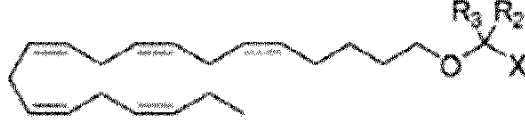


ÖZET**KARDİYOVASKÜLER, METABOLİK VE ENFLAMATUAR HASTALIK ALANLARI İLE
İLİŞKİLİ HASTALIKLARIN TEDAVİSİNDE ÇOKLU DOYMAMIŞ YAĞLI ASİTLERİ**

5 Buluş, doğal olarak oluşan çoklu doymamış yağ asitlerine kıyasla gelişmiş biyolojik aktiviteye sahip olan lipit bileşikler ile ilgilidir.

İSTEMLER

1. Aşağıdaki formüle ait bir lipit bileşiği olup, **özelliği**;



içerisinde

- 5 R_2 ve R_3 ifadeleri aynı ya da farklıdır ve R_2 ve R_3 ifadelerinin her ikisinin de bir hidrojen atomu olmaması şartıyla, bir hidrojen atomu ve bir alkil grubundan seçilmektedir;
- X ifadesi bir karboksilik asittir ya da bunların bir türevi olup, içerisinde türevi, bir karboksilik ester, bir karboksamid, bir monogliserit, bir digliserit, bir trigliserit ya da bir fosfolipittir;

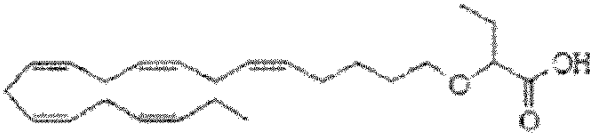
10 ya da bunların farmasötik olarak kabul edilebilir bir tuzudur.

2. İstem 1'e göre bir lipit bileşiği olup, **özelliği**; içerisinde alkil grubunun, R_2 ve R_3 ifadelerinin tanımlanmasında, metil, etil, n-propil, izopropil, n-bütil, sek-bütil ve n-hekzil arasından seçilmesidir.

3. İstem 1'e göre bir lipit bileşiği olup, **özelliği**; içerisinde R_2 ifadesinin hidrojen olmasıdır, R_3 ifadesinin bir alkil grubu ve X ifadesinin bir karboksilik asit olmasıdır.

4. İstem 3'e göre bir lipit bileşiği olup, **özelliği**; içerisinde alkil grubunun bir etil grubu olmasıdır.

5. İstem 1 ya da 3'e göre bir lipit bileşiği olup, **özelliği**; aşağıdaki formüle ait olmasıdır.

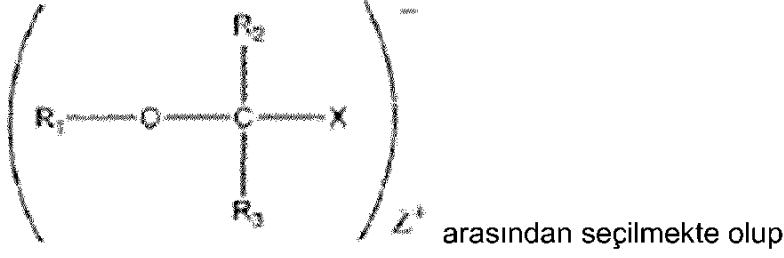


6. İstem 5'e göre bir lipit bileşiği olup, **özelliği**; içerisinde bileşiğin kendi R enantiomer formu halinde mevcut olmasıdır.

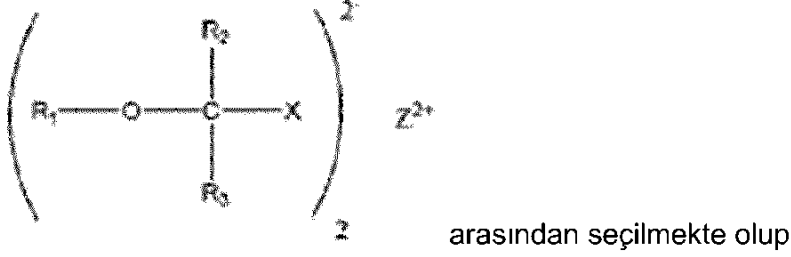
7. İstem 5'e göre bir lipit bileşiği olup, **özelliği**; içerisinde bileşiğin kendi S enantiomer formu halinde mevcut olmasıdır.

8. Önceki istemlerin herhangi birine göre bir lipit bileşiği olup, **özelliği**; içerisinde bileşiğin tuzunun

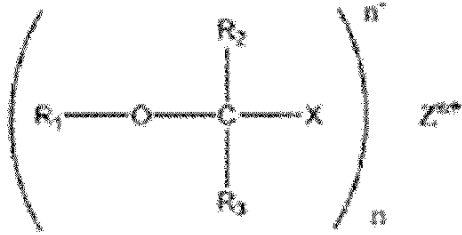
25



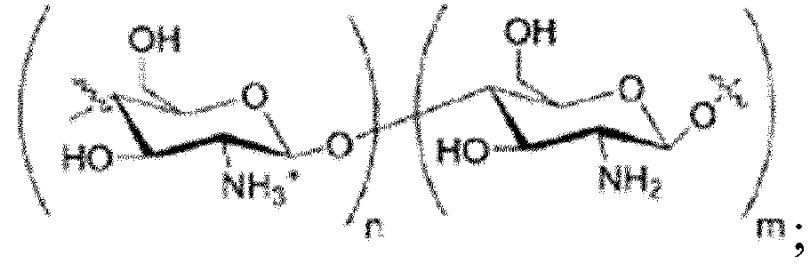
içerisinde X ifadesi COO^- olmaktadır ve Z^+ ifadesi, Li^+ , Na^+ , K^+ , NH_4^+ , protonlu primer amin, bir protonlu aminopiridin, bir protonlu sekonder amin, bir protonlu tersiyer amin, bir protonlu guanidin ya da bir protonlu heterosikl arasından seçilmektedir;



içerisinde X ifadesi COO^- olmaktadır ve Z^{2+} ifadesi, Mg^{2+} , Ca^{2+} ya da bir diprotonlu diamin arasından seçilmektedir; ya da



içerisinde X ifadesi COO^- olmaktadır ve Z^{n+} ifadesi, bir protonlu çitosan olmaktadır



ve içerisinde R_1 ifadesi, (5Z,8Z,11Z,14Z,17Z)- ikoza-5,8,11,14,17-pentaen-1-il olmaktadır.

9. İstemler 1 -3 ve 8'e göre bir lipid bileşiği olup, **özelliliği**; içerisinde alkil grubunun metil, etil ya da propil olmasıdır.

10. İstem 1'e göre bir lipid bileşiği olup, **özelliliği**; içerisinde R_2 ve R_3 ifadeleri aynı ya da farklıdır ve metil ya da etil arasından seçilmektedir.

11. Önceki istemlerin herhangi birine göre bir lipid bileşiği olup, **özelliliği**; içerisinde X

ifadesinin, bir karboksilik asit ya da bir ester, bir mono-gliserit, bir 2-mono- gliserit, bir digliserit, bir trigliserit ya da bir fosfolipid formunda bunların bir türevi olmasıdır.

12. İstem 11'e göre bir lipit bileşiği olup, **özelliği**; içerisinde X ifadesinin, bir etil ester formunda bir karboksilik asit türevi olmasıdır.

5 13. İstem 11'e göre bir lipit bileşiği olup, **özelliği**; içerisinde R_2 ve R_3 ifadelerinin bir etil grubu ve bir hidrojen olmasıdır ve X ifadesinin bir 2- mono-gliserit formunda bir karboksilik asit türevi olmasıdır.

14. İstem 11'e göre bir lipit bileşiği olup, **özelliği**; içerisinde X ifadesinin bir karboksilik asit olmasıdır.

10 15. İstemler 1 - 5 ya da 8 - 14 arasında herhangi birine göre bir lipit bileşiği olup, **özelliği**; diastereomerler, enantiomerlerin bir karışımı halinde ya da rasemik formu halinde olmasıdır.

16. İstem 1'e göre bir lipit bileşiği olup, **özelliği**; içerisinde bileşik aşağıdakilerden seçilmektedir:

15 (F) bir lipit bileşiği, içerisinde X ifadesi, bir trigliserit formu halinde bir katrboksilik asidin bir türevi olmaktadır; ya da

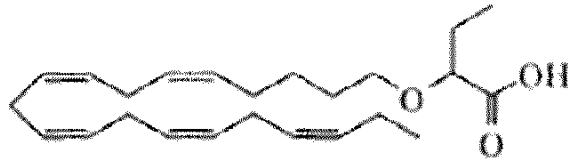
(G) bir lipit bileşiği, içerisinde X ifadesi, X ifadesi bir karboksilat tuzu olmaktadır.

17. İstem 11'e göre bir lipit bileşiği olup, **özelliği**; içerisinde bileşiğin, (5Z,8Z,11Z,14Z,17Z)- ikoza-5,8,11,14,17-pentaen-1-iloksi, R_2 , R_3 , ve X'e bağlanan karbondaki kendi R enantiomer formu halinde mevcut olmasıdır.

20

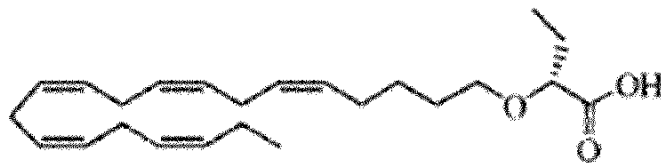
18. İstem 11'e göre bir lipit bileşiği olup, **özelliği**; içerisinde bileşiğin, (5Z,8Z,11Z,14Z,17Z)- ikoza-5,8,11,14,17-pentaen-1-iloksi, R_2 , R_3 , ve X'e bağlanan karbondaki kendi S enantiomer formu halinde mevcut olmasıdır.

19. İstem 1'e göre lipit bileşiği olup, **özelliği**; içerisinde bileşiğin:

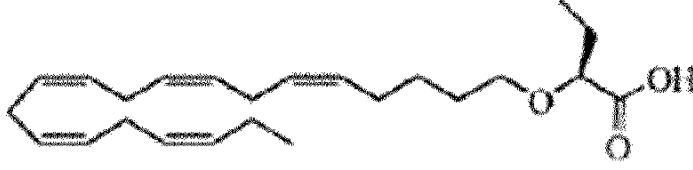


25

2-((5Z,8Z,11Z,14Z,17Z)- ikoza-5,8,11,14,17-pentaeniloksi) bütanoik asit;



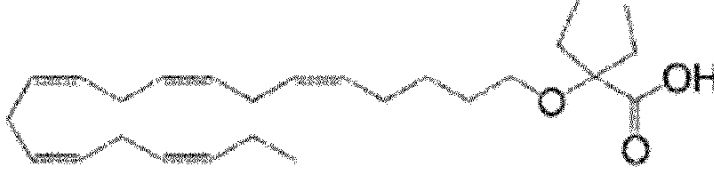
(R)-2-((5Z,8Z,11Z,14Z,17Z)- ikoza-5,8,11,14,17-pentaeniloksi) bütanoik asit;



(S)-2-((5Z,8Z,11Z,14Z,17Z)- ikoza-5,8,11,14,17-pentaeniloksi) bütanoik asit;



5 2-((5Z,8Z,11Z,14Z,17Z)- ikoza-5,8,11,14,17-pentaeniloksi)-2- metilpropanoik asit; ya da



etil-2-((5Z,8Z,11Z,14Z,17Z)- ikoza-5,8,11,14,17-pentaeniloksi) bütanoik asit olmaktadır.

20. Bir farmasötik kompozisyon olup, **özelliği**; istemler 5 – 7 arasında herhangi birine göre en az bir lipit bileşiği ve farmasötik olarak kabul edilen taşıyıcı, eksipiyen ya da seyreltici ya da bunların herhangi kombinasyonunu içermesidir.

21. İstem 20'ye göre farmasötik bir kompozisyon olup, **özelliği**; ayrıca farmasötik olarak kabul edilen bir antioksidanı içermesidir.

22. İstem 20 ya da 21'e göre farmasötik bir kompozisyon olup, **özelliği**; oral tatbik için formüle edilmesidir.

15 23. İstemler 20 - 22 arasında herhangi birine göre farmasötik bir kompozisyon olup, **özelliği**; iltihaplanma, iltihaplı bağırsak hastalığı (IBD), romatoid artrit, ateroskleroz, diyabet, periferik insülin direnci, dislipidemi ya da karışık dislipidemi önlenmesi ya da tedavisinde kullanılmasına yönelik

metabolik sendrom;

20 kolesterolü düşürmek için;

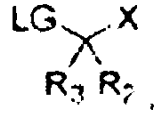
HDL kolesterolü yükseltmek için; ya da

Ağırlık düşürülmesi için kullanılmasına yönelik olup içerisinde en az bir lipit bileşiği 1 mg ila 3 g arasında değişen günlük bir dozda uygulanmasıdır.

24. İstem 23'e göre kullanılmasına yönelik bir farmasötik kompozisyon olup, **özelliği**;

içerisinde günlük dozun, 50 mg ila 1 g arasında, 50 mg ila 500 mg arasında, 10 mg ila 2 g arasında, 100 mg ila 1 g arasında, 100 mg ila 500 mg arasında ve 100 mg ila 250 mg arasından seçilmesidir.

- 5 **25.** İstemler 20-22 arasında herhangi birine göre farmasötik bir kompozisyon olup, **özellliği**; bir jelatin kapsül, bir tablet ya da bir tek dozluk paket formunda olmasıdır.
- 26.** İstemler 20-22 arasında herhangi birine göre farmasötik bir kompozisyon olup, **özellliği**; bir ilaç olarak kullanılmasına yönelik olmasıdır.
- 27.** Bir lipit kompozisyon olup, **özellliği**; istemler 1-19 arasında herhangi birine göre en az bir lipit bileşiği içermesidir.
- 10 **28.** İstem 27'ye göre bir lipit kompozisyon olup, **özellliği**; bir ilaç olarak kullanılmasına yönelik olmasıdır.
- 29.** İstemler 5 - 7 arasında herhangi birine göre bir lipit bileşiği olup, **özellliği**; bir ilaç olarak kullanılmasına yönelik olmasıdır.
- 30.** İstemler 5 - 7 arasında herhangi birine göre bir lipit bileşiği olup, **özellliği**;
- 15 iltihaplanma, iltihaplı bağırsak hastalığı (IBD), romatoid artrit, ateroskleroz, diyabet, periferik insülin direnci, dislipidemi veya karışık dislipidemi ya da metabolik sendromun önlenmesinde veya tedavisinde kullanım için;
- kolesterolün düşürmek için;
- HDL kolesterolü yükseltmek için; ya da
- 20 kilo düşürülmesi ağırlık için kullanılmasına yönelik olmasıdır.
- 31.** İstem 1'e göre bir lipit bileşiğin üretimi için bir metot olup, **özellliği**;
- a) (5Z,8Z,11Z,14Z,17Z)- ikoza-5,8,11,14,17-pentaen-1-ol'ün



ile tepkimeye sokulması,

içerisinde LG'nin bir ayrılma grubu olması; ve

- 25 b) lipit bileşiğinin izole edilmesini içermesidir.

32. İstem 31'e göre bir metot olup, **özellliği**; içerisinde ayrılma grubunun, bir mezilat grubu, bir tosilat grubu, bir hidroksi grubu ya da bir halojen atomu arasından seçilmesidir.

33. İstem 31'e göre bir metot olup, **özellliği**; ayrıca korunma ve korunmadan ayrılma

aşamalarını içermesidir.

34. İstem 31'e göre bir metot olup, **özelliği**; içerisinde aşama a)'nın bir baz mevcudiyetinde yürütülmesidir.

35. İstem 31'e göre bir metot olup, **özelliği**; içerisinde aşama a)'nın Mitsunobu koşulları altında yürütülmesidir.

36. 2-((5Z,8Z,11Z,14Z,17Z)- ikoza-5,8,11,14,17-pentaeniloksi) bütanoik asit üretimi için istem 31'e göre bir metot olup, **özelliği**;

a) (5Z,8Z,11Z,14Z,17Z)- ikoza-5,8,11,14,17-pentaen-1-ol'ün t-butil 2-bromobütirat ile tepkimeye sokulmasını;

b) bir karboksilik asit içerisine aşama a) 'dan elde edilen esterin dönüştürülmesini; ve

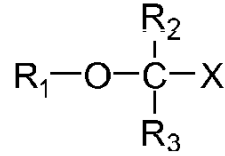
c) bahsi geçen 2-((5Z,8Z,11Z,14Z,17Z)- ikoza-5,8,11,14,17-pentaeniloksi) bütanoik asidin izole edilmesini içermesidir.

