

[19] 中华人民共和国国家知识产权局

[51] Int. Cl⁷

A61K 31/14

A61K 31/215

A61K 31/685

A61K 9/10



[12] 发明专利说明书

[21] ZL 专利号 98804372.6

[45] 授权公告日 2005 年 5 月 11 日

[11] 授权公告号 CN 1200701C

[22] 申请日 1998.2.19 [21] 申请号 98804372.6

[30] 优先权

[32] 1997. 2. 21 [33] US [31] 08/804,700

[32] 1997. 3. 28 [33] US [31] 08/825,314

[32] 1997. 10. 3 [33] US [31] 08/943,576

[86] 国际申请 PCT/US1998/003235 1998.2.19

[87] 国际公布 WO1998/036745 英 1998.8.27

[85] 进入国家阶段日期 1999.10.21

[71] 专利权人 艾博特公司

地址 美国伊利诺伊州

共同专利权人 田纳西大学研究公司

[72] 发明人 S·E·卡尔森 D·L·庞德

M·B·蒙塔尔托

M·H·多纳勒克 J·D·本森

D·A·博洛尔 D·V·蒂奥达托

审查员 焦 健

[74] 专利代理机构 中国专利代理(香港)有限公司

代理人 罗 宏 杨九昌

权利要求书 2 页 说明书 21 页

[54] 发明名称 降低坏死性小肠结肠炎发生率的组合物

[57] 摘要

记载了含有长链多不饱和脂肪酸(PUFAs)的胃肠道给药制剂及其制备方法, 其中的多不饱和脂肪酸例如: 基本上不含胆固醇的花生四烯酸(AA)和二十二碳六烯酸(DHA)。更具体地说, 本发明涉及降低坏死性小肠结肠炎发生率的方法, 通过给药组合物从而提供 n-6 和 n-3 长链 PUFAs、磷脂和/或胆碱。优选来自蛋黄脂类的组合物, 因为它们含有 n-6 和 n-3 长链 PUFAs 而且主要是磷脂酰胆碱形式。认为这样能提供协同作用。还提供制备这样一种具有改进的感官特性和稳定性的组合物的方法。

ISSN 1008-4274

1、至少一种长链 n-6 多不饱和脂肪酸在制备用于降低坏死性小肠结肠炎易感婴儿坏死性小肠结肠炎发生的组合物中的应用，其中该组合物中 n-6 多不饱和脂肪酸含有至少 20 个碳原子及其日剂量为 1.0-60mg/千克婴儿体重，其中该组合物含少于总脂类重量的 0.1% 的胆固醇。

2、根据权利要求 1 的用途，其中所述组合物还包括日剂量为 0.25-35mg/千克婴儿体重的含有至少 20 个碳原子的 n-3 多不饱和脂肪酸。

3、根据权利要求 2 的用途，其中所述 n-3 多不饱和脂肪酸包括二十二碳六烯酸，所述 n-6 多不饱和脂肪酸包括花生四烯酸。

4、根据权利要求 3 的用途，其中组合物是一种胃肠道给药组合物，其含有有效量的花生四烯酸和二十二碳六烯酸，从而每天给药花生四烯酸 1.0-60mg/千克婴儿体重和二十二碳六烯酸 0.25-35mg/千克婴儿体重。

5、根据权利要求 3 的用途，其中花生四烯酸与二十二碳六烯酸的重量比范围 2-4。

6、根据权利要求 1 的用途，其中所述的 n-6 多不饱和脂肪酸选自一种或多种来源，这些来源选自蛋卵磷脂、真菌油、藻油和海洋生物油。

7、根据权利要求 2 的用途，其中所述 n-3 多不饱和脂肪酸选自一种或多种来源，这些来源选自蛋卵磷脂、真菌油、藻油和海洋生物油。

8、根据权利要求 2 的用途，其中所述 n-6 多不饱和脂肪酸和所述 n-3 多不饱和脂肪酸是磷脂形式。

9、根据权利要求 2 的用途，其中所述组合物还含有蛋白质、碳水化合物和磷脂，从而提供日剂量为至少 2.0mg /千克婴儿体重的 n-6 多不饱和脂肪酸和至少 0.5mg/千克婴儿体重的 n-3 多不饱和脂肪酸。

10、根据权利要求 9 的用途，其中所述组合物每天提供至少 2.0mg/千克婴儿体重的花生四烯酸和至少 0.5mg/千克婴儿体重的二十二碳六烯酸。

11、根据权利要求 10 的用途，其中所述的组合物含有蛋磷脂。

12、权利要求 1 或 2 的用途，其中该组合物还含有磷脂，从而每天提供 60-2400 微摩尔/千克婴儿体重的磷脂。

13、权利要求 12 的用途，其中每天提供 200-1500 微摩尔/千克婴儿

体重的磷脂。

14、根据权利要求 12 或 13 的用途，其中所述磷脂来自蛋卵磷脂。

15、根据权利要求 14 的用途，其中所述磷脂与一种或多种选自花生四烯酸和二十二碳六烯酸的多不饱和脂肪酸组合。

5 16、根据权利要求 15 的用途，其中每天给药 200-1500 微摩尔/千克婴儿体重的磷脂，5.0-40 mg / 千克婴儿体重的花生四烯酸和 1.5-20 mg / 千克婴儿体重的二十二碳六烯酸。

17、权利要求 1 或 2 的用途，其中该组合物还含有胆碱，从而每天提供 60-1800 微摩尔/千克婴儿体重的胆碱。

10 18、权利要求 17 的用途，其中每天提供 150-1200 微摩尔/千克婴儿体重的胆碱。

19、权利要求 17 或 18 的用途，其中胆碱是卵磷脂形式。

20、权利要求 19 的用途，其中卵磷脂来自蛋卵磷脂。

15 21、根据权利要求 17 的用途，其中胆碱与一种或多种选自花生四烯酸和二十二碳六烯酸的多不饱和脂肪酸组合。

22、根据权利要求 21 的用途，其中每天提供 150-1200 微摩尔/千克婴儿体重的胆碱；5.0-40 mg / 千克婴儿体重的花生四烯酸和 1.5-20 mg / 千克婴儿体重的二十二碳六烯酸。

20 23、一种以 2:1 至 4:1 的重量比含有花生四烯酸和二十二碳六烯酸的胃肠道给药制剂，其特征在于：所述花生四烯酸和二十二碳六烯酸是磷脂形式，所述胃肠道给药制剂的生产方法包括的步骤是：

