

2051/12

KÖZZÉTÉTELI PÉLDÁNY

P 9202051
192

66832

Bejelentő ^{feltaláló}: XIU Rui-Juan kínai/svéd állampolgár,
Stockholm, Svédország

Cím: "A vaszkuláris belhám-sejtek stimulátora
és annak alkalmazása"

Bejelentés napja: 1992. ^{06.} június 19.

Elsőbbség ^{12.} napja: 1989. december 22. (svéd SE 8904353)

~~Bejelentés alapszáma: P 9202051~~

~~Képviselő: Somfai Kft~~

Nevezetkörü bejelentés száma: PCT/SE90/00868

Nevezetkörü közzétételi szám: WO 91/09607

K I V O N A T

A találmány Tremella fuciformis (Berk) extraktumainak alkalmazására vonatkozik egy olyan gyógyszer illetve biológiailag aktív anyag gyártásánál, amely a vaszkuláris endoteliális sejtek DNS szintézisét stimulálja és optimális helyzetben tartja a mikrovaszkuláris falak permeabilitását. Előnyösen alkalmazható mikrocirkulációs zavarokkal kapcsolatos betegségek kezelésére, illetve AIDS, tromboflebitisz, ateroszklerózis kezelésére, mikroedények szenilis degenerációjának megelőzésére és a jobb vérátáramlás feltételeinek fenntartására.

A találmány tárgya továbbá eljárás hatóanyagként Tremella fuciformis (Berk) extraktumait tartalmazó gyógyszer illetve biológiailag aktív készítmény előállítására, oly módon, hogy valamely ismert módon előállított extraktumot adott esetben a gyógyszergyártásban humán vagy veteriner célra szokásosan alkalmazott adalék és segédanyagokkal összekeverik és/vagy kisserelik olyan készítmény előállítására, amely a beteg szervezetbe adagolva a vaszkuláris endoteliális sejtek DNS szintézisét stimulálja és optimális helyzetben tartja a mikrovaszkuláris falak permeabilitását.

fell. alá
Bácsai Zolt

P9219KIV

SOMFAI & TÁRSAI Kft.
1137 Budapest Pozsonyi út 38.

SOMFAI & TÁRSAI
Iparjogi Iroda Kft
H-1137 Budapest
Pozsonyi út 38.II.5.

3400/92

Tel: 1569-780

1495-298

Fax: 1569-780

66832

2051/92

**KÖZZÉTÉTELI
PÉLDÁNY**

MSZ06

AGAK 35/90

A vaszkuláris belhám-sejtek stimulátora és annak
alkalmazása.

Bejelentő és feltaláló:

XIU Rui-Juan kínai/svéd állampolgár

Stockholm, Svédország

Bejelentés napja: 1992. ~~júnus~~ 19. ^{90.12.21.}

~~Bejelentés ügyszáma: P9202051~~

Elsőbbség napja: 1989. ^{12.} ~~december~~ 22. (Svédország 8904353 sz.)

Nemzetközi bejelentés száma: PCT/SE90/00868

^{Közzétételi szám: WO 91/09607}
~~Nemzetközi bejelentés bejelentve: 1990. december 21.~~

Képviselő: Somfai és Társai Iparjogi Iroda Kft.

Dr Somfai Éva szabadalmi ügyvivő

A jelen találmány olyan gyógyszerekre illetve biológiailag aktív anyagokra vonatkozik, amelyek a *Tremella fuciformis* Berk (továbbiakban TFB) extraktumait tartalmazzák. A TFB nem-toxikus táplálkozási gyógyhatású anyagként ismert gombaféle. A gyógyszer illetve biológiailag aktív anyag stimulálóként hat a véredények belhám-sejtjeinek DNS szintézisére.

A *Tremella fuciformis* Berk (TFB) a Hymenomycetes osztályának Eumycotae alosztályába tartozik (Ainsworth and Bisby's Dictionary of the Fungi, 1971).

A TFB-t igen nagy becsben tartják Kínában, ahol igen hosszú történelemmel rendelkező, magas színvonalú táplálkozási orvosságként ismerik. Így a régi orvosi irodalom szerint a TFB-nek gyógyító hatásokat tulajdonítottak, mégpedig: a sókiválasztás elősegítése, a tüdőnedvesség és a száraz köhögés megszüntetése, torokfájás csökkentése, véres köhögés megszüntetése, gyomorfájdalmak enyhítése, szorulás és véres széklet megszüntetése, fáradt izmok fellazítása, a jó hangulat és emlékezőtehetség elősegítése, a bőr fiatal állapotban tartása és a haj fényességének megőrzése stb.

Az elmúlt 15-20 évben Kínában és Japánban a TFB-vel kapcsolatosan tudományos tanulmányokat végeztek. Így leírták krónikus bronhitisz és krónikus tüdőbaj kezelését (Journal of Medicine and Material Medica, 1978, 21-25 oldal, San Ming Kutató Állomás).

Liu Zhi-bin és társai beszámoltak arról, hogy orálisan vagy

—

állította vissza (Chin. Med. Journal of Radiation and Protection, 1983, 65-66 oldal).

