EBC (dEBC), CS başlangıcı US başlangıcından önce gelmekte ve iki uyarıcı örtüşmekte ve birlikte sona ermektedir. EBC (tEBC) izlemesinde, CS US’dan önce gelmekte ve CS ofseti ile US

başlangıcı arasında bir uyarın içermeyen periyod (iz aralığı) bulunmaktadır. Bu prosedürlerin her ikisi de beyincik için, iz prosedürü aynı zamanda hipokampusu gerektirmektedir (bakınız, örneğin, Takehara, K., "İz göz bağı koşullandırmada bellek tutulumunun altında yatan beyin bileşenlerinin zamana bağlı yeniden düzenlenmesi", J. Neurosci., 2003, 23, 9896-9905 ve Squire, LR, "Medial temporal lob", Annu. Rev. Neurosci., 2004, 27, 279-306).

EBC'de serebellumun rolüne ilişkin ilk kanıt McCormick, D.A. ve arkadaşları, "Cerebellum: klasik olarak koşullandırılmış göz kapağı tepkisinde esas tutulum", Science, 1984, 223, 296-299. Hem korteks hem de derin nukleus içeren tek taraflı serebellar lezyonun, KR'leri kalıcı olarak yok ettiğini bulmuşlardır.

Koşullu göz kapağı yanıtı öğrenme bozukluğu, spinoserebellar ataksi tipi 6 (SCA6), tip 3 (SCA3), ve Friedreich ataksisi (FRDA) (bakınız Timmann, D., "Kalıtsal ataksisi olan hastalarda göz kırpmaya koşullandırması: bir yıllık çalışma takibi", Exp Brain Res, 2005, 162(3), 332-45) kapsayan dejeneratif serebellar hastalıklardan mustarip hastalarındaki çoklu periyodları bulmak için stabil olmaktadır.

dEBC Metodu

Üç aylık erkek C57B16 fareleri, *orbicularis oculi* kasında kayıt elektrotları ve supraorbital sinir üzerinde uyarıcı elektrotlarla implante edilmiştir. Klasik koşullandırma için hayvanlar, koşulsuz uyarın (US) olarak supraorbital sinirde elektriksel bir nabız attığında, bitişik bir uyarın (CS) olarak 350-ms'lik bir ton ile sunulmuştur. Klasik koşullandırma bir gecikme paradigması kullanılarak elde edilmiştir. Bunun için bir ton (350 ms, 2 kHz, 85-90 dB) CS olarak sunulmuştur. US, 1 milisaniye arası darbeleri aralıklı eşleştirilmiş bir darbeden oluşmuştur. Her darbe 0.1 milisaniye sürmüştür. US, CS'nin sonunda sunulmuştur. Her bir hayvan için toplam iki alışkanlık, on koşullanma ve beş yok olma seansı gerçekleştirilmiştir. Bu yöntemin diğer ayrıntıları Gruart A., "Farelerde davranmaya yönelik birleştirici öğrenmenin elde edilmesinde CA3-CA1 sinapsunun katılımı" makalesinde bulunabilecektir, J. Neurosci., 2006, 26, 1077-1087.

Buluşa ait bir DAAO inhibitör bileşiminin birleştirici öğrenme üzerindeki etkileri, farklı kontrol ve skopolamin uygulanan gruplar ile karşılaştırılmıştır. Skopolamin, sürekli olarak kemirgenlerde öğrenme bozukluğu üreten bir seçici olmayan muskarinik reseptör antagonisti

olmaktadır (bkz. Klinkenberg, A., "Kognitif bozukluk için bir farmakolojik model olarak skopolaminin geçerliliği: Hayvan davranışsal çalışmalarının gözden geçirilmesi" Nörobilim ve Biyolojik Davranışlar, 2010, 34, 1307-1350.

