



مدينة الملك عبدالعزيز  
للعلوم والتقنية KACST

[11] رقم البراءة: ٣١٩٤  
[45] تاريخ المنح: ١٤٣٤/١٢/٠٤ هـ  
الموافق: ٢٠١٣/١٠/٠٩ م

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

## [12] براءة اختراع

[30] بيانات الأسبقية: US ٦٠/٨٢٩٦٩٤ ٢٠٠٦/١٠/١٧ م	[72] اسم المخترع: ايان وودوارد اشورث، كيث الآن مينير، جانيت هيلين، شيريمان، مارتين فرانسيس جونيز، ديفيد ديرموت باتريك لافان، انطوني بيتر اوتريدج، جون ديفيد بيتام، كيث ريموند مولهولاند، مايكل ريموند هاليت، ديريك جون لوندسبروف
[51] التصنيف الدولي (IPC <sup>8</sup> ): A01N 43/58, A61K 31/50	[73] مالك البراءة: كودوس فارماسوتيكالز ليمتد عنوانه: ١٥ ستانهوب جايت، لندن، دبلو ا كيه ا ال ان لندن، بريطانيا جنسيته: بريطانية
[56] المراجع: US ٢٠٠١٠٢٩٢٥٨ ٢٠٠١/١٠/١١ م	[74] الوكيل: سليمان ابراهيم العمار
US ٢٠٠٣٠٢٢٨١٩ ٢٠٠٣/٠١/٣٠ م	[21] رقم الطلب: ١١٠٣١٠٦٦٦
اسم الفاحص: خالد بن أحمد الحازمي	[22] تاريخ الإيداع: ١٤٣١/٠٩/١٣ هـ الموافق: ٢٠١٠/٠٨/٢٣ م

[54] اسم الاختراع: مشتقات فثالازينون

Phthalazinone derivatives

[57] الملخص: يتعلق الاختراع بالمركب:

4-[3-(4-cyclopropanecarbonyl-piperazine-  
1-carbonyl)-4-fluoro-benzyl]-2H-  
phthalazin-1-one

كصورة متبلورة A crystalline.

عدد عناصر الحماية (٤)، عدد الاشكال (٥)

## مشتقات فثالازينون

### Phthalazinone derivatives

#### الوصف الكامل

#### خلفية الاختراع:

ان هذا الطلب عبارة عن طلب جزئي من الطلب رقم ٧٢٨٠٥٥١ والذي تم إيداعه في المملكة العربية السعودية بتاريخ ٨ / ١٠ / ١٤٢٨ هـ الموافق ٢٠ / ١٠ / ٢٠٠٧ م .

يتعلق الاختراع الحالي بصورة متبلورة crystalline وطرق محسنة improved methods لتخليق مشتق phthalazinone خاص، ومركبات وسيطة في التخليق وبتراكيبات صيدلانية واستعمالات للصورة المتبلورة.

يشترك الإنزيم الثديي mammalian enzyme PARP (بروتين متعدد المجالات multidomain protein ١١٣ كيلو دالتون kDa) في إرسال إشارات تلف DNA من خلال قدرته على التعرف والارتباط بسرعة بفواصل DNA مفرد أو مزدوج الجديلة double strand breaks.

D'Amours, et al., Biochem. J., 342, 249-268 (1999).

أدت ملاحظات مختلفة إلى استنتاج أن PARP يساهم في مجموعة متنوعة من الوظائف المتعلقة بـ DNA وتشمل تكبير الجين gene amplification، وانقسام الخلية cell division، والتميز differentiation، وموت الخلايا apoptosis، وإصلاح استئصال excision repair قاعدة DNA وتؤثر أيضاً على طول telomere وثبات الكروموسوم chromosome stability.

d' Adda di Fagagna, et al., Nature Gen., 23 (1), 76-80 (1999).

حددت الدراسات بشأن الآلية التي يعدل بها PARP إصلاح DNA والعمليات الأخرى أهميته في تكوين سلاسل poly (ADP-ribose) داخل الأنوية الخلوية cellular nucleus:

Althaus, F.R. and Richter, C., ADP-Ribosylation of Proteins: Enzymology and Biological Significance, Springer-Verlag, Berlin (1987).

يستعمل DNA المرتبط بإنزيم PARP المنشط NAD لتخليق poly (ADP-ribose) على مجموعة متنوعة من البروتينات النووية المستهدفة nuclear target proteins، وتشمل إنزيم topoisomerase، ومركبات histones، و PARP ذاته : ٥

Rhun, et al., Biochem. Biophys. Res. Commun., 245, 1-10 (1998)

تصاحب أيضاً المعالجة poly (ADP-ribose) التحول الخبيث malignant transformation. فعلى سبيل المثال يكون نشاط PARP أعلى في الأنوية المعزولة للأرومات الليفية المتحولة leukemic cells SV40 transformed fibroblasts في حين تظهر الخلايا المصابة بالليوكيميا من الخلايا السرطان القولون colon cancer cells نشاطاً للإنزيم أعلى من الخلايا البيضاء السليمة المكافئة والغشاء المخاطي للقولون colon mucosa : ١٠

Miwa, et al., Arch. Biochem. Biophys., 181, 313-321 (1977); Burzio, et al., Proc. Soc.

Exp. Bioi. Med., 149, 933-938 (1975); and Hirai, et al., Cancer Res., 43, 3441-3446 (1983).

تم استخدام عدد من مثبطات الوزن الجزيئي المنخفض low-molecular-weight لإنزيم PARP لتوضيح الدور الوظيفي للمعالجة بواسطة (ADP-ribosyl) في إصلاح DNA. في الخلايا المعالجة cells treated بعوامل ألكلة alkylating agents يؤدي تثبيط PARP إلى زيادة ملحوظة في انفصال جديلة DNA وقتل الخلايا : ١٥

Durkacz, et al., Nature, 283, 593-596 (1980); Berger, N.A., Radiation Research, 101, 4-14 (1985).

بعد ذلك، أظهرت تلك المثبطات أنها تعزز تأثيرات الاستجابة للإشعاع بواسطة كبت إصلاح التلف المحتمل المميت potentially lethal damage.

Ben-Hur, et al., British Journal of Cancer, 49 (Suppl. VI), 34-42 (1984); Schlicker, et al., Int. J. Radiat. Bioi., 75, 91-100 (1999).

٥ تم الإبلاغ عن أن مثبطات PARP فعالة في جعل خلايا الورم tumour cells التي يصل إليها oxygen بقلة حساسة للاستئارة بالإشعاع. الطلبات الامريكي ارقام (٥٠٤١٦٥٣) و (٥٢١٥٧٣٨) و (٥٠٣٢٦١٧).

علاوة على ذلك أبدت الحيوانات التي تم فيها استبعاد PARP (-1-PARP) عدم ثبات جيني genomic استجابة لعوامل الأكللة alkylating agents وأشعة  $\gamma$  :

١٠ Wang, et al., Genes Dev., 9, 509-520 (1995); Menissier de Murcia, et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 94, 7303-7307 (1997).

اتضح أيضاً وجود دوراً ما لإنزيم PARP في أمراض وعائية معينة certain vascular diseases والصدمة الإنتانية septic shock، والإصابة بقلة الدم الموضعية ischaemic injury، والتسمم العصبي neurotoxicity :

١٥ Cantoni, et al., Biochim. Biophys. Acta, 1014, 1-7 (1989); Szabo, et al., J. Clin. Invest., 100, 723-735 (1997).

يعتبر تلف DNA بواسطة شق oxygen الذي يؤدي إلى انفصال الجديلة strand breaks في DNA والتي يتم التعرف عليها بعد ذلك بواسطة PAPR، عاملاً مشاركاً مهماً في تلك الحالات المرضية disease states كما هو موضح بواسطة دراسات مثبطات PARP :

Cosi, et al., J. Neurosci. Res., 39, 38-46 (1994); Said, et al., Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A., 93, 4688-4692 (1996).

اتضح في الأونة الأخيرة أن PPAR يلعب دوراً في المسببات المرضية للصدمة النزفية  
: haemorrhagic shock

Liaudet, et al., Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A., 97(3), 10203-10208 (2000).

اتضح أيضاً أن الإصابة الفعالة بفيروس النسخ العكسي في الخلايا الثديية mammalian cells يتم منعها بواسطة تثبيط نشاط PARP. اتضح أن ذلك التثبيط للعدوى بناقل النسخ العكسي ناتج عودة الارتباط يحدث في أنواع مختلفة من الخلايا :

(Gaken, et al., J. Virology, 70(6), 3992-4000 (1996))

وبذلك لقد تم تطوير مثبطات لإنزيم PARP للاستخدام في العلاجات المضادة للفيروسات anti-viral وفي علاج السرطان cancer treatment براءة الاختراع الدولية رقم ٩١/١٨٥٩١. علاوة على ذلك، يتوقع أن تثبيط PARP يؤخر ظهور خصائص التقدم في العمر في الأورمات الليفية البشرية human fibroblasts :

(Rattan and Clark, Biochem. Biophys. Res. Comm., 201(2), 665-672 (1994)). وقد يتعلق

هذا بالدور الذي يلعبه PARP في التحكم في وظيفة تيلومير telomere function :

d'Adda di Fagagna, et al., Nature Gen., 23 (1), 76-80 (1999).

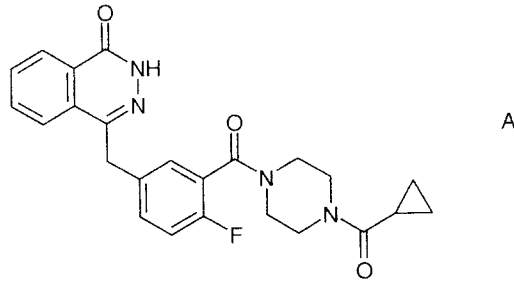
أفصحت البراءة الدولية رقم ٢٠٠٤/٠٨٠٩٧٦ عن عدد من مشتقات phthalazinone، وفعاليتها في تثبيط PARP، واستخدامها الذي يتبع ذلك في علاج السرطان treating cancer، سواءً كمساعد للعلاج الإشعاعي radiotherapy أو العلاج الكيميائي chemotherapy، أو كعامل بمفرده.

يذكر الطلب الدولي رقم ٢٠٠٥/٠٥٣٦٦٢ استخدام مثبطات PARP، وخاصة مشتقات phthalazinone كمثبطات لإصلاح استئصال القاعدة (PER) base excision repair. تم ذكر استخدام هذه المثبطات في تصنيع أدوية لعلاج السرطانات treatment of cancers التي بها نقص في فعالية إصلاح DNA DSB الذي يعتمد على عود الارتباط المتشابه (HR) Homologous Recombination، وخاصة في السرطانات cancers التي بها نقص في النمط الظاهري deficient BRCA1 phenotype و/أو BRCA2.

تم الإفصاح عن :

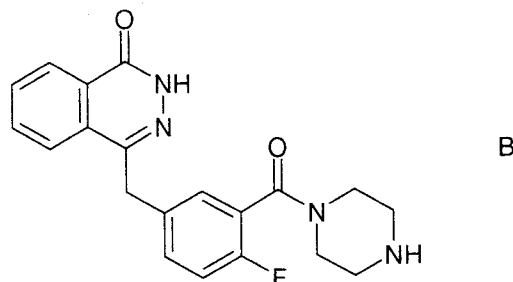
4-[3-(4-Cyclopropanecarbonyl-piperazine-1-carbonyl)-4-fluoro-benzyl]-2H-phthalazin-1-one.

١٠ (مركب أ) في طلب البراءة الدولية رقم ٢٠٠٤/٠٨٠٩٧٦.



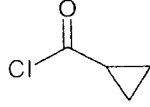
في البراءة ٢٠٠٤/٠٨٠٩٧٦ تم تخليق المركب أ كواحد من مركبات المجموعة من :

4-[4-fluoro-3-(piperazine-1-carbonyl)-benzyl]-2H-phthalazin-1-one (المركب B).



- ٧ -

بإضافة cyclopropanecarbonyl chloride :



إلى محلول من B في dichloromethane، ثم :

Hünig's base (N,N-diisopropylethyl amine) تم إجراء هذا التفاعل مع التقليب عند درجة حرارة

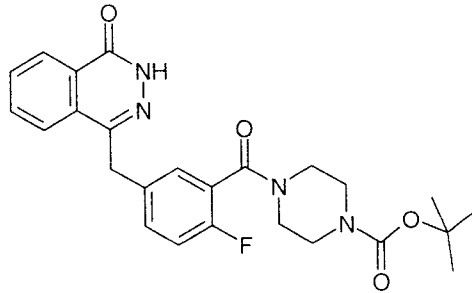
الغرفة لمدة ١٦ ساعة، وتمت تنقية المركب الناتج بواسطة HPLC تحضيرياً.

تم تحضير مشتق (B) piperazine بواسطة إزالة حماية :

4-[2-fluoro-5-(4-oxo-3,4-dihydro-phthalazin-1-ylmethyl)-benzoyl]-piperazine-1-

carboxylic acid tert-butyl ester.

(مركب C):



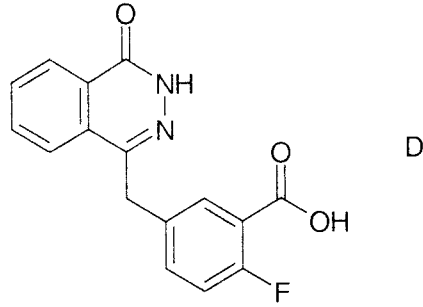
باستخدام محلول ٦ مولار HCl و ethanol لمدة ساعة، ثم جعل خليط التفاعل قاعدياً بواسطة

ammonia حتى رقم هيدروجيني pH ٩ والاستخلاص في dichloromethane.

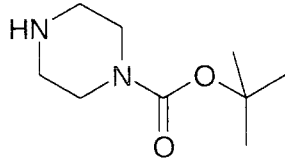
تم تحضير مشتق piperazine المحمي بـ Boc (C) من :

2-fluoro-5-(4-oxo-3,4-dihydro-phthalazin-1-ylmethyl)-benzoic acid (مركب D):

- ٨ -



بإضافة piperazine-1-carboxylic acid tert-butyl ester



و

2-(1H-benzotriazol-1-yl)-1,1,3,3-tetramethyluronium hexafluorophosphate (HBTU) and N,N-diisopropylethylamine.

ثم التقليب لمدة ١٨ ساعة.

قد يكون لصور محددة من المركب أ خواصاً مفيدة، على سبيل المثال فيما يتعلق بقابليتها للذوبان solubility و/أو ثباتها stability و/أو إتاحتها الحيوية bioavailability و/أو نسب الشوائب impurity profile بها و/أو خصائص ترشيحها filtration characteristics و/أو خصائص تجفيفها drying characteristics و/أو افتقارها إلى التميؤ hygroscopicity، و/أو سهولة تداولها handle و/أو تحويلها إلى حجم ميكروني micronise و/أو تشكيلها إلى أقراص. من المرغوب فيه أيضاً أن يكون لدينا طريقة محسنة للتخليق synthesis تكون مناسبة لتخليق المركب أ على نطاق عدة جرامات.



