

19



Octrooiraad
Nederland

11 Publikatienummer: **9301083**

12 **A TERINZAGELEGGING**

21 Aanvraagnummer: **9301083**

51 Int.Cl.⁵:
A61K 35/78, A23D 9/00

22 Indieningsdatum: **22.06.93**

30 Voorrang:
22.06.92 JP 162666/92

71 Aanvrager(s):
Emiyo Niwa te Kochi, Japan

43 Ter inzage gelegd:
17.01.94 I.E. 94/02

72 Uitvinder(s):
Kozo Niwa te Kochi, Japan. Emiyo Niwa te Kochi, Japan

74 Gemachtigde:
**Ir. L.W. Kooy c.s.
Octrooibureau Vriesendorp & Gaade
Dr. Kuyperstraat 6
2514 BB 's-Gravenhage**

54 **Oliesamenstelling en werkwijze voor de bereiding daarvan**

- 57 De uitvinding heeft betrekking op een oliesamenstelling waarin de activiteit van anti-oxydantia als effectieve verbindingen hoog is, en het doordringend vermogen naar de binnenkant van de cel in een ziek gedeelte van het menselijk lichaam hoog is, en een werkwijze voor de bereiding daarvan. De oliesamenstelling wordt bereid door een ruw graanmateriaal dat rijstkiemen en/of tarwekiemen en sojabonen omvat te verhitten bij een temperatuur van niet hoger dan 100°C, dit te vermalen tot een fijn poeder, daaraan koji toe te voegen om het te fermenteren, en het zo gefermenteerde poeder toe te voegen aan een oliemengsel dat een olie omvat verkregen uit sesam dat op dezelfde wijze als het graanmateriaal verhit is en een olie verkregen van ruwe sesam, waarbij de verhouding van het oliemengsel tot het totaal van het fijne poeder en het oliemengsel 60 tot 95 gew.% is. De oliesamenstelling kan gebruikt worden om verscheidene ontstekingen en chronische ziekten die het gevolg zijn van of verslechterd worden door de destructie van cellulaire organisatie door reactieve zuurstof en lipideperoxyde die in een menselijk lichaam worden geproduceerd te voorkomen en te behandelen.

NL A 9301083

De aan dit blad gehechte stukken zijn een afdruk van de oorspronkelijk ingediende beschrijving met conclusie(s) en eventuele tekening(en).

Oliesamenstelling en werkwijze voor de bereiding daarvan

De onderhavige uitvinding heeft betrekking op een
5 oliesamenstelling en de werkwijze voor de bereiding daarvan, en in het bijzonder op een oliesamenstelling die als effectieve bestanddelen verbindingen bevat die de produktie van reactieve zuurstof en lipideperoxyden in het menselijke lichaam onderdrukken. Hierna zullen deze verbindingen
10 worden aangeduid als anti-oxydantia.

Recentelijk is de aandacht gevallen op anti-oxydantia die een uitstekende werking hebben als ze gebruikt worden bij de preventie en de behandeling van
15 verscheidene ontstekingen en chronische ziekten zoals chronische arthro-reuma, tromboplebitis, voortschrijdende systemische sclerema, de ziekte van Buerger, de ziekte van Raynaud, hardnekkig huidulcers en dergelijke, die veroorzaakt worden door de vernietiging van de cellulaire organisatie door reactieve zuurstof en lipideperoxyden die in het
20 menselijk lichaam worden geproduceerd.

Door een onderzoek is opgehelderd dat de bovengenoemde anti-oxydantia met een laag molecuulgewicht zoals flavonoïden, polyfenolen, tanninen, tocoferolen, vitamine B1 en dergelijke aanwezig zijn in planten, en dat door deze
25 oraal als geneesmiddel of gezondheidsvoedsel toe te dienen, de produktie van bovengenoemde reaktieve zuurstof en lipideperoxyde in het lichaam wordt onderdrukt (zie Journal of Japan Pharmacist Association, No. 39, Vol. 12, supplement, "Bioavailability of SOD (Superoxide Dismutase) and
30 crude drug", blz. 1097-1199, gepubliceerd op 1 december 1987).

Samenstellingen die dergelijke anti-oxydantia bevatten zijn in stand van de techniek bekend; een plantaardig geneesmiddel wordt beschreven in het Japanse

octrooi 1.366.268, en een anti-oxydant samenstelling wordt beschreven in Niwa's Japanse nog niet onderzochte ter inzage gelegde octrooiaanvraag 63-79834.

