

ROYAUME DU MAROC  
-----  
OFFICE MAROCAIN DE LA PROPRIÉTÉ (19)  
INDUSTRIELLE ET COMMERCIALE  
-----



المملكة المغربية  
-----  
المكتب المغربي  
للملكية الصناعية والتجارية  
-----

## (12) FASCICULE DE BREVET

(11) N° de publication : **MA 35064 B1**  
(51) Cl. internationale : **C07D 495/04; A61K 31/495;  
A61P 9/00**  
(43) Date de publication : **03.04.2014**

---

(21) N° Dépôt : **36364**  
(22) Date de Dépôt : **24.10.2013**  
(30) Données de Priorité : **01.04.2011 GB 1105659.5**  
(86) Données relatives à l'entrée en phase nationale selon le PCT : **PCT/GB2012/050710 29.03.2012**  
(71) Demandeur(s) : **XENTION LIMITED, Iconix Park London Road Pampisford Cambridge CB22 3EG (GB)**  
(72) Inventeur(s) : **JOHN, Derek Edward ; FORD, John**  
(74) Mandataire : **ABU-GHAZALEH INTELLECTUAL PROPERTY (TMP AGENTS)**

---

(54) Titre : **DÉRIVÉS DE THIÉNO[2,3-D]PYRIMIDINE ET LEUR UTILISATION POUR TRAITER L'ARYTHMIE**  
(57) Abrégé : La présente invention concerne des composés thiénopyrimidine qui sont des inhibiteurs de canaux potassiques. Elle concerne également des compositions pharmaceutiques comprenant les composés et leur utilisation dans le traitement de l'arythmie.

- أ -

(مشتقات ثينو [2، 3-D] بيريميدين واستخدامها لعلاج عدم انتظام إيقاع القلب)

### الملخص

يتعلق الاختراع الحالي بمركبات ثينو بيريميدين وهي عبارة عن مشبطات لقنوات البوتاسيوم. كما يتعلق الاختراع بتركيبات صيدلانية تشتمل على المركبات واستخدامها في علاج عدم انتظام إيقاع القلب.

مشتقات ثينو [2، 3-D] بيريميدين واستخدامها لعلاج عدم انتظام إيقاع القلب

01 AVR 2014

الوصف الكاملالمجال التقني:

يتعلق الاختراع الحالي بمركبات ثينو بيريميدين التي تكون عبارة عن مثبطات لقنوات البوتاسيوم.

5 كما يوفر الاختراع تركيبات صيدلانية تشتمل على المركبات واستخدامها في علاج عدم انتظام إيقاع القلب.

الخلفية التقنية:

إن القنوات الأيونية عبارة عن بروتينات تمتد عبر طبقة الدهون الثنائية لغشاء الخلية وتوفر ممراً مائياً يمكن لأيونات محددة مثل  $Na^+$  و  $K^+$  و  $Ca^{2+}$  و  $Cl^-$  أن تمر من خلاله (Herbert, 1998).

10 تمثل قنوات البوتاسيوم المجموعة الفرعية الأكبر والأكثر تنوعاً للقنوات الأيونية كما أنها تلعب دوراً مركزياً في تنظيم القدرة الغشائية والتحكم في الاستثارة الخلوية (Armstrong & Hille, 1998). وقد تم تصنيف قنوات البوتاسيوم إلى عائلات جينية بناءً على متواليات الحمض الأميني الخاصة بها وخواصها الحيوية الفيزيائية (للاطلاع على المصطلحات انظر Gutman *et al.*, 2003).

15 للمركبات التي تعدل قنوات البوتاسيوم العديد من الاستخدامات العلاجية في العديد من النواحي المرضية والتي تتضمن الأمراض الوعائية القلبية، العصبية، السمعية، الكلوية، الأيضية وتكاثر الخلية (Shieh *et al.*, 2000; Ford *et al.*, 2002). وبشكل أكثر تحديداً، تشارك قنوات البوتاسيوم مثل  $Kv4.3$ ،  $Kir2.1$ ،  $hERG$ ،  $KCNQ1/minK$ ، و  $Kv1.5$  في طور إعادة استقطاب جهد التأثير في الخلايا العضلية القلبية. ويرتبط بهذه الأنواع الفرعية لقنوات البوتاسيوم أمراض

واضطرابات قلبية وعائية تتضمن متلازمة QT الطويلة، التضخم، التليف البطيني، والتليف الأذيني، والتي يمكن أن تسبب جميعها في قصور القلب والوفاة (Marban, 2002).

ويتم التعبير بشكل شامل عن الوحدة الفرعية لقنوات البوتاسيوم البشرية المتحكم فيها بالجهد المعدلة المتأخرة، Kv1.5، في الخلايا العضلية الأذينية ويعتقد أنها توفر فرص علاجية للسيطرة

5 على التليف الأذيني للعديد من الأسباب المختلفة (انظر الاستعراض المقدم من قبل Brendel

and Peukert, 2002): (1) هناك دليل على أن Kv1.5 توفر التيار الفسيولوجي القلبي المعدل

المتأخر فائق السرعة (Kv<sub>(ur)</sub>) في البشر بسبب تشابه الخواص الفيزيائية الحيوية والدوائية (Wang

et al., 1993; and Fedida et al., 1993). وقد تم دعم ذلك بقليلات النوكليوتيد المضادة لاتجاه

النسخ لـ Kv1.5 التي اتضح أنها تقلل من سعة Kv<sub>(ur)</sub> في الخلايا العضلية الأذينية البشرية (Feng

10 et al., 1997). (2) أظهرت التسجيلات الفسيولوجية الكهربائية أنه يتم التعبير بشكل انتقائي

عن Kv<sub>(ur)</sub> في الخلايا العضلية الأذينية، وبالتالي فهي تتجنب حث عدم انتظام إيقاع القلب

البطيني المميت من خلال التدخل مع إعادة الاستقطاب البطيني (Amos et al., 1996; Li et al.,

1996; and Nattel, 2002). (3) يطيل تثبيط Kv<sub>(ur)</sub> في الخلايا العضلية الأذينية ابشرية من نوع

التليف الأذيني من مدة جهد التأثير مقارنةً بالخلايا العضلية الأذينية البشرية الطبيعية الصحية

15 (Courtemanche et al., 1999). (4) يمكن أن تؤدي إطالة مدة جهد التأثير من خلال التثبيط

الانتقائي لـ Kv1.5 إلى تداخلات دوائية آمنة للحماية من حالات عدم انتظام إيقاع القلب

الأذيني المستعادة مثل التليف الأذيني والرفرفة الأذينية مقارنةً بمضادات عدم انتظام إيقاع القلب

التقليدية من الفئة 3، من خلال إطالة فترة المقاومة الأذينية بينما تترك المقاومة البطينية غير

متغيرة (Nattel et al., 1999, Knobloch et al., 2002; and Wirth et al., 2003). لقد وردت

20 مضادات عدم انتظام إيقاع القلب المنتمية للفئة 3 بشكل كبير كطريقة مفضلة لعلاج حالات

عدم انتظام إيقاع القلب (Colatsky et al., 1990).

لقد وردت معيقات قنوات البوتاسيوم المضادة لعدم انتظام إيقاع القلب التقليدية والجديدة المنتمة للفتة 3 بأنها تتمتع بآلية تأثير من خلال التعديل المباشر ل Kv1.5 أو  $Kv_{(ur)}$ . وقد وردت مضادات عدم انتظام إيقاع القلب المعروفة المنتمة للفتة 3؛ الأمباسيليد (Feng *et al.*, 1997)، كوينيدين (Wang *et al.*, 1995)، كلوفيلوم (Malayev *et al.*, 1995)، وبيروتوساميل (Godreau *et al.*, 2002) 5 كمعوقات قنوات البوتاسيوم ل  $Kv_{(ur)}$  في الخلايا العضلية الأذينية البشرية. ويعيق مشتق البنزو بيران الجديد، NIP-142، قنوات Kv1.5، ويطيل من فترة المقاومة الأذينية وينهي التليف والرفرفة الأذينية في نماذج كلبية داخل الجسم الحي (Matsuda *et al.*, 2001)، وثبط S9947 من Kv1.5 المعبر عنه بشكل ثابت في كلٍ من الخلايا البيضية Xenopus وخلايا مبيض همستر صيني (CHO) و  $Kv_{(ur)}$  في خلايا عضلية قلبية بشرية وجرذية أصلية (Bachmann *et al.*, 2001). وفي موضع آخر، لقد تم وصف معدلات قنوات البوتاسيوم الأخرى الجديدة والتي تستهدف Kv1.5 أو  $Kv_{(ur)}$  لعلاج حالات عدم انتظام إيقاع القلب، وتتضمن هذه المعدلات مركبات باي فينيل (Peukert *et al.* 2003)، أميدات لحمض ثيوفين كربوكسيلي (WO0248131)، مشتقات بيس أريل (WO0244137، WO0246162)، مشتقات كربون أميد (WO0100573)، مركبات أميد لحمض أنثرانيليك (WO2002100825، WO02088073)، 10 مشتقات داي هيدرو بيريميدين (WO0140231)، مشتقات سيكلو ألكيل (WO03063797)، مشتقات إندان (WO0146155، WO9804521)، مشتقات تترالين بنزو سيكلو هبتان (WO9937607)، مشتقات ثيازولينون وميتا ثيازانون (WO9962891)، مشتقات بنزاميد (WO0025774)، مشتقات أيزو كينولين (WO0224655)، مشتقات بيريدازينون (WO9818475، WO9818476)، مشتقات كرومان (WO9804542)، مشتقات بنزو بيران (WO0121610، WO03000675، WO0121609، WO0125224، WO02064581)، مشتقات 20 بنزوكسازين (WO0012492)، المركب الجديد A1998 المنقى من مادة Ocean (Xu & Xu,

(2000). وقد وردت مثبطات قنوات البوتاسيوم العامة المتحكم فيها بالجهد والتي يمكن أن تعدل Kv1.5 أيضًا (US05753676، US05821251، EP0743936B).

لقد وردت مركبات ثينو بيريميدين بكونها مفيدة كعوامل مضادة للالتهاب، مضادة للفطريات، مضادة لهشاشة العظام ومضادة للميكروبات، وكعوامل قلبية وعائية (تعمل عبر تعديل مجموعة فوسفو داي إستراز للإنزيمات وعبر تعديل نظام تبادل الصوديوم/البروتون) من بين أمورٍ أخرى. 5

يمكن أن تعمل مركبات ثينو [2، 3-d]- بيريميدين التي بها استبدال عند الموضع 4 بشق بنزيل أمين أو فينيثيل أمين به استبدال بشكل اختياري وفي الموضع 5 بمجموعة ميثيل كعوامل مضادة للالتهاب أو مضادة لهشاشة العظام (Katada et al., 1999). وقد اتضح أن هذه المركبات تعدل من نشاط العديد من أنواع الخلايا التي تتضمن الكريات البيضاء، التي تنشأ من خلايا منتجة مكونة للدم في نخاع العظمي. ويمكن أن يؤدي فرط النشاط في الكريات البيضاء إلى العديد من الأمراض الالتهابية؛ وبالتالي يمكن أن تعمل المركبات التي لها نشاط سام للخلايا بالنسبة للكريات البيضاء كعقاقير مضادة للالتهاب. ويعتقد أن هذه المركبات تمنع النشاط الخلوي من خلال الارتباط بالأنتجرين على سطح الكريات البيضاء وتمنع حالات إرسال الإشارات الخلوية البعدي. ويمكن أن تكون مركبات ثينو [2، 3-d]- بيريميدين التي بها استبدال عند الموضع 4 بمركبات أريل ثيول غير متجانسة، مركبات أريل ثيول، مركبات أريل ميثيل ثيول، مركبات أريل أمين غير متجانسة، بنزيل أمين، هيدروكسيل ومجموعات كلورو مفيدة كعوامل مضادة للالتهاب (Stewart et al., 2001). وقد اتضح أن هذه السلسلة من المركبات تثبط التعبير الوراثي المستحث عن جزيئات التصاق الخلايا على السطح اللمعي للبطانة الوعائية مما يمنع التصاق الكريات البيضاء عند موقع الالتهاب. 15

وقد اتضح أن لمركبات ثينيو [2، 3-d]- بيريميدين التي بها هيدرازين به استبدال في الموضع 4 ومجموعة فينيل في الموضع 5 (Hozien et al., 1996)، مركبات تترا هيدرو بنزو [b] ثينيو [2، 3-d] بيريميدين (Ismail et al., 1995)، مركبات ثينيو [2، 3-d]- بيريميدين التي بها مجموعة هيدروجين، كلورو، هيدرازين، سيكليل غير متجانسة، أمينو، ميثيل، إيثيل أو فينيل في الموضع 2، مجموعة استبدال ألكيل أمينو، ألكيل أريل أمينو، أمينو، داي ألكيل أمينو أو هيدرازينو في الموضع 4، مجموعة هيدروجين أو ميثيل في الموضع 5، مجموعة هيدروجين، ميثيل أسيتاميد أو فينيل في الموضع 6 أو تترا ميثيلين في الموضع 5، 6 (GB7549025)، والسلسلة الرئيسية لـ 5- فينيل ومركبات 5، 6- تترا ميثيلين ثينيو [2، 3-d]- بيريميدين بمجموعة ميثيل أو فينيل في الموضع 2 وألكيل أمينو أو أريل أمينو في الموضع 4 (Konno et al., 1989)، اتضح أن جميعها له نشاط مضاد للميكروبات. وقد أظهر تترا هيدرو بنزو ثينيو [2، 3-d] بيريميدين مع شق 2- أوكسو- 3- بيروليدينيل ميثيلين- هيدرازينو في الموضع 4 بعض النشاط المبيد للأعشاب ضد أوراق أذن الدب (Ram et al., 1981). وقد ورد أيضًا أن 4- كلورو تترا هيدرو بنزو ثينيو [2، 3-d] بيريميدين مبيد للأعشاب، وتكون مركبات تترا هيدرو بنزو ثينيو- [2، 3-d] بيريميدين بمجموعة استبدال ثيول، هيدرازين، 2- فلورو أنيلينو، 3- فلورو أنيلينو أو 4- داي إيثيل أنيلينو في الموضع 4 مبيدة للأعشاب ضد *Streptococcus faecalis* وتكون مركبات تترا هيدرو بنزو ثينيو- [2، 3-d] بيريميدين بمجموعة استبدال 2، 4- داي كلورو بنزيل أمينو أو 2- فلورو أنيلينو في الموضع 4 مبيدة للفطريات ضد *Pythium* (Ram, 1979). وقد وردت مركبات تترا هيدرو بنزو ثينيو- [2، 3-d] بيريميدين بمجموعة هيدروجين، هيدروكسيل، ثيول، هالوجين أو سيانو في الموضع 2، مجموعات ألكيل أمينو، أريل ألكيل أمينو أو هيدروكسي ألكيل أمينو في الموضع 4، هيدروجين، ألكيل أو هالوجين في الموضع 5 و/أو 6 أو ألكيلين في الموضع 5، 6 بأنها عوامل تحكم في القراد (AU 521790).

