



(19) 中華民國智慧財產局

(12) 發明說明書公告本

(11) 證書號數：TW I574633 B

(45) 公告日：中華民國 106 (2017) 年 03 月 21 日

(21) 申請案號：099100714 (22) 申請日：中華民國 99 (2010) 年 01 月 12 日

(51) Int. Cl. : A23L33/00 (2016.01) A61K35/74 (2015.01)

(30) 優先權：2009/01/12 義大利 MI2009A000019

(71) 申請人：輝瑞公司 (義大利) PFIZER ITALIA S.R.L. (IT)

義大利

(72) 發明人：隆高尼 維利瑞亞 LONGONI, VALERIA (IT)；潘希 梅莉莎 PENCI, MARISA (IT)

(74) 代理人：陳長文

(56) 參考文獻：

TW 200846466 EP 1917969A1

US 6241983B1 US 2006/0093592A1

Nicar Laboratories ; 網址: http://web.archive.org/web/20080512083340/http://www.nicar.ca/engprod_probaclac.html ,
2008/5/12Advanced Biotics , 網址; <http://www.cureself.com/research/NPA-Advanced-Biotics.pdf>, screen capture indicating file has been,
2007/9/21

審查人員：官速貞

申請專利範圍項數：26 項 圖式數：0 共 40 頁

(54) 名稱

包含益生菌及益生質成分及礦物鹽及乳鐵蛋白之組合物

COMPOSITIONS COMPRISING PROBIOTIC AND PREBIOTIC COMPONENTS AND MINERAL SALTS, WITH LACTOFERRIN

(57) 摘要

本發明係關於一種包含益生菌及益生質成分、礦物鹽、乳鐵蛋白及視需要選用之酵母菌之組合物，其可使所投與的益生菌成份進行正確且有效的細菌定植，並對腸道產生影響，其包括保持及/或恢復腸道健康及預防由壓力、不正確的飲食習慣及抗生素治療所引起常見的消化道菌叢生態不平衡。該等組合物亦同時具有消炎及免疫調節作用。

The present invention relates to compositions comprising probiotic and prebiotic components, mineral salts, lactoferrin, and possibly saccharomycetes, which perform correct, effective colonisation of the probiotic components administered, with enteric consequences which involve maintaining and/or restoring intestinal health and preventing the consequences of common dysbioses of the digestive tract caused by stress, incorrect dietary habits and antibiotic treatments. Said compositions also have a concomitant anti-inflammatory and immunomodulating action.

發明專利說明書

104年4月14日修正本

中文說明書替換本(104年4月)

(本說明書格式、順序及粗體字，請勿任意更動，※記號部分請勿填寫)

※申請案號：099100714

※申請日：99年1月12日

※IPC 分類：A23L 1/29 (2006.01)

一、發明名稱：(中文/英文)

A61K 35/74 (2015.01)

包含益生菌及益生質成分及礦物鹽及乳鐵蛋白之組合物

COMPOSITIONS COMPRISING PROBIOTIC AND PREBIOTIC
COMPONENTS AND MINERAL SALTS, WITH LACTOFERRIN

二、中文發明摘要：

本發明係關於一種包含益生菌及益生質成分、礦物鹽、乳鐵蛋白及視需要選用之酵母菌之組合物，其可使所投與的益生菌成份進行正確且有效的細菌定植，並對腸道產生影響，其包括保持及/或恢復腸道健康及預防由壓力、不正確的飲食習慣及抗生素治療所引起常見的消化道菌叢生態不平衡。該等組合物亦同時具有消炎及免疫調節作用。

三、英文發明摘要：

The present invention relates to compositions comprising probiotic and prebiotic components, mineral salts, lactoferrin, and possibly saccharomycetes, which perform correct, effective colonisation of the probiotic components administered, with enteric consequences which involve maintaining and/or restoring intestinal health and preventing the consequences of common dysbioses of the digestive tract caused by stress, incorrect dietary habits and antibiotic treatments. Said compositions also have a concomitant anti-inflammatory and immunomodulating action.

四、指定代表圖：

(一)本案指定代表圖為：(無)

(二)本代表圖之元件符號簡單說明：

● 五、本案若有化學式時，請揭示最能顯示發明特徵的化學式：

(無)

六、發明說明：

【發明所屬之技術領域】

本發明係關於一種包含益生菌(更特定言之龍根雙歧桿菌(*Bifidobacterium longum*))、及載體材料(其包括益生質材料、礦物鹽、及乳鐵蛋白)之組合物，其不僅能夠改良及/或促進益生菌種類之存活，還能使所投與的益生菌成份進行有效的細菌定植，並對由壓力、不正確的飲食習慣、抗生素治療、疾病及類似原因引起的常見的消化道菌叢生態不平衡產生腸道影響。該等組合物亦同時具有消炎以及免疫調節作用。此外，本發明係關於利用文中所述組合物促進及/或改良益生菌生物之存活及生存能力之方法。

本發明之組合物可用於製備營養補充劑及醫藥級產品。

【先前技術】

消費者正逐漸知曉有必要保持環境、健康及營養之重要性。因此科學研究已聚焦於在威脅人類健康中扮演主要作用之飲食、壓力及現代醫學操作(諸如抗生素及放射線療法)。特定言之，人口動態轉向老齡化社會將增加由微生物群不足或受損而引起的疾病之發生率，諸如胃腸道(GIT)感染、便秘、大腸激燥症候群(IBS)、發炎性腸病(IBD)--克隆氏病(Crohn's disease)及潰瘍性結腸炎、食物過敏、抗生素引起的腹瀉、心血管疾病及某些癌症(諸如結腸直腸癌)。

近年來，功能性食品(該食品以靶向方式影響身體功

能，以對生理及營養帶來正面影響)，尤其是包含益生菌之食品之商業製造及銷售已自信譽卓著的日本利基市場(niche market)遍及至全球市場。雖然大量的人類來源之益生菌目前已經商業利用，但有關該等食品之潛在應用以及如何改進其效力之科學仍在不斷進展。

益生菌已經定義為活微生物膳食補充劑，其可藉由改良腸道微生物平衡有利地影響宿主；或更廣泛言之，定義為活微生物，其在攝取一定數量時，可產生超過內在基礎營養的健康效果。不同的微生物，特別是乳桿菌(Lactobacillus)與雙歧桿菌(Bifidobacterium)種類之混合劑，已慣用於發酵乳製品中以促進健康。然而為使其有效，該等益生菌必須不僅需於製造加工、包裝及儲存條件下存活，而且必須在通過胃腸道時存活，藉此使該益生菌材料繼續生存，以具有正面健康效用。

人類的進化史已經受細菌影響，不僅僅係關於流行病。共生菌群具有較不顯著但較深層的影響，尤其是居住於人類腸部者，其主要產生「保護性」及「誘導性」作用(第一係對全身產生作用，第二係對其免疫系統產生作用)，以及持久地保護個體免受疾病侵害。實際上已知，在一般條件下，身體之皮膚及大部份黏膜已被不同微生物群「居住」，其經常具有組織特異性。舉例言之，在腸中主要的微生物(迄今已發現至少500種菌株)，尤其是在大腸中，為類桿菌類(Bacteroides spp.)、梭狀芽孢杆菌屬(Clostridium spp.)、梭桿菌屬(Fusobacterium spp.)、克雷伯氏菌屬

(*Klebsiella* spp.)、葡萄球菌 (*Staphylococci*)、酵母 (yeasts) 及大腸埃希氏菌 (*Escherichia coli*)。此共生微生物菌群可分為兩種類型：「常駐」菌群，其幾乎一直存在且若改變，即可快速恢復；以及「暫駐」菌群，其可在短時間內定植於宿主，其歸因於暫時性菌群缺乏與常駐微生物或宿主防禦機制競爭之能力。暫駐菌群有時亦包括潛在致病性微生物。菌群之確切組合係受微生物來源因素及宿主之特異性因素影響。然而，由於後者的因素 (年齡、營養水平、荷爾蒙及疾病) 難以改變，該分析集中研究前者。

