



(12)发明专利



(10)授权公告号 CN 105143428 B

(45)授权公告日 2017.08.25

(21)申请号 201480023673.7

(22)申请日 2014.04.28

(65)同一申请的已公布的文献号

申请公布号 CN 105143428 A

(43)申请公布日 2015.12.09

(30)优先权数据

1894/CHE/2013 2013.04.29 IN

(85)PCT国际申请进入国家阶段日

2015.10.26

(86)PCT国际申请的申请数据

PCT/IB2014/061051 2014.04.28

(87)PCT国际申请的公布数据

W02014/177989 EN 2014.11.06

(73)专利权人 哈沙·奇古鲁帕蒂

地址 印度海得拉巴

(72)发明人 哈沙·奇古鲁帕蒂

玛尼什·拉达希亚姆·比亚尼

比斯瓦吉特·奥蒂

(74)专利代理机构 北京安信方达知识产权代理

有限公司 11262

代理人 胡秋玲 郑霞

(51)Int.Cl.

C12G 3/04(2006.01)

A61K 9/00(2006.01)

A61K 31/047(2006.01)

A61K 31/7004(2006.01)

A61K 31/7016(2006.01)

A61K 31/704(2006.01)

审查员 王静

权利要求书2页 说明书21页

(54)发明名称

酒精饮料中降低的毒性

(57)摘要

本发明涉及功能性酒精饮料组合物的降低的毒性,所述功能性酒精饮料组合物包含蒸馏酒精、去离子水、18 β -甘草酸或18 α -甘草酸以及糖醇或糖,所述功能性酒精饮料组合物具有4.0-9.0的范围内的pH。更特别地,酒精饮料组合物包含蒸馏酒精、去离子水、作为肝保护剂的18 β -甘草酸或18 α -甘草酸以及糖醇/糖。本发明提供用于降低由酒精饮料的消耗引起的肝毒性的酒精饮料和制造所述酒精饮料的工艺。

1. 一种酒精饮料组合物,提供协同肝保护,所述酒精饮料包含:
 - a) 第一肝保护剂;
 - b) 酒精或酒精-水组合;和
 - c) 第二肝保护剂;
 - d) 其中所述第一肝保护剂包含在0.05%至0.3%的质量浓度范围内的18 α -甘草酸或在0.05%至0.4%的质量浓度范围内的18 β -甘草酸;
 - e) 其中所述第二肝保护剂包含在0.5%至3.0%的质量浓度范围内的至少一种糖或至少一种糖醇,其中所述糖醇选自D-甘露醇和D-赤藓糖醇、或其组合,或者所述糖选自D-蔗糖、D-甘露糖和D-乳糖、或其组合。
2. 如权利要求1所述的酒精饮料组合物,其中:所述第一肝保护剂包含在0.05%至0.3%的质量浓度范围内的18 α -甘草酸;并且所述糖醇是在0.5%至3.0%的质量浓度范围内。
3. 如权利要求1所述的酒精饮料组合物,其中:所述第一肝保护剂包含在0.1%至0.3%的质量浓度范围内的18 α -甘草酸;并且所述糖醇是在1.0%至2.5%的质量浓度范围内。
4. 如权利要求1所述的酒精饮料组合物,其中:所述第一肝保护剂包含在0.05%至0.4%的质量浓度范围内的18 β -甘草酸;并且所述糖醇是在0.5%至3.0%的质量浓度范围内。
5. 如权利要求1所述的酒精饮料组合物,其中:所述第一肝保护剂包含在0.1%至0.3%的质量浓度范围内的18 β -甘草酸;并且所述糖醇是在1.0%至2.5%的质量浓度范围内。
6. 如权利要求1所述的酒精饮料组合物,其中:所述第一肝保护剂包含在0.05%至0.3%的质量浓度范围内的18 α -甘草酸;并且所述糖是在0.5%至3.0%的质量浓度范围内。
7. 如权利要求1所述的酒精饮料组合物,其中:所述第一肝保护剂包含在0.1%至0.3%的质量浓度范围内的18 α -甘草酸;并且所述糖是在1.0%至2.5%的质量浓度范围内。
8. 如权利要求1所述的酒精饮料组合物,其中:所述第一肝保护剂包含在0.05%至0.4%的质量浓度范围内的18 β -甘草酸;并且所述糖是在0.5%至3.0%的质量浓度范围内。
9. 如权利要求1所述的酒精饮料组合物,其中:所述第一肝保护剂包含在0.1%至0.3%的质量浓度范围内的18 β -甘草酸;并且所述糖是在1.0%至2.5%的质量浓度范围内。
10. 如权利要求1所述的酒精饮料组合物,还包含至少一种pH调整剂。
11. 如权利要求10所述的酒精饮料组合物,其中所述pH调整剂包括选自由山梨酸钾、磷酸二氢钠、磷酸氢钠和磷酸三钠组成的组的有机或无机碱/缓冲液。
12. 如权利要求1所述的酒精饮料组合物,其中所述酒精饮料组合物还包含至少一种调味剂。
13. 如权利要求12所述的酒精饮料组合物,其中所述调味剂包括香草香料和草莓香料。
14. 如权利要求1所述的酒精饮料组合物,用于在缓解涉及由酒精消耗造成的急性和慢性毒性的疾病的方法中使用。
15. 如权利要求1所述的酒精饮料组合物,其中:所述第一肝保护剂包含18 β -甘草酸或18 α -甘草酸并且所述第二肝保护剂包含D-甘露醇。
16. 如权利要求15所述的酒精饮料组合物,其中:所述第一肝保护剂包含在0.05%至0.4%的质量浓度范围内的18 β -甘草酸;并且所述D-甘露醇是在0.5%至3.0%的质量浓度

范围内。

17. 如权利要求15所述的酒精饮料组合物, 其中: 所述第一肝保护剂包含在0.1%至0.3%的质量浓度范围内的18 β -甘草酸; 并且所述D-甘露醇是在1.0%至2.5%的质量浓度范围内。

18. 如权利要求15所述的酒精饮料组合物, 其中: 所述第一肝保护剂包含在0.05%至0.3%的质量浓度范围内的18 α -甘草酸; 并且所述D-甘露醇是在0.5%至3.0%的质量浓度范围内。

19. 如权利要求15所述的酒精饮料组合物, 其中: 所述第一肝保护剂包含在0.1%至0.3%的质量浓度范围内的18 α -甘草酸; 并且所述D-甘露醇是在1.0%至2.5%的质量浓度范围内。

20. 一种用于制备权利要求1所述的酒精饮料组合物的工艺, 包括以下步骤: (a) 获得酒精或酒精-水组合, (b) 使18 β -甘草酸或18 α -甘草酸与步骤(a)中的所述酒精或酒精-水组合混合, (c) 将糖醇或糖添加至步骤(b)中的混合物, (d) 将步骤(c)中所获得的溶液的pH调整在4.0-9.0之间, (e) 任选地添加调味剂及(f) 获得所述酒精饮料组合物。

21. 一种使用如权利要求1所述的酒精饮料组合物的方法, 所述方法包括通过人消耗所述酒精饮料组合物, 用于提供所述人中的降低的肝毒性的步骤。

酒精饮料中降低的毒性

[0001] 以下说明书特别地描述本发明和本发明被进行的方式。

技术领域

[0002] 本公开内容提供具有降低的肝毒性的酒精饮料。本发明还涉及用于制备所述饮料的工艺。

背景技术

[0003] 乙醇消耗可以导致60种医疗状况。乙醇的急性以及慢性毒性作用可以引发不可逆的器官损伤(Das S.K.等人,Indian Journal of Biochemistry&Biophysics,2010,第47卷,32)。酒精性肝病(ALD)的广泛接受的形式是单纯性脂肪肝(脂肪变性),其是随着节制可逆的,伴随炎症的脂肪肝(脂肪性肝炎)导致瘢痕组织形成(纤维化)、正常肝结构的破坏(肝硬化),其可以或可以不随着节制改善并且随后导致肝癌(肝细胞癌)。在2010年,WHO提出在美国10%的成人人群罹患酒精使用紊乱并且肝硬化在美国是第12主要死亡原因(Alcohol and Health,Focus on:Alcohol and the Liver,2010,第33卷,第1和2期,87)。已知人类摄取的5%的乙醇(ethyl alcohol)即乙醇(ethanol)(下文中酒精)被未改变地排泄,然而剩下的95%被降解成乙醛。酒精从胃肠道被快速吸收。在禁食状态中,峰值血液酒精浓度在30分钟内达到。分布是快速的,且组织水平接近血液浓度。肝负责近90%的酒精代谢,其余通过肺&尿被排泄。典型的成人可以代谢7-10g的酒精/小时(美国专利第7666909B2号)。

