

ROYAUME DU MAROC

OFFICE MAROCAIN DE LA PROPRIETE (19)
INDUSTRIELLE ET COMMERCIALE



المملكة المغربية

المكتب المغربي
للملكية الصناعية والتجارية

(12) FASCICULE DE BREVET

(11) N° de publication : **MA 32129 B1** (51) Cl. internationale : **A61K 38/13; A61P 21/00**

(43) Date de publication :
01.03.2011

(21) N° Dépôt :
33133

(22) Date de Dépôt :
01.09.2010

(30) Données de Priorité :
08.02.2008 IB PCT/IB2008/000292

(86) Données relatives à l'entrée en phase nationale selon le PCT :
PCT/IB2009/000204 05.02.2009

(71) Demandeur(s) :
DEBIOPHARM SA, Forum "après-demain" Ch. Messidor 5-7 CH-1002 Lausanne (CH)

(72) Inventeur(s) :
MOLKENTIN, Jeffery, D

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

(54) Titre : **CYCLOSPORINE NON IMMUNOSUPPRESSIVE POUR LE TRAITEMENT DE LA DYSTROPHIE MUSCULAIRE**

(57) Abrégé : La présente invention concerne l'utilisation d'un dérivé de cyclosporine A non immunosuppressive pour la prévention ou la réduction de la dégénérescence musculaire chez un sujet souffrant de dystrophie musculaire des ceintures.

- أ -

(سيكلوسبورين غير كابت للمناعة لعلاج سوء التغذية العضلية)

الملخص

يتعلق الاختراع الحالي باستخدام مشتق سيكلو سبورين A غير كابت للمناعة للوقاية من الضمور العضلي أو تقليله في مريض يعاني من سوء التغذية العضلية Limb-Girdle.

سيكلوسبورين غير كابت للمناعة لعلاج سوء التغذية العضلية

الوصف الكامل

المجال التقني

يتعلق الاختراع الحالي باستخدام مشتق سيكلو سبورين A غير كابت للمناعة لتقليل الحث على نخر الألياف العضلية وضمور الألياف العضلية لدى مريض تم تشخيص أنه يعاني من سوء التغذية العضلية Limb-Gridle والمعروف اختصاراً باسم (LGMD)، بشكل محدد مرض سركوجليكان.

الخلفية التقنية

تشتمل أمراض سوء التغذية العضلية (MD) على مجموعة متنوعة من الاضطرابات الموروثة التي تؤثر بشكل كبير على نسيج العضلات المخططة بما يؤدي إلى ضعف عضلي تقدمي، هزال، وفي العديد من الأحوال، وفاة قبل الأوان. إن العديد من الطفرات المميزة التي تنشأ مرتبطة بـ MD لدى البشر تكون مصحوبة بتغيرات في بروتينات الارتباط البنائي التي تعمل على ربط البروتينات التقلصية الأساسية بالصفحة القاعدية، بما يوفر صلابة للغشاء الخلوي العضلي الهيكلي (غمد الليف العضلي)، أو في البروتينات التي تثبت أو ترمم الغشاء الخلوي مثل السركوجليكان أو الديستروفين.

إن الطفرات الموروثة لجينات السركوجليكان (جينات ألفا-، بيتا-، جاما-، ودلتا-سركوجليكان) تتسبب في إصابة مرض عضلي هيكلي بمتلازمات غير متجانسة، LGMD، ومجموعة فرعية منها، أمراض السركوجليكان. وتتوقف متلازمات أمراض السركوجليكان وأنماطه الظاهرية على جين السركوجليكان الذي يتم تطفيره ونوع الطفرات الجينية (الصورة الأليلية المتغيرة)، وتبدي أربع صور من الاضطرابات المحددة: أنواع LGMD : 2C، و2D، و2E، و2F (طفرات جينات ألفا-، بيتا-، جاما-

، ودلتا-سركوجليان بالترتيب) حيث تمثل 25% من كل حالات LGMD التي تم تشخيصها. بشكل محدد، فإن الطفرات المختلفة التي تمت ملاحظتها في جين دلتا-سركوجليكان تؤدي إلى الاضطراب الشديد لنوع LGMD هو 2F أو LGMD2F (انظر Online Mendelian Inheritance in Man [OMIM] #601287, genetic mutations: [OMIM] 601411. Emery et al., The Lancet, 2002, (359:6875695).

تتسم أنواع LGMD المختلفة بالضمور التقدمي والضعف المصحوب بالضمور الذي يتضمن بشكل غالب عضلات اليدين والرجلين بالقرب من الكتف والفخذ بالترتيب. إن الأنواع الظاهرية للمرض تشبه تلك المتعلقة بمتلازمات سوء التغذية العضلية الشديدة الشبيهة بدوتشين-فيك أو بيكر. ولكن، يتضمن المرضين الأخيرين آليات عضلية مختلفة واضطرابات جينية. قبل توافر التشخيص العضلي لـ LGMD، غالبا ما كان يتم تشخيص حالة مرضى LGMD بأنهم يعانون من سوء التغذية العضلية لدوتشين. يختلف بدء ظهور المرض من الطفولة إلى البلوغ بأشكال إكلينيكية بسيطة إلى شديدة. ويؤدي ما يصل إلى 25% من المرضى أشكالا شديدة من المرض حيث يعانون من قعس قطني، تقلصات في أوتار أخيل، تضخم العضلات، اعتلال قلبي عضلي، وعيوب توصيل قلبي. إن تضخم الربلة واللسان، انتقائية العضلات المتضمنة، ومضاعفات القلب في المرحلة الأخيرة ترتبط بشكل محدد تقريبا بكل من الأشكال المختلفة (انظر Daniele et al., Int J. Biochem Cell Biol., 2007;39:1608-1624). إن الضعف التقدمي يؤدي إلى مرض رئوي مقيد ونقص تهوية يتطلب مساعدة بجهاز تنفس. بصفة عامة، فإن معدلات المرض تختلف عن معدلات الوفاة. ومع بدء الظهور الأولي، يكون تقدم المرض نحو الوفاة سريع جدا بشكل نمطي. غالبا ما تكون الوفاة نتيجة مضاعفات تنفسية.

وحتى الآن، لا يوجد علاج محدد للمرضى الذين يعانون من أي من متلازمات LGMD. إن الرعاية الطبية الشديدة، على سبيل المثال علاج التشوهات الجسدية، والجراحة والعلاج الطبيعي للحفاظ

على وظائف العضلات يعمل على زيادة القدرات الوظيفية وإطالة متوسط العمر المتوقع. ولكن هذه القياسات لا تمنع ضمور الألياف العضلية والإصابة في نهاية المطاف بمضاعفات تنفسية.

ومع تطور نماذج حيوانية تفتقر إلى جينات محددة متضمنة في سوء التغذية العضلية، من المتوقع الحصول على فهم أفضل للآليات الجزيئية التي تمثل الأساس لأمراض السركوجليكان. ومؤخراً تم إثبات أن لخلايا العضلية للفئران التي تفتقر إلى دلتا-سركوجليكان (فئران *scgd*-/-) بسبب التعطيل المستهدف لجين دلتا-سركوجليكان تميل إلى دفع كالسيوم خلوي زائد. ويُفترض أن فقدان مكونات معقد ديستروفين-جليكوبروتين (DGC) مثل معقد سركوجليكان أو ديستروفين يؤدي إلى تغير أساسي في الخصائص الفيزيائية للغشاء الخلوي العضلي وزيادة في نفاذية وتسريب غمد الليف العضلي. إن تنشيط قنوات دفع الكالسيوم غير المنتظم بواسطة ضعف وعدم ثبات الغشاء يمكن أن يؤدي إلى بدء مرض 10 سوء التغذية في العضلات الهيكلية مما يؤدي إلى ضمور الألياف العضلية والحث على نخر الألياف العضلية.

وبين (Parsons et al. (J. Biol. Chem., 2007, 282:10068-10078) أن تثبيط نشاط بروتين سيرين/ثريونين المنشط بواسطة الكالسيوم/كلموديولين وهو فوسفاتاز كلسينورين (كلسينورين) بواسطة الحذف الجيني قد قلل ضمور العضلات الهيكلية والألياف العضلية والالتهاب لدى فئران *scgd*-/-، وقد عمل على حماية الخلايا. لم تتم ملاحظة تحسنات مناظرة في المرض عقب تثبيط نشاط الكالسينورين في الفئران التي تفتقر إلى جين *mdx* (طفرة جين الديستروفين) المستخدمة كنموذج لسوء التغذية العضلية لدوتشين حتى برغم ملاحظة زيادة في دفع الكالسيوم في نموذجي سوء التغذية العضلية. في الواقع، فإن جين متحول منشط للكالسينورين قد عمل على حماية فئران *mdx* (انظر Chakkalal et al., Hum. Mol. Genet., 2004, 13: 379-399; Stupka et al. Acta Neuropathol., 2004, 107: 299-310, but see De Luca et al., Am. J. Pathol., 2005, 166:2077-

(489). ولقد حدد Parsons et al. كالكالسينورين كهدف محتمل لعلاجات LGMD. وبناء على ملاحظاتهم، فقد اقترح Parsons et al. أن تثبيط نشاط الكالسينورين يمكن أن يوفر فائدة ما في الأنواع المنتقاة للأمراض العضلية، مثل سوء التغذية العضلية limb-girdle وبالتالي يمكن أن يكون سيكلوسبورين A، (CsA)، مفيدا.

