

(19)



(10) **LT 3543 B**

(12) **PATENTO APRAŠYMAS**

(11) Patento numeris: **3543**

(51) Int.Cl.⁵: **A61K 31/70,
A61K 31/725**

(21) Paraiškos numeris: **IP1534**

(22) Paraiškos padavimo data: **1993 12 06**

(41) Paraiškos paskelbimo data: **1995 06 26**

(45) Patento paskelbimo data: **1995 11 27**

(60) SU duomenys: **PCT/EP 91/00654, 1991 04 06 SU 5010708, 1991 12 05**

(31,32,33) Prioritetas: **40 11 285.3, 1990 04 06, DE**

(72) Išradėjas:
**Hans-Ludwig Schaefer, DE
Werner Schneider, DE**

(73) Patento savininkas:
STEIGERWALD ARZNEIMITTELWERK GmbH, Havelstrasse 5, D-6100 Darmstadt, DE

(74) Patentinis patikėtinis:
Rita Laurinavičiūtė, 5, UAB "Metida", Pilies g. 8/1-2, 2600 MTP Vilnius, LT

(54) Pavadinimas:
Vaistinė medžiaga lipidų ir cholesterolio apykaitos sutrikimų profilaktikai ir gydymui

(57) Referatas:

Pasiūlyta medžiaga lipidų ir cholesterolio apykaitos sutrikimų profilaktikai ir gydymui, kurios aktyvus komponentas - galakturono rūgštis ar jos darinys. Pasiūlytas lipidų ir cholesterolio apykaitos sutrikimų gydymo ir profilaktikos būdas panaudojant šią medžiagą.

Išradimas susijęs su peroraline vaistine medžiaga skirta medžiagų apykaitos sutrikimų gydymui ir profilaktikai, lipidų ir cholesterino apykaitai paveikti, konkrečiai hiperlipidemijai ir aterosklerozei gydyti.

5

Nuo seno vakarų pramoninėse valstybėse sparčiai daugėja medžiagų apykaitos sutrikimų, ypačiai riebalų apykaitos sutrikimų, kurių pagrindinė priežastis - gausi mityba, esant ribotam judrumui. Palaipsniui kraujyje susidaro didesnis tam tikrų lipidų kiekis. Tai padidina aterosklerozinių širdies ir periferinių kraujagyslių susirgimų riziką. Riebalai kraujyje cirkuliuoja smulkiausių lašelių (chilomikronų), kurie stabilizuoti proteinine plėvele (α ir β - globulinai), pavidalu.

10

15

Gausiai vartojant mėsą perdozuojamas cholesterinas, nes šis stearoidas jau pakankamu kiekiu yra biosintezuojamas žmogaus kepenyse.

20

Maitinantis riebiu maistu, sutrinka gamtinis cholesterinemijos reguliacijos mechanizmas, tai sukelia pastovų cholesterino pagausėjimą kraujo plazmoje. Mažai tirpus cholesterinas nusėda aortos sienelėje, akies ragenoje ir lęšiuke. Cholesterino kiekio padidėjimas kraujyje iš dalies kaltas dėl arterinių kraujagyslių sklerozės išsivystymo. Hipercholesterinemija yra hiperlipidemija, visada lydinti medžiagų apykaitos sutrikimu, kuris gali būti labai ryškus, pavyzdžiui, sergant cukriniu diabetu.

25

30

Skirtingos patogenezės požiūriu ir turinčios panašius simptomus ligos, hipertrigliceridemijos - hiperlipidemijos, t.y. kraujo plazmos susidrumstimas dėl chilomikronų pagausėjimo (turtingi neutraliais riebalais lašeliai, turintys 1 nm diametrą) ir hipercholesterinemijos, t.y. cholesterino kiekio padaugėjimo kraujo plazmoje daugiau nei 200 mg, jungiamos bendru hiper-

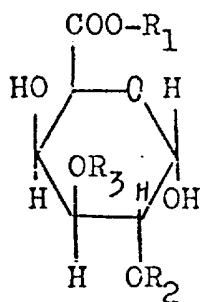
35

lipoproteinemijų ir hiperlipidemijų pavadinimu (žiūr. Pschyrembel, klinikinis žodynas).