في موضع آخر، أظهرت مركبات ثينو [2، 3-d]- بيريميدين نشاطاً مضاداً للأورام (Shehata et al., 1996) ونشاطاً مسكناً يعادل نصف نشاط الأسبرين (Moneer et al., 1994)، وقد أظهرت مجموعة من مركبات ثينو [2، 3-d]- بيريميدين بمجموعة 4- ألكيل أمينو أو أريل أمينو، 5-H أو 5- ميثيل، 6- ميثيل أو 5، 6- تتراميثيلين قدرة كمضادات للسيتوكينين (Jordis et al., 1986)، وأظهرت مجموعة من مركبات 5، 6- داي ميثيل- ثينو [2، 3-d]- بيريميدين ومركبات 5، 6- تتراميثيلين ثينو [2، 3-d]- بيريميدين، كلتاها بهما استبدال في الموضع 2 بمجموعات أريل أمين أو أمينات حلقة غير متجانسة في الموضع 4 بمجموعات أريل أمين خواص تثبيط تكتل الصفائح الدموية (DD 226893)، كما أظهرت مركبات ثيو بيرانو [3، 4-b] ثينو [5، 4-d]- بيريميدين بها استبدال عند الموضع 4 بأمينو، بيوتيل أمين، أنيلين، سيكلو هكسيل أمين، بنزيل أمين، فينثيل أمين، و 2- هيدروكسي إيثيل أمين نشاطاً مضاداً للتشنجات (Noravyan et al., 1977)، وورد أن 4- [بنزو-2، 1، 3- ثياديازوليل-4] أمينو]- 5، 6، 7، 8- تتراميثيرو بنزو ثينو- (2، 3-d)- بيريميدين تتمتع بنشاط طارد للديدان في داء المشوكات السنخي اليرقي (RU 2116309).

وتم طلب حماية مركبات ثينو [2، 3-d]- بيريميدين التي بها مجموعة أمينو بها استبدال عند الموضع 4، استبدال هيدروجين، ألكيل أو هالو عند المواضع 5 و 6 وسلسلة ألكيل عند الموضع 2 بكونها مثبطات لفوسفو داي إستراز V وكونها مفيدة في علاج الأمراض القلبية الوعائية وللاضطرابات في الفعالية (DE10104802).

في موضع آخر، لقد وجد أن مركبات 5- ألكيل - ثينو [2، 3-d] بيريميدين التي بها مجموعة استبدال بـ رازينيل عند الموضع 4 مثبطات لمبادلات الصوديوم/البروتون كما تكون مفيدة لعلاج العديد من الاضطرابات الوعائية القلبية، والتي تتضمن الذبحة الصدرية وعدم انتظام إيقاع القلب (WO 01/27107).



لقد وجد أن مركبات 4- [(فينيل) أمينو]- ثينيو [2، 3-d] بيريميدين الحاملة لمجموعة استبدال 5- ثيو فينيل ومجموعة استبدال 2- ميثيل تتمتع بنشاط مبيد للرخويات ( Hosni et al, Acta Poloniae Pharmaceutica, 1999, 56(1), 49-56).

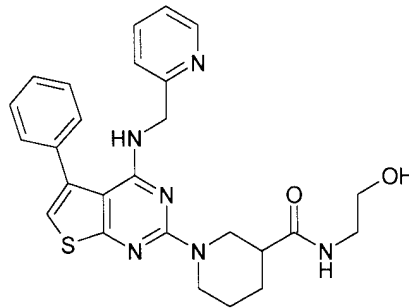
ومؤخرًا، ورد أيضًا أن مركبات ثينيو بيريميدين كمثبطات VEGFR فعالة (Munchhof, 2004).

5 تكشف العديد من النشرات عن المركبات التي تمت الإشارة إليها بأنها تؤثر على قنوات البوتاسيوم. وبالتالي، تكشف US6531495 عن مركبات 2- أمينو ميثيل باي فينيل - 3- كربوكساميد، ويكشف الطلب الدولي رقم WO2002/100825 عن مركبات أميد لحمض أنثرانيليك كمضادات لعدم انتظام إيقاع القلب ويكشف الطلب الدولي رقم WO2002/036556 عن مركبات أسيل أمينو ألكيل بنزين سلفوناميد في صورة عوامل وعائية قلبية.

10 ويكشف الطلب الدولي رقم WO 2004/111057 عن مركبات ثينيو بيريميدين المفيدة كمثبطات لقنوات البوتاسيوم وتحديدًا لتثبيط قنوات البوتاسيوم Kv1.5 أو Kv(ur).

### الكشف عن الاختراع:

يوفر جانب أول للاختراع مركب له الصيغة (Ia)

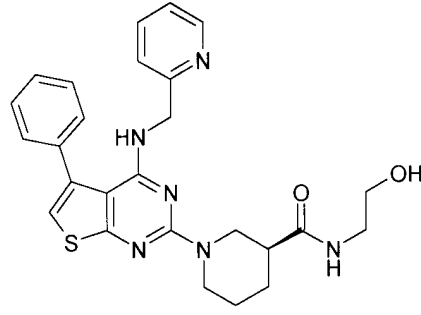


(Ia)

15

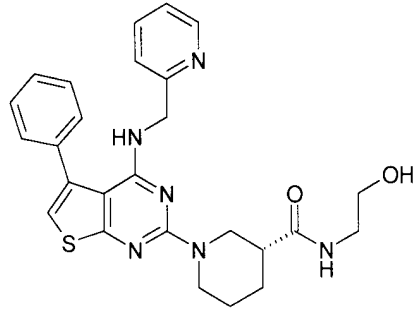
أو إستر أو ملح مقبول صيدلانيًا منه.

في أحد النماذج، يكون للمركب الصيغة (Ib)



.(Ib)

في نموذج آخر، يكون للمركب الصيغة (Ic)



.(Ic)

5

في نموذج آخر، يشتمل المركب الذي له الصيغة (Ia) على خليط من المركبات التي لها الصيغ (Ib) و (Ic). في نموذج آخر، يشتمل المركب الذي له الصيغة (Ia) على خليط راسيمي من المركبات التي لها الصيغ (Ib) و (Ic). في نموذج آخر بديل، يشتمل المركب الذي له الصيغة (Ia) على زيادة تشاكلية من المركب الذي له الصيغة (Ib) أو زيادة تشاكلية من المركب الذي له

الصيغة (Ic) 10

يوفر جانب ثانٍ من الاختراع تركيبة صيدلانية تشتمل على واحد على الأقل من المركبات المذكورة أعلاه، وبشكل اختياري، واحد أو أكثر من سواغات مقبولة صيدلانيًا.

تكون مركبات وتركيبات الاختراع مثبتات لقنوات البوتاسيوم المفيدة على وجه التحديد لتثبيط قنوات البوتاسيوم Kv1.5 أو Kv(ur) لعلاج عدم انتظام إيقاع القلب في الأذين مثل التليف الأذيني. ولا يقتصر الاختراع الحالي على علاج حالات عدم انتظام إيقاع القلب، حيث تفيد المركبات أيضاً في علاج الأمراض التي تحتاج إلى تثبيط قنوات البوتاسيوم (على سبيل المثال (Shieh et al., 2000; Ford et al., 2002). 5

وبالتالي، يوفر جانب ثالث للاختراع طريقة لتثبيط قنوات البوتاسيوم، تشمل على إعطاء الخاضع للعلاج كمية فعالة من مركب واحد على الأقل أو تركيبة واحدة على الأقل وفقاً للاختراع. ويوفر هذا الجانب من الاختراع أيضاً مركب أو تركيبة الاختراع للاستخدام في تثبيط قنوات البوتاسيوم. بالإضافة إلى ذلك، يوفر هذا الجانب من الاختراع أيضاً استخدام مركب الاختراع لتصنيع دواء للاستخدام في تثبيط قنوات البوتاسيوم. كما هو مستخدم هنا، تتضمن "طريقة لتثبيط قنوات البوتاسيوم" و"استخدام في تثبيط قنوات البوتاسيوم" طرقاً واستخدامات لعلاج أو الوقاية من اضطراب يستجيب لتثبيط وظيفة قنوات البوتاسيوم. ويمكن أن يكون هذا الاضطراب عبارة عن عدم انتظام إيقاع القلب. 10

تتمتع مركبات الاختراع بخواص تفوق تلك الخاصة بالفن السابق، وتحديداً من حيث الفعالية و/أو الانتقائية. 15

الوصف التفصيلي للاختراع:

خليط راسيمي

يحتوي "خليط راسيمي" على كميات متساوية تقريبًا من المركبات التي لها الصيغة (Ib) والصيغة (Ic). بعبارة أخرى، يحتوي مركب أو تركيبة تشتمل على "خليط راسيمي" من المركبات لها

5 الصيغة (Ib) والصيغة (Ic) على خليط من المركبات بنسبة حوالي 1:1، أو 50:50.

زيادة تشاكلية

يشتمل مركب أو تركيبة تشتمل على "زيادة تشاكلية" من المركب الذي له الصيغة (Ib) أو المركب الذي له الصيغة (Ic) على كمية من هذا المتشاكل أكبر من الآخر (المعروف أيضًا باسم خليط غير راسيمي).

10 إن الزيادة التشاكلية عبارة عن زيادة أحد المركبات عن الآخر، والمعبر عنها بنسبة مئوية من

الكل. على سبيل المثال، يكون الخليط بنسبة 98:2 من المركب الذي له الصيغة (Ib) إلى المركب الذي له الصيغة (Ic) بزيادة تشاكلية بنسبة 96% من المركب الذي له الصيغة (Ib).

وهكذا، يمكن أن تشتمل مركبات وتركيبات الاختراع على زيادة تشاكلية من المركب الذي له الصيغة (Ib) تبلغ على الأقل 5%، 10%، 15%، 20%، 25%، 30%، 35%،

15 40%، 45%، 50%، 55%، 60%، 65%، 70%، 75%، 80%، 85%،

90%، 95% أو تصل إلى 100% (أي نقى تشاكليًا، حتى حد الكشف عن النقاء). على

نحوٍ بديل، يمكن أن تشتمل مركبات وتركيبات الاختراع على زيادة تشاكلية من المركب الذي له

الصيغة (Ic) تبلغ على الأقل 5%، 10%، 15%، 20%، 25%، 30%، 35%،

40% ، 45% ، 50% ، 55% ، 60% ، 65% ، 70% ، 75% ، 80% ، 85% ،  
90% ، 95% أو تصل إلى 100%.

مصطلحات *R* و *S*

كما هو مستخدم هنا، يشير المصطلح أيزومر "R" أو "S" إلى المتشاكلين المحتملين وفقًا لنظام

5 Cahn-Ingold-Prelog المستخدم بواسطة the International Union of Pure and Applied

Chemistry (IUPAC). وهكذا، يكون المركب الذي له الصيغة (Ib) عبارة عن "الأيزومر S"

ويكون المركب الذي له الصيغة (Ic) عبارة عن "الأيزومر R".

إستر أو ملح مقبول صيدلانيًا منه

يتضمن المصطلح "إستر مقبول صيدلانيًا" مركبات الاختراع حيث يمكن استبدال ذرة

10 الهيدروجين الخاصة بمجموعة الكحول لتكوين إستر (على سبيل المثال يمكن استبدال ذرة

الهيدروجين بـ  $C_{1-6}(O)C-$  ألكيل).

يتضمن المصطلح "ملح مقبول صيدلانيًا" ملحًا تم تحضيره من أحماض أو قواعد غير سامة

ومقبولة صيدلانيًا وتتضمن أحماض وقواعد عضوية أو غير عضوية.

