



## (12) FASCICULE DE BREVET

- (11) N° de publication : **MA 32130 B1** (51) Cl. internationale : **A61P 19/02; A61K 31/56**
- (43) Date de publication : **01.03.2011**

- 
- (21) N° Dépôt : **33135**
- (22) Date de Dépôt : **31.08.2010**
- (30) Données de Priorité : **03.04.2008 ES P200801069**
- (86) Données relatives à l'entrée en phase nationale selon le PCT : **PCT/ES2009/000195 03.04.2009**
- (71) Demandeur(s) :
- **BIOMASLINIC S.L., EDIFICIO BIC GRANADA AVDA. DE LA INNOVACION 1 PARQUE TECHNOLOGICO DE CIENCIAS DE LA SALUD 18100 ARMILLA (GRANADA) (ES)**
  - **UNIVERSIDAD DE GRANADA, OTRI Edificio BIC Granada Avda. de la Innovación, 1 Parque Tecnológico de Ciencias de la Salud 18100 Armilla (Granada) (ES)**
- (72) Inventeur(s) : **PRADOS OSUNA, José ; GARCÍA-GRANADOS LÓPEZ DE HIERRO, Andrés ; PARRA SÁNCHEZ, Andrés ; MARTÍNEZ RODRÍGUEZ, Antonio**
- (74) Mandataire : **SMAS INTELLECTUAL PROPERTY**

- 
- (54) Titre : **UTILISATION DE L'ACIDE MASLINIQUE DANS LE TRAITEMENT DE PATHOLOGIES ET DE LEURS SYMPTÔMES PAR INHIBITION DE COX-2**
- (57) Abrégé : L'INVENTION CONCERNE L'UTILISATION DE L'ACIDE MASLINIQUE OU DE MÉLANGES NATURELS, SYNTHÉTIQUES OU SEMI-SYNTHÉTIQUES RICHES EN ACIDE MASLINIQUE OU D'UNE COMPOSITION CONTENANT DE L'ACIDE MASLINIQUE DANS LE TRAITEMENT DE PATHOLOGIES ASSOCIÉES À L'ACTIVATION DE COX-2. L'INVENTION EST DESTINÉE, ENTRE AUTRES, AU TRAITEMENT SYMPTOMATIQUE ET/OU RÉGÉNÉRATIF DE L'ARTHROSE, DE L'ARTHRITE RHUMATOÏDE, DES FIBROMYALGIES, DE LA SCIATIQUE ET D'AUTRES TROUBLES ARTICULAIRES AU DIAGNOSTIC MALAISÉ. L'INVENTION PORTE AUSSI SUR L'ADMINISTRATION PAR VOIE TOPIQUE DE L'ACIDE MASLINIQUE, DES MÉLANGES ET DE LA COMPOSITION PRÉCITÉS.

## استخدام حمض ماسلينيك لمعالجة أمراض وأعراضها من خلال تثبيط COX-2

### الملخص

يتعلق الاختراع الراهن باستخدام حمض ماسلينيك أو مخاليط غنية بـماسلينيك طبيعي، تخليقي أو شبه تخليقي أو تركيب يشمل الحمض المذكور لمعالجة عمليات مرضية مرتبطة بتنشيط COX-2، ويعدّ من أجل، من جملة أمور أخرى، المعالجة الأعراضية و/أو التجديدية لداء مفاصل، التهاب مفاصل رثياني، ألم عضلي ليفي، عرق النسا واضطرابات مفصلية أخرى يصعب تشخيصها. كما يتعلق الاختراع بالإعطاء الموضعي منها. 5

## استخدام حمض ماسلينيك لمعالجة أمراض وأعراضها من خلال تثبيط COX-2

### مجال الاختراع

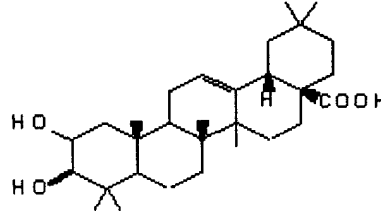
يتعلق الاختراع الراهن باستخدام حمض ماسلينيك وأي من مشتقاته لمعالجة عمليات مرضية تشمل تثبيط أكسجيناز حلقي-2 (COX-2) داخلي. أكثر تحديداً، لمعالجة عرضية أو لا عرضية لفصال (أو داء مفاصل)، التهاب مفاصل رثياني، ألم عضلي ليفي، عرق النساء، وانزعاجات مفصلية أخرى. كما يتعلق بإعطاء (دواء) موضعي لتكوين، يشمل حمض ماسلينيك، أي من مشتقاته، أو مخاليط طبيعية، تخليقية أو شبه تخليقية غنية بالماسلينيك أو أي من مشتقاته.

### حالة التقنية

حمض الأوليانوليك (حمض 3-بيتا-هيدروكسي-12-أوليانين-28-ويك) عبارة عن حمض ثلاثي تربنيك موزع واسع الانتشار في المملكة النباتية. وهكذا، تسجل قاعدة البيانات الكيميائية النباتية لدائرة الزراعة في الولايات المتحدة (USDA) وجوده في حوالي مائة نوع من النباتات، نجد من بينها الزيتون، بالإضافة إلى سلسلة من أنشطة حيوية مثبتة (مضاد إجهاض، مضاد ناخر (متلف للأنسجة)، مانع للحمل، مضاد تكسيني للكبد، مضاد التهابات، مضاد سرقومي، وقائي من السرطان، منشط للقلب، مدر للبول، واق للكبد ومنشط للرحم).

حمض الماسلينيك (حمض 2-ألفا-3-بيتا-ثنائي هيدروكسي أوليانين-12-28-ويك)، ويسمى أيضاً حمض كراتاجوليك، عبارة عن حمض أقل انتشاراً في الطبيعة، اكتشف في حوالي 10 نباتات. فعاليته على شكل مضاد هستميني ومضاد التهابي معروفة، رغم أن ندرته تؤدي إلى عدم دراسته بشكل شامل. وُصف فصل حمض الأوليانوليك وحمض الماسلينيك لشمع سطح ثمار الزيتون من قبل [ Bianchi, G., Pozzi, N. And ] [Vlahov, G. *Phytochemistry* (1994) 37, 205-207] من خلال الاستخلاص الميثانولي لزيتون سبق غسله بكلوروفورم. وُصف فصل هذا النوع من الأحماض بواسطة استشراب

متعكس التيار عالي السرعة (HSCCC) انظر المرجع [ Du, Q.Z., Xiong, X.P. and Ito, ]  
 .[Y.; *Journal of Liquid Chromatography* (1995) 18, 1997-2004



### Maslinic acid

- 5 في الوقت الحاضر، ثمة عدد كبير من براءات الاختراع حيث يؤثر حمض الماسلينيك على شكل مكون فعال: براءة الاختراع الأمريكية رقم 2003153538 أو براءة الاختراع الدولية رقم 252956 تتعلقان بعامل مضاد للورم؛ براءة الاختراع الدولية رقم 3057224 تتعلق بمحرض موت الخلايا المبرمج؛ براءة الاختراع الدوليتان رقم 203039270 و 3011267 تتعلقان بطعام عيوف (مفقد للشهية)؛ براءة الاختراع الأمريكية رقم 2003133958 تتعلق بعامل خارجي وتقصير (أو تبييض) للجلد؛ براءة الاختراع الدولية رقم 2078685 تتعلق بأفات وعائية.
- 10 اقترح في بعض نشرات أن مركب ثلاثي تربين هذا يمكن أن تكون له فعالية مضادة للالتهاب (انظر Marquez-Martin A, De La Puerta R, Fernandez-Arche A, Ruiz-Gutierrez V, Yaqoob P. *Cytokine*. (2006) Dec; 36 (5-6):211-7). ذكر في هذه الوثيقة أيضاً أن حمض الماسلينيك يثبط إطلاق IL-6 (إنترلوكين-6) و TNF $\alpha$  (عامل النخر الورمي tumor necrosis factor-ألفا) وإنتاج NO وبروكسيد الهيدروجين (ROS) في بلاعم صفاقية فأرية منبهة بـ LPS، تأثير لم يجده المؤلفون في خلايا وحيدة النواة لدم محيطي بشري. في أي حال، ما تُظهره هذه الاختلافات هو أن الإجابات غير متجانسة ولذا، فهي غير قابلة للتوقع، مما يجعل من الضروري دراسة كل نموذج و/أو نوع من النسيج.
- 20 من ناحية أخرى، فإن مركبات بروتاغلاندين تخلق من حمض الأراكسيدونيك (ومن أحماض دهنية غير مشبعة أخرى C20 تُدعى شبيهات إيكوزانويك) متبعين المسار

