[19] **المملكة العربية السعودية SA**
مدينة الملك عبدالعزيز للعلوم والتقنية

[11] رقم البراءة: ٩٦٥
[45] تاريخ المنح :١٤٢٧/٠٦/٠٧هـ
الموافـــق: ٢٠٠٦/٠٧/٠٣م

[12] براءة اختراع

[72] **اسم المخترع:** فرياس بينا جوسي مانويل
[73] **مالك البراءة :** بومسوند جروبو اسيسور، اس. ال.
عنوانـــه: مالوركا ٢٣٥، بي بي ال ســـي١، ٨٠٠٨.
برشلونة، أسبانيا
[74] **الوكيل:** ناصر علي كدسة

[21] **رقم الطلب:** ٠٢٢٢٠٦٨٣
[22] **تاريخ الإيداع :** ١٤٢٢/١١/٢٩ هـ
الموافق : ٢٠٠٢/٠٢/١٢ م

[51] **التصنيف الدولي**[٧] :
Int. Cl.[7]:A61K 35/78, C08B 37/00

[56] **المراجع:**

براءة اوروبية	٢٢٥٤٩٦	١٩٨٧/٠٦/١٦م
براءة امريكية	٤٨٥٧٥١٢	١٩٨٩/٠٨/١٥م
طلب ألماني	١٩٩١٢٩٩٢	١٩٩٩/٠٣/٢٣م
طلب اوروبي	٩٣٤٧٤٦	١٩٩٩/٠٨/١١م

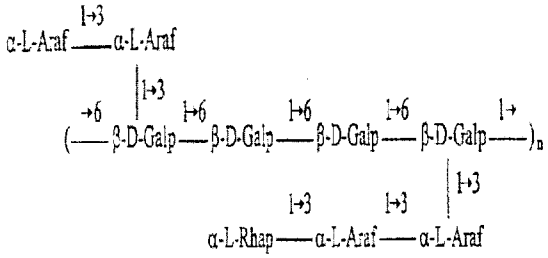
اسم الفاحص: محمد علي المحزري

[54] **اسم الاختراع:** مركب سكر عديد polysaccharide يعمل على تنشيط الجهاز المناعي بالجسم

[57] **الملخص:** يتعلق هذا الإختراع بمركبات ســكريات عديدة polysaccharide compounds لها الصيغة I والتي تعمل على تنشيط الجهاز المناعي immune stimulating activity، وطريقــة لتحــضير تلــك السكريات، وإستخدامها في الأمراض التي تؤدي إلــى تثبيط المناعــة immune stimulants وتركيبات صيدلية تحتوي على تلك السكريات.

الصيغة I

حيث n تتراوح من ٧ إلى ٨



٨ عناصر حماية، ٢٠ شكل

مركب سكر عديد polysaccharide يعمل على تنشيط الجهاز المناعي بالجسم

الوصف الكامل

خلفية الإختراع:-

يتعلق هذا الإختراع بمركب سكر عديد Polysaccharide، بالصيغة I والذي يعمل على تنشيط الجهاز المناعي immune stimulating activity ، كما يتعلق بطريقة للحصول على هذا السكر، ويتعلق باستخدامه في علاج الأمراض التي يحدث فيها تثبيط للمناعة ويتعلق أيضاً بتركيبات صيدلية pharmaceutical compositions تحتوي على هذا المركب.

يمكن أن يتم تعريف الجهاز المناعي immune system على أنه مجموعة من الجزيئات molecules، الخلايا cells والأعضاء organs والتي تتفاعل مع بعضها البعض لتكوين نظام طوارئ emergent system والذي يكون له القدرة عامة على حماية الشخص من الغزو الخارجي بأي كائن وحمايته من الخلايا المتحولة الخاصة به.

يمكن تقسيم الجهاز المناعي إلى جزئين: العناصر الفطرية والعناصر المكتسبة acquired. والعناصر الفطرية هي تلك التي تكون غير موجهة جهة معينة وغير مجهزة لحماية معينة. وتلك العناصر يكون لها القدرة على تمييز الأنسجة الغريبة tissues/ الكائنات الغريبة organisms ولكن ليس لها القدرة على تمييز نوع معين من أنواع الغزو. ويمكن تقسيمها إلى حواجز (الجلد skin والأغشية المخاطية mucosa)، وعوامل كيميائية chemical agents غير معينة (الإنزيمات enzymes الموجودة في إفرازات الغشاء المخاطي mucusal secretions، الكينينات quinines، والهيستامينات histamines) والخلايا المؤثرة الغير معينة (خلايا الدم الكبيرة macrophages). والمناعة المكتسبة Acquired immunity تشير إلى العناصر التي تكون معينة ومجهزة. ويمكن لتلك العناصر تمييز الخلايا الغريبة عن الخلايا الذاتية، ويمكن أن تميز أنتيجين antigen غريب عن الآخر. ويكون للمناعة المكتسبة ذاكرة. ويسمح ذلك بتكوين مناعة ومقاومة ضد كائن دقيق معين بحيث لا يمكن إعادة العدوى به. والخلايا المسئولة عن

المناعة المكتسبة هي خلايا الدم البيضاء اللمفية، وهناك نوعين منها، وهما خلايا الدم البيضاء من النوع B وخلايا الدم البيضاء من النوع T.

يمكن إكتساب المناعة المكتسبة تلك إما بالعدوى الطبيعية أو بإعطاء مسببات العدوى (التطعيم النشط active way) أو بإعطاء الخلايا المناعية (التطعيم السلبي passive way). وبينما تعطي الطريقة الأولى تأثيرات طويلة الأمد ويمكن أن تكون دائمة، فإن الطريقة الثانية لا تعطي تأثير طويل الأمد.

والمرضى الذين يعانون من أمراض تؤدي إلى تثبيط المناعة immune stimulants يتم معالجتهم بواسطة منشطات للمناعة وذلك لتنشيط جهازهم المناعي. وهناك أنواع مختلفة من منشطات المناعة معروفة من البراءة الأمريكية US 4801578، البراءة الأمريكية US 5417979، والبراءة الدولية WO 9851319. ومنشطات المناعة من نوع السكر العديد Polysaccharide معروفة من البراءة الألمانية رقم DE 19817177 والبراءة الأوربية EP 0225496 وتبين تلك البراءات مركبات سكريات عديدة polysaccharide compounds تعمل على تنشيط الجهاز المناعي وتبين طرق الحصول عليها من الخلايا النباتية plant cell. حيث يمكن في تلك الحالة إستخدام النباتات من الأنواع Echinacea purpurea، Echinacea angustifolia و Calendula officinalis.

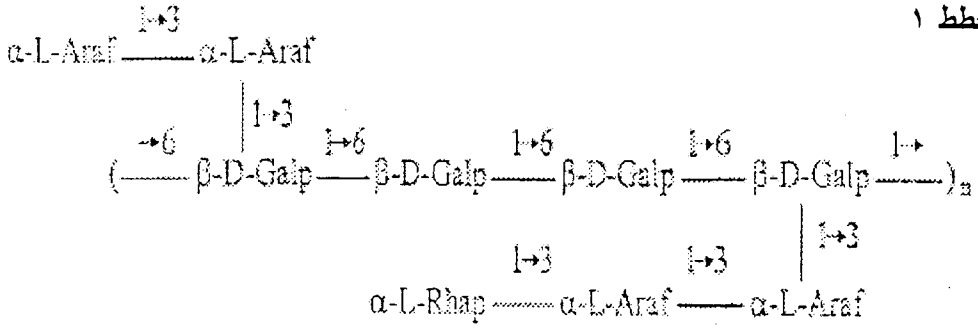
ولكن على أي حال، فليس لأي من مركبات تنشيط المناعة immune stimulants compounds تلك نشاط مرضي في أمراض تثبيط المناعة immune –suppressants diseases. وعلى ذلك، فإن هناك حاجة في هذا المجال لمنشطات مناعية بديلة يكون لها نشاط محسن وعريض.

الوصف العام للإختراع:-

يعمل هذا الإختراع على إعداد مركب سكر عديد Polysaccharide له الصيغة I حيث يعمل هذا المركب على تنشيط الجهاز المناعي، كما يعمل على إعداد طريقة للحصول على هذا المركب، وإستخدامه في علاج الأمراض التي تؤدي إلى تثبيط الجهاز المناعي، كما يعمل على إعداد تركيبات صيدلية تحتوي على هذا المركب.

هنـــاك مظهـــر لهـــذا الإختـــراع يتعلـــق بمركبـــات ســـكريات عديـــدة polysaccharide compounds لها الصيغة I.

المخطط ١



حيث n تتراوح من ٧ إلى ٨.

هناك مظهر ثاني لهذا الإختراع يتعلق بطريقة للحصول علـى مركـب الـسكر العديـد Polysaccharide له الصيغة I. تشتمل تلك الطريقة أولاً، على الحصول على مـستخلص مـائي من النبات الكالنديولا أوفيسياليز plant Calendula officinalis طبقـاً لطريقـة موضـحة فـي الطلب المصاحب لهذا الطلب وثانياً، فصل السكر العديد Polysaccharide باستخدام إتحـاد مـن تقنيات فصل يتم عملها بالإسترشاد بتجربة بيولوجية.

هناك مظهر آخر لهذا الإختراع يتعلق باستخدام مركب السكر العديـد Polysaccharide الخاص بهذا الإختراع الذي له الصيغة I كعامل علاجي في علاج الأمراض التـي تـؤدي إلـى تثبيط المناعة immune stimulants مثل الـسرطان cancer، الـسل tuberculosis، الأنفلـونزا influenza، البـرد الـشائع common cold، الحـساسية allergies، الذئبـة الحمـراء lupus erythematosus، الصداف psoriasis والإيدز AIDS.

وهناك مظهر آخر لهذا الإختراع يتعلق بتركيبات صيدلية تشتمل على مركب سكر عديد Polysaccharide له الصيغة I.

<u>شرح مختصر للرسومات:-</u>

يشتمل هذا الطلب على الأشكال والجداول الآتية:

الشكل ١ عبارة عن شكل تخطيطي لفصل PF2.

الشكل ٢ عبارة عن شكل تخطيطي لفصل PF2R.

الشكل ٣ عبارة عن طيف ^{1}H-RMN للمركب PF2RS8A.

الشكل ٤ عبارة عن طيف ^{13}C-NMR للمركب PF2RS8A.

الشكل ٥ عبارة عن ناتج كروماتوجرافي TLC الطبقة الرقيقة لنواتج التحلل المائي للمركب PF2RS8A بواسطة TFA والسكريات الأحادية monosugars الأخرى.

الشكل ٦ عبارة عن شكل تخطيطي لفصل PF2RS8B2، أي السكر العديد الذي له الصيغة I.

الشكل ٧ عبارة عن نسق كروماتوجرافي السائل العالية الأداء HPLC للمركب PF2RS8B2 تحت كاشف تشتت الضوء بالتبخير.

الشكل ٨ عبارة عن نسق HPLC للمركب PF2RS8B2 تحت كاشف للأشعة فوق البنفسجية.

الشكل ٩ عبارة عن طيف ^{1}H-RMN للمركب PF2RS8B2.

جدول ١ يوضح تأثير عينات PF2RS8A و PF2RS8B2 على تحول خلايا الدم البيضاء اللمفية.

الشكل ١٠ عبارة عن طيف ^{13}C-NMR للمركب PF2RS8B2، أي السكر العديد polysaccharide الذي له الصيغة I.

الشكل ١١ عبارة عن طيف DEPT-135 للمركب PF2RS8B2.

الشكل ١٢ عبارة عن طيف DEPT-90 للمركب PF2RS8B2.

الشكل ١٣ عبارة عن طيف HMQC للمركب PF2RS8B2.

الشكل ١٤ عبارة عن طيف ^{1}H-^{1}H-COSY للمركب PF2RS8B2.

الشكل ١٥ عبارة عن طيف ^{1}H-^{1}H-COSY للمركب PF2RS8B2.

الشكل ١٦ عبارة عن طيف HMQC للمركب PF2RS8B2.

الجدول ٢ يوضح طيف ^{13}C-NMR للمركب PF2RS8B2.

الشكل ١٧ عبارة عن طيف HMBC للمركب PF2RS8B2.

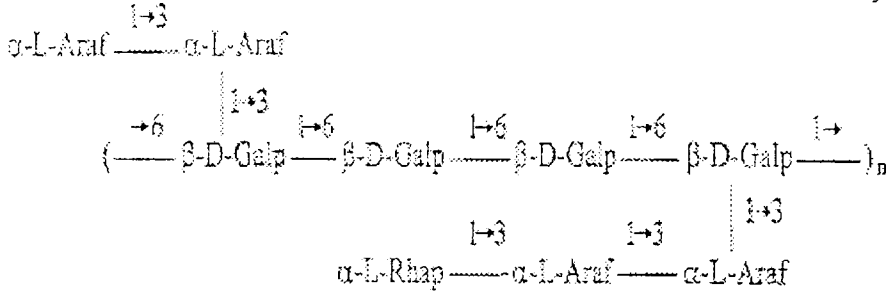
الشكل ١٨ عبارة عن طيف HMBC للمركب PF2RS8B2.

الشكل ١٩ عبارة عن كروماتوجرافية الطبقة الرقيقة TLC لمنتج التحلل المائي للمركب PF2RS8B2 بواسطة TFA والسكريات الأحادية monosugars الأخرى.

الشكل ٢٠ عبارة عن شكل تخطيطي لقياس الوزن الجزيئي.

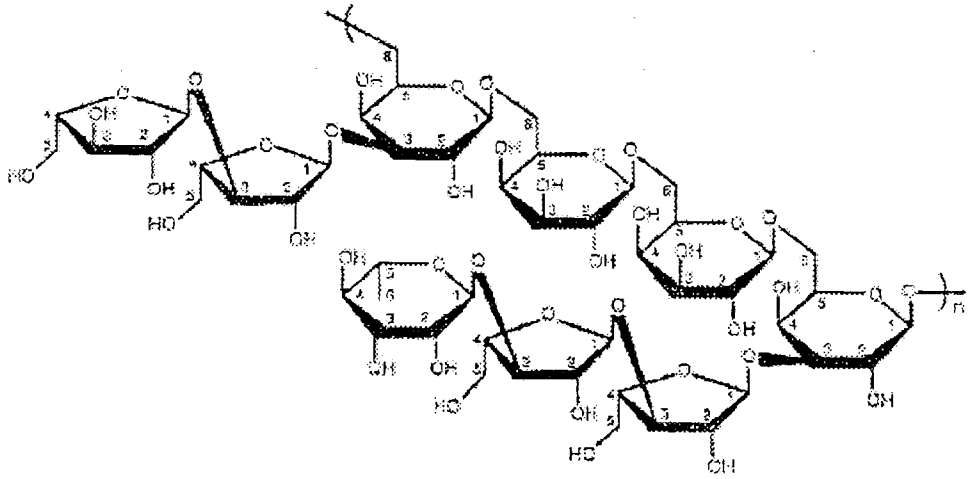
الوصف التفصيلي:-

كما سبق أن ذكر، فإن أول مظهر لهذا الإختراع يتعلق بمركبات سكر عديد Polysaccharide له الصيغة I.



حيث n تتراوح من ٧ إلى ٨.

ويكون تركيب المركب الذي له الصيغة II كما يلي:



حيث n تتراوح من ٧ إلى ٨.

يكون متوسط الوزن الجزيئي لمركب السكر العديد Polysaccharide الموجود حوالي ١٠٠٠٠.

