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

[11] رقم البراءة : ٢١١٩
[45] تاريخ المنح : ١٤٢٩/١١/٢٠ هـ
الموافـــق: ٢٠٠٨/١١/١٨ م

[12] براءة اختراع

[72] **اسم المخترع:** تورد انجهاردت، انديرس جوهانسون، آرني سفينسون
[73] **مالك البراءة :** استرازينيكا ايه بي
عنوانه: سوديرتالجي اس- ١٥١ ٨٥، السويد
جنسيته: سويدية
[74] **الوكيل:** سليمان ابراهيم العمار

[21] **رقم الطلب:** ٠٢٢٣٠٢٧٨
[22] **تاريخ الإيداع :** ١٤٢٣/٠٦/٢٢ هـ
الموافق : ٢٠٠٢/٠٨/٣١ م

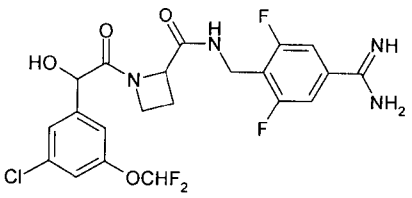
[30] **بيانات الأسبقية:**
٢٠٠١/١١/٣٠ م السويد [SE] PCT/SE٠١/٠٢٦٥٧
[51] **التصنيف الدولي(IPC[8]) :** A61K 31/397

[56] **المراجع:**
براءة أمريكية ٦٥٩٩٨٩٤ ٢٠٠٣/٠٧/٢٩م
طلب أمريكي ٦٠٥١٥٦٨ ٢٠٠٠/٠٤/١٨م
اسم الفاحص: بهجت بن قاسم بابور

[54] **اسم الاختراع:**مشتقات جديدة لحامض المانديليك واستخداماتها كمثبطات للثرومبين

Mandelic acid derivatives and their use as thrombin inhibitors

[57] الملخص: يقدم هذا الاختراع مركب الصيغة العامة ،



I

ومشتقاته المقبولة من الناحية الصيدلانية (بما فى ذلك العقاقير الأولية للمركب). ويستفاد من هذا المركب ومشتقاته التى تعمل كعقاقير أولية وذلك كمثبطات تنافسية لانزيمات البروتياز الشبيهة بالـ trypsin مثل thrombin ، ومن ثم يستفاد منها تحديداً فى علاج الحالات التى تتطلب تثبيط نشاط thrombin (مثل حالة التجلط thrombosis) أو كمواد مضادة لتكوين الجلطة الدموية anticoagulants .

عدد عناصر الحماية (٣)

مشتقات جديدة لـــحامض الماندليك واستخداماتها كمثبطات للـــ ثرومبين

Mandelic acid derivatives and their use as thrombin inhibitors

الوصف الكامل

خلفية الاختراع

يتعلق هذا الاختراع بمركبات جديدة يمكن الاستفادة منها من الناحية الدوائية، وبخاصة المركبات التى يتم تمثيلها غذائياً وتتحول إلى مثبطات منافسة لإنزيمات serine proteases الشبيهة بالـــ trypsin ، وتحديداً thrombin ، كما يتعلق الاختراع أيضاً باستخدام تلـــك المركبـــات كأدويـــة، والتركيبات الصيدلانية المشتملة عليها، وطرق التخليق synthetic المتبعة لانتاجها.

يعتبر تجلط الدم من العمليات الأساسية لكل من وقف النزف (منع فقد الدم من وعاء دموى تالف prevention of blood loss from a damaged vessel)، والتجلط thrombosis (تكـــوين الجلطـــة الدموية فى الوعاء الدموى formation of a blood clot in a blood vessel ، وهى عملية تـــؤدى أحياناً إلى انسداد هذا الوعاء).

وينتج التجلط thrombosis عن مجموعة من التفاعلات الانزيمية المعقدة. ومن الخطوات النهائية فى تلك المجموعة من العمليات تحول الانزيم الأولـــى prothrombin إلـــى انـــزيم thrombin النشط.

ويؤدى thrombin دوراً معروفاً فى عملية التجلط thrombosis ، حيث يقوم بتنـــشيط الـــصفائح الدموية ويؤدى بذلك إلى تجمعّ تلك الصفائح، كما يقوم أيضاً بتحويـــل fibrinogen إلـــى fibrin

فى تنشيط العامل XIII الذى يساعد بدوره فى عملية الترابط التقاطعى بين البوليمرات لتكوين fibrin غير الذائب. وفضلاً عن ذلك يعمل thrombin على تنشيط العامل V والعامل VIII مما يؤدى إلى تولد التغذية الإرتجاعية الإيجابية من prothrombin .

وعند تثبيط عملية تجمع الصفائح الدموية وتكوين الرابطة التقاطعية للـ fibrin فإنه يتوقع أن يكون هناك نشاط مضاد للـ thrombin ينشأ عن المثبطات الفعالة لهذا الانزيم. وإضافة إلى ذلك فإنه يتوقع أن يزيد النشاط المضاد للـ thrombin من خلال التثبيط الفعال لآليات التغذية الارتجاعية الإيجابية.

إن ظهور مثبطات thrombin ذات الوزن الجزيئى المنخفض قد جاء وصفه فى أبحاث "كليسون" المنشورة فى مجلة التجلط thrombosis الدموى ودراسات fibrin الصادرة عام ١٩٩٤ (العدد ٥ – صفحة ٤١١).

وقد أفاد "Blombäck " ورفاقه بأن مثبطات thrombin هى عبارة عن متوالية من الأحماض الأمينية تقع حول موضع الانفصال فى سلسلة fibrinogen AI chain (راجع مجلة الدراسات السريرية والمعملية – العدد ٢٤ – إضافى رقم ١٠٧ صفحة ٥٩ لعام ١٩٦٩). ومن بين متواليات الأحماض الامينية amino acid التى تمت مناقشتها يقترح المؤلفون أن متوالية tripeptide Phe-Val-Arg (المشار إليها فيما بعد بمتوالية P_3 - P_2 - P_1) هى أكثر المثبطات من حيث النشاط والفعالية.

وقد جاء وصف مثبطات thrombin التى تقوم على مشتقات dipeptidyl مع :

I,α-aminoalkyl guanidine فى الموضع P_1، وذلك فى كل من براءة الاختراع الأمريكية رقم ٤٣٤٦٠٧٨ وطلب براءة الاختراع الدولية رقم ٩٣/١١١٥٢. كما جاء أيضاً وصف لمشتقات

dipeptidyl المتشابهة من الناحية الهيكلية. وعلى سبيل المثال تكشف براءة الاختراع الدولية رقم ٩٤/٢٩٣٣٦ عن مركبات تشتمل – مثلاً – على aminomethyl benzamidines، و cyclic aminoalkyl ، و cyclic aminoalkyl guanidines عند الموضع P_1 . وتعرض براءة الاختراع الدولية رقم ٩٧/٢٣٤٩٩ العقاقير الأولية لبعض تلك المركبات، بينما تكشف طلب براءة الاختراع الأوروبية رقم ٦٤٨٧٨٠ عن مركبات مثل cyclic aminoalkyl guanidines عند الموضع P_1.

وتعرض طلب براءات الاختراع الأوروبية رقم ٤٦٨٢٣١، ٥٥٩٠٤٦، ٦٤١٧٧٩ مثبطات thrombin التى تشتمل أساساً على مشتقات peptidyl والتى تحتوى أيضاً على cyclic aminoalkyl guanidines (مثل 3- or 4- aminomethyl-1-amidino-piperidine) عند الموضع P_1. وفى طلب براءة الاختراع الأوروبية رقم ١٨٥٣٩ نجد وضعاً لمثبطات thrombin التى تشتمل أساساً على مشتقات tripeptidyl مع arginine aldehyde عند الموضع P_1.

وفى الأونة الأخيرة كانت هناك افادة حول مشتقات peptidyl التى تتكون أساساً من arginine aldehyde معدلة عند الموضع P_3. وعلى سبيل المثال تكشف طلب براءة الاختراع الدولية رقم ٩٣/١٨٠٦٠ عن hydroxy acids ، وتكشف طلب براءة الاختراع الأوروبية رقم ٥٣٦٨٧٧ عن des-amino acids ، بينما تكشف براءة الاختراع الأوروبية رقم ٥٤٢٥٢٥ عن :

O-methyl mandelic acids عند الموضع P_3.

وقد عرفت أيضاً مثبطات انزيمات serine proteases (مثل thrombin) المكونة أساساً من ketones الجاذبة للشحنات الكهربائية عند الموضع P_1. وعلى سبيل المثال تكشف براءة الاختراع الأوروبية رقم ١٩٥٢١٢ عن discloses peptidyl I-keto esters و amides ، وتكشف براءة الاختراع الأوروبية رقم ٣٦٢٠٠٢ عن fluoroalkylamide ketones ، وتكشف براءة

الاختراع الأوروبية رقم ٣٦٤٣٤٤ عن مركبات β-triketocompounds - α ، وتكشف طلب براءة الاختراع الأوروبية رقم ٥٣٠١٦٧ عن مشتقات α-alkoxy ketone للحامض الامينى arginine عند الموضع P_1.

وهناك مثبطات أخرى لانزيمات serine proteases الشبيهة بالـ trypsin والتى تختلف عن بعضها من الناحية الهيكلية وتشتمل أساساً على مشتقات حامض البوريك عند النهاية الطرفية – "C" لكل من arginine ومشابهات isothiouronium ، وقد جاء وصفها فى طلب براءة الاختراع الأوروبية رقم ٢٩٣٨٨١.

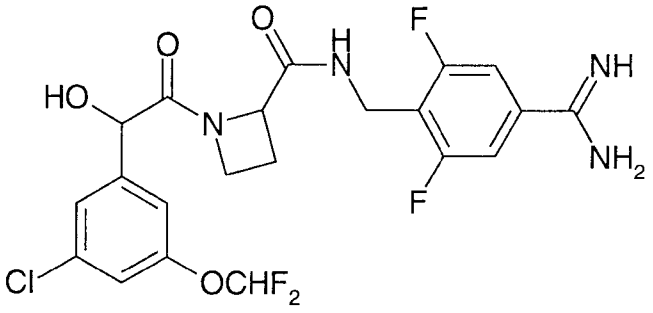
وقد تم فى الأونة الأخيرة الكشف عن مثبطات thrombin المكونة أساساً من مشتقات peptidyl ، وذلك فى براءة الاختراع الأوروبية رقم ٦٩٣١٧ وفى طلب براءات الاختراع الدولية رقم ٩٥/٣٥٣٠٩، ٩٥/٢٣٦٠٩، ٩٦/٢٥٤٢٦، ٩٧/٢٢٨٤، ٩٧/٤٦٥٧٧، ٩٦/٣٢١١٠، و ٩٦/٣١٥٠٤، ٩٦/٣٣٤٧، ٩٨/٦٧٤٠، ٩٧/٤٩٤٠٤، ٩٨/٧٥٩٣٢، و ٢٠٠٠/٩٩٠٣٥٨٦٩/٩٦٦٤، ٢٠٠٠/٤٢٠٥٩. وعلى وجه التحديد تكشف كل من طلب براءة الاختراع الدولية رقم ٩٧/٠٢٢٨٤، طلب براءة الاختراع الدولية رقم ٢٠٠٠/٤٢٠٥٩ عن مثبطات thrombin المشتملة على mandelic acids المستبدلة عند الموضع P_3.

ومع ذلك تبقى هناك حاجة إلى مثبطات فعالة لانزيمات serine proteases الشبيهة بالـ trypsin مثل thrombin . كما أن هناك أيضاً حاجة إلى مركبات ذات حركية دوائية إيجابية وانتقائية التأثير من حيث تثبيط thrombin من بين انزيمات serine proteases الاخرى، وبخاصة تلك التى تدخل فى عمليات وقف النزيف. ويتوقع أنه يمكن الاستفادة بشكل خاص من المركبات ذات

النشاط المثبط للـــ thrombin وذلك كمواد مضادة للتجلط، ومن ثم يستفاد منها فى علاج حالات التجلط thrombosis وغيرها من الاضطرابات الاخرى ذات العلاقة.

وصف عام للاختراع

وفقاً لهذا الاختراع نقدم هنا المركب الآتى ذو الصيغة العامة I.



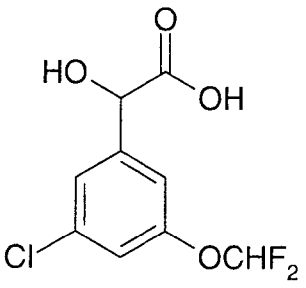
I

أو أى من مشتقاته المقبولة من الناحية الصيدلانية ويشتمل هنا الاصطلاح "مقبول من الناحية الصيدلانية" على الأملاح المقبولة من الناحية الصيدلانية (مثل الأملاح المضافة للحامض). ونجد فى نهاية هذا الوصف مسرد للرموز والاختصارات.

ويمكن تحضير مركب الصيغة العامة وفق الطرق المعروفة لدى المتمرسين فى هذا المجال والتى سيأتى وصفها لاحقاً.

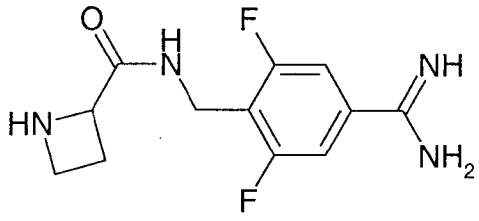
ووفقاً لجانب آخر من الاختراع فإنه يقدم عملية لتحضير مركب الصيغة العامة I، وتشتمل على الخطوات الآتية :

(i) اقتران مركب الصيغة العامة II



II

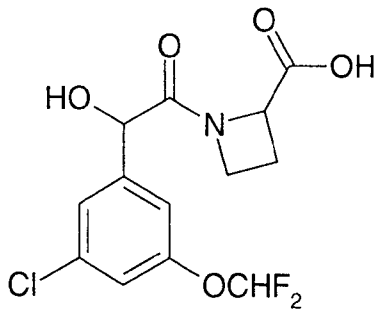
مع مركب الصيغة العامة III



III

٥ فى وجود مادة للاقتران (مثل oxalyl chloride فى DMF، أو EDC، أو DCC، أو HBTU، أو HATU، أو PyBOP، أو TBTU) ، ومادة قاعدية مناسبة (مثل pyridine ، أو DMAP، أو TEA، أو 2,4,6-collidine، أو DIPEA)، مع مذيب عضوى مناسب (مثل dichloromethane ، أو acetonitrile، أو ETOAc، أو DME).

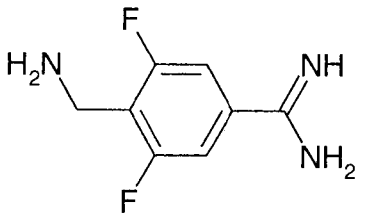
(ii) اقتران مركب الصيغة العامة IV



IV

١٠

مع مركب الصيغة العامة V

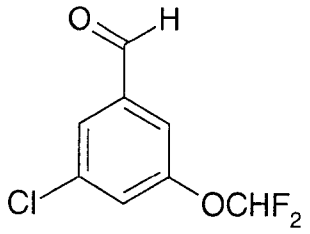


V

ويتم ذلك – مثلاً – فى الظروف السابق وصفها فى الخطوة (i) عاليه.

(iii) تفاعل المركب المناظر فى الصيغة العامة XVI كما سيأتى وصفه لاحقاً مع مصدر مناسب للـ ammonia (مثل ammonium acetate أو غاز ammonia) تحت نفس الظروف التى يعرفها المتمرسون فى هذا المجال، كان يجرى التفاعل بين المركب الوسطى ethylimidoate (المتكون بتفاعل مركب الصيغة العامة XVI مع HCl فى وجود ethanol) مع بخار ammonia فى ethanol ، أو أن يجرى التفاعل وفق الظروف التى جاء وصفها فى مجلة Tetrahedrom Lett (العدد ٤٠ – صفحة ٧٠٦٧ – عام ١٩٩٩) وهى الظروف التى جاء وصفها فى هذا النص على سبيل المرجع.

وتتاح مركبات الصيغة العامة II من خلال الطرق والتقنيات المعروفة و/أو من خلال الطرق والتقنيات القياسية. وعلى سبيل المثال فإن مركبات الصيغة العامة II يمكن تحضيرها عن طريق تفاعل الالدهيد فى الصيغة العامة VI.



VI

مع :

(أ) مركب الصيغة العامة VII الآتى :

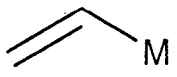
$R\overset{\prime}{C}N$

حيث R تمثل هنا الهيدروجين H أو $(CH_3)_3$ تحت درجة حرارة الغرفة أو تحت درجات حرارية عالية (أقل من ١٠٠ م) فى وجود مذيب عضوى مناسب (مثل chloroform أو methylene chloride)، واذا لزم الامر فى وجود مادة قاعدية مناسبة (مثل TEA) و/أو مادة حفازة مناسبة (مثل benzylammonium chloride أو zinc iodide ، أو باستخدام مادة حفازة chiral catalyst مثل تلك التى جاء وصفها فى مجلة المراجعات الكيميائية فى عددها ٩٩ الصادر عام ١٩٩٩ صفحة ٣٦٤٩)، ويتبع ذلك اجراء عملية تحلل مائى تحت الظروف التى يعرفها جيداً المتمرسون فى هذا المجال والتى سيأتى عرضها فيما بعد.

(ب) NaCN أو KCN فى وجود $NaHSO_3$ مثلاً أو فى وجود الماء، وينتج ذلك عملية تحلل مائى.

(ج) chloroform مثلاً تحت درجة حرارة مرتفعة (أى تزيد عن درجة حرارة الغرفة ولكنها تقل عن ١٠٠ م) فى وجود مذيب عضوى مناسب (مثل chloroform)، وعند الضرورة فى وجود مادة حفازة مناسبة (مثل benzylammonium chloride)، ويتبع ذلك إجراء عملية التحلل المائى.

