

OZET**KSANTİN OKSİDAZ İNHİBİTÖRÜ OLARAK AZOL BENZEN
TUREVİ KRİSTALİ**

5

Gut, hiperürisemi ve benzeri için bir terapötik ajan veya profilaktik ajan olarak faydalı olan 2-[4-(2,2-dimetilpropoksi)-3-(1H-1,2,3,4-tetrazol-1-il)fenil]-4-metil-1,3-tiyazol-5-karboksilik asidin kristalleri sağlanmıştır.

10

15

20

25

İSTEMLER

1. Bir 2-[4-(2,2-dimetilpropoksi)-3-(1H-1,2,3,4-tetrazol-1-il)fenil]-4-metil-1,3-tiyazol-5-karboksilik asit kristali
5
2. İstem 1'e göre kristal; buradaki kristal, buradaki kristal, bir kristal A formuna sahiptir.
3. İstem 2'ye göre kristal; buradaki kristal, kendi toz X ışını kırınım spektrumunda 2θ kırınım açıları= 7.2° , 11.3° , 15.9° , 17.9° , 20.8° , 22.3° , 23.1° , 23.8° , 24.3° ve 28.6° 'de karakteristik piklere sahiptir
10
4. İstem 2'ye göre kristal; burada bunun toz X ışını kırınım spektrumu, Şekil 1'de gösterilen bir paterne sahiptir.
15
5. İstem 2'ye göre kristal; burada bunun termogravimetri/diferansiyel termal analizdeki eksotermik piki, 232°C 'dedir.
6. İstem 1 ila 5'ten herhangi birine göre kristal ve farmasötik açıdan kabul gören bir taşıyıcı içeren bir farmasötik kompozisyon.
20
7. Terapi veya profilakside kullanım için 1-5 arası istemlerden herhangi birine göre bir kristal veya istem 6'ya göre bir farmasötik kompozisyon.
25
8. Ksantin oksidaz ile bağlantılı bir hastalığın tedavi edilmesi veya engellenmesinde kullanım için 1-5 arası istemlerden herhangi birine

göre bir kristal veya istem 6'ya göre bir farmasötik kompozisyon.

9. İstem 8'deki gibi kullanım için bir kristal veya farmasötik kompozisyon; burada ksantin oksidaz ile ilişkili hastalık, gut, 5 hiperürisemi, tümör liziz sendromu, üriner kalkülü, hipertansiyon, dislipidemi, diyabet, kardiyovasküler hastalıklar, böbrek hastalıkları, respiratuar hastalıklar, enflamatuar bağırsak hastalıkları ve otoimmün hastalıkların oluşturduğu gruptan seçilir.

10

15

20

25

24809

TARİFNAME

KSANTİN OKSİDAZ İNHİBİTORU OLARAK AZOL BENZEN

5

TUREVİ KRİSTALİ

[Teknik Saha]

Mevcut buluş, gut, hiperürisemi, tümör liziz sendromu, üriner kalküli,
10 hipertansiyon, dislipidemi, diyabet, kardiyovasküler hastalıklar, örn.,
arteryosklerozis veya kalp yetmezliği, böbrek hastalıkları, örn.,
diyabetik nefropati, respiratuar hastalıklar, örn., kronik obstrüktif
pulmoner hastalıklar, enflamatuar bağırsak hastalıkları veya otoimmün
15 ajan veya bir profilaktik ajan olarak faydalı yeni bir azol benzen
türevinin bir kristali ile ilgilidir.

[Geçmiş Teknoloji]

20 Ksantin oksidaz, nükleik asit metabolizmasında hipoksantinine ksantine
ve ayrıca ürik aside dönüşümünü katalize eden bir enzimdir.

Bir ksantin oksidaz inhibitörü, ürik asit sentezini inhibe ederek ksantin
oksidazın etkisi ile ilişkili kandaki ürik asit seviyesini düşürür. Yani
bir ksantin oksidaz inhibitörü, hiperürisemi ve hiperüriseminin neden
25 olduğu çeşitli hastalıklarda bir terapötik ajan olarak etkilidir. Diğer
tarafından uzun süreli hiperürisemi sonrasında urat kristalleri birikmesi
sonucunun neden olduğu bir klinik durum olarak gut adıyla bilinen gut

- artriti ve gut tofusü vardır. Ek olarak hiperürisemi, obezite, hipertansiyon, dislipidemi ve diyabet veya metabolik sendromlar ile ilişkili yaşam tarzı hastalıklarının bir faktörü olarak da önemli sayılır ve son zamanlarda hiperüriseminin, renal bozukluk, üriner kalkülü ve kardiyovasküler hastalıkların bir risk faktörü olduğu epidemiyolojik araştırmalarla netleşmiştir (The Guideline Revising Committee of Japanese Society of Gout and Nucleic Acid Metabolism, ed., Guideline for the management of hyperuricemia and gout, ikinci baskı, Medical Review (2010)). Ek olarak bir ksantin oksidaz inhibitörünün, aktif oksijen türleri ile ilişkili hastalıkların, aktif oksijen türü üretilmesine karşı inhibe edici aktiviteyle tedavisinde, örneğin vasküler fonksiyonu geliştirme etkisiyle kardiyovasküler hastalıkların tedavisinde faydalı olması da beklenir (Circulation. 2006; 114: 2508-2516).
- Allopurinol ve febüksostat, hiperürisemi için bir terapötik ajan olarak klinik olarak kullanılır ancak allopurinolün, Stevens-Johnson sendromu, toksik epidermal nekroliz, hepatik bozukluk ve renal disfonksiyon gibi bir yan etkisinin olduğu bildirilmiştir (Nippon Rinsho, 2003; 61, Ek. 1: 197 - 201).
- Bir ksantin oksidaz inhibe edici aktiviteye sahip bir bileşik olarak örneğin bir 2-feniltiyazol türevi bildirilmiştir (PTL 1 ila 3). Diğer taraftan PTL 4 ve 5'te, ortasında bir benzen halkası olan bir ditiyazol karboksilik asit türevi bildirilir. Ayrıca PTL 6 ve 7'de bir bifenil tiyazol karboksilik asit türevi de bildirilir.

25

[Alıntı Listesi]

[Patent Literatürü]

[PTL 1] Uluslararası Yayın No. 92/09279

[PTL 2] Halka Açık Japon Patenti No. 2002-105067

5 [PTL 3] Uluslararası Yayın No. 96/31211

[PTL 4] Uluslararası Yayın No. 2011/139886

[PTL 5] Uluslararası Yayın No. 2011/101867

[PTL 6] Uluslararası Yayın No. 2010/018458

[PTL 7] Uluslararası Yayın No. 2010/128163

10

[Buluşun Özeti]

[Teknik Problem]

Mevcut buluşun bir hedefi, gut, hiperürisemi, tümör liziz sendromu, üriner kalkülü, hipertansiyon, dislipidemi, diyabet, kardiyovasküler hastalıklar, örn., arteriyosklerozis veya kalp yetmezliği, böbrek hastalıkları, örn., diyabetik nefropati, respiratuar hastalıklar, örn., kronik obstrüktif pulmoner hastalıklar, enflamatuar bağırsak hastalıkları veya otoimmün hastalıklar gibi ksantin oksidaz ile ilişkili hastalıklar için bir terapötik ajan veya bir profilaktik ajan olarak faydalı bir yeni bileşiğin bir kristalini sağlamaktır.

20

[Problemin Çözümü]

Yukarıdaki hedefle en kazançlı çalışmaların bir sonucu olarak mevcut kaşifler, 2-[4-(2,2-dimetilpropoksi)-3-(1H-1,2,3,4-tetrazol-1-il)fenil]-4-metil-1,3-tiyazol-5-karboksilik asidin (bundan böyle bir bileşik (I) olarak da anılacaktır), kristalleştirilebileceğini ve en az bir kristal polimorf tipi şeklinde mevcut olduğunu bulmuşlardır.

25

Yani mevcut buluş, şunları sağlar.

