

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 公表特許公報(A)

(11) 特許出願公表番号

特表2004-506437

(P2004-506437A)

(43) 公表日 平成16年3月4日(2004.3.4)

(51) Int.Cl.⁷

A23L 1/29

A23L 1/302

A23L 1/305

F I

A23L 1/29

A23L 1/302

A23L 1/305

テーマコード (参考)

4B018

審査請求 未請求 予備審査請求 有 (全 46 頁)

(21) 出願番号 特願2002-520643 (P2002-520643)
 (86) (22) 出願日 平成13年8月20日 (2001.8.20)
 (85) 翻訳文提出日 平成15年2月21日 (2003.2.21)
 (86) 国際出願番号 PCT/EP2001/009579
 (87) 国際公開番号 W02002/015720
 (87) 国際公開日 平成14年2月28日 (2002.2.28)
 (31) 優先権主張番号 60/227, 117
 (32) 優先日 平成12年8月22日 (2000.8.22)
 (33) 優先権主張国 米国 (US)

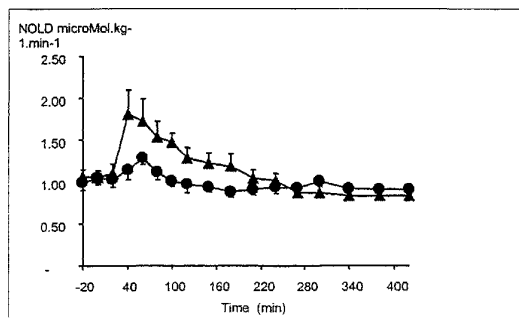
(71) 出願人 590002013
 ソシエテ デ プロデュイ ネットスル ソ
 シエテ アノニム
 スイス国ブベイ, ピー オー ボックス
 353
 (71) 出願人 503070616
 アンスチチュ ナシオナル ド ラ ルシ
 エルシュ アグロノミク
 フランス国、パリ、リュ ド リュニベル
 シテ、147
 (74) 代理人 100066692
 弁理士 浅村 皓
 (74) 代理人 100072040
 弁理士 浅村 肇

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 タンパク質蓄積を改善する栄養組成物及び方法

(57) 【要約】

体タンパク質合成を促進し、筋肉量の維持及び回復を改良することができる組成物及び方法が提供される。組成物は、(i) 組成物の総カロリーの少なくとも約8%を供給し、そして少なくとも約50重量%のホエータンパク質を含有するタンパク質源；(ii) 約5:1乃至約10:1のオメガ3:6脂肪酸比率を有し、組成物の総カロリーの少なくとも約18%を供給する脂質源；(iii) 炭水化物源；及び(iv) 少なくともビタミンE及びビタミンCを含む平衡多量栄養素プロフィール；を含む。



【特許請求の範囲】

【請求項 1】

筋肉タンパク質合成を改善し、筋肉喪失を予防し、或いは筋肉量の回復を促進するための摂取し得る担体を調製するための組成物の使用であって、
組成物の総カロリーの少なくとも約 8 % を供給し、そしてタンパク質源の少なくとも約 50 重量 % のホエータンパク質を含有するタンパク質源；
約 5 : 1 乃至約 10 : 1 のオメガ 3 : 6 脂肪酸比率を有し、組成物の総カロリーの少なくとも約 18 % を供給する脂質源；
炭水化物源；及び
少なくともビタミン E 及び C を含む多量栄養素プロフィール；
を含む上記組成物の使用。

10

【請求項 2】

ホエータンパク質が部分的に加水分解されたホエータンパク質を含有する、請求項 1 記載の使用。

【請求項 3】

ホエータンパク質が、組成物中のタンパク質源の少なくとも 50 % を含むホエータンパク質加水分解物を含有する、請求項 1 又は請求項 2 記載の使用。

【請求項 4】

ホエータンパク質の少なくとも 50 重量 % が加水分解されたものである、前記請求項のいずれかに記載の使用。

20

【請求項 5】

組成物がカゼイン糖マクロペプチドを含有する、前記請求項のいずれかに記載の使用。

【請求項 6】

タンパク質源が組成物の総エネルギーの約 20 % までを供給する、前記請求項のいずれかに記載の使用。

【請求項 8】

脂質源が約 40 重量 % 乃至約 65 重量 % のモノ不飽和脂肪酸類及び約 15 重量 % 乃至約 30 重量 % のポリ不飽和脂肪酸類を含む、前記請求項のいずれかに記載の使用。

【請求項 9】

飽和脂肪酸含量が約 30 重量 % 未満である、前記請求項のいずれかに記載の使用。

30

【請求項 10】

脂質源が、組成物の総エネルギーのおよそ 25 % 乃至約 35 % を供給する、前記請求項のいずれかに記載の使用。

【請求項 11】

炭水化物源が、ショ糖、コーンシロップ、マルトデキストリン及び／又はこれらの組合せである、前記請求項のいずれかに記載の使用。

【請求項 12】

炭水化物源が、組成物の総エネルギーのおよそ 50 % 乃至約 60 % を供給する、前記請求項のいずれかに記載の使用。

【請求項 13】

組成物が、ビタミン E、ビタミン C、タウリン、葉酸及びビタミン B-12 から成る群から選択される一つ又はそれ以上の微量栄養素を含有する、前記請求項のいずれかに記載の使用。

40

【請求項 14】

組成物が、イヌリン、アカシアゴム、レジスタントスターチ、デキストラン、キシロオリゴ糖、フルクトオリゴ糖 (FOS) 及び／又はこれらの組合せから成る群から選択される、少なくとも一つのプレバイオティク繊維を含む、前記請求項のいずれかに記載の使用。

【請求項 15】

組成物が少なくとも一つの微生物を包含する、前記請求項のいずれかに記載の使用。

【請求項 16】

50

微生物がプロバイオティク微生物である、請求項 16 記載の使用。

【発明の詳細な説明】

【0001】

本出願は、2000年8月22日に出願された米国仮出願番号60/227,117の利益を請求するものである。

【0002】

(発明の背景)

本発明は、栄養補助剤用の組成物；該組成物の製造方法；栄養のための機能食品又は医薬の製造における該組成物の使用、該組成物の有効量を投与することを含む、疾病又は手術から回復しつつある患者、高齢者又は食欲不振の患者のような食欲が限定されている人々、又は他のタンパク質源を消化する能力が障害を受けている人々における、筋肉タンパク質合成を改善する、筋肉喪失を予防する、及び筋肉量の回復を促進する方法に関する。

【0003】

多くの人は、栄養的に完全な食餌のための十分な栄養素を摂取していない。そのような人々を援助するために、栄養補助剤が開発されている。栄養補助剤は、通常、栄養的に完全な食餌に必要な全ての栄養素を提供することを意図しているわけではなく、その代わりに、一般に、より栄養的に完全になるように食餌を補給することを意図している。

【0004】

栄養補助剤には多くの対象があり、例えば、病人、健康を回復しつつある患者、食欲不振の患者及び高齢者である。病人又は健康を回復しつつある患者には、食物の自然な摂取はしばしば正常より低く、そして栄養的要求を充たすには不十分である。強健さの回復及び復活は、それ故に阻害される。一方、大多数の高齢者は、彼らの栄養的要求の全てを充たすには余りにも少量しか食べない傾向がある。これは通常、体重減少及び生理活性の低下の後でエネルギー要求が低下するためである。食欲不振患者は、当然食欲を失っており十分な栄養を摂取しない。全ての場合において、失われた栄養を補給により供給することは、利益をもたらすことができる。

【0005】

種々の栄養補助剤が市販されている。北米で一般に見られる補助剤の一群は、Ross Laboratories社からENSUREの名で販売されている。使用されているタンパク質源は、主にカゼイン塩類及び大豆タンパク質単離体類である。市場で入手可能な別の一群は、Novartis Nutrition Ltd.社からRESOURCEの名で販売されている。この場合、タンパク質源はカゼイン塩類を基本にしている。市場で入手可能な更に別の一群は、Nestle Clinical Nutrition社からNUBASICSの名で販売されている。一般的に、この一群の製品で使用されているタンパク質源はカゼイン塩である。しかしながら、これらの製品は、製品の消費量が不十分なために、或いは別の食品の消費量が不十分なために、消費者が必ずしも十分な栄養を受ける結果をもたらしていない、という問題を有していることが見出されている。このことは、食欲の喪失によって消費される栄養が不十分になるような、回復しつつある患者、高齢者及びその他の食欲不振患者の場合に特に当てはまる。

【0006】

ホエータンパク質のような他のタンパク質源に基づく栄養補助剤もまた市販されており、或いは文献に記載されている。一般的に、ホエータンパク質に基づく栄養補助剤は、例えば、欧州特許出願第0486425号及び米国特許第5,641,531号に記載されているように、果汁の形で提供されている。しかしながら、脂質は適切な栄養に必須であるという事実にもかかわらず、これらの製品は一般に脂質源を提供していないという問題を有している。

【0007】

従って、筋肉タンパク質合成の増加又は筋肉量の回復が必要な人々の特別な栄養要求に対して、提供することができる組成物についての需要が存在している。

【0008】

10

20

30

40

50

(発明の概要)

注目すべきことに、上記に示した問題を対象にし、そのような人々が彼らの強健さを維持し又は取り戻すことができる組成物が、今や見出されている。

【0009】

第一の態様において、本発明は、(i) 組成物の総カロリーの少なくとも約8%、好ましくは少なくとも約10%を供給し、そして少なくとも約50重量%のホエータンパク質を含有するタンパク質源；(ii) 約5:1乃至約10:1のオメガ3:6の脂肪酸比率を有し、組成物の総カロリーの少なくとも約18%を供給する脂質源；(iii) 組成物の残りのカロリーを供給する炭水化物源；及び(iv) 少なくともビタミンE及びビタミンCを含む平衡多量栄養素プロファイル；を含む組成物の治療有効量を個体に投与することを含む、筋肉合成を改善する方法を提供する。 10

【0010】

本明細書の文脈において、用語「含む」は、「他にもあるが、とりわけそれを包含する」ことを意味する。それは、「そのみから構成される」と解釈することを意図しない。

【0011】

本発明の第二の態様において、筋肉喪失のリスクを有する個体における筋肉の喪失を予防する方法が提供される。この方法は、個体に上記組成物の治療有効量を投与することを包含する。

【0012】

本発明の第三の態様において、個体における筋肉量回復を促進する方法が提供される。この方法は、個体に上記組成物の治療有効量を投与することを包含する。 20

【0013】

第四の態様において、本発明は、必要量の組成物をブレンドすることを含む組成物の製造方法を提供する。

【0014】

驚くべきことには、本発明による栄養補助用の組成物はホエータンパク質を含有しているので、タンパク質源としてのカゼインと比較して、高齢者における全身タンパク質蓄積で少なくとも2倍の増加を生じることができ、今や見出されている。従って、そのような患者が筋肉タンパク質を維持し、筋肉タンパク質をより迅速に再構築し、それ故に彼らが強健さをより速く取り戻すのを助ける。 30

【0015】

更に、本発明による栄養補助用の組成物は、ホエータンパク質を含有しているので消化し易いことが、今や見出されている。従って、患者が十分な量の補助剤を消費しないという問題を軽減することができる。同様に、患者が十分な他の食物を消費しないという問題も軽減することができる。更に、組成物は、容易に利用できるエネルギー源を供給するバランスのとれた脂質プロファイルを有している。

【0016】

好ましくは、組成物の一つの実施態様は、一次タンパク質（アミノ酸類）源としてホエータンパク質を含有している。ホエータンパク質は、スイートホエー又は酸性ホエー或いはそれらの組合せであってもよい。ホエータンパク質は、トリプシン、アルカラーゼ又はノボチームを用いたホエータンパク質の酵素処理によって製造された、ホエータンパク質の部分加水分解物の形態であることが好ましく、そしてそれ故に、粘性が低く、軽く、強化飲料及び栄養補助剤用の公知の組成物よりもより消化し易いという利点を提供する。 40

【0017】

本発明は、ホエータンパク質加水分解物に限定されないと理解すべきである。例えば、好ましくは、組成物が粉末形態で造られる場合は、非加水分解ホエータンパク質を使用することができる。

【0018】

一つ又はそれ以上の上記した酵素を用いたホエータンパク質の部分加水分解は、約6.6から8.8（好ましくは約8.5）のpH範囲、及び約40乃至約70℃（好ましくは約 50

65℃)の温度で、タンパク質の約0.5乃至約2.5(好ましくは約1.0)パーセントの酵素濃度で実施することができる。好ましくは、酵素処理は、適切な加水分解を達成するためには、約5乃至約120分(好ましくは15分)で行われる。

【0019】

好ましくは、ホエータンパク質加水分解物は、配合中最低50%のタンパク質含量を示す。単一のタンパク質源であることが好ましいが、しかし、自然のままのホエータンパク質又はその他のタンパク質、或いはカゼイン糖マクロペプチド(CGMP)のようなホエー又はミルク中に自然に見出されるペプチド類を包含するペプチド源との組合せであってもよい。驚くべきことに、部分加水分解タンパク質の比率が高いにもかかわらず、組成物中で物理的に安定であり、加水分解物を調製するために使用されるプロセス及び許容される感覚受容性プロフィールを与える調味システムの選択の故に、非常に受け容れ易い味を有している。

