



SCHWEIZERISCHE EIDGENOSSENSCHAFT
BUNDESAMT FÜR GEISTIGES EIGENTUM

⑤ Int. Cl.³: A 61 K 35/78

Erfindungspatent für die Schweiz und Liechtenstein

Schweizerisch-liechtensteinischer Patentschutzvertrag vom 22. Dezember 1978

⑫ **PATENTSCHRIFT** A5

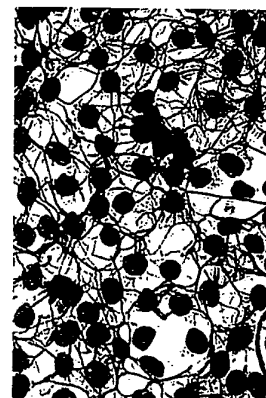
⑪

644 761

⑳ Gesuchsnummer:	229/81	㉓ Inhaber:	Educational Foundation Dokkyo Gakuen, Tokyo (JP)
㉒ Anmeldungsdatum:	19.02.1980	㉔ Erfinder:	Seki Minato, Shimotsuga-gun/Tochigi (JP) Katsuta Hajim, Shimotsuga-gun/Tochigi (JP)
㉓ Priorität(en):	14.05.1979 JP 54-58119	㉕ Vertreter:	Dr. A.R. Egli & Co., Patentanwälte, Zürich
㉔ Patent erteilt:	31.08.1984	㉖ Internationale Anmeldung:	PCT/JP 80/00022 (Ja)
㉕ Patentschrift veröffentlicht:	31.08.1984	㉗ Internationale Veröffentlichung:	WO 80/02503 (Ja) 27.11.1980

⑤④ **Verfahren zur Herstellung eines Medikaments für die Verhütung und zur Behandlung von Leberzirrhose.**

⑤⑦ Das Mittel zur Verhütung oder Behandlung von Leberzirrhose wird aus den Früchten der Wildtraube (*Ampelopsis brevipedunculata*) durch Alkoholextraktion gewonnen. In vitro zeigt eine mit dem Extrakt behandelte Gewebekultur (Fig. 3) markant weniger die Leberzirrhose charakterisierende Kollagenfaserung, als eine Kontrollkultur (Fig. 2) die diesen Zusatz nicht aufweist.



PATENTANSPRÜCHE

1. Verfahren zur Herstellung eines Medikaments zur Verhütung und zur Behandlung von Leberzirrhose, gekennzeichnet, durch die Extraktion einer Wirksubstanz aus den Früchten von wilden Trauben (*Ampelopsis brevipedunculata* Trautv), mit einem alkoholhaltigen Extraktionsmittel.

2. Verfahren nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, dass die Früchte der Wildtraube mit Alkohol extrahiert werden.

3. Verfahren nach Anspruch 2, dadurch gekennzeichnet, dass die intakten Trauben extrahiert werden.

4. Verfahren nach Anspruch 2, dadurch gekennzeichnet, dass die Trauben vor der Extraktion zerstoßen werden.

5. Verfahren nach Anspruch 2, dadurch gekennzeichnet, dass vor der Extraktion die Trauben von ihrer Schale und ihren Fruchtkernen befreit werden.

6. Verfahren nach Anspruch 2, dadurch gekennzeichnet, dass der verwendete Alkohol Äthylalkohol ist.

7. Verfahren nach Anspruch 2 oder 6, dadurch gekennzeichnet, dass das alkoholische Extraktionsmittel mit Wasser vermischt ist.

8. Verfahren nach den Ansprüchen 1 bis 7, dadurch gekennzeichnet, dass die Menge des Extraktionsmittels das 1,5fache an Gewicht der zu extrahierenden Trauben beträgt.

Die Erfindung bezieht sich auf ein Verfahren zur Herstellung eines Medikaments zur Verhütung und zur Behandlung von Leberzirrhose.

Die Leberzirrhose ist eine Krankheit, bei der in der Leber grosse Mengen von Kollagenfasern gebildet werden, dies aufgrund verschiedener Einflüsse, wie beispielsweise eine chronische Belastung durch Alkohol, durch Virenbefall, durch Selbstimmunität u. dgl., alles Einflüsse die eine Nekrose und Funktionsausfall von Leberzellen bewirken, die schliesslich zum Tod des davon befallenen Individuums führen. Eine Leberzirrhose entsteht auch häufig beim Leberkrebs als zusätzliche Erscheinung zum Krebsbefund.

