مكتب براءات الاختراع

لمجلس التعاون لدول الخليج العربية

شهادة منح براءة اختراع

إن مكتب براءات الاختراع لمجلس التعاون لدول الخليج العربية استناداً إلى أحكام نظام براءات الاختراع لدول مجلس التعاون لدول الخليج العربية المقر في نوفمبر 1999 م ولائحته التنفيذية المقرة في ابريل 2000 م يقـــرر منـح:

1- ميرك شارب آند دوهم كورب Merck Sharp & Dohme Corp.

2- ام اس دي إيتاليا اس.ار.آي MSD ITALIA S.r.I

بـــــراءة اخـــتراع

براءاة اختراع رقم: GC0003611

تـعتبر هـذه الـبراءة ســـارية المفعـــول لمـــدة عشـــرين عـامـــاً اعتـــباراً من21/07/2009 م ، وتنتهي بـنـهـايـة: 21/07/2029 م وذلك بشـــرط تســـديد الرســـوم الســـنـوية للـبراءة وعـــدم بطلانها أو سقوطها لمخالفتها لأي من أحكام نظام براءات الاختراع أو اللائحة التنفيذية.

مدير عام مكتب براءات الاختراع

[19] PATENT OFFICE OF THE COOPERATION COUNCIL FOR THE ARAB STATES OF THE GULF

[19]مكتب براءات الاختراع لمجلس التعاون لدول الخليج العربية

[12] براءة اختراع

[11] رقم البراءة: GC0003611	رقم قرار الموافقة على منح البراءة: 64164/15
[45] تاريخ النشر عن منح البراءة: 30/سبتمبر/2015 24/2015	تاريخ قرار الموافقة على منح البراءة: 28/يونيو/2015

[21] رقم الطلب: م ت خ/ب/2009/13951
[22] تاريخ تقديم الطلب: 21/7/2009
[30] الأولوية:

[31] رقم الأولوية	[32] تاريخ الأولوية	[33] اسم الدولة
61/135,559	2008/7/22	أمريكا

[72] المخترعون: 1- نايجل جي. ليفرتون،2- جون ايه. مكاولي ،3- ستيفن هارير،4- فينسينزو سوما
[73] مالكو البراءة: 1- ميرك شارب آند دوهم كورب، 2000 جالوبينج هيل رود, كينيلوورث، 0530-07033، نيوجيرسي، ولايات متحدة أميركية،2- ام اس دي إيتاليا اس.ار.آي، فيا فيتورتشيانو 151، 00189، روما، إيطاليا
[74] الوكيل: كدسة للاستشارات القانونية

[51] التصنيف الدولي:
Int. Cl.[7]: A61K31/437

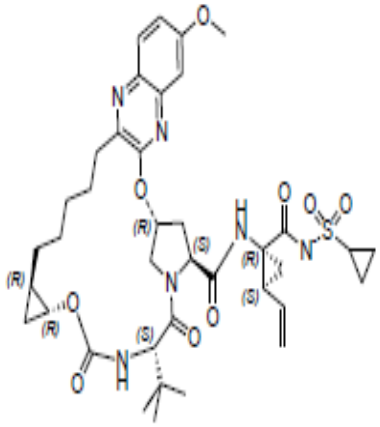
[56] المراجع:
-WO 2008/057209 A(MERCK &CO INC [US]; ANGELETTI P 1ST RICHERCHE BIO [IT]; LIVERTON NIGE) 15 May 2008
-WO 2007/016441 A (MERCK &CO INC [US]; HOLLOWAY M-KATHARINE [US]; LIVERTON NIGEL J [US];) 8 February 2007
-WO 2006/119061 A (MERCK &CO INC [US1; HOLLOWAY MKATHARINE [US]; LIVERTON NIGEL J [US];) 9 November 2006
-WO 2008/002924 A(ENANTA PHARM INC [US]; OR YAT SUN [US]; MOORE JOEL D [US]; LIU DONG [U) 3 January 2008

الفاحص: ندى البهيجي

[54] مركبات كوينوكسالين دائرية كبيرة كمثبطات بروتياز HCV NS3

[57] الملخص: مركبات كوينوكسالين دائرية كبيرة كمثبطات بروتياز HCV NS3الملخص يتعلق الاختراع الحالي بمركب دائري كبير (macrocyclic compound) من الصيغة (I) واستخدامه كمثبطات NS3 protease لفيروس التهاب الكبد الوبائي (HCV) (hepatitis C virus) (C)، وفي معالجة (treating) أو منع الإصابة بعدوى (I) (preventing infections) HCV.

عدد عناصر الحماية: 7



(I)

ملاحظة : يجوز لكل ذي مصلحة خلال ثلاثة أشهر من تاريخ نشر منح البراءة أن يعترض على هذا المنح أمام لجنة التظلمات بعد دفع رسوم التظلم المقررة.

بسم الله الرحمن الرحيم

مركبات كوينوكسالين دائرية كبيرة كمثبطات بروتياز HCV NS3

الوصف التفصيلي

المجال التقني

يتعلق الاختراع الحالي بمركبات دائرية كبيرة (macrocyclic compounds) مفيدة كمثبطات NS3 protease فيروس التهاب الكبد الوبائي C (hepatitis C virus) (HCV)، كما يتعلق بتخليق هذه المركبات، وباستخدامها لمعالجة الإصابة بعدوى HCV و/أو تقليل احتمالية حدوث أو شدة الإصابة بعدوى HCV.

الخلفية التقنية

إن الإصابة بعدوى فيروس التهاب الكبد الوبائي C (HCV) هي مشكلة صحية عامة تؤدي إلى مرض كبدي مزمن (chronic liver disease)، مثلاً التليف (cirrhosis) والورم السرطاني لخلايا كبدية (hepatocellular carcinoma)، في عدد كبير من الأفراد المصابين. إن العلاجات الحالية المعدة للإصابة بعدوى HCV تتضمن علاج مناعي مع interferon-α مخلق بمفرده أو في اتحاد مع ribavirin مماثل nucleoside.

يعتبر العديد من enzymes المشفرة فيروسيًا أهدافًا مقترحة للتدخل العلاجي، متضمنة metalloprotease (NS2-3)، serine protease (NS3)، helicase (NS3)، و RNA polymerase معتمد على RNA (NS5B). يوضع NS3 protease في مجال السيطرة الطرفي-N من NS3 protein. إن NS4A يوفر enzyme مساعد لنشاط NS3.

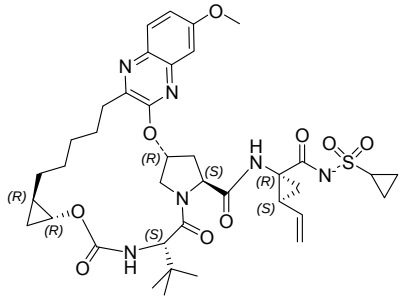
لقد جرت مناقشة علاجات ممكنة للإصابة بعدوى HCV في مراجع مختلفة متضمنة

Balsano, *Mini Rev. Med. Chem. 8(4)*:307-318, 2008, Rönn *et al.*, *Current Topics in Medicinal Chemistry 8*:533-562, 2008, Sheldon *et al., Expert Opin. Investig. Drugs 16(8)*:1171-1181, 2007, and De Francesco *et al., Antiviral Research 58*:1-16, 2003.

الكشف عن الاختراع

يتعلق الاختراع الحالي بمركب دائري كبير من الصيغة (I) وأملاح مقبولة دوائيًا من ذلك. إن هذا المركب وأملاحه عبارة عن مثبطات HCV NS3 protease. هناك تطبيقات علاجية وبحثية على المركب وأملاحه.

لذلك، إن جانب أول من الاختراع الحالي يصف مركب من الصيغة (I)، أو ملح مقبول دوائيًا من ذلك.



.(I)

يتضمن أيضًا الاختراع الحالي تركيبات دوائية محتوية على مركب الاختراع الحالي وطرق تحضير تلك التركيبات الدوائية. يتضمن الاختراع الحالي إضافيًا طرق معالجة أو تقليل احتمالية حدوث أو شدة الإصابة بعدوى HCV.

توصف التجسيدات الأخرى، الجوانب وسمات الاختراع الحالي إضافيًا في، أو تتضح من خلال، الوصف التالي، الأمثلة وعناصر الحماية المرفقة.

<u>وسائل تنفيذ الاختراع</u>

يتضمن الاختراع الحالي مركب من الصيغة (I)، وأملاح مقبولة دوائيًا من ذلك. إن المركب وأملاحه المقبولة دوائيًا مفيدين في تثبيط HCV NS3 protease، معالجة الإصابة بعدوى HCV و/أو تقليل احتمالية حدوث أو شدة الإصابة بعدوى HCV. تتضمن التطبيقات الوقائية مثلاً، المعالجة بعد تعرض المشتبه بإصابتهم بالمرض إلى HCV عن طريق وسائل مثل نقل دم، تغيير سوائل الجسم، اللدغ، حادثة انغراز إبرة، أو التعرض لدم مريض أثناء عملية جراحية.

كمقومات تركيبة دوائية، فقد تكون المركبات والأملاح هي العامل العلاجي النشط الأساسي. عند الملاءمة، قد يتحد المركب مع عوامل علاجية أخرى متضمنة لكن بدون تحديد مضادات فيروس HCV أخرى، مضادات الإصابة بعدوى، مواد ضابطة للمناعة، مضادات حيوية أو لقاحات.

يستفاد أيضًا من مثبطات NS3 في تحضير وتجهيز اختبارات الفحص المجراة على المركبات المضادة للفيروس. يمكن على سبيل المثال، استخدام هذه المركبات لعزل طفرات enzyme، حيث تعتبر أدوات فحص ممتازة بالنسبة للمركبات المضادة للفيروس القوية أكثر.

علاوة على هذا، قد تستخدم المركبات لترسيخ أو تحديد موقع ارتباط مضادات الفيروس الأخرى مع HCV protease، مثلاً بواسطة التثبيط التنافسي.

كما هو موصوف لاحقًا في المثال 2، تجرى مقارنة بين مركب الصيغة (I) مع مركب الأمثلة 110 و118 من WO 2008/057209، حيث يكون له عدة مزايا. لا تعد WO 2008/057209 فنًا سابقًا بالنسبة للاختراع المطالب به.

I. التركيبات والطرق

تتضمن التجسيدات المختلفة ما يلي:

(أ) تركيبة دوائية مشتملة على كمية فعالة من مركب من الصيغة (I) ومادة حاملة مقبولة دوائيًا.

(ب) التركيبة الدوائية من (أ)، مشتملة إضافيًا على عامل علاجي ثان منتقى من المجموعة المكونة من عوامل مضادة لفيروس HCV، مواد ضابطة للمناعة، وعوامل مضادة للإصابة بعدوى.

(جـ) التركيبة الدوائية من (ب)، حيث يكون العامل المضاد لفيروس HCV عبارة عن مضاد فيروسي منتقى من المجموعة المكونة من مثبطات HCV protease ومثبطات HCV NS5B polymerase.

(د) اتحاد دوائي عبارة عن (1) مركب من الصيغة (I) و(2) عامل علاجي ثان منتقى من المجموعة المكونة من عوامل مضادة لفيروس HCV، مواد ضابطة للمناعة، وعوامل مضادة للإصابة بعدوى؛ حيث يستخدم كل من مركب الصيغة (I) والعامل العلاجي الثاني بكمية تجعل الاتحاد فعالاً لتثبيط HCV NS3 protease، أو لمعالجة الإصابة بعدوى HCV و/أو تقليل احتمالية حدوث أو شدة الإصابة بعدوى HCV.

(هـ) الاتحاد من (د)، حيث يكون العامل المضاد لفيروس HCV هو مضاد فيروسي منتقى من المجموعة المكونة من مثبطات HCV protease ومثبطات HCV NS5B polymerase.

(و) طريقة لتثبيط HCV NS3 protease في كائن محتاج لهذا حيث تشتمل الطريقة على إعطاء الكائن كمية فعالة من مركب من الصيغة (I).

(ز) طريقة لمعالجة الإصابة بعدوى HCV و/أو تقليل احتمالية حدوث أو شدة الإصابة بعدوى HCV في كائن محتاج لهذا حيث تشتمل الطريقة على إعطاء الكائن كمية فعالة من مركب من الصيغة (I).

(ح) الطريقة من (ز)، حيث يعطى مركب من الصيغة (I) في اتحاد مع كمية فعالة من عامل علاجي ثان واحد على الأقل منتقى من المجموعة المكونة من عوامل مضادة لفيروس HCV، مواد ضابطة للمناعة، وعوامل مضادة للإصابة بعدوى.

(ط) الطريقة من (ح)، حيث يكون العامل المضاد لفيروس HCV هو مضاد فيروسي منتقى من المجموعة المكونة من مثبطات HCV protease ومثبطات HCV NS5B polymerase.

