

(19)
ČESKÁ
REPUBLIKAÚŘAD
PRŮMYSLOVÉHO
VLASTNICTVÍ

(21) Číslo přihlášky: **2008-296**
 (22) Přihlášeno: **15.04.2002**
 (30) Právo přednosti:
17.04.2001 IL 142650
 (40) Zveřejněno: **14.04.2004**
(Věstník č. 4/2004)
 (47) Uděleno: **11.11.2021**
 (24) Oznámení o udělení ve věstníku:
22.12.2021
(Věstník č. 51/2021)
 (86) PCT číslo: **PCT/IL2002/000303**

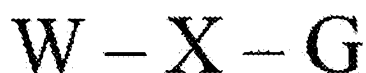
C07J 41/00 (2006.01)
C07J 9/00 (2006.01)
A61K 31/575 (2006.01)
A61P 1/16 (2006.01)
A61P 3/06 (2006.01)
A61P 3/10 (2006.01)

(56) Relevantní dokumenty:
 Gilat, T., et al. "Fatty acid bile acid conjugates (FABACs)—new molecules for the prevention of cholesterol crystallisation in bile." Gut 48.1 (2001): 75-79.
 EP 417 725 (20.03.1991) & IL 95 668 (30.03.1995); US 3 856 953 (24/12/1974); WO 99/52 932 (21.10.1999) & cz 300 824 (17.01.2001).

(73) Majitel patentu:
 Galmed Research and Development Ltd., 6473307
 Tel-Aviv, IL
 (72) Původce:
 Dr. Tuvia GILAT, Tel-Aviv 64235, IL
 (74) Zástupce:
 PATENTSERVIS Praha a.s., Na Podkovce 281/10,
 147 00 Praha 4, Podolí

(54) Název vynálezu:
Použití konjugátu žlučové kyseliny nebo soli žlučové kyseliny s mastnou kyselinou nebo farmaceutického prostředku jej obsahujícího pro snížení cholesterolu a léčbu hyperglykémie a diabetu

(57) Anotace:
 Použití konjugátu žlučové kyseliny nebo soli žlučové kyseliny s mastnou kyselinou obecného vzorce II, ve kterém G je zbytek žlučové kyseliny nebo soli žlučové kyseliny, který je popřípadě konjugován na pozici 24 s vhodnou aminokyselinou, W představuje jeden nebo dva zbytky mastných kyselin, které mají 14 až 22 atomů uhlíku, a X znamená vhodný vazebný člen nebo přímo C=C vazbu mezi uvedeným zbytkem žlučové kyseliny nebo soli žlučové kyseliny a mastnou kyselinou či mastnými kyselinami, s výlukou, kdy X je v podstatě štěpitelná intestinálními a/nebo bakteriálními enzymy během procesu absorpce, a X je esterová vazba, nebo farmaceutického prostředku jej obsahujícího, pro přípravu léčiva pro snížení cholesterolu v krvi a těle a pro léčbu hyperglykémie a diabetu.



Použití konjugátu žlučové kyseliny nebo soli žlučové kyseliny s mastnou kyselinou nebo farmaceutického prostředku jej obsahujícího pro snížení cholesterolu a léčbu hyperglykémie a diabetu

5

Oblast techniky

Tento vynález se týká nových použití určitých konjugátů žlučových kyselin nebo soli žlučových kyselin s mastnými kyselinami pro přípravu léčiva pro snížení cholesterolu a léčbu hyperglykémie a diabetu.

10

Dosavadní stav techniky

Podle izraelského patentu č. 123 988 jsou známy konjugáty žlučových kyselin nebo žlučových soli s mastnými kyselinami [BAFAC I] obecného vzorce I:



v němž G je zbytek žlučové kyseliny nebo soli žlučové kyseliny, který je-li třeba, je konjugován na pozici 24 s vhodnou aminokyselinou, W znamená jeden nebo dva zbytky mastných kyselin, které mají 6 až 26 uhlíkových atomů a X znamená NH vazbu mezi uvedeným zbytkem žlučové kyseliny nebo soli žlučové kyseliny.

