



ÚŘAD PRO VYNÁLEZY
A OBJEVY

POPIS VYNÁLEZU K AUTORSKÉMU OSVĚDČENÍ

202 245

(11) (B1)

(51) Int. Cl.³

C 11 B 1/04

A 61 K 35/78//

(22) Přihlášeno 18 05 78

(21) PV 3232-78

(40) Zveřejněno 30 04 80

(45) Vydáno 30 06 82

(75)

Autor vynálezu

MAŠEK Karel, doc., MUDr., Praha,
NOVOTNÝ Ladislav, RNDr., PhMr., DrSc., Kladno,
JANKŮ Ivo, doc., RNDr., PhMr., DrSc., MOTL Otakar, RNDr., CSc. a
JIRIČKA Zdeněk, MUDr., CSc., Praha

(54) Léčebný prostředek k prevenci a léčbě arteriosklerosy

1

Vynález se týká léčebného prostředku k prevenci a léčbě arteriosklerosy.

Arteriosklerosa patří mezi nejrozšířenější lidská onemocnění na světě. Odhaduje se, že 30 až 50 % dospělé populace umírá na kardiovaskulární onemocnění a podstatnou část z nich tvoří srdeční a mozkové infarkty. V řadě vyspělých zemí v posledním desetiletí došlo až k 10% zvýšení úmrtí na arteriosklerosu a postihováni jsou stále mladší a mladší ročníky.

I když je dnes známa řada takzvaných rizikových faktorů, které se podstatnou měrou podílejí na vzniku a rozvoji arteriosklerosy, jedním z nejdůležitějších stále zůstává nadměrný přívod cholesterolu, případně porucha jeho odbourávání v organismu. Jsou proto hledány stále nové a nové látky, které by snižovaly hladinu cholesterolu. V posledních letech jsou se značnými úspěchy používány takzvané esenciální fosfolipidy, kde účinnou složkou je fosfatidylcholin s vysokým obsahem nenasycených mastných kyselin, především kyseliny linolové. Získává se izolací z olejnatých rostlin, především ze soji. Mechanismus příznivého protisklerotického působení není ještě zcela znám, ale s největší pravděpodobností účinkuje fosfatidylcholin jako donor nenasycené mastné kyseliny pro esterifikaci cholesterolu. [J. A. Glomset, K. R. Norum: The Metabolic Role of Lecithin: Cholesterol Acyltransferase; Perspectives from Pathology. Advances in Lipid Research /Editors R. Paoletti and D. Kritchevsky/ Vol. 11, str. 1—65, Academic Press, New York, London 1973].

2

Estery cholesterolu s nenasycenými mastnými kyselinami nemají sklerotizující účinek, neboť jsou ze stěn cév rychle odstraňovány.

[Phosphatidylcholine, Springer Verlag, Berlin — Heidelberg — New York 1976].

Řada důkazů dnes svědčí pro to, že v počátečním stadiu diety s vysokým obsahem cholesterolu prudce klesá aktivita některých dehydrogenáz Krebsova cyklu, zatímco se zvyšují aktivity lysosomálních enzymů kyselé fosfatázy a β -glukuronidázy, a to v době, kdy histologické vyšetření ještě nezaznamená morfologické změny. [C. Velican: Macromolecular Changes in Atherosclerosis. Handbuch der Histochemie Vol. VIII., Part 2, Supplement. Gustav Fischer Verlag, Stuttgart 1974]. Lze předpokládat, že látky, které by zvyšovaly aktivitu enzymů trikarboxylových kyselin Krebsova cyklu by mohly mít protisklerotický účinek, neboť v Krebsově cyklu je metabolismus mastných kyselin a uhlohydrátů propojen a zvýšení aktivity enzymů Krebsova cyklu by mohlo vést ke zvýšené tvorbě adenosin trifosfátu (ATP) s výsledným zvýšením tvorby jak proteinů tak fosfolipidů, ale rovněž by mohlo dojít ke zvýšenému odstranění sklerotizujících lipidů. Takové látky by se mohly vyskytovat například v nezmydelnitelném podílu kukuřičného oleje.

Podstatou vynálezu je léčebný prostředek k prevenci a léčbě arteriosklerosy sestávající ze směsi dvou aktivních složek a to fosfolipidové frakce rostlinného oleje s výhodou sojového s obsahem lecithinu v množ-

ství 40 až 80 % hmotnostních, volných mastných kyselin v množství 5 až 10 %, hmotnostních a sojového oleje v množství 10 až 20 % hmotnostních a složky nezmýdelnitelného podílu rostlinného oleje s výhodou kukuričného, a to v poměru obou složek 100:1 až 10:1 případně s příměsí vitaminů skupiny B a vitaminu E ve stopových množstvích. Dávkování léčebného prostředku se provádí v množství 10 až 50 mg na 1 kg živé hmotnosti a den.