(ي) طريقة لتثبيط HCV NS3 protease في كائن محتاج لهذا حيث تشتمل الطريقة على إعطاء الكائن التركيبة الدوائية من (أ)، (ب)، أو (جـ) أو الاتحاد من (د) أو (هـ).

(ك) طريقة لمعالجة الإصابة بعدوى HCV و/أو تقليل احتمالية حدوث أو شدة الإصابة بعدوى HCV في كائن محتاج لهذا حيث تشتمل الطريقة على إعطاء الكائن للتركيبة الدوائية من (أ)، (ب)، أو (جـ) أو الاتحاد من (د) أو (هـ).

(ل) مركب من الصيغة (I) يدخل في دواء، لاستخدامه في منع أو معالجة الإصابة بعدوى HCV، أو لاستخدام (1) في، (2) كدواء لأجل، أو (3) في تحضير دواء من أجل: (أ) تثبيط HCV NS3 protease، أو (ب) معالجة الإصابة بعدوى HCV و/أو تقليل احتمالية حدوث أو شدة الإصابة بعدوى HCV. في هذه الاستخدامات، يمكن اختياريًا استخدام مركبات الاختراع الحالي في اتحاد مع واحد أو أكثر من العوامل العلاجية الثانية المنتقاة من العوامل المضادة لفيروس HCV، عوامل مضادة للإصابة بعدوى، ومواد ضابطة للمناعة.

في كل هذه التجسيدات، قد يستخدم اختياريًا المركب في شكل ملح مقبول دوائيًا.

يشير المصطلح "أو (or)"، كما هو مستخدم هنا، إلى بدائل قد تتحد عند الملاءمة. لذلك، فإن المصطلح "أو (or)" يتضمن كل بديل مذكور على حدة وكذلك اتحاداته إذا لم يكن الاتحاد حصريًا.

إن الإشارة إلى مركب تتضمن أيضًا معقدات ثابتة من المركب مثلاً hydrate ثابت. إن مركب "ثابت (stable)" هو مركب يمكن تحضيره وعزله كما أن بناءه وخواصه تظل كما هي أو

تظل أساسيًا غير متغيرة لفترة من الزمن تكفي للسماح باستخدام المركب للأغراض الموصوفة هنا (مثلاً، إعطاء الكائن إعطاءً علاجيًا أو وقائيًا).

II. الإعطاء والتركيبات

إن المصطلح "إعطاء (administration)" وأشكاله المتباينة (مثلاً، "إعطاء (administration)" مركب) يعني توفير المركب أو عقار أولي منه لفرد محتاج للعلاج. عند توافر مركب الاختراع أو عقار أولي منه في اتحاد مع واحد أو أكثر من العوامل النشطة الأخرى (مثلاً، عوامل مضادة للفيروس مفيدة في معالجة الإصابة بعدوى HCV)، يفهم أن "الإعطاء (administration)" وأشكاله المتباينة كل منهم يتضمن إعطاء متزامن ومتعاقب من المركب أو الملح وعوامل أخرى.

قد تعطي مركبات الاختراع الحالي في شكل أملاح مقبولة دوائيًا. يشير المصطلح "ملح مقبول دوائيًا (pharmaceutically acceptable salt)" إلى ملح من المركب الأصلي الذي له نشاط يكون مرغوبًا بيولوجيًا أو بأي صورة أخرى (مثلاً، لا يكون سامًا أو ضارًا بأي شكل آخر لمتلقيه). إن الأملاح المناسبة تتضمن أملاح إضافة حمض قد تتشكل مثلاً بخلط محلول من مركب مع محلول من حمض مقبول دوائيًا مثلاً hydrochloric acid، sulfuric acid، acetic acid، trifluoroacetic acid، أو benzoic acid. يمكن خلط المركبات التي تحمل جزء حمضي مع أملاح مناسبة مقبولة دوائيًا لتوفير على، سبيل المثال، أملاح فلز قلوي (مثل، أملاح sodium أو potassium)، أملاح فلز أرضي قلوي (مثل، أملاح calcium أو magnesium)، وأملاح متشكلة مع مركبات ترابطية عضوية مناسبة مثل أملاح ammonium رباعي. يمكن أيضًا استخدام esters مقبولة دوائيًا، في حالة مجموعة alcohol أو acid (-COOH) الموجودة، لتعديل سمات المركب من قابلية ذوبان أو تحلل مائي.

كما هو مستخدم هنا، يقصد بالمصطلح "عقار أولي (prodrug)" أنه يشتمل على شكل عقار غير نشط أو مركب متحول إلى مركب أو شكل عقار نشط بتأثير عمليات تفاعل enzymes، المواد الكيميائية أو العمليات الأيضية في جسم فرد المعطى له هذا العقار.

كما هو مستخدم هنا، يقصد بالمصطلح "تركيبة (composition)" أن يشتمل على منتج به المقومات المحددة، وكذلك أي منتج ينتج بطريقة مباشرة أو غير مباشرة من اتحاد المقومات المحددة.

يقصد بالمصطلح "مقبول دوائيًا (pharmaceutically acceptable)" أن مقومات التركيبة الدوائية لابد أن تكون متوافقة مع بعضها البعض كما يجب ألا تكون ضارة لمتلقيها.

يشير المصطلح "كائن (subject)" (على نحو بديل يطلق عليه مصطلح "مريض (patient)") كما هو مستخدم هنا إلى حيوان، يفضل كائن ثديي، والأكثر تفضيلاً آدمي، وهو هدف المعالجة، الملاحظة أو التجربة.

يدل المصطلح "كمية فعالة (effective amount)" على كمية كافية لإحداث التأثير العلاجي أو الوقائي. بالنسبة لمريض مصاب بعدوى HCV، تكفي الكمية الفعالة لتحقيق واحد أو أكثر من التأثيرات التالية: تقليل قدرة HCV على النسخ، تقليل حمل HCV، وزيادة إزالة الفيروس. بالنسبة لمريض غير مصاب بعدوى HCV، تكفي الكمية الفعالة لتحقيق واحد أو أكثر مما يلي: تقليل الحساسية تجاه الإصابة بعدوى HCV، وتقليل قدرة الفيروس المعدي على ترسيخ الإصابة بالعدوى الدائمة لمرض مزمن.

بالنسبة لغرض تثبيط HCV NS3 protease ومعالجة الإصابة بعدوى HCV و/أو تقليل احتمالية حدوث أو شدة أعراض عدوى HCV، يمكن إعطاء مركبات الاختراع الحالي، اختياريًا في شكل ملح، بوسيلة تؤدي إلى تلامس العامل النشط مع موقع تفاعل العامل. يمكن إعطاء المركبات بوسيلة تقليدية متاحة للاستخدام في اتحاد مع مواد دوائية، سواء كعوامل علاجية فردية أو في اتحاد من العوامل العلاجية. يمكن إعطاء المركبات بمفردها، كما يمكن إعطاؤها نموذجيًا مع مادة حاملة دوائية على أساس طريقة الإعطاء المختارة والممارسة الدوائية القياسية.

يمكن إعطاء المركبات مثلاً بواحدة أو أكثر من الطرق التالية: معويًا، عن غير الطريق المعوي (متضمنًا، الحقن تحت الجلد، تقنيات التشريب أو الحقن في الوريد، في العضل، في عظم القص)، بالاستنشاق (مثلاً في شكل رذاذ)، أو شرجيًا، في شكل جرعة وحدة من تركيبة دوائية محتوية على كمية فعالة من المركب ومواد حاملة مقبولة دوائيًا تقليدية غير سامة، مواد مساعدة وأوساط ناقلة. يمكن تحضير مستحضرات سائلة مناسبة للإعطاء المعوي (مثل، معلقات، أشربة، إكسيرات، إلخ) طبقًا لتقنيات معروفة في الفن كما يمكن استعمال أي من الأوساط الاعتيادية مثل الماء، glycols، زيوت، alcohols، إلخ. يمكن تحضير مستحضرات صلبة مناسبة للإعطاء المعوي (مثل مساحيق، حبات، كبسولات وأقراص) طبقًا لتقنيات معروفة في الفن كما يمكن استعمال هذه المواد المسوغة الصلبة مثل نشويات، سكريات، kaolin، مواد مزلقة، مواد رابطة، عوامل تفكك، إلخ. يمكن تحضير تركيبات تعطى عن غير الطريق المعوي

طبقًا لتقنيات معروفة في الفن ويمكن نموذجيًا استعمال ماء معقم كمادة حاملة واختياريًا مقومات أخرى، مثل مواد مساعدة على الذوبان. يمكن تحضير محاليل قابلة للحقن طبقًا للطرق المعروفة في الفن حيث تشتمل المادة الحاملة على محلول ملح، محلول glucose أو محلول محتوي على خليط من محلول ملح وglucose. يوصف في:

Remington's Pharmaceutical Sciences, 20th edition (ed. A. R. Gennaro, Mack Publishing Co., 2000).

المزيد من الإرشادات للطرق المناسبة للاستخدام في تحضير التركيبات الدوائية للاختراع الحالي والمقومات المناسبة للاستخدام في هذه التركيبات.

يمكن إعطاء مركبات هذا الاختراع معويًا في نطاق جرعة من 0.001 إلى 1000 مجم/كجم من وزن جسم الكائن الثديي (مثلاً، آدمي) يوميًا في جرعة مفردة أو في جرعات مقسمة. يتراوح أحد نطاقات الجرعة من 0.01 إلى 500 مجم/ كجم من وزن الجسم في اليوم معويًا في جرعة مفردة أو في جرعات مقسمة. يتراوح نطاق جرعة آخر من 0.1 إلى 100 مجم/ كجم من وزن الجسم في اليوم معويًا في جرعة مفردة أو جرعات مقسمة. بالنسبة للإعطاء المعوي، يمكن توفير التركيبات في شكل أقراص أو كبسولات محتوية على 1 إلى 500 مجم من المقوم النشط، تحديدًا 1، 5، 10، 15، 20، 25، 50، 75، 100، 150، 200، 250، 300، 400، 500، و750 مجم من المقوم النشط لضبط أعراض الجرعة على المريض المراد معالجته. قد يتغير مستوى الجرعة المحدد وتكرار الجرعة لأي مريض معين وقد تعتمد على تشكيلة من العوامل متضمنة نشاط المركب المحدد المستخدم، الثبات الأيضي وطول فترة التأثير الخاص بالمركب، السن، وزن الجسم، الحالة الصحية العامة، النوع، النظام الغذائي، الطريقة، وزمن الإعطاء، معدل الإخراج، اتحاد العقار، وشدة الحالة المعنية، والعائل الخاضع للعلاج.

III. علاج الاتحاد

يمكن استخدام مركبات دائرية كبيرة quinoxaline موصوفة هنا في علاج اتحاد مشتمل على واحد أو أكثر من العوامل العلاجية الإضافية. إن العوامل العلاجية الإضافية تتضمن أيضًا تلك العوامل التي تستهدف HCV، تستهدف عامل يسبب مرض مختلف، أو تلك العوامل التي تعزز نظام المناعة. إن العوامل التي تعزز نظام المناعة تتضمن تلك العوامل التي تعزز عمومًا وظيفة نظام المناعة وتلك العوامل التي تنتج استجابة مناعية محددة ضد HCV. إن

العوامل العلاجية الإضافية التي تستهدف HCV تتضمن العوامل التي تستهدف NS3 والعوامل التي تستهدف أنشطة HCV الأخرى مثل NS5A و NS5B، والعوامل التي تستهدف أنشطة خلية العائل الداخلة في نسخ HCV.

توصف مثبطات HCV المختلفة في نشرات مختلفة. توصف المركبات الدائرية الكبيرة المفيدة كمثبطات مثل مثبطات HCV protease في WO 06/119061، WO 7/015785، WO 7/016441، WO 07/148135، WO 08/051475، WO 08/051477، WO 08/051514، WO 08/057209. تعلن مثبطات HCV NS3 protease الإضافية في نشرات طلب براءة الاختراع العالمية WO 98/22496، WO 98/46630، WO 99/07733، WO 99/07734، WO 99/38888، WO 99/50230، WO 99/64442، WO 00/09543، WO 00/59929، WO 02/48116، WO 02/48172، براءة الاختراع البريطانية رقم GB 2 337 262، وبراءة الاختراع الأمريكية رقم 6323180.

