

KÖZZÉTÉTELI
PÉLDÁNYA₂**Alkalikus szfingomielináz tartalmazó dietetikus készítmé-
nyek, ételkiegészítők és gyógyászati termékek****K i v o n a t**

A találmány olyan készítményre vonatkozik, melyet - az alkalma-
zótól függően - használhatunk^a élelmiszerként, dietetikai vagy szigo-
rúan gyógyászati készítményként; az aktív hatóanyaga az alkalikus
szfingomielináz, amely ^{hasznosítható} számos kóros állapot - pl. daganatos folya-
matok, a bél gyulladásos folyamatai, a hiperkoleszterinémia és
Helicobacter pylori fertőzések ~~megelőzésére vagy kezelésére~~
~~alkalmas~~ gyógyítására való alkalmazásra.

jellemező ábrák: —

h1

Alkalikus szfingomielináz tartalmazó dietetikus készítmények, ételkiegészítők és gyógyászati termékek

A jelen találmány az alkalikus szfingomielináz használatára vonatkozik élelmiszer, dietetikus vagy szigorúan terápiás célú készítmények előállítására, az így létrehozott készítményekkel együtt.

Ennek megfelelően ezek a készítmények formailag és hatásukban lehetnek ételkiegészítők, dietetikus alapanyagok vagy tisztán orvosi készítmények, annak megfelelően, hogy alapanyagként, megelőző kezelésként vagy tisztán terápiás készítményként akarják őket használni, az adott személyektől függően, akiknél a fentieket alkalmazni akarjuk.

Eddig három különböző típusú szfingomielináz (SM-áz) azonosítottak.

Az első egy savas szfingomielináz, amely egy lizoszómális enzim (pH optimuma 4,5-5,0), hiánya okozza a Niemann-Pick betegséget; a második egy neutrális szfingomielináz (pH optimuma 7,5), melynek két izoformája ismert. Az egyik izoforma a citoplazma membránban van és magnéziumfüggő, míg a másik a citoszolban található és kationoktól független. Mind a savas, mind a neutrális szfingomielináz számos szövetben és sejtben megtalálható általánosan előforduló enzim, ami számos sejtfunkciót szabályoz.

A harmadik típusú enzim az alkalikus szfingomielináz, mert döntően pH= 9 vegyhatáson aktív, magnéziumtól független, és mind a bélhámsejtekben, mind az epében megtalálható. Az alkalikus szfingomielináz nem található a gyomorban, a nyombélben vagy a hasnyálmirigyben, azonban jelen van a vékonybélben, különösen a

jejunum disztális felében. Jelentős alkalikus szfingomielináz aktivitás mérhető a vastagbélben és a végbélben is. Nagy mennyiségű alkalikus szfingomielináz van az epében is, azonban az utóbbi humán sajátosság. A kétfajta szfingomielináz az embert más élőlényekkel összehasonlítva lényegesen hatékonyabbá teszi az étellel bevitt szfingomielin (SM) hidrolízisében. Mostanáig azt gondolták, hogy a bélbaktériumok nem képesek alkalikus szfingomielinázt termelni, mert nem volt különbség a szokványos és csíramentes állatok között (lásd R.D. Duan, Scand. J. Gastroenterology, 33, 1998, 673-683. oldalak).

A bélben és az epében jelenlevő alkalikus szfingomielinázon kívül nincs egyéb olyan alkalikus szfingomielináz, melyet táplálkozási, dietetikus vagy szigorúan terpiás célra lehetne használni. Továbbá a savas és neutrális szfingomielináz nem használható eltérő tulajdonságaik miatt (lásd a következő táblázatot).

Táblázat

	<u>Savas SM-áz</u>	<u>Semleges SM-áz</u>	<u>Alkalikus SM-áz</u>
Előfordulási hely	lizoszóma	citoplazma membrán	humán bél és epe
pH-optimum	5,5	7,4	9,0
Mg ⁺⁺ -függőség	nincs	van	nincs
Tripszin-rezisztencia	nincs	nincs	van
Hőstabilitás	< 40 0C	-	< 50-600C
Szubsztrát	endocita SM	membrán SM	SM az ételben

A szfingomielin használata kozmetikai és bőrgyógyászati célból már ismeretes.

A 63 216 813 számú japán szabadalmi irat szfingomielináz tartalmazó kozmetikai készítményeket ismertet, melyek célja az enzim fiziológiás csökkenésének ellensúlyozása az öregedő bőrben, ill. ceramiddá történő átalakulásának elősegítése, melynek kedvező hidratáló hatása van az epidermiszre.

A WO 98/22 082 számon publikált nemzetközi szabadalmi bejelentés a szfingomielináz használatát ismerteti bőrgyógyászati készítmények előállításában, amely alkalmas bizonyos bőrbetegségek kezelésére, ezek pl. a dermatitisz, a pszoariázis, az ihtiózis és hasonló állapotok. Ezen kívül ez a szabadalmi bejelentés leírja a szfingomielináz Gram-negatív, Gram-pozitív baktériumtörzsekből és tejsavbaktériumból történő előállítását a korábbi eljárásokhoz képest egyértelműen előnyösebb módon, melyek magasabbrendű állatok szerveit - pl. agyat és májat - használta kiinduló anyagként.

