الهيئة السعودية للملكية الفكرية
Saudi Authority for Intellectual Property

المملكة العربية السعودية
Kingdom of Saudi Arabia

براءة اختراع

إن الرئيس التنفيذي للهيئة السعودية للملكية الفكرية و بموجب أحكام نظام براءات الإختراع و التصميمات التخطيطية للدارات المتكاملة و الأصناف النباتية و النماذج الصناعية الصادر بالمرسوم الملكي الكريم رقم م/27 وتاريخ 1425/05/29هـ و المعدل بقرار مجلس الوزراء رقم 536 و تاريخ 1439/10/19هـ ، و لائحته التنفيذية.
يقرر منح :

ايبسيت فارما ايه بي
Epicyt Pharma AB

براءة اختراع رقم : SA 11281

بتاريخ : 1444/04/14 هـ
الموافق : 2022/11/08 م

عن الإختراع المسمى :

تركيبة للاستخدام في علاج الحالات الناجمة عن نقص الكالسيوم

A COMPOSITION FOR USE IN THE TREATMENT OF CONDITIONS CAUSED BY CALCIUM DEFICIENCY

وفق ما هو موضح في وصف الاختراع المرفق، ولمالك البراءة الحق في الانتفاع بكامل الحقوق النظامية في المملكة العربية السعودية خلال فترة سريان الحماية.

الرئيس التنفيذي

د. عبدالعزيز بن محمد السويلم

الهيئة السعودية للملكية الفكرية
Saudi Authority for Intellectual Property

[19] **الهيئة السعودية للملكية الفكرية**
[11] **رقم البراءة:** SA 11281 B1

[12] **براءة اختراع**

[45] **تاريخ المنح:** 1444/04/14 هـ
الموافق: 2022/11/08 م

[21] رقم الطلب: 520420164
[22] تاريخ دخول المرحلة الوطنية: 1442/02/02 هـ
الموافق: 2020/09/19 م
[30] بيانات الأسبقية:
1850304-5 SE 2018/03/19 م
[72] اسم المخترع: فاندريكس لارس ، والينيوس فيل
[73] مالك البراءة: ابيسيت فلرما ايه بى
عنوانه: ص.ب 11072 ، 40422 جوتيبورج ، السويد
جنسيته: سويدية
[74] الوكيل: تركي عبد الكريم عبد الرزاق العليوي

[86] رقم الطلب الدولي: PCT/SE2019/050246
تاريخ إيداع الطلب الدولي: 2019/03/19 م
[87] رقم النشر الدولي: WO/2019/182501
تاريخ النشر الدولي: 2019/09/26 م
[51] التصنيف الدولي(IPC[8]):
A61K 031/567, A61P 019/000

[56] المراجع:
US 2014030352, EP 0252004
US 5376646, EP 1270007

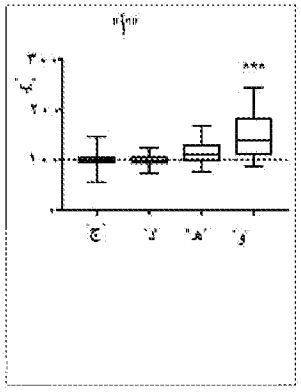
WEBLING DD ET AL: "Bile salts and calcium absorption", BIOCHEMICAL JOURNAL, vol. 100, no. 3, 1 September 1966 (1966-09-01), pages 652-660, XP055862671, GB ISSN: 0006-2936, DOI: 10.1042/bj1000652

LUCAS, S. et al.: "Short-chain fatty acids regulate systemic bone mass and protect from pathological bone loss", Nat. commun., vol. 9, no. 55, 2018, pages 1-10

الفاحص: محمد بن سعود الموسى

[54] اسم الاختراع: تركيبة للاستخدام في علاج الحالات الناجمة عن نقص الكالسيوم
A COMPOSITION FOR USE IN THE TREATMENT OF CONDITIONS CAUSED BY CALCIUM DEFICIENCY

[57] الملخص: يتعلق الاختراع الحالي بتركيبة تشتمل على حمض صفراوي bile acid واحد على الأقل؛ حمض دهني fatty acid واحد على الأقل أو ملح منه، كالسيوم calcium، وفيتامين د، للاستخدام كدواء، بصفة خاصة في حث التعبير عن المُنشط المساعد co-activator بروتين الصدمة الحرارية 90 بيتا heat-shock protein 90β (Hsp90β) لمستقبل فيتامين د vitamin D-receptor لزيادة امتصاص الكالسيوم الناجم عن فيتامين د vitamin D-induced calcium uptake في الثدييات. يتعلق الاختراع أيضًا بمكمل غذائي nutritional supplement، أو مكمل متعلق بالحمية dietary supplement مشتمل على تركيبة كما هو موصوف أعلاه ومشتمل على مكونات تقليدية إضافية للمكملات الغذائية أو المتعلقة بالحمية dietary or nutritional supplements. الشكل (1)



عدد عناصر الحماية (9)، عدد الأشكال (6)

تركيبة للاستخدام في علاج الحالات الناجمة عن نقص الكالسيوم

A COMPOSITION FOR USE IN THE TREATMENT OF CONDITIONS CAUSED BY CALCIUM DEFICIENCY

الوصف الكامل

خلفية الاختراع

يتعلق الاختراع الحالي بتركيبة تشتمل على حمض صفراوي bile acid واحد على الأقل أو ملح منه، حمض دهني fatty acid واحد على الأقل أو ملح منه. قد تشتمل التركيبة أيضًا على الكالسيوم calcium وفيتامين د، وتكون للاستخدام كدواء، بصفة خاصة لعلاج و/أو الوقاية من الاضطرابات المتعلقة بنقص امتصاص الكالسيوم في الأمعاء intestinal calcium uptake deficiency.

يتم حساب وباء السمنة العالمي global obesity epidemic أنه يؤثر على أكثر من 1.5 مليار شخص في عام 2003 مع حدوث تزايد مستمر على مستوى العالم. يرتبط الارتفاع في انتشار السمنة بزيادة انتشار الأمراض المصاحبة للسمنة obesity comorbidities (مثل مرض السكري من النوع 2 type 2 diabetes، فرط شحميات الدم hyperlipidemia، ارتفاع ضغط الدم hypertension، مرض القلب الإقفاري ischemic heart disease، السكتة الدماغية stroke، الربو asthma، مشاكل المفاصل التنكسية joint degenerative problems في الظهر والأطراف السفلية back and lower extremity، العديد من أشكال السرطان، الاكتئاب depression، إلخ). يُقدّر أن السمنة تقتل حوالي 320 ألف شخص سنويًا في أوروبا الغربية. بالتالي، فإن خسارة متوسط العمر المتوقع بسبب السمنة بالغة. بالمقارنة مع الشخص ذي الوزن الطبيعي، فإن الرجل البالغ من العمر 25 عامًا والذي يعاني من السمنة المفرطة، سيعاني تقريبًا من متوسط خسارة 12 عامًا من العمر.

ظهرت جراحة علاج البدانة Bariatric surgery في العقود الماضية باعتبارها العلاج الفعال طويل الأمد long-term effective treatment الوحيد للسمنة المرضية morbid obesity. في المراجعات المنهجية، يتم تحقيق فقدان الوزن الفعّال في المرضى الذين يعانون من السمنة المفرطة morbidly obese patients بعد الخضوع لجراحة علاج البدانة. الغالبية العظمى من مرضى السكري، فرط شحميات الدم، ارتفاع ضغط الدم، انقطاع النفس الانسدادي النومي obstructive sleep apnea يعانون من تحسن ملحوظ، وأحيانًا حل كامل، بعد الجراحة. الشكل الأكثر شيوعًا لجراحة علاج البدانة في السويد هو جراحة المجازة المعدية التفاغرية المعوية على شكل Y Roux-en-Y gastric

bypass surgery (RYGB) بتنظير البطن laparoscopic. طريقة جراحة علاج البدانة الجديدة الناشئة هي تكميم المعدة sleeve gastrectomy (SG).

عادة ما يكون التعافي بعد الجراحة سريعًا بعد جراحة علاج البدانة بالمنظار laparoscopic bariatric surgery. يحدث فقدان الوزن السريع عادة خلال الأشهر 6 إلى 12 الأولى، ويستقر بعد حوالي عامين من الجراحة. تعني الحياة بعد المجازة المعدية gastric bypass نمط متغير لاستهلاك الطعام، من خلال وجبات أصغر وأكثر تكرارًا.

بسبب تغيير مسار الجهاز الهضمي gastrointestinal tract، مع استبعاد المعي الأمامي foregut exclusion لمرور الطعام عبر المعدة stomach والاثني عشر duodenum، وتوصيل المعي الخلفي السريع rapid hindgut delivery للطعام غير المهضوم إلى الصائم، أي الطرف الهضمي alimentary limb، يتم تخفيف امتصاص المغذيات الدقيقة micronutrient uptake. تفرز المعدة التي تم تجاوزها bypassed stomach كمية أقل من حمض الهيدروكلوريك hydrochloric acid والعامل الداخلي intrinsic factor (IF)، مما يؤثر سلبًا على سبيل المثال على امتصاص الحديد وفيتامين ب12. لذلك، يوصى بفيتامين ب12 مدى الحياة، وكذلك الفيتامينات المتعددة multivitamin ومكملات المعادن النادرة trace mineral supplementation لجميع المرضى بعد جراحة المجازة المعدية التفاغرية المعوية على شكل Y. يوصى بمكملات الحديد Iron supplementation للنساء قبل انقطاع الطمث menopause، وكذلك للمرضى الآخرين الذين يعانون من نقص الحديد iron deficiency.

يحدث امتصاص الكالسيوم الفعال الناتج عن فيتامين د عادة في الأمعاء الدقيقة القريبة proximal small intestine، أي الاثني عشر والنصف الأول من الصائم. لذلك، يوصى بمكملات فيتامين د والكالسيوم مدى الحياة لمرضى جراحة المجازة المعدية التفاغرية المعوية على شكل Y. بسبب تغيير مسار الأمعاء الدقيقة بعد جراحة المجازة المعدية التفاغرية المعوية على شكل Y، يتم تجاوز الاثني عشر من مرور العناصر الغذائية. لقد ثبت مؤخرًا أن المنشط المساعد co-activator لمستقبل فيتامين د vitamin D receptor، بروتين الصدمة الحرارية 90 بيتا heat-shock protein 90β (Hsp90β)، بالإضافة إلى بروتين نقل الكالسيوم calcium transport protein المستحث بفيتامين د الأكثر أهمية، مستقبلات عابرة من عائلة فانيلويد المحتملة 6 Transient Receptor Potential Vanilloid subfamily member 6 (TRPV6)، يخضع لتقليل التنظيم في الغشاء

المخاطي للطرف الهضمي alimentary limb mucosa بعد جراحة المجازة المعدية التفاغرية المعوية على شكل Y (Elias et al.). تماشياً مع هذا، فقد تبين أيضًا أن جراحة المجازة المعدية التفاغرية المعوية على شكل Y، على عكس مرضى رأب المعدة ذات النطاق العمودي vertical banded gastroplasty (VBG)، لديهم أيضًا انخفاض في كثافة المعادن في العظام bone-mineral density (BMD) يعتمد على الجراحة. بالتالي، يبدو أن مكملات الكالسيوم- وفيتامين د calcium- and vitamin D supplementation ذات أهمية بعد جراحة المجازة المعدية التفاغرية المعوية على شكل Y لتجنب خطر مزيد من الانخفاض في كثافة المعادن في العظام وكسور هشاشة العظام osteoporosis fractures في المستقبل لدى هؤلاء المرضى.