Z uvedeného patentového spisu je známé použití sloučenin obecného vzorce I a farmaceutických prostředků je obsahujících pro rozpouštění cholesterolových žlučových kamenů v žluči, prevenci vzniku nebo léčení těchto žlučových kamenů a omezení nebo prevenci arteriosklerózy. Jsou též známy způsoby léčení těchto chorob.

30

Podstata vynálezu

Vynález se týká použití konjugátu žlučové kyseliny nebo soli žlučové kyseliny s mastnou kyselinou majícího obecný vzorec II (BAFAC II)

35



ve kterém

G je zbytek žlučové kyseliny nebo soli žlučové kyseliny, který je případně konjugován na pozici 24 s vhodnou aminokyselinou,

W představuje jeden nebo dva zbytky mastných kyselin, které mají 14 až 22 atomů uhlíku, a X znamená vhodný vazebný člen nebo přímo C=C vazbu mezi uvedeným zbytkem žlučové kyseliny nebo soli žlučové kyseliny a mastnou kyselinou či mastnými kyselinami, s výlukou, kdy X je v podstatě štěpitelná intestinálními a/nebo bakteriálními enzymy během procesu absorpce, a X je esterová vazba, nebo farmaceutického prostředku jej obsahujícího pro přípravu léčiva pro snížení cholesterolu v krvi a těle.

Bylo překvapivě nalezeno, že tyto konjugáty BAFAC a farmaceutické prostředky, které je obsahují, v nichž W znamená jeden nebo dva zbytky mastné kyseliny, které mají 14 až 22 uhlíkových atomů a X znamená vhodný vazebný člen nebo přímo C = C vazbu mezi uvedeným zbytkem žlučové kyseliny nebo zbytkem soli žlučové kyseliny a mastnou kyselinou nebo mastnými kyselinami, , s výlukou, kdy X je v podstatě štěpitelná intestinálními a/nebo bakteriálními enzymy během procesu absorpce, a X je esterová vazba, (přičemž jsou

55

sloučeninami obecného vzorce II; zde dále nazývané BAFAC II) a farmaceutické prostředky s jejich obsahem mají další použití, zvláště pak mohou být použity:

a) pro snížení koncentrace cholesterolu v krvi

b) pro léčení hyperglykemie a diabetu.

Uvedené BAFAC II a farmaceutické prostředky, které je obsahují, mohou být také použity pro léčení uvedených chorob.

Tato vazba musí být pevná vazba, a to taková, která není v podstatě štěpitelná střevními a/nebo bakteriálními enzymy během procesu absorpce. Esterová vazba není tedy vhodná, protože je snadno štěpitelná. Vazba znamená zejména NH, ale může znamenat i jiné vhodné vazebné členy, např. S, P, O-ether atd.

Tato vazba může být v alfa nebo beta konfiguraci a může být připojená v různých pozicích v molekule žlučové kyseliny, přičemž je dáována přednost pozicím 3, 6, 7, 12 a 24.

Dále jsou uvedeny choroby, kterých se to týká, historie jejich léčení a nové použití pro léčení těchto chorob:

A. Snížení koncentrace cholesterolu v krvi

Hyperglykémie velmi škodí zdraví. Je rozhodujícím faktorem několika závažných chorobných procesů jako je ischemická choroba srdeční, infarkt myokardu, periferní vaskulární choroba, možné nebezpečí mrtvice atd. Snížení koncentrace cholesterolu v krvi je prospěšné nebo preventivní u některých uvedených chorob. Současná medicínální léčba hypercholesterolemie je zaměřena na snížení endogenní syntézy cholesterolu v játrech. Z toho důvodu používané statiny inhibují enzym HMG CoA reduktázu. Nicméně hlavní část tělesného cholesterolu pochází z cholesterolu přijatého výživou. Dietní zákazy jsou, bohužel, jak je známo, neefektivní. K vazbě žlučových kyselin (produktů katabolizmu cholesterolu) a jejich vyloučení do střevního traktu vedoucího k jejich fekální exkreci mohou být též použity iontoměničové pryskyřice. Mají určitý vliv na krevní cholesterol, ale též významné vedlejší účinky, které omezují jejich použití.

