Designing and synthesis of DPAs ligands to induce structural modification of Riboflavin.

تصميم واصطناع مرتبطات اللواجن من النمط **DPAs** لاستخدامها في تعديل بنية الريبوفلافين

الدكتور ناصر ثلاج*

*مدرس– كلية الصيدلة– الجامعة السورية الخاصة– دمشق– سورية.

ملخص

في محاولة لمحاكاة النظم البيولوجية لتحقيق تفاعلات انتقائية بشروط لطيفة، تسمح التعديلات المحدثة على الجزيئات المدروسة باستخدامها في مجال الكيمياء العضوية الحيوية. تؤدي هذه العملية لإحداث تعديلات على البروتينات بحيث يتم الحصول على أنزيمات اصطناعية. ينتج عن تفاعل مكافئين من اللواجن من نمط DPAs مع مكافئ 8−α−برومو رباعي خلات الريبوفلافين باستخدام محل هو (DMF) المطلق لمدة 24 ساعة، لواجن جديدة من النمط 8−α−DPAs -N رباعي خلات الريبو فلافين. المركب الناتج مؤلف من مجموعتين يكون الفلافين هو المجموعة التي تقوم بدور المعطي الاكتروني أو المعوض الالكتروني للجزء المؤكسد.

الكلمات المفتاحية: ربائط− N − / ريبوفلافين/ معطي الالكترونات

Abstract

One of the most fascinating aspects of enzymes is the way these biological catalysts have been designed in order to be able to carry out highly selective reactions under mild conditions. Controlled modification and artificial tuning of Nature's legacy, using molecular biology technices together with new chemical methods in the field o f bioorganic syntheses, led chemists to investigate access to modified proteins, going as far as designing artificial enzymes. The result is sometimes surprising, since new enzyme activity can be found from modified proteins, Reaction of a two fold molar excess of ligands of DPAs with α−8-BromoAc4riboflavin in dry DMF over 24 hours affords the α−8-DPAs N- Ac4riboflavin ligands. This compound can be described as a tweezers in which the flavin moiety acts as a potential electron mediator.

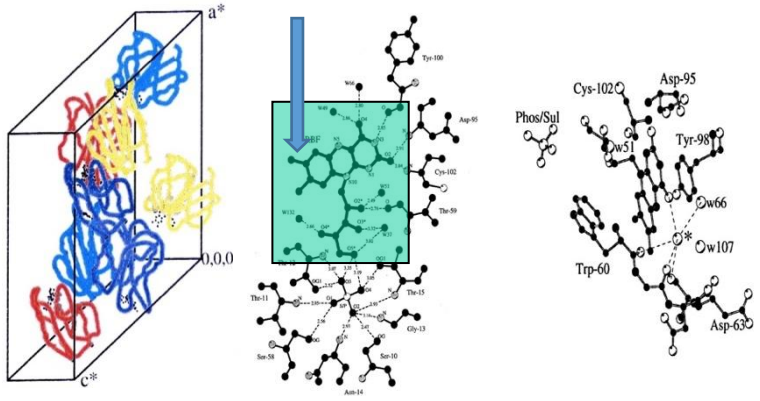
Keywords: N ligands / Riboflavin /Electron Mediator

مقدمة

يكمن التحدي الكبير للكيميائيين في محاولة محاكاة النظم البيولوجية والتي تقوم بتفاعلات وساطة حيوية لتحقيق تفاعلات كيميائية بشروط لطيفة[1,2]. دُرست عملية تصميم وتعديل والتحكم بالنظم البيولوجية في محاولة لتقليد الموروث الطبيعي بتعديل بنية الجزيئات الحيوية من خلال ربطها بجزيئات كيميائية اصطناعية سابقاً وبشكل جيد وذلك عن طريق تفاعلات الاصطناع العضوية مما سمح للكيميائيين بإجراء تعديلات على بنى البروتينات وأدى لتصميم الأنزيمات الاصطناعية[3]. سمحت بعض النتائج غير المتوقعة الناتجة عن هذه التعديلات في بنية البروتينات باكتشاف أصناف جديدة من الأنزيمات[4]. على سبيل المثال، فإن مماثلات الفلافين معروفة بشكل جيد بتفاعلات الوساطة مثل أكسدة الأمينات الثالثية،السولفيدات، الكيتونات، ويُستخدم الهيدروبيروكسيد (الماء الأكسجيني) بشكل عام كوسيط للأكسدة [5-7]، نجد أيضا بعض الحالات التي يُستخدم فيها الأكسجين الجزيئي [8].

هدف البحث

تكمن فكرة هذا البحث باصطناع مرتبطات جديدة من النمط DPAs قادرة على الارتباط مع الريبوفلافين بتفعيل إحدى زمرتي الميثيل أي الزمرة الحرة المتواجدة بالطرف البعيد من جزيئة الريبوفلافين والتي لاتعيق ارتباطه بالبروتين صغير الحجم (papain) والذي يمثل الجزئ الحيوي في محاولة تحقيق تفاعل أكسدة ثنائي هيدرو نيكوتين أميد[4] الشكل 1. في هذه الحالة يقوم جزء الفلافين بدور الموقع الذي يحدث عليه التفاعل. يلعب الفلافين ومشتقاته في عمليات الأكسدة البيولوجية دور معطي الالكترونات (mediators electron) لذلك يحتاج هذا التجمع من مشتقات الفلافين إلى نظم موصلة للالكترونات.



الشكل 1: البنية الفراغية بالأشعة السينية (X-ray) لمعقد ابوفلافودوكسين/ريبوفلافين (apoflavodoxin-riboflavine complexe) الموجود بالبكتيريا ديسيلفوفيبريوفولغيرز (*Desulfovibriovulgairs*)[28] . حيث تظهر زمرة مثيل حرة (المشار إليها بالسهم) على الريبوفلافين يمكن ان تفعل عن طريق ربطها بمعقد معدني.

تمت دراسة أول مثال عن هذا الربط مع جزيئة هيم (hemes) منذ فترة لابأس بها كمثال عن أنزيمات الهيدروكسيلاز نصف الاصطناعية ومن أوضح الأمثلة عن ذلك أنزيمات P-450 الفعالة بدون أن تترافق مع الريدوكتاز[9] (reductase).

سابقاً، دُرس وبصورة مفصلة ربط الريبوفلافين بشكل تكافؤي مع البروتوبورفيرين (protoporphyrin IX) مما سمح بالتنشيط الإرجاعي للأكسجين الجزيئي عن طريق ميوغلوبين الاصطناعي[10] (myoglobin artificial) ، في هذا المثال يكون ارتباط البروتين في المعقد بورفرين/فلافين من طرف البورفرين.

يمكن أن ترتبط مشتقات الفلافين مع البروتينات عن طريق الفلافين نفسه، إن قابلية الفلافين للإرتباط مع حامل للالكترونات منخفض الكمون مثل الفلافوبروتين لتشكيل معقدات ثابتة متعارف عليها بشكل جيد في المكتبة العلمية[11-13].

يمكن أن يقوم معقد الفلافين/فلافودوكسن (flavin/flavodoxin) بوظيفة حامل لالكترون واحد ضمن مجال قريب من كمون مساري الهيدروجين [13] مما يسمح بتعديل بنية الجزء المرتبط بالريبو فلافين. بالتالي، يمكننا أن نضيف مجموعات ساحبة للالكترونات أو مانحة للالكترونات إذا ثبتنا العامل الفراغي وقمنا بدراسة العامل الالكتروني ويمكن أن نثبت العامل الالكتروني ونقوم بتعديل البنية الفراغية ومن ثم إجراء تعديلات تسمح بتطوير العامل الالكتروني بما يتوافق وأهداف الدراسات المراد تطبيقها على هذا النمط من الأنزيمات الصناعية ويمكن لنا أن نقوم بكلتا العمليتين في نفس الوقت.

لقد تمت دراسة معقدات ثنائي كلوريد الحديد بشكل موسع خلال السنوات السابقة وقد استطعنا اجراء تعديلات بنيوية مكنتنا من التحكم بالبنية الفراغية للمعقد عن طريق اصطناع العديد من اللواجن. يكمن التحدي الأكبر في تصميم اللواجن وتصنيعها بطرق الاصطناع العضوي وإضافة تعديلات تمكن من التحكم والسيطرة على الخواص الحمضية للمركز المعدني (حمض لويس) لناحية زيادة الحموضة أو إنقاصها مما سمح بتنشيط الأكسجين الجزيئي بطرق المحاكاة البيولوجية في الآليات الحيوية عن طريق تنشيط المركز المعدني بالمعقد [14-16] في العديد من هذه الحالات المدروسة استطعنا اعادة ارجاع المركز المعدني بعد عملية الأكسدة.
تم إعداد معقد تكون فيه اللواجن من نمط DPA ومشتقاتها المرتبطة تكافؤياً مع الريبوفلافين الذي يلعب هنا دوراً مهماً كناقل للالكترونات لعمليات الأكسدة والارجاع، تمت دراسة هذا الدور الذي يلعبه الريبوفلافين كناقل للالكترونات في اقتران عملية الأكسدة والإرجاع ونُشرت في عدة دوريات علمية [17,18].
ويعتبر النموذج فلافين/مرتبطة من المركبات القابلة للاصطناع، وتبين من الدراسة المرجعية بأنه لايوجد غير مثال واحد قد نُشر في عام 2007 يربط بين هذا النمط من اللواجن وموصلات بيولوجية من نمط الريبوفلافين[19,20,21]. تعتبر هذه الدراسة هي متابعة للدراسة السابقة لناحية اصطناع أنواع من اللواجن أو المرتبطات[17]، وإثبات إمكانية الربط وقياس الكمونات الخاصة باللواجن والموصل الالكتروني، و تدعيمها بقياس كمونات الأكسدة والإرجاع وبالتالي عملية تصنيع أنواع جديدة من اللواجن تقع ضمن مجال التحكم بالعامل الالكتروني. يمكن مستقبلاً وكامتداد لهذه الدراسة تدعيمها بدراسات تساعد على التحكم بالعامل الفراغي ومن ثم مزج العامل الفراغي مع الالكتروني للوصول إلى الشروط الفراغية والالكترونية المثلى.

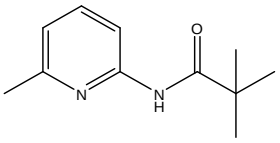
مواد وطرائق البحث

لقد تمت دراسة جميع المركبات المصنعة بواسطة مطيافية الطنين النووي المغناطيسي للبروتون والكربون (^{1}H and ^{13}C NMR spectroscopy) نوع بروكر (Bruker AC 300) عند 300.130 ميغاهيرتز (75.486 ميغا هيرتز) وللفلور (^{19}F) باستخدام نفس الجهاز مع تعديل المجال إلى (282.4045 ميغا هيرتز) وكقيمة مرجعية أخذ المركب $CFCl_3$. وتم أيضاً تحليل المركبات بواسطة التحليل العنصري (elemental analysis)، واستخدمت مطيافية الكتلة عند الضرورة وهي من نوع (MicroTOF). أجريت كافة هذه

التحاليل في المخابر التابعة للمركز الوطني للأبحاث العلمية (CNRS) في جامعة ستراسبورغ، فرنسا.

يتم اصطناع اللواجن بدءً من المواد الأولية وبشكل موازي يتم تحضير الريبوفلافين (فيتامين B2) ليتم ربطهما معاً كما هو موضح في المخططات التي المعروضة في فقرة النتائج والمناقشة.

