



(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 I719691 B

(45)公告日：中華民國 110 (2021) 年 02 月 21 日

(21)申請案號：108138888

(22)申請日：中華民國 108 (2019) 年 10 月 28 日

(51)Int. Cl. : *A61K35/747 (2015.01)**A61P19/06 (2006.01)*

(71)申請人：葡萄王生技股份有限公司(中華民國) GRAPE KING BIO LTD (TW)

桃園市平鎮區金陵路 2 段 402 號

(72)發明人：陳勁初 CHEN, CHIN CHU (TW)；陳炎鍊 CHEN, YEN LIEN (TW)；林詩偉 LIN, SHIH WEI (TW)；王啟憲 WANG, CI SIAN (TW)；侯毓欣 HOU, YU HSIN (TW)；石仰慈 SHIH, YANG TZU (TW)；林靜雯 LIN, CHING WEN (TW)；陳雅君 CHEN, YA JYUN (TW)；江佳琳 JIANG, JIA LIN (TW)；蔡侑珊 TSAI, YOU SHAN (TW)；陳彥博 CHEN, YEN PO (TW)

(74)代理人：李世章；秦建譜

(83)生物材料寄存：

食品工業發展研究所生物資源保存及研究中心 BCRC 910827 2018 年 02 月 12 日

(56)參考文獻：

CN 104684565A

CN 106460029A

審查人員：蘇品嘉

申請專利範圍項數：8 項 圖式數：3 共 19 頁

(54)名稱

羅伊氏乳桿菌 (*Lactobacillus reuteri*) 菌株 GKR1 用於製備降低尿酸之組成物的用途

(57)摘要

本發明係有關於一種羅伊氏乳桿菌(*Lactobacillus reuteri*)菌株 GKR1 用於製備降低尿酸之組成物的用途。向一對象投予含有羅伊氏乳桿菌菌株 GKR1 的組成物，可降低血清尿酸，進而有效減緩及/或預防高尿酸血症。

The present invention relates to a use of *Lactobacillus reuteri* GKR1 for preparing a composition of reducing uric acid. The composition including *Lactobacillus reuteri* GKR1 is administered to reduce the uric acid in the serum, alleviate and/or prevent hyperuricemia of a subject.