تعتبر عملية تكميم المعدة التي تم إدخالها مؤخرًا فعّالة لكل من فقدان الوزن والتحسينات الأيضية metabolic improvements، ولكن استئصال المعدة resection of stomach يتبعه انخفاض كبير في إجمالي ناتج حمض المعدة gastric acid output ووقت قصير لمرور المكونات اللمعية luminal contents إلى الأمعاء الدقيقة البعيدة distal small intestine. من الناحية الوظيفية، تحاكي هذه الحالة جزئيًا تأثير المجازة المعدية وبالتالي تقلل من قدرة الغشاء المخاطي على التفاعل مع فيتامين د، وبالتالي تقلل من امتصاص الكالسيوم. في الواقع، ارتبط إجراء تكميم المعدة بعلامات تغير دورة تجديد معادن العظام bone mineral مما يشير إلى خطر نزع المعادن من العظام bone demineralization على المدى الطويل (Crawford et al.).

بعد تكميم المعدة، كما هو الحال بعد جراحة المجازة المعدية التفاغرية المعوية على شكل Y، يتم وصف مكملات فيتامين د والكالسيوم للمرضى. مع ذلك، لم يتم إثبات ما إذا كانت هذه المكملات يمكن أن تمنع فقدان كثافة المعادن بالعظام. هناك بالفعل بيانات تشير إلى أن هذا قد لا يكون هو الحال. على سبيل المثال، أصيب جزء كبير من مرضى جراحة المجازة المعدية التفاغرية المعوية على شكل Y الذين تلقوا مكملات الكالسيوم وفيتامين د بفرط نشاط الغدد الجار درقية الثانوي secondary hyperparathyroidism (SHPT)، مع زيادة هرمون الغدة الجار درقية parathyroid hormone (PTH) وانخفاض مستويات الكالسيوم، مما يشير إلى أن امتصاص الكالسيوم في الأمعاء intestine قد يظل ناقصًا على الرغم من المكملات (Hewit S et al.). وقد وجد أيضًا أن المرضى الذين يتناولون المكملات لديهم زيادة ملحوظة في مستويات تيلو ببتيد طرفي C- C terminal telopeptide (CTX) بعد 18 شهرًا من الجراحة، مما يشير إلى زيادة دورة تجديد العظام.

هناك أيضًا بيانات حديثة تُظهر أن امتصاص الكالسيوم المعوي intestinal calcium absorption (امتصاص الكالسيوم الجزئي fractional calcium absorption) يتعرض للخطر بشدة وينخفض بنسبة 80٪ تقريبًا بعد جراحة المجازة المعدية التفاغرية المعوية على شكل Y، حتى عندما يتم تحسين مستويات فيتامين د (Schafer A L et al.). لذلك، فإن مكملات الكالسيوم وفيتامين د بالنظم الحالية لا تعمل.

بالإضافة إلى ذلك، هناك أيضًا مجموعة أخرى من المرضى الذين يعانون من انخفاض عام لكثافة المعادن في العظام و/أو لديهم انخفاض عام في امتصاص الكالسيوم و/أو لديهم حالة مرضية في العظام pathological bone condition، على سبيل المثال هشاشة العظام الناجمة عن نقص الكالسيوم calcium deficiency، والتي يمكن أن تستفيد من زيادة امتصاص الكالسيوم الناجم عن فيتامين د. بصرف النظر عن مكملات فيتامين د والكالسيوم، يتم حالياً علاج مرض تمعدن العظام bone mineralization disease الظاهر في الغالب بمكملات هرمون الغدة الجار درقية الهرمونية الجهازية أو بمثبطات ارتشاف العظم الدوائية pharmacological bone resorption inhibitors (مثل البيسفوسفونات bisphonphonates، نظائر الإستروجين estrogen analogues، الأجسام المضادة antibodies التي تستهدف آليات الارتشاف resorption mechanisms، إلخ). تكون أنظمة العلاج Treatment regimens التي تهدف إلى استعادة قدرة الأمعاء على امتصاص الكالسيوم قليلة أو غالبًا ما تكون غير فعّالة.

تكشف براءة الاختراع الأمريكية رقم: 053 563 8 عن تركيبة تشتمل على صياغة نانوية للمكونات النشطة المشتملة على ليبيديوم ساتيفوم Lepidium Sativum، الكالسيوم، فيتامين د ومضاد الأكسدة antioxidant لعلاج حالة عظمية. مثال آخر هو الطلب الدولي رقم: 049595/2013 الذي يكشف عن طرق وتركيبات لعلاج الاضطرابات الأيضية metabolic disorders عن طريق تعديل مستويات الحمض الصفراوي.

في ضوء ما سبق، هناك حاجة في المجال التقني لإيجاد حلول للمشاكل المذكورة أعلاه، بصفة خاصة انخفاض امتصاص الكالسيوم الناجم عن فيتامين د وانخفاض كثافة المعادن في العظام في المرضى الذين خضعوا لعملية جراحية في المعدة، مثلا في مرضى جراحة المجازة المعدية التفاغرية المعوية على شكل Y وتكميم المعدة.

الوصف العام للاختراع

غرض الاختراع الحالي هو حل المشكلة المذكورة أعلاه وتوفير تركيبة تشتمل على حمض صفراوي واحد على الأقل أو ملح منه، وحمض دهني واحد على الأقل أو ملح منه. يمكن أن تحتوي التركيبة أيضًا على الكالسيوم وفيتامين د. تكون التركيبة مخصصة للاستخدام كدواء.

يتم على نحو مثير للدهشة توضيح فيما يتعلق بالاختراع الحالي أن التركيبة التي تشتمل على حمض صفراوي واحد على الأقل أو ملح منه، حمض دهني واحد على الأقل، أو ملح منه، تحث بشكل تآزري التعبير عن المُنشط المساعد بروتين الصدمة الحرارية 90 بيتا لمستقبل فيتامين د بروتين الصدمة الحرارية 90 بيتا وتليه زيادة امتصاص الكالسيوم مقارنة بالمكونين الفرديين، الحمض الصفراوي والحمض الدهني، على التوالي، بمفرده. لذلك، يتم توفير تركيبة تشتمل على جميع المكونات الأربعة، وبالتالي، حمض صفراوي واحد على الأقل أو ملح منه، حمض دهني واحد على الأقل، أو ملح منه، الكالسيوم، وفيتامين د.

تم مسبقًا وصف أن فقدان العظام bone loss قد يُعزى إلى ضعف امتصاص الكالسيوم الناجم عن انخفاض تنشيط آليات امتصاص الكالسيوم المعتمدة على فيتامين د والتي يتدخل فيها بروتين الصدمة الحرارية 90 بيتا (Elias et al.). بالتالي، فإن نتائج الاختراع الحالي تكون مفيدة للمرضى الذين خضعوا لجراحة علاج البدانة وبشكل عام لأي مريض يعاني من حالات يمكن أن يساعدها زيادة امتصاص الكالسيوم.

في أحد جوانب الاختراع، يتم توفير معالجة و/أو الوقاية من نقص امتصاص الكالسيوم.

قد يحدث نقص في امتصاص الكالسيوم، على سبيل المثال بعد جراحة المجازة المعدية التفاغرية المعوية على شكل Y. للتعويض عن ذلك، والحفاظ على مستويات الكالسيوم في البلازما عند المستويات الطبيعية، فإن إحدى الآليات التعويضية الشائعة بعد جراحة المجازة المعدية التفاغرية المعوية على شكل Y هي زيادة إنتاج هرمون الغدة الجار درقية (Hewitt et al.). عملية الغدة الدرقية thyroid gland هي عملية جراحية أخرى قد تسبب نقص في امتصاص الكالسيوم من خلال التأثير سلبًا على وظيفة الغدد الجار درقية وإنتاجها لهرمون الغدة الجار درقية. هناك تقارير في الأدبيات بأن الجمع بين هاتين العمليتين الجراحيتين، جراحة المجازة المعدية التفاغرية المعوية على شكل Y وجراحة الغدة الدرقية، قد يؤدي إلى انخفاض حاد في مستويات الكالسيوم في البلازما plasma calcium levels، وأعراض نقص كالسيوم الدم hypocalcemia. يبدو أن الآلية لذلك تتمثل في عدم القدرة على تعويض نقص امتصاص الكالسيوم في الأمعاء عن طريق زيادة إنتاج هرمون

الغدة الجار درقية. في بعض حالات جراحة المجازة المعدية التفاغرية المعوية على شكل Y والغدة الدرقة معاً، ثبت أنه من الصعب للغاية علاج نقص كالسيوم الدم (Goldenberg et al.). بإعطاء التركيبة كما هو محدد هنا يمكن زيادة مستويات الكالسيوم. هذا مهم تحديداً في المرضى حيث يؤدي انخفاض امتصاص الكالسيوم إلى انخفاض مستويات الكالسيوم في البلازما، أو انخفاض تمعدن العظام.

في جانب آخر من الاختراع، في علاج و/أو الوقاية من هشاشة العظام الناجم عن نقص الكالسيوم، حالات سوء الامتصاص malabsorption conditions الناتجة عن نقص الكالسيوم أو اضطرابات العظام bone disorders الناتجة عن نقص الكالسيوم في الثدييات. علاوة على ذلك، يمكن استخدام التركيبة لعلاج و / أو الوقاية من هشاشة العظام عن طريق الوقاية من فقدان كثافة المعادن في العظام الناجم عن نقص الكالسيوم في الثدييات. يمكن أيضًا استخدام التركيبة لعلاج هشاشة العظام عن طريق الوقاية من فقدان كثافة المعادن في العظام في مرضى المجازة المعدية التفاغرية المعوية على شكل Y أو مرضى تكميم المعدة.

جانب آخر من الاختراع هو التركيبة كما هو محدد هنا حيث يتم اختيار الحمض الصفراوي الواحد على الأقل المذكور من الأحماض الصفراوية bile acids الأولية والأحماض الصفراوية الثانوية وأملاحها. يتم اختيار الحمض الصفراوي بشرط أن لا يكون الحمض الصفراوي هو حمض توروكوليك taurocholic acid، أو مشتق derivative منه.

جانب آخر للاختراع هو التركيبة حيث يكون الحمض الدهني الواحد على الأقل المذكور مشبع أو غير مشبع، ومثال على ذلك حيث يكون الحمض الدهني الواحد على الأقل المذكور عبارة عن حمض دهني قصير السلسلة short chain fatty acid (SCFA)، حمض دهني متوسط السلسلة medium chain fatty acid (MCFA)، حمض دهني طويل السلسلة long chain fatty acid (LCFA) أو حمض دهني طويل السلسلة جدًا very long chain fatty acid (VLCFA). تحديداً، فإن الحمض الدهني القصير هو حمض البيوتيريك butyric acid، أو يكون الحمض الدهني متوسطة السلسلة هو حمض الأوليك oleic acid.

