



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 103402377 A

(43) 申请公布日 2013. 11. 20

(21) 申请号 201280009918. 1

(51) Int. Cl.

(22) 申请日 2012. 02. 23

A23L 1/30 (2006. 01)

A23L 1/308 (2006. 01)

(30) 优先权数据

61/463, 846 2011. 02. 23 US

61/517, 130 2011. 04. 14 US

13/400, 735 2012. 02. 21 US

(85) PCT申请进入国家阶段日

2013. 08. 21

(86) PCT申请的申请数据

PCT/SE2012/050202 2012. 02. 23

(87) PCT申请的公布数据

W02012/115588 EN 2012. 08. 30

(71) 申请人 生命大地女神有限公司

地址 瑞典斯德哥尔摩

(72) 发明人 斯蒂芬·罗斯

(74) 专利代理机构 北京乾诚五洲知识产权代理

有限责任公司 11042

代理人 付晓青 李广文

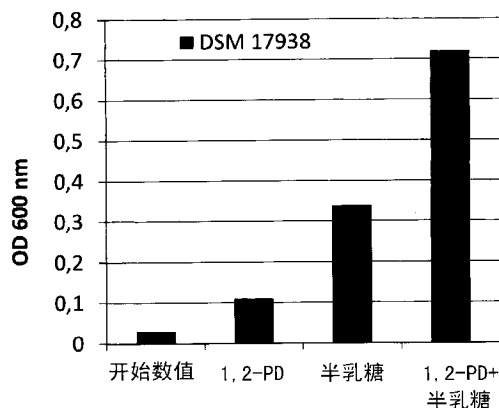
权利要求书1页 说明书10页 附图1页

(54) 发明名称

用于微生物代谢 1, 2- 丙二醇的间接基质

(57) 摘要

本发明通常涉及某些益生菌活性的提高, 所提高的功效是通过使用能够间接地为所述益生菌提供特定的能量来源的某些基质组分而实现的。所述基质组分特别地设计成刺激 1, 2- 丙二醇的产生。实施例示出了诸如鼠李糖、岩藻糖、具有高比例的鼠李糖的果胶和具有高比例的岩藻糖的岩藻多糖的基质组分。



1. 一种用于提高在个体的胃肠道中具有 pdu 操纵子的益生菌的活性的方法,所述方法包括向个体施用一种物质,所述物质具有在个体的胃肠道中被代谢为 1, 2- 丙二醇的能力。

2. 根据权利要求 1 所述的方法,其中,所述物质包括 (a) 鼠李糖、(b) 岩藻糖、(c) 具有高比例的鼠李糖的果胶、(d) 结合果胶的鼠李糖、(e) 结合果胶的岩藻糖、(f) 具有高比例的岩藻糖的岩藻多糖、或 (g) 鼠李糖、岩藻糖和果胶的组合。

3. 根据权利要求 1 或 2 所述的方法,其中,所述物质与具有 pdu 操纵子的细菌同时被施用。

4. 根据前述权利要求中任一所述的方法,其中,所述具有 pdu 操纵子的细菌包括罗伊氏乳杆菌。

5. 根据前述权利要求中任一所述的方法,其中,所述物质施用给个体的日剂量为 0. 25-25g, 优选 1-2g。

6. 根据前述权利要求中任一所述的方法,所述方法进一步包括同时施用低聚半乳糖或包括半乳糖的其它糖类。

7. 一种用于提高在个体的胃肠道中具有 pdu 操纵子的益生菌的活性或增加具有 pdu 操纵子的益生菌的生长的物质,所述物质包括一种具有在个体的胃肠道中被代谢为 1, 2- 丙二醇的能力的脱氧糖。

8. 根据权利要求 7 所述的物质,所述物质包括 (a) 鼠李糖、(b) 岩藻糖、(c) 具有高比例的鼠李糖的果胶、(d) 结合果胶的鼠李糖、(e) 结合果胶的岩藻糖、(f) 具有高比例的岩藻糖的岩藻多糖、或 (g) 鼠李糖、岩藻糖和果胶的组合。

9. 根据权利要求 7 至 8 中任一所述的物质,其中,所述具有 pdu 操纵子的细菌为罗伊氏乳杆菌。

10. 根据权利要求 7 至 9 中任一所述的物质,所述物质施用给个体的日剂量为 0. 25-25g, 优选 1-2g。

11. 根据权利要求 7 至 10 中任一所述的物质,所述物质与低聚半乳糖或包括半乳糖的其它糖类结合使用。

12. 一种组合物,所述组合物包括具有 pdu 操纵子的细菌和包括脱氧糖的物质,所述脱氧糖具有在个体的胃肠道中被代谢为 1, 2- 丙二醇的能力。

13. 根据权利要求 12 所述的组合物,所述组合物包括具有 pdu 操纵子的细菌,以及与 (a) 鼠李糖、(b) 岩藻糖、(c) 具有高比例的鼠李糖的果胶、(d) 结合果胶的鼠李糖、(e) 结合果胶的岩藻糖、(f) 具有高比例的岩藻糖的岩藻多糖、或 (g) 鼠李糖、岩藻糖和果胶的组合。

14. 根据权利要求 12 或 13 所述的组合物,所述组合物进一步包括低聚半乳糖或包括半乳糖的其它糖类。

15. 根据权利要求 12 至 14 中任一所述的组合物,其中,所述具有 pdu 操纵子的细菌为罗伊氏乳杆菌。

16. 根据权利要求 12 至 15 中任一所述的组合物,其中,所述物质的施用日剂量 0. 25-25g, 优选为 1-2g。

17. 根据权利要求 12 至 16 中任一所述的组合物,所述组合物用于提高在个体的胃肠道中具有 pdu 操纵子的益生菌的活性或增加具有 pdu 操纵子的益生菌的生长。

