I830917

(19)中華民國智慧財產局

(12)發明說明書公告本 **(11)證書號數：TW I830917 B**

(45)公告日： 中華民國 113 (2024) 年 02 月 01 日

(21)申請案號：109116941 (22)申請日： 中華民國 109 (2020) 年 05 月 21 日

(51)Int. Cl.： ***A61K31/05 (2006.01)*** ***A61P1/16 (2006.01)***

(30)優先權：2019/05/22 日本 2019-095658

(71)申請人：日商日東富士製粉股份有限公司 (日本) NITTO FUJI FLOUR MILLING CO., LTD. (JP)
日本

(72)發明人：高木陽平 TAKAGI, YOUHEI (JP) ；平賀由水香 HIRAGA, YUMIKA (JP) ；今井伸二郎 IMAI, SHINJIRO (JP) ；倉科瑛衣 KURASHINA, AKIE (JP) ；高柳雅義 TAKAYANAGI, MASAYOSHI (JP) ；佐佐木康人 SASAKI, YASUTO (JP) ；大島秀男 OSHIMA, HIDEO (JP) ；小泉武嗣 KOIZUMI, TAKESHI (JP)

(74)代理人：洪武雄；陳昭誠

(56)參考文獻：

JP 2014-139166A WO 2015/193962A1

期刊 Katsutaka Oishi, et al. " Wheat Alkylresorcinols Suppress High-Fat, High-Sucrose Diet-Induced Obesity and Glucose Intolerance by Increasing Insulin Sensitivity and Cholesterol Excretion in Male Mice." The Journal of Nutrition, 145(2), February 2015, 199-206.

審查人員：唐韶璞

申請專利範圍項數：9 項 圖式數：9 共 38 頁

(54)名稱

源自植物之間苯二酚性脂質之用於調製肝炎症狀改善用組成物的用途

(57)摘要

本發明係利用源自植物之間苯二酚性油脂而提供一種肝臟功能改善用組成物，其係例如有用於非酒精性肝炎的症狀改善。

作為肝臟功能改善用組成物的有效成分，係使用源自植物之間苯二酚性脂質。間苯二酚性脂質較佳為烷基間苯二酚。再者，較佳為源自禾本科植物。再者，較佳為源自小麥及/或裸麥的麩糠類及/或全穀粒。此肝臟功能改善用組成物特別地適合使用於非酒精性肝炎的症狀改善。

The present invention provides compositions for improving liver functions by using resorcinol oil and fat originated from plants, and the compositions are useful in the improvement of non-alcoholic hepatitis syndromes.

As the active ingredient in the compositions for improving live functions, resorcinol lipids originated from plants are used. Resorcinol lipids is preferably alkyl resorcinol. Moreover, it is preferably grass family originated. Moreover, it is preferably originated from bran and/or whole-grain of wheat and/or rye. The compositions for improving live functions are particularly suitable for the improvement of non-alcoholic hepatitis syndromes.

公告本

第 109116941 號專利申請案
112 年 10 月 6 日修正替換頁

I830917

【發明摘要】

【中文發明名稱】 源自植物之間苯二酚性脂質之用於調製肝炎症狀改善用組成物的用途

【英文發明名稱】 USE OF RESORCINOL OIL AND FAT ORIGINATED FROM PLANTS FOR PREPARING COMPOSITIONS FOR IMPROVING HEPATITIS SYNDROMES

【中文】

本發明係利用源自植物之間苯二酚性油脂而提供一種肝臟功能改善用組成物，其係例如有用於非酒精性肝炎的症狀改善。

作為肝臟功能改善用組成物的有效成分，係使用源自植物之間苯二酚性脂質。間苯二酚性脂質較佳為烷基間苯二酚。再者，較佳為源自禾本科植物。再者，較佳為源自小麥及/或裸麥的麩糠類及/或全穀粒。此肝臟功能改善用組成物特別地適合使用於非酒精性肝炎的症狀改善。

【英文】

The present invention provides compositions for improving liver functions by using resorcinol oil and fat originated from plants, and the compositions are useful in the improvement of non-alcoholic hepatitis syndromes.

As the active ingredient in the compositions for improving live functions, resorcinol lipids originated from plants are used. Resorcinol lipids is preferably alkyl resorcinol. Moreover, it is preferably grass family originated. Moreover, it is preferably originated from bran and/or whole-grain of wheat and/or rye. The compositions for improving live functions are particularly suitable for the improvement of non-alcoholic hepatitis syndromes .

【指定代表圖】　　無

【代表圖之符號簡單說明】

無

【特徵化學式】

無

第 109116941 號專利申請案
112 年 10 月 6 日修正替換頁

【發明說明書】

【中文發明名稱】 源自植物之間苯二酚性脂質之用於調製肝炎症狀改善用組成物的用途

【英文發明名稱】 USE OF RESORCINOL OIL AND FAT ORIGINATED FROM PLANTS FOR PREPARING COMPOSITIONS FOR IMPROVING HEPATITIS SYNDROMES

【技術領域】

【0001】 本發明係關於利用源自植物成分的肝臟功能改善用組成物。

【先前技術】

【0002】 間苯二酚性脂質為於間苯二酚(1,3—二羥基苯)的芳香環的2位、4位、5位、及/或6位具有烷基而成的親油性物質。天然中，多數包含於禾本科植物的種子，特別是其外皮(麩)、銀杏葉、腰果殼油等。近年來，關於該間苯二酚性脂質，例如，有口腔用抗菌、免疫抑制、抗糖尿病、抗炎症、腸內菌叢調整、抗膽固醇、抗肥胖、睡眠改善、老化抑制、晝夜節律調整等，對於人類之各種功能性的報告 (例如，專利文獻1至10)。

[先前技術文獻]

[專利文獻]

【0003】

[專利文獻1]日本特許第2613474號公報

[專利文獻2]日本特開2013-091612號公報

[專利文獻3]日本特許2014-139166號公報

[專利文獻4]日本特許2015-020993號公報

[專利文獻5]日本特許2015-218130號公報

[專利文獻6]日本特許2015-231986號公報

[專利文獻7]日本特許2016-132641號公報

[專利文獻8]日本特許2016-153387號公報

[專利文獻9]日本特許第5926616號公報

[專利文獻10]日本特許第5951448號公報

【發明內容】

[發明欲解決的問題]

【0004】 然而，以往，未有源自植物之間苯二酚性油脂改善肝功能的功效的報導。

【0005】 本發明的目的，係利用源自植物之間苯二酚性油脂而提供一種肝臟功能改善用組成物，其係例如有用於非酒精性肝炎症狀的改善。

[解決問題之手段]

【0006】 為達成上述目的，本發明於第1觀點中，提供以源自植物之間苯二酚性脂質作為有效成分之肝臟功能改善用組成物。

【0007】 根據本發明之肝臟功能改善用組成物中，前述間苯二酚性脂質較佳為烷基間苯二酚。

【0008】 再者，此組成物中，前述間苯二酚性脂質較佳係源自禾本科植物。

【0009】 再者，此組成物中，前述間苯二酚性脂質較佳係源自小麥及/或裸麥的麩糠類及/或全穀粒。

【0010】 再者，此組成物中，該肝臟功能改善用組成物較佳係包含含有間苯二酚性脂質的植物的溶劑抽出物。

【0011】 再者，此組成物中，在該肝臟功能改善用組成物包含含有間苯二酚性脂質的植物的溶劑抽出物者的情況，前述溶劑較佳為乙醇及/或己烷。

【0012】 再者，此組成物中，該肝臟功能改善用組成物較佳係用於改善肝炎的症狀。

【0013】 再者，此組成物中，該肝臟功能改善用組成物較佳係用於改善非酒精性肝炎的症狀。

【0014】 再者，此組成物中，該肝臟功能改善用組成物較佳係用於抑制因非酒精性肝炎所致之肝臟的中性脂肪蓄積。

【0015】 再者，此組成物中，該肝臟功能改善用組成物較佳係被提供作為飲食品、食品添加物、醫藥品、補充品或動物飼料。

【0016】 為達成上述目的，本發明於第2觀點中，提供用於調製肝臟功能改善用組成物之源自植物之間苯二酚性油脂的用途。

【0017】 根據本發明之源自植物之間苯二酚性油脂的用途中，該間苯二酚性脂質較佳為烷基間苯二酚。

【0018】 再者，此用途中，前述間苯二酚性脂質較佳係源自禾本科植物。

【0019】 再者，此用途中，前述間苯二酚性脂質較佳係源自小麥及/或裸麥的麩糠類及/或全穀粒。

【0020】 再者，此用途中，前述肝臟功能改善用組成物較佳係包含含有間苯二酚性脂質的植物的溶劑抽出物。

【0021】 再者，此用途中，在前述肝臟功能改善用組成物包含含有間苯二酚性脂質的植物的溶劑抽出物者的情況，前述溶劑較佳為乙醇及/或己烷。

【0022】再者，此用途中，前述肝臟功能改善用組成物較佳係用於改善肝炎的症狀。

【0023】再者，此用途中，前述肝臟功能改善用組成物較佳係用於改善非酒精性肝炎的症狀。

【0024】再者，此用途中，前述肝臟功能改善用組成物較佳係用於抑制因非酒精性肝炎所致之肝臟的中性脂肪蓄積。

【0025】再者，此用途中，前述肝臟功能改善用組成物較佳係被提供作為飲食品、食品添加物、醫藥品、補充品或動物飼料。

[發明的效果]