(د) مركب الصيغة العامة VIII

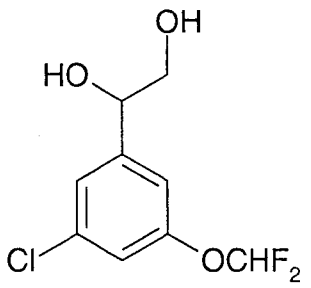


VIII

حيث M تمثل المغنسيوم Mg أو الليثوم Li ، ويتبع ذلك انفصال تأكسدى oxidative cleavage (بواسطة تحلل الاوزون ozonolysis أو تحفيز osmium or ruthenium catalysed) وذلك تحت الظروف التى يعرفها المتمرسون فى هذا المجال.

(ه) tris(methylthio)methane تحت الظروف التى يعرفها جيداً المتمرسون فى هذا المجال، ويتبع ذلك تحلل مائى فى وجود HgO و HBFy.

وكبديل عن ذلك يمكن تحضير مركبات الصيغة العامة II عن طريق تأكسد مركبات الصيغة العامة IX.



IX

أو مشتق من تلك المركبات التى تتم حمايتها بشكل اختيارى عند مجموعة hydroxy الثانوية فى وجود مادة مؤكسدة مناسبة (تتكون من تجميعة من المشتقات الحرة لمادة TEMPO المؤكسدة) مع ملح hypochlorite مناسب (مثل sodium hypochlorite) تحت الظروف المعروفة لدى المتمرسين فى هذا المجال، أى مثلاً تحت درجة حرارة تتراوح ما بين - ١٠ °م إلى درجة حرارة الغرفة، وفى وجود مذيب مناسب (مثل الماء أو acetone أو خليط منهما)، وملح مناسب (من الهاليد المعدنى القلوى alkali metal halide مثل potassium bromide)، ومع وجود مادة قاعدية مناسبة (من الكربونات أو البيكربونات المعدنية القلوية alkali metal carbonate or hydrogen carbonate مثل sodium hydrogen carbonate).

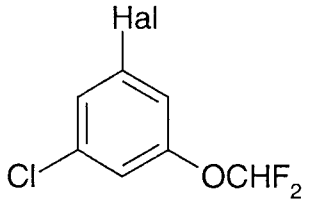
وبالنسبة لاشكال المركبات النقية من الناحية التشاكلية فى الصيغة العامة II (أى تلك المركبات المختلفة من حيث أشكال مواد الاستبدال حول ذرة الكربون الفا إلى مجموعة CO_2H) فيمكن فصلها من خلال الخطوة التى يتم فيها اشتقاق مركبات محددة التشاكل. وقد يتم ذلك– مثلاً – عن طريق عمليات انزيمية تقوم على نقل ester الموجود فى مجموعة α-OH تحت درجات من الحرارة تتراوح ما بين درجة حرارة الارتجاع ودرجة حرارة الغرفة (أى فى حدود تتراوح ما بين ٤٥ – ٦٥ °م) فى وجود انزيم مناسب (مثل انزيم Lipase PS Amano)، وفى وجود استر مناسب (مثل vinyl acetate)، مع مذيب مناسب (مثل methyl *tert*-butyl ether). ويمكن بعد ذلك فصل الأيزومر isomer المشتق عن الايزومر isomer غير المتفاعل بواسطة الطرق والتقنيات التقليدية (مثل الكروماتوجراف). ويمكن إزالة المجموعات المضافة إلى مركبات الصيغة العامة II فى خطوة الاشتقاق إما قبل إجراء أى تفاعل إضافى أو فى أية مرحلة أخرى لاحقة فى تخليق مركبات الصيغة العامة I. ويمكن إزالة المجموعات الإضافية بالوسائل التقليدية (فمثلاً بالنسبة لـ esters مجموعة α-OH يتم ذلك عن طريق التحلل المائى تحت الظروف المعروفة لدى المتمرسين فى هذا المجال، أى تحت درجة حرارة تتراوح ما بين درجة حرارة الارتجاع ودرجة حرارة الغرفة، وفى وجود مادة قاعدية مناسبة مثل NaOH، مع مذيب مناسب مثل الماء أو MeOH أو خليط منهما).

ويمكن تحضير مركبات الصغية العامة III عن طريق اقتران azetidine-2-carboxylic acid مع مركب الصيغة العامة V، كما سيأتى وصف ذلك لاحقاً، وذلك – مثلاً – تحت ظروف مماثلة لتلك التى جاء وصفها فى تحضير مركبات الصيغة العامة I.

ويمكن تحضير مركبات الصيغة العامة IV عن طريق اقتران مركب الصيغة العامة II الذى تم تعريفه سابقاً مع azetidine-2-carboxylic acid ، وذلك – مثلاً – تحت ظروف مماثلة لتلك التى جاء وصفها فى تحضير مركبات الصيغة العامة I.

وبالنسبة لمركب الصيغة العامة VI فهو متاح باستخدام الطرق والتقنيات المعروفة و/أو الطرق والتقنيات القياسية. وعلى سبيل المثال يمكن تحضير ذلك المركب عن طريق :

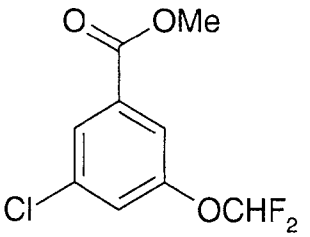
(i) المعالجة بالعناصر المعدنية (وهى عناصر يمكن أن تكون – مثلاً – عناصر معدنية قلوية مثل Li ، والأفضل أن تكون ثنائية التكافؤ مثل عنصر Mg) لمركب الصيغة العامة X.



X

حيث HaL عبارة عن ذرة هالوجين halogen atom يتم اختيارها من مجموعة تتكون من الكلور Cl والبروم Br واليود I ، ويتبع ذلك تفاعل مع مصدر مناسب لمجموعة formyl (مثل ن و ن – dimethylformamide) تحت الظروف التى سيتم وصفها لاحقاً.

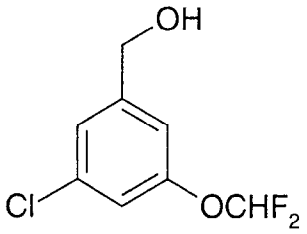
(ii) التفاعل مع مركب الصيغة العامة XI



XI

وذلك فى وجود مادة اختزال مناسبة مثل DiBAL-H

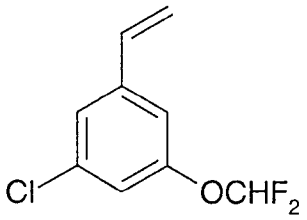
(iii) أكسدة مركب الصيغة العامة XII.



XII

وذلك فى وجود مادة مؤكسدة مناسبة (مثل MnO_2 ، أو pyridinium chlorochromate ، أو خليط من DMSO، و oxalyl chloride ، أو معقد SO_3 pyridine complex فى DMSO).

ويمكن تحضير مركبات الصيغة العامة IX عن طريق المعالجة بالـ dihydroxylation للمركب المناظر فى الصيغة العامة XIII.



XIII

وذلك فى وجود مادة مناسبة يمكن بها إدخال مجموعة الـ dihydroxylation (مادة كاشفة أو خليط من المواد الكاشفة التى ينتج عنها OsO_4 مثل خليط AD – α، وتحديداً خليط DA – β).

ويجرى التفاعل هنا تحت الظروف التى يعرفها المتمرسون فى هذا المجال، أى تحت درجة حرارة تتراوح ما بين – ١٠ °م إلى درجة حرارة الغرفة، وفى وجود مذيب مناسب (مثل الماء أو البيوتانول الثلاثى أو خليط منهما). وفى حالة استخدام نوعية غير متماثلة من المواد المؤكسدة مثل خليط AD – الفا وخليط AD – β فإنه يمكن هنا استخدام تلك الطريقة لتحضير مركبات الصيغة العامة IX المميزة بأشكال محددة للمجموعات (مثل مجموعة R أو مجموعة S) حول كل من ذرات الكربون التى ترتبط بها مجموعات hydroxy الأولية والثانوية primary and secondary hydroxyl.

ويمكن تحضير مركب الصيغة العامة XIII عن طريق تفاعل المركب المناظر فى الصيغة العامة X كما جاء تعريفه سابقاً مع مصدر مناسب لـ vinyl anion مثل tributyl(vinyl)tin تحت الظروف التى يعرفها المتمرسون فى هذا المجال، أى فى درجة حرارة تتراوح – مثلاً – ما بين درجة حرارة الغرفة ودرجة حرارة الارتجاع (حوالى ٥٠ °م)، وفى وجود مذيب مناسب مثل التولوين، مع مادة اقتران مناسبة مثل palladium(0)، ومركب معقد يستخدم فى عمليات التنسيق مثل tetrakis(triphenylphosphine)palladium(0))، واختيارياً فى وجود مادة حفازة مناسبة مثل 2,6-di-*tert*-butyl-4-methylphenol.

وبالنسبة لمركبات الصيغة العامة V ، VII، VIII، X، XI، XII، و azetidine-2-carboxylic acid فهى إما متاحة تجارياً ، أو معروفة فى المراجع ذات العلاقة، أو يمكن الحصول عليها إما وفق العمليات المشابهة لتلك التى جاء وصفها فى هذا النص، أو عن طريق الاجراءات التخليقية التقليدية وفق الوسائل القياسية، وتستخدم فى ذلك مواد مادية متاحة فى وجود مواد كاشفة مناسبة وتحت ظروف ملائمة للتفاعل. أما مركبات الصيغة العامة XVI فيمكن الحصول عليها من خلال العمليات التى سيأتى وصفها لاحقاً.

ويمكن إدخال مجموعات الاستبدال إلى حلقة phenyl فى مركبات الصيغ العامة I ، II ، III ، IV ، V ، VI ، IX ، X ، XI ، XII ، XIII ، وذلك باتباع الطرق المعروفة لدى المتمرسين فى هذا المجال، أو من خلال التحول الذاتى للمجموعات النشطة وفق الطرق القياسية، أو من مواد بادئة متاحة فى وجود مواد كاشفة مناسبة وتحت ظروف ملائمة للتفاعل. وعلى سبيل المثال يمكن تحضير مركبات الصيغة العامة I ، II ، IV ، X ، XI ، XII ، من مركبات مناظرة لتلك التى تستبدل فيها مجموعة $OCHF_2$ بمجموعات OH – (وهذه يشار إليها فيما بعد بمركبات phenol الأولية ذات العلاقة). ويحدث ذلك – مثلاً – بتفاعل أحد مركبات phenol الأولية ذات

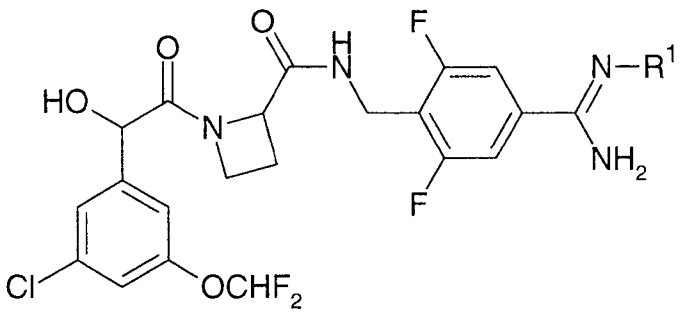
العلاقة مع haloalkane معالج fluorinated (مثل $CICHF_2$) تحت درجة حرارة الغرفة او أعلى منها (أى تحت درجة الارتجاع) وفى جود مادة قاعدية مناسبة (مثل potassium tert-butoxide، أو هيدروكسيد البوتاسيوم KOH، أو هيدروكسيد الصوديوم NaOH فى محلول مائى)، مع مذيب عضوى مناسب (مثل THF أو chloroform أو *i*-propanol) كما سيأتى وصف ذلك لاحقاً.

ويدرك الشخص المتمرس فى هذا المجال أنه يمكن إجراء تحولات فى المجموعة الفعالة أيضاً فى مرحلة مبكرة من مراحل تخليق مركبات الصيغ العامة II ، IV ، VI ، X ، XI ، XII (أى فى وجود مواد أولية مناسبة لمركبات phenol ذات العلاقة). ومثل تلك المواد تكون إما متاحة تجارياً، أو معروفة فى المراجع المختصة، أو يمكن الحصول عليها بعمليات مشابهة لتلك التى جاء وصفها فى هذا النص، أو من خلال اجراءات التخليق التقليدية، أو وفق الطرق والوسائل القياسية، ويستخدم فى ذلك مواد بادئة متاحة، مع مواد كاشفة مناسبة وتحت ظروف ملائمة للتفاعل. وعلى سبيل المثال يمكن الحصول على مركبات phenol الأولية ذات العلاقة عن طريق إزالة المجموعات الطرفية من phenols المحمية المناظرة (حيث تكون المجموعة الطرفية هنا عبارة عن methyl ، أو allyl، أو benzyl ، أو tert-butyl) تحت ظروف قياسية.

ويمكن عزل مركبات الصيغة العامة I من خلائط التفاعل، وذلك باستخدام الطرق التقليدية.

<u>الوصف التفصيلى :</u>

ووفقاً للاختراع الحالى فإن المشتقات المقبولة من الناحية الصيدلانية لمركبات الصيغة العامة I تشتمل أيضاً على المشتقات "المحمية" و/أو على المركبات التى تعمل كعقاقير أولية لمركبات الصيغة العامة I، ومنها مركبات الصيغة العامة Ia:



Ia

حيث :

- R^1 تمثل OR^2 أو $C(O)OR^3$

- R^2 تمثل هيدروجين (H) ، أو $alkyl - C_{1-10}$ ، أو $alkylaryl - C_{1-3}$ ، أو C_{1-3} alkyloxyaryl (وهنا تكون أجزاء alkyl التى تتداخل فيها المجموعتان الأخيرتان بشكل اختياري مع واحدة أو أكثر من ذرات oxygen ، وتكون أجزاء aryl التى تتداخل فيها المجموعتان الأخيرتان بشكل اختيارى مع واحدة أو أكثر من مجموعات الاستبدال مختارة من halo، أو phenyl، أو methyl ، أو methoxy، وتكون المجموعات الثلاث الأخيرة أيضاً مستبدلة بشكل اختيارى بواحدة أو أكثر من مجموعات الاستبدال ممثلة فى مجموعة halo).

- R^3 تمثل $alkyl\ C_{1-10}$ (فيه تكون المجموعة الأخيرة متداخلة بشكل اختيارى مع واحدة أو أكثر من ذرات oxygen)، أو $alkylaryl - C_{1-3}$ ، أو C_{1-3} alkyloxyaryl (وهنا تكون أجزاء alkyl التى تتداخل فيها المجموعتان الأخيرتان بشكل اختيارى مع واحدة أو أكثر من ذرات oxygen ، وتكون أجزاء aryl التى تتداخل فيها المجموعتان الأخيرتان بشكل اختيارى مع واحدة أو أكثر من مجموعات الاستبدال مختارة من halo، أو phenyl، أو methyl ، أو methoxy، وتكون المجموعات الثلاث الأخيرة أيضاً مستبدلة بشكل اختيارى بواحدة أو أكثر من مجموعات الاستبدال ممثلة فى مجموعة halo).

- مع مشتقات المركبات المقبولة من الناحية الصيدلانية ويشتمل الاصطلاح "مشتقات مقبولة من الناحية الصيدلانية" لمركبات الصيغة العامة Ia على الأملاح المقبولة من الناحية الصيدلانية (مثل الأملاح المضافة للحامض).

وبالنسبة لمجموعات alkyloxyaryl التى تمثلها R^2 ، R^3 فهى تشتمل على alkyl مع مجموعة aryl مرتبطة بواسطة ذرة oxygen. وترتبط مجموعة alkylaryl ومجموعة alkyloxyaryl مع باقى الجزئ عن طريق جزء من alkyl فى تلك المجموعات التى يكون فيها alkyl عبارة عن سلسلة متفرغة فى حالة أن يحتوى على عدد كافٍ من ذرات الكربون (ثلاث ذرات مثلاً). وبالنسبة لأجزاء aryl فى مجموعة alkyl aryl ومجموعة alkyl oxyaryl التى تمثلها R^2 ، R^3 أو التى تحتوى على مجموعات استبدال فهى تشتمل هنا على المجموعات العطرية ذات الحلقة الكربونية أو ذات الحلقة غير المتجانسة مثل مجموعة :

phenyl, naphthyl, pyridinyl, oxazolyl, isoxazolyl, thiadiazolyl, indolyl and benzofuranyl

وما شابه ذلك.

وقد تكون مجموعات alkyl التى تمثلها R^2 ، R^3 عبارة عن سلسلة مستقيمة ، أو قد تكون عبارة عن سلسلة متفرغة أو سلسلة حلقية فى حالة أن يكون هناك عدد كافٍ من ذرات الكربون لا يقل عن ٣ ذرات. وفضلاً عن ذلك فإنه إذا كان هناك عدد كافٍ من ذرات الكربون لا يقل عن ٤ ذرات فإن مجموعات alkyl قد تكون جزئياً مجموعات حلقية أو غير حلقية . ويمكن أن تكون تلك المجموعات من alkyl أيضاً مجموعات مشبعة، أو قد تكون غير مشبعة فى حالة أن تحتوى على عددٍ كافٍ من ذرات الكربون لا يقل من ذرتان.

وبالنسبة لمجموعات halo التى تكون منها R^2 ، R^3 مستبدلة فهذه تشتمل على :

.fluoro, chloro, bromo and iodo

وعندما تمثل $C(O)OR^3$ R^1 فإن المجموعات المفضلة لـــ R^3 تشتمل على :

(أ) مجموعة $alkyl - C_{3-6}$ المستقيمة أو المتفرعة أو الحلقية مثل $C_{4-6} -$ سيكلو alkyl .