用于微生物代谢 1,2- 丙二醇的间接基质

技术领域

[0001] 本发明一般涉及提高哺乳动物中的某些益生菌的活性。此外,本发明涉及包括基质组分和某些益生菌的制备,该基质组分特别地设计成提高所述益生菌的功效。选择基质组分以产生 1,2- 丙二醇,大多数罗伊氏乳杆菌 (*Lactobacillus reuteri*) 菌株能够利用 1,2- 丙二醇作为能量来源和 / 或外部电子受体。

背景技术

[0002] 联合国粮食和农业组织将益生菌定义为“当施用足够的数量时,有利于宿主的健康的活性微生物”。如今,许多不同的细菌作为益生菌使用,例如,诸如乳杆菌 (*Lactobacillus*) 菌株和双歧杆菌 (*Bifidobacterium*) 菌株的乳酸杆菌。

[0003] 益生菌的有效性是菌株特异性的,各菌株均可通过不同的机制以利于宿主的健康。不同的益生菌能够阻止或抑制病原体的增殖、阻止病原体致病因子的产生、调节在促炎方式或抗炎方式中的免疫反应、以及以多种其他方式影响宿主。

[0004] 益生元定义为“不易消化的膳食补充剂,其通过选择性刺激一种或有限数量的能够改善宿主健康的在结肠中的细菌的生长和 / 或活性,而有益地影响宿主。”。用于益生元的目标通常是双歧杆菌和乳酸杆菌;然而,益生元往往不是选择性的,因此可能难以实现有益菌属或单独的益生菌菌株的刺激作用。由于难以找到对某些益生菌有选择性的益生元,因此本发明的发明人发现了如何使用特定的基质组分 (SSC),该特定的基质组分间接地为特定的益生菌提供能量来源和 / 或可增加能量产量的外部电子受体。

[0005] 罗伊氏乳杆菌是一种异型发酵的乳酸杆菌,其经常在人类和其他动物的胃肠道中发现。罗伊氏乳杆菌被认为是人体胃肠道中的一种固有生物体,比如存在于胃体、胃窦、十二指肠和回肠的粘膜上。详见例如美国专利号 5439678、5458875、5534253、5837238 和 5849289。当罗伊氏乳杆菌细胞在存在甘油的无氧条件下生长时,它们产生被称为罗伊氏菌素 (β -羟基丙醛) 的抗菌物质。产生罗伊氏菌素的能力归因于丙二醇利用 pdu 操纵子。该 pdu 操纵子是一种也能够 在 1,2- 丙二醇 (PD) 上生长的代谢机制。当细菌繁殖于人并挖掘细菌的全部潜能时,该 pdu 操纵子对于罗伊氏乳杆菌是非常重要的特征。该机制在其他乳酸杆菌中是罕见的,因此那些没有 pdu 机制的乳酸杆菌不能在 1,2-PD 上生长,也不能使用 1,2-PD 作为电子受体。

[0006] 不同的罗伊氏乳杆菌菌株具有繁殖于肠道的能力,作为细菌病原体的抑制剂起着腹泻治疗剂和调节肠道蠕动的的作用,作为胃抗炎剂免疫调节胃肠道粘膜等。

[0007] 在专利申请 W02009 / 151391 中,在冻干细菌之前,用 1,2-PD 或甘油引发罗伊氏乳杆菌的 pdu 机制。根据这种制造设计,冻干的罗伊氏乳杆菌的 pdu 机制具有产生和存储罗伊氏菌素的引物能力。

[0008] Emma Årsköld 等人在“磷酸转酮酶路径对含有糖酵解双路径的罗伊氏乳杆菌 55730 的控制”(Journal of Bacteriology, Jan2008, p. 206-212) 中描述了通过添加作为外部电子受体的果糖能够改善葡萄糖上的罗伊氏乳杆菌的生长性能。然而,这篇文章没有

教导基于间接地为某些益生菌提供 1, 2-PD 的能力如何选择某些 SSC, 该 1, 2-PD 只能被具有 pdu 机制的细菌利用。

[0009] 口服益生菌的常见问题是, 在益生菌维持它们的效果的肠道中益生菌的数量和 / 或活性不足。因此, 人们可能不得不增加益生菌的用量和 / 或需要更频繁地施用益生菌, 并可能也会引起活性丧失。这样导致了不必要的花费、不需要的摄入频率和 / 或降低的健康益处。在本发明中, 提高了诸如罗伊氏乳杆菌的局部数量和 / 或代谢活性, 导致了诸如降低益生菌用量的可能性, 进一步地使得位点导向的健康益处成为可能。

[0010] 1, 2- 丙二醇 (1, 2-PD) 是一种能量来源, 该能量来源能够通过其他共存微生物本地产生和利用, 或者通过某些益生菌品种, 例如罗伊氏乳杆菌与添加的糖类组合使用。本发明的发明人令人惊讶地发现通过口服非常有选择性的 SSC, 可以刺激那些共存微生物产生 1, 2-PD, 进而间接地利用例如罗伊氏乳杆菌生物体提高 1, 2-PD 的活性。

