المملكة العربية السعودية
Kingdom of Saudi Arabia

الهيئة السعودية للملكية الفكرية
Saudi Authority for Intellectual Property

براءة اختراع

إن الرئيس التنفيذي للهيئة السعودية للملكية الفكرية وبموجب أحكام نظام براءات الاختراع والتصميمات التخطيطية للدارات المتكاملة والأصناف النباتية والنماذج الصناعية الصادر بالمرسوم الملكي الكريم رقم م/27 وتاريخ 1425/05/29هـ والمعدل بقرار مجلس الوزراء رقم 536 وتاريخ 1439/10/19هـ، ولائحته التنفيذية.
يقرر منح:

بوهرينجر انجيليهم انترناشونال جي ام بي اتش
Boehringer Ingelheim International GmbH

براءة اختراع رقم: SA 7548

بتـــاريخ: 1442/06/25 هـ
الموافق: 2021/02/07 م

عن الاختراع المسمى:

حلقات سبيرو كمثبطات للكاتيبسين C
SPIROCYCLIC INHIBITORS OF CATHEPSIN C

وفق ما هو موضح في وصف الاختراع المرفق، ولمالك البراءة الحق في الانتفاع بكامل الحقوق النظامية في المملكة العربية السعودية خلال فترة سريان الحماية.

الرئيس التنفيذي

د. عبدالعزيز بن محمد السويلم

الهيئة السعودية للملكية الفكرية
Saudi Authority for Intellectual Property

[19] **الهيئة السعودية للملكية الفكرية**
[11] **رقم البراءة:** SA 7548 B1

[12] **براءة اختراع**

[45] **تاريخ المنح:** 1442/06/25 هـ
الموافـــق: 2021/02/07 م

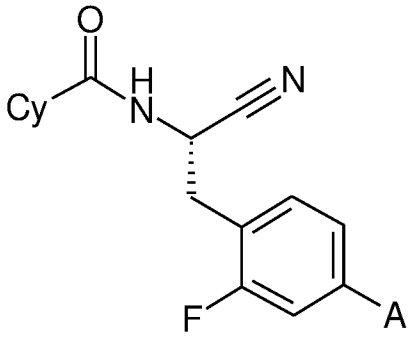
[21] رقم الطلب: 517381064
[22] تاريخ دخول المرحلة الوطنية: 1438/06/10 هـ
الموافق: 2017/03/09 م
[30] بيانات الأسبقية:
14184613.9 EP 2014/09/12 م
[72] اسم المخترع: فينتونياك فيكتور، جراويرت ماثياس، جروندل مارك، باوتش اليكسندير
[73] مالك البراءة: بوهرينجر انجيليهم انترناشونال جى ام بى اتش
عنوانه: بينجير ستراسه 173، انجيلهيم ام رهين 55216، ألمانيا
جنسيته: المانية
[74] الوكيل: شركة الهدف لخدمات العلامات المحدودة

[86] رقم الطلب الدولي: PCT/EP2015/070449
تاريخ إيداع الطلب الدولي: 2015/09/08 م
[87] رقم النشر الدولي: WO 2016/038007 A1
تاريخ النشر الدولي: 2016/03/17 م
[51] التصنيف الدولي(IPC[8]):
C07D 471/010
[56] المراجع:
WO 2013041497

الفاحص: معاذ بن محمد التركي

[54] اسم الاختراع: حلقات سبيرو كمثبطات للكاتيبسين C
SPIROCYCLIC INHIBITORS OF CATHEPSIN C

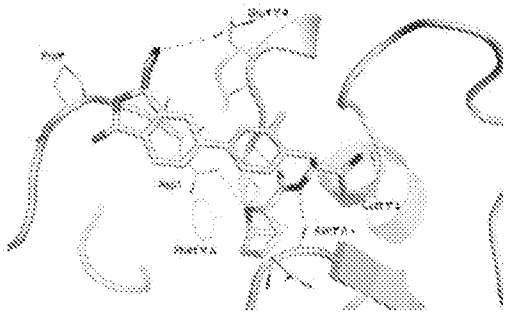
[57] الملخص: يتعلق هذا الاختراع بمركب الصيغة I



(I)

حيث A وCy يكون واحدا من المعاني كما هو مبين في المواصفات واستخداماته كمثبط للكاتيبسين Cathepsin C C، التراكيب الصيدلانية التي تحتوي على نفس طرق الاستخدام للعلاج و/أو الوقاية من الأمراض المرتبطة بنشاط ثنائي بيبتايد ببتيداز dipeptidyl peptidase I I، على سبيل المثال أمراض الجهاز التنفسي respiratory diseases. الشكل (1أ)

عدد عناصر الحماية (26)، عدد الأشكال (1)



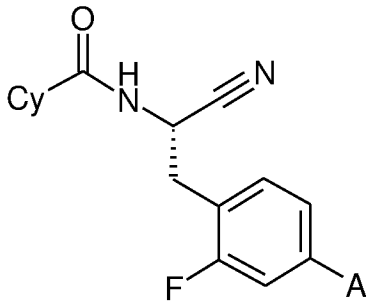
حلقات سبيرو كمثبطات للكاتيبسين C

SPIROCYCLIC INHIBITORS OF CATHEPSIN C

الوصف الكامل

خلفية الاختراع

يتعلق الاختراع الحالي بمركب له الصيغة I:



I

حيث A وCy يكون واحدا من المعاني كما هو مبين في المواصفات و استخداماته ممثبط للكاتيبسين C Cathepsin C، التراكيب الصيدلانية التي تحتوي على نفس طرق الاستخدام للعلاج و / أو الوقاية من الأمراض المرتبطة بنشاط ثنائي بيبتايد ببتيداز I dipeptidyl peptidase I (DPPI) ، على سبيل المثال أمراض الجهاز التنفسي respiratory diseases.

• البراءة الدولية رقم 2004110988 تعبر عن مثبطات النتريل ببتيديل peptidyl nitrile inhibitors مثل مثبطات ثنائي بيبتيد ببتيداز لعلاج مجموعة من الأمراض.

• البراءة الدولية رقم : 2009074829 و البراءة الدولية رقم : 2010142985 تكشف عن مثبطات ببتيديل النتريل مثل مثبطات ثنائي بيبتيد ببتيداز لعلاج الربو asthma، مرض الانسداد الرئوي المزمن chronic obstructive pulmonary disease (COPD) أو التهاب الأنف التحسسي allergic rhinitis.

• البراءة الدولية رقم : 2013041497 تعبر عن استبدال N-[1-سيانو- 2-(فينيل)-إيثيل]-2-أزا ثاني حلقي [2. 2. 1] هيبتان- 3-كربوكسي أميد N-[1-cyano-2-(phenyl)ethyl]-2-azabicyclo[2.2.1]heptane-3-carboxamides مثبطات ثنائي بيبتيد ببتيداز لعلاج أمراض الجهاز التنفسي.

الوصف العام للاختراع

ثنائي البيبتايل أمينوبتيداز I (DPPI) Dipeptidyl-aminopeptidase I أو كاتيسين C؛ lysosomal cysteine protease (EC3.4.141)، هو ليزوزومية السيستين البروتيني القادر على إزالة البيبتيد الثنائي dipeptides من الطرف الأميني amino terminus من ركائز البروتين protein substrates. اكتشف مركب ثنائي بيبتايد ببتيداز I في البداية من قبل غوتمان وفروتون في عام 1948 (J. Biol. Chem 174: 851-858, 1948). وقد وصف ال سي دنا cDNA من الإنزيم البشري في عام 1995 (Paris et al.; FEBS Lett 369: 326-330, 1995). تتم معالجة البروتين ثنائي بيبتايد ببتيداز I الى انزيم نشط عن طريق التحلل البروتيني تتألف من سلسلة ثقيلة، سلسلة خفيفة، وبيبتيد اولي والذي يبقى مرتبطة بالانزيم النشط active enzyme (Wolters et al.; J. Biol. Chem. 273: 15514-15520, 1998) . في حين أن كاثاسبينز السيستين cysteine Cathepsins البعض (مثل B، H، K، L و S) تكون أحادية، ثنائي بيبتايد ببتيداز I هو 200 كيلو دالتون رباعي الشكل مع 4 وحدات متطابقة، تتألف كل منها من 3 سلاسل ببتيد مختلفة. ويعبر عن ثنائي بيبتايد ببتيداز I الدائم النشاط في العديد من الأنسجة مع أعلى المستويات في الرئة والكلى والكبد والطحال (Kominami et al.; Biol. Chem. Hoppe Seyler 373: 367-373, 1992). وتكون منسجمة مع دورها في تفعيل سيرين بروتياز serine proteases في خلايا ذات المنشئ الدموي hematopoetic cells، كما يعبر عن ثنائي بيبتايد ببتيداز I بنسبة عالية نسبيا في النيوتروفيلات neutrophils، الخلايا اللمفاوية السامة للخلايا cytotoxic lymphocytes، الخلايا القاتلة الطبيعية natural killer cells، الخلايا الضامة السنخية alveolar macrophages والخلايا البالعة mast cells. البيانات الأخيرة من الفئران التي تعاني من نقص ثنائي بيبتايد ببتيداز I تشير إلى أن، إضافة إلى كونه انزيم مهم في تكسير البروتين الليزوزومي lysosomal protein، ثنائي بيبتايد ببتيداز I أيضا له وظائف مثل إنزيم أساسي في تفعيل السيرين بروتياز في الخلايا الليمفاوية T السامة cytotoxic T lymphocytes للخلايا والخلايا القاتلة الطبيعية (granzymes A and B; Pham et al.; Proc. Nat. Acad. Sci 96: 8627-8632, 1999)، الخلايا البالعة (chymase and tryptase; Wolter et al.; J Biol. Chem. 276: 18551-18556, 2001)، والنيوتروفيل neutrophils (Cathepsin

G, elastase and proteinase 3; Adkison et al.; J Clin. Invest. 109: 363.371, 2002). بمجرد ان تصبح نشطة، هذه البروتياز proteases قادرة على تكسير مختلف مكونات المصفوفة خارج الخلية، والتي يمكن أن تؤدي إلى تلف الأنسجة والالتهاب مزمن.

هكذا، مثبطات كاتيبسين C يحتمل أن تكون مفيدة العلاجات لعلاج الأمراض الالتهابية المعتمدة على النيوتروفيل مثل مرض الانسداد الرئوي المزمن، انتفاخ الرئة pulmonary emphysema، الربو، وتصلب الشرايين multiple sclerosis، والتليف الكيسي cystic fibrosis (Guay et al.; Curr. Topics Med. Chem. 10: 708-716, 2010; Laine and Busch-Petersen; Expert Opin. Ther. Patents 20: 497-506, 2010). التهاب المفاصل الروماتويدي Rheumatoid arthritis هو أيضا مرض التهابي مزمن آخر حيث يبدو ان ثنائي بيبتايد ببتيداز I يلعب دور فيه. يتم تجنيد النيوتروفيل إلى موقع التهاب المفاصل واخراج كاتيبسين G G Cathepsin، الإيلاستاز elastase وبروتيناز 3 proteinase 3،

البروتياز التي يعتقد أنها مسؤولة عن تدمير الغضروف cartilage المصاحب لالتهاب المفاصل الروماتويدي. في الواقع، كانت الفئران التي تعاني من نقص حاد في ثنائي بيبتايد ببتيداز I محمية ضد التهاب المفاصل الناجم عن النقل السلبي للاجسام المضادة ضد النوع الثاني من الكولاجين collagen (Adkison et al.; J Clin. Invest. 109: 363.371, 2002).

في ضوء الدور الذي تلعبه ثنائي بيبتايد ببتيداز I في تفعيل بعض محفزات التهابات السيرين بروتياز serine proteases، مشكلة الاختراع الحالي هو إعداد المركبات التي تثبط النشاط، والتي بالتالي تمنع نشاط السيرين بروتياز serine protease.

من الغريب أنه قد وجد أن مركبات حلقات سبيرو في الاختراع الحالي تمتلك

• كاتيبسين C (ثنائي بيبتايد ببتيداز I) قوية النشاط، ويفضل أن تستعرض تثبيط ثنائي بيبتايد ببتيداز I

IC50 [ميكرومولار] <0.0050، يفضل بشكل خاص <0.0030،

وعلاوة على ذلك المركبات من الاختراع الحالي تحمل القدرات التالية، والتي هي مواتية لفعاليتها الدوائية:

• النشاط الخلوي العالي، على سبيل المثال تثبيط النيوتروفيل الإيلاستاز neutrophil elastase في خط الخلية U937، ويفضل أن تستعرض وIC50 [ميكرومولار] <0.5، يفضل بشكل خاص <0.003.

• الانتقائية العالية ضد بعض الكاثيبينز Cathepsins، على سبيل المثال كاتيبسين K Cathepsin K، و

• في الخصائص الدوائية المرغوبة العامة، على سبيل المثال الاستقرار الأيضي، ويفضل أن تستعرض الاستقرار في المختبر في حضانات الكبد للإنسان لل

$t_{1/2}$ [دقيقة]> 110، يفضل بشكل خاص ≤120.

كما تم العثور على أن مركبات الاختراع الحالي تظهر تثبيط عالي من نشاط النيوتروفيل إيلاستاز في (سائل القصبات الهوائية bronchoalveolar lavage fluid (BALF)) في محلول الخليةcell lysate في نماذج الفئران.

وعلاوة على ذلك فقد وجد أن مركبات حلقة سبيروspirocyclic compounds في الاختراع الحالي يشكل جسر ملحي إضافي إلى Glu275 من كاتيبسين C الذي يؤدي إلى النشاط الأنزيمي العالي والنشاط الخلوي من هذه الفئة من المركبات. تم التحقق من هذا التفاعل إضافي للأمين-سبيرو الحلقي spiro-cyclic amine (على سبيل المثال سبيرو-ازيتيدين spiro-azetidine في المثال 11 و سبيرو-بيروليدين spiro-pyrrolidine في المثال 16) من خلال التجارب في بلورة بروتين كاتيبسين C Cathepsin C protein مع أمثلة 11 و 16. وفي كلتا الحالتين ذرة النيتروجين الأساسية basic nitrogen atom تشكل الجسر الملحي لـ Glu275.

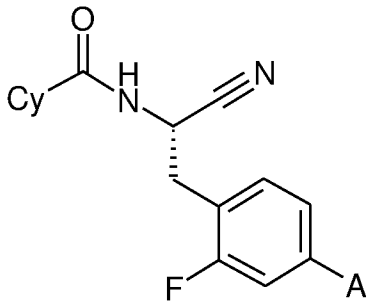
شرح مختصر للرسومات

الشكل 1: الأشكال لمجند المعقد لكابستين (أ) المثال 11؛ (ب) المثال 16. يتم تمثيل البروتين في شكل شرائط والبقايا التي تم اختيارها في شكل عصي. ويتم تمثيل الروابط في شكل عصي وروابط الهيدروجين كأسطر منقطة.

الوصف التفصيلي:

المثير للدهشة أن المشكلة المذكورة أعلاه حلها عن طريق مركبات الصيغة I من الاختراع الحالي.

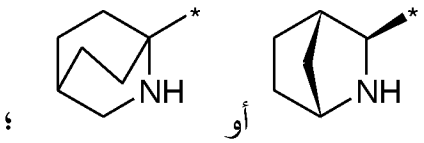
لذا يتعلق الاختراع الحالي بمركب له الصيغة I أو ملح مقبول صيدلانيا pharmaceutically acceptable salt منه،



I

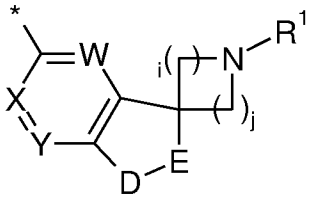
حيث

Cy تمثل



؛

A تمثل



حيث

W يتم اختيارها من المجموعة المتكونة من CH و N؛

X يتم اختيارها من المجموعة المتكونة من CH و N؛

Y يتم اختيارها من المجموعة المتكونة من CH و N؛

بشرط أن الحد الأقصى لواحد من W، X، و Y يمكن أن يكون N؛

D-E يتم اختيارها من المجموعة المتكونة من $N(R^2)$-C(O)، CH_2CH_2، C(O)-O و CH_2-O؛

R^2 يتم اختيارها من المجموعة المتكونة من H و ألكيل C_{1-3}؛

R^1 يتم اختيارها من المجموعة المتكونة من H و ألكيل C_{1-3}-alkyl C_{1-3}، $CH_3OCH_2CH_2$-، أوكسيتانيل oxetanyl، رابع هيدروفيورانيل tetrahydrofuranyl، 4-رابع هيدروبيرانيل tetrahydropyranyl-4 و 3-رابع هيدروبيرانيل 3-tetrahydropyranyl؛

i تمثل 1، 2 أو 3؛

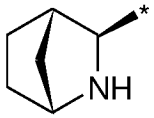
j تمثل 1، 2 أو 3؛

بشرط أن مجموع j+i عبارة عن 2، 3 أو 4.

التجسيمات المفضلة:

بوجه خاص المركبات السابقة المفضلة للصيغة I، أو ملح مقبول صيدلانيا منه، حيث

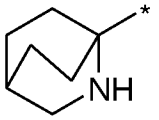
Cy عبارة عن



.

المركبات السابقة المفضلة للصيغة I، أو ملح مقبول صيدلانيا منه، حيث

Cy عبارة عن



المركبات السابقة المفضلة للصيغة I، أو ملح مقبول صيدلانيا منه، حيث

R^1 يتم اختيارها من المجموعة المتكونة من H، CH_3-، وأوكسيتانيل oxetanyl؛

المركبات السابقة المفضلة للصيغة I، أو ملح مقبول صيدلانيا منه، حيث

R^2 يتم اختيارها من المجموعة المتكونة من H و CH_3؛

المركبات السابقة المفضلة للصيغة I، أو ملح مقبول صيدلانيا منه، حيث

R^2 تمثل H.

المركبات السابقة المفضلة للصيغة I، أو ملح مقبول صيدلانيا منه، حيث

R^2 تمثل CH_3.

المركبات السابقة المفضلة للصيغة I، أو ملح مقبول صيدلانيا منه، حيث

D-E تمثل CH_2-O

المركبات السابقة المفضلة للصيغة I، أو ملح مقبول صيدلانيا منه، حيث

R^1 يتم اختيارها من المجموعة المتكونة من H، -CH_3، وأوكسيتانيل؛

R^2 تمثل CH_3

W يتم اختيارها من المجموعة المتكونة من CH و N؛

X يتم اختيارها من المجموعة المتكونة من CH و N؛

Y يتم اختيارها من المجموعة المتكونة من CH؛

بشرط أن الحد الأقصى لواحد من W، X، و Y يمكن أن يكون N؛

D-E يتم اختيارها من المجموعة المتكونة من $N(R^2)$-C(O)، CH_2CH_2، C(O)-O و CH_2-O؛

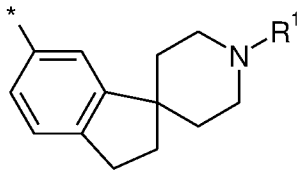
i تمثل 1، 2 أو 3؛

j تمثل 1، 2 أو 3؛

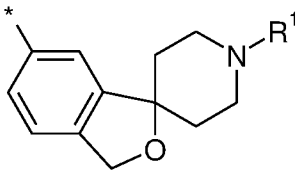
بشرط أن مجموع j+i عبارة عن 2، 3 أو 4.

المركبات السابقة المفضلة للصيغة I، أو ملح مقبول صيدلانيا منه، حيث

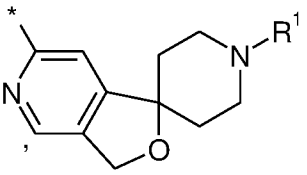
A يتم اختيارها من المجموعة المتكونة من A1 إلى A14؛



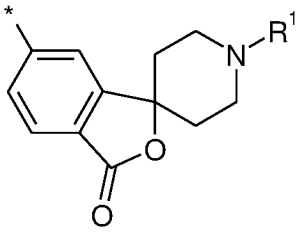
A1



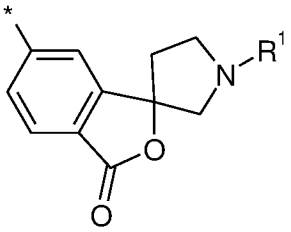
A2



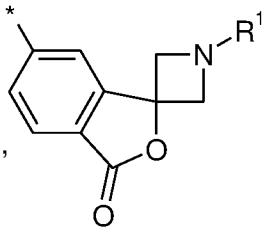
A3



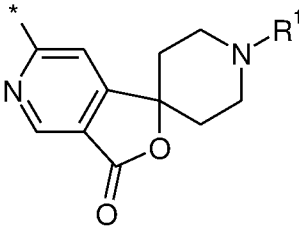
A4



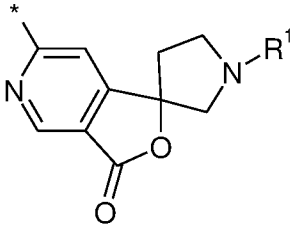
A5



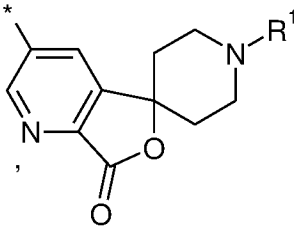
A6



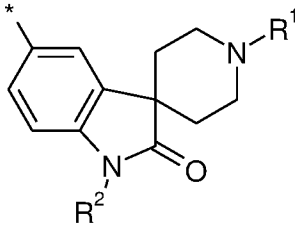
A7



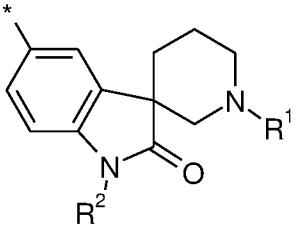
A8



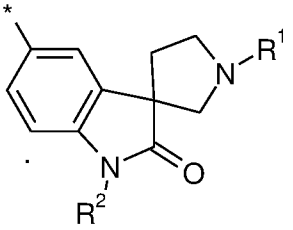
A9



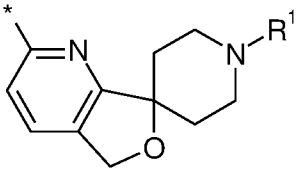
A10



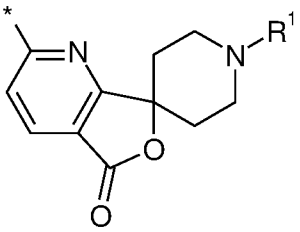
A11



A12



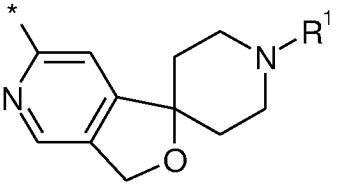
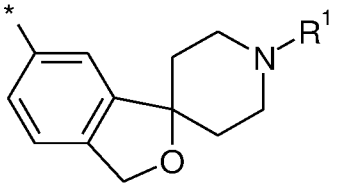
A13



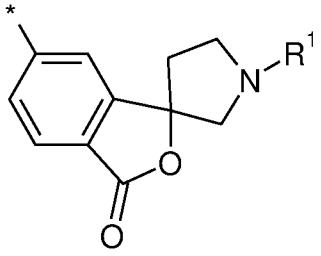
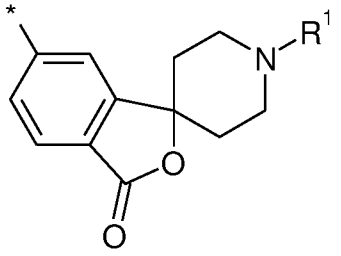
A14

المركبات السابقة المفضلة للصيغة I، أو ملح مقبول صيدلانيا منه، حيث

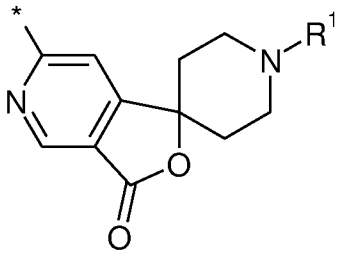
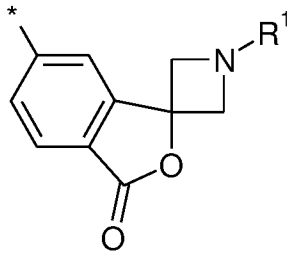
A يتم اختيارها من المجموعة المتكونة من A2، A3، A4، A5، A6، A7، A10، A13 و A14.

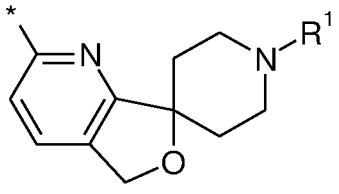
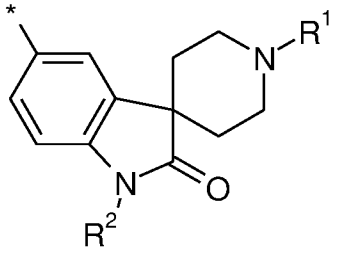
، A2، A3

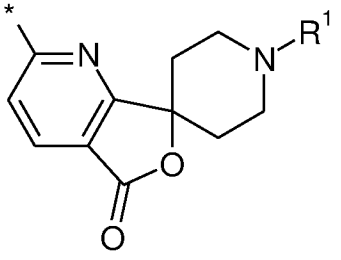
A4، A5

، A6، A7

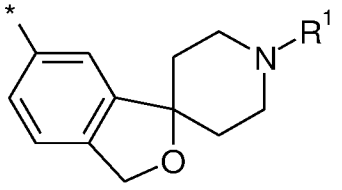
، A10، A13



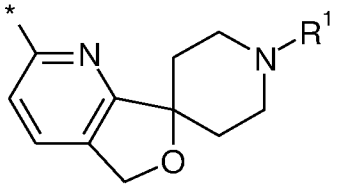
.A14

المركبات السابقة المفضلة للصيغة I، أو ملح مقبول صيدلانيا منه، حيث

A يتم اختيارها من المجموعة المتكونة من A2 و A13



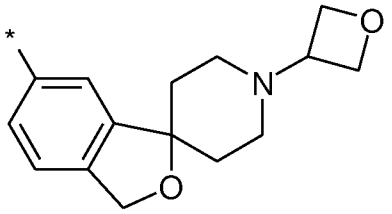
A2،



A13

المركبات السابقة المفضلة للصيغة I، أو ملح مقبول صيدلانيا منه، حيث

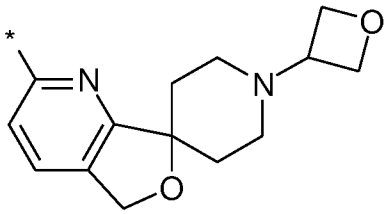
A تمثل مجموعة لها الصيغة A2.1



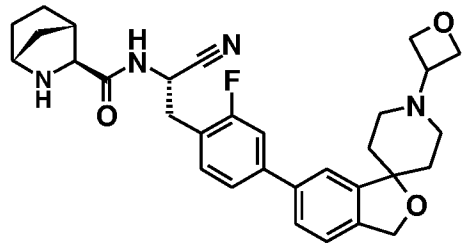
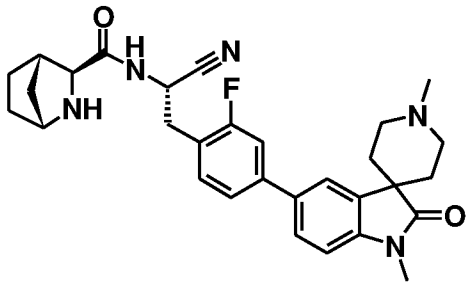
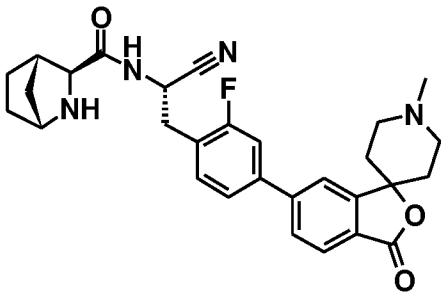
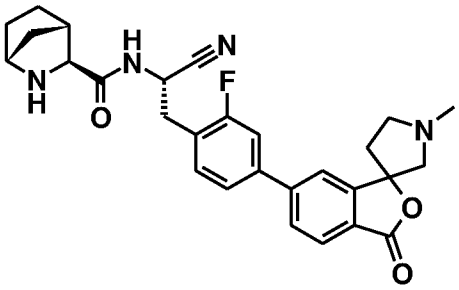
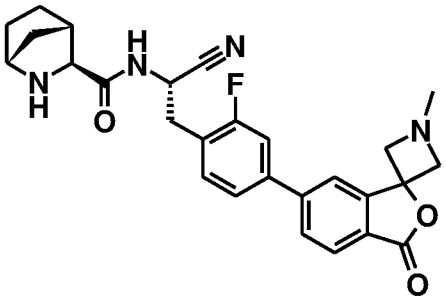
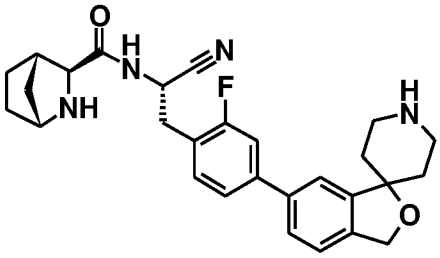
A2.1

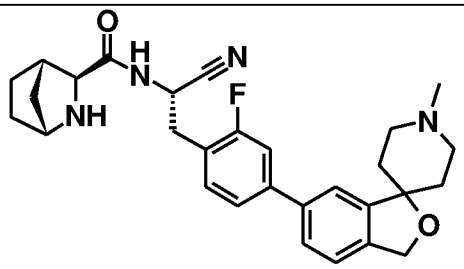
المركبات السابقة المفضلة للصيغة I، أو ملح مقبول صيدلانيا منه، حيث

A تمثل مجموعة لها الصيغة A13.1.

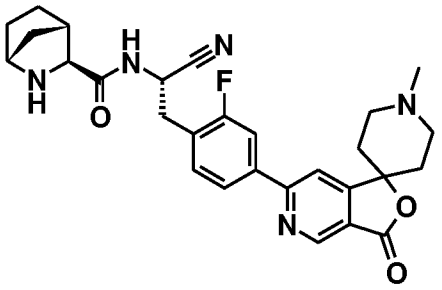


المركبات السابقة المفضلة للصيغة I، يتم اختيارها من المجموعة المتكونة من أمثلة 1، 5، 8، 10، 12، 13، 14، 19، 22، 23، 24، 25 و 27.

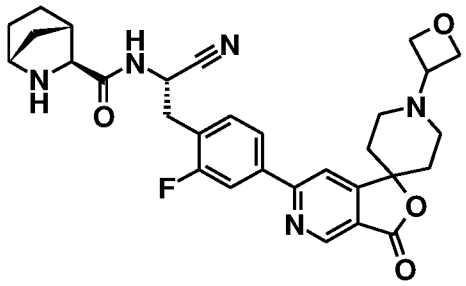
 المثال 1	 المثال 5
 المثال 8	 المثال 10
 المثال 12	 المثال 13



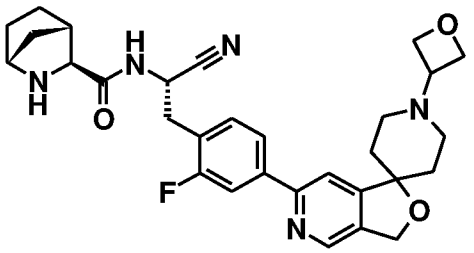
المثال 14



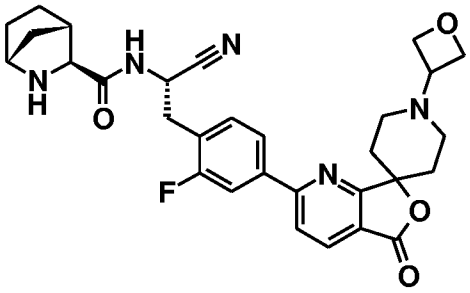
المثال 19



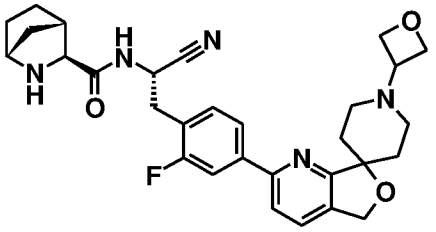
المثال 22



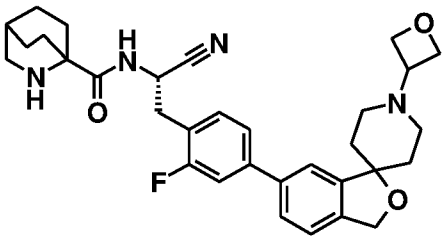
المثال 23



المثال 24



المثال 25



المثال 27

المركبات السابقة المفضلة للصيغة I، أو ملح مقبول صيدلانيا منه، حيث

R^1 يتم اختيارها من المجموعة المتكونة من H و $-CH_3$.

المركبات السابقة المفضلة للصيغة I، أو ملح مقبول صيدلانيا منه، حيث

R^1 تمثل أوكسيتانيل.

المركبات السابقة المفضلة للصيغة I، أو ملح مقبول صيدلانيا منه، حيث

R^1 يتم اختيارها من المجموعة المتكونة من H، $-CH_3$، وأوكسيتانيل؛

R^2 يتم اختيارها من المجموعة المتكونة من H و $-CH_3$.

المركبات السابقة المفضلة للصيغة I، أو ملح مقبول صيدلانيا منه، حيث

R^1 يتم اختيارها من المجموعة المتكونة من H و $-CH_3$ ؛

R^2 يتم اختيارها من المجموعة المتكونة من H و $-CH_3$.

المركبات السابقة المفضلة للصيغة I، أو ملح مقبول صيدلانيا منه، حيث

D-E يتم اختيارها من المجموعة المتكونة من CH_2-O، C(O)-O و $N(R^2)$-C(O).

بوجه خاص المركبات السابقة المفضلة للصيغة I، أو ملح مقبول صيدلانيا منه، حيث

D-E يتم اختيارها من المجموعة المتكونة من CH_2-O و C(O)-O.

بوجه خاص المركبات السابقة المفضلة للصيغة I، أو ملح مقبول صيدلانيا منه، حيث

R^1 يتم اختيارها من المجموعة المتكونة من H، $-CH_3$، وأوكسيتانيل؛

R^2 يتم اختيارها من المجموعة المتكونة من H و $-CH_3$.

D-E يتم اختيارها من المجموعة المتكونة من CH_2-O، C(O)-O و $N(R^2)$-C(O).

بوجه خاص المركبات السابقة المفضلة للصيغة I، أو ملح مقبول صيدلانيا منه، حيث

R^1 يتم اختيارها من المجموعة المتكونة من H، $-CH_3$، وأوكسيتانيل؛

R^2 يتم اختيارها من المجموعة المتكونة من H و $-CH_3$.

D-E يتم اختيارها من المجموعة المتكونة من CH_2-O و C(O)-O.

بوجه خاص المركبات السابقة المفضلة للصيغة I، أو ملح مقبول صيدلانيا منه، حيث

R^1 يتم اختيارها من المجموعة المتكونة من H، $-CH_3$، وأوكسيتانيل؛

D-E يتم اختيارها من المجموعة المتكونة من CH_2-O و C(O)-O.

بوجه خاص المركبات السابقة المفضلة للصيغة I، أو ملح مقبول صيدلانيا منه، حيث

R^1 يتم اختيارها من المجموعة المتكونة من أوكسيتانيل؛

D-E يتم اختيارها من المجموعة المتكونة من CH_2-O و C(O)-O.

بوجه خاص المركبات السابقة المفضلة للصيغة I، أو ملح مقبول صيدلانيا منه، حيث

W عبارة عن CH؛

X عبارة عن CH؛

Y عبارة عن CH.

بوجه خاص المركبات السابقة المفضلة للصيغة I، أو ملح مقبول صيدلانيا منه، حيث

W عبارة عن CH؛

X عبارة عن CH؛

Y عبارة عن CH.

المركبات السابقة المفضلة للصيغة I، أو ملح مقبول صيدلانيا منه، حيث

W عبارة عن CH؛

X عبارة عن N؛

Y عبارة عن CH.

المركبات السابقة المفضلة للصيغة I، أو ملح مقبول صيدلانيا منه، حيث

W عبارة عن N؛

X عبارة عن CH؛

Y عبارة عن CH.

المركبات السابقة المفضلة للصيغة I، أو ملح مقبول صيدلانيا منه، حيث

W عبارة عن CH؛

X عبارة عن CH؛

Y عبارة عن N.

المركبات السابقة المفضلة للصيغة I، أو ملح مقبول صيدلانيا منه، حيث

R^1 يتم اختيارها من المجموعة المتكونة من H، -CH_3، وأوكسيتانيل؛

R^2 يتم اختيارها من المجموعة المتكونة من H و -CH_3.

D-E يتم اختيارها من المجموعة المتكونة من CH_2-O، C(O)-O و $N(R^2)$-C(O).

W عبارة عن CH؛

X عبارة عن CH؛

Y عبارة عن CH.

المركبات السابقة المفضلة للصيغة I، أو ملح مقبول صيدلانيا منه، حيث

R^1 يتم اختيارها من المجموعة المتكونة من H، -CH_3، وأوكسيتانيل؛

D-E يتم اختيارها من المجموعة المتكونة من -CH_2-O و -C(O)-O.

W عبارة عن CH؛

X عبارة عن CH؛

Y عبارة عن CH.

المركبات السابقة المفضلة للصيغة I، أو ملح مقبول صيدلانيا منه، حيث

R^1 يتم اختيارها من المجموعة المتكونة من H، -CH_3، وأوكسيتانيل؛

R^2 يتم اختيارها من المجموعة المتكونة من H و -CH_3.

D-E يتم اختيارها من المجموعة المتكونة من -CH_2-O و -C(O)-O.

W عبارة عن N؛

X عبارة عن CH؛

Y عبارة عن CH.

المركبات السابقة المفضلة للصيغة I، أو ملح مقبول صيدلانيا منه، حيث

R^1 يتم اختيارها من المجموعة المتكونة من H، -CH_3، وأوكسيتانيل؛

D-E يتم اختيارها من المجموعة المتكونة من -CH_2-O و -C(O)-O.

W عبارة عن N؛

X عبارة عن CH؛

Y عبارة عن CH.

المركبات السابقة المفضلة للصيغة I، أو ملح مقبول صيدلانيا منه، حيث

R^1 يتم اختيارها من المجموعة المتكونة من H، -CH_3، وأوكسيتانيل؛

R^2 يتم اختيارها من المجموعة المتكونة من H و -CH_3.

D-E يتم اختيارها من المجموعة المتكونة من -CH_2-O و -C(O)-O.

W عبارة عن CH؛

X عبارة عن N؛

Y عبارة عن CH.

المركبات السابقة المفضلة للصيغة I، أو ملح مقبول صيدلانيا منه، حيث

R^1 يتم اختيارها من المجموعة المتكونة من H، -CH_3، وأوكسيتانيل؛

D-E يتم اختيارها من المجموعة المتكونة من CH_2-O و C(O)-O.

W عبارة عن CH؛

X عبارة عن N؛

Y عبارة عن CH.

المركبات السابقة المفضلة للصيغة I، أو ملح مقبول صيدلانيا منه، حيث

R^1 يتم اختيارها من المجموعة المتكونة من H، -CH_3، وأوكسيتانيل؛

R^2 يتم اختيارها من المجموعة المتكونة من H و -CH_3.

D-E يتم اختيارها من المجموعة المتكونة من CH_2-O و C(O)-O.

W عبارة عن CH؛

X عبارة عن CH؛

Y عبارة عن N.

المركبات السابقة المفضلة للصيغة I، أو ملح مقبول صيدلانيا منه، حيث

R^1 يتم اختيارها من المجموعة المتكونة من H، -CH_3، وأوكسيتانيل؛

D-E يتم اختيارها من المجموعة المتكونة من CH_2-O و C(O)-O.

W عبارة عن CH؛

X عبارة عن CH ؛

Y عبارة عن N.

وبوجه خاص المركبات السابقة المفضلة للصيغة I، أو ملح مقبول صيدلانيا منه، حيث

A يتم اختيارها من المجموعة المتكونة من A2، A3، A4، A5، A6، A7، A8، A9، A10، A11، A12، A13 و A14.

وبوجه خاص المركبات السابقة المفضلة للصيغة I، أو ملح مقبول صيدلانيا منه، حيث A يتم اختيارها من المجموعة المتكونة من A1، A2، A3، A4، A6، A7، A9، A10، A13 و A14.

وبوجه خاص المركبات السابقة المفضلة للصيغة I، أو ملح مقبول صيدلانيا منه، حيث A يتم اختيارها من المجموعة المتكونة من A4، A5، A6، A7، A8، A9 و A14.

وبوجه خاص المركبات السابقة المفضلة للصيغة I، أو ملح مقبول صيدلانيا منه، حيث A يتم اختيارها من المجموعة المتكونة من A10، A11، و A12.

وبوجه خاص المركبات السابقة المفضلة للصيغة I، أو ملح مقبول صيدلانيا منه، حيث A يتم اختيارها من المجموعة المتكونة من A2، A3، A9، A13 و A14.

وبوجه خاص المركبات السابقة المفضلة للصيغة I، أو ملح مقبول صيدلانيا منه، حيث A يتم اختيارها من المجموعة المتكونة من A2، A3، و A13.

وبوجه خاص المركبات السابقة المفضلة للصيغة I، أو ملح مقبول صيدلانيا منه، حيث A عبارة عن A2.

وبوجه خاص المركبات السابقة المفضلة للصيغة I، أو ملح مقبول صيدلانيا منه، حيث A عبارة عن A13.

المركبات السابقة المفضلة للصيغة I، أو ملح مقبول صيدلانيا منه، حيث i تمثل 2 و j تمثل 1.

المركبات السابقة المفضلة للصيغة I، أو ملح مقبول صيدلانيا منه، حيث i تمثل 1 و j تمثل 1.

المركبات السابقة المفضلة للصيغة I، أو ملح مقبول صيدلانيا منه، حيث i تمثل 2 و j تمثل 2.

المركبات السابقة المفضلة للصيغة I، يتم اختيارها من المجموعة المتكونة من أمثلة 1، 3، 4، 5، 6، 7، 8، 10، 12، 13، 14، 16، 17، 18، 19، 20، 22، 23، 24، 25، 26 و 27.

أي من وكل من تعاريف من R^1، R^2، Cy، A، D، E، W، Y، i و j يمكن أن تتحد مع بعضها البعض.

تجسيم آخر للاختراع الحالي هو مركب له الصيغة I أو ملح مقبول صيدلانيا منه، للاستخدام كدواء.