11.0 %-kal emelkedett.(Chin. Med. Journal of Radiation and Protection 1984, (3) 54-55 oldal).

megvédte a csontvelő vérképző funkcióját (J. Zhonghua Fangshe Yixue Yu Fanghu 5(4) 1985. 262-265 oldal). Azonban eddig semmiféle tanulmányt nem publikáltak a TFB-nek közvetlenül a mikrovaszkuláris endoteliális funkcióra gyakorolt hatásáról.

fagocitotikus eltávolítását a keringésből a retikulo-endoteliális rendszer (RES) makrofágjai által. (Immuno-

farmakológiai tanulmányok a Tremella poliszaharidjaival kapcsolatban, Zhongcaoyao 1984, 15(9) 23-6 22). Azt is megfigyelték, hogy TP antagonizálta a RES immun-inhibitorokkal gátolt fagocitotikus funkcióját. A TFB-nek magukra a belhám-sejtekre gyakorolt hatásával kapcsolatban azonban nem jelent meg publikáció, még kevésbé pedig a véredények belhámával kapcsolatban, amely a RES-től eltérő.

Azokat az endoteliális sejteket, amelyek a retikulo-endoteliális rendszerhez (RES) tartoznak "retikulo-endoteliális sejteknek" nevezik. A "RES" nevet 1924-ben Dr. Aschoff javasolta, aki azt is felvetette, hogy azokat a mononukleáris sejteket, amelyeknek fagocitózis- vagy granulá és színes anyag tárolási funkciójuk van, egyetlen rendszerbe egyesítsék. Ezek a sejtek közös védelmi funkcióval rendelkeznek a testben és ezért ezeket a sejteket "retikulo-endoteliális rendszernek" nevezte. A rendszer magába foglal rögzített vagy mozgatható makrofágokat és mononukleáris sejteket a véráramban. Azonban mostanában ezt a kifejezést általában a "mononukleáris fagocitotikus rendszer" kifejezéssel helyettesítették.

Több japán szabadalmi publikáció ismerteti a TFB micéliumából és termő testeiből készült extraktumok alkalmazását daganatellenes és karcinostatikus kezelésre többek között az alábbi közzétett japán szabadalmi bejelentésekben: 57017518-B4, 6057835-B4, 54011250-A, 53107407-A és 52107406-A.

1988-ban beszámoltak arról (63183537 sz. japán szabadalmi bejelentés), hogy a TFB gyulladásgátló gyógyszerként is alkalmazható, különösen a kozmetikai területen, azonban ebben a beszámolóban a TFB gyulladásgátló hatását kísérleti és klinikai adatokkal nem mutatták be és nem bizonyították.

A jelen találmány értelmében azt találtuk, hogy olyan gyógyszerek illetve biológiailag aktív anyagok, amelyek TFB-extraktumokat tartalmaznak, a vaszkuláris endoteliális sejtek DNS-szintézisére stimuláló hatással rendelkeznek. Ennek a hatásnak igen nagy jelentősége van a mikrokeringési rendszerben és az abban szerepet játszó finom mikroedényekben a fő életfunkciók elősegítése érdekében, mint amilyen a növekedés, fejlődés, reprodukció és regeneráció.

Ezeket a fontos funkciókat csökkentik, illetve gátolják mind a hosszú időn át tartó súlyos betegségek mind a test természetes öregedése. Így a TFB-nek fontos alkalmazási területe szenilis személyek kezelése mikroedényeik szenilis degenerációjának megelőzésére és annak érdekében, hogy agyuk, szívük és más létfontosságú szervük vérrellátását jobb állapotban lehessen tartani.

A jelen találmány szerint meglepő módon azt is megállapítottuk, hogy a vaszkuláris endoteliális sejtek DNS szintézisének ezen stimuláló hatását felhasználhatjuk az ismert HIV-antivírus ágensekkel kombinálva, így az AZT-vel AIDS páciensek kezelésekor állapotuk javítására. A TFB-nek ezen hatása közvetlenül kapcsolatban áll a mikro-keringési rendszerrel, mivel azt találtuk (lásd a 3. sz. példát) hogy

az AIDS betegek mikrocirkulációs zavarokban szenvednek, amelyeket a vaszkuláris endoteliális sejtek súlyos károsodása okoz (lásd 5-9 ábrákat).

A rajzok jelentése:

1. ábra

Az ábrázolt görbe TFB hatását mutatja nem-konfluentált (nem-összefolyatott) humán vaszkuláris endoteliális sejtek DNS szintézisére (5 % humán szérum). Az ábrán ^3H timidin beépülése $\text{CPM} \times 10^4$ ($X+SE$) a hígítás függvényében látható.

2. ábra

Az ábrázolt görbe TFB hatását mutatja konfluentált humán vaszkuláris endoteliális sejtek DNS szintézisére (5 % humán szérum). Az ábrán ^3H timidin beépülése $\text{CPM} \times 10^4$ ($X+SE$) a hígítás függvényében látható.

3. ábra

Az ábrázolt görbe TFB hatását mutatja újszülött patkány agyi mikroedény endoteliális sejtek DNS szintézisére (REC-non-konfluens 5 % FCS). Az ábrán ^3H timidin beépülése $\text{CPM} \times 10^4$ ($X+SE$) a hígítás függvényében látható. * = patkány endoteliális sejtek.

4. ábra

Az ábrázolt görbe TFB hatását mutatja újszülött patkány agyi mikroedény endoteliális sejtek DNS szintézisére (REC-non-konfluens 10 % FCS). Az ábrán ^3H timidin beépülése $\text{CPM} \times 10^4$ ($X+SE$) a hígítás függvényében látható. * = patkány endoteliális sejtek.

5. ábra

Körömszegély hajszálér-kacsok (1-7 sz.) mikrofényképe látható, ami egy AIDS beteg gyenge vérátáramlását mutatja be.

