(19) **Bundesrepublik Deutschland**
Deutsches Patent- und Markenamt

(10) **DE 695 34 128 T2** 2006.01.19

(12) # Übersetzung der europäischen Patentschrift

(97) **EP 0 713 700 B1**
(21) Deutsches Aktenzeichen: **695 34 128.6**
(96) Europäisches Aktenzeichen: **95 202 653.2**
(96) Europäischer Anmeldetag: **03.10.1995**
(97) Erstveröffentlichung durch das EPA: **29.05.1996**
(97) Veröffentlichungstag der Patenterteilung beim EPA: **06.04.2005**
(47) Veröffentlichungstag im Patentblatt: **19.01.2006**

(51) Int Cl.[8]: ***A61K 31/20*** (2006.01)
A61K 31/23 (2006.01)
A23L 1/30 (2006.01)
A61P 1/04 (2006.01)

(30) Unionspriorität:

317441	**04.10.1994**	**US**
435566	**05.05.1995**	**US**

(73) Patentinhaber:
Novartis AG, Basel, CH

(74) Vertreter:
Zumstein & Klingseisen, 80331 München

(84) Benannte Vertragsstaaten:
DE, FR, GB

(72) Erfinder:
Petschow, Bryon W., Newburgh, US

(54) Bezeichnung: **Verwendung von Laurinsäure oder vom einem C8-C16 Fettsäuremonoglyzerid zur Hemmung von Helicobacter**

Anmerkung: Innerhalb von neun Monaten nach der Bekanntmachung des Hinweises auf die Erteilung des europäischen Patents kann jedermann beim Europäischen Patentamt gegen das erteilte europäische Patent Einspruch einlegen. Der Einspruch ist schriftlich einzureichen und zu begründen. Er gilt erst als eingelegt, wenn die Einspruchsgebühr entrichtet worden ist (Art. 99 (1) Europäisches Patentübereinkommen).

Die Übersetzung ist gemäß Artikel II § 3 Abs. 1 IntPatÜG 1991 vom Patentinhaber eingereicht worden. Sie wurde vom Deutschen Patent- und Markenamt inhaltlich nicht geprüft.

Beschreibung

[0001] Die vorliegende Erfindung betrifft die Verwendung von Monoglyceriden von C_8-C_{16}-Fettsäuren oder einer C_{12}-Fettsäure, Laurinsäure, zur Herstellung einer Zusammensetzung zur Hemmung von Helicobacter.

[0002] Die antimikrobiellen Eigenschaften verschiedener freier Fettsäuren und Fettsäureester wie der Glyceride werden seit vielen Jahren untersucht (Niemans C., Influence of trace amounts of fatty acids on the growth of microorganisms. Bacterial Reviews 1954; 18: 147–163 und Kodicek E., The effect of unsaturated fatty acids on gram-positive bacteria. Society for Experimental Biology Symposium 1949; 3: 218–231). Diese Studien haben bestätigt, daß sowohl freie Fettsäuren (FFA) als auch Monoglyceride (MG) das Wachstum einer Vielzahl von Bakterienarten (Kabara J. J., Lipids as host-resistant factors of human milk, Nutr. Reviews 1980; 38: 65–73, Kabara J. J., Fatty acids und derivatives as antimicrobial agents. A review. In: Kabara J. J., ed. The Pharmacological Effect of Lipids. Champaign, IL: American Oil Chemist Society, 1978: 1–14 und Knapp H. R., Melly M. A., Bactericidal effects of polyunsaturated fatty acids. J Infect Dis 1986; 154: 84–94), Pilzen (Wyss O., Ludwig B. J., Joiner R. R., The fungistatic und fungicidal action of fatty acids und related compounds. Arch Biochem. 1945; 7: 415–425), Einzellern (Lees A. M., Korn E. D., Metabolism of unsaturated Fatty acids in protozoa. Biochemistry 1966; 1475–1481) und Lipid-umhüllten Viren (Welsh J. K., Skurrie I. J., May J. T., Use of Semliki Forest virus to identity lipid-mediated antiviral activity and anti-alphavirus immunoglobulin A in human milk. Infect Immun 1978; 19: 395–401) hemmen können. Zahlreiche Studien haben auch die Erzeugung hemmender Fettsäuren oder Derivate durch die Wirkung von Lipasen auf Triglyceride in menschlicher Milch und Säuglingsrezepturen beschrieben (Isaacs C. E., Kashyap S., Heird W. C., Thormar H., Antiviral and antibacterial lipids in human milk und infant formula feeds. Arch. Dis. Childhood 1990; 65: 861–864; Hernell O., Ward H., Blackberg L., Pereira MEA, Killing of Giardia lamblia by human milk lipases: an effect mediated by lipolysis of milk lipids. J Inf Dis 1986; 153: 715–720). Die Anfälligkeit verschiedener Bakterien auf die Inaktivierung durch spezifische Fettsäuren kann ein Faktor bei der Regulierung der verschiedenen Spezies von Bakterien sein, die verschiedene Nischen der Haut ebenso wie die Atem- und Magen-Darm-Wege besiedeln.

[0003] Die meisten Untersuchungen der antimikrobiellen Eigenschaften von FFA und MG haben in vitro-Modelle zur Bewertung der Hemmungswirkungen von kurzkettigen und langkettigen gesättigten und mono-ungesättigten Fettsäuren verwendet; weniger Studien sind hinsichtlich der Hemmungseigenschaften von langkettigen mehrfachungesättigten Fettsäuren unternommen worden. (Kabara J. J., Lipids as host-resistant factors of human milk, Nutr Reviews 1980; 38: 65–73; Kabara J. J., fatty acids and derivatives as antimicrobial agents. A review. In: Kabara J. J., ed. The pharmacological effect of lipids. Champaign, IL: American Oil Chemist Society, 1978: 1–14 und Knapp H. R., Melly M. A., Bactericidal effects of polyunsaturated fatty acids. J Infect Dis 1986; 154: 84–94; und Thormar H., Isaacs C. E., Brown H. R., Barshatzky M. R., Pessalano T., Inactivation of enveloped viruses and killing of cells by Fettsäures and monoglycerides. Antimicr Agents Chemother 1987; 31: 27–31). Die Ergebnisse aus diesen Studien führten die Experten zu den folgenden Schlußfolgerungen in Bezug auf die Beziehungen zwischen der Fettsäurestruktur und -aktivität.

(1) Im allgemeinen wird die FFA-Sensibilität als ein Merkmal von grampositiven Bakterien angesehen, wobei wenige gram-negative Bakterien sensibel sind.

(2) Gram-negative Bakterien werden vorwiegend durch sehr kurzkettige FFAs beeinflußt (z. B. C_6 oder weniger).

(3) Hefen/Pilze werden durch FFAs mit kurzkettigen Fettsäuren (z. B., C_{10} oder weniger) beeinflußt.

[0004] Viele Jahre lang ist angenommen worden, daß der Grund für die peptische Ulkuskrankheit mit einer Störung des Gleichgewichtes zwischen vorhandenen schädlichen Mitteln, die im Magen gefunden wurden, und der Arbeitsweise des angeborenen Schleimhautschutzmechanismus in Verbindung steht. Im Ergebnis haben sich viele der Forschungen hinsichtlich der Ulkuskrankheit während der letzten vierzig Jahre verstärkt auf die Rolle von Magensäure bei der Entwicklung peptischer Ulzeration konzentriert. Während die Unterdrückung der Säureproduktion mit Histamin 2 (H2)-Rezeptorantagonisten bei der Heilung akuter Geschwüre wirksam ist, kann die Rezidivrate während des ersten Jahres bis zu 90% betragen. Dies ist ein Anzeichen dafür, daß eine solche Behandlung bei der Heilung von Geschwüren wirksam ist, die Krankheit jedoch nicht kuriert.

[0005] Wenige der früheren Forschungen der Magenkrankheit untersuchten eine infektiöse Ätiologie bis Marshall und Warren die Isolierung von gram-negativen spiralförmigen Bakterien aus Biopsiematerial, das aus menschlichen Patienten erhalten wurde, mit Gastritis und peptischen Geschwüren beschrieben (Marshall B. J., Warren J. R., Unidentified curved bacilli on gastric epithelium in active chronic gastritis. Lancet 1984; i: 1311–1315). Diese Forscher identifizierten diesen Organismus später als Campylobacter pyloridis. Nachfolgende Studien haben bestätigt, daß dieses Bakterium, momentan als Helicobacter pylori bezeichnet, ein grundlegendes ätiologisches Mittel bei chronischer diffuser (Type B) Gastritis superficialis und gastroduodena-

ler Ulkuskrankheit ist. Der Nachweis, der eine solche Verbindung stützt, wird durch Studien an menschlichen Freiwilligen, die H. pylori ausgesetzt waren (Marshall B. J., Armstrong J. A., McGeechie D. B., Glancy R. J., Attempts to fulfill Koch's postulates for pyloric Campylobacter, Med. J. Aust. 1985; 142: 436–439 und Morris A., Nicholson G., Ingestion of Campylobacter pyloridis causes gastritis und raised fasting gastric pH. Am. J. Gastroenterol 1987; 82: 192–199) und der Anerkennung einer ähnlichen Verbindung zwischen Magenkrankheiten und Spiralorganismen, die in den Mägen von Labortieren gefunden wurden (Fox J. G., Lee A., Gastric Campylobacter-like organisms: their role in gastric disease in laboratory animals. Lab Animal Sci. 1989; 39: 543–553) erbracht. Weil eine H. pylori-Infektion sowohl bei Kindern als auch bei Erwachsenen in vielen Ländern der Erde extrem verbreitet ist, bleiben viele Menschen für Jahre infiziert, ohne daß sich Symptome von Gastritis oder einer Ulkuskrankheit entwickeln. Es sind ebenso Berichte im Hinblick einer möglichen Verbindung zwischen einer H. pylori-Infektion und der Entwicklung von Magenkrebs erschienen (Parsonnett J., Friedman G. D., Vundersteen M. A., Chang Y., Vogelman J. H., Orentreich N., Sibley R. K., Helicobacter pylori infection and the risk of gastric carcinoma, N. Engl. J. Med. 1991; 325: 1127–1131 und Nomura A., Stemmermann G. N., Chyou P. H., Kato I., Perez-Perez G., Blaser M. J., Helicobacter pylori infection and gastric carcinoma among Japanese Americans in Hawaii, N. Engl. J. Med. 1991; 325: 1132–1136).