(ب) مجموعات $alkylaryl\ C_{1-2}$ مثل benzyl ، وهى مجموعات يمكن اســتبدالها بــشكل اختيارى كما أشرنا إلى ذلك عاليه.

أما المركبات المفضلة فى الصيغة العامة Ia فتشتمل على مجموعة المركبات التى تمثل فيها R^1 مجموعة OR^2.

وعندما تمثل R^1 مجموعة OR^2 فإن المجموعات المفضلة لـــR^2 تشتمل على :

(أ) هيدروجين (H)

(ب) مجموعة $alkyl - C_{1-8}$ (مثل مجموعة $alkyl - C_{1-6}$) غير المستبدلة أو المستقيمة أو المتفرعة أو الحلقية مثل $alkyl\ C_{1-3}$ المستقيمة (ethyl ، وتحديــداً methyl)، و $alkyl\ C_{2-8}$ المتفرعة (*i*-propyl, *i*-butyl or 4-heptyl)، أو $alkyl - C_{4-7}$ الحلقيــة ($cycloalkyl - C_{4-7}$ مثل cyclobutylأو cyclohexyl).

(ج) $alkyloxyphenyl - C_{1-3}$ (مثل $alkyloxyphenyl - C_2$) وهى المجموعة التــى تستبدل فيها اختيارياً مجموعة phenyl بواحدة أو أكثر من مجموعات الاســتبدال المشار إليها سابقاً مثل trifluoromethyl .

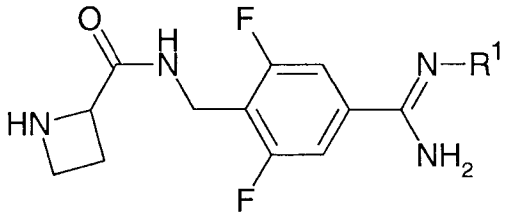
(د) $alkylaryl - C_{1-2}$ مثل aryl methyl والتى تكون فيها مجموعة aryl عبارة عن phenyl أو pyridinylأو oxazolyl ، أو isoxazolyl ، حيث تستبدل المجموعــات

الثلاث الأخيرة بشكل اختيارى بواحدة أو أكثر من مجموعات الاستبدال كما أشرنا سابقاً (methoxy، و/أو methyl ، و/أو bromo ، و/أو chloro).

وتشتمل المركبات المفضلة فى الصيغة العامة Ia على تلك المركبات التى تمثل فيها R^1 مجموعة OR^2 وتمثل فيها R^2 مجموعة $alkyl - C_{1-5}$ (مثل $alkyl - C_{1-4}$) فى شكل سلسلة مستقيمة أو متفرعة أو حلقية مثل methyl, ethyl, *n*-propyl, *i*-propyl or cyclobutyl.

ويمكن تحضير مركبات الصيغة العامة Ia بواحدة أو أكثر من الطرق الأتية :

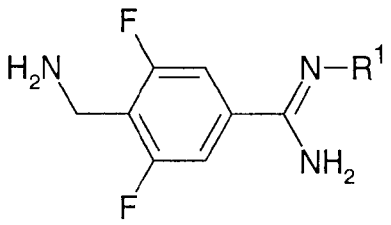
(أ) تفاعل المركب المناظر فى الصيغة العامة II الذى جاء تعريفه سابقاً مع مركب الصيغة العامة XIV :



XIV

حيث R^1 هى كما جاء تعريفها سابقاً، ويجرى هذا التفاعل – مثلاً – تحت ظروف مماثلة لتلك التى جاء وصفها بالنسبة لتخليق مركبات الصيغة العامة I.

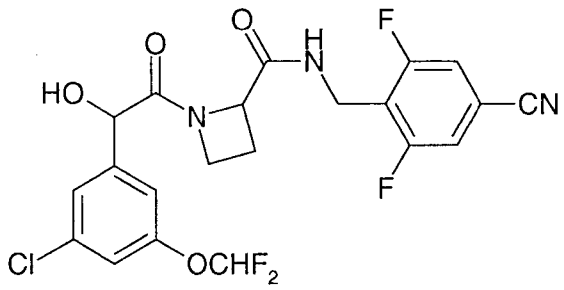
(ب) تفاعل المركب المناظر فى الصيغة العامة IV الذى جاء تعريفه سابقاً مع مركب الصيغة العامة XV



XV

حيث R^1 هى كما جاء تعريفها سابقاً، ويجرى هذا التفاعل – مثلاً – تحت ظروف مماثلة لتلك التى جاء وصفها بالنسبة لتخليق مركبات الصيغة العامة I.

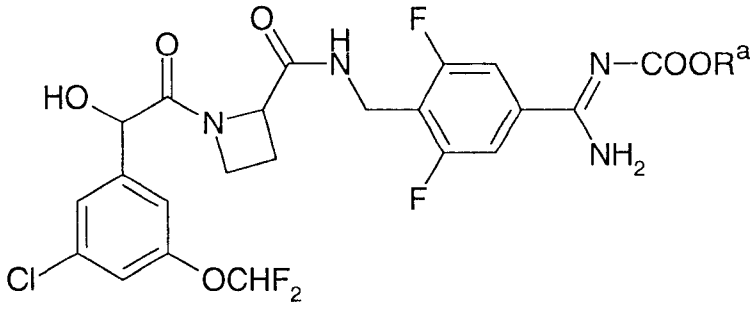
(ج) بالنسبة لمركبات الصيغة العامة Ia التى تمثل فيها R^1 مجموعة OH يتم التفاعل بين المركب المناظر فى الصيغة العامة XVI



XVI

مع مركب hydroxylamine تحت الظروف التى يعرفها المتمرسون فى هذا المجال.

(د) بالنسبة لمركبات الصيغة العامة Ia التى تمثل فيها R^1 مجموعة OR^2، يجرى التفاعل بين المشتق المحتوى على مجموعة واقية فى مركب الصيغة العامة I الذى يكون – مثلاً – عبارة عن مركب الصيغة العامة XVII.



XVII

حيث R^a تمثل أى من CH_2CH_2-Si $(CH_3)_3$ – أو benzyl أو نظيراتها، وذلك مع مركب الصيغة العامة XVIII الآتى :

R^2ONH_2

حيث R^2 هى كما جاء تعريفها سابقاً أو تكون عبارة عن ملح مضاف للحامض. ويجرى هذا التفاعل – مثلاً – تحت درجة حرارة تتراوح ما بين درجة حرارة الغرفة درجة حرارة الارتجاع فى وجود مذيب عضوى مناسب مثل THF أو CH_3CN أو DMF أو DMSO، ويتبع ذلك إزالة مجموعة $C(O)OR^a$ – تحت الظروف التى يعرفها المتمرسون فى هذا المجال (أى عن طريق التفاعل مع QF أو مع TFA كما سيأتى وصف ذلك لاحقاً).

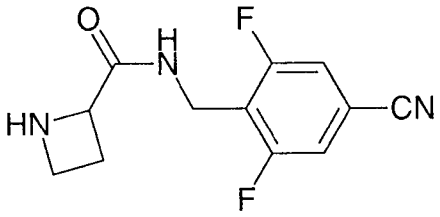
(هـ) بالنسبة لمركبات الصيغة العامة Ia التى تمثل فيها R^1 مجموعة OH فإن تفاعل مركب الصيغة العامة XVII كما جاء تعريفه سابقاً (حيث R^a عبارة عن benzyl) يتم هنا مع مركب hydroxylamine أو مع ملح من أملاح هذا المركب المضافة إلى الحامض، وذلك تحت الظروف التى يعرفها جيداً المتمرسون فى هذا المجال.

(و) بالنسبة لمركبات الصيغة العامة Ia التى تمثل فيها R^1 مجموعة $COOR^3$ فإن تفاعل المركب المناظر فى الصيغة العامة I كما جاء تعريفه سابقاً مع مركب الصيغة العامة XIX وهو $LCOOR^3$ (حيث LI عبارة عن مجموعة تاركة مناسبة مثل مجموعة halo أو nitrophenyl مثل 4-nitrophenyl كما جاء تعريفه سابقاً) يجرى هنا – على سبيل المثال – تحت درجة حرارة الغرفة أو فى حدودها، وفى وجود مادة قاعدية مناسبة (مثل هيدروكسيد الصوديوم $NaOH_2$ فى محلول مائى) ، مع مذيب عضوى مناسب مثل methylene chloride.

(ز) بالنسبة لمركبات الصيغة العامة Ia التى تمثل فيها R^1 مجموعة OCH_3 أو مجموعة OCH_2CH_3 فإن تفاعل المركب المناظر فى الصيغة العامة Ia التى تمثل فيها R^1 مجموعة هيدروكسيد (OH) مع dimethylsulfate أو مع diethylsulfate على التوالى

يتم هنا – مثلاً – فى وجود مادة قاعدية مناسبة مثل الهيدروكسيد المعدنى القلوى KOH فى محلول مائى يحتوى على نسبة وزنية من تلك المادة قدرها ٥٠٪ ، وفى وجود مادة حفازة مناسبة من quaternary ammonium halide مثل benzyltrimethylammonium chloride (CH_2CL_2 أو THF فى محلول ١٠٪ على أساس الوزن).

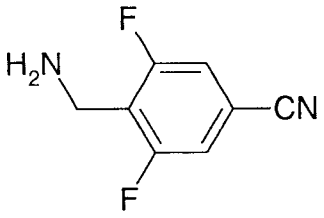
ويمكن تحضير مركبات الصيغة العامة XVI عن طريق التفاعل المركب المناظر فى الصيغة العامة II كما جاء تعريفه سابقاً مع مركب الصيغة العامة XX



XX

ويجرى هذا التفاعل – مثلاً – تحت ظروف مماثلة لتلك التى جاء وصفها سابقاً بالنسبة لتخليق مركبات الصيغة العامة I.

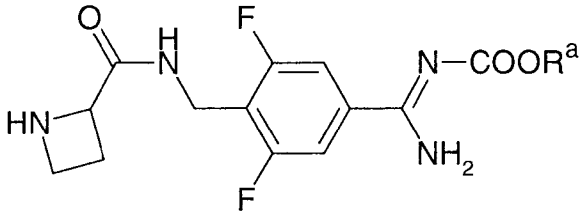
وكبديل عن ذلك يمكن تحضير مركبات الصيغة العامة XVI عن طريق تفاعل المركب المناظر فى الصيغة العامة IV كما جاء تعريفه سابقاً مع مركب الصيغة العامة XXI.



XXI

ويجرى هذا التفاعل – مثلاً – تحت ظروف مماثلة لتلك التى جاء وصفها سابقاً بالنسبة لتخليق مركبات الصيغة العامة I.

ويمكن تحضير مركبات الصيغة العامة XVII عن طريق تفاعل المركب المناظر فـى الـصيغة العامة II كما جاء تعريفه سابقاً مع مركب الصيغة العامة XXII

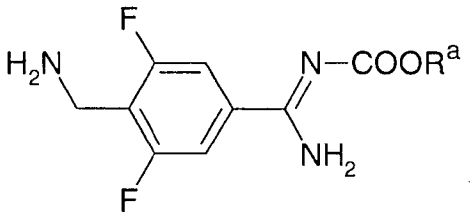


XXII

حيث R^a هى كما جاء تعريفها عاليه، ويجرى هذا التفاعل – مثلاً – تحت ظروف مماثلة لتلـك التى جاء وصفها سابقاً بالنسبة لتخليق مركبات الصيغة العامة I.

وكبديل عن ذلك يمكن تحضير مركبات الصيغة العامة XVII عن طريق تفاعل المركب المناظر فى الصيغة العامة I مع المركب المناظر فى الصيغة العامة XIX الذى تستبدل فيه مجموعة R^3 بمجموعة R^a التى جاء تعريفها سابقاً، ويجرى هذا التفاعل – مثلاً – تحت ظروف مماثلة لتلـك التى جاء وصفها عاليه بالنسبة لتخليق مركبات الصيغة العامة Ia.

ويمكن تحضير مركبات الصيغة العامة XIV ومركبات الصيغة العامـة XXII وذلـك بتفاعـل azetidine-2-carboxylic acid على التوالى مع مركب الصيغة العامة XV كمـا جـاء تعريفـه سابقاً، أو مع مركب الصيغة العامة XXIII.



XXIII

حيث R^a هى عبارة عن المجموعة التى جاء تعريفها عاليه، ويجرى هذا التفاعل تحت ظـروف مماثلة لتلك التى ذكرناها سابقاً بالنسبة لتخليق مركبات الصيغة العامة I.

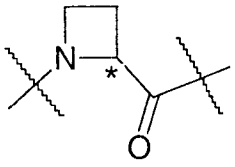
وبالنسبة لمركبات الصيغة العامة XV، XVIII، XIX، XX، XXI، XXIII فهى إما أن تكون متاحة تجارياً، أو معروفة فى المراجع المتخصصة، أو يمكن الحصول عليها وفق العمليات التى جاء وصفها فى هذا النص، أو من خلال الطرق والوسائل التقليدية والتخليقية أو وفق التقنيات القياسية، وذلك باستخدام المواد البادئة المتاحة، مع مواد كاشفة مناسبة وتحت ظروف ملائمة للتفاعل. وعلى سبيل المثال يمكن تحضير مركبات الصيغة العامة XX عن طريق تفاعل المركب المناظر فى الصيغة العامة XXI مع azetidine-2-carboxylic acid ، وذلك تحت ظروف مماثلة لتلك التى جاء وصفها عاليه.

وبالنسبة لمركبات الصيغة العامة I، Ia التى جاء تعريفها عاليه ومشتقات أى من تلك المركبات فيشار إليها فيما بعد بالاصطلاح "مركبات الاختراع". وقد تظهر مركبات الاختراع خاصية التناظر، وهنا تدخل الأشكال المتناظرة وخلائط تلك الأشكال ضمن مجال هذا الاختراع. ومن الأشكال المتناظرة على وجه التحديد والتى يمكن ذكرها تلك التى ترتبط عند موضع الرابطة الزوجية فى الاميدين النشط amidine functionality فى مركب الصيغة العامة Ia وعند موضع مجموعة الاستبدال R^1 .

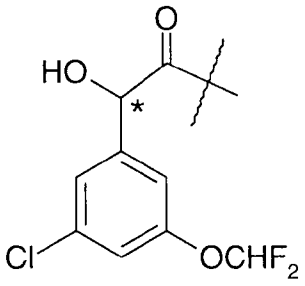
وتحتوى مركبات الاختراع أيضاً على اثنتين أو أكثر، من ذرات الكربون غير المتماثلة، ولذلك فهى تتميز هنا بخاصية المركبات الضوئية و/أو المركبات مزدوجة التجاسم. ويمكن فصل مزدوجات التجاسم باستخدام الطرق التقليدية مثل الكروماتوجراف كما تعزل المتجاسمات عن طريق فصل الخليط الراسيمى أو غير الراسيمى من المركبات باستخدام الطرق التقليدية مثل طريقة HPLC. وكبديل عن ذلك يمكن تحضير الايزومرات الضوئية المطلوبة عن طريق تفاعل مواد بادئة مناسبة وفعالة من الناحية الضوئية تحت ظروف من التفاعل لا ينتج عنها تكون المركبات الراسيمية أو تشاكل المركبات السكرية. ويمكن أيضاً تحضير الايزومرات المذكورة

عن طريق الإشتقاق بحامض كيرالى متجانس، على أن يتبع ذلك فصل مشتقات مزدوجات التجاسم وفق الطرق والوسائل التقليدية (أى باستخدام HPLC ، أو بالكروماتوجراف على طبقة من silica). وتدخل جميع المزدوجات التجاسمية ضمن فحوى ومجال هذا الاختراع.

وتفصل مركبات الاختراع التى تكون فيها الصيغة العامة الآتية جزءاً من الشكل الكبريتى (S).



كما تفضل أيضاً مركبات الاختراع التى يمثل فيها الجزء الهيكل الآتى شكل المجموعة R



وفى الشكلين السابقين تظهر الخطوط المتموجة الموجودة على الروابط مواقع الرابطة التى تعمل بين الأجزاء.

وهكذا فإن مركبات الاختراع المفضلة تشتمل على :

Ph(3-Cl)(5-$OCHF_2$)-(*R*)CH(OH)C(O)-(*S*)Aze-Pab(2,6-diF);

Ph(3-Cl)(5-$OCHF_2$)-(*R*)CH(OH)C(O)-(*S*)Aze-Pab(2,6-diF)(OMe); and

Ph(3-Cl)(5-$OCHF_2$)-(*R*)CH(OH)C(O)-(*S*)Aze-Pab(2,6-diF)(OH).

ويدرك المتمرسون فى هذا المجال أنه فى العمليات التى جاء وصفها عاليه وفى تلك التى سيأتى وصفها فيما بعد قد تحتاج المجموعات العاملة فى المركبات الوسطية إلـى حمايتهـا بواسـطة مجموعات واقية.

وتشتمل المجموعات العاملة التى يجب حمايتها على مجموعة hydroxy، وamino ، carboxylic acid وتشتمل المجموعات الواقية المناسبة لمجموعة hydroxy على مجموعات alkyl المستبدلة اختيارياً و/أو غير المشبعة (methyl ، أو allyl، أو benzyl ، أو tert-butyl) ، أو مجموعات :

trialkylsilyl or diarylalkylsilyl مثـل (*t*-butyldimethylsilyl, *t*-butyldiphenylsilyl or trimethylsilyl)، و tetrahydropyranyl أما المجموعات الطرفية المناسبة لـ carboxylic acid فتشتمل على C_{1-6} – alkyl أو benzyl esters . وبالنسبة للمجموعات الطرفية للـ amino أو للـ amidino فتشتمل على :

t-butyloxycarbonyl, benzyloxycarbonyl or 2-trimethylsilylethoxycarbonyl (Teoc). ويمكن أيضاً حماية Amidino nitrogens بواسطة مجموعة hydroxy أو alkoxy ، وتكون تلك الحماية أحادية أو ثنائية.