[0011] 果胶是一种来自植物细胞壁的多糖。在细胞壁中能够检测到多种果胶多糖, 包括同型半乳糖醛酸聚糖 (HG)、木糖聚半乳糖醛酸 (XGA)、芹菜糖半乳糖醛酸聚糖 (apiogalacturonan)、鼠李糖半乳糖醛酸聚糖 I (RGI) 和鼠李糖半乳糖醛酸聚糖 II (RGII)。HG、XGA、RGI 和 RGII 之间的比例是可变的, 但通常, HG 是最丰富的多糖, 其包含大约 65% 的果胶, 而 RGI 包含 20% 至 35%, XGA 和 RGII 为微量组分, 各包含不足 10%。不同的果胶多糖并不是单独的分子, 而是共价键相连的域。发现 L- 鼠李糖作为果胶结构 RGI 和 RGII 中的成分。也发现 L- 岩藻糖作为 RGII 结构中的成分。在胃肠道中发现的能够转变 L- 鼠李糖或 L- 岩藻糖的细菌属于例如拟杆菌属和肠杆菌属, 包括大肠杆菌细菌。

[0012] 果胶是耐人体消化的, 但其能降解成糖, 再进一步通过小肠和结肠中的细菌代谢为 1, 2- 丙二醇。果胶刺激小肠和结肠中细菌的生长。果胶作为治疗腹泻使用, 与改善肠道环境有关, 并众所周知还具有抗癌性能。改良的柑橘果胶 (MCP) 是可降解成不太复杂的分子的柑橘果胶, 并用于支持细胞的生长和增殖。

[0013] 岩藻多糖是一种硫酸酯化多糖, 其主要在不同种类的褐色海藻和褐色海草, 例如海发菜、海带、黎母、小米 (moui)、墨角藻、裙带菜和羊栖菜中发现, 包括海参的动物物种中也发现了岩藻多糖的变体形式。具有末端葡萄糖单元的低聚半乳糖 (GOS) 通常包括一系列通过连续的转糖基反应中出现的半乳糖单元, 将低聚半乳糖归类为益菌素。

[0014] Lynch MB 等人在“可饮食的海带衍生的海带多糖和岩藻多糖对猪的营养消化与吸收能力、氮利用、肠胃微生物群落、挥发性脂肪酸浓度的影响”(J Sci Food Agric. 2010Feb; 90(3):430-7) 中发现提供包含岩藻多糖饮食的猪, 与不含岩藻多糖饮食的猪相比, 在近端结肠和远端结肠中增加了的乳酸杆菌。由此表明岩藻多糖可提供一种饮食方式以改善猪的肠道健康。基于岩藻多糖膳食增加的排泄物中乳酸菌群, 也被 J. V. O' Doherty 等人在“刚断奶的小猪饮食海带多糖和岩藻多糖对性能和选定的排泄物的微生物族群总体的影响”(Livestock science 2010September) 中发现。

[0015] 然而, 以前人们不知道基于 L- 鼠李糖和 / 或 L- 岩藻糖的数量以通过细菌发酵产生 1, 2-PD 来选择, 例如果胶和岩藻多糖或其片段, 也不知道使用这种具有高脱氧糖含量, 尤其是高 L- 鼠李糖和 / 或 L- 岩藻糖含量的组合物, 会导致高含量的 1, 2-PD, 因而间接地为某种微生物, 例如罗伊氏乳杆菌提供能量来源和 / 或外部电子受体, 多数其他微生物由于缺少 pdu 机制不能利用这种外部电子受体。

[0016] 专利申请 W02010 / 117274 涉及一种糖类,该糖类能够诱导 C5 和 / 或 C6 短链脂肪酸 (SCFA) 的可检测的增加。该 SCFA 在治疗受试者的胃肠健康上具有积极效果。使用的糖类包括果胶。即使他们选择可能包括微量鼠李糖的果胶,他们也没有公开如何选择和使用具有高含量 L- 鼠李糖或 L- 岩藻糖的特定果胶以间接地为具有 pdu 机制的益生菌提供特定的能量来源和 / 或外部电子受体,从而提高它们的活性。

[0017] 美国专利号 7101565 涉及一种包括益生元和益生菌的组合物,该益生元可包含果胶或果胶多糖。然而该发明没有公开如何选择某些果胶或结合果胶和 L- 鼠李糖或 L- 岩藻糖使用,会在胃肠道中产生高含量的 1, 2-PD, 有益于具有 pdu 机制的益生菌。

[0018] 美国专利号 5902578 公开了涉及一种通过使用乳酸杆菌预防与传染因子例如轮状病毒有关的腹泻,或与抗生素疗法有关的腹泻的方法。然而,在该发明中乳酸杆菌与用于更好的疗效而添加的 SSC 无关。

[0019] 迄今为止没有人公开如何通过益生元例如罗伊氏乳杆菌一起施用 SSC 以提高某些益生菌的健康促进作用,间接地为该益生菌提供独特的能量来源和 / 或外部电子受体;与高含量的 L- 鼠李糖和 / 或 L- 岩藻糖一起口服 SSC 会确保 1, 2- 丙二醇的供给,因而间接地为某些益生元提供能源和 / 或外部电子受体。这将会增加促进健康的微生物,例如罗伊氏乳杆菌的当地数量,并提供更好的疗效,使得位点导向作用成为可能。

[0020] 即使先前已经知道同益生菌一起使用例如果胶,但以前并不知道如何基于形成 1, 2-PD 的能力来选择 SSC,用于为某些益生菌间接提供特定的能量来源和 / 或特定的外部电子受体。

发明内容

[0021] 本发明公开了一种提高某些益生菌活性的方法和产品的制造及使用,所述产品包括基质组分和任意的益生菌。本发明的产品可用于提高例如哺乳动物中的罗伊氏乳杆菌的活性。所述产品可用于改善宿主的健康。根据所使用的益生菌菌株,所述产品可用于例如改善胃肠健康,改善与免疫相关的健康,治疗和 / 或预防腹泻和便秘,使排泄物的稠度正常化,促进胃肠蠕动,治疗和 / 或预防传染性疾病,调节炎症和抗病原体的效果。