إن آليات الخلايا المستجيبة التي تتسبب في ضمور الألياف العضلية التقدمي الناتج عن تغير نفاذية الغشاء في LGMD ليست مفهومة جيدا وتخضع لدراسات فعالة يمكن أن توفر الأساس للتطوير النهائي لاستراتيجيات علاجية جديدة بناء على الآلية للمرضى الذين يعانون من هذا الاضطراب. ولكن لا توجد حاليا طريقة فعالة متوفرة لعلاج المرضى الذين يعانون من LGMD. وبالتالي هناك حاجة إلى التوصل إلى طرق علاجية جديدة كذلك التي يتم وصفها هنا.

الهدف 10 من الاختراع الحالي هو تزويد الإكلينيكيين بعلاج من أجل علاج الحث على وتقدم نخر الألياف العضلية والضمور العضلي لدى مريض يعاني من LGMD وبشكل محدد من مرض سركوجليكان وبشكل أكثر تحديداً من نوع LGMD هو 2F. يجب أن يحمي هذا العلاج ضد نخر العضلات الهيكلية التي تعاني من سوء تغذية وأيضاً عضلات القلب والحجاب الحاجز ويجب أن تؤخر تقدم المرض.

لقد اكتشف المخترعون الحاليون بشكل مثير أن إعطاء مشتق سيكلوسبورين غير كابت للمناعة A، (CsA)، الذي لا يثبط الكالسينورين، إلى مريض يعاني من الاضطرابات التي تم تشخيصها في صورة LGMD، وبشكل محدد من مرض سركوجليكان، وبشكل محدد من نوع LGMD هو 2F، هو علاج فعال. وقد لاحظوا أن إعطاء مشتق CsA غير كابت للمناعة هو $[D-MeAla]^3-[EtVal]^4-CsA$ يؤدي إلى تقليل المرض العضلي لمريض تم تشخيص حالته بأنه يعاني من نخر الألياف العضلية، بشكل محدد يعاني من 2F، وبشكل أكثر تحديداً من نوع LGMD هو 2F، وضمور وتقدم المرض فضلا عن

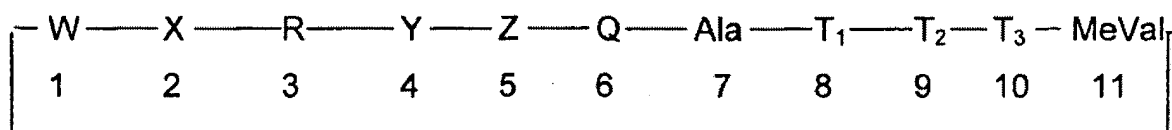
ومعادلة توزيع منطقة الألياف الطبيعية عن طريق تقليل حساسية الميتوكوندريا لحمل الكالسيوم الكامن المفرط.

يمكن أن يكون المريض عبارة عن كائن بشري أو كائن ثديي، على سبيل المثال فأر يعاني من النمط الظاهري لسوء التغذية العضلية بسبب نضوب جين أو عدم التعبير الوراثي عن جين مسئول عن النمط الظاهري للمرض.

الكشف عن الاختراع

ولذا يتعلق الاختراع الحالي باستخدام مشتق CsA غير كابت للمناعة له الصيغة I ويفضل أكثر مشتق CsA غير كابت للمناعة له الصيغة II والأكثر تفضيلاً مشتق CsA غير كابت للمناعة [D-MeAla]³-[EtVal]⁴-CsA لتصنيع منتج طبي لمنع أو تقليل الضمور العضلي في مريض يعاني من LGMD، وبشكل محدد من مرض سرعوجليكان وبشكل أكثر تحديداً من نوع LGMD هو 2F إن مشتقات CsA غير الكابتة للمناعة المناسبة للاستخدام وفقاً للاختراع الحالي تم وصفها في طلب البراءة الدولي رقم 2005/021028 (رقم 021028/2005) بواسطة Novartis AG، في الصفحات 3-6. لقد تم الكشف عن [D-MeAla]³-[EtVal]⁴-CsA بواسطة Wenger et al. في طلب البراءة الدولي رقم 00/01715 (رقم 01715/00). وتم عزو [D-MeAla]³-[EtVal]⁴-CsA الذي له الصيغة III إلى رقم سجل CAS هو 254435-95-5.

إن مشتقات CsA غير الكابتة للمناعة وفقاً للاستخدام في الاختراع الحالي هي بيتيدات يونديك حلقة لها الصيغ التالية:



حيث

W هي MeBmt، داي هيدرو-MeBmt، 8-هيدروكسي-MeBmt أو O-أسيتيل-MeBmt،
 X هي Abu، Val، Thr، Nva أو O-مثيل ثريونين (MeOThr)،
 R هي Pro، Sar، MeSer-(D)، MeAla-(D)، أو MeSer(Oacetyl)-(D)،
 Y هي MeLeu، thioMeLeu، y-هيدروكسي-MeLeu، Melle، MeVal، MeThr، MeAla، Mealle أو
 MeaThr؛ ethylVal (EtVal)-N، ethylIle-N، ethylThr-N، ethylPhe-N، ethylTyr-N أو -N
 ethylThr(Oacetyl)، حيث أن Y لا يمكن أن تكون MeLeu عندما R تكون Sar،
 Z هي Val، Leu، MeVal أو MeLeu،
 Q هي MeLeu، y-هيدروكسي-MeLeu، MeAla أو Pro،
 T₁ هي (D)Ala أو Lys،
 T₂ هي MeLeu أو y-هيدروكسي-MeLeu، و
 T₃ هي MeLeu أو MeAla.

الصيغة II

W	X	R	Y	Z	Q	Ala	T ₁	T ₂	T ₃	MeVal
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11

حيث

W هي MeBmt، داي هيدرو-MeBmt، 8-هيدروكسي-MeBmt؛
 X هي Abu، Val، Thr، Nva أو O-مثيل ثريونين (MeOThr)؛
 R هي Pro، Sar، MeSer-(D)، MeAla-(D)، أو MeSer(Oacetyl)-(D)؛



Y هي MeLeu ، thioMeLeu ، y-هيدروكسي-MeLeu ، MeLeu ، MeVal ، MeThr ، MeAla ، Mealle أو
 -N أو ethylTyr-N ، ethylPhe-N ، ethylThr-N ، ethylIle-N ، ethylVal (EtVal)-N ؛ MeaThr
 ؛ Sar تكون R عندما MeLeu أن تكون Y لا يمكن أن تكون MeLeu عند

؛ MeLeu أو MeVal ، Leu ، Val هي Z

؛ MeLeu هي Q ، y-هيدروكسي-MeLeu ، أو Ala ؛

T1 هي (D)Ala ؛

T2 هي MeLeu ؛ و

T3 هي MeLeu .

الصيغة III

W	X	R	Y	Z	Q	Ala	T ₁	T ₂	T ₃	MeVal
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11

حيث

W هي MeBmt ؛

X هي Abu ؛

R هي (D)Ala ؛

Y هي ethylVal (EtVal)-N ؛

Z هي Val ؛

Q هي MeLeu ؛

Ti هي (D)Ala ؛

T₂ هي MeLeu ؛ و

T₃ هي MeLeu ؛



عندما MeBmt كون عبارة عن N - ميثيل - (R4) - 4 - but - E2 - en - 1 - yl - 4 -
 ميثيل - (L) ثريونين، فإن α Abu تكون عبارة عن حمض L - α - أمينو بيوتيريك، MeAla - D هي N
 - ميثيل - D - ألينين، EtVal هي N - إيثيل - L - فالين، Val هي L - فالين، MeLeu هي N -
 ميثيل - L - لوسين، Ala هي L - ألانين، (D)Ala هي D - ألانين، MeVal هي N - ميثيل - L -
 فالين؛ إن الترقيم التقليدي لمواضع الحمض الأميني المستخدم بصفة عامة بالإشارة إلى السيكلوسبورين A
 يتم بيانه أسفل الصيغة. يتم استخدام أسماء مركبة لمشتقات CsA، وتشتمل الأسماء المركبة على جزء أول
 يدل على هوية الوحدات البنائية التي تختلف عن تلك الموجودة في السيكلوسبورين A وتوفر موضعها،
 وجزء ثاني يتم ترقيمه بـ "CsA" بما يدل على أن كل الوحدات البنائية الأخرى تكون مماثلة لتلك الموجودة
 في السيكلوسبورين A. على سبيل المثال فإن $[Melle]^4$ -CsA هو سيكلوسبورين مماثل لسيكلوسبورين A
 باستثناء أن MeLeu في الموضع 4 يتم استبدالها بـ Melle (N - ميثيل - L - أيزولوسين).

في نموذج آخر أيضا، يتعلق الاختراع بمشتق سيلكسبورين غير كابيت للمناعة A له الصيغة I، يفضل أكثر
 مشتق CsA غير كابيت للمناعة له الصيغة II والأكثر تفضيلا مشتق CsA غير كابيت للمناعة D-
 $[EtVal]^4$ - $[MeAla]^3$ له الصيغة III، للاستخدام في علاج LGMD، وبشكل محدد من مرض
 سركوجليكان، والأكثر تفضيلا من نوع LGMD هو 2F.

