

PŘIHLÁŠKA VYNÁLEZU

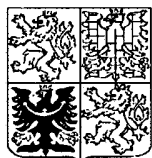
zveřejněná podle § 31 zákona č. 527/1990 Sb.

(21) Číslo dokumentu:

3774-96

(19)

ČESKÁ
REPUBLIKA



ÚŘAD
PRŮMYSLOVÉHO
VLASTNICTVÍ

(22) Přihlášeno: **19. 12. 96**

(40) Datum zveřejnění přihlášky vynálezu: **15. 07. 98**
(Věstník č. 7/98)

(13) Druh dokumentu: **A3**

(51) Int. Cl.⁶:

A 23 L 1/305
A 23 L 1/48

(71) Přihlášovatel:

VÝZKUMNÝ ÚSTAV ANTIBIOTIK A
BIOTRANSFORMACÍ, S. P., Roztoky u
Prahy, CZ;

(72) Původce:

Veselková Anna RNDr. CSc., Praha, CZ;
Mašita Artur, Praha, CZ;

(74) Zástupce:

Červenka Josef, Husinecká 11a, Praha 3 -
Žižkov, 13000;

(54) Název přihlášky vynálezu:

**Směs esenciálních a neesenciálních ami-
nokyselin určená pro parenterální výživu
novorozenců s porodní hmotností nižší
než 2500 g**

(57) Anotace:

Směs aminokyselin obohacená aminokyseli-
nou taurinem, určená pro novorozence s po-
rodní hmotností nižší než 2500 g, která obsa-
huje L-formy těchto aminokyselin: valin,
leucin, isoleucin, fenylalanin, metionin, lysin,
treonin, tryptofan, arginin, histidin, alanin,
kys. glutamanová, kys. asparagová, prolin,
serin, glycin, cystin, tyrosin v konkrétních
množstvích.

CZ 3774-96 A3

Směs esenciálních a neesenciálních aminokyselin určená pro parenterální výživu novorozenců s porodní hmotností nižší než 2500 g.

Oblast techniky

Vynález se týká nových roztoků esenciálních a neesenciálních aminokyselin určených pro parenterální výživu novorozenců s hmotností nižší než 2500 g, obohacených o aminokyselinu taurin, která je pro novorozence aminokyselinou esenciální.

Dosavadní stav techniky

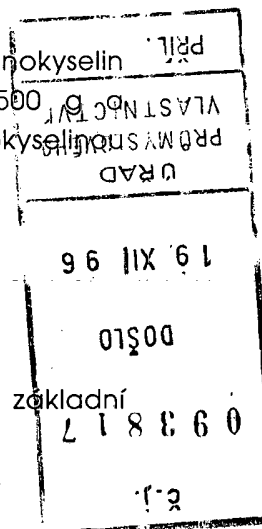
Při parenterální výživě u dětí je potřeba dbát především na tři základní hlediska, kterými jsou:

- intenzita růstu a vývoje dítěte v jednotlivých obdobích života
- vývojový stupeň funkce jednotlivých systémů
- množství, biologická hodnota a vzájemný poměr výživových složek (Clin. Pharmacy 7, 1988, s. 351 až 366, Cockran E. B., et al: "Parenteral nutrition in paediatric patients."; Clin. Ernährung 1, 1980, s. 94, Shmerling D.H.: "Pädiatrische parenterale Ernährung.")

Celková parenterální výživa musí kromě přísunu živin (aminokyseliny, tuky, cukry) obsahovat i dostatečný přísun minerálů, stopových prvků a vitaminů.

Problematika složení a použití výživových aminoroztoků v dětském lékařství je velmi složitá. Proto se začalo nejdříve s řešením roztoků pro obecné použití. Na počátku to byly hydrolyzáty, později směsi L a DL-form aminokyselin, až se přešlo k používání čistých L-form aminokyselin. Při složení roztoků bylo nejdříve uplatňováno Roseho schema osmi esenciálních aminokyselin a neřešila se problematika tak zvaných asistujících aminokyselin. Dále se přešlo na vaječné vzory nebo na adaptaci Roseho schematu na základě kinetiky jednotlivých aminokyselin. Brzy se však ukázalo, že roztoky pro obecné použití nejsou vhodné při léčení jaterního selhání nebo při uremii. Rovněž se získáním velkého množství experimentálních poznatků a klinických pozorování bylo jasné, že parenterální výživa v dětském lékařství, buď doplňková nebo kompletní, vyžaduje nejen speciální terapeutické postupy, ale také speciální roztoky.