[0022] 通过刺激共存微生物以产生 1, 2- 丙二醇 (1, 2-PD) 能够实现益生菌功效的提高。共存微生物被在此描述的某种特定的基质组分 (SSC) 刺激。所述 SSC 确保胃肠道中 1, 2-PD 的存在,并间接地为某些有益生物体提供 1, 2-PD。

[0023] 对于具有 pdu 机制的细菌,利用 1, 2-PD 作为能源和 / 或作为外部电子受体的能力是独特的,因此 SSC 的施用只会提高某些益生菌的活性。

[0024] SSC 能够与益生菌一起施用,用于提高共同施用的益生菌的活性。SSC 也可以单独施用,例如为了提高之前施用的益生菌的活性。

[0025] 单独施用的 1, 2-PD 或由 SSC 产生的 1, 2-PD, 可进一步与低聚半乳糖 (GOS) 或其他含糖类的半乳糖结合,从而为微生物提供更好的能量来源。

[0026] 异型发酵的乳酸杆菌使用磷酸酮酶路径 (PKP) 产生乳酸、乙醇和二氧化碳。与 Embden-Meyerhof 路径 (EMP) 相比,PKP 具有低的能量产量。该缺陷可通过添加外部电子受体来弥补。

[0027] 本发明人令人惊奇的发现,通过确保在胃肠道中存在 1, 2- 丙二醇,可同时为益生

菌提供合适的外部电子受体,因而提高益生菌的活性。

[0028] 本发明的 SSC 选择性地提高异型发酵的乳酸杆菌例如罗伊氏乳杆菌的生长,是由于 SSC 可为细菌提供一种能够提高活性的合适的外部电子受体。

[0029] 罗伊氏乳杆菌在某些环境下依靠优良的电子受体用于生长,本发明的发明人惊奇地发现 1,2-丙二醇能够充当一种优良的电子受体,并通过施用 SSC 来提供。

[0030] 根据本发明的一个方面,提供了一种用于提高在个体的胃肠道中具有 pdu 操纵子的益生菌活性的方法,所述方法包括向个体施用一种物质,所述物质具有在个体的胃肠道中被代谢为 1,2-丙二醇的能力。

[0031] 在所述方法的一个实施例中,所述物质包括脱氧糖,所述脱氧糖具有在个体的胃肠道中被代谢为 1,2-丙二醇的能力。在该实施例中,所述脱氧糖是鼠李糖或岩藻糖。

[0032] 在所述方法的一个实施例中,所述物质包括 (a) 鼠李糖、(b) 岩藻糖、(c) 具有高比例的鼠李糖的果胶、(d) 结合果胶的鼠李糖、(e) 结合果胶的岩藻糖、(f) 具有高比例的岩藻糖的岩藻多糖、或 (g) 鼠李糖、岩藻糖和果胶的组合。

[0033] 在本发明的一个实施例中,将具有高比例的鼠李糖的果胶定义为包括 5-15% 的鼠李糖,例如 5%、6%、7%、8%、9%、10%、11%、12%、13%、14% 或 15% 的鼠李糖。在本发明的一个实施例中,将具有高比例岩的藻糖的岩藻多糖定义为包括超过 15% 的岩藻糖。

[0034] 在所述方法的一个实施例中,所述物质与具有 pdu 操纵子的细菌同时施用。

[0035] 在本发明的一个优选实施例中,个体口服所述物质。

[0036] 在所述方法的另一个优选实施例中,具有 pdu 操纵子的细菌包括罗伊氏乳杆菌。

[0037] 在所述方法的一个实施例中,所述物质施用给个体的日剂量为 0.25-25g,优选 1-2g。

[0038] 在本发明的一个实施例中,所述方法进一步包括同时施用低聚半乳糖或包括半乳糖的其它糖类。

[0039] 根据本发明的第二个方面,提供了一种物质,所述物质用于提高具有 pdu 操纵子的益生菌的活性或增加具有 pdu 操纵子的益生菌的生长,所述益生菌在个体的胃肠道中,所述物质包括具有在个体的胃肠道中被代谢为 1,2-丙二醇的能力的脱氧糖。

[0040] 在一个实施例中,所述脱氧糖为鼠李糖或岩藻糖。

[0041] 在本发明的一个实施例中,所述物质包括 (a) 鼠李糖、(b) 岩藻糖、(c) 具有高比例的鼠李糖的果胶、(d) 结合果胶的鼠李糖、(e) 结合果胶的岩藻糖、(f) 具有高比例的岩藻糖的岩藻多糖、或 (g) 鼠李糖、岩藻糖和果胶的组合。

[0042] 在本发明的一个实施例中,将具有高比例的鼠李糖的果胶定义为包括 5-15% 的鼠李糖,例如 5%、6%、7%、8%、9%、10%、11%、12%、13%、14% 或 15% 的鼠李糖。在本发明的一个实施例中,将具有高比例的岩藻糖的岩藻多糖定义为包括超过 15% 的岩藻糖。

[0043] 在涉及所述物质的一个优选的实施例中,所述具有 pdu 操纵子的细菌为罗伊氏乳杆菌。

[0044] 在本发明的一个实施例中,所述物质施用给个体的日剂量为 0.25-25g,优选 1-2g。

[0045] 在本发明的一个实施例中,所述物质与低聚半乳糖或包括半乳糖的其它糖类结合使用。

[0046] 根据本发明的第三方面,提供了一种组合物,所述组合物包括(i)具有 pdu 操纵子的细菌和(ii)脱氧糖的物质,所述脱氧糖具有在个体的胃肠道中被代谢为 1,2-丙二醇的能力。

