(19)国家知识产权局

(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 119524140 A
(43)申请公布日 2025.02.28

(21)申请号 202411541425.3
(22)申请日 2016.11.21
(30)优先权数据
62/257,707 2015.11.19 US
(62)分案原申请数据
201680067605.X 2016.11.21
(71)申请人 雅各生技有限公司
地址 中国台湾台北市
(72)发明人 胡幼圃 何欣恬 吴永恩 唐熙卉
(74)专利代理机构 北京戈程知识产权代理有限公司 11314
专利代理师 程伟 吴少桐
(51)Int.Cl.
A61K 45/06(2006.01)
A23L 33/105(2016.01)
A23L 33/125(2016.01)
A23L 33/16(2016.01)
A23L 33/10(2016.01)
A61K 31/045(2006.01)
A61K 31/047(2006.01)
A61K 31/352(2006.01)
A61K 31/7016(2006.01)
A61P 1/18(2006.01)

权利要求书1页 说明书12页

(54)发明名称

预防或治疗脂肪胰、改善脂肪胰引起的胰病变、糖尿病或其他相关病症之组合物及方法

(57)摘要

本申请涉及一种预防或治疗脂肪胰、改善脂肪胰引起的胰病变、糖尿病或其他相关病症之组合物及方法。具体地,本申请涉及一种化合物用于制备于个体中降低胰脂肪含量、预防或治疗脂肪胰、或改善脂肪胰引起的胰病变或其他相关病症的组合物的用途。

CN 119524140 A

1.一种化合物用于制备于个体中降低胰脂肪含量、预防或治疗脂肪胰、或改善脂肪胰引起的胰病变或其他相关病症的组合物的用途,其中该化合物选自于以下所组成群组:枸橘苷、异牡荆素、圣草酚、麦角固醇、月桂烯、金丝桃苷、儿茶素、十六酸乙酯、高良姜素、桑叶素、金松双黄酮、香风草甙、棉纤维素、木犀草素-7-葡萄糖甙、双氢槲皮素、肉桂酸、香叶木素、蒙花甙、异红草素、木糖醇、犀草素、獐牙菜苦素、硫酸月桂酸钠、薄荷醇、三氯蔗糖、甘露醇、交联聚维酮、山梨醇、糖精、甘油、苯甲酸钠、氧化铁红、预糊化淀粉、环已烷氨基磺酸钠、山梨酸、柠檬油、麦芽糖糊精、柠檬酸、及丁基羟基茴香醚、及其任何组合。

2.根据权利要求1所述的用途,其中该化合物选自于以下所组成群组:薄荷醇、甘露醇、圣草酚、三氯蔗糖及其任何组合。

3.根据权利要求1所述的用途,其中该化合物为1)薄荷醇、甘露醇及圣草酚之组合、2)甘露醇及圣草酚之组合、3)甘露醇及三氯蔗糖之组合、4)圣草酚及三氯蔗糖之组合、5)薄荷醇及甘露醇之组合、或6)圣草酚、甘露醇及三氯蔗糖之组合。

4.根据权利要求1所述的用途,其中该相关病症为酒精性脂肪胰和非酒精性脂肪胰。

5.根据权利要求1所述的用途,其中该组合物为药物、食品添加物或健康食品。

6.一种组合物,其供于个体中降低胰脂肪含量、预防或治疗脂肪胰、改善脂肪胰引起的胰病变或其他相关病症,其包括选自于以下所组成之群组的任何两种或以上的化合物的组合:硫酸月桂酸钠、薄荷醇、三氯蔗糖、甘露醇、交联聚维酮、山梨醇、糖精、甘油、苯甲酸钠、氧化铁红、预糊化淀粉、环已烷氨基磺酸钠、山梨酸、柠檬油、麦芽糖糊精、柠檬酸、丁基羟基茴香醚、枸橘苷、异牡荆素、圣草酚、麦角固醇、月桂烯、金丝桃苷、儿茶素、十六酸乙酯、高良姜素、桑叶素、金松双黄酮、香风草甙、棉纤维素、木犀草素-7-葡萄糖甙、双氢槲皮素、肉桂酸、香叶木素、蒙花甙、异红草素、木糖醇、犀草素及獐牙菜苦素。

7.根据权利要求6所述的组合物,其包括选自于以下所组成之群组的任何两种或以上的化合物的组合:薄荷醇、甘露醇、圣草酚及三氯蔗糖。

8.根据权利要求6所述的组合物,其包括选自于以下所组成之群组的组合:1)薄荷醇、甘露醇及圣草酚之组合、2)甘露醇及圣草酚之组合、3)甘露醇及三氯蔗糖之组合、4)圣草酚及三氯蔗糖之组合、5)薄荷醇及甘露醇之组合、或6)圣草酚、甘露醇及三氯蔗糖之组合。

9.根据权利要求6所述的组合物,其供于个体中降低胰脂肪含量、预防或治疗脂肪胰、改善脂肪胰引起的胰病变、糖尿病或其他相关病症。

10.根据权利要求9所述的组合物,其中该相关病症为酒精性脂肪胰和非酒精性脂肪胰。

11.根据权利要求6所述的组合物,其为药物、食品添加物或健康食品。

预防或治疗脂肪胰、改善脂肪胰引起的胰病变、糖尿病或其他相关病症之组合物及方法

[0001] 本申请是申请号为201680067605X,申请日为2016年11月21日,发明名称为“预防或治疗脂肪胰、改善脂肪胰引起的胰病变、糖尿病或其他相关病症之组合物及方法”的中国专利申请的分案申请。

