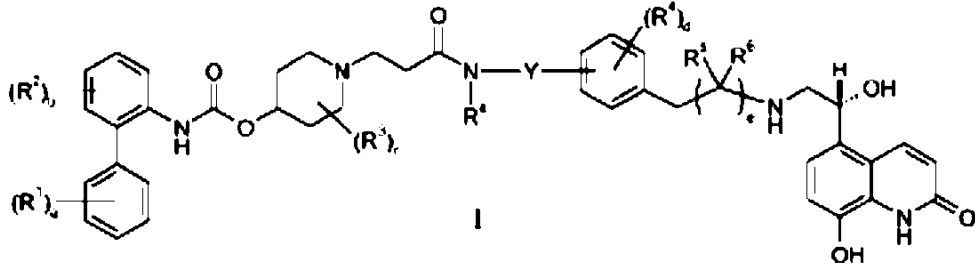


ÖZET

MUSKARİNİK RESEPTÖR ANTAGONİSTİ VE BETA 2 ADRENERJİK RESEPTÖR AGONİSTİ AKTİVİTESİNE SAHİP DİAMİD BİLEŞİKLERİ

5

Bu buluş, formül I'e ait bir bileşik:



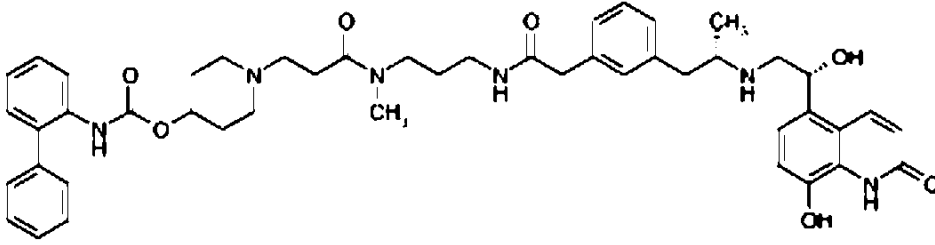
10

veya bunun farmasötik olarak kabul edilebilir bir tuzu ile ilgilidir. Bu tür bileşikler, hem muskarinik reseptör antagonisti hem de β_2 adrenerjik reseptör agonisti aktivitelere sahiptir. Buluş ayrıca bu tür bileşikler içeren farmasötik kompozisyonlar, bu tür bileşiklerin hazırlanmasına yönelik prosesler ve ara maddeler ve bu tür bileşiklerin pulmoner bozuklukları tedavi etmek için bronkodilator edici ajanlar olarak kullanılmasına yönelik yöntemler ile de ilgilidir.

İSTEMLER

1. Şunlardan seçilen bir bileşik:

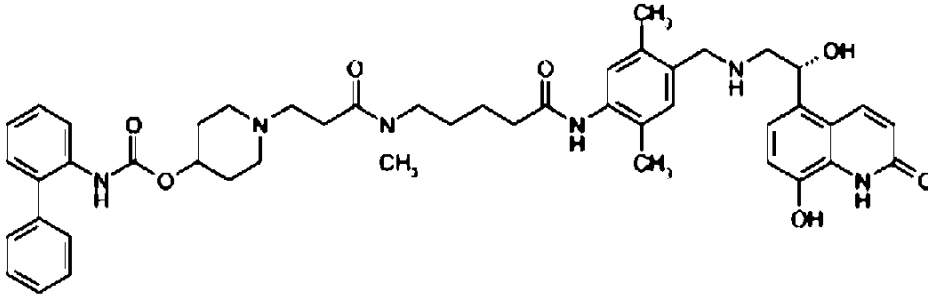
- (a) şu formüle ait bifenil-2-ilkarbamik asit 1-[2-(3-[2-(3-((S)-2-[(R)-
2-hidroksi-2-(8-hidroksi-2-okso-1,2-dihidrokinolin-5-
5 il)etilamino]propil}fenil)asetilamino]propil}metil-
karbamoil)etil]piperidin-4-il ester:



10

veya bunun farmasötik olarak kabul edilebilir bir tuzu;

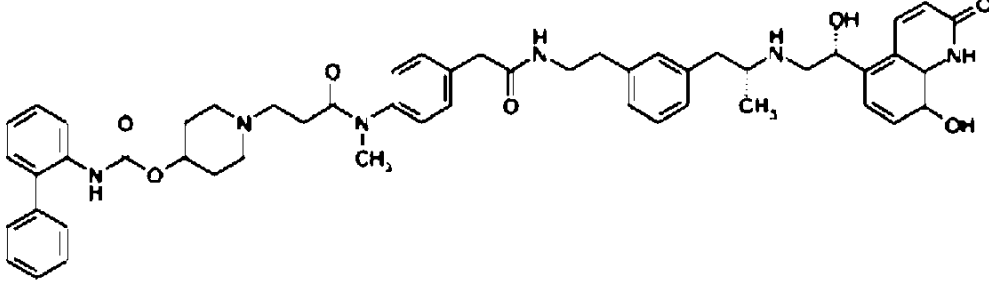
- (b) şu formüle ait bifenil-2-ilkarbamik asit 1-(2-{[4-(4-[(R)-2-
hidroksi-2-(8-hidroksi-2-okso-1,2-dihidrokinolin-5-
il)etilamino]metil}-2,5-dimetilfenilkarbamoil)butil]metil-
15 karbamoil}etil]piperidin-4-il ester:



veya bunun farmasötik olarak kabul edilebilir bir tuzu; ve

- (c) şu formüle ait bifenil-2-ilkarbamik asit 1-{2-[(4-{[2-(3-((R)-2-
20 [(R)-2-hidroksi-2-(8-hidroksi-2-okso-1,2-dihidrokinolin-5-

il)etilamino]propil}fenil)etilkarbamoil]metil}fenil)-
metilkarbamoil]etil}piperidin-4-il ester:



5

veya bunun farmasötik açıdan edilebilir bir tuzu.

2. İstem 1'e ait bileşik olup, burada bileşik, bifenil-2-ilkarbamik asit
1-[2-({3-[2-(3-{(S)-2-[(R)-2-hidroksi-2-(8-hidroksi-2-okso-1,2-
10 dihidrokinolin-5-il)etilamino]propil}fenil)asetilamino]-
propil}metilkarbamoil)-etil]piperidin-4-il ester veya bunun farmasötik
olarak kabul edilebilir bir tuzudur.

3. İstem 1'e ait bileşik olup, burada bileşik, bifenil-2-ilkarbamik asit
15 1-(2-{[4-(4-{[(R)-2-hidroksi-2-(8-hidroksi-2-okso-1,2-dihidrokinolin-
5-il)etilamino]metil}-2,5-
dimetilfenilkarbamoil)butil]metilkarbamoil}etil)-piperidin-4-il ester
veya farmasötik olarak kabul edilebilir bir tuzudur.

20 4. İstem 1'e ait bileşik olup, burada bileşik, bifenil-2-ilkarbamik asit
1-{2-[4-{[2-(3-{(R)-2-[(R)-2-hidroksi-2-(8-hidroksi-2-okso-1,2-
dihidrokinolin-5-il)etilamino]propil}fenil)etilkarbamoil]metil}fenil)-
metilkarbamoil]etil}piperidin-4-il ester veya bunun farmasötik olarak
kabul edilebilir bir tuzudur.

5. İstem 1-4'ten herhangi birine ait bir bileşik veya bunun farmasötik olarak kabul edilebilir bir tuzunu ve farmasötik olarak kabul edilebilir bir taşıyıcı içeren bir farmasötik kompozisyon.
- 5 6. İstem 5'e ait farmasötik kompozisyon olup, burada kompozisyon, başka bir terapötik ajan içerir.
7. İstem 6'ya ait farmasötik kompozisyon olup, burada terapötik ajan, bir steroidal anti-enflamatuar ajan veya bunun farmasötik olarak kabul edilebilir bir tuzu veya solvattır.
- 10 8. İstem 6'ya ait farmasötik kompozisyon olup, burada, steroidal anti-enflamatuar ajan, bir kortikosteroid veya bunun farmasötik olarak kabul edilebilir bir tuzu veya solvattır.
- 15 9. Terapide kullanım amaçlı İstem 1-4'ten herhangi birine ait bir bileşik.
10. Bir pulmoner bozukluğun tedavisinde kullanım amaçlı İstem 1-4'ten herhangi birine ait bir bileşik.
- 20 11. İstem 10'a ait bir bileşik olup, burada pulmoner bozukluk, kronik obstrüktif pulmoner hastalık veya astımdır.
- 25 12. İstem 1-4'ten herhangi birine ait bir bileşiğin, bir ilaç üretiminde kullanımı.

13. İstem 1-4'ten herhangi birine ait bir bileşğin, bir pulmoner bozukluğun tedavisine yönelik bir ilaç üretiminde kullanımı.

14. İstem 13'e ait kullanım olup, burada pulmoner bozukluk, kronik
5 obstrüktif pulmoner hastalık veya astımdır.

10

15

20

25

25256

TARİFNAME

5 **MUSKARİNİK RESEPTÖR ANTAGONİSTİ VE BETA 2**
ADRENERJİK RESEPTÖR AGONİSTİ AKTİVİTESİNE
SAHİP DİAMİD BİLEŞİKLERİ

BULUŞUN ALT YAPISI

10 **Buluşun Alanı**

Bu buluş, muskarinik reseptör antagonisti ve β_2 adrenerjik reseptör agonisti aktivitesine sahip yeni diamid bileşikleri ile ilgilidir. Buluş ayrıca bu tür bileşikleri içeren farmasötik kompozisyonlar ve bu tür
15 bileşiklerin pulmoner bozuklukları tedavi etmek için bronkodilate edici ajanlar olarak kullanılması ile de ilgilidir.

Tekniğin Bilinen Durumu

20 Pulmoner bozukluklar, örn., kronik obstrüktif pulmoner hastalık(COPD) ve astım yaygın şekilde bronkodilatörler ile tedavi edilir. Bakınız örneğinZiedalski ve arkadaşları, Advances in the Management of Chronic Obstructive Pulmonary Disease, Expert Opin. Pharmacother., (2003) 4(7), 1063-1082; Tashkin ve arkadaşları,
25 The Role of Long-Acting Bronchodilators in the Management of Stable COPD, Chest, 2004: 125; 249-259; ve Donohue, Therapeutic Responses in Asthma and COPD: Bronchodilators, Chest, 2004: 126;

125-137. Bu tür bronkodilatörler tipik olarak elle tutulan bir inhaler aleti kullanmak suretiyle inhalasyon yoluyla uygulanır.

Yaygın şekilde kullanılan bronkodilate edici ajanlar tipik olarak muskarinik reseptör antagonisti aktivitesine (yani antikolinerjik ajanlar) veya β_2 adrenerjik reseptör (adrenoseptör) agonisti aktivitesine sahiptir. Daha yakın zamanlarda aynı molekül içerisinde hem muskarinik reseptör antagonisti hem de β_2 adrenerjik reseptör agonisti (MABA) aktivitelerini taşıyan bileşikler bildirilmiştir. 5
10 Örneğin 28 Kasım 2006 tarihinde çıkarılmış ABD Patenti No. 7,141,671, hem muskarinik reseptör antagonisti hem de β_2 adrenerjik reseptör agonisti aktivitelerine sahip bifenil bileşiklerini açıklar.

US 7 141 671 B2, hem β_2 adrenerjik reseptör aktivitesi hem de muskarinik reseptör aktivitesi taşıyan bifenil türevlerini ve bu tür bileşiklerin, pulmoner bozuklukların tedavisinde kullanımını tarif eder. 15

WO 2006/023454 A2 and US 2006/035931 A1, bir bifenil bileşiğinin, pulmoner bozuklukların tedavisinde terapötik ajanlar olarak faydalı kristal 1,2-etandisülfonik asit tuzlarını açıklar. 20

WO 2007/090859, bir bifenil bileşiğinin, pulmoner bozuklukların tedavisinde bir terapötik ajan olarak faydalı bir sukinik asit tuzunu açıklar. 25

Çift etkili MABA bileşiklerinin, pulmoner bozuklukların tedavisinde özellikle faydalı olması beklenir çünkü bu tür bileşikler, tek bir

terapötik ajan olarak formüle edilebilir ve uygulanabilir ve uygulaması üzerine bunlar, iki farklı ve muhtemelen sinerjistik etki moduyla bronkodilasyon sağlar. Ek olarak MABA bileşikleri, bir anti-enflamatuar ajan, örn., solumalı kortikosteroid (ICS) ile birleştirilerek tek bir inhaler içinde sadece iki terapötik ajan (MABA+ICS) kullanmak suretiyle üçlü terapi sağlama potansiyeline de sahiptir.

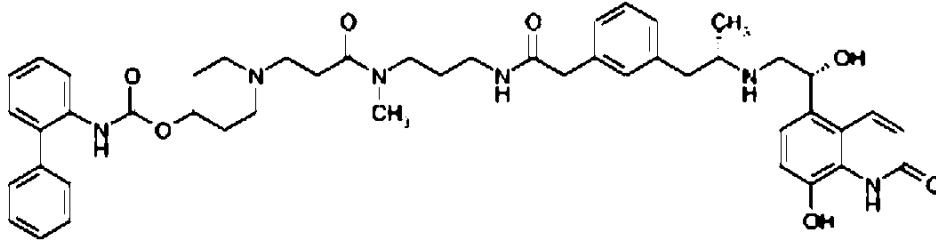
Bu yüzden yeni MABA bileşiklerine ihtiyaç vardır. Özellikle hem bir muskarinik reseptör antagonisti hem de bir β_2 adrenerjik reseptör agonisti olarak yüksek düzeyde etkili olan yeni MABA bileşiklerine bir ihtiyaç söz konusudur. Ek olarak uzun bir etki süresine sahip MABA bileşikleri, yani inhalasyon yoluyla uygulandıktan sonra en azından yaklaşık 24 saat süreyle anlamlı bronkodilasyon sağlayan bileşikler, bir bronkodilate edici ajanın günde bir kez uygulanmasının arzu edildiği belirli pulmoner bozuklukların tedavisinde özellikle faydalı olabilir.

BULUŞUN ÖZETİ

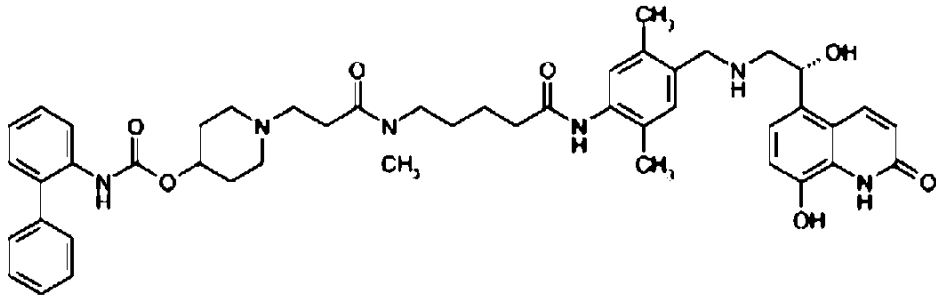
Bu buluş, muskarinik reseptör antagonisti ve β_2 adrenerjik reseptör agonisti aktivitelerine sahip yeni diamid bileşikleri ile ilgilidir. Bu tür bileşikler, bir memeliye inhalasyon yoluyla uygulanmaları üzerine bronkodilasyon üretirler. Bu buluşa ait bileşiklerin, uzun bir etki süresine sahip oldukları, yani uygulandıktan sonra en azından yaklaşık 24 saat süreyle bronkodilasyon ürettikleri bulunmuştur. Buna göre bu buluşa ait bileşiklerin, pulmoner bozuklukların tedavisinde bronkodilate edici ajanlar olarak faydalı ve avantajlı olmaları beklenir.

Buluş, aşağıdakilerden seçilen bir bileşik sağlar:

- (a) şu formüle ait bifenil-2-ilkarbamik asit 1-[2-({3-[2-(3-{{(S)-2-
[(R)-2-hidroksi-2-(8-hidroksi-2-okso-1,2-dihidrokinolin-5-
5 il)etilamino]propil} fenil)asetilamino]propil} metil-
karbamoil)etil]piperidin-4-il ester:

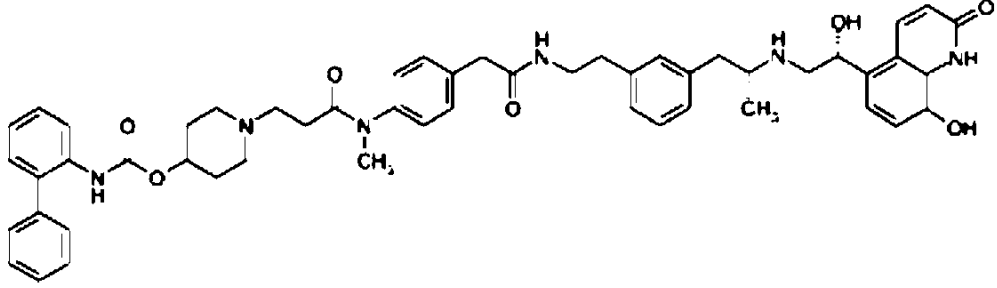


- veya bunun farmasötik olarak kabul edilebilir bir tuzu;
- (b) şu formüle ait bifenil-2-ilkarbamik asit 1-(2-{{4-(4-{{[(R)-2-
hidroksi-2-(8-hidroksi-2-okso-1,2-dihidrokinolin-5-
10 il)etilamino]metil}-2,5-dimetilfenilkarbamoil)butil]metil-
larbamoil}etil]piperidin-4-il ester:



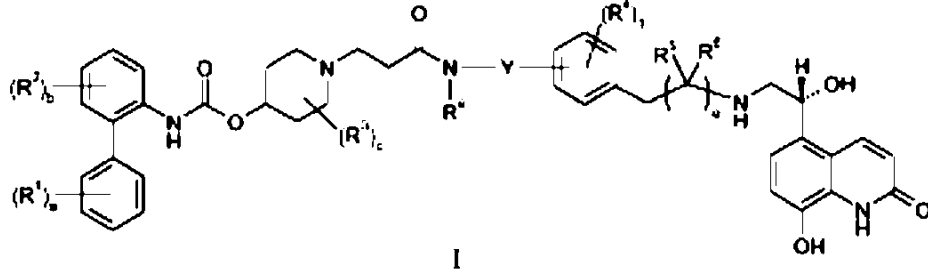
- veya bunun farmasötik olarak kabul edilebilir bir tuzu; ve
- şu formüle ait bifenil-2-ilkarbamik asit 1-{{2-{{4-{{2-3-{{(R)-2-[(R)-
20 2-hidroksi-2-(8-hidroksi-2-okso-1,2-dihidrokinolin-5-
il)etilamino]propil} fenil)karbamoil]metil} fenil)-

metilkarbamoil]etil}piperidin-4-il ester:



5 veya bunun farmasötik olarak kabul edilebilir bir tuzu.

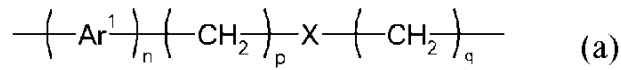
Bu tür bileşikler, formül I'e ait bileşikler sınıfının üyeleri:



10

burada

Y, formül (a)'ya ait bir gruptur:



15

ve Y, fenilen halkasının $\text{---CH}_2\text{---}(\text{CR}^5\text{R}^6)_e\text{---}$ grubuna göre 3 veya 4üncü pozisyonuna eklenir;

X, ---C(O)NH--- ve ---NHC(O)--- arasından seçilir;

Ar^1 , fen-1,3-ilen ve fen-1,4-ilen arasından seçilir, buradaki fenilen

20 grubu, ikame edilmemiş veya birbirinden bağımsız olarak C_{1-3} alkil, -

- O-(C₁₋₃ alkil) ve halo arasından seçilen 1 ila 3 ikame edici ile ikame edilmiştir;
- her bir R¹ birbirinden bağımsız olarak C₁₋₃ alkil, -O-(C₁₋₃ alkil), hidroksil ve halo arasından seçilir;
- 5 her bir R² birbirinden bağımsız olarak C₁₋₃ alkil, -O-(C₁₋₃ alkil) ve halo arasından seçilir;
- her bir R³ birbirinden bağımsız olarak C₁₋₃ alkilden seçilir; veya iki R³ grubu birleştirilerek C₁₋₃ alkilen, C₂₋₃ alkenilen veya oksiran-2,3-diil oluşturulur;
- 10 her bir R⁴ birbirinden bağımsız olarak C₁₋₃ alkil, -O-(C₁₋₃ alkil) ve halo arasından seçilir;
- R⁵, hidrojen, metil ve etil arasından seçilir;
- R⁶, hidrojen, metil ve etil arasından seçilir;
- R^a, C₁₋₆ alkilden seçilir;
- 15 a, 0, 1, 2 veya 3'tür;
- b, 0, 1, 2 veya 3'tür;
- c, 0, 1, 2, 3 veya 4'tür;
- d, 0, 1, 2 veya 3'tür;
- e, 0 veya 1'dir;
- 20 n, 0 veya 1'dir;
- p, 0, 1, 2, 3, 4, 5 veya 6'dır; ancak n'nin 0 olduğu durumda p, 1, 2, 3, 4, 5 veya 6'dır;
- q, 0, 1, 2, 3, 4, 5 veya 6'dır;
- veya bunların farmasötik olarak kabul edilebilir bir tuzudur.

25

Bundan böyle kullanılacağı gibi "formül I'e ait bileşik" ifadesi, formül I'e ait bir bileşik veya bunun farmasötik olarak kabul edilebilir bir tuzu anlamına gelir, yani bu ifade, aksi belirtilmedikçe, serbest baz

formunda formül I'e ait bir bileşik veya bunun farmasötik olarak kabul edilebilir bir tuzu anlamına gelir ve "buluşa ait bileşik" ifadesi, benzer şekilde anlaşılabacaktır.

- 5 Bir başka yönde bu buluş, (a) buluşa ait bir bileşik; (b) farmasötik olarak kabul edilebilir bir taşıyıcı içeren bir farmasötik kompozisyon ile ilgilidir. Buluşun bu yönü, örneğin, inhalasyon yoluyla uygulamaya uygun farmasötik kompozisyonları kapsar.
- 10 Yine bir başka yönde bu buluş, (a) buluşa ait bir bileşik; ve (b) steroidal anti-enflamatuar bir ajan (örn., bir kortikosteroid) içeren bir kompozisyon ile ilgilidir. Burada kullanıldığı gibi "steroidal anti-enflamatuar ajan" terimi, aksi ifade edilmedikçe bu tür ajanların farmasötik olarak kabul edilebilir tuzlarını ve/veya solvatlarını kapsar.
- 15 Bu buluş ayrıca (a) buluşa ait bir bileşik; (b) bir steroidal anti-enflamatuar ajan; ve (c) farmasötik olarak kabul edilebilir bir taşıyıcı içeren bir farmasötik kompozisyon ile de ilgilidir. Buluşun bu yönleri, örneğin, inhalasyon yoluyla uygulamaya uygun kompozisyonları kapsar. Özel bir düzenekte steroidal anti-enflamatuar ajan, bir
- 20 kortikosteroid (örn., bir glukokortikoid), örn., bir flutikason propiyonat veya bunun bir solvati; veya flutikason furoat veya bunun bir solvattır.

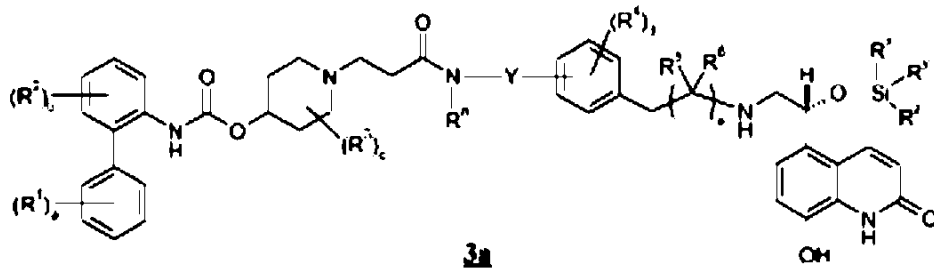
- Bu buluş, bir hastada bir pulmoner bozukluğun, hastaya buluşa ait bir
- 25 bileşik uygulanmasını kapsayan tedavisinde fayda bulur. Bu, örneğin, kronik obstrüktif pulmoner hastalık veya astım tedavisini kapsar. Ayrıca bir steroidal anti-enflamatuar ajanın, bir pulmoner bozukluğu

tedavi etmek için buluşa ait bileşikI ile aynı anda veya sırayla uygulandığı kullanımlar da faydalıdır.