指定代表圖：

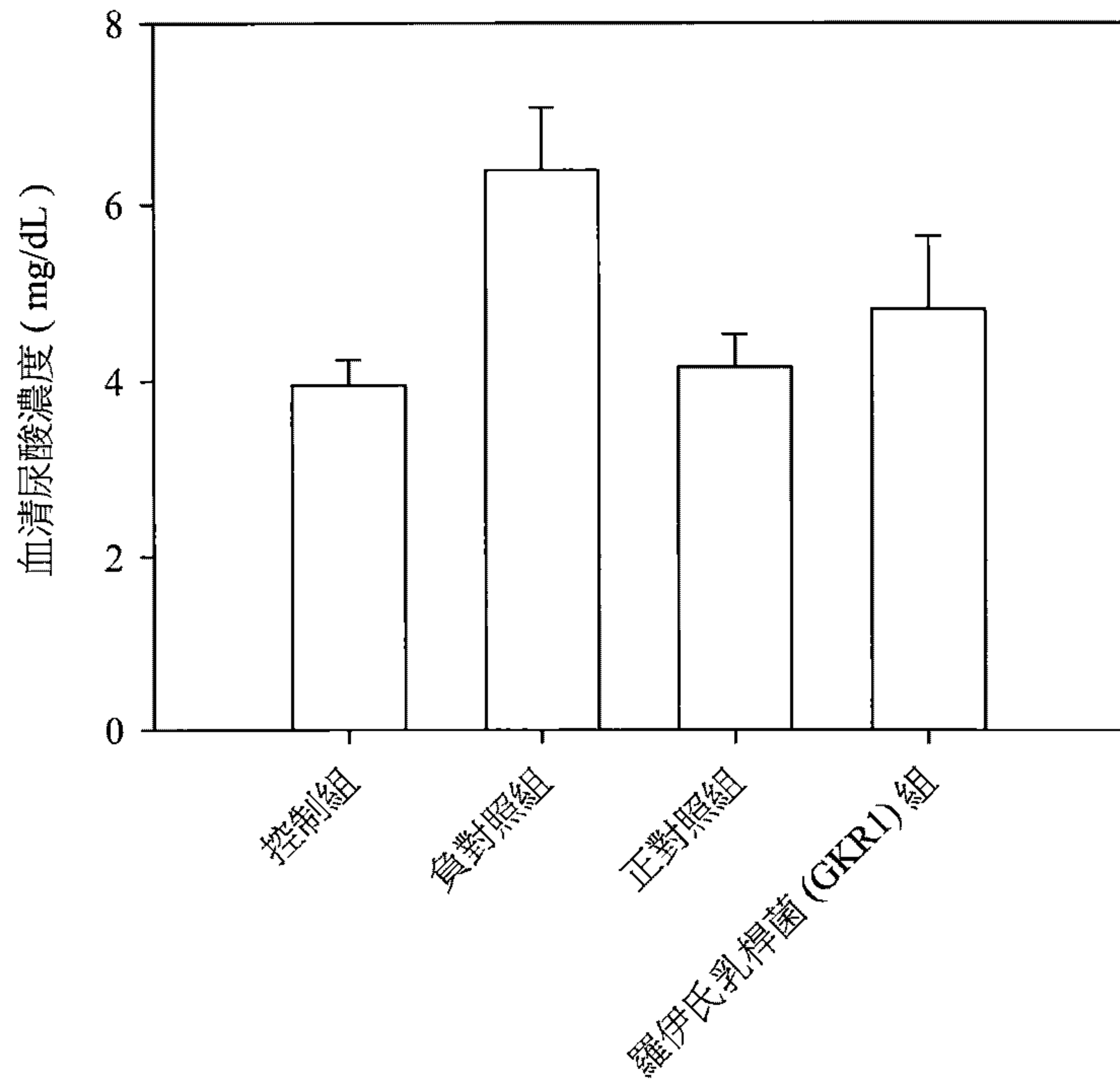


圖 3

I719691

【發明摘要】

【中文發明名稱】羅伊氏乳桿菌(*Lactobacillus reuteri*)菌株 GKR1 用於製備降低尿酸之組成物的用途

【英文發明名稱】USE OF *LACTOBACILLUS REUTERI* GKR1 FOR PREPARING COMPOSITION OF REDUCING URIC ACID

【中文】

本發明係有關於一種羅伊氏乳桿菌(*Lactobacillus reuteri*)菌株 GKR1 用於製備降低尿酸之組成物的用途。向一對象投予含有羅伊氏乳桿菌菌株 GKR1 的組成物，可降低血清尿酸，進而有效減緩及/或預防高尿酸血症。

【英文】

The present invention relates to a use of *Lactobacillus reuteri* GKR1 for preparing a composition of reducing uric acid. The composition including *Lactobacillus reuteri* GKR1 is administered to reduce the uric acid in the serum, alleviate and/or prevent hyperuricemia of a subject.

【指定代表圖】圖3

【代表圖之符號簡單說明】

(無)

【特徵化學式】

(無)

【發明說明書】

【中文發明名稱】 羅伊氏乳桿菌(*Lactobacillus reuteri*)菌株 GKR1 用於製備降低尿酸之組成物的用途

【英文發明名稱】 USE OF *LACTOBACILLUS REUTERI* GKR1 FOR PREPARING COMPOSITION OF REDUCING URIC ACID

【技術領域】

【0001】 本發明係有關於一種單一乳桿菌菌株用於製備降低尿酸之組成物的用途，特別是有關於一種羅伊氏乳桿菌(*Lactobacillus reuteri*)菌株 GKR1 用於製備降低尿酸之組成物的用途。

【先前技術】

【0002】 人體內的嘌呤主要在肝臟合成尿酸後，經腎臟排泄。近年來因飲食型態的改變，高尿酸血症的患者比例亦有上升的趨勢。當生活中接觸高嘌呤飲食(例如：海鮮、動物內臟、肉湯、啤酒等)、高脂肪飲食(例如：油炸食物)、壓力、過勞、含糖飲料及/或激烈運動時，有可能提高血清尿酸濃度。當血清尿酸濃度超出正常值，就稱為高尿酸血症(Hyperuricemia)，其為導致痛風性關節炎、腎病變及心血管疾病等高度危險因子。一般認為，女性血清尿酸濃度大於 6 mg/dL 或男性血清尿酸濃度大於 7 mg/dL，可初步判定為高尿酸血症。

【0003】 目前用於降低血清尿酸濃度的藥物可概分成兩類，一類為抑制尿酸合成的藥物〔例如商品名安樂普利諾(Allopurinol)錠及福避痛(Febuxostat)膜衣錠〕，另一類為促進尿酸排泄的藥物〔例如商品名彼洛喜(Probenecid)錠及優力康(Benzbromarone)錠〕。然而，長期服用上述藥物容易產生以下副作用。例如，長期服用安樂普利諾錠可能引起史蒂芬強生症候群(Stevens-Johnson syndrome)或毒性表皮溶解症，而毒性表皮溶解症的致死率高達20%至25%。長期服用福避痛膜衣錠易引發心血管相關的症狀，例如心臟病或中風等。長期服用彼洛喜錠及優力康錠則易產生尿路結石，對於腎功能不佳的患者不宜使用。

【0004】 關於益生菌過去的研究顯示，利用複合菌株〔例如嗜酸乳桿菌(*Lactobacillus acidophilus*)與鼠李糖乳桿菌(*Lactobacillus rhamnosus*)〕確實可降低高尿酸血症。然而，複合菌株之間的相互作用或拮抗作用十分複雜，由不同菌株組成的複合菌株，未經實驗證實，無法預期何種組合的複合菌株對特定適應症是否有效。至於以單一菌株之益生菌處理高尿酸症，至今相關研究甚少。