[0002] 相关申请案

[0003] 本案主张2015年11月19日申请之美国临时申请案第62/257,707号之优先权,其内容在此全部并入作为参考资料。

技术领域

[0004] 本发明关于一种预防或治疗脂肪胰、改善脂肪胰引起的胰病变、糖尿病或其他相关病症之组合物及方法。

背景技术

[0005] 胰脏是人体中具有外分泌与内分泌的器官,外分泌部份包括腺泡,可分泌多种消化酶,内分泌部份包括胰岛,可分泌胰岛素等激素,对维持血糖水平有十分重要的作用。胰脏的脂肪累积可能影响胰脏功能,进一步引起胰病变、糖尿病或其他相关病症。特定而言,糖尿病是一种糖代谢异常疾病,有两种不同类型的糖尿病,包括非胰岛素依赖或成人型,亦称为第II型糖尿病;以及胰岛素依赖或幼儿型,亦称为第I型糖尿病。一般来说,第II型糖尿病通常发生于成人且与肥胖具有高度关联性,可透过适当的运动、饮食和药物来控制;第I型糖尿病患者多发于儿童及青少年,病患身体不能产生足够的胰岛素,必须藉由注射投与胰岛素维持生命。

[0006] 因此,仍有需要寻求一种有效的降低个体之胰脂肪含量及改善相关病症之有效成分。

发明内容

[0007] 本发明提出一或多种化合物具有于个体中降低胰脂肪含量、预防或治疗脂肪胰、改善脂肪胰引起的胰病变、糖尿病或其他相关病症之功效,该化合物选自以下所组成之群:枸橘苷(poncirin)、异牡荆素(isovitexin)、圣草酚(eriodictyol)、麦角固醇(ergosterol)、月桂烯(β-myrcene)、金丝桃苷(hyperoside)、儿茶素((+)-catechin)、十六酸乙酯(palmitic acid ethyl ester)、高良姜素(galangin)、桑叶素(morin)、金松双黄酮(sciadopitysin)、香风草甙(didymin)、棉纤维素(gossypin)、木犀草素-7-葡萄糖甙(luteolin-7-Glucoside)、双氢槲皮素((+)-taxifolin)、肉桂酸(trans-cinnamic Acid)、香叶木素(diosmin)、蒙花甙(linarin)、异红草素(homoorientin)、木糖醇(xylitol)、犀草素(luteolin)、獐牙菜苦素(swertiamarin)、硫酸月桂酸钠(sodium lauryl sulfate)、薄荷醇(menthol)、三氯蔗糖(sucralose)、甘露醇(mannitol)、交联聚维酮(crospovidone)、山梨醇(sorbitol)、糖精(saccharin)、甘油(glycerin)、苯甲酸钠(sodium benzoate)、氧

化铁红(oxide red)、预糊化淀粉(pregelatinized starch)、环己烷氨基磺酸钠(sodiumcyclamate)、山梨酸(sorbic acid)、柠檬油(lemon oil)、麦芽糖糊精(maltodextrin)、柠檬酸(citric acid)、及丁基羟基茴香醚(butylated hydroxyanisole)、及其衍生物、代谢物及分解物、及其任何组合。

[0008] 因此,在一方面,本发明提出所述化合物或其衍生物、代谢物或分解物用于制备于个体中降低胰脂肪含量、预防或治疗脂肪胰、改善脂肪胰引起的胰病变、糖尿病或其他相关病症之组合物的用途。本发明也提出藉由投用所述化合物或其衍生物、代谢物或分解物以于有需要的个体中降低胰脂肪含量、预防或治疗脂肪胰、改善脂肪胰引起的胰病变、糖尿病或其他相关病症之方法。

[0009] 在部份具体实例中,该化合物选自于以下所组成群组:薄荷醇(menthol)、甘露醇(mannitol)、圣草酚(eriodictyol)、三氯蔗糖(sucralose)及其任何组合。

[0010] 在部份具体实例中,该化合物为(1)薄荷醇(menthol)、甘露醇(mannitol)及圣草酚(eriodictyol)之组合、(2)甘露醇(mannitol)及圣草酚(eriodictyol)之组合、(3)甘露醇(mannitol)及三氯蔗糖(sucralose)之组合、(4)圣草酚(eriodictyol)及三氯蔗糖(sucralose)之组合、(5)薄荷醇(menthol)及甘露醇(mannitol)之组合、或(6)圣草酚(eriodictyol)、甘露醇(mannitol)及三氯蔗糖(sucralose)之组合。

[0011] 在部份具体实例中,本发明的化合物可用于预防或治疗脂肪胰、改善脂肪胰引起的胰病变、糖尿病或其他相关病症。在部分具体实施例中,胰病变或相关病症包括酒精性脂肪胰疾病和非酒精性脂肪胰疾病,其中酒精性脂肪胰疾病包括但不限于酒精性脂肪胰脏炎(alcoholic fatty steatopancreatitis)及酒精性胰脏炎(alcoholic pancreatitis),以及非酒精性脂肪胰疾病包括但不限于非酒精性脂肪胰脏炎(nonalcoholic fatty steatopancreatitis)、胰腺脂肪过多(pancreatic lipomatosis)、胰脏脂肪变性(pancreatic steatosis)、脂肪胰(fatty pancreas)、胰脏脂肪假性增生(lipomatous pseudohypertrophy of pancreas)、胰脏脂肪替代(fatty replacement of pancreas)及胰脏脂肪浸润(fatty infiltration of pancreas)(Nat.Rev.Gastroenterol.Hepatol.8,169-177(2011);World JGastroenterol.2006Dec 14;12(46):7421-7427;以及Alcohol Clin Exp Res.1982Winter;6(1):117-21)。

