

PATENTOVÝ SPIS

(19)
ČESKÁ
REPUBLIKA



ÚŘAD
PRŮMYSLOVÉHO
VLASTNICTVÍ

(21) Číslo přihlášky: **2003-714**
(22) Přihlášeno: **14.09.2001**
(30) Právo přednosti: **15.09.2000 AT 2000/1579**
(40) Zveřejněno: **16.07.2003**
(**Věstník č. 7/2003**)
(47) Uděleno: **09.04.2008**
(24) Oznámení o udělení ve Věstníku: **21.05.2008**
(**Věstník č. 21/2008**)
(86) PCT číslo: **PCT/IB2001/002487**
(87) PCT číslo zveřejnění: **WO 2002/021932**

(11) Číslo dokumentu:

299 208

(13) Druh dokumentu: **B6**

(51) Int. Cl.:

A23K 1/16 (2006.01)
A61P 1/00 (2006.01)
A61K 31/47 (2006.01)
A61K 31/473 (2006.01)

(56) Relevantní dokumenty:

JP 1172339; WO 9316602.

(DRSATA J ET AL, JOURNAL OF ENZYME INHIBITION, 1996, Bd 10, Nr 4, str. 231 až 237), obrázky 1 až 4.

(73) Majitel patentu:

ROTH Herrmann, Eltville, DE

(72) Původce:

Roth Herrmann, Eltville, DE

(74) Zástupce:

Ing. Josef Smola, Mendlovo nám. 1a, Brno, 60300

(54) Název vynálezu:

Použití alkaloidů na bázi benzofenantridinu

(57) Anotace:

Použití jednoho nebo několika alkaloidů na bázi benzofenantridinu nebo jejich derivátů nebo analogických syntetických látek jako přísady do krmiva v účinném množství pro zadržování nebo zastavení enzymatického odbourávání esenciálních aromatických aminokyselin v krmivu nebo v přísadě do krmiva.

CZ 299208 B6

Použití alkaloidů na bázi benzofenantridinu

Oblast techniky

5

Vynález se týká použití jednoho nebo několika alkaloidů na bázi benzofenantridinu nebo jejich derivátů nebo analogických syntetických látek jako přísady do krmiva.

10

Dosavadní stav techniky

Aromatické aminokyseliny, například tryptofan a alanin, jsou esenciální živné látky, které si tělo není schopno samo produkovat, s výjimkou přežvýkavců. Jsou podstatnou složkou receptur potravy a krmiv pro zvířata. V krmivech pro zvířata slouží, stejně jako i jiné aminokyseliny, k zabezpečení určitého poměru a rovnováhy vzhledem k obsahu ostatních esenciálních a neesen-
ciálních aminokyselin. Jejich přidáváním do krmiv se však zvyšují náklady.

Ve střevech savců jsou do značné míry obsaženy mikroorganizmy, které pomocí svých enzymů, například pomocí dekarboxylázy, aromatických aminokyselin, jsou schopny odbourávat tyto aminokyseliny. Výsledkem toho je, že není možno udržet rovnováhu mezi jednotlivými amino-
kyselinami, která byla původně zabezpečena v krmivu při jeho přípravě. Tím se snižuje jakost masa z těchto zvířat.

Jako meziprodukt při enzymatickém odbourávání aromatických aminokyselin vzniká indol a skatol, které mají nežádoucí vlastnosti a účinky. Indol a skatol jsou toxické látky v odbourá-
vaném tryptofanu. Kromě jiného zatěžují játra, neboť tělo musí tyto látky zbavovat jedovatosti, aby nedošlo k onemocnění. Indol a skatol způsobují chronické subklinické záněty tkáně sliznice postižených savců a lidí. Indol a skatol, produkovány mikroorganizmy střevní sliznice usnadňují
patogenním parazitům (střevním hlístům, clostridiím, salmonelám, kokcidiím) vstup (invazi) do
horních buněk střevní sliznice, popřípadě snižují jejich schopnost obrany.

Kromě toho může zbytek indolu a skatolu, obsažený v potravě, také nepříznivě ovlivnit zdravotní stav konzumenta. Nevhodná relace mezi aromatickými aminokyselinami (ve vztahu k příliš
nízkému množství, které je k dispozici) a dalšími esenciálními aminokyselinami, vede k nerovno-
váze, jejímž důsledkem je snížené působení proteinů a snížený obsah mléčných bílkovin.
Výživná jakost se také hodnotí vzhledem k obsahu proteinů. Obsah proteinů (mléčných bílkovin,
libového masa), snížený v důsledku nedostatku aromatických aminokyselin, má za následek
sníženou jakost a tím také sníženou cenu masa.