Het plantaardige voedingsmiddel van het Japanse
 5 octrooi 1.366.268 wordt verkregen door poeder van groene thee te mengen met poeder van gebakken ongepelde rijst en sojabonen poeder, waarbij een geringe hoeveelheid koji schimmel aan het mengsel wordt toegevoegd, welk mengsel vervolgens gedurende ongeveer 4 dagen in een mengsel van
 10 sesamololie en sojabonen olie wordt gehouden om de effectieve bestanddelen te extraheren, waarna de precipitaten verwijderd worden door centrifugatie, en de overblijvende olieachtige verbinding wordt opgesloten in een capsule van gelatine of iets dergelijks.

15 De anti-oxydant samenstelling van Japanse octrooi-aanvraag 63-79834 wordt verkregen door plantenzaden of kiemen daarvan zachtjes te verhitten om ze niet te verbranden, deze verhitte plantmaterialen te fermenteren door een micro-organisme toe te voegen, en daaraan een plantaardige
 20 olie toe te voegen die verkregen is van een plant die ook zachtjes verhit was. Eventueel wordt vitamine C, vitamine C-derivaten, of een plant die deze bevat aan de samenstelling toegevoegd.

Als plantenzaad wordt een zaad gebruikt dat anti-
 25 oxydantia bevat, zoals bovengenoemde flavonoïden, polyfenolen, tanninen, tocofenolen, vitamine B1 en dergelijke, waaronder rijst, tarwe, gerst, sojabonen, adzukibonen, maïs, parelgerst (hatomugi), erwten. Als plantaardige olie wordt sesamololie, sojabonenuolie, katoenzaadolie, maïsolie,
 30 saffloerolie, sleutelbloemolie, rijstzemelolie, koolzaadolie, olijfolie en dergelijke gebruikt.

Het plantaardige voedingsmiddel van het octrooi 1.366.268 heeft een lage anti-oxyderende activiteit, hetgeen veroorzaakt wordt door de wijze waarop het ruwe
 35 plantaardige materiaal wordt verwerkt.

De anti-oxyderende samenstelling van Niwa, Japanse octrooiaanvraag 63-79834, verhielp dit probleem door het op

verrassende wijze verhogen van de activiteit van de anti-oxydantia, door het ruwe plantaardige materiaal zachtjes te verhitten zodanig dat het niet verbrand wordt, met straling uit het verre infrarood gebied, waardoor de deactivatie van anti-oxydantia door hoge temperatuur voorkomen wordt, het
5 vrijmaken en omzetten van het ruwe materiaal tot de effectieve verbindingen met een laag molecuulgewicht, en door het zo behandelde materiaal te fermenteren om een verdere vrijgave en omzetting in de effectieve verbindingen met een
10 laag molecuulgewicht te verkrijgen.

Er is echter gebleken dat, hoewel bovengenoemde anti-oxyderende samenstelling de produktie van reactieve zuurstof en lipideperoxyde in vitro aanmerkelijk onderdrukt, deze anti-oxyderende activiteiten in het menselijk
15 lichaam niet voldoende optreden.

Er wordt overwogen dat het, om ervoor te zorgen dat de anti-oxydantia binnen de cellen terecht komen die leiden aan een ziekte zoals een ontstekingsreactie of iets dergelijks als gevolg van reactieve zuurstof en lipideperoxyde, het nodig is dat de anti-oxydantia de celmembranen
20 die de buitenkanten van de cellen omhullen passeren. De celmembraan van de mens bevat veel olie- en vet-bestanddelen, en heeft derhalve de eigenschap dat alleen olieachtige verbindingen worden doorgelaten, zodat de bovengenoemde anti-oxydant samenstelling, die een laag gehalte aan
25 olieachtige verbindingen heeft, moeilijk door de celmembraan kan passeren om de binnenzijde van de cel te bereiken.

Er is onderzoek uitgevoerd om het vermogen van de anti-oxydant samenstelling om de celmembraan te passeren te verbeteren, en tegelijkertijd de keuze van plantensoorten als uitgangsmateriaal en de werkwijze voor de behandeling daarvan te verbeteren. Derhalve is een oliesamenstelling verkregen waarin de activiteit van de anti-oxydantia als
30 effectieve bestanddelen hoog is, en waarvan het doordringend vermogen naar de binnenkant van de cel die lijdt aan

een ziekte hoog is, waardoor de onderhavige uitvinding wordt voltooid.

Het is een doel van de onderhavige uitvinding om een oliesamenstelling te verschaffen en een werkwijze voor de bereiding daarvan, waarbij de activiteit van de anti-oxydantia als effectieve verbindingen hoog is, en het doordringend vermogen naar de binnenkant van de cel op een zieke plek eveneens hoog is.

