

(此處由本局於收
文時黏貼條碼)

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： 97130505 A61K 36/02 (2006.01,

※ 申請日期： 97.08.11 ※IPC 分類： C12N 1/12 (2006.01,

A61P 31/12 (2006.01,

一、發明名稱：(中文/英文)

用於治療輪狀病毒及/或呼吸道融合病毒感染之醫藥組
合物及其製備方法

二、申請人：(共 2 人)

姓名或名稱：(中文/英文)

1.遠東生物科技股份有限公司/FAR EAST BIO-TEC CO. LTD.

2.國立台灣大學/NATIONAL TAIWAN UNIVERSITY

代表人：(中文/英文)

1.闕壯群/CHIUEH, CHUANG CHUN

2.李嗣涔/LEE, SI CHEN

住居所或營業所地址：(中文/英文)

1.台北市南港區園區街3號13樓A室

2.台北市羅斯福路4段1號

國 籍：(中文/英文) 1.2.中華民國/R.O.C.

三、發明人：(共 3 人)

姓 名：(中文/英文)

1. 闕壯群/CHIUEH, CHUANG CHUN

2. 李君男/LEE, CHUN NAN

3. 鄭鈞霆/CHENG, CHUN TING

國 籍：(中文/英文)

1.2.3.中華民國/R.O.C.

四、聲明事項：

☒ 主張專利法第二十二條第二項 ☐ 第一款或 ☒ 第二款規定之事實，其事實發生日期為：2008 年 8 月 10 日。

☐ 申請前已向下列國家（地區）申請專利：

【格式請依：受理國家（地區）、申請日、申請案號 順序註記】

☐ 有主張專利法第二十七條第一項國際優先權：

☐ 無主張專利法第二十七條第一項國際優先權：

☐ 主張專利法第二十九條第一項國內優先權：

【格式請依：申請日、申請案號 順序註記】

☐ 主張專利法第三十條生物材料：

☐ 須寄存生物材料者：

國內生物材料 【格式請依：寄存機構、日期、號碼 順序註記】

國外生物材料 【格式請依：寄存國家、機構、日期、號碼 順序註記】

☐ 不須寄存生物材料者：

所屬技術領域中具有通常知識者易於獲得時，不須寄存。

九、發明說明：

【發明所屬之技術領域】

本發明係關於一種醫藥組合物，特別係關於一種治療輪狀病毒及/或呼吸道融合病毒感染之醫藥組合物。本發明亦關於一種製備治療輪狀病毒及/或呼吸道融合病毒感染之醫藥組合物之方法。

【先前技術】

急性感染性腹瀉在世界上之諸多區域中係疾病及死亡之主要肇因。在發展中國家中，腹瀉疾病之影響係相當驚人的。就亞洲、非洲、及拉丁美洲而言，估計每年共有介於三十至四十億件腹瀉病例，其中約有五百至一千萬件造成死亡(Walsh, J.A. et al: N. Eng. J. Med., 301: 967-974(1979))。現已辨識出，輪狀病毒(Rotavirus)為嬰兒及幼童嚴重腹瀉最重要之肇因之一(Estes, M.K. Rotaviruses and Their Replication in Fields Virology, Third Edition, edited by Fields et al., Raven Publisher, Philadelphia, 1996)，且經估計，輪狀病毒疾病每年造成超過一百萬人之死亡。

此外，呼吸道融合病毒(Respiratory syncytial virus; RSV)為造成嬰兒及幼兒的病毒性肺炎及支氣管炎的主要原因，其普遍造成6週至6個月大的嬰兒相當嚴重之疾病症狀。因此，開發出新的藥品，以預防或治療輪狀病毒及呼吸道融合病毒為全世界研究的重點之一。

輪狀病毒目前已有兩支口服疫苗上市，分別是葛蘭素藥廠生產的 Rotarix®與默沙東藥廠的 RotaTeq®，兩支

疫苗的研究報告皆證實預防效果達到 95%，但是保護期限只有幾個月，並且還伴隨引發腸套疊的風險。就治療方面而言，目前治療輪狀病毒主要還是靠支持性的療法，還沒有針對輪狀病毒具有抑制作用的藥物上市。

呼吸道融合病毒目前還沒有真正有效的疫苗被開發出來，只有透過 RSV-IVIG (商品名 RespiGam®)和 palivizumab(商品名 Synagis®)這類 RSV 中和抗體的被動性免疫預防方法來預防 RSV 感染，但其成效有限。治療方面，核苷酸製劑 Ribavirin (商品名 virazole)，是目前唯一通過認證的抗 RSV 藥物，由於這樣的藥物成效也還有改進的空間，因此，發展出一些新的抗呼吸道融合病毒的藥物有其必要性。

