

Pat. 2407



**Karnitint és karotenoidet tartalmazó antioxidáns,
antiproliferációs készítmény**

A2

KÖZZÉTÉTELI PÉLDÁNY

KIVONAT

A találmány hatóanyagként propionil-L-karnitint és legalább egy karotenoidot, mégpedig jellemzően paradicsomból extrahált likopént tartalmazó gyógyszerkészítményre vonatkozik, amely szabad gyökök és lipoperoxidációs jelenség által kiváltott különböző elváltozások és kóros állapotok megelőzésére és/vagy gyógyászati kezelésére alkalmas. A készítmények táplálkozási kiegészítők, élelmiszer hordozók vagy gyógyszer formában állíthatók elő.

PK

Pol 2407



Képviseelő:

A2

Danubia Szabadalmi és
Védjegy Iroda Kft.
Budapest

KÖZZÉTÉTELI PÉLDÁNY

**Karnitint és karotenoidet tartalmazó antioxidáns,
antiproliferációs készítmény**

A találmány olyan készítményekre vonatkozik, amelyek a környezetszennyezésből származó szabad gyökök és ateroszklerotikus, érrendszeri, szív- vagy agyi lipoperoxidációs jelenség által okozott betegségek, továbbá a különböző szövetek, mégpedig prosztatata-, méh-, emlő- és vastagbéliszövetek proliferációs elváltozásainak, valamint látási és retina rendellenességek, például hályog vagy foltos retinaelváltozás megelőzésére és/vagy kezelésére alkalmasak.

A találmány szerinti készítmény lehet táplálékkiegészítő vagy gyógyszer és ilyen hatást fejthet ki a hordozótól függően, továbbá megelőző hatást vagy szigorúan gyógyászati hatást gyakorolhat az adott egyednél, akin a készítményt használni szándékozzuk.

Közelebbről, találmányunk szájon át, parenterálisan, rektálisan, transzdermálisan vagy szemcseppeként beadható készítményre vonatkozik, amely az alábbiak kombinációját tartalmazza:



(a) propionil-L-karnitin vagy gyógyászatilag elfogadható sója, adott esetben egy másik "karnitinnel" kombinálva, ahol "karnitin" kifejezésen L-karnitint vagy alkanoil-L-karnitint értünk, mégpedig acetil-L-karnitint, valeril-L-karnitint vagy izovaleril-L-karnitint vagy ezek gyógyászatilag elfogadható sóit, és

(b) egy karotenoid, mégpedig előnyösen likopén, α -karotin, β -karotin, zeaxantin, kriptoxantin, lutein vagy ezek keveréke, vagy karotenoidokat tartalmazó természetes növényi termékek extraktumai, például jellemzően a paradicsom extraktumok (*Lycopersicon esculentum*).

A karotenoidok terpén természetű hosszúláncú növényi pigmentek csoportját képezik (tetraterpének), amelyek legfeljebb 40 szénatomot tartalmaznak kettős kötéseket tartalmazó konjugált rendszerben. A karotenoidok magasabb rendű növényekben, kloroplasztokban és a növény azon részeiben elhelyezkedő plasztidokban fordulnak elő, ahol nincs klorofil (ilyenek bizonyos gyökerek és számos virág és gyümölcs, mint például a paradicsom, amelyben érés közben növekednek), ezenkívül előfordulnak a kéalgákban, bizonyos fotoszintetikus baktériumokban és bizonyos gombákban. A karotenoidok a fotoszintézisben a klorofil mellett kiegészítő szerepet játszanak, bizonyos fény hullámhosszt abszorbeálnak és az energiát magának a klorofilnek továbbítják.

Habár a növényvilágban több mint 600 karotenoid létezik, ezek közül csak 40 fordul elő a humán élelmiszerekben, és csak 14 abszorbeálódik a bélben, a maradék nem abszorbeálódó epoxidokat tartalmaz. Ezen 14 karotenoid közül a leggyakoribb



a likopén, az α -karotin, a β -karotin, a lutein, a zeaxantin és a β -kriptoxantinok.

A likopénben 11 lineárisan konjugált kettőskötés van (ezzel szemben a β -karotinban 9), és ez a leghosszabb lineárisan konjugált kettőskötéseket tartalmazó karotenoid.

Összefüggést állapítottak meg ezek jellegzetes szerkezete és antioxidáns szerként mutatott nagyobb hatása között.

Habár a likopén és a β -karotin anyagcsere kölcsönhatásban állnak egymással, a likopén önmagában nem tud a testben β -karotinné átalakulni, amely vegyület szénláncának két oldalán jellemzően trimetil-ciklohexanil gyűrű helyezkedik el.

Másrészt a β -karotin önmagában képes átalakulni a lánc redukálása útján transz-retinollá és retinoéssavvá, és A vitaminként viselkedni.

Az említett vegyületek jelentős antioxidáns kapacitással jellemezhetők, azonban ezek közül is a ciklopén mutatja a legnagyobb szinglett oxigén blokkoló képességet, ami több mint kétszerese például a β -karotinénak.

A likopén a testben abszorbeálódik, különösen zsír jelenlétében, és a vérben és a szövetekben két izomere, cisz- és transz-likopén formában található meg.

A likopén az összes karotenoidhoz hasonlóan nem szintetizálódik a testben, hanem az élelmiszerekkel együtt jut be.