De werkwijze voor de bereiding van de oliesamenstelling van de onderhavige uitvinding omvat: het verhitten van rijstkiemen en/of tarwekiemen, en sojabonen bij een temperatuur niet hoger dan 100°C, het toevoegen van koji aan het verhitte materiaal, het fermenteren van het mengsel, het verpoederen van het mengsel, en het toevoegen van het verkregen verpoederde mengsel aan een oliemengsel, dat een olie omvat die verkregen is uit sesam dat verhit is tot een temperatuur van niet hoger dan 100°C en een olie verkregen uit ruwe sesam, waarbij de verhouding van het oliemengsel tot de totale hoeveelheid van het poedermengsel en het oliemengsel 60 tot 95 gew.% is.

Als ruw materiaal dat de anti-oxydantia in grote mate bevat kunnen naast rijstkiemen, tarwekiemen en sojabonen de plantensoorten worden genoemd die beschreven zijn in de japanse niet onderzochte ter inzage gelegde octrooiaanvraag 63-79834, dat wil zeggen gerst, adzukibonen, maïs, parelgerst (hatomugi), erwten en dergelijke, maar uit onderzoek is gebleken dat rijstkiemen, tarwekiemen en sojabonen de ruwe materialen zijn die de meeste voorkeur hebben. Naast rijstkiemen, tarwekiemen en sojabonen kunnen rijstzemelen, parelgerst (hatomugi) en tarwe genoemd worden. Daarom kan als ruw materiaal tenminste één materiaal gekozen uit rijstzemelen, parelgerst (hatomugi) en tarwe opgenomen worden samen met rijstkiemen en/of tarwekiemen. In ieder geval is de verhouding van de kiemen (rijstkiemen en/of tarwekiemen) in het ruwe graanmateriaal bij voorkeur tenminste meer dan of gelijk aan één gew.%.

De anti-oxydantia die aanwezig zijn in het ruwe graanmateriaal dat hierboven is beschreven, vormen samen met andere verbindingen een gecompliceerde macromoleculaire polymeerstructuur, en heeft derhalve geen activiteit zoals
5 het aanwezig is, zodat het nodig is om de bindingen die het macromolecuul bijeen houden te breken door middel van zacht verhitten of iets dergelijks, waardoor anti-oxydantia met een laag molecuulgewicht worden vrijgemaakt. Als de verwarmings temperatuur echter te hoog is, worden de anti-oxydan-
10 tia met een laag molecuulgewicht gedeactiveerd, zodat het nodig is om bij het kiezen van de verwarmingsomstandigheden met dit feit rekening te houden.

Om hiermee rekening te houden is het nodig dat het ruwe tarwemateriaal verhit wordt bij een temperatuur die
15 niet hoger is dan 100°C, waarbij langzaam en gedurende een voldoende tijd wordt verhit. In detail wordt het ruwe graanmateriaal in een vat gebracht is dat uit keramisch materiaal zoals aardewerk of iets dergelijks vervaardigd is dat straalt met infrarode stralen uit het verroodgebied,
20 die bij voorkeur een golflengte hebben van 4 tot 14 μm , terwijl het verwarmen wordt uitgevoerd onder langzaam roeren waarbij de temperatuur op ongeveer 90 tot 96°C wordt gehouden.

De verwarmingstijd varieert afhankelijk van de
25 soorten granen, zodat deze niet zonder meer gesteld kan worden, maar deze is bij voorkeur van ongeveer 30 min tot 3 uur. Overigens is de verwarmingswerkwijze niet beperkt tot de bovengenoemde werkwijze, onder het voorbehoud dat de anti-oxydantia in het ruwe graanmateriaal voldoende worden
30 vrijgemaakt in de vorm van laag moleculaire verbindingen, terwijl de deactivering daarvan wordt voorkomen.

Na de bovenbeschreven warmtebehandeling wordt koji (*Aspergillus orizae*) aan het ruwe materiaal toegevoegd om het te fermenteren. Het fermenteren wordt bij voorkeur
35 uitgevoerd bij 20 tot 36° gedurende ongeveer 2 tot 6 dagen. Als het fermenteren wordt uitgevoerd in een fermentator, is ongeveer 2 tot 3 uur voldoende. Het fermenteren wordt

uitgevoerd om het vrijmaken en omzetten in verbindingen met een laag molecuulgewicht van de anti-oxydantia in het ruwe graanmateriaal te bevorderen, en door deze fermentatiestap kan de activiteit van de anti-oxyderende samenstelling
5 aanzienlijk verhoogd worden in vergelijking met ruw materiaal dat alleen onderworpen is aan warmtebehandeling.