[0047] 在一个实施例中,所述组合物包括具有 pdu 操纵子的细菌,所述细菌与(a)鼠李糖、(b)岩藻糖、(c)具有高比例的鼠李糖的果胶、(d)结合果胶的鼠李糖、(e)结合果胶的岩藻糖、(f)具有高比例的岩藻糖的岩藻多糖、或(g)鼠李糖、岩藻糖和果胶的组合物相结合。

[0048] 在本发明的一个实施例中,将具有高比例的鼠李糖的果胶定义为包括 5-15%的鼠李糖,例如 5%、6%、7%、8%、9%、10%、11%、12%、13%、14%或 15%的鼠李糖。在本发明的一个实施例中,将具有高比例的岩藻糖的岩藻多糖定义为包括超过 15%的岩藻糖。

[0049] 在另一个实施例中,所述组合物进一步包括低聚半乳糖或包括半乳糖的其它糖类。

[0050] 在与所述组合物有关的一个实施例中,所述具有 pdu 操纵子的细菌为罗伊氏乳杆菌。

[0051] 在组合物的一个实施例中,所述物质的施用日剂量为 0.25-25g,优选为 1-2g。

[0052] 根据本发明的另一个实施例,上述组合物用于提高具有 pdu 操纵子的益生菌的活性或增加具有 pdu 操纵子的益生菌的生长,所述益生菌在个体的胃肠道中。

附图说明

[0053] 图 1 为显示罗伊氏乳杆菌 DSM17938 在添加有 1,2-PD、半乳糖及其组合物的改良的 MRS(无葡萄糖和柠檬酸盐)中生长的图表。

具体实施方式

[0054] 某些益生菌,其中例如罗伊氏乳杆菌的丙二醇利用(pdu)机制使其能够在作为能量来源的 1,2-丙二醇(1,2-PD)上生长,并使其具有利用 1,2-PD 作为外部电子受体的能力。

[0055] 本发明的发明人令人惊奇地发现一种提高某些益生菌活性的方法,该方法使用某些特定的基质组分(SSC)以间接地为特定的益生菌生物体提供 1,2-PD,1,2-PD 可用作能量来源或外部电子受体。

[0056] SSC 是一种物质。根据本发明的一个实施例,该物质是一种基质。在一个实施例中,该物质只有一种组分构成。在另一个实施例中,该物质包括两种或多种组分。

[0057] 口服精心挑选的 SSC 刺激共存微生物以产生 1,2-PD,这导致本地产生 1,2-PD,1,2-PD 可用作某些具有 pdu 机制的微生物,例如罗伊氏乳杆菌的能量来源或外部电子受体。SSC 可以单独施用,或与益生菌一起施用。

[0058] 如图 1 所示,1,2-PD 的存在改善了某些微生物的生长条件,此外本发明人发现低聚半乳糖(GOS)或半乳糖的存在能够进一步提高微生物的生长条件。

[0059] 本发明的 SSCs 选择为能够间接地为特定的益生菌提供可作为能量来源或外部电子受体的 1,2-PD。本发明的发明人发现在用于提高某些益生菌的活性时,具有高含量的 L-鼠李糖和 L-岩藻糖的 SSC 是最为有效的。因此在本发明中使用的 SSC 是考虑到 L-鼠李

糖和 L-岩藻糖的含量而精心挑选的。

[0060] 果胶, 优选某些包括高比例的 L-鼠李糖的果胶片段, 例如鼠李糖半乳糖醛酸聚糖 I 和 II, 可以作为 SSC 使用。优选地, 这些优选的果胶片段包括 5-15% 的鼠李糖。当降解时, 这些果胶片段产生比未分离的果胶更多的鼠李糖, 在本文中未分离的果胶称为果胶、普通果胶或常规果胶。这种优选的果胶片段的一定日剂量如 2g, 与常规果胶的相同日剂量的相比, 会产生更高含量的 1, 2-PD。如果与 L-鼠李糖或 L-岩藻糖一起施用, 也可以使用普通果胶, 以间接地和以相同的方式有益于某些微生物, 例如罗伊氏乳杆菌。除 1, 2-PD 之外, 这种组合也会为某些益生菌提供其他基质, 例如作为果胶降解结果的半乳糖、阿拉伯糖和半乳糖醛。如图 1 所示, 本发明的发明人显示出 1, 2-PD 与某些果胶成分, 例如半乳糖、阿拉伯糖和半乳糖醛相结合产生了协同效应, 该协同效应用于某些益生菌, 例如罗伊氏乳杆菌, 提高了 1, 2-PD 利用率。

[0061] 岩藻多糖, 优选某些具有高含量的 L-岩藻糖的岩藻多糖片段作为 SSC 在本发明中使用。优选地, 这些岩藻多糖片段包括超过 15% 的岩藻糖。当岩藻多糖片段降解时, 这些岩藻多糖片段比普通的岩藻多糖产生更多的岩藻糖, 因而产生更多数量的 1, 2-PD。

[0062] 单独的 L-鼠李糖或 L-岩藻糖也可作为本发明的 SSC 单独使用。

[0063] 根据本发明如果包含 L-鼠李糖、L-岩藻糖或类似物, 可以使用其它 SSC, 例如树胶和其他多糖。树胶包括, 但不仅限于刺梧桐树胶和阿拉伯胶。此外, 来自人类母乳的人乳低聚糖 (HMO's) 能够作为 SSC 在本发明中使用。

[0064] 本发明即可以单独施用 SSC, 也可以同一种益生菌, 例如罗伊氏乳杆菌一起施用, 以确保用于特定的益生菌的能量来源的提供和 / 或确保提高能量产量的外部电子受体的存在, 从而提高所述益生菌的活性和功效。