### الوصف العام للاختراع:

وفقاً لذلك، توفر صورة أولى من الاختراع الحالي :

4-[3-(4-cyclopropanecarbonyl-piperazine-1-carbonyl)-4-fluoro-benzyl]-2H-phthalazin-1-one.

(مركب أ) بشكل رئيسي في صورة متبلورة crystalline Form وخاصة الصورة أ .

٥ تعني "صورة متبلورة بشكل رئيسي" كما هي مستخدمة من قبل أن ٥٠٪ بالوزن على الأقل من المركب أ في صورة متبلورة، ويفضل ٧٠٪ بالوزن على الأقل، أو ٨٠٪ أو ٩٠٪ بالوزن. في بعض النماذج قد تكون ٩٥٪ بالوزن على الأقل، أو ٩٩٪ بالوزن، أو حتى ٩٩,٥٪ بالوزن أو أكثر في صورة متبلورة.

١٠ للمركب أ كصورة متبلورة نموذج حيود أشعة X-ray diffraction X ( $\lambda = 1,0418 \text{ \AA}$ ) يحتوي على

١٠ قمم محددة عند

القيمة	$2\theta (\pm 1^\circ)$
١	١٢,٠
٢	١٧,٨
٣	٢١,١
٤	٢٢,٣
٥	٢٩,٢

قد يكون أيضاً للمركب أ كصورة متبلورة A القمم الإضافية التالية في نموذج حيود أشعة X ( $\lambda =$

١,٠٤١٨ Å):

القمة	$2\theta (\pm 1^\circ)$
٦	١٠,٥
٧	١٤,٥
٨	٢١,٧
٩	٢٤,٣
١٠	٢٦,١

قد يتميز أيضاً المركب أ كصورة متبلورة A crystalline بأي توليفة من ثلاثة قمم أو أكثر يتم اختيارها من قائمة العشرة قمم peaks السابقة.

تم توضيح نموذج حيود أشعة X X-ray diffraction للمسحوق للمركب أ في شكل (٣).

٥ بدون التقيد بنظرية ما، فإن المركب أ قادر على أن يكون بسهولة صيغة بنائية يمكن أن تحتل فيها جزيئات المذيب solvent molecules مواضع داخل الشبكة البلورية crystal lattice. تلك الذوابات solvates ليست بالضرورة وفقاً للمعادلة الكيميائية stoichiometric في خواصها، ويمكن أن تتكون من ذوابة واحدة نقية (مثل methanolate المركب أ ، و Tetrahydrofuranate المركب أ) أو يحتمل أن تتكون من أكثر من مذيب solvent واحد (مثل methanol و di-ethyl ether). عادة ما تقع جزيئات المذيب داخل جيوب تنشأ بواسطة جزيئات المركب أ.

١٠ في ظروف معينة، تكون أحجام هذه الجيوب pockets مرنة flexible إلى حد كافٍ لكي تحتوي على مدى من المذيبات solvents، مما ينتج عنه تغير صغير في الصيغة الجزيئية الإجمالية للمادة، ومن ثم تحدث فقط إزاحات صغيرة small shifts في إنعكاسات نموذج حيود أشعة X

للمسحوق.

تتشأ الذوابات solvates بما فيها تلك التي تشترك في نفس الصيغة البنائية الإجمالية overall structure، من نضج المحلول solution maturation وتجارب التبلور crystallisation من:

dichloromethane, ethyl acetate, methanol, ethanol, isopropanol, 2-butanone, t-butyl

methyl ether, toluene, tetrahydrofuran, water, cyclohexane, cyclopropyl methyl ketone,

1,2 dichloroethane, ethyl trifluoroacetate, fluorobenzenehexafluoro-iso-propanol, methyl

nonafluorobutyl ether, 2-methyl-1-propanol, nitromethane, propionitrile,

trichloroethylene,  $\alpha \alpha$ -trifluorotoluene, heptane, dioxane, acetonitrile,

١٠ كمذبيبات نقية pure solvents أو عند مزجها مع مذيب آخر. تم توضيح نموذج حيود أشعة X- X

ray diffraction للصيغ البنائية للذوابات solvate structure الأكثر شيوعاً في جدول (٤)، ويحتوي

على أكثر القمم شدة في المواضع المدرجة فيه:

القمة	$\theta \pm 1^\circ$
١	$7,5 - 7,0$
٢	$10,6 - 10,1$
٣	$15,6 - 15,1$
٤	$19,0 - 18,5$
٥	$21,5 - 21,0$
٦	$25,3 - 24,8$
٧	$27,5 - 27,0$

من المفهوم أن الشدة النسبية relative intensities للقمم peaks الموضحة في الأشكال قد تختلف

وفقاً لاتجاه العينة قيد الاختبار وعلى نوع وضبط الجهاز المستخدم بحيث تكون الشدة في أثار XRD الموجودة في هذا الطلب توضيحية وليس الغرض منها أن تستخدم من أجل المقارنة المطلقة absolute comparison.

تكون الصورة أ من المركب خالية من المذيب solvent بشكل رئيسي. يشير المصطلح "خالية بشكل رئيسي من المذيب" كما هو مستخدم في هذا الطلب إلى الصورة التي بها كميات ضئيلة من أي مذيب مثلاً من إجمالي ٠,٥% بالوزن أو أقل من أي مذيب. قد تكون الكمية الإجمالية total amount من أي مذيب بما فيه الماء ٠,٢٥%، أو ٠,١%، أو ٠,٢٥% بالوزن أو أقل.

تم تمييز أيضاً الصورة أ من المركب أ باستخدام DSC. عند تسخين الصورة أ من المركب أ من ٢٥ م إلى ٣٢٥ م بمعدل ١٠ م/دقيقة سوف تبدأ في الانصهار عند ٢١٠,١ ± ١ م. تم في شكل (٥) توضيح منحنى DSC للمركب أ كصورة أ .

توفر الصورة الثانية من الاختراع الحالي طريقة للحصول على :

4-[3-(4-cyclopropanecarbonyl-piperazine-1-carbonyl)-4-fluoro-benzyl]-2H-phthalazin-1-one.

(مركب أ ) كصورة متبلورة crystalline أ تشتمل على بلورة المركب أ في مذيب وبعد ذلك إزاحة المذيب من الصورة المتبلورة بواسطة عامل إزاحة. قد يكون عامل الإزاحة عبارة عن ماء أو خليط من alcohol C<sub>1-2</sub> وماء.

في نموذج أول، تشتمل هذه الطريقة على الخطوات:

(١) بلورة crystallising:

4-[3-(4-cyclopropanecarbonyl-piperazine-1-carbonyl)-4-fluoro-benzyl]-2H-phthalazin-1-one.

(مركب أ) من مذيب solvent؛

(١) إذا لم يكن المذيب الأصلي ethanol، تتم معالجة المركب أ المتبلور بالـ ethanol؛

(٢) معالجة المركب المتبلور A بالماء لإزالة ethanol المحتجز؛

(٣) تجفيف drying المنتج الناتج resulting product.

قد يكون، على سبيل المثال، المذيب المستخدم في البلورة الأصلية original crystallisation  
dichloromethane أو acetonitrile. ٥

قد تشمل بصفة عامة طرق الحصول على الصورة أ على إزاحة المذيب. لقد وجد أن المركب أ  
يتبلور بطريقة بحيث تتكون قنوات في الشبكة البلورية crystal lattice يمكنها أن تحتجز المذيبات  
solvents، وبذلك يكون من الصعب إزالتها.

يمكن استخدام طريقة النموذج الأول خاصة إذا كان المذيب المستخدم في بلورة المركب أ عبارة عن  
dichloromethane. يمكن إرجاء خطوة استبدال dichloromethane كمذيب بالـ ethanol كمذيب ١٠  
بواسطة تقطير distilling محلول من المركب أ عند ضغط جوي atmospheric pressure في وجود  
ethanol. ينتهي الاستبدال عندما تقترب درجة حرارة الرأس head temperature من نقطة غليان  
boiling point of ethanol، مثلاً ٧٣ م على الأقل. يمكن إجراء الاستبدال بشكل خاص بواسطة  
الفصل بالتقطير لمعظم DCM، وبعد ذلك إضافة حجم من methanol. يستمر بعد ذلك التقطير،

مع استبدال دفعات المقطرات replacing batches distillate بأحجام مساوية من ethanol. ١٥

يمكن إجراء بلورة المركب أ من مذيب ethanol بواسطة تبريد المحلول إلى أقل من ١٥ م، ويفضل  
إلى أقل من ١٠ م، ويفضل أكثر إلى حوالي ٨ م. يمكن بعد ذلك إزالة بلورات المركب أ من

المحلول بالترشيح filtration. يمكن معالجة المركب المتبلور crystalline أ بالماء لإزالة ethanol المحتجز بواسطة تعليق المادة المتبلورة crystalline material في الماء والتسخين عند الارتجاع لفترة كافية من الزمن، مثلاً ثلاث ساعات على الأقل، ويفضل حوالي ٤ ساعات. يمكن إزالة المركب المتبلور A من المعلق في الماء بواسطة الترشيح. يتم تجفيف drying المنتج الناتج من الخطوة السابقة بسهولة. على سبيل المثال، بواسطة تسخين المنتج في فرن عند درجة حرارة ٦٠ م على الأقل، ويفضل عند حوالي ٧٠ م.

في نموذج آخر كهذا تشتمل الطريقة على الخطوات:

- (١) الحصول على المركب أ كصورة متبلورة تحتوي على المذيب solvent؛
- (٢) إذا كان المذيب الأصلي original solvent المستخدم في تخليق synthesis المركب أ في الصورة المتبلورة ليس خليطاً من الماء و alcohol C<sub>1-2</sub> (أي methanol أو ethanol)، تجرى معالجة المركب أ في الصورة المتبلورة من خليط من ماء و alcohol C<sub>1-2</sub>.
- (٣) تجفيف drying المنتج الناتج.

يمكن بعد ذلك معالجة المنتج الناتج بواسطة خليط من الماء و alcohol C<sub>1-2</sub>، وتخفيفه لكي يتم بعد ذلك عزل المركب isolate compound أ في الصورة المتبلورة أ. z. يفضل أن يتراوح خليط الماء و alcohol C<sub>1-2</sub> بين ٢ : ١ و ١ : ٢، وبفضل أكثر بين ١,٥ : ١ و ١,٥ : ١,٥ بالحجم. الخليط المفضل preferred mixture بشكل خاص يتكون من ١ جزء ماء إلى ١,٢ جزء alcohol C<sub>1-2</sub>. هناك خليط آخر مفضل بشكل خاص يتكون من ٢ جزء ماء إلى ١ جزء alcohol C<sub>1-2</sub>. يفضل أن يكون alcohol C<sub>1-2</sub> عبارة عن ethanol.

يمكن الحصول على المركب أ كصورة متبلورة crystalline بواسطة بلورة المركب أ من مذيب

solvent، كما ذكر من قبل.

يمكن إجراء المعالجة بالمذيب solvent treatment في الخطوة (٢) بواسطة عمل معلق من المركب أ في خليط من الماء و alcohol C<sub>1-2</sub> وتسخينه عند الإرجاع reflux مع التقليب stirring. يتبع هذا التبريد cooling إلى ما يتراوح بين ٥٥ م و ٦٥ م والترشيح filtering، على سبيل المثال، خلال طبقة سلايت celite pad. يمكن غسل طبقة المرشح بواسطة خليط من الماء و alcohol C<sub>1-2</sub> قبل تقطيره عند ضغط جوي (عادة ١ جوي)، أو أعلى. يمكن إيقاف التقطير distillation ليعطي معلقاً يترك عند درجة حرارة الغرفة قبل ترشيحه filtration بعد ذلك. يمكن غسل عجينة المرشح filter cake الناتجة بالماء.

يمكن تجفيف المنتج الناتج من الخطوة السابقة بسهولة. على سبيل المثال بواسطة تسخين المنتج في فرن oven عند درجة حرارة ٥٠ م على الأقل، ويفضل عند حوالي ٦٠ م.

قد تستمر معالجة أخرى بأسلوب مشابه لما ذكر من قبل.

في نموذج ثالث، تشتمل الطريقة على:

(١) عمل معلق suspending من المركب أ في خليط من الماء و alcohol C<sub>1-2</sub> كمذيب؛

(٢) تسخين المعلق heating the suspension عند الارتجاع reflux؛

(٣) تبريد المحلول وزرعه seeding بالمركب أ كالصورة أ؛

(٤) تجفيف drying المنتج الناتج resulting product.

يمكن بعد ذلك معالجة المنتج الناتج بخليط من الماء و alcohol C<sub>1-2</sub>، وتجفيفه ليتم بعد ذلك عزل

المركب أ في الصورة المتبلورة crystalline أ.

يفضل أن يتراوح خليط الماء و alcohol C<sub>1-2</sub> بين ٢ : ١ و ١ : ٥ بالحجم، ويفضل أكثر بين ٢ : ١ و ١ : ٤ بالحجم. يتراوح الخليط المفضل preferred mixture بشكل خاص بين ١ جزء ماء و ٣ أجزاء alcohol C<sub>1-2</sub>. يفضل أن يكون alcohol C<sub>1-2</sub> عبارة عن ethanol.

قد تشتمل الخطوة (٣) على تبريد المحلول إلى ما بين ٦٥ م و ٧٥ م (مثلاً ٧٠ م) والترشيح filtering، على سبيل المثال، خلال طبقة سلايت celite pad. يمكن غسل طبقة المرشح filter pad بواسطة خليط من الماء و alcohol C<sub>1-2</sub> قبل التقطير distilled (على سبيل المثال عند ضغط جوى ambient pressure أو أعلى). قد يحدث الزرع بعد تبريد الرشيق الناتج إلى ما بين ٤٠ م و ٥٠ م (مثلاً ٤٥ م). يمكن تبريد المعلق الناتج إلى درجة حرارة الغرفة (مثلاً ٢٠ م) على مدى ما بين ٢ و ٣ ساعات (مثلاً ٢,٥ ساعة) وإبقاء درجة الحرارة المذكورة لفترة كافية لحدوث التبلور crystallisation. قد تتراوح هذه الفترة بين ١٢ و ٢٤ ساعة. وقد تكون حوالي ١٦ ساعة. في نهاية هذه الفترة، قد تتم إضافة المزيد من الماء. قد تساوي الكمية حوالي حجم المذيب الكلي total solvent (ماء و alcohol C<sub>1-2</sub>) الموجود ويمكن إضافتها ببطء، على سبيل المثال على مدى ٤-٦ ساعات (مثلاً ٥ ساعات). يمكن إبقاء المعلق suspension عند درجة حرارة الغرفة بعد إضافة الماء، على سبيل المثال لمدة ساعتين. بعد ذلك يمكن ترشيح المعلق suspension filtered، ويمكن غسل عجينة المرشح filter cake الناتجة بواسطة خليط من alcohol C<sub>1-2</sub> وماء (بنسبة تتراوح بين ١ : ٣ و ١ : ٢ مثلاً ١ : ٢,٣).

