



(12) **PATENT**

(19) NO

(11) **315837**

(13) B1

(51) Int Cl<sup>7</sup>

A 23 L 2/00, 2/38, 3/52, 1/305,  
A 23 C 9/123, A 61 K 31/195

## Patentstyret

---

(21) Søknadsnr	19985532	(86) Int. inng. dag og	
(22) Inng. dag	1998.11.27	søknadsnummer	1997.05.30, PCT/GB97/01476
(24) Løpedag	1997.05.30	(85) Videreføringsdag	1998.11.27
(41) Alm. tilgj.	1999.01.26	(30) Prioritet	1996.05.31, GB, 9611356
(45) Meddelt dato	2003.11.03		

(71) Patenthaver	The Howard Foundation, Whitehills House, Granhams Road, Great Shelford, Cambridge CB2 5JY, England, GB
(72) Oppfinner	Alan Norman Howard, Cambridge CB2 2HQ, England, GB Roger Charles Harris, Newmarket, Suffolk, England, GB
(74) Fullmektig	Bryn Aarflot AS, 0104 Oslo

---

(54) Benevnelse **Sur blanding for humant konsum omfattende kreatin, samt fremgangsmåte for levering av en kreatinholdig blanding**

(56) Anførte publikasjoner Ingen

(57) Sammendrag

Det er beskrevet en sur blanding for humant konsum, omfattende kreatin. Spesielt skal blandingen beleiligvis være en isotonisk drikk for lagring ved 4°C, eller som et tørt stabilt pulver som kan lagres ved omgivende temperatur.

Denne oppfinnelse vedrører blandinger for humant konsum omfattende kreatin, og en fremgangsmåte for levering av en kreatinholdig blanding for humant konsum ved å tilveiebringe stabile kreatinholdige blandinger.

Myndighetene er for tiden opptatt av den høye forekomst av fedme (og lavere grader av vektøkning) i befolkningen, siden de representerer en kjent risikofaktor for koronar-hjertesykdom, høyt blodtrykk og diabetes. I tillegg til diett-modifikasjon vil hovedoppgaven for behandling og vedlikehold av vekten etter et vekttap være fysisk trening. Det blir nå antydnet av eksperter at diett alene vil være utilstrekkelig i det lange løp til å holde vedlike vekttapet uten å forandre livsstilen, spesielt ved å gjøre mer fysisk trening. Et av de problemer som overvektige folk erfarer er imidlertid at de finner at fysisk aktivitet er slitsomt og at de lett blir trette. Det er et behov for et regime som vil gjøre fete mennesker mindre trette, slik at de kan trene fysisk i lenger tidsrom, brenne opp flere kalorier og tape mer vekt, eller vedlikeholde sin vekt bedre etter et vekttap.

I de senere få år har det dessuten være betydelig interesse blant idrettsfolk for kreatin som forekommer rikelig i skjelettmuskulaturen. Kreatin spiller en hovedrolle i reguleringen og homeostasen av skjelettmusklens energimetabolisme, og det er nå generelt akseptert at vedlikehold av fosfokreatin-tilgjengeligheten er viktig for fortsettelsen av muskelkraftproduksjonen. Selv om kreatinsyntesen foregår i leveren, nyrene og bukspyttkjertelen har det nå vært kjent i noen tid at oralt inntak av kreatin vil gi et tilskudd til hele kroppens kreatinbeholdning, og det er blitt vist at inntak av 20 til 30 g kreatin pr. dag i flere dager kan føre til større enn 20% økning av det totale kreatininnhold i menneskets skjelettmuskler. Således beskriver WO94/02127 administrering av kreatin i mengder på minst 15 g (eller 0,2 - 0,4 g/kg legemsvekt) pr. dag, i minst 2 dager, for å øke muskelstyrken.

I virkeligheten ble det deretter funnet at etter flere dagers supplementering (20 g pr. dag) med kreatin vil det ikke behøves mer enn 2 til 3 g pr. dag for å holde vedlike metningen av kroppens lagere. Kreatinsupplementering i en hensiktsmessig dose kan gi forbedringer til idrettsfolk involvert i kraftkrevende hendelser, som inkluderer alle hendelser som varer fra noen få sekunder til noen få minutter (så som sprint, svømming, vektløfting osv.). Utholdenhetsprestasjoner i hendelser som varer lenger enn ca. 30 minutter synes å være upåvirket av kreatinsupplementering. Kreatin er en vanlig matvarekomponent og er ikke et medikament, og dets anvendelse er ikke i motsetning til offentlige reguleringer.

De største fordeler med supplementering kan erfares av vegetarianere eller de som ikke spiser kjøtt eller fisk, siden slike mennesker har tendens til å ha lavt kreatininnhold i musklene.

I løpet av de siste få år har det vært betydelig interesse for anvendelse av isotoniske drikker for folk som driver med fysisk trening. Menneskets kroppsvæsker omfatter vann og substanser løst i disse, så som mineralsalter kjent som elektrolytter. Disse gjør det mulig for elektriske impulser å stimulere muskelaksjon. Isotoniske drikker erstatter essensielle elektrolytter som tapes gjennom svetten under og etter trening. Betegnelsen isotonisk anvendes på drikker som inneholder den samme konsentrasjon av mineraler som i kroppsvæskene, og hvori det osmotiske trykk er det samme som det som utøves av menneskets kroppsvæsker. De viktigste elektrolytter som anvendes i isotoniske drikker er natrium, klorid, kalium, kalsium, magnesium og fosfor. Isotoniske drikker kan lages allerede fortynnet med vann eller beleilig emballert i poser eller bokser som et pulver, som deretter kan blandes med vann med eller uten karbondioksyd for å gi en oppfriskende drikk med smak av f.eks. en sitrusfrukt.

Det er vel kjent at kreatin er ustabil i vandige løsninger ved sur eller nøytral pH, og blir omdannet til den beslektede forbindelse kreatinin. Dette er høyst signifikant etter som kreatinin ikke har noen ytelsesøkende effekt på musklene og blir utskilt fra menneskelegemet som et avfallsprodukt i urin. I betraktning av det foregående hevder EP 0 669 083 at vandige drikker for humant forbruk omfattende kreatin må være svakt alkaliske for å forhindre omdanningen av kreatin til kreatinin, og dette er blitt den vanligvis aksepterte mening.

I et første aspekt tilveiebringer denne oppfinnelse en sur blanding for humant forbruk kjennetegnet ved at den omfatter kreatin og en eller flere ytterligere komponenter valgt fra gruppen bestående av: vitaminer, lipider, karbohydrater, aminosyrer, spor-elementer, fargemidler, smaksmidler, kunstige søtemidler, antioksydanter, stabilisatorer, konserveringsmidler og buffere, og at den har en pH i området 2,5-6,5. Betegnelsen sur er ment å bety at blandingen har en pH under 7,0. Blandingens skal ha en pH mellom 2,5 og 6,5, fortrinnsvis mellom 3,0 og 6,0. Typisk skal blandingen ha en pH i området 3,5-5,5, som for den menneskelige gane har en oppfriskende skarp smak uten å være for sur.

Kreatininnholdet av blandingen kan være tilstede som hvilken som helst aktiv form av kreatin, (f.eks. kreatinfosfat), men kreatinmonohydrat er funnet spesielt anvendelig som kreatinkilde.