10

【0020】

好ましくは、ホエータンパク質の少なくとも約50重量%が加水分解される。最も好ましくは、ホエータンパク質の少なくとも約70重量%が加水分解される。

【0021】

好ましくは、タンパク質源は、組成物の総エネルギーの約8%乃至約20%を供給し、より好ましくは、成人用の実施態様において、組成物の総エネルギーの約15%乃至約18%(最も好ましくは約16%)を供給するタンパク質源を含む。好ましくは、別の実施態様は小児に適したものであり、組成物の総エネルギーの約8%乃至約14%(最も好ましくは約12%)を供給するタンパク質源を含む。

20

【0022】

注目すべきことには、ホエータンパク質の性質及びタンパク質合成を増加すること、並びに容易に消化され得ることから、組成物は、筋肉量減少及び/又は食欲の減退した人々、例えば、外傷、疾病、又は外科手術を受けた又はそれらから回復しつつある人々、高齢者、或いは胃のペプシン消化力減退を有するとして知られる慢性胃炎の人々のような他のタンパク質源の消化に問題を有する人々のように、栄養補助剤を必要とする人々において有益な効果を有する。注目すべきことは、組成物は、そのような人々が彼等の強健さを維持し又は速やかに取り戻すことを可能にし、それ故に回復しつつある患者の回復を助ける。

【0023】

好ましくは、脂質源は、約40重量%乃至約65重量%のモノ不飽和脂肪酸、及び約15重量%乃至約30重量%のポリ不飽和脂肪酸を含む。飽和脂肪酸含量は、好ましくは、約30重量%未満である。消化を容易にするために、20重量%までの中鎖トリグリセリドを脂肪ブレンド中に取り入れることができる。脂質源は、脂質源100g当たり少なくとも約30mgのビタミンEを含有することができる。

30

【0024】

好ましくは、脂質源は、組成物の総エネルギーの約25%乃至約35%、より好ましくは、組成物の総エネルギーの約30%を供給する。

【0025】

好ましくは、炭水化物源は、ショ糖、コーンシロップ、マルトデキストリン又はこれらの混合物を含む。好ましくは、炭水化物源は、組成物の総エネルギーの約50%乃至約60%を供給する。

40

【0026】

好ましくは、組成物の一つの実施態様は、ビタミンE、ビタミンC、タウリン、葉酸及びビタミンB-12を含む群から選択される一つ又はそれ以上を包含する、栄養素に富む特異なプロフィールを有する微量栄養素組成を有している。注目すべきは、このプロフィールは、酸化ストレス又は炎症状態のために疾病又は回復期間中に大量に必要とされる栄養、及び慢性胃炎のような消化不良にかかっている人々、或いは主要消化管手術を受けた人々において余り吸収されないビタミンB-12のような栄養素の補給を助ける。

【0027】

50

好ましくは、微量栄養素は、少なくとも葉酸及び／又はビタミンB-12を包含する。

【0028】

好ましくは、組成物の一つの実施態様は、プレバイオティク繊維 (prebiotic fiber) を含む。好ましくは、該繊維は、イヌリン、アカシアゴム、レジスタントスターチ、デキストラン、キシロオリゴ糖 (XOS)、フルクトオリゴ糖 (FOS)、ガラクトオリゴ糖、又はこれらの組合せを含む群から選択される。

【0029】

好ましくは、組成物の一つの実施態様は、使用前に水で希釈する粉末の形態又は直ぐに使用できる液体の形態の強化飲料、或いは嚥下障害又はその他の嚥下に問題を有する人々による消費に適したカスタード又はフラン様食感のプディングの形態で、或いは様々な種類の興味ある選択ができる棒状の形態である。 10

【0030】

好ましくは、組成物の一つの実施態様は、ヒトの消費及び／又は投与用に配合される。好ましくは、別の実施態様は、随伴動物による消費用に配合される。

【0031】

好ましくは、本発明に係る組成物の一つの実施態様は、少なくとも一つのプロバイオティク (probiotic) 微生物の添加を含む。プロバイオティク微生物は、抗生物質治療後の腸内細菌叢の自然のバランスを修復する利点を提供する。

【0032】

より好ましくは、粉末の形態での組成物の一つの実施態様は、乳酸菌及び／又はその醗酵代謝物類を含有する。好ましくは、乳酸菌は、L. johnsonii、Lb. Paracasei 又はその組合せから成る群から選択される。この製品は、特に胃炎を有する個体における潰瘍の発生に関連がある胃の中での H. pylori の増殖を阻害する利点を有する。最も好ましくは、プロバイオティク細菌は、寄託番号 NCC 2461 で寄託されている Lb. Paracasei 株を含む。 20

【0033】

本発明の利点は、機能性食品製品において提供することができ、それ故に特別な投与法を必要としない組成物を提供することである。

【0034】

本発明の別の利点は、薄いカスタード又はフラン様の食感を有するプディングの形態において、製品が嚥下障害にかかっている人々によって消費することができることである。 30

【0035】

本発明の別の利点は、好ましい一つの実施態様において、ビタミンE及びビタミンCが豊富であり、それ自体、感染、敗血症又は他の酸化ストレスに関連して消耗した後に、これら栄養素の血中濃度を十分なレベルにするために使用することができることである。好ましくは、一つの実施態様において、更にタウリンを含み、それ自体、感染、敗血症又は他の酸化ストレスに関連して消耗した後に血中のタウリン濃度を十分なレベルにするために使用することができる。

【0036】

本発明の別の利点は、好ましい一つの実施態様では、消化管の疾病を有するか、又は腸管の外科手術後の患者において殆ど吸収されないビタミンB-12及び葉酸が、特に豊富であることである。 40

【0037】

本発明の別の特徴及び利点は、以下に示される現時点での好ましい実施態様の説明に記載されており、そしてその説明から明らかとなるであろう。

【0038】

(発明の詳細な説明)

本発明は、筋肉タンパク質合成の増加を必要とする、又は増加が利点となり得る個体に補助栄養を供給するのに特に適している方法及び栄養補助剤を提供する。そのような個体は高齢者を包含する。その成分の故に、補助剤はより迅速に消化され、それ故に、患者は適 50

切な栄養を供給する治療有効量の補助剤又はその他の食品を消費する傾向がより高まると思われる。

【0039】

タンパク質源は、好ましくは少なくとも部分的に加水分解されている少なくとも約50重量%のホエータンパク質を包含している。加水分解物を製造するために使用されるホエータンパク質は、市販のホエータンパク質源でよく、スイートホエー又は酸性ホエー、或いはそれらの組合せのいずれかに基づいたものでよい。好ましくは、ホエータンパク質は、80重量%を超えるホエータンパク質を含有するホエータンパク質源である。好適なホエータンパク質濃縮物は、LACPRODAN9087であり、そして好適なホエータンパク質単離体源は、ALACEN895 (New Zealand Milk Products Inc. 社)、BiPRO (Le Sueur Isolates 社、Le Sueur, Minnesota)、PROVON-190 (Avonmore Ingredients Inc. 社、Monroe, Wisconsin) 及びLACPRODAN9212 (Royal Proteins, Inc. 社、Rosemont, Illinois) を包含する。 10

【0040】

所望により、タンパク質源は、ある量の他の好適なタイプのタンパク質を含有してもよい。例えば、タンパク質源は、更に少量のカゼインタンパク質、ダイズタンパク質、コメタンパク質、エンドウマメタンパク質、イナゴマメタンパク質、エンバクタンパク質、ミルクタンパク質、カゼイン糖マクロペプチド、又はこれらタンパク質の混合物を含有してもよい。更に所望により、タンパク質源は、更に少量の遊離アミノ酸類を含有してもよい。他の好適なタイプのタンパク質は、好ましくは約50重量%未満の、より好ましくは約30重量%未満のタンパク質源を含む。 20

【0041】

タンパク質源は、好ましくは、栄養補助剤のエネルギーの約8%乃至約20%を供給する。例えば、タンパク質源は、成人に好適な実施態様においては栄養補助剤のエネルギーの約15%乃至約18%、又は小児の使用に好適な実施態様においては補助剤のエネルギーの約8%乃至約14%を供給する。

【0042】

栄養組成物は脂質源を含有する。好ましくは、脂質源は栄養補助剤のエネルギーの約18%乃至約40%、より好ましくは、栄養補助剤のエネルギーの約25%乃至約35%を供給する。例えば、脂質源は栄養補助剤のエネルギーの約30%を供給する。 30

【0043】

脂質源は、総脂質の20重量%のレベルまで中鎖トリグリセリド(MCT)を含有することができる。脂質源はモノ不飽和脂肪酸に富んでいる。特に脂質源は、少なくとも約40重量%のモノ不飽和脂肪酸を含有する。好ましくは、脂質源は、約45重量%乃至約65重量%、例えば約55重量%のモノ不飽和脂肪酸を含有する。

【0044】

脂質源は、また、ポリ不飽和脂肪酸を含有する。好ましくは、脂質源は約15重量%乃至約30重量%のポリ不飽和脂肪酸、例えば、約20重量%のポリ不飽和脂肪酸を含有する。補助剤の脂質プロファイルは、好ましくは、約1:1乃至約10:1のポリ不飽和脂肪酸オメガ-6(n-6)対オメガ-3(n-3)の比率を有するように設計される。好ましくは、n-6対n-3脂肪酸比は、約5:1乃至約9:1、例えば約7:1である。 40

【0045】

脂質源は、中鎖トリグリセリドを含めて約35重量%未満の飽和脂肪酸含量を有する。より好ましくは、脂質源は約30重量%未満の飽和脂肪酸を含有する。

【0046】

好適な脂質源は、高オレイン酸ヒマワリ油、高オレイン酸ベニバナ油、ヒマワリ油、ベニバナ油、菜種油、ダイズ油、オリーブ油、カノーラ油、トウモロコシ油、ピーナツ油、糠油、乳脂肪、ヘーゼルナッツ油及び構造脂質を包含する。分留ヤシ油は、中鎖トリグリセ 50

リドの好適な供給源である。

【0047】

栄養補助剤は、また、炭水化物源も包含する。炭水化物源は、好ましくは、栄養補助剤のエネルギーの約40%乃至約65%、特に栄養補助剤のエネルギーの約50%乃至約60%を供給する。例えば、炭水化物源は補助剤のエネルギーの約54%を供給する。マルトデキストリン、コーンシロップ、コーンスターチ、加工デンプン、又はショ糖、又はフルクトース、或いはこれらの混合物を含むいくつかの炭水化物が使用される。所望により、補助剤は乳糖を含まなくてよい。

【0048】

栄養補助剤は、好ましくは、完全なビタミン及びミネラルプロファイルを含有する。例えば、十分なビタミン類及びミネラル類が、栄養補助剤1,000カロリー当たり1日当たりのビタミン類及びミネラル類推奨許容量の約50%乃至約500%を補給するように供給されてよい。栄養補助剤は、好ましくは、ビタミンEに富んでいる。例えば、栄養補助剤は、1,000kcal当たり80国際単位と120国際単位との間のビタミンEを含有してよい。より好ましくは、栄養補助剤は、補助剤の250ml飲量(serving)当たり約30国際単位のビタミンEを含有する。更に、栄養補助剤は、また、ビタミンCに富んでおり、1,000kcal当たり約150と約250mgの間を供給し、好ましくは、栄養補助剤の一回の飲量当たり約60mgを供給する。補助剤は、また、好ましくは、一回の飲量当たり葉酸200g及びビタミンB-12を3g含有する。小児用に使用するための補助剤の別の実施態様では、この年齢層の特別な必要性のために特別に配合した改変したビタミン及びミネラルプロファイルを有する。

【0049】

栄養補助剤は、更に、可溶性のプレバイオティク繊維源を含有する。プレバイオティク繊維は、宿主の健康を改善する可能性を有する大腸の細菌の増殖及び／又は活性を選択的に促進することによって、宿主に有益に働く繊維である。好適な可溶性のプレバイオティク繊維は、フルクトオリゴ糖(FOS)及びイヌリンを包含する。好適なイヌリン抽出物は、登録商標「Raf t i l i n e」で、O r a f t i S A社、T i r l e m o n t 3300、ベルギー、から入手することができる。同様に、好適なフルクトオリゴ糖は、登録商標「R a f t i l o s e」で、O r a f t i S A社、T i r l e m o n t 3300、ベルギー、から入手することができる。好ましくは、FOS及びイヌリンは、約60：約40乃至約80：約20、最も好ましくは、約70：約30の比率で供給される。他の可能性のある繊維類は、ガム類、例えば、グアールガム、キサンタンガム、キシロオリゴ糖、アラビアゴム、ペクチン、アカシアゴム、レジスタントスターチ、デキストラン又はこれらの混合物を包含する。選択される繊維は、満腹感を誘導してはならない。

【0050】

可溶性のプレバイオティク繊維類は、消化管のビフィズス菌の増殖を促進し、ある種の環境で、クロストリジウムのような病原体の増殖を防止し又は低減することが報告されている。更に、ビフィズス菌の増殖の促進は、種々のその他の有益な効果を有することが報告されている。また、大腸での繊維類の醗酵中に、短鎖脂肪酸が産生される。これらの脂肪酸は腸の細胞の燃料となる。

【0051】

可溶性のプレバイオティク繊維類は、一日当たり約4乃至約9gの可溶性の醗酵し得る繊維を患者に供給するのに十分な量で存在することが好ましい。それ故、プレバイオティク繊維類は、1,000kcal当たり約6g乃至約12gの量で存在してよい。別の実施態様では、9g以下の量のプレバイオティク繊維類のブレンド、例えば4gのブレンドを含む。