Iki šio laiko hiperlipoproteinemijų gydymui daugiausia
5 naudoja α -(p-chlorfenoksi)-izosviesto rūgšties etilo esterius, α -(p-chlorfenoksi)-izosviesto rūgšties druską ir nikotino rūgštį, o taip pat nikotino rūgšties darinius, dirbtines anijonų mainų dervas, bei daug kombinuotų preparatų.

10 Dirbtinės anijoninių mainų dervos dėl savo cheminių ir fizinių savybių dažnai sukelia ryškius skrandžio ir žarnyno sutrikimus. Dėl savo anijonų mainų savybių jos gali neigiamai veikti kitų vaistinių medžiagų ir
15 gamtinių mineralų rezorbciją.

Augalinės vaistinės medžiagos, kurias galima naudoti anksčiau paminėtų medžiagų apykaitos sutrikimų gydymui, iki šiol nežinomos. Netikėtai buvo aptikta, kad galakturono rūgštis pasižymi hipocholesterineminiu poveikiu. Žemiau aprašytų bandymų pagalba buvo įrodyta, kad
20 vartojant galakturono rūgštį ar šios rūgšties žinomus darinius žymiai sumažėja cholesterolio plazmoje, vadina- si šis junginys ar junginių klasė puikiai tinka hiperlipidemijos gydymui. Tokiu būdu išradimas skirtas
25 galakturono rūgšties panaudojimui, ypačingai α -D-galakturono rūgšties, turinčios bendrą formulę



kurioje $R_1 = H$,

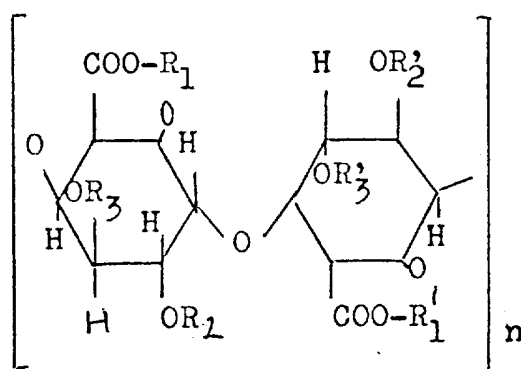
$R_2 = H$ ir $R_3 = H$

5 vaistinės medžiagos, taikomos hiperlipidemijos profilaktikai ir gydymui, gavimo būdai.

Be to, išradimas skirtas galakturono rūgšties polimerų panaudojimui, ypač α -D-galakturono rūgšties, turinčios bendrą formulę

10

15



kurioje $R_1 = H$,

$R_2 = H$,

$R_3 = H$,

$R_1' = H'$

$R_2' = H$,

$R_3' = H$, ir

20

n sudaro sveiką skaičių, pagal apibrėžties 1 punkto paskirtį.

25 Išradimas taip pat apima galakturono rūgšties metilo esterio ir jos polimerų, ypač α -D-galakturono rūgšties, panaudojimą 1 punkte nurodytam tikslui bei aterosklerozės profilaktikai ir gydymui, kai

$R_1 = CH_3$,

$R_2 = H$,

$R_3 = H$,

$R_1' = CH_3$, arba H ,

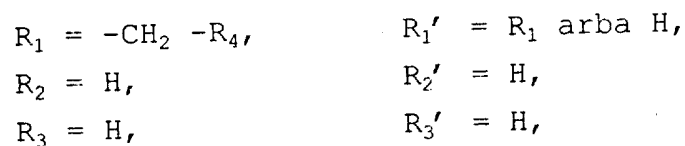
$R_2' = H$,

$R_3' = H$.