في أحد جوانب الاختراع، تشتمل التركيبة للاستخدام على فيتامين د، حيث يتكون فيتامين د بشكل أساسي من فيتامين د3.

جانب آخر من الاختراع هو تركيبة حيث يوجد الكالسيوم المذكور في صورة كربونات الكالسيوم calcium carbonate، سيترات الكالسيوم calcium citrate، أو فوسفات الكالسيوم calcium phosphate، أو خليط منها.

في أحد جوانب الاختراع، توجد كمية من الكالسيوم وفيتامين د في التركيبة على أنها المدخول اليومي الموصى به recommended daily intake (RDI) أو أقل. يمكن أن تشتمل التركيبة كذلك على واحد على الأقل من وسط ناقل vehicle، سواغ excipient، مادة تشحيم lubricant، نكهة، مادة تحلية sweetener، مادة تفتيت disintegrant، مادة رابطة binder ومادة تفتيت.

تتم صياغة التركيبة كما هو محدد هنا للتوصيل عن طريق الفم، التوصيل عن غير الطريق المعوي parenteral delivery، التسريب أو الحقن داخل الوريد intravenous infusion or injection. قد تكون التركيبة في صورة سائلة، أو صورة صلبة؛ يمكن صياغة التركيبة على شكل قرص مضغ chewing tablet، قرص فوار effervescent tablet، مسحوق، حبة، قرص أو كبسولة.

في أحد جوانب الاختراع، تكون التركيبة عبارة عن مكمل غذائي أو متعلق بالحمية nutritional or dietary supplement.

في جانب من الاختراع، تشتمل التركيبة للاستخدام على حمض دهني وهو حمض البيوتيريك أو ملح منه، يكون الحمض الصفراوي المذكور هو حمض الجليكوكوليك glycocholic acid أو ملح منه، ويكون فيتامين د هو فيتامين د3.

<u>شرح مختصر للرسومات</u>

سيتم فهم الاختراع بشكل كامل من الوصف التفصيلي التالي المأخوذ بالاقتران مع الرسم المرفق، حيث:

الشكل 1 يكشف أن التعبير عن بروتين الصدمة الحرارية 90 بيتا، مُنشط مشرك لمستقبل فيتامين د، يتم حثه بشكل تآزري في زراعة الخلايا Caco-2 عن طريق إضافة الحمض الصفراوي حمض الجليكوكوليك glycocholic acid (GCA) وبيوتيرات الأحماض الدهنية fatty acid butyrate معًا لمدة 48 ساعة، ولكن ليس بواسطة حمض الجليكوكوليك أو البيوتيرات butyrate وحده. تتم إضافة حمض الجليكوكوليك بتركيز 1×10^{-4} مولار وبيوتيرات بتركيز 5×10^{-4} مولار. *** P < 0.001؛ حمض الجليكوكوليك + بيوتيرات مقابل عينة مقارنة، اختبار t غير مزدوج.

الشكل 2 يكشف عن لطخة ويسترن، وأن فيتامين D له تأثير في زيادة التعبير عن بروتين كلودين-2 claudin-2 protein في خلايا Caco-2 المزروعة بطريقة تعتمد على الجرعة، وبالتالي تسهيل امتصاص الكالسيوم "السلبي" "passive" calcium absorption". كبح المُنشط المساعد بروتين الصدمة الحرارية 90 بيتا لفيتامين د بواسطة المثبط الخاص جيلداميسين inhibitor geldanamycin، يكبح أيضًا التعبير عن كلودين-2 claudin-2، بشكل واضح عن طريق تثبيط نشاط فيتامين د، وبالتالي إثبات أن بروتين الصدمة الحرارية 90 بيتا مهم أيضًا لامتصاص الكالسيوم "السلبي".

الشكل 3 يكشف عن تأثير وجود فيتامين د3 على امتصاص الكالسيوم.

الشكل 4 يكشف عن تأثير الحمض الصفراوي، الحمض الدهني، فيتامين د3 على امتصاص الكالسيوم (بدون التدرج).

الشكل 5 يكشف عن تأثير الحمض الصفراوي، الحمض الدهني، فيتامين د3 على امتصاص الكالسيوم (مع التدرج).

الشكل 6 يكشف عن تأثير الحمض الصفراوي، الحمض الدهني، فيتامين د3 على امتصاص الكالسيوم.

<u>الوصف التفصيلي:</u>

يتم الآن وصف نماذج تمثيلية معينة لتوفير فهم شامل لمبادئ ووظيفة الاختراع. يفهم أصحاب المهارة في المجال أن النماذج التمثيلية الموصوفة غير مقيدة وأن نطاق الاختراع الحالي محدد بواسطة عناصر الحماية.

كما هو مبين أعلاه، يتعلق الاختراع الحالي بتركيبة تشتمل على

أ) حمض صفراوي واحد على الأقل أو ملح منه،

ب) حمض دهني واحد على الأقل أو ملح منه،

ج) كالسيوم، و

د) فيتامين د.

تكون التركيبة مخصصة للاستخدام كدواء.

وجد على نحو مثير للدهشة طبقًا للاختراع الحالي أن التركيبة التي تشتمل على حمض صفراوي واحد على الأقل أو ملح منه، حمض دهني واحد على الأقل، أو ملح منه، فيتامين د، وكالسيوم،

تحث بشكل تآزري التعبير عن المنشط المساعد بروتين الصدمة الحرارية 90 بيتا لمستقبل فيتامين د.

من خلال حث التعبير عن المنشط المساعد لمستقبل فيتامين د، يمكن زيادة نقل الكالسيوم المستحث بفيتامين د بشكل كبير، أي يتعادل في المرضى الذين يعانون من نقص الكالسيوم مثل مرضى جراحة المجازة المعدية التفاغرية المعوية على شكل Y ومرضى تكميم المعدة.

يكون لبروتين الصدمة الحرارية 90 بيتا تأثير تحفيزي معروف جيداً على البروتين مستقبلات عابرة من عائلة فانيولويد المحتملة 6 وهو بروتين مساعد في النقل النشط للكالسيوم عبر الخلايا. مع ذلك، لا يجب أن يكون النقل النشط للكالسيوم حساسًا للتركيبات محل الدراسة. بدلاً من ذلك، طبقًا للاختراع الحالي، ينشط بروتين الصدمة الحرارية 90 بيتا زيادة في مرور الكالسيوم السلبي (للخلايا المجاورة) تعتمد على فيتامين د. هذه سمة مهمة للاختراع الحالي: بصرف النظر عن فيتامين د، يجب أيضًا تضمين الكالسيوم على هذا النحو في التركيبة للحصول على تدرج تركيز عبر الظهارة المطلوب للنقل للخلايا المجاورة.

بالنظر إلى ما تم وصفه أعلاه لحث المنشط المساعد بروتين الصدمة الحرارية 90 بيتا لمستقبل فيتامين د، يمكن استخدام تركيبات الاختراع في علاج أي مريض يعاني من الحالات التي يمكن أن تساعدها زيادة امتصاص الكالسيوم. في تلك الحالات المرضية، على سبيل المثال هشاشة العظام، التي قد تكون ناجمة عن نقص الكالسيوم بسبب سوء الامتصاص، هناك حاجة للوقاية من فقدان كثافة المعادن في العظام. يوجد في الثدييات أفراد معرضون لتلك الحالات. على سبيل المثال، قد تكون تركيبات الاختراع مناسبة في علاج المرضى مثل كبار السن الذين يعانون من هشاشة العظام الناجم عن نقص الكالسيوم.

توجد تركيبات الاختراع في أحد النماذج المناسبة للعلاج و/أو الوقاية من هشاشة العظام عن طريق الوقاية من فقدان كثافة المعادن في العظام في مرضى جراحة المجازة المعدية التفاغرية المعوية على شكل Y أو مرضى تكميم المعدة.

تشتمل التركيبات طبقًا للاختراع على "حمض صفراوي" واحد على الأقل، أو ملح منه، على الأقل "حمض دهني" واحد أو ملح منه، بالإضافة إلى الكالسيوم وفيتامين د.

تتضمن العبارة "الحمض الصفراوي" كما هو مستخدم هنا كلاً من تلك التي طبيعية الوجود في الكائنات الحية بالإضافة إلى تلك التي تكون عبارة عن أحماض صفراوية صناعية synthetic bile

acids. قد تكون الأحماض الصفراوية طبيعية الوجود هي كل من الأحماض الصفراوية الأولية، والتي يتم تصنيعها في الكبد liver، والأحماض الصفراوية الثانوية، والتي تنتج عن العمليات البكتيرية في الأمعاء. يمكن أيضًا أن تكون الأحماض الصفراوية طبيعية الوجود هي أحماض صفراوية مقترنة، مما يعني أن الحمض الصفراوي مقترن على المجموعة الكربوكسيلية carboxylic group سواء مع شطر جليسين glycine أو تورين taurine، وقد يكون هذا هو الحال لكل من الأحماض الصفراوية الأولية والثانوية.

تنتمي الأحماض الصفراوية الأولية إلى حمض الكوليك cholic acid (CA) وحمض تشينوديوكسيكوليك chenodeoxycholic acid (CDCA)، وهناك أشكال مقترنة مقابلة وهي حمض الجليكوكوليك وحمض التوروكوليك taurocholic acid (TCA) وكذلك حمض الجليكوتشينوكوليك glycochenocholic acid (GCDCA) وحمض التوروشينوديوكسيكوليك taurochenodeoxycholic acid (TCDCA)، على التوالي. بصفة خاصة، فإن الأحماض الصفراوية الأولية محل الدراسة للاختراع الحالي هي حمض الكوليك وحمض تشينوديوكسيكوليك، وأشكالهما المقترنة المقابلة حمض الجليكوكوليك وحمض الجليكوتشوليك، على التوالي.

ينتمي للأحماض الصفراوية الثانوية حمض ديوكسيكوليك deoxycholic acid (DCA)، حمض الليثوكوليك lithocholic acid (LCA)، حمض أورسوديوكسيكوليك ursodeoxycholic acid (UDCA) وحمض هيوديوكسيكوليك hyodeoxycholic acid (HDCA)، وهناك أشكال مقترنة مقابلة وهي حمض الجليكودوكسيكوليك glychodeoxycholic acid (GDCA)، حمض التوروديوكسيكوليك taurodeoxycholic acid (TDCA)، حمض الجليكوليثوكوليك glycholithocholic acid (GLCA)، حمض التوروليثوكوليك turolithocholic acid (TLCA)، حمض الجليكورسوديوكسيكوليك glycoursodeoxycholic acid (GUDCA)، حمض توروررسيدوكيكوليك tauroursodeoxycholic acid (TUDCA)، حمض جليكوهيوديوكسيكوليك glycohyodeoxycholic acid (GHDCA) وحمض توروهيوديوكسيكوليك taurohyodeoxycholic acid (THDCA)، على التوالي. بصفة خاصة، يكون حمض ديوكسيكوليك، حمض الليثوكوليك، حمض أورسوديوكسيكوليك وحمض هيوديوكسيكوليك، وأشكالهما المقترنة المقابلة هي حمض الجليكودوكسيكوليك، حمض الجليكوليثوكوليك، حمض الجليكورسوديوكسيكوليك، وحمض الجليكوهيوديوكسيكوليك، على التوالي، محل دراسة الاختراع الحالي.

