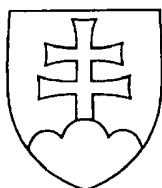


SLOVENSKÁ REPUBLIKA

(19) **SK**



ÚRAD
PRIEMYSELNÉHO
VLASTNÍCTVA
SLOVENSKEJ REPUBLIKY

**ZVEREJNENÁ
PATENTOVÁ PRIHLÁŠKA**

- (22) Dátum podania prihlášky: **20. 2. 2001**
(31) Číslo prioritnej prihlášky: **RM2000A000106**
(32) Dátum podania prioritnej prihlášky: **2. 3. 2000**
(33) Krajina alebo regionálna organizácia priority: **IT**
(40) Dátum zverejnenia prihlášky: **4. 2. 2003**
Vestník ÚPV SR č.: **2/2003**
(62) Číslo pôvodnej prihlášky
v prípade vylúčenej prihlášky:
(86) Číslo podania medzinárodnej prihlášky
podľa PCT: **PCT/IT01/00081**
(87) Číslo zverejnenia medzinárodnej prihlášky
podľa PCT: **WO01/64203**

(11), (21) Číslo dokumentu:

1240-2002

(13) Druh dokumentu: **A3**

(51) Int. Cl.⁷ :

A61K 31/00

(71) Prihlasovateľ: **SIGMA-TAU HEALTHSCIENCE S. P. A., Pomezia, IT;**

(72) Pôvodca: **Cavazza Claudio, Roma, IT;**

(74) Zástupca: **PATENTSERVIS BRATISLAVA, a. s., Bratislava, SK;**

(54) Názov: **Kompozícia pre prevenciu a/alebo liečenie cievnych ochorení obsahujúca propionyl L-karnitín a koenzým Q10**

(57) Anotácia:
Popísaná je kompozícia vhodná pre prevenciu a/alebo liečenie porúch ciev, srdca, centrálného a periférneho mozgu a porúch učenia alebo porúch spojených so starnutím, rovnako ako aj stavov vyžadujúcich si zvýšenie energetických potrieb a ktorá môže mať formu doplnku výživy alebo skutočného lieku, obsahujúca nasledujúce charakteristické aktívne zložky: (a) propionyl L-karnitín alebo jeho farmakologicky prijateľné soli; a (b) koenzým Q₁₀.

SK 1240-2002 A3

Kompozícia pre prevenciu a/alebo liečenie cievnych ochorení obsahujúca propionyl L-karnitín a koenzým Q₁₀

Oblasť techniky

Predkladaný vynález sa týka kombinovanej kompozície vhodnej pre prevenciu a/alebo liečenie cievnych a srdcových porúch, porúch centrálného a periférneho mozgu a porúch učenia alebo porúch týkajúcich sa starnutia, rovnako ako aj stavov s potrebami zvýšenej energie, ktorá obsahuje charakteristické zložky propionyl L-karnitín alebo jeho farmakologicky prijateľné soli a koenzým Q₁₀.

Kompozícia môže mať formu a vykazovať aktivity ako doplnok výživy alebo ako skutočný liek, v závislosti na tom, či je účinok kompozície mienený ako podporný a preventívny, alebo terapeutický pre daného jedinca, ktorý ju má užiť.

Súčasný stav techniky

US patent 4,599,232 popisuje farmaceutickú kompozíciu, ktorá obsahuje L-karnitín alebo acetyl L-karnitín a koenzým Q₁₀, ktorá je vhodná pre terapeutické liečenie aterosklerotických porúch, nedostatočnosti svaloviny srdca a srdca a patologických stavov spojených s anoxiou tkanív. Kompozícia podľa predkladaného vynálezu je účinnejšia v porovnaní s tou, ktorá je popísaná v uvedenom patente, v tom, ako bude podrobne popísané nižšie, že jej zložky vykazujú silný synergický účinok.

Účinok „karnitínov“ všeobecne, a predovšetkým propionyl L-karnitínu na metabolizmus lipidov je dobre známy v zmysle antiaterosklerotického účinku a pôsobenia voči poruchám lipidového metabolizmu. Propionyl L-karnitín sa však líši od iných „karnitínov“ v jeho špecifickej kardiaskulárnej akti-

vite, i keď ako iné „karnitíny“ má dôležitú metabolickú úlohu v tom, že prispieva k β -oxidácii mastných kyselín a syntéze ATP predovšetkým na mitochondriálnej úrovni.