- الاستقلابي لأكسجيناز حلقي (COX)، أنزيم واسع الانتشار يمكنه إنتاج حلقة وتقديم أكسجين في المصادر لخلق مركبات البروستاغلاندين والتي جميعها تشتق حمض بروستانويك. ثمة نوعان مختلفان مميزان جيداً من أكسجيناز حلقي وهما COX-1 و COX-2. COX-1 معبر عنه تكوينياً في عدة أنسجة، حيث ينظم وظائف فسيولوجية هامة. على سبيل المثال، يحفز COX-1 إنتاج مركبات بروستاغلاندين بواسطة البطانة الوعائية والغشاء المخاطي المعدي، مؤدياً إلى مضاد بروثرومبيني وتأثيرات وقائية خلوية، على التوالي. COX-2، الذي هو شكل قابل للتحريض، غير مستبان في معظم الأنسجة. COX-2 عبارة عن شكل زميري محدد مشتق من جينة مختلفة عن تلك التي تتسق COX-1. يزداد تعبير COX-2 خلال التطور والالتهاب، لكن تعبيره التكويني يبقى منخفضاً في معظم مركبات بروستاغلاندين، خاصة PGE<sub>2</sub>، وينجز وظائف فسيولوجية ومرضية طبيعية متعددة. هكذا، تحفظ تركيزات منخفضة من PGE<sub>2</sub> سلامة الغشاء المخاطي المعدي العادي والاستقرار الداخلي للموائع والكهرل في حين تكون مستويات هذا الوسيط متضمنة في العمليات الالتهابية.
- نواتج استقلابية أخرى لحمض أراكيدونيك عبارة عن مركبات أيسوبروستان. تكون هذه النواتج الاستقلابية مشابهة بنيوياً لمركبات بروستاغلاندين وتتكون بتأكسد أحماض دهنية للغشاء البلازمي (متعلق بالسائل الدموي).
- في الوقت الحاضر، من المعروف جيداً أن مركبات أيسوبروستان تمثل واحدة من أفضل الخلايا والواسمات الجهازية لإجهاد مؤكسد. كما بين في فعالية مانع للأكسدة لحمض الماسلينيك فإن من المحتمل أن هذا المركب يمكنه تثبيط تكون مركبات أيسوبروستان، انظر المرجع (Marquez-Martin A, De La Puerta R, Fernandez-Arche A, Ruiz-) Gutierrez V, Yaqoob P. Cytokine. (2006) Dec; 36(5-6):211-7); Montilla MP, Agil A, Navarro MC, Jimenez MI, Garcia-Granados A, Parra A, Cabo MM. Planta (Med. (2003) May;69(5):472-4
- وفقاً للمركز الطبي لجامعة ماريلاند بخصوص معالجة التهاب المفاصل الرثياني، يمكن لهذه المعالجة أن تتم، أساسياً، مع مثبطات COX-2، مشيرة إلى أن "مثبطات COX-2 تعيق أنزيماً يساند الالتهاب، يدعى COX-2" لكنها لا تشمل معالجات فعالة لإعطاء (دواء) موضعي. في البداية، كان الظن أن هذا النوع من العقاقير يؤدي عمله بالإضافة إلى عقاقير

غير ستيرويدية ومضادة للالتهاب (NSAIDs)، لكن مع مشاكل أقل للمعدة. مع ذلك، أدت عدة تقارير حول نوبات وسكتات قلبية إلى أن تعيد FDA تقييم علاقة الفائدة إلى الخطر لـ COX-2. استُبعد روفكوكسيب (Vioxx®) وفالدوكوكسيب (Bextra®) من السوق الأمريكي بعد تقارير نوبات قلبية لمرضى كانوا يتعاطون العقار. لا زال سلوكوكسيب (Celebrex®) متوفراً لكن مع بطاقة تحذير شديد ومع التوصية بأن يؤمر (على شكل وصفة طبية) باستعماله بالجرعة الصغرى وخلال أقصر فترة زمنية ممكنة. ينبغي أن يسأل المرضى الطبيب المعالج إذا كان هذا العقار مناسباً وآمناً لهم.

العقاقير المضادة للملاريا مثل هيدروكسي كلوروكين (Plaquenil®) وسلفاسالازين (Azulfidine®) مفيدة أيضاً بشكل عام مضافة إلى ميثوتركسات. لكنها قد تأخذ أسابيع أو أشهر قبل أن تظهر فوائد هذا العقار ولكنها مرتبطة بآثار جانبية سمية، فإنه إلزامي أن تخضع لاختبارات دم متكررة خلال استخدام هذا العقار.

مثبطات عامل النخر الورمي (TNF) عبارة عن نوع من عقاقير جديدة نسبياً تُستخدم لمعالجة اضطراب ذاتي المناعية ومن جملة أشياء أخرى، فهي: إتانرسبت (Enbrel®)، إنفلكسيماب (Remicade®) وأداليموماب (Humira®). أو اليموماب وإتانرسبت عقاران قابلان للحقن، في حين إنفلكسيماب يعطى داخل الوريد.

دواء جديد آخر هو أناكينرا (Kineret®) قابل للحقن، بروتين صناعي يثبط تأثير إنترلوكين-1 البروتيني الالتهابي. استخدم هذا الدواء لتخفيض التقدم (أو النمو) لالتهاب المفاصل النشط من معتدل إلى خطير في مرضى تزيد أعمارهم عن ثمانية عشر عاماً لم يستجيبوا لواحد أو أكثر من DMARD (أدوية نافعة للروماتيزم (ضد الرثية) معدلة للمرض). يمكن أن يُستخدم (Kineret®) مع DMARD آخر أو مع مثبطات عامل نخر ورمي.

تُستخدم أحياناً عقاقير أخرى تكبت نظام المناعة، مثل أزاثيوبرين (Imuran®) وفوسفاميد حلقي (Cytosan®) في أناس لم تنجح معهم معالجات أخرى. تُستبقى هذه العقاقير، المترافقة مع آثار جانبية سمية، عموماً لحالات خطيرة لالتهاب المفاصل الرثياني. من غير المعروف وجود معالجة فعالة وسهلة لإعطاء دواء للمعالجة العرضية و/أو المجددة للفصال (داء المفاصل)، التهاب المفاصل الرثياني أو آخر يصعب معه

تشخيص مشاكل مفصلية تؤثر مباشرة على خلايا غضروفية وتحقق معالجة فعالة مع اختفاء سريع وطويل الأمد للأعراض المذكورة.

### الكشف عن الاختراع

يصف الاختراع الراهن استخدام حمض الماسلينيك وأي من مشتقاته لمعالجة أي مرضيات تشمل تنشيط أنزيم أكسيجيناز حلقي-2 (COX-2).

بهذا المعنى، بين في الاختراع الراهن فعالية حمض الماسلينيك على شكل مثبط لفعالية COX-2 محرّض في خلايا غضروفية بشرية وبالتالي فائدة هذا الحمض في معالجة أمراض تشمل تنشيط أنزيم COX-2 المذكور.

كما بين أن حمض الماسلينيك ليس قادراً على تخفيض الالتهاب، المرتبط بهذا النوع من الأمراض، فحسب، وإنما يتدخل أيضاً في تخفيض أو اختفاء الأعراض وفي تجديد أنسجة خلايا غضروفية مبدئياً تأثيرات طويلة الأمد.

نتيجة لما سبق، يشير الاختراع إلى المعالجة الأعراضية و/أو التجديدية لأمراض مثل داء المفاصل، التهاب المفاصل الرثياني، الألم العضلي الليفي، عرق النساء، متلازمة قفازة، حذبة مفصل عرشي سلامي (وكعة) وعمليات تستجيب لـ NSAIDs (أدوية مضادة للالتهاب لاستيرويدية) خاصة بـ COX-2، بتركيب يشمل حمض ماسلينيك أو أي من مشتقاته. تُجرى هذه المعالجة مع إعطاء (دواء) بسيط وهي فعالة نظراً، بالإضافة إلى أمور أخرى، لأنها تؤثر مباشرة على الخلايا الغضروفية أو الأنسجة المصابة. بشكل خاص، بين في الاختراع الراهن فعالية المعالجة الأعراضية و/أو التجديدية لداء المفاصل والتهاب المفاصل الرثياني مع الاختفاء السريع وطويل الأمد للأعراض.

وفقاً للاختراع الراهن، بين فعالية المعالجة حتى مع إعطاء (الدواء) موضعياً. من المهم إظهار هذه الحقيقة، نظراً لأن مثبطات NSAIDs أخرى لـ COX-2 لا تُظهر فعالية عندما تعطى موضعياً وعلاوةً على ذلك فإن إعطاءها عبر طرق أخرى لها آثار جانبية خطيرة.