يتعلق المظهر الثاني لهذا الإختراع بطريقة للحصول على مركب السكر العديد Polysaccharide الذي له الصيغة I. وتشتمل تلك الطريقة على: أولاً: الحصول على مستخلص مائي من النبات كاليندولا أوفيسياليز plant Calendula officinalis طبقاً للطريقة الموضحة في طلب البراءة المصاحب لهذا الطلب تحت عنوان الطريقة لتحضير مستخلصات مائية من نباتات والمستخلصات المائية التي يتم الحصول عليها بتلك الطريقة والذي تم إيداعه في نفس

الوقت مع هذا الطلب برقم مسلسل ----- و، ثانياً، فصل السكر العديد polysaccharide بواسطة إتحاد من تقنيات فصل يتم لعملها الإسترشاد بواسطة تجارب بيولوجية.

يتم الحصول على المستخلص المائي من الكالنديولا أوفيسيناليز plant Calendula officinalis بتعريض أزهار هذا النبات للعملية الآتية:

(أ) إزالة الملوثات من الأزهار flowers.

(ب) سحق الأزهار Comminuting the flowers.

(ج) معالجة الأزهار المسحوقة بواسطة شعاع الليزر laser radiation.

(د) تعليق الخليط الذي يتم الحصول عليه في الخطوة (ج) في الماء.

(هـ) نقع المعلق الذي يتم الحصول عليه في الخطوة (د).

(و) فصل السائل الناتج.

يتم تنفيذ عملية إزالة الملوثات (الخطوة أ) بغسل أزهار الكالنديولا أوفيسيناليز plant Calendula officinalis بالماء. وكمية الماء المستخدمة في تلك الخطوة ليست أساسية، ويمكن أن تختلف على حسب حالة تلوث النبات plant. يمكن أن تتراوح درجة حرارة الماء من ١٠ إلى ٤٠°م، ويفضل من ٢٠ إلى ٣٥°م، والأفضل ٢٨°م على الرغم من أن ذلك ليس أساسياً. يمكن إستخدام نفق غسيل لتسهيل تلك الخطوة. وكل من كمية الماء وفترة بقاء النبات في نفق الغسيل ليست أساسية، وعلى ذلك يمكن أن تختلف على حسب حالة تلوث النبات. يمكن أن يتم تنفيذ خطوة الغسيل عدة مرات، وفي كل مرة يكون هناك خطوة تجفيف. ويفضل أن يتم تنفيذ خطوة التجفيف تلك بوضع النبات في الشمس.

وبمجرد إزالة الملوثات من الأزهار، فإنه يتم سحقها (الخطوة ب) بواسطة طرق تقليدية مثل إستخدام ماكينة سحق أو حتى السحق يدوياً. ويجب أن تكون درجة الحرارة التي يتم عندها سحق الأزهار من ١٠°م إلى ٤٠°م.

وعلى الرغم من ذلك فإنه يمكن إستخدام درجات حرارة أعلى أو أقل. وبعد ذلك يتم إدخال الأزهار المسحوقة في عملية معالجة بشعاع الليزر laser radiation (الخطوة ج). ويمكن إستخدام دايود ليزر خطي أحمر red linear laser diode كمصدر لشعاع الليزر ويكون لهذا الدايود diode القدرة على توليد أطوال موجية في حدود تتراوح من ١٥٠ إلى ٨١٠ نانومتر.

والأفضل أن يكون الطول الموجي لشعاع الليزر laser radiation من ٢٠٠ إلى ٢٠٠ نانومتر والأكثر تفضيلاً ٢٥٠ نانومتر. ويفضل أن تكون طاقة شعاع الليزر laser radiation من ١ إلى ٦٠ وات، والأفضل من ١٠ إلى ٣٠ وات والأكثر تفضيلاً ٢٠ وات. ويفضل أن تكون بقعة الإضاءة بقطر من ١ إلى ٦ مليمتر، والأفضل من ٢ إلى ٥ مليمتر والأفضل ٤ مليمتر. يتم تعريض النبات المسحوق لشعاع الليزر بحيث يتم تعريض كل من أو أغلب الخليط لهذا الشعاع. ويتم ذلك إما بتحريك مولد الليزر يدوياً خلال النبات المسحوق، أو بإمرار المادة المسحوقة على سير خلال مجموعة من مولدات الليزر. يفضل أن يتم معالجة كل كجم من المادة المسحوقة بواسطة شعاع الليزر لفترة تتراوح من ٣ إلى ١٠ دقائق، والأفضل لفترة ٥ دقائق. وتتراوح درجة الحرارة التي عندها يتم معالجة النبات المسحوق بشعاع الليزر من ١٠°م إلى ٤٠ وذلك على الرغم من أنه يمكن إستخدام درجات حرارة أعلى أو أقل.

وبعد ذلك يتم تعليق المادة المعالجة بالليزر في الماء (الخطوة د). ويمكن استخدام أي ماء معدني تجاري في تلك الخطوة. يتم عمل المعلق بحيث يكون هناك من ٥٠ إلى ٣٠٠، ويفضل من ١٠٠ إلى ٢٥٠ جم من المادة المعالجة بالليزر في لتر ماء. وتكون درجة الحرارة التى عندها يتم تعليق النبات المسحوق في الماء من ١٠°م إلى ٤٠°م، على الرغم من أنه يمكن استخدام درجات حرارة أعلى أو أقل.

وبعد ذلك يتم الإحتفاظ بالمعلق لفترة تتراوح من ٥ إلى ٢٠ يوم، ويفضل من ٧ إلى ١٥ يوم، عند درجة حرارة تتراوح من ٢ إلى ١٠°م، ويفضل من ٤ إلى ٨°م، بحيث تتم عملية نقع الخليط (الخطوة هـ).

وأخيراً، بعد خطوة النقع، يتم فصل الطور السائل عن الطور الصلب (الخطوة و). يمكن ضغط المواد الصلبة لتسهيل عملية الفصل. يمكن تنفيذ عملية الفصل بالسحق فقط، أو يفضل أن يتم ذلك بالسحق ثم بالترشيح يفضل أن يتم تنفيذ عملية الترشيح تحت ضغط. والأفضل أن يكون هناك ثلاث خطوات ترشيح بالضغط متتالية بمرشحات ٥ ميكرون، ١ ميكرون و ٠,٢٢ ميكرون. وتتراوح درجة الحرارة التى عندها يتم تنفيذ عملية الفصل من ١٠°م إلى ٤٠°م على الرغم من أنه يمكن استخدام درجات حرارة أعلى أو أقل.

يتم الحصول على مستخلص مائي بلون أصفر مغري.

بعد ذلك يتم تعريض المستخلص الذي يتم الحصول عليه لعملية فصل والتي تشتمل على الترسيب بواسطة methanol، الطرد المركزي ثم الفصل الكروماتوجرافي chromatographic الذي يستدل على سلامته بواسطة التجارب البيولوجية. ولقد تم تنفيذ التجربة البيولوجية في المعمل بإضافة العينات إلى خلايا الدم البيضاء اللمفية المفصولة من الفئران تبعاً للمرجع Max, W et aI., Journal of Natural Products, vol. 54, no. 6, pp. 1531-1542 (1991).

ولقد تمت مراقبة عملية استخدام thymidine، والتي تعني تكاثر DNA. واستخدام thymidine يتضح بزيادة عدد كرات الدم البيضاء اللمفية وزيادة نشاطها، وتشتمل تقنيات الفصل تلك الترسيب المتكرر بواسطة ethanol، الطرد المركزي، الديلزة dialysis و/أو كروماتوجرافية العمود column chromatography.

وعلى ذلك، فقد تم تجفيد ١٢ لتر من المستخلص المائي الذي سبق الحصول عليه للحصول على ٨٠٠ جم من مسحوق أسمر اللون ("PF2"). ولقد تم تقسيم هذا المسحوق إلى جزء قابل للذوبان في methanol وراسب غير قابل للذوبان في methanol (FF2R، ٣٥٠ جم)، والذي يكون له نشاط تحول كرات الدم البيضاء اللمفية. ولقد تم تعريض جزء (٨٠ جم) من تلك المادة للترسيب بالميثانول methanol، ثم الطرد المركزي، ثم الديلزة dialysis و/أو كروماتوجرافية العمود column chromatography على سيفاديكس ثاني إثيل أمينو إثيل DEAE Sephadex حيث تم فصل عدد من المواد البلورية crystalline materials، ولقد اتضح أن تلك المركبات عبارة عن أملاح غير عضوية غير نشطة inactive inorganic salts (الشكل ١).

ولقد تم ترسيب جزء (٢٧٠ جم) من PR2R بالميثانول methanol حتى الوصول لتركيزات نهائية ٢٥، ٥٠ و ٦٧% حيث نتج عن ذلك رواسب نشطة. ولقد كانت المادة الأكثر نشاطاً هي الراسب الذي تم الحصول عليه من محلول ٥٠% methanol (PF2RS8 ٥١,٢ جم، LT= +١٠٥٩%). ولقد نتج عن العمل على جزء ٥ جم من PF2RS8 مذاب في الماء، مع اتباع ذلك بالطرد المركزي، ثم الفصل الكروماتوجرافي chromatographic للمحلول الطافي على Sephadex G-25 أن تم الحصول على جزء غني بسكر عديد Polysaccharide نشط والذي يسمى PF2RS8A (٠,١٣ جم، LT= + ١٠٧٤%). وبعد ذلك تم الحصول على جزء مطابق والذي يسمى "PF2RS8A" (٠,٣ جم) من جزء ثاني (٦ جم) من الراسب ٥٠%

methanol. وكما هو مبين في الشكل ٢، فقد تم فصل عدد من الأجزاء الأخرى والمواد البلورية، وعلى أي حال، فلم يصح مستوى نشاط LT للمركب PF2RS8A.

ولقد تم تمييز PF2RS8A بواسطة قياسات طيفية (^{1}H، ^{13}C-NMR، وطيف DEPT)، والتحلل الكيميائي chemical analysis (التحلل المائي بواسطة TFA والتحليل على السليكاجل TLC). انظر الأشكال ٣، ٤، ٥.

تم فصل خليط سكر عديد Polysaccharide أكثر نشاطاً PF2RS8A (١,٤ جم) من الجزء المتبقي من راسب methanol ٥٠% (PF2RS8). وفي نفس الوقت، فقد نتج عن العمل في جزء (٢جم) من الجزء الغير قابل للذوبان من الميثانول ٦٧% (PF2RS9؛ LT= + ٧٣٥%) أن تم فصل خليط سكر عديد Polysaccharide (PF2RS9A، ٠,٣جم)، لقد اتضح بواسطة تحليل ^{1}H-NMR أن هذا المركب مطابق للمركب PF2RS8A. وعلى ذلك، فقد تم اتحاد PF2RS9A (٠,٢ جم) مع PF2RS8A (١,٤ جم)، ثم تم تعريض الخليط، والذي يسمي PF2RS8B لعملية فصل تالية بواسطة Sephadex G-50 (٢٠-٨٠ مليمتر) كما هو موضح في الشكل ٦. ولقد نتج عن المج بالماء أن تم الحصول على ٦ أجزاء (PF2RS8B1, 2, 3, 4, 5, 6) والذي اتضح بتحليل HPLC أن المركب الرئيسي المفصول PF2RS8B2 هو المتجانس وذلك باستخدام نظام تشتت الضوء بالتبخير والكشف بواسطة الأشعة فوق البنفسجية UV (الشكلين ٧ و ٨). ولقد بين التحليل الطيفي بالرنين النووي المغناطيسي لكل من ^{1}H و ^{13}C-NMR (الشكل ٩ و ١٠) أن تلك الأطياف مماثلة لتلك التي يتم الحصول عليها لكل من PF2RS8A (الشكلين ٣ و ٤) ويوضح ذلك أنها هي السكر العديد Polysaccharide الرئيسي في الخليط. يتكون الجزء PF2RS8B2 على السكر العديد Polysaccharide له الصيغة I وماء. يمكن إزالة الماء بطرق معروفة في هذا المجال.

توضح التجربة البيولوجية لناتج الفصل المتجانس PF2RS8B2 والخليط الرئيسي PF2RS8A في نفس التجربة نشاط تحول كرات الدم البيضاء اللمفية (LT) بنسبة ٦٢٠٣% و ٣٥٣٢% على الترتيب (الجدول ١). والمستوى الأعلى للنشاط الموضح بواسطة ناتج الفصل يوضح أن هذا السكر العديد Polysaccharide هو المكون النشط الرئيسي للتأثير البيولوجي لهذا المستخلص.

ولقد تم التأكيد على تركيب السكر العديد النشط PF2RS8B2 active polysaccharide (سكر عديد Polysaccharide له الصيغة I) بواسطة أطياف الرنين النووي المغناطيسي ^{1}H، ^{13}C و HMQC ^{1}H-^{1}HCOSY ثنائية الأبعاد) والتحليل الكيميائي chemical analysis (التحلل المائي بواسطة TFA والتحليل على كروماتوجرافية الطبقة السائلة على سليكاجل silica gel). وعلى ذلك فإن إشارات ^{1}H-NMR (الشكل ٩) عند δ ٥,٣ و ٣,٢ جزء في المليون توضح السكر العديد. توضح إشارات الرنين النووي المغناطيسي ^{13}C (الأشكال ١٠-١٢) عند δ ١١١,٩ (د)، ١١٠,١ (د) جزء لكل المليون لذرات الكربون الأنوميرية anomeric carbons من ١←٣ المرتبطة عند α-L-arabinofuranose و α-L-arabinofuranose الطرفية (والتي يتم التعبير عنها Araf و Araf' على الترتيب). وتعزو الإشارات عند δ ١٠٦,١ (د) و ١٠٥,٩ (د) جزء في المليون لذرات الكربون الأروماتية ١←٦ المرتبطة مع β-D-galactopyranose و ١←٣، ١←٦ المرتبطة مع β-D-galactopyranose (والتي يتم التعبير عنها بالإسم Galp و Galp على الترتيب)، بينما الإشارات عند δ ١٠٠,٢ (د) جزء في المليون تعزو لذرات الكربون الأنوميرية α-L-arhamnopyranose anomeric carbons (والتي تسمى Rhap). ولقد تم أيضاً تمييز إشارات البروتون الأنوميرية anomeric proton (H-1) بسهولة بسبب إزاحات الحقل المنخفض النسبية في أطياف ^{1}H-NMR. والعلاقة المباشرة بين إشارات البروتون proton والكربون carbon-13 الملحوظة في طيف HMQC (الشكل ١٣) قد حددت إشارات ^{1}H-RMN كما يلي δ ٥,٠٨ (brs)، ٥,٢٣ (brs)، ٤,٤٧ (d, J=7.9 Hz)، ٤,٥٣ (d, J=7.3Hz)، و ٥,١ (brs) جزء في المليون كبروتون أنوميري α-L-arhamnopyranose anomeric protons (Alf')، (Araf)، β-D-galactopyranose (Galp')، (Galp) β-D-galactopyranose، و α-L-arabinofuranose (Rhap). وباستخدام تلك الإشارات كمرجع، فإنه يمكن تتبع إشارات البروتون proton الأخرى بتحليل أطياف 2D^{1}H-^{1}H-COSY (الشكلين ١٤، ١٥). وبالمثل، فقد تم تعريف إشارات الكربون carbon المناظرة بواسطة أطياف HMQC (الشكلين ١٣، ١٦ وجدول ٢). ولقد تم تحديد تتابعات وحدات السكر كما يلي. وعن طريق الإزاحة السفلية للإشارة عند C-3 لوحدة Araf (δ ٧٩,٤) وGalp (δ ٨٢,٨) والإشارات عند C-6 التي تخص Galp و Galp' (δ ٦٩,٢) فقد تم افتراض أن ذرات الكربون تلك كانت مرتبطة مع وحدات السكر

الأخرى. وملاحظة العلاقات طويلة الأمد بين C-1 التي تخص Araf و C-6 التي تخص Galp و 'Galp في طيف HMBC (الشكل ١٧) المفترض عند ١←٦ مرتبط β-D-galactopyranose كهيكل رئيسي ولقد كان Araf مرتبط ١←٣ مع Glap بملاحظة العلاقة طويلة الأمد بين C-1 التي تخص Araf و C-3 التي تخص Galp (الشكل ١٨). ومن طيف ^{1}H-NMR (الشكل ٩) فقد تم حساب نسبة السكريات تبعاً لقيم التكامل لقمم البروتونات الأنوميرية anomeric protons بحيث أن النسب: Araf: Araf': Galp: Galp': Rhap/ كما يلي ٣: ١: ٢: ٢: ١ وعلى ذلك فقد تم استنتاج أن PF2RS8B2 عبارة عن سلسلة كبيرة متفرعة من سكر متعدد بالتركيب الإبتدائي الموضح في الصيغة I (مخطط التفاعل I). والمخطط II هو نفس التركيب ولكن يوضح التركيب الفرعي الكيميائي للسكريات sugars.