【0026】根據本發明，可利用源自植物之間苯二酚性油脂而提供一種肝臟功能改善用組成物，其係例如有用於非酒精性肝炎症狀的改善。

【圖式簡單說明】

【0027】

圖1係顯示試驗例2中，各群的體重增加量的試驗期間中的經時變化的研究結果圖。

圖2係顯示試驗例2中，各群的飼料攝餌量的試驗期間中的經時變化的研究結果圖。

圖3係顯示試驗例3中，各群的AST值的試驗期間中的經時變化的研究結果圖。結果係以各群 (n＝5至6)之平均值與其標準偏差表示。再者，對於對照群(C群)以Dunnett 的多重比較檢定法求出統計上顯著差異，圖中「＊」顯示顯著水準 $p<0.05$有顯著差異。

圖4係顯示試驗例3中，各群的ALT值的試驗期間中的經時變化的研究結果圖。結果係以各群 (n＝5至6)之平均值與其標準偏差表示。再者，對於對照群(C群)以Dunnett 的多重比較檢定法求出統計上顯著差異，圖中「＊」顯示顯著水準p＜0.05有顯著差異。

圖5係顯示試驗例4中，各群的肝臟組織的中性脂肪量的研究結果圖。結果係以各群 (n＝5至6) 之平均值與其標準偏差表示。

圖6係顯示試驗例5中，各群的肝臟組織藉由HE染色的研究結果圖。

圖7係顯示試驗例6中，各群的肝臟組織中的PPAR γ 基因的表現量的研究結果圖。係以各群 (n＝5至6) 之平均值與其標準偏差表示。

圖8A係顯示試驗例7中，各群的肝臟組織中的PGC-1 α 基因的表現量的研究結果圖。結果係以各群 (n＝5至6)之平均值與其標準偏差表示。再者，對於對照群(C群)以Dunnett 的多重比較檢定法求出統計上顯著差異，圖中「＊」顯示顯著水準p＜0.05有顯著差異。

圖8B係顯示試驗例7中，各群的肝臟組織中的PPAR α 基因的表現量的研究結果圖。結果係以各群 (n＝5至6)之平均值與其標準偏差表示。再者，對於對照群(C群)以Dunnett 的多重比較檢定法求出統計上顯著差異，圖中「＊」顯示顯著水準p＜0.05有顯著差異。

圖8C係顯示試驗例7中，各群的肝臟組織中的脂聯素基因的表現量的研究結果圖。結果係以各群 (n＝5至6)之平均值與其標準偏差表示。再者，對於對照群(C群)以Dunnett 的多重比較檢定法求出統計上顯著差異，圖中「＊」顯示顯著水準p＜0.05有顯著差異。

圖9係顯示試驗例8中，關於各群的肝臟組織的細胞內粒線體數之經由對於基因體DNA量的量比的評價結果圖。結果係以各群 (n＝5至6)之平均值與其標準偏差表示。再者，對於對照群(C群)以Dunnett 的多重比較檢定法求出統計上顯著差異，圖中「＊」顯示顯著水準p＜0.05有顯著差異。

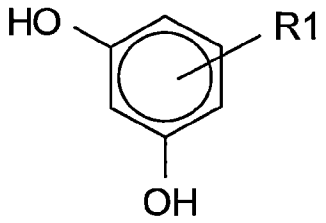
【實施方式】

【0028】 本發明中，係使用源自植物之間苯二酚性脂質，作為肝臟功能改善用組成物的有效成分。

【0029】 如上所述，間苯二酚性脂質為於間苯二酚(1,3-二羥基苯)的芳香環的2位、4位、5位、及/或6位具有烷基而成之親油性物質。天然中，常見於屬於漆樹科、銀杏科、山龍眼科、紫金牛科、報春花科、肉豆蔻科、鳶尾科、天南星科、豆科、禾本科等植物，菊科的艾草等。該等植物之中，由於小麥、裸麥等禾本科植物，其可食部分 (種子)包含比較豐富的間苯二酚性脂質，可適合使用作為本發明所使用的間苯二酚性脂質的原料體。例如，小麥、裸麥等的可食部分(種子)的麩糠類或全穀粒中，包含0.015至0.3質量%左右之下述式(I)所示烷基間苯二酚化合物。又，以小麥或裸麥作為原料之味噌等醱酵物等，亦可例示作為本發明所使用的間苯二酚性脂質的較佳原料體。

【0030】 作為本發明所使用的間苯二酚性脂質，典型地可列舉下述式(I)所示烷基間苯二酚化合物。

【0031】



(I)

【0032】 式(I)中，R1 表示飽和或不飽和的直鏈或分支鏈烷基。R1 所表示的烷基的碳數雖無限制，惟較佳為 1 至 27，再佳為 3 至 27，更佳為 5 至 27。

【0033】 式(I)中， R1 較佳為飽和或不飽和的直鏈烷基，再佳為飽和直鏈烷基。作為 R1 所表示的飽和直鏈烷基之例，可列舉甲基、n-丙基、n-戊基、n-庚機、n-壬基、n-十一基、n-十三基、n-十五基、n-十七基、n-十九基、n-二十一基、n-二十三基等。

【0034】 式(I)中，R1 所表示的不飽和直鏈烷基的不飽和鍵的位置或數，無特別限制。作為該不飽和直鏈烷基之例，可列舉於上述飽和直鏈烷基的碳鏈上的任意位置具有不飽和鍵的烷基。

【0035】 式(I)中，R1 所表示的飽和或不飽和的分支鏈烷基的分支位置或數，或者不飽和鍵的位置或數，無特別限制。

【0036】 作為上述式(I)化合物之較佳例，可列舉以下者。

【0037】 5-戊基間苯二酚[橄欖醇，或 1, 3-二羥基-5-n-戊基苯(C5：0)]

5-庚基間苯二酚[或 1, 3-二羥基-5-n-庚基苯(C7：0)]

5-壬基間苯二酚[或 1, 3-二羥基-5-n-壬基苯(C9：0)]

5-十一基間苯二酚[或 1, 3-二羥基-5-n-十一基苯(C11：0)]

5-十三基間苯二酚[或 1, 3-二羥基-5-n-十三基苯(C13：0)]

5-十五基間苯二酚[或 1, 3-二羥基-5-n-十五基苯(C15：0)]

5-十七基間苯二酚[或 1, 3-二羥基-5-n-十七基苯(C17：0)]

5-十九基間苯二酚[或 1, 3-二羥基-5-n-十九基苯(C19：0)]

5-二十一基間苯二酚[或 1, 3-二羥基-5-n-二十一基苯(C21：0)]

5-二十三基間苯二酚[或 1, 3-二羥基-5-n-二十三基苯(C23：0)]

5-二十五基間苯二酚[或 1, 3-二羥基-5-n-二十五基苯(C25：0)]

5-二十七基間苯二酚[或 1, 3-二羥基-5-n-二十七基苯(C27：0)]

【0038】 本發明所使用的源自植物之間苯二酚性脂質，例如，可使用市售品取得，或亦可使用由植物根據常法抽出。例如，上述式(I)化合物的市售品，可由 ReseaChem GmbH、SIGMA-ALDRICH 等購入。

【0039】 作為由植物的抽出方法，可列舉將上述原料體，於常壓或加壓下於室溫或經加溫的抽出溶劑中，必要時一邊攪拌一邊使其浸漬的方法或回流抽出方法等。上述原料體，於添加至抽出溶劑前，必要時亦可施行切斷、粉碎、壓搾、乾燥、或其等之組合。

【0040】 作為抽出溶劑，可列舉甲醇、乙醇、n-丙醇、異丙醇、n-丁醇等低級醇，或 1,3-丁二醇、丙二醇、甘油等多元醇等於室溫為液體的醇類；二乙基醚、丙基醚等醚類；乙酸丁酯、乙酸乙酯等酯類；丙酮、乙基甲基酮等酮類；己烷；以及氯仿等有機溶劑。該等溶劑可單獨使用，亦可組合 2 種以上使用。上述的溶劑中，由操作性及對於環境影響等方面而言，較佳使用於室溫為液體的醇類，例如碳原子數 1 至 4 的低級醇，由殘留溶劑的安全性的觀點而言，更佳使用乙醇。

【0041】 作為抽出溶劑，亦可進一步地包含於有機溶劑中含有水性成分的含水有機溶劑。由保持高的抽出效率的觀點而言，一般希望該含水有機溶劑中的水性成分的含量通常為 50 體積%以下，較佳為 30 體積%以下，再佳為 20 體積