30

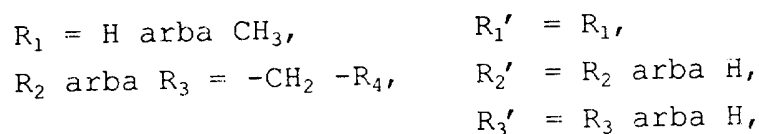
3 punkto nurodytam tikslui pasiekti, išradimas apima esterius, eterius ir/arba glukurono rūgšties acetalus,

ypatingai α -D-galakturono rūgšties ir jos polimeru, turinčių tretinių ir ketvirtinių aminių anijoninų dervas, panaudojimą, kai esteryje

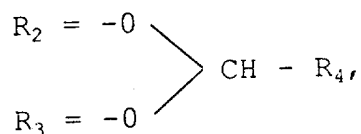


5

eteryje

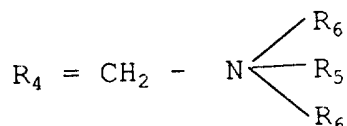


10 acetaliuose

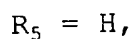


15

amin-anijoninų mainų dervų bendroje formulėje

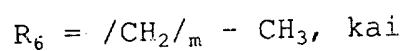
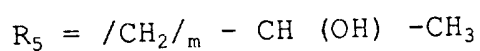
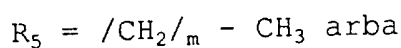
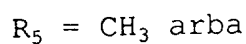


20 be to, tretinio amino atveju



o ketvirtinio amino atveju

25



30 m yra sveikas skaičius nuo 1 iki 5,

Igyvendinant išradimą, palankiausia panaudoti fermentuotą pektiną, 1 iR₃ punkte nurodytam tikslui pasiekti. Pektinas fermentacijos būdu nesunkiai paverčiamas į α -D-galakturono rūgštį.

5

Be to, išradimas skirtas ir peroralinei vaistinei medžiagai, naudojamai hiperlipidemijos ir/arba aterosklerozės gydymui. Jai būdinga tai, kad jos aktyvi medžiaga yra junginys, aprašytas 1 ir 2 arba 3-5 punktuose.

10

Priešingai negu sintetiniai medikamentai, anksčiau aprašytos medžiagos priklauso maisto gamtiniams komponentams. Galakturono rūgšties polimerai taip pat susiję su pektinais, kurie sutinkami visuose augaliniuose komponentuose. Junginiai gali būti skiriami peroraliai kaip granulės, sirupai arba suspensijos.

15

Lipidinio balanso, kaip medžiagų apykaitos sutrikimo, patologinei biomorfozės ligai, kraujagyslių ateroskleroziniams pakitimams, kraujagyslių pakitimams sergant cukralige, kraujosrūvoms į tinklainę gydyti ir išvengti pagal išradimą skiriama kiekvieną dieną apie 10-50 g aktyviosios medžiagos.

20

25

Vėliau aprašytuose bandymuose buvo įrodyta, kad α -D-galakturono rūgštis, pektino monomeras pasižymi hipcholesterineminiu poveikiu kraujo plazmoje. Galakturono rūgštis, priešingai nei pektinas gerai tirpsta vandenyje ir todėl nesukelia jokių vartojimo sunkumų.

30

Cholesterinemijos gydymas α -D-galakturono rūgštimi nesukelia jokių problemų. Toksiniai efektai nežinomi. α -D-galakturono rūgštis yra cukrus, kuris labai dažnai randamas įvairiuose augaluose. DEAE-anion-mainų grupės su galakturono rūgšties pektino monomero dviem iš trijų C-0-grupių acetalinio susijungimo dėka cholesteriną

35

mažinantis poveikis žiurkėno modelyje gali dvigubai padidėti.

5 Vertėtų paminėti, kad pagal išradimą vietoje α -D-galakturono rūgšties galima naudoti β -D-galakturono rūgštį. Tačiau pastaroji yra žymiai brangesnė, todėl paprastai išradime naudoja α -D-galakturono rūgštį.