Meglepetésünkre azt észleltük, hogy néhány baktériumban nagy mennyiségű alkalikus szfingomielináz található, melyek elfogyasztása előnyös lehet a gazdaszervezet számára. Ezeket a baktériumokat elfogyaszthatjuk élve vagy kivonat formájában - feltéve, hogy ezek enzimatikusan aktívak -, valószínűleg kombinálva egyéb baktériumokkal, pl. a tejsavbaktériummal - SM-el és/vagy SM-et tartalmazó ételekkel.

A jelen találmány egyik célja alkalikus szfingomielináz olyan mennyiségben tartalmazó dietetikai, élelmiszer vagy gyógyászati készítmény előállítása, amely dietetikus, táplálkozási vagy terápiás hatással bír az arra rászoruló egyénben.

Konkrétan ez a készítmény alkalmas lehet a bél fejlődésével kapcsolatos betegségek, daganatos folyamatok, az immunválasz

betegségeinek, a bél és a vele kapcsolatos szervek gyulladásos és apoptotikus folyamatainak, a koleszterinszintézis betegségeinek, a gyomor-bélrendszer felületének hidrofób tulajdonságának tulajdonított betegségek, a gyomor-bélrendszer allergiás betegségeinek, az emésztési betegségek, gyulladásos bélbetegségek, a polipózis - különösen a familiáris típus -, a hiperkoleszterinémia, *Helicobacter pylori* fertőzések, az újszülöttkori növekedés zavarainak, a bél homeosztázis betegségeinek és a központi, ill. a perifériás idegrendszer betegségeinek megelőzésére és/vagy kezelésére.

A készítmény hasznos lehet még gyermekgyógyászati diétákban és/vagy enterális táplálásban. A gyermekgyógyászati diéta során a készítményt adhatjuk például mesterséges tejjel, sűrített tejjel, szójatejjel, porított tejjel, részlegesen humanizált tejjel együtt és általában bébiételekkel kombinálva.

A készítmény előnyös módon bakteriális eredetű alkalikus szfingomielinázt tartalmaz, melyet a Gram-pozitív, a Gram-negatív és tejsavbaktériumok vagy fentiek keverékéből álló csoportból választunk ki.

Konkrétabban a készítményben levő alkalikus szfingomielinázt tejsavbaktériumokból nyerjük, melyeket a *Lactobacillus acidophilus*, a *Lactobacillus brevis*, a *Lactobacillus buchneri*, a *Lactobacillus casei*, a *Lactobacillus catenaforme*, a *Lactobacillus cellobiosus*, a *Lactobacillus crispatus*, a *Lactobacillus curvatus*, a *Lactobacillus delbrueckii*, a *Lactobacillus fermentum*, a *Lactobacillus jensenii*, a *Lactobacillus leichmannii*, a *Lactobacillus minutus*, a *Lactobacillus plantarum*, a *Lactobacillus rogosae*, a *Lactobacillus salivarius*, a *Bifidobacterium adolescentis*, a *Bifidobacterium angulatum*, a

Bifidobacterium bifidum, a *Bifidobacterium breve*, a *Bifidobacterium catenulatum*, a *Bifidobacterium dentium*, a *Bifidobacterium eriksonii*, a *Bifidobacterium infantis*, a *Bifidobacterium longum*, a *Bifidobacterium plantarum*, a *Bifidobacterium pseudocatenulatum*, a *Bifidobacterium pseudolongum*, a *Streptococcus lactis*, a *Streptococcus raffinolactis* és a *Streptococcus thermophilus* baktériumokból álló csoportból választunk ki.

Fenti tejsavbaktériumok között különösen előnyös a *Lactobacillus brevis* CD2 vagy annak mutánsai vagy származékai, melyeket DSM 11 988 nyilvántartási szám alatt 1998. február 6-án jegyezték be a Német Mikroorganizmusok és Sejtkultúrák Gyűjteményébe (DSM) („Deutsche Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen GmbH”, Braunschweig, Németország), a Budapesti Egyezménynek megfelelően.

A találmány egy előnyös megvalósításában a tejsavbaktériumokat a készítményben élő, liofilizált vagy szonikált formában használjuk.

A készítmény előnyösen 1×10^2 - 1×10^{13} CFU tejsavbaktériumot tartalmaz a készítmény egy grammjában.

Egy különösen előnyös készítmény 200×10^9 *Streptococcus thermophilus*, 150×10^9 Bifidobakteriumot és 4×10^9 *Lactobacillus acidophilus* tartalmaz a készítmény egy grammjában.

A találmány szerinti készítmény tartalmazhat még epesavakat - konkrétan urzodeoxikolsavat -, pektint, szfingomielint, arginin-deaminázt, zsírsavakat, többszörösen telítetlen zsírsavakat, nem-fermentált cukrokat - konkrétan laktulózt -, koleszterin-gátló-szereket, immunmodulátorokat, rákellenes anyagokat, vitaminokat,

növekedési faktorokat, felületnövelőket, cereáliákat, rostokat, emulgeálókat, stabilizálókat, lipideket, antioxidánsokat, tartósítószerket, szabadgyök-semlegesítőket és vagy érvédőket.