- [1] Bir 2-[4-(2,2-dimetilpropoksi)-3-(1H-1,2,3,4-tetrazol-1-il)fenil]-4-metil-1,3-tiyazol-5-karboksilik asit kristali;
- 5 [2] [1]'e göre kristal; buradaki kristal, buradaki kristal, bir kristal A formuna sahiptir;
- [3] [2]'ye göre kristal; buradaki kristal, kendi toz X ışını kırınım spektrumunda 2θ kırınım açıları= 7.2° , 11.3° , 15.9° , 17.9° , 20.8° , 22.3° , 23.1° , 23.8° , 24.3° ve 28.6° 'de karakteristik piklere sahiptir
- 10 [4] [2]'ye göre kristal; burada bunun toz X ışını kırınım spektrumu, Şekil 1'de gösterilen bir paterne sahiptir;
- [5] [2]'ye göre kristal; burada bunun termogravimetri/diferansiyel termal analizdeki eksotermik piki, 232°C 'dedir;
- [6] [1] ile [5]'ten herhangi birine göre kristal ve farmasötik açıdan
- 15 kabul gören bir taşıyıcı içeren bir farmasötik kompozisyon;
- [7] Bir aktif muhteviyat olarak [1] ile [5]'ten herhangi birine göre kristal içeren bir ksantin oksidaz inhibitörü; ve
- [8] Gut, hiperürisemi, tümör liziz sendromu, üriner kalküli, hipertansiyon, dislipidemi, diyabet, kardiyovasküler hastalıklar, böbrek hastalıkları, respiratuar hastalıklar, enflamatuar bağırsak
- 20 hastalıkları ve otoimmün hastalıkların oluşturduğu gruptan seçilen bir veya daha fazla hastalıkta kullanım için olup, bir aktif muhteviyat olarak [1] ile [5]'ten herhangi birine göre kristal içeren bir terapötik veya profilaktik ajan.

25

[Buluşun Avantajlı Etkileri]

Mevcut buluş, gut, hiperürisemi, tümör liziz sendromu, üriner kalküli,

hipertansiyon, dislipidemi, diyabet, kardiyovasküler hastalıklar, örn., arteriyosklerozis veya kalp yetmezliği, böbrek hastalıkları, örn., diyabetik nefropati, respiratuar hastalıklar, örn., kronik obstrüktif pulmoner hastalıklar, enflamatuar bağırsak hastalıkları veya otoimmün hastalıklar gibi ksantin oksidaz ile ilişkili hastalıklar için terapötik veya profilaktik ajanlar olarak faydalı olan bir azol benzen türevi kristallerini sağlar. Bu kristaller, farmasötik ajan üretiminde bir aktif farmasötik muhteviyat olarak kullanılabilir.

10 [Çizimlerin Kısa Açıklaması]

[Şekil 1] Şekil 1, kristal A formunun bir toz X ışını kırınım spektrumudur.

15 [Düzeneklerin Açıklaması]

"Ksantin oksidaz", hem geniş anlamda, yani hipoksantinden ksantine ve ayrıca ürik aside bir oksidasyon reaksiyonunu katalize edecek bir enzim olarak hem de dar anlamda yani aynı reaksiyonu katalize eden enzimlerden biri olan oksidaz tipi bir ksantin oksidoreduktaz olarak kullanılır. Mevcut buluşta, aksi belirtilmediği sürece, "ksantin oksidaz" toplu olarak hipoksantin'in ksantine ve ayrıca ürik aside oksidasyon reaksiyonunu katalize eden bir enzim adıyla anılır. Bu reaksiyondan sorumlu olan ksantin oksidoreduktaz içerisinde oksidaz tipi oksidoreduktaz ve dehidrogenaz tipi oksidoreduktaz olmak üzere iki tip bulunur ve her iki tip de, mevcut buluşa ait ksantin oksidaz içerisinde yer alır. Aksi belirtilmediği sürece "ksantin oksidaz" "ksantin oksidaz inhibe edici aktivite", "ksantin oksidaz inhibitörü" ve benzerinde de yukarıda tanımlananla aynı anlama gelir.

Mevcut buluşa ait kristaller, toz X ışını kırınım spektrumları ve/veya termo-gravimetri/diferansiyel termal analiz (TG/DTA) ve benzeri ile karakterize edilir. Bu kristallerin toz X ışını kırınım (XRD) spektrumları, karakteristik paternler sergiler ve her bir kristal, spesifik kırınım açısı 2θ değerlerine sahiptir. Ek olarak bu kristallerin her biri, termogravimetri/diferansiyel termal analizde (TG/DTA) kendine özgü karakteristik termal davranışını sergiler.

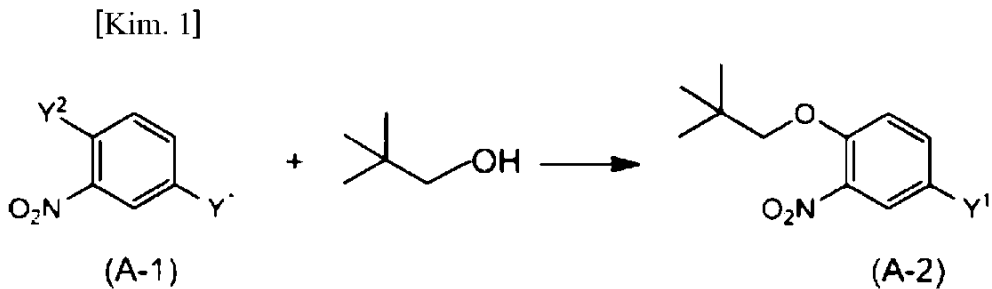
Mevcut buluşa ait kristal A formu, kendi toz X ışını kırınım spektrumunda 2θ kırınım açıları= 7.2° , 11.3° , 15.9° , 17.9° , 20.8° , 22.3° , 23.1° , 23.8° , 24.3° ve 28.6° 'de karakteristik piklere sahiptir. Ek olarak mevcut buluşa ait kristal A formunun paterni, Şekil 1'deki kendi toz X ışını kırınım spektrumu halindedir ve termogravimetri/diferansiyel termal analizde (TG/DTA) eksotermik piki, 232°C 'dedir. Kristal A formu, susuz bir kristaldir.

Burada kullanıldığı gibi "karakteristik pikler", her bir kristal polimorfun toz X ışını kırınım spektrumunda temel olarak gözlenen pikler ve ayrıca benzersiz pikler anlamına gelir. Kırınım açılarıyla tanımlanan mevcut buluşa ait kristaller ayrıca yukarıda tarif edilen karakteristik pikler olarak gözlenenlerden başka pikler de içerir.

Toz X ışını kırınım spektrumunda kırınım açısı 2θ 'nın pozisyonu ve nispi yoğunluğu, ölçüm koşullarına bağlı olarak biraz değişebilir ve bu yüzden 2θ ' de biraz farklılık olsa bile bir kristal formunun kimliği, uygun şekilde bütün spektrumun paternine gönderme yapılarak tanınmalıdır. Bu tür hata aralığında olan kristaller de mevcut buluşa dahildir. 2θ hataları, örneğin, $\pm 0.5^\circ$ veya $\pm 0.2^\circ$ aralığında olabilir. Bir başka deyişle yukarıdaki kırınım açılarıyla tanımlanan kristaller, kırınım açıları, $\pm 0.5^\circ$ veya $\pm 0.2^\circ$ hata aralığında olanları da kapsar.

- Termogravimetrik/diferansiyel termal analizde (TG/DTA) bir "eksotermik pik" ve bir "endotermik pik", bir pikin başlangıç noktası olan sıcaklık olarak tanımlanır ve ekstrapolasyonla belirlenen eksotermik ve endotermik başlangıç sıcaklığı anlamına gelir.
- 5 TG/DTA'da "eksotermik pik" ve "endotermik pik", ölçüm koşullarına bağlı olarak biraz değişkenlik gösterebilir. Örneğin hata, $\pm 5^{\circ}\text{C}$ veya $\pm 2^{\circ}\text{C}$ aralığında sayılır. Başka bir deyişle yukarıdaki piklerle tanımlanan kristaller, pikleri, $\pm 5^{\circ}\text{C}$ veya $\pm 2^{\circ}\text{C}$ hata aralığında olanları da kapsar.
- 10 Ayrıca hem toz X ışını kırınım spektrumu hem de TG/DTA durumunda referans bir kristal materyali, örneğin mevcut örneklerde tarif edilen yöntemle elde edilen her bir kristal için ölçülen değerler ile mevcut başvuruda açıklanan sayısal değerler arasındaki farklılık, ölçüm hataları olarak kabul edilebilir. Yani aynı kırınım açlarına
- 15 sahip ve eksotermik ve endotermik pikleri, bu tür yöntemlerle hesaplanan hata aralığında olan kristaller, mevcut buluşa ait kristallerin kapsamına girer.
- 2-[4-(2,2-dimetilpropoksi)-3-(1H-1,2,3,4-tetrazol-1-il)fenil]-4-metil-1,3-tiyazol-5-karboksilik asidin bir kristal A formu, örneğin, aşağıda
- 20 açıklanan sentez yöntemine göre sentezlenebilir.