%以下。作為含水有機溶劑可列舉下列者：較佳為上述方式之於室溫為液體的醇類中含有水性成分的含水醇，再佳為含水乙醇。

【0042】抽出用的溫度、時間等條件，可根據使用的抽出溶劑種類或抽出條件等而適宜設定，而以抽出溫度為 2 至 100℃、抽出時間為 30 分至 60 小時左右為較佳。相對於原料體 100 質量份，抽出溶劑的量較佳為 200 至 2000 質量份左右即可。再者，抽出處理之後，必要時亦可將包含抽出液與殘渣的混合物提供至過濾或離心分離等，以去除屬於殘渣之固形成分。再者，經去除之固形成分亦可再度被提供至使用抽出溶劑之抽出操作，此操作亦可重複數次。所獲得之抽出物，亦可施行液體層析法等，調製包含進一步地經精製的間苯二酚性脂質而成的抽出物。於以此方式進行精製之情況中，其精製度於任意的形態中，就上述之源自植物之間苯二酚性油脂的含量而言，例如，典型地可為 1 質量%以上的範圍，更典型地可為 5 質量%以上的範圍，再更典型地可為 10 質量%以上的範圍。再者，例如，典型地可為 100 質量%以下的範圍，更典型地可為 90 質量%以下的範圍，再更典型地可為 80 質量%以下的範圍。所獲得之抽出物，可直接，或必要時進一步地施行濃縮、凍結乾燥、熱風乾燥、粉碎、粉末化、分級、稀釋、加水混合等處理後，使用於本發明。

【0043】如後述的實施例所示，源自植物之間苯二酚性脂質，有肝臟功能改善的作用效果。本發明係基於間苯二酚性脂質的屬性，提供肝臟功能改善用組成物。又「肝功能」，例如，可列舉非酒精性肝炎、酒精性肝炎、病毒性肝炎等肝炎的症狀改善。再者，肝炎以外，可列舉非酒精性肝疾患、脂肪肝、肝硬化等肝疾患的症狀改善。惟，根據本發明之肝臟功能改善用組成物的適用，不限定為該等症狀者，亦可使用於廣泛地改善肝功能的目的。症狀是否受到改善，例如，

可藉由測定肝臟功能的一般性指標之血漿中的天冬胺酸胺基轉移酶(AST)值或丙胺酸胺基轉移酶(ALT)值，進行評價。

【0044】 根據本發明之肝臟功能改善用組成物的投予量，可根據適用的種類、症狀、年齡、性別等適宜變更。關於以人類為對象的情況的投予量，通常，上述之源自植物之間苯二酚性油脂可為成人每 1 人 1 日為 0.01 至 10g。該 1 日投予量可以 1 次投予，亦可分為數次投予。再者，更佳為可經口投予。又，適用對象不限定為人類，例如，亦可能適用於犬、貓等動物用。

【0045】 關於根據本發明之肝臟功能改善用組成物的形態，只要為可攝取上述之源自植物之間苯二酚性油脂的形態即可，無特別限制。例如，作為該形態，可為固形、半固形或液狀，或者可為錠劑、可嚼錠、粉劑、膠囊、顆粒、飲用劑、凝膠、糖漿、經管經腸營養用流動食等各種形態等。再者，例如，亦可為健康食品、機能性飲食品、特定保健用飲食品、病患用飲食品等飲食品、用於其之食品添加物、醫藥品、補充劑、家畜、賽馬、鑑賞動物、寵物等用之動物飼料等形態。亦即，作為各形態的一部分，可藉由使其含有上述之源自植物之間苯二酚性油脂，而形成為容易攝取的形態。另一方面，根據本發明之肝臟功能改善用組成物，亦可實質上由上述之源自植物之間苯二酚性油脂所構成。藉此，例如，於任意的形態中，作為上述之源自植物之間苯二酚性油脂的含量，例如，典型地可為 0.1 質量%以上的範圍，更典型地可為 0.5 質量%以上的範圍，再更典型地可為 1.0 質量%以上的範圍。再者，例如，典型地可為 100 質量%以下的範圍，更典型地可為 90 質量%以下的範圍，再更典型地可為 80 質量%以下的範圍。

【0046】 作為典型的醫藥品形態，例如，可列舉錠劑、膠囊劑、顆粒劑、散劑、糖漿劑、乾糖漿劑、液劑、懸濁劑等經口劑，吸入劑、經皮製劑、栓劑等

經腸製劑，點滴劑、注射劑等非經口劑。上述液劑、懸濁劑等液體製劑，可於服用前即刻溶解或懸濁於水或其他的適當介質的形式，亦可將上述錠劑及顆粒劑以周知的方法將其表面塗佈。再者，上述注射劑於必要時可包含溶解輔助劑，可為上述之源自植物之間苯二酚性油脂的滅菌蒸餾水或滅菌生理食鹽水的溶液或懸濁液。

【0047】 上述醫藥品的形態中，必要時，亦可含有藥學上所容許的各種載體，例如賦形劑、安定化劑、其他添加劑等，或者進一步的其他藥效成分，例如各種維生素、礦物質類、生藥等。

【0048】 作為典型的飲食品的形態，可列舉綠茶、烏龍茶或紅茶等茶飲料、咖啡飲料、清涼飲料、凝膠飲料、運動飲料、乳飲料、碳酸飲料、果汁飲料、乳酸菌飲料、醱酵乳飲料、粉末飲料、可可亞飲料、酒精飲料、礦泉水等飲料，奶油、果醬、撒料、瑪加琳等塗料類，蛋黃醬、起酥油、鮮奶油、調味醬類、麵包類、米飯類、麵類、義大利麵、味噌湯、豆腐、牛乳、優酪、湯或醬料類、甜點(例如比斯吉或餅乾類、巧克力、糖果、蛋糕、冰淇淋、口香糖、片劑)等。

【0049】 上述飲食品的形態中，必要時亦可含有食品上所容許的其他飲食品材料、各種營養素、各種維生素、礦物質、胺基酸各種油脂、各種添加劑(例如呈味成分、甜味料、有機酸等酸味料、界面活性劑、pH 調整劑、安定劑、抗氧化劑、色素、矯味劑)等，或者亦可含有進一步的其他藥效成分，例如各種維生素類、礦物質類、生藥等。

【0050】 作為典型的食品添加物的形態，只要為可調配於上述所例示之飲食品的組成或形態即可。

【0051】 作為典型地的動物飼料的形態，除了其為動物用以外，可作成幾

乎以上述所例示之飲食品的組成或形態為根據的組成或形態。

【0052】 作為典型地的補充劑的形態，為上述形態中之經口用組成物。例如，可能作成錠劑、可嚼錠、粉劑、膠囊、顆粒、飲用劑、凝膠、糖漿等形態。

[實施例]

【0053】 以下，雖列舉實施例更詳細地說明本發明，但本發明不限定為以下的實施例者。

【0054】 ＜調製例1＞ ～烷基間苯二酚的調製～

減壓乾燥(80℃，16小時)裸麥麩糠(約9.4kg)，對於經乾燥的原料添加5倍量的99%乙醇，加溫下進行攪拌抽出(60℃，1小時)。之後，進行固液分離而獲得濾液A，於其殘渣添加等倍量的99%乙醇，進一步地成漿後進行固液分離而獲得濾液B。合併所得濾液A與濾液B，進行減壓濃縮，獲得裸麥麩糠乙醇抽出物516g。

【0055】 於裸麥麩糠乙醇抽出物463g，添加精製水5.8L與99%乙醇5.8L，於60℃水浴上攪拌1小時後，添加α-環糊精696g並進一步地攪拌1小時而混合。將其進行噴霧乾燥，獲得噴霧乾品649g，進一步地進行粒度調整(10篩網徑)，獲得裸麥麩糠乙醇抽出物乾燥品639g。

【0056】 上述乾燥品以己烷2L溶解，藉由矽膠順相層析法進行精製。管柱係使用山善公司製高快速管柱矽膠5L 目錄編號：W007(管柱內徑x管柱長：60x180mm，填充劑量：250g)。層析條件為流速70mL/min，檢出波長280nm，移動相(己烷/乙酸乙酯：90/10(v/v)9分鐘→80/20(v/v) 15分鐘→60/40(v/v)的16分鐘的階段梯度)，分取溶出時間30分～40分之間的溶出液。對分取物進行減壓乾燥，獲得乾固物50g。

【0057】 ＜試驗例1＞ ～藉由高速液體層析法的分析～

藉由以高速液體層析法所進行的分析法來對調製例1所獲得之乾固物中的烷基間苯二酚量進行定量。又，以下，關於烷基間苯二酚有稱為「ARs」或「AR」的情況。

【0058】 具體而言，作為分析管柱，使用GL science公司的Inertsil ODS4，作為分析條件，以流速1mL/min，檢出波長275nm，管柱溫度40℃，移動相(89v/v%甲醇→(5分鐘)→92v/v%甲醇→(25分鐘)→100%甲醇的梯度)實施。作為烷基間苯二酚的標準品，使用市售的橄欖醇(具有碳數5的直鏈狀烷基鏈的AR：Sigma-Aldrich)。關於與橄欖醇有不同烷基鏈長度的各AR的定量，係預先具體辨識溶出位置，針對經實測的峰面積，以各自的分子量除以橄欖醇的分子量所得的值作為係數，藉由乘以該係數，予以換算。