يمكن تجفيف المنتج الناتج من الخطوة السابقة بسهولة. على سبيل المثال، بواسطة تسخين المنتج في فرن oven تحت التفريغ vacuum عند درجة حرارة تتراوح بين ٤٠ م و ٦٠ م.

توفر صورة ثالثة من الاختراع الحالي تخليق المركب أ من المركب B وتشتمل على خطوة:

٢٠ (١) إضافة محلول سبق خلطه من triethylamine و cyclopropane carbonyl chloride، في مذيب عضوي organic solvent مناسب (على سبيل المثال، DCM (dichloromethane))



بأسلوب متحكم فيه، إلى مركب B في نفس المذيب العضوي مع التحكم في درجة حرارة المحلول لتكون أقل من ٢٠ م.

في نفس النموذج، تشتمل أيضاً الطريقة على خطوة:

(٢) تقليب المحلول الناتج من (١) حتى ينتهي التفاعل، مع إبقاء درجة حرارة المحلول أقل من ٢٠ م.

قد تحدث الإضافة في خطوة (١) بأسلوب التنقيط قطرة قطرة dropwise.

يتم التحكم في هذه الطريقة أكثر من الطريقة المذكورة في البراءة ٠٨٠٩٧٦/٢٠٠٤، مما ينتج عنه إضافة أكثر انتقائية للمناطق ل acid chloride. يمكن أن تؤدي الإضافة الأقل تحكماً للفن السابق إلى إضافة acid chloride عند nitrogen أو phthalazinone oxygen، بالإضافة إلى عند piperidine nitrogen المطلوبة. يفضل أن يتم إجراء الطريقة السابقة تحت جو من nitrogen.

يفضل أيضاً أن يتم إبقاء درجة حرارة المحلول في المرحلة (٢) عند ما يتراوح بين ١٠ م و ١٥ م.

تفضل معالجة منتج التفاعل السابق بواسطة خطوة غسيل بالماء واحدة على الأقل. ويفضل أكثر أن تحتوي المعالجة على خطوتي غسيل بالماء ابتدائية ونهائية، وعلى خطوات غسيل وسيطة باستخدام حمض مخفف dilute acid، مثل محلول ٥% citric acid، ثم قاعدة مخففة dilute base مثل محلول ٥% sodium carbonate.

توفر صورة رابعة من الاختراع الحالي طريقة لتخليق المركب A synthesising compound من المركب D تشتمل على تفاعل المركب D مع 1-(cyclopropylcarbonyl)piperazine، أو ملح ل mineral acid منه، في وجود عامل amide للاقتران وقاعدة، مثل amine (على سبيل المثال، tertiary amine مثل diisopropylethylamine).

قد يكون ملح mineral acid، على سبيل المثال، ملح hydrochloride.

يمكن إجراء إضافة 1-(cyclopropylcarbonyl)piperazine، أو ملح ل mineral acid منه، إلى المركب D في أي مذيب solvent مناسب، مثل acetonitrile. يفضل أن يكون عامل amide الاقتران عبارة عن :

2-(1H-benzotriazol-1-yl)-1,1,3,3-tetramethyluronium hexafluorophosphate (HBTU). ٥

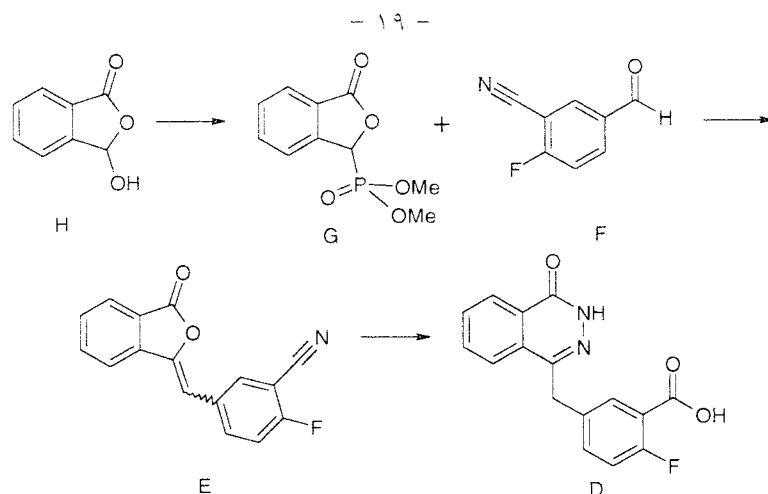
وتفضل إضافته إلى محلول من :

1-(cyclopropylcarbonyl)piperazine أو ملح ل mineral acid منه، و

diisopropylethylamine، والمركب D على مدى فترة من الزمن، مثلاً ٣٠ دقيقة. يمكن إبقاء درجة حرارة المحلول الناتج عند ٢٥ م أو أقل (أو ٢٠ م أو أقل مثلاً عند ١٨ م). بعد إضافته قد يترك المحلول الناتج لفترة من الزمن. نظام درجة الحرارة المفضل هو إبقاء المحلول عند درجة حرارة الغرفة لمدة ساعتين. ١٠

يمكن إزالة المركب أ الناتج من المحلول بتبريده إلى أقل من ١٠ م (أو أقل من ٥ م، مثلاً ٣ م) لفترة من الزمن (مثلاً ١ ساعة)، ثم ترشيحه. يتم غسل المركب أ الناتج، على سبيل المثال، بواسطة acetonitrile بارد. ١٥

تم الإفصاح في البراءة ٢٠٠٤/٠٨٠٩٧٦ عن المسار التالي لإنتاج المركب D



تمت إضافة قطرة قطرة dimethyl phosphite إلى محلول من sodium methoxide في methanol عند صفر م. بعد ذلك، تمت إضافة 2-Carboxybenzaldehyde (H) على دفعات إلى خليط التفاعل كملاط في methanol، مع إبقاء درجة الحرارة أقل من ٥ م. تمت تدفئة المحلول الأصفر الشاحب الناتج إلى ٢٠ م على مدى ١ ساعة. تمت إضافة methanesulphonic acid إلى خليط التفاعل قطرة قطرة وتم تبخير المعلق الأبيض الناتج تحت التفريغ. تم إخماد المادة المتبقية الناتج بالماء واستخلاصها في chloroform. تم غسل الخلاصات العضوية المجمعة بالماء وتجفيفها بواسطة  $MgSO_4$ ، وتبخيرها تحت التفريغ لتعطي :

(3-oxo-1,3-dihydro-isobenzofuran-1-yl)phosphonic acid dimethyl ester (G).

١٠ كمادة صلبة بيضاء (الناتج ٩٥٪). تم بعد ذلك استخدام هذه المادة بدون تنقية إضافية في المرحلة التالية.

إلى خليط من :

(3-oxo-1,3-dihydro-isobenzofuran-1-yl)phosphonic acid dimethyl ester (G) تمت إضافة

triethylamine على مدى ٢٥ دقيقة، مع إبقاء درجة الحرارة أقل من ١٥ م. تمت تدفئة خليط

١٥ التفاعل ببطء إلى ٢٠ م على مدى ساعة وتركيزه تحت التفريغ. تم عمل ملاط slurried من المادة

المتبقية البيضاء في ماء أو تقليبه لمدة ٣٠ دقيقة، وترشيحها وغسلها بالماء، و hexane، و ether، وتجفيفها لتعطي :

(E) 2-fluoro-5-(3-oxo-3H-isobenzofuran-1-ylidenemethyl)benzotrile كخليط ٥٠ : ٥٠ من الأيزومرات E و Z (الناتج ٦٩٪).

٥ إلى معلق من :

(E) 2-fluoro-5-(3-oxo-3H-isobenzofuran-1-ylidenemethyl)benzotrile في ماء تمت إضافة محلول مائي من sodium hydroxide وتم تسخين خليط التفاعل تحت جو من nitrogen عند ٩٠°م لمدة ٣٠ دقيقة. تم التبريد الجزئي لخليط التفاعل إلى ٧٠°م، وتمت إضافة hydrazine hydrate وتقليبه لمدة ١٨ ساعة عند ٧٠°م. تم تبريد خليط التفاعل إلى درجة حرارة الغرفة وتحميضه بواسطة محلول ٢ مولار HCl إلى رقم هيدروجيني pH ٤. تم تقليب الخليط لمدة ١٠ دقائق وترشيحه. تم غسل المادة الصلبة الناتجة بالماء، و hexane، و ether، و ethyl acetate، وتجفيفها لتعطي المركب D كمسحوق وردي شاحب (الناتج ٧٧٪).

من المرغوب فيه أن يكون لدينا طريقة محسنة لتخليق المركب D.

وفقاً لذلك، توفر صورة خامسة من الاختراع الحالي طريقة لتخليق المركب D تشتمل على الخطوة:

١٥ (أ) تخليق (G') diethyl (3-oxo-1,3-dihydro-2-benzofuran-1-yl)phosphonate من:

2-carboxybenzaldehyde (H).

(ب) تخليق :

2-fluoro-5-[(E/Z)-(3-oxo-2-benzofuran-1(3H)-ylidene)methyl]benzonitrile (E) from diethyl (3-oxo-1,3-dihydro-2-benzofuran-1-yl)phosphonate.

يفضل ألا يتم عزل المركب G في التخليق. تتفادى هذه الطريقة استخدام الملح :

Pelchowicz, et al., J.Chem.Soc, 4348-4350 ) sodium dimethylphosphite غير الثابت

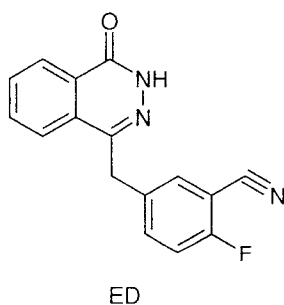
(1961)) في محلول alcohol. يفضل أن تحدث الخطوة (أ) في 2-methyltetrahydrofuran. يمكن

أن يلي التفاعل مع الملح sodium لـ dimethylphosphite التفاعل مع methanesulphonic acid.

يمكن إجراء الخطوة (ب) في 2-methyltetrahydrofuran مع إضافة triethylamine.

يمكن أن تشمل أيضاً طريقة تخليق المركب D على خطوة:

(ج) تخليق (ED) 2-fluoro-5-[(4-oxo-3,4-dihydrophthalazin-1-yl)methyl]benzonitrile



من المركب E بواسطة التفاعل مع hydrazine hydrate

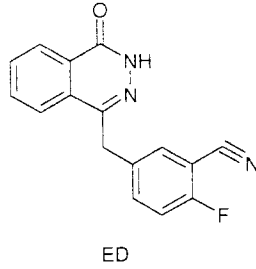
(د) تخليق المركب D من المركب ED بواسطة التفاعل مع sodium hydroxide.

يمكن إجراء الخطوة (ج) باستخدام ما يتراوح بين ١,١ و ١,٣ مكافئ من hydrazine hydrate في

tetrahydrofuran ثم معادلة الزيادة من hydrazine hydrate باستخدام acetic acid.

توفر صورة سادسة من الاختراع الحالي المركب ED:

- ٢٢ -



واستخدامه في تخليق المركب D.

توفر صورة أخرى من الاختراع ملح حمض معدني لـ (cyclopropylcarbonyl)piperazine، وطريقة لتخليقه بواسطة تفاعل piperazine مع acetic acid، ثم إضافة cyclopropane carbonyl chloride.

توفر صورة سابعة من الاختراع الحالي تركيبة صيدلانية تشتمل على مركب من الصورة الأولى ومادة حاملة carrier أو مادة مخففة diluent مقبولة صيدلانياً.

توفر صورة ثامنة من الاختراع الحالي مركباً من الصورة الأولى يستخدم في طريقة لعلاج إنسان أو جسم حيوان.

توفر صورة تاسعة من الاختراع الحالي استخدام مركب كما هو معرف في الصورة الأولى من الاختراع في تحضير دواء لتنشيط نشاط PARP.

توفر صور أخرى من الاختراع استخدام مركب كما هو معروف في الصورة الأولى من الاختراع في تحضير دواء لعلاج:

مرض وعائي vascular disease، أو صدمة إنتانية septic shock، أو إصابة نتيجة قلة الدم الموضعية ischaemic injury، أو تسمم عصبي neurotoxicity، أو صدمة نزفية haemorrhagic shock، أو عدوى فيروسية viral infection، أو أمراض يلفها تنشيط نشاط PARP.

توفر صورة أخرى كذلك من الاختراع استخدام مركب كما هو معرف في الصورة الأولى من

الاختراع في تحضير دواء للاستخدام كمساعد في علاج السرطان cancer treatment أو لتقوية علاج خلايا الورم باستخدام الأشعة المؤينة أو العوامل العلاجية الكيميائية.

توفر صورة أخرى كذلك من الاختراع علاجاً لأمراض يتم تلطيفها باستخدام تثبيط PAPR، تشتمل على إعطاء الشخص المحتاج للعلاج كمية فعالة علاجياً من مركب كما تم تعريفه في الصورة الأولى، ويفضل في صورة تركيبية صيدلانية وعلاج للسرطان يشتمل على إعطاء الشخص المحتاج للعلاج كمية فعالة علاجياً من مركب كما تم تعريفه في الصورة الأولى من الاختراع يفضل في صورة تركيبية صيدلانية بالاشتراك مع أشعة مؤينة أو عوامل علاجية كيميائية في نفس الوقت أو على التوالي.

في صور أخرى من الاختراع الحالي، يمكن استخدام المركبات في تحضير دواء لعلاج سرطان به نقص في فعالية إصلاح DNA DSB يعتمد على عودة الارتباط المتشابه (HR)، أو في علاج مريض بالسرطان به نقص في فعالية إصلاح DNA DSB يعتمد على HR، يشتمل على إعطاء المريض المذكور كمية فعالة علاجياً من المركب.

يصلح مسار إصلاح DNA DSB المعتمد على HR الفواصل في الجلدية المزدوجة (DSBs) في DNA عن طريق آليات متشابهة لإصلاح حلزون DNA متصل :

(K.K. Khanna and S.P. Jackson, Nat. Genet. 27(3): 247-254 (2001)). تشمل مسارات

إصلاح DNA DSB التي تعتمد على HR، على سبيل المثال لا الحصر :

ATM (NM\_000051)، و RAD51 (NM\_002875)، و RAD51L1 (NM\_002877)، و RAD51C

(NM\_002876)، و RAD51L3 (NM\_002878)، و DMC1 (NM\_007068)، و XRCC2

(NM\_005431)، و XRCC3 (NM-005432)، و RAD52 (NM\_002879)، و RAD54L

(NM\_003579)، و RAD54B (NM\_012415)، و BRCA1 (NM\_007295)، و BRCA2

(NM\_000059)، و RAD50 (NM\_005732)، و MRE11A (NM\_005590)، و NBS1

(NM\_002485). تشمل البروتينات الأخرى المشتركة في مسار إصلاح DNADSB الذي يعتمد على HR عوامل منظمة مثل :

EMSY (Hughes-Davies, et al., Cell, 115, pp523-535). تم أيضاً ذكر مكونات HR في :

Wood, et al., Science, 291, 1284-1289 (2001).