يمكن الحصول على حمض ماسلينيك بشكل طبيعي أو اصطناعي. تحوي التراكيب التي تشمل حمض الماسلينيك في تعريفها استخدام مستخلصات نباتية تحتوي على حمض ماسلينيك، مستخلصات من منتجات ثانوية لمعالجة صناعية للنبات أو ثماره أو منتج

صناعي ثانوي للنبات يحتوي على تركيز لحمض الماسلينيك أعلى مما هو موجود أصلاً في النبات. على سبيل المثال، دون قصره على ذلك، مستخلصات نباتية لجنس الزيتون، أكثر تحديداً، نوع الزيتون. بالإضافة إلى هذا النوع من حمض الماسلينيك، فإنه يمكن استخدام مشتقاته أيضاً، حيث تعني مشتقاته وفقاً للاختراع الراهن أملاحه أو مشتقات مقبولة وفقاً لدستور الأدوية تسهل الامتصاص والانتقال في الأنسجة التي ستعالج. أكثر تحديداً، أملاحه للصدويوم والبوتاسيوم أو أملاح من أمينات مقبولة حيويًا.

هذه الحقائق مبينة من خلال التجارب التالية المنفذة:

- تم تحديد تأثير حمض الماسلينيك ومشتقاته على تعبير بروتين COX-2 في كريات وحيدة النواة بشرية أولية لدم محيطي.
- تم تحديد تأثير حمض الماسلينيك ومشتقاته على الفعالية الأنزيمية لـ COX-2 في كريات وحيدة النواة لدم محيطي.
- تم تحديد تأثير حمض الماسلينيك ومشتقاته على تكون مركبات أيسوبروستان في كريات وحيدة النواة بشرية أولية لدم محيطي.
- تم تحديد تأثير حمض الماسلينيك ومشتقاته على إطلاق PGE2 في كريات وحيدة النواة بشرية أولية.
- تم تحديد تأثير حمض الماسلينيك ومشتقاته على إطلاق PGE2 في خلايا نجمية جردية أولية وفي سلالة خلوية نوع ورم جذعي عصبي SK-S-NH.
- تم تحديد تأثير حمض الماسلينيك ومشتقاته على التنظيم الانتساخي (الجيني) لجينة COX-2 وعلى تعبير بروتين COX-2 في خلايا نجمية أولية.
- أنجزت اختبارات سريرية على مرضى يعانون من عمليات ضمورية، مفصلية، رثيوية، تتعلق بألم عضلي ليفي أو التهاب العضلة شبه الوترية، ضمن أمور أخرى، لإثبات فعالية المعالجة في الجسم الحي وأكثر تحديداً بإعطاء (دواء) موضعي. من المهم أحياناً، الأخذ في الاعتبار أن تشخيصاً سابقاً قدم لمرضى لم يكن دقيقاً جداً، وأحياناً تكون الأعراض هي الوسطة الوحيدة المستخدمة للتشخيص السابق الذكر.



نظراً لأن المجموعة الوظيفية لـ COX-2 وإنتاج PEG2 قد نظمت عند مستويات عديدة ويثبط حمض الماسلينيك إنتاج PGE2 في الكريات وحيدة النواة البشرية الأولية فقد تمت دراسة تفصيلية لتأثير ثلاثي تربين على تعبير ووظيفة COX-2 في مختلف أنواع الخلايا "داخل الجسم الحي" على شكل خطوة سابقة قبل الدراسات مع نماذج حيوانية محددة. هكذا، ولأول مرة بين تأثير حمض الماسلينيك "في الجسم الحي" من حيث تثبيط COX-2 محرّض في خلايا غضروفية بشرية وأنجزت دراسة سريرية شاملة لمرضى بدء المفاصل، التهاب المفاصل أو ألم عضلي ليفي، من بين أمور أخرى، مبينة فعالية مدهشة لحمض الماسلينيك وأملاحه حتى في معالجات موضعية للمناطق المبينة لهذه الأعراض. في الحقيقة، رغم أنه لوحظ تحسن الأعراض في جميع المرضى بدء المفاصل، في أولئك المرضى دون الستين عاماً من العمر، كان ثمة خمود كامل للأعراض في أقل من شهر واحد من المعالجة. علاوة على ذلك، في جميع الحالات، لوحظ بطريقة أعراضية جداً إعادة الامتصاص التدريجي لتكلسات نموذجية لأعراض مفصلية.

في أكثر من 80% من الحالات، تبدأ الأعراض أن تكون ملحوظة بما يتعلق والفعالية في 48/24 ساعة وبين 2 إلى 6 استخدامات موضعية. بالإضافة إلى تحسن الأعراض في المفاصل (ألم وتيبس) فإن المرضى بالتهاب واضح، على سبيل المثال في أصابعهم، يلاحظون في بضع دقائق ارتفاع درجة الحرارة في المناطق المعالجة، والذي يدل بوضوح على زيادة في دوران دم المريض قد بدأ في الحدوث فوراً.

تم إثبات أن حمض الماسلينيك معدل غير مناعي فعال للاستجابة المناعية نظراً لأنه يثبط تنشيط وتكاثر خلايا لمفية T منبهة بواسطة TCR ويثبط إنتاج خلايا التهابية مبكرة TNF $\alpha$  و IL-6، بالإضافة إلى إنتاج بروتوغلاندين (PGE2) E2 في كريات أولية وحيدة النواة. كذلك، لوحظ أن تركيزات حمض الماسلينيك التي تثبط الاستجابات المناعية الخلفية والمكتسبة أقل بكثير من تلك المطلوبة لتحريض موت خلايا مبرمج في نسل خلوي ورمي.

في الاختراع الراهن، وكنتيجة للنتائج المحرزة، المبينة في قسم الأمثلة، فقد وضح أن:

1- يثبط حمض الماسلينيك إنتاج PGE2 في كريات بشرية وحيدة النواة.

- 2- يثبط حمض الماسلينيك الفعالية الأنزيمية لـ COX-2.
- 3- لا يثبط حمض الماسلينيك الفعالية الانتساخية لمحفز جينة COX-2 ولا يثبط تعبير البروتين.
- 4- يثبط حمض الماسلينيك بجرعات عالية إنتاج PGE2 في خلايا غضروفية وفي خلايا مشتقة من أورام جذعية عصبية. 5
- 5- يثبط حمض الماسلينيك إنتاج مركبات أيسوبروستان في كريات بشرية وحيدة النواة.
- 6- يثبط حمض الماسلينيك إنتاج IL-6 في كريات بشرية وحيدة النواة وخلايا غضروفية بشرية.
- 7- لم ينتج تثبيط إنتاج IL-6 بواسطة MA عن تثبيط انتساخي لجينة IL-6.
- 10 ولقد أخذ في الاعتبار أن الالتحامات بين العظام تكون مغطاة بالغضروف المفصلي، نسيج لا يشمل أوعية شعرية أو نهايات عصبية. خلال الحركة المفصليّة يُخفف الاحتكاك بين العظام إلى الحد الأدنى بواسطة الغضروف المفصلي، الذي يشمل خلايا غضروفية، والتي تمثل 1-2% من الحجم الكلي، والتي تكون وظيفتها تخليق بروتينات النسيج خارج الخلية. يشمل هذا النسيج 70-80% ماء يمكن من إحراز بنية تعمل على تخفيف الضغط. التأثير الكهروستاتي بين جزيئات الماء ومركبات عديد السكريد المخاطي ضروري لاستبقاء تميّه الغضروف. لذلك، تكون البروتينات الغليكوليّة (بروتيوغليكان) المزيّنة ببوليمرات هيالورونيك هي المادة التي تحافظ على سلامة الغضروف، تحافظ مركبات غليكوسامينوغليكان وبروتيوغليكان على علاقة وثيقة مع الألياف المولدة للغراء (ألياف كلاجن) المنتجة بواسطة الخلايا الغضروفية، والتي تنتج أيضاً مركبات بروتيوغليكان. 20
- لأجل هذا كله، يشير مظهر أول وفقاً للاختراع الراهن إلى استخدام حمض ماسلينيك، بتعبيره الأوسع كما وُصف أعلاه، أو أي من مشتقاته لتحضير عقار لمعالجة مرضيات تشمل تنشيط COX-2.
- يشير مظهر آخر وفق الاختراع الراهن إلى استخدام حمض ماسلينيك أو أي من مشتقاته لتحضير عقار يساند أيضاً تجديد نسيج خلايا غضروفية. 25

في تجسيد مفضل وفقاً للاختراع تشمل المرضيات تنشيط COX-2 و/أو في تلك التي يُنتج فيها تجديد نسيج خلايا غضروفية تُنتقى من القائمة التي تشمل: داء مفاصل، التهاب مفاصل رثياني، عرق النسا، ألم عضلي ليفي، إبهام أرواح أو حذبة مفصل عرشي سلامي (وكعة)، التهاب وتر رضفي (ركبة وثابة) أو مرضيات أخرى تستجيب لـ NSAIDs مخصصة لـ COX-2. يشمل تجسيد مفضل أكثر استخدامه لمعالجة داء مفاصل أو التهاب مفاصل رثياني.