【0059】 其結果，確認到調製例1所獲得之乾固物中，於其50g中含有6.8g的ARs。

【0060】 ＜試驗例2＞ ～藉由肝炎模型小鼠的動物試驗～

於6週齡的時點移入非酒精性脂肪肝炎模型小鼠 (日本Charles River公司製，C57BL/6NASH雄性小鼠)後，經過2日間的馴化期間，以每1籠6隻飼育。小鼠的飼育，係以12小時間隔的明暗循環(明期：午前8時-午後20時)於維持恆溫、恆濕室進行，馴化期間後，根據下述所示各試驗群使其自由攝取飼料。

【0061】 ・對照群(C群)：不調配被檢物質的對照飼料

・白藜蘆醇攝取群(R群)：經調配白藜蘆醇(東京化成工業股份有限公司) 0.4質量%的飼料

・ARs高攝取群(AH群)：經調配ARs 0.9質量%的飼料

・ARs低攝取群(AL群)：經調配ARs 0.3質量%的飼料

【0062】 試驗期間中，每1日進行1次體重的測定。再者，採血係1週進行1次，經由小鼠尾靜脈採血獲得血漿。血漿係於使用於測定之前保存於-80℃。再者，試驗最終日於測定體重後，經由二乙基醚麻醉下採血、犧牲後立即摘出肝臟，秤量後，以乾冰凍結，分為一半各自放入1.5mL管中，以-80℃保存。

【0063】 圖1顯示各群之體重增加量的試驗期間中的經時變化。

【0064】 如圖1所示方式，試驗期間中，幾乎未觀察到對照群(C群)中的體重增加。由於本試驗例中所使用的小鼠為6週齡之成長期的小鼠，故通常體重會增加，咸信此係由於肝炎模型小鼠之營養的代謝異常，體重增加受到抑制者。相對於此，確認到ARs低攝取群(AL群)及ARs高攝取群(AH群)中，有體重的增加。咸信此係藉由ARs攝取使肝炎受到抑制，結果，營養代謝異常亦受到改善之故。另一方面，於已知對於肝臟等臟器的脂肪蓄積有抑制效果的白藜蘆醇攝取群(R群)中，無法改善肝炎模型小鼠中的體重的增加抑制。咸信此係因藉由ARs所致之作用效果並非單純地為一般性脂肪代謝改善的結果的作用效果，而係對於肝炎的症狀有特有的作用效果之故。

【0065】 另一方面，圖2中，顯示各群的飼料攝餌量的試驗期間中的經時變化。如圖2所示方式，任一群皆未觀察到攝餌量有重大的差異。

【0066】 ＜試驗例3＞　～血漿中的AST值及ALT值的測定～

測定肝臟功能的一般性指標之血漿中的天冬胺酸胺基轉移酶(AST)值與丙胺酸胺基轉移酶(ALT)值。測定係使用轉胺酶CII-Test Wako(富士軟片和光純藥公司製)，根據該公司說明書予以實施。

【0067】 圖3顯示各群的AST值的試驗期間中的經時變化。

【0068】 如圖3所示方式，對照群(C群)中自第0週至第4週為止AST值係增加，確認到肝炎的進展。相對於此，ARs低攝取群(AL群)及ARs高攝取群(AH群)中，皆為AST值的增加受到抑制。關於抑制的程度，係高攝取群比低攝取群顯著。另一方面，白藜蘆醇的攝取群(R群)中，幾乎以與對照群(C群)為同程度的水準進行經時變化。

【0069】 圖4顯示各群的ALT值的試驗期間中的經時變化。

【0070】 如圖4所示方式，對照群(C群)中自第0週至第4週為止係ALT值為增加，確認到肝炎的進展。相對於此，ARs低攝取群(AL群)及ARs高攝取群(AH群)中，皆為ALT值的增加受到抑制。關於抑制的程度，係高攝取群(AH群)比低攝取群(AL群)顯著。另一方面，白藜蘆醇的攝取群(R群)中，幾乎以與對照群(C群)為同程度的水準進行經時變化。

【0071】 如以上的圖3及圖4的結果所示，可理解ARs中，有攝取量依賴性地抑制肝炎的效果。此作用效果，於已知抑制一般性對於肝臟等臟器的脂肪蓄積的白藜蘆醇不顯示，為對於肝炎症狀為特有的作用效果。

【0072】 ＜試驗例4＞　～肝臟組織的中性脂肪量的測定～

將凍結肝臟組織50mg置入管中，對其添加以分別為2:1的液量比例包含氯仿與甲醇的混液1mL。以均質機粉碎至成為糊狀，將全混合物於室溫以振盪器攪拌15至20分鐘。將均質物以15000 rpm離心分離5分鐘，回收上清。於經回收的上清添加生理用食鹽水0.5mL，混合數秒。將混合物以2000 rpm離心分離1分鐘，去除上部相且重複操作2次。對下部氯仿相進行減壓乾燥，以乙醇各100 μL懸濁乾固物，於乙醇各添加45 μL而混合。將其作為樣本，測定中性脂肪量。

【0073】 測定係使用Triglyceride E-Test Wako (富士軟片和光純藥公司製)，根據該公司說明書予以實施。結果示於圖5。

【0074】 如圖5所示方式，對照群(C群)中係中性脂肪量為130mg/g之顯示明確的脂肪肝的數值。相對於此，ARs低攝取群(AL群)及ARs高攝取群(AH群)中，皆減半為60mg/g以下。該等數值係於正常的中性脂肪量的範圍。另一方面，已知有抑制對於肝臟等臟器脂肪蓄積的效果的白藜蘆醇的攝取群(R群)中，肝炎模型小鼠中的肝臟組織中的中性脂肪量無法獲得修正。因此，咸信因烷基間苯二酚攝取所致之作用效果，不單是作為一般性脂肪代謝改善的結果的作用效果，而是對於肝炎症狀具特有的作用效果。

【0075】 ＜試驗例5＞　～肝臟組織的病理評價～

將凍結肝臟組織以石蠟包埋、切片。關於所製作的切片，根據常法，進行蘇木精-伊紅 (HE)染色。各群的肝臟組織的HE染色結果示於圖6。

【0076】 如圖6所示方式，對照群(Control，C群)的肝臟組織中，源自脂肪滴的空包受到確認，其大小、數量都為大，顯示明確的脂肪肝影像。相對於此，ARs低攝取群(ARs Low，AL群)及ARs高攝取群(ARs High，AH群)中，空包的數及大小都受到抑制。另一方面，白藜蘆醇的攝取群(Resveratrol，R群)中幾乎未觀察到效果。藉此，與試驗例4的結果同樣地，咸信藉由烷基間苯二酚攝取之肝臟組織中的中性脂肪量受到修正的作用效果，不單是作為一般性脂肪代謝改善的結果的作用效果，而是對於肝炎症狀具特有的作用效果。

【0077】 ＜試驗例6＞　～肝臟組織中的PPARγ基因表現量的測定～

已知過氧化體增殖因子活性化受體γ(Peroxisome Proliferators-Activated Receptorγ)(PPARγ)係屬於核內受體超級家族的蛋白質而於脂質代謝顯示重要

作用。此PPARγ的配體之皮利酮(被應用作為糖尿病藥)，係有效於作為非酒精性肝炎治療藥。由此咸信，PPARγ的功能增強，係非酒精性肝炎治療藥的有用標的。本文中，本試驗例係研究肝臟組織中的PPARγ基因的表現量。具體而言，如以下方式藉由定量PCR測定。

【0078】 自肝臟組織的Total RNA的調製係使用「NucleoSpin(註冊商標)RNA II套組(Takara Bio股份有限公司製)」，根據該公司說明書予以實施。自Total RNA的cDNA合成係使用「Protoscript (註冊商標)II First strand cDNA Synthesis Kit (NEW ENGLAND BioLabs 公司製)」，根據該公司說明書予以實施。

【0079】 使用所製作的cDNA的定量PCR係使用「MyGo Mini Real Time PCR 裝置(Funakoshi公司製)」，使用Luna universal LPCR Mix(NEW ENGLAND BioLabs 公司製)，根據該公司說明書予以實施。引子係使用下列序列。

【0080】 (PPARγ用)

前置：5’ -TGTCGGTTTCAGAAGTGCCTTG-3’ (序列編號1)

反置：5’ -TTCAGCTGGTCGATATCACTGGAG-3’ (序列編號2)

(β肌動蛋白用)

前置：5’ -TGACAGGATGCAGAAGGAGA-3’ (序列編號3)

反置：5’ -GCTGGAAGGTGGACAGTGAG-3’ (序列編號4)

【0081】 PCR反應係以下述條件實施。

(95℃ 30秒→95℃ 5秒→60℃ 30秒)x40循環→95℃60秒

【0082】 關於肝臟組織中的過氧化體增殖因子活性化受體γ(PPARγ)基因表現量，比較以對照群(C群)作為100%時各群的相對值。結果示於圖7。

【0083】 如圖7所示方式， ARs高攝取群(AH)的肝臟組織中與對照群(C群)相比增加約3.5倍左右的PPAR γ 基因表現量。因此顯示出藉由烷基間苯二酚所致之肝機能改善效果，係相關於對於PPAR γ 基因之表現增強的作用效果。