[0004] 酒精代谢的主要路径,当以低至中度的量被消耗时,主要在肝细胞的细胞质中被醇脱氢酶(ADH)催化以形成乙醛。NADH在肝中的累积(过量还原当量)随着慢性酒精使用在更显著见到的肝损伤中起作用。通过微粒体乙醇氧化系统(MEOS)产生的乙醛初始地代表可能地解释小于10%的肝氧化乙醇的能力的乙醇氧化的次要路径。

[0005] 在较高酒精水平(>100mg/dl)下,MEOS取决于使用NADH作为辅因子 O_2 在酒精代谢中起重要作用的CYP450(2E1,1A2&3A4)。在禁食状态中,在过氧化氢产生系统存在下过氧化氢酶尤其能够氧化乙醇。乙醛在肝中经由线粒体烟酰胺腺嘌呤二核苷酸(NAD^+)依赖性醛脱氢酶(ALDH)被氧化成乙酸盐。ALDH的活性比ADH低近3倍,因此发生乙醛的累积。乙酸盐被进一步代谢成乙酰CoA并且可以进入TCA循环或合成脂肪酸。这些路径中的每个随着细胞氧化还原状态中伴随的变化导致自由基的形成(像活性氧{ROS})(即,NADH与 NAD^+ 的比率导致产生更多NADH(被两个电子还原的烟酰胺腺嘌呤二核苷酸(NAD^+))。在线粒体呼吸链中在确定反应的动力学的此系统的最大能力下,细胞具有使NADH氧化回至 NAD^+ 的限制的能力。与酒精代谢相关的氧化还原状态引起对肝细胞的正常代谢是典型的 NAD^+ 介导的酶反应的抑制。柠檬酸循环是最受影响的,因为其受到抑制。这导致正的NADH/ NAD^+ 比率,其被认为是酒精诱导的脂肪肝的发展的最重要的原因。线粒体呼吸链的最大能力取决于身体代谢的总体水平。改变的氧化还原状态的结果包括低氧(缺氧细胞)。酒精诱导的肝毒性的其他合理的路径包括通过肠内毒素刺激的枯否细胞过量产生促炎症细胞因子。ROS主要与线粒体电子传递系统相关地产生;其在肝中也由CYP2E1和由激活的枯否细胞产生。急性和慢性酒精消耗

两者均可以提高ROS产生,ROS产生通过以上提及的多种路径导致氧化应激[(Zakhari, S.Alcohol Research&Health,2006,29,4,245), (Wheeler M.D.等人,Free Radical Biology&Medicine,2001,第31卷,第12期,1544), (Koop,D.R.,Alcohol Research&Health, 2006,29,4,274), (美国专利第7666909B2号)]。

[0006] 酒精引起细胞损伤的涉及的机制是若干互相关联的路径的复合和组合。ROS主要与细胞膜反应(紧密的连接变得更可渗透的)并且进而渗漏脂多糖(LPS),结果损害肠道结构的完整性。转氨酶[天冬氨酸转氨酶(AST)和丙氨酸转氨酶(ALT)]的提高指示细胞渗漏和细胞膜的功能性完整性的损失(Yue等人,2006)。细胞完整性的损失影响肝胆功能,导致提高的碱性磷酸酶(ALKP)活性,且同时血清胆红素水平升高并且总血浆蛋白含量降低。ROS的水平升高和降低两者均可以导致肝细胞的细胞凋亡(Wheeler M.D.Alcohol Res.Health,2003;27,300)。对于正常地起作用的细胞,GSH对于保护自身免受在线粒体呼吸链的活动期间产生的ROS是重要的。酒精消耗快速耗尽GSH水平;酒精干扰细胞色素c以从线粒体渗漏到细胞质内,其可以激活被称为可以引发细胞凋亡的半胱天冬酶的酶。

[0007] ROS诱导LPO[ROS与丙二醛(MDA)、4-羟基壬烯醛(HNE)反应]并且被认为是肝细胞损伤的重要的起始点。内毒素激活的枯否细胞影响线粒体,导致释放ROS(过氧化氢自由基、羟基自由基、特别地超氧化物自由基)和若干细胞因子(也就是,肿瘤坏死因子{TNF- α }),导致肝细胞坏死和凋亡。已经通过临床研究建立的是,具有酒精性肝病的患者具有炎症性细胞因子IL-1、IL-6、和TNF- α 以及趋化因子IL-8和其他细胞因子的提高的水平。

[0008] 酒精可以提高肝细胞的敏感性,这因此可以导致线粒体中ROS的产生的产生。ROS可以激活称为核因子 κ B(NF κ B)的调节蛋白,其在调节免疫应答中起关键作用并且控制大量基因的活动,包括表达TNF- α 及其受体以及促进细胞凋亡的基因编码蛋白的活动。因此,恶性循环将在肝细胞中建立:TNF- α 促进ROS产生,这进而激活NF κ B,导致另外的TNF- α 和其受体的产生的产生以及导致促进细胞凋亡的因子的产生。此循环最终改变肝细胞的结构,损害其功能,并且可以导致肝细胞凋亡。TNF- α 还通过促进增殖有助于肝细胞再生[(Wheeler M.D.Alcohol Res Health,2003;27,300), (Molina P.,Happel,K.I.,Zhang P.,Kolls J.K.,Nelson S.,Focus on:alcohol and the immune system.Alcohol Res.Health, 2010,33(1&2),97)1)]。

[0009] TGF- β (转化生长因子 β)可以参与酒精诱导的肝损伤的形成,这可以引起肝细胞产生通常负责给予细胞其形状的像转谷氨酰胺酶、细胞角蛋白的分子。过量地,这些分子交联以形成称为马洛里小体的显微结构,其是酒精性肝炎的标志物。TGF- β 还可以通过激活星形细胞促进肝损伤。在正常状态中,这些细胞主要用来在肝中储存脂肪和维生素A。当被激活时,星形细胞产生胶原蛋白,瘢痕组织的主要组分,其导致肝纤维化的形成。酒精可以引发TGF- β 的激活并且从而有助于细胞凋亡的开始,如果此分子以较高浓度进入血液(Wheeler M.D.,Alcohol Res.Health,2003;27,300)。

[0010] 在细胞中,乙醛或ROS与DNA或蛋白或蛋白构件和ROS与MDA或MAA(混合的MDA-乙醛-蛋白加合物)或HNE等可以形成稳定的或不稳定的加合物,所述加合物可以是致癌的、免疫原性的,诱导炎症过程、对线粒体的损伤等[(Zakhari,S.Alcohol Research&Health, 2006,29(4)245); (D.Wu,Alcohol Research&Health,2006,27,4,277); (Wheeler M.D., Alcohol Res.Health,2003;27,300); (Molina P.,HappelK.I.,Zhang P.,Kolls J.K.,

Nelson S., Focus on: alcohol and the immune system; (Alcohol Res. Health, 2010, 33, 第1&2卷, 97); (Neuman M.G., Cytokine-central factor in alcoholic liver disease, Alcohol Res. Health, 2003, 27, 307)]。

[0011] 多种内源性酶促的或非酶促的机制已经发展以保护细胞抵抗ROS。这包括移除 O_2^- 的超氧化物歧化酶(SOD); 移除 H_2O_2 的过氧化氢酶(CAT)和谷胱甘肽过氧化物酶(GPx)系统和诸如还原的谷胱甘肽(GSH)、维生素E、维生素C、维生素A、泛醌、尿酸和胆红素的非酶促低分子量抗氧化剂。但这些能够在受限制的程度保护细胞。可以通过口服施用像S-腺苷-L-甲硫氨酸(SAMe)、N-乙酰基半胱氨酸(NAC)的谷胱甘肽前体或像维生素E、维生素C、植物生物活性物(没食子酸、槲皮素等)等的抗氧化剂实现另外的保护(D. Wu, Alcohol Research & Health, 2006, 27, 4, 277)。

[0012] 文献公开具有多种类型的添加剂的酒精饮料。以下文献存在于本发明的领域中并且已经以其整体被考虑。

[0013] 美国专利公布第20100086666号公开酒精饮料, 其中像酪蛋白的蛋白水解以提高较顺口的味道并且向消费者给出某些营养益处。

[0014] Das S.K.等人(Indian Journal of Biochemistry & Biophysics, 2010, 第47卷, 32)描述白藜芦醇或维生素E与酒精的联合治疗在小鼠中改善酒精诱导的氧化应激、血管生成过程并且帮助控制免疫调节活性。

[0015] 美国专利公布第20100086666号公开酒精饮料, 其包含像表没食子儿茶素没食子酸酯(EGCG)、表没食子儿茶素(EGC)、表儿茶素(EC)、表儿茶素没食子酸酯(ECG)、前花青素、鞣酸以及槲皮素等的酚, 所述酚已知通过清除由酒精产生的自由基来降低氧化应激。