[0006] Histologische Studien haben bestimmt, daß H. pylori die Schleimschicht, die über den Epithelzellen im antralen Bereich des Magens liegt, besiedelt und scheinbar nicht in das Magengewebe eindringt. Während viele antimikrobielle Mittel mit guter Wirksamkeit gegen H. pylori in vitro existieren, führte die Bewertung einzelner Mittel in klinischen Tests nicht zu einer beständigen Langzeitausrottung des Organismus aus dem oberen Magen-Darm-Trakt. Ergebnisse aus Tests mit zwei oder mehr Antibiotika zeigten jedoch, daß die Ausrottung von H. pylori sowohl mit der Auflösung von Gastritis als auch mit der signifikanten Verringerung der Rezidivrate von duodenalen Geschwüren in Verbindung steht, im Vergleich zur Behandlung mit H2-Antagonisten allein. Das wirksamste Behandlungsregime, das derzeit verfügbar ist, umfaßt eine 2-Wochen-Dreifachtherapie, die aus einer Wismutverbindung zusammen mit Metronidazol und entweder Tetracyclin oder Amoxycillin besteht. Es gibt jedoch Probleme im Zusammenhang mit der Dreifachtherapie im Hinblick auf die Ausrottung von H. pylori, wie Non-Compliance aufgrund des Geschmacks und der Anzahl der erforderlichen Tabletten und Kapseln, das Einsetzen von Nebenwirkungen wie Übelkeit, Durchfall und Schwindelgefühl, und die Unwirksamkeit gegenüber antibiotisch-resistenten H. pylori-Strängen. Andere Ansätze umfassen die Verwendung von sulfatierten Glyceroglucolipiden (US-Patent 5,116,821). Zusammenfassend zeigen diese Studien, daß bessere Wege zur Erreichung einer beständigen Langzeitausrottung von H. pylori notwendig sind.

[0007] Es ist berichtet worden, daß die ungesättigten Fettsäuren Arachidonsäure und w-3-Linolensäure eine hemmende Wirkung auf H. pylori haben (Hazell S. L., Graham D. Y., Unsaturated fatty acid and Viability of Helicobacter (Campylobacter) pylori J. Clin. Microbial. 1990; 1060–61; Thompson L., Cockayne A., Spiller R. C. Inhibitory Effect of W-3 linolenic acid on the Growth of Helicobacter pylori, Abstract PL4 V Workshop on Gastroduodenal Pathology and Helicopter pylori, 5. Bis 7. Juli 1992, in Irish Journal of Medical Science). Bisher war die Verwendung von Monoglyceriden von C_4-C_{17}-Fettsäuren zur Hemmung von Helicobacter pylori unbekannt.

[0008] WO 95/32717, das nur einen Teil des Standes der Technik bezüglich Art. 54(3) EPÜ umfaßt, bezieht sich auf eine Anti-Helicobacter pylori-Substanz und insbesondere auf die Verwendung von sulfatiertem Kohlenhydrat mit geringem Molekulargewicht oder einem Polyhydroxyalkohol mit OH-Gruppen, die verestert oder an eine aliphatische gesättigte oder ungesättigte Kohlenwasserstoffkette verethert sind, bei der Behandlung von Magen- und duodenalen Geschwüren. Diese Substanzen sollen H. pylori in der Magenschleimhaut ausrotten.

[0009] WO 92/18111 bezieht sich auf eine pharmazeutische Zusammensetzung, die ein antimikrobielles Mittel umfaßt, die gegebenenfalls mit einer verzögert freisetzenden Substanz verabreicht wird. Geeignete Mittel zur Behandlung von Magenerkrankungen, die mit Helicobacter pylori in Verbindung stehen, sollen Glycerolester sein.

[0010] EP 465423 bezieht sich allgemein auf die antimikrobielle Wirkung von Fettsäuren und Monoglyceriden.

[0011] Ich habe überraschend entdeckt, daß Monoglyceride, die C_8-C_{16}-Fettsäuren enthalten, bei der Hemmung des gram-negativen bakteriellen pathogenen Helicobacter wirksam sind. Alle Helicobacter-Spezies, die Magenprobleme wie Dyspepsie, Geschwüre oder Krebs hervorrufen können, werden in Betracht gezogen. Derzeit steht H. pylori am verbreitetsten mit solchen Magenproblemen im Zusammenhang. Unter dem Ausdruck „Hemmung" oder verschiedenen Modifikationen hiervon, ist Unterdrückung, Kontrolle, Abtötung, Stase

oder irgendeine andere Störung des Wachstums von Helicobacter zu verstehen. Daher ist die vorliegende Erfindung auf die Verwendung von zumindest einem Monoglycerid, das eine gesättigte oder ungesättigte C_8-C_{16}-Fettsäure, das nicht Monolaurin ist, zur Herstellung einer Zusammensetzung zur Verwendung bei der Hemmung von Helicobacter gerichtet.

[0012] Wir haben ebenso entdeckt, daß die Verabreichung einer freien C_{12}-Fettsäure bei der Hemmung von Helicobacter ebenso wirksam ist. Daher ist die vorliegende Erfindung auch auf die Verwendung von Laurinsäure zur Herstellung einer Zusammensetzung zur Verwendung bei der Hemmung von Helicobacter gerichtet.

[0013] Fig. 1. Wirkung der Monoglycerid- und Fettsäure-Kettenlänge auf die Abtötungswirkung für Helicobacter pylori.

[0014] Die Monoglyceride, die in der vorliegenden Erfindung verwendbar sind, sind Glyceroleinheiten, die durch eine Ester- oder Etherverknüpfung an gesättigte oder ungesättigte Fettsäuren mit 8 bis 16 Kohlenstoffatomen (C_8-C_{16}) oder an gesättigte oder ungesättigte Fettalkohole mit 8 bis 16 Kohlenstoffatomen (C_8-C_{16}) angebracht sind. Bevorzugte Monoglyceride der Erfindung sind gesättigt. Stärker bevorzugte Verbindungen umfassen gesättigte C_8-C_{15}-Fettsäuren und am stärksten bevorzugt gesättigte C_8-C_{14}-Fettsäuren. Solche Monoglyceride umfassen Monocaprylin, Monopelargonin, Monocaprin, Monoundecanoin, Monotridecanoin, Monomyristin, Monopentadecanoin und Monopalmitin. Bevorzugte Monoglyceride sind Monocaprin, Monocaprylin, Monopelargonin, Monoundecanoin, Monotridecanoin und Monomyristin.

[0015] Gemäß der Erfindung ist auch die Verwendung der gesättigten freien C_{12}-Fettsäure, Laurinsäure, nützlich.

[0016] Die Fettsäuren und Monoglyceride der Zusammensetzung der Erfindung können aus einer Gruppe aus ohne weiteres erhältlichen tierischen und pflanzlichen Lipidquellen erhalten werden. Wünschenswerte Monoglyceride, die nicht kommerziell erhältlich sind, können durch Veresterung von freien Fettsäuren oder Derivaten hiervon mit Glycerol gemäß bekannten Verfahren hergestellt werden. Geeignete Derivate von Fettsäuren umfassen pharmakologisch akzeptable Salze von Alkalimetallen. Beispiele solcher Salzformen, die gemäß der Erfindung nützlich sein sollen, umfassen die Lithium- und Natriumsalze der Fettsäuren. Andere Fettsäurederivate, die hierin verwendbar sind, umfassen Esterderivate von Fettsäuren, die einem Fachmann allgemein bekannt sind. Nützliche Beispiele solcher Derivate umfassen Butyl-, Ethyl- und Methyl-ester einer gewünschten Fettsäure.

[0017] Die Patienten sind bevorzugt Menschen mit Mageninfektionen oder sind für die Entwicklung einer Mageninfektion mit Helicobacter pylori oder anderen Helicobacterspezies anfällig. Typische wirksame Mengen für eines oder mehrere Monoglycerid(e) betragen 0,001 g bis 4,30 g, bevorzugt 0,002 g bis 3,40 g und stärker bevorzugt 0,003 g bis 2,50 g pro Kilogramm (kg) Körpergewicht pro Tag.

[0018] Die Monoglyceride und/oder Laurinsäure der Erfindung werden so verabreicht, daß sie der Magenschleimhaut ausgesetzt sind. Daher sind orale Verabreichung oder Sondenernährung bequeme Verabreichungsformen.

