ROYAUME DU MAROC

OFFICE MAROCAIN DE LA PROPRIETE INDUSTRIELLE ET COMMERCIALE
---

(19)

المملكة المغربية

المكتب المغربي للملكية الصناعية و التجارية
---

(12) FASCICULE DE BREVET

(11) N° de publication :
MA 32081 B1

(43) Date de publication :
01.02.2011

(51) Cl. internationale :
C07D 239/94; A61K 31/517; A61P 35/00

(21) N° Dépôt :
33089

(22) Date de Dépôt :
13.08.2010

(86) Données relatives à l'entrée en phase nationale selon le PCT :
PCT/IN2008/000036 18.01.2008

(71) Demandeur(s) :
NATCO PHARMA LIMITED, NATCO HOUSE ROAD NO.2, BANJARA HILLS HYDERABAD 500 033 ANDHRA PRADESH (IN)

(72) Inventeur(s) :
JYOTHI PRASAD, Ramanadham ; ADIBHATLA KALI SATYA, Bhujanga, Rao ; NAGESHWARA RAO, Bollepalli ; VENKAIAH CHOWDARY, Nannapaneni

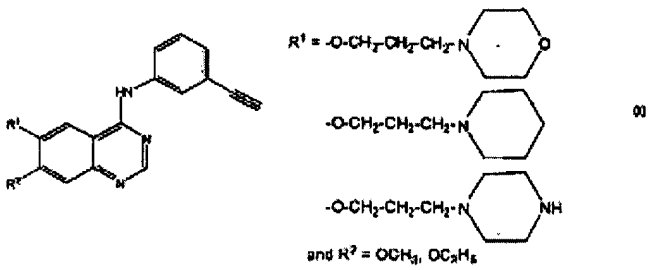
(74) Mandataire :
ABU-GHAZALEH INTELLECTUAL PROPERTY (TMP AGENTS)

(54) Titre : **DÉRIVÉS DE 6,7-DIALCOXYQUINAZOLINE UTILES POUR TRAITER DES TROUBLES APPARENTÉS AU CANCER**

(57) Abrégé : Compte tenu du potentiel important offert par la classe de composés formés par les quinazolines, la synthèse et le criblage d'un grand nombre de nouvelles entités chimiques à nouvelles caractéristiques structurales a été entreprise. De façon surprenante et inattendue, il a été prouvé que les quinazolines ayant un groupe 3- éthynylanilino en position 4 et des groupes alcoxy substitués de façon spécifique dans les positions 6 et 7 confèrent propriétés antiprolifératives très améliorées et spéciales par rapport à d'autres éléments importants de la classe de médicaments formée par les quinazolines. Egalement, de façon surprenante, les composés de cette invention sont bien moins toxiques et le profil d'innocuité est extrêmement avantageux pour les applications thérapeutiques. Les nouvelles entités chimiques décrites dans cette invention sont représentées par la structure générale (I) et n'ont jamais été synthétisées ou étudiées pour leurs avantages thérapeutiques et leur profil d'innocuité. Le composé (I) est le NRC-2694, de structure (A).

(مشتقات 6، 7- داي ألكوكسي كينازولين مفيدة لعلاج اضطرابات متعلقة بالسرطان)

الملخـــــــص



(I)

(A)

يتعلق الاختراع الحالي بمشتقات 6، 7- داي ألكوكسي كينازولين. نظراً للامكانيات الكبير التي توفرها فئة مركبات الكينازولين، بدأنا تخليق وفحص عدد كبير من كيانات كيميائية جديدة بسمات بنائية جديدة. لقد تم بصورة مدهشة وغير متوقعة اكتشاف أن مركبات كينازولين بها مجموعة 3- إيثينيل أنيلينو في الموضع الرابع وبالتحديد مجموعات ألكوكسي بها استبدال في المواضع 6 و7، تضفي خصائص مضادة لتكاثر الخلايا معززة جداً وخاصة عند مقارنتها مع أعضاء بارزة أخرى من فئة عقاقير الكينازولين. أيضاً، بصورة مدهشة تكون مركبات هذا الاختراع أقل سمية جداً ويكون شكل الامان مفيدا جداً للتطبيقات العلاجية. يتم تعيين الكيانات الكيميائية الجديدة بواسطة الصيغة البنائية العامة (I) و لم يتم تخليقها من قبل ولا فحصها لمعرفة فوائدها العلاجية وشكل الأمان. يكون المركب (I) عبارة عن NRC-2694، عند الصيغة البنائية (A).

N° 33089
du 13.08.2010
01 FEV 2011

(مشتقات 6، 7- داي ألكوكسي كينازولين مفيدة لعلاج اضطرابات متعلقة بالسرطان)

الوصف الكامل

المجال التقني:

يتعلق الاختراع الحالي بمشتقات 6، 7- ألكوكسي كينازولين، أو أملاحها المقبولة صيدلانياً، والتي تمتلك نشاط مضاد للسرطان ومفيدة بذلك في طرق العلاج في البشر. يتعلق الاختراع أيضاً بعمليات لتصنيع مشتقات الكينازولين المذكورة، وتركيبات صيدلانية محتوية عليها.

الخلفية التقنية

تستخدم معظم أنظمة الماضي العلاجية لأمراض تكاثر الخلايا مثل الصدفية والسرطان مركبات تثبط تخليق DNA. تعتبر مركبات مثل هذه سامة للخلايا ويمكن أن يتم اشتقاق آثارها المفيدة فقط عندما تظهر انتقائية لانقسام خلايا الورم بسرعة.

في السنوات الحالية تم اكتشاف أنه قد تصبح خلية سرطانية بمقتضى التحول لجزء من الـــ DNA الخاص بها إلى مكون ورم، أي، جين والذي، يؤدي عند التنشيط، إلى تكوين خلايا ورم خبيث (Bradshas, Mutagenesis, 1986, 1: 91). ترمز مكونات ورم عديدة إنزيمات تيروسين كيناز و تكون مستقبلات عامل نمو معينة أيضاً عبارة عن إنزيمات تيروسين كيناز (Larsen et al., Ann. Reports in Med. Chem. 1989, Chapt, 13).

تعتبر إنزيمات تيروسين كيناز للمستقبل هامة في نقل إشارات حيوية كيميائية والتي تبدأ انتساخ خلايا. إنها تمتلك مجال ربط خلوي زائد لعوامل نمو مثل عامل نمو بشروي وجزء داخل الخلية والذي يعمل ككيناز لفسفرة أحماض التيروسين الأمينية في البروتينات وبذلك

التأثير على تكاثر خلايا. من المعروف أيضاً أن إنزيمات كيناز تكون موجودة كثيراً في حالات سرطان بشرية شائعة مثل سرطان الثدي (Saimbury et al., Brit, J. Cancer, 1988, 58: 458)، وحالات سرطان معدية معوية مثل سرطانات القولون والمستقيم والمعدة (Bolen et al., Oncogene Res., 1987, 1: 149). وتم اكتشاف أن نشاط تيروسين كيناز (نشاط TK) ممكن الاكتشاف بصورة متكررة أكثر في خلايا الورم الخبيثة عنها في خلايا طبيعية (Hunter, Cell, 1987, 50: 823).

حديثاً جداً، تم بيان أن مستقبل عامل النمو البشروي (EGFR) والذي يمتلك نشاط TK، يكون مفرط التعبير في الكثير من حالات السرطان البشرية مثل المخ والرئة والخلية الحرشفية والمثانة والمعدة والثدي والرأس والرقبة والمريء والغدة الدرقية وما شابه ذلك. (W.J. Gullick, Brit, Med. Bull. 1991; 47: 87). يشتمل مستقبل عامل النمو البشروي (EGFR)، عضو في عائلة تيروسين كيناز المستقبل (RTK)، على أربعة مستقبلات Erb1/HER1 وErb/HER2 وErb/HER3 وErb/HER4.

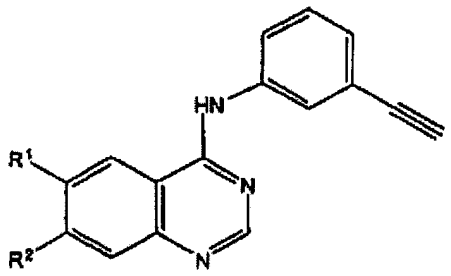
تمثلت استراتيجية هامة لتثبيط نشاط EGFR-TK في استغلال جزيئات تخليقية صغيرة (Arteaga CL, Exp. Cell Res., 2003, 284: 122- 130). لقد تم بصورة شاملة فحص مشتقات كينازولين معينة مثل جيفيتينيب (Iressa™, Astra Zeneca)، إرلوتينيب (OSI-774, Tarceva™)، PD-183805، PKI-166، EKB-569، PD-168393، CGP-59362، لخيارات معالجة ممكنة لصور سرطان عديدة (Baselga et al., Oncology 2002, 63: 6- 16, Cohen RB., Clin. Colorectal Cancer, 2003, 2: 246-251). تكشف طلبات البراءة الأوروبية وتحديداً EP 0566226، EP0602851A1، EP 0635507A1، EP 0635498A1، EO 0520722A1، عن مشتقات كينازولين معينة تمتلك خصائص مضادة للسرطان كنتيجة لخاصيتها التثبيطية لـ TK.