[0016] 美国专利公布第7666909B2号揭示包含D-甘油酸和其盐的酒精饮料, 其提高酒精的代谢, 降低由于酒精消耗引起的不良事件。

[0017] 从苦参(*S. flavescens*)分离的单独的GA或苦参碱(Mat)生物碱, 或GA+Mat, 当被施用到在对乙酰氨基酚过剂量的小鼠中通过腹腔注射二甲基亚硝胺(DMN)诱导的肝纤维化的大鼠模型时, 通过减弱对乙酰氨基酚诱导的肝毒性减低死亡率。这可能是由于 γ -GT阳性灶的降低的数目和面积。此外, GA+Mat对免疫抑制具有保护性作用即强烈的非特异性抗炎作用并且具有降低钠和水滞留的发生率的作用(W. Xu-yingae, Chemico-Biological Interactions. 181 (2009) 15-19)。

[0018] 世界专利第2008/055348A1号公开包含降低宿醉的姜黄的酒精饮料。

[0019] Das S.K.等人(Indian Journal of Experimental Biology, 2006, 第44卷, 791)揭示在维斯塔大鼠中进行卵磷脂与维生素B复合物或维生素E与酒精的联合治疗。建立的是, 相比于维生素E与酒精, 卵磷脂与维生素B复合物与酒精在减轻氧化应激中是有前景的治疗方法。

[0020] El-Fazaa S.等人(Alcoholism & Alcoholism, 2006, 第41卷, 第3期, 236)例示包含白藜芦醇的酒精饮料抑制酒精诱导的脂质过氧化作用并且具有抵抗损伤的保护性作用。

[0021] W01989004165A1或EP0336960A4公开具有来自以下组成的组的任何一种或更多种糖的组合的酒精饮料: D-半乳糖、D-乳糖、D-木糖、L-果糖、D-甘露醇、D-山梨糖醇、D-葡萄糖糖等。

[0022] JP06014746公开包含槲皮素的糖苷、二价金属离子和甘草提取物(甘草酸)的酒精

饮料。此饮料提高酒精代谢并且具有肝病抑制性活性,这归因于乙醇和乙醛。因此,其降低宿醉。

[0023] CP专利公布第1736270号公开由壳寡糖、甘草酸、葛花的水提取物以及枳椇碱(hovenine)的水提取物组成的护肝饮品。

[0024] 美国专利公布第20090196951号揭示包含白藜芦醇(强抗氧化剂)的酒精饮料,还激活Sirtuin 1 (SIRT1) 以及过氧化物酶体增殖物激活 (PPAR) - γ 共激活剂-1 [PGC-1'] 基因,其是能量和代谢体内平衡的关键调节因子。

[0025] JP2008266203和EP0502554公开具有选自由赤藓糖醇、甘露醇、山梨糖醇和木糖醇组成的组的一种或更多种物质的诸如超氧化物歧化酶、过氧化氢酶或过氧化物酶的活性氧(ROS) 清除酶组的酶活性的量的提高。

[0026] CN1448497公开包含乙醇和甘草酸的酒精饮品,但酒精与包括作为本组合物的组成部分的某些糖醇或糖的肝保护剂(除了甘草酸)的协同混合物,未曾被描述。

[0027] CN101744865公开产生包含木糖醇和甘草酸的护肝片剂的方法。CN101744865关注于用于制备木糖醇肝片剂的方法并且没有阐明这样的片剂的生物活性。

[0028] 多种其他现有技术文献是已知的(US 20080226787、US 3282706、US1720329、US 4537763、US 8524785),其中甘草酸和像甘露醇、赤藓糖醇、木糖醇等的糖醇已经作为具有低热值的非营养性甜味剂或作为调味剂被用于在饮料中赋予多种功能,但肝保护的方面没有被公开。

[0029] 文献在现有技术中是可得的,其示出甘草酸、糖醇和糖被独立地认为呈现肝保护性活性,但目前为止没有报道它们的组合呈现协同的肝保护作用。

发明内容

[0030] 本专利关注于具有降低的毒性的酒精饮料以及其制备方法。本申请阐明酒精与作为组合物的组成部分的包括某些糖醇或糖的肝保护剂的协同混合物,并且这样的协同混合物提供良好程度的肝保护。

[0031] 本申请中,申请人第一次报道由18 β -甘草酸或18 α -甘草酸和糖醇的组合赋予的协同活性,更特别地18 β / α -甘草酸和D-甘露醇呈现示例性的协同肝保护作用以提供具有降低的毒性的饮料。

[0032] 本公开内容涉及一种酒精饮料组合物,提供协同肝保护,所述酒精饮料组合物包含:

[0033] a) 肝保护剂,

[0034] b) 酒精或水或其混合物,

[0035] c) pH调整剂,及

[0036] d) 任选地调味剂。

[0037] 在所述酒精饮料组合物中,所述肝保护剂选自由18 β -甘草酸、18 α -甘草酸、糖醇和糖组成的组。所述糖醇选自由D-甘露醇、D-木糖醇、D-赤藓糖醇组成的组,并且所述糖选自由D-蔗糖、D-甘露糖、D-木糖和D-乳糖组成的组。

[0038] 在所述酒精饮料组合物中,所述肝保护剂是选自由18 β -甘草酸、18 α -甘草酸、以及D-甘露醇、D-木糖醇、D-赤藓糖醇、D-蔗糖、D-甘露糖、D-木糖和D-乳糖中的任一种或其混合

物组成的组的组合。

[0039] 18 β -甘草酸是在0.05%至0.4%，优选地0.1%至0.3%的范围内，并且D-甘露醇、D-木糖醇、D-赤藓糖醇、D-木糖、D-甘露糖、D-蔗糖、D-乳糖或其混合物是在0.5%至3.0%，优选地1.0%至2.5%的范围内；并且其中18 α -甘草酸是在0.05%至0.3%，优选地0.1%至0.3%的范围内，并且D-甘露醇、D-木糖醇、D-赤藓糖醇或其混合物是在0.5%至3.0%，优选地1.0%至2.5%的范围内。

[0040] 较优选的肝保护剂是18 β /18 α -甘草酸和D-甘露醇的组合。

[0041] 18 β -甘草酸是在0.05%至0.4%的范围内并且所述D-甘露醇是在0.5%至3.0%的范围内，并且优选地18 β -甘草酸在0.1%至0.3%的范围内并且所述D-甘露醇是在1.0%至2.5%的范围内；并且其中18 α -甘草酸是在0.1%至0.3%的范围内并且所述D-甘露醇是在1.0%至2.5%的范围内。

[0042] 在所述酒精饮料组合物中，pH调整剂是有机或无机碱/缓冲液，优选地选自山梨酸钾或磷酸钠(单碱式或二碱式或三碱式)。

[0043] 在所述酒精饮料组合物中，调味剂选自香草香料、草莓香料。

[0044] 本公开内容还涉及一种用于制备本申请公开的酒精饮料组合物的工艺，包括以下步骤：(a) 获得酒精或水或其混合物，(b) 使18 β -甘草酸或18 α -甘草酸与步骤(a)中的所述酒精或水或酒精和水的混合物混合，(c) 将糖醇或糖添加至步骤(b)中的混合物，(d) 将步骤(c)中所获得的溶液的pH调整在4.0-9.0之间，(e) 任选地添加调味剂及(f) 获得所要求的酒精饮料组合物。

[0045] 本公开内容还涉及本申请公开的酒精饮料组合物用于提供降低的肝毒性的用途。

[0046] 本公开内容还涉及本申请公开的酒精饮料用于在缓解涉及急性和慢性毒性的疾病诸如像由酒精诱导的毒性引起的脂肪变性、脂肪性肝炎、纤维化、肝硬化及肝细胞癌等的酒精性肝病(ALD)的方法中使用。

[0047] 本公开内容涉及酒精饮料，特别地涉及像伏特加、加味伏特加、威士忌等的酒精蒸馏酒，所述酒精饮料具有降低的肝毒性，包含蒸馏酒精、去离子水、甘草酸和糖醇或糖，具有在4.0-9.0的范围内的pH。

[0048] 更特别地，本发明提供具有降低的肝毒性的酒精饮料，该酒精饮料包含蒸馏酒精、去离子水、18 β -甘草酸或18 α -甘草酸以及糖醇或糖。本发明还涉及用于制备所述饮料的工艺。由饮料提供的示例的降低的肝毒性已经通过由在所述酒精饮料中存在的18 β -甘草酸或18 α -甘草酸和糖醇/糖的组合呈现的协同肝保护作用来实现。