1-اصطناع N-(-methylpyridin-2-yl)pivalamide

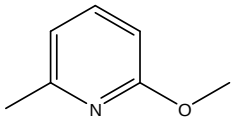


يذاب 22.7 غرام (204 ميلي مول) من كلوريد البيفالوليل في 200 مل من ثنائي كلور الميثان الجاف في دورق ثنائي العنق. يتم تبريد المحلول إلى درجة الصفر مئوية بواسطة حمام ثلجي. يجهز محلول 20 غرام (185 ميلي مول)من 2-أمينو-6-ميثيل بيريدين و31 مل (278 ميلي مول) من ثلاثي ايتيل الأمين في 100 مل من ثنائي كلورالميثان الجاف ويضاف بالتنقيط البطيئ إلى المزيج التفاعلي خلال 60 دقيقة مع التحريك والحفاظ على درجة الحرارة عند الصفر المئوية، بعد انتهاء التنقيط يتم الاستمرار بالتحريك لمدة 4 ساعات بدرجة حرارة الغرفة. يضاف إلى المزيج التفاعلي 500 مل من الماء المقطر. يتم غسل المزيج بمحلول كربونات الصوديوم الحامضية 3 مرات وبحجم 50 مل كل مرة، ويتم استخلاص بثنائي كلور الميثان ثلاث مرات وبحجم 40 مل كل مرة، يجفف الطور العضوي بواسطة كبريتات المغنيزيوم اللامائية، ثم يرشح ويبخر المحل. نحصل على مركب ابيض صلب يتم إعادة بلورته من البنتان فنحصل على 25 غرام من مركب صلب أبيض مع مردود ٪70

NMR^{1}H : ($CDCl_3$, δH, ppm) : 8.02 (d, *J* =8.0 Hz, 1H) ; 7.56 (H ,NH) ; 7.55 (t, *J* = 8.0 Hz, 1H) ; 6.84 (d, *J* =8.0 Hz, 1H) ; 2.42 (s, 3H) ; 1.29 (s, 9H) .

NMR ^{13}C : ($CDCl_3$, δC, ppm) :177,1, 156,6, 150.9, 138,7, 119.1, 110,8, 39,8, 27,5, 23,9.

2-اصطناع 2-methoxy-6-Méthylpyridine

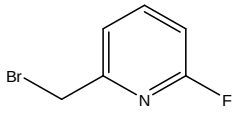


يذاب 12 غرام (70 ميلي مول) من 2-برومو-6-ميثيل بيريدين في 80 مل من ثنائي مثيل الفورمأميد الجاف، يضاف هذا المحلول بالتنقيط على دورق يحوي 6.1 غرام من هدريد الصوديوم 60٪ المعالج بالهكسان للتخلص من الزيت المعدني بجو خامل من غاز الآرغون خلال 15 دقيقة مع التحريك وبدرجة حرارة صفر مئوية باستخدام حمام ثلجي. يضاف 6.1 مل (153 ملي مول) من الميثانول المطلق خلال 5 دقائق. ثم يتم وضع المزيج بالتقطير المرتد لمدة 3 ساعات عند درجة الحرارة 80 درجة مئوية. بنهاية التفاعل يبرد المزيج لحرارة المختبر ويتم الاستخلاص المتعدد (3 مرات) بثنائي إيثيل الإيثر (50 مل كل مرة) فنحصل على محلول أصفر شاحب شفاف،يتم غسله عدة مرات بواسطة الماء المقطر يفصل الطور العضوي ويجفف باستخدام كبريتات المغنيزيوم اللامائية، يرشح المزيج وتؤخذ الرشاحة ويبخر المحل فنحصل على بحجم 30 مل يتم تقطيره بالتقطير بضغط منخفض (15 ميلي متر زئبقي) نحصل على المركب المطلوب عند درجة الحرارة بين 85-80 درجة مئوية وهو على شكل سائل عديم اللون شفاف.

NMR^{1}H, ($CDCl_3$, δ, ppm) :7.35-7.31, (1Hγ, m) 6.62-6.60 (1Hβ, d, J=6); 6.48-6.45 (1Hβ',d, J=9); 3.86,(s, 3H,OCH_3); 2.28, (s, 3H,CH_3).

NMR ^{13}C : ($CDCl_3$, δ, ppm) :163.8,1, 156,6, 138,7, 112.1, 107,8, 55,4, 23,2.

3-اصطناع 2-fluoro-6-bromomethylpyridine



يذاب 10 غرام (57 ميلي مول) مركب 2-فلورو-6-ميثيل بيريدين المتوفر تجارياً في 200 مل من رباعي كلور الكربون ومن ثم يضاف 10.14 غرام (56 ميلي مول) من (N-NBS,

bromo-succinimide) ويضاف إلى المزيج كمية من مبادر البرومة وهو فوق أكسيد البنزويل ثم يتم وضع المزيج التفاعلي بالتقطير المرتد لمدة 5 ساعات عند درجة حرارة 90 درجة مئوية.

يبرد المزيج بعد انقضاء المدة المحددة ثم يرشح لفصل الصلب عن المحلول ويبخر المحل ويتم فصل المركبات باستخدام كروموتوغرافيا عمود الفصل باستخدام السيليس (أبعاد العمود قطر 4 سم وارتفاع 45 سم) يتم فصل مركب 2–فلورو–6–برومو ميثيل بيريدين والذي يملك (R_f = 0,49) يستخدم التولوين كسائل حامل للمركب في عمود الفصل وفي تتبع عملية الفصل بكروموتوغرافيا الطبقة الرقيقة، بنهاية العملية نحصل على 7.02 غرام ومردود 48٪ كمركب صلب أبيض اللون.

التحليل العنصري: C_6H_5NBrF : الحسابي$_{12}$: %: C: 37.93; H: 2.65; N: 7.37.

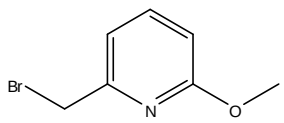
ناتج التحليل: %: C: 37.60; H: 2.21; N: 7.17.

NMR^1H : ($CDCl_3$, δH, ppm) :

7.78, 1H, dd, ^3JHH = 8.05 Hz, ^3JHF = 7.05 Hz; 7.30, 1H, dd, ^3JHH= 7.32 Hz, ^5JHF = 2.20 Hz; 6.85, 1H, dd, ^3JHH= 8.23 Hz, ^4JHF = 2.74 Hz; 4.44, 2H,s.

$NMR^{19}F$: ($CDCl_3$, δF, ppm) : -66.88 ppm, ^3JFH = 7.05 Hz.

4–اصطناع 2-methoxy-6-Bromomethylpyridin



يذاب 12 غرام (97.5 ميلي مول) مركب 2–ميثوكسي–6–ميثيل بيريدين في 200 مل من رباعي كلور الكربون ومن ثم يضاف 20.82 غرام (117.3 ميلي مول) من (NBS, N-bromo-succinimide) ويضاف إلى المزيج 675 ميلي غرام (2.79 ميلي مول) من مبادر البرومة وهو بهذا التفاعل ازوثنائي ايزوبوتيرو نتريل (AIBN) ثم يتم وضع المزيج التفاعلي بالتقطير المرتد لمدة ٥ساعات عند درجة حرارة 90 درجة مئوية.

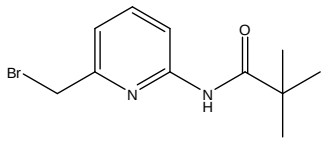
يبرد المزيج بعد انقضاء المدة المحددة ثم يرشح لفصل الصلب عن المحلول ويبخر المحل ويتم فصل المركبات باستخدام كروموتوغرافيا عمود الفصل باستخدام السيليس (أبعاد العمود

قطر 4 سم وارتفاع 45 سم) يتم فصل مركب 2–ميثوكسي–6–برومو ميثيل بيريدين والذي يملك (R_f = 0,49) يستخدم التولوين كسائل حامل للمركب في عمود الفصل وفي تتبع عملية الفصل بكروموتوغرافيا الطبقة الرقيقة، بنهاية العملية نحصل على 9.85 غرام ومردود 50٪ كمركب سائل شفاف .

NMR^{1}H : ($CDCl_3$, δ, ppm) 7.54-7.47, (t,1H) 6.96-6.96 (d,1H); 6.64-6.61 (d,1H); 4.43, (s,2H); 3.91(s,3H).

MR ^{13}C : ($CDCl_3$, δ, ppm) :163.8, 156.6, 138.7, 112.1, 107.8, 55.4, 34.5 , 23,2.

5– اصطناع N-(6-(bromomethyl)pyridin-2-yl)pivalamide

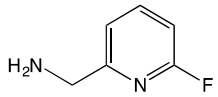


يذاب 15 غرام (77.7 ميلي مول) مركب N – (ميثيل بيردين2–يل) بيفالوأميد في 200 مل من رباعي كلور الكربون ومن ثم يضاف 13.8 غرام (77.7 ميلي مول) من (N-bromo-succinimide NBS) ويضاف إلى المزيج 300 ميلي غرام (1.24 ميلي مول) من مبادر البرومة وهو بهذا التفاعل آزوثنائي إيزوبوتيرو نتريل (AIBN) ثم يتم وضع المزيج التفاعلي تحت مصباح زئبقي لمدة 72 ساعة بدرجة حرارة المختبر. بعد انقضاء المدة المحددة يرشح المزيج لفصل الصلب عن المحلول ويبخر المحل ويتم فصل المركبات باستخدام كروموتوغرافيا عمود الفصل باستخدام السيليس (أبعاد العمود قطر 4 سم وارتفاع 45 سم) يتم فصل مركبN – (6–برومو ميثيل بيردين2–يل) بيفالوأميد والذي يملك (R_f = 0.50) يستخدم مزيج من خلات الإيثيل 20٪ مع الهكسان 80٪ كسائل حامل للمركب في عمود الفصل ويتم تتبع ومراقبة عملية الفصل بكروموتوغرافيا الطبقة الرقيقة، بنهاية العملية نحصل على 7.8 غرام ومردود33٪ كمركب وهو عبارة عن سائل زيتي أصفر برتقالي اللون .

NMR ^1H, δ, ppm, $CDCl_3$: 8.17 (d, *J* = 8.0 Hz, 1H), 8.01 (br, 1H), 7.68 (t, *J* = 8.0 Hz, 1H), 7.13 (d, *J* = 8.0 Hz, 1H), 4.42 (s, 2H), 1.32 (s, 9H) .

NMR ^{13}C : ($CDCl_3$, δ, ppm) :178, 154.2, 150.7, 140.1, 122.3, 114.4, 41.4, 39.8 , 30, 30, 30.

6–اصطناع (6-fluoropyridin-2-yl) methanamine

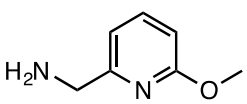


يذاب 7.04 غرام (29.7 ميلي مول) من 2–فلورو–6–بروموميثيل بيريدين في 50 مل من ثنائي ميثيل فورمالدهيد يضاف اليه 11.8 غرام (63.9 ميلي مول) من فتال أميد البوتاسيوم ثم يضاف كمية 6.38 غرام (73.7 ميلي مول) من كربونات الصوديوم الحامضية. يوضع المزيج بالتقطير المرتد لمدة 3 ساعات ، يترك بعدها لتنخفض حرارته لدرجة حرارة الغرفة يتم بعدها ترشيح المزيج ويفصل المركب الصلب الأبيض عن الرشاحة والتي تأخذ ويبخر المحل عنها ثم يضاف الماء المقطربشكل تدريجي حتى يتشكل راسب ابيض يتم ترشيحه ويكون هذا الراسب هو مشتق الفتال أميد للمركب المطلوب. يضاف إلى الراسب الأبيض 150 مل من بروم الهيدروجين (48٪) يوضع المزيج تحت التقطير المرتد لمدة 15 ساعة. يبرد المزيج بعد انتهاء التقطير إلى حرارة الغرفة ثم يبرد المزيج إلى درجة حرارة الصفر المئوية فنحصل على راسب هو حمض الفتاليك والذي يفصل بالترشيح. تؤخذ الرشاحة وتبرد إلى درجة الصفر المئوية بواسطة حمام ثلجي ويضاف إلى الرشاحة محلول 10 مولي من هدروكسيد الصوديوم بشكل تدريجي مع التحريك حتى نصل إلى وسط قلوي يتم استخلاص المركب من الطور المائي بواسطة ثنائي ايثيل الايثر عدة مرات (3 مرات بحجم 50 مل كل مرة)، ثم يتم تجفيف الطور العضوي (PH=10) بواسطة كبريتات المغنيزيوم اللامائية ومن ثم يتم تبخير ثنائي إيثيل الايثر فنحصل على 3.04 غرام من (6–فلورو بيرين -2-ايل) ميثيل أمين ويكون المردود 58٪ [38].

NMR^{1}H: ($CDCl_3$,δ, ppm): 7.6 (dd,1H), 7.4 (d, 1H), 6.7 (d, 1H), 4.0 (s, 2H), 2.0 (br s).

NMR ^{13}C : ($CDCl_3$, δ, ppm) :165.7, 156.2, 143.3, 123.6, 109.5, 48,2.