10 Vėliau aprašyti bandymai aiškiai įrodo, kad galakturono rūgšties vartojimas žymiai sumažina cholesterino ir lipidų, kurie iš dalies atsakingi už hiperlipidemijos ir/arba aterosklerozės išsivystymą, koncentraciją.

15 Bandymų rezultatai rodo, kad visi medžiagų, turinčių α -D-galakturono rūgštį, tyrimai yra efektyvūs. Galakturono rūgšties rūgštinės grupės metilinimas tik nežymiai keičia α -D-galakturono rūgšties poveikį. α -D-galakturono rūgštis ir monomero, ir polimero pavidalu turi panašų efektyvumą.

20 Pektino fermentacijos metu susidaro galakturono rūgštis, vadinasi, galima naudoti fermentuotą pektiną.

Tačiau anijonų mainų grupės pakeitimas aiškiai padidina efektyvumą.

25 Ši padidėjimą sąlygoja DEAE-šalutinės grupės tretinio azoto anijonų mainų talpa.

30 Efektyvumo padidėjimas tikriausiai pasiekiamas ir dėka kitų anijonų mainų grupių, turinčių tretinius ir ketvirtinius aminus.

35 Dėl to visos aprašytos medžiagos kaip hipolipideminės ir antiaterosklerotinės vaistinės medžiagos yra efektyvios.

Farmakologinis bandymas

Galakturono rūgštis ir jos dariniai yra gerai toleruojami. Galakturono rūgšties polimerų LD₅₀ žiurkėms, žiurkėnams ir triušiams yra žymiai didesnė negu 10 g/kg. Ir kiti anksčiau aprašyti junginiai gerai toleruojami. Ju
5 giminingumas arba priklausomumas maisto gamtiniais komponentams užtikrina junginių nekenksmingumą.
Ikiklinikinis išbandymas

Bandymas 1:

10

3 grupes po 20 vyriškos giminės gelsvųjų žiurkėnų 4 savaites šėrė lipidemine dieta (dieta žiurkėnų išlaikymui ir 2 % cholesterino). Į dviejų grupių, kurias gydė, maistą papildomai pridėdavo po 5 % galakturono rūgšties
15 arba DEAE-poligalakturono rūgšties (DEAE = dietilaminoetil). Vartojama dozė sudaro tarp 4 ir 5 g/kg masės per parą. Po 4 savaičių gyvuliukus nigaišindavo ir matuodavo lipidų koncentraciją kraujo plazmoje ir kepenyse. Analizės rezultatai apibendrinti 1, 2 ir 3 lentelėse.
20

Po 4 savaičių gydymo galakturono rūgštis sumažina kraujo plazmoje bendrą cholesterino kiekį 20 %, HDL-cholesterino, 20 %, LDL-cholesterino 23 %, VLDL- ir LD₁L-cholesterino 20 % ir laisvo cholesterino 19 % (p 0,05).
25 Be to, galakturono rūgštis sumažina kraujo plazmoje bendrą lipidų koncentraciją 18 % ir fosfolipidų koncentraciją 17 %. Be to, buvo sumažėjusi bendra lipidų koncentracija kepenyse 34 %.

30

Po 4 savaičių gydymo DEAE-poligalakturono rūgštis sumažino kraujo plazmoje bendro cholesterino koncentraciją 43 %, HDL-cholesterino 47 %, LDL-cholesterino 46 %, VLDL-cholesterino 24 % ir VLDL plus LDL-cholesterino
35 41 % palyginant su kontroliniais gyvuliukais. Be to, buvo sumažinta bendra lipidų koncentracija 37 % ir

fosfolipidų koncentracija 41 % palyginant su kontroliniais gyvuliukais.