تتضمن أملاح إضافة الحمض المقبولة صيدلانيًا لمركبات الاختراع، على سبيل المثال وليس

15 الحصر، تلك الخاصة بأحماض غير عضوية مثل أحماض هيدروهاليك (على سبيل المثال حمض

هيدروكلوريك، هيدروبروميك وهيدرويودييك)، حمض كبريتيك، حمض نيتريك، وأحماض

فوسفوريك. بالإضافة إلى ذلك، تتضمن أملاح إضافة الحمض المقبولة صيدلانيًا لمركبات

الاختراع، على سبيل المثال وليس الحصر، تلك الخاصة بالأحماض العضوية مثل الفئات

الأليفاتية، العطرية، الكربوكسيلية والسلفونية للأحماض العضوية، وتتضمن أمثلتها: أحماض

أحادية كربوكسيلية أليفاتية مثل حمض فورميك، حمض أسيتيك، حمض بروبيونيك أو حمض

بيوتيريك؛ أحماض هيدروكسي أليفاتية مثل حمض لاكتيك، حمض سيتريك، حمض تريتريك أو

5 حمض ماليك؛ أحماض كربوكسيلية ثنائية مثل حمض ماليك أو حمض سكسينيك؛ أحماض

كربوكسيلية عطرية مثل حمض بنزويك، حمض p-كلورو بنزويك، حمض فينيل أسيتيك، أو

حمض داي فينيل أسيتيك أو حمض تراي فينيل أسيتيك؛ أحماض هيدروكسيل عطرية مثل حمض

o-هيدروكسي بنزويك، حمض p-هيدروكسي بنزويك، حمض 1-هيدروكسي نافتالين-2-

الكربوكسيلي أو حمض 3-هيدروكسي نافتالين-2- الكربوكسيلي؛ وأحماض سلفونيك مثل

10 حمض ميثان سلفونيك، حمض إيثان سلفونيك أو حمض بنزين سلفونيك. تتضمن أملاح إضافة

الحمض المقبولة صيدلانيًا الأخرى لمركبات الاختراع، على سبيل المثال وليس الحصر، تلك

الخاصة بـ حمض جليكوليك، حمض جلوكورونيك، حمض فيوريك، حمض جلوتاميك، حمض

أنثرائيليك، حمض ساليسيليك، حمض مانديليك، حمض إمبونيك (باميوك)، حمض بنتوثينيك،

حمض ستيريك، حمض سلفانيليك، حمض ألجينيك، وحمض جالاكتورونيك.

15 تتضمن الأملاح القاعدية المقبولة صيدلانيًا لمركبات الاختراع، على سبيل المثال وليس الحصر،

أملاح فلزية مثل أملاح فلز قلوي أو فلز أرضي قلوي (على سبيل المثال أملاح صوديوم،

بوتاسيوم، ماغنسيوم أو كالسيوم) وأملاح زنك أو ألومنيوم. بالإضافة إلى ذلك، تتضمن

الأملاح القاعدية المقبولة صيدلانيًا لمركبات الاختراع، على سبيل المثال وليس الحصر، أملاح

متكونة مع أمونيا أو أمينات عضوية مقبولة صيدلانيًا أو قواعد حلقيه غير متجانسة مثل

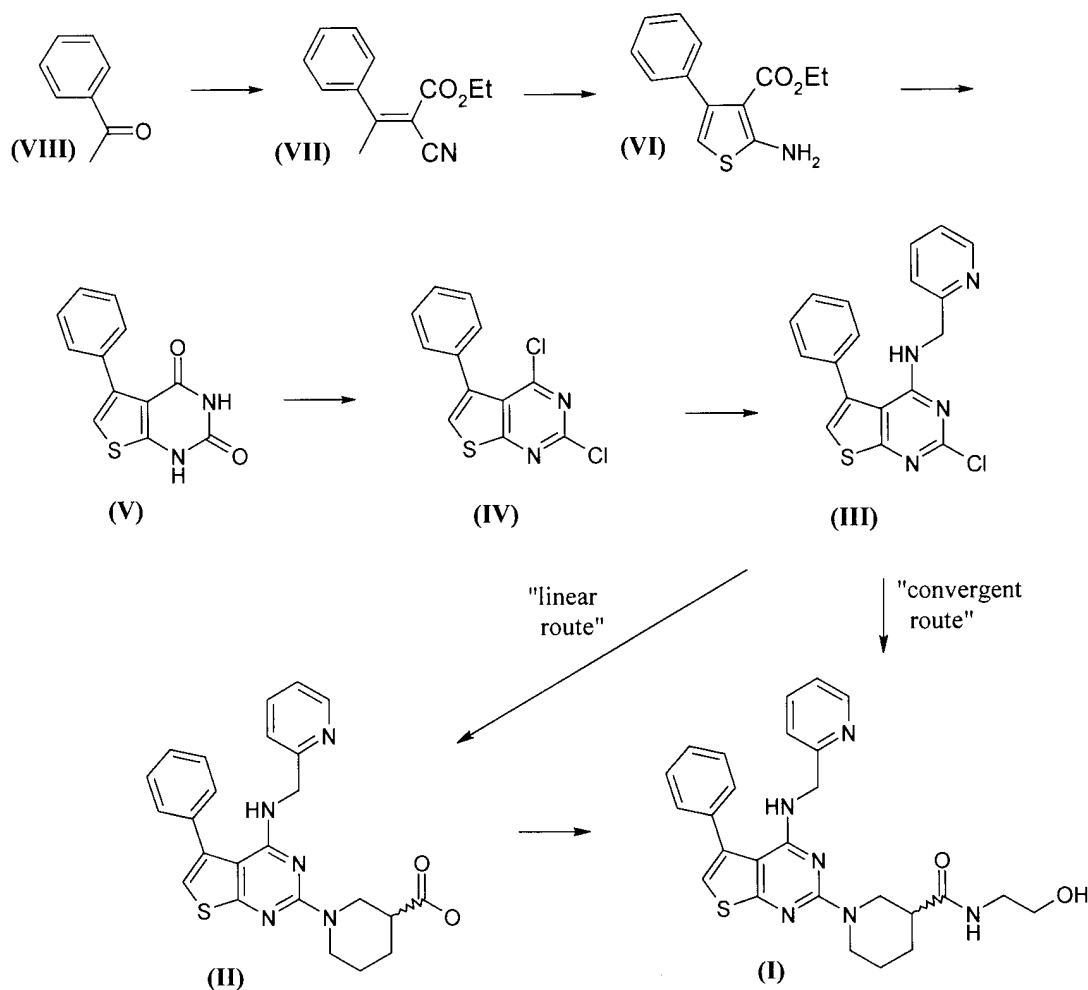
مركبات إيثانول أمين (على سبيل المثال داي إيثانول أمين)، مركبات بنزيل أمين، -N- ميثيل -

جلوكامين، أحماض أمينية (على سبيل المثال ليزين) أو بيريدين.

التخليق

5 يمكن تحضير مركبات لها الصيغة (I) في صورة الرسيمات، في صورة خليط غير راسيمي، أو في

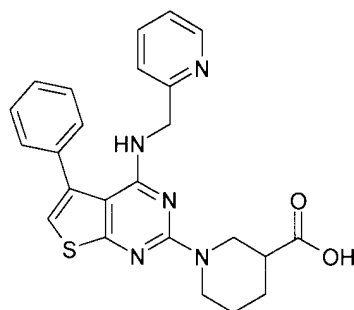
صورة متشاكل نقي كيراليًا باستخدام الطرق الموضحة في المخطط 1 أدناه:



يتضمن ذلك تحضير مركبات لها الصيغة (I) باستخدام "الطريقة الخطية" المناظرة لطريقة التخليق

10 التي تم الكشف عنها في الطلب الدولي رقم WO2004/111057 من مركبات لها الصيغة (II)

وأمينو إيثانول. بشكل نمطي، يتم تنفيذ هذا التفاعل باستخدام مادة تفاعل إقران مثل 1- إيثيل  
 3-3- (3-داي ميثيل أمينو بروبيل)-كربو داي إيميد (EDC) أو 2-7- آزا-1-بنز  
 ترايازول (1-يل)-1، 1، 3، 3- تتراميثيل يورونيوم هكسا فلورو فوسفات (HATU)  
 باستخدام طرق قياسية معروف لأصحاب المهارة في المجال مثل التفاعل في مذيب مثل تتر  
 5 هيدرو فيوران، أسيتونيتريل أو داي ميثيل فورماميد عند نطاق درجات حرارة يتراوح من درجة  
 الحرارة المحيطة إلى درجة حرارة الإرجاع. على نحوٍ بديل، يمكن تحضير مركبات لها الصيغة (I) من  
 مركبات لها الصيغة (III) باستبدال مجموعة استبدال 2-كلورو بمركب له الصيغة (IX) في وجود  
 قاعدة مثل N، N-داي أيزو بروبيل إيثيل أمين ومذيب مثل N-ميثيل بيروليدينون مع التسخين  
 التقليدي أو التعريض للإشعاع بالموجات الدقيقة.



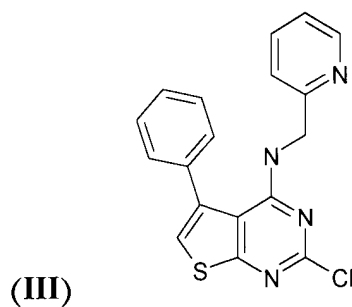
(II)

10

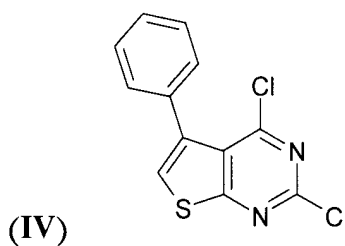
يمكن تحضير مركبات لها الصيغة (II) من مركب له الصيغة (III) باستبدال مجموعة استبدال 2-  
 كلورو بحمض نيبكوتيك متوفر في الأسواق، في وجود قاعدة مثل N، N-داي أيزو بروبيل  
 إيثيل أمين ومذيب مثل N-ميثيل بيروليدينون مع التسخين التقليدي أو التعريض للإشعاع  
 بالموجات الدقيقة.

15

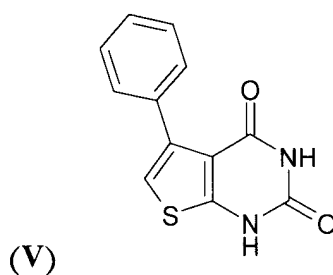




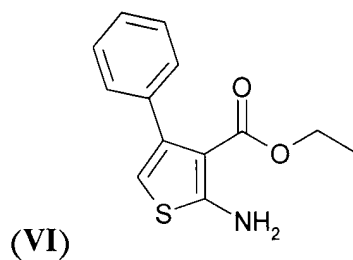
تم بالفعل تخليق مركبات لها الصيغة (III) من مركبات لها الصيغة (IV) بتفاعل استبدال آلف للنواة مع 2-أمينو ميثيل بيريدين، بشكل اختياري في وجود مذيب وقاعدة، وبشكل اختياري عند درجة حرارة مرتفعة أو مع التعريض للإشعاع بموجات دقيقة. ويفضل أن يكون المذيب (إن وجد) عبارة عن كحول، ويفضل إيثانول وتكون القاعدة عبارة عن قاعدة نيتروجين معاقة مثل 5 تراي إيثيل أمين. يتم تنفيذ الاختراع عند درجات الحرارة المحيطة.



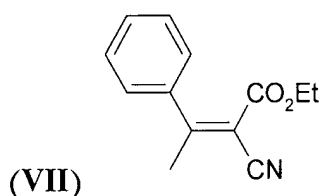
يمكن تخليق مركب له الصيغة (IV) من خلال تفاعل مركب له الصيغة (V) مع مادة تفاعل المعالجة بالكلور مثل فينيل فوسفونيك داي كلوريد أو أوكسي كلوريد الفوسفور. 10



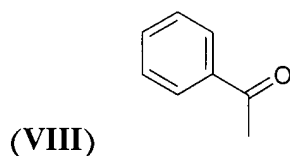
يمكن تخليق مركبات لها الصيغة (V) من خلال تفاعل مركب له الصيغة (VI) مع سيانات فلز قلوي، ويفضل سيانات البوتاسيوم.

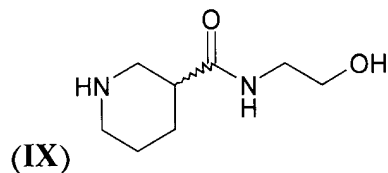


يمكن تحضير مركب له الصيغة (VI) من خلال "تفاعل" Gewald حيث يتفاعل مركب له الصيغة (VII) في ظل ظروف قاعدية وفي مذيب مناسب مثل إيثانول، مع كبريت مسحوق. ويفضل أن تكون القاعدة داي أيزو بروبييل إيثيل أمين (قاعدة Hünig) ويمكن أن يكون المذيب عبارة عن كحول، ويفضل إيثانول، ويتم تنفيذ التفاعل بين 25 و 65 درجة مئوية.