Számos élelmiszer tartalmaz karotenoidokat, mint a papaya, rózsaszín grapefruit, spenót, sárgabarack, tej és tojás, de mindenekelőtt a paradicsom, amely a legnagyobb mennyiségű likopént tartalmazza.

Jelentős antioxidáns kapacitása mellett a likopén jelentőségét számos epidemiológiai vizsgálat eredménye alapozta meg, amelyben kimutatták, hogy ez egy A provitamin hatású karotenoid, és a β -karotinhoz hasonlóan önmagában védő hatást gyakorol bizonyos tumor formákra anélkül, hogy retinollá alakulna át. Számos előre- és visszatekintő vizsgálat fordított összefüggést mutatott ki a karotinban dús növények és gyümölcsök fogyasztása vagy a magas karotin vérplazma koncentráció és a tumor, különösen tüdő tumorok kockázata között. Ezek az eredmények csak a karotenoid A-vitamin prekursor jellegének tulajdoníthatók. Azonban a legutóbbi klinikai vizsgálatok kimutatták, hogy a táplálékkal bejuttatva a β -karotin önmagában nem gyakorol előnyös hatást a tumor kockázata szempontjából, olyan népesség adataival összehasonlítva, akik étrendje nem tartalmazza ezt a vitamint.

Hasonlóan negatív eredményt kapunk a dohányzók csoportjában vagy azbesztózis kockázatának kitett egyedeknél. Az adatok alaposabb feldolgozása azonban kimutatta, hogy a β -karotintól eltérő karotenoidok védő hatást fejthetnek ki más vizsgálatokkal detektálva.

A likopén testben kifejtett, különösen jellemző és előnyös biológiai hatása feltehetőleg azon alapul, hogy erős antioxidáns hatását legfigyelemreméltóbban szinglett oxigénnel szemben fejt ki, ami a szabad gyökök képződése során keletkező egyik legreaktívabb oxigén termék. Szinglett oxigénnel szemben mutatott hatása mellett a likopén más reaktív oxigén fajtákkal, például hidrogén-peroxiddal és nitrogén(I)-oxiddal szemben is rendkívüli sejt- és szövetvédő hatást mutat.

A likopént ezen tulajdonsága az összes többi természetes antioxidáns elé helyezi, ennek számlájára írható részben az előnyös egészségvédő hatás, amelyet a likopén élelmiszerrel együtt bejuttatva kifejteni képes.

Bebizonyosodott, hogy miokardiális infarktusban szenvedő, valamint magas koleszterin vagy triglicerid vérkoncentrációjuk miatt ilyen betegség kockázatának kitett egyedek β -karotin- és különösen likopén-vérkoncentrációja nagyon alacsony a kontroll egyedekkel összehasonlítva. Ez a tény a likopén által kifejtett antilipoperoxidatív hatással hozható összefüggésbe, amit a kutatások is alátámasztanak, nevezetesen hogy a likopén az LDL-ekben is jelen van, és meggátolhatja ezek oxidációját.

Bebizonyosodott, hogy a likopén antilipoperoxidatív hatása felülmúlja a β - és az α -karotint is, olyan sejtenyészeteken vizsgálva (C3H/10T1/2 sejtek), ahol képes megakadályozni a neoplasztikus átalakulásokat. A likopén antilipoperoxidatív hatása magyarázatot ad atheroszklerózist és atheroszklerotikus érrendszeri károsodást megelőző tulajdonságára, továbbá IGF-gátló és érintkezési sejten belüli kommunikációt növelő hatásával együtt, tumorsejt proliferációt gátló képességére is.

A likopén a karotenoidok közül a leghatásosabban képes gátolni patkányoknál a melltumor spontán kifejlődését és a leukémiás sejtek növekedését (H1-60 promielocita leukémia sejtvonal), továbbá patkány glióma C-6 sejtek in vitro szaporodását vagy ezek kémiai anyagok által kiváltott neoplasztikus átalakulását.

Az epidemiológiai vizsgálatok fordított összefüggést mutatnak ki a táplálékkal történő likopén bevitel és a fejlődő prosztata

tumor kockázata között, olyannyira, hogy a likopént ezen betegség megelőzésére alkalmas szerként azonosították. Ugyanez igaz mell- és tüdőtumороk kockázata esetén is.

A likopén a luteinhez és a zeaxanthinhoz hasonlóan egy másik betegség, amely az öregedéssel összefüggő foltos retina-elváltozásra (AMD) is megelőző hatást gyakorolhat.

Az L-karnitin és ennek alkanoil-származékai ismert módon jelentős szerepet játszanak anyagcsere szinten, különösen β -oxidáció útján végbemenő oxidáció és zsírsav felhasználás esetén.

Valójában az L-karnitint, akár az ételmiszerrel jut be, akár a testben szintetizálódik, a vér azokban a szervekben koncentrálna, amely anyagcsere szempontból legaktívabb a zsírsavak felhasználásában, ezek a vázizmok és a szív.

Az L-karnitin hiánya miopátiákat okozhat, ezzel szemben az L-karnitin orálisan beadva javítja ezen miopátiák klinikai állapotát. Az L-karnitin a glükóz mikokondriális oxidációjában szintén jelentős szerepet játszik az energiatermelésben, amelynek eredményeképpen megfelelő L-karnitin szint szükséges a normális energia metabolizmushoz szív és izom szinten.