A találmány szerinti készítményt adhatjuk szájon át, mint étrendkiegészítőt és szájon át vagy parenterálisan gyógyszerként.

A találmány szintén vonatkozik az alkalikus szfingomielináz használatára dietetikai, élelmiszer vagy gyógyászati készítmény előállítására, amely alkalmas a bél fejlődésével kapcsolatos betegségek, daganatos folyamatok, az immunválasz betegségeinek, a bél és a vele kapcsolatos szervek gyulladásos és apoptotikus folyamatainak, a koleszterinszintézis betegségeinek, a gyomor-bélrendszer felületének hidrofób tulajdonságának tulajdonított betegségek, a gyomor-bélrendszer allergiás betegségeinek, az emésztési betegségek, gyulladásos bélbetegségek, a polipózis - különösen a familiáris típus -, a hiperkoleszterinémia, *Helicobacter pylori* fertőzések, az újszülöttkori növekedés zavarainak, a bél homeosztázis betegségeinek és a központi, ill. a perifériás idegrendszer betegségeinek megelőzésére és/vagy kezelésére.

Ez a készítmény szintén hasznos lehet gyermekgyógyászati diétákban és/vagy enterális táplálásban. A gyermekgyógyászati diéta során a készítményt adhatjuk például mesterséges tejjel, sűrített tejjel, szójatejjel, porított tejjel, részlegesen humanizált tejjel együtt és általában bébiételekkel kombinálva.

A készítmény előnyös módon bakteriális eredetű alkalikus szfingomielinázt tartalmaz, melyet a Gram-pozitív, a Gram-negatív és tejsavbaktériumok vagy fentiek keverékéből álló csoportból választunk ki.

Konkrétabban az alkalmazott tejsavbaktériumokat a *Lactobacillus acidophilus*, a *Lactobacillus brevis*, a *Lactobacillus buchneri*, a *Lactobacillus casei*, a *Lactobacillus cateniformis*, a *Lactobacillus cellobiosus*, a *Lactobacillus crispatus*, a *Lactobacillus curvatus*, a *Lactobacillus delbrueckii*, a *Lactobacillus fermentum*, a *Lactobacillus jensenii*, a *Lactobacillus leichmannii*, a *Lactobacillus minutus*, a *Lactobacillus plantarum*, a *Lactobacillus rogosae*, a *Lactobacillus salivarius*, a *Bifidobacterium adolescentis*, a *Bifidobacterium angulatum*, a *Bifidobacterium bifidum*, a *Bifidobacterium breve*, a *Bifidobacterium catenulatum*, a *Bifidobacterium dentium*, a *Bifidobacterium eriksonii*, a *Bifidobacterium infantis*, a *Bifidobacterium longum*, a *Bifidobacterium plantarum*, a *Bifidobacterium pseudocatenulatum*, a *Bifidobacterium pseudolongum*, a *Streptococcus lactis*, a *Streptococcus raffinolactis* és a *Streptococcus thermophilus* baktériumokból álló csoportból választjuk ki.

Fenti tejsavbaktériumok között különösen előnyös a *Lactobacillus brevis* CD2 vagy annak mutánsai vagy származékai, melyeket a DSM 11 988 nyilvántartási szám alatt 1998. február 6-án jegyezték be a Német Mikroorganizmusok és Sejtkultúrák Gyűjteményébe (DSM („Deutsche Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen GmbH”,) Braunschweig, Németország), a Budapesti Egyezménynek megfelelően.

A találmány egy előnyös megvalósításában a tejsavbaktériumokat a készítményben élő, liofilizált vagy szonikált formában használjuk.

A készítmény előnyösen 1×10^2 - 1×10^{13} CFU tejsavbaktériumot tartalmaz a készítmény egy grammjában.

Egy különösen előnyös 200×10^9 *Streptococcus thermophilus*, 150×10^9 Bifidobaktériumot és 4×10^9 *Lactobacillus acidophilus* tartalmaz a készítmény egy grammjában.

A következő kísérleteket azért végeztük, hogy megerősítsük az alkalikus szfingomielináz jelenlétét és hatékonyságát a jelen találmány szerinti baktériumokban. A kísérletekben szerepelt az alkalikus szfingomielináz - az emberi bőrben a ceramid képződésért felelős enzim - kimutatása.

Módszerek

A savas, a neutrális és az alkalikus szfingomielináz mérése tejsavbaktériumokban és bélbiopsziás mintában.