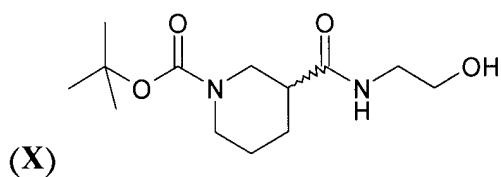
يمكن تحضير مركبات لها الصيغة (VII) من خلال تفاعل تكثيف Knoevenagel من خلال تسخين مركب له الصيغة (VIII) مع إيثيل سيانو أسيتات (NCCH<sub>2</sub>CO<sub>2</sub>Et) في وجود حمض وأسيتات أمونيوم في مذيب مناسب مثل تولوين، وبشكل اختياري مع إزالة الماء أزيوتروبيًا. ويفضل أن يكون الحمض حمض أسيتيك. وينتج عن ذلك إستر ألكيليدين سيانو كزوج من أيزومرات هندسية (Z و E).





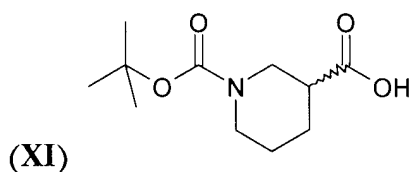
يمكن تحضير مركب له الصيغة (IX) من مركب له الصيغة (X) من خلال التحلل المائي لمجموعة الحماية *t*-بيوتيل كربامات (BOC) بحمض قوي في مذيب مثل داي كلورو ميثان. بشكل نمطي، يكون الحمض عبارة عن حمض تري فلورو أسيتيك.

5



يمكن تحضير مركب له الصيغة (X) من مركب له الصيغة (XI) وأمينو إيثانول. بشكل نمطي، يتم تنفيذ هذا التفاعل باستخدام مادة تفاعل إقران مثل 1-إيثيل-3-(3-داي ميثيل أمينو بروبييل)-كربوداي إيميد (EDC) أو 2-(7-آزا-1-بنز ترايازول-1-يل)-1، 1، 3، 3-تترا ميثيل يورونيوم هكسا فلورو فوسفات (HATU) باستخدام طرق قياسية معروف لأصحاب المهارة في المجال مثل التفاعل في مذيب مثل تترا هيدرو فيوران، أسيتونيتريل أو داي ميثيل فورماميد عند نطاق درجات حرارة يتراوح من درجة الحرارة المحيطة إلى درجة حرارة الإرجاع.

10



15

## تركيبات صيدلانية

مثلما تمت مناقشته في هذه الوثيقة، تكون مركبات الاختراع مفيدة في علاج العديد من الحالات. وهكذا، يوفر الجانب الثاني من الاختراع تركيبة صيدلانية أو صيغة تشتمل على مركب واحد على الأقل من مركبات الاختراع وبشكل اختياري واحد أو أكثر من سواغات مقبولة

5 صيدلانيًا.

تتضمن السواغات النمطية المقبولة صيدلانيًا:

- مواد مخففة، على سبيل المثال لاكتوز، ديكستروز، سكروز، مانيتول، سوربيتول، سليولوز و/أو جليسين؛

- مواد مزلفة، على سبيل المثال سيليك، طلق، حمض ستيريك، ملح الماغنسيوم أو الكالسيوم الخاص به و/أو بولي إيثيلين جليكول؛

10

- مواد رابطة، على سبيل المثال ماغنسيوم ألومنيوم سيليكات، معجون النشا، جيلاتين، الكثيراء، ميثيل سليولوز، صوديوم كربوكسي ميثيل سليولوز و/أو بولي فينيل بيروليدون؛

- مواد مفتتة، على سبيل المثال أنواع النشا، الآجار، حمض ألجينيك أو ملح الصوديوم الخاص به، أو خلأئط فوارة؛ و/أو

- مواد ماصة، مواد مكسبة للون، و/أو مواد تحلية.

15

يمكن تقديم تركيبات الاختراع في صور وحدة جرعة تحتوي على كمية محددة مسبقًا من كل

مكون فعال لكل جرعة. ويمكن تهيئة هذه الوحدة لتوفير 5-100مجم/يوم من المركب، ويفضل

إما 5-15مجم/يوم، 10-30مجم/يوم، 25-50مجم/يوم، 40-80مجم/يوم أو 60-

100مجم/يوم. بالنسبة لمركبات الاختراع، يتم توفير الجرعات التي تقع في نطاق 100-1000مجم/يوم، ويفضل إما 100-400مجم/يوم، 300-600مجم/يوم أو 500-1000مجم/يوم. ويمكن توفير هذه الجرعات في جرعة واحدة أو عددٍ من الجرعات المنفصلة. وستحدد حسبما يتراءى للطبيب المعالج.

5

يمكن تهيئة تركيبات الاختراع للإعطاء بواسطة أية طريقة مناسبة، على سبيل المثال من خلال الإعطاء في الفم (بما في ذلك الإعطاء الشدقي أو تحت اللسان)، في المستقيم، في الأنف، الإعطاء الموضعي (بما في ذلك الشدقي، تحت اللسان، أو عبر الجلد)، في المهبل أو عن غير طريق المعدة والأمعاء (بما في ذلك تحت الجلد، في العضل، في الوريد أو داخل الجلد). ويمكن تحضير هذه الصيغ بواسطة أية طريقة معروفة في مجال الصيدلة، على سبيل المثال من خلال الجمع بين المكون الفعال والمادة (المواد) الحاملة أو السواغ (السواغات).

10

يمكن تقديم الصيغ الصيدلانية المهيأة للإعطاء في الفم في صورة وحدات منفصلة مثل الكبسولات أو الأقراص؛ المساحيق أو الحبيبات؛ المحاليل أو المعلقات في سوائل مائية أو غير مائية؛ رغوات أو مخفوقات صالحة للأكل؛ أو مستحلبات سائلة زيت في ماء أو مستحلبات سائلة ماء في زيت.

15

يمكن تقديم الصيغ الصيدلانية المهيأة للإعطاء عبر الجلد في صورة ضمادات منفصلة يراد بها أن تظل في تلامس حميم مع بشرة المتلقي لفترة زمنية طويلة. على سبيل المثال، يمكن توصيل

المكون الفعال من الضمادة بواسطة الترحيل الأيوني مثلما هو موضح بوجه عام في

.Pharmaceutical Research, 3(6), 318 (1986).

يمكن صياغة الصيغ الصيدلانية المهيأة للإعطاء الموضعي في صورة مراهم، كريمات، معلقات،

أنواع غسول، مساحيق، محاليل، معاجين، أنواع جل، أنواع رش، أيروسولات أو زيوت.

5 بالنسبة للاستخدامات في العين أو غيرها من الأنسجة الخارجية الأخرى، على سبيل المثال الفم

والجلد، يفضل استخدام الصيغ في صورة مرهم أو كريم موضعي. وعند صياغته في صورة مرهم،

يمكن استخدام المكون الفعال إما مع قاعدة مرهم بارافينية أو قابلة للامتزاج بالماء. على نحو

بديل، يمكن صياغة المكون الفعال في كريم مع قاعدة كريم زيت في ماء أو قاعدة ماء في زيت.

تتضمن الصيغ الصيدلانية المهيأة للإعطاء الموضعي في العين قطرات العين حيث تتم إذابة

10 المكون الفعال أو تعليقه في مادة حاملة مناسبة، ولا سيما مذيب مائي.

تتضمن الصيغ الصيدلانية المهيأة للإعطاء الموضعي في الفم المستحلبات، الباستيليا وغسول

الفم.

يمكن تقديم الصيغ الصيدلانية المهيأة للإعطاء في المستقيم في صورة تحاميل أو حقن شرجية.

تتضمن الصيغ الصيدلانية المهيأة للإعطاء في الأنف حيث تكون المادة الحاملة عبارة عن مادة

15 صلبة مسحوق خشن له حجم جسيمي يقع في مدى على سبيل المثال يتراوح من 20 إلى

500 ميكرون والذي يتم إعطاؤه بطريقة التنشق، أي من خلال الاستنشاق السريع عبر المسار

الأنفي من حاوية المسحوق القريبة من الأنف. وتتضمن الصيغ المناسبة حيث تكون المادة

الحاملة عبارة عن سائل، للإعطاء في صورة رشاش أنفي أو في صورة قطرات للأنف، محاليل مائية أو زيتية من المكون الفعال.

تتضمن الصيغ الصيدلانية المهيأة للإعطاء بالاستنشاق الأتربة أو الرذاذ دقيقة الجسيمات والتي قد تنشأ بواسطة أنواع عديدة من الأيروسولات أو البخاخات أو وسائل التريزيد المضغوطة محددة الجرعة. 5

يمكن تقديم الصيغ الصيدلانية المهيأة للإعطاء المهبطي في صورة فرزجات، حشوات، كريمات، أنواع جل، معاجين، رغوات أو صيغ رش.

تتضمن الصيغ الصيدلانية المهيأة للإعطاء عن غير طريق المعدة والأمعاء محاليل الحقن المعقمة المائية وغير المائية والتي قد تحتوي على مضادات أكسدة، محاليل منظمة، عوامل مثبطة لنمو البكتيريا ومواد مذابة والتي تجعل الصيغة متساوية التوتر مع دم المتلقي المنشود؛ ومعلقات معقمة 10 مائية وغير مائية والتي قد تتضمن عوامل تعليق وعوامل تغليظ. ويمكن تقديم الصيغ في حاويات أحادية أو متعددة الجرعات، على سبيل المثال أمبولات وقوارير محكمة الإغلاق، ويمكن تخزينها في حالة مجففة بالتجميد (مجففة بالتبريد) والتي تحتاج فقط إلى إضافة المادة الحاملة السائلة المعقمة، على سبيل المثال الماء للحقن، قبل الاستخدام على الفور. يمكن تحضير محاليل الحقن الارجالية والمعلقات من مساحيق معقمة، حبيبات وأقراص. 15

تمثل صيغ وحدة الجرعة المفضلة في تلك المحتوية على جرعة يومية أو جرعة فرعية، مثلما تم ذكره أعلاه في هذه الوثيقة، أو جزء مناسب منها، من مكون فعال.

يجب إدراك أنه بالإضافة إلى المكونات المذكورة على وجه التحديد أعلاه، يمكن أن تتضمن الصيغ أيضًا عوامل أخرى تقليدية في المجال ولها صلة بنوع الصيغة محل الاهتمام، على سبيل المثال يمكن أن تتضمن تلك الصيغ المناسبة للإعطاء في الفم عوامل إكساب نكهة.

### طرق تنفيذ الاختراع:

5 تصف البروتوكولات التالية تحضير:-

- 1- راسيمات تم تحضيرها باستخدام "مسار تقاربي" (الأمثلة من 1 إلى 6)
- 2- متشاكلات تم تحضيرها باستخدام "مسار تقاربي" (الأمثلة من 1 إلى 5 ومن 7 إلى 12)
- 3- متشاكلات تم تحضيرها باستخدام "مسار خطي" (الأمثلة من 1 إلى 5 ومن 13 إلى

(16)

10 تخليق وتحديد المتشاكلات

تم الحصول على المركب المطلوب النقي تشاكليًا من خلال اختيار مواد التفاعل بعناية واستخدام ظروف التجربة والتسلسل المناسبين ولا سيما فيما يتعلق بخطوات تكوين المركز الكيرالي والتفاعل التالي. وتم أثناء دورة التخليق تحديد أن "الطريقة الخطية" كانت أقل عرضة لتكوين الراسيمات حيث يمكن تنفيذ رابطة تكوين الأמיד النهائية عند درجة حرارة منخفضة مقارنةً بـ "الطريقة

15 التقاربية" التي وفرت نواتج أفضل ولكن بتكوين راسيمات يمكن الكشف عنه.

بالنسبة لـ "الطريقة الخطية"، تم الحصول على متشاكلات نقية لحمض نيبكوتيك من خلال التحليل التقليدي لحمض نيبكوتيك راسيمي زهيد التكلفة ومتوفر في الأسواق باستخدام حمض



1-(S)-كمفور سلفونيك في صورة عامل الحل، مما يؤدي إلى تحديد تحليل ee بعد تكوين مشتق BOC لعينة.

تم تحديد النقاء التشاكلي بواسطة HPLC الكيرالي.

الطرق التحليلية

5 تم تسجيل أطياف رنين البروتون المغناطيسي ( $^1\text{H NMR}$ ) على مقياس الطيف Varian 400MHz

Mercury Plus. وتم تحديد جميع الأطياف في صورة dmsO-d6 إلا إذا ورد ما يخالف ذلك وتم

التعبير عن الإزاحات الكيميائية بوحدات (سيجما) أسفل المجال من المعيار الداخلي تتراميثيل

سيلان (TMS) وتم التعبير عن ثوابت الإقران بين البروتونات بالهرتز (Hz)، وتم تخصيص أنماط

الانشطار على النحو التالي: s، مفرد؛ d، ثنائي؛ t، ثلاثي؛ q، رباعي؛ m، متعدد؛ br، قمة

عريضة؛ dd، ثنائيات مزدوجة؛ dt، ثلاثيات مزدوجة؛ bs، مفرد عريض؛ dq، رباعيات مزدوجة.

تم تحديد أطياف IR على أداة Perkin Elmer Spectrum One.

تم تحديد الأطياف الكتلية على أداة Agilent 6310 Ion trap.