【0052】

所望により、栄養補助剤は、また、不溶性食物繊維源を含有してもよい。好適な不溶性食物繊維源は、豆類及び穀物類の殻の繊維類、例えば、エンドウマメ殻の繊維、燕麦殻の繊維、大麦殻の繊維、及び大豆殻の繊維である。

10

20

30

40

50

【0053】

栄養補助剤は、好ましくは、約800 kcal/l乃至約2,000 kcal/lのエネルギー含量、例えば、約1,000 kcal/l又は約1,500 kcal/lのエネルギー含量を有する。

【0054】

栄養補助剤は、経口消費又は経腸投与に好適な、可溶性粉末、濃縮液体、プディング、棒状／スナック、又は直ぐに使用可能な配合物の形態をしたものでよい。直ぐに飲用し得る配合物は特に好ましい。種々のフレーバー、甘味料、及びその他の添加物もまた存在してよい。人工甘味料、例えばアセトスルファム (acetosulfame) 及びL-アスパルチル (L-aspartyl) 系統の甘味料、例えば、アセスルファム-K (acesulfame-K) 又はアスパルテム (aspartame) 或いはこれらの混合物を使用してよい。

【0055】

栄養補助剤は、例えば、水、好ましくは逆浸透処理を施した水に懸濁したタンパク質源及び脂質源と一緒にブレンドすることによって製造することができる。液体混合物を形成するのに市販の液化剤を使用してよい。もし使用するなら、乳化剤はブレンドの中に含有させることもできる。ビタミン類及びミネラル類はこの時点で添加してもよいが、しかし、熱分解を避けるために通常は後に添加される。添加される親油性ビタミン類、乳化剤類その他のいずれも、ブレンドの前に脂質源に溶解してもよい。液体混合物は、次いで二段階で、例えば、第一段階では約7 MPa乃至約40 MPaで、そして第二段階では約2 MPa乃至約14 MPaで均質化される。タンパク質の加水分解は、前に記載したようにして実施される。これに代えて、ホエータンパク質は、水で戻しエマルジョンの形成前に加水分解してもよい。この方法は、もし加水分解ホエータンパク質及び他の損なわれていないタンパク質類のブレンドを所望するならば、好ましい操作である。もしこれを実際に採用する場合は、損なわれていないタンパク質及び脂質を加水分解操作後の加水分解したホエータンパク質に加え、次いで混合物を均質化する。加水分解の停止は、好ましくは、加熱又はpH調節、或いはこれらの組み合わせにより酵素を変性することによって達成される。酵素活性の不活化は、タンパク質の安定性並びに製品の味及び品質に対する熱の有害な影響を最小化するように設計した条件を用いて達成される。例えば、酵素の不活化は、約90℃で5分間乃至約110℃で15秒間の範囲の温度に加熱することにより達成することができる。これは、蒸気注入又は熱交換器、例えばプレート熱交換器、によって実施することができる。

【0056】

液体混合物は、次いで、例えばフラッシュ冷却及び熱交換器、好ましくはプレート熱交換器、によって、約20℃乃至約30℃に徐々に冷却される。炭水化物源は、この時点で又はこの後で、乾燥形態で又は液体スラリーとして添加されてよい。混合物は、次いで、熱に敏感な成分、例えばビタミン類及びミネラル類を加えるために更に冷却される。次いで、水、好ましくは逆浸透処理した水を混合して、液体混合物を形成してよい。均質化した混合物のpH及び固体含量は、この時点で都合の良いように標準化される。

【0057】

液体混合物は、次いで、例えば、細菌の負荷を低減し製品を滅菌するために無菌プロセスを用いて熱処理することができる。例えば、液体混合物は、約110℃で5分間乃至約150℃で5秒間の範囲の温度に急速に加熱してもよい。これは、蒸気注入又は熱交換器、例えばプレート熱交換器、により実施することができる。液体混合物は、次いで二段階で、例えば、第一段階では約7 MPa乃至約40 MPaで、そして第二段階では約2 MPa乃至約14 MPaで均質化される。

【0058】

もし液体栄養補助剤を製造することが望まれる場合は、均質化した混合物を、缶のような好適な容器に充填する。充填は無菌的に行うか、又はレトルト型の容器を用いればよい。充填を実施するための好適な装置は市販されている。

10

20

30

40

50

【0059】

我々は、驚くべきことに、ホエータンパク質が高齢者における食後のタンパク質合成を促進することができるのに対し、カゼインのような他のタンパク質類はできないということを観察した。実際、ホエータンパク質を含有する本発明の実施態様に従った栄養補助剤は、タンパク質源としてのカゼインと比較して、高齢者において、全身タンパク質合成が2倍増加した。従って、高齢者、或いは疾病、外科手術又は外傷を受けた又はそれらから回復しつつある患者が、筋肉タンパク質を維持し、筋肉タンパク質をより迅速に再構築し、そしてそれ故に彼等の強健さをより早く取り戻すことを助けることができる。

【0060】

ホエータンパク質は、胃から急速になくなり、容易に加水分解されて、腸で吸収されると信じられている。このことは、患者が満腹感を感じる食後の時間を短くし、それ故に食欲の急速な戻りをもたらすことができる。これに対して、胃からなくなるのがゆっくりしているカゼインのようなタンパク質類は、患者が満腹感を感じる食後の時間の確実な延長をもたらす。それ故、栄養補助剤は、高齢者、並びに、食欲不振及び／又はタンパク質エネルギー栄養失調の傾向がある疾病の患者及び回復しつつある患者に対して、補助栄養素を供給するために使用することができる。

【0061】

アミノ酸プロフィールが、グルタミンの内因性産生を促進するのによく適していることも、また、見出されている。それ故、栄養補助剤は、動物又はヒトに対するグルタミンの間接的な供給源として使用することができる。特に、栄養補助剤は、グルタミン消耗状態を有するストレス患者、例えば、臨床的に病気である患者、又は、敗血症、傷害、火傷、炎症にかかっている患者、又は外科手術から回復しつつある患者に対して栄養を供給するのに使用することができる。更に、栄養補助剤は、腸の傷害又は疾病にかかっている患者におけるグルタミン合成を促進するため、又は腸の生理機能を維持するために使用することができる。その上更に、栄養補助剤は、ヒト又は動物における血漿グルタミンレベルを維持し又は上昇させるために、及び免疫機能を改善するために、使用することができる。

【0062】

更に、ホエータンパク質は、ムチンの重要な構築ブロックであるトレオニンを高レベルで含有することが見出されている。それ故栄養補助剤は、ムチン産生障害又は低下の疾患にかかっている、又はそのようなリスクのある患者、例えば、炎症性反応を受けつつある、栄養失調にかかっている、嚢胞性繊維症、悪性腫瘍、慢性炎症性腸疾患、潰瘍性大腸炎及びクローン病にかかっている、非ステロイド性抗炎症剤の投与を含む治療を受けている、等々の患者に、及び全非経口栄養の後に、補助栄養を供給するのに使用することができるという利点を有する。

【0063】

更に、ホエータンパク質は、重要な抗酸化剤でありグルタチオンの直前の前駆体である、システインを高レベルで含有することが見出されている。それ故栄養補助剤は、グルタチオン消耗及び低抗酸化状態を呈している患者に補助栄養を供給するのに使用することができるという利点を有している。例えば、栄養補助剤は、高齢者、或いは急性又は慢性炎症状態を受けている、又はそれから回復しつつある患者に対する栄養の補助として使用することができる。

【0064】

患者に供給することが必要な栄養補助剤の量は、患者の状態、患者の体重、患者の年齢、及びその他の栄養源のような因子に依存して変わる。しかしながら、必要量は、医師によって容易に設定され得る。栄養補助剤は、一日の必要量を充たすために多数回投与量で、例えば2乃至5回に分けて摂取してもよく、又は単回投与量で摂取してもよい。

【0065】

例示であって限定ではない方法によって、以下に本発明の実施例を記載し、更に説明する。

【0066】

10

20

30

40

50

例 1

直ぐに飲める栄養補助剤を調製する。栄養補助剤は、以下の成分を含有する。

【0067】

成分	湿重量 (総成分の重量%)	エネルギー (%)
タンパク質 ホエータンパク質	4.8	16
炭水化物 マルトデキストリン ショ糖	13	54
脂質類 高オレイン酸ベニバナ油 トウモロコシ油 カノーラ油	2.8 g	30
ビタミン類及びミネラル類	少なくともRDAの5%	

10

【0068】

脂質混合物は、約25重量%の飽和脂肪酸、約55重量%のモノ不飽和脂肪酸及び約20重量%のポリ不飽和脂肪酸から成っている。n-6:n-3の比率は約7:1である。処方は、一回の飲量当り30国際単位 of ビタミンE及び60mgのビタミンCを含有する。

20

【0069】

補助剤のエネルギー密度は、1,000 kcal/lである。

【0070】

例 2

直ぐに飲める栄養補助剤が調製される。栄養補助剤は、タンパク質として16%のカロリーを含有しており、そのタンパク質の70%が加水分解されたホエーであり、残りが未加工のタンパク質である。残りの成分は例1に記載されている。

【0071】

補助剤のエネルギー密度は、1,000 kcal/lである。

30

【0072】

例 3

直ぐに飲める栄養補助剤が調製される。栄養補助剤は、タンパク質として16%のカロリーを含有しており、そのタンパク質の50%乃至100%がホエー又は加水分解されたホエータンパク質からのものである。

【0073】

補助剤のエネルギー密度は、1,500 kcal/lである。

【0074】

例 4

粉末栄養補助剤が調製される。栄養補助剤は、タンパク質として16%のカロリーを含有しており、そのタンパク質の50%乃至100%がホエー又は加水分解されたホエータンパク質である。補助剤は、プロバイオティク細菌、好ましくは *L. johnsonii* を含有する。

40

【0075】

例 5—小児用 R T D

成長しつつある子供の要求に合わせて特別に配合された、直ぐに飲める栄養補助剤が調製される。例えば、栄養補助剤は、タンパク質としてより低い割合のカロリー、好ましくはタンパク質として10~20%のカロリー、炭水化物としてよい高い割合のカロリーを含んでいる。残りの成分は、例1に記載されたとおりである。

50

【0076】

補助剤のエネルギー密度は、1, 000 kcal/l である。

【0077】

例6—小児用粉末

粉末栄養補助剤が調製される。栄養補助剤は、タンパク質として10～12%のカロリーを含有しており、そのタンパク質の50%乃至100%がホエー又は加水分解されたホエータンパク質である。補助剤は、プロバイオティク細菌、好ましくは *B. bifidus* 及び *S. thermophilus* を含有する。

【0078】

例7—バー及びプディング

代わりの形態の補助剤、例えば、プディング、フラン及びスナックバーが調製される。プディング及びフランの形態は嚥下障害者による使用に適している。代わりの形態のいずれも、タンパク質として10%～16%のカロリーを含有するように調製されており、そのタンパク質の50%乃至100%がホエー又は加水分解されたホエータンパク質である。

【0079】

実験番号1

本研究の目的は、全身の食後タンパク質代謝及びバランスに対するホエータンパク質又はカゼインを含有する補助剤の効果を、健常高齢男子において比較することである。その目的のために、カゼイン(CAS)又はホエーを基本にした補助剤(WP)の経口摂取後の、食後ロイシン動態を比較した。

【0080】

材料：

L-[1-¹³C]ロイシン(99モルパーセント過剰、MPE)、L-[5, 5, 5-²H₃]ロイシン(97MPE)及び[¹³C]重炭酸ナトリウム(99MPE)は、Euriso-top社(Gif-sur-Yvette、フランス)から得た。ロイシンの同位体純度及び化学純度は、ガスクロマトグラフィー質量分析(GCMS)によってチェックし、使用前に無菌性及び発熱性を試験した。静脈投与したトレーサー(L-[1-¹³C]ロイシン及び[¹³C]重炭酸塩)は、無菌で発熱性物質を含まない水で調製した。各実験中に、これらは0.22ミクロンのろ過膜を通してろ過した。L-[5, 5, 5-²H₃]ロイシンは、二つの内在的に標識された牛乳タンパク質分画：カゼイン及びホエータンパク質類を製造するのに使われた。標識タンパク質は、乳汁分泌期のウシに重水素化トレーサーを輸液し、ミルクを採取し、精密濾過及び限外濾過法により二つのタンパク質分画を精製することによって得た。ロイシン濃縮は、それぞれ、8.28及び8.16MPEであった。標識タンパク質分画は、それぞれの非標識分画と混合し、総濃度約10マイクロモル/kg L-[5, 5, 5-²H₃]ロイシンのものを得た。タンパク質純度及び細菌学的品質は、ヒトが消費するための基準を満たしていた。

【0081】

被験者：

9人の高齢者健常男子ボランティアが本研究に参加した。彼等は、71.8±1(平均±標準誤差)才で、標準体重(身体質量指数：25.3±1.0kg/m²)であった。被験者は、正常な血液生化学プロフィール、尿素分析結果及び身体検査結果を有し、腎疾患、心血管疾患、胃腸疾患、又は内分泌疾患のいずれの医療履歴もなかった。彼等は、研究期間中通常の身体的活動を維持するように求められた。