Parenterální výživu v dětském lékařství si můžeme rozdělit na výživu nedonošenců, novorozenců a dětí starších 18 měsíců. Každá z těchto skupin vyžaduje vlastní přístup k parenterální výživě, přičemž skupina třetí se nejvíce blíží



parenterální výživě dospělých a u této skupiny je možno tedy používat výživné aminoroztoky pro dospělé. U skupiny novorozenců je katabolismus špatně tolerován, což je ještě více stupňováno u nedonošenců. Zralý novorozenec může tolerovat nedostatečnou výživu několik málo dnů, ale nedonošenec nemá skoro žádné zásoby živin a proto přechází rychle v katabolickou fázi.

Řešení roztoků pro výše uvedené tři skupiny aminoroztoků používaných v pediatrii, vychází dále z poznatků o různém věku. Při použití nevhodných roztoků, zejména co se týče jejich skladby, může dojít ke hrubé dysbalanci charakterisované buď vysokými nebo nízkými hladinami v plasmě. Tyto změny mohou negativně ovlivnit vývoj centrálně nervového systému, protože maximum vývoje mozkové tkáně je především ve druhé polovině těhotenství a po narození s přibližným zakončením do 18 měsíců. Dysbalance aminokyselin mohou také podstatně ovlivnit růst a podílejí se na retardaci vývoje a to někdy i při pozitivní dusíkové bilanci a zdánlivě správném přírůstku na váze. Na příklad vysoká hladina L-tyrosinu má vztah k opožděnému vývoji intelektu. Tento stav může způsobit i jenom přechodná hypertyrosinémie. Neúměrně vysoké hladiny kyseliny L-glutamové mohou vyvolat poruchy při vývoji hypotalamických neuronů. Vysoká hladina methioninu může poškodit vyvíjející se játra, vysoká hladina fenylalaninu způsobuje mentální retardaci a může být zdrojem abnormalit, inhibuje tvorbu myelinu a blokuje vstup některých aminokyselin do mozku. Složení aminoroztoků stejně jako výživa u všech tří výše uvedených kategorií má tedy zajistit optimální dostupnost všech aminokyselin potřebných pro organismus.

Při realizaci roztoku pro nedonošence se vycházelo z následujících požadavků:

- a) Roztok má obsahovat osm esenciálních aminokyselin.
- b) L-cystin je esenciální aminokyselina.
- c) L-histidin je rovněž esenciální aminokyselinou.
- d) Poměr esenciálních a asistujících aminokyselin zachovat neméně 1:1.
- e) Všechny aminokyseliny musí být v L-formách.
- f) L-arginin možno označit za semiesenciální, je dobře snášen ve vysokých dávkách, je zdrojem dusíku, indukuje uvolňování hormonů a zabraňuje vzniku hyperamonémie.
- g) Jako hlavní zdroj dusíku je třeba použít L-alanin.
- h) Kyseliny L-glutamová i L-asparagová jsou již u nedonošenců v dostatečné míře syntetizovány. Hladina těchto dvou aminokyselin je v arteriální krvi vyšší nežli v přívodové krvi venosní. Přidávat je tedy lze jen v omezeném množství.
- i) L-tyrosin není u nedonošenců pokládán za esenciální. Jeho hladina se může snadno zvýšit v důsledku omezeného odbourávání. Vysoká hladina může velmi snadno poškodit vývoj mozkové tkáně a vést k mentální retardaci.
- j) Při sestavování těchto roztoků je třeba vyjít z gradientu hladin A-V rozdílu v pupečnickové šňůře s výpočtem denní potřeby nedonošence na kg

hmotnosti/den při modifikaci galenickými možnostmi a zajištění potřebné stability.