TARİFNAME

KARDİOVASKÜLER, METABOLİK VE ENFLAMATUAR HASTALIK ALANLARI İLE İLİŞKİLİ HASTALIKLARIN TEDAVİSİNDE ÇOKLU DOYMAMIŞ YAĞLI ASİTLERİ

Teknik Alan

5 Mevcut tarifname aşağıdaki genel formül (I)'e



(I)

ait lipit bileşikleri ile ilgili olup,

içerisinde

• R₁ ifadesi, 1-6 çift bağlara sahip bir C₁₀-C₂₂ alkil grubu, bir C₁₀-C₂₂ alkenil grubudur ya da
10 1-6 üçlü bağlara sahip bir C₁₀-C₂₂ alkinil grubudur;

• R₂ ve R₃ ifadeleri aynı ya da farklıdır ve R₂ ve R₃ ifadelerinin her ikisinin de bir hidrojen atomu olamadığı şartıyla, bir hidrojen atomu, bir hidroksi grubu, bir alkil grubu, bir halojen atomu, bir alkoksi grubu, bir asiloksi grubu, bir asil grubu, bir alkenil grubu, bir alkinil grubu, bir aril grubu, bir alkiltiyo grubu, bir alkoksi karbonil grubu, bir karboksi grubu, bir alkilsülfonil grubu, bir alkilsülfonil grubu, bir amino grubu ve bir alkilamino grubu arasından
15 seçilebilmektedir; ya da

• Birlikte R₂ ve R₃ ifadeleri, siklopropan, siklobütan, siklopentan ya da sikloheksan gibi bir sikloalkil grubunu oluşturur;

• X ifadesi, bir karboksilik ester, bir karboksilik anhidrit, karboksamid, fosfolipit,
20 monogliserit, digliserit ya da trigliserit gibi, bir karboksilik asit ya da bunların bir türevidir;

ya da farmasötik olarak kabul edilen tuzu, solvati, bunların bu tür tuzunun solvattır.

Bu tarifnamenin bazı bakış açılarında içerisinde R₂ ve R₃ ifadeleri farklıdır, formül (I)'e ait bileşikler, stereoizomerik formlar halinde var olabilirler.

Mevcut tarifname aynı zamanda formül (I)'e ait en azından bir bileşiğini içeren farmasötik
25 kompozisyonlar ve lipit kompozisyonlar ile ilgilidir. Buna ilaveten, mevcut tarifname, ilaç olarak kullanım için ya da kardiyovasküler, metabolik ve enflamatuar hastalık alanları ile ilgili hastalıkların tedavisi gibi, terapide kullanım için formül (I)'e ait bileşiklerini içerir.

Arka Plan

Diyet çoklu doymamış yağ asitleri (PUFA'lar), örneğin plazma lipit seviyelerinin düzenlenmesi, kardiyovasküler ve immün fonksiyonlar, insülin etkisi, nöronal gelişme ve görsel fonksiyonun düzenlenmesi gibi, normal sağlığı ve kronik hastalıkları etkileyen çeşitli fizyolojik süreçler üzerinde etki eder.

- 5 İn vivo olarak sınırlı stabilite ve biyolojik çeşitliliğinin eksikliği nedeniyle, PUFA'lar, terapötik ajanlar olarak yaygın kullanıma ulaşamamıştır. n-3 çoklu doymamış yağ asitlerinin kimyasal modifikasyonları, etkilerini değiştirmek ya da arttırmak için birkaç araştırma grubu tarafından gerçekleştirilmiştir.

- 10 Örneğin, (4Z, 7Z, 10Z, 13Z, 16Z, 19Z) -dokoza-4,7,10,13,16,19-heksoenoik asidin (DHA) hipolipidemik etkileri, (4Z, 7Z, 10Z, 13Z, 16Z, 19Z) -etil dokosa-4,7,10,13,16,19-heksoenoat (DHA EE) α -pozisyonunda bir ornatması eklenerek kuvvetlendirilir. (WO 2006/117664 sayılı belge) Alfa- ornatılmış DHA türevleri ile tedavi edilen obez, yüksek yağla beslenen farelerin obezite ve glukoz intoleransını önlediği ve tersine çevirdiği bildirilmektedir. (Rossmeisl, M., ve diğ., Obesity (Silver Spring) 15 Ocak 2009.)

- 15 Birkaç araştırma grubu β -konumu içinde bulunan oksijeni içeren doymamış yağ asitlerini hazırlanmışlardır (Flock, S. ve diğ., Acta Chemica Scandinavica, (1999) 53: 436 ve Pitt, MJ, ve diğ., Synthesis, (1997) 1240-42) sayılı belge.

- 20 Genel formül (I) ile temsil edilen bir α -ornatıkları ile β -pozisyonunda bir oksijen atomunu birleştiren yeni bir yağ asidi türevleri grubu geliştirilmiştir. Bu yeni yağ asitleri, bir dislipidemik fare modelinde lipit seviyelerini doğal olarak oluşan çoklu doymamış yağ asitlerinden daha büyük oranda azaltır.

Şekillerin Tarifi

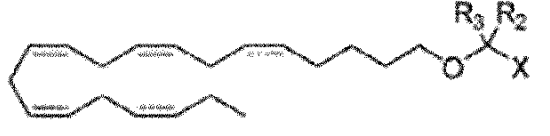
Şekil 1: Mevcut tarifnamenin bir uygulamasında uygulanması sonrası APOE*3Leiden farelerinde kolesterol ve trigliserit seviyeleri ve Omacor™.

- 25 Şekil 2: Mevcut tarifnamenin bir uygulamasında uygulanması sonrası APOE*3Leiden.CETP farelerinde kolesterol ve trigliserit seviyeleri ve fenofibrat.

Şekil 3: Mevcut tarifnamenin bir uygulamasında uygulanması sonrası APOE*3Leiden.CETP farelerinde HDL seviyeleri ve fenofibrat.

Özet

- 30 Mevcut buluşun bir amacı, doğal olarak oluşan çoklu doymamış yağ asitlerine kıyasla gelişmiş biyolojik aktiviteye sahip olan lipit bileşiklerini sağlamaktır. Bu amaç, formülün bir lipit bileşiği ile gerçekleştirilebilmekte olup



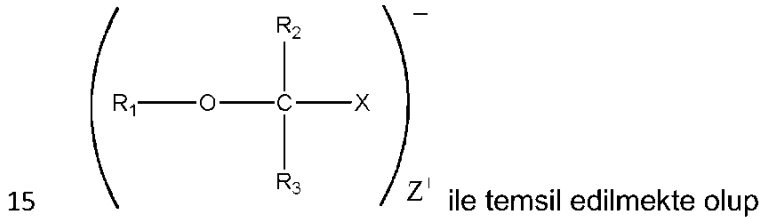
5 içerisinde R_2 ve R_3 ifadeleri aynı ya da farklıdır ve R_2 ve R_3 ifadelerinin her ikisinin de bir hidrojen atomu olamadığı şartıyla, bir hidrojen atomu ve bir alkil grubundan seçilmektedir; X ifadesi bir karboksilik asittir ya da bunların bir türevidir içerisinde türevi, bir karboksilik ester, bir karboksamid, bir monogliserit, bir digliserit, bir trigliserit ya da bir fosfolipittir; ya da bunların farmasötik olarak kabul edilebilir bir tuzudur.

En azından bir uygulamada, alkil grubu, metil, etil, n-propil, izopropil, n-bütil, sek-bütil ve n-hekzil arasından seçilebilir.

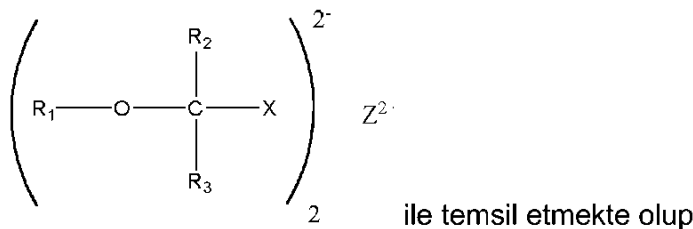
10 Buluşa ait en azından bir uygulamada, bileşiğin ornatıklar R_2 ve R_3 ifadelerinin biri hidrojendir ve diğer biri bir alkil grubudur.

Buluşa ait başka bir uygulamada, bileşiğin ornatıklar R_2 ve R_3 ifadeleri aynıdır ya da farklıdır ve bir alkil grubu arasından seçilebilir. Örneğin, R_2 ve R_3 ifadeleri, metil, etil, n-propil ya da izopropil arasından seçilebilir.

Mevcut buluş aynı zamanda bileşiğin tuzları ile ilgilidir. Bu tür tuzlar



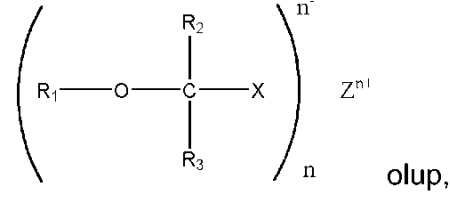
20 içerisinde X ifadesi COO^{-} olmaktadır ve Z^{+} ifadesi, NH_4^{+} , örn. Li^{+} , Na^{+} ya da K^{+} gibi bir metal iyonu, tert-bütil amonyum, (3s,5s,7s)-adamantan-1-amonyum, 1,3-dihidroksi-2-(hidroksimetil)propan-2- amonyum ya da bir protonlu aminopiridin (örn., piridin-2-amonyum) gibi bir protonlu primer amin, dietilamonyum, 2,3,4,5,6-pentahidroksi-N-metilhekzan-1-amonyum, N-etilnaftalen-1- amonyum gibi bir protonlu sekonder amin, 4-metilmorfolin- 4- iyum gibi bir protonlu tersiyer amin, amino((4-amino-4-karboksibütil)amino) metaniminyum gibi bir protonlu guanidin ya da 1H-imidazol-3-iyum gibi bir protonlu heterosikl olabilir, ya da



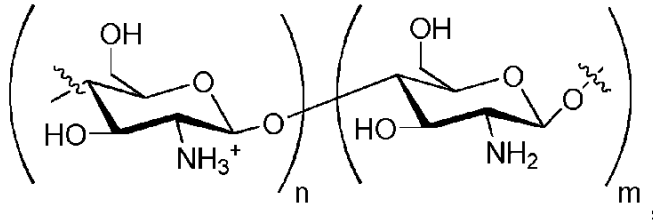
25 içerisinde $X = COO^{-}$ olmaktadır ve Z^{2+} ifadesi, Mg^{2+} ya da Ca^{2+} olabilir ya da etan-1,2-

diamonyum ya da piperazin- 1,4-diium gibi bir diprotonlu diamin olabilir ve içerisinde R_1 ifadesi (5Z,8Z,11Z,14Z,17Z)- ikoza-5,8,11,14,17- pentaen-1-il.

Bir başka temsil eden tuz

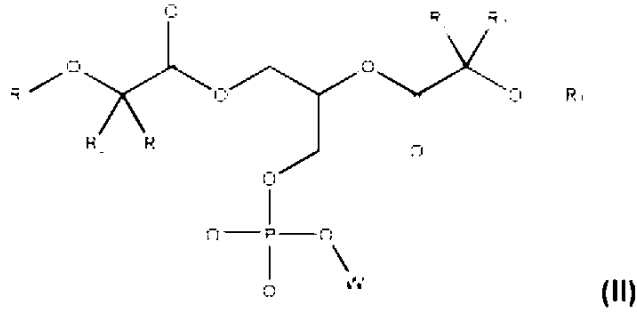


- 5 içerisinde X ifadesi COO^- olmaktadır ve Z^{n+} ifadesi protonlu Çitosan olmaktadır:

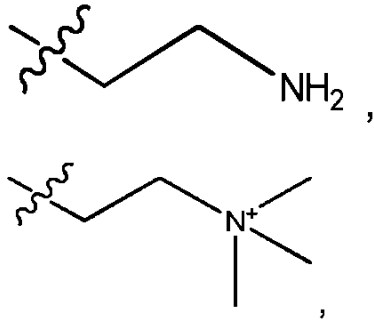


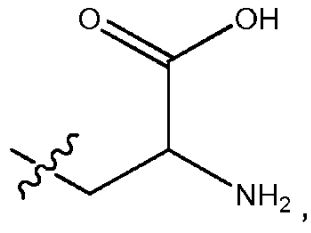
ve içerisinde R_1 ifadesi, (5Z,8Z,11Z,14Z,17Z)- ikoza-5,8,11,14,17-pentaen-1-il olmaktadır.

- Bundan başka, mevcut buluş bileşikler ile ilgili olup içerisinde X ifadesi, bir fosfolipid formu halinde bir karboksilik asittir. Bu tür bileşikler, aşağıdaki formüller (II-IV) ile temsil edilmekte olup

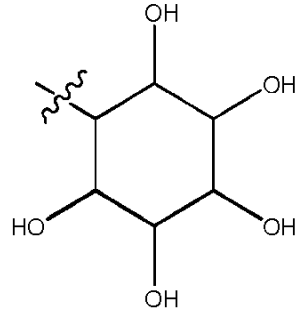


İçerisinde W ifadesi şunlardır:

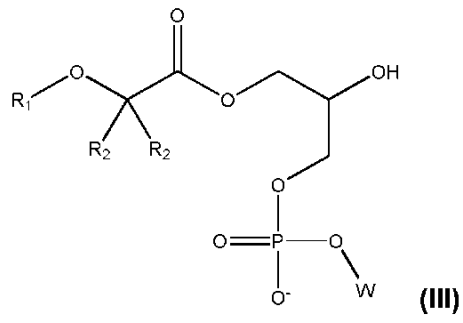




ya da,

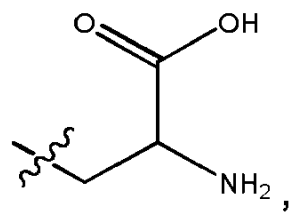
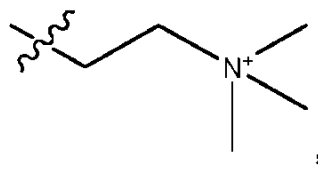
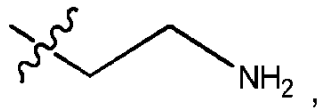


ve

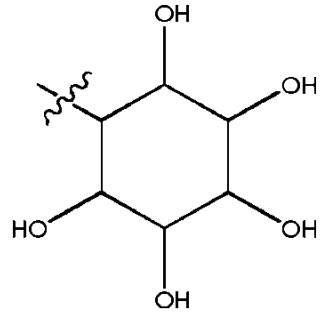


5

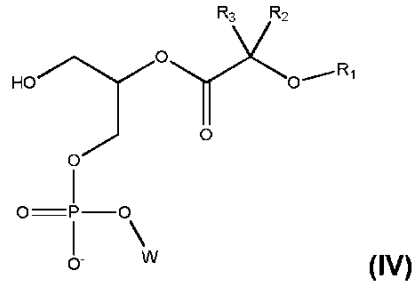
içerisinde W ifadesi şunlardır:



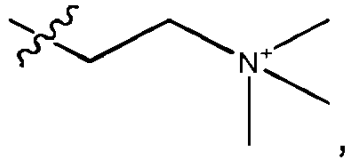
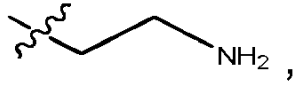
10 ya da,



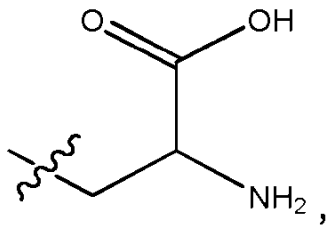
ve



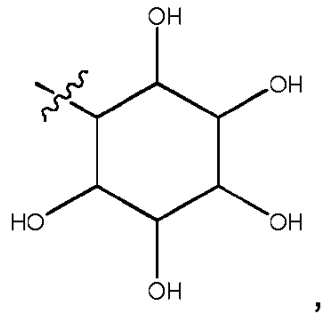
içerisinde W ifadesi şunlardır:



5



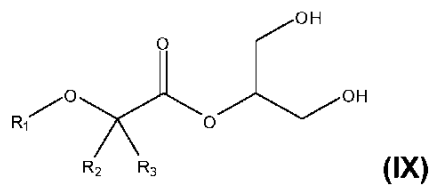
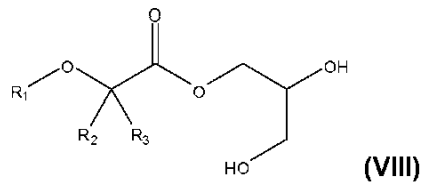
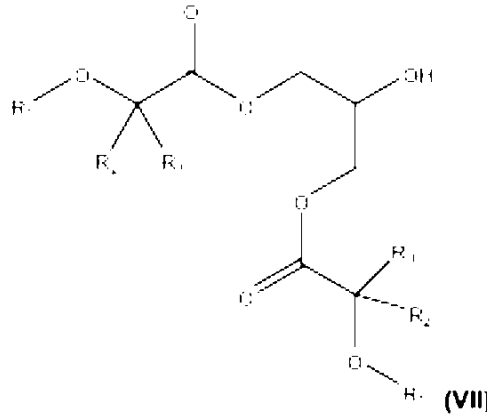
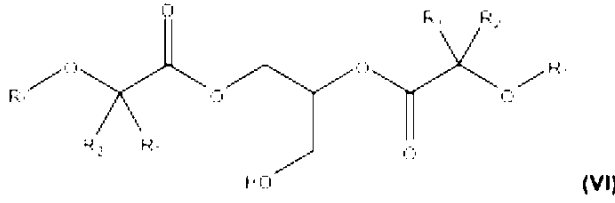
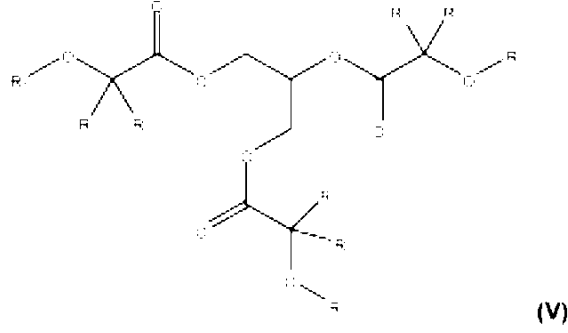
ya da,



ve içerisinde R_1 ifadesi, (5Z,8Z,11Z,14Z,17Z)- ikoza- 5,8,11,14,17- pentaen-1-il olmaktadır.