Blandingen kan være i form av et tørt pulver eller kan tilveiebringes i flytende eller halvt flytende form (f.eks. henholdsvis som en drikk eller yoghurt). I foretrukne utførelser vil blandingen være en drikk som er isotonisk (dvs. tilsvarer det osmotiske potensiale av menneskets kroppsvæsker) og/eller omfatte elektrolytter. Passende vil blandingen både omfatte elektrolytter og være isotonisk.

De foreliggende oppfinnere har funnet at omdanningen av kreatin til kreatinin ved sur pH i virkeligheten er tilstrekkelig langsom til å tillate at fysiologisk anvendelige mengder av kreatin blir tilbake i blandingen etter et betydelig tidsrom, slik at kreatin kan presenteres i sure formuleringer, i motsetning til hva som hevdes i nåværende teknologi. Spesielt kan omdanningen av kreatin til kreatinin inhiberes betydelig ved lagring (f.eks. i kommersielle kjøleskap ved 4-8°C) av blandingen ved lavere enn omgivende temperatur.

Det beskrives en fremgangsmåte for lagring av en sur flytende eller halvt flytende blanding omfattende kreatin, for humant forbruk, idet fremgangsmåten omfatter lagring av blandingen under omgivende temperatur, typisk i et kommersielt kjølekabinett ved 4-8°C av den konvensjonelle type som er vanlig hos hvilken som helst middels eller stor matvarehandel. Typisk vil blandingen være en vandig drink (fortrinnsvis isotonisk) eller en yoghurt eller lignende halvt flytende matvare. Drikken kan være med eller uten tilsatt karbondioksyd, og vil fortrinnsvis omfatte en sitrus-smak.

Alternativt kan blandingen tilveiebringes som et tørt pulver som ved blanding med (fortrinnsvis oppløsning i) et forhåndsbestemt volum av væske (f.eks. med i alt vesentlig nøytral pH) vil gi en sur løsning. Kreatininnholdet av blandingen er stabilt i den tørre pulverform ved omgivende temperatur. Hensiktsmessige doser av pulveret kan deretter oppløses, etter behov, for å lage friske drikker med kreatininnholdet i alt vesentlig ikke nedsatt. Pulveret kan løses i hvilken som helst egnet væske (f.eks. vann, melk) eller semi-væske (f.eks. yoghurt).

Ifølge et andre aspekt tilveiebringer denne oppfinnelse en fremgangsmåte for å levere en kreatinholdig blanding for humant forbruk, idet fremgangs-

måten omfatter å tilveiebringe en kreatinholdig sur blanding ifølge krav 1, som et tørt, stabilt pulver som, når det blandes med vann eller en egnet vandig løsning, gir en sur drikk med pH i området 2,5-6,5, omfattende fysiologisk effektive mengder av kreatin.

5           Typisk vil pulveret være slik at når en viss mengde blir løst i et forhåndsbestemt volum av vann, vil det gi en isotonisk drikk. Pulveret tilveiebringes helst som enhetsdoser (på ca. 10-20 g) som kan løses i 200-350 ml vann for å gi en isotonisk drikk. Enhetsdosene leveres beleilig individuelt emballert i puter, poser, pakker, sylindere, flasker eller andre egnede emballeringsmidler. Fortrinnsvis skal  
10 emballasjen være hermetisk forseglet (f.eks. en tynn foliepute) for å forhindre at vann eller vanddamp slipper inn. I noen utførelser kan det være ønskelig å tilveiebringe sammen med emballasjen en volumetrisk måleanordning for å tillate brukeren å måle ut et hensiktsmessig volum av vann som innholdet av emballasjen kan løses i. Typisk kan denne ha form av en vanntett beholder (f.eks.  
15 av plastmateriale) med en eller flere graderinger for å indikere et bestemt volum. Beholderen kan ha form av et beger eller lignende beholder for å holde vann hvori blandingen kan løses, og hvorifra den resulterende løsning kan drikkes.

Blandingene vil fortrinnsvis omfatte en eller flere ytterligere komponenter for å forbedre dens palatabilitet, stabilitet, smak eller næringskvalitet. Disse  
20 ytterligere komponenter kan inkludere elektrolytter, som allerede nevnt ovenfor, eller kan velges fra gruppen bestående av: vitaminer, lipider, karbohydrater, aminosyrer, sporelementer, fargemidler, smaksstoffer, kunstige søtemidler, antioksidanter, stabilisatorer, konserveringsmidler og buffere.

Folk på slankediett får ofte et redusert inntak av vitaminer, så disse kan  
25 inkluderes med fordel i blandingen ifølge oppfinnelsen. Følgende vitaminer kan tilsettes i mengder i området fra 20 til 100% av deres anbefalte daglige inntak (RDA, recommended daily allowance). Følgende er typiske for dem som er anvendelige: vitamin E, vitamin C, tiamin, riboflavin, niacin, vitamin B6, folacin, vitamin B12, biotin og pantotensyre.

30           I noen tilfeller kan en lipidkomponent være ønskelig. Et eventuelt karbohydratinnhold av blandingen kan være tilstede som stivelse (spesielt løselig stivelse) og/eller sukker. Karbohydratene som anvendes i denne oppfinnelse bør fortrinnsvis anvendes i mengder som er i overensstemmelse med isotonisiteten av

blandingen i dens foretrukne utførelser, idet det tas hensyn til effekten av kreatininnholdet. Drikkens osmolalitet bør fortrinnsvis ikke overskride 320 mOsm + eller -10%. Sukrene som kan være tilstede i blandingen inkluderer glukose, fruktose, sukrose og maltose.

5           Kunstige søtmidler som kan anvendes inkluderer aspartam, acesulfam K, sakkarin og cyclamat. Nesten hvilket som helst ønsket smaksmiddel kan tilsettes, mest fortrinnsvis sitrus-smaksmidler så som sitron, appelsin og grapefrukt. Sitronsyre kan også anvendes som surgjøringsmiddel og som bufningsmiddel.

10           Farging kan tilveiebringes, typisk ved anvendelse av et kaldtvannsløselig fargemiddel så som betakaroten. Andre egnede fargemidler vil være åpenbare for fagfolk på dette området.

          Et blakkemiddel kan være inkludert i blandingen for å forbedre utseendet av den endelige drikk og skille den ut fra limonade.

15           Mineralene kan tilsettes i hvilken som helst type eller form som i kombinasjon gir den korrekte osmolaritet og/eller inneholder elektrolytter i mengder som kommer nær opp til sammensetningen av kroppsvæskene. Det er beleilig å tilveiebringe kalsium og kalium i form av sine fosfater eller hydrogenfosfater, og magnesium som oksydet eller karbonatet. Typisk vil mengdene være: natrium i 400 mg/l, kalsium i 100 mg/l, klorid i 600 mg/l, kalium i 200 mg/l, magnesium i 20   75 mg/l og fosfor i 50 mg/l.