تعتبر الأحماض الصفراوية المقترنة أكثر حمضية من الأحماض الصفراوية غير المقترنة، ولذلك يطلق عليها غالبًا "أملاح صفراوية bile salts". تكون الأحماض الصفراوية المختلفة هي المكونات الأساسية لـ "للصفراء bile" في الكائنات الحية المختلفة، لكن يمكن أن تكون كثرة الأحماض الصفراوية المختلفة، على سبيل المثال في الحيوانات المختلفة، مختلفة ضمن نطاقات كبيرة. يكون الحمض الصفراوي الاصطناعي synthetic bile acid هو على سبيل المثال حمض أوبيتكوليك obeticholic acid (OCA) (6 ألفا- إيثيل- حمض تشينوديوكسيكوليك 6alpha-ethyl-chenodeoxycholic acid).

تتضمن أي إشارة إلى حمض صفراوي كما هو مستخدم هنا إشارة إلى حمض صفراوي أو ملح منه. يمكن أيضًا استخدام المصطلح "حمض صفراوي" بالتبادل مع "الأحماض الصفراوية"، "ملح الصفراء bile salt"، "الأملاح الصفراوية" و"ملح/ حمض الصفراء". من المفهوم أن التركيبات تشتمل على حمض صفراوي واحد على الأقل، ويمكن أن تشتمل على سبيل المثال على اثنين أو أكثر من الأحماض الصفراوية. يمكن اختيار حمض صفراوي واحد على الأقل لاستخدامه من الأحماض الصفراوية الأولية والأحماض الصفراوية الثانوية وأملاحها. أثناء الحالات الفيزيولوجية، تتحلل الدهون الغذائية dietary fats في تجويف الأمعاء العلوية upper gut lumen إلى أحماض دهنية وأحادي الجلسرول monoglycerol والتي يتم امتصاصها بعد ذلك بواسطة الغشاء المخاطي mucosa. بعد جراحة علاج البدانة، وأثناء الحالات الأخرى ذات القدرة المنخفضة لانحلال الدهون اللمعية luminal lipid، تكون الأحماض الدهنية حرة التركيز منخفضة بشكل غير فيزيولوجي في القناة الهضمية العليا upper gut.

يترتب على ذلك أن تشتمل التركيبة طبقًا للاختراع على حمض دهني واحد على الأقل أو ملح منه، حيث يكون الحمض الدهني المذكور الواحد على الأقل مشبع أو غير مشبع. قد يكون للأحماض الدهنية غير المشبعة unsaturated fatty acids هيئة مقرونة أو مفروقة. يكون الحمض الدهني المذكور الواحد على الأقل على سبيل المثال حمض دهني قصير السلسلة (حمض دهني قصير السلسلة < 6 ذرات كربون carbons في الذيل الأليفاتي aliphatic tail)، على سبيل المثال بيوتيرات، حمض دهني متوسط السلسلة (حمض دهني متوسط السلسلة، 6-12 ذرة كربون في الذيل الأليفاتي، خطي أو متفرع)، على سبيل المثال حمض كابريليك مشبع saturated caprylic acid (8 ذرات كربون) وحمض لوريك lauric acid (12 ذرة كربون)، حمض دهني طويل السلسلة

(حمض دهني طويل السلسلة، 13-21 ذرة كربون)، مثل حمض بالميتوليك غير مشبع unsaturated palmitoleic acid، حمض أوليك، حمض لينوليك linoleic acid وحمض بالميتيك مشبع saturated palmitic acid وحمض ستيريك stearic acid أو حمض دهني طويل السلسلة جداً (حمض دهني طويل السلسلة جداً، > 21 ذرة كربون). من المفهوم أن التركيبات تشتمل على حمض دهني واحد على الأقل، ويمكن على سبيل المثال أن تشتمل على اثنين أو أكثر من الأحماض الدهنية. يمكن أن يكون الحمض الدهني الواحد على الأقل أو ملح منه المستخدم في التركيبة أي واحد متاح ومعروف لشخص ماهر في المجال.

تشتمل التركيبة الموصوفة هنا على فيتامين د. يكون فيتامين د عبارة عن مجموعة من الفيتامينات ويتضمن كوليكالسيفيرول cholecalciferol (فيتامين د3)، ألفاكالسيدول alfacalcidol، كالسيتريول calcitriol. تتضمن التركيبة الموصوفة هنا فيتامين د الموجود في صورة فيتامين د3، أو على الأقل تتكون بشكل أساسي من فيتامين د3. في سمة أخرى للاختراع، يوجد الكالسيوم كملح، مثل ملح Ca^{2+}، على سبيل المثال في صورة سترات الكالسيوم calcium citrate، كربونات الكالسيوم calcium carbonate، أو أي ملح فوسفات كالسيوم calcium phosphate salt.

في أحد جوانب الاختراع، يتم توفير تركيبة حيث تتواجد كمية الكالسيوم وفيتامين د في التركيبة على أنها المدخول اليومي الموصى به، أقل أو أكثر. يكون المدخول اليومي الموصى به من الكالسيوم هو 1000 مجم/ يوم (مجم/ يوم) للبالغين، ومستويات تصل إلى 1300-2500 مجم/ يوم موصى بها لبعض الأشخاص، على سبيل المثال كبار السن والشباب، والمدخول اليومي الموصى به من فيتامين د هو 600 وحدة دولية/ يوم مقابل 15 (ميكروجرام) للبالغين ومستويات تصل إلى 800 وحدة دولية/ يوم (20 ميكروجرام) لكبار السن موصى به لكبار السن. قد تشتمل التركيبة من الاختراع على المدخول اليومي الموصى به من فيتامين د أو تشتمل على أقل أو أكثر، وحتى 50000 وحدة دولية/ يوم، وهو ما يقابل 1250 ميكروجرام/ يوم اعتمادًا على الغرض من التركيبة، أي يعتمد على عدد المرات في اليوم الذي يتم فيه إعطاء التركيبة.

قد توجد كمية الكالسيوم في التركيبة في النطاق 100-2500 مجم، على سبيل المثال في النطاق 200-2000، على سبيل المثال في النطاق 300-1500 مجم، على سبيل المثال في النطاق 400-1000 مجم، على سبيل المثال 400-800 مجم أو 400-600 مجم. قد توجد كمية الكالسيوم في التركيبة بكمية حوالي 300، 400، 500، 600، 700، 800، 900، 1000،

1100، 1200، 1300، 1400، 1500، 1600، 1700، 1800، 1900، 2000، 2100، 2200، 2300، 2400، 2500 مجم. قد توجد كمية فيتامين د، على سبيل المثال فيتامين د3، بكمية 5-1250 ميكروجرام، على سبيل المثال في النطاق من 10-1000، أو 20-800، مثلا 100، 200، 300، 400، 500، 600، 700، 800 ميكروجرام، وفي النطاق الأدنى حوالي 10، 11، 12، 13، 14، 15، 16، 17، 18، 19 أو 20، 30، 40، 50، 60، 70، 80، 90 ميكروجرام. يمكن تعديل كمية فيتامين د والكالسيوم في التركيبة لتوفير الاستجابة المرغوبة المثلى (مثلا استجابة علاجية أو وقائية).

توجد كمية الحمض الصفراوي المذكور الواحد على الأقل في التركيبة في نطاق يعطي تركيز داخل الأمعاء من حوالي 1×10^{-7} إلى 1×10^{-3} مولار، وهو ما يقابل حوالي 0.001 مجم/ كجم إلى حوالي 100 مجم/ كجم، على سبيل المثال 0.1 مجم/ كجم إلى حوالي 50 مجم/ كجم، على سبيل المثال 2-40 مجم/ كجم، على سبيل المثال 4-30 مجم/ كجم، على سبيل المثال 6-20 مجم/ كجم، على سبيل المثال 8-15 مجم/ كجم، على سبيل المثال 4، 5، 6، 7، 8، 9، 10، 11، 12، 13، 14، 16، 17، 18 مجم/ كجم. أما بالنسبة لفيتامين د والكالسيوم، فإنه يمكن تعديل التركيبة بالرجوع إلى الحمض الصفراوي المذكور الواحد على الأقل لتوفير الاستجابة المثلى المرغوبة في جرعة واحدة أو جرعات متعددة.

توجد كمية الحمض الدهني المذكور الواحد على الأقل في التركيبة بكمية كافية في النطاق من 0.5 جم إلى حوالي 20 جم/ يوم، على سبيل المثال 1-18، على سبيل المثال 3-15 جم، على سبيل المثال 5-12 جم، 7-10. النطاقات المحددة تتماشى مع المدخول الموصى به من الأحماض الدهنية الأساسية. يمكن تعديل التركيبة بالرجوع إلى كمية الحمض الدهني (الأحماض الدهنية) لتوفير الاستجابة المرغوبة المثلى في جرعة واحدة أو جرعات متعددة. يجب مراعاة العديد من الجوانب عند اختيار الأملاح الصفراوية والأحماض الدهنية، على سبيل المثال الذوبان، السمية المحتملة والآثار الجانبية الضارة، والاستساغة في التركيبات عن طريق الفم، وكذلك حالتها فيما إذا كانت تعتبر من مواد الإضافة الغذائية أو الأدوية.

في أحد جوانب الاختراع، تشتمل التركيبة على

أ. حمض صفراوي واحد على الأقل، أو ملح منه، بكمية لتوفير تركيز داخل الأمعاء يبلغ حوالي 1×10^{-7} إلى 1×10^{-3} مولار؛

ب. حمض دهني واحد على الأقل أو ملح منه، بكمية من 0.5 جم إلى حوالي 20 جم؛

ج. كالسيوم بكمية من 100-2500 مجم؛ و

د. فيتامين د، بكمية من 800-2500 مجم.

تشتمل أمثلة التركيبة على:

أ) حمض صفراوي واحد على الأقل، أو ملح منه، تم اختياره من الأحماض الصفراوية الأولية حمض الكوليك وحمض تشينوديوكسيكوليك، وأشكال مقترنة مقابلة منها وهي حمض الجليكوكوليك وحمض الجليكوتشينوكوليك، على التوالي، أو حمض صفرايو ثانوي مقابل لها وهو حمض ديوكسيكوليك، حمض الليثوكوليك، حمض أورسوديوكسيكوليك وحمض هيوديوكسيكوليك، وتكون الأشكال المقترنة المقابلة لها هي حمض الجليكودوكسيكوليك، حمض الجليكوليثوكوليك، حمض الجليكورسوديوكسيكوليك، وحمض جليكوهيوديوكسيكوليك، على التوالي بكمية لتوفير تركيز داخل الأمعاء يبلغ حوالي 1×10^{-7} إلى 1×10^{-3} مولار؛

ب) حمض دهني واحد على الأقل تم اختياره من حمض دهني قصير السلسلة (حمض دهني قصير السلسلة < 6 ذرات كربون في الذيل الأليفاتي)، على سبيل المثال بيوتيرات، حمض دهني متوسط السلسلة (حمض دهني متوسط السلسلة، 6-12 ذرة كربون في الذيل الأليفاتي، خطي أو متفرع)، على سبيل المثال حمض كابريليك مشبع (8 ذرات كربون) وحمض لوريك (12 ذرة كربون)، حمض دهني طويل السلسلة (حمض دهني طويل السلسلة، 13-21 ذرة كربون)، مثل حمض بالميتوليك غير مشبع، حمض أوليك، حمض لينوليك وحمض بالميتيك مشبع وحمض ستيريك أو حمض دهني طويل السلسلة جدا (حمض دهني طويل السلسلة جدا، > 21 ذرة كربون) أو ملح منه، بكمية من 0.5 جم إلى حوالي 20 جم؛

ج) كالسيوم، بكمية من 100-2500 مجم؛ و

د) فيتامين د، مثلا فيتامين د3، بكمية من 800-2500 مجم.

