



(12) **PATENT**

(19) NO

(11) **329586**

(13) **B1**

NORGE

(51) Int Cl.

A23L 1/29 (2006.01)

A23L 1/30 (2006.01)

Patentstyret

(21)	Søknadsnr	20051650	(86)	Int.inng.dag og søknadsnr	2003.10.08 PCT/US2003/31875
(22)	Inng.dag	2005.04.04	(85)	Videreføringsdag	2005.04.04
(24)	Løpedag	2003.10.08	(30)	Prioritet	2002.10.10, US, 417458
(41)	Alm.tilgj	2005.05.06			
(45)	Meddelt	2010.11.15			
(73)	Innehaver	Wyeth, Five Giralda Farms, US-NJ07940-0874 MADISON, USA			
(72)	Oppfinner	Susan Marie Kaup, 108 East Knight Avenue, US-NJ08190 COLLINGSWOOD, USA Charles Francis Kuhlman, 24 Langston Lane, US-PA19063 MEDIA, USA Anita Maria Burgher, 132 West Beidler Road, US-PA19406 KING OF PRUSSIA, USA			
(74)	Fullmektig	Bryn Aarflot AS, Postboks 449 Sentrum, 0104 OSLO, Norge			

(54)	Benevnelse	Spebarnssammensetning for mating av for tidlig fødte barn eller barn født med lav kroppsvekt samt anvendelse derav			
(56)	Anførte publikasjoner	WO 9806277 A1, JANAS, L. M. ET AL, "The nucleotide profile of human milk", Pediatric Research, vol. 16, nr.18, 1982, side 659-662, US 4544559 A			
(57)	Sammendrag				

Det beskrives et preparat for spedbarn som omfatter 3,2 mg/L til 15,4 mg/L CMP; 1,8 mg/L til 11,0 mg/L UMP; 1,8 mg/L til 8,0 mg/L GMP; 0,1 mg/L til 2,2 mg/L IMP; og 2,5 mg/L til 13,2 mg/L AMP.

OPPFINNELSESOMRÅDE

Foreliggende oppfinnelse vedrører spebarnssammensetning for mating av for tidlig fødte barn eller barn født med lav kroppsvekt samt anvendelse derav.

5 **BESKRIVELSE AV TEKNIKKENS STAND**

Barn født før termin har økte næringsbehov for å opprettholde den hurtige utvikling av kroppsvev tidlig i livet. I fødeklinner har overlevelsen av barn med lav fødselsvekt (LBW>1000 g) og særlig barn med meget lav fødselsvekt (VLBW<1000 g) økt. De endogene næringslagringsevnene til disse barna er imidlertid sterkt begrenset.

Det premature barn er bemerkelsesverdig forskjellig fra det fullbårne barn. Den første umodenhet og senere hurtige veksthastighet hos det premature barn fordrer et høyere næringsinntak enn det fullbårne barn. I løpet av de aller siste år har ernæringsforskere gjort betydelige fremskritt med hensyn til å fastslå næringsbehovene til premature barn og har justert sammensetningen av preparat for spebarn til for tidlig fødte deretter. Sammensetningen av preparat for spebarn for for tidlig fødte er primært basert på sammensetningen av human morsmelk, så vel som på intrauterin akkresjon. Preparat for spebarn for premature er derfor endret til å inneholde passende økte mengder næringsstoffer som protein og fett, så vel som mineraler som kalsium, fosfor, kobber og sink.

Det har lenge vært ønsket måter for tilføring av adekvat ernæring til premature barn. Det har vært gjort forsøk på å anrike vanlige preparat for spebarn for å anrike næringsverdien, særlig for ernæringen av premature barn.

Nukleotider finnes i alle levende celler. Moden human morsmelk inneholder tretten forskjellige nukleotider. De fem nukleotidene som opptrer i høyest konsentrasjon er cytidin-monofosfat (CMP), guanosin-monofosfat (GMP), adenosin-monofosfat (AMP), uridin-monofosfat (UMP) og inosin-monofosfat (IMP). Morsmelk omfatter videre nukleosider, nukleotid-polymerer og nukleotid-addukter som kan bidra til det totale nukleotidforråd (TMP). Hos premature barn kan imidlertid *de novo* syntese og opprettholdet av nukleotiddannelse være utilstrekkelig.

Preparat for spebarn for fullbårne barn er blitt forsterket med nukleotider for å etterligne morsmelk og for å behandle enkelte bestemte tilstander.

For eksempel omtaler US-patent 5.492.899 et preparat for spebarn som inneholder CMP, UMP, AMP og GMP for å gi en næring som forbedrer immunsystemet og lindrer diaré.