Beadásával javul a stressztűrő-képesség a koszorúér elégtelenségben szenvedő egyedeknél, továbbá javul maga a koszorúér áramlás és a szív dekompenzáció klinikai hatása.

Az L-karnitin és származékai, különösen a propionil-L-karnitin további biológiai tulajdonságaiként megemlítjük sejtmembrán stabilizáló képességét és oxidatív folyamatok által kiváltott károsodásokkal szembeni védőképességét.

Arra a meglepő felismerésre jutottunk, hogy a jellemző komponensként

(a) propionil-L-karnitint vagy gyógyászatilag elfogadható sóját és

(b) karotenoidot, mégpedig likopént, α -karotint, β -karotint, zeaxantint, kriptoxantint, luteint vagy ezek keverékét tartalmazó készítmény rendkívüli hatékonyságot mutat környezetszennyezésből származó szabad gyökök és ateroszklerózis, érrendszeri, szív- vagy agyi természetű lipoperoxidációs jelenség által kiváltott károsodás, továbbá a különböző szövetek, például prosztata-, méh-, emlő- és vastagbéliszövet proliferációs rendellenességei, valamint látási és retina rendellenességek, például hályog és foltos retinaelváltozás megelőzésében és/vagy kezelésében, a készítmény komponensei által mutatott szinergista hatás eredményeképpen.

Azt is felismertük, hogy az (a) komponens előnyösen egy további "karnitint", mégpedig L-karnitint, acetyl-L-karnitint, valeryl-L-karnitint vagy izovaleryl-L-karnitint vagy ezek gyógyászatilag elfogadható sóit vagy keverékeit, és a (b) komponens növényi termékek extraktumát tartalmazhatja, ilyen például a paradicsom extraktum (*Lycopersicon esculentum*, Solanaceae család).

Az (a):(b) komponensek tömegaránya 1:0,1 és 1:10 közötti.

Toxikológiai vizsgálatok

Mind a karnitin, mind származékai, továbbá a likopén és más karotenoidok, mint a lutein, zeaxantin és a kriptoxantin, valamint a β -karotin kis toxicitást mutatnak és - különösen szájon át beadva - jól tolerálhatók.

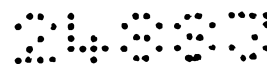
Ezeket az előnyös tulajdonságokat olyan vizsgálatokkal igazoljuk, amelynek során patkányoknak nagy dózis L-karnitint (1 g/kg) vagy propionil-L-karnitint (1 g/kg) vagy L-karnitint (250 mg/kg) plusz propionil-L-karnitint (250 mg/kg) plusz acetyl-L-karnitint (250 mg/kg) plusz izovaleril-L-karnitint (250 mg/kg) adunk be, továbbá likopént (50 mg/kg) vagy 5 % likopént tartalmazó természetes paradicsom extraktumot (1 g/kg).

Az 1 g/kg propionil-L-karnitin és 50 mg/kg likopén kombinációját a patkányok szájon át beadva is jól tolerálják és az ilyen kezelésnek alávetett állatoknál pusztulást nem észlelünk.

Ugyanez igaz a karnitin keverék beadása esetén is, amely 250 mg/kg L-karnitint plusz 250 mg/kg acetyl-L-karnitint plusz 250 mg/kg propionil-L-karnitint plusz 250 mg/kg izovaleril-L-karnitint tartalmaz 50 mg/kg likopénnel kombinálva.

Hasonlóan jó eredményeket kapunk olyan patkányoknál, amelyeknek hosszú időn át (30 napig) szájon át 500 mg/kg propionil-L-karnitint vagy különböző karnitinek keverékét adjuk be, utóbbi 150 mg/kg L-karnitint plusz 150 mg/kg acetyl-L-karnitint plusz 150 mg/kg propionil-L-karnitint plusz 150 mg/kg izovaleril-L-karnitint tartalmaz 25 mg/kg likopénnel kombinálva.

A 30. nap végén az ilyen módon kezelt patkányoknál pusztulás vagy mérgezés jele nem mutatkozik. A kémiai-fizikai vizsgálatok eredményeként a vörösvérsejtszám és a fehérvérsejtszám a kezelt állatoknál normális, amit a kezelés végén a fő szerveken végzett hisztológiai vizsgálatok eredménye is mutat.



Szén-tetrakloriddal intoxikált izolált májsejtek vizsgálata

A találmányunk szerinti készítménnyel kiváltott szabad gyökökkel szembeni antioxidáns és védő hatás értékelésére ezek szén-tetrakloriddal kiváltott mérgezésre gyakorolt hatását vizsgáljuk izolált májsejt tenyészetben.

Jól ismert, hogy a szén-tetraklorid (CCl_4) a sejtmembránok lipoperoxidációját váltja ki, ami a sejtek elhalásához vezet.

A patkány májsejt tenyészeteken végzett vizsgálatok azt mutatják, hogy a szén-tetraklorid lipoperoxidációs és toxikus hatása, amely szabad gyökök felszabadulásával függ össze, az alábbiak tenyészetben való jelenlétének hatására csökken: karnitin keverék ($100 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$), amely 1:1 arányban L-karnitint, acetil-L-karnitint, propionil-L-karnitint és izovaleril-L-karnitint, vagy propionil-L-karnitint ($100 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$) tartalmaz, különösen likopénnel ($20 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$) vagy 5 % likopént tartalmazó paradicsom extraktummal kombinálva.