- 5 Bu buluş, bir memelide, memeliye, örneğin, bir insana buluşa ait bir bileşikten bronkodilasyon üreten bir miktarda uygulanmasını kapsayan bronkodilasyon üretiminde fayda bulur.

- 10 Bu buluş ayrıca bir muskarinik reseptör ve bir β_2 adrenerjik reseptörü içeren bir biyolojik sistem veya örnekte, biyolojik sistem veya örneğin buluşa ait bir bileşik ile tedavi edilmesini kapsayan bir muskarinik reseptör antagonize etmede ve bir β_2 adrenerjik reseptörü agonize etmede de fayda bulur. Hem in vivo hem de in vitro yöntemler kullanılabilir.

- 15 Açıklama ayrıca formül I'e ait bileşiklerin hazırlanmasından faydalı prosesler ve yeni ara maddeler ile de ilgilidir. Bu tür bir düzenekte bu açıklama, formül **3a**'ya ait bir bileşik:



- 20 veya bunun bir tuzu ile ilgilidir; burada R^x ve R^y birbirinden bağımsız olarak C_{1-4} alkil, fenil ve $-C_{1-4}$ alkil-(fenil) arasından seçilir; ve R^z , C_{1-4} alkil, fenil, $-C_{1-4}$ alkil-(fenil) ve $-O-(C_{1-4}$ alkil) arasından seçilir.

Açıklama ayrıca formül I'e ait bir bileşiğin hazırlanmasına yönelik bir

proses ile de ilgilidir ki bu proses, formül **3a**'ya ait bir bileşiğin korumasının bozulmasıyla formül I'e ait bir bileşik sağlanmasını kapsar.

- 5 Bu buluşun diğer yönleri ve düzenekleri, burada açıklanmıştır.

BULUŞUN DETAYLI TARİFİ

Kompozisyon yönlerinden birinde bu buluş, buluşa ait bileşikler ile
10 ilgilidir. Bu tür bileşikler, bir veya daha fazla şiral merkez ihtiva eder ve bu yüzden bu tür bileşikler (ve bunların ara maddeleri), rasemik karışımlar; saf stereoizomerler (yani enantiyomerler veya diyasteromerler); stereoizomer bakımından zengin karışımlar ve benzeri halinde mevcut olabilir. Bir şiral merkezde tanımlanmış bir
15 stereokimya olmaksızın burada gösterilen veya adlandırılan şiral bileşiklerin aksi ifade edilmedikçe tanımlanmamış stero-merkezdeki her veya tüm olası stereoizomer varyasyonlarını kapsaması amaçlanır. Özel bir stereoizomerin gösterilmesi veya adlandırılmasından, belirtilen stereoizomerin, aksi ifade edilmedikçe az miktarlarda başka
20 stereoizomerler de olabileceği anlaşılmakla belirlenmiş stereokimyaya sahip olduğu ancak belirtilen veya adlandırılan bileşiğin faydasının, bir diğer stereoizomerin var olmasıyla ortadan kalkmadığı anlamı çıkar.

- 25 Buluşa ait bileşikler ayrıca birkaç bazik grup (örn., amino grupları) da ihtiva eder ve bu yüzden bu tür bileşikler, serbest baz veya çeşitli tuz formlarında, örn., bir mono-protonlanmış tuz formunda veya bir di-protonlanmış tuz formunda veya bunların karışımları halinde mevcut

olabilir. Bu tür tüm formlar, aksi ifade edilmedikçe, bu buluşun kapsamında yer alır.

Bu buluş ayrıca buluşa ait izotopik olarak etiketlenmiş bileşikler, yani
 5 bir atomun, doğada baskın olanla aynı atom sayısına ancak baskın olan atom kütlesinden farklı bir atom kütlesine sahip bir atom ile değiştirilmiş veya bununla zenginleştirilmiş olduğu buluşa ait bileşikler de kapsar. Formül I'e ait bir bileşik içerisine dahil edilebilen izotopların örnekleri arasında, bunlarla sınırlı olmaksızın,
 10 ^2H , ^3H , ^{11}C , ^{13}C , ^{14}C , ^{13}N , ^{15}N , ^{15}O , ^{17}O , ^{18}O , ^{35}S , ^{36}Cl ve ^{18}F yer alır. Tritiyum veya karbon-14 bakımından zenginleştirilmiş buluşa ait bileşikler, özel ilgi konusudur ki bu bileşikler, örneğin, doku dağılım çalışmalarında kullanılabilir. Ayrıca özellikle bir metabolizma sahasında döteryum bakımından zenginleştirilmiş buluşa ait bileşikler
 15 de özel ilgi konusudur ki bu bileşiklerin metabolik kararlılığının daha fazla olması beklenir. Ayrıca ^{11}C , ^{18}F , ^{15}O ve ^{13}N gibi pozitron yayan bir izotop bakımından zenginleştirilmiş buluşa ait bileşikler de özel ilgi konusudur ki bu bileşikler, örneğin, Pozitron Emisyon Tomografisi (PET) çalışmalarında kullanılabilir.

20

Ek olarak uygulanabilir olduğu yerde buluşa ait bileşiklerin bütün cis-trans veya E/Z izomerleri (geometrik izomerler), tatomerik formları ve topoizomerik formları, aksi belirtilmedikçe buluşun kapsamında yer alır.

25

Burada tarif edilen bileşikler tipik olarak ticari yollarla elde edilebilen MDL® ISIS/Draw yazılımının (Symyx, Santa Clara, Kaliforniya) AutoNom özelliği kullanılarak adlandırılmıştır.

Tanımlar

Çeşitli yönleri ve düzenekleri dahil olmak üzere bu buluşu açıklarken aşağıdaki terimler, aksi ifade edilmedikçe, aşağıdaki anlamlara
5 gelecektir.

Tekil terimler "bir", "bir" ve "bu", kullanım bağlamında aksi açıkça dikte edilmedikçe karşılık gelen çoğul terimleri de kapsar.

10 "Alkil" terimi, lineer veya dallı olabilen monovalent doymuş bir hidrokarbon grubu anlamına gelir. Aksi tanımlanmadıkça bu tür alkil grupları tipik olarak 1 ila 10 karbon atomu ihtiva eder. Temsili alkil grupları arasında, örnek olarak, metil, etil, n-propil, izopropil, n-butil, sec-butil, izobutil, tert-butil, n-pentil, n-heksil, n-heptil, n-oktil, n-
15 nonil ve n-desil yer alır.

Ozel bir terim için spesifik bir sayıda karbon atomlarının amaçlanması durumunda karbon atomlarının sayısı, terimden önce gösterilir. Örneğin "C₁₋₃ alkil" terimi, 1 ila 3 karbon atomuna sahip bir alkil
20 grubu anlamına gelir ki burada karbon atomları, lineer veya dallı konfigürasyonlar dahil olmak üzere kimyasal açıdan kabul edilebilir herhangi bir konfigürasyondadır.

"Alkilen" terimi, lineer veya dallı olabilen divalent doymuş bir
25 hidrokarbon grubu anlamına gelir. Aksi tanımlanmadıkça bu tür alkilen grupları tipik olarak 1 ila 10 karbon atomu ihtiva eder. Temsili alkilen gurupları arasında, örnek olarak, metilen, etan-1,2-diil

("etilen"), propan-1,2-diil, propan-1,3-diil, butan-1,4-diil ve pentan-1,5-diil yer alır.

"Amino koruma grubu" terimi, bir amino grubunda istenmeyen reaksiyonların engellenmesi için uygun bir koruma grubu anlamına gelir. Temsili amino koruma grupları arasında, bunlarla sınırlı olmaksızın, tert-butoksikarbonil (BOC), tritil (Tr), benziloksikarbonil (Cbz), 9-florenilmetoksikarbonil (Fmoc), benzil, formil, trimetilsilil (TMS) ve tert-butildimetilsilil (TBS) yer alır.

10

"Karboksil koruma grubu" terimi, bir karboksil grubunda (yani -COOH) istenmeyen reaksiyonların engellenmesi için uygun bir koruma grubu anlamına gelir. Temsili karboksil koruma grupları arasında, bunlarla sınırlı olmaksızın, esterler, örn., metil, etil, tert-butil, benzil (Bn), p-metoksibenzil (PMB), 9-florenilmetil (Fm), trimetilsilil (TMS), tert-butildimetilsilil (TBS, TBDMS) ve difenilmetil (benzhidril, DPM) yer alır.

15

"Halo" terimi, floro, kloro, bromo veya iyodo anlamına gelir.

20

"Hidroksil koruma grubu" terimi, bir hidroksil grubunda istenmeyen reaksiyonların engellenmesi için uygun bir koruma grubu anlamına gelir. Temsili hidroksil koruma grupları arasında, bunlarla sınırlı olmaksızın, silil grupları, örneğin tri(C₁₋₆ alkil)silil grupları, örn., trimetilsilil (TMS), trietilsilil (TES) ve tert-butildimetilsilil (TBS); esterler (asil grupları), örneğin C₁₋₆ alkanoil grupları, örn., formil ve asetil; arilmetil grupları, örn., benzil (Bn), p-metoksibenzil (PMB), 9-florenilmetil (Fm) ve difenilmetil (benzhidril, DPM) yer alır. Ek

25

olarak iki hidroksil grubu, örneğin aseton gibi bir keton ile reaksiyon yoluyla oluşturulmuş prop-2-iliden gibi bir alkiliden grubu olarak da korunabilir.

- 5 "Ayırma grubu" terimi, bir nükleofilik ikame reaksiyonu gibi bir ikame reaksiyonunda bir başka işlevsel grup veya atom ile yer değiştirilebilen bir işlevsel grup veya bir atom anlamına gelir. Örnek olarak temsili ayırma grupları arasında, bunlarla sınırlı olmaksızın, kloro, bromo ve iyodo grupları; sülfonik ester grupları, örn., mesilat, 10 tosilat, brosilat ve nosilat; ve asiloksi grupları, örn., asetoksi ve trifloroasetoksi yer alır.

- "Mikronize edilmiş" veya "mikronize edilmiş formda" terimi, partiküllerin en az yaklaşık yüzde %90'ının çapının, aksi ifade 15 edilmedikçe, yaklaşık 10 µm'nin altında olduğu partiküller anlamına gelir.

- "Farmasötik olarak kabul edilebilir tuz" terimi, bir insan gibi bir hastaya veya bir memeliye uygulanmak için kabul edilebilir bir tuz 20 (örn., verilen bir dozaj rejimi için kabul edilebilir bir memeli güvenliğine sahip tuzlar) anlamına gelir. Temsili farmasötik olarak kabul edilebilir tuzlar arasında asetik, askorbik, benzensülfonik, benzoik, kamforsülfonik, sitrik, etansülfonik, edisilik, fumarik, gentisik, glukonik, glukoronik, glutamik, hippurik, hidrobromik, 25 hidroklorik, izetiyonik, laktik, laktobionik, maleik, malik, mandelik, metansülfonik, musik, naftalensülfonik, naftalen-1,5-disülfonik, naftalen-2,6-disülfonik, nikotinik, nitrik, orotik, pamoik, pantotenik,

fosforik, sukinik, sülfürik, tartarik, p-tolüensülfonik ve ksinafoik asit tuzları yer alır.

- "Bunun korumalı türevleri" terimi, bileşiğin bir veya daha fazla işlevsel grubunun, istenmeyen reaksiyonlara girmekten bir koruyucu veya bloke edici grup ile korunduğu veya bu durumun bloke edildiği belirlenmiş bir bileşik türevi anlamına gelir. Korunabilen işlevsel gruplar arasında, örnek olarak, karboksi grupları, amino grupları, hidroksil grupları, tiyol grupları ve karbonil grupları yer alır. Bu tür işlevsel gruplar için uygun koruma grupları, T. W. Greene ve P. G. M. Wuts, *Protecting Groups in Organic Synthesis*, Üçüncü Baskı, Wiley, New York, 1999 ve burada verilen referanslardaki öğretilerle örneklendiği gibi teknikte sıradan uzmanlığa sahip kişilerce iyi bilinir.
- "Bunun tuzu" terimi, bir asidin hidrojeni yerine bir katyon, örn., bir metal katyon veya bir organik katyon konulduğu durumda oluşan bir bileşik anlamına gelir. Örneğin katyon, buluşa ait bir bileşiğin protonlanmış bir formu, yani burada bir asitle protonlanmış olan bir veya daha fazla amino grubu olabilir. Tipik olarak tuz, farmasötik olarak kabul edilebilir bir tuzdur; bununla birlikte bu durum, bir hastaya uygulanması amaçlanmayan ara bileşiklerin tuzları için gerekli değildir.

- "Solvat" terimi, bir solütün bir veya daha fazla molekülünün, yani buluşa ait bir bileşik veya bunun farmasötik olarak kabul edilebilir bir tuzu ve bir veya daha fazla solvent molekülünün oluşturduğu bir kompleks veya agregat anlamına gelir. Bu tür solvatlar tipik olarak, solüt ve solvent molar oranının önemli ölçüde sabit olduğu kristal

katılardır. Temsili solventler arasında, örnek olarak, su, metanol, etanol, izopropanol ve asetik asit yer alır. Solventin su olduğu durumda oluşan solvat, bir hidrattır.

- 5 "Terapötik olarak etkili miktar" terimi, tedaviye ihtiyacı olan bir hastaya uygulandığı durumda tedavinin gerçekleşmesi için yeterli bir miktar anlamına gelir.

Burada kullanıldığı gibi "tedavi etme" veya "tedavi", bir memeli (örn.,
10 bir insan) gibi bir hastadaki bir hastalık veya tıbbi durumun (örn., COPD veya astım), aşağıdakilerden herhangi birini veya bunların kombinasyonlarını kapsayan tedavisi veya tedavi edilmesi anlamına gelir:

- (a) hastalığın veya tıbbi durumun meydana gelmesinin
15 engellenmesi, yani bir hastanın profilaktik tedavisi;
- (b) hastalığın veya tıbbi durumun iyileştirilmesi, yani bir hastadaki hastalığın veya tıbbi durumun ortadan kaldırılması veya gerilemesinin sağlanması;
- (c) hastalığın veya tıbbi durumun baskılanması, yani bir hastadaki
20 hastalığın veya tıbbi durumun gelişmesinin yavaşlatılması veya durdurulması; veya
- (d) bir hastadaki hastalığın veya tıbbi durumun semptomlarının hafifletilmesi.

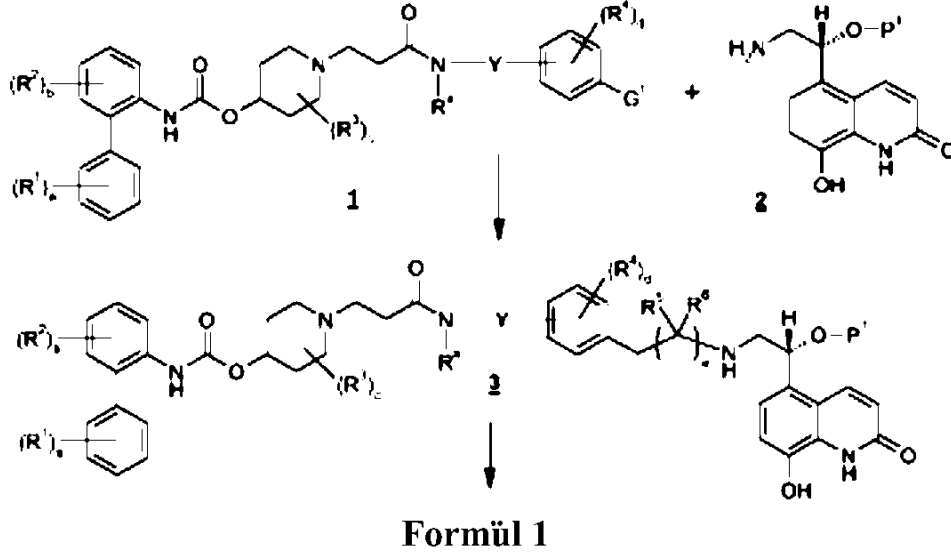
- 25 Burada kullanılan diğer bütün terimlerin, ait oldukları teknikte sıradan uzmanlığa sahip kişilerin anlayacağı klasik anlamlarına sahip olması amaçlanır.

Genel Sentetik Prosedürler

Bu buluşa ait bileşikler ve bunların ara maddeleri, genel formül I'e ait bileşikler için olan aşağıdaki genel yöntemlere ve prosedürlere göre, ticari yollarla elde edilebilen veya rutin şekilde hazırlanan başlangıç materyalleri ve reaktifler kullanılarak hazırlanabilir. Aşağıdaki şemalarda kullanılan ikame ediciler ve değişkenler (örn., R^1 , R^2 , Y, a, b, vb.), aksi ifade edilmedikçe burada herhangi bir yerde tanımlananlarla aynı anlamlara gelir. Ek olarak bir asidik veya bazik atoma veya işlevsel gruba sahip bileşikler, aksi ifade edilmedikçe, bir tuz şeklinde kullanılabilir veya üretilir (bazı durumlarda özel bir reaksiyonda bir tuz kullanılması, reaksiyon gerçekleştirilmeden önce rutin prosedürler kullanılarak tuzun tuz dışında bir forma, örn., bir serbest baza dönüştürülmesini gerektirecektir).

15

Şema 1, formül I'e ait bileşiklerin hazırlanmasına yönelik tipik bir prosedürü gösterir (burada R^6 , hidrojenidir):

Sema 1

burada

G^1 , -CHO veya $-CH_2C(O)R^5$ 'tir ve

- 5 P^1 , bir hidroksil koruma grubu, örn., tert-butildimetilsililidir.

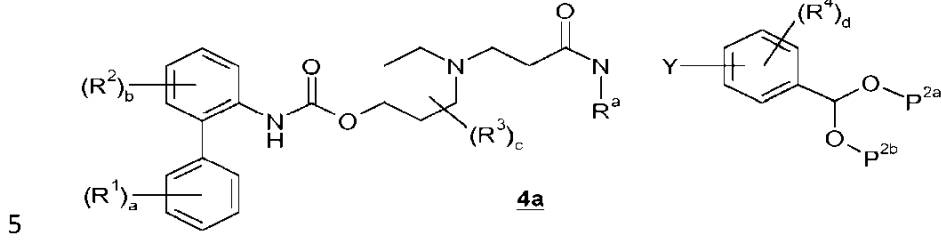
Bu prosedürde bileşik **1**, yaklaşık 0,95 ila yaklaşık 1,5 molar denk bileşik **2** ile, bir indirgeyici ajan varlığında reaksiyona sokularak bileşik **3** elde edilir. Bu reaksiyonda uygun herhangi bir indirgeyici ajan, örneğin, açıklama amacıyla, bir metal hidrid reaktifi, örn., sodyum borohidrid, sodyum triasetoksiborohidrid veya sodyum siyanoborohidrid veya bir hidrojen veya bir metal katalizörü, örn., karbon üstünde paladyum kullanılabilir. Bu reaksiyon tipik olarak yaklaşık -20°C ila yaklaşık 30°C aralığındaki bir sıcaklıkta (örn., yaklaşık 0°C ila yaklaşık 5°C), yaklaşık 1 saat ila ya 6 saat süreyle veya reaksiyon önemli ölçüde tamam olana kadar gerçekleştirilir. Tipik olarak bu reaksiyon, bir seyreltici, örn., diklorometan (DCM), dikloroetan ve benzeri içerisinde gerçekleştirilir. İsteğe bağlı olarak seyreltici, bir protik solvent, örn., metanol ve benzerlerini ihtiva

edebilir. Reaksiyonun tamamlanması üzerine ürün tipik olarak
 özümleme, yeniden kristalleştirme, kromatografi ve benzerleri gibi
 klasik prosedürler kullanılarak izole edilir. Alternatif olarak arzu
 edilirse bileşik **3**'ü ihtiva eden reaksiyon karışımı, bir daha izole
 5 edilmeden veya saflaştırılmadan bir sonraki sentez adımında direkt
 olarak kullanılabilir.

Bileşik **3**'ün daha sonra koruması bozularak formül I'e ait bir bileşik
 elde edilir. Bileşik **3**'ün korumasını bozmada kullanılan özel koşullar,
 10 kullanılan koruma grubuna bağlı olacaktır. Örneğin P¹'in bir silil
 koruma grubu, örn., tert-butildimetilsilil, tert-butildifenilsilil,
 difenilmetilsilil, di-tert-butilmetilsilil veya tert-butoksidifenilsilil
 olduğu durumda (yani burada tanımlandığı gibi formül **3a**'ya ait bir
 bileşik) bu koruma bozma reaksiyonu tipik olarak bileşik **3**'ün bir
 15 florür iyonu kaynağı ile temas ettirilmesiyle gerçekleştirilir. Özel bir
 düzeneğe florür iyonu kaynağı, trietilamin trihidroflorürdür. Diğer
 uygun florür iyonu kaynakları arasında tetrabutylamonyum florür, 18-
 kuron-6 ile potasyum florür, hidrojen florür veya piridin hidroflorür
 yer alır. Bu reaksiyon tipik olarak yaklaşık 0°C ila yaklaşık 50°C
 20 aralığındaki bir sıcaklıkta (örn., yaklaşık 10°C ila yaklaşık 25°C),
 yaklaşık 24 ila yaklaşık 72 saat süreyle veya reaksiyon önemli ölçüde
 tamam olana kadar gerçekleştirilir. Tipik olarak bu reaksiyon, bir
 seyreltici, örn., DCM veya dikloroetan içerisinde gerçekleştirilir.
 Reaksiyonun tamamlanması üzerine ürün tipik olarak özümleme,
 25 yeniden kristalleştirme veya kromatografi gibi klasik prosedürler
 kullanılarak izole edilir.

Formül **1**'e ait bileşikler tipik olarak karşılık gelen asetal veya ketal

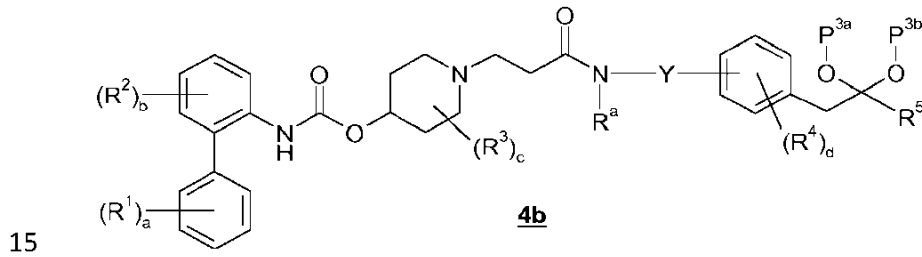
ara maddesinin korumasının bozulmasıyla hazırlanır. Örneğin G^1 'in -CHO olduğu durumda formül **1**'e ait bileşikler tipik olarak formül **4a**'ya ait bir ara maddenin korumasının bozulmasıyla hazırlanır:



burada P^{2a} ve P^{2b} , birbirinden bağımsız olarak, C_{1-6} alkilden seçilir veya P^{2a} ve P^{2b} birleştirilerek C_{2-6} alkilen, tipik olarak C_{2-4} alkilen oluşturulur.

10

Benzer şekilde G^1 'in $-CH_2C(O)R^5$ olduğu durumda formül **1**'e ait bileşikler tipik olarak formül **4b**'ye ait bir ara maddenin korumasının bozulmasıyla hazırlanır:



burada P^{3a} ve P^{3b} , birbirinden bağımsız olarak, C_{1-6} alkilden seçilir veya P^{3a} ve P^{3b} birleştirilerek C_{2-6} alkilen, tipik olarak C_{2-4} alkilen oluşturulur.