التجسيم التالي للاختراع الحالي هو مركب الصيغة I أو ملح مقبول صيدلانيا منه للاستخدام كأدوية لعلاج الربو وأمراض الحساسية allergic diseases، والأمراض الالتهابية في الجهاز الهضمي gastrointestinal inflammatory diseases، والتهاب الكلى glomerulonephritis، وأمراض الأيوزينية eosinophilic diseases، مرض الانسداد الرئوي المزمن chronic obstructive pulmonary disease، والعدوى المنقولة عن طريق العدوى بالميكروبات microbes والتهاب المفاصل الروماتويدي، وأمراض النيوتروفيل neutrophilic diseases، والتليف الكيسي cystic fibrosis (CF)، والتليف غير الكيسي non-cystic fibrosis، التليف الرئوي مجهول السبب idiopathic pulmonary fibrosis، القصبات bronchiectasis، التهاب الأوعية الدموية vasculitis أنكا ANCA وسرطان الرئة lung cancer وانتفاخ الرئة والتهاب القصبات المزمن chronic bronchitis، إصابات الرئة الحادة acute lung injury (ALI)، ومتلازمة الضائقة التنفسية الحادة acute respiratory distress syndrome (ARDS)، ارتفاع ضغط الدم الرئوي pulmonary hypertension، وارتفاع ضغط الدم الشرياني الرئوي pulmonary arterial hypertension ونقص ألفا-1-انتيتريبسين Alpha-1-antitrypsin deficiency (AATD)، والالتهابات ذات الصلة بالسمنة، والسكري diabetes المقاوم للانسولين insulin resistence والكبد الدهني fatty liver وتشحم الكبد liver steatosis.

المفضل هو مركب الصيغة I أو ملح مقبول صيدلانيا منه للاستخدام كأدوية لعلاج الربو وأمراض الحساسية، والأمراض الالتهابية الجهاز الهضمي، وأمراض الأيوزينية ، مرض الانسداد الرئوي المزمن وانتفاخ الرئة، والعدوى بالميكروبات المسببة للأمراض، والتهاب المفاصل الروماتويدي وتصلب الشرايين atherosclerosis.

يفضل بشكل خاص هو مركب الصيغة I أو ملح مقبول صيدلانيا منه للاستخدام كأدوية لعلاج مرض الانسداد الرئوي المزمن وانتفاخ الرئة.

تجسيم آخر للاختراع الحالي هو تكوين صيدلي، يتميز في أنها تحتوي على واحد أو أكثر من المركبات من الصيغة أو صيدليا الملح النشط منه.

تجسيم آخر للاختراع الحالي هي طريقة للعلاج أو الوقاية من الأمراض التي تتعلق بمثبطات نشاط ثنائي بيبتايد ببتيداز I ولها فوائد علاجية، والتي تضم تناول كمية علاجية فعالة أو وقائية من مركبات الصيغة 1 لمريض في حاجة لها.

تجسيم آخر للاختراع الحالي هو تكوين صيدلي يضم بالإضافة إلى مركب الصيغة I، وهو المركب النشط صيدليا الذي تم اختياره من مجموعة تتألف من بيتا اميميتكس betamimetics، الكولين، الكورتكودز corticosteroids، مثبطات PDE4، مضادات LTD4، مثبطات إي جي أف آر EGFR، مثبطات CRTH2، LO 5 مثبطات، مضادات مستقبلات الهستامين Histamine receptor antagonists، مضادات CCR9 ومثبطات أس واي كيه SYK، مثبطات أن إي NE، مثبطات MMP9 ومثبطات MMP12، و أيضا مجموعات من اثنين أو ثلاثة من المواد الفعالة.

المصطلحات المستخدمة والتعاريف

ينبغي ذكر المصطلحات غير المعرفة هنا على وجه التحديد المعاني التي من شأنها أن تعطى من قبل واحد من ذوي المهارة في هذا المجال وفي ضوء الكشف عن السياق. كما تستخدم في المواصفات، ومع ذلك، ما لم ينص على خلاف ذلك، على النحو التالي وأشارت إلى معنى تطبيق الاتفاقيات التالية:

في المجموعات، والشقات، أو الشقوق الموضحة أدناه، غالبا ما يتم تحديد عدد من ذرات الكربون التي تسبق المجموعة، على سبيل المثال، C_{1-6} ألكيل C_{1-6}-alkyl يعني مجموعة ألكيل أو شق له 1-6 ذرات الكربون carbon atoms.

بشكل عام في مجموعة واحدة مثل HO، H_2N، (O) S، $S(O)_2$، NC (سيانو)، HOOC، F_3C أو ما شابه ذلك، والحرفيين المهرة يمكن أن نرى نقطة الاتصال بالجزيء خالية من التكافؤ المجموعة نفسها. للمجموعات المتحدة التي تضم اثنين أو أكثر من مجموعات فرعية، الاسم الأخير المجموعة الفرعية هي نقطة الاتصال الشقية، على سبيل

المثال، المستبدلة "أريل C_{1-4} ألكيل aryl-C_{1-4}-alkyl" تعني مجموعة الأريل aryl الذي لا بد أن تكون متصلة بمجموعة ألكيل C_{1-4} C_{1-4}-alkyl، وهذه الأخيرة التي لا بد ان تكون متصلة بقلب المجموعة التي يتم إرفاق المستبدلة بها.

في حالة وصف المركب من الاختراع الحالي في شكل الاسم الكيميائي وكصيغة وفي حال وجود أي تناقض يجب للصيغة تسود. ويمكن استخدام علامة النجمة في الصيغ الفرعية للدلالة على الرابطة التي يتم توصيلها إلى الجزيء الأساسي على النحو المحدد.

كثير من المصطلحات التالية يمكن استخدامها مرارا وتكرارا في تعريف صيغة أو مجموعة وفي كل حالة يكون فيها واحدا من المعاني المبينة أعلاه، بشكل مستقل عن بعضها البعض.

مصطلح "استبدال" كما هو مستخدم هنا، يعني أن أي ذرة هيدروجين hydrogens واحدة أو أكثر على ذرة معينة يتم استبدالها مع مجموعة مختارة من المجموعات المشار إليها، شرط أن يكون التكافؤ في ذرة معينة لا يتجاوز نتائج الاستبدال في مركب مستقر.

التعبيرات "الوقاية"، "علاج وقائي" أو "العلاج الوقائي" المستخدمة هنا ينبغي أن يفهم مرادفها وبمعنى أن الخطر الذي وضع الحالة السابق ذكرها انخفض، وخاصة في المريض بعد أن رفع الخطر في الظروف المذكورة أو سوابق المريض المقابلة، على سبيل المثال مخاطر الاصابة باضطراب التمثيل الغذائي مثل مرض السكري أو السمنة أو اضطراب آخر مذكور هنا. وبالتالي فإن تعبير "الوقاية من مرض" كما تستخدم هنا تعني إدارة ورعاية الفرد العرضة لخطر الإصابة بالمرض قبل ظهور الاعراض السريرية للمرض. والغرض من الوقاية هو مكافحة تطور المرض، الحالة أو الاضطراب، وتشمل تناول المركبات النشطة لمنع أو تأخير ظهور أعراض أو مضاعفات، ومنع أو تأخير تطور الأمراض ذات الصلة، والحالات أو الاضطرابات. نجاح العلاج الوقائي إحصائيا من خلال خفض معدل حدوث الحالة ضمن مجموعة من المرضى في خطر الاصابة بهذه الحالة في مقارنة بالمريض دون العلاج الوقائي.

تعبير "العلاج" يعني العلاج للمرضى بعد أن سبق تعرضهم لواحدة أو أكثر من الحالات المذكورة بشكل واضح، حاد أو مزمن، بما في ذلك علاج الأعراض من أجل تخفيف أعراض إشارة محددة أو علاج السبب من أجل عكس الحالة جزئيا أو تأخير تطور دلالة

المرض بقدر الامكان، تبعا لحالة وحدة منها. وهكذا فان التعبير "علاج مرض" المستخدم هنا تعني إدارة ورعاية للمريض بعد أن تعرضه لهذا المرض، الحالة أو الاضطراب. والغرض من العلاج هو لمكافحة المرض، الحالة أو الاضطراب. ويشمل العلاج تناول المركبات النشطة للقضاء أو السيطرة على المرض، الحالة أو الاضطراب وكذلك للتخفيف من الأعراض أو المضاعفات المرتبطة بهذا المرض، الحالة أو الاضطراب.

ما لم يذكر على وجه التحديد، في جميع المواصفات وعناصر الحماية الملحقة، الصيغة الكيميائية او الاسم الشخصي يجب أن يشمل الاشكال الصنوية وجميع الاشكال الفراغية، الأيسومرات البصرية والهندسية (مثل المقابلات الضوئية enantiomers، الدايستومارات diastereomers، أيزومرات Z / E الخ ...) والراسيمات racemates منها وكذلك مخاليطها بنسب مختلفة من المقابلات الضوئية، خليط من الدايستومارات، أو خليط من أي من الأشكال السابقة التي توجد فيها مثل هذه الايزومرات والمقابلات الضوئية، وكذلك أملاحها، بما في ذلك الأملاح المقبول صيدليا والمنذابات منها مثل الهيدرات hydrates المنذابات من المركبات الحرة أو المنذابات من الملح للمركب.

تستخدم عبارة "مقبول صيدليا" هنا للإشارة إلى تلك المركبات، وأشكال المواد والتراكيب، و / أو الجرعة التي هي، في نطاق الحكم الطبي السليم، ومناسبة للاستخدام في الاتصال مع الأنسجة البشرية والحيوانية دون إفراط سمية، تهيج، استجابة للحساسية، أو مشكلة أو مضاعفات أخرى، وبما يتناسب مع نسبة فائدة / المخاطر المعقولة.

كما هو مستخدم هنا، " الأملاح المقبولة صيدليا " تشير إلى أن مشتقات المركبات المكشوف عنها حيث يتم تعديل المركب الأصلي بجعل حمض أو قاعدة أملاحها. أمثلة من الأملاح المقبولة صيدليا تشمل، ولكنها لا تقتصر على، الأملاح المعدنية أو حمض عضوي من البقايا الأساسية مثل الأمينات amines. الأملاح القلوية أو العضوية من البقايا الحمضية مثل الأحماض الكربوكسيلية carboxylic acids. وما شابه ذلك. على سبيل المثال، تشمل هذه الأملاح أملاح الأمونيا ammonia، L-أرجينين L-arginine، البيتين betaine، بينيثامين benethamine، بنزاثين benzathine، هيدروكسيد الكالسيوم calcium hydroxide، الكولين choline، ديانول deanol، ثنائي ايثانول أمين (2، 2 'امينوبيس (الإيثانول)) (2, 2'-iminobis(ethanol))، diethanolamine، ثنائي إيثيل امين

diethylamine، 2 (ثنائي ايثيل الامين) الإيثانول 2-(diethylamino)-ethanol، 2 امينو ايثانول 2-aminoethanol، الإيثيلين ، N إيثيل جلوكامين N-ethyl-glucamine، الهيدرابامين hydrabamine، إميدازول 1H-imidazole H1، ليسين lysine، وهيدروكسيد المغنيسيوم magnesium hydroxide، 4 (2 هيدروكسي إيثيل) المورفالين 4-(2-hydroxyethyl)-morpholine، بيبيرازين piperazine، هيدروكسيد البوتاسيوم potassium hydroxide (1)، (2 هيدروكسي إيثيل) بيروليدين 1-(2-hydroxyethyl)-pyrrolidine، هيدروكسيد الصوديوم sodium hydroxide، ثلاثي إيثانول أمين (2، 2، 2 "نايترايلوتريس (الإيثانول)) triethanolamine (2, 2', 2"-nitrilotris(ethanol))، تروميثامين tromethamine، هيدروكسيد الزنك zinc hydroxide، حمض الخليك acetic acid، 2.2 حمض الخليك كلورو 2.2-dichloro-acetic acid حمض الأديبيك adipic acid وحمض الألجنيك alginic acid، حمض الأسكوربيك L ascorbic acid، حمض الأسبارتيك L-aspartic acid وحمض البينزو سالفونيك benzenesulfonic acid، حمض البنزويك benzoic acid، 2، 5 ثنائي هيدروكسي حمض البينزويك 2, 5-dihydroxybenzoic acid، 4اسيتاميد حمض البنزويك 4-acetamido-benzoic acid، (+) حمض كافوري (+) camphoric acid كافور 10 حمض السلفونيك camphor-10-sulfonic acid، وحامض الكربونيك carbonic acid، وحامض السينامك cinnamic acid وحمض الستريك citric acid وحمض سايكلاميك cyclamic acid، حمض ديكانويك decanoic acid، حمض دوديسايل سالفوريك dodecylsulfuric acid والإيثان 1، 2 حامض دسلفنك ethane-1, 2-disulfonic acid، حمض ايثان سالفونيك ethanesulfonic acid، 2 حامض ايثان سالفونيك هيدروكسي 2-hydroxy-ethanesulfonic acid، ثنائي أمين الإيثيلين رباعي حمض الخليك ethylenediaminetetraacetic acid وحمض الفورميك formic acid، حامض الفيوماريك fumaric acid وحمض جالاكتارك galactaric acid، حمض جينتيسيك gentisic acid، حمض جلوكوهيباتونيك D-glucoheptonic acid، حمض الغلوكونيك D-gluconic acid، حمض الغلوكورونيك D-glucuronic acid، وحامض الجلوتاميك glutamic acid، حمض الغلوتاريك glutaric acid، 2 أوكسو حمض

الغلوتاريك acid 2-oxo-glutaric، حمض الغليسروفسفوريك glycerophosphoric acid، الجلايسين glycine وحمض الجليكوليك glycolic acid، حمض هيكسانويك hexanoic acid، حمض هبيوريك hippuric acid، حمض هيدروبروميك hydrobromic acid، حمض الهيدروكلوريك hydrochloric acid، حمض ايزوبيوتيرك isobutyric acid، حمض اللبنيك، وحامض لاكتوبايونيك lactobionic acid، حمض اللوريك lauric acid، ليسين lysine، حمض الماليك maleic acid، حمض الماليك malic acid وحمض المالونيك malonic acid، حمض المندليك mandelic acid، حمض ميثان سالفونيك methanesulfonic acid، حمض جالاكتاريك galactaric acid، النفثالين 1، 5 حمض دسلفنك naphthalene-1, 5-disulfonic acid، النفثالين حمض السلفونيك naphthalene-2-sulfonic acid، 1 هيدروكسي حامض نافثويك 1-hydroxy-2-naphthoic acid، حمض النيكوتينيك nicotinic acid، وحمض النتريك nitric acid، وحمض الأوكتانويك octanoic acid، حمض الأوليك oleic acid، وحامض الأوروتيك orotic acid، حمض الأكساليك oxalic acid، حمض البالمتيك palmitic acid وحمض باموبك pamoic acid (حمض ايمبونيك embonic acid)، وحمض الفوسفوريك phosphoric acid، وحمض البروبيونيك propionic acid، حمض البيروغلوتاميك pyroglutamic acid، حمض الصفصاف salicylic acid، حمض الصفصاف الأمينية amino-salicylic acid، وحامض صبسك sebacic acid، الحامض الدهني، حمض السكسينيك succinic acid، وحامض الكبريتيك sulfuric acid، وحمض التانيك tannic acid، (+) حمض الطرطريك L-tartaric acid L، حمض ثايوسيانيك thiocyanic acid، حمض تولي سالفونيك toluenesulfonic acid وحمض انديسايلينيك undecylenic acid.

وعلاوة على ذلك الأملاح المقبولة صيدليا يمكن تشكيلها مع الكاتيونات من المعادن مثل الألومنيوم aluminium والكالسيوم calcium والليثيوم lithium، والمغنيسيوم magnesium والبوتاسيوم potassium والصوديوم sodium والزنك zinc وغيرها (also see Pharmaceutical salts, Berge, S.M. et al., J. Pharm. Sci., (1977), 66, 1-19).

الأملاح المقبولة صيدليا من الاختراع الحالي يمكن تصنيعها من المركب الأصلي الذي يحتوي على الشق القاعدي أو الحمضي بالطرق الكيميائية التقليدية. عموما، يمكن

تحضير هذه الأملاح عن طريق تفاعل حمض أو قاعدة من هذه المركبات مع كمية كافية من القاعدة أو الحمض المناسب في الماء أو في مخفف عضوي organic diluent مثل الأثير ether، وخلات الإيثيل ethyl acetate، والإيثانول ethanol، الأيزوبروبانول isopropanol، أو أسيتونتريل acetonitrile، أو خليط منها.

تشمل الأملاح والأحماض غير تلك المذكورة أعلاه والتي تكون مفيدة على سبيل المثال لتنقية أو عزل المركبات من الاختراع الحالي (على سبيل المثال ثلاثي فلورو أملاح الخلات trifluoro acetate salts،) أيضا جزءا من الاختراع.

الهالوجين halogen مصطلح يدل عموما الفلور fluorine والكلور chlorine والبروم bromine واليود iodine.

مصطلح "C_{1-n}-alkyl ألكيل $_{n-1}$C"، حيث n عدد صحيح مختارة من 2، 3، 4، 5 أو 6، سواء أكان ذلك منفردا أو بالاشتراك مع شق آخر يعطي اسيكليك acyclic، المشبعة، المتفرعة أو الشقات الخطية الهيدروكربونية من 1 الى n ذرة كاربون على سبيل المثال $_{5-1}$C ألكيل C_{1-5}-alkyl تضم الشقات

H3C-, H3C-CH2-, H3C-CH2-CH2-, H3C-CH(CH3)-, H3C-CH2-CH2-CH2-, H3C-CH2-CH(CH3)-, H3C-CH(CH3)-CH2-, H3C-C(CH3)2-, H3C-CH2-CH2-CH2-CH2-, H3C-CH2-CH2-CH(CH3)-, H3C-CH2-CH(CH3)-CH2-, H3C-CH(CH3)-CH2-CH2-, H3C-CH2-C(CH3)2-, H3C-C(CH3)2-CH2-, H3C-CH(CH3)-CH(CH3)- and H3C-CH2-CH(CH2CH3)-.

مصطلح "اوكسيتانايل" ترمز الى ، حلقة مشبعة ذات اربع روابط تحتوي على ذرة الأكسجين oxygen atom في الموقع 3 فيما يخص النقطة المرتبطة.

التحضير

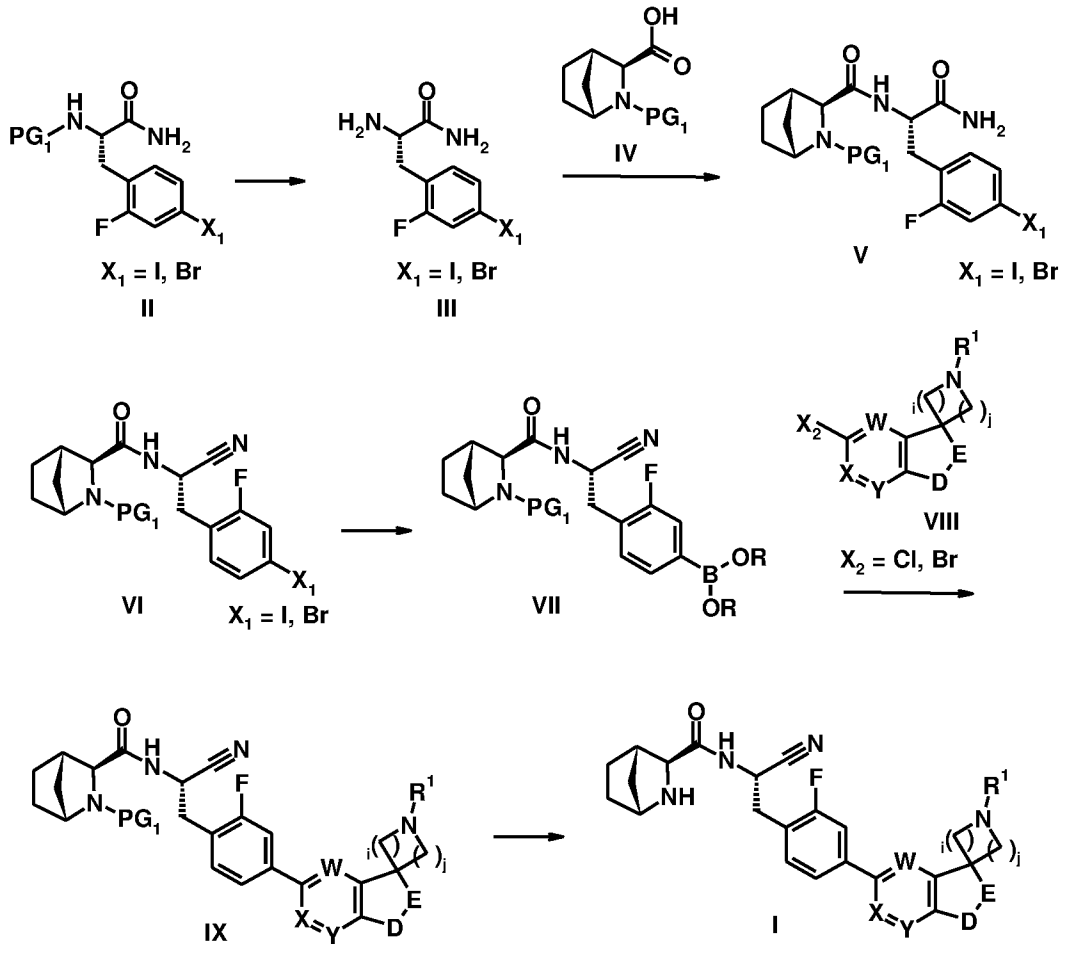
طرق التصنيع العامة

يعطي الاختراع الحالي أيضا عمليات لصنع المركب الصيغة I.

قد تختلف ظروف التفاعل المثلى وأوقات التفاعل اعتمادا على الكواشف المستخدمة. ما لم ينص على خلاف ذلك، والمذيبات، ودرجات الحرارة والضغط، وظروف التفاعل الأخرى يمكن اختيارها بسهولة من جانب واحد من المهارة العادية في الفن. يتم توفير

إجراءات محددة في قسم الأمثلة الاصطناعية. عادة، يمكن رصد التقدم في التفاعل عن طريق الفصل الكروماتوجرافي thin layer chromatography (TLC) أو إل سي-أم أس LC-MS، عند الرغبة، يمكن تنقية السلع الوسيطة والمنتجات عن طريق الفصل الكروماتوجرافي على هلام السيليكا silica gel، كروماتوجراف سائل عالي الأداء High Performance Liquid Chromatography (HPLC) و / أو عن طريق التبلور. الأمثلة التالية تكون توضيحية، والمعترف بها من قبل واحد من أهل المهنة، الكواشف أو الظروف يمكن تعديلها حسب الحاجة للمركبات الفردية دون التجريب الذي لا مبرر له. مواد وسيطة تستخدم في الأساليب أدناه ، إما أن تكون متاحة تجاريا أو معدة بسهولة من المواد المتاحة تجاريا من قبل تلك الموجودة في هذا المجال.

مركب الصيغة I قد تقدمها الطريقة الموضحة في المخطط 1، 2، 3 أو 4:



المخطط 1

المخطط 1

كما هو موضح في المخطط 1 توصف الحماية وعدم الحماية للمجموعات الوظيفية في 'المجموعات واقية التحضير العضوي ، T. W. Greene and P. G. M. Wuts, Wiley-Interscience. على سبيل المثال، لعدم الحماية مجموعة ثلاثي بيوتوكسي كاربونايل tert-butoxycarbonyl group ، هي من الأحماض مثل حمض الفورميك، ثلاثي فلورو حمض الخليك trifluoroacetic acid، تولوين حمض السلفونيك p-toluenesulfonic acid أو حمض الهيدروكلوريك يمكن استخدامها في مذيب مناسب مثل المياه، ثنائي كلورو ميثان dichloromethane (DCM) أو ديوكسان dioxane لتعطي مركب الصيغة III.

تفاعل أحماض الصيغة IV، حيث يمثل PG1 مجموعة حماية (على سبيل المثال ثلاثي بيوتوكسي كاربونايل) باستخدام الإجراءات القياسية الموحدة لتشكيل الأميد، على سبيل المثال في وجود قاعدة مثل(N، N- ثنائي ايزو بروبايل امين-N,N diisopropylethylamine (DIPEA)) ومادة تفعيل مثل o-(7- أزا بنزو ثالث أزول-1-يل)-N,N,N',N'- رابع مثيل يورونيوم هكسا فلورو-فوسفات o-(7-azabenzotriazol-1-yl)-N,N,N',N'-tetramethyluronium hexafluoro-phosphate (HATU) أو o-(1H-بنزو-1، 2، 3-ثالث أزول-1-يل)-N، N، N`، N`-رابع مثيل يورونيوم رابع فلورو بورات o-(1H-benzo-1,2,3-triazol-1-yl)-N,N,N',N'-tetramethyluronium tetrafluoroborate (TBTU)، مع أمين من الصيغة III في مذيب مناسب، ويعطي مركب الصيغة V. تفاعل الاتحاد القياسي للبيبتيد معروفة في فن (see for example M. Bodanszky, 1984, The Practice of Peptide Synthesis, Springer-Verlag) قد تكون موجودة في هذه التحضيرات.

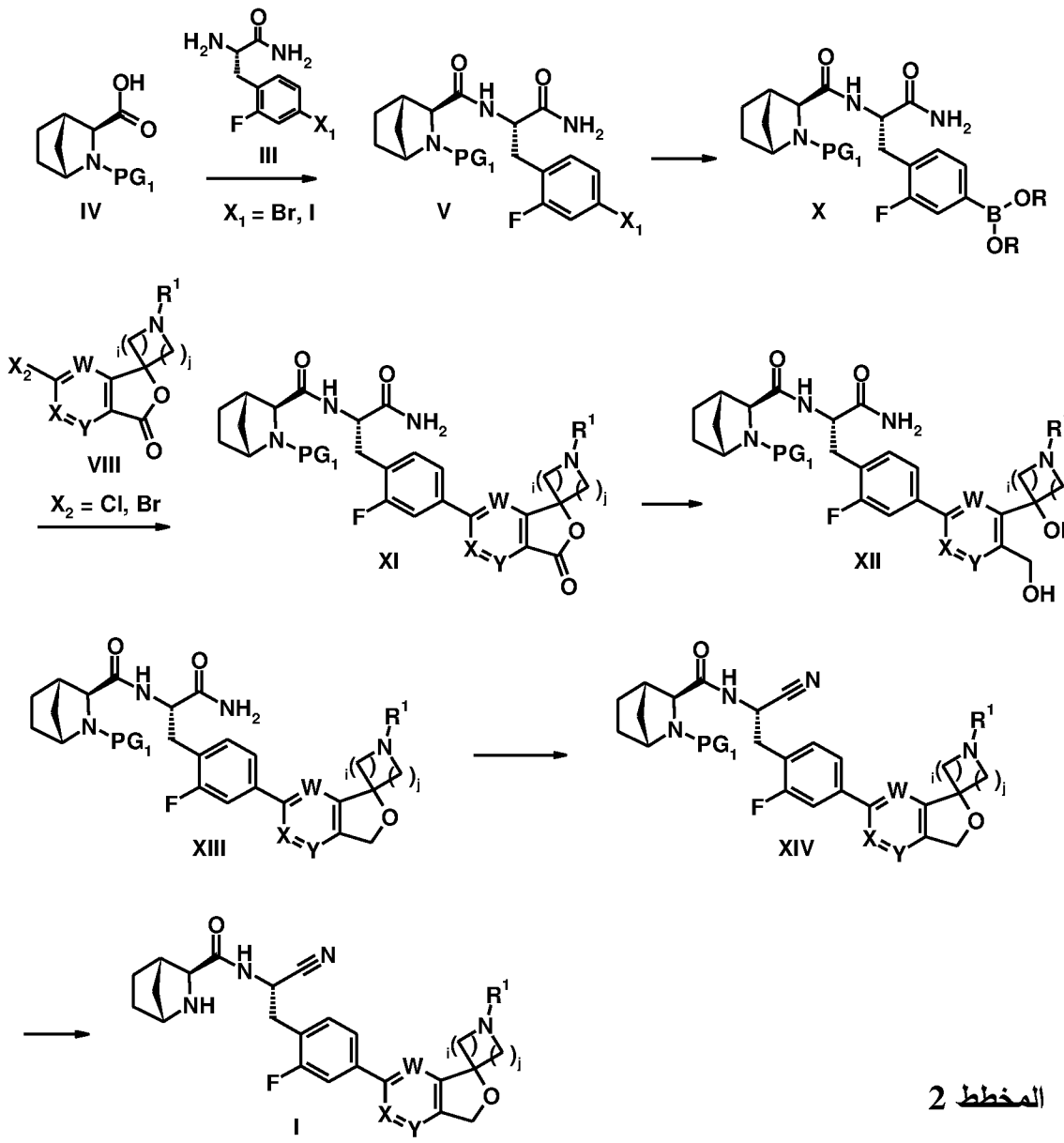
نزع الماء من الأميد مثل مركب الصيغة V إلى النتريل المقابل في الصيغة VI يمكن القيام بها عن طريق استخدام عامل نزع ماء مثل ثلاثي هيدروكسيد الأمونيوم (ميثوكسي كاربنايل سالفونامايد) (methoxycarbonylsulfamoyl)triethyl ammonium hydroxide, في مذيب مناسب مثل ثنائي كلورو ميثان.

يمكن تحويل مركبات الصيغة VI (I = X1، BR) الى مشتقات حمض برونيك boronic acid VII المقابلة ، حيث R يمكن أن يكون H أو ألكيل بشكل مستقل وبقايا R يمكن أن

تشكل حلقة. على سبيل المثال، VI يمكن ان يتفاعل مع ثنائي (نيوبينتايل جلايكزلاتو ثنائي البرون) bis(neopentyl glycolato)diboron في وجود عامل حفاز مناسب مثل [1،1' ثنائي (ثنائي فينايل فوسفينو) الفيروسين] ثنائي كلورو باليديوم (II) bis(diphenylphosphino)ferrocene]dichloropalladium(II)، وقاعدة مناسبة مثل خلات الصوديوم أو البوتاسيوم potassium acetate or sodium والبوتاسيوم potassium أو السيزيوم كربونات cesium carbonate أو فوسفات phosphate، في مذيب مناسب مثل دايوكسان، ثنائي ميثيل الفورماميد dimethylformamide (DMF)، أو ثنائي كلورو ميثان لانتاج مشتقات حمض البرونيك VII boronic acid.

يمكن لهذه أن تتفاعل في المعادن (الانتقالية) محفزة تفاعل المركب الصيغة VIII (X_2= Cl, Br). اقتران هذه الهاليدات VIII توفر مركب الصيغة IX. على سبيل المثال، تفاعل هذه الهاليدات مع حمض برونيك أو ايستر حمض البرونيك boronic acid ester المقابل VII، في مذيب مناسب مثل ديوكسان، في وجود عامل حفاز مناسب مثل 1،1' ثنائي (دى ثلاثي بيوتايل فوسفينو) الفيروسين كلوريد البلاديوم 1,1'-bis(di-tert-butylphosphino)ferrocene palladium dichloride وقاعدة مناسبة مثل الصوديوم والبوتاسيوم أو السيزيوم كاربونات، يعطي مركب الصيغة IX.

توصف الحماية وعدم الحماية من المجموعات الوظيفية في 'المجموعات الواقية في التحضير العضوي، T. W. Greene and P. G. M. Wuts, Wiley-Interscience . على سبيل المثال، لعدم الحماية مجموعة ثلاثي بيوتوكسي كاربونايل، وهي من الأحماض مثل تولين حمض السالفونيك الهيدرات toluenesulfonic acid monohydrate يمكن أن تستخدم في مذيب مناسب مثل الأسيتونتريل acetonitrile لتوفير مركب الصيغة I.



المخطط 2

المخطط 2

كما هو موضح في المخطط 2 تفاعل حمض الصيغة IV، حيث يمثل PG1 مجموعة حماية (على سبيل المثال ثلاثي بيوتوكسي كاربانايل) باستخدام إجراءات المنشورات موحدة لتشكيل أميد، على سبيل المثال في وجود قاعدة مثل N، N-ثنائي ايزو بروبايل ايثيل الامين ومادة تفعيل مثل o-(7- أزا بنزو ثالث أزول-1-يل)-N,N,N',N' - رابع مثيل يورونيوم هكسا فلورو-فوسفات أو o-(1H-بنزو-1، 2، 3-ثالث أزول-1-يل)-N، N، N`، N`-رابع مثيل يورونيوم رابع فلورو بورات، مع أمين الصيغة III في مذيب مناسب، يعطي مركب صيغة V. تفاعلات اقتران البيبتيد Peptide المعروفة في فن (see

for example M. Bodanszky, 1984, The Practice of Peptide Synthesis, Springer-Verlag) يجوز استخدامها في هذه التحضيرات.

ويمكن تحويل مركبات الصيغة V الى مشتقات حمض البرونيك المقابلة X مماثلة لإجراءات التفاعل كما هو موضح في المخطط 1.

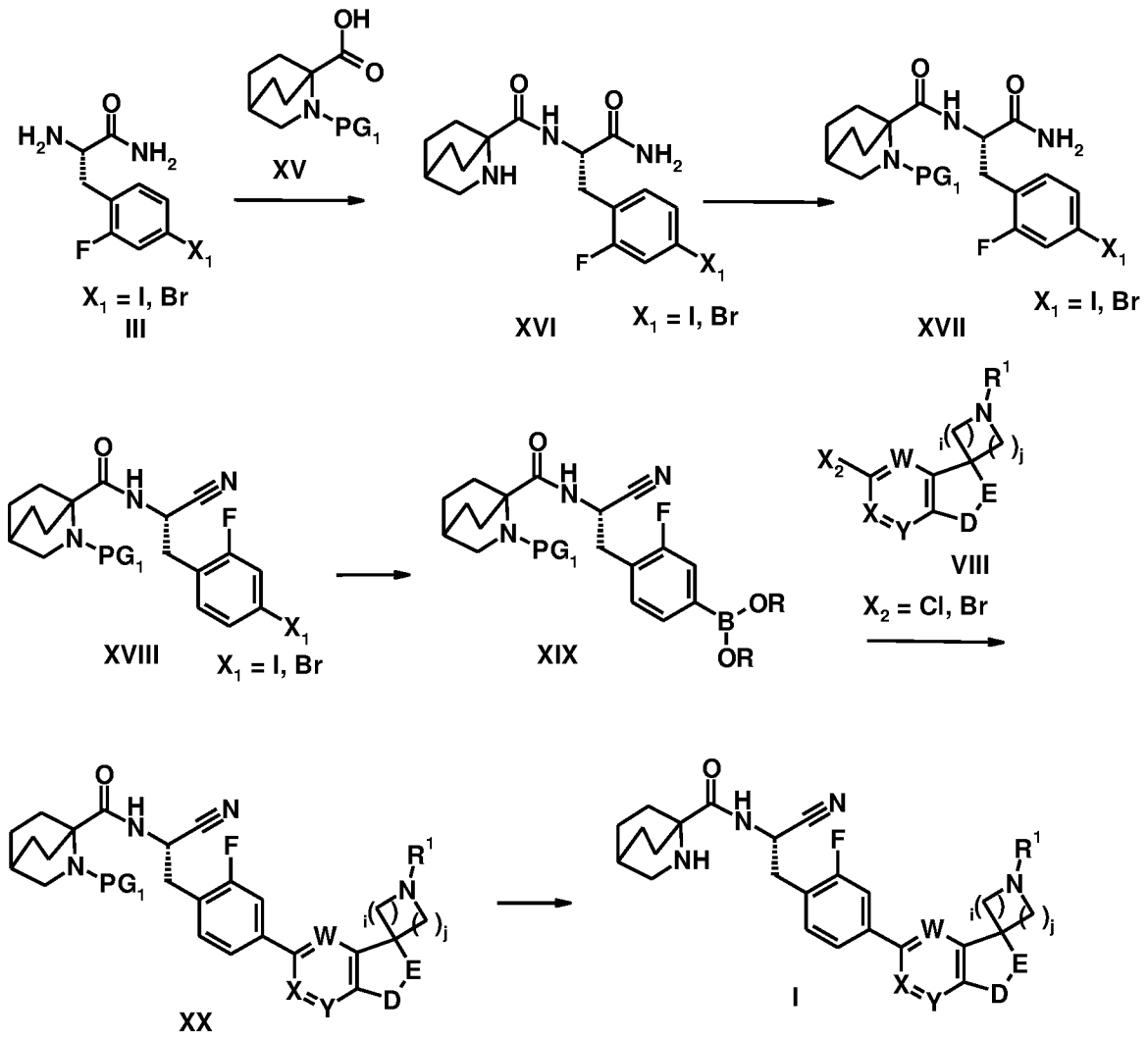
يمكن لهذه أن يتفاعل في المعادن (الانتقالية) محفزة تفاعل المركب الصيغة VIII (X_2= Cl, Br) لانتاج مركب الصيغة XI مماثل لطريقة التفاعل كما هو موضح في المخطط 1.

يمكن تحويل مركب الصيغة XI الى مركب الصيغة XII باستخدام عامل مختزل reducing agent مثل الليثيوم lithium أو بوروهيدريد الصوديوم sodium borohydride في مذيب مناسب مثل رباعي هيدرو فيوران tetrahydrofurane.

يمكن تحويل مركب الصيغة XII الى مركب لصيغة XIII باستخدام الكواشف مثل بارا-تولوين سالفونيك p-toluenesulfonic anhydride أو كلوريد ميثان سالفونايل methansulfonyl chloride في وجود قاعدة مثل ثلاثي الإيثيلامين triethylamine أو N، N- ثنائي ايزو بروبايل أمين في مذيب مناسب مثل رباعي هيدرو الفيوران.

نزع الماء من الاميد كما في مركب الصيغة XIII إلى النتريل المقابل للصيغة XIV يمكن القيام به عن طريق استخدام عامل نزع الماء مثل ثلاثي هيدروكسيد الأمونيوم (ميثوكسي كاربونايل سالفونامايد) (methoxycarbonylsulfamoyl)triethyl ammonium hydroxide، في مذيب مناسب مثل ثنائي كلورو ميثان.

توصف الحماية وإزالة الحماية من المجموعات الوظيفية في 'المجموعات واقية في التحضير العضوي ، T. W. Greene and P. G. M. Wuts, Wiley-Interscience ،. على سبيل المثال، لإزالة الحماية من مجموعة ثلاثي بيوتوكسي كاربانايل، وهو من الأحماض مثل بارا- تولوين حمض السالفونيك احادي الهيدرات يمكن أن تستخدم في مذيب مناسب مثل الأسيتونتريل لتعطي مركب الصيغة I.



المخطط 3

المخطط 3

كما هو موضح في المخطط 3 تفاعل حمض الصيغة XV، حيث يمثل PG1 مجموعة حماية (على سبيل المثال ثلاثي بيوتوكسي كاربانايل) باستخدام إجراءات المنشورات القياسية لتشكيل الأميد، على سبيل المثال في وجود قاعدة مثل N- ميثيل المورفين ومادة تفعيل مثل 1- بروبان حمض الفوسفونيك أنهيدريد الحلقي 1-propanephosphonic acid cyclic anhydride (PPA) مع أمين من الصيغة III في مذيب مناسب، يعطي مركب الصيغة XVI. تفاعل البيبتيد المقترن القياسي المعروف في فن (انظر على سبيل المثال M. Bodanszky, 1984, The Practice of Peptide Synthesis, Springer-Verlag) قد تكون مستخدمة في هذه التحضيرات.

توصف الحماية وإزالة الحماية من المجموعات الوظيفية في 'المجموعات واقية في التحضير العضوي ، T. W. Greene and P. G. M. Wuts, Wiley-Interscience. على سبيل المثال، من أجل حماية الأمين في الصيغة XVI، ثنائي- ثالث بوتيل بيكربونات di-tert-butyl dicarbonate يمكن أن تستخدم في مذيب مناسب مثل ثنائي كلورو ميثان لتوفير مركب للصيغة XVII.

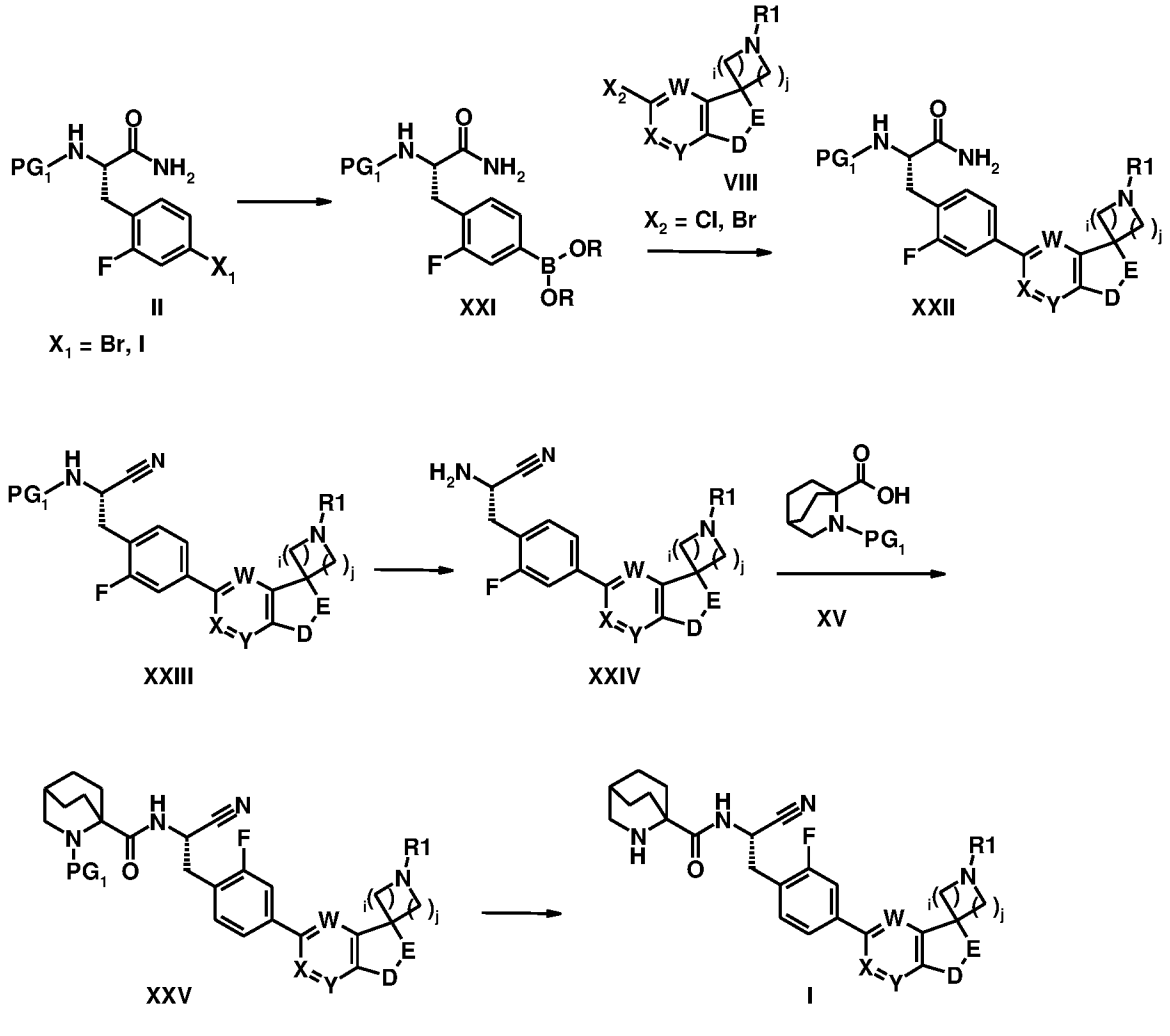
نزع الماء من أميد كما في مركب الصيغة XVII إلى النتريل المقابل للصيغة XVIII يمكن القيام بها عن طريق استخدام عامل نزع ماء مثل ثلاثي هيدروكسيد الأمونيوم (ميثواوكسي كاربونايل سالفاميد) (methoxycarbonylsulfamoyl)triethyl ammonium hydroxide، في مذيب مناسب مثل ثنائي كلورو ميثان.

