



(19) 대한민국특허청(KR)

(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2016년10월25일

(11) 등록번호 10-1669291

(24) 등록일자 2016년10월19일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)

A61K 38/17 (2006.01) A61K 33/26 (2006.01)

A61K 38/02 (2006.01) A61P 7/06 (2006.01)

(21) 출원번호 10-2010-7015618

(22) 출원일자(국제) 2008년12월12일

심사청구일자 2013년11월06일

(85) 번역문제출일자 2010년07월14일

(65) 공개번호 10-2010-0112133

(43) 공개일자 2010년10월18일

(86) 국제출원번호 PCT/US2008/086668

(87) 국제공개번호 WO 2009/079401

국제공개일자 2009년06월25일

(30) 우선권주장

61/013,873 2007년12월14일 미국(US)

(56) 선행기술조사문현

JP05229959 A*

*는 심사관에 의하여 인용된 문현

(73) 특허권자

호프세드 바이오케어 에이에스

노르웨이, 6140 시브데

(72) 발명자

프람로즈, 보미

캐나다, 온타리오 5번 1티6, 토론토, 1 버튼 로드

(74) 대리인

허용록

전체 청구항 수 : 총 6 항

심사관 : 이수정

(54) 발명의 명칭 철분 흡수 증가를 위한 조성물 및 방법

(57) 요 약

인간 또는 동물에 있어서 철분 흡수를 증가시키는 방법들 및 조성물들이 제공된다. 상기 방법들 및 조성물들은 철분 및 효소 가수분해된 웹티드를 제공한다.

명세서

청구범위

청구항 1

동물 또는 사람이 섭취하는 경우, 철분 흡수를 증가시키는 철분 흡수 증진용 약학 조성물에 있어서, 상기 약학 조성물은 철분 및 웨이퍼드를 포함하고:

- (a) 상기 웨이퍼드는 효소 가수분해된(enzymatically hydrolyzed) 연어 척추 및 머리로부터 수득되고;
- (b) 상기 조성물은 사람 또는 동물 섭취에 적합하고;
- (c) 상기 웨이퍼드는 상기 조성물의 50 중량%를 초과하는 것을 특징으로 하는 약학 조성물.

청구항 2

제 1 항에 있어서,

상기 웨이퍼드의 분자량은 3500 달톤(Daltons) 이하인 것을 특징으로 하는 약학 조성물.

청구항 3

제 1 항 또는 제 2 항에 있어서,

상기 철분은 상기 조성물의 0.01 중량%를 초과하는 것을 특징으로 하는 약학 조성물.

청구항 4

제 1 항 또는 제 2 항에 있어서,

상기 조성물은 연어 오일을 더 포함하는 것을 특징으로 하는 약학 조성물.

청구항 5

삭제

청구항 6

삭제

청구항 7

삭제

청구항 8

제 1 항 또는 제 2 항에 있어서,

상기 웨이퍼드의 50 중량% 미만은 철분에 대해 칼레이트화 되는 것을 특징으로 하는 약학 조성물.

청구항 9

삭제

청구항 10

삭제

청구항 11

삭제

청구항 12

삭제

청구항 13

삭제

청구항 14

삭제

청구항 15

삭제

청구항 16

삭제

청구항 17

철분 결핍 빈혈증이 있거나 철분 결핍 빈혈증의 위험이 있고 질병 또는 장애 때문에 달라진 식사를 갖지 않는 동물 또는 사람의 치료에 사용하기 위한 제1항 또는 제2항에 따른 약학 조성물.

발명의 설명

기술 분야

[0001]

본 발명은 증가된 철분 흡수에 관한 것이다. 본 발명은 또한 철분 및 효소 가수분해에 의해 얻어진 웨티드를 포함하는 조성물에 관한 것이다. 본 발명은 또한 사람 또는 동물이 효소 가수분해된 크릴 새우와 같은 해양 척추동물 또는 갑각류 동물로부터 얻어진 웨티드를 섭취하도록 하는 것에 관한 것이다.

배경 기술

[0002]

철분은 사람 및 동물 생리에 필수적이다. 사람과 동물에게 철분이 부족할 경우 철분 결핍 빈혈증 및 왜소 생장을 포함하는 다수의 질병 및 장애를 일으킬 수 있다.

[0003]

동물에게 추가 철분을 제공하기 위한 현재 관행은 주사에 의한 것이다. 사람의 경우 철분 보충은 알약 형태로 이용 가능하다.

발명의 내용

해결하려는 과제

[0004]

본 발명은 철분 및 효소 가수분해된 어류에서 얻어진 웨티드를 포함하는, 동물 또는 사람의 철분 흡수를 증가시키기 위한 조성물을 제공한다. 본 발명은 또한 동물이 철분 및 효소 가수분해된 어류으로부터 얻어진 웨티드를 섭취하도록 하는 것을 포함하는 동물 또는 사람의 철분 흡수를 증가시키는 방법을 제공한다.

[0005]

본 발명은 또한 동물 또는 사람의 철분 흡수를 증가시키는 조성물 및 방법을 제공하는데, 여기서 웨티드는 효소 가수분해된 해양 척추동물 또는 갑각류 동물로부터 얻어진다.