إن الأمثلة الإضافية للعوامل العلاجية التي قد تتواجد في اتحاد تتضمن ribavirin، levovirin، viramidine، thymosin alpha-1، interferon-β، interferon-α، (peginterferon-α) pegylated interferon-α، واتحاد من interferon-α و ribavirin، اتحاد من peginterferon-α و ribavirin، اتحاد من interferon-α و levovirin، واتحاد من peginterferon-α و levovirin. إن Interferon-α تتضمن interferon-α2a مخلق (مثل Roferon interferon متاح من Hoffmann-LaRoche, Nutley, NJ)، pegylated interferon-α2a (Pegasys)، interferon-α2b، مثل:

INTRON-A interferon available from Schering Corp., Kenilworth, NJ,

pegylated interferon-α2b (PegIntron)، interferon مخلق متفق عليه (مثل interferon alphacon-1)، ومنتج interferon-α منقى. لدى Amgen's interferon المخلق المتفق عليه اسم تجاري INFERGEN. إن Levovirin هو L-enantiomer من ribavirin والذي أوضح نشاط ضابط للمناعة يشبه ribavirin. إن Viramidine عبارة عن مثيل ribavirin معلن في WO 01/60379. يمكن إعطاء المكونات الفردية للاتحاد على حدة في أزمنة مختلفة أثناء سير العلاج أو يمكن إعطاؤها تعاقبيًا في أشكال اتحاد فردية أو مقسمة.

إن Ribavirin، levovirin، و viramidine يبذلون تأثيرهم المضاد HCV بضبط التجمعات guanine nucleotides داخل الخلية عبر تثبيط inosine monophosphate dehydrogenase

(IMPDH) الخاص لأجل enzyme داخل الخلية، إن IMPDH هو enzyme يحد من المعدل في طريقة التخليق الحيوي في التخليق الحيوي لأجل guanine nucleotide الجديد. تجرى عملية phosphorylation بسهولة على ribavirin داخل الخلايا ويكون مشتق monophosphate عبارة عن مثبط IMPDH. لذلك، إن تثبيط IMPDH يعد هدفًا مفيدًا آخر لاكتشاف مثبطات نسخ HCV. لهذا، قد تعطى مركبات الاختراع الحالي أيضًا في اتحاد مع مثبط IMPDH، مثل VX-497، المعلن في نشرات طلب براءة الاختراع العالمية WO 97/41211 و WO 01/00622؛ مثبط IMPDH آخر، مثل ذلك المعلن في WO 00/25780؛ أو mycophenolate mofetil، انظر:

A.C. Allison and E.M. Eugui, 44 (Suppl.) Agents Action 165 (1993).

بالنسبة لمعالجة الإصابة بعدوى HCV، قد تعطى أيضًا مركبات الاختراع الحالي في اتحاد مع عامل مضاد للفيروس amantadine (1-aminoadamantane). بالنسبة للوصف الشامل لهذا العامل، انظر J. Kirschbaum, 12 Anal. Profiles Drug Subs. 1-36 (1983).

بالنسبة لمعالجة الإصابة بعدوى HCV، قد تعطى أيضًا مركبات الاختراع الحالي في اتحاد مع R7128 مثبط polymerase عامل مضاد للفيروس (Roche).

قد تتحد أيضًا مركبات الاختراع الحالي لمعالجة الإصابة بعدوى HCV مع 2'-*C*-branched ribonucleosides مضاد للفيروس المعلن في:

R. E. Harry-O'Kuru et al., 62 J. Org. Chem. 1754-59 (1997); M. S. Wolfe et al., 36 Tet. Lett. 7611-14 (1995);

براءة الاختراع الأمريكية رقم 3480613؛ ونشرات طلب براءة الاختراع العالمية WO 01/90121، WO 01/92282، WO 02/32920، WO 04/002999، WO 04/003000 و WO 04/002422؛ المندمج محتوى كل منهم كمرجع بأكمله. إن 2'-*C*-branched ribonucleosides هذه تتضمن، بدون تحديد، 2'-*C*-methyl-cytidine، 2'-*C*-methyl-uridine، 2'-*C*-methyl-adenosine، 2'-*C*-methyl-guanosine، و9-(2-*C*-methyl-β-D-ribofuranosyl)-2,6-diaminopurine، و amino acid ester المقابل من ribose C-2'، C-3'، و C-5' hydroxyls، و 1,3-propanediol esters الدائرية المقابلة المستبدلة اختياريًا من مشتقات 5'-phosphate.

قد تتحد مركبات الاختراع الحالي لمعالجة الإصابة بعدوى HCV مع nucleosides أخرى لها خواص مضادة HCV، مثل تلك المعلنة في نشرات طلب براءة الاختراع العالمية WO 02/51425، WO 01/79246، WO 02/32920، WO 02/48165 و WO2005/003147 (متضمنة R1656، (2'*R*)-2'-deoxy-2'-fluoro-2'-*C*-methylcytidine)، المعلن كمركبات 3-6 في صفحة 77)؛ WO 01/68663؛ WO 99/43691؛ WO 02/18404 و WO2006/021341، ونشرة طلب براءة الاختراع الأمريكية US 2005/0038240، متضمنة 4'-azido nucleosides مثل R1626، 4'-azidocytidine؛ نشرات طلب براءة الاختراع الأمريكية US 2002/0019363، US 2003/0236216، US 2004/0006007 و US 2004/0063658؛ ونشرات طلب براءة الاختراع العالمية WO 02/100415، WO 03/026589، WO 03/026675، WO 03/093290، WO 04/011478، WO 04/013300 و WO 04/028481؛ المندمج محتوى كل منهم هنا كمرجع بأكمله.

بالنسبة لمعالجة الإصابة بعدوى HCV، قد تعطى أيضًا مركبات الاختراع الحالي في اتحاد مع عامل عبارة عن مثبط HCV NS5B polymerase. إن مثبطات HCV NS5B polymerase هذه قد تستخدم كعلاج اتحاد تتضمن، بدون تحديد، تلك المعلنة في نشرات طلب براءة الاختراع العالمية WO 02/057287، WO 02/057425، WO 03/068244، WO 2004/000858، WO 04/003138 و WO 2004/007512؛ براءة الاختراع الأمريكية رقم 6777392 ونشرة طلب براءة الاختراع الأمريكية US2004/0067901؛ المندمج محتوى كل منهم هنا كمرجع بأكمله. إن مثبطات HCV polymerase الأخرى تتضمن، بدون تحديد، valopicitabine (NM-283؛ Idenix) و-2'-F-2'-beta-methylcytidine (انظر أيضًا WO 2005/003147).

في أحد التجسيدات، تنتقى مثبطات HCV NS5B polymerase nucleoside المستخدمة في اتحاد مع مثبطات HCV NS3 protease الحالية من المركبات التالية:

4-amino-7-(2-C-methyl-β-D-arabinofuranosyl)-7*H*-pyrrolo[2,3-*d*]pyrimidine; 4-amino-7-(2-C-methyl-β-D-ribofuranosyl)-7*H*-pyrrolo[2,3-*d*]pyrimidine; 4-methylamino-7-(2-C-methyl-β-D-ribofuranosyl)-7*H*-pyrrolo[2,3-*d*]pyrimidine; 4-dimethylamino-7-(2-C-methyl-β-D-ribofuranosyl)-7*H*-pyrrolo[2,3-*d*]pyrimidine; 4-cyclopropylamino-7-(2-C-methyl-β-D-ribofuranosyl)-7*H*-pyrrolo[2,3-*d*]pyrimidine;

4-amino-7-(2-C-vinyl-β-D-ribofuranosyl)-7*H*-pyrrolo[2,3-*d*]pyrimidine; 4-amino-7-(2-C-hydroxymethyl-β-D-ribofuranosyl)-7*H*-pyrrolo[2,3-*d*]pyrimidine; 4-amino-7-(2-C-fluoromethyl-β-D-ribofuranosyl)-7*H*-pyrrolo[2,3-*d*]pyrimidine; 4-amino-5-methyl-7-(2-C-methyl-β-D-ribofuranosyl)-7*H*-pyrrolo[2,3-*d*]pyrimidine; 4-amino-7-(2-C-methyl-β-D-ribofuranosyl)-7*H*-pyrrolo[2,3-*d*]pyrimidine-5-carboxylic acid; 4-amino-5-bromo-7-(2-C-methyl-β-D-ribofuranosyl)-7*H*-pyrrolo[2,3-*d*]pyrimidine; 4-amino-5-chloro-7-(2-C-methyl-β-D-ribofuranosyl)-7*H*-pyrrolo[2,3-*d*]pyrimidine; 4-amino-5-fluoro-7-(2-C-methyl-β-D-ribofuranosyl)-7*H*-pyrrolo[2,3-*d*]pyrimidine; 2,4-diamino-7-(2-C-methyl-β-D-ribofuranosyl)-7*H*-pyrrolo[2,3-*d*]pyrimidine; 2-amino-7-(2-C-methyl-β-D-ribofuranosyl)-7*H*-pyrrolo[2,3-*d*]pyrimidine; 2-amino-4-cyclopropylamino-7-(2-C-methyl-β-D-ribofuranosyl)-7*H*-pyrrolo[2,3-*d*]pyrimidine; 2-amino-7-(2-C-methyl-β-D-ribofuranosyl)-7*H*-pyrrolo[2,3-*d*]pyrimidin-4(3*H*)-one; 4-amino-7-(2-C-ethyl-β-D-ribofuranosyl)-7*H*-pyrrolo[2,3-*d*]pyrimidine; 4-amino-7-(2-C,2-O-dimethyl-β-D-ribofuranosyl)-7*H*-pyrrolo[2,3-*d*]pyrimidine; 7-(2-C-methyl-β-D-ribofuranosyl)-7*H*-pyrrolo[2,3-*d*]pyrimidin-4(3*H*)-one; 2-amino-5-methyl-7-(2-C, 2-O-dimethyl-β-D-ribofuranosyl)-7*H*-pyrrolo[2,3-*d*]pyrimidin-4(3*H*)-one; 4-amino-7-(3-deoxy-2-C-methyl-β-D-ribofuranosyl)-7*H*-pyrrolo[2,3-*d*]pyrimidine; 4-amino-7-(3-deoxy-2-C-methyl-β-D-arabinofuranosyl)-7*H*-pyrrolo[2,3-*d*]pyrimidine; 4-amino-2-fluoro-7-(2-C-methyl-β-D-ribofuranosyl)-7*H*-pyrrolo[2,3-*d*]pyrimidine; 4-amino-7-(3-C-methyl-β-D-ribofuranosyl)-7*H*-pyrrolo[2,3-*d*]pyrimidine; 4-amino-7-(3-C-methyl-β-D-xylofuranosyl)-7*H*-pyrrolo[2,3-*d*]pyrimidine; 4-amino-7-(2,4-di-C-methyl-β-D-ribofuranosyl)-7*H*-pyrrolo[2,3-*d*]pyrimidine; 4-amino-7-(3-deoxy-3-fluoro-2-C-methyl-β-D-ribofuranosyl)-7*H*-pyrrolo[2,3-*d*]pyrimidine;

و 5'-triphosphates المقابلة؛ أو ملح مقبول دوائيًا من ذلك.

قد تتحد أيضًا مركبات الاختراع الحالي لمعالجة الإصابة بعدوى HCV مع مثبطات غير nucleoside من HCV polymerase مثل تلك المعلنة في نشرات طلب براءة الاختراع العالمية

WO 01/77091؛ WO 01/47883؛ WO 02/04425؛ WO 02/06246؛ WO 02/20497؛ WO 2005/016927 (تحديدًا JTK003)؛ المندمج محتوى كل منهم هنا كمرجع بأكمله؛ و HCV-796 (Viropharma Inc.).