【0084】 ＜試驗例7＞ ～肝臟組織中的各種基因表現量的測定～

已知於脂質代謝顯示重要作用，關於過氧化體增殖因子活性化受體輔活化劑1 α (Peroxisome Proliferators-Activated Receptor γ Coactivator-1 α)(PGC-1 α)、過氧化體增殖因子活性化受體 α (Peroxisome Proliferators-Activated Receptor PPAR α)、脂聯素(Adiponectin)的各種基因，研究肝臟組織中的基因表現量。測定係與試驗例6同樣地藉由定量PCR進行。其使用之引子係使用下列序列。

【0085】 (PGC-1 α 用)

前置：5’ -AAGTGTGGAACTCTCTGGAACTG-3’ (序列編號5)

反置：5’ -GGGTTATCTTGGTTGGCTTTATG-3’ (序列編號6)

(PPAR α 用)

前置：5’ -AAGTGCCTGTCTGTCGGGATG-3’ (序列編號7)

反置：5’ -CCAGAGATTTGAGGTCTGCAGTTTC-3’ (序列編號8)

(脂聯素用)

前置：5’ -GTCAGTGGATCTGACGACACCAA-3’ (序列編號9)

反置：5’ -ATGCCTGCCATCCAACCTG-3’ (序列編號10)

(β 肌動蛋白用)

前置：5’ -TGACAGGATGCAGAAGGAGA-3’ (序列編號3)

反置：5’ -GCTGGAAGGTGGACAGTGAG-3’ (序列編號4)

【0086】 PCR反應係以下述條件實施。

(95℃　30秒→95℃　5秒→60℃　30秒)x40循環→95℃60秒

【0087】 關於肝臟組織中的基因表現量，比較以對照群(C群)作為100%時各群的相對值。結果示於圖8A至圖8C。

【0088】 如圖8A至圖8C所示方式，PGC-1α、PPARα、脂聯素的各基因之肝臟組織中的表現量，於ARs攝取群為顯著的增加。特別是PGC-1α或脂聯素的基因表現量，即使與陽性對照的白藜蘆醇的攝取群(R群)比較，亦更為增加(圖8A、圖8C)。藉此，暗示了藉由烷基間苯二酚所致之肝功能改善效果，係相關於對於該等基因之表現增強的作用效果。

【0089】 ＜試驗例8＞　～肝臟組織的細胞內粒線體數的評價～

於試驗例7中經確認於烷基間苯二酚攝取群中基因表現量為增加之PGC-1α，已知會因為其基因表現增強，而招致粒線體數的上昇、氧化的磷酸化的促進、TCA循環的活化、因β酸化所致之脂質燃燒促進、糖新生、酮體合成促進等。

【0090】 本試驗例中，研究肝臟組織的細胞內粒線體數。具體而言，比較粒線體DNA量相對於藉由如以下方式進行之定量PCR所測定的基因體DNA量的量比，評價關於肝臟組織的細胞內粒線體數。

【0091】 自肝臟組織的DNA抽出係使用「NucleoSpin(註冊商標)Tissue套組(Takara Bio股份有限公司製)」，根據該公司說明書予以實施。各DNA套數的定量係使用「Mouse Feeder Cell Quantification Kit(Takara Bio股份有限公司製)」，根據該公司說明書予以實施。引子係使用下列序列。

【0092】 (粒線體DNA用)

前置：5’-AACCCCGCTCTACCTCACC-3’ (序列編號11)

反置：5’-GTAGCCCATTTCTTCCCATTT-3’ (序列編號12)

(基因體DNA用)

前置：5’ -CGCGGTTCTATTTTGTTGGT-3’ (序列編號13)

反置：5’ -AGTCGGCATCGTTTATGGTC-3’ (序列編號14)

【0093】 PCR反應係以下述條件實施。

(95℃ 30秒→95℃ 5秒→60℃ 30秒)x40循環→95℃60秒

【0094】 關於粒線體DNA量相對於經測定的基因體DNA量的量比，將對照群(C群)作為100%時比較各群的相對值。結果示於圖9。

【0095】 如圖9所示方式，白藜蘆醇的攝取群(R群)中，與對照群(C群)比較，未觀察到細胞內粒線體數的變化。相對於此，ARs低攝取群(AL群)及ARs高攝取群(AH群)中，細胞內粒線體數增加。因此顯示出藉由烷基間苯二酚所致之肝功能改善效果，係相關於肝臟組織細胞內的粒線體數增加的作用效果。

【符號說明】

無

【序列表】

<110> 日東富士製粉股份有限公司 (NITTO FUJI FLOUR MILLING CO.,LTD.)

<120> 源自植物之間苯二酚性脂質之用於調製肝炎症狀改善用組成物的用途

<130> 200626TWP

<160> 14

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1
<211> 22
<212> DNA
<213> 鼠(mouse)

<220>
<221> PPARγ 5'-引子
<222> (1)..(22)

<400> 1
tgtcggtttc agaagtgcct tg 22

<210> 2
<211> 24
<212> DNA
<213> 鼠(mouse)

<220>
<221> PPARγ 3'-引子
<222> (1)..(24)

<400> 2
ttcagctggt cgatatcact ggag 24

<210> 3
<211> 20
<212> DNA

<213> 鼠(mouse)

<220>
<221> 肌動蛋白 5'-引子
<222> (1)..(20)

<400> 3
tgacaggatg cagaaggaga 20

<210> 4
<211> 20
<212> DNA

<213> 鼠(mouse)

<220>
<221> 肌動蛋白 3'-引子
<222> (1)..(20)

<400> 4
gctggaaggt ggacagtgag 20

<210> 5
<211> 23
<212> DNA
<213> 鼠(mouse)

<220>
<221> PGC1α 5'-引子
<222> (1)..(23)

<400> 5
aagtgtggaa ctctctggaa ctg 23

<210> 6
<211> 23
<212> DNA
<213> 鼠(mouse)

<220>
<221> PGC1α 3'-引子
<222> (1)..(23)

<400> 6
gggttatctt ggttggcttt atg 23

<210> 7
<211> 21
<212> DNA
<213> 鼠(mouse)

<220>
<221> PPARα 5'-引子
<222> (1)..(21)

<400> 7
aagtgcctgt ctgtcgggat g 21

<210> 8
<211> 25
<212> DNA
<213> 鼠(mouse)

<220>
<221> PPARα 3'-引子
<222> (1)..(25)

<400> 8
ccagagattt gaggtctgca gtttc 25

<210> 9
<211> 23
<212> DNA
<213> 鼠(mouse)

<220>
<221> 脂聯素 5'-引子
<222> (1)..(23)

<400> 9
gtcagtggat ctgacgacac caa 23

<210> 10
<211> 19
<212> DNA
<213> 鼠(mouse)

<220>
<221> 脂聯素 3'-引子
<222> (1)..(19)

<400> 10
atgcctgcca tccaacctg 19

<210> 11
<211> 19
<212> DNA
<213> 鼠(mouse)

<220>
<221> mtDNA 5'-引子
<222> (1)..(19)

<400> 11
aaccccgctc tacctcacc 19

<210> 12
<211> 21
<212> DNA
<213> 鼠(mouse)

<220>
<221> mtDNA 3'-引子
<222> (1)..(21)

<400> 12
gtagcccatt tcttcccatt t 21

<210> 13
<211> 20
<212> DNA
<213> 鼠(mouse)

<220>
<221> 基因體 DNA 5'-引子
<222> (1)..(20)

<400> 13
cgcggttcta ttttgttggt 20

<210> 14
<211> 20
<212> DNA
<213> 鼠(mouse)

<220>
<221> 基因體 DNA 3'-引子
<222> (1)..(20)