          Mengden av kreatin pr. liter fremstilt drikk kan ligge i området fra 0,5 til 30 g, med et foretrukket innhold på ca. 12 g pr. liter. Den normale serveringsstørrelse er i området 250 - 330 ml, hvilket gir ca. 3 g kreatin. Under de første 4 dager av kreatinsupplementering vil det anbefalte konsum være 1,5 liter pr. dag 25 oppdelt i 4 til 5 deler pr. dag for å oppnå kreatinmetning. Dette etterfølges av 1 drikk på 250 ml pr. dag inneholdende 3 g kreatin for å gi et vedlikeholds nivå av kreatin.

30           I noen utførelser kan blandingen dessuten omfatte pyruvat og/eller dihydroksyaceton. Pyruvat og dihydroksyaceton er ergogene forbindelser som er tilstede i kroppen, og er blitt vist å øke submaksimal utholdenhet (R. T. Stanko et al., 1993 Sports Sciences 11, 17-23) og når de substitueres for en del av karbohydratet i dietten, er de nyttige til å øke vekt tapet i lavenergidieter (R. T. Stanko et al., 1992, Am. J. Clin. Nutr. 56, 630-5).

Pyruvat kan tilveiebringes som et salt, fortrinnsvis natrium-, kalium-, magnesium- eller kalsiumsalter. Pyruvat kan anvendes uten dihydroksyaceton, eller som en blanding dermed, f.eks. som en 1 : 3 (P : DHA) blanding. Den totale mengde av pyruvat og/eller DHA pr. 250 ml servering av blandingen kan være i

5 området 1 til 25 g, beleiligvis 5-15 g.

Denne oppfinnelse skal nå beskrives ytterligere i form av illustrerende eksempel og med referanse til de vedlagte tegninger, hvori:

Figurene 1 og 2 er diagrammer over kreatinkonsentrasjonen med tiden; og figurene 3-6 er diagrammer av % kreatin mot tiden.

10

## **EKSEMPLER**

### **Eksempel 1**

Dette eksempel beskriver den detaljerte formulering av en sur blanding ifølge denne oppfinnelse. Blandingens har form av et tørt pulver som skal løses i

15 vann for å gi en isotonisk drikk omfattende kreatin.

	<b>Bestanddel</b>	
	Dekstrose monohydrat	300 g
	Sitronsyre	32 g
20	Pektin (stabilisator)	6,0 g
	Salt	5,0 g
	Trinatriumcitrat	5,0 g
	Betakaroten	3,0 g
	Kaliumklorid	2,9 g
25	Grapefruktsmak	2,9 g
	Trikalsiumfosfat	2,1 g
	Tungt magnesiumkarbonat	2,1 g
	Vitaminpremix	1,8 g
	Sitronsmak	1,4 g
30	Appelsinsmak	1,4 g
	Aspartam	1,0 g
	Kreatinmonohydrat	88 g

Når den løses i vann vil 63 g av blandingen ovenfor gi, pr. 250 ml servering, ca. 3 g kreatin, energi 203 kj (48 kcal), 11,1 g karbohydrat, 156 mg klorid, 100 mg natrium, 52 mg kalium, 26 mg kalsium, 19,5 magnesium, 13 mg fosfor, vitaminer (vitamin E 3,4 mg, vitamin C 16,2 mg, tiamin 0,3 mg, riboflavin 0,4 mg, niacin 5,0 mg, vitamin B6 0,4 mg, folacin 84 µg, vitamin B12 0,9 µg, biotin 0,08 mg og pantotensyre 2,2 mg) og spor av protein, fett og fibere. Dette gir en oppfriskende isotonisk drikk inneholdende elektrolytter og kreatin som er relativt i lavere i kalorier enn konvensjonelle isotoniske drikker, og har en pH på ca. 3,8.

#### 10 **Eksempel 2**

Dette eksempel vedrører en annen utførelse av oppfinnelsen. Formuleringen er som i eksempel 1 ovenfor, unntatt at de 300 g dekstrosemonohydrat blir utelatt og at aspartaminholdet blir øket til 2,5 g for å kompensere. Når 5,3 g av denne formulering blir løst i 250 ml vann, får man en nesten kalorifri drikk inneholdende kreatin og elektrolytter som, selv om den ikke er isotonisk, er ernæringsmessig anvendelig for dem som ønsker å redusere eller vedlikehold sin vekt.

#### **Eksempel 3**

Dette eksempel vedrører en annen utførelse av denne oppfinnelse. Formuleringen er som i eksempel 1 ovenfor, unntatt at halvparten av dekstrosemonohydratet blir utelatt og erstattet med den samme vekt av natrium, kalsium eller kaliumpyruvat, sammen med tilsetning av 0,75 g aspartam (som gir en totalmengde på 1,75 g av aspartam). En typisk servering av denne formulering er 15,75 g blandet ut i 250 ml vann.

25

#### **Eksempel 4**

Dette eksempel angår en studie av stabiliteten av kreatin under sterile betingelser ved sur pH over et tidsrom på 2 uker.

En tørr pulverblanding ifølge denne oppfinnelse ble fremstilt og lagret i 14 g prøver. Blandingens pH ved starten av eksperimentet var 3,66. Hver 14 g prøve av blandingen omfattet ca. 3 g kreatin. 14 g av pulverblanding ble løst i 400 ml destillert vann, og løsningen inkubert under sterile betingelser ved 25-26°C i 2 uker. Blandingens pH ved starten av eksperimentet var 3,66.

5 ml alikvoter av løsningen ble trukket aseptisk i løpet av eksperimentet og analysert for kreatin- og kreatininkonsentrasjonen. Disse bestemmelser ble gjort samtidig ved reversfase ione-parring høytrykksvæskekromatografi, ifølge fremgangsmåten til Murakita (1988 J. of Chromatography 432, 471-473).

5 Eksperimentet ble gjennomført i triplikat, og resultatene er vist nedenfor i tabell 1.

**Tabell 1**

	0 time	1 time	2 timer	3 timer	4 timer	6 timer	
10 Cr mmol/l	53,0	53,1	53,1	54,7	53,2	51,7	
(±SD)	1,3	0,0	1,5	0,9	2,1	0,1	
Cr g/400 ml	2,78	2,79	2,79	2,87	2,79	2,71	
15 (±SD)	0,07	0,00	0,08	0,05	0,11	0,01	
% Cr gjenværende	100	100	100	99,3	99,3	99,2	
20							
	8 timer	1 dag	2 dager	3 dager	4 dager	1 uke	2 uker
25 Cr mmol/l	51,1	48,1	49,6	46,1	42,5	38,8	31,7
(±SD)	0,8	2,1	1,0	0,5	0,8	1,4	0,1
Cr g/400 ml	2,73	2,52	2,60	2,42	2,23	2,04	1,66
30 (±SD)	0,04	0,11	0,05	0,03	0,04	0,07	0,01
% Cr gjenværende	99,0	96,2	91,7	87,6	84,3	74,7	57,5
35							

Disse resultater er også presentert grafisk i figurene 1-3.

40 Figur 1 er et diagram av gjennomsnittlig kreatinkonsentrasjon (fylte sirkler) eller kreatininkonsentrasjon (åpne sirkler) i mmol/liter mot tiden (målt i timer, dager eller uker).

Figur 2 er et lignende diagram som viser gjennomsnittlig kreatin- eller kreatininkonsentrasjon i gram/400 ml mot tiden.