7–اصطناع(6-methoxypyridin-2-yl)methanamine

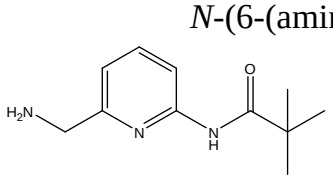


يذاب 10 غرام (49.7 ميلي مول) من 2–بروموميثيل –6–ميثوكسي بيريدين في 50 مل من ثنائي ميثيل فورمالدهيد يضاف إليه 18.8 غرام (102.24 ميلي مول) من فتال أميد البوتاسيوم ثم يضاف كمية 9.66 غرام (117.9 ميلي مول) من كربونات الصوديوم الحامضية. يوضع المزيج بالتقطير المرتد لمدة 3 ساعات ، يترك بعدها لتنخفض حرارته لدرجة حرارة الغرفة يتم بعدها ترشيح المزيج ويفصل المركب الصلب الأبيض عن الرشاحة والتي تأخذ ويبخر المحل عنها ثم يضاف الماء المقطر بشكل تدريجي حتى يتشكل راسب أبيض يتم ترشيحه ويكون هذا الراسب هو مشتق الفتال أميد للمركب المطلوب. يضاف إلى الراسب الأبيض 200 مل من بروم الهيدروجين (48٪) يوضع المزيج تحت التقطير المرتد لمدة 15 ساعة. يبرد المزيج بعد انتهاء التقطير إلى حرارة الغرفة ثم يبرد المزيج إلى درجة حرارة الصفر المئوية فنحصل على راسب هو حمض الفتاليك والذي يفصل بالترشيح. تؤخذ الرشاحة وتبرد إلى درجة الصفر المئوية بواسطة حمام ثلجي ويضاف إلى الرشاحة محلول 10 مولي من هدروكسيد الصوديوم بشكل تدريجي مع التحريك حتى نصل إلى وسط قلوي يتم استخلاص المركب من الطور المائي بواسطة ثنائي إيثيل الإيثر عدة مرات (3 مرات بحجم 50 مل كل مرة)، ثم يتم تجفيف الطور العضوي (PH=10) بواسطة كبريتات المغنيزيوم اللامائية ومن ثم يتم تبخير ثنائي إيثيل الإيثر فنحصل على4.89 غرام من (6–ميثوكسي بيرين2– ايل) ميثيل أمين ويكون المردود 54٪.

NMR^{1}H: ($CDCl_3$,δ, ppm): 7.65 (dd,1H), 7.3-7.1 (m, 2H), 4.0 (s, 2H), 2.0 (br s) 3.66 (s,3H).

NMR ^{13}C : ($CDCl_3$, δ, ppm) :165.7, 156.2, 143.3, 123.6, 109.5, 52,1, 48,2.

8–اصطناع *N*-(6-(aminomethyl)pyridin-2-yl)pivalamide

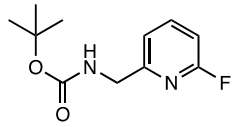


يذاب 15 غرام (55.5 ميلي مول) من N– (6برومو ميثيل (بيريدين-2- يل) بيفالوأمين في 150 مل من ثنائي ميثيل فورمألدهيد (DFM). يضاف اليه 19.65 غرام (111 ميلي مول) من فتال أميد البوتاسيوم ثم يضاف كمية 10.4 غرام (126.4 ميلي مول) من كربونات الصوديوم الحامضية. يوضع المزيج بالتقطير المرتد لمدة 3ساعات ، يترك بعدها لتنخفض

حرارته لدرجة حرارة الغرفة يتم بعدها تبخير المحل عنها ثم يضاف (3.27 غرام =99 ميلي مول) من هدرات الهيدرازين يضاف 20 مل من الإيثانول يوضع المزيج تحت التقطير المرتد لمدة 3 ساعة. يبرد المزيج بعد انتهاء التقطير إلى حرارة الغرفة ثم يبخر الإيثانول يضاف 20 مل من الماء المقطر وإضافة حمض كلور الماء 6 مولي حتى يصبح المحلول حمض (pH=1)يسخن المزيج حتى درجة حرارة 80 درجة مئوية لمدة 2 ساعة يبرد الناتج إلى حرارة الغرفة يرشح المزيج الراسب الأبيض الناتج هو فينيل هيدرازيد يضاف هيدروكسد الصوديوم حتى يصبح المحلول قلوي (pH=11). يتم استخلاص المركب من الطور المائي بواسطة الكلوروفورم عدة مرات ويتم تجفيف الطور العضوي بواسطة كبريتات الصوديوم اللامائية يبخر المحل فنحصل على 7.95 غرام من6–أمينوميثيل بيردين2–يل –بيفالوأميد بمردود 70٪

NMR^{1}H: ($CDCl_3$, δ, ppm): 8.06 (d, *J* =8.0 Hz, 1H), 7.96 (br, 1H), 7.61 (t, *J* = 8.0 Hz, 1H), 6.94 (d, *J* = 8Hz, 1H), 3.86 (br, 2H), 2.09 (br), 1.29 (s, 9H).

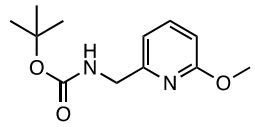
9–اصطناع tert-butyl (6-Fluoropyridin-2-yl)methylcarbamate



يذاب 6 غرام (47.58 ميلي مول) من 6(–فلورو بيريدين-2-ايل) ميثان أمين في 50 مل من ثنائي كلورالميثان، يضاف إلى المحلول السابق 27.97 غرام (128.3 ميلي مول) من ثنائي (ثالثي بوتيل ثنائي كربونات)، ثم يضاف 50 مل من محلول هيدروكيد الصوديوم 7 نظامي إلى المزيج التفاعلي يتم تحريك المزيج بدرجة حرارة المختبر لمدة 3 ساعات. بعد هذه المرحلة يتم الاستخلاص بواسطة ثنائي كلور الميثان ثلاث مرات كل مرة بواسطة 50 مل، يجفف الطور العضوي بواسطة محلول كلور الصوديم فوق المشبع ومن ثم بواسطة كبريتات المغنيزيوم اللامائية، يرشح المزيج ويؤخذ الطور العضوي ويبخر المحل، وينقى بواسطة عمود الفصل الكروموتوغرافي باستخدام الألومين باستخدام مزيج من 70٪ ثنائي كلور الكربون و30٪ خلات الايثيل. نحصل على 6 غرام من المركب المطلوب كمادة صلبة ذات لون أبيض مائلة إلى البرتقالي بمردود 55.4٪.

NMR^{1}H: ($CDCl_3$,δ, ppm): 7.53-7.48 (dd,1H,CH), 7.38-7.35 (d, 1H,CH), 7.25-7.23 (d, 1H,CH) ; 5.4,(br,NH) 4.40-4.38 (d, 2H,CH_2), 1.45, (s, 9H).

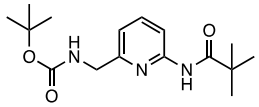
10–اصطناع *tert*-butyl ((6-methoxypyridin-2-yl)methyl)carbamate



يذاب 6 غرام (43.4 ميلي مول) من 6(–ميثوكسي بيريدين-2-ايل) ميثان أمين في 50 مل من ثنائي كلورالميثان، يضاف إلى المحلول السابق 27.97 غرام (128.3 ميلي مول) من ثنائي (ثالثي بوتيل ثنائي كربونات)، ثم يضاف 50 مل من محلول هيدروكيد الصوديوم 7 نظامي إلى المزيج التفاعلي يتم تحريك المزيج بدرجة حرارة المختبر لمدة 3 ساعات. بعد هذه المرحلة يتم الاستخلاص بواسطة ثنائي كلور الميثان ثلاث مرات كل مرة بواسطة 50 مل، يجفف الطور العضوي بواسطة محلول كلور الصوديم فوق المشبع ومن ثم بواسطة كبريتات المغنيزيوم اللامائية، يرشح المزيج ويؤخذ الطور العضوي ويبخر المحل، وينقى بواسطة عمود الفصل الكروموتوغرافي باستخدام الألومين باستخدام مزيج من 70٪ ثنائي كلور الكربون و30٪ خلات الإيثيل. نحصل على 5.8 غرام من المركب المطلوب كمادة صلبة ذات لون أبيض بمردود53.2٪.

NMR^{1}H: ($CDCl_3$, δ, ppm): 7.53-7.48 (dd,1H,CH), 7.38-7.35 (d, 1H,CH), 7.25-7.23 (d, 1H,CH) ; 5.4,(br,NH) 4.40-4.38 (d, 2H,CH_2), 3.83, (s, 3H)., 1.45, (s, 9H).

11–اصطناع tert-butyl ((6-pivalamidopyridin-2-yl)methyl)carbamate

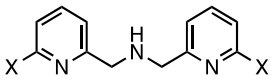


يذاب 6 غرام (28.9 ميلي مول) من N-(6(–أمينو ميثيل) بيريدين-2-ايل) بيفال أميد في 50 مل من ثنائي كلورالميثان، يضاف إلى المحلول السابق 27.97غرام (128.7ميلي مول) من ثنائي (ثالثي بوتيل ثنائي كربونات)، ثم يضاف 50 مل من محلول هيدروكيد الصوديوم 7 نظامي إلى المزيج التفاعلي يتم تحريك المزيج بدرجة حرارة المختبر لمدة 3 ساعات. بعد

هذه المرحلة يتم الاستخلاص بواسطة ثنائي كلور الميثان ثلاث مرات كل مرة بواسطة 50 مل، يجفف الطور العضوي بواسطة محلول كلور الصوديم فوق المشبع ومن ثم بواسطة كبريتات المغنيزيوم اللامائية، يرشح المزيج ويؤخذ الطور العضوي ويبخر المحل، وينقى بواسطة عمود الفصل الكروموتوغرافي باستخدام الألومين باستخدام مزيج من65٪ ثنائي كلور الكربون و35٪ خلات الإيثيل. نحصل على 5.5 غرام من المركب المطلوب كمادة صلبة ذات لون أبيض بمردود 51.5٪.

NMR^{1}H: ($CDCl_3$,δ , ppm): 8.06 (d, *J* =8.0 Hz, 1H), 7.96 (br, 1H), 7.61 (t, *J* = 8.0 Hz, 1H), 6.94 (d, *J* = 8Hz, 1H), 3.86 (br, H), 2.09 (br H), , 1.45 (s 9H), 1.29 (s, 9H).

12-اصطناع bis((6-function pyridin-2yl)methyl)amine(X_2DPA)



يحضر محلول من (10.93 ميلي مول) من المشتق المحمي بزمرة الحماية (Boc) والحاوي على مختلف الزمر الوظيفية (في الموقع α بالنسبة لحلقة البيريدين) المحضرة أعلاه (ميثوكسي، فلورو، بيفالوأميد) في 50 مل من الDMF الجاف، يضاف إلى هذا المحلول (10.93 ميلي مول) NaH 60% يوضع المزيج التفاعلي بحرارة الغرفة مع التحريك المستمر بجو من غاز الأرغون الخامل لمدة ساعة حتى تجانس المحلول.

يضاف إلى المزيج محلول ما مقداره (10.93 ميلي مول) من المشتق البرومي والحاوي على مختلف الزمر الوظيفية (في الموقع α بالنسبة لحلقة البيريدين) المحضرة أعلاه (ميثوكسي، فلورو، بيفالوأميد) في 50 مل من الDMF يترك المزيج بنفس الشروط السابقة من درجة حرارة وجو من الغاز الخامل مع التحريك لمدة 9 ساعات، من ثم يبخر المحل، ويتم استخلاص أكثر من مرة (3*50 مل) بواسطة ثنائي إيثيل الإيثر، يجفف المحلول باستخدام كبريتات المغنيزيوم اللامائية يرشح المزيج ويبخر المحل فنحصل على مركبات صلبة بنية اللون بمردود بحدود 70٪.

المشتق الفلوري:

NMR^{1}H: ($CDCl_3$,δ, ppm): 7.48-7.43(dd, 2H), 7.3-7.28 (d, 2H); 7.27-7.25 (d, 2H), 4.57-4.50(d, 4H), 1.35 (s, 9H).