Nyní bylo prokázáno, že BAFAC II snižují výživou zaviněnou hypercholesterolemii u několika druhů zvířat, dokonce i když zvířata pokračují v konzumaci diety s vysokým obsahem cholesterolu a tuků.

B. Léčení hyperglykemie a diabetu

Diabetes mellitus je poruchou metabolismu sacharidů (glukózy). Schematicky je rozdělován na typ 1, diabetes závislý na inzulínu (IDDM –insuline dependent diabetes mellitus), charakterizovaný nedostatkem inzulínu a typ 2, nezávislý na inzulínu (NIDDM – not insulin dependent diabetes mellitus), charakteristický hlavně inzulínovou rezistencí. NIDDM je často spojen s obezitou a/nebo ztučněním jater. Existují ještě další důvody hyperglykemie. Léčení diabetu mellitus zahrnuje dietu, inzulínové injekce a/nebo ústní podávání hypoglykemických léčiv. Cílem léčby je normalizace hladiny krevního cukru. Diabetes, zvláště pak nedostatečně kontrolovaná diabetes, vede k těžkým komplikacím.

Nyní bylo zjištěno, že konjugáty BAFAC II snižují a normalizují hladiny krevní glukózy u modelových zvířat obou typů diabetu (IDDM a NIDDM).

Léčení ztučnělých jater

Ztučnění jater je dnes jedním z nejběžnějších onemocnění jater. Je způsobeno rozsáhlým ukládáním tuku v játrech. Histologicky se projevuje různým množstvím mikro a/nebo makro
 5 měchýřkovitých tukových kapiček v jaterní tkáni. Ztučnění jater může být způsobeno léky, drogami, chemikáliemi, chorobami, bakteriemi atd., ale hlavním důvodem je nadměrný příjem potravy vedoucí k obezitě (především v oblasti trupu).

Vlivem zvyšování převahy nadváhy v blahobytné společnosti stoupá rozšíření ztučnění jater.
 10 Ztučnění jater se může vyvinout ve steatohepatitis (neinfekční hepatitida způsobená nadměrným vývinem tukové tkáně v játrech) cirhózu provázenou chorobností a úmrtností.

Nejlepší léčbou pro ztučnění jater způsobené nadměrnou výživou je trvalé snížení hmotnosti. Jak je však známo, toho je jen zřídka dosaženo. Nyní bylo zjištěno, že BAFAC II mohou snížit
 15 nebo zabránit ztučnění jater. To bylo prokázáno v průběhu pokračování nadměrného příjmu potravy u několika živočišných druhů.

V následující části bude tento vynález popsán s odkazem na příklady a obrázky, aniž by jimi byl
 20 jakkoli limitován.

V uvedených příkladech byla používána „běžná dieta“ následujícího složení:

Sacharidy 50 %, proteiny 21 %, tuky 4 % s minerály, vlákninou a vitaminovými doplňky
 25 (připravenými fy Koffolk, Petlach Tiqwa, Izrael).

Objasnění výkresů

Obrázky 1A, 1B a 1C ukazují postní koncentrace krevní glukózy u hlodavců při různých dietních
 30 režimech s a bez BAFAC II (150 mg/kg/den), tj.:

obrázek 1A pro krysy (4 t)

obrázek 1B pro křečky (3 t)

obrázek 1 C pro myši (16 d)

a

obrázek 2 ukazuje poměr lipid/protein v játrech inbredních myší linie C57J/L krmených dietou
 40 s vysokým obsahem tuku +/- BAFAC II (150 mg/ kg/den) po dobu pěti týdnů.