[0012] 在部份具体实例中,本发明的化合物可制成药物、食品添加物或健康食品。

[0013] 在又一方面,本发明提供一种组合物,其包括选自于以下所组成之群组的任何两种或以上的化合物的组合:枸橘苷(poncirin)、异牡荆素(isovitexin)、圣草酚(eriodictyol)、麦角固醇(ergosterol)、月桂烯(β-myrcene)、金丝桃苷(hyperoside)、儿茶素((+)-catechin)、十六酸乙酯(palmitic acid ethyl ester)、高良姜素(galangin)、桑叶素(morin)、金松双黄酮(sciadopitysin)、香风草甙(didymin)、棉纤维素(gossypin)、木犀草素-7-葡萄糖甙(luteolin-7-Glucoside)、双氢槲皮素((+)-taxifolin)、肉桂酸(trans-cinnamic Acid)、香叶木素(diosmin)、蒙花甙(linarin)、异红草素(homoorientin)、木糖醇(xylitol)、犀草素(luteolin)、獐牙菜苦素(swertiamarin)、硫酸月桂酸钠(sodium lauryl sulfate)、薄荷醇(menthol)、三氯蔗糖(sucralose)、甘露醇(mannitol)、交联聚维酮(crospovidone)、山梨醇(sorbitol)、糖精(saccharin)、甘油(glycerin)、苯甲酸钠(sodium benzoate)、氧化铁红(oxide red)、预糊化淀粉

(pregelatinized starch)、环己烷氨基磺酸钠(sodiumcyclamate)、山梨酸(sorbic acid)、柠檬油(lemon oil)、麦芽糖糊精(maltodextrin)、柠檬酸(citric acid)、及丁基羟基茴香醚(butylated hydroxyanisole)、及其衍生物、代谢物及分解物。

[0014] 在部份具体实例中,本发明的组合物包括选自于以下所组成之群组的任何两种或以上的化合物的组合:薄荷醇(menthol)、甘露醇(mannitol)、圣草酚(eriodictyol)及三氯蔗糖(sucralose)。

[0015] 在部份具体实例中,本发明的组合物包括选自于以下所组成之群组的组合:(1)薄荷醇(menthol)、甘露醇(mannitol)及圣草酚(eriodictyol)之组合、(2)甘露醇(mannitol)及圣草酚(eriodictyol)之组合、(3)甘露醇(mannitol)及三氯蔗糖(sucralose)之组合、(4)圣草酚(eriodictyol)及三氯蔗糖(sucralose)之组合、(5)薄荷醇(menthol)及甘露醇(mannitol)之组合、或(6)圣草酚(eriodictyol)、甘露醇(mannitol)及三氯蔗糖(sucralose)之组合。

[0016] 本发明也提出一或多种化合物具有调节胰脏功能之功效,特别是降低因脂肪累积而导致的胰脏功能受损及糖尿病症状,例如,对抗胰岛素抗性及降血糖。

[0017] 本发明提出的一或多种此处所述的化合物包括该化合物本身、及其衍生物、代谢物、及分解物。前述衍生物包括但不限于结构上之异构物、错化物、盐类、酯类、螯合物或任何可于体内生成此处所述化合物之前驱物。

[0018] 无须进一步的阐述,咸相信本发明所属技术领域中具有通常知识者基于前述说明即可利用本发明至最广的程度。因此,可以理解以下的说明仅仅是作为例示说明之用,而非以任何方式限制其余的揭露内容。

具体实施方式

[0019] 除非另有指明,所有在此处使用的技术性和科学性术语具有如同本发明所属技艺中之通常技术者一般所了解的意义。

[0020] 本文所使用的「一」乙词,如未特别指明,系指至少一个(一个或一个以上)之数量。

[0021] 本发明揭示一或多种如上所述的化合物具有于个体中降低胰脂肪含量、预防或治疗脂肪胰、改善脂肪胰引起的胰病变、糖尿病或其他相关病症之作用。因此,本发明提供一种所述之化合物在制备于个体中降低胰脂肪含量、预防或治疗脂肪胰、改善脂肪胰引起的胰病变、糖尿病或其他相关病症之组合物之用途。本发明亦提供一种降低胰脂肪含量、预防或治疗脂肪胰、改善脂肪胰引起的胰病变、糖尿病或其他相关病症之方法,其包括对有需要的个体投予有效量之所述的化合物。本发明亦提供一种可供于个体中降低胰脂肪含量、预防或治疗脂肪胰、改善脂肪胰引起的胰病变、糖尿病或其他相关病症之组合物。

[0022] 本文所揭示一或多种如上所述的化合物包括该化合物本身、其衍生物、代谢物、分解物。前述衍生物包括但不限于结构上之异构物、错化物、盐类、酯类、螯合物或任何可于体内生成此处所述化合物之前驱物。