Aromatická dekarboxyláza aminokyselin se také považuje za možnou příčinu Parkinsonovy
choroby člověka, která nepřímo vede k tomuto onemocnění. Velké množství mikroorganismů,
žijících ve střevech zvířat, produkuje enzymy odbourávající proteiny a aminokyseliny. Situace se
stává kritickou, když jsou tímto procesem postiženy esenciální živiny a tím vznikají toxické
produkty zatěžující svého hostitele, nebo zůstávají v potravinách jejich zbytky. Náklady spojené
s optimalizací složení krmiva se zvyšují, pokud jsou dosud nezbytné ztráty aromatických kyselin
nahrazovány jejich zvýšeným přidáváním do krmiva. V důsledku vzniku a neovlivněné aktivity
dekarboxylázy aromatických aminokyselin se značně zvyšují náklady na krmení užitkových a
jiných chovných zvířat a na udržování jejich dobrého zdravotního stavu.

Ze spisu WO-A 9 316 602 (Neufeld) je známo použití sanguinarinu a jiných alkaloidů na bázi
benzofenantridinu pro zvýšení výkonnosti užitkových zvířat, použití těchto alkaloidů pro ošetřo-
vání, popřípadě jako profylaxe proti napadení salmonelózou, proti kokcidiím a jiným bakteriál-
ním nosičům a pro konzervaci krmných látek. Použití těchto alkaloidů pro omezení a znemožnění
enzymatického odbourávání AAD (aromatické aminokyseliny-dekarboxyláza) se zde neuvádí.

55

Dršata a spol. v *J. Enzyme Inhibition*, 1996, sv. 10, str. 231–237, pojednávají o působení sanguinarinu jako inhibitoru AAD, který hraje důležitou roli při biosyntéze dopaminu, noradrenalinu, adrenalinu a serotoninu. Vzhledem k tomu, že dopamin je důležitý v souvislosti s léčením Parkinsonovy choroby, noradrenalin je potenciální vazokonstriktor a serotonin patří do skupiny mediátorů zánětů, je omezování AAD předmětem studia. Podle zde zjištěných poznatků není nasnadě použití alkaloidů na bázi benzofenantridinu pro zlepšení proteinové bilance u užitkových zvířat nebo použití jako léčiva ve veterinární medicíně.

10 Podstata vynálezu

Podstata vynálezu spočívá v použití jednoho nebo několika alkaloidů na bázi benzofenantridinu nebo jejich derivátů nebo analogických syntetických látek jako přísady do krmiva v účinném množství pro zadržování nebo zastavení enzymatického odbourávání esenciálních aromatických aminokyselin v krmivu nebo v přísadě do krmiva.

Je také podstatné, že alkaloidy na bázi benzofenantridinu se používají ve formě rostlinného materiálu Papaveraceae nebo extraktu z něj, nebo ve formě izolovaných alkaloidů nebo směsi alkaloidů nebo analogických syntetických látek.

Je významné, že krmivo obsahuje esenciální aromatické aminokyseliny a alkaloidy na bázi benzofenantridinu a že esenciální aromatické aminokyseliny se přidávají do krmiva dodatečně, přičemž množství alkaloidů na tunu krmiva je vyšší než 1 mg.

Podstatou vynálezu je rovněž použití alkaloidů na bázi benzofenantridinu nebo jejich derivátů nebo analogických syntetických látek nebo částí rostlin Papaveraceae obsahujících alkaloid nebo alkaloidy na bázi benzofenantridinu k výrobě krmiva nebo přísad do krmiva pro zlepšení proteinové bilance u užitkových zvířat omezením nebo zastavením enzymatického odbourávání aromatických kyselin v trávicím traktu.

Dalším přínosem vynálezu je použití alkaloidů na bázi benzofenantridinu nebo jejich derivátů nebo analogických syntetických látek nebo částí rostlin Papaveraceae obsahujících alkaloid nebo alkaloidy na bázi benzofenantridinu k výrobě léků proti zánětům střev, které jsou vyvolány produkty odbourávání metabolismu aminokyselin, jako jsou indol a skatol.