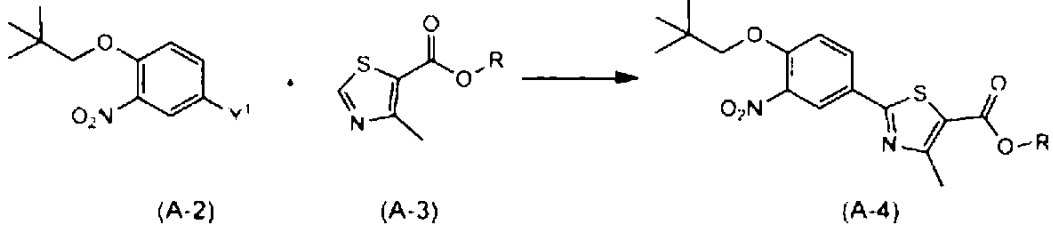
Bileşik (A-2)'nin Sentezi



(buradaki Y^1 ve Y^2 , bir ayırma grubunu temsil eder.) Y^1 ve Y^2 ile temsil edilen bir ayırma grubunun örnekleri arasında bir halojen atomu, bir metansülfoniloksi grubu, bir p-tolüensülfoniloksi grubu, bir triflorometansülfoniloksi grubu ve benzeri yer alır. Reaksiyon, neopentil alkolün bir bileşik (A-1) içinde bir ayırma grubu Y^2 ile bir baz varlığında reaksiyona sokulmasıyla bir bileşik (A-2)'nin sentezlenmesine yönelik bir yöntemdir. Kullanılacak bazın örnekleri arasında bir inorganik tuz, örn., sodyum hidrid, sodyum hidroksid, potasyum hidroksid, lityum hidroksid, sodyum karbonat, potasyum karbonat, sezyum karbonat; bir metal alkoksid, örn., sodyum etoksid, sodyum metoksid ve potasyum t-butoksid; ve bir organik amin, örn., trietilamin, piridin, 4-aminopiridin, N-etil-N,N-diizopropilamin (DIPEA) ve 1,8-diazabisiklo[5.4.0]-7-undesen (DBU) yer alır. Reaksiyon, bileşik (A-1)'e göre denk veya biraz fazla miktarda bir bazın ve bileşik (A-1)'e göre denk veya fazla miktarda neopentil alkolün, reaksiyon için eylemsiz bir solvent içerisinde, 0°C ile 140°C arasında reaksiyona sokulmasını takiben karışıma, bileşik (A-1) ilave edilmesiyle reaksiyonun genellikle 0.5 ila 16 saat süreyle ilerlemesinin sağlanması suretiyle gerçekleştirilir. Reaksiyon tercihen nitrojen gibi bir eylemsiz gaz atmosferinde gerçekleştirilir. Burada solvent, özellikle sınırlı olmamakla birlikte, örneğin, aromatik hidrokarbonları, örn., benzen, tolüen ve ksileni; eterleri, örn., dietil eter, tetrahidrofuran (THF), 1,4- dioksan, 1,2-dimetoksi etan ve 1,2-dietoksi etanı; halojene hidrokarbonları, örn., diklorometan, 1,2- dikloroetan ve kloroformu; N,N-dimetilformamid (DMF); N-metilpirolidon; dimetil sülfoksid (DMSO); su; veya bunlardan oluşan karışık bir solventi kapsar.

Bileşik (A-4)'ün Sentezi

[Kim. 2]

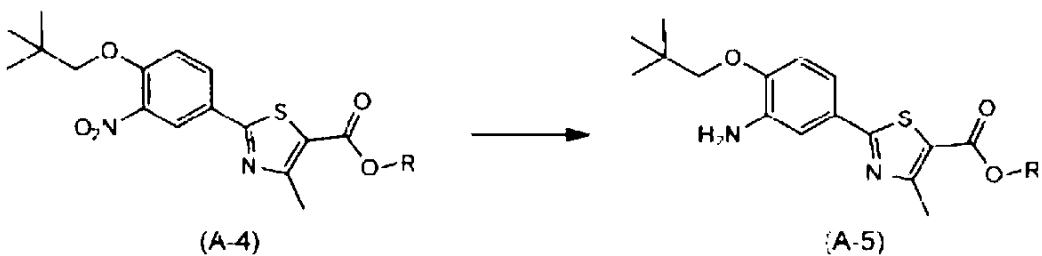


(buradaki R, 1 ila 6 karbon atomuna sahip bir alkil grubunu temsil eder.) Sentez yöntemi, bileşik (A-2) ve (A-3)'ün birleştirilmesiyle bir bileşik (A-4)'ün sentezlenmesine yönelik bir yöntemdir. Y¹ ile temsil edilen bir ayırma grubunun örnekleri arasında bir halojen atomu, bir metansülfoniloksi grubu, bir p-tolüensülfoniloksi grubu ve bir triflorometansülfoniloksi grubu yer alır. Reaksiyon, bileşik (A-2) ve (A-3)'ün, bir bileşiği diğerine denk veya ondan fazla miktarda kullanmak suretiyle, reaksiyon için eylemsiz bir solvent içerisinde, bir baz ve bir geçiş metal katalizörü varlığında, gerektiğinde bir ligand, bir karboksilik asit ve bir monovalent veya divalent bakır tuzu ilave edilerek oda sıcaklığı ile bir geri akış sıcaklığı arasında genellikle 0.5 saat ila 2 gün süreyle reaksiyona sokulması suretiyle gerçekleştirilir. Reaksiyon tercihen nitrojen gibi bir eylemsiz gaz atmosferinde gerçekleştirilir. Burada solvent, özellikle sınırlı olmamakla birlikte örneğin, aromatik hidrokarbonları, örn., benzen, tolüen ve ksileni; eterleri, örn., dietil eter, tetrahidrofuran (THF), 1,4- dioksan, 1,2-dimetoksi etan ve 1,2-dietoksi etanı; halojene hidrokarbonları, örn., diklorometan, 1,2- dikloroetan ve kloroformu; alkolleri, örn., metanol, etanol, 2-propanol ve butanolü; N,N-dimetilformamid (DMF); N-metilpirolidon; dimetil sülfoksit (DMSO); su; veya bunlardan oluşan karışık bir solventi kapsar. Baz örnekleri arasında lityum hidrid,

sodyum hidrid, potasyum hidrid, sodyum hidroksid, potasyum hidroksid, sodyum karbonat, potasyum karbonat, sezyum karbonat, potasyum florid, sezyum florid, tripotasyum fosfat, sodyum asetat ve potasyum asetat; 1 ila 6 karbon atomuna sahip bir alkoksidin bir metal tuzu (lityum tuzu, sodyum tuzu, potasyum tuzu ve magnezyum tuzu); 1 ila 6 karbon atomuna sahip bir alkil anyonunun bir metal tuzu (lityum tuzu, sodyum tuzu, potasyum tuzu ve magnezyum tuzu); tetra (1 ila 4 karbon atomuna sahip alkil) amonyum tuzu (florid, klorid ve bromid); diizopropiletilamin; tributilamin; N-metilmorfolin; diazabsikloundesen; diazabisiklooktan; ve imidazol yer alır. Geçiş metal katalizörünün örnekleri arasında bakır, paladyum, kobalt, demir, rodyum, rutenyum ve iridyum yer alır. Ligand örnekleri arasında tri(t-butil)fosfin, tri(sikloheksil)fosfin, t-butildisikloheksilfosfin, di(t-butil)sikloheksilfosfin ve di(t-butil)metilfosfin yer alır. Monovalent veya divalent bakır tuzu örnekleri arasında bakır klorid (I), bakır bromid (I), bakır iyodid (I), bakır asetat (I), bakır florid (II), bakır klorid (II), bakır bromid (II), bakır iyodid (II), bakır asetat (II), bunların bir hidratı ve bunların bir karışımı yer alır. Karboksilik asit örnekleri arasında formik asit, asetik asit, propiyonik asit, n-bütirik asit, izobütirik asit, pentanoik asit, izopentanoik asit, pivalik asit ve trifloroasetik asit yer alır.