Vervolgens wordt het gefermenteerde materiaal gemalen om het om te zetten in een fijn poeder. Het malen kan worden uitgevoerd met een commercieel verkrijgbare
10 maalinrichting. Sommige typen maalinrichtingen genereren echter hoge temperaturen gedurende het gebruik, waardoor de anti-oxydantia worden gedeactiveerd. Het heeft derhalve de voorkeur om die maalinrichtingen te gebruiken waarbij geen hoge temperatuur wordt gegenereerd bij gebruik. Een steen-
15 molen kan bijvoorbeeld worden gebruikt.

Vervolgens wordt de olie bereid door het mengen van een olie die verkregen is uit hete sesam (waarna hierna verwezen zal worden als sesampastaolie) met een olie verkregen uit ruwe sesam, in een geschikte verhouding, en
20 het bovengenoemde fijne poeder wordt aan het oliemengsel toegevoegd. De sesampastaolie is een olie die verkregen wordt door ruwe sesam te verhitten bij een temperatuur van niet boven 100 °C, langzaam en gedurende voldoende tijd, en het te malen en uit te persen, maar de fijne vaste bestand-
25 delen die gevormd worden door het malen van de sesam blijven zoals ze zijn, zodat het produkt er uitziet als een pasta. Deze sesampastaolie bevat de laagmoleculaire anti-oxydantia in hoge concentratie, en door het te gebruiken is het mogelijk om de oliesamenstelling met een hoge activi-
30 teit van de anti-oxydantia te verkrijgen.

Deze sesampastaolie heeft echter een hoge viscositeit, en de grootte van een oliedruppel is ook groot, zodat de samenstelling waarin alleen de sesampastaolie gemengd wordt met het bovenbeschreven fijne poeder een slecht
35 doordringend vermogen in de binnenkanten van cellen in een ziek gedeelte heeft. Als sesamolie verkregen uit ruwe sesam aan de sesampastaolie wordt toegevoegd, kan de druppel-

grootte klein zijn, en het doordringend vermogen in de binnenkanten van de cellen in een ziek gedeelte wordt verbeterd.

De olie die gewonnen wordt uit ruwe sesam is een
5 olie die verkregen wordt door ruwe sesam te malen en uit te persen, en de vaste bestanddelen te verwijderen, en deze is commercieel verkrijgbaar als een gewone sesamolie. Omdat de mengverhouding van de sesampastaolie tot de gewone sesamolie ook verschilt afhankelijk van de hoeveelheid toe te
10 voegen fijn poeder kan deze niet voor alle gevallen worden gedefinieerd. De mengverhouding is bij voorkeur 1 tot 3 gew. delen van de gewone sesamolie per gew. deel sesampastaolie. De verhouding van het oliemengsel tot het fijne poeder dat daaraan wordt toegevoegd is zodanig dat de
15 gemengde olie 60 tot 95 gew.% van het totaal van beide uitmaakt. Als het oliemengsel minder dan 60 gew.% uitmaakt, is het vermogen om door de celmembraam te passeren klein. Aan de andere kant, als het oliemengsel meer dan 95 gew.% uitmaakt, is de concentratie anti-oxydantia als effectieve
20 verbindingen laag, zodat het effect van het onderdrukken van de produktie van reactieve zuurstof en een lipideperoxyde ook daalt.

De oliesamenstelling van de onderhavige uitvinding, die oraal wordt toegediend, kan bereid worden door
25 het fijne poeder aan het oliemengsel toe te voegen door het geheel zodra het oliemengsel bereid is op te sluiten in een gelatinecapsule of iets dergelijks. Men kan het materiaalmengsel voor het insluiten echter bij voorkeur gedurende ongeveer 3 tot 30 dagen bij 20 tot 35°C, meer bij voorkeur
30 bij 28 tot 30°C gedurende ongeveer 1 week, laten rijpen.

Door het mengsel te laten rijpen wordt het vrijmaken en omzetten in laag moleculaire verbindingen van de anti-oxydantia verder bevorderd, omdat de koji achterblijft in het fijne poeder, en de anti-oxydantia hechten zich goed
35 aan het oliemengsel, zodat de activiteit en het osmotisch vermogen naar de binnenzijde van de cellen van de reactieve verbindingen verder wordt verbeterd.

De oliesamenstelling van de onderhavige uitvinding kan ook een ruw graanmateriaal omvatten, bestaande uit rijstkiemen of tarwekiemen en sojabonen, en eventueel tenminste één produkt gekozen uit rijstzemelen, parelgerst
5 of tarwe, dat als zodanig vermalen wordt tot een fijn poeder zonder het te verhitten en te fermenteren, en samen met het hierboven beschreven fijne poeder dat verhit en gefermenteerd is aan het oliemengsel wordt toegevoegd.