【發明內容】

有鑑於此，本發明提供一種有別於傳統治療輪狀病毒及/或呼吸道融合病毒感染之醫藥組合物，其係利用低溫萃取步驟來獲得一藍藻萃取物，接著將之與醫藥可接受之載體混合而製得的。

本發明之目的係提供一種含有藍藻萃取物之醫藥組合物，其係具有抑制輪狀病毒及/或呼吸道融合病毒感染及/或複製之能力。

本發明另一目的係提供一種製造上述醫藥組合物之方法。

為達上述目的，本發明係提供一種用於治療輪狀病毒及/或呼吸道融合病毒之醫藥組合物，其包含一治療有效量的藍藻(Spirulina)萃取物及一醫藥可接受之載體。

於一較佳實施態樣中，該醫藥組合物係進一步包含一醫藥可接受之佐藥、賦形劑或添加物。

於一較佳實施態樣中，該醫藥組合物係以粉末狀、顆粒狀、液狀、膠狀或膏狀存在。

於一較佳實施態樣中，該醫藥組合物之劑型係以食品、飲品、藥品、試劑或營養補充劑之形式提供。

於一較佳實施態樣中，該醫藥組合物係經由口服、注射、吸入、皮下埋植或皮膚貼片方式施用於對象物。

於一較佳實施態樣中，該醫藥組合物係適用於預防及/或治療輪狀病毒及/或呼吸道融合病毒之感染。

於一較佳實施態樣中，該醫藥組合物係適用於抑制病毒之感染及/或複製。

本發明係另提供一種用於製備治療輪狀病毒及/或呼吸道融合病毒之醫藥組合物之方法，其包含：一治療有效量的藍藻(Spirulina)萃取物及一醫藥可接受之載體，且前述藍藻萃取物係在-25~18°C經由下列步驟萃取而得：(a)有機藍藻粉加入低張緩衝液，充分攪拌均勻；(b)0°C以下靜置過夜；(c)靜置解凍；(d)分離機分離純化，收集藍色分液；及(e)噴霧乾燥。而前述藍藻萃取物較佳係在-25~-10°C冷凍靜置過夜。又，前述藍藻萃取物較佳係在4~18°C解凍。

本發明係藉由一低溫萃取步驟來獲得一藍藻萃取物，而將包含其之醫藥組合物施用至一受輪狀病毒及/或呼吸道融合病毒感染之病患上，其係可有效抑制輪狀病毒及/或呼吸道融合病毒感染及/或複製。此外，由於

該藍藻萃取物係在低溫萃取而得，因此係可保存藍藻萃取物中有效成分之生物活性。

【實施方式】

本發明提供之醫藥組合物，其係以藍藻萃取物作為有效成分，利用其具有抑制抑制輪狀病毒及/或呼吸道融合病毒之感染及/或複製之能力，將之應用至藥品方面，提供消費者一種有別於傳統治療輪狀病毒及/或呼吸道融合病毒感染之藥物。

本發明係提供一種用於治療輪狀病毒及/或呼吸道融合病毒之醫藥組合物，其包含一治療有效量的藍藻萃取物及一醫藥可接受之載體。而該醫藥組合物係可進一步選擇性地包含醫藥可接受之佐藥、賦型劑或添加物。

其中前述“載體”可能包含惰性成分，該惰性成分不會與本發明之醫藥組合物內的其他成分發生實質反應。可利用標準藥物劑型技術，如描述於 Remington's Pharmaceutical Sciences, Mack Publishing Company, Easton, PA.中的方法。合適之藥物載體包含，例如，但不限於無菌水、生理食鹽水、抑菌食鹽水(包含約 0.9% mg/mL 苯基醇的食鹽水)、磷酸緩衝液食鹽水、漢克溶液、林格式乳糖液或其他製藥技術習用之載體。

前述“賦型劑”可以有多種功能及目的，例如：在口服劑型之錠劑製造時，加入崩散劑以使錠劑能在胃腸道中崩散成小顆粒，以利吸收；又如加入著色劑以增加美觀等；至於其他非口服製劑，例如：針劑、懸浮劑、

軟膏、栓劑、噴霧等，各有其合適的賦型劑和作用目的。合適之賦型劑應可包括，例如，但不限於乳糖、甘露醇、葡聚糖、葡萄糖、麩胺酸、明膠、山梨糖醇、海藻糖、蔗糖、木蜜醇、澱粉、微晶纖維素、甲基纖維素、阿拉伯膠或其各種不同組合等。賦型劑的使用已是本技術領域的通常知識。

前述“有效量”係指該化合物劑量在提供給一對象後能獲得有益的結果，或者，該化合物的劑量能在體內或體外獲得預期的活性。以流行性感冒為例，相對於未接受治療的對象而言，有益的臨床結果包含症狀的減輕、不適感的舒緩、病程縮減以及加速痊癒等。提供給對象的精確劑量必須依疾病的種類、程度或症狀及對象個體體質來決定，例如：對象的當時健康狀況、年齡、性別、體重及對藥物的忍受度。劑量也與疾病的程度、嚴重性及種類有關。熟悉此領域之人士能依據前述或其他因子來決定適當的劑量。