Výživný roztok sestavený podle uváděných požadavků je složen z čistých L-forem aminokyselin. Obsahuje všechny esenciální, asistující a semiesenciální aminokyseliny. Jejich vzájemný poměr vychází z mateřského mléka modifikovaného gradientem aminokyselinového spektra v pupečnickové šňůře novorozenců do tělesné hmotnosti 2500 g. Esenciální aminokyseliny představují cca 48 % všech aminokyselin a je zde zvýšené množství rozvětvených aminokyselin zaručujících optimální proteosyntézu. Z asistujících aminokyselin je zvýšené množství alaninu a je omezeno množství kyseliny glutamové. Z důvodů stabilitních a rozpustnosti je limitováno množství L-cystinu. Dávka argininu a glycinu je volena tak, aby i při rychlém podání nedocházelo ke zvýšení hladiny amoniaku a bylo zajištěno bezpečné podání. Roztok je dále oproti původním směsím obohacen o aminokyselinu taurin.

Taurin (aminosulfokyselina) je konečným produktem metabolismu methioninu a cysteinu.

Klíčovým enzymem pro syntézu taurinu je dekarboxyláza cysteinsulfinové kyseliny. Aktivita tohoto enzymu v lidských játrech je mnohem nižší než u jiných savců a mimořádně nízká je aktivita tohoto enzymu v játrech lidských plodů.

Taurin má v organismu specifické fyziologické funkce a hraje důležitou roli při růstu, vývoji mozku a funkce sítnice. Brání zřejmě rovněž cholestáze tím, že soutěží s glycinem o konjugaci se žlučovými kyselinami. Prakticky nebyly dosud získány údaje o potřebě taurinu u zdravých dospělých lidí. Taurin se neinkorporuje do proteinů a proto nelze očekávat, že při jeho deficitu dojde k negativní dusíkové bilanci. Jeho celotělový pool je velký a běžná strava (zejm. živočišného původu) obsahuje značná množství taurinu.

Taurin je mezi aminokyselinami jedinečný v tom, že jeho celkový obsah v těle je regulován převážně ledvinami (Pediatr. Res. 22, 1987, s. 755, Chesney R.W.; "New functions for an old molecule"; Pediatr. Nephrol. 4, 1990, s. 399, Chesney R.W., et al: "The renal transport of taurine and the regulation of renal sodium-chloride-dependent transporter activity.") Na rozdíl od většiny aminokyselin, které se v proximálním ledvinovém kanálku zcela absorbují a v moči jich je jen zanedbatelné množství, taurin se nereabsorbuje úplně. Při přiměřeném příjmu taurinu, resp. jiných síru obsahujících aminokyselin, se močí vylučuje poměrně značné množství taurinu. Při zhoršení příjmu jsou savci schopni vyměšování taurinu snížit. Tato adaptační reakce je lokalizována do membrány s kartáčkovým lemem v proximálním ledvinovém kanálku, zde se o činnost tohoto systému dělí taurin s dalšími beta-kyselinami a gama-aminomáselnou kyselinou (GABA).

Nedávno byl objasněn fyziologický a nitrobuněčný signál pro uchování nebo nadměrné vylučování taurinu. Ačkoliv koncentrace taurinu v plasmě má významnou korelaci s podílem taurinu vylučovaným močí, existuje ještě silnější korelace mezi obsahem taurinu v tkáni ledvin a hodnotami taurinu jak v plasmě, tak v moči (J.Clin. Invest. 76, 1985, s. 2213, Chesney R.W., et al.: "Renal cortex taurine regulates the adaptive response to altered dietary intake of sulfur amino-acids.") Signálem pro regulaci aktivity renálního transportéru taurinu je pravděpodobně nitrobuněčný obsah taurinu uvnitř ledvinových buněk a toto působení je genomické. Ostatní faktory hrají v regulaci transportu taurinu jen sekundární úlohu (Proc. natl. Acad. Sci. USA 89, 1992, s. 8230, Uchida s., et al.: "Molecular cloning of the cDNA for an MDCK cell Na⁺ and Cl⁻ dependent taurine transporter that is regulated by hypertonicity"; Am. J. Physiol. 256, 1989, s. F646, Zelkovic I., et al.: "Anion dependence of taurine transport by rat renal brush border membrane vesicles.") Vychytávání aminokyselin membránou může ovlivňovat řada různých faktorů, jako např. přítomnost iontů, hodnota pH a napětí, které působí na maximální činnost transportního systému.