تكون هذه التركيبة مخصصة للإعطاء مرة واحدة يوميًا. يمكن إجراء تعديلات مناسبة لتوفير تركيبة للإعطاء مرتين، ثلاث مرات، إلخ في اليوم. تكون التركيبة على النحو المحدد أعلاه للاستخدام كدواء.

في جانب من الاختراع، تتم صياغة التركيبة للتوصيل عن طريق الفم. لا تقتصر التركيبة على أن تتم صياغتها للتوصيل عن طريق الفم ويمكن أيضًا صياغتها للتوصيل عن غير الطريق المعوي،

التسريب داخل الوريد أو الحقن. عند صياغتها للتوصيل عن طريق الفم، يمكن توصيل التركيبة قبل تناول الطعام، قبل الوجبة، و/أو بعد تناول الطعام، بعد الوجبة. على سبيل المثال، يمكن توصيل التركيبة قبل، أثناء و/أو بعد وجبة.

في جانب من الاختراع، تكون التركيبة في صورة سائلة أو صورة صلبة. عندما تتم صياغة التركيبة في صورة صلبة، يمكن صياغتها على شكل قرص مضغ، قرص فوار، مسحوق، حبوب، سائل، هلام، قرص أو كبسولة. من أجل صياغة الأشكال الصلبة المذكورة أعلاه، يمكن دمج مواد حاملة carriers أخرى معروفة جيداً في تلك الأشكال الصلبة. هذه المواد الحاملة معروفة جيدًا للشخص الماهر وتتضمن على سبيل المثال مذيبات solvents، أوساط تشتت dispersion media، ملبسات coatings، نكهات، عوامل مضادة للبكتيريا ومضادة للفطريات antibacterial and antifungal agents، وعوامل متساوية التوتر isotonic agents، إلخ والتي تكون متوافقة من الناحية الفيزيولوجية. تتضمن أمثلة هذه المواد الحاملة واحد أو أكثر من الماء، محلول ملحي saline، محلول ملحي منظم بالفوسفات phosphate buffered saline، ديكستروز dextrose، جليسرول glycerol، إيثانول ethanol، إلخ، بالإضافة إلى توليفات منها. غالبًا ما يُفضل استخدام عوامل متساوية التوتر isotonic agents، على سبيل المثال السكريات، الكحوليات المتعددة polyalcohols مثل المانيتول mannitol، السوربيتول sorbitol أو كلوريد الصوديوم sodium chloride.

في جانب آخر من الاختراع، يتم توفير طريقة للوقاية و/أو علاج هشاشة العظام الناجمة عن نقص الكالسيوم، حالات سوء الامتصاص الناتجة عن نقص الكالسيوم أو حالات العظام المرضية الناتجة عن نقص الكالسيوم أو لعلاج هشاشة العظام للوقاية من فقدان كثافة المعادن في العظام في أفراد المجازة المعدية التفاغرية المعوية على شكل Y أو أفراد تكميم المعدة في كائن ثديي، مثلا فرد بشري، عن طريق إعطاء تركيبة تشتمل على حمض صفراوي واحد على الأقل أو ملح منه، وحمض دهني واحد على الأقل أو ملح منه إلى فرد بحاجة لذلك. من خلال إعطاء تركيبة كما هو موضح أعلاه، يتم حث التعبير عن المنشط المساعد بروتين الصدمة الحرارية 90 بيتا لمستقبل فيتامين د، لزيادة امتصاص الكالسيوم الناجم عن فيتامين د.

في جانب آخر، يتعلق الاختراع الحالي بمكمل غذائي أو متعلق بالحمية مشتمل على تركيبة تشمل حمض صفراوي أو ملح منه وحمض دهني أو ملح منه واختيارياً كالسيوم وفيتامين د. يمكن أن

تكون المكونات التقليدية الأخرى للمكملات الغذائية أو المتعلقة بالحمية بشكل طبيعي مضافة أيضًا إلى هذا المكمل.

في أحد جوانب الاختراع، يشتمل المكمل الغذائي على عناصر غذائية دقيقة أخرى مثل الحديد، المغنيسيوم magnesium، الزنك zinc، النحاس copper، والفيتامينات، مثل فيتامين أ، فيتامين د، أو فيتامين هـ، ومكونات تقليدية أخرى. هذه المكونات التقليدية معروفة للشخص الماهر في المجال وتكون الأمثلة هي الحشوات fillers، المواد الرابطة binders، المرطبات humectants، عوامل التفتيت disintegrating agents، عوامل التنظيم buffering agents، السواغات excipients، المواد المساعدة adjuvants، مضادات الأكسدة antioxidants، والمواد الحافظة preservatives.

في جانب من الاختراع تشتمل التركيبة على

أ) حمض صفراوي واحد على الأقل أو ملح منه؛

ب) حمض دهني واحد على الأقل أو ملح منه؛

ج) كالسيوم؛

د) فيتامين د؛ واختيارياً،

هـ) واحد أو أكثر من المكونات المختارة من مجموعة العناصر الغذائية الدقيقة، مثلا المكونات المختارة من المجموعة المكونة من الحديد، المغنيسيوم، الزنك، النحاس، والفيتامينات، مثلا فيتامين أ، فيتامين د أو فيتامين هـ؛ واختيارياً،

و) واحد أو أكثر من المكونات المختارة من الحشوات، المواد الرابطة، المرطبات، عوامل التفتيت، عوامل التنظيم، السواغات، المواد المساعدة، مضادات الأكسدة، المواد الحافظة.

في أحد نماذج الاختراع، تشتمل التركيبة على

أ) حمض الجليكوكوليك، باعتباره الحمض الصفراوي الواحد على الأقل أو ملح منه؛

ب) حمض الأوليك، حمض البيوتيريك، باعتباره الحمض الدهني الواحد على الأقل أو ملح منه؛

ج) كالسيوم؛

د) فيتامين د؛ واختياريا،

هـ) واحد أو أكثر من المكونات المختارة من مجموعة العناصر الغذائية الدقيقة، مثلا المكونات المختارة من المجموعة المكونة من الحديد، المغنيسيوم، الزنك، النحاس، والفيتامينات، مثلا فيتامين أ، فيتامين د أو فيتامين هـ؛ واختيارياً،

و) واحد أو أكثر من المكونات المختارة من الحشوات، المواد الرابطة، المرطبات، عوامل التفتيت، عوامل التنظيم، السواغات، المواد المساعدة، مضادات الأكسدة، المواد الحافظة.

تحديداً، يكون الحمض الصفراوي الواحد على الأقل (أ) هو حمض الجليكوكوليك، ويكون الحمض الدهني الواحد على الأقل (ب) هو حمض البيوتيريك، بجانب المكونات ج) إلى و).

تحديداً، يكون الحمض الصفراوي الواحد على الأقل (أ) هو حمض الجليكوكوليك، ويكون الحمض الدهني الواحد على الأقل (ب) هو حمض الأوليك، بجانب المكونات ج) إلى و).

قد تكون التركيبة مخصصة للاستخدام كمكمل غذائي. قد يحتوي المكمل الغذائي أو المتعلق بالحمية بالإضافة إلى التركيبة الموصوفة أعلاه على فيتامينات وعناصر غذائية دقيقة أخرى لها تأثير مفيد على صحة الإنسان.

تكون الجوانب الموصوفة أعلاه فيما يتعلق بتركيبة الاختراع، كما تم الكشف عنها أيضًا في عناصر الحماية، تنطبق أيضًا على جانب المكملات الغذائية والمتعلقة بالحمية.

يقدر الشخص الماهر في المجال السمات والمزايا الإضافية للاختراع بناءً على النماذج الموصوفة أعلاه. طبقًا لذلك، لا يجب تقييد الاختراع بما تم توضيحه ووصفه تحديداً في الأمثلة أو الأشكال.

طبقًا لجانب آخر من الاختراع، يتم توفير استخدام حمض صفراوي واحد على الأقل أو ملح منه، أو حمض دهني واحد على الأقل أو ملح منه، واحد أو أكثر من فيتامين د، والكالسيوم، أو ملح منه، في تصنيع دواء لعلاج و/أو الوقاية من هشاشة العظام الناجم عن نقص الكالسيوم، وحالات الالتهاب وسوء الامتصاص التي تسبب نقص الكالسيوم، اضطرابات العظام الناجمة عن نقص الكالسيوم، أو فقدان كثافة المعادن في العظام الناجم عن نقص الكالسيوم، أو لعلاج هشاشة العظام عن طريق الوقاية من فقدان كثافة المعادن في العظام في الأفراد الذين يعانون من المجازة المعدية التفاغرية المعوية على شكل Y أو أفراد تكميم المعدة، أو الأفراد الذين عولجوا بتقنيات جراحية أخرى مماثلة. تكون تأثيرات وخصائص الجانب أعلاه من الاختراع الحالي مماثلة لتلك الموصوفة أعلاه. تكون التركيبات الموصوفة هنا مخصصة للاستخدام كدواء في علاج الأمراض والاضطرابات التي تم الكشف عنها أعلاه.

طبقًا لجانب آخر للاختراع، يتم توفير تركيبات تشتمل على حمض صفراوي واحد على الأقل أو ملح منه، وحمض دهني واحد على الأقل أو ملح، حيث يكون الحمض الصفراوي الواحد على

الأقل المذكور هو أحد الأحماض الصفراوية المذكورة أعلاه ويكون الحمض الدهني الواحد على الأقل المذكور هو أحد الأحماض الدهنية المذكورة أعلاه.

الإجراء التجريبي

الهدف من التجارب هو استكشاف طرق لتحسين امتصاص الكالسيوم الناجم عن فيتامين د في الأمعاء الدقيقة القريبة على سبيل المثال في المرضى الذين خضعوا لجراحة المجازة المعدية التفاغرية المعوية على شكل Y أو تكميم المعدة. يتم اختبار ما سبق عن طريق إضافة حمض صفراوي معين (أو الصفراء البشرية) وحمض دهني لحث التعبير عن المُنشط المساعد بروتين الصدمة الحرارية 90 بيتا لمستقبل فيتامين د. من خلال حث بروتين الصدمة الحرارية 90 بيتا، يمكن زيادة التعبير عن نقل الكالسيوم المستحث بفيتامين د بشكل كبير، أي يتعادل في أي نوع من المرضى الذين يحتاجون إلى زيادة امتصاص الكالسيوم، على سبيل المثال في مرضى جراحة المجازة المعدية التفاغرية المعوية على شكل Y، وربما أيضًا مرضى تكميم المعدة.