في نموذج آخر، يتعلق الاختراع بطريقة لمنع أو تقليل الضمور العضلي في مريض يعاني من LGMD،
 وبشكل محدد من مريض سركوجليكان والأكثر تفضيلا من LGMD من النوع 2F، حيث تشتمل على
 إعطاء مريض كمية فعالة من مشتق CsA غير كابيت للمناعة له الصيغة I، والأكثر تفضيلا مشتق CsA
 غير كابيت للمناعة له الصيغة II والأكثر تفضيلا مشتق CsA غير كابيت للمناعة $[D-MeAla]^3$ -

III. و يتم فهم كمية فعالة من مشتق سيكلو سبورين A غير كابت للمناعة [EtVal]⁴-CsA له الصيغة III. ويتم فهم كمية فعالة من مشتق سيكلو سبورين A غير كابت للمناعة بأنها كمية عند إعطائها بشكل متكرر في سياق نظام علاجي إلى مريض يعاني من LGMD، وبشكل محدد من مرض سركوجليكان، والأكثر تحديداً من LGMD نوعه 2F، فإنها تؤدي إلى استجابة إكلينيكية إيجابية مثل تحسن أو ثبات أو تقليل تقدم المرض. وعند إعطائها عن طريق الفم، فإن كمية فعالة للإعطاء مرة أو ثلاث مرات أسبوعياً ستتراوح من حوالي 1 مجم/كجم (وزن الجسم) إلى حوالي 100 مجم/كجم، يفضل من حوالي 1 مجم/كجم إلى حوالي 20 مجم/كجم. وعن طريق الوريد، يمكن أن تتراوح الجرعة المناظرة المشار إليها من حوالي 1 مجم/كجم إلى حوالي 50 مجم/كجم، يفضل من حوالي 1 مجم/كجم إلى حوالي 25 مجم/كجم.

علاوة على ذلك، يتعلق الاختراع بتركيبة صيدلانية لمنع أو تقليل الضمور العضلي في مريض يعاني من LGMD وبشكل محدد من مرض سركوجليكان وبشكل أكثر تحديداً من LGMD نوعه 2F تشمل على كمية فعالة من مشتق CsA غير كابت للمناعة له الصيغة I، يفضل أكثر مشتق CsA غير كابت للمناعة له الصيغة II، والأكثر تفضيلاً مشتق CsA غير كابت للمناعة له الصيغة II، مادة حاملة مقبولة صيدلانياً، واختيارياً سواغ ومادة مخففة. تكون المادة المخففة هي الماء عادةً. والسواغات التي عادةً ما تُضاف إلى صيغ الحقن تشمل على عامل تساوي توتر، محلول منظم، وعامل آخر للتحكم في الرقم الهيدروجيني، ومادة حافظة. يمكن أن تشمل التركيبات على مكونات فعالة أخرى مثل مضاد حيوي، جلو كورتيكويد، كورتيكوستيرويد مثل بريدنيسون.

وصف مختصر للأشكال والرسومات

سيتم شرح الاختراع الحالي بمزيد من التفاصيل أدناه بالاستعانة بالرسومات التالية:

- الشكل 1 (أ) عبارة عن تضخم عند قيمة أولية، تم قياسه في صورة الامتصاص عند 540 نانو متر، للميتوكوندريا من العضلة الهيكلية لفأر من النوع البري عمره 6 أسابيع (Wt) (العمود الأبيض) وفار scgd-/- (العمود الأسود). تم دمج الميتوكوندريا من مجموعة العضلة الأخصية، والعضلة رباعية الرؤوس والظنوب الأمامي. طبقا لما تمت الإشارة إليه بواسطة قياس الامتصاص السفلي، كانت الميتوكوندريا من عضلات فئران scgd-/- متضخمة عند خط القاعدة بشكل أكبر من الميتوكوندريا من فئران Wt.

- الشكل 1 (ب) عبارة عن التغيرات في تضخم الميتوكوندريا بعد 10 دقائق من العلاج باستخدام كالسيوم (Ca²⁺) أو PEG-3350 (PEG) المقاس كفروق في الامتصاص عند 540 نانو متر بين الميتوكوندريا المعالجة وغير المعالجة من فئران من النمط البري عمرها 6 أسابيع (Wt) (العمود الأبيض) وفئران scgd-/- (العمود الأسود). تم دمج الميتوكوندريا من مجموعة العضلة الأخصية و العضلة رباعية الرؤوس و الظنوب الأمامي.

- الشكل 2 (أ) يبين تقليل المرض العضلي بعد إعطاء D-[MeAla]³-[EtVal]⁴-CsA لفئران scgd-/- . تم قياس نسب وزن العضلة (MW) إلى طول الظنوب (TL)، بالاختصار (MW/TL)، في عضلة الساق، العضلة رباعية الرؤوس، والظنوب الأمامي (TA)، وعضلة القلب من فئران من النمط البري (Wt) تم علاجها بمادة ناقلة (العمود الأبيض) أو D-[MeAla]³-[EtVal]⁴-CsA (العمود الأسود) أو من فئران scgd-/- تم علاجها باستخدام مادة ناقلة (العمود الرمادي) أو الثاني إلى العمود الأخير في المجموعة) أو D-[MeAla]³-[EtVal]⁴-CsA (العمود المنقط أو الأخير في المجموعة). إن D-[MeAla]³-[EtVal]⁴-CsA يمنع زيادة وزن العضلة لدى فئران scgd-/-، وترتبط الزيادة بالمرض.

- الشكل 2(ب) يبين تقليل المرض العضلي بعد إعطاء D-[MeAla]³-[EtVal]⁴-CsA لفئران scgd-/- التي تتم ملاحظتها في أقسام مملوطة بهيماتوكسيلين وإيوزين للعضلة رابعة الرأس من فئران النمط البري (Wt) وفئران scgd-/- المعالجة باستخدام D-[MeAla]³-[EtVal]⁴-CsA. ويتم أيضا بيان عينات المقارنة المناظرة التي أعطيت مادة ناقلة.

- الشكل 2(ج) يشير إلى تقليل المرض العضلي بعد إعطاء D-[MeAla]³-[EtVal]⁴-CsA لفئران scgd-/- طبقا لما تم تقييمه عن طريق تقدير المناطق المتليفة في الأقسام الملوطة باللون الثلاثي من الحجاب الحاجز، الظنوب الأمامي (TA)، عضلة الساق، العضلة رابعة الرأس. تم تقييم الأقسام الآتية من الفئران من النمط البري (Wt) التي عولجت باستخدام المادة الناقلة (العمود الأبيض) أو D-[MeAla]³-[EtVal]⁴-CsA (العمود الأسود) ومن الفئران scgd-/- التي عولجت بالمادة الناقلة (العمود الرمادي أو الثاني إلى الأخير في المجموعة) أو D-[MeAla]³-[EtVal]⁴-CsA (العمود المنقط أو العمود الأخير بالمجموعة). أدى استخدام D-[MeAla]³-[EtVal]⁴-CsA إلى تقليل التليف في فئران scgd-/-.

- الشكل 3(أ) يبين تقليل في عدم تجانس منطقة الألياف بالعضلة من فئران scgd-/- بعد إعطائها D-[MeAla]³-[EtVal]⁴-CsA طبقا لما تم تقييمه عن طريق قياس توزيع مناطق الألياف في الظنوب الأمامي (العضلة). اشتملت الدراسة على فئران النمط البري (Wt) التي عولجت باستخدام المادة الناقلة (العمود الرمادي أو الثاني إلى الأخير في المجموعة) أو D-[MeAla]³-[EtVal]⁴-CsA (العمود المنقط أو العمود الأخير بالمجموعة). (">" تعني "أقل من"، و"<" تعني "أكبر من"). وقد عمل العلاج باستخدام D-[MeAla]³-[EtVal]⁴-CsA على معادلة عدم تجانس منطقة الألياف في فئران scgd-/-.

- الشكل 3(ب) يشير إلى تقليل عدم تجانس منطقة الألياف في العضلة من فئران scgd-/- بعد إعطاء D-[MeAla]³-[EtVal]⁴-CsA طبقاً لتقييم ذلك عن طريق قياس توزيع مناطق الألياف في عضلة الساق. وتم في هذه الدراسة تضمين فئران (Wt) من النمط البري التي عولجت باستخدام المادة الناقلة (العمود الأبيض) أو D-[MeAla]³-[EtVal]⁴-CsA (العمود الأسود)، وفئران scgd-/- التي عولجت باستخدام المادة الناقلة (العمود الرمادي أو الثاني إلى الأخير في المجموعة) أو D-[MeAla]³-[EtVal]⁴-Cs (العمود المنقط أو العمود الأخير بالمجموعة). (">" تعني "أقل من"، و"<" تعني "أكبر من"). وقد عمل العلاج باستخدام D-[MeAla]³-[EtVal]⁴-CsA على معادلة عدم تجانس منطقة الألياف في فئران scgd-/-.