本發明另提供一種用於製備治療輪狀病毒及/或呼吸道融合病毒之醫藥組合物之方法，其包含：一治療有效量的藍藻(*Spirulina*)萃取物及一醫藥可接受之載體，且前述藍藻萃取物係在-25~18°C經由下列步驟萃取而得：(a)有機藍藻粉加入低張緩衝液，充分攪拌均勻；(b)0°C以下靜置過夜；(c)靜置解凍；(d)分離機分離純化，收集藍色分液；及(e)噴霧乾燥。

以下係提供利用本發明之實施例，然本實施例並非用以限定本發明，任何熟悉此技藝者，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。

實施例：

實驗材料

1. 細胞株：MA104(胎兒猴腎臟細胞)、HEp-2(人類猴癌細胞)。
2. 病毒株：人類輪狀病毒 Wa 及 G9 型菌株(VR010591)；
呼吸道融合病毒 臨床病毒株(臺大醫院)。
3. 待測藥物：藍藻萃取液，其包含藍藻萃取物及無菌之 PBSA，即本發明之一醫藥組合物。

實驗方法

A. 細胞培養

將可於體外連續培養之細胞株 MA104 細胞與 HEp-2 細胞，由冷凍保存於液態氮中取出後快速解凍，經離心去除冰凍保存液，加入含有胎牛血清之細胞生長培養基，移至細胞培養瓶中，置於內含 5% CO₂ 之 37°C 培養箱進行培養。每三至四天進行一次細胞繼代培養，當單層細胞長滿培養瓶時，將培養基移除，以磷酸鹽緩衝液(PBS)清洗兩次後，加入胰蛋白質酵素(trypsin)作用 5 至 10 分鐘，見細胞脫落即可加入生長培養基。細胞經充分混合均勻後，即以 1：4 之比例留下部份細胞於培養瓶中，或經計數細胞數目後，稀釋成適當的濃度，以

供培養病毒或後續測試之用。

B. 病毒培養

將人類輪狀病毒接種於 MA104 細胞，呼吸道融合病毒接種於 HEp-2 細胞。輪狀病毒接種之前需先以胰蛋白酶於 37°C 活化病毒 30 分鐘。病毒接種後置於 37°C 使病毒吸附於細胞，一小時後，換上新鮮的維持培養基，置於內含 5% CO₂ 之 37°C 培養箱進行培養，輪狀病毒則需旋轉培養。培養直至 HEp-2 細胞大於 75% 細胞出現細胞融合狀細胞病變效應 (CPE; cytopathic effects) 或 MA104 細胞大於 75% 細胞破碎脫落即可利用反覆冷凍解凍法收取病毒。病毒液在 4°C 5000 rpm 之條件下離心 10 分鐘，以移除細胞沉澱物。將已去除細胞的病毒培養上清液 (即為後附實驗中所使用之病毒液) 以少量分裝於 3mL 小玻璃管內，保存於 -80°C。

C. 藍藻萃取物溶液製備

將粉末狀之藍藻萃取物以無菌之 PBSA 稀釋成 25 mg/mL，且不再過濾，並將其保存於 -20°C。之後實驗皆以此保存液再稀釋成適當濃度。

D. 試管培養初步評估測試藍藻萃取液抑制病毒之作用

將適當濃度之 MA104 或 HEp-2 細胞培養於玻璃管，第二天將以維持培養基進行序列稀釋之藍藻萃取液與特定濃度之輪狀病毒或呼吸道融合病毒之病毒液以

1:1 混合，於 37°C 反應 30 分鐘後，以 100 μ L 混合液感染已長滿於玻璃管底部之細胞。病毒於 37°C 感染 1 小時後，補入 1 mL 含相同濃度藍藻萃取液之維持培養基。每日觀察細胞 CPE 之情形。

E. 以 MTT 試驗測試藍藻萃取液之細胞毒性

將適當濃度之 MA104 或 HEp-2 細胞培養於 96 孔盤，第二天再將以維持培養基作序列稀釋之藍藻萃取液 200 μ L 加入長滿細胞之 96 孔盤。培養 3 天後加入 MTT (5mg/mL)，將細胞置於 37°C，5 小時後，再加入作為溶菌緩衝液(lysis buffer)之 DMSO，將其維持於 37°C，10 分鐘後以 OD₅₇₀ 測定吸光度分析。