وتحدث عملية الحماية أو نزع المجموعات الطرفية للمجموعات الفعالة وذلك قبل أو بعد عمليـة الاقتران، أو قبل أو بعد أى تفاعل آخر فى الخطة السابق ذكرها. ويمكـن إزالـة المجموعـات الطرفية وفق أى من الطرق المعروفة لدى المتمرسين فى هذا المجال والتى سيأتى وصفها فيمـا بعد.

ويدرك المتمرسون فى هذا المجال أنه لكى يتم الحصول على مركبات الاختراع بشكل بديل وفى حالات معينة وبطريقة ملائمة يجب أن تجرى هنا خطوات معينة فى العملية المـذكورة عاليـه

بترتيب مختلف و/أو بتفاعلات فردية على مراحل مختلفة فى العملية برمتها (بمعنى أن تضاف مجموعات الاستبدال و/أو أن تجرى على التفاعل عمليات تحول كيميائى، مع استخدام مواد وسيطة مختلفة عن تلك التى جاء وصفها سابقاً بالترافق مع تفاعل معين)، وهذا قد يؤكد أو يجعل من الضرورى استخدام المجموعات الطرفية. وتتحدد تلك الحاجة إلى المجموعات الطرفية، ونوعية تلك المجموعات والترتيب الذى تتم به عملية التخليق وذلك وفق نوعية الكيمياء الداخلة فى تلك العمليات.

وقد جاء الوصف الكامل لاستخدام المجموعات الطرفية فى الكتاب بعنوان "المجموعات الطرفية فى الكيمياء العضوية". الذى قام بتحريره "J W F McOmie "، والصادر عن دور النشر "Plenum Press" عام ١٩٧٣، كما جاء هذا الوصف أيضاً فى كتاب آخر وهو "المجموعات الطرفية فى الكيمياء العضوية" – الطبقة الثالثة، وهو كتاب قام بتحريره " T.W. Greene & P.G.M. Wutz " وصدر عن دار النشر "Wiley-Interscience" عام ١٩٩٩.

ويمكن تحويل المشتقات المحمية لمركبات الاختراع بطرق كيميائية إلى مركبات الاختراع، وذلك باستخدام الوسائل القياسية الخاصة بنزع المجموعات الطرفية (مثل الهدرجة hydrogenation). ويدرك أيضاً الشخص المتمرس فى هذا المجال أن هناك بعض مركبات الصيغة العامة Ia يمكن إعتبارها "مشتقات محمية" فى مركبات الصيغة العامة I.

الاستخدامات الطبية والصيدلانية :

تتميز مركبات الاختراع بنشاط صيدلانى، ومثل تلك المركبات تشمل – دون حصر – على مركبات الصيغة العامة I.

ومع ذلك فهناك مركبات أخرى للاختراع (بما فى ذلك مركبات الصيغة العامة Ia) قد لا تتميز بمثل هذا النشاط، حيث تعطى إما عن غير طريق القناة الهضمية أو عبر الفم، وتحدث لها بعد ذلك عمليات أيضية فى الجسم لتتكون عنها مركبات نشطة من الناحية الصيدلانية (ويشتمل ذلك – دون حصر – على مركبات الصيغة العامة I). إن مثل تلك المركبات (التى تشتمل أيضاً على المركبات المميزة ببعض النشاط من الناحية الصيدلانية يقل عنه بالنسبة للمركبات النشطة التى تكونت عن المركبات الأولى من خلال العمليات الأيضية) يمكن اعتبارها هنا عقاقير أولية للمركبات النشطة.

وهكذا فإنه يمكن الاستفادة من مركبات الاختراع نظراً لتميزها بالنشاط الصيدلانى و/أو لكونها تمثل غذائياً فى الجسم بعد تناولها عن طريق الفم أو عن غير طريق القناة الهضمية لتكوين المركبات ذات النشاط الصيدلانى. لذلك يمكن التعبير عن مركبات الاختراع بأنها مركبات صيدلانية.

ووفقاً لجانب آخر فى هذا الاختراع فإنه يقدم هنا مركبات الاختراع التى تستخدم كمواد صيدلانية.

وعلى وجه التحديد فإن مركبات الاختراع تعتبر مثبطات قوية للـ thrombin سواء اعطيت بحالتها أو فى شكل عقاقير أولية، حيث يتم تمثيلها غذائياً بعد تناولها ليتكون عنها مثبطات قوية للـ thrombin كما سيأتى اثبات ذلك فى الاختبارات اللاحقة.

وعند الحديث عن "العقاقير الأولية لمثبطات thrombin " فإن ذلك يشتمل على المركبات التى يتكون عنها مثبط thrombin بكمية يمكن أكتشافها تجريبياً فى زمن محدد مسبقاً (أى فى حدود ساعة واحدة) بعد تناولها عن طريق الفم أو عن غير طريق القناة الهضمية (راجع – مثلاً –

إختبار – هـ أدناه) ، أو كبديل عن ذلك بعد تحضين تلك المركبات فى وجـود ميكروسـومات الكبد (راجع – مثلاً – اختبار – ز أدناه).

وهكذا يتوقع الاستفادة من مركبات الاختراع فى الحالات التى تحتاج إلى تثبيط نشاط thrombin و/أو الحالات التى تستدعى العلاج بمضادات التجلط thrombosis ، والتى تشتمل على ما يلى:

- العلاج والوقاية من تجلط الدم أو القابلية لحدوث فرط التجلط thrombosis فى الـدم أو فى أنسجة الحيوان والانسان. ومن المعروف أن القابلية لحدوث فرط التجلط thrombosis قد تؤدى إلى أمراض الانسداد التجلطي ، وهذه تشتمل على المقاومة الوارثية أو المكتسبة لبروتينات "C" المنشطة مثل البروتين المكون لعامل الطفـرة "V" (عامـل V Leiden)، وأيضاً النقص الوراثى او المكتسب لمضادات thrombin III وبروتين "C" وبروتين "S" وعامل heparin المشترك II. وهناك حالات أخرى تـرتبط بحـدوث فـرط الـتجلط thrombosis و أمراض الانسداد التجلطى ، وهذه تشتمل على تكون الاجسام المـضادة للفوسفوليبدات antiphospholipid فى الدورة الدمويـة (مـضاد الـتجلط thrombosis Lupus)، وحالات homocysteinemi، وندرة خلايا الصفائح الدموية الناتجة عن heparin واختلال عمليات تحلل fibrin ، وأيضاً متلازمات الـتجلط thrombosis مثـل الـتجلط thrombosis الوعائى المنتشر (DIC) والتلف الوعائى الذى يحدث بـشكل عـام بعـد العمليات الجراحية.

- علاج الحالات التى تحدث فيها زيادة غير مرغوبة فى مستوى thrombin دون ظهـور أعراض القابلية لفرط التجلط thrombosis ، كما يحدث فى حالة التنكس العـصبى مثـل مرض الزهايمر Alzheimer's disease .

- وهناك حالات مرضية محددة يمكن ذكرها، وهذه تشتمل على المعالجة و/أو الوقاية من التجلط thrombosis الوريدى (DVT)، والانسداد الرئوى، والتجلط thrombosis الشريانى (مثل تمزق عضلة القلب، والذبحة الصدرية غير المستقرة، والسكتة القلبية الناتجة عن التجلط thrombosis ، والتجلط thrombosis الشريانى السطحى، وحالات الانسداد التى تحدث أثناء التليف الشريانى غير الصمامى) ، أو تلك التى تنتج عن البطين الأيسر بعد تمزق عضلة القلب عبر جدران البطين، أو الحالات التى تنتج عن فشل أداء عضلة القلب بسبب تضخمها؛ والوقاية من التجلط thrombosis بعد تحلل thrombin ، والتقويم الوعائى عبر تجويف سطح الجلد (PTA)، وعمليات التحويلة التاجية؛ والوقاية من معاودة التجلط thrombosis بعد العمليات الوعائية الدقيقة أو العمليات الجراحية بوجه عام.

وهناك مؤشرات أخرى تشتمل على العلاج و/أو الوقاية من حالات التجلط thrombosis الوعائى المنتشر الناتج عن البكتريا أو الرضح المتعدد أو التسمم أو عن أى من الآليات الأخرى؛ والعلاج بمضادات التجلط thrombosis عندما يتلامس الدم مع أسطح غريبة فى الجسم مثل الطعوم الوعائية، والقوالب الوعائية، والقناطر الوعائية، والصمامات الميكانيكية أو البيولوجية، وغير ذلك من الأجهزة الأخرى الطبية؛ والعلاج بمضادات التجلط thrombosis عندما يتلامس الدم مع أجهزة طبية خارج الجسم مثل جهاز القلب والرئة الذى يستخدم أثناء جراحات الأوعية القلبية أو أثناء عمليات الديلزة الدموية؛ والعلاج و/أو الوقاية من الأمراض التنفسية التلقائية أو غير معروفة الأسباب، والتليف الرئوى الناتج عن المعالجة بالاشعاع أو عن المعالجة الكيميائية ، والصدمة الانتانية، وعفونة الدم/ والاستجابات الالتهابية التى تشتمل – دون حصر – على الأوديما ، والتصلب العصيدى الحاد أو المزمن مثل مرض الشريان التاجى وتكوين اللويحات العصيدية، والمرض الشريانى الدماغى، وتمزق الدماغ، وتجلط الدماغ، الانسداد الدماغى،

ومرض الشريان السطحى، وفقر الدم الموضعى، والذبحة الصدرية (بما فى ذلك حالات الذبحة غير المستقرة)، والتلف الناتج عن معاودة التروية، وحالات التضيق الحادثة بعد التقويم الوعائى لتجاويف سطح الجلد (PTA) وبعد جراحات التحويلة الشريانية التاجية.

وبالنسبة لمركبات الاختراع التى تثبط نشاط trypsin و/أو thrombin فيمكن الاستفادة منها أيضاً فى علاج الالتهابات البنكرياسية. وهكذا يمكن أن توصف مركبات الاختراع لكل من العلاج و/أو للوقاية من تلك الحالات.

ووفقاً لجانب آخر من الاختراع الحالى فإنه يقدم هنا طريقة لعلاج الحالة التى تستوجب تثبيط نشاط thrombin ، وتشتمل هذه الطريقة على اعطاء كمية فعالة علاجياً من مركب الاختراع للشخص الذى يعانى من تلك الحالة أو الذى يستجيب لها سريعاً.

وعادة ما تعطى مركبات الاختراع عن طريق الفم، أو فى الوريد، أو تحت الجلد، أو صوب الخد، أو فى الشرج، أو عن طريق الجلد، أو عن طريق القصبة الهوائية، أو عن طريق الشعب الهوائية، أو بأية وسيلة أخرى خلاف القناة الهضمية، أو عن طريق الاستنشاق، وذلك فى شكل مستحضرات تشتمل على مركب الاختراع فى وحدة للجرعة مقبولة من الناحية الصيدلانية. وتعطى تلك التركيبات بجرعات مختلفة، ويعتمد ذلك على نوعية الحالة المرضية، والمريض قيد المعالجة، وأيضاً على كيفية إعطاء الدواء للمريض.

وقد يمكن تجميع مركبات الاختراع و/أو تناولها بشكل متزامن أو مشترك مع أى من المواد المضادة للـ thrombin وذات الآليات المختلفة من حيث التأثير، وهذه تشتمل على واحدة أو أكثر من المواد مثل : المواد المضادة للـ thrombin ، والمواد المضادة لتصفح الدم، و

acetylsalicylic acid, ticlopidine and clopidogrel ، ومستقبلات thromboxane، ومثبطات انزيمات التخليق الحيوى، ومضادات مستقبلات fibrinogen ، والمواد الشبيهة بالـ prostacyclin ، ومثبطات انزيم phosphodiesterase، ومضادات (P_2T) لمستقبلات ADP، ومثبطات انزيم carboxypeptidase (CPU).

كما يمكن أيضاً تجميع مركبات الاختراع و/أو تناولها بشكل متزامن أو مشترك مع المواد المحللة للـ thrombin كأن تعطى مع واحدة أو أكثر من منشطات plasminogen فى الأنسجة (طبيعة أو متجمعة أو معدلة)، وانزيمات streptokinase, urokinase, prourokinase ، والمركبات المعقدة المنشطة لتجميعة plasminogen-streptokinase (APSAC)، والمواد النشطة للـ plasminogen الموجود فى الغدد اللعابية للحيوان، وما شابه ذلك، وهى مواد تستخدم لعلاج الأمراض ذات العلاقة بـ thrombin وبخاصة أمراض تمزق عضلة القلب.

ووفقاً لجانب آخر من الاختراع فإنه يقدم هنا تركيبة صيدلانية تشتمل على مركب الاختراع مخلوطاً بمادة مساعدة إضافية أو مادة مخففة أو مادة ناقلة مقبولة من الناحية الصيدلانية.

وتتراوح الجرعة اليومية المناسبة من مركبات هذا الاختراع المستخدمة فى علاج الإنسان ما بين حوالى ٠,٠٠١ – ١٠٠ مجم لكل ١ كجم من وزن الجسم فى حالة أن تعطى تلك الجرعة عن طريق الفم، وما بين ٠,٠٠١ – ٥٠مجم لكل ١ كجم من وزن الجسم فى حالة أن تعطى عن غير طريق القناة الهضمية، ويستبعد من تلك القيم وزن الآيونات المضادة للحامض. ومنعاً لحدوث اللبس أو الغموض فإن الاصطلاح "علاج" المستخدم هنا يشمل كل من المعاملة العلاجية و/أو المعالجة الوقائية.

وتتميز مركبات الاختراع عن المركبات التى عرفت فى الفن السابق بأنها أكثر فعالية، وأقل سمية، ويمتد مفعولها لفترات أطول، وذات مدى واسع من النشاط، كما أنها أكثر قوة وينتج عنها

أعراض جانبية طفيفة، ويتم امتصاصها بشكل ايسر، فضلاً عن كونها الأفضل من حيث الحركية الدوائية ممثلة فى زيادة درجة إتاحتها الحيوية عند تناولها عن طريق الفم، إضافة إلى خصائص أخرى مفيدة من الناحية الصيدلانية والفيزيائية والكيميائية. وهنـــاك ميـــزة أخـــرى لمركبـــات الاختراع، وهى امكانية إعطاؤها بشكل اقل تكراراً مقارنة بالمركبات المعروفة فى الفن السابق.

٥ **الاختبارات البيولوجية :**

يمكن اتباع الاختبارات الآتية :

الإختبار – أ :

تحديد فترة تجلط thrombin TT :

يتم تحضير كمية قدرها ٢٥ ميكروليتر من محلول المادة المثبطة مع كمية قدرها ٢٥ ميكروليتر من البلازما لمدة ٣ دقائق. ويضاف إلى الخليط ثرومبين بشرى Human thrombin (T6769) من شركة Sigma Chem أو من شركة Hematologic Technologies فى محلول منظم يصل رقمه الهيدروجينى (PH) إلى ٧,٤ (٢٥ ميكروليتر – ٤ NIH وحدة/مل). وبعد ذلك يتم قيـــاس زمـــن التجلط thrombosis فى جهاز اوتوماتيكى من طراز Amelung-KC10.

ويتم التعبير عن زمن تجلط thrombin (TT) كقيم مطلقة (ثوانٍ)، وأيضاً كنسبة بين TT بـــدون مادة مثبطة (TT_0) إلى TT مع المادة المثبطة (TTi). ويتم رسم النسب الأخيرة (مدى ١ – صفر)

مقابل تركيز المادة المثبطة (اللوغاريتم المتحول) مع وضع تلك النسب منحنى سينى للاستجابة للجرعة وفق المعادلة :

$$Y = a / [\ 1 = (x / I\,C_{50})^{s}\ ]$$

حيث a = المدى الأقصى (١)، S = انحدار منحنى الاستجابة للجرعة ، IC_{50} = تركيز المادة المثبطة التى تضاعف من زمن التجلط thrombosis . وتتم معالجة تلك الحسابات بواسطة حاسوب شخصى (PC) باستخدام برنامج Version–Grafit مع تثبت وضبط المعادلة عند قيمة ابتدائية قدرها صفر وقيمة نهائية قدرها ١.

(Erithacus Software, Robin Lea therbarrow, Imperial College of Science, London, UK)

الاختبار – ب :

١٠ تحديد درجة تثبيط thrombin باختبار أجهزة المعالجة الاوتوماتيكية لتوليد الألوان :

تقاس قوة المادة المثبطة للـ thrombin بواسطة المادة المتفاعلة المكونة للألوان، ويستخدم فى ذلك جهاز معالجة يتكون من لوحة دقيقة آلية من طراز Plato-3300 (Rosys AG – Ch-8634 – Hombrechtikon – سويسرا). كما تستخدم أيضاً لوحات العيار الحجمى الدقيق سعة ٩٦ تجويف نصف حجمى – مصنف رقم ٣٦٩٠ (Costar, Cambridge, MA, USA). ويتم تخفيف مادة الاختبار المخزونة فى DMSO (٧٢ ميكروليتر)، بتركيز مولارى يتراوح ما بين ٠,١ – ١ مل مول/لتر، ويجرى هذا التخفيف بشكل تتابعى ١ : ٣ (٢٤ + ٤٨ ميكروليتر) باستخدام DMSO للحصول بذلك على عشرة تركيزات مختلفة يتم تحليلها كعينات فى الاختبار. ويجرى تخفيف ٢ ميكروليتر من عينة الاختبار باستخدام ١٢٤ ميكروليتر من محلول منظم، و١٢ ميكروليتر من محلول المادة المكونة للالوان (S-2366, Chromogenix, Mondal, Sweden) فى محلول مادة

منظمة، وأخيراً تضاف إلى هذه الخليط كمية قدرها ١٢ ميكروليتر من محلول α-thrombin من جسم الإنسان (متاح لدى شركة Sigma Chemical أو من شركة Hematologic Tech) بعد وضعه فى مادة دارئة، مع خلط العينات ببعضها البعض. وقد كانت التركيزات النهائية للاختبار هى : مادة الاختبار ٠,٠٠٠٦٨ – ١٣,٣ ميكرومول/لتر، و S-2366 – ٠,٣٠ مل مول/ لتر، و α-thrombin ٠,٠٢٠ NIHU/مل. وقد استخدمت الزيادة الحادثة فى قيمة الامتصاص الخطى اثناء عملية التحضين لمدة ٤٠ دقيقة تحت درجة حرارة ٣٧ °م وذلك لحساب النسبة المئوية للتثبيط بالنسبة لعينات الاختبار مقارنة بعينات المستوى الشاهد دون مادة مثبطة. أما قيمة IC_{50} الآلية المناظرة لتركيز المادة المثبطة والى تؤدى إلى تثبيط نشاط thrombin بنسبة ٥٠٪ فقد حسبت من لوغاريتم التركيز مقابل النسبة المئوية لمنحنى التركيز.