وللتأكد من نوعيات السكريات المكونة للتركيب، فقد تم عمل تحلل مائي للتركيب PF2RS8B2 بواسطة TEF (٠,٥ مولاري، ١٠٠- ١٢٠°م) مع إتباع ذلك بتحليل كروماتوجرافية الطبقة الرقيقة (الشكل ١٩). لقد تم بسهولة تمييز وجود السكريات الرئيسية α-L-arhamnopyranose و β-D-galactopyranose بسهولة، بينما تم الكشف عن وجود السكر الثانوي، α-L-arhamnopyranose، بصعوبة أكثر، ومن المحتمل أن يكون ذلك بسبب كمية ناتج التحلل المستخدم على لوح كروماتوجرافية الطبقة الرقيقة.

لقد تم تقييم الوزن الجزيئي لـ PF2RS8B2 بواسطة كروماتوجرافية سماحية الهلام (باستثناء الحجم). ويكون متوسط الوزن الجزيئي الذي يتم تقييمه لـ PF2RS8B2 هو ١٠٠٠٠ (انظر الشكل ٢٠).

يكون لمركب السكر العديد Polysaccharide الذي له الصيغة I نشاط مرتفع جداً كمنشط مناعي، كما هو موضح في المثال التالي. وعلى ذلك يتعلق المظهر الثالث لهذا الإختراع، باستخدام مركب سكر عديد Polysaccharide له الصيغة I كعامل علاجي في علاج الأمراض التي تثبط المناعة مثل السرطان cancer، السل tuberculosis، الأنفلونزا influenza، البرد الشائع common cold، الحساسية allergies، الذئبة الحمراء lupus erythematosus، الصداف psoriasis والإيدز AIDS. والأمثلة الغير محددة على أنواع السرطان التي يستخدم فيها هذا المركب تشتمل على سرطان الكبد hepatic carcinoma، سرطان الرئة lung cancer، سرطان

الكلى kidney cancer، سـرطان القولـون colon cancer، سـرطان الثـدي breast cancer، سرطان البروستاتا prostate cancer، وأنواع سرطانات المخ مثل سـرطان الخلايـا النجميـة وأورام الأورمة الليفية، وسرطان عنق الرحم cervix cancer، وسرطان المثانة blade cancer.

يتعلـق المظهـر الرابـع لهـذا الإختـراع بتركيبـات صـيدلية pharmaceutical compositions تشتمل على مركب سكر عديد Polysaccharide له الـصيغة I.

يمكن إعطاء مركب السكر العديد Polysaccharide تبعاً لهذا الإختراع إما بفـرده فـي صورة مادة نقية أو في صورة مستحضرات صيدلية، حتى إذا كان من المفضل إعطـاء مركـب هذا الإختراع في إتحاد. يفضل أن يكون اتحاد الدوائر في صورة تركيب والـذي: (١) يحتـوي على سكر عديد Polysaccharide طبقاً لهذا الإختراع بمفرده، (٢) يحتوي علـى مركـب ربـط ملائم واحد أو أكثر، مواد حاملة، و/أو مواد أخرى إضافية، (٣) يمكن أن يحتوي أيـضاً علـى مواد إضافية نشطة علاجياً.

يجب أن تكون المواد الحاملة، مركبات الربط و/أو المواد الإضـافية مقبولـة صـيدلياً، بحيث يمكن أن تتحد مع المكونات الأخرى للتركيب أو المستحضرات ولا تؤدي إلـى تـأثيرات سلبية على الكائن الذي يتم معالجته.

تشتمل التركيبات على تلك التي تكون ملائمة للإعطاء عن طريق الفم أو الحقـن (بمـا يتضمن الإعطاء تحت الجلد، في الجلد، في العضل وفي الوريد intravenous)، وعلى أي حـال فإن أفضل مسار للإعطاء يعتمد على حالة المريض.

يمكن أن تكون التركيبات في صورة جرعات فردية. يتم تحضير التركيبات تبعاً للطـرق المعروفة في المجال الصيدلي. يمكن أن تختلف الكميات الملائمة للمواد النشطة الملائمة للإعطاء كدالة للعلاج. وعلى وجه العموم، فإن تركيز المادة النشطة في تركيب يحتوي على جرعة واحدة يتراوح من ٥% إلى ٩٥% من التركيب الكلي.

يمكن زيادة توضيح هذا الاختراع عن طريق الأمثلة التالية:

مثال ١: تحضير مستخلص مائي من زهور كاليندولا أوفيسيناليز Calendula officinalis تبعـاً لطريقة هذا الإختراع.

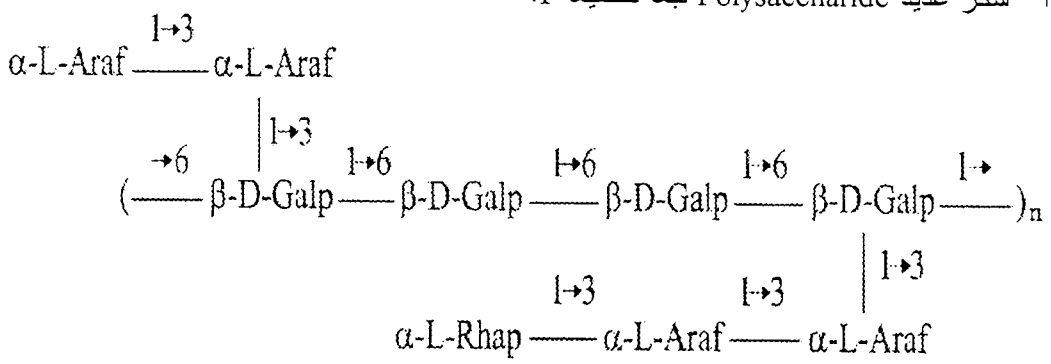
يتم وضع ٥٠٠ جم من أزهار كاليندولا أوفيسيناليز Calendula officinalis في نفق غسيل ثم يتم غسلها جيداً بالماء عند درجة حرارة حوالي ٢٨°م. وبعد ذلك يتم سحق الأزهار بواسطة ماكينة سحق. يتم تعريض ٥٠٠ جم الناتجة من المادة المسحوقة للمعالجة بواسطة دايود ليزر خطي أحمر red linear laser diode يكون له القدرة على توليد طول موجي ٢٥٠ نانومتر وبطاقة ٢٠ وات وبقعة ضوئية بقطر ٤ مليمتر. يتم تنفيذ عملية المعالجة بإزاحة مواد الليزر خلال المادة المسحوقة خلال فترة دقيقتين ونصف، بحيث يتم معالجة كل أو أغلب كمية الخليط. وبعد ذلك يتم تعليق المادة المعالجة بالليزر laser في ٢ لتر ماء عند درجة حرارة حوالي ٢٠°م. وبعد ذلك يتم الإحتفاظ بالمعلق لمدة ١٢ يوم عند درجة حرارة ٥٤°م. يتم فصل الطور السائل عن الطور الصلب، ويتم ذلك أولاً بصفق السائل (يتم ضغط المواد الصلبة لتسهيل الفصل)، وبعد ذلك يتم عمل ثلاث خطوات ترشيح متتالية بمرشحات ٥، ١ و ٠,٢٢ ميكرون عند درجة حرارة حوالي ٢٠°م. ينتج عن ذلك الطريقة حوالي ١,٧ لتر من محلول (مستخلص مائي) بلون أصفر بلون المغرة.

مثال ٢: يتم فصل السكر العديد polysaccharide الذي له الصيغة I كما هو موضح في الصفحات ٧- ٨ للوصف.

مثال ٣: تم اختبار السكر العديد polysaccharide الذي له الصيغة I وذلك للحصول على نشاطه كمنشط مناعي وبتقييم نشاط تحول خلايا الدم البيضاء اللمفية (LTA). ونعني بنشاط تحول خلايا البيضاء اللمفية حقيقة أنه يتم تحويل خلايا الدم البيضاء اللمفية من حالة السكون إلى حالة النشاط، وهي الحالة الضرورية لمقاومة الأمراض عن طريق الآلية المناعية، أو لاستعادة الجهاز المناعي، والذي يمكن أن يضعف نتيجة لعوامل مختلفة. ولقد تم تنفيذ الاختبارات تبعاً للمرجع Max, W et aI., Journal of Natural Products, vol. 54, no. 6, pp. 1531-1542 (1991). بإضافة محلول من السكر العديد الخاص بهذا الإختراع إلى خلايا الدم البيضاء اللمفية المفصولة من الفئران. ولقد تمت مراقبة عملية استخدام thymidine، وهي تعني تكاثر DNA. وعملية استخدام thymidine تلك توضح زيادة عدد خلايا الدم البيضاء اللمفية وزيادة نشاط تلك الخلايا. تعدد السكر العديد الذي له الصيغة I عملية تنشيط لخلايا الدم البيضاء اللمفية (LTA) + ٦٢٠٣% مقارنة بخلايا الدم البيضاء اللمفية الغير منشطة.

عناصر الحماية

١ ١- سكر عديد Polysaccharide تبعاً للصيغة I:



٢ حيث n تتراوح من ٧ إلى ٨.

١ ٢- طريقة للحصول على المركب المعرف في عنصر الحماية ١ والتي تشتمل على: ١) فصل
٢ زهور نبات الكالنديولا أوفيسيناليز plant Calendula officinalis (الكالنديولا Calendula هو
٣ نبات يستخدم في الحروق والتسلخات)، ٢) تعريضهم لطريقة الإستخلاص التالية:
٤ أ) إزالة الملوثات من الزهور.
٥ ب) سحق الزهور.
٦ ج) معالجة الزهور المسحوقة بواسطة شعاع الليزر laser radiation.
٧ د) تعليق الخليط الذي تم الحصول عليه في الخطوة (ج) في الماء.
٨ هـ) نقع المعلق الذي يتم الحصول عليه في الخطوة (د).
٩ (و) فصل السائل الناتج.
١٠ و ٣) تعريض السائل الذي يتم الحصول عليه في الخطوة (و) لعملية فصل (أو عزل) والتي
١١ تشتمل على:
١٢ ز) ويتم التجفيف في حالة التجمد للسائل الذي تم الحصول عليه في الخطوة (و).
١٣ ح) ترسيب الحالة المجففة في حالة التجمد التي تم الحصول عليها في الخطوة (ز) بميثانول
١٤ methanol.
١٥ ط) فصل الطور الصلب the solid phase من الطور السائل liquid phase.

ي) ترسيب الطور الصلب the solid phase الذي تم الحصول عليه في الخطوة ط) بميثانول methanol إلى تركيزات نهائية ٢٥%، ٥٠ و ٦٧%.

ك) تتم الذوبانية في الماء للرواسب التي تم الحصول عليها في الخطوة ي) عند ٥٠% و ٦٧%، يتم الفرز والتأثير بفصل كروماتوجرافي chromatographic للمادة الطافية.

ل) تمييز الجزء الفعال بالتحليل الحيوي.

م) التأثير بفصل كروماتوجرافي ثاني second chromatographic للجزء الفعال active fraction.

ن) تمييز الجزء الفعال بالتحليل الحيوي bioassay.

ش) يتم فصل (سائل الفصل الإستشرابي) (eluent) (الشاطف)

وفيه معالجة بأشعة الليزر laser radiation من الخطوة (ج) متأثرة بصمام ثنائي (دايود diode) من الليزر خطي أحمر red linear laser مع قابلية تجديد توافقي في الأطوال الموجية في المعدل من ١٥٠ إلى ٨١٠ نانومتر، قدرة من ١ إلى ٦٠ وات وبقعة من ١ إلى ٦ نانومتر من القطر.

٣- طريقة تبعاً لعنصر الحماية ٤ حيث يكون الطول الموجي the wavelength في حدود تتراوح من ٢٠٠ إلى ٤٠٠ نانومتر، ويفضل ٢٥٠ نانومتر، وتكون الطاقة ٢٠ وات وقطر البقعة الضوئية ٤ ملليمتر.

٤- طريقة تبعاً لأي من عناصر الحماية السابقة، حيث يتم معالجة كل كجم من المادة المسحوقة بواسطة شعاع الليزر laser radiation لفترة من الوقت تتراوح من ٣ إلى ١٠ دقائق، ويفضل لمدة ٥ دقائق.

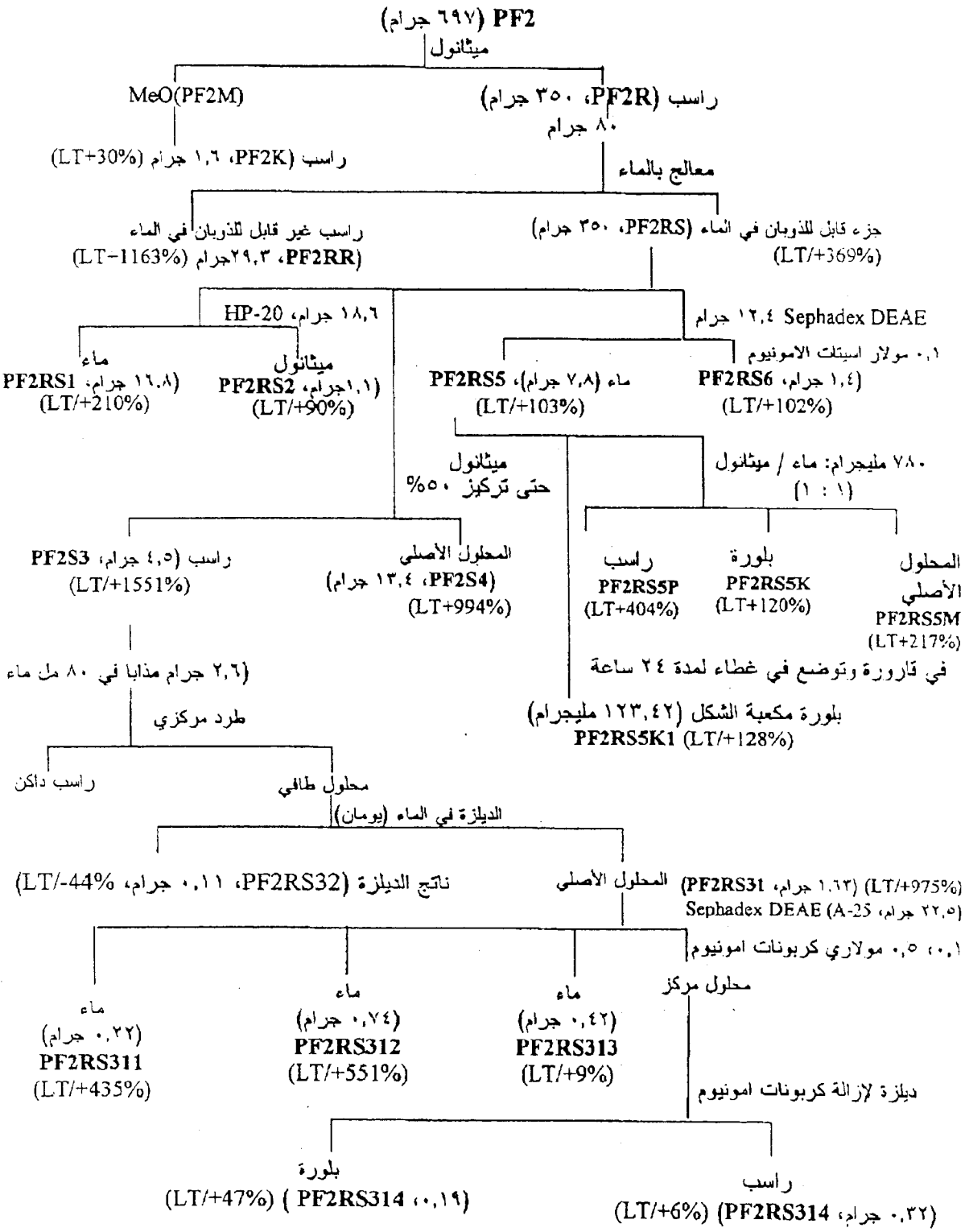
٥- الإستخدام تبعاً لعنصر الحماية ١ لتصنيع دواء لعلاج الأمراض المثبطة للمناعة.