影響共生菌群之組合之重要微生物因素係細菌黏附上皮細胞之能力。某些細菌對特定的上皮細胞具有明顯的向性 (親和性)。正常的菌群可與潛在致病性微生物競爭細胞表面上之受體而進行干擾。共生菌群亦可藉由產生細菌素 (係一種抑制其他細菌 (一般係相同物種) 生長之物質)，或者藉由產生短鏈脂肪酸提供酸性環境或藉由競爭相同營養素，而干擾致病性微生物。其他有用的機制為刺激產生具交叉反應性之天然抗體，或刺激清除機制。然而，後者較不重要。

歸因於此等機制，正常的菌群對致病性微生物定植宿主表面形成有效的屏障。此亦稱為「抗定植性」。

因此可容易推斷，任何降低此等微生物因素對胃腸道生態系統作用之現象皆可導致個體健康的嚴重問題。舉例而言，用廣譜抗生素治療會消滅胃腸道菌群中所有對所使用抗微生物劑敏感之共生細菌。此種情況下，抗定植性減

少，且潛在致死性微生物可於黏膜自由定植。當該治療終止，常駐菌群顯然可隨著時間的推移而恢復。然而遺憾的是，好氧性革蘭氏(Gram)陰性菌之生長比繁殖較慢之厭氧性革蘭氏(Gram)陰性菌更快且較早定植於黏膜，儘管厭氧性革蘭氏陰性菌占共生菌群之99%。即使免疫防禦僅部份損害之患者，此失衡仍會導致革蘭氏陰性菌血症。

其他有關廣譜抗生素抑制正常菌群的可能影響包括，因酵母過度生長造成之黴菌病，或厭氧性革蘭氏陰性菌艱難芽胞梭菌(*Clostridium difficile*)之過度生長，其不幸具有相當耐抗生素性。其存在可導致一系列相當常見的病症，包括腹瀉至結腸炎。

免疫系統及其功能係數千年發展的結果，其取決於日復一日與世界上微生物的持久相互作用，尤其是在胃腸道層面。

已經科學驗證，就個體健康而言，尤其相較於不久前之過去，在現代生活之極佳條件下，過度清潔衛生或過度使用抗生素而獲得之無菌狀態並不代表成功的策略。已知即使部份無菌狀態亦可造成傷害，亦即食物不耐性、過敏及自體免疫性疾病。此等問題係因為共生菌群與免疫系統之間缺乏接觸。經過每天的接觸，共生菌群會誘導免疫系統如何區別「自體」與「非自體」。已有大量的流行病學資料(及所進行的實驗性檢驗，諸如用無菌動物)證明此理論。

自五十及六十年代之後，在經濟已開發國家中已觀察

到，隨著傳染病死亡率減少(歸因於有越來越多抗體可以使用)，食物不耐性及過敏性(多達40%)，及自體免疫失調(多達30%)(諸如多發性硬化、紅斑狼瘡及風濕性關節炎)之比例明顯增加。此等增加係因為胃腸道共生菌群之質量及數量上之實質性改變，其歸因於不正確的使用抗生素以及壓力不斷增加之生活方式，亦及就嬰兒而言，歸因於母乳餵養減少。實際上，已經常報告，用母乳餵養的兒童比未接受所謂的「人工」乳的兒童較少罹患食物不耐性及過敏。甚至最近，關於多發性硬化(一種自體免疫性疾病)亦指出有相同的相互關係。相反地，居住在原始生活方式的部落環境(在非洲、印度或澳大利亞內陸之某些地方)之個體的發病率之分析顯示，幾乎完全不存在如：過敏及自體免疫之疾病(雖然顯然存在高比例的傳染病)。

抗生素治療、壓力及缺乏母乳餵養會改變胃腸道共生菌群之質量及數量，並減少共生菌群與免疫系統接觸的機率。此接觸之結果係，免疫系統細胞(尤其是1及2T-助手淋巴細胞)「經誘導」以耐受(即無反應)食物抗原及無害的非食物抗原(諸如花粉)，或其所屬之身體的蛋白質(藉此預防自體免疫性疾病)。

因此已證明共生菌群對於現在及將來的人類健康格外重要。然而，人類並非與生俱有共生菌群。相反，在出生時，胃腸道係無菌。若經由陰道出生時，其定植係於出生那一刻經由母親的陰道及肛門菌群開始，或若剖腹生產時，其係經由暴露於子宮之外部環境而開始，在這兩種情

況下，其以後均受哺乳類型及母親/環境因素影響。在新生兒期，健康個體之胃腸道共生菌群係由至少 10^{18} 個細菌組成，其99%係屬於某些30-40種類。

因此，此菌群係由厭氧性細菌（雙歧桿菌 (bifidobacteria)、梭狀芽孢桿菌 (clostridia)、類桿菌體類 (bacterioids)、真細菌類 (eubacteria) 及革蘭氏陽性球菌 (Gram-positive cocci) 及好氧性細菌（乳桿菌 (lactobacilli)、鏈球菌 (streptococci)、葡萄球菌 (staphylococci) 及大腸桿菌 (coliform)）組成。然而，此等不等於其沿著胃腸道軸線分佈：胃部中細菌含量相當低（每克低於1百萬個），但在迴腸中大幅增加（100百萬個）且大量存在於結腸（1000億個）。

因此，相關技藝中需要一種包含益生菌材料之組合物，其不僅可在製造加工條件下存活，而且之後在胃腸道中亦可存活，藉此將活性益生菌材料輸送至有此需要的宿主。

【發明內容】

在最廣義的態樣中，本發明提供一種益生菌組合物，其包括：a) 一或多種益生菌成份，其包括龍根雙歧桿菌 (*Bifidobacterium longum*) 及至少一種選自以下組成之群之細菌種類：鼠李糖乳桿菌 (*Lactobacillus rhamnosus*)、瑞士乳桿菌 (*Lactobacillus helveticus*) 及胚芽乳桿菌 (*Lactobacillus plantarum*)；及 b) 載體組合物，其包括：1) 一或多種益生質成份；2) 乳鐵蛋白；3) 一或多種礦物鹽；及視需要選用之 4) 谷胱甘肽。

在本發明之第一態樣中，龍根雙歧桿菌(*Bifidobacterium longum*)較佳為龍根雙歧桿菌R175(「Rosell 175」)；瑞士乳桿菌(*Lactobacillus helveticus*)較佳為瑞士乳桿菌R52(「Rosell 52」)；鼠李糖乳桿菌(*Lactobacillus rhamnosus*)較佳為鼠李糖乳桿菌R11(「Rosell 11」)；以及胚芽乳桿菌(*Lactobacillus plantarum*)較佳為胚芽乳桿菌R1012(「Rosell 1012」)。瑞士乳桿菌Rosell 52在工業中亦稱為嗜酸乳桿菌菌種並藉此用於文中，瑞士乳桿菌Rosell 52亦可稱為嗜酸乳桿菌R52。

在較佳實施例中，該一或多種益生質成份為菊糖及果糖。在另一較佳實施例中，該一或多種礦物鹽係選自由鋅、鎂、鉀及銅組成之群。在最佳實施例中，該礦物鹽包括葡萄糖酸鋅、葡萄糖酸鎂及檸檬酸鉀。