İçerisinde X ifadesinin, bir trigliserit, bir 1,2-digliserit, bir 1,3-digliserit, bir monogliserit ve 2-monogliserit formu halinde bir karboksilik asit olduğu bileşikler de aynı zamanda mevcut buluş içerisine dahil edilmiştir. Bunlar, bundan sonra sırasıyla (V), (VI), (VII), (VIII) ve (IX)

5 formülleriyle temsil edilmekte olup içerisinde R_1 ifadesi, (5Z,8Z,11Z,14Z,17Z)- ikoza- 5,8,11,14,17- pentaen-1-il olmaktadır.



Bileşikler, stereoizomerik formlar halinde mevcut olabilirler. Buluşun, bileşiklerin ve bunların karışımlarının tüm optik izomerlerini kapsadığı anlaşılabacaktır. Bu nedenle, diastereomerler, rasematlar ve enantiomerler olarak mevcut olan bileşikler, mevcut buluşun kapsamı dahilindedir.

- 5 Mevcut buluş aynı zamanda, bir ilaç olarak kullanılmak üzere yukarıda tanımlandığı gibi en az bir lipit bileşiği ile ilgilidir.

Yine ayrıca bir uygulamada, mevcut buluş, opsiyonel olarak bir veya daha fazla farmasötik olarak kabul edilebilir taşıyıcılar ya da ekspiyanlar ile birlikte yukarıda tanımlandığı gibi en az bir bileşiği içeren farmasötik bir kompozisyon sunar.

- 10 Tarifnamenin yeni lipit bileşikleri ve kompozisyonları, örn., çözücüler, seyrelticiler, bağlayıcılar, tatlandırıcılar, aromalar, pH değiştiriciler, viskozite değiştiriciler, antioksidanlar, mısır nişastası, laktoz, glukoz, mikrokristalli selüloz, magnezyum stearat, polivinil pirrolidon, sitrik asit, tartarik asit, su, etanol, gliserol, sorbitol, polietilen glikol, propilen glikol, setilstearyl alkol, karboksimetil selüloz ya da sert yağ veya bunların uygun karışımları gibi yağlı maddeler gibi konvansiyonel ekspiyanlar kullanarak örn. tabletler, kaplanmış tabletler, kapsüller, tozlar, granüller, çözelti, dispersiyonlar, süspansiyonlar, şuruplar, emülsiyonlar ve spreyler gibi geleneksel oral uygulama formları halinde formüle edilebilir. Teknikte iyi bilinen, konvansiyonel formülasyon teknikleri, mevcut tarifnameye göre lipit bileşiklerini formüle etmek için kullanılabilir.

- 20 Kompozisyonlar örneğin oral yoldan gibi konvansiyonel uygulama yollarıyla uygulanabilir. Oral yoldan uygulanabilir kompozisyonların kullanımı, örn. tabletler, kaplanmış tabletler, kapsüller ya da şuruplar bu tarifnamenin kapsamı dahilindedir. Örneğin, bazı uygulamalarda, kompozisyon bir jelatin kapsül, bir tablet ya da bir poşet formunda olabilir.

Buluşa göre en az bir bileşiğin uygun günlük bir dozajı, 1mg ila 3 g arasında değişebilir.

- 25 Örneğin, bazı uygulamalarda, günlük doz aralıkları, 1 mg ila 10 g arasında, 50 mg ila 1 g arasında, 10 mg ila 2 g arasında, 50 mg ila 500 mg arasında, 50 mg ila 200 mg arasında, 100 mg ila 1 g arasında, 100 mg ila 500 mg arasında ya da 100 mg ila 250 mg arasında değişebilir.

Mevcut tarifnameye göre farmasötik kompozisyon bir ilaç olarak kullanılabilir.

- 30 Mevcut tarifname aynı zamanda, buluşa göre en az bir lipit bileşiği içeren lipit kompozisyonları ile de ilgilidir. Uygun olarak, lipit kompozisyonu, buluşa ait en az bir bileşiğin ağırlığınca en az % 60 ya da ağırlığınca en az % 80'nini içerebilir.

Lipit kompozisyonu ayrıca farmasötik olarak kabul edilebilir bir antioksidan, örn. tokoferol veya 3-BHA gibi içerebilir.

Ayrıca, mevcut tarifname bir ilaç olarak kullanılmasına yönelik bir lipit kompozisyonu ile ilgilidir.

İlaveten, mevcut tarifname aşağıda bulunanlar halinde kullanılmasına yönelik buluşa göre bir lipit kompozisyonun kullanımı ile ilgilidir:

- 5
 - insan peroksizom proliferatör ile aktive edilmiş reseptör (PPAR) α , γ ya da δ izoformlarının en azından birinin aktivasyonu ya da modülasyonu, içerisinde bahsi geçen bileşik, örn., bir pan-agonist ya da modülatördür,
 - inflamatuvar bir durumun önlenmesi ya da tedavisi,
 - romatoid artrit önlenmesi ya da tedavisi,
- 10
 - inflamatuvar barsak hastalığının önlenmesi ya da tedavisi,
 - metabolik sendromun önlenmesi ya da tedavisi,
 - bir dislipidemik durumun, örn., hipertrigliseridemi (HTG) önlenmesi ve/ veya tedavisi,
 - yükselmiş trigliserit seviyelerinin, LDL kolesterol seviyelerinin ve/ veya VLDL kolesterol seviyelerinin önlenmesi ve/ veya tedavisi,
- 15
 - obezitenin ya da aşırı kilolu bir durumun tedavisi ve/ veya önlenmesi,
 - vücut ağırlığının azaltılması ve/ veya vücut ağırlığının artmasını önlemek için,
 - yağlı karaciğer hastalığının örn. alkolsüz yağlı karaciğer hastalığı (NAFLD), tedavisi ve/ veya önlenmesi,
 - enflamatuvar bir hastalık veya durumun tedavisi ve/ veya önlenmesi,
- 20
 - aterosklerozun tedavisi ve/ veya önlenmesi,
 - periferik insülin direncinin ve/ veya bir diyabetik durumun tedavisi ve/ veya önlenmesi,
 - tip 2 diyabetin tedavisi ve/ veya önlenmesi, ya da
 - plazma insülini, kan glukozu ve/ veya serum trigliseritlerinin azaltılması.

- 25 Mevcut tarifname aynı zamanda yukarıda belirtilen durumların tedavisi için buluşa göre lipit bileşikleriyle de ilgilidir.

Buna ilaveten, mevcut tarifname buluşa ait lipit bileşiklerin üretilmesine yönelik metotları kapsar. Ham madde örneğin; bir bitkisel, mikrobiyal ve/ veya deniz balık yağı gibi bir hayvan kaynağı kökenli olabilir. En az bir uygulamada, deniz yağı veya bir kril yağı kullanılır.

- 30 **Detaylı tarifname**

Mevcut buluş sahipleri, buluşa ait bileşiklerin, oldukça iyi farmasötik aktiviteye sahip olduğunu bulmuşlardır.

Bir "farmasötik olarak etkili bir miktar", istenen farmakolojik ve/ veya terapötik etkilere yol açacak bir miktar, yani amaçlanan amacına ulaşmak için etkili olan açıklanan ürünün bir miktarı ile ilgilidir. Bireysel hasta ihtiyaçları değişebilirken, açıklanan ürünün etkili miktarları için optimal aralıkların belirlenmesi, bu tekniğin uzmanlığı dahilindedir. Genel olarak, bu buluşun açıklanan ürünüyle bir durumun tedavisi için dozaj rejimi, hastanın tipi, yaşı, ağırlığı, cinsiyeti, diyeti ve tıbbi durumu da dahil olmak üzere çeşitli faktörlere göre seçilir.

"Farmasötik bir kompozisyon" ifadesi ile, mevcut tarifnameye göre, tıbbi bir amaç için kullanılmaya uygun herhangi bir form halinde bir lipit bileşiği anlamına gelir.

"Tedavi", insan ya da insan olmayan bir memeliye faydalı olabilecek herhangi bir terapötik uygulamayı içerir. Hem insan hem de veterinerlik uygulamaları mevcut tarifnamenin kapsamındadır. Tedavi, mevcut bir durum ile ilgili olabilir yada profilaktik (koruyucu), örneğin önleyici olabilir.

Yağ asitleri, bir ucunda (α) bir karboksil (COOH) grubuna ve (genellikle) diğer (ω) ucunda bir metil grubuna sahip olan düz zincirli hidrokarbondur. Kimyada, karbon atomlarının numaralandırılması α ucundan başlar.



α karbonu, fonksiyonel gruba bağlanan karbon sonrası ilk karbonu ifade eder ve ikinci karbon β karbonudur.

Bunun içinde kullanıldığı şekliyle, "metilen ile kesilmiş çift bağlar", metilen grubu ($-\text{CH}_2-$) bir lipit bileşiğinin bir karbon zincirinde iki çift bağ arasına yerleştirildiğinde bir durum ile ilgilidir.

WO2009/056983 sayılı belge, bir karbon üzerinde ornatılmış DH A monogliseritler ile ilgilidir.

Yani, karbon zincirinde okzo-orнатması yoktur. WO2009/056983 sayılı belgeye ait bileşiklerin, yüksek trigliserit seviyelerinin ve/ veya HDL olmayan kolesterol, LDL kolesterol ve VLDL kolesterol seviyelerinin tedavisinde ve/ veya önlenmesinde; bir hiperlipidemik durum; veya serum trigliseritlerinin azaltılması için kullanılması amaçlanmıştır.

WO2008/053340 sayılı belge, ornatılmış bir lipiti ve bir hipoglisemik ajanı içeren bir kombinasyon ürünü ile ilgilidir. WO2008/053340 sayılı belgede bir β -okzo ornatmasının lipit bileşiği içerisine katılması hakkında hiçbir şey bahsedilmemiştir. WO2008/053340 sayılı belge, bu tür bir kombinasyon ürününün diyabetik koşulların tedavisinde kullanılmasından

bahseder.

WO 2006/117668 sayılı belge, α karbon üzerinde bir metil grubu ile ornatılmış DHA türevleri ile ilgilidir. Yani, karbon zincirinde okzo-orlatması yoktur. WO 2006/117668 sayılı belgelere ait bileşiklerin, özellikle diabetes mellitus, tip 2 ve bunların ön-safhalarının tedavisi için bir ilaç olarak kullanılması amaçlanmıştır.

Granlund, L. ve diğ., "Effects of structural changes of fatty acids on lipid accumulation in adipocytes and primary hepatocytes", *Biochimica et Biophysica Acta*, cilt. 1687, (2005), syf. 23-30 sayılı belge, konjuge edilmiş linoleik asitlerin (CLA'lar), tetradetilasetik asitin (TTA), EPA'nın ve DHA'nın karbon üzerindeki bir metil grubu ile ornatılmış olduğu bir çalışmayı rapor eder. Bu dokümanda bir β -okzo orlatmasının kullanılmasına ilişkin hiçbir şey belirtilmemiştir. t10, c12 CLA'nın, adipositlerde lipid birikimini önlemede oldukça spesifik olduğu ve molekülde küçük yapısal değişikliklerin (trans/trans'a değişimi ya da bir α -metil grubunun kullanılması) bu etkiyi tamamen ortadan kaldırdığı ve adipogenik marker genlerinin ifade seviyesini kontrol seviyelerine doğru yukarı düzenlediğini bulmuştur. Bundan başka, hem c9, t11 CLA, t10, c12 CLA, TTA, EPA hem de DHA için gözlenen artmış hepatik lipid birikimi, moleküllere bir α -metil grubu eklendikten sonra normalleştirilmiştir. Birlikte ele alındığında, veriler çeşitli yağ asitlerinin yüksek oranda özelleşmiş moleküller olduğunu ve küçük yapısal değişikliklerin adipositler ve hepatositlerdeki lipid birikimini etkileme yollarını belirgin şekilde değiştirdiğini göstermektedir.

Larsen, L.N. ve diğ., "Polyunsaturated thia- and okza-fatty acids: incorporation into cell-lipids and their effects on arachidonic acid- and e ikozanoid synthesis" *Biochimica et Biophysica Acta*, cilt. 1348, (1997), syf. 346-354 sayılı belge, karbon zincirindeki β pozisyonunda bir heteroatomlu (S ya da O) EPA, DHA ve yağ asidi türevlerini açıklar. α karbon üzerinde orlatmadan bahsedilmemiştir. Dolayısıyla, talep edilen bileşiklerin, Larsen ve diğ.kilerle karşılaştırıldığında ayırt edici yapısal özelliği, yağ asidi türevlerinin β pozisyonundaki karbon atomunun α pozisyonda karbon atomu üzerinde orlatılamamıştır. Bu belgede, EPA, DHA, $C_{15}SCH_2COOH$ (n-3), $C_{15}SCH_2COOH$ (n-6), ve $C_{18}SCH_2COOH$ (n-3)'ün 80 μM yağ asidi/türevi ile 24 saat inkübasyon sonrası sıçan hepatositlerinde fosfolipidlere ve triasilgliserol içine yaygın şekilde dahil edilirken, sadece çoklu doymamış 3-okza yağ asitlerinin ($C_{15}OCH_2COOH$, $C_{18}SCH_2COOH$) izlerinin dahil edildiği gösterilmiştir.

WO 96/11908 sayılı belge, 18-25 arasında karbonları ve 1-6 arasında çift bağları içeren bir çoklu doymamış yağ asidi (PUFA) bileşiği ile ilgilidir ve içerisinde PUFA, β okza, γ okza, β tiya ve γ tiya oluşan grup arasından seçilen bir ya da iki orlatmalara ve ayrıca muhtemelen hidroksil, hidroperoksi, peroksi, karboksimetil orlatmalardan oluşan grup arasından seçilen ya da bir amino aside bağlı olan bir başka orlatmaya sahiptir. β okza ve α karbonu üzerinde

bir ornatiğı (-OH) içeren WO 96/11908 sayılı belgede gösterilmiş tek bileşik, Şekil 1u'daki birisidir. WO 96/11908 sayılı belgelere ait bileşiklerin, antimalaryal ve/ veya nötrofil uyarıcı aktiviteye sahip olduğı ve bundan başka enflamasyonun tedavisinde faydalı olduğı belirtilmektedir.

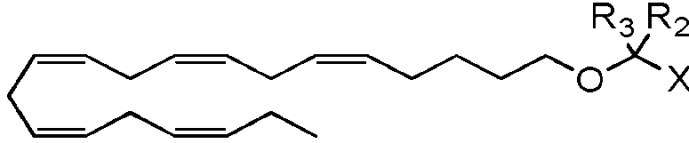
- 5 Daha özel olarak, buluş sahipleri şaşırtıcı bir şekilde aşağıdaki C, H ve I lipit bileşiğı kategorilerinin özellikle tercih edilebilir olduğunu bulmuşlardır.