٦- الإستخدام تبعاً لعنصر الحماية ٥ لتصنيع دواء لعلاج السرطان cancer مثل، سرطان الكبد hepatic carcinoma، سرطان الرئة lung cancer، سرطان الكلى kidney cancer، سرطان

القولون colon cancer، سرطان الثدي breast cancer، سرطان البروستاتا prostate cancer، أو سرطان الخلايا الغدية للبروستاتا prostatic adenocarcinoma، سرطان المخ brain cancers مثل أورام الخلايا الغدية للبروستاتا prostatic adenocarcinoma، سرطان المخ مثل أورام الخلايا النجمية وأورام الأرومة الدبقية، سرطان عنق الرحم cervix cancer وسرطان المثانة blade cancer. بالإضافة إلى السل tuberculosis، الأنفلونزا influenza، البرد الشائع common cold، الحساسية allergies، الذئبة الحمراء lupus erythematosus، الصداف psoriasis و AIDS.

٧- مستحضر صيدلي يشتمل على مركب تبعاً لعنصر الحماية ١ وسواغ مقبول acceptable vehicle.

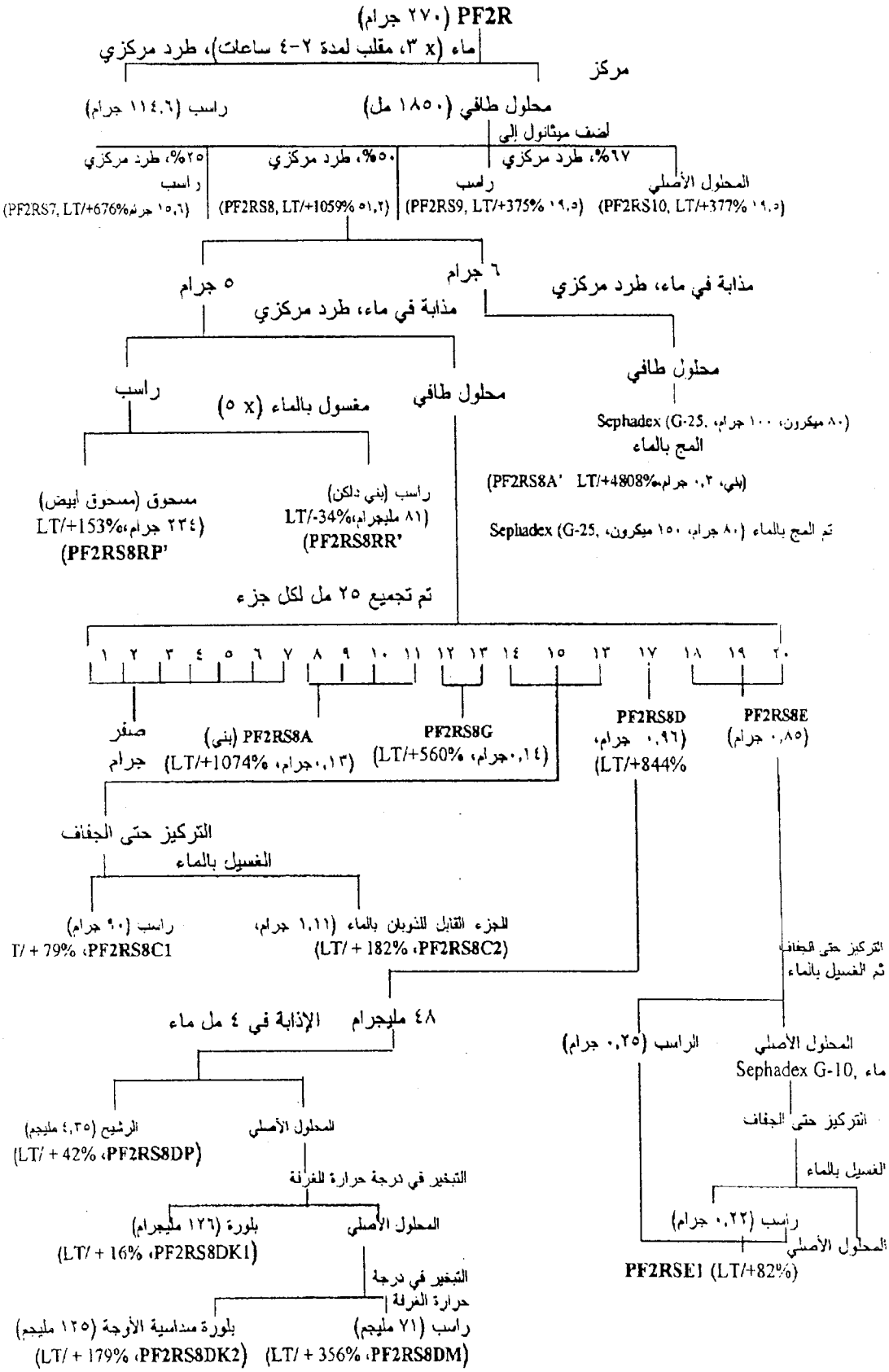
٨- مستحضر صيدلي وفقاً للعنصر ٧ أيضاً يشتمل على مركب واحد آخر على الأقل له فاعلية.



LT= نشاط تحول خلايا الدم البيضاء اللمفية

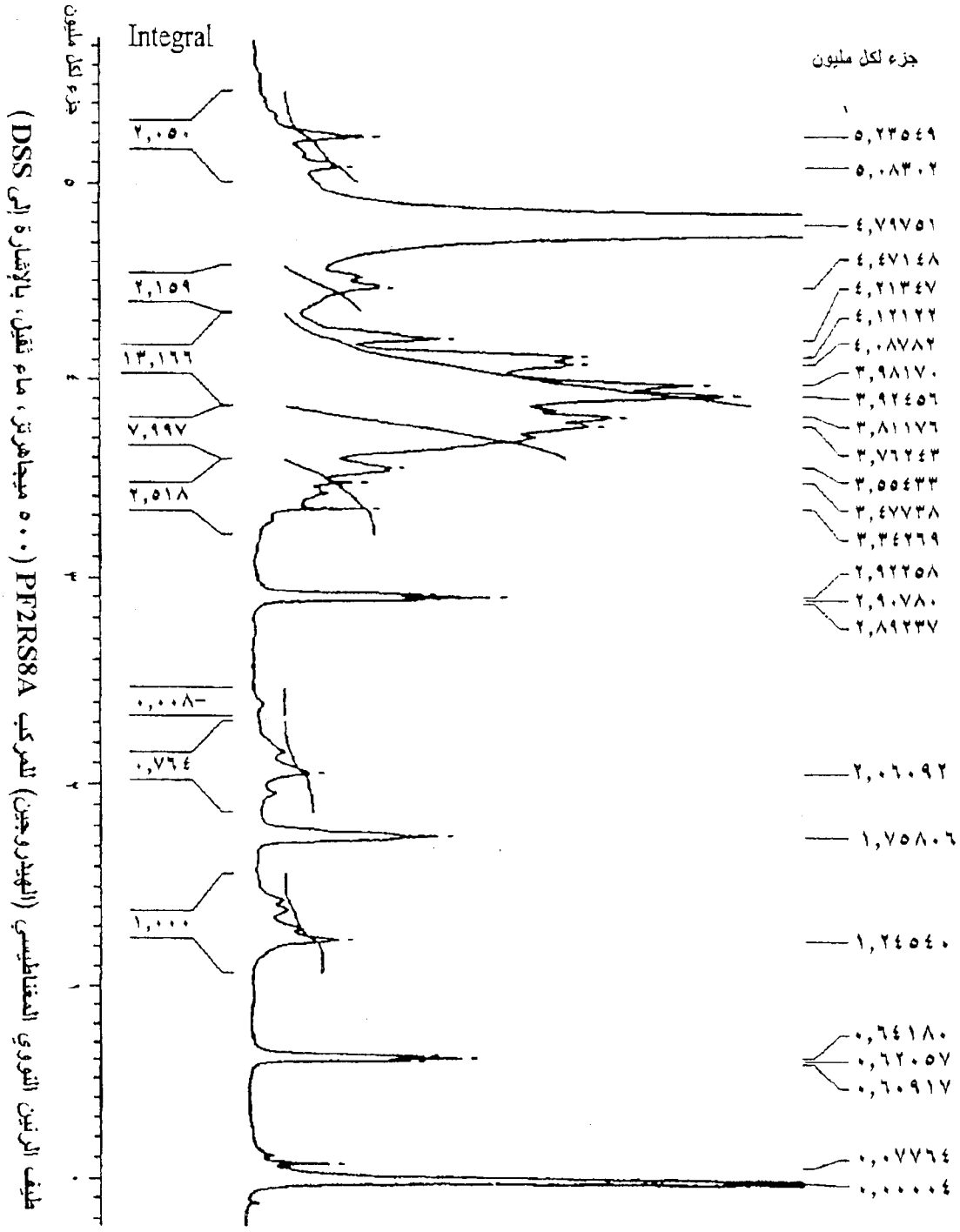
فصل PF2 كيميائيا الموجه بواسطة النشاط البيولوجي

شكل ١



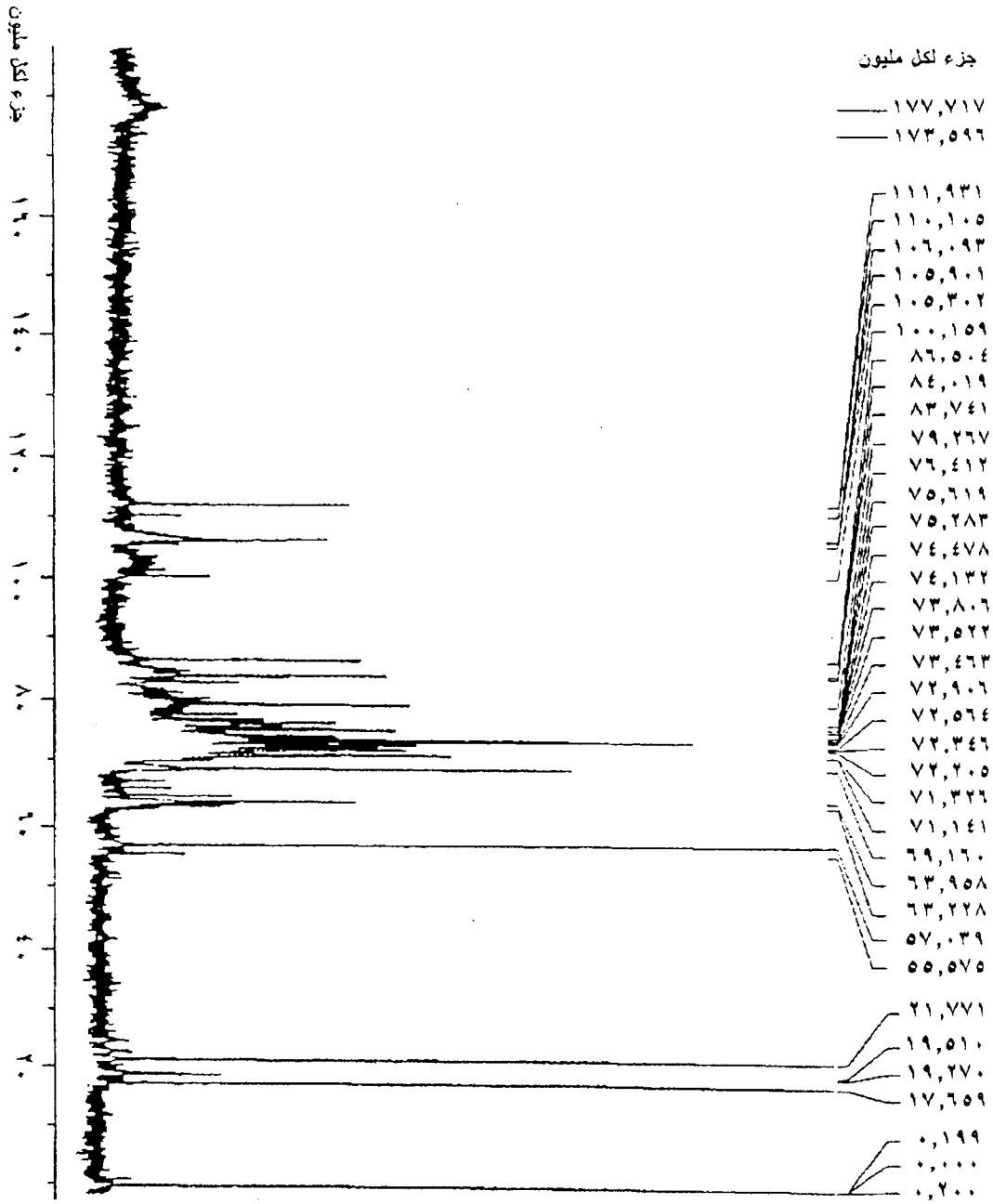
PF2R (٢٧٠ جرام)
ماء (x ٣، مقلب لمدة ٢-٤ ساعات)، طرد مركزي
مركز
راسب (١١٤،٦ جرام)
محلول طافي (١٨٥٠ مل)
لضف ميثانول إلى
٢٥%، طرد مركزي
راسب
(PF2RS7, LT/+676% ،١٥،٦ جرام)
٥٠%، طرد مركزي
(PF2RS8, LT/+1059% ،٥١،٢)
٦٧%، طرد مركزي
راسب
(PF2RS9, LT/+375% ،١٩،٥)
المحلول الأصلي
(PF2RS10, LT/+377% ،١٩،٥)
٦ جرام
مذابة في ماء، طرد مركزي
٥ جرام
مذابة في ماء، طرد مركزي
محلول طافي
Sephadex (G-25, ١٠٠ جرام، ٨٠ ميكرون)
المج بالماء
(PF2RS8A' LT/+4808% ،٠،٢ جرام، بني)
Sephadex (G-25, ١٥٠ ميكرون، ٨٠ جرام) تم المج بالماء
راسب
مغسول بالماء (x ٥)
محلول طافي
مسحوق (مسحوق أبيض
LT/+153% ،٢٢٤ جرام)
(PF2RS8RP'
راسب (بني داكن
LT/-34% ،٨١ مليجرام)
(PF2RS8RR'
تم تجميع ٢٥ مل لكل جزء
١ ٢ ٣ ٤ ٥ ٦ ٧ ٨ ٩ ١٠ ١١ ١٢ ١٣ ١٤ ١٥ ١٦ ١٧ ١٨ ١٩ ٢٠
صفر
جرام
PF2RS8A (بني)
(LT/+1074% ،٠،١٣جرام)
PF2RS8G
(LT/+560% ،٠،١٤جرام)
PF2RS8D
(٠،٩٦ جرام،
(LT/+844%
PF2RS8E
(٠،٨٥ جرام)
التركيز حتى الجفاف
الغسيل بالماء
راسب (٠،٩٠ جرام)
LT/ + 79% ،PF2RS8C1
الجزء القابل للذوبان بالماء (١،١١ جرام)
(LT/ + 182% ،PF2RS8C2)
التركيز حتى الجفاف ثم الغسيل بالماء
٤٨ مليجرام الإذابة في ٤ مل ماء
الراسب (٠،٢٥ جرام)
المحلول الأصلي
Sephadex G-10, ماء
التركيز حتى الجفاف
الغسيل بالماء
راسب (٠،٢٢ جرام)
المحلول الأصلي
PF2RSE1 (LT/+82%)
الرشيح (٤،٣٥ مليجم)
(LT/ + 42% ،PF2RS8DP)
المحلول الأصلي
التبخير في درجة حرارة الغرفة
بلورة (١٢٦ مليجرام)
(LT/ + 16% ،PF2RS8DK1)
المحلول الأصلي
التبخير في درجة حرارة الغرفة
بلورة متداسية الأوجة (١٢٥ مليجم)
(LT/ + 179% ،PF2RS8DK2)
راسب (٧١ مليجم)
(LT/ + 356% ،PF2RS8DM)