٥ قد يشتمل سرطان ما به نقص في إصلاح DNA DSB الذي يعتمد على HR على أو يتكون من خلية سرطانية واحدة أو أكثر لها قدرة منخفضة أو تم إلغاؤها على إصلاح DNA DSB من خلال ذلك المسار، بالنسبة للخلايا السليمة أي يمكن خفض فعالية مسار إصلاح DNA DSB الذي يعتمد على HR أو إبطالها في خلية سرطانية واحدة أو أكثر.

١٠ يمكن إبطال فعالية مكون واحد أو أكثر لمسار إصلاح DNA DSB الذي يعتمد على HR في خلية سرطانية واحدة أو أكثر لشخص يعاني من سرطان ما به نقص في إصلاح DNA DSB يعتمد على HR. يتم تمييز مكونات مسار إصلاح DNA DSB الذي يعتمد على HR بشكل جيد في هذا المجال (أنظر على سبيل المثال (Wood, et al., Science, 291, 1284-1289 (2001)، وتشتمل على المكونات المذكورة من قبل.

١٥ في بعض النماذج المفضلة، قد تكون الخلايا السرطانية بها نقص في النمط الظاهري BRCA1 و/أو BRCA2 أي يتم خفض أو إبطال فعالية BRCA1 و/أو BRCA2 في الخلايا السرطانية. قد تكون الخلايا السرطانية ذات هذا النمط الظاهري بها نقص في BRCA1 و/أو BRCA2، أي يمكن تقليل أو إبطال التعبير و/أو فعالية BRCA1 و/أو BRCA2 في الخلايا السرطانية على سبيل المثال بواسطة التحول أو تعدد الأشكال في ترميز الحمض النووي، أو بواسطة التكبير، والتحول أو تعدد الأشكال في جين يرمز عامل منظم، مثل جين EMSY الذي يرمز العامل المنظم لـ BRCA2 (Hughes-Davies, et al., Cell, 115, 523-535). تعتبر BRCA1 و/أو BRCA2 وسائل معروفة



لكبت الورم known tumour suppressors.

غالباً ما تكون وحدات allele البنائية من النوع البري مفقودة في أورام الحاملات اللاقحة غير المتجانسة tumours of heterozygous carriers.

Jasin M., Oncogene, 21(58), 8981-93 (2002); Tutt, et al., Trends Mol Med., 8(12), 571-6, (2002).

يتم تمييز مصاحبة تحولات BRCA1 و/أو BRCA2 مع سرطان الثدي breast cancer بشكل جيد في هذا المجال (Radice, P.J., Exp Clin Cancer Res., 21(3 Suppl), 9-12 (2002)). من المعروف أيضاً أن تكبير جين EMSY الذي يرمز عامل ربط BRCA2 يصاحب سرطان الثدي breast cancer والمبيض ovarian cancer.

تمثل أيضاً حاملات التحولات في BRCA1 و/أو BRCA2 خطراً عالياً في حدوث سرطان المبيض ovary، والبروستاتا prostate، والبنكرياس pancreas.

في بعض النماذج المفضلة، يكون الشخص عبارة عن لاقحة غير متجانسة لاختلاف واحد أو أكثر مثل التحولات متعدد الأشكال، في BRCA1 و/أو BRCA2 أو منظم لها. يعتبر الكشف عن الاختلاف في BRCA1 و/أو BRCA2 معروفاً بشكل جيد في المجال وتم ذكره على سبيل المثال في ١٥ :

EP 699 754, EP 705 903, Neuhausen, S.L. and Ostrander, E.A., Genet. Test, 1, 75-83 )

(1992); Chappnis, P.O. and Foulkes, W.D., Cancer Treat Res, 107, 29-59 (2002);

Janatova M., etal., Neoplasma, 50(4), 246-50 (2003); Jancarkova, N., Ceska Gynekol.,

(68(1), 11-6 (2003).

تم ذكر تحديد تكبير عامل ربط BRCA2 المسمى EMSY في :

(Hughes-Davies, et al., Cell, 115, 523-535). يمكن اكتشاف التحولات وتعدد الأشكال المصاحب للسرطان عند مستوى الحمض النووي باكتشاف وجود متواليات حمض نووي مختلفة أو على مستوى البروتين باكتشاف وجود بولي ببتيد polypeptide مختلف (أي طفرة أو allelic مختلف).

#### شرح مختصر للرسومات:

يوضح شكل (١) طيف NMR لمركب أ بعد المعالجة بالماء (مثال ١)؛

يوضح شكل (٢) نموذج XRD للمسحوق لمركب أ كصورة أ بعد المعالجة بالماء (مثال ١)؛

يوضح شكل (٣) نموذج XRD للمسحوق للمركب أ كصورة أ ؛

يوضح شكل (٤) نموذج XRD للمسحوق للمركب أ كصورة ذائبة؛

يوضح شكل (٥) منحنى DSC لمركب أ كصورة أ تم الحصول عليها بواسطة التسخين ما بين

٢٥ م و ٣٢٥ م بمعدل ١٠ م/ دقيقة.

#### الوصف التفصيلي :

الاستخدام: يوفر الاختراع الحالي مركب أ كصورة أ كمركب فعال وخاصة في تثبيط نشاط

.PARP ١٥

يشير المصطلح "فعال active" كما هو مستخدم في هذا الطلب إلى مركب قادر على تثبيط نشاط

.PARP. تم ذكر تجربة واحدة تستخدم بشكل مناسب لتقييم تثبيط PARP الذي يوفر المركب في

الأمثلة اللاحقة.

يوفر أيضاً الاختراع الحالي طريقة لتنشيط نشاط PARP في خلية، تشتمل على تلامس الخلية المذكورة مع كمية فعالة من المركب الفعال، ويفضل في صورة تركيبية مقبولة صيدلانياً. يمكن مزاولة تلك الطريقة معملياً أو في الكائن الحي.

٥ فعلى سبيل المثال، يمكن نمو عينة من الخلايا معملياً وأن يتلامس معها المركب الفعال، وتتم ملاحظة تأثير المركب على تلك الخلايا. كأمثلة على "التأثير"، يمكن تحديد كمية إصلاح DNA الناتجة في زمن معين. عندما يوجد أن المركب الفعال يحدث تأثيراً على الخلايا، فإن هذا قد يستخدم كدلالة تكنولوجية أو تشخيصية لفعالية المركب في طرق لعلاج مريض يحمل خلايا من نفس النوع الخلوي.

١٠ يعني المصطلح "علاج treatment" كما هو مستخدم في هذا الطلب في سياق علاج حالة، بصفة عامة إلى المعالجة وعلاج، سواء إنسان أو حيوان (على سبيل المثال في الاستخدامات البيطرية)، والتي يتم فيها الحصول على بعض التأثير العلاجي المطلوب، على سبيل المثال، تنشيط تقدم الحالة، ويشتمل على تخفيض معدل التقدم، ووقف معدل التقدم، وتخفيف الحالة، وعلاج الحالة. يشمل أيضاً هذا العلاج كإجراء وقائي.

١٥ يتعلق المصطلح "مساعد adjunct" كما هو مستخدم في هذا الطلب باستخدام المركب الفعال بالاشتراك مع وسائل علاجية معروفة. تشمل تلك الوسائل أنظمة سامة للخلايا من عقاقير و/أو أشعة مؤينة كما تستخدم في علاج أنواع مختلفة من السرطان. من المعروف بشكل خاص أن المركبات الفعالة تقوي تأثيرات عدد من العلاجات الكيميائية للسرطان، والتي تشمل فئة topoisomerase من السموم (مثل topotecan, irinotecan, rubitecan)، ومعظم عوامل الألكلة alkylating agents المعروفة (مثل DTIC، temozolamide) وعقاقير أساسها البلاتين (مثل carboplatin, cisplatin) المستخدمة في علاج السرطان cancer treatment. ٢٠

يمكن أيضاً استخدام المركب الفعال كإضافات لمزرعة الخلايا لتنشيط PARP، على سبيل المثال، لكي تستثار حساسية الخلايا لعوامل علاجية كيميائية أو علاجات بالأشعة المؤنبة في المعمل.

يمكن أيضاً استخدام المركب الفعال كجزء من تجربة معملية، على سبيل المثال، لكي يتم تحديد ما إذا كان العائل المرشح يحتمل أنه يستفيد من العلاج بواسطة المركب قيد البحث.

#### ٥ الإعطاء:

يمكن إعطاء المركب الفعال أو التركيبة الصيدلانية التي تشتمل على المركب الفعال إلى الخاضع بأي مسار مناسب للإعطاء سواءً جهازياً / طرفياً أو عند موضع التأثير المطلوب، ويشمل على سبيل المثال لا الحصر، الفم oral (عن طريق البلع)، وموضعياً topical (ويشمل على سبيل المثال عبر الجلد transdermal، وفي الأنف intranasal، وفي العين ocular، وشدقياً buccal، وتحت اللسان sublingual)، ورئوياً (مثلاً بواسطة الاستنشاق أو العلاج بالترنيزيد باستخدام أيروسول على سبيل المثال، خلال الفم أو الأنف مثلاً)، والمستقيم rectal، والمهبل vaginal، وعن غير طريق الجهاز الهضمي، على سبيل المثال، بواسطة الحقن، ويشمل تحت الجلد subcutaneous وفي الجلد intradermal، وفي العضل intramuscular، وفي الوريد intravenous، وفي الشريان intraarterial، وفي القلب intracardiac، في الغمد intrathecal، وفي الحبل الشوكي intraspinal، وفي المحفظة intracapsular، وتحت المحفظة subcapsular، وداخل الحجاج intraorbital، وفي البريتون intraperitoneal، وفي القصبة intratracheal، وتحت البشرة subcuticular، وفي المفصل intraarticular، وتحت العنكبوتية subarachnoid، وفي القص، intrasternal وبواسطة غرس مستودع، على سبيل المثال تحت الجلد أو في العضل.

٢٠ قد يكون الخاضع ذو أنوية طبيعية، أو حيوان، أو حيوان فقاري، أو كائن ثديي، أو من القوارض (مثلاً خنزير هندي، أو هامستر، أو جرذ، أو فأر)، أو فأر (جرذ)، أو من الفصيلة الكلبية (كلب)، أو من فصيلة القطط (قط)، أو من فصيلة الجياد (حصان)، أو من الرئيسيات، أو من فصيلة

القرود (قرود أو مقلد)، أو قرد (قرد أمريكي صغير، أو رياح)، ومقلد (غوريلا، أو شمبانزي، أو إنسان غابة، أو جبون)، أو إنسان.

الصيغ:

في حين يمكن إعطاء المركب الفعال بمفرده، إلا أنه يفضل أن يتم تقديمه كتركيبية صيدلانية (مثلاً صيغة) تشتمل على المركب الفعال، كما تم تعريفه من قبل، مع مادة حاملة carrier أو مساعدة adjuvants، أو سواغ excipients، أو مادة مخففة diluent، أو مادة مالئة fillers، أو محلول منظم buffers، أو مادة مثبتة stabilisers، أو مادة حافظة preservatives، أو مادة مزلفة lubricants واحدة أو أكثر مقبولة صيدلانياً، أو مواد أخرى معروفة جيداً للماهرين في هذا المجال وكذلك اختياريًا عوامل علاجية أو وقائية أخرى.

وبذلك يوفر أيضاً الاختراع الحالي تركيبات صيدلانية، كما تم تعريفها من قبل، وطرق لصنع تركيبية صيدلانية تشتمل على خلط المركب الفعال، كما تم تعريفه من قبل، مع مادة حاملة، أو سواغ، أو محلول منظم، أو مادة مساعدة، أو مادة مثبتة واحدة أو أكثر مقبولة صيدلانياً، أو مواد أخرى، كما ذكر من هذا الطلب، بحيث يظل المركب الفعال كصورة متبلورة crystalline أ .

يعني المصطلح "مقبول صيدلانياً" كما هو مستخدم في هذا الطلب مركبات و/أو مواد و/أو تركيبات و/أو صور جرعة، داخل مجال التقدير الطبي الواضح، مناسبة للاستخدام متلامسة مع أنسجة الخاضع (مثل الإنسان) بدون سمية مفرطة، أو تهيج، أو استجابة للحساسية، أو مشاكل أو تعقيدات أخرى تتكافأ مع نسبة فائدة/ مخاطرة معقولة. يجب أن تكون أي مادة حاملة carrier، أو سواغ excipient، الخ مقبولة أيضاً بمفهوم أنها متوافقة مع المكونات الأخرى للصيغة.

توجد المواد الحاملة، والمواد المخففة، والسواغات excipients الخ المناسبة في الكتب الصيدلانية

القياسية، أنظر على سبيل المثال :

"Handbook of Pharmaceutical Additives", 2nd Edition (eds. M. Ash and I. Ash), 2001  
(Synapse Information Resources, Inc., Endicott, New York, USA), "Remington's  
Pharmaceutical Sciences", 20th edition, pub. Lippincott, Williams & Wilkins, 2000; and  
"Handbook of Pharmaceutical Excipients", 2nd edition, 1994.

٥ يمكن تقديم الصيغ بشكل مناسب في صورة وحدة جرعة ويمكن تحضيرها بواسطة أي طريقة معروفة بشكل جيد في الصيدلة. تشمل تلك الطرق خطوة إتحاد المركب الفعال مع المادة الحاملة التي تكون مكوناً إضافياً واحداً أو أكثر. يتم تحضير الصيغ بصفة عامة بواسطة إتحاد المركب الفعال بانتظام وحميمية مع مواد حاملة سائل وتنعيم المواد الحاملة الصلبة أو كل منهما، وبعد ذلك تشكيل المنتج إذا دعت الضرورة.

١٠ قد تكون الصيغ في صورة معلقات suspensions ، أو أقراص tablets ، أو حبيبات granules ، أو مساحيق powders ، أو كبسولات capsules ، أو قرصات cachets ، أو برشام pills ، أو معاجين pastes .