Figur 3 er et diagram som viser prosent kreatin ikke omdannet (fylte sirkler) eller prosent kreatin omdannet til kreatinin (åpne sirkler) mot tiden.

5 Ut ifra disse data var det åpenbart at sure løsninger av kreatin kunne lagres ved omgivende temperatur i 24 timer med svært lite tap av kreatin. Lenger lagring (i 2-3 dager) var mulig uten alvorlig tap av kreatin.

### Eksempel 5

10 Dette eksempel angår en studie av stabiliteten av kreatin i løpet av 3 dager i vandige løsninger ved forskjellige pH-verdier.

42 g (3 x 14 g prøver) av pulverformuleringen beskrevet i det foregående eksempel ble løst i 750 ml destillert vann oppvarmet til 25°C. Sju 100 ml alikvoter (betegnet henholdsvis A-G) ble trukket av og over i polystyrenbegere med kjent  
15 vekt og ble veiet på nytt. pH av alikvotene ble justert til ønsket verdi (A = pH 2,5, B = 3,5, C = 4,5, D = 5,5, E = 6,5, F = 7,5, G = 8,5) ved anvendelse av 50% eddiksyre eller 5N KOH. Etter pH-justering ble begrene veiet på nytt for å sikre at økningen i volum var mindre enn 5% (dvs. mindre enn 5 ml).

Prøvene ble holdt ved 25°C i 24 timer, og 5 ml alikvoter trukket av for  
20 analyse av kreatin- og kreatininkonsentrasjon (som beskrevet tidligere) ved tidspunktene 0,5 timer, 4 timer, 8 timer, 1 dag og 3 dager.

Løsningenes pH ble også testet, for å sikre at pH ikke forandret seg altfor mye i løpet av eksperimentet. Disse resultater er vist i tabell 2 nedenfor.

25 **Tabell 2**

#### TESTLØSNING

	A	B	C	D	E	F	G
30 Målsatt pH	2,5	3,5	4,5	5,5	6,5	7,5	8,5
0,5 time pH	-	3,4	5,5	5,5	6,7	7,6	-
4 timer pH	-	3,5	4,5	5,5	6,5	7,4	8,2
35 3 dager pH	-	3,7	4,7	5,5	6,6	7,3	7,6

Med referansen til figur 4 skal figuren vise et diagram av prosent gjenværende kreatin mot tiden (målt i timer eller dager) for løsningene A-F. Resultatene for løsningene A (pH 2,5) og G (pH 8,5) er utelatt for klarhet.

5 Tegnforklaringen er som følger:

Fylte kvadrater = løsning B (pH 3,5), åpne kvadrater = løsning C (pH 4,5), åpne triangler = løsning D (pH 5,5), fylte triangler = løsning E (pH 6,5), og åpne sirkler = løsning F (pH 7,5).

Det kan sees generelt at jo lavere pH jo hurtigere blir omdanningen av kreatin til kreatinin, men endog løsninger med en pH på ca. 4,5 er rimelig stabile i opptil 3 dager. Nedbrytning etter 3 dager ved pH 5,5, 4,5 og 3,5 var henholdsvis 4%, 12% og 21%.

I virkeligheten ble det funnet at et unntak til denne generelle regel var at kreatin er mer stabilt ved pH 2,5 enn ved pH 3,5. Etter 3 dager ble nedbrytningen ved pH 2,5 funnet til å være ca. 13% i likhet med den som forekommer ved pH 4,5.

### Eksempel 6

Dette eksempel vedrører en studie av stabiliteten av kreatin over et tidsrom på 52 dager i vandige løsninger ved forskjellige pH-verdier holdt ved lavere enn omgivende temperatur (spesifikt 4°C).

Fordi kreatin har dårlig løselighet i vann ved 4°C ble det først gjennomført et eksperiment for å sikre at konsentrasjonene av kreatin som anvendes i stabilitetsbestemmelsen ikke ville føre til utfelling av kreatin over et tidsrom på 5 uker.

Løselighetsbestemmelsen ble gjennomført som følger:

1,2 g kreatinmonohydrat ble løst i 100 ml av bufferløsninger (fremstilt ved å blande 200 mM  $K_2HPO_4$  og 200 mM eddiksyre, og justere pH ved tilsetning av 5 M KOH) ved pH 3,5, pH 5,0, pH 6,0 og pH 7,0 ved romtemperatur. Fortynninger ble laget med destillert vann for hver pH-verdi:

- 5
- A) - ingen fortykning
  - B) - 9:1 (buffer:vann)
  - C) - 8:2 "
  - D) - 7:3 "
  - E) - 6:4 "
  - F) - 5:5 "

Sluttløsninger ble lagret i lukkede plastrør. Rørene ble lagret ved 4°C, rystet hver 2. time eller så, og tiden for observasjon av utfelling ble notert.

10 Den relative mengde av utfelling etter 78 timers lagring ved 4°C ble notert og resultatene presentert nedenfor i tabell 3. Rør D (7:3 fortykning) hadde den høyeste konsentrasjon av kreatin som ikke viste noen utfelling etter 78 timer. Konsentrasjonen av kreatin i rør D var 8,4 g/liter. Stabilitetsbestemmelses-

eksperimentet ble følgelig gjennomført ved anvendelse av samme opprinnelige

15 konsentrasjon av kreatin.

**Tabell 3**

20 Fortyning	A	B	C	D	E	F
Opprinnelig konsentrasjon av kreatinmonohydrat (g/l)	12,0	10,8	9,6	8,4	7,2	6,0
25 Grad av utfelling etter 78 timer:						
pH 3,5	***	**	-	-	-	-
pH 5,0	***	**	*	-	-	-
pH 6,0	***	**	*	-	-	-
30 pH 7,0	**	*	*	-	-	-

Relativ utfelling: \*\*\* = kraftig; \*\* = moderat; \* = lett; - = ingen

Stabilitetsbestemmelsen ble gjennomført som følger:

35 14 g av formuleringen beskrevet i eksempel 4 ble løst i 250 ml destillert vann. Dessuten ble 14 g av en andre formulering løst i 500 ml. Den andre formulering

inneholdt ikke noe kreatin, men var ellers identisk med formuleringen beskrevet i eksempel 4. 107 ml av den andre løsning ble tilsatt til den første løsning, hvilket ga en fortykning på 7:3.

Fire 60 ml alikvoter ble tatt ut, og pH justert med 5 M KOH til:

- 5 A - ikke justert pH; B - pH 5,0; C - pH 6,0; D - pH 7,0. 40 ml alikvoter ble tatt ut for lagring i plastrør ved 4°C. 0,5 ml prøver ble tatt ut fra A - D og fortynnet direkte med 100 ml destillert vann ved 0 timer, 2 dager, 7 dager, 14 dager, 28 dager, 35 dager og 52 dager for analyse av kreatin og kreatinin ved HPLC, som beskrevet tidligere. pH av prøvene ble også testet for å sikre at den ikke hadde
- 10 variert i løpet av eksperimentet. Resultatene er vist nedenfor.

