



[11] رقم البراءة: ٢٥٦٨

[45] تاريخ المنح: ١٤٣٢/٠٢/١١ هـ

الموافق: ٢٠١١/٠١/١٥ م

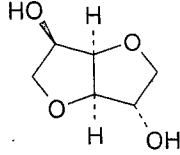
## [12] براءة اختراع

[19] المملكة العربية السعودية SA

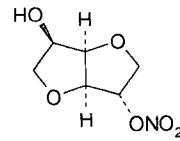
مدينة الملك عبدالعزيز للعلوم والتقنية

|  |   |
|--|---|
| [30] بيانات الأسبقية:                    | [72] اسم المخترع: فريدريك بروني، اندري ديلهوم، جان باتوايسو جارديت، جان فرانسكو، الاين مارتى، ايتيني سيفراك |
| FR ٠٥٦٤٩/٠٦                              | [73] مالك البراءة: بييري فابري ميديكامينت   |
| ٢٠٠٦/٠٦/٢٣ م                             | عنوانه: ٤٥، بليس ايبيل جانسي، بولوجين-بيلانكورت، ٩٢١٠٠، فرنسا   |
| [51] التصنيف الدولي (IPC <sup>8</sup> ): | جنسيته: فرنسية  |
| A61K 31/465, A61K 31/232, C07C 67/02     | [74] الوكيل: سليمان ابراهيم العمار  |
| [56] المراجع:                            | [21] رقم الطلب: ٠٧٢٨٠٣٤٥  |
| US ٢٠٠٣٠٥٣٤١                             | [22] تاريخ الإيداع: ١٤٢٨/٠٦/٠٨ هـ   |
| ٢٠٠٣/٠٣/١٣ م                             | الموافق: ٢٠٠٧/٠٦/٢٣ م   |
| WO ٢٠٠٤٠٤٧٨٣٥                            |   |
| ٢٠٠٤/٠٦/١٠ م                             |   |
| اسم الفاحص: خالد بن أحمد الحازمي         |   |

أو مع isosorbide الذى له الصيغة التالية:



أو isosorbide mononitrate التي لها الصيغة التالية:



كما يتعلق الاختراع الحالي أيضاً بطريقة لتحضير هذا الإستر، وتركيبته الصيدلانية المشتمة عليه، واستخدامه في العلاج أو في الوقاية من أمراض الأوعية القلبية cardiovascular disease، وبالتحديد التليف الأذيني auricular fibrillation (الرجفان الأذيني الليفي).

شكل (١).

عدد عناصر الحماية (١٤)، عدد الأشكال (١)

[54] اسم الاختراع: استرات (DHA) واستخداماتها في العلاج

والوقاية من أمراض الأوعية القلبية

DHA esters and use thereof in treatment and prevention of cardiovascular disease

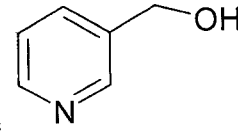
[57] الملخص: يتعلق الاختراع الحالي بـ docosahexaenoic

acid ester مع alcohol يتم إختياره من بين

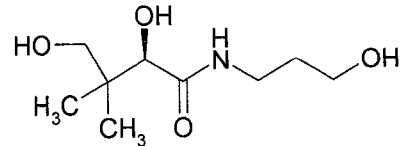
فيتامينات المجموعة - B أو طلائع الفيتامينات،

وبصورة مفيدة، يشتمل على ويتميز بواسطة:

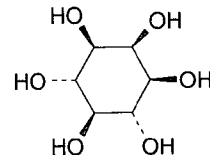
nicotiny alcohol الذى له الصيغة التالية:



panthenol الذى له الصيغة التالية:



Inositol الذى له الصيغة التالية:



استرات (DHA) وإستخداماتها في العلاج والوقاية من أمراض الأوعية القلبية

## DHA Esters and Use Thereof in Treatment and Prevention of Cardiovascular Disease

### الوصف الكامل

### خلفية الاختراع

يتعلق الاختراع الحالي بـ docosahexaenoic acid (DHA) esters مع alcohols يتم إختيارها من بين فيتامينات المجموعة - b أو طلائع الثيامينات مثل (B3) nicotiny alcohol ، أو بـ panthenol (B5) ، أو isosorbide ، أو isosorbide mononitrate ، وبالتحديد بصفة خاصة esters pyridin-3-ylmethyl docosahexaeneoate ، كما يتعلق الاختراع أيضاً بإستخدام هذه esters كعلاج في العلاج وفي الوقاية من أمراض الأوعية القلبية cardiovascular disease

لقد عُرفت الأحماض الدهنية الـ "omega-3" العديدة غير المشبعة، وبالتحديد الأحماض (EPA)، (DHA) المنقاه بصورة مميزة ومفيدة والمركزة في صورة ethyl ester ، وذلك فيما يتعلق بإستخداماتها المحتملة في علاج أمراض معينة من أمراض الأوعية القلبية cardiovascular disease وفي تعديل العوامل الخطرة المناظرة لها. وبالتحديد، فإنها قد عُرفت في علاج فرط نسبة الدهون hyperlipidemia (مركبات lipids) في الدم، وفي علاج فرط نسبة الكوليستيرول في الدم hypercholesterolemia ، وفي علاج إرتفاع ضغط الدم hypertension . لقد تم إجراء التجارب الأكلينيكية بإستخدام صيغ (تركيبات) تحتوي على تركيز عالي من ethyl ester حمض (EPA)، و ethyl ester حمض (DHA) على المرضى الذين يعانون من احتشاء عضلة القلب postinfarction وهي esters التي أظهرت فعاليتها في تخفيض التعرض لحدوث الوفاة، وبالتحديد وبصفة خاصة في التعرض لحدوث الموت المفاجئ. لقد أدى هذا إلى أن تساهم هذه esters

بصورة جزئية في تثبيت أغشية الخلية لخلايا العضلة القلبية البطينية، التي تمنع عدم ظهور إنتظام النبض المؤذي المهلك أو المميت في وجود خلايا فقر الدم الموضعي، كما يشاهد ذلك في المرضى الذين سبق لهم أن أصيبوا بتتكزز عضلة القلب أى بالذبحة (القلبية)، أو في النماذج التجريبية التي تقوم بتوليد وإعادة إنتاج مثل هذه الحالات.

٥ بالإضافة إلى ذلك، فمن المعروف أيضاً وفقاً لطلب البراءة الدولية رقم ٢٠٠٤/٠٤٧٨٣٥ أنه من الممكن استخدام DHA and EPA ethyl esters ، و للوقاية من التليف الأذيني auricular fibrillation . وعلى أية حال، فقد إكتشف المخترعون الحاليون وبصورة مدهشة ومذهلة للغاية أن كلا من الحمضين (DHA)، (EPA) ليس لهما نفس التأثير والفعالية على التليف الأذيني auricular fibrillation : إذ أن لحمض (DHA) تأثيراً وفعالية أكبر كثيراً على التليف الأذيني عن الحمض (EPA). لذلك، فإنه فمن المفيد أكثر أن يتم استخدام (DHA) بمفرده أفضل من استخدام خليط مكون من الحمضين (DHA)، (EPA) في علاج التليف الأذيني ، وبصورة لا يتطرق إليها الشك، في علاج معظم أمراض الأوعية القلبية cardiovascular disease .

### الوصف العام للاختراع

١٥ تكون فيتامينات المجموعة - B وطلائع الفيتامينات ذات مزايا وفوائد تتعلق بأدائها الوظيفي. وبالتحديد، فإن nicotiny alcohol يعتبر alcohol المشتق من nicotinic acid (فيتامين B3). إنه alcohol الذى يتحول بسرعة إلى nicotinic acid في جسم الإنسان.

إن nicotinic acid ، يسمى أيضاً niacin "، وهو عبارة عن فيتامين المجموعة - B القابل للذوبان في الماء والذي يمكن أن يتم تخليقه من tryptophan . وعلى أية حال، فإن الجرعات العلاجية الفعالة المستخدمة لأغراض تخفيض الكوليسترول و lipids "المواد الدهنية" تكون أعلى من الكميات

التي يتم تخليقها بواسطة الجسم. لذلك، فإن الإضافة أو التكملة الفمية (التي تؤخذ عن طريق الفم) أثبتت أنها ضرورية في تحقيق هدف تخفيض الكوليسترول والـ "triglycerides".

وفي تعبيرات آلية (ميكانيكية) التأثير والفعل، فمن المتوقع أن يقوم nicotinic acid بتثبيط إطلاق الأحماض الدهنية الحرة من النسيج الدهني (من الدهن الحيواني المخزون في الأنسجة الدهنية)، مما يؤدي إلى حدوث تخفيض في إمداد الكبد بالحمض الدهني. ونظراً لأن قدرًا قليلاً من الأحماض الدهنية هي التي تتم أسترتها إلى الـ "triglycerides"، لذا فإت أقل منها هو الذي سيتم دمجه في البروتينات الدهنية (LDL) ذات الكثافة المنخفضة، وبالتالي يقل تخفيض مستويات كوليسترول الـ (LDL). كما أنه قد تم أيضاً ملاحظة أن nicotinic acid يقوم بزيادة مستويات كوليسترول (HDL) بصورة لها قيمتها ويمكن تقديرها، وبصورة أكثر ترجيحاً بواسطة تثبيط الأيض الهدمي (تثبيط عملية الهدم في الخلايا الحية) لهذه الصورة من صور كوليسترول (HDL).