在最高为 25℃ 的温度下在水中制备一种 2-15% 重量比所述磷脂的水分散液；

对上面的分散液进行脱气；

25 把脱气后的分散液与至少一种选自物质组中的物质组合，以制备所述胃肠道给药制剂，其中所述的物质选自：蛋白质、碳水化合物、维生素和矿物质；和

对所述胃肠道给药制剂均相化，

该制剂含少于总脂类重量的 0.1% 的胆固醇。

30

降低坏死性小肠结肠炎发生率的组合物

5 本发明通常涉及含有长链多不饱和脂肪酸 (PUFAs) 的胃肠道给药 (enteral) 制剂及制备该胃肠道给药组合物的方法, 还涉及降低坏死性小肠结肠炎发生率的方法。更具体地说, 本发明涉及胃肠道给药组合物, 该组合物提供基本上不含胆固醇的长链 PUFAs 花生四烯酸 (AA) 和二十二碳六烯酸 (DHA), 该组合物可以从蛋黄脂类得到。从蛋黄得到的长链 PUFAs 主要以磷脂形式存在。这种组合物的制备方法提供较好的感官性和稳定性。该组合物的胃肠道给药途径能够降低
10 坏死性小肠结肠炎的发生率。

发明背景

胃肠道给药制剂或组合物中的长链 PUFAs 在不同文献中已经有记载。例如, 美国专利 4, 670, 285 (“Clandinin”) 公开了一种适用于婴儿制剂的特异脂肪混合物。更具体地说, 该 Clandinin 脂肪混合物含有至少一种 C₂₀ 或 C₂₂ n-6 脂肪酸和一种 C₂₀ 或 C₂₂ n-3 脂肪酸。已经公开: 一定量的这些脂肪酸可以避免婴儿摄取脂肪混合物的有害作用。在该产品中, C₂₀ 或 C₂₂ n-6 脂肪酸总量约为总脂肪酸重量的 0.13-
15 5.6%。如果存在 C₂₀ 或 C₂₂ n-3 脂肪酸, 其总量约为该产品中总脂肪酸重量的 0.013-3.33%。Clandinin 公开了蛋脂类供应 n-6 和 n-3 脂肪酸的应用; 然而, Clandinin 所用的蛋脂类还含有高水平的胆固醇。并且, 该参考文献告知应用 75-95%重量份的蛋黄脂类, 其余的油为椰子油或大豆油。在此将应用 Clandinin 所用的脂肪酸的术语。
20

25 W093/20717 公开了一种婴儿制剂, 仅仅含有轻微刺激量的长链 (C16 - C22) 脂肪酸和甘油三酯。该申请还公开以下内容: 婴儿制剂中, 这些脂肪酸的低级烷基酯如乙酯, 基本上消除了该脂肪酸对婴儿肠上皮的损害趋势, 但又允许肠对脂肪酸部分的吸收和处理。

Lichtenberger 的美国专利 US4, 918, 063 公开的组合物仅含有磷脂类和中性脂类用于预防或治疗溃疡和感染性肠疾病。该专利公开了
30 饱和或不饱和磷脂类与饱和或不饱和甘油三酯和/或甾醇类, 这些混合物用于在实验动物模型中提供溃疡保护效能。该专利还告知: 该脂

类混合物中含有多价阳离子或抗氧化剂以增强活性。

Kohn 等人的国际出版物 W096/10922 公开了一种婴儿脂肪混合物，其特点在于：该脂肪混合物中，花生四烯酸和二十二碳六烯酸是以磷脂形式存在。

- 5 Tomarelli 的欧洲专利申请 0376628 B1 公开了一种全植物油脂肪组合物，该组合物应用随意选择的棕榈油或随意选择的棕榈油酸油作为唯一的棕榈酸油来源。它还公开的内容有：该全植物油脂肪组合物特别适合于早产（或出生体重较轻）婴儿的使用。Tomarelli 申请的早产婴儿脂肪组合物包括中链甘油三酯（MCT's），还有随意选择的
- 10 的棕榈酸油、月桂酸油、油酸油和亚油酸油。

虽然上面所讨论的参考文献已经做出了重要的贡献，仍然需要这样的婴儿制剂：它含有营养学上合适浓度的蛋磷脂作为长链 PUFAs 的来源。还需要生产含有蛋磷脂类的胃肠道给药制剂的方法，从而使该制剂具有可接受的感官特性。这样的组合物特别适用于足孕和/或早产

15 婴儿的婴儿制剂，这些婴儿需要长链 PUFAs 以保证神经系统的正常发育和视觉敏感性的发育。另外，还可能在对内脏的保护性作用。

坏死性小肠结肠炎（NEC）是那些出生体重小于约 1500 克的婴儿的一个严重问题。尽管经过近 30 年的研究，NEC 的确切病因学和生理病理学仍然不清楚。NEC 是一种危及生命的疾病，其特点是所涉及的

20 消化道结构缺血性坏死和肠积气，它通常引起肠穿孔。患有 NEC 的早产婴儿出现热不稳定临床图象，嗜睡，胃潴留，呕吐，腹部膨胀，粪中带血或潜血，和肠积气的放射照片证据，门静脉或肺腹膜中有空气。呼吸暂停发作，休克和硬化病迅速出现，死亡经常发生。

许多作者进行了各种观察，并指出影响该疾病的阳性因素。（Nue, 25 *Pediatr. Clin. North. Am.*, 1996 年 4 月, 43(2): 409-32）。

下面是典型的观察和因素：

- Flageole 等，新生儿坏死性小肠结肠炎，临床综述。Union-Med-Can. 1991 9-10 月, 120(5): 334-8; 提出 NEC 的病因包括肠系膜局部缺血、胃肠道发育不完全、肠摄取食物和可能感染；
- 30 ● Caplan 等，新生儿坏死性小肠结肠炎中血小板活化因子和肿瘤坏死因子- α 的作用，*Journal of Pediatrics*, 1990 年 6 月, 960-964, 报道在 NEC 患者中血小板活化因子和肿瘤坏死因子- α 水平升

高;

● Kliegman 等,梭状芽胞杆菌作为新生儿坏死性小肠结肠炎的病原体, *The Journal of Pediatrics*, 1979年8月, 287-289, 报道在新生儿 NEC 儿童患者中产气荚膜梭状芽胞杆菌的分离;

5 ● Ostertag 等,早期肠道进食不影响坏死性小肠结肠炎的发生率, *Pediatrics*, 1986年3月, 第77卷第3期, 275-280页, 报道了稀释的早期肠热量对 NEC 的发生没有有害影响;

● Bell 等,新生儿坏死性小肠结肠炎, *外科学年报*, 1978年1月, 第187卷第1期, 1-7页, 提出组合抗菌疗法在治疗 NEC 婴儿患者中的应用;

10 ● Eyal 等,出生体重极轻婴儿的坏死性小肠结肠炎:挤出的母乳喂养和非胃肠道进食的比较, *Archives of Disease in Childhood*, 1982, 57, 274-276页, 报道通过延迟胃肠道进食的开始时间来降低出生轻体重婴儿 NEC 的发生率。

