

發明專利說明書 200425902

(填寫本書件時請先行詳閱申請書後之申請須知，作※記號部分請勿填寫)

※申請案號：92113808 ※IPC分類：A61K35/18

※申請日期：92.5.22

壹、發明名稱

(中文) 新穎中草藥組合物及其用途

(英文) NOVEL HERBAL COMPOSITIONS AND USE THEREOF

貳、發明人(共1人)

發明人 1 (如發明人超過一人，請填說明書發明人續頁)

姓名：(中文) 許清祥

(英文) HSU CHING-HSIANG

住居所地址：(中文) 高雄市光華二路一五九號

(英文) NO. 159, KUANG HUA 2ND. RD., KAOHSIUNG CITY, TAIWAN, R.O.C

國籍：(中文) 中華民國 (英文) R.O.C.

參、申請人(共1人)

申請人 1 (如申請人超過一人，請填說明書申請人續頁)

姓名或名稱：(中文) 光惠生物科技股份有限公司

(英文) MEDRAY BIOTECH INC.

住居所或營業所地址：(中文) 高雄市前鎮區民權二路6號15樓之1

(英文) 15F-1, NO.6, MING-CHUAN 2ND. RD., KAOHSIUNG

TAIWAN, R.O.C

國籍：(中文) 中華民國 (英文) R.O.C.

代表人：(中文) 許 清 祥

(英文) HSU CHING-HSIANG

捌、聲明事項

☐ 本案係符合專利法第二十條第一項□第一款但書或□第二款但書規定之期間，其日期為：_____

☐ 本案已向下列國家（地區）申請專利，申請日期及案號資料如下：

【格式請依：申請國家（地區）；申請日期；申請案號 順序註記】

1. _____
2. _____
3. _____

☐ 主張專利法第二十四條第一項優先權：

【格式請依：受理國家（地區）；日期；案號 順序註記】

1. _____
2. _____
3. _____
4. _____
5. _____
6. _____
7. _____
8. _____
9. _____
10. _____

☐ 主張專利法第二十五條之一第一項優先權：

【格式請依：申請日；申請案號 順序註記】

1. _____
2. _____
3. _____

☐ 主張專利法第二十六條微生物：

☐ 國內微生物 【格式請依：寄存機構；日期；號碼 順序註記】

1. _____
2. _____
3. _____

☐ 國外微生物 【格式請依：寄存國名；機構；日期；號碼 順序註記】

1. _____
2. _____
3. _____

☐ 熟習該項技術者易於獲得，不須寄存。

玖、發明說明

發明所屬之技術領域：

本發明係關於一種具植物性雌激素活性之組合物，其是由數種中草藥原料依特定重量配比製成。該組合物可減緩哺乳動物更年期症候群。

先前技術：

女性進入更年期後，超過一半以上的停經婦女會因雌激素驟然下降，喪失對於心臟血管功能的保護及維護，容易發生中風等心臟血管性疾病。也引發腦下垂體促性腺激素不定時上升，造成周邊血管舒張功能不穩定，而出現熱潮紅、頭痛、腰酸背痛、頸部不舒服、失眠、盜汗或是情緒不穩的症狀。也會使陰道表皮組織變薄，陰道體液分泌減少，導致性交疼痛或造成尿失禁、頻尿及陰道萎縮等。雌激素的分泌對於鈣質的吸收會有很大的負面效應，鈣質不易留存體內，骨質會加速流失，每年約有 2~3% 的骨質流失，就會形成骨質疏鬆症，而且皮下的膠原和黏多醣會減少，容易出現皮膚皺褶，雌激素也會影響許多神經傳遞系統，缺乏時便無法維持神經細胞的正常功能、記憶力受損等現象。

近年來，臨床上廣泛建議停經婦女積極採用荷爾蒙補充療法，希望憑藉外來的補充，使體內荷爾蒙回復到停經前的濃度，能夠免除更年期症候群，預防對於心臟血管系統、骨骼和中樞神經系統產生的功能障礙和疾病。上述之更年期症狀經臨床證據顯示許多女性在荷爾蒙補充療法之後有顯著改善，一旦停藥則症狀惡化，這現象顯然表示這些不舒服與荷爾蒙的不足有關係，也證明荷爾蒙補充治療對這些症狀的改善確實有效用。