<400> 14
agtcggcatc gtttatggtc 20

第 109116941 號專利申請案
112 年 10 月 6 日修正替換頁

【發明申請專利範圍】

【請求項1】 一種源自植物之間苯二酚性脂質的用途，該源自植物之間苯二酚性脂質係用於調製肝炎症狀改善用組成物。

【請求項2】 如請求項1所述的用途，其中，前述間苯二酚性脂質係烷基間苯二酚。

【請求項3】 如請求項1或2所述的用途，其中，前述間苯二酚性脂質係源自禾本科植物。

【請求項4】 如請求項1或2所述的用途，其中，前述間苯二酚性脂質係源自小麥及/或裸麥的麩糠類及/或全穀粒。

【請求項5】 如請求項1或2所述的用途，其中，前述肝炎症狀改善用組成物係包含含有間苯二酚性脂質的植物的溶劑抽出物。

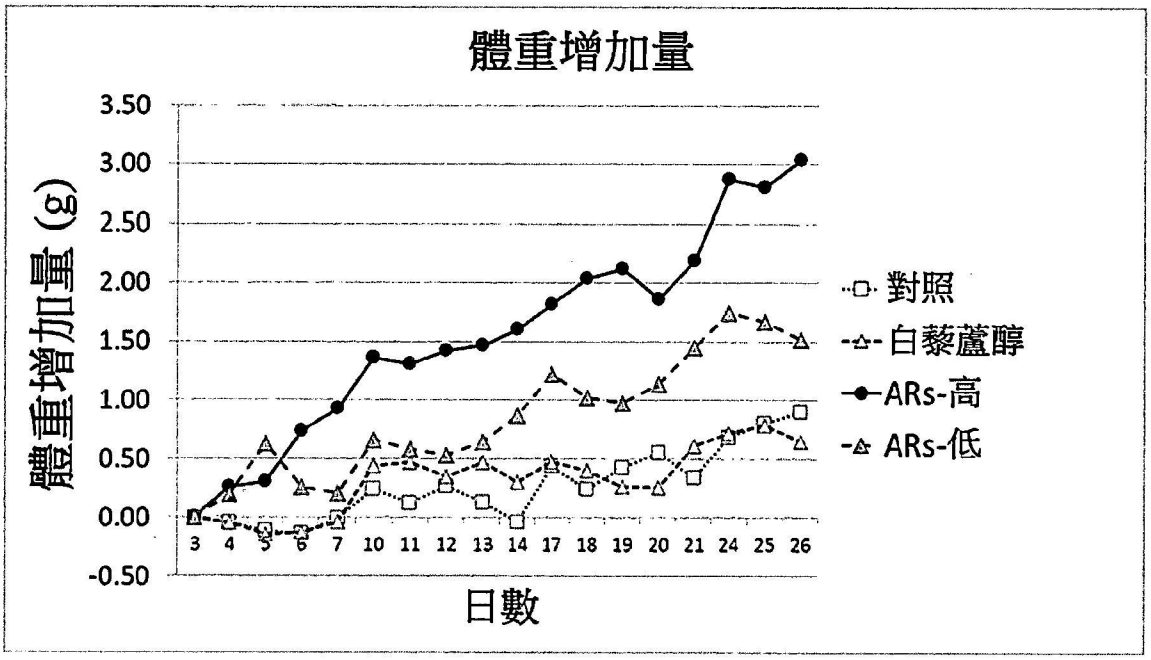
【請求項6】 如請求項5所述的用途，其中，前述溶劑係乙醇及/或己烷。

【請求項7】 如請求項1或2所述的用途，其中，前述肝炎症狀改善用組成物係使用於改善非酒精性肝炎的症狀。

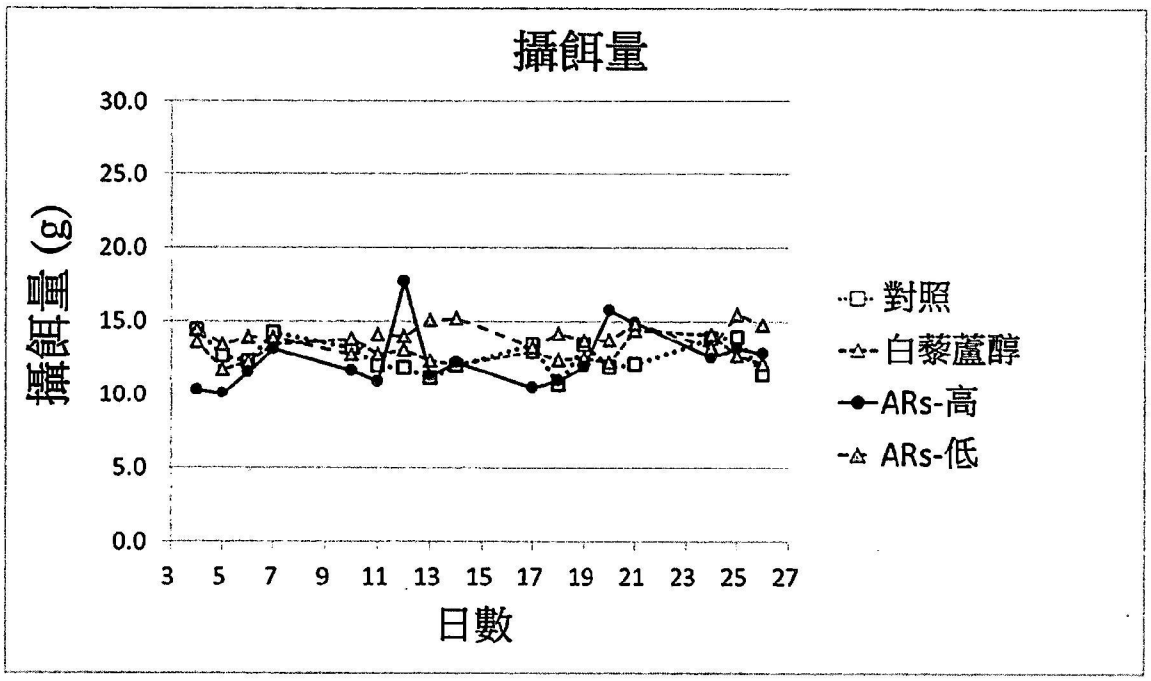
【請求項8】 如請求項7所述的用途，其中，前述肝炎症狀改善用組成物係使用於抑制因非酒精性肝炎所致之肝臟的中性脂肪蓄積。

【請求項9】 如請求項1或2所述的用途，其中，前述肝炎症狀改善用組成物係被提供作為飲食品、食品添加物、醫藥品、補充劑、或動物飼料。

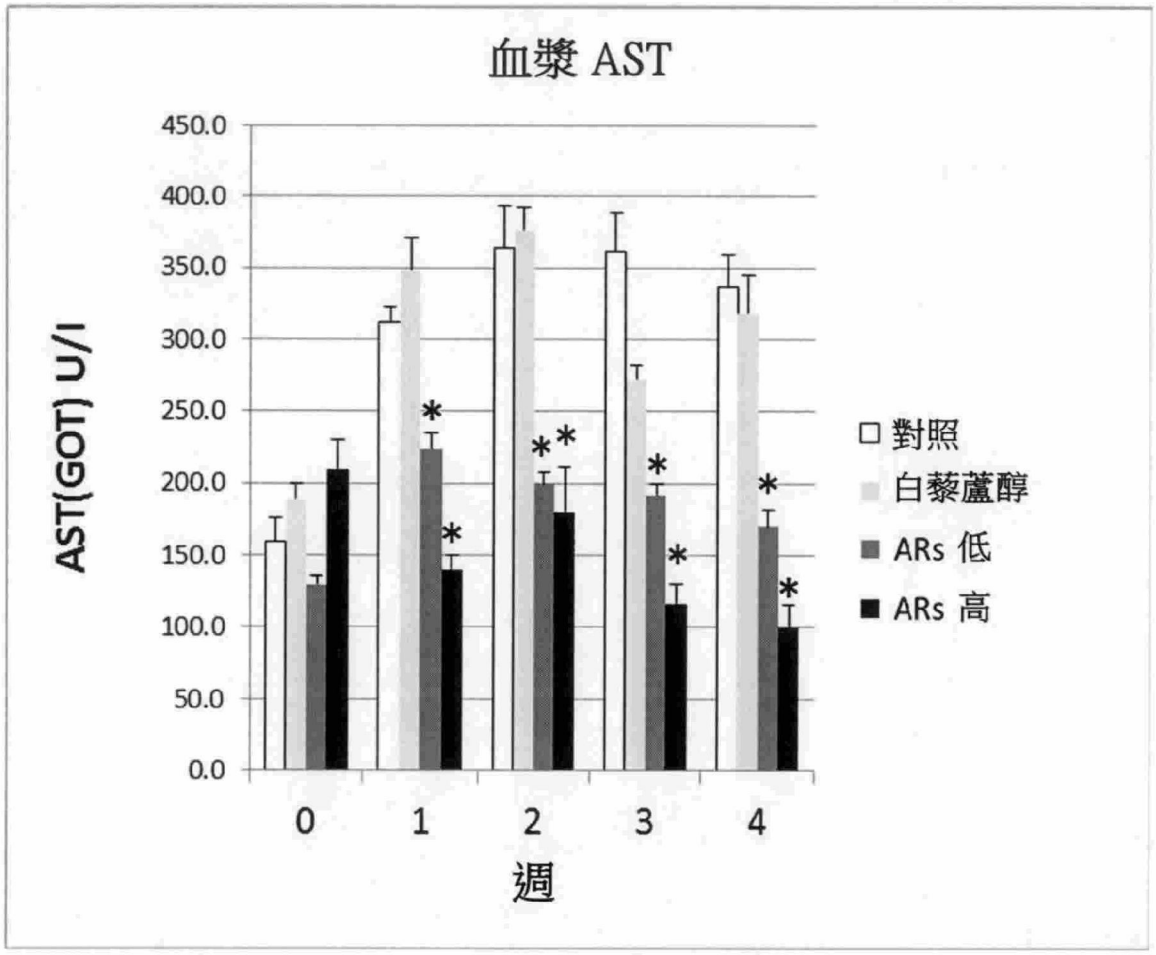
【發明圖式】


體重增加量
體重增加量 (g)
3.50
3.00
2.50
2.00
1.50
1.00
0.50
0.00
-0.50
3 4 5 6 7 10 11 12 13 14 17 18 19 20 21 24 25 26
日數
對照
白藜蘆醇
ARs-高
ARs-低