وبالتحديد، فإن nicotinic acid تأثيراً قوياً كموسع أوعية (دموية) محيطية قوي. لذلك، فإن الحقن في الوريد بـ nicotiny alcohol بعد تحوله إلى nicotinic acid يؤدي إلى توسيع للأوعية الدموية بصورة إيجابية تُبشر بالنجاح في تخفيض الضغط الشرياني arterial pressure .

يتم استخدام nicotinic acid على نطاق واسع في الحالات العلاجية لتخفيض الكوليسترول والمواد الدهنية (lipids).

كما أنه قد تم أيضاً توضيح أنه من الممكن إجراء إتحاد nicotinic acid مع مثبطات إنزيم "خميرة" (HMG-CoA) reductase، مثل "statins"، كأن يكون ذلك على سبيل المثال، في الحالات التي تم فيها تخفيض الكوليسترول بواسطة هذه المثبطات من مثبطات إنزيم "خميرة" (HMG-) reductase (CoA) ولم تُثبت أنها كافية وتفي بالغرض. يمكن أن يكون مثل هذا الاتحاد مفيداً عندما يتم السعي والبحث عن الفوائد والمنافع التي يمكن جنيها والحصول عليها من تأثيرات كل مركب على حدة،

وبالتحديد بصفة خاصة فيما يتعلق بتخفيض كوليسترول الـ (LDL) باستخدام " statins " ورفع كوليسترول الـ (HDL) باستخدام nicotinic acid . بالإضافة إلى ذلك، يكون nicotinic acid مناسباً لعلاج إختلال مستوى الدهون في الدم، وبالتالي فإنه يكون قادراً على التأثير على كل من مستويات الكوليسترول والـ " triglyceride " .

٥ يعتبر الـ " panthenol " المشتق لـ alcohol derivative لـ pantothenic acid ، ويعرف بصورة شائعة أكثر بأنه عبارة عن فيتامين B5 . وفي جسم الإنسان، يتحول panthenol إلى pantothenic acid . بعد ذلك، يصبح pantothenic acid جزءاً هاماً من مركب الإنزيم المشترك (A)، الذي يُولى إهتماماً خاصاً وذو أهمية لها قيمتها في الأيض الخلوي. وفي الواقع، فإنه يلعب دوراً هاماً في أيض lipids (المواد الدهنية)، و carbohydrates (السكريات والنشويات)، والبروتينات. كما أن alcohol الـ " panthenol " يساهم أيضاً في تكوين acetylcholine و steroids الكظرية adrenal . كما أنه يعمل على إبطال ونزع سمية الأجسام الغريبة وفي مقاومة الإصابة بالعدوى.

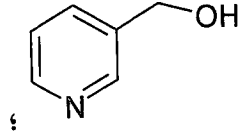
١٥ ويقوم Inositol (فيتامين "B7") بتنظيم وإدارة حركة وفعاليات الدهون بواسطة منع تراكمها وتكدسها. كما أن له تأثير محدث لإنحلال الخلايا المثيرة للقلق، إنه يثير الجهاز العصبي والكبد ويقوم بتخفيض مستوى كوليسترول الدم. إنه يتضمن إحداث زيادة في فعالية الـ " serotonin " ، وفي السيطرة على تركيز intracellular calcium "الموجود فيما بين الخلايا"، والمحافظة على كل من طاقة أغشية الخلايا وتجميعية الهيكل الخلوي (هيكل الخلايا).

يكون isosorbide ، وبالتحديد isosorbide mononitrate ، عبارة عن موسع أوعية دموية قوي.

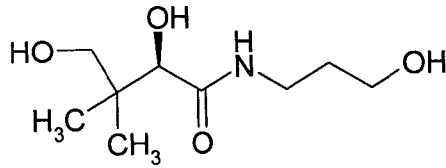
وفقاً لذلك تعتبر الأمثلة الحالية docosahexaenoic acid (DHA) esters مع alcohol يتم اختياره

من

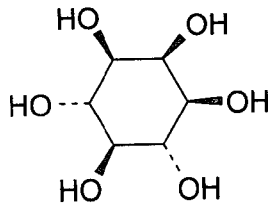
nicotiny alcohol الذي له الصيغة التالية:



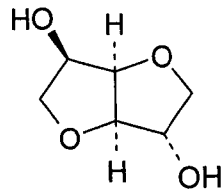
panthenol الذي له الصيغة التالية:



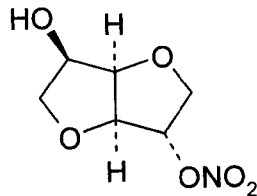
Inositol الذي له الصيغة التالية: ٥



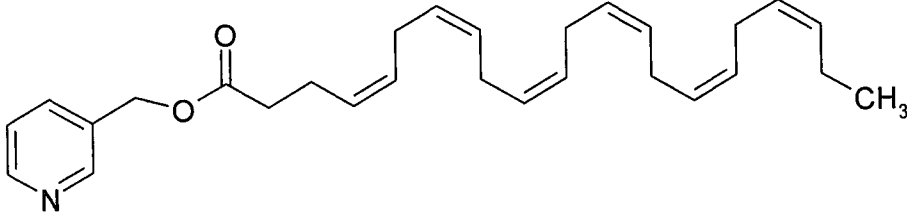
isorbide الذي له الصيغة التالية:



isorbide mononitrate التي لها الصيغة التالية: أو



وبصورة مفيدة، pyridin-3-ylmethyl docosahexaeneoate ، له الصيغة العامة رقم (1) التالية:



(1)

وبصورة مدهشة، إكتشف المخترعون الحاليون، أن docosahexaenoic acid ester مع alcohols يتم إختيارها من بين فيتامينات المجموعة B - أو طلائع الفيتامينات مثل nicotiny alcohol (B3), ، أو ب- or panthenol (B5) ، أو مع isosorbide ، أو isosorbide mononitrate ، وبالتحديد بصفة خاصة pyridin-3-ylmethyl docosahexaeneoate [ docosahexaenoic acid ester ، مع nicotiny alcohol (B3), ]، تكون ذات فعالية هامة لها قيمتها فيما يتعلق بأمراض الأوعية القلبية cardiovascular disease .

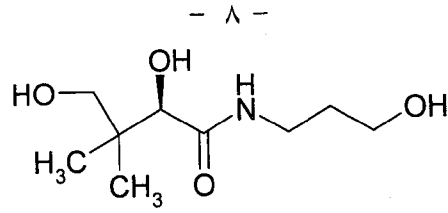
#### ١٠ شرح مختصر للرسومات

الشكل ١ : يوضح رسم بياني لesters (DHA) وإستخداماتها في العلاج والوقاية من أمراض الأوعية القلبية cardiovascular disease

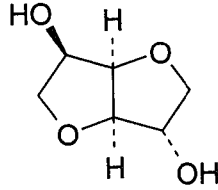
#### الوصف التفصيلي

لذلك يتعلق الاختراع ب docosahexaenoic acid ester مع alcohol يتم إختياره من بين

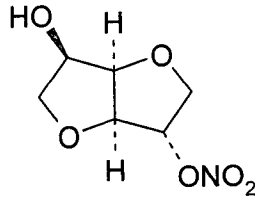
١٥ panthenol الذي له الصيغة التالية:



أو isosorbide الذي له الصيغة التالية:



أو isosorbide mononitrate التي لها الصيغة التالية:



٥ كما يتعلق الاختراع الحالي أيضاً بطريقة لتحضير docosahexaenoic acid ester وفقاً للاختراع

الحالي، وذلك بواسطة إجراء إسترة تحويلية transesterification لـ

docosahexaenoic acid ethyl ester مع alcohol يتم إختياره من بين المجموعة المكونة من

. isosorbide mononitrate ، isosorbide ، panthenol

١٠ يمكن أن يتم إجراء الأسترة التحويلية transesterification reactions بالطرق المعروفة معرفة جيدة

لأولئك المهرة وذوى الخبرة في مثل هذا المجال من هذا الفن.

وبصورة مفيدة، يتم إجراء الأسترة التحويلية transesterification reactions وفقاً للاختراع الحالي

في وجود محفز. وبصورة مفيدة، يكون مثل هذا المحفز عبارة عن كربونات لفلز من فلزات الألقلاء

أو كربونات فلز من فلزات الألقاء الأرضية، ويكون بصورة مفيدة عبارة عن  $(K_2CO_3)$ . وبصورة مفيدة، تكون النسبة المولارية لكربونات فلز الألقاء أو لكربونات فلز الألقاء الأرضية إلى ethyl ester الـ (DHA) في حدود مدى يتراوح من (١/١) إلى (١/٦). وبصورة مفيدة، تكون النسبة المولارية للـ alcohol إلى ethyl ester الـ (DHA) في حدود مدى يتراوح من (١/١) إلى (١/٦)، وبصورة مفيدة أكثر، تكون النسبة المولارية لـ nicotiny alcohol إلى ethyl ester الـ (DHA) في حدود مدى يتراوح من (١/١) إلى (١/٦). وبصورة مفيدة، يتم إجراء الأسترة التحويلية transesterification reactions في وجود مذيب، وبصورة مفيدة، يتم إختيار المذيب من بين dioxane أو (THF)، ومن المفضل بصورة مفيدة، يتم إختيار (THF). وبصورة مفيدة، تتم إزالة الغازات من المذيب (THF) بواسطة دفع فقاعات من غاز nitrogen. وبصورة مفيدة أكثر، يتم تسخين خليط التفاعل تحت مكثف راد إلى درجة حرارة التكتيف، وبصورة مفيدة لمدة (١٤) ساعة على الأقل.