يشير مظهر آخر وفقاً للاختراع الراهن إلى تركيب صيدلي يشمل حمض ماسلينيك بتعريفه الواسع (أملاح، مستقلبات، مستخلصات نباتات تشمله، مستخلص منتج ثانوي لمعالجة صناعية للنبات أو ثماره، أو منتج ثانوي صناعي أو توليفة لأي من هذه المكونات) أو أي من مشتقاته لمعالجة أمراض تشمل تنشيط COX-2. أكثر تحديداً، مفيد لمعالجة أمراض تشمل تنشيط أنزيم COX-2 في خلايا غضروفية بشرية أو حيوانية عبر تثبيط COX-2.

في تجسيد مفضل، يشمل التركيب المذكور حمض أوليانوليك و/أو ناقل مقبول صيدلياً. أكثر تفضيلاً، تكون نسبة حمض ماسلينيك:حمض أوليانوليك بين 1:2 و 1:6. أي، سيُعد حمض ماسلينيك، أملاحه، مشتقات مقبولة صيدلياً أو عقاقيره الأولية، في تركيب صيدلي مناسب، بالمقدار الفعال علاجياً، مع واحد أو أكثر من مواد ناقلة، مواد مساعدة (إضافية) أو أسوغة مقبولة صيدلياً. أكثر تحديداً، يكون حمض ماسلينيك أو مخلوط حمض الماسلينيك وحمض أوليانوليك بنسبة تتراوح بين 0.5% و 10% من التركيب الكلي، أكثر تحديداً بين 0.5% و 5% وحتى أكثر تحديداً بين 1 و 3%.

يمكن أن يُعطى التركيب بعدة طرق، على سبيل المثال، دون قصره على ذلك، بين صفاقي، عن طريق الفم (فمويًا)، شدياً، عن طريق المستقيم، في العضل، موضعياً، تحت الجلد، إعطاء في المفصل أو عبر استنشاق.

أكثر تفضيلاً، يُعطى موضعياً، تحت الجلد أو عبر ارتشاحات مفصلية. في تجسيد آخر مفضل، يُقدم التركيب المذكور على شكل مكيف لإعطاء موضعي.

في كل حالة سيكيف التركيب إلى نوع الإعطاء المستخدم، لذلك، يمكن أن يُقدم التركيب الموصوف أعلاه على شكل أقراص، حبوب، كبسولات، محاليل، مستحلبات،

مراهم، حليب كثيف، دهون، نشوق، رذاذ، تحميلات أو أي شكل آخر لإعطاء مقبول سريرياً وبمقدار فعال علاجياً. أكثر تفضيلاً، على شكل محلول، مستحلب، مرهم، حليب كثيف أو دهون.

5 في تجسيد آخر مفضل، يشمل التركيب حمض ماسلينيك أو أي من مشتقاته، حُصل عليه من مستخلص نباتي من جنس الزيتون أو منتج ثانوي صناعي لنبات من جنس الزيتون.

10 نعي بمصطلح مشتق مقبول صيدلياً أي ملح مقبول صيدلياً أو أي مركب آخر يستطيع بعد إعطائه (كدواء) من تزويد (بشكل مباشر أو غير مباشر) حمض الماسلينيك. بالمعنى المستخدم في هذا البحث، يشير التعبير "ناقل مقبول صيدلياً" إلى تلك المواد، أو توليفة مواد، معروفة في القطاع الصيدلي، مستخدمة في إنتاج أشكال صيدلية لإعطاء (دواء) وتشمل مواد صلبة أو سوائل، عوامل فعل توتري، إلخ.

15 على امتداد الوصف وعناصر الحماية، لم يقصد من الكلمة "يشمل" وصورها المختلفة استبعاد خصائص تقنية أخرى، مواد إضافة، مكونات أو خطوات. بالنسبة إلى الخبراء في الموضوع، ستشتق مزايا وخصائص الاختراع جزئياً من الوصف وجزئياً من تطبيق الاختراع. ستزود الأمثلة والأشكال التالية على شكل توضيح ولا يُقصد منها أن تكون محددة للاختراع الراهن.

### شرح مختصر للرسوم

- الشكل 1 : يوضح تأثير حمض ماسلينيك على إنتاج PGE-2 في كريات وحيدة النواة.
- 20 الشكل 2 : يوضح تأثير حمض ماسلينيك على تعبير COX-2 في كريات بشرية وحيدة النواة.
- الشكل 3 : يوضح تأثير حمض ماسلينيك على فعالية COX-2 في كريات بشرية وحيدة النواة.
- الشكل 4 : يوضح تأثير حمض ماسلينيك على إنتاج PGE-2 في خلايا SK-N-SH.
- 25 الشكل 5 : يوضح تأثير حمض ماسلينيك على إنتاج PGE-2 في خلايا نجمية أولية.
- الشكل 6 : يوضح تأثير حمض ماسلينيك على فعالية COX-2 انتساخي.

- الشكل 7 : يوضح تأثير حمض ماسلينيك على تعبير COX-2 في كريات بشرية وحيدة الخلية.
- الشكل 8 : يوضح تأثير حمض ماسلينيك على إنتاج PGE-2 في خلايا غضروفية.
- الشكل 9 : يوضح تأثير حمض ماسلينيك على إنتاج IL-6 في خلايا غضروفية.
- الشكل 10 : يوضح تأثير حمض ماسلينيك على إنتاج PGE-2 في كريات وحيدة النواة.
- الشكل 11 : يوضح تأثير حمض ماسلينيك على فعالية معزز IL-6 محرض بواسطة P + I.
- الشكل 12 : يوضح تأثير حمض ماسلينيك على فعالية معزز IL-6 محرض بواسطة IL-1.
- الشكل 13 : يوضح تأثير حمض ماسلينيك على إنتاج مركبات أيسوبروستان في كريات أولية وحيدة الخلية.

### الوصف التفصيلي

#### أمثلة

- 15 تالياً، سيوضح الاختراع عبر اختبارات أجريت من قبل المخترعين، والتي توضح، من بين أشياء أخرى، نشاط وفعالية حمض الماسلينيك وتظهر ما تم وصفه في الأقسام المذكورة أعلاه.

المركبات، المواد والطرق المستخدمة موصوفة عموماً لجميع الأمثلة:

#### 1-المركبات

- 20 استخدم حمض الماسلينيك في شكله على صورة ملح صوديوم، أذيب في DMSO (كبريتوكسيد ثنائي المثل) في محلول أم (10 و 50 ملي جزيئي). كان تركيز DMSO الأقصى النهائي في المستنبتات 1% (حجم/حجم)، والذي لا يتدخل مع معالم تم قياسها.

#### 2-مستنبتات خلوية

- فصل واستنبتات كريات أولية أحادية النواة لدم محيطي. فصلت خلايا وحيدة النواة لدم محيطي (PBMC) حصل عليها من مانحين متطوعين بالغين أصحاء عن طريق فرز بالطرد المركزي لدم وريدي عبر تدرج كثافة باستخدام فيكول هايباك
- 25

Ficoll-Hypaque. فصلت الكريات وحيدة النواة عبر التصاق إلى لدينة ثم استتبتت في ألواح يشمل كل منها 24 عيناً عند كثافة تبلغ 50000 خلية/مل لتجارب معايرة مناعية أنزيمية (EIA) وفي ألواح يشمل كل منها 6 عيون لمعايير التشيف المناعي.

- 5 • استتبات خلايا غضروفية أولية بشرية. أحضرت خلايا غضروفية من شركة بروموسل (هيدلبرغ، ألمانيا) واستتبتت في وسط مكيف لهذا النوع من الخلايا. استتبتت الخلايا في ألواح يشمل كل منها 24 عيناً لتحديد PGE2 و IL-6.
- 10 • استتبات خلايا نجمية جردية أولية. حضرت الاستتباتات الأولية للخلايا النجمية من أدمغة جردية وليدية (بعمر يوم واحد). فتح القسم العلوي من الدماغ وفصلت الأسحية بعناية لتجنب تلوث الاستتبات بخلايا ليفية. فصلت قشرة الدماغ وتم الحصول على معلق خلوي، استتبتت في DMEM مكيف لاستتبات الخلايا النجمية. وسعت الاستتباتات في ألواح يشمل كل منها 6 عيون وقيس إنتاج PGE2 بعدد الخلايا بعد التمريرة الثالثة أو الرابعة.
- 15 • استتبات نسل خلوي. SK-N-SH (تجميع مزرعة الأنسجة الأمريكية، 11 HTB) عبارة عن نسل خلوي مشتق من ورم جذعي عصبي بشري ونمو أسّي في DMEM أكمل بـ 2 ملي مول/لتر -غلوتامين، مضادات حيوية و 10% FCS. استتبتت الخلايا عند 37°م وفي جو عند 5% ثاني أكسيد كربون. 3-بقع ويسترن
- 20 • نبهت الخلايا (كريات أولية وحيدة النواة أو SK-N-SH) كما ذكر في كل حالة ومحلول انحلال في 50 ميكرو لتر (20 ملي جزيئي Hepes درجة حموضة 8.0، 10 ملي جزيئي KCl، 0.15 ملي جزيئي EGTA، 0.15 ملي جزيئي EDTA، 0.5 ملي جزيئي  $Na_3VO_4$ ، 5 ملي جزيئي NaF، 1 ملي جزيئي DTT، لوببتين 1 ميكروغم/مل، ببستاتين 0.5 ميكروغم/مل، أبروتينين 0.5 ميكروغم/مل، 1 ملي جزيئي y PMSF 0.5% NP-40). حدد تركيز البروتين عبر كاشف برادفورد (من شركة بيو-راد، ريشموند، كاليفورنيا، الولايات المتحدة) وغلي 30 ميكروغم بروتينات في محلول لامي Laemlli وأخضعت لرحلان كهربائي في هلام متعدد أكريل أميد/SDS عند تركيز 10%. نقلت البروتينات