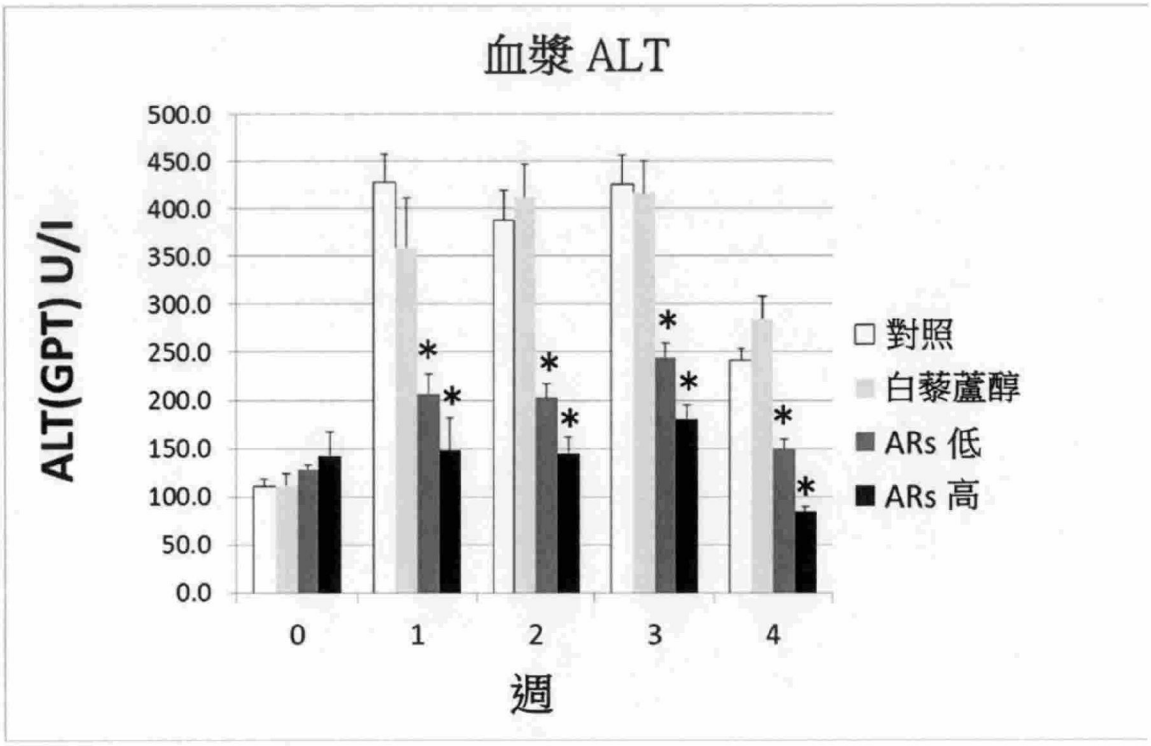
【圖1】


攝餌量
攝餌量 (g)
30.0
25.0
20.0
15.0
10.0
5.0
0.0
3
5
7
9
11
13
15
17
19
21
23
25
27
日數
對照
白藜蘆醇
ARs-高
ARs-低

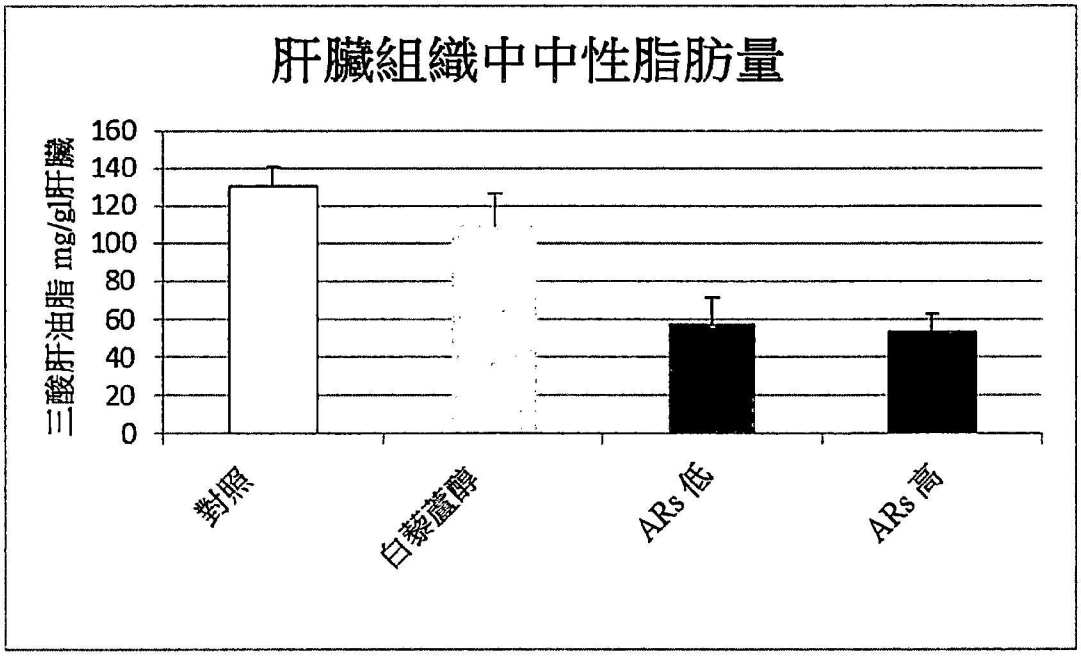
【圖2】


血漿 AST
AST(GOT) U/l
450.0
400.0
350.0
300.0
250.0
200.0
150.0
100.0
50.0
0.0
0
1
2
3
4
週
對照
白藜蘆醇
ARs 低
ARs 高
*
*
*
**
*
*
*

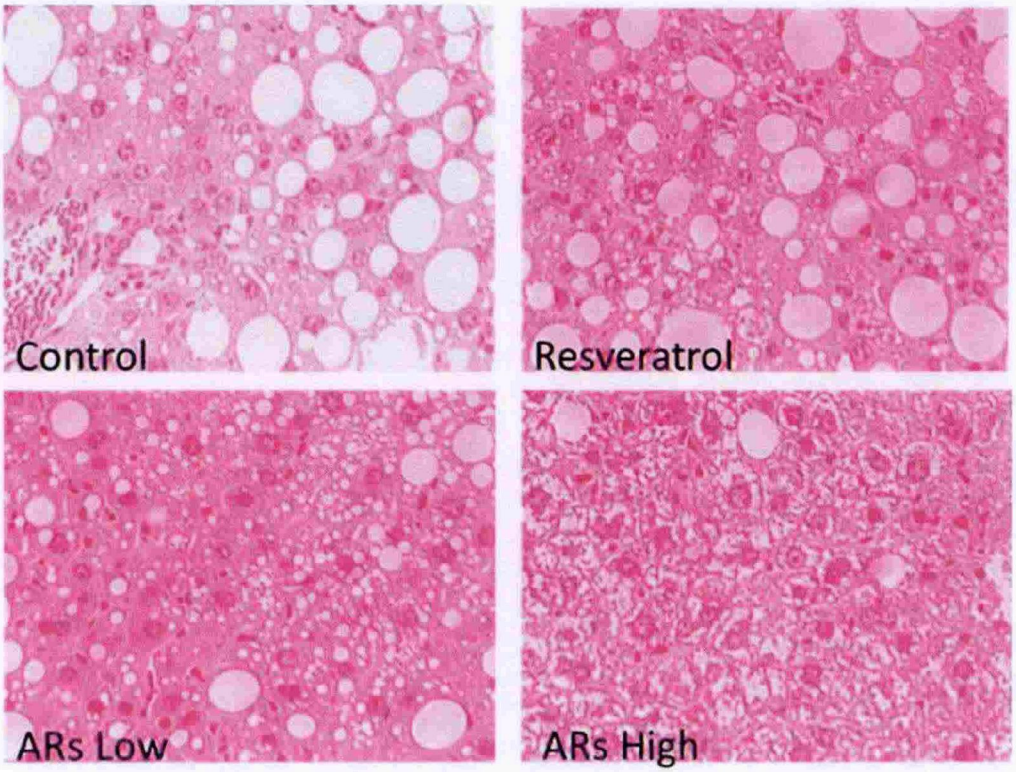
【圖3】


血漿 ALT
ALT(GPT) U/l
500.0
450.0
400.0
350.0
300.0
250.0
200.0
150.0
100.0
50.0
0.0
0
1
2
3
4
週
對照
白藜蘆醇
ARs 低
ARs 高
*