F. 以 MTT 試驗測試藍藻萃取液抑制病毒之作用

病毒吸附前處理試驗

將適當濃度之 MA104 或 HEp-2 細胞培養於 96 孔盤。第二天將以維持培養基進行序列稀釋之藍藻萃取液與特定濃度之輪狀病毒或呼吸道融合病毒之病毒液以 1:1 混合，於 37°C 反應 30 分鐘後，於長滿細胞之 96 孔盤之每孔接種 100 μ L 之該混合液。病毒於 37°C 培養箱吸附一小時後，接著吸去該病毒液，再加入不含藍藻萃取液之維持培養基 200 μ L。培養 3 天後加入 MTT，將細胞置於 37°C，5 小時後，再加入溶菌緩衝液(DMSO)，將其維持於 37°C，10 分鐘後以 OD₅₇₀ 測定吸光度分析。

病毒吸附後處理試驗

將適當濃度之 MA104 或 HEp-2 細胞隔夜培養於 96 孔盤，第二天每孔接種 100 μ L 病毒液，於 37°C 培養箱吸附一小時，接著吸去該病毒液後，加入以維持培養基作序列稀釋之藍藻萃取液 200 μ L。培養 3 天後加入 MTT，將細胞置於 37°C，5 小時後，再加入溶菌緩衝液 (DMSO)，將其維持於 37°C，10 分鐘後以 OD₅₇₀ 測定吸光度分析。

G. 以焦點減少試驗(Focus Reduction Assay)測試藍藻萃取液抑制輪狀病毒之作用

病毒吸附前處理試驗

將適當濃度之 MA104 細胞隔夜培養於 96 孔盤，第二天將以維持培養基進行序列稀釋之藍藻萃取液與特定濃度之輪狀病毒液以 1:1 混合，於 37°C 反應 30 分鐘後，於長滿細胞之 96 孔盤之每孔接種 100 μ L 之該混合液。病毒於 37°C 培養箱吸附一小時後，吸去病毒液，再加入不含藍藻萃取液之維持培養基 200 μ L。培養 18~24 小時後，吸去上清液並用冰甲醇固定細胞 20 分鐘。將 96 孔盤扣乾後加入輪狀病毒抗血清(Rabbit anti HRV serum, 1:40)，置於 37°C 培養箱作用 2 小時後，以 PBSA 清洗三次，再加入與 FITC 共軛結合之山羊抗兔 IgG(FITC conjugated goat anti rabbit IgG, 購自 Zymed 公司)(1:150)，置於 37°C 培養箱避光作用 1 小時，以二次水清洗三次，扣乾後利用螢光顯微鏡計算螢光細胞的

數目。

病毒吸附後處理試驗

將適當濃度之 MA104 或 HEp-2 細胞隔夜培養於 96 孔盤。第二天每孔接種 100 μ L 病毒液後，於 37°C 培養箱吸附一小時，吸去病毒液後加入以維持培養基作序列稀釋之藍藻萃取液 200 μ L。培養 18~24 小時後，吸去上清液，並用冰甲醇固定細胞 20 分鐘。將 96 孔盤扣乾後加入輪狀病毒抗血清(Rabbit anti HRV serum, 1:40)，置於 37°C 培養箱作用 2 小時後，以 PBSA 清洗三次，再加入與 FITC 共軛結合之山羊抗兔 IgG(1:150)，置於 37°C 培養箱避光作用 1 小時，以二次水清洗三次。扣乾後利用螢光顯微鏡計算螢光細胞的數目。

實驗結果

1. 藍藻萃取液之細胞毒性

將藍藻萃取液以不同稀釋濃度，加在預先培養好之細胞上，以 MTT 試驗來測試細胞活性。第一圖顯示 HEp-2 及 MA104 細胞之 MTT 測試結果。與細胞對照組比較，不論是 HEp-2 或是 MA104 細胞，藍藻萃取液只有在未經稀釋時(即最高濃度 25 mg/mL 時)具有顯著的細胞毒性，使細胞存活率低於百分之五十，而在 5 mg/mL 以下的濃度則皆無顯著之細胞毒性存在。雖然由第一圖之結果顯示，濃度為 25 mg/mL 之藍藻萃取液使細胞存活率低於百分之五十，但會造成此結果之原因應該是因

為最高濃度的藍藻萃取液(25 mg/mL)是以 PBSA 來稀釋，由於不含細胞培養基，因此造成細胞生長不好而死亡，因此，從實驗結果得知，藍藻萃取液本身對細胞而言，並不具有顯著的毒性。

2. 初步評估藍藻萃取液減緩輪狀病毒及呼吸道融合病毒所造成之細胞病變之功效

將輪狀病毒或呼吸道融合病毒培養於試管中，培養過程中全程加入不同濃度之藍藻萃取液或不加藍藻萃取液，每日觀察細胞之細胞病變，並分別於輪狀病毒感染後第七日及呼吸道融合病毒感染後第二日以顯微鏡記錄下細胞病變之情形，其結果分別顯示於第二 A 圖及第二 B 圖。第二 A 圖顯示不同濃度之藍藻萃取液對輪狀病毒造成之細胞病變之抑制結果，而第二 B 圖顯示不同濃度之藍藻萃取液對呼吸道融合病毒造成之細胞病變之抑制結果。由第二 A 圖及第二 B 圖之結果顯示適當濃度之藍藻萃取液確實能有效抑制住病毒造成之細胞病變，且抑制細胞病變的程度與藍藻萃取液的濃度呈正相關。