[0065] 在其他实施例中, 为了支持这一效果, 还可以添加 GOS 或半乳糖以提高罗伊氏乳杆菌利用 1, 2-PD 的能力。

[0066] 根据目标指示, 在此本发明使用了多种具有不同繁殖于肠道能力的罗伊氏乳杆菌菌株, 充当腹泻治疗剂, 调节肠道蠕动; 作为细菌性病原体抑制剂, 免疫调节胃肠道粘膜, 在胃中作为抗炎剂等。

[0067] 果胶、L-鼠李糖和 L-岩藻糖是耐人体消化, 但其降解成糖, 再进一步通过共存微生物代谢为例如 1, 2-丙二醇, 在人体内和可能在人体胃肠道的某些位置, 例如胃体、胃窦、十二指肠和小肠的粘膜上发现共存微生物。因此本发明使得支持在人体胃肠道中的位点导向效应成为可能。例如使用选定的罗伊氏乳杆菌菌株作为益生菌, 能够提高该菌株在回肠中的抗炎作用。

[0068] 当使用在本发明中描述的某种 SSC 体系时, 例如具有非常异常微生物菌群的人体内的一种特定的罗伊氏乳杆菌菌株, 包括缺少正常发现的能够将 SSC 转化为 1, 2-PD 的共存微生物, 这也是本发明的另一个可能以积极地将这种共存微生物, 例如鼠李糖乳酸杆菌提供给确保施用的 SSC 的功效的接收者。

[0069] 将包括或是单独的或是结合某些益生菌的本发明的 SSC 的产品优选地制成片剂、胶囊、粉剂袋或类似物。该产品可以是食品补充剂、药剂产品或类似物。在这种产品中, 益生菌饲料的数量应当为足够实现该特定菌株预期效果和考虑通过 SSC 提高的效果的数量。这种标准通常是, 但并不限于每天 $10E+4CFU$ 至 $10E+11CFU$, 优选地罗伊氏乳杆菌的范围为

10E+6CFU 至 10E+9CFU。

[0070] 当使用具有高含量的 L- 鼠李糖和 / 或 L- 岩藻糖的果胶时, SSC 的量应当在每天 0.25 至 25 克 (g) 的范围内。当使用常规果胶与单独的 L- 鼠李糖和 / 或 L- 岩藻糖的组合物时, SSC 的总量应当在每天 0.25 至 25g 的范围内。在上述两种情况中, 0.25-25g 的日剂量可以是例如 0.25、0.5、1、1.5、2、5、10、15、20 或 25g, 优选为 1-2g, 例如 1、1.25、1.5、1.75 或 2g。常规果胶与 L- 鼠李糖或 L- 岩藻糖中的任一个, 或其组合物的比例应当在 95 :5 至 0 :100 的范围内, 但优选为 80 :20 至 20 :80, 更优选为 70 :30。

[0071] 当使用本发明时的另一个选择是一起交替供给 SSC 和益生菌, 并在一种或多种场合按照第一供给的方式以交替程序仅供给 SSC, 从而降低治疗成本。

[0072] 对于本发明, 使用的益生菌具有 pdu 机制也是必不可少的, 因为这对于使用 1, 2-PD 作为能量来源和 / 或外部电子受体的能力来说是必要的。因此在本发明的另一实施例中, 在益生菌菌株生产的过程中, 用 1, 2-PD 来引发益生菌的 pdu 机制以提高功效。这是当培养细菌时, 在发酵步骤开始时, 通过添加 1, 2-PD 或甘油和可能的钴或维生素 B-12 (因为维生素 B-12 和钴对产生罗伊氏菌素很重要) 实现的。根据这种制造设计, 将在下步要使用的冻干的细菌更好的准备以更快速地激活 pdu 机制。pdu 机制的这种增强的效力会轮流提高本发明施用的 SSC 的功效。另一种提高施用的 SSC 的功效的方法是与 GOS 或半乳糖结合, 本发明显示出了 1, 2-PD 与半乳糖的结合对罗伊氏乳杆菌的生长具有意想不到的益处。

[0073] 由于许多修改和改变对本领域的技术人员是容易想到的, 因此不希望将本发明限制到所示出和描述的具体结构和操作, 因此, 所有适合的修改和采用的等同物都落入所附的权利要求书限定的本发明的范围内。

[0074] 实施例 1

[0075] 含有罗伊氏乳杆菌与果胶、鼠李糖和低聚半乳糖的组合物的袋的制造

[0076] 组合物的组成:

[0077] 罗伊氏乳杆菌 DSM17938 :10E+8CFU / 袋

[0078] 果胶 (GENU®果胶 (柑橘类的植物) USP / 200 型, 法国, 斯比凯可法国有限责任公司 CP Kelco France SARL) :840mg / 袋

[0079] L- 鼠李糖 : (鼠李糖一水合物 L-(+), 德国汉堡, 卡登生化药剂股份有限公司 Kaden Biochemicals GmbH) 360mg / 袋

[0080] GOS15 (VIVINAL®, 荷兰皇家菲仕兰乳品公司 FrieslandCampina Domo) 800mg / 袋

[0081] 在 LAF 工作台 (来自丹麦 Heto-Holten A / S 的霍尔顿板状模型 (Holten Laminair Model) S-20101.2) 中在室温下将组合物和干燥剂装填到本领域公知的铝箔袋 (10cm x12cm, 使用来自加拿大铝业公司 (Alcan) 的包装材料 PET12 / PE / ALU12 / PE / PE+干燥剂 / PE) 中。使用德国丹佛仪器股份有限公司 (Denver Instrument GmbH) 的 XP-600 天平向每个袋子中加入 2g 的罗伊氏乳杆菌、果胶、L- 鼠李糖和低聚半乳糖的粉末。然后通过德国 Kettenbaum Folienschweisstechnik GmbH&Co. KG 的薄膜密封设备模型 F460 / 2 热封装填好的铝箔袋。