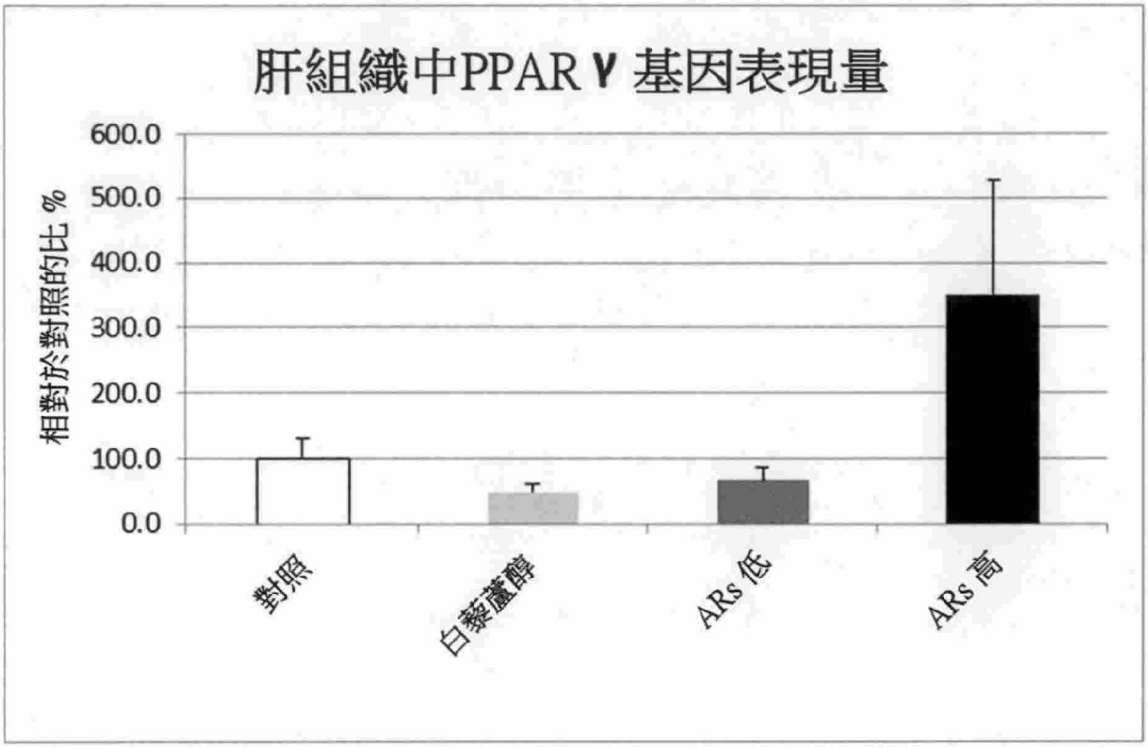
【圖4】


肝臟組織中中性脂肪量
三酸肝油脂 mg/gl肝臟
160
140
120
100
80
60
40
20
0
對照
白藜蘆醇
ARs 低
ARs 高

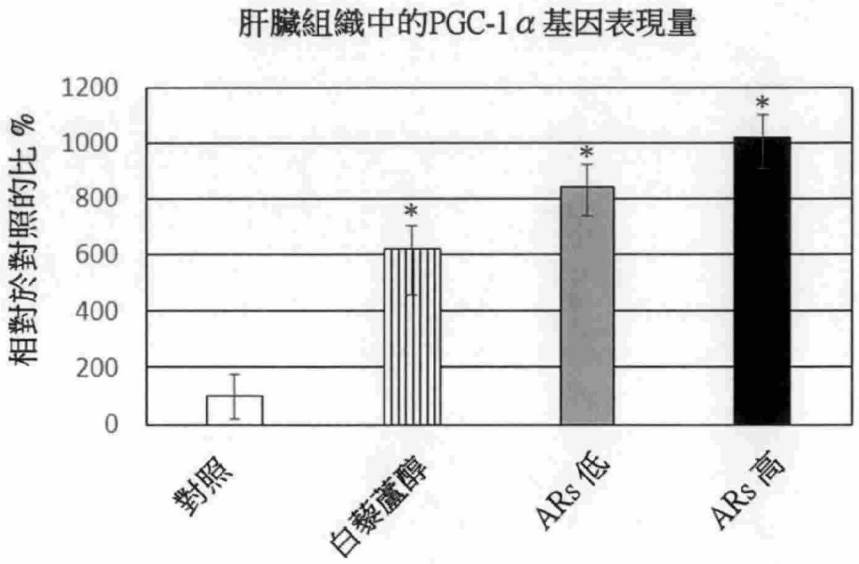
【圖5】



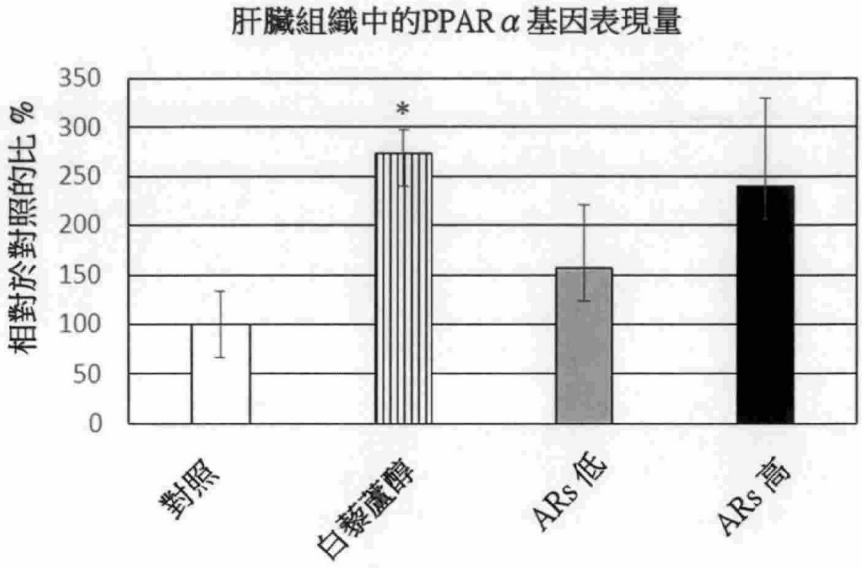
【圖6】


肝組織中PPARγ基因表現量
相對於對照的比 %
600.0
500.0
400.0
300.0
200.0
100.0
0.0
對照
白藜蘆醇
ARs 低
ARs 高

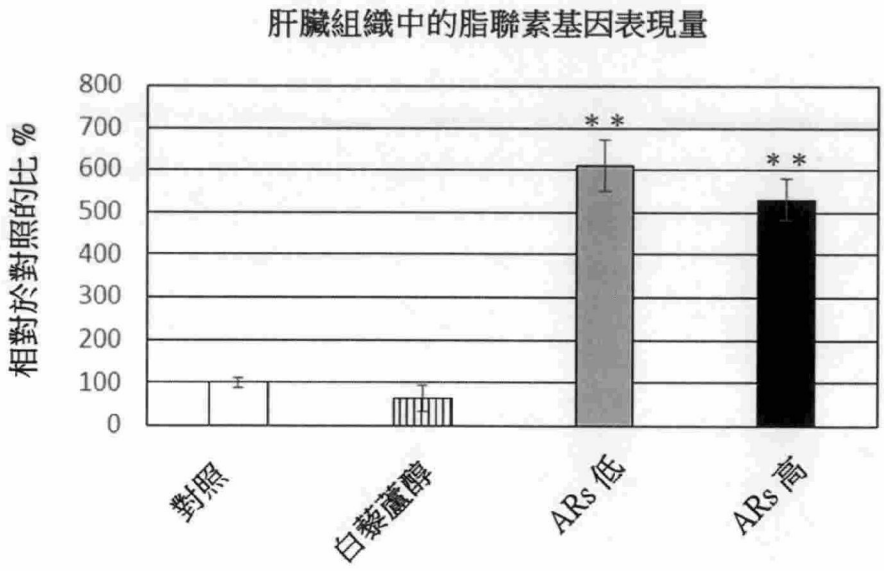
【圖7】


肝臟組織中的PGC-1α基因表現量
相對於對照的比 %
1200
1000
800
600
400
200
0
*
*
*
對照
白藜蘆醇
ARs 低
ARs 高

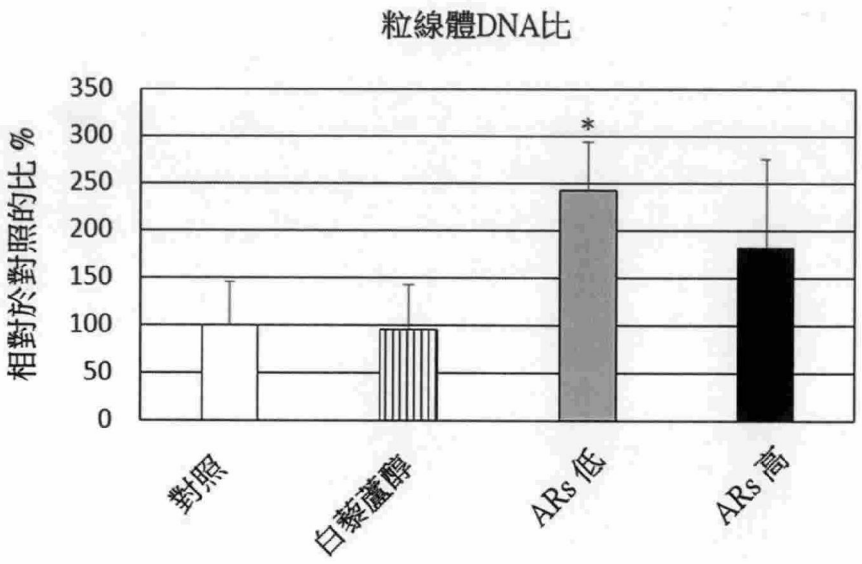
【圖8A】


肝臟組織中的PPARα基因表現量
相對於對照的比 %
350
300
250
200
150
100
50
0
*
對照
白藜蘆醇
ARs 低
ARs 高

【圖8B】


肝臟組織中的脂聯素基因表現量
相對於對照的比 %
800
700
600
500
400
300
200
100
0
* *
* *
對照
白藜蘆醇
ARs 低
ARs 高

【圖8C】



【圖9】