



(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 I379684B1

(45)公告日：中華民國 101 (2012) 年 12 月 21 日

(21)申請案號：096119746

(22)申請日：中華民國 96 (2007) 年 06 月 01 日

(51)Int. Cl. : **A61K36/06 (2006.01)**  
**A61P17/00 (2006.01)****A61K8/97 (2006.01)**(30)優先權：2006/06/02 日本 2006-154912  
2007/02/16 中華民國 096106077

(71)申請人：H E I M A T 股份有限公司 (日本) HEIMAT CO., LTD. (JP)

日本

伊東晃 (日本) ITO, AKIRA (JP)

日本

佐藤隆 (日本) SATO, TAKASHI (JP)

日本

秋元賀子 (日本) AKIMOTO, NORIKO (JP)

日本

高橋雅夫 (日本) TAKAHASHI, MASAO (JP)

日本

(72)發明人：伊東晃 ITO, AKIRA (JP)；佐藤隆 SATO, TAKASHI (JP)；秋元賀子 AKIMOTO, NORIKO (JP)；高橋雅夫 TAKAHASHI, MASAO (JP)

(74)代理人：詹銘文；蕭錫清

(56)參考文獻：

JP 2000/319192A

US 2003/0170265A1

審查人員：陶楷韻

申請專利範圍項數：6 項 圖式數：9 共 0 頁

(54)名稱

舞茸萃取物以及包含此萃取物之促進皮脂產生的組成物

MAITAKE MUSHROOM EXTRACT AND COMPOSITION CONTAINING THE SAME FOR ENHANCE PRODUCTION OF SEBUM

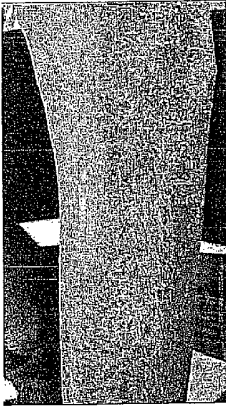
(57)摘要

本發明提供一種可以促進皮脂產生的新穎舞茸萃取物及其包含此舞茸萃取物的組成物。其中，舞茸萃取物是使用純酒精從乾燥舞茸中萃取得到；組成物包含此舞茸萃取物，而具有可促進皮脂產生的作用。

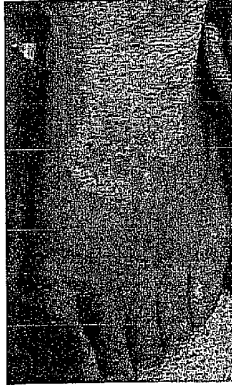
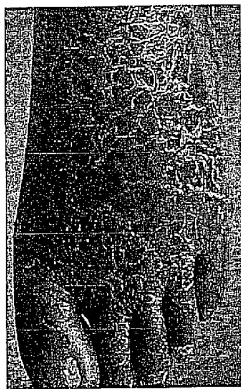
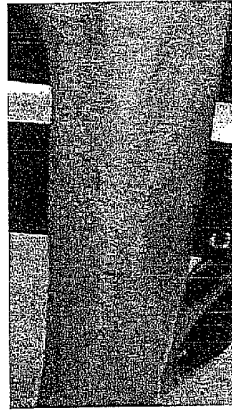
A novel maitake mushroom extract and a composition containing the same for enhancing the production of sebum are provided. The maitake mushroom extract is extracted from a dried maitake mushroom by using pure ethanol. The composition containing the maitake mushroom extract, so it has a function of enhancing the production of sebum.

症狀改善例  
(被試驗者 5)

治療前



治療後



## 六、發明說明：

### 【發明所屬之技術領域】

本發明是有關於一種新的舞茸萃取物以及包含此萃取物之促進皮脂產生的組成物。

### 【先前技術】

脂腺是附屬於皮膚，可分泌出被稱為皮脂的油狀物質，而在表皮表面形成一種非滲透性的保護膜。皮脂則是由脂質混合物所形成，其含有甘油三酯、角鯊烯、脂肪族蠟、游離脂肪酸、膽固醇類等。

另外，皮脂還具有保濕作用，可以讓表皮柔軟、潤澤。同時，皮脂又擔任著增強皮膚強度的重要任務。而且，皮脂還有防止紫外線造成的表皮受傷，保護皮膚不受異物和變態反應原的入侵的作用。

由於年齡的增長及服用藥物等原因會使得皮脂產生能力下降，從而引起皮膚彈性和強度下降，對損傷的抵抗力也隨之下降。特別是，皮脂產生能力的下降，也是皮膚乾燥等皮膚疾病的形成原因。

亞油酸的醯胺、亞油酸和糖的酯化物(特表 2006-504752 號公報)以及支鏈氨基酸(特表 2002-521320 號公報)等作為促進皮脂產生的有效成分已經被人們瞭解。

如用水或熱水萃取的舞茸萃取物(特開平 11-75768 號公報、特開 2001-97881 號公報、特開 2005-220087 號公報與特開 2004-189737 號公報)或含水酒精萃取的舞茸萃取

物(特開平 8-131133 號公報及特開 2000-319192 號公報)等用水或水性溶劑萃取的舞茸萃取物已經被人們瞭解。用水或水性溶劑萃取的舞茸萃取物可以被用作為預防癌症製劑(特開 2001-97881 號公報)、抗氧化劑(特開 2005-220087 號公報)、抗真菌劑(特開 2004-189737 號公報)以及酪氨酸酶、 $\alpha$ -澱粉酶的酶抑制劑(特開 2000-319192 號公報)等。

### 【發明內容】

本發明的目的就是在提供一種嶄新地、更有效地促進皮脂產生的舞茸萃取物以及含有此萃取物的組成物。

本發明者們為解決上述課題，在進行認真地探討研究後，發現用純酒精萃取的乾燥舞茸萃取物具有很強的促進皮脂產生效果，完成了本發明。

也就是說，本發明如下。

(1)一種舞茸萃取物，其是使用純酒精從乾燥舞茸中萃取得到。

(2)在(1)中記載的舞茸萃取物中所使用的乾燥舞茸的含水量為小於等於 8 重量百分比(wt%)。

(3)在(1)或(2)中記載的舞茸萃取物中所使用的純酒精的酒精含量為以容量計算大於等於 99%。

(4)含有(1)-(3)中任何 1 項中記載的含有舞茸萃取物之促進皮脂產生的組成物。

(5)在(4)中記載的組成物是化妝品。

(6)在(4)中記載的組成物是醫藥品。

本發明可以有效地促進皮脂的產生，以及有效地改善

由於皮脂減少而引起的皮膚的障礙、皮膚的異常和疾患的症狀。

為讓本發明之上述和其他目的、特徵和優點能更明顯易懂，下文特舉較佳實施例，並配合所附圖式，作詳細說明如下。

### 【實施方式】

本發明是有關於一種舞茸萃取物，其是利用純酒精從乾燥舞茸中萃取而得到。

本發明中的舞茸，是指多孔菌科、豬苓屬(*Grifola*)的食用菌，其包括舞茸(*Grifola frondosa*)、白舞茸(*Grifola albicans*)、豬苓(*Grifola umbellatus*)、亞灰樹花(*Grifola gigantean*)等。本發明的舞茸最理想的是指 *Grifola frondosa*。本發明的舞茸可以是子實體或菌絲體，但最理想的是指子實體。

本發明是以乾燥舞茸作為被萃取的原料，而乾燥舞茸是指水分含量為小於等於 10 重量百分比(wt%)的舞茸。理想的是指水分含量為小於等於 8 wt%的舞茸，最理想的是指水分含量為小於等於 7 wt%的舞茸。乾燥舞茸是指採用任意的的方法(如陰乾、加熱乾燥、真空乾燥、冷凍乾燥等)將新鮮的舞茸脫水、乾燥得來的舞茸。最理想的乾燥舞茸是指呈粉末狀的乾燥舞茸。

本發明中的純酒精是指在 15°C 下酒精含量為以容量計算大於等於 98%的酒精。理想的純酒精是指酒精含量為以容量計算大於等於 99%的酒精，最理想的純酒精是指酒

精含量為以容量計算大於等於 99.5%的酒精。

乾燥舞茸的純酒精萃取法，是在原料(乾燥舞茸)中添加純酒精之後，在常溫或加熱情況下進行一定時間的攪拌。加熱溫度通常是酒精沸點以下的溫度，但在密封容器中，120°C 以下溫度也可。理想的萃取溫度是常溫(室溫)。另外，萃取時間沒有特別的限定，例如 5 分~10 小時之間左右。萃取次數可以進行 1~2 次。

