

(19)



SUOMI - FINLAND

(FI)

PATENTTI- JA REKISTERIHALLITUS

PATENT- OCH REGISTERSTYRELSEN

FINNISH PATENT AND REGISTRATION OFFICE

(10) **FI 893404 A7**

(12) **JULKISEKSI TULLUT PATENTTIHAKEMUS
PATENTANSÖKAN SOM BLIVIT OFFENTLIG
PATENT APPLICATION MADE AVAILABLE TO THE
PUBLIC**

(21)	Patenttihakemus - Patentansökan - Patent application	893404
(51)	Kansainvälinen patenttiluokitus - Internationell patentklassifikation - International patent classification (IPC ⁴) A61K 35/20	
(22)	Tekemispäivä - Ingivningsdag - Filing date	13.07.1989
(23)	Saapumispäivä - Ankomstdag - Reception date	13.07.1989
(41)	Tullut julkiseksi - Blivit offentlig - Available to the public	14.01.1991
(43)	Julkaisupäivä - Publiceringsdag - Publication date	12.06.2019

(71) Hakija - Sökande - Applicant

1 •Valio Meijerien Keskuosuusliike, Kalevankatu 61, 00180 Helsinki, SUOMI - FINLAND, (FI)

(72) Keksijä - Uppfinnare - Inventor

1 •Vapaasalo, Heikki Ilmari, Tampere, SUOMI - FINLAND, (FI)

2 •Kivinen, Riitta Anneli, Tampere, SUOMI - FINLAND, (FI)

3 •Homer, David Ronald, Helsinki, SUOMI - FINLAND, (FI)

4 •Salminen, Seppo Jaakko, Helsinki, SUOMI - FINLAND, (FI)

(74) Asiamies - Ombud - Agent

Kolster Oy Ab, Salmisaarenaukio 1, 00180 Helsinki

(54) Keksinnön nimitys - Uppfinningens benämning - Title of the invention

Maidon fraktioiden käyttö ruuansulatuskanavan haavaumien ja tulehduksellisten tilojen hoitoon ja ehkäisyyn

Användning av mjölkfraktioner för behandling och profylax av ulceration och inflammatoriska tillstånd i matsmältningskanalen

Maidon fraktioiden käyttö ruuansulatuskanavan haavaumien ja tulehduksellisten tilojen hoitoon ja ehkäisyyn

5 Tämä keksintö koskee maidon sisältämien rasvafraktioiden, erityisesti maidon kokonaislipidien ja voiöljyheran käyttöä ruuansulatuskanavan haavaumien ja tulehduksellisten tilojen hoitoon ja ehkäisyyn.

10 Maitoa on käytetty perinteisesti maha- ja pohjukais-suolihaavan vaivojen lievitykseen. Tutkijat ovat olleet kiinnostuneita tämän vaikutuksen syistä, varsinkin kun on todettu, että kyse ei liene pelkästään mahahapon neutraloinnista.

15 Tähän asti maidon mahahaavan syntyä estävää ja hoitavaa vaikutusta on tutkittu pääasiassa käyttämällä käsittelemätöntä, pastöroitua tai homogenisoitua maitoa sekä kermaa. Viime aikoina ovat kiinnostuksen kohteeksi tulleet maidon eri aineosat, joilla saattaa olla mahan ja suoliston limakalvoja suojaava vaikutus.

20 Biologisille kalvoille on ominaista hydrofobisuus, joka syntyy pinta-aktiivisten aineiden biofysikaalisista ominaisuuksista. Tyypillisenä esimerkkinä on keuhkoalveolien sisäpintoja ja mahalaukun limakalvoa peittävä surfaktantti. Mahaneste sisältää pinta-aktiivisia aineita, jotka puolestaan sisältävät runsaasti lipidejä, erityisesti fosfolipidejä.

25 Pinta-aktiivisilla fosfolipideillä on todettu ruuansulatuskanavan limakalvoja suojaava vaikutus, jonka on oletettu johtuvan siitä, että ne muodostavat limakalvon pinnalle hydrofobisen kerroksen [Dial, E.J., Lichtenberger, L.M., A role for milk phospholipids in protection against gastric acid. Gastroenterology 87 (1984) s. 379 - 385; Dial, E.J., Lichtenberger, L.M., Milk protection against experimental ulcerogenesis in rats. Dig. Dis. Sci. 32 (1987) s. 1145 - 1150; Lichtenberger, L.M., Graziani, L.A., 30 Dial, E.J., Butler, B.D., Hills, B.A., Role of surface ac-

tive phospholipids in gastric cytoprotection. Science 219 (1983) s. 1327 - 1329]. Maidossa on todettu myös prostaglandiineja, joilla on esitetty olevan suora limakalvoa suojaava vaikutus [Materia, A., Jaffe, B.M., Money, S.R., Rossi, P., De Marco, M., Basso, M., Prostaglandins in commercial milk preparations. Arch. Surg. 119 (1984) s. 290-292].