وفي نموذج آخر ذو نوعية خاصة للاختراع، يكون المحفز المستخدم في طريقة الأسترة التحويلية transesterification reactions وفقاً للاختراع الحالي عبارة عن إنزيم "lipase"، وبصورة مفضلة ومفيدة يكون عبارة عن (Candida Antarctica lipase). وبالتحديد، يكون الـ "lipase" في صورة مجمدة. وبصورة مفيدة، يكون الـ "lipase" عبارة (Novozyme) يباع بواسطة (Novo Nordisk). وبصورة مفيدة، يتم إجراء التفاعل في وسط بدون مذيب، أو في مذيب مثل 2-methyl-2-butanol أو acetonitrile، وبصورة مفيدة، يتم إجراء التفاعل في وسط بدون مذيب في حالة nicotiny alcohol، وفي مذيب في حالة panthenol. وبصورة مفيدة، ففي حالة إستخدام Inositol، فإن المذيب المستخدم حينئذ يكون عبارة عن مذيب قطبي أيوني مثل :

٢٠ 1-butyl-3-methylimidazolium BF4 ، أو

1-butyl-3-methylimidazolium C(CN)<sub>2</sub> وبصورة مفيدة، يتم إجراء التفاعل في درجة حرارة تكون

أعلى من درجة حرارة الغرفة، ومن المفضل بصورة مفيدة أن يتم إجراؤه في درجة حرارة (٦٠°م).

وبصورة مفيدة، يتم إستبعاد ethanol أثناء إجراء التفاعل، وبصورة مفيدة، يتم إجراء التفاعل تحت

ضغط تفريغي أو بواسطة دفع فقاعات من غاز nitrogen ، ومن المفضل بصورة مفيدة أكثر أن

يتم إجراء التفاعل حينئذ في جو من nitrogen بدفع فقاعات من غاز nitrogen . وبهذه الطريقة،

يزداد معدل التحول، حيث يتم تعديل سرعة التفاعل، ويتم إستبعاد حدوث تفاعل التحلل المائي

(تفاعل التميؤ) الطفيلي.

وبصورة مفيدة، تتراوح النسبة المولارية لل alcohol إلى ethyl ester الـ (DHA) فيما بين (١)،

(٥)، ومن المفضل بصورة مفيدة أن تتراوح من (١.٥) إلى (٤.٥).

وبصورة مفيدة، يتم إجراء التفاعل خلال فترة زمنية تتراوح من (١) ساعة إلى (١٠٠) ساعة، ومن

المفضل بصورة مفيدة أن يتم إجراؤه على مدى فترة زمنية تتراوح من (١) ساعة إلى (٧٢) ساعة،

ومن المفضل أكثر بصورة مفيدة أن يتم إجراؤه على مدى فترة زمنية تتراوح من (١) ساعة إلى

(٤٨) ساعة، ومن الأكثر تفضيلاً بصورة مفيدة أن يتم إجراؤه على مدى فترة زمنية تتراوح من (١)

ساعة إلى (٣) ساعات.

وفي نموذج آخر ذو نوعية خاصة للطريقة وفقاً للاختراع الحالي، يتم إجراء تفاعل الأسترة التحويلية

transesterification reactions في مذيب لا مائي، أو في مذيب مائي في وجود مصيدة للماء،

كأن تكون على سبيل المثال عبارة عن lithium chloride, MgCl<sub>2</sub> or silica gel ، أو إجراؤه بدون

مذيب في جو جاف. وبهذه الطريقة، يتم إستبعاد حدوث تفاعل التحلل المائي (تفاعل التميؤ)

الطفيلي.

وبصورة مفيدة، يتم إجراء تفاعل الأسترة التحويلية transesterification reactions باستخدام ester نقي لـ docosaheptaenoic acid ethyl ester (بحيث يكون ester المتوفر تجارياً بدرجة نقاء بنسبة ٩٥٪) على الأقل، أو يكون منقى بالطريقة المعروفة لدى أولئك المهرة وذوى الخبرة في مثل هذا المجال من هذا الفن وذلك بتنقيته من مخاليط ethyl ester (الأحماض الدهنية)، أو باستخدام خليط يحتوي على (٧٠٪) مولار على الأقل من ethyl ester حمض (DHA). وفي الحالة التي يكون فيها ethyl ester حمض الـ (DHA) عبارة عن خليط، فإنه لمن المرغوب فيه أن تتم تنقية ester الذي تم الحصول عليه عقب إجراء تفاعل الأسترة التحويلية transesterification reactions .

كما يتعلق الاختراع الحالي أيضاً بتركيبة صيدلانية تشتمل على docosaheptaenoic acid ester ووفقاً للاختراع الحالي، و واحدة على الأقل مقبولة من الصواعات صيدلانياً.

١٠ يمكن أن تتم صياغة التركيبات الصيدلانية وفقاً للاختراع الحالي للتناول في الثدييات أو لتكون مناسبة لإعطائها للثدييات شاملاً ذلك الإنسان. ويتغير مقدار الجرعة وفقاً للعلاج المطلوب، ووفقاً لنوع المرض الذي نحن بصدده. ويتم تحضير هذه التركيبات بالطريقة التي يمكن أن يتم تناولها عن طريق الفم، أو تحت اللسان، أو تحت الجلد، أو عن طريق الحقن في العضل، أو عن طريق الحقن في الوريد، أو عن طريق الأدمة أو عن طريق الموضعي أو عن طريق المستقيم. وفي هذه الحالة، ١٥ يمكن أن يتم تناول المكون الفعال في صور من جرعة الوحدة أو في صورة خليط بمواد حاملة صيدلانية تقليدية مقبولة تعطى للحيوانات أو للكائنات البشرية. تشتمل صور جرعة الوحدة المناسبة على الصور التي يمكن أن يتم تناولها عن طريق الفم، مثل الأقراص، والكبسولات الجيلاتينية، والمساحيق، والحبيبات، والمحاليل الفمية أو المعلقة الفمية، كما تشتمل صور جرعة الوحدة على الصور التي يمكن أن يتم تناولها تحت اللسان، وصور التناول عن طريق الفم، والحقن تحت الجلد، ٢٠ والموضعية، وكذلك أيضاً الصور التي يمكن أن يتم تناولها عن طريق الحقن في العضل، أو الحقن

في الوريد، أو صور التناول عن طريق الأنف، أو عن طريق مقلة العين، أو صور التناول عن طريق المستقيم.

عندما يتم تحضير تركيبية "صيدلانية" صلبة في صورة قرص، فإنه يتم خلط المكون الفعال الأولي بمادة حاملة صيدلانية (حمال صيدلاني في صورة سائل تنوب فيه الأدوية) مثل :

gelatin, starch, lactose, magnesium stearate, talc, gum arabic, silica

أو ما يماثل ذلك. يمكن أن يتم تغليف الأقراص بـ sucrose أو بمواد أخرى مناسبة، أو يمكن أن تتم معالجتها (الأقراص) بالطريقة التي تصبح فيها ذات فعالية تأخيرية أو ممتدة المفعول، والتي يمكن فيها أن تُطلق بصورة مستمرة كمية مسبقة التحديد من المكون الفعال.

ويتم الحصول على مستحضر من الكبسولات الجيلاتينية بواسطة خلط المكون الفعال بمادة مخففة ثم يتم صب الخليط الذي تم الحصول عليه في كبسولات جيلاتينية ناعمة لمساء أو خشنة قاسية.

ويمكن أن يحتوي المستحضر الذي يكون في صورة الشراب أو الإكسير على المكون الفعال مُقترناً بعامل أو بمادة مكسبة للمذاق الحلو، أو بمطهر، وكذلك مُقترناً بعامل مناسب مُكسب للنكهة أو عامل مناسب مُكسب للون.

ويمكن أن تحتوي المساحيق أو الحبيبات التي يمكن أن يتم نشرها وتشتيتها في الماء وذلك على المكون الفعال في صورة خليط مع عوامل نشر وتشتيت، أو عوامل ترطيب، أو عوامل تعليق (تكوين معلقات)، وكذلك أيضاً عوامل محسنة للمذاق أو عوامل مكسبة للمذاق أو الطعم الحلو.

كما يتم أيضاً استخدام التحاميل (اللبوسات) التي يتم تحضيرها بمواد رابطة تساعد على الإلتحام والتماسك والتي تنصهر في درجات حرارة المستقيم، مثل زبدة الكاكاو أو الـ "polyethylene glycol"، كأن يتم إستخدامها على سبيل المثال في تناول عن طريق المستقيم.

للإستخدام عن طريق غير المعوي (عن غير طريق المرئ أو الامعاء) (أي عن طريق الحقن في الوريد، أو الحقن في العضل، إلخ)، يكون تناول عن طريق الأنف أو عن طريق مقلعة العين في صورة معلقات مائية، أو في صورة محاليل ملحية متواترة "متساوية التوتر"، أو محاليل معقمة قابلة للحقن تحتوي على عوامل تشتيت متوافقة صيدلانياً و/أو عوامل ترطيب متوافقة صيدلانياً.