Propionyl L-karnitín sa zúčastňuje všetkých metabolických aktivít pripisovaných „karnitínom, ale na rozdiel od iných, má výraznejší účinok na úrovni ciev, a predovšetkým v periférnej cirkulácii do takej miery, že je odporúčaný ako liečivá látka pre prevenciu a liečenie rôznych ochorení periférnych ciev.

Propionyl L-karnitín je najúčinnnejší spomedzi iných karnitínov. Je tiež účinný v stavoch kde iné karnitíny nie sú schopné vykazovať aktivitu, a táto konkrétna vlastnosť sa vzťahuje na priamy metabolický zásah do metabolických pochodov využitia energie na úrovni mitochondrií. Prítomnosť propionylovej skupiny spôsobuje iný farmakologický účinok v porovnaní s inými podobnými molekulami, a chemická povaha mu udeľuje rozdielne vlastnosti, ktoré sú najlepšie spomedzi karnitínov.

Biochemický a farmakologický účinok L-propionyl karnitínu je dokumentovaný množstvom štúdií s touto molekulou.

Propionyl L-karnitín je prirodzenou zložkou zmesi karnitínov a je syntetizovaný pomocou karnitín acetyltransferázy z propionyl-koenzýmu A.

Podanie propionyl L-karnitínu ľuďom vedie k zvýšeniu jeho koncentrácie v plazme, čo následne spôsobuje stav zvýšenia jeho obsahu v bunkách s následným zvýšením oxidačného účinku na mastné kyseliny a využitia glukózy. Okrem toho karnitín transferáza vo svaloch má vyššiu afinitu pre propionyl L-karnitín ako pre L-karnitín, a následne propionyl L-karnitín má vyššiu špecifitu pre svaly srdca a kostrové svaly. Prenosom propionylovej skupiny propionyl L-karnitín

zvyšuje vychytávanie tejto zložky vo svalových bunkách, predovšetkým svalových bunkách srdca. Môže to mať taký význam, že propionát môže byť využitý mitochondriami ako anaplerotický substrát a môže byť zdrojom energie v aneróbných podmienkach.

Treba poznamenať, že propionát nemôže byť použitý samostatne, nakoľko je toxický.

Okrem týchto metabolických účinkov treba poznamenať, že z dôvodu dlhého alkanoylového reťazca, propionyl L-karnitín vykazuje špecifický farmakologický účinok na vazodilatáciu a vykazuje ionotropný účinok na srdce v stavoch, keď iné karnitíny nie sú účinné.

Koenzým Q_{10} je tiež známy pre svoje metabolické účinky a tiež tým, že má významnú úlohu pri transporte a využítí mitochondriálneho kyslíka potrebného pre transformáciu energie a tvorbu ATP. Známy je aj priaznivý účinok koenzýmu Q_{10} pri liečení rôznych foriem cievnych ochorení.

Zistilo sa, že kombinácia propionyl L-karnitínu a koenzýmu Q_{10} účinne podporuje metabolickú aktivitu srdca a mozgu, podporuje učenie a zabraňuje poruchám spojených so starnutím, čo je výsledkom neočakávaného synergického účinku oboch zložiek. Tento synergický účinok je evidentnejší a intenzívnejší ako známy účinok kombinácie L-karnitínu alebo acetyl L-karnitínu a koenzýmu Q_{10} . Účinok sa prejavuje v stavoch, kde L-karnitín a acetyl L-karnitín sú neúčinné. Synergický účinok je prítomný keď propionyl L-karnitín je súčasťou kombinácie „karnitínov“ obsahujúcej L-karnitín, acetyl L-karnitín, butyryl L-karnitín, valeryl L-karnitín a izovaleryl L-karnitín, alebo ich farmakologicky prijateľných solí, alebo ich zmesi.

Podstata vynálezu

Predmetom predkladaného vynálezu je kombinovaná kompozícia obsahujúca ako charakteristické aktívne zložky:

- (a) propionyl L-karnitín alebo jednu z jeho farmakologicky prijateľných solí; a
- (b) koenzým Q₁₀,

čo je predovšetkým užitočné pre neočakávané, silné synergické účinky jeho zložiek pri prevencii a/alebo liečení cievnych, srdcových, centrálnych a periférnych mozgových porúch a pre prevenciu porúch učenia alebo porúch spojených so starnutím, rovnako ako pri zvýšených potrebách energie.

Zistilo sa tiež, že výhodne zložka (a) môže ďalej obsahovať „karnitín“ vybratý zo skupiny obsahujúcej L-karnitín, acetyl L-karnitín, valeryl L-karnitín, izovaleryl L-karnitín a butyryl L-karnitín alebo ich farmakologicky prijateľné soli, alebo ich zmes.