[0019] Die Monoglyceride und Laurinsäure der Erfindung können bequemerweise in einer nahrhaften Zusammensetzung verabreicht werden. Nahrhafte Zusammensetzungen der Erfindung sind nahrungsergänzend.

[0020] Die Zusammensetzungen der Erfindung können Säuglingsrezepturen oder enterale Nahrungsrezepturen für Erwachsende und Kinder umfassen. Beispiele für kommerziell erhältliche Ernährungsprodukte, in die die Laurinsäure oder die Monoglyceride der Erfindung bequemerweise eingeführt werden können, werden nachstehend beschrieben. Beispiele für Säuglingsrezepturen umfassen: Enfamil®, Milch-basierende Rezeptur; Gerber®Baby Formula, Milch-basierende Rezeptur; Enfapro®, Milch-basierende Rezeptur; Prosobee®, Soja-basierende Rezeptur; Gerber®Soy Baby Formula, Soja-basierende Rezeptur; Nutramigen®, hypoallergene Proteinhydrolysat-Rezeptur; Pregestimil®, hypoallergene Proteinhydrolysat-Rezeptur. Beispiele für enterale Nahrungsrezepturen umfassen: Sustacal®, nahrungsergänzender oraler Zusatz; Sustacal Plus® high calorie, nahrungsergänzender oraler Lebensmittelzusatz; Boost®, nahrungsergänzender oraler Zusatz; Nutrament®, nahrungsergänzender oraler Zusatz; Isocal®, nahrungsergänzende, isotonische orale oder Sondenernährungsrezeptur; Isocal HN®, nahrungsergänzende, isotonische, Sondenernährungsrezeptur mit hohem Stickstoffgehalt; Kindercal®, nahrungsergänzende orale oder Sondenernährungsrezeptur, hergestellt für Kinder; Ultracal®, nahrungsergänzende Sondenernährungsrezeptur mit hohem Stickstoffgehalt mit Fasern, TraumaCal®, nahrungsergänzende, reduzierte Kohlenhydrat, orale oder Sondenernährungsrezeptur mit hohem Stickstoff-

gehalt; Respalor®, nahrungsergänzende, orale oder Sondenernährungsrezeptur mit hohem Kaloriengehalt, hergestellt für Lungenpatienten; Lipisorb®, nahrungsergänzende orale oder Sondenernährungsrezeptur, hergestellt für Patienten mit Fettmalabsorption; und Criticare HN, nahrungsergänzende Elementarsondenernährungsrezeptur mit hohem Stickstoffgehalt. Diese Produkte sind von Mead Johnson & Company, Evansville, Indiana, U.S.A erhältlich. Beispiele für andere kommerziell erhältliche Produkte, in die die Monoglyceride der Erfindung eingeführt werden können, werden nachstehend beschrieben. Produkte von Ross Laboratories, Columbus, Ohio, U.S.A., umfassen: Similac®, Milch-basierende Säuglingsrezeptur; Isomil®, Soja-basierende Säuglingsrezeptur; Alimentum®, hypoallergene Kaseinhydrolysatrezeptur; Ensure®, nahrungsergänzender oraler Zusatz; Advera®, nahrungsergänzende orale und Sondenernährungsrezeptur; und Pediasure®, nahrungsergänzende orale oder Sondenernährungsrezeptur, hergestellt für Kinder. Produkte von Carnation umfassen Carnation Good Start®, teilweise hydrolysierte Molkesäuglingsrezeptur, Carnation Follow-On Formula, Milch-basierende Säuglingsrezeptur, und Carnation Nutren®, nahrungsergänzende orale oder Sondenernährungsrezepturen. Produkte von Wyeth Laboratories, Philadelphia, Pennsylvania, U.S.A. umfassen SMA®, Milch-basierende Säuglingsrezeptur und Nursoy®, Soja-basierende Säuglingsrezeptur. Produkte, die von Sandoz, East Hanover, New Jersey, U.S.A erhältlich sind, umfassen Resource®, nahrungsergänzende orale oder Sondenernährungsrezeptur mit hohem Kaloriengehalt.

[0021] Die Nahrungszusammensetzung enthält eine Menge von zumindest einem Monoglycerid einer C_8-C_{16}-Fettsäure, die wirksam Helicobacter hemmt. Eine typische Menge Monoglycerid in der Nahrungszusammensetzung der Erfindung beträgt 0,05 g bis 10,0 g pro 100 Kalorien der Zusammensetzung, bevorzugt 0,1 g bis 8,0 g pro 100 Kalorien der Zusammensetzung, und stärker bevorzugt 0,2 g bis 6,0 g pro 100 Kalorien der Zusammensetzung.

[0022] Die Zusammensetzung der Erfindung ist vorzugsweise nahrungsergänzend; Nahrungsmittelzusätze und dergleichen werden jedoch ebenso in Betracht gezogen. Solche Nahrungsmittelzusätze können in Form von Kapseln, Tabletten, Pillen, Sirups oder pulverisierten Zusammensetzungen verabreicht werden, wie es einem Fachmann allgemein bekannt sein wird. Unter dem Ausdruck „nahrungsergänzend" ist zu verstehen, daß die Zusammensetzung adäquate Nährstoffe enthält, um das gesunde Menschenleben für einen längeren Zeitraum aufrecht zu erhalten. Die Zusammensetzung kann Kuhmilch-basierend, Soja-basierend sein oder auf anderen Nährstoffen basieren. Die kalorische Dichte der nahrungsergänzenden Zusammensetzung der Erfindung enthält 15 bis 60 Kalorien pro Unze Fluid in einer verabreichungsfertigen Form. Die Nahrungszusammensetzung der Erfindung kann eine Säuglingsrezeptur oder eine enterale Zusammensetzung für Erwachsene sein, die mit den Mageninhalten des Bauches in Kontakt kommen soll und somit die Ansiedlung von Helicobacter verhindert oder bereits vorhandenen Helicobacter hemmt. Daher nutzen das Verfahren und die Zusammensetzung der Erfindung entweder eine therapeutisch wirksame Menge oder eine prophylaktisch wirksame Menge. Die Zusammensetzung der Erfindung kann auf dem normalen oralen Weg oder durch Sondenernährung verabreicht werden.

[0023] Die Zusammensetzung der Erfindung enthält Inhaltsstoffe, die so gestaltet sind, daß sie die nahrhaften Erfordernisse von Säugern, insbesondere Menschen, wie eine Protein-(Aminosäure)-Quelle, eine Lipidquelle und eine Kohlenhydratquelle erfüllen. Typischerweise werden Milch, Magermilch, Kasein, hydrolysiertes Kasein, hydrolysiertes Molkeprotein, Molke, pflanzliches Proteinkonzentrat (z. B. Sojaproteinisolat), hydrolysiertes pflanzliches Protein (z. B. Soja), tierische Fette, pflanzliche Öle, Stärke, Saccharose, Fruktose, Lactose und/oder Maissirupfeststoffe zu der Zusammensetzung zugegeben, um einen Teil oder alle Aminosäuren und/oder Protein, Lipid und Kohlenhydrat ebenso wie andere Nährstoffe wie Vitamine und Mineralien zuzuführen.

[0024] Die Zusammensetzung der Erfindung umfaßt bevorzugt 0,5 g bis 10,0 g Protein, 0,1 g bis 9,0 g Lipid und 6,0 g bis 25,0 g insgesamt Kohlenhydrat pro 100 Kalorien der Zusammensetzung. Stärker bevorzugt umfaßt die Zusammensetzung der Erfindung 1,0 g bis 8,0 g Protein, 0,2 g bis 8,0 g Lipid und 7 g bis 22,9 g Kohlenhydrat pro 100 Kalorien der Zusammensetzung. Am stärksten bevorzugt umfaßt die Zusammensetzung der Erfindung 1,8 g bis 6,2 g Protein, 0,4 g bis 7,0 g Lipid und 8,0 g bis 20,0 g Kohlenhydrat pro 100 Kalorien der Zusammensetzung.

[0025] Die Kohlenhydratkomponente der Zusammensetzung der Erfindung, sofern vorhanden, kann irgendein geeignetes Kohlenhydrat sein, das in der Technik zur Verwendung in Nahrungszusammensetzungen geeignet ist. Typische Kohlenhydrate umfassen Saccharose, Fruktose, Xylitol, Glukose, Maltodextrin, Lactose, Maissirup, Maissirupfeststoffe, Reissirupfeststoffe, Reisstärke, modifizierte Maisstärke, modifizierte Tapiocastärke, Reismehl, Sojamehl und dergleichen. Ein Teil des Kohlenhydrats kann faserartig sein, wie Sojafaser, Pektin, resistente Stärke, Haferfaser, Erbsenfaser, Guargummi, Gummi arabikum, modifizierte Cellulose und

dergleichen.