Příklad způsobu výroby léčebného prostředku podle vynálezu:

Fosfolipidová frakce rostlinného oleje se získá izolací při rafinaci surových rostlinných olejů běžným způsobem v potravinářském tukovém průmyslu. Hydratací například surového sojového oleje, který obsahuje 1,5 % hmotnostních fosfolipidové frakce se 3 až 4 % hmotnostními vody za teploty 60 až 80 °C nebo parou se získá vysrážený materiál, který po zbavení se vody tvoří ve vakuu hnědožlutou masu s obsahem 70 % hmotnostních lecithinu, 10 % hmotnostních volných mastných kyselin a 20 % hmotnostních sojového oleje.

Nezmýdelnitelný podíl kukuričného oleje se získá obecným postupem: Biochemistry and Methodology of Lipids — ed. A. R. Johnson and J. B. Davenport — Wiley Inter Sciences N. Y. 1971, str. 30. Zmýdlení kukuričného oleje se provádí v methanolic-kém roztoku za varu v atmosféře N_2 přidáním vodně methanolického roztoku KOH, zředěním vodou a extrakcí nezmýdelnitelného podílu toluenem nebo jiným nepolárním rozpouštědlem. Toluénové výtřepky se zahustí a ze získaného odparku se část fytoosterolů (především β -sitosterol) odstraní krystalizací z ethanolu. Po oddestilování ethanolu se získá nezmýdelnitelný podíl v čistém stavu. Tak například 20 kg oleje se rozpustí v 10 l methanolu, za studena se sytí N_2 po dobu cca 1 h, uvede do varu za stálého probublávání dusíkem a po částech přidá se methanolický KOH (5 kg KOH v 5 l vody s 20 l methanolu). Po reakční době 60 až 120 min. se produkt naředí vodou (15 l) a extrahuje pomocí 3 × 30 l toluenu. Obě složky se smíchají v poměru 20:1 a po přidání vitaminů B_1 , B_2 , B_6 , B_{12} a E vitaminu ve stopovém množství se směs zhomogenizuje zahřátím na vodní lázni při teplotě 60 °C. Produkt se plní do želatiny-vých kapslí s obsahem 200 až 500 mg.

Složka nezmýdelnitelného podílu kukuričného oleje například obsahuje:

9 % parafinů, parafinických alkoholů od C_{22} do C_{30} , squalenu, 19,6 % phyllochinonu, ubichinonu Q_0 , plastochinonu 9, směsi přirozených tokoferolů, jejich dimerů, tokoferolchinonu, 11 % cykloartenolu, 24-methy-

lenlophenolu, cyklosadolu, 24-methylen-cykloartenolu, citrostadienolu, 60,4 % sitosterolu a další rostlinné sitosteroly,

(ubichinoly = 2,3-dimethoxy-5-methyl-6-polyisoprenyl-1,4-benzochinony [počet isoprenových jednotek $n = 6$ až 12],

plastochinon = 2,3-dimethyl-6-nonaisoprenyl-1,4-benzochinon,

phyllochinon = vitamin K_1 = 2-methyl-3-phytyl-1,4-naftochinon,

citrostadienol: 3 β hydroxy-4 α -methyl- 7,24 [28] stigmastadien,

cyclosadol: 3 β hydroxy-24-methyl-9,19-cyclo-9 β -lanosta- 23-en,

cykloartenol: 3 β hydroxy-9,19 cyclo-9 β -lanosta-24-en,

24-methylenlophenol: 24-methylen-4 α -methyl-stigmasta-7-en-3 β ol

24-methylen-cykloartenol: 24-methylen-9,19-cyclo-9 β -lanosta-3 β ol].

Účinek léčebného prostředku je patrný z následujícího příkladu a z přiložené tabulky.

Byli vybráni novozélandští králíci a rozděleni do 5 skupin.

1. Kontrolní skupina 4 králíků, u níž byl sledován rozvoj spontánní arteriosklerosy při normální králíčí dietě.

2. Druhá skupina 4 králíků, u níž byla přidáním 1 %, tj. 1 g cholesterolu a 20 % (20 g) másla k denní normální dietě vyvolána arteriosklerosa.

3. Třetí skupina 4 králíků dostávala stejnou dietu jako skupina sub 2 a kromě toho jim byl obden podáván intravenózně čistěný fosfatidylcholin v dávce 100 mg/kg hmotnosti.