[0023] 本文所使用的「胰脂肪含量」是指个体内累积于胰脏的脂肪含量,包括广义的脂质,例如,三酸甘油脂(triglyceride,TG)及胆固醇等。本文所使用的「降低胰脂肪含量」通常是指使个体内的异常胰脏脂肪含量降低至正常水平或较接近正常水平,也可指同一个体服用药剂之前后比较,其中,该个体服用药剂之后的体内胰脏脂肪含量较服用药剂之前的

体内胰脏脂肪含量为低。所述胰脏脂肪含量之正常水平可经测量并收集一族群中正常个体的胰脏脂肪含量评估而得。例如,针对一族群,如胰脏脂肪含量之正常水平为占胰脏重量的3%,当胰脏内的脂肪重量超过胰脏重量的5%时则属于脂肪异常累积,则「降低胰脂肪含量」可指使个体内的异常胰脏脂肪含量降低至胰脏重量的3%(上述胰脏脂肪含量为相对数值且为举例说明,可能因个体族群及其他因素有所变动)。本文所使用的「脂肪胰」可指个体内的胰脏脂肪含量高于正常水平之状况。标准的分析方式可用以评估胰脂肪含量,包括但不限于,超音波分析、磁振造影MRI、磁共振频谱MRS、计算机断层扫描CT、胰脏病理切片。

[0024] 根据本发明,所述的化合物包括常用的赋形剂及生物类黄酮,可由此领域容易取得(如从商业上获得),可供于个体中降低胰脂肪含量、预防或治疗脂肪胰、改善脂肪胰引起的胰病变、糖尿病或其他相关病症。在部分具体实施例中,胰病变或包括因胰脂肪累积异常导致的病症,包括,酒精性脂肪胰和非酒精性脂肪胰。

[0025] 本文所使用的「治疗」乙词是指施加或投予包括一或多种活性药剂的组合物至具有疾病、疾病之症状或病况、或疾病恶化之个体,其目的在于治疗、治愈、缓解、减轻、改变、补救、改善、改进、或影响疾病、疾病之症状或病况、疾病引发之失能、或疾病恶化。

[0026] 本文所使用的「预防」乙词是指对疾病、疾病之症状或病况的预防的或防止措施,包括但不限于,施加或投予一或多种活性药剂的至可能是尚未被诊断为罹患此疾病、疾病之症状或病况,但对其易感受或有其倾向之个体,其目的在于避免、阻止或推迟此疾病、疾病之症状或病况的发生。

[0027] 本文所使用的「个人」或「个体」等词包括人类或非人类动物,例如陪伴动物(如狗、猫等)、农场动物(如牛、绵羊、猪、马等)、或实验动物(如大鼠、小鼠、天竺鼠等)。

[0028] 本文所使用的「有效量」乙词是指于接受处理的个体产生所欲的生物功效或医疗效果的活性成分的量,例如,降低个体的胰脂肪含量、预防或治疗脂肪胰、改善脂肪胰引起的胰病变、糖尿病或其他相关病症。

[0029] 为达输送及吸收目的,根据本发明之治疗有效量之活性成分可与医药上可接受载体配制成适当形式之医药组合物。

[0030] 本文所使用的「医药上可接受」乙词是指载体与组合物之活性成分相容(不影响活性成分的作用),且较佳为可稳定该活性成分且对于接受治疗之个体具安全性。该载体可为活性成分之稀释剂、载剂、赋形剂、或介质。适用之赋形剂的一些实例包括乳糖、葡萄糖、蔗糖、山梨糖醇、甘露醇、淀粉、阿拉伯胶、磷酸钙、藻酸盐、黄蓍胶、明胶、硅酸钙、微晶纤维素、聚乙烯吡咯烷酮、纤维素、无菌水、糖浆、及甲基纤维素。本组合物可额外包含润滑剂如滑石、硬脂酸镁、及矿物油;润湿剂;乳化剂及悬浮剂;防腐剂如甲基及丙基羟基苯甲酸酯;增甜剂;以及调味剂等。在投予至病患后,本发明之组合物可提供活性成分快速、持续、或缓慢释放之效果

[0031] 依据本发明,该组合物之形式可任何形式,例如,为片剂、丸剂、粉剂、锭剂、囊剂、扁囊剂、酏剂、悬剂、乳液、溶液、糖浆、软与硬明胶胶囊、栓剂、无菌注射液、及包装粉剂等。

[0032] 本发明之组合物可经由任何生理上可接受途径输送,例如,口服、非口服(如肌内、静脉、皮下、及腹腔)、经皮、栓剂、及鼻内方法等。关于非口服投予,较佳为使用无菌水溶液,其可包含其他物质,如足以使溶液与血液等张的盐类或葡萄糖。水溶液可视需求适当地经缓冲(较佳为具pH值3至9)。本领域之技术人员可由习知之标准药理学技术于无菌条件下制

备适合的非口服组合物。

[0033] 本发明也提出一或多种化合物具有调节胰脏功能之功效,特别是降低因脂肪累积而导致的胰脏功能受损,例如,糖尿病症状。本发明之化合物的功效包括对抗胰岛素抗性及降血糖等。标准的分析方式可用以评估胰脏功能受损及糖尿病症状,包括但不限于,血糖值、糖化血色素(HbA1C)、葡萄糖耐受性测试(glucose tolerance test,GTT)、血液胰岛素浓度、胰岛素抗性的稳态模型评估(homeostasis model assessment of insulin resistance,HOMA-IR)、肿瘤坏死因子-阿法(tumor necrosis factor-alpha)分析、介白素-6(interleukin-6,IL-6)分析、介白素-1贝塔(interleukin-1beta,IL-1β)分析等。