Příklady uskutečnění vynálezu

Příklad 1

1. Samci křečků

Byli použiti zlatí syříští křečci (Anilab, Rehovot, Izrael) stáří 4 až 6 týdnů, o hmotnosti 90 až 110
 50 g. Byli krmeni lithogenní dietou (dieta vedoucí k tvorbě žlučových kamenů) (č. 1), která se skládala z jejich běžné diety doplněné o cholesterol (1 % hmotn.), kyselinu palmitovou (1,2 % hmotn.), kukuřičný olej (2 % hmotn.; upravený podle Ayyad et al., Lipids, 1992; 27: 993-998) (jedná se o hmotnostní %) po dobu 10 týdnů. Polovině zvířat byla navíc podána kyselina 3β-
 55 arachidonoylamido-7α,12α-dihydroxy-5β-cholan-24-ová v dávce 150 mg/kg/den suspendovaná

ve fyziologickém roztoku intragastrickým způsobem podání. Kontrolním zvířatům byly podobně podávány stejné objemy fyziologického roztoku. Po deseti týdnech byla zvířata anestetizována a byla jim odebrána krev ze srdce za účelem analýzy. Byla odebrána játra a ostatní orgány. Hladiny krevního cholesterolu byly určeny pomocí autoanalyzátoru.

2. Myši

Byli použiti samci inbredních myši C57J/L (Jackson Lab., Maine, USA) stáří 4 až 6 týdnů o hmotnosti 20 až 25 g. Byla jim podávána jejich běžná dieta doplněná o mléčný tuk 15 % hmotn., cholesterol 1 % hmotn., kyselinu cholovou 0,5 % hmotn., kukuřičný olej (2 % hmotn.; upravený podle Khanuja et al., Proc. Natnl. Acad. Sci. USA 1995; 92:7729-33) (jedná se o hmotnostní %) po dobu 4 až 8 týdnů. (Lithogenní dieta #2). Polovině zvířat ze skupiny byla intragastricky (žaludeční sondou) podávána 3 β -arachidonoylamido-7 α ,12 α -dihydroxy-5 β -cholan-24-ová kyselina v dávce 150 mg/kg/den suspendovaná ve fyziologickém roztoku. Druhé polovině byl podobně podáván stejný objem fyziologického roztoku. Po 4 až 8 týdnech byla zvířata anestetizována a byla jim odebrána krev ze srdce za účelem analýzy. Byla odebrána játra a ostatní orgány. Hladiny cholesterolu v séru byly stanoveny pomocí autoanalyzátoru.

Další skupině samců inbredních myši C57 J/L (Jackson Laboratoriem, Maine, USA) 4 až 6 týdnů starých, o hmotnosti 20 až 25 g byla podávána lithogenní dieta (č. 2) po dobu 8 týdnů a pak běžná dieta po dobu dalších 8 týdnů. Během 8 týdnů této běžné diety byla část zvířat podávána kyselina 3 β -arachidonoylamido-7 α ,12 α -dihydroxy-5 β -cholan-24-ová intragastrickým způsobem podávání při dávce 150 mg/kg/den. Po 16 týdnech byla zvířata anestetizována a byla jim odebrána srdeční krev pro analýzu. Byla jim odebrána játra a ostatní orgány. Hladiny sérového cholesterolu byly stanoveny výše uvedeným způsobem.

Třetí skupině zvířat byla podávána 16 týdnů běžná dieta a pak byla analyzována stejným způsobem.

Počet zvířat v každé skupině a výsledky jsou uvedeny v následující tabulce 1:

Tabulka 1: Sérový cholesterol (mg %) testovaných zvířat (střední hodnota + směrodatná odchylka)

Zvířata	dieta	Trvání (týdny)	n	pouze běžná dieta	n	běžná dieta +BAFAC II
myši, inbred. C5 J/L	lithogenní 2	4	5	270 (21,7)	5	143 (19,8)
„	„	6	6	274 (4,1)	7	125 (10,8)
„	„	8	5	264 (5,8)	5	139 (0,7)
Křečci (zlatí syřští)	lithogenní 1	10	5	257 (32,7)	5	202 (59,6)
myši, inbred. C57 J/L	Lithogenní 2, pak běžná	8 } 16 8	6	101 (10,1)	7	65 (6,8)
„	Pouze běžná	16	4	81 (5,5)		

n – počet zvířat

Hodnoty uvedené v tabulce 1 ukazují, že konjugáty BAFAC II význačně snižují hladiny krevního cholesterolu u početné skupiny myši a křečků.