المشتق ميثوكسي:

NMR ^{1}H: ($CDCl_3$,δ, ppm): 7.53-7.48 (dd,2H), 38-7.35 (d, 2H); 7.25-7.23 (d, 2H), 4.40-4.38 (d, 4H,CH_2), 3.83, (s, 6H)., 1.45, (s, 9H).

المشتق بيفالو أميد

NMR ^{1}H: ($CDCl_3$,δ , ppm): 8.06 (d, *J* =8.0 Hz, 2H), 7.96 (br, 2H), 7.61 (t, *J* = 8.0 Hz, 2H), 6.94 (d, *J* = 8Hz, 2H), 1.45 (s 18H), 1.29 (s, 9H).

الطريقة المتبعة لفك زمرة الحماية (Boc): نحضر محلول من (7.54 ميلي مول) النواتج السابقة في الديوكسان ثم يضاف إليه محلول 6N, HCl يوضع المزيج بالتحريك لمدة 3 ساعات في درجة حرارة الغرفة، يعدل بعدها المزيج بواسطة هيدروكسيل الصوديوم حتى 11= pH. يتم بعدها الاستخلاص بواسطة $CHCl_3$ ، يتم بعدها تجفيف المحلول بواسطة كبريتات المغنزيوم اللامائية ، ثم يتم ترشيح المزيج ويفصل الصلب عن المحلول، يبخر المحل فنحصل على النواتج على شكل مواد صلبة بيضاء مائلة إلى البرتقالي بدرجات متفاوتة وبمردود كمي>98٪.

المشتق الفلوري:

NMR ^{1}H: ($CDCl_3$,δ, ppm): 7.6 (dd,2H), 7.4 (d, 2H), 6.7 (d, 2H), 4.0 (s, 4H), 2.0 (1br s).

NMR ^{19}F ($CDCl_3$, δ, ppm) :

(-67.93, $^3J_{FH}$ = 8.25 Hz.)

التحليل العنصري: $C_{12}H_{11}F_2N_3$.الحسابي.% : C: 61.27; H: 4.71; N: 17.86.

ناتج التحليل : C: 61.49; H: 4.79; N: 18.08.

المشتق ميثوكسي:

NMR ^{1}H: ($CDCl_3$,δ, ppm): 7.65 (dd,2H), 7.3-7.1 (m, 4H), 4.0 (s, 4H), 2.0 (br s) 3.66 (s,6H).

التحليل العنصري: $C_{14}H_{17}N_3O_2$.الحسابي .% : C:64.85; H: 6.61; N: 16.20.

ناتج التحليل : C: 64.59; H: 6.42; N: 16.03.

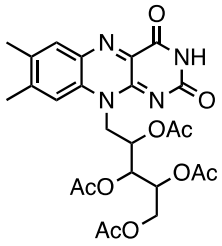
المشتق بيفالو أميد

NMR^{1}H: ($CDCl_3$,δ, ppm): 8.06 (d, *J* =8.0 Hz, 2H), 7.96 (br, 1H), 7.61 (t, *J* = 8.0 Hz, 4H), 6.94 (d, *J* = 8Hz, 2H), 3.86 (br, 1H), 2.09 (br), 1.29 (s, 18H).

التحليل العنصري: $C_{22}H_{31}N_5O_2$. الحسابي. .% : C: 66.47; H: 7.86; N: 17.62.

ناتج التحليل : C: 66.37; H: 7.77; N: 17.72.

13-اصطناعriboflavin tetra Acetae:



اصطناع رباعي خلات ريبوفلافين وذلك حسب المرجع Müller[21]

بإذابة 20 غرام من الريبوفلافين (36.54 ميلي مول) في 75مل من حمض الخل 100٪ ويضاف إليها كمية مماثلة أي 75 مل من بلاماء حمض الخل في دورق ثنائي الرأس بحيث يحرك المزيج ويضاف إليه بالتنقيط ما مقداره 8 مل من حمض بيركلوريك كثيف ومبرد حتى درجة صفر مئوية، يستمرتحريك الخليط التفاعلي بعد إضافة الوسيط مدة ساعة ومن ثم يضاف 11 مل من الماء المبرد حتى درجة الصفر مئوية، يتم بعدها استخلاص الناتج بواسطة ثنائي كلور الكربون 3 مرات كل مرة بواسطة 50 مل.

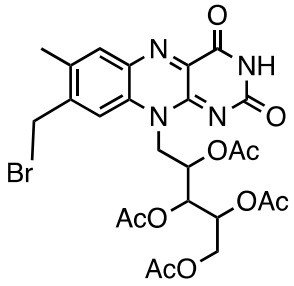
يجفف الطور العضوي بواسطة كبريتات المغنيزيوم اللامائية ومن ثم يتم ترشيح المزيج وتؤخذ الرشاحة ويتم تقليص الحجم حتى 20 مل بواسطة المبخر الدوار، يتم ترسيب الناتج عن

طريق إضافة ثنائي إيثيل الإيثرالجاف بالتنقيط حتى تمام الترسيب، يتم بعدها فصل الراسب بعملية ترشيح بواسطة ورق الترشيح المخبري ويتم بعدها غسل الراسب بواسطة ثنائي إيثيل الإيثر الجاف والبارد ثلاث مرات في كل مرة 30 مل ومن بعدها يجفف الراسب باستخدام المخلية، فنحصل على راسب أصفر شاحب مع مردود 90٪.

NMR1H: δ, CDCl3, ppm: 8.5 (s, 1H, Ar□□; 8.02 (s, 1H, NH); 7.56 (s, 1H, Ar); 5.74-7.60 (1H, CH aliphatic); 5.50-5.35 (m, 2H, CH, aliphatic); 5.28 – 5.70 (Large , 2H, N-CH2); 4.50-4.37 (dd, 1H, aliphatic); 4.30-4.14 (dd, 2H, aliphatic); 2.56 (s, 3H, methyl); 2.44 (s, 3H, methyl); 2.28 (s, 3H, acetyl); 2.21 (s, 3H, acetyl); 2.07 (s, 3H, acetyl) ; 1.75 (s, 3H, acetyl).

NMR ^{13}C *δ, $CDCl_3$, ppm*:170.68(C, of CO, acetyl);170.37(C, of CO, acetyl);169.90(C, of CO, acetyl):169.77(C, of CO, acetyl) ; 159(C, of CO, carbonyl, riboflavine); 155(C, of CO, carbonyl, riboflavine); 150(C, of riboflavine); 148(C, of riboflavine); 137(C,C-CH_3 of riboflavine) ;135(C,C-CH_3 of riboflavine) ; 134(C, of riboflavine) ; 132(C aromatic of,CH of riboflavine); 132(C, aromatic of,CH de riboflavine); 115(C, aliphatic of CH riboflavine) ; 70.63(C, aliphatic of CH riboflavine); 69.59(C, aliphatic of CH riboflavine) ; 69.37(C, aliphatic of CH riboflavine); 68.98(C, aliphatic of CH_2 riboflavine); 61.86(C, aliphatic of CH_2 riboflavine); 24.45 (C, of CH_3, acetyl) ; 21.04(C, of CH_3, carbonyl, acetyl); 20.80(C, of CH_3, acetyl); 20.68(C, of CH_3, acetyl,); 20.32(C, of CH_3, riboflavine) ; 19.43(C, of CH_3, riboflavine).

14–اصطناع bromo-tetra Acetate riboflavine



يتم الحصول على أحادي برومو رباعي خلات الريبوفلافين وفقاً للطريقة الموصوفة في مقالة Walker et al.[22]

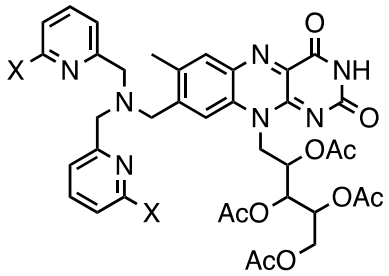
وذلك بإذابة 7 غرام (12.9 ميلي مول) من رباعي خلات الريبوفلافين المحضر سابقاً في 70 مل من الديوكسان ويضاف اليها 60 ملغ من المبادر وهو بيروكسيد ثنائي البينزويل ومن ثم يضاف ما مقداره 2.9 غرام (18 ميلي مول) من البروم المحلول في 10 مل من رباعي كلور الكربون بالتنقيط مع التحريك خلال 5 دقائق ذم يوضع المزيج بالتقطير المرتد لمدة 20 دقيقة، يترك المزيج ليبرد إلى حرارة الغرفة ثم يتم تبخير المحل بالمبخر الدوار ومن بعدها يتم إعادة إذابة المادة الصلبة في 70 مل من ثنائي كلور الميثان ويتم غسله بواسطة محلول موقي (pH=7) من الفوسفات مرتين متتاليتين ومن ثم يغسل بالماء المقطر يجفف الطور العضوي بواسطة كبريتات المغنيزيوم اللامائية، يرشح المزيج وتؤخذ الرشاحة ويخفض الحجم حتى 20 مل بالتبخير.

نحصل على المشتق البرومي للرباعي خلات الريبوفلافين عن طريق الترسيب بإضافة 80مل من ثنائي إيثيل الإيثر الجاف والبارد فنحصل على مادة صلبة صفراء اللون تجفف بالضغط المنخفض فنحصل على مردود 75٪من المشتق البرومي لرباعي خلات الريبوفلافين.

NMR ^{1}H: δ, CDCl3, ppm:□δ, CDCl3, ppm: 8.78 (s, 1H, NH); 8.02 (s, 1H, Ar□□; 7.80(s, 1H, Ar); 5.74-7.60 (1H, CH aliphatic); 5.50-5.35 (m, 2H, CH, aliphatic); 5.28 – 5.70 (Large , 2H, N-CH2); 4.67(s, 2H, CH2,of Br-CH2); 4.50-4.37 (dd, 1H, aliphatic); 4.30-4.14 (dd, 2H, aliphatic); 2.58 (s, 3H, methyl); 2.29 (s, 3H, acetyl); 2.24 (s, 3H, acetyl); 2.08 (s, 3H, acetyl) ; 1.75 (s, 3H, acetyl).

NMR ^{13}C δ, CDCl3, ppm:170.68(C, of CO, acetyl);170.37(C, de CO, acetyl);169.90(C, of CO, acetyl):169.77(C, of CO, acetyl) ; 159(C, of CO, carbonyl, riboflavine); 155(C, of CO, carbonyl, riboflavine); 150(C, of riboflavine); 148(C, of riboflavine); 137(C,C-CH3 of riboflavine) ;135(C,C-CH3 of riboflavine) ; 134(C, of riboflavine) ; 132(C aromatic of,CH of riboflavine); 132(C, aromatic of,CH of riboflavine); 115(C, aliphatic of CH riboflavine) ; 70.63(C, aliphatic of CH riboflavine); 69.59(C, aliphatic of CH riboflavine) ; 69.37(C, aliphatic of CH riboflavine); 68.98(C, aliphatic of CH2 riboflavine); 61.86(C, aliphatic of CH2 riboflavine); 30.8(C, of CH2-Br); 24.45 (C, of CH3, acetyl) ; 21.04(C, of CH3, carbonyl, acetyl); 20.80(C, of CH3, acetyl,); 20.68(C, of CH3, acetyl,); 20.32(C, ofCH3, riboflavine) ; 19.43(C, of CH3, riboflavine).

15-اصطناع X_2DPA-tetra Acetate riboflavine



يؤخذ 8 غرام (12.83 ميلي مول) من أحادي برومو رباعي خلات الريبوفلافين ويذاب في 100 مل من (DMF) الجاف ويضاف إليها عدد غرامات مكافئ ل(25.6 ميلي مول) من (X_2DPA) حيث أن الزمر الوظيفية المختلفة هنا هي الزمر الوظيفية في الموقع α بالنسبة لحلقة البيريدين/ المحضرة أعلاه (ميثوكسي، فلورو، بيفالوأميد).

يترك المزيج بالتحريك لمدة 24 ساعة بدرجة حرارة الغرفة. بنهاية التفاعل يبخر المحل بالضغط المنخفض تحل المادة الزيتية المتبقية بعد تبخير المحل ب 50 مل من ثنائي كلور الميثان وتغسل ثلاث مرات بالماء المقطر كل مرة باستخدام 50 مل، يجفف الطور العضوي بواسطة كبريتات المغنيزيوم اللامائية، يتم بعدها ترشيح المزيج وتؤخذ الرشاحة ويتم تقليص حجم المحل إلى 20 مل يرسب الناتج بإضافة 80 مل من ثنائي إيثيل الإيثر الجاف والبارد يتم فصل الناتج الصلب بالترشيح ويجفف بالضغط المنخفض ويكون الناتج صلب أصفر مائل إلى اللون البني بمردود 60٪ في الحالات الثلاثة .