10 mg liofilizált *Streptococcus thermophilus* baktériumot szuszpendáltunk 500 μ l 7,4-es pH-értékű 50 mM Tris-HCl-t, 10 mM $MgCl_2$ -ot, 2 mM EDTA-t, 5 mM DTT-t, 0,1 mM Na_3VO_4 -et, 0,1 mM Na_2MoO_4 -et, 30 mM p-nitrofenil-foszfátot, 10 mM β -glicerofoszfátot, 750 mM ATP-t, 1 mM PMSF-et, 10 μ M leupeptint, 10 μ M pepsztatint (Sigma Chemical Co.) és 0,2% Triton X-100-at (a neutrális SM-áz aktivitásának mérésére) tartalmazó pufferban vagy csak 500 μ l 0,2%-os Triton X-100-ban (a savas SM-áz aktivitásának mérésére). Az alkalikus szfingomielináz mérésekor a baktériumokat és a homogenizált bélbiopsziás mintát 5 mM $MgCl_2$ -öt, 0,15 M KCl-t, 50 mM KH_2PO_4 -et, 1 mM PMSF-et és 1 mM benzamidint tartalmazó 0,25 M-os szukróz pufferban (pH 7,4) szuszpendáljuk. Az így előkészített mintákat szonikálással (30 percig, mely során 10 másodperces „bekapcsolt” és

10 másodperces „kikapcsolt” periódusok váltakoznak) feltárjuk Vibracell szonikátorral (Sonic and Materials Inc., Danbury, CT). A szonikált mintákat 30 percig, 14000 fordulat/perc fordulatszám, 4 °C-on centrifugáltuk, a felülúszót eltávolítottuk és a fehérje koncentrációt a Bio-Rad Laboratories (Richmond, CA) által gyártott egység-csomaggal határoztuk meg.

A neutrális SM-áz meghatározása során 100 µg mintát 2 órán keresztül 37°C-on inkubáltunk 50 mM Tris-HCl-t, 1 mM MgCl₂-ot (pH=7,4) és 2,25 µl (N-metil-¹⁴C)-szfingomielint (SM) (0,2 µCi/ml, specifikus aktivitás: 56,6 mCi/mmol, Amersham) tartalmazó pufferban (végtérfogat: 50 µl).

A savas szfingomielináz aktivitásának meghatározásakor 100 µg baktériumlizátumot 2 órán keresztül 37°C-on inkubáltuk 250 mM nátrium-acetátot, 1 mM EDTA-t, pH 5,0 és 2,25 µl (N-metil-¹⁴C)-SM-et tartalmazó pufferban (végtérfogat: 50 µl).

Az alkalikus szfingomielináz aktivitásának meghatározásakor a mintákat 375 µl Tris-EDTA pufferba (pH 9) helyeztük és kiegészítettük 0,4 ml végtérfogatra, amely 50 mM Tris-t, 0,15 M NaCl-ot, 2 mM EDTA-t és 3 mM epesó keveréket - a TC: TDC: GC: GCDC moláris aránya 3: 2: 1,8 : 1 volt - tartalmazott. Ez az epesó keverék rendelkezett a legnagyobb mértékű stimuláló hatással az alkalikus SM-ázra. A pufferban az EDTA szerepe a neutrális SM-áz - amely Mg²⁺-függő, pH optimuma 7,5 - gátlása volt. A ¹⁴C-SM-et etanolban oldottuk, nitrogén alatt beszárítottuk és szuszpendáltuk a mérési pufferban, amely 3% Triton X-100 és 3 mM epesókeverék keverékét tartalmazta.

A reakciót 2 ml, 2:1 arányú kloroform : metanol keverék hozzáadásával állítottuk le. A foszfolipideket kivonást követően TLC lemezeken választottuk szét, az SM hidrolízisét mennyiségileg autoradiográfiával és folyadékszintillációs méréssel határoztuk meg. A szonikált baktériumokban, ill. a bélbiopsziás mintában az SM-áz mennyiségét pmol hidrolizált SM/óra/mg fehérjében fejeztük ki.

A *Streptococcus thermophilus*ból nyert SM-áz aktivitása

Az 1. ábra az SM-áz aktivitását mutatja szonikált tejsavbaktériumokban. Savas SM-áz aktivitást nem észleltünk, de jelentős neutrális és alkalikus SM-áz aktivitást mutattunk ki a baktérium mintákban az adott kísérleti körülmények mellett (több pH-értéken, $MgCl_2$ jelenlétében, ill. hiányában)

A bélbiopsziás minta alkalikus SM-áz aktivitása

A 2. ábra szerint a bélbiopsziás mintában magas aktivitású alkalikus SM-áz aktivitás észlelhető, amely epesó-függő (azaz epesó hiányában nem mérhető). Egy Crohn-betegségben szenvedő betegből nyert szöveti minta alkalikus SM-áz enzimaktivitása alacsonyabb volt a kontroll mintához képest.

A *Streptococcus thermophilus* hatása a bél alkalikus SM-áz aktivitására

A 3. ábra szerint a *Streptococcus thermophilus* minták SM-áz aktivitásának mérése azt mutatta, hogy - a bél SM-áz aktivitásának meghatározására szolgáló kísérleti körülmények között - a baktérium enzimjét nem befolyásolta az epesók jelenléte vagy hiánya. Ezen

kívül amikor a baktériumból származó és a bél SM-áz aktivitását párhuzamosan mértük, az SM hidrolízise additíven fokozódott. Hasonló eredményeket (nem közölt) kaptunk a *Lactobacillus brevis* CD2 törzsével vagy annak mutánsaival vagy származékaival, melyeket DSM 11 988 nyilvántartási szám alatt 1998. február 6-án jegyeztek be a Német Mikroorganizmusok és Sejtkulturák Gyűjteményébe (DSM) („Deutsche Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen GmbH”, Braunschweig, Németország), a Budapesti Egyezménynek megfelelően.