الاختبار – ج :

تحديد ثابت التثبيط ki لثرومبين الإنسان :

تم تحديد ثوابت Ki باستخدام طريقة المادة المتفاعلة المكونة للألوان تحت درجة حرارة قدرها ٣٧ °م فى جهاز تحليل يعمل بالطرد المركزى من طراز " Cobas" (Roche, Basel, Switzerland) Bio. وقد تم بعد ذلك تحديد نشاط الانزيم الباقى بعد التحضين لمادة α-thrombin فى الإنسان مع تركيزات مختلفة من مركبات الاختبار، وذلك باستخدام ثلاثة تركيزات مختلفة للمادة المتفاعلة، وتم قياس ذلك على أنه التغير فى قيمة الامتصاص الضوئى عند ٤٠٥ نانومتر.

ويتم خلط محallyl مركب الاختبار (١٠٠ ميكروليتر فى محلول ملحى منظم يحتوى عادة على كمية من BSA قدرها ١٠ جرام/لتر) مع ٢٠٠ ميكروليتر من α-thrombin الإنسان (من شركة Sigma Chemical, Co.) فى مادة دارئة (٠,٠٥ مول/لتر – Tris-HCl– رقم هيدروجينى PH = ٧,٤ – قوة آيونية قدرها ٠,١٥ معدلة NaCl).

واجرى تحليل العينات فى جهاز Cobas Bio. وقد أضيفت كمية قدرها ٦٠ ميكروليتر من العينة مع كمية قدرها ٢٠ ميكروليتر من الماء إلى ٣٢٠ ميكروليتر من المادة المتفاعلة S-2238 (Chromogenix AB, Mondal, Sweden) فى مادة الاختبار الدارئة، مع مراقبة التغير فى درجة الامتصاص (Δ A / min). وقد كانت التركيزات النهائية للمادة المتفاعلة S-2238 هى ١٦,٢٤ ، ٥٠ ميكرومول/لتر، وكانت تركيزات thrombin ٠,١٢٥ NIHU/مل.

وقد استخدمت معدلات تفاعل الحالة الساكنة لعمل رسوم Dixon البيانية لتركيز المادة المثبطة مقابل قيمة التغير (I / Δ A / min). وبالعكس فإنه بالنسبة للمواد المثبطة التنافسية استخدمت نقاط البيانات الخاصة بالتركيزات المختلفة للمادة المتفاعلة وذلك لتكوين خطوط مستقيمة تقاطع عند X = Ki.

الاختبار – د :

تحديد زمن Thromboplastin الجزئى المنشط (ATT) :

يجرى هذا الاختبار APTT فى بلازما الإنسان المعالجة السترات فى وجود المادة الكاشفة PTT-5 المصنعة من قبل شركة "Stago". وتضاف المواد المثبطة إلى البلازما (١٠ ميكروليتر من محلول المادة المثبطة إلى ٩٠ ميكروليتر من البلازما) ويجرى تحضين الخليط مع المادة الكاشفة PTT لمدة ٣ دقائق، ثم يضاف إليه ١٠٠ ميكروليتر من محلول calcium chloride (٠,٢٥ مول) ، ويتم تحديد APTT باستخدام جهاز تحليل التجلط thrombosis من طراز KC-10 (Amelung) وفق تعليمات الشركة المنتجة للمادة الكاشفة.

ويتم التعبير عن زمن التجلط thrombosis على أساس القيم المطلقة (ثوان)، وأيضاً نسبة APTT بدون مثبط ($APTT_0$) إلى APTT مع وجود المثبط (APTTi). ويتم رسم القيم الأخيرة (مدى ١

– صفر) مقابل تركيز المادة المثبطة (اللوغاريتم المتحول) ووصعها فى منحنى سينى للاستجابة للجرعة وفق المعادلة :

$$Y = a / [\ 1 = (x / IC_{50})^{s}]$$

حيث a = المدى الأقصى (١)، S = انحدار منحنى الاستجابة للجرعة، IC_{50} = تركيز المادة المثبطة التى تضاعف من زمن التجلط thrombosis . وتتم معالجة تلك الحسابات فى جهاز حاسوب شخصى (PC) باستخدام برنامج Grafit-Version 3 مع ضبط قيم المعادلة عند قيمة ابتدائية قدرها صفر وقيمة نهائية قدرها ١ (Erithacus Software, Robin Leatherbarrow, Imperial College of Science, London, UK) وتعرف قيمة IC_{50}APTT بانها تركيز المادة المثبطة فى بلازما الإنسان التى تؤدى إلى مضاعفة زمن Thromboplastinالجزئى المنشط.

الاختبار – هـ :

تحديد زمن thrombin خارج الجسم :

استخدمت فى هذا الاختبار فئران حية لدراسة درجة تثبيط thrombin عند تناول مركبات الاختراع عن طريق الفم أو عن غير طريق القناة الهضمية، عند إذابة تلك المركبات فى خليط من ethanol ومحلول البوتاسيوم والماء بنسبة ٥ : ٥ :٩٠. وقبل إجراء التجربة بيوم أو يومين زودت الفئران بقنطرة لأخذ عينات من الدم من الشريان التاجى، وفى يوم التجربة تم سحب عينات الدم على فترات متساوية بعد إعطاء مركب الاختراع فى أنابيب بلاستيكية تحتوى على أجزاء من محلول sodium citrate (٠,١٣ مول/لتر) و ٩ جزء من الدم، مع معالجة تلك الأنابيب بجهاز الطرد المركزى للحصول على بلازما خالية من الصفائح الدموية.

وقد تم ترسيب عينات البلازما (٥٠ ميكروليتر) باستخدام ١٠٠ ميكروليتر من acetonitrile البارد، ثم وضعت فى جهاز للطرد المركزى لمدة ١٠ دقائق بسرعة ٤٠٠٠ دورة بالدقيقة. وقد تم تخفيف كمية قدرها ٧٥ ميكروليتر من المادة الطافية باستخدام ٧٥ ميكروليتر من formic acid بتركيز ٠,٢٪، ثم أجرى تحليل الناتجة باستخدام LC-MS/MS (عيار حجمى قدره ١٠ ميكروليتر)، مع تحديد تركيز المادة المثبطة للـ thrombin باستخدام المنحنيات القياسية.

الاختبار – و :

تحديد درجة نقاء البلازما فى الفئران :

أجرى هذا الاختبار على فئران من سلالة Spargue Dawley. وقد أذيب مركب الاختراع فى الماء وأعطى فى شكل جرعة تحت الجلد بمعدل ٤ ميكرومول/كجم، وبعد ذلك تم جمع عينات الدم على فترات متكررة لمدة ٥ ساعات بعد إعطاء الدواء. وعند إجراء المعالجة الطرد المركزى أمكن فصل البلازما عن الخلايا الدموية، ثم نقلت إلى أنابيب زجاجية تحتوى على السترات (بتركيز نهائى قدره ١٠٪). وقد تم ترسيب كمية قدرها ٥٠ ميكروليتر من البلازما باستخدام ١٠٠ ميكروليتر من acetonitrile البارد، ثم عولجت عينات البلازما بوضعها لمدة ١٠ دقائق فى جهاز للطرد المركزى يعمل بسرعة ٤٠٠٠ دورة فى الدقيقة. كما تم تخفيف ٧٥ ميكروليتر من المادة الطافية باستخدام كمية قدرها ٧٥ ميكروليتر من formic acid ٠,٢٪، مع تحليل المحallyl الناتجة (عيار حجمى قدره ١٠ ميكروليتر) باستخدام LC-MS/MS، وتم بعد ذلك حساب تركيزات مثبط thrombin باستخدام المنحنيات القياسية. وبالنسبة للمنطقة الواقعة على المنحنى اسفل نقطة زمن thrombin وتركيزه فقد حسبت هنا باستخدام قاعدة شبه المنحرف

اللوغاريتمى/ الخطى واستقراؤها إلى زمن غير محدد. وبعد ذلك يتم حساب درجة نقاء البلازما (CL) بالنسبة للمركب من المعادلة

$$CL = Dose / AUC$$

وتحسب القيم هنا على أساس مل/دقيقة/كجم.

٥

الاختبار – ز :

تحديد درجات الثبات والاستقرار معملياً :

يتم هنا تحضير ميكروسومات الكبد من فئران Dawley–Sprague ، وعينات من كبد الإنسان وفقاً لـ SOPs الداخلى. ويتم تحضين المركبات فى درجة حرارة قدرها ٣٧ °م بتركيز كلى لبروتينات الميكروسوم يصل إلى ٣ مجم/مل فى ٠,٠٥ مول / لتر من محلول TR1S المنظم للوصول إلى رقم هيدروجينى (PH) قدر ٧,٤ فى وجود العامل المساعد NADH (٢,٥ مل مول/لتر) والعامل المساعد NADPH (٠,٨ مل مول/لتر). ويبدأ تركيز المركب بقيمة تتراوح ما بين ٥ – ١٠ ميكرومول/لتر. وتؤخذ العينات للتحليل لمدة تصل إلى ٦٠ دقيقة بعد بدء عملية التحضين. ويتوقف النشاط الانزيمى فى العينة التى تم جمعها، وذلك فور إضافة ٢٠٪ من حامض الميريستيك بعيار حجمى قدره ٣,٣٪ نسبة إلى الحجم الكلى للعينة. ويتحدد بعد ذلك تركيز الجزء الباقى من المركب (تركيز نهائى) فى ٦٠ دقيقة وذلك باستخدام عينة LCMS التى

تم جمعها عند الزمن "صفر" والتى تعتبر هنا مرجعاً للتركيز الابتدائى. وتحسب النسبة المئوية لمثبط thrombin الذى تم تحلله وذلك وفق المعادلة الآتية :

$$\frac{\text{التركيز الابتدائى} - \text{التركيز النهائى}}{\text{التركيز الابتدائى}} \times ١٠٠ \%$$

الاختبار – ح :

نموذج التجلط الشريانى Arterial Thrombosis :

يتم احداث التلف الوعائى باستخدام ferric chloride ($FeCL_3$) موضعياً على الشريان السباتى carotid artery. ويتم تخدير الفئران عن طريق حقنها فى الغشاء البريتونى بكمية قدرها ٨٠ مجم/كجم من sodium pentobarbital (شركة Apoteksbolaget, Umea, Sweden)، ويتبع ذلك تسريب متواصل لتلك المادة بمعدل ١٢ مجم/كجم/ساعة طوال فترة التجربة. وتحفظ درجة حرارة جسم الفئران عند مستوى ٣٨ °م طوال فترة التجربة عن طريق التسخين الخارجى. وتبدأ التجربة بفترة للتحكم والمقارنة قدرها ٥ دقائق، وبعد ٥ دقائق أخرى يعطى :

^{125}I-fibrinogen (80 kBq; IM53; Amersham International, Buckinghamshire, UK) وذلك عن طريق الحقن فى الوريد ليستخدم هنا كمؤثر على عملية الاندماج بين fibrinogen مع thrombin . وتوضع النهاية الطرفية للشريان التاجى فى أنبوب من البلاستيك طوله ٦ مم (وهو من نوع Silastic® ومتاح لدى شركة Dow Corning بولاية MI الامريكية). ويحتوى هذا الانبوب على ورقة ترشيح قطرها ٣ مم (IF; Munktell, Grycksbo, Sweden) معالجة بالنقع فى محلول كلوريد الحديديك ($FeCL_3$) ٢ ميكروليتر – ٥٥٪ على أساس الوزن :

(Merck, Darmstadt, Germany). ويتم تعريض الشريان التاجى الايسر لمحلول $FeCL_3$ لمدة ١٠ دقائق، ثم يزال من الانبوب وينقع فى محلول ملحى. وبعد ٥٠ دقيقة تتم إزالة الشريان التاجى ويشطف بالمحلول الملحى المذكور، كما تؤخذ أيضاً عينات الدم المرجعية لتحديد نشاط I^{125} فى الدم، وذلك بعد ١٠ دقائق من حقن هذا المركب فى نهاية التجربة. ويتم قياس نشاط I^{125} فى عينات الدم وفى الاجزاء الوعائية الدموية باستخدام عداد جاما (1282 Compugamma, LKB Wallac Oy, Turky, Finland)، وذلك فى نفس اليوم الذى تجرى فيه التجربة ويحسب حجم الثرومبوس من نشاط I^{125} الموجودة فى الوعاء الدموى نسبة إلى نشاط I^{125} الموجودة فى الدم (Cpm/مجم).

تفاصيل تجريبية عامة :

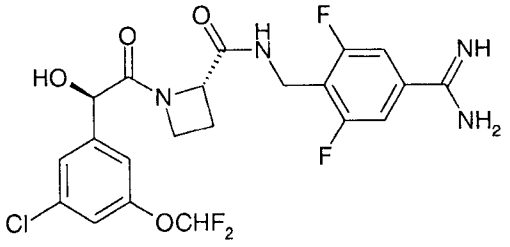
أجرى اختبار TLCعلى طبقة من هلام silica، وتم تحليل HPLC الكيرالى باستخدام عمود "Chiralcel-OD" ٤٦ × ٢٥٠ مم مع عمود ٥ سم داعم. وقد تم الاحتفاظ بدرجة حرارة العمود لتكون 35°م، مع استخدام معدل تدفق قدرة ١ مل/دقيقة، وباستخدام كاشف الاشعة فوق البنفسجية (UV) من طراز Gilson عند طول قدرة ٢٢٨ نانو متر. وقد اشتمل الطور المتحول على كل من hexanes، وethanol ، و trifluroacetic acid، وتم تحديد النسب الملائمة لكل مركب. وبصفة قياسية، تمت إذابة المنتج فى كمية صغرى من ethanol ، ثم اجريت عملية التخفيف باستخدام الطور المتحول.

وقد اجرى اختبار LC-MS/MS باستخدام جهاز HP-100 المزود بأداة الحقن CTC-PAS وعمود ٥ ميكرون (٤ × ١٠٠ مم) من طراز Thermo Quest, Hypersil BDS-C18، كما استخدام أيضاً جهاز كاشف من طراز API-3000 (Sciex) MS. وبالنسبة لمعدل التدفق فقد وصل إلى ١,٢ مل/دقيقة، وكان الطور المتحول هنا مكوناً من ١٠ – ٩٪ acetonitrile مع ٩٠ – ١٠٪ من محلول ammonium acetate المائى (٤ مل مول)، وكانت هناك نسبة قدرها ٢٪ من formic acid فى كلتا هاتين المادتين.

وبالنسبة لأطياف ^{1}H NMR فقد تم تسجيلها باستخدام tetramethylsilane كمعيار داخلى، بينما تم تسجيل اطياف ^{13}C NMR باستخدام المذيبات المذكورة فى القائمة كمعيار داخلى.

الوصف التفصيلي

مثـــال – ١



3-Chloro-5-methoxybenzaldehyde (i)

استخدمت كمية قدرها ٧٤ جرام من مركب 3,5-Dichloroanisole (٤١٩ مل مول) فـــى ٢٠٠ مل من التتراهيدروفيوران THF، وأضيفت قطرات من هذا الخليط إلى كمية قدرها ١٤,٢ جرام من magnesium (٥٨٥ مل مول) بعد غسلها مسبقاً بمحلول عيارى (N = ٠,٥) من HCl فـــى ١٠٠ مل من THF تحت درجة حرارة قدرها ٢٥ م. وبعد الإضافة استخدمت كمية قـــدرها ٣,٩ من مركب 1,2-dibromoethane (٢٠,٨ مل مول) وأضيفت إلى الخليط فى شكل قطرات. وقد تم تسخين الخليط البنى الداكن الناتج وصولاً إلى درجة حرارة الارتجاع بعد ٣ ساعات. وبعد ذلك تم تبريد الخليط إلى درجة صفرْم، وأضيفت إليه كميـــة قـــدرها ٦٠ مـــل مـــن مركـــب N,N-dimethylformamide دفعة واحدة، مع تقسيم الخليط إلى أجزاء من diethyl ether (٣ × ٤٠٠ مل) وجزء واحد قدره ٥٠٠ مل من حـــامض الهيـــدروكلوريك HCL (6N). وقـــد تـــم غـــسل المستخلصات العضوية المتجمعة باستخدام brine (٣٠٠ مل)، ثم جففـــت تلـــك المستخلـــصات بواسطة (Na_2SO_4)، ورشحت ثم تم تركيزها فى وسط مفرغ الهواء للحصول على مادة زيتيـــة. كما اجريت عملية فصل تتابعى بالكروماتوجراف الوميطى (2X) على طبقـــة مـــن جـــل silica باستخدام hexanes مع EtOAc بنسبة ٤ : ١ ، وتم بذلك الحصول على مركب العنـــوان (٣٨,٩ جرام – ٥٤٪) فى شكل مادة صفراء زيتية.