يمكن تقديم صيغ مناسبة للإعطاء بالفم (مثلاً بواسطة البلع) كوحدات منفصلة مثل الكبسولات أو القرصات أو الأقراص، ويحتوي كل منها على كمية محددة من المركب الفعال، كمسحوق أو حبيبات، أو كمعلق في سائل مائي أو لا مائي، أو كمعجون. ١٥

يمكن صنع قرص ما بواسطة وسيلة تقليدية، مثل الكبس أو القولية، اختياريًا مع مكون إضافي واحد أو أكثر. يمكن تحضير الأقراص المكبوسة بواسطة الكبس في آلة مناسبة للمركب الفعال في صورة حرة التدفق مثل مسحوق أو حبيبات، وخالطه اختياريًا مع مادة رابطة واحدة أو أكثر (مثل povidone ، أو gelatin ، أو صمغ السنط، أو sorbitol ، أو صمغ الكثيراء tragacanth ، أو lactose ، أو مواد مالئة fillers أو مواد مخففة diluents (مثل hydroxypropylmethyl cellulose) ، ٢٠

مثل lubricants)؛ أو مواد مزلقة (microcrystalline cellulose, calcium hydrogen phosphate) (مثل sodium starch)؛ أو مواد مفتتة (magnesium stearate, talc, silica) (مثل glycolate, cross-linked povidone, cross-linked sodium carboxymethyl cellulose)، وعوامل منشطة سطحية أو مشتتة أو مبللة (مثل sodium lauryl sulfate)، أو مواد حافظة (preservatives) (مثل methyl p-hydroxybenzoate, propyl p-hydroxybenzoate, sorbic acid). يمكن صنع أقراص مقولية بواسطة القولية في آلة مناسبة لخليط من مسحوق المركب مرتباً بواسطة مادة مخففة diluent سائلة خاملة. يمكن اختيارياً تغليف الأقراص أو تخزينها ويمكن صياغتها بحيث توفر انبعاثاً بطيئاً أو مقنناً للمركب الفعال منها باستخدام، على سبيل المثال، hydroxypropylmethyl cellulose بنسب مختلفة لتوفير منحني الانبعاث المطلوب. يمكن اختيارياً تزويد الأقراص بغلاف لا يذوب في المعدة لتوفير انبعاث في أجزاء من الأمعاء بدلاً من المعدة.

يمكن أن تشتمل الكبسولة على المركب الفعال في معلق.

يكن صياغة الصيغ المناسبة للإعطاء الموضعي (مثلاً عبر الجلد transdermal ، وفي الأنف intranasal ، وفي العين ocular ، أو شديقياً buccal ، وتحت اللسان sublingual) كمعجون paste. تشمل أيضاً الصيغ المناسبة للإعطاء الموضعي في العين قطرات العين حتى يتم تعليق المركب الفعال في مادة حاملة carrier مناسبة، وخاصة مذيب مائي للمركب الفعال.

تشمل الصيغ المناسبة للإعطاء في الأنف، حيث تكون المادة الحاملة عبارة عن مادة صلبة، مسحوق خشن له حجم جسيمات، على سبيل المثال، يتراوح بين ٢٠ و ٥٠٠ ميكرون تقريباً ويتم إعطاؤها بإسلوب يتم فيه أخذ شمة بواسطة الاستنشاق السريع خلال الممر الأنفي من حاوية للمسحوق يتم الإمساك بها بالقرب من الأنف.

تشمل أيضاً الصيغ المناسبة للإعطاء بالاستنشاق تلك التي تقدم بالرش كايروسولات من عبوة ذات ضغط مرتفع، بواسطة استخدام مادة دافعة مناسبة، مثل :

dichlorodifluoromethane, trichlorofluoromethane, dichoro-tetrafluoroethane, carbon dioxide.

أو غازات مناسبة أخرى.

الجرعة:

سوف يقدر أن الجرعات المناسبة من المركب الفعال، والتركيبات المشتملة عليه، يمكن أن تختلف من مريض لآخر. سوف يشتمل تحديد أنسب جرعة بصفة عامة على الموازنة بين مستوى الفائدة العلاجية مقابل أي مخاطرة أو آثار جانبية ضارة لعلاجات الاختراع الحالي.

سوف يعتمد مستوى الجرعة المختارة على مجموعة متنوعة من العوامل، تشمل على سبيل المثال لا الحصر، فعالية المركب المعين، ومسار الإعطاء، وزمن الإعطاء، معدل إفراز المركب، ومدة العلاج، وعقاقير و/أو مركبات و/أو مواد أخرى تستخدم بالاشتراك معه، وعمر وجنس ووزن وحالة المريض، الصحة العامة، والتاريخ الطبي السابق للمريض.

سوف تترك كمية المركب ومسار الإعطاء إلى أقصى درجة لتقدير الطبيب، على الرغم من أن الجرعة بصفة عامة يجب أن تحقق تركيبات موضعية عند موضع التأثير تحدث التأثير المطلوب بدوران تسبب بشكل رئيسي تأثيرات جانبية ضارة أو مؤذية.

يمكن إحداث الإعطاء في الكائن الحي بجرعة واحدة متصلة أو متقطعة (مثلاً في جرعات مقسمة على فترات مناسبة) خلال مسار العلاج. تعتبر طرق تحديد الوسيلة والجرعة الأكثر فعالية عند الإعطاء معروفة جيداً للماهرين في هذا المجال وسوف تختلف مع الصيغة المستخدمة للعلاج، والهدف من العلاج، والخلايا المستهدفة الجاري علاجها، والخاضع الجاري علاجه. يمكن إجراء إعطاء واحد أو متعدد باستخدام مستوى جرعة ونموذج يتم اختياره بواسطة الطبيب المعالج.

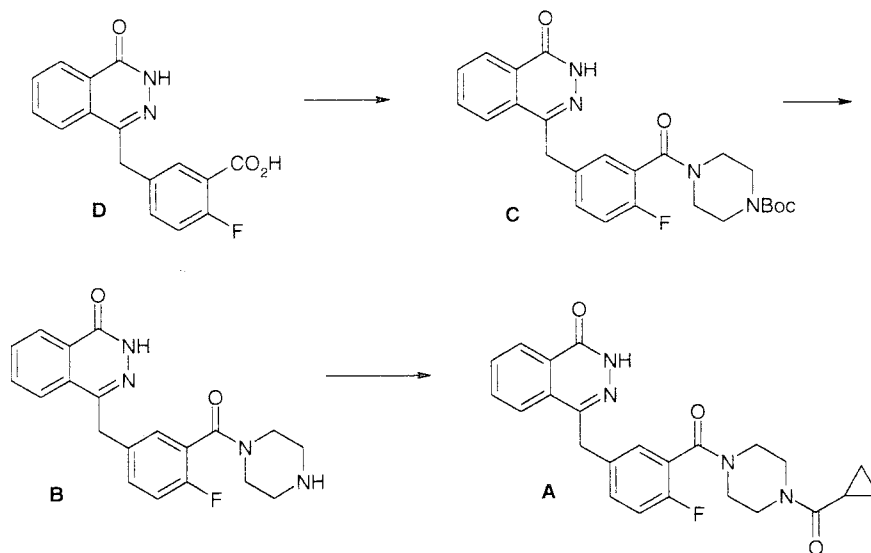
تتراوح بصفة عامة الجرعة المناسبة من المركب الفعال بين ١٠ مجم و ٦٠٠ مجم تقريباً لكل م<sup>٢</sup> من

مساحة وزن الخاضع في اليوم.



الأمثلة:

مثال (١): تخليق المركب أ



تم تخليق المادة البادئة (D) بواسطة الطريقة المذكورة في : ٢٠٠/٠٨٠٩٧٦

الطرق ٥

HPLC التحضيرية

تمت تنقية العينات باستخدام نظام Waters للتقية المتعلق بالكتلة باستخدام مضخة Waters 600 LC، وعمود Waters Xterra C18 (٥ ميكرومتر، ٥٠ مم × ٤,٦ مم).

ومقياس طيف الكتلة Micromas ZQ، والتشغيل عند وضع الأيون الموجب للتأين برش الإلكترونات. ١٠

تم استخدام الأطوار المتحركة A (٠,١ % formic acid في ماء) و B (٠,١ % formic acid في acetonitrile بتدرج ٥ % B إلى ١٠٠ % على مدى ٧ دقائق والاستمرار لمدة ٣ دقائق، بمعدل تدفق

٢٠ مل/ دقيقة.

#### HPLC-MS التحضيرية

تم إجراء HPLC تحضير باستخدام مضخة Spectra system P4000 وعمود Jones Genesis (٤) ميكرومتر، ٥٠ مم × ٤,٦ مم). تم استخدام الأطوار المتحركة A (٠,١% formic acid في ماء و B (acetonitrile) بتدرج من ٥% B لمدة ١ دقيقة يرتفع إلى ٩٨% B بعد ٥ دقائق، والاستمرار لمدة ٣ دقائق عند معدل تدفق ٢ مل/ دقيقة. تم الكشف بواسطة كشاف Tspuv 6000 LP عند ٢٥٤ نانومتر UV ومدى ٢١٠-٦٠٠ نانومتر PDA. كان مقياس طيف الكتلة عبارة عن FinniganLCQ يعمل عند وضع الأيون الموجب للرش بالإلكترونات.

#### NMR

تم تسجيل طيف <sup>1</sup>H NMR باستخدام مقياس الطيف Bruker DPX300 عند ٣٠٠ ميغاهرتز. تم تسجيل الإزاحات الكيميائية بالجزء في المليون (ppm) على مقياس δ بالنسبة للعيار الداخلي تتراميثيل سيلان. ما لم يذكر خلاف ذلك تم إذابة جميع العينات في DMSO-D<sub>6</sub>.

(أ) :

4-[2-Fluoro-5-(4-oxo-3,4-dihydro-phthalazin-1-ylmethyl)-benzoyl]-piperazine-1-

carboxylic acid tert-butyl ester (C)

إلى محلول يجري تقيييه من (٨٥٠ جم) من المادة البادئة D في (٣٥٦١ مل) dimethylacetamide عند درجة حرارة الغرفة تحت جو من nitrogen تمت إضافة (١٤٠٢ جم) HBTU (2-(1H- benzotriazol-1-yl)-1,1,3,3-tetramethyluronium hexafluorophosphate) دفعة واحدة. تمت بعد ذلك إضافة (١٠٩٦ مل، iPr<sub>2</sub>Net) قاعدة Hünig's base مع إبقاء درجة الحرارة ما بين ١٥ م و

٢٥ م، ثم إضافة محلول من (٦٣٧ جم) 1-Boc-piperazine في (١٤٢٨ مل) DMA مع إبقاء درجة الحرارة ما بين ١٥ م و ٢٥ م.

تم تقليب المحلول عند درجة حرارة الغرفة لمدة ساعتين وتم أخذ عينة منه لتحديد إنتهاء التفاعل (HPLC). بعد الانتهاء تمت إضافة المحلول إلى (١٧٠٨٥ مل) ماء يقلب بشدة مع إبقاء درجة الحرارة بين ١٥ م و ٢٥ م وفصل المادة الصلبة بالترشيح، وغسلها بواسطة (٢ × ٧١٣١ مل) ماء، و (٢ × ٧١٣١ مل) hexane و (٢ × ٣٥٦١ مل) methyl tert-butyl ether (MTBE). بعد ذلك تم تجفيف المادة الصلبة طوال الليل وتم أخذ عينة منها لتحديد محتوى الماء ونقاؤها الكيميائي.

بعد ذلك تم تكرار التفاعل، أنظر الجدول:

النتيجة المصحح	محتوى الماء (K.F.)	النقاء (% مساحة HPLC)	النتيجة (جم)	الدفعة
١٠٣٢,٥ جم (٧٨%)	٢٤,٣٠	٨٦,٨٠	١٥٧١,٣	١
١٤١١,٥ (١٠٦%)	٤٠,٣٠	٨٥,٠٠	٢٧٨١,٦	٢

١٠ (أ) يعزى الناتج الأكبر من ١٠٠% إلى أخذ عينة غير ممثلة

(ب) 4-[4-Fluoro-3-(piperazine-1-carbonyl)-benzyl]-2H-phthalazin-1-one (B)

إلى محلول يجري تقليه من (٢٢٠٠ مل) methylated spirits صناعية و (٤٤٠٠ مل) HCl مركز تمت إضافة (٢٧٨٠,٢ جم) من المركب C على دفعات عند درجة حرارة الغرفة تحت nitrogen، تم التحكم في تكون الرغوة بواسطة معدل الإضافة وبعد ذلك تم تقليب المحلول عند ١٥ م إلى ٢٥ م لمدة ٣٠ دقيقة وتم أخذ عينة لتحديد إنتهاء التفاعل (HPLC). بعد الانتهاء تم تبخير المحلول لإزالة أي IMS وتم استخلاص الطبقة المائية بواسطة (٢ × ٣٥٠٠ مل) CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> قبل ضبط الرقم

الهيدروجيني pH ليكون  $< 8$  باستخدام ammonia مركزة. بعد ذلك تم تجفيف الملائج الناتج بواسطة (١٠٠٠٠ مل) ماء واستخلاصه بواسطة (٤ × ٣٥٠٠ مل)  $CH_2Cl_2$ ، وغسله بواسطة (٢ × ٢٠٠٠ مل) ماء، وتجفيفه بواسطة (٢٥٠ جم)  $MgSO_4$  وتبخيره. بعد ذلك تم عمل ملاط من المنتج الخام في (٣٥٠٠ مل)  $CH_2Cl_2$  وإضافته إلى (٥٠٠٠ مل) MTBE. تم ترشيح المعلق الناتج وتجفيفه عند ٥٠ م° طوال الليل ليعطي ٦١١,٠ جم (ناتج ٥٨,٥%) من المادة بنقاء ٩٤,١٢%.

(ج) :

4-[3-(4-Cyclopropanecarbonyl-piperazine-1-carbonyl)-4-fluoro-benzyl]-2H-phthalazin-

I-one (A)

١٠ إلى معلق يجري تقلبيه من (١٢٩٠ جم) مركب B في (١٥٤٨٠ مل)  $CH_2Cl_2$  تحت nitrogen تم إضافة محلول سبق خلطه من (٤٧٠ مل) triethylamine و (٣٠٦ مل) cyclopropane carbonyl chloride في (١٢٩٠ مل)  $CH_2Cl_2$  قطرة قطرة مع إبقاء درجة الحرارة أقل من ٢٠ م°. بعد ذلك تم تقليب المحلول عند ١٠-١٥ م° لمدة ١٥ دقيقة وتم أخذ عينة لتحديد انتهاء التفاعل. وجد أن خليط التفاعل يحتوي فقط على ١,١٨% من المادة البادئة B ولذلك تم اعتبار أن التفاعل قد انتهى وبعد ذلك تمت معالجة الدفعة.

١٥ تم غسل خليط التفاعل بواسطة (٧٥٩٥ مل) ماء و (٧٥٩٥ مل) محلول ٥% citric acid و (٧٥٩٥ مل) محلول ٥% sodium carbonate و (٧٥٩٥ مل) ماء. بعد ذلك تم تجفيف الطبقة العضوية بواسطة (٥٠٠ جم) magnesium sulfate.