15 ● Finer 等,维生素 E 和坏死性小肠结肠炎, *Pediatrics*, 1984年3月, 第73卷3期, 提出:服用维生素 E 以降低可能与 NEC 的高发生率有关晶状体后纤维组织形成的严重后遗症。

● Brown 等,预防新生儿的坏死性小肠结肠炎, *JAMA*, 1978年11月24日, 第240卷, 第22期, 2452-2454页, 报道应用循序渐近的进食方案确实可以消除 NEC。

20 ● Kosloske, 坏死性小肠结肠炎的病因和预防:基于个人观察的假设和文献综述, *Pediatrics*, 1984年12月, 第74卷第6期, 1086-1092页, 假设 NEC 的发生是由以下三种病理学事件的两种事件同时发生所引起的:(1)肠局部缺血;(2)病原体细菌的移地发育;和
25 (3)肠腔中过量的蛋白质酶解物。

Kosloska, supra, 还报道:在只用母乳喂养的婴儿中, NEC 非常罕见。对人类来说,母乳对新生儿肠的被动免疫是有作用的,其包含有促进肠菌中 *Bifidobacterium* 生长的因子。另外还报道冷冻、巴氏
30 消毒或储存对人乳的有益物质有不利影响。

因此,关于 NEC 的病因和治疗有许多争论,还需要组合物和方法以便更好地治疗和/或减少这种毁灭性和频繁致死性疾病的发生。

发明概述

本发明包括许多方面。首先，本发明考虑一种降低坏死性小肠结肠炎易感婴儿坏死性小肠结肠炎的方法，所述方法包括：服用有效量的至少一种长链 PUFA，它选自 $C_{20}n-6$ 脂肪酸、 $C_{22}n-6$ 脂肪酸、 $C_{20}n-3$ 脂肪酸和 $C_{22}n-3$ 脂肪酸。例如，服用花生四烯酸（一种 $n-6$ 脂肪酸）发现是有效的。服药方式可以是经胃肠道方式，也可以是非胃肠道方式。更优选地， $n-6$ 和 $n-3$ 脂肪酸结合使用，例如花生四烯酸和二十二碳六烯酸一块使用。胃肠道给药，每千克婴儿体重的用量至少为 1.0mg $n-6$ 脂肪酸/天。更优选的实施方案组合应用 $n-6$ 和 $n-3$ 脂肪酸，其重量比约 2:1 至 4:1，给药量至少为 5.0mg 长链 $n-6$ 脂肪酸/天。

该方法可以这样实施：让所述婴儿服用足够量的含有花生四烯酸和二十二碳六烯酸的胃肠道组合物，服药量约 1.0-60mg 花生四烯酸/kg/天和约 0.25-35mg 二十二碳六烯酸/kg/天。更典型的服药量是 5.0-40mg 花生四烯酸/kg/天和约 1.5-20mg 二十二碳六烯酸/kg/天。优选地，花生四烯酸与二十二碳六烯酸的重量比范围约 2-4，优选地，这些长链多不饱和脂肪酸以磷脂形式存在，特别是卵磷脂。在蛋卵磷脂和蛋磷脂中，这样的磷脂有较高的浓度。

因此在另一方面，本发明提供一种降低婴儿坏死性小肠结肠炎发生率的方法，所述方法包括：让所述婴儿服用足够量的肠营养组合物，该组合物包括蛋白质、碳水化合物和磷脂，从而提供至少 1.0mg $n-6$ 长链多不饱和脂肪酸/天。优选地，该进食组合物还提供至少 0.5mg $n-3$ 长链多不饱和脂肪酸/天，所述 $n-6$ 和 $n-3$ 脂肪酸分别是花生四烯酸和二十二碳六烯酸的形式。

另一方面，本发明提供一种降低婴儿坏死性小肠结肠炎发生率的方法，所述方法包括：让婴儿服用有效量的磷脂，以降低坏死性小肠结肠炎的发生率。

典型地，服用所述磷脂，以提供约 60-2400 微摩尔、优选约 200-1500 微摩尔、最优选约 400-1000 微摩尔磷脂/kg/天。磷脂的来源并不重要；来自蛋卵磷脂的磷脂适合本发明。磷脂还易从动物膜中

得到，包括乳脂小球膜 globule membrane。其它富含磷脂的来源包括大豆和其它种子油。当应用蛋磷脂时，胃肠道给药的优选用量需足够产生至少 1.0mg 长链 n-6 脂肪酸/天。优选地，该蛋磷脂提供花生四烯酸作为 n-6 脂肪酸的主要部分；同样优选地，它还提供如上所述比例的二十二碳六烯酸和/或其它长链 n-3 脂肪酸。这样可能具有协同作用。然而，需注意的是：对于本发明的“磷脂”，连接在甘油骨架的脂肪酸的饱和度和链长度并不重要，此处还可应用非 LCPUFAs 的脂肪酸。

还有另外一方面，本发明提供一种降低婴儿坏死性结肠炎发生率的方法，所述方法包括让婴儿服用有效量的胆碱以降低坏死性结肠炎的发生率。典型地，服用所述胆碱以提供约 60-1800 微摩尔、更优选 150-1200 微摩尔胆碱/kg/天。胆碱来源并不重要，优选卵磷脂，来自蛋卵磷脂的卵磷脂适合本发明。其它富含胆碱或卵磷脂的来源包括大豆或其它种子油。当应用蛋卵磷脂胆碱时，优选与 n-6 和/或 n-3 脂肪酸组合给药从而产生至少 1.0mg 长链 n-6 脂肪酸/天。优选地，该蛋磷脂提供花生四烯酸作为 n-6 脂肪酸的主要部分；同样优选地，它还提供如上所述比例的二十二碳六烯酸和/或其它长链 n-3 脂肪酸。这样可能具有协同作用。然而，对于本发明的磷脂，连接在甘油骨架的脂肪酸的饱和度和链长度并不重要，此处还可应用非 LCPUFAs 的脂肪酸。或者，还可应用非磷脂来源的胆碱。

另外，由于观察到结肠炎易感婴儿的有益效果，可能对于成人也可观察到同样的疗效。因此，本发明的另一个方面是应用上述任一组合来治疗或预防成人的溃疡性结肠炎和相关的肠疾病。当然，根据成人患者增加的体重以及本领域其它已知因素，需要调整剂量。

本发明的其它方面，包括胃肠道给药制剂及其制备方法，这将在整个申请中进行描述。例如，本发明另外一个方面，一种含有蛋黄磷脂的胃肠道给药制剂的生产方法，包括的步骤如下：

- (a) 提供基本上不含胆固醇的蛋磷脂干燥粉末；
- (b) 把所述磷脂部分分散至水相中组成磷脂分散液；和
- (c) 把上述磷脂分散液和所述胃肠道给药制剂其它组份的浆液混合。