كما يمكن أن يتم أيضاً صياغة المكون الفعال في صورة كبسولات دقيقة، وإختيارياً بمادة إضافة واحدة أو أكثر من مواد الإضافة.

وبصورة مفيدة، فمن المفضل أن يتم تناول التركيبة الصيدلانية وفقاً للاختراع عن طريق الفم، أو عن طريق الحقن في الوريد، أو بصورة مفيدة عن طريق الحقن في الوريد في حالة إجراء علاج احتشاء عضلة القلب postinfarction تالي أو متأخر أي في حالة علاج ذبحة (قلبية) تالية أو متأخرة.

يمكن أن تشمل التركيبة الصيدلانية وفقاً للاختراع على مكونات فعالة أخرى تكون باعثة لاحداث تأثير تكميلي أو متمم أو من المحتمل إحداث تأثير تضافري. ومن المفيد، بصورة مفضلة ألا تحتوي التركيبة الصيدلانية على EPA ester .

كما يتعلق الاختراع الحالي أيضاً بـ docosahexaenoic acid ester وفقاً للاختراع الحالي، أو التركيبة الصيدلانية وفقاً للاختراع الحالي، وذلك للإستخدام في صورة عقار من العقاقير "الطبية".

كما يتعلق الاختراع الحالي أيضاً بـ docosaehaenoic acid ester وفقاً للاختراع الحالي، ب ester الـ pyridin-3-ylmethyl docosaehaeneoate وفقاً للاختراع الحالي، أو التركيبة الصيدلانية وفقاً للاختراع الحالي، وذلك للإستخدام في صورة عقار من العقاقير "الطبية" للوقاية من و/أو لعلاج أمراض الأوعية القلبية cardiovascular disease ، وبصورة مفيدة الأمراض التي يتم إختيارها من التليف الأذيني auricular fibrillation و/أو التليف البطيني ventricular fibrillation ، و/أو الخفقان tachycardia ، و/أو التليف fibrillation ، وللوقاية من و/أو لعلاج الأمراض المتمثلة في حالات الخلل في التوصيل الكهربائي في خلايا عضلة القلب، وللوقاية من و/أو لعلاج عوامل الخطورة المتعددة المسببة لأمراض الأوعية القلبية cardiovascular disease ، وبصورة مفيدة الأمراض التي يتم إختيارها من فرط نسبة triglyceride الدم، فرط نسبة الكوليسترول في الدم، إرتفاع ضغط الدم، فرط نسبة الدهون (مركبات lipids ) في الدم، إختلال نسبة الدهون في الدم، وبصورة مفيدة إختلال نسبة الدهون في الدم المختلط، و/أو العامل (VII) للفعالية المفرطة في تجلط الدم، وأيضاً لعلاج و/أو أو لإجراء الوقاية الأولية أو الثانوية لأمراض الأوعية القلبية cardiovascular disease المشتقة أو المحدثة من عدم إنتظام النبض الأذيني و/أو عدم إنتظام النبض البطيني، و/أو الخفقان tachycardia ، و/أو حالات الخلل في التوصيل الكهربائي المستحث بواسطة احتشاء عضلة القلب postinfarction ، وبصورة مفيدة التعرض للموت المفاجئ، و/أو علاج احتشاء عضلة القلب التالية أو المتأخرة .

وفي النهاية، يتعلق الاختراع الحالي أيضاً بـ docosaehaenoic acid ester وفقاً للاختراع الحالي، وب ester الـ pyridin-3-ylmethyl docosaehaeneoate وفقاً للاختراع الحالي، أو التركيبة الصيدلانية وفقاً للاختراع الحالي، وذلك للإستخدام في صورة عقار من العقاقير "الطبية" للوقاية من أو لعلاج التليف الأذيني auricular fibrillation (الرجفان الأذيني الليفي).

وبدون الارتباط بنظرية معينة، فيبدو أن docosaehaenoic acid ester وفقاً للاختراع الحالي، وبالتحديد ester الـ pyridin-3-ylmethyl docosaehaeneoate وفقاً للاختراع الحالي، يقوم بإطلاق كحول، حمض (DHA) في الجسم (في جسم الكائن الحي)، وبالتحديد nicotiny alcohol ، حمض (DHA) في حالة ester الـ pyridin-3-ylmethyl docosaehaeneoate ، عن طريق فعالية إنزيم esterase . ولذلك، يظهر docosaehaenoic acid ester وفقاً للاختراع الحالي أن له نفس فعالية خليط حمض (DHA) وكحول. لذلك، إذا كان هذا alcohol عبارة عن alcohol من بين فيتامينات المجموعة B- أو طلائع الفيتامينات، فإن docosaehaenoic acid ester وفقاً للاختراع الحالي سيكون له نفس التأثير في صورة خليط من (DHA) وفيتامين المجموعة B - أو طلائع الفيتامين. كما يبدو أيضاً أنه في حالة الـ pyridin-3-ylmethyl docosaehaeneoate ، فإن nicotiny alcohol يتحول في الجسم إلى nicotinic acid لذلك، يبدو أن الـ pyridin-3-ylmethyl docosaehaeneoate وفقاً للاختراع الحالي تكون له نفس الفعالية في صورة خليط من حمض الـ (DHA)، nicotinic acid . وتتمثل ميزة أو فائدة تأثير موسع الأوعية (الدموية المحيطية) لـ nicotinic acid في تحقيق التوزيع الأكثر إرضاءً وقبولاً لـ (DHA) فيما يتعلق بالتوسعة المحيطية للأوعية الدموية، وبالتحديد في حالة إجراء الحقن في الوريد باستخدام pyridin-3-ylmethyl docosaehaeneoate ، بعد تحول nicotiny alcohol إلى nicotinic acid .

سيتم فهم وإستيعاب الاختراع بصورة أفضل بواسطة الرجوع إلى الشكل المرفق والاستعانة به، وبواسطة طرح الأمثلة التي سترد فيما بعد.

شكل رقم (١) يمثل توقع بالرسم البياني للنسبة المئوية (%) لإستهلاك (DHA-EE) كدالة للزمن لكل من الأمثلة (١/٣) (أنبوية مفتوحة "تحت ضغط جوي")، (٢/٣) (تحت ضغط تفريغي)، (٣/٣) (في جو من تصاعد فقاعات غاز nitrogen) وذلك أثناء إجراء تفاعل الأسترة التحويلية

transesterification reactions في وجود (٢٠٠) مجم من إنزيم الـ " lipase " الذي يحمل العلامة

التجارية (Novozyme®) في درجة حرارة (٦٠°م) مع نسبة لا alcohol إلى ester تساوي (٣).

لقد تم طرح الأمثلة التالية في صورة أمثلة غير محددة لأغراض التوضيح على سبيل المثال لا الحصر.

٥ مثال المرجعي رقم (١): تخليق pyridin-3-ylmethyl docosahexaeneoate باستخدام كربونات البوتاسيوم ( $K_2CO_3$ ):

تم وضع [(١) جم، (٢.٨) مللي مول] من ethyl docosahexaeneoate [بدرجة نقاء بنسبة أعلى من (٩٥)٪]، ويتم الإمداد به بواسطة (Interchim) وذلك في (٥) مل من مذيب (THF) تمت إزالة الغازات منه بدفع فقاعات من غاز nitrogen في وجود [(١.٥٣) جم، (١١) مللي مول] من ( $K_2CO_3$ ) المطحونة، [(١.٠٦) مل، (١٠.٩) مللي مول] من nicotiny alcohol [بدرجة نقاء بنسبة أعلى من (٩٨)٪]، ويتم الإمداد به بواسطة (Acros). بعد ذلك، تم تسخين خليط التفاعل الناتج إلى درجة حرارة التكتيف تحت مكثف راد لمدة (٧) ساعات، ثم تمت إضافة [(٠.٧٦) جم، (٥.٥) مللي مول] من ( $K_2CO_3$ )، مع إستمرار التسخين لمدة (٧) ساعات.

١٥ وبعد أن تم التبريد، تمت إذابة الخليط في الماء، ثم تم إجراء الاستخلاص باستخدام ethyl acetate. بعدها، تم تجفيف الأطوار العضوية فوق ( $MgSO_4$ )، ثم تم إجراء الترشيح، ثم تم التركيز إلى حيث بلوغ التجفيف. بعد ذلك، تمت تنقية الراسب المتبقي الذي تم الحصول عليه بواسطة كروماتوجرافية الوميض لا silica [بإستخدام مكون  $CH_2Cl_2$  ← ( $CH_2Cl_2$  / ethyl acetate) (١٠/٩٠) لمدة (١٥) دقيقة]. بعدها، تم فصل زيت نقي [بحصيلة ناتج (٠.٨٤) جم، وبنسبة (٧١)٪].

.(10/90) = (AcOEt) ethyl acetate /CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> ،TLC 60 F 254 Merck silica gel  
. (Rf=0.35)

مثال المرجعي رقم (٢): تخليق pyridin-3-ylmethyl docosahexaeneoate باستخدام lipase .