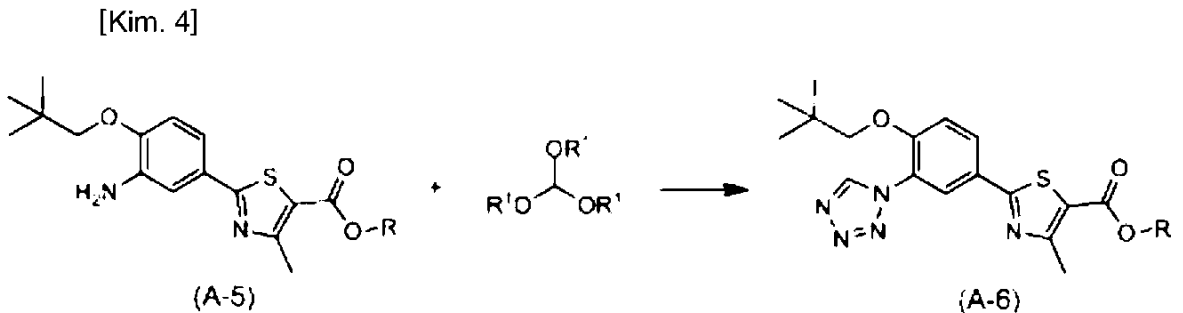
Bileşik (A-5)'in Sentezi

[Kim. 3]

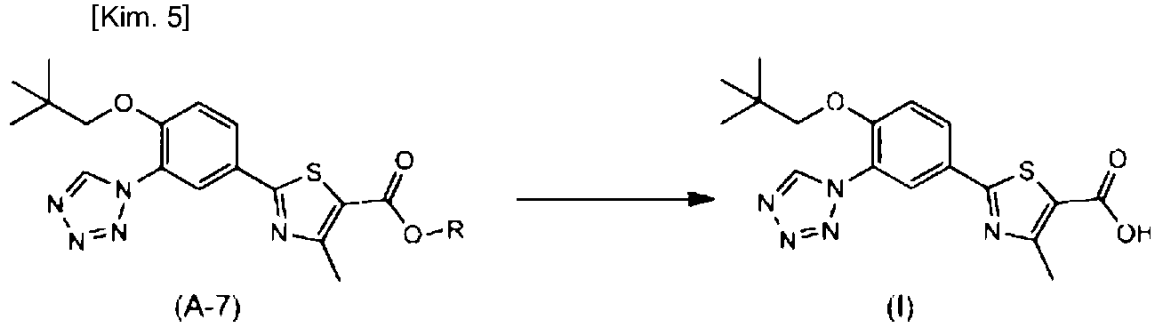


(buradaki R, 1 ila 6 karbon atomuna sahip bir alkil grubunu temsil eder.) Sentez yöntemi, bileşik (A-4)'ün bir nitro grubunun indirgenmesi suretiyle bir bileşik (A-5)'in sentezlenmesine yönelik bir yöntemdir. Reaksiyon, bileşik (A-4)'ün, bir hidrojen gazı atmosferi altında, reaksiyon için eylemsiz bir solvent içerisinde, bir geçiş metal katalizörü varlığında, oda sıcaklığı ile bir geri akış sıcaklığı arasında, genellikle 0.5 saat ila 2 gün süreyle reaksiyona sokulması suretiyle gerçekleştirilir. Burada solvent, özellikle sınırlı olmamakla birlikte, örneğin aromatik hidrokarbonları, örn., benzen, tolüen ve ksileni; eterleri, örn., dietil eter, tetrahidrofuran (THF), 1,4-dioksan, 1,2-dimetoksi etan ve 1,2-dietoksi etan; halojene hidrokarbonları, örn., diklorometan, 1,2-dikloroetan ve kloroformu; alkolleri, örn., metanol, etanol, 2-propanol ve butanolü; N,N-dimetilformamidi (DMF); N-metilpirolidonu; dimetil sülfoksidi (DMSO); etil asetatı; ve bunlardan oluşan karışık bir solventi kapsar. Geçiş metal katalizörünün tercih edilen örnekleri arasında paladyum-karbon, paladyum-hidroksid, paladyum karası, platinyum-karbon, Raney nikeli ve benzeri yer alır.

Bileşik (A-6)'nın Sentezi: 2-[4-(2,2-dimetilpropoksi)-3-(1H-1,2,3,4-tetrazol-1-il)fenil]-4-metil-1,3-tiyazol-5-karboksilik asidin bir alkil esteri



- (buradaki R ve R¹ birbirinden bağımsız olarak 1 ila 6 karbon atomuna sahip bir alkil grubunu temsil eder.) Sentez yöntemi, bileşik (A-5)'in bir ortoformat ve bir azid bileşiği ile reaksiyona sokulması suretiyle bir tetrazol halkasının sentezlenmesine yönelik bir yöntemdir.
- 5 Reaksiyon, bileşik (A-5), bir ortoformat ve bir azid bileşiğinin, bileşiklerden birini denk veya fazla miktarda kullanmak suretiyle, reaksiyon için eylemsiz bir solvent içinde, bir asit varlığında, oda sıcaklığı ile bir geri akış sıcaklığı arasında, genellikle 0.5 saat ila 2 gün süreyle reaksiyona sokulması suretiyle gerçekleştirilir. Reaksiyon
- 10 tercihen nitrojen gibi bir eylemsiz gaz atmosferi altında gerçekleştirilir. Ortoformat örnekleri arasında trimetil ortoformat ve trietil ortoformat yer alır. Ek olarak azid bileşiğinin örnekleri arasında sodyum azid ve trimetil sililazid yer alır. Kullanılacak asidin örnekleri arasında bir organik asit, örn., formik asit ve asetik asit, bir inorganik
- 15 asit, örn., hidroklorik asit ve sülfürik asit ve bir Lewis asidi, örn., indiyum triflat, itterbiyum triflat, çinko triflat ve trikloroindiyum yer alır. Bu reaksiyonlar için kullanılacak solvent, özellikle sınırlı olmamakla birlikte, örneğin benzen, tolüen, diklorometan, dikloroetan, kloroform, karbon tetraklorid, dietil eter, tetrahidrofuran (THF), 1,4-
- 20 dioksan, 1,2- dimetoksi etan, 1,2-dietoksi etan, N,N-dimetilformamid (DMF), N-metiplirolidon, dimetil sülfoksit (DMSO) ve bunlardan oluşan karışık bir solventi kapsar ve asetik asit gibi bir asit de, bir solvent olarak kullanılabilir.
- 25 Bileşik (I)'in bir kristal A formunun sentezi: 2-[4-(2,2-dimetilpropoksi)-3-(1H-1,2,3,4-tetrazol-1-il)fenil]-4-metil-1,3-tiyazol-5-karboksilik asit



(buradaki R, 1 ila 6 karbon atomuna sahip bir alkil grubunu temsil eder.) Bileşik (I)'in bir kristal A formu, bir bileşik (A-7)'nin bir solvent içerisinde süspansiyonuna ve süspansiyonun, sulu bir baz çözeltisi ilave edilerek hidrolize edilmesi adımı ve reaksiyon ürününün nötralle edilmesi adımı içeren bir yöntemle üretilebilir. Ek olarak yöntem ayrıca nötralle edilmiş ürüne su ilave edilmesi adımı ve reaksiyon çözeltisinin karıştırıldığı müteakip bir adımı da içerebilir. Bileşik (A-7)'nin süspansiyonuna için kullanılan solvent, örneğin, aromatik hidrokarbonları, örn., benzen, tolüen ve ksilen; eterleri, örn., dietil eter, tetrahidrofur (THF), 1,4-dioksan, 1,2-dimetoksi etan ve 1,2-dietoksi etan; halojene hidrokarbonları, örn., diklorometan, 1,2-dikloroetan ve kloroformu; alkoller, örn., metanol, etanol, 2-propanol ve butanol; N,N-dimetilformamidi (DMF); N-metilpirolidonu; dimetil sülfoksidi (DMSO); suyu; ve bunlardan oluşan karışık bir solventi kapsar. Solvent tercihen bir eter, bir alkol, su veya bunlardan oluşan karışık bir solventtir.

Bileşik (A-7)'de, R tercihen 1 ila 6 karbon atomuna sahip bir alkil grubu ve daha fazla tercihen bir etil grubudur. Burada bir alkil grubu, bir lineer veya dallı alifatik doymuş hidrokarbon grubu olarak anılır. 1 ila 6 karbon atomuna sahip bir alkil grubunun spesifik örnekleri

arasında bir metil grubu, bir etil grubu, bir propil grubu, bir izopropil grubu, bir butil grubu, bir izobutil grubu, bir tert-butil grubu, bir pentil grubu, bir izopentil grubu ve bir heksil grubu yer alır.

Bileşik (A-7)'den bileşik (I)'e hidroliz reaksiyonu, bileşik (A-7)'nin
5 solvent (örneğin bileşik (A-7) miktarının 15 katı miktarda) içinde süspansiyon edilmesi ve sonra bileşik (A-7)'nin, bileşik (A-7)'ye göre denk veya biraz fazla miktarda bir baz ile reaksiyona sokulması suretiyle ilerler. Tercih edilen bazların örnekleri arasında sodyum hidroksid, potasyum hidrid ve lityum hidroksid yer alır. Reaksiyon,
10 0°C ile 100°C aralığında ilerler ancak tercihen 20°C ile 30°C aralığında gerçekleştirilir. Hidroliz reaksiyonundan sonra reaksiyon ürünü, kullanılan bazın, kullanılan baza göre denk veya biraz daha fazla miktarda bir asit ile reaksiyona sokulmasıyla nötralize edilir. Tercih edilen bir asidin bir örneği, hidroklorik asidi kapsar.
15 Nötralizasyon reaksiyonu, 0°C ile 100°C aralığında ilerler ancak tercihen 0°C ile 30°C aralığında gerçekleştirilir.