과제의 해결 수단

[0006]

본 발명은 또한 다음을 제공한다:

[0007]

1. 철분 및 웨티드를 포함하는 조성물에 있어서:

[0008]

(a) 상기 웨티드는 효소 가수분해된 어류 단백질으로부터 수득되고;

[0009]

(b) 상기 조성물은 사람 또는 동물 섭취에 적합하고;

- [0010] (c) 상기 웨티드는 상기 조성물 중 50%를 초과하고;
- [0011] (d) 동물 또는 사람이 섭취하는 경우, 상기 웨티드는 철분 흡수를 증가시키는 것을 특징으로 하는 조성물.
- [0012] 2. 상기 1.에 있어서, 상기 웨티드의 분자량은 3500 달톤(Daltons) 이하인 것을 특징으로 하는 조성물.
- [0013] 3. 상기 1. 또는 2.에 있어서, 철분은 상기 조성물 중 0.01%를 초과하는 것을 특징으로 하는 조성물.
- [0014] 4. 상기 1. 내지 3. 중 어느 하나에 있어서, 어류 오일을 더 포함하는 것을 특징으로 하는 조성물.
- [0015] 5. 1. 내지 4. 중 어느 하나에 있어서, 상기 어류가 연어인 것을 특징으로 하는 조성물.
- [0016] 6. 1. 내지 5. 중 어느 하나에 있어서, 상기 조성물은 건강 보조 식품 또는 식품 첨가물인 것을 특징으로 하는 조성물.
- [0017] 7. 1. 내지 6. 중 어느 하나에 있어서, 철분의 건조 중량은 상기 조성물의 건조 중량 킬로그램 당 100 밀리그램을 초과하는 것을 특징으로 하는 조성물.
- [0018] 8. 1. 내지 7. 중 어느 하나에 있어서, 상기 웨티드 중 50% 미만은 철분에 대해 칼레이트화 되는 것을 특징으로 하는 조성물.
- [0019] 9. 1. 내지 8. 중 어느 하나에 있어서, 상기 웨티드의 건조 중량은 상기 조성물의 건조 중량 킬로그램 당 800 그램을 초과하는 것을 특징으로 하는 조성물.
- [0020] 10. 동물 또는 사람이 상기 1. 내지 9. 중 어느 하나에 따른 조성물을 섭취하게 하는 것을 포함하는 것을 특징으로 하는 방법.
- [0021] 11. (a) 효소 가수분해된 어류 단백질로부터 수득된 웨티드 및 (b) 철분을 함께 또는 별도로 동물 또는 사람이 섭취하게 하는 방법에 있어서,
- [0022] 철분은 건강 보조 식품 또는 식품 첨가물이며, 상기 섭취된 웨티드는 동물 또는 사람의 철분 흡수를 증가시키며, 상기 철분은 웨티드를 섭취하기 24시간 전 또는 섭취된 후에 섭취되는 것을 특징으로 하는 방법.
- [0023] 12. 상기 10. 또는 11.에 있어서, 상기 동물은 포유동물 또는 조류인 것을 특징으로 하는 방법.
- [0024] 13. 상기 10. 내지 12. 중 어느 하나에 있어서, 상기 동물 또는 사람은 철분 부족 빈혈증이 있거나 철분 부족 빈혈증의 위험이 있는 것을 특징으로 하는 방법.
- [0025] 14. 상기 10. 내지 13. 중 어느 하나에 있어서, 상기 동물 또는 사람은 보통의 단백질 식이요법 중인 것을 특징으로 하는 방법.
- [0026] 15. 상기 10. 내지 14 중 어느 하나에 있어서, 상기 철분 및 웨티드는 동시에 섭취되는 것을 특징으로 하는 방법.
- [0027] 16. 상기 1. 내지 9. 중 어느 하나에 있어서, 상기 웨티드는 열량 기준으로 또는 건조 중량을 기준으로 상기 조성물 중에 50%를 초과하는 것을 특징으로 하는 조성물.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

- [0028] 본 발명의 한 양태에서, 효소 가수분해된 어류 단백질로부터 얻어진 웨티드를 포함하는 철분 흡수 증가를 위한 조성물 및 방법이 제공된다.
- [0029] 본원에서 사용된 "철분 흡수를 증가시킨다"는 말은 발명이 속하는 기술 분야에서의 통상적인 의미를 갖는다. 따라서, "철분 흡수를 증가시킨다"는 것은 철분의 혈류내로의 장 흡수가 증가되는 것을 포함한다. 또 하나의 예로서, 본 용어는 세포 또는 운반 단백질 내로의 철분의 흡수율 및 저장을 증가시킴을 포함한다. 증가된 철분 흡수는 통상의 기술자에게 알려진 다양한 수단으로 측정될 수 있다. 예를 들어, 철분 흡수는 트랜스페린 또는 폐리틴 수준을 분석함으로써 측정할 수 있다.
- [0030] 본원에 사용된 "철분"이라는 용어는 사람 또는 동물에 의해 섭취되는 철분의 맥락에서 발명이 속하는 기술 분야에서의 통상적인 의미를 갖는다. 따라서, 본 용어는 헴 철분(heme iron), 비헴성 철분(non-heme iron), 원소 철분(element iron)(환원 철분(reduced iron)이라고도 알려진), 복합 철분(complexed iron), 칼레이트화된 철분(chelated iron), 철분 염(iron salts), 및 사람 또는 동물이 섭취하기에 알맞은 다른 형태들을 포함한다. 섭취

를 위한 철분은 통상의 기술자에게 알려진 다수의 공급원으로부터 얻어질 수 있다. 예를 들어, 섭취를 위한 철분은 붉은 육류, 어류 또는 가금류와 같은 동물성 식품 공급원으로부터 얻을 수 있다. 이러한 철분은 통상적으로 헴 철분이라고 불린다. 섭취를 위한 철분은 또한 채소 및 과일들과 같은 식물성 식품 공급원으로부터 얻어질 수 있다. 이러한 철분은 통상적으로 비헴성 철분이라고 불린다. 섭취용 철분은 또한 미생물 공급원으로부터 얻어질 수도 있는데, 예를 들면 녹조류이다.

[0031] 섭취용 철분은 또한 비유기체 공급원으로부터도 얻을 수 있다. 예를 들어, 제1철 및 제2철의 염은 섭취 가능한 철분의 공급원인데, 예를 들면, 황산제1철, 푸마르산제1철, 숙신산제1철, 글루콘산제1철, 락트산제1철, 글루타민산 철, 및 글리신제1철이 있다. 또한, 원소 철 가루도 섭취 가능한 철분의 공급원으로 사용될 수 있다. 또한, 철분은 본원에 기재된 웨პ티드와 같은 공급원으로부터도 얻을 수 있다. 예를 들어, 철분 및 웨პ티드는 모두 어류, 예를 들어 북대서양 연어(예를 들어, *Salmon salar* 및 이 속에 속하는 다른 어류)로부터 얻을 수 있다.