A fenti vizsgálatok során a patkánymájából vett májsejteket Seglen által ismertetett eljárás alkalmazásával izoláljuk [Seglen F. O., Meth. Cell. Biol. Chem., **264**, 4747 (1989)].

A szén-tetrakloriddal kiváltott sejtmembrán károsodást és a karnitin keverékkel vagy propionil-L-karnitinnel vagy likopénnel, vagy ezek kombinációjával kiváltott védőhatást mind alanin-aminotranszferáz (AlaAT), mind aszpartát-aminotranszferáz (aspaAT) vizsgálattal végezzük a sejttenyészetek felülúszó folyadékában (Beckman 700-Encore 2 Auto-biokémiai vizsgálati rendszer).

A szén-tetraklorid lipoperoxidatív hatásával szemben mutatott védőhatás vizsgálatára malonil-aldehidet használunk tio-barbitursav eljárással [Ohkawa H. Anal. Biochem. **95**, 351 (1979)].

A fenti vizsgálat végén a májsejteken citológiai vizsgálatot végzünk formalinban vagy glutáraldehidben végzett fixálás után, mind fény-, mind elektronmikroszkóp alatt. A vizsgálatok eredménye azt mutatja, hogy a karnitin keverék és a likopén közötti, valamint a propionil-L-karnitin és a likopén között meglepő mértékű szinergizmus mutatkozik a májsejtek membrán károsodásával szembeni és szén-tetrakloriddal kiváltott lipoperoxidációjával szembeni védőhatás vonatkozásában.

Az ezen karnitinek, különösen a propionil-L-karnitin és a likopén közötti szinergizmus nyilvánvaló a malon-aldehid mérésből, ami a lipoperoxidatív hatás kimutatására alkalmas.

A májsejtek citológiai vizsgálata megerősíti, hogy a propionil-L-karnitinnel és likopénnel végzett kezelés után csökken a sejtelhalás, azonban ultraszerkezeti vizsgálatnál, különösen amikor a kontroll csoportban lévő sejtek hemokróóm rendellenességeket, a membránok szabálytalanságát, a mitokondriumban a mitokondriális taréj eltűnését és a riboszómaszám csökkenését mutatják, a nem csak szén-tetrakloriddal, hanem karnitinnel és likopénnel is kezelt sejteknél a sejtmembránok és a magok váratlan módon épek és a heterokromatinok szabályosak, továbbá szabályos a mitokondrium és a riboszómaszám is.

A citológiai megjelenés szabályossága meglepő módon jelentkezik a karnitin keverék és a likopén kombinált hatásának kitett májsejtekben, ezzel szemben a vegyületek külön, azaz

kombinálás nélkül mutatott hatása nem jelentős, ami jelentős szinergizmusra utal a karnitinek és a likopén között.

1. táblázat

Alanin-aminotranszferáz koncentrációk (AlaAt-nmol⁻¹) a szén-tetrakloriddal (kontroll) és a karnitin keverékkel vagy propionil-L-karnitinnel vagy természetes paradicsom karotenoid extraktummal vagy kizárólag likopénnel vagy különböző kombinációkkal (C = karnitin keverék; P = propionil-L-karnitin; TE = természetes paradicsom extraktum; L = likopén) kezelt májsejt tenyészetek felülúszójában

Idő (óra)	4	8	16
Kontroll	24,6±2,1	26,8±2,3	30,5±4,5
C	20,6±3,2	21,9±3,3	26,4±2,8
P	19,4±2,1	22,3±3,1	25,7±3,7
TE	22,3±1,8	24,3±2,7	24,7±2,9
L	22,1±2,1	20,6±2,4	23,6±2,1
C + TE	11,9±1,9	8,6±1,1	5,1±1,7
C + L	12,2±1,8	10,5±1,5	5,4±1,9
P + L	11,5±2,1	9,9±2,4	6,2±1,5

2. táblázat

**Aszpartát-aminotranszferáz koncentrációk (AspaAt·nmol⁻¹)
szén-tetrakloriddal (kontroll) és karnitin keverékkel vagy
propionil-L-karnitinnel vagy természetes paradicsom
karotenoid extraktummal vagy kizárólag likopénnel vagy
különböző kombinációkkal (C = karnitin keverék;
P = propionil-L-karnitin; TE = természetes paradicsom ex-
traktum; L = likopén) kezelt májsejt tenyészetek felülúszójá-
ban**

Idő (óra)	4	8	16
Kontroll	8,5±0,6	10,9±1,1	12,1±1,5
C	8,1±0,9	9,9±0,8	9,8±1,1
P	8,9±0,9	9,2±1,2	9,1±1,7
TE	8,2±0,8	9,1±0,9	9,0±1,2
L	8,8±1,8	8,9±0,9	9,0±1,2
C + TE	5,4±0,7	3,2±0,9	3,0±0,5
C + L	5,6±1,1	3,1±0,8	3,5±1,2
P + L	5,5±0,9	3,5±1,2	3,2±0,8

Kísérletileg kiváltott hályog vizsgálata

Mivel a szem hályogért felelős faktorok között az elégtelen glükóz metabolizmus mellett a szabad gyökök és a lipid lipoperoxidációját is említik, ezeket, valamint a retina vérellátási rendellenességének patogén jelentőségét szem előtt tartva patkányok szemén hályogot indukálunk galaktózban gazdag ét-

renddel, Gabbay által ismertetett eljárás szerint [Gabbay K. H., N. Engl. J. Med., **288**, 831 (1973)].