خط خلية Caco-2

يكون خط خلية Caco-2 عبارة عن خط متواصل من خلايا كارسينوما القولون والمستقيم الظهارية epithelial colorectal adenocarcinoma cells البشرية غير المتجانسة التي طورها معهد سلون كيترينج لأبحاث السرطان. تُشتق الخلايا من القولون colon، أو الأمعاء الغليظة large intestine، المصابة بالكارسينوما carcinoma، ولكن عند زراعة هذه الخلايا في ظل ظروف محددة، فإنها تصبح متمايزة ومستقطبة، مما يجعل نمطها الظاهري، شكليًا ووظيفيًا، يشبه الخلايا المعوية enterocytes التي تبطن الأمعاء الدقيقة.

وجد أن خلايا Caco-2 تعبر عن تقاطعات ضيقة، زغيبات microvilli، وعدد من الإنزيمات enzymes وكذلك الناقلات transporters التي عادة ما تكون خصائص لهذه الخلايا المعوية enterocytes: الببتيدازات peptidases، الإستيرازات esterases، البروتين السكري- P- P glycoprotein، ناقلات امتصاص uptake transporters الأحماض الأمينية amino acids، الأحماض الصفراوية، الأحماض الكربوكسيلية carboxylic acids، إلخ. إن مزارع خلايا Caco-2 مجهريًا غير متجانسة وهذه النظرية مدعومة بخصائص الخلايا التي تظهر نتائج مهمة متباينة من أبحاث مختلفة حول العالم. يتم استخدام خلايا Caco-2 بشكل شائع ليس كخلايا فردية، ولكن كخلايا أحادية الطبقة متكدسة confluent monolayer على مرشح إدراج مزرعة خلية cell culture

insert filter. يؤدي هذا الشكل من الزراعة إلى تمايز الخلايا لتكوين طبقة أحادية من الخلية الظهارية المستقطبة polarized epithelial cell monolayer والتي توفر حاجز فيزيائي وكيميائي physical and biochemical barrier حيوي لمرور الأيونات والجزيئات الصغيرة. تكون مزرعة أحادية الطبقة monolayer culture من Caco-2 هي أحد نماذج الغشاء المخاطي للأمعاء الدقيقة البشرية human small intestinal mucosa المستخدمة على نطاق واسع في المختبر للبحث في امتصاص العقاقير التي يتم تناولها عن طريق الفم orally administered drugs.

زراعة خلية Caco-2

تتم زراعة خلايا Caco-2 مع مرور أو حوالي 45 (عدد المرات التي تم تقسيمها) (Sigma-Aldrich Stockholm Sweden) في وسط إيجل مُعدل خاص بدوليكو Dulbecco's Modified Eagle's Medium (Life Technologies Invitrogen AB, Lidingo, Sweden)، مع 10٪ من مصل بقري جنيني Foetal Bovine Serum (FBS) (Life Technologies)، 1٪ حمض أميني غير أساسي Non Essential Amino Acid (NEAA) (Life Technologies)، 100 وحدة دولية/ ملليلتر بنسيلين ستربتوميسين Penicillin Streptomycin (Pen-Strep) (Life Technologies). تتم حضانة الخلايا عند 37°مئوية مع 5٪ من ثاني أكسيد الكربون carbon dioxide (CO_2) وتتم زراعتها في قارورة مزرعة خلية (BD Falcon®, VWR Internationals, Stockholm, Sweden) ويتم تغيير الوسط في أيام الاثنين، الأربعاء والجمعة من كل أسبوع.

تتم زراعة الخلايا قبل فصلها بـ 1 أسبوع تقريبًا (0.25٪ من التريبسين trypsin – حمض إيثيلين داي أمين رباعي أسيتيك ethylenediaminetetraacetic acid (EDTA)، (Life Technologies وتبذر في لوحات بها 6 عيون مع مقحمات مرشح شبه نافذ semipermeable filter inserts (حجم مسام 3 ميكرومتر، BD Biosciences، Le Pont de Claix، فرنسا)، 200000 خلايا/ عين. عند تشابك النسيج الخلوي، يتم تغيير وسط الزراعة culture medium إلى واحد خالي من مصل بقري جنيني في كل من حجيرة العيون العلوية والسفلية وإلى الحجيرة السفلية أيضًا تتم إضافة خليط من 10 ميكرولتر/ ملليلتر من الأنسولين، 0.55 ميكروجرام/ ملليلتر من الناقل و6.7 نانوجرام/ ملليلتر من السلينيوم selenium (ITS, Life Technologies) لإثبات قطبية الخلية والتمايز البنائي (6–7). يتم ترك الطبقات الأحادية من الخلية cell monolayers للزراعة لمدة 14 يومًا قبل التجارب.

يتم تحفيز الخلايا بعد ذلك لمدة 24 ساعة أو 48 ساعة باستخدام 10 مللي مولار من الحمض الدهني وأحماض الصفراء أو الأحماض الصفراوية البشرية human biliary acids، او توليفة من الاثنين، في الحجيرات العلوية "اللمعية" upper “luminal” compartments (الخلايا المعالجة treated cells) وترك الآخر كعينة مقارنة (الخلايا غير المعالجة untreated cells). تكون الأحماض الصفراوية موجودة كمكونات للصفراء.

تحليل لطخة ويسترن

بالنسبة لحصاد البروتين، يتم كشط الخلايا في محلول منظم للتحلل lysis buffer في محلول منع بروتين كيناز protein kinase blocking solution (1٪ تريتون إكس- 100، حمض إيثيلين داي أمين رباعي أسيتيك) الذي يحتوي على محلول منظم لمثبط بروتين كيناز protein kinase inhibitor buffer (10 مللي مولار من محلول منظم لفوسفات البوتاسيوم potassium phosphate buffer درجة الحموضة 6.8، 10 مللي مولار 3- [(3- كولاميدوبروبيل) ثنائي ميثيل أمينو]-1- سلفونات البروبان 3-[(3-cholamidopropyl) dimethylammonio]-1-propane sulphonate (CHAPS: Boehringer Mannheim, Mannheim, Germany) وقرص كامل من مجموعة مثبطات البروتياز protease inhibitor (Roche Diagnostics AB, Stockholm, Sweden). بعد الاهتزاز عدة مرات على الجليد، تتم إزالة حطام الخلايا cell debris عن طريق الطرد المركزي (10000 ثقل نوعي لمدة 10 دقائق عند 4°مئوية) ويتم تحليل محتوى البروتين بالمادة الطافية باستخدام طريقة برادفورد.

يتم تخفيف العينات في محلول منظم كبريتات دوديسيل الصوديوم sodium dodecyl sulphate (SDS) وتسخينها عند 70°مئوية لمدة 10 دقائق قبل تحميلها على 10٪ هلام مكرر- تريس NuPage، ويبدأ الرحلان الكهربي باستخدام محلول منظم 3- (N- مورفولينو) حمض البروبان سلفونيك 3-(N-morpholino)propanesulfonic acid (MOPS) (Invitrogen AB, Lidingo, Sweden). يتم تحميل ممر واحد من كل هلام بمعايير الوزن الجزيئي المعترف بها (SeeBlue, NOVEX, San Diego, CA, USA). بعد الرحلان الكهربائي، يتم نقل البروتينات إلى غشاء بولي فينيل ديفلوريد polyvinyldifluoride membrane (Amersham, Buckinghamshire, UK)، والذي تم تحضينه مع جسم مضاد بروتين الصدمة الحرارية 90 بيتا (abcam; ab80159, Cambridge, UK)، ويتم استخدام جسم مضاد للجلوبولين المناعي ج Immunoglobulin G (IgG) ماعز ضد

أرنب ثانوي مقترن مع فوسفاتاز قلوي alkaline phosphatase (Santa Cruz) وCDP-Star (Tropix, Bedford, MA, USA) كركيزة substrate لتحديد البروتينات المتفاعلية مناعيًا immunoreactive proteins عن طريق اللمعان الكيميائي. يتم التقاط الصور بواسطة كاميرا جهاز اقتران الشحنة Charge-Coupled-Device (CCD) مُبردة مع Chemidox XRS، وتحليلها باستخدام برنامج Quantity One (BioRad laboratories, Hercules, CA, USA).

امتصاص ونقل Ca^{2+}

تتم زراعة خلايا Caco-2 على دعامة قابلة للاختراق لمدة 11-14 يومًا، مع تعديل طفيف طبقًا إلى Giuliano A. R., & Wood R.J. في يوم التجارب يتم قياس المقاومة الكهربائية عبر الظهارة ويتم حساب المستحضرات ذات القيم بين 400 و 900 أوم × سم^2 فقط. يتم توفير المواد المختبرة في الحجيرة العلوية والتأثير كما هو مقروء بعد 24 إلى 48 ساعة. يتم قياس تدفق Ca^{2+} باستخدام ومضان السائل بمقارنة الحجيرة السفلية مع الحجيرة العلوية.

التجربة 1

في هذه التجربة يتم اختبار خلايا Caco-2 مع الحمض الدهني حمض بيوتيريك (ويسمى بدلاً من ذلك: بيوتيرات)، الحمض الصفراوي حمض الجليكوكوليك، أو توليفة من حمض بيوتيريك وحمض الجليكوكوليك.

تنمو الخلايا من أجل تشابك النسيج الخلوي ثم تتم حضانتها مع وسط ناقل، حمض البيوتيريك، الحمض الصفراوي، أو توليفة من الحمض الصفراوي وحمض البيوتيريك، لمدة 48 ساعة. ثم يتم حصاد الخلايا واستخراج إجمالي البروتينات الخلوية وتحليلها باستخدام تلطيخ ويسترن. يتم عرض التعبير عن بروتين الصدمة الحرارية 90 بيتا بشكل متعادل مع التعبير عن البروتين المقارن غير المنظم non-regulated control protein جليسير ألديهيد -3 فوسفات ديهيدروجيناز Glyceraldehyde-3-Phosphate Dehydrogenase (GAPDH). يوضح الشكل 1 تأثير الحمض الصفراوي حمض الجليكوكوليك المقترن، مع وبدون إضافة الحمض الدهني حمض البيوتيريك، على التعبير عن بروتين الصدمة الحرارية 90 بيتا في خلايا Caco-2 المزروعة.

أظهرت النتائج أن حمض الجليكوكوليك لم يكن له أي تأثير بذاته على بروتين الصدمة الحرارية 90 بيتا، ولكن فقط بالاقتران مع حمض البيوتيريك كانت هناك زيادة سائدة وعالية الأهمية في التعبير عن بروتين الصدمة الحرارية 90 بيتا مقارنة بخلايا مقارنة معالجة بالوسط الناقل.