لقد تم إجراء جميع التفاعلات في مفاعل خلط غير مستمر (خلط مغناطيسي) في درجة الحرارة  
المثالية لكل إنزيم. ٥

لقد كانت المنتجات المستخدمة عبارة عن:

- خليط من ethyl esters الغنية بنسبة تصل إلى (٧٠٪) في ethyl ester الـ (DHA)  
(DHA-EE) (يتم بيعه بواسطة شركة Croda Chemical Ltd.)، وقد تمت هنا الإشارة إلى هذا  
الخليط بـ "خليط ester DHA-EE بنسبة (٧٠٪)؛"

١٥ - (Novozyme)، في صورة مجمدة لإنزيم "lipase" من نوع (Candida antarctica) ويتم بيعه  
بواسطة شركة (Novo Nordisk)؛

- . nicotinyl alcohol

لقد كان خليط التفاعل إماً أن يكون عبارة عن:

- وسط بدون مذيب يقوم باستخدام الإنزيمات والخمائر فقط؛ أو

١٥ - وسط عضوي يقوم باستخدام مذيبات عديدة مختلفة.

لقد كانت المذيبات المستخدمة في هذا الوسط العضوي عبارة عن:

- 2-methyl-2-butanol (2M2B) ، وهو عبارة عن مذيب قطبي بصورة معدلة يسمح بتحقيق قابلية الذوبان المشتركة للمركبات الطاردة للماء مثل esters الأحماض الدهنية غير المشبعة العديدة والمركبات الماصة للماء مثل nicotiny alcohol ؛ أو

- acetonitrile ، لنفس الأسباب السابق ذكرها بالنسبة لـ (2M2B).

٥ لقد تم تلخيص ظروف التفاعل في الجدول رقم (١) التالي.

جدول رقم (١): ظروف التفاعل التي تم إختبارها لإجراء أسترة تحويلية لـ "esters (٧٠٪) -DHA مع EE" nicotiny alcohol .

| النسبة المولارية<br>(alcohol/ester) | الحجم<br>الإجمالي<br>(مل) | [تركيز<br>alcohol<br>(مول)] | [تركيز<br>esters<br>DHA- (٧٠٪)<br>[EE (مول)] | الوسط                             | alcohol             |
|-------------------------------------|---------------------------|-----------------------------|--|-----------------------------------|---------------------|
| ١.٥                                 | ١٢                        | ٠.٦٤                        | ٠.٤٣   | 2M2B)<br>( acetonitrile و<br>عضوي | nicotiny<br>alcohol |
| ٣                                   | ٣.٥                       | ٤.٥                         | ١.٥  | مذيب - حر                         |                     |

لقد تم تحضير كل حالة بإستخدام (٢٠٠) مجم من الإنزيم الذي يحمل العلامة التجارية Novozyme® في درجة حرارة (٦٠م). لقد تم اختبار التفاعلات التي تم إجراؤها في (2M2B) في جو مفتوح (تحت ناقوس معبأ بالدخان) وذلك عند درجة حرارة (٦٠م) وبإستخدام (٢٠٠) مجم من الإنزيم الذي يحمل العلامة التجارية Novozyme®.

٥ لقد تم أخذ عينات متساوية بمقدار (٥٠٠) ميكرو لتر بصورة منتظمة في كل مرة إلى أن تم إستكمال التفاعل. ثم تم إخماد عملية التفاعل بواسطة قوة الطرد المركزي لمدة (٥) دقائق بسرعة دوران (١٣٠٠٠) دورة في الدقيقة بما يسمح بسحب الإنزيم المجمد من الوسط. لقد تم تخزين جميع العينات في درجة حرارة (٤م) إلى أن تم إجراء التحليل.

١٠ لقد تم في آن واحد وعلى التوازي إجراء تفاعلات التحكم والسيطرة بدون إنزيم وإجراء تفاعلات التحكم والسيطرة بدون إنزيمات أو خمائر مشتركة (nicotiny alcohol).

لقد تم إجراء التحليل بواسطة إستخدام طريقتين من طرق كروماتوجرافية السائل العالية الأداء (HPLC) (بإستخدام جهاز من سلسلة "Agilent 1100 Series") وفقاً للبارامترات التالية:

طريقة رقم (١):

- عمود من نوع (Zorbax SB-C18) [إباعد (٤.٦) ملم × (٢٥) سم]

١٥ - درجة حرارة: (٤٠م).

- معدل التدفق Flow rate : ١ مل/دقيقة

- سائل الترويق : (٢.٠٠٪) methanol/acetic acid

- جهاز الكشف: جهاز قياس الانكسار.



alcohol. والآن وعند بلوغ ذلك، تم توقع الحصول على منتج واحد فقط، نظراً لأن alcohol الـ "نيكوتينيل" له مجموعة هيدروكسيل أولية primary hydroxyl واحدة فقط.

لقد تم في جدول رقم (٢) التالي توضيح النسب المئوية للتحويل التي تم الحصول عليها في ظروف التفاعل العديدة المختلفة.

جدول رقم (٢): النسبة المئوية للتحويل التي تم الحصول عليها أثناء إجراء تفاعل الأسترة التحويلية transesterification reactions لـ ethyl esters (٧٠٪) DHA-EE مع nicotiny alcohol (\*): في هذه الحالة تترك الأنبوبة مفتوحة لكي تسمح بتبخير ethanol الذي تم إنتاجه أثناء إجراء التفاعل).

| ظروف التفاعل              | النسبة المئوية (%) لتحويل (DHA-EE) إلى<br>nicotiny alcohol -DHA |
|---------------------------|---|
| acetonitrile              | (٣١٪) في غضون (٧٢) ساعة   |
| 2M2B                      | (٤٧٪) في غضون (٤٨) ساعة   |
| 2MB2* في هواء مفتوح       | (٦٠٪) في غضون (١١٨) ساعة  |
| مذيب حر                   | (١١٪) في غضون (٧٢) ساعة   |
| * مذيب حر - في هواء مفتوح | (١٠٠٪) في غضون (٧٢) ساعة  |

٥

كانت معدلات التحول أعلى عندما تم تنفيذ التفاعلات في هواء مفتوح، وتم تبخير ethanol الذي تم إنتاجه، والذي أدى إلى إزاحة إتران التفاعل في اتجاه تخليق nicotiny alcohol - DHA . لقد كانت هذه التفاعلات من تفاعلات الأسترة التحولية transesterification reactions مصحوبة بواسطة إحداث إسوداد شديد السواد لخليط التفاعل.

٥ تظهر منتجات التحلل المائي Hydrolysis (التميو) بصورة مفضلة عندما يتم إستخدام (2M2B) في صورة مذيب للتفاعل. وعلى أية حال، فإن تفاعل التحلل المائي Hydrolysis (التميو) الضعيف يكون موجوداً في وسط بدون مذيب. لذلك، فيبدو أن الماء يكون موجوداً أيضاً في nicotiny alcohol المستخدم أو أن رطوبة الغرفة "أو الوسط المحيط" تؤدي إلى حدوث هذا التفاعل الطفيلي .parasitic reaction

١٠ لقد تم توضيح اليسر والملاءمة العملية لتفاعلات الأسترة التحولية transesterification reactions لـ esters (٧٠%) DHA-EE مع nicotiny alcohol ، كما أظهرت مثل هذه التفاعلات تحقيق معدلات تحول مفيدة ومتميزة بنسبة تقترب من (٩٠%) أو أكثر من ذلك، وبالتحديد عندما يتم إنتاج ethanol أثناء إستبعاد التفاعل (الطفيلي) من خليط التفاعل. وعلى أية حال، فإن تفاعل التحلل المائي الطفيلي يعزى إلى وجود الماء في المذيبات المستخدمة و/أو تدخلات رطوبة الغرفة "أو الوسط المحيط" مع هذه التخليقات syntheses . ١٥

لذلك، فعلى ما يبدو أنه يجب إيلاء الاهتمام في محاولة تجنب تفاعل التحلل المائي الطفيلي الذي تمت مشاهدته ومحاولة إستبعاده نهائياً. يمكن أن يتم ذلك على سبيل المثال، بإستخدام مذيبيات لا مائة تماماً بصورة مطلقة. كما يمكن أن يتم أيضاً تنفيذ نفس هذه التفاعلات في وجود مصيدة للماء (تكون على سبيل المثال، عبارة عن lithium chloride ، أو (MgCl<sub>2</sub>)، أو silica gel ) وذلك لكي يتم إستبعاد حدوث أي تحلل مائي. ٢٠

بالنسبة لتفاعل تخليق "nicotiny alcohol - (DHA) ester"، فإن ethanol الذي يتم إنتاجه أثناء التفاعل يبدو وكأنه في صورة العنصر الذي يحدد التفاعلات. أن إستبعاده يؤدي إلى إزاحة إتران التفاعل في إتجاه تخليق esters المأخوذة في الاعتبار. لذلك، فإنه من التروي والحكمة أن يتم جعل هذا الإستبعاد مثالياً، ومن الجدير بالذكر أن يتم ذلك عندما يتم إجراء التخليقات تحت ضغط مخفض. إن هذا يسمح بإجراء التبخير السريع لل ethanol وبالتالي حدوث زيادة في سرعات التفاعل.

مثال المرجعي رقم (٣): تخليق pyridin-3-ylmethyl docosahexaeneoate بإستخدام lipase ، وجعل الأسترة التحويلية transesterification reactions مثالية، وتبخير ethanol الناتج أثناء إجراء التفاعل مع إستبعاد التلون باللون البني المؤكسد.