5 US-patent 4.544.559 omtaler en nukleotid-anriket humanisert melk for ernæring av barn, og som inneholder AMP, CMP, GMP, IMP og UMP i bestemte nivåer.

US-patent 4.994.442 og 5.086.500 omtaler tilsetningen av nukleosider og nukleotider til preparat for spebarn, og som har forbedrede fysiologiske egenskaper og som sterkt ligner morsmelk.

10 Wo 9806277 A1 beskriver spebarnssammensetninger som er forskjellige fra foreliggende oppfinnelse.

Janas et al. "The nucleotide profile of human milk", Pediatric Research, vol.16, nr.18, 1982, side 659-662 viser at nukleotidinnholdet av human melk varierer meget.

15 Tilsetningen av nukleotider til preparat for spebarn for å etterligne melken til mødre av for tidlig fødte barn har imidlertid ikke vært omtalt. Det postuleres at nukleotider oppnådd gjennom dietten kan være essensielle for for tidlig fødte ved å spille en viktig rolle for cellevekst, energioverføring og fremme av modning og utvikling av tarmen. Nukleotider kan også gi fordeler med relasjon til biologiske virkninger, inklusivt økning av gunstig mikroflora i tarmen, bedring av lipid-
20 metabolisme og forbedret immunitet.

SAMMENFATNING AV OPPFINNELSEN

Foreliggende oppfinnelse er rettet mot en spebarnssammensetning for spebarn som omfatter en lignende total nukleotidkonsentrasjon som den i
25 morsmelken til mødre til for tidlig fødte. Foreliggende spebarnssammensetning for mating av for tidlig fødte barn eller barn født med lav kroppsvekt ifølge oppfinnelsen omfatter 4,2 til 11,6 mg/L CMP; 2,4 til 8,3 mg/L UMP; 2,4 til 6,0 mg/L GMP; 0,1 til 1,7 mg/L IMP; og 3,3 til 9,9 mg/L AMP.

30 Foreliggende oppfinnelse vedrører også anvendelse av CMP, GMP, AMP, IMP og UMP for fremstilling av et medikament i form av en spebarnssammensetning for mating av for tidlig fødte barn eller barn født med lav kroppsvekt, hvor sammensetningen som blir gitt omfatter 4,2 til 11,6 CMP; 2,4 til 8,3 UMP; 2,4 til 6,0 mg/L GMP; 0,1 til 1,7 mg/L IMP; og 3,3 til 9,9 mg/L AMP.

DETALJERT BESKRIVELSE AV OPPFINNELSEN

Spebarnssammensetningen ifølge foreliggende oppfinnelsen omfatter 5,3 til 7,7 mg/L CMP; 3,0 til 5,5 mg/L UMP; 3,0 til 4,0 mg/L GMP; 0,1 til 1,1 mg/L IMP; og
5 4,1 til 6,6 mg/L AMP.

Spebarnssammensetningen kan dessuten formuleres med andre ernæringsmessig gunstige ingredienser som er anerkjent på dette området, så som polyumettede fettsyrer (f.eks. arakidonsyre og dokosaheksaensyre). De foreliggende blandinger kan også inneholde alle vitaminer og mineraler som er essensielle i
10 dietten til for tidlig fødte barn. Disse vitaminene og mineralene bør inngå i ernæringsmessig betydelige mengder. Eksempler på vitaminer og mineraler som kan tilsettes til foreliggende preparat for spebarn er vitamin A, vitamin B kompleks, vitamin C, vitamin D, vitamin E, vitamin K, kalsium, magnesium, natrium, kalium, fosfor, kobber, sink, klorid, jod, selen, jern, niacin, folsyre, pantotensyre, biotin, kolin, inositol og
15 mangan.

Preparat for spebarn kan videre omfatte makronæringsstoffer som er gunstige for det premature barn, så som karotenoider, taurin, kokosolje, solsikkeolje, soyaolje, naturlige eller syntetiske fett, palmitinsyre, triglycider med middels kjedelengde, laktose, maltodekstrin, glukose, bovine oligosakkarider eller fraksjoner derav,
20 skummet melk, myse, soyaprotein, risprotein, proteinhydrolysater og laktoferrin.

Foreliggende spebarnssammensetning som er særlig egnet for mating av premature eller spedbarn med lav fødselsvekt, inneholder nukleotider i nivåer som finnes i morsmelken til mødre til for tidlig fødte barn. Disse nivåene er ganske forskjellige fra de nukleotidnivåer som finnes i morsmelken til mødre til fullbårne
25 barn.

