



ŘÁD PRO VYNÁLEZY  
A OBJEVY

# POPIS VYNÁLEZU K AUTORSKÉMU OSVĚDČENÍ

203420  
(11) (B1)

(22) Přihlášeno 06 07 78  
(21) (PV 4521-78)

(51) Int. Cl.<sup>5</sup>.  
A 61 K 31/19  
A 61 K 31/195

(40) Zveřejněno 30 06 80

(45) Vydáno 15 09 82

(75)

Autor vynálezu

KRUF MILOSLAV MUDr., ČULÍK KAREL RNDr. a  
MAŠITA ARTUR, PRAHA

(54) Infúzní roztok k léčení a výživě nemocných s jaterním selháním a hyperamonémickými stavy

## 1

Vynález se týká infúzního roztoku k léčení a výživě nemocných s jaterním selháním a hyperamonémickými stavy, obsahujícího popřípadě další léčiva, vitamíny, zdroje energie, fyziologicky potřebné kationty a anionty a konzervační a/nebo stabilizační přísady. Tento roztok se připravuje z čistých L-forem aminokyselin nebo ze směsi aminokyselin, získané hydrolyzou vhodných bílkovinných substrátů, doplněné čistými L-formami aminokyselin a L-formou kyseliny jablečné.

Použití čistých L-forem aminokyselin pro přípravu infúzních roztoků k léčení hyperamonémických stavů a jaterního selhání je známo. Byla vyvinuta celá řada těchto roztoků o různém složení, které však není většinou optimální. Všechny známé roztoky obsahují L-arginin a další aminokyseliny, jako kyselinu L-glutamovou, L-asparagovou a L-ornithin, též kyselinu DL- nebo L-jablečnou. Kombinace s L-lysinem nebyla dosud u žádného známého roztoku popsána, rovněž tak kombinace s některými esenciálními aminokyselinami, omezující vstup tryptofanu do mozku.

Další pokrok v této oblasti představuje infúzní roztok k léčení a výživě nemocných s jaterním selháním a hyperamonémickými stavy, složený z aminokyselin v množství

## 2

0,670 g L-valinu, 0,710 g L-leucinu, 0,450 g L-isoleucinu, 0,600 g L-methioninu, 0,280 g L-threoninu, 12,500 g L-argininu, 5,120 g hydrochloridu L-lysinu, 7,100 g kyseliny L-glutamové, 1,000 g kyseliny L-asparagové a 1,250 g hydrochloridu L-ornithinu a vody pro injekce do 1000 ml, s hodnotou pH 5,0 až 7,0 a obsahující popřípadě ještě vitamíny, zdroje energie, fyziologicky potřebné kationty a anionty, konzervační a/nebo stabilizační přísady, podle vynálezu, jehož podstata spočívá v tom, že obsahuje 3,500 g kyseliny L-jablečné.

Kyselina jablečná je součástí celé řady infúzních roztoků, a to jak obecně výživných tak i některých speciálních, používaných při léčení hyperamonémických stavů, zejména při jaterním selhání. Doposud se v těchto případech používala D,L-forma, organismem obtížně využitelná, obdobně jako je tomu u DL-forem aminokyselin, ve většině případů užitelná pouze jako zdroj nespecifického dusíku, protože v bílkovinách jsou jenom L-formy. Využití D-forem značně energeticky zatěžuje organismus, nejsou nutričně plnohodnotné a proto bylo od nich většinou upuštěno.

V rostlinách je zastoupena kyselina L-jablečná, jednak volná, jednak v solích, jablečnanech. V lidském organismu je kyseli-

na L-jablečnou přítomna normálně v celé krvi v množství průměrně 0,46 mg % /0,24 až 0,75 mg %/ [J. P. Hummel, J. Biol. Chem. 180, 1225, 1949/]. Je součástí Krebsova cyklu trikarboxylových kyselin a je zdrojem kyslíčnicku uhličitého, zvyšuje tedy alkalickou rezervu organismu. Hlavní její význam spočívá v detoxikaci amoniaku a získání ATP.

Mechanismus působení kyseliny L-jablečné v organismu je tento: při odstraňování amoniaku v organismu se mění ve třech po sobě následujících stupních. Nejdříve přechází oxidačním pochodem působením malát-dehydrogenázy na kyselinu oxalocetovou. D-forma potřebuje ke své oxidaci kyselinou D- $\alpha$ -hydroxydehydrogenázu, tedy v první fázi je její metabolismus zcela jiný [R. Nordman: Hyperammonämie und Infusionstherapie, Anaesthesiologie und Wiederbelebung, Sv. 13, str. 107; Berlin-Heidelberg-New York, 1966/]. Při oxidaci L-formy se mění  $\text{NAD}^+$  na redukovanou formu  $\text{NADH}_2$ . Ve druhém stupni reaguje kyselina oxalocetová s kyselinou glutamovou za působení glutamát-oxalocetové transaminázy za vzniku kyseliny  $\alpha$ -ketoglutarové a L-asparagové. Ve třetím stupni reaguje kyselina  $\alpha$ -ketoglutarová s