المفصولة إلى غشاء نتروليلوز (0.5 أمبير، 100 فلط عند 4م) لفترة 1 ساعة. ثبتت الأغشية في TBS يحتوي على 0.1% توين Tween 20 و 5% حليب مقشود مسحوق. أجري الكشف المناعي لمختلف البروتينات عبر حضانة مع مختلف الأجسام المضادة الأولية خلال ساعتين، تلاه حضانة مع الأجسام المضادة الثانوية المقابلة موسومة بأزبروكسيد لفترة ساعة واحدة ونصف الساعة ونميت من خلال استخدام نظام ضيائي كيمائي ECL (منطق مقرون المصدر) (وفق GE Healthcare Life Sciences).

#### 4- حالات خمج تحويلي انتقالي ومعايير الوضء (أنزيم حيواني المصدر)

تم خمج تحويلي لخلايا SK-N-SH مع بلازميدات COX-2-Luc و IL-6-Luc باستخدام كاشف جيت باي JetPei (من Polyplus transfection، فرنسا) طبقاً لتعليمات الصانع. يشمل كلا البلازميدين معززات الجينة المبينة بتوجيه جينة الوضء على شكل واسم لتتسيط انتساخي (جيني). أبقيت الخلايا في المستتبت في ظروف عادية لفترة 24 أو 48 ساعة بعد الخمج التحويلي اعتماداً على التجربة ونهت بنفس الطريقة في كل حالة. بعد التنبية، تم انحلال الخلايا في محلول منظم حال (25 ملي جزئي ثلاثي فوسفات درجة حموضة 7.8، 8 ملي جزئي MgCl، 1 ملي جزئي DTT، 1% تريتون X-100، و 7% غليسول) لفترة 15 دقيقة عند درجة حرارة الغرفة. حُددت فعالية الوضء في المستخلص البروتيني عبر استخدام مقياس الضوء نوع Autolumat LB9510 (Berthold) متبعين تعليمات نظام معايرة الوضء من شركة بروميغا (ماديسون، وسكونسن، أمريكا).

#### 5- تحديد إنتاج PGE<sub>2</sub> في مختلف أنواع الخلايا وفعالية COX-2

حفزت مستتبتات خلايا غضروفية، كريات وحيدة النواة وخلايا نجمية بمنشطات مقابلة (IL-1، LPS أو PMA plus Ionomycin) بوجود أو غياب عدة تركيزات لحمض ماسلينيك خلال الأوقات المبينة. بعدئذ، جُمعت المواد الطافية لتحديد مقدار PGE<sub>2</sub> المحرر من الخلايا المنبهة. حدد PGE<sub>2</sub> باستخدام نظام EIA لشركة Assay Designs (كاتالوج رقم 901-001) متبعين تعليمات الصانع.

لتحديد فعالية COX-2، حفزت الخلايا أولاً بـ LPS (10 نانوغم/مل) لفترة 24 ساعة لتحريض التعبير الخلوي لبروتين COX-2. بعد ذلك، غُسلت المستتبتات وأضيف وسط مستتبت خال من المصل، حمض ماسلينيك (تركيزات مختلفة) وحمض أراكيدونيك

(AA) لفترة 15 دقيقة. خلال هذا الوقت، قيسَت الفعالية الأنزيمية لـ COX-2 بواسطة سعته لإنتاج PGE2 من AA مشمول في المستنبت.

6- تحديد إنتاج مركبات أيسوبروستان و IL-6 في كريات وحيدة النواة

حفزت مستنبتات كريات وحيدة النواة بنفس الطريقة كما هو لإنتاج PGE2

5 (تحفيز LPS لفترة 24 ساعة) وحدد مقدار 8-أيزوبروستاغلاندين  $F_{2\alpha}$

(مركبات أيسوبروستان) أو IL-6 أطلق عن طريق الخلايا على التوالي من خلال أنظمة

EIA من شركة كايمان Cayman (أمريكا) (كتالوج رقم 516351) أو من شركة بوليكن

(كتالوج رقم RDI-M1916clb) متبعين تعليمات الصانع.

### المثال 1

10 يثبط حمض ماسلينيك (MA) فعالية أنزيمية لأنزيم COX-2 وإنتاج PGE<sub>2</sub> في كريات وحيدة

#### النواة محفزة بـ LPS

في عمليات التهابية تنتج كريات وحيدة النواة سيتوكينات التهابية أولية عديدة مثل

TNF $\alpha$ ، IL-1 $\beta$  و IL-6 ووسائط التهاب مثل مركبات لوكوتريين وبروستوغلاندين، من بين

مركبات أخرى. تم إثبات أن حمض ماسلينيك (MA) يثبط إنتاج PGE<sub>2</sub> في كريات بشرية

15 وحيدة النواة حُصل عليها من دم محيطي ومحفزة بـ LPS (الشكل 1).

لتعيين ميكانيكية تأثير MA على إنتاج PGE<sub>2</sub>، مظهر هام جداً لاستقصاء السبب

وللتمكن من توقع استخدامات، أجريت سلسلة تجارب قصد منها دراسة تأثير MA على

الفعالية الانتساخية لجينة COX-2 وعلى تعبير البروتين. أولاً، حفزت كريات وحيدة النواة

في دم محيطي بـ LPS بوجود جرعات من MA وبعد 12 ساعة استخلصت الصفات

20 الخلوية التي أخضعت لرحلان كهربائي لكشف تعبير COX-2 عبر بقع ويسترن. في الشكل

2، يمكن رؤية أن MA لم يثبط تعبير COX-2 المنبه بواسطة LPS (الشكل 2).

قبالة احتمالية تأثير MA على شكل مثبط لفعالية COX-2، حرصنا تعبير COX-2

عبر معالجة كريات وحيدة النواة مع LPS لفترة 24 ساعة. بعد هذا الوقت، غسلت الخلايا

3 مرات بوسط خال من مصل وحُضنت لفترة 15 دقيقة مع جرعات متزايدة من MA. بعد

25 ذلك، أُضيف حمض أراكيدونيك إلى المستنبتات (15 ملي جزيئي) لفترة 15 دقيقة أخرى

وقيس تحول PGE<sub>2</sub> بواسطة معايرة مناعية أنزيمية (EIA). في الشكل 3، يمكن رؤية أن



MA ثبت بطريقة تعتمد على الجرعة الفعالية الأنزيمية لـ COX-2 ويفسر تأثيره على إنتاج PGE<sub>2</sub> في هذا النوع من الخلايا (الشكل 3).

## المثال 2

تأثير ثنائي لحمض ماسلينيك (MA) على إنتاج PGE<sub>2</sub> في خلايا نجمية أولية وفي النسل الخلوي SK-N-SH (ورم جذعي عصبي) 5

بعد ذلك، دُرِس تأثير MA على الفعالية الانتساخية لمعزز جينة COX-2 وعلى التعبير البروتيني في خلايا SK-N-SH. خُمجت هذه الخلايا تحويلاً انتقالياً ببلازميد يحوي جينة الـ الوضء موجهة بواسطة المعزز الكامل لجينة COX-2. بعد 24 ساعة من خمج الخلايا تحويلاً تم حضنها مع جرعات متزايدة من MA وحفزت بـ PMA زائداً لوموموسين لفترة 6 ساعات. بعد ذلك، قيسَت فعالية الـ الوضء في الانحلال الخلوي 10 ملاحظين أن MA لم يؤثر على الفعالية الانتساخية لجينة COX-2 (الشكل 5). لم يتأثر التعبير القابل للتحريض لبروتين COX-2 في خلايا SK-N-SH بوجود MA (الشكل 6).

## المثال 3

تأثير حمض ماسلينيك (MA) على إنتاج PGE<sub>2</sub> و IL-6 في خلايا غضروفية بشرية محفزة بـ IL-1 15

لتحديد تأثير MA على إنتاج PGE<sub>2</sub> حدث أيضاً في نوع خلايا آخر متضمن في ظاهرة التهابية فقد حددت فعالية مضادة للالتهاب لحمض الماسلينيك على خلايا غضروفية بشرية أولية. عولجت الخلايا بجرعات متزايدة من MA وبعد ذلك حُفزت باستخدام IL-1 (10 ميكرون/مل) لتحديد إطلاق PGE<sub>2</sub> بعد التحفيز بـ IL-6 في خلايا غضروفية. عند 20 جرعات منخفضة (0.1 ميكروغم/مل) كان ثمة زيادة في إنتاج PGE<sub>2</sub>، بينما عند جرعات أعلى (25 و 50 ميكروغم/مل) لوحظ تثبيط كامل لإطلاق البروستاغلاندين المحرض بـ IL-1.