In het fijne poeder van het ruwe graanmateriaal
10 dat niet verhit en gefermenteerd is, zijn de anti-oxydantia als effectieve verbindingen niet vrijgemaakt en omgezet in verbindingen met een laag molecuulgewicht. Als het aan het oliemengsel wordt toegevoegd samen met fijn poeder dat verhit en gefermenteerd is, zet het vrijkomen en omzetten
15 in verbindingen met een laag molecuulgewicht van de anti-oxydantia zich echter zelfs na inkapselen voort, als gevolg van het feit dat de koji in het gefermenteerde fijne poeder is achtergebleven, zodat er het voordeel optreedt dat het effect van het onderdrukken van de produktie van reactieve-
20 zuurstof en lipideperoxyde gedurende een lange periode wordt behouden.

In tegenstelling daarmee worden in de oliesamenstelling waarin alleen verhit en gefermenteerd fijn poeder wordt gebruikt, als gevolg van enzymreacties en dergelijke,
25 die voortdurend doorgaan, zelfs na inkapselen, de anti-oxyderende samenstellingen als effectieve bestanddelen geleidelijk ontleed, zodat de effectieve periode kort is in vergelijking met de samenstelling waarin het niet behandelde fijne poeder wordt toegevoegd.

30 Als echter de hoeveelheid niet behandeld fijn poeder te groot is, daalt de activiteit van het effectieve bestanddeel. Daarom heeft het de voorkeur dat het niet behandelde fijne poeder ongeveer 0,5 tot 1 gew. deel uitmaakt per gew. deel van het verwarmde en gefermenteerde
35 fijne poeder. Overigens is ook als twee typen fijn poeder worden opgenomen, de hoeveelheid van het oliemengsel 60 tot 95 gew.% van de totale hoeveelheid van poeder en oliemengsel.

In de zo verkregen oliesamenstelling volgens de onderhavige uitvinding, zijn zowel de activiteit van de anti-oxydantia als het osmotisch vermogen om in de cellen te kunnen komen hoog, en, zoals ook blijkt uit de resultaten van de klinische testen die hierna zullen worden beschreven, vertoont het verrassende effecten tegen verscheidene ontstekingen en chronische ziekten, waarbij conventionele ontstekingswerende middelen onvoldoende therapeutisch effect hebben kunnen verkrijgen.

De oliesamenstelling van de onderhavige uitvinding kan opgenomen worden in gelatinecapsules of iets dergelijks, en oraal als geneesmiddel worden toegediend. Bovendien kan, in geval van abnormale pigmentatie zoals dermatitis, chloasma, sproeten en dergelijke of rimpels en dergelijke, de olie direct op een aangedaan gedeelte worden aangebracht. Behalve bij dermatitis en dergelijke kan de oliesamenstelling gebruikt worden bij verouderingsverschijnselen en chronische ziekten zoals chronische arthrose, thrombophlebitis, voortschrijdende systemische scleroma, de ziekte van Buerger, de ziekte van Raynaud, hardnekkige huidulcers en dergelijke. De samenstelling van de uitvinding kan ook worden gebruikt bij de behandeling en prementie van verscheidene andere door vervuiling veroorzaakte ziekten, brandwonden, oppervlakkige wonden, vermoeidheid, nadelige gevolgen van overmatig alcoholgebruik, constipatie en dergelijke.

Bovendien gaat het gebruik van de oliesamenstelling van de onderhavige uitvinding niet gepaard met bijwerkingen, omdat alleen graan, koji en sesam als uitgangsmateriaal wordt gebruikt, zodat het mogelijk is om de samenstelling als gezondheidsvoedsel te gebruiken voor het onderhouden en vergroten van de gezondheid. Het is niet nodig om te zeggen dat het bij het bereiden van een samenstelling eventueel mogelijk is om andere geneesmiddelen of bestanddelen die bruikbaar zijn bij de gezondheid, zoals verscheidene vitaminen, mineralen en dergelijke toe te

voegen, evenals geurstoffen, smaakstoffen, kleurstoffen en dergelijke.