[0082] 实施例 2

[0083] 含有罗伊氏乳杆菌和鼠李糖的组合物的袋的制造

- [0084] 组合物的组成：
- [0085] 2g L-鼠李糖：(鼠李糖一水合物 L-(+)，德国汉堡，卡登生化药剂股份有限公司 Kaden Biochemicals GmbH) 每袋含有 10E+8CFU 罗伊氏乳杆菌 DSM17938
- [0086] 将组合物按实施例 1 的方式装填到铝箔袋中。
- [0087] 实施例 3
- [0088] 含有罗伊氏乳杆菌与低聚半乳糖和鼠李糖的组合物的袋的制造
- [0089] 组合物的组成：
- [0090] 1g GOS15 (VIVINAL®，荷兰皇家菲仕兰乳品公司 FrieslandCampina Domo) 和 1g L-鼠李糖：(鼠李糖一水合物 L-(+)，德国汉堡，卡登生化药剂股份有限公司 Kaden Biochemicals GmbH) 每袋含有 10E+8CFU 罗伊氏乳杆菌 DSM17938。
- [0091] 将组合物按实施例 1 的方式装填到铝箔袋中。
- [0092] 实施例 4
- [0093] 引发的罗伊氏乳杆菌菌株的制造
- [0094] 本实施例描述了如何制造具有活化的 pdu 机制的罗伊氏乳杆菌的冻干粉剂。当生产实施例 1-3 的袋时可使用引发的罗伊氏乳杆菌菌株。
- [0095] 发酵培养基组成
- [0096] 葡萄糖一水合物 60g / 1
- [0097] 酵母提取物 KAV20g / 1
- [0098] PS 型蛋白胨 (猪来源的) 20g / 1
- [0099] 柠檬酸氢二铵 5g/1
- [0100] 醋酸钠 (x3H₂O) 4.7g / 1
- [0101] 磷酸氢二钾 2g / 1
- [0102] 吐温 800. 5g / 1
- [0103] Silibione (抗泡沫) 0.14g/1
- [0104] 硫酸镁 0.10g/1
- [0105] 硫酸锰 0.03g / 1
- [0106] 硫酸锌七水合物 0.01g / 1
- [0107] 适量水
- [0108] 离心介质
- [0109] 蛋白胨 0-240rthana (猪来源的)
- [0110] 防冻剂
- [0111] 乳糖 (牛来源的) 33%
- [0112] 明胶水解物 (牛来源的) 22%
- [0113] 谷氨酸钠 22%
- [0114] 麦芽糊精 11%
- [0115] 抗坏血酸 11%
- [0116] 冻干的罗伊氏乳杆菌粉剂的生产步骤
- [0117] 1、20ml 的发酵培养基用来自工作细胞库小瓶的 0.6ml 冻干的罗伊氏乳杆菌粉剂接种。在 37°C 在瓶子中进行发酵 18-20 小时，没有搅动或 pH 值控制，即，静态的。

[0118] 2、两个 1 升烧瓶的发酵培养基用每升 9ml 细胞浆液（来自步骤 1）来接种。发酵在 37℃进行 20-22 小时，没有搅动或 pH 值控制，即，静态的。

[0119] 3、将来自步骤 2 的两个一升细胞浆液用于接种到含有 600 升发酵培养基的 600 升容器中。发酵在 37℃进行 13 小时，伴有搅动和 pH 值控制。发酵开始时 pH 值为 6.5。当 pH 值降至低于 5.4，利用 20%氢氧化钠溶液开始 pH 值控制。pH 值控制设置在 pH5.5。

[0120] 4、第四和最终的发酵步骤用步骤 3 的接种物在 15000 升容器中进行。在 37℃进行发酵 9 到 12 小时，伴有搅动和 pH 值控制。发酵开始时 pH 值为 6.5。当 pH 值降至低于 5.4，利用 20%氢氧化钠溶液开始 pH 值控制。pH 值控制设置到 pH5.5。在培养物即将达到稳定期之前，100mM 甘油添加到发酵的末期之中。当培养物到达稳定期，发酵完成，稳定期可以通过氢氧化钠溶液添加的降低来看出。在发酵期间，大约 930 升的氢氧化钠溶液添加到 10200 升的培养基和 600 升的接种物中。

[0121] 来自最终发酵（步骤 4）的细胞浆液在来自 Alfa Laval 的连续离心机中在 10℃下分离两次。通过首次离心，细胞浆液的体积从约 11730 升降低到 1200 升。这个体积在 3000 升容器中用 1200 升蛋白胨（Peptone 0-24, Orthana）溶液洗涤，在与防冻剂（见下文）混合前再次分离。进行蛋白胨的洗涤步骤以避免冻干过程中任何凝固点降低。

[0122] 通过第二次离心，细胞浆液的体积降低到 495 升。该体积与 156kg 的防冻剂溶液混合，达到大约 650 升的细胞浆液。

[0123] 将细胞浆液泵送到 1000 升容器中。该容器然后转运到冻干厂。

[0124] 在冻干厂，刚好 2 升的细胞浆液倾倒在冷冻干燥器的每个平板上。冷冻干燥器的最大容量是 600 升，所有过多的细胞浆液体积被弃去。

[0125] 罗伊氏乳杆菌的细胞浆液干物质含量为 18%，冻干四到五天。

[0126] 在冻干过程中，所述过程中的压力在 0.176mbar 和 0.42mbar 之间。当压力达到 0.42mbar 时开启真空泵。当过程完成时，使用 PRT（密封测试）来测定。如果 PRT 或压力的提高在 120 秒后低于 0.02mbar，停止该过程。