6. ábra

Az ábrán látható mikrofényképet a vizsgált AIDS betegről azokban a periódusokban készítették, amikor valamennyi hajszálér-kacs hiányában volt az aktív véráramnak, de a károsodott vaszkuláris endoteliális sejtek és a hajszálér-kacs fala (#5) még látható a mikroszkópikus térben.

7. ábra

Az ábrán látható mikrofénykép olyan hajszálér-kacsot mutat, amelyet egy AIDS beteg körömszegély ágyában az endoteliális sejtben talált falkárosodás számítógépes képanaliziséhez használtak.

8. ábra

Az ábra AIDS beteg körömszegélyének mikrofényképét mutatja, amelyen látható a vörös vérsejtek akkumulációja a hajszálér-kacsok csúcsának környékén, azokban a periódusokban amikor a kacsok aktív véráram nélküli állapotban voltak.

9. ábra

Az ábrán látható mikrofénykép egy AIDS beteg esetében vérsejtjeinek kiszivárgását mutatja, olyan területeken, ahol a véráram nélküli hajszálér-kacsok hézagossá váltak

(# 1, 2, 3, 4.).

A vaszkuláris endoteliális sejtek képezik a belhámot, amely

az egész szív-érrendszer és nyirok-rendszer ér-belhártyáját felépíti. Ezek a sejtek képezik az egyedüli mátrixot a valódi kapilláris falon a mikrocirkulációs rendszerben. A vaszkuláris endoteliális sejtek fontos szerepet játszanak az élettani homeosztázis fenntartásában, a mikroeres válasz közvetítésében sok élettani, patológiai és farmakológiai inger esetében.

A vaszkuláris endotélium képezi az alapját a gát-funkciónak, mint amilyen az agyi vér-gát (BBB = blood brain barrier). A vaszkuláris endoteliális sejtek képesek az RDEF (endotélium eredetű relaxációs faktor) és EDCF (endotélium eredetű összehúzó faktor) felszabadítására, és ezeken a faktorokon keresztül arra, hogy befolyásolják a simaizom sejteket, hogy szabályozzák az érmozgató aktivitásokat, beleértve a mikroeres érmozgást is. Az érmozgás rendellenességei fontos szerepet játszanak a szívizom és az agy isémiájában. A vaszkuláris endoteliális sejtek rendellenes működése ezen túlmenően a tromboflebitisz, a magas vérnyomás, az atheroszklerózis körfejlődésében egyike a kulcs tényezőknek. Öregedő emberek vaszkuláris endoteliális aktivitása csökkent.

Az alábbi 1. példában leírt kísérletek során azt találtuk, hogy a TFB igen jelentősen fokozta a humán vaszkuláris endoteliális sejtek DNS szintézisét.

1. példa

A. Anyagok és módszerek

a.

TFB törzsoldat készítése:

10 g Tremella Fuciformis termény-testből készült száraz porhoz 1000 ml kétszer desztillált vizet adunk, majd keverés közben laboratóriumi elektromos fűtővel forrásig melegítjük. 20 percig forraljuk. A kapott szuszpenziót ezután 0,2 mm-es szűrőn leszűrjük (Cambridge, MA, Cat. 8110 sz.) A kapott folyadék képezi a TFB törzsoldatot. -20 C°-on megfagyasztjuk. A kompozíció:

(1) Proteinek és aminosavak 15 - 20 %

(2) Enzimek 1 - 5 %

(3) Poliszaharidok 70 - 80 %

b.

A vaszkuláris endoteliális sejtek készítése:

Humán vaszkuláris endoteliális sejteket (HEC) egészséges magzat köldökzsinór vénából izolálunk. Ezen cellák szaporítása, tenyésztése és tripszinizációja a standard módszerrel történik.

c.

DNS szintézisre vonatkozó vizsgálat HEC-ben:

1 : 50, 1 : 250, 1 : 1250, 1:6250 és 1:31250 koncentráció arányokban vett TFB mintákat hígítunk M-199 + humán szérummal (5 % vagy 10 %) és 96 üreges lapos aljú csészében inkubáljuk 72 órán át, majd a DNS szintézist

meghatározzuk 24h 3H-timidin pulzussal (0,5 uci/well, Boston, USA). A sejteket automatikus sejtbegyűjtővel összegyűjtjük és ezután egy új Betaplat liquid Scintillation Counter segítségével (LKB 1205 Svédország) számláljuk. Az adatfeldolgozás IBM 288 mikrokomputeren készült.

B.

Eredmények

a.

A TFB nagyon szignifikánsan fokozta HEC DNS szintézisét sovány tápközegben (5 % humán szérum): nem konfluentált 134 %-kal és konfluentált állapotban 89 %-kal volt magasabb, mint a kontroll csoport ($p < 0.001$): 1. ábra és 2. ábra).

b.

A TFB igen szignifikánsan fokozta HEC DNS szintézisét egy viszonylag jobb tápközeg esetében (10 % humán szérum). Kontroll csoport ($p < 0.001$).

c.

A TFB szignifikánsan fokozta HEC DNS szintézisét jó tápközegben (20 % humán szérum). 32,4 %-kal magasabb, mint a kontroll csoport ($p < 0.001$) konfluentált állapotban.

A következő 2. példában leírt kísérletek során azt találtuk, hogy TFB nagyon szignifikáns stimuláló hatással rendelkezik az agy endoteliális sejtjeinek DNS szintézisére. Ezek azok a sejtek, ahol az agyi vérgát (BBB) elhelyezkedik.