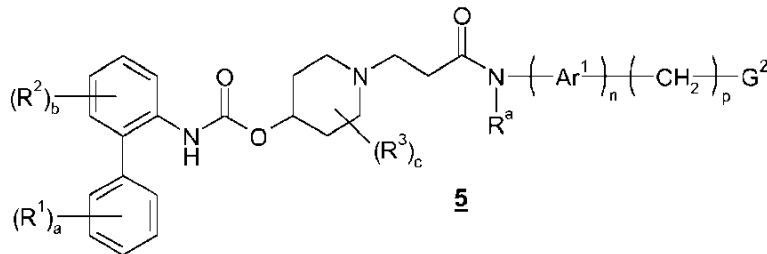
20

Bileşik **4a** veya **4b**'nin korumasının bozulması işlemi tipik olarak **4a**

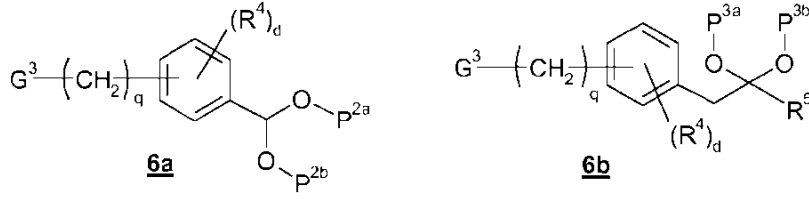
veya **4b**'nin sulu asit ile reaksiyona sokulmasıyla asetal veya ketal grubunun hidrolize edilmesi ve karşılık gelen aldehid veya keton bileşiği **1**'in sağlanması suretiyle gerçekleştirilir. Bu reaksiyonda uygun herhangi bir asit, örneğin, örnek olarak, hidroklorik asit, 5 sülfürik asit, metansülfonik asit veya p-tolüensülfonik asit kullanılabilir. Hidroliz reaksiyonu tipik olarak yaklaşık 0°C ile yaklaşık 30°C aralığındaki bir sıcaklıkta (örn., yaklaşık 20°C ile yaklaşık 25°C) yaklaşık 1 ile yaklaşık 6 saat süreyle veya reaksiyon önemli ölçüde tamam olana kadar gerçekleştirilir. Tipik olarak bu 10 reaksiyon, bir seyreltici, örn., metanol, etanol, izopropanol, diklorometan/etanol veya asetonitril içerisinde gerçekleştirilir. Reaksiyonun tamamlanması üzerine ürün tipik olarak özümleme, yeniden kristalleştirme veya kromatografi gibi klasik prosedürler kullanılarak izole edilir. Alternatif olarak bileşik **1**'i ihtiva eden 15 reaksiyon karışımı, bir sonraki sentez adımında direkt olarak kullanılabilir.

Formül **4a** veya **4b**'ye ait bileşikler tipik olarak formül **5**'e ait bir bileşiğin:

20



formül **6a** veya **6b**'ye ait bir bileşik ile birleştirilmesi suretiyle hazırlanır:



burada

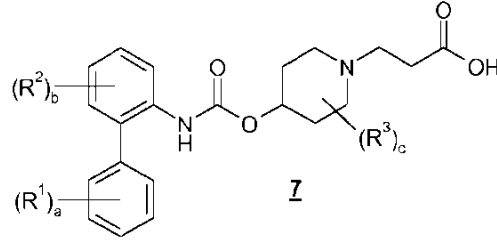
G^2 , $-NH_2$ 'dir ve G^3 , $-COOH$ 'dir; veya G^2 , $-COOH$ 'dir ve G^3 , $-NH_2$ 'dir.

- 5 Bileşik **5** ile bileşik **6a** veya **6b** arasındaki bileşik **4a** veya **4b** oluşturma amaçlı birleştirme reaksiyonu tipik olarak bir karboksilik asit-amin birleştirici reaktif kullanılarak gerçekleştirilir. Bu reaksiyonda uygun herhangi bir karboksilik asit-amin birleştirici reaktif, örneğin, açıklama amacıyla, benzotriazol-1-il-oksi-tris-
- 10 (dimetilamino)fosfonyum heksaflorofosfat (BOP); N,N'-karbonildiimidazol (CDI); disikloheksilkarbodiimid (DCC); 3-(dietoksifosforiloksi)-1,2,3-benzotriazin-4(3H)-on (DEPBT); 1-etil-3-(3-dimetilaminopropil)karbodiimid hidroklorür (EDC HCl); 2-(7-aza-1H-benzotriazol-1-il)-1,1,3,3-tetrametilüronyum heksaflorofosfat
- 15 (HATU); 2-(1H-benzotriazol-1-il)-1,1,3,3-tetrametilüronyum heksaflorofosfat (HBTU); 2-(6-kloro-1H-benzotriazol-1-il)-1,1,3,3-tetrametilaminyum heksaflorofosfat (HCTU); 1-hidroksi-7-azabenzotriazol (HOAt); N-hidroksibenzotriazol (HOBt); benzotriazol-1-il-oksi-tris-pirolidinofosfonyum heksaflorofosfat
- 20 (PyBOP); bromo-tris-pirolidinofosfonyum heksaflorofosfat (PyBrOP); O-(7-azabenzotriazol-1-il)-N,N,N',N'-tetrametilüronyum tetrafloroborat (TATU); 2-(1H-benzotriazol-1-il)-1,1,3,3-tetrametilüronyum tetrafloroborat (TBTU); N,N,N',N'-tetrametil-O-(3,4-dihidro-4-okso-1,2,3-benzotriazin-3-il)uranyum tetrafloroborat
- 25 (TDBTU); O-(N-sukinimidil)-1,1,3,3-tetrametil uranyum

tetrafloroborat (TSTU); ve bunların kombinasyonları, örn., EDC ve HOBt kullanılabilir.

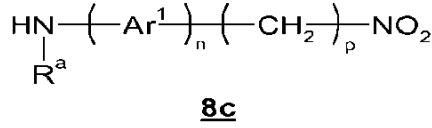
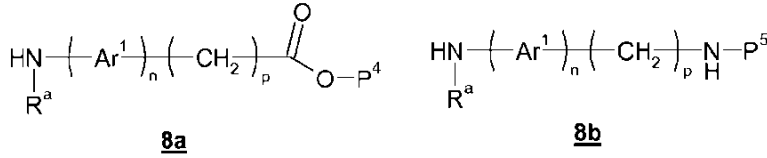
Birleştirme reaksiyonu tipik olarak yaklaşık 0,95 ila yaklaşık 1,5 molar denk amin bileşiğinin (**5**, G²'nin -NH₂ olduğu durumda; veya **6a** veya **6b**, G³'ün -NH₂ olduğu durumda) karboksilik asit (**5**, G²'nin -COOH olduğu durumda; veya **6a** veya **6b**, G³'ün -COOH olduğu durumda) ile, birleştirici reaktif varlığında reaksiyona sokulması yoluyla gerçekleştirilir. Birleştirici reaktif tipik olarak karboksilik aside göre yaklaşık 1,0 ila yaklaşık 1,5 molar denk aralığındaki bir miktarda kullanılır. Genellikle bu reaksiyon, bir engelli amin, örn., diizopropiletilamin (DIEA), N-metilmorfolin (NMM), kolidin, 2,3,5,6-tetrametilpiridin (TEMP) veya 2,6-di-tert-butil-4-dimetilaminopiridin (DBDMP) varlığında, diklorometan, tetrahidrofuran, 1,4-dioksan, asetonitril, dimetilformamid, dimetilasetamid, N-metilpirolidon veya bunların karışımları gibi bir seyreltici içerisinde gerçekleştirilir. Reaksiyon tipik olarak yaklaşık -20°C ila yaklaşık 50°C aralığındaki bir sıcaklıkta (örn., yaklaşık 20°C ila yaklaşık 25°C) yaklaşık 1 ila yaklaşık 30 saat süreyle veya reaksiyon önemli ölçüde tamam olana kadar gerçekleştirilir. Reaksiyonun tamamlanması üzerine ürün tipik olarak özümleme, yeniden kristalleştirme veya kromatografi gibi klasik prosedürler kullanılarak izole edilir.

Formül **5**'e ait bileşikler tipik olarak formül **7**'ye ait bir bileşiğin:



formül **8a**, **8b** veya **8c**'ye ait bir bileşik ile birleştirilmesi suretiyle hazırlanır:

5



- 10 burada P^4 , bir karboksil koruma grubudur (örn., C_{1-6} alkil, örneğin metil, etil, n-propil; veya benzil); ve P^5 , bir amino koruma grubudur (örn., BOC, Fmoc veya Cbz). Formül **8c**'ye ait bir bileşiğin kullanıldığı durumda nitro grubu müteakiben standart reaktifler ve
- 15 asit veya hidroklorik asit) veya katalitik hidrojenasyon kullanılarak bir amino grubuna indirgenir. Bu düzenekte p tipik olarak 0'dır.

Formül **8a**, **8b** ve **8c**'ye ait bileşikler, ticari yollarla elde edilebilir, teknikte biliniyor veya teknikte bilinen prosedürlerin rutin varyasyonları

20 kullanılarak hazırlanabilir.

Formül **8a**'ya ait temsili bileşikler arasında, örnek olarak, metil 4-(metilamino)butirat, metil 5-(metilamino)pentanoat, metil 3-(metilamino)benzoat, metil 4-(metilamino)benzoat, metil 3-(metilamino)-4-metilbenzoat ve metil [3-(metilamino)fenil]asetat yer alır.

Formül **8b**'ye ait temsili bileşikler arasında, örnek olarak, (3-metilaminopropil)karbamik asit tert-butil ester, (3-metilaminopropil)karbamik asit 9H-floren-9-ilmetil ester, (4-metilaminobutil)karbamik asit tert-butil ester, (4-metilaminobutil)karbamik asit 9H-floren-9-ilmetil ester, (3-metilaminofenil)karbamik asit tert-butil ester, (3-metilaminofenil)karbamik asit 9H-floren-9-ilmetil ester, (4-metilaminofenil)karbamik asit tert-butil ester, (4-metilaminofenil)karbamik asit 9H-floren-9-ilmetil ester, (3-metilaminobenzil)karbamik asit tert-butil ester, (3-metilaminobenzil)karbamik asit 9H-floren-9-ilmetil ester, (4-metilaminobenzil)karbamik asit tert-butil ester ve (4-metilaminobenzil)karbamik asit 9H-floren-9-ilmetil ester yer alır.

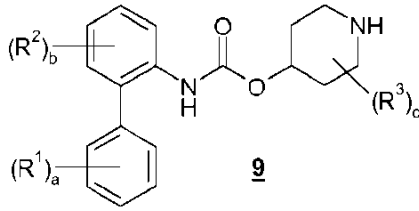
20

Formül **8c**'ye ait temsili bileşikler arasında, örnek olarak, N-metil-3-nitroanilin, N-metil-4-nitroanilin, N-etil-3-nitroanilin ve N-etil-4-nitroanilin yer alır.

25 Bileşik **7** ile bileşik **8a** veya **8b** arasındaki bileşik **5** oluşturma amaçlı karboksilik asit-amin birleştirme reaksiyonu tipik olarak bir karboksilik asit ve bir aminin (örn., bileşik **5** ve bileşik **6a** veya **6b**) birleştirilmesi için burada tarif edilen reaktifler ve reaksiyon koşulları

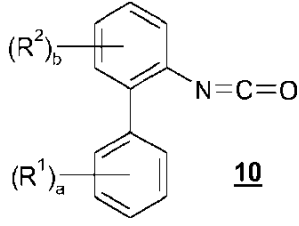
kullanılarak gerçekleştirilir. Reaksiyonun tamamlanması üzerine ürün tipik olarak özümleme, yeniden kristalleştirme veya kromatografi gibi klasik prosedürler kullanılarak izole edilir.

- 5 Formül 7'ye ait bileşikler tipik olarak formül 9'a ait bir bileşiğin:

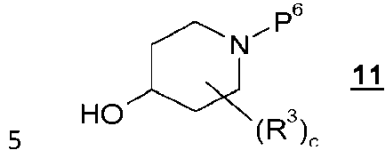


- yaklaşık 0,95 ila yaklaşık 1,5 molar denk akrilik asit ile reaksiyona sokulması suretiyle hazırlanır. Bu reaksiyon tipik olarak bir seyreltici, 10 örn., diklorometan içinde, yaklaşık 20°C ila yaklaşık 70°C aralığındaki bir sıcaklıkta (örn., yaklaşık 50°C), yaklaşık 6 ila yaklaşık 30 saat süreyle veya reaksiyon önemli ölçüde tamam olana kadar gerçekleştirilir. Reaksiyonun tamamlanması üzerine ürün tipik olarak 15 özümleme, yeniden kristalleştirme veya kromatografi gibi klasik prosedürler kullanılarak izole edilir.

- Formül 9'a ait bileşikler, teknikte bilinir veya teknikte bilinen prosedürlerin rutin varyasyonları kullanılarak hazırlanabilir. Örneğin 20 bu türe bileşikleri hazırlamaya yönelik prosedürler, ABD Patent Başvurusu Yayını No. U.S. 2004/0167167 A1 ve R. Naito ve arkadaşları, Chem. Pharm. Bull., 46(8) 1286-1294 (1998)'de bulunur. Açıklama amacıyla formül 9'a ait bileşikler tipik olarak formül 10'a ait bir bileşiğin:



formül **11**'e ait bir alkol ile reaksiyona sokulması suretiyle hazırlanır:



burada P⁶, bir amino koruma grubu, örn., benzil, BOC, Fmoc veya Cbz'dir.

- 10 Formül **10**'a ait temsili bileşikler arasında, örnek olarak, 2-(fenil)fenil izosiyanat, 2-(fenil)-5-metilfenil izosiyanat, 2-(3-klorofenil)-4,6-diflorofenil izosiyanat, 2-(fenil)-6-florofenil izosiyanat, 2-(fenil)-5-bromofenil izosiyanat, 2-(4-bromofenil)-5-bromofenil izosiyanat, 2-(fenil)-4-metoksifenil izosiyanat ve 2-(4-metoksifenil)fenil izosiyanat,
- 15 2-(fenil)-5-metoksifenil izosiyanat yer alır.

- Formül **11**'e ait temsili bileşikler arasında, örnek olarak, 4-hidroksi-1-benzilpiperidin, 4-hidroksipiperidin-1-karboksilik asit tert-butil ester, 4-hidroksipiperidin-1-karboksilik asit 9H-floren-9-ilmetil ester, 4-
- 20 hidroksi-4-metil-1-benzilpiperidin, 2-benzil-2-azabisiklo[2.2.1]heptan-5-ol, 2-benzil-2-azabisiklo[2.2.2]oktan-5-ol, 8-benzil-8-azabisiklo[3.2.1]okt-6-en-3-ol, 3-benzil-3-azabisiklo[3.2.1]oktan-8-ol, 8-benzil-8-azabisiklo[3.2.1]oktan-3-ol, 3-

benzil-3-azabisiklo[3.3.1]nonan-9-ol, 9-benzil-9-azabisiklo[3.3.1]nonan-3-ol ve 8-benzilnortropin, 8-benzilnorpsödötropin yer alır.

- 5 Bu reaksiyon tipik olarak **10**'un yaklaşık 0,95 ila yaklaşık 1,2 molar denk **11** ile, yaklaşık 20°C ila yaklaşık 100°C aralığındaki bir sıcaklıkta (örn., yaklaşık 60°C ila yaklaşık 80°C) yaklaşık 6 ila yaklaşık 24 saat süreyle veya reaksiyon önemli ölçüde tamam olana kadar reaksiyona sokulması suretiyle gerçekleştirilir. Arzu edilirse bu
- 10 reaksiyon, bir seyreltici, örn., diklorometan veya tolüen içerisinde gerçekleştirilebilir. Alternatif olarak bu reaksiyon, bir seyreltici olmadan da gerçekleştirilebilir. Reaksiyonun tamamlanması üzerine ürün tipik olarak özümleme, yeniden kristalleştirme veya kromatografi gibi klasik prosedürler kullanılarak izole edilir. Alternatif olarak
- 15 reaksiyon karışımı, ürün izole edilmeden bir sonraki sentez adımında direkt olarak da kullanılır.

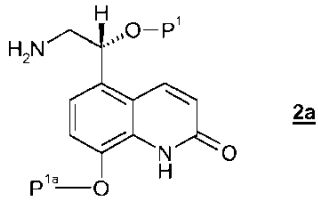
- Daha sonra amino koruma grubu P⁶, klasik prosedürler kullanılarak çıkarılır, böylelikle **9** elde edilir. Örneğin P⁶'nın bir benzil grubu
- 20 olduğu durumda koruma bozma reaksiyonu tipik olarak hidrojen veya amonyum format kullanılarak, bir paladyum katalizörü gibi bir katalizör varlığında gerçekleştirilir. Temsili katalizörler arasında, açıklama amacıyla, karbon üstünde paladyum veya karbon üstünde paladyum hidroksit yer alır. Bu reaksiyon tipik olarak yaklaşık 20°C
- 25 ila yaklaşık 50°C aralığındaki bir sıcaklıkta (örn., yaklaşık 40°C) yaklaşık 6 ila yaklaşık 24 saat süreyle veya reaksiyon önemli ölçüde tamam olana kadar gerçekleştirilir. Tipik olarak bu reaksiyon, bir seyreltici, örn., metanol, etanol veya izopropanol içerisinde

gerçekleştirilir. Reaksiyonun tamamlanması üzerine bileşik **9** tipik olarak özümleme, yeniden kristalleştirme veya kromatografi gibi klasik prosedürler kullanılarak izole edilir.

- 5 Formül **2**'ye ait bileşikler, teknikte bilinir veya bilinen prosedürler kullanılarak ticari yollarla elde edilebilen başlangıç materyalleri veya reaktiflerden hazırlanabilir. Örneğin P^1 'in tert-butildimetilsilil olduğu formül **2**'ye ait bir bileşiği preparasyonu, ABD Patent Başvurusu Yayını No. 2006/0035931, yayınlanma tarihi 16 Şubat 2006'da tarif
10 edilir. P^1 için kullanılabilen diğer koruma grupları arasında, örneğin, dimetilizopropilsilil, dietilizopropilsilil, dimetilheksilsilil, tert-butildifenilsilil ve difenilmetilsilil yer alır.

Ek olarak arzu edilirse **2**'nin hidroksil grubu da korunabilir, yani

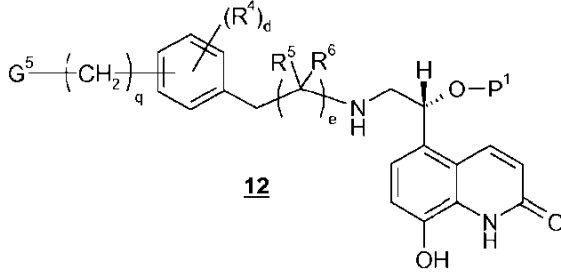
- 15 Formül **2a**'ya ait bir bileşik kullanılabilir:



- burada P^{1a} , bir hidroksil koruma grubu, örn., benzil grubu veya 4-
20 metoksibenzildir. Örneğin, P^1 'in tert-butildimetilsilil olduğu ve hidroksil grubunun, bir 4-metoksibenzil grubu olarak korunduğu formül **2a**'ya ait bir bileşiğin preparasyonu, WO 2008/096129'da tarif edilir. **2a**'nın kullanıldığı durumda ara maddeler, örn., **3**, **12** tipik olarak P^{1a} grubunu ihtiva edecektir. P^{1a} müteakiben klasik prosedürler
25 ve reaktifler kullanılarak çıkarılır. Örneğin P^{1a} 'nın bir benzil grubu

olduğu durumda koruma bozma reaksiyonu tipik olarak hidrojen veya amonyum format kullanılarak, bir paladyum katalizörü gibi bir katalizör varlığında gerçekleştirilir. P^{1a}'nın 4-metoksibenzil olduğu durumda bu grup, %30 DCM içinde TFA gibi asidik hidroliz koşulları altında çıkarılabilir.

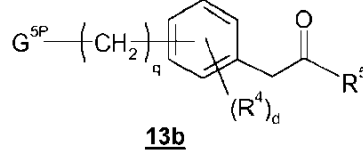
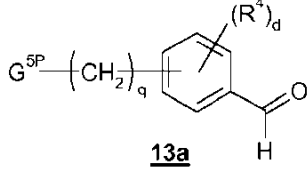
Alternatif olarak formül I'e ait bileşikler, formül **5**'e ait bir bileşiğin formül **12**'ye ait bir bileşik ile birleştirilmesi suretiyle de hazırlanır:



burada G⁵, -COOH'dir (G²'nin -NH₂ olduğu durumda); veya G⁵, -NH₂'dir (G²'nin -COOH olduğu durumda).

Bileşik **5** ile bileşik **12** arasındaki karboksilik asit-amin birleştirme reaksiyonu tipik olarak bir karboksilik asit ve bir aminin (örn., bileşik **5** ve bileşik **6a** veya **6b**) birleştirilmesi için burada tarif edilen reaktifler ve reaksiyon koşulları kullanılarak gerçekleştirilir. Reaksiyonun tamamlanması üzerine ürün tipik olarak özümleme, yeniden kristalleştirme veya kromatografi gibi klasik prosedürler kullanılarak izole edilir. Daha sonra standart reaktifler ve koşullar kullanılarak sonuçta elde edilen ürünün korumasının bozulması (örn., P¹'in çıkarılması) sonucu, formül I'e ait bir bileşik oluşur.

Formül **12**'ye ait bileşikler, formül **2**'ye ait bir bileşiğin formül **13a** veya **13b**'ye ait bir bileşik ile:



5

bir indirgeyici ajan varlığında reaksiyona sokulması suretiyle hazırlanır; burada G^{5P} , şunlar arasından seçilir:

-COOP⁷, ki burada P⁷, bir karboksil koruma grubudur (örn., C₁₋₆ alkil, örneğin metil, etil ve n-propil; veya benzil); ve

10 -NHP⁸, ki burada P⁸, bir amino koruma grubudur (örn., BOC, Fmoc veya Cbz). Alternatif olarak G^{5P} , bir nitro grubudur veya $G^{5P}-(CH_2)_q-$, NC-(CH₂)_{q-1}-'dir, burada nitro grubu veya siyano grubu müteakiben standart reaktifler ve prosedürler kullanılarak bir amino grubuna indirgenir.

15

Bileşik **2**'nin bileşik **13a** veya **13b** ile reaksiyonu tipik olarak bir aminin bir aldehid veya keton (örn., bileşik **1** ve bileşik **2**) ile indirgeyici alkilasyonu için burada tarif edilen reaktifler ve reaksiyon koşulları kullanılarak gerçekleştirilir. Reaksiyonun tamamlanması

20 üzerine ürün tipik olarak özümleme, yeniden kristalleştirme veya kromatografi gibi klasik prosedürler kullanılarak izole edilir.

Formül **13a** ve **13b**'ye ait bileşikler, ticari yollarla elde edilebilir, teknikte bilinir veya teknikte bilinen prosedürlerin rutin varyasyonları

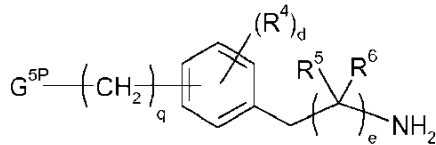
25 kullanılarak hazırlanabilir.

Formül **13a**'ya ait temsili bileşikler arasında, örnek olarak, metil 3-formilbenzoat, metil 4-formilbenzoat, metil (3-formilfenil)asetat, metil (4-formilfenil)asetat, metil 3-(3-formilfenil)propiyonat, metil 3-(4-formilfenil)propiyonat, (3-formilfenil)karbamik asit tert-butil ester, (4-formilfenil)karbamik asit tert-butil ester, (3-formilbenzil)karbamik asit tert-butil ester, (4-formilbenzil)karbamik asit tert-butil ester, [2-(3-formilfenil)etil]karbamik asit tert-butil ester ve [2-(4-formilfenil)etil]karbamik asit tert-butil ester yer alır.

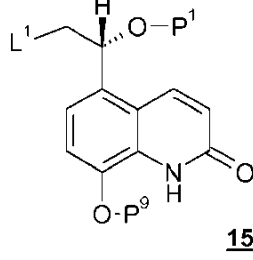
Formül **13b**'ye ait temsili bileşikler arasında, örnek olarak, metil 3-(2-oksoetil)benzoat, metil 4-(2-oksoetil)benzoat, metil [3-(2-oksoetil)fenil]asetat, metil [4-(2-oksoetil)fenil]asetat, metil 3-[3-(2-oksoetil)fenil]propiyonat, metil 3-[4-(2-oksoetil)fenil]propiyonat, 2-(3-tert-butoksikarbonilaminofenil)asetaldehid, 2-(4-tert-butoksikarbonilaminofenil)-asetaldehid, 2-[3-(tert-butoksikarbonilaminometil)fenil]asetaldehid, 2-[4-(tert-butoksikarbonilaminometil)fenil]asetaldehid, 2-{3-[2-(tert-butoksikarbonilamino)-etil]fenil}asetaldehid ve 2-{4-[2-(tert-butoksikarbonilamino)etil]fenil}-asetaldehid yer alır.