[0034] 本发明通过下面的实施例进一步的说明,下面的实施例仅提供作为示范目的,而非限制本发明。本领域的技术人员应能根据本发明了解,不脱离本发明的精神和范围,而对本发明所公开的特定具体实施例中进行许多改变,仍然能获得相同或相似的结果。

[0035] 实例

[0036] 1.材料方法

[0037] 1.1试验动物

[0038] 采用之试验动物B6小鼠,预试验每组试验动物只数≧4只,确认试验每组试验动物只数≧12只。雄性小鼠饲养于正常明暗周期(上午7:00到下午7:00为亮期,其余为暗期),温度23±2℃,相对湿度55±15%的动物房内,体重为18~23g。由乐斯科生物科技股份有限公司购买,动物实验遵照实验指南进行。先以一般饲料每天喂食3-5g,饲养1-2周观察健康状态,水则无限供应,每周记录体重一次。

[0039] 1.2动物组别

[0040] 将试验动物随机分组,分为空白对照组(Blank)、高脂对照组(HFD)、正向对照组(Positive control,PS)与试验组。空白对照组为给予正常饲料;高脂对照组为给予高脂饲料;正向对照组为给予高脂饲料与管喂水飞蓟素(silymarin,5mg/kg/day)(Iranian Journal of Pharmaceutical Research(2016),15(3):493-500;Life Sciences 75(2004) 2167-2180;以及Pharm Biol.2016Jul 8:1-6);以及试验组为给予高脂饲料与个别管喂试验成分。

[0041] 1.3喂食方式

[0042] 空白对照组以正常饲料任食12周,高脂对照组、正向对照组与试验组则以高脂饲料任食12周。开始喂食8周后,空白对照组与高脂对照组每天一次管喂给予去离子水;正向对照组每天一次管喂给予水飞蓟素;试验组每天一次管喂给予试验化合物,为期4周。

[0043] 1.4采血及各种分析

[0044] 试验开始前及试验开始后之第8、12周,以脸颊或心脏采血。最后于结束时秤重后全部牺牲,以脸颊或心脏采血。小鼠血液样品在室温下放置1小时以使其凝结。再以冷冻离心机于4℃下15,700x g离心5分钟,分离血清。

[0045] 1.4.1三酸甘油脂(TG)及总胆固醇(TCHO,TC)血清分析

[0046] 以血液自动生化分析仪检测血清中的三酸甘油脂(TG)及总胆固醇(TCHO,TC)。

[0047] 1.4.2胰脏生化功能分析:血糖分析(GLU,blood glucose analysis)

[0048] 以罗氏ACCU-CHEK Active血糖机进行血糖分析。在采血前一天,小鼠禁食隔夜。将血糖试纸之密码卡(Code Card)插入血糖机,然后插入血糖试纸,待机器出现血滴图案,以

颊针于小鼠脸颊静脉处采一滴血滴入血糖机试纸,纪录血糖机所显示之血糖数据。

[0049] 1.4.3胰脏生化功能分析:腹腔注射葡萄糖耐受性测试(Intraperitoneal glucose tolerance test,IPGTT)

[0050] 将小鼠移至洁净笼禁食隔夜,其中,洁净笼的喂食漏斗或底部没有食物或粪便,确保动物在任何时候都能获得饮用水。测量小鼠体重,并计算腹腔(intraperitoneally,I.P.)注射所需要的葡萄糖溶液的体积(浓度为250mg/mL,2g葡萄糖/小鼠体重,公斤,所需体积(μl)为8x体重(g))。将小鼠移出,将适当含量的葡萄糖溶液以腹腔注射于小鼠,并记录注射时间。在葡萄糖溶液注射后0、15、30、60、120及150分钟,由小鼠尾部取血,测量血糖浓度,使用罗氏ACCU-CHEK Active血糖机进行血糖分析。1.4.4胰脏生化功能分析:禁食胰岛素浓度分析

[0051] 小鼠于试验中止时(12周)禁食采血,依鼠超灵敏胰岛素ELISA检测套组(Mouse ultrasensitive insulin ELISA kit(ALPCO))之操作说明书进行。

[0052] 1.4.5胰脏生化功能分析:胰岛素抗性的稳态模型评估(homeostasis model assessment of insulin resistance,HOMA-IR)

[0053] 小鼠于试验中止时(12周)禁食采血,测量血糖和胰岛素浓度,依以下公式计算:

[0054] $$\frac{\text{禁食血液胰岛素浓度（ng/mL）x 禁食血糖浓度（mg/dL）}}{405}$$

[0055] 1.4.6胰脏组织的三酸甘油脂(TG)及总胆固醇(TCHO,TC)分析

[0056] 小鼠牺牲后,剖腹取出胰脏标本,秤重后比较其胰重/体重比值。另外将其余胰脏冷冻保存,进行检测胰脏中三酸甘油酯、总胆固醇含量。

[0057] 1.5统计分析

[0058] 所有的数据皆以平均±标准偏差(SD)表示,试验结果以单因子变异数分析(ANOVA)测试法来计算是否具有统计上的显着差异,使用Statistical Package of the Social Science program(Version 13,SPSS Inc.)软件包来计算;随后使用事后比较(post hoc test)最小差异显着性(least significant difference)方法做多重比较,以确认族群间的显着差异;族群平均之显着差异为$p<0.05$。