3. MTT 試驗測試藍藻萃取液抑制呼吸道融合病毒之功效

將呼吸道融合病毒以 100 TCID₅₀ 感染長滿 96 孔盤之 HEP-2 細胞。在病毒感染細胞之前或之後分別以兩倍序列稀釋之藍藻萃取液先和病毒液混合或加於維持培

養基中，將其分別進行 MTT 試驗，其結果如第三圖所示。由第三圖之結果顯示，在藍藻萃取液濃度為 0 時，觀察到的細胞之存活率約為 33%，此乃因為細胞已受病毒感染，且其並無含有藍藻萃取液，因而病毒會造成細胞死亡。此外，不論是在病毒吸附細胞之前或之後，藍藻萃取液對於抑制呼吸道融合病毒的效果都是相似的，其能抑制病毒百分之五十感染力之最低藥物濃度 (IC_{50}) 約為 0.195 mg/mL，而濃度更高的藍藻萃取液都維持百分之八十以上之細胞活性。

4. 螢光焦點減少試驗(Fluorescent focus reduction assay)

測試藍藻萃取液抑制輪狀病毒之功效

將輪狀病毒以 100 pfu 感染長滿 96 孔盤之 MA104 細胞。在病毒感染細胞之前或之後分別以兩倍序列稀釋之藍藻萃取液先和病毒液混合或加於維持培養基中，將其分別進行螢光焦點減少試驗，其結果如第四圖所示，其中第四圖中藍藻萃取液濃度為 0 時之數據為病毒控制組之數據。由第四圖之結果顯示，在病毒感染細胞後給藥較能有效的抑制住螢光焦點的形成，且和藥物濃度約略呈正相關，其能抑制病毒百分之五十感染力之最低藥物濃度 (IC_{50}) 約為 0.049 mg/mL，而在病毒感染前給藥也有抑制輪狀病毒感染的效果。

綜上所述，本發明所提供之包含藍藻萃取物之醫藥組合物係具有抑制輪狀病毒及/或呼吸道融合病毒感染及/或複製之能力，且其在病毒吸附前或吸附後提供均具

有抑制病毒感染及/或複製之功效，因此，本發明之醫藥組合物係適用於預防及/或治療輪狀病毒及/或呼吸道融合病毒之感染及/或複製。

其它實施態樣

所有揭露於本發明書之特徵係可使用任何方式結合。本說明書所揭露之特徵可使用相同、相等或相似目的的特徵取代。因此，除了特別陳述強調處之外，本說明書所揭露之特徵係為一系列相等或相似特徵中的一個實施例。

此外，依據本說明書揭露之內容，熟悉本技術領域者係可輕易依據本發明之基本特徵，在不脫離本發明之精神與範圍內，針對不同使用方法與情況作適當改變與修飾，因此，其它實施態樣亦包含於申請專利範圍中。

【圖式簡單說明】

第一圖為 HEp-2 及 MA104 細胞之 MTT 測試結果。

第二 A 圖顯示不同濃度之藍藻萃取液對輪狀病毒造成之細胞病變之抑制結果，其中 a 為細胞控制組；b 至 e 為病毒組，且分別含有濃度為 3.125、0.781、0.195 及 0.049 之藍藻萃取液；及 f 為病毒控制組。

第二 B 圖顯示不同濃度之藍藻萃取液對呼吸道融合病毒造成之細胞病變之抑制結果，其中 a 為細胞控制組 b 至 e 為病毒組，且分別含有濃度為 3.125、0.781、0.195 及 0.049 之藍藻萃取液；及 f 為病毒控制組。

第三圖為 MTT 試驗測試藍藻萃取液抑制呼吸道融合病毒之結果。

第四圖為螢光焦點減少試驗測試藍藻萃取物抑制輪狀病毒之結果。

【主要元件符號說明】

無

五、中文發明摘要：

本發明係提供一種用於治療輪狀病毒及/或呼吸道融合病毒感染之醫藥組合物及其製備方法，其中前述醫藥組合物係包含一治療有效量的藍藻(*Spirulina*)萃取物及一醫藥可接受之載體。本發明所用之藍藻萃取物係在低溫萃取而得，其步驟包含：(a)有機藍藻粉加入低張緩衝液，充分攪拌均勻；(b)0°C 以下靜置過夜；(c)靜置解凍；(d)分離機分離純化，收集藍色分液；及(e)噴霧乾燥。