**Tabell 4 - pH av prøver i løpet av eksperimentet**

pH-verdier	0 timer	0 timer	2 dager	7 dager	14 dager	28 dager	35 dager
15 A	3,5	3,5	3,6	3,6	3,6	3,6	3,6
B	5,0	5,1	5,1	5,1	5,1	5,1	5,1
C	6,0	6,1	6,1	6,1	6,1	6,1	6,1
D	7,0	7,1	7,1	7,1	7,1	7,0	7,0
20 Temperatur (°C)	20,0	4,0	4,0	4,0	4,0	4,0	4,0

Resultater av analysen av stabiliteten av kreatin er vist nedenfor i tabell 5.

25

**Tabell 5 - Stabilitet av kreatin i løpet av 52 dagers lagring ved 4°C**

	[Cr] eller [Cr] i mmol/L dag 0		%Cr gjenværende på dag						
	[Cr]	[Cn]	0	2	7	14	28	35	52
30 A	60,79	0,00	100	99,4	98,6	97,0	94,0	92,7	92,1
B	55,40	0,00	100	100	99,4	98,8	97,0	96,0	95,8
C	60,32	0,00	100	100	99,7	99,7	99,3	98,6	98,6
D	59,68	0,00	100	100	100	100	99,6	99,6	99,4

Resultatene ovenfor er også gjengitt grafisk i figur 5. Figur 5 er et diagram over % kreatin som er tilbake mot tiden (i dager). De åpne sirkler med sammenhengende linje viser resultatene for løsning A, de fylte sirkler med prikket linje viser resultatene for løsning B, de åpne sirkler med stiptet linje viser resultatene for løsning C og de fylte sirkler med prikket og stiptet linje viser resultatene for løsning D. Disse data demonstrerer at endog ved en pH så lav som 3,5 - 3,6 etter 5 ukers lagring ved 4°C var bare 7,3% av kreatinet blitt omdannet til kreatinin, og svært liten ytterligere forandring hadde foregått på dag 52, hvilket viser at det hadde blitt oppnådd en likevekt som etterlot signifikante mengder av kreatin tilgjengelig for fysiologisk gunstig utnyttelse. En sur formulering omfattende kreatin kan således fremstilles og lagres med hell, spesielt med lagring ved temperaturer lavere enn omgivende.

#### Eksempel 7

Dette eksempel vedrører en studie av stabiliteten av kreatin i løpet av flere uker i forskjellige (sure) kommerstielt tilgjengelige yoghurter, under lagring ved 4°C. Studien ble gjennomført som følger.

0,5 g kreatinmonohydrat ble blandet med 10 g av kommersielt tilgjengelig yoghurt til å gi en kreatinkonsentrasjon på ca. 3,4 mmol pr. 100 g. Den supplementerte yoghurt ble plassert i et kjøkkenkjøleskap satt til 4°C. På forskjellige tidspunkter ble 2 g av den supplementerte yoghurt tatt opp i 100 ml destillert vann. 1 ml av den resulterende løsning ble filtrert ved anvendelse av et Whatman mikrofilter med porestørrelse 12 kilodalton, og det klare filtrat ble analysert for kreatin- og kreatininkonsentrasjon som beskrevet tidligere. Tre forskjellige typer av yoghurt (kjøpt fra Tesco's butikker) ble anvendt i eksperimentet: en naturlig yoghurt med lavt fettinnhold, en "sunn mat bio" yoghurt, og en Fage Greek yoghurt. Resultatene av kreatinanalysen er vist nedenfor i tabell 6, og er fremstilt grafisk i figur 6. Figur 6 viser et diagram av % gjenværende kreatin mot tiden (i dager). Kvadratene viser resultatene for yoghurt med lavt fettinnhold, sirklene viser resultatene for "sunn mat" yoghurt og triangelene viser resultatene for den greske yoghurt.

Stabiliteten av kreatin i de forskjellige yoghurter var ekstremt lik. Mengden av omdanning av kreatin til kreatinin var ca. 6% eller mindre etter 31 dagers lagring ved 4°C.

**Tabell 6****Stabilitet av kreatin i tre forskjellige kommersielt tilgjengelige yoghurter**

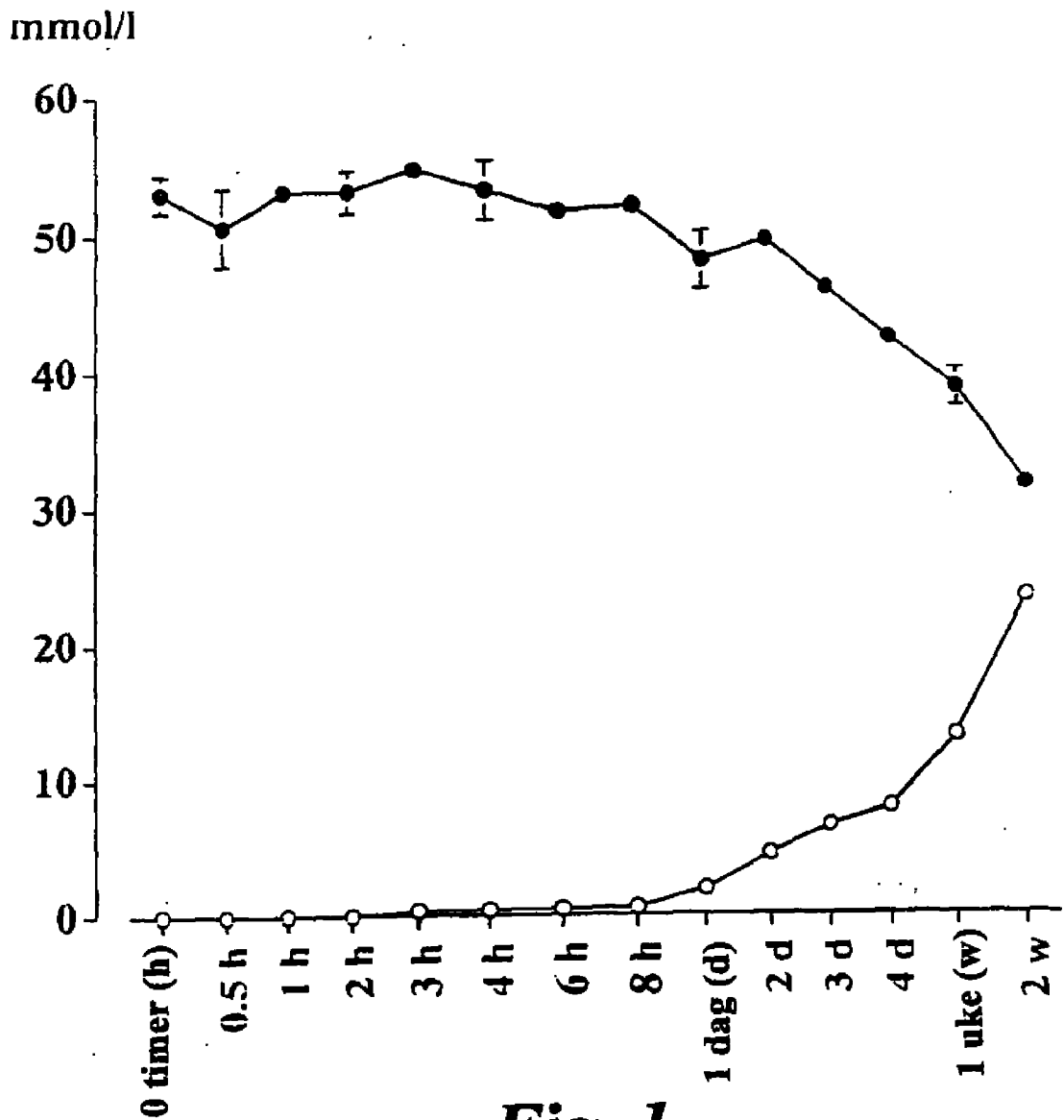
	Naturlig yoghurt med lavt fettinnhold	Sunn mat bio yoghurt	Gresk yoghurt	
5				
	Start pH	3,88	4,21	4,11
10	Dag	% kreatin	% kreatin	% kreatin
	0	98,6	99,4	99,3
	13	96,7	97,4	97,2
	18	96,1	96,7	96,3
	25	95,2	95,6	95,4
15	31	94,1	94,5	94,3