٢٠ بعد ذلك تم عزل طبقة  $CH_2Cl_2$  المحتوي على المنتج، وترشيحها خلال سلايت وتعبئتها في وعاء سعة ٢٥ لتر. بعد ذلك تم فصل (٨٤٤٥ مل)  $CH_2Cl_2$  بالتقطير عند ضغط جوي وتمت إضافة

(٨٠٠٠ مل) ethanol. استمر التقطير بعد ذلك وتم استبدال كل ٤٠٠٠ مل من المقطرات المزالة بواسطة (٤٠٠٠ مل) ethanol حتى وصلت درجة حرارة الرأس إلى ٧٣,٧ م. تم تقليل حجم خليط التفاعل إلى ٧٧٣٠ مل وعند ذلك الوقت وصلت درجة حرارة الرأس إلى ٧٨,٩ م وترك المحلول ليبرد إلى ٨ م طوال الليل. تم بعد ذلك فصل المادة الصلبة بالترشيح، وغسلها بواسطة (١٢٩٠ مل) ethanol وتجفيفها عند ٧٠ م طوال الليل. ٥

الناتج = ١٣٧٧,٣ جم (٩٠٪). نقاء HPLC (٩٩,٣٤٪ [مساحة]). ويحتوي على ٤,٩٣٪ ethanol و ٠,٤٥٪  $CH_2Cl_2$  بواسطة كروماتوجراف الغاز (GC).

(د) المعالجة المائية للمركب أ

تم تسخين معلق من (١٣٧٧,٠ جم) من المركب أ ، المنتج بواسطة طريقة مثال (١)، في (١٣٧٧,٠ مل) ماء عند درجة حرارة التكثيف الإرجاعي لمدة ٤ ساعات، وتبريده إلى درجة حرارة، الغرفة وترشيحه. تم غسل المادة الصلبة بواسطة (٢٧٥٤ مل) ماء وتجفيفها عند ٧٠ م طوال الليل. ١٠

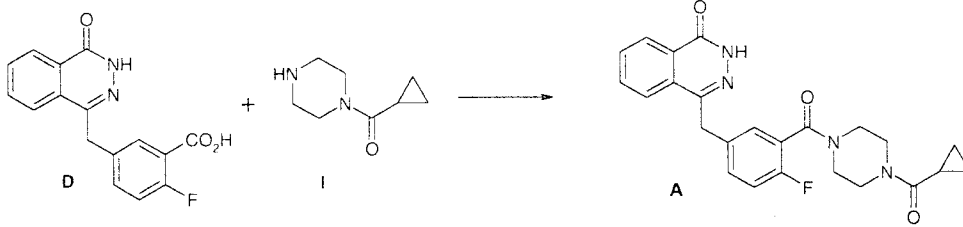
الناتج = ١٢٧٤,٨ جم (٩٢,٦٪). نقاء HPLC (٩٩,٤٩٪ [مساحة]). يحتوي على ٠,٠١٪ ethanol و ٠,٠١٪  $CH_2Cl_2$  بواسطة GC.

١٥ تم توضيح طيف  $^1H$  NMR للمركب A (DMSO-d<sub>6</sub>) بعد المعالجة المائية في شكل (١).

تم توضيح نموذج XRD للمسحوق للمركب أ بعد المعالجة المائية في شكل (٢) والذي يوضح المركب كصورة أ .

مثال (٢)

تخليق بديل لمركب أ باستخدام 1-(cyclopropylcarbonyl) piperazine.



الطرق (أيضاً بالنسبة للأمتلة ٣ و ٤)

NMR

٥ تم تسجيل طيف  $^1\text{H-NMR}$  باستخدام مقياس الطيف BrukerDPX400 عند ٤٠٠ ميغاهرتز. تم تسجيل الإزاحات الكيميائية بالجزء في المليون (ppm) على المقياس  $\delta$  بالنسبة للعيار الداخلي تترا ميثيل سيلان. ما لم يذكر خلاف ذلك، تمت إذابة كل العينات في  $\text{DMSO-d}_6$ .

طيف الكتلة:

١٠ تم تسجيل طيف الكتلة على مقياس طيف كتلة مزود بمصيدة أيونات AgilentXCT باستخدام قياس طيف كتلة ترادفي (MS/MS) لتأكيد الصيغة البنائية. تم تشغيل الجهاز على وضع أيون موجب لرش الإلكترونات.

(أ):

4-[3-(4-Cyclopropanecarbonyl-piperazine-1-carbonyl)-4-fluoro-benzyl]-2H-phthalazin-

1-one.

١٥ (مركب أ)

تم عمل معلق من (١٥,٢٣ جم، ٥١,٠٧ ملي مول) :

(D) 4-[4-fluoro-3-(piperazine-1-carbonyl)-benzyl]-2H-phthalazin-1-one مع التقليب تحت nitrogen في (٩٦ مل) acetonitrile. تمت إضافة ١٩,٦ مل، ١١٢,٣ ملي مول) 1-cyclopropylcarbonylpiperazine ثم (٩,٤٥ جم، ٦١,٢٨ ملي مول) diisopropylethylamine و (١ مل) acetonitrile.

٥ تم تبريد خليط التفاعل إلى ١٨ م. تمت إضافة (٢٥,١٨ جم، ٦٦,٣٩ ملي مول) O-Benzotriazol-1-yl-tetramethyluronium hexafluorophosphate على مدى ٣٠ دقيقة. وتم تقليب خليط التفاعل لمدة ساعتين عند درجة حرارة الغرفة.

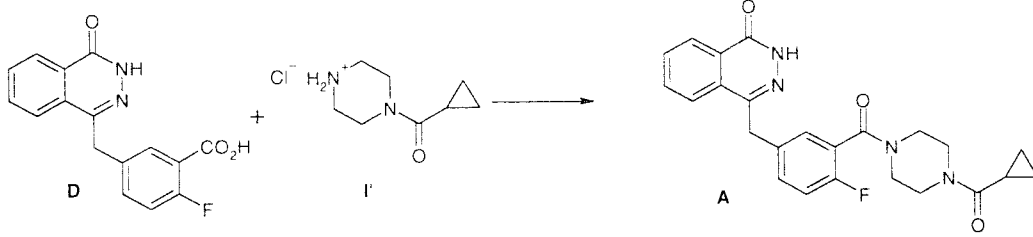
تم تبريد خليط التفاعل عند ٣ م وتم إبقاؤه عند درجة الحرارة هذه لمدة ١ ساعة قبل ترشيحه. تم غسل عجينة المرشح بواسطة (٢٠ مل) acetonitrile عند ٣ م قبل تجفيفها تحت التفريغ عند حتى ٤٠ م لتعطي (٢٠,٢١ جم) من المركب المذكور كمادة صلبة صفراء باهتة. ١٠

طيف الكتلة: MH+ 435

<sup>1</sup>H NMR (400MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ: 0.70 (m, 4H), 1.88 (br s, 1H), 3.20 (br s, 2H), 3.56 (m, 6H), 4.31 (s, 2H), 7.17 (t, 1H), 7.34 (dd, 1H), 7.41 (m, 1H), 7.77 (dt, 1H), 7.83 (dt, 1H), 7.92 (d, 1H), 8.25 (dd, 1H), 12.53 (s, 1H).

١٥ مثال (٣): طريقة بديلة لتخليق المركب أ باستخدام ملح :

1-(cyclopropylcarbonyl) piperazine HCl



(أ) ملح (1-(Cyclopropylcarbonyl)piperazine HCl salt (I'))

تمت معالجة (٧٠٠ مل) acetic acid بواسطة (٥٠,٠٠٠ جم، ٠,٥٨١ ملي مول) piperazine على دفعات على مدى ١٥ دقيقة مع التقليب تحت nitrogen. تمت تدفئة خليط التفاعل إلى ٤٠ م وتم إبقاؤه عند درجة الحرارة هذه حتى الحصول على محلول نهائي. تمت إضافة (٥٩,٢ مل، ٠,٦٣٨ ملي مول) cyclopropane carbonyl chloride على مدى ١٥ دقيقة. تم تقليب خليط التفاعل عند درجة حرارة الغرفة طوال الليل. تم ترشيح خليط التفاعل وتم تقطير الرشيح تحت ضغط منخفض حتى تم تجميع حوالي ٤٣٠ مل من المقطرات. تمت إضافة (٥٥٠ مل) toluene إلى خليط التفاعل واستمر التقطير تحت ضغط منخفض حتى تم تجميع ٣٥٠ مل من المقطرات. تم تخفيف الملائم الناتج بواسطة (٢٠٠ مل) toluene ونقله طوال الليل. تم إضافة (٥٠٠ مل) toluene لتخفيف الملائم. تم ترشيح الملائم وغسله بواسطة (١٠٠ مل) toluene وتجفيفه تحت التفريغ عند ٤٠ م ليعطي (٨٦,٧٨ جم) من المركب المذكور كمادة صلبة بيضاء.

طيف الكتلة: MH + 155

<sup>1</sup>H NMR (400MHz, D<sub>2</sub>O) δ: 0.92 (m, 4H), 1.98 (m, 1H), 3.29 (m, 2H), 3.38 (m, 2H), 3.84 (m, 2H), 4.08 (m, 2H).

(ب) المركب أ

تم عمل معلق من (٠,٩٥ جم، ٣,١٩ ملي مول) :



2-Fluoro-5-[(4-oxo-3,4-dihydrophthalazin-1-yl)methyl]benzoic acid مع التقليب تحت nitrogen. في (٤ مل) acetonitrile. تمت إضافة (١,٤٥ جم) (٣,٣ ملي مول) :

ثم 2-(1H-benzotriazol-1-yl)-1,1,3,3-tetramethyluronium hexafluorophosphate (HBTU) (٠,٧٣ جم، ٣,٨٣ ملي مول) ملح (I') 1-cyclopropylcarbonylpiperazine HCl salt. تمت إضافة (١,٣٩ مل، ٧,٩٨ ملي مول) diisopropylethylamine على مدى ٣ دقائق وتم تقليب خليط التفاعل طوال الليل عند درجة حرارة الغرفة. تم تبريد خليط التفاعل إلى ٥° م وتم إبقاؤه عندها لمدة ساعة قبل ترشيحه.

تم غسل عجينة المرشح بواسطة (٢ مل) acetonitrile عند ٣° م قبل تجفيفها عند حتى ٤٠° م لتعطي (٠,٩٣ جم) من المركب المذكور كمادة صلبة لونها أصفر باهت.

١٠ (ج) إعادة بلورة مركب أ من methanol مائي

تم عمل معلق من (٩,٤٠ جم، ٢١,٦٤ ملي مول) مركب أ من الخطوة (ب) في خليط من (١٠٠ مل) ماء و(١٢٠ مل) methanol. تم تسخين المعلق عند الإرجاع مع التقليب. بعد ذلك تم تبريد المحلول الضبابي إلى ٦٠° م وترشيحه خلال طبقة من harborlite. تم غسل طبقة المرشح بواسطة خليط من (٥ مل) ماء و(٥ مل) methanol. تم تقطير الرشيح عند ضغط جوي حتى تم تجميع ١١٥ مل من المقطرات. تم وقف التقطير بعد ذلك وترك المعلق الناتج ليبرد إلى درجة حرارة الغرفة. تم تقليب المعلق الناتج حوالي ١٨ ساعة قبل ترشيحه. تم غسل عجينة المرشح بواسطة (٢٠ مل) ماء قبل تجفيفها تحت التفريغ عند حتى ٦٠° م لتعطي (٨,٦٧ جم) من المركب المذكور في الصورة أ كمادة صلبة بيضاء.

طيف الكتلة: MH + 435.

٢٠ <sup>1</sup>H NMR (400MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ: 0.70 (m, 4H), 1.88 (br s, 1H), 3.20 (br s, 2H), 3.56

(m, 6H), 4.31 (s, 2H), 7.17 (t, 1H), 7.34 (dd, 1H), 7.41 (m, 1H), 7.77 (dt, 1H), 7.83 (dt, 1H), 7.92 (d, 1H), 8.25 (dd, 1H), 12.53 (s, 1H).

(د) إعادة بلورة المركب أ من methanol مائي

تم عمل معلق من (٩,٤٠ جم، ٢١,٦٤ ملي مول) مركب أ من الخطوة (ب) في خليط من (١٠٠ مل) ماء و (١٢٠ مل) methanol. تم تسخين المعلق عند الإرجاع مع التقليب. بعد ذلك تم تبريد المحلول الضبابي إلى ٦٠ م وترشيحه خلال طبقة من harborlite. تم غسل طبقة المرشح بواسطة خليط من (٥ مل) ماء و (٥ مل) methanol.

تم تقطير الرشيح عند ضغط جوي حتى تم تجميع ١١٥ مل من المقطرات. تم وقف التقطير بعد ذلك وترك المعلق الناتج ليبرد إلى درجة حرارة الغرفة.

تم تقليب المعلق الناتج حوالي ١٨ ساعة قبل ترشيحه. تم غسل عجينة المرشح بواسطة (٢٠ مل) ماء قبل تجفيفها تحت التفريغ عند ٦٠ م لتعطي (٨,٧٤) من المركب المذكور في الصورة أ كمادة صلبة بيضاء.

طيف الكتلة: MH + 435

<sup>1</sup>H NMR (400MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ: 0.70 (m, 4H), 1.88 (br s, 1H), 3.20 (br s, 2H), 3.56

(m, 6H), 4.31 (s, 2H), 7.17 (t, 1H), 7.34 (dd, 1H), 7.41 (m, 1H), 7.77 (dt, 1H), 7.83 (dt,

1H), 7.92 (d, 1H), 8.25 (dd, 1H), 12.53 (s, 1H).