على العكس من ذلك، تم تثبيط كامل لإنتاج IL-6 بواسطة MA في نفس الخلايا بطريقة تعتمد على التركيز (الشكل 8). 25

تتفق هذه النتائج بالكامل مع النتائج التي وجدت سابقاً في كريات بشرية وحيدة النواة حيث ثبت IL-6 محرض بواسطة LPS بواسطة MA (الشكل 9).

بعد ذلك، تمت دراسة ما إذا كان تأثير التثبيط لحمض ماسلينيك على إطلاق IL-6 بسبب تأثير انتساخي على الجينة المنسقة للبروتين المذكور. هكذا، خمجت تحويلياً خلايا SK-N-SH التي تنتج IL-6 ببلازميد يحتوي على جينة وضاء موجهة بواسطة المعزز الكامل لـ IL-6 والمحفزة بـ IL-1 أو توليفة PMA زائداً أيونوميسين بوجود أو غياب جرعات متزايدة من MA وقيست فعالية الوضاء في المستخلصات الخلوية بعد 4 ساعات من المعالجة. في الشكلين 10 و 11 تم تبيان أن MA لا يثبط الفعالية الانتساخية لمعزز IL-1، ولذا فإن فعالية تثبيط إطلاق IL-6 ناتجة بالتأكيد عن تثبيط عند مستوى عقب انتساخي.

#### المثال 4

تأثير حمض ماسلينيك (MA) على إنتاج مركبات أيسوبروستان في كريات وحيدة النواة بشرية محفزة بـ LPS

مركبات أيزوبروستان مثل بروكسيد داخلي 8-أيزوبروستاغلاندين  $F_{2\alpha}$  (8-أيزو-PGF $_{2\alpha}$ ) عبارة عن مستقلبات لأكسدة حمض أراكيدونيك ويعتبر حالياً من أفضل واسمات الإجهاد المؤكسد كما في الشكل 12. يُظهر الشكل 12 أن MA يثبط بتركيب يعتمد على طريقة إطلاق 8-أيزو-PGF $_{2\alpha}$  ينتج في كريات بشرية وحيدة النواة لدم محيطي بعد تحفيز LPS. تؤكد المعلومة الفعالية المضادة للأكسدة لـ MA أظهرت سابقاً من قبل المخترعين. وقدرة التثبيط لحمض ماسلينيك MA على إنتاج مركبات أيزوبروستان أكبر منها لتوكوفرول tocopherol وترولكس trolox وهي مماثلة لقدرة رزفتراتول resveratrol (الشكل 13).

#### المثال 5

أجريت دراسات سريرية من خلال إعطاء موضعي لملح صوديوم من حمض ماسلينيك ومخاليط، بنسب مختلفة، لأملاح الصوديوم من حمض ماسلينيك وحمض أوليانوليك بنسب مختلفة (من بين 70% و 85% ماسلينيك وبين 30% و 15% أوليانوليك). في حالة استخدام أملاح، أجري الإعطاء الموضعي موزعاً كما ينبغي في حليب كثيف وفي

حالة أحماض حرة استخدمت قاعدة بيلر Beeler base لإعطائها. شمل الحليب الكثيف حوالي ما بين 0.5% و 1.5% من (الأملح) الأساسية النشطة وشمل المرهم حوالي ما بين 1.5% و 2.5% من (أحماض طليقة) أساسية نشطة بالإضافة إلى مستخلصات ركازات (مواد متبقية) لمجروش زيتون مثرى بحمض أوليانوليك وحمض ماسلينيك.

5 حصل على أملاح الصوديوم عبر معالجات قاعدية مع MeONa في ميثانول أو مع

محاليل مائية لهيدروكسيد صوديوم NaOH باتباع إجراءات مختبرية عادية.

بعض النتائج المحرزة بمعالجات موضعية مبينة في الجدول 1:

الجدول 1

النتيجة	الجنس	العمر	المسحوق	النتيجة	ملاحظات
ركب	ذكر	61	داء المفاصل	إيجابية	
أصابع	M	61	داء المفاصل	إيجابية	
عمود فقري	M	61	داء المفاصل	إيجابية	
كتف	M	80	داء المفاصل	إيجابية	دائم
رسغ	أنثى	50	داء المفاصل	إيجابية	دائم
عمود فقري	M	50	داء المفاصل	إيجابية	
ركب	F	58	داء المفاصل	إيجابية	
عظم الفخذ	M	55	داء المفاصل	إيجابية	
أصابع	F	55	داء المفاصل	إيجابية	
أصابع	F	40	داء المفاصل	إيجابية	
ركب	M	52	داء المفاصل	إيجابية	دائم
كتف	M	53	داء المفاصل	إيجابية	
عرق النسا	F	51	عرق النسا	إيجابية	دائم
كتف	M	64	داء المفاصل	إيجابية	
عصص	F	50	داء المفاصل	إيجابية	
عمود فقري	F	53	عرق النسا	إيجابية	
كتف	F	92	داء المفاصل	إيجابية	
أصابع	M	65	داء المفاصل	إيجابية	
أقدام	F	61	داء المفاصل	إيجابية	
ركب	F	63	داء المفاصل	سلبية	
كتف	M	63	داء المفاصل	إيجابية	

المنطقة	الجنس	العمر	التشخيص	النتيجة	ملاحظات
أصابع	F	75	داء المفاصل	إيجابية	
عمود فقري	F	52	داء المفاصل	إيجابية	
أصابع	F	65	داء المفاصل	إيجابية	
ركب	M	54	داء المفاصل	إيجابية	
عمود فقري	M	54	داء المفاصل	إيجابية	
عرق النسا	M	54	عرق النسا	إيجابية	دائم
أصابع	F	63	داء المفاصل	إيجابية	
أصابع	F	52	داء المفاصل	إيجابية	
ركب	F	63	داء المفاصل	إيجابية	
ألم عام	F	52	ألم عضلي ليفي	إيجابية	
ألم عام	F	54	ألم عضلي ليفي	إيجابية	
ألم عام	F	48	ألم عضلي ليفي	إيجابية	
ألم عام	F	55	ألم عضلي ليفي	إيجابية	
أقدام	F	63	مفصل عرشي سلامي (وكعة)	إيجابية	
ركب	M	86	داء المفاصل	سلبية	
عمود فقري	F	67	داء مفاصل قطني	إيجابية	
أصابع	F	48	داء المفاصل	إيجابية	
ركب	V	61	متلازمة قفازة	إيجابية	
ركب	V	50	متلازمة قفازة	إيجابية	
أصابع	H	48	داء المفاصل	إيجابية	
أصابع	H	35	داء المفاصل	إيجابية	
عظم الفخذ	V	54	داء المفاصل	إيجابية	دائم

تعني نتيجة إيجابية تخفيضاً هاماً في الانزعاج وزيادة واضحة في مرونة المفصل، منتظراً ما بين 12 و 24 ساعة للمعالجة الموضوعية التالية، التي تُظهر تأثيراً فعالاً مضاداً للالتهاب في المنطقة الغضروفية. في حالات معينة، كان اختفاء الأعراض دائم، مما يُظهر عملية تجديد للخلايا الغضروفية. من المدهش أنه، بما يتعلق والأعراض، فقد تم بلوغ الهدف معها من الاستخدام الأول.