Tilstedeværelsen av levende bakterier i yoghurten synes ikke å ha noen skadelig effekt. Yoghurt representerer således en ekstremt anvendelig bærer for en kreatinholdig blanding, spesielt ettersom yoghurter blir konvensjonelt håndtert og lagret ved lavere enn omgivende temperaturer - tilstedeværelsen av kreatin i yoghurten gjør det ikke nødvendig med noen ytterligere håndteringskrav i forhold til lagringstemperaturen.

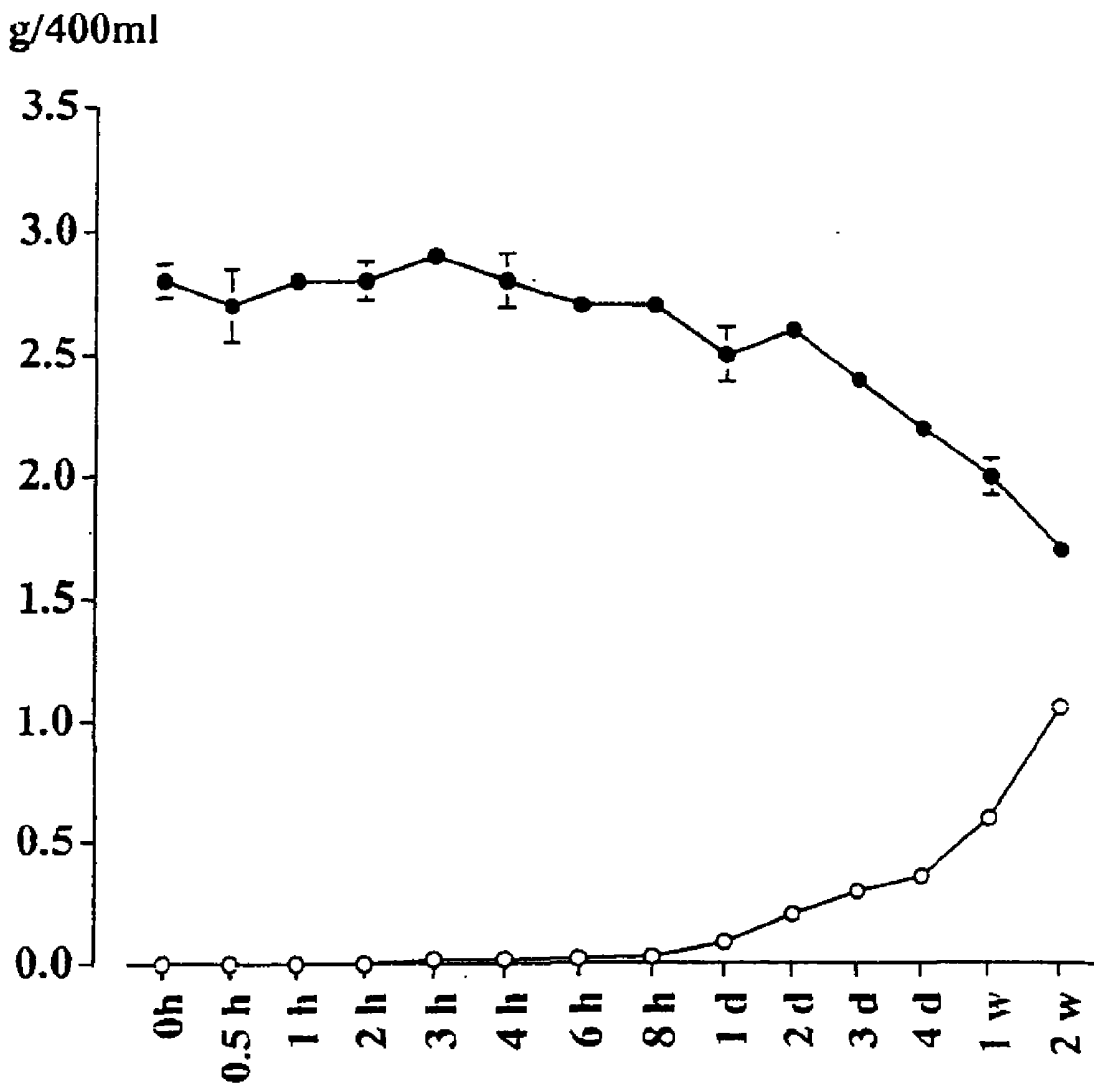
## PATENTKRAV

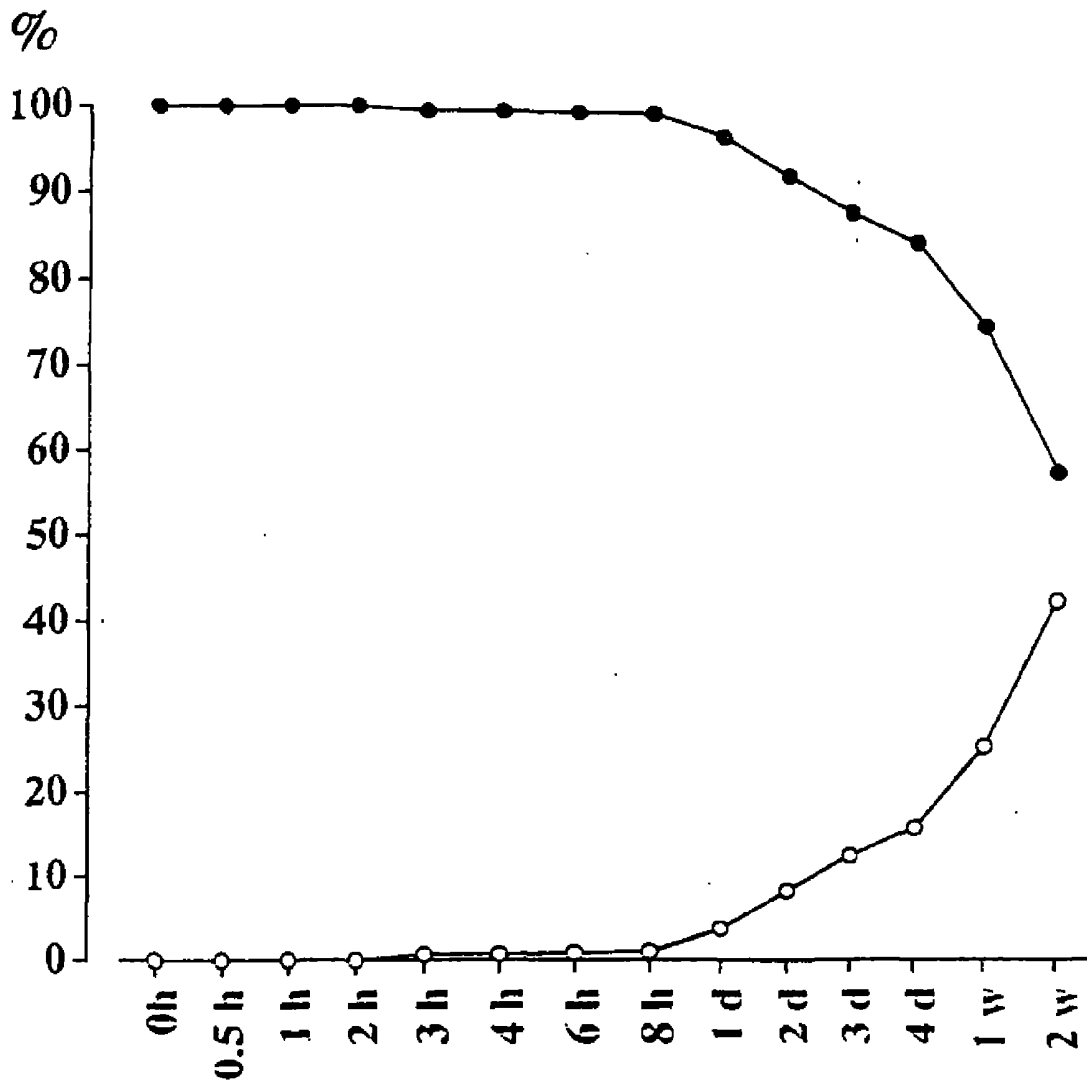
1. Sur blanding for humant konsum, k a r a k t e r i s e r t v e d at den omfatter kreatin og en eller flere ytterligere komponenter valgt fra gruppen  
5 bestående av: vitaminer, lipider, karbohydrater, aminosyrer, spor-elementer, fargemidler, smaksmidler, kunstige søtemidler, antioksydanter, stabilisatorer, konserveringsmidler og buffere, og at den har en pH i området 2,5-6,5.
2. Blanding ifølge krav 1, k a r a k t e r i s e r t v e d at blandingen er en  
10 drikk som er isotonisk og/eller omfatter elektrolytter.
3. Blanding ifølge krav 1 eller 2, k a r a k t e r i s e r t v e d at blandingen er en isotonisk drikk omfattende elektrolytter.
- 15 4. Blanding ifølge hvilket som helst av de foregående krav, k a r a k t e r i s e r t v e d at den har en pH i området 3,0-6,0.