A kezelés körülbelül 8. napja után a patkányoknál lencseopálosodást észlelünk, amit a súlyosság alapján növekvő rendben első, második és harmadik fokozatba sorolunk, Sippel által ismertetett eljárás szerint [Sippel T.O., Invest. Ophthalmol., **5**, 568 (1966)]. A vizsgálatok eredménye azt mutatja, hogy a galaktózzal együtt 8 napon át beadva a karnitin keverék (400 mg/kg orális dózisban, ami azonos tömegarányban tartalmazza L-karnitin, acetyl-L-karnitin, propionil-L-karnitin és izovaleril-L-karnitin kombinációját) vagy a propionil-L-karnitin (400 mg/kg) vagy a likopén (5 mg/kg) vagy az 5 % likopént tartalmazó természetes paradicsom extraktum (100 mg/kg) vagy ezen termékek kombinációja csökkenti a galaktózzal kiváltott szemkárosodás súlyosságát. Azonban a lencseopálosodást majdnem teljesen gátolja, amikor a 8 napon át galaktózzal végzett kezeléssel egyidejűleg karnitin keverék és likopén vagy propionil-L-karnitin és likopén kombinációját adjuk be a kezelt patkányoknak.



3. táblázat

Lencse opálosodás gátlási vizsgálat karnitin keverékkel, propionil-L-karnitinnel, természetes paradicsom karotenoid extraktummal és likopénnel vagy ezek különböző kombinációival kezelt galaktozémiás patkányokon (20 patkányból álló csoportok)

Kezelés (mg/kg)	Szemlencse opálosodás mértéke (vizsgált lencsék száma)		
	I	II	III
Kontroll	0	10	10
Karnitin keverék (400 mg/kg)	0	15	5
Propionil-L-karnitin (400 mg/kg)	0	12	8
Természetes paradicsom karotenoid extraktum (100 mg/kg)	8	8	4
Likopén (5 mg/kg)	6	4	10
Karnitin keverék (400 mg/kg) + természetes paradicsom karotenoid extraktum (100 mg/kg)	12	8	0
Karnitin keverék (400 mg/kg) + likopén (5 mg/kg)	12	6	2
Propionil-L-karnitin (400 mg/kg) + természetes paradicsom karotenoid extraktum (100 mg/kg)	14	6	0
Propionil-L-karnitin (400 mg/kg) + likopén (5 mg/kg)	15	6	0



Nyulakon végzett ateroszklerózis vizsgálatok

Ezekben a vizsgálatokban karnitin keverék, propionil-L-karnitin, likopén és 5 % likopént tartalmazó természetes paradicsom extraktum önmagában vagy különböző kombinációkban nyulaknál kísérletileg kiváltott ateroszklerózisra gyakorolt hatását vizsgáljuk.

A vizsgálatokban 2,9 kg közepes tömegű új-zélandi nyulakat használunk, amelyeknek 0,5 tömeg% koleszterint tartalmazó standard étrendet biztosítunk 30 egymást követő napon. Ugyanezen állatok koleszterinben gazdag étrendjükkel együtt minden nap 400 mg/kg karnitin keverékét (L-karnitin, acetyl-L-karnitin, propionil-L-karnitin és izovaleril-L-karnitin azonos tömegű mennyiségének kombinációja), 400 mg/kg propionil-L-karnitint vagy 5 mg/kg likopént vagy 100 mg/kg természetes paradicsom extraktumot (amely 5 % likopént tartalmaz) vagy ezen termékek különböző kombinációinak megfelelő dózist kapják. A kezelés 30. napján minden állat fülének központi artériájából vérmintát veszünk, amit a lipoprotein jelenlétének vizsgálatára használunk, amelyet Hatch eljárás szerint végzünk [Hatch F.T., Adv. Lipid Res., **6**, 1 (1968)].

Ezután az állatokat leöljük, májukat kiemeljük és meghatározzuk a teljes koleszterin- és triglicerid-tartalmukat, amelyet rendre Dehoff és Levy eljárása szerint végzünk [Dehoff, J.L.; Clin. Chem., **24**, 433 (1978); Levy A., Advances in Automated Analysis (Technicon Corp.), **497**, Thurman, Miami (1972)]. Az aortát és a szívet is izoláljuk, és az ateroszklerózisos károsodás jelenlétének kimutatására használjuk fel, amelyet Klurfeld eljárása szerint végzünk [Klurfeld, D.M.; J. Med., **10**, 35 (1979)],



ahol a károsodás mértékét I és IV közötti osztályzattal értékeljük annak súlyossága szerint.

A vizsgálatok eredménye azt mutatja, hogy mind a karnitinek, mind a likopén - kisebb mértékben - védő hatást gyakorolnak a nyulaknál a hiperlipid étrenddel kiváltott koleszterin- és triglicerid-koncentráció növekedésre, azonban csak ezek kombinált alkalmazása nyújt gyakorlatilag teljes védelmet.

A karnitidinek és likopén kombinációjával kezelt állatoknál olyan fokú védelem mutatkozik, ami nem érhető el az egyes elkülönített termékek hatásának összegzésével. Ezen vizsgálatok eredménye jól mutatja a találmányunk szerinti készítményekkel kiváltott jelentős szinergista hatást.