4. Čtvrtá skupina 4 králíků měla stejnou dietu jako skupina sub 2 a dostávala navíc obden fosfolipidovou frakci sojového oleje, tj. jednu složku ze směsi, která je předmětem tohoto vynálezu v množství 400 mg/kg na den.

5. Pátá skupina 4 králíků dostávala dietu jako skupina sub 2 a navíc obden dostávala léčebný prostředek podle vynálezu (viz shora).

Celý pokus trval 3 měsíce a po této době byli králíci zabiti a sledovány morfologické změny v orgánech, zejména ukládání cholesterolu do stěny cév a parenchymu. Závažnost poškození cév a lipidní infiltrace byla vyhodnocena semikvantitativně pomocí bodovacího systému, kdy rozsáhlé změny byly bodovány 6 body, méně závažné 3 body a žádné 0 body. Součet bodů pak vyjadřuje stupeň poškození v různých orgánech. U aorty a srdečních cév byly hlavní změny ve stěně cévní. V případě jater a ledvin šlo především o lipidní infiltraci parenchymu (viz tabulka).

T a b u l k a

Číslo skupiny	Označení skupiny	Králík	Aorta	Srdeční cévy	Mozek	Játra	Ledviny	Celkem bodový ukazatel	Celkem bodový ukazatel skupiny	Celkem bodový ukazatel na 1 zvíře
1.	kontrolní	1	0	0	0	0	0			
		2	0	0	0	0	0			
		3	0	0	0	0	0			
		0	0	0	0	0	0			
2.	cholesterolová dieta	4	6	6	0	0	0			
		5	0	6	3	6	6	27		
		6	6	6	0	6	6	18		
		7	6	3	0	6	6	24		
			18	21	3	24	24	90	90	22,5
3.	cholesterolová dieta + čištěný fosfatidylcholin	8	6	3	0	6	6	21		
		9	6	3	0	6	6	21		
		10	6	3	0	6	6	21		
		11	6	6	0	6	3	18		
			24	15	0	24	18	81	81	20,25
4.	cholesterolová dieta	12	6	3	0	6	3	21		
		13	6	3	0	6	6	21		
	fosfolipidová frakce	14	6	3	0	6	6	21		
		15	6	6	0	6	6	18		
			24	15	0	24	21	84	84	21,
5.	cholesterolová dieta + fosfolipidová frakce + nezmýdelnitelný podíl	16	6	0	0	6	6	24		
		17	3	3	0	6	3	15		
		18	0	3	0	6	9	21		
					0	3	3	9		
		19	3	3	0	3	0	9		
			12	9	0	18	15	54	54	13,6

Z tabulky je zřejmé, že podávání cholesterolu vyvolalo nejzávažnější arteriosklerotické změny v aortě a v srdečních cévách. Došlo však i k výrazné lipidní infiltraci parenchymu jater a ledvin. Přidání čištěného fosfatidylcholinu nebo fosfolipidové frakce sojového oleje (skupiny 3 a 4) se v použitých dávkách projevilo určitým snížením intensity arteriosklerotických změn především v srdečních cévách v průměru o 28,6 %, nikoliv však v aortě, a dále to způsobilo snížení lipidní infiltrace v ledvinách.

Přidání nezmýdelnitelného podílu kuku-

řičného oleje způsobilo výrazné snížení změn ve všech sledovaných orgánech.

v aortě v průměru o	33 %
v srdečních cévách	57 %
v játrech	28 %
v ledvinách	37,5 %

V celkovém bodovém ukazateli byly změny, při použití prostředku dle vynálezu, v průměru o 40 % nižší, zatímco při podávání čištěného fosfatidylcholinu (skup. 3) a při podávání fosfolipidové frakce (skup. 4) bez nezmýdelnitelného podílu kukuřičného oleje jen o 10 %, případně o 6,7 % nižší.

Léčebný prostředek k prevenci a léčbě arteriosklerosy význačný tím, že sestává ze směsi dvou aktivních složek, a to z fosfolipidové frakce rostlinného oleje s výhodou sojového s obsahem lecithinu v množství 40 až 80 % hmotnostních, volných mastných kyselin v množství 5 až 10 % hmotnostních

a sojového oleje v množství 10 až 20 % hmotnostních a složky nezmýdelnitelného podílu rostlinného oleje s výhodou kukuřičného, a to v poměru obou složek 100:1 až 10:1 případně s příměsí vitamínů skupiny B a vitaminu E ve stopových množstvích.