[0059] 2.结果

[0060] 2.1动物实验

[0061] 在动物实验中,除空白组给予正常饲料外,其余动物给予高脂饲料,8周后,各组动物除维持给予原饲料外,再给予不同处理达4周,其中,空白对照组及高脂对照组给予去离子水,正向对照组给予水飞蓟素,以及试验组给予不同试验化合物,包括葛根素、根皮苷、圣草酚、三氯蔗糖、甘露醇、糖精、橙皮、薄荷醇、或部分试验化合物之组合。各组间动物之体重增加量与每日饲料摄取量在统计上均无显着差异($p>0.05$)。

[0062] 此外,试验组投予不同试验化合物后,动物无任何异常症状,试验期间无造成任何动物的死亡,试验后牺牲动物剖检,亦无观察到因试验化合物所造成之病变或临床征状的发生,故该等试验化合物安全无虞。

[0063] 2.2试验化合物具降低胰脏脂质的作用

[0064] 动物实验的结果显示,多种试验化合物在为期4周的给药期间后,显示降低动物胰脏脂质的作用。结果显示于表1。

[0065] 表1:试验化合物可降低动物之胰脏脂质(4周的给药期间)。

[0066]

项目	胰三酸甘油脂		胰总胆固醇	
单位	mg/g 胰组织		mg/g 胰组织	
空白组（n=13）	3.1 ± 2.0		3.2 ± 0.6	
高脂对照组（n=12）	34.6 ± 38.0		6.1 ± 3.5	
正对照组				
水飞蓟素 5.0 mg/kg（n=6）	**15.8 ± 18.8**	*	**3.0 ± 1.4**	***
水飞蓟素 1.5 mg/kg（n=6）	24.9 ± 26.2		4.6 ± 1.0	
单一试验化合物				
圣草酚 2.5 mg/kg（n=6）	**4.5 ± 2.8**	***	**3.5 ± 0.6**	***
甘露醇 7.5 mg/kg（n=6）	**4.7 ± 4.0**	***	**3.1 ± 0.3**	***
甘露醇 4.5 mg/kg（n=6）	**9.6 ± 5.1**	***	**3.3 ± 0.7**	***
甘露醇 1.5 mg/kg（n=6）	**12.6 ± 7.5**	**	**3.7 ± 1.0**	***
糖精 1.5 mg/kg（n=3）	**4.7 ± 2.9**	*	**3.0 ± 0.8**	**
三氯蔗糖 7.5 mg/kg（n=6）	**5.2 ± 2.1**	***	**3.1 ± 0.4**	***
三氯蔗糖 1.5 mg/kg（n=6）	**8.1 ± 5.6**	***	**4.2 ± 0.5**	*
橙皮 2.5 mg/kg（n=6）	**5.7 ± 1.6**	***	**4.4 ± 0.7**	***
葛根素 2.5 mg/kg（n=6）	**17.3 ± 13.4**	*	**4.0 ± 1.2**	*
薄荷醇 1.5 mg/kg（n=6）	**18.1 ± 18.3**	*	**4.4 ± 0.9**	*
根皮苷 2.5 mg/kg（n=6）	23.3 ± 24.0		**3.3 ± 1.1**	***
二种试验化合物之组合				
薄荷醇+甘露醇 1.5 mg/kg + 1.5 mg/kg（n=6）	**9.3 ± 7.7**	***		
三种试验化合物之组合				
薄荷醇+甘露醇+圣草酚 .5 mg/kg + .5 mg/kg + .8 mg/kg（n=6）	**7.5 ± 3.6**	***	5.4 ± 2.1	

数据表示平均值±标准偏差。使用 ANOVA 及 LSD 的统计差异表示于文字中。*p<0.05, **p<0.01, ***p<0.005，与高脂对照组的比较结果。

橙皮（hesperitin）
葛根素（puerarin）
TG：三酸甘油脂
TC：总胆固醇

圣草酚（eriodictyol）
根皮苷（phloridzin）
甘露醇（mannitol）
薄荷醇（menthol）
三氯蔗糖（sucralose）
糖精（saccharin）

[0067] 结果显示,给予高脂饲料小鼠胰脏的三酸甘油酯及总胆固醇上升。在投予单一试验化合物时,圣草酚、甘露醇、糖精、三氯蔗糖、橙皮、葛根素、薄荷醇可显着降低胰脏中的三

酸甘油酯,相较于高脂对照组,下降约33%-87%。尤其,圣草酚处理4周时,达优异效果,可降低约87%胰脏三酸甘油酯含量(p<0.005)。此外,圣草酚、甘露醇、糖精、三氯蔗糖、橙皮、葛根素、薄荷醇、根皮苷可显着降低胰脏中的总胆固醇,下降约28%-51%;尤其,糖精处理4周时,达优异效果,可降低约51%胰脏总胆固醇含量(p<0.005)。

[0068] 在合并投与两种或三种化合物时,例如,薄荷醇与甘露醇之组合,或薄荷醇、甘露醇与圣草酚的组合,其中,各别成分之剂量维持与单独使用之剂量相同或各别成分之剂量低于单独使用之剂量(例如,约单独使用之剂量的三分之1)时,可达到相似或更佳的降低三酸甘油酯效果。因此,根据本发明,合并使用特定的试验化合物组合,可以降低药量,但维持相似或更佳的功效,产生协同效果。