在進行萃取時，以乾燥舞茸為 100 重量份的情況下，純酒精的使用量為 100~1000 重量份，理想的是 200~600 重量份，最理想的是 300~500 重量份。

萃取處理結束後，用濾紙或濾布過濾或使用離心分離等分離手段，以獲取純酒精萃取液。

本發明中的舞茸純酒精萃取物可以呈上述的酒精萃取液狀態。或者，純酒精萃取物也可以是使用通常的方法，從萃取液中全面或部分的去除酒精後的萃取物。也就是說，本發明中的舞茸純酒精萃取物可以是不含有酒精的萃取粉末或者是含酒精量為 1~50 wt%的萃取物。其中，含酒精量為 10~15 wt%的萃取物因為保存性良好，是最理想的。純酒精萃取物的獲取量為乾燥舞茸重量的 2~10%，可以更加肯定的是乾燥舞茸重量的 3~5%(固成分(solid content))的量可以獲得。純酒精萃取物中含有磷脂質(phospholipid)和植物性甾族化合物(steroid)，但其含有的有效成分尚不能確定。

本發明含有由上述萃取物之促進皮脂產生的組成物。

本發明的組成物可促進皮脂產生、保持皮膚表皮的濕潤，以賦予皮膚表皮潤澤和柔軟性，且同時還可以增強皮膚的強度。而且，它還具有防止皮膚表皮受到紫外線的傷害，保護皮膚不受異物和變態反應源的入侵。因此，本發明含有由上述萃取物之促進皮脂產生的組成物，可例如是化妝品。

本發明的組成物是化妝品，其含有化妝品中慣用的載體、賦形劑、添加物等，可以被作為防止皮膚乾燥、保持皮膚細膩和皮膚的柔軟性、改善皮膚的乾燥症狀等的護膚品使用。也可以應用在清洗臉部(如洗臉霜·泡沫·膏等)、調整皮膚狀態用(化妝水·美容液等)、護膚用(乳液·保濕霜等)、面膜·油·按摩化妝品、化妝打底用(粉底霜·白粉、防曬類護膚品等)、局部化妝用(唇膏·眼影膏·眼綫等)、沐浴用(香皂·沐浴液·盆浴液等)、防曬類護膚品等、育發·生發用(育發劑·生發液等)等化妝品領域。在這些化妝品中，舞茸萃取物能夠有效發揮作用的使用量為如：用萃取物換算，則是在 0.1~99.9 wt% 這個範圍，比較理想的是 1~99 wt% 之間。在剩餘部分中，以常用的載體、賦形劑或是添加劑等相互調配。

本發明的萃取物，具有改善因皮脂產生的減少而引起的皮膚障礙或皮膚疾患的症狀。因此，本發明的萃取物也可以是外用藥品，它包含了由上述萃取物組成的具有促進皮脂產生作用的組成物。

本發明的萃取物可例如是外用藥品，其含有藥品中慣

用的載體、賦形劑和添加物。由於皮脂的減少而引起的皮膚障礙或皮膚疾患如皮膚乾燥症，皮脂減少性皮膚炎，貨幣狀皮膚炎，過敏性皮膚炎等。藥品的形態包括：溶液、懸濁液、化妝水、霜、軟膏、凝膠等。在這些外用藥品中，如用萃取物換算舞茸萃取物的有效量，在 0.1~99.9 wt% 之間，比較理想的是 1~99 wt% 之間相調配。在剩餘部分中，以常用的載體、賦形劑或是添加劑等相互調配。

在化妝品或醫藥品中，常用的調配用之載體、賦形劑或添加劑等，可例如是：溶劑，植物油(例如，杏仁油、蓖麻油、可哥脂、椰子油、玉米油、綿籽油、亞麻仁油、橄欖油、棕櫚油、花生油、罌粟籽油、菜油、芝麻油、豆油、葵花籽油以及茶油等食用油)、礦油、脂肪油、液體石蠟油、緩衝劑、防腐劑、保濕劑、螯合劑、抗氧化劑、安定劑、乳化劑、懸浮劑(suspending agent)、凝膠劑、軟膏基劑、坐劑基劑、滲透劑、芳香劑以及護膚劑等。

上述之溶劑，例如是水、酒精、聚乙二醇、丙二醇、甘油、液體聚二甲基矽氧烷以及它們的混合物等，但又不限定於此。

上述之緩衝劑，例如是檸檬酸、醋酸、酒石酸、乳酸、磷酸氫、乙二胺以及它們的混合物等，但並不限定於此。

上述之保濕劑，例如是甘油、丙二醇、戊二醇、山梨醇、乳酸、尿素、1,3-丁二醇(1,3-butylene glycol, 1,3-BG)、大豆固醇以及它們的混合物，但又不限定於此。

上述之防腐劑，例如是 EDTA 鈉、檸檬酸以及它們

的混合物等，但又不限定於此。

上述之抗氧化劑，例如是丁基化羥基茴香醚 (butylated hydroxyanisole, BHA)、維生素 C 和其誘導體、維生素 E 和其誘導體、半胱氨酸(cysteine)以及它們的混合物等，但又不限定於此。

上述之乳化劑，例如是天然膠(例如，刺槐豆膠)、黃耆膠、黃原膠；天然磷脂(例如，大豆卵磷脂)；聚山梨酯 80 誘導體；羊毛脂；羊毛脂醇；山梨聚糖酯；甘油單酯；脂肪醇(例如，山嶮醇)；脂肪酸酯(例如，三(辛酸/葵酸)甘油酯)、類似於單硬脂酸(SE)一樣的脂肪酸的甘油三酯以及它們的混合物，但又不限定於此。

上述之懸浮劑，例如是纖維素以及其誘導體(例如，羧甲基纖維素、羥乙基纖維素、羥丙纖維素、羥丙基甲基纖維素等)、角叉菜膠、刺槐豆膠、阿拉伯樹膠、黃耆膠 (tragacanth gum)以及它們的混合物等，但又不限定於此。

上述之凝膠基劑以及增粘成分，例如是液體石蠟油、聚乙烯、脂肪油、膠體矽、膠體鋁、鋅皂、甘油、丙二醇、黃耆膠、羧基乙烯基聚合物(carboxyvinyl polymer)、矽酸鎂鋁、親水性聚合物(例如，澱粉、羧甲基纖維素、羥乙基纖維素以及它纖維素誘導體等纖維素誘導體)、水膨潤性親水性膠體、角叉菜膠、透明質酸鹽(例如，選擇地含有氯化鈉的透明質酸凝膠)、藻朊酸酯(例如，藻朊酸丙二醇酯)以及它們的混合物等，但又不限定於此。

上述之軟膏基劑，例如是蜜蠟、石蠟、酒精、鯨蠟素、

99.5%)，之後，約 18 個小時，在 20°C 的溫度下一邊進行攪拌一邊進行萃取。然後，利用離心分離的方式去除殘渣，並將所得到的上層澄清溶液，以濾紙加以過濾，接著再通過蒸發、去除的方式除去濾液中的酒精，即可得到的舞茸純酒精萃取物(產量為 43.2g，固成分為 37.2g，酒精為 6.0g)。

〔實驗例〕舞茸的純酒精萃取物的促進皮脂產生作用  
(方法)

### 1. In vitro 實驗法

#### 1-1 豚鼠皮脂腺細胞的培養方法

##### 1-1-1 豚鼠皮脂腺細胞的分離

將雄性金色豚鼠(5 周齡，從日本 SLC 公司購入)的左耳及右耳的耳殼部切除，並浸泡在添加青黴素和硫酸鏈黴素的 DMEM (Dulbecco's modified Eagle's medium)培養液 (Invitrogen 公司生產)中，且於 4 °C 下放置約 1 小時。然後，利用磷酸緩衝液(PBS (-))洗淨。接著，剔除耳殼部周圍的毛，將耳殼部切成 5x5 mm<sup>2</sup> 的碎片，並在 2.4 單位/ml 的 Dispase 溶液(合同酒精公司生產)於 4 °C 下靜置 13.5 小時。利用 Dispase 溶液處理後，用鑷子將耳殼部的表皮剝離，把帶有皮脂腺的真皮浸泡在 Sebocyte growth(SG)培養液[6%(v/v)小牛血清(Nichirei Bioscience 公司生產)/2%(v/v)人血清 (ICN Biomedical LTD 公司生產)/0.68mM L-Glutamine/100Units/ml 青黴素和 100 µg/ml 硫酸鏈黴素 /DMEM/F-12]中，在顯微鏡下分離皮脂腺細胞。