تم إجراء تحليل HPLC (الطريقة (أ)) على نظام Waters 2695 باستخدام عمود ZORBAX SB

C-18 (4.6 x 50 مم)؛

15 الطور المتحرك: أ: 0.05% TFA (AQ)، ب: 0.05% TFA (MeCN)؛ T% ب: 20/0،

90/5، 90/8، 20/8.1؛ معدل التدفق 1.0 مل/دقيقة؛

العمود الكيرالي: Chiralpak IC (250 X 4.6 مم) 5 ميكرو، الطور المتحرك: أ: هكسان،

ب: EtOH (30 : 70)؛ معدل التدفق 0.8 مل/دقيقة على مدار 40 دقيقة.

تم تحديد نقاط الانصهار على أداة EX-Melt (الموديل: MPA120).

على نحوٍ بديل، تم تنفيذ تحليل HPLC (الطريقة (ب)) باستخدام: نظام معالجة مائع من نوع Waters 616، كاشف مجموعة الصمام الثنائي الضوئي.

العمود الكيرالي: Daicel Chiralpak AD-H (Chiral technologies) لذكر النقاء الكيرالي عند

5 244 نانومتر؛ الطور المتحرك 80% هكسانات: 20% EtOH؛ معدل التدفق 0.8 مل/دقيقة؛ درجة الحرارة 40 درجة مئوية.

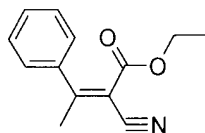
تم تحديد الأطياف الكتلية على أداة Agilent 1100 (الموديل: G1946C).

باستخدام المعلومات المذكورة في هذه الوثيقة، يمكن تخليق المركبات التالية التي تم عرضها على سبيل المثال فقط. ويمكن تقييم الشكل الدوائي لمركبات الاختراع الحالي بالفعل بواسطة أصحاب

10 المهارة في المجال باستخدام التجارب الروتينية، مثل الإجراءات والتقنيات الموضحة في هذه الوثيقة والموصوفة بالتفصيل في Ford et al., 2002.

### مثال 1

إستر الإيثيل لحمض (Z)-2-سيانو-3-فينيل-بيوت-2-إنويك (VII)



15 تم تسخين خليط خاضع للتقليب مكون من أسيتو فينون (VIII) (180 جم، 1.5 مول)،

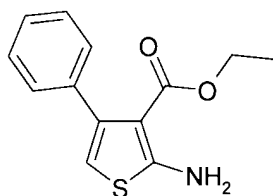
إيثيل سيانو أسيتات (170 جم، 1.3 مول)، أسيتات أمونيوم (23.1 جم)، حمض أسيتيك

(72 جم) وتولوين (300 مل) عند درجة حرارة الإرجاع لمدة 18 ساعة بينما تتم إزالة الماء

من التفاعل بواسطة التقطير الأوتوتروبي. تم ترك الخليط يبرد حتى درجة الحرارة المحيطة، وتمت إضافة تولوين (100 مل)، ثم تم غسل الخليط بالماء (3 x 100 مل). تم هز نواتج الغسل المائية المجمعة باستخدام تولوين (50 مل)، ثم تم تجفيف محاليل التولوين المجمعة بواسطة كبريتات الماغنسيوم، وترشيحها وتمت إزالة المذيب في وسط مفرغ. تم تقطير الزيت المتبقي عند ضغط منخفض للحصول على إستر الإيثيل لحمض 2-سيانو-3-فينيل-بيوت-2-إنويك في صورة زيت (309 جم) والذي تم استخدامه دون تنقيته مرة أخرى.

## مثال 2

إستر الإيثيل لحمض 2-أمينو-4-فينيل-ثيوفين-3-الكربوكسيلبي (VI)



10

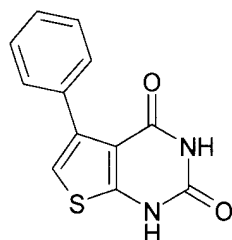
تمت إضافة إستر الإيثيل لحمض 2-سيانو-3-فينيل-بيوت-2-إنويك (513.25 جم، 2.3 مول) عند درجة الحرارة المحيطة إلى معلق خاضع للتقليب بقوة مكون من كبريت مسحوق (76 جم، 2.3 مول) في إيثانول (500 مل). تمت إضافة داي إيثيل أمين (200 مل) على أجزاء على مدار 20 دقيقة، والتي خلالها ارتفعت درجة حرارة التفاعل إلى 62 درجة مئوية. تم ترك الخليط يبرد حتى 36 درجة مئوية، ثم تم تسخينه حتى 50 درجة مئوية واستمر التقليب عند درجة الحرارة المذكورة لمدة 1 ساعة. وبعد هذه الفترة الزمنية، تم إيقاف التقليب، وتمت إزالة

15

المحلول من خلال الفصل بالترويق من الكبريت غير المتفاعل، ثم تم تركه يبرد حتى درجة الحرارة المحيطة. تم تجميع المادة الصلبة الناتجة بالترشيح، وغسلها بالقليل من الإيثانول البارد وتجفيفها في وسط مفرغ للحصول على إستر الإيثيل لحمض 2-أمينو-4-فينيل ثيوفين-3-الكربوكسيل في صورة مادة صلبة برتقالية (195 جم) والتي تم استخدامها دون تنقيتها مرة أخرى.

5 مثال 3

5-فينيل-H1-ثينو [2، 3-d] بيريميدين-2، 4-دايون (V)



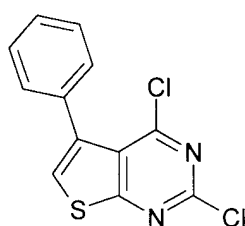
تمت إضافة إستر الإيثيل لحمض 2-أمينو-4-فينيل-ثيوفين-3-الكربوكسيل (2.0 جم، 8.1 مللي مول)، وسيانات البوتاسيوم (Aldrich، 2.0 جم، 24.3 مللي مول) إلى حمض أسيتيك ثلجي (VWR، 20 مل) وتم تقليبه عند درجة الحرارة المحيطة لمدة 18 ساعة. تم تخفيف خليط التفاعل بالماء (50 مل) وتم ترشيح ناتج الترسيب المتحصل عليه، وغسله بماء وتجفيفه للحصول على عجينة رطبة. تم تعليق المادة الصلبة في الماء (100 مل) وجعلها قلوية حتى الرقم الهيدروجيني 12-14 من خلال إضافة هيدروكسيد صوديوم مركز. وتم تسخين المعلق الناتج عند 100 درجة مئوية لمدة ساعتين، ثم تم تبريده حتى درجة الحرارة المحيطة وتحميذه بإضافة حمض أسيتيك ثلجي. تم تجميع المادة الصلبة الناتجة بالترشيح، وغسلها بماء

وتجفيفها في وسط مفرغ عند 40 درجة مئوية للحصول على 5-فينيل-1H-ثينو [2، 3]-  
[d-بيريميدين-2، 4-دايون في صورة مادة صلبة بيضاء. الناتج = (1.1 جم، 56%).

#### مثال 4

2، 4-داي كلورو -5-فينيل-ثينو [2، 3-d] بيريميدين (IV)

5

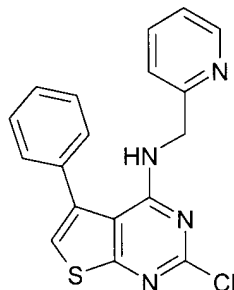


تم تسخين خليط خاضع للتقليب مكون من 5-فينيل-1H-ثينو [2، 3-d] بيريميدين-2،  
4-دايون (1.07 جم، 4.39 مللي مول) وفينيل فوسفونيك داي كلوريد (Aldrich)، 10 مل،  
كمية زائدة) عند 150 درجة مئوية لمدة 7 ساعات ثم تم تركه يستقر بعدها عند درجة الحرارة  
10 المحيطة لمدة 18 ساعة. وتم صب المحلول الغامق الناتج في ماء مثلج وتم استخلاصه باستخدام  
DCM (3 x 150 مل). تم غسل نواتج الاستخلاص المجمعة بمحلول من بيكربونات الصوديوم  
المشبعة (150 مل) وتم تجفيفها (MgSO<sub>4</sub>). تمت إزالة المذيب في وسط مفرغ وتم سحق المادة  
المتبقية الزيتية باستخدام إيثر البترول عند درجة حرارة 40-60 درجة مئوية للحصول على 2،  
4-داي كلورو -5-فينيل-ثينو [2، 3-d] بيريميدين في صورة مادة صلبة لونها أصفر باهت.  
15 الناتج = (0.82 جم، 66%).

#### مثال 5

(2-كلورو -5-فينيل-ثينو [2، 3-d]بيريميدين -4-يل)-بيريدين -2-يل ميثيل -

أمين (III)



تم إرجاع خليط مكون من 2، 4-داي كلورو -5-فينيل-ثينو [2، 3-d]بيريميدين

5 (1.77 جم، 6.3 مللي مول)، 2-أمينو ميثيل بيريدين (Aldrich، 782 ميكرو لتر، 7.6

مللي مول)، وتراي إيثيل أمين (VWR، 1.06 مل، 7.63 مللي مول) في إيثانول (30 مل)

لمدة 3 ساعات. عند التبريد، تم صب خليط التفاعل في الماء (300 مل) وتم تقليبه لمدة 1

ساعة. تم ترشيح ناتج الترسيب المتحصل عليه، وغسله بالماء (2 x 30 مل) وتجفيفه تحت

ضغط منخفض عند 40 درجة مئوية للحصول على (2-كلورو -5-فينيل-ثينو [2، 3-

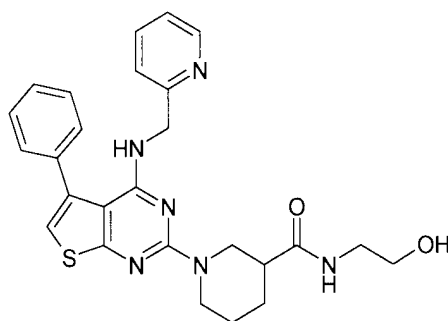
10 [d]بيريميدين -4-يل)-بيريدين -2-يل ميثيل -أمين في صورة مادة صلبة لونها أصفر باهت.

الناتج = (1.55 جم، 70%).

مثال 6

(2-هيدروكسي - إيثيل) - أميد لحمض 1-5-فينيل-4-[(بيريدين -2-يل ميثيل) -

أمينو]-ثينو [2، 3-d] بيريميدين -2-يل-3-كربوكسيل (راسيمي) (Ia)



5

تمت إذابة (2-كلورو -5-فينيل-ثينو [2، 3-d] بيريميدين -4-يل) - بيريدين -2-يل ميثيل

- أمين (44 حجم، 0.124 مللي مول)، (2-هيدروكسي إيثيل) أميد لحمض بيريدين -3-

الكربوكسيل (Fluorochem، 32 حجم، 0.188 مللي مول، 1.5 مكافئ) وN، N-داي أيزو

بروبيل إيثيل أمين (Aldrich، 0.188 مللي مول) في N- ميثيل بيروليدينون (1.5 مل) في

أنبوب Biotage يعمل بالموجات الدقيقة وتسخينه حتى 200 درجة مئوية والحفاظ عليه عند 10

درجة الحرارة تلك لمدة 30 دقيقة. عند التبريد، تمت إزالة المذيبات في وسط مفرغ. تم سحق

المادة المتبقية باستخدام DCM (2 x 10 مل) وتم تجميع نواتج الاستخلاص، وتركيزها وتنقيتها

بواسطة TLC تحضير (مادة التصفية التابعة 10% DCM/MeOH) للحصول على المنتج في

صورة زيت أصفر، تصلب ببطء فور الاستقرار إلى مادة صلبة شمعية. وتم تحويل المادة الصلبة

الشمعية إلى مسحوق حر التدفق من خلال التقليل في داي إيثيل إشر لمدة 1-2 ساعة (0.5

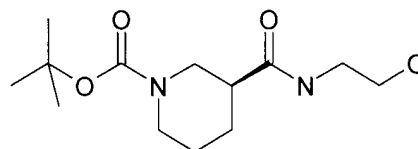
جم في 10 مل). الناتج = 18.3 مجم (30%)

متشاكلات -طريقة تقاربية

مثال 7

5 إستر t- بيوتيل لحمض (S)-3-2-هيدروكسي - إيثيل كربامويل)- بيريدين -1-

الكربوكسيلي



تم تقليل إستر t- بيوتيل لحمض (S)- بيريدين -1-، 3-داي كربوكسيلي (500 مجم، 2.2

مللي مول)، HATU (833 مجم، 2.2 مللي مول) وداي- أيزو بروبيل إيثيل أمين (761

10 ميكرو لتر، 4.4 مللي مول) في DCM جاف (10 مل) في حمام ثلجي لمدة 5 دقائق، ثم عند

درجة حرارة الغرفة لمدة 5 دقائق. تمت إضافة إيثانول أمين (198 ميكرو لتر، 3.28 مللي

مول) وتم تقليل خليط التفاعل عند درجة حرارة الغرفة لمدة 3 ساعات. تم تخفيف خليط

التفاعل باستخدام DCM (40 مل)، وتم غسله بالماء (50 مل)، وتم فصل طبقة DCM

وتجفيفها (MgSO<sub>4</sub>) وتركيزها. وتم وضع المادة المتبقية في عمود على سيليكات (20 جم من مادة

15 تصفية تتابعية). التصفية التتابعية: DCM/MeOH 5-0% CV 5، DCM/MeOH 5% -

5% CV 10، DCM/MeOH 5-10% CV 5. وتم عرض TLC مع KMnO<sub>4</sub>. نتج عن

ذلك المنتج في صورة زيت صافٍ (327 مجم).