[0049] 发明目的

[0050] 本发明的目的是提供具有降低的毒性的酒精饮料。

[0051] 本发明的另一个目的是提供具有协同活性并且提供提高的肝保护作用的酒精饮料。

[0052] 本发明的又一个目的是提供包含肝保护剂的饮料以实现降低的肝毒性。

[0053] 本发明的又一个目的是提供包含18 β -甘草酸或18 α -甘草酸的酒精饮料以实现降低的肝毒性。

[0054] 本发明的又一个目的是提供包含像糖醇和糖的肝保护剂的酒精饮料。

[0055] 本发明的又一个目的是提供包含选自D-甘露醇、D-赤藓糖醇、D-木糖醇及类似

物的糖醇的酒精饮料。

[0056] 本发明的又一个目的是提供包含选自D-木糖、D-甘露糖、D-蔗糖和D-乳糖的糖的酒精饮料。

[0057] 本发明的又一个目的是提供包含pH调整剂、调味剂的酒精饮料。

[0058] 本发明的另外的目的是提供任选地包含选自香草、草莓及类似物的调味剂的酒精饮料。

[0059] 本发明的又一个目的是提供具有可接受的味道、滋味、气味、透明度和陶醉感因素 (buzz factor) 的酒精饮料。

[0060] 本发明的另一个重要的目的是提供用于制备包含 (a) 酒精或酒精:水混合物 (b) 18 β -甘草酸/18 α -甘草酸 (c) 糖醇或糖 (d) pH调整剂以及任选地调味剂的酒精饮料组合物的工艺。

[0061] 本发明的又一个目的提供具有提高的肝保护作用的酒精饮料组合物。

[0062] 酒精饮料用于在缓解涉及急性和慢性酒精毒性的疾病如酒精性肝病 (ALD) 如脂肪变性的方法中使用。

[0063] 表格简述:

[0064] 表1:D-甘露醇的保护作用%

[0065] 表2:D-木糖醇和D-赤藓糖醇的保护作用%

[0066] 表3:18 β -甘草酸和18 α -甘草酸的比较保护作用%

[0067] 表4:18 β -甘草酸-甘露醇组合的保护作用%和协同作用%

[0068] 表5:18 β -甘草酸-甘露醇组合或18 α -甘草酸-甘露醇组合的比较保护作用%和比较协同作用%

[0069] 表6:18 β -甘草酸-甘露醇、木糖醇&赤藓糖醇的比较保护作用%和比较协同作用%

[0070] 表7: (18 β -甘草酸/甘露醇、木糖醇&赤藓糖醇) 的保护作用%和协同作用%的比较数据

[0071] 表8:蔗糖、甘露糖、木糖&乳糖的保护作用%

[0072] 表9: (18 β -GA:蔗糖、甘露糖、木糖&乳糖) 的保护作用%和协同作用%

具体实施方式

[0073] 相应地,本发明提供饮料,更特定地具有降低的肝毒性的酒精饮料,该酒精饮料包含蒸馏酒精、去离子水、18 β -甘草酸或18 α -甘草酸以及糖醇或糖,具有4.0-9.0的范围内的pH。更特别地,肝毒性是由酒精的摄入引起的。本发明的饮料的降低的肝毒性通过由被包含在所述酒精饮料中的18 β -甘草酸或18 α -甘草酸和糖醇或甘草酸和糖的协同组合提供的提高的肝保护活性来实现。组分的协同作用已经通过在动物模型上进行实验的对18 β -甘草酸或18 α -甘草酸、糖醇以及甘草酸和糖醇/糖的组合的肝保护的剂量依赖性研究被建立。

[0074] 成分描述:

[0075] 甘草酸 (Glycyrrhizin) (或甘草酸 (Glycyrrhizic acid) 或甘草酸 (Glycyrrhizinic acid):缩写为GA) 是光果甘草 (Glycyrrhiza glabra) (甘草) 根的主要甜味剂成分。其在本国已经被静脉内给予作为用于丙型肝炎的治疗并且在食品和化妆品中作为乳化剂和凝胶形成剂。甘草酸 (GA) 是三萜皂苷糖苷。其作为以2个异构体的外消旋或纯的

形式是可用的:18 β -甘草酸和18 α -甘草酸。GA的肝保护机制是由于其糖苷配基,甘草次酸,甘草次酸抑制自由基的产生以及脂质过氧化二者。18 α -GA具有抗肝纤维化作用-其频繁地被用作肝保护剂。GA的甜味具有比糖更慢的发作,并且在口中逗留一定时间。GA作为完整的药物被部分地吸收。(W.Xuyinga等人) *Chemico-Biological Interactions* 181 (2009) 15-19)、(T,Zing等人, *Chinese Journal of Modern Applied Pharmacy* 2006,02,15-19)。GA和其代谢物呈现类似类固醇的抗炎活性,这部分地归因于抑制磷脂酶A2活性,一种对大量炎症过程关键的酶。其抑制醛固酮的肝代谢并且压制肝5- α -还原酶。因为皮质醇和醛固酮以相同的亲和力与盐皮质激素受体结合,肾皮质醇的提高将导致高盐皮质激素作用 (Akamatsu,H. *Planta Med.*,1991,57:119-121), (Armanini,D., *Clin.Endocrinol.*1983,19:609)。

[0076] GA可能地通过引起细胞表面上负电荷的降低和/或通过降低膜流动性来完全地压制病毒抗原表达,从而通过受体介导的内吞作用防止甲型肝炎病毒进入细胞 (W.Xu-Yinga等人, *Chemico-Biological Interactions* 181 (2009) 15-19)。

[0077] GA诱导参与致癌的或毒性的物质的解毒和排泄的II相酶以及负责维持细胞环境内的自由基/氧化剂和抗氧化剂之间的平衡状态的其他抗氧化剂酶。在AR小鼠(醛糖还原酶缺乏小鼠)中的氧化性损伤通过GA、通过提高GSH含量并且以剂量依赖方式降低MDA形成来降低。在AR小鼠中,观察到谷胱甘肽过氧化物酶(GPx)、过氧化氢酶(CAT)、总抗氧化剂能力(TAOC)和SOD活性的同时降低。IFN- α ,或II型干扰素,是对于抵抗病毒和细胞内细菌感染的先天性和适应性免疫力并且对于肿瘤控制关键的细胞因子。GA导致药物治疗的小鼠中IFN- α 水平的明显升高。IL-4是诱导初始辅助性T细胞(Th0细胞)分化成Th2细胞的细胞因子。在通过IL-4激活之后,Th2细胞随后产生另外的IL-4 (Xiao-Lan Li *Int.J.Mol.Sci.*2011,12,905)。GA可以提高感染抗性,因为[单核细胞化学吸附(趋化性)蛋白-1]是CC趋化因子MCP-1抑制剂(美国专利申请20060116337)。

[0078] 将小鼠用CC14 (0.5ml/kg) 腹腔内地治疗。在施用CC14前24h和0.5h以及在施用CC14后4h,小鼠接受GA (50、300、200、400mg/kg)。这种保护作用可能是由于诱导血红素加氧酶-1并且下调促炎症介质 (Bio1 Pharm Bull.2007,30,10,1898)。18 α -GA可以剂量依赖性地抑制CC14诱导的肝纤维化,通过促进肝细胞的增殖,但抑制肝星状细胞(HSC)的增殖,GA阻断NF- κ B转运到细胞核内;这可以压制HSC的激活并且诱导HSC的凋亡 (Q Ying, *Med Sci.Monit.*,2012,18,1:BR24)。

[0079] GA被示出在所有指示的时间减弱肝组织学改变并且明显降低AST、ALT和乳酸脱氢酶(LDH)的血清水平。GA还通过下调半胱天冬酶-3的表达并且抑制细胞色素c从线粒体释放到细胞质内来明显抑制肝细胞凋亡。GA的抗炎活性可以依赖于抑制肿瘤坏死因子 α 的释放、髓过氧化物酶活性和核因子 κ B到细胞核内的转运。GA还上调增殖细胞核抗原的表达,这意味着其可能能够促进被LPS损害的肝的再生。总之,GA可以代表保护肝免受内毒素诱导的损伤的有效药物,尤其在大量肝切除术之后 (Brazilian Journal of Medical and Biological Research,2007,40,1637)。在用LPS/Ga1N处理的小鼠中,用GA (50mg/kg) 和MMP抑制剂 (5mg/kg) 的预治疗压制ALT和AST的血清水平的升高,这归因于下调MMP-9 (J Pharm Pharmacol.2008,60,1,91)。

[0080] 代谢综合征 (MetS) 是一组包括内脏型肥胖、脂代谢紊乱和胰岛素抗性 (IR) 的代谢

异常。口服施用50mg/kg的GA持续一周可以抵消内脏型肥胖的发展并且分别通过选择性诱导组织脂蛋白酯酶(LPL)改进脂代谢紊乱、血清脂质参数中的表达和正位移,并且阻止与组织脂肪变性相关的IR的发展(Lipids Health Dis.2009,29,8,31)。