优选地,在本方法中,水相分散液提供约 2-15% 重量比的蛋磷脂;还优选地,所述蛋磷脂粉末在约 20-50°C 时加入到水中。本方面可以用来制备一种婴儿制剂,其含有磷脂形式的花生四烯酸和二十二碳六烯酸,所述胃肠道给药制剂通过该方法制备。

- 5 还有另外一个方面,本发明提供一种适合婴儿服用的制剂,包括蛋白质、碳水化合物和脂类,其改进在于:脂类组合物包括中链甘油三酯和蛋磷脂,其中的蛋磷脂含量约为该脂类混合物的 1-40% 重量比,并且所述蛋磷脂基本上不含有胆固醇。典型地,该蛋磷脂含量约为该脂类混合物的 5-30% 重量比,该制剂中,花生四烯酸的浓度约
- 10 10-31 毫克/100 千卡。更优选地,该制剂还包括二十二碳六烯酸,其浓度约 3-16mg/100 千卡,花生四烯酸和二十二碳六烯酸的比例约 4:1 至 2:1。

发明详述

15 普通术语

脂肪酸是不同长度的碳氢链,其一端具有羧基,从而使它们在该部位具有一定极性和亲水性;而另一方面为不同程度的疏水性,取决于碳氢链的长度。根据碳氢链的长度对脂肪酸进行分类。例如,小于 6 个碳原子的链认为是“短链”,约 6-18 个碳原子的链是“中链”,

20 20 或更多碳原子的链认为是“长链”。脂肪酸还可以具有一个或多个双键,这是碳氢链的“不饱和”点。在此,术语“长链 PUFA”表示 20 个或更多碳原子并至少具有 2 个碳-碳双键(多不饱和)的脂肪酸。脂肪酸中双键的数目和位置按照传统术语定义。例如花生四烯酸(“AA”或“ARA”)的链长为 20 个碳原子,具有 4 个双键,其中

25 的双键开始于甲基末端的第 6 个碳原子。结果,它被称为“C₂₀:4 n-6”。类似地,二十二碳六烯酸(“DHA”)的链长为 22 个碳原子,具有 6 个双键,其中的双键开始于甲基末端的第 3 个碳原子,其被定义为“C₂₂:6 n-3”。较不普遍的长链 PUFAs 也是已知的,有一些列于表 I-IV 中(实心分界线下面)。

30 “甘油酯”是具有用脂肪酸酯化甘油骨架的复杂脂类。“甘油三酯”(即“三酰甘油”)具有三个酯化的脂肪酸,每个脂肪酸酯化在甘油骨架的羟基位置。甘油二酯或单酯分别具有二个或者一个酯化的

脂肪酸。磷酸甘油酯（即“磷脂”（“phoslipid”or “phosphatide”可互换使用））与甘油三酯不同在于它最多只有两个酯化的脂肪酸，而在甘油骨架的第三个位置被磷酸酯化，变成“磷脂酸”。在自然界，磷脂酸通常与醇相连，该醇末端具强极性。自然界常发现的两种这样的醇为胆碱和乙醇胺。“卵磷脂”是磷脂酸与氨基醇“胆碱”相连，也称之为“磷脂酰胆碱”。脂肪酸含量不同的卵磷脂，其来源可以是例如蛋类和大豆。其它的磷酸甘油酯是脑磷脂（磷脂酰乙醇胺）、磷脂酰丝氨酸和磷脂酰肌醇。

磷脂类通常发现在所有生物系统的膜中。磷脂的传统来源是蛋黄和大豆油。磷脂类还可来自哺乳动物的脑、肾、心脏和肺；或者来自乳脂小球膜。另外，还可以应用微生物的来源（单细胞油），例如藻油和真菌油，特别是磷脂类的AA和DHA脂肪酸组份。

鸡蛋含有较高含量的脂类。蛋黄中约33%为脂类，其中约67%为甘油三酯，28%为磷脂，其余的主要是胆固醇（百分比是指重量比）。上述数据是近似值，根据母鸡的饮食、品种和健康情况的不同，上述数据可以不同程度有所变化。对于磷脂部分，磷脂酰胆碱约75%，另外约20%为磷脂酰乙醇胺。每个磷脂分子中，胆碱部分根据具体所连接的脂肪酸，约占15-30%。因此，蛋磷脂的胆碱含量变化范围约10-25%重量比；或者，胆碱约为总蛋脂类的3-7%重量比。

20

组合物

本发明中有用的组合物包括n-6和/或n-3长链PUFAs。长链PUFA的来源并不重要。长链PUFA的已知来源包括鱼油或海生物油、蛋黄脂类和磷脂、单细胞生物油（例如藻油和真菌油），本领域技术人员应该明白：为得到高含量的特定长链PUFAs，一些来源优于另一些来源。对本领域熟练技术人员来说，其它可食用的、半纯化和纯化的长链PUFAs来源是显而易见的。通过基因操作蔬菜或产油植物，可以开发长链PUFAs的新来源；本发明对这些重组产品的用途也是考虑的。

组合物中长链PUFA的提供形式有：游离脂肪酸的酯、甘油单酯、二酯和三酯；磷脂包括卵磷脂；和/或它们的混合物。提供长链PUFAs的优选形式是磷脂，特别是卵磷脂。目前一种优选的来源可能是蛋黄磷脂类，该来源至少在加工后的感官特性和胆固醇水平均可接受，其

原因可能是：来源于蛋类的 PUFAs 有高含量的磷脂和/或卵磷脂。

5 这些 n-6 和/或 n-3 脂肪长链 PUFA，其给药方式可以是静脉注射（非胃肠道）溶液，如胆碱和卵磷脂也可如此。静脉注射溶液优选在每日合理摄取量的非胃肠道溶液中含有有效量的 PUFA、磷脂和/或胆碱。因此，其确切浓度是可高度变化的，这取决于预期的摄取量；并且，与基于水化的或营养的非胃肠道产品相比，大药丸或小量的非胃肠道产品明显地更浓些。非胃肠道组合物通常包括可药用的载体和辅料，如缓冲剂和防腐剂等。

10 或者，该 n-6 和/或 n-3 脂肪酸长链 PUFA 和胆碱以及磷脂可以通过胃肠道组合物的形式给药。含有长链 PUFA、胆碱或磷脂的胃肠道组合物可以是活性成分的溶液或乳化剂形式；或者在含有蛋白质、碳水化合物、其它脂肪、矿物质和维生素的营养基质中。含有活性成分的胃肠道组合物可作为补充的或完全的营养供给。胃肠道给药组合物中，长链 PUFA 的浓度范围几乎约从组合物重量的 100%（如大药丸
15 乳剂的情况）至约 0.5%（如全营养制剂的情况），取决于给药方式和预定目的。在营养完全的制剂中，浓度可以更低，只要给予足以提供有效量的长链 PUFA 的制剂即可。