20

Formül **12**'ye ait ara bileşikler ayrıca formül **14**'e ait bir bileşiğin:

**14**

formül **15**'e ait bir bileşik ile reaksiyona sokulması suretiyle de hazırlanabilir:



5

burada L^1 , bir ayırma grubu, örn., kloro, bromo, iyodo, tosil veya nosildir; ve P^9 , bir hidroksil koruma grubu, örn., benzildir. Sonuçta elde edilen ürünün daha sonra kısmen koruması bozularak (P^7 veya P^8 ve P^9 'un çıkarılması yoluyla) formül **12**'ye ait bir bileşik elde edilir.

10

Bileşik **14**'ün bileşik **15** ile reaksiyonu tipik olarak bileşik**14**'ün yaklaşık 0,95 ila yaklaşık 1,1 molar denk bileşik **15** ile, fazla miktarda bir baz varlığında reaksiyona sokulması yoluyla gerçekleştirilir. Temsili bazlar arasında örneğin sodyum bikarbonat, sodyum karbonat, potasyum bikarbonat, potasyum karbonat, trialkilaminler (örn., trietilamin veya diizopropiletilamin) yer alır. Bu reaksiyon tipik olarak yaklaşık 20°C ila yaklaşık 120°C aralığındaki bir sıcaklıkta (örn., yaklaşık 100°C) yaklaşık 2 ila yaklaşık 24 saat süreyle veya reaksiyon önemli ölçüde tamam olana kadar gerçekleştirilir. Tipik olarak bu reaksiyon, bir seyreltici, örn., N-metil-pirolidinon veya asetonitril içerisinde gerçekleştirilir. Arzu edilirse bu reaksiyon, reaksiyon karışımının mikrodalga ışınlarına (örn., 300 watt) tabi tutulmasıyla kolaylaştırılabilir. Reaksiyon ayrıca susuz, yani bir seyreltici olmadan da gerçekleştirilebilir. Ek olarak arzu edilirse bir başka baz yerine bir

20

amin **14** fazlası da kullanılabilir. Reaksiyonun tamamlanması üzerine ürün tipik olarak özümleme, yeniden kristalleştirme veya kromatografi gibi klasik prosedürler kullanılarak izole edilir.

- 5 Sonuçta elde edilen ürünün daha sonra kısmen koruması bozularak (yani P⁷ veya P⁸ çıkarılır ve arzu edilirse P⁹ çıkarılır) formül **12**'ye ait bir bileşik elde edilir. Koruma gruplarını çıkarmak için kullanılan özel koşullar, kullanılan özel gruplara bağlı olacaktır. Örneğin P⁷'nin C₁₋₆ alkil olduğu durumda bu tür gruplar tipik olarak ester yarımının bir
- 10 baz, örn., lityum hidroksit, sodyum hidroksit veya potasyum hidroksit ile, bir seyreltici, örn., metanol ve su içeren bir karışım içerisinde hidrolize edilmesi suretiyle çıkarılır. Bu reaksiyon tipik olarak ortam sıcaklığında, yaklaşık 30 dakika ila yaklaşık 24 saat süreyle veya reaksiyon önemli ölçüde tamam olana kadar gerçekleştirilir. P⁸'in bir
- 15 tert-butoksikarbonil grubu olduğu durumda bu grup tipik olarak ortam sıcaklığında %20 DCM içinde trifloroasetik asit gibi asidik hidroliz koşulları altında çıkarılır. P⁹'un bir benzil grubu olduğu durumda bu grup, hidrojenoliz yoluyla kolayca çıkarılır. Tipik olarak bu reaksiyon, bileşiğin hidrojen ile, bir paladyum katalizörü gibi bir katalizör
- 20 varlığında temas ettirilmesi suretiyle gerçekleştirilir. Temsili katalizörler arasında karbon üstünde paladyum hidroksit ve karbon üstünde paladyum yer alır. Genellikle bu debenzilasyon reaksiyonu, bir asit, örn., asetik asit veya formik asit varlığında gerçekleştirilir. Bu reaksiyon tipik olarak yaklaşık 10°C ila yaklaşık 50°C aralığındaki bir
- 25 sıcaklıkta (örn., yaklaşık 25°C) yaklaşık 6 ila yaklaşık 24 saat süreyle veya reaksiyon önemli ölçüde tamam olana kadar gerçekleştirilir. Tipik olarak bu reaksiyon, bir seyreltici, örn., metanol veya etanol içerisinde gerçekleştirilir. Reaksiyonun tamamlanması üzerine ürün,

özümleme, yeniden kristalleştirme veya kromatografi gibi klasik prosedürler kullanılarak izole edilebilir veya bir sonraki reaksiyonda direkt olarak kullanılabilir.

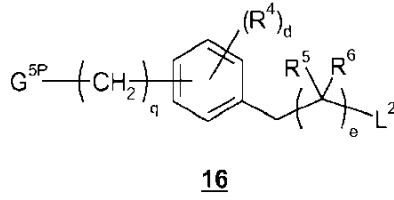
- 5 Formül **14**'e ait bileşikler, teknikte bilinir veya bilinen prosedürler kullanılarak ticari yollarla elde edilebilen başlangıç materyalleri veya reaktiflerden hazırlanabilir. Örneğin formül **14**'e ait bileşikler, **13a** veya **13b**'nin bir benzil amin ile, indirgeyici alkilasyon koşulları altında reaksiyona sokulması ve sonra benzil grubunun hidrojenoliz
10 yoluyla çıkarılmasıyla hazırlanabilir, böylelikle formül **14**'e ait bileşik elde edilebilir. Kullanılabilen temsili benzil aminler arasında benzil amin, (S)-1-feniletilamin ve (R)-1-feniletilamin yer alır. Özellikle şiral benzil aminler, R⁵'in mevcut olduğu (yani e = 1) ve R⁵'in eklendiği karbon atomunun, özel bir stereokimyaya (yani R veya S) sahip olduğu
15 formül **14**'e ait ara maddelerin hazırlanmasında faydalıdır.

- Ek olarak R⁵ ve R⁶'nın birbirinden bağımsız olarak metil veya etil olduğu (yani hidrojen olmadığı) formül **14**'e ait bileşikler de teknikte bilinir veya ABD Patent Başvurusu Yayını 2005/0171147 A1,
20 yayınlanma tarihi 4 Ağustos 2005; ABD Patent Başvurusu Yayını 2005/0277632 A1, yayınlanma tarihi 15 Aralık 2005; ve WO 2005/092861 A1, yayınlanma tarihi 6 Ekim 2005'teki öğretilerle örneklendiği gibi rutin prosedürler kullanılarak hazırlanabilir.

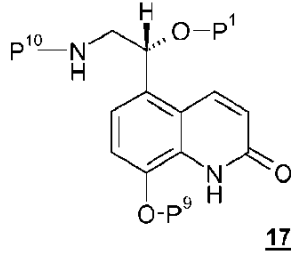
- 25 Formül **15**'e ait bileşikler de teknikte bilinir veya bilinen prosedürler kullanılarak ticari yollarla elde edilebilen başlangıç materyalleri ve reaktiflerden hazırlanabilir. Örneğin L¹'in bromo; P¹'in tert-butildimetilsilil ve P⁹'un benzil olduğu formül **15**'e ait bir bileşiğin

preparasyonu, ABD Patent Başvurusu Yayını No. 2006/0035931, yayınlanma tarihi 16 Şubat 2006'da tarif edilir.

Alternatif olarak formül 12'ye ait bileşikler, formül 16'ya ait bir
5 bileşiğin:



formül 17'ye ait bir bileşik ile reaksiyona sokulması suretiyle de
10 hazırlanır:



burada L², bir ayırma grubu, örn., kloro, bromo, iyodo, tosil veya
15 nosildir; ve P¹⁰, bir amino koruma grubu, örn., benzildir. Bu düzenekte mevcut olduğu durumda R⁵ ve R⁶ tipik olarak hidrojenidir. Bu reaksiyon, 14 ve 15'in reaksiyonu için tarif edilenlere benzer koşullar altında gerçekleştirilir. Formül 16 ve 17'ye ait bileşikler, teknikte bilinir veya bilinen prosedürler kullanılarak ticari yollarla elde
20 edilebilen başlangıç materyalleri ve reaktiflerden hazırlanabilir. Örneğin P¹'in tert-butildimetilsilil; P⁹'un benzil ve P¹⁰'un benzil olduğu formül 17'ye ait bir bileşiğin preparasyonu, ABD Patent

Başvurusu Yayını No. 2006/0035931, yayınlanma tarihi 16 Şubat 2006'da tarif edilir.

Arzu edilirse formül I'e ait bir bileşiğin farmasötik olarak kabul
5 edilebilir bir tuzu, formül I'e ait bileşiğin serbest baz formunun farmasötik olarak kabul edilebilir bir asit ile temas ettirilmesi suretiyle hazırlanır.

Spesifik reaksiyon koşulları ve bu buluşa ait temsili bileşiklerin veya
10 bunların ara maddelerinin hazırlanmasına yönelik diğer prosedürler, burada belirtilen Örneklerde açıklanır.

Farmasötik Kompozisyonlar, Kombinasyonlar ve Formülasyonlar

15 Buluşa ait bileşikler, bir farmasötik formülasyon veya formülasyon oluşturmak için bir taşıyıcı veya ekşiyan ile formüle edilebilir. Bu tür farmasötik kompozisyonlar tipik olarak terapötik olarak etkili miktarda buluşa ait bir bileşik ihtiva edecektir. Bununla birlikte bazı durumlarda farmasötik kompozisyon, terapötik olarak etkili miktardan
20 fazlasını, örn., konsantre edilmiş bir yığın kompozisyon; veya terapötik olarak etkili miktardan azını, örn., terapötik olarak etkili miktara ulaşmak için çoklu uygulamalara yönelik olarak tasarlanan tek tek birim dozları ihtiva edebilir.

25 Farmasötik kompozisyon tipik olarak ağırlık olarak yaklaşık yüzde 0,01 ila yaklaşık 95, örneğin ağırlık olarak yaklaşık yüzde 0,01 ila yaklaşık 30; veya ağırlık olarak yaklaşık yüzde 0,01 ila yaklaşık 10

veya ağırlık olarak yaklaşık yüzde 0,01 ila yaklaşık 1 arasında buluşa ait bir bileşik ihtiva edecektir.

Bu tür farmasötik kompozisyonlar tipik olarak klasik taşıyıcılar veya eksipiyenler kullanılarak hazırlanır. Özel bir taşıyıcı veya eksipiyenin veya taşıyıcılar veya eksipiyenlerin kombinasyonlarının seçimi, kompozisyon için uygulama modu veya tedavi edilmekte olan tıbbi durum veya hastalık hali gibi çeşitli faktörlere bağlı olacaktır. Farmasötik kompozisyonların hazırlanmasına yönelik birçok uygun taşıyıcı ve eksipiyen, ticari yollarla elde edilebilir. Örneğin bu tür materyaller, Sigma (St. Louis, MO)'dan satın alınabilir. Özel bir uygulama modu için uygun farmasötik kompozisyonlar hazırlamaya yönelik prosedürler ve materyaller, farmasötik tekniklerinde, örneğin Remington: The Science and Practice of Pharmacy, 20nci Baskı, Lippincott Williams & White, Baltimore, Maryland (2000); ve H.C. Ansel ve arkadaşları, Pharmaceutical Dosage Forms and Drug Delivery Systems, 7nci Baskı, Lippincott Williams & White, Baltimore, Maryland (1999)'da tarif edilir.

Farmasötik olarak kabul edilebilir taşıyıcılar olarak hizmet edebilen materyallerin temsili örnekleri arasında, bunlarla sınırlı olmaksızın, aşağıdakiler yer alır: (1) şekerler, örn., laktoz, glukoz ve sukroz; (2) nişastalar, örn., mısır nişastası ve patates nişastası; (3) selüloz ve bunun türevleri, örn., sodyum karboksimetil selüloz, etil selüloz ve selüloz asetat; (4) toz halinde kitre; (5) malt; (6) jelatin; (7) talk; (8) eksipiyenler, örn., kakao yağı ve fitil mumları; (9) sıvı yağlar, örn., yer fıstığı yağı, pamuk tohumu yağı, aspir yağı, susam yağı, zeytinyağı, mısır yağı ve soya fasulyesi yağı; (10) glikoller, örn.,

propilen glikol; (11) polioller, örn., gliserin, sorbitol, manitol ve polietilen glikol; (12) esterler, örn., etil oleat ve etil laurat; (13) agar; (14) tamponlama ajanları, örn., magnezyum hidroksit ve alüminyum hidroksit; (15) alginik asit; (16) pirojensiz su; (17) izotonik tuz; (18) Ringer çözeltisi; (19) etil alkol; (20) fosfat tamponu çözeltileri; (21) sıkıştırılmış propelan gazları, örn., kloroflorokarbonlar ve hidroflookarbonlar; ve (22) farmasötik kompozisyonlara kullanılan diğer toksik olmayan uyumlu maddeler.

10 Farmasötik kompozisyon tipik olarak buluşa ait bir bileşiğin farmasötik olarak kabul edilebilir bir taşıyıcı ve her opsiyonel muhteviyat ile iyice ve sıkı bir biçimde karıştırılması veya harmanlanması suretiyle hazırlanır. Gerekirse veya arzu edilirse sonuçta elde edilen homojen şekilde harmanlanmış karışım sonradan 15 klasik prosedürler ve ekipman kullanılarak tabletler, kapsüller, haplar, teneke kutular, kartuşlar veya dispenserler halinde biçimlendirilebilir veya içerisine yüklenebilir.

Bir düzenekte farmasötik kompozisyon, solumalı uygulama için 20 uygundur. Solumalı uygulamaya yönelik farmasötik kompozisyonlar tipik olarak bir aerosol veya bir toz formunda olacaktır. Bu tür kompozisyonlar genellikle iyi bilinen verme aletleri, örn., bir nebulizer inhaler, ölçülü dozlu bir inhaler (MDI), bir kuru toz inhaleri (DPI) veya benzer bir verme aleti kullanılarak uygulanır.

25

Ozel bir düzenekte terapötik ajanı içeren farmasötik kompozisyon, bir nebulizer inhaler kullanılarak inhalasyon yoluyla uygulanır. Bu tür nebulizer aletleri tipik olarak terapötik ajanı içeren farmasötik

- kompozisyonun, hastanın solunum sistemine taşınan bir buhar halinde püskürtülmesine sağlayan yüksek hızda bir hava akışı üretir. Buna göre bir nebulizer inhaler içinde kullanım için formüle edildiği durumda terapötik ajan tipik olarak uygun bir taşıyıcı içinde
- 5 çözündürülerek bir çözelti oluşturulur. Alternatif olarak terapötik ajan mikronize edilebilir ve uygun bir taşıyıcı ile birleştirilerek mikronize edilmiş partiküller içeren bir süspansiyon oluşturulabilir. Terapötik ajanların inhalasyon yoluyla uygulanması için uygun nebulizer aletleri, teknikte tarif edilir veya bu tür aletler, ticari yollarla elde
- 10 edilebilir. Örneğin temsili nebulizer aletleri ve ürünleri arasında Respimat Softmist Inhaler (Boehringer Ingelheim); AERx Pulmoner Verme Sistemi (Aradigm Corp.); ve PARI LC Plus Tekrar kullanılabilir Nebulizer (Pari GmbH) yer alır.
- 15 Bir nebulizer inhaler içerisinde kullanım için temsili bir farmasötik kompozisyon, yaklaşık 0.05 µg/mL ila yaklaşık 10 mg/mL buluşa ait bir bileşik içeren bir izotonik sulu çözelti içerir. Bir düzenekte çözeltinin pH'si, yaklaşık 4 ila yaklaşık 6 arasındadır.
- 20 Özel bir başka düzenekte terapötik ajanı içeren farmasötik kompozisyon, bir kuru toz inhaleri kullanılarak inhalasyon yoluyla uygulanır. Bu tür kuru toz inhalerleri tipik olarak terapötik ajanı, soluk alma sırasında bir hastanın hava akışı içerisinde disperse olan serbest akışlı bir toz halinde uygular. Serbest akışlı bir toza ulaşmak için
- 25 terapötik ajan tipik olarak uygun bir ekspanzyon, örn., laktoz, nişasta, manitol, dekstroz, polilaktik asit (PLA), polilaktit-ko-glikolid (PLGA) veya bunların kombinasyonları ile formüle edilir. Tipik olarak terapötik ajan mikronize edilir ve uygun bir taşıyıcı ile birleştirilerek

inhalasyon için uygun bir harman oluşturulur. Buna göre bir düzenekte buluşa ait bileşik, mikronize edilmiş formdadır.

Bir kuru toz inhaleri içerisinde kullanım için temsili bir farmasötik kompozisyon, kuru öğütülmüş laktoz ve buluşa ait bir bileşiğin mikronize edilmiş partiküllerini içerir.

Bu tür bir kuru toz formülasyonu, örneğin, laktozun terapötik ajan ile birleştirilmesi ve sonra bileşenlerin kuru harmanlanması suretiyle yapılabilir. Alternatif olarak arzu edilirse terapötik ajan, bir ekspiyan olmadan da formüle edilebilir. Farmasötik kompozisyon daha sonra tipik olarak bir kuru toz dispenserisi içerisine veya bir kuru toz verme aleti ile kullanım amaçlı inhalasyon kartuşları veya kapsülleri içerisine yüklenir.

15

Terapötik ajanların inhalasyon yoluyla uygulanması için uygun kuru toz inhaleri verme aletleri, teknikte tarif edilir veya bu tür aletler, ticari yollarla elde edilebilir. Örneğin temsili kuru toz inhaleri verme aletleri veya ürünleri arasında Aeolizer (Novartis); Airmax (IVAX); ClickHaler (Innovata Biomed); Diskhaler (GlaxoSmithKline); Diskus/Accuhaler (GlaxoSmithKline); Easyhaler (Orion Pharma); Eclipse (Aventis); FlowCaps (Hovione); Handihaler (Boehringer Ingelheim); Pulvinal (Chiesi); Rotahaler (GlaxoSmithKline); SkyeHaler/Certihaler (SkyePharma); Twisthaler (Schering-Plough); Turbuhaler (AstraZeneca); ve Ultrahaler (Aventis) yer alır.

25

Yine özel bir başka düzenekte terapötik ajanı içeren farmasötik kompozisyon, ölçülü dozlu bir inhaler kullanılarak inhalasyon yoluyla

uygulanır. Bu tür ölçülü dozlu inhalerle tipik olarak sıkıştırılmış bir propelan gazı kullanarak ölçülü miktarda bir terapötik ajanı boşaltır. Buna göre ölçülü dozlu bir inhaler kullanılarak uygulanan farmasötik kompozisyonlar tipik olarak sıvılaştırılmış bir propelan içerisinde 5 terapötik ajan içeren bir çözelti veya süspansiyon içerir. Uygun herhangi bir sıvılaştırılmış propelan, örneğin hidrofloroalkanlar (HFA'lar), örn., 1,1,1,2-tetrafloroetan (HFA 134a) ve 1,1,1,2,3,3,3-heptafloro-n-propan (HFA 227); ve kloroflorokarbonlar, örn., CCl_3F kullanılabilir. Özel bir düzenekte propelan, hidrofloroalkanlardır. Bazı 10 düzeneklerde hidrofloroalkan formülasyonu, bir ortak solvent, örn., etanol veya pentan ve/veya surfektan, örn., sorbitan trioleat, oleik asit, lesitin ve gliserin ihtiva eder.

Bir ölçülü dozlu inhaler içerisinde kullanım için temsili bir farmasötik 15 kompozisyon, ağırlık olarak yaklaşık %0,01 ila yaklaşık %5 arasında formül I'e ait bir bileşik; ağırlık olarak yaklaşık %0 ila yaklaşık %20 arasında etanol; ve ağırlık olarak yaklaşık %0 ila yaklaşık %5 arasında surfektan içerir; geri kalanı ise, bir HFA propelandır.

20 Bu tür kompozisyonlar tipik olarak soğutulmuş veya bastırılmış hidrofloroalkanın terapötik ajan, etanol (eğer varsa) ve surfektan (eğer varsa) ihtiva eden uygun bir kap içerisine ilave edilmesi suretiyle hazırlanır. Bir süspansiyon hazırlamak için terapötik ajan mikronize edilir ve sonra propelan ile birleştirilir. Formülasyon daha sonra tipik 25 olarak bir ölçülü dozlu inhaler aletinin bir bölümünü oluşturan bir aerosol kutusu içerisine yüklenir.

Terapötik ajanların inhalasyon yoluyla uygulanması için uygun ölçülü

dozlu inhaler aletleri, teknikte tarif edilir veya bu tür aletler, ticari yollarla elde edilebilir. Örneğin temsili ölçülü dozlu inhaler aletleri veya ürünleri arasında AeroBid İnhaler Sistemi (Forest Pharmaceuticals); Atrovent İnhalasyon Aerosol (Boehringer Ingelheim); Flovent (GlaxoSmithKline); Maxair İnhaler (3M); Proventil İnhaler (Schering); ve Serevent İnhalasyon Aerosol (GlaxoSmithKline) yer alır.

Bir başka düzenekte farmasötik kompozisyon, oral uygulama için uygundur. Oral uygulamaya yönelik farmasötik kompozisyonlar, kapsüller, tabletler, haplar, dilaltı hapları, kaşeler, drajeler, tozlar, granüller şeklinde; veya bir sulu veya sulu olmayan sıvı içinde bir çözelti veya bir süspansiyon halinde; veya bir su içinde yağ veya yağ içinde su sıvı emülsiyonu halinde; veya bir iksir veya şurup halinde olabilir; bunların her biri, önceden belirlenmiş miktarda etken madde ihtiva eder.

Bir katı dozaj formunda (yani kapsüller, tabletler veya haplar) oral uygulama için amaçlandığı durumda farmasötik kompozisyon tipik olarak buluşa ait bir bileşik ve bir veya daha fazla farmasötik olarak kabul edilebilir taşıyıcı, örn., sodyum sitrat veya dikalsiyum fosfat içerecektir. İsteğe bağlı olarak veya alternatif olarak bu tür katı dozaj formları, şunları da içerebilir: (1) dolgu maddeleri veya çoğaltıcılar, örn., nişastalar, laktoz, sukroz, glukoz, manitol ve/veya silisik asit; (2) bağlayıcılar, örn., karboksimetilselüloz, alginatlar, jelatin, polivinil pirolidon, sukroz ve/veya akasya; (3) humektanlar, örn., gliserol; (4) ayrıştırıcı ajanlar, örn., agar-agar, kalsiyum karbonat, patates veya tapyoka nişastası, alginik asit, belirli silikatlar ve/veya sodyum

karbonat; (5) çözelti geciktirici ajanlar, örn., parafin; (6) absorpsiyon hızlandırıcılar, örn., dördüncül ajan bileşikleri; (7) nemlendirici ajanlar, örn., setil alkol ve/veya gliserol monostearat; (8) absorbentler, örn., kaolin ve/veya bentonit kili; (9) yağlayıcılar, örn., talk, kalsiyum stearat, magnezyum stearat, katı polietilen glikoller, sodyum lauril sülfat ve/veya bunların karışımları; (10) renklendirici ajanlar; ve (11) tamponlama ajanları.

Farmasötik kompozisyon içerisinde salım ajanları, nemlendirici ajanlar, kaplama ajanları, tatlandırıcı, aroma verici ve koku verici ajanlar, prezervatifler ve antioksidanlar da mevcut olabilir. Farmasötik olarak kabul edilebilir antioksidanların örnekleri arasında şunlar yer alır: (1) suyla çözülebilir antioksidanlar, örn., askorbik asit, sistein hidroklorür, sodyum bisülfat, sodyum metabisülfat ve sodyum sülfat; (2) yağ ile çözülebilir antioksidanlar, örn., askorbil palmitat, butile edilmiş hidroksianisol (BHA), butile edilmiş hidroksitolüen (BHT), lesitin, propil galat ve alfa-tokoferol; ve (3) metal kısıkaçlayıcı ajanlar, örn., sitrik asit, etilendiamin tetraasetik asit (EDTA), sorbitol, tartarik asit ve fosforik asit. Tabletler, kapsüller, haplar ve benzeri için kaplama ajanları arasında enterik kaplamalar için kullanılanlar, örn., selüloz asetat fitalat (CAP), polivinil asetat fitalat (PVAP), hidroksipropil metilselüloz fitalat, meakrilik asit!metakrilik asit ester kopolimerleri, selüloz asetat trimellitit (CAT), karboksimetil etil selüloz (CMEC) ve hidroksipropil metil selüloz asetat sukinat (HPMCAS) yer alır.

Arzu edilirse farmasötik kompozisyon, örnek olarak, değişken oranlarda hidroksipropil metil selüloz; veya diğer polimer matrisleri,

lipozomlar ve/veya mikrosferler kullanılarak etken maddenin yavaş veya kontrollü salınmasını sağlayacak şekilde de formüle edilebilir.