本發明之一態樣提供一種益生菌組合物，其包括a)包括以下物質之益生菌成份之混合物：龍根雙歧桿菌(*Bifidobacterium longum*)500億CFU/g、瑞士乳桿菌(*Lactobacillus helveticus*)1500億CFU/g；及胚芽乳桿菌(*Lactobacillus plantarum*)1500億CFU/g；及b)載體，其包括：1)含量占總載體組合物約80%之益生質混合物；2)含量占總載體組合物約0至約10%的乳鐵蛋白；3)選自由鎂、鉀及鋅鹽組成之群之礦物鹽，其中鎂係以約0至約100%之量存在於載體組合物中；其中鉀係以占該載體組合物約0至約100%之量存在於載體組合物中；且其中鋅係以占該載體組合物約0至約100%之量存在於載體組合物中；以及

4) 谷胱甘肽，其中該谷胱甘肽係占該載體組合物約0至約20%之量。

在本發明之另一態樣中，提供一種益生菌組合物 a) 由龍根雙歧桿菌 R175 與鼠李糖乳桿菌 R11 組成之益生菌成份； b) 一種包括菊糖及果糖之益生質成份； c) 乳鐵蛋白； d) 由鎂及鋅鹽組成之礦物鹽之混合物；及 e) 布拉酵母菌 (*Saccharomyces boulardii*)。

本發明另一較佳實施例中，提供一種使用含益生菌之組合物製備用於保持及/或恢復腸道健康及預防哺乳動物中任何病原之菌叢生態不平衡的經口投與調配物之方法。

本發明之另一態樣提供一種用於改善龍根雙歧桿菌之存活能力之方法，其包括：使龍根雙歧桿菌與瑞士乳桿菌 R52 及胚芽乳桿菌 R1012 混合，其中改良該龍根雙歧桿菌之存活性。

【實施方式】

成人中，抗生素治療、壓力、飲食不均衡及疾病(尤其是胃腸道病症)會改變有利共生菌群之品質及數量。此點使獲得快速且有效的定植方法之難度增加。該過程可藉由益生菌明顯減輕其困難。

已發現當益生菌成份(更特定言之為龍根雙歧桿菌)之特定混合物與載體(其包括(A)一或多種益生質成份、(B)乳鐵蛋白、及(C)一或多種礦物鹽、及視需要選用之酵母菌)混合時，該組合已提高該龍根雙歧桿菌種類之存活能力且大幅改善健康作用，保持及/或恢復腸道健康，控制壓力的

影響，並產生消炎及免疫調節活性。更特定言之，本發明組合物展現出益生菌成份通過胃腸道時增強及/或改良的存活力。

因此，本發明組合物之特徵為相當高的共生值(由益生質支持的益生菌)、含強力消炎及免疫調節成份，且亦能夠處理流體-鹽平衡之變化。其等因此明顯改良/恢復腸道健康，一般亦對預防不適、感染及所有的壓力之影響(尤其是身體上及環境壓力)具有有利的反應。

即使至少某些益生菌菌株已顯示，死益生菌能夠產生臨床效益，但死細菌對人類的臨床效果不如活細胞健全。因此，為製造能夠得到所需臨床效益之益生菌產物，有必要確保其在通過上胃腸道時，含益生菌組合物具有最高百分比累計存活率的益生菌。

本發明者已發現，將龍根雙歧桿菌(單獨或與一或多種益生菌成份(諸如瑞士乳桿菌及/或胚芽乳桿菌)組合)與載體組合，該載體包括益生質，其較佳為菊糖、果糖及/或FOS；礦物鹽，其包括鎂、鋅及/或鉀；乳鐵蛋白；該龍根雙歧桿菌已增加通過消化道之存活力，且該組合物因此展現出較強效力。

益生菌經傳統定義為含(較佳為)活微生物之營養補充劑，其可藉由改善微生物平衡而有利地影響宿主的健康。益生菌生物亦必須為：

- 人類腸部菌群或任何情況下容易適應該生境之正常成份；

- 能夠穿過胃屏障，承受膽汁酸及胰酶的作用；
- 能夠特定黏附至腸上皮組織；
- 容易用於臨床操作。

以下益生菌細菌符合以上定義：

- 一般產乳酸之細菌；
- 乳桿菌(嗜酸(acidophilus)乳桿菌、瑞士(helveticus)乳桿菌、保加利亞(bulgaricus)乳桿菌、胚芽(plantarum)乳桿菌、乾酪(casei)乳桿菌、鼠李糖(rhamnosus)乳桿菌、乳酸(lactis)乳桿菌及羅伊氏(reuteri)乳桿菌)
- 嗜熱鏈球菌(Streptococcus thermophilus)；
- 屎腸球菌(Enterococcus faecium)；
- 雙歧雙歧桿菌及龍根雙歧桿菌(Bifidobacterium bifidum and longum)。

根據本發明之益生菌成份之混合物包括至少兩種選自以下組成之群之細菌：

- 龍根雙歧桿菌
- 瑞士乳桿菌
- 嗜酸乳桿菌
- 鼠李糖乳桿菌，及
- 胚芽乳桿菌。

在本發明之較佳實施例中，益生菌組合物包括龍根雙歧桿菌。

此等活的且有活力的微生物試劑能夠快速定植，可立即發揮其等功能：

- 1) 藉由直接對抗潛在致病性菌群之保護作用(抑制其黏附上皮組織；產生細菌素；競爭營養素及受質；製造有利的pH條件及氧化還原微環境)；
- 2) 刺激及誘導免疫系統(活化巨噬細胞、增加自然殺手細胞、增加產生干擾素及平衡T-助手細胞1及2菌群)；
- 3) 藉由釋放乳酸鹽、丙酸鹽及丁酸鹽使結腸環境酸化。

科學界最近著重於彼等可能為用於發展共生學(同時包含益生菌及益生質二者之產物)之最佳候選者的菌株之研究及特徵分析，即乳桿菌(嗜酸乳桿菌、瑞士乳桿菌、胚芽乳桿菌及鼠李糖乳桿菌)與雙歧桿菌。此等不同的菌株展現出不同的特性：能夠有效地穿過胃及膽汁屏障；改善與乳糖不耐性相關之便秘及症狀；緩解腹瀉(包括由病毒性病原引起之類型)；產生細菌素；能夠抑制病原體，諸如沙門氏菌(*Salmonella*)、志賀氏菌(*Shigella*)，耶爾森氏菌(*Yersinia*)，念珠菌(*Candida*)和大腸桿菌(*Coli*)；免疫調節及許多其他特性。

乳桿菌屬係屬於乳酸細菌之群，其為革蘭氏陽性原核生物。其很容易依據其鳥嘌呤與胞嘧啶含量(少於54%)而與雙歧桿菌區分(在雙歧桿菌中，該含量超過54%)。該菌屬包括將近80個種類，其為過氧化氫酶陰性、不能活動、無孢子、細胞色素氧化酶陰性、不水解明膠及不產生吲哚，其具有糖分解性及微需氧性代謝。其亦具有特定營養需求，即可溶性糖類、游離胺基酸類、蛋白腴類、脂肪酸類

及其酯類、鹽類、核酸類及維生素類。其等亦可依據發酵的類型分類為專性同型發酵、專性異型發酵及兼性異型發酵菌種。

特定言之，鼠李糖菌種之乳酸菌最早係自人類腸來源菌株識別及選拔。其具有僅與其他產乳酸菌部份相同之不同明確特徵：

1)自免疫學觀點看，其改善CD56+細胞之T及B淋巴細胞反應及「自然殺手細胞」(NK)反應；

2)從臨床觀點來看，其用途係有效對抗不同腹瀉形式之方法(包括輪狀病毒(rotavirus)、旅行者腹瀉(travellers' diarrhea)、由抗生素治療引起的腹瀉及由艱難芽孢梭菌引起之雙重感染之反復性腹瀉)；