20 本发明一种特别优选的实施方案涉及一种改进的、营养完全的制剂，该制剂适合婴儿服用，包括早产婴儿。这样一种优选的组合物包括蛋白质、碳水化合物和脂类，其中约 6-40% 重量比的总脂类是基本上不含有胆固醇的蛋磷脂。术语“基本上不含有”是指蛋磷脂的胆固醇含量小于总脂类重量的 0.1%，优选小于总脂类重量的 0.05%。

25 本领域技术人员容易理解什么是婴儿制剂。如果开始是浓缩或者粉末形式，当稀释或再生至容易服用的状态时，对于一种典型的婴儿制剂，每升制剂中含有约 10-35 克蛋白质、20-50 克脂类、60-110 克碳水化合物和其它各种物质例如维生素、矿物质、纤维和乳化剂等。为了容易理解婴儿制剂的组份及其制备方法，在此引入下列美国专利作为参考：1) Masor 等的 US 5,492,899；2) Borschel 等的 US5,021,245；3) Katz 等的 US5,234,702；和 4) Masor 等的 US
30 5,602,109；和 5) Mahmoud 的 US 4,670,268。更具体的说，本发明的实施方案包括的婴儿制剂，每升制剂中约含有：40-50 克脂类，该脂类包括中链甘油三酯和基本上不含胆固醇的蛋磷脂的混合物。典

型地，该脂类混合物含有约 1-40%、更优选约 5-30% 重量比的蛋磷脂。特别设计该实施方案，以提供选自 n-3 脂肪酸和 n-6 脂肪酸的长链 PUFAs，磷脂和/或胆碱其含量应该对婴儿有益。

5 制备方法

由于蛋黄中含有甘油三酯和磷脂，优选有机溶剂处理蛋黄，把磷脂从甘油三酯、甾醇（如胆固醇）和其它组份中分离出来。文献记载的各种方法都适合上述分离，至少实验室规模是这样。或者，这样的基本上不含胆固醇的蛋磷脂类可以是购自 Pfanstiehl, Inc
10 （Waukegan, IL）的干燥粉末形式，商品目录号为 P-123。

然后，把蛋磷脂加入到本发明的胃肠道给药组合物中。由于含有脂类，蛋磷脂加入到胃肠道给药制剂中预期在油相中是容易的。然而，令人惊奇的发现：这些脂-脂分散液是不能接受的，而制备蛋磷脂的水分散液导致改进的产品。约 2-15%、优选约 3-8% 重量比水分
15 散液应该在凉水至室温（约 20-25℃）的水中制备从而得到最佳结果。温度更高的水产生较难接受的感官特性。

独立地制备该大量营养剂所含有的碳水化合物、蛋白质和脂类浆液，这对本领域技术人员来说是已知的，在约 130-140℃ 下混合上述浆液。即将均相化前，该磷脂分散液与上述制剂的其余部分混合。

20 在特别优选的示例中，在中度真空下对该磷脂分散液进行脱气，然后把该磷脂加入到终产品混合物中（即将均相化前）。通过任何机理均可使脱气起作用，但是用雾化脱气器在 15 英寸 Hg 压力下得到令人满意的结果。这个附加的步骤显示能够改进终产品的感官特性和嗅觉特性，与活性炭过滤或者两者的组合相比，这种改进甚至更强些（参
25 见实施例 III）。

为了制备本发明中有用的非胃胃肠道给药组合物，可以应用传统的无菌非胃肠制剂生产技术。在这种情况下，不用蛋磷脂，而应用甘油三酯油或脂肪酸酯来作为替代物是优选的，其中的甘油三酯油或脂肪酸酯例如可以在重组物或单细胞油来源中发现。

30

工业实用性

本发明的组合物用于婴儿和/或成人的营养供应。一般认为，长链

PUFAs、特别是 n-6 和 n-3 脂肪酸以及最特别是 AA 和 DHA 的加入，对婴儿的神经系统发育和视觉敏感性是有益的，尽管有文献报道也发现有相矛盾的结果。

5 本发明有用的组合物包括那些含有下列任何一种或所有物质的组合物：

(a) 选自 n-6 和 n-3 脂肪酸的长链 PUFAs，典型地是磷脂或磷脂酰胆碱形式；

(b) 极性磷脂类，不管所连的脂肪酸性质或长度如何；

(c) 胆碱，优选磷脂酰胆碱。

10 例如，在实施例中详细描述蛋磷脂加强的制剂提供高含量的每种上述特定组份，令人惊奇的发现，其确实能降低坏死性小肠结肠炎易感婴儿群的坏死性小肠结肠炎发生率。在更具体的实施方案中，通过服用花生四烯酸 (AA, 20: 4 n-6)，或者更优选地，服用 AA 与二十二碳六烯酸 (DHA, 22: 6 n-3) 的组合物，可以实现 NEC 发生率的降低。

15 更广义地说，本发明的这一方面考虑降低坏死性小肠结肠炎易感婴儿的坏死性小肠结肠炎发生率的方法，所述方法包括：服用有效量的至少一种长链 PUFA，它选自 $C_{20}n-6$ 脂肪酸、 $C_{22}n-6$ 脂肪酸、 $C_{20}n-3$ 脂肪酸和 $C_{22}n-3$ 脂肪酸。服药量为每千克婴儿体重至少 1.0mg n-3 脂肪酸/天。更优选的实施方案使用 n-6 和 n-3 脂肪酸的组合物，这两种脂肪酸的重量比约
20 2: 1 至 4: 1。

在此进一步公开一种用于降低婴儿坏死性小肠结肠炎的发生率的方法，所述方法包括让婴儿服用一定量的蛋磷脂以使每天至少摄取 1.0mg 长链 n-6 脂肪酸。优选地，该蛋磷脂供应 AA 作为该 n-6 脂肪酸的主要部分，还优选供应上述比例的 DHA 和/或其它长链 n-3 脂肪酸。

25 本发明的另一方面涉及对人经肠给予磷脂类，特别包括 AA 和/或 DHA 的磷脂类，相对于给药含有 AA 和 DHA 的甘油三酯组合物来说，这样容易升高人血清中 AA 和 DHA 脂肪酸的水平。

本发明组合物的一种更合适的给药措施是以毫克每千克婴儿体重作为每日摄取量，下表 A 给出了本发明组合物中应用各个组份的最小值、优
30 选值和理想指标范围。

表 A - 每日摄取量的指导原则
(基于每千克婴儿体重)