Příklady provedení vynálezu

Ukázalo se, že potenciálními inhibitory dekarboxylázy aromatických aminokyselin mohou být chelerytrin a sanguinarin, jakož i jiné alkaloidy na bázi benzofenantridinu. Zjistilo se, že sanguinarin a chelerytrin blokují aktivitu dekarboxylázy aromatických aminokyselin z 99 %, popřípadě z 92 %. Tato blokáda dekarboxylázy aromatických aminokyselin je ireverzibilní a z tohoto důvodu zvláště zajímavá, neboť trvá tak dlouhou dobu, po kterou se molekula enzymu nachází v oblasti působení alkaloidů na bázi benzofenantridinu. Sanguinarin a chelerytrin, jako zástupci skupiny benzofenantridinalkaloidů, mají konečnou aromatickou strukturu, podobnou struktuře aromatických kyselin. Enzym „aromatické dekarboxylázy aminokyselin“ pravděpodobně zaměňuje konečnou strukturu alkaloidů na bázi benzofenantridinu za cyklickou strukturu aromatických aminokyselin a zabudovává je do svého aktivního centra místo aminokyselin. Vzhledem k tomu, že alkaloidy na bázi benzofenantridinu neobsahují žádný odštěpitelný uhlíkový skelet, jaký je běžný u aminokyselin, nevzniká žádný konečný produkt enzymatické reakce, která tak nemůže být dokončena. Aktivní centrum aromatické dekarboxylázy aminokyselin je tak nezvratně zablokováno. Vynález ukazuje, že je možné, nezvratně blokovat aktivitu a tím i produkty látkové výměny dekarboxylázy aromatických aminokyselin přidáním nějaké látky o struktuře podobné struktuře aromatických aminokyselin a tak využít této skutečnosti pro živočišná krmiva, i jako léčiva.

Vynález sleduje redukované odlučování a ztráty esenciálních aromatických aminokyselin a tím také zlepšenou přípravu krmiva pro zvířata. Pokusy se prokázalo, že je tak možno produkci libového masa a obsah mléčných bílkovin podstatně, zčásti i velmi výrazně zlepšit. Další pokusy ukázaly, že takto zlepšeným vyvážením vzorce aminokyseliny se u prasat v konečném výkrmu zlepšila bilance proteinů až o 10 %.

Řešením podle vynálezu se sleduje zlepšení zdravotního stavu zvířat. Pokusy bylo prokázáno, že použití alkaloidů na bázi benzofenantridinu vede k výrazně snížené frekvenci zánětů ve střevech zvířat.

Krmivo podle vynálezu může obsahovat všechny krmné látky, běžně používané v chovech zvířat. Pod tento pojem spadají složky obsahující škrob, jako jsou obilí, obilné výrobky a kukuřice. Další v nich obsažené proteiny mohou být přírodního původu nebo mohou být přidávány jako preparáty, což platí zejména pro esenciální aminokyseliny. Dále mohou být k dispozici minerální přísady, jako jsou stopové prvky, fosfáty, soli a vápno. Přidávat lze i další přísady, jako jsou enzymy, vitaminy nebo léčivé látky.

Aromatické aminokyseliny obsažené v krmivu mohou mít buď zcela nebo zčásti přírodní původ nebo to mohou být uměle vyrobené přísady. Podstatné aromatické aminokyseliny jsou například tryptofan a fenylalanin.

Alkaloidy na bázi benzofenantridinu se v přírodě vyskytují například v oddencích kanadského kořene *Sanguinaria canadensis* nebo také v *Chelidonium majus* nebo v *Macleya cordata*. Tyto rostliny se řadí k rodu *Papaveraceae*. Oddenky nebo listy, popřípadě celé rostliny je možno sbírat a sušit. Pokud jde o sušenou hmotu, činí v ní obsah alkaloidů na bázi benzofenantridinu převážně asi 4 % hmotn. Pro vyrovnání sklizňových výkyvů, může být výhodné, nastavit obsah hlavního alkaloidu sanguinarinu na hodnotu například 1,5 % hmotn. přísadou plnicích látek. Vzhledem k tomu, že asi polovina obsahu přírodních alkaloidů připadá na sanguinarin, je celkový obsah alkaloidů přibližně 3 % hmotn.

Další alkaloidy této skupiny jsou chelerytrin, chelirubin, sanguirubin, chelilutin a sanguilutin.