Ek olarak farmasötik kompozisyon isteğe bağlı olarak bir matlaştırma ajanı da ihtiva edebilir ve etken maddenin birincil olarak gastrointestinal sistemin belirli bir bölümünde veya gecikmeli bir biçimde salınacağı şekilde formüle edilebilir. Kullanılabilen gömme kompozisyonları örnekleri arasında polimerik maddeler ve mumlar yer alır. Etken madde ve etken maddeleri ihtiva eden bir farmasötik kompozisyon, mikro-kapsüle edilmiş formda da olabilir.

Oral uygulama için uygun sıvı dozaj formları arasında, açıklama amacıyla, farmasötik olarak kabul edilebilir emülsiyonlar, mikroemülsiyonlar, çözeltiler, süspansiyonlar, şuruplar ve iksirler yer alır. Bu tür sıvı dozaj formları tipik olarak etken madde ve eylemsiz bir seyreltici, örneğin, su veya diğer solventler, çözünürleştirici ajanlar ve emülsiferler, örn., etil alkol, izpropil alkol, etil karbonat, etil asetat, benzil alkol, benzil benzoat, propilen glikol, 1,3-butilen glikol, sıvı yağlar (özellikle pamuk tohumu, yer fıstığı, mısır, rüşeym, zeytin, hint ve susam yağları), gliserol, tetrahidrofuril alkol, polietilen glikoller ve sorbitanın yağlı asit esterleri ve bunların karışımlarını içerir. Süspansiyonlar, etken maddeye ek olarak, süspanse edici ajanlar, örneğin etoksile izostearil alkoller, polioksietilen sorbitol ve sorbitan esterler, mikrokristalli selüloz, alüminyum metahidroksid, bentonit, agar-agar ve kitre ve bunların karışımlarını da ihtiva edebilir.

Oral uygulama için amaçlandığı durumda farmasötik kompozisyon, bir birim dozaj formunda paketlenabilir. "Birim dozaj formu" terimi,

bir hastaya dozlanmak için uygun fiziksel olarak ayrı bir birim anlamına gelir; yani her bir birim, tek başına yada bir veya daha fazla ilave birim ile kombinasyon halinde arzu edilen terapötik etkiyi üretmek için hesaplanan önceden belirlenmiş miktarda aktif ajan
5 ihtiva eder. Örneğin bu tür bir birim dozaj formu, bir kapsül, tablet veya hap olabilir.

Buluşa ait bileşikler ayrıca bilinen transdermal verme sistemleri ve eksipiyenler kullanılarak transdermal yoldan da uygulanabilir.
10 Örneğin bileşik, permeasyon arttırıcılar, örn., propilen glikol, polietilen glikol monolaurat veya azasikloalkan-2-onlar ile karıştırılabilir ve bir peç veya benzeri bir verme sistemi içerisine dahil edilebilir. Jelleştirici ajanlar, emülsiferler ve tamponlar dahil olmak üzere ilave eksipiyenler da, arzu edilirse bu tür transdermal
15 kompozisyonlar içerisinde kullanılabilir.

Ek olarak buluşa ait bir bileşik, parenteral yoldan, yani intravenöz, subkütan veya intramüsküler yoldan da uygulanabilir. Parenteral uygulamada formül I'e ait bir bileşik tipik olarak parenteral uygulama
20 için kabul edilebilir bir taşıyıcı, örn., steril su, tuz veya bitkisel yağ içerisinde çözündürülür. Açıklama amacıyla bir intravenöz kompozisyon tipik olarak buluşa ait bir bileşik içeren steril bir sulu çözelti içerir, ki burada çözelti yaklaşık 4 ila yaklaşık 7 aralığında bir pH'a sahiptir.

25

Arzu edilirse buluşa ait bir bileşik, bir veya daha fazla başka terapötik ajan ile kombinasyon halinde uygulanabilir. Buluşun bu yönünde buluşa ait bir bileşik ya diğer terapötik ajan ile fiziksel olarak

karıştırılarak her iki ajanı da ihtiva eden bir kompozisyon oluşturulur yada her bir ajan, hastaya aynı anda veya sırayla uygulanan ayrı ve farklı kompozisyonlar halinde mevcut olur.

- 5 Örneğin buluşa ait bir bileşik, klasik prosedürler ve ekipman kullanılarak ikinci terapötik ajan ile birleştirilebilir, böylelikle buluşa ait bir bileşik ve ikinci bir terapötik ajan içeren bir kompozisyon oluşturulabilir. Ek olarak terapötik ajanlar, farmasötik olarak kabul edilebilir bir taşıyıcı ile birleştirilerek buluşa ait bir bileşik, ikinci bir
- 10 terapötik ajan ve farmasötik olarak kabul edilebilir bir taşıyıcı içeren bir farmasötik kompozisyon oluşturulabilir. Bu düzenekte kompozisyonun bileşenleri tipik olarak karıştırılarak veya harmanlanarak bir fiziksel karışım yaratılır. Fiziksel karışım daha sonra burada tarif edilen yollardan herhangi biri kullanılarak terapötik
- 15 olarak etkili bir miktarda uygulanır.

- Alternatif olarak terapötik ajanlar, hastaya uygulanmadan önce ayrı ve farklı kalabilir. Bu düzenekte terapötik ajanlar, uygulama öncesinde fiziksel olarak birbirine karıştırılmaz, aynı anda veya sırayla ayrı
- 20 kompozisyonlar halinde uygulanır. Örneğin buluşa ait bir bileşik, her bir terapötik ajan için ayrı bölmeler (örn., blister cepler) kullanılan bir inhalasyon verme aleti kullanılarak bir başka terapötik ajan ile aynı anda veya sırayla inhalasyon yoluyla uygulanabilir. Alternatif olarak kombinasyon, ayrı ayrı verme aletleri, yani her bir terapötik ajan için
- 25 bir verme aleti kullanılarak da uygulanabilir. Ek olarak terapötik ajanlar, farklı uygulama yollarıyla, yani biri inhalasyon yoluyla ve diğeri, oral uygulama yoluyla da verilebilir.

Buluşa ait bileşikler ile uyumlu herhangi bir terapötik ajan, bu tür bileşikler ile kombinasyon halinde kullanılabilir. Özel bir düzenekte ikinci terapötik ajan, inhalasyon yoluyla etkili şekilde uygulanan biridir. Açıklama amacıyla, düzeneklerdeki bileşikler ile birlikte kullanılabilecek terapötik ajanların temsili tipleri arasında, bunlarla sınırlı olmaksızın, anti-enflamatuar ajanlar, örn., steroid al anti-enflamatuar ajanlar (örneğin kortikosteroidler ve glukokortikoidler), steroid al olmayan anti-enflamatuar ajanlar (NSAIDler) ve PDE₄ inhibitörleri; bronkodilatörler, örn., PDE₃ inhibitörleri, adenosin 2b modölatörleri ve P₂ adrenerjik reseptör agonistleri; anti-enfektif ajanlar, örn., Gram-pozitif antibiyotikler, Gram-negatif antibiyotikler; ve antiviral ajanlar; antihistaminler; proteaz inhibitörleri; afferent bloke ediciler, örn., D₂ agonistleri ve nörokinin modölatörleri; ve muskarinik reseptör antagonistleri (antikolinerjik ajanlar) yer alır. Bu tür terapötik ajanların birçok örneği, teknikte iyi bilinir. Buluşa ait bir bileşik ile kombinasyon halinde uygulanan diğ er terapötik ajanların uygun dozları tipik olarak günde yaklaşık 0,05 µg ila günde yaklaşık 500 mg aralığındadır.

Özel bir düzenekte buluşa ait bir bileşik, bir steroid al anti-enflamatuar ajan ile kombinasyon halinde uygulanır. Düzeneklerdeki bileşikler ile kombinasyon halinde kullanılabilen steroid al anti-enflamatuar ajanların temsili örnekleri arasında, bunlarla sınırlı olmaksızın, beklometazon dipropiyonat; budesonid; butiksokort propiyonat; 20R-16α,17α-[butilidenbis(oksi)]-6α,9α-difloro-11β-hidroksi-17β-(metiltiyo)androsta-4-en-3-on (RPR-106541); siklesonid; deksametazon; 6α,9α-difloro-17α-[(2-furanilkarbonil)oksi]-11β-hidroksi-16α-metil-3-oksoandrosta-1,4-dien-17β-karbotiyoik asit S-

florometil ester; 6 α ,9 α -difloro-11 β -hidroksi-16 α -metil-17 α -[(4-metil-1,3-tiyazol-5-karbonil)oksi]-3-oksoandrosta-1,4-dien-17 β -karbotiyoik asit S-florometil ester; 6 α ,9 α -difloro-11 β -hidroksi-16 α -metil-3-okso-17 α -propioniloksiandrosta-1,4-dien-17 β -karbotiyoik asit (S)-(2-oksotetrahidrofuran-3S-il)ester; flunisolid; flutikason furoat; flutikason propiyonat; metil prednisolon; mometason furoat; prednisolon; prednison; rofleponid; ST-126; ve triamsinolon asetonid; veya bunların farmasötik olarak kabul edilebilir tuzları veya solvatları yer alır. Bu tür steroidal anti-enflamatuar ajanlar, ticari yollarla elde edilebilir veya klasik prosedürler ve reaktifler kullanılarak hazırlanabilir. Örneğin steroidal anti-enflamatuar ajanların preparasyonu ve kullanımı, ABD Patenti No. 6,537,983, veriliş tarihi 25 Mart 2003; ABD Patenti No. 6,750,210 B2, veriliş tarihi 15 Haziran 2004; ABD Patenti No. 6,759,398 B2, veriliş tarihi 6 Temmuz 2004; ABD Patenti No. 6,858,596 B2, veriliş tarihi 22 Şubat 2005; U.S. 7,101,866 B2, veriliş tarihi 5 Eylül 2006; ve burada verilen referanslarda tarif edilir.

Kullanıldığı durumda steroidal anti-enflamatuar ajan tipik olarak düzeneklerdeki bir bileşik ile birlikte uygulandığı durumda terapötik açıdan faydalı bir etki üreten bir miktarda uygulanır. Tipik olarak steroidal anti-enflamatuar ajan, doz başına yaklaşık 0,05 μ g ile yaklaşık 500 μ g sağlamak için yeterli bir miktarda uygulanacaktır.

Aşağıdaki örnekler, temsili farmasötik kompozisyonları açıklar:

A. Kuru Toz Kompozisyonu

Buluşa ait mikronize edilmiş bir bileşik (100 mg), öğütülmüş laktoz (25 g) (örn., partiküllerinin en fazla yaklaşık %85'inin MMD'sinin yaklaşık 60 µm ile yaklaşık 90 µm arasında olduğu ve partiküllerinin en az %15'inin MMD'sinin 15 µm'nin altında olduğu laktoz) ile harmanlanır. Bu harmanlanmış karışım daha sonra soyulabilir bir blister cebin ayrı ayrı blisterleri içerisine, doz başına yaklaşık 10 µg ile yaklaşık 500 µg arasında bileşik sağlamak için yeterli bir miktarda yüklenir. Blisterlerin içerikleri, bir kuru toz inhaleri kullanılarak uygulanır.

10

B. Kuru Toz Kompozisyonu

Buluşa ait mikronize edilmiş bir bileşik (1 g), öğütülmüş laktoz (200 g) ile harmanlanarak bileşiğin öğütülmüş laktoza ağırlık oranının 1:200 olduğu bir yığın kompozisyon oluşturulur. Harmanlanmış kompozisyon, doz başına yaklaşık 10 µg ile yaklaşık 500 µg arasında buluşa ait bileşik verebilen bir kuru toz inhalasyon aleti içerisine paketlenir.

C. Kuru Toz Kompozisyonu

Buluşa ait mikronize edilmiş bir bileşik (100 mg) ve mikronize edilmiş bir steroid anti-enflamatuar ajan (500 mg), öğütülmüş laktoz (30 g) ile harmanlanır. Bu harmanlanmış karışım daha sonra soyulabilir bir blister cebin ayrı ayrı blisterleri içerisine, doz başına yaklaşık 10 µg ile yaklaşık 500 µg arasında bileşik sağlamak için yeterli bir miktarda yüklenir. Blisterlerin içerikleri, bir kuru toz inhaleri kullanılarak uygulanır.

25

D. Ölçülü Dozlu İnhaler Kompozisyonu

Buluşa ait mikronize edilmiş bir bileşik (10 g), lesitin (0,2 g) demineralize edilmiş su (200 mL) içinde çözündürülmesiyle hazırlanmış bir çözelti içinde disperse edilir. Sonuçta elde edilen süspansiyon, spreyle kurutulur ve sonra mikronize edilerek ortalama çapı yaklaşık 1.5 μm 'nin altında olan partiküller içeren mikronize edilmiş bir kompozisyon oluşturulur. Mikronize edilmiş kompozisyon daha sonra ölçülü dozlu inhaler yoluyla uygulandığı durumda doz başına yaklaşık 10 μg ile yaklaşık 500 μg arasında buluşa ait bileşik sağlamak için yeterli bir miktarda bastırılmış 1,1,1,2-tetrafloroetan ihtiva eden ölçülü dozlu inhaler kartuşları içerisine yüklenir.

E. Nebulizer Kompozisyonu

Buluşa ait bir bileşik (25 mg), sitrat tamponlu (pH 5) izotonik tuz (125 mL) içinde çözündürülür. Karışım, bileşik çözünene kadar karıştırılır ve soniklenir. Çözeltinin pH'si kontrol edilir ve gerekirse yavaş yavaş sulu IN sodyum hidroksit ilave etmek suretiyle pH 5'e ayarlanır. Çözelti, doz başına yaklaşık 10 μg ile yaklaşık 500 μg arasında buluşa ait bileşik sağlayan bir nebulizer aleti kullanılarak uygulanır.

F. Sert Jelatin Kapsüller

Buluşa ait bir bileşik (50 g), spreyle kurutulmuş laktoz (440 g) ve magnezyum stearat (10 g) iyice harmanlanır. Sonuçta elde edilen kompozisyon, oral yoldan uygulanan bir sert jelatin kapsül (kapsül başına 500 mg kompozisyon) içerisine yüklenir.

G. Enjekte edilebilir Kompozisyon

Buluşa ait bir bileşik (0,2 g), 0,4 M sodyum asetat tampon çözeltisi (2,0 mL) ile harmanlanır. Sonuçta elde edilen çözeltinin pH'si, gerektiğinde 0,5 N sulu hidroklorik asit veya 0,5 N sulu sodyum hidroksit kullanılarak pH 4'e ayarlanır ve sonra toplam 20 mL'lik bir hacim sağlamak için yeterli enjeksiyon suyu ilave edilir. Karışım daha sonra bir steril filtreden (0,22 mikron) filtre edilerek enjeksiyon yoluyla uygulanmaya uygun steril bir çözelti sağlanır.

10

Fayda

Buluşa ait bileşikler, hem muskarinik reseptör antagonisti aktivitesine hem de β_2 adrenerjik reseptör agonistine sahiptir ve bu yüzden bu tür bileşiklerin, muskarinik reseptörlerin ve/veya β_2 adrenerjik reseptörlerinin aracılık ettiği tıbbi durumların, yani bir muskarinik reseptör antagonisti veya bir β_2 adrenerjik reseptör agonisti ile tedavi yoluyla iyileştirilen veya makul düzeye getirilen tıbbi durumların tedavisinde terapötik ajanlar olarak faydalı olmaları beklenir. Bu tür tıbbi durumlar, Eglen ve arkadaşları, Muscarinic Receptor Subtypes: Pharmacology and Therapeutic Potential, DN&P 10(8), 462-469 (1997); Emilien ve arkadaşları, Current Therapeutic Uses and Potential of beta-Adrenoceptor Agonists and Antagonists, European J. Clinical Pharm., 53(6), 389-404 (1998); ve burada verilen referanslardaki öğretilerle örneklendiği gibi teknikte sıradan uzmanlığa sahip kişilerce iyi bilinir. Bu tür tıbbi durumlar arasında, örnek olarak, tersine çevrilebilir hava yolu obstrüksiyonu ile ilişkili pulmoner bozukluklar veya hastalıklar, örn., kronik obstrüktif

25

- pulmoner hastalık (örn., kronik ve hırıltılı bronşit ve amfizem), astım, pulmoner fibroz, yetişkin/akut respiratuar distres sendromu (ARDS), kronik respiratuar obstrüksiyon, bronkiyal hiperaktivite, alerjik rinit, pnömokonyozis (örn., alüminozis, antrakozis, asbestozis, kalikozis, ptilozis, siderozis, silikozis, tabakozis ve bissinozis) ve terapötik ajanın indüklediği bronkodilasyondan fayda sağlayan, kaynağı bilinmeyen diğer pulmoner bozukluklar yer alır. Ek olarak en azından kısmen bir muskarinik reseptör antagonisti veya bir β_2 adrenerjik reseptör agonisti ile tedavi edilebildiği bilinen diğer durumlar arasında erken doğum, depresyon, konjestif kalp yetmezliği, cilt hastalıkları (örn., enflamatuar, alerjik, psöriyatik ve proliferatif cilt hastalıkları), peptik asiditesinin düşürülmesi arzu edilen durumlar (örn., peptik ve gastrik ülserasyon) ve kas atrofisi hastalığı yer alır.
- 15 Buna göre bu buluş, bir pulmoner bozukluğun, tedaviye ihtiyacı olan bir hastaya, terapötik olarak etkili miktarda buluşa ait bir bileşik uygulanmasını kapsayan tedavisinde fayda bulur. Bir pulmoner bozukluğu tedavi etmek için kullanıldığı durumda buluşa ait bileşikler tipik olarak günde birçok doz halinde, günde tek bir doz halinde veya
- 20 haftada tek bir doz halinde inhalasyon yoluyla uygulanacaktır. Genellikle bir pulmoner bozukluğun tedavi edilmesine yönelik dozun, günde yaklaşık 10 µg ile günde yaklaşık 1500 µg; örn., günde yaklaşık 25 µg ile günde yaklaşık 1000 µg; örneğin günde yaklaşık 50 µg ile günde yaklaşık 500 µg aralığında olması beklenir.

25

Bu buluş ayrıca kronik obstrüktif pulmoner hastalık veya astımın, bir hastaya, terapötik olarak etkili miktarda buluşa ait bir bileşik uygulanmasını kapsayan tedavisinde de fayda bulur. Genellikle COPD

veya astımın tedavisine yönelik dozun, günde yaklaşık 10 µg ile günde yaklaşık 1500 µg aralığında olması beklenir. Özellikle bu yöntem, COPD veya astımın semptomlarının hafifletilmesini kapsar. "COPD" teriminin, Barnes, Chronic Obstructive Pulmonary Disease, N. Engl. J. Med., 2000: 343:269-78 ve burada verilen referanslardaki öğretilerle örneklendiği gibi, kronik obstrüktif bronşit ve amfizem dahil olmak üzere çeşitli respiratuar durumları kapsadığı, teknikte sıradan uzmanlığa sahip kişilerce anlaşılır.

- 10 İnhalasyon yoluyla uygulandığı durumda buluşa ait bileşikler tipik olarak bronkodilasyon üretme etkisi gösterir. Buna göre buluş ayrıca bir memelide, memeliye, buluşa ait bir bileşikten bronkodilasyon üreten bir miktarda uygulanmasını kapsayan bronkodilasyon üretmede de fayda bulur. Genellikle bronkodilasyon üretmeye yönelik doz, 15 günde yaklaşık 10 µg ile günde yaklaşık 1500 µg aralığında olacaktır.

Bir terapötik ajan olarak kullanıldığı durumda buluşa ait bileşikler isteğe bağlı olarak bir başka terapötik ajan veya ajanlar ile kombinasyon halinde uygulanır. Özellikle buluşa ait bileşiklerin bir steroida anti-enflamatuar ajan ile birlikte uygulanmasıyla sadece iki terapötik ajan kullanılarak üçlü terapi, yani muskarinik reseptör antagonisti aktivitesi, β_2 adrenerjik reseptör agonisti aktivitesi ve anti-enflamatuar aktivite beklenir. İki terapötik ajan ihtiva eden farmasötik kompozisyonların (ve kombinasyonların) formüle edilmesi ve/veya uygulanması, üç terapötik ajan ihtiva eden kompozisyonlara kıyasla tipik olarak daha kolay olduğundan bu tür iki bileşenli kompozisyonlar, üç terapötik ajan ihtiva eden kompozisyonlara göre anlamlı bir avantaj sunar. Buna göre özel düzeneklerde bu buluşa ait

farmasötik kompozisyonlar, kombinasyonlar ve yöntemler ayrıca bir steroidall anti-enflamatuar ajan da içerir.

Buluşa ait bileşikler, hem muskarinik reseptör antagonisti aktivitesine hem de β_2 adrenerjik agonisti aktivitesine sahip olduğundan bu tür bileşikler ayrıca muskarinik reseptörlere veya β_2 adrenerjik reseptörlerine sahip biyolojik sistemlerin veya örneklerin araştırılması veya bunlar üzerinde çalışılmasında araştırma araçları olarak da faydalıdır. Ek olarak bu tür bileşikler, örneğin hem muskarinik reseptör antagonisti aktivitesine hem de β_2 adrenerjik agonisti aktivitesine sahip yeni bileşikler keşfetmek için tarama deneylerinde de faydalıdır. Kullanılan biyolojik sistemler veya örnekler, muskarinik reseptörler veya β_2 adrenerjik reseptörleri veya her ikisini de içerebilir. *In vitro* yada *in vivo* gerçekleştirilebilen bu tür çalışmalarda, muskarinik reseptörlere ve/veya β_2 adrenerjik reseptörlerine sahip herhangi bir uygun biyolojik sistem veya örnek kullanılabilir. Bu tür çalışmalar için uygun temsili biyolojik sistemler veya örnekler arasında, bunlarla sınırlı olmaksızın, hücreler, hücresel öütler, plazma membranları, doku örnekleri veya memeliler (örn., fareler, sıçanlar, guinea domuzları, tavşanlar, köpekler, domuzlar, vb.) yer alır.

Bir araştırma aracı olarak kullanıldığı durumda, bir muskarinik reseptör ve/veya bir β_2 adrenerjik reseptörü içeren bir biyolojik sistem veya örnek tipik olarak muskarinik reseptör antagonize edici veya β_2 adrenerjik reseptör agonize edici miktarda buluşa ait bir bileşik ile temas ettirilir. Daha sonra biyolojik sistem veya örnek üzerinde bileşiğin ürettiği etkiler, klasik prosedürler ve ekipman kullanılarak,

örn., bir radyoligand bağlama deneylerinde bağlanmanın veya bir fonksiyon deneyinde ligand aracılı değişikliklerin ölçülmesi veya bir memelide bir bronko-koruma deneyinde bileşiğin sağladığı bronko-koruma miktarının belirlenmesiyle belirlenir veya ölçülür. Temsili

5 fonksiyon deneyleri arasında hücre içi siklik adenosin monofosfatta (cAMP) ligand aracılı değişiklikler; adenilil siklaz enziminin (cAMP'yi sentezleyen) aktivitesinde ligand aracılı değişiklikler; reseptör katalizinde GDP yerine [³⁵S]GTP S konulması suretiyle guanosin 5'-O-(tiyo)trifosfatın ([³⁵S]GTP S) izole edilmiş membranlar

10 içine dahil edilmesinde ligand aracılı değişiklikler; serbest hücre içi kalsiyum iyonlarında ligand aracılı değişiklikler (örneğin flöresana bağlı bir görüntüleme plaka okuyucusu veya Molecular Devices, Inc.'den IFLIPR® ile ölçülen); ve benzerleri yer alır. Buluşa ait bileşiklerin, burada sıralanan fonksiyon deneylerinde veya benzer bir

15 yapıdaki deneylerde bir muskarinik reseptörün aktivasyonunu antagonize etmesi veya azaltması veya bir β_2 adrenerjik reseptörünün aktivasyonunu agonize etmesi ve buna neden olması beklenir. Buluşa ait bileşikler, bu çalışmalarda, tipik olarak yaklaşık 0,1 nanomolar ile yaklaşık 100 nanomolar aralığındaki bir konsantrasyonda

20 kullanılacaktır.