Voorbeeld

Van rijstkiemen, sojabonen, rijstzemelen, hatomugi
5 (parelgerst) en tarwe werd van elk één deel in een vat
gebracht dat vervaardigd was uit aardewerk en infrarood-
stralen uit het verrodegebied emitteerde met een golflengte
van 4 tot 14 μm , en er werd gedurende 3 uur onder zachtjes
roeren om geen verbranding te veroorzaken verhit bij 90 tot
10 96°C. Vervolgens werd koji toegevoegd in een hoeveelheid
van 3% van de totale hoeveelheid, en er werd gedurende 72
uur bij 36 tot 40°C gefermenteerd, waarna het gefermenteer-
de materiaal verwerkt werd tot een fijn poeder met behulp
van een steenmolen. Bovendien werden bovengenoemde vijf
15 soorten graanmaterialen in ruwe vorm, in niet verwarmde en
gefermenteerde toestand met een steenmolen gemalen om
eenzelfde hoeveelheid fijn poeder te verkrijgen. Verder
werd sesam verhit op dezelfde wijze als de bovengenoemde
materialen, en nadat het met een steenmolen gemalen was,
20 uitgeperst om een sesampastaolie te verkrijgen.

Vervolgens werd 28,1 gew. delen sesampastaolie
gemengd met 48,9 gew. delen van een commercieel verkrijg-
bare sesamolie, aan welk mengsel 11,5 gew. delen van het
verhitte en gefermenteerde fijne poeder en 11,5 gew. delen
25 van het niet behandelde fijne poeder werden toegevoegd, en
het resulterend mengsel werd homogeen geroerd. Men liet het
mengsel gedurende één week bij 28°C rijpen, om een oliesa-
menstelling te verkrijgen, die vervolgens in gelatinecapsu-
les werd gebracht.

30 Effect van de uitvinding

[I] In vitro test

(1) Voor een in vitro test van het vermogen om op
olieachtige plekken aan te komen en daarin door te dringen,
werd de oliesamenstelling van de uitvinding toegevoegd aan
35 een TBA (thiobarbituurzuur) reactiesysteem, waarin een
olieachtig onverzadigd vetzuur (decosahexaanzuur) reageerde

met reactieve zuurstof die door ultra-violette straling was gegenereerd, waardoor lipideperoxyde ontstond, en de mate van onderdrukken van de produktie van lipideperoxyde werd bepaald.

- 5 Aan 0,1 ml decosahexaanzuur dat 100 keer werd verdund, werd 1,8 mg/ml van het testmonster van de oliesamenstelling van de onderhavige uitvinding toegevoegd, en de hoeveelheid geproduceerd lipideperoxyde werd bepaald met de TBA reactie. Bij de TBA reactie werd 0,2 ml 7 % natriumdo-
- 10 decylsulfaat, 2 ml 0,1 N HCl, en 0,3 ml fosforwolfraamzuur gemengd, waarna 1,8 mg/ml van het testmonster werd toegevoegd aan het mengsel, waarna 1 ml van een reagens waarin 0,67 % TBA gemengd was met azijnzuur in een verhouding van 1:1 werd toegevoegd, en de bepaling werd uitgevoerd met
- 15 excitatie bij 515 nm en emissie bij 553 nm onder toepassing van een fluorescentiespectrofotometer.

- Als vergelijkende voorbeelden werden op dezelfde wijze bepalingen uitgevoerd met het plantaardig nutrient van het Japanse octrooi 1.366.268 (vergelijkend voorbeeld
- 20 1) en de anti-oxydant samenstelling beschreven in de Japanse niet onderzochte ter inzage gelegde octrooiaanvraag 63-79834 (vergelijkend voorbeeld 2). Resultaten zijn weergegeven in tabel 1.

Tabel 1

25	Testmonster	Gemiddelde (waarde na 6 minuten)
	Controle (UV+)	461 ± 62
	Oliesamenstelling volgens de uitvinding (1,8 mg/ml)	121 ± 13 ***
	Vergelijkend voorbeeld 1 (1,8 mg/ml)	271 ± 34 **
	Vergelijkend voorbeeld 2 (1,8 mg/ml)	358 ± 45 *

- 30 UV+ : ultraviolette straling
- * : 0,01 < P < 0,05 (v.s. controle)
- ** : P < 0,01 (v.s. controle)
- *** : P < 0,0001 (v.s. controle)

Testresultaten

Hoewel elk van de onderzochte monsters de generering van het lipideperoxyde (met TBA reagerende verbindingen) uit het onverzadigde vetzuur (decosahexaanzuur) door bestraling met ultraviolette straling ($^1\text{O}_2$) onderdrukte, onderdrukte de oliesamenstelling van de onderhavige uitvinding deze generering aanzienlijk ($P < 0,0001$). Dit resultaat bevestigt het feit dat de oliesamenstelling van de onderhavige uitvinding een hogere activiteit wat betreft de anti-oxydantia heeft, en een hoger penetrerend vermogen naar de binnenzijde van de cel waarin een ziekte plaatsvindt, dan de conventionele samenstellingen (vergelijkende voorbeelden 1 en 2).