5. Blanding ifølge hvilket som helst av de foregående krav, k a r a k t e r i s e r t v e d at den omfatter pyruvat og/eller dihydrokso-aceton.  
20
6. Blanding ifølge hvilket som helst av de foregående krav, k a r a k t e r i s e r t v e d at den omfatter pyruvat som natrium, kalium, kalsium eller magnesiumsaltene derav.
- 25 7. Blanding ifølge krav 1, k a r a k t e r i s e r t v e d at blandingen er et stabilt, tørt pulver.
8. Blanding ifølge krav 1, k a r a k t e r i s e r t v e d at den ved blanding med et forhåndsbestemt volum av væske gir en drikk ifølge hvilket som helst av  
30 kravene 2-6.
9. Blanding ifølge hvilket som helst av de foregående krav, k a r a k t e r i s e r t v e d at den tilveiebringes som enhetsdoser.

10. Blanding ifølge krav 1, k a r a k t e r i s e r t v e d at blandingen er en yoghurt eller andre halvt-flytende matvarer.
11. Fremgangsmåte for levering av en kreatinholdig blanding for humant  
5 konsum, k a r a k t e r i s e r t v e d at fremgangsmåten omfatter å tilveiebringe en kreatinholdig sur blanding ifølge krav 1, som et tørt, stabilt pulver som, når det blandes med vann eller en egnet vandig løsning gir en sur drikk med en pH i området 2,5-6,5, omfattende fysiologisk effektive mengder av kreatin.
- 10 12. Fremgangsmåte ifølge krav 11, k a r a k t e r i s e r t v e d at pulveret tilveiebringes i enhetsdoser som, når de blandes med et forhåndsbestemt volum av vann gir en isotonisk drikk.