【0005】 有鑑於此，亟須提供一種單一益生菌株用於降低血清尿酸的用途，以解決上述問題。

【發明內容】

【0006】 因此，本發明之一態樣是提供一種羅伊氏乳桿菌(*Lactobacillus reuteri*)菌株GKR1用於製備降低尿酸之組成物的用途。

【0007】 根據本發明之上述之態樣，提出一種羅伊氏乳桿菌(*Lactobacillus reuteri*)菌株GKR1用於製備降低尿酸之組成物的用途。組成物包含有效劑量之羅伊氏乳桿菌菌株GKR1，且羅伊氏乳桿菌菌株GKR1係於2018年2月12日寄存於台灣新竹食品路331號財團法人食品工業發展研究所生物資源中心(BCRC)、寄存編號為BCRC 910827。

【0008】 依據本發明上述之實施例，上述之組成物包含含有羅伊氏乳桿菌菌株GKR1的培養物、含有培養物的液體、液體之濃縮物及/或乾燥物。

【0009】 依據本發明上述之實施例，上述之組成物為口服組成物。

【0010】 依據本發明上述之實施例，上述之組成物為食品組成物或醫藥組成物。

【0011】 依據本發明上述之實施例，上述之組成物更包含食品或醫藥上可接受的載體、賦形劑、稀釋劑、輔助劑及/或添加劑。

【0012】 依據本發明上述之實施例，上述之組成物之劑型為水溶液、懸浮液、分散液、乳液、水膠、凝膠、固體脂質奈米粒、錠劑、顆粒劑、粉劑及/或膠囊劑。

【0013】 依據本發明上述之實施例，當組成物投予小鼠時，羅伊氏乳桿菌菌株GKR1於組成物的有效劑量為每天每千克體重至少0.2g。

【0014】 依據本發明上述之實施例，當組成物投予成人時，羅伊氏乳桿菌菌株GKR1於組成物的有效劑量為每天每千克體重至少0.016g。

【0015】 應用本發明含有羅伊氏乳桿菌(*Lactobacillus reuteri*)菌株GKR1之組成物向一對象投予後，可降低血清尿酸，進而有效減緩及/或預防高尿酸血症。

【圖式簡單說明】

【0016】 為讓本發明之上述和其他目的、特徵、優點與實施例能更明顯易懂，所附圖式之詳細說明如下：

〔圖1〕係繪示根據本發明一實施例之不同酸鹼度之培養液中的菌株存活率之直條圖。

〔圖2〕係繪示根據本發明一實施例之0.3重量%膽鹽之培養液中的菌株存活率之直條圖。

〔圖3〕係繪示根據本發明一實施例之血清尿酸濃度的直條圖。

【實施方式】

【0017】 承上所述，本發明提供一種羅伊氏乳桿菌(*Lactobacillus reuteri*)菌株GKR1用於製備降低尿酸之組成物的用途，其中上述組成物包含有效劑量之羅伊氏乳桿

菌菌株GKR1，且羅伊氏乳桿菌菌株GKR1係於2018年2月12日寄存於台灣新竹食品路331號財團法人食品工業發展研究所生物資源中心(BCRC)、寄存編號為BCRC 910827。

【0018】 在一實施例中，上述組成物可以是含有羅伊氏乳桿菌菌株GKR1的培養物、含有培養物的液體、液體之濃縮物及/或乾燥物。前述之培養物係指羅伊氏乳桿菌菌株GKR1經過培養步驟後所獲得的產物。培養方式並無特別限制，可為習知的固態培養或液態培養。前述之液體可以是經培養步驟後，添加營養液或類似物質於培養物中的液體。前述之濃縮物係指培養物及/或液體經習知之濃縮處理方法(例如蒸發濃縮法或膜濃縮法)後所得的產物。前述之乾燥物係指培養物及/或液體經習知之除水處理方法(例如冷凍乾燥法、真空乾燥法或噴霧乾燥法)後所得的產物。

【0019】 上述組成物可包含口服組成物，口服組成物的種類並無特別限制，只要含有羅伊氏乳桿菌菌株GKR1即可。

【0020】 在一實施例中，組成物可例如食品組成物或醫藥組成物。在一實施例中，組成物可選擇性地包含食品或藥學上可接受的載體、賦形劑、稀釋劑、輔助劑及/或添加劑，可例如溶劑、乳化劑、懸浮劑、崩解劑、黏合劑、安定劑、螯合劑、稀釋劑、膠凝劑、防腐劑、潤滑劑及/或吸收延緩劑等。

【0021】 本發明組成物之劑型並無特別限制。在一實施例中，組成物之劑型為水溶液、懸浮液、分散液、乳液(單

相或多相分散體系、單室或多室脂質體)、水膠、凝膠、固體脂質奈米粒、錠劑、顆粒劑、粉劑及/或膠囊劑等。

【0022】 前述的食品組成物可例如但不限於穀物類製品、水果類製品、蔬菜類製品、肉類製品、魚類製品、蛋類製品、奶類製品、飲品、健康食品、保健食品、機能性食品、營養補充食品或特殊營養食品。