شكل ٢



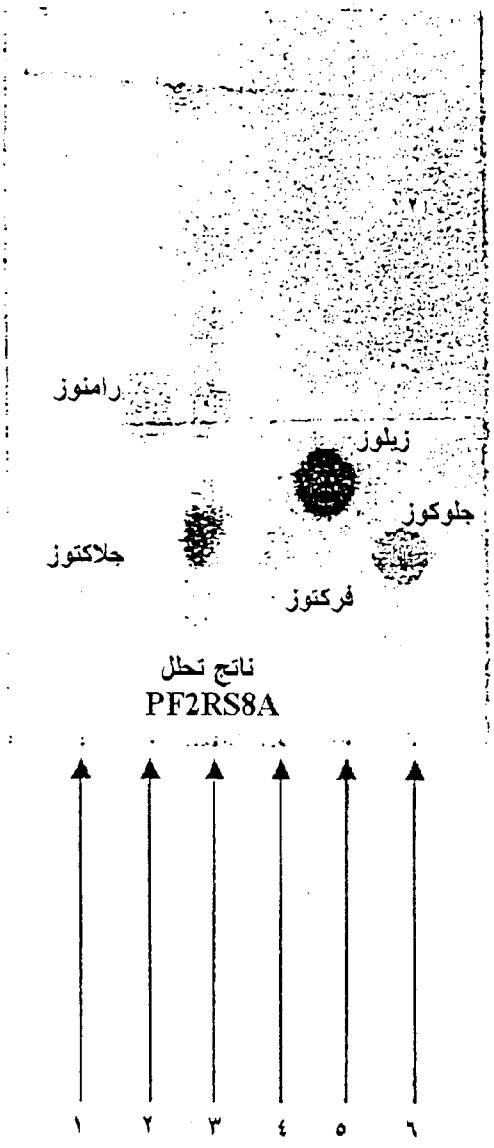
طيف الرنين النووي المغناطيسي (الهيدروجين) للمركب PF2RS8A (٥٠٠ ميجاهرتز، ماء ثقيل، بالإشارة إلى DSS)

شكل ٣



طيف الرنين النووي المغناطيس (الكربون ١٣) للمركب PF2RS8A (١٢٥ ميجاهرتز، ماء ثقيل؛ بالإشارة إلي DSS)

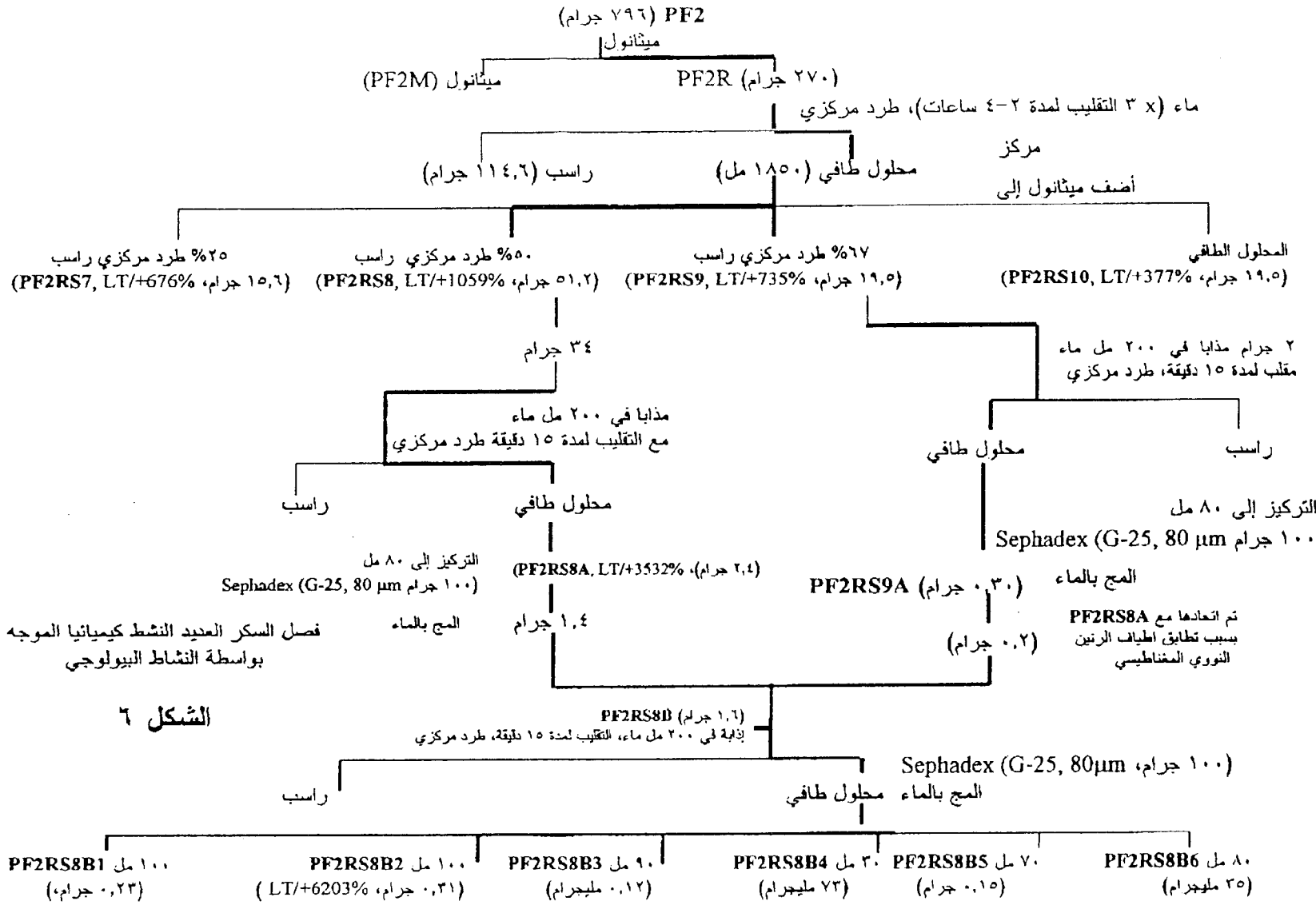
الشكل ٤



١- جلاكتوز؛ ٢- رامنوز ؛ ٣- ناتج تحلل PF2RS8A ؛ ٤- فركتوز؛ ٥- زيلوز؛ ٦- جلوك

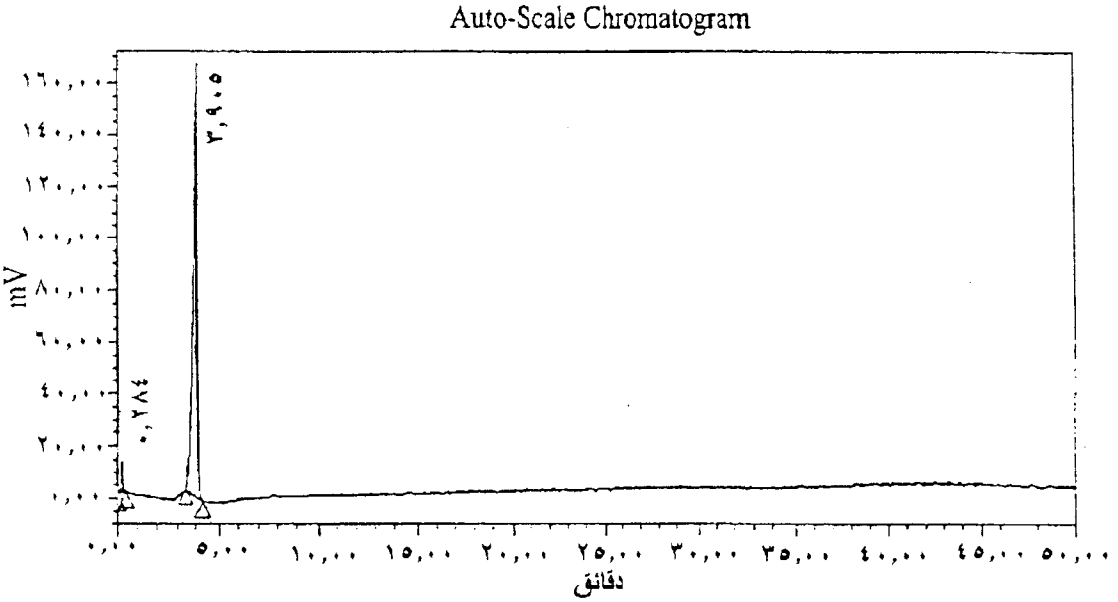
نواتج التحلل المائي بواسطة كروماتوجرافية الطبقة الرقيقة للمركب PF2RS8A
باستخدام ثالث فلورو حمض خليك ومركبات السكريات الاحادية الأخري

شكل ٥



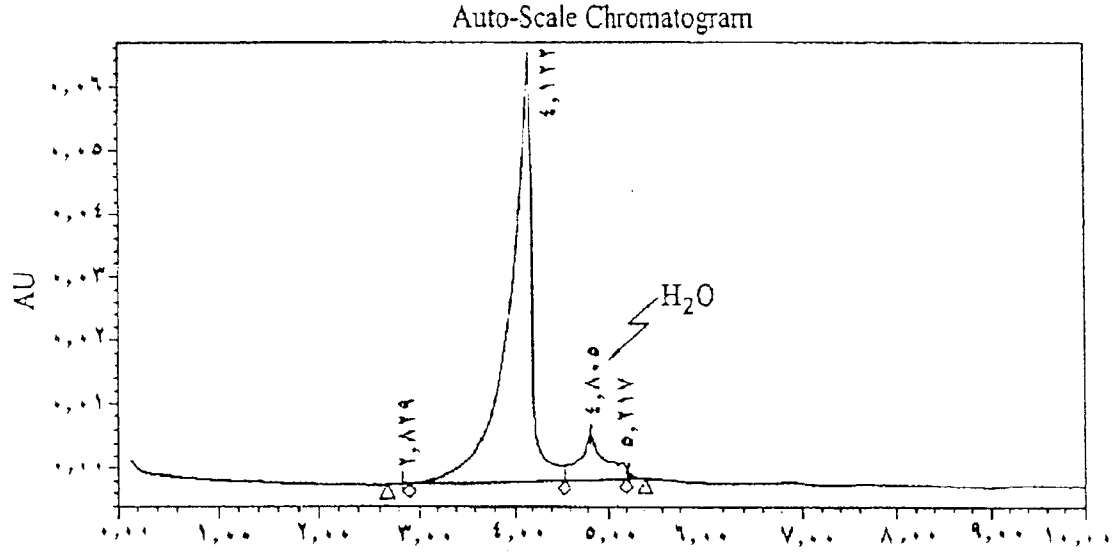
PF2 (٧٩٦ جرام)
ميثانول
(PF2M) ميثانول
PF2R (٢٧٠ جرام)
ماء (x ٣ التقليب لمدة ٢-٤ ساعات)، طرد مركزي
مركز
أضف ميثانول إلى
راسب (١١٤,٦ جرام)
محلول طافي (١٨٥٠ مل)
٢٥% طرد مركزي راسب
(PF2RS7, LT/+676% ،١٥,٦ جرام)
٥٠% طرد مركزي راسب
(PF2RS8, LT/+1059% ،٥١,٢ جرام)
٦٧% طرد مركزي راسب
(PF2RS9, LT/+735% ،١٩,٥ جرام)
المحلول الطافي
(PF2RS10, LT/+377% ،١٩,٥ جرام)
٣٤ جرام
مذابا في ٢٠٠ مل ماء
مع التقليب لمدة ١٥ دقيقة طرد مركزي
راسب
محلول طافي
٢ جرام مذابا في ٢٠٠ مل ماء
مقلب لمدة ١٥ دقيقة، طرد مركزي
محلول طافي
راسب
التركيز إلى ٨٠ مل
Sephadex (G-25, 80 µm ١٠٠ جرام
المج بالماء
(PF2RS8A, LT/+3532% ،٢,٤ جرام)
التركيز إلى ٨٠ مل
Sephadex (G-25, 80 µm ١٠٠ جرام)
المج بالماء
١,٤ جرام
فصل السكر العديد النشط كيميائيا الموجه
بواسطة النشاط البيولوجي
الشكل ٦
PF2RS9A (٠,٣٠ جرام)
(٠,٢ جرام)
تم اتحادها مع PF2RS8A
بسبب تطابق أطياف الرنين
النووي المغناطيسي
PF2RS8B (١,٦ جرام)
إذابة في ٢٠٠ مل ماء، التقليب لمدة ١٥ دقيقة، طرد مركزي
Sephadex (G-25, 80µm ،١٠٠ جرام)
المج بالماء
راسب
محلول طافي
PF2RS8B1 ١٠٠ مل
(٠,٢٣ جرام)
PF2RS8B2 ١٠٠ مل
(٠,٣١ جرام، LT/+6203%)
PF2RS8B3 ٩٠ مل
(٠,١٢ مليجرام)
PF2RS8B4 ٣٠ مل
(٧٣ مليجرام)
PF2RS8B5 ٧٠ مل
(٠,١٥ جرام)
PF2RS8B6 ٨٠ مل
(٣٥ مليجرام)