六、英文發明摘要：

十、申請專利範圍：

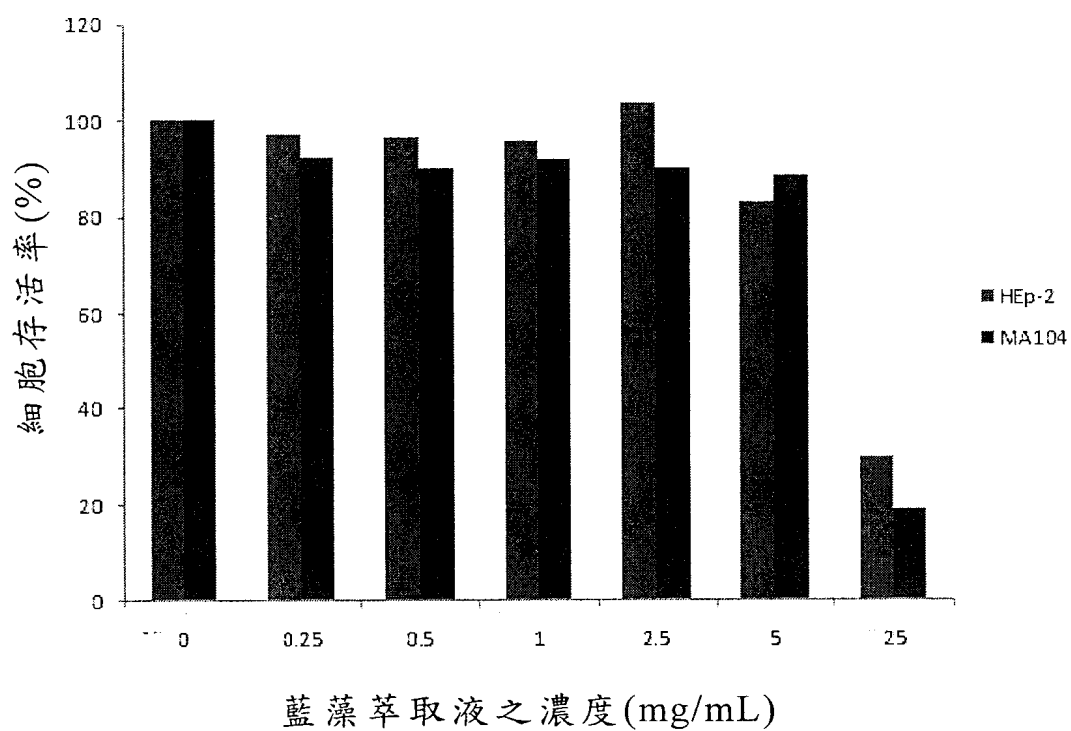
1. 一種用於治療輪狀病毒及/或呼吸道融合病毒感染之醫藥組合物，其包含一治療有效量的藍藻(Spirulina)萃取物及一醫藥可接受之載體。
2. 如申請專利範圍第1項所述之醫藥組合物，其進一步包含一醫藥可接受之佐藥、賦形劑或添加物。
3. 如申請專利範圍第1項所述之醫藥組合物，其係以粉末狀、顆粒狀、液狀、膠狀或膏狀存在。
4. 如申請專利範圍第1項所述之醫藥組合物，其劑型係以食品、飲品、藥品、試劑或營養補充劑之形式提供。
5. 如申請專利範圍第1項所述之醫藥組合物，其係經由口服、注射、吸入、皮下埋植或皮膚貼片方式施用於病患。
6. 如申請專利範圍第1項所述之醫藥組合物，其係適用於預防及/或治療輪狀病毒及/或呼吸道融合病毒之感染。
7. 如申請專利範圍第1項所述之醫藥組合物，其係適用於抑制病毒感染及/或複製。
8. 一種用於製備治療輪狀病毒及/或呼吸道融合病毒之醫藥組合物之方法，其包含：一治療有效量的藍藻(Spirulina)萃取物及一醫藥可接受之載體，且前述藍藻萃取物係在-25~18℃經由下列步驟萃取而得：
 - (a)有機藍藻粉加入低張緩衝液，充分攪拌均勻；
 - (b)零度以下靜置過夜；
 - (c)靜置解凍；