[0032] 본 발명의 한 양태에서, 상기 조성물 또는 방법에서의 철분은 조성물의 0.01% 초과이다. 예를 들어, 조성물의 총 건조 중량이 1 킬로그램인 경우, 철분의 건조 중량은 100 밀리그램을 초과할 것이다. 본 발명의 다른 양태에서, 철분의 퍼센트가 총 조성물의 10% 초과이다. 본 발명의 또 다른 양태에서, 조성물 내 철분의 비율은 총 조성물의 0.01% 내지 10%이며, 또 다른 양태에서는 철분의 비율이, 총 조성물의 0.05% 초과, 0.1% 초과 및 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8 또는 9% 초과이다.

[0033] 본원에서 사용된, "웨პ티드"라는 용어는 발명이 속하는 기술 분야에서의 통상의 의미를 갖는다. 따라서, 웨პ티드는 2량체 웨პ티드, 다량체 웨პ티드 및 폴리웨პ티드를 포함한다. 본 발명의 한 측면에서, 웨პ티드의 문자 중량은 60,000 달톤 미만이다. 본 발명의 다른 양태에서, 웨პ티드의 100% 또는 적어도 90%는 10,000 달톤 미만의 문자량을 갖는다. 본 발명의 또 다른 양태에서, 웨პ티드의 적어도 70%는 5,000 달톤 미만의 문자량을 갖는다. 본 발명의 또 다른 양태에서, 웨პ티드의 적어도 50%는 1,000 달톤 미만의 문자량을 갖는다. 본 발명의 또 다른 양태에서 100%의 웨პ티드는 3500 달톤 이하의 문자량을 갖는다.

[0034] 본 발명의 한 양태에서, 조성물 또는 방법 내 웨პ티드의 양은 조성물의 50% 초과이다. 본 발명의 다른 양태에서, 웨პ티드의 양은 조성물의 75% 초과, 90% 초과, 또는 99% 초과이다. 다르게는, 본 발명의 다른 양태에서, 웨პ티드의 양은 조성물의 50-99% 보다 크거나, 또는 50-99% 사이 임의의 정수보다 크다. 따라서, 제한되지 않는 예로서, 본 발명의 한 양태는 총 건조 중량이 1 킬로그램인 조성물로서, 그 조성물 내 웨პ티드의 총 건조 중량이 500 그램 초과, 즉 조성물의 총 건조 중량의 50%를 초과하는 조성물을 포함한다. 본 발명의 또 다른 양태에서, 상기 비율(퍼센트)은 열량에 기초한다. 따라서, 제한되지 않는 다른 예로서, 본 발명의 다른 양태는 총 칼로리 함량이 1000 칼로리인 조성물로서, 그 안에서 웨პ티드의 칼로리 함량이 500 칼로리 초과, 즉 조성물의 총 칼로리 함량이 50%를 초과하는 조성물을 포함한다.

[0035] 본 발명의 한 양태에서, 웨პ티드는 단백질의 효소 가수분해에 의해 수득된다. 본 발명의 다른 양태에서, 웨პ티드는 해양 척추동물 단백질 또는 갑각류 동물 단백질을 효소 가수분해함으로써 수득된다. 예를 들어, 해양 척추동물은 가오리, 상어를 포함하는 몇몇 형태의 어류를 포함하며, 어류는 고등어, 호수 송어, 청어, 정어리, 날개다랑어, 연어, 그리고 블루 화이팅과 같은 회유 어류를 포함한다. 본 발명의 또 다른 양태에서, 북대서양 연어가 사용된다. 본 발명의 또 다른 양태에서, 사용된 갑각류 동물은 크릴 새우이다. 여기서 사용된 바와 같이 효소 가수분해라는 용어는 발명이 속하는 기술 분야에서 일반적인 의미를 갖는다. 따라서, 본 발명은 부분적인 가수분해로부터 얻어진 웨პ티드를 포함한다.

[0036] 본원에서 사용된, "어류 단백질", "해양 척추동물 단백질", 그리고 "갑각류 동물 단백질"이라는 용어는 기술 분야에서 통상적인 의미를 갖는다. 따라서, 이러한 맥락에서 "단백질"이라는 용어는 다양한 정도로 자연 원료로부터 가공되거나 분리된 단백질뿐만 아니라, 가공되지 않은 동물성 육류도 포함한다.

[0037] 본 발명의 효소 가수분해 양태에 대해 살펴보면, 몇몇의 단백질 가수분해 효소(protein hydrolysis enzymes)(기술 분야에서 단백질 가수분해 효소(proteolytic enzymes) 또는 프로테아제로도 알려진)가 통상의 기술자에게 이용가능하다. 예를 들어, 웨პ티드중간분해효소(endopeptidases) 및/또는 웨პ티드말단분해효소(exopeptidases)가 사용될 수 있다. 또한, 다음 효소들 또는 다음 효소들의 조합들이 이용될 수 있다: Alcalase®, Neutrerase®, Protamex®, Flavourzyme®(각각 Novozymes로부터 구입가능함), Pescalase®(네덜란드 Gist-brocades로부터 이용가능함), 그리고 Promo 31®(웨일스의 Biocatalyst Ltd.로부터 이용가능함). 사용될 수 있는 효소 조합의 예는 두 효소 Alcalase® 및 Neutrerase®를 1:9 내지 1:1 비율로 혼합하는 것이다.

[0038] 또 다른 효소 가수분해 방법들이 기술 분야에 알려져 있다. 게다가, 효소 가수분해 및 효소 가수분해로 얻어진

어류 아미노산에 대한 기술이 발견되는데, 예를 들어, 공개된 미국 특허 출원, 공개 번호: US 2005/0037109 A1 (Soerensen 등)이며 그 내용은 참조를 통해 여기에 명확히 포함된다.

[0039] 웨티드 및 철분에 더하여, 본 발명의 조성물 및 방법은 또한 비타민, 미네랄, 비단백질성의 질소, 탄수화물 또는 효소 가수분해와 관련된 다른 혼합물들과 같은 혼합물을 포함할 수 있다.