تم بالمثل تحضير:

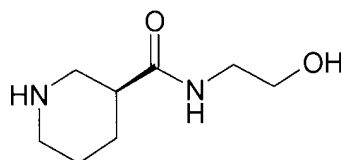
مثال 8

إستر t- بيوتيل لحمض (R)-3-(2-هيدروكسي - إيثيل كربامويل)- بيريدين -1-

الكربوكسيلي

مثال 9 5

(2-هيدروكسي - إيثيل)- أميد لحمض (S)- بيريدين -3- الكربوكسيلي



تم تقليب منتج التفاعل الوارد أعلاه في 1:1 DCM/TFA لمدة ساعتين ثم تم تركيزه في وسط

مفرغ للحصول على زيت. وتم تقليب ذلك في MeOH (5 مل) وتحميله على 5 جم من

10 خرطوشة SCX. تم غسل الخرطوشة باستخدام MeOH (10 مل)، ثم تمت تصفية المنتج تتابعياً

باستخدام 2 مولار من MeOH/NH<sub>3</sub> (10 مل). تم تركيز الجزء للحصول على مادة صلبة

بيضاء. الناتج = 260 مجم.

تم بالمثل تحضير:

مثال 10

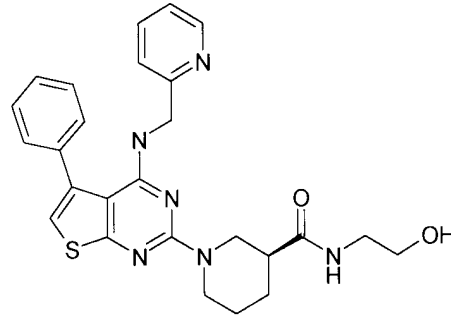
(2-هيدروكسي - إيثيل)- أميد لحمض (R)- بيريدين -3- الكربوكسيل

مثال 11

(2-هيدروكسي - إيثيل)- أميد لحمض (S)-1-5-فينيل-4-[(بيريدين -2-يل

ميثيل)- أمينو]-ثينو [2، 3-d]بيريميدين -2-يل-3- الكربوكسيل 5

(Ib)



تفاعل (2-هيدروكسي - إيثيل)- أميد لحمض (S)- بيريدين -3- الكربوكسيل مع (2-

كلورو -5-فينيل-ثينو [2، 3-d]بيريميدين -4-يل)- بيريدين -2-يل ميثيل - أمين كما في

المثال 6 أعلاه للحصول على (2-هيدروكسي - إيثيل)- أميد لحمض (S)-1-5-فينيل- 10

4-[(بيريدين -2-يل ميثيل)- أمينو]-ثينو [2، 3-d]بيريميدين -2-يل-3- بيريدين -3-

الكربوكسيل في صورة رغوة صفراء (188 مجم).

تم بالمثل تحضير:

مثال 12

(2-هيدروكسي - إيثيل) - أميد لحمض (R)-1-5-فينيل-4-[(بيريدين -2-يل

ميثيل) - أمينو [2، 3-d] بيريميدين -2-يل - بيريدين -3- الكربوكسيلي

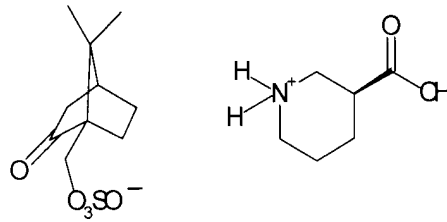
(Ic)

متشاكلات - طريقة خطية عبر

5 مثال 13

ملح (S) - كمفور سلفونات لحمض (S) - نيبكوتيك

التحليل الكيرالي لحمض (S) نيبكوتيك من خليط راسيمي تجاري



إلى محلول من حمض (S) - كمفور سلفونيك (18 كجم، 77 مول) في أسيتون (127 كجم)

10 عند 55-58 درجة مئوية، تم شحن محلول من حمض (S، R) - نيبكوتيك (10 كجم، 77

مول) في ماء (20 كجم) على نحوٍ سريع. تم الحفاظ على الخليط عند 55-58 درجة مئوية

حتى ذابت جميع المواد الصلبة. وتم تبريد المحلول ببطء إلى 20-25 درجة مئوية لترسيب الملح،

ثم تم تقليبه طوال الليل، وعزله. ولزيادة النقاء التجاسمي، تمت إعادة بلورة الملح الناتج من

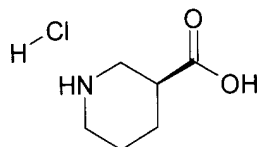
أسيتون (16 كجم) وماء (4 كجم) عند 55-58 درجة مئوية. مرة أخرى، تم تبريد المحلول

15 الساخن إلى 20-25 درجة مئوية، تقليبه طوال الليل، وعزله للحصول على ملح (S) -

كمفور سلفونات لحمض (S) - نيبكوتيك (14 كجم).

## مثال 14

هيدروكلوريد لحمض (S)- بيريدين-3-الكربوكسيلي

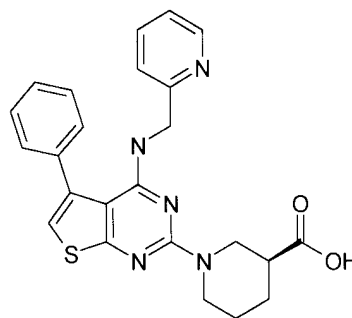


تم تحويل إستر t- بيوتيل لحمض (S)- بيريدين-1-، 3-داي كربوكسيلي (20 كجم، 87.2 5 مول) إلى ملاط في حمض أسيتيك (189 كجم) وتم تبريده إلى 15 درجة مئوية . وتم شحن كمية زائدة من غاز كلوريد الهيدروجين (9.6 كجم) وتم تقلبيه لمدة حوالي 4 ساعات لإكمال نزع الحماية. وتم عزل الملاط وشفط عجينة الترشيح باستخدام حمض أسيتيك (2 x 31.5 كجم). وتم بعد ذلك تجفيف عجينة الترشيح عند ضغط منخفض للحصول على المنتج (14.4 كجم).

## مثال 15 10

حمض (S)-1-{5-فينيل-4-[(بيريدين-2-يل ميثيل)-أمينو]-ثينو [2، 3]-

[d-بيريميدين-2-يل]-3-الكربوكسيلي



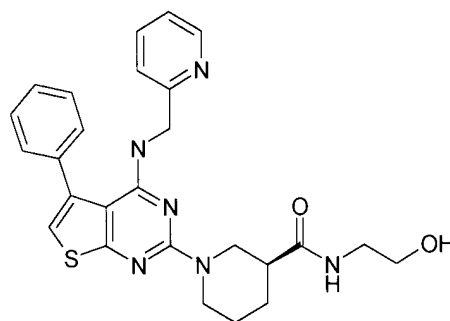
تمت إذابة (2-كلورو-5-فينيل-ثينو [2، 3]-[d-بيريميدين-4-يل]-بيريدين-2-يل ميثيل

15 - أمين (5.9 كجم، 16.7 مول) وهيدروكلوريد لحمض (S)-نيبيكوتيك (4.15 كجم،

25.1 مول) في بيوتيرول نيتريل (13.9 كجم). وتمت إضافة كمية زائدة من داي أيزو بروبييل إيثيل أمين (8.6 كجم، 66.9 مول) وتم تسخين الخليط إلى 110 درجة مئوية لمدة تتراوح من 24 إلى 48 ساعة لإكمال التفاعل. ومع اكتمال الإقران (ظل  $> 2\%$  من حمض نيبكوتيك)، تم تبريد خليط التفاعل حتى درجة حرارة الغرفة وتم شحن الماء (29 كجم). تم ضبط الرقم الهيدروجيني للخليط على حوالي 10 باستخدام 25% من هيدروكسيد الصوديوم المائي (4.5 لتر) وتم فصل الطبقات. وتم استخلاص الطبقة المائية الناتجة مرتين باستخدام أسيتات إيثيل (15.9 لتر) ثم تمت إضافة كلوريد الميثيلين (23.5 كجم) إلى الطبقة المائية وتم ضبط الرقم الهيدروجيني على حوالي 2.5 باستخدام حمض هيدروكلوريك مركز (6.3 كجم). وتم فصل الطبقات وإعادة استخلاص الطبقة المائية باستخدام كلوريد الميثيلين (2 x 15.7 كجم). تم تجميع طبقات كلوريد الميثيلين وغسلها بماء (18 كجم) ثم تجفيفها بواسطة كبريتات الصوديوم (5.9 كجم) وتم الحفاظ على المحلول الناتج للمعالجة في خطوة تالية (مثال 16).

## مثال 16

(2-هيدروكسي - إيثيل)- أميد لحمض (S)-1-5-فينيل-4-[(بيريدين -2-يل  
ميثيل)- أمينو]-ثينو [2، 3-d]بيريميدين -2-يل-3- الكربوكسيل  
(Ib)



5

تم تبريد محلول من حمض (S)-1-5-فينيل-4-[(بيريدين -2-يل ميثيل)- أمينو]-ثينو  
[2، 3-d]بيريميدين -2-يل-3- الكربوكسيل (7.4 كجم، 16.63 مول)  
(من المثال 15) إلى صفر درجة مئوية وتمت إضافة داي أيزو بروبيل أمين (4.51 كجم، 35  
مول) وإيثانول أمين (2.03 كجم، 33.3 مول). مع الحفاظ على درجة حرارة التفاعل أقل  
من 10 درجة مئوية، تم شحن بنزو تريازوليل تترا ميثيل يورونيوم -BF<sub>4</sub> (TBTU) (5.9  
كجم، 18.3 مول) على أجزاء ثم تقليبها عند حوالي 5 درجة مئوية حتى اكتمال الإقران. وتم  
بعد ذلك ترشيح محلول التفاعل لإزالة أملاح TBTU وغسله بالماء (22.2 لتر)، ثم أعقب  
ذلك عمليتي غسل باستخدام محلول مائي منظم بحمض سيتريك/هيدروكسيد الصوديوم (الرقم  
الهيدروجيني حوالي 5) (2.88 كجم، 15 مول)، وأخيراً بمحلول ملحي (4 لتر). وفيما بعد،  
تم شحن الخليط باستخدام بيوتيرو نيتريل (17.4 لتر) وتم استنصاله جزئياً لترسيب المنتج

15

مزدوج التجاسم. وتم ترشيح الملاط لإزالة مزدوج التجاسم وتم استئصال نواتج الترشيح مرة أخرى حتى حجم حوالي 2/1. وإلى هذا الخليط، تم شحن هبتانات (30.4 لتر) لترسيب المنتج وتم تبريد الملاط حتى درجة حرارة الغرفة. تم ترشيح الملاط، وشطفه بهبتانات (10.1 لتر)، وتجفيفه عند ضغط منخفض للحصول على المنتج (4.1 كجم).

5 يمكن تحضير (2-هيدروكسي - إيثيل) - أميد لحمض (R)-1-{-5-فينيل-4-[(بيريدين -

2-يل ميثيل) - أمينو-[ثينو [2، 3-d] بيريميدين -2-يل} - بيريدين -3- الكربوكسيل

(Ic) وفقاً لطريقة مناظرة للأمثلة من 13 إلى 16.

### مثال 17

10 يتم عرض البيانات التحليلية للمركبات المعبر عنها بالأمثلة الواردة أعلاه في الجدول التالي.

المثال	طيف <sup>1</sup> H NMR (400 ميغا هرتز؛ dmsO-d6)	HPLC (زمن الاحتجاز دقائق)	الطيف الكتلي (مولار <sup>1+</sup> )	HPLC كيرالي (الطريقة (أ))	نقطة الانصهار (°م)	FT-IR λmax (سم <sup>-1</sup> )
2	0.91 (3H, t), 3.96 (2H,q), 6.15 (1H, s)7.3 (5H, m)	4.8	248 (%99.5)			
3	6.67 (1H, s), 7.3 (3H, m), 7.47 (2H, m)	(uplc)	245 (%98.9)			
4	7.51 (5H, m), 7.99 (1H, s)	(uplc)	282 (%92)			
5	4.64 (2H, s), 7.07 (1H, m), 7.23 (1H, m), 7.4 (1H, d), 7.55 (6H, m), 7.75 (1H, dt), 8.21 (1H, m)	(uplc) (1.75)	353 (%97.6)			
6	1.3 (1H, m), 1.6 (2H, m), 1.8 (1H, m), 2.3 (1H, m), 2.8				-190	3298, 3338

،3009 ،3098 ،2847 ،2931 ،1556 ،1642 ،1504 ،1517 ،1438 ،1484 ،1321 ،1386 ،1255 ،1300 ،1203 ،1220 1062 ،1139	194		489 (%99.8)	2.67 uplc ) (0.91	(2H, m), 3.1 (2H, m), 3.4 (2H, m), 4.6 (5H, m), 6.3 (1H,m), 6.95 (1H,s), 7.2-7.3 (2H, m), 7.5 (5H, m), 7.7 (1H, m), 7.9 (1H, m), 8.3 (1H, m)	
،3357 ،3426 1649	-61 65	%98.3 زمن الاحتجاز=18.4 دقيقة	489.3	-	1.3 (1H, m), 1.6 (2H, m), 1.8 (1H, m), 2.3 (1H, m), 2.8 (2H, m), 3.2 (2H, m), 3.4 (2H, m), 4.6 (5H, m), 6.3 (1H, t), 6.95 (1H,s), 7.2 (1H, dd), 7.3 (1H, d), 7.5 (5H, m), 7.7 (1H, dd), 7.9 (1H, m), 8.3 (1H, m)	11 (S)
،3352 ،3425 1649	-71 76	%97.6 = زمن الاحتجاز 14.87 دقيقة	489.3	-	1.3 (1H, m), 1.6 (2H, m), 1.8 (1H, m), 2.3 (1H, m), 2.8 (2H, m), 3.2 (2H, m), 3.4 (2H, m), 4.6 (5H, m), 6.3 (1H, t), 6.95 (1H,s), 7.2 (1H, dd), 7.3 (1H, d), 7.5 (5H, m), 7.7 (1H, dd), 7.9 (1H, m), 8.3 (1H, m)	12 (R)

مثال 18

طريقة الفسيولوجيا الكهربائية ل Kv1.5

تم قياس قدرة مركبات الاختراع على تثبيط قناة البوتاسيوم Kv1.5 في تجربة فسيولوجيا كهربائية،

5 باستخدام خلايا ناتجة عن عودة الارتباط الجيني التي تعبر وراثيًا عن القناة محل الاهتمام في

تجربة تعليق قطعة الخلية بأكملها.