【0023】 在應用上述組成物時，其投藥途徑並無特別限制，可例如經口投予，端視實際需求調整。上述組成物之投藥量及投藥回數，亦可視需求彈性調整。在一實施例中，當上述組成物投予小鼠時，羅伊氏乳桿菌菌株GKR1於組成物的有效劑量為每天每千克體重至少0.2g。當組成物投予成人時，羅伊氏乳桿菌菌株GKR1於組成物的有效劑量為每天每千克體重至少0.016g。〔根據2005年美國食品藥物管理局所公告之實驗初期估算方法(Estimating the maximum safe starting dose in initial clinical trials for therapeutics in adult healthy volunteers)，以人體每日每公斤體重之建議攝取量(/kg b.w./d)的12.3倍為小鼠1倍劑量換算〕。投藥回數可於1日之中1次投藥或分成數次投藥。

【0024】 經實驗證實，本發明含有羅伊氏乳桿菌(*Lactobacillus reuteri*)菌株GKR1之組成物向一對象投予後，可降低血清尿酸，進而有效減緩及/或預防高尿酸血症。

【0025】 以下利用數個實施例以說明本發明之應用，然其並非用以限定本發明，本發明技術領域中具有通常知識者，在不脫離本發明之精神和範圍內，當可作各種之更動與潤飾。

1. 羅伊氏乳桿菌(*Lactobacillus reuteri*)菌株的性質

(1) 羅伊氏乳桿菌菌株GKR1的製備

【0026】 羅伊氏乳桿菌菌株GKR1已於2018年2月12日寄存於台灣新竹食品路331號財團法人食品工業發展研究所生物資源中心(BCRC)、寄存編號為BCRC 910827。

(2) 羅伊氏乳桿菌菌株GKR1的耐酸能力之評估

【0027】 將羅伊氏乳桿菌菌株GKR1與市售的羅伊氏乳桿菌菌株(BCRC 80379BCRC 80063、BCRC 17477、BCRC 16091與BCRC 14625)測試耐酸能力。首先，添加或不添加HCl至MRS培養液(De Man, Rogosa & Sharpe broth, MRS broth)中，使培養液的酸鹼值分別為pH 6.5(不添加HCl組)、pH 3.2、pH 2.4與pH 2.0。接著，將前述菌株活化後，加入不同酸鹼值的培養液中，於37°C下培養3小時後，計算菌落數目。以菌株在pH 6.5(不添加HCl組)的菌株存活率為100%，換算菌株在不同酸鹼值的培養液之存活率。

【0028】 請參閱圖1，其係繪示根據本發明一實施例之不同酸鹼度之培養液中的菌株存活率之直條圖，其中X軸由左至右為培養液酸鹼值pH 6.5、pH 3.2、pH 2.4與pH 2.0，

Y軸為細胞存活率(%), 直條101代表羅伊氏乳桿菌菌株GKR1的存活率, 直條103代表羅伊氏乳桿菌菌株BCRC 80379的存活率、直條105代表羅伊氏乳桿菌菌株BCRC 80063的存活率、直條107代表羅伊氏乳桿菌菌株BCRC 17477的存活率、直條109代表羅伊氏乳桿菌菌株BCRC 16091的存活率且直條111代表羅伊氏乳桿菌菌株BCRC 14625的存活率。

【0029】 圖1結果顯示, 當培養液的酸鹼值為pH 3.2、pH 2.4與pH 2.0時, 本發明之羅伊氏乳桿菌菌株GKR1(直條101)的細胞存活率為高於90%、67%與8%, 其存活率均高於市售的羅伊氏乳桿菌。

(3)羅伊氏乳桿菌菌株GKR1的耐膽鹽能力之評估

【0030】 將羅伊氏乳桿菌菌株GKR1與市售的羅伊氏乳桿菌菌株(BCRC 80379、BCRC 80063、BCRC 17477、BCRC 16091與BCRC 14625)測試耐膽鹽能力。首先, 添加或不添加0.3重量%膽鹽至MRS(De Man, Rogosa & Sharpe broth, MRS)培養液中, 於37°C下浸泡半小時後, 計算菌落數目。以菌株在不添加膽鹽之培養液的菌株存活率為100%, 換算菌株在含有0.3重量%膽鹽培養液之存活率。

【0031】 請參閱圖2, 其係繪示根據本發明一實施例之0.3重量%膽鹽之培養液中的菌株存活率之直條圖, 其中X軸由左至右分別為未添加膽鹽與添加膽鹽的培養液, Y軸為細胞存活率(%), 直條201代表羅伊氏乳桿菌菌株GKR1的存活率, 直條203代表羅伊氏乳桿菌菌株BCRC 80379的存

活率、直條205代表羅伊氏乳桿菌菌株BCRC 80063的存活率、直條207代表羅伊氏乳桿菌菌株BCRC 17477的存活率、直條209代表羅伊氏乳桿菌菌株BCRC 16091的存活率且直條211代表羅伊氏乳桿菌菌株BCRC 14625的存活率。