مثال (٤): تخليق بديل للمركب D

2-Fluoro-5-[(E/Z)-(3-oxo-2-benzofuran-1(3H)-ylidene)methyl]benzotrile (E) (أ)

تم تبريد (٩٩,٠٠ جم، ٠,٨٥٤ مول) sodium t-amylate و(٩٦٠ مل) :

2-Methyltetrahydrofuran إلى ٢ م تحت جو من nitrogen. تمت إضافة (١١٠ مل، ٠,٨٥٥ مول) Diethyl phosphite قطرة قطرة مع إبقاء درجة الحرارة عند  $> 5^{\circ}\text{C}$ . تمت إضافة (٤٠ مل) 2-Methyltetrahydrofuran لغسيل الخط. تم تقليب خليط التفاعل عند ٢ م لمدة ١ ساعة و ٤٠ دقيقة. تمت إضافة محلول من (٨٠ جم، ٠,٥٣٣ مول) 2-carboxybenzaldehyde (H) في (٢٠٠ مل) 2-methyltetrahydrofuran، مع إبقاء درجة الحرارة عند  $> 7^{\circ}\text{C}$  خلال الإضافة. تمت إضافة (٤٠ مل) 2-methyltetrahydrofuran لغسل الخط. تمت تدفئة خليط التفاعل إلى ٢٠ م وتم إبقاؤه عندها لمدة ٢٠ دقيقة. تمت إضافة (٦٦ مل، ١,٠١ مول) methanesulphonic acid على مدى ١ ساعة و ١٠ دقائق، ثم (٤٠ مل) 2-methyltetrahydrofuran. تم تقليب خليط التفاعل عند ٢٠ م طوال الليل. تمت إضافة (٧ مل، ٠,١٠١ مول) methanesulphonic acid ثم (٧ مل) 2-methyltetrahydrofuran وتم تقليب خليط التفاعل عند ٢٠ م لمدة ٤ ساعات أخرى. تمت إضافة (٤٠٠ مل) ماء عند درجة حرارة الغرفة وتقليب الخليط ثنائي الأطوار عند درجة حرارة الغرفة لمدة ٢٠ دقيقة. تمت إزالة الطبقة المائية السفلية وتمت إضافة محلول من [٥٣,٥٠ جم، ٠,٥٣٤ مول) potassium bicarbonate في (٤٠٠ مل) ماء إلى الطبقة العضوية. تم احتجاز القطعة العضوية (تمت إضافة محلول) :

diethyl (3-oxo-1,3-dihydro-2-benzofuran-1-yl)phosphonate تمت إضافة (٦٤ جم، ٠,٤٢٩ مول) 2-Fluoro-5-formylbenzotrile إلى القطعة العضوية وتم تقليب الخليط عند ٢٠ م. تمت إضافة (٦٦ مل، ٠,٤٧٣ مول) triethylamine قطرة قطرة ثم (٧ مل) :

2-methyltetrahydrofuran. تم تقليب خليط التفاعل عند ٢٠ م طوال الليل، وتبريده بعد ذلك إلى

٥ م، وترشيحه وغسله بواسطة (٤٨٠ مل) methylated spirit صناعية وتجفيفه بعد ذلك تحت التفريغ عند حتى ٤٠ م ليعطي (٩١,٢ جم) من المركب المذكور.

طيف الكتلة: MH + 266

1H NMR (400MHz, DMSO-d6)  $\delta$ : 6.89 (s, 1H, major isomer), 6.94 (s, 1H, minor isomer), 7.40 (dd, 1H, minor isomer), 7.58 (t, 1H, both isomers), 7.70 (t, 1H, both isomers), 7.89 (t, 1H, both isomers), 7.95 (d, 1H, both isomers), 8.05 (d, 1H, both isomers), 8.15 (m, 2H, major isomer).

(ب) 2-Fluoro-5-[(4-oxo-3,4-dihydrophthalazin-1-yl)methyl]benzotrile (ED)

تم تقليب (٢٠ جم، ٧٥,٤٠ ملي مول) :

2-Fluoro-5-[(E/Z)-(3-oxo-2-benzofuran-1(3H)-ylidene)methyl]benzotrile (E)

١٥ و(٢٠٠ مل) tetrahydrofuran عند درجة حرارة الغرفة تحت جو من nitrogen لمدة ٣٠ دقيقة. تمت إضافة (٤,٤٠ مل، ٩٠,٥٣ ملي مول) hydrazine monohydrate، وتم غسل الخط بواسطة (٤ مل) tetrahydrofuran. تم تقليب خليط التفاعل عند درجة حرارة الغرفة لمدة ساعة و٤٥ دقيقة. تمت إضافة (١,١٠ مل، ١٩,٢٠ ملي مول) acetic acid وتمت تدفئة خليط التفاعل إلى ٦٠ م. تم إبقاء خليط التفاعل عند ٦٠ م طوال الليل. تم تبريد خليط التفاعل إلى ٥٠ م وتمت إضافة (٢٠٠ مل، ماء قطرة قطرة. تم إبقاء درجة الحرارة عند ٤٥ م خلال الإضافة. تم تبريد خليط التفاعل إلى ٢٠ م، وترشيحه وغسله بخليط من (٣٠ مل) ماء و(٣٠ مل) tetrahydrofuran، وبعد ذلك تجفيفه تحت التفريغ عند حتى ٤٠ م ليعطي (١٨,٧ جم) من المركب المذكور.

٢٠ طيف الكتلة: MH + 280

<sup>1</sup>H NMR (400MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ: 4.38 (s, 2H), 7.46 (t, 1H), 7.72 (m, 1H), 7.85 (dt, 1H), 7.92 (m, 2H), 7.99 (d, 1H), 8.27 (dd, 1H), 12.57 (s, 1H).

4-[4-fluoro-3-(piperazine-1-carbonyl)-benzyl]-2H-phthalazin-1-one (D) (ج)

تم تقليب (٩,٦٠ جم، ٣٤,٣٧ ملي مول) :

٥ 4-[4-fluoro-3-(piperazine-1-carbonyl)-benzyl]-2H-phthalazin-1-one (ED) و (٤٠ مل) ماء عند ٢٠ م. تمت إضافة (٣٦ مل، ٧٢,٠٠ ملي مول) محلول ٢ مولار من sodium hydroxide، وتمت تدفئة خليط التفاعل إلى ٩٠ م وتم إبقاؤه عندها طوال الليل. تم تبريد خليط التفاعل إلى درجة حرارة الغرفة وترشيحه. تم غسل طبقة المرشح بواسطة (١٠ مل) ماء وتمت إضافة الرشيح المجمع إلى (٥٦ مل، ١١٢,٠٠ ملي مول) محلول ٢ مولار HCl عند ٦٠ م على مدى ٤٠ دقيقة. ١٠ تم تبريد المعلق الناتج إلى ٥٠ م وترشيحه، وغسله بواسطة (٥٧ مل) وتجفيفه تحت التفريغ عند حتى ٦٠ م ليعطي (٩,٧٢ جم) من مادة صلبة بيضاء.

طيف الكتلة: MH + 299

<sup>1</sup>H NMR (400MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ: 4.36 (s, 2H), 7.24 (dd, 1H), 7.59 (m, 1H), 7.84 (dt, 2H), 7.90 (dt, 1H), 7.98 (d, 1H), 8.27 (dd, 1H), 12.59 (s, 1H), 13.22 (br s, 1H).

١٥ مثال (٥): إعادة بلورة المركب أ من ethanol مائي

تم عمل معلق من :

(٢٠,٠٠ جم، ٤٤,٦٦ ملي مول) :

4-(3-{[4-(cyclopropylcarbonyl)piperazin-1-yl]carbonyl}-4-fluorobenzyl)phthalazin-

1(2H)-one.

(مركب أ) في خليط من (٥٠ مل) ماء و(١٥٠ مل) ethanol. تم تسخين المعلق عند الإرجاع مع التقليب. بعد ذلك تم تبريد المحلول الناتج إلى ٧٠° م وترشيحه. تم غسل طبقة المرشح بواسطة خليط (٨ مل) ماء و(٢٢ مل) ethanol.

٥ تم تبريد الرشيح إلى (٤٥° م) مع التقليب. تمت إضافة (٠,٠٨ جم) :

4-(3-{[4-(cyclopropylcarbonyl)piperazin-1-yl]carbonyl}-4-fluorobenzyl)phthalazin-

1(2H)-one.

(مركب أ) في الصورة أ لزراعة أنوية تبلور في الخليط. تم تبريد المعلق الناتج إلى ٢٠° م على مدى ٢,٥ ساعة وتم تقليبه عند درجة الحرارة هذه لمدة ١٦ ساعة أخرى لكي تحدث البلورة. تمت إضافة (٢٠٠ مل) ماء على مدى ٥ ساعات مع إبقاء درجة حرارة الغرفة عند ٢٠° م. عند نهاية إضافة المعلق تم إبقاؤه عند ٢٠° م لمدة ساعتين.

تم ترشيح المعلق وغسل عجينة المرشح بواسطة (٢٤ مل) ethanol و(٥٦ مل) ماء. تم تفريغ المادة الصلبة المعزولة وتجفيفها تحت التفريغ عند ٤٠-٦٠° م، لتعطي (١٨,١ جم) من المركب المذكور (الصورة أ) كمادة صلبة بيضاء مصفرة.

١٥ طرق الحصول على الأشكال (٣-٥)

XRD للمسحوق - شكل (٣) (مركب أ كصورة أ)

تم تسجيل حيود أشعة X للمسحوق بواسطة مقياس الحيود Bruker D5000 (الطول الموجي لأشعة X ١,٥٤١٨ Å من مصدر Cu، الجهد ٤٠ كيلو فولت، انبعاث الفنتيل ٤٠ ملي أمبير). تم مسح العينات عند ٢ ثيتا من ٢-٤٠° باستخدام عرض خطوة ٠,٢°، وزمن عدة ٤ ثانية.

XRD للمسحوق - شكل (٤) (مركب أ كصورة ذوايية)

تم تسجيل حيود أشعة X للمسحوق لعائلة ذوايية باستخدام مقياس الحيود XRG-3000 الطول الموجي لأشعة X ١,٥٤١٨ Å لمصدر Cu، الجهد ٤٠ كيلو فولت، انبعاث الفتيل ٣٠ ملي أمبير)، مزود بكشاف حساس منحنى الوضع (مدى ٢ نيتا ١٢٠ م). تم مسح العينات عند ٥٢ بين ٥-٢٠ م باستخدام عرض خطوة ٠,٠٣ م مع إجمالي زمن تجميع ٣٠٠ ثانية.

المسح الحراري التفاضلي (DSC) - شكل (٥)

تم تسجيل DSC باستخدام Mettler DSC820E مزود بنظام آلي TSO80IRO. يتم عادة تسخين أقل من ٥ مجم من المادة المحتواه في كفه من aluminium سعة ٤٠ ميكرو لتر ذات غطاء منقوب فيما بين ٢٥ م و ٣٢٥ م بمعدل تسخين ثابت ١٠ م/ دقيقة. تم استخدام غاز nitrogen في التنظيف بمعدل تدفق ١٠٠ مل/ دقيقة.

مثال (٦)

التأثير التثبيطي

لكي يتم تقييم التأثير التثبيطي للمركب الفعال، تم استخدام التجربة التالية لتحديد قيمة IC<sub>50</sub>. تمت حضانة PARP ثديي، معزول من خلاصة نووية لخلايا Hela مع محلول منظم Z (٢٥ ملي مولار HEPES من Sigma، ١٢,٥ ملي مولار MgCl من Sigma، و ٥٠ ملي مولار KCl من Sigma، و ١٠٪ Glycerol من Sigma، و ٠,٠٠١٪ NP-40 من Sigma؛ رقم هيدروجيني pH ٧,٤) في أطباق Flash Plates ذات ٩٦ عين (علامة تجارية) (NEN,UK) وتمت إضافة تركيزات متغيرة من المثبطات المذكورة. تم تخفيف جميع المركبات في DMSO فأعطت تركيزات نهائية للتجربة تراوحت بين ١٠ و ٠,٠١ ميكرومولار، وكان DMSO عند تركيز نهائي ١٪ في العين. كان

إجمالي حجم التجربة في العين ٤٠ ميكرو لتر بعد الحضانة لمدة ١٠ دقائق عند ٣٠ م تم بدء التفاعلات بإضافة ١٠ ميكرو لتر من خليط التفاعل، يحتوي على ٥ ميكرومولار NAD، و-<sup>3</sup>H-NAD، و ٣٠ مير DNA-oligos مزدوج الجديدة. تمت معالجة عيون التفاعل الموجبة والسالبة بالاشتراك مع عيون المركب (عينات مجهولة) لكي يتم حساب الفعاليات لإنزيم. بعد ذلك تم رج الأطباق لمدة دقيقتين وحضانتها عند ٣٠ م لمدة ٤٥ دقيقة. ٥

بعد الحضانة، تم إخماد التفاعلات بإضافة ٥٠ ميكرو لتر ٣٠٪ acetic acid في كل عين. بعد ذلك تم رج الأطباق لمدة ساعة عند درجة حرارة الغرفة.

تم نقل الأطباق إلى عداد TopCount NXT (علامة تجارية) (Packard, UK) للعد الوميضي. تم عد القيم المسجلة كعدوات/دقيقة (cpm) بعد كل عين لمدة ٣٠ عين.

بعد ذلك تم حساب % لفعالية الإنزيم باستخدام المعادلة التالية: ١٥

$$\% \text{ للتثبيط} = 100 - \left[ \frac{\text{cpm للعينات المجهولة} - \text{متوسط cpm السالبة}}{\text{متوسط cpm الموجبة} - \text{متوسط cpm السالبة}} \times 100 \right]$$

تم حساب قيم IC<sub>50</sub> (التركيز الذي يتم عنده تثبيط ٥٠٪ من فعالية الإنزيم)، والتي تم تحديدها عبر مدى من التركيزات المختلفة، عادة من ١٠ ميكرومولار إلى ٠,٠٠١ ميكرومولار. تم استخدام قيم IC<sub>50</sub> تلك كقيم مقارنة لتحديد فعاليات المركب المتزايدة.

كان للمركب أ قيمة IC<sub>50</sub> مقدارها حوالي ٥ نانومولار. ١٥

معامل التقوية

تم حساب معامل التقوية (PF<sub>50</sub>) للمركب الفعال كنسبة من IC<sub>50</sub> لنمو خلايا المقارنة مقسومة على IC<sub>50</sub> لنمو الخلايا + مثبط PARP. كانت منحنيات تثبيط النمو لكل من خلايا المقارنة والخلايا



المعالجة cells treated بالمركب في وجود عامل الألكلة alkylating agent :

methy methanesulfonate (MMS). تم استخدام المركب المختبر عند تركيز ثابت مقداره ٠,٢ ميكرومولار. تراوحت تراكيزات MMS بين صفر و ١٠ ميكروجرام/مل.

تم تقييم نمو الخلايا باستخدام تجربة sulforhodamine

Skehan,P., et al., (1990) New colorimetric cytotoxicity assay for anticancer-(SRB)B ٥

(drug screening. J. Natl. Cancer Inst. 82, 1107-1112

تم زرع ٢٠٠٠ خلية Hela في كل عين من طبق عيار دقيق مسطح القاع ذي ٩٦ عين بحجم ١٠٠ ميكرو لتر والحضانة لمدة ٦ ساعات عند ٣٧ م. تم استبدال الخلايا بواسطة وسط بمفرده أو بواسطة وسط يحتوي على مثبط PARP بتركيز نهائي ٠,٥ أو ١ أو ٥ ميكرومولار. تركت الخلايا لتنمو لمدة ساعة أخرى مثل إضافة MMS بتركيزات تتراوح عادة بين صفر، و ١، و ٢، و ٣، و ٥، و ٧، و ١٠ ميكروجرام/مل إلى الخلايا غير المعالجة أو الخلايا المعالجة cells treated بمثبط PARP. تم استخدام الخلايا المعالجة cells treated بمثبط PARP لتقييم تثبيط النمو بواسطة مثبط PARP.