【0082】

実験計画：

本研究は、液体補助剤のタンパク質組成物についてのみ異なっている二つのプロトコールからなる：i)カゼイン(CAS)30gを含有する補助剤；及びii)ホエー30gを含有する補助剤。完全な液体補助剤の組成は以下の表1に示す。

【0083】

全てのボランティアは、無作為順序で二つのプロトコールに参加した。各プロトコールの

10

20

30

40

50

間には、少なくとも3週間のウォッシュアウト (wash out) 期間が観察された。プロトコル前四日間に、ボランティアは $\sim 30 \text{ kcal/kg}$ ・日のエネルギーを供給するバランス食を摂取するように指導され、その16%はタンパク質の形態であった。プロトコル前の夜に、彼等は標準食 (849 kcal 、16%タンパク質) を摂取した。その後、他の食物は許されなかった。朝、午前7時半頃に、手の背側静脈にカテーテルを逆行性に挿入し、 60°C に加温した換気されている箱に手を導入した後に、動脈血採取に使用した。第二のカテーテルを、トレーサーを注入するために、腕の反対側の同部位の静脈に挿入した。 $[^{13}\text{C}]$ 重炭酸塩の初回投与 (6 mg) 後、 $\text{L-}[1-^{13}\text{C}]$ ロイシンの初回 (4.2 マイクロモル/kg)、連続 ($0.06 \text{ マイクロモル/kg} \cdot \text{分}$) 注入を開始し、590分間続けた。注入170分後 (0分)、補助剤の一つを5分以内に摂取した。 10

【0084】

血液及び呼気試料を、注入 (180、170分) 前、静脈内トレーサーが同位体プラトー (-40 、 -20 、0分) に達したとき補助剤の消費前、及び補助剤摂取後20分間隔 (20、40、60、80、100、120分)、30分間隔 (150、180、210、240、270、300分) 及び40分間隔 (340、380、420分) で採取した。血液を遠心後、血漿試料を内部標準 (ノルロイシン) と混合し、更なる分析まで -20°C で保存した。呼気試料は、10ml ヴァキュテナー (Vacutainer) (Becton Dickinson社、Grenoble、フランス) に採取し、 $[^{13}\text{C}] \text{CO}_2$ 濃縮分析を行った。総二酸化炭素産生率は、一連の20分間定期的に繰り返される開放回路間接熱量測定によって測定した。 20

【0085】

分析方法：

血漿 $[^{13}\text{C}]$ ロイシン及びケトイソカプロン酸塩 (KIC)、及び $[^2\text{H}_3]$ ロイシン濃縮体は、 t -ブチルジメチルシリル誘導体を用いたGCMS (Hewlett-Packard 5971A) により測定した。 $[^{13}\text{C}]$ 及び $[^2\text{H}_3]$ 濃縮に対する補正を行った。ロイシン濃度は、内部標準としてノルロイシンを用いたGCMSによって測定した。 $[^{13}\text{C}] \text{CO}_2$ 濃縮は、ガスクロマトグラフィ同位体比質量分析計 ($\mu\text{Gas system}$, Fisons Instruments, VG IsoTech社、Middlewich, England) で測定した。 30

【0086】

補助剤のロイシン含量及び濃縮を、GCMSによりノルロイシンを内部標準に使用して分析した。窒素含量はケルダール法により算定した。

【0087】

計算：

非定常状態条件 (即ち、補助体摂取後) におけるタンパク質代謝のパラメーターは、前駆体プールモデルによって評価した。

【0088】

末梢循環に総ロイシンが出現する比率 (Total Leu Ra) は、血漿への時間依存性出現を補正した静脈内トレーサー (即ち、 $[^{13}\text{C}]$ ロイシン) 浸出率、ロイシン血症、及び静脈内トレーサーの血漿ロイシン濃縮から計算した。以下の三つの異なったロイシン流量 (fluxes) がTotal Leu Raを構成する：i) 外因性 (すなわち食餌) ロイシンの流入率 (Exo Leu Ra)、ii) 静脈内注入標識ロイシン、及びiii) タンパク質分解に由来する内因性ロイシンの流入率 (Endo Leu Ra)。吸収後の条件においては、Exo Leu Raはゼロであり、それ故、Endo Leu Raはトレーサー浸出率で補正したTotal Leu Raに等しい。補助剤を摂取後、摂取されたトレーサー濃縮及びTotal Leu Raの同時変化から、Steelの式のProietto転位に従ってExo Leu Raを計算した。この状態において、Endo Leu Raは、Total Leu RaからExo Leu Ra及びトレーサー浸出率を差し引くことによって得た。初回通過中に消化管又は 50

肝臓によって取り込まれ摂取されたロイシンの分画を示す、内臓による除去分は、総ロイシン摂取間の差から総ロイシン摂取に関係する $Exo\ Leu\ Ra$ の積分曲線下面積 (AUC) を差し引いて計算した。

【0089】

血漿から消失した総ロイシン率 ($Total\ Leu\ Rd$) は、 $Total\ Leu\ Ra$ からロイシンプールサイズにおける時間依存変化を差し引いて計算した。 $Total\ Leu\ Rd$ は、酸化されたロイシン ($Leu\ Ox$) 及びタンパク質合成に利用されたロイシン (非酸化ロイシン処分、又は $NOLD$) の流量の合計に相当する。 $Leu\ Ox$ は、 $[^1\ ^3\ C]\ CO_2$ 産生率を血漿中 $[^1\ ^3\ C]\ KIC$ 濃縮で除して得た。従って、 $NOLD$ は $Total\ Leu\ Rd$ 引く $Leu\ Ox$ である。

10

【0090】

食後のロイシンバランスは、420分間にわたって、ロイシン摂取量から $Leu\ Ox$ の AUC を差し引くことによって計算した (摂取されたロイシン + 浸出したロイシン)。

【0091】

全ての計算において、ロイシン分布容量定数 ($0.5\ L/kg$)、混合時のプールサイズの補正係数 (0.25)、及び CO_2 回収率 (0.8) は、以前に使用したものと同じであった。

【0092】

統計解析：

結果は、平均±標準偏差 (SD) で示した。統計解析は、i) 補助剤摂取後のロイシン動態変化 (即ち、吸収後の状態からの変化) を特徴付けるため、及び ii) 二つのプロトコールを比較するため、に行った。その目的のために、個々の曲線を、各個々の時間点からベースライン値の平均を差し引く (時間点 - 40 から 0) ことによって標準化した。

20

【0093】

補助剤摂取によって誘導される変化：補助剤摂取によって誘導されるロイシン動態における変動を算定するために、信頼区間を下記の標準化ベースライン値を用いて各試験食から計算した： $0 \pm T\alpha \times SD$ 。この式において、 SD は各プロトコール内の n ベースライン個々の値の標準偏差；そして $T\alpha$ は、 $(n-1)$ 自由度に対する学生分布の臨界値である。変化は、全ての個々の値がこの区間の外にあるとき、ベースラインから有意に差がある ($\alpha = 0.05$) と判定した。

30

【0094】

二つのプロトコールの比較：個々の曲線のそれぞれは、その最大値で特徴づけられた。ロイシン流量及び食後ロイシンバランスは、未処理及び標準化した値について $ANOVA$ ($Statview$, 4.02, Abacus Concept 社、Berkeley, CA) を繰り返し用いて比較した。

【0095】

結果

タンパク質合成：

カゼイン (CAS) を含有する補助剤摂取後は、非酸化ロイシン処分 ($NOLD$)、全身のタンパク質合成の指標、の僅かな増加のみが検出された。対照的に、ホエータンパク質 (WP) 含有補助剤の摂取は、40 から 160 分の期間中の $NOLD$ の顕著な増加を誘導し (図1を参照)、これは CAS のそれよりも有意に高かった ($P < 0.01$)。

40

【0096】

バランス：

ホエータンパク質 (WP) 含有補助剤の摂取後、7時間にわたる食後ロイシンバランス (タンパク質バランスの指標) は 135 ± 18 マイクロモル/ kg (図2を参照) であり、カゼイン含有補助剤摂取後 (54 ± 14 マイクロモル/ kg) よりもほぼ3倍高かった。この差は高度に有意である ($P < 0.001$)。図2を参照。

【0097】

表 1、カゼイン及びホエーを基本にした補助剤の処方 (g / 100 g 液体製品)

成分	C A S	W P
炭水化物	12.50	12.50
カゼイン	7.50	
ホエータンパク質単離物		7.50
脂肪	2.00	2.00
ビタミン及びミネラル混合物	0.32	0.32
香料	0.10	0.10
水	77.36	77.36

10

【0098】

本明細書に記載された現時点での好ましい実施態様に対する種々の変更及び変形は、当業者には明らかであることが理解されるべきである。そのような変更及び変形は、本発明の精神及び範囲から逸脱することなく、そしてその付随した利点を減ずることなく行なうことができる。従って、そのような変更及び変形は、付属の特許請求の範囲に含まれることを意図するものである。

20

【図面の簡単な説明】

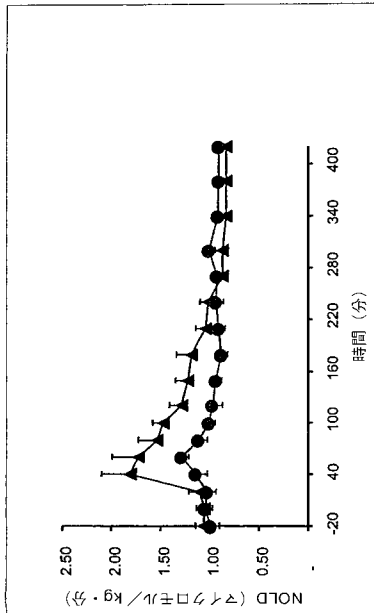
【図 1】

図 1 は、ホエータンパク質又はカゼインを含有する栄養補助剤の消費後のタンパク質合成を、グラフに示したものである。

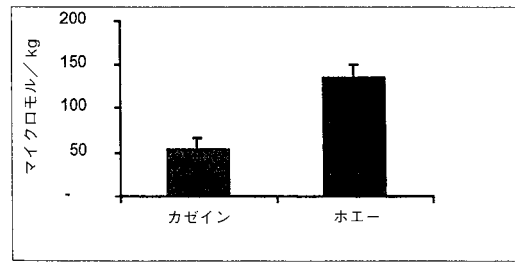
【図 2】

図 2 は、カゼイン又はホエータンパク質を含有する栄養補助剤の消費後のタンパク質バランスを、グラフに示したものである。

【図 1】



【図 2】



【国際公開パンフレット】

(12) INTERNATIONAL APPLICATION PUBLISHED UNDER THE PATENT COOPERATION TREATY (PCT)

(19) World Intellectual Property Organization
International Bureau(43) International Publication Date
28 February 2002 (28.02.2002)

PCT

(10) International Publication Number
WO 02/15720 A2(51) International Patent Classification⁷: A23L 1/30,
1/305, 1/302

(21) International Application Number: PCT/EP01/09579

(22) International Filing Date: 20 August 2001 (20.08.2001)

(25) Filing Language: English

(26) Publication Language: English

(30) Priority Data:
60/227,117 22 August 2000 (22.08.2000) US(71) Applicants: SOCIÉTÉ DES PRODUITS NESTLÉ
S. A. (CH/CH), P.O. Box 353, CH-1800 Vevey (CH).
INSTITUT NATIONAL DE LA RECHERCHE
AGRONOMIQUE [FR/FR]; 147, rue de l'Université,
F-75338 Paris (FR).

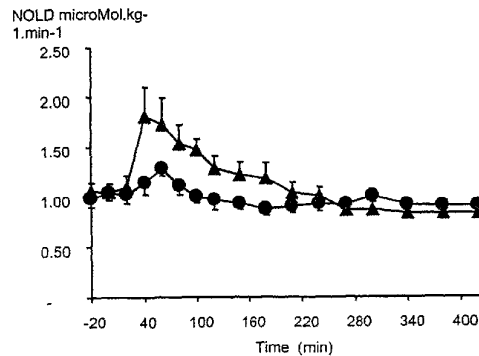
GUIGOZ, Yves; Ch. du Raidillon 3, CH-1066 Epalinges (CH). LEATHWOOD, Peter; 14C, Rte. de la Chaniaz, CH-1807 Blonay (CH). REIFFERS-MAGNANI, Kristel; Karel Doormanstraat 141, NL-3012 GD Rotterdam (NL). MALLANGLI, Chandrasekhara, R.; 2 Briar Lane, New Milford, CT 06776 (US). TURINI, Marco; Ch. du Bois-Murat 20, CH-1066 Epalinges (CH). ANANTHARAMAN, Helen, Gillian; 89 Iron Ore Hill Road, Bridgewater, CT 06752 (US). BEAUFRERE, Bernard; 8, Avenue Aristide Briand, F-63400 Chamalières (FR). DANGIN, Martial; 5, rue Jan Soulaçon, Apt. No. 78, F-63000 Clermont-Ferrand (FR). BALLEVRE, Olivier; Rte. de Cojonmex 16 B, CH-1000 Lausanne 25 (CH).

(74) Agent: STRAUS, Alexander; Becker, Kurig, Straus, Bavariastrasse 7, 80336 München (DE).

