

(19)



(10) **LT 2013 502 A**

(12) **PARAIŠKOS APRAŠYMAS**

(21) Paraiškos numeris: **2013 502**

(51) Int. Cl. (2015.01): **C12N 1/00**
A61K 35/00

(22) Paraiškos padavimo data: **2013 08 02**

(41) Paraiškos paskelbimo data: **2015 02 25**

(62) Paraiškos, iš kurios dokumentas išskirtas, numeris: —

(86) Tarptautinės paraiškos numeris: —

(86) Tarptautinės paraiškos padavimo data: —

(85) Nacionalinio PCT lygio procedūros pradžios data: —

(30) Prioritetas: —

(71) Pareiškėjas:

Marius BRILINKEVIČIUS, 6 Bonnog Oatencake Midleton, Co. Cork, IE

(72) Išradėjas:

Limas KUPČINSKAS, LT

Jonas URBONAS, LT

Robertas PETKEVIČIUS, LT

Alvydas Pranas LAIŠKONIS, LT

(74) Patentinis patikėtinis/atstovas:

Virgina Adolfina DRAUGELIENĖ, UAB TARPINĖ, A.P.Kavoliuko g. 24-152, LT-04328 Vilnius, LT

(54) Pavadinimas:

Maistinio arba farmacinio biopreparato kompozicija

(57) Referatas:

Išradimas priklauso biotechnologijos sričiai, būtent, probiotikų preparatams ir gali būti naudojamas kaip maisto papildas arba gydymasis profilaktinis preparatas. Preparato kompozicija apima probiotikus iš bifidobakterijų ir laktobakterijų bei papildomas medžiagas, kur probiotikų bifidobakterijos yra parinktos iš štamų, tokių kaip *Bifidobacterium infantis*, *Bifidobacterium longum*, *Bifidobacterium bifidum*, *Bifidobacterium breve*, laktobakterijos yra parinktos iš štamų, tokių kaip *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus plantarum*. Siekiant praplėsti veikimo spektrą kompozicija papildomai apima laktobakterijas parinktas iš štamų *Lactobacillus fermentum*, *Lactobacillus reuteri*, *Lactobacillus casei* ir *Lactobacillus rhamnosus*, kurioje probiotikų iš bifidobakterijų ir laktobakterijų bendras biologinis aktyvumas viename grame biomasės yra nuo maždaug $1,5 \times 10^{10}$ iki maždaug $1,5 \times 10^{11}$ KSV (kolonijas sudarančių vienetų) bei sudaro nuo maždaug 40 iki maždaug 42 kompozicijos masės %, o likusią dalį sudaro pasirinktos papildomos medžiagos.

MAISTINIO ARBA FARMACINIO BIOPREPARATO KOMPOZICIJA

Išradimas priklauso biotechnologijos sričiai, būtent, probiotikų preparatams ir gali būti naudojamas kaip maisto papildas arba gydomasis profilaktinis preparatas.

Yra žinomas konsorciumas iš 5-kių bifido bakterijų, parinktų iš grupės štamų *Bifidobacterium bifidum*, *Bifidobacterium longum*, *Bifidobacterium adolescentis*, *Bifidobacterium infantis*, *Bifidobacterium breve*, kuris naudojamas rauginto pieno nefermentuotiems produktams gaminti, biologiškai aktyviems priedams gaminti (žiūrėti Rusijos patentą Nr. 2 261 909).

Šio konsorciumo trūkumas yra siauras pritaikymas, nes tinka naudoti tik rauginto pieno produktų gamyboje ir neišlaiko stabilumo ir gyvybingumo skystose terpėse. Veikiant virškinamojo trakto agresyvios terpės faktoriams praranda gyvybingumą ir efektyvumą.

Yra žinomas biopreparatas bifidobakterijų ir laktobakterijų pagrindu, skirtas disbakteriozei bei infekcinių skrandžio ir žarnyno trakto susirgimų profilaktikai ir gydymui, turintis sausos biomasės konsorciumą iš bifidobakterijų, apimančių štamo *Bifidobacterium adolescentis* B-1 nuo 10^8 iki 10^{10} KSV ir *Lactobacillus acidophilus* AT-41 nuo 10^8 iki 10^{10} KSV viename grame sausos biomasės ir papildomas medžiagas, skirtas vaistų formai sudaryti, kur sausos konsorciumo biomasės komponentai masės % sudaro: bifidobakterijos ir laktobakterijos 0,5 – 10,0, o likusią dalį papildomos medžiagos (žiūrėti Rusijos išradimo paraišką Nr.2003 136785).