Trotz ernsthaftesten Bemühungen in breiten Kreisen gelang es bis heute noch nicht, ein effektives Mittel zur Verhütung bzw. ein Heilmittel zur Behandlung von Leberzirrhose zu finden. Bestenfalls konnte der fortlaufende Funktionsverlust von Leberzellen etwas unterdrückt oder aufgehalten werden.

Es ist daher die Aufgabe dieser Erfindung, ein Medikament zu schaffen, das eine Leberzirrhose abwenden oder bei der Behandlung heilen kann.

Die Aufgabe wird durch die in den Patentansprüchen angegebene Erfindung gelöst.

Die Erfindung wird in der Folge unter Beiziehung der hier aufgeführten Figuren ausführlich erklärt.

Fig. 1 zeigt ein Infrarotspektrum eines Extrakts aus der Frucht der wilden Traube (*Ampelopsis brevipedunculata*),

Fig. 2 zeigt eine mikroskopische Aufnahme von M-Zellen, welche in Abwesenheit des Medikaments gemäss der Erfindung kultiviert wurden und

Fig. 3 zeigt die mikroskopische Aufnahme von M-Zellen, die in Anwesenheit des Medikaments gemäss Erfindung kultiviert wurden.

Bei eingehenden Studien und Experimenten wurde gefunden, dass der Alkoholextrakt aus Früchten wilder Trauben mit dem wissenschaftlichen Namen *Ampelopsis brevipedunculata* (Maxim) Trautv, einen markanten Effekt für die Verhinderung von Leberzirrhose und bei der Behandlung

von Leberzirrhose zeigen. Generell gesagt sind dies Trauben der Rhamnusfamilie, Blütenpflanzen mit Fruchtknoten (Angiospermen) einer zweikeimblättrigen Pflanze (Dikotyledone). Diese sind in zwölf Gattungen und etwa 700 Spezies aufgeteilt. Von diesen Trauben wurden fünf Gattungen und 14 Spezies in Japan gefunden.

In dieser Erfindung wurden die Früchte der Wildtrauben speziell ausgewählt und angewendet. Die Wildtrauben sind perennierende also mehrjährige mit dauernder, wenn auch jahreszeitlich schwankender Wasserführung lebende Pflanzen der Traubengattung, ein Schlinggewächs, welches in den Bergen aber auch im Flachland häufig anzutreffen ist. Im Sommer blüht sie mit kleinen blassgelblichgrünen Blüten mit fünf Blütenblättern. Nach der Blütenzeit erscheinen dann die runden saftigen Früchte. Die Früchte reifen zu einem Fruchtstand gemischt mit weissen, roten und grünen Beeren.

Für die Verwendung der Früchte dieser Wildtraube gemäss Erfindung wird eine Menge dieser Trauben gründlich mit Wasser gewaschen und die Beeren anschliessend extrahiert, beispielsweise in der Form ganzer Beeren, in der Form von zerdrückten Beeren, oder in einer Form bei der die Schalen und Fruchtkerne vorgängig entfernt wurden.

Zur Extraktion kann irgendeines der pharmakologisch unbedenklichen Lösungsmittel verwendet werden. Aus wirtschaftlichen Gründen wird vorzugsweise Alkohol und im speziellen Äthylalkohol verwendet. Das alkoholische Extraktionsmittel kann auch als Wasser-Alkohol-Mischung verwendet werden, wobei mit Vorzug Verdünnungen zwischen 20 und 50% Verwendung finden. Eine Begrenzung der angewendeten Alkoholmenge zur Extraktion ist keine gegeben, jedoch empfiehlt sich ein Verhältnis von etwa 1,5 Gewichtsanteile Alkohol auf einen Gewichtsteil Früchte.

Die Extraktion kann bei Raumtemperatur durchgeführt werden und benötigt je nach dem zwischen sechs Tagen und sechs Monaten. Speziell lange Extraktionszeiten sind jedoch nicht immer vorteilhaft, es zeigte sich, dass eine genügend gute Extraktion in einem Zeitraum von ungefähr zwei Monaten durchführbar ist. Das Vorgehen entspricht etwa dem der üblichen Pflanzenextraktion zur Herstellung von Pflanzenextrakten oder Tinkturen.