(81) Designated States (national): AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EC, EE, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MZ, NO, NZ, PH, PL, PT, RO, RU, SD, SE, SG, SI,

[Continued on next page]

(54) Title: NUTRITIONAL COMPOSITION AN METHOD FOR IMPROVING PROTEIN DEPOSITION



(57) Abstract: Compositions and methods that stimulate body protein synthesis and can improve muscle mass maintenance and recovery are provided. The composition comprises (i) a protein source which provides at least about 8 % total calories of the composition and which includes at least about 50 % by weight of whey protein; (ii) a lipid source having an omega 3:6 fatty acid ratio of about 5:1 to about 10:1 and which provides at least about 18 % total calories of the composition; (iii) a carbohydrate source; and (iv) a balanced macronutrient profile comprising at least vitamin E and vitamin C.

WO 02/15720 A2

WO 02/15720 A2



SK, SL, TJ, TM, TR, TT, TZ, UA, UG, UZ, VN, YU, ZA, ZW.

Published:

— without international search report and to be republished upon receipt of that report

(84) **Designated States (regional):** ARIPO patent (GH, GM, KE, LS, MW, MZ, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZW), Eurasian patent (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), European patent (AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE, TR), OAPI patent (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

For two-letter codes and other abbreviations, refer to the "Guidance Notes on Codes and Abbreviations" appearing at the beginning of each regular issue of the PCT Gazette.

WO 02/15720

PCT/EP01/09579

SPECIFICATION**TITLE****“NUTRITIONAL COMPOSITION AND METHOD FOR IMPROVING
PROTEIN DEPOSITION “**

5

This application claims the benefit of U.S. Provisional Application No. 60/227,117 filed on August 22, 2000.

BACKGROUND OF THE INVENTION

10 The present invention relates to a composition for a nutritional supplement; a method of production of the composition; use of the composition in the manufacture of a functional food or medicament for the nutrition, methods for improving muscle protein synthesis, preventing muscle loss, and accelerating muscle mass recovery in patients recovering from illness or surgery, those with limited appetite such as the
15 elderly, or anorexic patients, or those who have impaired ability to digest other sources of protein which comprises administering an effective amount of the composition.

Many people do not take in sufficient nutrients for a nutritionally complete diet. In order to assist these people, nutritional supplements have been developed. Nutritional supplements are usually not intended to provide all the nutrients necessary
20 for a nutritionally complete diet; instead they are generally intended to supplement the diet such that it becomes more nutritionally complete. However, in some instances they may provide complete nutrition.

There are many targets for nutritional supplements; for example sick patients, convalescing patients, anorexic patients and the elderly. For sick and convalescing
25 patients, the spontaneous intake of food is often lower than normal and insufficient to meet nutritional needs. Recovery and restoration of strength may therefore be impaired. A significant proportion of the elderly, on the other hand, tend to eat too little to meet all of their nutritional needs. This is usually due to reduced energy needs following reduction in body weight and diminished physical activity. Anorexic
30 patients by definition suffer a loss of appetite and do not take in sufficient nutrients. In all cases, supplementation to provide missing nutrients can offer advantages.

WO 02/15720

PCT/EP01/09579

Various nutritional supplements are available. A family of supplements commonly found in North America is sold under the name ENSURE by Ross Laboratories. The protein source used is predominantly caseinates and soy protein isolates. Another family which is commercially available is sold under the name
5 RESOURCE by Novartis Nutrition Ltd. In this case, the protein source is based on caseinates. Another family which is commercially available is sold under the name NUBASICS by Nestlé Clinical Nutrition. In general, the protein source used in products of this family is caseinate. However, it is found that these products suffer
10 from the problem that they do not necessarily result in a consumer receiving sufficient nutrients; either because an insufficient amount of the product is consumed or insufficient other foods are consumed. This is especially the case with convalescing patients, the elderly and other anorexic patients where loss of appetite leads to insufficient nutrients being consumed.

Nutritional supplements which are based on other protein sources, such as whey protein, are also available or have been described in the literature. In general, the
15 nutritional supplements based upon whey protein are provided in the form of fruit juices; for example as described in European patent application 0486425 and US patent 5,641,531. However, these products suffer from the problem that they generally do not provide a lipid source despite the fact that lipids are essential for adequate
20 nutrition.

Therefore, a need exists for a composition that is capable of providing for the special nutritional requirements of those requiring increased muscle protein synthesis or muscle mass recovery.

SUMMARY OF THE INVENTION

25 Remarkably, a composition has now been found that addresses the problems set out above and enables such persons to retain or regain their strength.

In a first aspect the invention provides a method for improving muscle synthesis comprising administering to an individual a therapeutically effective amount of a composition which comprises: (i) a protein source which provides at least about 8%
30 and preferably at least about 10% total calories of the composition and which includes at least about 50% by weight of whey protein; (ii) a lipid source having an omega 3:6

WO 02/15720

PCT/EP01/09579

fatty acid ratio of about 5:1 to about 10:1 and which provides at least about 18% of the total calories of the composition; (iii) a carbohydrate source which provides the remaining calories of the composition; and (iv) a balanced macronutrient profile comprising at least vitamin E and vitamin C.

5 Within the context of this specification the word "comprises" is taken to mean "includes, among other things". It is not intended to be construed as "consists of only".

10 In a second aspect of the invention a method of preventing muscle loss in an individual at risk of same is provided. The method includes administering a therapeutically effective amount of the above composition to the individual.

In a third aspect of the invention, a method for accelerating muscle mass recovery in an individual is provided. The method includes administering a therapeutically effective amount of the above composition to the individual.

15 In a fourth aspect the invention provides a method of production of the composition which comprises blending the components in the required amounts.

Surprisingly it has now been found that a composition for a nutritional supplement in accordance with the invention, because it contains whey protein, can produce at least a 2-fold increase in whole body protein deposition in elderly people as compared to casein as the protein source. Therefore it may help such patients conserve muscle protein, rebuild muscle protein more rapidly, and hence get their strength back faster.

20 In addition, it has now been found that a composition for a nutritional supplement in accordance with the invention, because it contains whey protein, is easier to digest. Therefore the problem of a patient not consuming a sufficient amount of the supplement may be reduced. Similarly, the problem of a patient not consuming sufficient other foods may be reduced. Further, the composition has a well balanced lipid profile which provides a readily available energy source.

25 Preferably an embodiment of the composition includes whey protein as the primary source of protein (amino acids). The whey protein can be sweet whey or acid whey or a combination thereof. Preferably it is in the form of a whey protein partial hydrolysate produced by enzymatic treatment, preferably with trypsin, Alcalase or Novozyme, of whey protein and therefore is less viscous, lighter and provides the

WO 02/15720

PCT/EP01/09579

advantage that it is more easily digested than known compositions for fortified beverages and nutritional supplements.

It should be appreciated that the present invention is not limited to a whey protein hydrolysate. For example, a non-hydrolyzed whey protein can be used, preferably when the composition is made in a powder form.

The partial hydrolysis of whey protein with one or more of the above enzymes could be carried out at a pH ranging from about 6.6 to 8.8 (preferably about 8.5) and a temperature of about 40 to about 70 C (preferably about 65 C) at an enzyme concentration of about 0.5 to about 2.5 (preferably about 1.0) percent of the protein. Preferably, enzyme treatment is carried out for about 5 to about 120 minutes (preferably 15 minutes) to achieve adequate hydrolysis.

Preferably the whey protein hydrolysate represents a minimum of 50% of the protein content in the formulation. It is preferably the sole protein source but may be combined with intact whey protein or other protein or peptide sources including peptides naturally found in whey or milk such as caseino glycomacropeptide (CGMP). Surprisingly, it has been found that, despite the high proportion of partially hydrolyzed protein, in the composition it is physically stable and has a very acceptable taste due to the process used to prepare the hydrolysate and the selection of a flavoring system to give an acceptable organoleptic profile.

Preferably, at least about 50% by weight of the whey protein is hydrolyzed. Most preferably, at least about 70% by weight of the whey protein is hydrolyzed.

Preferably the protein source provides about 8% to about 20%, more preferably an embodiment for adults comprises a protein source which provides about 15% to about 18% (most preferably about 16%) of total energy of the composition. Preferably an alternative embodiment is suitable for children and it comprises a protein source which provides about 8% to about 14% (most preferably about 12%) of total energy of the composition.

Remarkably, because of the nature of the whey protein and the facts that it increases protein synthesis and it is capable of being easily digested, the composition has a beneficial effect in persons requiring a nutritional supplement such as those suffering from muscle mass depletion and/or with limited appetite, such as those suffering or recovering from trauma, illness, or surgery, the elderly or those who have

WO 02/15720

PCT/EP01/09579

problems digesting other sources of protein such as persons having chronic gastritis who are known to have a reduced gastric pepsin digestion. Remarkably, the composition enables such persons to retain or regain their strength quickly and therefore helps aid recovery of a convalescing patient.

- 5 Preferably the lipid source comprises about 40% to about 65% by weight of monounsaturated fatty acids; and about 15% to about 30% by weight of polyunsaturated fatty acids. The saturated fatty acid content is preferably less than about 30% by weight. Up to 20% by weight of medium chain triglycerides may be incorporated into the fat blend to facilitate digestion. The lipid source may contain at
10 least about 30 mg of vitamin E per 100 g of lipid source.

Preferably the lipid source provides about 25% to about 35% of total energy of the composition, more preferably about 30% of total energy of the composition.

- Preferably the carbohydrate source comprises sucrose, corn syrup, maltodextrin or a combination thereof. Preferably the carbohydrate source provides about 50% to about
15 60% of total energy of the composition.

- Preferably, an embodiment of the composition has a micronutrient composition having a unique profile rich in nutrients including one or more selected from the group which comprises Vitamin E, Vitamin C, taurine, folic acid and vitamin B-12. Remarkably, the profile aids replenishment of nutrients required in higher quantities
20 during periods of illness or recovery due to oxidative stress or inflammatory conditions and nutrients such as vitamin B-12 that may be poorly absorbed in those suffering from digestive disorders such as chronic gastritis or those who have undergone major intestinal surgery.

Preferably the micronutrients include at least folic acid and/or Vitamin B-12.

- 25 Preferably an embodiment of the composition comprises prebiotic fiber. Preferably the fiber is selected from the group which comprises inulin, acacia gum, resistant starch, dextran, xylo-oligosaccharide (XOS), fructooligosaccharide (FOS), galactooligosaccharide, or a combination thereof.

- Preferably an embodiment of the composition is in a powdered form for dilution
30 with water before use or a ready to use fortified beverage in liquid form; or in the form of a pudding with a custard- or flan- like texture suitable for consumption by those

WO 02/15720

PCT/EP01/09579

with dysphagia or other swallowing problems; or in the form of a bar to provide an interesting selection of different varieties.

Preferably, an embodiment of the composition is formulated for human consumption and/or administration. Preferably, an alternative embodiment is formulated for consumption by a companion animal.

Preferably, an embodiment of the composition according to the present invention comprises the addition of at least one probiotic micro-organism. The probiotic micro-organism provides the advantage of restoring the natural balance of the intestinal flora following antibiotic therapy.

More preferably an embodiment of the composition in powdered form contains a lactic acid bacterium and/or its fermentation metabolites. Preferably the lactic acid bacterium is selected from the group which consists of *L. johnsonii*, *Lb. Paracasei* or a combination thereof. This product has the advantage of inhibiting the growth of *H. pylori* in the stomach which is associated with the development of ulcer particularly in individuals having gastritis. Most preferably the probiotic bacteria comprises a *Lb. Paracasei* strain deposited under the number NCC 2461.

An advantage of the present invention is that it provides a composition that can be provided in a functional food product and which therefore does not require special administration.

Another advantage of the present invention is that, in the form of a pudding with a thin custard or flan like texture, the product can be consumed by those suffering from dysphagia.

Another advantage of the present invention is that a preferred embodiment is rich in Vitamin E and Vitamin C and as such can be used to replete levels of these nutrients in the blood following depletion related to infection, sepsis or other oxidative stress. Preferably, an embodiment additionally comprises taurine and as such can be used to replete levels of taurine in the blood following depletion related to infection, sepsis or other oxidative stress.

Another advantage of the present invention is that a preferred embodiment is particularly rich in Vitamin B-12 and folic acid which may be poorly absorbed in patients with gastric disease or following surgery to the intestinal tract.

WO 02/15720

PCT/EP01/09579

Additional features and advantages of the present invention are described in, and will be apparent from, the description of the presently preferred embodiments which are set out below.

BRIEF DESCRIPTION OF THE FIGURES

5 Figure 1 illustrates graphically, protein synthesis after consumption of nutritional supplements containing whey protein or casein.

Figure 2 illustrates graphically, protein balance after consumption of nutritional supplements containing casein or whey protein.

DETAILED DESCRIPTION OF THE INVENTION

10 This invention provides methods and nutritional supplements which are particularly suitable for providing supplemental nutrition to an individual requiring, or that could benefit from, increased muscle protein synthesis. Such an individual may include the elderly. Due to its components the supplement is more rapidly digested
15 and therefore the patient is more likely to consume a therapeutically effective amount of the supplement or other food to provide for adequate nutrition.

The protein source includes at least about 50% by weight of whey protein that preferably has been at least partially hydrolyzed. The whey protein used to produce the hydrolysate may be a commercially available whey protein source; either based upon
20 sweet whey or acid whey or a combination thereof. Preferably the whey protein is a whey protein source containing more than 80% by weight of whey protein. A suitable whey protein concentrate is LACPRODAN 9087 and suitable whey protein isolate sources include ALACEN 895 (New Zealand Milk Products Inc), BiPRO (Le Sueur Isolates of Le Sueur, Minnesota), PROVON-190 (Avonmore Ingredients Inc of
25 Monroe Wisconsin) and LACPRODAN 9212 (Royal Proteins, Inc of Rosemont Illinois).