[0040] 본 발명의 다른 양태에서, 조성물들 및 방법들은 웨티드 및 철분에 더해 지방질(lipid)을 포함한다. 예를 들어, 어류 오일이 사람 및 동물에 의한 철분 흡수를 증가시키기 위해 웨티드와 결합하여 사용될 수 있다. 본 발명의 다른 양태에서, 어류 웨티드와 동일한 공급원으로부터 얻어진 어류 오일이 사용될 수 있다. 그러나, 본 발명의 또 다른 양태에서, 산화 지방산 수준이 높은 기름은 피하는데, 이는 일반적으로 지방산 산화는 감칠맛(palatability)을 감소시키기 때문이다. 본 발명의 또 다른 양태에서, 사용된 지방질의 불포화 수준은 미리 결정된 양 미만이다.

[0041] 본 발명의 다른 양태에서, 철분 또는 웨티드 또는 둘의 조합이 건강 보조 식품 또는 사료 첨가제이다. "건강 보조 식품" 또는 "식품 첨가제"라는 용어는 기술 분야에서 이러한 용어가 가지고 있는 통상적인 의미를 나타낸다. 따라서, 건강 보조 식품 또는 식물 첨가제는 웨티드 또는 철분이 동물 또는 사람의 식사와 분리된 공급원으로부터 얻어졌다는 것을 의미한다. 게다가 건강 보조 식품 또는 식품 첨가제는 흔히 음식 또는 먹이와 다르게 혹은 별개로 가공되며 흔히 음식 또는 먹이와는 별도의 용기에 포장된다. 건강 보조 식품 또는 식품 첨가제는 또한 뚜렷이 다른 화학적 조성을 갖는다. 예를 들어, 통상적으로 육류 헤م 철분(meat heme iron) 형태인 음식 또는 먹이에서 발견되는 철분과 비교해 볼 때, 건강 보조 식품 또는 식품 첨가제로서의 철분은 통상적으로 황산제1철 형태이다. (반려 동물을 위한) 애완동물 처방식이 본 발명에 따라 만들어질 수 있다. 이러한 처방식은 일반적으로 영양 흡수율이 문제가 되는 고령 애완동물을 위한 것이다.

[0042] 사람, 특히(예를 들어, 영양적인 어려움이 존재하는) 상황에 따른 빈혈증으로 고통받고 있거나 그럴 위험이 있는 이들을 제외하고, 다른 동물들에게는 본 발명에 따른 조성물을 공급할 수 있다. 이러한 동물들은 돼지(pigs) (및 다른 가축화된 멧돼지(swine)), 닭 (및 가금류), 암소 및 소(소족), 및 다른 이러한 동물들과 같은 생산 가축을 포함한다. 이유기의 새끼 돼지 및 위에 열거한 것과 같은 종류의(예를 들어, 송아지들) 자라나는 또는 성장 발달하는 다른 동물들과 같이 성장 상황의 빈혈증을 갖고 있거나 그럴 위험이 있는 동물들이 특히 관심의 대상이다. 본 발명에 따른 제형은 어류가 그들의 자연스러운 식사의 일부가 아닌 동물들이라 할지라도(예를 들어, 자연적으로 어류를 먹는 링크와 대조적으로) 그들의 구미에 맞을 수 있다.

[0043] 본 발명에 따른 조성물의 다른 양태에서, 50% 미만의 철분이 웨티드에 대해 칼레이트화 된다. 다른 양태에서, 철분 웨티드 칼레이트화는 50% 내지 0% 미만이며, 또 다른 양태에서 50% 내지 1% 사이의 임의의 정수 퍼센트 미만이다.

[0044] 본 발명의 조성물 및 방법들과 관련하여, 양은 몇 가지 대체가능한 방법으로 산출될 수 있는데, 예를 들어, 중량/부피(W/V), 부피/중량(V/W), 부피/부피(V/V), 또는 중량/중량(W/W)이 있다. 게다가, 함량이 열량 퍼센트에 기초하여 산출될 수도 있다. 본원에서 사용되는 바와 같은, 함량 및 퍼센트는 기술 분야의 통상의 기술자에 의해 타당하게 적용되는 방법론에 의해 측정된 함량 및 퍼센트를 포함한다. 예를 들어, 본원에 제시된 바와 같이 50% 초과의 웨티드를 갖는 조성물은, 액체 조성물의 경우 총 조성물의 부피를 기준으로 한 웨티드 중량(W/V)과 같이 통상의 기술자에게 알려진 다른 산출 방법론들에 기초하여 50% 웨티드를 갖는 조성물 뿐만 아니라, 총 조성물의 건조 중량을 기준으로 웨티드 건조 중량이 50%를 초과하는 조성물을 포함한다. 따라서, 본 발명의 다른 양태에서, 위에서 언급된 산출 방법들에 의해 측정된 웨티드의 양은 50%를 초과한다. 앞서 말한 것은 웨티드, 철분, 및 칼레이트화된 웨티드의 양 및 퍼센트를 포함하여 여기에 제시된 모든 양과 퍼센트에 적용된다.

[0045] 본 발명의 다른 양태에서, 본 발명의 조성물은 철분 흡수를 저해할 수 있는 결정체의 용해되지 않는 산화철 수화물의 형성을 유발하는 산화 트리메틸아민과 같은 혼합물을 의미있을 만큼 함유하지 않는다.

[0046] 본 발명의 방법들은 동물 또는 사람의 철분 흡수를 증가시키기는 것을 목표로 한다. 본 발명의 한 양태에서, 동물 또는 사람이 웨티드를 섭취하게 된다. 본 발명의 또 다른 양태에서, 웨티드는 철분과 함께 또는 철분과 별개로 섭취된다. 또 다른 양태에서, 철분은 웨티드를 섭취하기 전 또는 후 적정한 시간 내에 섭취된다. 또 다른 양태에서, 철분은 웨티드가 섭취되기 전 또는 후 24시간 이내에 섭취된다. 본 발명의 또 다른 양태에서, 철분은 웨티드가 섭취되기 전 또는 후 24시간 이내 내지 1시간 이내(그리고 이 사이에서 어떤 시간 간격으로든)에 섭취된다.