Artimiausias pagal sudėtį yra biopreparatas apimantis probiotikus iš bifidobakterijų ir laktobakterijų bei papildomas medžiagas, probiotikų bifidobakterijos yra parinktos iš štamų grupės, susidedančios iš *Bifidobacterium infantis*, *Bifidobacterium longum*, *Bifidobacterium bifidum* 1, *Bifidobacterium adolescentis*, *Bifidobacterium breve*, laktobakterijos yra parinktos iš štamų grupės, susidedančios iš *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus plantarum*, o pasirinktinai papildomos medžiagos apima probiotikų gyvybingumą skatinanti medžiaga, antioksidantas bei užpildas, kurioje probiotikų bendras biologinis aktyvumas viename grame sausos biomasės yra nuo maždaug 5×10^9 iki maždaug 8×10^{10} KSV (kolonijas sudarančių vienetų), bei sudaro nuo maždaug 25 iki maždaug 30 kompozicijos masės %, o likusią dalį sudaro papildomos medžiagos (žiūrėti išradimo aprašymą pagal Lietuvos patentą Nr.5578, 2007 08 20)

Šio biopreparato trūkumas yra siauras veikimo spektras dalyvaujant medžiagų apykaitos procesuose, nes apima nedidelį kiekį laktobakterijų štamų, papildančių vienas kitą savo naudingomis savybėmis.

Išradimu siekiama sukurti biopreparatą, kuris turėtų platesnį veikimo spektrą dalyvaujant medžiagų apykaitos procesuose, geriau išlaikytų bakterijų stabilumą ir gyvybingumą.

Išradimo esmė yra ta, kad maistinio arba farmacinio biopreparato kompozicijoje, apimančioje probiotikus iš bifidobakterijų ir laktobakterijų bei papildomas medžiagas, kurioje probiotikų bifidobakterijos yra parinktos iš štamų, tokių kaip *Bifidobacterium infantis*, *Bifidobacterium longum*, *Bifidobacterium bifidum*, *Bifidobacterium breve*, laktobakterijos yra parinktos iš štamų, tokių kaip *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus plantarum*, kompozicija papildomai turi laktobakterijas parinktas iš štamų *Lactobacillus fermentum*, *Lactobacillus reuteri*, *Lactobacillus casei* ir *Lactobacillus rhamnosus*, kurioje probiotikų iš bifidobakterijų ir laktobakterijų bendras biologinis aktyvumas viename grame biomasės yra nuo maždaug $1,5 \times 10^{10}$ iki maždaug $1,5 \times 10^{11}$ KSV (kolonijas sudarančių vienetų) bei sudaro nuo maždaug 40 iki maždaug 42 kompozicijos masės %, o likusią dalį sudaro pasirinktos papildomos medžiagos.

Pasirinktos papildomos medžiagos kompozicijoje apima maltodekstriną, magnio stearatą ir silicio dioksidą, kur maltodekstrinas sudaro maždaug 35,19 kompozicijos masės %, magnio stearatas sudaro 1,17 kompozicijos masės %, ir silicio dioksidas sudaro maždaug 0,29 kompozicijos masės %.

Kompozicija yra per burną vartojamos vienetinės dozės formos, kuri gali būti suformuota kaip kapsulė, arba kaip tabletė, arba kaip žirnelis, arba miltelių pavidalo ir gali būti panaudota kaip maisto papildas arba vaistas virškinamojo trakto disbakteriozių profilaktikai arba gydymui, infekciniams ir uždegiminiams procesams slopinti bei atstatyti dinamišką organizmo mikrobiotos ir aplinkos pusiausvyros būklę.

Pasiūlyta kompozicija dėl bifidobakterijų ir laktobakterijų įvairovės ir tarpusavio suderinamumo turi žymiai platesnį veikimo spektrą dalyvaujant medžiagų apykaitos procesuose, bei didesnę stabilumą.

Pasiūlyta maistinio arba farmacinio biopreparato kompozicija apima probiotikus iš bifidobakterijų ir laktobakterijų, kurie yra parinkti iš štamų

Bifidobacterium bifidum , ATCC 29521;

Lactobacillus acidophilus, ATCC 4356;

Bifidobacterium brevis, produkto kodas: LactoStab, SGB01;

Bifidobacterium infantis, produkto kodas: LactoStab, SGB03;

Lactobacillus fermentum, produkto kodas: LactoStab, SGL10;

Lactobacillus reuteri, produkto kodas: LactoStab, SGL01;

„Nutraceutica“ s.r.l. Via Idice 27/01, 40050 Monterenzio, IT;

Bifidobacterium longum, produkto kodas 68936, 01-05-2010;

FERM 100351 FT CHR Hansen;

Chr. Hansen A/S, Bøge Alle 10-12—2970 Horsholm, DK

Lactobacillus plantarum , prod. specifikavcija “DuoLac-Lactobacillus plantarum LP1“, 2008/12/15; FERM 300 500FT,