يمكن تحويل المركبات للصيغة XVIII (BR ،X1 = I) في المقابل مشتقات حمض البرونيك XIX، حيث R يمكن أن تكون H أو ألكيل بشكل مستقل وبقايا R يمكن أن تشكل حلقة. على سبيل المثال، XVIII يمكن ان تفاعل مع ثنائي بيناكولاتو ثنائي بورون في وجود عامل حفاز مناسب مثل [1،1' مكرر (ثنائي فينيل فوسفينو) الفيروسين] ثنائي كلورو الباليديومII) ، وقاعدة مناسبة مثل خلات البوتاسيوم أو الصوديوم، البوتاسيوم أو السيزيوم كربونات أو فوسفات، في مذيب مناسب مثل دايوكسان، ثنائي ميثيل الفورماميد، أو ثنائي كلورو ميثان لانتاج مشتقات حمض البرونيك XIX.

هذه يمكن أن يتفاعل في المعادن (الانتقالية) محفزة تفاعل المركب الصيغة (X_2= Cl, Br). اقتران هذه الهاليدات VIII تعطي مركب الصيغة XX. على سبيل المثال، تفاعل هذه الهاليدات مع حمض البرونيك أو المقابل لاستر حمض البرونيك XIX، في مذيب مناسب مثل ديوكسان، في وجود عامل حفاز مناسب مثل 1،1' مكرر (داى ثالث بيوتايل فوسفينو) الفيروسين كلوريد البلاديوم 1,1'-bis(di-tert-butylphosphino)ferrocene palladium dichloride وقاعدة مناسبة مثل الصوديوم والبوتاسيوم أو السيزيوم كاربونات، يعطي مركب صيغة XX.

توصف الحماية وإزالة الحماية من المجموعات الوظيفية في 'المجموعات الوقائية في التحضير العضوي،. T. W. Greene and P. G. M. Wuts, Wiley-Interscience . على سبيل المثال، لإزالة الحماية مجموعة ثالثي بيوتوكسي كاربانايل، وهي من الأحماض مثل

حمض تولوين سالفونيك الهيدرات يمكن أن تستخدم في مذيب مناسب مثل الأسيتونتريل لتوفير مركب الصيغة I.



المخطط 4

المخطط 4

كما هو موضح في المخطط 4 مركب الصيغة II يمكن تحويلها إلى مشتقات حمض البرونيك XXI، حيث R يمكن أن تكون H أو ألكيل بشكل مستقل وبقايا R يمكن أن تشكل حلقة. على سبيل المثال، يمكن ان يتفاعل مع ثنائي نيوبينتايل جالاكتو دايبورون bis(neopentyl glycolato)diboron في وجود عامل حفاز مناسب مثل [1،1' ثنائي (ثنائي فينيل فوسفينو) الفيروسين] ثنائي كلورو باليديوم-[1,1' bis(diphenylphosphino)ferrocene]dichloropalladium(II) (II، وقاعدة مناسبة مثل

خلات الصوديوم أو البوتاسيوم والبوتاسيوم أو السيزيوم كربونات أو فوسفات، في مذيب مناسب مثل دايوكسان، ثنائي ميثيل الفورماميد، أو ثنائي كلورو ميثان لانتاج مشتقات حمض البونيك XXI.

يمكن له أن يتفاعل في المعادن (الانتقالية) محفزة تفاعل المركب الصيغة VIII مماثل للتفاعل كما هو موضح في المخطط 1 لانتاج مركب الصيغة XXII.

نزع الماء من الأميد مثل مركب الصيغة XXII للنتريل المقابلة للصيغة XXIII يمكن القيام بها عن طريق استخدام عامل نزع ماء مثل هيدروكسيد الأمونيوم (ميثوكسي كاربانايل سالفامايل) ثلاثى، في مذيب مناسب مثل ثنائي كلورو ميثان.

توصف الحماية وإزالة الحماية من المجموعات الوظيفية في 'المجموعات الواقية في التحضير العضوي ، T. W. Greene and P. G. M. Wuts, Wiley-Interscience. على سبيل المثال، لإزالة الحماية من ثالثي بيوتوكسي كاربانايل، وهو من الأحماض مثل التولوين حمص السلفونيك الهيدرات يمكن أن تستخدم في مذيب مناسب مثل الأسيتونتريل لتعطي مركب الصيغة XXVI.

تفاعل الأحماض الصيغة XV، حيث يمثل PG1 مجموعة حماية (على سبيل المثال ثالثي بيوتوكسي كاربانايل) باستخدام الإجراءات الموجودة في المنشورات موحدة لتشكيل الأميد، على سبيل المثال في وجود قاعدة مثل -Nميثيل المورفين -N methylmorpholine ومادة تفعيل مثل 1 حمض الخليك –البروبان حمض الفوسفوريك، مع أمين الصيغة XXVI في مذيب مناسب، وتعطي مركب الصيغة XXV. تفاعل الببتيد القياسية المعروفة في فن (انظر على سبيل المثال M. Bodanszky, 1984, The Practice of Peptide Synthesis, Springer-Verlag) قد تكون مستخدمة في هذه التحضيرات.

توصف حماية وإزالة الحماية من المجموعات الوظيفية في 'المجموعات الواقية في التحضيرالعضوي ، T. W. Greene and P. G. M. Wuts, Wiley-Interscience. على سبيل المثال، لإزالة الحماية من ثالث بيوتوكسي كاربانايل، وهو من الأحماض مثل حمض التولوين سالفونيك الهيدرات يمكن أن تستخدم في وجود مذيب مناسب مثل الأسيتونتريل لتوفير مركب الصيغة I.

تعديلات أخرى لمركبات الصيغة I بالطرق المعروفة في الفن وموضحة في الأمثلة أدناه، يمكن أن تستخدم لتحضير مركبات إضافية للاختراع

الأمثلة الاصطناعية

يما يلي المركبات التمثيلية للاختراع والتي يمكن أن تقدمها المخططات العامة الاصطناعية، الأمثلة ، والأساليب المعروفة في الفن. بدءا من نقل مواد وسيطة إما المتاحة تجاريا و التي تم شراؤها من كتالوجات ايه بي سي آر ABCR، ايه سي آر أوه أس ARK APOLLO ،ALDRICH ، ABLOCK PHARMATECH ،ACROS ،BEFARM ،BETAPHARM ،TECHNOLOGY ATLANTIC ،PHARM INC ،ENAMINE LTD ،CNH -TECH ،CHEMBRIDGE CORPORATION ،MERCACHEM ،GVK BIO ،GOLDENBRIDGE PHARMA INC MOLBRIDGE ، APPTEC، ZERENEX, أو تم تصنيعها وفقا للمنشورات أو كما هو موضح أدناه في "تصنيع المواد الأولية / يدوكت "

الكروماتوجراف السائل spectroscopy Liquid chromatography-mass (LCMS) ، بيانات m/z للمركبات أدناه يتم الحصول عليها عن طريق أحد الطرق التالية :

LC-MS طريقة V001_007

وصف الجهاز				Waters Alliance with DAD and MSD
العمود				Waters XBridge C18
قطر العمود				4.6 × 30 مم
حجم الجزيئات				3.5 ميكرومتر
درجة الحرارة [درجة مئوية]	التدفق [مل/دقيقة]	النسبة المئوية للمحلول [ميثانول]	النسبة المئوية للمحلول [ماء، 0.1٪ حمض ثالث فلورو خليك]	تدريج/ المذيب الزمن[دقيقة]
60	4	5	95	0.0
60	4	100	0	1.6
60	4	100	0	1.85
60	4	5	95	1.9

LC-MS Method V003_003

جهاز الوصف	Waters Alliance with DAD and MSD
عمود	Waters XBridge C18
قطر العمود	4.6 × 30 مم
حجم الجزيئات	3.5 ميكرومتر

درجة الحرارة [درجة مئوية]	التدفق [مل/دقيقة]	النسبة المئوية للمحلول [ميثانول]	النسبة المئوية للمحلول [ماء، 0.1٪ NH_3]	تدريج/ المذيب الزمن[دقيقة]
60	4	5	95	0.0
60	4	5	95	0.2
60	4	100	0	1.5
60	4	100	0	1.75

طريقة LC-MS V011_S01

جهاز الوصف	Waters Alliance with DAD and MSD
عمود	Waters XBridge C18
قطر العمود	4.6 × 30 مم
حجم الجزيئات	3.5 ميكرومتر

درجة الحرارة [درجة مئوية]	التدفق [مل/دقيقة]	النسبة المئوية للمحلول [أسيتونيتريل]	النسبة المئوية للمحلول [الماء، 0.1٪ NH_3]	تدريج/ المذيب الزمن[دقيقة]
60	5	3	97	0.0
60	5	3	97	0.2
60	5	100	0	1.6
60	5	100	0	1.7

LC-MS Method V012_S01

جهاز الوصف	Waters Alliance with DAD and MSD
العمود	Waters XBridge C18

جهاز الوصف	Waters Alliance with DAD and MSD
قطر العمود	4.6 x 30 mm
حجم الجزيئات	3.5 µm

درجة الحرارة [درجة مئوية]	التدفق [مل/دقيقة]	النسبة المئوية للمحلول [أسيتونيتريل]	النسبة المئوية للمحلول [الماء، 0.1٪ حمض ثالث فلورو خليك]	تدريج/ المذيب الزمن[دقيقة]
60	5	3	97	0.0
60	5	3	97	0.2
60	5	100	0	1.6
60	5	100	0	1.7

LC-MS Method X001_004

جهاز الوصف	Waters Acquity with DAD and MSD
العمود	Waters XBridge C18
قطر العمود	2.1 x 20 mm
حجم الجزيئات	2.5 µm

درجة الحرارة [درجة مئوية]	التدفق [مل/دقيقة]	النسبة المئوية للمحلول [ميثانول]	النسبة المئوية للمحلول [ماء، 0.1٪ حمض ثالث فلورو خليك]	تدريج/ المذيب الزمن[دقيقة]
60	1.4	5	95	0.0
60	1.4	5	95	0.05
60	1.4	100	0	1.00
60	1.4	100	0	1.1

LC-MS Method X011_S03

جهاز الوصف	Waters Acquity with DAD and MSD
العمود	Waters Xbridge BEH C18
قطر العمود	2.1 x 30 mm
حجم الجزيئات	1.7 µm

درجة الحرارة [درجة مئوية]	التدفق [مل/دقيقة]	النسبة المئوية للمحلول [أسيتونيتريل]	النسبة المئوية للمحلول [ماء، 0.1٪ NH_3]	تدريج/ المذيب الزمن[دقيقة]
60	1.3	5	95	0.00
60	1.3	5	95	0.02
60	1.3	100	0	1.00
60	1.3	100	0	1.10

LC-MS Method X012_S02

جهاز الوصف	Waters Acquity with DAD and MSD
العمود	Waters XBridge BEH C18
قطر العمود	2.1 x 30 mm
حجم الجزيئات	1.7 µm

درجة الحرارة [درجة مئوية]	التدفق [مل/دقيقة]	النسبة المئوية للمحلول [أسيتونيتريل]	النسبة المئوية للمحلول [ماء، 0.1٪ حمض ثالث فلورو خليك]	تدريج/ المذيب الزمن[دقيقة]
60	1.3	1	99	0.0
60	1.3	1	99	0.02
60	1.3	100	0	1.00
60	1.3	100	0	1.10

LC-MS Method Z011_S03

جهاز الوصف	Agilent 1200 with DAD and MSD
العمود	Waters XBridge C18
قطر العمود	3 x 30 mm
حجم الجزيئات	2.5 µm

درجة الحرارة [درجة مئوية]	التدفق [مل/دقيقة]	النسبة المئوية للمحلول [أسيتونيتريل]	النسبة المئوية للمحلول [ماء، 0.1٪ NH3]	تدريج/ المذيب الزمن[دقيقة]
60	2.2	3	97	0.00
60	2.2	3	97	0.20
60	2.2	100	0	1.20
60	3	100	0	1.25

LC-MS Method Z012_S04

جهاز الوصف	Agilent 1200 with DAD and MSD
العمود	Waters XBridge C18
قطر العمود	3 x 30 mm
حجم الجزيئات	2.5 µm

درجة الحرارة [درجة مئوية]	التدفق [مل/دقيقة]	النسبة المئوية للمحلول [أسيتونيتريل]	النسبة المئوية للمحلول [ماء، 0.1٪ NH3]	تدريج/ المذيب الزمن[دقيقة]
60	2.2	3	97	0.00
60	2.2	3	97	0.20
60	2.2	100	0	1.20
60	3	100	0	1.25
60	3	100	0	1.40

LC-MS Method Z018_S04

جهاز الوصف	Agilent 1200 with DAD and MSD
العمود	Waters Sunfire C18
قطر العمود	3 x 30 mm
حجم الجزيئات	2.5 µm

درجة الحرارة [درجة مئوية]	التدفق [مل/دقيقة]	النسبة المئوية للمحلول [أسيتونيتريل]	النسبة المئوية للمحلول [ماء، 0.1٪ حمض ثالث فلورو خليك]	تدريج/ المذيب الزمن[دقيقة]
60	2.2	3	97	0.00

0.20	97	3	2.2	60
1.20	0	100	2.2	60
1.25	0	100	3	60
1.40	0	100	3	60

LC-MS Method Z020_S01

جهاز الوصف	Agilent 1200 with DAD and MSD
العمود	Waters Sunfire C18
قطر العمود	3 x 30 mm
حجم الجزيئات	2.5 µm

درجة الحرارة [درجة مئوية]	التدفق [مل/دقيقة]	النسبة المئوية للمحلول [أسيتونيتريل]	النسبة المئوية للمحلول [ماء، 0.1٪ NH3]	تدريج/ المذيب الزمن[دقيقة]
60	2.2	3	97	0.00
60	2.2	3	97	0.20
60	2.2	100	0	1.20
60	3	100	0	1.25
60	3	100	0	1.40

LC-MS Method Z021_S01

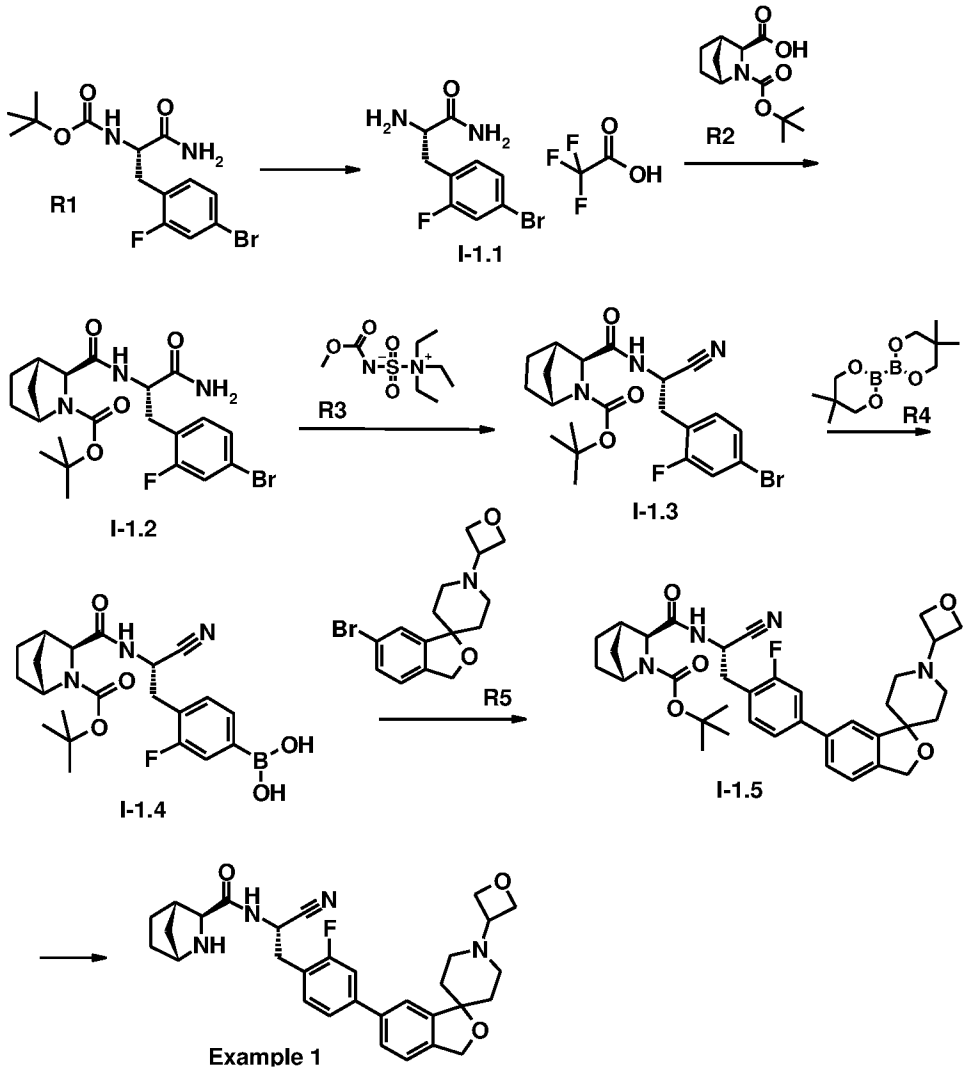
جهاز الوصف	Agilent 1200 with DAD and MSD
العمود	XBridge C18
قطر العمود	3 x 30 mm
حجم الجزيئات	2.5 µm

درجة الحرارة [درجة مئوية]	التدفق [مل/دقيقة]	النسبة المئوية للمحلول [أسيتونيتريل]	النسبة المئوية للمحلول [ماء، 0.1٪ حمض ثالث فلورو خليك]	تدريج/ المذيب الزمن[دقيقة]
60	2.2	3	97	0.00
60	2.2	3	97	0.20
60	2.2	100	0	1.20
60	3	100	0	1.25
60	3	100	0	1.40

طرق التخليق:

الطريقة A

تخليـــق (1S، 2S، 4R)-N-[(1S)-1- ســـيانو-2-[2-فلـــورو-4-[1`-(أوكســـيتان-3-يـل) سـبيرو [1H- أيزوبنـزو فيـوران-3، 4`- ببريـدين]-5-يـل] فنيـل] اثيـل]-3- أزا ثـاني حلقـــي [2. 2. 1] هبتـــان-2- كربوكســـاميد -2-[(1S)-1-cyano-2- (1S,2S,4R)-N-fluoro-4-[1'-(oxetan-3-yl)spiro[1H-isobenzofuran-3,4'-piperidine]-5-yl]phenyl]ethyl]-3-azabicyclo[2.2.1]heptane-2-carboxamide (المثال 1)



الخطوة 1: تخليق المركب الوسيط I-1.1

إلـى R1 (20.00 جـرام، 55.37 مليمـول) فـي ثـاني كلـورو ميثـان dichloromethane(50 مليلتـر) أضـيف حمـض ثالـث فلـورو خليـك trifluoroacetic acid (17.09 مليلتـر، 22.48 مليمـول) وتـم تقليـب خلـيط التفاعـل عنـد درجـة حـرارة الغرفـة. وتـم تركيـز خلـيط التفاعـل،

وأذيب الراسب في ثاني كلوروميثان (15 مليلتر) وثاني أيزوبروبيل اثير (140 مليلتر). وتم ترشيح الراسب، غسل بثاني أيزوبروبيل اثير وجفف ليعطي I-1.1 كملح حمض ثالث فلورو خليك trifluoroacetic acid (TFA).

, m/z 261 [M+H]+, rt 0.50 min, LC-MS Method Z018_S04.٪Yield 99

الخطوة 2: تخليق المركب الوسيط I-1.2

إلى R2 (13.86 جرام، 55.72 مليمول) في ثنائي ميثيل الفورماميد (65 مليلتر) اضيف N، -N ثنائي ايزو بروبايل امين (9.02 مليلتر، 50.67 مليمول) وبرد إلى 5°م. وأضيف o-(1H-بنزو-1، 2، 3-ثالث أزول-1-يل)-N، N، `N، `N-رابع مثيل يورونيوم رابع فلورو بورات (17.89 جرام، 55.72 مليمول) وتم تقليب خليط التفاعل لمدة 15 دقيقة. وبعد ذلك أضيف I-1.1 (ملح حمض ثالث فلورو خليك) (19.0 جرام، 50.65 مليمول)، ثنائي ميثيل الفورماميد (65 مليلتر) و N، -N ثنائي ايزو بروبايل امين (13.52 مليلتر، 75.98 مليمول) وتم تقليب خليط التفاعل طوال الليل عند درجة حرارة الغرفة. وتم تخفيف خليط التفاعل بأسيتات الإثيل واستخلص بالماء. وتم استخلاص الطبقة المائية بأسيتات الإثيل. وتم غسل الطبقات العضوية organic layers المتحدة بالماء، 1 مول/ لتر حمض هيدروكلوريك مائي، الماء، محلول كربونات هيدروجين الصوديوم المائي aqueous sodium hydrogen carbonate (5٪) ومرة أخرى بالماء. جففت الطبقة العضوية على كبريتات الماغنسيوم، رشح وركز في الفراغ. وتم تنقية الراسب الخام بكروماتوجرافي الومضي flash chromatography (المروق: ثاني كلوروميثان/ ميثانول methanol 95 / 5).

., m/z 484 [M+H]+, rt 0.91 min, LC-MS Method Z018_S04٪Yield 82

الخطوة 3: تخليق المركب الوسيط I-1.3

إلى I-1.2 (20.0 جرام، 41.29 مليمول) في ثاني كلورو ميثان (200 مليلتر) أضيف R3 (19.68 جرام، 82.58 مليمول) وتم تقليب خليط التفاعل طوال الليل عند درجة حرارة الغرفة. وتم تركيز خليط التفاعل في الفراغ، وتم إذابة الراسب في اسيتات الإثيل ethyl acetate واستخلص بالماء، 1 مول / لتر حمض خليك مائي aqueous

acetic acid، والماء. وتم تجفيف الطبقة العضوية على كبريتات الماغنسيوم، رشح وركز في الفراغ. وتم إعادة بلورة الراسب من اسيتونيتريل ورشح.

, m/z 466 [M+H]+, rt 0.98 min, LC-MS Method Z018_S04.٪Yield 71

الخطوة 4: تخليق المركب الوسيط I-1.4

إلى I-1.3 (1.5 جرام، 3.22 مليمول) في ثاني أوكسان (20 مليلتر) R4 (799.22 مليجرام، 3.54 مليمول)، اسيتات البوتاسيوم potassium acetate (0.947 جرام، 9.65 مليمول) وأضيف [1، 1`-مكرر (ثاني فنيل فوسفينو) فيروسين] ثاني كلورو بالاديوم (II) -[1,1' bis(diphenylphosphino)ferrocene]dichloropalladium(II)، معقد مع ثاني كلورو ميثان (1: 1) (52.54 مليجرام، 0.064 مليمول). وتم تطهير خليط التفاعل بالنيتروجين وسخن بـ 70°م لمدة 1.5 ساعة. وتم تخفيف خليط التفاعل بثاني كلوروميثان والماء. وتم فصل الطبقة العضوية وركز في الفراغ. وتم تنقية الراسب بالطور العكسي كروماتوجراف سائل عالي الأداء.

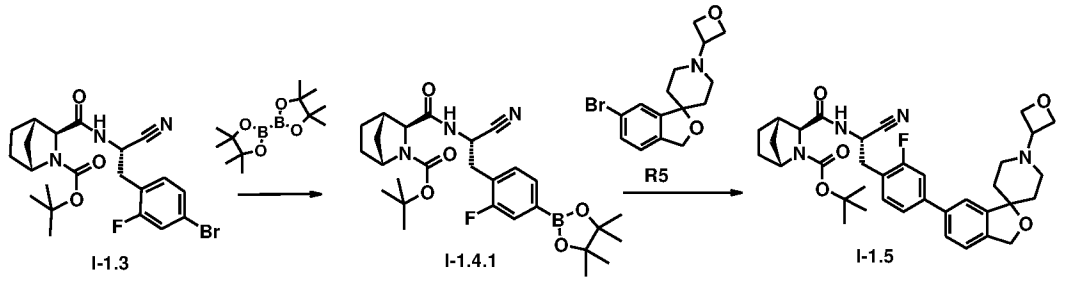
m/z 332 [M+H-Boc]+, rt 0.96 min, LC-MS Method Z020_S01.٪Yield 94

الخطوة 5: تخليق المركب الوسيط I-1.5

إلى I-1.4 (400.0 مليجرام، 0.93 مليمول) في أسيتونيتريل (18 مليلتر) أضيف R5 (301.0 مليجرام، 0.93 مليمول) وتم تطهير الخليط بالأرجون argon. وتم إضافة محلول مائي من كربونات الصوديوم Sodium carbonate 2 مول/ لتر (928 ميكرولتر، 1.86 مليمول) و 1، 1`-مكرر (ثاني-ثالث-بيوتيل فوسفينو) فيروسين ثاني كلوريد الصوديوم 1,1'-bis(di-tert-butylphosphino)ferrocene palladium dichloride (60.5 مليجرام، 0.09 مليمول)، تم تطهير خليط التفاعل مرة أخرى بالأرجون وقلب عند 80°م في مفاعل ميكروويف لمدة 45 دقيقة. وتم تخفيف خليط التفاعل بمحلول كربونات هيدروجين الصوديوم المشبع، واستخلص بأسيتات الإثيل عدة مرات. وتم غسل الطبقة العضوية بمحلول ملحي، وجفف على كبريتات الصوديوم، رشح وركز في الفراغ. وتم تنقية الراسب الخام بواسطة عمود سيليكاجل كروماتوجرافي (ثنائي كلورو ميثان: ميثانول = 98: 2 إلى 92 : 8) ليعطي I-1.5.

m/z 631 [M+H]+, rt 1.09 min, LC-MS Method Z011_S03.٪Yield 79

بديلا عن ذلك تخليق المركب الوسيط I-1.5



تخليق المركب الوسيط I-1.4.1

إلى I-1.3 (20 جرام، 42.89 مليمول) في ثاني أوكسان dioxane (255 مليلتر) مكرر (بيناكولاتو) ثاني بورون bis(pinacolato)diboron (13.07 جرام، 51.46 مليمول)، أسيتات البوتاسيوم (12.63 جرام، 128.66 مليمول) وأضيف [1، 1`-مكرر (ثاني فنيل فوسفينو) فيروسين] ثاني كلورو بالاديوم (II)، معقد مع ثاني كلورو ميثان (1 : 1) (1.75 جرام، 2.14 مليمول). تم تطهير الخليط بنيتروجين لمدة 5 دقائق، سخن إلى 70°م والمقلب طوال الليل عند درجة حرارة هذه. خفف خليط التفاعل بثاني كلوروميثان والماء. وتم فصل الطبقة العضوية وركز في الفراغ. وتم تنقية الراسب بعمود كروماتوجرافي على السيليكاجل silica gel column chromatography (اثير نفطي petroleum ether: أسيتات الإثيل = 92 : 8 إلى 34 : 66).

m/z 332 [M+H – Boc – $((CH_3)_2CH)_2$]+, rt 0.73 min, LC-MS %Yield 64 Method Z011_S03.

تخليق المركب الوسيط I-1.5

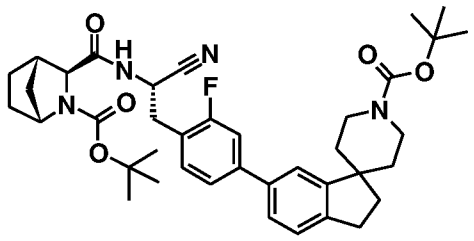
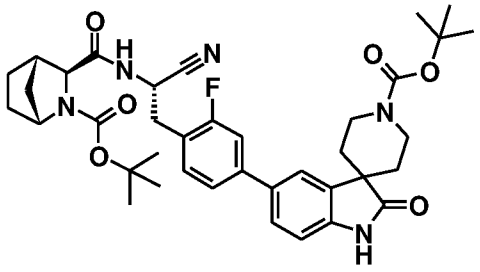
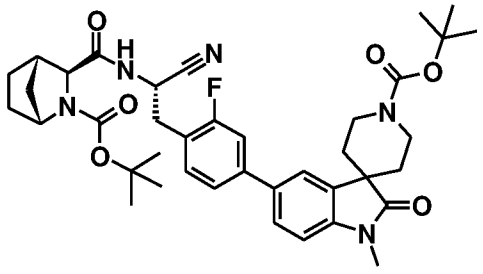
إلى I-1.4.1 (3.96 جرام، 7.71 مليمول) في أسيتونيتريل (60 مليلتر) أضيف R5 (2.50 جرام، 7.71 مليمول) وتم تطهير الخليط بالأرجون. محلول مائي كربونات الصوديوم 2 مول/ لتر (7.71 مليلتر، 15.42 مليمول) وأضيف 1، 1`-مكرر (ثاني فنيل فوسفينو) فيروسين] بالاديوم ثاني كلوريد، (502.6 مليجرام، 0.77 مليمول)، وتم تطهير خليط التفاعل مرة أخرى بالأرجون وقلب عند 80°م لمدة 90 دقيقة. وتم تخفيف خليط التفاعل بمحلول كربونات الهيدروجين الصوديوم المشبع، واستخلص بأسيتات الإثيل عدة مرات. وتم غسل الطبقة العضوية بمحلول ملحي، وجفف على كبريتات الصوديوم،

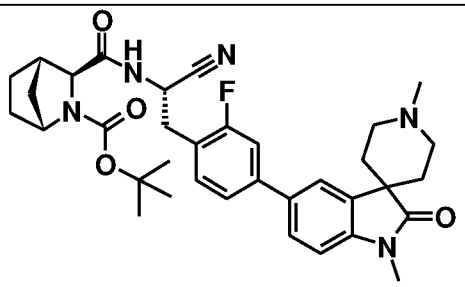
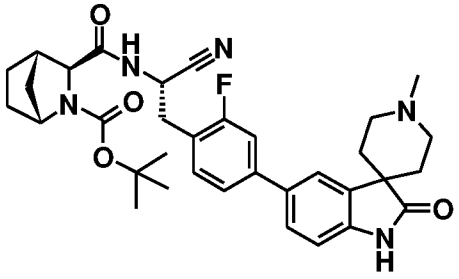
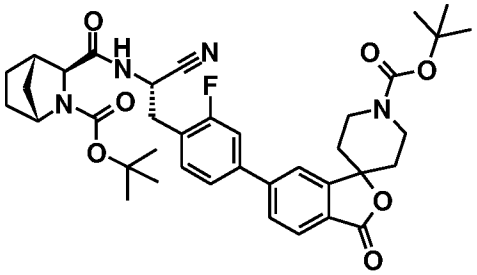
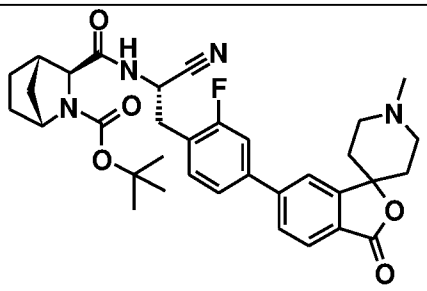
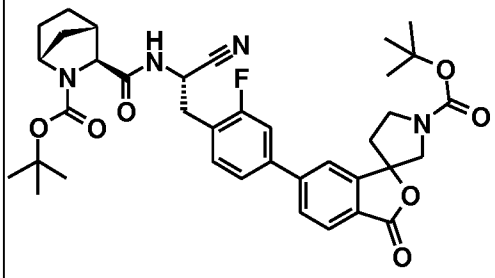
رشح وركز في الفراغ. وتم تنقية الراسب الخام بعمود كروماتوجرافي على السيليكاجل (ثنائي كلورو ميثان: ميثانول = 99 : 1 إلى 94 : 6) ليعطي I-1.5.

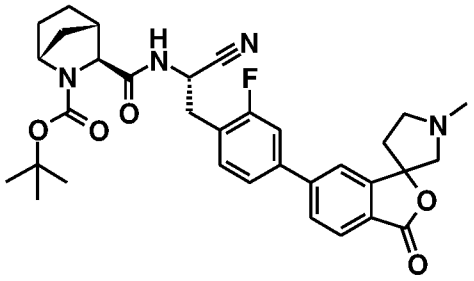
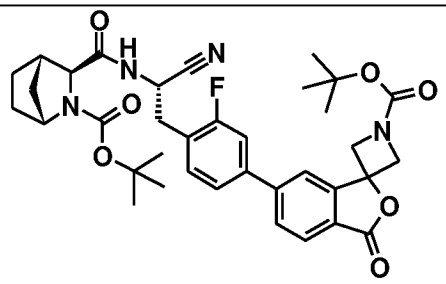
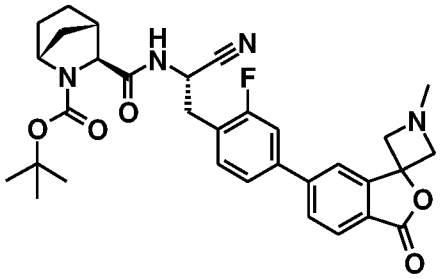
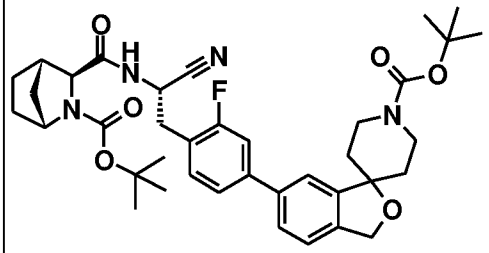
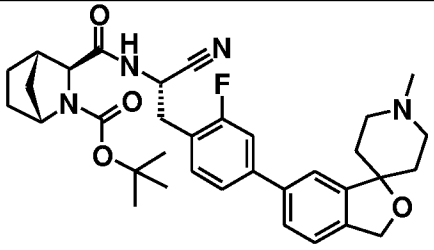
m/z 631 [M+H]+, rt 1.09 min, LC-MS Method Z011_S03. ٪Yield 75

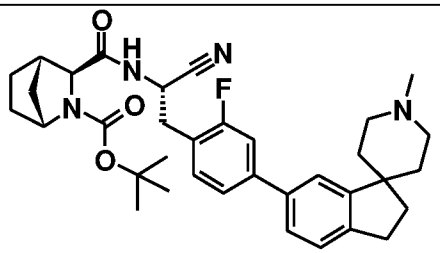
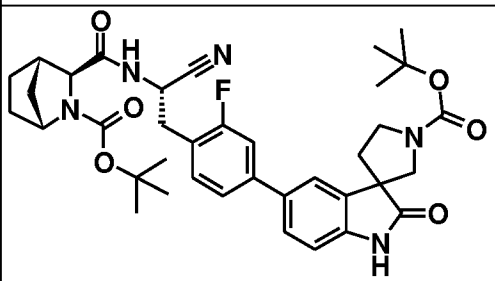
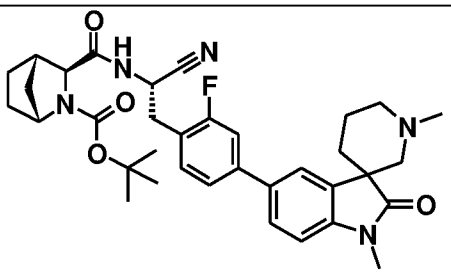
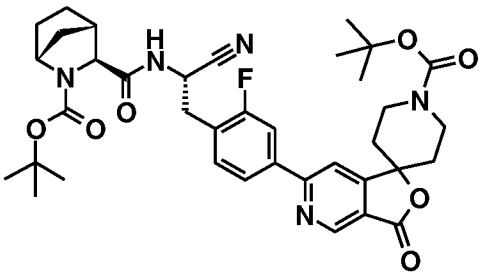
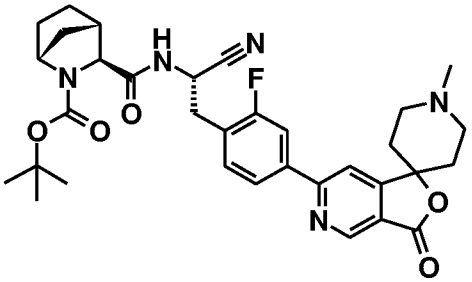
المركبات الوسيطية التالية هي كما بينت في جدول 1 المخلقة بطريقة مماثلة من المركب الوسيط I-1.4 واضافات مناسبة:

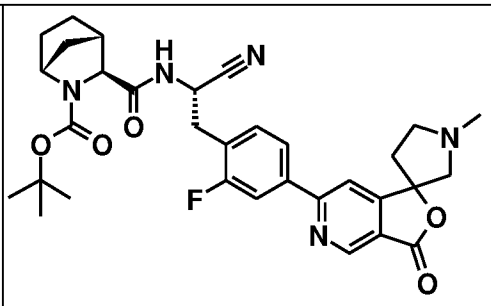
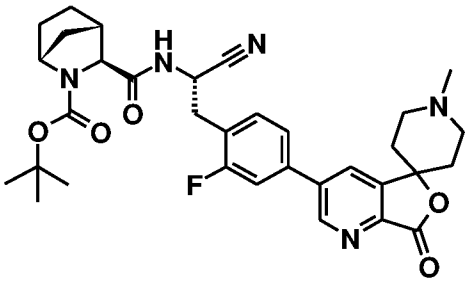
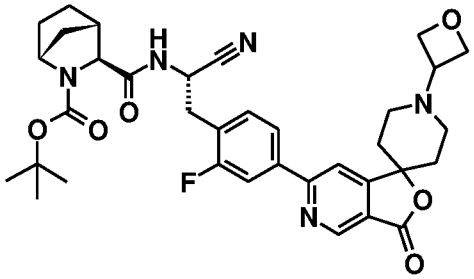
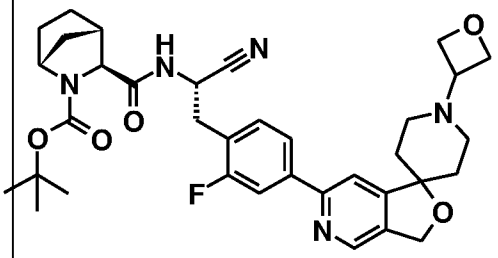
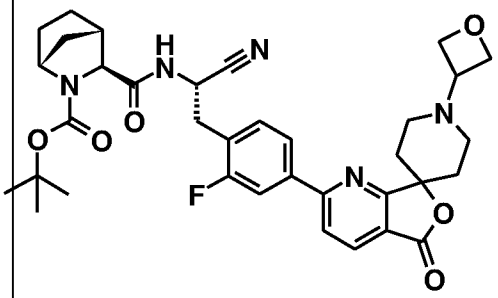
جدول 1

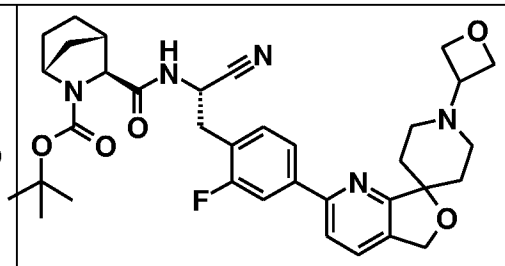
المركب الوسيط	إضافات	تركيب مركب وسيط	m/z [M+H]+	زمن الاحتفاظ (دقيقة)	طريقة LC-MS
I-1.5.1	R6		517 [M-Boc-t.but +H]+	29.1	Z012_S04
I-1.5.2	R8		532 [M-Boc-t.but +H]+	14.1	Z012_S04
I-1.5.3	R9		546 [M-Boc-t.but +H]+	19.1	Z012_S04

I-1.5.4	R10		616	95.0	Z012_S04
I-1.5.5	R10.1		602	91.0	Z012_S04
I-1.5.6	I-7.2		589 [M-Boc +H]+	19.1	Z012_S04
I-1.5.7	R10.2		603	94.0	Z012_S04
I-1.5.8	I-7.2.1		575 [M-Boc +H]+	15.1	Z011_S03

I-1.5.9	R10.3		589	95.0	Z012_S04
I-1.5.10	I-7.2.2		561 [M-Boc +H]+	17.1	Z012_S04
I-1.5.11	R10.4		575	04.1	Z011_S03
I-1.5.12	I-7.4		575 [M-Boc +H]+	24.1	Z011_S03
I-1.5.13	R10.5		589	12.1	Z011_S03

I-1.5.14	R7		587	19.1	Z011_S03
I-1.5.15	R12		574 [M-Boc +H]+	10.1	Z011_S03
I-1.5.16	R10.6		615	80.0	Z020_S01
I-1.5.17	R14		590 [M-Boc +H]+	16.1	Z011_S03
I-1.5.18	R10.7		604	04.1	Z011_S03

I-1.5.19	I-11.1.1		590	02.1	Z011_S03
I-1.5.20	R15		604	03.1	Z011_S03
I-1.5.21	R16		546 [M-Boc +H]+	00.1	Z011_S03
I-1.5.22	R17		632	03.1	Z011_S03
I-1.5.23	R18		646	90.0	Z011_S03

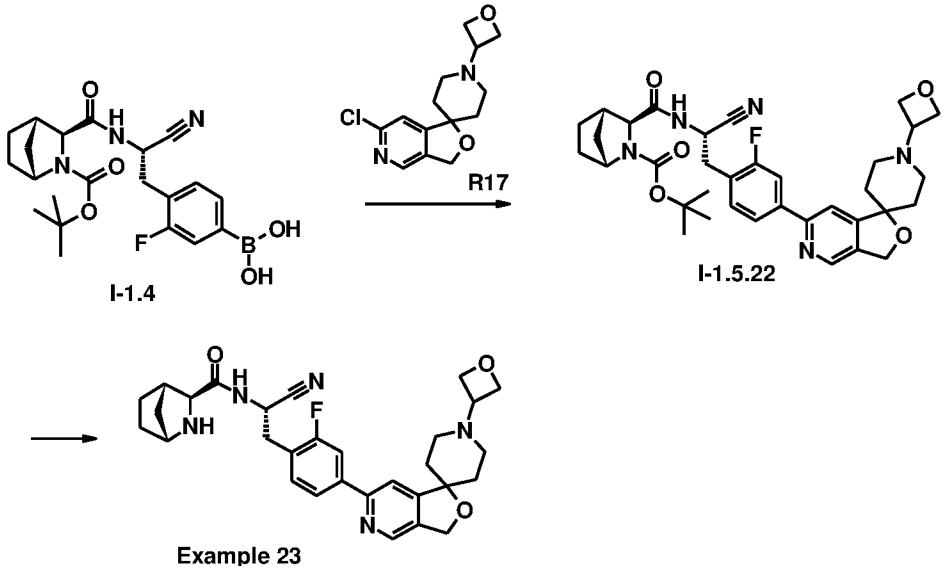
I-1.5.24	R19		632	04.1	Z011_S03

الخطوة 6: تخليق المثال 1

إلى I-1.5 (3.64 جرام، 5.78 مليمول) في أسيتونيتريل (60 مليلتر) أضيف بارا- طولوين حمض سلفونيك مونوهيدرات p-toluenesulfonic acid monohydrate (5.49 جرام، 28.88 مليمول) وتم تقليب خليط التفاعل طوال الليل عند درجة حرارة الغرفة. وتم تخفيف بمحلول كربونات هيدروجين الصوديوم المشبع saturated sodium hydrogen carbonate solution، واستخلص بأسيتات الإثيل ethyl acetate عدة مرات. وتم غسل الطبقة العضوية بمحلول ملحي، وجفف على كبريتات الماغنسيوم، رشح وركز في الفراغ. وتم تنقية الراسب الخام بالطور العكسي كروماتوجراف سائل عالي الأداء.

m/z 531 [M+H]+, rt 1.00 min, LC-MS Method Z011_S03. Yield 84٪

تخليق (1S، 2S، 4R)-N-[(1S)-1-سيانو-2-[2-فلورو-4-[1`-(أوكسيتان-3-يل) سبيرو [3H-فيورو [3، 4-c] ببريدين-1، 4`- ببريدين]-6-يل] فنيل] اثيل]-3-أزا ثاني حلقي [2. 2. 1] هبتان-2-كربوكساميد (1S,2S,4R)-N-[(1S)-1-cyano-2-[2-fluoro-4-[1'-(oxetan-3-yl)spiro[3H-furo[3,4-c]pyridine-1,4'-piperidine]-6-yl]phenyl]ethyl]-3-azabicyclo[2.2.1]heptane-2-carboxamide (المثال 23)



الخطوة 1: تخليق المركب الوسيط I-1.5.22

إلى I-1.4 (92.2 مليجرام، 0.17 مليمول) في اسيتونيتريل (3 مليلتر) أضيف R17 (48.0 مليجرام، 0.17 مليمول) و تم تطهير الخليط بالأرجون. وتم إضافة محلول من كربونات السيزيوم المائي Caesium carbonate aqueous solution 2 مول / لتر (171 ميكرولتر، 0.34 مليمول) و 1، 1`- مكرر (ثاني-ثالث- بيوتيل فوسفينو) فيروسين بالاديوم ثاني كلوريد 1,1'-bis(di-tert-butylphosphino)ferrocene palladium dichloride (11.1 مليجرام، 0.02 مليمول)، وتم تطهير خليط التفاعل مرة أخرى بالأرجون والمقلب عند 80°م في مفاعل ميكروويف microwave reactor لمدة 45 دقيقة. وتم تخفيف خليط التفاعل بمحلول كربونات هيدروجين الصوديوم المشبع، واستخلص بأسيتات الإثيل ethyl acetate عدة مرات. وتم غسل الطبقة العضوية بمحلول ملحي، وجفف على كبريتات الماغنسيوم، رشح وركز في الفراغ. وتم تنقية الراسب المتبقي بواسطة كروماتوجراف سائل عالي الأداء الطور العكسي ليعطي I-1.5.22.