١٠ لقد تم تنفيذ تفاعل تخليق مماثل لذلك الذي لمثال رقم (٢) وذلك بإستخدام نفس مواد ومنتجات بداية التفاعل [nicotiny alcohol ، خليط ester (٧٠٪) DHA-EE ، وإنزيم lipase الذي يجعل العلامة التجارية (Novozyme®)] وذلك في وسط بدون مذيب وفي درجة حرارة (٦٠م°) وفي وجود (٢٠٠) جم من Novozyme® بنسبة من alcohol إلى ester = ٣. لقد كان المفاعل المستخدم هو نفس المفاعل المستخدم في مثال رقم (٢)، وكانت طرق التحليل هي نفس طرق التحليل.

١٥ مثال رقم (١/٣):

يتمثل الفرق الوحيد مقارنة بمثال رقم (٢) في أن التفاعل يتم تنفيذه في وعاء مفتوح (أنبوية مفتوحة) النتائج (شكل رقم "١").

يكون تفاعل الأسترة التحويلية transesterification reactions بطيئاً حيث يستغرق ما يقرب من (٨٠) ساعة بالكامل. كما أن التلون باللون البني المؤكسد يكون موجوداً. كما أن التحلل المائي

٢٠ hydrolysis (التميؤ) الطفيلي "القوي" يكون موجوداً أيضاً.

مثال رقم (٢/٣):

يتمثل الفرق الوحيد مقارنة بمثال رقم (٢) في أن التفاعل يتم تنفيذه تحت ضغط تفريغي.

النتائج (شكل رقم "١")

إن هناك تعجلاً للتفاعل مقارنة بمثال رقم (١/٣)، ولكنه يظل "بطيئاً"، حيث يستغرق ما يقرب من

(٤٨) ساعة بالكامل. بالإضافة إلى ذلك، فإن التلون باللون البني المؤكسد، والتحلل المائي (التميؤ)

الطفيلي يستمران ويظلان باقيان.

مثال رقم (٣/٣):

يتمثل الفرق الوحيد مقارنة بمثال رقم (٢) في أن التفاعل يتم تنفيذه في جو من nitrogen بدفع

فقاعات من nitrogen .

النتائج (شكل رقم "١")

١٠ إن هناك تعجلاً هاماً بدرجة كبيرة جداً لها قيمتها وإعتبارها للتفاعل (لمعدل التفاعل)، والذي أصبح

يستغرق زمناً إجمالياً أقل من (٣) ساعات نظراً للإستبعاد اللحظي الذي يتم في حينه لل ethanol

الذي يتم إنتاجه أثناء حدوث التفاعل وتوفر خليط محسن.

تلاحظ عدم وجود التلون باللون البني المؤكسد.

كما أن التحلل المائي hydrolysis (التميؤ) الطفيلي قد إنخفض بشدة بدرجة كبيرة للغاية.

١٥ مثال رقم (٤): تخليق ester (DHA) بالـ "panthenol" باستخدام lipase

لقد كانت الظروف التجريبية والتحليلية هي نفس الظروف التي تم توضيحها ووصفها مثال رقم (٢) فيما عدا الفروق التالية:

لقد تم تلخيص ظروف التفاعل التي تم استخدامها في جدول رقم (٣) التالي:

جدول رقم (٣): ظروف التفاعل التي تم إختبارها لإجراء الأسترة التحويلية transesterification

panthenol DHA-EE (%٧٠) esters ل reactions

| النسبة المولارية (كحول/إستر) | الحجم الإجمالي (مل) | [تركيز alcohol] [ (مول) | [تركيز esters DHA- (%٧٠)] [EE] (مول) | الوسط                      | alcohol   |
|------------------------------|---------------------|-------------------------|--------------------------------------|----------------------------|-----------|
| ٣                            | ١٢                  | ١.٢٨                    | ٠.٤٣                                 | 2M2B) و acetonitrile (عضوي | panthenol |

النتائج والمناقشة:

لقد تم ترويق عينتين على مدى فترة زمنية (٣.٩) دقيقة، (٤.١٤) دقيقة تحت ظروف تحليل معينة. لقد كان لا panthenol كحولين أوليين primary alcohols. لذلك، يمكن أن يتم تخيل أو تصور إنتاج منتجات عديدة (ثلاثة منتجات على الأقل). وعلى أية حال، فلكي تتم السيطرة بدون إنزيم

مشارك أو خميرة مشتركة (panthenol)، تظهر القمة "الذروة" عند فترة زمنية (٤.١٤) دقيقة. ولذلك، فإن القمة (الذروة) المذكورة تتوافق مع التحلل المائي (التميؤ) للـ ethyl esters المرتبط بوجود الماء في المذيب المستخدم. لقد شوهد هذا التفاعل فقط في وجود الإنزيم.

وبالتالي، تتوافق القمة الأولى مع تخليق DHA- ester panthenol.

لقد تم تلخيص النسب المئوية التي تم الحصول عليها في ظروف التفاعل المختلفة وذلك في جدول رقم (٤) التالي فيما بعد.

جدول رقم (٤): النسب المئوية للتحويل أثناء إجراء الأسترة التحويلية transesterification لـ ethyl esters (٧٠٪) DHA-EE باستخدام panthenol (\*: في هذه الحالة، تترك الأنبوية مفتوحة لتسمح بتبخير الـ "ethanol" الذي يتم إنتاجه أثناء إجراء التفاعل).

| ظروف التفاعل        | النسبة المئوية لتحويل (DHA-EE) إلى DHA- panthenol |
|---------------------|---|
| acetonitrile        | (٦٨٪) في غضون (١٣٦) ساعة                          |
| 2M2B                | (٧٦٪) في غضون (١٣٦) ساعة                          |
| 2MB2* في هواء مفتوح | (٨٨٪) في غضون (٩٦) ساعة                           |

إنه على ما يبدو أن النسبة المئوية لتحويل (٧٠٪) DHA-EE esters تزداد عندما يتم إجراء التفاعل في هواء مفتوح. وفي الواقع، وفي مثل هذه الظروف أو الحالة، فإن ethanol الذي يتم إنتاجه يتبخر أثناء إجراء التفاعل. ولذلك، فإن إبتزان التفاعل تتم إزاحته في إتجاه تخليق "panthenol" -

DHA". علاوة على ذلك، فإن هذه القيم من قيم التحويلات سيُنخس تقديرها بالتأكيد بسبب التبخير المشترك لمذيب 2M2B (بفعل تأثير تركيز الوسط). كما أن هذه التفاعلات من تفاعلات الأسترة التحويلية transesterification reactions تكون مصحوبة أيضاً بواسطة إسوداد شديد السواد لخليط التفاعل.

٥ لقد تم توضيح اليسر والملاءمة العملية لتفاعلات الأسترة التحويلية transesterification reactions لـ esters (٧٠%) DHA-EE باستخدام الـ "panthenol"، كما أظهرت مثل هذه التفاعلات تحقيق معدلات تحول مفيدة و متميزة بنسبة تقترب من (٩٠%) أو أكثر من ذلك، وبالتحديد عندما يتم إنتاج ethanol أثناء إستبعاد التفاعل (الطفيلي) من خليط التفاعل. وعلى أية حال، فإن تفاعل التحلل المائي الطفيلي يعزي إلى وجود الماء في المذيبات المستخدمة و/أو تدخلات رطوبة الغرفة أو الوسط المحيط" مع هذه التخليقات. ١٠

لذلك، فعلى ما يبدو أنه يجب إيلاء الاهتمام في محاولة تجنب تفاعل التحلل المائي الطفيلي الذي تمت مشاهدته ومحاولة إستبعاده نهائياً. يمكن أن يتم ذلك على سبيل المثال، بإستخدام مذيبات لا مائية تماماً بصورة مطلقة. كما يمكن أن يتم أيضاً تنفيذ نفس هذه التفاعلات في وجود مصيدة للماء (تكون على سبيل المثال، عبارة عن lithium chloride، أو  $(MgCl_2)$ ، أو silica gel) وذلك لكي يتم إستبعاد حدوث أي تحلل مائي. ١٥

بالنسبة لتفاعل تخليق ester "DHA) - panthenol"، فإن ethanol الذي يتم إنتاجه أثناء التفاعل يبدو وكأنه في صورة العنصر الذي يحدد التفاعلات. أن إستبعاده يؤدي إلى إزاحة إتران التفاعل في اتجاه تخليق esters المأخوذة في الاعتبار. لذلك، فإنه من المتروى أن يتم جعل هذا الإستبعاد مثالياً، ومن الجدير بالذكر أن يتم ذلك عندما يتم إجراء التخليقات تحت ضغط مخفض. إن هذا ٢٠ يسمح بإجراء التبخير السريع للـ ethanol وبالتالي حدوث زيادة في سرعات التفاعل.

مثال رقم (٥): نتائج مقارنة لتأثير فعل (EPA)، (DHA) على تيار بوتاسيوم فائق السرعة وبالتالي على التليف الأذيني auricular fibrillation (الرجفان الأذيني اللبفي).