Müteakiben nötralize edilmiş reaksiyon ürününe, su (örneğin bileşik (A-7) miktarının 5 katı miktarda) ilave edilir ve karışım, bir saat süreyle karıştırılır ve sonra çökeltilir, filtre edilerek çıkarılır ve
20 kurutularak kristaller elde edilir. Her ne kadar solvent miktarı, ilave edilen su miktarı, karıştırma koşulları ve filtreleme yoluyla ayırmaya kadar olan süre özellikle sınırlı olmasa da, bu koşullar, kristallerin verimi, kimyasal saflık, partiküllerin çapı ve partikül büyüklük dağılımı üzerinde etkili olabileceğinden bu koşullar tercihen
25 birleştirilir ve amaca göre ayarlanır. Filtreleme için genel bir yöntem, örneğin doğal filtreleme, basınçlı filtreleme, vakumlu filtreleme veya santrifüjle ayırma kullanılabilir. Kurutma için genel bir yöntem, örneğin doğal kurutma, vakumlu kurutma, ısıtarak kurutma ve

vakumlu ısıtarak kurutma kullanılabilir. Reaksiyonun ara bileşiği, sentez prosesi sırasında gerekirse yeniden kristalleştirme, yeniden çökeltme ve çeşitli kromatografi yöntemleri gibi genel bir yöntemle saflaştırılabilir.

- 5 Her ne kadar mevcut buluşa ait kristaller, bir karakteristik toz X ışını kırınım spektrumu veya termogravimetrik/diferansiyel termal analiz (TG/DTA) yoluyla tanımlanabilse de diğer kristal formları mevcut olduğunda bunları dahil etme oranına gönderme yapılmaz. Sadece spesifik formda bir kristal elde edildiği durumda en azından diğer
- 10 kristal formların dahil, bu ölçüm yöntemleriyle saptanamayacak bir dereceye kadar kabul edilebilir. Ek olarak spesifik formda bir kristalin bir farmasötik ajan için bir aktif farmasötik muhteviyat olarak kullanıldığı durumda bu, diğer kristal formlarının dahlinin kabul edilemeyeceği anlamına gelmez.
- 15 Mevcut buluşa ait kristaller, bir farmasötik aktif muhteviyat olarak kullanılabilir. Ek olarak diğer kristal formlarının mevcut olduğu durumda sadece bir kristal formu değil iki veya daha fazla kristal formundan oluşan bir karışım da kullanılabilir. Mevcut buluşta, üretim sırasında ellenebilirlik, yeniden üretilebilirlik, stabilite ve depolamada
- 20 stabilite, 2-[4-(2,2-dimetilpropoksi)-3-(1H-1,2,3,4-tetrazol-1-il)fenil]-4-metil-1,3-tiyazol-5-karboksilik asit kristalleri elde edilmesiyle kristal olmayanlara kıyasla avantajlı hale getirilir.

Bir farmasötik kompozisyon, mevcut buluşa ait kristaller ve farmasötik açıdan kabul gören bir taşıyıcı kullanılarak elde edilebilir.

- 25 Mevcut buluşa ait kristaller içeren bir preparasyon, genellikle formülasyon için kullanılan katkı maddeleri kullanılarak hazırlanır. Bir katı preparasyon için katkı maddeleri örnekleri arasında bir ekspiyan, örn., laktoz, sakaroz, glukoz, mısır nişastası, beyaz patates

nişastası, kristal selüloz, hafif susuz silisik asit, sentetik alüminyum silikat, magnezyum alüminosilikat ve kalsiyum hidrojen fosfat; bir bağlayıcı, örn., kristal selüloz, karboksimetil selüloz, hidroksipropil selüloz, karboksimetilselüloz sodyum ve polivinil piroidon; bir
5 ayrıştırıcı, örn., nişasta, karboksimetilselüloz sodyum, karboksimetilselüloz kalsiyum, kroskarmeloz sodyum ve sodyum karboksi metil nişastası; bir yağlayıcı, örn., talk ve stearik asit; bir kaplama ajanı, örn., hidroksimetilpropilselüloz, hidroksipropilkarboksimetilselüloz fitalat ve etilselüloz; veya bir renklendirici
10 ajan yer alır; bir yarı katı preparasyon için katkı maddeleri arasında bir baz, örn., beyaz vazelin yer alır ve bir sıvı preparasyon için katkı maddeleri arasında bir solvent, örn., etanol; bir çözünürleştirici ajan, örn., etanol; bir prezervatif, örn., parahidroksibenzoat; bir tonisite ajanı, örn., glukoz; bir tamponlama ajanı, örn., sitrik asit; bir
15 antioksidan, örn., L-askorbik asit; bir kıskaçlama ajanı, örn., EDTA; ve bir süspanse edici ajan ve bir emülsife edici ajan, örn., polisorbitat 80 yer alır.

Mevcut buluşa ait kristaller, bir katı preparasyon, bir yarı katı preparasyon ve bir sıvı preparasyon gibi herhangi bir dozaj formunda
20 kullanılabilir ve herhangi bir uygulama formu için bir preparasyon, örn., bir oral preparasyon ve bir parenteral preparasyon (örn., bir enjeksiyon preparasyonu, bir perkütan preparasyon, bir oftalmik preparasyon, bir fitil preparasyonu, bir transnazal preparasyon ve bir inhalasyon preparasyonu) halinde kullanılabilir.

25 Bir aktif muhteviyat olarak mevcut buluşa ait kristaller içeren bir farmasötik kompozisyon, bir ksantin oksidaz inhibitörü olarak veya ksantin oksidaz ile bağlantılı hastalıklar, örn., gut, hiperürisemi, tümör lizis sendromu, üriner kalkülü, hipertansiyon, dislipidemi, diyabet,

kardiyovasküler hastalıklar, örn., arteryel sklerozis ve kalp yetmezliği, böbrek hastalıkları, örn., diyabetik nefropati, respiratuar hastalıklar, örn., kronik obstrüktif pulmoner hastalık, enflamatuar bağırsak hastalıkları veya otoimmün hastalıklar için bir terapötik ajan veya bir profilaktik ajan olarak kullanılabilir. Burada "profilaktik" terimi, hastalıklardan etkilenmemiş veya henüz hastalıkları geliştirmemiş bir kişide hastalıkların meydana gelmesinin veya başlamasının engellenmesi anlamına gelir ve "terapötik" terimi, hastalıklardan etkilenmiş veya hastalıkları geliştirmiş olan bir kişide hastalıkların veya semptomların tedavi edilmesi, baskılanması veya iyileştirilmesi anlamına gelir.

[Örnekler]

15 [Ölçüm Yöntemi]

Mevcut buluşa ait kristallerin toz X ışını kırınımı, şu koşullar altında ölçüldü

Aparat: Bruker AXS tarafından üretilen GADDS CS'li D8 DISCOVER

Radyasyon kaynağı: Cu K α , Dalga boyu: 1.541838 (10^{-10} m), 40 kV-40 mA, gelen düz plaka grafit monokromatörü kolimatör çapı 300 μ m, iki boyutlu PSPC detektörü, tarama 3 ila 40°

25 Mevcut buluşa ait kristallerin termogravimetrik/diferansiyel termal analizi (TG/DTA), şu koşullar altında ölçüldü.

Aparat: Rigaku tarafından üretilen TG8120 Sıcaklık yükselme oranı:

10°C/dak, Atmosfer: nitrojen, Ornek kabı: alüminyum, Referans: alümina,

Ornekleme: 1.0 sn., Ölçüm sıcaklığı aralığı: 25 ila 300°C

- 5 ¹H-NMR spektrumu (400 MHz, DMSO-d₆ veya CDCl₃) ölçülmüş olan bileşiklere ilişkin olarak kimyasal kayma (δ: ppm) ve birleştirme sabiti (J: Hz) gösterilir.

Aparat: JEOL tarafından üretilen JMTC-400/54/SS

- 10 Kısaltmalar, şunları temsil eder: s=tekli, d=ikili, t=üçlü, q=dörtlü, brs=geniş tekli, m=çoklu

[Referans Orneği 1]

- 15 Etil 2-[4-(2,2-dimetilpropoksi)-3-(1H-1,2,3,4-tetrazol-1-il)fenil]-4-metil-1,3-tiyazol-5-karboksilatın üretimi

- (1) 1.06 g neopentil alkolün 40.0 mL tolüen içerisinde süspansiyon edilmesiyle hazırlanmış bir karışım, bir nitrojen atmosferi altında 0°C'ye kadar soğutuldu ve 1.35 g t-butoksisodyum ilave edildi ve elde edilen karışım, 0°C'de 30 dakika süreyle karıştırıldı. Ardından 0°C'de yukarıdaki karışıma 2.20 g 4-bromo-1-floro-2-nitrobenzen ilave edildikten sonra elde edilen reaksiyon karışımı, oda sıcaklığına kadar ılıtıldı ve oda sıcaklığında 2 saat süreyle karıştırıldı. Reaksiyon karışımı çözeltilisine su ilave edildikten sonra etil asetat kullanılarak 25 özümleme yapıldı. Organik katman, bir tuz çözeltilisi ile yıkandıktan sonra indirgenmiş basınç altında kurutma ve konsantrasyon yapılarak 3.12 g 4-bromo-1-(2,2-dimetilpropoksi)-2-nitrobenzen elde edildi.