„CELL BIOTECH EUROPE A/S“Havnegade 39, 1058 Kopenhaga, DK

Lactobacillus rhamnosus, produkto kodas THT 030901, E-09-10/044 (16S/ITS),

FERM600200 FT THT;

„THT s.a.. Chee d'Eghezee, 36-5081 La Bruyere, BE

Lactobacillus casei

Probiotikų padermės parinktos remiantis mokslininkų ir biotechnologų tyrimais, pateikiamomis padermių charakteristikomis, jų ypatinga reikšmė organizme vykstančiuose medžiagų apykaitos procesuose. Probiotikų padermių skirtingas antagonistinis, fermentinis, imunogeninis aktyvumas sudaro jų komplekso platesnį veikimo spektrą-neleidžia prisitvirtinti ir daugintis infekcijas ir uždegiminius procesus sukeliančioms bakterijoms, gamina medžiagas (bakteriocinus, rūgštis ir kt) naikinančias grybelius, patogenines ir sąlyginai patogenines bakterijas, sintetina fermentus, skaidančius organizmo nesuvirškintas maisto medžiagas, slopina alergines reakcijas, mažina riziką susirgti atopiniu dermatitu, dalyvauja B ir K grupės vitaminų sintezėje, padeda įsisavinti Ca, Mg, Zn, Fe, mažina riziką susirgti rachitu ir osteoporoze, stimuliuoja opų gijimą, naikina opas sukeliančias bakterijas *Helicobacter pylori*, mažina cholesterolio kiekį, įtakoja tulžies rūgščių apykaitą, saugo nuo aterosklerozės, padeda kompleksiskai gydyti žarnyno ir šlapimo takų infekcijas, -vaginitus ir vaginozes, suskaido patekusias iš aplinkos ir endogeninės kilmės nuodingas medžiagas, mažina intoksikaciją, slopina vežinių ląstelių augimą, auglių susidarymą, neutralizuoja kancerogenines nitritų ir nitratų savybes, mažina riziką susirgti virusinėmis ligomis, tame tarpe ir lytiškai plintančiomis, aktyvina imunitetą, stimuliuoja antikūnų ypač IgA, fagocitų, limfocitų, interferono, lizocimo sintezę, mažina storosios žarnos pH ir taip slopina patogeninių, puvimo ir rūgimo bakterijų augimą, lemia nuolatinę dujų sudėtį ir

kvapą, mažina indolo, skatolo, H₂S susidarymą, padeda esant įvairios kilmės viduriavimui, vidurių užkietėjimui, normalizuoja išmatų konsistenciją ir tuštinimąsi, skaido angliavandenius, mažina cukraus kiekį kraujyje, lanolio rūgštį paverčia labai reikalinga lanolino rūgštimi, šalina laisvuosius radikalus, slopina lipidų oksidaciją kepenyse.

Visų paminėtų štamų gavimas yra analogiškas, būtent, kiekvienas jų išauginamas skystoje mitybinėje terpėje, atliekant tris pasėlius. Išauginta kultūra yra koncentruojama ultrafiltraciniu metodu, į gautą biomasę pridedama 6-10 masės % sacharozės ir 0,5-2 masės % želatinos ir išdžiovinama liofilizacijos metodu. 100 g sausos biomasės yra 5-20 g želatinos, 60-70 g sacharozės, 7-8 g biokultūros ląstelių ir 9-10 g terpės druskų. Atliekama bifidobakterijų ir laktobakterijų gyvybingumo kontrolė, švarumo kontrolė, kad nebūtų pašalinės mikrofloros, ir nustatoma liekamoji drėgmė.

Prisilaikant techninės dokumentacijos normatyvų, gautos sausos mikrobinės masės susmulkinamos ir sumaišomos pasirinktinai su papildomomis medžiagomis, tokiomis kaip maltodekstrinas, magnio stearatas, silicio dioksidas.

Bendras biologinis aktyvumas viename grame gautos biomasės turi būti nuo nuo maždaug $1,5 \times 10^{10}$ iki maždaug $1,5 \times 10^{11}$ KSV (kolonijas sudarančių vienetų) bei sudaro nuo maždaug 40 iki maždaug 42 kompozicijos masės %, o likusią dalį sudaro pasirinktos papildomos medžiagos. Pasirinktos papildomos medžiagos kompozicijoje apima maltodekstriną, magnio stearatą ir silicio dioksidą, kur maltodekstrinas sudaro maždaug 35,19 kompozicijos masės %, magnio stearatas sudaro maždaug 1,17 kompozicijos masės %, silicio dioksidas sudaro maždaug 0,29 kompozicijos masės %. Kai kompozicijos vienetinė dozė yra suformuota kaip kapsulė, tuomet želatininė kapsulė sudaro maždaug 2,2 kompozicijos masės %.