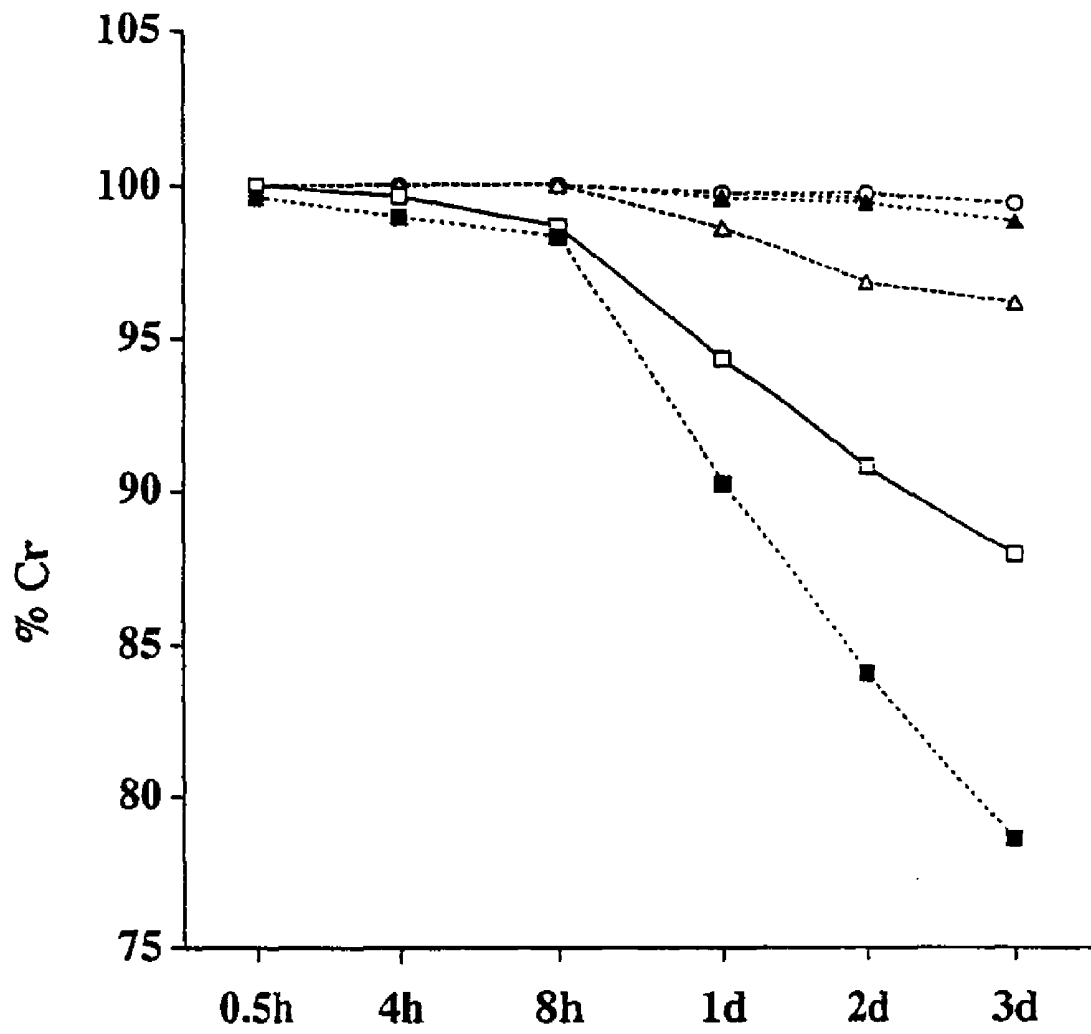
*Fig. 1*

*Fig. 2*



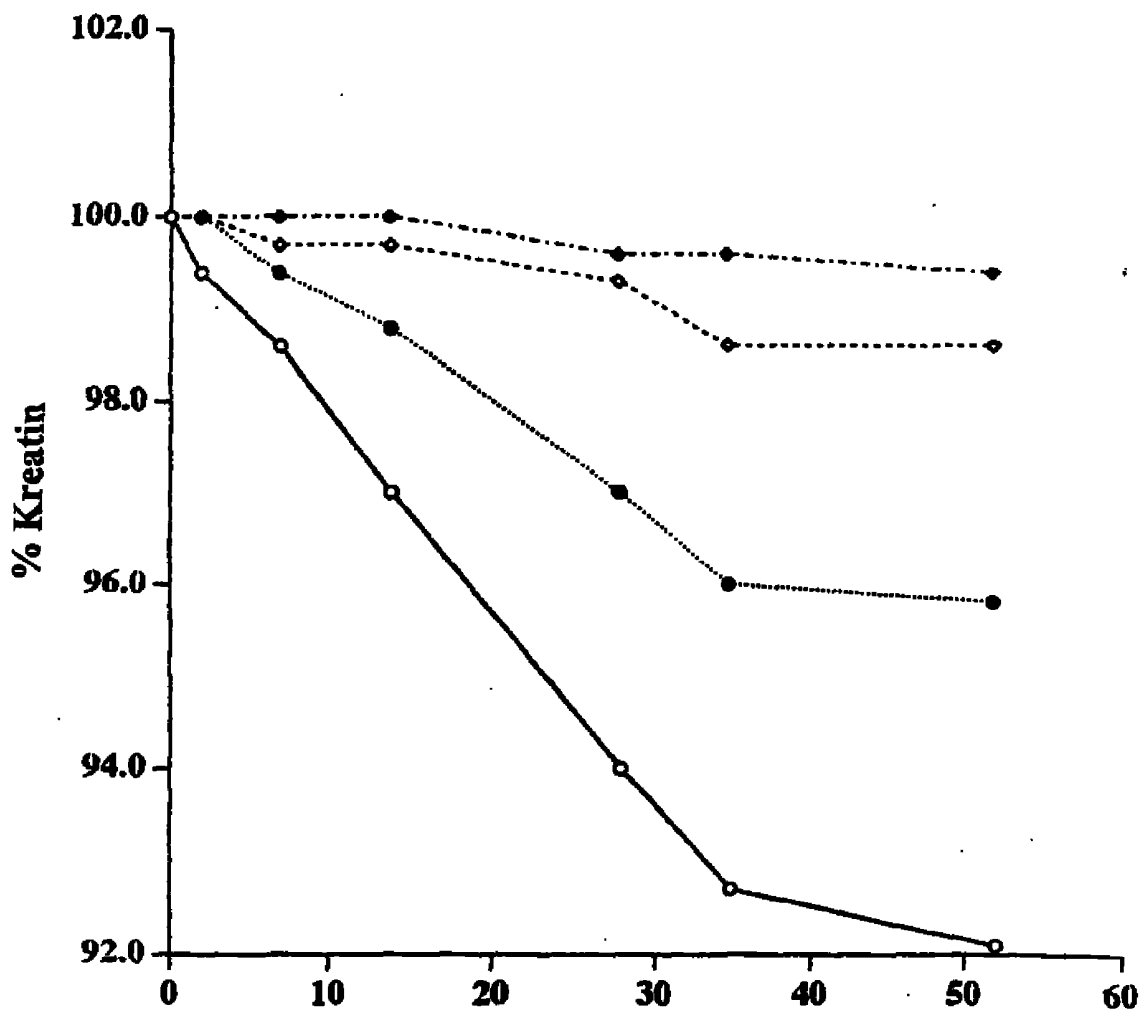
*Fig. 3*

416



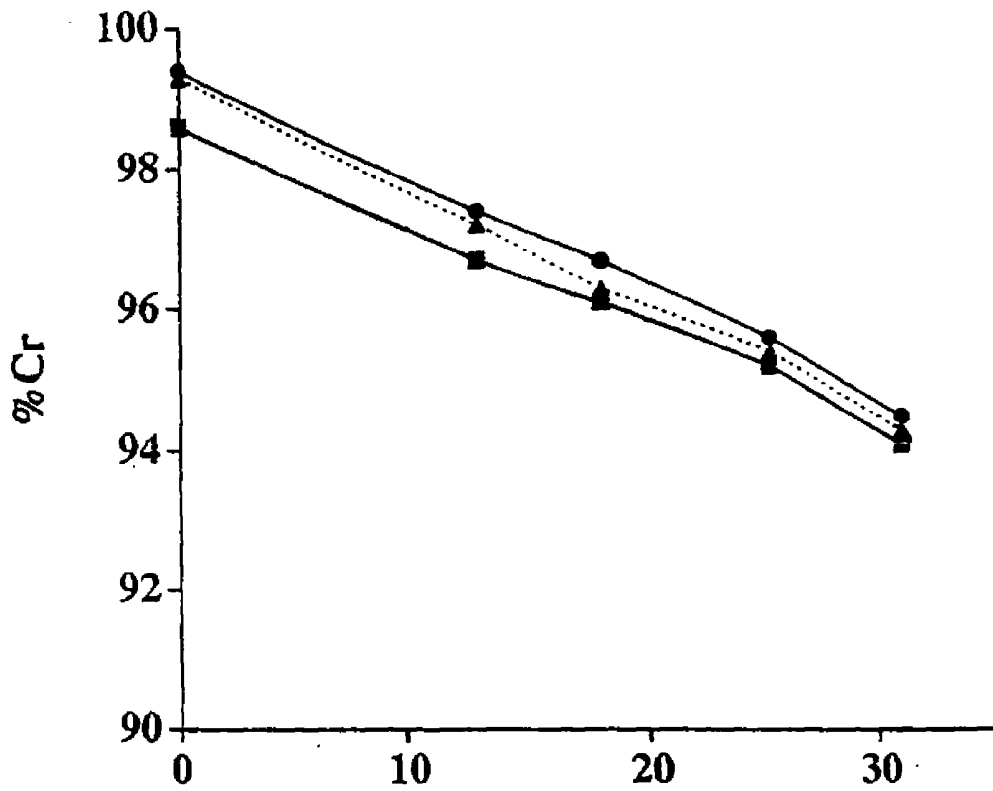
*Fig. 4*

516



*Fig. 5*

616



*Fig. 6*