Kategori C:

- çoklu doymamış yağ asitlerinden türetilmiş
- R_1 ifadesi, 5 çift bağlara sahip olan bir C_{20} alkenil'dir

10 Örnek iv:

$R_1 = C_{20}$ Z konfigürasyonunda 5 metilen ile kesilmiş çift bağ ile birlikte



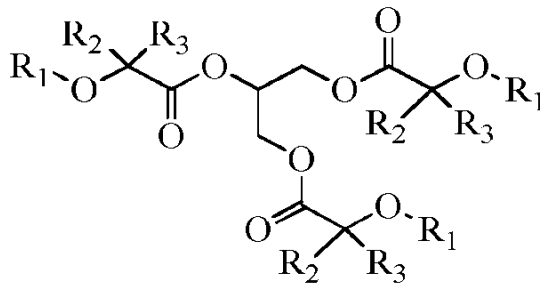
Kategori H:

- X ifadesi, trigliserit, digliserit, monogliserit veya fosfolipit formunda bir karboksilik asittir.

15

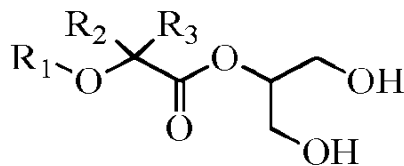
Örnek ix:

X = trigliserit formunda bir karboksilik asit



Örnek x:

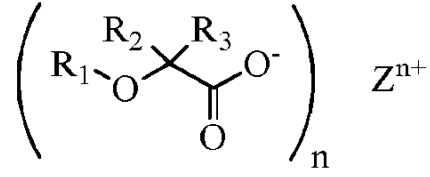
- 20 X = bir 2-monogliserid formunda bir karboksilik asit



Kategori I

- X ifadesi bir karboksilat tuzudur

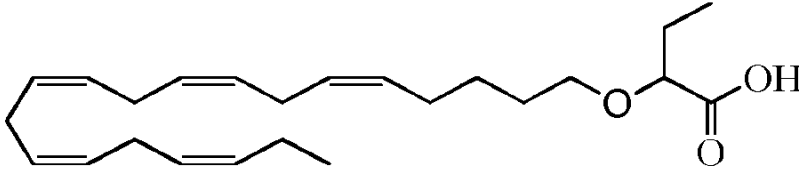
Ornek xi:



- n = 1 ya da 2

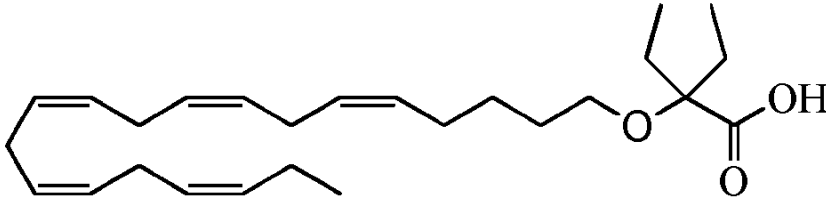
- 5 Burada R₂ ve R₃ ifadelerinin farklı olduğu yukarıda C, H ve I kategorilerine ait bileşikler, stereoizomerik formlarda mevcut olabilir, yani bileşiklerin ve bunların karışımlarının tüm optik izomerleri kapsam dahilindedir. Dolayısıyla, bahsi geçen bileşikler diastereomerler, rasematlar ve enantiyomerler olarak mevcut olabilir. Mevcut tarifnameye göre tercih edilen lipid bileşiklerinin spesifik Örnekleri şunları içerir:

10 Kategori C:



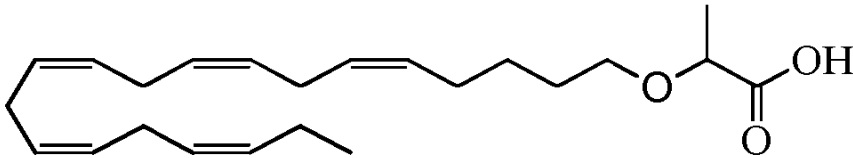
2-((5Z,8Z,11Z,14Z,17Z)- ikoza-5,8,11,14,17-pentaen-1-iloksi)butanoik asit (13)

R₁ = C₂₀H₃₁, R₂ = etil, R₃ = H ve X = COOH



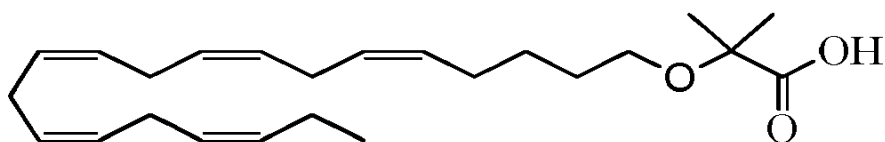
- 15 2-etil-2-((5Z,8Z,11Z,14Z,17Z)- ikoza-5,8,11,14,17-pentaen- 1-iloksi)butanoik asit (14)

R₁ = C₂₀H₃₁, R₂ = R₃ = etil ve X = COOH



2-((5Z,8Z,11Z,14Z,17Z)- ikoza-5,8,11,14,17-pentaen-1-iloksi)propanoik asit (15)

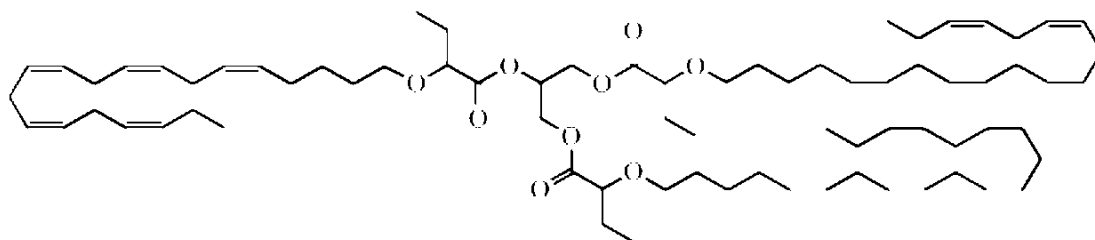
R₁ = C₂₀H₃₁, R₂ = metil, R₃ = H ve X = COOH



2-((5Z,8Z,11Z,14Z,17Z)- ikoza-5,8,11,14,17-pentaen-1-iloksi)-2-metilpropanoik asit (16)

$R_1 = C_{20}H_{31}$, $R_2 = R_3 = \text{metil}$ ve $X = \text{COOH}$

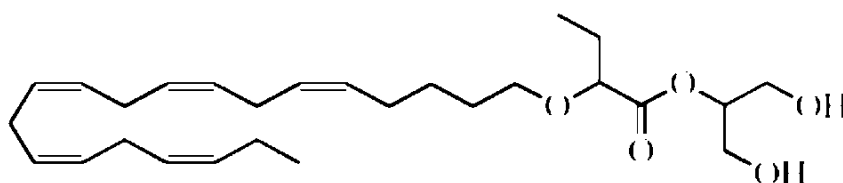
5 Kategori H:



propan-1,2,3-triil tris(2-((5Z,8Z, 11Z,14Z,17Z)- ikoza-5,8,11,14,17-pentaen-1-iloksi)butanoat) (43)

$R_1 = C_{20}H_{31}$, $R_2 = \text{etil}$, $R_3 = \text{H}$ ve $X = \text{bir trigliserit formu halinde bir karboksilik}$

10 asit

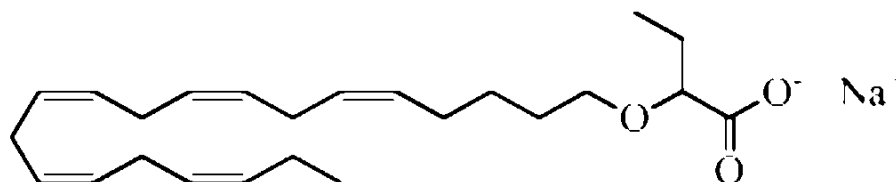


1,3-dihidroksipropan-2-il2-((5Z,8Z,11Z,14Z,17Z)- ikoza-5,8,11,14,17-pentaen-1-iloksi)butanoat (44)

$R_1 = C_{20}H_{31}$, $R_2 = \text{etil}$, $R_3 = \text{H}$ ve $X = \text{bir 2-monogliserit formu halinde bir karboksilik}$

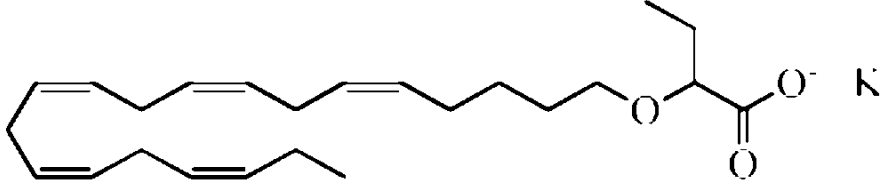
15 asit

Kategori I:



sodyum 2-((5Z,8Z,11Z,14Z,17Z)- ikoza-5,8,11,14,17-pentaen-1-iloksi)butanoat (45)

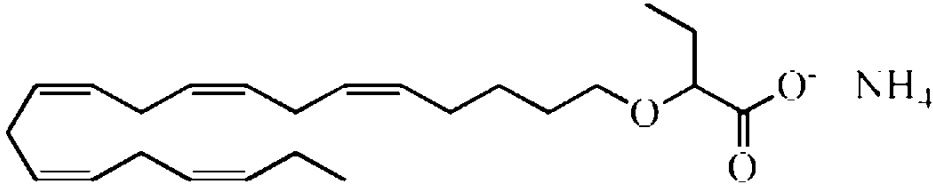
$R_1 = C_{20}H_{31}$, $R_2 = \text{etil}$, $R_3 = \text{H}$, $X = \text{COO}^-$ ve Z^+ ifadesi Na^+ olmaktadır.



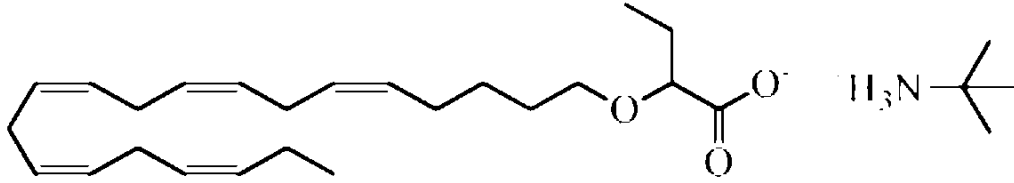
potasyum 2-((5Z,8Z,11Z,14Z,17Z)- ikoza-5,8,11,14,17-pentaen-1-iloksi)butanoat (46).

$R_1 = C_{20}H_{31}$, $R_2 = \text{etil}$, $R_3 = H$, $X = COO^-$ ve Z^+ ifadesi K^+ olmaktadır.

5



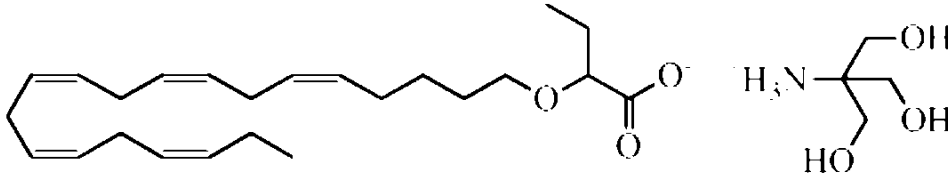
amonyum 2-((5Z,8Z,11Z,14Z,17Z)- ikoza-5,8,11,14,17-pentaen-1-iloksi)butanoat (47) $R_1 = C_{20}H_{31}$, $R_2 = \text{etil}$, $R_3 = H$, $X = COO^-$ ve Z^+ ifadesi NH_4^+ olmaktadır.



10

tert-bütül-amonyum 2-((5Z,8Z,11Z,14Z,17Z)- ikoza-5,8,11,14,17-pentaen-1-iloksi)butanoat (48).

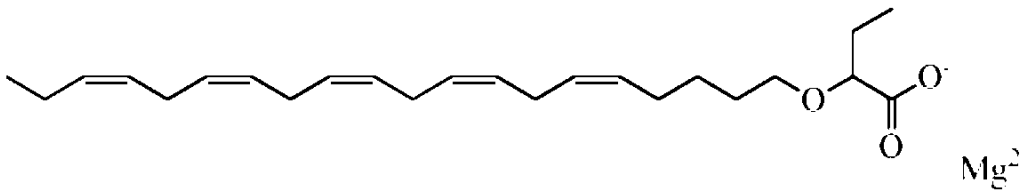
$R_1 = C_{20}H_{31}$, $R_2 = \text{etil}$, $R_3 = H$, $X = COO^-$ ve Z^+ ifadesi tert-bütül amonyumdur.

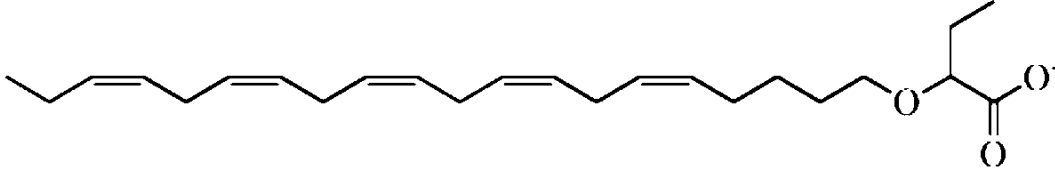


1,3-dihidroksi-2-(hidroksimetil) propan-2-aminyum 2-((5Z,8Z,11Z,14Z,17Z)- ikoza-5,8,11,14,17-pentaen-1-iloksi) butanoat (49).

15

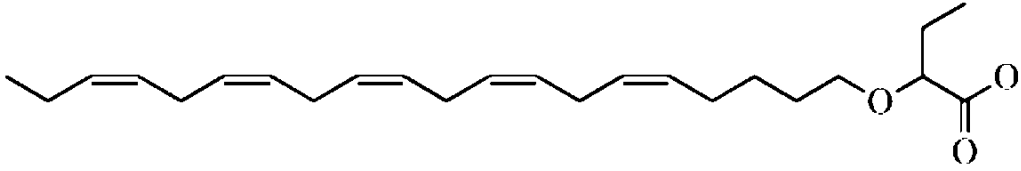
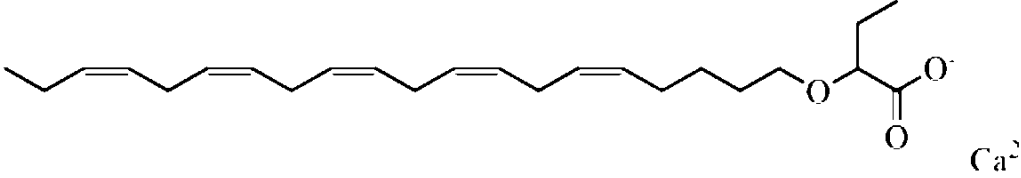
$R_1 = C_{20}H_{31}$, $R_2 = \text{etil}$, $R_3 = H$, $X = COO^-$ ve Z^+ ifadesi 1,3-dihidroksi-2-(hidroksimetil) propan-2- amonyumdur.





magnezyum 2-((5Z,8Z,11Z,14Z,17Z)- ikoza-5,8,11,14,17-pentaen-1-iloksi)butanoat (50).

$R_1 = C_{20}H_{31}$, $R_2 = \text{etil}$, $R_3 = H$, $X = COO^-$ ve Z^{2+} ifadesi Mg^{2+} olmaktadır.



5

kalsiyum 2-((5Z,8Z,11Z,14Z,17Z)- ikoza-5,8,11,14,17-pentaen-1-iloksi) butanoat (51).

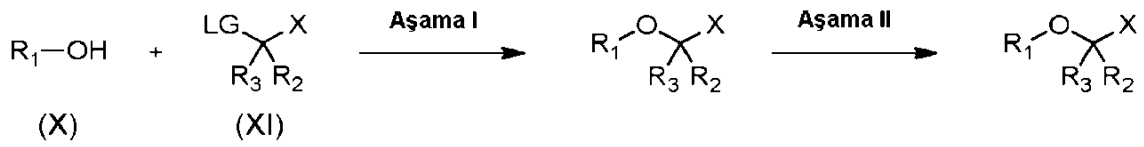
$R_1 = C_{20}H_{31}$, $R_2 = \text{etil}$, $R_3 = H$, $X = COO^-$ ve Z^{2+} ifadesi Ca^{2+} olmaktadır.

Mevcut tarifnameye göre bileşiklerin spesifik uygulamaları aşağıdakileri içerir:

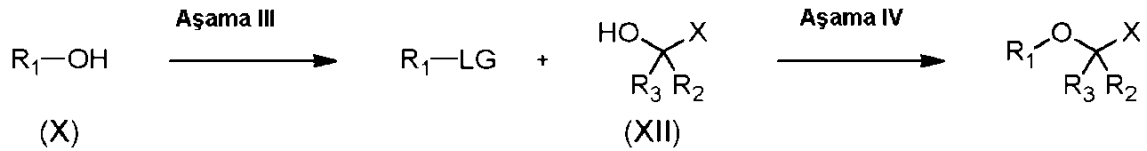
Bunun içinde tarif edilen bileşikler için genel sentetik metotlar.