3)亦報告其可減少上呼吸道之病原體定植。

至於定植，已知其對胃酸度、膽汁及典型的大腸高pH值具有抵抗力，在定植之後，其可藉由有利的影響環境條件而促進雙歧桿菌的增殖。

該雙歧桿菌屬包括28個菌種，且具有以下一般特徵：革蘭氏陽性、厭氧性、不能活動、無孢子、過氧化氫酶陰性、非耐酸性(non-acid uric)、多形性及產乙酸(且產乳酸)。其亦使用銨鹽作為氮源，且能夠合成許多種維生素。最終，其等發展受產生雙歧桿菌之因子(寡糖類及蛋白腴類)之存在影響。

如已闡述，在其傳送及定植期間，乳桿菌及雙歧桿菌進行一系列生理學上可判別的作用，諸如乳糖不耐性的減

少；腸部運動之改善；血清膽固醇之減少；蛋白水解酶、蛋白質及維生素之累積；營養素吸收之調節；腸上皮組織滲透性之再活化；以及老年患者病症之改善。

其特徵亦為「非生理學」作用，諸如抗腹瀉作用(嬰兒腹瀉、旅行者腹瀉及與使用抗生素相關之腹瀉)；殺菌作用(歸因於細菌素、乳酸及乙酸之產生及歸因於乙醯基、乙醛、過氧化氫及二氧化碳之釋放)；抗腫瘤作用(主要位於結腸及直腸)；及免疫調節作用(用此等菌株治療之患者具有較好的NK細胞、抗體、吞噬細胞及細胞介素反應)。

此外，藉由此等不同的菌株而進行之一系列生物活性已在研討中且應儘快藉由進一步研究而確定，諸如非過敏活性(在食物範圍)、消炎活性(在腸的範圍)、抗氧化活性(在動脈粥樣硬化範圍具有有利的反應)、及護肝活性(尤其是在與酒精飲用有關之範圍)。

根據本發明之較佳態樣，益生菌成份之混合物包括龍根雙歧桿菌及至少一種另外選自由瑞士乳桿菌、嗜酸乳桿菌、鼠李糖乳桿菌及胚芽乳桿菌組成之細菌群之種類。

在上述益生菌成份之混合物中，龍根雙歧桿菌較佳為龍根雙歧桿菌 R175(「Rosell 175」)，瑞士乳桿菌較佳為瑞士乳桿菌 R52(「Rosell 52」)，鼠李糖乳桿菌較佳為鼠李糖乳桿菌 R11(「Rosell 11」)，及胚芽乳桿菌較佳為胚芽乳桿菌 R1012(「Rosell 1012」)。瑞士乳桿菌 Rosell 52於工業中係稱為嗜酸乳桿菌種類並藉此用於文中，瑞士乳桿菌 R52亦可稱為嗜酸乳桿菌 R52。

龍根雙歧桿菌 R175 可以產品代號 75119 自加拿大 Institut Rosell Inc. ((Lallemand), Montreal, Qc, Canada) 購得。

龍根雙歧桿菌 R175 係一種嚴格的厭氧性生物，其由單獨的或成對的不同形狀之革蘭氏+桿菌 (1-1.5 μm × 6 μm) 組成。其在選拔培養基上形成白色小菌落。龍根雙歧桿菌 R175 係異型發酵且在發酵期間產生 L-乳酸及乙酸二者。其過氧化氫酶呈陰性。在實驗室條件下，龍根雙歧桿菌 R175 於自商品取得之乳酸細菌培養基 (RCM) 中，於 37°C 與無氧狀態下生長良好。特定言之，其能夠在以下糖類上生長 (37°C 下，48 小時後之 API 50 CH 結果)：

對照組	- 半乳糖 (galactose)	+ α -甲基-D- 甘露糖苷	- 木蜜貳糖 (melibiose)	+ D-松二糖 (turanose)	+
甘油	- D-葡萄糖	+ α -甲基-D- 配糖類	- 蔗糖 (sucrose)	+ D-來蘇糖 (lyxose)	-
赤藻糖醇	- D-果糖	+ N-乙醯胺 基葡萄糖	- 海藻糖 (trehalose)	- D-塔格糖 (tagatose)	-
D-阿拉伯糖 (arabinose)	- D-甘露糖 (mannose)	+ 苦杏仁苷 (amygdalin)	- 菊糖 (inulin)	- D-岩藻糖 (fucose)	-
L-阿拉伯糖	+ L-山梨糖 (sorbose)	- 熊果苷 (arbutin)	- 落葉松糖 (melezitose)	+ L-岩藻糖 (fucose)	-
核糖	- 鼠李糖 (rhamnose)	- 七葉苷 (esculin)	- D-棉子糖 (raffinose)	+ D-阿拉伯膠醇 (arabitol)	-
D-木糖 (xylose)	+ 衛矛醇 (dulcitol)	- 水楊苷 (salicin)	- 澱粉	- L-阿拉伯膠醇 (arabitol)	-
L-木糖	- 肌醇 (inositol)	- 纖維二糖 (cellobiose)	- 肝糖 (glycogen)	- 葡萄糖酸鹽 (gluconate)	-

核糖醇 (Adonitol)	-	甘露醇 (mannitol)	-	麥芽糖 (maltose)	+	木糖醇 (xylitol)	-	2-酮葡萄糖鹽 (ketogluconate)	-
β-甲基木 糖苷	-	山梨醇 (sorbitol)	-	乳糖 (lactose)	+	β-龍膽雙糖 (gentobiose)	-	5-酮葡萄糖鹽 (ketogluconate)	-

此外，龍根雙歧桿菌 R175 表現以下抗生素抗性型態：

抗微生物劑	劑量	結果	抗微生物劑	劑量	結果
氨苄西林 (Ampicillin)	10mcg	易感染性	呋喃妥英 (nitrofurantoin)	300 mcg	易感染性
枯草菌素 (Bacitracin)	10 單位	易感染性	新生黴素 (novobiocin)	30 mcg	易感染性
頭孢菌素 (cephalothin)	30 mcg	易感染性	盤尼西林 (penicillin)G	10 單位	易感染性
氯黴素 (chloramphenicol)	30 mcg	易感染性	多粘黴素 (Polymyxin)B	300 單位	抗性
紅黴素 (erythromycin)	15 mcg	易感染性	利福平 (Rifampin)	5 mcg	易感染性
慶大黴素 (gentamycin)	10 mcg	抗性	鏈黴素 (streptomycin)	10 mcg	抗性
康黴素 (kanamycin)	30 mcg	抗性	磺胺異噁唑 (sulfisoxazole)	300 mcg	抗性
林可黴素 (lincomycin)	2 mcg	中性	四環素 (tetracycline)	30 mcg	易感染性
新黴素 (Neomycin)	30 mcg	抗性	萬古黴素 (Vancomycin)	30 mcg	易感染性

瑞士乳桿菌 R52 係經 CNCM(巴斯德研究所)註冊為第 I-1722 號。

鼠李糖乳桿菌 R11 係經 CNMC(巴斯德研究所)註冊為第 I-1720 號且亦在加拿大食品檢驗局(Canadian Food Inspection Agency)註冊為第 990411 號。

胚芽乳桿菌 R1012 係經 CNMC(巴斯德研究所)註冊為第

MA 18/5U號。

一種特別佳益生菌成份之混合物包括龍根雙歧桿菌(較佳為龍根雙歧桿菌R175)與乳桿菌(較佳為瑞士乳桿菌R52)之組合及/或與胚芽乳桿菌(較佳為胚芽乳桿菌R1012)之組合。