amoniakem za katalytického působení glutamátdehydrogenázy za vzniku kyseliny glutamové. Této reakce se také účastní  $\text{NADH}_2$  a vzniká  $\text{NAD}^+$ . Výsledkem této třístupňové reakce je vznik kyseliny asparagové z kyseliny jablečné a amoniaku. Kyselina asparagová se potom podílí na močovém cyklu. Část kyseliny L-jablečné se oxiduje v cyklu kyselin trikarboxylových za vzniku ATP. Výsledkem podávání kyseliny L-jablečné je tedy odstraňování zvýšené hladiny amoniaku, což se nakonec děje přes močový cyklus, ale současně je zdrojem ATP, tedy zdrojem energie. To jsou hlavní dva důvody jejího podávání.

Protože při syntéze vzniká kyselina jablečná v DL-formě, byla také v této formě používána. Ovšem již při úvodních testech byla zjištěna výrazná toxicita kyseliny DL-jablečné, proto někteří výrobci vůbec přestali tuto formu přidávat do infúzních roztoků. Při samostatném farmakologickém testování DL- a L-formy kyseliny jablečné se původní předpoklady potvrdily, jak je to nápadně patrné z tabulky hodnot při stanovení  $\text{LT}_{50}$ :

| Forma kyseliny<br>jablečné | Dávka 600 mg/kg         |                       | Dávka 300 mg/kg         |                       |
|----------------------------|-------------------------|-----------------------|-------------------------|-----------------------|
|                            | $\text{LT}_{50}$<br>dny | meze<br>spolehlivosti | $\text{LT}_{50}$<br>dny | meze<br>spolehlivosti |
| DL-                        | 3,5                     | 2,6—4,7               | 4,9                     | 2,8—8,4               |
| L-                         | 5,2                     | 3,2—7,7               | 9,8                     | 4,6—15,2              |

Z tabulky vyplývá, že rozdíl při dávce 300 mg/kg hmotnosti je v přežití dvojnásobný, tedy ve prospěch L-formy. V klinických důsledcích to znamená snížení toxicity přípravku, což je velmi významné při nasazení v terminálních stadiích selhání jater a znamená zvýšení terapeutické šíře přípravku, snížení nebezpečí předávkování a možnost v mimořádných případech zvýšit účinnou dávku.

Infúzní roztok podle vynálezu s obsahem kyseliny L-jablečné byl při klinické aplikaci výborně snášen. Po 5000 dávkách nebyla zaznamenána žádná nežádoucí reakce, přípravek byl naprosto stabilní.

Klinické výsledky prokázaly mimořádnou účinnost roztoku. Experimentálně bylo léčeno 11 nemocných s jaterním selháním, 1 x sloužil roztok ke zlepšení nutričního stavu nemocného. Ve všech případech se jaterní selhání klinicky upravilo. V laboratorních nálezech byla hodnocena především hladina amoniaku v krvi. K poklesu došlo v rozsahu 50 až 152 gama %, tj. v průměru o 106 gama %. Při použití přípravku jako výživného roztoku nedošlo ke vzestupu hladiny amoniaku a přípravek byl velmi dobře snášen stejně jako při léčení jaterního selhání.

Při sestavě složení infúzního roztoku pod-

le vynálezu se vycházelo jednak ze znalostí o jednotlivých aminokyselinách, jednak z vlastních experimentálních prací autorů, jež umožnily z mnoha kombinací vybrat kombinaci optimální, a to i ve srovnání s některými komerčními přípravky.

Kromě uvedených složek může roztok obsahovat hořčík, sodík a chloridy. Většinou neobsahuje kalium, u kterého se předpokládá, že bude přidáno individuálně, podle potřeby nemocného. Jako zdroj kalorií může být předán sorbit, což je cukr dobře užitelný při jaterním poškození.

Původnost roztoku vyplývá z jeho složení, které žádný známý roztok neobsahuje, a z experimentálních prací, které prokazují jeho optimální účinnost. K tomuto průkazu bylo použito tří testů. První test hodnotí vliv roztoku aminokyselin s kyselinou L-jablečnou na hladinu amoniaku v krvi krys po podání kyselého uhličitane amonného, druhý test hodnotí ovlivnění  $\text{LD}_{50}$  při aplikaci kyselého uhličitane amonného po podání infúzního roztoku u myši a třetí test vliv premedikace infúzního roztoku na vznik křečí po podání kyselého uhličitane amonného u krys. Těmito testy bylo hodnoceno celkem 21 různých kombinací roztoků včetně roztoků komerčních. Při hodnocení všech tří testů prokázal roztok podle vyná-

lezu nejlepší vlastnosti. Tomu odpovídají i klinické výsledky, které prokazují, že roztok velmi dobře snižuje hladinu amoniaku v krvi a je velmi účinný při jaterním selhání, zejména tam, kde již byla provedena portokavální anastomosa. Roztok byl velmi dobře snášen, a to i při velmi rychlém podání u nemocných, bez příznaku pyrogenních reakcí, jak již bylo výše zmíněno.