10 Genel formül (I)'e ait bileşikler, aşağıdaki genel prosedürler ile hazırlanabilir:

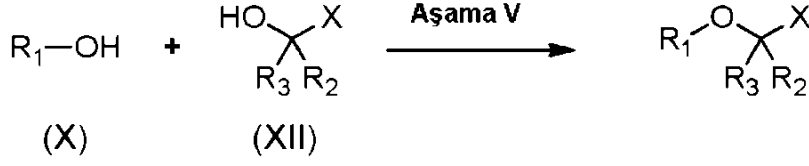
Metot I:



Metot II



15 Metot III



Metot I, II ve III'te açıklanan formül (X)'e ait alkoller, doğrudan, örneğin -10 ° C ila 0 ° C arasında lityum alüminyum hidrit (LAH) ya da diisobütil alüminyum hidrit (DIBAL-H) benzeri bir indirgeyici ajan ile indirgenmesiyle alfa-linolenik asit, konjüge linoleik asit ya da eikosapentaenoik asit (EPA) gibi, örneğin doğal olarak oluşan yağ asitlerinin karboksilik esterlerinden hazırlanabilir. Alkoller, Holmeide ve diğ. tarafından tarif edildiği gibi EPA ve DHA gibi çoklu doymamış yağ asitlerinin parçalanmasıyla da hazırlanabilir (J.Chem. Soc., Perkin Trans. 1 (2000) 2271.) Bu durumda, biri saflaştırılmış EPA ya da DHA ile başlanabilir, ancak aynı zamanda EPA ve DHA içeren balık yağı ile de başlamak mümkündür.

Formül (XI) ve (XII) bileşikler ticari olarak temin edilebilir, veya literatürde bilinirler veya teknikte bilinen standart işlemler ile hazırlanırlar. Formül (XI)'e ait bileşiklerinde mevcut bulunan ayrılma grubu (LG), örneğin mesilat, tosilat ya da bromin gibi uygun bir halojen olabilir. Diğer ayrılan gruplar teknikte uzman kişi tarafından anlaşılacaktır.

Metot I kullanılarak, formül (X)'e ait alkoller, bir alkali metal hidroksit gibi bir baz mevcudiyetinde formül (XI)'e ait bir bileşik ile bir ornatma reaksiyonunda tepkimeye girebilir, örneğin, bir uygun çözücü sistem içinde NaOH. Uygun çözücü sistemleri, iki fazlı bir tolüen ve su karışımını içerir. Formül (XI) 'e ait bileşikte mevcut bulunan R2 ve/ veya R3 ifadelerinin hidrojen olduğu durumlarda, bir alkilasyon aşaması, bu hidrojenin birini ya da her ikisini bir alkil grubuyla yer değiştirmek için sekansa (Aşama II) ilave edilebilir. Bu tür alkilasyon, Aşama I'deki ürünün, örneğin brom veya iyot gibi bir halojen olan uygun bir ayrılma grubunu taşıyan bir alkil grubu ile ya da bu teknikte sıradan uzman olan bir kimseye aşikar olacak, uygun bir çözücü sistemde LDA gibi bir baz mevcudiyetinde diğer ayrılan gruplarını taşıyan bir alkil grubu ile işlenmesiyle gerçekleştirilebilir.

Metot II kullanılarak, formül (X)'e ait alkoller, teknikte uzman kişilerce bilinen metotlar vasıtasıyla, terminal hidroksi grubunun uygun bir ayrılma grubu (LG) içerisine dönüştürüldüğü yerdeki bileşiklere fonksiyonel grup ara çevirimi kullanılarak dönüştürülebilir. Uygun ayrılma grupları, brom, mezilat ve tosilat ya da tenikte sıradan uzmanlığa sahip biri tarafından aşikar olabilecek diğerlerini içerir. Bu bileşikler, uygun bir çözücü sistemde baz mevcudiyetinde uygun bir şekilde ornatılmış hidroksi asetik asit türevleri (formül XII'ye ait bileşikler) ile bir ornatma reaksiyonunda ayrıca (aşama IV) reaksiyona girebilir.

Metot III kullanarak formül (X)'e ait alkol, teknikte uzman kişilerce bilinen metotlar kullanılarak klasik ya da klasik olmayan Mitsunobu koşulları altında uygun şekilde bir şekilde ornatılmış hidroksi asetik asit türevleri (formül XII'ye ait bileşikler) ile reaksiyona girebilir.

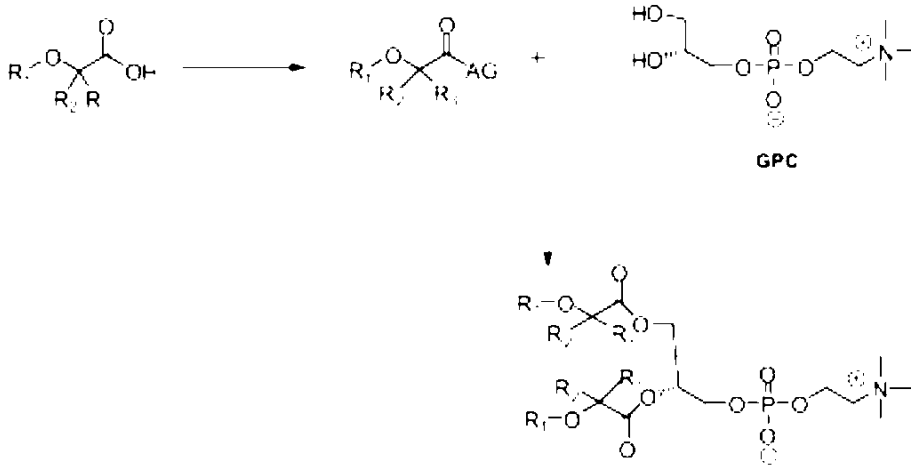
- 5 Kullanılan asit türevleri karboksilik esterler olduğunda, serbest yağ asitlerini elde etmek için hidroliz gerçekleştirilebilir. Bir metil ya da bir etil grubu gibi bir esterleştirici grup, örneğin bir alkali metal hidroksit, örneğin LiOH, NaOH ya da KOH gibi bir baz kullanılarak alkalın hidroliz ile ya da örneğin uygun bir çözücü sistemde LiCl gibi bir inorganik tuz ile birlikte örneğin Et₃N gibi bir organik baz kullanılmasıyla ayrılabilir. Bir tert-bütill grubu, bir uygun çözücü sistemde trifloroasetik asit ya da formik asit gibi örneğin bir organik asit gibi bir asit ile işleme tabii
- 10 tutulmasıyla ayrılabilir. Uygun çözücü sistemleri diklorometan içerir. Bir benzil grubu gibi bir arilnetilen grubu, örneğin, bir uygun çözücü sistemde karbon üzerinde paladiyum gibi bir katalizör üzerinde hidrojenasyonu ile ayrılabilir.

Formül (I)'e ait bir karboksilik asidin tuzlanması uygun bir çözücü sistemde uygun bir bazla işlenerek gerçekleştirilebilir. Çözücünün ayrılması ortaya çıkan tuzu verecektir.

- 15 Formül (I)'e ait bileşiklerinin hazırlanması, metot I, II ya da III'e göre, stereoizomerlerin karışımlarına neden olabilir. Gerekirse, bu izomerler, teknikte uzman kişilerce bilinen metotlar yoluyla kiral çözme ajanları ve/veya kiral kolon kromatografisi yoluyla ayrılabilir.

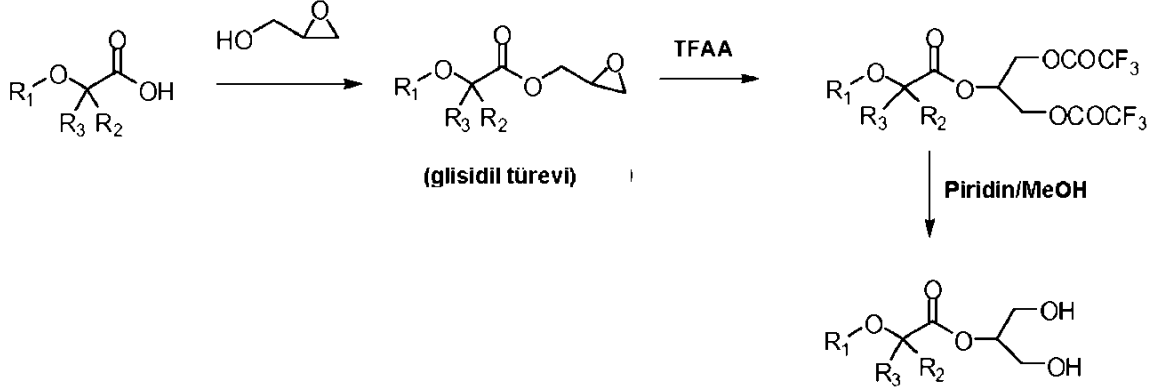
Metot IV.

- İçerisinde X ifadesinin bir fosfolipit formunda bir karboksilik asit türevi olduğu formül (I)'e ait
- 20 bileşikler, aşağıdaki işlemler doğrultusunda hazırlanabilir



- Sn-gliser-3-fosfokolin (GPC) 'nin yağ asidi imidazolidleri gibi aktif bir yağ asidi ile asilasyonu, fosfatidilkolin sentezinde standart bir prosedürdür. Genellikle çözücü olarak DMSO ile DMSO anyonu mevcudiyetinde gerçekleştirilir (Hermetter; Chemistry and Physics
- 25 of lipids, (1981) 28, 111.) Sn-Glycero-3-fosfokolin, bir kadmiyum (II) eklentisi olarak, ilgili yağ asidinin fosfatidilkolinini hazırlamak için DBU (1,8-diazabi-siklo [5.4.0] undek-7-en)

glisidol ile esterleştirilmesini kullanır. Transesterifikasyondan öncesi trifloroasetik anhidrit (TFAA) ile glisidil türevinin işleme tabii tutulmasıyla monogliserit elde edilir (Parkkari ve diğ., Bioorg. Med.Chem.Lett. (2006) 2437.)



5

Yağ asidi türevlerinin mono-, di- ve trigliseritlerinin hazırlanmasına yönelik ayrıca metotlar, WO 03/014073 sayılı belgede açıklanmaktadır.

Aynı zamanda, bir yağ asidinin bir mono, di, tri-gliseride dönüşümü için enzimatik işlemler (lipaz reaksiyonları) kullanmak da mümkündür. Mantar *Mucor miehei*'den 1,3-regiospesifik bir lipaz, çoklu doymamış yağ asitlerinden ve gliserolden trigliseritler ya da digliseritleri üretmek için kullanılabilir. Farklı bir lipaz, *Candida antarctica*'nın regiospesifik olmayan maya lipazı, çoklu doymamış yağ asitlerinden trigliseritlerin üretilmesinde oldukça etkilidir. (Haraldsson, Pharmazie, (2000) 3.)

10

Formül (I)'e ait spesifik yağ asidi türevlerinin hazırlanması, karakterizasyonu ve biyolojik testleri

15

Örnekler

Tarifname şimdi, uzman kimyagerin bildiği standart tekniklerin ve bu örneklerde tarif edilenlere benzer tekniklerin uygun olduğu durumlarda kullanılabildiği aşağıdaki örneklerle daha detaylı olarak açıklanacaktır.

20 Aksi belirtilmedikçe:

- buharlaştırma rotatif buharlaştırma ile vakumda gerçekleştirilir;
- tüm reaksiyonlar oda sıcaklığında, tipik olarak susuz koşullar altında HPLC dereceli çözücüler ile 18-25 °C aralığında gerçekleştirilir;
- kolon kromatografisi, 40-63 µm (Merck) silika jel üzerinde flaş prosedürü ya da "MiniVarioFlash", "SuperVarioFlash", "SuperVarioPrep" veya "Easy-VarioPrep"

25

(Merck) ile önceden ambalajlanmış silika jel kolonları kullanılarak bir Armen Spotflash ile gerçekleştirilir;

- verimler sadece açıklama amacıyla verilmiştir ve elde edilebilecek maksimum değer değildir;

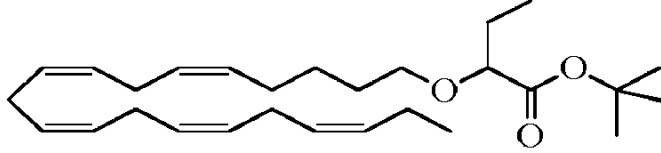
- 5
- nükleer manyetik rezonans (NMR) kayma değerleri bir Bruker Avance DPX 200 veya 300 cihazına kaydedilir ve pik katları aşağıdaki gibi gösterilmiştir:

s, tekli; d, çift; dd, çift çift; t, üçlü; q, dördü; p, pentet; m, multipllet; br, geniş;

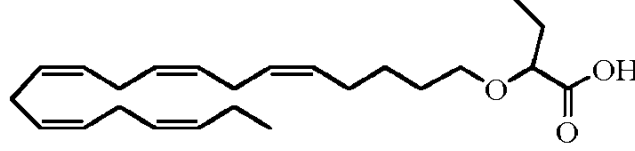
- 10
- kütle spektrumları bir LC/MS spektrometresi ile kaydedildi. Ayırma, gradyan elüsyonu ile bir Eclipse XDB-C18 2.1 x 150 mm kolonu üzerinde bir Agilent 1100 serisi modül kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Elüent olarak, % 0.01 trifloroasetik asit ya da % 0.005 sodyum format içeren tamponlarda % 5-95 bir asetonitril gradyanı kullanılmıştır. Kütle spektrumları, pozitif ve negatif iyonizasyon modunu değiştiren bir G 1956 A kütle spektrometresi (elektro püskürtme, 3000 V) ile kaydedildi.

Örnek 1:

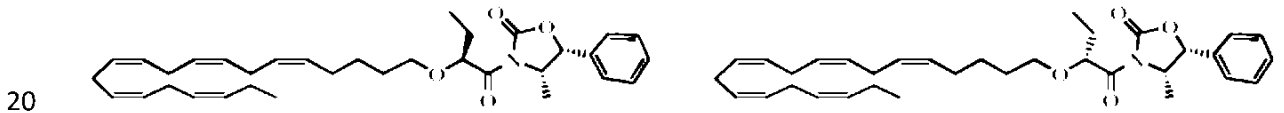
- 15 **tert-bütil 2-((5Z,8Z,11Z,14Z,17Z)- ikoza-5,8,11,14,17-pentaen-1-iloksi)butanoat**
preparasyonu:



- 20 Tetrabütilamonyum klorür (0.55 g, 1.98 mmol), nitrojen altında ambiyant sıcaklıkta toluen (35 mL) içinde (5Z,8Z,11Z,14Z,17Z)- ikoza- 5,8,11,14,17-pentaen-1-ol, (3.50 g, 12.1 mmol) bir çözeltisine ilave edilir. Sodyum hidroksitin (% 50 (ağ./ağ.), 11.7 mL) bir sulu çözeltisi, oda sıcaklığında şiddetli karıştırılma altında akabinde t-bütil 2-bromobütirat (5.41 g, 24.3 mmol) ilave edilir. Elde edilen karışım 50°C'ye ısıtılır ve ilave t-bütil 2-bromobütirat 1.5 saat (2.70 g, 12.1 mmol), 3.5 saat (2.70 g, 12.1 mmol) ve 4.5 saat (2.70 g, 12.1 mmol) sonrası ilave edilir ve toplamda 12 saat karıştırılır. Oda sıcaklığına soğutulmasının ardından, buzlu su (25 mL) ilave edilir ve elde edilen iki fazlar ayrılır. Organik faz, NaOH (% 5) ve tuzlu suyun bir karışımı ile yıkanır, kurutulur (MgSO₄), filtre edilir ve konsantre edilir. Artık, elüent olarak heptan ve etil asetatın (100:0 → 95:5) oldukça yüksek polar karışımları kullanılarak silika jel üzerinde flaş kromatografisi ile saflaştırılır. Uygun fraksiyonların konsantrasyonu, bir yağ olarak 1.87 g (% 36 verim) başlıklı bileşiği vermektedir. ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃): δ 0.85-1.10 (m, 6H), 1.35-1.54 (m, 11H), 1.53-1.87 (m, 4H), 1.96-2.26 (m, 4H), 2.70-3.02 (m, 8H), 3.31 (dt, 1H), 3.51-3.67 (m, 2H), 5.10-5.58 (m, 10H).
- 25
- 30

Örnek 2:**2-((5Z,8Z,11Z,14Z,17Z)- ikoza-5,8,11,14,17-pentaeniloksi) bütanoik asit preparasyonu:**

- 5 tert-bütül 2-((5Z,8Z,11Z,14Z,17Z)- ikoza-5,8,11,14,17-pentaen-1-iloksi) butanoat (19.6 g, 45.5 mmol), diklorometan (200 mL) içinde çözünür ve nitrojen altında yerleştirilir. Trifloroasetik asit (50 mL) ilave edilir ve reaksiyon karışımı bir saat süreyle oda sıcaklığında karıştırılır. Su ilave edilir ve sulu faz, diklorometan ile iki kere ekstrakte edilir. Kombine edilmiş organik ekstrakt tuzlu su ile yıkanır, kurutulur (Na₂SO₄), filtre edilir ve konsantre edilir. Artık, elüent olarak
- 10 heptan, etil asetat ve formik asit (90:10:1 → 80:20:1) oldukça yüksek polar karışımları kullanılarak silika jel üzerinde flaş kromatografisine yönlendirilir. Uygun fraksiyonların konsantrasyonu, bir yağ olarak 12.1 g (% 71 verim) başlıklı bileşiği vermektedir. ¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃): δ 0.90-1.00 (m, 6H), 1.50 (m, 2H), 1.70 (m, 2H), 1.80 (m, 2H), 2.10 (m, 4H), 2.80-2.90 (m, 8H), 3.50 (m, 1H), 3.60 (m, 1H), 3.75 (t, 1H), 5.30-5.50 (m, 10H); MS
- 15 (elektro püskürtme): 373.2 [M-H].