تكون الطاقة الكامنة للفعل والأداء القلبي عبارة عن الوحدة الكهربائية الأساسية للخلايا القلبية القابلة للاستثارة وتمثل فعالية الأنواع العديدة من القنوات الأيونية المسؤولة عن الأطوار العديدة للطاقة الكامنة للفعل (لفعل وأداء القلب). إن هناك أنواعاً مختلفة من طاقات الفعل الكامنة التي تتوافق مع مناطق قلبية مختلفة، ولذلك فإنها تسمح بتوفير فعالية متتالية (متعاقبة) ومتناسقة في هذه المناطق. ولهذا السبب، فإن قنوات potassium channels (١.٥) كيلوفولت، والمشفرة بواسطة الجين (KCNA5)، فقد تم التعبير عنها فقط في النسيج الأذيني، وهي القنوات المسؤولة عن تيار البوتاسيوم الفائق السرعة ( $I_{kur}$ ) والذي يعمل في إعادة إستقطاب الطاقة الكامنة لفعل الأداء الأذيني. إن هذا التعبير المحلي (Kv 1.5) العالي يكون في الحقيقة عبارة عن هدف في اختيار علاج التليف الأذيني auricular fibrillation، وأيضاً في تشخيص الأمراض وأعراضها والتي تمت فيها ملاحظة أو مشاهدة الطاقات الكامنة لفعل الأداء الأذيني.

لذلك، تمت دراسة تأثيرات كل من (EPA)، (DHA) على ( $I_{kur}$ ). لهذا الغرض تم تحويل الصورة البشرية المشابهة للقناة (Kv 1.5) بإسلوب ثابت في خلايا (HEK 293) (كلية جنينية بشرية)، ثم تمت دراسة التيار الناتج عن فعاليات هذه القنوات باستخدام تقنية تثبيت رقعة "لصوق" لخلية كاملة.

المواد والطرق

المحافظة على خط الخلية

لقد تم إجراء نمو الخلايا HEK 293-hKv 1.5 في ظروف قياسية [في درجة حرارة (٣٧ °م)، تحضين في (٩٥%) ( $O_2$ )، (٥%) ثاني أكسيد الكربون ( $CO_2$ )] وذلك في أطباق (Falcon) بنسبة

حشد أو تجميع (٨٠٪). ثم تم رفعها واستزراعها في أطباق (petri) تحتوي على وسط الاستزراع أو الاستنبات التالي: ("Invitrogen") DMEM؛ (١٠٪) مصلى بقرى دهني ("Invitrogen")، خليط من (١٠٠) U/مل penicillin، (١٠٠) ميكروجرام/مل streptomycin، (٠.٢٥) مجم/مل glutamine (Invitrogen)، (١.٢٥) مجم/مل Geneticin® في صورة مضاد حيوي انتقائي.

### الفسيولوجيا الكهربية Electrophysiology

لقد تمت دراسة ( $I_{Kur}$ ) باستخدام تقنية تثبيت رقعة "لصوق" الخلية الكامل في درجة حرارة الغرفة (١٩ م - ٢٠ م). لقد احتوى وسط الماصة على: (١٢٥) مللي مولار من K-aspartate، (٢٠) مللي مولار من (KCl)، (١٠) مللي مولار من (EGTA)، (٥) مللي مولار من (HEPES)، (٥) مللي مولار من (Mg-ATP)، (١) مللي مولار من ( $MgCl_2$ )، وعند أس هيدروجيني (pH = ٧.٣) [تم تضبيطه باستخدام (KOH)]. كما احتوى الوسط الخلوي الخارجي على: (١٤٠) مللي مولار من (NaCl)، (٣٠) مللي مولار من (HEPES)، (٥) مللي مولار من (+)D-glucose، (٢) مللي مولار من (KCl)، (٢) مللي مولار من ( $CaCl_2$ )، (١) مللي مولار من ( $MgCl_2$ )، وعند أس هيدروجيني (pH = ٧.٤) [تم تضبيطه باستخدام (NaOH)].

لقد تم إجراء حث للتيار ( $I_{Kur}$ ) كل (١٥) دقيقة بواسطة (٣٠٠) ms + (٦٠) مللي فولت) بنبضات مزيللة للاستقطاب من (- ٨٠) مللي فولت لفرق جهد الاحتجاز أو التثبيت، ثم أُستتبع ذلك بفرق جهد إزالة الاستقطاب (- ٥٠) مللي فولت. لقد تم تكوين سعة إهتزازة لقمة (لذروة) التيار من التيار الأقصى الذي تم الحصول عليه أثناء الـ (١٠٠) ms الأولى لنبضات إزالة الاستقطاب. ثم تم تعيين سعة إهتزازة التيار في نهاية النبضات أثناء الـ (٢٠) ms الأخيرة لنبضات إزالة الاستقطاب .depolarizing pulse

الكواشف Reagents

لقد تم إمداد (DHA)، (EPA) بواسطة سيجما (Sigma). كما تم تحضير مخزون من محاليل خام (١٠ ملي مولار) في ethanol ، وكان التركيز النهائي للمذيب (٠.٢٥%).

٥ النتائج

لقد تم تلخيص النتائج التي تم الحصول عليها في جدول رقم (٥) التالي.

جدول رقم (٥): النسبة المئوية لتثبيت ( $I_{Kur}$ ) بواسطة (DHA)، (EPA) عند التركيزات العديدة المختلفة

| حمض (DHA) |                            |         |                                   |         |                     |
|-----------|----------------------------|---------|-----------------------------------|---------|---------------------|
| العدد (n) | نهاية النبضة ( $I_{Kur}$ ) |         | القمة "الذروة" ( $I_{Kur}$ ) Peak |         | التركيز             |
|           | SEM                        | المتوسط | SEM                               | المتوسط |                     |
| ٥         | ٥.٨                        | ١٠.١    | ٦.٣                               | ٨.٢     | (١)<br>ميكرومولار   |
| ٥         | ٦.٥                        | ١٤.٥    | ٦.٩                               | ١٠.٩    | (٣.٢)<br>ميكرومولار |
| ٦         | ٧.٨                        | ٣٣.٧    | ٤.٨                               | ١٥.٤    | (٥.٦)<br>ميكرومولار |
| ٦         | ٤.٢                        | ٧٨.٠    | ٤.٠                               | ٢٢.٦    | (١٠)<br>ميكرومولار  |
| ٥         | ٣.٤                        | ٨٦.٥    | ١٣.٦                              | ٥٨.١    | (٢٥)<br>ميكرومولار  |

| حمض (EPA) |                            |         |                                   |         |         |
|-----------|----------------------------|---------|-----------------------------------|---------|---------|
| العدد (n) | نهاية النبضة ( $I_{Kur}$ ) |         | القمة "الذروة" ( $I_{Kur}$ ) Peak |         | التركيز |
|           | SEM                        | المتوسط | SEM                               | المتوسط |         |

|    |     |      |     |      |                  |
|----|-----|------|-----|------|------------------|
| ٥  | ١.٩ | ١٤.٩ | ١.٧ | ١٤.٦ | (١) ميكرومولار   |
| ٥  | ٤.٤ | ١٩.٩ | ٣.١ | ١٦.١ | (٣.٢) ميكرومولار |
| ١٠ | ٧.٢ | ٣٦.٦ | ٦.٤ | ١٧.٥ | (١٠) ميكرومولار  |
| ٥  | ٧.٣ | ٦١.٦ | ٦.٨ | ٥.٤  | (٢٥) ميكرومولار  |

يقوم حمض (EPA) بتخفيض سعة إهتزازة القمة "الذروة" ( $I_{Kur}$ ) بدرجة طفيفة بالتدرج [التثبيط الأقصى يكون بنسبة  $(\% 17.5 \pm \% 6.4)$ ،  $n = 5$ ،  $(P > 0.005)$  عند تركيز (١٠) ملي مولار، وتثبيت سعة إهتزازة تيار النبضة أو النبضات بنسبة  $(\% 71.6 \pm \% 7.3)$ ،  $n = 5$ ،  $(P > 0.005)$  عند تركيز (٢٥) ملي مولار.

٥ يقوم حمض (DHA) بتثبيط سعة إهتزازة القمة "الذروة" ( $I_{Kur}$ ) بحد أقصى بنسبة  $(\% 58 \pm \% 13.6)$  ( $n = 5$ ،  $(P > 0.0005)$ )، ويتثبيط سعة إهتزازة تيار نهاية النبضة أو النبضات بنسبة  $(\% 87.5 \pm \% 3.4)$  ( $n = 5$ ،  $(P > 0.0005)$ ) عند تركيز (٢٥) ملي مولار.

#### الاستنتاج

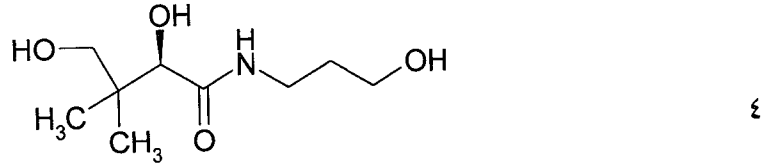
١٠ توضح هيه النتائج أن تطبيق أو إستخدام حمض (DHA) يقوم بالتثبيط بدرجة أقوى من حمض (EPA)، وبصورة تعتمد على التركيز، تيار potassium الفائق السرعة ( $I_{Kur}$ ) لقنوات " potassium " البشرية (Kv 1.5) التي تتحول في الخلايا (HEK 293). يعمل حمض (DHA) بفعالية وبصورة مفضلة على تيار نهاية النبضة (النبضات)، مع إفتراض وجود تأثير على إبطال فعالية القنوات (Kv 1.5). علاوة على ذلك، فإن هذا التأثير يكون مصحوباً بتخفيض للقمة "الذروة" ( $I_{Kur}$ ) [يعكس ما تمت ملاحظته أو مشاهدته بالنسبة لحمض (EPA)]، حيث تمت تقوية فعالية حمض (DHA) في تثبيط ( $I_{Kur}$ ) ١٥

توضح هذه التأثيرات على ( $I_{Kur}$ ) التأثير وفعل الأداء المفيد والمتميز لحمض (DHA) على التليف الأذيني auricular fibrillation (الرجفان الأذيني الليفي).