شكل ٦



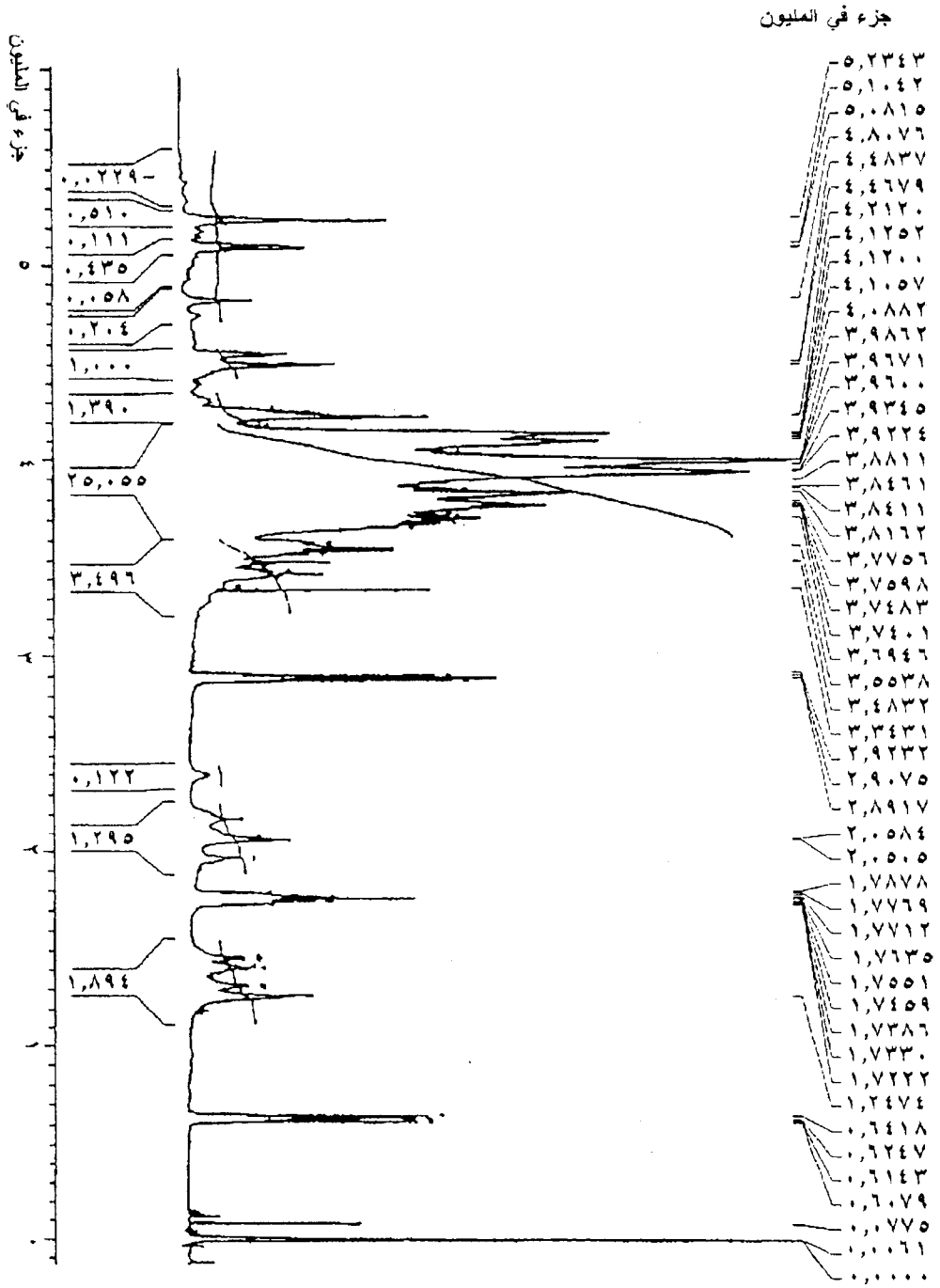
نسق HPLC للمركب PF2RS8B2 تحت كاشف تشتت الضوء بالتبخير (Watrex GMB 200
٨×٢٥٠ مليمتر، ٥ ميكرون، ١,٠ مل/ دقيقة، ماء)

شكل ٧



نسق HPLC للمركب PF2RS8B2 تحت كاشف دايود الأشعة فوق البنفسجية
(Watrex GMB 200 ٨×٢٥٠ مليمتر، ٥ ميكرون، ١,٠ مل/ دقيقة، ماء)

شكل ٧



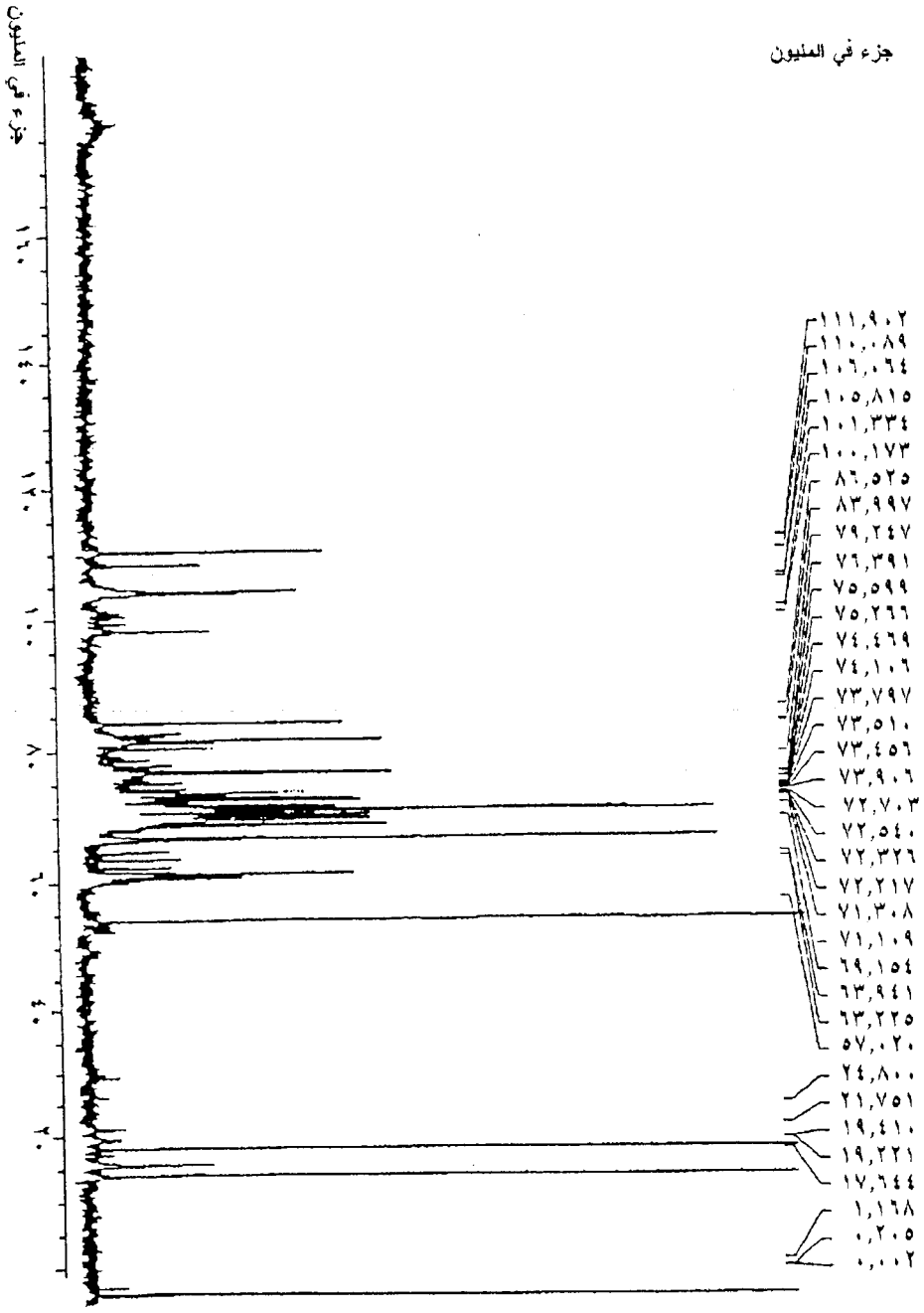
طيف الرنين النووي المغناطيسي 1H للمركب PF2RS8B2 (٥٠٠ ميجاهرتز، ماء، بالإشارة إلي DSS)

شكل ٩

تركيز المركب	العينة							
	بدون ConA				بدون ConA			
	PF2RS8A		PF2RS8B2					
	المتوسط ± الانحراف المعياري	%	المتوسط ± الانحراف المعياري	%	المتوسط ± الانحراف المعياري	%	المتوسط ± الانحراف المعياري	%
صفر	٣١±١٦٥	صفر	٥١±١٩٧	صفر				
٠,٠١	٤١±٣١١	٩١+	٤٩±٢٠٥	٢٤+				
٠,١	٥١±٣٧١	١٢٧+	٧٦±٣٦١	٨٣+				
١	٢٦±٥٥٦	٢٣٧+	٤٨±٦٤٩	٣٢٩+				
١٠	٣٨٠±٣٨٢٩	٢٢٢٠+	٣٠٥±٢٣٤٨	١٠٩٢+				
١٠٠	١٧٦٠±٥٩٩٣	٣٥٣٢+	٣١٥٣±١٢٤١٧	٦٢٠٣+				
٨ ConA ميكروجرام/ مل	٣٤٩±١٧٦٢		٢٥٠±١٥٠٧					

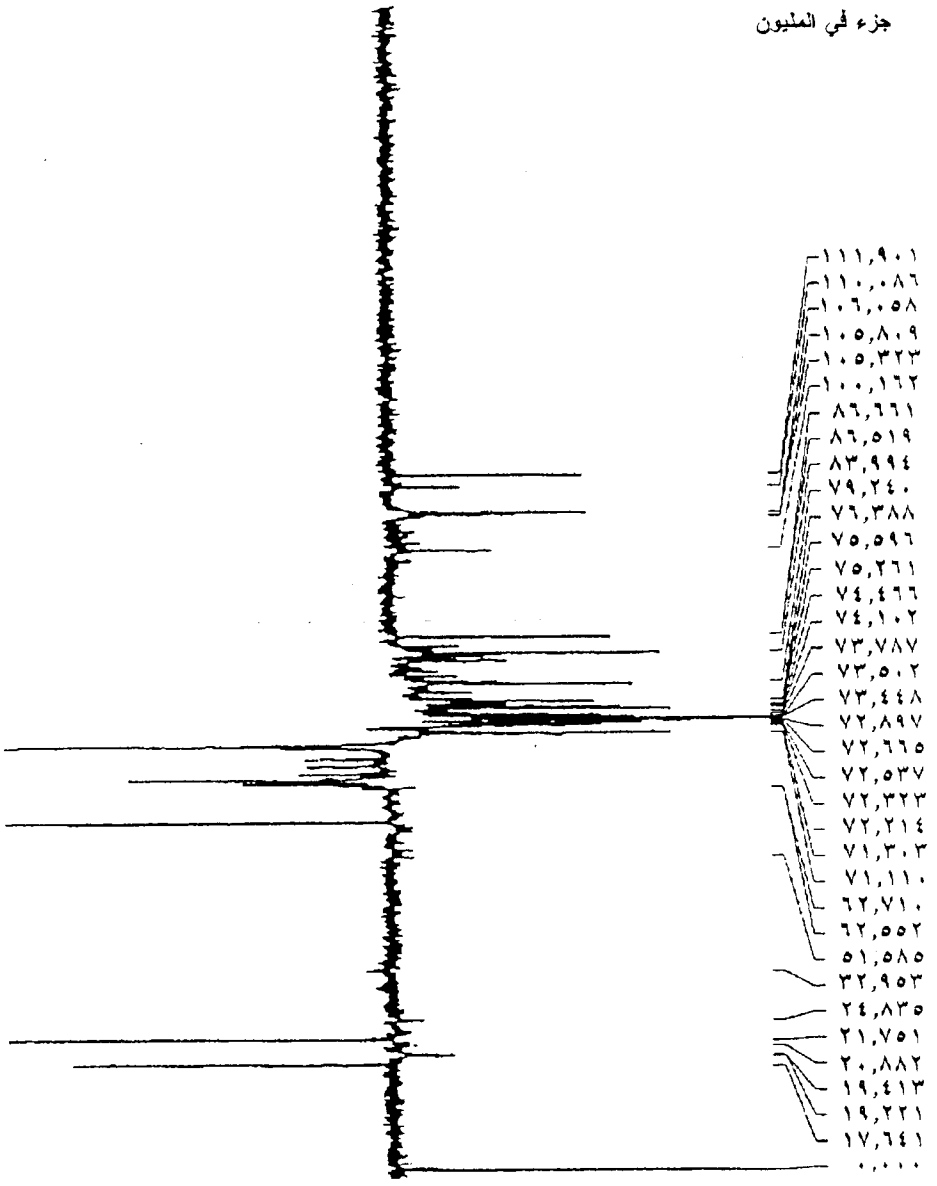
تأثير عينات PF2RS8A و PF2RS5B2 على تحول خلايا الدم البيضاء اللمفية (فأر SMC، إناث)

جدول ١



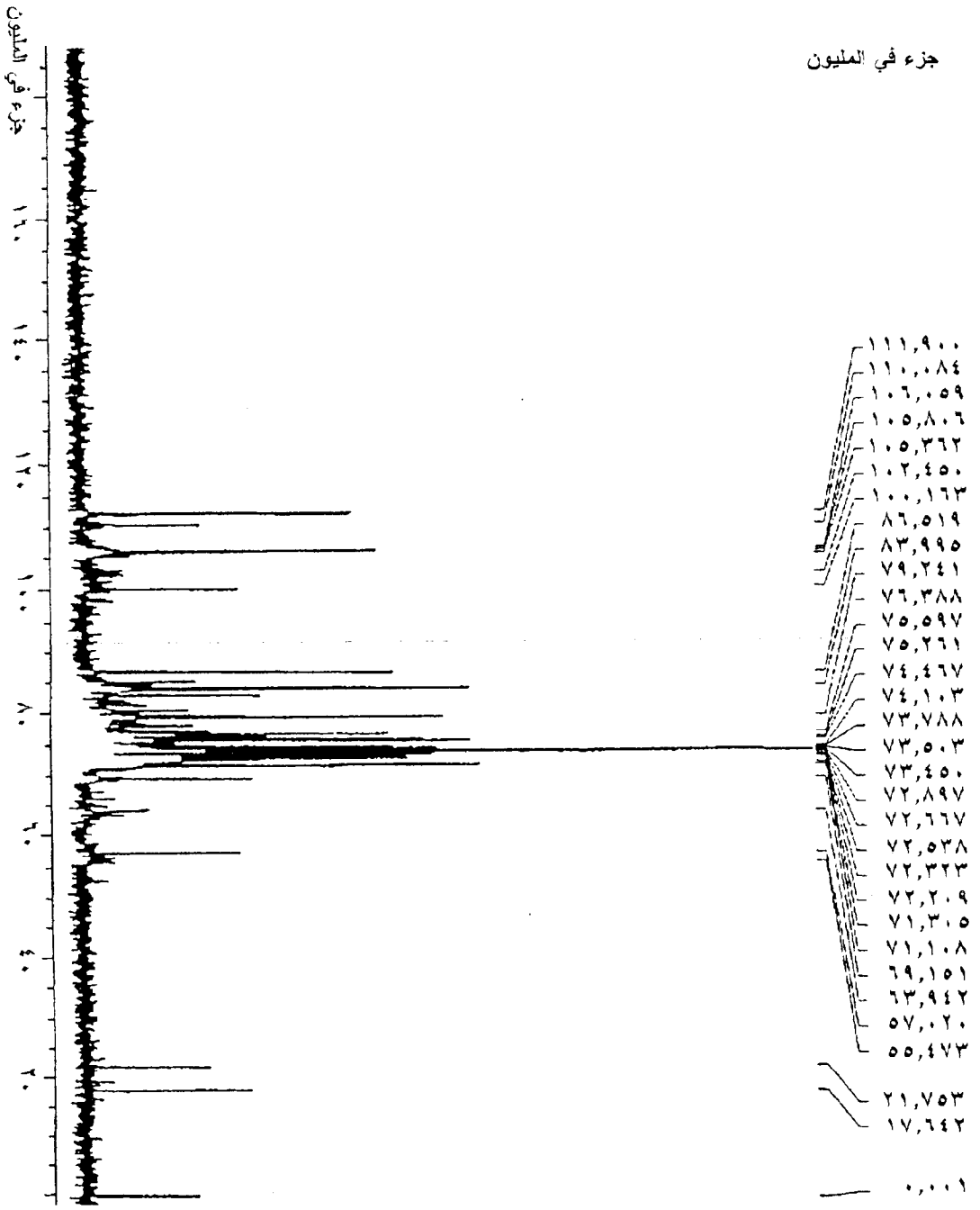
طيف الرنين النووي المغناطيس (الكربون ١٣) للمركب PF2RS8B2 (١٢٥ ميجاهرتز، ماء ثقيل؛ بالإشارة إلي DSS)