F_2DPA-tetra Acetate riboflavine

NMR^{1}H*: δ, $CDCl_3$, ppm*: 8.53 (s, 1H, NH); 7.92 (s, 1H Ar); 7.6 (dd,2H DPA γ); 7.56 (s, 1H, Ar); 7.46 (d, 2H, DPA β'); 7.23 – 7.19 (m, 2H, DPA β); 5.59 (d, 1H, ribityl CH); 5.46 (m, 2H, ribityl CH_2); 5.3 – 5.1 (m, 2H, N-CH_2); 4.44-4.39 (dd, 1H, aliphatic); 4.31-4.23 (m, 1H, aliphatic); 4.11-3.98 (dd, 4H, CH_2-DPA); 3.82 (s, 2H, CH_2-ribofl.); 2.55 (s, 3H, methyl); 2.42 (s, 3H, acetyl); 2.32 (s, 3H, acetyl); 2.26 (s, 3H, acetyl); 2.19 (s, 3H, acetyl).

NMR ^{13}C *δ, $CDCl_3$, ppm*: 170.6-169.4 (4 acetyl C=O); 159.4 (flavin C=O); 157.8 ($2C_{quat}$); 154.7 (flavin C=O); 150.6 (C_{quat}); 160.7 (2 $CF_{pyridyl}$); 148.0 (C_{quat}); 136.5 ($2CH_{pyridyl}$); 134.5 ($2C_{quat}$); 132.9 ($2CH_{pyridyl}$); 123.5 ($CH_{pyridyl}$); 122.6 ($CH_{pyridyl}$); 115.5 ($2CH_{Ar}$); 70.4, 69.4, 69.1 (3CH); 61.9 (CH_2 ribofl.); 59.7 ($2CH_{2pyridyl}$); 55.1 (CH_2); 45.0 (CH_2); 21.4, 21.1, 21.0, 20.8, 20.7 (CH_3).

التحليل العنصري: $C_{37}H_{37}F_2N_7O_{10}$: الحسابي: C: 57.14; H:4.80; N: 12.61.

ناتج التحليل: : C: 56.98; H:4.71; N: 12.47.

Mass spectroscopy: ES^+, CH_3CN + 0.1% formic acid, m/z: 778 $(L+H^+)$.

(MeO)$_2$DPA-tetra Acetate riboflavine

NMR^{1}H: ($CDCl_3$,δ en ppm): 7.65 (dd,2H), 7.3-7.1 (m, 4H), 4.0 (s, 4H), 2.0 (br s) 3.66 (s,6H).

NMR^{1}H*: δ, $CDCl_3$, ppm*:8.53 (s, 1H, NH); 7.92 (s, 1H Ar); 7.65 (t, 2H, DPA γ); 7.56 (s, 1H, Ar); 7.3-7.28 (d, 2H, DPA β'); 7.18 – 7.15 (m, 2H, DPA β); 5.59 (d, 1H, ribityl CH); 5.46 (m, 2H, ribityl CH_2); 5.3 – 5.1 (m, 2H, N-CH_2); 4.44-4.39 (dd, 1H, aliphatic); 4.31-4.23 (m, 1H, aliphatic); 4.11-3.98 (dd, 4H, CH_2-DPA); 3.82 (s, 2H, CH_2-ribofl.); 3.66 (s,6H, OMe). 2.55 (s, 3H, methyl); 2.42 (s, 3H, acetyl); 2.32 (s, 3H, acetyl); 2.26 (s, 3H, acetyl); 2.19 (s, 3H, acetyl).

NMR ^{13}C *δ, $CDCl_3$, ppm*: 170.6-169.4 (4 acetyl C=O); 159.4 (flavin C=O); 157.8 ($2C_{quat}$); 154.7 (flavin C=O); 150.6 (C_{quat}); 159.4 (2 $COMe_{pyridyl}$); 148.0 (C_{quat}); 136.5 ($2CH_{pyridyl}$); 134.5 ($2C_{quat}$); 132.9 ($2CH_{pyridyl}$); 123.5 ($CH_{pyridyl}$); 122.6 ($CH_{pyridyl}$); 115.5 ($2CH_{Ar}$); 70.4, 69.4, 69.1 (3CH); 61.9 (CH_2 ribofl.); 59.7 ($2CH_{2pyridyl}$); 56.5 (OCH_3). 55.1 (CH_2); 45.0 (CH_2); 21.4, 21.1, 21.0, 20.8, 20.7 (CH_3).

التحليل العنصري: $C_{39}H_{43}N_7O_{12}$ الحسابي C: 58.42; H:5.41; N:12.23.

ناتج التحليل: C: 58.36; H:5.35; N:12.11.

Mass spectroscopy: ES^+, CH_3CN + 0.1% formic acid, m/z: 802 $(L+H^+)$.

(PivNH)$_2$DPA-tetra Acetate riboflavine

NMR^{1}H*: δ, $CDCl_3$, ppm*: 8.53 (s, 1H, NH); 8.06 (d, *J* =8.0 Hz, 2H DPA γ); 7.6 (d, 2H, DPA β'); 7.10 ((d, *J* = 8Hz, 2H, DPA β); 7.92 (s, 1H Ar); 7.56 (s, 1H, Ar); 5.59 (d, 1H, ribityl CH); 5.46 (m, 2H, ribityl CH_2); 5.3 – 5.1 (m, 2H, N-CH_2); 4.44-4.39 (dd, 1H, aliphatic); 4.31-4.23 (m, 1H, aliphatic); 4.11-3.98 (dd, 4H, CH_2-DPA); 3.82 (s, 2H, CH_2-ribofl.); 2.55 (s, 3H, methyl); 2.42 (s, 3H, acetyl); 2.32 (s, 3H, acetyl); 2.26 (s, 3H, acetyl); 2.19 (s, 3H, acetyl); 2.08 (br), 1.29 (s, 18H).

NMR ^{13}C δ, $CDCl_3$, *ppm*: 170.6-169.4 (4 acetyl C=O); 159.4 (flavin C=O); 157.8 ($2C_{quat}$); 154.7 (flavin C=O); 150.6 (C_{quat}); 149.4 (2 $C(Piv)_{pyridyl}$); 148.0 (C_{quat}); 136.5 ($2CH_{pyridyl}$); 134.5 ($2C_{quat}$); 132.9 ($2CH_{pyridyl}$); 123.5 ($CH_{pyridyl}$); 122.6 ($CH_{pyridyl}$); 115.5 ($2CH_{Ar}$); 70.4, 69.4, 69.1 (3CH); 61.9 (CH_2 ribofl.); 59.7 ($2CH_{2pyridyl}$); 55.1 (CH_2); 45.0 (CH_2); 27.6 (CH_3 Piv). 21.4, 21.1, 21.0, 20.8, 20.7 (CH_3).

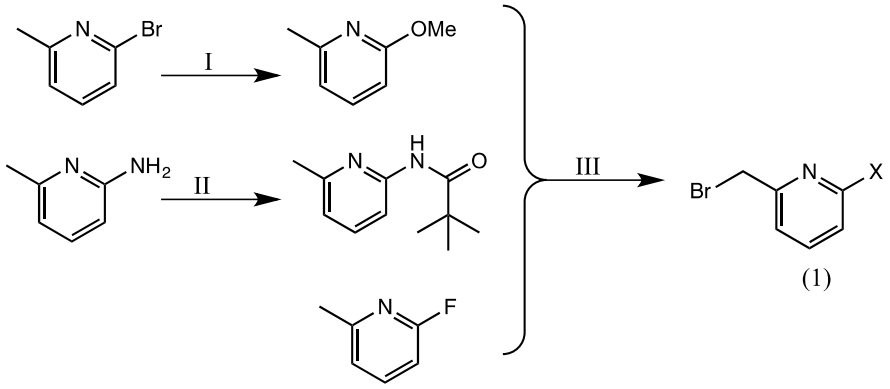
التحليل العنصري: $C_{47}H_{57}N_9O_{12}$ الحسابي : C: 60.05; H:6.11; N: 13.41.

ناتج التحليل: C: 59.93, H: 6.01, N: 13.32.

Mass spectroscopy: ES^+, CH_3CN + 0.1% formic acid, m/z: 942 $(L+H^+)$.

النتائج والمناقشة

يظهر المخطط رقم 1 عملية الإعداد لاصطناع اللواجن (المرتبطات) ابتداءً من المواد الأولية وذلك حسب الشروط الموجودة بكل عملية على حدى، يتم تحضير المواد الأولية للحصول على ميثيل بيردين مستبدل بالموقع α بالنسبة لذرة الآزوت وذلك حسب الزمر الوظيفية المطلوبة أو استخدام ماهو متوفر تجارياً في حالة الاستبدال بالفلور.

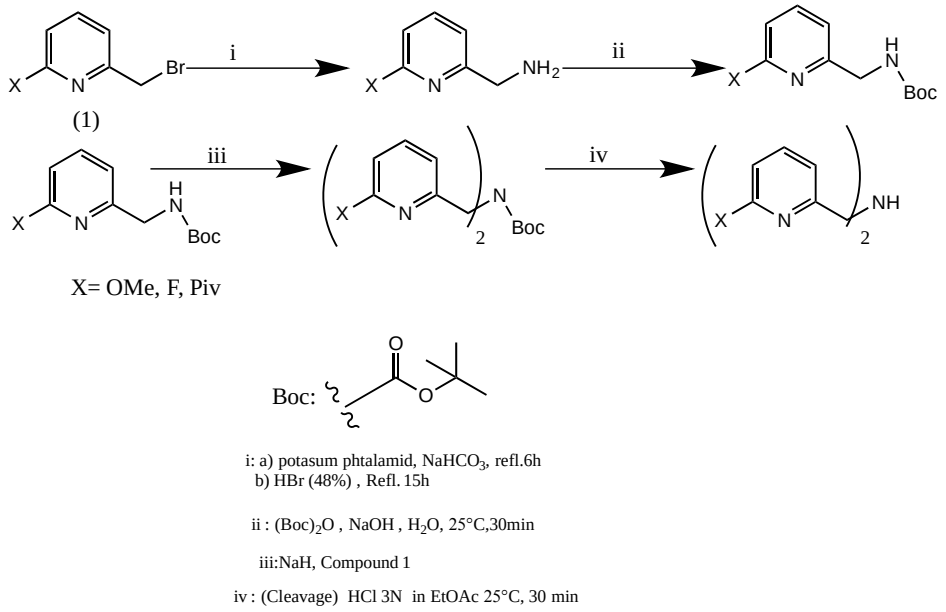


I: Rection in DMF, a) NaH,0°C 15min under Argon,
b) MeOH,3h,80°C reflux.
II: Rection in DCM, Pivolyl chloried, Et_3N, 0°C, 1h.
III: Reaction in Carbon tetra chloried, NBS, reflux 80°C, 4h.

المخطط 1 : مخطط توضيحي لعملية تحضير المواد الأولية لتحضير اللواجن (المرتبطات)

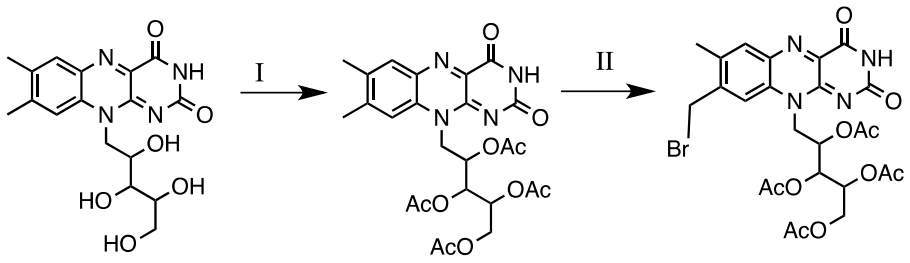
(NBS: N-bromo-succinimide)

يتم تحضير اللواجن (المرتبطات) من نمط ثنائي(2–بيريديل ميثيل)أمين المستبدلة بالموقع α بالنسبة لذرة الهيدروجين عن طريق تحويل المشتق البرومي المشار اليه أعلاه بالمركب رقم 1 إلى الأمين الموافق عن طريق اصطناع غابرييل (مرجع) ومن ثم استخدام زمرة الحماية (Boc) والتي تتيح التفاعل مع المركب رقم 1 من جديد وتشكيل اللواجن (المرتبطات) من الشكل ثنائي(2–بيريديل ميثيل)أمين وذلك بعد فك زمرة الحماية كما هو موضح بالمخطط رقم 2.