[0081] 甘草酸二铵(DG)保护小鼠以抵抗刀豆蛋白A(ConA)诱导的血清ALT水平的提高以及肝细胞的凋亡;DG可能地可以通过两种路径保护肝免受损伤:通过IL-6依赖性方式直接保护肝细胞免受凋亡以及通过IL-1依赖性方式间接抑制T细胞介导的炎症(Int Immunopharmacol.2007 10月:7(10):1292)。

[0082] 每天一次异甘草酸镁100mg或150mg,药物对于慢性肝病是有效的且安全的治疗(Zhoiighua Gan Zang Bing Za Zhi.2009,11,847)。

[0083] 糖醇是一种从糖制备的醇。这些有机化合物是一类多元醇,也称为多元醇(polyhydric alcohol)、多元醇(polyalcohol)或多羟糖醇(glycitol)。它们是天然存在的白色的、水溶性固体并且作为增稠剂和增甜剂被广泛地用于食品工业中。化学上稳定的糖醇,诸如甘露醇、赤藓糖醇、山梨糖醇、木糖醇等,可以被用作自由基(羟基自由基)清除剂。同样地,已经发现像赤藓糖醇、甘露醇、山梨糖醇、木糖醇等的化合物上调不同类型的超氧化物歧化酶(SOD),像Cu/Zn-、Mn-以及EC-SOD同工酶。特别地,添加赤藓糖醇的组的SOD活性提高了2-5倍。还报道了糖尿病具有低的SOD活性,由于美拉德反应,因为美拉德反应显著地引起SOD活性的降低(美国专利申请20100037353 A1)。含有甘露醇的高渗性溶液已经被示出保护乙醇诱导的胃粘膜损伤(Gharzouli K,Exp.Toxic.Pathol.,2001;53:175)。大鼠和人类二者部分地吸收和代谢在胃肠道(GIT)中摄取的甘露醇。然而,肠道微生物群落将甘露醇转化成更易吸收的形式。在大鼠中,吸收的甘露醇可能地经由果糖被转化成肝糖原(J.Nutr.1985,115:890)。通过甘露醇保护肝细胞的机制没有被完全地理解。

[0084] 饮料包含像pH调整剂和调味剂等的某些其他成分。

[0085] 本发明的饮料的某些重要的实施方案如下:

[0086] 本发明的重要的实施方案涉及具有降低的毒性的饮料。

[0087] 本发明的又一个实施方案涉及具有降低的肝毒性的酒精饮料。

[0088] 本发明的又一个实施方案涉及包含实现降低的肝毒性的肝保护剂的酒精饮料。

[0089] 在本发明的重要的实施方案中,饮料包含与选自由D-甘露醇、D-木糖醇、D-赤藓糖醇及其混合物组成的组的糖醇以及选自由D-木糖、D-甘露糖、D-蔗糖和D-乳糖及其混合物的还原或非还原糖组合的18 β -甘草酸。

[0090] 在本发明的又一个重要的实施方案中,饮料包含与选自由D-甘露醇、D-木糖醇、D-赤藓糖醇及其混合物组成的组的糖醇组合的18 α -甘草酸。

[0091] 在重要的实施方案中,饮料组合物包含在0.05%至0.4%、优选地0.1%至0.3%范围内的18 β -甘草酸以及在0.5%至3.0%、优选地1.0%至2.5%范围内的D-甘露醇、D-木糖醇、D-赤藓糖醇、D-木糖、D-甘露糖、D-蔗糖、D-乳糖及其混合物。

[0092] 在重要的实施方案中,饮料组合物包含在0.05%至0.3%、优选地0.1%至0.3%范围内的18 α -甘草酸以及在0.5%至3.0%、优选地1.0%至2.5%范围内的D-甘露醇、D-木糖醇、D-赤藓糖醇及其混合物。

[0093] 在重要的实施方案中,肝保护剂的最优选的组合是18 β -甘草酸或18 α -甘草酸和D-甘露醇的组合。

[0094] 在重要的实施方案中,饮料组合物包含在0.05%至0.3%范围内的18 β -甘草酸和在0.5%至3.0%范围内的D-甘露醇,并且优选地包含在0.1%至0.3%范围内的18 β -甘草酸和在1.0%至2.5%范围内的D-甘露醇。

[0095] 在重要的实施方案中,饮料组合物包含在0.1%至0.3%范围内的18 α -甘草酸和在1.0%至2.5%范围内的D-甘露醇。

[0096] 在又一个实施方案中,用于制备酒精饮料组合物的工艺,包括以下的步骤:(a)获得酒精或水或其混合物,(b)使18 β -甘草酸或18 α -甘草酸与步骤(a)中的酒精或水或酒精和水的混合物混合,(c)将糖醇或糖添加至步骤(b)中的混合物,(d)将步骤(c)中获得的溶液的pH调整在4.0-9.0之间,(e)任选地添加调味剂及(f)获得要求的酒精饮料组合物。

[0097] 本发明的还另一个实施方案是提供包含pH调整剂的酒精饮料组合物。

[0098] 本发明的又一个实施方案中,pH调整剂是有机或无机碱/缓冲液、优选地选自山梨酸钾或磷酸钠(单碱式或二碱式或三碱式)。

[0099] 本发明的另外的实施方案提供任选地包含选自香草和草莓的调味剂的饮料。

[0100] 本发明的还另一个实施方案是提供具有可接受的味道、滋味、气味、透明度和陶醉感因素的饮料。

[0101] 在本发明的另外的实施方案中,糖醇、甘草酸以及糖醇和18 β -甘草酸或18 α -甘草酸的组合的剂量的变化也已经关于其肝保护性活性被评估。

[0102] 本发明的范围还包括关于由酒精剂量的变化以及其在施用中的持续时间引起的急性和慢性肝毒性的研究。

[0103] 该饮料组合物的还另一个实施方案涉及提供降低的肝毒性。

[0104] 该饮料组合物的又一个实施方案是在缓解涉及急性和慢性毒性的疾病诸如像由酒精诱导的毒性引起的脂肪变性、脂肪性肝炎、纤维化、肝硬化和肝细胞癌等的酒精性肝病(ALD)的方法中的使用。

[0105] 本发明的另一个重要的实施方案是饮料组合物可以被包装为在食品级瓶、罐、四角包装、袋中的即饮产品。包装可以通过常规的方法来完成。

[0106] 对于本发明的制剂中存在的协同作用的建立,标志物/标志酶,也就是SOD、过氧化氢酶、GPx、TNF- α 被主要考虑用于评估协同作用%。然而,酶ALT、AST、ALKP和MDA也被分析以支持协同作用。

[0107] 评估ALT、AST、ALKP的原因:长期误用酒精改变肝功能的标志酶,诸如血清天冬氨酸转氨酶和丙氨酸转氨酶(AST、ALT)、碱性磷酸酶(ALKP),并且所以研究这些酶。

[0108] ALT和AST在肝细胞中被发现,但是AST在骨骼和心肌细胞中也被发现。在酒精相关的肝损伤中,AST比ALT升高得更多,至少部分作为酒精相关骨骼损伤的反映。在ALT超过AST的急性肝细胞疾病(例如,急性病毒性肝炎)中,这是正常模式的逆转。

[0109] ALKP是内衬肝的胆管的细胞中的酶。血浆中的ALKP水平将随着与改变的胆汁产生和/或分泌相关的肝病以及慢性肝病几乎伴随地升高。

[0110] 评估氧化应激标志物(MDA、抗氧化剂酶[SOD、CAT、谷胱甘肽过氧化物酶等]、还原的谷胱甘肽GSH)的原因:在肝中酒精代谢导致活性氧(ROS)的形成。酒精也刺激细胞色素P450的活性,细胞色素P450有助于ROS产生。此外,酒精可以改变体内某些金属的水平,从而促进ROS产生。最后,酒精降低可以消除ROS的试剂的水平(即内源性抗氧化剂)。产生的细胞

的状态,被称为氧化应激,可以导致细胞损伤。肝细胞中的ROS产生和氧化应激在酒精性肝病的形成中起重要作用。

[0111] MDA(丙二醛)是细胞膜脂质过氧化作用的最终产物。ROS降解(氧化性降解)细胞膜的多不饱和脂肪酸,导致细胞损伤。脂质过氧化作用的程度可以很好地与组织MDA含量相关联。

[0112] SOD(超氧化物歧化酶)催化超氧化物自由基分解成氧气和过氧化氢。肝细胞富含SOD,因为其是与大量物质的代谢相关的主要器官。

[0113] CAT(过氧化氢酶)催化过氧化氢(H_2O_2)转化成水和氧气。此酶在大部分真核细胞中位于过氧化物酶体。

[0114] GPx(谷胱甘肽过氧化物酶)在大部分的细胞的细胞质中是最丰富地可用的。其在GSH存在下中和过氧化氢(H_2O_2)。



[0116] (GSH-还原的谷胱甘肽,GSSG-氧化的谷胱甘肽)