[0047] 본 발명의 한 양태에서, 본 발명의 조성물 및 방법들이 사람 또는 동물에 있어서 불충분한 철분으로 인해 야기

되는 질병들 및 장애들을 개선한다. 아마도 이러한 장애들 중 가장 일반적인 것은 철분 결핍 빈혈증일 것이다. 빈혈증은 적혈구 결핍으로 특징지어지는 장애이다. 철분 결핍 빈혈증은 철분의 양이 불충분하기 때문에 유발되는 빈혈증이다. 이러한 철분 결핍은 불충분한 철분 섭취량, 불충분한 철분 흡수량, 혈액 손실, 또는 이들의 조합으로 인해 발생할 수 있다.

[0048] 철분 결핍 빈혈증은 또한 유아기 또는 이유기와 같은 성장기의 동물 또는 사람에게 일반적이다. 철분 결핍 빈혈증은 또한 먹이 대비 고성장비율을 갖는 사육되는 가축에게서도 발견된다.

[0049] 철분 결핍에 의한 빈혈증은 많은 다른 빈혈증과 구분될 수 있다. 예를 들어, 철분 결핍 빈혈증은 관절염 또는 암과 같은 만성적인 전염성, 염증성, 악성 장애에서 기인하는 빈혈증과는 다르다. 보다 구체적으로, 다음의 빈혈증들은 철분 결핍 빈혈증과 뚜렷이 다르다: 혈색소감소성 빈혈증, 소적혈구성 빈혈증, 위황병, 유전성 철아구성 빈혈증, 특발성 후천적 철아구성 빈혈증, 적혈구 결여증, 악성 빈혈증과 같은 거대적아세포성 빈혈증, 비타민 B12 결핍 및 엽산 결핍 빈혈증, 재생불량성 빈혈, 자가면역 용혈성 빈혈증, 미세혈관변성 용혈성 빈혈증과 같은 용혈성 빈혈증, 그리고 발작성 야간 혈색소뇨증.

[0050] 게다가, 본 발명의 다른 양태에서, 철분 결핍 빈혈증은 신부전, 신장 기능 감소 또는 투석에 기인하는 빈혈증은 포함하지 않는다.

[0051] 여기 언급된 바와 같이, 섭취된 펩티드는 동물 또는 사람의 철분 흡수를 증가시킨다. 본 발명의 다른 양태에서, 섭취된 펩티드는 사람 또는 동물의 철분 흡수를 상당히 증가시킨다. 본 발명의 또 다른 양태에서, 철분 흡수가 통계상으로 두드러지는 양만큼 증가되며, 또 다른 양태에서 철분 흡수는 50% 내지 100% 초과의 정도로 증가된다. 또 다른 양태에서, 철분 흡수는 50% 내지 100%의 임의의 정수 퍼센트를 초과하는 것만큼 증가된다. 위에서 언급된 바와 같이, 철분 흡수의 증가는 트랜스페린 또는 페리틴을 측정하거나 통상의 기술자에게 알려진 다른 방법들을 이용해 평가될 수 있다.

[0052] 본 발명에 따른 방법의 다른 양태에 대해 살펴보면, "섭취하다"는 용어는 기술 분야에서의 그 통상적인 의미를 갖는다. 일반적으로 섭취는 입을 통해 이뤄진다. 그러나, 비강 영양관과 같은 다른 섭취 수단 또한 사용될 수 있다. 또한, 섭취에 더하여, 본 발명의 다른 양태에서, 철분 보충은 정맥주사로 투여될 수도 있다.

[0053] 본 발명의 다른 양태에서, 섭취는 보통의 단백질 식사 중인 동물 또는 사람에 의해 이뤄진다. "보통의"라는 용어는 병 또는 장애 때문에 달라진 식사와 대조적으로 보통이라는 맥락에서 기술분야에서의 그 일상적인 의미를 갖는다. 예를 들어, 신장 기능장애를 앓고 있는 동물 또는 사람은 제대로 단백질 대사작용을 할 수 없기 때문에 흔히 보통의 단백질 식사를 하지 않을 것이다.

[0054] "사람 또는 동물이 섭취하기에 알맞은"이라는 구문은 기술 분야에서 이러한 구문의 통상적인 의미를 나타낸다. 예를 들어, "사람 또는 동물이 섭취하기에 알맞은"이라는 말은 사람 또는 동물의 안전을 위해 용인되는 양의 병원균 및 독소를 의미한다(독소의 경우, 예를 들어, 수은 및 다른 중금속들).

[0055] 예를 들어, 사람 또는 동물이 섭취하기에 알맞은 조성물을 위해서는 일정 병원균의 수준이 소정의 양 이하이어야 한다는 것은 통상의 기술자에게 알려져 있다. 예를 들어, 병원성 미생물의 맥락에서, 그리고 본 발명의 양태에서 (통상의 기술자에게 알려진 바와 같이) 일정 병원균의 양이 최소 감염성 량(Minimum Infective Dose(MID))이하이어야 한다. MID는 질병을 일으킬 수 있는 병원성 미생물의 최소 수를 지칭한다. 예를 들어, 어류로 만 들어진 식품에서 발견되는 병원성 미생물 오염물질인 콜레라균(*Vibrio Cholerae*)의 MID는 10^6 이다. 따라서, 본 발명의 한 양태에서, 여기 조성물은 이 MID 이하의 콜레라균을 함유한다.

[0056] 콜레라균에 더하여, 다음 병원균들이 통상의 기술자에게 알려져 있으며 본 발명의 한 양태에서, 조성물은 각 병원균 MID 이하의 병원균량을 함유한다: 살모넬라종(*Salmonella spp.*), 클로스트리디움 보툴리눔(*Clostridium botulinum*), 황색 포도상구균(*Staphylococcus aureus*), 예르시니아 엔테로콜리티카(*Yersinia enterocolitica*), 예르시니아 가성결핵(*Yersinia pseudotuberculosis*), 리스테리아 모노цитوج네스(*Listeria monocytogenes*), 다른 비브리오 균주(*Vibrio strains*), 및 다양한 대장균 균주(*E. coli strains*)를 포함한다.