Příklad 2

Histologický způsob stanovení

- 5 Přítomnost syndromu ztučnění jater byla vyhodnocena patologem neobeznámeným se způsobem ošetření, za použití nařezaných kódovaných tenkých plátků metodou slepého pokusu.

Systém řezů byl následující:

- 10 0 – neztučnělá játra
 1 – minimální ztučnění jater <5 % povrchu jater napadeno
 2 – střední ztučnění jater 5 až <25 % povrchu jater
 3 – značné ztučnění jater 25 až 50 % povrchu jater je napadeno
 4 – těžké ztučnění jater > 50 % povrchu jater je napadeno

15

1. Křečci

- Byli použiti zlatí syřští křečci (Silan, Rehovot, Izrael), stáří 4 až 6 týdnů o hmotnosti 90 až 110 g. Byli krmeni lithogenní dietou (č. 1). Polovině zvířat byla podávána kyselina 3β-arachidonoylamido-7α,12α-dihydroxy-5β-cholan-24-ová v dávce 150 mg/kg/den. Směs byla podávána suspendovaná ve fyziologickém roztoku intragastrickým způsobem podávání. Kontrolní skupině zvířat byl stejným způsobem podáván pouze fyziologický roztok. Po 10 týdnech byla zvířata anestetizována a použita pro analýzu. Játra a ostatní orgány byly odebrány a umístěny do formalinu za účelem histologického vyšetření.

25

2. Myši

- Byli použiti samci inbredních myši C57 (Jackson Lab., Maine, USA), stáří 4 až 6 týdnů o hmotnosti 20 až 25 g. Byli krmeni tzv. westernovou dietou (Georgie et. al. Circulation 2000, 102:1822-27) obsahující 1,5 g/kg cholesterolu a 42 % hmotn. tuku, 43 % hmotn. sacharidů a 15 % hmotn. proteinů (jako % z celkové kalorické hodnoty). Polovině zvířat bylo navíc podáváno intragastrickým způsobem 150 mg/kg/den kyseliny 3β-arachidonoylamido-7α,12α-dihydroxy-5β-cholan-24-ové suspendované ve fyziologickém roztoku. Druhé polovině pokusných zvířat byl podáván pouze fyziologický roztok. Po 4 týdnech byla zvířata anestetizována a použita pro analýzu. Byla odebrána játra a ostatní orgány a umístěna do formalinu za účelem histologického vyšetření.

35

Počet zvířat v každé skupině a histologické výsledky jsou uvedeny v následující tabulce 2:

Tabulka 2: Výsledky testu ztučnělých jater u zvířat:

40

Zvířata	Dieta	Trvání (týdny)	n	kontrola (výsledek) 0 1 2 3 4 průměr	n	+BAFAC (výsledek) 0 1 2 3 4 průměr
křečci (zlatí syřští)	lithogenní I	10	7	7 4a	7	6 1 0,28
myši, inbred. C57 J/L	westernová	4	10	1 3 6 1,5b	14	12 1 1 0,35

n – počet zvířat

a – mikrovezikulární tuk

b – směs (mikro a makrovezikulární) tuk

- 45 Údaje v tabulce 2 ukazují, že konjugáty BAFAC II snižují a/nebo zabraňují ztučnění jater.

Příklad 3

Byl sledován vliv konjugátů BAFAC II na postní koncentrace glukózy v krvi u tří živočišných druhů: křečků, krys a myši. Zvířata byla chována při běžné dietě nebo při dietě s vysokým obsahem tuku (jak je upřesněno dále). V každé skupině polovina zvířat přijímala denní dávku BAFAC II (150 mg/kg) dispergovanou v 0,5 ml fyziologického roztoku při krmení. Druhá polovina dostávala podobným způsobem při krmení pouze stejný objem fyziologického roztoku. Všechna zvířata byla chována při 12hodinovém cyklu střídání dne a noci při 22 °C po celou dobu trvání pokusu. Zvířata měla přístup k vodě podle chuti.