التجربة 2

يكون كلودين -2 عبارة عن بروتين اتصال وثيق tight-junction protein مسموح به والذي يُزيد من امتصاص الكالسيوم في الأمعاء الدقيقة البعيدة عن طريق المسار بجوار الخلايا paracellular route، ويشار إليه عادةً بامتصاص الكالسيوم "السلبي". يوضح الشكل 2 أن فيتامين د له تأثير على زيادة التعبير عن بروتين كلودين-2 في خلايا Caco-2 بطريقة تعتمد على الجرعة، وبالتالي تسهيل امتصاص الكالسيوم "السلبي". كبح المُنشط المساعد بروتين الصدمة الحرارية 90 بيتا لفيتامين د بواسطة المثبط الخاص جيلداميسين، يكبح أيضًا التعبير عن كلودين-2، بشكل واضح عن طريق تثبيط نشاط فيتامين د، وبالتالي إثبات أن بروتين الصدمة الحرارية 90 بيتا مهم أيضًا لامتصاص الكالسيوم "السلبي". لذلك، فإن تسهيل تعبير بروتين الصدمة الحرارية 90 بيتا في الأمعاء الدقيقة يجب أن يكون له تأثير مفيد أيضًا على امتصاص الكالسيوم السلبي في الأمعاء الدقيقة للإنسان. تتم زراعة الخلايا Caco-2 تحت نفس الشروط التجريبية كما في التجارب 1. تتم إضافة فيتامين د بتركيزات 10 ميكرومولار (جرعة منخفضة) أو 100 ميكرومولار (جرعة عالية). تتم إضافة جيلداناميسين بتركيز 0.5 ميكرومولار.

التجربة 3

في التجربة الحالية، تتم زراعة خلايا Caco-2 وتنمو لتشابك النسيج الخلوي على شكل ظهارة خلال 14 يومًا. يتم إجراء التجارب التالية طبقًا إلى Giuliano A. R., & Wood R.J. يتم اختبار تأثير 10 نانومولار 1.25 $(OH)_2$- فيتامين د3 على نقل الكالسيوم خلال الـ 48 ساعة الماضية. يتم اختبار التدفق بدون تدرج الكالسيوم (Ca^{2+})، ويكون تركيز الكالسيوم 1.8 مللي مولار على كل جانب من طبقة الخلايا. وبالتالي يتم التأكيد من النقل النشط لفيتامين د. يتم عرض النتيجة في الشكل 3.

التجربة 4

في التجربة الحالية، تتم زراعة خلايا Caco-2 وتنمو لتشابك النسيج الخلوي على شكل ظهارة خلال 12 يومًا. تنمو الخلايا بعد ذلك في 4 أيام أخرى في وجود 0.1 مللي مولار من حمض الجليكوكوليك، أو في وجود 0.5 مللي مولار من بيوتيرات، أو في وجود حمض الجليكوكوليك وبيوتيرات في توليفة.

يتم اختبار تأثير 10 نانومولار 1.25 $(OH)_2$- فيتامين د3 على نقل الكالسيوم خلال الـ 48 ساعة الماضية. يتم اختبار التدفق بدون تدرج الكالسيوم (Ca^{2+})، ويكون تركيز الكالسيوم 1.8 مللي مولار على كل جانب من طبقة الخلايا.

يتم عرض النتيجة في الشكل 4 (حيث تتم الإشارة إلى متوسطات ± الخطأ المعياري للمتوسط (standard error of mean (SEM)).

تُظهر التجربة النقل النشط عبر طبقة الظهارة Caco-2. يمكن استنتاج أن معدل النقل يكون بنفس الترتيب من حيث الحجم كما هو الحال مع 1.25 $(OH)_2$- فيتامين د3 وحده، وأنه لا يوجد تأثير إضافي لدمج حمض صفراوي مع حمض دهني في حالة عدم وجود تدرج كالسيوم.

التجربة 5

في التجربة الحالية، تتم زراعة خلايا Caco-2 وتنمو لتشابك النسيج الخلوي على شكل ظهارة خلال 12 يومًا. تنمو الخلايا بعد ذلك في 4 أيام أخرى في وجود فيتامين د3 في توليفة مع 0.5 مللي مولار من بيوتيرات، أو في توليفة مع 0.1 مللي مولار حمض الجليكوكوليك، أو في توليفة مع كلا من حمض الجليكوكوليك وبيوتيرات، أو في توليفة مع 0.1 مللي مولار من حمض التوروكوليك، أو في توليفة مع كل من حمض التوروكوليك وبيوتيرات.

يتم اختبار تأثير 10 نانومولار 1.25 $(OH)_2$- فيتامين د3 على نقل الكالسيوم خلال الـ 48 ساعة الماضية. يتم اختبار التدفق مع تدرج الكالسيوم (Ca^{2+})، مع 40 مللي مولار على الجانب العلوي و1.8 مللي مولار على الجانب الجانبي القاعدي.

يتم قياس التأثير باستخدام اختبار كروسكال واليس، على عكس اختبار المقارنة المتعددة لدون. يتم عرض النتيجة في الشكل 5 (حيث تتم الإشارة إلى متوسطات ± 95٪- تشابك النسيج الخلوي- فترات فاصلة). هنا، يمكن استنتاج أن زيادة امتصاص الكالسيوم تتحقق مع توليفة من فيتامين د، حمض الجليكوكوليك، وبيوتيرات. مع ذلك، يمكن أيضًا استنتاج أنه لم يتم امتصاص فيتامين د، حمض التوروكوليك وبيوتيرات.

التجربة 6

في التجربة الحالية، تتم زراعة خلايا Caco-2 وتنمو لتشابك النسيج الخلوي على شكل ظهارة خلال 12 يومًا. تنمو الخلايا بعد ذلك في 4 أيام أخرى في وجود فيتامين د3 فقط، أو مع في توليفة مع 0.5 مللي مولار من بيوتيرات، أو في توليفة مع 0.1 مللي مولار حمض الجليكوكوليك، أو في

توليفة مع كلا من حمض الجليكوكوليك وبيوتيرات، أو في توليفة مع حمض الجليكوكوليك وحمض أوليك.

يتم اختبار تأثير 10 نانومولار 1.25 $(OH)_2$- فيتامين د3 على نقل الكالسيوم خلال الـ 48 ساعة الماضية. يتم اختبار التدفق مع تدرج الكالسيوم (Ca^{2+})، مع 40 مللي مولار على الجانب العلوي و1.8 مللي مولار على الجانب الجانبي القاعدي.

يتم قياس التأثير باستخدام اختبار كروسكال واليس، على عكس اختبار المقارنة المتعددة لدون. يتم عرض النتيجة في الشكل 6 (حيث تتم الإشارة إلى متوسطات ± 95٪- تشابك النسيج الخلوي- فترات فاصلة). هنا، يمكن استنتاج أن زيادة امتصاص الكالسيوم تتحقق مع توليفة من فيتامين د، حمض الجليكوكوليك، وبيوتيرات، تتحقق أيضاً زيادة الامتصاص مع فيتامين د، حمض الجليكوكوليك وحمض أوليك.

المراجع:

Elias et al., Bone Mineral Density and expression of vitamin D receptor-dependent calcium uptake mechanisms in the proximal small intestine after bariatric surgery, Br J Surg. 2014 Nov; 101(12):1566-75).

Crawford et al. 'Increased bone turnover in type 2 diabetes patients randomized to bariatric surgery vs. medical therapy at 5 years', Endocrine practice, 2018, DOI:10.4158/EP-2017-0072).

Hewit S et al., Secondary hyperparathyroidism, vitamin D sufficiency and serum calcium 5 years after gastric bypass and duodenal switch, Obes Surg. 2013, Mar;23(3):384-90).

Schafer A L, et al., Intestinal Calcium Absorption Decreases Dramatically After Gastric Bypass Surgery Despite Optimization of Vitamin D Status. J Bone Miner Res. 2015, Aug;30(8):1377-85).

Giuliano A. R., & Wood R.J. ('Vitamin D-regulated calcium transport in Caco-2 cells: unique in vitro model', Am. J. Physiol. 260 (Gastrointest. Liver Physiol. 23): G207-G212,1991).

Goldenberg D et al., Thyroidectomy in patients who have undergone gastric bypass surgery. Head Neck. 2018 Jun;40(6):1237-1244.

قائمة التتابع:

"أ" حمض صفراوي مقترن GCA

"ب" الكثافة البصرية (٪ من العينة المقارنة)

"ج" وسط ناقل (عدد=25)

"د" وسط ناقل + بيوتيرات (عدد=20)

"هـ" GCA(عدد=20)

"و" GCA + بيوتيرات (عدد= 14)

"ز" ANOVA احادي الاتجاه + اختبار لاحق لدونيت

"ح" كلودين-2

"ط" جرعة عالية من فيتامين د+ وسط ناقل

"ي" جرعة عالية من فيتامين د+ جيلداناميسين

"ك" جرعة منخفضة من فيتامين د+ وسط ناقل

"ل" P=400.0

"م" 10نانوجرام فيتامين د3 (عدد=20)

"ن" التحكم الزمني (عدد=9)

"س" "GCA صفر 1 مللي مولار + بيوتيرات صفر

5 مللي مولار (عدد=15)"

"ع" عينة مقارنة

"ف" GCA صفر 1 مللي مولار (عدد=9)

"ص" تدفق Ca2+ (نانومول/سم2*الساعة)

"ق" فيتامين د3

"ر" فيتامين د3+بيوتيرات

"ش" فيتامين د3+GCA

"ت" فيتامين د3+GCA+بيوتيرات

"ث" فيتامين د3+TCA

"خ" فيتامين د3+TCA+بيوتيرات

"ذ" فيتامين د3+GCA+حمض أوليك

عناصر الحماية

1. تركيبة تشتمل على الحمض الصفراوي bile acid حمض الجليكوكوليك glycocholic acid (GCA)، أو ملح منه، وحمض دهني fatty acid واحد تم اختياره من حمض البيوتيريك butyric acid أو حمض الأوليك oleic acid، أو ملح منه.

2. تركيبة وفقاً لعنصر الحماية 1، حيث تشتمل التركيبة المذكورة كذلك على فيتامين د، حيث يتكون فيتامين د بشكل أساسي من فيتامين د3.

3. تركيبة وفقاً لأي واحد من عناصر الحماية 1 أو 2، حيث تشتمل التركيبة كذلك على كالسيوم calcium، حيث يوجد الكالسيوم calcium في صورة كربونات الكالسيوم calcium carbonate، سيترات الكالسيوم calcium citrate، أو فوسفات الكالسيوم calcium phosphate، أو خليط منها.

4. تركيبة وفقاً لأي واحد من عناصر الحماية 1 أو 2، حيث توجد كمية من الكالسيوم calcium وفيتامين د في التركيبة على أنها المدخول اليومي الموصى به recommended daily intake (RDI) أو أقل.