[0026] Ist Lipid vorhanden, kann dies irgendein Lipid oder Fett sein, das in der Technik für die Verwendung in Nahrungszusammensetzungen geeignet ist. Typische Lipidquellen umfassen Milchfett, Safloröl, Canolaöl, Eigelblipid, Olivenöl, Baumwollsamenöl, Kokosnußöl, Palmöl, Palmkernöl, Sojbohnenöl, Sonnenblumenöl, Fischöl und Fraktionen all der oben beschriebenen Öle, die daraus stammen, wie Palmolein, mittelkettige Triglyceride (MCT) und Ester von Fettsäuren, worin die Fettsäuren zum Beispiel Arachidonsäure, Linolsäure, Palmitinsäure, Stearinsäure, Docosahexansäure, Eicosapentansäure, Linolensäure, Ölsäure, Laurinsäure, Decansäure, Caprylsäure, Capronsäure und dergleichen sind. Ölsäure-reiche Formen verschiedener Öle werden ebenso als hierin verwendbar in Betracht gezogen, wie Ölsäure-reiches Sonnenblumenöl und Ölsäure-reiches Safloröl.

[0027] Ist Protein vorhanden, kann es irgendein Protein- und/oder Aminosäuregemisch sein, das in der Technik zur Verwendung in nahrungsergänzenden Zusammensetzungen geeignet ist. Typische Proteinquellen sind tierisches Protein, pflanzliches Protein wie Sojaprotein, Milchprotein wie Kuhmilchprotein, Molkeprotein und Kasein, und Aminosäuren (oder Salze hiervon) wie Isoleucin, Phenylalanin, Leucin, Lysin, Methionin, Threonin, Tryptophan, Arginin, Glutamin, Taurin, Valin und dergleichen. Bevorzugte Proteinquellen sind Molkeprotein, Natriumkaseinat oder Calciumkaseinat, gegebenenfalls mit Aminosäuren ergänzt. Für einige Anwendungen ist eine bevorzugte Proteinquelle hydrolysiertes Protein (Proteinhydrolysat), das gegebenenfalls mit Aminosäuren ergänzt ist.

[0028] Das Proteinhydrolysat, das in der Erfindung verwendbar ist, kann irgendein geeignetes Proteinhydrolysat sein, das in einer Nahrungsrezeptur verwendet wird, wie Sojaproteinhydrolysat, Kaseinhydrolysat, Molkeproteinhydrolysat, andere tierische und pflanzliche Proteinhydrolysate und Gemische hiervon. Das Proteinhydrolysat der Zusammensetzung der Erfindung ist bevorzugt ein Sojaprotein-, Molkeprotein- oder ein Kaseinproteinhydrolysat, das kurze Peptide und Aminosäuren umfaßt, gegebenenfalls mit zusätzlichen Aminosäuren ergänzt. In einer bevorzugten Ausführungsform enthält das Proteinhydrolysat, das in der Erfindung verwendbar ist, einen hohen Prozentsatz an freien Aminosäuren (zum Beispiel mehr als 40%) und Peptidfragmente mit geringem Molekulargewicht.

[0029] Das hydrolysierte Protein der Zusammensetzung der Erfindung wird bevorzugt auch mit verschiedenen freien Aminosäuren ergänzt, um einen nahrungsergänzend ausgeglichenen Aminogehalt bereitzustellen. Beispiele solcher freien Aminosäuren umfassen L-Tryptophan, L-Methionin, L-Cystin, L-Tyrosin und L-Arginin.

[0030] Nahrungsergänzende Zusammensetzungen enthalten alle Vitamine und Mineralien, die für eine tägliche Diät wichtig sind, und diese sollten in nahrungsergänzend signifikanten Mengen vorhanden sein. Ein Fachmann wird erkennen, daß minimale Bedürfnisse für bestimmte Vitamine und Mineralien, die bekanntermaßen für eine normale physiologische Funktion wichtig sind, aufgenommen worden sind. Einem Fachmann wird ebenso verständlich sein, daß geeignete zusätzliche Mengen (Überschüsse) an Vitamin- und Mineralinhaltsstoffen bereitgestellt werden muß, um den Verlust während der Verarbeitung und Lagerung solcher Zusammensetzungen zu kompensieren. Die Zusammensetzung der Erfindung enthält bevorzugt zumindest 100% der U.S. Recommended Daily Allowance (RDA) in 500 bis 4000 cal der Zusammensetzung, bevorzugt 600 bis 3000 cal der Zusammensetzung.

[0031] Die Auswahl einer speziellen Vitamin- oder Mineralverbindung, die in der Zusammensetzung verwendet werden soll, erfordert die Betrachtung des chemischen Wesens der Verbindung im in Hinblick auf die Kompatibilität mit der Verarbeitung und der Haltbarkeit.

[0032] Beispiele für Mineralien, Vitamine und andere Nährstoffe, die gegebenenfalls in der Säuglingsrezeptur der Erfindung vorhanden sind, umfassen Vitamin A, Vitamin B6, Vitamin B12, Vitamin E, Vitamin K, Vitamin C, Vitamin D, Inositol, Taurin, Folsäure, Thiamin, Riboflavin, Niacin, Biotin, Pantothensäure, Cholin, Calcium, Phosphor, Iod, Eisen, Magnesium, Kupfer, Zink, Mangan, Chlorid, Kalium, Natrium, Beta-Karotin, Nukleotide, Selen, Chrom, Molybdän und L-Karnitin. Mineralien werden für gewöhnlich in Salzform zugegeben. Zusätzlich zu Kompatibilitäts- und Stabilitätsbetrachtungen werden die Gegenwart und die Mengen spezieller Mineralien und anderer Vitamine in Abhängigkeit der vorgesehenen Verbraucherpopulation etwas variieren.

[0033] Die Zusammensetzung der Erfindung enthält typischerweise ebenso Emulgatoren und/oder Stabilisatoren wie Lezithin (z. B. Ei oder Soja), modifiziertes Lezithin (z. B. Enzym oder acetyliert), Carrageenan, Xanthangummi, Mono- und Diglyceride, Guargummi, Carboxymethylcellulose, Stearoyllactylate, sukzinylierte Monoglyceride, Saccharoseester von Fettsäuren, Diacetylweinsäureester von Monoglyceriden, Polyglycerolester

von Fettsäuren oder irgendein Gemisch hiervon.

[0034] Die Zusammensetzung der Erfindung kann unter Verwendung von Standardtechniken, die in der Technik der Nährstoffe bekannt sind, hergestellt werden, zum Beispiel durch Techniken, die denen, die in den US-Patenten 4,670,268; 4,497,800; 5,104,677; 5,223,285 offenbart werden, analog sind. Verwendbare Monoglyceride oder Fettsäuren können durch Standardtechniken, die in der Technik der Nährstoffe bekannt sind, in die Zusammensetzung der Erfindung eingeführt werden. Beispiele für solche Techniken umfassen Trockenmischen in Pulvervormischungen, Zugabe in Form von Flüssigproduktemulgatoren, Zugabe mit alternativen Ölen und Lipidgemischen oder direkte Zugabe zu einem flüssigen Produkt während der routinemäßigen Herstellungsverfahren.

[0035] Die Zusammensetzung der Erfindung kann je nach Bedarf durch Techniken, die in der Technik bekannt sind, sterilisiert, zum Beispiel durch Wärmebehandlung wie Autoklavieren oder Retortenschwelen, Bestrahlung und dergleichen oder durch aseptische Technologie verarbeitet und verpackt werden.

[0036] Die Zusammensetzung der Erfindung kann in irgendeinen Behälter verpackt werden, der in der Technik zur Lagerung nahrhafter Produkte verwendbar ist, wie Glas, ausgekleideter Karton, Kunststoff, beschichtete Metalldosen und dergleichen.

[0037] Bei der Verwendung der Erfindung zur Hemmung von Helicobacter, oder die Zusammensetzung der Erfindung, kann aus einem oder mehreren Monoglyceriden oder Laurinsäure in freier Form oder als ein Teil eines Diglycerids oder Triglycerids, die während der Verdauung durch Speichel und Magensekrete zur Freisetzung oder Erzeugung der freien und aktiven Form des Monoglycerids oder der Laurinsäure modifiziert werden können, bestehen.

[0038] Bei der Verwendung der Erfindung wird in Betracht gezogen, daß wirksame Antibiotika und andere Substanzen wie Wismut, Metronidazol, Tetracyclin, Ampicillin oder Benzimidazol-Protonenpumpen-Inhibitoren wie Omeprazol, die gegen Helicobacter wirksam sein sollen, in Verbindung mit den Monoglyceriden der Erfindung verwendet werden können.

[0039] Die Entwicklungsfrequenz der Resistenz des MG und der FFA, die in der vorliegenden Erfindung verwendbar sind, durch H. pylori ist bevorzugt kleiner als mit anderen herkömmlich verwendeten antimikrobiellen Mitteln, zum Beispiel Tetracyclin und Metronidazol.

[0040] Die folgenden Beispiele veranschaulichen die Erfindung, sollen diese jedoch nicht einschränken.

Beispiel 1

Hemmung von Helicobacter pylori durch Monoglyceride

[0041] Stammkulturen von H. pylori wurden auf Pferdeblutagar bei 3 bis 5 Tages-Intervallen in GasPak-Glasgefäßen gehalten. Teststämme von H. pylori konnten in 10 ml Brucella-Bouillon, die 10% fetales Rinderserum enthält, bei 37°C unter mikroaerophilen Bedingungen auf einem kreisenden Plattformshaker wachsen. Nach der Inkubation bis das geeignete Wachstum zu erkennen war, wurden bakterielle Zellen in 2,8% (G/V) Brucella-Bouillon gewaschen und auf eine gewünschte Konzentration durch routinemäßige turbidimetrische Verfahren eingestellt. Die gewaschenen Bakterienzellen wurden dann bei 5–10 × 10^5 CFU/ml in 2% (G/V) Brucella-Bouillon (pH 7,2) mit verschiedenen Konzentrationen an FFA oder MG suspendiert und bei 37°C 1 Stunde inkubiert. Die Kontrollproben bestanden aus den Testbakterien, die unter ähnlichen Bedingungen in Brucella-Bouillon ohne FFA oder MG inkubiert wurden. Die Anzahl der lebensfähigen Bakterien, die in den Testgemischen verblieben, wurde durch Standard-Plattenauszählverfahren auf Schokoladenagar bestimmt.