[0057] 마찬가지로, 본 발명의 다른 양태에서, 조성물은 적정 수준의 병원균 바이러스, 원생동물문, 및 기생충을 함유하므로 본 조성물이 사람 또는 동물이 섭취하기에 알맞다고 생각된다.

[0058] 게다가, 병원균을 원하는 수준으로 감소시키기 위한 방법들이 통상의 기술자에게 알려져 있다. 예를 들어, 요리하기, 차게 식히기, 방사선 요법(예를 들어 엑스 레이(X-rays) 또는 감마 레이(gamma rays)를 이용한), 가열하기, 압력 가열, 얼리기 또는 이들의 조합이 동물 또는 사람에 의해 섭취될 조성물의 병원균 수준을 감소시키는

안전하고 효과적인 처리방법으로 통상의 기술자에게 알려져 있다.

[0059] 또 다른 예로서, 조성물 내 웨티드 크기(분자 중량)를 줄이는 것이 프리온 감염의 위험을 최소화하는 통상적인 방법이라는 것이 통상의 기술자에게 알려져 있다. 따라서, 본 발명의 한 양태양태, 웨티드는 위에 제시된 분자 중량을 갖는다.

[0060] 상기 기술 및 하기 예들은 여기 기술된 조성들 및 방법들을 제한하지 않으며 단지 다양한 비제한적인 실시예들을 실증하기 위해 사용된다.

[0061] 또한, 여기서, 단수 사용은 제한적인 의미가 아니다. 예를 들어 "조성물" 또는 "상기 조성물"은 하나의 종류의 조성물로 제한한다는 의미가 아니다. 즉, 본원에서 분명하게 달리 제시되지 않는다면, 본원에서의 조성물은 다른 조성물과 결합되는 경우에도 여전히 본 발명의 범위에 속하는 것으로 이해된다. 또한, 다음 단어들은 다른 의미로 분명하게 제시되지 않는 한 다음과 같이 이해되어야 한다. "포함한다", "포함하는", 또는 "포함하고"는 제한없이 포함하는 것을 의미한다. "또는"은 및/또는을 의미한다.

실시예

[0063] 실시예 예 1 및 2를 위해, 20% 연어 단백질 가수분해물(Salmon Protein Hydrolysate(SPH))을 먹인 개 6 마리와, 20% 연어 단백질 가수분해물 및 연어유(Salmon Oil(SPHO)) 4.5% 중량/중량(W/W)을 먹인 개 6 마리와, 6 마리의 대조군 개로부터 혈액을 채취했다. 모든 개들에게 1일에서 14일째 되기까지는 30% 가금류 부산물 단백질 및 25% 지방으로 이루어진 규제된 식사를 먹였다. 비대조군 개들에게는 15일째부터 26일째까지만 SPH 및 SPHO를 먹였다. 6 마리의 대조군 개들에게는 상기 식품 첨가물 없는 통제된 식사를 먹였다.

[0064] 실시예 1 및 2는 일련의 시험관 시험에서의 생리학적 효과 연구에 초점이 맞춰진다. 예들이 혈장 농도 변화에 기초한 효소 지표를 발견한다. 두 개의 시험관 시험은 함께 먹이 피험자 내 저장된 철분 농도에 영향을 주는 SPH 및 SPHO 먹이의 대생물활성 웨티드의 잠재적인 존재를 조사한다. 두 개의 시험관 시험은 트랜스페린 및 폐리틴을 다룬다. 첫 시험(실시예 1)은 트랜스페린을 다루며, 두 번째 시험(실시예 2)은 폐리틴을 다룬다.

실시예 1

[0066] 개들의 혈청 트랜스페린 수준이 측정되었다. 트랜스페린 수준을 측정하기 위해 사용된 시험은 병소감염 진단 테스트(ELISA) 시험이다. 이 테스트는 개들의 혈청 또는 혈장 내 트랜스페린을 측정하기 위한 두 장소 효소와 연계된 면역측정법이다. 트랜스페린 혈청 측정은, 특히 혈장 폐리틴 수준 동시 측정과 연계될 때 철분 흡후 효과를 확인하는 데 특히 가치가 있다.

[0067] 트랜스페린은 철분에 결속되는 단백질이다. 트랜스페린은 골수 및 간과 같은 조직 저장 장기로 철분을 운송하는 기능을 한다. 트랜스페린은 또한 철분 흡수를 조절하고 제어하는 데 참여하며 철분 중독을 방지한다.

[0068] 트랜스페린 시험 결과가 표 1 및 2에 요약된다. 하기 표 1 및 2는 보정된 평균 트랜스페린 농도(mg/L)에 관한 것이다.

표 1

개	1	2	3	4	5	6
SPHO	1.642	1.874	1.480	1.503	1.317	1.341
SPH	2.570	2.686	2.686	2.593	2.338	2.199
대조군	2.988	4.449	4.148	3.591	3.243	2.709

표 2

	표준편차	평균값	평균값의 표준오차
SPHO	0.223	1.526	0.091
SPH	0.221	2.512	0.090
대조군	0.696	3.023	0.284

[0071] 실시예 2

[0072] 페리틴은 철분 저장에 관련되는 철분 결합 단백질이다. 페리틴은 다양한 조직, 예를 들면, 간, 비장, 골수 및 장 점액에 위치한다.