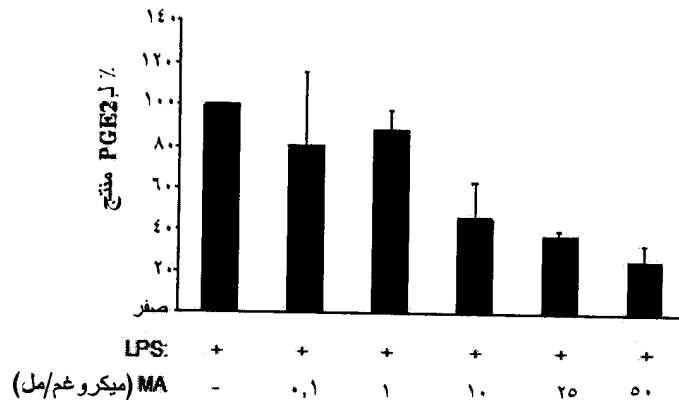
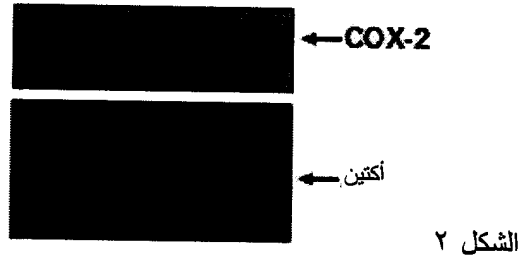
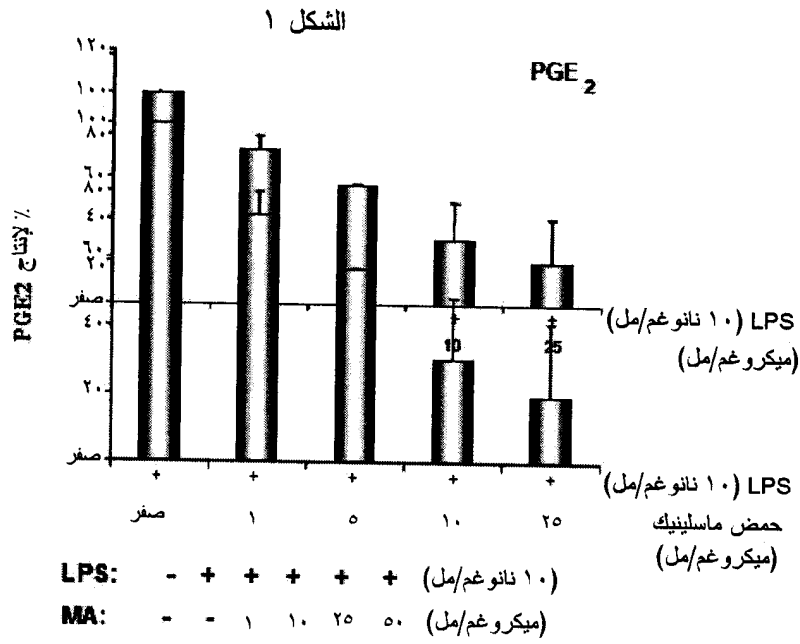
من بين ما يزيد على مائة مريض، فقد صنفت نتيجتان فقط على أنهما "سليبتان" وقد تم تقييمهما على وجه التخصيص. تقابل النتيجة الأولى امرأة في الستين من العمر مع تاريخ يزيد عن 20 سنة لداء المفاصل في الركب والأقدام، وبعد شهرين من المعالجة أبلغت عن تحسن واضح في عدم راحة قدميها.

5 الحالة الثانية تقابل رجلاً يزيد عمره عن 85 سنة ويشعر بانزعاج خطير في ركبته والتي لم يحدث لها أي تحسن خلال المعالجة.

عناصر الحماية

- 1- استخدام حمض ماسلينيك أو أي من مشتقاته لتحضير عقار لمعالجة مرضيات تشمل  
تنشيط COX-2. 1 2
- 2- استخدام حمض ماسلينيك أو أي من مشتقاته في تحضير عقار لتجديد نسيج خلايا  
غضروفية. 1 2
- 3- استخدام حمض ماسلينيك أو أي من مشتقاته وفقاً لأي من عنصري الحماية 1 أو 2، في  
تحضير عقار لمعالجة مرضيات مختارة من القائمة التي تشمل: داء مفاصل، التهاب  
مفاصل رثياني، عرق النسا، ألم عضلي ليفي، التهاب وتر رضفي أو وكعة. 1 2 3
- 4- تركيب صيدلي يشمل حمض ماسلينيك أو أياً من مشتقاته، لمعالجة مرضيات تشمل  
تنشيط COX-2. 1 2
- 5- تركيب صيدلي وفقاً لعنصر الحماية 4، يشمل مادة ناقلة مقبولة صيدلياً. 1
- 6- تركيب صيدلي وفقاً لعنصر الحماية 4 أو 5، يشمل حمض أوليانوليك. 1
- 7- تركيب وفقاً لعنصر الحماية 6، تتراوح النسبة بين حمض ماسلينيك وحمض أوليانوليك  
بين 1:2 و 1:6. 1 2
- 8- تركيب وفقاً لأي من عناصر الحماية 4 إلى 7، بشكل مكيف لإعطاء موضعي. 1
- 9- تركيب وفقاً لأي من عناصر الحماية 4 إلى 8، وقد تم الحصول على حمض الماسلينيك  
أو أي من مشتقاته من مستخلص نبات من جنس الزيتون. 1 2

- 10- تركيب وفقاً لأي من عناصر الحماية 4 إلى 9، وقد تم الحصول على حمض  
الماسلينيك أو أي من مشتقاته من منتج ثانوي صناعي لنبات من جنس الزيتون. 2
- 11- تركيب وفقاً لأي من عناصر الحماية 4 إلى 9، ويكون حمض الماسلينيك موجوداً  
بنسبة تتراوح بين 0.5% و 3% من إجمالي التركيب. 2