1. Křečci

Samci zlatých syrských křečků

Samci zlatého syrského křečka, stáří 4 týdny (90 až 100 g) byli krmeni dietou cílenou na ztučnění jater obsahující cholesterol (1,0 % hmotn.), kyselinu palmitovou (1,2 % hmotn.) máslo (6 % hmotn.), sádlo (10 % hmotn.) a kukuřičný olej (2,0 % hmotn.) přidávané v hmotnostních procentech k jejich běžné dietě. Krevní glukóza byla měřena po usmrcení ve stavu půstu po 3 týdnech pokusu. Bylo zde 5 kontrolních a 5 testovaných zvířat.

2. Krysy

Samci wistarských krys, stáří 4 týdny (100 až 120 g) byli krmeni běžnou smíšenou dietou (žrádlem) nebo dietou s vysokým obsahem tuku obohacenou o sádlo (10 % hmotn.), cholesterol (2,5 % hmotn.) a kyselinu cholovou (0,5 % hmotn.), přičemž hodnoty jsou uvedeny v hmotnostních % . Krev a vzorky orgánů byly získány po jejich usmrcení (ve stavu hladovění) po 4 týdnech pokusu. Polovině zvířat v každé skupině bylo podáváno 150 mg/kg BAFAC II; druhá polovina dostávala stejný objem fyziologického roztoku. V kontrolních a testovaných skupinách bylo po 7 krysách při normální dietě a 6 krysám v každé skupině byla podávána dieta s vysokým obsahem tuku.

U křečků a krys chovaných na dietě s vysokým obsahem tuku se vyvinula ztučnělá játra (potvrzeno chemickým měřením jaterního tuku), vysoká postní koncentrace krevní glukózy a představované modely NIDDM – na insulinu nezávislá diabetes mellitus.

3. Myši

Samci myši ICR, stáří 4 týdny (průměrná hmotnost 20 g) byli krmeni obvyklou dietou. První den pokusu jim bylo injekčně vpraveno intraperitoneálně do břišní dutiny 200 mg/kg streptozotocinu. (To vyvolalo poškození buněk ostrůvků pankreatu a simulovalo IDDM – na insulinu závislá diabetes mellitus). Postní koncentrace krevní glukózy byla získána ze zvířat usmrcených po 16 dnech pokusu. V pokuse byly 3 skupiny po 7 zvířatech v každé skupině. Kontrolní – pouze běžná dieta, zvířata ošetřená Streptozotocinem (Stz), kterým byl podáván intragastricky pouze fyziologický roztok a zvířata ošetřená streptozocinem, kterým bylo podáváno intragastricky 150 mg/kg/den BAFAC II. Při všech těchto studiích hyperglykémie byl použit konjugát BAFAC II, který byl konjugátem kyseliny arachidonové a kyseliny cholové (na pozici 3) za použití amidové vazby (C-20 BAFAC II, Aramchol).

Výsledky těchto tří studií ukazují obrázky 1A, 1B a 1C. (RD – regular diet, tj. běžná dieta; FLD – Faty Liver Diet, tj. dieta s vysokým obsahem tuku, Stz - Streptozocin.)

Z obrázků je zřejmé, že doplnění diety BAFAC II značně snižuje koncentraci postní glukózy v krvi testovaných zvířat. Krevní glukóza se snížila jak u zvířat se ztučněnými játry (křečci a krysy) – představujících NIDDM, tak i u myši ošetřených Streptozocinem - představujících IDDM. Konjugáty BAFAC II neměly vliv na krevní glukózu krys při běžné dietě (bez hyperglykémie nebo ztučnění jater).