Szabadalmi igénypontok

1. Dietetikai, élelmiszer vagy gyógyászati készítmény, amely olyan mennyiségben tartalmaz alkalikus szfingomielinázt, hogy az dietetikus, táplálkozási vagy terápiás hatással bír az arra rászoruló egyénben.

2. Az 1. igénypont szerinti készítmény, amely alkalmas lehet a bél fejlődésével kapcsolatos betegségek, daganatos folyamatok, az immunválasz betegségeinek, a bél és a vele kapcsolatos szervek gyulladásos és apoptotikus folyamatainak, a koleszterinszintézis betegségeinek, a gyomor-bélrendszer felületének hidrofób tulajdonságának tulajdonított betegségek, a gyomor-bélrendszer allergiás betegségeinek, az emésztési betegségek, gyulladásos bélbetegségek, a polipózis - különösen a familiáris típus -, a hiperkoleszterinémia, *Helicobacter pylori* fertőzések, az újszülöttkori növekedés zavarainak, a bél homeosztázis betegségeinek és a központi, ill. a perifériás idegrendszer betegségeinek megelőzésére és/vagy kezelésére.

3. Az 1. vagy a 2. igénypontok szerinti készítmény, amely alkalmazható gyermekgyógyászati diétákban.

4. Az 1. vagy a 2. igénypontok szerinti készítmény, amely alkalmazható enterális táplálásban.

5. A 3. igénypont szerinti készítmény, amelyet mesterséges tej, sűrített tejjel, szójatejjel, porított tejjel, részlegesen humanizált tejjel és általában bébiételekkel kombinálva adagolunk.

6. A megelőző igénypontok bármelyike szerinti készítmény, amelyben az alkalikus szfingomielináz bakteriális eredetű, amit a Gram-pozitív, a Gram-negatív és a tejsavbaktériumok vagy fentiek keverékéből álló csoportból választunk ki.

7. A 6. igénypont szerinti készítmény, amelyben a tejsavbaktériumokat a *Lactobacillus acidophilus*, a *Lactobacillus brevis*, a *Lactobacillus buchneri*, a *Lactobacillus casei*, a *Lactobacillus cateniformis*, a *Lactobacillus cellobiosus*, a *Lactobacillus crispatus*, a *Lactobacillus curvatus*, a *Lactobacillus delbrueckii*, a *Lactobacillus fermentum*, a *Lactobacillus jensenii*, a *Lactobacillus leichmannii*, a *Lactobacillus minutus*, a *Lactobacillus plantarum*, a *Lactobacillus rogosae*, a *Lactobacillus salivarius*, a *Bifidobacterium adolescentis*, a *Bifidobacterium angulatum*, a *Bifidobacterium bifidum*, a *Bifidobacterium breve*, a *Bifidobacterium catenulatum*, a *Bifidobacterium dentium*, a *Bifidobacterium eriksonii*, a *Bifidobacterium infantis*, a *Bifidobacterium longum*, a *Bifidobacterium plantarum*, a *Bifidobacterium pseudocatenulatum*, a *Bifidobacterium pseudolongum*, a *Streptococcus lactis*, a *Streptococcus raffinolactis* és a *Streptococcus thermophilus* baktériumokból álló csoportból választjuk ki.

8. A 7. igénypont szerinti készítmény, amelyben a *Lactobacillus brevis* CD2-öt vagy annak mutánsait vagy származékait használjuk, melyeket DSM 11 988 nyilvántartási szám alatt 1998. február 6-án jegyezték be a Német Mikroorganizmusok és Sejtkultúrák Gyűjteményébe (DSM) („Deutsche Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen GmbH”, Braunschweig, Németország), a Budapesti Egyezménynek megfelelően.

9. A megelőző igénypontok bármelyike szerinti készítmény, amely a tejsavbaktériumokat élő, liofilizált vagy szonikált formában tartalmazza a készítményben.

10. A megelőző igénypontok bármelyike szerinti készítmény, amely 1×10^2 - 1×10^{13} CFU tejsavbaktériumot tartalmaz a készítmény egy grammjában.

11. A 7-9. igénypontok bármelyike szerinti készítmény, amely 200×10^9 *Streptococcus thermophilus*, 150×10^9 Bifidobakteriumot és 4×10^9 *Lactobacillus acidophilus* tartalmaz a készítmény egy grammjában.

12. A megelőző igénypontok bármelyike szerinti készítmény, amely tartalmaz még epesavakat - előnyösen urzodeoxikolsavat -, pektint, szfingomielint, arginin-deaminázt, zsírsavakat, többszörösen telítetlen zsírsavakat, nem-fermentált cukrokat - előnyösen laktulózt -, koleszterin-gátló-szereket, immunmodulátorokat, rákellenes anyagokat, vitaminokat, növekedési faktorokat, felületnövelőket, cereáliákat, rostokat, emulgeálókat, stabilizálókat, lipideket, antioxidánsokat, tartósítószerket, szabadgyök-semlegesítőket és/vagy érvédőket.