以上定義之益生菌的特定混合物具有適用於本發明目的之穩定性、黏著性、定植性及增殖能力之理想特性。

根據另一較佳態樣，本發明組合物可包含若干種類細菌，其係依以下含量構成益生菌混合物：

- 龍根雙歧桿菌500億CFU/g；
- 瑞士乳桿菌1500億CFU/g；
- 胚芽乳桿菌1500億CFU/g。

在本發明另一態樣中，較佳的益生菌成份之混合物包括龍根雙歧桿菌及鼠李糖乳桿菌。

以上定義之益生菌混合物具有適用於本發明目的之穩定性、黏著性、定植性及增殖能力之理想特性。

在本發明較佳態樣中，本發明組合物可包含若干種類細菌，其等依以下含量構成益生菌之混合物：

- 龍根雙歧桿菌500億CFU/g
- 鼠李糖乳桿菌1500億CFU/g。

在較佳實施例中，益生菌成份之混合物包括龍根雙歧桿菌(較佳為龍根雙歧桿菌R175)及鼠李糖乳桿菌(較佳為鼠李糖乳桿菌R11)。

為了加強及/或改進益生菌種類之存活力，益生菌種類

較佳與載體組合，該載體包括非益生菌成份，其不僅充當益生菌之食物來源，而且亦有助於加強該組合物整體之整體效果。

已經證實，當投與乳桿菌及雙歧桿菌用於調節胃腸道菌群時，其作用可為暫時性，因為外源細菌之增殖受到限制。本發明者已顯示，雙歧桿菌(尤其是雙歧桿菌)在投與時具有低存活力。需要與益生質補充組合來解決此問題。本發明者已驚訝地發現，當益生菌成份(更尤其是龍根雙歧桿菌)與包括益生質之載體投與時，可改良及/或加強龍根雙歧桿菌之存活力。

益生質係用於對特定細菌群(其稱為益生菌部分)提供適宜的選擇性營養素，以支持其等在腸中之抗性、定植能力及增殖能力。在化學術語中，益生質物質相當於可消化及難消化之碳水化合物類及膳食纖維。在食用後，此等物質完整地通過幾乎所有上胃腸道，而不受到任何消化流程。當其等到達結腸時，其等提供健康/共生細菌存在之主要營養基質，該等細菌可使用此等物質並將其消化，所以其等作為營養基質。

術語「益生質」所指之所有物質並非皆具有相同明確特徵。

益生質係一種彼此差異很大之食物成份族群，且其隨化合物不同，依不同方式刺激及促進某些細菌種類生長。

最廣泛研究之益生質係菊糖及果寡糖(FOS)。

菊糖，在十九世紀早期第一次闡述，且於許多植物中發

現。自菊苣中萃取之菊糖現今較佳用於膳食用途。將菊糖添加至製品中(使其「共生」)，可確保營養性受質之存在對整個微生物菌群之生理平衡之重要性。當菊糖(一種非水解性多醣)降解(其只能自細菌作用中形成)時，其可減少腸部pH，並藉此保持結腸不適於病原體生長之環境。

FOS亦係廣泛使用之益生質。在化學術語中，其係短鏈果聚糖，因此可溶，且聚合程度不超過8個碳水化合物單元。自生物學觀點而言，添加此等益生質混合物似乎適宜且成功：據最近報告，此等益生質可大幅改變腸部微生物群之組成，諸如使雙歧桿菌占整個腸部菌群自20%增加至71%。

用於本發明益生菌組合物之載體較佳包括益生質，諸如纖維成份。此益生質能夠充當益生菌種類(諸如乳桿菌及雙歧桿菌)之食物來源。在上胃腸道中，由於氧氣環境雙歧桿菌不生長，但乳桿菌可具新陳代謝活性。若生物酶流程變得有活性，其將尋找食物來源。作為益生菌之乳桿菌與益生質(其較佳為菊糖)之間的協同關係可使乳桿菌進行新陳代謝活性。此點可對宿主產生前文所述之有利效應，但亦意指此等細胞在胃腸道內可能因生理作用而無法存活。因此，在上胃腸道中，乳桿菌與菊糖之間的正面協同關係被認為可增強本發明含益生菌組合物高於個別乳桿菌菌株(其不含益生質)之免疫增強能力，但此協同關係將以累計存活百分比為代價。

本發明組合物之載體組合物進一步具有對抗微環境(典

型指補充益生菌之後對抗有效定植之腸部病症)之作用。益生菌經常出現於特徵為發炎、組織滲透性改變及與可阻止益生菌定植之游離陽離子存在有關之促氧化狀態之環境中。然而，藉此發展之該組合物允許相當高之胃腸道定植率，因為當益生菌混合物到達時，其同時準備了用於有效定植之受質。

至於益生質成份，在此態樣中可能用到碳水化合物及纖維類，諸如GOS、木寡糖、難消化性麥芽糖糊精、菊糖、異麥芽寡糖、乳糖醇、乳果糖及反式半乳寡糖，但在本發明上下文中，以菊糖、果糖及/或果寡糖(FOS)特別佳。在最佳實施例中，該益生質成份包括菊糖、果糖及/或FOS。

在較佳實施例中，本發明之含益生菌組合物包括一或多種占總組合物至高約80%之量的益生質。在更佳實施例中，該益生質係菊糖與果糖之組合。該菊糖係以占載體組合物約0至約100%之量存在；該菊糖更佳以占該載體約10至100%之量存在；該菊糖最佳占該載體約20%。該果糖係以占載體組合物約1至約100%之量存在；該果糖更佳以占載體組合物約1至約100%之量存在；該果糖最佳以占該載體組合物50%以上之量存在。

該載體組合物進一步包括乳鐵蛋白。乳鐵蛋白係一種重量為80,000道爾頓之特定的糖蛋白，其自從1939年以來已有說明。其與常見於母乳、唾液、眼淚、嗜中性白血球之次級分泌顆粒以及黏液分泌物中之游離鐵結合。

乳鐵蛋白具有不同的活性，尤其是抗菌及消炎活性。根

據大量研究闡述，乳鐵蛋白對革蘭氏(Gram)陰性菌之外壁及游離鐵特別展現結合親和力：乳鐵蛋白藉由第一作用機制，對致病性細菌具有「殺死」能力；以及藉由第二作用，與游離鐵螯合並自微環境中移除。

乳鐵蛋白，其亦限制致病性細菌之腸部生長，具有消炎及游離基淨化特性。此雙重能力在腸部中特別重要，致病性細菌有時在此會危險地發現用於增殖之理想條件，因為此器官之典型pH會限制轉鐵蛋白(一種通常負責轉運游離鐵(其係游離基之來源且因此損壞腸黏膜)之蛋白質)之正確運轉。在較佳實施例中，該載體組合物包括約0至約10%的乳鐵蛋白；該乳鐵蛋白更佳以約0.1%至約5%之量存在；該乳鐵蛋白最佳以約0.5%之量存在。

乳鐵蛋白亦具有作為益生質之功能，藉由共生細菌提供用於發酵之受質。

用於本發明實施例中之礦物鹽係一或多種選自由鎂、鉀、鋅及視需要選用之銅及其鹽組成之群，包括(但不限於)葡萄糖酸鎂、檸檬酸鉀、葡萄糖酸鋅及檸檬酸銅。

已知在疾病期間，細胞及組織新陳代謝(尤其是同時流失體液)可導致鈉、鉀、鎂及氯之流失。此等電解質對矯正肌肉纖維細胞之功能(包括腸平滑肌纖維細胞)、細胞及組織之電解質平衡及滲透壓平衡相當重要。特定言之，鉀及鎂之儲量減少會產生虛弱、神經肌肉板中之肌肉收縮效率低及脈搏傳輸不足、及痙攣。添加鎂及/或鉀可防止壓力、感染、環境溫度提高、體力、腹瀉等造成之鎂及/或