- الشكل 3(ج) يشير إلى تقليل في عدم تجانس منطقة الألياف في العضلات من فئران scgd-/- بعد إعطاء D-[MeAla]³-[EtVal]⁴-CsA طبقاً لتقييم ذلك عن طريق قياس توزيع مناطق الألياف في العضلة رباعية الرؤوس. تم إجراء القياسات على فئران من النمط البري (Wt) التي عولجت باستخدام مادة ناقلة (العمود الأبيض) أو D-[MeAla]³-[EtVal]⁴-CsA (العمود الأسود)، وفئران scgd-/- التي عولجت باستخدام المادة الناقلة (العمود الرمادي أو الثاني إلى الأخير في المجموعة) أو D-[MeAla]³-[EtVal]⁴-Cs (العمود المنقط أو العمود الأخير بالمجموعة). (">" تعني "أقل من"، و"<" تعني "أكبر من"). وقد عمل العلاج باستخدام D-[MeAla]³-[EtVal]⁴-CsA على معادلة عدم تجانس منطقة الألياف في فئران scgd-/-.

15 ./-

الوصف التفصيلي للاختراع

إذا كان تركيز الكالسيوم المحسن يعمل كبادئ لـ LGMD خلال نخر الألياف العضلية، يمكن تضمين عدد من الخلايا المستجيبة المتوقفة على الكالسيوم اللاحق كعوامل مسببة. على سبيل المثال، يمكن أن

يؤدي الكالسيوم الزائد إلى نخر نُبْبِ عَضَلِيَّعِبْر تَشْيِط بروتياز كلبين المنشط بالكالسيوم، بروتين إصدار إشارة متضمن بشكل حرج في توليد العضلات الهيكلية بعد إصابة أو تميز الخلايا العضلة الهيكلية.

وقد أثبت (2007) Parsons et al. في نموذج فاري لـ LGMD أن تثبيط نشاط بروتين سيرين/ثريونين المنشط بواسطة الكالسيوم/كلموديولين وهو فوسفاتاز كلسينورين (كلسينورين) بواسطة الحذف الجيني قد قلل ضمور العضلات الهيكلية والألياف العضلية والالتهاب، بمعنى أكثر تحديدا أدى إلى تحسين في طب أمراض العضلة الهيكلية. لم يكن هذا هو الحال في نموذج فاري لدوتشين حيث كان تثبيط الكلسينورين بواسطة CsA مضرا بالنسبة لطب أمراض العضلات (انظر Stupka et al., Acta Neuropathol, 2004, 107:299-310). ويمكن أن يتم افتراض أن هذا التباين في نتائج تثبيط نشاط الكالسينورين في أمراض سوء التغذية المختلفة التي تتسم بتركيزات كالسيوم عالية في الخلايا العضلية يرجع إلى صيغ الحذف الجيني المختلفة المناظرة التي تتضمن وتحدث تغييرات مختلفة بغشاء الخلية العضلية ومسارات إصدار الإشارات المختلفة.

وهناك آلية أخرى هامة تؤدي إلى نخر الخلايا هي الحمل الزائد لكالسيوم الميتوكوندريا، الذي يحسن بشكل ثانوي توليد أنواع الأكسجين التفاعلي (ROS) ويعزز أيضا MPT (انتقال نفاذية الميتوكوندريا). من الممكن أن تؤدي زيادة كالسيوم الغمد الليفي العضلي إلى زيادة موضعية في أنواع الأكسجين التفاعلي (ROS) بما يؤدي إلى عيوب أكبر في الغشاء الخلوي ودخول كالسيوم إضافي، بما يعزز النخر الخلوي و/أو الموت المبرمج للخلايا.

وقد تم إجراء تجارب لاختبار وجود رابطة عارضة بين اعندام جين scgd، والضمور التقدمي لللياف العضلية، والنخر الخلوي و/أو الموت الخلوي المبرمج المستحث بواسطة اختلال وظائف الميتوكوندريا.

لتقييم ما إذا كان خلل وظائف الميتوكوندريا المستحث بواسطة الكالسيوم يبدأ ويحرك الضمور التقدمي للألياف العضلية المرتبط بـ LGMD، قارن المخترعون الحاليون الميتوكوندريا المعزولة من العضل الهيكلية المصاب بسوء التغذية لفئران *scgd*-/- وفئران من النمط البري. تم تعليق الميتوكوندريا المعزولة بواسطة التجانس في محلول منظم يحتوي على السكروز (سكروز بتركيز 250 ملي مولار، تريس بتركيز 10 ملي مولار) (الرقم الهيدروجيني 7.4)، EDTA بتركيز 1 ملي مولار) من مجموعة العضل الأخصي، العضلة رباعية الرؤوس والظنوب الأمامي وذلك بعد الغسل والطرء المركزي في محلول منظم متساوي التوتر (KCl بتركيز 120 ملي مولار، تريس بتركيز 10 ملي مولار) (الرقم الهيدروجيني 7.4، KH_2PO_4 بتركيز 5 ملي مولار) وتم اختبارها في اختبار ورم. تكون هذا الاختبار من حضانة الميتوكوندريا المعزولة باستخدام $CaCfe$ بتركيز 200 ملي مولار (ورم) أو 5% (بالوزن/حجم) PEG-3350 (انكماش). إن الورم ينتج تقلصاً وانكماشاً وزيادة في الامتصاص عند 540 نانو متر. يتم تقديم النتائج في صورة المتوسط SEM \pm (الخطأ المعياري للمتوسطات) (الشكل 1أ) والشكل 1ب). تم استخدام اختبار ستودنت t لعينتين، وتم اعتبار القيم ذات دلالة عندما $p > 0.05$ فحسب.

تضخمت الميتوكوندريا المعزولة من العضلات الهيكلية في فئران *scgd*-/- عند القيمة الأولية مقارنة بتلك الخاصة بفئران النمط البري. كانت عصبية أيضاً للتضخم الإضافي عن طريق الكالسيوم المضاف من الخارج ولم تبدي أي انعكاس في تضخم عند خط القاعدة (الشكل 1أ) والشكل 1ب). إن انعدام حساسية الميتوكوندريا لفئران *scgd*-/- نحو الكالسيوم الإضافي قد دل على أنها تضخمت وأنها مرضية، بما يتناسب مع التأثيرات المرضية اللاحقة مثل استجابة للتضخم الكاذب في عضلة الساق والعضلة رباعية الرؤوس عند 6 أسابيع من العمر، ويرتبط التضخم الكاذب بالتهاب الأنسجة، والنقص الشديد في وزن العضلة مع التقدم في السن مقارنة بالفئران ذات النمط البري، وزيادة مميزة في التنوي المركزي للألياف

العضلية بما يدل على التجدد الذي يرجع إلى الضمور المستمر ودورات الضمور/التجدد المتنوعة، وعدم ثبات الغشاء العضلي التالف بواسطة فائض الكالسيوم.

إن النتائج الواردة أعلاه تقترح أن عملية MPT المتوقفة على الكالسيوم هي أساس الضمور التقدمي للألياف العضلية المرتبط بـ LGMD حتى لو لم يكن شذوذ الميتوكوندريا الكامن متنبأً بالمتلازمة الإكلينيكية. وبشكل أساسي، يمكن مقاطعة السلسلة المرضية للأحداث التي تلي الإصابة الجينية بواسطة عقار ملائم. على سبيل المثال، يمكن لفقدان نشاط الميوساتين أن يخفف من LGMD في فئران *scgd*-/- عن طريق تقليل التليف والحث على تجدد العضلات. تمت الإفادة بتثبيط نشاط الكالسينورين لإنتاج تأثيرات مناظرة. وفقاً للنتائج الجديدة التي تمت مناقشتها أعلاه، وتلك التي تم تقديمها في ظل الأمثلة 1 و2، يمكن تعديل دورات الضمور / التجدد وتقليل ضمور العضلات الهيكلية في نموذج فأري لـ LGMD من خلال معادلة وظائف الميتوكوندريا. إن نتائج المخترعين تمكن من التوصل إلى علاج دوائي جديد للمرضى المصابين بـ LGMD، وهذا العلاج يستهدف وظيفة الميتوكوندريا وليس نشاط الكالسينورين ولا يتسبب في الكبت المناعي.

بناءً على ذلك، يتعلق الاختراع الحالي باستخدام مشتق CsA غير كابيت للمناعة، ويفضل أكثر D-[MeAla]³-[EtVal]⁴-CsA، لمنع وتقليل الضمور العضلي لدى مريض يعاني من LGMD. يمكن أيضاً استخدام مشتق CsA غير كابيت للمناعة لمعادلة وظيفة الميتوكوندريا في الميتوكوندريا التي تم تحضيرها من خزعة عضلية لمريض يعاني من LGMD. إن اكتشاف تحمل حمل كالسيوم زائد في مثل تلك الميتوكوندريا سيعمل كمؤشر بأن علاج مريض باستخدام مشتق CsA غير كابيت للمناعة سيكون فعالاً في تقليل شدة المرض.