V kompozícii podľa vynálezu hmotnostný pomer (a) : (b) môže byť v rozsahu 1 : 0,05 až 1 : 0,5, výhodne 1 : 0,05 až 1 : 0,1.

Kompozícia podľa vynálezu môže ďalej obsahovať vitamíny, koenzýmy, minerálne látky, aminokyseliny a/alebo antioxidačné látky.

Kompozícia môže byť podávaná ústne vo forme doplnku výživy, alebo môže byť podávaná parenterálne, rektálne, sublinguálne alebo transdermálne vo forme liekov pre liečenie závažných patologických stavov. Môže byť preto v pevnej, polopevnej alebo kvapalnej forme, napríklad ako tablety, pilule, kapsule, granuly, sirupy, ampuly alebo kvapky.

Prekvapivý synergický účinok vykazovaný kombináciou propionyl L-karnitínu a koenzýmu Q₁₀ bol potvrdený rôznymi farmakologickými skúškami (niektoré sú popísané nižšie) vybratými tak, aby boli použiteľné v praktickom užívaní kompozície tak pre oblasť prevencie/výživy a aj liečenia.

TOXIKOLOGICKÉ SKÚŠKY

Je dobre známe, že L-karnitín a koenzým Q₁₀ sú dobre tolerované a nevykazujú žiadne toxické účinky, dokonca aj vtedy, keď sú podávané vo vysokých dávkach. Ich použitie v kombinácii nevykazuje tiež žiadne škodlivé toxické účinky. Pre testovanie boli použité potkany, samce kmeňa Sprague-Dawley priemernej telesnej hmotnosti 250 g. Zvieratá dostali orálne jednu vysokú dávku propionyl L-karnitínu (2 g/kg) alebo koenzýmu Q₁₀ (0,2 g/kg) alebo tie isté množstvá oboch zlúčenín v kombinácii. Takéto množstvá nevykázali žiadne toxické účinky alebo znaky intolerancie. Rovnako dobre tolerované sa zdá byť aj predĺžené podávanie dávok dvoch zlúčenín v kombinácii podávaných potkanom v potrave (propionyl L-karnitín 500 mg/kg/deň a koenzým Q₁₀ 50 mg/kg/deň).

Dokonca aj po tridsiatych dňoch podávania nebol zaznamenaný žiaden prípad úmrtia zvierat a ani žiadne spomalenie ich rastu hodnotené zmenou telesnej hmotnosti. Krvné vyšetrenie na konci pokusu nezistilo žiadne abnormality v hodnotách hemolýzy, hladiny glukózy v sére a BUN hodnoty pri porovnaní s kontrolnou skupinou zvierat.

Makro- a mikroskopické vyšetrenie hlavných orgánov z mŕtvych zvierat na konci pokusu bolo normálne a výsledky sú porovnateľné s kontrolnou skupinou zvierat.

SKÚŠKY EXPERIMENTÁLNEJ CIEVNEJ TROMBÓZY

Pri týchto skúškach bola hodnotená antitrombotická aktivita propionyl L-karnitínu a kombinovanej kompozície obsahujúcej propionyl L-karnitín a koenzým Q₁₀. Hodnotil sa ochranný účinok kompozície, ktorá je predmetom predkladaného vynálezu. Použité metódy pre tieto skúšky boli popísané Bekemeierom (Bekemeier H., Agents and Actions, 16:446, 1985) a upravené Bertellim (Bertelli A., Drugs Exptl. Clin. Res.,

19:7, 1993). 0,5 mg/kg K-carrageenin, (Sigma Chemical St. Louis MO, USA) bol podaný do chrbtovej artérie chvosta potkana, hneď po predchádzajúcom intravenóznom podaní 500 pmol/kg endotelínu-1 (Peninsula Laboratories, Belmont CA, USA). Týmto spôsobom sa do dvoch hodín od podania K-carrageeninu vyvinie cievna trombóza, ktorú možno vyhodnotiť vyjadrením pomeru dĺžky postihnutej plochy na chvoste a celej dĺžky chvosta (% postihnutého chvosta).