Tämä keksintö perustuu siihen havaintoon, että sulatetusta voista sentrifugoimalla erotetulla voiöljyheralla ja tästä erotetuilla maidon kokonaislipideillä on ennaltaehkäisevä ja/tai hoitava vaikutus erilaisia mahan ja suoliston limakalvoa vaurioittavia tekijöitä vastaan. Voiöljyhera ja sen lipidifraktiot voivat toimia myös muiden suojaavien tekijöiden lähtöaineina tai vaikuttaa mahahapon erityksen säätelyyn.

Keksinnön kohteena on siten maidon kokonaislipidifraktion käyttö ruuansulatuskanavan haavaumien ja tulehdussellisten tilojen hoitoon ja ehkäisyyn. Kokonaislipidifraktiota voidaan tällöin käyttää joko voiöljyherasta eristettynä tai voidaan käyttää voiöljyheraa, joka sisältää tämän lipidifraktion.

Erittäin edullisesti lipidifraktiota käytetään lisättynä ravintovalmisteisiin, esimerkiksi erilaisiin dieetit tuotteisiin, jo niiden valmistusvaiheessa.

Mahahaavan ennaltaehkäisyyn ja hoitoon on kehitetty useita synteettisiä lääkeaineita. Keksinnön mukaisesti käytettävien maidosta saatavien fraktioiden etuna on, että ne on valmistettu puhtaasta luonnon tuotteesta eikä niille ole odotettavissa sivuvaikutuksia, jotka usein liittyvät syntettisiin lääkeaineisiin.

Maidon kokonaislipidifraktion ja voiöljyheran käytökelpoisuus ruuansulatuskanavan haavaumien ehkäisyyn ja hoitoon ilmenee koetuloksista, jotka saatiin tutkittaessa niiden vaikutusta etanolilla aiheutettuun mahahaavaan rottilla. ~~Mahahaavan muodostuminen kokeellisesti voidaan ai-~~

ei
vaikutusta
ei ole
selvää

~~tilla~~. Mahahaavan muodostuminen kokeellisesti voidaan aikaansaada koe-eläimillä etanolilla, erilaisilla stressin muodoilla, 0,6 N ~~CH~~l:llä, sappisuoloilla, PAF-infuusiolla tai anti-inflammatorisilla kipulääkkeillä. Etanolin käyttö

 5 haavauman aiheuttamiseen on nopea ja yleisesti käytetty menetelmä.

Kokeissa käytettiin Wistar-rottauroksia, jotka painoivat 200 - 250 g. Eläimiä pidettiin ilman ruokaa 18 - 20 tuntia ennen koetta; vettä ne saivat vapaasti. Kokeen alus-

 10 sa eläimet anestetisoitiin pentobarbitaalilla (20 mg/kg intraperitoneaalisesti) ja välittömästi sen jälkeen niille annettiin tutkittavaa liuosta 1 ml ruokatorven kautta mahalaukuun viedyllä putkella. 45 minuutin kuluttua rotille annettiin samalla tavoin 1 ml absoluuttista etanolia ja

 15 tunnin kuluttua ne tapettiin kaulan dislokaatiolla. Mahalaukku avattiin, huuhdottiin fysiologisella suolaliuoksella ja valokuvattiin planimetrasta analyysiä varten. Mitattiin leesion pinta-ala ja laskettiin sen suhde mahalaukun kokonaispinta-alaan.

20 Tutkittavissa liuoksissa käytetyt maidon kokonaislipidit eristettiin voiöljyherakonsentraatista kirjallisuudesta hyvin tunnetuin menetelmin [ks. McDowell, A.K.R., Phospholipids in New Zealand dairy products. I Estimation of total phospholipids and of lecithin, cephalin and sphingomyelin in butter. J. Dairy Research 25 (1958) s. 192 - 201; Kates, M., Techniques of lipidology, 2nd ed., Elsevier, 1986, s. 187; Morrison, W.R., A fast, simple and reliable method for the microdetermination of phosphorus in biological materials. Analytical Biochemistry 7 (1964)

 25 s. 218 - 224; Sprecher, H.W., Strong, F.M., Swanson, A.M., Phospholipids of fresh milk and of sterile whole milk concentrate. J. Agr. Food Chem. 13 (1965) s. 17 - 21]. Liuottimeksi käytettiin kloroformia, joka haihdutettiin typpivirran avulla. Lipidit liuotettiin sitten 10 ml:aan 0,9-prosenttista NaCl-liuosta sonikoimalla 40 °C:ssa ravistellen

 30

 35

ajoittain. Saatu maitomainen suspensio laimennettiin kokeissa käytetyiksi pitoisuuksiksi.