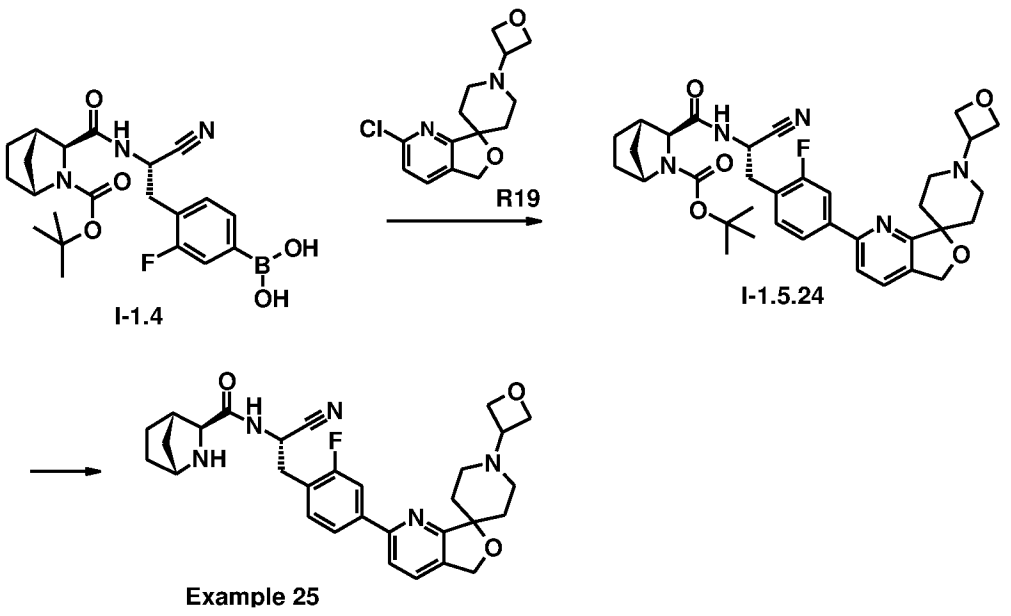
m/z 632 [M+H]+, rt 1.04 min, LC-MS Method Z011_S03.٪Yield 52

الخطوة 2: تخليق المثال 23

إلى I-1.5.22 (56.0 مليجرام، 0.09 مليمول) في أسيتونيتريل (2 مليلتر) أضيف بارا طولوين حمض سلفونيك مونوهيدرات (84.3 مليجرام، 0.44 مليمول) وتم تقليب خليط التفاعل طوال الليل عند درجة حرارة الغرفة. وتم تحويل خليط التفاعل إلى قاعدي بملح ثالث اثيل أمين triethylamine (TEA)، رشح من خلال مرشح غشائي ونقي بالطور العكسي كروماتوجراف سائل عالي الأداء.

m/z 532 [M+H]+, rt 0.96 min, LC-MS Method Z011_S03.٪Yield 83

تخليق (1S، 2S، 4R)-N-[(1S)-1- سيانو-2-[2-فلورو-4-[1`-(أوكسيتان-3-يل) سبيرو [5H-فيورو [3، 4-b] ببريدين-7، 4`- ببريدين]-2-يل] فنيل] اثيل]-3-أزا ثاني حلقي [2. 2. 1] هبتان-2-كربوكساميد (1S,2S,4R)-N-[(1S)-1-cyano-2-[2-fluoro-4-[1'-(oxetan-3-yl)spiro[5H-furo[3,4-b]pyridine-7,4'-piperidine]-2-yl]phenyl]ethyl]-3-azabicyclo[2.2.1]heptane-2-carboxamide (المثال 25)



الخطوة 1: تخليق المركب الوسيط I-1.5.24

إلى I-1.4 (2.304 جرام، 5.34 مليمول) في أسيتونيتريل (50 مليلتر) أضيف 1.50 جرام، 5.34 مليمول) وتم تطهير الخليط بالأرجون. وتم إضافة محلول مائي من كربونات الصوديوم 2 مول/ لتر (5.343 مليلتر، 10.69 مليمول) و 1، 1`- مكرر (ثاني- ثالث- بيوتيل فوسفينو) فيروسين بالاديوم ثاني كلوريد 1,1'-bis(di-tert-butylphosphino)ferrocene palladium dichloride (348.2 مليجرام، 0.53 مليمول)، وتم تطهير خليط التفاعل بالأرجون وقلب عند 70°م في مفاعل ميكروويف لمدة 45 دقيقة. وتم إضافة كمية إضافية من I-1.4 (150 مليجرام، 0.35 مليمول) وتم تقليب خليط التفاعل عند 70°م لمدة 25 دقيقة. وتم تخفيف خليط التفاعل بمحلول كربونات هيدروجين الصوديوم المشبع، واستخلص بأسيتات الإثيل عدة مرات. تم غسل الطبقة العضوية بمحلول ملحي، وجفف على كبريتات الماغنسيوم، رشح وركز في الفراغ. وتم تنقية الراسب الخام بعمود كروماتوجرافي على السيليكاجل (ثنائي كلورو ميثان: ميثانول = 99 : 1 إلى 9 : 1) ليعطي I-1.5.24.

m/z 632 [M+H]+, rt 1.05 min, LC-MS Method Z011_S03.٪Yield 55

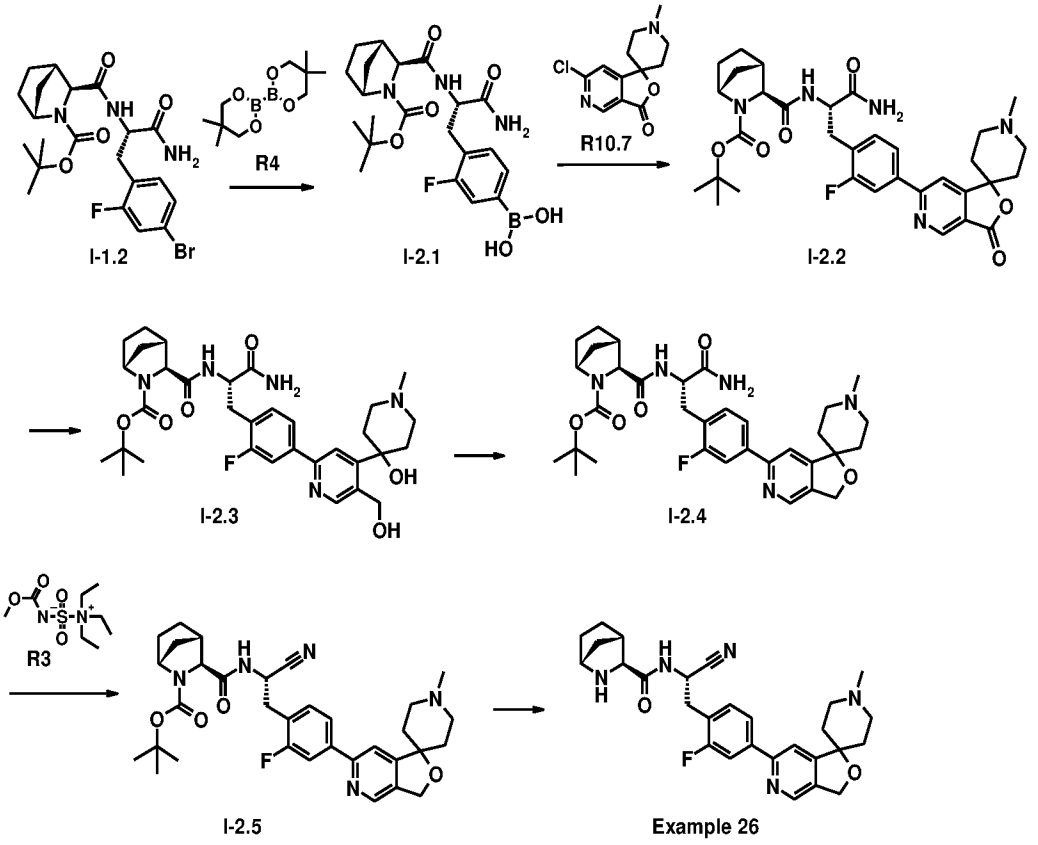
الخطوة 2: تخليق المثال 25

إلى I-1.5.24 (1.85 مليجرام، 2.93 مليمول) في أسيتونيتريل (50 مليلتر) اضيف بارا- طولوين حمض سلفونيك مونوهيدرات (2.78 جرام، 14.64 مليمول) وتم تقليب خليط التفاعل طوال الليل عند درجة حرارة الغرفة. وتم تخفيف خليط التفاعل بمحلول كربونات هيدروجين الصوديوم المشبع، واستخلص بأسيتات الإثيل عدة مرات. وتم غسل الطبقة العضوية بمحلول ملحي، وجفف على كبريتات الماغنسيوم، رشح وركز في الفراغ. وتم تنقية الراسب الخام بالطور العكسي كروماتوجراف سائل عالي الأداء.

m/z 532 [M+H]+, rt 0.97 min, LC-MS Method Z011_S03.٪Yield 88

الطريقة ب

تخليق (1S، 2S، 4R)-N-[(1S)-1-سيانو-2-[2-فلورو-4-(1`- مثيل سبيرو [3H- فيورو [3، 4-c] بيريدين-1، 4`-ببريدين]-6-يل) فنيل] اثيل]-3- أزا ثاني حلقي [2. 2. 1] هبتان-2- كربوكساميد -2-[2-(1S,2S,4R)-N-[(1S)-1-cyano-2-fluoro-4-(1'-methylspiro[3H-furo[3,4-c]pyridine-1,4'-piperidine]-6-yl)phenyl]ethyl]-3-azabicyclo[2.2.1]heptane-2-carboxamide (المثال 26)



الخطوة 1: تخليق المركب الوسيط I-2.1

إلى I-1.2 (1.0 جرام، 2.07 مليمول) في ثاني أوكسان (10 مليلتر) R4 (512.99 مليجرام، 2.27 مليمول)، أسيتات البوتاسيوم (607.92 مليجرام، 9.65 مليمول) وأضيف [1، 1`- مكرر (ثاني فنيل فوسفينو) فيروسين] ثاني كلورو بالاديوم (II)، معقد بثاني كلوروميثان (1 : 1) (33.72 مليجرام، 0.041 مليمول). وتم تطهير خليط التفاعل بالنيتروجين وسخن إلى 70°م طوال الليل. ومرة أخرى تم إضافة R4 (100 مليجرام، 0.44 مليمول) و [1، 1`- مكرر (ثاني فنيل فوسفينو) فيروسين] ثاني كلورو بالاديوم (II)، معقد بثاني كلورو ميثان (1 : 1) (10 مليجرام، 0.01 مليمول) وقلب خليط التفاعل عند 70°م لمدة ساعتين. وتم تخفيف خليط التفاعل بمحلول كربونات هيدروجين الصوديوم المشبع واستخلص بأسيتات الإثيل. وتم غسل الطبقة العضوية بمحلول ملحي، وجفف على كبريتات الماغنسيوم، رشح وركز في الفراغ. وتم تنقية الراسب بواسطة كروماتوجراف سائل عالي الأداء الطور العكسي.

الناتج 50٪ +[M+H] 450 m/z.

الخطوة 2: تخليق المركب الوسيط I-2.2

إلى I-2.1 (204.46 مليجرام، 0.46 مليمول) في أسيتونيتريل (4 مليلتر) أضيف R10.7 (115 مليجرام، 0.46 مليمول) وتم تطهير الخليط بالأرجون. وتم إضافة محلول كربونات السيزيوم المائي 2 مول / لتر (455.09 ميكرولتر، 0.91 مليمول) و 1، 1`- مكرر (ثاني-ثالث- بيوتيل فوسفينو) فيروسين بالاديوم ثاني كلوريد (29.66 مليجرام، 0.046 مليمول)، وتم تطهير خليط التفاعل مرة أخرى بالأرجون والمقلب عند 80°م في مفاعل ميكروويف لمدة 45 دقيقة. وتم تخفيف خليط التفاعل بمحلول كربونات هيدروجين الصوديوم المشبع، واستخلص بأسيتات الإثيل عدة مرات. وتم غسل الطبقة العضوية بمحلول ملحي، وجفف على كبريتات الماغنسيوم، رشح وركز في الفراغ. وتم تنقية الراسب المتبقي بواسطة كروماتوجراف سائل عالي الأداء الطور العكسي.

الناتج 75٪

الخطوة 3: تخليق المركب الوسيط I-2.3

إلى I-2.2 (212 مليجرام، 0.34 مليمول) أضيف بوروهيدريد الليثيوم (2 مول/لتر، 0.26 مليلتر، 0.51 مليمول) وتم تقليب خليط التفاعل لمدة 3 ساعات عند درجة حرارة الغرفة. وتم إطفاء خليط التفاعل بالميثانول، وخفف بالماء واسيتات الإثيل. وتم غسل الطبقة العضوية بمحلول كربونات هيدروجين الصوديوم ومحلول ملحي، وجفف على كبريتات الصوديوم، رشح وركز في الفراغ.

الناتج 91٪

الخطوة 4: تخليق المركب الوسيط I-2.4

إلى I-2.3 (194 مليجرام، 0.31 مليمول) في رابع هيدروفيوران tetrahydrofuran (THF) (5 مليلتر) أضيف ثالث اثيل أمين (0.22 مليلتر، 1.55 مليمول) وبارا- طولوين سلفونيك لا مائي (121.43 مليجرام، 0.37 مليمول) عند وتم السماح لخليط التفاعل بأن يصبح عند درجة حرارة الغرفة وقلب طوال الليل وتم إطفاء خليط التفاعل بالماء وركز في الفراغ. وتم تخفيف الراسب بمحلول كربونات هيدروجين الصوديوم واستخلص بأسيتات الإثيل. وتم غسل الطبقة العضوية بمحلول ملحي، وجفف على كبريتات الصوديوم، رشح وركز في الفراغ. ونقي الراسب بالطور العكسي كروماتوجراف سائل عالي الأداء.

الناتج 34٪+[M+H] 608 m/z.

الخطوة 5: تخليق المركب الوسيط I-2.5

إلى I-2.3 (194 مليجرام، 0.31 مليمول) في ثاني كلورو ميثان (2.5 مليلتر) أضيف R3 (63.72 مليجرام، 0.27 مليمول) وتم تقليب خليط التفاعل طوال الليل عند درجة حرارة الغرفة. وتم تخفيف خليط التفاعل بأسيتات الإثيل واستخلص بالماء. وتم غسل الخليط العضوي بمحلول ملحي، وجفف على كبريتات الماغنسيوم، رشح وركز في الفراغ.

الناتج >95٪

الخطوة 2: تخليق المثال 26

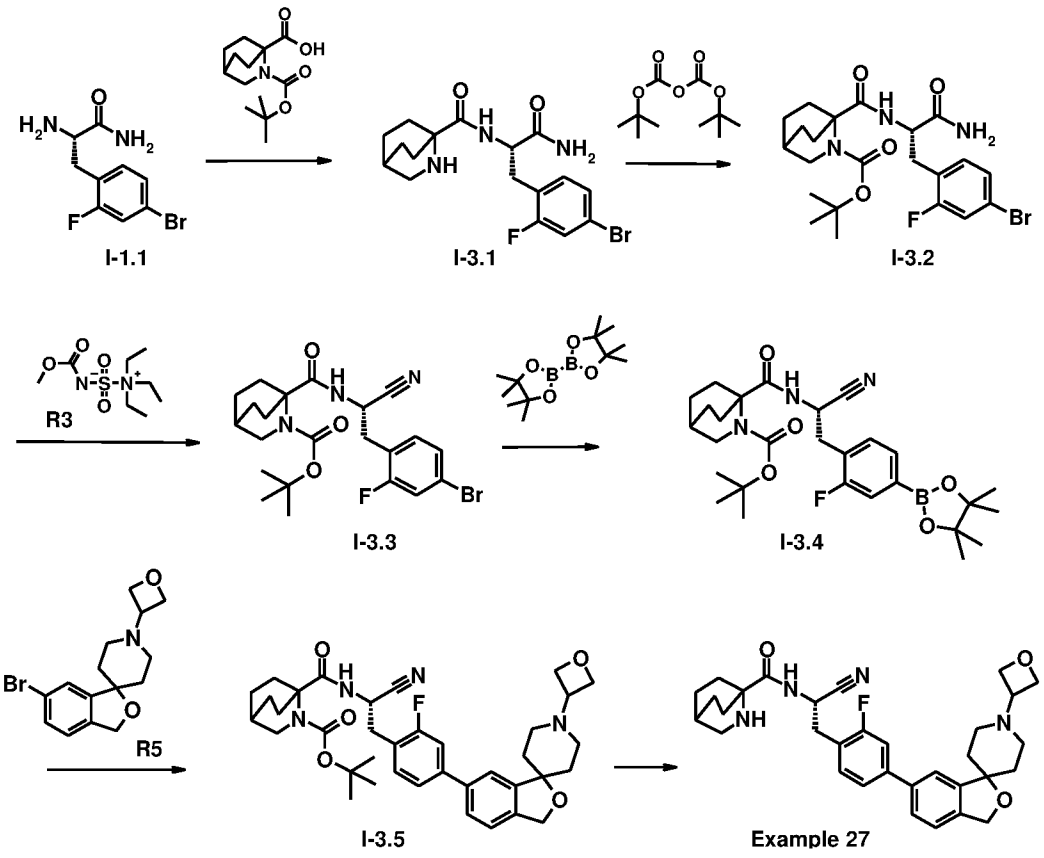
إلى I-1.5 (68 مليجرام، 0.10 مليمول) في أسيتونيتريل (2 مليلتر) أضيف بارا- طولوين حمض سلفونيك مونوهيدرات (98.70 جرام، 0.52 مليمول) وتم تقليب

خليط التفاعل طوال الليل عند درجة حرارة الغرفة. وتم تحويل خليط التفاعل إلى قاعدي بملح حمض ثالث فلورو خليك ونقي بالطور العكسي كروماتوجراف سائل عالي الأداء.

الناتج 28٪ Z011_S03 Method LC-MS, rt 0.96 min, [M+H]+ 490 m/z.

الطريقة C

تخليق من N-[(1S)-1-سيانو-2-[2-فلورو-4-[1`-(أوكسيتان-3-يل) سبيرو [1H-أيزوبنزوفيوران-3، 4`- ببريدين]-5-يل] فنيل] اثيل]-3- أزا ثاني حلقي [2. 2. 2] أوكتان-4- كربوكساميدو N-[(1S)-1-cyano-2-[2-fluoro-4-[1'-(oxetan-3-yl)spiro[1H-isobenzofuran-3,4'-piperidine]-5-yl]phenyl]ethyl]-3-azabicyclo[2.2.2]octane-4-carboxamide (المثال 27)



الخطوة 1: تخليق المركب الوسيط I-3.1

إلى محلول مبرد عند صفر°م من I-1.1 (5.80 جرام، 22.2 مليمول)، 3-ثالث بيوتوكسي كربونيل-3- أزا ثاني حلقي [2. 2. 2] أوكتان-4- حمض كربوكسيليك، محضر طبقا للـ Radchenko et al. J. Org. Chem. 2009, 5541-5544 (5.67

جـرام، 22.2 مليمـول) و N- مثيـل- مورفـولين N-methyl-morpholine (12.2 مليلتـر، 111.0 مليمـول) فـي ثـاني كلـورو ميثـان جـاف (67 مليلتـر) اضـيف 1- بروبـان حمـض الفوسـفونيك أنهيدريـد الحلقـي (13.08 مليلتـر (50٪ فـي اسـيتات الإثيـل)، 22.2 مليمـول). وتـم السـماح لخلـيط التفاعـل ليصـل إلـى درجـة حـرارة الغرفـة وقلـب طـوال الليـل. وتـم تخفيـف خلـيط التفاعـل بمحلـول كربونـات هيـدروجين الصـوديوم المشـبع واسـتخلص بثـاني كلـورو ميثـان عـدة مـرات. وتـم غسـل الطبقـة العضـوية بمحلـول ملحـي، جفـف علـى كبريتـات الماغنسـيوم، رشـح وركـز فـي الفـراغ ليعطـي I-3.1، والـذي اسـتخدم فـي الخطـوة التاليـة بـدون تنقية أخرى.

, m/z 398/400 [M+H]+, rt 0.87 min, LC-MS Method ٪Yield 73 Z011_S03.

الخطوة 2: تخليق المركب الوسيط I-3.2

إلـى محلـول مبـرد عنـد صـفر°م مـن I-3.1 (8.625 جـرام، 21.66 مليمـول) فـي 300 مليلتـر مـن ثـاني كلـورو ميثـان جـاف أضـيفت قطـرة قطـرة مـن محلـول ثـاني ثالـث بيوتيـل ثـاني كربونـات di-tert-butyl dicarbonate (6.26 جـرام، 28.70 مليمـول) فـي 20 مـل مـن ثـاني كلـورو ميثـان جـاف. وتـم تقليـب خلـيط التفاعـل لمـدة سـاعتين عنـد صـفر°م، سـمح بـأن يصـل إلـى درجـة حـرارة الغرفـة، وقلـب لمـدة سـاعتين. وتـم تركيـز خلـيط التفاعـل فـي الفراغ ليعطي I-3.2 والذي استخدم في الخطوة التالية بدون تنقية أخرى.

الناتج 98٪، m/z 398/400 [M+H – Boc]+, rt 1.04 min, LC-MS Method Z011_S03.

الخطوة 3: تخليق المركب الوسيط I-3.3

إلـى معلـق مـن I-3.2 (5.52 جـرام، 11.07 مليمـول) فـي ثـاني كلـورو ميثـان جـاف (70 مليلتـر) أضـيف R3 (3.96 جـرام، 16.60 مليمـول) فـي أربـع أجـزاء وتـم تقليـب خلـيط التفاعـل طـوال الليـل عنـد درجـة حـرارة الغرفـة لمـدة 6 سـاعات عنـد درجـة حـرارة الغرفـة. وتـم تخفيـف خلـيط التفاعـل بثـاني كلـورو ميثـان، غسـل بـ 10٪ مـن محلـول مـائي مـن حمـض طرطريـك، ومحلـول كربونـات هيـدروجين الصـوديوم المشـبع، محلـول ملحـي، جفـف علـى

كبريتات الماغنسيوم، رشح وركز في الفراغ. وتم تنقية الراسب المحصول عليه بعمود كروماتوجرافي على السيليكاجل (اثير نفطي: اسيتات الإثيل = 94: 6 إلى 69 : 31) ليعطي I-3.3.

الناتج 77٪، m/z 380/382 $[M+H - Boc]^+$, rt 1.10 min, LC-MS Method Z011_S03.

الخطوة 4: تخليق المركب الوسيط I-3.4

إلى I-3.3 (3.61 جرام، 7.52 مليمول) في ثاني أوكسان (45 مليلتر) أضيف مكرر (بيناكولاتو) ثاني بورون (3.24 جرام، 12.78 مليمول)، أسيتات البوتاسيوم (2.21 جرام، 22.55 مليمول) و [1، 1`- مكرر (ثاني فنيل فوسفينو) فيروسين] ثاني كلورو بالاديوم (II)، معقد بثاني كلورو ميثان (1 : 1) (61.4 مليجرام، 0.08 مليمول). تم تطهير الخليط بالنيتروجين لمدة 5 دقائق وسخن عند 70°م لمدة 3 ساعات. وتم تخفيف خليط التفاعل بالماء واستخلص بثاني كلوروميثان. وتم غسل الطبقة العضوية بمحلول ملحي، جفف على كبريتات الماغنسيوم، رشح وركز في الفراغ. وتم تنقية الراسب بعمود كروماتوجرافي على السيليكاجل (اثير نفطي: أسيتات الإثيل = 100 : 0 إلى 91 : 9) ليعطي I-3.4.

الناتج 68٪، m/z 346 $[M+H - Boc - ((CH_3)_2CH)_2]+$, rt 0.77 min, LC-MS Method Z011_S03.

الخطوة 5: تخليق المركب الوسيط I-3.5

إلى I-3.4 (1.14 جرام، 2.16 مليمول) في اسيتونيتريل (30 مليلتر) أضيف R5 (0.70 جرام 2.16 مليمول) وتم تطهير الخليط بالأرجون. أضيف محلول كربونات الصوديوم المائي 2مول / لتر (2.16 مليلتر، 4.32 مليمول) و 1، 1`- مكرر (ثاني- ثالث-بيوتيل فوسفينو) فيروسين بالاديوم ثاني كلوريد (141.0 مليجرام، 0.22 مليمول)، وتم تطهير خليط التفاعل مرة ثانية بالأرجون لمدة 5 دقائق وقلب عند 80°م لمدة 7 دقائق في مفاعل ميكروويف. وتم تخفيف خليط التفاعل بمحلول كربونات هيدروجين الصوديوم المشبع، واستخلص بأسيتات الإثيل عدة مرات. وتم غسل الطبقة العضوية بمحلول ملحي، جفف على كبريتات الماغنسيوم، رشح وركز في الفراغ. وتم تنقية الراسب

الخـام بعمـود كروماتوجرافي علـى السـيليكاجل (ثنـائي كلـورو ميثـان : ميثـانول methanol (MeOH)= 99 : 1 إلى 9 : 1) ليعطي I-3.5.

الناتج 81٪، m/z 645 [M+H]+, rt 1.11 min, LC-MS Method Z011_S03.

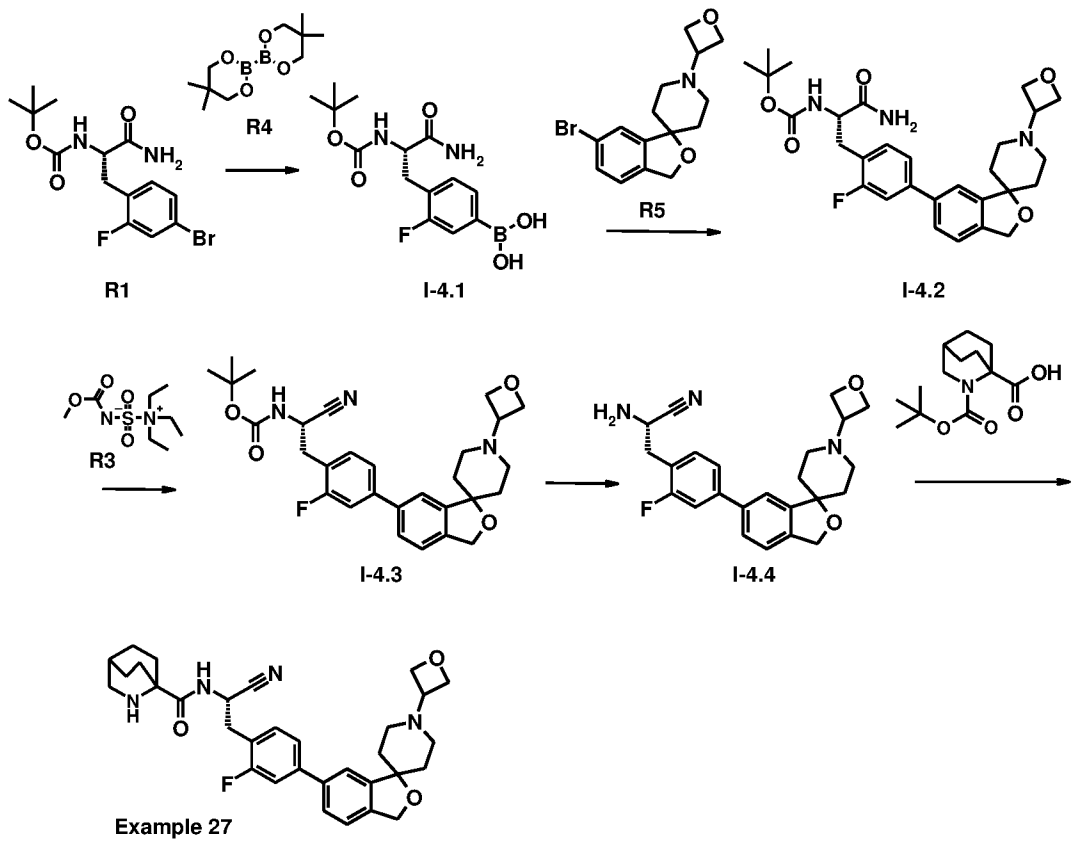
الخطوة 5: تخليق المثال 27

إلـى I-3.5 (923.0 مليجـرام، 1.43 مليمـول) فـي أسـيتونيتريل (40 مليلتـر) أضـيف بـارا- طولـوين حمـض سـلفونيك مونوهيـدرات (681.0 جـرام، 3.58 مليمـول) وتـم تقليـب خلـيط التفاعـل لمـدة 3 أيـام عنـد درجـة حـرارة الغرفـة. وتـم تعـادل خلـيط التفاعـل بملـح حمـض ثالـث فلـورو خليـك وركـز فـي الفـراغ. وأضـيف المـاء واسـتخلص خلـيط التفاعـل بأسـيتات الإثيـل عـدة مـرات. وتـم غسـل الطبقـة العضـوية بمحلـول ملحـي، وجفـف علـى كبريتـات الماغنسـيوم، رشـح وركـز فـي الفـراغ. وتـم تنقيـة الراسـب الخـام بـالطور العكسـي كروماتوجراف سائل عالي الأداء.

الناتج 61٪، m/z 545 [M+H]+, rt 1.02 min, LC-MS Method Z011_S03.

الطريقة D

بـديلا عـن ذلـك تخليـق مـن N-[(1S)-1-سـيانو-2-[2-فلـورو-4-[1`-(أوكسـيتان-3-يـل) سـبيرو [1H- أيزوبنزوفيـوران-3، 4`- ببريـدين]-5-يـل] فنيـل] اثيـل]-3- أزا ثـاني حلقـي [2. 2. 2] أوكتـان-4- كربوكسـاميدو-'1]-4-[2-fluoro-N-[(1S)-1-cyano-2-(oxetan-3-yl)spiro[1H-isobenzofuran-3,4'-piperidine]-5-yl]phenyl]ethyl]-3-azabicyclo[2.2.2]octane-4-carboxamide (المثال 27)



الخطوة 1: تخليق المركب الوسيط I-4.1

إلى R1 (340 مليجرام، 0.94 مليمول) في ثاني أوكسان (7 ملليتر) أضيف R4 (288 ملليتر، 1.28 مليمول)، أسيتات البوتاسيوم (277 مليجرام، 2.82 مليمول) وأضيف [1، 1`- مكرر (ثاني فنيل فوسفينو) فيروسين] ثاني كلورو بالاديوم (II)، معقد مع ثاني كلورو ميثان (1: 1) (15.3 مليجرام، 0.02 مليمول). وتم تطهير الخليط بالنيتروجين وسخن إلى 70°م لمدة ساعتين. وتم تخفيف خليط التفاعل بمحلول كربونات هيدروجين الصوديوم المشبع واستخلص بأسيتات الإثيل. وتم غسل الطبقة العضوية بمحلول ملحي، وجفف على كبريتات الماغنسيوم، رشح وركز في الفراغ. وتم تنقية الراسب بالطور العكسي كروماتوجراف سائل عالي الأداء ليعطي I-4.1.

الناتج 90٪، m/z 325 [M-H]-, rt 0.94 min, LC-MS Method Z020_S01.

الخطوة 2: تخليق المركب الوسيط I-4.2

إلى I-4.1 (228 مليجرام، 0.70 مليمول) في أسيتونيتريل (10 ملليتر) أضيف R5 (239 مليجرام، 0.70 مليمول) وتم تطهير الخليط بالأرجون. وأضيف محلول كربونات البوتاسيوم المائي 2 مول / لتر (700 ميكرولتر، 1.4 مليمول) و 1، 1-مكرر

(ثـاني-ثالـث- بيوتيـل فوسـفينو) فيروسـين بـالاديوم ثـاني كلوريـد (46 مليجـرام، 0.07 مليمـول)، وتـم تطهيـر خلـيط التفاعـل مـرة أخـرى بـالأرجون وقلـب عنـد 80°م لمـدة 45 دقيقـة فـي مفاعـل ميكروويـف. وتـم تخفيـف خلـيط التفاعـل بمحلـول كربونـات هيـدروجين الصـوديوم المشـبع واسـتخلص بأسـيتات الإثيـل. وتـم غسـل الطبقـة العضـوية بمحلـول ملحـي، وجفـف على كبريتـات الماغنسـيوم، رشـح وركـز فـي الفـراغ. وتـم تنقيـة الراسـب بواسـطة الطـور العكسي كروماتوجراف سائل عالي الأداء ليعطي I-4.2.

الناتج 80٪، m/z 526 $[M+H]^+$, rt 0.83 min, LC-MS Method Z011_S03 .

الخطوة 3: تخليق المركب الوسيط I-4.3

إلـى I-4.2 (294 مليجـرام، 0.56 مليمـول) فـي ثـاني كلـورو ميثـان (10 مليلتـر) أضـيف R3 (333 مليجـرام، 1.4 مليمـول) وتـم تقليـب خلـيط التفاعـل لمـدة 40 دقيقـة عنـد درجـة حـرارة الغرفـة. أزيـل ثنـائي كلـورو ميثـان فـي الفـراغ، تـم تقسـيم الراسـب الـذي تـم الحصـول عليـه بـين اسـيتات الإثيـل و 10٪ مـن محلـول مـائي مـن حمـض طرطريـك tartaric acid، وفصـلت الأطـوار واسـتخلص الطـور المـائي بأسـيتات الإثيـل. وتـم غسـل الطبقـة العضـوية المتحـدة بمحلـول كربونـات هيـدروجين الصـوديوم المشـبع، محلـول ملحـي، وجفف على كبريتات الماغنسيوم، رشح وركز في الفراغ ليعطي I-4.3.

الناتج 95٪، m/z 508 $[M+H]^+$, rt 1.06 min, LC-MS Method Z011_S03.

الخطوة 4: تخليق المركب الوسيط I-4.4

إلـى I-4.3 (320 مليجـرام، 0.63 مليمـول) فـي اسـيتونيتريل (8 مليلتـر) أضـيف بـارا- طولـوين حمـض سـلفونيك مونوهيـدرات (600 مليجـرام، 3.15 مليمـول) وتـم تقليـب خلـيط التفاعـل طـوال الليـل عنـد درجـة حـرارة الغرفـة. وتـم تخفيـف خلـيط التفاعـل بمحلـول كربونـات هيـدروجين الصـوديوم المشـبع واسـتخلص بأسـيتات الإثيـل ثـلاث مـرات. وتـم غسـل الطبقة العضوية بمحلول ملحي، وجفف على كبريتات الماغنسيوم، رشح وركز في الفراغ.

الناتج 80٪، m/z 408 [M+H]+, rt 0.90 min, LC-MS Method Z011_S03.

الخطوة 5: تخليق المثال 27

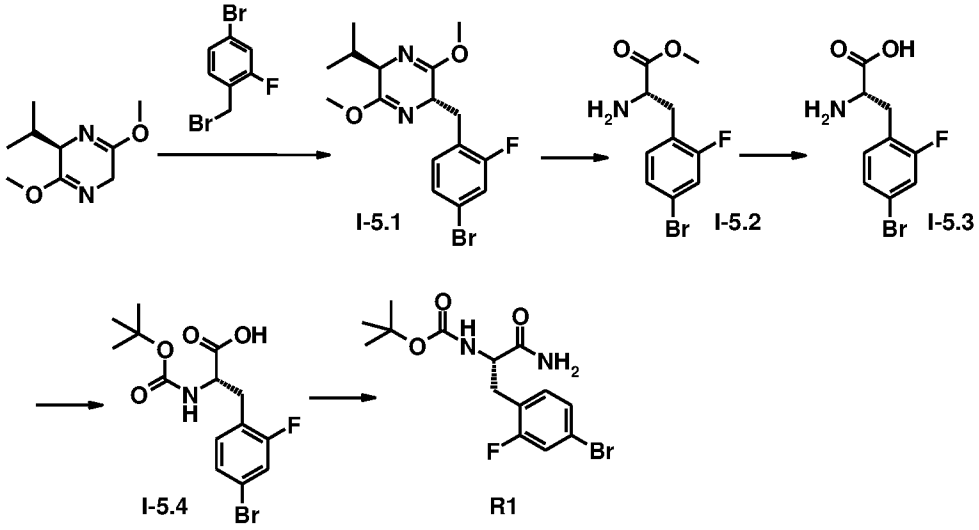
إلـى I-4.4 (30 مليجـرام، 0.07 مليمـول) فـي ثنـائي ميثيـل الفورماميـد (1 مليلتـر) أضـيف 3- ثالـث بيوتوكسـي كربونيـل-3- أزا ثـاني حلقـي [2. 2. 2] أوكتـان-4- حمـض

كربوكسيليك، محضر طبقا Radchenko et al. J. Org. Chem. 2009, 5541-5544 (16 ميكرولتر، 0.15 مليمول) و 1- بروبان حمض الفوسفونيك أنهيدريد الحلقي (43 ميكرولتر، 50٪ في ثنائي ميثيل الفورماميد) عند درجة حرارة الغرفة. تم تقليب خليط التفاعل لمدة 2.5 ساعة عند درجة حرارة الغرفة، خفف بمحلول كربونات هيدروجين الصوديوم المشبع واستخلص بأسيتات الإثيل عدة مرات. وتم غسل الطبقة العضوية بمحلول ملحي، جفف على كبريتات الماغنسيوم، رشح وركز في الفراغ. وتم تنقية الراسب بالطور العكسي كروماتوجراف سائل عالي الأداء ليعطي المثال 27 (أثناء التشغيل و/ أو التنقية حدث أن أزيلت الحماية من مجموعة Boc).