[0069] 2.3试验化合物具调节胰脏功能、治疗糖尿病症状的作用

[0070] 动物实验的结果显示,多种试验化合物在为期4周的给药期间显示可调节胰脏功能、降低动物之胰脏功能受损情形,特别是针对糖类代谢功能。结果显示于表2-1。

[0071] 表2-1:试验化合物可调节胰脏功能、降低动物之胰脏功能损伤情形(4周的给药期间)

[0072]

项目	GLU	IPGTT 的 AUC
单位	mg/dL	hr*g/dL
空白组 (n=13)	110.5 ± 41.3 ***	26.0 ± 9.6 ***

[0073]

高脂对照组（n=12）	198.7 ± 45.6	53.7 ± 11.1
正对照组		
水飞蓟素 5.0 mg/kg（n=6）	210.3 ± 35.9	53.1 ± 4.8
水飞蓟素 1.5 mg/kg（n=6）	**121.0 ± 28.6 *****	**41.8 ± 6.5 *****
单一试验化合物		
根皮苷 2.5 mg/kg（n=6）	216.2 ± 26.4	51.3 ± 8.9
圣草酚 2.5 mg/kg（n=6）	219.0 ± 35.6	**41.9 ± 5.9 *****
三氯蔗糖 1.5 mg/kg（n=3）	**128.7 ± 19.3 *****	**44.2 ± 3.7 ***
薄荷醇 1.5 mg/kg（n=6）	**125.7 ± 33.5 *****	**45.6 ± 4.8 ***
甘露醇 1.5 mg/kg（n=6）	**112.2 ± 32.0 *****	**42.7 ± 1.7 ****
糖精 1.5 mg/kg（n=3）	**92.0 ± 9.6 *****	**41.9 ± 6.2 ***
葛根素 2.5 mg/kg（n=6）	172.3 ± 22.2	**45.1 ± 11.2 ***

数据表示平均值±标准偏差。使用 ANOVA 及 LSD 的统计差异表示于文字中。*p<0.05, **p<0.01, ***p<0.005，与高脂对照组的比较结果。

橙皮（hesperitin）
葛根素（puerarin）
圣草酚（eriodictyol）
根皮苷（phloridzin）
甘露醇（mannitol）
薄荷醇（menthol）
三氯蔗糖（sucralose）
糖精（saccharin）

TG：三酸甘油脂
TC：总胆固醇

IPGTT 的 AUC 表示在 IPGTT 测试期间之血糖时间浓度曲线下的区域。

[0074] 表2-2:试验化合物可调节胰脏功能、降低动物之胰脏功能损伤情形(4周的给药期间)

[0075]

项目	禁食胰岛素浓度	HOMA-IR
单位	mg/dL	
空白组（n=13）	**0.6 ± 0.1 *****	**0.2 ± 0.1 *****
高脂对照组（n=12）	**5.6 ± 4.6**	**2.5 ± 2.0**
正对照组		
水飞蓟素 5.0 mg/kg（n=6）	**0.8 ± 0.2 *****	**0.4 ± 0.1 *****
水飞蓟素 1.5 mg/kg（n=6）	**1.2 ± 0.6 *****	**0.4 ± 0.2 *****

[0076]

单一试验化合物					
根皮苷 2.5 mg/kg（n=6）	1.1 ± 0.3	***	0.6 ± 0.2	***
圣草酚 2.5 mg/kg（n=6）	1.1 ± 0.4	***	0.6 ± 0.2	***
三氯蔗糖 1.5 mg/kg（n=3）	1.3 ± 0.5	***	0.4 ± 0.2	***
薄荷醇 1.5 mg/kg（n=6）	1.2 ± 0.8	***	0.4 ± 0.4	***
甘露醇 1.5 mg/kg（n=6）	1.1 ± 0.4	***	0.3 ± 0.1	***
糖精 1.5 mg/kg（n=3）	1.3 ± 1.1	***	0.3 ± 0.3	***
葛根素 2.5 mg/kg（n=6）	0.9 ± 0.3	***	0.4 ± 0.2	***
二种试验化合物之组合					
薄荷醇+甘露醇 .5 mg/kg + .5 mg/kg（n=6）	0.7 ± 0.2	***	0.2 ± 0.1	***
三种试验化合物之组合					
薄荷醇+甘露醇+圣草酚 .5 mg/kg + .5 mg/kg + .8 mg/kg（n=6）	1.1 ± 0.6	***	0.4 ± 0.2	***

数据表示平均值±标准偏差。使用 ANOVA 及 LSD 的统计差异表示于文字中。*p<0.05, **p<0.01, ***p<0.005，与高脂对照组的比较结果。

橙皮（hesperitin）
葛根素（puerarin）
圣草酚（eriodictyol）
根皮苷（phloridzin）
甘露醇（mannitol）
薄荷醇（menthol）
三氯蔗糖（sucralose）
糖精（saccharin）

HOMA-IR：胰岛素抗性的稳态模型评估（homeostasis model assessment of insulin resistance），计算公式如下：

禁食血清胰岛素（ng/mL）x 禁食血清葡萄糖（mg/dL）/ 405

[0077] 本实验检测是否试验化合物可调节胰脏功能、降低动物之胰脏功能受损情形，特别是针对糖类代谢功能。

[0078] 结果显示，给予高脂饲料小鼠胰脏的各项胰脏糖类代谢功能受损(GLU、IPGTT、禁食胰岛素浓度、HOMA-IR数值上升)。在投予单一试验化合物时，三氯蔗糖、薄荷醇、甘露醇、及糖精可显着降低GLU；圣草酚、三氯蔗糖、薄荷醇、甘露醇、糖精、及葛根素可显着降低糖耐受性；根皮苷、圣草酚、三氯蔗糖、薄荷醇、甘露醇、糖精、及葛根素可显着降低禁食胰岛素浓度以及胰岛素抗性。