المخطط :2 اصطناع اللواجن (المرتبطات) من نمط ثنائي(2–بيريديل ميثيل)أمين DPA.

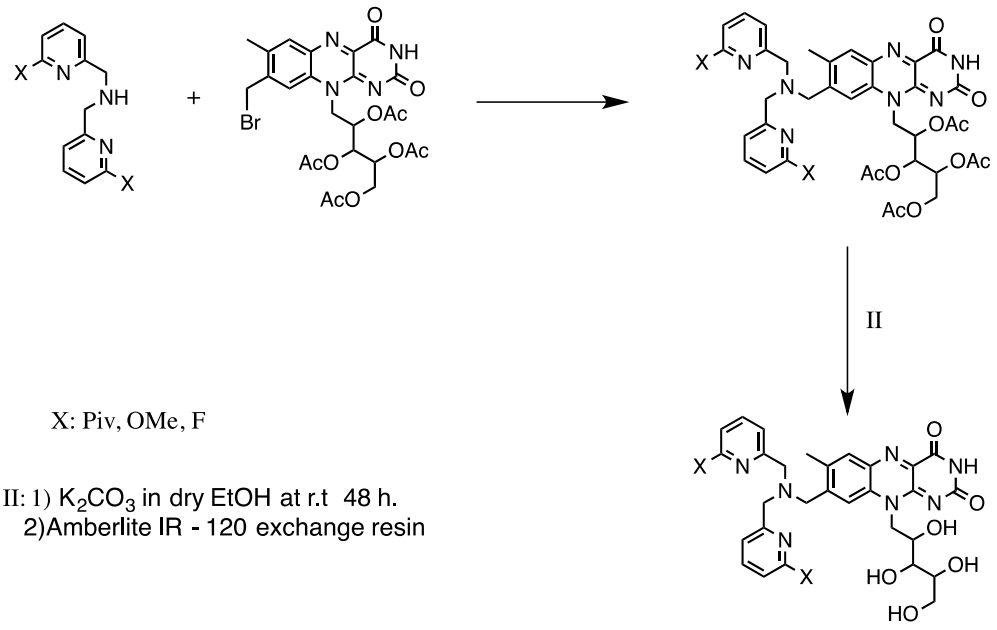
بعد أن تم اصطناع اللواجن (المرتبطات) من النمط ثنائي(2–بيريديل ميثيل)أمين DPA نقوم الآن بإعداد الريبوفلافين لعملية ربطه مع هذه اللواجن (المرتبطات)، حيث نقوم بحماية الزمر الغولية في الريبوفلافين عن طريق تفاعلها مع بلاماء حمض الخل لتشكيل خلات الريبوفلافين ومن ثم نقوم بتفاعل برومة زمرة الميثيل لتشكيل برومو–خلات الريبوفلافين وفق المخطط رقم 3



I: Reaction in AcOH, $(Ac)_2O$, $HClO_4$, 1h.
II: Reaction in deoxan, dibenzoylperoxid, Br_2 in CCl_4, relux.20min

المخطط 3: إعداد الريبوفلافين لربطه مع اللواجن (المرتبطات) من نمط DPA.

يوضح المخطط رقم 4 عملية ربط اللواجن (المرتبطات) من نمط DPA مع الريبو فلافين لتشكيل معقد الارتباط (DPA's/ريبوفلافين) حيث تم هذا التفاعل باستخدام مكافئين من اللواجن (الربائط) [19,20,21,22] DPA مع 8-α- برومو رباعي خلات الريبوفلافين [20,22,23] في مذيب هو DMF جاف لمدة 24 ساعة حيث تمت أقلمة العملية المستخدمة في تفاعل إعداد 8-α-N ايميدازوليل ريبو فلافين[21]. يبخر المحل و نحصل على مركبات برتقالية مائلة إلى اللون البني بعملية إعادة البلورة من مزيج ثنائي كلور الكربون مع ثنائي ايثيل الايثر (Et_2O/CH_2Cl_2). نحصل على هذه المركبات بمردود يتراوح بين 55-65%.



مخطط رقم 4 يوضح عملية ربط اللواجن (المرتبطات) مع 8-α- برومو رباعي خلات الريبوفلافين وعملية نزع زمر الخلات باستخدام كربونات البوتاسيوم ومن ثم تعديل وسط التفاعل بواسطة ريزينات التبادل الشاردي من نوع Amberlite IR – 120 exchange resin.

لفك زمر الحماية، وهي هنا أربع زمر خلات نستخدم الطريقة التقليدية [17] أي نستخدم كربونات البوتاسيوم K_2CO_3 بوسط من الإيثانول الجاف ولمدة 48 ساعة مع التحريك ونقوم بتعديل الوسط باستخدام ريزين التبادل الشاردي (البوليستيرين المسلفن) وهو من نوع,Amberlite IR – 120 exchange resin كما هو موضح بالمخطط رقم 4، المركبات الناتجة بنية اللون حلولة بأغلب المحلات العضوية.

الاستنتاجات والتوصيات

إن حقيقة امكانية أن يقوم معقد الفلافين/فلافودوكسن (flavin/flavodoxin) بوظيفة حامل لإلكترون واحد ضمن مجال قريب من كمون مساري الهيدروجين كما استعرضناه سابقاً مما سمح بتعديل بنية الجزء المرتبط بالريبو فلافين، تمكننا أن نضيف مجموعات ساحبة للإلكترونات أو مانحة للإلكترونات. إذا ثبتنا العامل الفراغي وقمنا بدراسة العامل الالكتروني،

أو يمكن أن نثبت العامل الالكتروني ونقوم بتعديل البنية الفراغية ومن ثم إجراء تعديلات تسمح بتطوير العامل الالكتروني بما يتوافق وأهداف الدراسات المراد تطبيقها على هذا النمط من الأنزيمات الصناعية ويمكن لنا أن نقوم بكلتا العمليتين في نفس الوقت.

لقد تمت دراسة معقدات ثنائي كلوريد الحديد مع لواجن (ربائط) تحوي مستبدلات على حلقة البيريدين في الموقع α-بشكل موسع خلال السنوات السابقة وقد استطعنا إجراء تعديلات بنيوية مكنتنا من التحكم بالبنية الفراغية للمعقد عن طريق اصطناع العديد من اللواجن.

وقد بينت الدراسات الأثر الواضح لمستبدلات الفلور والتي ترفع من تفاعلية المركز المعدني مع الأكسجين الجزيئي لكون ذرات الفلور تمثل زمر ساحبة للإلكترونات مما يزيد من حمضية المركز المعدني (حمض لويس [29,30]) وهو ما يمثل الفعل الالكتروني لتنشيط هذا النوع من التفاعلات في حين وجود مجموعات ذات فعل معيق فراغياً أو مانح للإلكترونات يؤدي إلى تبطيئ هذا النوع من التفاعلات[31,32]

أيضاً، بينت هذه الدراسات أن وجود زمر وظيفية من النمط المحضر في هذه الدراسة على المرتبطات استطاع أن يحسن وبشكل جيد من خواص وفعالية معقداتها (وهو عائد للتأثير الالكتروني) مع الأكسجين الجزيئي[32,33]. إن ارتباط هذا النمط من المعقدات مع مواد بروتينية ناقلة للإلكترونات تسمح بإرجاع الحديد الثلاثي بعد التفاعل إلى حديد ثنائي مما يمكن من تصميم نظم المحاكاة البيولوجية للأنزيمات المؤكسدة والتي تتفاعل بشروط لطيفة وباستخدام أكسجين الهواء، يُمَكن من تطوير عمليات صناعية غير مكلفة على المدى البعيد.

يكمن التحدي الأكبر في تصميم اللواجن وتصنيعها بطرائق الاصطناع العضوي وإضافة تعديلات تمكن من التحكم والسيطرة على الخواص الحمضية للمركز المعدني (حمض لويس) لناحية زيادة الحموضة أو إنقاصها مما يسمح بتنشيط الأكسجين الجزيئي بطرائق المحاكاة البيولوجية في الآليات الحيوية عن طريق تنشيط المركز المعدني في العديد من هذه الحالات المدروسة استطعنا إعادة إرجاع المركز المعدني بعد عملية الأكسدة [34,35] .

استعرضنا في هذه الدراسة عملية تحضير لواجن ثلاثية التمخلب (tridents) بحيث حددنا سلفاً شكل الربيطة وحسنا من إمكانية تأثير هذه الربيطة على المركز المعدني عن طريق إضافة مستبدلات على الموقع –α– بالنسبة لحلقة البيريدين من النمط الساحب للإلكترونات.

نطمح في الدراسات القريبة بربط الريبو فلافين بلواجن من النمط رباعي التمخلب (tetradents) بمحاولة لتوظيف العامل الفراغي في تشكيل هكذا لواجن كما يمكننا إضافة

مستبدلات متنوعة مدروسة سابقاً وموصوفة جيداً من حيث تعقيدها مع المعدن ونمط التساند والشكل الفراغي خماسي أو سداسي التساند وفعاليتها مع الأكسجين الجزيئي إضافة مرتبطات تعزز هذه الفعالية [36,37] .

كما بدأنا بعملية ربط هذه اللواجن على سطوح نانوية وهو ما سنقوم بنشره أيضا في المستقبل القريب مما يسمح بإعداد وساطة نانوية (Nano–catalysis) للعديد من عمليات الأكسدة أو تشكيل ما يعرف في التحليل العنصري بلواقط الأكسجين (Oxygen Captor) كما أن ربطها بسطوح صلبة يسمح بتشكيل ما يعرف(electro–catalysis) أو الوساطة على سطوح المساري.

المراجع

1-Anderegg GF, Wenk, 1967 Pyridinderivate als Komplexbildner VIII Die Herstellung je eines neuen vier- und sechszähnigen Liganden, **Helv. Chim. Acta.,** 50, 2330.

2-Nelson MS, Rogers J, 1968 A strong-field non-conjugated polyamine ligand: low-spin iron(II) and high-spin nickel(II) complexes, **J. Chem. Soc. A.,** 272.

3-Romary J, Zachariazen RD, Barger JD, Scheisser H, 1968, New 2-pyridyl polyamines. Synthesis, spectra, and proton dissociation constants, **J. Chem. Soc. C,** 23, 2884.

4-Da Mota MM, Rodgers J, Nelson SM, 1969, The co-ordination number of transition-metal ions. Part VII. An evaluation of steric factors in the stabilisation of high-spin five-co-ordinate nickel(II) complexes of multidendate α-pyridyl ligands, **J. Chem. Soc. (A).** 2036-2044.

5-Blackman AG, 2005, The coordination chemistry of tripodal tetraamine ligands, **Polyhedron,** 24, 1-39.