(2) 4.18 g 4-bromo-1-(2,2-dimetilpropoksi)-2-nitrobenzene 3.04 g potasyum bikarbonat, 63 mg paladyum klorid (II) ve 297 mg bakır bromid (I) ilave edilerek ve karışımın 45 mL tolüen içerisinde süspansiyon hazırlanmasıyla bir süspansiyon hazırlandı. Ardından süspansiyona 2.97 g etil 4-metil-1,3-tiyazol-5-karboksilat, 133 µL izobutirik asit ve 333 µL di-t-butilsikloheksilfosfin ilave edilerek hazırlanmış olan bir reaksiyon karışımı çözeltisi, bir nitrojen atmosferi altında 120°C'de 14 saat süreyle ısıtıldı. Reaksiyon karışımı çözeltisi, celite ile filtre edilerek çözülmeyen madde çıkarıldı; filtrata su ilave edildi ve etil asetat kullanılarak özümleme yapıldı. Organik katman, bir tuz çözeltisi ile yıkandı ve sonra indirgenmiş basınç altında kurutma ve konsantrasyona tabi tutuldu, ardından klasik bir yöntemle saflaştırılarak 5.13 g etil 2-[4-(2,2-dimetilpropoksi)-3-nitrofenil]-4-metil-1,3-tiyazol-5-karboksilat elde edildi.

¹H-NMR(400Mz,CDCl₃) δ:1.08(9H, s), 1.39(3H, t, J = 6.8Hz), 2.77(3H, s), 3.79(2H, s), 4.36(2H, q, J = 6.8Hz), 7.12(1H, d, J = 8.8Hz), 8.10(1H, dd, J = 2.0, 8.8Hz), 8.45 (1H, d, J = 2.0Hz)

(3) Bir reaksiyon çözeltisi, 5.13 g etil 2-[4-(2,2-dimetilpropoksi)-3-nitrofenil]-4-metil-1,3-tiyazol-5-karboksilatın 50 mL etanol içerisinde süspansiyon edilmesi ve süspansiyona, 500 mg paladyum/karbon (%10 wt) ilave edilmesiyle hazırlandı ve reaksiyon karışımı, bir hidrojen atmosferi altında 50°C'de 20 saat süreyle karıştırıldı. Reaksiyon karışımı çözeltisi filtre edildi ve filtrat, indirgenmiş basınç altında konsantre edilerek 4.66 g etil 2-[3-amino-4-(2,2-dimetilpropoksi)fenil]-4-metil-1,3-tiyazol-5-karboksilat elde edildi.

(4) 2.58 g etil 2-[3-amino-4-(2,2-dimetilpropoksi)fenil]-4-metil-1,3-tiyazol-5-karboksilatın 30 mL asetik asit içinde süspansiyon edilmesi ve 962 mg sodyum azid ve 2.19 g trietil ortoformat ilave edilmesiyle

hazırlanmış bir reaksiyon karışımı çözeltisi, bir nitrojen atmosferi altında 70°C'de 2 saat süreyle ısıtıldı. Reaksiyon karışımı oda sıcaklığına kadar soğutulduktan sonra 20 mL su ilave edildi, ardından klasik bir yöntemle saflaştırılarak 2.78 g etil 2-[4-(2,2-
5 dimetilpropoksi)-3-(1H-1,2,3,4-tetrazol-1-il)fenil]-4-metil-1,3-tiyazol-5-karboksilat elde edildi.

¹H-NMR(400Mz,CDCl₃) δ:1.00(9H, s), 1.39(3H, t, J = 6.8Hz), 2.78(3H, s), 3.82(2H, s), 4.36(2H, q, J = 6.8Hz), 7.18(1H, d, J = 8.8Hz), 8.08(1H, dd, J = 2.4, 8.8Hz), 8.42(1H, d, J = 2.4Hz), 9.19(1H,
10 s)

[Ornek 1]

2-[4-(2,2-dimetilpropoksi)-3-(1H-1,2,3,4-tetrazol-1-ilfenil]-4-metil-
15 1,3-tiyazol-5-karboksilik asidin bir kristal A formunun üretimi

2.58 g etil 2-[4-(2,2-dimetilpropoksi)-3-(1H-1,2,3,4- tetrazol-1-
il)fenil]-4-metil-1,3-tiyazol-5-karboksilatın 30.0 L'lik
tetrahidrofuran/metanol=1/1'den oluşan karışık bir çözelti içerisinde
20 çözüldürülmesini takiben 6.50 mL 2 M sodyum hidroksid sulu
çözeltisi ilave edilmesi suretiyle hazırlanmış olan bir reaksiyon
karışımı çözeltisi, 20°C ile 30°C aralığında 3 saat süreyle karıştırıldı.
20°C ile 30°C aralığında karıştırılırken reaksiyon karışımı çözeltisine,
6.50 mL 2 M hidroklorik asit yavaş yavaş ilave edildi ve ayrıca 17.0
25 mL su da yavaş yavaş eklendi. Reaksiyon karışımı çözeltisi, 20°C ile
30°C aralığında bir saat süreyle karıştırıldı ve filtreleme yapılarak
kristaller elde edildi. Elde edilen kristaller, 7.0 mL'lik
metanol/su=1/1'den oluşan karışık bir çözelti ve 7.0 mL su ile yıkandı.

Kristaller, 50°C'de vakumla kurutulurak 2.25 g 2-[4-(2,2-dimetilpropoksi)-3-(1H-1,2,3,4-tetrazol-1-il)fenil]-4-metil-1,3-tiyazol-5-karboksilik asit kristalleri elde edildi. Elde edilen kristallerin XRD'si, Şekil 1'de gösterilmiştir. Pikler, 2θ kırınım açıları= 7.2°,
 5 11.3°, 15.9°, 17.9°, 20.8°, 22.3°, 23.1°, 23.8°, 24.3° ve 28.6°'de gözlemlendi. Ek olarak termogravimetri/diferansiyel termal analizde (TG/DTA) bir ekso termik pik de, 232°C'de gözlemlendi.

¹H-NMR(400Mz,DMSO-d₆) δ:0.83(9H, s), 2.66(3H, s), 3.83(2H, s),
 7.47(1H, d, J = 8.8Hz), 8.18(1H, dd, J = 2.4, 8.8Hz), 8.27(1H, d, J =
 10 2.0Hz), 9.78(1H, s), 13.40(1H, s)

[Referans Örnek 2]

2-[4-(2,2-dimetilpropoksi)-3-(1H-1,2,3,4-tetrazol-1-il)fenil]-4-metil-
 15 1,3-tiyazol-5-karboksilik asidin üretimi

307 mg etil 2-[4-(2,2-dimetilpropoksi)-3-(1H-1,2,3,4-tetrazol-1-il)fenil]-4-metil-1,3-tiyazol-5-karboksilatın 8.0 mL'lik tetrahidrofuran/metanol=1/1'den oluşan karışık bir çözelti içerisinde
 20 çözündürülmesini takiben 1.0 mL 2 M sodyum hidroksid sulu çözeltisi ilave edilmesi suretiyle hazırlanmış olan bir reaksiyon karışımı çözeltisi, oda sıcaklığında 3 saat süreyle karıştırıldı. Reaksiyon karışımı çözeltisine 1.0 mL 2 M hidroklorik asit ilave edildikten sonra 6.0 mL su katıldı ve ardından klasik bir yöntemle saflaştırma yapılarak
 25 244 mg of 2-[4-(2,2-dimetilpropoksi)-3-(1H-1,2,3,4-tetrazol-1-il)fenil]-4-metil-1,3-tiyazol-5-karboksilik asit elde edildi.

¹H-NMR(DMSO-d₆) δ:0.83(9H, s), 2.66(3H, s), 3.83(2H, s), 7.47(1H, d, J = 8.8Hz), 8.18(1H, dd, J = 2.4, 8.8Hz), 8.27(1H, d, J = 2.0Hz),

9.78(1H, s), 13.40(1H, s)

[Referans Örnek 3]

5 Ksantan oksidaz inhibe edici aktivitenin ölçümü

(1) Test Bileşiğinin Preparasyonu

2-[4-(2,2-dimetilpropoksi)-3-(1H-1,2,3,4-tetrazol-1-il)fenil]-4-metil-
10 1,3-tiyazol-5-karboksilik asidin DMSO (Sigma Corporation tarafından
üretimiştir) içerisinde çözündürülmesinden ve böylelikle
konsantrasyonun 20 mM olmasından sonra çözelti, konsantrasyonun,
kullanım sırasındaki amaç için arzu edilen bir değere ayarlanması
suretiyle kullanıldı.