[0073] 페리틴 시험 결과가 표 3 및 4에 요약된다. 하기 표 3 및 표 4는 보정된 평균 페리틴 농도(mg/L)에 관한 것이다:

표 3

개	1	2	3	4	5	6
SPHO	277.543	267.799	246.920	324.173	335.308	271.279
SPH	221.169	147.379	248.312	230.217	291.462	270.583
대조군	113.294	131.389	265.711	298.422	146.701	141.829

표 4

	표준편차	평균값	평균값의 표준오차
SPHO	38.457	287.171	15.700
SPH	55.441	234.857	22.634
대조군	78.877	164.009	32.201

[0076] 결과에 대한 논의

[0077] SPH 및 SPHO 철분 흡수의 영향을 확인하기 위해 트랜스페린 및 페리틴 농도가 사용된다. 결과는 SPHO 및 SPH가 페리틴의 혈장 농도를 증가시켰으며 트랜스페린의 혈장 농도를 감소시켰음을 보여준다. 페리틴 증가는 증가된 철분 흡수 및 생물학적 이용 가능성을 시사한다. 마찬가지로, 트랜스페린 농도 감소는 철분 운송의 감소를 시사한다. 트랜스페린 농도 감소는 또한 철분의 생물학적 이용 가능성의 증가 또는 페리틴 결합 철분 농도의 증가로 인해(가정이다) 철분 흡수 요구가 감소됨을 시사한다. 트랜스페린 농도 감소 및 페리틴 농도 증가는 대조군 개들과 비교할 때 SPHO 및 SPH를 먹인 개들에게서 철분 흡수 및 생물학적 이용 가능성이 증가되었음을 뒷받침한다.

[0078] 트랜스 페린 농도 감소는 통계학적 의미를 보였다. 페리틴 농도 증가는 세 그룹에 해당되는 모든 개들을 통틀어 개별 농도에 있어서 산재하기 때문에 경향을 보였으나 염밀히 말해 통계학적으로 의미가 없다.

[0079] 실시예 3: 육류, 닭, 어류, 및 카제인 단백질 소화물과 비교하여 SP 건조 PP1(SP Dry PP1)을 이용한 Caco-2 세포 철분 흡수율 측정

[0080] 연어 전체 뼈 빌라내기 후 분리된 연어 척추 및 머리가 Green Earth Industries(GEI)에 의해 개발된 제작 공정을 이용해 단백질 가수분해되었다. 예를 들어 US 2005/0037109 참조. 이 공정은 수용성 단백질 부분(SP)과, 불용성 단백질 부분(NSP)과, 기름 부분(FO)과, 뼈 부분(CA)을 산출한다. 이 부분들은 SP 부분을 위해 전반적인 질과 분리에 특별히 주의하여 서로 분리될 수 있다. 우선 SP가 공정을 통해 삼중 효용 강하막 증발기에서 55-60% 혼탁액으로 농축되는 6-7% 용액으로 분리된다. 이러한 꿀 같은 물질은 분무 건조 장비를 이용해 더 건조되어 연 노랑색의 단백질 파우더로 산출된다(SP Dry).

[0081] GEI에 의한 소화율 및 기호성 연구에서 SP Dry를 성인 개들에게 먹이고, 혈장을 체취하고 분석했다. 페리틴은 두드러진 증가를 보였고 트랜스페린 단백질은 감소했는데, 이는 SP Dry 및 SP Dry + 연어유 부분 테스트를 받은 동물의 철분 흡수율의 증가를 시사한다.

[0082] 동물 견본(개 및 기니피그와 같은)의 철분 흡수는 철분의 생물학적 이용가능성에 대한 직접적이고 생리학적으로 유의미한 평가를 제공한다. 우리는 또한, 식사에 SP Dry를 혼합함으로써 잠재적 철분 흡수율 증가를 빠르게 추정하기 위한 Caco-2 세포 철분 흡수율 시험관 방법(체외 소화/Caco-2 세포 배양 모델을 이용한 철분 강화 스피루리나의 철분 이용가능성. Jean-Max Rouanet 외. *Journal of Agric. Food Chem.* 49(3), 1625, (2001))을 이용해 "SP Dry"의 철분 흡수율 잠재력을 입증했다.

- [0083] 이 연구는 모의 위와 장의 소화 과정 후에 카제인, 콩, 육류, 닭 및 어류 단백질과 비교하여 SP Dry가 철분 흡수를 강화하는 작용을 분석하기 위해 측정되었다.
- [0084] 이 Caco-2 세포 연구는 모의 위 및 장 소화와 Caco-2 세포 일분자층의 철분 흡수율 측정을 병행한다.
- [0085] 용해성 단백질 가수분해물의 SP Dry PP1 샘플은 Meatzyme B.V. 및 Green Earth LLC의 감독 하에 제작되었다. 용해성 단백질 부분은 화학 분석에 좋은 조건인 인도 둠바이에서 분무 건조되었고 취득되었다. SP Dry PP1 샘플은 가벼운 어류 냄새가 나는 연노랑색의 무정형 파우더이다.
- [0086] 육류(쇠고기), 닭(허벅지), 어류(참치 필레) 단백질 샘플들은 신선한 것을 구매하였고 다음과 같이 처리되었다. 눈에 보이는 모든 지방과 결합 조직은 제거하고 얇은 조각으로 저몄다. 이온을 제거한 물에 30분 동안 끓인 후에 조각들을 제거하고, 0°C에서 차게 식힌 후, 눈에 보이는 지방을 더 제거했다. 조각들을 최소한의 물과 함께 블렌더에 넣고 균질화시키고, 감압하에 동결건조한 후, 40 mesh 체에 걸러 여기서 사용되는 단백질 파우더를 얻었다. 카제인은 Parsi Dairy Farm Ltd.에서 구입하였고 있는 그대로 사용하였다.
- [0087] 상기 네 개의 단백질 원료의 체외 소화는 Sigma Aldrich로부터 구입되고 표준 소화 과정에서와 마찬가지로 사용되는 (위 소화를 모의실험하기 위한) 돼지 펩신 및 담즙 추출물과 (장 소화를 모의실험하기 위한) 췌장효소 및 담즙 추출물을 이용하여 수행되었다. 균질 혼탁액에서 $10 \mu\text{mol/L}$ 의 철분 농도를 형성하기 위해 ^{59}Fe 라벨의 염화철(III)이 사용되었다.
- [0088] 초기 단백질 함유량이 0.5 mol/L 의 수산화나트륨에 용해시킨 후에 Bio-Rad® DC 단백질 시험 키트를 이용해 측정되었다.
- [0089] 소화된 단백질 함유량이 TCA 가용화된 침전물로서 동일한 키트를 이용해 측정되었는데, 여기서는 각 소화물 20 ml 를 이온이 제거된 물 50 ml 에 희석시키고 0.6 mol/L 트리클로로아세트산 50 ml 와 반응시켰다. 샘플들을 원심 분리시키고 침전물을 0.5 mol/L 에서 가용화시키고 상기와 같이 측정하였다.
- [0090] 상업적으로 구입가능한 Celsis In-vitro Technologies의 수정된 형태의 $24 \times \text{well}$ Caco-2 시험 키트가 시험에 사용되었다. Celsis 키트에는 Corning Coaster Traswell® 필터를 이용해 Caco-2 세포들이 미리 플레이트에 놓여졌다. IVT Caco-2 배양조직들은 수송 연구에 허용가능하다고 여겨지며 상피통과 전기 저항(TEER) 기준인 1000 ohms 을 충족시킨다.
- [0091] $10 \mu\text{mol/L}$ 의 ^{59}Fe 을 함유하는 각각의 소화 후 단백질 용액 1.5 ml 가 각각 하부 챔버에 일반적인 Caco-2 세포들을 담고 있는 12개의 웰(wells)에 첨가되었고 플레이트가 층이 분리되기 전에 37°C 에서 두 시간 동안 배양되었다. Celsis에 의해 설명된 과정을 이용해 세포들이 추출되고, 자동 감마 카운터를 이용해 ^{59}Fe 가 계수되고, 원심 분리 이후에 상청액에 남아있는 부분으로서 판단되었다.
- [0092] TCA 침전성 단백질 측정으로 측정된 바와 같은 최초 함유량 매개변수(^{59}Fe 첨가 전) 및 추정된 퍼센트 소화가 하기 표 5에 나타난다. 하기 표 5는 소화 전과 후의 단백질 균질현탁액을 분석한 결과이다.