[0117] GSH在需氧细胞中是最丰富的抗氧化剂。GSH对于保护细胞免受氧化应激、用作自由基清除剂和脂质过氧化作用的抑制剂是关键的。GSH也参与由谷胱甘肽过氧化物酶(GPx)降解 H_2O_2 。还原的谷胱甘肽(GSH)与氧化的谷胱甘肽(GSSG)的比率是细胞健康(细胞氧化还原电势的状态)的指标。在正常健康条件下,GSH构成接近90%的细胞谷胱甘肽(即,GSH/GSSG是约9)。然而,在ROS相关紊乱中,GSH/GSSG比率被降低。

[0118] 评估肿瘤坏死因子 α (TNF- α)的原因:酒精消耗提高内毒素从肠道至门脉循环的转运并且与枯否细胞(免疫细胞)相互作用,导致包括肿瘤坏死因子 α (TNF- α)的若干促炎症细胞因子的分泌。

[0119] 基于以上描述,我们鉴定了某些关键标志物并且证明了选择的参数的重要性:

[0120] SOD、过氧化氢酶和GPx:在系统中,SOD催化超氧化物歧化为 H_2O_2 。然后,GPx和过氧化氢酶独立地将此 H_2O_2 转化成水。SOD与GPx和过氧化氢酶一起形成防御抵抗ROS的有害作用的主要酶。

[0121] GSH是保护细胞免受包括酒精的外源性物质的主要内源性抗氧化剂。酒精被认为在中和氧化剂的过程中消耗GSH水平。除此之外,内源性谷胱甘肽-谷胱甘肽过氧化物酶系统用作重要的抗氧化剂以及在暴露于乙醇的肝细胞中的细胞保护性机制。因此,细胞GSH水平的消耗在乙醇介导的肝细胞功能紊乱中起重要作用。

[0122] 以下的表(1至9)例证单独成分、成分的组合的肝保护作用%以及使用各自组合呈现的协同作用%。所有动物实验通过每口服施用2.5g/kg剂量的酒精被进行持续一个月的时间段。

[0123] 表1:D-甘露醇的保护作用%

[0124]

样品编码	Man%	GSH 的保护作用%	SOD 等的保护作用%	TNF- α 的保护作用%	ALT 等的保护作用%	MDA 的保护作用%
A	0.5	10.35	12.71	7.19	12.26	19.17
3	1	20.06	19.32	16.74	20.37	31.63
B	1.5	25.76	26.21	29.89	25.94	48.56
C	2.5	31.53	35.83	31.46	29.71	50.8

[0125]

11	3	32.37	36.08	30.76	29.48	50.31
----	---	-------	-------	-------	-------	-------

[0126] 表2:D-木糖醇&D-赤藓糖醇的保护作用%

[0127]	Xyl%	GSH 的保护作用%	SOD 等的保护作用%	TNF- α 的保护作用%	ALT 等的保护作用%	MDA 的保护作用%
	1%	19.76	18.91	15.77	17.62	26.9
	2.5%	35.57	36.88	30.05	26.72	45.38
	Ery%					
	1%	18.71	17.94	16.57	17.84	24.71
	2.5%	37.29	36.29	35.96	32.13	48.61

[0128] 表3:18 β -甘草酸和18 α -甘草酸的比较保护作用%

[0129]

样品编码	GA%	GSH 的保护作用%	SOD 等的保护作用%	TNF- α 的保护作用%	ALT 等的保护作用%	MDA 的保护作用%
	18β-GA					
D	0.1	3.29	11.45	7.64	8.38	15.97
U	0.2	12.1	16.72	12.31	13.25	27.12
W	0.3	19.1	27.95	21.18	20.99	46.35
X	0.4	31.34	31.05	29.28	26.42	56.74
	18α-GA					
4	0.1	8.93	14.33	10.58	11.98	15.1
5	0.3	16.96	25.84	23.45	18.3	41.69

[0130]

表 4: 18β-甘草酸-甘露醇组合的保护作用%和协同作用%

样品编 码	G-A%	Man%	GSH 的 保护作用 %	GSH 的 协同作 用%	SOD 等的 保护作用%	SOD 等的 协同作用%	TNF-α 的保护 作用%	TNF-α 的协同 作用%	ALT 等的 保护作 用%	ALT 等的 协同作 用%	MDA 的 保护作 用%	MDA 的 协同作 用%
H	0.1	2.5	48.24	38.51	60.15	26.65	50.56	29.31	40.35	10.52	85.62	28.23
L	1	2.5	83.29	10.45	78.75	21.31	87.64	29.99	52.35	-11.15	93.29	-20.87
O	0.3	2.5	61.95	22.43	71.57	13.44	69.63	32.28	49.4	-1.09	76.54	-21.21
M	0.4	2.5	76.38	21.55	79.83	20.59	81.62	34.38	53.15	-4.17	80.41	-25.23
C	0.1	0.5	17.64	28.76	25.34	3.72	19.16	29.2	21	7.32	39.63	12.78
4	0.1	1	29.58	26.68	39.35	28.1	32.68	34.04	29.13	5.25	55.41	16.41
12	0.1	3	45.53	27.68	58.15	22.74	47.2	22.92	37.23	0.37	70.87	6.93

表 5: 18β-甘草酸-甘露醇组合或 18α-甘草酸-甘露醇组合的比较保护作用%和比较协同作用%

样品编 码	18β-GA%	Man%	GSH 的保 护作用%	GSH 的 协同作 用%	SOD 的 保护作用 %	SOD 等的 协同作用 %	TNF-α 的保护 作用%	TNF-α 的协同 作用%	ALT 等的 保护作 用%	ALT 等的 协同作 用%	MDA 的 保护作 用%	MDA 的 协同作 用%
4	0.1	1	29.58	26.68	39.35	28.1	32.68	34.04	29.13	5.25	55.41	16.41
H	0.1	2.5	48.24	38.51	60.15	26.65	50.56	29.31	40.35	10.52	85.62	28.23
O	0.3	2.5	61.95	22.43	71.57	13.44	69.63	32.28	49.4	-1.09	76.54	-21.21
样品编 码	18α-GA%	Man%										
6	0.1	1	32.74	12.94	42.42	26.01	34.05	24.63	30.97	-0.29	54.16	15.9
8	0.1	2.5	52.68	30.2	60.16	19.8	53.21	26.57	41.35	3.51	76.6	16.24
10	0.3	2.5	57.44	18.46	69.06	12.57	68.1	24.02	46.49	-1.35	75.8	-18.05

[0131] 表6: 18β-甘草酸-甘露醇、木糖醇&赤藓糖醇的比较保护作用%和协同作用%

[0132]

0.10%	1%	SOD 等的保护作用%	SOD 等的协同作用%	GSH 的保护作用%	GSH 的协同作用%	TNF- α 的保护作用%	TNF- α 的协同作用%
GA %	Man %	39.33	28.1	29.58	26.68	32.68	34.04
GA %	Ery %	35.64	21.5	28.85	31.14	30.37	25.44
GA %	Xyl %	38.26	26.35	28.19	22.3	29.72	26.95
Man:Ery		-	1.3	-	0.85	-	1.33
Man:Xyl		-	1.06	-	1.19	-	1.26
0.10%	2.50%						
GA %	Man %	60.15	26.65	48.24	38.51	50.56	29.31
GA %	Ery %	56.47	18.21	43.35	6.83	49.26	12.98
GA %	Xyl %	56.94	17.61	44.8	15.29	46.29	22.82
Man:Ery		-	1.46	-	5.63	-	2.25
Man:Xyl		-	1.51	-	2.51	-	1.28
0.30%	2.50%						
GA %	Man %	71.57	13.44	61.95	22.43	69.63	32.28
GA %	Ery %	71.86	11.94	66.14	17.29	64.36	12.64
GA %	Xyl %	71.18	10.04	60.61	10.87	55.65	8.63
Man:Ery		-	1.12	-	1.29	-	2.55
Man:Xyl		-	1.33	-	2.06	-	3.74

[0133] 表7: (18 β -甘草酸/甘露醇、木糖醇和赤藓糖醇) 的保护作用%和协同作用%的比较数据

[0134]

0.10%	1%	ALT 等的保护作用%	ALT 等的协同作用%	MDA 的保护作用%	MDA 的协同作用%
GA %	Man %	29.13	5.25	55.41	16.41
GA %	Ery %	24.48	-5.83	46.38	14.01
GA %	Xyl %	27.19	6.63	50.02	16.68
0.10%	2.50%				
GA %	Man %	40.35	10.52	85.62	28.23
GA %	Ery %	40.06	-0.62	75.29	16.58
GA %	Xyl %	38.2	10.18	76.51	24.71