Hodnotenie sa uskutočnilo po dvoch a dvadsiatich štyroch hodinách po injekčnom podaní K-carrageeninu. Jedna skupina zvierat dostala len trombózu vyvolávajúce látky a predstavovala kontrolnú skupinu. Iná skupina zvierat (potkany, samce kmeňa Sprague-Dawley priemernej telesnej hmotnosti 200 g) bola rozdelená do rôznych skupín, ktoré pred podaním K-carrageenu dostali buď jednu dávku alebo štyri dávky v priebehu štyroch nasledujúcich dní intravenózne alebo per os nasledovné dávky: propionyl L-karnitín (50 mg/kg), alebo kombinovanú kompozíciu obsahujúcu propionyl L-karnitín (10 mg/kg), acetyl L-karnitín (10 mg/kg), butyryl L-karnitín (10 mg/kg), izovaleryl L-karnitín (10 mg/kg), L-karnitín (10 mg/kg); alebo L-karnitín (50 mg/kg) alebo acetyl L-karnitín (50 mg/kg); alebo s koenzýmom Q₁₀ samotným (20 mg/kg) alebo s koenzýmom Q₁₀ (20 mg/kg) v kombinácii s rôznymi prípravkami, alebo v prípade podania per os počas štyroch dní pred skúškou, 300 mg/kg propionyl L-karnitín alebo L-karnitín alebo acetyl L-karnitín, alebo kombináciu obsahujúcu propionyl L-karnitín (75 mg/kg), acetyl L-karnitín (75 mg/kg), L-karnitín (75 mg/kg), butyryl L-karnitín (75 mg/kg), izovaleryl L-karnitín (75 mg/kg), alebo 100 mg/kg koenzým Q₁₀ samotný, alebo v kombinácii s inými prípravkami. Tabuľky 1 a 2 udávajú výsledky získané z týchto skúšok. Z uvedených hodnôt by malo byť jasné, že len propionyl L-karnitín alebo

kombinácia propionyl L-karnitínu a iných karnitínov má ochranný účinok voči rozvoju alebo rozsahu indukovaných vaskulárnych lézií. Zdá sa, že L-karnitín alebo acetyl L-karnitín podané samostatne nie sú účinné.

Zdá sa, že koenzým Q₁₀ podaný samostatne je málo účinný, kým jeho použitie v kombinácii s propionyl L-karnitínom alebo komplexom karnitínov zvyšuje ochrannú aktivitu. Odhalil sa tým neočakávaný, silný, synergický účinok. Zvýšenie účinkov kombinácie propionyl L-karnitínu plus koenzýmu Q₁₀ je evidentné tak pre jedno intravenózne podanie oboch zlúčenín, ako aj pre ich predĺžené podávanie počas štyroch nasledujúcich dní. Nebolo prítomné žiadne významné zvýšenie po pôsobení kombinácie koenzým Q₁₀ + L-karnitín, alebo koenzým Q₁₀ + acetyl L-karnitín.

TABUĽKA 1

Výsledky skúšok s experimentálnou trombózou po intravenóznom podaní produktov.

Podávanie	% inhibície trombózy	
	po 2 h	po 24 h
propionyl L-karnitín	16,25±0,7	26,45±1,9
kombinácia karnitínov	14,10±0,9	19,25±1,1
L-karnitín	9,50±0,4	11,50±0,9
acetyl L-karnitín	8,80±0,7	10,60±0,8
koenzým Q ₁₀	11,7±0,9	14,50±1,3
propionyl L-karnitín + koenzým Q ₁₀	34,2±2,2	49,50±3,9
kombinácia karnitínov + koenzým Q ₁₀	29,5±1,9	39,70±2,6
L-karnitín + koenzým Q ₁₀	15,6±1,6	18,80±1,8
acetyl L-karnitín + koenzým Q ₁₀	16,4±1,7	20,40±2,1

TABULKA 2

Výsledky experimentálnej trombózy po orálnom podaní výrobkov

Podávanie	% inhibície trombózy	
	po 2 h	po 24 h
propionyl L-karnitín	14,5±0,7	30,5±3,3
kombinácia karnitínov	12,8±0,9	20,6±2,4
L-karnitín	8,5±0,5	9,2±1,2
acetyl L-karnitín	9,2±0,8	11,5±1,5
koenzým Q ₁₀	13,8±1,7	12,5±1,7
propionyl L-karnitín + koenzým Q ₁₀	30,9±2,8	56,5±4,0
kombinácia karnitínov + koenzým Q ₁₀	28,4±1,9	35,6±3,1
L-karnitín + koenzým Q ₁₀	14,6±0,9	15,5±1,4
acetyl L-karnitín + koenzým Q ₁₀	12,8±1,1	18,2±1,6

SKÚŠKY EXPERIMENTÁLNEJ ISCHÉMIE MOZGU

Inou skúškou sa hodnotil synergický, vaskulárno protektívny účinok kombinácie propionyl L-karnitínu a koenzýmu Q₁₀.