, m/z 545 [M+H]+, rt 1.02 min, LC-MS Method Z011_S03.٪Yield 32

تخليق المواد / الإضافات البادئة

تخليق ثالث بيوتيل N-[(1S)-2-أمينو-1-[(4- برومو-2- فلورو- فنيل) مثيل]-2-أوكسو-اثيل] كربامات tert-butyl N-[(1S)-2-amino-1-[(4-bromo-2-fluoro-phenyl)methyl]-2-oxo-ethyl]carbamate (R1)



الخطوة 1: تخليق المركب الوسيط I-5.1

تم تبريد (2R)-(-)-2، 5-ثاني هيدرو-3، 6-ثاني ميثوكسي-2- أيزوبروبيل بيرازين 2,5-Dihydro-3,6-dimethoxy-2-isopropylpyrazine (212 جرام، 1151 مليمول) في رابع هيدروفيوران جاف (600 مليلتر) إلى -78°م. ثم أضيف قطرة قطرة من بيوتيل عادي الليثيوم (2.5 مولار في هكسانات hexanes، 552 مليلتر، 1381

مليمول)، واحتفظ بدرجة الحرارة أدنى من -78°م. بعد 30 دقيقة أضيف قطرة قطرة 4-بروموـ-2-فلورو بنزيل بروميد 4-bromo-2-fluorobenzyl bromide (324 جرام، 1209 مليمول) في رابع هيدروفيوران جاف (120 مليلتر). وتم تقليب خليط التفاعل عند -78°م لمدة 1 ساعة. وتم إطفاء الخليط بمحلول كلوريد الأمونيوم واستخلص ثلاث مرات بأسيتات الإثيل. وتم غسل الطبقة العضوية بمحلول ملحي، وجفف على كبريتات الصوديوم، رشح وبخر في الفراغ. وتم تنقية الراسب بكروماتوجرافي الومضي (هبتان heptane/ اسيتات الإثيل= 80/ 20). الناتج 60٪.

الخطوة 2: تخليق المركب الوسيط I-5.2

إلى I-5.1 (104 جرام، 265 مليمول) في أسيتونيتريل (600 مليلتر) أضيف هيدروكلوريد مائي 0.2 مولار (2788 مليلتر، 558 مليمول). وتم تقليب الخليط عند درجة حرارة الغرفة لمدة 12 ساعة. وتم استخلاص الخليط بثاني اثيل الإثير وضبطت الطبقة المائية للأس الهيدروجيني إلى 8 تقريباً بمحلول بيكربونات الصوديوم المشبع، ثم استخلص ثلاث مرات بأسيتات الإثيل. وتم غسل الطبقة العضوية بمحلول ملحي، وجفف على كبريتات الصوديوم، رشح وركز. الناتج 80٪.

الخطوة 3: تخليق المركب الوسيط I-5.3

تم تقليب I-5.2 (62.4 جرام، 211 مليمول) في 3 مولار هيدروكلوريد مائي (3 مول/ لتر، 1000 مليلتر) عند 60°م لمدة 16 ساعة. وتم تبريد الخليط لأدنى درجة وضبط الأس الهيدروجيني إلى 7 تقريباً بمحلول 6 مولار مائي هيدروكسيد الصوديوم. ثم رشح خليط التفاعل، وغسل ثلاث مرات بالماء وجفف في فرن فراغ عند 40°م لمدة 12 ساعة. الناتج 74٪.

الخطوة 4: تخليق المركب الوسيط I-5.4

إلى I-5.3 (151 جرام، 546 مليمول) في 1، 4-ثاني أوكسان 1,4-dioxane (2.2 لتر) أضيف 2 مولار من كربونات الصوديوم (301 مليلتر، 602 مليمول) و ثاني ثالث بيوتيل ثاني كربونات (138 جرام، 632 مليمول). وتم تقليب الخليط لمدة 4 ساعات. وتم إضافة بعد ذلك وضبط الأس الهيدروجيني إلى 4-5 تقريباً بحمض ستيريك. وتم استخلاص الخليط ثلاث مرات بأسيتات الإثيل. وتم غسل الطبقة العضوية

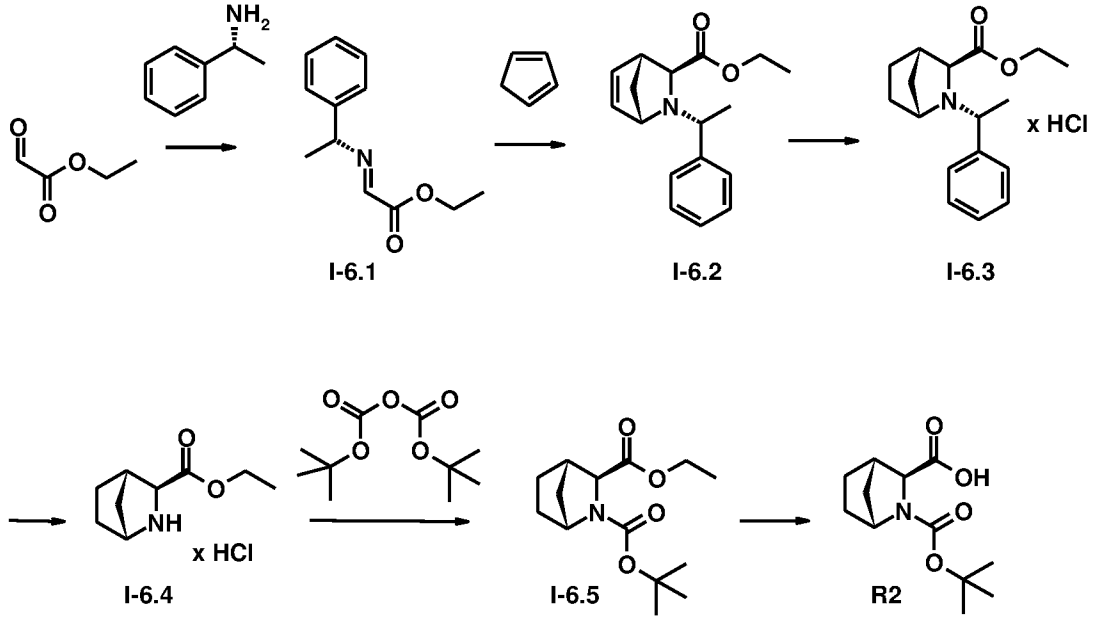
بمحلول ملحي، وجفف على كبريتات الصوديوم، رشح وركز. وتم تقليب الراسب في هبتان لمدة 15 دقيقة ومن ثم رشح المنتج. الناتج 87٪.

الخطوة 5: تخليق R1

إلى I-5.4 (181 جرام، 476 مليمول) في ثنائي ميثيل الفورماميد الجاف (1200 مليلتر) N- مثيل مورفولين N-methylmorpholine (72 جرام، 713 مليمول) وأضيف o-(1H-بنزو-1، 2، 3-ثالث أزول-1-يل)-N، N، N`، N`-رابع مثيل يورونيوم رابع فلورو بورات (153 جرام، 476 مليمول) و تم تقليب خليط التفاعل لمدة 30 دقيقة. ثم تم تبريد خليط التفاعل إلى صفر °م وأضيف 35٪ من محلول كلوريد الأمونيوم المائي (47 مليلتر، 856 مليمول) وتم تقليب الخليط عند درجة حرارة الغرفة لمدة 12 ساعة. أضيف الماء ورشح المنتج المتكون وغسل ثلاث مرات بالماء. جفف المنتج في فرن فراغ عند 40°م لمدة 72 ساعة. الناتج 64٪.

تخليق (1S، 2S، 4S)-3-[(ثالث بيوتوكسي) كربونيل] -3- أزا ثاني حلقي [2. 2. 1] هبتان-2- كربوكسيلات -3-[(tert.-butoxy)carbonyl]-3-(1S,2S,4R) azabicyclo[2.2.1]heptane-2-carboxylate (R2)

المركب يكون متاحا تجاريا أو يمكن أن يكون مخلقاً بطريقة مماثلة لـ Tararov et al, Tetrahedron Asymmetry 13 (2002), 25-28



الخطوة 1: تخليق من مركب وسيط 1-6. 1

محلول من إثيل أوكسو أسيتات ethyl oxoacetate (44.9 جرام، 0.44 مول)، تم تقطيره حديثاً من المحلول المتاح تجارياً في طولوين toluene (عند 50 ملي بار، 55°م) في ثاني إثيل إثير (300 مليلتر) المبرد عند -10°م، فيما يلي بإضافة قطرة قطرة من (R)-(+)-1- فنيل إيثان أمين 1-phenylethaneamine (53 جرام، 440 مليمول)، الحفاظ على درجة حرارة أقل عند صفر°م بعد إكتمال الإضافة، أضيف $MgSO_4*H_2O$ (91 جرام، 660 مليمول)، وقلب الخليط الناتج عند درجة حرارة الغرفة طوال الليل. رشح الخليط، تم تركيز السائل الأم في الفراغ وتم تقطير المتبقي تحت ضغط منخفض لينتج I-6.1 (47g, m/z 206 [M+H]+, rt 1.29 min, LC-MS Method V003_003) . تم إستخدام المنتج بدون تنقية أخرى.

الخطوة 2: تخليق من المركب الوسيط 1-6. 2

محلول من 1-6. 1 (47 جرام، 229 مليمول) و1، 3- بنتان حلقي ثاني ين (30 جرام، 458 مليمول) (تم تقطيره حديثاً من ثاني بنتان حلقي ثاني ين) في ثنائي ميثيل الفورماميد (150 مليلتر) و120 ميكرولتر ماء برد إلى صفر°م، قبل إضافة حمض ثالث فلورو خليك (18 مليلتر، 124 مليمول) قطرة قطرة. قلب الخليط طوال الليل عند درجة حرارة الغرفة، ثم أضيف إلى محلول من 40 جرام $NaHCO_3$ في 1200 مليلتر ماء وإستخلص بثاني إثيل إثير. تم فصل الطبقات العضوية، غسل على التوالي بـ $NaHCO_3$ المائي والماء، جفف على $MgSO_4$، وركز في الفراغ. تم تنقية المتبقي بواسطة عمود كروماتوجرافي على السيلكا جل (هكسان حلقي/cyclohexane أسيتات الإثيل= 9: 1) لينتج I-6.2 (Yield 52 %, m/z 272 [M+H]+, rt 0.42 min, LC-MS Method X001_004).

الخطوة 3: تخليق من مركب وسيط 1-6. 3

إلى محلول من 1-6. 2 (24.8 جرام، 91 مليمول) في إيثانول (250 مليلتر)، أضيف (2.5 جرام) Raney-nickel والمتفاعل عند 50 رطل لكل بوصة مربعة تحت جو الهيدروجين عند درجة حرارة الغرفة. رشح المحفز، تم تركيز المحلول في الفراغ ونقي المتبقي بواسطة عمود كروماتوجرافي على السيلكا حل (هكسان حلقي/أسيتات الإثيل 9: 1) بعد التبخير من المذيب العضوي، إذيب المنتج المحصول عليه في ثاني إثيل الإثير

وسحق بمحلول من هيدروكلوريد في ثاني أوكسان، ركز في الفراغ، أعيد إذابته في 200 مليلتر إيثانول وركز في الفراغ لينتج78 (Yield I-6.3 ٪ 0.42 rt, [M+H]+ 274 m/z .min, LC-MS Method X001_004)

الخطوة 4: تخليق من مركب وسيط 1-6. 4

إلى محلول من 1-6. 3 (22 جرام، 71 مليمول) في إيثانول (250 مليلتر)، 10 بلاديوم/كربون أضيف (2.5 جرام) وتفاعل عند 15°م بار تحت جو الهيدروجين عند درجة حرارة الغرفة. رشح المحفز، تم تركيز المحلول في الفراغ. غسل المتبقي بثاني أيزوبروبيل إثيل لينتج 98 (Yield I-6.4٪ LC- min, 0.48 rt, [M+H]+ 170 m/z .MS Method V001_007)

الخطوة 5: تخليق من مركب وسيط 1-6. 5

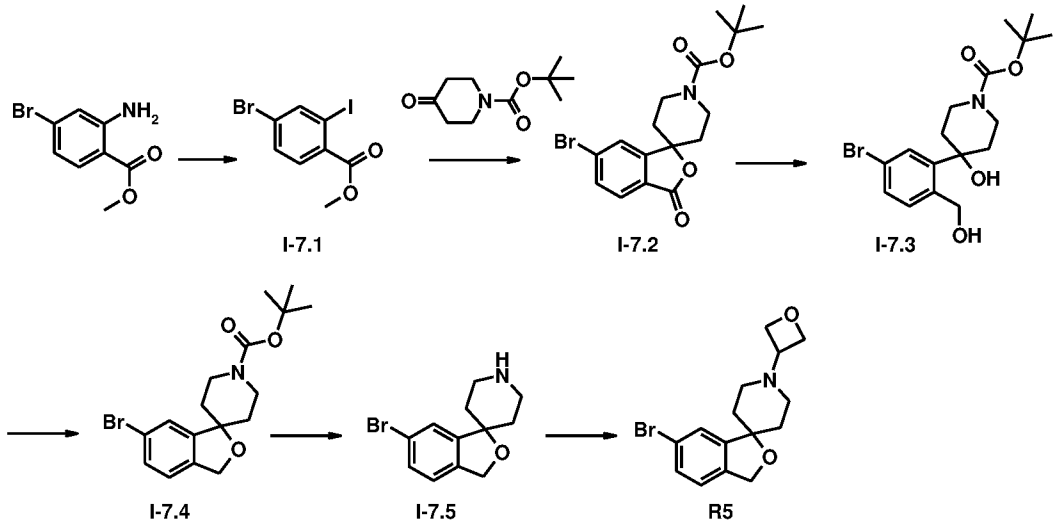
إلى 1-6. 4 (14.3 جرام، 69.3 مليمول) في محلول من ثالث إثيل أمين triethylamin (24.6 مليلتر، 175.3 مليمول)، رابع هيدروفيوران (150 مليلتر) وماء (2 مليلتر)، أضيف ثاني- ثلاثي- بيوتيل ثاني كربونات (15.9 جرام، 73 مليمول) وقلب الخليط الناتج لمدة 40 ساعة عند درجة حرارة الغرفة، ثم ركز في الفراغ. أضيف أسيتات الإثيل إلى المتبقي، تباعاً إستخلص بـ الماء، 1 عياري حمض أسيتيك مائي وماء. قبل جففت الطبقة العضوية على $MgSO_4$، رشح وركز في الفراغ لينتج 95 (Yield I-6.5٪ m/z .270 [M+H]+, rt 1.33 min, LC-MS Method V003_003)

الخطوة 6: تخليق من R2

خليط من 1-6. 5 (16.9 جرام؛ 63 مليمول) في أسيتون acetone (152 مليلتر)، ماء (50 مليلتر) وهيدروكسيد ليثيوم hydroxide lithium (3 جرام، 126 مليمول) قلب طوال الليل عند درجة حرارة الغرفة. أضيف ماء (100 مليلتر)، تم تخفيض الحجم في الفراغ قبل التبريد إلى درجة صفر°م فيما بعد بإضافة من 1 عياري هيدروكلوريد المائي ليحمض إلى الأس الهيدروجيني 2-3، فيما يلي بشكل فوري بالإستخلاص بأسيتات الإثيل. تم غسل الطبقة العضوية بـ الماء، جفف ($MgSO_4$) وركز. إلى المتبقي، أضيف ثاني كلورو ميثان (100 مليلتر) وهكسان حلقي (100 مليلتر)، تم تخفيض الحجم في

الفراغ إلى النصف وسخن الخليط عند 15°م. تم ترشيح الراسب، غسل بـ هكسان حلقي لينتج R2 (ناتج 66٪ +[M+H] 242 m/z).

تخليق من 5- برومو-1′- (أوكسيتان-3- يل) سبيرو [1H- أيزوبنزوفيوران-3، 4′- بيبريدين] 5-bromo-1'-(oxetan-3-yl)spiro[1H-isobenzofuran-3,4'-piperidine (R5)



الخطوة 1: تخليق من مركب وسيط 1-7. 1

مثيل-2- أمينو-4- برومو بنزوات 2-amino-4-brombenzoate Methyl (10 جرام، 43.47 مليمول) تم تعليقه في حمض سلفوريك acid sulphuric 20٪ (200 مليلتر) وبرد المحلول المحصول عليه إلى صفر°م. نيتريت الصوديوم nitrite Sodium (3.60 جرام، 52.16 مليمول)، أذيب في الماء (40 مليلتر)، أضيف قطرة قطرة بين صفر°م-5°م وقلب خليط التفاعل لمدة 40 دقيقة أخرى عند هذه درجة الحرارة. بعد ذلك أضيف قطرة قطرة المحلول المبرد (ca. صفر°م) من أيوديد البوتاسيوم (14.43 جرام، 86.93 مليمول) في ماء (40 مليلتر) قلب خليط التفاعل لمدة ساعة عند 5°م. تم سكب خليط التفاعل في ماء مثلج وإستخلص بـ أسيتات الإثيل. تم غسل الطبقة العضوية بـ الماء، 10٪ محلول ثيوسلفات الصوديوم المائي، محلول ملحي، جفف على Na_2SO_4 وركز في الفراغ. لينتج 94٪.

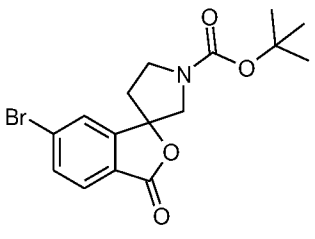
الخطوة 2: تخليق من مركب وسيط 1-7. 2

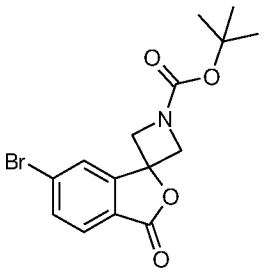
1-7. 1 (9.42 جرام، 27.63 مليمول) وثلاثي- بيوتيل 4- أوكسو بيبريدين-1-كربوكسيلات 4-oxopiperidine-1-carboxylate tert-butyl (6.24 جرام، 30.40 مليمول) في رابع هيدروفيوران جاف (200 مليلتر) برد إلى -70°م. أضيف قطرة قطرة أيزوبروبيل ماغنيسيوم كلوريد- كلوريد ليثيوم المعقد Isopropylmagnesium chloride-lithium chloride complex (1.3 مول/لتر في رابع هيدروفيوران، 23.38 مليلتر، 30.40 مليمول) وقلب خليط التفاعل لمدة 20 دقيقة أخرى عند هذه درجة الحرارة، وسمح بأن تصبح لدرجة حرارة الغرفة وقلب لمدة 45 دقيقة. أخمد خليط التفاعل بـ الماء وإستخلص بـ أسيتات الإثيل. تم غسل الطبقة العضوية بمحلول ملحي، جفف على Na_2SO_4 وركز في الفراغ. تم تنقية المتبقي الخام بواسطة عمود كروماتوجرافي ومضي (إثير نفطي: اسيتات الإثيل ethyl acetate (EtOAc) = 95: 5 إلى 40: 60) ليعطي 1-7. 2.

I-7.2. Yield 74 %, m/z 326,328 [M+H – tert-Bu]+, rt 1.09 min, LC-MS Method Z011_S03

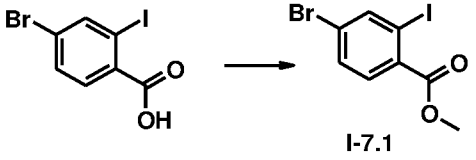
تم تخليق المركبات الوسيطة التالية كما هو مبين في جدول 2 بطريقة مماثلة من مركبات الوسيطة المناسبة.

جدول 2

مركب وسيط	تركيب	$m/z\ [M+H]^+$	زمن الإحتفاظ (دقيقة)	طريقة LC-MS
I-7.2.1		312؛ 314 [M–tert-But+H]+	1.06	Z011_S03

I-7.2.2		298؛ 300 [M–tert-But+H]+	1.07	Z012_S04

بديلاً عن ذلك من المركب الوسيط 1-7. 1



I-7.1

إلى 4- برومو-2- أيودو حمض بنزويك 4-bromo-2-iodobenzoic acid (9.0 جرام، 27.53 مليمول) في ميثانول (50 مليلتر) أضيف حمض سلفوريك المركز concentrated sulphuric acid (10 مليلتر) وقلب خليط التفاعل لمدة 90 دقيقة عند 80°م. تم سكب خليط التفاعل في الماء المثلج، أضيف كربونات الصوديوم الهيدروجينية sodium hydrogen carbonate حتى يتم الوصول إلى قيمة الأس الهيدروجيني إلى 7 وإستخلص خليط التفاعل بـ أسيتات الإثيل. تم غسل الطبقة العضوية بـ محلول ملحي، جفف على $MgSO_4$، رشح وركز في الفراغ. ناتج 95٪.

الخطوة 3: تخليق من مركب وسيط 1-7. 3

إلى 1-7. 2 (8.11 جرام، 21.22 مليمول) في رابع هيدروفيوران (100 مليلتر) أضيف ليثيوم بورو هيدريد lithium borohydride (2 مول/لتر في رابع هيدروفيوران، 21.22 مليلتر، 42.44 مليمول) وقلب خليط التفاعل طوال الليل عند درجة حرارة الغرفة. يوضح تحليل HPLC-MS 20٪ من التحويل. أضيف قطرة قطرة كمية إضافية من برومو هيدريد الليثيوم (2 مول/لتر في رابع هيدروفيوران، 27.0 مليلتر، 45.0 مليمول) وقلب خليط التفاعل لمدة 6 أيام عند درجة حرارة الغرفة. أخمد خليط التفاعل بحرص بـ الماء أثناء التبريد إلى حوالي صفر°م حمام ثلج. أضيف محلول كربونات الصوديوم الهيدروجينية المشبعة إلى خليط التفاعل، تم ترشيح الراسب المحصول عليه، وإستخلص

السائل الأم بـ أسيتات الإثيل عدة مرات. تم غسل الطبقة العضوية بمحلول ملحي، جففت على $MgSO_4$، رشحت وركزت في الفراغ.

, m/z 312/314 [M+H – tert-Butyl – H_2O]+, rt 1.01 min, LC-٪Yield >95 MS Method Z011_S03.

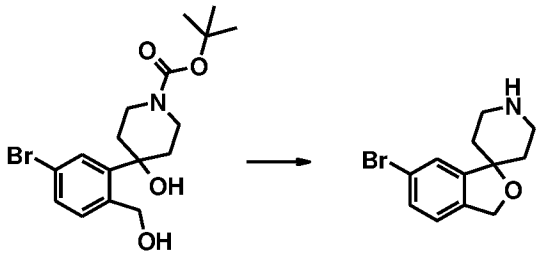
الخطوة 4: تخليق من مركب وسيط 1-7. 4

تم إذابة 1-7. 3 (605 مليجرام، 1.57 مليمول) في رابع هيدروفيوران جاف (20 مليلتر) وبرد إلى صفر°م، ثالث اثيل أمين (1.09 مليلتر، 7.83 مليمول) وأضيف p-طولوين سلفونيك لا مائي (613.44 مليجرام، 1.88 مليمول). برد خليط التفاعل للوصول إلى درجة حرارة الغرفة وقلب طوال الليل. خفف خليط التفاعل بـ الماء ومحلول كربونات الصوديوم الهيدروجينية المشبعة وإستخلص بأسيتات الإثيل عدة مرات. تم غسل الطبقة العضوية بـ محلول ملحي، جففت على Na_2SO_4، رشح وركز في الفراغ. تم تنقية المتبقي بواسطة الطور العكسي كروماتوجراف سائل عالي الأداء. ناتج 72٪، m/z 368; 370 [M+H]+

الخطوة 5: تخليق من مركب وسيط 1-7. 5

تم إذابة 1-7. 4 (240 مليجرام، 1.57 مليمول) في ثنائي كلورو ميثان جاف (2 مليلتر) وأضيف حمض ثالث فلورو خليك (500 ميكرولتر، 6.53 مليمول). سمح لخليط التفاعل لمدة 70 دقيقة عند درجة حرارة الغرفة. ركز خليط التفاعل في الفراغ، أعيد إذابة المتبقي في ميثانول، رشح خلال خرطوشة الطور الصلب PL-(StratoSpheres™ MP Resin) HCO3 وأزيل الميثانول في الفراغ. ناتج 97٪، m/z 268; 270 [M+H]+, rt 0.93 min, LC-MS Method Z011_S03.

بديلاً عن ذلك تخليق من مركب وسيط 1-7. 5



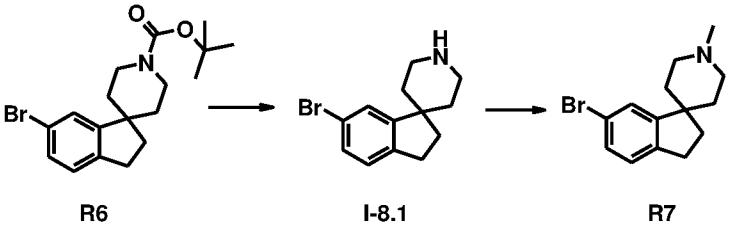
I-7.3 I-7.5

تم إذابة 1-7. 3 (8.39 جرام، 21.71 مليمول) في رابع هيدروفيوران جاف (25 مليلتر)، أضيف 5 عياري هيدروكلوريد المائي (25 مليلتر) وقلب خليط التفاعل عند 90°م لمدة 30 ساعة. برد خليط التفاعل إلى درجة حرارة الغرفة، وتم تحويله إلى قاعدي بـ محلول كربونات الصوديوم الهيدروجينية المشبعة وإستخلص بـ أسيتات الإثيل عدة مرات. تم غسل الطبقة العضوية بـ محلول ملحي، جففت على Na_2SO_4، رشحت وركزت في الفراغ. ناتج 76٪، m/z 268; 270 [M+H]+, rt 0.93 min, LC-MS Method Z011_S03.

الخطوة 6: تخليق من R5

تم إذابة 1-7. 5 (5.0 جرام، 18.49 مليمول) في رابع هيدروفيوران جاف (20 مليلتر)، أضيف 3- أوكسيتانون 3-oxetanone (1.78 مليلتر، 27.73 مليمول) وحمض أسيتيك (1.06 مليلتر، 18.49 مليمول) قلب خليط التفاعل لمدة 25 دقيقة عند درجة حرارة الغرفة. أضيف صوديوم ثالث أسيتوكسي بورو هيدريد Sodium triacetoxyborohydride (6.82 جرام، 30.57 مليمول) وقلب خليط التفاعل لمدة 30 دقيقة أخرى عند درجة حرارة الغرفة. أخمد خليط التفاعل بـ ميثانول ، خفف بـ محلول كربونات الصوديوم الهيدروجينية المشبعة saturated sodium hydrogen carbonate solution وإستخلص بـ أسيتات الإثيل عدة مرات. تم غسل الطبقة العضوية بـ محلول ملحي، جففت على $MgSO_4$ وركزت في الفراغ ليعطي R5. ناتج 89٪، m/z 324, 326 [M+H]+, rt 0.93 min, LC-MS Method Z011_S03.

تخليق من 6- برومو-1'- مثيل- سبيرو[إندان-1، 4'- بيبريدين] -6-bromo-1'-methyl-spiro[indane-1,4'-piperidine] (R7)



R6 I-8.1 R7

الخطوة 1: تخليق من مركب وسيط 1-8. 1

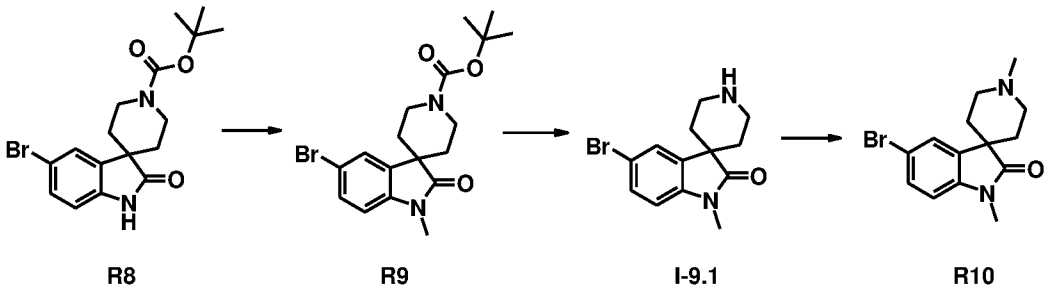
إلى R6، المشتراه من WUXI APPTEC (200 مليجرام، 0.55 مليمول) في ثاني كلورو ميثان (3 مليلتر) أضيف ثالث فلورو حمض أسيتيك trifluoroacetic acid (0.25 مليلتر) وقلب خليط التفاعل طوال الليل عند درجة حرارة الغرفة. تم تركيز خليط التفاعل في الفراغ، أعيد إذابة المتبقي في ميثانول، رشح خلال خرطوشة الطور الصلب (StratoSpheres™ PL-HCO3 MP Resin) وأزيل الميثانول في الفراغ. ناتج > 95٪.

الخطوة 2: تخليق من R7

إلى المركب 1-8. 1 (152 مليجرام، 0.57 مليمول) في ميثانول (4 مليلتر) اضيف فورمالدهيد formaldehyde (37٪ في ماء، 0.21 مليلتر، 2.86 مليمول) في حمض أسيتيك (0.05 مليلتر، 0.86 مليمول). قلب خليط التفاعل لمدة ساعتين عند درجة حرارة الغرفة. أضيف صودوم ثالث أسيتوكسي بوروهيدريد (302.6 مليجرام، 1.43 مليمول) وقلب خليط التفاعل 80 دقيقة عند درجة حرارة الغرفة. تم تركيز خليط التفاعل، سحق بـ الماء ومحلول كربونات الصوديوم الهيدروجينية المشبع وإستخلص بـ أسيتات الإثيل. تم غسل الطبقة العضوية بـ محلول كربونات الصوديوم الهيدروجينية المشبعة ومحلول ملحي. تم ترشيح الراسب وجفف الراشح خلال Na_2SO_4، رشح وركز في الفراغ لينتج R7.

ناتج 89٪.

تخليق من 5- برومو-1، 1′- ثاني مثيل- سبيرو [إندولين-3، 4′- بيبريدين]-2- ون (R10) 5-bromo-1,1'-dimethyl-spiro[indoline-3,4'-piperidine]-2-one



الخطوة 1: تخليق من R9

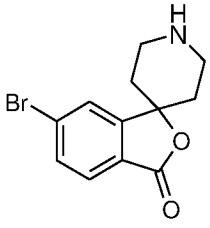
إلى المركب R8، تم شراؤه من ACTIVATE (200 مليجرام، 0.53 مليمول) في ثنائي ميثيل الفورماميد (4 مليلتر) أضيف هيدريد الصوديوم sodium hydride (60٪ زيت معدني مشتت، 31.5 مليجرام، 0.79 مليمول) تحت التبريد إلى صفر°م وقلب خليط التفاعل لمدة 30 دقيقة أخرى عند درجة حرارة الغرفة. أضيف مثيل أيوديد Methyl iodide (36 ميكرولتر، 0.58 مليمول) وقلب خليط التفاعل لمدة 40 دقيقة عند درجة حرارة الغرفة. خفف خليط التفاعل بـ الماء وإستخلص بـ أسيتات الإثيل. تم غسل الطبقة العضوية بـ الماء ومحلول ملحي، جفف على Na_2SO_4، رشح وركز في الفراغ ليعطي R9. ناتج 98٪.

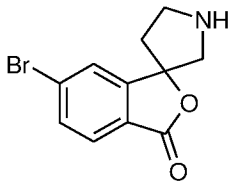
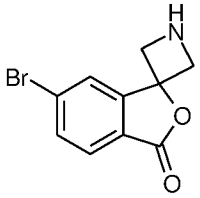
الخطوة 2: تخليق من مركب وسيط 1-9. 1

إلى المركب R9 (191 مليجرام، 0.48 مليمول) في ثاني كلورو ميثان (5 مليلتر) أضيف ثالث فلورو حمض أسيتيك trifluoroacetic acid (0.5 مليلتر) وقلب خليط التفاعل لمدة 20 دقيقة عند درجة حرارة الغرفة. تم تركيز خليط التفاعل في الفراغ، أعيد إذابة المتبقي في ميثانول، رشح خلال حرطوشة الطور الصلب PL- (StratoSpheres™ HCO3 MP Resin) وأزيل الميثانول في الفراغ. ناتج >95٪.

تم تخليق المركبات الوسيطة التالية كما هو مبين في جدول 3 بطريقة مماثلة من المركبات الوسيطة المناسبة.

جدول 3

مركبات وسيطة	المركب	m/z $[M+H]^+$	زمن الإحتفاظ (دقيقة)	طريقة LC-MS
I-9.1.1		284 ؛282	0.69	Z012_S04

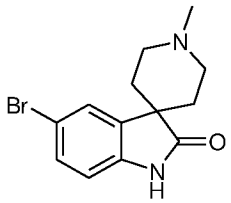
I-9.1.2		268؛ 270	0.57	Z021_S01
I-9.1.3		254؛ 256	0.62	Z012_S04

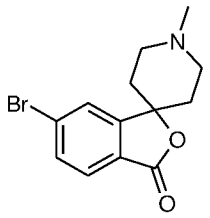
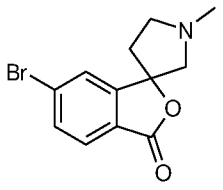
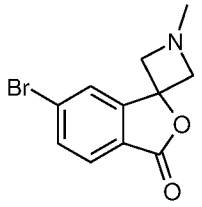
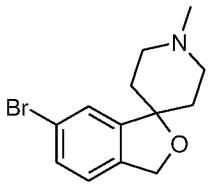
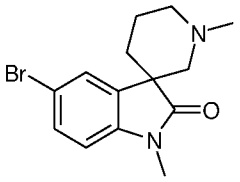
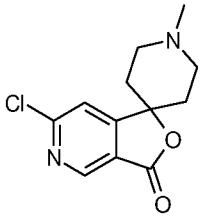
الخطوة 3: تخليق من R10

إلى المركب 1-9. 1 (152 مليجرام، 0.52 مليمول) في ميثانول (5 مليلتر) أضيف فورمالدهيد (37٪ في ماء، 0.19 مليلتر، 2.58 مليمول) وحمض أسيتيك (0.044 مليلتر، 0.77 مليمول). قلب خليط التفاعل لمدة ساعتين عند درجة حرارة الغرفة. أضيف صوديوم ثالث أسيتوكسي بوروهيدريد (273.0 مليجرام، 1.29 مليمول) وقلب خليط التفاعل لمدة 40 دقيقة عند درجة حرارة الغرفة. تم تركيز خليط التفاعل، خفف بـ الماء ومحلول كربونات الصوديوم الهيدروجينية المشبعة وإستخلص بـ أسيتات الإثيل. تم غسل الطبقة العضوية بـ محلول ملحي، جففت على Na_2SO_4 رشحت وركزت في الفراغ. ناتج > 95٪، 309; 311 [M+H]+, rt 0.75 min, LC-MS Method Z012_S04.

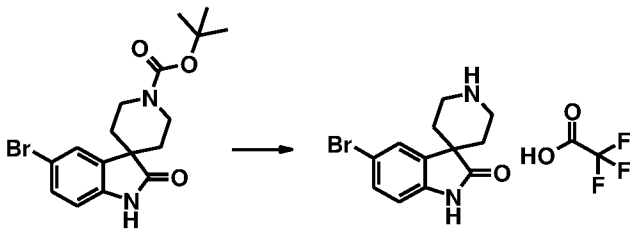
تم تخليق المركبات الوسيطة التالية كما هو مبين في جدول 4 بطريقة مماثلة من مركبات الوسيطة المناسبة

جدول 4

المركب الوسيط	المركب	m/z $[M+H]^+$	زمن الإحتفاظ (دقيقة)	طريقة LC-MS
R10.1		295; 297	0.69	Z012_S04

Z012_S04	0.70	296; 298		R10.2
Z012_S04	0.68	282; 284		R10.3
Z012_S04	0.62	268; 270		R10.4
Z012_S04	0.77	282; 284		R10.5
Z020_S01	0.59	309; 311		R10.6
Z021_S01	0.24	253		R10.7

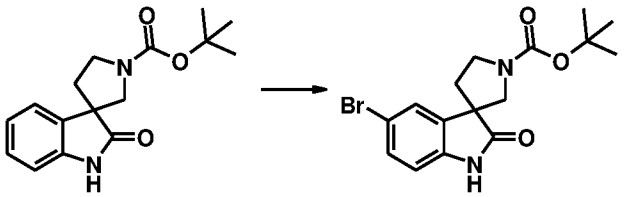
تخليق من ملح حمض ثالث فلورو خليك من 5- برومو سبيرو [إندولين-3، 4′-بيبريدين]-2- ون 5-bromospiro[indoline-3,4'-piperidine]-2-one (R11)



R8 R11

إلى المركب R8، تم شراؤه من ACTIVATE (150 مليجرام، 0.39 مليمول) في ثاني كلورو ميثان (3 ملیلتر) أضيف ثالث فلورو حمض أسيتيك (0.5 ملیلتر) وقلب خليط التفاعل لمدة 45 دقيقة عند درجة حرارة الغرفة. تم تركيز خليط التفاعل. ناتج 100٪.

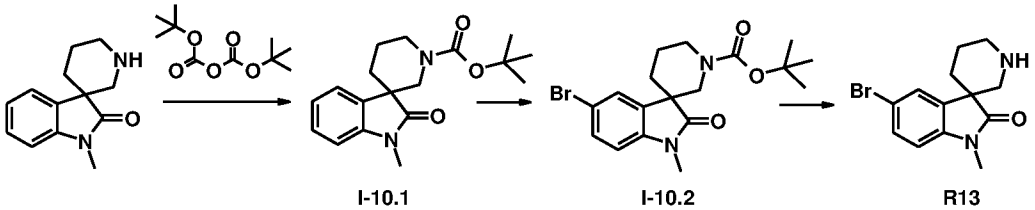
تخليق من ثلاثي- بيوتيل 5- برومو-2- أوكسو- سبيرو [إندولين-3، 3′- بيرروليدين]-1′- كربوكسيلات tert-butyl 5-bromo-2-oxo-spiro[indoline-3,3'-pyrrolidine]-1'-carboxylate (R12)



R12

إلى ثلاثي بيوتيل 2- أوكسو سبيرو [إندولين-3، 3′- بيرروليدين]-1′- كربوكسيلات tert-butyl 2-oxospiro[indoline-3,3'-pyrrolidine]-1'-carboxylate، تم شراؤه من Zerenex (50.0 مليجرام، 0.17 مليمول) في أسيتونيتريل (1.5 ملیلتر) أضيف N- برومو سكسينيميد (30.5 مليجرام، 0.17 مليمول) وقلب خليط التفاعل لمدة 5 ساعات عند درجة حرارة الغرفة. خفف خليط التفاعل بـ الماء ومحلول كربونات الصوديوم الهيدروجينية المشبع وإستخلص بـ أسيتات الإثيل. تم غسل الطبقة العضوية بـ محلول ملحي، جففت وركزت لتعطي. ناتج 80٪، m/z 367; 369 [M+H]+

تخليق من 5- برومو-1- مثيل- سبيرو [إندولين-3، 3′- بيبريدين]-2- ون 5-bromo-1-methyl-spiro[indoline-3,3'-piperidine]-2-one (R13)



I-10.1 I-10.2 R13

الخطوة 1: تخليق من مركب وسيط 1-10. 1

إلـــى 1- مثيـــل ســـبيرو [إنـــدول-3، 3′- بيبريـــدين]-2(1H)- ون 1-methylspiro[indole-3,3'-piperidine]-2(1H)-one، تـم شـراؤه مـن ChemBridge Corporation (1.0 جـرام، 4.62 مليمـول) فـي ثـاني كلـورو ميثـان (20 مليلتـر) أضـيف ثالـث اثيـل أمـين (0.64 مليلتـر، 4.62 مليمـول) وثـاني- ثلاثـي- بيوتيـل ثـاني كربونـات di-tert-butyl dicarbonate (958.6 مليجـرام، 4.39 مليمـول). قلـب خلـيط التفاعـل لمـدة 10 دقـائق عنـد درجـة حـرارة الغرفـة. خفـف بـ المـاء ومحلـول كربونـات الصـوديوم الهيدروجينيـة المشـبع وإسـتخلص بـ ثـاني كلـورو ميثـان. تـم فصـل الأطـوار وإستخلصـت الطبقـة المائيـة بـ ثنـائي كلـورو ميثـان. جففـت الطبقـات العضـوية المتحـدة خـلال $MgSO_4$ وركـزت فـي الفـراغ. نـاتج >95٪، m/z 261 [M+H – tert-Butyl]+, rt 1.06 min, LC-MS Method Z020_S01.

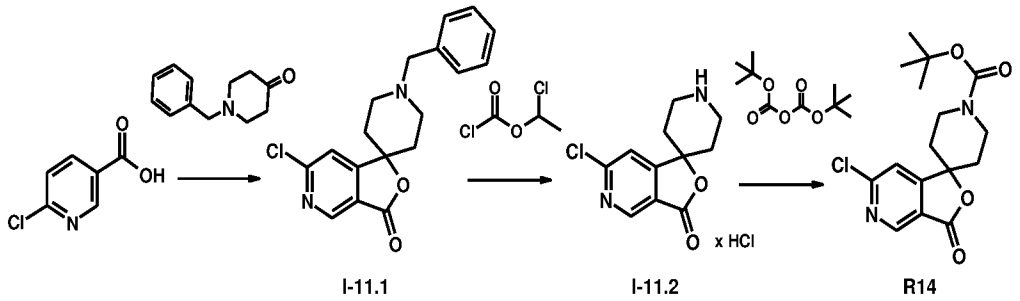
الخطوة 2: تخليق من مركب وسيط 1-10. 2

إلـى 1-10. 1 (1.54 جـرام، 4.87 مليمـول) فـي أسـيتونيتريل (35 مليلتـر) أضـيف N-برومـو سكسـينيميد (856.7 مليجـرام، 5 مليمـول) وقلـب خلـيط التفاعـل طـوال الليـل عنـد درجـة حـرارة الغرفـة. خفـف خلـيط التفاعـل بـ المـاء ومحلـول كربونـات الصـوديوم الهيدروجينيـة المشـبع وإسـتخلص بـ أسـيتات الإثيـل. تـم غسـل الطبقـة العضـوية بـ محلـول كربونـات الصـوديوم الهيدروجينيـة المشـبع ومحلـول ملحـي، جففـت علـى Na_2SO_4، رشـح وركـز فـي الفراغ. نـاتج 93٪، m/z 340 [M+H – tert-Butyl]+, rt 1.13 min, LC-MS Method Z020_S01.

الخطوة 3: تخليق من R13

إلـى 1-10. 2 (200 مليجـرام، 0.51 مليمـول) فـي ثـاني كلـورو ميثـان (10 مليلتـر) أضـيف ثالـث فلـورو حمـض أسـيتيك (5 مليلتـر) وقلـب خلـيط التفاعـل لمـدة 15 دقيقـة عنـد درجـة حـرارة الغرفـة. تـم تركيـز خلـيط التفاعـل فـي الفراغ وجفـد. أذيـب المتبقـي فـي ثـاني كلـورو ميثـان وإسـتخلص بـ 1 مـول/لتر هيدروكسـيد الصـوديوم المـائي ومحلـول ملـح. جففـت الطبقـة العضـوية وركـزت فـي الفراغ. نـاتج 88٪، m/z 295; 297 [M+H]+, rt 0.59 min, LC-MS Method Z020_S01.