鉀缺乏。

鎂在本發明載體組合物中係以占載體組合物約0至約100%，更佳以約5至約20%，最佳以約14至約16%之量存在。該鎂最佳以葡萄糖酸鎂存在。

鉀係以占載體組合物約0至約100%，更佳以約0.1至約10%，最佳以約5%之量存在於本發明之載體組合物中。該鉀最佳以檸檬酸鉀存在。

鋅係重要元素，其對支持100種以上的酶活性而言相當重要，包括DNA及RNA聚合酶，其在此具有輔酶作用。輕微缺乏鋅可導致免疫系統之輕微機能不足，並因此提高與感冒相關病症(諸如副流行性感冒與流行性感冒綜合症)之風險。在兒童中，輕微缺乏鋅可導致輕微的生長遲滯，而嚴重不足則會抑制生長及生殖腺機能不足。最終，在妊娠期間缺乏鋅會產生畸形。鋅的存在可加強免疫系統功能。鋅係以占載體組合物約0至約100%，更佳以約0.1至約20%，最佳以約5%之量存在於本發明載體組合物中。鋅最佳以葡萄糖酸鋅存在。

可視需要添加銅至本發明載體中。銅係一種在腸階段藉由特定傳輸機制吸收之元素。在肝中，其與血漿銅藍蛋白共軛，並藉此分佈於所有組織中。其經由膽汁及糞便排泄出去。在該等組織中，銅係許多酶結構的不可或缺的部份，該酶包括胺基氧化酶、鐵氧化酶、超氧化物歧化酶、酪胺酸酶等。銅缺乏症並不常見，但會導致白血球減少症、貧血症、肌肉骨骼系統機能障礙及皮膚脫色。在妊娠

期間不足可導致嬰兒出生體重低。銅若存在時，可使免疫功能恢復正常，最主要係幫助抵抗由常見病毒引起之冬季疾病。

本發明載體組合物可進一步視需要包括谷胱甘肽及/或阿拉伯半乳聚糖。

谷胱甘肽，亦稱為GSH，係一種由甘胺酸、胱胺酸及麩胺酸鹽組成之三肽。其在細胞之內部作為谷胱甘肽轉移酶以及谷胱甘肽過氧化物酶(細胞使用該等酶來摧毀致死性分子，諸如過氧化氫)之輔因子。由於巰基存在，谷胱甘肽亦可選擇自還原形式轉化為氧化形式，進而充當抗氧化劑。歸因於其可與氧化物質(諸如游離基、氫過氧化物及脂過氧化物)反應之能力，其因此相當必要，且已被視為防止細胞老化之關鍵酶。雖然其係一種肽，但並不需要在胃內加以保護，因為其很少被其中所存在的胃液及肽酶水解。口服吸收相當佳，且發生於腸部。最近亦對接受腫瘤療法及HIV治療之患者投與相當高劑量。該產品相當安全。沒有毒性資料。患者之投藥順服性及產品之忍耐度亦相當高。谷胱甘肽(若存在)可加強身體的抗氧化劑防禦力以及防止細胞及組織老化。谷胱甘肽係以占載體組合物約0至約20%，更佳以約0.1至約5%，最佳以約1%之量存在於本發明載體組合物中。

阿拉伯半乳聚糖係具有高分子量(約200,000道爾頓)之多醣，其主鏈係半乳糖醛酸之聚合物，且在側鏈位置經鼠李半乳聚糖部份羧甲基化及乙醯化。自生物學觀點而言，其

等係強巨噬細胞刺激物(在人類及鼠巨噬細胞中，若受到此等化合物刺激，則可在吞噬細胞活性期間觀察到極大量增加形成氧化氮)且刺激(包括助手及細胞毒性菌群二者中)T細胞之活性。

阿拉伯半乳聚糖(若存在)進行免疫調節作用且加強對病原體感染之反應。更特定而言，視需要添加強效非吸收性T-特異性免疫原(阿拉伯半乳聚糖)可在腸部淋巴結區域(腸淋巴結(Peyer's patches))活化局部T-特異性反應，藉此減少致病性部份，同時獲得化膿性益生菌部份。此兩事件的同時發生進一步有利於進行原本會受T-敏感性致病性部份阻撓之定植及增殖。

本發明之組合物可視需要進一步包括酵母菌或酵母。酵母菌或酵母之存在(若使用時)係藉由釋放具有營養價值之微量元素及維生素以及與病原體競爭之事實來證實。酵母亦可呈富含聚葡糖(即多醣結構)之溶胞產物形式使用，其限制病原體細菌黏著至腸黏膜。根據較佳實施例，本發明組合物可特別包含釀酒酵母(*Saccharomyces cerevisiae*)及/或布拉酵母(*Saccharomyces boulardii*)。根據特別佳實施例，根據本發明使用之布拉酵母係布拉酵母ATCC 74012。

至於另外視需要添加之非直接益生菌之成份，其主要目標同樣係提供額外益生質之優勢；前述物質適用於(例如)半胱胺酸轉運劑，諸如N-乙醯半胱胺酸及類似物中；其同樣適用於對游離陽離子及陰離子(諸如任何聚合程度之原花青素、花色素類及兒茶素及類似物)具有螯合作用之成

份；且其同樣適用於已在腸階段調節免疫反應之元素，如不同種類之海膽亞目(Echinacea)、鉤藤屬(Uncaria)及黃芪屬(Astragalus)。最終，其同樣適用於添加大量元素或微量元素及水溶性或脂溶性維生素。最後，添加抗氧化劑可進一步對包含於本發明組合物中之益生菌具有保護作用。

已發現根據本發明之組合物具有極大的改善健康之活性，保持及/或恢復腸部健康，防止壓力之後果以及進行消炎及免疫調節作用。同時，其確保有效的定值。根據本發明組合物之作用大於分別投與組合物之單個成份後所獲得之作用，其明顯歸因於不同成份之間的協同作用。

本發明之特別佳組合物包含：

- a) 益生菌成份之混合物，其包括龍根雙歧桿菌R175，瑞士乳桿菌R52，及胚芽乳桿菌R1012；
- b) 載體，其包括：
 - 1) 益生質成份，其包括菊糖及果糖；
 - 2) 乳鐵蛋白；
 - 3) 由鎂、鉀及鋅鹽組成之礦物鹽之混合物；及
 - 4) 谷胱甘肽。

在最佳實施例中，本發明之組合物包含：

- a) 益生菌成份之混合物，其包括500億CFU/g之龍根雙歧桿菌；1500億CFU/g之瑞士乳桿菌；及1500億CFU/g之胚芽乳桿菌；及
- b) 載體，其包括：
 - 1) 占總載體組合物約80%之益生質混合物，其中該益

生質係菊糖及果糖，其中該菊糖係以占該載體組合物約10至約100%之量存在，該菊糖最佳占該載體約20%且該果糖係以占該載體組合物約1至約100%之量存在；該果糖更佳以占該載體組合物約1至約100%之量存在；該果糖最佳以占該載體組合物之50%以上之量存在；

- 2) 以約0至約10%，更佳以約0.1%至約5%，最佳以約0.5%之量存在的乳鐵蛋白；
- 3) 選自由鎂、鉀及鋅鹽組成之群之礦物鹽，其中該鎂係以占該載體組合物約0至約100%，更佳以約5至約20%，最佳以約14至約16%之量存在於本發明載體組合物中且該鎂係葡萄糖酸鎂；其中該鉀係以占該載體組合物約0至約100%，更佳以約0.1至約10%，最佳以約5%之量存在且該鉀係檸檬酸鉀；此外，其中該鋅係以占該載體組合物約0至約100%，更佳以約0.1至約20%，最佳以約5%之量存在於本發明載體組合物中且其中該鋅係以葡萄糖酸鋅存在；及
- 4) 谷胱甘肽，其中該谷胱甘肽係以占該載體組合物約0至約20%，更佳以約0.1至約5%，最佳以約1%之量存在於本發明載體組合物中。