في أحد التجسيدات، تنتقى مثبطات HCV NS5B polymerase غير nucleoside المستخدمة في اتحاد مع مثبطات HCV NS3 protease الحالية من المركبات التالية:

14-cyclohexyl-6-[2-(dimethylamino)ethyl]-7-oxo-5,6,7,8-tetrahydroindolo[2,1-*a*][2,5]benzodiazocine-11-carboxylic acid; 14-cyclohexyl-6-(2-morpholin-4-ylethyl)-5,6,7,8-tetrahydroindolo[2,1-*a*][2,5]benzodiazocine-11-carboxylic acid; 14-cyclohexyl-6-[2-(dimethylamino)ethyl]-3-methoxy-5,6,7,8-tetrahydroindolo[2,1-*a*][2,5]benzodiazocine-11-carboxylic acid; 14-cyclohexyl-3-methoxy-6-methyl-5,6,7,8-tetrahydroindolo[2,1-*a*][2,5]benzodiazocine-11-carboxylic acid; methyl ({[(14-cyclohexyl-3-methoxy-6-methyl-5,6,7,8-tetrahydroindolo[2,1-*a*][2,5]benzodiazocin-11-yl)carbonyl]amino}sulfonyl)acetate; ({[(14-cyclohexyl-3-methoxy-6-methyl-5,6,7,8-tetrahydroindolo[2,1-*a*][2,5]benzodiazocin-11-yl)carbonyl]amino}sulfonyl)acetic acid; 14-cyclohexyl-*N*-[(dimethylamino)sulfonyl]-3-methoxy-6-methyl-5,6,7,8-tetrahydroindolo[2,1-*a*][2,5]benzodiazocine-11-carboxamide; 3-chloro-14-cyclohexyl-6-[2-(dimethylamino)ethyl]-7-oxo-5,6,7,8-tetrahydroindolo[2,1-*a*][2,5]benzodiazocine 11-carboxylic acid; *N*'-(11-carboxy-14-cyclohexyl-7,8-dihydro-6*H*-indolo[1,2-*e*][1,5]benzoxazocin-7-yl)-*N*,*N*-dimethylethane-1,2-diaminium bis(trifluoroacetate); 14-cyclohexyl-7,8-dihydro-6*H*-indolo[1,2-*e*][1,5] benzoxazocine-11-carboxylic acid; 14-cyclohexyl-6-methyl-7-oxo-5,6,7,8-tetrahydroindolo [2,1-*a*][2,5]benzodiazocine-11-carboxylic acid; 14-cyclohexyl-3-methoxy-6-methyl-7-oxo-5,6,7,8-tetrahydroindolo[2,1-*a*][2,5]benzodiazocine-11-carboxylic acid; 14-cyclohexyl-6-[2-(dimethylamino)ethyl]-3-methoxy-7-oxo-5,6,7,8-tetrahydroindolo[2,1-*a*][2,5]benzodiazocine-11-carboxylic acid; 14-cyclohexyl-6-[3-(dimethylamino)propyl]-7-oxo-5,6,7,8-tetrahydroindolo [2,1-*a*][2,5]benzodiazocine-

11-carboxylic acid; 14-cyclohexyl-7-oxo-6-(2-piperidin-1-ylethyl)-5,6,7,8-tetrahydroindolo[2,1-*a*][2,5]benzodiazocine-11-carboxylic acid; 14-cyclohexyl-6-(2-morpholin-4-ylethyl)-7-oxo-5,6,7,8-tetrahydroindolo[2,1-*a*][2,5]benzodiazocine-11-carboxylic acid; 14-cyclohexyl-6-[2-(diethylamino)ethyl]-7-oxo-5,6,7,8-tetrahydroindolo[2,1-*a*] [2,5]benzodiazocine-11-carboxylic acid; 14-cyclohexyl-6-(1-methylpiperidin-4-yl)-7-oxo-5,6,7,8-tetrahydroindolo[2,1-*a*][2,5]benzodiazocine-11-carboxylic acid; 14-cyclohexyl-*N*-[(dimethylamino)sulfonyl]-7-oxo-6-(2-piperidin-1-ylethyl)-5,6,7,8-tetrahydroindolo[2,1-*a*] [2,5]benzodiazocine-11-carboxamide; 14-cyclohexyl-6-[2-(dimethylamino)ethyl]-*N*-[(dimethylamino)sulfonyl]-7-oxo-5,6,7,8-tetrahydroindolo[2,1-*a*][2,5]benzodiazocine-11-carboxamide; 14-cyclopentyl-6-[2-(dimethylamino)ethyl]-7-oxo-5,6,7,8-tetrahydroindolo[2,1-*a*] [2,5]benzodiazocine-11-carboxylic acid; 14-cyclohexyl-5,6,7,8-tetrahydroindolo[2,1-*a*] [2,5]benzodiazocine-11-carboxylic acid; 6-allyl-14-cyclohexyl-3-methoxy-5,6,7,8-tetrahydroindolo[2,1-*a*][2,5]benzodiazocine-11-carboxylic acid; 14-cyclopentyl-6-[2-(dimethylamino)ethyl]-5,6,7,8-tetrahydroindolo[2,1-*a*][2,5]benzodiazocine-11-carboxylic acid; 14-cyclohexyl-6-[2-(dimethylamino)ethyl]-5,6,7,8-tetrahydroindolo[2,1-*a*][2,5]benzodiazocine-11-carboxylic acid; 13-cyclohexyl-5-methyl-4,5,6,7-tetrahydrofuro[3',2':6,7][1,4]diazocino[1,8-*a*]indole-10-carboxylic acid; 15-cyclohexyl-6-[2-(dimethylamino)ethyl]-7-oxo-6,7,8,9-tetrahydro-5*H*-indolo[2,1-*a*][2,6]benzodiazonine-12-carboxylic acid; 15-cyclohexyl-8-oxo-6,7,8,9-tetrahydro-5*H*-indolo[2,1-*a*][2,5]benzodiazonine-12-carboxylic acid; 13-cyclohexyl-6-oxo-6,7-dihydro-5*H*-indolo[1,2-*d*][1,4]benzodiazepine-10-carboxylic acid;

وأملاح مقبولة دوائيًا من ذلك.

IV. تقييم المركب

يمكن تقييم المركبات الموصوفة هنا لأنشطتها المختلفة مثل قدرتها على تثبيط نشاط HCV NS3، نشاط HCV replicon، ونشاط نسخ HCV باستخدام تقنيات معروفة جيدًا في الفن. (انظر مثلاً Carroll *et al., J. Biol. Chem. 278*:11979–11984, 2003).

إن أحد هذه الاختبارات هو اختبار وميض ينحل بمرور الوقت (TRF) لأجل HCV NS3 protease كما هو موصوف أدناه وفي

Mao *et al., Anal. Biochem. 373*:1-8, 2008

ونشرة طلب براءة الاختراع العالمية WO 2006/102087. يمكن إجراء اختبار NS3 protease، مثلاً، في حجم نهائي 100 ميكرولتر من مثبت أس هيدروجيني للاختبار محتوي على HEPES 50 مللي جزيئي جرامي، أس هيدروجيني 7.5، NaCl 150 مللي جزيئي جرامي، glycerol 15٪، Triton X-100 0.15٪، DTT 10 مللي جزيئي جرامي، و PEG 8000 0.1٪. يحضن مسبقًا NS4A protease و NS3 بتركيزات متعددة من مثبطات DMSO لمدة 30 دقيقة. يبدأ التفاعل بإضافة مادة خاضعة TRF peptide (تركيز نهائي 100 نانوجزيئي جرامي). يخمد التحلل المائي الذي يسببه NS3 للمادة الخاضعة بعد ساعة واحدة عند درجة حرارة الغرفة مع 100 ميكرولتر من MES 500 مللي جزيئي جرامي، أس هيدروجيني 5.5. يكشف عن وميض المنتج باستخدام سواء مقياس وميضي ضوئي Victor V2 أو (Perkin Elmer Life and Analytical Sciences) Fusion fluorophotometer مع استثارة عند 340 نانومتر وانبعاث عند 615 نانومتر مع تأخير 400 ميكروثانية. تنتقى تركيزات الاختبار لأشكال enzyme المختلفة لتنتج نسبة إشارة إلى خلفية (B/S) من 10–30. تستنتج قيم IC_{50} باستخدام مطابقة قياسية رباعية الحدود مع البيانات. تستنتج قيم Ki من قيم IC_{50} باستخدام المعادلة التالية:

$$IC_{50} = K_i (1 + [S] / K_M)$$، المعادلة (1)،

حيث يكون [S] هو تركيز المادة الخاضعة peptide في التفاعل ويكون K_M عبارة عن ثابت Michaelis. انظر:

P. Gallinari *et al.*, 38 Biochem. 5620-32(1999); P. Gallinari *et al.*, 72 J. Virol. 6758-69 (1998); M. Taliani *et al.*, 240 Anal. Biochem. 60-67 (1996); Mao *et al., Analytical Biochemistry 373*: 1-8, 2008.

V. إنتاج عام للمركب

يتضمن الاختراع الحالي أيضًا عمليات لتصنيع مركبات من الصيغة (I). يمكن بسهولة تحضير مركبات الاختراع الحالي طبقًا لبرامج التفاعل والأمثلة التالية، أو تعديلات على ذلك، باستخدام مواد بادئة متاحة بالفعل، عوامل كاشفة وإجراءات تخليق تقليدية. في هذه التفاعلات، يمكن أيضًا الاستفادة من الأشكال المتباينة والتي تعد معروفة بذاتها لأصحاب المهارة العادية في هذا الفن. يتضح بسهولة لصاحب المهارة العادية في الفن الطرق الأخرى الخاصة بتحضير مركبات الاختراع على ضوء برامج التفاعل والأمثلة التالية. ما لم يشر إلى خلاف ذلك، تتحدد أعلاه كل المتغيرات. تعمل برامج التفاعل والأمثلة التالية فقط على توضيح الاختراع وممارسته.

إن حفازات تبادل مزدوج olefin تتضمن الأنواع التالية المعتمدة على Ruthenium:

F. Müller et al., 118 J. Am. Chem. Soc. 9606 (1996); G. Kingsbury et al., 121 J. Am. Chem. Soc. 791 (1999); H. Scholl et al., 1 Org. Lett. 953 (1999);

نشرة طلب براءة الاختراع الأمريكية US2002/0107138؛

K. Furstner et al., 64 J. Org. Chem. 8275 (1999).

إن استخدام هذه الحفازات في تفاعل التبادل المزدوج الذي يغلق الحلقة معروف جيدًا في الأدبيات (مثل Trnka and Grubbs, 34 Acc. Chem. Res. 18 (2001)).

طرق تطبيق الاختراع صناعيا

إن الأمثلة التالية تعمل فقط على توضيح الاختراع وممارسته. كما لا يجب اعتبار الأمثلة مقيدة لنطاق وروح الاختراع.

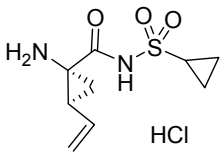
قائمة الاختصارات

DCM/CH_2Cl_2	dichloromethane
DCE	1,2-dichloroethane
DIEA	diisopropylethylamine
DMF	dimethylformamide
DMSO	dimethyl sulfoxide
Dppf	diphenylphosphinoferrocene
Et_2O	diethyl ether
EtOAc	ethyl acetate

O-(7-azabenzotriazol-1-yl)-*N*,*N*,*N*',*N*'-tetramethyluronium hexafluorophosphate	HATU
hydrochloric acid	HCl
Chlorotrimethylsilane	TMSCl
Tetra-butyl ammonium fluoride	TBAF
Dimethylamino pyridine	DMAP
acetonitrile	MeCN
methanol	MeOH
palladium على carbon	Pd/C
O-benzotriazol-1-yl-*N*,*N*,*N*',*N*'-tetramethyluronium tetrafluoroborate	TBTU
trifluoroacetatic acid	TFA
tetrahydofuran	THF
تنقية باستخدام Horizon Biotage باستخدام خرطوشة هلام silica ومستوى متدرج لطور متحرك محدد	Flash Chromatography
كتلة آلية أو UV يساعد على التحليل الكروماتوجرافي السائل عالي الأداء باستخدام مستويات متدرجة من MeCN حامضي و H_2O كطور متحرك	HPLC
ميجاهرتز	MHz

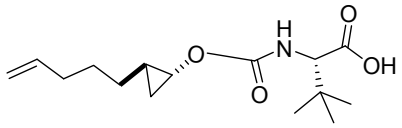
تخليق المركبات الوسطية

المركب الوسطي A

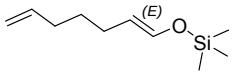
رقم المركب الوسطي	البناء	الاسم	مراجع الأدبيات
A1		(1*R*,2*S*)-1-Amino-*N*-(cyclopropylsulfonyl)-2-vinylcyclopropanecarboxamide hydrochloride	Wang et al, US 6,995,174

المركب الوسطي B1:

3-methyl-*N*-({[(1*R*,2*R*)-2-pent-4-en-1-ylcyclopropyl]oxy}carbonyl)-L-valine



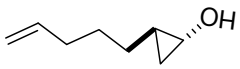
خطوة 1: [(1E)-hepta-1,6-dien-1-yloxy](trimethyl)silane



يعالج محلول (0.5 جزيئي جرامي) من butenyl magnesium bromide في THF (1.4 مكافئ) عند −78°مئوية مع $Cu(I)Br.SMe_2$ (0.05 مكافئ) و HMPA (2.4 مكافئ). يقلب الخليط لمدة 10 دقائق ثم يضاف خلال ساعة واحدة محلول (1 جزيئي جرامي) من acrolein (1 مكافئ) و TMSCl (2 مكافئ) في THF بحيث تظل درجة الحرارة الداخلية أقل من −68°مئوية. يقلب الخليط الناتج عند −78°مئوية لمدة ساعتين ثم يعالج مع فائض من Et_3N ويخفف مع hexane. بعد الوصول إلى درجة حرارة الغرفة يعالج الخليط مع دفعة صغيرة من H_2O ويرشح خلال مرشح CELITE. تغسل المادة المرشحة 10 مرات مع H_2O ثم مع محلول ملحي. تجفف الطبقة العضوية وتزال المواد المتطايرة لإعطاء مادة متخلفة تقطر تحت ضغط مخفض (20 مللي بار). إن الجزء المجمع عند 80−86°مئوية يحتوي على مركب العنوان (58٪) كسائل عديم اللون.