تخليق من ثلاثي- بيوتيل 6- كلورو-3- أوكسو- سبيرو [فيورو[3، 4- جـ] بيريدين-1، 4'- بيبريدين]-1'- كربوكسيلات tert-butyl 6-chloro-3-oxo-spiro[furo[3,4-c]pyridine-1,4'-piperidine]-1'-carboxylate (14R)



I-11.1 I-11.2 R14

خطوة 1: تخليق من المركب الوسيط I-11.1

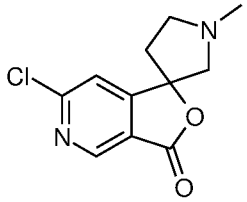
تم وصف التخليق من المركب الوسيط I-11.1 في. براءة الاختراع الأوربية رقم 2072519 أ1 p. 361 ., عند- 78 درجة مئوية، تم إضافة محلول هكسان (94 مليلتر، 150.81 مليمول) من 1.6 مولار n- بيوتيل ليثيوم n-butyllithium قطرة قطرة إلى محلول رابع هيدروفيوران (110 مليلتر) من 2،2، 6،6- رابع مثيل بيبريدين 2,2,6,6-tetramethylpiperidine (16.14 جرام، 113.10 مليمول) وتم تقليب المحلول المحصول عليه لمدة ساعة. بعد ذلك تم إضافة محلول رابع هيدروفيوران (50 مليلتر) من 6- حمض كلورو نيكوتينيك 6-chloronicotinic acid (6.0 جرام، 37.70 مليمول) قطرة قطرة خلال ساعة وتم تقليب خليط التفاعل لمدة ساعتين. أُضيف محلول رابع هيدروفيوران (50 مليلتر) من 1- بنزيل-4- بيبريدون 1-benzyl-4-piperidone (21.6 جرام، 113.10 مليمول) قطرة قطرة عند- 78 درجة مئوية. بعد التقليب لمدة ساعتين، أُضيف ماء (70 مليلتر)، وتم تدفئة خليط التفاعل إلى درجة حرارة الغرفة.

تم فصل الطبقة المائية، وتم إستخلاص الطبقة العضوية بـ 1 عياري محلول هيدروكسيد الصوديوم المائي (2× 75 مليلتر). تم إستخلاص الطبقة المائية المحصول عليها بثاني إثيل إثير (100 مليلتر)، تم تحميض الطبقة المائية (الأُس الهيدروجيني تقريباً 1) بواسطة إضافة حمض هيدروكلوريك مُركز. بعد التقليب لمدة ساعة، تم ترشيح الراسب، غُسل بالماء، وإذابة في أسيتات إثيل. تم غسل الطبقة العضوية بمحلول كربونات هيدروجين الصوديوم المُشبع المائي، جُففت على كبريتات الصوديوم ورُكزت في الفراغ.

تم غسل الراسب بثاني إثيل إثير. ناتج 66٪، LC- m/z 329 [M+H]+, rt 0.72 min, MS Method Z012_S04.

تم تخليق المركب الوسيط التالي كما هو مُبين في جدول 5 بطريقة مُماثلة من المركب الوسيط المُناسب:

جدول 5

المركب الوسيط	التركيب	m/z $[M+H]^+$	زمن الإحتفاظ (دقيقة)	طريقة LC-MS
I-11.1.1		239	0.75	Z011_S03

خطوة 2: تخليق من المركب الوسيط I-11.2

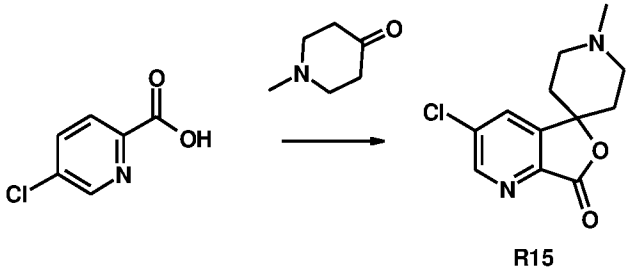
تم تبريد I-11.1 (2.0 جرام، 6.08 مليمول) في ثاني كلورو إيثان (15 مليلتر) إلى صفر درجة مئوية. تم إضافة محلول من 1- كلورو إثيل كلورو فورمات 1-chloroethyl chloroformate (1.98 مليلتر، 18.25 مليمول) في ثاني كلورو إيثان (5 مليلتر) ببطء وتم تقليب خليط التفاعل لمدة 15 دقيقة أخرى عند صفر درجة مئوية. بعد ذلك تم تسخين خليط التفاعل إلى الإرتجاع وقُلب طوال الليل. تم تركيز خليط التفاعل في الفراغ. تم إذابة الراسب في ميثانول وتم تسخينه إلى الإرتجاع لمدة 30 دقيقة، خلال هذا الوقت تشكل الراسب. تم تخفيف خليط التفاعل بثاني كلورو ميثان وتم ترسيح الراسب ليُعطي I-11.2 (هيدروكلوريد). ناتج 61٪.

خطوة 3: تخليق من R14

إلى I-11.2 (500 مليجرام، 1.82 مليمول) في ثاني كلورو ميثان (10 مليلتر) أُضيف ثالث اثيل أمين (0.51 مليلتر، 3.64 مليمول) وثاني- ثلاثي- بيوتيل ثاني كربونات (396.6 مليجرام، 1.82 مليمول). تم تقليب خليط التفاعل لمدة 20 دقيقة عند درجة

حـرارة الغرفـة، خُفـف بالمـاء ومحلـول كربونـات هيـدروجين الصـوديوم المُشـبع وأسـتُخلص بثاني كلورو ميثان. تم تجفيف الطبقة العضوية ورُكزت في الفراغ. ناتج 91٪.

تخليـق مـن 3- كلـورو-1'- مثيـل- سـبيرو [فيـورو[3، 4-b] بيريـدين-5، 4'- بيبريـدين]-7- ون 3-chloro-1'-methyl-spiro[furo[3,4-b]pyridine-5,4'-piperidine]-7-one (R15)

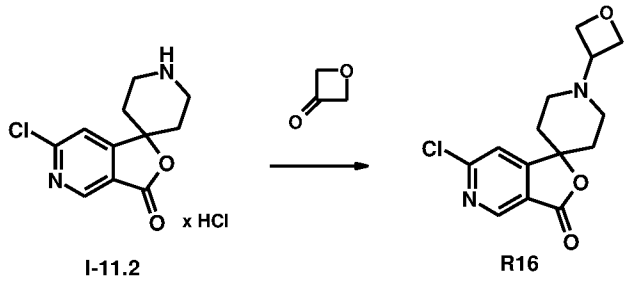


R15

عنـد- 78 درجـة مئويـة، أُضـيف محلـول هكسـان (2.38 مليلتـر، 3.81 مليمـول) مـن 1.6 مـولار n- بيوتيـل ليثيـوم قطـرة قطـرة إلـى محلـول رابـع هيـدروفيوران (5 مليلتـر) مـن 2،2، 6،6- رابـع مثيـل بيبريـدين 2,2,6,6-tetramethylpiperidine (0.76 مليلتـر، 4.43 مليمـول) وتـم تقليـب المحلـول المحصـول عليـه لمـدة سـاعة عنـد درجـة الحـرارة هـذه. بعـد ذلـك تـم إضـافة محلـول رابـع هيـدروفيوران (1 مليلتـر) مـن 5- كلـورو-2- حمـض بيريـدين كربوكسـيليك 5-chloro-2-pyridinecarboxylic acid (0.2 جـرام، 1.27 مليمـول) قطـرة قطـرة خـلال 5 دقـائق وتـم تقليـب خلـيط التفاعـل لمـدة 45 دقيقـة. أُضـيف محلـول رابـع هيـدروفيوران (1 مليلتـر) مـن 1- مثيـل-4- بيبريـدون 1-methyl-4-piperidone (0.44 مليلتـر، 3.81 مليمـول) قطـرة قطـرة عنـد- 78 درجـة مئويـة. بعـد سـاعة، أُضـيف مـاء (10 مليلتـر)، وتـم تدفئـة خلـيط التفاعـل إلـى درجـة حـرارة الغرفـة. أُضـيف أسـيتات إثيـل (15 مليلتـر) ومحلـول $NaHCO_3$ المُشـبع المـائي (15 مليلتـر) إلـى خلـيط التفاعـل وتـم فصـل الطبقـة المائيـة. تـم إسـتخلاص الطبقـة العضـوية بمحلـول $NaHCO_3$ مُشـبع مـائي (2× 10 مليلتـر). تـم تحميـض الطـور المـائي المُتحـد (الأُس الهيـدروجيني تقريبـاً 1) بواسـطة إضـافة حمـض هيـدروكلوريك مُركـز. بعـد التقليـب لمـدة سـاعة تـم تحويـل خلـيط التفاعـل إلـى قاعـدي بواسـطة إضـافة مـن محلـول $NaHCO_3$ المُشـبع المـائي وتـم أسـتُخلص بأسـيتات الإثيـل (4× 25 مليلتـر). تـم غسـل الطبقـة العضـوية بمحلـول ملحـي، غُسـلت علـى كبريتـات الصـوديوم

ورُكزت في الفراغ لتُعطي R15. ناتج 21٪، m/z 253, 255 [M+H]+, rt 0.41 min, LC-MS Method Z012_S04.

تخليق من 6- كلورو-1'- (أوكستان-3- يل) سبيرو [فيورو[3، 4-c] بيريدين-1، 4'- بيبريدين]-3- ون 6-chloro-1'-(oxetan-3-yl)spiro[furo[3,4-c]pyridine-1,4'-piperidine]-3-one (R16)



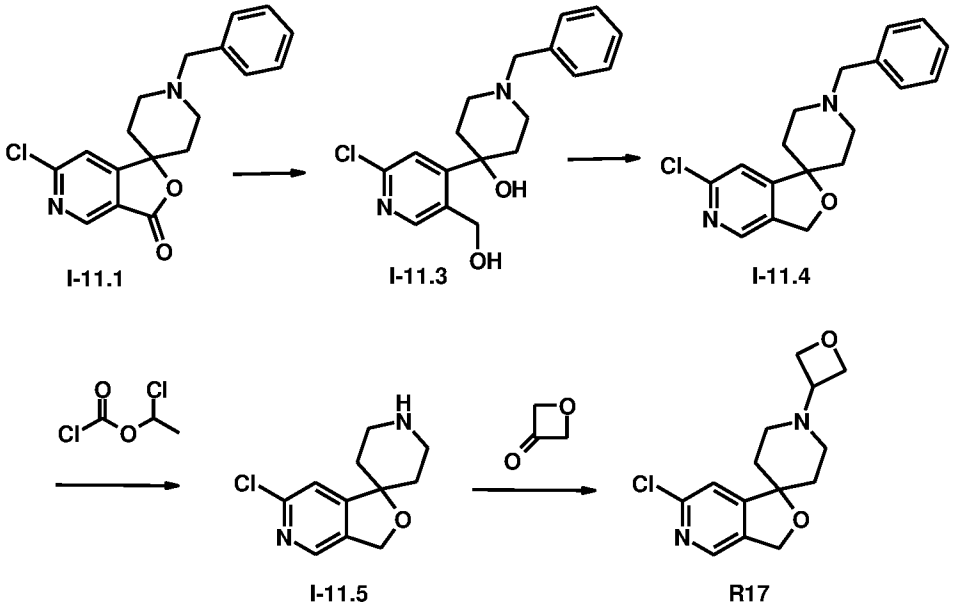
I-11.2 R16

أ) توليد قاعدة حُرة:

تم إذابة I-11.2 (200 مليجرام، 0.73 مليمول) جزئياً في ميثانول جاف، تم إضافة بوليمر- ألكيل رباعي مرتبط بكربونات الأمونيوم polymer-bound tetraalkyl-ammonium carbonate (Aldrich, 540293) وتم تقليب هذا الخليط لمدة ساعتين عند درجة حرارة الغرفة. تم ترشيح بوليمر- ألكيل رباعي مرتبط بكربونات الأمونيوم وتم إزالة ميثانول في الفراغ ليصل إلى قاعدة حُرة من I-11.2.

(ب) تم إذابة قاعدة حُرة من I-11.2 في ثاني كلورو ميثان جاف (3 مليلتر)/ أُضيف خليط رابع هيدرو فيوران (1 مليلتر) جاف، 3- أوكستانون (0.23 مليلتر، 3.64 مليمول) وحمض خليك (0.06 مليلتر، 1.1 مليمول). تم تقليب خليط التفاعل لمدة 75 دقيقة عند درجة حرارة الغرفة، ثم أُضيف ثالث أسيتوكسي هيدريد وتم تقليب خليط التفاعل لمدة 15 دقيقة عند درجة حرارة الغرفة. تم تخفيف خليط التفاعل بمحلول هيدروجين كربونات الصوديوم المُشبع وأستُخلص بأسيتات الإثيل. تم غسل الطبقة العضوية بمحلول ملحي، جُففت على كبريتات الصوديوم ورُكزت في الفراغ. ناتج 80٪، m/z 295 [M+H]+, rt 0.75 min, LC-MS Method Z011_S03.

تخليق من 6- كلورو-1'- (أوكستان-3- يل) سبيرو [H3- فيورو[3، 4-c] بيريدين-1، 4'- بيبريدين] -6-chloro-1'-(oxetan-3-yl)spiro[3H-furo[3,4-c]pyridine-1,4'-(R17) piperidine]



خطوة 1: تخليق من المركب الوسيط I-11.3

إلى I-11.1 (1.00 جرام، 3.04 مليمول) في ميثانول (15 مليلتر) أُضيف بوروهيدريد الصوديوم sodium borohydride (345 مليجرام، 9.12 مليمول) في أجزاء صغيرة وتم تقليب خليط التفاعل لمدة 20 ساعة عند درجة حرارة الغرفة. أُضيف بوروهيدريد الصوديوم إضافي (750 مليجرام، 19.82 مليمول) في 3 أجزاء (لكل 250 مليجرام) خلال 5 ساعات إلى خليط التفاعل. أُخمد خليط التفاعل بالماء وخُفف بأسيتات الإثيل. تم فصل الطبقة العضوية وأستُخلصت الطبقة المائية بأسيتات الإثيل. تم غسل الطبقة العضوية بمحلول كربونات هيدروجين الصوديوم المُشبع، محلول ملحي، جُففت على كبريتات الصوديوم ورُكزت في الفراغ. تم تنقية الراسب بواسطة طور عكسي كروماتوجراف سائل عالي الأداء ليُعطي I-11.3. ناتج 40٪،

m/z 333 [M+H]+, rt 0.91 min, LC-MS Method Z011_S03.

خطوة 2: تخليق من المركب الوسيط I-11.4

إلى I-11.3 (378 مليجرام، 1.14 مليمول) في رابع هيدروفيوران جاف (5 مليلتر) أُضيف ثالث اثيل أمين (0.95 مليلتر، 6.81 مليمول) وكلوريد ميثان سلفونيل (0.26

مليلتر، 3.5 مليمول) عند صفر درجة مئوية. سُمح لخليط التفاعل ليصل إلى درجة حرارة الغرفة. وقُلب لمدة ساعة. خُفف خليط التفاعل بمحلول كربونات هيدروجين الصوديوم مُشبع وأستُخلص بأسيتات الإثيل. تم غسل الطبقة العضوية بمحلول ملحي، جُففت على كبريتات الصوديوم بأسيتات الإثيل. تم غسل الطبقة العضوية بمحلول ملحي، جُففت على كبريتات الصوديوم ورُكزت في الفراغ ليُعطي مُنتج خام الذي تم إستخدامه في الخطوة التالية بدون تنقية أخرى.

ناتج 95٪، m/z 315 [M+H]+, rt 1.06 min, LC-MS Method Z011_S03 .

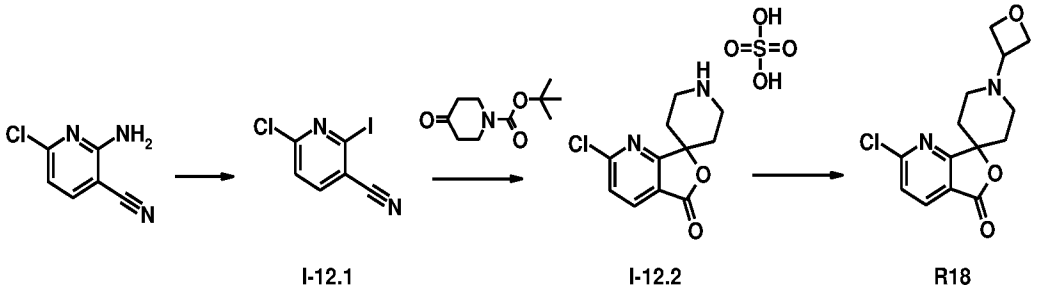
خطوة 3: تخليق من المركب الوسيط I-11.5

إلى محلول من I-11.4 (246 مليجرام، 0.78 مليمول) في ثاني كلورو إيثان (4 مليلتر) أُضيف 1- كلورو إثيل كلورو فورمات (0.42 مليلتر، 3.91 مليمول) وتم تسخين خليط التفاعل بالإرتجاع وقُلب لمدة 3 ساعات. تم إزالة ثاني كلورو إيثان في الفراغ، تم إعادة إذابة الراسب المحصول عليه في ميثانول (3 مليلتر) وتم إرتجاع المحلول المحصول عليه لمدة 30 دقيقة. تم تبريد خليط التفاعل إلى درجة حرارة الغرفة. وتم تنقيته بواسطة الطور العكسي كروماتوجراف سائل عالي الأداء ليُعطي I-11.5. ناتج 72٪، m/z 225 [M+H]+, rt 0.71 min, LC-MS Method Z011_S03.

خطوة 4: تخليق من R17

تم إذابة I-11.5 (114 مليجرام، 0.51 مليمول) في رابع هيدرو فيوران جاف (2 مليلتر)، أُضيف 3- أوكستانون (0.05 مليلتر، 0.76 مليمول) وحمض خليك (0.044 مليلتر، 0.76 مليمول) وقُلب خليط التفاعل لمدة ساعة عند درجة حرارة الغرفة. أُضيف ثالث أسيتوكسي بوروهيدريد الصوديوم (269 مليجرام، 1.27 مليمول) وتم تقليب خليط التفاعل لمدة 15 دقيقة أخرى عند درجة حرارة الغرفة. تم تخفيف خليط التفاعل بمحلول كربونات هيدروجين الصوديوم المُشبع وأستُخلص بأسيتات الإثيل. تم غسل الطبقة العضوية بمحلول ملحي، جُففت على كبريتات الماغنيسيوم ورُكزت في الفراغ لتُعطي R17. ناتج 62٪، m/z 281 [M+H]+, rt 0.76 min, LC-MS Method Z011_S03.

تخليـق مـن 2- كلـورو-1'- (أوكسـتان-3- يـل) سـبيرو [فيـورو[3، 4- b] بيريـدين-7، 4'- بيبريـــــــــــــدين]-5- ون 2-chloro-1'-(oxetan-3-yl)spiro[furo[3,4-b]pyridine-5-one-7,4'-piperidine] (R18)



I-12.1 I-12.2 R18

خطوة 1: تخليق من المركب الوسيط I-12.1

تـــم إذابـــة 2- أمينـــو-6- كلورينونيكوتينونيتريـــل 2-Amino-6-chlorinonicotinonitrile المُشـتراه مـن PHARMATECH ABLOCK (2.0 جـرام، 13.02 مليمـول) فـي رابـع هيـدرو فيـوران (40 مليلتـر)، أُضـيف نحـاس (I) أيوديـد iodide (I) copper (3.72 جـرام، 19.54 مليمـول)، ثـاني أيـودو ميثـان (8.39 مليلتـر، 104.2 مليمـول) وثالـث- بيوتيـل نيتريـت tert-butyl nitrite (6.20 مليلتـر، 52.1 مليمـول). تـم إرتجـاع خلـيط التفاعـل لمـدة 1.5 سـاعة، بُـرد إلـى درجـة حـرارة الغرفـة وتـم إزالـة كـل المـواد المُتطـايرة فـي الفـراغ. تـم إذابـة الراسـب المحصـول عليـه فـي أسـيتات الإثيـل (100 مليلتـر) وغُسـل بـ 10٪ محلـول ثياسـولفات الصـوديوم (25 مليلتـر)، محلـول كربونـات هيـدروجين الصـوديوم المُشـبع (25 مليلتـر)، جُففـت علـى كبريتـات الماغنيسـيوم، رُشـحت ورُكـزت فـي الفـراغ. تـم تنقيـة الراسـب الخـام بواسـطة عمـود كروماتوجرافي ومضـي ليُعطـي I-12.1 (شـاطف: بترولـيوم إثيـر/ أسيتات الإثيل).

ناتج 74٪، m/z 265 [M+H]+, rt 0.90 min, LC-MS Method Z012_S04 .

خطوة 2: تخليق من المركب الوسيط I-12.2

تـم إذابـة I-12.1 (1.0 جـرام، 3.78 مليمـول) وثالـث- بيوتيـل 4- أوكسـو بيبريـدين-1- كربوكسـيلات 4-oxopiperidine-1-carboxylate tert-butyl (753 مليجـرام، 3.78 مليمـول) فـي رابـع هيـدروفيوران جـاف (10 مليلتـر) وتـم تبريـد خلـيط التفاعـل إلـى- 65 درجـة

مئوية. أُضيف أيزو بروبيل كلوريد ماغنيسيوم- كلوريد الليثيوم مُعقد Isopropylmagnesium chloride-lithium chloride complex (1.3 مول/ لتر في رابع هيدروفيوران، 3.78 مليلتر، 4.92 مليمول) قطرة قطرة وتم تقليب خليط التفاعل لمدة 10 دقائق أخرى عند درجة الحرارة هذه. بعد ذلك سُمح لخليط التفاعل بأن يصل إلى درجة حرارة الغرفة. قُلب لمدة 20 دقيقة وأُضيف ميثانول (0.8 مليلتر، 19.7 مليمول). تم تبريد خليط التفاعل إلى صفر درجة مئوية وأُضيف 50٪ محلول حمض سلفوريك مائي aqueous sulphuric acid (2.0 مليلتر) قطرة قطرة. تم تدفئة خليط التفاعل إلى درجة حرارة الغرفة. وقُلب طوال الليل. تم ترشيح الراسب الأبيض المُشكل، غُسل بـ رابع هيدروفيوران وجُفف في الفراغ ليُعطي I-12.2 الخام (ملح سولفات) كمادة صلبة بيضاء.

تم إستخدام المُنتج الخام في الخطوة التالية بدون تنقية أخرى.

ناتج 94٪، m/z 239 [M+H]+, rt 0.69 min, LC-MS Method Z011_S03 .

خطوة 3: تخليق من R18

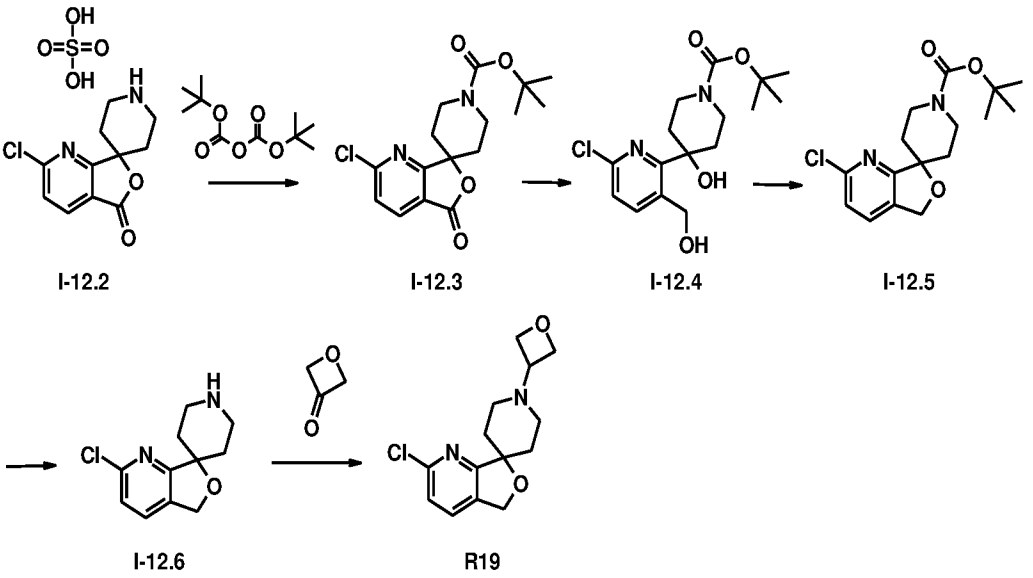
أ) توليد قاعدة حُرة:

تم إذابة I-12.2 (150 مليجرام، 0.45 مليمول) في ميثانول (2 مليلتر)/ ماء (2 مليلتر) أُضيف خليط بوليمر- ألكيل رباعي مرتبط بكربونات الأمونيوم (540293 ,Aldrich) وتم تقليب هذا الخليط لمدة ساعة عند درجة حرارة الغرفة. تم ترشيح بوليمر- ألكيل رباعي مُرتبط بكربونات الأمونيوم، تم إزالة ميثانول والماء في الفراغ ليُعطي قاعدة حُرة من I-12.2.

ب) تم إذابة الراسب المحصول عليه في رابع هيدروفيوران (2 مليلتر)/ ماء (0.1 مليلتر) خليط، أُضيف 3- أوكستانون (0.04 مليلتر، 0.67 مليمول) وحمض خليك (0.038 مليلتر، 0.67 مليمول) وقُلب خليط التفاعل لمدة ساعة عند درجة حرارة الغرفة. أُضيف ثالث أسيتوكسي بوروهيدريد الصوديوم وتم تقليب خليط التفاعل طوال الليل عند درجة حرارة الغرفة. تم تخفيف خليط التفاعل بمحلول كربونات هيدروجين الصوديوم وأستُخلص بأسيتات الإثيل. تم غسل الطبقة العضوية بمحلول ملحي، جُففت على كبريتات الماغنيسيوم ورُكزت في الفراغ. تم تنقية الراسب الخام بواسطة عمود كروماتوجرافي ومضي ليُعطي R18 (شاطف: ثنائي كلورو ميثان/ ميثانول).

ناتج 18٪، Z011_S03 LC-MS Method, rt 0.74 min, [M+H]+ 295 m/z .

تخليق من 2- كلورو-1'- (أوكستان-3- يل) سبيرو [5H- فيورو[3، 4- b] بيريدين-7، 4'- ببيريدين] -2-chloro-1'-(oxetan-3-yl)spiro[5H-furo[3,4-b]pyridine-7,4'-piperidine] (R19)



خطوة 1: تخليق من المركب الوسيط I-12.3

إلى I-12.2 (3.25 جرام، 9.65 مليمول) في ثاني كلورو ميثان (50 مليلتر) أُضيف ثالث اثيل أمين (4.04 مليلتر، 28.95 مليمول)، تم تقليب خليط التفاعل لمدة 20 دقيقة عند درجة حرارة الغرفة، وأُضيف ثاني- ثالث- بيوتيل ثاني كربونات (2.11 جرام، 9.65 مليمول). تم تقليب خليط التفاعل لمدة 90 دقيقة عند درجة حرارة الغرفة.، خُفف بمحلول كربونات هيدروجين الصوديوم المُشبع وأستُخلص بأسيتات الإثيل عدة مرات. غُسلت الطبقة العضوية بمحلول ملحي، جُففت على كبريتات الماغنيسيوم، رُكزت في الفراغ وتم تنقية الراسب المحصول عليه بواسطة عمود كروماتوجرافي ومضي (بتروليوم إثير: اسيتات الإثيل= 95:5 إلى 60:40) ليُعطي I-12.3.

ناتج 49٪، Z011_S03 LC-MS Method, rt 1.03 min, [M–Boc+H]+ 239 m/z .

خطوة 2: تخليق من المركب الوسيط I-12.4

إلـــى I-12.3 (10.0 جـــرام، 29.52 مليمـــول) فـــي إيثـــانول (500 مليلتـــر) أُضـــيف بوروهيدريـــد الصـــوديوم (2.23 جـــرام، 59.03 مليمـــول) وكلوريـــد كالســـيوم (6.55 جـــرام، 59.03 مليمـول) فـي جـزئين وتـم تقليـب خلـيط التفاعـل طـوال الليـل عنـد درجـة حـرارة الغرفـة. أشـار HPLC-MS إلـى 85٪ مـن التحويـل إلـى المُنـتج المطلـوب. أُضـيف كميـة إضـافية مـن بوروهيدريـد الصـوديوم (350 مليجـرام، 9.25 مليمـول) وتـم تقليـب خلـيط التفاعـل لمـدة 6 سـاعات عنـد درجـة حـرارة الغرفـة. أُخمـد خلـيط التفاعـل بمحلـول كربونـات هيـدروجين الصـوديوم المُشـبع، تـم إزالـة إيثـانول فـي الفـراغ وتـم سـحق الراسـب المحصـول عليـه بأسـيتات الإثيـل. تـم ترشـيح الراسـب المُشـكل وأسـتُخلص السـائل الأم بأسـيتات الإثيـل عـدة مـرات. تـم غسـل الطبقـة العضـوية المُتحـدة بمحلـول ملحـي، جُففـت علـى كبريتـات الماغنيسـيوم، رُشـحت ورُكـزت فـي الفـراغ. تـم سـحق الراسـب المحصـول عليـه بأسـيتونيتريل، رُشـح الراسـب المُشـكل، تـم تركيـز السـائل الأُم فـي الفـراغ وأُعيـد هـذا الإجـراء أكثـر مـن مـرتين. إتحـدت الرواسب وجُففت في الفراغ لتُعطي I-12.4.

ناتج 54٪، m/z 243 [M+H–Boc]+, rt 0.97 min, LC-MS Method Z011_S03 .

خطوة 3: تخليق من المركب الوسيط I-12.5

إلـــى I-12.4 (6.77 جـــرام، 17.77 مليمـــول) فـــي رابـــع هيـــدروفيوران (75 مليلتـــر) أُضـــيف ثالـــث اثيـــل أمـــين (14.84 مليلتـــر، 106.64 مليمـــول) وكلوريـــد ميثـــان ســـلفونيل (5.50 مليلتـر، 71.09 مليمـول) عنـد صـفر درجـة مئويـة. سُـمح لخلـيط التفاعـل ليصـل إلـى درجـة حـرارة الغرفـة. وقُلـب لمـدة سـاعة. خُفـف خلـيط التفاعـل بمحلـول كربونـات هيـدروجين الصـوديوم المُشـبع وأسـتُخلص بثـاني كلـورو ميثـان عـدة مـرات. تـم غسـل الطبقـة العضـوية بمحلـول ملحـي، جُففـت علـى كبريتـات الماغنيسـيوم رُكـزت فـي الفـراغ وتـم تنقيـة الراسـب المحصـول عليـه بواسـطة عمـود كروماتوجرافي (بتروليـوم إثيـر: اسـيتات الإثيـل=95:5 إلـى 72:28) ليُعطي I-12.5.

ناتج 65٪، m/z 225 [M+H–Boc]+, rt 1.07 min, LC-MS Method Z011_S03 .

خطوة 4: تخليق من المركب الوسيط I-12.6

إلـى I-12.5 (4.13 جـرام، 12.07 مليمـول) فـي ثـاني كلـورو ميثـان (15 مليلتـر) أُضـيف حمـض ثالـث فلـورو خليـك (5 مليلتـر) وتـم تقليـب خلـيط التفاعـل لمـدة 3 سـاعات عنـد درجـة

حرارة الغرفة. رُكز خليط التفاعل في الفراغ، تم إعادة إذابة الراسب المحصول عليه في ميثانول (50 مليلتر)، أُضيف بوليمر- ألكيل رباعي مرتبط بكربونات أمونيوم (Aldrich, 540293) وتم تقليب هذا الخليط لمدة 30 دقيقة عند درجة حرارة الغرفة. تم ترشيح بوليمر- ألكيل رباعي مُرتبط بكربونات أمونيوم وتم إزالة ميثانول في الفراغ ليُعطي I-12.6.

ناتج 99٪، m/z 225 [M+H]+, rt 0.74 min, LC-MS Method Z011_S03 .

خطوة 5: تخليق من R19

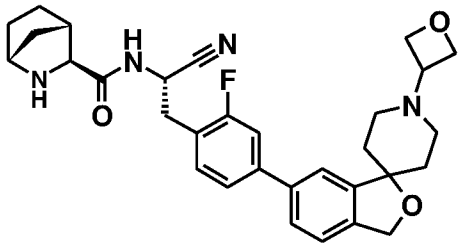
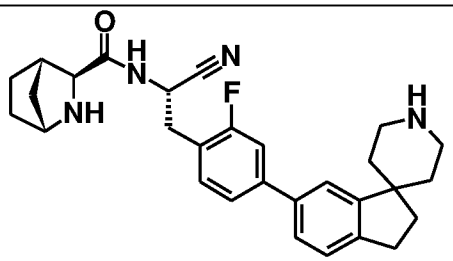
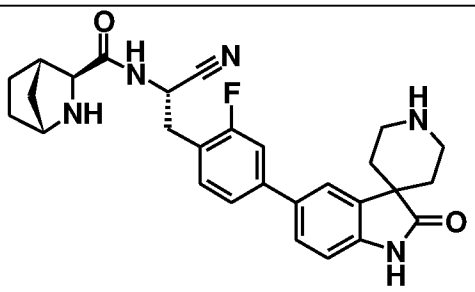
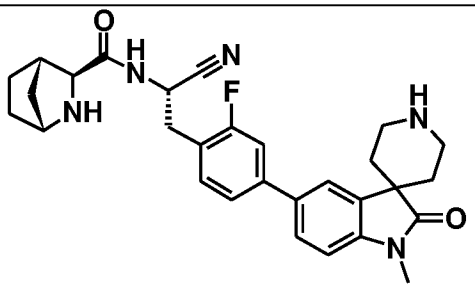
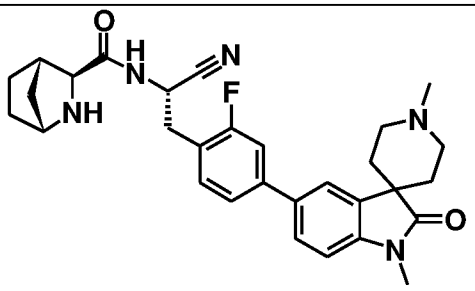
تم إذابة I-12.6 (3.62 جرام، 12.08 مليمول) في رابع هيدرو فيوران جاف (40 مليلتر)، أُضيف 3- أوكستانون (1.16 مليلتر، 18.13 مليمول) وحمض خليك (691 ميكرولتر، 12.08 مليمول) وتم تقليب خليط التفاعل لمدة 20 دقيقة عند درجة حرارة الغرفة. أُضيف ثالث أسيتوكسي بوروهيدريد Sodium triacetoxyborohydride (6.74 جرام، 30.21 مليمول) وتم تقليب خليط التفاعل لمدة 25 دقيقة عند درجة حرارة الغرفة. أُخمد خليط التفاعل بالميثانول، خُفف بمحلول كربونات هيدروجين الصوديوم المُشبع وأستُخلص بأسيتات الإثيل عدة مرات. غُسلت الطبقة العضوية بمحلول ملحي، جُففت على كبريتات الماغنيسيوم ورُكزت في الفراغ. تم سحق الراسب المحصول عليه بأسيتونيتريل/ خليط ميثانول (9: 1)، تم ترشيح الراسب المُشكل، رُكز السائل الأُم في الفراغ وأعيد تكرار هذا الإجراء أكثر من مرتين. وتم اتحاد الرواسب وجففت في الفراغ ليعطي 2.47 جرام من R19. ورُكز السائل الأُم في الفراغ، وتم إعادة إذابة الراسب المحصول عليه في أسيتونيتريل ونقي بواسطة الطور العكسي كروماتوجراف سائل عالي الأداء ليعطي كمية إضافة (0.32 جرام) من R19.

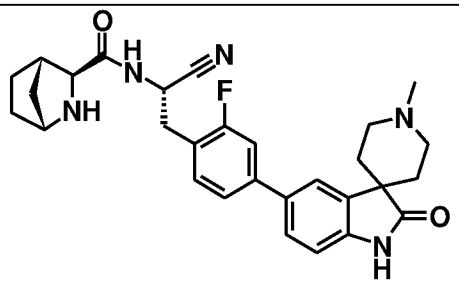
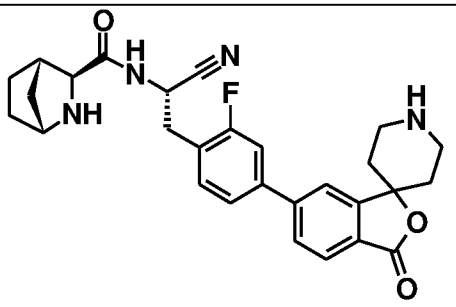
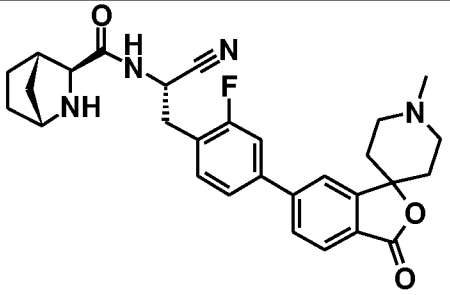
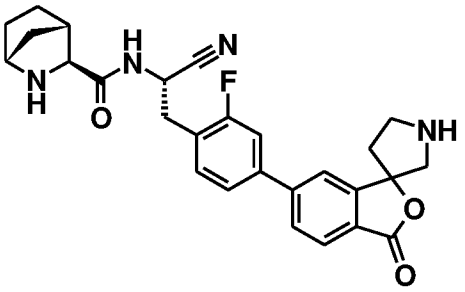
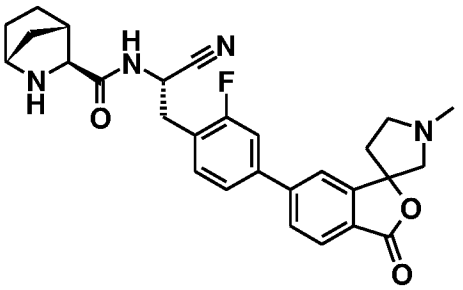
, m/z 281 [M+H]+, rt 0.78 min, LC-MS Method Z011_S03.٪Yield 78

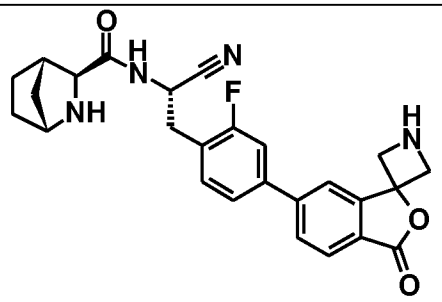
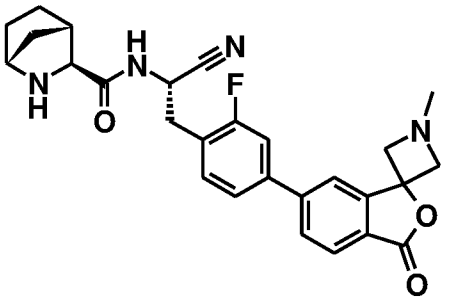
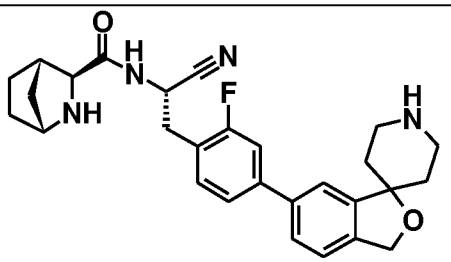
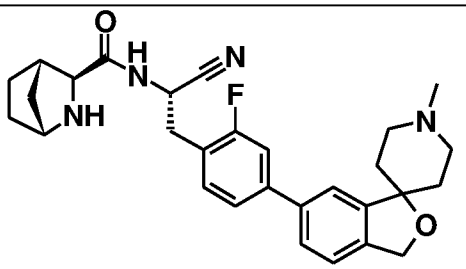
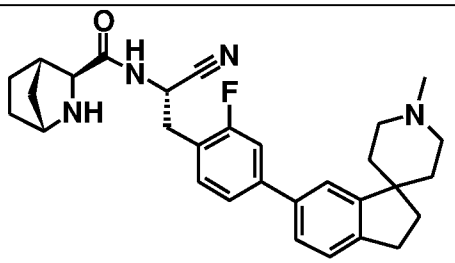
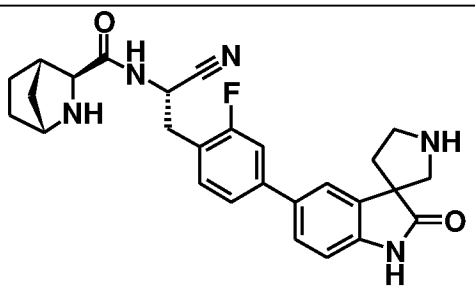
الأمثلة

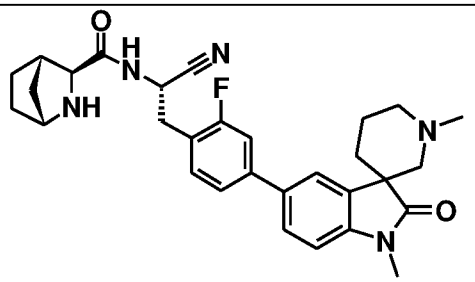
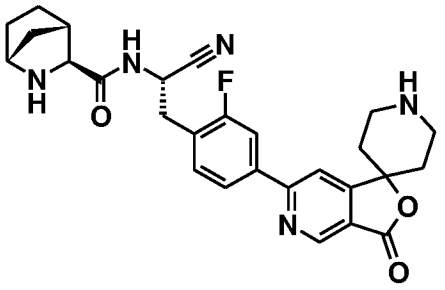
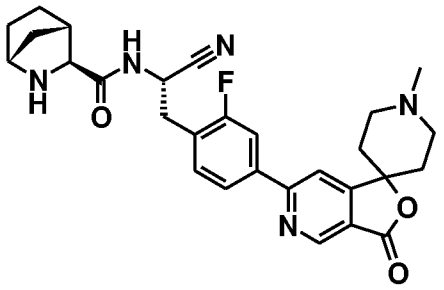
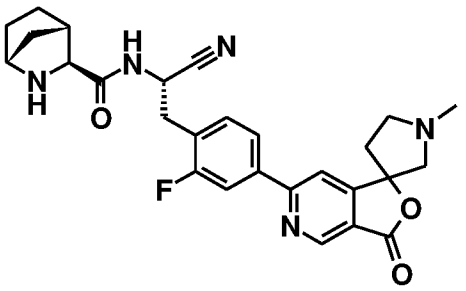
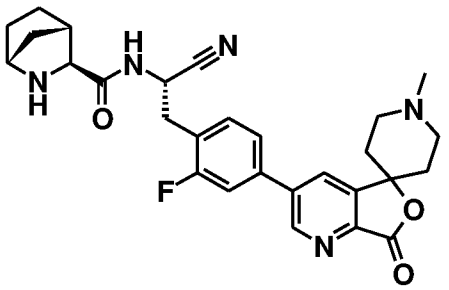
(rt = زمن الاحتفاظ). طرق الكشف: (طولوين حمض سلفونيك toluene sulfonic acid (TSA). المثال 1). تم تعيين الكيمياء الفراغية عند ذرة الكربون المجاورة لمجموعة النيتريل: رابطة فراغية تعني أيزومر S- S-isomer.