### 1-1-2 豚鼠皮脂腺細胞的組織片培養

將小鼠 3T3 細胞(購自理化研開發銀行)用絲裂黴素處理 4 小時後，將細胞以  $1 \times 10^3$  cells/cm<sup>2</sup> 的細胞數播種在 60 mm 培養皿中，培養成單細胞層，作為培養豚鼠皮脂腺細胞的支持細胞層用。用鑷子將分離出的皮脂腺放在支持層細胞上與其接觸，在 37°C，5% CO<sub>2</sub> 的條件下進行培養，直至細胞增至接近密集程度。細胞培養液使用添加 EGF (10 ng/ml) 的 SG medium，大約 2 日左右更換培養液。

### 1-1-3 豚鼠皮脂腺細胞的繼代培養

將支持細胞層的小鼠 3T3 細胞用 0.02%(w/v) EDTA/PBS(-)溶液去除，之後，把增殖生長成組織片的豚鼠皮脂腺細胞用 0.25%(w/v) 胰蛋白酶 /0.02%(w/v) EDTA/PBS(-)溶液使其剝離，進行繼代培養。另外，全部實驗中使用的繼代細胞均不超過 3 代。

### 1-2 處理方法

將豚鼠皮脂腺細胞加入至至 35 mm 培養皿後的第二天，在添加或不添加胰島素(10 nM)(Sigma-Aldrich 公司生產)的情況下，使用含有實施例 1 中得到的舞茸萃取物(100、200 以及 400 µg/ml)和含有巴西蘑菇萃取物(100、200 以及 400 µg/ml)的培養液[6% 小牛血清/2% 人血清/0.68 mM L-穀氨酸/100 units/ml 青黴素 G/100 µg/ml 硫酸鏈黴素/DMEM/F-12]對細胞進行處理。3 天後，再進行同樣的處理，接著再繼續培養 3 天。整個實驗使用的細胞繼代培養均不超過 3 代。

### 1-3 Oil red O 染色法

含有 0.3% oil red O(Sigma-Aldrich 公司生產)的異丙醇(isopropanol)溶液和雙蒸水以 3 : 2(v : v)的比例加以混合後，放置在密封式超音波細胞粉碎裝置裏進行 15 分鐘超音波處理。然後在室溫裏放置 10 分鐘，過濾。將過濾後的上層澄清溶液之 oil red O 作為染色液使用。用 PBS(-)將細胞清洗乾淨後，添加固定液 [4% 三聚甲醛(paraformaldehyde)/PBS(-)]在室溫裏固定 1 個小時。固定後，用蒸餾水把細胞清洗乾淨，添加 oil red O 染色液，在 37 °C 下進行 15 分鐘染色。染色後，把細胞用流水清洗乾淨，用光學顯微鏡觀察脂肪滴的形成。並且，在光學顯微鏡下將經過 oil red O 染色的細胞拍成數位畫像，用解析畫像·定量化軟體 Lumina Vision Ver2.2.2(三谷商事(MITANI CORPORATION)公司製造)在各處理中不同的 3 個地方的細胞內積蓄的脂肪滴的比例定量，其定量以畫像單位來表示。

### 1-4 細胞內皮脂量的定量

#### 1) 樣品調製法

經藥物處理後的細胞用 PBS(-)清洗 2 次，用 0.25% 胰蛋白酶(trypsin)/0.02% EDTA/PBS(-)的溶液將其回收，冰凍回收到的細胞懸浮液，進行超聲波處理將細胞粉碎。

#### 2) 甘油三脂量的測定法

使用 TGII (Roche · Diagnostics 公司)測定皮脂的主要成分甘油三脂(TGs)的量，也就是在上記"1)"的細胞粉碎樣

品裏添加處理液 1 [1.65 IU/ml glycerolkinase/6 IU/ml glycerol-3-phosphate oxydase/catalase/2.95  $\mu$ mol/ml disodium adenosin-5'-triphosphate, trihydrate (ATP)/0.65  $\mu$ mol/ml sodium N-(3,5-dimethoxyphenyl)-N'-succinylethylenediamine(DOSE)]，在 37 °C 下讓其反應 10 分鐘，去除游離型甘油。之後，立刻添加處理液 2 [0.55 IU/ml lipoproteinlipase/peroxidase/0.65  $\mu$ mol/ml 4-aminoantipyrin (4-AA)]，再讓其在 37 °C 下反應 10 分鐘。反應終止後，在 590 nm 測定吸光度。同樣的通過 triolein 標準液(0.6 mg/ml)的吸光度計算出 TGs 的量。並且，用 3,5-diaminobenzoic acid dihydrochloride (DABA)法測定出細胞粉碎樣品中的 DNA 的含量，計算出 1  $\mu$ g DNA 當中的 TGs 的含量。

## 2. In vivo 實驗法

在出生 3 周的雄性豚鼠(從日本 SLC 公司購入)(處理組，每組 n=1)的耳殼部(左耳)塗抹含有舞茸萃取物和含有巴西蘑菇萃取物的溶液(95% ethanol/5% glycerol)，每天 1 次，每次 50  $\mu$ l。同樣的，在同一豚鼠的右耳處塗抹了不含有舞茸萃取物和含有巴西蘑菇萃取物的溶液(95% ethanol/5% glycerol)(對照組，每組 n=1)。2 星期後，將豚鼠的耳殼部做成凍結切片，進行 oil red O 染色。在光學顯微鏡下，將經過 oil red O 染色的耳殼部的組織切片拍成數位畫像，用畫像解析·定量化軟體 Lumina Vision 將脂肪

滴的比例定量，其定量以畫像單位來表示。

### 3. 統計處理

用 Fisher 多變量分散分析法實施各個處理間顯著性差異的檢定。

(結果)

#### 1. In vitro 實驗

(1)未經胰島素處理的細胞群(低分化型)，舞茸萃取物促進了細胞內脂肪滴的形成(圖 1B，400  $\mu\text{g}/\text{ml}$ ；和圖 1A 對比)。同時，也證實了舞茸萃取物的促進脂肪滴形成作用是一種濃度依存性關係(圖 2)。另一方面，巴西蘑菇則很微弱地促進了細胞內脂肪滴的形成(圖 1C，400  $\mu\text{g}/\text{ml}$ ；和圖 1A 及圖 2 對比)，和舞茸萃取物相比其促進作用明顯地比較弱( $p < 0.001$ )。

(2)經過胰島素處理的細胞(分化型)，舞茸萃取物同樣以濃度依存性地方式促進了細胞內脂肪滴的形成(圖 1E；和圖 1D 及圖 2 對比)。另一方面，在相同條件下的巴西蘑菇萃取物雖然也促進了細胞內脂肪滴的形成(圖 1F；和圖 1D 及圖 2 對比)，但和舞茸萃取物相比其促進作用明顯地比較弱( $p < 0.001$ )。

(3)未經胰島素處理的細胞群，舞茸萃取物濃度依存性地增加了細胞內甘油三脂的含量(圖 3)。但是，在相同條件下的巴西蘑菇萃取物沒有改變細胞內甘油三脂的含量(圖 3)。另一方面，經過胰島素處理的細胞，舞茸萃取物同樣濃度依存性地增加了細胞內甘油三脂的含量(圖

3)。而巴西蘑菇萃取物雖然也增加了細胞內甘油三脂的含量，但同樣在 400  $\mu\text{g/ml}$  的濃度下，和舞茸萃取物相比，其增加的甘油三脂的含量則明顯的比較低(圖 3)。

## 2. In vivo 實驗

(1)下表是豚鼠在舞茸萃取物及巴西蘑菇萃取物處理前後的體重變化。

濃度	舞茸萃取物			巴西蘑菇萃取物		
	1%	2%	4%	1%	2%	4%
豚鼠編號	豚鼠 1	豚鼠 2	豚鼠 3	豚鼠 4	豚鼠 5	豚鼠 6
處理前(a)	42.3 g	47.9 g	45.2 g	47.3 g	46.8 g	46.3 g
處理後(b)	84.1 g	92.0 g	81.0 g	92.0 g	85.0 g	86.0 g
體重差(b-a)	41.8 g	44.1 g	35.8 g	44.7 g	38.2 g	39.7 g