Das Vorgehen zur Herstellung des Heilmittels wird im folgenden Beispiel angegeben, wobei sich der Umfang der Erfindung nicht in diesem einzelnen Beispiel erschöpft.

Die Früchte der wilden Trauben werden gründlich mit Wasser gewaschen. Ungefähr 1 kg Früchte werden in 1,5 l von 40% wässriger Alkohollösung eingegeben und bei Raumtemperatur ungefähr zwei Monate stehengelassen. Der gebildete Extrakt wird in einer Verdampferapparatur vom Alkohol befreit und so lange konzentriert, bis eine braune viskose Flüssigkeit übrig bleibt. Das Infrarotspektrum dieses Konzentrates zeigt, dass das Produkt Saccharide, Peptide und organische Säuren enthält.

In Fig. 1 sind Absorptionsbanden bei ungefähr 1050 cm^{-1} und bei ungefähr 1400 cm^{-1} festzustellen, die die Anwesenheit von Sacchariden anzeigen; weitere Adsorptionen bei ungefähr 1610 cm^{-1} und bei ungefähr 3240 cm^{-1} zeigen die Anwesenheit von Peptiden; und Adsorptionen bei ungefähr 1700 cm^{-1} und ungefähr 1750 cm^{-1} zeigen die Anwesenheit von organischen Säuren.

Für das Experiment werden in vitro Gewebekulturen mit dem Medikament versehen, d. h. mit dem Alkoholextrakt der Wildtraubenfrüchte gemäss Erfindung. Als Gewebzellen werden ein transformiertes Substrat von Rattenleberzellen, in der Folge M-Zellen genannt, welche am vierten Februar 1963 hergestellt und initialisiert wurden, verwendet, wobei diese Gewebekultur von den Leberzellen einer zehn Tage alten P 16 Ratte der JAR-1-Linie stammt und diese Zellen einer Nagisakultur ausgesetzt und einer DAB-

Behandlung unterworfen wurden. Der Ausdruck DAB-Behandlung stammt von der Erkenntnis, dass wenn man Ratten DAB das ist 4-Dimethylaminobenzol oder Buttergelb verfüttert, sich Leberkrebs bildet. Die Leberzellen der Ratte werden also während einigen Tagen oder mehr in einem Kulturmedium das DAB enthält inkubiert, was dann eine Art leberkrebsähnliche Zelle hervorruft.

Dieses veränderte Zellmaterial erzeugt ein α -Fetoprotein und ist charakteristisch auch durch die Erzeugung einer grossen Anzahl von Kollagenfasern im Medium, welche aussehen wie undifferenzierte Leberzellen oder sogenannte Leberzirrhosezellen.

Den Kulturen von M-Zellen wird dann vom Extrakt der Wildtrauben beigelegt. Die M-Zellen die ohne diesen Zusatz kultiviert werden, befinden sich in Kultiviergefässen mit flachen Böden, in denen ein rechteckiges Deckglas eingesetzt ist. Nach einer bestimmten Brutzeit werden die Kontrollzellen fixiert und mit einem argyrophilen Färbemittel angefärbt. Die Fig. 2 zeigt die Mikrophotographie in ungefähr 400facher Vergrösserung der Kontrollkultur der Zellen nach

einer Woche Brutzeit. Fig. 3 zeigt ein mikroskopisches Bild in 400facher Vergrösserung der Zellen von einer Kultur der der Extrakt von Wildtrauben zugesetzt wurde, ebenfalls nach einer Woche Brutzeit, wobei diese Kultur ausser dem Extraktzusatz durch dasselbe Vorgehen gewonnen wurde.

In Fig. 2 sieht man, dass die Bildung von argyrophilen Fasern (Kollagenfasern) in Fülle eingesetzt hat, dies nach einer Woche Brutzeit, wobei in dieser Kontrollkultur kein Zusatz von Wildtraubenextrakt wirksam war. In Fig. 3 dagegen kann man beobachten, dass nur einige feine Mikrofasern sich bilden konnten, bei der Anwesenheit des Extraktes der Wildtrauben.

Das Medikament zur Verhütung und zur Behandlung der Leberzirrhose kann oral in flüssiger Form des Extraktes verabreicht werden bzw. in der Form wie das Konzentrat anfällt, oder aber man kann es zu einem Pulver verarbeiten und mit irgendeinem geeigneten Vehikel vermischen.