تتعامل البراءات الأمريكية US 5475001، US 5457105، US 5616582، US 5770599، US 5747498، US 6900221 الخ مع مشتقات كينازولين بسمات بنائية مثل شق أنيلينو به استبدال في الموضع 4 وتشكيلة متنوعة من مجموعات ألكيل موظفة في المواضع 6 و7 لأنوية الكينازولين.

بالتحديد تتعامل US 5457105، US 5616582 مع N- (3- كلورو- 4- فلورو فينيل)- 7- ميثوكسي- 6- [3- (4- مورفولينيل) بروبوكسي]- 4- كينازولين أمين (جيفيتينيب) وتتعامل US 5747498 وUS 6900221 مع N- (3- إيثينيل فينيل)- 6، 7- بس (2- ميثوكسي إيثوكسي)- 4- كينازولين أمين (إرلوتينيب). تتعامل الطلبات الدولية WO 2005/070909 وWO 2007/060691 A_2 وWO 06/090413 مع تغيرات في تخليق أو الصور عديدة التبلر لهذين العقارين المعروفين المضادين للسرطان.

الكشف عن الاختراع

نظراً للامكانيات الكبيرة التي توفرها فئة مركبات الكينازولين، بدأنا تخليق وفحص عدد كبير من كيانات كيميائية جديدة بسمات بنائية جديدة. لقد تم بصورة مدهشة وغير متوقعة اكتشاف أن مركبات كينازولين بمجموعة 3- إيثينيل أنيلينو في الموضع 4 وبالتحديد مجموعات ألكوكسي بها استبدال في المواضع 6 و7، تضفي خصائص مضادة لتكاثر الخلايا معززة جداً وخاصة عند مقارنتها مع أعضاء بارزة أخرى في فئة عقاقير الكينازولين. أيضاً، بصورة مدهشة تكون مركبات هذا الاختراع أقل سمية جداً ويكون شكل الامان مفيد جداً للتطبيقات العلاجية. يتم تعيين الكيانات الكيميائية الجديدة بواسطة الصيغة البنائية العامة (I) و لم يتم تخليقها من قبل ولا فحصها لمعرفة فوائدها العلاجية وشكل الأمان.



(I)

R^1 = -O-CH_2-CH_2-CH_2- N O

-O-CH_2-CH_2-CH_2- N

-O-CH_2-CH_2-CH_2- N NH

and R^2 = OCH_3, OC_2H_5

Compound (I) is NRC-2694, when R^1 = -O-CH_2-CH_2-CH_2- N O and R^2 = OCH_3

يكون ملح HCl أحادي من NRC-2694 عبارة عن NRC-2694 A. يكون ملح HCl ثنائي من NRC-2694 عبارة عن NRC-2694 B. للمركبات الجديدة لهذا الاختراع بصفة خاصة NRC-2694 خصائص فائقة مضادة للسرطان/مضادة لتكاثر الخلايا غير متوقعة وتقدم فوائد علاجية إضافية بالمقارنة مع عقاقير شهيرة لهذه الفئة كما هو مفصل فيما يلي:

(1) **تركيز تثبيطي أقل:** يبين التركيز التثبيطي (IC_{50}) في طريقة تقييم تكاثر MTT قيمة في المدى 40- 90 نانو جرام/مل (100- 200 نانو متر) بينما يكون لـــ HCl إرلوتينيب قيمة تبلغ 836 نانو جرام/مل (1945 نانو متر). تم تأكيد نفس الشيء بواسطة تحليل بقعة ويستيرن وتجربة غزو ماتريجل.

(2) **تراجع كامل للورم:** تمت ملاحظة تراجع كامل للورم بواسطة إعطاء فئران عارية مطعمة بخلايا ورم رئة بشري A549 عن طريق الفم، المركبات بجرعة 10 مجم/كجم. في الدراسة المقارنة، حتى بجرعة 100 مجم/كجم، لم يمكن أن يحدث HCl إرلوتينيب تراجع كامل للورم. أكد فحص نظري لنسيج رئة للفئران مطعم بـــ A549 وتجارب تعبير ليوسيفيراز نفس الملاحظات.

(3) **فعالية العقار:** أظهر تقييم جرعة فعالة قيمة (ED_{50}) تبلغ 6.3 مجم/كجم لمركب نمطي من هذا الاختراع بمعنى، NRC-2694 بينما كانت القيمة المتحصل عليها مع HCl إرلوتينيب هي 22 مجم/كجم.

لقد تمت ملاحظة تأثير شفائي 100% مع NRC-2694 مقابل 50- 60% فقط في حالة HCl إرلوتينيب.

(4) **مؤشرات فريدة إضافية:** أظهرت مركبات هذا الاختراع، بصورة نمطية NRC-2694، مؤشرات إضافية مثل خفض مستويات تعبير مستقبلات ErbB2 وErbB3 وErbB4 وVEGFR بصورة متحكم فيها. تعتبر هذه النتيجة الخاصة والبارزة جداً والمدهشة غير متوقعة كلياً و لم تتم رؤيتها مطلقاً مع HCl إرلوتينيب.

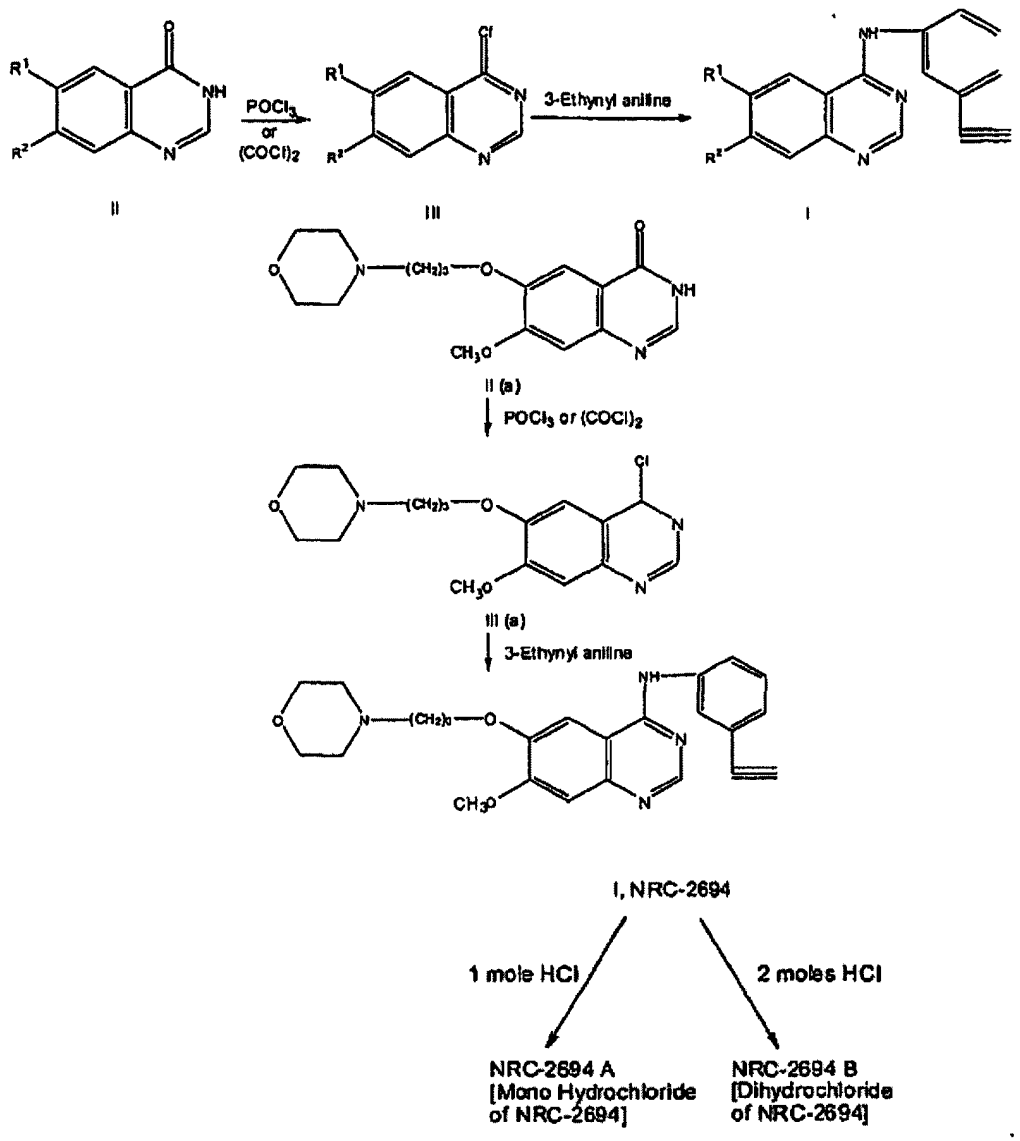
(5) **جانب الأمان:** يكون جانب الأمان لمركبات هذا الاختراع، بصورة نمطية NRC-2694، واعد تماماً وواسع بصورة غير متوقعة ومفيد جداً. بذلك، أظهر NRC-2694 جرعة متحملة قصوى (MTD) تبلغ 500 مجم/كجم مقابل 2000 مجم/كجم لـــ HCl إرلوتينيب.