4. táblázat

Hiperkoleszterolémias nyulak vizsgálata Vérplazma lipoprotein koncentrációk

	VLDL (mg/dl)	LDL (mg/dl)	HDL (mg/dl)
HC	1,119 ± 295	485 ± 19.9	23.1 ± 6.5
CM	755 ± 10.9	306 ± 15.5	28.5 ± 5.5
TE	880 ± 105	295 ± 20.7	30.1 ± 4.2
p	805 ± 95	280 ± 22.5	29.5 ± 6.2
L	715 ± 80	260 ± 28.5	29.3 ± 5.5
CM + TE	290 ± 45	155 ± 16.5	35.5 ± 3.9
CM + L	240 ± 25	96 ± 9.4	31.2 ± 2.9
P + TE	250 ± 30	105 ± 15.5	36.9 ± 3.5
P + L	220 ± 20	90 ± 10.5	32.1 ± 3.1

HC = hiperkoleszterolémias kontroll

CM = karnitin keverék

TE = természetes paradicsom karotenoid extraktum

P = propionil-L-karnitin

L = likopén



5. táblázat

Hiperkoleszterolémias nyulak vizsgálata

Teljes koleszterin és triglicerid koncentráció a májban

	Teljes koleszterin (mg/dl)	Triglicerid (mg/g)
HC	1,885 ± 315	180 ± 15,5
CM	1,420 ± 205	155 ± 12,7
TE	1,475 ± 195	139 ± 11,5
P	1,250 ± 145	142 ± 12,8
L	1,200 ± 180	135 ± 13,8
CM + TE	985 ± 85	115 ± 11,6
CM + L	780 ± 98	105 ± 11,6
P + TE	750 ± 64	110 ± 10,7
P + L	655 ± 90	90 ± 8,5

HC = hiperkoleszterolémias kontroll

CM = karnitin keverék

TE = természetes paradicsom karotenoid extraktum

P = propionil-L-karnitin

L = likopén

Ornitin-dekarboxiláz aktivitás vizsgálatával végzett anti-proliferatív aktivitás vizsgálat

Ismeretes, hogy a patkányoknak szubkután beadott teleocidin a forbol-mirisztátokhoz hasonlóan proliferatív rendellenességeket okoz az így kezelt állatok bőrében, amely tumor típusú keratózis folyamatokhoz is vezethet.



A proliferációs rendellenességet az ornitin-dekarboxiláz enzim növekedése kíséri és - ahogy általában az összes kóros proliferációs működés esetében - az ornitin-dekarboxiláz aktivitásának növekedése arányos az előidézett elváltozás súlyosságával. Ezekben a vizsgálatokban szubkután $0,2 \text{ cm}^3$ vizes oldatban oldott teleocidint injektálunk $5 \mu\text{g}/\text{egér}$ dózisban az egér leszórtelenített hátába. A kezelést megelőző 7 napig az állatok orálisan vagy kizárólag karnitin keveréket ($400 \text{ mg}/\text{kg}$), ami L-karnitin, acetyl-L-karnitin, propionil-L-karnitin és izovaleril-L-karnitin azonos tömegű keveréke, vagy kizárólag propionil-L-karnitint ($400 \text{ mg}/\text{kg}$) vagy kizárólag természetes paradicsom karotenoid extraktumot ($100 \text{ mg}/\text{kg}$, 5% likopént tartalmaz), vagy kizárólag likopént ($5 \text{ mg}/\text{kg}$) vagy karnitin keverék és likopén vagy likopén-tartalmú extraktum kombinációját vagy propionil-L-karnitint kapnak, utóbbit likopénnel vagy likopén-tartalmú extraktummal kombinálva. Egy másik kísérletsorozatban ezeket a termékeket az egér bőrére visszük fel a teleocidin injekció beadása előtt fél órával, miután a terméket először dimetil-szulfoxidban, majd lanolinban megfelelően diszpergáljuk $200 \text{ mg}/\text{cm}^3$ karnitin keveréknek vagy $200 \text{ mg}/\text{cm}^3$ 5% likopént tartalmazó karotenoid extraktumnak, vagy $5 \text{ mg}/\text{cm}^3$ likopénnek megfelelő koncentrációban.

A különböző készítményeket $0,3 \text{ cm}^3$ dózisban visszük fel arra a bőrfelületre, ahova a teleocidint is injektáljuk, és az injektált területet egy zárókötéssel védjük.

A teleocidinnel injektált bőrfelületen ornitin dekarboxiláz vizsgálatot végzünk az injektálás után 5 órával O'Brien és Nakadate által ismertetett módon [O'Brien T.G., Cancer Res.,



35, 1662 (1975); Nakadate, T.; Cancer Res., 42, 2841 (1982)]. Az epidermális extraktum fehérje koncentrációját Lowry eljárás alkalmazásával határozzuk meg [Lowry, O.H.; J. Biol. Chem., 193, 265 (1951)]. A vizsgálatok eredménye azt mutatja, hogy mind a karnitin keverék, mind a természetes paradicsom extraktumban lévő karotenoidok, továbbá a propinil-L-karnitin önmagában és a likopén önmagában enyhe védő hatást gyakorol a proliferációs jelenségre, és az ornitin dekarboxiláz aktivitás növekedésre, azonban ez a védőhatás meglepően hatékonynak bizonyul, amikor ezeket a termékeket kombináltan használjuk. Ez azt mutatja, hogy váratlan és meglepő módon szinergista hatás lép fel.