Die Dosierung des Medikaments variiert zwischen 0,1 bis 1 g pro kg pro Tag des alkoholischen Extraktes.

FIG. 1

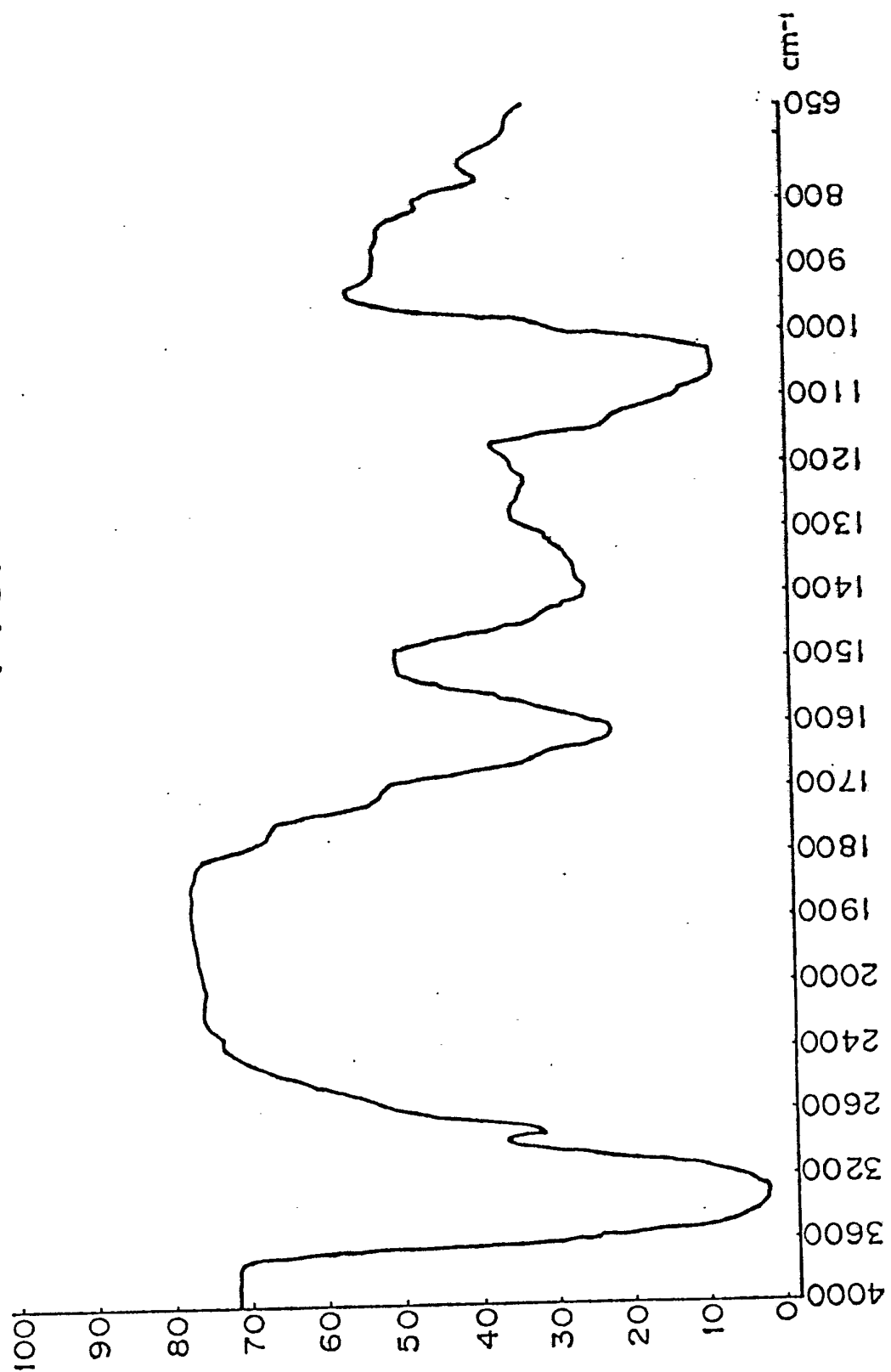


Fig. 2



644 761

3 Blatt Blatt 3

Fig. 3