Foreliggende spebarnssammensetning kan være i form av en væske, enten som en bruksferdig væske eller som en konsentrert væske som fordrer fortynning med vann før mating eller i en pulverform som fordrer rekonstituering med vann før bruk.

30 Foreliggende spebarnssammensetning kan fremstilles ved å blande passende mengder av myseproteinkonsentrat med skummet melk, laktose, vegetabiliske oljer og fettløselige vitaminer i deionisert vann. Fortrinnsvis blandes disse materialene sammen i mengder som er tilstrekkelige til å gi en sluttkonsentrasjon på ca. 240 gram/liter. Blandingen kan deretter tilsettes mineralsalter før et

pasteuriseringstrinn ved høy temperatur/kort tidsrom. Passende mineralsalter er kalsiumklorid, kalsiumfosfat, natriumcitrat, kaliumhydroksyd, kaliumbikarbonat, jern(II)sulfat, sinksulfat, natriumklorid, kobbersulfat, kaliumjodid, natriumselenitt, etc.

Blandingen homogeniseres deretter og avkjøles. Varmelabile vitaminer og mikro-
5 næringsstoffer kan deretter tilsettes til blandingen. Blandingen standardiseres deretter med deionisert vann til en sluttkonsentrasjon av totale faststoffer på fra ca. 150 til ca. 160, og fortrinnsvis ca. 155 gram per liter, hvilket tilsvarer ca. 820 kcal per liter. Blandingen kan steriliseres ved å benytte en konvensjonell prosess ved ultrahøy temperatur og deretter aspetisk fylles over i passende pakninger. Alternativt
10 kan blandingen fylles på glass og deretter retorte-steriliseres.

Det vil for fagmannen være klart at det kan benyttes andre metoder for fremstilling og sterilisering av tilberedningen av foreliggende preparat for spebarn. Foreliggende preparat for spebarn kan også produseres som et konsentrert flytende produkt som fordrer fortynning med et like stort volum vann før det gis til et barn.

15 Slike preparater for spebarn kan dessuten dehydratiseres, f.eks. i en forstøvnings-tørker, for å danne et stabilt pulver av preparat for spebarn som byr på fordeler med hensyn til stabilitet og transportøkonomi, hvor pulveret fordrer rekonstituering med vann før det gis til et barn.

20

EKSEMPLER

Eksempel 1

Det ble foretatt en studie for å bestemme den totale nukleotidkonsentrasjon og konsentrasjonen av individuelle nukleotider i morsmelk fra mødre til nyfødte premature barn. Studien var en prospektiv, ikke-randomisert åpen studie. 27 mødre
25 leverte melkeprøver i volum større eller lik 20 mL.

Kriterier for inkludering i studien var følgende: utskrevet, frisk kvinne mellom 18 og 40 år; færre enn 5 fødsler; diegivende og mellom 4 og 18 dager etter fødselsdagen for planlagt oppsamling. Studien inkluderte mødre hvis barn var født mellom 26 og 32 uker gestasjonsalder, som var riktig for gestasjonsalder og som veide
30 mindre enn 1800 gram ved fødsel.

Prøver av preterm human morsmelk ble analysert med henblikk på frie nukleotider og frie nukleosider etter inkubering med alkalisk fosfatase. Økningen i frie nukleosider etter enzymbehandlingen representerer det monomere nukleotidinnhold

på molar basis. Konsentrasjonen i Tabell 1 nedenfor er uttrykt som ekvivalenter monofosfater.

Resultatene av denne analyse er angitt i Tabell 1:

5

Tabell 1

	Spredning (mg/L)	Middel (mg/L)
CMP	0,46 - 14,48	5,3
10 UMP	0,29 - 6,65	3,0
GMP	0,87 - 10,16	4,8
IMP	0,00 - 1,35	0,1
AMP	1,82 - 8,55	4,1
15 Totalt monomernukleotid	3,44 - 41,19	17,3

Eksempel 2

Et eksempel på foreliggende preparat for spebarn er angitt nedenfor.

20 En typisk 4000 liters produksjonssats av bruksferdig flytende preparat for spebarn ble fremstilt på følgende måte.

En fettblanding ble fremstilt ved å kombinere 86,5 kg Betapol (Loders Croklaan), 36,1 L solsikkeolje med høyt oljesyreinnhold eller safflorolje, 8,94 L soyaolje, 24,7 kg triglycerider med middels kjedelengde, 1,36 kg soyalecitin, 2,47 kg av en olje som inneholder 38% av fettsyrene som arakidonsyre (ARASCO, Martek, 25 Columbia, MD) og 1,65 kg av en olje som inneholder 38% av fettsyrene som dokosaheksaensyre (DHASCO, Martek, Columbia, MD).