(d)分離機分離純化，收集藍色分液；及

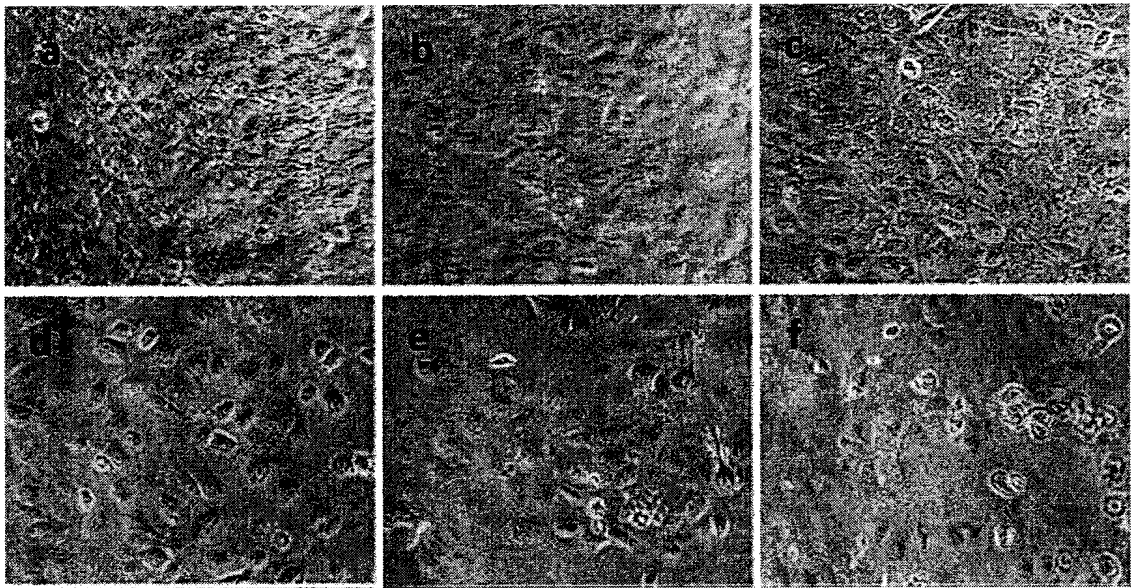
(e)噴霧乾燥。

9. 如申請專利範圍第 8 項所述之方法，其中前述藍藻萃取物係在 $-25\sim-10^{\circ}\text{C}$ 冷凍靜置過夜。
10. 如申請專利範圍第 8 項所述之方法，其中前述藍藻萃取物係在 $4\sim18^{\circ}\text{C}$ 解凍。