(2)舞茸萃取物在 1%、2%以及 4%的濃度下，分別促進了皮脂腺組織的皮脂蓄積量 1.6 倍、3 倍以及 1.3 倍(圖 4 以及圖 6A)。

(3)1%的巴西蘑菇萃取物抑制了皮脂腺組織的皮脂蓄積量，而其他濃度(2%以及 4%)則沒有觀察到皮質蓄積量有顯著的變化(圖 5 以及圖 6A)。

### (討論)

在 in vivo 以及 in vitro 實驗中，明顯地顯示出舞茸萃取物具有促進皮脂產生的作用。同時，舞茸萃取物的促進作用明顯較巴西蘑菇的促進作用強的事實也得以證實。也就是說，舞茸萃取物是強有力地促進皮脂產生物質，不僅對乾燥皮膚的保養，對減輕皮膚乾燥症等因為皮脂腺功能下降而引起的皮膚疾患的症狀都有一定的效果。

## 〔實施例 2〕

舞茸的純酒精萃取物的甘油三脂(TGs)特異性產生的促進作用

## (方法)

## 1. 豚鼠皮脂腺細胞的培養

將豚鼠皮脂腺細胞以  $2.35 \times 10^4$  cells/cm<sup>2</sup> 的細胞數播種在 35mm 培養皿中，次日將實施例 1 中得到的舞茸萃取物(100、200 以及 400  $\mu\text{g/ml}$ )單獨或和胰島素(10 nM)加入脂腺細胞培養液(SBCM)[DMEM/F-12/6%(v/v) 小牛血清/2%(v/v) 人血清/0.68 mM L-穀氨酸/100 units/ml 青黴素 G/100  $\mu\text{g/ml}$  硫酸鏈黴素]中培養 3 日。3 日後，用新調製的同樣舞茸萃取物或和胰島素(10 nM)加入脂腺細胞培養液(SBCM)中再培養 3 日。對照組是用不含舞茸萃取物和胰島素的培養液(SBCM)培養的脂腺細胞。

## 2. 皮脂組成分析

將用含有或不含舞茸萃取物的培養液(SBCM)培養的脂腺細胞用 PBS(-)洗淨 2 次，用 0.25%(w/v)胰蛋白酶/0.02%(w/v) EDTA/PBS (-)溶液回收細胞。將回收的細胞懸浮液置於冰水中，用密閉式超音波細胞破裝置(Bioruptor, COSMO·Bio 公司製造)進行超音波處理 5 分鐘(200W, 6 秒)，製成皮脂組成分析的材料。將此材料移至脫脂 Spitz 管，加入氯仿：甲醇(2：1；v：v)的溶液來萃取脂質。將萃取的脂質用自動薄層色譜分析儀器(TLC, DIATRON Co.製造)進行分析。分析方法為，將萃取的脂

質點在棒狀薄層後，加入氯仿：甲醇(35：35)的溶液進行 1 次展開(1.5 cm)；用苯：氯仿：醋酸(50：20：0.7)進行 2 次展開(8 cm)；進一步用己烷：苯(35：35)進行 3 次展開(11 cm)。然後，將此在棒狀薄層上分離出來的脂質，用氫火焰離子化檢測器(Flame Ionization Detector, FID)在室溫下以 30 秒／棒的速度直接檢測出來。

另外，對各脂質的組成用已知量的標準脂質對照下用液相色譜儀進行分析，如 3-棕櫚酸甘油酯(對應圖 7 的 TG)；棕櫚酸甘油酯(對應圖 7 的 FFA)；膽固醇(對應圖 7 的 Cho)；棕櫚酸甘油酯膽固醇(對應圖 7 的 ChoE)(Doosan Serdary Research Laboratories 公司生產)；以及軟脂酸(對應圖 7 的 Wax E)(Nu-Chek PreP Inc 生產)。另外，用醋酸膽固醇(2 µg)(Doosan Serdary Research Laboratories 公司生產)作為內部標準品的峰值面積對各個脂質進行定量計算。

(結果)

根據皮質組成分析的結果，證明舞茸萃取物(100、200 以及 400 µg/ml)首先濃度依存性地增加了皮質成分中的甘油三脂的含量(圖 7)。另外，舞茸萃取物在 400 µg/ml 濃度下，增加了膽固醇酯(ChoE)以及游離脂肪酸(FFA)的含量。它們的含量在全脂量中分別佔 2.2%和 5.3%，與佔 81.5%的甘油三脂相比，明顯含量要低。

[ 實施例 2 ]

以下，是含有舞茸萃取物護膚霜(作為美容用品)的配

方。

成分名	調配量(wt%)
舞茸萃取物	2.0
橄欖油	10.0
甘油三(辛酸/癸酸)酯	10.0
維生素E	1.0
精製水	77.0
共計	100.0

### [ 實施例 3 ]

以下，是含有舞茸萃取物護膚霜(作為醫藥品)的配方。

成分名	配合量(wt%)
舞茸萃取物	10.0
橄欖油	10.0
甘油三(辛酸/癸酸)酯	10.0
維生素E	1.0
精製水	69.0
共計	100.0

### [ 實施例 4 ]

舞茸萃取物對乾皮症患者的作用效果

如實施例 2 所示，用含有 2 wt% 舞茸萃取物的護膚霜對乾皮症患者進行試驗性治療，以觀察其效果。

### 試驗方法

試驗對象：本試驗對住在老人保健設施(GoodWell)

內的患有乾皮症，脫屑 12 名患者(76-97 歲，其中男女各 6 名)。

實施期間：2006 年 12 月～2007 年 1 月

方法：以脫屑(皮膚的角質層脫落的症狀)為基準分為 3 階段(3：重症；2：中症；1：輕症)對被試驗者的皮膚進行分級評價後，在被試驗者的皮膚上塗抹舞茸萃取物的護膚霜。塗抹部位包括：右下腕、左下腕、右下腿、左下腿，並在此部位上進行評價。

### 結果

以下結果顯示被試驗者從塗抹試驗開始 1 周後的皮膚狀態的診斷評價度(3：重症；2：中症；1：輕症)，另外，診斷評價度：0，則表示治癒。

#### 被試驗者 1

診察·塗抹日	右下腕	左下腕	右下腿	左下腿
2006/12/4	2	1	2	2
2006/12/6	1	1	1	1
2006/12/8	1	1	1	1
2006/12/11	1	0	1	1

#### 被試驗者 2

診察·塗抹日	右下腕	左下腕	右下腿	左下腿
2007/1/17	1	1	2	1
2007/1/19	1	1	1	1
2007/1/22	0	0	1	1
2006/12/11	0	0	1	1

## 被試驗者 3

診察·塗抹日	右下腕	左下腕	右下腿	左下腿
2006/12/6	2	2	2	2
2006/12/11	2	2	1	2
2006/12/13	1	0	0	0

## 被試驗者 4

診察·塗抹日	右下腕	左下腕	右下腿	左下腿
2006/12/15	1	1	1	1
2006/12/18	0	1	0	0
2006/12/20	0	1	0	0
2006/12/22	0	0	0	0

## 被試驗者 5

診察·塗抹日	右下腕	左下腕	右下腿	左下腿
2007/1/5	2	2	3	2
2007/1/8	1	1	2	2
2007/1/10	0	0	2	2
2007/1/12	0	0	2	2

## 被試驗者 6

診察·塗抹日	右下腕	左下腕	右下腿	左下腿
2006/12/18	0	1	3	2
2006/12/11	0	0	2	1
2006/12/13	0	0	1	1

## 被試驗者 7

診察·塗抹日	右下腕	左下腕	右下腿	左下腿
2006/12/18	1	1	1	1
2006/12/20	0	0	1	1
2006/12/20	0	0	1	1
2006/12/22	0	0	0	1

## 被試驗者 8

診察·塗抹日	右下腕	左下腕	右下腿	左下腿
2006/12/29	2	3	3	3
2006/12/30	1	2	2	2
2007/1/4	1	0	2	1

## 被試驗者 9

診察·塗抹日	右下腕	左下腕	右下腿	左下腿
2007/1/5	0	0	2	3
2007/1/8	0	0	2	1
2007/1/10	0	0	2	1
2007/1/12	0	0	1	1

## 被試驗者 10

診察·塗抹日	右下腕	左下腕	右下腿	左下腿
2006/12/20	1	1	2	2
2006/12/22	1	0	2	2
2006/12/25	1	0	1	1
2006/12/26	1	0	1	1
2006/12/27	1	0	1	1

## 被試驗者 11

診察·塗抹日	右下腕	左下腕	右下腿	左下腿
2006/12/4	1	1	2	1
2006/12/6	0	1	1	1
2006/12/8	0	1	1	1
2006/12/26	0	1	0	0

## 被試驗者 12

診察·塗抹日	右下腕	左下腕	右下腿	左下腿
2006/12/18	0	1	2	1
2006/12/20	0	0	1	1
2006/12/22	0	0	1	1
2006/12/25	0	1	0	0