6. táblázat

Ornitin-dekarboxiláz aktivitás vizsgálat

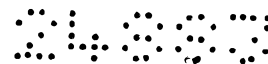
Kezelés	Ornitin-dekarboxiláz aktivitás (nmol CO ₂ /60 perc/mg protein)	
	Orális beadás	Bőrön történő beadás
Kontroll	0,05±0,002	0,03±0,001
Teleocidin	2,4±0,3	2,6±0,2
Karnitin keverék	1,92±0,4	1,75±0,3
Propionil-L-karnitin	1,90±0,2	1,60±0,1
Természetes paradicsom extraktum	1,85±0,3	1,80±0,2
Likopén	1,70±0,1	1,65±0,1



Kezelés	Ornitin-dekarboxiláz aktivitás (nmol CO ₂ /60 perc/mg protein)	
	Orális beadás	Bőrön történő beadás
Karnitin keverék + természetes paradicsom extraktum	0,35±0,005	0,40±0,06
Karnitin keverék + likopén	0,30±0,03	0,45±0,05
Propionil-L-karnitin + természetes paradicsom extraktum	0,36±0,06	0,30±0,04
Propionil-L-karnitin + likopén	0,33±0,05	0,31±0,03

Az alábbiakban illusztrálás céljából példákat mutatunk be a találmányunk szerinti készítményekre vonatkozóan, anélkül, hogy találmányunkat az ezekben foglaltakra korlátoznánk.

Példa	Gyógyszerkészítmény összetétele	Tömeg
1.	Karnitin keverék (125 mg L-karnitin, 125 mg acetyl-L-karnitin, 125 mg propionil-L-karnitin, 125 mg izovaleril-L-karnitin) 5 % likopént tartalmazó természetes paradicsom extraktum	500 mg 100 mg
2.	Karnitin keverék (75 mg L-karnitin, 75 mg acetyl-L-karnitin, 75 mg propionil-L-karnitin, 75 mg izovaleril-L-karnitin) 5 % likopént tartalmazó természetes paradicsom extraktum	300 mg 50 mg



Példa	Gyógyszerkészítmény összetétele	Tömeg
3.	Propionil-L-karnitin 5 % likopént tartalmazó természetes paradicsom extraktum	500 mg 100 mg
4.	Propionil-L-karnitin 5 % likopént tartalmazó természetes paradicsom extraktum	250 mg 50 mg
5.	Propionil-L-karnitin Likopén	500 mg 5 mg
6.	Propionil-L-karnitin Likopén	250 mg 2,5 mg
7.	Karnitin keverék (75 mg L-karnitin, 75 mg acetyl-L-karnitin, 75 mg propionil-L-karnitin, 75 mg izovaleril-L-karnitin) Likopén	300 mg 5 mg
8.	Karnitin keverék (75 mg L-karnitin, 75 mg acetyl-L-karnitin, 75 mg propionil-L-karnitin, 75 mg izovaleril-L-karnitin) Likopén	300 mg 2,5 mg
9.	Karnitin keverék (75 mg L-karnitin, 75 mg acetyl-L-karnitin, 75 mg propionil-L-karnitin, 75 mg izovaleril-L-karnitin) Karotenoid komplex (Paradicsom, rózsaszín grapefruit, répa, narancs virág)	300 mg 300 mg



Példa	Gyógyszerkészítmény összetétele	Tömeg
10.	Propinil-L-karnitin Likopén β -karotin α -karotin Lutein Zeaxantin	400 mg 2,5 mg 5 mg 2 mg 5 mg 1 mg
11.	Propinil-L-karnitin Likopén Törpe legyező pálma (<i>Serenoa repens</i>) Pygeum africanum extraktum	350 mg 5 mg 50 mg 50 mg
12.	Karnitin keverék (75 mg L-karnitin, 75 mg acetil-L-karnitin, 75 mg propionil-L-karnitin, 75 mg izovaleril-L-karnitin) 5 % likopént tartalmazó természetes para- dicsom extraktum Törpe legyező pálma extraktum (<i>Serenoa repens</i>) Pygeum africanum extraktum Kaktuszvirág extraktum (<i>Opuntia ficus indica</i>) Zink-glicinát Szelenium (1-szelenium-metionin) E vitamin CoQ ₁₀	300 mg 100 mg 50 mg 50 mg 50 mg 50 mg 50 μ g 10 mg 10 mg



Példa	Gyógyszerkészítmény összetétele	Tömeg
13.	Karnitin keverék (100 mg L-karnitin, 100 mg acetil-L-karnitin, 100 mg propionil-L-karnitin, 100 mg izovaleril-L-karnitin)	400 mg
	5 % likopént tartalmazó természetes paradicsom extraktum	100 mg
	Áfonyából származó antocianin extraktum	50 mg
	Szőlőből származó polifenol extraktum	10 mg
	E vitamin	10 mg
	Szelénium-metionin	50 µg
	14.	Propionil-L-karnitin
β-karotin		5 mg
Likopén		5 mg
Lutein		3 mg
Katechin		5 mg
Liponsav		5 mg
CoQ ₁₀		10 mg
C vitamin		100 mg
PP vitamin		25 mg
B ₆ vitamin		25 mg
B ₁₂ vitamin		250 µg
Taurin	100 mg	

Az L-karnitin vagy alkanoil-L-karnitin gyógyászatilag elfogadható sóján ezen hatóanyagok bármilyen savval képzett sóját értjük, amely nem vált ki nemkívánt toxikus vagy mellékhatást. Ezek a savak a gyógyszerész szakember számára jól ismertek.