^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 6.19 (d, J = 11.6 Hz, 1H), 5.85-5.75 (m, 1H), 5.02-4.92 (m, 3H), 2.08-2.02 (m, 2H), 1.94-1.88 (m, 2H), 1.46-1.38 (m, 2H), 0.18 (s, 9H).

خطوة 2: *trans*-2-pent-4-en-1-ylcyclopropanol

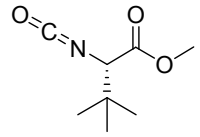


يعالج محلول (0.45 جزيئي جرامي) من المركب السابق في hexane مع محلول (15٪) من Et_2Zn (1.2 مكافئ) في toluene ويبرد المحلول الناتج في حمام ثلج. يضاف Diiodomethane (1.2 مكافئ) بالتنقيط ثم يقلب المحلول لمدة ساعة واحدة قبل أن يدفأ إلى 20°مئوية. يضاف Pyridine (6 مكافئ) ويقلب الملاط لمدة 15 دقيقة ثم يصب على petroleum ether. يرشح الخليط بصورة متكررة خلال مرشح CELITE حتى ينتج المحلول الأصلي. يركز هذا الخليط عند ضغط 100 مللي بار ويخفف إضافيا المحلول المتبقي (الذي

يحتـــوي علـــى trimethyl{[(*trans*)-2-pent-4-en-1-ylcyclopropyl]oxy}silane، toluene و pyridine) مع THF. يبرد الخليط إلى صفر °مئوية ثم يعالج بالتنقيط مع محلول (1 جزيئي جرامي) من TBAF (1.2 مكافئ) في THF. بعد 10 دقائق يترك الخليط ليدفأ إلى 20°مئوية، ويصب بعد ساعة واحدة إضافية في H_2O. يستخلص الطور المائي مع EtOAc وتغسل المواد المستخلصة العضوية المتحدة مع محلول ملحي ثم تجفف. إن إزالة المواد المتطايرة توفر مادة متخلفة تنقى بواسطة تحليل كروماتوجرافي وميضي (مادة التصفية صفر−66٪ petroleum ether/Et_2O) لتوفير مركب العنوان (71٪) كسائل عديم اللون.

^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 5.85-5.75 (m, 1H), 5.00 (dd, *J* = 17.1, 1.6 Hz, 1H), 4.94 (br d, *J* = 10.4 Hz, 1H), 3.20 (apparent dt, *J* = 6.4, 2.5 Hz, 1H), 2.10-2.04 (m, 2H), 1.52-1.44 (m, 2H), 1.29-1.19 (m, 1H), 1.15-1.07 (m, 1H), 0.95-0.87 (m, 1H), 0.71-0.66 (m,1H), 0.31 (apparent q, *J* = 6.0 Hz, 1H).

خطوة 3: methyl 3-methyl-*N*-(oxomethylene)-L-valinate

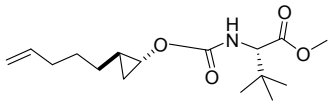


يبرد في حمام ثلج ويقلب بسرعة محلول (0.39 جزيئي جرامي) من methyl 3-methyl-L-valinate في خليط بنسبة 1:2 من $NaHCO_3$ مائي مشبع و CH_2Cl_2. يعالج الخليط مع triphosgene (0.45 مكافئ) دفعة واحدة ويقلب الخليط الناتج لمدة نصف ساعة. يخفف التفاعل مع CH_2Cl_2 وتفصل الطبقات. يستخلص الطور المائي مع CH_2Cl_2 ثم تغسل المواد العضوية المتحدة مع محلول ملحي وتجفف. إن إزالة المذيب تعطي مركب العنوان كزيت رائق يظل لمدة 12 ساعة تحت شفط (ضغط 0.1 مللي بار) ثم يستخدم مباشرة في الخطوة اللاحقة.

^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 3.79 (s, 3H), 3.75 (s, 1H), 1.00 (s, 9H).

خطوة 4:

methyl 3-methyl-*N*-({[(1*R*,2*R*)-2-pent-4-en-1-ylcyclopropyl]oxy}carbonyl)-L-valinate, methyl 3-methyl-*N*-({[(1*S*,2*S*)-2-pent-4-en-1-ylcyclopropyl]oxy}carbonyl)-L-valinate



يعالج محلول (0.45 جزيئي جرامي) من *trans*-2-pent-4-en-1-ylcyclopropanol في toluene مع methyl 3-methyl-*N*-(oxomethylene)-L-valinate (1.1 مكافئ) ثم DMAP (1 مكافئ). يسخن الخليط الناتج مع إعادة تكثيف البخار لمدة 12 ساعة ثم يبرد إلى 20°مئوية. يضاف H_2O و EtOAc وتفصل الطبقة العضوية وتغسل مع HCl 1 عياري، محلول ملحي وتجفف. إن إزالة المواد المتطايرة توفر مادة متخلفة تنقى مرتين بواسطة تحليل كروماتوجرافي وميضي (مادة التصفية صفر–30٪ petroleum ether/Et_2O). إن الأجزاء الأولى تحتوي على methyl 3-methyl-*N*-({[(1*R*,2*R*)-2-pent-4-en-1-ylcyclopropyl]oxy}carbonyl)-L-valinate (38٪) كزيت.

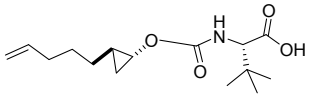
MS (ES^+) *m/z* 298 $(M+H)^+$

الأجزاء الأخيرة تحتوي على methyl 3-methyl-*N*-({[(1*S*,2*S*)-2-pent-4-en-1-ylcyclopropyl]oxy}carbonyl)-L-valinate (28٪) كزيت.

MS (ES^+) *m/z* 298 $(M+H)^+$

خطوة 5:

3-methyl-*N*-({[(1*R*,2*R*)-2-pent-4-en-1-ylcyclopropyl]oxy}carbonyl)-L-valine



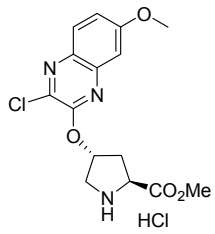
يعالج محلول (0.1 جزيئي جرامي) من methyl 3-methyl-*N*-({[(1*R*,2*R*)-2-pent-4-en-1-ylcyclopropyl]oxy}carbonyl)-L-valinate في خليط بنسبة 1:2 من H_2O/MeOH مع $LiOH.H_2O$ (4 مكافئ) ثم يسخن عند 60°مئوية لمدة 4 ساعات. يبرد الخليط ويركز إلى نصف الحجم ثم يخفف مع EtOAc ويحمض مع HCl مائي (1 عياري). تفصل الطبقة العضوية وتغسل مع محلول ملحي ثم تجفف. إن إزالة المواد المتطايرة توفر مركب العنوان (98٪) كزيت.

MS (ES^+) *m/z* 284 $(M+H)^+$

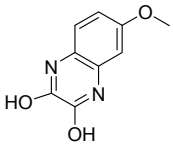
المركبات الوسطية C

المركب الوسطي C1:

methyl (4R)-4-[(3-chloro-7-methoxyquinoxalin-2-yl)oxy]-L-prolinate hydrochloride



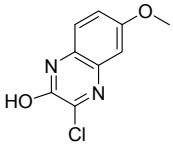
خطوة 1: 6-methoxyquinoxaline-2,3-diol



يعالج معلق من 4-methoxybenzene-1,2-diamine dihydrochloride في diethyl oxalate (8 مكافئ) مع Et_3N (2 مكافئ) ثم يسخن عند 150°مئوية لمدة ساعتين. يبرد الخليط ويرشح، ثم تغسل المادة الصلبة المجمعة مع H_2O و EtOH. تجفف المادة المتخلفة لإعطاء مركب العنوان (69٪).

MS (ES^+) *m/z* 193 $(M+H)^+$

خطوة 2: 3-chloro-6-methoxyquinoxalin-2-ol

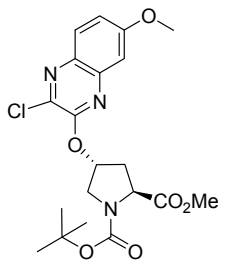


يعالج محلول (1.53 جزيئي جرامي) من 6-methoxyquinoxaline-2,3-diol في DMF مع $SOCl_2$ (1 مكافئ) ويسخن عند 110°مئوية. بعد ساعة ونصف يبرد خليط التفاعل ويصب في HCl مائي (1 عياري). ترشح المادة المترسبة الناتجة وتغسل مع H_2O و Et_2O. تحتوي المادة الصلبة المجففة بصورة احتمالية على مركب العنوان كخليط مع 6-methoxyquinoxaline-2,3-diol و 2,3-dichloro-6-methoxyquinoxaline. تستخدم هذه المادة مباشرة في الخطوة اللاحقة.

MS (ES^+) *m/z* 211 $(M+H)^+$

خطوة 3:

1-*tert*-butyl 2-methyl (2S,4R)-4-[(3-chloro-7-methoxyquinoxalin-2-yl)oxy] pyrrolidine-1,2-dicarboxylate

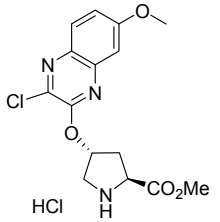


يعالج محلول (0.35 جزيئي جرامي) من 3-chloro-6-methoxyquinoxalin-2-ol في NMP مع Cs_2CO_3 (1.5 مكافئ) و 1-*tert*-butyl 2-methyl (2S,4S)-4-{[(4-bromophenyl) sulfonyl]oxy}pyrrolidine-1,2-dicarboxylate (1.1 مكافئ). يقلب الخليط الناتج عند 50°مئوية لمدة 18 ساعة ثم تضاف دفعة إضافية (0.1 مكافئ) من 1-*tert*-butyl 2-methyl (2S,4S)-4-{[(4-bromophenyl)sulfonyl]oxy}pyrrolidine-1,2-dicarboxylate. بعد التقليب لمدة ساعتين يبرد الخليط ويخفف مع H_2O و EtOAc. تغسل الأطوار العضوية مع HCl مائي (1 عياري)، $NaHCO_3$ مائي مشبع ومحلول ملحي. يركز الطور العضوي المجفف لإعطاء مادة متخلفة تنقى بواسطة تحليل كروماتوجرافي– وميضي (صفر–60٪ EtOAc/ petroleum ether) لإعطاء مركب العنوان (35٪ لأجل خطوتين) كمادة صلبة.

MS (ES^+) *m/z* 438 $(M+H)^+$

خطوة 4:

methyl (4R)-4-[(3-chloro-7-methoxyquinoxalin-2-yl)oxy]-L-prolinate hydrochloride

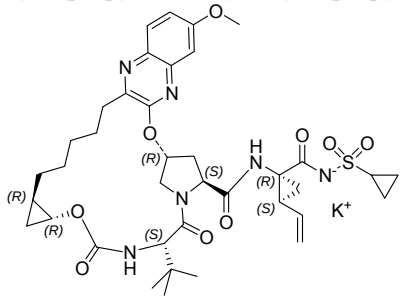


يعالج محلول (0.62 جزيئي جرامي) من 1-*tert*-butyl 2-methyl (2S,4R)-4-[(3-chloro-7-methoxyquinoxalin-2-yl)oxy]pyrrolidine-1,2-dicarboxylate مع محلول CH_2Cl_2 في (4 جزيئي جرامي) من HCl في dioxane (5 مكافئ). يقلب الخليط عند 20°مئوية لمدة ساعتين ثم يعالج مع محلول (4 جزيئي جرامي) من HCl في dioxane (2 مكافئ). بعد 5 ساعات يتحدد اكتمال التفاعل ويركز الخليط تحت ضغط مخفض. تسحق المادة المتخلفة مع Et_2O لإعطاء مركب العنوان (95٪) كمادة صلبة.