The protein source may, if desired, include amounts of other suitable types of protein. For example, the protein source may further include minor amounts of casein protein, soy protein, rice protein, pea protein, carob protein, oat protein, milk protein,
30 caseino-glyco-macropeptide or mixtures of these proteins. Further, if desired, the

WO 02/15720

PCT/EP01/09579

protein source may further include minor amounts of free amino acids. The other suitable types of protein preferably comprise less than about 50% by weight of the protein source; more preferably less than about 30% by weight.

5 The protein source preferably provides about 8% to about 20% of the energy of the nutritional supplement. For example, the protein source may provide about 15% to about 18% of the energy of the nutritional supplement in an embodiment suitable for an adult or about 8% to about 14% of the energy of the supplement in an embodiment suitable for pediatric use.

10 The nutritional composition includes a lipid source. Preferably the lipid source provides about 18% to about 40% of the energy of the nutritional supplement; more preferably 25% to about 35% of the energy of the nutritional supplement. For example, the lipid source may provide about 30% of the energy of the nutritional supplement.

The lipid source may include medium chain triglycerides (MCT) up to a level of 20% of the total lipid by weight. The lipid source is rich in monounsaturated fatty acids. 15 In particular, the lipid source contains at least about 40% by weight of monounsaturated fatty acids. Preferably, the lipid source contains about 45% to about 65% by weight of monounsaturated fatty acids; for example about 55% by weight.

The lipid source may also contain polyunsaturated fatty acids. Preferably the lipid source contains about 15% to about 30% by weight of polyunsaturated fatty acids; for example about 20% by weight of polyunsaturated fatty acids. The lipid 20 profile of the supplement is preferably designed to have a polyunsaturated fatty acid omega-6 (n-6) to omega-3 (n-3) ratio of about 1:1 to about 10:1. Preferably, the n-6 to n-3 fatty acid ratio is about 5:1 to about 9:1; for example about 7:1.

The lipid source has a saturated fatty acid content of less than about 35% by weight; including medium chain triglycerides. More preferably, the lipid source 25 contains less than about 30% by weight of saturated fatty acids.

Suitable lipid sources include high oleic sunflower oil, high oleic safflower oil, sunflower oil, safflower, rapeseed oil, soy oil, olive oil, canola oil, corn oil, peanut oil, rice bran oil, butter fat, hazelnut oil and structured lipids. Fractionated coconut oils are a 30 suitable source of medium chain triglycerides.

The nutritional supplement also includes a carbohydrate source. The carbohydrate source preferably provides about 40% to about 65% of the energy of the

WO 02/15720

PCT/EP01/09579

nutritional supplement; especially about 50% to about 60% of the energy of the nutritional supplement. For example, the carbohydrate source may provide about 34% of the energy of the supplement. Several carbohydrates may be used including maltodextrin, corn syrup, corn starch, modified starch, or sucrose, or fructose, or mixtures thereof. If
5 desired, the supplement may be free from lactose.

The nutritional supplement preferably includes a complete vitamin and mineral profile. For example, sufficient vitamins and minerals may be provided to supply about 50% to about 500% of the recommended daily allowance of the vitamins and minerals per 1000 calories of the nutritional supplement. The nutritional supplement preferably is
10 rich in vitamin E. For example, the nutritional supplement may contain between 80 International Units and 120 International Units of Vitamin E per 1000 kcal. More preferably, the nutritional supplement contains about 30 International Units of Vitamin E per 250 ml serving of the supplement. Furthermore the nutritional supplement is also rich in Vitamin C providing between about 150 and about 250 mg per 1000 kcal or
15 preferably about 60 mg per serving. The supplement also preferably contains 200 g of folic acid and 3 g of Vitamin B-12 per serving. Alternative embodiments of the supplement for pediatric use have a modified vitamin and mineral profile specifically tailored to the special needs of this age group.

The nutritional supplement further includes a source of a soluble, prebiotic fiber. A
20 prebiotic fiber is a fiber which beneficially affects the host by selectively stimulating growth and/or activity of bacteria in the colon which have the potential to improve host health. Suitable soluble, prebiotic fibers include fructooligosaccharides (FOS) and inulin. Suitable inulin extracts may be obtained from Orafit SA of Tirlemont 3300, Belgium under the trade mark "Rafiline". Similarly, suitable fructooligosaccharides may be
25 obtained from Orafit SA of Tirlemont 3300, Belgium under the trade mark "Rafilose". Preferably, both FOS and inulin are provided in a ratio of about 60: about 40 to about 80: about 20, most preferably about 70: about 30. Other possible fibers include gums such as guar gum, xanthan gum, xylo-oligosaccharides, gum arabic, pectin, acacia gum, resistant starch, dextrans or mixtures of these. The fiber selected should not
30 induce satiety.

The soluble, prebiotic fibers are reported to promote the growth of bifidobacteria in the gastro-intestinal tract and, in certain circumstances prevent or decrease the

WO 02/15720

PCT/EP01/09579

growth of pathogens such as Clostridia. Further, promoting the growth of bifidobacteria is reported to have various other beneficial effects. Also, during fermentation of the fibers in the colon, short chain fatty acids are produced. These fatty acids are a fuel for intestinal cells.

5 The soluble, prebiotic fibers are preferably present in an amount sufficient to provide about 4 to about 9 g of soluble, fermentable fiber to the patient per day. Therefore the prebiotic fibers may be present in an amount of about 6 g to about 12 g per 1000 kcal. Alternative embodiments comprise blends of prebiotic fibers in an amount of 9 g or less, for example 4g of blend.

10 If desired, the nutritional supplement may also contain a source of insoluble dietary fiber. Suitable sources of insoluble dietary fibers are hull fibers from legumes and grains; for example pea hull fiber, oat hull fiber, barley hull fiber, and soy hull fiber.

The nutritional supplement preferably has an energy content of about 800 kcal/l to about 2000 kcal/l; for example an energy content of about 1000 kcal/l or about 1500 kcal/l.

The nutritional supplement may be in the form of a soluble powder, a liquid concentrate, a pudding, a bar/snack or a ready-to-use formulation suitable for oral consumption or enteral administration. Ready to drink formulations are particularly
20 preferred. Various flavors, sweeteners, and other additives may also be present. Artificial sweeteners such as acesulfame and L-aspartyl based sweeteners may be used; for example acesulfame-K or aspartame or a mixture thereof.

The nutritional supplement may be produced, for example, by blending together the protein source, suspended in water, preferably water which has been subjected to
25 reverse osmosis, and the lipid source. Commercially available liquifiers may be used to form the liquid mixture. If used, emulsifiers may be included in the blend. The vitamins and minerals may be added at this point but are usually added later to avoid thermal degradation. Any added lipophilic vitamins, emulsifiers and the like may be dissolved into the lipid source prior to blending. The liquid mixture is then
30 homogenized; for example in two stages at about 7 MPa to about 40 MPa in the first stage and about 2 MPa to about 14 MPa in the second stage. Protein hydrolysis is carried out as described earlier. Alternately, the whey protein may be reconstituted in

WO 02/15720

PCT/EP01/09579

water and hydrolyzed prior to the formation of an emulsion. This is the preferred procedure if a blend of hydrolyzed whey protein and other intact proteins are desired. If this is the practice adopted, then intact protein and lipid are added to the hydrolyzed whey protein following the hydrolysis procedure and the mixture is then homogenized.

- 5 Termination of hydrolysis is achieved by denaturing the enzyme preferably by heat or by adjusting the pH or a combination thereof. Inactivation of the enzyme activity is accomplished by using conditions designed to minimize the detrimental effects of heat on the protein stability and product taste and quality. For example, enzyme inactivation may be achieved by heating to a temperature in the range of about 90°C
10 for 5 minutes to about 110°C for about 15 seconds. This may be carried out by steam injection or by heat exchanger; for example a plate heat exchanger.

The liquid mixture may then be cooled gradually to about 20°C to about 30°C; for example by flash cooling and heat exchanger, preferably a plate heat exchanger. The carbohydrate source may be added at this point or later either in a dry form or as a
15 liquid slurry. The mixture may then be further cooled to add any heat sensitive components; such as vitamins and minerals. Water, preferably water which has been subjected to reverse osmosis, may then be mixed in to form a liquid mixture. The pH and solids content of the homogenized mixture is conveniently standardized at this point.

- 20 The liquid mixture may then be thermally treated for example using an aseptic process to reduce bacterial loads and sterilize the product. For example, the liquid mixture may be rapidly heated to a temperature in the range of about 110°C for 5 minutes to about 150°C for about 5 seconds. This may be carried out by steam injection or by heat exchanger; for example a plate heat exchanger. The liquid mixture
25 is then homogenized; for example in two stages at about 7 MPa to about 40 MPa in a first stage and about 2 MPa to about 14 MPa in a second stage.

If it is desired to produce a liquid nutritional supplement, the homogenized mixture is filled into suitable containers, such as cans. The filling may either be aseptic or the containers may be retorted. Suitable apparatus for carrying out filling is
30 commercially available.

We have surprisingly observed that whey proteins are able to stimulate postprandial protein synthesis in elderly people, while other proteins like casein are

WO 02/15720

PCT/EP01/09579

not. Indeed, a nutritional supplement according to an embodiment of the invention that contained whey protein produced a 2-fold increase in whole body protein synthesis in elderly people as compared to casein as the protein source. Therefore it may help to elderly people or patients suffering or recovering from illness, surgery or trauma to
5 conserve muscle protein, rebuild muscle protein more rapidly, and hence get their strength back faster.

Whey protein is believed to be rapidly emptied from the stomach and readily hydrolyzed and absorbed in the intestine. This may result in a shorter post-prandial period in which the patient feels satiated and therefore may result in a rapid return of
10 appetite. On the contrary, proteins like casein, which are slowly emptied from the stomach, provoke a steady, prolonged post-prandial period in which the patient may feel satiated. Therefore the nutritional supplement may be used to provide supplemental nutrition to elderly and sick and convalescing patients who are prone to anorexia and/or protein-energy malnutrition.

It is also found that the amino acid profile is well suited for promoting endogenous production of glutamine. Therefore the nutritional supplement may be used as an indirect source of glutamine for animals or humans. In particular, the nutritional supplement may be used to provide nutrition to stressed patients having a depleted glutamine status; for example for patients who are critically ill, or who are suffering from sepsis, injury,
20 burns, inflammation, or patients recovering from surgery. Further, the nutritional supplement may be used to promote glutamine synthesis in patients suffering from injured or diseased intestines or to maintain the physiological functions of the intestine. Moreover, the nutritional supplement may be used to maintain or raise plasma glutamine levels in humans and animals and improve immune function.

Further, it is found that the whey protein contains high levels of threonine, an important building block of mucins. Therefore the nutritional supplement has the advantage that it may be used to provide supplemental nutrition to patients suffering from, or at risk of, impaired or reduced mucin production; for example, patients undergoing an inflammatory response, suffering from malnutrition, suffering from cystic
30 fibrosis, malignancy, chronic inflammatory bowel diseases, ulcerative colitis and Crohn's disease, undergoing treatment which includes the administration of non-steroidal anti-inflammatory drugs, and the like, and after total parenteral nutrition.

WO 02/15720

PCT/EP01/09579

Further, it is found that the whey protein contains high levels of cysteine, an important antioxidant and immediate precursor of glutathione. Therefore the nutritional supplement has the advantage that it can be used to provide supplemental nutrition to patients suffering from glutathione depletion and low antioxidant status. For example, the nutritional supplement may be used as a nutritional support for elderly or patients undergoing or recovering from acute or chronic inflammatory states.

The amount of the nutritional supplement required to be fed to a patient will vary depending upon factors such as the patient's condition, the patient's body weight, the age of the patient, and other sources of nutrition. However the required amount may be readily set by a medical practitioner. The nutritional supplement may be taken in multiple doses, for example 2 to 5 times, to make up the required daily amount or may be taken in a single dose.

By way of example and not limitation, examples of the invention are now described for further illustration.

Example 1

A ready-to-drink nutritional supplement is prepared. The nutritional supplement includes the following components:

Component	Wet weight (% by weight of total composition)	Energy (%)
Protein Whey protein	4.8	16
Carbohydrate Maltodextrin Sucrose	13	54
Lipids High oleic safflower oil Corn oil Canola oil	2.8 g	30
Vitamins and Minerals	At least 5% of RDA	

The lipid mixture is made up of about 25% by weight of saturated fatty acids, about 55% by weight of monounsaturated fatty acids and about 20% by weight of

WO 02/15720

PCT/EP01/09579

polyunsaturated fatty acids. The n-6:n-3 ratio is about 7:1. The formula contains 30 IU of Vitamin E and 60 mg of Vitamin C per serving.

The energy density of the supplement is 1000 kcal/l.

5 Example 2

A ready-to-drink nutritional supplement is prepared. The nutritional supplement contains 16% of calories as protein of which 70% of the protein is hydrolyzed whey and the remainder is intact protein. The remaining components are described in Example 1.

10 The energy density of the supplement is 1000 kcal/l.

Example 3

A ready-to-drink nutritional supplement is prepared. The nutritional supplement contains 16% of calories as protein of which 50% to 100% may be from whey or hydrolyzed whey protein.