Nutriční následky nezralosti ledvin, pokud se jedná o transport taurinu jsou potenciálně škodlivé pro mozek a sítnici předčasně narozených novorozenců s velmi nízkou porodní hmotností (J. pediatr. 116, 1990, s. 301, Zelinkovic I., et al.: "Very low birth weight (VLBW) infants receiving prolonged parenteral nutrition (TPN) are taurine depleted because of renal immaturity.") Některé práce upozorňují na ochrannou roli taurinu při určitých chorobných stavech ledvin (Biochem. Biophys. Res. Commun. 199, 1994, s. 346, Trachtman H., et al.: "Antioxidants reverse the antiproliferative effect of high glucose and advanced glycosylation and products in cultured rat mesangial cells.") Taurin je také důležitým osmolytem, který pomáhá regulovat objem mnoha buněk v organismu, zejména v renální dřeni, mozku a sítnici (Science 188, 1975, s. 949, Heys K.C., et al.: "Retinal degeneration associated with taurine deficiency in the cat.") Krátce po posledně citované práci, která popisuje degeneraci sítnice u koček, spojenou s nedostatkem taurinu, byly publikovány výsledky výživové studie předčasně narozených kojenců. Tyto studie porovnávaly množství a jakost bílkovin v purifikovaných kojeneckých přípravcích a mateřském mléku. U kojenců živěných purifikovanými kojeneckými přípravky byly volné aminokyseliny v plasmě a moči všeobecně přítomny v mnohem větším množství než v plasmě a v moči kojenců krmených odstříkaným mateřským mlékem, zejména při vyšším množství příjmu bílkovin. Jedinou výjimkou byl taurin, který byl přítomen v nižším množství v plasmě i v moči u dětí krmených purifikovanými přípravky a po celou dobu trvání studie jeho hladiny klesaly. Tyto přípravky v podstatě žádný taurin neobsahovaly, protože i minimální množství taurinu přítomného v kravském mléce se během purifikace bílkovin odstraní, na rozdíl od mateřského mléka, které obsahuje značné množství taurinu. Podobné výsledky pro aminokyseliny a taurin byly později zjištěny i u zralých kojenců, kteří byli krmeni přípravky umělé výživy a odstříkaným mlékem (Pediatrics 57, 1976, s. 659, Räihä N.C.R., et al.: "Milk protein quantity and quality in low-birth-weight infants. I. Metabolic responses and effects on growth"; J. Pediatr.

90, 1977, s. 356, Rassin D.K., et al: "Milk protein quantity and quality in low-birth-weight infants").

Opice *Macacus Rhesus* a lidé mají schopnost konjugovat žlučové kyseliny s glycinem a taurinem, což může upravit účinky ochuzení stravy o taurin, jak na jeho hladinu v tkáních, tak i na klinické důsledky. Na rozdíl od toho - kočka konjuguje žlučové kyseliny pouze s taurinem a trpí proto mnohem vážnějšími následky nedostatku taurinu ve stravě. Kojenci při narození konjugují všechny žlučové kyseliny pouze s taurinem, v prvním měsíci života konjugují s žlučovými kyselinami asi z poloviny taurin a z poloviny glycin, (pokud jsou krmeni mateřským mlékem) (Pediatrics 72, 1983, s. 677, Jarvenpaa A-L, et al: "Feeding the low-birth-weight infants: III. Diet influences bile acid metabolism.") Tato změna se urychluje u kojenců krmených přípravky bez taurinu, ale lze ji podáváním taurinu zvrátit (Gastroenterology 85, 1983, s. 793, Watkins J.B., et al: "Feeding the low-birth weight infants, V: Effect of taurine, cholesterol, and human milk on bile acid kinetics.") Protože konjugáty žlučových kyselin s taurinem jsou lepšími emulgátory než konjugáty glycinové, má příjem taurinu stravou přímý vliv na absorpci živin, což je zvláště důležité jak u nedonošených tak donošených novorozenců. Doplnění kojeneckých přípravků taurinem může pomoci snížit rozdíly ve složení mastných kyselin mozkových fosfolipidů a mateřským mlékem vyživovaných kojenců.

Podstata vynálezu

Vynález se týká výživové směsi esenciálních a asistujících aminokyselin pro základní parenterální výživu novorozenců s porodní hmotností nižší než 2500 g a nedonošených dětí nebo pro kombinaci se specializovanými aminoroztoky ve formě infuzního roztoku s případnou přísadou dalších účinných nebo pomocných složek.