V rámci řešení podle vynálezu může také být výhodné podávání výtažků z rostlinného materiálu nebo izolovaných alkaloidů, popřípadě analogických syntetických látek.

Množství alkaloidů obsažených v krmivu je směrem dolů omezeno pouze jejich účinností. Celkové množství alkaloidů na tunu krmiva je s výhodou větší než 1 mg. Vztaheno na standardní sušený kořenový materiál *papaveraceae* to odpovídá přibližně množství o hmotnosti 0,067 g na tunu krmiva.

U dosud podrobněji zkoumaných podávaných krmiv byla v tuně krmiva zjištěna sušená *Papaveraceae* v množství mezi 5 g a 150 g, standardně obsahující 1,5 % alkaloidu sanguinarinu, odpovídajícího asi 3 % celkového alkaloidu.

Vynález se také týká přísad do krmiva, jako jsou například předsměsi (premixy) nebo minerální krmivo nebo doplňkové krmné látky používané pro přípravu krmiva, přičemž přídatný prostředek do krmiva vedle běžných přísad obsahuje alkaloidy na bázi benzofenantridinu nebo jejich deriváty a analogické složky nebo části rostlin *Papaveraceae*, které obsahují tyto alkaloidy. Vynález tak zahrnuje jak samotné zvířeti podávané krmivo, tak i výchozí polotovary, které uživatel používá k přípravě hotového krmiva.

Dále se vynález týká použití alkaloidů na bázi benzofenantridinu nebo jejich derivátů a analogických látek nebo částí rostlin *papaveraceae*, které je obsahují, pro zastavení nebo zamezení

enzymatického snižování obsahu aromatických aminokyselin, zejména v zažívacím traktu zvířat, zvláště v kombinaci s některým krmivem nebo s jeho přísadami.

Pokud je v krmivu obsažen dostatek esenciálních aromatických aminokyselin, je možno přidavkem alkaloidů ušetřit přidavné podávání nákladných aromatických aminokyselin. Pokud je třeba přidávat aromatické aminokyseliny, například tryptofan a fenylalanin, je možno snížit přidávané množství alkaloidem, čímž se sníží i náklady. Jako směrné číslo vztažené na současné poměry na trhu, je možno předpokládat, že dochází k úspoře asi 10 Euro z ceny krmiva, pokud se do něj podle vynálezu přidávají preparáty obsahující alkaloidy v hodnotě 1 Eura.

Alkaloidy na bázi benzofenantridinu je také podle vynálezu možno s výhodou použít jako léčivo proti zánětu střev, zejména proti zánětu, který byl vyvolán produkty snižujícími látkovou výměnu aminokyselin, jako jsou indol nebo skatol. Léčivo se vyznačuje obsahem účinného množství alkaloidů na bázi benzofenantridinu nebo jejich derivátů nebo analogických syntetických látek, popřípadě tyto látky obsahujících rostlinných částí Papaveraceae.

Léčivo se s výhodou podává současně s krmivem nebo jako přísada do pitné vody. Také účinné látky alkaloidů leží ve stejné oblasti.

Dále jsou uvedeny některé konkrétní příklady provedení vynálezu:

1. Příklad běžné receptury krmiva pro slepice a prasata (v procentech hmotnostních)

	pšenice	42 %
25	kukuřice	20 %
	slunečnice	3,6 %
	sójový šrot I	4 %
	sójový šrot II	16,6 %
	řepkový šrot	4 %
30	krmný olej	6,5 %
	methionin	0,26 %
	lysin	0,48 %
	monokalciumfosfát	0,85 %
	vápno	0,5 %
35	sůl	0,025 %
	základní směs	1,0 %
	enzymy	0,2 %

Aminokyseliny:

	protein	19,2 %
40	lysin	0,824 %
	metionin	0,276 %
	meth + cystin	0,568
	threonin	0,8 %
	thryptofan	0,24 %

45

2. Příklad podle vynálezu:

Krmivo pro prasata má složení podle příkladu 1. Uvedená množství přidávané rostliny Papaveraceae jsou udána v g z usušeného materiálu kořenů s 1,5 % hmotn. alkaloidu sanguinarinu na 1 tunu krmiva. Rasa zvířat: Great Yorkshire + křížená prasata ve skupině 23–24 zvířat.