(2) Er werd een $[3,4 -^3\text{H}_2]$ anti-oxydant samenstelling bereid waarin de anti-oxydantia met een laag moleculgewicht die aanwezig zijn in de oliesamenstelling van de onderhavige uitvinding gemerkt werden met het isotoop (^3H), in een testbuis werd gebracht die humaan weefsel bevatte, en de hoeveelheid (cpm) van $[^3\text{H}_2]$ die aan de celmembraan daarvan gebonden was werd bepaald met een scintillatieteller, waarmee het vermogen om de celmembraan te bereiken werd onderzocht (gemerkt getritieerd thymidine was 2 Ci/mM).

Dezelfde proeven werden ook uitgevoerd voor de vergelijkende voorbeelden 1 en 2. De resultaten zijn weergegeven in tabel 2. Zoals blijkt uit tabel 2 had de oliesamenstelling van de onderhavige uitvinding de hoogste affiniteit voor de celmembraan in vergelijking met vergelijkende voorbeelden 1 en 2.

Tabel 2

Testmonster	cpm incorporation
Controle	15643 cpm/ 10^3 cellen
Oliesamenstelling van de onderhavige uitvinding (1,8 mg/ml)	56372 cpm / 10^3 cellen
Vergelijkend voorbeeld 1 (1,8 mg/ml)	33451 cpm/ 10^3 cellen
Vergelijkend voorbeeld 2 (1,8 mg/ml)	30567 cpm/ 10^3 cellen

9301083

(3) De oliesamenstelling van de onderhavige uitvinding werd onderworpen aan een ultrasone behandeling en toegevoegd aan een reactieve zuurstof genererend systeem (neutrofiele en xantine-xantine oxydase) zodat de naar een
5 levend lichaam omgerekende concentratie 1,6 mg/ml werd, en de drie typen reactieve zuurstof (O_2^- , H_2O_2 en $OH^\bullet$) werden bepaald in vergelijking met de situatie als er niets was toegevoegd (controle). De concentratie omgerekend naar een
10 levend lichaam is een hoeveelheid waarvan aangenomen wordt dat deze in het bloed aanwezig is wanneer een gebruikelijke dagelijkse dosis (9 g in geval van de oliesamenstelling van de onderhavige uitvinding) in een levend lichaam wordt opgenomen.

De bepalingmethode voor de drie typen reactieve
15 zuurstof zijn als volgt.

Voor de bepaling van O_2^- werd de hoeveelheid reductie van ferri-cytochroom C door O_2^- bepaald bij een golflengte van 550 nm met een Beckman spectrofotometer, en omgerekend tot de hoeveelheid O_2^- .

20 Voor de bepaling van H_2O_2 werd gebruik gemaakt van het feit dat H_2O_2 de fluorescentie die door scopoletine in aanwezigheid van peroxydase gegenereerd wordt vermindert, door gebruik te maken van scopoletine en peroxydase, waarbij de afname van de fluorescentie van scopoletine
25 bepaald werd met een fluorescentiespectrofotometer van Hitachi Ltd. met een excitatie bij 370 nm en een emissie bij 460 nm.

Voor de bepaling van $OH^\bullet$ werd gebruik gemaakt van het feit dat α -keto-methiol-butaanzuur (KMB) reageert met
30 $OH^\bullet$ onder vorming van etheengas, waarbij de werkwijze inhield dat de hoeveelheid etheengas gequantificeerd werd met een gaschromatogram gemaakt door een gaschromatograaf van Hitachi Ltd. en de hoeveelheid etheen teruggerekend werd naar de hoeveelheid $OH^\bullet$. Dezelfde proeven werden ook
35 uitgevoerd voor de vergelijkende voorbeelden 1 en 2. De resultaten zijn weergegeven in tabel 3.

Tabel 3

Testmonster	Reactieve Zuurstof		
	O_2^-	H_2O_2	OH^+
Controle	1,532 nmol	485 pmol	854 pmol
Oliesamenstelling van de uitvinding (1,8 mg/ml)	0,589 nmol	161 pmol	283 pmol
Vergelijkend voorbeeld 1 (1,8 mg/ml)	1,285 nmol	403 pmol	707 pmol
Vergelijkend voorbeeld 2 (1,8 mg/ml)	0,231 nmol	538 pmol	108 pmol

10 Testresultaten:

De anti-oxyderende werking van de oliesamenstelling van de onderhavige uitvinding was iets minder dan die van vergelijkend voorbeeld 2, maar hoger dan die van vergelijkend voorbeeld 1. Zoals echter blijkt uit tabellen 1 en 2 bevat vergelijkend voorbeeld 2 een geringere hoeveelheid olieachtige verbindingen, zodat het een slecht vermogen heeft om de cel te bereiken waarin de ziekte plaatsvindt.