13. A megelőző igénypontok bármelyike szerinti készítmény, amely szájon át adagolható ételkiegészítőként.

14. A megelőző igénypontok bármelyike szerinti készítmény, amely szájon át vagy parenterálisan adagolható gyógyszerként.

15. Az alkalikus szfingomielináz alkalmazása dietetikai, élelmi-szer vagy gyógyászati készítmény előállítására, amely alkalmas a bél fejlődésével kapcsolatos betegségek, daganatos folyamatok, az immunválasz betegségeinek, a bél és a vele kapcsolatos szervek gyulladásos és apoptotikus folyamatainak, a koleszterinszintézis

betegségeinek, a gyomor-bélrendszer felületének hidrofób tulajdonságának tulajdonított betegségek, a gyomor-bélrendszer allergiás betegségeinek, az emésztési betegségek, gyulladásos bélbetegségek, a polipózis - különösen a familiáris típus -, a hiperkoleszterinémia, *Helicobacter pylori* fertőzések, az újszülöttkori növekedés zavarainak, a bél homeosztázis betegségeinek és a központi, ill. a perifériás idegrendszer betegségeinek megelőzésére és/vagy kezelésére.

16. A 15. igénypont szerinti alkalmazás gyermekgyógyászati diétákban.

17. A 15. igénypont szerinti alkalmazás enterális táplálásban.

18. A 16. igénypont szerinti alkalmazás, amelyben a készítményt mesterséges tejjel, sűrített tejjel, szójatejjel, porított tejjel, részlegesen humanizált tejjel és általában bébiételekkel kombinálva adjuk.

19. A 15-18. igénypontok bármelyike szerinti alkalmazás, amelyben az alkalikus szfingomielináz bakteriális eredetű, melyet a Gram-pozitív, a Gram-negatív és a tejsavbaktériumok vagy fentiek keverékéből álló csoportból választunk ki.

20. A 19. igénypont szerinti alkalmazás, amelyben a tejsavbaktériumokat a *Lactobacillus acidophilus*, a *Lactobacillus brevis*, a *Lactobacillus buchneri*, a *Lactobacillus casei*, a *Lactobacillus cateniformis*, a *Lactobacillus cellobiosus*, a *Lactobacillus crispatus*, a *Lactobacillus curvatus*, a *Lactobacillus delbrueckii*, a *Lactobacillus fermentum*, a *Lactobacillus jensenii*, a *Lactobacillus leichmannii*, a *Lactobacillus minutus*, a *Lactobacillus plantarum*, a *Lactobacillus rogosae*, a *Lactobacillus salivarius*, a *Bifidobacterium adolescentis*, a *Bifidobacterium angulatum*, a *Bifidobacterium bifidum*, a

Bifidobacterium breve, a *Bifidobacterium catenulatum*, a *Bifidobacterium dentium*, a *Bifidobacterium eriksonii*, a *Bifidobacterium infantis*, a *Bifidobacterium longum*, a *Bifidobacterium plantarum*, a *Bifidobacterium pseudocatenulatum*, a *Bifidobacterium pseudolongum*, a *Streptococcus lactis*, a *Streptococcus raffinolactis* és a *Streptococcus thermophilus* baktériumokból álló csoportból választjuk ki.

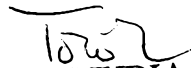
21. A 20. igénypont szerinti alkalmazás, amelyben a *Lactobacillus brevis* CD2-t vagy annak mutánsait vagy származékait használjuk, melyeket DSM 11 988 nyilvántartási szám alatt 1998. február 6-án jegyezték be a Német Mikroorganizmusok és Sejtkulturák Gyűjteményébe (DSM) („Deutsche Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen GmbH”, Braunschweig, Németország), a Budapesti Egyezménynek megfelelően.

22. A 15-21. igénypontok bármelyike szerinti alkalmazás, amelyben a tejsavbaktériumokat a készítményben élő, liofilizált vagy szonikált formában alkalmazzuk.