50

Skupiny sledovaných zvířat:			
	a	b	c
Papaveraceae g/t			
počáteční/předběžný			
výkrm 22 kg – 48 kg			
	0	0	15
5	konečný výkrm		
	48 kg – 109 kg	0	30
Výsledek:			
Klasifikace a hodnota masa z porážky			
10	(AA je lepší než A – lepší než B):		
	0–kontrola	Dávkování papaveraceae g/t	
	(0/0)	předběžný/konečný výkrm	
		(0/30)	(15/30)
	libové maso	54,5	55,1
			55,0 NS
15	hřbetní špek mm	17,8	17,7
			17,6 NS
	svalová plocha	51,9	55,6
			54,2 (p<0.05)
	třída AA + A %	77 %	96 %
			92 %
	třída B	23 %	4 %
			8 %
Podle vynálezu je tak výrazně zvýšen podíl třídy AA + A			

20 Význam zkratk:
p značí stupeň významnosti,
NS značí nevýznamné.

25 3. Příklad

Skupiny: 0–kontrola 30 g papaveraceae v 1 t krmiva
144 selat na začátku, 72 ve skupině, rozděleno na 8 opakování v každé skupině.
30 Omezené krmení.

Předběžný – konečný výkrm 31–115 kg:

	0–kontrola	Papaveraceae 30g/t
35	libové maso (FOM) %	54,9
		55,2
	svalová plocha cm ²	51,7
		52,0
	hřbetní špek cm	20,6
		20,1

Hospodárnost: základní 1.022 Euro/kg jatečné hmotnosti

Cena jatečného masa Euro +1,53

Výhoda daná použitím Papaveraceae +2,71

40 Komentář:

V soustavě s omezeným krmením zvyšuje Papaveraceae hodnotu jatečného masa tím, že se zvyšuje podíl na libovolném mase a svalové plochy, a současně se snižuje množství hřbetního špeku.
45 Tím Papaveraceae současně zvyšuje kvalitu masa a rentabilitu o přibližnou částku 1,53 Euro na jedno zvíře.

4. Příklad

Krmivo pro drůbež:

5 skupin po 28.000 kusech drůbeže

5 kokcidiostatikum salinomycin

Kontrola

Papaveraceae

15 ppm virginiamycin (antibiotika)

50g/t

Spory parazitů v 1000/g trusu

(kokcidie—oocysty) 5 – 40

1 – 6

10 lesionindex 0, *až*** 0 až **

0 až *

kde ppm značí miliontiny.

Pokus ukázal, že došlo k výrazně příznivějšímu výsledku, pokud jde o záněty střev a k výrazně sníženému výskytu střevních parazitů.

P A T E N T O V É N Á R O K Y

1. Použití jednoho nebo několika alkaloidů na bázi benzofenantridinu nebo jejich derivátů nebo analogických syntetických látek jako přísady do krmiva v účinném množství pro zadržování nebo zastavení enzymatického odbourávání esenciálních aromatických aminokyselin v krmivu nebo v přísadě do krmiva.

2. Použití podle nároku 1, kde alkaloidy na bázi benzofenantridinu se používají ve formě rostlinného materiálu Papaveraceae nebo extraktu z něj, nebo ve formě izolovaných alkaloidů nebo směsi alkaloidů nebo analogických syntetických látek.

3. Použití podle nároku 1 nebo 2, kde krmivo obsahuje esenciální aromatické aminokyseliny a alkaloidy na bázi benzofenantridinu.

4. Použití podle některého z nároků 1 až 3, kde esenciální aromatické aminokyseliny se přidávají do krmiva dodatečně.

5. Použití podle některého z předcházejících nároků, kde množství alkaloidů na tunu krmiva je vyšší než 1 mg.

6. Použití alkaloidů na bázi benzofenantridinu nebo jejich derivátů nebo analogických syntetických látek nebo částí rostlin Papaveraceae obsahujících alkaloid nebo alkaloidy na bázi benzofenantridinu k výrobě krmiva nebo přísad do krmiva pro zlepšení proteinové bilance u užitkových zvířat omezením nebo zastavením enzymatického odbourávání aromatických kyselin v trávicím traktu.

7. Použití alkaloidů na bázi benzofenantridinu nebo jejich derivátů nebo analogických syntetických látek nebo částí rostlin Papaveraceae obsahujících alkaloid nebo alkaloidy na bázi benzofenantridinu k výrobě léků proti zánětům střev, které jsou vyvolány produkty odbourávání metabolismu aminokyselin, jako jsou indol a skatol.

Konec dokumentu