- 5 Her biri 14 fare bulunduran tedavi edilmemiş kontrol Grubu için her biri 15 fare bulunduran dokuz grup test edilmiştir:

Grup A, Araç 1 ile oral uygulama gerçekleştirilmiştir (%0.5'lik metil selülozun aköz solüsyonu);

- 10 **Grup B**, 0.1 mg/kg'lık bir dozda bulunan (Solüsyon 1) Araç 1'de formülün (I) bir DAAO inhibitörünün bir solüsyonu ile uygulama oral olarak gerçekleştirilmiştir;

Grup C, 0.1 mg/kg'lık bir dozda bulunan (Solüsyon 2) Araç 1'de formülün (I) bir DAAO inhibitörünün (Grup B için olan ile aynı) bir solüsyonu ile uygulama oral olarak gerçekleştirilmiştir;

- 15 **Grup D**, Araç 2 (su ile damıtılmış) ile uygulama deri altına uygulanmıştır;

Grup E, 0.3 mg/kg'lık bir dozda (solüsyon 3) bulunan Araç 2'deki skopolaminin bir solüsyonu deri altına uygulanmıştır;

Grup F, Solüsyon 3 ile deri altına ve Solüsyon 1 ile oral uygulama gerçekleştirilmiştir;

Grup G, Solüsyon 3 ile deri altına ve Solüsyon 2 ile oral uygulama gerçekleştirilmiştir;

- 20 **Grup H**, Araç 2 ile deri altına ve Araç 1 ile oral uygulama ile uygulanmıştır;

Grup I, tedavi edilmemiş kontrol Grubu olmuştur.

Elde edilen sonuçlar aşağıda yer alan Tablo 2'de gösterilmektedir:

Tablo 2

Koşulla	Yanıtların	Araç	Koşullu Yanıtların Araç Yüzdeleri (%)															
Yüzdesi (%)																		
			Alıştırma		Koşullandırma								Sonlandırma					
A		24.14 21.94	37.16	47.00	59.78	58.89	59.67	65.67	67.89	70.92	74.33	73.79	60.09	56.43	52.76	50.33	45.33	
B		27.56 24.89	42.60	51.78	57.89	63.11	65.56	66.00	68.89	68.89	76.78	77.74	65.50	54.22	51.60	50.00	48.67	
C		19.66 26.22	48.44	59.56	65.22	71.00	74.67	73.44	76.00	75.78	80.33	79.20	63.11	58.33	52.22	46.78	46.89	
D		23.33 24.22	39.33	49.11	59.67	61.00	61.44	66.56	72.14	75.44	75.78	76.22	64.78	54.33	52.56	49.44	49.33	
E		26.44 27.44	37.67	40.33	43.78	43.33	45.67	45.98	48.78	51.56	51.33	52.56	51.22	45.78	43.78	42.00	43.22	
F		24.66 32.22	42.22	45.11	51.22	52.89	54.89	55.00	57.67	58.67	57.89	58.22	49.56	45.11	45.33	44.00	40.11	
G		26.00 25.67	47.78	51.33	58.89	61.11	60.11	67.74	73.11	72.89	71.22	76.11	61.33	54.56	49.78	44.33	43.18	
H		25.22 29.44	43.33	51.11	60.33	61.67	64.00	70.44	74.11	76.33	78.67	81.44	62.33	59.11	52.44	50.22	46.56	
I		26.67 25.60	44.29	50.12	61.94	65.00	64.05	70.55	77.46	77.14	81.43	82.50	67.02	57.98	53.69	49.64	47.98	

Tablo 2'deki veriler, formül (I)'e ait DAAO inhibitör bileşiminin, 1 mg/kg'lık bir dozda (Grup C) verilmesinin, tedavi edilmemiş ve araçla tedavi edilen kontrol gruplarına (Grup A, D H ve I) göre koşullandırılmış göz kapağı tepkisi edinme oranını geliştirdiğini göstermektedir.

- 5 Ayrıca, formül (I)'in DAAO inhibitörünün 1 mg/kg'lık bir dozda uygulanması, skopolamin (0.3 mg/kg) uygulamasının şartlandırılmış göz kapağı tepkilerinin yaratılması üzerindeki etkilerini önemli ölçüde tersine çevirmiştir (örneğin E ve G gruplarını karşılaştıran, örneğin Grup I).

10

15