如上述的診斷評價度所示，被試驗者 1~12 的皮膚狀

態在塗抹後 1 周(7 日)之後得到改善。另外，塗抹舞茸萃取物的護膚霜的改善效果可以在塗抹的 1-3 日後觀察到。

圖 8 所示的是被試驗者 5 在經過塗抹舞茸萃取物的護膚霜治療前後的照片。塗抹舞茸萃取物的護膚霜後的乾皮症改善效果從這些照片上可以得到確認。

根據以上結果，證明含有 2 wt% 的舞茸萃取物的護膚霜可以對乾皮症有治療效果。

本發明的萃取物具有促進皮脂產生的作用，可作為化妝品或藥品使用，有效地治療或改善那些由於皮脂的減少而引起的皮膚異常、障礙或者皮膚疾患症狀。

雖然本發明已以較佳實施例揭露如上，然其並非用以限定本發明，任何熟習此技藝者，在不脫離本發明之精神和範圍內，當可作些許之更動與潤飾，因此本發明之保護範圍當視後附之申請專利範圍所界定者為準。

#### 【圖式簡單說明】

圖 1 表示舞茸萃取物以及巴西蘑菇萃取物對豚鼠脂腺細胞脂肪滴的形成產生的影響作用，其顯示舞茸萃取物以及巴西蘑菇萃取物對脂腺細胞脂肪滴的形成產生的影響作用的照片。

圖 2 表示經舞茸萃取物和巴西蘑菇萃取物處理後的豚鼠脂腺細胞中皮脂量的動態，其顯示經舞茸萃取物以及巴西蘑菇萃取物處理之後脂腺細胞中皮脂量動態的圖表。其中，\*\*以及\*\*\*，和沒有經過處理的細胞(C)的顯著性差異( $p < 0.01$  以及  $0.001$ )；##以及###，和經過胰島素處

理細胞的顯著性差異( $p < 0.01$ ，以及  $0.001$ )。

圖 3 表示舞茸萃取物和巴西蘑菇萃取物對豚鼠脂腺細胞的 TG 量所產生的效果，其顯示舞茸萃取物以及巴西蘑菇萃取物對皮脂腺細胞中的 TG 產生效果的圖表。其中，\*\*以及\*\*\*，和沒有經過處理的細胞(C)的顯著性差異( $p < 0.05$  以及  $0.001$ )；#、##以及###，和經過胰島素處理細胞的顯著性差異( $p < 0.05$ 、 $0.01$  以及  $0.001$ )。

圖 4 表示使用 Oil red O 染色法評價舞茸萃取物對豚鼠皮脂腺的皮脂積蓄產生的作用，其顯示舞茸萃取物對皮脂腺的皮脂蓄積產生效果的照片。其中，組織切片中的黑色橢圓是指皮脂腺，用(▲)表示；\*：塗有舞茸萃取物側面；▲：皮脂腺。

圖 5 表示使用 Oil red O 染色法評價巴西蘑菇萃取物對豚鼠皮脂腺的皮脂積蓄產生的作用的評價，其顯示巴西蘑菇萃取物對皮脂腺的皮脂蓄積產生效果的照片。其中，組織切片中的黑色橢圓是指皮脂腺，用(▲)表示；\*：塗有巴西蘑菇萃取物側面；▲：皮脂腺。

圖 6A 與圖 6B 表示經舞茸萃取物和巴西蘑菇萃取物處理後豚鼠皮脂腺組織中皮脂量的動態，其顯示經舞茸萃取物以及巴西蘑菇萃取物處理之後脂腺細胞中皮脂量的圖表。其中，圖 6A 是舞茸萃取物處理，圖 6B 是巴西蘑菇萃取物處理，而\*\*和\*\*\*為  $p < 0.01$  以及  $0.001$ 。

圖 7 表示經舞茸萃取物處理後豚鼠皮脂腺組織中皮脂組成的分析，其顯示經舞茸萃取物處理後豚鼠皮脂腺組

織中皮脂組成的分析的圖表。ChoE，膽固醇酯(作為標準脂質與使用的棕櫚酸膽固醇對應)；WaxE，蠟酯；(作為標準脂質與使用的棕櫚酸膽固醇對應)；TG，甘油三酯(作為標準脂質與使用的棕櫚酸膽固醇對應)；FFA，游離脂肪酸(作為標準脂質與使用的棕櫚酸膽固醇對應)；Cho，膽固醇(作為標準脂質與使用的膽固醇對應)。在統計處理中，經 Fisher 多變量分散分析法統計處理，使用各處理組之間的有意義的差異鑑定。\*和\*\*\*是顯示在與未經舞茸萃取物處理的培養的豚鼠皮脂腺細胞(對照組)的各脂質成分進行比較後有顯著性差異的結果。(各為  $p < 0.05$  以及 0.01)。

圖 8 表示症狀改善例(5 號受試驗者)，其顯示經含有舞茸提取物的護膚霜治療前後的 5 號受試驗者的皮膚的照片。

#### 【主要元件符號說明】

無



## 發明專利說明書

(本說明書格式、順序及粗體字，請勿任意更動，※記號部分請勿填寫)

※ 申請案號：96119746

A61K 36/06 (2006.01)

※ 申請日期：96.6.1

※IPC 分類：A61K 8/97 (2006.01)  
A61P 17/00 (2006.01)

### 一、發明名稱：(中文/英文)

舞茸萃取物以及包含此萃取物之促進皮脂產生的組成物

MAITAKE MUSHROOM EXTRACT AND  
COMPOSITION CONTAINING THE SAME FOR  
ENHANCE PRODUCTION OF SEBUM

### 二、中文發明摘要：

本發明提供一種可以促進皮脂產生的新穎舞茸萃取物及其包含此舞茸萃取物的組成物。其中，舞茸萃取物是使用純酒精從乾燥舞茸中萃取得到；組成物包含此舞茸萃取物，而具有可促進皮脂產生的作用。

### 三、英文發明摘要：

A novel maitake mushroom extract and a composition containing the same for enhancing the production of sebum are provided. The maitake mushroom extract is extracted from a dried maitake mushroom by using pure ethanol. The composition containing the maitake mushroom extract, so it has a function of enhancing the production of sebum.

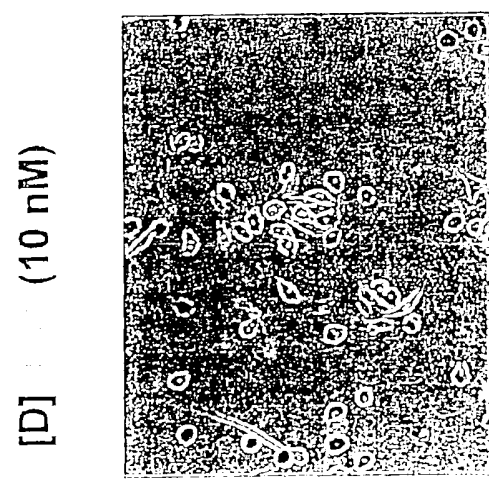
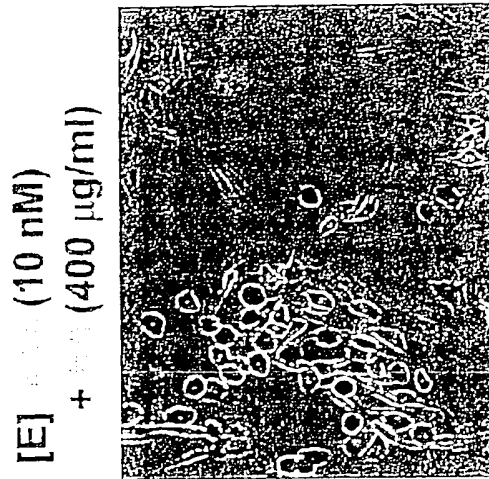
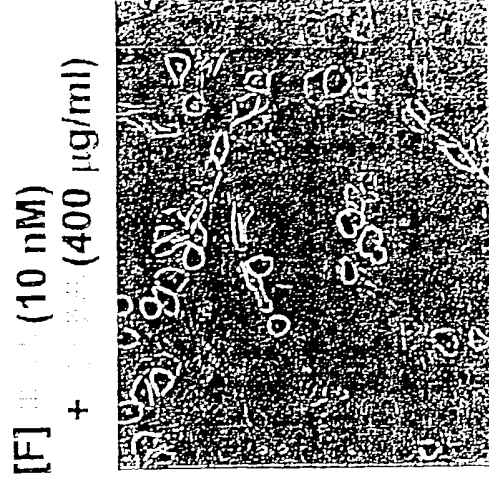
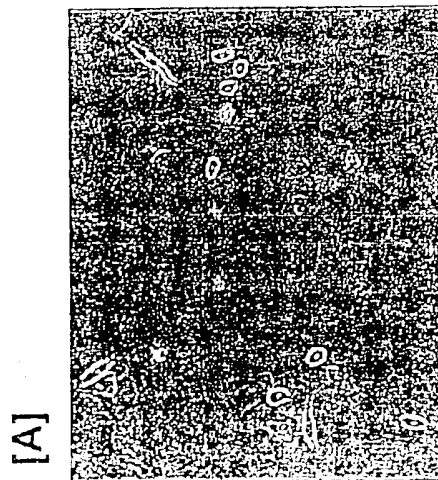
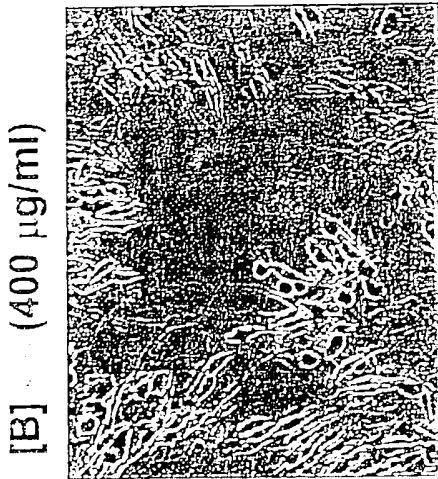
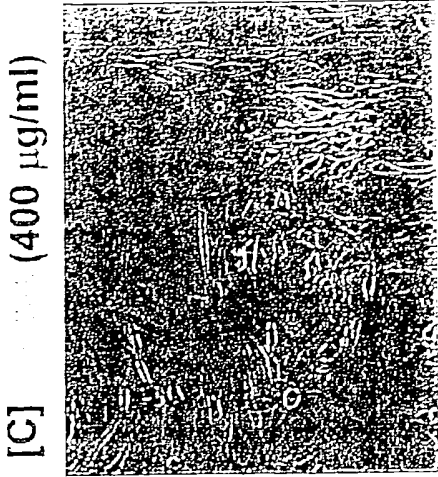
### 四、指定代表圖：