[0079] 在合并投与两种或三种化合物时，例如，薄荷醇与甘露醇之组合，或薄荷醇、甘露醇与圣草酚的组合，其中，各别成分之剂量低于单独使用之剂量(例如，约单独使用之剂量的三分之一)时，可达到相似或更佳的降低禁食胰岛素浓度以及胰岛素抗性效果(显着降低禁食胰岛素浓度、HOMA-IR数值)。因此，根据本发明，显示合并使用特定的试验化合物组合，可以降低药量，但维持相似或更佳的功效，具协同效果。

[0080] 2.4试验化合物具降低血浆中的三酸甘油酯的作用

[0081] 动物实验的结果显示，多种试验化合物在为期4周的给药期间显示可降低动物之血浆中的三酸甘油酯。结果显示于表3。

[0082] 表3:试验化合物可降低动物之血浆中的三酸甘油酯(4周的给药期间)

项目	三酸甘油脂	
单位	mg/dL	
空白组（n=13）	101.3 ± 27.1	***
高脂对照组（n=12)	185.4 ± 34.8	
正对照组		
水飞蓟素 5.0 mg/kg（n=6）	**124.6 ± 26.7**	***
水飞蓟素 1.5 mg/kg（n=6）	**147.0 ± 38.6**	*
单一试验化合物		
甘露醇 7.5 mg/kg（n=6）	163.9 ± 31.9	
甘露醇 4.5 mg/kg（n=6）	180.1 ± 46.7	
甘露醇 1.5 mg/kg（n=6）	158.9 ± 48.9	
三氯蔗糖 7.5 mg/kg（n=6）	186.9 ± 17.2	
三氯蔗糖 1.5 mg/kg（n=6）	**126.9 ± 43.3**	***
圣草酚 5.0 mg/kg（n=6）	**143.2 ± 15.1**	*
圣草酚 2.5 mg/kg（n=6）	**135.4 ± 43.4**	***
葛根素 2.5 mg/kg（n=6）	166.7 ± 22.0	
根皮苷 2.5 mg/kg（n=6）	**148.3 ± 31.4**	*
橙皮 2.5 mg/kg（n=6）	190.1 ± 25.9	

[0083]

[0084]

薄荷醇 1.5 mg/kg（n=6）	173.7 ± 56.7	
糖精 1.5 mg/kg（n=3）	142.6 ± 34.6	
二种试验化合物之组合		
薄荷醇+甘露醇 .5 mg/kg + .5 mg/kg（n=6）	155.7 ± 27.6	
薄荷醇+甘露醇 1.5 mg/kg + 1.5 mg/kg（n=6）	**120.2 ± 9.0**	***
三氯蔗糖+甘露醇 7.5 mg/kg + 7.5 mg/kg（n=6）	200.0 ± 31.5	
三氯蔗糖+甘露醇 1.5 mg/kg + 1.5 mg/kg（n=6）	230.5 ± 32.9	
圣草酚+甘露醇 5.0 mg/kg + 7.5 mg/kg（n=6）	154.0 ± 20.8	
圣草酚+三氯蔗糖 5.0 mg/kg + 7.5 mg/kg（n=6）	**115.1 ± 9.2**	***
糖精+甘露醇 1.5 mg/kg +1.5 mg/kg（n=6）	189.7 ± 17.1	
三种试验化合物之组合		
薄荷醇+甘露醇+圣草酚 .5 mg/kg + .5 mg/kg + .8 mg/kg（n=6）	**150.9 ± 34.3**	*

数据表示平均值±标准偏差。使用 ANOVA 及 LSD 的统计差异表示于文字中。*p<0.05, **p<0.01, ***p<0.005，与高脂对照组的比较结果。

橙皮（hesperitin）
葛根素（puerarin）
圣草酚（eriodictyol）
根皮苷（phloridzin）
甘露醇（mannitol）
薄荷醇（menthol）
三氯蔗糖（sucralose）
糖精（saccharin）

TG：三酸甘油脂

[0085] 结果显示，给予高脂饲料小鼠诱导血浆中三酸甘油酯提升。在投予单一试验化合物时，圣草酚及根皮苷可显着降低血浆中的三酸甘油酯，相较于高脂对照组，最佳可降低约27％。

[0086] 在投予二种试验化合物之组合时，薄荷醇与甘露醇的组合或圣草酚与三氯蔗糖的组合可显着降低血浆中的三酸甘油酯。

[0087] 在投予三种试验化合物之组合时，薄荷醇、甘露醇与圣草酚的组合，在低剂量下可有效降血浆中的三酸甘油酯。

[0088] 本发明所提供之化合物可于个体降低胰脂肪含量及改善相关病症，该等化合物属于低分子天然植物酚类化合物，广泛存在于蔬果、谷物、根茎、花卉、茶叶与红葡萄酒等，经动物试验确认安全无虞，具有发展成为降胰脂、预防或治疗脂肪胰、改善脂肪胰引起的胰病变、糖尿病或其他相关病症、调节胰脏功能，特别是改善胰岛素抗性之保健食品或药物之潜力。