الشكل ١٠



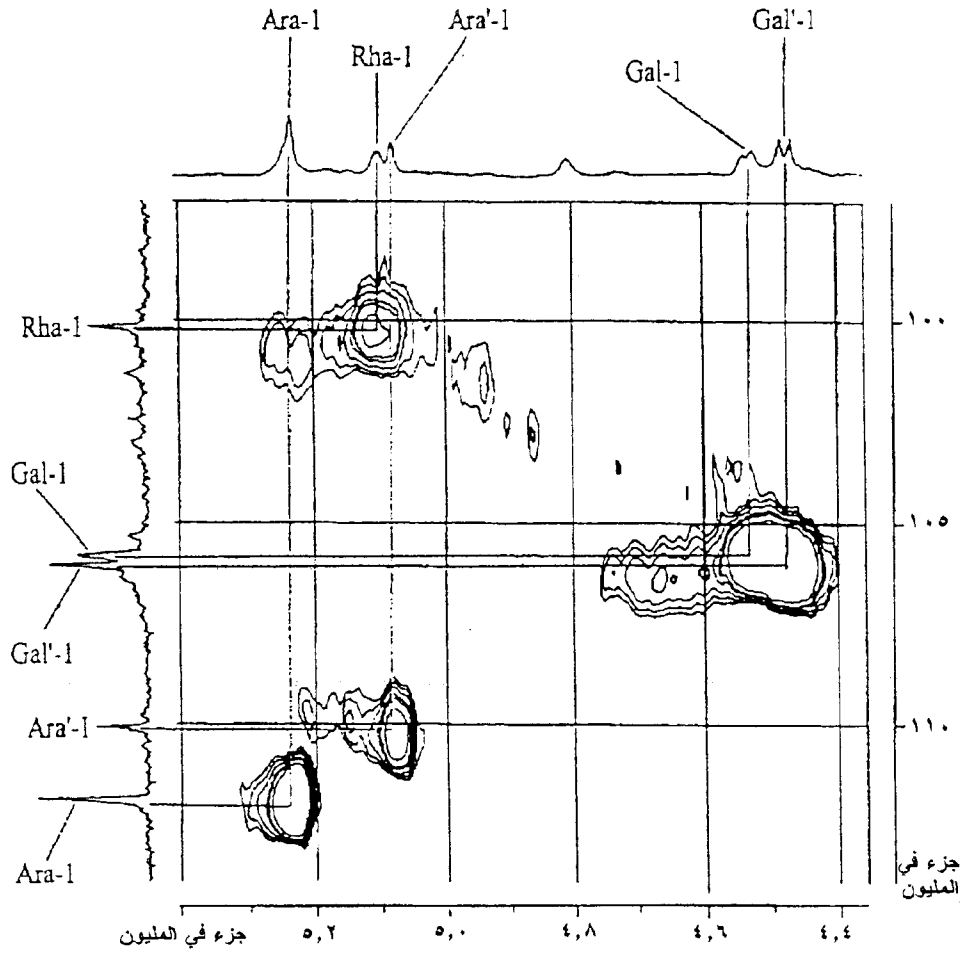
طيف DEPT-135 للمركب PF2RS8B2 (١٢٥ ميجاهرتز، ماء ثقيل؛ بالإشارة إلي DSS)

الشكل ١١



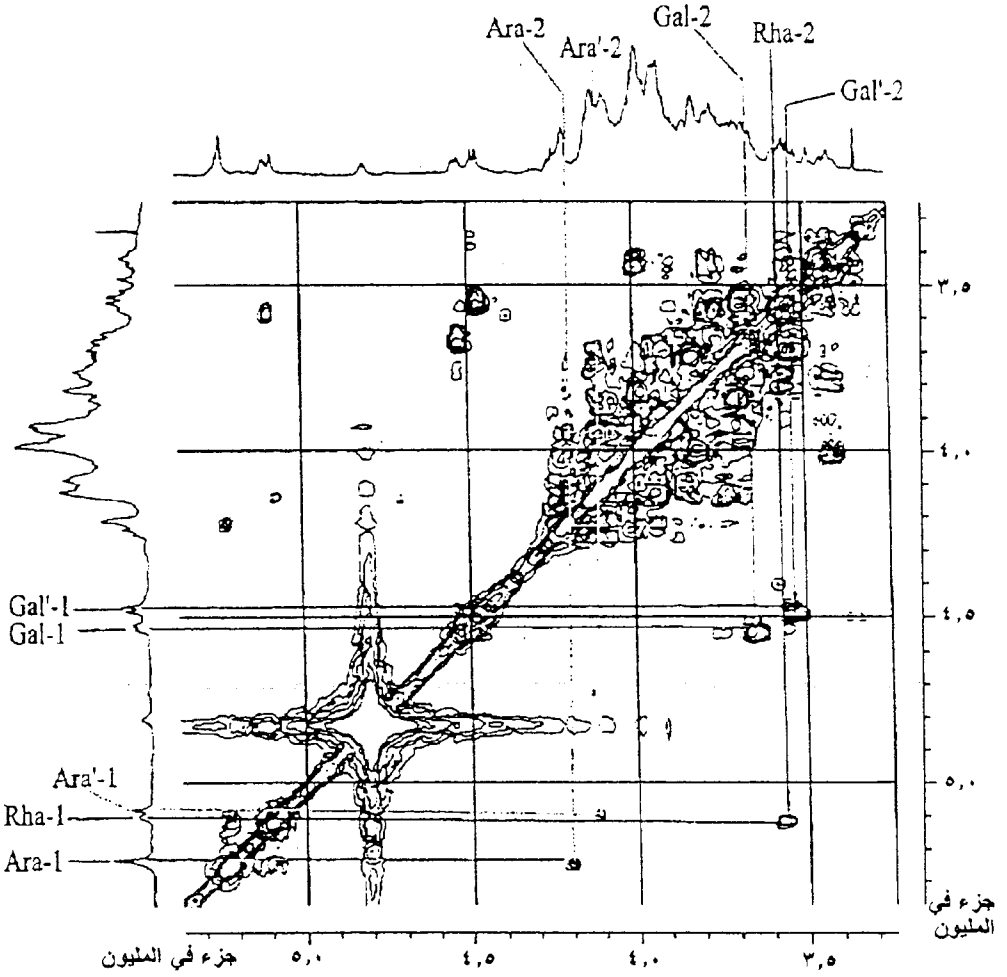
طيف DEPT-90 للمركب PF2RS8B2 (١٢٥ ميجاهرتز، ماء ثقيل؛ بالإشارة إلي DSS)

الشكل ١٢



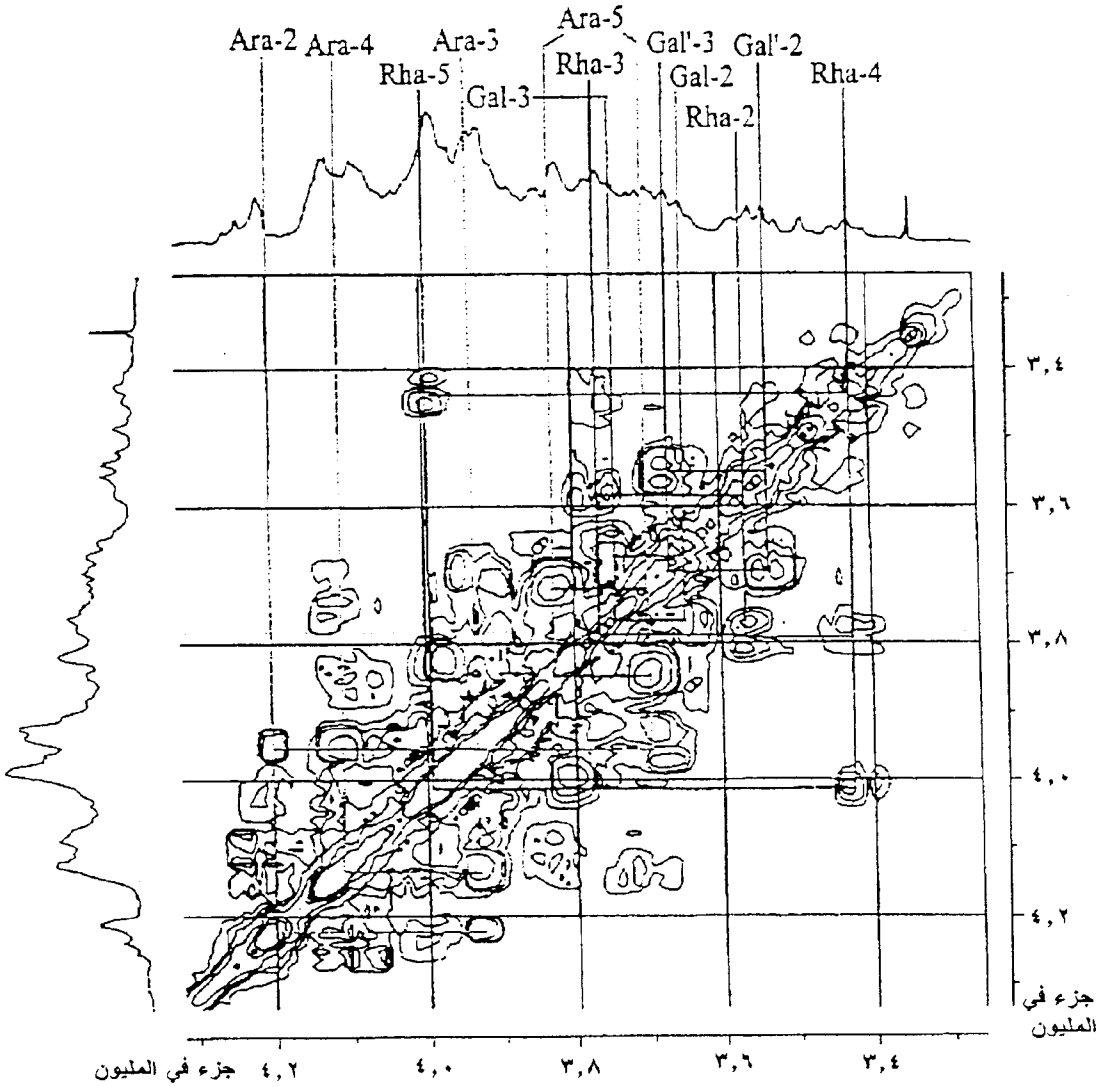
طيف HMQS للمركب PF2RS8B2 (٥٠٠ ميجاهرتز، ماء ثقيل)

الشكل ١٣



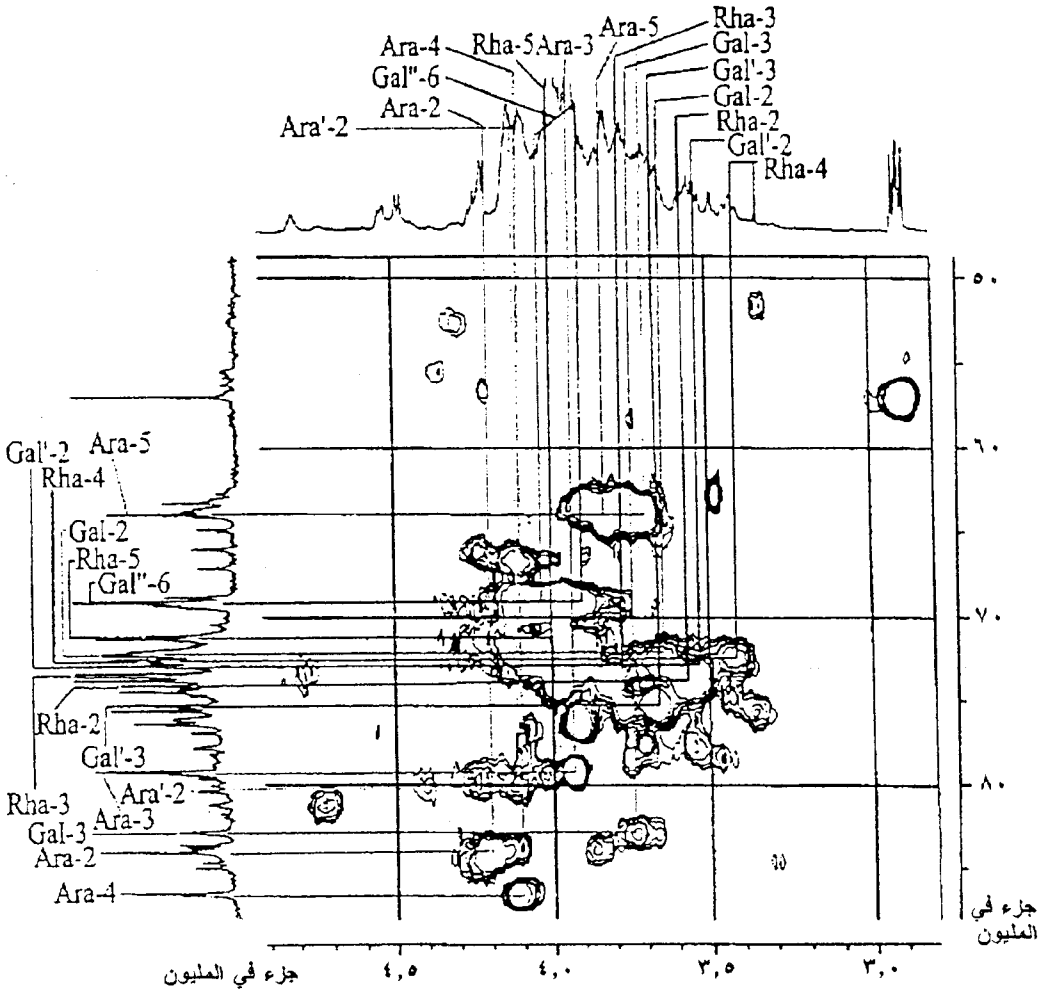
طيف ^{1}H-^{1}H COSY للمركب PF2RS8B2 (٥٠٠ ميجاهرتز، ماء ثقيل)

الشكل ١٤



طيف ^{1}H-^{1}H COSY للمركب PF2RS8B2 (٥٠٠ ميجاهرتز، ماء ثقيل)