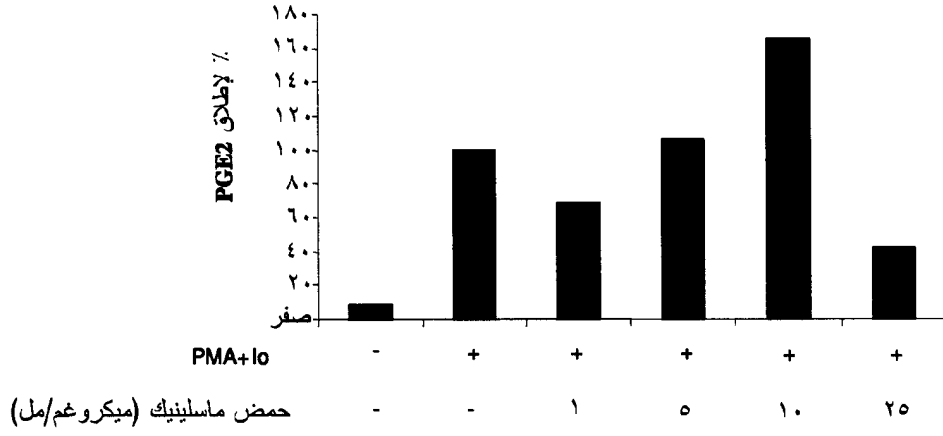


الشكل ٣



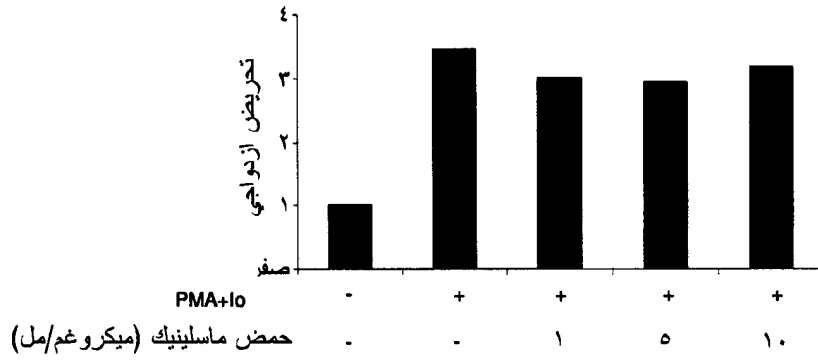
٦/٢

إطلاق PGE-2



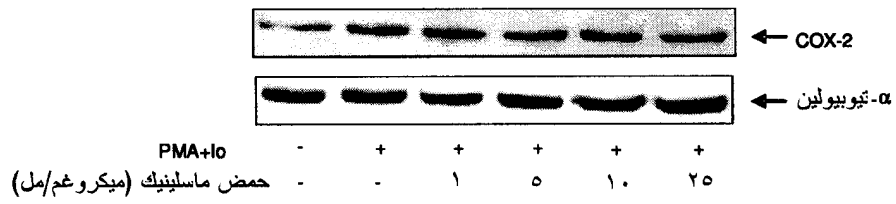
الشكل ٤

COX-2 luc

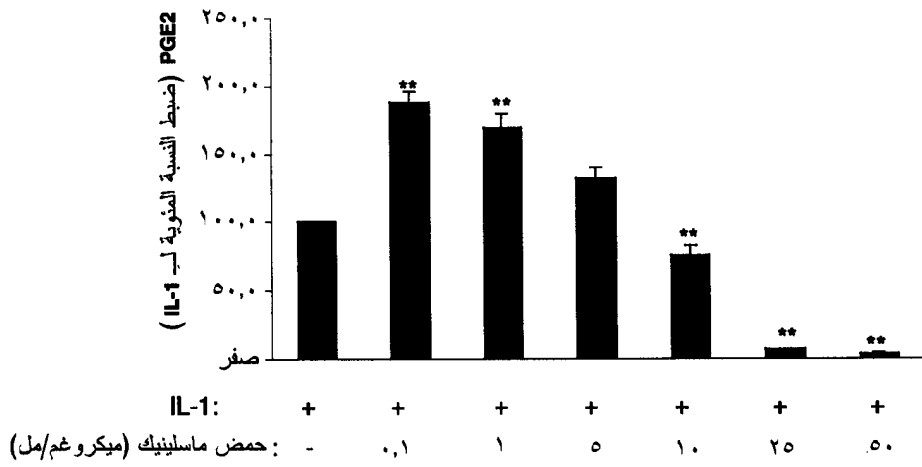


الشكل ٥

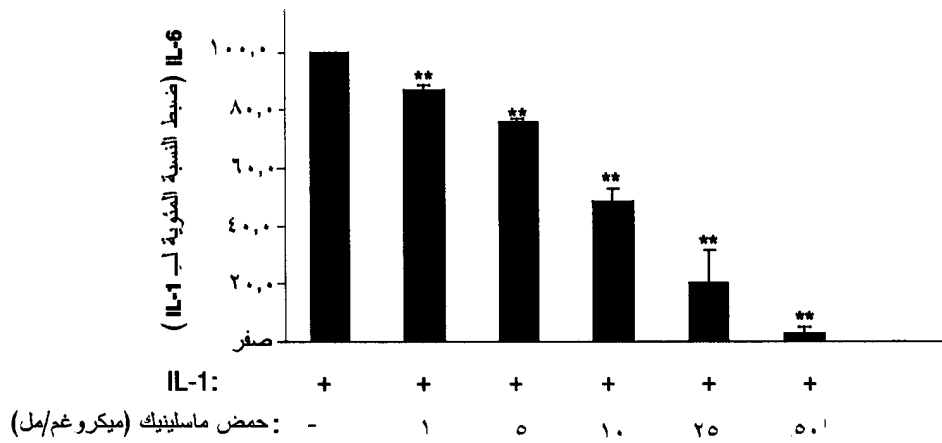
٦/٣



الشكل ٦



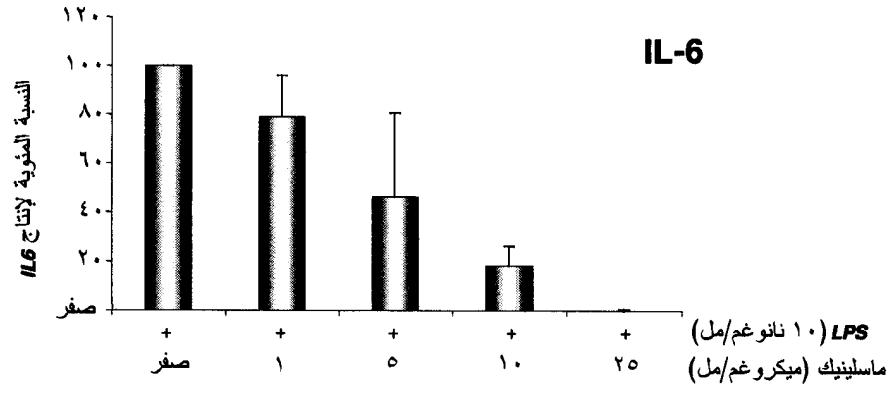
الشكل ٧



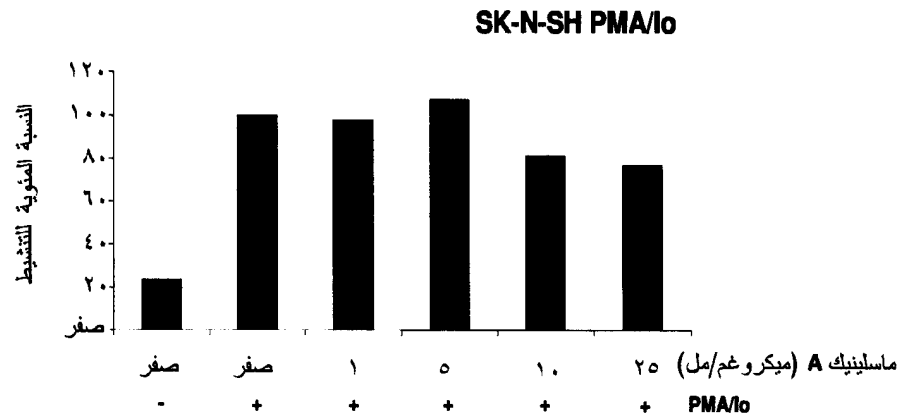
الشكل ٨

Handwritten mark

٦/٤

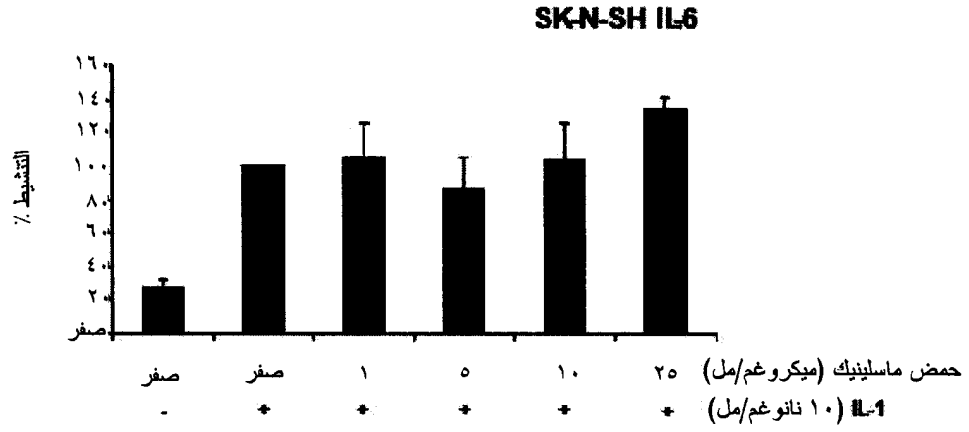


الشكل ٩

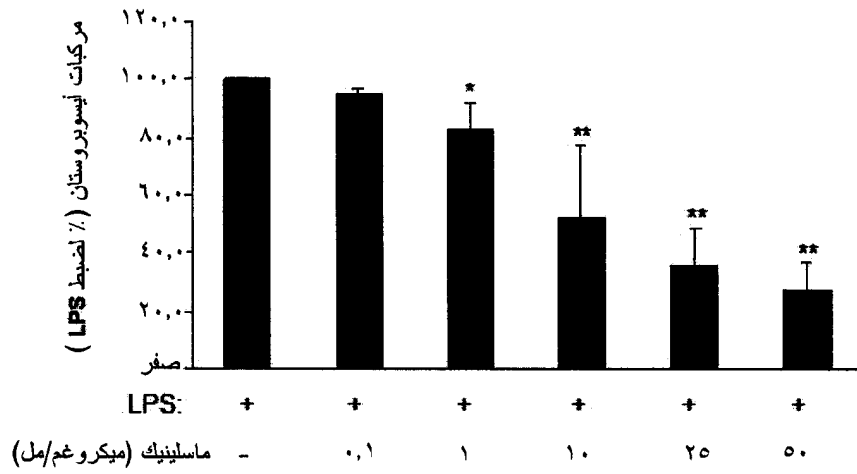


الشكل ١٠

6

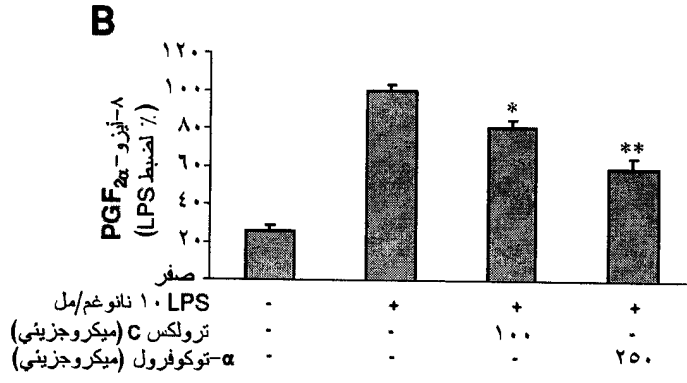
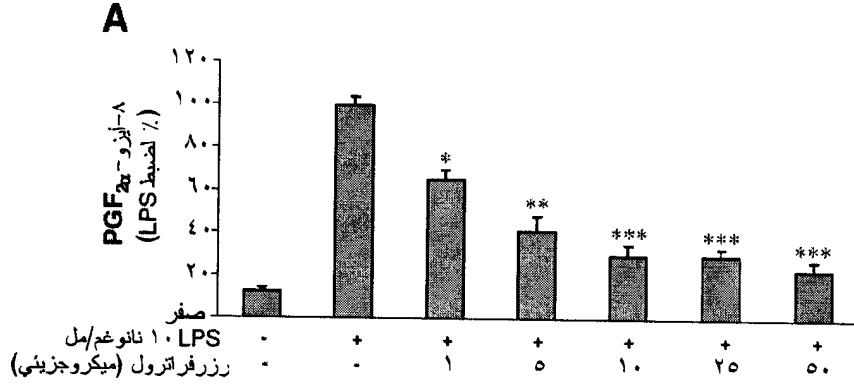


الشكل ١١



الشكل ١٢

6



الشکل ١٣

٥