Ischémia bola spôsobená oklúziou strednej mozgovej artérie (MCA) metódou, ktorú popísal Scharkey (Sharkey Y., Nature, 371:336, 1994), podaním injekcie endotelínu-1 (120 pmol v 3 ml) počas 5 minút anestetizovaným potkanom s mikrokanylou stereotakticky umiestnenou do piriformného kortexu na úrovni strednej mozgovej artérie. Týmto spôsobom sa navodí oklúzia strednej mozgovej artérie a výslednú ischemickú plochu možno vidieť po troch dňoch pomocou transkardiálnej perfúzie paraformaldehydovým roztokom (4 % v PBS). Mozog bol po vybratí vložený na 24 hodín do fixačného

roztoku (10 % sacharóza). Kryostatické rezy (20 mm) po fixovaní v rezylovej violeti boli hodnotené optickým mikroskopom. Objem postihnutého miesta bol vypočítaný podľa spôsobu, ktorý popísal Park (Park C.K., Ann. Neurol., 20:150, 1989). Päť minút po injekcii endotelínu boli zvieratám podané intravenózne: propionyl L-karnitín (100 mg/kg), L-karnitín (100 mg/kg), acetyl L-karnitín (100 mg/kg), alebo kombinácia karnitínov obsahujúca propionyl L-karnitín, L-karnitín, acetyl L-karnitín, butyryl L-karnitín a izovaleryl L-karnitín (100 mg/kg v hmotnostnom pomere 1 : 1), koenzým Q₁₀ (50 mg/kg) alebo koenzým Q₁₀ v kombinácii s predchádzajúcimi kompozíciami.

Výsledky týchto skúšok zaznamenáva Tabuľka 3. Z hodnotenia je zjavné, že propionyl L-karnitín má dobrú schopnosť redukovať rozsah ischémie navodenej oklúziou MCA ako výsledok podania endotelínu, rovnako aj komplex karnitínov s koenzýmom Q₁₀, hoci do nižšej miery, kým L-karnitín a acetyl L-karnitín samotné nemajú žiadny významný ochranný účinok.

Najvyššie percento zníženia v porovnaní s kontrolami bolo získané s kombináciou propionyl L-karnitín plus koenzým Q₁₀, hoci do nižšej miery, s komplexom karnitínov plus koenzým Q₁₀, kým ochranný účinok L-karnitínu, dokonca aj v kombinácii s koenzýmom Q₁₀ sa zdá, že je menej výrazný.

Výsledky týchto skúšok preto ukazujú na prekvapivý, synergický účinok, ktorý vykazuje kombinácia propionyl L-karnitínu a koenzýmu Q₁₀.

TABULKA 3

Rozsah mozgovej ischémie (objem v mm³) spôsobenej oklúziou MCA (% zmenšenia objemu v porovnaní s kontrolami)

Podávanie	OBJEM
propionyl L-karnitín	30,3±3,6
koenzým Q ₁₀	22,2±2,9
L-karnitín	10,5±0,77
acetyl L-karnitín	15,8±1,4
kombinácia karnitínov	20,8±3,9
propionyl L-karnitín + koenzým Q ₁₀	86,8±9,2
L-karnitín + koenzým Q ₁₀	29,5±8,7
acetyl L-karnitín + koenzým Q ₁₀	31,4±4,9
kombinácia karnitínov + koenzým Q ₁₀	77,5±7,2

SKÚŠKA ANTITOXICKEJ AKTIVITY NA SRDCI

Táto skúška testovala schopnosť propionyl L-karnitínu ochrániť srdce voči strate ATP spôsobenej anoxiou a zachovať energetickú kapacitu aj v takýchto stavoch.

Je známe, že papilárne svaly králičieho srdca perfundované a vystavené hypoxii vykazujú zníženie energetických zásob ATP. Bol uskutočnený pokus a stanovené, či predchádzajúce podávanie propionyl L-karnitínu, L-karnitínu, kombinácie karnitínov alebo koenzýmu Q₁₀ samotného alebo v kombinácii s propionyl L-karnitínom, alebo s inými prípravkami, bude schopné zachovať normálne koncentrácie ATP v hypoxickom srdci.

V tomto pokuse boli použité New Zealand králiky. Zvie-

ratá boli rozdelené do rôznych skupín a dostávali počas troch nasledujúcich dní denne intravenózne injekcie s obsahom propionyl L-karnitín (100 mg/kg) alebo L-karnitín (100 mg/kg), alebo kombinácie propionyl L-karnitín (25 mg/kg), acetyl L-karnitín (25 mg/kg), L-karnitín (25 mg/kg), butyryl L-karnitín (25 mg/kg) a izovaleryl L-karnitín (25 mg/kg), alebo koenzým Q₁₀ (25 mg/kg) samotný alebo koenzým Q₁₀ (50 mg/kg) v kombinácii s inými, vyššie vymenovanými prípravkami.