3-Chloro-5-hydroxybenzaldehyde (ii)

استخدم هنا محلول 3-chloro-5-methoxybenzaldehyde (٢٢,٨ جرام – ١٣٤ مل مول؛ راجع الخطة " I " عاليه) فى كمية قدرها ٢٥٠ مل من CH_2CL_2، وتم تبريد هذا الخليط وصولاً إلـــى درجة صفرْم.

وقد أضيف Boron tribromide (١٥,٨ مل – ١٦٧ مل مول) فى شكل قطرات إلى خليط التفاعل خلال فترة قدرها ١٥ دقيقة. وبعد التقليب لمدة ساعتين أضيف الماء (٥٠مل) إلى خليط التفاعل

ببطء، ثم استخلص الخليط بعد ذلك بواسطة Et_2O (٢ × ١٠٠ مل). وقد تـم تجميـع الطبقـات العضوية وتجفيفها بواسطة (Na_2SO_4)، ثم رشحت وركزت فى وسط مفرغ الهواء. وعند إجراء عملية الفصل التتابعى باستخدام الكروماتوجراف الوميضى على طبقة من جل silica وفى وجود hexanes مع EtOAc بنسبة ٤ : ١ تم الحصول على المركب المذكور فى العنوان (٥,٢ جرام – ٢٥٪)

^{1}H NMR (300 MHz, $CDCl_3$) δ 9.85 (s, 1H), 7.35 (s,1H), 7.20 (s,1H), 7.10 (s,1H), 3.68 (s,1H)

3-Chloro-5-difluoromethoxybenzaldehyde (iii)

أجريت عملية تسخين إلى حد الارتجاع لمحلول يتكون من 3-chloro-5-hydroxybenzaldehyde (٧,٥ جرام – ٤٨ مل مول؛ راجع الخطوة " ii " عاليه) فـى 2-propanol (٢٥٠ مـل) و ٣٠٪ KOH (١٠٠ مل). ومع التقليب تم دفع فقاعات من $CHClF_2$ على خليط التفاعل لمدة سـاعتين. وقد تم تبريد الخليط المذكور ومعالجته بـ (1NHCL) واستخلاصـه بواسـطة EtOAc (٢ × ١٠٠مل). كما تم غسل الطبقات العضوية بواسطة brine (١٠٠ مل)، ثم جففت تلـك الطبقـات بواسطة محلول (Na_2SO_4)، ورشحت وركزت فى وسط مفرغ الهواء. وعند إجراء عملية الفصل التتابعى فى الكروماتوجراف الوميضى على طبقة من جل silica باستخدام hexanes مع EtOAc بنسبة ٤ : ١ تم الحصول على كمية قدرها ٤,٦ جرام من مركب العنوان (٤٦٪).

^{1}H NMR (300 MHz, $CDCl_3$) δ 9.95 (s, 1H), 7.72 (s, 1H), 7.52 (s, 1H), 7.40 (s, 1H), 6.60 (t, $J_{H\text{-}F}$ = 71.1 Hz, 1H)

Ph(3-Cl)(5-$OCHF_2$)-(*R*,*S*)CH(OTMS)CN(iv)

تم تبريد محلول 3-chloro-5-difluoromethoxybenzaldehyde (٤,٦ جرام – ٢٢,٣ مل مول؛ راجع الخطوة " iii " عاليه) فى CH_2CL_2 (٢٠٠ مل) وذلك وصولاً بالخليط إلى درجة حرارة صفرْم. وقد أضيفت إلى خليط التفاعل كمية قدرها ١,٨ جرام من ZnL_2 (٥,٦ مل مول) مع كمية قدرها ٢,٨ جرام من trimethylsilyl cyanide (٢٧,٩ مل مول)، وسمح لخليط التفاعل أن يدفأ إلى درجة حرارة الغرفة، مع تقليبه لمدة ١٥ ساعة. وقد تم تركيز الخليط جزئياً فى وسط مفرغ الهواء للحصول بذلك على مركب العنوان فى شكل سائل ليستخدم مباشرة فى الخطوة " V " أدناه دون عمليات تنقية إضافية.

Ph(3-Cl)(5-$OCHF_2$)-(*R*,*S*)CH(OH)C(NH)OEt (v)

أضيفت قطرات من المركب الناتج فى الخطوة iv (٦,٨٢ جرام – ٢٢,٣ مل مول – راجع الخطوة iv عاليه) إلى كمية قدرها ٥٠٠ مل من EtOH / HCL. وقد تم تقليب خليط التفاعل لمدة ١٥ ساعة، ثم تم تركيزه جزئياً فى وسط مفرغ الهواء للحصول على مركب العنوان فى شكل سائل ليستخدم بعد ذلك مباشرة فى الخطوة " vi " دون عمليات تنقية إضافية.

Ph(3-Cl)(5-$OCHF_2$)-(*R*,*S*)CH(OH)C(O)OEt (vi)

تمت إذابة كمية قدرها ٦,٢٤ جرام من مركب Ph (3-CL) (5-$OCHF_2$) - (R,S) CH (OH) C (O) Oet (راجع الخطوة " V " عاليه) فى كمية قدرها ٢٥٠ مل من THF، ثم أضيف H_2SO_4 (O.SM) بكمية قدرها ٤٠٠ مل إلى خليط التفاعل، وتم التقليب لمدة ٦٥ ساعة تحت درجة حرارة ٤٠ ْم، ثم برد الخليط وتم تركيزه جزئياً فى وسط مفرغ الهواء لإزالة الجزء الأكبر من THF. وبعد ذلك تم استخلاص خليط التفاعل بواسطة Et_2O (٣ × ١٠٠ مل)، مع التجفيف

بواسطة $NaSO_4$ ، ثم الترشيح والتركيز فى وسط مفرغ الهواء للحصول على مركب العنوان فى شكل مادة صلبة ليستخدم بعد ذلك مباشرة فى الخطوة Vii دون عمليات تنقية إضافية.

Ph(3-Cl)(5-$OCHF_2$)-(*R*,*S*)CH(OH)C(O)OH(vii)

تم تقليب كمية قدرها ٦,٢٥ جرام (٢٢,٣ مل مول) من محلول المركب الناتج فى الخطوة " Vi " عاليه فى 2-propanol (١٧٥ مل)، مع كمية قدرها ٣٥٠ مل من KOH، وذلك لمدة ١٥ ساعة تحت درجة حرارة الغرفة. وقد تم تركيز خليط التفاعل جزئياً فى وسط مفرغ الهواء لإزالة الجزء الأكبر من 2-propanol. وبعد ذلك تمت معالجة الجزء الباقى من الخليط بـ H_2SO_4 (1M)، ثم أجريت عملية الاستخلاص بواسطة Et_2C (٣ × ١٠٠ مل)، وتم بعد ذلك تجفف الخليط بواسطة $NaSO_4$، مع تركيزه فى وسط مفرغ الهواء للحصول على مادة صلبة. وعند إجراء عملية الفصل التتابعى فى كروماتوجراف وميضى على طبقة من جل silica باستخدام خليط من $CHCL_3$ ، MeOH ، NH_4OH المركز بنسبة ٦: ٣ :١ تم الحصول على ملح الامونيوم للمركب المذكور فى العنوان. وقد تمت إذابة هذا الملح فى خليط من EtOAc (٧٥ مل) والماء (٧٥ مل) ، ثم معالجته بـ HCL (2N). وبعد ذلك تم فصل الطبقة العضوية المتكونة وغسلها بـbrine (٥٠مل) ثم تجففها بواسطة كبريتات الصوديوم $NaSO_4$ وتركيزها فى وسط مفرغ الهواء للحصول لذلك على المركب المذكور فى العنوان (٣,٢ جرام – ٥٧٪ من الخطوة " iV " إلى " Vii ").

^1H NMR (300 MHz, CD_3OD) δ 7.38 (s, 1H), 7.22 (s, 1H), 7.15 (s, 1H), 6.89 (t, J_{H-F} = 71.1 Hz, 1H), 5.16 (s, 1H)

(viii)

Ph(3-Cl)(5-$OCHF_2$)-(*R*)CH(OH)C(O)OH (a) and Ph(3-Cl)(5-$OCHF_2$)-(*S*)CH(OAc)C(O)OH (b)

استخدم خليط يتكون من Ph (3-CL) (5-$OCHF_2$) - (R,S) CH (OH) C (O) OH. بكمية قدرها ٣,٢ جرام (١٢,٧ مل مول – راجع الخطوة " Vii " عاليه، مع "Amano" Lipase PS (٢ جرام تقريباً) فى vinyl acetate (١٢٥ مل)، و MTBE بكمية قدرها ١٢٥ مل، وتم تسخين الخليط إلى درجة حرارة الارتجاع لمدة ٤٨ ساعة. وقد تم تبريد خليط التفاعل وترشيحه خلال المرشح Celite® ثم غسله بـ EtOAc . وبعد ذلك تم تركيز المادة الراشحة فى وسط مفرغ الهواء، ثم عرضت لمعالجة بالكروماتوجراف الوميض على طبقة من silica gel باستخدام خليط من $CHCL_3$، MeOH، NH_4OH المركز بنسبة ٦: ٣: ١ للحصول على أملاح ammonium فى مركب العنوان (a) والمركب (b). وقد تمت إذابة المركب (a) كملح فى الماء، ثم اجريت له معالجة حامضية باستخدام HCL (2N). وبعد ذلك تم استخلاصه بواسطة EtOAc. وقد غُسلت الطبقة العضوية بالـ brine، وجففت بواسطة Na_2SO_4، ثم رشحت وركزت فى وسط مفرغ الهواء للحصول على المركب (a) (١,٢ جرام – ٣٧٪).

^{1}H NMR (300 MHz, CD_3OD) δ 7.38 (s, 1H), 7.22 (s, 1H), 7.15 (s, 1H), 6.89 (t, J_{H-F} = 71.1 Hz, 1H), 5.17 (s, 1H)

: (ix)

2,6-Difluoro-4[(methylsulfinyl)(methylthio)methyl]benzonitrile

تمت إذابة مركب (Methylsulfinyl)(methylthio)methane (٧,٢٦ جرام – ٠,٠٥٨٤ مول) فى كمية قدرها ١٠٠ مل من THF الجاف فى وجود غاز argon ، ثم برد إلى درجة – ٧٨ ْم. وقد

أضيف Butyllithium مع hexanes (١٦ مل – ١,٦ مولار – ٠,٠٢٥٦ مول) فى شكل قطرات إلى خليط التفاعل مع التقليب لمدة ١٥ دقيقة. وأثناء تلك الفترة تم تبريد محلول يتكون من 3,4,5-trifluorobenzonitrile (٤ جرام – ٠,٠٢٥ مل مول) فى ١٠٠ مل من THF الجاف وصولاً إلى درجة حرارة قدرها – ٧٨ °م فى وجود argon ، مع إضافة المحلول السابق إلى المحلول الأخير عن طريق ناسور أو قناة لمدة ٣٥ دقيقة. وبعد ٣٠ دقيقة تمت إزالة حوض التبريد، وعندما وصلت درجة حرارة خليط التفاعل إلى درجة حرارة الغرفة تم صب الخليط فى كمية قدرها ٤٠٠ مل من الماء وقد تم تبخير THF، مع استخلاص الطبقة المائية الباقية ثلاث مرات بواسطة diethyl ether . وبعد ذلك تم غسل الطور الاثيرى المتجمع باستخدام الماء، وجفف بواسطة Na_2SO_4، ثم بخر للحصول على كمية من مركب العنوان قدرها ٢ جرام (٣٠٪).

^{1}H NMR (500 MHz, $CDCl_3$) δ 7.4-7.25 (m, 2H), 5.01 (s, 1H, diasteromer), 4.91 (s, 1H, diasteromer), 2.88 (s, 3H, diasteromer), 2.52 (s, 3H, diasteromer), 2.49 (s, 3H, diasteromer), 2.34 (s, 3H, diasteromer), 1.72 (broad, 1H)

2,6-Difluoro-4-formylbenzonitrile : (x)

استخدم هنا المركب 2,6-Difluoro-4[(methylsulfinyl)(methylthio)methyl]benzonitrile (٢,١٧ جرام – ٨,٣٢ مل مول – راجع الخطوة " iX " عاليه)، حيث أذيب فى كمية من THF قدرها ٩٠ مل مع ٣,٥ مل من sulfuric acid المركز. وقد ترك الخليط تحت درجة حرارة الغرفة لمدة ٣ أيام، وبعدها صب الخليط فى ٤٥٠ مل من الماء. وبعد ذلك أجريت عملية الاستخلاص ثلاث مرات بواسطة EtOAc ثم غسل الطور الاثيرى مرتين بمحلول sodium bicarbonate المائية ثم بالـ brine، وبعد ذلك تم تجفف الخليط بواسطة Na_2SO_4 مع التبخير،

وكان الناتج هنا ١,٣٦ جرام (٩٨٪). وقد تم تحديد موضع مجموعة formyl بواسطة ^{13}C NMR ووفقاً للإشارة الناتجة عن ذرات الكربون المعالجة بالـ fluorinated عند مستوى ١٦٢,٧ جزء بالمليون كان هناك اتجاه للازدواج مع اثنين من الثوابت مقدارهما ٢٦٠ هرتز و ٦,٣ هرتز على التوالى، وهى قيم تتناظر مع ازدواج " ipso " وازدواج " meta " الناتج عن ذرات الكربون المعالجة بالـ fluorine.

^1H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 10.35 (s, 1H), 7.33 (m, 2H)

2,6-Difluoro-4-hydroxymethylbenzonitrile : (Xi)

استخدم المركب 2,6-Difluoro-4-formylbenzonitrile (١,٣٦ جرام - ٨,١٣ مل مول - راجع الخطوة " X " عاليه)، حيث اذيب فى كمية قدرها ٢٥ مل من methanol ثم برد فى حمام ثلجى. وقد أضيفت أجزاء من Sodium borohydride (٠,٣٠٧ جرام - ٨,١٢ مل مول) مع تقليب خليط التفاعل لمدة ٦٥ دقيقة. وقد تم تبخير المذيب، مع تقسيم الجزء المتبقى من الخليط بين diethyl ether وبين محلول sodium bicarbonate المائى. وبعد ذلك غسلت الطبقة الاثيرية بالمزيد من sodium bicarbonate والبيرين، ثم جففت بواسطة Na_2SO_4 مع التبخير. وقد تبلور المنتج الخام سريعاً وأمكن استخدامه هنا دون تنقية إضافية بكمية قدرها ١,٢٤ جرام (٩٠٪).

^1H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 7.24 (m, 2H), 4.81 (s, 2H), 2.10 (broad, 1H)

4-Cyano-2,6-difluorobenzyl methanesulfonate : (xii)

أضيف كمية قدرها ٠,٨١ جرام (٨,١ مل) من triethylamine إلى خليط يتكون من محلول بارد من المركب 2,6-difluoro-4-hydroxymethylbenzonitrile (١,٢٤ جرام - ٧,٣٢ مل مول -

راجع الخطوة " Xi " عاليه)، مع مركب methanesulfonyl chloride (٠,٩٣ جرام – ٨,١ مل مول) فى كمية قدرها ٦٠ مل من methylene chloride مع التقليب. وبعد ٣ ساعات تحت درجة حرارة صفرْم تم غسل خليط التفاعل مرتين بواسطة HCL ثم مرة واحدة بواسطة الماء، ثم جفف الخليط بواسطة $NaSO_4$ وتم تبخيره. وقد أمكن استخدام المنتج مباشرة دون عمليات تنقية إضافية، وكانت كمية ١,٦١ جرام (٨٩٪).

^1H NMR (300 MHz, $CDCl_3$) δ 7.29 (m, 2H), 5.33 (s, 2H), 3.07 (s, 3H)

4-Azidomethyl-2,6-difluorobenzonitrile : (xiii)

تم تقليب خليط يتكون من 4-cyano-2,6-difluorobenzyl methanesulfonate (١,٦١ جرام – ٦,٥١ مل مول – راجع الخطوة " Xii " عاليه) ، مع sodium azide (٠,٧٢ جرام – ٠,٠١١١ مول)، فى كمية قدرها ١٠ مل من الماء وأخرى قدرها ٢٠ مل من DMF، وقد أجريت عملية التقليب تحت درجة حرارة الغرفة طوال فترة الليل. وقد تم صب المادة الناتجة فى (٢٠٠) مل من الماء واستخلصت ٣ مرات بواسطة diethyl ether . وبعد ذلك غسلت الطبقة الاثيرية المتجمعة ٥ مرات بالماء، ثم جففت بواسطة Na_2SO_4 وتم تبخيرها. وقد تم تبخير عينة صغيرة لأغراض NMR. وبعد تبلور المنتج ثم تبخير الجزء الباقى من الخليط ولكن ليس إلى درجة الجفاف الكامل. وقد افترض نظرياً أن المنتج ١,٢٦ جرام يعتمد من الناحية الكمية على كل من NMR و HPLC التحليلية.