MS (ES^+) *m/z* 338 $(M+H)^+$

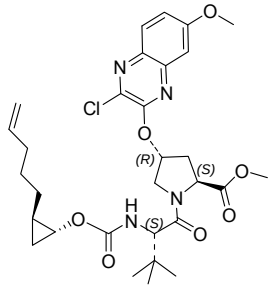
مثال 1:

Potassium {[(1R,2S)-1-({[(1aR,5S,8S,10R,22aR)-5-tert-butyl-14-methoxy-3,6-dioxo-1,1a,3,4,5,6,9,10,18,19,20,21,22,22a-tetradecahydro-8H-7,10-methanocyclopropa[18,19][1,10,3,6]dioxadiazacyclononadecino[11,12-b]quinoxalin-8-yl]carbonyl}amino)-2-vinylcyclopropyl]carbonyl}(cyclopropylsulfonyl)azanide



خطوة 1:

methyl 3-methyl-N-({[(1R,2R)-2-pent-4-en-1-ylcyclopropyl]oxy}carbonyl)-L-valyl-(4R)-4-[(3-chloro-7-methoxyquinoxalin-2-yl)oxy]-L-prolinate

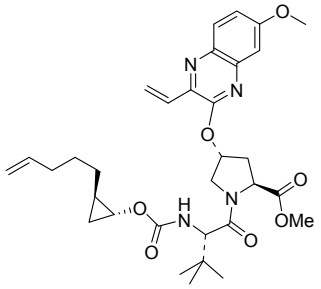


يعالج محلول (0.2 جزيئي جرامي) من- methyl(4R)-4-[(3-chloro-7-methoxyquinoxalin-2-yl)oxy]-L-prolinate hydrochloride في DMF مع -3-methyl-N-({[(1R,2R)-2-pent-4-en-1-ylcyclopropyl]oxy}carbonyl)-L-valine (1.1 مكافئ)، DIEA (5 مكافئ) و HATU (1.2 مكافئ). يقلب الخليط الناتج عند 20°مئوية لمدة 5 ساعات ثم يخفف مع EtOAc. تفصل الطبقة العضوية وتغسل مع HCl مائي (1 عياري)، $NaHCO_3$ مائي مشبع ومحلول ملحي. يركز الطور العضوي المجفف تحت ضغط مخفض لإعطاء مادة متخلفة تنقى بواسطة تحليل كروماتوجرافي وميضي (مادة التصفية 10–30٪ petroleum ether/EtOAc) لتوفير مركب العنوان (96٪) كزيت.

MS (ES^+) *m/z* 604 $(M+H)^+$

خطوة 2:

methyl 3-methyl-N-({[(1R,2R)-2-pent-4-en-1-ylcyclopropyl]oxy}carbonyl)-L-valyl-(4R)-4-[(7-methoxy-3-vinylquinoxalin-2-yl)oxy]-L-prolinate

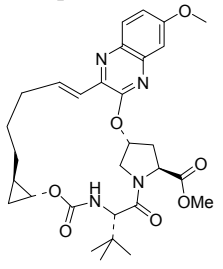


يعالج محلول (0.1 جزيئي جرامي) من methyl 3-methyl-N-({[(1R,2R)-2-pent-4-en-1-ylcyclopropyl]oxy}carbonyl) -L-valyl-(4R)-4-[(3-chloro-7-methoxyquinoxalin-2-yl)oxy]-L-prolinate مع ETOH في (1.5 مكافئ) potassium trifluoro(vinyl)borate و triethylamine (1.5 مكافئ). يزال الغاز من الخليط الناتج، ثم تضاف المادة المجمعة $PdCl_2(dppf)-CH_2Cl_2$ (0.1 مكافئ). يسخن الخليط مع إعادة تكثيف البخار لمدة ساعة واحدة ثم يبرد إلى درجة حرارة الغرفة ويخفف مع H_2O و EtOAc. يفصل الطور العضوي، يغسل مع H_2O ومحلول ملحي ثم يجفف. إن إزالة المواد المتطايرة توفر مادة متخلفة تنقى بواسطة تحليل كروماتوجرافي وميضي (20–30٪ petroleum ether/EtOAc) لإعطاء مركب العنوان كرغوة بلون أصفر تستخدم مباشرة في الخطوة اللاحقة.

MS (ES^+) *m/z* 595 $(M+H)^+$

خطوة 3:

methyl (1aR,5S,8S,10R,18E,22aR)-5-tert-butyl-14-methoxy-3,6-dioxo-1,1a,3,4,5,6,9,10,20,21,22,22a-dodecahydro-8H-7,10-methanocyclopropa [18,19][1,10,3,6] dioxadiazacyclononadecino[11,12-b]quinoxaline-8-carboxylate

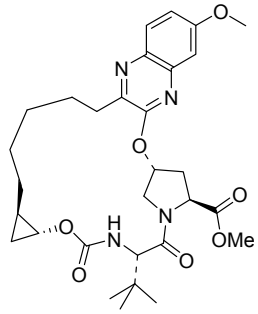


يسخن إلى 80°مئوية محلول (0.02 جزيئي جرامي) من methyl 3-methyl-N-({[(1R,2R) -2-pent-4-en-1-ylcyclopropyl]oxy} carbonyl)-L-valyl-(4R)-4-[(7-methoxy-3-vinylquinoxalin-2-yl)oxy]-L-prolinate في DCE ثم يعالج مع حفاز Zhan 1 (0.15 مكافئ). يقلب الخليط الناتج عند 80°مئوية لمدة ساعة واحدة ثم يبرد إلى درجة حرارة الغرفة ويركز تحت ضغط مخفض. تنقى المادة المتخلفة بواسطة تحليل كروماتوجرافي وميضي (20–50٪ petroleum ether/EtOAc) لإعطاء مركب العنوان (25٪ لأجل خطوتين) كرغوة.

MS (ES^+) *m/z* 567 $(M+H)^+$

خطوة 4:

methyl (1aR,5S,8S,10R,22aR)-5-tert-butyl-14-methoxy-3,6-dioxo-1,1a,3,4,5,6,9,10,18,19,20,21,22,22a-tetradecahydro-8H-7,10-methanocyclopropa [18,19][1,10,3,6] dioxadiazacyclononadecino[11,12-b]quinoxaline-8-carboxylate

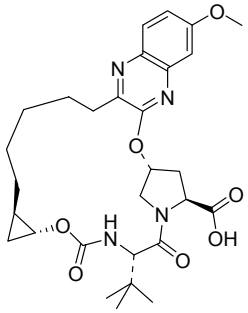


يعالج محلول (0.05 جزيئي جرامي) من methyl (1aR,5S,8S,10R,18E,22aR)-5-tert-butyl-14-methoxy -3,6-dioxo-1,1a,3,4,5,6,9,10,20,21,22,22a-dodecahydro-8H-7,10-methanocyclopropa [18,19][1,10,3,6] dioxadiazacyclononadecino[11,12-b]quinoxaline-8-carboxylate في dioxane/MeOH (بنسبة 1:1) مع Pd/C (8٪ من الوزن). يقلب الخليط الناتج تحت جو hydrogen لمدة 4 ساعات. يزال الحفاز بالترشيح وتركز المادة المرشحة تحت ضغط مخفض لإعطاء مركب العنوان (98٪) كمادة صلبة.

MS (ES^+) *m/z* 569 $(M+H)^+$

خطوة 5:

(1aR,5S,8S,10R,22aR)-5-tert-butyl-14-methoxy-3,6-dioxo-1,1a,3,4,5,6,9,10,18,19,20,21,22,22a-tetradecahydro-8H-7,10-methanocyclopropa[18,19][1,10,3,6]dioxadiazacyclononadecino[11,12-b]quinoxaline-8-carboxylic acid

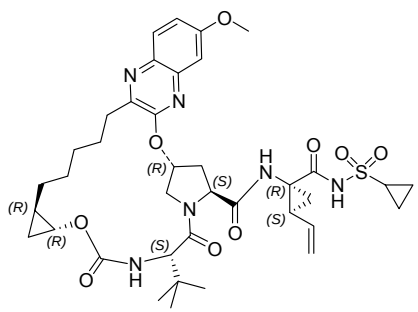


يعالج محلول (0.1 جزيئي جرامي) من methyl (1aR,5S,8S,10R,22aR)-5-tert-butyl-14-methoxy-3,6-dioxo-1,1a,3,4,5,6,9,10,18,19,20,21,22,22a-tetradecahydro-8H-7,10-methanocyclopropa[18,19][1,10,3,6]dioxadiazacyclononadecino[11,12-b]quinoxaline-8-carboxylate في خليط بنسبة 1:1 من THF/H_2O مع $LiOH.H_2O$ (3 مكافئ). يقلب الخليط الناتج عند 20°مئوية لمدة 18 ساعة، يحمض مع HCl مائي (0.2 جزيئي جرامي) ويخفف مع EtOAc. يفصل الطور العضوي، يغسل مع HCl مائي (0.2 جزيئي جرامي) ومحلول ملحي ثم يجفف. إن إزالة المواد المتطايرة توفر مركب العنوان (98٪) كمادة صلبة.

MS (ES^+) *m/z* 555 $(M+H)^+$

خطوة 6:

(1aR,5S,8S,10R,22aR)-5-tert-butyl-N-((1R,2S)-1-{[(cyclopropylsulfonyl)amino]carbonyl}-2-vinylcyclopropyl)-14-methoxy-3,6-dioxo-1,1a,3,4,5,6,9,10,18,19,20,21,22,22a-tetradecahydro-8H-7,10-methanocyclopropa[18,19][1,10,3,6]dioxadiazacyclononadecino[11,12-b]quinoxaline-8-carboxamide

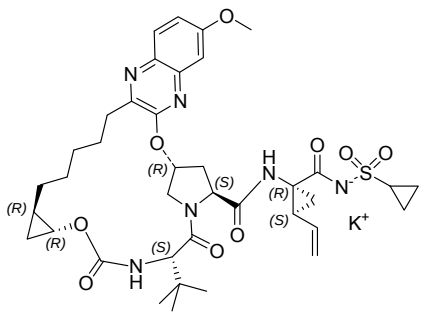


يعالج محلول (0.1 جزيئي جرامي) من (1aR,5S,8S,10R,22aR)-5-tert-butyl-14-methoxy-3,6-dioxo-1,1a,3,4,5,6,9,10,18,19,20,21,22,22a-tetradecahydro-8H-7,10-methanocyclopropa[18,19][1,10,3,6]dioxadiazacyclononadecino[11,12-b]quinoxaline-8-carboxylic acid في CH_2Cl_2 مع (1R,2S)-1-{[(cyclopropylsulfonyl)amino]carbonyl}-2-vinylcyclopropanaminium chloride (1.3 مكافئ)، DIEA (3 مكافئ)، DMAP (1.5 مكافئ) و TBTU (1.45 مكافئ). يقلب الخليط الناتج عند 20°مئوية لمدة 18 ساعة ثم يخفف مع EtOAc. يغسل المحلول مع HCl مائي (0.2 جزيئي جرامي)، $NaHCO_3$ مائي مشبع ومحلول ملحي. تجفف الأطوار العضوية وتركز لإعطاء مادة متخلفة تنقى بواسطة تحليل كروماتوجرافي- وميضي (مادة التصفية 2.5٪ CH_2Cl_2/MeOH) لإعطاء مركب العنوان (89٪) كمادة صلبة.

^{13}C NMR (100 MHz, DMSO-d_6) δ 172.32, 170.63, 169.04, 159.86, 156.95, 154.74, 148.10, 140.41, 133.55 (2 signals), 128.94, 118.21, 117.58, 105.89, 74.88, 59.75, 58.71, 55.68, 54.13, 54.01, 40.13, 34.49, 34.04, 33.76, 32.68, 30.71, 30.43, 28.55, 27.69, 27.28, 26.38, 21.98, 18.49, 10.67, 5.69, 5.46; MS (ES$^+$) *m/z* 767 (M+H)$^+$

<u>خطوة 7:</u>

<u>potassium {[(1R,2S)-1-({[(1aR,5S,8S,10R,22aR)-5-tert-butyl-14-methoxy-3,6-dioxo-1,1a,3,4,5,6,9,10,18,19,20,21,22,22a-tetradecahydro-8H-7,10-methano cyclopropa[18,19][1,10,3,6]dioxadiazacyclononadecino[11,12-b]quinoxalin-8-yl]carbonyl}amino)-2-vinylcyclopropyl]carbonyl}(cyclopropylsulfonyl)azanide</u>



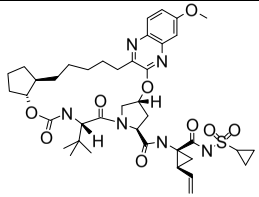
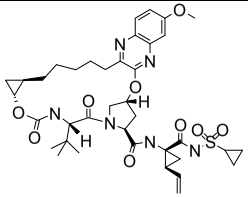
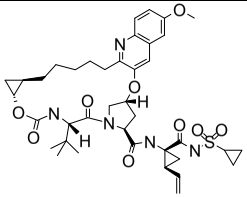
ترفع المادة السابقة في EtOH ويبرد المحلول الناتج (0.025 جزيئي جرامي) إلى صفر°مئوية. يضاف محلول (0.02 جزيئي جرامي) من *tert*-BuOK (1.5 مكافئ) في EtOH لتشكيل مادة مترسبة. يقلب الخليط عند 20°مئوية لمدة 18 ساعة ثم تجمع المادة الصلبة بالترشيح. تغسل هذه المادة مع EtOH وتجفف لإعطاء مركب العنوان (93٪) كمادة صلبة متبلورة بلون أبيض.