Po troch dňoch podávania boli všetky zvieratá usmrtené. Boli pripravené rezy papilárneho svalu hrúbky 4 až 5 mm s priemerom 1 mm. Tieto vzorky papilárneho svalu boli perfundované v termostatickom kúpeli roztokom 100 % nasýteným O₂. Potom bola vyvolaná hypoxia prívodom 100 % N₂ do kúpela namiesto O₂. Koncentrácie ATP v papilárnom svale boli merané metódou podľa Strehlera (Strehler B.L., Methods in Enzymology, 111, N.Y. Acad. Press, 879, 1957). Analýza bola uskutočnená vo vzorkách svalov po perfúzii kyslíkom počas 90 minút a po 90 minút trvajúcej anoxii.

Výsledky tejto skúšky (Tabuľka 4) znamenajú, že obe látky, propionyl L-karnitín a aj koenzým Q₁₀ sú schopné aspoň čiastočne udržiavať koncentrácie ATP v papilárnom svale, a že zachovanie hladín ATP je temer úplné vtedy, keď obe zlúčeniny sú podávané v kombinácii. Obmedzenejší je ochranný účinok L-karnitínu, dokonca aj vtedy, keď je v kombinácii s koenzým Q₁₀.

Tak, ako v predchádzajúcich skúškach, výsledky tejto skúšky tiež odhalili neočakávaný a prekvapivý synergický účinok kombinácie propionyl L-karnitínu a koenzýmu Q₁₀.

Významný bol aj synergický účinok podávania koenzýmu Q₁₀ v kombinácii so zmesou karnitínov.

TABULKA 4

Skúšky týkajúce sa ochrany koncentrácií ATP v papilárnom svale srdca králika vystavenom hypoxii

Podávanie	Koncentrácie ATP (mol/g tkaniva)	
	pred hypoxiou	po hypoxii
kontroly	1,61±0,71	0,44±0,062
propionyl L-karnitín	1,58±0,0,64	0,64±0,055
kombinácia karnitínov	1,60±0,45	0,59±0,065
L-karnitín	1,55±0,80	0,50±0,045
acetyl L-karnitín	1,58±0,98	0,54±0,075
koenzým Q ₁₀	1,65±0,70	0,64±0,068
propionyl L-karnitín + koenzým Q ₁₀	1,59±0,85	1,58±0,82
kombinácia karnitínov + koenzým Q ₁₀	1,60±0,72	1,05±0,39
L-karnitín + koenzým Q ₁₀	1,55±0,65	0,64±0,056
acetyl L-karnitín + koenzým Q ₁₀	16,4±0,90	0,70±0,048

SKÚŠKY UČENIA

Tieto skúšky boli uskutočnené na myšiach a použilo sa vodné bludisko tak, ako pôvodne popísal Morris (Morris R., J. Neurosci. Meth., 11:47, 1984) a modifikoval Lin (Lin Y., Acta Pharmacol. Sin., 19:413, 1998). Metóda je založená na tom, že bludisko je vložené do nádoby s vodou (80 cm x 50 cm x 20 cm) hlbokou 10 cm. Myši oboch pohlaví hmotnosti približne 20 g, ktoré po vhodnom čase tréningu úlohy najstú cestu späť na konečnú plochu a po vybratí tých zvierat, ktorým to trvalo menej ako 20 minút, boli rozdelené do rôznych skupín. Zvieratá dostali buď jednu intraperitoneálnu dávku alebo tri

orálne dávky počas troch nasledujúcich dní: propionyl L-karnitín, kombináciu karnitínov, L-karnitín, acetyl L-karnitín, alebo samotný koenzým Q₁₀, alebo koenzým Q₁₀ v kombinácii s rôznymi prípravkami vymenovanými vyššie. Intraperitoneálne dávky obsahovali 100 mg/kg propionyl L-karnitín, 100 mg/kg L-karnitín, 100 mg/kg acetyl L-karnitín, 100 mg/kg kombinácie karnitínov (hmotnostný pomer 1 : 1 jednotlivých zložiek: propionyl L-karnitín 20 mg/kg, acetyl L-karnitín 20 mg/kg, L-karnitín 20 mg/kg, butyryl L-karnitín 20 mg/kg, izovaleryl L-karnitín 20 mg/kg) a 50 mg/kg koenzým Q₁₀.