组份	最小值	优选值	更优选值	理想指标
AA, mg	1	2-60	5-40	10-30
DHA, mg	0.25	0.5-35	1.5-20	3-15
AA/DHA 比例	0.25	0.5-10	1-8	2-4
磷脂, μmoles	50	60-2400	200-1500	400-1000
胆碱, μmoles	50	60-1800	150-1200	300-900

上述范围变化较大, 主要基于这样一个事实: 并不是所有可能受益于本发明的婴儿都会消耗同样量的制剂。那些消耗制剂少的, 其接受各个成分量也少。理想的指标范围假设约消耗 100 千卡。同时, 关于评价胆碱含量的方法尚有争论。

从表 A 可以看出: 最优选的是 AA 约比 DHA 高 2-4 倍。同时观测到: 磷脂和胆碱的最低含量是相同的。所有磷脂以磷脂酰胆碱提供就可达到这个要求。用其它含氮的醇类代替胆碱(例如乙醇胺、丝氨酸或肌醇), 则胆碱对总磷脂的相对量降低。

AA 和/或 DHA 可以作为独立组份分别服用, 或者同时服用, 或者它们还组合其它成分例如蛋白质、脂类、碳水化合物、维生素和矿物质。低出生体重婴儿的营养供给是非胃肠道(如静脉供给)或胃肠道供给。因此, 合适量的长链 PUFA 可以加入到非胃肠道营养溶液中或者加入到传统的低出生体重婴儿的胃肠道给药制剂中。最优选地, 本发明的方法是这样完成的: 通过胃肠道给药为低出生体重婴儿设计的婴儿制剂, 其中制剂含有 AA 和 DHA。这样的婴儿制剂还包括合适量的碳水化合物和蛋白质, 并含有合适量的矿物质和维生素的组合物。本发明所用的示范婴儿制剂是改进的 Similac Special Care[®] (Abbott 实验室 Ross 产品部 (Ross Products Division of Abbott Laboratory), Columbus, Ohio), 这将在实施例 II 中详细描述。

本发明的另一方面是提高人的花生四烯酸和二十二碳六烯酸血清

水平的方法，所述方法包括对所述人给予胃肠道给药制剂的步骤，该制剂含有磷脂形式的 AA 和 DHA。

本申请的最近研究表明：对 NEC 易感婴儿给药长链 PUFA 时，会降低 NEC 的发生率，也可以降低 NEC 的程度和严重性。本申请还发现：给予动物或植物来源的磷脂类时，对降低 NEC 易感婴儿群的 NEC 发生率也是有效的。

实施例 I

10 蛋黄磷脂购自 Pfanstiehl, Inc. (Waukegan, IL, 商品目录号: P-123) 并应用于下面的实施例中。该蛋磷脂的脂肪酸和胆固醇概况列于表 I。同时给出了所有 n-3 和所有 n-6 “长链” PUFAs 的总数。

表 I: 蛋黄卵磷脂中脂肪酸概况和胆固醇含量

15	脂肪酸	gm/100gm 样品
	C14: 0	0.08
	C16: 0	18.83
	C16: 1 n-7	0.82
	C16: 4	0.21
20	C18: 0	6.72
	C18: 1 n-9	17.36
	C18: 2 n-6	9.8
	C20: 1 n-9	0.11
25	C20: 2 n-6	0.24
	C20: 3 n-6	0.3
	C20: 4 n-6-花生四烯酸	4.93
	C22: 0	0.07
	C22: 4 n-6	0.3
30	C22: 5 n-6	1.45
	C22: 5 n-3	0.09
	C22: 6 n-3 二十二碳六烯酸	1.24

胆固醇	<0.05
总 LCPUFA n-6	7.22
总 LCPUFA n-3	1.33

5

本领域技术人员能够明白：由于母鸡的种类、饮食和年龄不同，蛋黄所含有的各种脂肪酸的具体含量也会发生变化。另外，Pfanstidhl 所用的提取步骤制备实施例 I 中应用的磷脂时得到这样一种物质：该物质的胆固醇含量非常低，而具有的脂肪酸概况对于营养领域非常有用。

10

实施例 II

在本实施例中，分别应用和不用实施例 I 中的蛋磷脂，制备“实验的”和“对照的”婴儿制剂。该对照组合物是 Similac Special Care[®] (Abott 实验室 Ross 产品部 (Ross Products Division of Abott Laboratories) Columbus, Ohio)，其通过应用下面所列出的成分制备，得到具有表 II-IV 中组合物的配方，其中的成分如下：

水 (Kosher)、脱脂奶、水解玉米淀粉、乳糖、经分馏的椰子油 (中链甘油三酯)、乳清蛋白质浓缩物、大豆油、椰子油、二磷酸三钙 (calcium phosphate tribasic)、柠檬酸钾、柠檬酸钠、氯化镁、抗坏血酸、甘油单酯和二酯、大豆卵磷脂、碳酸钙、角叉菜胶、氯化胆碱、硫酸亚铁、m-肌醇、牛磺酸、烟酰胺、L-肉毒碱、 α -生育酚乙酯、硫酸锌、泛酸钙、氯化钾、硫酸铜、维生素 B₂ 和维生素 A 的软脂酸酯、盐酸氯化硫胺、盐酸吡哆辛、生物素、叶酸、硫酸锰、叶绿醌、维生素 D₃、亚硒酸钠、和维生素 B₁₂。

20

通常地，蛋白质、碳水化合物、脂类、维生素和矿物质浆液各自独立地制备，然后在均相化前将它们混合。这些步骤通常按照前面所述的关于制备婴儿制剂的美国专利所告知的那样进行。

在实验制剂中，在制备期间把实施例 I 的蛋磷脂加入到制剂中。首先在 25°C 下把蛋磷脂分散在水中制备 8% 的分散液。然后在均相化前该磷脂分散液与蛋白质、碳水化合物、维生素、矿物质和其它脂类浆液混合，得到具有下面表 II-IV 所示组合物的“实验”制剂。所给