Örnek 3:**(4S,5R)-3-((S)-2-((5Z,8Z,11Z,14Z,17Z)- ikoza-5,8,11, 14,17-pentaeniloksi) bütanoil)-4-metil-5- fenilokzazolidin-2-on ve (4S,5R)-3-((R)-2-((5Z,8Z,11Z,14Z,17Z)- ikoza-5,8,11,14,17- pentaeniloksi) bütanoil)-4- metil-5-fenilokzazolidin -2-on preparasyonu:**

- 20 DMAP (1.10 g, 8.90 mmol) ve DCC (1.90 g, 9.30 mmol), nitrojen altında 0°C'de tutulan kuru diklorometan (100 mL) içinde bir 2-((5Z,8Z, 11Z, 14Z, 17Z)- ikoza-5,8,11,14,17-pentaeniloksi) bütanoik asit (3.20 g, 8.50 mmol) karışımına ilave edilir. Elde edilen karışım, 20 dakika süreyle 0°C'de karıştırılır. (4S,5R)-4-metil-5-fenilokzazolidin-2-on (1.50 g, 8.50
- 25 mmol) ilave edilir ve elde edilen bulanık karışım beş gün süreyle ambiyant sıcaklıkta karıştırılır. Karışım filtre edilir ve iki diastereomerlerin bir karışımı olarak istenilen ürün içerikli bir ham ürünü vermek üzere azalan basınç altında konsantre edilir. Artık, elüent olarak heptan içinde % 15 etil asetat kullanılarak silika jel üzerinde flaş kromatografisi ile saflaştırılır. İki diastereomerler ayrılır ve uygun fraksiyonlar konsantre edilir. (4S,5R)- 3-((S)-2-
- 30 ((5Z,8Z,11Z,14Z,17Z)- ikoza-5,8,11,14,17- pentaeniloksi) bütanoil)-4-metil-5-fenil

okkazolidin-2-on ilk sulandırılır ve bir yağ olarak 1.1 g (% 40 verim) içinde elde edilir. (4S,5R)-3-((R)-2-((5Z,8Z,11Z,14Z,17Z)- ikoza-5,8,11,14,17-pentaeniloksi) bütanoil)-4-metil-5- fenilokkazolidin-2-on, bir yağ olarak 0.95 g (% 34 verim) içinde elde edilir. (4S,5R)-3-((S)-2-((5Z,8Z,11Z,14Z,17Z)- ikoza-5,8,11,14,17-pentaeniloksi)bütanoil)-4-metil-5-

5 fenilokkazolidin-2- on (E1):

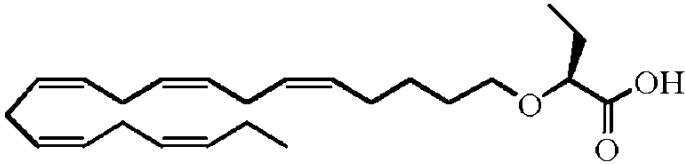
¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃): δ 0.90 (d, 3H), 1.00 (t, 3H), 1.07 (t, 3H), 1.45-1.57 (m, 2H), 1.62-1.76 (m, 3H), 1.85-1.95 (m, 1H), 2.05-2.15 (m, 4H), 2.87 (m, 8H), 3.39 (m, 1H), 3.57 (m, 1H), 4.85-4.92 (m, 2H), 5.30-5.45 (m, 10H), 5.75 (d, 1H), 7.32 (m, 2H), 7.43 (m, 3H).

10 (4S,5R)-3-((R)-2-((5Z,8Z,11Z,14Z,17Z)- ikoza-5,8,11,14,17-pentaeniloksi)bütanoil)-4-metil-5- fenilokkazolidin-2- on (E2):

¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃): δ 0.98 (d, 3H), 0.99 (t, 3H), 1.08 (t, 3H), 1.40-1.52 (m, 2H), 1.55-1.75 (m, 3H), 1.80-1.90 (m, 1H), 2.05-2.15 (m, 4H), 2.84 (m, 8H), 3.39 (m, 1H), 3.56 (m, 1H), 4.79 (pent, 1H), 4.97 (dd, 1H), 5.30-5.45 (m, 10H), 5.71 (d, 1H), 7.33 (m, 2H), 7.43 (m, 3H).

Örnek 4:

15 **(S)-2-((5Z,8Z,11Z,14Z,17Z)- ikoza-5,8,11,14,17-pentaeniloksi) bütanoik asit preparasyonu:**

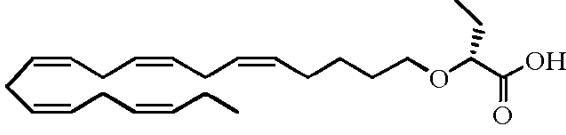


20 Hidrojen peroksit (su içinde % 35, 0.75 mL, 8.54 mmol) ve lityum hidroksit monohidrat (0.18 g, 4.27 mmol), nitrojen altında 0°C'de tutulan tetrahidrofuran (12 mL) ve su (4 mL) içinde (4S,5R)-3-((S)-2-((5Z,8Z, 11Z, 14Z, 17Z)- ikoza-5,8,11,14,17-pentaeniloksi)bütanoil)-4-metil-5-fenilokkazolidin-2-on (1.10 g, 2.13 mmol) bir çözeltisine ilave edilir. Reaksiyon karışımı, 30 dakika süreyle 0°C'de karıştırılır. % 10 Na₂SO₃(sulu) (30 mL) ilave edilir, pH, 2M HCl ile ~2'ye ayarlanır ve karışım heptan (30 mL) ile iki kere ekstrakte edilir. Kombine edilmiş organik ekstrakt kurutulur (Na₂SO₄), filtre edilir ve konsantre edilir. Artık, elüent olarak heptan ve etil asetat (98:8 → 1:1) oldukça yüksek polar karışımları kullanılarak silika jel üzerinde flaş kromatografisine yönlendirilir. Uygun fraksiyonların konsantrasyonu, bir yağ olarak 0.48 g (% 60 verim) başlıklı bileşiği vermektedir. ¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃): δ 0.90-1.00 (m, 6H), 1.48 (m, 2H), 1.65 (m, 2H), 1.85 (m, 2H), 2.10 (m, 4H), 2.80-2.90 (m, 8H), 3.55 (m, 1H), 3.60 (m, 1H), 3.88 (t, 1H), 5.35-5.45 (m, 10H); MS (elektro püskürtme): 373.3 [M-H]⁻; [α]_D +37° (c=0.104, etanol)

30

Örnek 5:

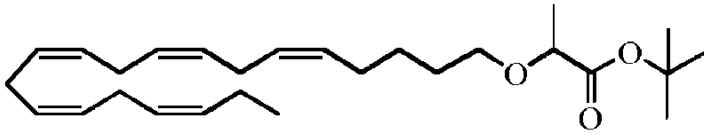
(R)-2-((5Z,8Z,11Z,14Z,17Z)- ikoza-5,8,11,14,17-pentaeniloksi)bütanoik asit
preparasyonu:



- 5 Hidrojen peroksit (su içinde % 35, 0.65 mL, 7.37 mmol) ve lityum hidroksit monohidrat (0.15 g, 3.69 mmol), nitrojen altında 0°C'de tutulan tetrahidrofuran (12 mL) ve su (4 mL) içinde (4S,5R)-3-((R)-2-((5Z,8Z, 11Z, 14Z, 17Z)- ikoza-5,8,11,14,17-pentaeniloksi)bütanoil)-4-metil-5-fenilokzazolidin-2-on (0.95 g, 1.84 mmol) bir çözeltisine ilave edilir. Reaksiyon karışımı, 30 dakika süreyle 0°C'de karıştırılır. % 10 Na₂SO₃ (sulu) (30 mL) ilave edilir, pH, 2M HCl ile ~2
- 10 ayarlanır ve karışım heptan (30 mL) ile iki kere ekstrakte edilir. Kombine edilmiş organik ekstrakt kurutulur (Na₂SO₄), filtre edilir ve konsantre edilir. Artık, elüent olarak heptan ve etil asetat (98:8 → 50:50) oldukça yüksek polar karışımları kullanılarak silika jel üzerinde flaş kromatografisine yönlendirilir. Uygun fraksiyonların konsantrasyonu, bir yağ olarak 0.19 g (% 29 verim) başlıklı bileşiği vermektedir. ¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃): δ 0.90-1.00 (m, 6H), 1.48 (m, 2H), 1.65 (m, 2H), 1.85 (m, 2H), 2.10 (m, 4H), 2.80-2.90 (m, 8H), 3.55 (m, 1H), 3.60 (m, 1H), 3.88 (t, 1H), 5.35-5.45 (m, 10H); MS (elektro püskürtme): 373.3 [M-H]⁻; [α]_D²⁵ -31° (c=0.088, etanol)
- 15

Örnek 6:

tert-bütül 2-((5Z,8Z,11Z,14Z,17Z)- ikoza-5,8,11,14,17-pentaeniloksi) propanoat
preparasyonu:

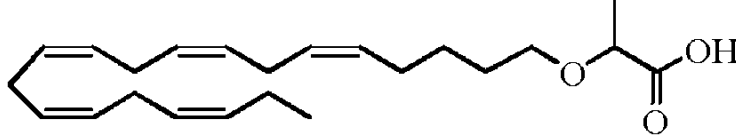


- (5Z,8Z,11Z,14Z,17Z)- ikoza-5,8,11,14,17- pentaen-1-ol, (1.00 g, 3.47 mmol), tetrabütül amonyum klorür (0.24 g, 0.87 mmol) ve t-bütül α-bromo propiyonat (3.62 g, 17.3 mmol) bir
- 25 karışımı toluen (36 mL) içinde çözünür ve nitrojen altında yerleştirilir. Sodyum hidroksitin (% 50, 8 mL) bir çözeltisi yavaşça şiddetli karıştırılma altında ilave edilir ve elde edilen karışım yirmi saat süreyle ambiyant sıcaklıkta karıştırılır. Su ilave edilir ve karışım eter ile üç kere ekstrakte edilir. Kombine edilmiş organik ekstrakt tuzlu su yıkanır, kurutulur (Na₂SO₄), filtre edilir ve konsantre edilir. Artık, elüent olarak heptan içinde % 2 etil asetat kullanılarak silika
- 30 jel üzerinde flaş kromatografisi ile saflaştırılır. Uygun fraksiyonların konsantrasyonu, bir yağ

olarak 1.40 g (% 90 verim) başlıklı bileşiği verir. $^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, CDCl_3): δ 0.95 (t, 3H), 1.41 (d, 3H), 1.48 (s, 9H), 1.48-1.66 (m, 4H), 2.05 (m, 4H), 2.83 (m, 8H), 3.35 (m, 1H), 3.55 (m, 1H), 3.79 (q, 1H), 5.32-5.44 (m, 10H).

Örnek 7:

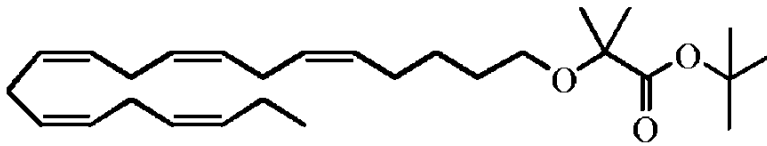
5 2-((5Z,8Z,11Z,14Z,17Z)- ikoza-5,8,11,14,17-pentaeniloksi) propanoik asit preparasyonu:



Trifloroasetik asit (2 mL), nitrojen altında diklorometan (10 mL) içinde 2-((5Z,8Z,11Z,14Z,17Z)- ikoza-5,8,11,14,17-pentaeniloksi) propanoat (1.40 g, 3.36 mmol) bir çözeltisine ilave edilir ve reaksiyon karışımı, üç saat süreyle oda sıcaklığında karıştırılır. Dietil eter (50 mL) ilave edilir ve organik faz (30 mL) ile yıkanır, kurutulur (Na_2SO_4) ve konsantre edilir. Artık, elüent olarak heptan, etil asetat ve formik asit (95:5:0.25 $\rightarrow$ 80:20:1) oldukça yüksek polar karışımları kullanılarak silika jel üzerinde flaş kromatografisine yönlendirilir. Uygun fraksiyonların konsantrasyonu 0.67 g biraz saf olmayan ürünü verir. Bu materyal heptan (15 mL) içinde çözünür, su (5 mL) ile üç kere yıkanır, kurutulur (Na_2SO_4), filtre edilir ve bir yağ olarak 0.50 g (% 41 verim) başlıklı bileşiği vermek üzere konsantre edilir. $^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, CDCl_3): δ 0.99 (t, 3H), 1.40-1.48 (m, 5H), 1.67 (m, 2H), 2.09 (m, 4H), 2.80-2.60 (m, 8H), 3.53 (m, 2H), 4.01 (q, 1H), 5.31-5.47 (m, 10H); MS (elektro püskürtme): 359.2 $[\text{M-H}]^-$.

Örnek 8:

20 tert-bütül 2-((5Z,8Z,11Z,14Z,17Z)- ikoza-5,8,11,14,17- pentaeniloksi)-2-metilpropanoat preparasyonu:

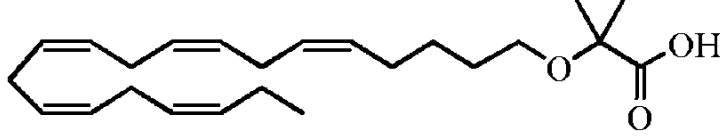


(5Z,8Z,11Z,14Z,17Z)- ikoza-5,8,11,14,17-pentaen-1-ol, (0.83 g, 3.14 mmol), tetrabütül amonyum klorür (0.24 g, 0.85 mmol) ve t-bütül α -bromo isobütirat (3.50 g, 15.7 mmol), toluen (15 mL) içinde çözünür ve nitrojen altında yerleştirilir. Sodyum hidroksit (% 50, 5 mL) bir sulu çözeltisi oda sıcaklığında yavaşça şiddetli karıştırılma altında ilave edilir. Elde edilen karışım 60°C 'ye ısıtılır ve altı saat süreyle karıştırılır. Karışım soğutulur, su ilave edilir ve eter ile üç kere ekstrakte edilir. Kombine edilmiş organik ekstrakt, tuzlu su yıkanır, kurutulur (Na_2SO_4),

filtre edilir ve konsantre edilir. Artık, elüent olarak heptan içinde % 5-10 etil asetatın bir gradyanı kullanılarak silika jel üzerinde flaş kromatografisi ile saflaştırılır. Uygun fraksiyonların konsantrasyonu, bir yağ olarak 0.60 g (% 44 verim) başlıklı bileşiği verir. MS (elektro püskürtme): 453.3 [M+Na]⁺.