عناصر الحماية

١ -١ docosahexaenoic acid ester مع alcohol يتم إختياره من المجموعة المشتملة  
٢ على:

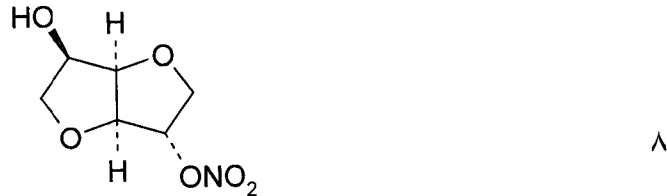
٣ - panthenol الذي له الصيغة التالية:



٥ و isosorbide الذي له الصيغة التالية:



٧ و isosorbide mononitrate التي لها الصيغة التالية:



١ -٢ docosahexaenoic acid ester مع panthenol

١ -٣ طريقة لتحضير docosahexaenoic acid ester وفقاً لعنصر الحماية رقم (١)،

٢ أو عنصر الحماية أو رقم (٢) بواسطة إجراء أسترة تحويلية لـ docosahexaenoic acid

٣ مع ethyl ester alcohol يتم إختياره من بين المجموعة المكونة من panthenol ،

٤ ، isosorbide mononitrate ، isosorbide

- ١ -٤- طريقة وفقاً لعنصر الحماية رقم (٣)، حيث يتم فيها إجراء الطريقة المذكورة في وجود محفز catalyst . ٢
- ١ -٥- طريقة وفقاً لعنصر الحماية رقم (٤)، حيث يكون فيها المحفز catalyst عبارة عن إنزيم " lipase " . ٢
- ١ -٦- طريقة وفقاً لعنصر الحماية رقم (٥)، حيث يتم فيها إستبعاد ethanol أثناء إجراء التفاعل . ٢
- ١ -٧- طريقة وفقاً لعنصر الحماية رقم (٥) أو عنصر الحماية رقم (٦)، حيث يتم إجراء التفاعل في مذيب لا مائي، أو بدون مذيب في جو جاف . ٢
- ١ -٨- تركيبة صيدلانية تشتمل على docosahexaenoic acid ester وفقاً لعنصر الحماية رقم (١) أو عنصر الحماية رقم (٢)، وعلى مادة excipient واحدة على الأقل مقبولة صيدلانياً . ٣
- ١ -٩- docosahexaenoic acid ester وفقاً لعنصر الحماية رقم (١) أو عنصر الحماية رقم (٢)، أو تركيبة صيدلانية وفقاً لعنصر الحماية رقم (٨)، للإستخدام في صورة عقار drug . ٣
- ١ -١٠- docosahexaenoic acid ester وفقاً لعنصر الحماية رقم (١) أو عنصر الحماية رقم (٢)، أو docosahexaenoate pyridin-3-ylmethyl أو تركيبة صيدلانية وفقاً لعنصر الحماية رقم (٨)، للإستخدام في صورة عقار للوقاية من و/أو

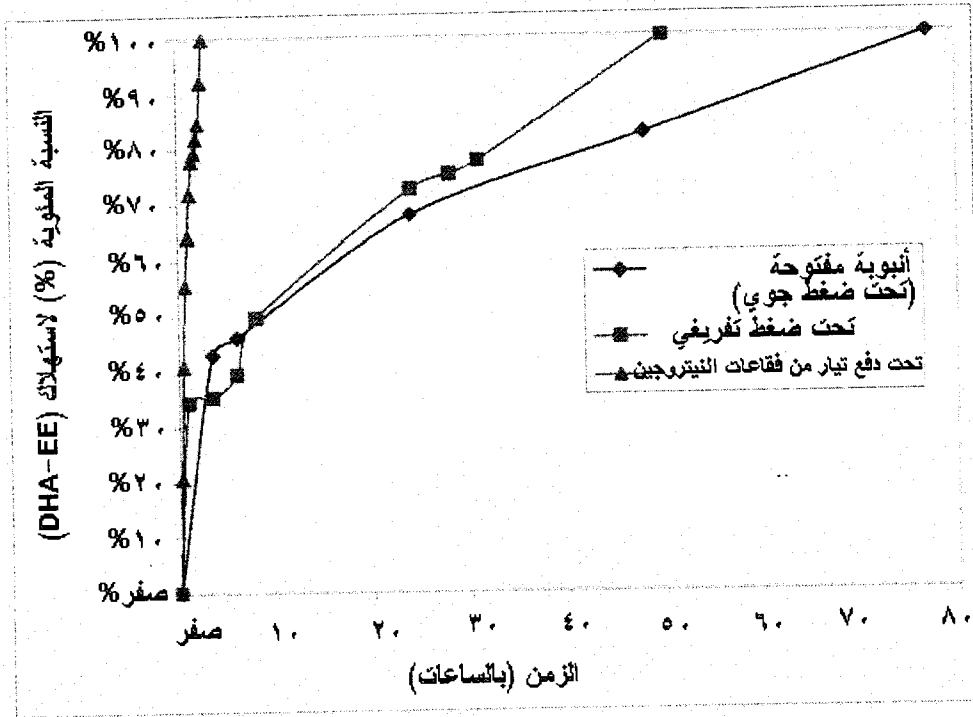
- ٤ لعلاج أمراض الأوعية القلبية cardiovascular diseases ذات العلاقة بالخفقان
- ٥ tachycardia ، وللوقاية من و/أو لعلاج الأمراض المتمثلة في حالات الخلل في
- ٦ التوصيل الكهربائي في خلايا عضلة القلب، وللوقاية من و/أو لعلاج عوامل الخطورة
- ٧ المتعددة المسببة لأمراض الأوعية القلبية cardiovascular disease ، والتي يتم
- ٨ إختيارها من فرط نسبة triglyceride الدم، إرتفاع ضغط الدم hypertension ، فرط
- ٩ نسبة الدهون في الدم hyperlipidemia ، إختلال نسبة الدهون في الدم
- ١٠ dyslipidemia ، لعلاج و/أو لإجراء الوقاية الأولية أو الثانوية primary or
- ١١ secondary لأمراض الأوعية القلبية cardiovascular disease المشتقة أو المحدثة
- ١٢ لإضطرابات الخفقان ، و/أو الذبحة القلبية postinfarction التالية.

- ١ ١١- docosaehaenoic acid ester وفقاً لعنصر الحماية رقم (١) أو عنصر
- ٢ الحماية رقم (٢)، أو pyridin-3-ylmethyl docosaehaeneoate أو تركيبية
- ٣ صيدلانية وفقاً لعنصر الحماية رقم (٨)، للإستخدام في صورة عقار للوقاية من و/أو
- ٤ لعلاج التليف الأذيني auricular fibrillation .

- ١ ١٢- docosaehaenoic acid ester وفقاً لعنصر الحماية رقم (١) أو عنصر
- ٢ الحماية رقم (٢)، أو pyridin-3-ylmethyl docosaehaeneoate أو تركيبية
- ٣ صيدلانية وفقاً لعنصر الحماية رقم (٨) للإستخدام وفقاً لعنصر الحماية (١٠) حيث
- ٤ أن الأمراض القلبية الوعائية لها علاقة بالخفقان tachycardia يتم إختيارها من عدم
- ٥ إنتظام النبض الأذيني و/أو عدم إنتظام النبض البطيني ventricular arrhythmia
- ٦ و/أو سرعة نبضات القلب tachycardia، و/أو التليف fibrillation .

- ١ ١٣- docosahexaenoic acid ester وفقاً لعنصر الحماية رقم (١) أو عنصر
- ٢ الحماية رقم (٢)، أو pyridin-3-ylmethyl docosahexaeneoate أو تركيبة
- ٣ صيدلانية وفقاً لعنصر الحماية رقم (٨) للإستخدام وفقاً لعنصر الحماية (١٠) حيث
- ٤ أن المرض القلبي الوعائي cardiovascular disease يتم اشتقاقه من اضطرابات عدم
- ٥ إنتظام ضربات القلب heart rhythm disorders و/أو عدم إنتظام النبض الأذيني
- ٦ auricular و/أو عدم إنتظام النبض البطيني ventricular، و/أو الخفقان،
- ٧ tachycardia و/أو حالات الخلل في التوصيل الكهربائي المستحث بواسطة إحتشاء
- ٨ عضلة القلب myocardial infarction،

- ١ ١٤- docosahexaenoic acid ester وفقاً لعنصر الحماية رقم (١) أو عنصر
- ٢ الحماية رقم (٢)، أو pyridin-3-ylmethyl docosahexaeneoate أو تركيبة
- ٣ صيدلانية وفقاً لعنصر الحماية رقم (٨) للإستخدام وفقاً لعنصر الحماية (١٣) حيث
- ٤ أن العقار لغرض معالجة و/أو الوقاية الأولية و/أو الثانوية للموت المفاجيء.



شكل رقم (١)