30

出的各个组份用量以“每升”和“每千卡”为基础，这对于制备热密度高于或低于标准值 20 千卡/流体盎司的婴儿制剂领域的技术人员来说是熟知的。

表 II: 对照和实验制剂的组份

5

营养成分	优选范围	
	单位/升	单位/100千卡
蛋白质, g	21.9 - 23.4	2.61 - 2.88
脂肪, g (如下表III所示)	40.0 - 46.0	5.24 - 5.67
碳水化合物, g	84.0 - 88.0	10.00 - 10.84
[灰分, g]	6.7 - 8.0	0.80 - 0.99
总固体, g	158.6 - 165.0	18.88 - 20.32
亚油酸, g	5.6 - 12.2	0.67 - 1.50
钙, mg	1300 - 1700	154.76 - 209.36
磷, mg	720 - 970	85.71 - 119.46
镁, mg	100 - 170	11.90 - 20.94
钠, mg	349 - 389	41.55 - 47.91
钾, mg	1000 - 1420	119.05 - 174.88
氯, mg	650 - 770	77.38 - 94.83
铁, mg	3.0 - 5.5	0.36 - 0.68
锌, mg	12.0 - 14.6	1.43 - 1.80
铜, mg	2.0 - 3.0	0.24 - 0.37
锰, mg	100 - 500	11.90 - 61.58
碘, mg	0.05 - 0.30	0.01 - 0.04
硒, mcg	12 - 29	1.43 - 3.57
维生素A, IU	6000 - 8000	714.29 - 985.22
维生素D, IU	1200 - 1580	142.86 - 194.58
维生素E, IU	35.0 - 45	4.17 - 5.54
维生素K1, mcg	100 - 140	11.90 - 17.24
维生素C, IU	350 - 450	41.67 - 55.42
硫胺 (B1), mg	2.66 - 4.6	0.32 - 0.57
核黄素 (B2), mg	5.03 - 9.0	0.60 - 1.11
吡哆辛 (B6), mg	2.6 - 3.4	0.31 - 0.42
维生素B12, mg	4.47 - 9.5	0.53 - 1.17
泛酸, mg	15.4 - 24.0	1.83 - 2.96
叶酸, mcg	340 - 450	40.48 - 55.42
烟酸, mcg	40.6 - 65	4.83 - 8.00
生物素, mcg	350 - 460	41.67 - 56.65
胆碱, mg	81 - 243	9.64 - 29.93
m-肌醇, mg	44.7 - 61	5.32 - 7.51
L-肉毒碱, mg	35 - 60	4.17 - 7.39
牛磺酸, mg	60 - 80	7.14 - 9.85
能量 (千卡)	812 - 840	

* 假定 24 千卡/流体盎司

5 下面的表 III 列出对照产品和实验产品所用的脂类含量（唯一的变量）。可以看出：这两种制剂的总脂类含量相同，主要不同点在于用蛋磷脂替代了一部分中链甘油三酯。这种替代使磷脂和胆碱以及其它长链 PUFAs 的含量有显著提高。

表 III: 对照和实验制剂的脂类

10

成分	对照制剂	实验制剂
脂类混合物	wt%	wt%
MCT*	50	41
椰子油*	30	30
15 大豆油	20	20
蛋磷脂	0	9 (4.0gm/L)
胆碱形式		9% 的 75%
乙醇胺形式		9% 的 20%
大豆卵磷脂	0.45gm/L	0.0gm/L
20 胆固醇	ND [†]	ND [†]
总脂类 (g/L)	44.1	44.1

25

*MCT = 中链甘油三酯

**经过蒸馏的

†ND = 未检测

表 IV 列出了对照制剂和实验制剂中复杂的脂肪酸概况。这代表该蛋磷脂和 Similac Special Care[®] 制剂中脂肪酸组份的总数。

30

表 IV: 平均脂肪酸概况 (以重量百分比表示)

5	脂肪酸	对照制剂			实验制剂		
		n-3	其它	n-6	n-3	其它	n-6
	不饱和点						
	6:0-己酸	0.71			0.27		
	8:0-辛酸	30.56			23.11		
	10:0-癸酸	19.61			16.44		
10	12:0-月桂酸	9.69			10.24		
	14:0-肉豆蔻酸	3.85			4.08		
	15:0 和 14:1	0.04			0.01		
	16:0-十六碳烯酸	5.51			7.65		
	16:1-十六碳烯酸	0.03			0.12		
15	16:2	-			-		
	17:0-十七烷酸	0.04			0.09		
	16:3	-			-		
	16:4	-			-		
	18:0-硬脂酸	2.68			3.89		
20	18:1 n-9-油酸	8.31			11.25		
	18:2 n-6-亚油酸		16.36			18.87	
	18:3 n-6-亚油酸		2.3			-	
	18:3 n-3	2.24			2.45		
	18:4 n-6		-			0.02	
25	20:0-二十烷酸	0.12			0.14		
	20:1 n-9	0.04			0.09		
	20:2 n-9	0.02			0.02		
	20:3 n-9	-			0.05		
	20:4 n-6-AA		-			0.41	
30	20:4 n-3	-			-		
	20:5 n-3	-			-		
	22:0-二十二烷酸	0.07			0.12		

	22:5 n-6	-	0.07
	22:5 n-3	-	0.07
	22:6 n-3-DHA	-	0.14
	24:0	0.04	0.07
5	总 LC PUFA n-3	0	0.21
	总 LC PUFA n-6	0	0.48
	总 n-3	2.24	2.66
	总 n-6	18.66	19.37

- 10 含有蛋磷脂时，得到的结果是：长链 n-3 脂肪酸占总脂类混合物的 0.21%重量比，长链 n-6 脂肪酸占总脂类的 0.48% 重量比。更具体地说，总脂肪混合物重量的 0.14%为 DHA，总脂肪混合物重量的 0.41% 为 AA。以给药剂量每千克婴儿体重 100 千卡/千克/天为基础，该制剂每天提供约 22mg 的 AA 和约 7mg 的 DHA。当然，这仅仅是本发明
15 中一个可能的实施方案比例。

实施例 III

- 20 在本实验中，为了减少应用蛋磷脂所带来的感官缺点，评价了方法变量。分离本发明所用的蛋磷脂经常导致婴儿制剂所用的蛋磷脂类具有几分令人讨厌的感官特性。可以对其进一步改进以提供一种产品不致于使婴儿和照顾婴儿的人讨厌。这种改进终产品的方法将在下面得到描述。

- 25 制备许多类似于实施例 II 的营养制剂，其不同之处在于：6% 重量比的为脂肪混合物经过各种方法预处理的蛋磷脂。蛋磷脂分散在一部分实施例 II 所述的油混合物中或分散在一部分水中。该油分散液是不能令人接受的，并且即使加热到 95℃ 也不能应用。该磷脂的水分散液可以比较容易地从室温加热至暖和温度，这是形成水分散液的优选方式。

- 30 把磷脂掺合到 90℃ 的水中，约 1 个小时后，制备得到一总批 3% 重量比的蛋磷脂分散液。一部分这种分散液通过：（1）单独的脱气器；（2）单独的碳过滤器；（3）组合的脱气器和碳过滤器装置；

或(4)不作任何处理。

活性碳过滤装置含有80克的活性炭,在中度真空(15英寸汞柱)下操作脱气装置。这些批量部分通过过滤器装置时进行3次,通过脱气器时进行1次。当应用两种设备时,该部分首先通过过滤器,然后
5 通过脱气器。均相化前处理后的部分加到各自的营养制剂中,然后进行样品包装。