5 Priešingai nei kontroliniams gyvuliukams, gyvuliukams, gydytiems DEAE-poligalakturono rūgštimi, buvo sumažinta cholesterino koncentracija kepenyse 21 % ir bendra lipidų koncentracija kepenyse 44 %.

Bandymas 2:

10 3 grupės po 20 vyriškos giminės gelsvųjų žiurkėnų 4 savaites gydė kaip ir 1 bandyme aprašytus gyvuliukus. 2 grupę gydė 5 % poligalakturono rūgštimi, 3 grupę 5 % poligalakturono rūgšties metilo esteriu. 1 grupė skirta lipidemijos kontrolei. Lipidų koncentracijos kraujo
15 plazmoje ir kepenyse po 4 savaičių gydymo apibendrintos 4, 5, 6 lentelėse.

Gyvuliukams po 4 savaičių gydymo poligalakturono rūgštimi, priešingai nei kontroliniams gyvūnams, kraujo
20 plazmoje sumažėjo bendro cholesterino 13 %, HDL-cholesterino 15 %, laisvo cholesterino 32 %, o taip pat bendra lipidų koncentracija 14 % ir fosfolipidų koncentracija 19 % ($p \leq 0,05$ lentelė 4 ir 5). Be to, gydymas poligalakturono rūgštimi sumažino cholesterino
25 koncentraciją kepenyse 26 % ir bendrą lipidų koncentraciją 25 %.

Po 4 savaičių gydymo poligalakturono rūgšties metilo esteris kraujo plazmoje sumažino koncentraciją bendro
30 cholesterino (-24 %), HDL-(-24 %), LDL-(-23 %), VLDL-(-44 %), VLDL plus LDL-(-22 %) ir laisvo cholesterino (-41 %) (lentelė 4).

Be to, poligalakturono rūgšties metilo esteris sumažino
35 kraujo plazmoje bendrą lipidų koncentraciją 18 % ir fosfolipidų koncentraciją 23 % (lentelė 5). Kepenyse poligalakturono rūgšties metilo esteris sumažino cho-

lesterino koncentraciją 29 % ir visų lipidų koncentraciją 32 %.

Fermentinio pektino gavimas:

5

Naudoja 50 mmol NaH_2PO_4 buferinį tirpalą, kurio pH = 4,5, 60° C ir 1 g pektinazės/1 (pektinazė 5S, Serva Aspergillus niger, 0,66 vienetai/mg). Per kelias valandas į šį tirpalą palaipsniui prismaiškoma pektino iki galutinės koncentracijos, maždaug 500 g/l, ir 1 kg pektino pridedama 10 g pektinazės pH reikšmė sureguliuojama pridedant 5-moliarinio NaOH į NaH_2PO_4 buferinį tirpalą, kurio pH = 4,5.

15 Lentelė 1.

Cholesterolio koncentracija žiurkėno kraujo plazmoje po keturių savaičių gydymo (n = 20/grupė). Vidurkiai /mg/dl/ ± standartinė paklaida (SD)

20

	Kontrolė Galakturono DEAE-poligalakturono rūgštis		
	1	2	3
Bendras cholesterolinas	340	271*	193*
SD	± 53	± 31	± 40
D		- 20	- 43
HDL-cholesterolinas	148	118*	79*
SD	± 23	± 21	± 13
D		- 20	- 47
LDL-cholesterolinas	151	117*	82*
SD	± 42	± 24	± 24
D		- 23	- 48
VLDL-cholesterolinas	42	36	32*

1	2	3	4
SD	± 10	± 12	± 8
D		- 14	- 24
VLDL + LDL-cholesterinas	192	153*	114*
SD	± 47	± 22	± 30
D		- 20	- 41
Laisvas cholesterinas	118	96*	103
SD	± 28	± 19	± 20
D		- 19	- 13

D = procentinis skirtumas perskaičiavus kontrolinei grupei

* $p \leq 0,05$

5 Lentelė 2.

Lipidų koncentracija žiurkėno kraujo plazmoje po keturių savaičių gydymo (n = 20/grupė)

10 Vidurkliai /mg/dl/ ± standartinė paklaida (SD)

	Kontrolė	Galakturono rūgštis	DEAE-poligalakturono rūgštis
Bendri lipidai	1295	1060*	819*
SD	± 177	± 153	± 135
D		- 18	- 37
Fosfolipidai	389	322*	228*
SD	± 48	± 40	± 31
D		- 17	- 41
Trigliceridai	202	216	188
SD	± 76	± 82	± 55
D		+ 7	- 7

Lentelė 3.