5 **Örnek 9:**

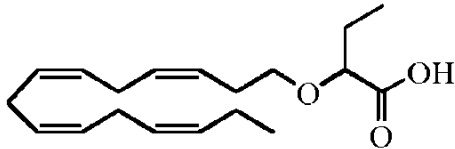
2-((5Z,8Z,11Z,14Z,17Z)- ikoza-5,8,11,14,17-pentaeniloksi)-2- metilpropanoik asit preparasyonu:



- 10 Trifloroasetik asit (5 mL), nitrojen altında diklorometan (20 mL) içinde tert-bütül 2-((5Z,8Z,11Z,14Z,17Z)- ikoza-5,8,11,14,17- pentaeniloksi)-2-metil propanoat (600 mg, 1.39 mmol) bir çözeltisine ilave edilir ve reaksiyon karışımı oda sıcaklığında iki saat süreyle karıştırılır. Su ilave edilir ve sulu faz, diklorometan ile iki kere ekstrakte edilir. Kombine edilmiş organik ekstrakt tuzlu su ile yıkanır, kurutulur (Na₂SO₄), filtre edilir ve konsantre edilir.
- 15 Artık, elüent olarak heptan, etil asetat ve formik asit (80:20:1) bir karışım kullanılarak silika jel üzerinde flaş kromatografisi ile saflaştırılır. Uygun fraksiyonlar konsantre edilir ve artık (135 mg), elüent olarak heptan içinde etil asetat ve formik asitin (95:5) % 5-10 bir karışımın gradyanı kullanılarak silika jel üzerinde flaş kromatografisi ile ayrıca saflaştırılır. Uygun fraksiyonların konsantrasyonu, 80 mg biraz saf olmayan ürünü verir. Bu materyal heptan (5
- 20 mL) içinde çözünür, su (5 mL) ile iki kere yıkanır, kurutulur (Na₂SO₄), filtre edilir ve bir yağ olarak 40 mg (% 8 verim) başlıklı bileşiği vermek üzere konsantre edilir. ¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃): δ 0.99 (t, 3H), 1.47 (s, 6H), 1.64 (m, 2H), 2.07 (m, 4H), 2.81-2.88 (m, 8H), 3.46 (t, 2H), 5.29-5.44 (m, 10H); MS (elektro püskürtme): 373.3 [M-H]⁻

Örnek 10 (referans Örnek):

- 25 **2-((3Z,6Z,9Z,12Z)- pentadeka-3,6,9,12- tetraeniloksi) bütanoik asit preparasyonu:**

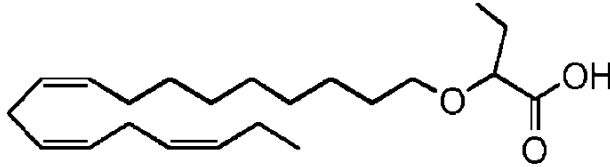


(3Z,6Z,9Z,12Z)- pentadeka-3,6,9,12- tetraen-1-ol (S. Flock, Acta Chemica Scandinavica, (1999) 53, 436-445) (0.22 g, 1.00 mmol), tetrabütül amonyum klorür (0.10 g, 0.33 mmol) ve t-

bütil 2- bromobütirat (1.11 g, 5.00 mmol) bir karışımı, toluen (10 ml) içinde çözünür ve nitrojen altında yerleştirilir. Sodyum hidroksit (% 50, 4 ml) sulu bir çözeltisi yavaşça şiddetli karıştırılma altında oda sıcaklığında ilave edilir. Elde edilen karışım 50°C'ye ısıtılır ve iki saat süreyle karıştırılır ve daha sonra ambiyant sıcaklıkta gece boyunca karıştırılır. Oda sıcaklığına soğutulduktan sonra, su ilave edilir ve sulu faz eter ile üç kere ekstrakte edilir. 5 Kombine edilmiş organik ekstrakt, su ve tuzlu su ile yıkanır, kurutulur (Na₂SO₄), filtre edilir ve konsantre edilir. Artık, elüent olarak heptan içinde % 5 etil asetat kullanılarak silika jel üzerinde flaş kromatografisi ile saflaştırılır. Uygun fraksiyonların konsantrasyonu, bir yağ olarak 0.30 g t-bütil ester verir. Artık, diklorometan (10 mL) içinde çözünür ve nitrojen altında yerleştirilir. 10 Trifloroasetik asit (2 mL) ilave edilir ve reaksiyon karışımı oda sıcaklığında bir saat süreyle karıştırılır. Su ilave edilir ve sulu faz, diklorometan ile iki kere ekstrakte edilir. Kombine edilmiş organik ekstrakt, tuzlu su ile yıkanır, kurutulur (Na₂SO₄), filtre edilir ve konsantre edilir. Artık, elüent olarak heptan, etil asetat ve formik asit (80:20:1) bir karışımı kullanılarak silika jel üzerinde flaş kromatografisi ile saflaştırılır. Uygun fraksiyonların konsantrasyonu, bir yağ olarak 0.18 g (% 59 verim) istenilen ürünü verir. ¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃): δ 0.90-1.05 (m, 6H), 1.75-1.90 (m, 2H), 2.05-2.15 (m, 2H), 2.30-2.50 (m, 2H), 2.85 (m, 6H), 3.60 (m, 2H), 3.85 (t, 1H), 5.25-5.60 (m, 8H).

Örnek 11 (referans Örnek):

2-((9Z,12Z,15Z)- oktadeka-9,12,15- trieniloksi) bütanoik asit preparasyonu:



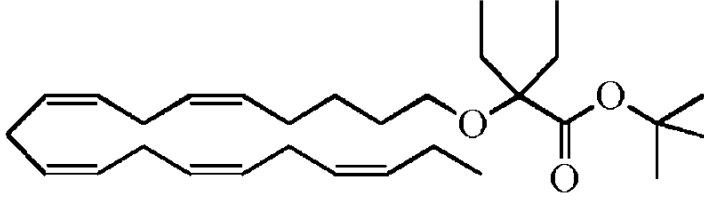
20

(9Z,12Z,15Z)- oktadeka-9,12,15-trien-1-ol (1.26 g, 4.76 mmol), tetra-bütil amonyum klorür (0.36 g, 1.28 mmol) ve t-bütil 2-bromobütirat (2.86 g, 12.82 mol) bir karışımı toluen (15 mL) içinde çözünür ve nitrojen altında yerleştirilir. Sodyum hidroksit (% 50, 6 mL) sulu bir çözeltisi 25 oda sıcaklığında yavaşça şiddetli karıştırılma altında ilave edilir. Elde edilen karışım 60°C'ye ısıtılır ve beş saat süreyle karıştırılır. Oda sıcaklığına soğutulduktan sonra, su ilave edilir ve sulu faz, eter ile üç kere ekstrakte edilir. Kombine edilmiş organik ekstrakt su ve tuzlu su ile yıkanır, kurutulur (Na₂SO₄), filtre edilir ve konsantre edilir. Artık, elüent olarak heptan içinde 2.5-5% etil asetatın bir gradyanı kullanılarak silika jel üzerinde flaş kromatografisi ile saflaştırılır. Uygun fraksiyonların konsantrasyonu, bir yağ olarak 1.36 g t-bütil ester verir. 30 Artık, diklorometan (20 mL) içinde çözünür ve nitrojen altında yerleştirilir. Trifloroasetik asit (5 mL) ilave edilir ve reaksiyon karışımı oda sıcaklığında bir saat boyunca karıştırılır. Su ilave

edilir ve sulu faz, diklorometan ile iki kere ekstrakte edilir. Kombine edilmiş organik ekstrakt, tuzlu su ile yıkanır, kurutulur (Na_2SO_4), filtre edilir ve konsantre edilir. Artık, elüent olarak heptan, etil asetat ve formik asit (80:20:1) bir karışımı kullanılarak silika jel üzerinde flaş kromatografisi ile saflaştırılır. Uygun fraksiyonların konsantrasyonu, bir yağ olarak 0.38 g (% 23 verim) istenilen ürünü verir. $^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, CDCl_3): δ 0.95-1.00 (m, 6H), 1.30-1.45 (m, 10H), 1.65 (m, 2H), 1.80 (m, 2H), 2.10 (m, 4H), 2.80 (m, 4H), 3.50 (m, 1H), 3.60 (m, 1H), 3.85 (t, 1H), 5.30-5.50 (m, 6H); MS (elektro püskürtme): 349.2 $[\text{M-H}]^-$.

Ornek 12:

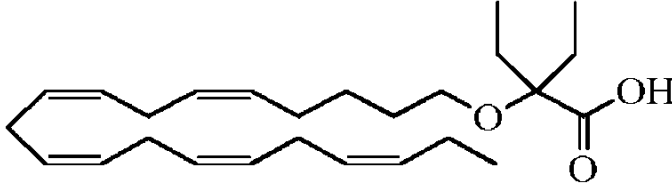
tert-bütil 2-etil-2-((5Z,8Z,11Z,14Z,17Z)- ikoza-5,8,11,14,17- pentaen-1-iloksi) butanoat
preparasyonu:



tert-bütil 2-((5Z,8Z,11Z,14Z,17Z)- ikoza-5,8,11,14,17-pentaen-1-iloksi) butanoat (480 mg, 1.11 mmol), nitrojen altında -70°C 'de tutulan kuru tetrahidrofuran (10 mL) içinde lityum diisopropilamin (LDA) (2.0 M, 750 mL, 1.50 mmol) bir çözeltisine 30 dakika üzerinde damlatılarak ilave edilir. Reaksiyon karışımı, 30 dakika süreyle karıştırılır. Etil iyodür (312 mg, 2.00 mmol) bir porsiyon halinde ilave edilir ve elde edilen karışım 1 saat sırasında ambiyant sıcaklığa ısıtılır. Reaksiyon karışımı, 17 saat süreyle ambiyant sıcaklıkta karıştırılır. Karışım, doymuş NH_4Cl (sulu) (50 mL) içerisine boşaltılır ve heptan (2 x 50 mL) ile çıkartılır. Kombine edilmiş organik fazlar, tuzlu su (50 mL), 0.25 M HCl (50 mL) ve tuzlu su (50 mL) ile başarılı bir şekilde yıkanır, kurutulur (MgSO_4), filtre edilir ve konsantre edilir. Artık, elüent olarak heptan ve etil asetat (100:0 $\rightarrow$ 95:5) artan bir şekilde polar karışımlar kullanılarak silika jel üzerinde flaş kromatografisi ile saflaştırılır. Uygun fraksiyonların konsantrasyonu, bir yağ olarak 343 mg (% 67 verim) başlıklı bileşiği verir. $^1\text{H NMR}$ (300 MHz, CDCl_3): δ 0.84 (t, 6H), 0.99 (td, 3H), 1.35-1.55 (m, 11H), 1.54-1.69 (m, 2H), 1.68-1.87 (m, 4H), 1.99-2.24 (m, 4H), 2.74-2.99 (m, 8H), 3.31 (t, 2H), 5.23-5.52 (m, 10H); MS (elektro püskürtme): 401.3 $[\text{M-1}]^-$

Ornek 13:

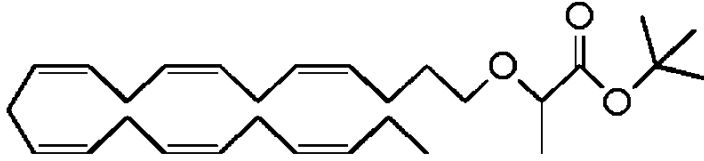
2-etil-2-((5Z,8Z,11Z,14Z,17Z)- ikoza-5,8,11,14,17- pentaen-1-iloksi) bütanoik asit
preparasyonu:



Formik asit (5 ml) ve tert-bütül 2-etil-2-((5Z,8Z,11Z,14Z,17Z)- ikoza-5,8,11,14,17-pentaen-1-iloksi)butanoat (250 mg, 0.55 mmol) bir karışımı, şiddetli bir şekilde nitrojen altında oda sıcaklığında 4.5 saat süreyle karıştırılır. Formik asit vakum halinde çıkartılır. Artık, elüent olarak heptan ve etil asetat (100:0 → 80:20) artan bir şekilde polar karışımlar kullanılarak silika jel üzerinde flaş kromatografisi ile saflaştırılır. Uygun fraksiyonların konsantrasyonu, bir yağ olarak 163 mg (% 74 verim) başlıklı bileşiği verir. ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃): δ 0.86 (t, 6H), 0.99 (t, 3H), 1.36 - 1.57 (m, 2H), 1.68 (dd, 2H), 1.73 - 1.98 (m, 4H), 2.11 (tt, 4H), 2.70 - 3.01 (m, 8H), 3.39 (t, 2H), 5.20 - 5.56 (m, 10H). MS (elektro püskürtme): 481.4 [M+Na]⁺.

Örnek 14 (referans Örnek):

tert-bütül 2-((4Z,7Z,10Z,13Z,16Z,19Z)- dokoza- 4,7,10,13,16,19- hekzaen-1-iloksi) propanoat preparasyonu:

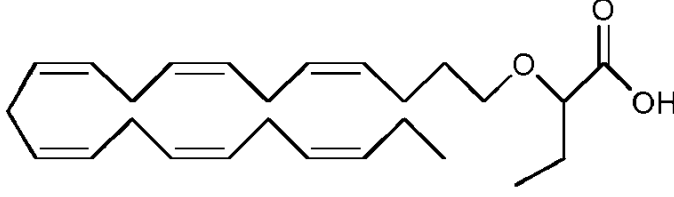


15

Sodyum hidroksit (% 50 (ağ./ağ.), 6 ml) bir sulu çözelti, toluen (12 ml) içinde (5Z,8Z,11Z,14Z,17Z)- ikoza-5,8,11,14,17-pentaen-1-ol (2.01 g, 6.39 mmol), tert-bütül-2-bromobütirat (2.85 g, 12.8 mmol) ve tetrabütül amonyum bisülfat (0.65 g, 1.91 mmol) bir karışımına porsiyonlar halinde ilave edilir. Reaksiyon karışımı, N₂-atmosfer altında şiddetli bir şekilde karıştırılır ve 50°C'ye ısıtılır. Reaksiyon karışımı, 22 saat bir toplam süreyle 50°C'de karıştırılır. İlave tert-bütül-2- bromobütirat (1.43 g, 6.39 mmol) ve (1.44 g, 6.44 mmol), sırasıyla 1 1/2 saat ve 3 saat sonra ilave edilir. Karışım soğutulur ve buzlu-su (-50 ml) ve heptan (50 ml) ilave edilir, fazlar ayrılır ve organik faz azalan basınç altında konsantre edilir. Heptan- heptan/EtOAc (99:1) ile sulandırılan silika jel (30 g) üzerinde flaş kromatografisi, bir sıvı olarak 2.12 g başlıklı bileşiği verir. ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ 0.94-1.04 (m, 6H), 1.47 (s, 9H), 1.68-1.85 (m, 4H), 1.93-2.20 (m, 4H), 2.80-2.86 (m, 10H), 3.28-3.36 (m, 1H), 3.55-3.63 (m, 2H), 5.27-5.43 (m, 12H)

Örnek 15 (referans Örnek):

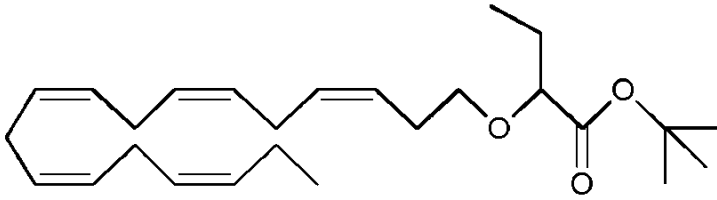
2-((4Z,7Z,10Z,13Z,16Z,19Z)- dokoza-4,7,10,13,16,19- hekzaen-1-iloksi) bütanoik asit preparasyonu:



- 5 HCOOH (9 ml) içinde tert-bütül 2-((4Z,7Z,10Z,13Z,16Z,19Z)- dokoza-4,7,10,13,16,19- hekzaen-1-iloksi) propanoat (2.09 g, 4.58 mmol) bir karışımı, 6 saat süreyle N₂-atmosfer altında 40°C'de karıştırılır. Reaksiyon karışımı, dietil eter (100 mL) ile seyreltilir, su (30 mL) ile yıkanır, kurutulur (MgSO₄), filtre edilir ve azalan basınç altında buharlaştırılır. Toluen - toluen (85:15) ile silika jel üzerinde (50 g) kuru-flaş 1.44 g ham başlıklı bileşiği verir. Heptan - heptan/(EtOAc ağı./% 5 HCCOH) 98:2-95:5-80:20 ile sulandırılan silika jel (30 g) üzerinde flaş kromatografisi, bir sıvı olarak 1.07 g (% 58 verim) başlıklı bileşiği verir. ¹H NMR (200 MHz, CDCl₃) δ 0.97 (t, 3H), 0.99 (t, 3H), 1.64-1.91 (m, 4H), 2.00-2.23 (m, 4H), 2.78-2.87 (m, 10H), 3.42-3.66 (m, 2H), 3.85 (dd, 1H), 5.26-5.46 (m, 12H). MS (elektro püskürtme) (neg): 399 (M-H)-.