يمكن إعطاء المركب الفعال، بمعنى مشتق سيكلو سيبورين A غير كابت للمناعة تم استخدامه لعلاج المرضى الذين يعانون من LGMD، باي مسار تقليدي. يمكن إعطاؤه عن طريق الحقن، على سبيل المثال في صورة محاليل أو معلقات قابلة للحقن، أو في صورة صيغ مدخرة قابلة للحقن. ويفضل أن يتم إعطاؤه عن طريق الفم في صورة محاليل أو معلقات للشرب، أقراص أو كبسولات. يتم في الأمثلة وصف التركيبات الصيدلانية للإعطاء الفموي حيث تشتمل على مشتق سيكلو سيبورين A غير كابت للمناعة هو $[D-MeAla]_3-[EtVal]_4-CsA$. تشتمل مثل تلك التركيبات الصيدلانية بشكل نمطي على مشتق سيكلوسبورين غير كابت للمناعة A المحدد وواحدة أو أكثر من المواد الحاملة المقبولة صيدلانياً. يتم وصف المواد الحاملة الصيدلانية المناسبة، مثل، في المرجع Remington's Pharmaceutical Sciences, 17th ed., Mack Publishing Company, Easton, PA (1990)، وهو نص مرجعي قياسي في هذا المجال. ونمطياً، يتم التركيز هذه التركيبات وهي في حاجة إلى الدمج مع مادة مخففة ملائمة مثل الماء قبل الإعطاء. وتشتمل التركيبات الصيدلانية للإعطاء عن طريق الحقن عادةً أيضاً على واحد أو أكثر من السواغات. وتشتمل السواغات الاختيارية على عامل متساوي التوتر، عامل منظم أو عامل آخر للتحكم الرقم الهيدروجيني، ومادة حافظة. يمكن إضافة هذه السواغات للمحافظة على التركيبة وللحصول على قيم المدى المفضلة للرقم الهيدروجيني (حوالي 6.5-7.5) ودرجة التناضح (حوالي 300 ملي أسمول/لتر).

يمكن الوصول إلى أمثلة إضافية لصيغ سيكلوسبورين للإعطاء الفموي في أرقام البراءات الأمريكية 5,525,590 (رقم 5,525,590) و رقم 5,639,724 (رقم 5,639,724) وطلب البراءة الأمريكي رقم 2003/0104992 (رقم 0104992/2003). وعن طريق المسار الفموي، فإن الجرعة المشار إليها من مشتق سيكلوسبورين غير كابت للمناعة A للإعطاء يوميا إلى ثلاث مرات أسبوعياً يمكن أن تتراوح من حوالي 1 مجم/كجم (وزن الجسم) إلى حوالي 100 مجم/كجم، يفضل من حوالي 1 مجم/كجم إلى

حوالي 20 مجم/كجم. وعن طريق المسار الوريدي، يمكن أن تتراوح الجرعة المناظرة المشار إليها من حوالي 1 مجم/كجم إلى حوالي 50 مجم/كجم، يفضل من حوالي 1 مجم/كجم إلى حوالي 25 مجم/كجم. يتم فهم كمية فعالة من مشتق سيكلو سبورين A غير كابت للمناعة بأنها كمية عند إعطائها بشكل متكرر في سياق نظام علاجي إلى مريض LGMD تؤدي على استجابة إكلينيكية غيجابية مثل تحسن، تثبيت، أو إبطاء تقدم المرض. يمكن أن يتم تقييم مثل تلك الإستجابة الإكلينيكية على سبيل المثال بواسطة اختبار القوة الكمية متساوية القياس (QIS). يسمح اختبار QIS بتقييم قوة العضلات بطريقة موضوعية بمساعدة جهاز تحويل الضغط وتسجيله. كبديل لذلك، يمكن تقييم معادلة معدلات الموت الخلوي المبرمج في خزعة عضلية بواسطة الطرق الحيوية الكيميائية والمناعية النسيجية الكيميائية المعروفة للشخص الماهر في المجال. أخيراً، يمكن استخدام مخطط العضلات الكهربائي لبيان نمط عضلي بدلا من نمط عصبي حيث يمكن قياسه.

سيتم وضع العوامل العديدة في الاعتبار بواسطة الإكلينيكي عند تحديد الجرعات التجريبية لكفاءة اختبار لتركيبية صيدلانية وفقا للاختراع تشتمل على مشتق سيكلو سبورين A غير كابت للمناعة، يفضل أكثر $[D-MeAla]_3-[EtVal]_4-CsA$. والعوامل الرئيسية ضمنها: سمية والعمر النصف لمشتق السيكلو سبورين A غير الكابت للمناعة. تشتمل العوامل الفعالة على حجم المريض، وعمره، وحالته العامة (بما في ذلك التهوية الميكانيكية، المرحلة الإكلينيكية للمرض، شدة الأعراض)، وجود عقاقير أخرى يتناولها المريض، وما شابه. سيتطلب مسار العلاج الإعطاء المتكرر لتركيبية صيدلانية للاختراع. نمطياً، سيتم إعطاء جرعة عقار كافية مرة يوميا تقريبا ونظرا للطبيعة الوراثية للمرض، يمكن أن يحتاج العلاج إلى الاستمرار لفترة ممتدة من الوقت، من الممكن على مدار فترة حياة المريض.

ولا يوجد علاج دوائي فعال لـ LGMD حاليا. ويتم دعم المرضى بالتطعيم ضد الإنفلونزا والعدوى بالمكورة الرئوية، ويتم علاج أي عدوى بشكل كبير باستخدام المضاد الحيوية. لذا، يمكن أن تشمل التركيبات الصيدلانية وفقا للاختراع الحالي على واحد أو أكثر من المكونات الفعالة الأخرى بالإضافة إلى مشتق سيكلو سبورين A غير كابت للمناعة مثل على سبيل المثال واحد أو أكثر من المضادات الحيوية. يمكن إعطاء مشتق سيكلو سبورين A غير كابت للمناعة ومكون فعال آخر كهذا سويا كجزء من التركيبة الصيدلانية نفسها أو يمكن إعطائهما بشكل منفصل كجزء من نظام جرعة ملائم تم تصميمه للحصول على فوائد كل المكونات الفعالة. إن نظام الجرعة الملائم، وكمية كل جرعة معطاة، والفواصل النوعية بين الجرعات لكل عامل فعال ستعتمد على التوليفة المحددة للعوامل الفعالة المستخدمة، حالة المريض المعالج والعوامل الأخرى التي تمت مناقشتها في القسم السابق. سيتم إعطاء المكونات الفعالة الإضافية هذه بشكل عام بكميات مساوية لتلك المعروفة بأنها فعالة كعوامل علاجية مفردة. لقد اعتمدت هيئة لأغذية والأدوية الأمريكية FDA جرعات لمثل تلك العوامل التي استقبلت اعتماد FDA لإعطائها للبشر وهي متوفرة للجمهور.

يجب اعتبار كل البراءات، وطلبات البراءات والنشرات التي تم الاستشهاد بها هنا بأنها مضمنة كمراجع بأكملها.

يستخدم توضيح الاختراع أيضا بواسطة الأمثلة التالية. يتم تقديم الأمثلة لأغراض التوضيح للشخص ذي المهارة في المجال، ولا يُقصد منها تقييد مجال الاختراع طبقا لما تم وصفه في عناصر الحماية. لذا، لا يجب تفسير الاختراع بأنه مقيد للأمثلة التي يتم توفيرها، ولكن يجب تفسيره بأنه يتضمن كل الاختلافات التي تتضح من خلال المبادئ المقدمة هنا.

الأمثلة

تثبيت الضرر المستحث بواسطة الكالسيوم في الغشاء العضلي وتقليل تقدم ومرض سوء التغذية العضلية

لتثبيت الضرر المستحث بواسطة الكالسيوم نحو الغشاء العضلي وتقليل تقدم المرض الناجم عن دورات الضمور/التجدد المتعددة، تم علاج فئران *scgd*-/- باستخدام $D-[MeAla]^3-[EtVal]^4-CsA$.

تم علاج فئران *scgd*-/- بإعطائها عن طريق الحقن تحت الجلد $D-[MeAla]^3-[EtVal]^4-CsA$ عند جرعة تبلغ 50 كجم / مجم/يوم أو مادة ناقلة (صيغة لا تحتوي على المكون الفعال $D-[MeAla]^3-[EtVal]^4-CsA$)، بالبدء عند 4 أسابيع من العمر والانهاء بـ 10 أسابيع من العمر. تم وزن عضلات تشريحية مختلفة، بمعنى أكثر تحديدا عضلة الساق، العضلة رباعية الرؤوس، الظنوب الأمامي، وعضلات القلب، وتم تحديد نسب وزن العضلة (MW) إلى طول الظنوب (TL) بالاختصار (MW/TL). تم بيان النتائج في الشكلين 2(أ) و2(ج) في صورة متوسط $SEM \pm$ (الخطأ المعياري للمتوسطات). تم استخدام طريقة ANOVA أحادية الاتجاه لمقارنة المتوسطات ضمن ثلاث مجموعات مستقلة أو أكثر. تم تطبيق اختبار Newman-Keuls لاحق عندما تم إجراء عدة مقارنات باستخدام InStat 3.0 (برنامج GraphPad من شركة Science Inc). تم اعتبار القيم ذات دلالة عندما $p > 0.05$.

واستجابةً لدورات الضمور/التجدد العديدة، أبدت الفئران *scgd*-/- في البداية عضلات هيكلية متضخمة كما لاحظ في الحالات التي تعاني من LGMD. وأدى إعطاء $D-[MeAla]^3-[EtVal]^4-CsA$ للفئران *scgd*-/- إلى تقليل المرض العضلي لوحظ في صورة انخفاض في استجابات التضخم الكاذب في العضلات الهيكلية للفئران *scgd*-/- المعالجة (الشكل 2(أ)). بلغ الانخفاض في تضخم العضلات حوالي 1.3 مرة في عضلة الساق، العضلة رباعية الرؤوس و الظنوب الأمامي (TA) وحوالي 1.2 مرة في عضلة القلب لدى

الفئران المعالجة باستخدام D-[MeAla]³-[EtVal]⁴-CsA مقارنة بالحيوانات التي عولجت باستخدام المادة الناقلة.