Dávky podávané orálne počas troch nasledujúcich dní boli: 300 mg/kg propionyl L-karnitín, 300 mg/kg kombinácie karnitínov (propionyl L-karnitín 60 mg/kg, L-karnitín 60 mg/kg, acetyl L-karnitín 60 mg/kg, butyryl L-karnitín 60 mg/kg, izovaleryl L-karnitín 60 mg/kg), 300 mg/kg L-karnitín, 300 mg/kg acetyl L-karnitín, alebo 20 mg/kg samotný koenzým Q₁₀, alebo koenzým Q₁₀ v kombinácii s vyššie vymenovanými prípravkami.

Intraperitoneálne a orálne podanie sa uskutočnilo jednu hodinu pred zahájením skúšky. Pol hodiny pred začiatkom skúšky bol všetkým zvieratám podaný intraperitoneálne skopolamín v dávke 3 mg/kg. Je známe, že skopolamín vyvoláva abnormality priestorovej orientácie a predlžuje latenčný čas pri hľadaní cesty ako najst dosku.

Pre každé zviera bol po skúške vypočítaný latenčný čas potrebný pre dosiahnutie dosky.

Ako je možné vidieť vo výsledkoch uvedených v Tabuľke 5, táto skúška ukázala neočakávaný stupeň synergizmu medzi propionyl L-karnitínom a koenzýmom Q₁₀. Prekvapivý synergický účinok je výraznejší u zvierat vystavených dlhodobému liečeniu ako u zvierat, ktoré dostali len jednu dávku testovanej kombinácie.

V tejto skúške kombinácia karnitínov vykázala tiež významnú aktivitu, kým L-karnitín bol neúčinný a acetyl L-karnitín vykázal len slabý účinok, či bol podaný samostatne alebo v kombinácii s koenzýmom Q₁₀.

TABULKA 5

Skúšky učenia

Podávanie	Podávanie (i.p.) Latenčný čas (sekundy)	Podávanie (per os, 3 dni) Latenčný čas (sekundy)
propionyl L-karnitín	32±12	30±16
kombinácia karnitínov	35±20	33±18
acetyl L-karnitín	38±18	36±10
L-karnitín	40±20	39±21
koenzým Q ₁₀	31±18	31±12
propionyl L-karnitín + koenzým Q ₁₀	19±10	14±9
kombinácia karnitínov + koenzým Q ₁₀	20±12	16±11
L-karnitín + koenzým Q ₁₀	29±16	28±9
acetyl L-karnitín + koenzým Q ₁₀	38±21	34±16

Nasledujú príklady kompozícií podľa vynálezu, avšak možné kompozície nie sú obmedzené uvedenými príkladmi.

Príklady uskutočnenia vynálezu

1)	propionyl L-karnitín	500 mg
	koenzým Q ₁₀	50 mg
2)	propionyl L-karnitín	1 g
	koenzým Q ₁₀	100 mg
3)	propionyl L-karnitín	250 mg
	koenzým Q ₁₀	25 mg
4)	kombinácia karnitínov (propionyl L-karnitín 125 mg, acetyl L-karnitín 125 mg, izovaleryl L-karnitín 125 mg, L-karnitín 125 mg)	500 mg
	koenzým Q ₁₀	50 mg
5)	propionyl L-karnitín	500 mg
	koenzým Q ₁₀	25 mg
	vitamín E	5 mg
	vitamín B ₁	1 mg
	vitamín B ₂	2 mg
	vitamín B ₆	1 mg
	vitamín D	500 I.U.
	kyselina listová	100 µg
	vitamín PP	20 mg
	vitamín B ₁₂	100 µg
	stearan horečnatý	5 mg
	glycinát zinku	10 mg
	selenometionín	50 µg

6) kombinácia karnitínov	500 mg
(propionyl L-karnitín 125 mg, acetyl L-karnitín 125 mg, izovaleryl L-karnitín 125 mg, L-karnitín 125 mg)	
koenzým Q ₁₀	25 mg
vitamín E	5 mg
vitamín B ₁	1 mg
vitamín B ₂	2 mg
vitamín B ₆	1 mg
vitamín D	500 I.U.
kyselina listová	100 µg
vitamín PP	20 mg
vitamín B ₁₂	100 µg
stearan horečnatý	5 mg
glycinát zinku	10 mg
selenometionín	50 µg

Farmakologicky prijateľná soľ L-karnitínu alebo alkanoyl L-karnitínu je akákoľvek ich soľ s kyselinou, ktorá nevyvoláva nežiadúce toxické alebo vedľajšie účinky. Takéto kyseliny sú dobre známe farmakológom a odborníkom vo farmaceutickej technológii.