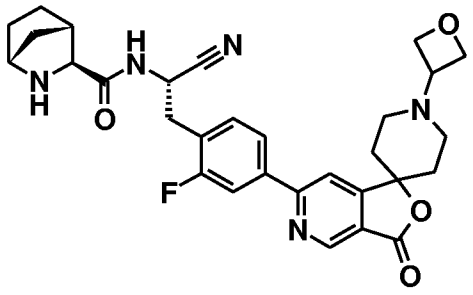
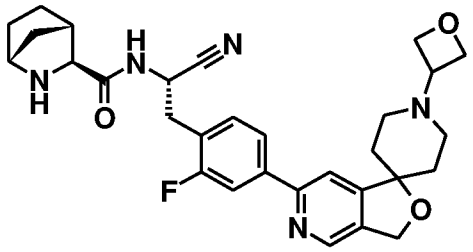
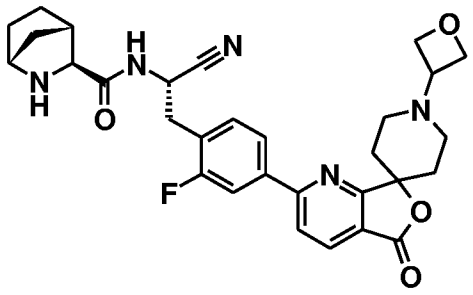
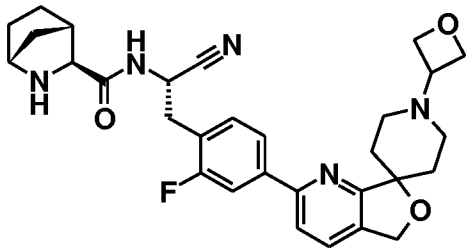
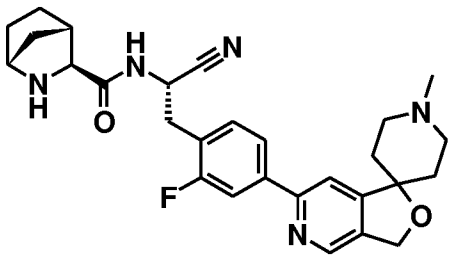
جدول 6

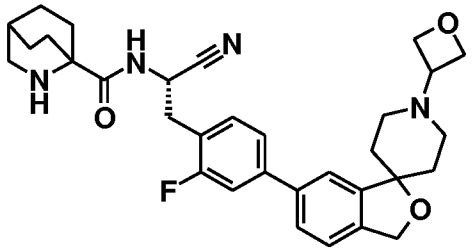
#	التركيب	الناتج	طريقة مخلقة لإزالة الحماية	النـــاتج [٪]
1		I-1.5	A/TSA	84
2		I-1.5.1	A/TSA	95<
3		I-1.5.2	A/TSA	35
4		I-1.5.3	A/TSA	48
5		I-1.5.4	A/TSA	48

7	A/TSA	I-1.5.5		6
43	A/TSA	I-1.5.6		7
41	A/TSA	I-1.5.7		8
90	A/TSA	I-1.5.8		9
16	A/TSA	I-1.5.9		10

20	A/TSA	I-1.5.10		11
54	A/TSA	I-1.5.11		12
9	A/TSA	I-1.5.12		13
43	A/TSA	I-1.5.13		14
49	A/TSA	I-1.5.14		15
58	A/TSA	I-1.5.15		16

46	A/TSA	I-1.5.16		17
35	A/TSA	I-1.5.17		18
73	A/TSA	I-1.5.18		19
47	A/TSA	I-1.5.19		20
36	A/TSA	I-1.5.20		21

35	A/TSA	I-1.5.21		22
83	A/TSA	I-1.5.22		23
95<	A/TSA	I-1.5.23		24
88	A/TSA	I-1.5.24		25
28	B/TSA	I-2.5		26

27		I-3.5	C/TSA	61

تحليل بيانات الأمثلة

جدول 7

المثال	m/z [M+H]+	زمن الاحتفاظ [دقيقة	طريقة LC-MS
1	531	00.1	Z011_S03
2	473	19.1	Z011_S03
3	488	89.0	Z012_S04
4	502	73.0	Z012_S04
5	516	74.0	Z012_S04
6	502	70.0	Z012_S04
7	489	72.0	Z012_S04
8	503	72.0	Z012_S04
9	475	91.0	Z011_S03
10	489	96.0	Z011_S03
11	461	91.0	Z011_S03
12	475	97.0	Z011_S03
13	475	76.0	Z012_S04
14	489	05.1	Z011_S03
15	487	17.1	Z011_S03
16	474	89.0	Z011_S03
17	516	60.0	Z020_S01
18	490	90.0	Z011_S03
19	504	95.0	Z011_S03

20	490	92.0	Z011_S03
21	504	92.0	Z011_S03
22	546	94.0	Z011_S03
23	532	96.0	Z011_S03
24	546	93.0	Z011_S03
25	532	97.0	Z011_S03
26	490	96.0	Z011_S03
27	545	02.1	Z011_S03

جدول 8

قائمة الاختصارات

ACN	أسيتونيتريل acetonitrile
aq.	مائي
BOC, boc	رابع بيوتيلوكسي كربونيل tert-butyloxycarbonyl
d	يوم
DBU	1، 8- ثاني أزا ثاني حلقي [5. 4. 0] أنديك-7-ين 1,8- diazabicyclo[5.4.0]undec-7-ene
DCM	ثاني كلورو ميثان
DEA	ثاني اثيل أمين diethylamine
DIPEA	N، N-ثاني أيزوبروبيل اثيل أمين
DIPE	ثاني أيزوبروبيل اثير diisopropyl ether
DMAP	4- ثاني مثيل أمينو بيريدين4-dimethylaminopyridine
DMF	N، N- ثاني مثيل فورماميد
DMSO	ثاني مثيل سلفوكسيد dimethyl sulfoxide
EA, EtOAc	اسيتات الإثيل
FA	حمض فورميكformic acid
h	ساعة

HATU	o-(7- أزا بنـزو ثالـث أزول-1-يـل)-N,N,N',N'- رابـع مثيـل يورونيوم هكسا فلورو-فوسفات
LiOH	هيدروكسيد الليثيوم lithium hydroxide
MeOH	ميثانول
MeTHF	مثيل رابع هيدروفيوران methyl tetrahydrofuran
min	دقيقة
NaH	هيدريد الصوديوم sodium hydride
PE	اثير نفطي petroleum ether
PPA	1- بروبان حمض فوسفونيك حلقي أنهيدريد
RT, r.t.	درجة حرارة الغرفة، على سبيل المثال 15-25°م
rt	زمن الاحتفاظ retention time
TBME	ثالث بيوتيل مثيل اثير tert-butyl methyl ether
TBTU	o-(1H-بنـزو-1، 2، 3-ثالـث أزول-1-يـل)-N، N، N`، N`-رابـع مثيل يورونيوم رابع فلورو بورات
TEA	ثالث اثيل أمين
TFA	حمض ثالث فلورو خليك
THF	رابع هيدروفيوران
TSA	بارا- طولوين حمض سلفونيك مونوهيدرات

البيانات الدوائية

الملامـح والمزايـا لهـذا الاختـراع سـوف تصـبح واضـحً ممـا يلـي مـن الأمثلـة الأكثـر تفصـيلا والتي توضح، على سبيل المثال، مبادئ الاختراع.

تثبيط ثنائي ببيتايد ببتيداز I البشري (كاتيبسين C)

المـواد: تـم شـراء لوحـة فحـص صـغيرة (Optiplate-384 F) مـن بـاركلين ايلمـر (Prod.No.10 6007270). وكانـت الركيـزة AMC-Arg-Gly مـن (البيتيـد Prod.- Biotrend (No.808756.

ألبومين المصل البقري Bovine serum albumin (BSA Prod.No. A3059)؛ (DTT Prod.No D0632) وثنائي ثيول تريتول من سيجما. كان المنظم TagZyme من ريدل دي هاين (Prod.-No. 04269)، وكلوريد الصوديوم من شركة ميرك (Prod.-No. 1.06404.1000) وينو مورفيلنو ايثان حمض السلفونيك morpholinoethane sulfonic acid (MES)، وكان من يسرفا (Prod.-No. 29834) . تم شراء مثبط DPP1 Gly-DMK-Phe من بيو كيميكال(Prod.-No.03DK00625). تم شراء ثنائي بيبتايد ببتيداز I البشري المؤتلف من بروكسي زايمكس. كانت جميع المواد الأخرى من أعلى درجة متاحة تجاريا.

استخدمت المنظمات المؤقتة التالية: المنظم وينو مورفيلنو ايثان حمض السلفونيك 25 مل مولار ، 50 مل مولار كلوريد الصوديوم، 5 مل مولار دي تي تي DTT، بعد تعديل درجة الحموضة الى 6.0، تحتوي على 0.1٪ ألبومين المصل البقري . تاج زايم المنظم: 20 مل مولار NaH2PO4، 150 مل مولار كلوريد الصوديوم تم تعديلها لدرجة الحموضة 6.0 مع حمض الهيدروكلوريك.

ظروف الفحص: إن ثنائي بيبتايد ببتيداز Iالمؤتلف البشري يتم تخفيفه بمنظم التاجزايم إلى 1 وحدة / مل (38.1ميكرو جم / مل على التوالي)، ومن ثم تفعيلها من خلال خلطها بنسبة 1: 2 مع سيستامين Cysteamine في محلول مائي (2 مل مولار) واحتضانها لمدة 5 دقائق في درجة حرارة الغرفة.

خمسة ميكرو لتر من مركب الاختبار (التركيز النهائي 0.1 نانومولار إلى 100 ميكرومولار) في أكوا بايديست 5 (التي تحتوي على 4٪ ثاني مثيل سلفوكسيد، وتركيز نهائي ثاني مثيل سلفوكسيد 1٪) كانت مختلطة مع 10 ميكرولتر من ثنائي بيبتايد ببتيداز I في منظم وينو مورفيلنو ايثان حمض السلفونيك (نهائي تركيز 0.0125 نانوغرام / ميكرولتر) وحضنت لمدة 10 دقائق. ثم إضافة 5 ميكرولتر من الركيزة في وينو مورفيلنو ايثان حمض السلفونيك (النهائي تركيز 50 ميكرومولار). ثم تم احتضان لوحات العيار الدقيقة في درجة حرارة الغرفة لمدة 30 دقيقة. تم إيقاف التفاعل بإضافة 10 ميكرولتر من DMK-Phe-Gly في 10 وينو مورفيلنو ايثان حمض السلفونيك(نهائي تركيز 1 ميكرومولار). تم تحديد الاستشعاع في الفتحات باستخدام

الأجهـزة الجزيئيـة SpectraMax M5 (360 Ex نـانومتر، 460 Em نـانومتر) أو تصـور قارئ الاستشعاع (355 Ex نانومتر،460 Em نانومتر).

تتضـمن كـل لوحـة عيـار دقيقـة فحـص الآبـار مـع الضـوابط الناقلـة (1٪ ثـاني مثيـل سلفوكسـيد فـي بايديسـت0.075 ٪+BSA 15) كمرجـع للنشـاط غيـر المثبط للإنـزيم (100٪ سـي تـي ال CTL، القـيم العاليـة) والآبـار مـع المثـبط (DMK-Phe-Gly)، فـي بايديست +1 ٪ ثاني مثيل سلفوكسيد0.075 + ٪BSA ، 1 ميكرو مولار تركيز النهائي) كضوابط (0٪ CTL، والقيم المنخفضة).

تـم إجـراء تحليـل البيانـات عـن طريـق حسـاب نسـبة الاستشـعاع فـي وجـود مركـب الاختبـار بالمقارنة مع استشعاع الضوابط الحاملة

بعد طرح20 وميض من الخلفية باستخدام الصيغة التالية:

(آر أف يـــو RFU (عينـــة) -RFU (الخلفيـــة)) * 100 / (RFU (الضـــابط) -RFU (الخلفية))

واسـتخدمت البيانـات مـن هـذه الحسـابات لتوليـد قـيم IC50 لتثبـيط ثنـائي بيبتايـد ببتيـداز I، على التوالي.

جدول 9

المثال	تثبيط ثنائي بيبتايد ببتيداز I IC_{50} ميكرومولار
1	0.0011
2	0.0006
3	0.0003
4	0.0004
5	0.0006
6	0.0002
7	0.0005
8	0.0007
9	0.0005
10	0.0006
11	0.0007
12	0.0005

13	0.0006
14	0.0010
15	0.0005
16	0.0005
17	0.0016
18	0.0016
19	0.0010
20	0.0016
21	0.0014
22	0.0048
23	0.0050
24	0.0027
25	0.0018
26	0.0020
27	0.0029

تقدير نشاط النيوتروفيل إيلاستاز في U937 المحلول العصاري الخلوي بعد الحضانة مع مركب الاختبار

المواد:

تم شراء Optiplate 384F من بركلين ايلمر (منتج. رقم # 6007270). لوحات زراعة الخلية 24 فتحة نايلون (رقم 142475) وألواح 96 فتحة (رقم 267245) من نونك. (ثنائي ميثيل السالفوكسايد () ثاني مثيل سلفوكسيد) من سيجما (Prod.No. D8418). نونيديت-P40(NP40) من يو اس بيولوجيكال (Prod.No. N3500)

الركيزة والمخصصة للنيوتروفيل إيلاستاز، من (باكيم) MeOSuc- Ala- Ala -Pro-Val-AMC، (Prod.No. I-1270).

كان النيوتروفيل إيلاستاز البشري Human neutrophil elastase من كال بيوكيم(Prod.No. 324681)

المنظمات:

منظم تريس Tris-buffer (تريس 100مل مولار، 1مولار كلوريد الصوديوم، ودرجة الحموضة 7.5)

تـريس + 0.1٪ اتـش اس ايـه HSA. البـومين المصـل البشـري مـن كـال بيـوكيم (#. 126658)

السـيرين-البروتينـي (تـريس 20مـل مـولار، 100مـل مـولار كلوريـد الصـوديوم، ودرجـة الحموضة 7.5) + 0.1٪ HSA

السيرين البروتيني المحلل Serine protease lysis buffer: 20مل مولار تريس، حمض الهيدروكلوريك. 100مل مولار كلوريد الصوديوم 7.5 درجة الحموضة. + 0.2٪ نونيديت Nonidet-P40 P40 t-.

محلول الفوسفات الملحي phosphate buffered saline: الفوسفات ، دون الكالسيوم والمغنيسيوم، من جيبكو

زراعة الخلية :

U937 من ECACC(cat.No. 85011440) المستزرعة في المعلق عند درجة حرارة 37 درجة مئوية و 5٪ ثاني اوكسيد الكربون .

كثافة الخلية :0.2-1 Mio. خلية لكل ملي.

متوسط: RPMI1640 GlutaMAX(No.61870) مع 10٪ FCS من Gibco

زراعة الخلية والعلاج:

المركب في 100٪ ثاني مثيل سلفوكسيد حيث يخفف في متوسط (اف سي اس FCS-) مع 10٪ ثاني مثيل سلفوكسيد وكذلك تخفف بناء على تخطيط التجربة.

20 ميكرو من محلول المركب يتم نقلها إلى فتحة من ال24 فتحة في اللوحة وتخفف مع 2 ملي من محلول الخلية المعلق لكل فتحة تحتوي علي 1× 10^5 خلية /ملي (التركيز النهائي لل ثاني مثيل سلفوكسيد =0.1٪). عامل تخفيف المركب =100

المركب(اكثر من 7 تركيزات) يتم اختباره ثلاث مرات مع 3 فتحات من ثاني مثيل سلفوكسيد 0.1 ٪ من المتحكم , يحضن ل 48 ساعة من دون تغير الوسط عند درجة حرارة 37 درجة مئوية ,5٪ ثاني اكسيد الكربون و 95٪ من الرطوبة النسبية .

جمع الخلايا والخلايا المحللة cell lysate:

نقل محلول الخلايا المعلق إلى 96 قالب اختبار ذو 96 فتحة تحتوي 2 ملي.نفصل الخلايا من الوسط عن طريق الطرد المركزي (500× g؛ 10 دقائق ؛ زمن الاحتفاظ) ؛

مـع الـتخلص مـن الطـافي .يعـاد وضـعه فـي 1 ملـي بـي بـي أس PBS؛ يطـرد مركزيـا (500× g؛ 10 دقـائق ؛ زمـن الاحتفـاظ) ؛ تغسـل الخلايـا مـرتين بواسـطة PBS .يضـاف 80 ميكروملـي متعـادل السـيرين لتحلـل البـروتين (ثلـج) إلـى لـوح الخليـة ؛ يعـاد تعليـق الحبـوب وتحفـظ فـي ثلـج لمـدة10 دقـائق . ازالـة البقايـا عـن طريـق الطـرد المركـزي عنـد 1000g X لمـدة 10 دقـائق عنـد 4 درجـة مئويـة . تنقـل 80-100 ميكـرو مـن الطـائف المحلل في لوحة ذات 96 فجوة وتحفظ في الحال عند درجة – 80 درجة مئوية.

كشف نشاط الخلايا المتعادلة الاليستيزيا:

ليسـتيت المتجمـدة يـتم إذابتهـا فـي 37 درجـة مئويـة لـ10 دقـائق و تخـزن فـي الـثلج . يـتم حسـاب نسـب البـروتين مـع كاشـف البـروتين برادفـورد . ليسـتيز يـتم تخفيفهـا إلـى 0.2-0.5 مليجرام/ملي البروتين في متعادل سيرين البروتيني serine protease buffer + HSA.

المعيـار : الخلايـا المتعادلـة (100 ميكـرو /ملـي المحلـول المخـزن فـي متعـادل تـريس ؛ تخـزن عنـد -80 درجـة مئويـة) يـتم تخفيفهـا فـي محلـول تـريس المتعـادل + HSA إلـى 750 نانوجرام/ ملي , و يفضل تخفيف تدريجي 1:2 للمنحنى المعياري.

عينـات المحلـول المتعـادل , المحلـول الفـارغ , المحلـول المعيـاري و الليسـيت يـتم نقلهـا إلـى شريحة ذات 384 فجوة .

خريطة الامتصاص

المحلول الفارغ: 5 ميكـرو مـن تـريس المتعـادل + 10 ميكـرو مـن متعـادل سـيري البروتينـي +5 ميكرو من الركيزة

المحلول المعاير: 5 ميكـرو مـن تـريس المتعـادل + 10 ميكـرو مـن NE (مختـل التركيزات) +5 ميكرو من الركيزة

الليسيت: 5 ميكــرو مــن تــريس المتعــادل + 10 ميكــرو مــن ليســيت +5 ميكرو من الركيزة

زيـادت فـي الاستشـعاع (إي اكـس Ex 360 نـانو متـر/ Em 460 نـانو متـر) يـتم حسـابه بعـد 30 دقيقـة مـع الجهـاز الجزيئـي سـبيكترامكس M5 لقرائـة الاستشـعاع . النتـائج تجـدول ال نـانو جـرام /مليجـرام بـروتين الليسـت باسـتخدام صـيغة معادلـة الاكسـل . نسـبة التثبـيط فـي

العينة ليست المعالجة من المركب يتم حسابها بالاقتران مع عينة ثاني مثيل سلفوكسيد المعالجة المهيمنة (100-(المركب- العينة *100) /المهيمن – العينة)

مركب الاختبار يعطي قيمة بين 0٪ و 100٪ تثبيط للخلايا المعتدلة اليستيز . IC50 يتم حسابها باستخدام برنامج جراف باد بريسم ؛ غير متعامد (لوج (المثبط) ضد الاستجابة – المنحدر المتغير).قيمة IC50 تجدول كتركيز للمركبات الاختبار حيث تؤدي إلى تقلص نشاط الخلايا المعتدلة الالستيزيه ل 50٪ (بالاقتران مع ثاني مثيل سلفوكسيد –المجموعة المعالجة المهيمنة).

جدول 10

مثال	
1	0.0010
2	0.0068
3	0.5030
4	0.0910
5	0.0023
6	0.0222
7	0.0349
8	0.0008
9	0.0215
10	0.0014
11	0.0107
12	0.0012
13	0.0167
14	0.0011
15	0.0002
16	0.0738
17	0.0006
18	0.2202

19	0.0050
20	0.0232
21	0.0637
22	0.0157
23	0.0075
24	0.0060
25	0.0016
26	0.0046
27	0.0007

تثبيط كاتيبسين البشري K

المواد :

ماصة صغيرة (F Optiplate-384 تم شرائها منPerkinElmer (Prod.No. 6007270)). الركيزة Z-Gly-Pro-Arg-AMC من Biomol (P-142 Prod.-No.). L-سيتسين (168149 Prod.No.) من سجما . صوديوم اسيتيت من ماريك (Prod.-No. 6268.0250). ايدتا من Fluka (03680 Prod.-No.). المثبطE-64 تم شرائه من سجما (E3132 Prod.-No.). الانزيم الاولي K كاتبيسين البشري أعيد تركيبه وتم شرائه من Biomol(Prod.No. SE-367). كل المواد الاخرى من أعلى درجة ومتوفرة اقتصاديا.

استخدمت المحليل المتعادلة التالية: تنشيط المحلول المتعادل : 32.5 ملي خلات الصوديوم، تعديلها لدرجة الحموضة 3.5 مع حمض الهيدروكلوريك. فحص المحلول المتعادل : 150 ملي خلات الصوديوم، 4 ملي ايدتا EDTA، 20 ملي L سيستين، بعد تعديلها لدرجة الحموضة 5.5 مع حمض الهيدروكلوريك،

ظروف الفحص:

لتنشيط البروتوانزيم , 5 ميكرو بروكبسبين K يتم خلطهم مع 1 ميكرو من المحلول المتعادل المحفز و يحضن في درجة حرارة الغرفة ل30 دقيقة .

5 ميكرولتر من مركب الاختبار (التركيز النهائي 0.1 نانومتر إلى 100 ميكرومتر) في bidest مائي (التي تحتوي على 4٪ ثاني مثيل سلفوكسيد، وتركيزه ثاني مثيل سلفوكسيد النهائي 1٪) التي كانت مختلطة مع 10 ميكرولتر من كاتيبسين K مع المحلول المتعادل

للفحص (تركيزه النهائي 2 نانوغرام / ميكرولتر) وحضنت ل 10 دقيقة. ثم أضيفت 5 ميكرولتر من الركيزة المتعادلة في الفحص (تركيزه النهائي 12.5 ميكرومتر). ثم تم الاحتضان للوح في درجة حرارة الغرفة ل60 دقيقة. ثم، تم إيقاف التفاعل بإضافة 10 ميكرولتر من E64 في المحلول المتعادل للفحص (تركيزه النهائي 1 ميكرومتر). تم تحديد الاستشعاع في الفتحات باستخدام الأجهزة الجزيئية SpectraMax M5 قارئ الاستشعاع (مثلا, 360 نانومتر، إم 460 نانومتر).

كل لوحة فحص مايكروتيتر تحتوي علي حامل مهيمن (1٪ ثاني مثيل سلفوكسيد في bidest) كدلالة علي نشاط الانزيم الغير مثبط (Ctl;100٪ اعلي قيمة) وفتحت تتكون من المثبط (E64 في1 + bidest ٪ ثاني مثيل سلفوكسيد, التركيز النهائي 1 ميكرو مولر) مثل المهيمن في خلفية الاستشعاع (0٪ Ctl اقل قيمة). تم إجراء تحليل البيانات عن طريق حساب نسبة الاستشعاع في وجود مركب الاختبار بالمقارنة مع الاستشعاع من المحلول المهيمن بعد وضع الخلفية للاستشعاع:

(RFU00عينة) –RFU (خلفية))*100/(RFU (المهيمن)–RFU (الخلفية)).

واستخدمت بيانات من هذه الحسابات لتوليد القيمه لـ IC50 لتثبيط كاتيبسين K، على التوالي.

حساب استقرار الايض مع ميكرسومات الكبد البشري HUMAN LIVER MICROSOMES

ويعاير تدهور التمثيل الغذائي لمركب الاختبار عند 37 درجة مئوية مع ميكرسومات الكبد البشري المتجمعة . حجم الحضانة النهائي هو 100 ميكرولتر في نقطة زمنية تحتوي على تريس المعتدل و درجة الحموضة 7.6 (M 0.1)، كلوريد المغنيسيوم (5 ملم)، والبروتين الميكروسومي microsomal protein (1 مليجرام / مل)، مركب الاختبار في التركيز النهائي من 1 ميكرومتر.

بعد فترة ما قبل الحضان القصيرة في 37 ° C، بادرت ردود الفعل بإضافة بيتا نيكوتيناميد الأدينين ثنائي النيوكليوتيد الفوسفات beta-nicotinamide adenine dinucleotide phosphate، وانخفاض (NADPH، 1 ملم) وتم إنهاؤها بنقل قسامة في الأسيتونتريل بعد نقطة زمنية مختلفة. بالإضافة إلى ذلك، يتم رصد تدهور– نيكوتيناميد

الأدينين ثنائي النيوكليوتيد الفوسفات مستقل في حضانات دون نيكوتيناميد الأدينين ثنائي النيوكليوتيد الفوسفات ، أنهيت في اخر نقطة زمنية. والنسبة المتبقية من مركب الاختبار بعد نيكوتيناميد الأدينين ثنائي النيوكليوتيد الفوسفات تعكس الحضن المنفصل عن طريق المعدلات (المهيمن) (الاستقرار الأيض). المخمد المحضن يتحول إلى حبوب عن طريق الطرد المركزي (10000 G، 5 دقائق). ويعاير قسامة من طاف MS / LC-MS لحجم المركب الأصلي.

ونصف العمر (2 / T1 خارج الجسم) يتم تحديدها من قبل المنحدر من المخطط semilogarithmic من بيان التركيز في الوقت المحدد. يتم احتساب الإزالة الذاتية (CL_INTRINSIC) من خلال النظر في كمية البروتين في الحضانة:

CL_INTRINSIC [ميكرولتر / دقيقة / مليجرام بروتين] = (2 LN / (نصف العمر [دقيقة] * محتوى البروتين [مغ / مل])) * 1000.

حياة النصف (2 / T1 خارج الجسم) قيم المركبات المحدده في فحص الاستقرار الأيض المذكورة أعلاه المسرودة في الجدول التالي.

جدول 11

مثال	استقرار تحضين ميكرسومات الكبد البشري معمليا عمر النصف (دقيقة)
1	<130
2	<130
3	<130
4	<130
5	<130
6	110
7	<130
8	74

مثال	استقرار تحضين ميكرسومات الكبد البشري معمليا عمر النصف (دقيقة)
9	130<
10	130<
11	130<
12	46
13	130<
14	130<
15	130<
16	130<
17	60
18	130<
19	130<
20	130<
21	130<
22	130<
23	130<
24	130<
25	130<
26	55
27	120

هدف المشاركة نموذج الفئران

المركبات المعالجة :

لرصد تأثير مركبات الاختبار على نشاط الخلايا المتعادلة إيلاستاز في المتعادلة المحيطية، الإناث سي آر إل CRL: عولجت فئران ان ام آر آى NMRI على النحو التالي:

المجموعة 1 (6 الحيوانات): 0.5 مليجرام / كغ من مركب اختبار في 0.5٪ Natrosol (درجة الحموضة 2-3)

المجموعة 2 (6 الحيوانات): 0.5٪ Natrosol (درجة الحموضة 2-3)

المجموعة 3 (2 الحيوانات): 0.5٪ Natrosol (درجة الحموضة 2-3)

تم تطبيق اختبار المركبات أو محلول Natrosol يوم الاثنين إلى الجمعة في الساعة 7:00 صباحا و 4:00 مساء كل يوم من أيام الأسبوع الأول من الدراسة ويومي الاثنين والثلاثاء (07:00 و 04:00) الأسبوع الثاني. طبقت مركبات الاختبار أو Natrosol فمويا.

إعداد غسيل القصبات و تحديات ال بي اس LPS:

يوم الأربعاء في الأسبوع الثاني، تم علاج الحيوانات مع مركب الاختبار أو محلول Natrosol كما هو موضح أعلاه (7:00) تليها LPS في التحدي الاستنشاق:

المجموعة 1 و 2: 20 دقيقة استنشاق LPS (بكتريا E.coli المصلي 055: B5؛ / mg1 مل في PBS) باستخدام البخاخات المستمرة MiniHeart هاي فلو (Westmed)

المجموعة 3: لا تحد LPS

4 ساعات بعد تحدي LPS تغسل القصبات باستخدام x1ml2 محلول هانك الملحي لكل حيوان من جميع الحيوانات وأعداد الخلايا في سائل الغسل المصممة على استخدام SYSMEX XT-1800i. تم فصل الخلايا من سائل الغسل بواسطة الطرد المركزي و lysed في تحلل المحلول المتعادل (100 ملي تريس درجة الحموضة 7.5، 1 M كلوريد الصوديوم، 0.2٪ NP40).

حساب الستيز للخلايا المعتدلة Neutrophile elastase (NE):

نشاط الستيز للخلايا المعتدلة في بي ايه ال اف BALF (سائل غسيل القصيبات)تحلل الخليه تم حسابه باستخدام الاستشعاع لركيزة الستيز للخلايا المعتدلة -MeOSuc-Ala

Ala-Pro-Val-AMC (Bachem) 10 ميكرولتر كانت مختلطة مع محللة الخلية مع 5 ميكرولتر المحلول المتعادل (20 ملي تريس درجة الحموضة 7.5، 100 مم كلوريد الصوديوم، 0.1٪ زلال المصل البشري) و 5 ميكرولتر الركيزة (1 ملم في المخزن مقايسة) في لوحة ذات 384 فتحة (f Optiplate384، PERKINELMER) .

وقد حضنت خليط التفاعل لمدة 60 دقيقة في درجة حرارة الغرفة وتم قياس الاستشعاع (360 نانومتر الإثارة، 460 الانبعاث نانومتر). وتم تطبيع قيم الاستشعاع للحصول على أرقام سائل القصبات الهوائية الخلايا المتعادلة لكل حيوان.

لحساب تثبيط أنشطة الستيز للخلايا المعتدلة بواسطة مركبات الاختبار، تم طرح متوسط قيمة الاستشعاع من مجموعة 3 من قيم الاستشعاع لمجموعة 1 و 2 ونسبة تثبيط أنشطة الستيز للخلايا المعتدلة في مجموعة 1 مقارنة بقيمة الاستشعاع المتوسطة في المجموعة 2 المحسوبة.

يقاس نشاط الخلايا المتعادلة الإيلاستاز في سائل القصبات الهوائية المحللة بعد المعالجة مع مثبطات كاتيبسين C (D7bid (مرتين في اليوم) التطبيق) في الجدول التالي:

جدول 12

مثال	تثبيط نشاط الخلايا المتعادلة اليستيز في سائل غسيل القصيبات ليست بعد علاجها مع كاسبين سي المثبط (الجرعة :0.5 مليجرام / كيلوجرام تجربة لـ 7 ايام)
1	96
25	94

الشكل البلوري لمجند المعقد لكابستين C

الطرق

البروتين:

تم إنتاج المؤتلف الإنسان كاتيبسين C (كات C) وفقا لبروتوكولات البيولوجية الجزيئية القياسية (المرجع: 1-3).

البلورة والنقع:

قبيل تبلور البروتين المعتدل يتم تغيره ل20 ملم مكرر تريس درجة الحموضة 7.0، 150 مم كلوريد الصوديوم، 2 مم EDTA، 2 ملي DTT مع (عمود جي اي NAP10 GE) هيلسكير). وتركزت عينة البروتين إلى 9-10 مليجرام / مل. وقد نمت بلورات عند 20 درجة مئوية في المعلقة قطرات باستخدام 1.0 ميكرولتر من البروتين و 1.0 ميكرولتر من محلول جيد (0.1 M مكرر تريس، ودرجة الحموضة 6.0-6.5 البروبان، 18-20٪ (ث / ت) 3350 PEG، 200 ملي ناف، 1 ملي دي دي تي). ظهرت بلورات أثناء الليل، ونمت إلى الحجم الكامل في غضون 2-3 أيام. تم الحصول على يجند شارك في الهياكل عن طريق نقع ايه بي أوه APO بلورات في محلول جيد تستكمل مع 1 ملم من يجند (عبر التخفيف من 100 ملي المحلول المخزن في ثاني مثيل سلفوكسيد) أثناء الليل. البلورات تم تجميدها في النيتروجين السائل قبل جمع البيانات باستخدام 20٪ الجلسرين والمحلول كذلك كريو بروتيكتانت.

جمع البيانات، وحلول البنية والتكرير:

وقد تم جمع جميع البيانات الحيود في 100 K على الدوران مولد القطب الموجب (Rigaku) باستخدام الأشعة CuKα ومعالجتها مع اكس دي أس XDS (المرجع: 4). تم حل يجند شارك في الهياكل من خلال طريقة الفرق فورييه والمكررة مع برنامج autoBuster (العالمي التخلص تدريجيا المحدودة) كرر مع إعادة اليدوية باستخدام برنامج كووت (المرجع: 5). يتم سرد معالجة البيانات وتحسين الإحصاءات النهائية في الجدول 13. تم استخدام برنامج PyMOL (ديلانو العلمي إل إل سي LLC) لإعداد الشكل.

النتائج

شكل الجند المعقد لكاسبيسين سي :

ووصف شكل كاتيبسين C البشري (كات C) في آدابها (المرجع 2) باعتبارها تيتمير تحتوي على أربعة من الوحدات الفرعية المتطابقة. وتتألف كل وحيدات من ثلاث سلاسل:

السلسلة الخفيفة والثقيلة من المجال المحفز , حيث انه يطلق عليه موانع المجال المستبعد للشق الذي يحتوي علي نقطة النشاط خارج جيب S2 و هي مسئولة عن نشاط البيبتيد الخارجي لكات سي . شكل الكات سي في المركب تم تمثيلة في 11 و 16 (جدول 14,

الشكل 1) حيث انها مصممة لتوضيح وضع الروابط في هذا النوع من المركبات . مثال 11 و 16 ارتبطو عن طريق التفاعل التساهمي من مجموعة النيتريل مع Cys234 .

المثال 11 هو جزيئي واحد مع ذرة الكربون المجاورة لمجموعة النتريل في (S) التكوين أثناء المثال 16 (الحلقة سبيرو لذرة كربون RS الفراغية) هو خليط من المقابلات الضوئية. الحلقة الثنائية للأحماض الأمينية تصل إلى جيب الإنزيم S1 حيث يرتكز عليه عن طريق الروابط الهيدروجين إلى ذرات العمود الفقري لل Gly277 و Asn380 فضلا عن سلسلة من الجانب Asp1. نظام البيس –أريل ينظم في جيب S2 حيث تشارك في فان دير فال التفاعلات لمخلفات Asp1 و PRO3 لمجال الاستبعاد.

والمثير للدهشة، لاحظنا تفاعل إضافي للأمين–الحلقة اللولبية : سبيرو–ازيتيدين في المثال 11 و سبيرو–بيروليدين في المثال 16. وفي كلتا الحالتين تشكل ذرة النيتروجين الأساسية للجسر الملحي لGlu275 يتفق مع نشاط الانزيم العالية من فئة هذا المركب.

المراجع:

(1) Søren W. Dahl, Torben Halkier, Conni Lauritzen, Iztok Dolenc, John Pedersen, Vito Turk and Boris Turk. (2001) Human Recombinant Pro-dipeptidyl Peptidase I (Cathepsin C) Can Be Activated by Cathepsins L and S but Not by Autocatalytic Processing. Biochemistry 40, 1671-1678.

(2) Dusan Turk, Vojko Janjic, Igor Stern, Marjetka Podobnik, Doriano Lamba, Sùren Weis Dahl, Connie Lauritzen, John Pedersen, Vito Turk and Boris Turk (2001) Structure of human dipeptidyl peptidase I (cathepsin C): exclusion domain added to an endopeptidase framework creates the machine for activation of granular serine proteases. The EMBO Journal 20, 6570-6582 .

(3) Furber, M. et al. (2014) Cathepsin C Inhibitors: Property Optimization and Identification of a Clinical Candidate. J. Med. Chem., 57,2357–2367.

(4) Kabsch, W. (2010) XDS. Acta Crystallogr. D. Biol. Crystallogr. 66, 125-132.

(5) Emsley, P. & Cowtan, K. (2004) Coot: model-building tools for molecular graphics. Acta Crystallogr. D. Biol. Crystallogr. 60, 2126-2132.

جدول 13. جمع البيانات وصقل الاحصائيات

جمع البيانات[1]

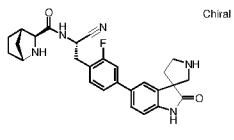
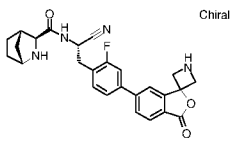
وضع البيانات	المثال 11	المثال 16
كشف	Saturn944	Mar345
المجموعة المساحة	I222	I222
أبعاد خلية وحدة a و b، C (Å)	114.6 ,89.3 ,86.0	114.5 ,88.7 ,86.5
القرار (أ)	1.7	1.5
اكتمال (٪)	81.0 (9.1)	93.3 (43.5)
٪Rsym	4.2 (31.6)	3.5 (28.0)
< I/σ(I) >	32.1 (2.9)	32.5 (4.7)
التنقيح[2]		
R – عامل /R – الحرة (٪)	19.2 /17.8	21.7 /21.3
طول الرابطة Rmsd (انجستروم)	0.008	0.008
زوايا السندات Rmsd (درجة)	0.90	0.93

1 القيم بين قوسين هي لأعلى حاجز دقة ؛ $R_{sym} = \Sigma_{hkl}\Sigma_i | I_i - \langle I \rangle | / \Sigma_{hkl}\Sigma_i I_i$

؛ ^{2} R-factor = $\Sigma hkl | | Fobs | - k | Fcalc | | / \Sigma hkl | Fobs |$

R الحرة تم حسابها باستخدام 5٪ من البيانات التي تم استبعادها من التنقيح؛ Rmsd، مربع شق متوسط الانحراف.

الجدول 14. فحص المركبات في البلورات بالأشعة السينية

المركب	مثال 11	مثال 16
الشكل		
أيزومر فراغي	دایاستیریومیر فردي	خليط من الدایاستیریومیر
CatC IC_{50} (nM)	0.7	0.5

التركيبات الصيدلية

ان التحضيرات الملائمه من اجل تعاطي المركب ذو الصيغة1 و سوف تكون معلومه

لـدي الاشـخاص ذوى المهـاره فـى هـذا المجـال وهـذا يتضـمن كمثـال (الاقـراص والحبـوب "البرشـام" والكبسـولات والتحاميـل والاقـراص المحـلاه والمحاليـل وأدويـه الشـرب والاكاسـير والمسـاحيق ومحاليـل الحقـن وادويـه الاستنشـاق) اقـراص دوائيـه ملائمـه يمكـن ان نحصـل عليهـا كمثـال اذا قمنـا بخلـط مـواد مـع الصـيغة 1 كسـواغ "مـاده غيـر نشـطه تعمـل كحامـل للصـيغه الدوائيـه" او مـواد مخففـه ,حـاملات,مواد مفتتـه, او مسـاعدات"مواد تحفـز الجهـاز المنـاعي لاطـلاق الاجسـام المضـاده",مواد محفـزه للأسـطح,مواد مغلفـه ومـواد مسـاعده علـى الانزلاق.ويمكن ان تكون الاقراص الدوائيه مكونه من عده طبقات.