[0042] Die Wirkung von Mittelketten-(C_8-C_{12})-FFA und MG auf die Lebensfähigkeit von H. pylori wird in Tabelle 1 gezeigt. Die Teststämme von H. pylori wurden ursprünglich von menschlichen Patienten erhalten und wurden mit HP-2 (ATCC 43579), HP-4 (ATCC 43629) und HP-5 (ATCC 49503) gekennzeichnet. Bei den Kontrollproben wurde keine Veränderung hinsichtlich der Anzahl der lebensfähigen Zellen nach der 1 stündigen Inkubation beobachtet. Die Teststämme von H. pylori waren auf C_{10}-MG (Monocaprin), C_{12}-MG (Monolaurin) und C_{12}-FFA (Laurinsäure) am empfindlichsten, was die 10.000-fache oder größere Verringerung der Zellanzahl nach einer 1 stündigen Inkubation anzeigt. Alle 3 Teststämme waren auf C_8-MG (Monocaprylin) weniger empfindlich, was die 1000-fache oder größere Verringerung der Zellanzahl anzeigt. Keiner der Teststämme von H. pylori wurde von bis zu 5 mM C_8-FFA oder C_{10}-FFA beeinflußt.

Beispiel 2

Monoglyceride in nahrhaften Zusammensetzungen

[0043] MGs sind in der Lebensmittelindustrie seit 1930 wegen ihrer Emulgier- und schaumhemmenden Eigenschaften verwendet worden. Außerdem werden MGs zu Emulgierzwecken zu nahrhaften Produkten für Kinder und Erwachsene zugegeben. Andere potentielle Quellen für MG in diesen Produkten umfassen Lezithin und die Lipid- oder Fettbeimischungen, die bei der Formulierung dieser Produkte verwendet werden. Der MG-Gehalt repräsentativer nahrhafter Produkte für Kinder und Erwachsene wurde unter Verwendung der Standard Dünnschichttrennungs- und Gaschromatographie-Verfahren bewertet. Die Ergebnisse zeigen an, daß der MG-Gesamtgehalt normalerweise zwischen 10,4 und 921,2 mg pro Liter der nahrhaften Zusammensetzung liegt (Tabelle 2). Der MG-Gehalt von Pulverprodukten ist normalerweise kleiner als der von flüssigen nahrhaften Produkten; Bereich in Pulverprodukten 10,4 bis 20,2; Bereich in flüssigen Produkten 22,3 bis 921,2. Die Fettsäurezusammensetzung des MGs, die in nahrhaften Produkten für Kinder und Erwachsene zu finden ist, wird in den Tabellen 3 und 4 gezeigt. Fettsäuren, die in den höchsten Konzentrationen in MG in nahrhaften Produkten zu finden sind, umfassen $C_{18:0}$ (Stearin), $C_{16:0}$ (Palmitin) und $C_{14:0}$ (Myristin). Die höchsten Niveaus an Mittelkettenfettsäuren in MG von nahrhaften Produkten für Kinder waren wie folgt: $C_{8:0}$ (Capryl), 1,8 mg/l; $C_{10:0}$ (Caprin), 1,0 mg/l; $C_{12:0}$ (Laurin), 5,7 mg/l. Die höchsten Niveaus an Mittelkettenfettsäuren in MG von nahrhaften Produkten für Erwachsene waren wie folgt: $C_{8:0}$ (Capryl), 4,4 mg/l; $C_{10:0:}$ (Caprin), 2,1 mg/l; $C_{12:0}$ (Laurin), 1,2 mg/l. Zusammengefaßt zeigen diese Daten, daß nahrhafte Produkte für Kinder und Erwachsene normalerweise $C_{8:0}$, $C_{10:0}$ und $C_{12:0}$ MG bei weniger als 10 mg/l (ungefähr 0,05 mM) enthalten.

Beispiel 3

Hemmende Wirkung von Monoglyceriden in nahrhaften Zusammensetzungen

[0044] Um das antiinfektiöse Potential von MG in nahrhaften Zusammensetzungen zu bewerten, wurden mehrere experimentelle Produkte mit variierenden Niveaus an MG zur Bewertung der antimikrobiellen Eigenschaften hergestellt. Nahrhafte Zusammensetzungen können mit unterschiedlichen Fett- und Proteinquellen formuliert werden. In Tabelle 5 werden drei Beispiele für MG-ergänzte nahrhafte Zusammensetzungen dargestellt. Formulierung I (Sustacal) wurde mit Sojaöl und Kasein und Sojaprotein bei einem Verhältnis von etwa 75 : 25 hergestellt. Formulierung II (Nutrament) wurde mit Sojaöl und Milchproteinen, die Kasein und Molkeproteine enthalten, bei einem Verhältnis von etwa 90 : 10 hergestellt. Formulierung III (Ultracal) wurde mit Sojaöl und MCT-Öl und Kasein als die einzige Proteinquelle hergestellt.

[0045] Ein in vitro-Assay wurde zur Bewertung der hemmenden Eigenschaften nahrhafter Zusammensetzungen, die Mittelketten (C_8-C_{12})-FFA und MG enthalten, für Helicobacter pylori verwendet. Stammkulturen von H. pylori (ATCC 43629) konnten in 10 ml Brucella-Bouillon, die 10% fetales Rinderserum enthält, bei 37°C unter mikroaerophilen Bedingungen auf einem kreisenden Plattformshaker wachsen. Nach der Inkubation bis das geeignete Wachstum zu erkennen war, wurden Bakterienzellen in 2,8% (G/V) Brucella-Bouillon gewaschen und auf eine gewünschte Konzentration durch routinemäßige turbidimetrische Verfahren eingestellt. Die gewaschenen Bakterienzellen wurden dann bei 5×10^5 CFU/ml in nahrhaften Prototypprodukten, die MG oder FFA enthalten, suspendiert und bei 37°C 1 Stunde inkubiert.

[0046] Die Kontrollproben bestanden aus den Testbakterten, die unter ähnlichen Bedingungen in Brucella-Bouillon ohne FFA oder MG inkubiert wurden. Die Anzahl der lebensfähigen Bakterien, die in den Testgemischen nach einer Stunde verblieben, wurden durch Standard-Plattenauszählverfahren entweder auf Schokoladenagar- oder Pferdeblutagarplatten bestimmt.

[0047] Die Wirkung von Mittelketten-(C_8-C_{12})-FFA und MG in den nahrhaften Prototypzusammensetzungen auf die Lebensfähigkeit von H. pylori wird in Tabelle 6 gezeigt. Die getesteten nahrhaften Zusammensetzungen bestanden aus den Formulierungen I, II und III (Tabelle 5), die Mittelketten-FFA oder MG bei Niveaus im Bereich von 5 bis 20 mM enthalten. Die Ergebnisse werden in Tabelle 6 gezeigt. Sowohl die C_8- als auch die C_{10}-FFA (Caprylsäure, Caprinsäure) hemmten bei Niveaus von bis zu 20 mM nicht. Laurinsäure (C_{12}-FFA) verursachte eine 1.000-fache oder größere Verringerung der Zellebensfähigkeit bei 20 mM in zwei von drei Beispielformulierungen. Geringere Niveaus an C_{12}-FFA hemmten nicht. Alle 3 getesteten MGs (C_8, C_{10}, C_{12}) verursachten eine 1000-fache oder größere Verringerung der Lebensfähigkeit von H. pylori, wenn bei 10 mM eine Stunde getestet wurde. C_{10}- und C_{12}-MG (Monocaprin, Monolaurin) verursachten ähnliche Veränderungen, wenn bei 5 mM getestet wurde.

Beispiel 4

Bakterielle Wirkung von MG und FFA mit variierender Kettenlänge

[0048] Um die Beziehung zwischen der Kohlenstoffkettenlänge und der potentiellen antiinfektiösen Wirkung von MG und FFA gegen H. pylori zu definieren, wurden ungerad- und geradkettiges MG und FFA mit Kohlenstoffkettenlängen im Bereich von $C_{4:0}$ bis $C_{17:0}$ hinsichtlich der bakteriellen Wirkung gegen H. pylori verglichen. Die hemmende Wirkung von MG und FFA wurde gegenüber einem H. pylori-Laborstamm HP-4 (ATCC 43629) durch die Verfahren, die in Beispiel 1 beschrieben werden, bewertet. Die gewaschenen Bakterienzellen wurden in Brucella-Bouillon (~5×10^5 CFU/ml), die Test-MG oder FFA enthält, suspendiert und bei 37°C eine Stunde inkubiert. Es wurden serienmäßige Verdünnungen der bakteriellen Suspensionen hergestellt und auf Pferdeblutagarplatten plattiert, um die Anzahl der lebensfähigen Zellen, die die Behandlung überlebten, zu bestimmen.