احتوى محلول الحمام الخارجي (معبّر عنه بملي مولار): 150 NaCl، 10 KCl، 3 MgCl<sub>2</sub>،  
 1 CaCl<sub>2</sub>، 10 HEPES، رقم هيدروجيني 7.4. تمت تعبئة الماصات الدفعية بمحلول إلكتروليت  
 من التركيبة (معبّر عنه بملي مولار): 160 KCl، 0.5 MgCl<sub>2</sub>، 10 HEPES، 1 EGTA،  
 رقم هيدروجيني 7.2 باستخدام KOH.

5 تمت إذابة المركبات في DMSO (100%) وتم تحضيرها حديثاً في حمام خارجي عند التركيز  
 المفضل (تركيز DMSO نهائي = 0.1%). تم إجراء جميع التجارب عند درجة حرارة الغرفة.

بالنسبة لدراسات تعليق قطعة الخلية الكاملة، تمت زراعة خلايا (CHO منقول إليها العدوى  
 بشكل ثابت بـ 1.5 hKv) على شرائح تغطية زجاجية قبل إجراء التسجيلات. وتمت زراعة الخلايا  
 في أطباق Petri معقمة سعتها 30 مم عند كثافة تساعد على اختيار الخلايا المعزولة لإجراء  
 10 تجارب تعليق القطعة. وتم تخزين الأطباق في حضانة رطبة وغازية (5% من CO<sub>2</sub>) عند 37  
 درجة مئوية حتى الاستخدام.

تم إجراء تسجيلات تيارات الأغشية لتعليق قطعة الخلية الكاملة عقب تكوين سداة جيغا أوم  
 بين إلكتروليت القطعة والخلية باستخدام مكبرات HEKA EPC-9/10 التي يتم التحكم فيها بواسطة  
 Pulse Software (Ver8.5x/8.6x, HEKA, Germany). وتم وضع شرائح التغطية المزروع فيها

15 الخلايا في حجرة تسجيل مركبة على مرحلة المجهر المعكوس. وأثناء التجربة، تم صهر الخلية محل  
 الاهتمام بصورة متواصلة وبشكل شديد بمحلول حمام تم توصيله بكانيولا موضوعة بالقرب من  
 الخلية للمساعدة في التحكم في بيئة المحلول خارج الخلية. وتم استخدام تلك الخلايا التي بها تيار  
 أكبر من 500 بيكو أمبير فقط لإجراء التجارب. وأثناء التجارب، لم يتجاوز إجمالي المقاومة

10 ميغا أوم وتم تعويضها بحد أدنى 70%. وتم إجراء طرح التسرب على خط التشغيل

باستخدام بروتوكول P/n في Pulse.

تم إجراء بروتوكولات تدرج جهد الفسيولوجيا الكهربائية وتحليل البيانات على النحو التالي. تم

أخذ عينات من البيانات عند 5 كيلو هرتز، وترشيحها بنطاق -3 ديسيل يبلغ 2.5 كيلو

5 هرتز. وتم احتجاز الخلايا عند جهد يبلغ -80 مللي فولت. وتم حث التيارات بتدرج جهد

نزع استقطاب إلى صفر مللي فولت (900 مللي ثانية) قبل إعادة الاستقطاب أولاً حتى -40

مللي فولت (100 مللي ثانية) قبل العودة إلى -80 مللي فولت. وتم تسليط صورة موجة

الأمر بشكل متكرر كل 5 ثوانٍ على مدار التجربة. وتم تحليل متوسط التيارات خلال -75

95% من تدرج نزع الاستقطاب حتى صفر مللي فولت باستخدام برنامج Pulsefit (v8.x, )

10 (HEKA, Germany). وتم تطبيق بروتوكول الجهد لتحقيق خط معايرة تيار ثابت في الحمام قبل

صهر مادة الاختبار بشكل كبير عبر الكانيولا؛ واستغرق تبادل المائع حوالي 15 ثانية. وتم

السماح لمادة الاختبار بالتوازن وتم خلال تلك الفترة تكرار تطبيق بروتوكول الجهد وتسجيله.

وتم حساب النسبة المئوية لتثبيط التيار في وجود مادة الاختبار بالنسبة لقيمة العقار الأولي

المستخدم كعينة مقارنة.

15

Kv1.5 IC <sub>50</sub> (نانو مولار)	المركب	
9	(2-هيدروكسي - إيثيل) - أميد لحمض 1-5-فينيل-4-	راسيمات

	[بيريدين -2-يل ميثيل]-أمينو-ثينو [2، 3- d]بيريميدين -2-يل-3-كربوكسيل	
27	(2-هيدروكسي - إيثيل)- أميد لحمض (S)-1-5- فينيل-4-[بيريدين -2-يل ميثيل]-أمينو-ثينو [2، d-3]بيريميدين -2-يل-3-كربوكسيل	متشاكل (S) (Ib)
5	(2-هيدروكسي - إيثيل)- أميد لحمض (R)-1-5- فينيل-4-[بيريدين -2-يل ميثيل]-أمينو-ثينو [2، d-3]بيريميدين -2-يل-3-كربوكسيل	متشاكل (R) (Ic)

### مثال 19

#### فحص الانتقائية

تم فحص مركب الاختراع ومركب مقارن في الاختبارات التالية:

5 .1 Nav1.5؛ تم فحصها على Sophion QPatch باستخدام خلايا CHO التي تعبر وراثيًا عن

تيارات hNav1.5، المنقول إليها العدوى بشكل ثابت بـ hNav1.5 cDNA متغاير التكوين.

2. Kv4.3؛ تم فحصها بمشبك قطعة الخلية الكامل اليدوي باستخدام خلايا CHO التي تعبر

وراثيًا عن تيارات hKv4.3، المنقول إليها العدوى بشكل ثابت بـ Kv4.3 cDNA متغاير التكوين.

3. hERG؛ تم فحصها بمشبكة قطفة الخلية الكامل اليدوي باستخدام خلايا HEK293 التي تعبر وراثيًا عن تيارات hERG، المنقول إليها العدوى بشكل ثابت بـ hERG cDNA متغاير التكوين.

4. Kir3.1/3.4؛ تم فحصها بمشبكة قطفة الخلية الكامل اليدوي باستخدام خلايا HEK293 التي تعبر وراثيًا عن تيارات rKir3.1/3.4، المنقول إليها العدوى بشكل ثابت بـ rKir3.1 و rKir3.4 cDNA متغاير التكوين.

5. KCNQ1؛ تم فحصها بمشبكة قطفة الخلية الكامل اليدوي باستخدام خلايا CHO التي تعبر وراثيًا عن تيارات hKCNQ1/hmink، المنقول إليها العدوى بشكل ثابت بـ hKCNQ1/hmink cDNA متغاير التكوين.

6. Kir2.1؛ تم فحصها بمشبكة قطفة الخلية الكامل اليدوي باستخدام خلايا HEK293 التي تعبر وراثيًا عن تيارات hKir2.1، المنقول إليها العدوى بشكل ثابت بـ hKir2.1 cDNA متغاير التكوين.

7. Cav1.2؛ تم فحصها باستخدام خلايا GH3 أو خلايا HEK293 التي تعبر وراثيًا عن تيارات hCav1.2، المنقول إليها العدوى بشكل ثابت بـ hCav1.2 cDNA متغاير التكوين.

15 فيما يلي عرض لنسب الانتقائية الخاصة بـ Kv1.5 مقارنةً بالقنوات الأيونية المذكورة أعلاه:

قناة أيونية	مركب الاختراع	مركب مقارنة

حوالي 120 x	< 350 x	Nav1.5
x 17	حوالي 500 x	Kv4.3
x 54	حوالي 275 x	hERG
حوالي 42 x	حوالي 265 x	Kir3.1/3.4
حوالي 300 x	حوالي 1200 x	KCNQ1
< 1245 x	< 400 x	Kir2.1
< 1245 x	< 1200 x	Cav1.2

## مثال 20

تثبيط تيار  $I_{Kur}$  في عزل خلايا عضلية أذينية بشرية مفصولة من خلايا عضلية أذينية بشرية

تم الحصول على عينات من وصلة أذينية بشرية (إما اليمنى أو اليسرى) من مرضى يبرون

بمجموعة من الإجراءات الجراحية القلبية. وتم الحصول على النسيج من مرضى أبدوا موافقتهم 5

على ذلك من Papworth Hospital NHS Trust, Cambs. UK، بعد الحصول على موافقة the

Local Research Ethical Approval Committee. وتم إجراء العزل الإنزيمي الميكانيكي للخلايا

العضلية باستخدام بروتوكول معدل مثلما هو موضح بواسطة Wang *et al.* (1993) و Dobrev *et*

*al.* (2005). وتم تعليق الخلايا العضلية المعزولة في محلول "Krafte-brühe" معدل (KB) حتى

## نظام التسجيل

تم وضع الخلايا العضلية في حجرة تسجيل صغيرة الحجم بقاعدة من شريحة تغطية زجاجية مركبة على مرحلة المجهر المعكوس. وأثناء التجربة، تم صهر الخلية محل الاهتمام بشكل كبير وثابت بمحلول حمام تم توصيله عبر كانيولات موضوعة بالقرب من الخلية للمساعدة في التحكم في بيئة المحلول خارج الخلية. 5 وتم إجراء تسجيلات تيارات الأغشية لتعليق قطعة الخلية الكاملة باستخدام مكبر HEKA EPC-9/10 عقب تكوين سداة جيغا أوم بين إلكترود القطعة والخلية العضية. وتم سحب ماصات القطعة الزجاجية من زجاج بورو سيليكات. وتم اختيار الخلايا العضية المخططة قضيبية الشكل فقط للاستخدام. وتم تعويض السعة والمقاومة على التوالي باستخدام برنامج Pulse. تم إنتاج أوامر مشبك الجهد باستخدام برنامج Pulse وتم تسجيل البيانات على القرص الصلب لكمبيوتر شخصي. ولم يتم إجراء طرح للتسريب وتم رفض الخلايا التي بها تسريب كبير. وتم إجراء التجارب عند درجة حرارة الغرفة. ولتقليل التلوث الناتج من تيارات أيونية أخرى إلى أدنى حد، تضمنت المحاليل التجريبية 10 مللي مولار من تتر إيثيل أمونيوم كلوريد ( $I_K$ )، 100 نانو مولار من أتروبين ( $I_{K,ACh}$ )، 200 ميكرومولار من  $CdCl_2$  ( $I_{Ca,L}$ ؛  $I_{Ca,Ca}$ )، 0.5 مللي مولار من  $BaCl_2$  ( $I_{K1}$  و  $I_{K,ACh}$ ). وتم استخدام المعينات عند تركيز 15 لا يمكن توقع أن يؤثر على  $I_{Kur}$ . وتم كبت تيار الصوديوم ( $I_{Na}$ ) باستخدام حمام أساسه كلوريد الكولين. وتم تسليط تدرج جهد نزع الاستقطاب كل 10 ثوانٍ لاستثارة تيار بوتاسيوم خارجي مؤلف من مكون عابر ودائم. وتم تحديد التيار الدائم الحساس لـ 300 ميكرومولار 4-AP بكونه تيار معدل مؤجل فائق السرعة،  $I_{Kur}$ .

تيار أيوني	مركب الاختراع	مركب مقارن
$hI_{Kur}$	11 نانو مولار	154 نانو مولار

## الاختصارات

HUGO Gene Nomenclature Committee HGNC

مقوم مؤجل قلبي فائق السرعة  $Kv_{(ur)}$

خلايا مبيض همستر صيني CHO 5

إنيسيتول تراي فوسفات  $IP_3$

تيار  $Ca^{2+}$  منشط بإطلاق  $Ca^{2+}$  CRAC

أوساط Eagle معدلة لـ Dulbecco DMEM

داي ميثيل سلفوكسيد DMSO

مصل جنين بقرى FCS 10

محلول ملح متوازن Earls EBSS

مشبك قطفة خلية كاملة WCPC

خلايا 293 كلوية جنينية بشرية HEK293

## المراجع 15

Herbert, "General principles of the structure of ion channels", Am. J. Med, 104, 87-98, 1998.