【0032】 圖2結果顯示，本發明之羅伊氏乳桿菌菌株GKR1在添加0.3重量%膽鹽的培養液中的細胞存活率(如直條201所示)，顯著高於市售的羅伊氏乳桿菌。

2. 建立高尿酸血症小鼠的動物模式

(1) 高尿酸血症小鼠的誘發

【0033】 小鼠係購自樂斯科生物科技公司(BioLASCO Taiwan Co., Ltd., Taiwan)的費城癌病研究所(Institute of Cancer research) ICR品系之雄鼠，年齡為5週齡，且體重介於27.5g至32.5g。將小鼠飼養溫度 $22\pm 3^{\circ}\text{C}$ ，濕度40%至70%，12小時照光及12小時黑暗之循環光照，且提供充足飼料及無菌逆滲透水予小鼠自由取食。經1週馴養適應後，進行動物實驗。實驗過程係依循農業委員會實驗動物照護及使用指引及台灣動物保護法的相關規定進行。

【0034】 動物實驗前，將小鼠隨機分為4組，每組8隻，每4隻一籠，每組2籠。控制組係給予正常飼料攝食。負對照組係於每天提供2.5重量%的氧嗪酸鉀(potassium oxonate)及1重量%的RNA給予小鼠混於飼料中正常攝食，以誘發高尿酸血症，但未給予任何藥物。正對照組係使用與負對照組相同的方法誘發高尿酸血症，且每天管餵5

mg/kg b.w.的安樂普利諾錠。羅伊氏乳桿菌(GKR1)組則使用與負對照組相同的方法誘發高尿酸血症，且每天管餵0.205 g/kg b.w.的羅伊氏乳桿菌(GKR1)。

【0035】 本實驗共進行7天，於實驗結束後以眼窩採血0.5 mL 至0.8 mL，並分析血清尿酸濃度。

(2) 評估小鼠的各項基本生理參數

【0036】 實驗期間，每天記錄小鼠的體重變化與攝食量，觀察小鼠各項基本生理參數的變化。表 1 為實驗期間，小鼠的體重變化，單位為克(g)，其中數據統計使用鄧肯(Duncan)檢定法，不同小寫英文字母表示組間比較後有顯著差異($p < 0.05$)，相同小寫英文字母標示表示組間無顯著差異($p > 0.05$)。表 1 顯示，在第 0 天及第 7 天時，各組之間的小鼠體重均無顯著差異。

【0037】 表 1

體重(g)	控制組	負對照組	正對照組	羅伊氏乳桿菌(GKR1)組
第0天	30.1 ± 2.2 ^a	30.0 ± 1.4 ^a	29.7 ± 2.2 ^a	29.9 ± 1.6 ^a
第7天	30.6 ± 2.0 ^a	30.6 ± 1.2 ^a	30.3 ± 2.1 ^a	30.2 ± 1.6 ^a

【0038】 表 2 為實驗第 7 天，小鼠的體重變化，各組之小鼠攝食量皆無太大差異。

【0039】 表 2

攝食量(g)	控制組	負對照組	正對照組	羅伊氏乳桿菌(GKR1)組
第一籠	4.5	4.4	4.5	3.9
第二籠	4.3	4.1	4.2	4

【0040】 由上述各項生理參數顯示，說明攝食羅伊氏乳桿菌菌株GKR1並未影響小鼠生長狀態。

3. 羅伊氏乳桿菌菌株GKR1降低血清尿酸的效果

【0041】血清尿酸濃度以市售尿酸定量套組(QuantiChrom Uric Acid Assay Kit, BioAssay Systems, USA)檢測,評估小鼠血清尿酸(Uric acid, UA)的濃度。

【0042】請參閱圖3,其係繪示根據本發明一實施例之血清尿酸濃度的直條圖。X軸由左至右為控制組、負對照組、正對照組及羅伊氏乳桿菌(GKR1)組。Y軸為血清尿酸濃度,單位為mg/dL。

【0043】圖3結果顯示,相較於負對照組,羅伊氏乳桿菌(GKR1)組的血清尿酸濃度明顯降低。

【0044】由上述實施例可知,本發明之羅伊氏乳桿菌(*Lactobacillus reuteri*)菌株GKR1用於製備降低尿酸之組成物的用途,其優點在於將含有單一菌株的羅伊氏乳桿菌(*Lactobacillus reuteri*)菌株GKR1之組成物向一對象投予後,可降低血清尿酸,進而有效減緩及/或預防高尿酸血症。

【0045】應理解的是,本發明雖使用雄鼠建立高尿酸血症的動物模式,然而,其不應用於限制羅伊氏乳桿菌菌株GKR1所投予對象的性別。本發明所屬技術領域中任何具有通常知識者應可理解,在雄鼠上證實透過羅伊氏乳桿菌菌株GKR1具有降低血清尿酸的效果,羅伊氏乳桿菌菌株GKR1對於雌鼠亦有相同或相似的效果。

【0046】 需補充的是，本發明雖以特定的製程及/或特定的分析方法作為例示，說明本發明之羅伊氏乳桿菌 (*Lactobacillus reuteri*) 菌株GKR1用於製備降低尿酸之組成物的用途，惟本發明所屬技術領域中任何具有通常知識者可知，本發明並不限於此，在不脫離本發明之精神和範圍內，本發明含有羅伊氏乳桿菌 (*Lactobacillus reuteri*) 菌株GKR1之組成物亦可使用其他製程、其他的分析方法或其他儀器進行。