Lipidų koncentracija žiurkėno kepenyse po keturių savaičių gydymo (n = 20/grupė)

5

Vidurkiaiai /mg/g/ gryna masė/± standartinė paklaida (SD)

	Kontrolė	Galakturono rūgštis	DEAE-poligalakturono rūgštis
Cholesterinas	30	27	24*
SD	± 13	± 6	± 8
D		- 9	- 21
Bendri lipidai	169	111*	94*
SD	± 22	± 25	± 33
D		- 34	- 44

D = procentinis skirtumas perskaičiavus kontrolinei grupei

10 * p ≤ 0,05

Lentelė 4.

Cholesterolino koncentracija žiurkėno kraujo plazmoje po keturių savaičių gydymo (n = 20/grupė)

15

Vidurkiaiai /mg/dl/ ± standartinė paklaida (SD).

	Kontrolė	Põligalakturono rũgštis metilo esteris	Poligalaktu- rono rũgštis
1	2	3	4
Bendras cholesterinas	414	314*	361*
SD	± 54	± 44	± 49
D		- 24	- 13

12

1	2	3	4
HDL-cholesterinas	175	133*	149*
SD	± 26	± 19	± 24
D		- 24	- 15
LDL-cholesterinas	199	153*	163
SD	± 63	± 36	± 38
D		- 23	- 18
VLDL-cholesterinas	50	28*	48
SD	± 24	± 12	± 16
D		- 44	- 4
VLDL- + LDL-cholesterinas	231	181*	212
SD	± 47	± 41	± 42
D		- 22	- 8
Laisvas cholesterinas	117	69*	80*
SD	± 17	± 10	± 13
D		- 41	- 32

D = procentinis skirtumas perskaičiavus kontrolinei grupei

* $p \leq 0,05$

5 Lentelė 5.

Lipidų koncentracija žiurkėno kraujo plazmoje po keturių savaičių gydymo (n = 20/grupė)

10 Vidurkiai /mg/dl/ ± standartinė paklaida (SD)

	Kontrolė	Poligalakturono rūgšties metilo esteris	Poligalakturono rūgštis
Bendri lipidai	1563	1286*	1338*
SD	± 151	± 181	± 201
D		- 18	- 14
Fosfolipidai	474	365*	385*
SD	± 52	± 44	± 47
D		- 23	- 19
Trigliceridai	270	265	269
SD	± 59	± 80	± 89
D		- 2	-

Lentelė 6.

5 Lipidų koncentracija (mg/g gryna masė) žiurkėno kepe-
nyse po keturių savaičių gydymo (n = 20/grupė)

Vidurkiai /mg/g gryna masė ± standartinė paklaida (SD)

	Kontrolė	Poligalakturono rūgšties metilo esteris	Poligalakturono rūgštis
Cholesterolinas	30,0	21,3*	22,1*
SD	= 3,8	= 7,3	= 4,9
D		- 29	- 26
Bendri lipidai	89,4	60,4*	67,4*
SD	= 11,6	= 17,4	= 23,0
D		- 32	- 25

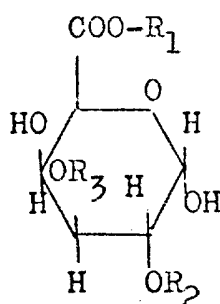
10 D = procentinis skirtumas perskaičiavus kontrolinei grupei