Příklad 4

Byly použity samci inbredních myši C57 J/L, stáří 4 týdny o průměrné hmotnosti 20 g (Jackson Lab. Maine, USA). Byli krmeni 5 týdnů lithogenní dietou s vysokým obsahem tuku zahrnující cholesterol (1,0 %), kyselinu cholovou (0,5 % hmotn.), sádlo (10,0 % hmotn.), máslo (6,0 % hmotn.), kyselinu palmitovou (1,2 % hmotn.) a kukuřičný olej (2,0 % hmotn.) přidávaných v hmotnostních procentech k jejich normální dietě. Kromě toho byl zvířatům denně podáván intragastricky k jejich normální dietě buď konjugát BAFAC II (150 mg/kg) suspendovaný ve fyziologickém roztoku nebo pouze stejný objem fyziologického roztoku. Konjugáty BAFAC II byly konjugáty kyseliny cholové (v poloze 3) buď s kyselinou palmitovou (C-16) nebo arachidonovou (C-20) nebo behenovou (C-22) za použití amidové vazby. Kontrolní zvířata (n = 5) dostala fyziologický roztok, testovaná zvířata dostala buď C-16 konjugát (n = 5), C-20 konjugát (n = 5) nebo C-22 konjugát (n = 3). Po 5 týdnech a následném půstu přes noc byla zvířata anestetizována za použití ketaminu, byla jim odebrána játra a poté byla předávkováním ketaminu usmrcena. Pak byly 0,5gramové vzorky jater homogenizovány v 5 ml pufovaného fyziologického roztoku. Z homogenátu byly extrahovány jaterní lipidy metodou podle Folcha za použití směsi: chloroform : methanol (2:1, obj/obj). Pak bylo extrahováno 0,5 ml homogenátu v 5 ml Folchova roztoku. Po odpaření rozpouštědla byly lipidy zváženy a několikrát znovu rozpuštěny a odpařeny až do konstantní hmotnosti. Proteiny byly kvantitativně určeny v jiném podílu homogenátu metodou podle Bradforda (Bradford M.M., Annal. Biochem. 1976,72:248).

Byl vypočten poměr (mg/mg) lipidů a proteinů. Výsledky pro každou skupinu jsou uvedeny jako střední hodnoty (+ směrodatná odchylka). Vypočtené hodnoty skupin byly:

Kontroly 7,9+/-2,32; C-16 BAFAC II 2,25+/-1,20; C-20 BAFAC II 1,44+/-1,18 a C-22 BAFAC II 3,00+/-1,08. Tyto výsledky jsou uvedeny na obrázku 2.

Údaje ukazují, že nárokové účinky se projevují u několika konjugátů, z nichž některé jsou téměř tak silné jako konjugát C-20 použitý v pokusech 1, 2 a 3.

PATENTOVÉ NÁROKY

- 5 1. Použití konjugátu žlučové kyseliny nebo soli žlučové kyseliny s mastnou kyselinou majícího obecný vzorec II



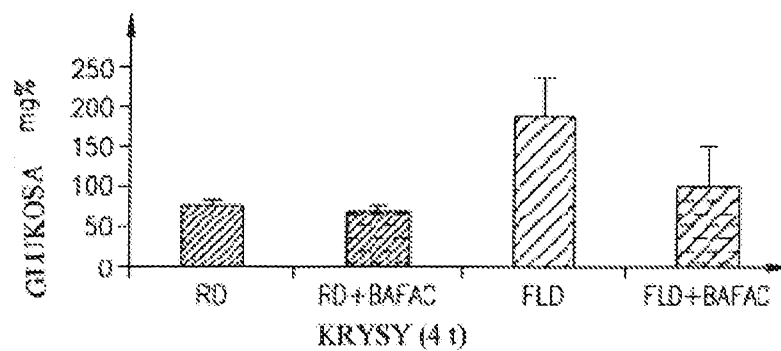
ve kterém G je zbytek žlučové kyseliny nebo soli žlučové kyseliny, který je popřípadě konjugován na pozici 24 s vhodnou aminokyselinou,

10 W představuje jeden nebo dva zbytky mastných kyselin, které mají 14 až 22 atomů uhlíku, a X znamená vhodný vazebný člen nebo přímo C=C vazbu mezi uvedeným zbytkem žlučové kyseliny nebo soli žlučové kyseliny a mastnou kyselinou či mastnými kyselinami nebo farmaceutického prostředku jej obsahujícího pro přípravu léčiva pro snížení cholesterolu v krvi a těle a pro léčbu
15 hyperglykemie a diabetu, a s výlukou, že X je v podstatě štěpitelná intestinálními a/nebo bakteriálními enzymy během procesu absorpce, a X je esterová vazba.