تم توضيح النافذة العلاجية الواسعة المقدمة بواسطة NRC-2694 بواسطة القيمة LD_D التي تبلغ 2000 مجم/كجم مقابل 500 مجم/كجم لـــ HCl إرلوتينيب. لا يمكن أن يتم

تحديد القيمة LD50 لـــ NRC-2694، بينما تم تحديد قيمة 805 مجم/كجم لـــ HCl إرلوتينيب.

يتم إعطاء الأمثلة التالية بغرض توضيح عملية لتحضير مركبات الاختراع الحالي وفعاليتها الحيوية الفائقة ولذلك لا يجب اعتبارها تحديداً لمجال وفحوى الاختراع.

(المخطط-1)



المخطط 1

مثال رقم 1

تحضير N- (3- إيثيلنيل فينيل)- 7- ميثوكسي- 6- [3- (4- مورفولينيل) بروبوكسي]- 4- كينازولين أمين (I، NRC-2694)

(1) تحضير 4- كلورو- 6- [3- (4- مورفولينيل) بروبوكسي- 4- كينازولين (IIIa)

إلى دورق سعة 5 لتر مستدير القاع بأربعة فوهات نظيف ومجفف ومجهز بمقلب ميكانيكي، ومكثف ارتجاع، وقمع إضافة لمعادلة الضغط، وتجويف ترمومتر، تمت تعبئة (3000 مل) كلوروفورم، و(30 مل) داي ميثيل فورماميد متبوعاً بواسطة (150 جرام) 7- ميثوكسي- 6- (3- مورفولينو بروبوكسي)- 3، 4- داي هيدرو- كينازولين- 4- أون (IIa)، تم الحصول عليه طبقاً للعملية المعطاة في المثال رقم 1 من الطلب الدولي PCT المنشور باسم WO 2005/070909A1. تمت ببطء إضافة (120 جرام) كلوريد أوكساليل وتم تسخين كتلة التفاعل إلى درجة حرارة الارتجاع والحفاظ عليها عند درجة حرارة الارتجاع لمدة حوالي 5 ساعات. تم الكشف عن إكتمال التفاعل بواسطة اختبار HPLC. تم فصل الكلوروفورم المذيب وكلوريد أوكساليل الزيادة بالتقطير بواسطة تطبيق تفريغ معتدل. تم تبريد كتلة التفاعل إلى حوالي 40°م وإضافة (300 مل) كلوروفورم وفصل المذيب مرة ثانية بالتقطير بواسطة تطبيق تفريغ معتدل. تم تبريد خليط التفاعل إلى درجة حرارة الغرفة وتمت إضافة (3000مل) أسيتو نيتريل وتقليبه لمدة 10- 15 دقيقة والحفاظ عليه في جو من النيتروجين لاستخدامه في الخطوة التالية.

(2) تحضير N- (3- إيثيلنيل فينيل)- 7- ميثوكسي- 6- [3- (4- مورفولينيل) بروبوكسي]- 4- كينازولين أمين (I، NRC-2694)

إلى دورق سعة 5 لتر مستدير القاع بأربعة فوهات مجهز بمقلب ميكانيكي، ومكثف ارتجاع،

وتجويف ترمومتر محتوي على مركب الكلورو في أسيتو نيتريل من الخطوة (1) السابقة؛ تمت إضافة (69 جرام) 3- إيثينيل أنيلين ببطء في حوالي 10- 15 دقيقة وتم تسخين كتلة التفاعل إلى درجة حرارة الارتجاع والحفاظ عليها عند درجة حرارة الارتجاع لمدة حوالي 4 ساعات. تم الكشف عن إكتمال التفاعل بواسطة اختبار HPLC. عندئذ تم تبريد كتلة التفاعل إلى 25- 35 °م وترشيحها وغسل العجينة بواسطة (500 مل) أسيتو نيتريل وتجفيف العجينة.

تم أخذ المركب الخام المجفف السابق إلى دورق سعة 5 لتر مستدير القاع آخر وتعبئة (2500 مل) ماء ورفع درجة الحرارة ببطء إلى 60- 65 °م وتم ضبط الرقم الهيدروجيني لكتلة التفاعل إلى 10- 12 بواسطة محلول هيدروكسيد صوديوم مخفف. تم ترشيح المنتج الصلب المفصول وغسله بواسطة الماء وتجفيفه عند درجة 70- 75 °م للحصول على 173 جرام من N- (3- إيثيلنيل فينيل)- 7- ميثوكسي- 6- [3- (4- مورفولينيل) بروبوكسي]- 4- كينازولين أمين على هيئة مادة صلبة بلون أبيض مائل للاصفرار.

(3) إعادة بلورة N- (3- إيثيلنيل فينيل)- 7- ميثوكسي- 6- [3- (4- مورفولينيل) بروبوكسي]- 4- كينازولين أمين من تولوين

إلى دورق سعة 5 لتر مستدير القاع بأربعة فوهات مجهز بمقلب ميكانيكي، ومكثف ارتجاع، وتجويف ترمومتر تمت تعبئة (3750 مل) تولوين، متبوعاً بواسطة (50 جرام) N- (3- إيثيلنيل فينيل)- 7- ميثوكسي- 6- [3- (4- مورفولينيل) بروبوكسي]- 4- كينازولين أمين المتحصل عليه بواسطة العملية المشروحة في المثال رقم 1 المعطى من قبل. تم تسخين خليط التفاعل إلى 90- 95 °م، بحيث ذابت المادة الصلبة بالكامل. عندئذ تم إعطاء معالجة الكربون وترشيحها. تم تبريد ناتج الترشيح إلى 25- 35 °م، والحفاظ عليه لمدة حوالي ساعة

واحدة وترشيحه وتجفيف المادة للحصول على 40.15 جرام من N- (3- إيثيلنيل فينيل)- 7- ميثوكسي- 6- [3- (4- مورفولينيل) بروبوكسي]- 4- كينازولين أمين على هيئة مادة صلبة بيضاء متبلرة.

درجة الانصهار: 185- 187°م

النقاء: 99.72% (HPLC)

IR (KBr) (cm^{-1}): 3280.9, 2954.6, 2810.3, 1620.1, 1604.2, 1572.1, 1527.7, 1505.2, 1484, 1430.5, 1388.2, 1247.5, 1211.2, 1140.3, 1110.4, 1010.3, 953.4, 859.6, 784.2Cm^{-1}

^{1}HNMR

(300MH_z; DMSO-d_6) : 9.57 (s, 1H); 8.48 (s, 1H); 7.99 (s, 1H); 7.86 to 7.92 (d, 2H); 7.34 to

7.44 (t, 1H) 7.18 to 7.21 (s, 2H); 4.15 to 4.21 (t, 4H);3.92 (s, 3H) 3.5

to 3.6 (t, 4H); 2.4 to 2.52 (m, 5H); 1.95 to 2.01 (m, 2H).

الكتلة: 419.4 (M+1)

مثال رقم 2

إعادة بلورة N- (3- إيثيلنيل فينيل)- 7- ميثوكسي- 6- [3- (4- مورفولينيل) بروبوكسي]- 4- كينازولين أمين من أسيتو نيتريل

إلى دورق 3 لتر مستدير القاعدة بأربعة فتحات مجهز بمقلب ميكانيكي، ومكثف ارتجاع، وتجويف ترمومتر تمت تعبئة (1000 مل) أسيتو نيتريل، متبوعاً بواسطة (25 جرام) N- (3- إيثيلنيل فينيل)- 7- ميثوكسي- 6- [3- (4- مورفولينيل) بروبوكسي]- 4- كينازولين أمين المتحصل عليه بواسطة العملية المشروحة في المثال رقم 1 المعطى من قبل. تم تسخين كتلة التفاعل ببطء إلى 65- 70°م، بحيث ذابت المادة الصلبة بالكامل وتم إعطاء

معالجة الكربون وترشيح كتلة التفاعل. تم نقل ناتج الترشيح إلى دورق مستدير القاعدة آخر وتبريده ببطء إلى 10- 15 °م، والحفاظ عليه لمدة 30 دقيقة عند درجة الحرارة هذه. تم ترشيح الكتلة وبعد غسل العجينة بواسطة أسيتو نيتريل مجفف للحصول على 20.50 جرام من N- (3- إيثيلنيل فينيل)- 7- ميثوكسي- 6- [3- (4- مورفولينيل) بروبوكسي]- 4- كينازولين أمين على هيئة مادة صلبة بيضاء متبلرة.