* $p \leq 0,05$

IŠRADIMO APIBRĖŽTIS

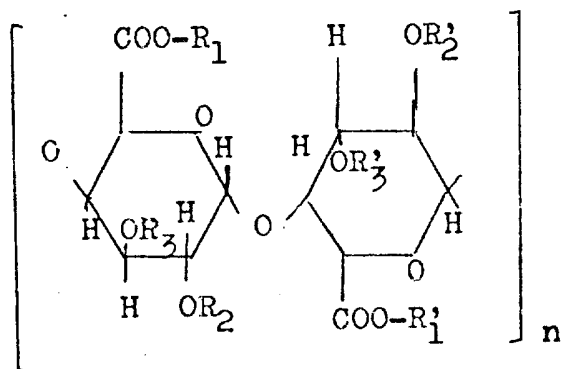
1. Vaistinė medžiaga, skirta lipoidų ir cholesterolino
 apykaitos sutrikimų profilaktikai ir gydymui, b e s i -
 5 s k i r i a n t i tuo, kad aktyviuoju komponentu yra
 galakturono rūgštis ir jos dariniai ir, esant reikalui,
 priedai.

2. Vaistinė medžiaga pagal 1 punktą, b e s i s k i -
 10 r i a n t i tuo, kad vietoj galakturono rūgšties į jos
 sudėtį įeina α -D-galakturono rūgštis, turinti bendrą
 formulę



kurioje $R_1 = \text{H}$,
 $R_2 = \text{H}$ ir
 $R_3 = \text{H}$.

3. Vaistinė medžiaga pagal 1 punktą, b e s i s k i -
 25 r i a n t i tuo, kad į jos sudėtį kaip galakturono
 rūgšties darinys įeina α -galakturono rūgšties poli-
 meras, turintis bendrą formulę



kurioje $R_1=H$, $R_1'=H$,
 $R_2=H$, $R_2'=H$,
 $R_3=H$, $R_3'=H$ ir

5 n yra sveikas skaičius, pagal apibrėžties
 1 punkto paskirtį.

4. Vaistinė medžiaga pagal 1 punktą, b e s i s k i -
 r i a n t i tuo, kad į jos sudėtį kaip galakturono
 rūgšties darinys įeina galakturono rūgšties ir jos po-
 10 limerų metilo esteris, kuriame

$R_1=CH_3$, $R_1'=CH_3$ arba H ,
 $R_2=H$, $R_2'=H$,
 $R_3=H$, $R_3'=H$.

15

5. Vaistinė medžiaga pagal 1 punktą, b e s i s k i -
 r i a n t i tuo, kad į jos sudėtį kaip galakturono
 rūgšties dariniai įeina esteriai, eteriai ir/arba ga-
 lakturono rūgšties acetaliai, ypačingai α -D-galakturono
 20 rūgšties ir jos polimerų, turintys tretinių ir ket-
 virtinių aminų anijonų mainų dervas, kai esteryje

25 $R_1 = -CH_2 - R_4$, $R_1' = R_1$ arba H ,
 $R_2 = H$, $R_2' = H$,
 $R_3 = H$, $R_3' = H$,

eteryje

30 $R_1 = H$ arba CH_3 , $R_1' = R_1$,
 R_2 arba $R_3 = -CH_2 - R_4$, $R_2' = R_2$ arba H ,
 $R_3' = R_3$ arba H ,

acetaluose

35 $R_2 = -O$ $\diagup$
 $R_3 = -O$ $\diagdown$ CH - R_4 ,

6. Vaistinė medžiaga pagal 1 punktą, b e s i s k i -
r i a n t i tuo, kad į jos sudėtį kaip galakturono
rūgšties darinys įeina fermentuotas pektinas.
- 5 7. Vaistinės medžiagos pagal 1 - 5 punktus panaudojimas
lipoidų ir cholesterolino sutrikimų gydymui ir profi-
laktikai.