MS (ES^+) *m/z* 767 $(M+H)^+$

مثال 2: مقارنة مركبات مختلفة

يقارن المركب من المثال 1 مع المركب من الأمثلة 110 و118 من WO 2008/057209. توضح النتائج في الجدولين 1 و2 أدناه. كما هو موضح في الجداول ومناقشة النتائج، يظهر أن المركب من الصيغة (I) له عدة خواص مفيدة مقارنة مع كل من المركب من المثال 118 من WO 2008/057209 والمركب من المثال 110 من WO 2008/057209.

جدول 1

	WO 2008/057209 المثال 118	المثال 1	WO 2008/057209 المثال 110
البناء			
نشاط 1b يثبط [1]NS3/4A (Ki)	< 0.016 نانوجزيئي جرامي	< 0.016 نانوجزيئي جرامي	< 0.016 نانوجزيئي جرامي
[2]Replicon لنشاط EC_{50} gt1b	3 نانوجزيئي جرامي	2 نانوجزيئي جرامي	5 نانوجزيئي جرامي
AUC في plasma جرذ عند 25 mpk لكل إعطاء فموي[3]	38.5 ميكروجزيئي جرامي. ساعة	20.6 ميكروجزيئي جرامي. ساعة	5.8 ميكروجزيئي جرامي. ساعة
التركيز في كبد جرذ عند 24 ساعة (25 mpk لكل إعطاء فموي)[3]	18.4 ميكروجزيئي جرامي	27.9 ميكروجزيئي جرامي	8.5 ميكروجزيئي جرامي
AUC في plasma كلب عند 5 mpk لكل إعطاء فموي[3]	10.9 ميكروجزيئي جرامي. ساعة	48.6 ميكروجزيئي جرامي. ساعة	1 ميكروجزيئي جرامي. ساعة
التركيز في كبد كلب عند 24 ساعة	غير متاح	120 ميكروجزيئي جرامي	3.3 ميكروجزيئي جرامي

(5 mpk لكل إعطاء فموي)[3]			
ارتباط protein تساهمي في الجسم الحي[4]	plasma جرز عند 6 ساعات = BLQ، الكبد= 30±3 بيكوجزيء جرامي/ مجم protein	plasma جرز عند 6 ساعات = LOQ، الكبد= LOQ	plasma جرز عند 6 ساعات = BLQ، الكبد= BLQ
الخواص الفيزيائية[5]	يتناسب ملح potassium في المحلول	يتناسب ملح potassium في المحلول	لا يتناسب ملح potassium مع الشكل المتعادل البلوري في المحلول

Ki: ثابت التثبيط، الإشارة إلى < 0.016 نانوجزيئي جرامي تدل على أن النشاط الملاحظ يقل عن 0.016 نانوجزيئي جرامي، لا يحدد الاختبار الكمية الدقيقة التي تقل عن 0.016 نانوجزيئي جرامي؛ EC50: التركيز الفعال الذي يحقق كبح للنسخ الفيروسي بنسبة 50٪؛ gt: نوع جيني؛ AUC: المساحة تحت منحنى زمن/ التركيز في plasma؛ LOQ: الحد الكمي (3 بيكوجزيء جرامي/ مجم)؛ BLQ: أدنى من الحد الكمي.

مركب الصيغة (I) بالمقارنة مع مثال 110 *WO 2008/057209*

ما يلي هو الخواص المفيدة لمركب الصيغة (I) مقابل مركب المثال 110 من WO 2008/057209:

1) الخواص الفيزيائية (عدم تناسب الملح لأجل مركب الصيغة (I))؛

2) النمط الدوائي الحركي (Pharmacokinetic profile) في جرذان بعد إعطائهم ملح potassium؛ و

3) كشف الكبد (العضو المستهدف).

إن الاختلافات الموجودة في الخواص مفيدة تحديدًا لصياغة وإعطاء مركب الصيغة (I) بالمقارنة مع مركب المثال 110 من WO 2008/057209. إن تناسب الملح لمركب الصيغة (I) يمكن من ذوبان 1.8 مجم/ ملليلتر من شكل ملح +K من مركب المثال 1 في الماء. على الرغم من أن شكل الملح +K من مركب المثال 110 من WO 2008/057209 لديه قابلية ذوبان في الماء محسنة (9.7 مجم/ ملليلتر)، وبذلك لا يتناسب المركب الذائب بهذه الطريقة لإعطاء الشكل zwitterionic البلوري الذي لديه قابلية ذوبان في الماء منخفضة (< 0.009 مجم/ ملليلتر). إن افتقار هذه الخاصية لمركب المثال 1 يوفر ميزة غير متوقعة في صياغته من أجل الإعطاء الدوائي وينتج خواص دوائية حركية (pharmacokinetic properties) محسنة كما يقرر الجدول 1 (AUC في plasma وكشف الكبد للجرذ والكلب). إن plasma المرتفعة وكشف الكبد في الأنواع الإكلينيكية الأولية مفيدان في انتقاء الجرعات الآمنة والفعالة المستخدمة لمعالجة المرضى.

مركب الصيغة (I) بالمقارنة مع مثال 118 *WO 2008/057209*

تكمن ميزة ملحوظة لمركب من الصيغة (I) بالمقارنة مع مثال 118 من WO2008/057209 في نمط مقاومته ضد enzymes طفرية مختلفة. بالتوافق مع بيانات الدراسات الإكلينيكية المجراة مع العوامل المضادة للفيروس ذات الأصناف المتعلقة بالموضوع (مثل مثبطات HIV

protease)، وأيضًا بيانات الدراسات المجراة مع مثبطات HCV NS3 protease (مثل، VX-950، telaprevir). من المتوقع أن تتطور المقاومة الفيروسية استجابة للمعالجة مع المركبات الحالية. يبين مركب المثال 1 انجذاب enzyme محسن (Ki) ضد enzymes طفرية مختلفة معروف بأنها توفر المقاومة ضد مثبطات HCV NS3 protease. يلخص جدول 2 النشاط المضاد لأجل enzymes طفرية مختلفة. لذلك، قد تكون ميزة مركب 1 هي العائق المتزايد لتطور الفيروس المقاوم عند إعطاء هذا المركب للمرضى. يوفر أيضًا المركب ميزة محتملة لمعالجة مرضى فشلت العلاجات الأخرى في معالجتهم بسبب تطور المقاومة لأن المركب 1 قد يثبط هذا الفيروس المقاوم.

جدول 2: قيم[1] Ki مقابل enzyme الطفري 1b (نانوجزيئي جرامي)

انتقال 1b	D168T	D168A	D168E	D168G	D168V	D168Y	D168Q
مثال 1	0.18	0.43	0.04	0.08	0.14	0.22	0.12
مركب 118	0.78	0.86	0.12	0.45	0.65	1.5	0.42
انتقال 1b	A156S	A156T	A156V	R155K	R155Q	R155G	R155N
مثال 1	0.05	5.2	11	0.07	0.43	0.63	0.13
مركب 118	0.1	3.4	15	0.08	1.9	2.3	0.56

[1] بيانات مقارنة مجمعة في نفس دورة اختبارات enzyme

يعد ما يلي خواص أخرى مفيدة متوقعة لمركب الصيغة (I) مقابل مركب المثال 110 WO 2008/057209:

1) انخفاض الارتباط التساهمي في الجسم الحي؛ و

2) ارتفاع كشف الكبد و plasma.

وجد أن مركب الصيغة (I) لديه سمات جيدة جدًا فيما يتعلق بالارتباط التساهمي (covalent binding) في الجسم الحي وخواص حركيات دوائية (pharmacokinetic properties) جيدة جدًا. بناءًا على الارتباط التساهمي الملاحظ في الجسم الحي وخواص الحركيات الدوائية لمركب المثال 1، ومركب المثال 118 من WO 2008/057209، مركب الصيغة (I) سمات ارتباط تساهمي في الجسم الحي أفضل بكثير وخواص حركيات دوائية أفضل بكثير.

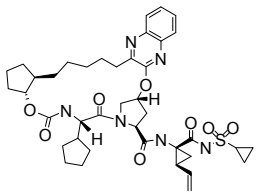
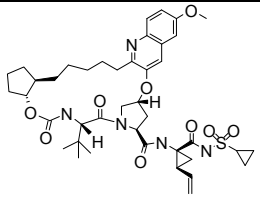
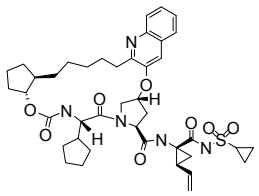
من المحتمل أن تؤدي المركبات التي ترتبط تساهميًا مع proteins، أو التي تشكل نواتج الأيض التي تصبح بعد ذلك مرتبطة تساهميًا مع proteins، إلى أحداث ضارة

في المرضى مثل السمية المناعية (immunological toxicities) التي تسببها استجابات مضاد الجسم إلى المادة المتحدة protein- عقار، وسميات أخرى مفرطة الحساسية. (انظر، Chem. Res. Toxicol. 2004, 17, 3-16.).

يبين مركب المثال 1 ارتباط غير متكشف مع plasma proteins بعد الإعطاء المعوي لجرعة مفردة 20 مجم/ كجم إلى الجرذان. (انظر الجدول 1). تحت شروط مماثلة، يظهر مركب المثال 118 من WO 2008/057209 قد يظهر ارتباط قابل للكشف مع proteins الكبد في الجرذ (انظر جدول 1)، ولذلك يعتبر مركبًا أقل تميزًا للإعطاء إلى كائنات آدمية عن مركب الصيغة (I).

يوفر جدول 3 بعض بيانات الارتباط التساهمي الإضافية في الجسم الحي الملاحظة للمركبات المتعلقة بالموضوع من WO 2008/057209 المحتوية على جزء (R,R)-trans-2-alkylcyclopentanol المندمج في المثال 118.

جدول 3

	WO 2008/057209 المثال 108	WO 2008/057209 المثال 103	WO 2008/057209 المثال 96
البناء			
ارتباط protein تساهمي في الجسم الحي[4]	plasma جرذ عند 6 ساعات = 15 بيكوجزيء جرامي مكافئ/ مجم الكبد= 38 بيكوجزيء جرامي مكافئ/ مجم	plasma جرذ عند 6 ساعات = 6 بيكوجزيء جرامي مكافئ/ مجم الكبد= 24 بيكوجزيء جرامي مكافئ/ مجم	plasma جرذ عند 6 ساعات = 6 بيكوجزيء جرامي مكافئ/ مجم الكبد= 63 بيكوجزيء جرامي مكافئ/ مجم

من المفيد أن يكون له كشف عال للكبد وplasma في الأنواع الإكلينيكية الأولية لفعالية إظهار أن العقار المختار المحتمل لا يوضح السميات غير المرغوبة. من المحتمل أكثر أيضًا أن يكون للمركب كشف عال لأجل plasma والكبد في الحيوانات يوضح نفس السلوك في الإنسان عن المركبات الأخرى. بالنسبة لهذا المركب، يمكن التوصل للكشف الفعال المطلوب في الإنسان بتعاطي جرعة منخفضة، مما يعد ميزة لتكاليف وسهولة تصنيع العقار، لكنه قد

يقلل أيضًا احتمالية حدوث تأثيرات ضارة. إن كشف عضو مستهدف في أنواع إكلينيكية أولية متعددة يوفر الأساس المنطقي الذي يتحقق به كشف المركب لدرجة كبيرة في العضو المستهدف في المرضى، وكشف الكبد لدرجة كبيرة في كل من الجرذ والكلب مما يسمح بالتقييم المؤكد للسمية الإكلينيكية الأولية. إن كشف الكبد لدرجة كبيرة مفيد تحديدًا لمرض HCV لأنه العضو الذي يستهدفه العقار.

إن مركب المثال 1 يتمتع بكشف كبد و plasma جيد جدًا في الجرذ. يكون كشف الكبد الملاحظ في الجرذ عند مستوى أكبر من مركب المثال 118 ومركب 110 من WO 2008/057209. (انظر جدول 1). بالاعتماد على هذه النتائج وعند اختبار عدة مركبات مختلفة من WO 2008/057209 بالإعطاء المعوي إلى كل من الجرذ (25 mpk) والكلب (5 mpk) يتوقع أيضا أن يكون للمركب من الصيغة (I) مستويات كشف للكبد في الكلب أعلى من مركب 118 ومركب 110 من WO 2008/057209.

الطرق

نشاط يثبط NS 3/4A [1] (Ki): يتحدد النشاط الذي يثبط NS 3/4A كما هو موصوف في الجزء IV.