[0135]

0.30%	2.50%				
GA %	Man %	49.4	-1.09	76.54	-21.21
GA %	Ery %	52.68	-0.89	80.3	-15.44
GA %	Xyl %	46.9	-1.86	80.52	-12.22

[0136]

表8:蔗糖、甘露糖、木糖&乳糖的保护作用%

[0137]

Suc %	GSH 的保护作用 %	SOD 等的保护作用 %	TNF- α 的保护作用 %	ALT 等的保护作用 %	MDA 的保护作用 %
1	6	5.16	6.13	6.70	8.27
2.5	11.63	10.49	14.18	13.89	18.92
Mans %					
1	6.12	3.93	7.85	6.14	10.65
2.5	13.59	11.18	16.49	16.34	23.67
Xyls %					
1	6.23	7.83	6.44	8.06	6.28
2.5	11.84	19.1	13.98	14.73	15.38
Lac %					
1	4.36	6.78	8.19	8.21	7.70
2.5	14.8	17.38	15.26	17.41	21.47

[0138]

表 9: (18β-GA: 蔗糖、甘露糖、木糖&乳糖)的保护作用%和协同作用%

样品编 码	GA %	Suc %	GSH 的 保护作 用%	GSH 的协同 作用%	SOD 等 的保护作用%	SOD 等 的协同作用%	TNF-α 的 保护作用 %	TNF-α 的协同 作用%	ALT 等 的保护作用 %	ALT 等 的协同作用 %	MDA 的 保护作用 %	MDA 的协同 作用%
10	0.1	1	10.65	14.64	18.32	10.37	15.14	9.95	14.63	1.69	25.87	6.72
11	0.3	2.5	33.41	8.72	41.3	8.37	40.12	13.46	31.4	-7.47	56.53	-13.39
	GA %	Mans %										
14	0.1	1	11.02	17.11	18.05	17.29	17.07	10.2	15.71	8.66	28.82	8.26
15	0.3	2.5	37.58	14.96	42.02	9.16	43.19	14.65	33.88	-7.97	59.27	-15.35
样品编 码	GA %	Xyle %										
18	0.1	1	10.9	14.05	20.97	8.83	15.6	10.8	16.84	4.26	22.23	-0.09
19	0.3	2.5	34.27	10.76	53.23	13.21	38.1	8.36	32.28	-9.47	52.64	-14.66
	GA %	Lac %										
22	0.1	1	8.57	12.03	19.47	6.79	17.2	8.65	16.75	3.17	25.1	6.04
23	0.3	2.5	38.16	12.57	47.19	5.07	39.55	8.53	34.6	-9.98	57.88	-14.66

[0139] 在以上的表中提供的数据清楚地表明18β-GA/D-甘露醇组合呈现超过18β-GA/D-赤藓糖醇和18β-GA/D-木糖醇组合的优越的协同作用级别。

[0140] 在以上的表中提供的数据还指示总体的18 β -GA/D-甘露醇组合呈现与18 α -GA/D-甘露醇组合几乎相似的协同作用级别。

[0141] 还可以推断出18 β -GA/还原性或非还原性单糖或二糖已经呈现较低程度的协同效应。

[0142] 本发明被以下实施例例证。然而,应该理解的是本发明的范围不被实施例以任何方式限制。本领域技术人员将理解,本研究包括以下实施例并且还可以在本发明的范围内被修改并且改变。

[0143] 材料和方法

[0144] 试剂

[0145] 蒸馏乙醇从Bengal Chemicals, West Bengal, India获得。生化试剂盒,像AST、ALT、ALKP以及总蛋白从Span Diagnostics Ltd. Surat, India获得。[Time course study of oxidative and nitrosative stress and antioxidant enzymes in K₂Cr₂O₇-induced nephrotoxicity (K₂Cr₂O₇诱导的肾毒性中的氧化和氮化应激以及抗氧化剂酶的时间进程研究). BMC Nephrol., 6:4]。通过如在大鼠TNF- α ELISA试剂盒 (BioLegend, Inc. San Diego, CA, USA) 中提及的标准程序评估TNF- α 。

[0146] 在本研究中使用的所有化学品是分析级别的并且从以下公司获得: Sigma (St. Louis, MO, USA)、Merck (Mumbai, India)、S.D. Fine Chemicals (Mumbai, India) 和 Qualigen (Mumbai, India)。

[0147] 大鼠中酒精诱导的亚急性肝毒性

[0148] 称重为150-200g的雄性威斯塔白化大鼠 (Male Wistar albino rat) 采购自本地注册交易商 (CPCSEA注册号1443/po/6/4/CPCSEA), Kolkata, India并且在标准居住条件下被适应持续7天 (26 $\pm$ 2 $^{\circ}$ C, 60-70%RH, 及12 $\pm$ 1小时光和暗循环)。在实验时期期间动物用可商购的饮食 (Upton India Pvt. Ltd, India) 和水随意地喂养。

[0149] 实施例

[0150] 实施例1:

[0151] a) 用于生物测试的模型:

[0152] 称重为150-200g的雄性威斯塔白化大鼠被采购并且被随机分成每个组由六个动物组成的组。通过口服施用25%酒精 (2.5gm/kg/天, 口服) 持续28天, 在大鼠中通过酒精诱导亚急性毒性并且将此组用作阴性对照并且阳性对照组仅接受蒸馏水。

[0153] b) 药物溶液的制备:

[0154] 所有药物溶液在15-40%含水酒精中制备, 将pH调整在4.0-9.0范围内, 用于评估肝保护活性。将此溶液用蒸馏水进一步稀释以获得25%酒精水溶液并且通过强饲法口服施用至步骤(a)的不同大鼠组。

[0155] c) 肝保护活性的评估:

[0156] 在第28天, 将动物用乙醚麻醉并且通过心脏穿刺收集血液样品并且血清被用于测定标志酶, 也就是, 血清丙氨酸转氨酶 (ALT)、天冬氨酸转氨酶 (AST)、碱性磷酸酶 (ALP)。在收集血液之后立即通过暴露于过剂量的乙醚将大鼠处死; 将其肝移除, 在冷盐水中洗涤。肝的一部分被用于制备在磷酸缓冲液 (pH 7.4) 中的肝匀浆。将上清液用于评估丙二醛 (MDA)、超氧化物歧化酶 (SOD)、过氧化氢酶 (CAT)、还原的谷胱甘肽 (GSH) 和谷胱甘肽过氧化物酶

(GPx)。

[0157] 实施例2:

[0158] 将D-甘露醇 (0.5g) 溶解在含水酒精 (100ml) 中以提供0.5%的溶液。将此溶液以若干部分施用至实施例 (1a) 的大鼠组中的一组。将该施用实施超过28天的时间段;每天将10ml样品用6ml蒸馏水稀释以制备25%酒精水溶液 (16ml) 并且口服地喂养 (10ml/kg/天)。按照实施例 (1c) 实施肝保护活性的评估。

[0159] 平均肝保护作用%:

[0160]

ALT、AST和ALKP	12.26%
SOD、CAT和GPx	12.71%
GSH	10.35%
肝MDA	19.17%
TNF- α	7.19%

[0161] 实施例3:

[0162] 将D-甘露醇 (2.5g) 溶解在含水酒精 (100ml) 中以提供2.5%的溶液。将此溶液以若干部分施用至实施例 (1a) 的大鼠组中的一组。如在实施例2中提及以及按照实施例 (1c) 实施施用、样品稀释、口服喂养和肝保护活性的评估。

[0163] 平均肝保护作用%:

[0164]

ALT、AST和ALKP	29.71%
SOD、CAT和GPx	35.83%
GSH	31.53%
肝MDA	50.80%
TNF- α	31.46%

[0165] 实施例4:

[0166] 将18 β -甘草酸 (0.1g) 溶解在含水酒精 (100ml) 中以提供0.1%的溶液。将此溶液以若干部分施用至实施例 (1a) 的大鼠组中的一组。如在实施例2中提及以及按照实施例 (1c) 实施施用、样品稀释、口服喂养和肝保护活性的评估。

[0167] 平均肝保护作用%:

[0168]

ALT、AST和ALKP	8.38%
SOD、CAT和GPx	11.45%
GSH	3.29%
肝MDA	15.97%
TNF- α	7.64%

[0169] 实施例5:

[0170] 将D-甘露醇 (2.5g) 和18 β -甘草酸 (0.1g) 溶解在含水酒精 (100ml) 中以提供2.6%的溶液。将此溶液以若干部分施用至实施例 (1a) 的大鼠组中的一组。如在实施例2中提及以及按照实施例 (1c) 实施施用、样品稀释、口服喂养和肝保护活性的评估。