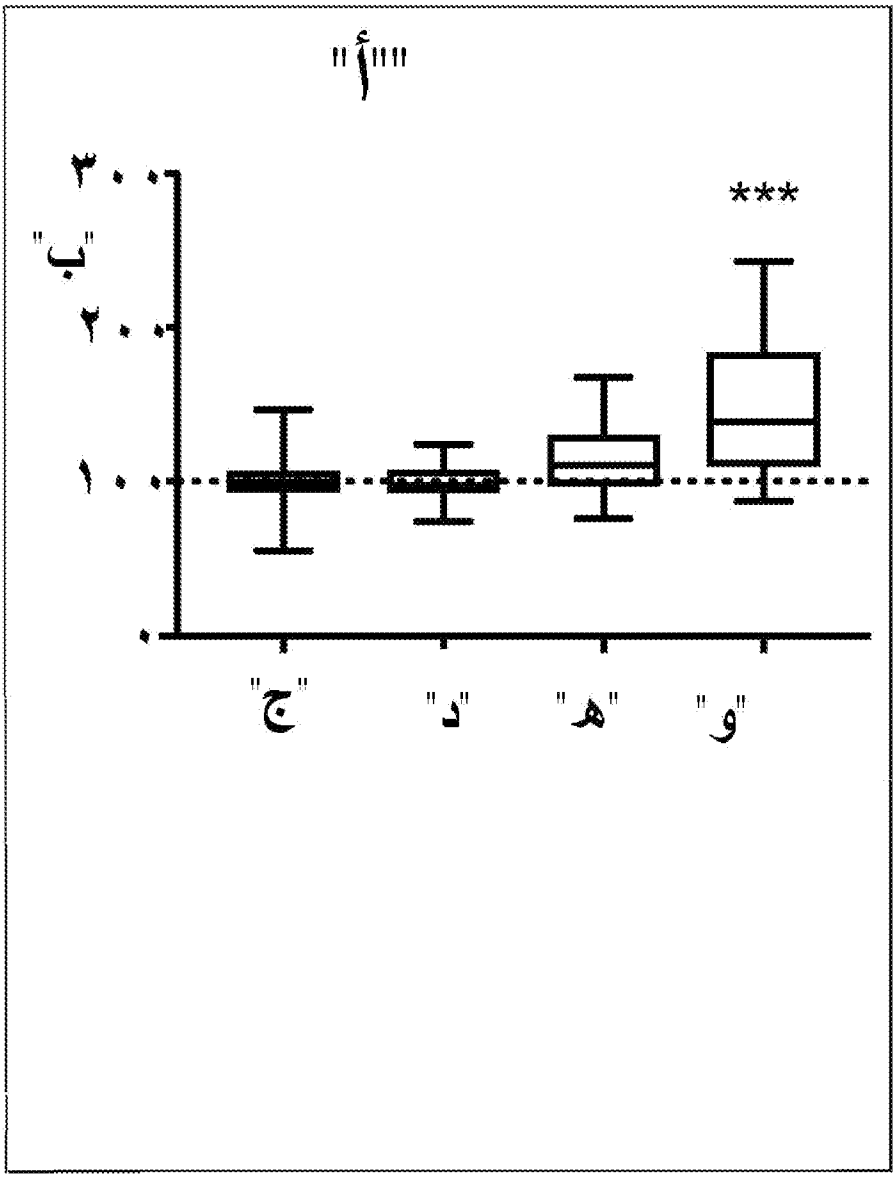
5. تركيبة وفقاً لأي واحد من عناصر الحماية 1 أو 2، حيث تشتمل التركيبة على وسط ناقل vehicle، سواغ excipient، مادة تشحيم lubricant، نكهة، مادة تحلية sweetener، مادة رابطة binder، ومادة تفتيت disintegrant.

6. تركيبة وفقاً لأي واحد من عناصر الحماية 1 أو 2، حيث تتم صياغة التركيبة للتوصيل عن طريق الفم، التوصيل عن غير الطريق المعوي parenteral delivery، التسريب داخل الوريد intravenous infusion، أو الحقن.

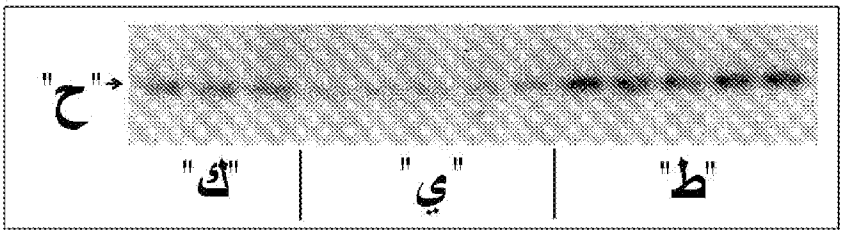
7. تركيبة وفقاً لأي واحد من عناصر الحماية 1 أو 2، حيث تكون التركيبة في صورة سائلة، أو صورة صلبة.

8. تركيبة للاستخدام وفقاً لعنصر الحماية 7، حيث تتم صياغة التركيبة على شكل قرص مضغ chewing tablet، قرص فوار effervescent tablet، مسحوق، حبة، قرص أو كبسولة.

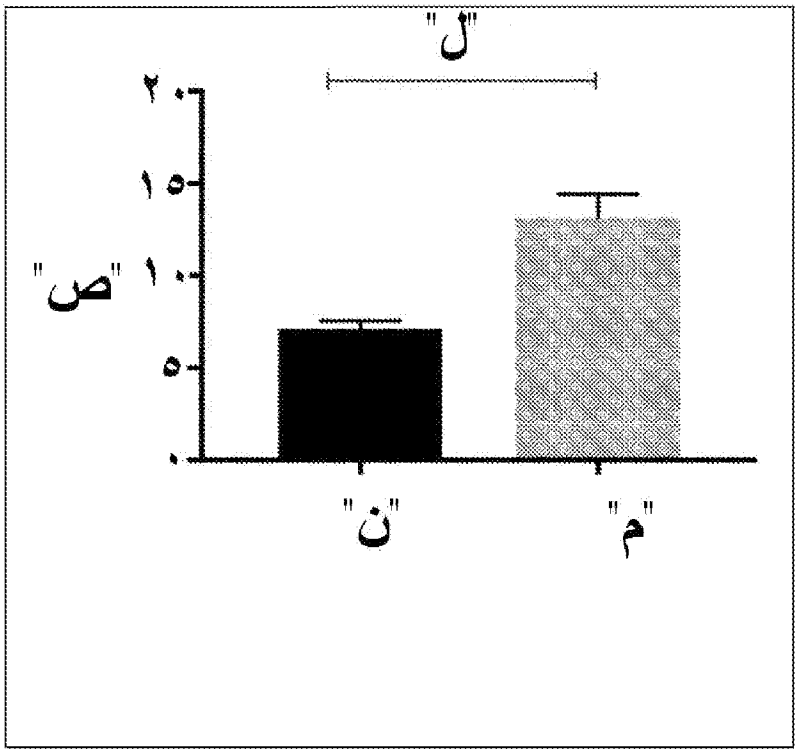
9. تركيبة كما تحددت في أي واحد من عناصر الحماية 1 أو 2، حيث تكون التركيبة المذكورة عبارة عن مكمل غذائي nutritional supplement، أو مكمل متعلق بالحمية dietary supplement.



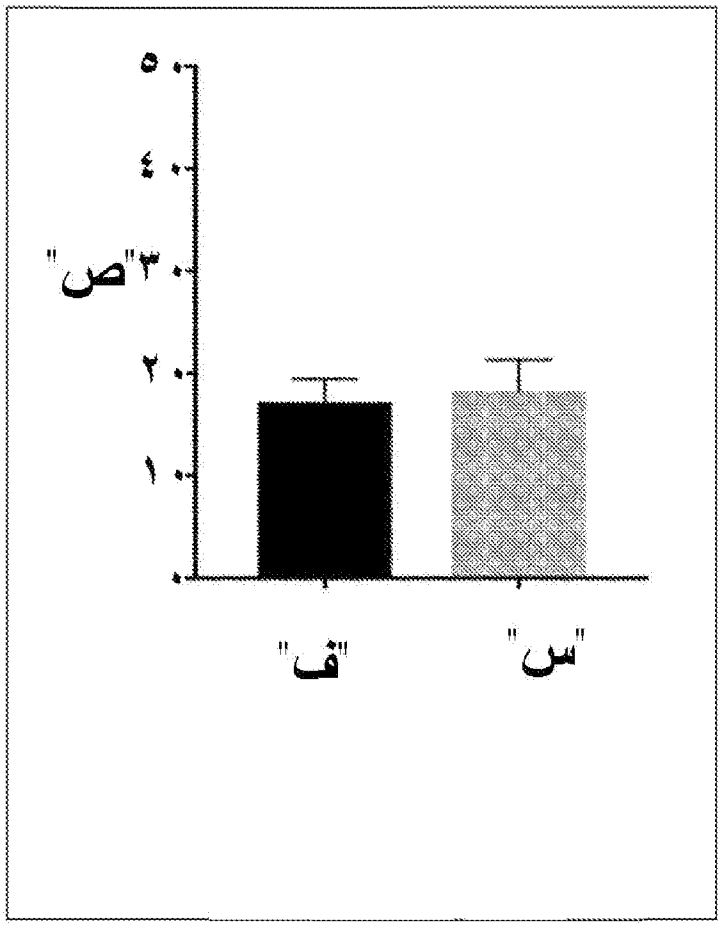
شكل ١



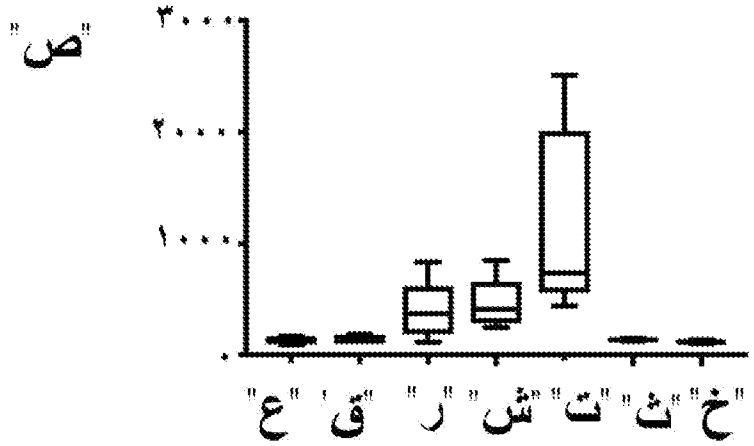
شكل ٢



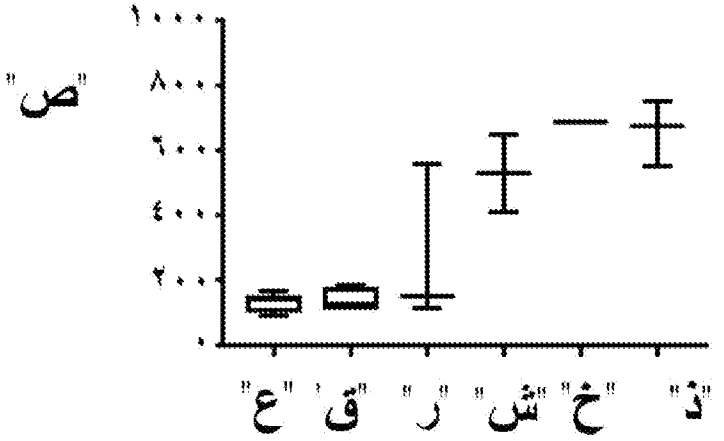
شكل ٣



شكل ٤



شكل ٥



شكل ٦

مدة سريان هذه البراءة عشرون سنة من تاريخ إيداع الطلب

وذلك بشـرط تسـديد المقابل المالي السـنوي للبراءة وعدم بطلانها أو سـقوطها لمخالفتها لأي من أحكام نظام براءات الاختراع والتصميمات التخطيطية للدارات المتكاملة والأصناف النباتية والنماذج الصناعية أو لائحته التنفيذية.

صادرة عن

الهيئة السعودية للملكية الفكرية

ص ب ٦٥٣١ ، الرياض ١٣٣٢١ ، المملكة العربية السعودية

SAIP@SAIP.GOV.SA