2. példa

A. Anyagok és módszerek

a. TFB törzsoldat:

Azonos azzal, amelyet az 1. példában használtunk.

b. Mikrovaszkuláris endoteliális sejtek:

Patkány agyi mikroerek izolálása:

A tenyésztés minden időszakában 10 újszülött Wister patkányt ölünk meg a nyaki csigolyák kiízesítése útján. Az egész patkány testet 75 %-os etanolba helyezzük 2-3 másodpercig. A patkány agyat anatómiai úton eltávolítjuk és pH=7,4 értékű, foszfát-pufferral beállított sófürdőbe (PBS) helyezzük jégen. A 10 agyat gondosan megtisztítjuk a látgy agyburoktól. Ezután az agyakat PBS-el öblítjük és 10 ml PBS-ben homogenizáljuk üveg homogenizálóban miközben 20-szor fel - le ütögetjük az edényt. A homogén anyagot 88 μm pórusú nylon szitán szűrjük és PBS-sel öblítjük. Az összegyűjtött anyagot ismét homogenizáljuk PBS-ben majd egy 88 μm szitán ismét szűrjük. Ezután a mikroedény szegmenseket összegyűjtjük. Valamennyi fenti lépést steril körülmények között végezzük el.

RBEC izolálása és tenyésztése:

Az agyi mikroér szegmenseket szuszpendáljuk 10 ml olyan PBS-ben, amely 10 ml kollagenázt (Sigma Co, St. Louis) és 10 g marhaszérum albumint tartalmaz, majd 37 C°-on 10 percen át inkubáljuk és 1000 RPM mellett 10 percen át

centrifugáljuk. A felülúszót eltávolítjuk, majd a kollagenázzal kezelt mikroedény szegmenseket összegyűjtjük és 60 m² Petri csészében elhelyezett tápközegbe helyezzük, majd 37 C°-on inkubáljuk 5 % CO₂ levegőben. 40 perc után a közeget olyan friss tápközegre cseréljük ki, amely endoteliális sejt növekedési faktort tartalmaz. Ettől kezdve a preparálást 2-3 naponként megismételjük.

Tápközegként Médium 199-et használtunk, amely 20 % magzati borjúsérumot, (FCS) és 1 % glutamint tartalmaz. A tápközeg minden milliliterében 100 μ penicillin, 100 μ g streptomycin és 25 μ nisztatin van jelen. A médiumot pH 7.4 értékre állítjuk be 2,5 % nátrium-hidrogén-karbonát alkalmazásával, majd szűrőssel sterilizáljuk (0.22 μ m millipor szűrőn).

RBEC tripszinizációja és szélesztése:

Az izolálást követő 6-8 nap után az RBEC-t, amely a csészékben nőtt, 3 alkalommal PBS-sel mossuk és azután minden csészéhez 0.25 % tripszint és 0,02 % EDTA-t adunk. 37 C°-on inkubáljuk 7-8 percen át. A tripszinizációt megszakítjuk 3 ml frissen elkészített médium hozzáadásával minden egyes csészében. Valamennyi RBEC összegyűjtése után 5 percen át centrifugálunk 1500 rpm mellett. A felülúszót kiöntjük. A cellákat M-199 + 20 FCS alkalmazásával kimosuk. Ismét kiöntjük a felülúszót. A jól kevert sejtekhez M-199 + 20% FCS és ECGF optimális mennyiségét adjuk és Burker számlálóval számláljuk a sejteket.

Ezután a sejteket 96 üreges lapos aljú csészében szélesztjük (2500 sejt/üreg) és 37 C°-on 5 % szénsavat

tartalmazó levegő és 80 % nedvesség jelenlétében 24 órán át inkubáljuk.

c.

A szélesztést követő 24 óra után az M-199 + 20% FCS a 96 üreges csészeminden egyes üregéből eltávolításra kerül. Ezután TFB mintákat adunk az üregekbe 1:10, 1:50, 1:250, 1:1250, 1:6250, 1:31250 koncentrációkban M-199 + FCS (5% vagy 10 %)-val való hígítás után, a korábban leírt sorrendben. A DNS szintézisnek a patkányagyi endoteliális sejtekben (RBEC) való meghatározása és az adatfeldolgozás ugyanaz, mint az 1. sz. példában.

B. Eredmények:

TFB nagyon szignifikánsan stimulálja az RBEC DNS szintézisét:

a.

Amikor RBEC-et 5 % magzati borjúsérumon (FCS) tenyésztettünk nem konfluens állapotban, akkor a DNS szintézis 69,6 %-kal nagyobb volt, mint a kontroll ($p < 0.001$), lásd 3. ábra.

b.

Amikor RBEC-et 10 % magzati borjúsérumon (FCS) tenyésztettünk nem konfluens állapotban, akkor a DNS szintézis 81,4 %-kal magasabb, mint a kontroll ($p < 0.001$), lásd 4. ábra.

3. példa

Annak vizsgálatára, hogy AIDS betegek érrendszeri zavarai milyen mértékig fejlődtek ki, a fejlődési stratégia

eszközeként ezen betegek kezelésében való segítség céljából
 11 AIDS betegen és 11 egészséges európai felnőtt
 személyen a körömszegély intravitális CCTV-mikroszkópikus
 megfigyelését végeztük el. A betegekben a súlyos
 mikrovaszkuláris zavar egyedülálló típusát állapítottuk
 meg, amint az az 5-9. sz. ábrákon látható.