Podstatou vynálezu je směs esenciálních a neesenciálních aminokyselin obohacená taurinem v následujících poměrech:

7,81	až	9,55 % hmot.	L-valinu
8,72	až	10,66 % hmot.	L-leucinu
7,65	až	9,35 % hmot.	L-isoleucinu
3,73	až	4,55 % hmot.	L-fenylalaninu
3,28	až	4,00 % hmot.	L-methioninu
6,09	až	7,45 % hmot.	L-lysin acetátu
4,52	až	5,52 % hmot.	L-treoninu

1,81 až 2,21 % hmot.	L-tryptofanu
10,27 až 12,55 % hmot.	L-argininu
3,16 až 3,86 % hmot.	L-histidinu
2,37 až 2,89 % hmot.	L-kys. asparagové
12,30 až 15,04 % hmot.	L-alaninu
2,59 až 3,17 % hmot.	Glycinu
4,10 až 5,02 % hmot.	L-prolinu
0,34 až 0,42 % hmot.	L-tyrosinu
0,41 až 0,51 % hmot.	L-cystinu
6,89 až 8,42 % hmot.	L-kys. glutamové
3,28 až 4,00 % hmot.	L-serinu
0,68 až 0,83 % hmot.	Taurinu

Jednotlivé substance se rozpustí za intenzivního míchání v horké nepyrogenní vodě. Změří se hodnota pH, která se pohybuje v rozmezí 5,8 - 7,2. Aseptická filtrace roztoku se provádí tlakově přes membránové filtry. Roztok se rozplňuje pod laminárním prouděním vzduchu v atmosféře dusíku při teplotě 20°C - 65°C do infuzních lahví. Tyto se ihned po naplnění roztokem na žádaný objem uzavírají pryžovou zátkou a zajistí kovovým pertlem. Lahve se sterilizují v autoklávu při teplotě 120°C po dobu 20-30 minut.

Farmakologické testování prokázalo bezpečnost a netoxičnost použitých terapeutických dávek komplexu aminokyselin pro základní parenterální výživu novorozenců s porodní hmotností nižší než 2500 g. Vzhledem k nízké toxicitě roztoku byl jako test akutní toxicity realizován test neškodnosti při rychlém jednorázovém podání, byla hodnocena tříměsíční chronická toxicita na kryse. Modelové pokusy na novorozených myších a krysách prokázaly, že použité dávky dikarbonových aminokyselin neovlivňují osu hypofýza - nadledvinka.

Výsledky bilančních studií u pacientů při klinickém zkoušení byly velmi příznivé. Vodní bilance odpovídala přiváděné vodní náloži, změny v diuréze, které by mohly souviset s přívodem aminokyselin, nebyly nalezeny. Osmolalita séra i moči, sérové hladiny sodíku, draslíku, chloridů a urey, včetně sledovaných odpadů těchto látek v moči, se pohybovaly v referenčním rozmezí. Rovněž glykemie, acidobazická rovnováha a krevní plyny byly v normálních hladinách.

U nemocných dětí s kompletní parenterální výživou bylo tímto aminoroztokem dosaženo pozitivní dusíkové bilance, hladiny esenciálních a asistujících aminokyselin v séru, jak jednotlivě, tak sumárně, nedosáhly trojnásobku normálních

hladin. Roztok měl normalizující vliv na patologické hodnoty hladin aminokyselin v plazmě. V průběhu podávání směsi aminokyselin, která je předmětem vynálezu, nedošlo v žádném případě ke zvýšení sérových hladin amoniaku. V průběhu klinického zkoušení byla ověřena aplikace cestou centrálního katetru i periferními přístupovými cestami vždy bez komplikací. Byla ověřena široká indikační oblast od prosté doplňkové výživy přes extrémní malnutrice až po kritické stavy, rovněž byly úspěšně ověřeny kombinace se specializovanými roztoky při léčení ledvinového a jaterního selhání.

Všemi zkoušejícími byl přípravek kladně hodnocen. Technologie výroby zaručuje dvouletou stabilitu bez ztráty chemické identity obsažených látek.

Příklady provedení vynálezu

Příklad 1

Navází se L-formy aminokyselin a dalších složek podle následující receptury v gramech na jeden litr roztoku.