تمت أيضا ملاحظة انخفاض المرض في الفئران *scgd*^{-/-} التي عولجت باستخدام D-[MeAla]³-[EtVal]⁴-CsA في شرائح الأنسجة الخاصة بالعضلة رباعية الرؤوس (الشكل 2(ب)). تمت ملاحظة تحسن في تنظيم الألياف العضلية ومعادلة توزيعات مناطق الألياف في شرائح الأنسجة من الفئران *scgd*^{-/-} التي عولجت باستخدام D-[MeAla]³-[EtVal]⁴-CsA مقارنة بالفئران من النمط البري أو فئران *scgd*^{-/-} التي عولجت باستخدام المادة الناقلة.

تم تقييم النسبة المئوية للتليف بواسطة اختبار حيوي كيميائي عمل على قياس محتوى الهيدروكسي بروتين (انظر Parsons et al., Am. J. Pathol., 2006, 168:1975-1985) في الحجاب الحاجز، الظنوب الأمامي (OTA)، عضلة الساق، والعضلة رباعية الرؤوس من فئران النمط البري أو فئران *scgd*^{-/-} التي عولجت باستخدام D-[MeAla]³-[EtVal]⁴-CsA. إن علاج فئران *scgd*^{-/-} باستخدام D-[MeAla]³-[EtVal]⁴-CsA أدى إلى تقليل التليف في العضلات المختلفة بنسبة تبلغ حوالي 1,5% إلى 3,5% (الشكل 2(ج)).

المثال 2: معادلة توزيع الألياف الصغيرة والكبيرة وتقليل دورات الضمور/التجدد في عضلات الفئران

scgd^{-/-} بعد العلاج باستخدام D-[MeAla]³-[EtVal]⁴-CsA

إن علاج فئران *scgd*^{-/-} باستخدام D-[MeAla]³-[EtVal]⁴-CsA قد أدى إلى معادلة توزيعات مناطق الألياف بشكل جزئي في الظنوب الأمامي (الشكل 3(أ))، عضلة الساق (الشكل 3(ب)) و العضلة رباعية الرؤوس (الشكل 3(ج))، بما دل على انخفاض في دورات الضمور/التجدد. تم إعطاء فئران *scgd*^{-/-} تحت الجلد D-[MeAla]³-[EtVal]⁴-CsA بجرعة تبلغ 50 كجم / مجم / يوم أو مادة ناقلة لمدة 6

أسابيع. أظهر تحليل الأنسجة الخاصة بألياف العضلات الهيكلية الثلاث المأخوذة من فئران *scgd*-/- زيادات ذات دلالة في مجموعات من الألياف صغيرة القطر (> 200 ميكرو متر) بالنسبة للفئران من النمط البري، بما يدل على زيادة عدد الألياف المتجدد، دورات الضمور / التجدد المستمرة، وتقدم المرض. إن إعطاء D -[MeAla]³-[EtVal]⁴-CsA غير كابت للمناعة لفئران *scgd*-/- قد أدى إلى تقليل معدل تجدد الألياف وعمل على معادلة توزيع الألياف الصغيرة والكبيرة بشكل جزئي. تمت ملاحظة ألياف صغيرة أقل في فئران *scgd*-/- التي عولجت باستخدام D -[MeAla]³-[EtVal]⁴-CsA غير كابت للمناعة مقارنة بالفئران *scgd*-/- التي استقبلت مادة ناقلة فقط.

المثال 3: الصيغ الفموية لـ D -[MeAla]³-[EtVal]⁴-CsA

يتم التعبير عن الكميات في صورة % وزن/وزن.

المثال أ

10	$[D\text{-MeAla}]^3\text{-[EtVal]}^4\text{-CsA}$
35.95	جليكوفيرول 75
18	ميجليكول 812
35.95	كريمفور RH40
0.1	ألفا-توكوفيرول

المثال ب

10	$[D\text{-MeAla}]^3\text{-[EtVal]}^4\text{-CsA}$
2	تترا جليكول

2	كابتكس 800
85.9	نيكول HCO-40
0.1	بيوتيل هيدروكسي تولوين (BHT)

المثال ج

10	$[D-MeAla]^3-[EtVal]^4-CsA$
35.95	جليكوفيبورول 75
14	ميجليكول 812
36	كريمفور RH40
0.1-0.05	بيوتيل هيدروكسي تولوين (BHT)

المثال د

10	$[D-MeAla]^3-[EtVal]^4-CsA$
10	تترا جليكول
5	ميريتول
74.9	كريمفور RH40
0.1	ألفا-توكوفيرول

المثال هـ

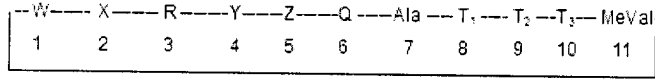
10	$[D-MeAla]^3-[EtVal]^4-CsA$
9	إيثانول

8	بروبيلين جليكول
41	كريمفور RH40
32	جليسيرول مونولينولييات

بالنسبة للمكونات الفردية للصيغ أ-د والطرق المتعلقة بتحضيرها، انظر البراءة البريطانية رقم 2,222,770
(رقم 2,222,770).

عناصر الحماية

1 -1 استخدام بيتيد يونديك حلقي له الصيغة التالية:



3 حيث W هي MeBmt، داي هيدرو-MeBmt، 8'-هيدروكسي-MeBmt أو O-

4 أستيل-MeBmt؛

5 X هي Abu، Val، Thr، Nva أو O-مثيل ثريونين (MeOThr)؛

6 R هي Pro، Sar، MeSer-(D)، MeAla-(D)، أو MeSer(Oacetyl)-(D)؛

7 Y هي MeLeu، thioMeLeu، γ -هيدروكسي-MeLeu، MeLeu، MeVal،

8 MeThr، MeAla، MeAlle أو MeaThr؛ ethylVal (EtVal)-N، ethylIle-N،

9 ethylThr-N، ethylPhe-N، ethylTyr-N أو ethylThr(Oacetyl)-N، حيث

10 أن Y لا يمكن أن تكون MeLeu عندما R تكون Sar؛

11 Z هي Val، Leu، MeVal أو MeLeu؛

12 Q هي MeLeu، γ -هيدروكسي-MeLeu، MeAla أو Pro؛

13 T₁ هي (D)Ala أو Lys؛

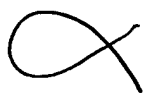
14 T₂ هي MeLeu أو γ -هيدروكسي-MeLeu؛ و

15 T₃ هي MeLeu أو MeAla.

16 لتصنيع دواء لعلاج سوء التغذية العضلية . Limb-Girdle

1 -2 استخدام بيتيد يونديك حلقي وفقا لعنصر الحماية 1

2 حيث



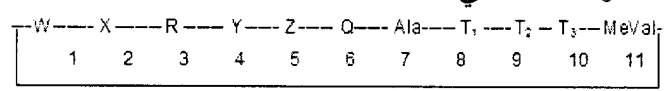
W هي MeBmt، داي هيدرو-MeBmt، 8'-هيدروكسي-MeBmt؛	3
X هي Abu، Val، Thr، أو O-مثيل ثريونين (MeOThr)؛	4
R هي Pro، Sar، MeSer-(D)، MeAla-(D)، أو (D)-	5
؛MeSer(Oacetyl)	6
Y هي MeLeu، thioMeLeu، γ -هيدروكسي-MeLeu، MeIle،	7
MeVal، MeThr، MeAla، MeIle أو MeaThr؛ ethylVal -N	8
(EtVal)، ethylIle-N، ethylThr-N، ethylPhe-N، ethylTyr-N	9
أو ethylThr(Oacetyl)-N، حيث أن Y لا يمكن أن تكون MeLeu	10
عندما R تكون Sar؛	11
Z هي Val، Leu، MeVal أو MeLeu؛	12
Q هي MeLeu، γ -هيدروكسي-MeLeu، أو MeAla؛	13
T ₁ هي (D)Ala؛	14
T ₂ هي MeLeu؛ و T ₃ هي MeLeu.	15
1 -3 استخدام بيتيد يونديك حلقي وفقا لعنصر الحماية 1 حيث	
W هي MeBmt؛	2
X هي Abu؛	3
R هي MeAla-(D)؛	4
Y هي ethylVal (EtVal)-N؛	5
Z هي Val؛	6



- Q هي MeLeu؛ 7
- T₁ هي (D)Ala؛ 8
- T₂ هي MeLeu؛ و 9
- T₃ هي MeLeu. 10

11

4- بتيد يونديك حلقي له الصيغة التالية:



2

3 حيث W هي MeBmt، داي هيدرو-MeBmt، 8-هيدروكسي-MeBmt أو O-

4 أسيتيل-MeBmt؛

5 X هي αAbu، Val، Thr، Nva أو O-مثيل ثريونين (MeOThr)؛

6 R هي Pro، Sar، MeSer-(D)، MeAla-(D)، أو MeSer(Oacetyl)-(D)؛

7 Y هي MeLeu، thioMeLeu، γ-هيدروكسي-MeLeu، MeIle، MeVal،

8 MeThr، MeAla، MeIle أو MeaThr؛ ethylVal (EtVal)-N، ethylIle-N،

9 ethylThr-N، ethylPhe-N، ethylTyr-N أو ethylThr(Oacetyl)-N، حيث

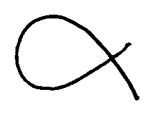
10 أن Y لا يمكن أن تكون MeLeu عندما R تكون Sar؛