Megfelelő sók például a következők, azonban találmányunkat nem korlátozzuk ezekre: klorid, bromid, jodid, aszpartát, savas aszpartát, citrát, savas citrát, tartarát, foszfát, savas foszfát, fumarát, savas fumarát, glicerofoszfát, glükóz-foszfát, laktát, maleát, savas maleát, orotát, oxalát, savas oxalát, szulfát, savas szulfát, triklóracetát, trifluoracetát vagy metánszulfonát.

Az FDA által engedélyezett gyógyászatilag elfogadható sók listája a következő szakirodalmi helyen található meg: *Int. J. of Pharm.* **33**, 201-217 (1986), ezen publikációt itt referenciaként adjuk meg.

A találmányunk szerinti készítmények tartalmazhatnak vitaminokat, koenzimeket, ásványi anyagokat és antioxidánsokat is.

A készítmények a gyógyszer és élelmiszeripari szakember számára jól ismert megfelelő adalékanyagok alkalmazásával állíthatók elő a meghatározott beadási utak figyelembe vételével.

Szabadalmi igénypontok

1. Kombinált készítmény, amely

(a) propionil-L-karnitint vagy gyógyászatilag elfogadható sóját; és

(b) egy karotenoidot, mégpedig likopént, α -karotént, β -karotént, zeaxantint, kriptoxantint, luteint vagy ezek keverékét tartalmazza.

2. Az 1. igénypont szerinti készítmény, ahol az (a) alkotórész ezen kívül egy „karnitint”, mégpedig L-karnitint, acetil-L-



-karnitint, valeril-L-karnitint, izovaleril-L-karnitint vagy ezek gyógyászatilag elfogadható sóit vagy keverékeit is tartalmazza.

3. Az 1. vagy 2. igénypont szerinti készítmény, ahol a karotenoid likopén.

4. Az 1-3. igénypontok bármelyike szerinti készítmény, amely az (a) és (b) komponenseket 1:0,1 és 1:10 közötti arányban tartalmazza.

5. Az 1-4. igénypontok bármelyike szerinti készítmény, ahol a (b) komponens az adott alkotórészt tartalmazó növényi extraktum formában van.

6. Az 5. igénypont szerinti készítmény, ahol a növényi extraktum paradicsom (*Lycopersicon esculentum*) extraktum.

7. A 6. igénypont szerinti készítmény, ahol a paradicsom extraktum körülbelül 2 tömeg% és 20 tömeg% közötti mennyiségű likopént tartalmaz.

8. Az 1-7. igénypontok bármelyike szerinti készítmény, ahol az L-karnitin vagy alkanoil-L-karnitin gyógyászatilag elfogadható sója klorid-, bromid-, jodid-, aszpartát-, savas aszpartát-, citrát, savas citrát-, tartarát-, foszfát-, savas foszfát-, fumarát-, savas fumarát-, glicerofoszfát-, glükóz-foszfát-, laktát-, maleát-, savas maleát-, savas oxalát-, szulfát-, savas szulfát-, triklór-acetát-, trifluor-acetát-, vagy metánszulfonát-só.

9. Az 1-8. igénypontok bármelyike szerinti készítmény, amely a fentieken kívül vitaminokat, koenzimeket, ásványi anyagokat és antioxidánsokat tartalmaz.

10. Az 1-9. igénypontok bármelyike szerinti készítmény orálisan beadható táplálék kiegészítő formában.

11. Az 1-10. igénypontok bármelyike szerinti készítmény, amely beadható orálisan, parenterálisan, rektálisan, transzder-



málisan vagy szemcsepp formában beadható gyógyszerkészítmény formájában.

12. Az 1. igénypont szerinti készítmény alkalmazása a környezetszennyeződés következtében jelenlévő szabad gyökök és ateroszklerotikus, érrendszeri, szív- vagy agyi lipoperoxidációs jelenség következtében kialakuló betegségek, továbbá a különböző szövetek, mégpedig prosztatata-, méh-, emlő- és vastagbél-szövetek proliferációs elváltozásainak, valamint látási és retina rendellenességek, mégpedig hályog és foltos retinaelváltozás megelőzésére alkalmas táplálék kiegészítő előállítására.

13. Az 1. igénypont szerinti készítmény alkalmazása a környezetszennyeződés következtében jelenlévő szabad gyökök és ateroszklerotikus, érrendszeri, szív- vagy agyi lipoperoxidációs jelenség következtében kialakuló betegségek, továbbá a különböző szövetek, mégpedig prosztatata-, méh-, emlő- vagy vastagbél-szövetek proliferációs elváltozásainak, valamint látási és retina rendellenességek, mégpedig hályog és foltos retinaelváltozás gyógyászati kezelésére alkalmas táplálék kiegészítő előállítására.

*nyz nélkül
2001. 11. 28
JK*

A meghatalmazott:

**Danubia Szabadalmi és
Védjegy Iroda Kft.**

Fehérvári Flóra
szabadalmi ügyvivő