L - valin	3,46 g/l
L - leucin	3,86 g/l
L - isoleucin	3,39 g/l
L - fenylalanin	1,65 g/l
L - metionin	1,44 g/l
L - lysin acetát	2,70 g/l
L - treonin	2,00 g/l
L - tryptofan	0,80 g/l
L - arginin	4,56 g/l
L - histidin	1,40 g/l
L - kyselina asparagová	1,05 g/l
L - alanin	5,45 g/l
Glycin	1,15 g/l
L - prolin	1,82 g/l
L - tyrosin	0,30 g/l
L - cystin	0,37 g/l
L - kyselina glutamová	3,05 g/l

L - serin		1,45 g/l
Taurin		0,30 g/l
Disiřičitan sodný		0,10 g/l
Voda na injekci	doplnit do	1000,00 ml

Přříklad 2

Naváží se L-formy aminokyselin a dalších složek podle následující receptury v gramech na jeden litr roztoku.

L - valin	6,92 g/l
L - leucin	7,73 g/l
L - isoleucin	6,78 g/l
L - fenylalanin	3,30 g/l
L - metionin	2,90 g/l
L - lysin acetát	5,40 g/l
L - treonin	4,00 g/l
L - tryptofan	1,60 g/l
L - arginin	9,10 g/l
L - histidin	2,80 g/l
L - kyselina asparagová	2,10 g/l
L - alanin	10,90 g/l
Glycin	2,30 g/l
L - prolin	3,64 g/l
L - tyrosin	0,30 g/l
L - cystin	0,37 g/l
L - kyselina glutamová	6,10 g/l
L - serin	2,90 g/l
Taurin	0,60 g/l
Disiřičitan sodný	0,10 g/l
Voda na injekci	doplnit do 1000,00 ml

Příklad 3

Postup je stejný jako u příkladu 1 s tím rozdílem, že se místo 0,1 g/l disiřičitanu sodného naváží 0,02 g/l ethylendiamintetraoctanu disodného.

Příklad 4

Postup je stejný jako u příkladu 2 s tím rozdílem, že se místo 0,1 g/l disiřičitanu sodného naváží 0,02 g/l ethylendiamintetraoctanu disodného.

Příklad 5

Postup je stejný jako u příkladů č. 1 až 4 s tím rozdílem, že se navíc přidají vitamínové složky v gramech na jeden litr roztoku:

Kyselina askorbová	0,4000 g/l
Inosit	0,5000 g/l
Nikotinamid	0,0600 g/l
Chlorid pyridoxolia	0,0400 g/l
Sodná sůl kyseliny 5-riboflavin fosforečné	0,0025 g/l
Dichlorid thiaminia	0,2000 g/l

Průmyslová využitelnost

Směs aminokyselin podle vynálezu je určena pro parenterální výživu novorozenců s porodní hmotností nižší než 2500 g.

PATENTOVÉ NÁROKY

Směs esenciálních a neesenciálních aminokyselin určená pro parenterální výživu novorozenců s porodní hmotností nižší než 2500 g vyznačující se tím, že obsahuje:

7,81 až 9,55 % hmot.	L-valinu
8,72 až 10,66 % hmot.	L-leucinu
7,65 až 9,35 % hmot.	L-soleucinu
3,73 až 4,55 % hmot.	L-fenylalaninu
3,28 až 4,00 % hmot.	L-methioninu
6,09 až 7,45 % hmot.	L-lysin acetátu
4,52 až 5,52 % hmot.	L-treoninu
1,81 až 2,21 % hmot.	L-tryptofanu
10,27 až 12,55 % hmot.	L-argininu
3,16 až 3,86 % hmot.	L-histidinu
2,37 až 2,89 % hmot.	L-kys. asparagové
12,30 až 15,04 % hmot.	L-alaninu
2,59 až 3,17 % hmot.	Glycinu
4,10 až 5,02 % hmot.	L-prolinu
0,34 až 0,42 % hmot.	L-tyrosinu
0,41 až 0,51 % hmot.	L-cystinu
6,89 až 8,42 % hmot.	L-kys. glutamové
3,28 až 4,00 % hmot.	L-serinu
0,68 až 0,83 % hmot.	Taurinu