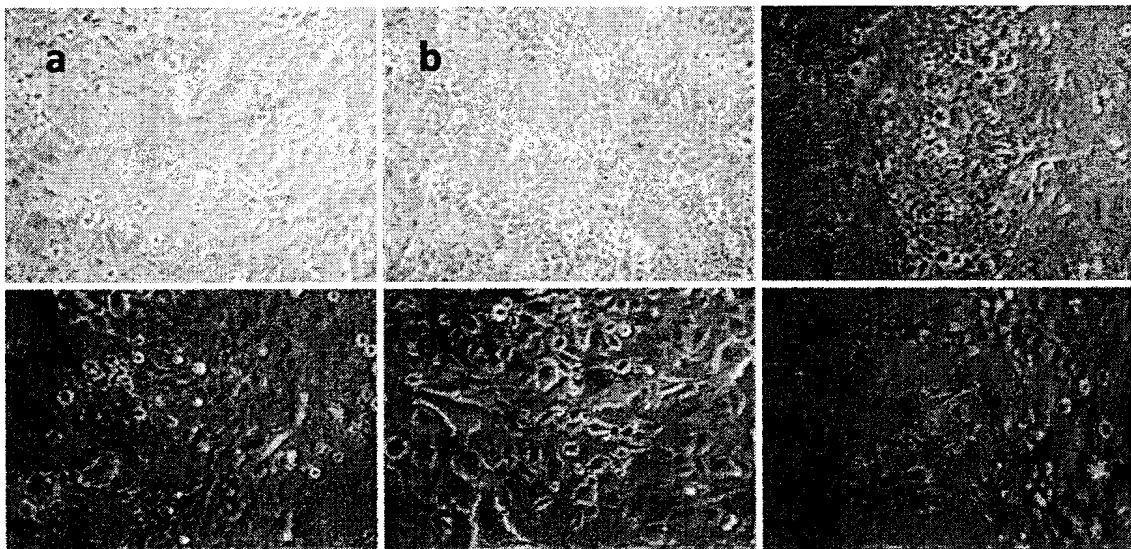
十一、圖式



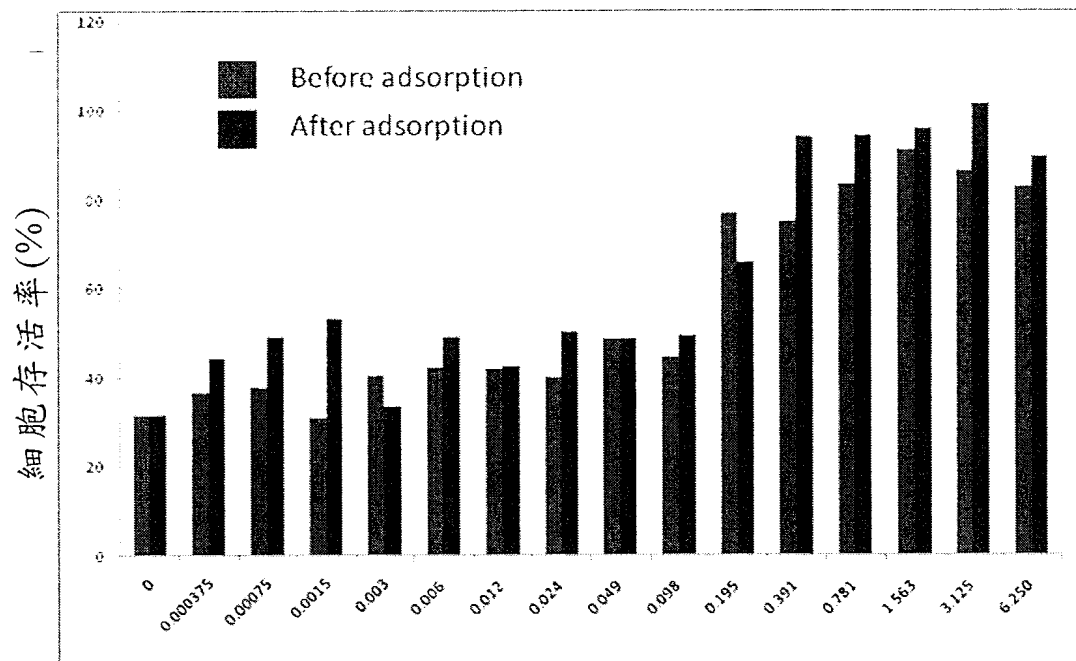
第一圖



第二 A 圖

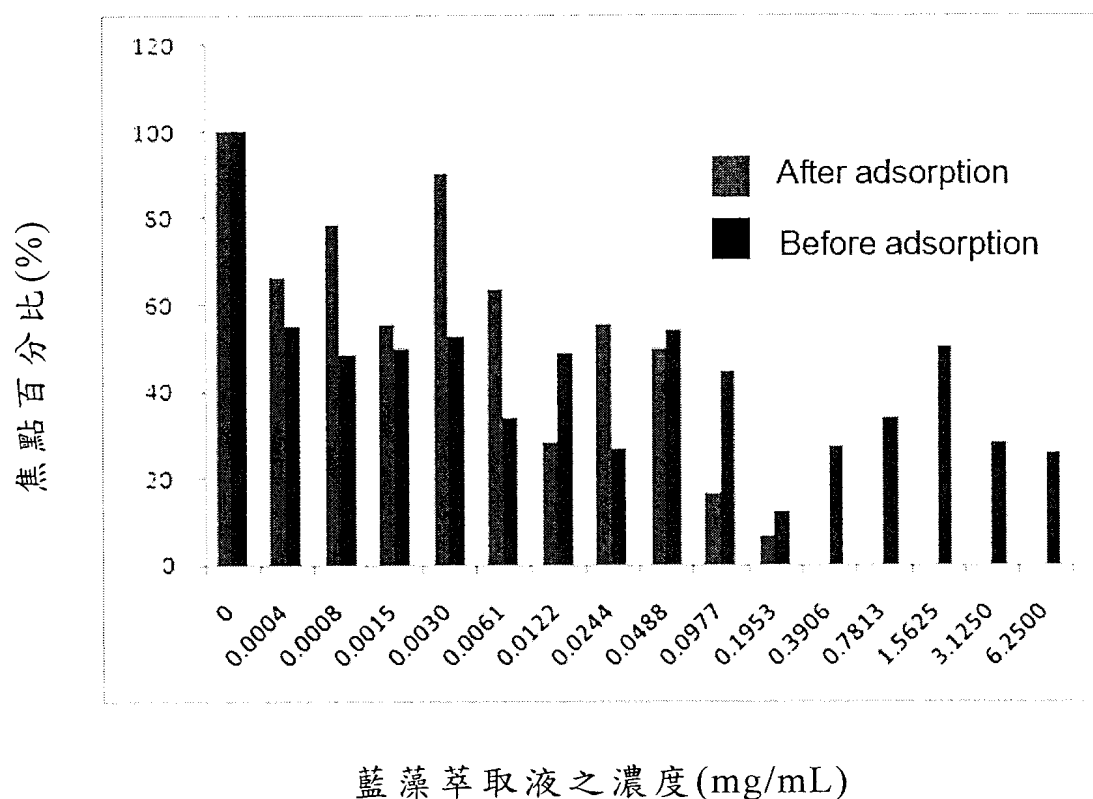


第二 B 圖



藍藻萃取液之濃度(mg/mL)

第三圖



第四圖

七、指定代表圖：

(一)本案指定代表圖為：第二圖。

(二)本代表圖之元件符號簡單說明：

八、本案若有化學式時，請揭示最能顯示發明特徵的化學式：

無