Infúzní roztok podle vynálezu může být připraven buď z čistých L-form jednotlivých aminokyselin nebo z komplexního zdroje aminokyselin doplněného čistými aminokyselinami. Příprava roztoku je jednoduchá, jednotlivé složky se rozpouštějí bez zvláštního pořadí v redestilované vodě s teplotou nejméně 80 °C, s použitím rychloběžného míchadla a v ochranné dusíkové atmosféře. Roztok se dvakrát vyčistí filtrací s aktivním uhlím v množství 0,5 až 1 % hmotn., vztaženo na obsah účinných látek. Dále se roztok filtruje přes antimikrobiální filtr, například membránový. Potom se plní v atmosféře dusíku a při laminárním proudění, při teplotě zpravidla kolem 50 až 60 °C, do sterilních infúzních lahví. Lahve se uzavřou sterilní pryžovou zátkou, která se zajistí kovovým uzávěrem. Roztok se sterilizuje při teplotě 120 °C po dobu 25 minut. Před plněním do infúzních lahví je třeba zkontrolovat a popřípadě upravit hodnotu pH roztoku na pH 5,0 až 7,0, a to například kyselinou chlorovodíkovou, octanem sodným, draselným nebo hořečnatým nebo kyselinou octovou nebo jinou farmaceuticky přípustnou kyselinou.

Vynález je dále objasněn následujícími příklady provedení.

#### Příklady provedení

##### Příklad 1

Navází se čisté L-formy aminokyselin v tomto množství (v g)

|                      |        |
|----------------------|--------|
| anginin (báze)       | 12,500 |
| lysin (hydrochlorid) | 5,120  |

|                               |            |
|-------------------------------|------------|
| kyselina glutamová            | 7,100      |
| kyselina asparagová           | 1,000      |
| valin                         | 0,670      |
| leucin                        | 0,710      |
| isoleucin                     | 0,450      |
| methionin                     | 0,600      |
| threonin                      | 0,280      |
| ornithin (HCl)                | 1,250      |
| kyselina jablečná             | 3,500      |
| Mg <sup>++</sup>              | 5 mval     |
| Na <sup>+</sup>               | 35 mval    |
| Cl <sup>-</sup>               | 35 mval    |
| malát <sup>-</sup>            | 26 mval    |
| dvojsířičitan sodný           | 0,100      |
| sorbitol                      | 100,000    |
| voda na injekce do 1 000,0 ml |            |
| pH                            | 5,0 až 7,0 |

a rozpustí se bez zvláštního pořadí v redestilované vodě při teplotě nejméně 80 °C, v atmosféře dusíku, za míchání. Potom se roztok dvakrát vyčistí pomocí 0,5 až 1% hmot. aktivního uhlí, zfiltruje přes antimikrobiální filtr a s teplotou 50 až 60 °C, v atmosféře dusíku a při laminárním proudění se plní do sterilních infúzních lahví nebo do lahví z plastické hmoty (pro jedno použití).

##### Příklad 2

Množství složek je stejné jako v příkladu 1, pouze místo sorbitolu je možno použít xylitolu nebo směsi obou cukrů ve stejném poměru.

##### Příklad 3

Množství složek je stejné jako v příkladu 1 nebo 2, vynechá se však minerální zásobení, tj. Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup> a Mg<sup>++</sup> a jako antioxidant se použije 0,2 až 1 g pyrosířičitanu sodného nebo draselného. Rovněž je možno použít hydrosířičitanu sodného ve stejné dávce nebo kombinace obou látek do dávky 1 g.

#### PŘEDMĚT VYNÁLEZU

Infúzní roztok k léčení a výživě nemocných s jaterním selháním a hyperamonémií, složený z aminokyselin v množství 0,670 g L-valinu, 0,710 g L-leucinu, 0,450 g L-isoleucinu, 0,600 g L-methioninu, 0,280 g L-threoninu, 12,500 g L-argininu, 5,120 g hydrochloridu L-lysinu, 7,100 g kyseliny L-glutamové, 1,000 g kyseliny L-aspa-

ragové a 1,250 g hydrochloridu L-ornithinu a vody pro injekce do 1 000 ml, s hodnotou pH 5,0 až 7,0 a obsahující popřípadě ještě vitaminy, zdroje energie, fyziologicky potřebné kationty a anionty, konzervační a/nebo stabilizační přísady, vyznačující se tím, že obsahuje 3,500 g kyseliny L-jablečné.