Az 5. sz. ábra körömszegély kapilláris hajszálér-kacsok
 (1-7. sz.) mikrofényképét mutatja, amelyen látható a
 nemkielégítő vérátömlés, amely az automatikus alternatív
 kapilláris áram rendellenes működéséhez kapcsolódik. A #8,
 9, és 10 hajszálér-kacsok lassan mozgó vörsejtekből álló
 oszlopot tartalmaznak, amelyek aggregált formában jelennek
 meg (nagyítás = 400).

A 6. sz. ábra olyan periódusban készült mikrofényképet
 mutat, amelyben valamennyi hajszálér-kacs mentes az aktív
 vér-áramlástól. A hajszálér-kacs (#5) károsult fala még
 látható a mikroszkópikus mezőben (nagyítás = 400).

A 7. sz. ábra olyan véredény kacs mikrofényképét
 mutatja, amelyet egy AIDS beteg körömszegély ágyának
 károsult faláról készített képanalízishez használtak
 (nagyítás = 800).

A 8. sz. ábrán látható körömszegély mikrofénykép a vörös
 vörsejtek összegyülemlését mutatja a hajszálér-kacsok
 csúcsain, olyan időszakokban, amikor a kacsok mentesek
 voltak az aktív véráramtól (nagyítás = 400).

A 9. sz. ábrán lévő mikrofénykép olyan vörös vörsejteket
 mutat, amelyek kiléptek olyan területeken, ahol a
 hajszálér-kacsok szivárogtak (#1, 2, 3, 4) és nem volt ben-
 nük véráram (nagyítás = 400).

Amint az az 5-9. ábrákon látható, ezeknél a betegeknél súlyos mikrovaskuláris zavarokat találtunk, mint amilyen

1)

A kapilláris vérkiömlés spontán, ritmikus alkalmazkodásának megszüntetése (5. ábra).

2)

A kapilláris fal belhámjának jelentős károsodása. A patológikus területek számítógépes képanalízise jelzi, hogy a belhám-sejtek citoplazmájában vagy azok körül heterogén tömeg jelenik meg (6. és 7. ábra).

31

A vörös sejtek aggregációja és az érből való kilépése, a kapilláris fal alacsony tenziója, a mikroerek falának magas permeabilitása (8. és 9. ábra).

A fentiek arra engednek következtetni, hogy az AIDS szindróma patogenetikus kifejlődésében jelentős szerepet játszik a mikrocirkuláció. Az AIDS klinikán számos betegnél jelentkeztek mikrocirkuláris diszfunkciók, köztük a végtagok hidegsége és/vagy zsibbadtsága, a disztális végtagok érzékelési rendellenességei, amelyek nem felelnek meg egy speciális ideg elosztásnak, cianotikus vagy sötét kezek és lábak és hajas (szőrös) leukoplákia. A fent említett tünetekre magyarázatként szolgálhatnak az autوماتikus alternatív kapilláris véráram perfúziójának súlyos akadályozása, isémia, a periféris szövetek hipoxiája és a mikrovaszkuláris belhám kiterjedt károsodása.

Egy, az AIDS késői stádiumában lévő AIDS betegnek (férfi), aki már Kaposi Sarcoma-ban szenvedett, és egész

teste felületén sebek borítják a bőrt, napi háromszor TFB adagot adtunk: Két hét múlva az általános állapota oly mértékben javult, hogy el tudta hagyni az ágyat és egész napokra fel tudott kelni. A sebek körüli fájdalomérzés lényegesen csökkent. Ezen túlmenően az étvágya is jelentős mértékben javult.

4. példa

Hisztamin által indukált magas permeabilitás TFB által való gátlása a mikrovaszkuláris falban

A. Anyagok és módszer

a. TFB táplálék patkányok részére:

100 ml forralt vízhez 100 g TFB port adunk, majd az elegyet kínai konyhai gőzölőben 30 percen át gőzöljük és hűtőszekrényben tároljuk felhasználásig.

B. Állat 4 hetes hím Wister patkány

C. Kísérleti eljárás:

a) A kísérleti patkány-csoport 10 tagjának hosszú tompa tűvel ellátott injekciós fecskendőn keresztül perorálisan esetenként 1 ml TFB oldatot adunk naponta két alkalommal és a kontroll csoporthoz tartozó további 10 patkánynak azonos módon tiszta forralt vizet adunk 7 napon át.

b.) A cremaster izolálását célzó operációt pentobarbitállal (50 mg/kg) végzett altatás alatt végezzük el. Ezután a cremastert Krebs-fürdőben ($PCO_2=40$ Hgmm, $PO_2=34.5$ Hgmm, pH = 7.4, hőmérséklet = $34.5^\circ C$) szuszpendáljuk. Az artéria femoráliszon keresztül fluoreszcein-izotiocianáttal jelzett (FITC) albumint injektálunk. A felvett számítógépes képen fluoreszcein televíziós mikroszkópiával mérjük a

mikrocirkuláció fluoreszcens intenzitását.

B. Eredmények:

a.

Hisztamin (a fürdőhöz adva) koncentrációtól függő szivárgást okozott az FITC-jelzett albuminban, amely a kontroll csoport patkányainak mikroereiből származott.

b.

A TFB-vel etetett patkányok (kísérleti csoport) mikroereiből származó és FITC-vel jelzett albumin szivárgása szignifikánsan gátolt ($P < 0.01$) volt.

c.