【0047】 雖然本發明已以數個實施例揭露如上，然其並非用以限定本發明，在本發明所屬技術領域中任何具有通常知識者，在不脫離本發明之精神和範圍內，當可作各種之更動與潤飾，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。

【符號說明】

【0048】

101/103/105/107/109/111/201/203/205/207/209/

211... 直條

【生物材料寄存】

【0049】 羅伊氏乳桿菌 (*Lactobacillus reuteri*) 菌株GKR1係於2018年2月12日寄存於台灣新竹食品路331號財團法人食品工業發展研究所生物資源中心(BCRC)，寄存編號為BCRC 910827。

【發明申請專利範圍】

【第1項】 一種羅伊氏乳桿菌(*Lactobacillus reuteri*) 菌株 GKR1 用於製備降低尿酸之組成物的用途，其中該組成物包含一有效劑量之羅伊氏乳桿菌菌株 GKR1，且該羅伊氏乳桿菌菌株 GKR1 係於 2018 年 2 月 12 日寄存於台灣新竹食品路 331 號財團法人食品工業發展研究所生物資源中心(BCRC)、寄存編號為 BCRC 910827。

【第2項】 如申請專利範圍第 1 項所述之羅伊氏乳桿菌菌株 GKR1 用於製備降低尿酸之組成物的用途，其中該組成物包含含有該羅伊氏乳桿菌菌株 GKR1 的一培養物、含有該培養物的一液體、該液體之一濃縮物及/或一乾燥物。

【第3項】 如申請專利範圍第 1 項所述之羅伊氏乳桿菌菌株 GKR1 用於製備降低尿酸之組成物的用途，其中該組成物為一口服組成物。

【第4項】 如申請專利範圍第 1 項所述之羅伊氏乳桿菌菌株 GKR1 用於製備降低尿酸之組成物的用途，其中該組成物為一食品組成物或一醫藥組成物。

【第5項】 如申請專利範圍第 4 項所述之羅伊氏乳桿菌菌株 GKR1 用於製備降低尿酸之組成物的用途，其中該組成物更包含一食品或一醫藥上可接受的一載體、一賦形劑、一稀釋劑、一輔助劑及/或一添加劑。

【第6項】 如申請專利範圍第 1 項所述之羅伊氏乳桿菌菌株 GKR1 用於製備降低尿酸之組成物的用途，其中該組成物之一劑型為一水溶液、一懸浮液、一分散液、一乳液、一水膠、一凝膠、一固體脂質奈米粒、一錠劑、一顆粒劑、一粉劑

及/或一膠囊劑。

【第7項】 如申請專利範圍第 1 項所述之羅伊氏乳桿菌菌株 GKR1 用於製備降低尿酸之組成物的用途，其中當該組成物投予一小鼠時，該羅伊氏乳桿菌菌株 GKR1 於該組成物的該有效劑量為每天每千克體重至少 0.2g。

【第8項】 如申請專利範圍第 1 項所述之羅伊氏乳桿菌菌株 GKR1 用於製備降低尿酸之組成物的用途，其中當該組成物投予一成人時，該羅伊氏乳桿菌菌株 GKR1 於該組成物的該有效劑量為每天每千克體重至少 0.016g。