15

The energy density of the supplement is 1500 kcal/l.

Example 4

A powdered nutritional supplement is prepared. The nutritional supplement contains 16% of calories as protein of which 50% to 100% may be whey or hydrolyzed whey protein. The supplement may contain a probiotic bacteria, preferably *L. johnsonii*.

20

Example 5 - Pediatric RTD

A ready-to-drink nutritional supplement is prepared that is tailored to the needs of growing children. For example the nutritional supplement contains a lower percentage of calories as protein preferably 10-12% of calories as protein and a higher percentage of calories as carbohydrate. The remaining components are as described in example 1.

25

30 The energy density of the supplement is 1000 kcal/l.

WO 02/15720

PCT/EP01/09579

Example 6 - Pediatric powder

A powdered nutritional supplement is prepared. The nutritional supplement contains 10-12% of calories as protein of which 50% to 100% may be whey or hydrolyzed whey protein. The supplement may contain probiotics preferably *B. bifidus* and *S. thermophilus*

Example 7 - Bar and Puddings

Alternate forms of the supplement are prepared such as puddings, flans and snack bar. The pudding and flan forms are suitable for use by dysphagic subjects. All alternate forms are prepared to contain 10%-16% of calories as protein of which 50% to 100% may be whey or hydrolyzed whey.

Experiment No. 1

The purpose of this study was to compare in healthy elderly men, the effect of a supplement containing either whey protein or casein on whole body postprandial protein metabolism and balance. For that purpose, postprandial leucine kinetics after ingestion of the casein- (CAS) or the whey-based supplement (WP) were compared.

Materials :

L-[1-¹³C] leucine (99 mol percent excess, MPE), L-[5,5,5-²H₃] leucine (97 MPE) and sodium [¹³C] bicarbonate (99 MPE) were obtained from Eurisotop (Gif-sur-Yvette, France). Isotopic and chemical purity of leucine were checked by gas chromatography-mass spectrometry (GCMS) and were tested for sterility and pyrogenicity before use. The tracers administered intravenously (L-[1-¹³C] leucine and [¹³C] bicarbonate) were prepared in sterile pyrogen-free water. During each experiment, they were filtered through 0.22 μm membrane filters. L-[5,5,5-²H₃] leucine was employed to produce two intrinsically labeled bovine milk proteins fractions: casein and whey proteins. Labeled proteins were obtained by infusing a lactating cow with the deuterated tracer, collecting the milk and purifying the 2 protein fractions by microfiltration and ultrafiltration techniques. The leucine enrichments were 8.28 and 8.16 MPE, respectively. Labeled proteins fractions were mixed with their respective unlabelled fraction, to obtain a total concentration of around

WO 02/15720

PCT/EP01/09579

10 $\mu\text{mol/kg}$ L-[5,5,5- $^2\text{H}_3$] leucine. Protein purity and bacteriological quality met the criteria for human consumption.

Subjects :

5 Nine elderly healthy male volunteers participated in this study. They were 71.8 ± 1 (mean $\pm$ SE) years old and had a normal body weight (body mass index : $25.3 \pm 1.0 \text{ kg/m}^2$). Subjects had normal blood biochemical profile, urea analysis and physical examination, without any medical history of renal, cardiovascular, gastrointestinal or endocrine disease. They were asked to maintain during the study their usual physical activity.

10 Experimental design :

The study consisted of two protocols differing only on the protein composition of the liquid supplements: i) supplement containing 30g of casein (CAS); and ii) supplement containing 30g of whey protein. The compositions of the complete liquid supplements are shown in Table 1 below.

15 All the volunteers participated in the two protocols in a random order. Between each protocol, a wash-out period of at least 3 weeks was observed. During the 4 days preceding the protocols, volunteers were instructed to adopt a balanced diet, providing $\approx 30 \text{ kcal.kg}^{-1}.\text{d}^{-1}$ energy, from which 16% was in form of protein.. The evening preceding the protocol, they consumed a standardized meal (849 kcal and 16%
20 proteins). Thereafter no other food was allowed. In the morning, at around 7:30 a.m., a catheter was retrogradly inserted into a dorsal vein of the hand and used for arterial blood sampling after introduction of the hand into a 60°C heated ventilated box. A second catheter was inserted into a vein of the contralateral arm for tracer infusion. After a priming dose of [^{13}C] bicarbonate (6 mg), a primed ($4.2 \mu\text{mol.kg}^{-1}$) continuous
25 ($0.06 \mu\text{mol.kg}^{-1}.\text{min}^{-1}$) infusion of L-[1- ^{13}C] leucine began and was continued for 590 min. After 170 minutes of infusion (0 min), one of the supplements was ingested within 5 min.

Blood and breath samples were collected before any infusion (180, 170 min), before consumption of the supplement when the i.v. tracer had reached the isotopic
30 plateau (-40, -20, 0 min), and after supplement ingestion at 20 min intervals (20, 40, 60, 80, 100, 120 min), at 30 min intervals (150, 180, 210, 240, 270, 300 min) and at 40 min intervals (340, 380, 420 min). After blood spinning, plasma samples were mixed

WO 02/15720

PCT/EP01/09579

with an internal standard (Norleucine) and stored at -20°C until further analysis-. Breath samples were collected in 10 ml Vacutainers (Becton Dickinson, Grenoble, France) for $[^{13}\text{C}]$ CO_2 enrichment analysis. Total carbon dioxide production rates were measured by open circuit indirect calorimetry for sequences of 20 minutes regularly repeated

Analytical methods :

Plasma $[^{13}\text{C}]$ leucine and ketoisocaproate (KIC), and $[^2\text{H}_3]$ leucine enrichments were measured by GCMS (Hewlett-Packard 5971A) using tertiary-butyldimethylsilyl derivatives. Corrections for the $[^{13}\text{C}]$ and $[^2\text{H}_3]$ enrichments were made. Leucine concentrations were measured by GCMS using norleucine as internal standard. $[^{13}\text{C}]$ CO_2 enrichments were measured on a gas chromatography isotope ratio mass spectrometer (μGas system, Fisons Instruments, VG Isotech, Middlewich, England).

Supplements were analyzed for leucine content and enrichment by GCMS, using norleucine as internal standard. Nitrogen content was assessed by Kjeldahl analysis.

Calculations :

The parameters of protein metabolism in non-steady state conditions (i.e. after supplement ingestion) were estimated by a precursor pool model.

The rate of total leucine appearance into the peripheral circulation (Total Leu Ra) was calculated from the intravenous tracer (i.e. $[^{13}\text{C}]$ leucine) infusion rate corrected for its time-dependent appearance into the plasma, from the leucinemia, and from the plasma leucine enrichment of the i.v. tracer. Three different leucine fluxes constitute Total Leu Ra: i) the entry rate of exogenous (i.e. dietary) leucine (Exo Leu Ra), ii) the intravenously infused labeled leucine, and iii) the entry rate of endogenous leucine derived from protein breakdown (Endo Leu Ra). In postabsorptive conditions, Exo Leu Ra is zero, thus Endo Leu Ra equals Total Leu Ra corrected by the tracer infusion rate. After supplement ingestion, Exo Leu Ra was calculated from the simultaneous variation of the ingested tracer enrichment and of Total Leu Ra, according to Proietto's transposition of Steele's equations. In that situation, Endo Leu Ra was obtained by subtracting Exo Leu Ra and the tracer infusion rate from Total Leu Ra. Splanchnic extraction, which represents the fraction of ingested leucine taken up by the gut or liver during its first pass, was calculated as the difference between total

WO 02/15720

PCT/EP01/09579

leucine intakes minus the integrated area under the curve (AUC) of Exo Leu Ra reported to total leucine intakes.

The total leucine rate of disappearance from plasma (Total Leu Rd) was calculated as Total Leu Ra minus the time-dependent changes in leucine pool size.

- 5 Total Leu Rd corresponds to the sum of the fluxes of leucine oxidized (Leu Ox) and utilized for protein synthesis (non oxidative leucine disposal or NOLD). Leu Ox was obtained by dividing the $[^{13}\text{C}]$ CO_2 production rate by the $[^{13}\text{C}]$ KIC enrichment in plasma. NOLD was therefore Total Leu Rd minus Leu Ox.

- 10 Postprandial leucine balance was calculated over a 420 min period by subtracting the AUC of Leu Ox from the leucine intake (leucine ingested + leucine infused).

In all the calculations, the constants for leucine distribution volume (0.5 L/kg), correction factor of the pool size for instant mixing (0.25), and CO_2 recovery factor (0.8) were the same as those previously employed.

15 **Statistical analysis :**

- Results were expressed as means $\pm$ SD. Statistical analysis were performed in order to i) characterize leucine kinetics modifications after supplement ingestion (i.e. changes from the postabsorptive state), and to ii) compare the 2 protocols. For that purpose, individual curves were standardized by subtracting the mean of the baseline values (time-points -40 to 0) from each individual time-point.

- 20 *Changes induced by supplement ingestion :* To assess the modifications in leucine kinetics induced by supplement ingestion, a confidence interval was calculated from each test meal using the standardized baseline values as follows : $0 \pm T\alpha \times \text{SD}$. In that equation, SD is the standard deviation of the n baseline individual values within each protocol; and $T\alpha$ is the critical value of the Student distribution for $(n-1)$ degrees of freedom. The changes were declared significantly different ($\alpha=0.05$) from baseline when all the individual values fell outside this interval.

- 25 *Comparison of the 2 protocols :* each individual curve was characterized by its maximum. Leucine fluxes and postprandial leucine balance were compared with repeated measures ANOVA (Statview, 4.02, Abacus Concept, Berkeley, CA) on the raw and standardized values.

WO 02/15720

PCT/EP01/09579

RESULTS**Protein synthesis :**

After the supplement containing casein (CAS), only a slight increase of non oxidative leucine disposal (NOLD), an index of whole body protein synthesis, was detected. In contrast, ingestion of the supplement containing whey protein (WP) induced a marked increase of NOLD during the period from 40 to 160 min (see Fig. 1), which was significantly higher than that of CAS ($P<0.01$).

Balances:

After ingestion of the supplement containing whey protein (WP), postprandial leucine balance (an index of protein balance) over 7 h was $135 \pm 18 \mu\text{mol.kg}^{-1}$ (see Figure 2), nearly 3-fold higher than after ingestion of the supplement containing casein ($54 \pm 14 \mu\text{mol.kg}^{-1}$). This difference is highly significant ($P<0.001$). See Figure 2.

Table 1. Formula of the casein- and whey-based supplements (g/100 g liquid product)

<i>Ingredients</i>	<i>CAS</i>	<i>WP</i>
Carbohydrate	12.50	12.50
Casein	7.50	
Whey protein isolate		7.50
Fat	2.00	2.00
Vitamin and mineral mix	0.32	0.32
Flavor	0.10	0.10
Water	77.36	77.36

It should be understood that various changes and modifications to the presently preferred embodiments described herein will be apparent to those skilled in the art. Such changes and modifications can be made without departing from the spirit and scope of the present invention and without diminishing its attendant advantages. It is therefore intended that such changes and modifications be covered by the appended claims.

Claims

1. Use of a composition comprising,
a protein source, which provides at least 8 % of the total calories of the composition and which includes at least 50 % by weight, of the protein source, whey protein,
a lipid source having an omega 3 to 6 fatty acid ratio of approximately 5:1 to about 10:1 and which provides at least 18 % of the total calories of the composition,
a carbohydrate source and a macro-nutrient profile comprising at least vitamin E and C
for the preparation of an ingestible carrier for improving muscle protein synthesis, preventing muscle loss, or accelerating muscle mass recovery.
2. The use according to claim 1, wherein the whey protein includes a partially hydrolyzed whey protein.
3. The use according to claim 1 or claim 2, wherein the whey protein includes a whey protein hydrolyzate that comprises at least 50 % of the protein source in the composition.
4. The use according to any of the preceding claims, wherein at least 50 % by weight of the whey protein is hydrolyzed.
5. The use according to any of the preceding claims, wherein the composition includes caseino-glycomacropeptide.
6. The use according to any of the preceding claims, wherein the protein source provides up to about 20 % of the total energy of the composition.

WO 02/15720

PCT/EP01/09579

8. The use according to any of the preceding claims, wherein the lipid source comprises about 40 % to about 65 % by weight of mono-unsaturated fatty acids and about 15 % to about 30 % by weight of poly-unsaturated fatty acids.
9. The use according to any of the preceding claims, wherein the saturated fatty acids content is less than about 30 % by weight.
10. The use according to any of the preceding claims, wherein the lipid source provides approximately 25 % to about 35 % of the total energy of the composition.
11. The use according to any of the preceding claims, wherein the carbohydrate source comprises sucrose, corn syrup, maltodextrin and/or a combination thereof.
12. The use according to any of the preceding claims, wherein the carbohydrate source provides approximately 50 % to about 60 % of the total energy of the composition.
13. The use according to any of the preceding claims, wherein the composition includes one or more micro-nutrients selected from the group consisting of vitamin E, vitamin C, taurine, folic acid and vitamin B-12.
14. The use according to any of the preceding claims, wherein the composition comprises at least one prebiotic fiber selected from the group consisting of inulin, acacia gum, resistant starch, dextran, xylo-oligosaccharides, fructo-oligosaccharides (FOS) and/or combinations thereof.
15. The use according to any of the preceding claims, wherein the composition includes at least one micro-organism.
16. The use according to claim 16, wherein the micro-organism is a probiotic micro-organism.