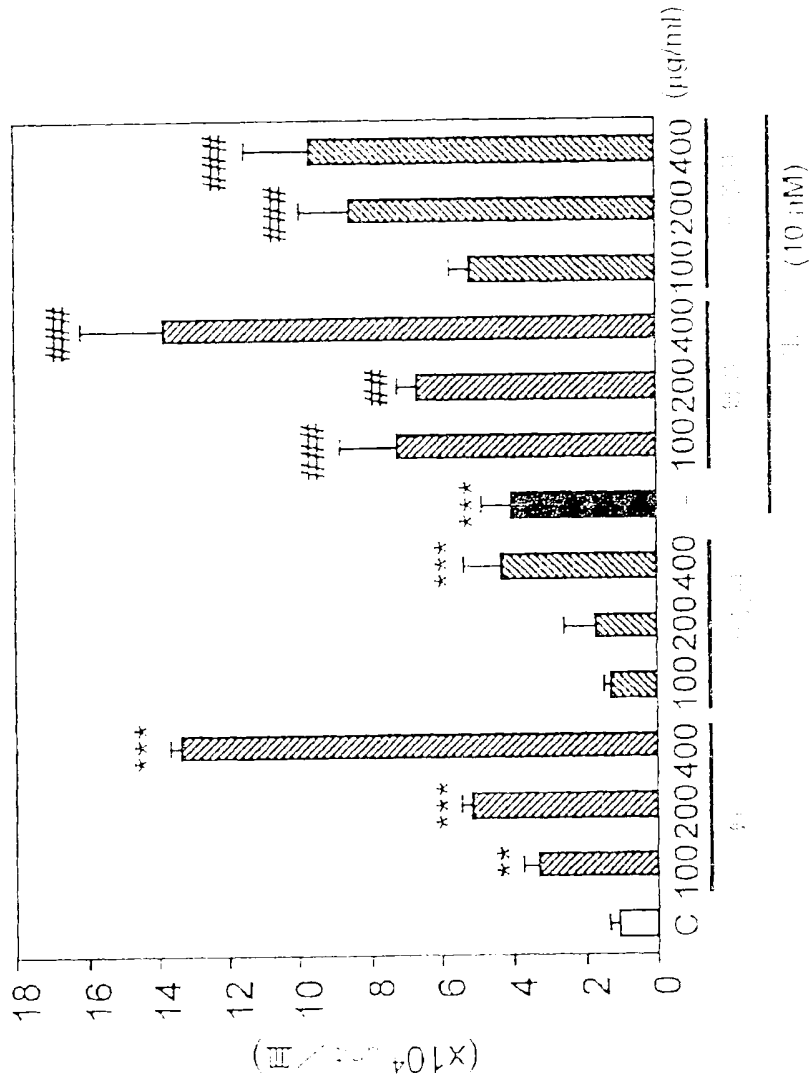
- (一)本案指定代表圖為：圖 8。
- (二)本代表圖之元件符號簡單說明：

無

### 五、本案若有化學式時，請揭示最能顯示發明特徵的化學式：

無