15 Örnek 16 (referans Örnek):

tert-bütül 2-((3Z,6Z,9Z,12Z,15Z)- oktadeka-3,6,9,12,15- pentaen-1-iloksi) butanoat preparasyonu:

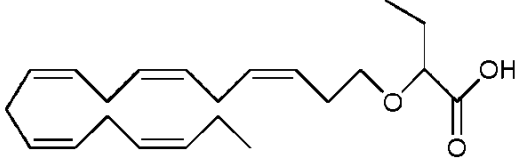


- 20 Sodyum hidroksit (% 50 (ağı./ağı.), 6 mL) bir sulu çözeltisi, toluen (12 ml) içinde (3Z,6Z,9Z,12Z,15Z)- oktadeka-3,6,9,12,15- pentaen-1-ol (1.66 g, 6.37 mmol), tert-bütül-2- bromobütirat (2.86 g, 12.8 mmol) ve tetrabütül amonyum bisülfat (0.65 g, 1.91 mmol) bir karışımına porsiyonlar halinde ilave edilir. Reaksiyon karışımı, N₂-atmosfer altında şiddetli bir şekilde karıştırılır ve 50°C'ye ısıtılır. Reaksiyon karışımı, toplam 25 saat süreyle 50°C'de karıştırılır. İlave tert-bütül-2- bromobütirat (1.43 g, 6.41 mmol) ve (1.42 g, 6.38 mmol) sırayla 1 1/2 saat ve 3 saat süre sonra ilave edilir. Karışım oda sıcaklığına soğutulur ve su (30 mL) ve heptan (50 mL) ilave edilir, elde edilen iki fazlar ayrılır ve organik faz kurutulur (Na₂SO₄), filtre edilir ve azalan basınç altında buharlaştırılır. Heptan- heptan/EtOAc (99:1) ile sulandırılan

silika jel (30 g) üzerinde flaş kromatografisi, bir sıvı olarak 1.55 g başlıklı bileşiği verir. ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 0.96 (t, 3H), 0.97 (t, 3H), 1.48 (s, 9H), 1.64-1.86 (m, 2H), 2.03-2.12 (m, 2H), 2.39 (dd, $J = 12.1, 6.7$ Hz, 2H), 2.79-2.86 (m, 8H), 3.29-3.37 (m, 1H), 3.57-3.66 (m, 2H), 5.27-5.49 (m, 10 H).

5 **Örnek 17 (referans Örnek):**

2-((3Z,6Z,9Z,12Z,15Z)- oktadeka-3,6,9,12,15- pentaen-1-iloksi) bütanoik asit preparasyonu:



HCOOH (9 mL) içinde tert-bütül 2-((3Z,6Z,9Z,12Z,15Z)-oktadeka-3,6,9,12,15-pentaen-1-iloksi)butanoat (2.09 g, 4.58 mmol) bir karışımı, 6 saat süreyle N_2 -atmosfer altında 40°C 'de karıştırılır. Reaksiyon karışımı, dietil eter (100 mL) ile seyreltilir, su (30 mL) ile yıkanır, kurutulur (MgSO_4), filtre edilir ve azalan basınç altında buharlaştırılır. Toluen - toluen/ EtOAc (85:15) ile sulandırılan silika jel (50 g) üzerinde kuru-flaş, 1.44 g ham başlıklı bileşiği verir. Heptan - heptan/(EtOAc ağırlık % 5 HCCOH) 98:2-95:5-80:20 ile sulandırılan silika jel (30 g) üzerinde flaş kromatografisi, bir sıvı olarak 1.07 g (% 58 verim) verir. ^1H NMR (200 MHz, CDCl_3) δ 0.97 (t, 3H), 0.99 (t, 3H), 1.75-1.91 (m, 2H), 2.00-2.15 (m, 2H), 2.35-2.48 (m, 2H), 2.78-2.87 (m, 8H), 3.47-3.62 (m, 2H), 3.86 (dd, 1H), 5.25-5.55 (m, 10H). MS (elektro püskürtme) (neg): 345 (M-H) $^-$.

Biyolojik test

20 **Örnek 18:**

PPAR aktivasyonunun in vitro olarak değerlendirilmesi

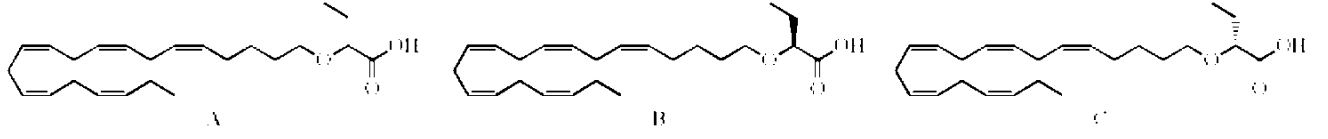
Deneyler, 5 x GAL4 bölgeleriyle yürütülen Photinus pyralis lusiferaz haberci yapılar ile birlikte geçici olarak transfekte edilmiş HEK293 hücrelerinde birlikte yapılan GAL4-DNA bağlama etki alanı-PPAR-LBD füzyon yapılarını içeren memeli-bir-hibrid analizleri (M1H) kullanarak in vitro şeklinde gerçekleştirildi.

Hücreler 4-6 saat transfekte edilmiş ve bileşikler ilave edilmeden önce gece boyunca büyütülmüştür. Bileşik inkübasyonu, 16-20 saattir.

Yapıcı bir destekleyici tarafından yürütülen Renilla reniformis lusiferaz, deney doğruluğunu arttırmak için iç kontrol olarak dahil edilir.

30 Bileşikler (A-C) ve pozitif kontrol altı farklı konsantrasyonlarda tekrarlanarak test edilir. Pozitif kontroller GW7647 (PPAR α), GW501516 (PPAR δ) ve rosiglitazon (PPAR γ) olmaktadır.

Kontrollerin etkinliği % 100 olarak ayarlanmıştır.



Sonuçlar Tablo 1'de temsil edilir.

Tablo 1: PPAR aktivasyonu in vitro olarak.

	PPAR α		PPAR δ		PPAR γ	
Bileşik	EC ₅₀	Verimlilik	EC ₅₀	Verimlilik		Verimlilik
Pos. ctr.	0.45	% 100	0.33	% 100	22 nM	% 100
A	307 nM	% 82	inaktif	inaktif	806	% 22
B	405 nM	% 86	inaktif	inaktif	644 nM	% 27
C	167 nM	% 54	inaktif	inaktif	515 nM	% 25

5

Örnek 19:

Dislipidemik fare modelinde (APOE * 3Leiden transgenik fareler) in vivo olarak lipid metabolizması üzerindeki etkilerin değerlendirilmesi

Bu hayvan modelinin, plazma lipoprotein düzeyleri ve statinler ve fibratlar gibi hipolipidemik ilaçlara karşı duyarlılığı ve beslenme müdahalesi bakımından insani durumu temsil ettiği kanıtlanmıştır. İlave olarak, plazma kolesterol seviyesine bağlı olarak, APOE*3Leiden fareleri, hücresel kompozisyon ve morfolojik ve immüno histokimyasal özellikler bakımından insanlarda bulunanlara benzeyen aortta aterosklerotik lezyonlar geliştirir.

Dişi APOE*3Leiden fareleri, yarı sentetik Batı tipi bir diyetle (WTD, % 15 kakao yağı, % 40 sukroz ve % 0,25 kolesterol; hepsi ağ./ağ.) konmuştur. Bu diyet ile plazma kolesterol seviyesi yaklaşık olarak 12-15 mmol/l hafif yükselmiş seviyelere ulaşmıştır. 4 haftalık bir çalışma periyodundan sonra, fareler, her biri 10 fareden oluşan alt gruplara bölünür, plazma kolesterolü, trigliseritler ve vücut ağırlığı için eşleştirilir (t = 0).

Test maddeleri, Batı tipi diyetle ilave olarak oral yoldan uygulanır. Bileşiklerin karışmasını kolaylaştırmak için ayçiçek yağı, 10 mL/kg diyet toplam yağ hacmine ilave edilir.

t = 0 ve 4. haftalarda, plazma kolesterolünü ve trigliseritleri ölçmek için 4 saat sonra kan örnekleri alınır.

Test maddesi (A), 0.3 mmol/kg bw/gün test edilir. Referans (Omega-3 asit etil esterleri,

Omacor TM, Lovaza TM) 3.3 mmol / kg b ağı./gün olarak test edilir.

Sonuçlar, Şekil 1'de gösterilmiştir.

Örnek 20:

Dislipidemik fare modelinde in vivo olarak lipid metabolizması üzerindeki etkilerin değerlendirilmesi (APOE * 3Leiden.CETP transgenik fareler)

APOE * 3Leiden.CETP transgenik fare, insan kolesterol ester transfer proteininin APOE * 3Leiden transgenik fareye sokulduğu bir modeldir. Bu daha insan benzeri bir lipoprotein profili ile sonuçlanır. Bu model, ilaçların plazma HDL ve trigliserit düzeyleri üzerindeki etkilerini test etmek için çok uygundur.

- 5 Dişi APOE * 3Leiden.CETP fareleri, yarı sentetik modifiye edilmiş Western tipi bir diyet (% 0.15 kolesterol,% 10 ve % 15 doymuş yağ, hepsi ağı./ağı.) konulur. Bu diyetle plazma kolesterol seviyesi, yaklaşık 13-15 mmol/l orta derecede yükselmiş seviyelere ve yaklaşık 3 mmol / l trigliserit seviyelerine ulaşır. 4 haftalık bir çalışma periyodundan sonra fareler, her biri 6 fareden oluşan gruplara bölünür, birincil olarak plazma kolesterolü, trigliseritler ve vücut ağırlığı için eşleştirilir ve ikincil olarak HDL-kolesterol için eşleştirilir (t = 0).

Test maddeleri, Batı tipi diyetle ilave olarak oral yoldan uygulanır.

T = 0 ve 4. haftalarda, plazma kolesterol, HDL-kolesterol ve trigliseritleri ölçmek için 4 saat sonra kan örnekleri alınır.

- 20 Test maddesi (A), 0.18 mmol/kg b ağı. /gün olarak test edilir. Referans (Fenofibrate), 10 mg / kg ağı. /gün test edilir.

Sonuçlar, Şekil 2 ve 3'te gösterilmiştir.

Örnek 21:

Fare modelinde in vivo olarak ateroskleroz gelişimi üzerine etkilerin değerlendirilmesi (APOE * 3Leiden.CETP transjenik fareler)

- 25 Bu hayvan modelinin, plazma lipoprotein düzeyleri ve hipolipidemik ilaçlara (statinler, fibratlar vb. gibi) ve besinsel müdahaleye karşı insani durumu temsil ettiği kanıtlanmıştır. APOE*3Leiden.CETP fareleri, hücresel bileşime, morfolojik ve immüno histokimyasal özelliklere göre insanlarda bulunanlara benzeyen aortta aterosklerotik lezyonlar geliştirir.

- 30 Dişi APOE* 3Leiden.CETP fareleri, % 0.15 kolesterol ve % 15 doymuş yağ içeren bir Batı tipi diyet (WTD) konulur; yaklaşık 13-15 mM olan plazma kolesterolü ile sonuçlanır. WTD üzerinde 3 haftalık bir çalışma periyodundan sonra, fareler 15 fareden oluşan 4 gruba, kontrol (tedavi yok), bileşik A, fenofibrat ve düşük kolesterol diyetine bölünmüştür. Gruplar 4 saat aç bırakılmadan sonra vücut ağırlığı, plazma total kolesterol (TC), HDL kolesterol (HDL-

C) ve trigliseritler (TG) için eşleştirildi.

Test maddeleri, Batı tipi diyete ilave olarak oral yoldan uygulanır. Bileşiklerin karışmasını kolaylaştırmak için ayçiçek yağı 10 mL / kg diyet toplam yağ hacmine ilave edilir. Test bileşiği (A) başlangıçta 0.1 mmol / kg b ağı./ gün olarak test edildi ve 4 haftada 0.04 mmol /kg b ağı./gün'e düşürülür. İlk doz, VLDL / LDL kolesterolünü % 25-30 azaltacak şekilde gerekli dozu belirlemek için önceki bir doz bulma çalışmasına dayanmaktadır.

Fenofibrat dozu başlangıçta 10 mg/kg b ağı./gündür ve 4,2 mg/kg b ağı./gün'e düşürülür (bileşik A tarafından indüklenen VLDL / LDL'deki paralel indirgeme).

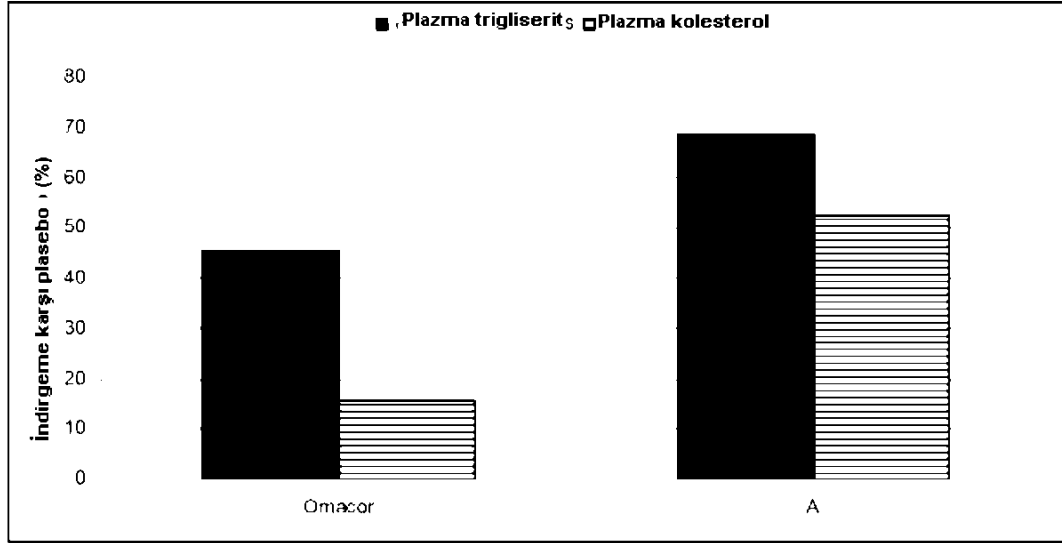
t = 0, 4, 8, 12 ve 14. haftalarda, gıda alımını, toplam plazma kolesterolünü, HDL kolesterolünü ve trigliseritleri ve lipoprotein profillerini ölçmek için 4 saat sonra hızlı kan örnekleri alınır. Çalışma sonunda aort kökünde ateroskleroz gelişimi (lezyon sayısı, toplam lezyon alanı ve lezyon şiddeti) değerlendirilir.

15

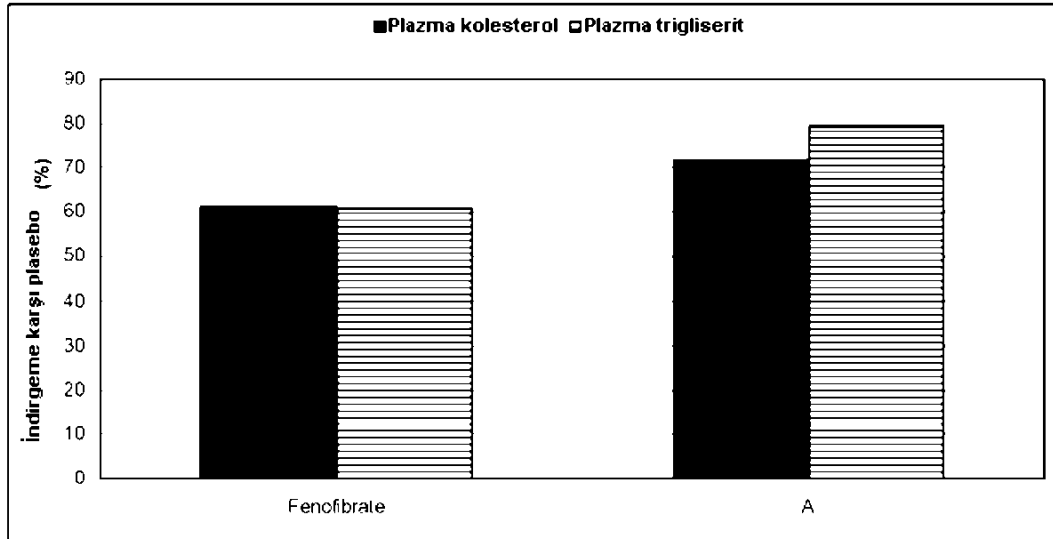
20

25

Şekil 1/3



Şekil 2/3



Şekil 3/3