تركت الخلايا لمدة ١٦ ساعة أخرى قبل استبدال الوسط وتركت الخلايا لتنمو لمدة ٧٢ دقيقة أخرى عند ٣٧ م. بعد ذلك تمت إزالة الوسط وتم تثبيت الخلايا بواسطة ١٠٠ ميكرو لتر من ١٠٪ trichloroacetic acid (وزن/ حجم). تمت حضانة الأطباق عند ٤ م لمدة ٢٠ دقيقة وتم غسلها بعد ذلك ٤ مرات بالماء.

بعد ذلك تم صبغ كل عين من الخلايا بواسطة ١٠٠ ميكرو لتر من ٤٪ (وزن/حجم) SRB في ١٪ acetic acid لمدة ٢٠ دقيقة قبل غسلها ٤ مرات بواسطة ١٪ acetic acid بعد ذلك تم تجفيف الأطباق لمدة ساعتين عند درجة حرارة الغرفة. تمت إذابة الصيغة من الخلايا المصبوغة بإضافة ١٠٠ ميكرو لتر من ١٠ ملي مولار قاعدة Tris إلى كل عين. تم رج الأطباق بلطف وتركت عند درجة حرارة الغرفة لمدة ٣٠ دقيقة مثل قياس الكثافة الضوئية عند ٥٦٤ نانومتر على قارئ أطباق ٥ عياري دقيق Microquant.

كان للمركب أ معامل  $PF_{50}$  عند ٢٠٠ نانومتر مقداره ٢٠ على الأقل.

عناصر الحماية

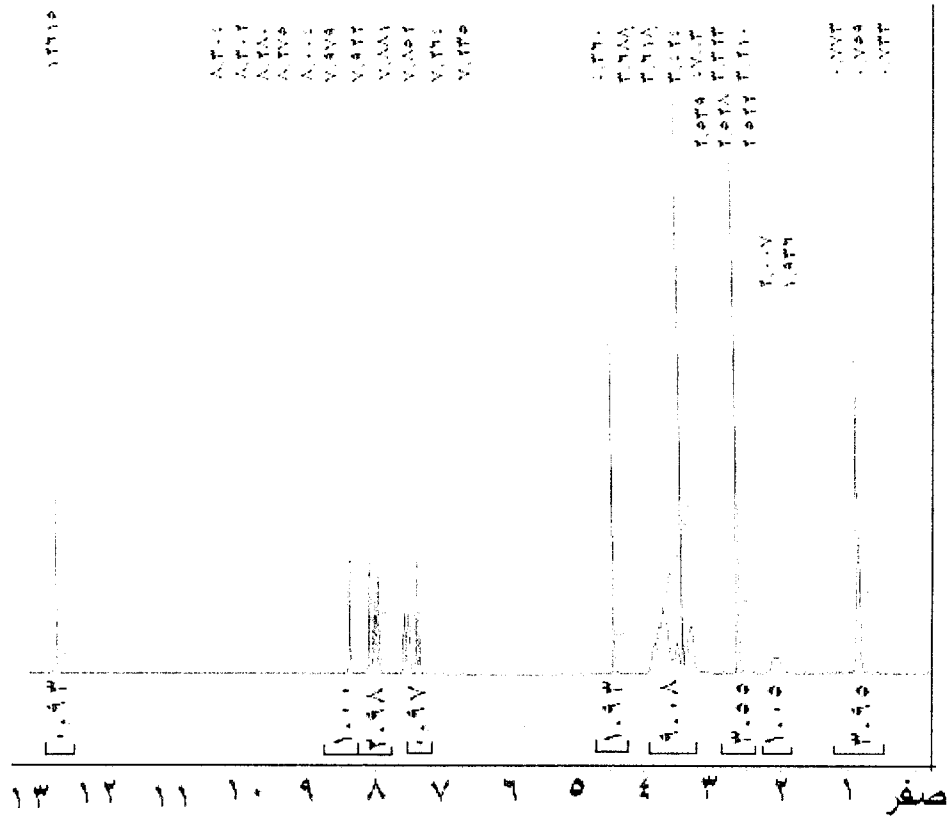
- ١ - المركب : ١
- ٢ 4-[3-(4-cyclopropanecarbonyl-piperazine-1-carbonyl)-4-fluoro-benzyl]-2H-
- ٣ phthalazin-1-one.
- ٤ على هيئة صورة بلورية ذات القمم المميزة التالية في نمط حيود اشعة اكس في المسحوق

القيمة	$\lambda = 1,0418 \text{ \AA}$ $2\theta (\pm 1^\circ)$
١	١٢,٠
٢	١٧,٨
٣	٢١,١
٤	٢٢,٣
٥	٢٩,٢

- ١ ٢ - المركب كما هو معرف في عنصر ١ ، له القمم المميزة التالية في نمط حيود اشعة اكس
- ٢ في المسحوق :

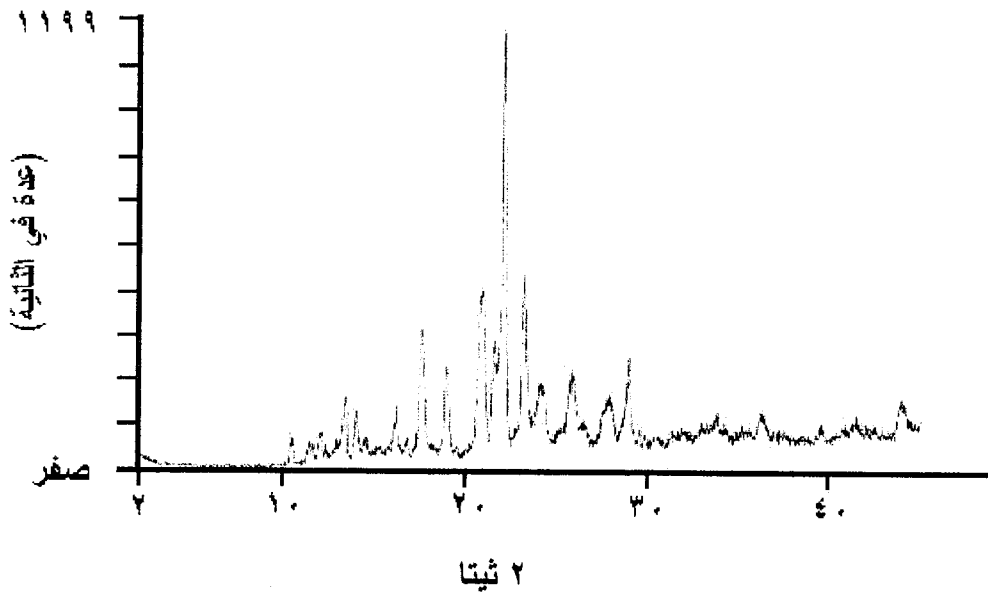
القيمة	$\lambda = 1,0418 \text{ \AA}$ $2\theta (\pm 1^\circ)$
٦	١٠,٥
٧	١٤,٠
٨	٢١,٧
٩	٢٤,٣
١٠	٢٦,١

- ١ ٣ - المركب وفقا لعنصر ١ ، حيث يبدأ المركب في الذوبان عند درجة حرارة ٢١٠,١ درجة
- ٢ مئوية + ١ درجة مئوية عند التسخين في درجة حرارة من ٢٥ درجة مئوية الى ٣٢٥ درجة
- ٣ مئوية بمعدل ١٠ درجة مئوية كل دقيقة في قياس السرعات الحرارية التفاضلي.
- ١ ٤ - طريقة لتخليق :
- ٢ 4-[3-(4-cyclopropanecarbonyl-piperazine-1-carbonyl)-4-fluoro-benzyl]-2H-
- ٣ phthalazin-1-one.
- ٤ من :
- ٥ 2-fluoro-5-(4-oxo-3,4-dihydro-phthalazin-1-ylmethyl)-benzoic acid
- ٦ متضمن تفاعل :
- ٧ 2-fluoro-5-(4-oxo-3,4-dihydro-phthalazin-1-ylmethyl)-benzoic acid
- ٨ مع 1-(cyclopropylcarbonyl)piperazine او ملح حمض معدني منه في وجود عامل تقارن
- ٩ اميد وقاعدة لتشكيل :
- ١٠ 4-[3-(4-cyclopropanecarbonyl-piperazine-1-carbonyl)-4-fluoro-benzyl]-2H-p-
- ١١ hthalazin-1-one.

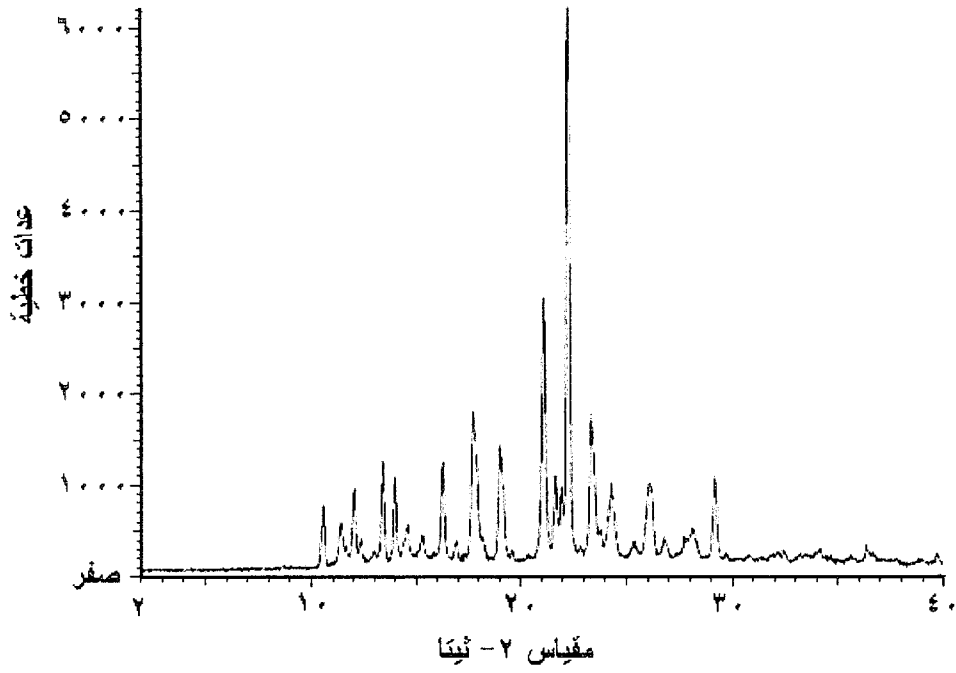


الإزاحة الكيميائية (جزء في المليون) الشدة

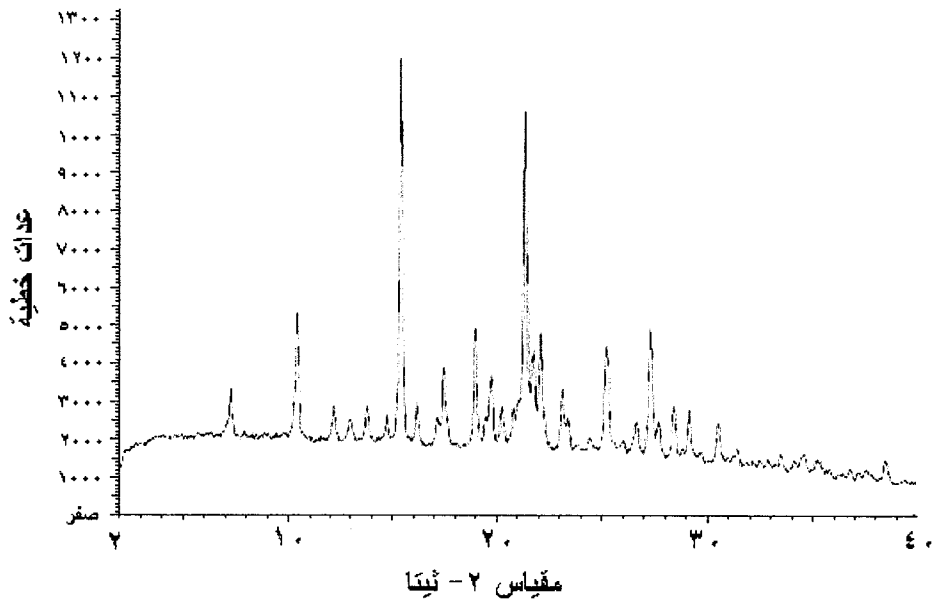
شكل ١



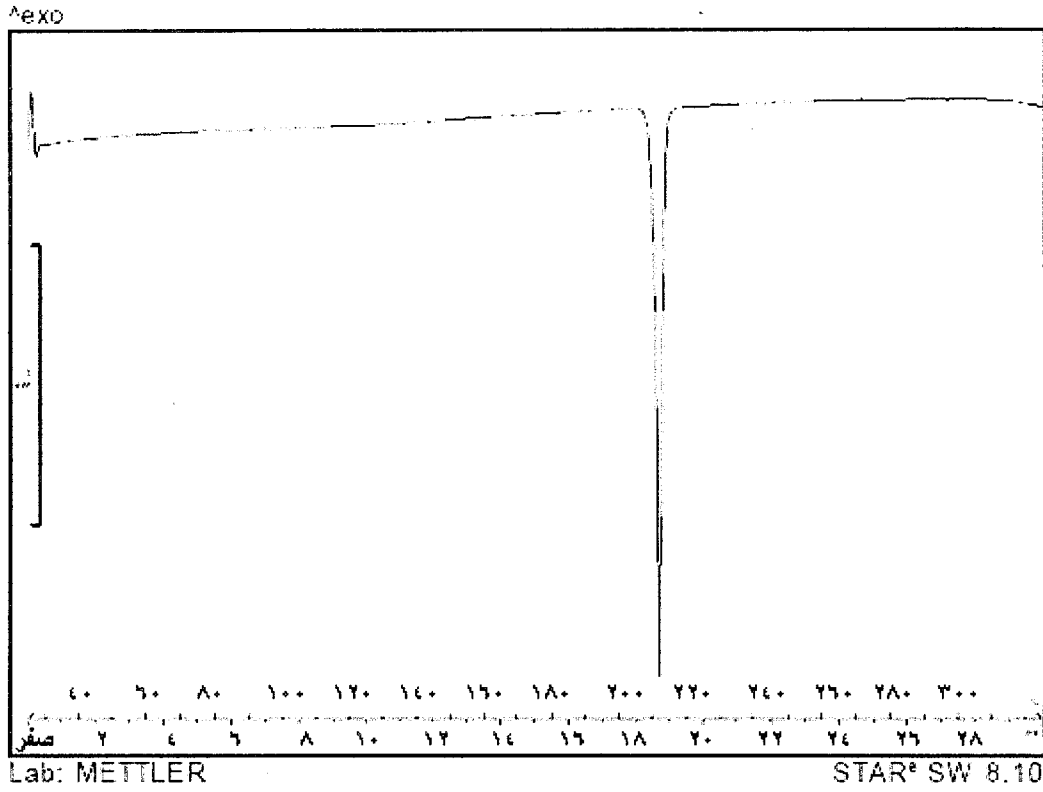
شكل ٢



شكل (٣)



شكل (٤)



شكل (٥)