الاتحادات

مركبـات "الصـيغة 1" يمكـن ان تسـتخدم بـذاتها او مرتبطـه مـع مركبـات أخـرى "الصـيغة1" أخـرى نشـطه وذلـك وفقـا للأبتكـار الـدوائي المطلـوب .ويمكـن ايضـا ان تـرتبط اختياريـا مـع مـواد أخـرى نشـطه مـن الناحيـه الفارماكولوجيـه وذلـك يتضـمن ، منبهـات SS2 المسـتقبلات (المفعـول القصـير والطويـل)، ومكافحـة cholinergics (المفعـول القصـير والطويـل) الاسـتيرويدات لمضـادات الالتهابـات anti-inflammatory steroids (الكـورتيزون corticosteroids عـن طريـق الفـم وموضـعي)، كروموغليكـات cromoglycate، الميثيـل، فصـلها glucocorticoidmimetics، مثبطـات PDE3، مثبطـات PDE4، مثبطـات PDE7، مضـادات LTD4 ، مثبطـات EGFR، منبهـات الـدوبامين، مضـادات القـوات الجويـة الباكسـتانية، والمشـتقات Lipoxin A4، جهـري FPRL1، LTB4 مسـتقبلات (BLT1، BLT2) الخصـوم، الهسـتامين H1 مسـتقبلات، الهسـتامين H4 مسـتقبلات ، مـزدوج الهستامين H3 / H1 مستقبلات، مثبطات PI3 كيناز ، مثبطات تحركات غير مستقبلات التيـروزين علـى سـبيل المثـال إل واي أن LYN، إل سـي كيـه LCK، SYK، 70 ZAP، أف واي ان FYN، بـي تـي كيـه BTK أو آى تـي كيـه ITK، مثبطـات تحركـات أم ايـه بـي MAP علـى سـبيل المثـال P38، ERK1، ERK2، JNK1، JNK2، JNK3 أو أس ايـه بـي SAP، مثبطـات للإشـارات الطريـق أن أف NF كيلوبايـت علـى سـبيل المثـال IKK2 مثبطـات كينـاز ، مثبطـات iNOS، مثبطـات MRP4، الليكـوترين biosynthese مثبطـات علـى سـبيل المثـال 5 أكسـيجيناز شـحمية (LO 5) مثبطـات، مثبطـات cPLA2، مثبطـات الليكـوترين A4 هيـدرولاز أو مثبطـات رفـرف، وكـلاء التهابـات مكافحـة السـتيرويدية غيـر

(المسكنات)، مضادات CRTH2، جهري DP1 مستقبلات، الثرموبوكسان مستقبلات، مضادات CCR3، مضادات CCR4، مضادات CCR1، مضادات CCR5، مضادات CCR6، مضادات CCR7، مضادات CCR8، مضادات CCR9، مضادات CCR30، مضادات CXCR3، مضادات CXCR4، مضادات CXCR2، مضادات CXCR1، مضادات CXCR5، مضادات CXCR6، مضادات CX3CR3، (NK1 Neurokinin، NK2) الخصوم، سفينغوزين 1 جهري مستقبلات الفوسفات، سفينغوزين 1 الفوسفات مثبطات ياز، أدينوسين جهري مستقبلات على سبيل المثال منبهات A2A، جهري من purinergic rezeptors كما لمثبطات سبيل المثال P2X7، هيستون Deacetylase (HDAC)) تفعيل، براديكينين (BK1، BK2) الخصوم، مثبطات تي ايه سي اي TACE، بي بي ايه آر PPAR جهري غاما، مثبطات كيناز رو، انترلوكين 1 بيتا انزيم تحويل interleukin 1-beta converting enzyme (ICE) مثبطات، تول مثل مستقبلات Toll-Like receptor (TLR) جهري، مثبطات مختزلة HMG-CoA، 4 VLA مثبطات ICAM 1، مثبطات SHIP، منبهات GABAa، مستقبلات، مثبطات ENaC ، مثبطات Prostasin، مثبطات Matriptase، الميلانوكورتين مستقبلات (MC1R، MC2R، MC3R، MC4R، MC5R) مؤثرات، مضادات سي جي آر بي CGRP، مضادات Endothelin، مضادات TNF□، والأجسام المضادة لمكافحة TNF، والأجسام المضادة لمكافحة GM CSF، أضداد CD46، ومكافحة 1 IL الأجسام المضادة، ومكافحة 2 IL الأجسام المضادة، ومكافحة 4 IL الأجسام المضادة، ومكافحة 5 IL الأجسام المضادة، ومكافحة 13 IL الأجسام المضادة، ومكافحة 13 IL / 4 IL الأجسام المضادة، والأجسام المضادة لمكافحة تي أس إل بي TSLP، والأجسام المضادة لمكافحة OX40، mucoregulators، وكلاء immunotherapeutic، المركبات ضد تورم الشعب الهوائية، والمركبات ضد السعال ، مثبطات أف إي جي أف VEGF، مثبطات الستيز للخلايا المعتدلة، مثبطات MMP9، مثبطات MMP12، ولكن أيضا توليفات من اثنين أو ثلاثة من المواد الفعالة.

المفضلة هي بيتا ميمكس، مضادات الكولين، القشرية، مثبطات PDE4، مضادات LTD4، مثبطات EGFR، مثبطات CRTH2، 5 مثبطات LO، الهستامين مستقبلات

ومثبطات SYK، مثبطات الستيز للخلايا المعتدلة، مثبطات MMP9، مثبطات MMP12، ولكن توليفات من اثنين أو ثلاثة من المواد الفعالة أيضا، أي:

• بيتا ميمكس مع الستيرويدات القشرية، مثبطات PDE4، مثبطات CRTH2 أو الخصوم LTD4،

• مضادات الكولين مع بيتا ميمكس، القشرية، مثبطات PDE4، مثبطات CRTH2 أو الخصوم LTD4،

• الكورتيزون مع مثبطات PDE4، مثبطات CRTH2 أو الخصوم LTD4

• مثبطات PDE4 مع مثبطات CRTH2 أو الخصوم LTD4

• مثبطات CRTH2 مع مضادات LTD4.

المركبات من الصيغة العامة I يمكن أن تستخدم بمفردها أو مجتمعة مع غيرها من المواد الفعالة من صيغة الأول وفقا للاختراع. المركبات من الصيغة العامة I قد اختياريا أيضا أن تكون جنبا إلى جنب مع غيرها من دواء فعال

الارشادات:

مركبات هذا الابتكار واملاحها المتوافقه صيدلانيا لها فاعليه كالمستحضرات الصيدليه او بمعنى ادق كمثبطات تأثير للبيبتيدل ثنائي البيبتيد لذا يمكن استخدامه كعلاج لكل من :

1-الجهاز التنفسي: أمراض انسداد الشعب الهوائية بما في ذلك: الربو، حساسية، جوهري"داخلي"، خارجي، ممارسة النشاط، حساسيه الأسبرين و الحساسيه التي يسببها ان أس ايه آى دي NSAID (والتي يسببها غبار الربو، سواء المتقطعة والمستمرة والتي يسببها الدواء بجميع الانماط، وغيرها منفرط استجابه مجرى القصبه الهوائيه؛ مرض الانسداد الرئوي المزمن؛ التهاب الشعب الهوائية، بما في ذلك التهاب الشعب الهوائية المعدية والالتهاب. انتفاخ الرئة. نقص-alpha1 انتيتريبسين، توسع القصبات. التليف الكيسي؛ الساركويد sarcoidosis. مرض رئة المزارع والأمراض ذات الصلة؛ فرط الحساسية التهاب رئوي hypersensitivity pneumonitis. تليف الرئة lung fibrosis، بما في ذلك الالتهابات الرئوية الخلالية مجهوله السبب idiopathic interstitial pneumonias، والتليف نتيجه العلاج المضاد للاورام والعدوى المزمنة، بما في ذلك السل وداء الرشاشيات والالتهابات الفطرية الأخرى. مضاعفات زرع الرئة. اضطرابات الالتهاب

الوعائي والجلطات للأوعية الدموية في الرئة vasculature lung، التهاب الأوعية polyangiitis (Wegener Granulomatosis) وارتفاع ضغط الدم الرئوي pulmonary hypertension. فرط الحساسيه لمضادات للسعال activity antitussive بما في ذلك العلاج من السعال المزمن وحالات الاتهاب الافرازيه في الشعب الهوائيه، والتهابات الأنف الحركيه الوعائيه. الدائمة والموسمية حساسية الأنف بما في ذلك العصبي والتهاب الأنف rhinitis nervosa (حمى القش hay fever)؛ البوليبات الأنفية nasal polyposis. العدوى الحادة الفيروسية acute viral infection بما فيها نزلات البرد، والعدوى بسبب فيروس الجهاز التنفسي المخلوي respiratory syncytial virus والأنفلونزا influenza وفيروس الكرونا coronavirus (بما في ذلك السارس).

2- الجلد: الصدفية psoriasis، الاكزيما dermatitis atopic، التهاب الجلد التماسي contact dermatitis أو الأمراض الجلدية المتأكزمة dermatoses eczematous الأخرى، والالتهاب الناتج عن فرط الحساسيه من المبيدات الزراعيه والتهاب الجلد الضوئي phyto- and photodermatitis. التهاب الجلد الدهني seborrhoeic dermatitis، التهاب الجلد الحلئي dermatitis herpetiformis، الحزاز المسطح lichen planus، الحزاز المتصلب والضموري lichen sclerosus et atrophica، تقيح الجلد المواتي pyoderma gangrenosum، الساركويد الجلدي skin sarcoid، القرصية الذئبة الحمامية discoid lupus erythematosus، الفقاع pemphigus، الفقعان pemphigoid، انحلال البشرة الفقاعيbullosa epidermolysis، الشرى urticaria، وذمة وعائية angioedema، 'التهاب الأوعيه الدمويه vasculitides، حساسيه الجلد نتيجه المواد السامه toxic erythemas، زياده عدد جسمات الايزينوفيل eosinophilias cutaneous داء الثعلبة alopecia areata، الصلع النمطي عند الذكور male-pattern baldness، متلازمة سويت Sweet's syndrome، متلازمة ويبر-المسيحية Weber-Christian syndrome، حمامي عديدة الأشكالerythema multiforme . التهاب النسيج الخلوي cellulitis، سواء معدية وغير معدية-؛ التهاب السبلة الشحمية panniculitis، الليمفوما الجلدية cutaneous lymphomas، غير القتامي سرطان الجلد non-melanoma skin cancer والآفات خلل التنسج الأخرى؛ الاضطرابات الناجمة عن المخدرات بما في ذلك الطفح الدوائي الثابت

fixed drug eruptions

3- العيون: التهاب الجفن blepharitis. التهاب الملتحمة conjunctivitis، بما في ذلك التهاب الملتحمة التحسسي allergic conjunctivitis الدائم والربيعي. التهاب القزحية iritis الأمامي والخلفي . التهاب المشيمية choroiditis. أمراض المناعة الذاتية، والاضطرابات التنكسية أو التهابات تؤثر على شبكية العين retina. التهاب العين بما في ذلك التهاب العين التعاطفي sympathetic ophthalmitis. الساركويد sarcoidosis. العدوى بما في ذلك الفيروسية، الفطرية، والبكتيرية؛

4-الجهاز البولي التناسلي genitourinary: التهاب الكلية بما في ذلك فراغي والتهاب كبيبات الكلى glomerulonephritis. المتلازمة الكلوية nephrotic syndrome. التهاب المثانة cystitis بمافي ذلك الحاد والمزمن (فراغي) التهاب المثانة وقرحة هنر Hunner's ulcer؛ الحادة والمزمنة التهاب الإحليل urethritis، التهاب البروستات prostatitis، التهاب البربخ epididymitis، المبيض oophoritis والبوق salpingitis. الفرجية التهاب المهبل vulvo-vaginitis. مرض بيروني Peyronie's disease. الضعف الجنسي erectile dysfunction لدى الرجال (ذكورا وإناثا)؛

5- رفض الجسم للعضو المزروع allograft rejection: الحاد والمزمن، على سبيل المثال، زرع الكلى، القلب، الكبد، الرئة، ونخاع العظام، الجلد أو القرنية أو بعد نقل الدم. أو الالتهاب المزمن نتيجه زرع جزء من عضو او نسيج.

6- اضطرابات في المناعة الذاتيه والحساسية الأخرى بما في ذلك التهاب المفاصل الروماتويدي، ومتلازمة القولون العصبي irritable bowel syndrome، الذئبة الحمامية الجهازية systemic lupus erythematosus، والتصلب المتعدد multiple sclerosis، والتهاب الغدة الدرقية هاشيموتو Hashimoto's thyroiditis، مرض Graves، مرض أديسون Addison's disease، وداء السكري diabetes mellitus، فرفرية نزف الصفيحات الدمويه مجهول السبب idiopathic thrombocytopaenic purpura، الالتهاب الايزينوفيل eosinophilic fasciitis، ومتلازمة IgE في الدم ومتلازمة سازاري Sazary syndrome؛

7-الأورام: علاج السرطانات الشائعة بما في ذلك البروستات prostate والثدي والرئة والمبيض والبنكرياس والأمعاء والقولون والمعدة والجلد وأورام المخ brain tumors والأورام

الخبيثة التي تؤثر على نخاع العظم bone marrow (بما في ذلك اللوكيميا leukaemias) والنظم التكاثرية اللمفية lymphoproliferative systems، مثل هودجكين Hodgkin's و سرطان الغدد الليمفاوية. بما في ذلك الوقاية والعلاج من الأمراض والورم النقيلي المتكرر، ومتلازمات الأباعد الورمية paraneoplastic syndromes.

8-الأمراض المعدية infectious diseases: الأمراض الفيروسية مثل الثآليل التناسلية genital warts، والثآليل الشائعة common warts، والثآليل الاخمصيه plantar warts، والتهاب الكبد B hepatitis، التهاب الكبد C hepatitis، فيروس الهربس البسيط herpes simplex virus، المليساء المعدية molluscum contagiosum، الجدري variola، وفيروس نقص المناعة البشرية an immunodeficiency virus (HIV)، وفيروس الورم الحليمي البشري human papilloma virus (HPV)، الفيروس المضخم للخلايا cytomegalovirus (CMV)، فيروس الحماق النطاقي varicella zoster virus (VZV)، فيروسات الانف rhinovirus، اتش، التاجى والأنفلونزا وشبه الأنفلونزا para-influenza؛ الأمراض البكتيرية bacterial diseases مثل السل tuberculosis والمتفطرة الطيرية mycobacterium avium، والجذام leprosy؛ الأمراض المعدية الأخرى، مثل الأمراض الفطرية fungal diseases، الكلاميديا chlamydia، المبيضات Candida، الرشاشيات aspergillus، التهاب السحايا بالمستخفيات cryptococcal meningitis، التهاب carnii، كربتوسبوريديوس cryptosporidiosis، المنسجات histoplasmosis، داء المقوسات toxoplasmosis والعدوى المثقبيات trypanosome infection وداء الليشمانيات leishmaniasis؛

9-الألم: البيانات الاخيره من التجارب علي الفئران علي كاتيبسين C اوضحت ان الفئران التي تعاني من نقص به تشير إلى دور تغييري من كاتيبسين C في الإحساس بالألم. وفقا لذلك، قد تكون مثبطات كاتيبسين C مفيده أيضا في الاعدادات السريريه للالام المزمنه ، على سبيل المثال التهاب الأعصاب أو الألم؛

لعلاج الأمراض المذكورة أعلاه والشروط، ولجرعة علاجية فعالة بشكل عام في مجموعة من حوالي 0.01 مليجرام إلى نحو 100 مليجرامم / كغم من وزن الجسم في الجرعة من مركب الاختراع. ويفضل، من حوالي 0.1 مليجرام إلى 20 مليجرام / كغ من وزن الجسم

في الجرعة. على سبيل المثال، لتعاطي شخص يزن 70 كجم، فإن الجرعة سوف تكون من حوالي 0.7 مليجرام إلى حوالي 7000 مليجرام في الجرعة من مركب الاختراع، ويفضل من حوالي 7.0 مليجرام إلى حوالي 1400 مليجرام في الجرعة. في بعض الحالات قد تكون هناك حاجة روتينية لتحديد مستوى الجرعات الأمثل ونمط. يمكن أن يؤخذ العنصر النشط 1-6 مرات في اليوم.

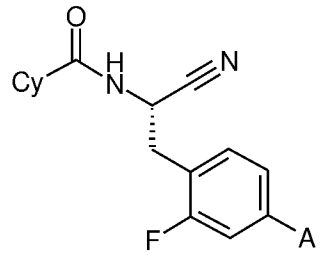
الكميه المناسبه التي تعطي التأثير العلاجي الفارماكولوجي بالطبع تعتمد على عوامل معروفة مثل العمر ووزن المريض، طريقة التعاطي وشدة المرض. على أي حال سوف يدار العنصر النشط في الجرعات وبطريقة تسمح ليكون فعال فارماكولوجيا وصيدلانيا ليتم تسليمها بناء على حالة المريض الفرديه.

قائمة التتابع

"أ" شكل المركب الليجند كاتبيسين C (أ) المثال 11؛ (ب) المثال 16. يتم تمثيل البروتين في شكل شرائط والبقايا التي تم اختيارها في شكل عصي. ويتم تمثيل الروابط في شكل عصي وروابط الهيدروجين كأسطر منقطة.

عناصر الحماية

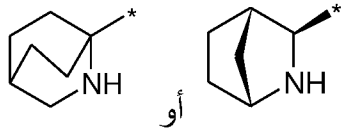
1- مركب له الصيغة (I) أو ملح مقبول صيدلانيا pharmaceutically acceptable salt منه،



I

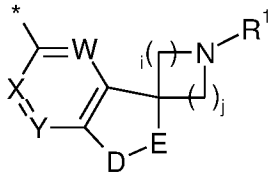
حيث

Cy تمثل



؛

A تمثل



حيث

W يتم اختيارها من المجموعة المتكونة من CH و N؛

X يتم اختيارها من المجموعة المتكونة من CH و N؛

Y يتم اختيارها من المجموعة المتكونة من CH و N؛

بشرط أن الحد الأقصى لواحد من W، X، و Y يمكن أن يكون N؛

D-E يتم اختيارها من المجموعة المتكونة من $N(R^2)-C(O)$، CH_2CH_2، $C(O)-O$ و CH_2-O؛

R^2 يتم اختيارها من المجموعة المتكونة من H و ألكيل C_{1-3}-alkyl C_{1-3}؛

R^1 يتم اختيارها من المجموعة المتكونة من H و ألكيل C_{1-3}-alkyl C_{1-3}، $CH_3OCH_2CH_2-$، أوكسيتانيل oxetanyl، رابع هيدروفيورانيل tetrahydrofuranyl، 4- رابع هيدروبيرانيل tetrahydropyranyl و 3- رابع هيدروبيرانيل 3-tetrahydropyranyl؛

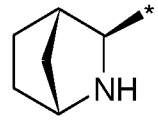
i تمثل 1، 2 أو 3؛

j تمثل 1، 2 أو 3؛

بشرط أن مجموع j+i عبارة عن 2، 3 أو 4.

2- مركب له الصيغة I طبقا للعنصر 1، أو ملح مقبول صيدلانيا pharmaceutically acceptable salt منه، حيث

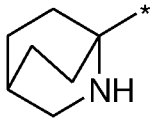
Cy عبارة عن



.

3- مركب له الصيغة I طبقا لعنصر الحماية 1، أو ملح مقبول صيدلانيا pharmaceutically acceptable salt منه، حيث

Cy عبارة عن



4- مركب له الصيغة I طبقا لعنصر الحماية 1، أو ملح مقبول صيدلانيا pharmaceutically acceptable salt منه، حيث

R^1 يتم اختيارها من المجموعة المتكونة من H، $-CH_3$، وأوكسيتانيل oxetanyl.

5- مركب له الصيغة I طبقا لعنصر الحماية 1، أو ملح مقبول صيدلانيا pharmaceutically acceptable salt منه، حيث

R^2 يتم اختيارها من المجموعة المتكونة من H و CH_3.

6- مركب له الصيغة I طبقا لعنصر الحماية 1، أو ملح مقبول صيدلانيا pharmaceutically acceptable salt منه، حيث

D-E تمثل CH_2-O.

7- مركب له الصيغة I طبقا للعنصر 1، أو ملح مقبول صيدلانيا pharmaceutically acceptable salt منه، حيث

R^1 يتم اختيارها من المجموعة المتكونة من H، $-CH_3$، وأوكسيتانيل oxetanyl؛

R^2 تمثل CH_3

W يتم اختيارها من المجموعة المتكونة من CH و N؛

X يتم اختيارها من المجموعة المتكونة من CH و N؛

Y يتم اختيارها من المجموعة المتكونة من CH؛

بشرط أن الحد الأقصى لواحد من W، X، و Y يمكن أن يكون N؛

D-E يتم اختيارها من المجموعة المتكونة من $N(R^2)-C(O)$، CH_2CH_2، $C(O)-O$ و CH_2-O؛

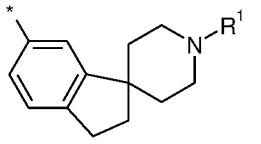
i تمثل 1، 2 أو 3؛

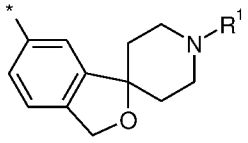
j تمثل 1، 2 أو 3؛

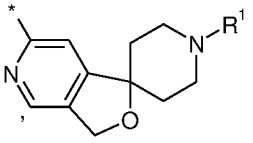
بشرط أن مجموع j+i عبارة عن 2، 3 أو 4.

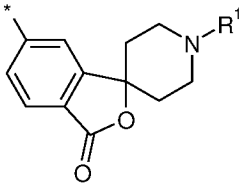
8- مركب له الصيغة I طبقا لعنصر الحماية 1، أو ملح مقبول صيدلانيا pharmaceutically acceptable salt منه، حيث

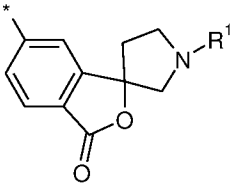
A يتم اختيارها من المجموعة المتكونة من A1 إلى A14؛

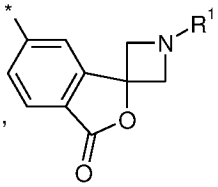

A1

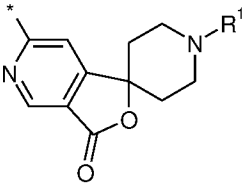

A2

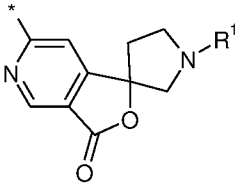

A3

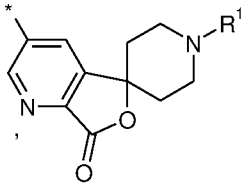

A4

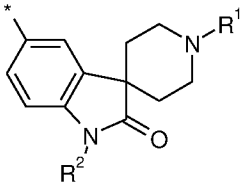

A5

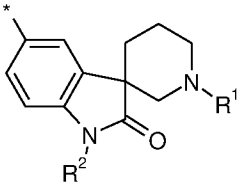

A6

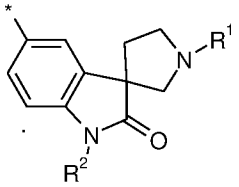

A7

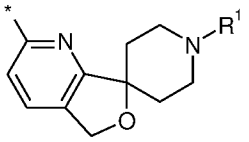

A8

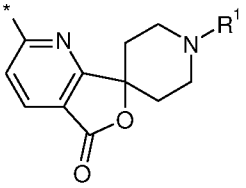

A9


A10


A11

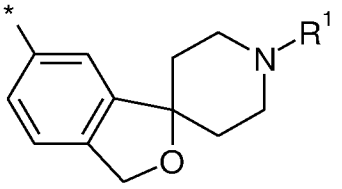

A12

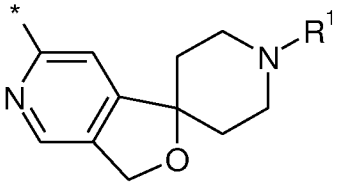

A13

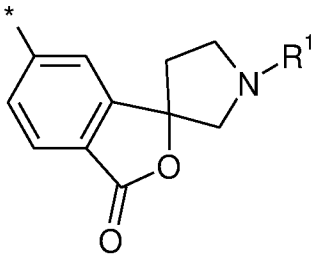

A14

9- مركب له الصيغة I طبقا لعنصر الحماية 8، أو ملح مقبول صيدلانيا pharmaceutically acceptable salt منه، حيث

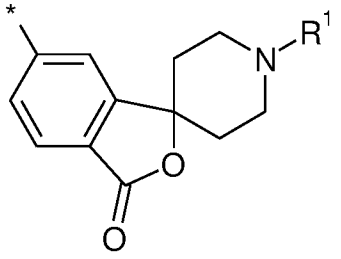
A يتم اختيارها من المجموعة المتكونة من A2، A3، A4، A5، A6، A7، A10، A13 و A14.


A2،

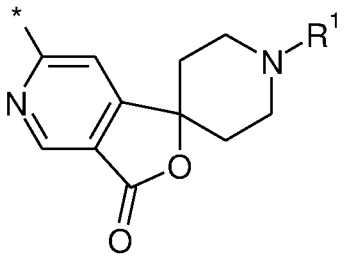

A3،



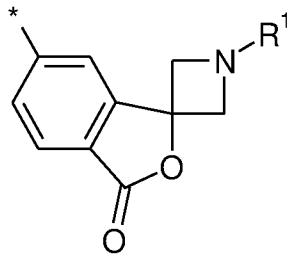
A5



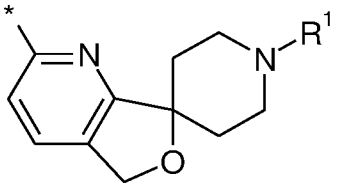
،A4



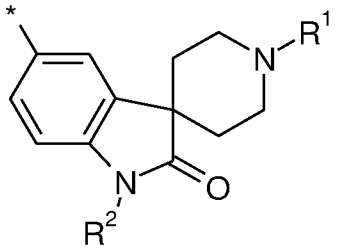
،A7



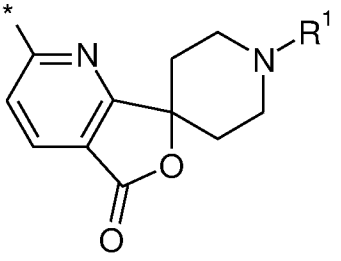
،A6



،A13



،A10

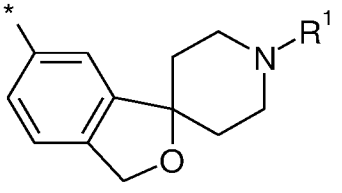


A14

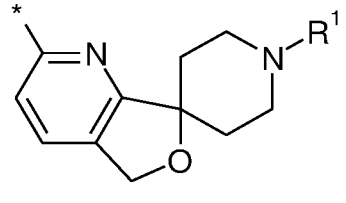
5

10- مركب له الصيغة I طبقا لعنصر الحماية 8، أو ملح مقبول صيدلانيا pharmaceutically acceptable salt منه، حيث

A يتم اختيارها من المجموعة المتكونة من A2 و A13

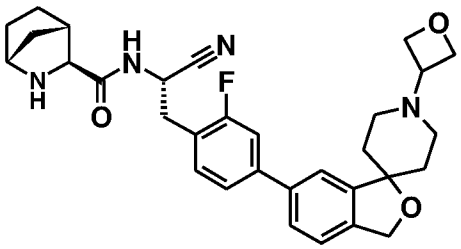
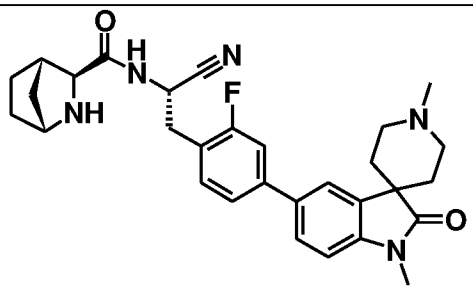
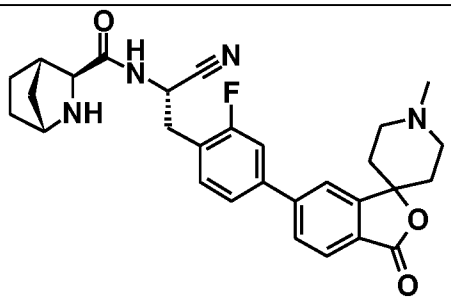
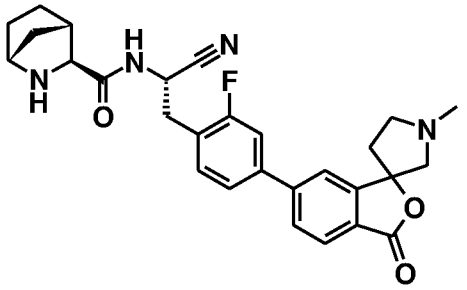
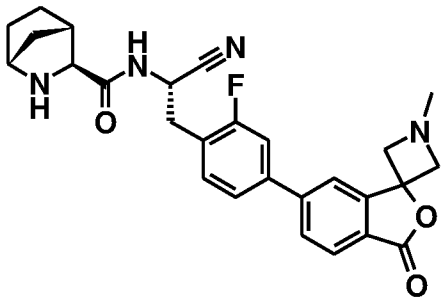
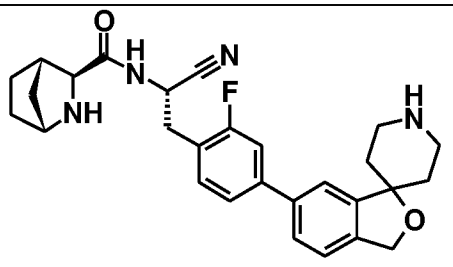


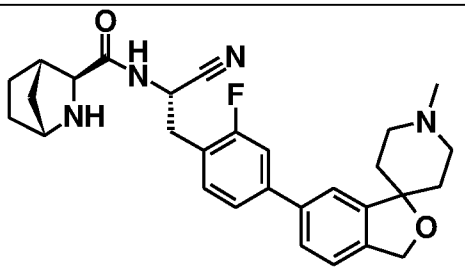
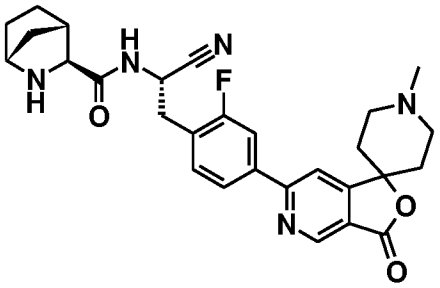
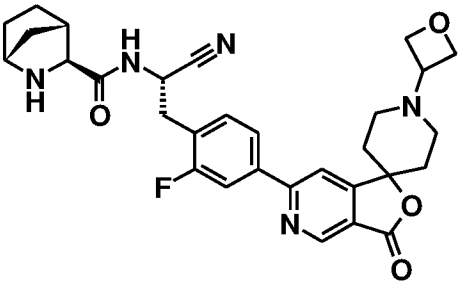
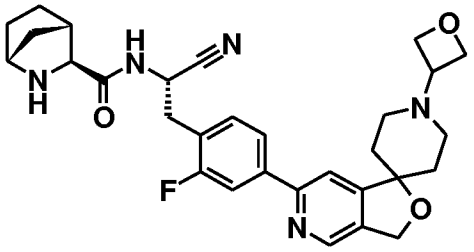
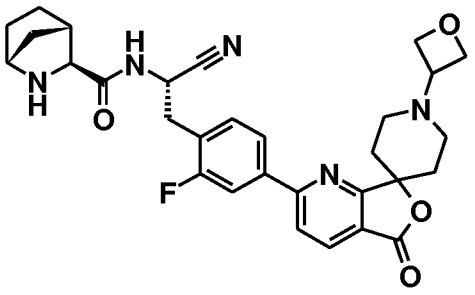
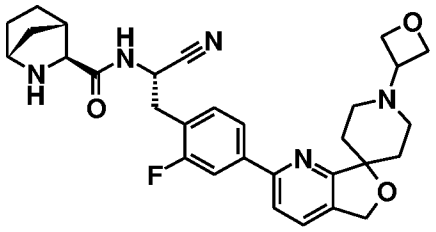
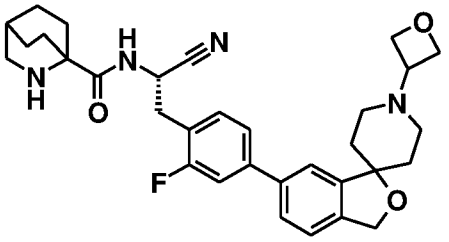
،A2



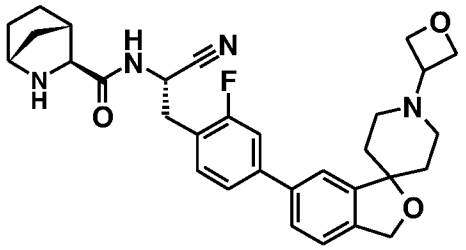
A13

11- مركب له الصيغة I طبقا لعنصر الحماية 1، يتم اختياره من المجموعة المتكونة من أمثلة 1، 5، 8، 10، 12، 13، 14، 19، 22، 23، 24، 25 و 27.

 المثال 1	 المثال 5
 المثال 8	 المثال 10
 المثال 12	 المثال 13

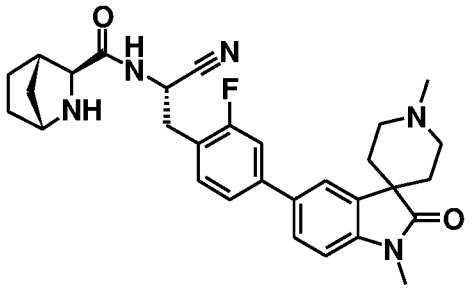
 المثال 14	 المثال 19
 المثال 22	 المثال 23
 المثال 24	 المثال 25
 المثال 27	

12- مركب له الصيغة (I) طبقا لعنصر الحماية 1، أو ملح مقبول صيدلانيا pharmaceutically acceptable salt منه،



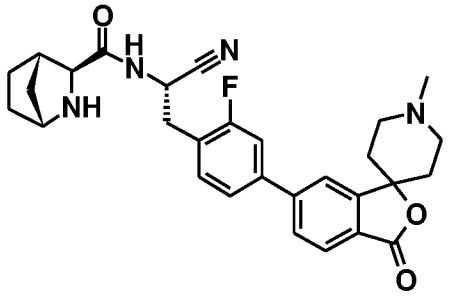
المثال 1.

13- مركب له الصيغة (I) طبقا لعنصر الحماية 1، أو ملح مقبول صيدلانيا pharmaceutically acceptable salt منه،



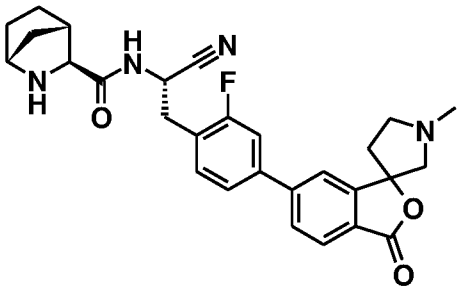
المثال 5.

14- مركب له الصيغة (I) طبقا لعنصر الحماية 1، أو ملح مقبول صيدلانيا pharmaceutically acceptable salt منه،



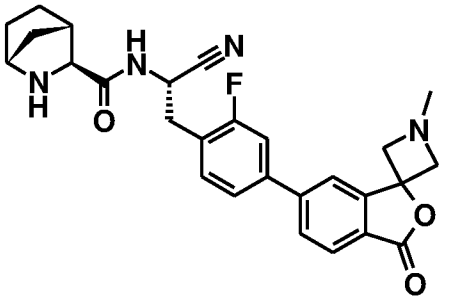
المثال 8.

15- مركب له الصيغة (I) طبقا لعنصر الحماية 1، أو ملح مقبول صيدلانيا pharmaceutically acceptable salt منه،



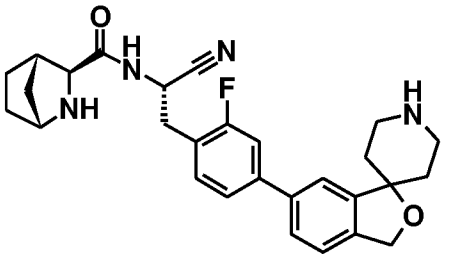
المثال 10.

16- مركب له الصيغة (I) طبقا لعنصر الحماية 1، أو ملح مقبول صيدلانيا pharmaceutically acceptable salt منه،



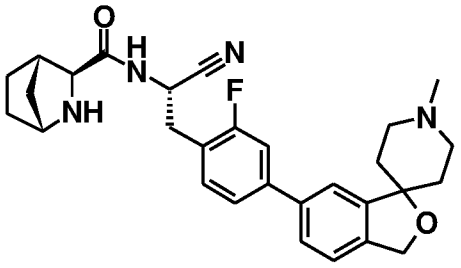
المثال 12.

17- مركب له الصيغة (I) طبقا لعنصر الحماية 1، أو ملح مقبول صيدلانيا pharmaceutically acceptable salt منه،



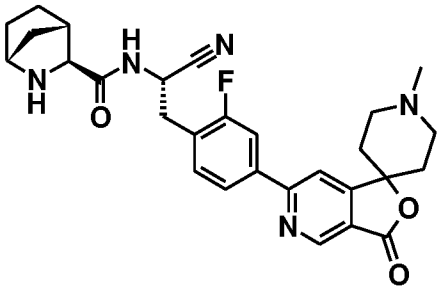
المثال 13.

18- مركب له الصيغة (I) طبقا لعنصر الحماية 1، أو ملح مقبول صيدلانيا pharmaceutically acceptable salt منه،



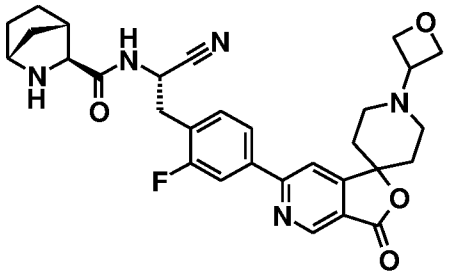
المثال 14.

19- مركب له الصيغة (I) طبقا لعنصر الحماية 1، أو ملح مقبول صيدلانيا pharmaceutically acceptable salt منه،



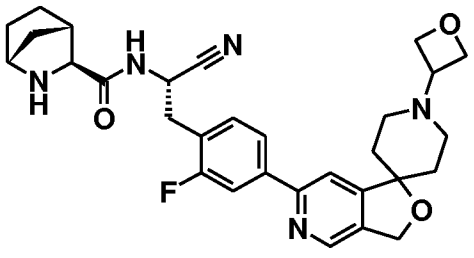
المثال 19.

20- مركب له الصيغة (I) طبقا لعنصر الحماية 1، أو ملح مقبول صيدلانيا pharmaceutically acceptable salt منه،



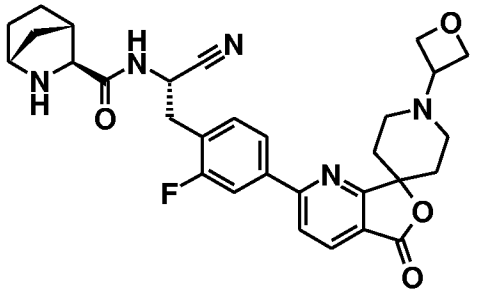
المثال 22.

21- مركب له الصيغة (I) طبقا لعنصر الحماية 1، أو ملح مقبول صيدلانيا pharmaceutically acceptable salt منه،



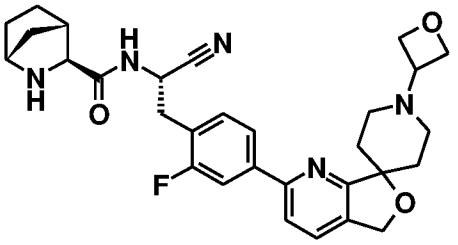
المثال 23.

22- مركب له الصيغة (I) طبقا لعنصر الحماية 1، أو ملح مقبول صيدلانيا pharmaceutically acceptable salt منه،



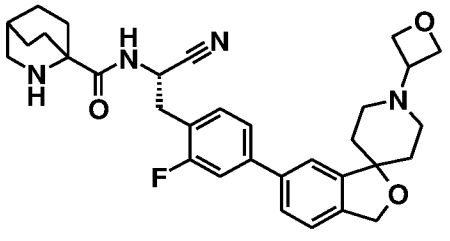
المثال 24.

23- مركب له الصيغة (I) طبقا لعنصر الحماية 1، أو ملح مقبول صيدلانيا pharmaceutically acceptable salt منه،



المثال 25.

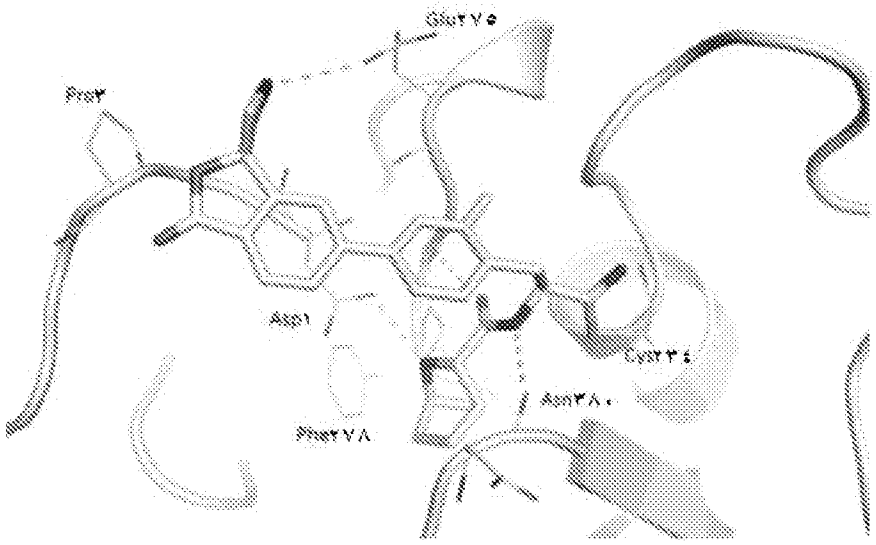
24- مركب له الصيغة (I) طبقا لعنصر الحماية 1، أو ملح مقبول صيدلانيا pharmaceutically acceptable salt منه،



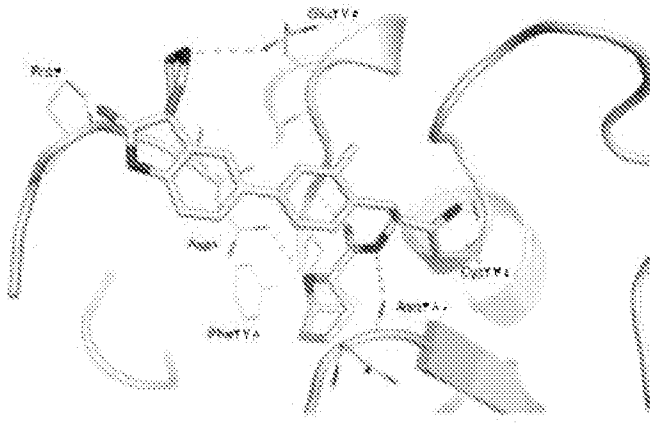
المثال 27.

25- تركيب صيدلي Pharmaceutical composition يتميز في أنه يحتوي على واحد أو أكثر من المركبات ذات الصيغة (I) طبقا لعنصر الحماية 1 أو ملح نشط مقبول صيدلانيا pharmaceutically active salt منه.

26- تركيب صيدلي pharmaceutical composition يشتمل بالإضافة إلى مركب له الصيغة (I) طبقا لعنصر الحماية 1، على مركب نشط صيدلانيا الذي تم اختياره من مجموعة تتألف من بيتاميكس، الكولين، القشرية، مثبطات PDE4، مضادات LTD4، مثبطات إي جي أف آر EGFR، مثبطات CRTH2، 5 مثبطات إل أوه LO، مضادات مستقبلات الهستامين Histamine receptor antagonists، مضادات CCR9 ومثبطات اس واي كيه SYK، مثبطات الستيز للخلايا المعتدلة Neutrophile elastase (NE)، مثبطات MMP9، مثبطات MMP12، ولكن أيضا مجموعات من اثنين أو ثلاثة من المواد الفعالة.



الشكل ١أ



الشكل ١ب

«أ»

مدة سريان هذه البراءة عشرون سنة من تاريخ إيداع الطلب

وذلك بشـرط تسـديد المقابل المالي السـنوي للبراءة وعدم بطلانها أو سـقوطها لمخالفتها لأي من أحكام نظام براءات الاختراع والتصميمات التخطيطية للدارات المتكاملة والأصناف النباتية والنماذج الصناعية أو لائحته التنفيذية.

صادرة عن

الهيئة السعودية للملكية الفكرية

ص ب ٦٥٣١ ، الرياض ١٣٣٢١ ، المملكة العربية السعودية

SAIP@SAIP.GOV.SA