圖式

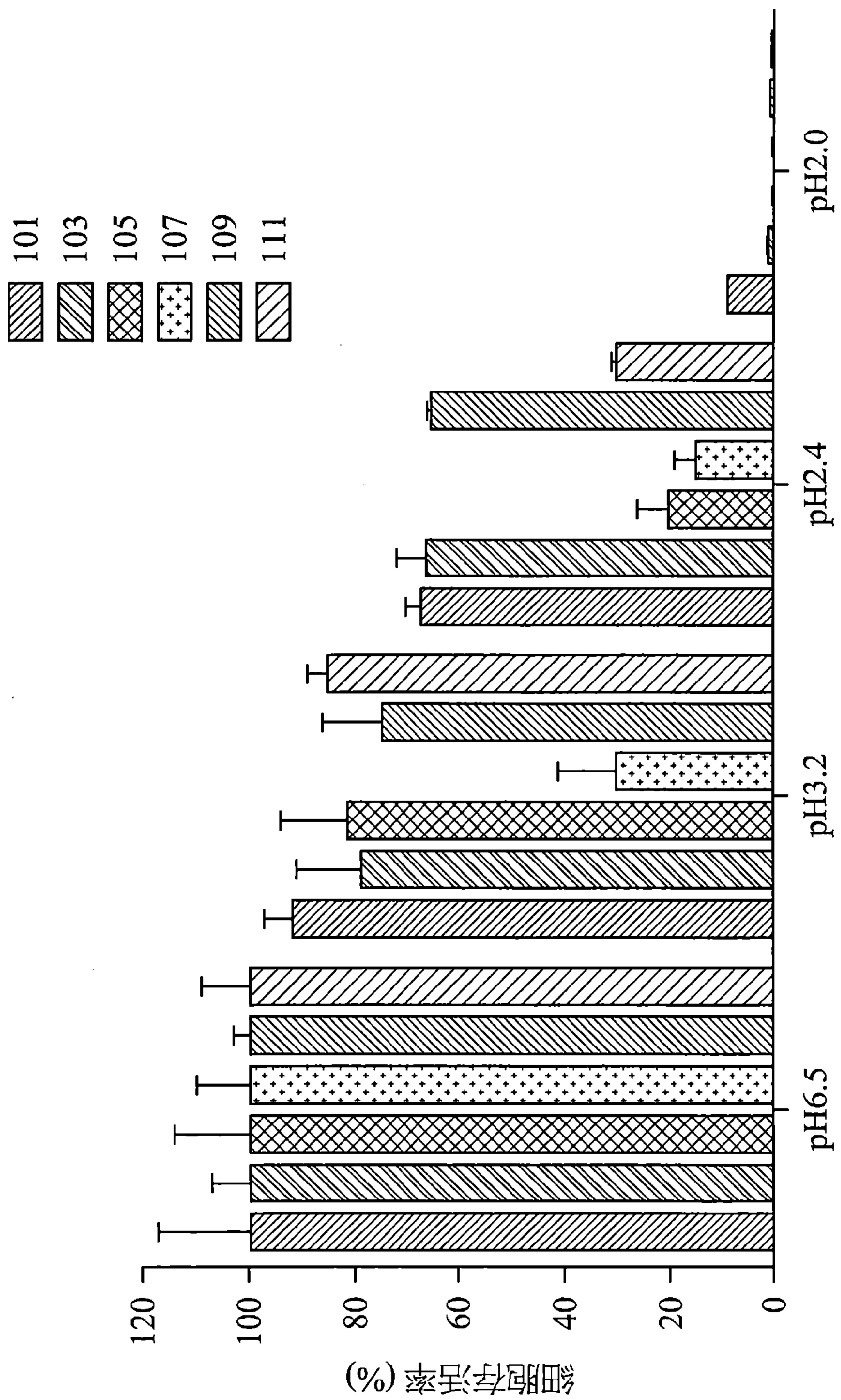


圖 1

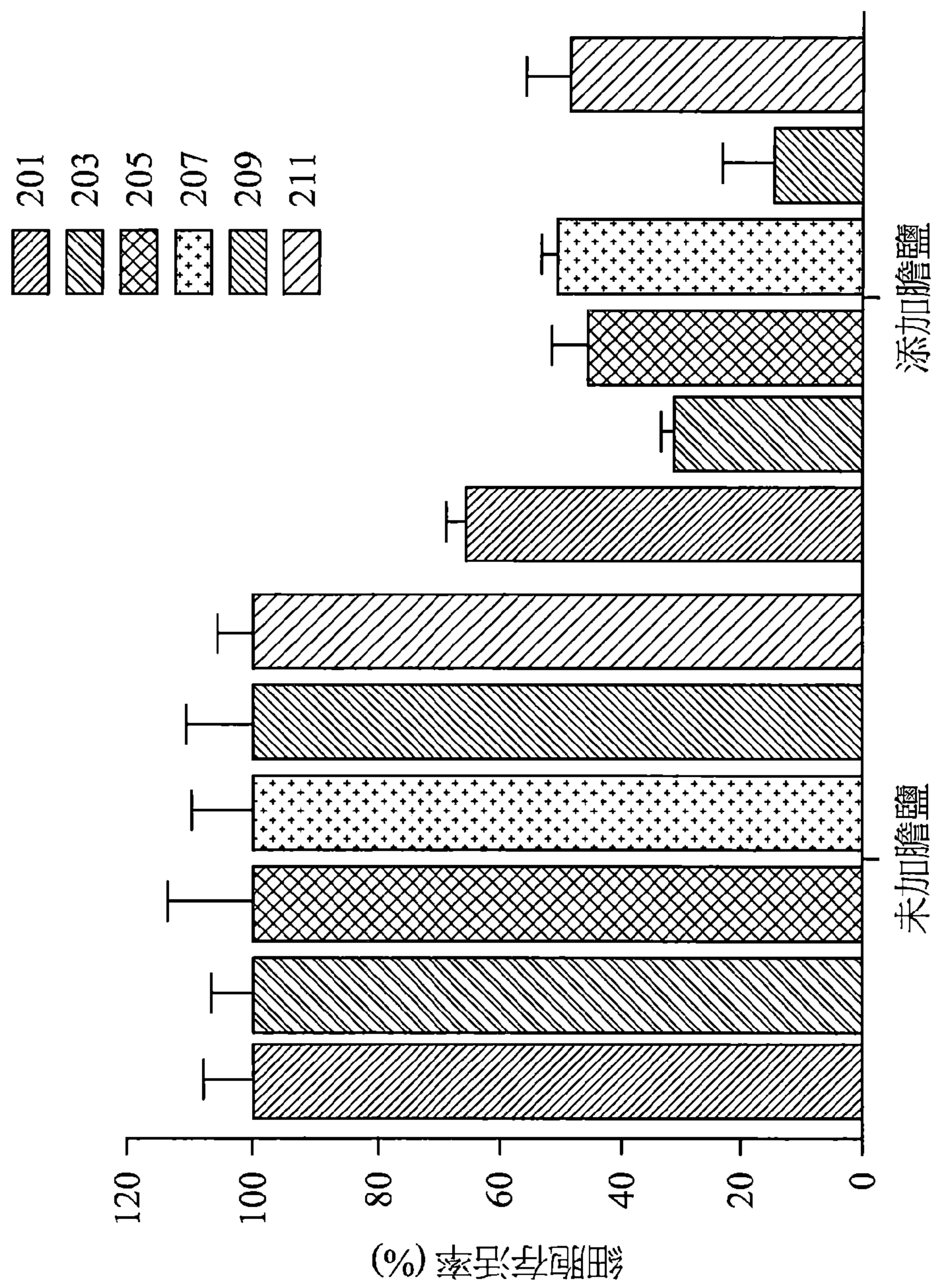