11 Z هي Val، Leu، MeVal أو MeLeu؛

12 Q هي MeLeu، γ-هيدروكسي-MeLeu، MeAla أو Pro؛

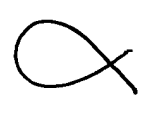
13 T₁ هي (D)Ala أو Lys؛

14 T₂ هي MeLeu أو γ-هيدروكسي-MeLeu؛ و



MeAla. أو MeLeu هي T ₃	15
للاستخدام في علاج سوء التغذية العضلية Limb-Girdle .	16
الببتيد يونديك الحلقي وفقا لعنصر الحماية 4 حيث -5	1
W هي MeBmt، داي هيدرو-MeBmt، 8'-هيدروكسي-MeBmt؛	2
X هي Abu، Val، Thr، Nva أو O-مثيل ثريونين (MeOThr)؛	3
R هي Pro، Sar، MeSer-(D)، MeAla-(D)، أو (D)-	4
؛MeSer(Oacetyl)	5
Y هي MeLeu، thioMeLeu، γ-هيدروكسي-MeLeu، Melle،	6
MeVal، MeThr، MeAla، MeIle أو MeaThr؛ ethylVal -N	7
(EtVal)، ethylIle-N، ethylThr-N، ethylPhe-N، ethylTyr-N	8
أو ethylThr(Oacetyl)-N، حيث أن Y لا يمكن أن تكون MeLeu	9
عندما R تكون Sar؛	10
Z هي Val، Leu، MeVal أو MeLeu؛	11
Q هي MeLeu، γ-هيدروكسي-MeLeu، أو MeAla؛	12
T ₁ هي (D)Ala؛	13
T ₂ هي MeLeu؛ و	14
T ₃ هي MeLeu.	15
الببتيد يونديك الحلقي وفقا لعنصر الحماية 4 حيث -6	1
W هي MeBmt؛	2

- 3 X هي α Abu؛
 - 4 R هي MeAla-(D)؛
 - 5 Y هي ethylVal (EtVal)-N؛
 - 6 Z هي Val؛
 - 7 Q هي MeLeu؛
 - 8 T₁ هي (D)Ala؛
 - 9 T₂ هي MeLeu؛ و
 - 10 T₃ هي MeLeu.
- 1 -7 طريقة لمنع أو تقليل الضمور العضلي لدى مريض يعاني من سوء التغذية العضلية Limb-Girdle حيث تشتمل على إعطاء مريض كمية فعالة من بيتيد يونديك حلقي له الصيغة التالية:
- | | | | | | | | | | | |
|-------|-----|-----|-----|-----|-----|-------|-------------------|-------------------|-------------------|--------|
| --W-- | X-- | R-- | Y-- | Z-- | Q-- | Ala-- | T ₁ -- | T ₂ -- | T ₃ -- | MeVal- |
| 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | 11 |
- 5 حيث W هي MeBmt، داي هيدرو-MeBmt، 8'-هيدروكسي-MeBmt أو
 - 6 O-أسيتيل-MeBmt؛
 - 7 X هي α Abu، Val، Thr، Nva أو O-مثيل ثريونين (MeOThr)؛
 - 8 R هي Pro، Sar، MeSer-(D)، MeAla-(D)، أو MeSer(Oacetyl)-(D)؛
 - 9 Y هي MeLeu، thioMeLeu، γ -هيدروكسي-MeLeu، MeIle، MeVal؛
 - 10 MeThr، MeAla، MeIle أو MeaThr؛ ethylVal (EtVal)-N، -N
 - 11 ethylIle، ethylThr-N، ethylPhe-N، ethylTyr-N أو -N

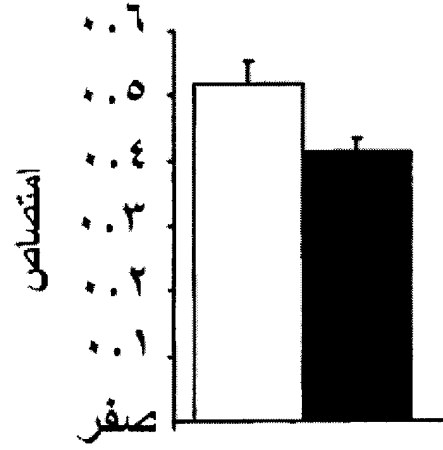


ethylThr(Oacetyl)، حيث أن Y لا يمكن أن تكون MeLeu عندما R تكون	12
؛Sar	13
؛MeLeu أو MeVal ،Leu ،Val هي Z	14
؛Pro أو MeAla ،MeLeu-γ-هيدروكسي MeLeu هي Q	15
؛Lys أو (D)Ala هي T ₁	16
؛MeLeu أو MeLeu-γ-هيدروكسي T ₂ هي	17
MeAla أو MeLeu هي T ₃	18
الطريقة وفقا لعنصر الحماية 7 حيث -8	1
؛MeBmt هي W، داي هيدرو-MeBmt، 8'-هيدروكسي-MeBmt	2
؛(MeOThr)؛X هي α،Val ،Thr ،Nva أو O-مثيل ثيونين (MeOThr)؛	3
؛(D)؛R هي Pro ،Sar ،MeSer-(D) ،MeAla-(D) أو (D)-	4
؛MeSer(Oacetyl)	5
؛Melle ،MeLeu-γ-هيدروكسي MeLeu ،thioMeLeu هي Y	6
ethylVal -N ؛MeaThr أو Mealle ،MeAla ،MeThr ،MeVal	7
ethylTyr-N ،ethylPhe-N ،ethylThr-N ،ethylIle-N ،(EtVal)	8
MeLeu أو ethylThr(Oacetyl)-N، حيث أن Y لا يمكن أن تكون MeLeu	9
عندما R تكون ؛Sar	10
؛MeLeu أو MeVal ،Leu ،Val هي Z	11
؛ MeAla أو MeLeu-γ-هيدروكسي MeLeu هي Q	12

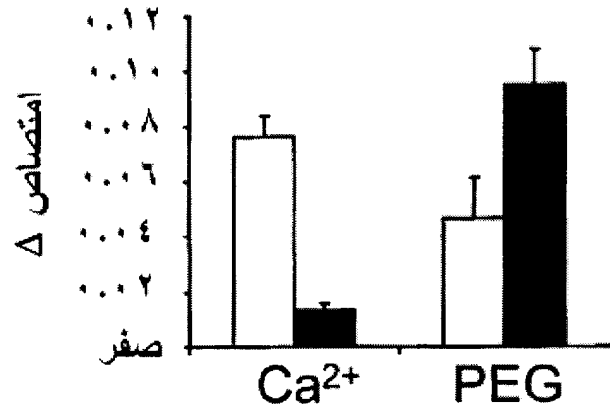


؛(D)Ala هي T ₁	13
؛MeLeu هي T ₂ و	14
.MeLeu هي T ₃	15
الطريقة وفقا لعنصر الحماية 7 حيث	-9 1
؛MeBmt هي W	2
؛αAbu هي X	3
؛MeAla-(D) هي R	4
؛ethylVal (EtVal)-N هي Y	5
؛Val هي Z	6
؛MeLeu هي Q	7
؛(D)Ala هي T ₁	8
؛MeLeu هي T ₂ و	9
.MeLeu هي T ₃	10

شكل ١ (أ)

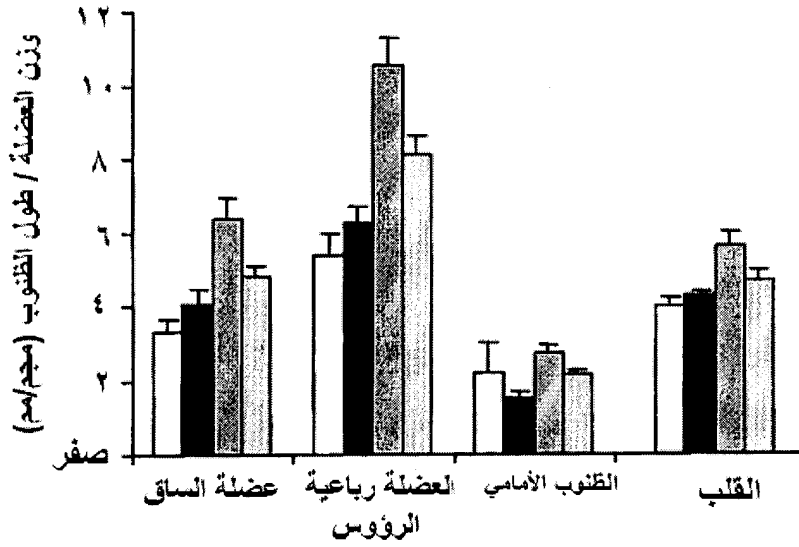


شكل ١ (ب)