De fettløselige vitaminene A (vitamin A palmitat), beta-karoten, vitamin D (kolekalsiferol), vitamin E (dl-alfa-tokoferol-acetat) og vitamin K (fytonadion) ble deretter dispergert i fettblandingen.

30 En tilstrekkelig mengde oppvarmet skummet melk i væskeform eller skummet-melkpulver til å gi 44 kg protein, ble tilsatt til varmt deionisert vann i en blandetank som var tilsatt 3620 g natriumcitrat og 1590 g kaliumbikarbonat oppløst i varmt vann. Fettblandingen ble målt inn i blandetanken. Hovedtørrstoffene, laktose, myseprotein-konsentrat og maltodekstrin ble tilsatt gjennom en pulvertrakt-nedføring. Mengden 35 tilsatt myseproteinkonsentrat varierte med proteininnholdet og var tilstrekkelig til å gi 44 kg protein. Taurin, 221 g, ble løst i varmt vann og tilsatt til blandetanken. Følgende mineraler ble oppløst eller dispergert hver for seg i varmt vann og tilsatt til

blandetanken under intens omrøring: kalsiumfosfat, 2220 g; kalsiumklorid, 1710 g; natriumklorid, 512 g; kaliumhydroksyd, 643 g; jern(II)sulfat, 153 g; kaliumjodid, 72,5 g, av en 1% utgning i laktose; 359 g av en 44,6% løsning av sinkulfat; 598 g av en 2,5% løsning av kobbersulfat og 7,22 g av en 0,3% natriumselenitt-utgning i
5 kaliumbikarbonat.

Blandingen ble oppvarmet til $96 \pm 2^\circ\text{C}$, holdt i 30 sekunder og deretter avkjølt til $66 \pm 2^\circ\text{C}$. Blandingen ble deretter homogenisert i en totrinns homogenisator under 170 atm. i det første trinn og 34 atm. i det andre trinn. Den homogeniserte
blandingen ble deretter avkjølt til $5\text{-}10^\circ\text{C}$ ved å benytte en plate-varmeveksler.

10 En prøve av blandingen ble analysert på fett, pH og totalt faststoff. En passende mengde deionisert vann til å oppnå 80% av total fortytning, ble tilsatt og satsen blandet. En prøve ble uttatt for analyse av totalt faststoffinnhold og pH. Den nødvendige vannmengde for endelig fortytning ble beregnet. En del av dette fortytningvannet ble benyttet til å fortynne nukleotidene og de vannløselige
15 vitaminene før tilsetningen til blandingen. Følgende nukleotider ble løst i varmt vann og tilsatt til blandingen: cytidin-5'-monofosfat, 31,7 g; adenosin-5'-monofosfat, 27,9 g; uridin-5'-monofosfat-dinatriumsalt, 29,7 g; inosin-5'-monofosfat-dinatriumsalt, 5,43 g, og guanosin-5'-monofosfat-dinatriumsalt, 22,4 g.

Vannløselige vitaminer ble løst i varmt vann og tilsatt til blandingen som
20 følger: nikotinamid, 109 g; kalsium-pantotenat, 42,3 g; tiamin-hydroklorid, 8,98 g, riboflavin, 3,55 g; pyridoksin-hydroklorid, 5,8 g; folsyre, 2,51 g, D-biotin, 0,113 g; cyanokobalamin, 7,24 g, og myo-inositol, 104 g, ble løst i vann og tilsatt til blandingen. Askorbinsyre, 1180 g, ble løst i varmt vann, og 535 g kaliumbikarbonat ble langsomt tilsatt for å nøytralisere askorbinsyren. Den nøytrale askorbatløsningen
25 ble deretter tilsatt til blandingen. Sitronsyre, 106 g, ble løst i varmt vann og tilsatt til blandingen. Blandingen ble omrørt i 30 minutter. Blandingen ble standardisert til et totalt faststoffinnhold på ca. 123 g per liter.

20 timer etter den første homogeniseringen ble blandingen homogenisert på nytt og sterilisert gjennom et Stork UHT (ultra high temperature) aseptisk
30 behandlingssystem og fylt over på 100 mL glass.