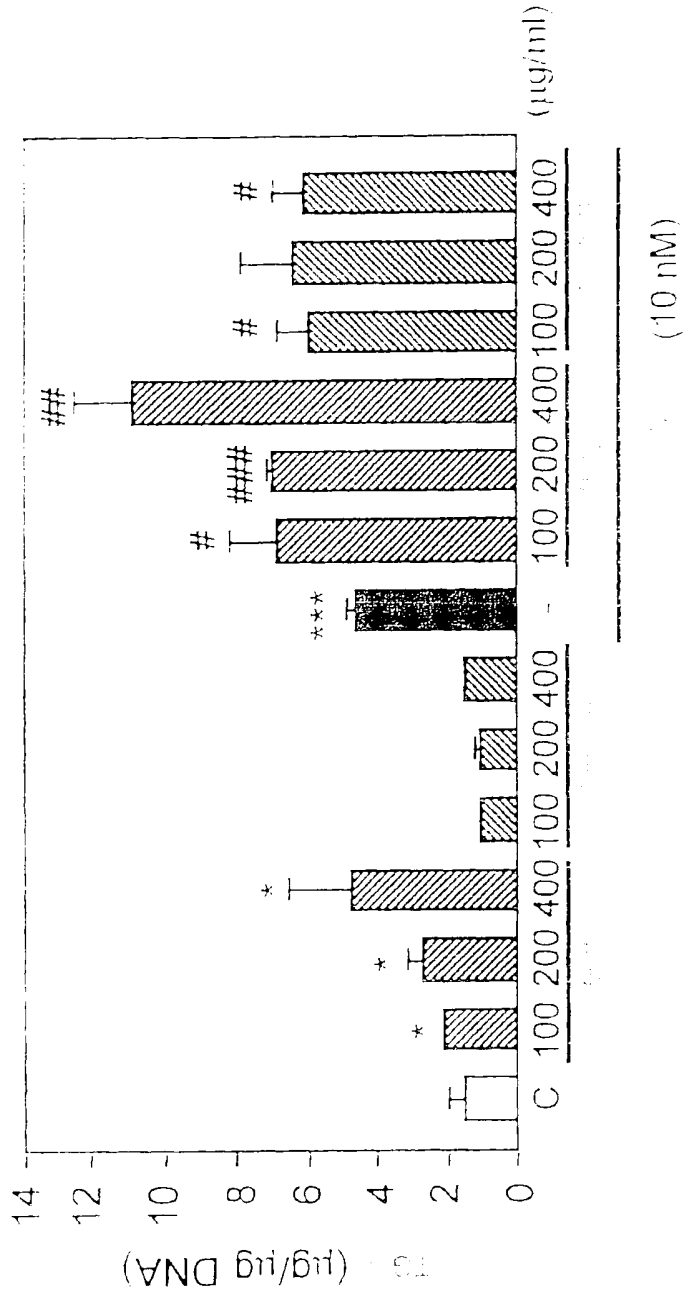


Figure 3

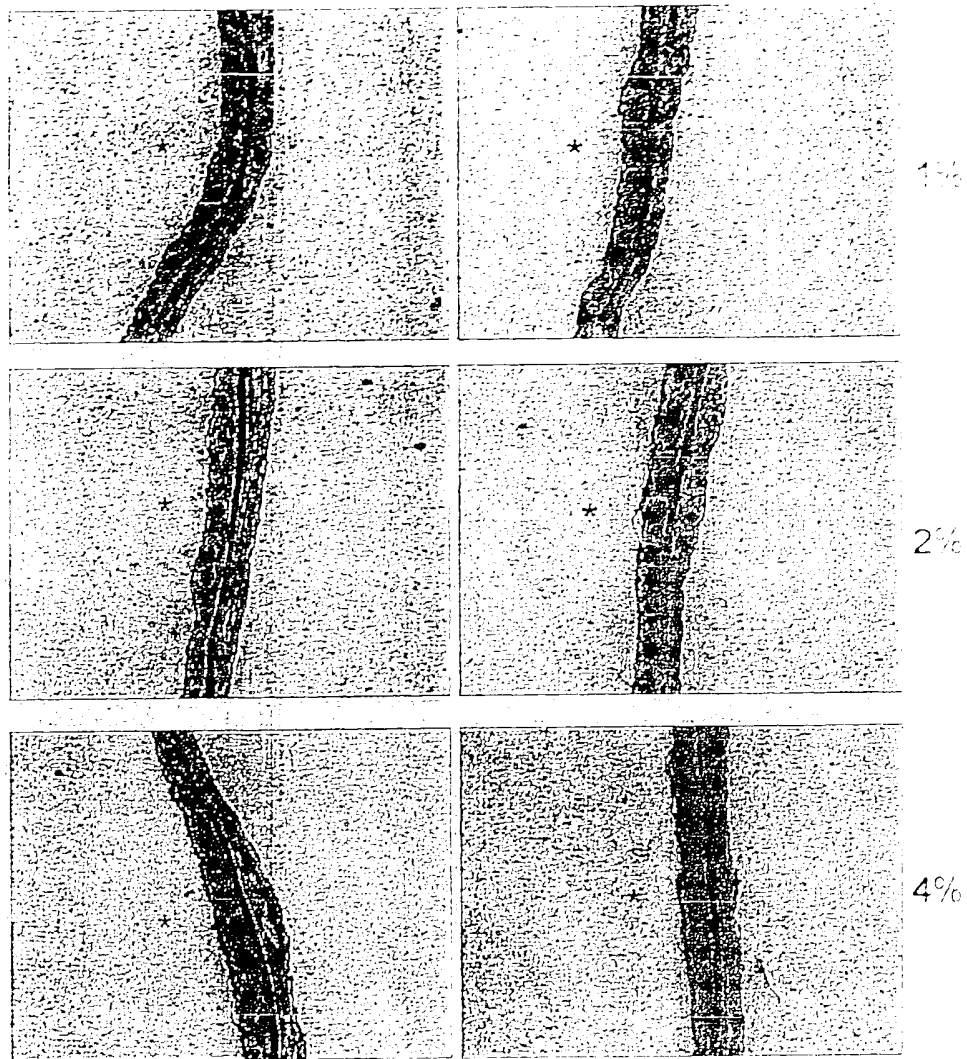
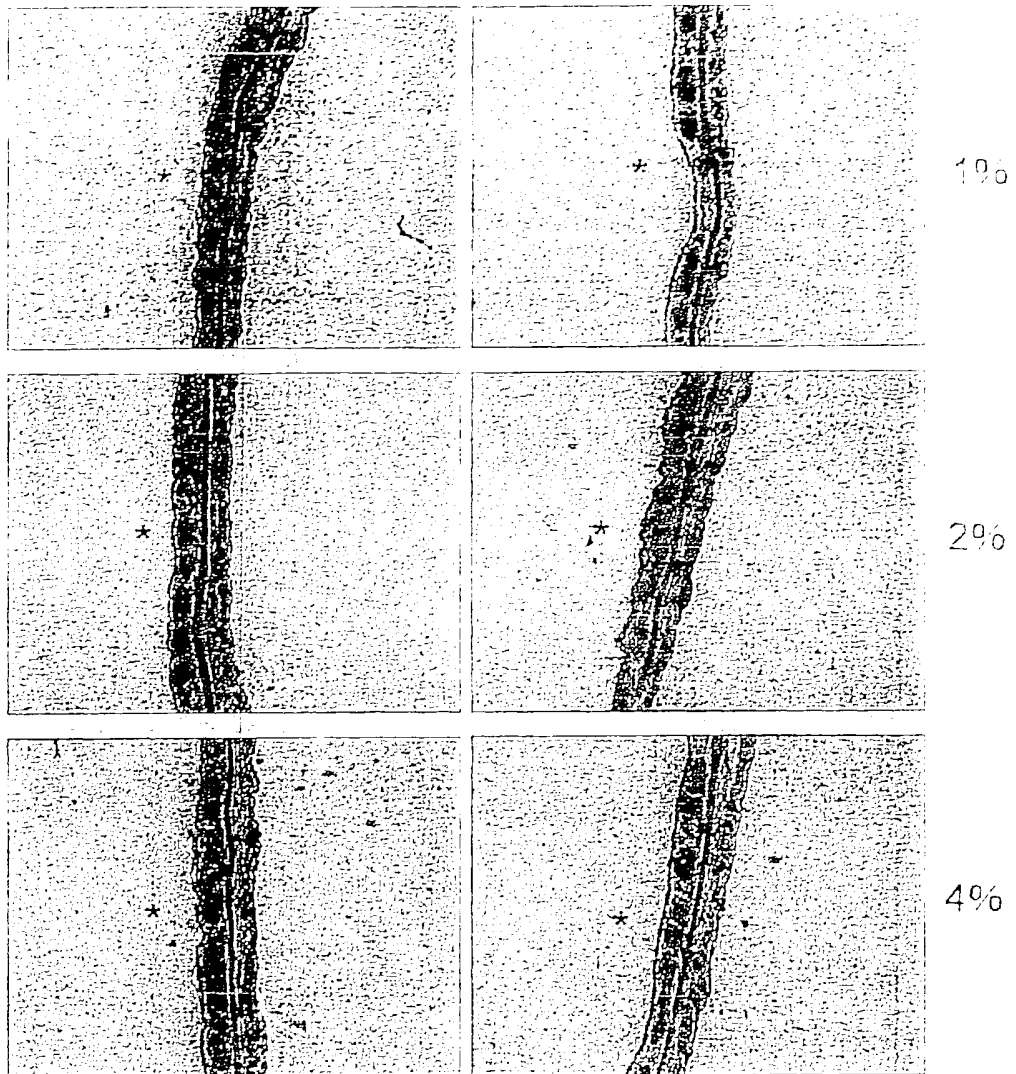