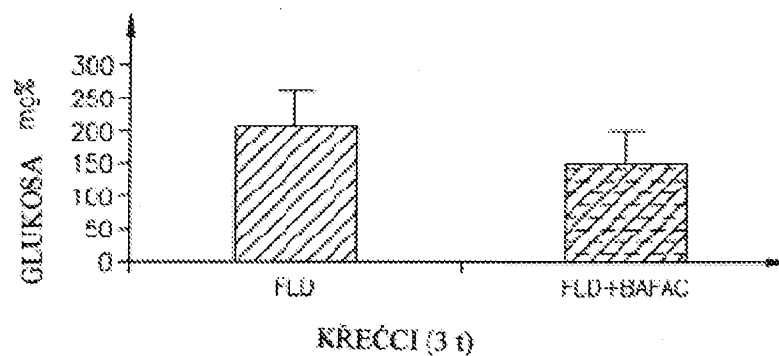
2. Použití podle kteréhokoliv z nároků 1, kde vazebným členem je NH.
- 20 3. Použití podle některého z nároků 1 a 2, kde mastná kyselina je vybrána mezi behenovou kyselinou, arachidonovou kyselinou a stearovou kyselinou.
4. Použití podle kteréhokoliv z nároků 1 až 3, kde sloučeninou obecného vzorce II je kyselina 3- β -arachidonoylamido-7- α ,12 α -dihydroxy-5 β -cholan-24-ová.

25

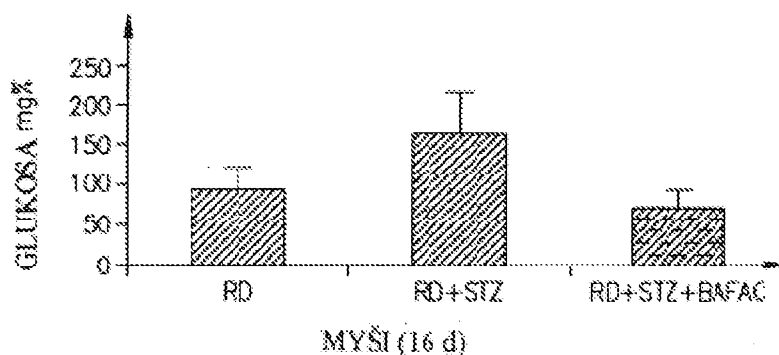
2 výkresy



Obr. 1A

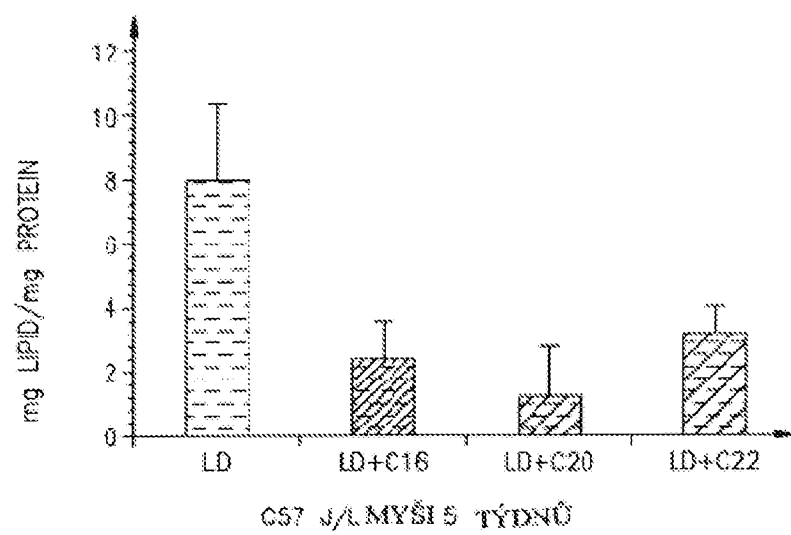


Obr. 1B



RD - běžná dieta
 FLD - Fatty Liver Diet -
 - dieta s vysokým obsahem tuku
 STZ - streptozocin

Obr. 1C



Obr. 2