درجة الانصهار: 186- 187 °م

النقاء: 99.68% (HPLC)

مثال رقم 3

إعادة بلورة N- (3- إيثيلنيل فينيل)- 7- ميثوكسي- 6- [3- (4- مورفولينيل) بروبوكسي]- 4- كينازولين أمين من أسيتات إيثيل

إلى دورق 3 لتر مستدير القاعدة بأربعة فتحات مجهز بمقلب ميكانيكي، ومكثف ارتجاع، وتجويف ترمومتر تمت تعبئة (2000 مل) أسيتات إيثيل، متبوعاً بواسطة (25 جرام) N- (3- إيثيلنيل فينيل)- 7- ميثوكسي- 6- [3- (4- مورفولينيل) بروبوكسي]- 4- كينازولين أمين المتحصل عليه بواسطة العملية المشروحة في المثال رقم 1 المعطى من قبل. تم تسخين كتلة التفاعل ببطء إلى 65- 70 °م، بحيث ذابت المادة الصلبة بالكامل وتم إعطاء معالجة الكربون وترشيح كتلة التفاعل. تم نقل ناتج الترشيح إلى دورق مستدير القاعدة آخر وتبريده ببطء إلى 10- 15 °م، والحفاظ عليه لمدة 30 دقيقة عند درجة الحرارة هذه. تم ترشيح الكتلة المتبلرة وبعد غسل العجينة بواسطة أسيتات إيثيل مجفف للحصول على 20.95 جرام من N- (3- إيثيلنيل فينيل)- 7- ميثوكسي- 6- [3- (4- مورفولينيل) بروبوكسي]- 4- كينازولين أمين على هيئة مادة صلبة بيضاء متبلرة.

درجة الانصهار: 185- 187 °م

النقاء: 99.7% (HPLC)

مثال رقم 4

تحضير هيدروكلوريد أحادي من N- (3- إيثيلنيل فينيل)- 6- (3- مورفولينو بروبوكسي)- 7- ميثوكسي- 4- كينازولين أمين (NRC-2694A)

إلى دورق 500 مل مستدير القاعدة بثلاث فتحات مجهز بمقلب ميكانيكي، ومكثف ارتجاع، وتجويف ترمومتر الخ تمت تعبئة (250 مل) كحول أيزو بروبيل، متبوعاً بواسطة (5 جرام) N- (3- إيثيلنيل فينيل)- 7- ميثوكسي- 6- [3- (4- مورفولينيل) بروبوكسي]- 4- كينازولين أمين المتحصل عليه بواسطة العملية المعطاة في المثال رقم 1. تم رفع درجة حرارة كتلة التفاعل إلى 65- 70 °م، بحيث تذوب كل المادة الصلبة وتم إعطاء معالجة الكربون وترشيحها. تم تبريد ناتج الترشيح إلى حوالي 55 إلى 60 °م وإلى هذا تمت إضافة مكافئ مول واحد من غاز HCl مذاب في محلول كحول أيزو بروبيل عند فصل ملح الهيدروكلوريد الأحادي. تم الحفاظ على كتلة التفاعل عند درجة حرارة الارتجاع لمدة حوالي ساعتين وعندئذ تبريدها إلى درجة حرارة الغرفة وترشيحها وتجفيفها للحصول على 5.1 جرام من هيدروكلوريد أحادي N- (3- إيثيلنيل فينيل)- 6- (3- مورفولينو بروبوكسي)- 7- ميثوكسي- 4- كينازولين أمين على هيئة مادة بيضاء متبلرة.

النقاء: 99.8% (HPLC)

محتوى HCl

(كيميائيا): 8.19% (قيمة نظرية 8.01%)

1476.9, 1392.2, 1356.8, 1282.1, 1242.1, 1207.9, 1141.3, 1100.8,

1076.1, 1042.1, 1026.5, 1011.5, 957.7, 941.5, 922.1, 857.3, 852, 838.1, 796, 782.4.

مثال رقم 5

تحضير هيدروكلوريد ثنائي من N- (3- إيثيلنيل فينيل)- 6- (3- مورفولينو بروبوكسي)- 7- ميثوكسي- 4- كينازولين أمين (NRC-2694B)

إلى دورق 500 مل مستدير القاعدة بثلاث فتحات مجهز بمقلب ميكانيكي، ومكثف ارتجاع، وتجويف ترمومتر الخ تمت تعبئة (250 مل) كحول أيزو بروبيل، متبوعاً بواسطة (5 جرام) N- (3- إيثيلنيل فينيل)- 7- ميثوكسي- 6- [3- (4- مورفولينيل) بروبوكسي]- 4- كينازولين أمين المتحصل عليه بواسطة العملية المعطاة في المثال رقم 1. تم رفع درجة حرارة كتلة التفاعل إلى 65- 70°م، بحيث تذوب كل المادة الصلبة وتم إعطاء معالجة الكربون وترشيحها. تم تبريد ناتج الترشيح إلى حوالي 55 إلى 60°م وإلى هذا تمت إضافة مكافئ مولين من غاز HCl مذاب في محلول كحول أيزو بروبيل عند فصل ملح الهيدروكلوريد الثنائي. تم الحفاظ على كتلة التفاعل عند درجة حرارة الارتجاع لمدة حوالي ساعتين وعندئذ تبريدها إلى درجة حرارة الغرفة وترشيحها وتجفيفها للحصول على 5.5 جرام من هيدروكلوريد ثنائي N- (3- إيثيلنيل فينيل)- 6- (3- مورفولينو بروبوكسي)- 7- ميثوكسي- 4- كينازولين أمين على هيئة مادة بيضاء متبلرة.

النقاء: 99.78% (HPLC)

محتوى HCl

(كيميائيا): 14.9% (قيمة نظرية 14.83%)

IR (KBr) (cm^{-1}): 3406.8, 3194.1, 2942.7, 2681.9, 2623.6, 1633.7, 1566.2, 1528.6, 1512.5, 1438.6, 1359.6, 1282.3, 1218.3, 1157.1, 1132.7, 1105.9, 1075.6, 1001.9, 942.1, 875.3, 816.1, 787.2

مثال رقم 6

الجرعة القصوى المتحملة (MTD) وتقييم السمية الحادة (الجداول 1 و2)

تم عمل دراسة استشهاد الـ MTD مبكرة في فئران ألبينو سويسرية ذكور وإناث (تزن 20- 25 جرام).

تم عمل الدراسة حسب توجيهات OECD قاعدة 420، تم تنفيذ الدراسة بين 9 صباحاً و5 مساءاً لتجنب دورة يومية من النوم واليقظة، تم تعليق المركبات إرلوتينيب وNRC-2694 مع 2% صمغ أكاسيا، تم إعطاء المركبات بجرعات 5 و50 و300 و2000 مجم/كجم عن طريق الفم (po). تم إعطاء الجرعات الوسيطة اعتماداً على معدل الوفيات. تمت ملاحظة الحيوانات لمعرفة تغيرات سلوك إجمالي عند كل ساعة حتى ست ساعات بعد إعطاء العقار. تمت ملاحظة الحيوانات إضافياً حتى 72 ساعة لمعدل الوفيات إن وُجد. تم تشريح الحيوانات الباقية على قيد الحياة لتأكيد امتصاص المركب خلال القناة المعدية المعوية.

تم تنفيذ سمية حادة بإرلوتينيب وNRC-2694 في فئران ذكور وإناث. تم إعطاء الجرعات 500 و1000 و2000 مجم/كجم عن طريق الفم. تتكون كل مجموعة من 5 فئران. تمت ملاحظة الحيوانات لمعدل الوفيات لمدة 14 يوماً بعد إعطاء المركب. تم تشريح الحيوانات الباقية على قيد الحياة لتأكيد امتصاص المركب خلال القناة المعدية المعوية.

تم تحديد الـ LD50 باستخدام Litchfield وWilcoxon (J. Pharmacol: Exp. Ther. 1949, 96: 99-113).