然后通过一小组经过训练的评价者首先评价“味觉特征”(“flavor notes”)。该组结果列于表V。

10 表V: 含蛋黄磷脂的婴儿制剂感官特性结果
味觉特征*

分散液的处理	开始时的 AA	3个月后的 AAL
只进行脱气	AA 1-2.5	AAL 2.5
15 只进行碳过滤	AA 1.5-2	AAL 2.5
进行脱气和碳过滤	AA 2	AAL 2.5
不作处理	AA 2.5-3	AAL 3

*味觉特征 AA = 花生四烯酸

20 AAL = 留存的花生四烯酸 (Arachidonic Acid Lingering)

+等级 0.5 非常弱; 1 弱; 1.5 弱-中等强度; 2 中等强度;
2.5 中等强度-强; 3 强

25 令人惊奇的是,芳香性最弱的样品是含有只通过脱气器的分散液的样品。通过脱气器和碳过滤器的分散液级别最差,仅次于对照品(对磷脂分散液不作处理)。

实施例 IV

30 在一项研究中,按照实施例 II 和 III 制备的制剂让婴儿服用。该研究在 Tennessee 大学婴儿中心的新生婴儿托儿所进行,由 Susan E. Carlson 博士担任指导。财务支援来自 Abbott 实验室 Ross 产品部

(Ross Products division of Abott Laboratories) (Study AE78), NICHD 惠赠 R01-HD31329, 国家眼研究会 (National Eye Institute) 惠赠 R01-EY08770。研究参数包括: 生长情况、神经发育和视觉敏感性。生理学上认为长链 PUFAs 对脑和眼的发育非常重要, 并在怀孕的最后三
5 个月迅速积聚在胎儿组织。因此, 与足孕婴儿相比, 早产婴儿不能生长 (accrete) 出正常水平的长链 PUFAs。

包含标准 (Inclusion criteria): 进入本临床研究基于小于 1500gm (范围 750 - 1375gm) 的“低”出生体重, 并且没有心脏、呼吸系统、胃肠道和其它系统疾病。同时该婴儿没有出生窒息或者血型不配的临床
10 并发症史。参加婴儿的母亲没有对胎儿有确定不利影响的孕期感染病史。母体物质滥用是除外标准 (exclusion criteria)。所有婴儿在第 7 天后开始口腔进食。

在该临床研究期间, 在出生 7 天内的婴儿共 120 例参加。除了一个婴儿参加后转到另一家医院 (对照) 外, 所有其它婴儿 (n=119) 均在同一
15 医院照料。参加的婴儿 (随机, 盲法选择) 分成 3 组, 其中的两组在住院期间接受对照制剂, 另一组接受实验制剂 (参加实施例 II)。住院期间失去的婴儿用另一个指定为同一处理组的婴儿取代。由于研究设计, 更多的婴儿服用对照制剂。服用对照制剂的总数比服用实验制剂的数目两倍还多。

20 结果: 意料之外的结果是: 可以看出对照组比实验组有更高的坏死性小肠结肠炎 (NEC) 发生率。表 VI 根据处理结果对新生儿的总数分组 (对照组与实验组), 并列出每组中患有 NEC 的数目。当符合该疾病的临床信号和症状时, 就认为或者怀疑患有 NEC, 这些信号和症状例如: 腹部膨胀、胃内残渣、呕吐胆汁、血红素阳性粪便、粪中有粘膜, 和大于或等
25 于 0.5mg/dL 的 C-反应性蛋白质存在 (Pourcyrous 等., “新生儿感染和其它疾病中系列 C-反应性蛋白质反应的意义”, *Pediatr.*, 1993, 92: 431 - 435)。对照组婴儿中有 15 例 NEC, 而实验组中只有一例。

表 VI: 临床研究结果

	对照组	实验组
5 NEC*	15	1
没有 NEC	70	33
总数	85	34

*或者怀疑有 NEC

- 10 应用 Fisher's 精确检测 (双尾法), 这些数据的统计分析表明: 对照组中证实患有 NEC 的婴儿数目显著地高于实验组中患有 NEC 的婴儿数目 ($p=0.039$)

实施例 V

- 15 在本实验中, 评价含有 AA 和 DHA 的非胃肠给药营养 (静脉给药)。该非胃肠道溶液可以含有本领域已知的各种组份, 其含有的 AA 和 DHA 的供应形式为磷脂、甘油三酯或甲基酯。AA 和 DHA 可以是仅有的活性成分, 其与传统的注射液辅料和载体混合; 或者更优选地, 非胃肠道给药制剂中含有 AA 和 DHA 作为总营养供给的增补或补充。
- 20 典型的非胃肠道营养液含有的脂类含量约 2g/kg/天。优选地, 该脂类混合物的 AA 和 DHA 含量应该导致服用 10-30mg/kg/天的 AA 和 3-15mg/kg/天的 DHA。

实施例 VI

- 25 本实验中, 用大豆卵磷脂代替实施例 II 中的蛋卵磷脂制备实验制剂, 实验制剂中大豆卵磷脂的水平约比对照制剂中高 10 倍。大豆卵磷脂, 类似于来源于植物的其它磷脂, 不含有长链多不饱和酸; 然而, 磷脂的极性以及其容易进入到肠粘膜的能力可以对肠内层提供保护作用, 因此能产生可与实施例 II 实验制剂相比较的结果。另外,
- 30 大豆卵磷脂含有亚油酸 (18: 2n-6 - AA 的一种必须的食用脂肪酸的前体) 和亚油酸 (18: 3n-3 - DHA 的一种必须食用脂肪酸的前体)。

实施例 VII

本实验中，在婴儿制剂中使用含有 AA 和 DHA 的磷脂与含有 AA 和 DHA 的甘油三酯相比较。实施例 II 的制剂与一种类似的制剂相比较，在后一种制剂中，用含有类似含量 AA 和 DHA 的单细胞微生物甘油三酯混合物代替实施例 II 制剂中的蛋磷脂。

健康的足孕婴儿参加临床评价以测定在肠给药后 AA 和 DHA 的血浆含量。预期结果是：与含有甘油三酯形式的 AA 和 DHA 的对照制剂相比，服用该磷脂制剂的婴儿，将获得与那些母乳喂养的婴儿更相似的 AA 和 DHA 血浆水平。本实验应该表明：含有 AA 和 DHA 的磷脂是一种较含有 AA 和 DHA 的甘油三酯更优选的服药形式。因此，此处考虑了增加 AA 和 DHA 血清中水平的改进的胃肠道给药制剂和方法。

根据上面的描述，对本发明的组合物和方法作出改进和替换的实施方案对本领域熟练技术人员来说是显而易见的。因此，在此所作的描述仅仅作为解释性的，目的是告知本领域熟练技术人员的实施方式。本发明要求保护的全部范围确定在在附加的权利要求中。