Glassene ble deretter retorte-sterilisert i en Barriquand roterende sterilisator. Ingrediensene for denne formulering var som følger:

	Ingredienser	Enheter	/100 mL	/100 kcal
	Protein	g	2,0	2,44
	Fett	g	4,4	5,37
5	Karbohydrat	g	8,6	10,5
	Linolsyre	mg	550	671
	Energi	kcal	82	100
	Vitamin A	µg	90	110
	Vitamin D3	µg	1,5	1,8
10	Vitamin E	mg	1,2	1,5
	Vitamin K1	µg	8	9,76
	Vitamin B1	µg	120	146
	Vitamin B2	µg	200	244
	Vitamin B6	µg	72	88
15	Vitamin B12	µg	0,3	0,37
	Niacin (NE)	µg	820	1000
	Folsyre	µg	48	59
	Pantotensyre	µg	450	549
	Biotin	µg	2,4	2,9
20	Vitamin C	mg	11	13,4
	Kalsium	mg	80	97,6
	Fosfor	mg	42,5	51,8
	Magnesium	mg	8	9,76
	Jern	mg	0,8	0,98
25	Sink	mg	0,8	0,98
	Mangan	µg	10	12,20
	Kobber	µg	82,5	101
	Jodid	µg	10	12,2
	Natrium	mg	35	42,7
30	Kalium	mg	85	104
	Klorid	mg	60	73,2
	Kolin	mg	15	18,3
	Inositol	mg	4,5	5,49
	Taurin	mg	4,8	5,9
35	CMP	mg	0,7	0,9
	UMP	mg	0,5	0,6
	GMP	mg	0,4	0,5
	IMP	mg	0,1	0,12
40	AMP	mg	0,6	0,7

Eksempel 3

Følgende sammensetning for spebarn i henhold til foreliggende oppfinnelse ble fremstilt etter fremgangsmåten beskrevet i Eksempel 2.

	Ingredienser	Enheter	/100 mL	/100 kcal
5	Protein	g	2,20	2,70
	Fett	g	4,23	5,20
	Karbohydrat	g	8,62	10,6
	Linolsyre	mg	550	677
	Energi	kcal	81,3	100
10	Vitamin A	µg	224	275
	Vitamin D3	µg	3,48	4,28
	Vitamin E	mg	4,09	5,03
	Vitamin K1	µg	6,1	7,5
15	Vitamin B1	µg	142	175
	Vitamin B2	µg	203	250
	Vitamin B6	µg	122	150
	Vitamin B12	µg	0,33	0,41
	Niacin (NE)	µg	2353	2870
20	Folsyre	µg	40,6	50,0
	Pantotensyre	µg	1016	1250
	Biotin	µg	3,25	4,00
	Vitamin C	mg	14,6	18,0
	Kalsium	mg	102	125
25	Fosfor	mg	61	75,0
	Magnesium	mg	8,1	10,0
	Jern	mg	0,81	1,00
	Sink	mg	0,81	1,00
	Mangan	µg	4,1	5,0
30	Kobber	µg	91	112
	Jodid	µg	24	30,0
	Natrium	mg	40,6	50,0
	Kalium	mg	81	100
	Klorid	mg	73,2	90,0
35	Selen	µg	1,71	2,10
	Kolin	mg	13,0	16,0
	Inositol	mg	30,08	37,00
	Taurin	mg	4,80	5,90
40	CMP	mg	0,7	0,9
	UMP	mg	0,5	0,6
	GMP	mg	0,4	0,5
	IMP	mg	0,1	0,12
	AMP	mg	0,6	0,7
45				

PATENTKRAV

1. Spebarnssammensetning for mating av for tidlig fødte barn eller barn født med lav kroppsvekt, k a r a k t e r i s e r t v e d a t den omfatter 4,2 til 11,6 mg/L CMP;
5 2,4 til 8,3 mg/L UMP; 2,4 til 6,0 mg/L GMP; 0,1 til 1,7 mg/L IMP; og 3,3 til 9,9 mg/L AMP.

2. Spebarnssammensetning ifølge krav 1, k a r a k t e r i s e r t v e d a t den omfatter 5,3 til 7,7 mg/L CMP; 3,0 til 5,5 mg/L UMP; 3,0 til 4,0 mg/L GMP; 0,1 til 1,1
10 mg/L IMP; og 4,1 til 6,6 mg/L AMP.

3. Anvendelse av CMP, GMP, AMP, IMP og UMP for fremstilling av et medikament i form av en spebarnssammensetning for mating av for tidlig fødte barn eller barn født med lav kroppsvekt, hvor sammensetningen som blir gitt omfatter 4,2
15 til 11,6 CMP; 2,4 til 8,3 UMP; 2,4 til 6,0 mg/L GMP; 0,1 til 1,7 mg/L IMP; og 3,3 til 9,9 mg/L AMP.

4. Anvendelse ifølge krav 3, hvor spebarnssammensetningen blir fremstilt ved å danne en konsentrert væske eller et pulver som kun krever tilsetning av vann for å
20 danne spebarnssammensetningen.