تمت جدولة نتائج دراسات السمية في الجداول- 1 و2. تم اكتشاف أن تكون الجرعة القصوى المتحملة (MTD) من HCl إرلوتينيب 500 مجم/كجم (po) بينما لـــ NRC-2694، فإنها تكون 2000 مجم/كجم (po). بالمثل، كانت LD_0 500 مجم/كجم (po) لـــ HCl إرلوتينيب و2000 مجم/كجم (po) لـــ NRC-2694. بذلك، فلقد تم ترسيخ جانب السمية والأمان المنخفضة وبصورة مدهشة لـــ NRC-2694 مقارنة بـــ HCl إرلوتينيب.

جدوا 1

مقارنة (MTD) لـــ HCl إرلوتينيب وNRC-2694

دراسة استشهاد مبكرة (فئران)

المركب	MTD مجم/كجم (عن طريق الفم)
HCl إرلوتينيب	500
NRC-2694	2000

جدول 2

دراسات LD50 حادة (ملاحظة 7 أيام لجرعة مفردة) في فئران

المركب	LD_0 مجم/كجم (عن طريق الفم)*	LD_{50} مجم/كجم (عن طريق الفم)
HCl إرلوتينيب	500	805
NRC-2694	2000	-

* LD_0: لم تتم ملاحظة وفيات في نهاية 7 أيام.

مثال رقم 7

دراسات التقييم في المعمل وفي الكائن الحي وتقييم الكفاءة العلاجية

العينات: تم استخدام إرلوتينيب كعقار مرجعي مقارن، تم اختبار النشاط الحيوي للمركبات الجديدة لهذا الاختراع مقارنة بهذا العقار كعينة مقارنة موجبة.

(1) تجربة تكاثر MTT

يتم تأسيس تجربة MTT [بروميد 3- (4، 5- داي ميثيل ثيازول- 2- يل)- 2، 5- داي فينيل ترا زوليوم]، مشروح أولاً بواسطة Mosmann في 1983، على قدرة إنزيم ديهيدروجينيز حبيبية خيطية من خلايا حية لشطر حلقات ترازوليوم لـــ MTT الأصفر الشاحب ويشكل بللورات فورمازان زرقاء داكنة غير منفذة بصورة كبيرة لأغشية خلايا، مما يؤدي بذلك تراكمها داخل خلايا صحيحة. يؤدي ذوبان الخلايا بواسطة إضافة منظف إلى تحرير البللورات، والتي تكون ممكنة الذوبان. يتناسب عدد الخلايا الباقية على قيد الحياة طردياً مع مستوى منتج الفورمازان المتكون. يمكن أن يتم عندئذ التقدير الكمي للون باستخدام تجربة قياس لون بسيطة. تم عمل هذه التجربة باستخدام تركيزات إرلوتينيب صفر- 1000 نانو جرام/مل ومركبات الاختبار في خلايا A549 وH1299. تم تأسيس الأسلوب على ATCC وحسب تعليمات المصنِّع (كتالوج رقم: 30-1010K)

من تجربة تكاثر الـــ MTT، تم تحديد أنه تغير تركيز التثبيط (IC50) لمركبات الاختراع من 40- 90 نانو جرام/مل (100- 200 نانو متر) بينما يكون لـــ "هيدروكلوريد إرلوتينيب" المستخدم كعينة مقارنة موجبة قيمة عالية حتى 836 نانو جرام/مل (1945 نانو متر). بذلك يتم استنتاج أن مركبات هذا الاختراع الجديدة تكون أكثر قوة 10 مرات عن هيدروكلوريد إرلوتينيب.

(2) تحليل بقعة ويستيرن: (شكل رقم 1)

تم استخدام تركيزات عقار مثالية محددة من تجربة تكاثر MTT لعلاج 1×10^6 خلية H1299 وA549 في أوساط ملائمة لمدة 72 ساعة حيث تم استخلاص نواتج تحلل خلايا وتجزيئها على جل SDS PAGE 10% تحت ظروف اختزال. تم تبقيع مواد الجل على أغشية نايلون معالجة (Biorad) وجسها مناعياً لـــ EGFR وP13K وAKT.

تتم ملاحظة تغير كبير في تعبير EGFR بطريقة معتمدة على الجرعة. سببت تركيزات NRC-2694 عند 80 نانو جرام (190 نانو متر) تثبيط مقارن لتعبير EGFR مع تركيزات HCl إرلوتينيب عند 800 نانو جرام (1860 نانو متر). يكون مستوى العشر مرات لكفاءة NRC-2694 واضحة بذلك.

(3) تجربة غزو ماتريجل: (شكل رقم 2)

تم تقييم الغزو في المعمل لخلايا H1299 وA549 في وجود تركيزات مختلفة من مركبات NRC (كما هو محدد بواسطة تجربة MTT) باستخدام تجربة غرفة Boyden معدلة. تمت معالجة الخلايا بهذه المركبات لمدة 48 ساعة. تم تعليق 1×10^6 خلية في 600 ميكرو لتر من وسط خالي من المصل مكمل بواسطة BSA 0.2% ووضعه في الحجيرة العلوية للغرف عبر العين (Coming Costar Fisher Scientific cat # 07-200-158, Pittsburgh PA) مغلف بواسطة ماتريجل (0.7 مجم/مل). تم ملء الحجيرة السفلية للغرفة بواسطة 200 ميكرو لتر وسط مصل وتم السماح للخلايا بالارتحال لمدة 24 ساعة. بعد التحضين، تم تثبيت الخلايا وصبغها بواسطة Hema-3 والتقدير الكمي لها كما هو مشروح من قبل (Mohanam et al. 1993). تم التقدير الكمي للخلايا المرتحلة على هيئة نسبة غزو في المائة. أظهر المركب NRC-2694 نقص كبير في غزو بطريقة معتمدة على الجرعة.

(4) تقييم في الكائن الحي على أورام رئة تحت الجلد في فئران عارية (شكل 3):

تم تطعيم فئران عارية بواسطة 2×610 خلية A549 في جانب الطرف الخلفي اليمين. عند الملاحظة لورم (أكبر من 2 مم)، تم إعطاء الفئران معالجات عن طريق الفم أو في البريتون لمركبات الاختبار مشتملة على HCl إرلوتينيب مستخدم كعينة مقارنة موجبة. تم تعيين جرعة من 100 مجم/كجم من HCl إرلوتينيب كجرعة خط الأساس.

تم قياس أحجام الورم وتمت ملاحظة تراجع كامل للأورام في الفئران المعالجة بواسطة NRC-2694 بجرعة 10 مجم/كجم. على أي حال كانت الأورام مازالت موجودة في مجموعة

المقارنة المعالجة بالمثل بواسطة HCl إرلوتينيب حتى بمستوى جرعة 100 مجم/كجم. بذلك، لقد تم ترسيخ تفوق عشر مرات في كفاءة مركبات هذا الاختراع (NRC-2694).

(6) تقييم نسيج رئة تم تجميعه من فئران عارية بعد المعالجة: (شكل 4)

تم فحص رئات تم تجميعها من فئران مطعمة بواسطة خلايا تعبر ليوسيفيراز A549 معالجة بواسطة تركيزات مختلفة من HCl إرلوتينيب وNRC-2694 بواسطة مسارات عن طريق الفم/في البريتون لأورام متبقية.

تمت ملاحظة تراجع كامل لأورام في مجموعة المعالجة بواسطة NRC-2694، بينما كانت الأورام مازالت موجودة في المجموعة المعالجة بواسطة HCl إرلوتينيب، مما يرسخ بذلك الكفاءة الفائقة غير المتوقعة بصورة مدهشة لمركبات هذا الاختراع.

(7) فحص بواسطة النظر لأورام في نسيج رئة: (شكل 5)

تم تطعيم فئران عارية بواسطة عمليات حقن داخل رئوية لخلايا A549. تمت معالجة الفئران بواسطة مسارات عن طريق الفم/في البريتون بواسطة HCl إرلوتينيب و-NRC 2694 بجرعات 2.5 و20 مجم/كجم. ثلاثون يوماً بعد معالجات عقار يومية، تم قتل الفئران وحصد الرئات. تم تثبيت أنسجة الرئة في فورمالدهيد منظم الرقم الهيدروجيني 10%، وطمرها في بارافين وتقطيعها. تم صبغ القطاعات بواسطة H&E حسب أساليب تشريعية لفحص نظري لأورام صلبة أو منتشرة.

نجحت المجموعة المعالجة بواسطة NRC-2694 أفضل بكثير من تلك المعالجة بواسطة HCl إرلوتينيب في كل مستويات الجرعة مما يرسخ بذلك كفاءة فائقة لـــ NRC-2694.