Voiöljyherasta valmistettiin käytettävä liuos dispergoimalla yksi gramma juuri sulatettua voiöljyherakonsentraattia 10 ml:aan 0,9-prosenttista NaCl-liuosta ja laimentamalla kuten edellä.

Vertailun vuoksi kokeet suoritettiin myös käyttäen maidon fosfolipidifraktiota, prostaglandiini E2:ta, ja simetidiiniä. Fosfolipideistä valmistettiin käytetty liuos kuten edellä on kuvattu kokonaislipidien osalta. Prostaglandiini E2 (5 000 mg) liuotettiin 1 ml:aan 99,5-prosenttista etanolia ja laimennettiin haluttuun pitoisuuteen 0,9-%:isella NaCl-liuoksella. Simetidiini liuotettiin 0,5 N HCl:ään, laimennettiin 0,9-%:isella NaCl-liuoksella ja pH säädettiin arvoon 8 0,1 N NaOH:lla.

Kaikki liuokset jäädytettiin 1 ml:n erinä Eppendorfviaaleissa. Kontrollikokeissa käytettiin 0,9-prosenttista NaCl-liuosta.

Voiöljyheran, kokonaislipidifraktion ja fosfolipidien annostukset laskettiin sellaisiksi, että niiden sisältämän lipidifosforin määrät vastasivat toisiaan.

Saadut tulokset on esitetty seuraavassa taulukossa, jolloin tilastollinen analyysi on tehty Student-t-testin avulla.

Taulukko

Leesiopinta-alan suhde mahalaukun kokonaispinta-
alaan kerrottuna tuhannella

Tutkittava aine, annostus	Eläinten lukumäärä	Keskiarvo \pm SD	
0,9-%:inen NaCl	20	24 \pm 21	
FOSFOLIPIDIT			
10 μ g P/kg	10	38 \pm 22	p<0,05
33 "	10	36 \pm 34	
100 "	10	34 \pm 19	
400 "	10	15 \pm 10	
1 600 "	10	8 \pm 8	p<0,01
4 400 "	10	7 \pm 7	p<0,005
KOKONAISLIPIDIT			
10 μ g P/kg	10	30 \pm 27	
33 "	10	43 \pm 19	p<0,05
100 "	10	38 \pm 22	p<0,01
400 "	10	14 \pm 6	p<0,05
1 600 "	10	40 \pm 2	
4 400 "	10	9 \pm 5	p<0,01
VOIÖLJYHERA			
10 μ g P/kg	8	29 \pm 23	
33 "	10	35 \pm 26	
100 "	10	32 \pm 18	
400 "	10	47 \pm 8	p<0,05
1 600 "	10	48 \pm 5	p<0,025
4 400 "	10	46 \pm 4	p<0,05
PROSTAGLANDIINI E2			
10 μ g/kg	10	24 \pm 17	
33 "	9	19 \pm 23	
100 "	10	9 \pm 9	p<0,01
SIMETIDIINI			
50 mg/kg	10	13 \pm 17	p<0,05

Taulukossa esitetyt tulokset osoittavat, että maidon fosfolipidit annoksina, jotka vastaavat 1 600 µg P/kg, 4 400 µg P/kg, maidon kokonaislipidit annoksina, jotka vastaavat 4 400 µg P/kg samoin kuin PGE2 annoksena 100 µg/kg olivat selvästi ruansulatuskanavaa suojaavia. Myös simetidiinillä oli suojaava vaikutus annoksena 50 mg/kg.

0
0
0
0

0
0
0
0
0

L2

7

Patenttivaatimus

Menetelmä terapeuttisesti käyttökelpoisten ras-
vafraktioiden eristämiseksi maidosta, t u n n e t t u
5 siitä, että voita sulatetaan ja sentrifugoidaan voiöljy-
herafraktion saamiseksi, josta haluttaessa erotetaan mai-
don kokonaislipidifraktio uuttamalla orgaanisella liuot-
timella tai liuotinseoksella.

10





Missing part