Ek olarak buluşa ait bileşikler, diğer kimyasal bileşikleri değerlendirmek için araştırma araçları olarak da kullanılabilir. Bu yönde buluşa ait bir bileşik, bir test bileşiği ve buluşa ait bileşik ile

25 elde edilen sonuçların karşılaştırılmasını sağlama amaçlı bir deneyde bir standart olarak kullanılır. Örneğin bir test bileşiği veya bir grup test bileşiği için olan muskarinik reseptör ve/veya β_2 adrenerjik reseptörü bağlama verileri (örneğin in vitro radyoligand yer değiştirme

- deneyleriyle belirlenen şekilde), buluşa ait bir bileşik için olan muskarinik reseptör ve/veya β_2 adrenerjik reseptörü bağlama verileri ile karşılaştırılarak arzu edilebilir bağlama gösteren test bileşikleri, yani hiç değilse buluşa ait bir bileşiğe yaklaşık denk veya bundan
- 5 üstün bağlama gösteren test bileşikleri tanımlanır. Alternatif olarak örneğin bronko-koruyucu etkiler, test bileşikleri ve buluşa ait bir bileşik için bir memelide bir bronko-koruma deneyinde belirlenebilir ve bu veriler karşılaştırılarak bronko-koruyucu etkileri veya etki süreleri yaklaşık denk veya daha üstün olan test bileşikleri tanımlanır.
- 10 Hem (i) karşılaştırma verilerinin üretilmesi (uygun deneyler kullanılarak) hem de (ii) test verilerinin analiz edilmesiyle ilgili test bileşiklerinin tanımlanması sağlanabilir.

- Buluşa ait bileşiklerin özellikleri ve faydası, teknikte sıradan
- 15 uzmanlığa sahip kişilerce bilinen çeşitli in vitro ve in vivo deneyler kullanılarak ortaya konulabilir. Örneğin temsili deneyler, aşağıdaki Örneklerde daha detaylı bir biçimde açıklanmaktadır.

ÖRNEKLER

20

Aşağıdaki örnekler, bu buluşun çeşitli temsili düzeneklerini ve yönlerini açıklamak için verilmiş olup aksi spesifik olarak belirtilmedikçe bu buluşun kapsamını herhangi bir şekilde kısıtlamaları amaçlanmaz.

25

Aşağıdaki örneklerde kullanılan bütün reaktifler, başlangıç materyalleri ve solventler, ticari tedarikçilerden (örn., Aldrich

Chemical Company, Milwaukee, WI) satın alındı ve aksi ifade edilmedikçe bir daha saflaştırılmadan kullanıldı.

¹H NMR spektrumları, aksi ifade edilmedikçe, bir 400 MHz Varian AS400 spektrometre üzerine kaydedildi. Kimyasal kaymalar, bir dahili standart olarak tetrametilsilana (TMS) göre ppm cinsinden δ değerleri şeklinde bildirilir. Birleşme sabitleri (J değerleri), hertz (Hz) cinsinden verilir ve çokluluklar, aşağıdaki kısaltmalar kullanılarak bildirilir: s = tekli, d = ikili, t = üçlü, q = dördü, m = çoklu, br = geniş, nd = belirlenmedi.

Sıvı Kromatografisi Kütle Spektroskopisi (LC-MS) Koşulları

LC-MS verileri, bir Agilent 1100 Sıvı Kromatografisi Sistemi - G1312A İkili Pompa (Agilent Technologies), bir ZORBAX Hızlı Çözünürlüklü 3.5 μ m Rx, Bonus-RP kolonu (3,5 μ m partikül büyüklüğü; 2,1 mm x 50 mm) (Agilent Technologies) ve API 150EX Tekli Dört kutuplu LC/MS Kütle Spektrometresi (Perkin-Elmer Sciex Instruments) kullanılarak elde edildi. Kullanılan solvent sistemleri şöyleydi:

Solvent A:	%98 su ve %2 asetonitril (h/h) + 1 mL/L TFA	
Solvent B:	%90 asetonitril ve %10 Su (h/h) + 1 mL/L TFA	
Akış Hızı:	500 μ L/dak.	
Gradyan:	(Yöntem 10 -90):	3 dakika zarfında %10 B ila %90 B
	(Yöntem 2 -90):	3 dakika zarfında %2 B ila %90 B
	(Yöntem 10 -70):	3 dakika zarfında %10 B ila %70 B.

HPLC Koşulları

HPLC, bir HP 1100 Serisi HPLC Sistemi (Agilent Technologies) ve bir ZORBAX Hızlı Çözünürlüklü 3,5 μ m Rx, Bonus-RP kolonu (3,5 μ m partikül büyüklüğü; 2,1 mm x 50 mm) (Agilent Technologies) veya bir Ascentis Express C18 HPLC kolonu (2,7 μ m partikül büyüklüğü, 3,0 mm x 3 cm) kullanılarak gerçekleştirildi. Kullanılan solvent sistemleri şöyleydi:

Solvent A:	%98 su ve %2 asetonitril (h/h) + 1 mL/L TFA	
Solvent B:	%90 asetonitril ve %10 Su (h/h) + 1 mL/L TFA	
Akış Hızı:	500 μ L/dak.	
Gradyan:	(Yöntem 10 - 50):	6 dakika zarfında %10 B ila %50 B
(Yöntem 10 - 70):	6 dakika zarfında %10 B ila %70 B	
(Yöntem 2 -90):	6 dakika zarfında %2 B ila %90 B	

Örnek 1

10

Metil (3-Bromofenil)asetatın preparasyonu

MeOH (230 mL) içerisinde (3-bromofenil)asetik asit (10,0 g, 0,0465 mol) ve konsantre edilmiş sülfürik asit (4,5 mL) içeren karıştırılmış bir çözelti, 16 saat süreyle 40°C'de ısıtıldı. Reaksiyon karışımı, indirgenmiş basınç altında konsantre edildi ve tortu, su (50 mL) ve DCM (100 mL) ile karıştırıldı. Katmanlar ayrıldı ve organik katman, indirgenmiş basınç altında konsantre edildi. Tortu, silika jel flaş kromatografisiyle (%0-10 EtOAc/heksanlar) saflaştırılarak başlık bileşiği (19,8 g, %91 verim), renksiz bir yağ halinde elde edildi.

20

LC-MS (Yöntem 10-90): Rt 3.36 dak.; m/z 300.4 [M + H]⁺; 229.6 [M⁺]. ¹H NMR (CD₃OD) δ 7.48(s, 1H); 7.44(d, 1H); 7.26-7.25(m, 2H); 3.71(s, 3H); 3.66(s, 2H).

5 Örnek 2

Metil [3-(2-Oksopropil)fenil]asetatın preparasyonu

Tolüen (70 mL) içerisinde metil (3-bromofenil)asetat (19,7 g, 86,0 mmol), tributiltin metoksid (37,1 mL, 129 mmol), izopropenil asetat (14,2 mL, 129 mmol), paladyum asetat (961 mg, 4,28 mmol) ve tri-*o*-tolilfosfin (2,63 g, 8,64 mmol) içeren karıştırılmış bir karışım, 6 saat süreyle 100°C’de ısıtıldı. Sulu potasyum florid çözeltisi (4 M, 120 mL) ve EtOAc (200 mL) ilave edildi ve sonuçta elde edilen karışım, bir gece süreyle karıştırıldı. Karışım daha sonra Celite’den filtre edildi ve katmanlar ayrıldı. Organik katman, su ile yıkandı ve sonra indirgenmiş basınç altında konsantre edildi. Tortu, silika jel flaş kromatografisiyle (%0-8 DCM içinde MeOH) saflaştırılarak başlık bileşiği (11,8 g, %66 verim) elde edildi.

LC-MS (Yöntem 10-90): Rt 4,24 dak; m/z 207,3 [M + H]⁺.

Örnek 3

Metil {3-[(S)-2-((S)-1-Feniletilamino)propil]fenil}asetat Hidroklorür Tuzunun Preparasyonu

25

DCM (69 mL) içerisinde metil [3-(2-oksopropil)fenil]asetat (2,31 g, 11,2 mmol), (S)-1-feniletilamin (3,4 mL, 27,0 mmol), sodyum triasetoksiborohidrid (14 g, 68,0 mmol) ve magnezyum sülfat (3,2 g,

27,0 mmol) içeren bir karışım, bir gece süreyle karıştırıldı. Reaksiyon karışımı, 0°C'ye kadar soğutuldu ve efervesan durana kadar doymuş sulu sodyum bikarbonat çözeltisi (150 mL) ilave edildi. Katmanlar ayrıldı ve sulu katman, DCM (70 mL) ile özümlendi. Birleştirilen organik katmanlar, sodyum sülfat üzerinde kurutuldu, filtre edildi ve indirgenmiş basınç altında konsantre edildi. Tortu, silika jel flaş kromatografisiyle (%0-10 DCM içinde MeOH) saflaştırıldı. Urüne, sulu hidroklorik asit (6 N, 2 mL) ilave edilerek hidroklorür tuzu oluşturuldu. MeOH (50 mL) ilave edildi ve sonuçta elde edilen karışım, indirgenmiş basınç altında konsantre edildi. Bu prosedür tekrarlandı ve sonra katının tamamen çözünmesi için minimum miktarda MeOH (5 mL) ilave edildi. Diizopropil eter (9 mL) ilave edildi ve sonuçta elde edilen karışım, oda sıcaklığında 2 saat süreyle beklemeye bırakıldı. Sonuçta elde edilen çökelti, filtreleme yoluyla toplandı ve eter ile tıkanarak başlık bileşiği (2.85 g; %81 verim; 10:1 S,S), beyaz bir katı halinde elde edildi. LC-MS (Yöntem 2-90): Rt 2,28 dak.; m/z 312,2 [M + H]⁺. ¹H NMR (CD₃OD) δ 7.71-7.69 (m, 4H); 7.45 (t, 1H); 7.35 (t, 1H); 7.20-7.17 (m, 3H); 4.80-4.76(m, 1H); 3.85(s, 3H); 3.81(s, 2H); 3.42-3.40(m, 1H); 2.80(t, 2H); 1.86(d, 3H); 1.37(d, 3H).

Örnek 4

Metil [3((S)-2-Aminopropil)fenil]asetatın preparasyonu

25

EtOH (40 mL) içerisinde metil {3-[(S)-2-((S)-1-feniletülamino)propil]-fenil}asetat hidroklorür tuzu (1,12 g, 3,60 mmol), amonyum format (1,16 g, 257 mmol) ve paladyum hidroksit (0,30 g, 2,1 mmol) içeren

karıştırılmış bir çözelti, 1 saat süreyle 75°C'de ısıtıldı. Reaksiyon karışımı, Celite'den filtre edildi ve filtre keki, EtOAc (2 x 50 mL) ile yıkandı. Filtrat, indirgenmiş basınç altında konsantre edildi ve tortu, DCM (50 mL) ve %20 sulu amonyak çözeltisi (50 mL) içinde
 5 çözündürüldü. Katmanlar ayrıldı ve sulu katman, DCM ile özümlendi. Birleştirilen organik katmanlar, sodyum sülfat üzerinde kurutuldu, filtre edildi ve indirgenmiş basınç altında konsantre edilerek başlık bileşiği (437 mg, %58 verim), renksiz bir yağ halinde elde edildi. LC-MS (Yöntem 2-90): Rt 1,18 dak.; m/z 208,4[M + H]⁺. ¹H NMR (CD₃OD) δ 7.43 (t, 1H); 7.29-7.25 (m, 3H); 3.85(s, 3H); 3.81(s, 2H);
 10 3.31-3.23(m, 1H); 2.85-2.75 (m, 2H); 1.26(d, 3H).

Ornek 5

(3-{(S)-2-[(R)-2-(8-Benziloksi-2-okso-1,2-dihidrokinolin-5-il)-2-(tert-butildimetilsilaniloksi)etilamino]propil}fenil)asetik Asit Metil Esterin Preparasyonu

N-metilpirolidinon (3.4 mL, 35 mmol) içerisinde [3-((S)-2-aminopropil)fenil]asetik asit metil ester (632 mg, 3,05 mmol) ve trietilamin (1,27 mL, 9,15 mmol) içeren bir çözelti, 8-benziloksi-5-
 20 [(R)-2-bromo-1-(tert-butildimetilsilaniloksi)-etil]-1H-kinolin-2-on'a (1,5 g, 3,0 mmol) ilave edildi (bakınız örn., ABD Patent Yayını No. 2006/0035931 A1, yayınlanma tarihi 16 Şubat 2006). Sonuçta elde edilen karışım, 100°C'de 1,5 saat süreyle mikrodalgaya (300 watt)
 25 tabi tutuldu. Karışım daha sonra EtOAc (20 mL) ile seyreltildi ve bu çözelti, tekrar tekrar brin (100 mL) ile yıkandı, sodyum sülfat üzerinde kurutuldu, filtre edildi ve indirgenmiş basınç altında konsantre edildi. Tortu, silika jel flaş kromatografisiyle (%0-10 DCM içinde MeOH)

saflaştırılarak başlık bileşiği (400 mg, %20 verim), sarı bir yağ halinde elde edildi.

LC-MS (Yöntem 2-90): Rt 2,79 dak.; m/z 615,4[M + H]⁺.

Örnek 6

5

(3-{(S)-2-[(R)-2-(8-Benziloksi-2-okso-1,2-dihidrokinolin-5-il)-2-(tert-butildimetilsilaniloksi)etilamino]propil}fenil)asetik Asidin Preparasyonu

- 10 3:2:1'lik bir THF/MeOH/su karışımı (4 mL) içerisinde (3-{(S)-2-[(R)-2-(8-benziloksi-2-okso-1,2-dihidrokinolin-5-il)-2-(tert-butildimetilsilaniloksi)etilamino]propil}fenil)asetik asit metil ester (810 mg, 1,3 mmol) içeren bir çözeltiye, lityum hidroksit (158 mg, 6,59 mmol) ilave edildi. Sonuçta elde edilen karışım, oda sıcaklığında
- 15 3 saat süreyle karıştırıldı ve sonra konsantre edilmiş sulu hidroklorik asit ile pH 6'ya kadar asitleştirildi. Bu karışım, indirgenmiş basınç altında konsantre edilerek bir sarı katı (307 mg, %39 verim) elde edildi ki bu, bir sonraki reaksiyonda bir daha saflaştırılmadan kullanıldı.

- 20 LC-MS (Yöntem 2-90): Rt 3,10 dak.; m/z 601,4[M + H]⁺.

Örnek 7

(3-{(S)-2-[(R)-2-(tert-Butildimetilsilaniloksi)-2-(8-hidroksi-2-okso-1,2-dihidrokinolin-5-il)etilamino]propil}fenil)asetik Asidin Preparasyonu

25

EtOH (8 mL) içerisinde (3-{(S)-2-[(R)-2-(8-benziloksi-2-okso-1,2-dihidrokinolin-5-il)-2-(tert-

butildimetilsilaniloksi)etilamino]propil}fenil)asetik asit (~1,3 mmol) içeren bir çözelti, kuru nitrojen ile temizlendi ve sonra karbon üstünde paladyum (%10, ~%50 su, Degussa tipi, 300 mg) ilave edildi. Bu karışım, hidrojen ile temizlendi ve sonra bir hidrojen atmosferi (balon) altında 1 saat süreyle karıştırıldı. Karışım daha sonra Celite'den filtre edildi ve filtre yatağı, MeOH (20 mL) ve EtOAc (20 mL) ile yıkandı. Filtrat, indirgenmiş basınç altında konsantre edildi ve tortu, silika jel flaş kromatografisiyle (%0-20 DCM içinde MeOH) saflaştırılarak başlık bileşiği (300 mg, %40 verim), sarı bir katı halinde elde edildi.

LC-MS (Yöntem 2-90): Rt 2,67 dak.; m/z 511,6 [M + H]⁺.

Örnek 8

[3-(9H-Floren-9-iletoksikarbonilamino)propil]metilkarbamik Asit tert-Butil Esterin Preparasyonu

0°C'de su (7 mL) içerisinde N-(3-aminopropil)-N-metilkarbamik asit tert-butil ester (2,00 g, 10,6 mmol) ve sodyum karbonat (2,81 g, 26,6 mmol) içeren karıştırılmış bir çözeltiye, 1,4-dioksan (5 mL) içinde 9-florenilmetil kloroformat (2,75 g, 10,6 mmol) içeren bir çözelti ilave edildi. Sonuçta elde edilen karışım, oda sıcaklığında 2 saat süreyle karıştırıldı ve sonra su (10 mL) içerisine döküldü. Bu karışım, dietil eter (2 x 50 mL) ile özümlendi ve birleştirilen organik katmanlar, sodyum sülfat üzerinde kurutuldu, filtre edildi ve indirgenmiş basınç altında konsantre edilerek berrak bir yağ elde edildi. Yağ, silika jel flaş kromatografisiyle (%0-70 heksanlar içinde EtOAc) saflaştırılarak başlık bileşiği (4,24 g, %77 verim), berrak bir yağ halinde elde edildi (ürün, az miktarda impürite ihtiva ediyordu ancak bir daha saflaştırılmadan kullanıldı).

LC-MS (Yöntem 2-90): Rt 4,05 dak; m/z 411,2[M + H]⁺. ¹H NMR (CD₃OD) δ 7.96(d, 2H); 7.81(d, 2H), 7.56(t, 2H); 7.48(t, 2H); 4.55 (d, 2H); 4.37(t, 1H); 3.41(t, 2H); 3.27(t, 2H); 3.01(s, 3H); 1.89-1.85(m, 2H); 1.61(s, 9H).

5 Örnek 9

(3-Metilaminopropil)karbamik Asit 9H-Floren-9-ilmetil Ester Hidroklorür Tuzunun Preparasyonu

10 EtOAc (8 mL) içerisinde [3-(9H-floren-9-ilmetoksikarbonilamino)propil]-metilkarbamik asit tert-butil ester (4,24 g, 10,3 mmol) içeren karıştırılmış bir çözeltiye yavaş yavaş konsantre edilmiş hidroklorik asit (2 mL, 60 mmol) ilave edildi ve
15 karıştırıldı. Karışım, indirgenmiş basınç altında konsantre edilerek başlık bileşiği (3,21 g, %78 verim), beyaz bir katı halinde elde edildi. LC-MS (Yöntem 2-90): Rt 2,32 dak.; m/z 311,4[M + H]⁺. ¹H NMR (CD₃OD) δ 7.82(d, 2H); 7.66 (d, 2H), 7.42(t, 2H); 7.34(t, 2H); 4.45(d, 2H); 4.12(t, 1H); 3.23(t, 2H); 2.99(t, 2H); 2.71(s, 3H); 1.88-1.83(m,
20 2H).

Örnek 10

Bifenil-2-ilkarbamik Asit 1-(2-{[3-(9H-Floren-9-ilmetoksikarbonilamino)propil]metilkarbamoyl}etil)piperidin-4-il Esterin Preparasyonu

DMF (31 mL) içerisinde 3-[4-(bifenil-2-ilkarbamoyloksi)piperidin-1-il]-propiyonik asit (2,8 g, 7,6 mmol) ve N,N-diizopropiletilamin (2,6

mL, 15 mmol) içeren karıştırılmış bir karışıma, 2-kloro-1-metilpiridinyum iyodid (3,9 g, 15 mmol) ilave edildi. Katıların çözünmesi üzerine (3-metilaminopropil)karbamik asit 9H-floren-9-ilmetil ester hidroklorür tuzu (2,63 g, 7,58 mmol) ilave edildi ve
 5 sonuça elde edilen karışım, oda sıcaklığında HPLC ve LCMS'ye göre esasen tamam olana kadar karıştırıldı. Karışım daha sonra indirgenmiş basınç altında konsantre edilerek DMF'nin çoğu çıkarıldı ve tortu, DCM (30 mL) içinde çözündürüldü. Bu karışım, su (3 x 20 mL) ve brin (3x20 mL) ile yıkandı, sodyum sülfat üzerinde kurutuldu, filtre
 10 edildi ve indirgenmiş basınç altında konsantre edildi. Tortu, silika jel flaş kromatografisiyle (%0-20 DCM içinde MeOH) saflaştırılarak başlık bileşiği (5,0 g, %97 verim), beyaz bir katı halinde elde edildi. LC-MS (Yöntem 2-90): Rt 3,24 dak.; m/z 661,4 [M + H]⁺.

Ornek 11

15

Bifenil-2-ilkarbamik Asit 1-{2-[(3-Aminopropil)-metilkarbamoil]etil)piperidin-4-il Esterin Preparasyonu

Bifenil-2-ilkarbamik asit 1-(2-{[3-(9H-floren-9-ilmetoksikarbonil-amino)propil]metilkarbamoil}etil)piperidin-4-il estere (2,2 g, 3,3
 20 mmol), DCM (3,2 mL) içinde %10'luk bir piperidin çözeltisi (0,31 g, 3,3 mmol) ilave edildi ve sonuça elde edilen karışım, oda sıcaklığında 1 saat süreyle çalkalandı. Karışım, indirgenmiş basınç altında konsantre edildi ve tortu, DCM (100 mL) içinde çözündürüldü. Bu
 25 karışım, su (2 x 20 mL) ile yıkandı ve sonra amonyum klorür (1 N, 2 x 20 mL) ile özümlendi. Katmanlar ayrıldı ve sulu katmana, DCM ilave edildi. Sulu katman, sulu potasyum hidroksit (1N) ilave edilerek bazik hale getirildi ve katmanlar ayrıldı. Organik katman, sulu potasyum

hidroksit (1 N, 2 x 20 mL) ve brin (1 x 20 mL) ile yıkandı, sodyum sülfat üzerinde kurutuldu, filtre edildi ve indirgenmiş basınç altında konsantre edilerek başlık bileşiği (1,0 g, %66 verim), berrak bir yağ halinde elde edildi.

- 5 LC-MS (Yöntem 2-90): Rt 1,85 dak.; m/z 439,4 [M + H]⁺.

Örnek 12

**Bifenil-2-ilkarbamik Asit 1-[2-({3-[2-(3-{(S)-2-[(R)-2-(tert-Butildimetilsilaniloksi)-2-(8-hidroksi-2-okso-1,2-dihidrokinolin-5-
10 il))etilamino]propil}fenil)asetilamino]propil}metilkarbamoil)etil]piperidin-4-il Esterin preparasyonu**

DMF (4,78 mL) içerisinde (3-{(S)-2-[(R)-2-(tert-butildimetilsilaniloksi)-2-(8-hidroksi-2-okso-1,2-dihidrokinolin-5-
15 il)etilamino]propil}fenil)asetik asit (135 mg, 0,264 mmol); Wang resini üzerinde 2-kloropiridyum triflat (polimer destekli Mukaiyama reaktifi) (1,19 mmol/g yükleme; 635 mg, 0,775 mmol) ve N,N-diizopropiletilamin (132 µL, 0,755 mmol) içeren bir karışım, oda sıcaklığında 30 dakika süreyle karıştırıldı. Bifenil-2-ilkarbamik asit 1-
20 {2-[(3-aminopropil)metilkarbamoil]etil}piperidin-4-il ester (122 mg, 0,278 mmol) ilave edildi ve bu karışım, oda sıcaklığında bir gece süreyle karıştırıldı. Karışım, filtre edildi ve resin, DCM (4 mL), MeOH (4 mL) ve THF (4 mL) ile yıkandı. Filtrat, indirgenmiş basınç altında konsantre edildi ve tortu, DCM içinde çözündürüldü. Bu
25 çözelti, su (2 x 10 mL), doymuş sulu sodyum bikarbonat (2 x10 mL) ve brin (1 x 10 mL) ile yıkandı ve sonra sodyum sülfat üzerinde kurutuldu, filtre edildi ve indirgenmiş basınç altında konsantre edildi. Tortu, silika jel flaş kromatografisiyle (%0-20 DCM içinde MeOH)

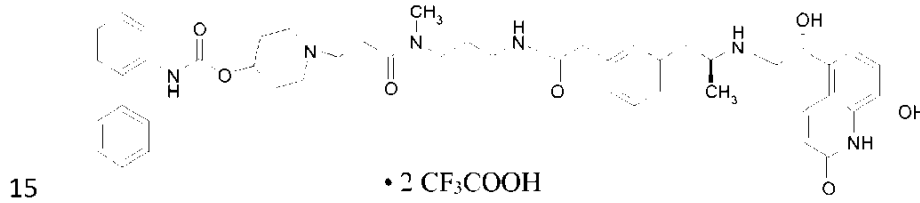
saflaştırılarak başlık bileşiği (59 mg, %24 verim), beyaz bir katı halinde elde edildi.

LC-MS (Yöntem 2-90): Rt 4,35 dak; m/z 931,7 [M + H]⁺.