本發明之另一特別佳組合物包含：

- a) 益生菌成份之混合物，其包括龍根雙歧桿菌R175及鼠李糖乳桿菌R11；及布拉酵母；及

b) 載體，其包括：

- 1) 由菊糖與果糖組成之益生質成份；
- 2) 乳鐵蛋白；
- 3) 由鎂、鉀鹽及鋅鹽組成之礦物鹽混合物；及
- 4) 谷胱甘肽。

根據本發明較佳態樣，文中所述組合物可用於製備膳食補充劑。

根據本發明組合物可經適宜調配，以用於經口投與，且可使用其最終用途可接受之賦形劑、稀釋劑、填充劑及抗結塊劑，根據醫藥工藝學中悉知之習知方法(諸如彼等闡述於 Remington's Pharmaceutical Handbook，Mack Publishing Co., N.Y., USA 中者)製備。其他額外成份實例包括檸檬酸、氧化鎂、二氧化矽及熟悉此項技術者應瞭解之其他成份。

根據本發明組合物可經調配，諸如形成可溶性藥囊形式、可溶性口服形式、膠囊、錠劑、咀嚼錠劑、隨時間及 pH 釋放之多層錠劑，及粒劑。

本發明組合物可用於促進及/或改善益生菌種類之生存力及存活率，更特定言之用於促進及/或改善龍根雙歧桿菌之生存能力。該等方法包括混合以下成份：僅包括龍根雙歧桿菌或與一或多種益生菌種類組合之益生菌成份；及載體，其包括治療上有效量之一或多種益生質、治療上有效量之一或多種礦物鹽、治療上有效量之乳鐵蛋白及視需要選用之治療上有效量之谷胱甘肽。如文中所用，「量」

係指對上下文適宜之數量或濃度。構成療效上有效量的材料之含量根據各種因素(諸如特定材料之效能、效力及類似物、投與途徑、及所用劑型)而有所不同。特定材料之療效上有效量可經由習此相關技藝者根據該等因素適當考量而選擇。該材料之濃度取決於所需劑量。

該等經調配之組合物，如文中所述，可在室溫下穩定儲存。

此外，本發明組合物亦可用於改善及/或加強益生菌材料之療效作用。由於本發明組合物展現改良之益生菌存活率，因此咸信該等調配物具有更大效力，因為更多量的益生菌在通過上胃腸道及下胃腸道二者時仍存活。因此，本發明組合物可用於改善及/或加強有此需要之人類個體之胃腸道健康及/或免疫力。

根據本發明調配物之某些實例係闡述於下。儘管闡釋本發明之廣範圍之數值範圍及參數係近似值，但所闡述於特定實例中之數值係儘可能精確報告。然而，任何數值必然包含由各自測試方法中標準偏差產生之必要誤差。因此，以下實例意欲闡述本發明，但不限制其範疇。

提出以下實例，以闡釋所主張之方法及其操作法。

實例

實例 1

成份名稱	mg/藥量	
益生菌材料：		
瑞士乳桿菌Rosell 52	1500億CFU/g	73.333
龍根雙歧桿菌R175	500億CFU/g	20.000
胚芽乳桿菌Rosell 1012	1500億CFU/g	20.000
載體材料：		
氧化鎂		41.446
葡萄糖酸鎂		341.297
檸檬酸鉀		138.290
葡萄糖酸鋅		111.111
谷胱甘肽		20.000
乳鐵蛋白		11.364
檸檬酸銅		2.834
菊糖		500.000
果糖		1291.125
其他(視需要選用之)賦形劑		
蔗糖素		4.000
醋磺內酯鉀		12.000
香料		150.000
氧相二氧化矽(Aerosil) 200		40.000
著色劑：E124		2.200
著色劑：E102		1.000
無水檸檬酸		220.000

上述調配物製法如下：使胚芽乳桿菌、瑞士乳桿菌、龍

根雙歧桿菌與菊糖混合，並在32 rpm下混合約10分鐘。繼之，將果糖、葡萄糖酸鎂、葡萄糖酸鋅、檸檬酸、香料、檸檬酸鉀、氧化鎂、二氧化矽、谷胱甘肽、醋磺內酯鉀、乳鐵蛋白及蔗糖素添加至該混合物中並在32 rpm下再混合10分鐘。

實例 2

成份名稱	mg/藥囊	
益生菌材料：		
布拉酵母	200億CFU/g	100.000
龍根雙歧桿菌R175	500億CFU/g	20.000
鼠李糖乳桿菌Rosell 11	1500億CFU/g	46.667
載體材料：		
葡萄糖酸鎂		511.945
葡萄糖酸鋅		50.000
乳鐵蛋白		11.364
果糖		2585.024
菊糖		500.000
其他(視需要選用之)賦形劑		
杏桃香料 502168AP0551		70.000
無水檸檬酸		50.000
著色劑：1%β胡蘿蔔素		28.000
蔗糖素		7.000
氧相二氧化矽200		20.000
總計		4000.00

實例3

成份名稱	mg/藥囊
益生菌材料：	
瑞士乳桿菌Rosell 52	1500億CFU/g
龍根雙歧桿菌 R175	500億CFU/g
胚芽乳桿菌Rosell 1012	1500億CFU/g
載體：	
氧化鎂	41.446
葡萄糖酸鎂	341.297
檸檬酸鉀	138.290
葡萄糖酸鋅	111.111
谷胱甘肽	20.000
乳鐵蛋白	11.364
菊糖	500.000
果糖	1335.678
其他(視需要選用之)賦形劑：	
蔗糖素	4.000
醋磺內酯鉀	12.000
香料	150.000
氣相二氧化矽200	40.000
著色劑：E124	2.200
著色劑：E102	1.000
無水檸檬酸	220.000
總計	3000.000

上述調配物製法如下：使胚芽乳桿菌、瑞士乳桿菌、龍根雙歧桿菌與菊糖混合並在32 rpm下混合約10分鐘。繼之，將果糖、葡萄糖酸鎂、葡萄糖酸鋅、檸檬酸、香料、檸檬酸鉀、氧化鎂、二氧化矽、谷胱甘肽、醋磺內酯鉀、乳鐵蛋白及蔗糖素添加至該混合物中並在32 rpm下再混合10分鐘。

實例4

檢測實例3中所述調配物中所包含益生菌種類，以決定益生菌存活率。較個體菌株而言，本發明組合物中之益生菌菌株之存活性係採用動態、上胃腸道之體外模型(其亦稱為TIM-1)檢測。該TIM-1模型可模仿人類胃室及小腸中之環境，藉此可用於評估其通過上胃腸道運輸時之益生菌累計存活率百分比。

經TIM-1檢測之實例3組合物的益生菌細胞總量經計算為 9.81×10^9 CFU(菌落形成單元，或CFU)。當評估實例3組合物所包含益生菌菌株之個別濃度時，採用微生物塗佈法定量每菌株之量為：

瑞士乳桿菌 8.0×10^9 CFU

胚芽乳桿菌 8.7×10^8 CFU

龍根雙歧桿菌 9.1×10^8 CFU

實例3組合物中每種益生菌菌株所測定含量係在用TIM-1模型檢測個體菌株時所用之目標含量。換言之，益生菌菌株之含量，無論係產品中含量或個別含量，皆設定為瑞士乳桿菌之 8×10^9 CFU，胚芽乳桿菌之 8.7×10^8 CFU及龍根

雙歧桿菌之 9.1×10^8 CFU。

在實際試驗中，個別益生菌菌株及實例3組合物均與早餐穀片(歐洲大陸輕食早餐)進行投與。因此，確定每菌株與該早餐穀片混合時之最終量，並藉此在實例3中之個別及組合物二者中，所用每種益生菌之平均起始含量為：