Armstrong & Hille, "Voltage-gated ion channels and electrical excitability", *Neuron*, 20, 371-380, 1998.

Gutman GA, Chandy KG, Adelman JP, Aiyar J, Bayliss DA, Clapham DE, Covarrubias M, Desir GV, Furuichi K, Ganetzky B, Garcia ML, Grissmer S, Jan LY, Karschin A, Kim D, Kuperschmidt S, Kurachi Y, Lazdunski M, Lesage F, Lester HA, McKinnon D, Nichols CG, O'Kelly I, Robbins J, Robertson GA, Rudy B, Sanguinetti M, Seino S, Stuehmer W, Tamkun MM, Vandenberg CA, Wei A, Wulff H, Wymore RS  
International Union of Pharmacology. XLI. Compendium of voltage-gated ion channels: potassium channels. *Pharmacol Rev.* 2003 Dec;55(4):583-6.

Shieh *et al.* "Potassium channels: molecular defects, diseases, and therapeutic opportunities", *Pharmacol Rev*, 52(4), 557-594, 2000.

15

Ford *et al.* "Potassium Channels: Gene Family, Therapeutic Relevance, High-Throughput Screening Technologies and Drug Discovery", *Prog Drug Res*, 58, 133-168, 2002.

Marban "Cardiac channelopathies", *Nature*, 415, 213-218, 2002.

Brendel and Peukert 'Blockers of the Kv1.5 Channel for the Treatment of Atrial Arrhythmias', *Expert Opinion in Therapeutic Patents*, 12 (11), 1589-1598 (2002).

Wang *et al.*, "Sustained depolarization-induced outward current in human atrial myocytes. Evidence for a novel delayed rectifier K<sup>+</sup> current similar to Kv1.5 cloned channel currents", *Circ Res*, 73, 1061-1076, 1993.

Fedida *et al.*, "Identity of a novel delayed rectifier current from human heart with a cloned K<sup>+</sup> channel current", *Circ Res*, 73, 210-216, 1993.

Feng *et al.*, "Antisense oligodeoxynucleotides directed against Kv1.5 mRNA specifically inhibit ultrarapid delayed rectifier K<sup>+</sup> current in cultured adult human atrial myocytes", *Circ Res*, 80, 572-579, 1997.

35



Amos *et al.*, "Differences between outward currents of human atrial and subepicardial ventricular myocytes", *J Physiol*, 491, 31-50, 1996.

Li *et al.*, "Evidence for two components of delayed rectifier K<sup>+</sup> current in human ventricular myocytes", *Circ Res*, 78, 689-696, 1996.

Nattel, "Therapeutic implications of atrial fibrillation mechanisms: can mechanistic insights be used to improve AF management?" *Cardiovascular Research*, Volume 54, Issue 2, 347-360, 2002.

10

Courtemanche *et al.*, "Ionic targets for drug therapy and atrial fibrillation-induced electrical remodeling: insights from a mathematical model", *Cardiovasc Res*, 42(2), 477-489, 1999.

Nattel *et al.*, "Cardiac ultrarapid delayed rectifiers: a novel potassium current family of functional similarity and molecular diversity", *Cell Physiol Biochem*, 9(4-5), 217-226, 1999.

Knobloch K, Brendel J, Peukert S, Rosenstein B, Busch AE, Wirth KJ.

Electrophysiological and antiarrhythmic effects of the novel I(Kur) channel blockers, S9947 and S20951, on left vs. right pig atrium in vivo in comparison with the I(Kr) blockers dofetilide, azimilide, d,l-sotalol and ibutilide. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol*. 2002 Nov;366(5):482-7.

Wirth KJ, Paehler T, Rosenstein B, Knobloch K, Maier T, Frenzel J, Brendel J, Busch AE, Bleich M. Atrial effects of the novel K(+)-channel-blocker AVE0118 in anesthetized pigs. *Cardiovasc Res*. Nov 1;60(2):298-306, 2003.

Colatsky *et al.*, "Channel specificity in antiarrhythmic drug action. Mechanism of potassium channel block and its role in suppressing and aggravating cardiac arrhythmias", *Circulation*, 82(6), 2235-2242, 1990.

Feng *et al.*, "Effects of class III antiarrhythmic drugs on transient outward and ultrarapid delayed rectifier currents in human atrial myocytes", *J Pharmacol Exp Ther*, 281(3), 384-392, 1997.

Wang *et al.*, "Effects of flecainide, quinidine, and 4-aminopyridine on transient outward and ultrarapid delayed rectifier currents in human atrial myocytes", *J Pharmacol*, 272(1), 184-196, 1995.

5

Malayev *et al.*, "Mechanism of clofilium block of the human Kv1.5 delayed rectifier potassium channel", *Mol Pharmacol*, 147(1), 198-205, 1995.

Godreau *et al.*, "Mechanisms of action of antiarrhythmic agent bertosamil on hKv1.5 channels and outward potassium current in human atrial myocytes", *J Pharmacol Exp Ther* 300(2), 612-620, 2002.

Matsuda *et al.*, "Inhibition by a novel anti-arrhythmic agent, NIP-142, of cloned human cardiac K<sup>+</sup>channel Kv1.5 current", *Life Sci*, 68, 2017-2024, 2001.

15

Bachmann *et al.*, "Characterization of a novel Kv1.5 channel blocker in *Xenopus* oocytes, CHO cells, human and rat cardiomyocytes", *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol*, 364(5), 472-478, 2001.

Peuport S, Brendel J, Pirard B, Bruggemann A, Below P, Kleemann HW, Hemmerle H, Schmidt W. Identification, synthesis, and activity of novel blockers of the voltage-gated potassium channel Kv1.5. *J Med Chem*. Feb 13;46(4):486-98, 2003.

Xu & Xu, "The expression of arrhythmic related genes on *Xenopus* oocytes for evaluation of class III antiarrhythmic drugs from ocean active material", *Yi Chuan Xue Bao*, 27(3), 195-201, 2000.

Katada *et al.*, 'Cytotoxic effects of NSL-1406, a new thienopyrimidine derivative, on leukocytes and osteoclasts.' *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, 9, 797-802, 1999.

30

Stewart *et al.*, 'Discovery of inhibitors of cell adhesion molecule expression in human endothelial cells. 1. Selective inhibition of ICAM-1 and E-selectin expression', *J. Med. Chem.*, 44, 988-1002, 2001.

Hozien *et al.*, 'Synthesis and application of some new thienopyrimidine derivatives as antimicrobial agents', *Synthetic Communications*, 26(20), 3733-3755, 1996.

Ismail *et al.*, 'Synthesis and antimicrobial activity of some tetramethylenethienopyrimidine derivatives', *Farmaco*, 50(9), 611-616, 1995.

Konno *et al.*, 'Synthesis of thienopyrimidine derivatives and their antifungal activities', *Yakugaku Zasshi*, 109(7), 464-473, 1989.

Ram *et al.*, 'Thienopyrimidines as potential chemotherapeutic agents II', *J. Het. Chem.*, 18(7), 1277-1280, 1981.

Ram *et al.*, 'Thienopyrimidines as potential chemotherapeutic agents', *Archiv der Pharmazie*, 312(1), 19-25, 1979.

15

Shehata *et al.*, 'Synthesis, antitumour and anti-HIV-1 testing of certain thienopyrimidine, thienoimidazopyrimidine and thienothiazine derivatives' *Med. Chem. Res.*, 6(3), 148-163, 1996.

Monzer *et al.*, 'Reaction of 3-amino and 4-hydrazino-5,6-tetramethylenethienopyrimidine derivatives with azlactones', *Egyptian Journal of Pharm. Sci.*, 34 (4-6), 599-609, 1994.

Jordis *et al.*, '7,9-Dideaza-9-thiaadenines (4-aminothieno[2,3-d]pyrimidines) as potential antitokins' *Vestnik Slovenskega Kemijskega Drustva*, 33(3), 217-38, 1986.

Noravyan *et al.*, 'Synthesis and anticonvulsive activity of 4-alkyl (or aryl)amino-6,6-dimethyl-5,6-dihydro-8H-pyrano (or thiopyrano)[3,4-b]thieno[5,4-d]pyrimidines' *Khimiko-Farmatsevticheskii Zhurnal*, 11(9), 38-42, 1977.

30

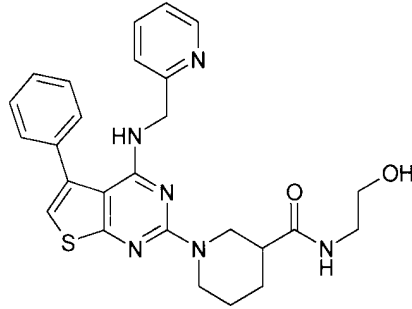
Hosni *et al.*, 'Thienopyrimidines II: synthesis of newer thieno[2,3-d]pyrimidines and their quaternized derivatives with molluscicidal activity' *Acta Poloniae Pharmaceutica*, 56(1) 49-56, 1999.

Munchof *et al.*, 'Design and SAR of thienopyrimidine and thienopyridine inhibitors of VEGFR-2 kinase activity'. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 14(1), 21-24, 2004.

Dobrev *et al.* ., 'The G protein-gated potassium current  $I_{K, Ach}$  is constitutively active in patients with chronic atrial fibrillation.' *Circulation*, 112(24):3697-706, 2005.

### عناصر الحماية

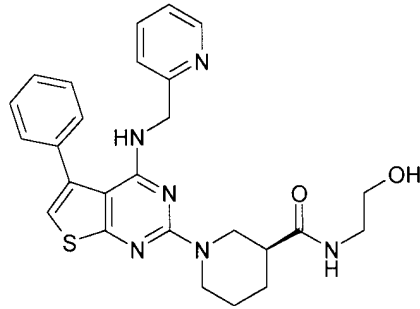
1 - مركب له الصيغة (Ia) 1



(Ia)

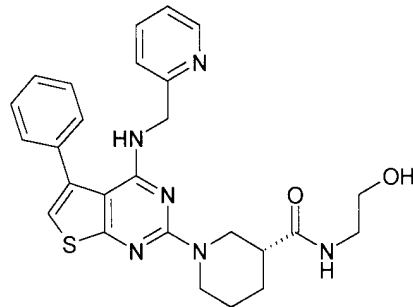
أو إستر أو ملح مقبول صيدلانيًا منه. 4

2- المركب وفقًا لعنصر الحماية 0، حيث يكون للمركب الصيغة (Ib) 1



(Ib) 3

3- المركب وفقًا لعنصر الحماية 0، حيث يكون للمركب الصيغة (Ic) 1



(Ic) 3

4- المركب وفقًا لعنصر الحماية 0، حيث يشتمل المركب الذي له الصيغة (Ia) على خليط 1

من المركبات التي لها الصيغ (Ib) و (Ic). 2

5- المركب وفقًا لعنصر الحماية 0، حيث يشتمل المركب الذي له الصيغة (Ia) على خليط 1

- 2 راسيمي من المركبات التي لها الصيغ (Ib) و (Ic).
- 1 6- المركب وفقاً لعنصر الحماية 0، حيث يشتمل المركب الذي له الصيغة (Ia) على زيادة
- 2 تشاكلية من المركب الذي له الصيغة (Ib).
- 1 7- المركب وفقاً لعنصر الحماية 0، حيث يشتمل المركب الذي له الصيغة (Ia) على زيادة
- 2 تشاكلية من المركب الذي له الصيغة (Ic).
- 1 8- تركيبة صيدلانية تشتمل على مركب واحد على الأقل وفقاً لأي من عناصر الحماية من 0
- 2 إلى 0 و، بشكل اختياري، واحد أو أكثر من سواغات مقبولة صيدلانياً.
- 1 9- مركب أو تركيبة وفقاً لأي من عناصر الحماية من 1 إلى 0 للاستخدام في العلاج.
- 1 10- طريقة لتثبيط قنوات البوتاسيوم، تشتمل على إعطاء الخاضع للعلاج كمية فعالة من
- 2 مركب أو تركيبة واحدة على الأقل وفقاً لأي من عناصر الحماية من 1 إلى 0.
- 1 11- الطريقة وفقاً لعنصر الحماية 0، حيث تكون الطريقة لعلاج أو الوقاية من عدم انتظام
- 2 إيقاع القلب.
- 1 12- مركب أو تركيبة وفقاً لأي من عناصر الحماية من 0 إلى 0 للاستخدام في تثبيط قنوات
- 2 البوتاسيوم.
- 1 13- المركب أو التركيبة وفقاً لعنصر الحماية 0، حيث يكون المركب أو التركيبة للاستخدام في
- 2 علاج أو الوقاية من عدم انتظام إيقاع القلب.
- 1 14- استخدام مركب وفقاً لأي من عناصر الحماية من 0 إلى 0 لتصنيع دواء للاستخدام في
- 2 تثبيط قنوات البوتاسيوم.
- 1 15- الاستخدام وفقاً لعنصر الحماية 0، حيث يكون الدواء للاستخدام في علاج أو الوقاية
- 2 من عدم انتظام إيقاع القلب.