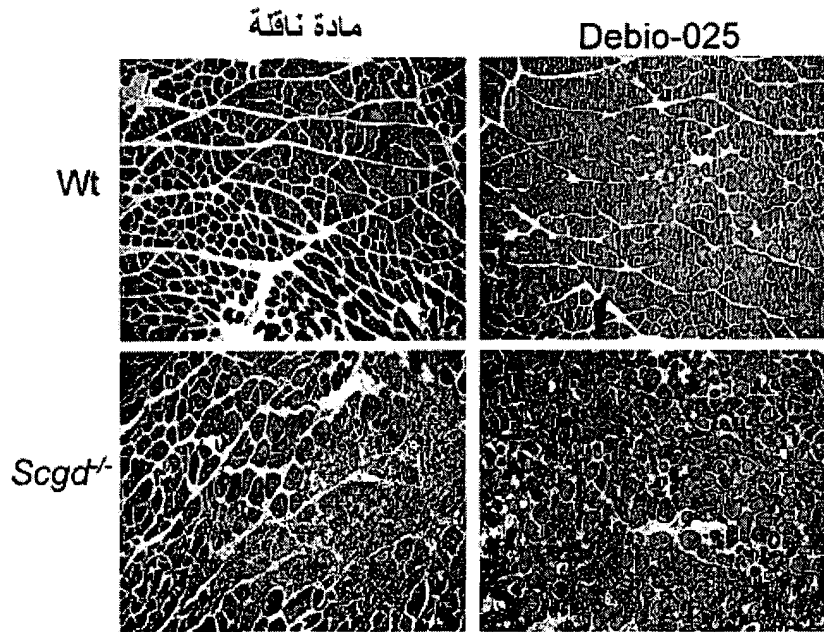


أصل		
اسم الطالب		
1	رقم اللوحة	5
رقم الطنب/التاريخ/الساعة		
توقيع الوكيل / الطالب		

شكل ٢ (أ)



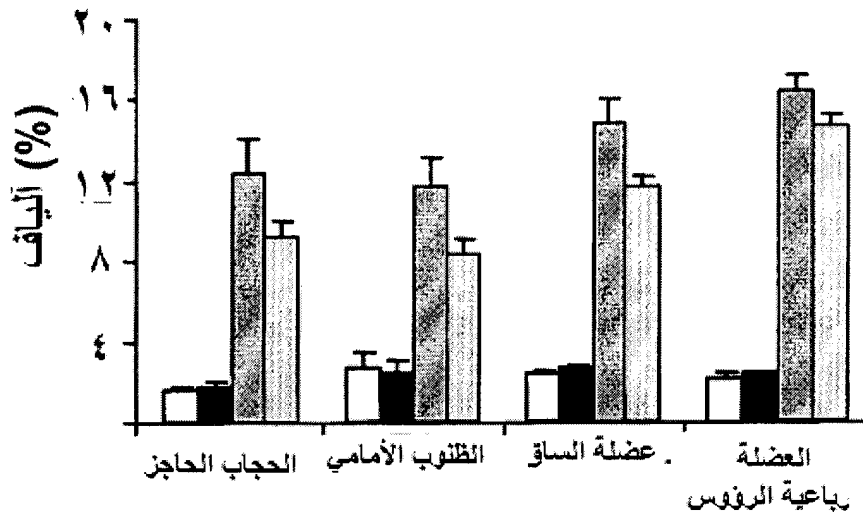
شكل ٢ (ب)



أصل		
اسم الطالب		
2	رقم اللوحة	5
رقم الطلب/التاريخ/الساعة		
توقيع الوكيل / الطالب		

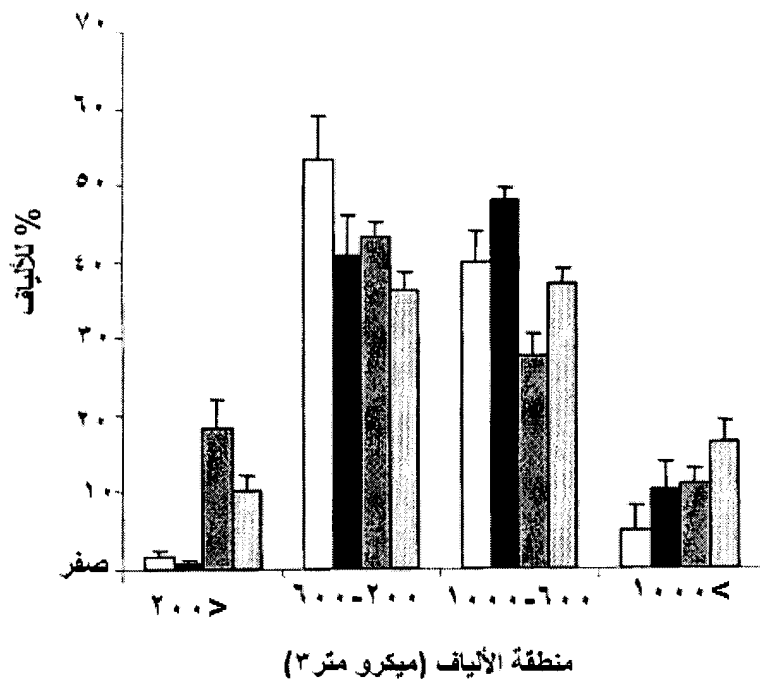
٤٦

شكل ٢ (ج)

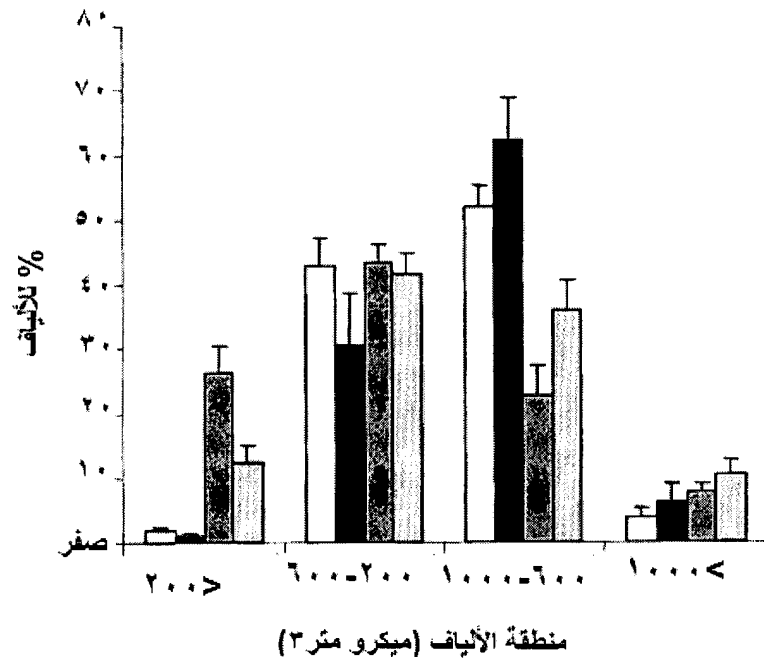


أصل		
اسم الطالب		
3	رقم اللوحة	5
رقم الطلب/التاريخ/الساعة		
توقيع الوكيل / الطالب		

شكل ٣ (أ)

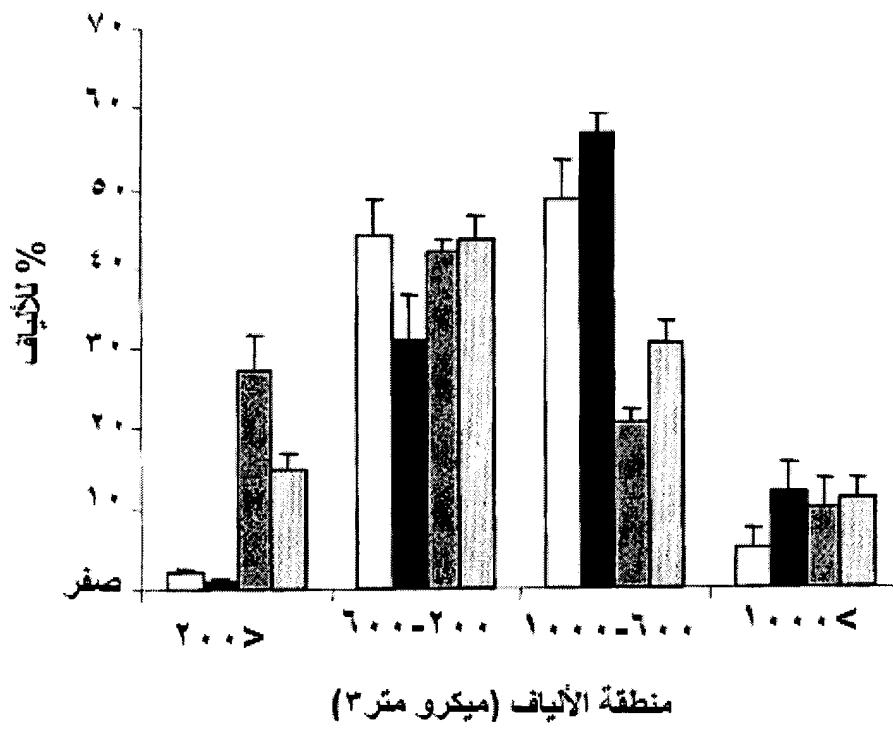


شكل ٣ (ب)



أصل		
اسم الطالب		
4	رقم النوحة	5
عدد اللوحات		
رقم الطنب/التاريخ/الساعة		
توقيع الوكيل / الطالب		

شكل ٣ (ج)



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