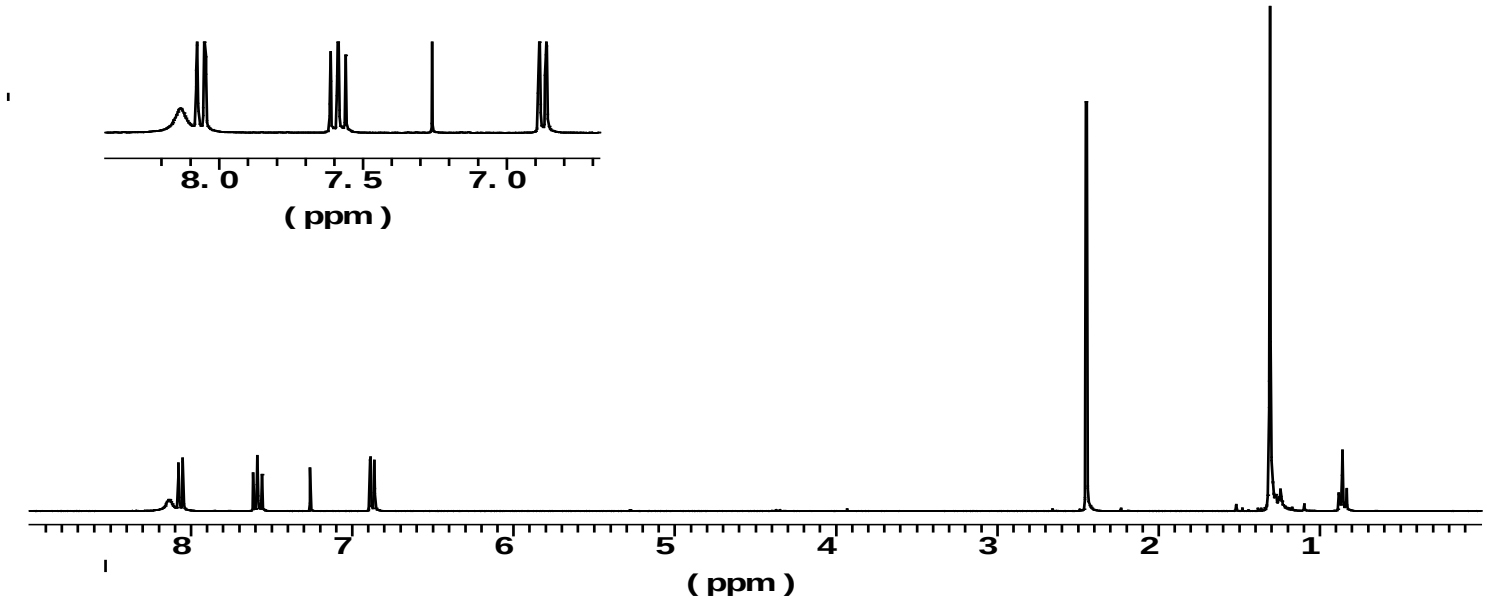
6-Jensen MP, Lange SJ, Mehn MP, Que EL, Que L Jr, 2003, Biomimetic aryl hydroxylation derived from alkyl hydroperoxide at a

nonheme iron center. Evidence for an Fe(IV)=O oxidant, **J. Am. Chem. Soc.,**128, 5, 2113-2128.
7-Tyelar Z, Jacobson RR, Wei N, Murthy NN, Zubieta J, Karlin KD, 1993, Reversible reaction of O2 (and CO) with a copper (I) complex: X-ray structures of relevant mononuclear Cu(I) precursor adducts and the trans-(µ-1,2-peroxo)-dicopper(II)product, **J. Am. Chem. Soc,** 115, 2677-2689
8-Chuang CL, Dos Santos O, Xu X, Canary JW, 1997, Synthesis and Cyclic Voltammetry Studies of Copper Complexes of Bromo- and Alkoxyphenyl-Substituted Derivatives of Tris(2-pyridylmethyl)amine: Influence of Cation-Alkoxy Interactions on Copper Redox Potentials, **Inorg. Chem.,** 36, 1967-1972.
9-Offermann W, Vögtle F, 1977, **Synthesis,** 272-276
10-Offermann W, Vögtle F, 1980, Brominations with N-Bromosuccinimide: Solvent and Selectivity, **Angev. Chem.; Int. Ed. Engl.**, 19, 464-465
11-Prévot-Halter I, Smith TJ, Weiss J, 1997, Assembling Organic Receptors around Transition Metal Templates: Functionalized Catechols and Dioxomolybdenum(VI) for the Recognition of Dicarboxylic Acids, **J. Org. Chem.,** 62, 2186-2192
12-Masaro S, Yutaka M, Takeaki I, 1992, Convenient synthesis of N,N,N',N'-tetrakis(2-pyridylmethyl)-α,ω-alkanediamines using a phase-transfer catalyst, **Synthesis,** (6), 539-540.
13-Caprio V1, Guyen B, Opoku-Boahen Y, Mann J, Gowan SM, Kelland LM, Read MA, Neidle S, 2000, A novel inhibitor of human telomerase derived from 10H-indolo[3,2-b]quinoline, **Bioorg Med Chem Lett.,** 10(18):2063-6.
14-Shuman RT, Rothenberger RB, Campbell CS, Smith GF, Gifford-Moore DS, Paschal JW, Gesellchen PD, 1995, Structure-activity study of tripeptide thrombin inhibitors using alpha-alkyl amino acids and other conformationally constrained amino acid substitutions, **J. Med Chem,** 38(22), 4446-53.
15-Harata M, Jitsukawa K, Masuda H, Einaga H, 1995, Synthesis and structure of a new tripodal polypyridine copper(II) complex that enables to recognize a small molecule, **Chem. Lett,** 61-62.
16-Machkour A, 2005, Thèse de l'Université Louis Pasteur, Strasbourg (Laboratoire de Chimie Biomimétique des Métaux de Transition).
17-Thallaj NK, Mandon D, White KA, 2007, The Design of Metal Chelates with a Biologically Related Redox-Active Part: Conjugation

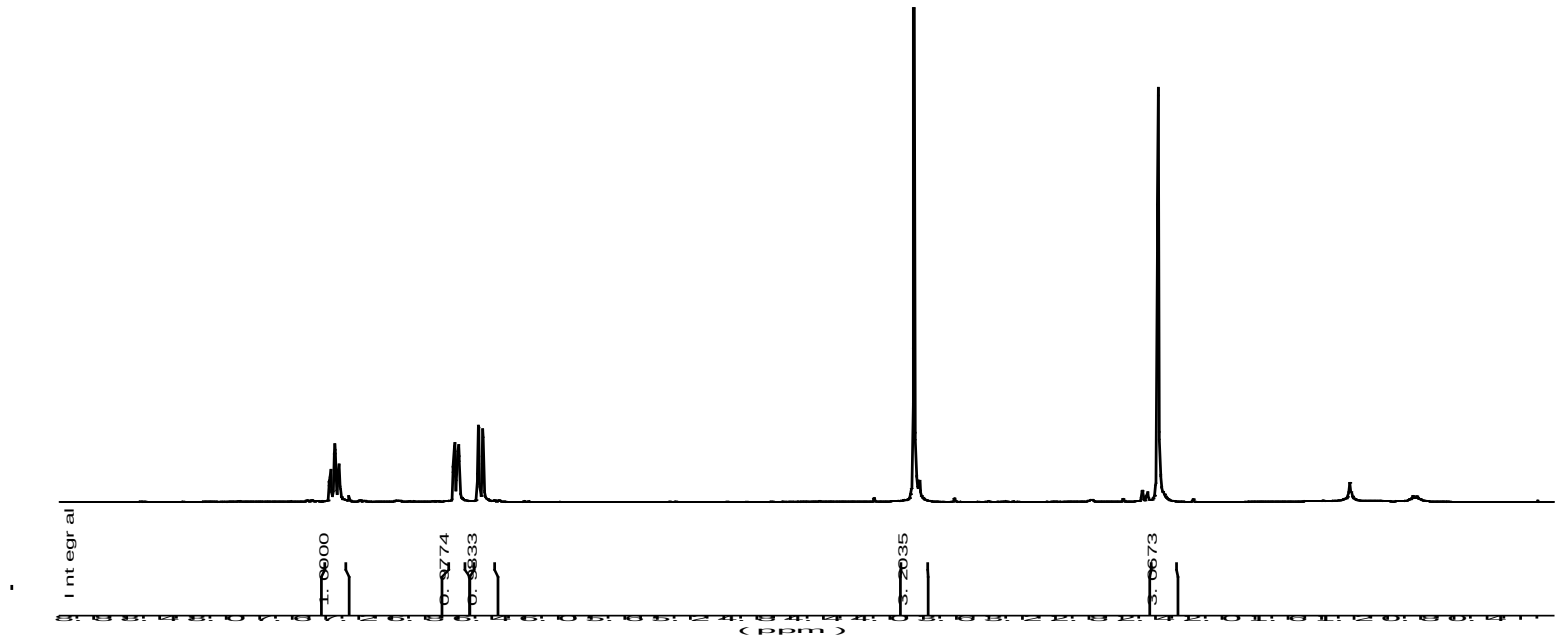
of Riboflavin to Bis(2-pyridylmethyl)amine Ligand and Preparation of a Ferric Complex, **Eur. J. of Inorg. Chem.,** 44-47.
18-Mandon D, Machkour A, Goetz S, Welter R,2002, Trigonal bipyramidal geometry and tridentate coordination mode of the tripod in FeCl(2) complexes with tris(2-pyridylmethyl)amine derivatives bis-alpha-substituted with bulky groups. structures and spectroscopic comparative studies, **Inorg. Chem,** 41, 5364 – 5372.
19-Machkour A, Mandon D, Lachkar M, Welter R, 2004, Easy preparation of the tris(2-fluoro-6-pyridylmethyl)amine ligand and instantaneous reaction of the corresponding dichloroferrous complex with molecular dioxygen: new access to dinuclear species, **Inorg. Chem.,** 43, 1545 – 1550.
20-Miyaura N, Yanagi T, Suzuki A, 1981, Palladium-Catalyzed Cross-Coupling Reaction of Phenylboronic Acid with Haloarenes in the Presence of Bases, **Synth. Commun.,** 11, 513 – 519.
21-EDMONSON ED, DEFRANCESCO R, 1991-**Chemistry and Biochemistry of Flavoenzymes,** F. Müller Eds., vol. 1, 73 – 103, CRC Press, Boca Raton.
22-Walker WH, Singer TP, Ghisla S, Hemmerich P, 1972, Studies on succinate dehydrogenase. 8 -Histidyl-FAD as the active center of succinate dehydrogenase, **Eur. J. Biochem,** 26, 279–289.
23-MAYHE SG, TOLLIN G, 1992-**General Properties of Flavodoxins, Chemistry and Biochemistry of Flavoenzymes,** Müller, F. Eds., vol. 3, 389 – 426, CRC Press, Boca Raton.
24-Murray TA, Swenson RP, 2003, Mechanism of flavin mononucleotide cofactor binding to the Desulfovibrio vulgaris flavodoxin. 1. Kinetic evidence for cooperative effects associated with the binding of inorganic phosphate and the 5'-phosphate moiety of the cofactor, **Biochemistry,** 42, 2307 – 23161.
25-Murray TA, Foster MP, Swenson RP, 2003, Mechanism of flavin mononucleotide cofactor binding to the Desulfovibrio vulgaris flavodoxin. 2. Evidence for cooperative conformational changes involving tryptophan 60 in the interaction between the phosphate- and ring-binding subsites, **Biochemistry,** 42, 2317 – 2327.
26-Curley GP, Carr MC, Mayhew SG, Voordouw G, 1991, Redox and flavin-binding properties of recombinant flavodoxin from Desulfovibrio vulgaris (Hildenborough), **Eur. J. Biochem.,** 302, 1091 – 1100

27-Walsh MA, McCarthy A, O'Farrel PA, McArdle P, Cunningham PD, Mayhew SG, Higgins TM, 1998, X-ray crystal structure of the Desulfovibrio vulgaris (Hildenborough) apoflavodoxin-riboflavin complex, **Eur. J. Biochem.,** 258, 362 – 371.
28-Pueyo JJ, Curley GP, Mayhew SG, 1996, Kinetics and thermodynamics of the binding of riboflavin, riboflavin 5'-phosphate and riboflavin 3',5'-bisphosphate by apoflavodoxins, **Biochem. J.,** 313, 855 – 861.
29-Thallaj NK, Rotthaus O, Benhamou L, Humbert N, Elhabiri M, Lachkar M, Welter R, Albrecht-Gary AM, Mandon D, 2008, Reactivity of molecular dioxygen towards a series of isostructural dichloroiron(III) complexes with tripodal tetraamine ligands: general access to mu-oxodiiron(III) complexes and effect of alpha-fluorination on the reaction kinetics, **Chemistry.**14(22), 6742-53
30-Wane A, Thallaj NK, Mandon D, 2009, Biomimetic interaction between Fe(II) and O2: effect of the second coordination sphere on O2 binding to Fe(II) complexes: evidence of coordination at the metal centre by a dissociative mechanism in the formation of mu-oxo diferric complexes, **Chemistry,** 15(40):10593-602.
31-Thallaj NK, Orain PY, Thibon A, Sandroni M, Welter R, Mandon D, 2014, Steric congestion at, and proximity to, a ferrous center leads to hydration of α-nitrile substituents forming coordinated carboxamides, **Inorg Chem,** 53(15), 7824-36.
32-Prakash J, Rohde GT, Meier KK, Münck E, Que L Jr., 2015, Upside Down! Crystallographic and Spectroscopic Characterization of an [Fe IV(O syn)(TMC)]2+ Complex, **Inorg Chem.,** 54(23), 11055-7.
33-Prakash J, Que L. 2016, Formation of the syn isomer of [Fe(IV)(Oanti)(TMC)(NCMe)](2+) in the reaction of Lewis acids with the side-on bound peroxo ligand in [Fe(III)(η(2)-O2)(TMC)], **Chem Commun (Camb),** 52, 8146-8.
34-Klein JE, Dereli B, Que L, Cramer CJ, 2016, Why metal-oxos react with dihydroanthracene and cyclohexadiene at comparable rates, despite having different C-H bond strengths. A computational study, **Chem Commun (Camb),** 52, 10509-12.
35-Makhlynets OV, Oloo WN, Moroz YS, Belaya IG, Palluccio TD, Filatov AS, Müller P, Cranswick MA, Que L Jr, Rybak-Akimova EV, 2014, H2O2 activation with biomimetic non-haem iron complexes and AcOH: connecting the g = 2.7 EPR signal with a visible chromophore, **Chem Commun (Camb),** 50, 645-8.