15

(2) Ölçüm Yöntemi

2-[4-(2,2-dimetilpropoksi)-3-(1H-1,2,3,4-tetrazol-1-il)fenil]-4-metil-
1,3-tiyazol-5-karboksilik asidin ksantin oksidaz inhibe edici
20 aktivitesinin değerlendirmesi, kısmi modifikasyonla referansta
(Enzimatik Analiz Metodu, 1, 521-522, 1974) tarif edilen yöntemle
yapıldı. Bu değerlendirme, oksidaz tipi ksantin oksidoreduktaz
aktivitesinin ölçülmesi suretiyle yapıldı. Aşık şekilde bir ksantin
(Sigma Co. tarafından üretilen) çözeltisi, 20 mM'lik bir sodyum
25 hidroksid çözeltisi kullanılarak 10 mM'de hazırlandı ve sonra 100 mM
fosfat tamponu ile karıştırılarak 30 µM'ye ayarlandı. Çözeltinin 75
µL'si, 96 oyuklu plakanın her bir oyuğuna ilave edildi. DMSO ile
nihai konsantrasyonun 100 katı seyreltilmiş test bileşiği, her bir oyuğa,

- oyuk başına 1.5 µL olacak şekilde ilave edildi. Plakanın karıştırılmasından sonra 290 nm’de absorbans, bir mikropilaka okuyucu SPECTRA MAX Plus 384 (Molecular Devices, LLC tarafından üretilen) ile ölçüldü. Müteakiben oksidaz tipi ksantin oksidoreduktaz (yayık ayranından, Calbiochem Novabiochem Corp. Tarafından üretilen), 100 mM’lik bir fosfat tamponu çözeltisi kullanılarak 30.6 mU/mL’de hazırlandı ve her bir oyuğa, oyuk başına 73.5 µL olacak şekilde ilave edildi. Karıştırıldıktan hemen sonra 290 nm’de absorbanstaki değişiklik, 5 dakika süreyle ölçüldü. Test bileşiği içermeyen DMSO çözeltisinin enzim aktivitesi, %100 kontrol olarak kullanıldı ve test bileşiğinin inhibe edici oranı hesaplandı. Test bileşiğinin oksidaz tipi ksantin oksidoreduktaz aktivitesi üzerindeki yüzde elli inhibe edici konsantrasyonu, doz-tepki eğrisine oturtularak hesaplandı.
- 2-[4-(2,2-dimetilpropoksi)-3-(1H-1,2,3,4-tetrazol-1-il)fenil]-4-metil-1,3-tiyazol-5-karboksilik asidin ksantin oksidaz inhibe edici aktivitesi, $1.0 \text{ nM} \leq \text{IC}_{50} \leq 5.0 \text{ nM}$ idi.

[Referans Örnek 4]

- Hipoürisemik etki (Normal Sıçanlar)
- Hipoürisemik etki, 2-[4-(2,2-dimetilpropoksi)-3-(1H-1,2,3,4-tetrazol-1-il)fenil]-4-metil-1,3-tiyazol-5-karboksilik asit için doğrulandı. %0.5’lik bir metilselüloz çözeltisi içerisinde süspanse edilmiş bir test bileşiği, 8 ila 9 haftalık Sprague-Dawley erkek sıçanlarına (Japan Charles River Co.) bir besleme iğnesi kullanılarak oral gavaj uygulamasıyla zorla uygulandı. Uygulamadan sonraki 2nci saatte kuyruk veninden kan alındıktan sonra plazma ayrıldı. Kan örneği içerisindeki ürik asit düzeyi, ürikaz yöntemiyle, bir absorpsiyon

spektrometresi ve ayrıca bir ürik asit belirleme kiti (L tipi Wako UA F: Wako Pure Chemical Industries, Ltd.) kullanılarak ölçüldü. Hipöürisemik etki yüzdesi, şu ifadeyle belirlendi:

- 5 Hiperürisemik etki yüzdesi (%)= (kontrol hayvanının ürik asit düzeyi – test bileşiği uygulanmış hayvanın ürik asit düzeyi) x 100/kontrol hayvanının ürik asit düzeyi

2-[4-(2,2-dimetilpropoksi)-3-(1H-1,2,3,4-tetrazol-1-il)fenil]-4-metil-
10 1,3-tiyazol-5-karboksilik asidin hem 10 mg/kg hem de 1 mg/kg'lik dozlarda hipöürisemik etkisi, %50 veya daha fazla idi..

Yukarıdaki sonuçlardan, 2-[4-(2,2-dimetilpropoksi)-3-(1H-1,2,3,4-tetrazol-1-il)fenil]-4-metil-1,3-tiyazol-5-karboksilik asidin, güçlü bir hipöürisemik etkiye sahip olduğu gösterildi.

15

[Örnek 5]

Uzun süreli hipöürisemik etki (Normal Sıçanlar)

20 2-[4-(2,2-dimetilpropoksi)-3-(1H-1,2,3,4-tetrazol-1-il)fenil]-4-metil-1,3-tiyazol-5-karboksilik asit, Sprague-Dawley erkek sıçanlarına, Referans Örnek 4'tekiyle aynı şekilde uygulandı. Uygulamadan 24 saat sonra kuyruk veninden kan alındıktan sonra plazma ayrıldı. Kan içerisindeki ürik asit düzeyi, ürikaz yöntemiyle, bir absorpsiyon
25 spektrometresi ve ayrıca bir ürik asit belirleme kiti (L tipi Wako UA F: Wako Pure Chemical Industries, Ltd.) kullanılarak ölçüldü. Hipöürisemik etki yüzdesi, şu ifadeyle belirlendi:

Hiperürisemik etki yüzdesi (%)= (kontrol hayvanının ürik asit düzeyi – test bileşiği uygulanmış hayvanın ürik asit düzeyi) x 100/kontrol hayvanının ürik asit düzeyi

2-[4-(2,2-dimetilpropoksi)-3-(1H-1,2,3,4-tetrazol-1-il)fenil]-4-metil-
5 1,3-tiyazol-5-karboksilik asidin uygulamadan sonraki 24üncü saatte 10 mg/kg'lik bir dozda hipoürisemik etkisi, %50 veya daha fazla ve 3 mg/kg'lik bir dozda %40 veya daha fazla idi.

Yukarıdaki sonuçlardan, 2-[4-(2,2-dimetilpropoksi)-3-(1H-1,2,3,4-
10 tetrazol-1-il)fenil]-4-metil-1,3-tiyazol-5-karboksilik asidin, uzun bir zaman periyodu boyunca uzun süreli bir hipoürisemik etkiye sahip olduğu gösterildi.

[Referans Örnek 6]

15

Hipoürisemik etki (Hiperürisemik beagle köpekler)

Oksonik asitle indüklenmiş hiperürisemik beagle köpekte, 2-[4-(2,2-
dimetilpropoksi)-3-(1H-1,2,3,4-tetrazol-1-il)fenil]-4-metil-1,3-tiyazol-
20 5-karboksilik asidin hipoürisemik etkisi doğrulandı. %0.5'lik bir metilselüloz çözeltisi içinde süspansiyon edilmiş bir test bileşiği, beagle köpeğe (Kitayama labes), oral gavaj uygulamasıyla uygulandı. Bileşik uygulanmadan önce ve uygulandıktan 4 saat sonra subkütan yoldan potasyum oksonat (50 mg/kg) uygulandı. Uygulamadan sonraki 8inci
25 saatte sefalik venden kan alındıktan sonra plazma ayrıldı. Plazma örneği içerisindeki ürik asit düzeyi, LC-MS/MS yöntemiyle ölçüldü ve hipoürisemik etki yüzdesi, şu ifadeyle belirlendi:

Hipoürisemik etki yüzdesi (%)= (Kontrol hayvanının ürik asit düzeyi – test bileşiği uygulanmış hayvanın ürik asit düzeyi) x 100/Kontrol hayvanının ürik asit düzeyi

- 2-[4-(2,2-dimetilpropoksi)-3-(1H-1,2,3,4-tetrazol-1-il)fenil]-4-metil-
 5 1,3-tiyazol-5-karboksilik asidin uygulamadan sonraki 8inci saatte 10 mg/kg'lık bir dozda hipoürisemik etkisi, %80 veya daha fazla idi..
 Yukarıdaki sonuçlardan, mevcut buluşa ait bileşiklerin, beagle köpekte güçlü bir hipoürisemik etkiye sahip olduğu gösterildi.