الشكل ١٥



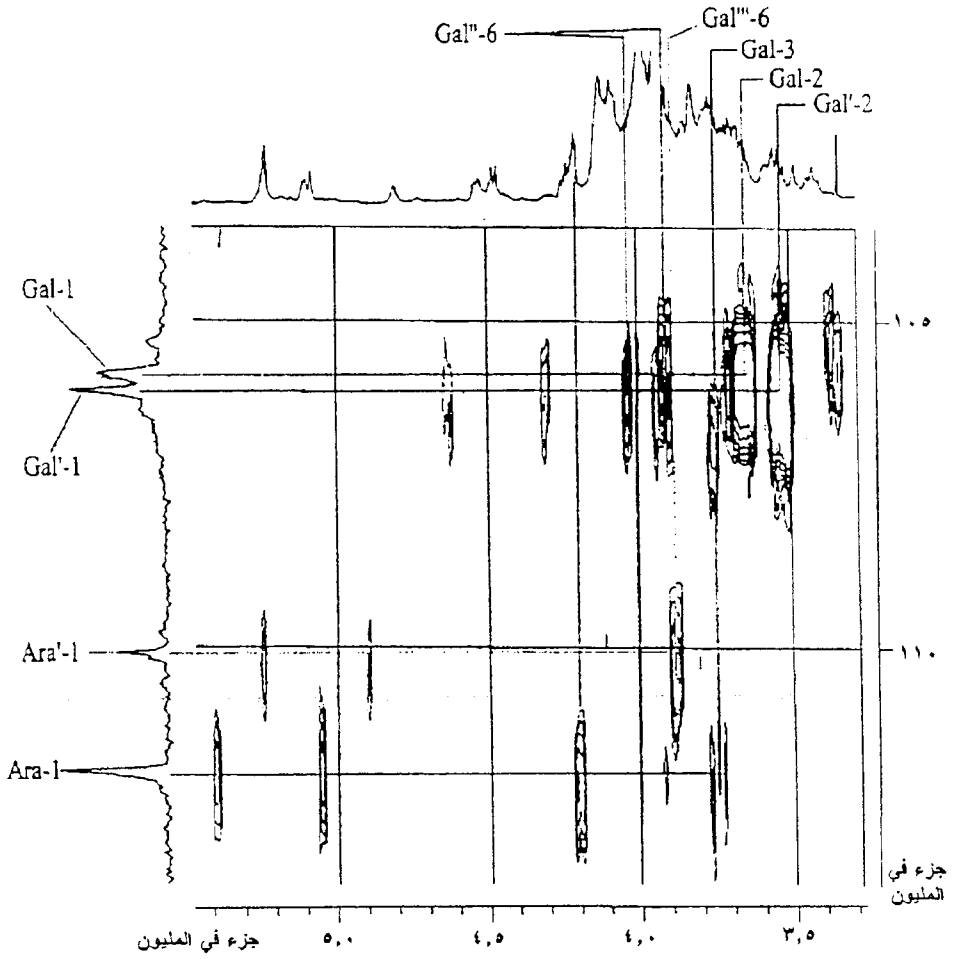
طيف HMQS للمركب PF2RS8B2 (٥٠٠ ميجاهرتز، ماء ثقيل)

الشكل ١٦

روابط السكر	C-1	C-2	C-3	C-4	C-5	C-6
Araf -(1 →	١١٠,١ زوجي	٨٥,٠ زوجي ٨٤,٧ زوجي	٧٤,٥ زوجي	٨٦,٧ زوجي	٦٣,٢ ثلاثي	–
→3)- Araf- (1 →	١١١,٩ زوجي	٨٤,٠ زوجي ٨٣,٩ زوجي ٨٣,٧ زوجي	٧٩,٤ زوجي	٨٦,٥ زوجي	٦٣,٩ ثلاثي ٦٣,٧ ثلاثي ٦٤,٨ ثلاثي	–
→6)- Galp- (1 →	١٠٦,١ زوجي ١٠٥,٩ زوجي	٧٢,٩ زوجي ٧٣,٥	٧٥,٣ زوجي ٨٢,٨ زوجي	٧٢,٢ زوجي ٧٣,٥ زوجي	٧٦,٤ زوجي ٧٦,١ زوجي	٦٩,٢ ثلاثي ٦٩,٢ ثلاثي
→ 3) / → 6) Galp- (1→)	١٠٥,٨ زوجي					
Rhap- (1 →	١٠٠,٢ زوجي	٧٢,٢ زوجي	٧٣,٥ زوجي	٧٢,٥ زوجي	٧١,١ زوجي	١٩,٢ رباعي

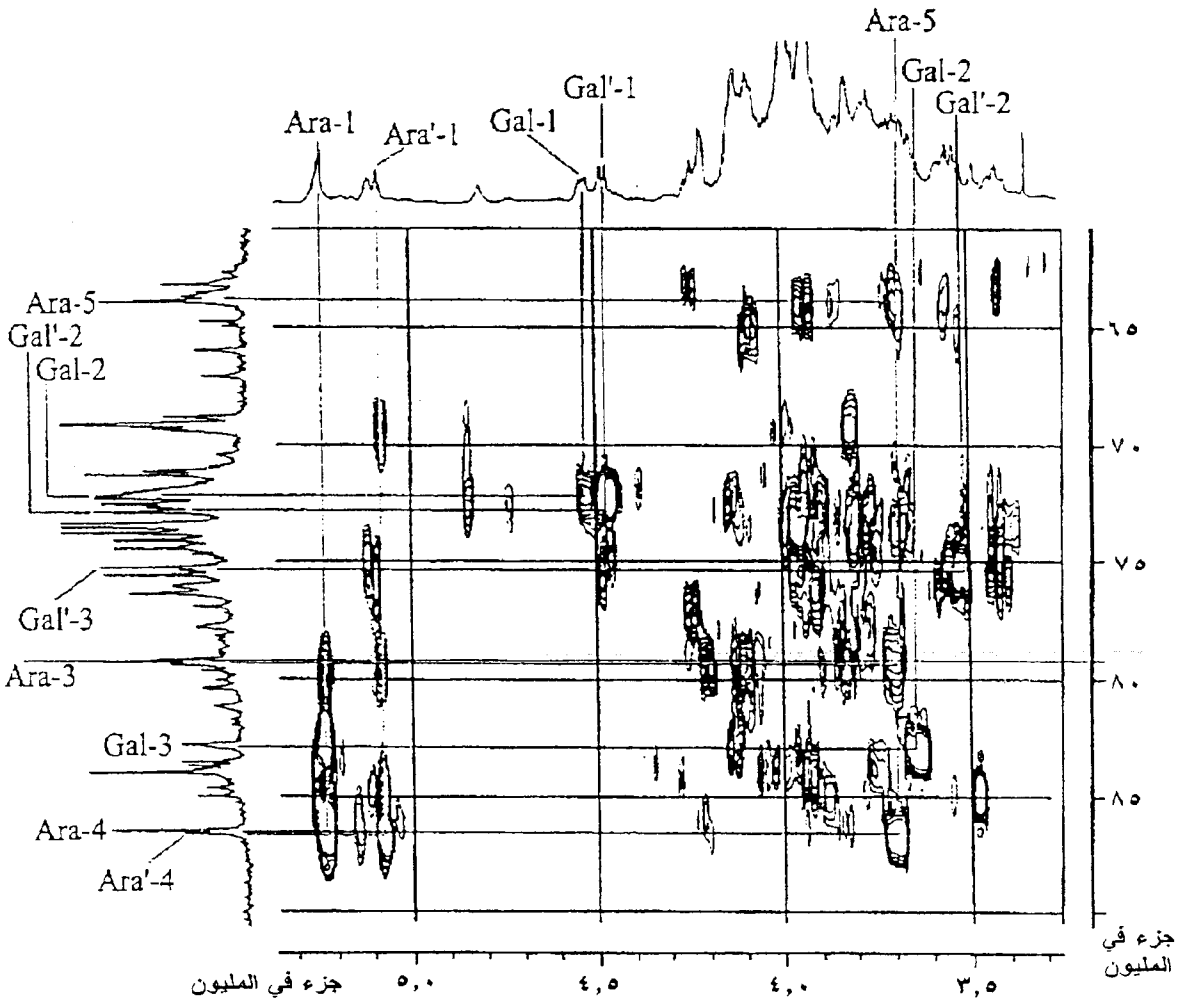
طيف الرنين النووي المغناطيسي (للكربون ١٣) للمركب **PF2RS8B-2** (ماء ثقيل بالإشارة إلى DSS، ١٢٥ ميجاهرتز).

جدول ٢



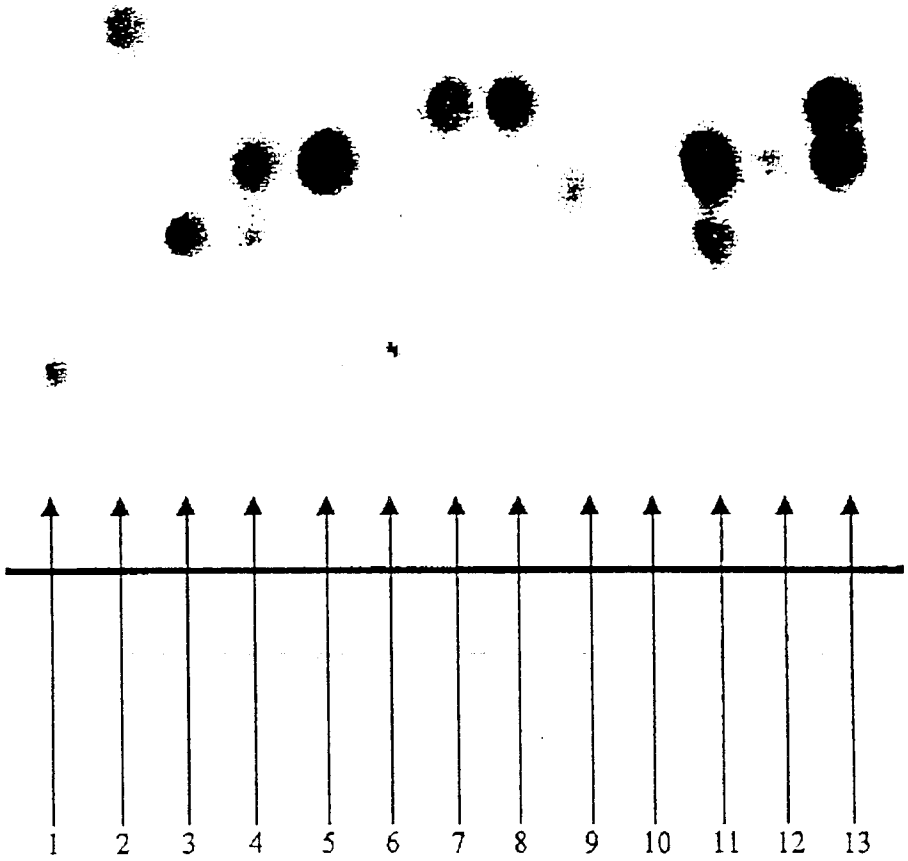
طيف HMBC للمركب PF2RS8B2 (٥٠٠ ميجاهرتز، ماء ثقيل)

الشكل ١٧



طيف HMBC للمركب PF2RS8B2 (٥٠٠ ميجاهرتز، ماء ثقيل)

الشكل ١٨

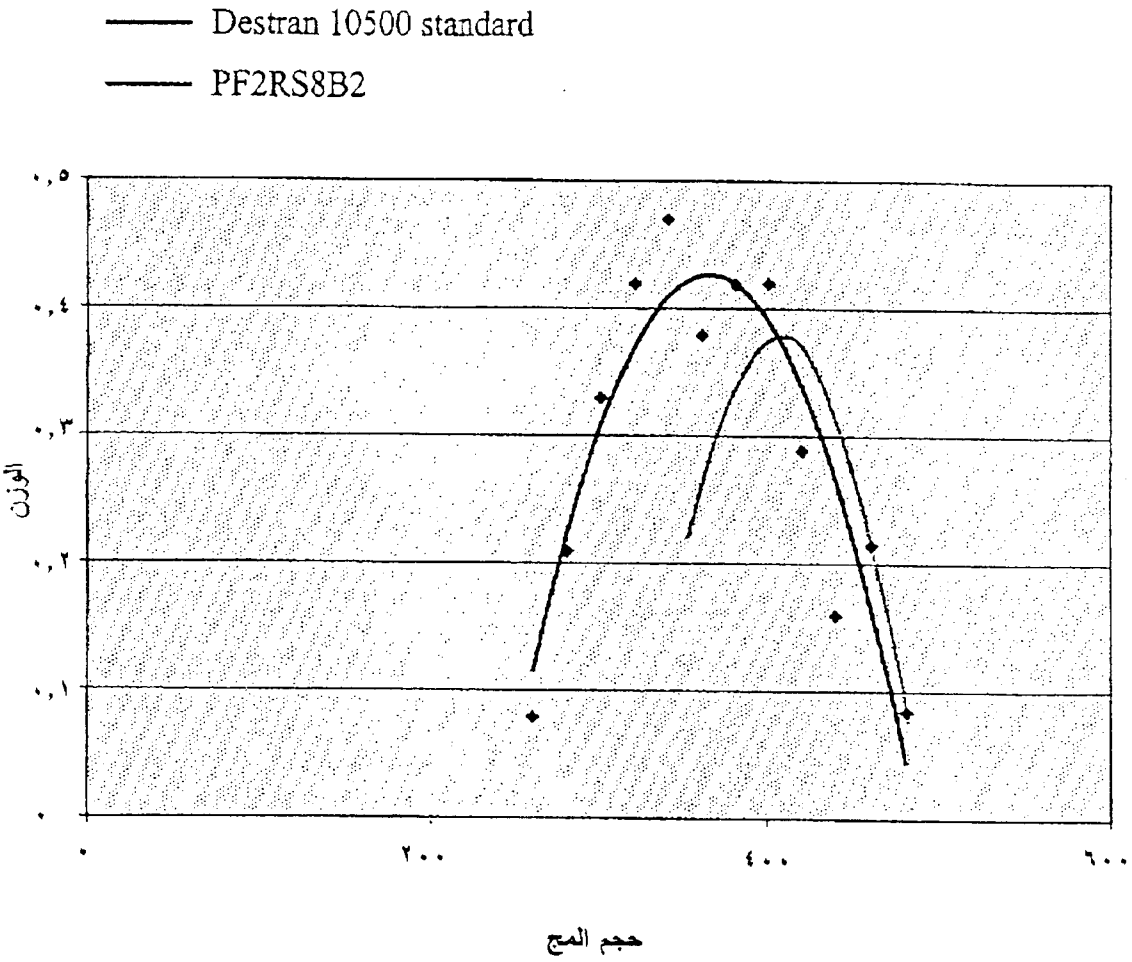


1. D-Gallacturonic acid; 2. L-(+)Rhamnose; 3. D-(+)Galactose; 4. Hydrolysis products of **PF2RS8B-2**; 5. L-(+)Arabinose; 6. D-Glucuronic acid; 7. L-(-)Fucose; 8. d.(+) Xylose; 9. D-(+)Glucose; 10. D-(-)Fructose; 11. Mixture of hydrolysis products of **PF2RS8B-2**, L-(+)Arabinose and D-(+)Galactose; 12. D-(+)Mannose; 13. Mixture of D-(+)Xylose and L-(+)Arabinose

نواتج التحلل المائي بواسطة كروماتوجرافية الطبقة الرقيقة للمركب PF2RS8B2 بواسطة ثالث فلورو حمض خليك والسكريات الأحادية الأخري

شكل ١٩

قياس الوزن الجزيئي لمركب PF23RS8B2 باستخدام Sephadex G-50



الوزن الجزيئي للمركب PF2RS8B2 أقل من ١٠٥٠٠

شكل ٢٠