(7) فئران عارية مطعمة بواسطة خلايا تعبر ليوسيفيريز A549

تمت ملاحظة فئران مطعمة بواسطة خلايا تعبر ليوسيفيراز A549 معالجة بواسطة تركيزات مختلفة من HCl إرلوتينيب وNRC-2694 بواسطة مسارات عن طريق الفم وفي البريتون لأورام وتم إعطاء الملاحظات بالصور كشكل 6 وشكل 7. تمت ملاحظة أن

المجموعة المعالجة بواسطة NRC-2694 نجحت أفضل بكثير من المجموعة المعالجة بواسطة HCl إرلوتينيب. لم تتم ملاحظة أورام في نهاية المعالجة 42 يوماً بواسطة NRC-2694 بينما كانت أورام متبقية مازالت موجودة في المجموعة المعالجة بواسطة HCl إرلوتينيب بواسطة كلا المسارات عن طريق الفم وفي البريتون.

(8) التأثير الشافي من الدراسات في الكائن الحي في فئران عارية:

تتم جدولة التأثير الشافي على هيئة نسبة عدد الحيوانات التي شُفيت إلى عدد الحيوانات المستخدمة في الدراسة وتوضيحه في جدول 3.

العقاقير	التركيز مجم/كجم	نسبة الشفاء
إرلوتينيب في البريتون	2.5	5/1
	5	5/2
	10	5/2
	20	5/3
إرلوتينيب عن طريق الفم	2.5	5/2
	5	صفر/5
	10	5/1
	20	5/2
NRC-2694 في البريتون	2.5	5/1
	5	5/1
	10	5/3
	20	5/5 (%100)
NRC-2694 عن طريق الفم	2.5	5/1
	5	5/2
	10	5/3
	20	5/3

يمكن رؤية أن النسبة قريبة من 100% في حالة الـ NRC-2694 بينما تكون النسبة بين40- 60% في حالة دراسة المجموعة بواسطة HCl إرلوتينيب.

(9) تقييم ED_{50}

تم تقييم قيم ED_{50} على أساس قطاع الرئة ودراسات تراجع الورم. تم حساب قيمة من 6.3 مجم/كجم لـ NRC-2694 بينما كانت القيمة المتحصل عليها لـ HCl إرلوتينيب هي 22 مجم/كجم بواسطة المسار عن طريق الفم. يتم بذلك ترسيخ الكفاءة الفائقة لمركبات الاختراع الحالي.

(10) دراسة مع مستقبلات أخرى مثل HER-1 وHER-2 وHER-3 وHER-4 وVEGFR في المعمل (شكل 8):

لتحديد تأثير NRC-2694 على المستقبلات الأخرى من عائلة EGFR (Erb/HER)، تمت معالجة خلايا سرطان بشري A549 بواسطة تركيزات مختلفة من NRC-2694 مع HCl إرلوتينيب لمقارنة جنباً إلى جنب. تم تحديد مستويات Erb-1 وErb-2 وErb-3 وErb-4 وVEGFR بواسطة تحليل بقعة ويستيرن.

تمت ملاحظة أن NRC-2694 خفض مستويات Erb B2 وErb B3 وErb B4 وVEGFR بصورة فعالة بينما لم تتم رؤية دلالة مثل هذه مع HCl إرلوتينيب. تكون الدلالة التثبيطية الإضافية في مستويات تعبير المستقبلات المشار إليها من قبل توضيحية بصورة واضحة للخاصية غير المتوقعة والمدهشة للجزيء الأساسي لهذا الاختراع بمعنى، NRC-2694.

(11) الخلاصة:

يتم بذلك ترسيخ الخصائص المضادة للورم غير المتوقعة والمدهشة والفائقة والإمكانية العلاجية الإضافية لمركبات الاختراع الحالي في التجارب السابقة مقارنة مع HCl إرلوتينيب.

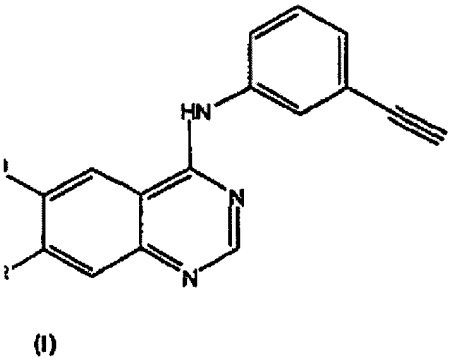
مثال رقم 8

التالي عبارة عن صورة جرعة صيدلانية توضيحية محتوية على المركب من الصيغة NRC-2694 أو ملح مقبول صيدلانياً منه، لاستخدام علاجي أو وقائي في البشر:

قرص	مجم/قرص
مركب NRC-2694	50
لاكتوز لا مائي (USP)	156
سليولوز دقيق التبلر (Avicel pH102)	15
كبريتات لاوريل صوديوم	5
جليكوليت نشا صوديوم	10
بوفيدون K-30	3
هيدروكسي بروبيل سيليولوز (LH-11)	10
ستيارات مغنيسيوم	1

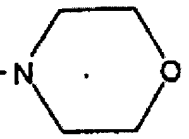
عناصر الحماية

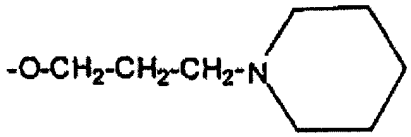
1- مشتق كينازولين من الصيغة (I) حيث

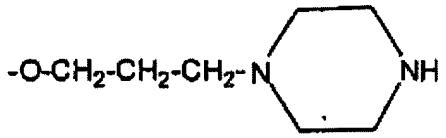


(I)

and $R^2 = OCH_3, OC_2H_5$

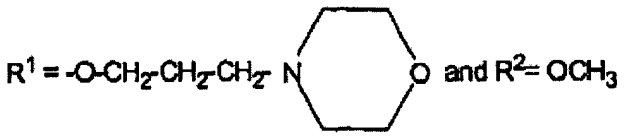






أو ملح مقبول صيدلانياً منه.

2- مشتق كينازولين من الصيغة (I) طبقاً لعنصر الحماية (1) حيث هو



(NRC-2694) أو ملح مقبول صيدلانياً منه.

3- مشتق كينازولين من الصيغة (I) طبقاً لعنصر الحماية (2) حيث يكون الملح المقبول صيدلانياً عبارة عن هيدروكلوريد أحادي (NRC-2694A).

4- مشتق كينازولين من الصيغة (I) طبقاً لعنصر الحماية (2) حيث يكون الملح المقبول صيدلانياً عبارة عن هيدروكلوريد ثنائي (NRC-2694B).

5- طريقة لإحداث تأثير تثبيطي في كائن من ذوات الدم الحار ضد إنزيمات تيروسين كيناز المستقبل من نوع EGF تضمن إعطاء الحيوان المذكور كمية فعالة من مشتق كينازولين من الصيغة (I) أو ملح مقبول صيدلانياً منه طبقاً لعناصر الحماية (1) إلى (4).

6- طريقة لإحداث تأثير تثبيطي في كائن من ذوات الدم الحار ضد مستقبلات مجموعة Erb مثل السرطانات الحساسة لتيروسين كيناز Erb-2، Erb-3، Erb-4 تتضمن إعطاء الحيوان المذكور كمية فعالة من مشتقات كينازولين من الصيغة (I) أو ملح مقبول صيدلانياً منه طبقاً لعناصر الحماية (1) إلى (4).

7- طريقة لإحداث تأثير تثبيطي في كائن من ذوات الدم الحار ضد إنزيمات تيروسين كيناز المستقبل من نوع EGF تتضمن إعطاء الحيوان المذكور كمية فعالة من مشتق كينازولين NRC-2694 من الصيغة (I) طبقاً لعنصر الحماية (2) أو ملح مقبول صيدلانياً منه.

8- طريقة لإحداث تأثير تثبيطي في كائن من ذوات الدم الحار ضد مستقبلات مجموعة Erb مثل السرطانات الحساسة لتيروسين كيناز Erb-2، Erb-3، Erb-4 تتضمن إعطاء الحيوان المذكور كمية فعالة من مشتق كينازولين NRC-2694 من الصيغة (I) طبقاً لعنصر الحماية (2) أو ملح مقبول صيدلانياً منه.

9- طريقة لإحداث تأثير تثبيطي في كائن من ذوات الدم الحار ضد السرطانات

الحساسة لتيروسين كيناز المستقبل من نوع VEGF تتضمن إعطاء الحيوان المذكور كمية فعالة من مشتق كينازولين NRC-2694 من الصيغة (I) طبقاً لعنصر الحماية (2) أو ملح مقبول صيدلانياً منه.