Hisztaminnak a Krebs fürdőhöz való adagolás előtt az FITC-vel jelzett albuminnak a mikroerekből való szivárgása a patkányok egyik csoportjánál sem lépett fel.

1. Táblázat

TBF hatása hisztamin által kiváltott permeabilitásra

Csoport	Hisztamin előtt	Hisztamin koncentrációja (moláris)			
		1×10^{-6}	1×10^{-5}	1×10^{-4}	1×10^{-3}
Kontroll	9 ± 1.1	9 ± 1.2	12 ± 1.1	32 ± 3.2	61 ± 4.5
Kísérleti	9 ± 0.9	9 ± 0.5	11 ± 3.4	* 14 ± 2.6	* 18 ± 5.1

* $P < 0.01$

A mikrovaszkuláris fal permabilitása nagyon függ az interendoteliális sejtfunkciók állapotától. Ezeknek a

kísérleteknek az eredménye azt mutatta, hogy lehetőség van arra, hogy a mikrovaskuláris falban az endoteliális hézag kialakulását hisztamin potenciálja és ez volt az oka a mikroerekből való makromolekuláris protein szivárgásnak. Megfigyeléseink azt mutatják, hogy TFB alkalmas lehet a vaszkuláris endoteliális sejtek hisztamin okozta károk elleni védelmére.

Szabadalmi igénypontok.

1. Tremella fuciformis (Berk) extraktumainak alkalmazása olyan gyógyszer illetve biológiailag aktív anyag gyártására, amely a vaszkuláris endoteliális sejtek DNS szintézisét stimulálja és optimális helyzetben tartja a mikrovaszkuláris falak permeabilitását.

2. Tremella fuciformis (Berk) extraktumainak alkalmazása az 1. igénypont szerinti gyógyszer illetve biológiailag aktív anyag gyártására mikrocirkulációs zavarokkal kapcsolatos betegségek kezelésére.

3. Tremella fuciformis (Berk) extraktumainak alkalmazása a 2. igénypont szerint AIDS kezelésére szolgáló gyógyszer illetve biológiailag aktív anyag gyártására.

4. Tremella fuciformis (Berk) extraktumainak alkalmazása az 1. vagy 2. igénypont szerint tromboflebitisz kezelésére szolgáló gyógyszer illetve biológiailag aktív anyag gyártására.

5. Tremella fuciformis (Berk) extraktumainak alkalmazása az 1. vagy 2. igénypont szerint ateroszklerózis kezelésére szolgáló gyógyszer illetve biológiailag aktív anyag gyártására.

6. Tremella fuciformis (Berk) extraktumainak alkalmazása az 1. vagy 2. igénypont szerint olyan gyógyszer illetve biológiailag aktív anyag gyártására, amely szenilis

személyek kezelésére szolgál a mikroedények szenilis degenerációjának megelőzésére és agyukban, szívükben és más szerveikben a jobb vérátáramlás feltételeinek fenntartására.

7. Eljárás Tremella fuciformis (Berk) extraktumait tartalmazó biológiailag aktív készítmény előállítására, a z z a l j e l l e m e z v e, hogy az ismert módon előállított extraktumot adott esetben a gyógyszergyártásban humán vagy veteriner célra szokásosan alkalmazott adalék és segédanyagokkal összekeverünk és/vagy kikészítünk olyan gyógyszer illetve biológiailag aktív szer előállítására, amely a vaszkuláris endoteliális sejtek DNS szintézisét stimulálja és optimális helyzetben tartja a mikrovaszkuláris falak permeabilitását.

8. A 7. igénypont szerinti eljárás Tremella fuciformis (Berk) extraktumait tartalmazó gyógyszerkészítmény előállítására, a z z a l j e l l e m e z v e, hogy az ismert módon előállított extraktumot adott esetben a gyógyszergyártásban humán vagy veteriner célra szokásosan alkalmazott adalék és segédanyagokkal összekeverünk és/vagy kikészítünk olyan gyógyszer előállítására, amely alkalmas szenilis betegek kezelésére, a mikroedények szenilis degenerációjának megelőzésére és agyukban, szívükben és más szerveikben a jobb vérátáramlás feltételeinek fenntartására.