[0127] 实施例 5

[0128] 1, 2-PD 和半乳糖的组合物产生提高罗伊氏乳杆菌的活性的协同作用

[0129] 罗伊氏乳杆菌 DSM17938 在添加了 1, 2-PD (0.3%)、半乳糖 (0.3%) 或二者的组合物的改良的 MRS 肉汤（不含葡萄糖和柠檬酸盐）中生长。细菌在 37℃生长 24 小时。如图 1 所示，在 1, 2-PD 和半乳糖都存在下生长的罗伊氏乳杆菌比在单独物质中生长的罗伊氏乳杆菌显示出显著更高的生长。

[0130] 实施例 6

[0131] 供给的交替程序的实施例

[0132] 由于本申请所描述的由 SSC 诱导的罗伊氏乳杆菌活性的提高，使得在交替程序中将实施例 1 的袋子（A 袋）与根据实施例 1（B 袋）以其他方式制造的不含罗伊氏乳杆菌的袋子交替成为可能。该交替程序不会降低罗伊氏乳杆菌的效力，并可以降低治疗成本。

[0133] 在第 1 天向接受者施用 A 袋，在第 2 天和第 3 天向接受者施用 B 袋。在整个治疗期间重复此施用方案。

[0134] 实施例 7

[0135] 在人体内的肠道繁殖

[0136] 在临床研究中,作了一个在单独的罗伊氏乳杆菌与相同的罗伊氏乳杆菌和 SSC 一起施用之间的肠道繁殖的比较。将 12 名健康的志愿者以 6 名参加者为一组分成两组 (A 组和 B 组)。A 组接受实施例 1 的袋子,该袋子包含罗伊氏乳杆菌和以果胶、鼠李糖和低聚半乳糖形式的 SSC 的组合物。B 组接受相同的罗伊氏乳杆菌菌株但没有上述的 SSC。在 60 天内每天各组服用 $10E+8CFU$ 的罗伊氏乳杆菌。通过在治疗期间的研究开始时、30 天后和 60 天后对排泄物样品检查作出单独给予或与 SSC 一起给予菌株时肠道繁殖的定量评价。将排泄物的罗伊氏乳杆菌计数,并比较 A 组和 B 组的排泄物的量。

[0137] 如表 1 所示,与仅施用罗伊氏乳杆菌的病人相比,与 SSC 一起施用罗伊氏乳杆菌的病人的罗伊氏乳杆菌的排泄物的量显示出显著的增加。给出的数值表示每克排泄物 $\pm SEM$ 的平均 $\log_{10}CFU$ 的值。

[0138] 表 1

	研究组 (n)	罗伊氏乳杆菌计数		
		之前	30 天	60 天
[0139]	A 组 (6)	N.D.	5.5 ± 0.2	5.8 ± 0.3
	B 组 (6)	N.D.	4.2 ± 0.3	4.5 ± 0.4

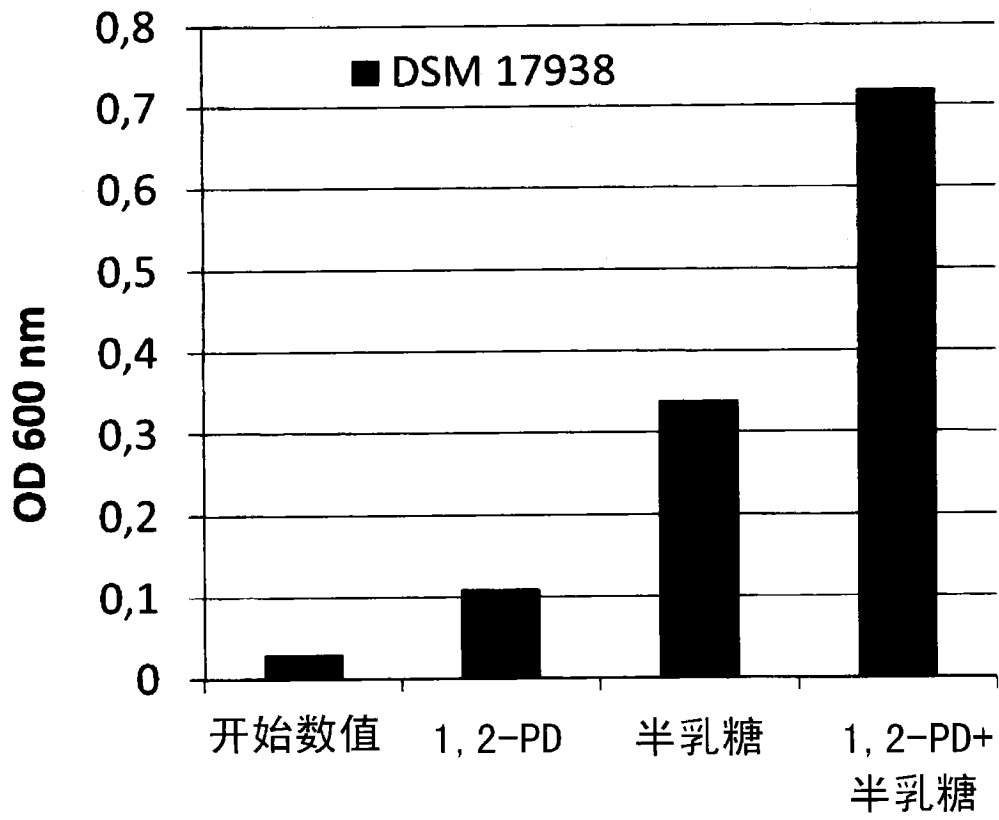


图 1