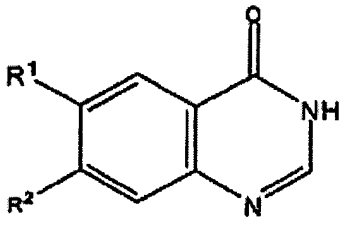
10- طريقة لإحداث تأثير تثبيطي في كائن من ذوات الدم الحار ضد السرطانات الحساسة لتيروسين كيناز المستقبل من نوع EGF تتضمن إعطاء الحيوان المذكور كمية فعالة من مشتقات كينازولين NRC-2694A وNRC-2694B طبقاً لعناصر الحماية (3) و(4).

11- طريقة لإحداث تأثير تثبيطي في كائن من ذوات الدم الحار ضد مستقبلات مجموعة Erb مثل السرطانات الحساسة لتيروسين كيناز Erb-2، Erb-3، Erb-4 تتضمن إعطاء الحيوان المذكور كمية فعالة من مشتقات كينازولين NRC-2694A وNRC-2694B طبقاً لعناصر الحماية (3) و(4).

12- طريقة لإحداث تأثير تثبيطي في كائن من ذوات الدم الحار ضد السرطانات الحساسة لتيروسين كيناز المستقبل من نوع VEGF تتضمن إعطاء الحيوان المذكور كمية فعالة من مشتقات كينازولين NRC-2694A وNRC-2694B طبقاً لعناصر الحماية (3) و(4).

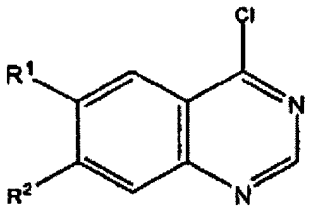
13- عملية لتحضير مشتق كينازولين من الصيغة (I) أو ملح مقبول صيدلانياً منه طبقاً لعنصر الحماية (1) حيث تشتمل على:

(أ) تفاعل الكينازولين من الصيغة (II)



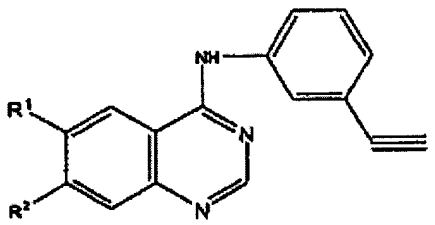
II

مع كلوريد فوسفوريل أو كلوريد أوكساليل للحصول على 4- كلورو كينازولين من الصيغة (III)



III

(ب) تفاعل تكثيف لـــ 4- كلورو كينازولين من الصيغة (III) السابق مع 3- إيثينيل أنيلين للحصول على مشتق كينازولين من الصيغة (I)

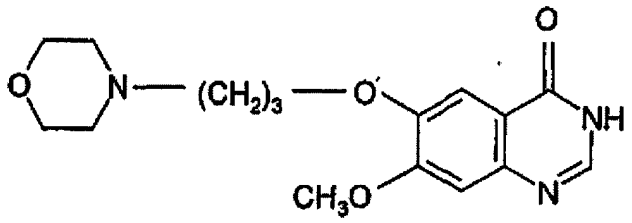


I

and $R^2 = OCH_3, OC_2H_5$

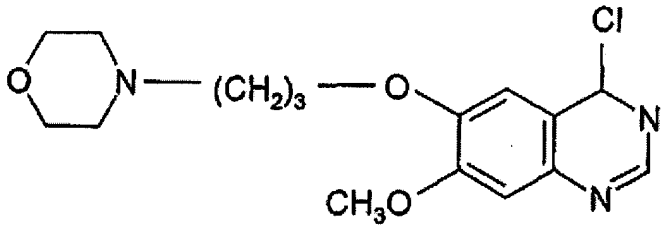
14- عملية لتحضير مشتق كينازولين من الصيغة (I) أو ملح مقبول صيدلانياً منه طبقاً لعنصر الحماية (2) حيث تشتمل على:

(أ) تفاعل الكينازولين من الصيغة (IIa)



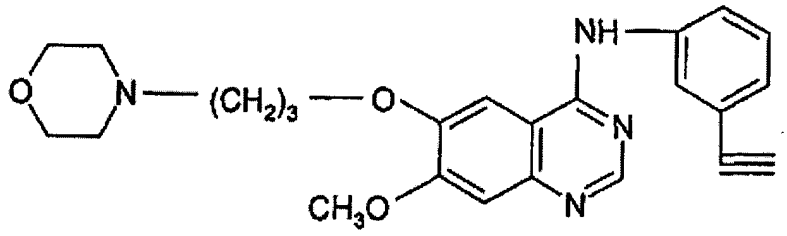
II (a)

مع كلوريد فوسفوريل أو كلوريد أوكساليل للحصول على 4- كلورو كينازولين من الصيغة (IIIa)



III (a)

(ب) تفاعل تكثيف لـ 4- كلورو كينازولين من الصيغة (IIIa) السابق مع 3- إيثينيل أنيلين للحصول على مشتق كينازولين NRC-2694.



NRC-2694

15- عملية لتحضير مشتق كينازولين NRC-2694 أساساً كما هو مشروح في الأمثلة 1- 3 المذكورة من قبل.

16- عملية لتحضير ملح الهيدروكلوريد الأحادي NRC-2694A أساساً كما هو مشروح في المثال 4 المذكور من قبل.

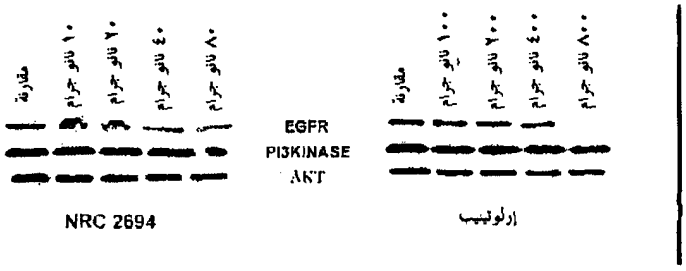
17- عملية لتحضير ملح الهيدروكلوريد الثنائي NRC-2694B أساساً كما هو مشروح في المثال 5 المذكور من قبل.

18- طريقة تقييم الجرعة القصوى المحتملة (MTD) والسمية الحادة لمشتقات كينازولين من الصيغة (I) طبقاً لعنصر الحماية (1) وأساساً كما هو مشروح في المثال 6 المذكور من قبل.

19- طريقة تقييم في المعمل وفي الكائن الحي والكفاءة العلاجية لمشتقات الكينازولين من الصيغة (I) طبقاً لعنصر الحماية (1) وأساساً كما هو مشروح في المثال 7 المذكور من قبل.

20- تركيبة صيدلانية تشتمل على مشتق كينازولين من الصيغة (I)، أو ملح مقبول صيدلانياً منه، طبقاً لأي من عناصر الحماية (1) إلى (19) السابقة.

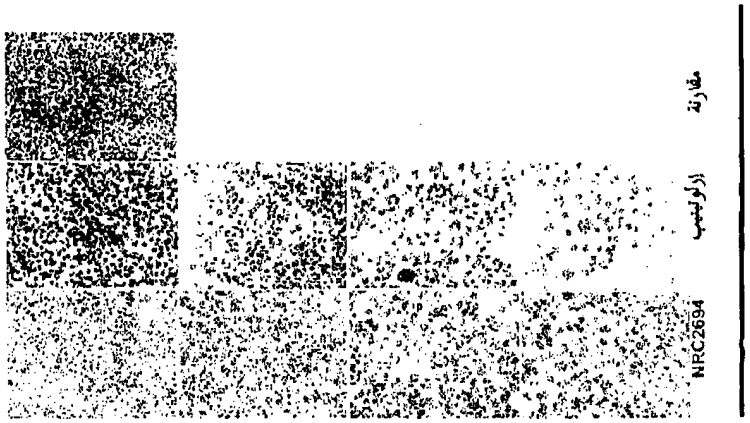
MA 32081B1



شكل ١: تحليل بقعة ويسترن لخلايا A549 معالجة بواسطة HCl إرلوتينيب و NRC 2694
تمت ملاحظة نقص معتمد على الجرعة في مستويات EGFR

أصل			
اسم الطالب			
عدد اللوحات	8	رقم اللوحة	1
رقم الطلب/التاريخ/الساعة			
توقيع الوكيل / الطالب			

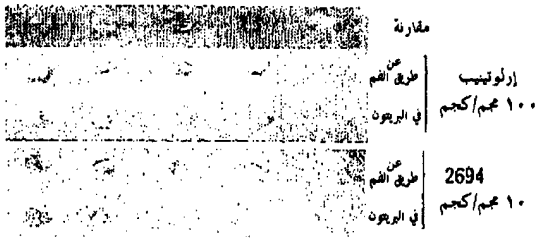
MA 32081B1



شكل ٢: تجربة غزو ماتريجل لخلايا H1299 معالجة بواسطة إرلوتينيب وNRC 2694.
تمت ملاحظة نقص معتمد على الجرعة في الغزو

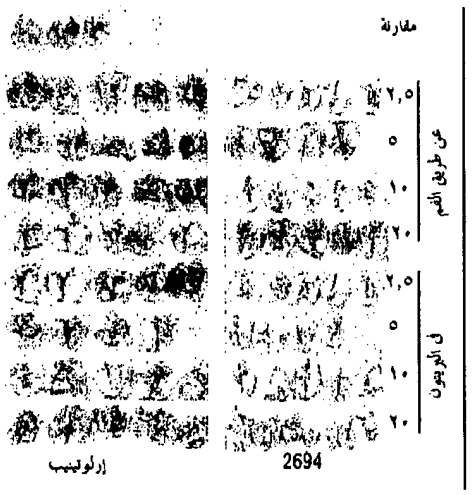
أصل			
اسم الطالب			
عدد اللوحات	8	رقم اللوحة	2
رقم الطلب/التاريخ/الساعة			
توقيع الوكيل / الطالب			

MA 32081B1



شكل ٣: نقص في حجم ورم محدث بواسطة إعطاء عن طريق الفم وفي البريتون من HCl إرلوتينيب و NRC 2694 في فئران عارية مغروسة بواسطة أورام رئة بشرية A549 .