A bejelentő nevében a képviselő

20 oldal
4. rész
24 oldal
Balesi Zoltán



2054/192

XIU Rui-Juan

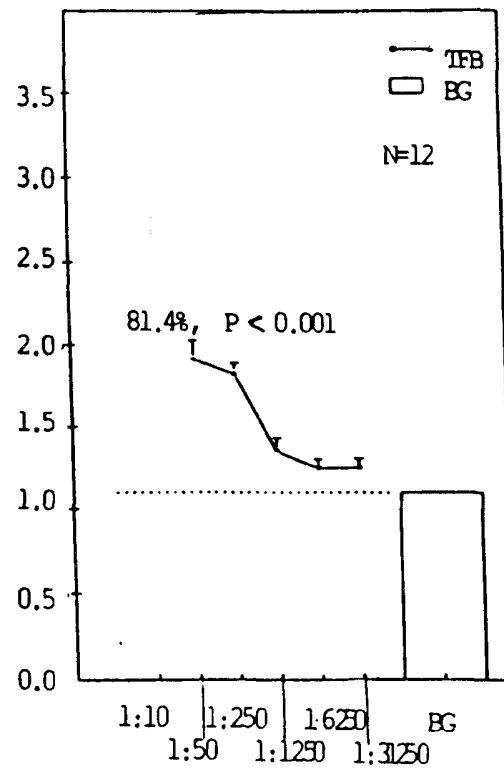
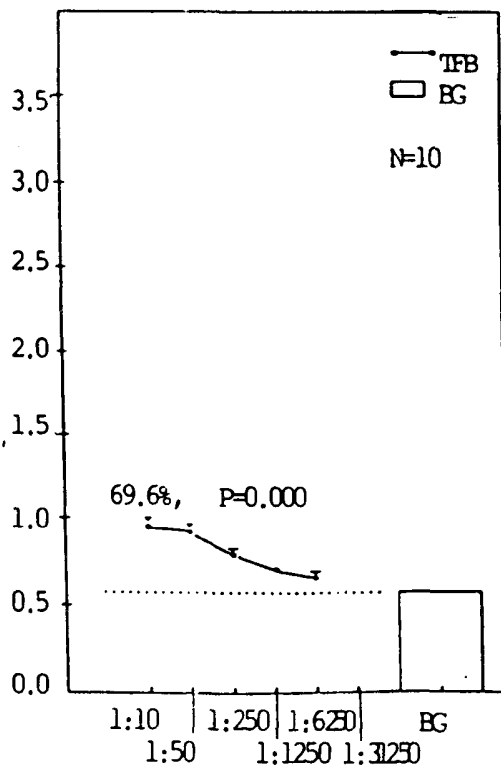
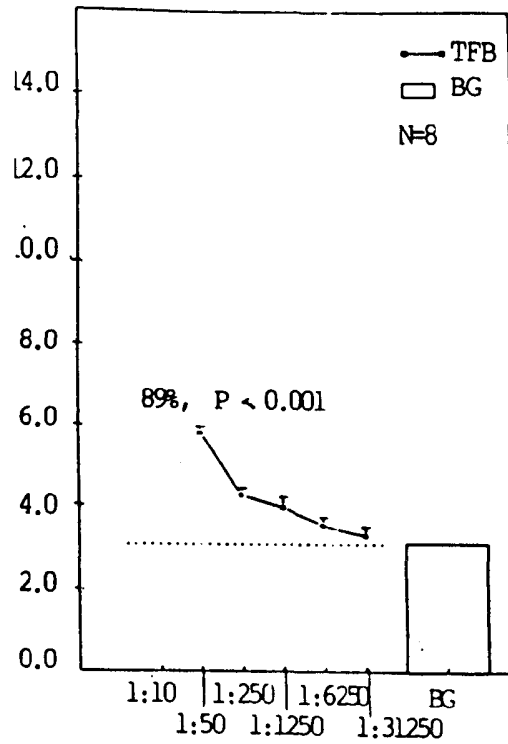
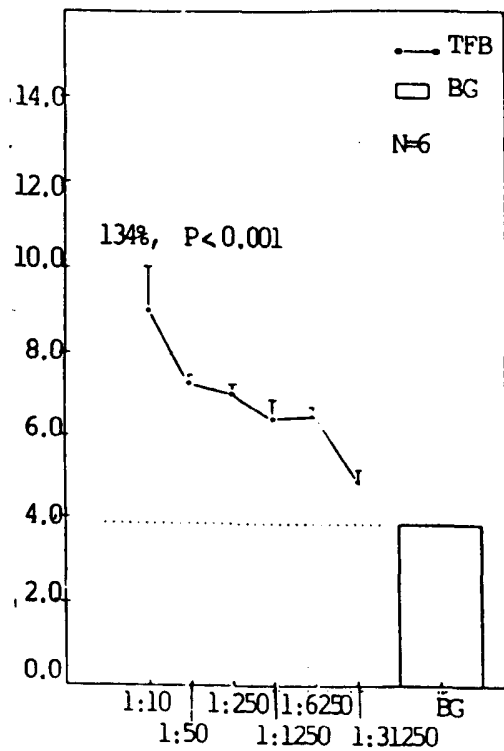
KÖZZÉTÉTELI PÉLDÁNY