Derhalve is, over het geheel bekeken, de oliesamenstelling van de onderhavige uitvinding, waarvan het antioxyderend werking hoog is en het vermogen om te penetreren naar de binnenzijde van de cel van een ziek gedeelte het hoogst is, het meest geschikt als anti-oxyderend middel.

25 [II] Klinische proef

Het therapeutische effect werd bestudeerd bij 96 patiënten met autoimmuunziekten collageenziekten zoals chronische arthrose, hemasthenose, nefritis, hepatocirrose, chloasma, sproeten en dergelijke, die tot nu toe niet gereageerd hebben of verergerd werden bij gebruik van niet steroïde antiphlogistische geneesmiddelen, steroïden en de anti-oxydant samenstelling van vergelijkend voorbeeld 2. De resultaten zijn weergegeven in tabel 4.

Tabel 4

Ziekte	Testmonster		
	Oliesamenstelling van de uitvinding (1,8 mg/ml)	Vergelijkend voorbeeld 1 (1,8 mg/ml)	Vergelijkend voorbeeld 2 (1,8 mg/ml)
Chronische arthrose	13/18 (72%)	0/7 (0%)	4/14 (28%)
Angiitis	3/5 (60%)	0/3 (0%)	1/4 (25%)
Voortschrijdende systemische sclerose	9/12 (75%)	2/10 (20%)	6/12 (50%)
Dermatomyositis	6/8 (75%)	2/12 (16%)	6/13 (46%)
Thrombophlebitis	2/3 (66%)	0/4 (0%)	1/5 (20%)
Ziekte van Buerger	6/8 (75%)	0/3 (0%)	3/6 (50%)
Ziekte van Raynaud	10/12 (83%)	3/8 (37%)	7/12 (58%)
Crus varicosus	8/11 (72%)	4/9 (44%)	11/15 (73%)
Hardnekkige huidulcers	3/5 (60%)	1/5 (20%)	2/6 (33%)
Chloasma, sproeten	11/14 (78%)	4/12 (33%)	17/25 (68%)

C O N C L U S I E S

1. Oliesamenstelling verkregen door het verhitten van een ruw graanmateriaal dat rijstkiemen en/of tarwekiemen en sojabonen omvat bij een temperatuur van niet hoger dan 100°C, het verwerken van het verhitte materiaal tot een fijn poeder, het toevoegen van koji aan het verpoederde materiaal en het fermenteren van het verpoederde materiaal, en het toevoegen van het zo gefermenteerde materiaal aan een oliemengsel dat een pastaolie omvat verkregen uit sesam verhit bij een temperatuur van niet hoger dan 100°C en een olie verkregen uit ruwe sesam, waarbij de verhouding van dit oliemengsel tot de totale hoeveelheid van het fijne poeder en het oliemengsel 60 tot 95 gew.% is.

2. Oliesamenstelling volgens conclusie 1, die verder een ruw graanmateriaal omvat dat rijstkiemen en/of tarwekiemen en sojabonen omvat, die tot een fijn poeder zijn verwerkt zonder verhitten en fermenteren.

3. Oliesamenstelling volgens conclusie 1 of 2, waarbij het verhitte of niet verhitte ruwe graanmateriaal naast rijstkiemen en/of tarwekiemen en sojabonen tenminste één materiaal bevat gekozen uit rijstzemelen, parelgerst (hatomugi), of tarwe.

4. Oliesamenstelling volgens conclusie 1 of 2 die ingekapseld is om oraal te worden toegediend in de vorm van een geneesmiddel of een gezondheidsvoedingsmiddel.

5. Werkwijze voor de bereiding van een oliesamenstelling waarin het ruwe graanmateriaal dat gebruikt wordt

in conclusies 1, 2 of 3 verhit wordt met verrode infrarode straling met een golflengte van 4 tot 14 μm .

6. Werkwijze voor het bereiden van een oliesamenstelling waarin het ruwe graanmateriaal volgens conclusie 5 1, 2 of 3 gefermenteerd wordt bij 20 tot 36°C gedurende 2 tot 6 dagen na de behandeling met warmte.

7. Werkwijze voor de bereiding van een oliesamenstelling waarin het fijne poeder volgens conclusie 1, 2 of 3 aan het oliemengsel wordt toegevoegd, en daarna gedurende 10 3 tot 30 dagen bij 20 tot 35°C wordt gerijpt.