- 5 Alternatif olarak bu reaksiyon, birleştirme reaktifleri olarak EDC ve HOBT'nin bir kombinasyonu kullanılarak da gerçekleştirilebilir.

Örnek 13

**Bifenil-2-ilkarbamik Asit 1-[2-({3-[2-(3-{(S)-2-[(R)-2-Hidroksi-2-
10 (8-hidroksi-2-okso-1,2-dihidrokinolin-5-il)etilamino]propil}fenil)asetilamino]-
propil}metilkarbamoil)etil]piperidin-4-il Ester Ditrifloroasetik
Asit Tuzunun (Bileşik 1-13) preparasyonu**



DCM (1 mL) içerisinde bifenil-2-ilkarbamik asit 1-[2-({3-[2-(3-{(S)-
2-[(R)-2-(tert-butil-dimetilsilaniloksi)-2-(8-hidroksi-2-okso-1,2-
dihidrokinolin-5-il)etilamino]propil}-
20 fenil)asetilamino]propil}metilkarbamoil)etil]piperidin-4-il ester (59
mg, 0,063 mmol) ve trietilamin trihidroflorid (10.3 µL, 0.0634 mmol)
içeren bir çözelti, 80°C'de 20 dakika süreyle mikrodalgaya (300 watt)
tabi tutuldu. Reaksiyon karışımı daha sonra indirgenmiş basınç altında
konsantre edildi ve tortu, HPLC (Yöntem 10-50) yoluyla

saflaştırılarak başlık bileşiği (35,2 mg, %52 verim) elde edildi.
LC-MS (Yöntem 2-90): Rt 2,16 dak; m/z 817,6 [M + H]⁺.

Örnek 14

5 Bifenil-2-ilkarbamik Asit 1-(2-{[4-(4-Formil-2,5-dimetil-fenilkarbamoyl)butil]metilkarbamoyl}etil)piperidin-4-il Esterin Preparasyonu

0°C'de DCM (2,58 mL) içerisinde bifenil-2-ilkarbamik asit 1-(2-{[4-
10 (4-hidroksimetil-2,5-dimetilfenilkarbamoyl)butil]metilkarbamoyl}etil)piperidin-4-il ester (0,460 g, 0,748 mmol) ve dimetil sülfoksit (0,531 mL, 7,48 mmol) içeren karıştırılmış bir çözeltiye, N,N-diizopropiletilamin (0,65 mL, 3,7 mmol) ilave edildi. Sülfür trioksit-piridin kompleksi (0,357 g, 2,4 mmol) ilave edildi ve sonuçta elde edilen karışım, 0 C'de 1 saat süreyle karıştırıldı. Su (3 mL) ilave edildi ve katmanlar ayrıldı. Organik katman, sodyum sülfat üzerinde kurutuldu ve filtre edilerek bir DCM çözeltisi içinde başlık bileşiği elde edildi ki bu, bir sonraki reaksiyonda hemen kullanıldı.

20 LC-MS (Yöntem 10-90): Rt 2,24 dak; m/z 613,4 [M + H]⁺.

Örnek 15

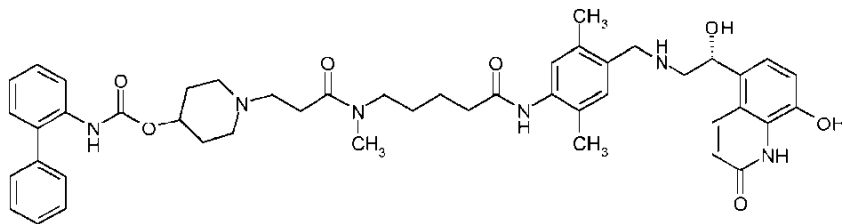
25 Bifenil-2-ilkarbamik Asit 1-(2-{[4-(4-{[(R)-2-(tert-butildimetil-silaniloksi)-2-(8-hidroksi-2-okso-1,2-dihidrokinolin-5-il)-etilamino]metil}-2,5-dimetilfenilkarbamoyl)butil]metilkarbamoyl}etil)piperidin-4-il Esterin preparasyonu

Onceki reaksiyondan DCM içinde bifenil-2-ilkarbamik asit 1-(2-{{4-(4-formil-2,5-dimetilfenilkarbamoyl)butil}metilkarbamoyl}etil)piperidin-4-il ester (~0,748 mmol) içeren karıştırılmış çözeltiye, MeOH:DCM (3,0 mL) içinde 5-[(R)-2-amino-1-(tert-butil-dimetilsilaniloksi)etil]-8-hidroksi-1H-kinolin-2-on asetik asit tuzu (0,295 g, 0,748 mmol) ilave edildi. Sonuçta elde edilen karışım, oda sıcaklığında 30 dakika süreyle karıştırıldı ve sonra sodyum triasetoksiborohidrid (0,476 g, 2,24 mmol) ilave edildi ve karıştırmaya, oda sıcaklığında 4 saat süreyle devam edildi. Sulu NaOH (1 M, 3 mL) ve DCM (3 mL) ilave edildi ve katmanlar ayrıldı. Organik katman, sodyum sülfat üzerinde kurutuldu, filtre edildi ve indirgenmiş basınç altında konsantre edildi. Tortu, silika jel flaş kromatografisiyle (%0-15 DCM içinde MeOH) saflaştırılarak başlık bileşiği (420 mg, %60 verim), sarı bir katı halinde elde edildi.

LC-MS (Yöntem 10-90): Rt 2,39 dak; m/z 931,6 [M⁺].

Örnek 16

Bifenil-2-ilkarbamik Asit 1-(2-{{4-(4-{{[(R)-2-Hidroksi-2-(8-hidroksi-2-okso-1,2-dihidrokinolin-5-il)etilamino]metil}-2,5-dimetilfenilkarbamoyl)butil}metilkarbamoyl}etil)piperidin-4-il Ester Ditrifloroasetik Asit Tuzunun (Bileşik I-18) preparasyonu



• 2 CF₃COOH

DCM (2,00 mL) içerisinde bifenil-2-ilkarbamik asit 1-(2-{[4-(4-{[(R)-2-(tert-butil-dimetilsilaniloksi)-2-(8-hidroksi-2-okso-1,2-dihidrokinolin-5-il)etilamino]metil}-2,5-dimetilfenilkarbamoil)butil]metilkarbamoil}etil)piperidin-4-il ester
 5 (0,420 g, 0,451 mmol) ve trietilamin trihidroflorid (0.220 mL, 1,35 mmol) içeren bir çözelti, 80°C’de 10 dakika süreyle mikrodalgaya (300 watt) tabi tutuldu. Reaksiyon karışımı, indirgenmiş basınç altında konsantre edildi ve tortu, 1:1 AcOH:su ile karıştırıldı ve filtre edildi. Filtrat, HPLC (Yöntem 2-90) yoluyla saflaştırılarak başlık bileşiği
 10 (124 mg, %26 verim), beyaz bir katı halinde elde edildi. LC-MS (Yöntem 10-90): Rt 1,75 dak; m/z 817,8 [M + H]⁺. ¹H NMR (CD₃OD) δ 8.30 (m), 7.56 (m), 7.40 (m), 7.06 (m), 6.68 (d), 5.46 (m), 4.35 (s), 3.51 (m), 3.30 (m), 3.16 (m), 2.94 (m), 2.42 (m), 2.27 (m), 1.97 (m), 1.72 (m).

15 **Örnek 17**

[3-(2-Oksopropil)fenil]asetonitrilin preparasyonu

Tolüen (100 mL, gazı alınmış) içerisinde 3-bromofenilasetonitril (10.0
 20 g, 51.0 mmol), tributiltin metoksid (17,6 mL, 61,2 mmol), tris(dibenzilidenaseton)dipaladyum(0) (500 mg, 0,5 mmol), izopropenil asetat (6,74 mL, 61,2 mmol) ve 2-disikloheksilfosfino-2'-(N,N-dimetilamino)bifenil (800 mg, 2 mmol) içeren karıştırılmış bir çözelti, 100°C’de nitrojen altında 6 saat süreyle karıştırıldı. Reaksiyon
 25 karışımı, oda sıcaklığına kadar soğutuldu ve EtOAc (30 mL) ilave edildi. Daha sonra su (52 mL) içinde potasyum florür (10 g, 200 mmol) içeren bir çözelti ilave edildi ve sonuçta elde edilen karışım, bir gece süreyle karıştırıldı. Brin ilave edildi ve karışım, bir Celite

pedinden filtre edildi. Katmanlar ayrıldı ve organik katman, sodyum sülfat üzerinde kurutuldu, filtre edildi (pamuk tampon) ve indirgenmiş basınç altında konsantre edildi. Tortu, silika jel kromatografisiyle (%0-30 heksanlar içinde EtOAc) saflaştırılarak başlık bileşiği (6,1 g, %69 verim), kahverengi bir yağ halinde elde edildi. ¹H NMR (CD₃OD) δ 7.32(t, 1H); 7.24(d, 1H); 7.19(s, 1H); 7.16(d,1H); 3.85(s, 2H); 3.77(s, 2H); 2.14(s, 3H).

Örnek 18

10 {3-[(R)-2-((R)-1-Feniletilamino)propil]fenil}asetonitril

Hidroklorür Tuzunun preparasyonu

DCM (50,0 mL) içerisinde [3-(2-oksopropil)fenil]asetonitril (2,00 g, 11,5 mmol) ve (R)-1-feniletilamin (1,52 mL, 11,9 mmol) içeren karıştırılmış bir çözeltiye, sodyum triasetoksiborohidrid (7,59 g, 35,8 mmol) ilave edildi. Sonuçta elde edilen karışım, oda sıcaklığında bir gece süreyle karıştırıldı. Sulu sodyum hidroksit (1 M, 10mL) ve doymuş sulu sodyum bikarbonat (20mL) ilave edildi ve katmanlar ayrıldı. Organik katman, sodyum sülfat üzerinde kurutuldu, filtre edildi ve indirgenmiş basınç altında konsantre edildi. Tortu, kısmen silika jel kromatografisiyle (%0-5 DCM içinde MeOH) saflaştırıldı. Sonuçta elde edilen materyal, MeOH içinde çözündürüldü ve asetil klorür (0,5 mL) ilave edildi. Bu karışım, indirgenmiş basınç altında konsantre edildi ve tortu, MeOH (15 mL) içinde çözündürüldü. Yavaş yavaş diizopropil eter (30 mL) ilave edilerek çözeltinin üzerinde ikinci bir katman oluşturuldu. Oda sıcaklığında bekletildikten sonra başlık bileşiği (2,0 g, %55 verim) çöktü ve filtrasyon yoluyla toplandı. ¹H NMR (CD₃OD) δ 7.53-7.51(m, 5H); 7.32 (t, 1H); 7.24(t, 1H);

7.10(s, 1H); 7.05 (d, 1H); 4.64-4.59(m, 1H); 3.21-3.16(m, 2H); 1.70(d, 3H); 1.17(d, 3H).

Örnek 19

5 { (R)-2-[3-(2-Aminoetil)fenil]-1-metiletil}-((R)-1-feniletil)aminin preparasyonu

0°C'de MeOH (40,0 mL) içerisinde {3-[(R)-2-((R)-1-feniletilamino)propil]fenil}-asetonitril hidroklorür tuzu (2,00 g, 6,35 mmol) ve kobalt(II) klorür heksahidrat (4,27 g, 18,0 mmol) içeren karıştırılmış bir çözeltiye, kısım kısım sodyum tetrahidroborat (2,72 g, 71,8 mmol) ilave edildi (reaksiyon, eksotermikti). Reaksiyon karışımı, oda sıcaklığında 1 saat süreyle karıştırıldı ve sonra konsantre edilmiş sulu hidroklorik asit ilave edildi ve karıştırmaya, oluşmuş olan katı kırıla kadar devam edildi. Karışım daha sonra sulu sodyum hidroksit (1 M) ilave edilerek bazik hale getirildi. Bu karışım filtre edildi ve filtrat, DCM (50 mL) ile özümlendi. Organik katman, sodyum sülfat üzerinde kurutuldu, filtre edildi ve indirgenmiş basınç altında konsantre edilerek başlık bileşiği elde edildi ki bu, bir sonraki reaksiyonda bir daha saflaştırılmadan kullanıldı. LC-MS (Yöntem 10-90): Rt 0,938 dak; m/z 283,6 [M + H]⁺.

Alternatif olarak bu indirgeme, THF içinde lityum alüminyum hidrid ve kobalt(II) klorür heksahidrat kullanılarak da gerçekleştirilebilir.

25 Örnek 20

(2-{3-[(R)-2-((R)-1-Feniletilamino)propil]fenil}etil)karbamik Asit tert-Butil Esterin preparasyonu

DCM (20,0 mL) içerisinde {(R)-2-[3-(2-aminoetil)fenil]-1-metiletil}-((R)-1-feniletil)amin (yakl. 6,35 mmol), di-tert-butildikarbonat (1,41 g, 6,46 mmol) ve N,N-diizopropiletilamin (1,50 mL, 8,62 mmol) içeren bir çözelti, oda sıcaklığında yaklaşık 72 saat süreyle karıştırıldı.

- 5 Doymuş sulu sodyum bikarbonat (20 mL) ilave edildi ve sonuçta elde edilen karışım, DCM (2 x 10 mL) ile özümlendi. Birleştirilen organik katmanlar, sodyum sülfat üzerinde kurutuldu, filtre edildi ve indirgenmiş basınç altında konsantre edildi. Tortu, silika jel kromatografisiyle (%0-5 DCM içinde MeOH) saflaştırılarak başlık
10 bileşiği (1,24 g, %51 verim, 2 adım), renksiz bir yağ halinde elde edildi.

LC-MS (Yöntem 10-90): Rt 2,42 dak; m/z 383,2 [M + H]⁺.

Örnek 21

- 15 **{2-[3-((R)-2-Aminopropil)fenil]etil}karbamik Asit tert-Butil Esterin preparasyonu**

- EtOH (50, mL) içerisinde (2-{3-[(R)-2-((R)-1-feniletilamino)propil]fenil}etil)-karbamik asit tert-butil ester (1,54 g, 4,02 mmol), karbon üstünde paladyum hidroksit (%10 ağırl., ~%50 su, 2,24 g, 0,805 mmol) ve amonyum format (1,27 g, 20,1 mmol) içeren karıştırılmış bir çözelti, aşamalı olarak 50°C'ye kadar ısıtıldı ve sonra 50°C'de 1,5 saat süreyle karıştırıldı. Reaksiyon karışımı, bir Celite pedinden filtre edildi ve filtrat, indirgenmiş basınç altında konsantre
25 edilerek başlık bileşiği elde edildi ki bu, bir daha saflaştırılmadan kullanıldı.

LC-MS (Yöntem 10-90): Rt 1,91 dak; m/z 279,4 [M + H]⁺.

Örnek 22

[2-(3-{(R)-2-[(R)-2-(8-Benziloksi-2-okso-1,2-dihidrokinolin-5-il)-2-(tert-butildimetilsilaniloksi)etilamino]propil}fenil)etil]karbamik Asit tert-Butil Esterin Preparasyonu

- 5 DMF (21,0 mL) içerisinde 8-benziloksi-5-[(R)-2-bromo-1-(tert-butildimetil-silaniloksi)etil]-1H-kinolin-2-on (3,14 g, 6,43 mmol); {2-[3-((R)-2-aminopropil)-fenil]etil}karbamik asit tert-butil ester (1,79 g, 6,43 mmol) ve trietilamin (1,08 mL, 7,72 mmol) içeren karıştırılmış bir çözelti, 80°C’de 15 saat süreyle mikrodalgaya (300 watt) tabi
10 tutuldu. Doymuş sulu sodyum bikarbonat (10 mL) ilave edildi ve sonuçta elde edilen karışım, DCM (2 x 10 mL) ile özümlendi. Birleştirilen organik katmanlar, sodyum sülfat üzerinde kurutuldu, filtre edildi ve indirgenmiş basınç altında konsantre edildi. Tortu, silika jel kromatografisiyle (%0-5 DCM içinde MeOH) saflaştırılarak
15 başlık bileşiği (2,8 g, %63 verim), tam beyaz olmayan bir katı halinde elde edildi.

LC-MS (Yöntem 10-90): Rt 2,97 dak; m/z 686,4 [M + H]⁺.

Örnek 23

- 20 **5-[(R)-2-{(R)-2-[3-(2-Aminoetil)fenil]-1-metiletilamino}-1-(tert-butildimetilsilaniloksi)etil]-8-benziloksi-1H-kinolin-2-on’un preparasyonu**

- DCM içinde %20 trifloroasetik asit içerisinde [2-(3-{(R)-2-[(R)-2-(8-benziloksi-2-okso-1,2-dihidrokinolin-5-il)-2-(tert-
25 butildimetilsilaniloksi)etilamino]propil}fenil)etil]karbamik asit tert-butil ester (2,8 g) içeren bir çözelti, oda sıcaklığında 3 saat süreyle karıştırıldı. Doymuş sulu sodyum bikarbonat çözeltisi ilave edilerek

TFA nötrale edildi ve katmanlar ayrıldı. Organik katman, sodyum sülfat üzerinde kurutuldu, filtre edildi ve indirgenmiş basınç altında konsantre edilerek başlık bileşiği elde edildi ki bu, bir daha saflaştırılmadan kullanıldı.

- 5 LC-MS (Yöntem 10-90): Rt 1,91 dak; m/z 586,4 [M + H]⁺.

Örnek 24

Metil (4-Formilaminofenil)asetatın preparasyonu

- 10 Asetik anhidrid (14,3 mL, 151 mmol) ve formik asit (22,8 mL, 605 mmol) içeren bir çözelti, oda sıcaklığında 1 saat süreyle karıştırıldı. Metil (4-aminofenil)asetat (5,00 g, 30,3 mmol) ilave edildi ve sonuçta elde edilen karışım, bir gece süreyle karıştırıldı. Doymuş sulu sodyum bikarbonat (10 mL) ilave edildi ve sonuçta elde edilen karışım, DCM
- 15 (2 x 10 mL) ile özümlendi. Birleştirilen organik katmanlar, sodyum sülfat üzerinde kurutuldu, filtre edildi ve indirgenmiş basınç altında konsantre edilerek başlık bileşiği (4,31 g), sarı bir yağ halinde elde edildi ki bu, bir sonraki reaksiyonda bir daha saflaştırılmadan kullanıldı.

- 20 LC-MS (Yöntem 10-90): Rt 1,57 dak; m/z 194,4 [M + H]⁺.

Örnek 25

Metil (4-Metilaminofenil)asetatın preparasyonu

- 25 0°C'de THF (20,0 mL) içerisinde metil (4-formilaminofenil)asetat (4,31 g) içeren karıştırılmış bir çözeltiye, boran dimetilsülfid (8,61 mL, 90,8 mmol) yavaş yavaş ilave edildi. Reaksiyon karışımı, oda sıcaklığında bir gece süreyle karıştırıldı ve sonra 0°C'ye kadar

soğutuldu. MeOH (15 mL) dikkatli bir şekilde ilave edildi ve sonuçta elde edilen karışım, 3 saat süreyle karıştırıldı. Karışım daha sonra indirgenmiş basınç altında konsantre edilerek başlık bileşiği (4,0 g, %73 verim, 2 adım), berrak bir yağ halinde elde edildi.

5 LC-MS (Yöntem 10-90): Rt 0,67 dak; m/z 180,2 [M + H]⁺.

Örnek 26

[4-(Akriloilmetilamino)fenil]asetik Asit Metil Esterin preparasyonu

10

0°C'de DCM (20,0 mL) içerisinde metil (4-metilaminofenil)asetat (4,00 g, 22,3 mmol) ve N,N-diizopropiletilamin (7,78 mL, 44,6 mmol) içeren bir çözeltiye yavaş yavaş 2-propenoil klorür (2,18 mL, 26,8 mmol) ilave edildi. Reaksiyon karışımı, oda sıcaklığında 2 saat

15 süreyle karıştırıldı ve sonra doymuş sulu sodyum bikarbonat (20,0 mL) ilave edildi. Bu karışım, DCM (10 mL) ile özümlendi ve organik katman, sodyum sülfat üzerinde kurutuldu, filtre edildi ve indirgenmiş basınç altında konsantre edilerek başlık bileşiği elde edildi ki bu, bir sonraki reaksiyonda bir daha saflaştırılmadan kullanıldı.

20 LC-MS (Yöntem 10-90): Rt 2,20 dak; m/z 234,0 [M + H]⁺.

Örnek 27

[4-({3-[4-(Bifenil-2-ilkarbamoiloksi)piperidin-1-il]propionil}-metilamino)fenil]asetik Asit Metil Esterin preparasyonu

25

EtOH (15,0 mL) içerisinde [4-(akriloilmetilamino)fenil] asetik asit metil ester (~22,3 mmol) ve bifenil-2-ilkarbamik asit piperidin-4-il ester (6,61 g, 22,3 mmol) içeren karıştırılmış bir çözelti, geri akışta bir

gece süreyle ısıtıldı. Reaksiyon karışımı, indirgenmiş basınç altında konsantre edildi ve tortu, silika jel kromatografisiyle (%0-5 DCM içinde MeOH) saflaştırılarak başlık bileşiği (8,41 g, %71 verim, 2 adım), kahverengi yapışkan bir katı halinde elde edildi.

5 LC-MS (Yöntem 10-90): Rt 2,36 dak; m/z 530,6 [M + H]⁺.

Örnek 28

[4-({3-[4-(Bifenil-2-ilkarbamoiloksi)piperidin-1-il]propionil}-metilamino)fenil]asetik Asidin preparasyonu

10

Asetonitril (20,0 mL) ve su (20,0 mL) içerisinde [4-({3-[4-(bifenil-2-ilkarbamoiloksi)piperidin-1-il]-propionil}-metilamino)fenil]asetik asit metil ester (8,00 g, 15,1 mmol) ve lityum hidroksit (1,81 g, 75,5 mmol) içeren karıştırılmış bir çözelti, 60°C'de 3 saat süreyle ısıtıldı.

15 Reaksiyon karışımının pH'si, sulu hidroklorik asit (1 M) ile pH 5'e ayarlandı ve karışım, DCM ile özümlendi. Organik katman, sodyum sülfat üzerinde kurutuldu, filtre edildi ve indirgenmiş basınç altında konsantre edildi. Tortu, silika jel kromatografisiyle (%0-20 DCM içinde MeOH) saflaştırılarak başlık bileşiği (6,7 g, %86 verim), tam
20 beyaz olmayan bir katı halinde elde edildi.
LC-MS (Yöntem 10-90): Rt 2,17 dak; m/z 516,4 [M + H]⁺.

Örnek 29

**Bifenil-2-ilkarbamik Asit 1-{2-[4-({2-(3-{{(R)-2-[(R)-2-(8-
25 Benziloksi-2-okso-1,2-dihidrokinolin-5-il)-2-(tert-butildimetilsilaniloksi)-
etilamino}propil}fenil)etilkarbamoil}metil}fenil)-
metilkarbamoil}etil}piperidin-4-il Esterin preparasyonu**

DCM (5,00 mL) içerisinde 5-[(R)-2-[(R)-2-[3-(2-aminoetil)fenil]-1-metiletilamino]-1-(tert-butildimetilsilaniloksi)etil]-8-benziloksi-1H-kinolin-2-on (0,586 g, 1,00 mmol); [4-({3-[4-(bifenil-2-ilkarbamoiloksi)piperidin-1-il]propiyonil}metilamino)-fenil]asetik asit (0,516 g, 1,00 mmol); Wang resini üzerinde 2-kloropiridyum triflat (polimer destekli Mukaiyama reaktifi) (1,19 mmol/g yükleme; 1,68 g, 2,00 mmol); ve N,N-diizopropiletilamin (522 µL, 3,00 mmol) içeren bir karışım, oda sıcaklığında bir gece süreyle karıştırıldı. Reaksiyon karışımı filtre edildi ve filtrat, indirgenmiş basınç altında konsantre edildi. Tortu, silika jel kromatografisiyle (%0-5 DCM içinde MeOH) saflaştırılarak başlık bileşiği (412 mg, %38 verim), tam beyaz olmayan bir yağ halinde elde edildi. LC-MS (Yöntem 10-90): Rt 2,65 dak; m/z 1083,8 [M + H]⁺.