P9202051

192

66832

4/1

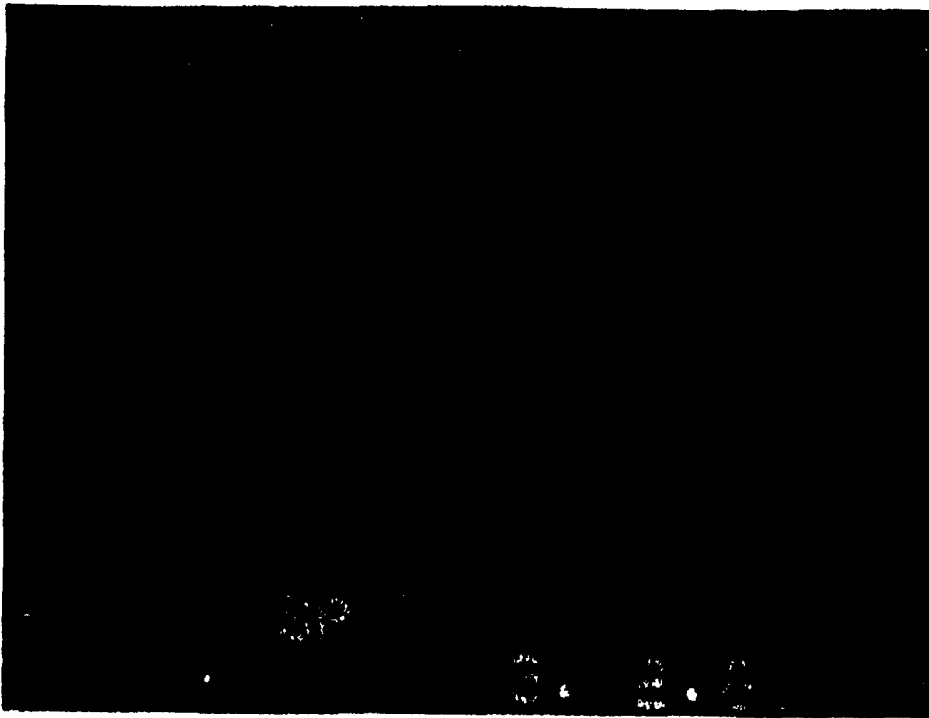


34200

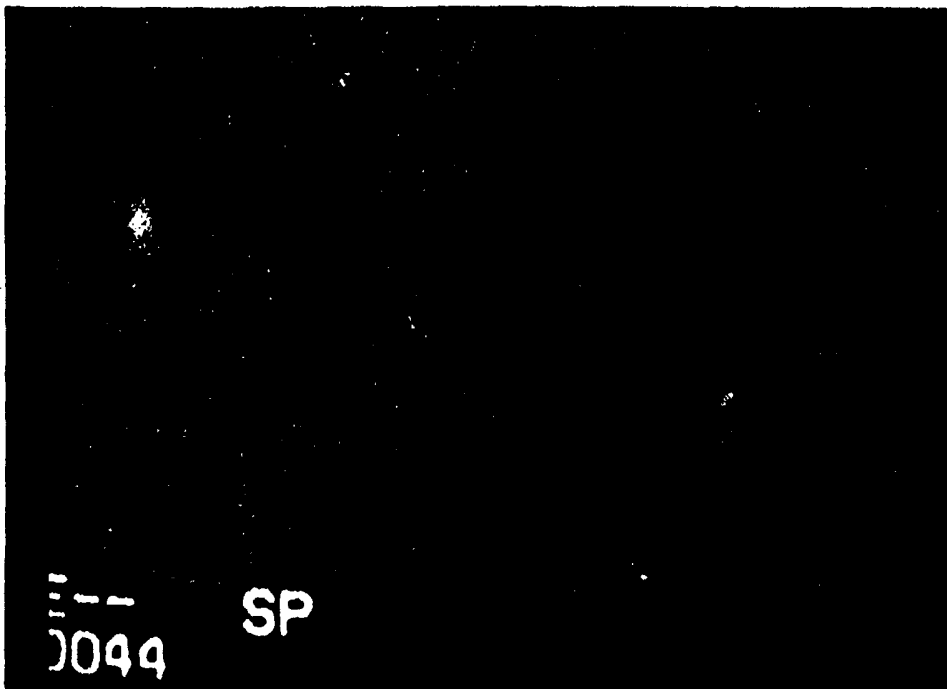
XIU Rui-Juan

P 9202051

4/2

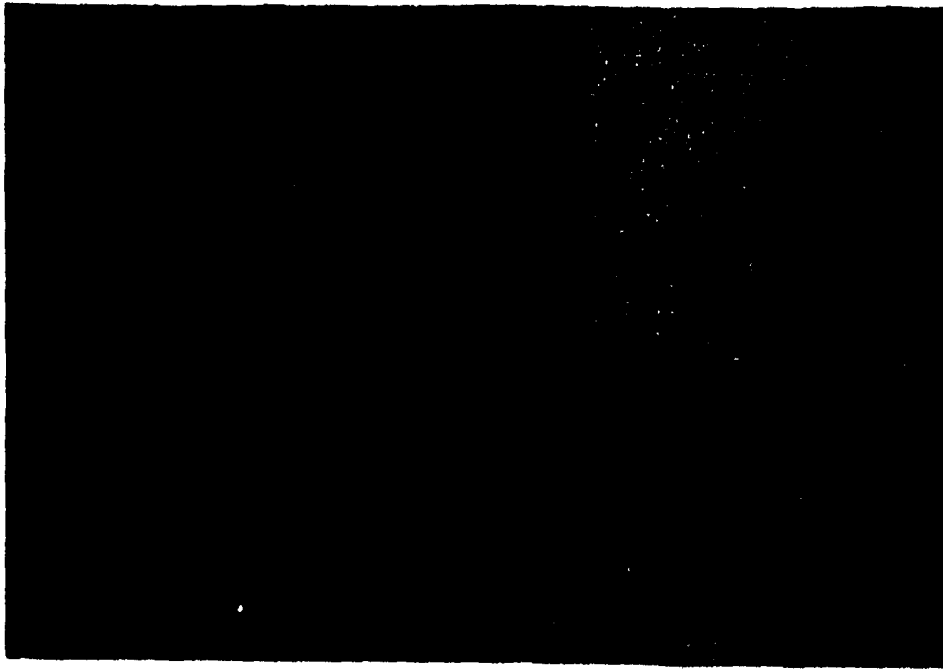


5 . ábra



6 . ábra

SOMFAI & TÁRSAI Kft.
1137 Budapest Pozsonyi út 38.



7. ábra



8. ábra

34300

XIU Rui-Juan

P9202051

4/4



9. ábra

SOMFAI & TÁRSAI Kft.
1137 Budapest Pozsonyi út 38.

A handwritten signature or stamp, possibly in ink, located at the bottom right of the page. It appears to be a stylized signature.