[0049] Die Wirkung von ungerad- oder geradkettigem(r) MG und FFA auf die Lebensfähigkeit von H. pylori, die im Bereich des 10-fachen (1 log Einheit) bis größer als das 10.000-fache (4 log Einheiten) liegt, wurde für MG mit Kettenlängen im Bereich von C_8 bis C_{16} ($C_{8:0}$, $C_{9:0}$, $C_{10:0}$, $C_{11:0}$, $C_{12:0}$; $C_{13:0}$ $C_{14:0}$, $C_{15:0}$, $C_{16:0}$) beobachtet. MGs mit kürzeren Ketten ($C_{4:0}$ bis $C_{7:0}$) wurden aufgrund der nicht vorhandenen Verfügbarkeit nicht getestet. Die bakterizide Wirkung eines $C_{12:1}$-MGs, das eine einzelne Doppelbindung in der 1-Stellung enthält, war geringer als die der ungesättigten Form ($C_{12:0}$), was darauf schließen läßt, daß gesättigte Formen bakterizider sind als ungesättigte MGs. Im Gegensatz zur bakteriziden Wirkung von MG, war Laurinsäure ($C_{12:0}$-FAA) die einzige FFA von den getesteten ($C_{4:0}$ bis $C_{17:0}$), die eine bakterizide Wirkung für H. pylori zeigte.

Beispiel 5

Erzeugung von Resistenz von MG oder FFA durch H. pylori

[0050] Die Fähigkeit von H. pylori Resistenz gegen die bakterizide Wirkung von MG und FFA zu entwickeln, wurde aufgrund von Berichten, die zeigen, daß das Aufkommen von Resistenz gegen Metronidazol und andere antimikrobielle Mittel ein Problem bei der Behandlung von H. pylori-Infektionen ist (Glupczynski, Y. A. Burette, E. de Koster, et al., Metronidazole resistance in Helicobacter pylori (letter), Lancet 1990; 335: 976–977; Marshall, B. J. Treatment strategies for Helicobacter pylori infection, Gastroenterol, Clinics North Amer. 1993; 22: 183 bis 198). Die Häufigkeit der angeborenen Resistenz gegen $C_{10:0}$-MG, $C_{12:0}$-MG, und $C_{12:0}$-FFA von drei Stämmen H. pylori (HP-2, HP-4, HP-5) wurde mehrmals anhand der minimalen inhibierenden Konzentrationen (MIK) der Testmittel bewertet und mit der angeborenen Resistenz der Teststämme gegen Tetracyclin und Metronidazol verglichen. Die Häufigkeit der in vitro-Resistenzentwicklung wurde durch das Verfahren von Fernandes, et al. (Fernandes, PB, CW Hanson, JM Stamm, C. Vojtko, NL Shipkowitz, und E St. Martin. The frequency of in vitro resistance development to fluoroquinolones und the use of murine pyelonephritis model to demonstrate selection of resistance in vivo J. Antimicrob. Chemother. 1987; 19: 449–465) bestimmt. Eine über Nacht-Kultur von H. pylori wurde gewaschen und auf Pferdeblutagarplatten (~10^7 bis 10^8 CFU/Platte), die das 2- bis 10-fache der geschätzten MIK des Test-MG, -FFA oder Antibiotika enthalten, plattiert. Die Platten wurden 5 Tage bei 37°C unter mikroaerophilen Bedingungen inkubiert. Die Anzahl der resistenten Kolonien wurde gezählt und mit der Anzahl der lebensfähigen Zellen im Ausgangsimpfstoff, wie durch Standard-Verdünnungs-Plattenauszählung auf Pferdeblutagarplatten ohne antimikrobielle Mittel bestimmt, verglichen.

[0051] Vorbereitende Studien bestimmten, daß die MIK von $C_{10:0}$-MG, $C_{12:0}$-MG, und $C_{12:0}$-FFA für H. pylori ungefähr 60, 15 bzw. 50 mg/l beträgt. Im allgemeinen war die Häufigkeit von angeborener Resistenz unter H. pylori-Stämmen kontinuierlich höher gegen Metronidazol und Tetracyclin als gegen MG und FFA (Tabelle 7). Während die Muster der Empfindlichkeit gegenüber Metronidazol und Tetracyclin unter den drei Teststämmen von H. pylori variiert, liegt die Anzahl der Resistenzvarianten gegenüber Metronidazol oder Tetracyclin, wenn bei der 5-fachen MIK im Bereich von etwa 50 bis größer als 1000 pro 10^8 Zellen für jeden Stamm H. pylori (Resistenzhäufigkeit, 10^{-5} bis 10^{-7}) getestet wurde. Wie erwartet, fielen die Häufigkeiten der angeborenen Resistenz mit steigender Konzentration der Testantibiotika. Im Gegensatz dazu wurden keine Resistenzvarianten von H. pylori gefunden, wenn 10^8 Zellen auf Medien plattiert wurden, die $C_{10:0}$-MG, $C_{12:0}$-MG oder $C_{12:0}$-FFA bei Konzentrationen von nur dem Zweifachen der MIK (Resistenzhäufigkeit < 1×10^{-8}) enthalten.

[0052] Der begrenzte Wirtsmechanismusbereich für Helicobacter pylori hat die Entwicklung eines verbreitet akzeptierten Tiermodells einer H. pylori-Infektion verhindert. Obgleich gezeigt worden ist, daß H. pylori keimfreie Ferkel und nicht menschliche Primaten infiziert, sind solche Modelle nicht nur teuer und unbequem, sondern es ist auch über Unterschiede hinsichtlich histopathologischer Veränderungen berichtet worden, die im

Vergleich zur menschlichen Krankheit auftreten. Andere Tiermodelle mit Helicobacter-Infektion, basierend auf Bakterien die H. pylori ähneln, die in der Magenschleimhaut verschiedener Tiere wie Frettchen, Katze und Affe, gefunden wurden, sind beschrieben worden. Ein solches Modell umfaßt die Inokulation erwachsener Mäuse mit Helicobacter felis (Fox, JG, JC Murphy, NS Tay-lor, A Lee, Z Kabob und L. Pappo., Local und systemic immune responses in murine Helicobacter felis active chronic gastritis., Infect. Immun. 1993; 61: 2309 bis 2315; Dick-Hegedus, E und A. Lee. Use of a mouse model to examine anti-Helicobacter pylori agents., Scared. J. Gastroenterol. 1991; 26: 909 bis 915).

[0053] Es wurden vorbereitende Studien durchgeführt, um die antiinfektiöse Wirkung von MG und FFA gegen Helicobacter-Infektion in vivo unter Verwendung von H. felis-infiziertem Mausmodell zu bewerten. Erwachsene Mäuse wurden ~1 × 10^7 CFU H. felis ausgesetzt und auf einer nahrungsergänzenden Flüssignahrung gehalten. Zwei Wochen später wurden die Mäuse in willkürliche Behandlungsgruppen eingeteilt und auf der Flüssignahrung allein oder derselben Diät, ergänzt mit $C_{10:0}$-MG oder $C_{12:0}$-MG bei einem Niveau von 1, 5 oder 10 mM gehalten. Die Magenkolonisierung mit H. felis in den Mäusen wurde 1 und 3 Wochen später durch die Bewertung der Ureaseaktivität (Hazell, SL, TJ Barody, A Gal, und A Lee., Campylobacter pyloridis gastritis I: Detection of urease as a marker of bacterial colonization und gastritis. Am. J. Gastroenterol. 1987; 82: 292 bis 296) und der histopathologischen Einschätzung der bakteriellen Infektion in Magengeweben bestimmt.

[0054] Ungefähr 90% der Kontrollmäuse, die mit der Flüssignahrung allein gefüttert wurden, zeigten nach einer Woche der Behandlung den Beweis einer H. felis-Infektion (d. h. Urease positiv, Histologie positiv). Die Mäusegruppen, die mit der Nahrung gefüttert wurden, die $C_{10:0}$-MG enthält, zeigten dosenabhängige Verringerungen hinsichtlich der Anzahl von Urease- und Histologie-positiven Mäusen, was auf eine Verringerung der H. felis-Infektion durch die Behandlung infizierter Mäuse mit $C_{10:0}$-MG schließen läßt. Geringere Infektionsniveaus wurden auch bei den Mäusen beobachtet, die Urease-positiv waren und denen $C_{10:0}$-MG gegeben wurde, im Vergleich zu den Kontrollmäusen (Histologiewert). Drei Wochen nach dem Beginn der Behandlung waren die Zahlen der Urease-positiven und Histologie-positiven Mäuse mit der Anzahl, die bei der infizierten Kontrollgruppe beobachtet wurde, vergleichbar (~80 bis 100%), während der Histologiewert in Mäusen, die 10 mM $C_{10:0}$ MG erhielten, geringer blieb. Die Ergebnisse aus der zweiten Studie zeigen keine signifikante Verringerung der H. felis-Infektion in erwachsenen Mäusen nach der täglichen Behandlung durch intragastrische Sondenfütterung für 1 oder 3 Wochen mit $C_{10:0}$-MG (1,4 oder 2,8 mg/Tag).