^1H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 7.29 (m, 2H), 4.46 (s, 2H)

4-Aminomethyl-2,6-difluorobenzonitrile : (xiv)

أجرى هذا التفاعل وفق الإجراءات التى جاء وصفها فى مجلة البحوث الكيميائية الصادرة عام ١٩٩٢ – صفحة ٣١٢٨. وقد أضيف هنا محلول من sodium borohydride (٠,٨٣٤ جرام – ٠,٠٢٢١ مل مول) فى ٢٠ مل من الماء إلى معلق يحتوى على ٥٢٠ مل من ١٠٪ pd/C بنسبة رطوبة قدرها ٥٠٪ فى ٢٠ مل من الماء.وقد أذيب المركب :

٥ 4-Azidomethyl-2,6-difluorobenzonitrile (١,٢٦ جرام – ٦,٤٩ مل مول، راجع الخطوة " Xiii " عاليه) فى كمية من THF قدرها ٥٠ مل، وذلك فى حمام ثلجى لمدة ١٥ دقيقة. وقد تم تقليب خليط التفاعل لمدة ٤ ساعات أضيفت بعدها كمية قدرها ٢٠ مل من حامض الهيدروكلوريك HCl (2M) مع ترشيح الخليط بواسطة Celite® . وقد غسلت أداة الترشيح Celite®بالماء، بينما غسل الطور المائى المتجمع بواسطة EtOAc ثم تحول هذا الطور إلى ١٠ الحالة القلوية بإضافة NaOH. وبعد ذلك أجريت عملية استخلاص للخليط ٣ مرات بواسطة methylene chloride، ثم غسلت الطبقة العضوية بالماء وجففت بواسطة $NaSO_4$ وبخرت فى الأخير للحصول بذلك على مركب العنوان بكمية قدرها ٠,٨٧ جرام (٨٠٪).

^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 7.20 (m, 2H), 3.96 (s, 2H), 1.51 (broad, 2H)

١٥ (xv) : 2,6-Difluoro-4-*tert*-butoxycarbonylaminomethylbenzonitrile

استخدم محلول المركب 4-aminomethyl-2,6-difluorobenzonitrile (٠,٨٧٦ جرام – ٥,٢١ مل مول – راجع الخطوة " XiV " عاليه)، حيث تمت إذابته فى ٥٠ مل من THF و di-*tert*-butyl dicarbonate (١,١٤ جرام – ٥,٢٢ مل مول) مع إضافة ١٠ مل من THF إلى الخليط.

وقد تم تقليب الخليط لمدة ٣,٥ ساعة، ثم بخر THF وتم تقسيم الجزء المتبقى بين الماء و EtOAc. وبعد غسل الطبقة العضوية ثلاث مرات بالماء و THF (٠,٥ M) تم تجفيف تلك الطبقة بواسطة Na_2SO_4 ثم اجريت لها عملية التبخير. وقد أمكن استخدام المنتج مباشرة دون عمليات تنقية إضافية، وكانت الكمية الناتجة منه ١,٣٨ جرام (٩٩٪).

^{1}H NMR (300 MHz, $CDCl_3$) δ 7.21 (m,2H), 4.95 (broad, 1H), 4.43 (broad, 2H), 1.52 (s, 9H)

Boc-Pab(2,6-diF)(OH) : (xvi)

تحت درجة حرارة الغرفة تم تقليب خليط يتكون من المركب 2,6-difluoro-4-*tert*-butoxycarbonylaminomethylbenzonitrile (١,٣٨ جرام – ٥,١٦ مل مول – راجع الخطوة " XV " عاليه)، ومركب hydroxylamine hydrochloride (١,٠٨ جرام – ٠,٠١٥٥ مل مول)، مع triethylamine (١,٥٧ جرام – ٠,٠١٥٥ مول) فى كمية قدرها ٢٠ مل من ethanol ، واجريت عملية تقليب هذا الخليط لمدة ٣٦ ساعة. وقد تم تبخير المذيب مع تقسيم الباقى منه بين الماء وmethylene chloride. كما تم غسل الطبقة العضوية بالماء، ثم جففت Na_2SO_4 وأجريت لها عملية التبخير. وقد أمكن استخدام المنتج مباشرة دون عمليات تنقية إضافية، وكانت كمية ١,٤٣ جرام (٩٢٪).

^{1}H NMR (500 MHz, CD_3OD) δ 7.14 (m, 2H), 4.97 (broad, 1H), 4.84 (broad, 2H), 4.40 (broad, 2H), 1.43 (s, 9H)

Boc-Pab(2,6-diF) x HOAc : (xvii)

أجرى هذا التفاعل وفق الاجراءات التى جاء وصفها بواسطة "جـدكنز " ورفاقـه فـى مجلـة "الاتصالات التخليقية " الصادرة عام ١٩٩٨ – صفحة ٤٣٥١. وفى هذه العملية أجريت معالجة هيدروجينية تحت ضغط جوى قدره ٥ atm لمدة ٣,٥ ساعة لخليط يتكون من المركـب Boc - Pob (2,6 – dif) X HOAc (١,٣٢ جرام – ٤,٣٧ مل مول – راجع الخطوة " Xvi " عاليـه)، و acetic anhydride (٠,٤٧٧جرام – ٤,٦٨ مل مـول)، و ٤٤٢ مجـم مـن ١٠٪ pd/C (٥٠٪ رطوبة)، فى كمية قدرها ١٠٠ مل من acetic acid . وقد تم ترشيح الخليط خلال Celite® ثـم شطف بـ ethanol وتم تبخيره. وبعد ذلك اجريت للجزء الباقى للخليط عملية تجميد وتجفيـف باستخدام acetonitrile والماء وقطرات قليل من ethanol . وقد تم بذلك الحصول علـى مركـب العنوان دون عمليات تنقية إضافية، وذلك بكمية قدرها ١,٤٩ جرام (٩٩٪).

^{1}H NMR (400 MHz, CD_3OD) δ 7.45 (m, 2H), 4.34 (s, 2H), 1.90 (s, 3H), 1.40 (s, 9H)

Boc-Pab(2,6-diF)(Teoc) (xviii)

أضيفت كميـة قـدرها ١,٦٧ جـرام (٥,٨٩ مل مول) من المركب:

Boc – Pab (2,6 – dif) (Teoc) 2-(trimethylsilyl)ethyl p-nitrophenyl carbonate (١,٥٦ جرام – ٥,٤٩ مل مول – راجع الخطوة " Xvii " عاليه) فـى ١٠٠ مل من THF و ١ مل من الماء. كما أضـيفت إلـى خلـيط التفاعـل قطـرات مـن محلـول potassium carbonate (١,٥٧ جرام – ٠,٠١١٤ مول) فى ٢٠ مل من الماء لمدة ٥ دقائق، مع تقليب الخليط طوال فترة الليل. وقد تم تبخير THF وتم تقسيم الجزء الباقى من الخليط بين الماء وmethylene chloride. وبعد ذلك تم استخلاص الطبقة المائية بواسطة methylene chloride، مع غسل الطور العضوى المتجمع مرتان بمحلول مائى مـن sodium bicarbonate ، ثـم تجفيفـه بواسطة Na_2SO_4 وتبخيره. وعند معالجة الخليط بالكروماتوجراف الوميضى على طبقة من جل

silica باستخدام كل من heptane و EtOAc بنسبة ٢: ١ تم الحصول علـى مركـب العنـوان بصورة نقية وبكمية قدرها ١,٧١ جرام (٧٣٪).

^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 7.43 (m, 2H), 4.97 (broad, 1H), 4.41 (broad, 2H), 4.24 (m, 2H), 1.41 (s, 9H), 1.11 (m, 2H), 0.06 (s, 9H)

٥ تمت إذابة المركب Boc – (S) Aze – Pab (2,6 – dif) (Teoc) (١,٠٠٩ جرام – ٢,٣٥ مل مول – راجع الخطوة " Xviii " عاليه) فى كمية قدرها ٥٠ مل من EtOAc المشبع (HCl). وقد ترك الخليط ليستقر لمدة ١٠ دقائق، وتم بعد ذلك تبخير. ثم إذابته فى ١٨ مل من DMF، مع تبريـده فى حمام ثلجى. وبعد ذلك أضيف إلى الخليط مركب OH– (S) Aze –Boc (٠,٤٥٠ جـرام – ٢,٢٤ مل مـول)، PyBOP (١,٢٤ جرام – ٢,٣٥ مل مول) وأخيراً مركب diisopropylethyl ١٠ amine (١,٥٨ جرام – ٨,٩٦ مل مول). وقد تم تقليب خليط التفاعل لمدة ساعتين ثـم صـب الخليط فى كمية قدرها ٣٥٠ مل من الماء وتم استخلاصه بعد ذلك ثلاث مرات بواسطة EtOAc. ثم غسل الطبقة العضوية المتجمعة بواسطة البيرين، ثم جففت هذه الطبقة باستخدام Na_2SO_4 وتم تبخيرها. وعند استخدام الكروماتوجراف الوميضى على طبقة من جل silica وفى وجود كل من heptane و EtOAc بنسبة ١ : ٣ تم الحصول على المركب المطلوب بكمية قدرها ١,٠٩٧ جرام ١٥ (٩٦٪).

^{1}H NMR (500 MHz, $CDCl_3$) δ 7.46 (m, 2H), 4.65-4.5 (m, 3H), 4.23 (m, 2H), 3.87 (m, 1H), 3.74 (m, 1H), 2.45-2.3 (m, 2H), 1.40 (s, 9H), 1.10 (m, 2H), 0.05 (s, 9H)

Ph(3-Cl)(5-$OCHF_2$)-*(R)*CH(OH)C(O)-*(S)*Aze-Pab(2,6-diF)(Teoc) : (xx)

تمت إذابة المركب Boc – (S) Aze – Pab (2,6 – dif) (Teoc) (٠,٢٥٦ جرام – ٠,٥٠٠ مل مول – راجع الخطوة " XiX" عاليه) فى كمية قدرها ٢٠ مل من EtOAc المشبع (HCL). وقد تـرك خليط التفاعل ليستقر خلال ١٠ دقائق ثم بخر هذا الخليط وأذيب فى ٥ مل من DMF. وبعد ذلك أضيف إلى الخلـيط المركـب Ph (3-CL) (5-$OCHF_2$) – (R) – CH (OH) C (O) OH (٠,١٢٠ جرام – ٠,٤٧٥ مل مول – راجع الخطوة " Viii " عاليه) ، ومركب PyBOP (٠,٢٦٣ جرام – ٠,٤٩٨ مل مول)، وأخيراً المركـب diisopropylethyl amine (٠,٢٤٥ جـرام – ١,٨٩ مـل مول). وقد تم تقليب خليط التفاعل لمدة ساعتين، وقد تم تقليب خليط التفاعل لمدة سـاعتين، ثـم صب هذا الخليط فى ٣٥٠ مل من الماء وتم استخلاصه ٣ مرات بواسطة EtOAc. كما تم غسل الطور العضوى المتجمع بواسطة brine ، مع تجفيفه بواسطة (Na_2SO_4) وتبخره. وعند استخدام الكروماتوجراف الوميضى على طبقة من جل silica فى وجـود EtOAc ثـم الحـصول علـى المركب المطلوب والمذكور فى العنوان، وذلك بكمية قدرها ٠,١٨٤ جرام (٦٠٪).

^{1}H NMR (400 MHz, CD_3OD, mixture of rotamers) δ 7.55-7.45 (m, 2H), 7.32 (m, 1H, major rotamer), 7.27 (m, 1H, minor rotamer), 7.2-7.1 (m, 2H), 6.90 (t, 1H, major rotamer), 6.86 (t, 1H, minor rotamer), 5.15 (s, 1H,major rotamer), 5.12 (m, 1H, minor rotamer), 5.06 (s, 1H, minor rotamer), 4.72 (m, 1H, major rotamer), 4.6-4.45 (m, 2H), 4.30 (m, 1H, major rotamer), 4.24 (m, 2H), 4.13 (m, 1H, major rotamer), 4.04 (m, 1H, minor rotamer), 3.95 (m, 1H, minor rotamer), 2.62 (m, 1H, minor rotamer), 2.48 (m, 1H, major rotamer), 2.22 (m, 1H, major rotamer), 2.10 (m, 1H, minor rotamer), 1.07 (m, 2H), 0.07 (m, 9H)

Ph(3-Cl)(5-$OCHF_2$)-*(R)*CH(OH)C(O)-*(S)*Aze-Pab(2,6-diF) : (xxi)

تمت هنا إذابة المركب

Ph (3-CL) (5-$OCHF_2$) – (R) CH (OH) C (O) – (S) Aze – Pab (2,6-dif) (٨١ مجم – ٠,١٢٧ مل مول، راجعة الخطوة " XX" عاليه) فى كمية قدرها ٠,٥ مل من methylene chloride ، ثم برد الخليط فى حمام ثلجى. وبعد إضافة TFA (٣ مل) ترك خليط التفاعل ليستقر لمدة ٧٥ دقيقة. وقد تم تبخير TFA مع تخفيف الباقى بالتجميد من الماء وacetonitrile . كما تمت تنقية المنتج الخام بواسطة RPLC وخليط من CH_3CN، وتم بذلك الحصول على ٣٩ مجم من مركب العنوان (٥٥٪) فى شكل ملح OHAc بدرجة نقاوة قدرها ٩٩٪.

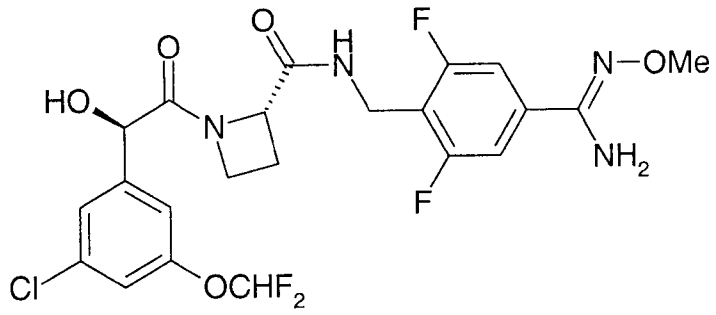
^{1}H NMR (400 MHz, CD_3OD mixture of rotamers) δ 7.5-7.4 (m, 2H), 7.32 (m, 1H, major rotamer), 7.28 (m, 1H, minor rotamer), 7.2-7.1 (m, 3H) 6.90 (t, 1H, major rotamer), 6.86 (t, minor rotamer), 5.15 (s, 1H, major rotamer), 5.14 (m, 1H, minor rotamer), 5.07 (s, 1H, minor rotamer), 4.72 (m, 1H, major rotamer), 4.65-4.45 (m, 2H), 4.30 (m, 1H, major rotamer), 4.16 (m, 1H, major rotamer), 4.03 (m, 1H, minor rotamer), 3.95 (m, 1H, minor rotamer), 2.63 (m, 1H, minor rotamer), 2.48 (m, 1H, major rotamer), 2.21 (m, 1H, major rotamer), 2.07 (m, 1H, minor rotamer), 1.89 (s, 3H)

^{13}C-NMR (75 MHz; CD_3OD): (carbonyl and/or amidine carbons, mixture of rotamers) δ 171.9, 171.2, 165.0, 162.8, 160.4

APCI-MS: (M + 1) = 503/505 m/z.

مثـــال – ٢

Ph(3-Cl)(5-$OCHF_2$)-(*R*)CH(OH)C(O)-(*S*)Aze-Pab(2,6-diF)(OMe)



Ph (3-CL) (5-$OCHF_2$)–(R) CH (OH) C (O) –(S) Aze-Pab (2,6-dif) (OMe, Teoc) (i)

تم تسخين خليط يتكون من مركب Ph (3-CL) (5-$OCHF_2$)–(R) CH (OH) C (O) –(S) Aze-Pab (2,6-dif) (OMe, Teoc) (٦٤ مجم – ٠,٠٩٩ مل مول – راجعة المثال ١ – " XX " عاليه)، ومركب O-methyl hydroxylamine hydrochloride (٥٠مل – ٠,٦٠ مل مول) فى ٤ مل من acetonitrile . وقد أجريت عملية التسخين وصولاً إلى درجة حرارة قدرها ٧٠ م لمدة ٣ ساعات. وقد تم تبخير المذيب مع تقسيم ما تبقى من الخليط بين الماء و EtOAc. كما تم استخلاص الطبقة المائية مرتين بواسطة EtOAc، بينما غسلت الطبقة العضوية المتجمعة بالماء وجففت بواسطة (Na_2SO_4) مع إجراء عملية التبخير. وقد أمكن استخدام المنتج دون عمليات تنقية إضافية، وكانت كميته ٥٨ مجم (٨٧٪).

^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 7.90 (bt, 1H), 7.46 (m, 1H), 7.25-6.95 (m, 5H), 6.51, t, 1H), 4.88 (s, 1H), 4.83 (m, 1H), 4.6-4.5 (m, 2H), 4.4-3.9 (m, 4H), 3.95 (s, 3H), 3.63 (m, 1H), 2.67 (m, 1H), 2.38 (m, 1H), 1.87 (broad, 1H), 0.98 (m, 2H), 0.01, s, 9H)

(ii) Ph (3-CL) (5-$OCHF_2$)–(R) CH (OH) C (O) –(S) Aze-Pab (2,6-dif) (OMe) :

تمت إذابة المركب – Ph (3-CL) (5-$OCHF_2$)–(R) CH (OH) C (O) –(S) Aze-Pab (2,6-dif) (OMe, Teoc) (٥٨ مجم – ٠,٠٨٦ مل مول – راجع الخطوة " i " عاليه) فى كمية قدرها ٣ مل من TFA، ثم برد هذا الخليط فى حمام ثلجى وسمح له بالتفاعل لمدة

ساعتين. وقد تم تبخير TFA، وأذيب الجزء المتبقى من خليط التفاعل فى EtOAc كما تم غسل الطبقة العضوية مرتين باستخدام خليط من الماء وsodium bicarbonate المـــائى، ثم جففت تلك الطبقة بواسطة (NA_2SO_4) وتم تبخيرها. وبعد ذلك أجريت عملية تجفيـــف بالتجميد من الماء وacetonitrile للحصول على ٤٢ مجم (٩٢٪) من مركـــب العنـــوان لدرجة نقاوة قدرها ٩٤٪.