Compound Evaluation s*upra.*, and Mao *et al., Anal Biochem 373*:1-8, 2008.

EC_{50} لنشاط Replcion [2]: يتحدد نشاط Replicon باستخدام الإجراءات الموصوفة في:

Carroll *et al., J. Biol. Chem. 278*:11979–11984, 2003 and Olsen *et al., Anti Microb. Agents 48*:3944-3953, 2004.

AUC في plasma جرذ عند 25 mpk لكل إعطاء فموي [3]: تذاب مركبات الاختبار في وسط تجريع ناقل مناسب للإعطاء في الوريد (مثلاً 20٪:60٪:20٪ PEG400:DMSO:ماء) أو لكل إعطاء فموي (مثلاً، 10٪ Polysorbate80: 90٪ ماء أو 100٪ PEG400). يجرى إعطاء جرعات للحيوانات (العدد = 3) باستخدام تصميم دراسة عابرة لغير القوارض. تجمع عينات plasma عند نقاط زمنية بين دقيقتين و 24 ساعة وتتحدد مستويات المركب بواسطة RP-HPLC. تجمع عينات الكبد بعد الموت في الجرذان ويتبعه التخدير (نصف ساعة قبل التشريح) في الكلاب. توزن عينات الكبد، تتجانس وتخفف باستخدام تقنيات معروفة لهؤلاء المهرة في الفن، وتتحدد مستويات المركب بواسطة RP-HPLC.

تحسب معايير الحركيات الدوائية على أساس التحليل غير التجزيئي (مثلاً، باستخدام Watson®، WinNolin®). إن تركيزات الجرعة المسبقة التي تكون أدنى من الحد الكمي (BLQ) تعين قيمة الصفر. بالنسبة إلى تقدير AUC المعوي، إن قيمة BLQ الأولى في المرحلة النهائية تعطي قيمة تكافئ نصف أدنى للحد الكمي، بينما القيم اللاحقة في المرحلة النهائية تعين قيمة الصفر. تحسب معايير الحركيات الدوائية القياسية CLp، Vdss، عمر النصف (فقط لأجل IV)، F٪، C_{max}، T_{max}، $AUC_{0\text{-}last}$، $AUC_{0\text{-}infinity}$. تحسب قيم AUC باستخدام طريقة شبه المنحرف الخطية للتركيزات التزايدية وطريقة لوغاريتم شبه المنحرف للتركيزات التناقصية.

الارتباط التساهمي في الجسم الحي[4]: تعلم إشعاعيًا بصورة مناسبة مركبات الاختبار (3H) وتحضر جرعة 20 مجم/ كجم محتوية على نشاط إشعاعي 25–75 مللي كيورس/ جرذ (نقاء > 98.5٪) باتحاد المركب البارد ومحلول التخزين المقتفي لأثر الإشعاع المتبخر. يذاب هذا الخليط في وسط ناقل للتجريع مناسب للإعطاء الفموي (انظر أعلاه) ثم يعطى معويًا إلى جرذ (عدد = 3 لكل نقطة زمنية، ساعتين، 6 ساعات، 24 ساعة). تجمع plasma والكبد وتخزن/ تجمد وميضيًا عند −80°مئوية قبل التحليل.

عد عينات plasma: توضع 200 ميكرولتر من قاسم تام في قارورة وميض سعة 20 ملليلتر. تضاف 500 ميكرولتر من Solvable™ وتحضن عند ساعة واحدة مع الرج عند 55°مئوية. يزال الخليط، يسمح له بالتبريد قبل إضافة 15 ملليلتر من مزيج الوميض، ويجرى العد. تعالج بعدئذ عينات plasma (200 ميكرولتر من القاسم التام) كما هو موصوف أدناه لأجل proteins الكبد.

تجانس النسيج: تخفف عينات الكبد الموزونة مع حجمين من مثبت أس هيدروجيني phosphate 100 مللي جزيئي جرامي (أس هيدروجيني 7.4) وتتجانس على ثلج.

عد المادة المتجانسة للكبد: توضع القواسم التامة في قارورة وميض سعة 20 ملليلتر، تخفف مع 1 ملليلتر من Solvable™ وتحضن لمدة ساعة واحدة مع الرج عند 55°مئوية. بعد إزالة الخليط من جهاز التحضين وتبريده يضاف 15 ملليلتر من مزيج الوميض و30٪ H_2O_2 ويتم عد النشاط الإشعاعي.

ترسيب protein: تؤخذ 500 ميكرولتر من القاسم التام، يضاف 8:1 من المادة المتجانسة: acetonitrile (عند احتمال أن المركب له قابلية ذوبان منخفضة في acetonitrile، وقد ينتقى مذيب آخر)، يتم تدويمها وطردها مركزيًا (3500 rcf لمدة 20 دقيقة). تطرح المادة الطافية.

إعادة تعليق المادة المترسبة protein: التعرض للموجات الصوتية (أدنى شدة، < 5 ثوان) ويجرى تدويمها حتى تتفتت الكرية في 80٪ MeOH : 20٪ ماء.

غسيل كرية protein: 2–5 ملليلتر من 20:80 MeOH : ماء. عند الحاجة، يزال 1 ملليلتر من المادة الطافية، تضاف 15 ملليلتر من مزيج الوميض ويجرى العد. يستمر غسيل كرية protein حتى يكون النشاط الإشعاعي في المادة الطافية < 200 DPM أو تتوقف DPMs عن الانخفاض بأكثر من 200 في غسلات متعاقبة.

ذوبان الكرية النهائية: 1 ملليلتر من NaOH 1 عياري أو Solvable™، تحضن عند 50°مئوية طوال الليل أو حتى يكتمل ذوبانها.

عد الكرية النهائية: 1 ملليلتر من الكرية الذائبة، 15 ملليلتر من مزيج الوميض (عندما يستخدم مزيج الوميض الآخر بخلاف Ultima Gold™، قد تتطلب الكرية أن تتعادل باستخدام HCl 1 عياري)، ويجرى العد.

تركيز protein للكرية النهائية: BCA أو مجموعة Bio-Rad باستخدام BSA كمعيار.

عد العينات الفارغة: 15 ملليلتر من مزيج الوميض، في نسختين.

عد محلول التجريع: عدد حجم معروف من محلول التجريع في 3 نسخ.

تحليل البيانات: يجرى عد متوسط النشاط الإشعاعي (DPM) لمحلول التجريع ويحسب النشاط النوعي لمحلول التجريع بالميكروكيورس/ جزيء جرامي. يتم عد متوسط النشاط الإشعاعي للعينات الفارغة. تطرح عدات العينة الفارغة المتوسطة من العينات الناتجة من كل كرية plasma وكبد. تحسب كمية النشاط الإشعاعي (ميكروكيورس) لكل حجم وحدة (لتر) لكل كرية plasma وكبد. يحسب تركيز النشاط الإشعاعي في كل كرية كبد وplasma بتقسيم القيمة الناتجة أعلاه (ميكروكيورس/ لتر) بالنشاط النوعي (ميكروكيورس/ جزيء جرامي). تحسب كمية النشاط الإشعاعي المرتبط تساهميًا مع protein بالبيكوجزيء جرامي/ مجم من protein.

عد العينات الفارغة: 15 ملليلتر من مزيج الوميض، في نسختين.

عد محلول التجريع: عد حجم معروف من محلول التجريع في 3 نسخ.

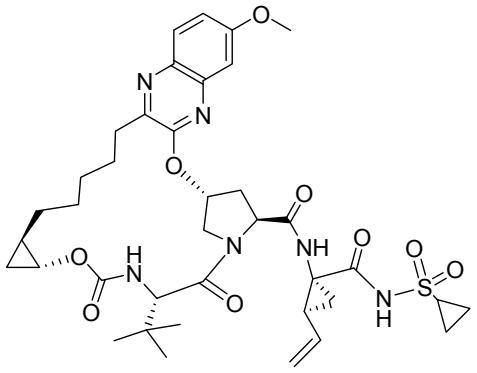
الخواص الفيزيائية [5]: توزن مركبات الاختبار المتبلورة (ملح potassium، حوالي 5 مجم) في قارورة زجاجية ويضاف ماء أو مثبت أس هيدروجيني مائي (100 ميكرولتر). يقلب الملاط الناتج لمدة 24 ساعة عند درجة حرارة الغرفة. بعد الطرد المركزي، تحلل المادة الطافية بواسطة HPLC طور معكوس وتتحدد قابلية الذوبان للاتزان بالمقارنة مع منحنى معايرة. تكون المادة الصلبة منقولة جزئيًا على طبق XRPD، تجفف ثم تحلل بواسطة حيود مسحوق أشعة X. يقارن نمط XRPD مع الأمثلة المقارنة الموجبة لأجل ملح +K المتبلور، zwitterionic المتبلور (أو الحمضي) والأشكال غير المتبلورة من مركب الاختبار. يتم الحصول على تحديد آخر لشكل الملح من قسم ثان من المادة الصلبة التي جرى تحليلها بواسطة NMR 400 ميجاهرتز (Bruker) يليه الذوبان في DMSO-d_6. تقارن أطياف 1H-NMR مع الأمثلة المقارنة الموجبة الموصوفة أعلاه.

لا يعتبر أي من المراجع الموصوفة طوال الطلب الحالي فنًا سابقًا بالنسبة للاختراع المطالب به المحدد هنا.

تدخل تجسيدات أخرى ضمن نطاق عناصر الحماية التالية. بالرغم من توضيح ووصف عدة تجسيدات، قد تجرى تعديلات عديدة دون التخلي عن روح ونطاق الاختراع الحالي.

عناصر الحماية

1 1- مركب (compound) من الصيغة (I)، أو ملح مقبول دوائيًا من ذلك:



2

3 (I)

1 2- تركيبة دوائية (pharmaceutical composition) تشمل كمية مؤثرة (effective amount)
2 من مركب (compound) عنصر الحماية 1 ومادة حاملة (carrier) مقبولة دوائيًا.

1 3- التركيبة الدوائية (pharmaceutical composition) من عنصر الحماية 2، تشتمل إضافيًا
2 على عامل علاجي (therapeutic agent) ثان منتقى من المجموعة المكونة من مثبط
3 HCV protease ومثبطات HCV NS5B polymerase.

1 4- المركب (compound) من عنصر الحماية 1 لاستخدامه في دواء (medicine).

1 5- المركب (compound) من عنصر الحماية 1 لاستخدامه في منع (prevention) أو معالجة
2 الإصابة بعدوى HCV (infection treatment).

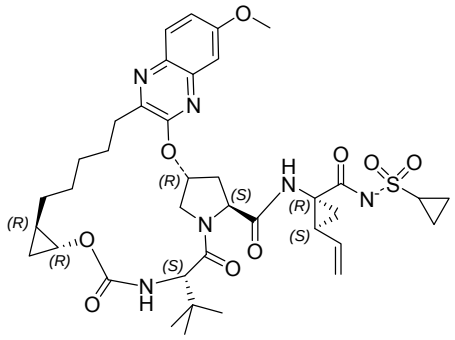
1 6- استخدام (use) المركب (compound) أو التركيبة (composition) طبقًا لأي واحد
2 من عناصر الحماية من 1 إلى 3 في تحضير دواء (medicament) لتثبيط نشاط
3 HCV NS3 protease في كائن (subject) محتاج لذلك.

1 7- استخدام (use) المركب (compound) أو التركيبة (composition) طبقًا لأي واحد
2 من عناصر الحماية من 1 إلى 3 في تحضير دواء (medicament) لمنع (preventing) أو
3 معالجة الإصابة بعدوى HCV (treating infection) في كائن (subject) محتاج لذلك.

مركبات كوينوكسالين دائرية كبيرة كمثبطات بروتياز HCV NS3

الملخص

يتعلق الاختراع الحالي بمركب دائري كبير (macrocyclic compound) من الصيغة (I) واستخدامه كمثبطات NS3 protease لفيروس التهاب الكبد الوبائي C (hepatitis C virus) (HCV)، وفي معالجة (treating) أو منع الإصابة بعدوى (preventing infections) HCV.



(I)

مكتب براءات الاختراع

لمجلس التعاون لدول الخليج العربية

براءاة اختراع رقم: GC0003611

تعتبر هذه البراءة سارية المفعول لمدة عشرين عاماً اعتباراً من21/07/2009 م ، وتنتهي بنهاية: 21/07/2029 م وذلك بشرط تسديد الرسوم السنوية للبراءة وعدم بطلانها أو سقوطها لمخالفتها لأي من أحكام نظام براءات الاختراع أو اللائحة التنفيذية.

ملاحظات :
عند حدوث عدم وضوح في نص المواصفة المرفقة فيسترشد بالنص الذي تم على أساسه فحص الطلب.