[0055] Es existieren mehrere Gründe, warum die orale Verabreichung von MG bei der Ausrottung einer H. felis-Infektion bei Mäusen in diesen vorbereitenden Studien nicht vollends erfolgreich war. Erstens, könnte die Gesamtmenge an MG, die den Mäusen verabreicht wurde, nicht ausreichend gewesen sein, um die Infektion vollständig auszulöschen; zusätzliche Studien wären erforderlich, um die Wirkung von höheren Niveaus an MG zu bestimmen. Zweitens, könnte die Lipaseaktivität und die Absorptionsmechanismen in den Bäuchen der Testmäusen die Mengen an MG, das zur Ausübung einer hemmenden Wirkung auf H. felis verfügbar ist, verringert haben. Schließlich neigt H. felis dazu, sich tief im Magengrübchenbereich des Mäusemagens anzusiedeln, was die Aussetzung zu MG, das im Lumen des Bauches während der Fütterung vorhanden ist, einschränken könnte. Im Gegensatz dazu ist berichtet worden, daß sich H. pylori meistens in der Schleimhautschicht oder in der näheren Umgebung der Oberfläche der Magenepithelzellen ansiedelt (Neri, M, D. Susi, I Bovani, F Laterza, A Mezzetti, und F Cuccurullo., Bacterial mucosal infiltration in Helicobacter pylori-associated gastritis: histological und clinical consequences. Am. J. Gastroenterol. 1994; 89: 1801 bis 1805), wodurch eine stärkere Aussetzung zu luminalem MG möglich wäre.

Tabelle 1

Hemmende Wirkung von mittelkettigen Monoglyceriden und Fettsäuren für Helicobacter pylori

		Verringerung der Anzahl von lebensfähigen H.pylori-Zellen (CFU/ml)		
Monoglycerid oder Fettsäure	Fettsäurenkettenlänge	ATCC #43579	ATCC #43629	ATCC #49503
Caprylsäure 1 mM	C8	Keine	Keine	Keine
Caprylsäure 5 mM		Keine	Keine	Keine
Caprinsäure 1 mM	C10	Keine	Keine	Keine
Caprinsäure 5 mM		Keine	Keine	Keine
Laurinsäure 1 mM	C12	> 100.000fache	> 50.000fache	> 10.000fache
Laurinsäure 5 mM		n. g.	n. g.	n. g.
Monocaprylin 1 mM	C8	Keine	Keine	Keine
Monocaprylin 5 mM		> 4.000fache	> 3.000fache	> 40.000fache
Monocaprin 1 mM	C10	> 100.000fache	> 60.000fache	> 30.000fache
Monocaprin 5 mM		n. g.	n. g.	n. g.
Monolaurin 1 mM*	C12	> 100.000fache	> 50.000fache	> 30.000fache
Monolaurin 5 mM		n. g.	n. g.	n. g.

n. g. = nicht getestet

Anmerkung: keine Veränderung der Anzahl der lebensfähigen H.pylori, definiert als weniger als die 5-fache Verringerung in CFU/ml.

* nicht Teil der Erfindung

Tabelle 2

Gesamtgehalt an Fett und Monoglyceriden von nahrhaften Produkten für Kinder und Erwachsene

Produkt	Form	Gesamtfett (% G/V)	Gesamt MG (mg/l)
Enfamil	Pulver	4,11	18,54
ProSobee	Flüssigkeit	3,66	237,90
Enfapro	Pulver	2,94	20,23
Carnation Follow-on	Flüssigkeit	6,01	31,70
Nutramigen	Pulver	3,04	10,40
Pregestimil	Pulver	4,24	15,70
Pediasure	Flüssigkeit	5,13	372,63
Kindercal	Flüssigkeit	4,30	588,99
Sustagen Mighty Drink	Pulver	1,07	14,56
Sustacal	Flüssigkeit	2,40	37,40
Sustacal Plus	Flüssigkeit	5,40	37,43
Ultracal With Fiber	Flüssigkeit	3,73	356,48
Isocal HN	Flüssigkeit	5,06	244,26
Lipisorb	Pulver	5,12	19,42
Lipisorb	Flüssigkeit	4,89	921,23
Boost	Flüssigkeit	2,91	22,30
Nutrament	Flüssigkeit	2,81	24,75
Traumacal	Flüssigkeit	5,98	24,70
Respalor	Flüssigkeit	6,61	30,30
Advera	Flüssigkeit	2,72	176,88

Anmerkung:

Messungen bei normaler Gebrauchsverdünnung.

Tabelle 3

Fettsäuregehalt von Monoglyceriden in nahrhaften Produkten für Kinder

	Fettsäuregehalt (mg/l)							
Produkt	C8:0	C10:0	C12:0	C14:0	C16:0	C18:0	C18:1	C18:2N6
Enfamil	0,14	0,14	1,41	1,19	4,48	0,71	3,5	5,9
ProSobee	0,02	0,33	5,66	5,00	125,14	83,5	7,0	8,6
Enfapro	0,07	0,25	0,48	0,8	7,6	0,7	5,5	4,7
Carnation Follow-on	0,0	0,5	0,8	1,0	11,3	1,8	9,5	5,6
Nutramigen	0,05	0,2	0,1	0,04	2,3	0,0	2,4	5,3
Pregestimi	1,8	1,0	0,1	0,02	3,4	0,0	3,6	5,7
Pediasure	0,15	0,6	0,2	1,1	41,2	319,8	4,3	3,4
Kindercal	0,6	0,3	2,1	7,0	254,4	314,9	3,4	3,6
Sustagen Mighty Drink	0,44	0,6	0,6	2,6	6,7	0,8	1,7	0,5

Anmerkung:

vernachlässigbare Mengen gefunden für C15:0, C16:1, C18:3N6, C18:3N3, C18:4N3, C20:0, C20:1, C22, C23, C24.

Tabelle 4

Fettsäuregehalt von Monoglyceriden in nahrhaften Produkten für Erwachsene

	Fettsäuregehalt (mg/l)							
Produkt	C8:0	C10:0	C12:0	C14:0	C16:0	C18:0	C18:1	C18:2N6
Sustacal (RTU)	0,1	0,1	0,3	0,1	7,3	3,1	8,4	16,3
Sustacal Plus	0,1	0,1	0,5	1,1	10,3	2,2	5,2	14,4
Ultracal With Fiber	4,4	1,1	0,5	2,8	109,8	144,4	1,7	4,5
Isocal HN	1,7	0,8	0,2	1,6	72,0	74,6	2,4	4,9
Lipisorb (Pulver)	3,2	2,0	0,5	0,6	4,0	0,3	2,9	5,5
Lipisorb (Flüssigkeit)	2,7	2,1	1,2	7,4	297,4	255,8	0,5	2,5
Boost	0,1	0,3	0,9	1,7	5,6	1,4	6,9	4,0
Nutrament	0,1	0,3	0,4	0,9	7,5	3,0	4,1	4,7
Traumacal	0,6	0,6	0,8	1,3	7,0	4,9	3,1	5,2
Respalor	0,6	0,2	0,7	1,1	6,8	0,3	11,2	6,6
Advera	0,2	0,0	0,2	0,4	15,0	156,1	2,5	1,1

Anmerkung:

vernachlässigbare Mengen gefunden für C15:0, C16:1, C18:3N6, C18:3N3, C18:4N3, C20, C22, C23, C24.

Tabelle 5

Nahrhafte Zusammensetzung mit Monoglycerid-Formulierungsbeispielen

Formulierung I Inhaltsstoff	kg/1.000 l
Kasein	38,04
Maissirup, fest	131,23
Sojaproteinisolat	5,04
Saccharose	46,49
Sojaöl	34,24
Lezithin	2,14
Carrageenan	0,43
Cholinclorid	0,63
Eisen(III)pyrophosphat	0,04
Calciumphosphat, dreibasig	1,24
Kaliumchlorid	1,30
Magnesiumchlorid	1,75
Kaliumcitrat	2,58
Natriumzitrat	1,58
Eisen(II)sulfat, Heptahydrat	0,01
trockene Vitaminvormischung	0,50
Spurenmineralvormischung	0,07
Vitamin ADEK-Vormischung	0,08

Formulierung II Inhaltsstoff	kg/1.000 l
Saccharose	80,91
Maissirup, flüssig	25,80
Sojaproteinisolat	5,64
nicht fettige Milch, fest	84,10
Sojaöl	27,74
Kaseinatfeststoffe	9,32
Lezithin	0,28
Gelcarin MMR	0,32
Vitamin ADE-Vormischung	0,11
Magnesiumchlorid	1,02
Magnesiumphosphat, zweibasig	1,02
trockene Vitaminvormischung	0,26
Spurenmineralvormischung	0,11

Tabelle 5 (Fortsetzung)

Nahrhafte Zusammensetzung mit Monoglycerid-Formulierungsbeispielen

Formulierung III Inhaltsstoff	kg/1.000 l
Kaseinatfeststoffe	48,17
Maltodextrin	124,31
Canolaöl	26,63
MCT-Öl	18,17
Monodiglyceride	0,66
Lezithin	0,66
Carrageenan	0,08
Cholinclorid	0,66
L-Karnitin	0,19
Natriumphosphat, zweibasig	0,65
Kaliumchlorid	0,71
Magnesiumchlorid	2,48
Calciumphosphat, dreibasig	0,96
Natriumzitrat	0,63
Kaliumzitrat	2,45
Eisen(II)sulfat, Heptahydrat	0,07
trockene Vitaminvormischung	1,40
Spurenmineralvormischung	0,09
Vitamin ADEK-Vormischung	0,12
wilder Haferfaser	4,49
Sojafaser	14,77