Ornek 30

15

Bifenil-2-ilkarbamik Asit 1-{2-[(4-{[2-(3-{(R)-2-[(R)-2-(tert-Butildimetilsilaniloksi)-2-(8-hidroksi-2-okso-1,2-dihidrokinolin-5-il)etilamino]-propil}fenil)etilkarbamoil}metil}-fenil)metilkarbamoil}etil]piperidin-4-il Esterin preparasyonu

20

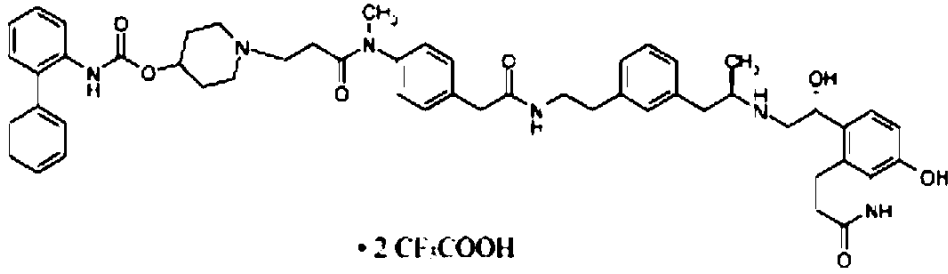
EtOH (5,00 mL) içerisinde bifenil-2-ilkarbamik asit 1-{2-[(4-{[2-(3-{(R)-2-[(R)-2-(8-benziloksi-2-okso-1,2-dihidrokinolin-5-il)-2-(tert-butildimetilsilaniloksi)-etilamino]propil}fenil)etilkarbamoil}-metil}fenil)metilkarbamoil}etil]-piperidin-4-il ester (0,704 g, 0,650 mmol) içeren karıştırılmış bir çözelti içerisinde 3 saat süreyle kuru nitrojen fokurdatıldı ve sonra karbon üstünde paladyum (%10 ağırlık, ~%50 su; 0,289 g, 0,130 mmol) ilave edildi. Reaksiyon karışımı içerisinde 3 dakika süreyle hidrojen fokurdatıldı ve sonra karışım, bir

hidrojen atmosferi (balonu) altında 1 saat süreyle karıştırıldı. Reaksiyon karışımı filtre edildi ve filtrat, indirgenmiş basınç altında konsantre edilerek başlık bileşiği elde edildi ki bu, bir sonraki reaksiyonda bir daha saflaştırılmadan kullanıldı.

5 LC-MS (Yöntem 10-90): Rt 2,49 dak; m/z 994,0 [M + H]⁺.

Örnek 31

Bifenil-2-ilkarbamik Asit 1-{2-[(4-{[2-(3-{(R)-2-[(R)-2-Hidroksi-2-(8-hidroksi-2-okso-1,2-dihidrokinolin-5-il)etilamino]propil}fenil)-etilkarbamoil]metil}fenil)metilkarbamoil]etil}piperidin-4-il Ester Ditrifloroasetik Asit Tuzunun (Bileşik 1-86) preparasyonu



15 DCM (3,00 mL) içerisinde bifenil-2-ilkarbamik asit 1-{2-[(4-{[2-(3-{(R)-2-[(R)-2-(tert-butildimetilsilaniloksi)-2-(8-hidroksi-2-okso-1,2-dihidrokinolin-5-il)etilamino]propil}-fenil)etilkarbamoil]metil}fenil)metilkarbamoil]etil}piperidin-4-il ester (~0,65 mmol) ve trietilamin trihidroflorid (184 µL, 1,13 mmol) içeren

20 bir çözelti, 80°C'de 10 dakika süreyle mikrodalgaya (300 watt) tabi tutuldu. Reaksiyon karışımı, indirgenmiş basınç altında konsantre edildi ve tortu, HPLC (Yöntem 10-50) yoluyla saflaştırılarak başlık bileşiği (24,7 mg, %4 verim, 2 adım), beyaz bir katı halinde elde

edildi.

LC-MS (Yöntem 10-90): Rt 1,78 dak; m/z 879,8 [M + H]⁺.

Biyolojik Deneyler ve Preparasyonlar

5 Örnek A

İnsan M₁, M₂, M₃ ve M₄ Muskarinik Reseptörlerini Eksprese eden Hücrelerden Hücre Kültürü ve Membran Preparasyonu

- 10 Klonlanmış insan hM₁, hM₂, hM₃ ve hM₄ muskarinik reseptör alt tiplerini ayrı ayrı stabil şekilde eksprese eden CHO hücre çizgileri, %10 FBS ve 250 µg/mL Genetisin ile desteklenen Ham F-12 ortamlarında neredeyse konflüense kadar büyütüldü. Hücreler, %5 CO₂, 37°C'lik bir inkübatör içerisinde büyütüldü ve dPBS içinde 2
- 15 mM EDTA ile kaldırıldı. Hücreler, 650 x g'de 5 dakikalık santrifüjlemeyle toplandı ve hücre peletleri, ya -80 EC'de dondurularak depolandı yada membranlar hemen kullanılmak üzere hazırlandı.
- 20 Membran preparasyonu için hücre peletleri, liziz tamponu içinde yeniden süspanse edildi ve bir Polytron PT-2100 doku bozucu (Kinematica AG; 20 saniye x 2 patlatma) ile homojenleştirildi. Ham membranlar, 4°C'de 40,000 x g'de 15 dakika süreyle santrifüjlendi. Membran peleti daha sonra yeniden süspansiyon tamponu ile yeniden
- 25 süspanse edildi ve Polytron doku bozucu ile yeniden homojenleştirildi.

Membran süspansiyonunun protein konsantrasyonu, Lowry ve

arkadaşları, 1951, Journal of Biochemistry, 193, 265'te tarif edilen yöntemle belirlendi. Bütün membranlar, -80°C 'de bölüntüler halinde dondurularak depolandı veya hemen kullanıldı.

- 5 Hazırlanmış hM_5 reseptörü membranları bölüntüleri, PerkinElmer, Inc. (Wellesley, MA)'dan satın alındı ve kullanılana kadar -80°C 'de saklandı.

Örnek B

10 Muskarinik Reseptörler için Radyoligand Bağlama Deneyi

- Klonlanmış muskarinik reseptörler için radyoligand bağlama deneyleri, toplam $100\ \mu\text{L}$ 'lik bir deney hacminde 96 oyuklu mikrotiter plakaları içerisinde yapıldı. hM_1 , hM_2 , hM_3 , hM_4 veya hM_5 muskarinik alt tipini stabil şekilde eksprese eden CHO hücre membranları, deney tamponu içinde aşağıdaki spesifik hedef protein konsantrasyonlarına ($\mu\text{g}/\text{oyuk}$) kadar seyreltildi: benzer sinyaller (cpm) almak için hM_1 için $10\ \mu\text{g}$, hM_2 için $10\text{-}15\ \mu\text{g}$, hM_3 için $10\text{-}20\ \mu\text{g}$, hM_4 için $10\text{-}20\ \mu\text{g}$ ve hM_5 için $10\text{-}12\ \mu\text{g}$. Membranlar, deney plakası ilavesinden önce kısa bir süre bir Polytron doku bozucu kullanılarak homojenleştirildi (10 saniye).

- Radyoligandın K_D değerlerini belirlemek için doymalı bağlama çalışmaları, $0,001\ \text{nM}$ ila $20\ \text{nM}$ aralığındaki konsantrasyonlarda L-[N-metil- ^3H]skopolamin metil klorür ($[^3\text{H}]\text{-NMS}$) (TRK666, $84,0\ \text{Ci}/\text{mmol}$, Amersham Pharmacia Biotech, Buckinghamshire, İngiltere) kullanılarak yapıldı.

Test bileşiklerinin K_i değerlerini belirlemek için yer değiştirme deneyleri, 1 nM'de [^3H]-NMS ve on bir farklı test bileşiği konsantrasyonu ile yapıldı. Test bileşikleri ilk olarak seyreltme tamponu içinde 400 μM 'lik bir konsantrasyona kadar çözündürüldü ve sonra seyreltme tamponu ile 10 pM ila 100 μM aralığındaki nihai konsantrasyonlara kadar 5 kez seri olarak seyreltildi. İlave sırası ve deney plakalarına ilave edilen hacimler, şu şekildeydi: 25 μL radyoligand, 25 μL seyreltilmiş test bileşiği ve 50 μL membran. Deney plakaları, 37°C'de 6 saat süreyle inkübe edildi. Bağlama reaksiyonları, %1 BSA içinde önceden işleme tabi tutulmuş GF/B cam elyaf filtre plakaları (PerkinElmer, Inc.) üzerinden hızlı filtrasyonla sonlandırıldı. Filtre plakaları, yıkama tamponu (10 mM HEPES) ile üç kez durulanarak bağlı olmayan radyoaktivite giderildi. Plakalar daha sonra havayla kurutuldu ve her bir oyuğa, 50 μL Microscint-20 sıvı sintilasyon sıvısı (PerkinElmer, Inc.) ilave edildi. Plakalar daha sonra bir PerkinElmer Topcount sıvı sintilasyon sayacında (PerkinElmer, Inc.) sayıldı.

Bağlama verileri, tek sahalı rekabet modeli kullanılarak GraphPad Prism Yazılım paketi (GraphPad Software, Inc., San Diego, CA) ile lineer olmayan regresyon analiziyle analiz edildi. Test bileşikleri için K_i değerleri, gözlemlenen IC_{50} değerlerinden ve radyoligandın K_D değerinden Cheng-Prusoff denklemi kullanılarak hesaplandı (Cheng Y; Prusoff WH. (1973) Biochemical Pharmacology, 22(23):3099-108). K_i değerleri, pK_i değerlerine dönüştürülerek geometrik ortalama ve %95 güven aralıkları belirlendi. Bu özet istatistikler daha sonra tekrar verilerin bildirilmesi için K_i değerlerine dönüştürüldü.

Bu deneyde daha düşük bir K_i değeri, test bileşiğinin, reseptör için daha yüksek bir bağlama afinitesine sahip olduğu anlamına gelir. Bu buluşa ait bileşikler için hM₃ reseptörü bağlama (K_i) verileri, Tablo III'te gösterilmiştir.

5 Örnek C

İnsan β_1 , β_2 veya β_3 Adrenerjik Reseptörlerini Eksprese eden Hücrelerden Hücre Kültürü ve Membran Preparasyonu

10 Klonlanmış insan β_1 ve β_2 adrenerjik reseptörlerini stabil şekilde eksprese eden insan embriyonik böbrek (HEK-293) hücre çizgileri veya klonlanmış insan β_3 adrenerjik reseptörlerini stabil şekilde eksprese eden Çin hamsteri yumurtalık (CHO) hücre çizgileri, 500 $\mu\text{g/mL}$ Genetisin varlığında %10 FBS içeren DMEM veya Hams F-12
15 ortamlarında neredeyse konflüense kadar büyütüldü. Hücre monokatmanı, PBS içinde 2 mM EDTA ile kaldırıldı. Hücreler, 1,000 rpm'de santrifüjlenerek peletleştirildi ve hücre peletleri, ya -80°C 'de dondurularak depolandı yada membranlar hemen kullanılmak üzere hazırlandı.

20

β_1 ve β_2 reseptörü eksprese edici membranların preparasyonunda hücre peletleri, liziz tamponu (10 mM HEPES/HCl, 10 mM EDTA, 4°C 'de pH 7.4) içinde yeniden süspanse edildi ve buz üzerinde sıkı oturan bir Dounce cam homojenizeri (30 vuruş) kullanılarak
25 homojenleştirildi.

Proteaza daha duyarlı β_3 reseptörü eksprese edici membranların durumunda hücre peletleri, 50 mL tampon başına bir tablet "2mM

EDTA ile Tam Proteaz İnhibitör Kokteyli Tabletleri" (Roche Molecular Biochemicals, Indianapolis, IN) ile desteklenen liziz tamponu (10 mM Tris/HCl, pH 7,4) içinde homojenleştirildi. Homojenat, 20,000 x g'de santrifüjlendi ve sonuçta elde edilen pelet, burada tarif edildiği gibi yeniden süspansiyon ve santrifüjleme yoluyla liziz tamponu ile bir kez yıkandı. Nihai pelet daha sonra buzla soğutulmuş bağlama deneyi tamponu (75 mM Tris/HCl pH 7.4, 12.5 mM MgCl₂, 1 mM EDTA) içinde yeniden süspanse edildi.

Membran süspansiyonunun protein konsantrasyonu, Lowry ve arkadaşları, 1951, Journal of Biological Chemistry, 193, 265; ve Bradford, Analytical Biochemistry, 1976, 72, 248-54'te tarif edilen yöntemlerle belirlendi. Bütün membranlar, -80°C'de bölüntüler halinde dondurularak depolandı veya hemen kullanıldı.

15 **Örnek D**

Adrenerjik Reseptör Agonisti Potansını Belirleme Deneyi

cAMP deneyleri, üreticilerin talimatlarına göre [¹²⁵I]-cAMP ile Flashplate Adenilil Siklaz Aktivasyon Deney Sistemi (NEN SMP004, PerkinElmer Life Sciences Inc., Boston, MA) kullanılarak bir radyoimmünodeney formatında yapıldı. Bu deney için klonlanmış insan β_1 veya β_2 reseptörlerini stabil şekilde eksprese eden HEK-293 hücre çizgileri, %10 FBS ve Genetisin (500 µg/mL) ile desteklenen DMEM içinde neredeyse konflüense kadar büyütüldü; veya klonlanmış insan β_3 adrenerjik reseptörlerini stabil şekilde eksprese eden CHO-K1 hücre çizgileri, %10 FBS ve Genetisin (250 µg/mL) ile desteklenen Hams F-12 ortamlarında neredeyse konflüense kadar

büyütüldü. Hücreler, PBS ile durulandı ve 2 mM EDTA veya Tripsin-EDTA çözeltisi (%0,05 tripsin/0,53 mM EDTa) ihtiva eden dPBS (CaCl₂ ve MgCl₂ içermeyen Dulbecco'nun Fosfat Tamponlu Tuzu) içerisinde ayrıldı. Hücrelerin Coulter hücre sayacında sayılmasından
 5 sonra hücreler, 1,000 rpm'de santrifüjlenerek peletleştirildi ve önceden oda sıcaklığına kadar ısıtılmış, IBMX ihtiva eden uyarma tamponu (PerkinElmer Kiti) içerisinde mL başına $1,6 \times 10^6$ ila $2,8 \times 10^6$ hücrelik bir konsantrasyona kadar yeniden süspanse edildi. Bu deneyde oyuk başına yaklaşık 40,000 ila 80,000 hücre kullanıldı. Test
 10 bileşikleri (DMSO içinde 10 mM), Beckman Biomek-2000'de %0,1 BSA ihtiva eden PBS içerisinde seyreltildi ve 100 µM ila 1 pM aralığındaki 11 farklı konsantrasyonda test edildi. Reaksiyonlar, 37°C'de 10 dakika süreyle inkübe edildi ve [¹²⁵I]-cAMP ihtiva eden 100 µL soğuk saptama tamponu (NEN SMP004, PerkinElmer Life
 15 Sciences, Boston, MA) ilave edilerek durduruldu. Üretilen cAMP miktarı (oyuk başına pmol), örnekler için gözlemlenen sayılara ve üreticinin kullanım kılavuzunda belirttiği cAMP standartlarına göre hesaplandı.

20 Veriler, GraphPad Prism Yazılım paketi (GraphPad Software, Inc., San Diego, CA) ile lineer olmayan regresyon analiziyle sigmoidal denklem ile analiz edildi. EC₅₀ gerlerini hesaplamak için Cheng-Prusoff denklemi (Cheng Y ve Prusoff WH., Biochemical Pharmacology, 1973, 22, 23, 3099-108) kullanıldı.

25

Bu deneyde daha düşük bir EC₅₀ değeri, test bileşiğinin, test edilen reseptörde daha yüksek bir fonksiyonel aktiviteye sahip olduğu

anlamına gelir. Bu buluşa ait bileşikler için $h\beta_2$ verimlilik (EC_{50}) verileri, Tablo III'te gösterilmiştir.

Örnek E

5 Einthoven Deneyi

Bu deney, bir test bileşiğinin, bir sıçanda metakolinin (MCh) indüklediği bronkokonstriksiyona karşı bronko-koruma sağlama kabiliyetini ölçer.

10

Bütün çalışmalarda 200 g ile 350 g arasındaki ağırlıkta erkek Sprague-Dawley sıçanları (Harlan, Indianapolis, IN) kullanıldı.

Test bileşiği veya araç (steril deiyonize su), torpil biçiminde bir inhalasyon bölmesinde (R+S Molds, San Carlos, CA) 5 mL dozlama çözeltisi kullanılarak 10 dakikalık bir süre zarfında inhalasyon (IH) yoluyla dozlandı. Sıçanlar, 22 psi'lik bir basınçta Bio-harman (%5 CO₂/95 atmosfer basıncı) tarafından tahrik edilen bir LC Star Nebulizer Seti Model 22F51'den (PARI Respiratory Equipment, Inc. Midlothian, VA) üretilen bir aerosole maruz bırakıldı. Sıçanlar, aksi ifade edilmedikçe 100 µg test bileşiği ile dozlandı.

Önceden belirlenmiş zaman noktalarında sıçanlara, 120 mg/kg inaktinin (tiyobutabarbital) intraperitoneal (IP) yoldan enjekte edilmesiyle anestezi uygulandı. Hayvanın fiziksel uyarılara (örn., ayak parmağı sıkma) tepki göstermesi durumunda ek bir doz (40 mg/kg, IP) uygulandı. Ameliyat bölgesi traşlandı ve boynun ventral yönünden 1-2 cm'lik bir orta çizgi ensizyonu yapıldı. Jügüler ven izole edildi ve

tuzla doldurulmuş bir polietilen kateter (PE-50) ile kanüle edilerek MCh'nin IV yoluyla infüzyonuna izin verildi. Trake, serbest dissekte edildi ve 14G'lik bir iğne (#NE-014, Small Parts, Miami Lakes, FL) ile kanüle edildi. Trakeye kanül yerleştirildikten sonra her bir sıçana, 5 vücut ağırlığındaki her 100 g başına 1 mL'lik bir vuruş hacmine (ancak 2,5 mL haxmi aşmayan) ve dakikada 90 vuruşluk bir orana ayarlanmış bir respiratör (Model 683, Harvard Apparatus, Inc., MA) kullanılarak hava verildi. Respiratörün soluk verme boruları boyunca bir T konektör yerleştirilerek hava verme basıncındaki değişikliklerin, 10 bir Biopac (TSD 137C) ön amplifikatörüne bağlanmış bir Biopac transdüseri kullanılarak ölçülmesine izn verildi. Vücut sıcaklığı, bir ısıtıcı ped kullanılarak 37°C'de tutuldu.

VP değişiklikleri, Acknowledge Veri Toplama Yazılımı (Santa 15 Barbara, CA) kullanılarak kaydedildi. Taban çizgisi değerleri, en azından 2,5 dakika süreyle toplandı. Sıçanlar daha sonra 40 ve 80 µg/kg MCh'nin kümülatif olmayan intravenöz (IV) infüzyonları ile tehdit edildi. MCh, 2,5 dakika süreyle bir şırınga pompasından (sp210iw, World Precision Instruments, Inc., Sarasota, FL) dakikada 20 kg başına 2 mL'lik bir hızda, iki MCh dozu arasında 2 dakikalık bir aralık olacak şekilde intravenöz yoldan infüze edildi. Tedavi gören hayvanlarda hava verme basıncındaki (cm H₂O) değişiklikler, kontrol hayvanlarına göre McH tepkisinin %inhibisyonu olarak ifade edilir.

25 Bu deneyde MCh yerine histamin ve asetilkolin gibi başka bronkokonstriktörler de kullanılabilir. Ek olarak sıçanlar yerine guinea domuzları da kullanılabilir.

- Bu deneyde daha yüksek bir MCh tepkisi inhibisyonu, test bileşiğinin daha fazla bronko-koruyucu etki gösterdiğini işaret eder. 24 saatte yüzde 30'dan fazla veya buna eşit inhibisyon, uzun süreli bir etkinin işaretidir. Bu buluşa ait bileşikler için kronko-koruma verileri, Tablo
- 5 III'te gösterilmiştir.

Tablo III

KİM. No.	hM ₃ K _i (nM) ¹	hβ ₂ EC ₅₀ (nM) ²	Bronko. 24 s ³ 'te	KİM. No.	hM ₃ K _i (nM) ¹	hβ ₂ EC ₅₀ (nM) ²	Bronko. 24 s ³ 'te
I-13	0,1	1	Evet	I-18	0,1	1	Evet
I-86	0,2	1	Evet				

¹ hM₃ Muskarinik Reseptör Bağlama (K_i) (veriler, en yakın 0,1 nM'ye yuvarlanır).
² hβ₂ Adrenerjik Reseptör Agonisti Potansı (EC₅₀) (veriler, en yakın 1 nM'ye yuvarlanır),
³ 24 saatte mevcut bronko-koruyucu etki, örn., sıçan Einthoven deneyinde (100 µg) MCh tepkisinde ≥%30 inhibisyon.

- Tablo III'teki veriler, test edilen bütün bileşiklerin hM₃ reseptörü
- 10 bağlama (K_i) değerinin 0,1 nM ila 0,8 nM aralığında olduğunu gösterir. Ayrıca test edilen bütün bileşiklerin hβ₂ etkinliği (EC₅₀) değeri, 1 nM idi. Ek olarak sıçan Einthoven Deneyinde test edildiği
- durumda bileşikler (100 µg test bileşiği kullanılarak), uygulandıktan
- 24 saat sonra anlamlı bir bronko-koruyucu etki (MCh'nin indüklediği
- 15 bronkokonstriksiyonda ≥%30 inhibisyon) sağladı.

TARİFNAME İÇERİSİNDE ATIF YAPILAN REFERANSLAR

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

Tarifname içerisinde atıfta bulunulan patent dökümanları:

- US 7141671 B [0003]
- US 7141671 B2 [0004]
- WO 2006023454 A2 [0005]
- US 2006035931 A1 [0005]
- WO 2007090859 A [0006]
- US 20040167167 A1 [0061]
- US 20060035931 A [0066] [0080] [0081]
- WO 2008096129 A [0067]
- US 20050171147 A1 [0079]
- US 20050277632 A1 [0079]
- WO 2005092861 A1 [0079]
- US 6537983 B [0113]
- US 6750210 B2 [0113]
- US 6759398 B2 [0113]
- US 6858596 B2 [0113]
- US 7101866 B2 [0113]
- US 20060035931 A1 [0141]

Tarifnamede belirtilen patentleştirilmemiş literatür:

10

- **ZIEDALSKI et al.** Advances in the Management of Chronic Obstructive Pulmonary Disease. Expert Opin. Pharmacother., 2003, vol. 4 (7), 1063-1082 [0002]
- **TASHKIN et al.** The Role of Long-Acting Bronchodilators in the Management of Stable COPD, Chest, 2004, vol. 125, 249-259 [0002]
- **DONOHUE.** Therapeutic Responses in Asthma and COPD: Bronchodilators, Chest, 2004, vol. 126, 125-137 [0002]
- **T. W. GREENE ; P. G. M. WUTS.** Protecting Groups in Organic Synthesis. Wiley, 1999 [0038]
- **EGLLEN et al.** Muscarinic Receptor Subtypes: Pharmacology and Therapeutic Potential, DN&P, 1997, vol. 10 (8), 462-469 [0123]
- **EMILIEN et al.** Current Therapeutic Uses and Potential of beta-Adrenoceptor Agonists and Antagonists. European J. Clinical Pharm., 1998, vol. 53 (6), 389-404 [0123]
- **BARNES.** Chronic Obstructive Pulmonary Disease. N. Engl. J. Med., 2000, vol. 343, 269-78 [0125]
- **LOWRY et al.** Journal of Biochemistry, 1951, vol. 193, 265 [0175]
- **CHENG Y ; PRUSOFF WH.**

- **R. NAITO et al.** Chem. Pharm. Bull., 1998, vol. 46 (8), 1286-1294 [**0061**]
- Remington: The Science and Practice of Pharmacy. Lippincott Williams & White, 2000 [**0086**]
- **H.C. ANSEL et al.** Pharmaceutical Dosage Forms and Drug Delivery Systems,. Lippincott Williams & White, 1999 [**0086**]
- Biochemical Pharmacol-ogy, 1973, vol. 22 (23), 3099-108 [**0180**]
- **LOWRY et al.** Journal of Biological Chemistry, 1951, vol. 193, 265 [**0185**]
- **BRADFORD.** Analytical Biochemistry, 1976, vol. 72, 248-54 [**0185**]
- **CHENG Y ; PRUSOFF WH.** Biochemical Pharmacol-ogy, 1973, vol. 22 (23), 3099-108 [**0187**]

5

10

15