표 5

원료	% 단백질	미가공 지방 (Crude fat) (mg/g)	% 수분	총 철분	% 소화
육류	$84\% \pm 2\%$	110 ± 5	6.1 ± 0.2	0.84 ± 0.01	$66\% \pm 5\%$
닭고기	$88\% \pm 1\%$	90 ± 5	4.9 ± 0.2	0.65 ± 0.01	$68\% \pm 5\%$
어류	$94\% \pm 1\%$	40 ± 2	6.1 ± 0.2	0.13 ± 0.01	$74\% \pm 5\%$
카제인	$92\% \pm 1\%$	검출되지않음	5.8 ± 0.2	0.03 ± 0.01	$88\% \pm 5\%$
SP Dry	$93\% \pm 0.5\%$	36 ± 2	4.2 ± 0.2	0.007 ± 0.001	$93\% \pm 1\%$

[0094] * 총 철분이 분광계에서 595nm 의 Fe-ference 복합체로 측정되었다.

[0095] (Ference - 새로운 철분용 분광측량 시약. D.D.Hennessy 외. *Can. J. Chem.* **62**, P721, (1984))

[0096] 다른 단백질 공급원들 사이의 철분 흡수율 차이 결과가 하기 표 5에 나타난다. 근육 단백질원(육류, 닭고기 및 어류)은 세포막 아래의 Caco-2 세포에서 유사한 철분 흡수율을 보인 반면, 카제인은 음성(삼투) 대조군 완충액과 매우 비슷하게 거의 흡수되지 않았다. SP Dry 제품은 모든 다른 단백질 공급원과 비교할 때 뚜렷하게 훨씬 높은 철분 흡수율을 보였다. 하기 표 6는 철분의 세포 흡수율(2시간의 평형유지 후의 세포단백질 nmol/mg)에 관한 것이다:

표 6

	완충액	육류	닭고기	어류	카제인	SP Dry
[0097]	0.015±0.005	0.095±0.005	0.070±0.005	0.085±0.005	0.025±0.005	0.135±0.005

[0098] Caco-2 모델은 문헌 내 다수의 실험에서 약물 흡수 연구에 성공적으로 사용되어 왔다. (인간에 있어서 중성자가 활성화된 상업적 구강복용 구연산 철(III) 및 수산화 폴리말토오스 철(III) 복합체로부터의 59Fe 장 흡수 (H.C. Heinrich *Arzneim-Forsch/Drug.Res.* **37**, 105, (1987).) 여기서 사용된 수정된 시험은 철분 뿐만 아니라 아연 및 비타민-D와 같은 다른 필수 요소들과 관련된 식품의 강화 연구에도 사용되어 왔다. 이 시험관 모델은 훌륭한 인간의 장내 흡수와의 비교가능성을 계속해서 보여왔으며, 이런 이유로 본 연구에서 보여주는 결과들은 Fahey 성인 개 먹이주기 혈장 연구의 긍정적인 결과들을 뒷받침한다. 동물 모델 연구는 RBC(헤모글로빈)에 대한 SP Dry 먹이주기 효과를 더 연구하기 위해, 예를 들어, 기니피그를 이용해 수행될 수도 있다.

[0099] 이 연구에 비추어 보면, 해양 단백질 소화물-SP Dry-이 시험된 다른 소화된 단백질 공급원과 비교할 때 긍정적인 철분 흡수 효과를 보인다는 것이 분명하다. SP Dry는 네가티브 통제 카제인에 비해 철분 흡수율을 540% 증가시켰으며, 포지티브 통제그룹, 즉 육류 단백질 소화물보다도 40%나 높은 것이다. 연어유(SO)은 이 실험에서 전혀 사용되지 않았으며, 따라서 이는 단백질 부분 자체가 철분 흡수율 증가를 가능하게 한다는 확실한 증거이다.

[0100] 또한, 이 실험에서는 내부적 철분 흡수율을 밝히는 데 이용할 수 있는 정밀한 방법이 없기 때문에, 외적으로 추가된 철분(10mmol/L)만이 철분 흡수율 측정을 위해 사용되었다는 사실에 주목해야한다. 보여지는 수치들은 각 소화물에서 일어날 수 있는 최소 흡수율을 나타내는데, 이는 Cook and Bjorn-Rasmussen에 의한 인간 연구들에서의 추정과 유사하다.