^{1}H NMR (300 MHz, $CDCl_3$) δ 7.95 (bt, 1H), 7.2-7.1 (m, 4H), 6.99 (m, 1H), 6.52 (t, 1H), 4.88 (s, 1H), 4.85-4.75 (m, 3H), 4.6-4.45 (m, 2H), 4.29 (broad, 1H), 4.09 (m, 1H), 3.89 (s, 3H), 3.69 (m, 1H), 2.64 (m, 1H), 2.38 (m, 1H), 1.85 (broad, 1H)

^{13}C-NMR (100 MHz; $CDCl_3$): (carbonyl and/or amidine carbons) δ 172.1, 169.8, 151.9

APCI-MS: (M + 1) = 533/535 m/z

مثـــــال – ٣

(i) Boc – (S) Aze-$NHCH_2$-Ph (2,6-dif, 4- CN) :

تمت إذابة المركب Boc (S) Aze-OH (١,١٤ جرام – ٥,٦ مل مول) فى كمية قدرها ٤٥ مل مـــن DMF. وقـــد أضـــيف إلـــى هـــذا الخلـــيط المركـــب 4-Aminomethyl-2,6-difluorobenzonitrile (١ جرام – ٥,٩٥ مول – راجع المثال – ١ " XiV " عاليـــه)، و PyBPO (٣,١٠ جرام – ٥,٩٥ مل مول)، مع DIPEA (٣,٩٥ جرام – ٢٢,٧ مل مول)، وتم تقليب المحلول تحت درجة حرارة الغرفة لمدة ساعتين. وبعد تبخير المذيب تم تقسيم

الجزء المتبقى من الخليط بين الماء H_2O و EtOAc (٧٥ مل لكل منهما). وقد استخلص الطور المائى مرتين بكمية قدرها ٥٠ مل من EtOAc، مع غسل الطور العضوى المتجمع بواسطة brine ثم تجفيفه بواسطة Na_2SO_4. وعند إجراء عملية الكروماتوجراف الوميضى باستخدام خليط SiO_2، EtOAc مع heptane بنسبة ٣ : ١ تم الحصول على مركب العنوان بكمية قدرها ١,٥٠ جرام (٧٧٪) فى شكل مادة زيتية تتبلور فى المبرد.

^{1}H-NMR (400 MHz; CD_3OD): δ 7.19 (m, 2H), 4.65-4.5 (m, 3H), 3.86 (m, 1H), 3.73 (m, 1H), 2.45-2.3 (m, 2H), 1.39 (s, 9H)

(ii) H-(S) Aze – $NHCH_2$ - Ph (2,6, dif, 4-CN) XHCL :

استخدم هنا المركب Boc-(S) Aze – $NHCH_2$ - Ph (2,6, dif, 4-CN) (٠,٧٠٧ جرام – ١,٠٢ مل مول – راجع الخطوة " i " عاليه)، حيث أذيب فى كمية قدرها ٦٠ مل من EtOAc المشبع (HCL). وبعد التقليب تحت درجة حرارة الغرفة لمدة ١٥ دقيقة تم تبخير المذيب، ثم أذيب الجزء المتبقى فى خليط من CH_3CN والماء (H_2O) بنسبة ١ : ١، وبعد ذلك أجريت عملية تجفيف بالتجميد للحصول على مركب العنوان (٠,٥٦٧ جرام – ٩٨٪) فى شكل مسحوق غير متبلور لونه أبيض مائل للصفرة.

^{1}H-NMR (400 MHz; CD_3OD): δ 7.49 (m, 2H), 4.99 (m, 1H), 4.58 (m, 2H), 4.12 (m, 1H), 3.94 (m, 1H), 2.80 (m, 1H), 2.47 (m, 1H)

MS (m/z) 252.0 $(M + 1)^+$

(iii) :Ph (-CL) (5-$OCHF_2$) – (R) CH (OH) C(O)-(S) Aze-$NHCH_2$-Ph (2,6-dif, 4- CN)

استخدم المركب Ph (3-CL) (5-$OCHF_2$) – (R) CH (OH) C (O) OH (٠,٤٠ جـرام – ١,٤٢ مل مول، راجع المثال – ١ " Viii " عاليه)، حيث أذيب فى كمية قدرها ١٠ مـل من DMF. وقـد أضيـف المركـب H-(S) Aze – $NHCH_2$ - Ph (2,6, dif, 4-CN) XHCL (٠,٤٣ جرام – ١,٥ مل مول، راجعـة الخطـوة " ii " عاليـه) مـع مركـب PyBOP (٠,٧٧٩ جرام – ١,٥ مل مول)، وتبع ذلك إضافة ١ مل مـن DIPEA (٥,٧ مل مول). وبعد التقليب تحت درجة حرارة الغرفة لمـدة ساعتين تم تبخير المادة المذيبة، مع تقسيم الجزء المتبقى من المحلول بين الماء (٢٠٠مل) وبين EtOAc (٧٥ مل). وقـد تم استخلاص الطور المائى مرتين باستخدام ٧٥ مل من EtOAc، مـع غـسل الطـور العـضوى المتجمـع بواسـطة brine وتجفيفـه بواسـطة Na_2SO_4. ومـع اسـتخدام الكروماتوجراف الوميضى على طبقة من جل SiO_2 silica، وفـى وجـود EtOAc مـع heptane بنسبة ٤ : ١ تم الحصول على مركب العنوان فى شكل مادة زيتية (٠,٥٦ جم، ٨١٪).

^{1}H-NMR (400 MHz; CD_3OD) rotamers: δ 7.43 (m, 2H), 7.31 (m, 1H, major rotamer), 7.26 (m, 1H, minor rotamer), 7.2-7.1 (m, 2H), 6.90 (t, 1H, major rotamer), 6.86 (t, 1H, minor rotamer), 5.14 (s, 1H, major rotamer), 5.11 (m, 1H, minor rotamer), 5.04 (s, 1H, minor rotamer), 4.71 (m, 1H, major rotamer), 4.6-4.45 (m, 2H), 4.30 (m, 1H, major rotamer), 4.2-3.9 (m, 1H; and 1H, minor rotamer), 2.62 (m, 1H, minor rotamer), 2.48 (m, 1H, major rotamer), 2.21 (m, 1H, major rotamer), 2.09 (m, 1H, minor rotamer)

^{13}C-NMR (100 MHz; CD_3OD): (carbonyl carbons) δ 171.9, 171.8

MS (m/z) 484.0, 485.9 $(M - 1)^-$, 486.0, 487.9 $(M + 1)^+$

(iv) Ph (-CL) (5-$OCHF_2$) – (R) CH (OH) C(O)-(S) Aze-Pab (2,6-dif) (OH) :

تمت إذابة المركب :

Ph (-CL) (5-$OCHF_2$) – (R) CH (OH) C(O)-(S) Aze-$NHCH_2$-Ph (2,6-dif, 4-CN) الناتج فى الخطوة " iii " عاليه (٠,٥٥٥ جرام – ١,١٤ مل مول) فى كمية قدرها ١٠ مل من EtOH (٩٥٪). وقد أضيف إلى هذا المحلول مركب hydroxylamine hydrochloride (٠,٢٣٨ جرام – ٣,٤٢ مل مول). مع Et_3N (٠,٤٨ مل – ٣,٤٤ مل مول). وبعد التقليب تحت درجة حرارة الغرفة لمدة ١٤ ساعة تمت إزالة المادة المذيبة، ثم أذيب الجزء المتبقى فى EtOAc. وقد غسل الطور العضوى بواسطة brine والماء، ثم جفف بواسطة Na_2SO_4. وبعد تنقية المنتج الخام بواسطة RPLC مع CH_3CN وفى وجود NH_4Oac (M1) كمادة للفصل التتابعى تم الحصول على المركب المذكور فى العنوان كمسحوق غير متبلر (٠,٤٢٩ جرام – ٧٢٪) بعد التجفيف بالتجميد.

^{1}H-NMR (400 MHz; CD_3OD) rotamers: δ 7.35-7.1 (m, 5H), 6.90 (t, 1H, major rotamer), 6.85 (t, 1H, minor rotamer), 5.15 (s, 1H, major rotamer), 5.12 (m, 1H, minor rotamer), 5.08 (s, 1H, minor rotamer), 4.72 (m, 1H, major rotamer), 4.6-4.4 (m, 2H), 4.30 (m, 1H, major rotamer), 4.12 (m, 1H, major rotamer), 4.04 (m, 1H, minor rotamer), 3.94 (m, 1H, minor rotamer), 2.62 (m, 1H, minor rotamer), 2.48 (m, 1H, major rotamer), 2.22 (m, 1H, major rotamer), 2.10 (m, 1H, minor rotamer)

^{13}C-NMR (100 MHz; CD_3OD): (carbonyl and amidine carbons, rotamers) δ 172.4, 171.9, 171.0, 152.3, 151.5

MS (m/z) 517.1, 519.0 $(M - 1)^-$, 519.1, 521.0 $(M + 1)^+$

مثـــال - ٤

تم اختبار مركب العنوان فى مثال – ١ بواسطة الإختبار " أ " عاليه، وكانت قيمة $IC_{50}TT$ أقل من ٠,٠٢ ميكرومول.

مثـــال - ٥

تم اختبار مركب العنوان فى مثال – ١ بواسطة الاختبار " د " عاليه، وكانت قيمة $IC_{50}APTT$ أقل من ١ ميكرومول

مثـــال - ٦

تم اختبار مركب العنوان فى مثال – ٢ بواسطة الاختبار " هـ " عاليه، وقد تميز المركب باتاحة حيوية عند إعطائه للفئران عن طريق الفم أو عن غير طريق القناة الهضمية كما هو بالنسبة للمادة المثبطة النشطة التى يمثلها الأميدين الحر.

مثـــال - ٧

تم اختبار مركب العنوان فى مثال – ٢ بواسطة الاختبار " ز " عاليه، وتبين أنه يتحول إلى المادة المثبطة النشطة المناظرة (الأميدين الحر) فى ميكروسومات الكبد الناتجة عن الانسان والفئران.

الرموز والاختصارات :

Ac	=	acetyl
APPCI	=	التأين الكيميائى فى الضغط الجوى نسبة إلى MS.
API	=	التأين فى الضغط الجوى (نسبة إلى MS).
Aq	=	مائى.
AUC	=	المنطقة الواقعة اسفل المنحنى.
Aze	=	azetidine-2-carboxylate.
AzeOH	=	azetidine-2-carboxylic acid.
Boc	=	*tert*-butyloxycarbonyl .
BSA	=	البومين مصل الدم فى الأبقار.
CL	=	التأين الكيمائى (نسبة إلى MS).
d	=	يوم (أيام).
DCC	=	dicyclohexyl carbodiimide
DIBAL-H	=	di-isobutylaluminium hydride.
DIPEA	=	diisopropylethylamine.

DMAP = 4-(*N*,*N*-dimethyl amino) pyridine.

DMF = dimethylformamide.

DMSO = dimethylsulfoxide.

DVT = التجلط الوريدى العميق deep vein thrombosis.

EDC = 1-(3-dimethylaminopropyl)-3-ethylcarbodiimide hydrochloride

Et = ethyl.

اثير = diethyl ether .

EtOAc = ethyl acetate

EtOH = ethanol

Et_2O = diethyl ether

h = ساعة (ساعات).

HATU = *O*-(azabenzotriazol-1-yl)-*N*,*N*,*N*',*N*'-tetramethyluronium hexafluorophosphate

HBTU = [*N*,*N*,*N*',*N*'-tetramethyl-*O*-(benzotriazol-1-yl)uronium hexafluorophosphate]

HCL = hydrochloric acid, hydrogen chloride أو ملح

hydrochloride (حسب سياق النص).

Hex = hexanes.

HOAc = acetic acid أو أملاح acetic acid.

HPLC = كروماتوجراف سائل ذو أداء عالٍ.

LC = كروماتوجراف سائل.

Me = methyl .

MeOH = methanol

min (S) = دقيقة (دقائق).

MS = طيف الكتلة

MRBE = methyl *tert*-butyl ether.

NADH = nicotinamide adenine dinucleotide (الشكل المختزل).

NADPH = nicotinamide adenine dinucleotide phosphate (الشكل المختزل).

NIH = المعهد القومى للصحة (الولايات المتحدة).

NIHU = وحدات المعهد القومى للصحة.

NMR = الرنين النووى المغناطيسى.

OAc = acetate

Pab = *para*-amidinobenzylamino

H-Pab = *para*-amidinobenzylamine

Ph = phenyl.

PyBOP = (benzotriazol-1-yloxy)tripyrrolidinophosphonium hexafluorophosphate

QF = tetrabutylammonium fluoride

RPLC = كروماتوجراف سائل ذو أداء عكسى مرتفع.

rt/RT = درجة حرارة الغرفة.

SOPs = إجراءات التشغيل القياسية.

TBTU = [*N*,*N*,*N*',*N*'-tetramethyl-*O*-(benzotriazol-1-yl)uronium tetrafluoroborate]

TEA = triethylamine

Teoc = 2-(trimethylsilyl)ethoxycarbonyl

TEMPO = 2,2,6,6-tetramethyl-1-piperidinyloxy (مشتق حر).

EFA = trifluoroacetic acid

THF = tetrahydrofuran

TLC = كروماتوجراف ذو طبقة رقيقة.

UV = الأشعة فوق البنفسجية.

- وتعنى الاختصارات n′ S′ i′ t كلمة " عادى normal " و "ثانوى secondary " و " متماثل iso " و " ثلاثى tertiary "، ويعنى الاختصار C "سيكلو cyclo " أو حلقى" .

عناصر الحماية

١ ١- مركب Ph(3-Cl)(5-$OCHF_2$)-(R)CH(OH)C(O)-(S)Aze-Pab(2,6-diF)(OH)

٢ أو ملح مقبول صيدلانياً منه.

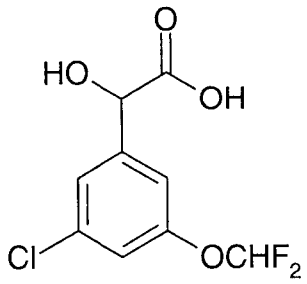
١ ٢- صيغة صيدلانية تشتمل على مركب وفقاً لعنصر الحماية (١) أو ملح مقبول

٢ صيدلانياً منه، في خليط مع مادة مساعدة adjuvant ، أو مادة مخففة diluent،

٣ أو مادة حاملة carrier مقبولين صيدلانياً.

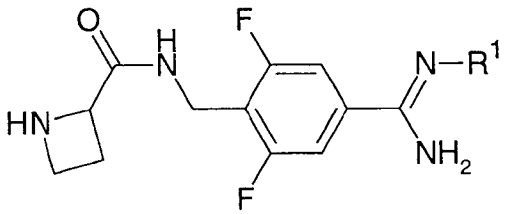
١ ٣ - عملية لتحضير مركب وفقاً لعنصر الحماية (١)، تشتمل على:

٢ (أ) تفاعل مركب له الصيغة (II):



٣ II

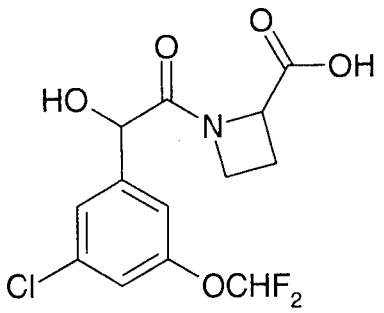
٤ مع مركب له الصيغة XIV،



٥ XIV

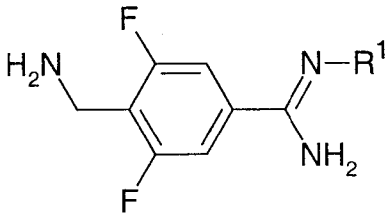
٦ حيث R^1 تمثل OH،

٧ (ب) تفاعل مركب له الصيغة (IV):



IV

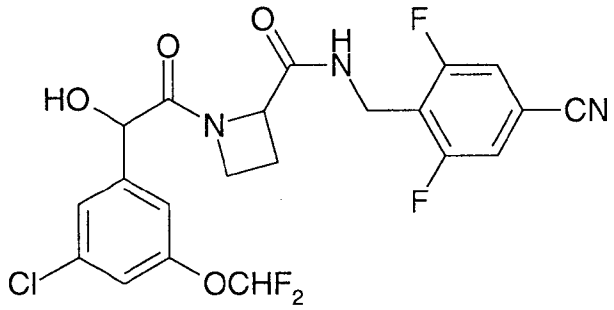
مع مركب له الصيغة XV،



XV

حيث R^1 تمثل OH؛

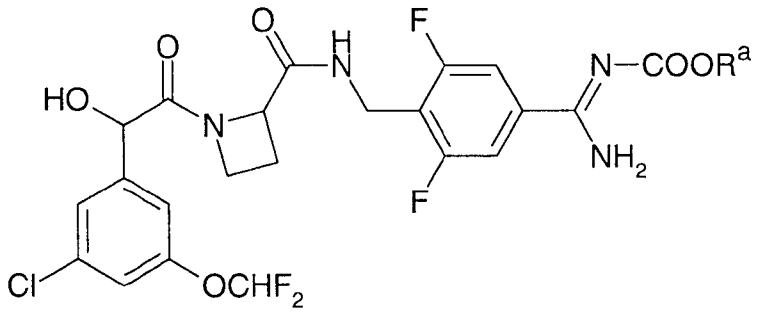
(ج) تفاعل مركب له الصيغة (XVI)،



XVI

مع hydroxylamine ،

(د) تفاعل مركب له الصيغة XVII



XVII

حيث R^a تمثل $-CH_2CH_2-Si(CH_3)_3$ أو benzyl ، أو مركب صنوي منهما، مع hydroxylamine ، أو ملح إضافة حمض منه، ثم إزالة مجموعة $-C(O)OR^a$،

(هـ) تفاعل مركب له الصيغة XVII، كما تم تعريفه من قبل، وفيه R^a تمثل benzyl ، مع hydroxylamine ، أو ملح إضافة حمض منه.