WO 02/15720

1/1

PCT/EP01/09579

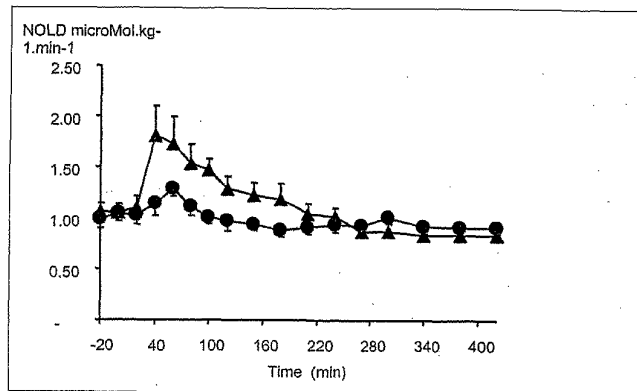


Figure 1.

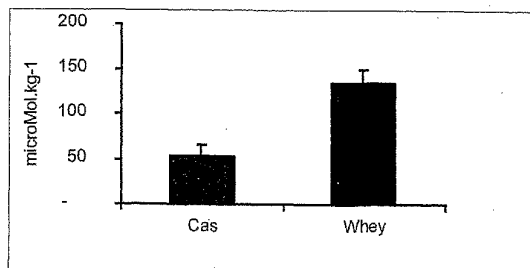


Figure 2.

【国際公開パンフレット（コレクトバージョン）】

(12) INTERNATIONAL APPLICATION PUBLISHED UNDER THE PATENT COOPERATION TREATY (PCT)

(19) World Intellectual Property Organization
International Bureau(43) International Publication Date
28 February 2002 (28.02.2002)

PCT

(10) International Publication Number
WO 02/15720 A3(51) International Patent Classification: A23L 1/30.
1/305, 1/302

(21) International Application Number: PCT/EP01/09579

(22) International Filing Date: 20 August 2001 (20.08.2001)

(25) Filing Language: English

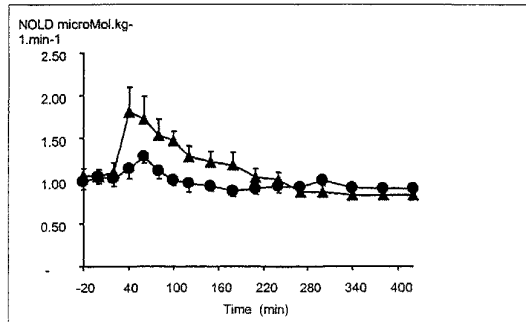
(26) Publication Language: English

(30) Priority Data: 60/227,117 22 August 2000 (22.08.2000) US

(71) Applicants: SOCIÉTÉ DES PRODUITS NESTLÉ
S. A. [CH/CH]; P.O. Box 353, CH-1800 Vevey (CH).
INSTITUT NATIONAL DE LA RECHERCHE
AGRONOMIQUE [FR/FR]: 147, rue de l'Université,
F-75338 Paris (FR).GUGOZ, Yves; Ch. du Raidillon 3, CH-1066 Epalinges
(CH). LEATHWOOD, Peter; 14C, Rte. de la Chaniaz,
CH-1807 Blonay (CH). REIFFERS-MAGNANI, Kris-
tel; Karel Doormanstraat 141, NL-3012 GD Rotterdam
(NL). MALLANGI, Chandrasekhara, R.; 2 Briar Lane,
New Milford, CT 06776 (US). TURINI, Marco; Ch.
du Bois-Murat 20, CH-1066 Epalinges (CH). ANAN-
THARAMAN, Helen, Gillian; 89 Iron Ore Hill Road,
Bridgewater, CT 06752 (US). BEAUFRERE, Bernard;
8, Avenue Aristide Briand, F-63400 Chamalières (FR).
DANGIN, Martial; 5, rue Jan Soulaucoup, Apt. No. 78,
F-63000 Clermont-Ferrand (FR). BALLEVRE, Olivier;
Rte. de Cojonnex 16 B, CH-1000 Lausanne 25 (CH).(74) Agent: STRAUS, Alexander; Becker, Kurig, Straus,
Bavariastrasse 7, 80336 München (DE).(81) Designated States (national): AE, AG, AL, AM, AT, AU,
AZ, BA, BB, BG, BR, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU,
CZ, DE, DK, DM, DZ, EC, EE, ES, FI, GB, GD, GE, GH,
GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC,
LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW,
MX, MZ, NO, NZ, PH, PL, PT, RO, RU, SD, SE, SG, SI.

[Continued on next page]

(54) Title: NUTRITIONAL COMPOSITION AN METHOD FOR IMPROVING PROTEIN DEPOSITION



(57) Abstract: Compositions and methods that stimulate body protein synthesis and can improve muscle mass maintenance and recovery are provided. The composition comprises (i) a protein source which provides at least about 8 % total calories of the composition and which includes at least about 50 % by weight of whey protein; (ii) a lipid source having an omega 3:6 fatty acid ratio of about 5:1 to about 10:1 and which provides at least about 18 % total calories of the composition; (iii) a carbohydrate source; and (iv) a balanced macronutrient profile comprising at least vitamin E and vitamin C.

WO 02/15720 A3

WO 02/15720 A3



SK, SL, TJ, TM, TR, TT, TZ, UA, UG, UZ, VN, YU, ZA, ZW.

Published:

- with international search report
- before the expiration of the time limit for amending the claims and to be republished in the event of receipt of amendments

(84) **Designated States (regional):** ARIPO patent (GH, GM, KE, LS, MW, MZ, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZW), Eurasian patent (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), European patent (AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE, TR), OAPI patent (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

(88) **Date of publication of the international search report:**
30 May 2002

For two-letter codes and other abbreviations, refer to the "Guidance Notes on Codes and Abbreviations" appearing at the beginning of each regular issue of the PCT Gazette.

【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT		International Application No. PCT/EP 01/09579
A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER IPC 7 A23L1/30 A23L1/305 A23L1/302		
According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC		
B. FIELDS SEARCHED Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) IPC 7 A23L		
Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched		
Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used) EPO-Internal, WPI Data, PAJ		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	WO 99 42001 A (NESTLE) 26 August 1999 (1999-08-26) claims page 3, line 16 - line 20 page 4, line 11 -page 9, line 20	1-4,6-13
X	WO 97 16079 A (NESTLE) 9 May 1997 (1997-05-09) claims page 2, line 1 -page 3, line 26 examples 1,2	1-4,6-13
A	EP 0 898 900 A (NESTLE) 3 March 1999 (1999-03-03) claims example 1	1-14
--- -/-		
☒ Further documents are listed in the continuation of box C. ☒ Patent family members are listed in annex.		
* Special categories of cited documents : "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance "E" earlier document but published on or after the international filing date "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified) "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed "T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention "X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone "Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art "&" document member of the same patent family		
Date of the actual completion of the international search 20 March 2002		Date of mailing of the international search report 27/03/2002
Name and mailing address of the ISA European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl, Fax. (+31-70) 340-2016		Authorized officer Serbetsoglou, A

Form PCT/ISA/210 (second sheet) (July 1992)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No.
PCT/EP 01/09579

C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	DE 198 30 528 A (MERCK PATENT) 1 July 1999 (1999-07-01) claims 1-9 -----	1,13,15, 16
A	EP 0 904 784 A (NUTRICIA) 31 March 1999 (1999-03-31) claims -----	1,13,15, 16
A	EP 0 486 425 A (SANDOZ NUTRITION) 20 May 1992 (1992-05-20) cited in the application claims 1-8; examples -----	1
A	US 5 641 531 A (LIEBRECHT ET AL) 24 June 1997 (1997-06-24) cited in the application claims -----	1

1

Form PCT/ISA/210 (continuation of second sheet) (July 1992)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International Application No.

PCT/EP 01/09579

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 9942001	A	26-08-1999	US 6200950 B1
			13-03-2001
			AU 2164299 A
			06-09-1999
			CA 2320991 A1
			26-08-1999
WO 9716079	A	09-05-1997	WO 9942001 A1
			26-08-1999
			EP 1056357 A1
			06-12-2000
			US 2001049352 A1
			06-12-2001
EP 0898900	A	03-03-1999	US 5635199 A
			03-06-1997
			AU 727637 B2
			14-12-2000
			AU 7294796 A
			22-05-1997
DE 19830528	A	01-07-1999	CA 2231525 A1
			09-05-1997
			CN 1200654 A
			02-12-1998
			WO 9716079 A1
			09-05-1997
EP 0904784	A	31-03-1999	EP 0961552 A1
			08-12-1999
			US 5766621 A
			16-06-1998
			EP 0898900 A2
			03-03-1999
EP 0486425	A	20-05-1992	AU 7311898 A
			24-12-1998
			BR 9802204 A
			20-07-1999
			CA 2234398 A1
			23-12-1998
US 5641531	A	24-06-1997	CN 1203037 A
			30-12-1998
			HU 9801422 A2
			28-05-1999
			JP 11018725 A
			26-01-1999
EP 0904784	A	31-03-1999	ZA 9805426 A
			22-12-1999
			EP 0931543 A1
			28-07-1999
			DE 19830528 A1
			01-07-1999
EP 0486425	A	20-05-1992	JP 11199496 A
			27-07-1999
			US 6254886 B1
			03-07-2001
			EP 0904784 A1
			31-03-1999
US 5641531	A	24-06-1997	AT 110531 T
			15-09-1994
			AU 650293 B2
			16-06-1994
			AU 8689591 A
			07-05-1992
EP 0904784	A	31-03-1999	CA 2054358 A1
			02-05-1992
			DE 69103732 D1
			06-10-1994
			DK 486425 T3
			07-11-1994
US 5641531	A	24-06-1997	EP 0486425 A2
			20-05-1992
			ES 2062741 T3
			16-12-1994
			JP 4267864 A
			24-09-1992
EP 0486425	A	20-05-1992	US 5520948 A
			28-05-1996
			AU 699318 B2
			03-12-1998
			AU 6910696 A
			17-04-1997
US 5641531	A	24-06-1997	CA 2231653 A1
			03-04-1997
			EP 0852468 A1
			15-07-1998
			JP 11512604 T
			02-11-1999
EP 0904784	A	31-03-1999	NO 981380 A
			26-03-1998
			NZ 316793 A
			29-06-1999
			WO 9711614 A1
			03-04-1997

フロントページの続き

(81)指定国 AP(GH,GM,KE,LS,MW,MZ,SD,SL,SZ,TZ,UG,ZW),EA(AM,AZ,BY,KG,KZ,MD,RU,TJ,TM),EP(AT,BE,CH,CY,DE,DK,ES,FI,FR,GB,GR,IE,IT,LU,MC,NL,PT,SE,TR),OA(BF,BJ,CF,CG,CI,CM,GA,GN,GQ,GW,ML,MR,NE,SN,TD,TG),AE,AG,AL,AM,AT,AU,AZ,BA,BB,BG,BR,BY,BZ,CA,CH,CN,CO,CR,CU,CZ,DE,DK,DM,DZ,EC,EE,ES,FI,GB,GD,GE,GH,GM,HR,HU,ID,IL,IN,IS,JP,KE,KG,KP,KR,KZ,LC,LK,LR,LS,LT,LU,LV,MA,MD,MG,MK,MN,MW,MX,MZ,NO,NZ,PH,PL,PT,RO,RU,SD,SE,SG,SI,SK,SL,TJ,TM,TR,TT,TZ,UA,UG,UZ,VN,YU,ZA,ZW

(74)代理人 100102897

弁理士 池田 幸弘

(74)代理人 100088926

弁理士 長沼 暉夫

(72)発明者 フックス、アイリーン、シー

アメリカ合衆国 コネティカット、ゲイロードヴィル、オールド ステイジコーチ ロード 7

(72)発明者 ガルシア — ロデナス、クララ、エル

スイス国 フォレル、レジダンス ル フレン アー

(72)発明者 ギゴス、イブ

スイス国 エパリンジェ、シェマン デュ レディヨン 3

(72)発明者 リースウッド、ペーター

スイス国 ブロネイ、ルート デ ラ シャニアス、14セー

(72)発明者 レイフェルス — マグナニ、クリステル

オランダ国 ロッテルダム、カレル ドールマンストラート 141

(72)発明者 マランギ、シャンドラセカラ、アール

アメリカ合衆国 コネティカット、ニュー ミルフォード、 ブライアー レイン 2

(72)発明者 トゥリーニ、マルコ

スイス国 エパリンジェ、シェマン デュ ブワ — ミュラ 20

(72)発明者 アナンサラマン、ヘレン、ギリアン

アメリカ合衆国 コネティカット、ブリッジウォーター、 アイアン オール ヒル ロード 89

(72)発明者 ボウフレール、ベルナール

フランス国 シャマリエール、アブニュ アリスティド ブリアン、8

(72)発明者 ダンギン、マルシャル

フランス国 クレルモン — フェラン、リュ ジャン スラクロー、5、 アパルトマン ニュメロ 78

(72)発明者 バレブル、オリヴィエ

スイス国 ローザンヌ、ルート デ コジョネ 16 ベー

Fターム(参考) 4B018 MD14 MD20 MD22 MD25 MD26 MD27 MD71 MD79 ME02