10 [Referans Örnek 7]

Ksantin oksidazın doku ve plazmada uzun süreli inhibe edici etkisi.
 Bu örneğe göre mevcut buluştaki "ksantin oksidaz" için tek başına oksidaz tipi ksantin oksidoreduktazın ve hem oksidaz tipi hem de
 15 dehidrogenaz tipi ksantin oksidoreduktazın getirdiği oksidatif reaksiyon katalize edici aktiviteler ayırt edilir. İlki, "XO aktivitesi"dir ve sonraki de "XOR aktivitesidir". "Doku XO aktivitesi", "plazma XO aktivitesi", "doku XOR aktivitesi inhibisyonu", "doku XOR aktivitesi inhibisyonu" ve benzerinde "XO aktivitesi" ve "XOR aktivitesi",
 20 yukarıda tanımlananla aynı anlamlara gelir. Doku, karaciğer, böbrek ve damarı kapsar. Ek olarak aynı örnekte XO aktivitesi inhibisyonunun ve XOR aktivitesi inhibisyonunun yüzdesinin, aşağıdaki sonuçlara göre benzer olduğu düşünülür.

2-[4-(2,2- dimetilpropoksi)-3-(1H-1,2,3,4-tetrazol-1-il)fenil]-4-metil-
 25 1,3-tiyazol-5-karboksilik asidin doku XO aktivitesini, doku XOR aktivitesini ve plazma XO aktivitesini inhibe edici etkisi doğrulandı.
 %0.5'lik bir metilselüloz çözeltisi içerisinde süspanse edilmiş bir test bileşiği, 7 ila 9 haftalık Sprague-Dawley erkek sıçanlarına (Japan

Charles River Co.) bir besleme iğnesi kullanılarak oral gavaj uygulamasıyla zorla uygulandı. Uygulamadan sonraki 24 veya 27nci saatlerde abdominal ven ve dokudan kan alındı. Plazma örneği, santrifüjleme yoluyla hazırlandı.

- 5 Doku XO aktivitesi, doku XOR aktivitesi ve plazma XO aktivitesi, flöresan izoksantopterin üretmek için pterinin her bir tip ksantin oksidoreduktazla oksidize edildiği reaksiyondan faydalanılan pterin bazlı deneyle ölçüldü. Kısacası dondurulmuş dokular, 1 mM etilendiamintetraasetik asit (EDTA) ve proteaz inhibitörleri içeren
- 10 potasyum fosfat tamponu, pH 7.4 ile homojenize edilerek doku konsantrasyonu şu şekilde hazırlandı (karaciğer: 25 mg/mL, böbrek: 25 mg/mL, damar: 30 mg/mL). Sonra homojenatlar, 12,000 rpm’’de 4°C’de 15 dakika süreyle santrifüjlendi. XO aktivitesi ölçülürken doku ve plazma süpernatanı ayrı ayrı 50 µM pterin çözeltisi ile
- 15 37°C’de birlikte inkübe edildi. XOR aktivitesi ölçülürken doku homojenatının süpernatanı, 50 µM pterin ve 50µM metilen mavisi çözeltisi ile 37°C’de birlikte inkübe edildi. Bir kontrol olarak oksidaz tipi ksantin oksidoreduktaz (yayık ayranından, Calbiochem Novabiochem Corp. tarafından üretilen) da pterin çözeltisi ile aynı
- 20 şekilde inkübe edildi. Örneklerin XO aktivitesi ve XOR aktivitesi, kontrol ve protein konsantrasyonunun yoğunluk değeriyle normalize edilmiş olan flöresan yoğunluğundan belirlendi.

XO aktivitesi inhibisyonunun ve XOR aktivitesi inhibisyonunun yüzdesi, aşağıdaki ifadeyle belirlendi:

- 25
$$\text{XO veya XOR aktivitesi inhibisyonu yüzdesi (\%)} = \frac{(\text{kontrol hayvanının XO veya XOR aktivitesi} - \text{test bileşiği uygulanmış hayvanın XO veya XOR aktivitesi}) \times 100}{\text{kontrol hayvanının XO veya XOR aktivitesi}}$$

Uygulamadan sonraki 27nci saatte karaciğer ve böbrek XO aktiviteleri ve plazma XO aktivitesi, aşağıdaki tabloda gösterilmiştir.

[Tablo 1]

Doku ve plazmada XO inhibe edici aktivite (uygulamadan sonraki yaklaşık 27nci saatte disseksiyonda)		
İnhibisyon %'si (araca karşılık)		
Doz (mg/kg)	1	10
Karaciğer	≤ %80	≤ %80
Böbrek	≤ %60	≤ %70
Plazma	≤ %25	≤ %40

2-[4-(2,2-dimetilpropoksi)-3-(1H-1,2,3,4-tetrazol-1-ilfenil]-4-metil-1,3-tiyazol-5-karboksilik asit, ilaç uygulamasından 27 saat sonra karaciğerde 10 mg/kg'lik dozda kontrol hayvanına kıyasla %80 veya üzeri XO aktivitesini inhibe etti.

Mevcut bileşik, ilaç uygulamasından 27 saat sonra böbrekte 10 mg/kg'lik dozda kontrol hayvanına kıyasla %70 veya üzeri XO aktivitesini inhibe etti.

15 Mevcut bileşik, ilaç uygulamasından 27 saat sonra plazmada 10 mg/kg'lik dozda kontrol hayvanına kıyasla %40 veya üzeri XO aktivitesini inhibe etti.

Mevcut bileşik, ilaç uygulamasından 27 saat sonra karaciğerde 1 mg/kg'lik dozda kontrol hayvanına kıyasla %80 veya üzeri XOR aktivitesini inhibe etti.

20 Mevcut bileşik, ilaç uygulamasından 27 saat sonra böbrekte 1

mg/kg'lik dozda kontrol hayvanına kıyasla %60 veya üzeri XOR aktivitesini inhibe etti.

Mevcut bileşik, ilaç uygulamasından 27 saat sonra plazmada 1 mg/kg'lik dozda kontrol hayvanına kıyasla %25 veya üzeri XO

5 aktivitesini inhibe etti.

Ek olarak uygulamadan sonraki 24üncü saatte damar XOR inhibe edici aktivite de aşağıdaki tabloda gösterilmektedir.

[Tablo 2]

Dokuda XOR inhibe edici aktivite (uygulamadan sonraki 24üncü saatte disseksiyonda)		
İnhibisyon %'si (araca karşılık)		
Doz (mg/kg)	1	10
Karaciğer	≤ %80	≤ %80
Damar	≤ %30	≤ %50

2-[4-(2,2-dimetilpropoksi)-3-(1H-1,2,3,4-tetrazol-1-ilfenil]-4-metil-1,3-tiyazol-5-karboksilik asit, ilaç uygulamasından 24 saat sonra

15 karaciğerde 10 mg/kg'lik dozda kontrol hayvanına kıyasla %80 veya üzeri XOR aktivitesini inhibe etti.

Mevcut bileşik, ilaç uygulamasından 24 saat sonra damarda 10 mg/kg'lik dozda kontrol hayvanına kıyasla %50 veya üzeri XOR aktivitesini inhibe etti.

20 Mevcut bileşik, ilaç uygulamasından 24 saat sonra karaciğerde 1 mg/kg'lik dozda kontrol hayvanına kıyasla %80 veya üzeri XOR aktivitesini inhibe etti.

Mevcut bileşik, ilaç uygulamasından 24 saat sonra damarda 1 mg/kg'lık dozda kontrol hayvanına kıyasla %30 veya üzeri XOR aktivitesini inhibe etti.

5 Yukarıdaki sonuçlardan, mevcut buluşa ait bileşiğin, XO aktivitesini veya XOR aktivitesini uzun süreli inhibe edici bir etkiye sahip olduğu gösterildi.

[Endüstriyel Uygulanabilirlik]

10 Mevcut buluşa ait 2-[4-(2,2-dimetilpropoksi)-3-(1H-1,2,3,4-tetrazol-1-il)fenil]-4-metil-1,3-tiyazol-5-karboksilik asit kristalleri, bir farmasötik ajan olarak kullanılır. Ayrıca bu kristaller, bir farmasötik ajan üretiminde bir aktif farmasötik muhteviyat olarak da kullanılabilir.

15

20

25

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:

- WO 9209279 A [0007]
- JP 2002105067 A [0007]
- WO 9631211 A [0007]
- WO 2011139886 A [0007]
- WO 2011101867 A [0007]
- WO 2010018458 A [0007]
- WO 2010128163 A [0007]

10 Tarifnamede belirtilen patentleştirilmemiş literatür:

- Guideline for the management of hyperuricemia and gout. Medical Review. 2010 [0003]
- Circulation, 2006, vol. 114, 2508-2516 [0003]
- Nippon Rinsho, 2003, vol. 61 (1), 197-201 [0004]
- Method Enzymatic Analysis, 1974, vol. 1, 521-522 [0042]

ŞEKİLLERDEKİ YAZILARIN ANLAMLARI**ŞEKİL 1**

A = Lin (sayılar)

5 B = 2-Teta Ölçeđi

10

15

20

25

ŞEKİL 1