圖 2

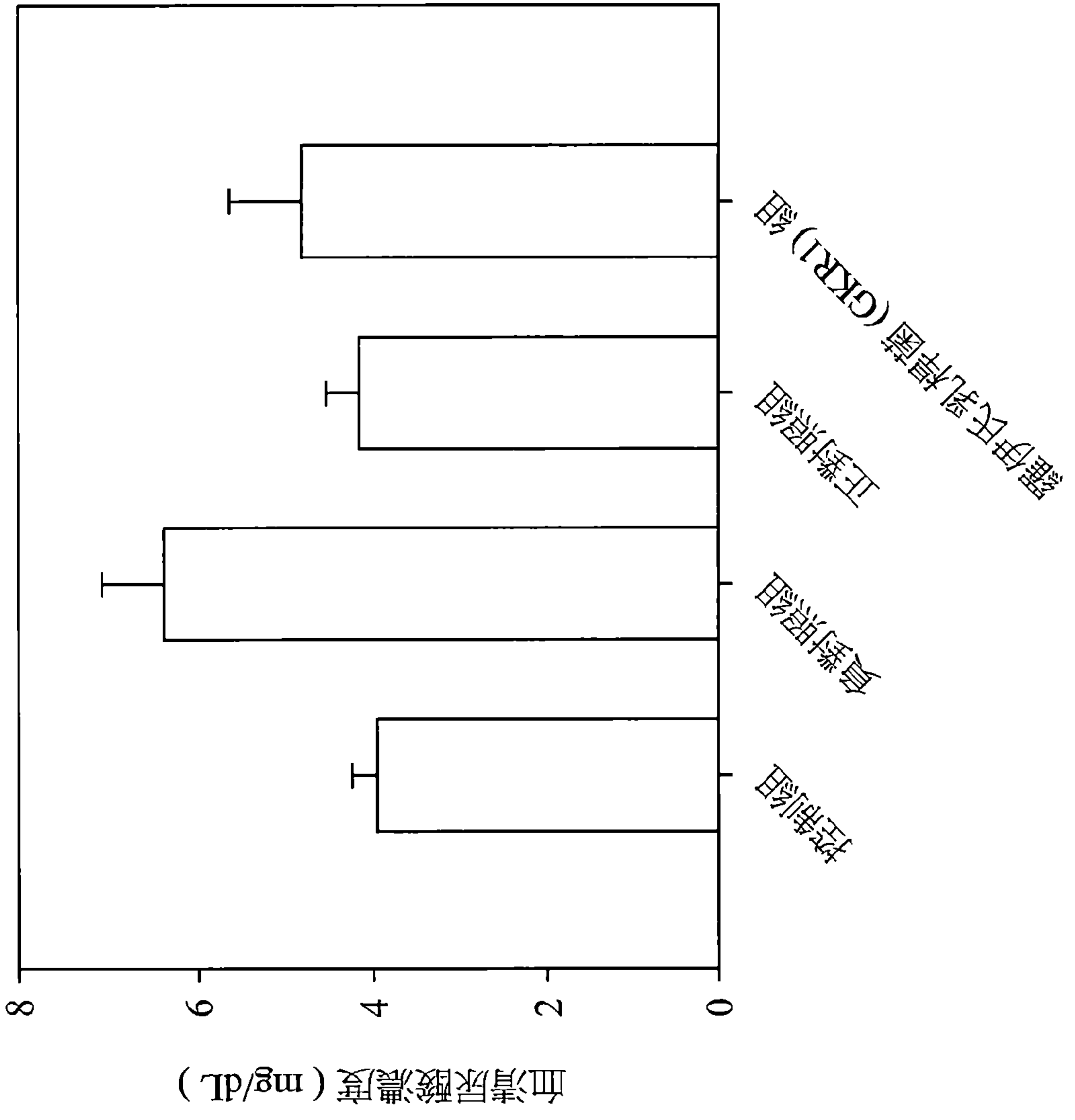


圖 3