瑞士乳桿菌 8.6×10^9 CFU

胚芽乳桿菌 7.0×10^8 CFU

龍根雙歧桿菌 1.4×10^9 CFU。

TIM-1檢測結果概述於下表中：

益生菌菌株		累計 存活率%	平均累計 存活率%	菌落形成單元 (CFU)
瑞士乳桿菌	操作1a	2.20	1.4	1.2×10^8 CFU
	操作2a	0.44		
	操作1b	2.55		
	操作2b	0.49		
胚芽乳桿菌	操作1a	12.45	9.7	6.8×10^7 CFU
	操作2a	5.63		
	操作1b	12.92		
	操作2b	7.77		
龍根雙歧桿菌	操作1a	29.55	42.9	6.0×10^8 CFU
	操作2a	31.20		
	操作1b	68.55		
	操作2b	42.11		

此後，分別採用TIM-1測試以下各菌株。該資料顯示於下表中。

益生菌菌株		累計 存活率%	平均累計 存活率%	菌落形成單元 (CFU)
瑞士乳桿菌	操作1	13.11	13.1	1.1×10 ⁹ CFU
	操作2	13.15		
胚芽乳桿菌	操作1	45.17	39.2	2.7×10 ⁸ CFU
	操作2	33.24		
龍根雙歧桿菌	操作1	0.01	0.02	2.8×10 ⁵ CFU
	操作2	0.02		

該等資料表示該組合物具有協同效果。更特定而言，通過上胃腸道而存活的龍根雙歧桿菌益生菌細胞之數值比不含其他益生菌及載體時高出1000倍以上(大於 $3_{\log_{10}}$)。本發明組合物之龍根雙歧桿菌在單獨投與時並未證實可穩定存活。實際上，相較於與瑞士乳桿菌、胚芽乳桿菌及載體(其包括益生質(菊糖與果糖)、葡萄糖酸鋅、葡萄糖酸鎂、檸檬酸鉀；谷胱甘肽及乳鐵蛋白；及視需要選用之檸檬酸、氧化鎂及二氧化矽)組合投與時之42.9%的累計存活率，龍根雙歧桿菌在單獨投與時僅具有0.02%的累計存活率。

七、申請專利範圍：

1. 一種益生菌組合物，其包括：
 - a) 二或多種益生菌成份，其包括龍根雙歧桿菌 (*Bifidobacterium longum*)R175及至少一種選自以下組成之群之細菌種類：鼠李糖乳桿菌 (*Lactobacillus rhamnosus*)R11、瑞士乳桿菌 (*Lactobacillus helveticus*) R52及胚芽乳桿菌 (*Lactobacillus plantarum*)R1012；及
 - b) 載體組合物，其包括：
 - 1) 一或多種益生質成份；
 - 2) 乳鐵蛋白；
 - 3) 二或多種礦物鹽；及
 - 4) 視需要選用之谷胱甘肽。
2. 如請求項 1 之組合物，其中該益生質成份係選自菊糖、果糖及果寡糖。
3. 如請求項 1 之組合物，其中該礦物鹽係二或多種選自由鎂、鉀、銅及鋅鹽組成之群。
4. 如請求項 1 之組合物，其中該等益生菌係以約以下含量存在：龍根雙歧桿菌 R175 為 500 億 CFU/g、瑞士乳桿菌 R52 為 1500 億 CFU/g、及胚芽乳桿菌 R1012 為 1500 億 CFU/g。
5. 如請求項 3 之組合物，其中該鎂係呈葡萄糖酸鹽。
6. 如請求項 3 之組合物，其中該鉀係檸檬酸鉀。
7. 如請求項 3 之組合物，其中該鋅係葡萄糖酸鋅。
8. 如請求項 3 之組合物，其中該銅係檸檬酸銅。

9. 如請求項2之組合物，其中該益生質係菊糖與果糖之混合物。
10. 如請求項1之組合物，其包括a)包括以下物質之益生菌成份之混合物：500億CFU/g之龍根雙歧桿菌、1500億CFU/g之瑞士乳桿菌、及1500億CFU/g之胚芽乳桿菌；及b)載體，其包括：1)包含占總載體組合物約80%之益生質之混合物；2)占總載體組合物約0.1至約10%之量的乳鐵蛋白；3)選自由鎂、鉀及鋅鹽組成之群之二或多種礦物鹽，其中該鎂係以約0至約100%之量存在於載體組合物中；其中該鉀係以占該載體組合物約0至約100%之量存在；且其中該鋅係以占該載體組合物約0至約100%之量存在；以及4)谷胱甘肽，其中該谷胱甘肽之含量係占該載體組合物之約0至約20%。
11. 如請求項10之組合物，其中該等益生質係菊糖與果糖之混合物。
12. 如請求項11之組合物，其中該菊糖係以該載體組合物之約20%之量存在。
13. 如請求項11之組合物，其中該果糖係以該載體組合物之約50%之量存在。
14. 如請求項10之組合物，其中該鎂係葡萄糖酸鎂。
15. 如請求項10之組合物，其中該鋅係葡萄糖酸鋅。
16. 如請求項10之組合物，其中該鉀係檸檬酸鉀。
17. 如請求項14之組合物，其中該葡萄糖酸鎂之含量係占該載體組合物之約14%至約16%。

18. 如請求項15之組合物，其中該葡萄糖酸鋅之含量係占該載體組合物之約5%。
19. 如請求項16之組合物，其中該檸檬酸鉀係以該載體組合物之約5%之量存在。
20. 如請求項10之組合物，其進一步包括一或多種選自由以下組成之群之添加劑：醫藥可接受香料、防腐劑、著色劑、甜味劑、賦形劑、稀釋劑、填充劑及抗結塊劑。
21. 如請求項1之組合物，其包括：
 - a) 由龍根雙歧桿菌 R175 與鼠李糖乳桿菌 R11 組成之益生菌成份之混合物；
 - b) 由菊糖及果糖組成之益生質成份；
 - c) 乳鐵蛋白；
 - d) 由鎂及鋅鹽組成之礦物鹽之混合物；及
 - e) 布拉酵母菌 (*Saccharomyces boulardii*)。
22. 一種如請求項1至21中任一項之組合物於製備經口投與調配物之用途，該調配物供用於保持及/或恢復腸道健康及預防哺乳動物中任何病原之菌叢生態不平衡。
23. 一種製備益生菌組合物之方法，其包括：使龍根雙歧桿菌與瑞士乳桿菌 R52 及胚芽乳桿菌 R1012 混合，其中該組合物進一步包括載體，該載體包括 1) 一或多種益生質成份；2) 乳鐵蛋白；3) 二或多種礦物鹽；及視需要選用之 4) 谷胱甘肽。
24. 如請求項23之方法，其中該益生質包括菊糖及果糖。
25. 如請求項23之方法，其中該二或多種礦物鹽係選自由葡

萄糖酸鎂、檸檬酸鉀及葡萄糖酸鋅組成之群。

26. 如請求項1之組合物，其包括：益生菌組分之混合物，其包含500億CFU/g之龍根雙歧桿菌、1500億CFU/g之瑞士乳桿菌、及1500億CFU/g之胚芽乳桿菌；及載體，其包括：益生質之混合物(包括含量占該載體之約20%的菊糖與含量占該總載體組合物之大於50%或更多的果糖)、含量占該載體組合物之約0.5%的乳鐵蛋白、含量占該總載體組合物之14至約16%的葡萄糖酸鎂、含量占該總載體組合物之約5%的檸檬酸鉀、及含量占該總載體組合物之約5%的葡萄糖酸鋅、以及谷胱甘肽，其中該谷胱甘肽係以占該總載體組合物之約1%之含量存在於該載體組合物中。