[0171] 平均肝保护作用%：

[0172]

ALT、AST和ALKP	40.35%
SOD、CAT和GPx	60.15%
GSH	48.24%
肝MDA	85.62%
TNF- α	50.56%

[0173] 实施例6：

[0174] 将D-甘露醇 (2.5g) 和18 β -甘草酸 (1.0g) 溶解在含水酒精 (100ml) 中以提供3.5%的溶液。将此溶液以若干部分施用至实施例1 (a) 的大鼠组中的一组。如在实施例2中提及以及按照实施例 (1c) 实施施用、样品稀释、口服喂养和肝保护活性的评估。

[0175] 平均肝保护作用%：

[0176]

ALT、AST和ALKP	52.35%
SOD、CAT和GPx	78.75%
GSH	83.29%
肝MDA	93.29%
TNF- α	87.64%

[0177] 实施例7：

[0178] 将D-甘露醇 (0.5g) 和18 β -甘草酸 (0.1g) 溶解在含水酒精 (100ml) 中以提供0.6%的溶液。将此溶液以若干部分施用至实施例 (1a) 的大鼠组中的一组。如在实施例2中提及以及按照实施例 (1c) 实施施用、样品稀释、口服喂养和肝保护活性的评估。

[0179] 平均肝保护作用%：

[0180]

ALT、AST和ALKP	21.0%
SOD、CAT和GPx	25.34%
GSH	17.64%
肝MDA	39.63%
TNF- α	19.16%

[0181] 实施例8：

[0182] 将D-甘露醇 (3.0g) 和18 β -甘草酸 (0.1g) 溶解在含水酒精 (100ml) 中以提供3.1%的溶液。将此溶液以若干部分施用至实施例 (1a) 的大鼠组中的一组。如在实施例2中提及以及按照实施例 (1c) 实施施用、样品稀释、口服喂养和肝保护活性的评估。

[0183] 平均肝保护作用%：

[0184]

ALT、AST和ALKP	37.23%
SOD、CAT和GPx	58.15%
GSH	45.53%
肝MDA	70.87%

TNF- α	47.20%
---------------	--------

[0185] 实施例9:

[0186] 将D-甘露醇(2.5g)和18 β -甘草酸(0.4g)溶解在含水酒精(100ml)中以提供2.9%的溶液。将此溶液以若干部分施用至实施例(1a)的大鼠组中的一组。如在实施例2中提及以及按照实施例(1c)实施施用、样品稀释、口服喂养和肝保护活性的评估。

[0187] 平均肝保护作用%:

[0188]

ALT、AST和ALKP	53.15%
SOD、CAT和GPx	79.83%
GSH	76.38%
肝MDA	80.41%
TNF- α	81.62%

[0189] 实施例10:

[0190] 将D-甘露醇/D-木糖醇/D-赤藓糖醇(1.0g)和18 β -甘草酸(0.1g)溶解在含水酒精(100ml)中以提供1.1%的溶液。将此溶液以若干部分施用至实施例(1a)的大鼠组中的一组。如在实施例2中提及以及按照实施例(1c)实施施用、样品稀释、口服喂养和肝保护活性的评估。

[0191] 平均肝保护作用%:

酶/标志物	糖醇		
	D-甘露醇	D-木糖醇	D-赤藓糖醇
[0192] ALT、AST和ALKP	29.13%	27.19%	24.48%
SOD、CAT和GPx	39.33%	38.26%	35.64%
GSH	29.58%	28.19%	28.85%
肝MDA	55.41%	50.02%	46.38%
TNF- α	32.68%	29.72%	30.37%

[0193] 实施例11:

[0194] 将D-甘露醇/D-木糖醇/D-赤藓糖醇(2.5g)和18 β -甘草酸(0.3g)溶解在含水酒精(100ml)中以提供2.8%的溶液。将此溶液以若干部分施用至实施例(1a)的大鼠组中的一组。如在实施例2中提及以及按照实施例(1c)实施施用、样品稀释、口服喂养和肝保护活性的评估。

[0195] 平均肝保护作用%:

酶/标志物	糖醇		
	D-甘露醇	D-木糖醇	D-赤藓糖醇
[0196] ALT、AST和ALKP	49.40%	46.90%	52.68%
SOD、CAT和GPx	71.57%	71.18%	71.86%
GSH	61.95%	60.61%	66.14%
肝MDA	76.54%	80.52%	80.30%
TNF- α	69.63%	55.65%	64.36%

[0197] 实施例12:

[0198] 将D-甘露糖/D-木糖/D-乳糖/D-蔗糖(2.5g)和18 β -甘草酸(0.3g)溶解在含水酒精(100ml)中以提供2.8%的溶液。将此溶液以若干部分施用至实施例(1a)的大鼠组中的一

组。如在实施例2中提及以及按照实施例(1c)实施施用、样品稀释、口服喂养和肝保护活性的评估。

[0199] 平均肝保护作用%:

[0200]

酶/标志物	糖			
	D-甘露糖	D-木糖	D-乳糖	D-蔗糖
ALT、AST 和 ALKP	33.88%	32.28%	34.60%	31.40%
SOD、CAT 和 GPx	42.02%	53.23%	47.19%	41.30%
GSH	37.58%	34.27%	38.16%	33.41%
肝 MDA	59.27%	52.64%	57.88%	56.53%
TNF- α	43.19%	38.10%	39.55%	40.12%

[0201] 实施例13:

[0202] 将D-甘露糖/D-木糖/D-乳糖/D-蔗糖(1.0g)和18 β -甘草酸(0.1g)溶解在含水酒精(100ml)中以提供1.1%的溶液。将此溶液以若干部分施用至实施例(1a)的大鼠组中的一组。如在实施例2中提及以及按照实施例(1c)实施施用、样品稀释、口服喂养和肝保护活性的评估。

[0203] 平均肝保护作用%:

[0204]

酶/标志物	糖			
	D-甘露糖	D-木糖	D-乳糖	D-蔗糖
ALT、AST 和 ALKP	15.71	16.84%	16.75%	14.63%
SOD、CAT 和 GPx	18.05	20.97%	19.47%	18.32%
GSH	11.02	10.90%	8.57%	10.65%
肝 MDA	28.82	22.23%	25.10%	25.87%
TNF- α	17.07	15.60%	17.20%	15.14%

[0205] 实施例14:

[0206] 将D-甘露醇(1.0g)和18 α -甘草酸(0.1g)溶解在含水酒精(100ml)中以提供1.1%的溶液。将此溶液以若干部分施用至实施例(1a)的大鼠组中的一组。如实施例2中提及以及按照实施例(1c)实施施用、样品稀释、口服喂养和肝保护活性的评估。

[0207] 平均肝保护作用%:

[0208]

ALT、AST和ALKP	30.97%
SOD、CAT和GPx	42.42%
GSH	32.74%
肝MDA	54.16%
TNF- α	34.05%

[0209] 实施例15:

[0210] 将D-甘露醇(2.5g)和18 α -甘草酸(0.3g)溶解在含水酒精(100ml)中以提供2.8%的溶液。将此溶液以若干部分施用至实施例(1a)的大鼠组中的一组。如在实施例2中提及以及按照实施例(1c)实施施用、样品稀释、口服喂养和肝保护活性的评估。

[0211] 平均肝保护作用%:

[0212]

ALT、AST和ALKP	46.49%
SOD、CAT和GPx	69.06%
GSH	57.44%
肝MDA	75.80%
TNF- α	68.1%

[0213] 实施例16:

[0214] 制备方法:

[0215] 将0.1至0.4克的18 β / α -甘草酸溶解在15-40%酒精或酒精:水混合物(以100ml)中。将糖醇或糖(0.5克至3.0克)添加至此溶液中。将获得的溶液充分混合以获得澄清溶液。此后,将获得的溶液的pH调整至4.0-9.0之间并且任选地添加期望的调味剂(香草)以获得最终的酒精饮料组合物。

[0216] 在本申请中使用的缩写的扩展被枚举如下:

[0217] GA:甘草酸(Glycyrrhizin)(甘草酸(Glycyrrhizic acid)或甘草酸(Glycyrrhizinic acid)或18 β -甘草酸)

[0218] Man:甘露醇

[0219] Xyl:木糖醇

[0220] Ery:赤藓糖醇

[0221] Mans:甘露糖

[0222] Suc:蔗糖

[0223] Xyls:木糖

[0224] Lac:乳糖

[0225] SOD等:SOD、CAT&GPx

[0226] ALT等:ALT、AST和ALKP

[0227] Mat:苦参碱

[0228] 本发明的优点:

[0229] 1. 本发明的酒精饮料具有较好的肝保护作用。

[0230] 2. 本发明的酒精饮料具有可接受的气味、味道、澄清度和可接受的陶醉感因素。