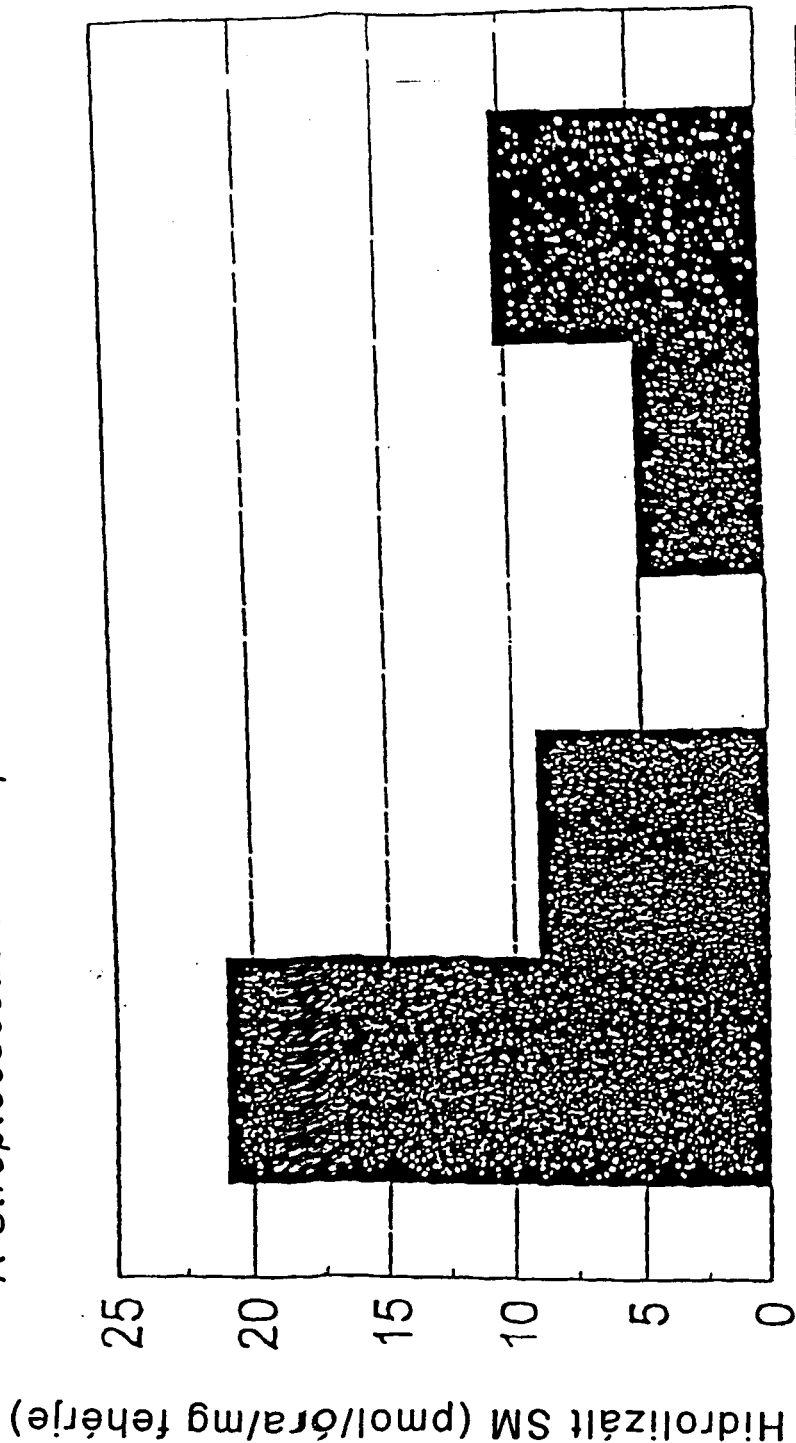
23. A 15-21. igénypontok bármelyike szerinti alkalmazás, amelyben 1×10^2 - 1×10^{13} CFU tejsavbaktérium van a készítmény egy grammjában.

24. A 15-21. igénypontok bármelyike szerinti alkalmazás, amelyben 200×10^9 *Streptococcus thermophilus*, 150×10^9 *Bifidobakterium* és 4×10^9 *Lactobacillus acidophilus* van a készítmény egy grammjában.

A meghatalmazott:


DANUBIA
Szabadalmi és Védjegy Iroda Kft.
dr. Török Ferenc
szabadalmi ügyvivő

A *Streptococcus thermophilus* SM-áz aktivitása



		+ MgCl ₂	- MgCl ₂
pH 7,4		21,0	5,0
pH 9		9,0	10,4

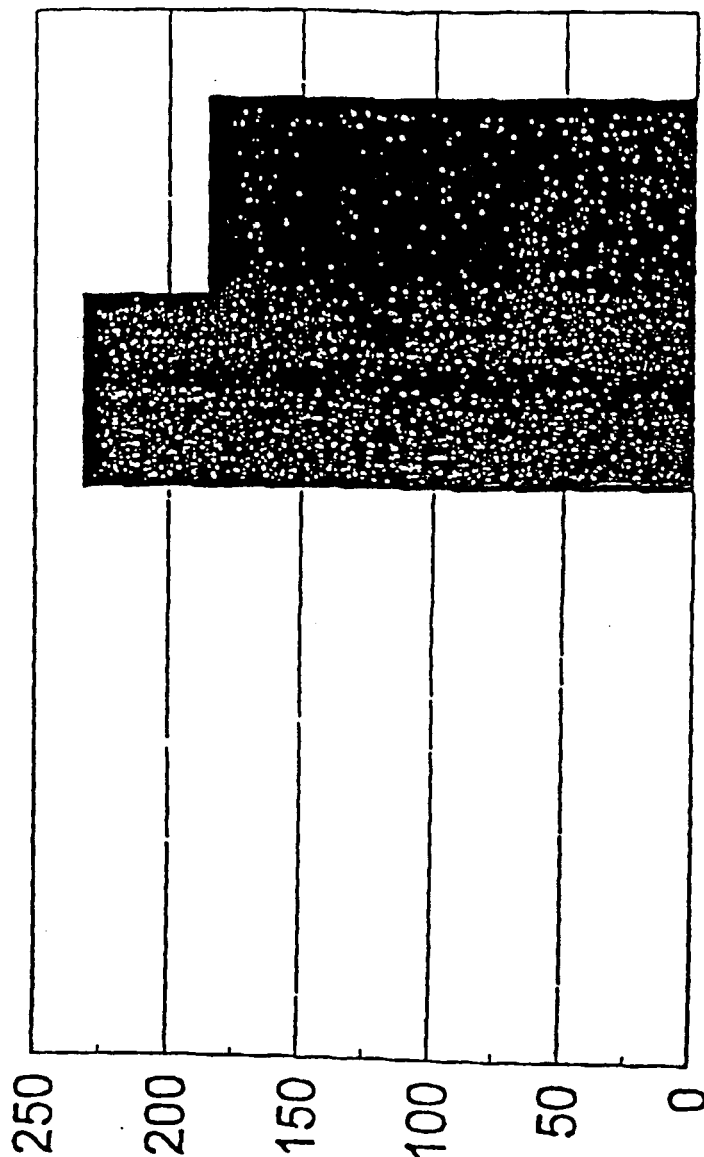
1. ábra

KÖZZÉTÉTELI
PÉLDÁNYA₂

2/3

A bélbiopsziás mintában észlelhető alkalikus SM-áz aktivitása

Hidrolizált SM (pmol/óra/mg fehérje)



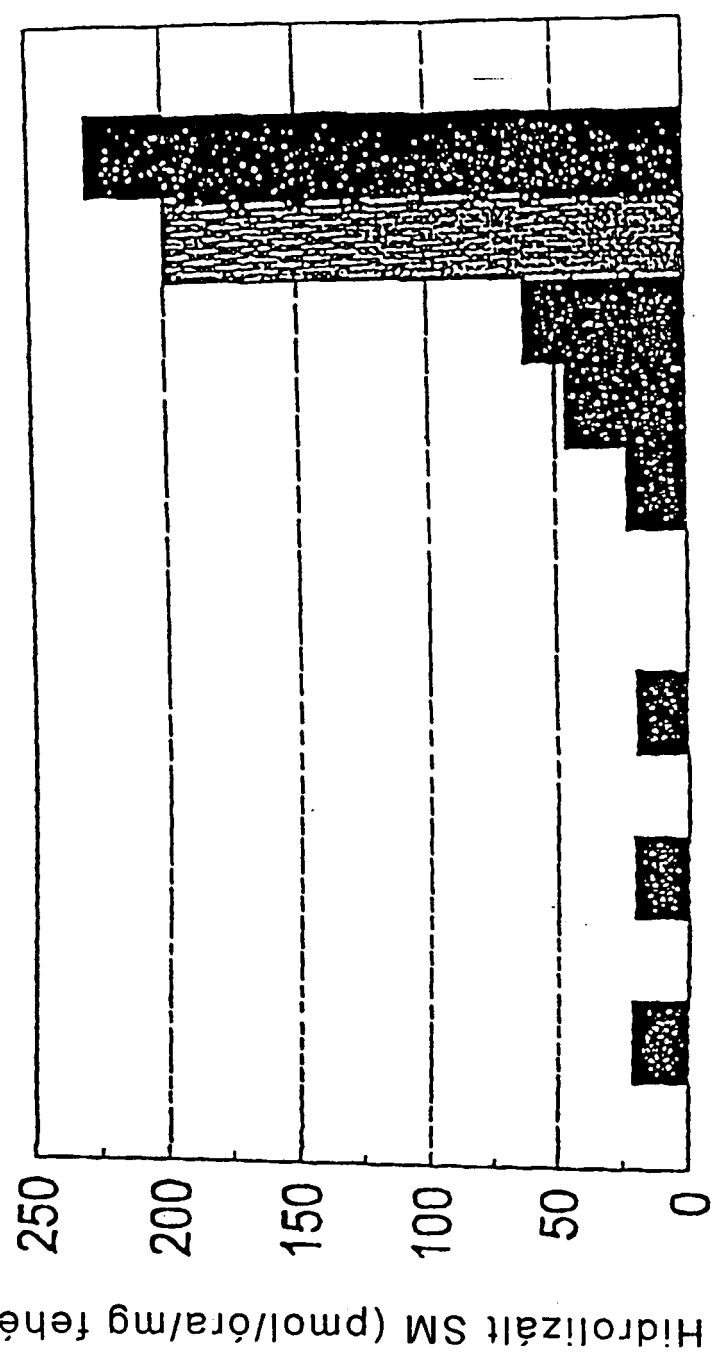
	Epesók nélkül	Epesókkal
Kontroll vastagbél	0	232
Crohn-betegből származó vastagbél	0	185

2. ábra

KÖZZÉTÉTELI
PÉLDÁNY

A₂

A *Streptococcus thermophilus* hatása a bél alkalikus SM-áz akti-
vítására



	Epesók nélkül	Epesókkal
<i>S. thermophilus</i> („S.th.”)	22	23
Normál sigmabél	0	46
<i>S. th.</i> és normál sigmabél	21	62
Normál vastagbél	0	200
<i>S. th.</i> és normál vastagbél	20	229

3. ábra