圖 4



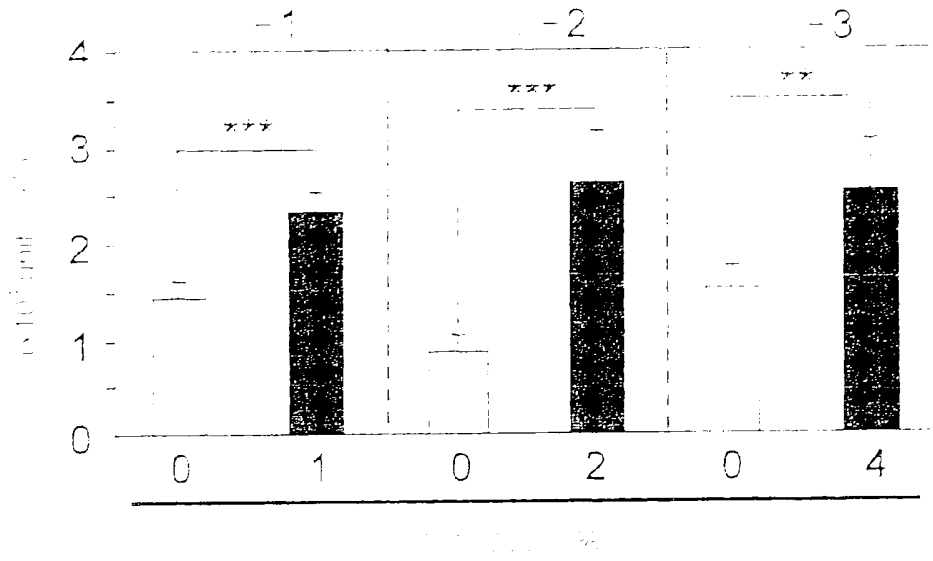


圖 6A

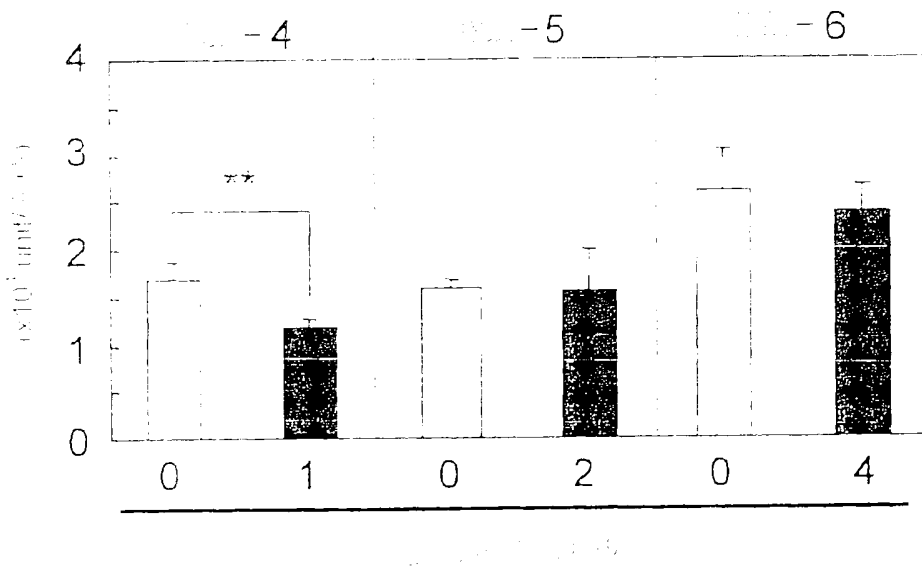


圖 6B

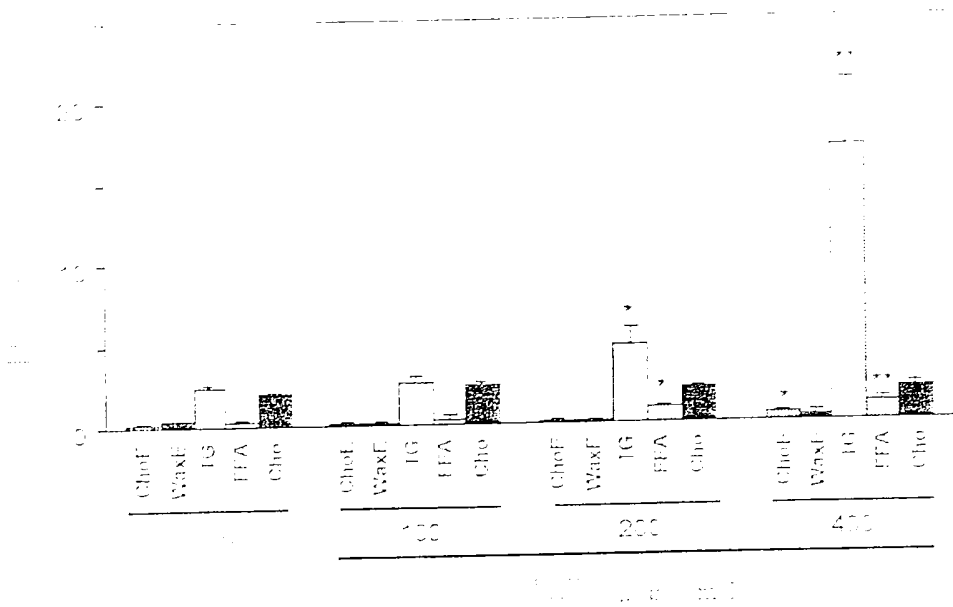


圖 7

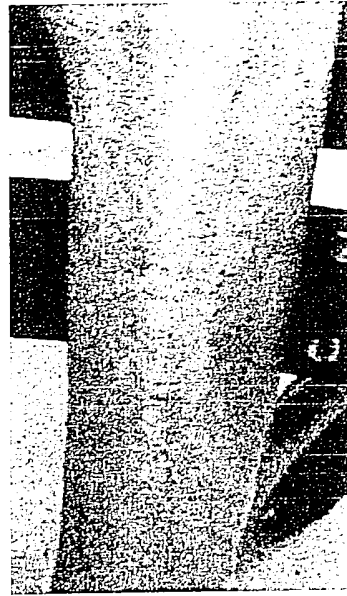
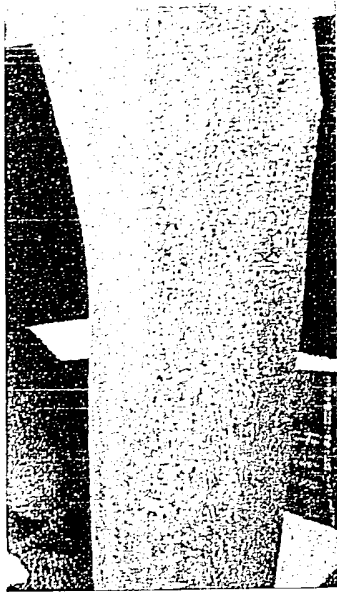


图 8

### 三、英文發明摘要：

A novel maitake mushroom extract and a composition containing the same for enhancing the production of sebum are provided. The maitake mushroom extract is extracted from a dried maitake mushroom by using pure ethanol. The composition containing the maitake mushroom extract, so it has a function of enhancing the production of sebum.

### 四、指定代表圖：

- (一)本案指定代表圖為：圖 8。
- (二)本代表圖之元件符號簡單說明：

無

### 五、本案若有化學式時，請揭示最能顯示發明特徵的化學式：

無

101年08月24日修正頁(本)  
劃線

鯨蠟硬脂醇、十聚甘油硬脂酸酯、硬脂酸、PEG-150 硬脂酸酯、植物油、山梨聚糖脂肪酸酯、聚乙烯二醇、山梨聚糖脂肪酸酯和環氧乙烷之間的縮合生成物(例如，聚氧乙烷山梨(糖)醇酐單油酸酯)以及它們的混合物等，但又不限定於此。

疏水性軟膏基劑，例如是石蠟、植物油、動物脂、合成甘油、蠟、羊毛脂、液體聚二甲基矽氧烷以及它們的混合物等，但又不限定於此。

親水性軟膏基劑，例如是聚乙二醇(聚乙烯二醇)等，但又不限定於此。

另外，慣用的載體、賦形劑和添加劑等，還可例如是角鯊烯、卵磷脂、含水卵磷脂、脂溶性維生素 C 衍生物(ascorbic acid tetra-2-hexyldecanoate, VC-IP)、尿囊素、甘草酸二鉀、糖基海藻糖(glucosyl trehalose)、加水分解含水澱粉、水解膠原蛋白、薔薇萃取物、二甲矽油、辛醯乙二醇(capryl glycol)：辛二醇、甜菜鹼、硬脂醯谷氨酸鈉、野玫瑰精油、鯊肝醇、羥脯氨酸(hydroproxy proline)等。

本發明的萃取物可以使脂腺細胞活性化。本發明包含由此萃取物組成之可使脂腺細胞活化的組成物。

以下，列舉實施例來說明本發明，但是本發明並不局限於下面的例子。

#### [ 實施例 1 ] 舞茸(*Grifola frondosa*)萃取物的製造

在 1000g 的舞茸殺菌乾燥粉末(水分含量：6 wt%)裡添加 4000g 的純酒精(水分量：以容量計算大於等於

## 七、申請專利範圍：

1.一種皮脂產生促進物質，是使用以容量計算之酒精含量大於等於 98%的酒精 400~1000 重量份，從含水量小於等於 6 wt%的乾燥舞茸(*Grifola frondosa*)的子實體 100 重量份中萃取而得到。

2.一種化妝品，含有如申請專利範圍第 1 項所述之皮脂產生促進物質。

3.一種醫藥品，含有如申請專利範圍第 1 項所述之皮脂產生促進物質。

4.一種皮脂產生促進物質的製造方法，包括：

使用以容量計算之酒精含量大於等於 98%的酒精 400~1000 重量份，對含水量小於等於 6 wt%的乾燥舞茸(*Grifola frondosa*)的子實體 100 重量份進行萃取。

5.一種促進皮脂產生用之化妝品的製造方法，包括：

使用以容量計算之酒精含量大於等於 98%的酒精 400~1000 重量份，對含水量小於等於 6 wt%的乾燥舞茸的子實體 100 重量份進行萃取。

6.一種促進皮脂產生用之醫藥品的製造方法，包括：

使用以容量計算之酒精含量大於等於 98%的酒精 400~1000 重量份，對含水量小於等於 6 wt%的乾燥舞茸的子實體 100 重量份進行萃取。