Pavyzdys.

Kompozicijos vienetinę per burną vartojamą kapsulės pavidalo dozę sudaro 341 mg sausos biomasės kurios sudėtis pateikta lentelėje:

Sudedamoji dalis	mg/kapsulėje	Kiekis kapsulėje
<i>Bifidobacterium infantis</i> 100×10^9 KSV/g	20,00	2×10^9 KSV
<i>Bifidobacterium breve</i> 100×10^9 KSV/g	20,00	2×10^9 KSV
<i>Lactobacillus fermentum</i> 100×10^9 KSV/g	20,00	2×10^9 KSV
<i>Lactobacillus reuteri</i> 100×10^9 KSV/g	20,00	2×10^9 KSV
<i>Lactobacillus acidophilus</i> 150×10^9 KSV/g	15,00	$2,25 \times 10^9$ KSV

<i>Lactobacillus plantarum</i> 100x10 ⁹ KSV/g	10,00	1x10 ⁹ KSV
<i>Lactobacillus casei</i> 100x10 ⁹ KSV/g	10,00	1x10 ⁹ KSV
<i>Bifidobacterium longum</i> 100x10 ⁹ KSV/g	10,00	1x10 ⁹ KSV
<i>Bifidobacterium bifidum</i> 100x10 ⁹ KSV/g	10,00	0,5x10 ⁹ KSV
<i>Lactobacillus rhamnosus</i> 250x10 ⁹ KSV/g	6,00	1,5x10 ⁹ KSV
Maltodekstrinas	120,00	
Magnio stearatas	4,00	
Silicio dioksidas	1,00	
Išvalytos želatinos kapsulė	75	

Pavyzdyje pateiktos kapsulės sausos biomasės bendras biologinis aktyvumas yra ne mažesnis kaip $1,5 \cdot 10^{10}$..KSV bei sudaro maždaug 40 kompozicijos masės %, o likusią dalį sudaro papildomos medžiagos, susidedančios iš maltodekstrinas, maždaug . 35,19 kompozicijos masės %, magnio stearatas maždaug 1,17 kompozicijos masės %, silicio dioksidas sudaro maždaug 0,29 kompozicijos masės % bei želatininė kapsulė maždaug 2,2 kompozicijos masės % .

IŠRADIMO APIBRĖŽTIS

1. Kompozicija, apimanti probiotikus iš bifidobakterijų ir laktobakterijų bei papildomas medžiagas, kur probiotikų bifidobakterijos yra parinktos iš štamų, tokių kaip *Bifidobacterium infantis*, *Bifidobacterium longum*, *Bifidobacterium bifidum*, *Bifidobacterium breve*, laktobakterijos yra parinktos iš štamų, tokių kaip *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus plantarum*, besiskirianti tuo, kad kompozicija papildomai apima laktobakterijas parinktas iš štamų *Lactobacillus fermentum*, *Lactobacillus reuteri*, *Lactobacillus casei* ir *Lactobacillus rhamnosus*, kurioje probiotikų iš bifidobakterijų ir laktobakterijų bendras biologinis aktyvumas viename grame biomasės yra nuo maždaug $1,5 \times 10^{10}$ iki maždaug $1,5 \times 10^{11}$ KSV (kolonijas sudarančių vienetų) bei sudaro nuo maždaug 40 iki maždaug 42 kompozicijos masės %, o likusią dalį sudaro pasirinktos papildomos medžiagos.
2. Kompozicija pagal 1 punktą, besiskirianti tuo, kad pasirinktos papildomos medžiagos apima maltodekstriną, magnio stearatą ir silicio dioksidą.
3. Kompozicija pagal 2 punktą, besiskirianti tuo, kad maltodekstrinas sudaro maždaug 35,19 kompozicijos masės %, magnio stearatas sudaro maždaug 1,17 kompozicijos masės % bei silicio dioksidas sudaro nuo maždaug 0,29 kompozicijos masės %.
4. Kompozicija pagal bet kurią iš 1 – 3 punktų, besiskiriantis tuo, kad ji yra per burną vartojamos vienetinės dozės formos.
5. Kompozicija pagal 4 punktą, besiskiriantis tuo, kad per burną vartojamos vienetinės dozės forma yra suformuota kaip kapsulė, arba kaip tabletė, arba kaip žirnelis, arba miltelių pavidalo.
6. Kompozicija pagal bet kurią ankstesnįjį punktą yra skirta panaudoti kaip maisto papildas arba vaistas virškinamojo trakto disbakteriozių profilaktikai arba gydymui, infekciniams ir uždegiminiams procesams slopinti bei atstatyti dinamišką organizmo mikrobiotos ir aplinkos pusiausvyros būklę.