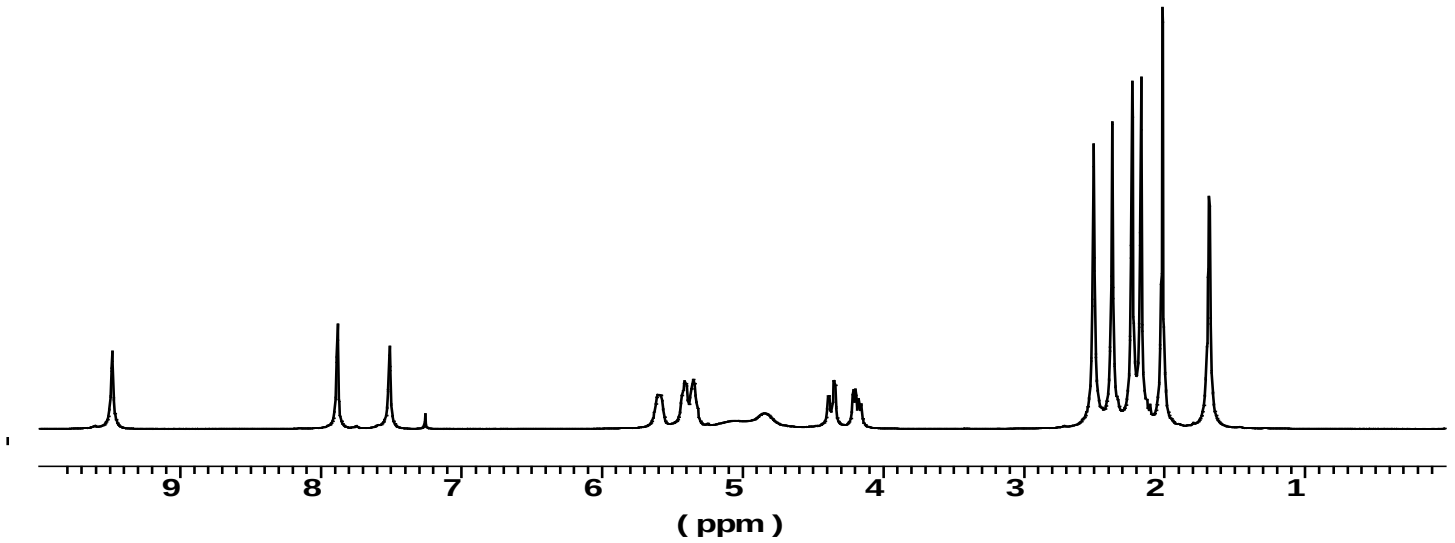
36-Kleespies ST, Oloo WN, Mukherjee A, Que L Jr, 2015, C-H Bond Cleavage by Bioinspired Nonheme Oxoiron(IV) Complexes, Including Hydroxylation of n-Butane, **Inorg Chem.,** 54, 5053-64.
37-Oloo WN, Que L Jr, 2015, Bioinspired Nonheme Iron Catalysts for C-H and C═C Bond Oxidation: Insights into the Nature of the Metal-Based Oxidants, **Acc Chem Res.,** 48, 2612-21.
38- Chuang CL, dos Santos O, Xu X, Canary JW, 1997, Synthesis and Cyclic Voltammetry Studies of Copper Complexes of Bromo- and Alkoxyphenyl-Substituted Derivatives of Tris(2-pyridylmethyl)amine: Influence of Cation-Alkoxy Interactions on Copper Redox Potentials, **Inorg Chem.,** 36(9):1967-1972.
.



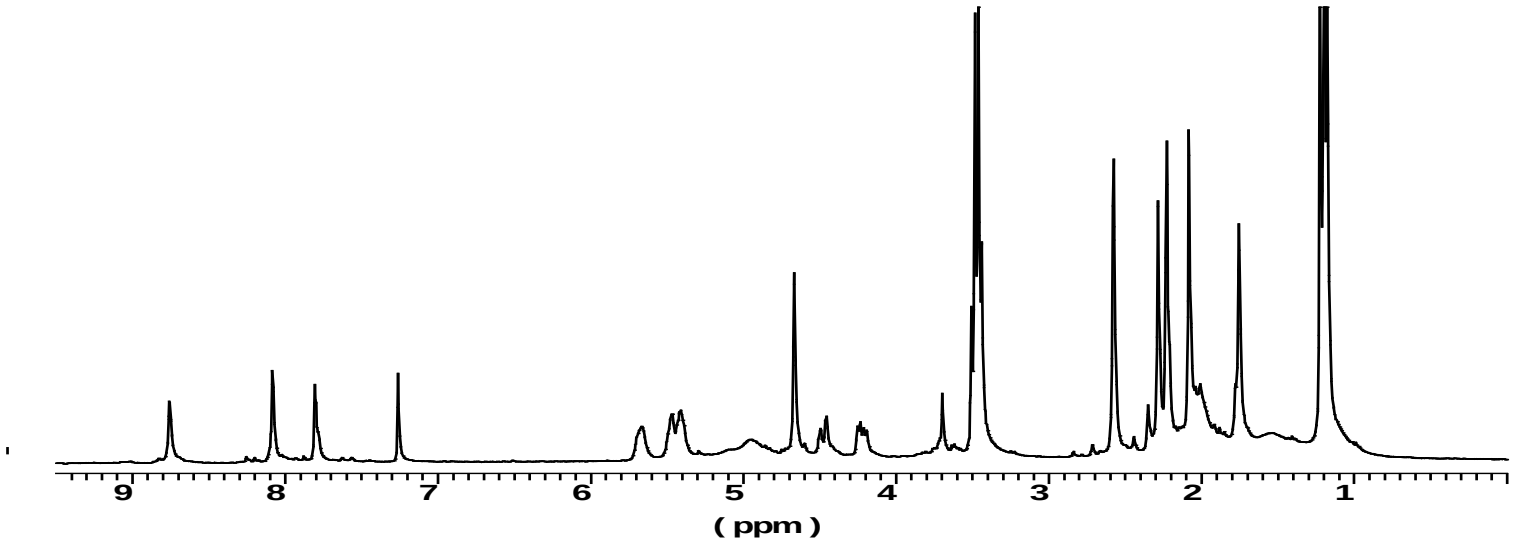
2-pivaloyl 6-methyl pyridine



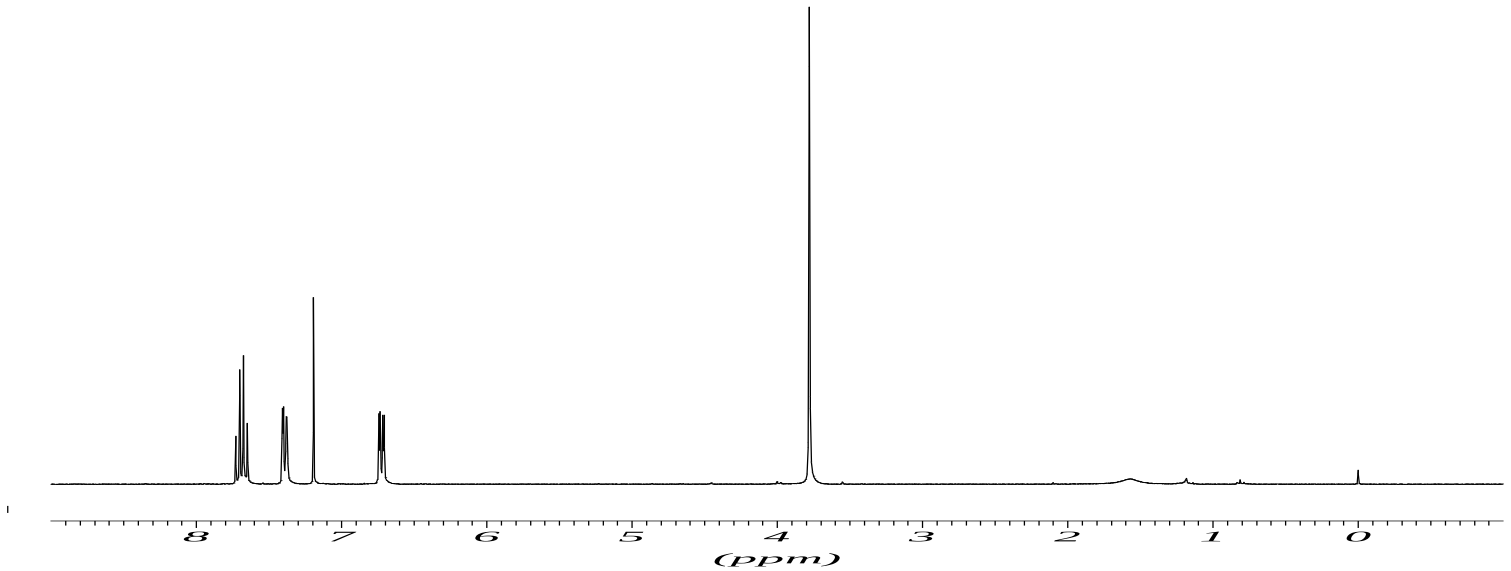
MeO methylpyridine



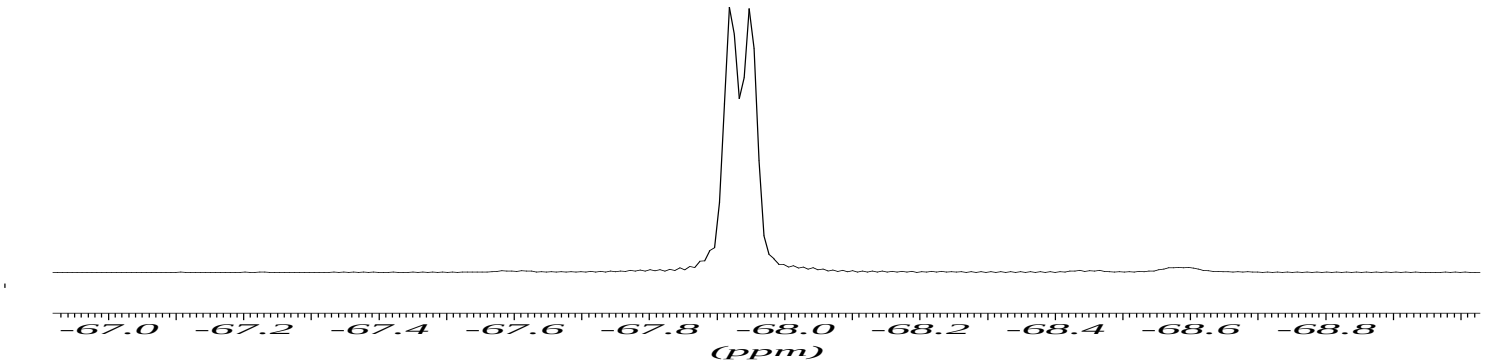
Ac_4Rib



Bromo Ac4Ribo



مطيافية الطنين النووي المغناطيسي RMN ^{1}H لـF_2DPA



مطيافية ^{19}F :$F_2DPA.\ CDCl_3$