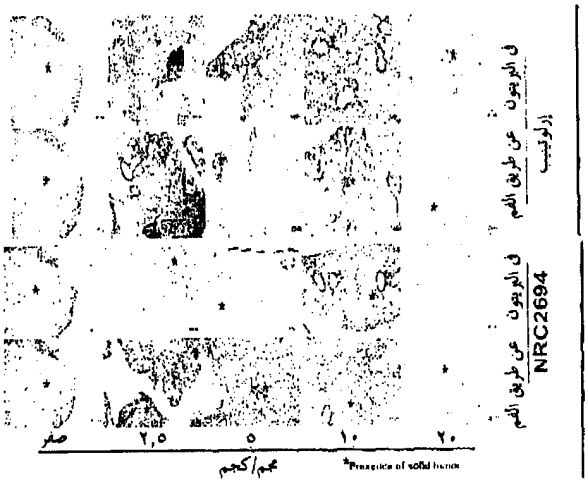
أصل			
اسم الطالب			
عدد اللوحات	8	رقم اللوحة	3
رقم الطلب/التاريخ/الساعة			
توقيع الوكيل / الطالب			



شكل ٤: رئات محصودة من فئران عارية بخلايا تعبر ليوسيفيريز A549 معالجة بواسطة تركيزات مختلفة من HCl إرلوتينيب و NRC 2694 بواسطة مسارات عن طريق الفم وفي البريتون

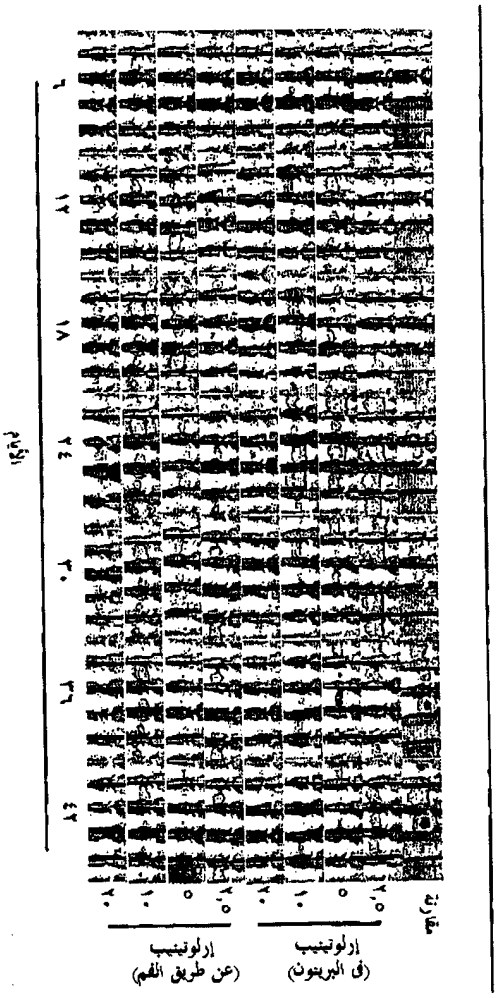
أصل			
			اسم الطالب
4	رقم اللوحة	8	عدد اللوحات
			رقم الطلب/التاريخ/الساعة
			توقيع الوكيل / الطالب

MA 32081B1



شكل ٥: قطاعات ممثلة مصبوغة بواسطة H&E لرئات تحمل ورم لفئران عارية بعد معالجة بواسطة HCl إرلوتيب و NRC 2694

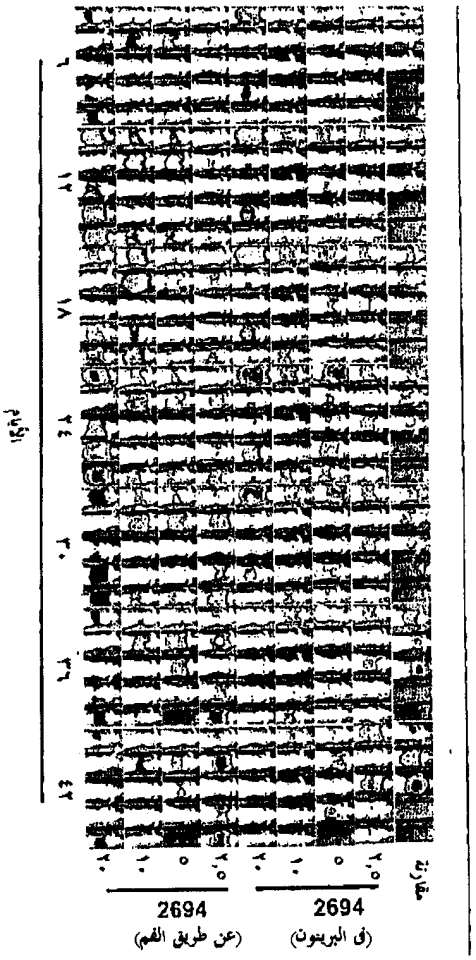
أصل			
اسم الطالب			
عدد اللوحات	8	رقم اللوحة	5
رقم الطلب/التاريخ/الساعة			
توقيع الوكيل / الطالب			



شكل ٦: فئران عارية مغروسة بخلايا تعبر لبوسيفيريز A549 معالجة بواسطة تركيزات مختلفة من HCl إرلوتينيب بواسطة مسارات عن طريق الفم وفي البريتون

أصل			
اسم الطالب			
عدد اللوحات	8	رقم اللوحة	6
رقم الطلب/التاريخ/الساعة			
توقيع الوكيل / الطالب			

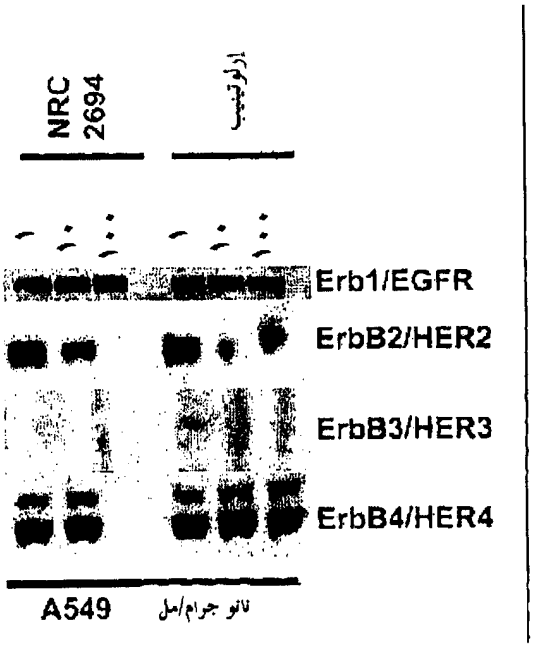
MA 32081B1



شكل ٧: فئران عارية مغروسة بخلايا تعبر ليوسيفيريز A549 معالجة بواسطة تركيزات مختلفة من NRC 2694 بواسطة مسارات عن طريق الفم وفي البريتون

أصل			
اسم الطالب			
عدد اللوحات	8	رقم اللوحة	7
رقم الطلب/التاريخ/الساعة			
توقيع الوكيل / الطالب			

MA 32081B1



شكل ٨: دراسة تأثير NRC NCFs في علاقة مع مستقبلات أخرى مثل HER-1,2,3,4 و VEGFR في المعمل
تمت ملاحظة نقص في مستويات Erb1, ErbB2, ErbB3, ErbB4 بعد معالجة بواسطة NRC 2694 في خلايا A549

أصل			
اسم الطالب			
عدد اللوحات	8	رقم اللوحة	8
رقم الطلب/التاريخ/الساعة			
توقيع الوكيل / الطالب			