Tabelle 6

Bakterielle Wirkung von Monoglyceriden in nahrhaften Produkten für Helicobacter pylori

	Verringerung der lebensfähigen Zellanzahl (Log CFU/ml)		
Monoglycerid oder Fettsäure	Sustacal	Nutrament	Ultracal
Caprylsäure 5 mM	0,00		0,06
Caprylsäure 10 mM	0,00		-0,20
Caprylsäure 20 mM	0,02	-0,21	-0,81
Caprinsäure 5 mM	0,00		0,03
Caprinsäure 10 mM	0,00		-0,03
Caprinsäure 20 mM	-0,09	-0,08	-0,33
Laurinsäure 5 mM	0,00		0,33
Laurinsäure 10 mM	0,05		-1,05
Laurinsäure 20 mM	-3,33	-0,42	-3,96
Monocaprylin 5 mM	0,37	-4,23	0,00
Monocaprylin 10 mM	-3,44	-4,23	-3,64
Monocaprylin 20 mM	n. g.	n. g.	-4,46
Monocaprin 5 mM	-3,78	-4,00	-4,40
Monocaprin 10 mM	-3,91	-4,14	-4,40
Monocaprin 20 mM	n. g.	n. g.	n. g.
Monolaurin 5 mM*	-3,41	-4,23	-3,04
Monolaurin 10 mM	-3,77	-3,87	-4,40
Monolaurin 20 mM	n. g.	n. g.	n. g.

n. g. = nicht getestet

* nicht Teil der Erfindung

Tabelle 7

Entwicklungshäufigkeit der Resistenz gegen MG, FFA oder Antibiotika durch Helicobacter pylori

Testgegenstand	H. pylori-Stamm	MIK (mg/l)	Häufigkeit der resistenten Mutanten[a]		
			2 x MIK	5 x MIK	10 x MIK
Monocaprin ($C_{10:0}$)	43579	60,0	< 1	< 1	< 1
	43629		< 1	< 1	< 1
	49503		< 1	< 1	< 1
Monolaurin ($C_{12:0}$)	43579	15,0	< 1	< 1	< 1
	43629		< 1	< 1	< 1
	49503		< 1	< 1	< 1
Laurinsäure ($C_{12:0}$)	43579	50,0	< 1	< 1	< 1
	43629		< 1	< 1	< 1
	49503		< 1	< 1	< 1
Tetracyclin	43579	0,1	TNTC	TNTC	< 1
	43629		> 1.000	242	< 1
	49503		184	< 1	< 1
Metronidazol	43579	2,0	> 1.000	862	518
	43629		791	< 1	< 1
	49503		> 1.000	48	< 1

[a] Anzahl spontaner Mutanten, die nach der Inkubation von H. pylori (~ 1 x 10^8 CFU) auf Pferdeblutagar, das die angegebene Konzentration an MG, FFA oder Antibiotikum enthält, gefunden wurde. Die gezeigten Ergebnisse sind repräsentative Daten, die aus zumindest 2 einzelnen Experimenten mit jedem H. pylori-Stamm erhalten wurden.

Patentansprüche

1. Verwendung von Laurinsäure oder zumindest eines Monoglycerids einer C_8-C_{16}-Fettsäure zur Herstellung einer Zusammensetzung zur Verwendung bei der Hemmung von Helicobacter bei einem Patienten, wobei das Monoglycerid aus der Gruppe, bestehend aus Monocaprylin, Monocaprin, Monopelargonin, Monoundecanoin, Monotridecanoin, Monomyristin, Monopentadecanoin und Monopalmitin ausgewählt ist.

2. Verwendung nach Anspruch 1, wobei die Zusammensetzung 0,5 bis 10,0 g Protein, 0,1 bis 9,0 g Lipid und 6,0 bis 25,0 g Kohlenhydrat pro 100 Kalorien der Zusammensetzung umfaßt.

3. Verwendung nach Anspruch 1, wobei die Zusammensetzung 1,0 bis 8,0 g Protein, 0,2 bis 8,0 g Lipid und 7 bis 22,9 g Kohlenhydrat pro 100 Kalorien der Zusammensetzung umfaßt.

4. Verwendung nach Anspruch 1, wobei die Zusammensetzung 1,8 bis 6,2 g Protein, 0,4 bis 7,0 g Lipid und 8,0 bis 20,0 g Kohlenhydrat pro 100 Kalorien der Zusammensetzung umfaßt.

5. Verwendung nach Anspruch 1, wobei die Zusammensetzung 0,05 bis 10,0 g von entweder Laurinsäure oder dem zumindest einen Monoglycerid einer C_8-C_{16}-Fettsäure pro 100 Kalorien der Zusammensetzung umfaßt.

6. Verwendung nach Anspruch 1, wobei die Zusammensetzung 0,1 bis 8 g von entweder Laurinsäure oder dem zumindest einen Monoglycerid einer C_8-C_{16}-Fettsäure pro 100 Kalorien der Zusammensetzung umfaßt.

7. Verwendung nach Anspruch 1, wobei die Zusammensetzung 0,2 bis 6 g von entweder Laurinsäure oder dem zumindest einen Monoglycerid einer C_8-C_{16}-Fettsäure pro 100 Kalorien der Zusammensetzung umfaßt.

8. Verwendung nach Anspruch 1, wobei das Monoglycerid ein Monoglycerid einer C_8-C_{15}-Fettsäure ist.

9. Verwendung nach Anspruch 1, wobei das Monoglycerid ein Monoglycerid einer C_8-C_{14}-Fettsäure ist.

10. Verwendung nach Anspruch 1, wobei die Zusammensetzung nahrungsergänzend ist.

Es folgt ein Blatt Zeichnungen

Anhängende Zeichnungen

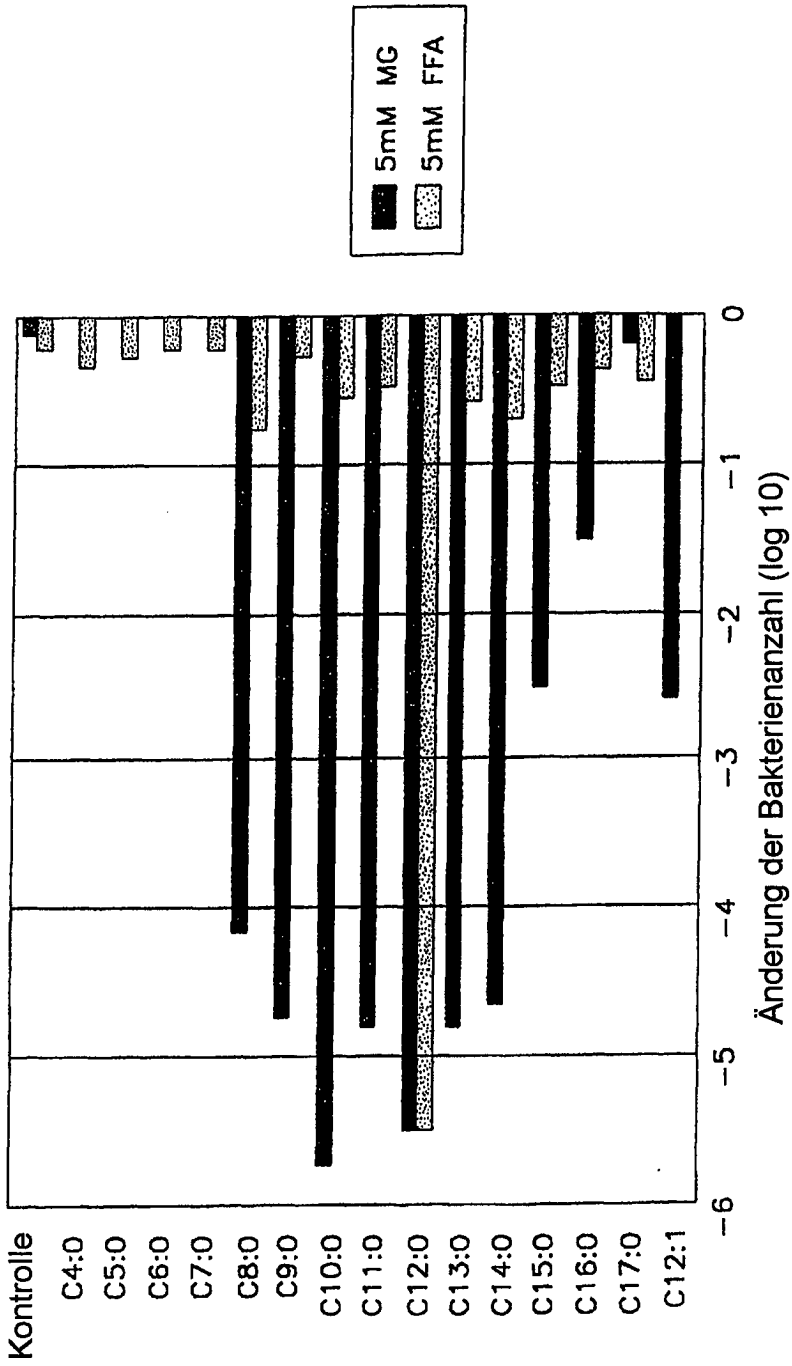


FIG. 1