Neobmedzené príklady takýchto solí sú: chlorid, bromid, jodid, asparát, kyslý asparát, citran, kyslý citran, vínian, fosforečnan, kyslý fosforečnan, fumaran, kyslý fumaran, glycerofosforečnan, fosforečnan glukózy, mliečnan, maleinan, kyslý maleinan, mukát, orotát, kyslý šťavelan, síran, kyslý síran, trichlóroctan, trifluórooctan a metán sulfonát.

Zoznam FDA schválených farmakologicky prijateľných solí je uvedený v Int. J. Pharm., 33, 1986, 201-217. Táto publikácia je začlenená do literárnych odkazov.

P A T E N T O V É N Á R O K Y

1. Kombinovaná kompozícia obsahuje:

(a) propionyl L-karnitín alebo jeho farmakologicky prijateľnú soľ; a

(b) koenzým Q₁₀.

2. Kompozícia podľa nároku 1, v y z n a č u j ú c a s a t ý m, že zložka (a) ďalej obsahuje najmenej „karnitín“ vybratý zo skupiny obsahujúcej L-karnitín, acetyl L-karnitín, valeryl L-karnitín, izovaleryl L-karnitín a butyryl L-karnitín alebo ich farmakologicky prijateľné soli alebo zmesi.

3. Kompozícia podľa nárokov 1 alebo 2, v y z n a č u j ú c a s a t ý m, že hmotnostný pomer (a) : (b) je v rozsahu 1 : 0,05 až 1 : 0,5.

4. Kompozícia podľa nárokov 1 alebo 2, v y z n a č u j ú c a s a t ý m, že hmotnostný pomer (a) : (b) je v rozsahu 1 : 0,05 až 1 : 0,1.

5. Kompozícia podľa ktoréhokolvek z predchádzajúcich nárokov v y z n a č u j ú c a s a t ý m, že farmakologicky prijateľná soľ je vybratá zo skupiny obsahujúcej chlorid, bromid, jodid, asparát, kyslý asparát, citran, kyslý citran, vínan, fosforečnan, kyslý fosforečnan, fumaran, kyslý fumaran, glycerofosforečnan, fosforečnan glukózy, mliečnan, maleinan, kyslý maleinan, mukát, orotát, šťavelan, kyslý šťavelan, síran, kyslý síran, trichlóroctan, trifluórooctan a metán sulfonát.

6. Kompozícia podľa ktoréhokoľvek z predchádzajúcich nárokov v y z n a č u j ú c a s a t ý m, že ďalej obsahuje vitamíny, koenzýmy, minerálne látky, aminokyseliny a antioxidanty.
7. Kompozícia podľa ktoréhokoľvek z predchádzajúcich nárokov je podávateľná orálne, vo forme doplnku výživy.
8. Kompozícia podľa ktoréhokoľvek z predchádzajúcich nárokov podávaná orálne, parenterálne, rektálne, sublinguálne alebo transdermálne, vo forme lieku.
9. Doplnok výživy podľa nároku 7, pre prevenciu a/alebo liečenie porúch ciev, srdca, centrálného a periférneho mozgu a porúch učenia alebo porúch spojených so starnutím, rovnako ako aj stavov vyžadujúcich si zvýšenie energetických potrieb.
10. Liek podľa nároku 8, pre prevenciu a/alebo liečenie porúch ciev, srdca, centrálného a periférneho mozgu a porúch učenia alebo porúch spojených so starnutím, rovnako ako aj stavov vyžadujúcich si zvýšenie energetických potrieb.
11. Doplnok výživy podľa nároku 9 v pevnej, polotuhej alebo kvapalnej forme.
12. Liek podľa nároku 10 v pevnej, polotuhej alebo kvapalnej forme.
13. Doplnok výživy podľa nároku 11 vo forme tabliet, pastiliek, pilúl, kapsúl, granulátov, sirupov, ampúl alebo kvapiek.

14. Liek podľa nároku 12 vo forme tabliet, pastiliek, pilúl, kapsúl, granulátov, sirupov, ampúl alebo kvapiek.

15. Spôsob prevencie a/alebo liečenia porúch ciev, srdca, centrálného a periférneho mozgu a porúch učenia, alebo porúch spojených so starnutím, rovnako ako aj stavov vyžadujúcich si zvýšenie energetických potrieb, ktorý pozostáva z podania jedincovi kombinovanej kompozície obsahujúcej nasledovné zložky:

(a) propionyl L-karnitín alebo jeho farmakologicky prijateľnú soľ, a

(b) koenzým Q₁₀.