陰道及膀胱的支撐組織依賴女性荷爾蒙維持其彈性及韌性，女性荷爾蒙一旦降低則可能引起尿失禁及陰道乾燥易發炎、性交疼痛等問題，荷爾蒙之治療效果良好。而停經後骨質流失加快，容易引起骨折，研究發現補充雌激素可以減少 50% 脊椎骨折及 25-30% 的髖骨疏鬆。荷爾蒙補充療法也可以對心臟血管疾病的預防有良好效果，使用雌激素的女性比未使用者減少約 35-50% 罹患心臟血管疾病的風險，因為雌激素可降低血漿(plasma) 10-14% 的低密度脂蛋白(LDL)，並可提昇高密度脂蛋白(HDL) 約 7%，所以可預防心臟血管疾病的發生；雌激素亦可抑制低密度脂蛋白的氧化，進而改善內皮血管細胞的功能，這些作用皆對心血管疾病

的發生有預防效果。

美國國家衛生研究院近期宣布，中止一項從一九九三年到二零零五年全美最大規模的荷爾蒙補充療法的研究，因為發現長期服用雌激素和黃體素，罹乳癌率增加 26%，中風率增加 41%，心臟病率增加 29%，肺血栓率增加 113%。其中乳癌的風險是在使用三年後才有顯著的增加，而心臟病則是在一年後就已發現，因此使用荷爾蒙補充療法的風險引起世人的重視。

Albertazzi, P. 等人於 *Maturitas* 42: 173-185 (2002), The nature and utility of the phytoestrogens: a review of the evidence 指出黃豆及一些蔬菜中含有一種植物性雌激素 (Phytoestrogen)，它是一種天然化合物，其構造與作用類似女性荷爾蒙的化合物 (17β -estradiol)，但其效價僅為此女性荷爾蒙的千分之一左右。植物雌激素與 β 雌激素受體之結合能力遠大於 α 雌激素受體，因此多作用於中樞神經系統、血管、骨骼及皮膚，而不會刺激乳房與子宮。植物性雌激素也因具有雌激素的作用，可以有效改善女性更年期症狀；它能活化「成骨細胞」，抑制「破骨細胞」，可以防止骨質的流失；它能降低血液中低密度脂蛋白 (LDL) 的含量，增加高密度脂蛋白 (HDL) 的含量，對收縮與舒張血壓也有微降的效果，因而降低了心血管疾病的發生率；它亦具有抗癌、抗氧化、抗增生、

抗血管形成的特質，因此能夠預防子宮內膜的增厚和乳腺的增生，而具有降低乳癌發生的效果。

發明內容：

本實驗給予未成熟 ICR 小鼠口服本發明組合物來評估其植物性雌激素活性。

本發明係一種具植物性雌激素活性之組合物，其包含下列重量配比的原料：黑大豆 0.5-30、黑木耳 1.0-10 及大棗 10-40。該組合物中較佳之原料重量配比為：黑大豆 10-30、黑木耳 5-10 及大棗 20-40。上述更佳之組合物，其中黑大豆：黑木耳：大棗之重量比為 3:1:4。

本發明之組合物，可以一般中草藥水萃方式萃取活性成份。萃取物可製備成液劑或其他合宜劑型（如呈冷凍乾燥乾粉形式）便於儲存或調配製劑。

本發明之組合物可以有效改善女性更年期症狀，詳言之，本發明之組合物可預防或改善哺乳動物能活化「成骨細胞」，抑制「破骨細胞」，可以防止骨質的流失；降低血液中低密度脂蛋白（LDL）的含量，增加高密度脂蛋白（HDL）的含量，對收縮與舒張血壓也有微降的效果，因而降低了心血管疾病的發生率；本發明之組合物亦具有抗癌、抗氧化、抗增生、抗血管形成的特質，因此能夠預防子宮內膜的增厚和乳腺的增生，而具有抗癌的效果。

本發明之組合物適用對象為哺乳動物，較佳適用對

象為人類。

本發明之組合物適用濃度為100-1000 $\mu\text{g}/\text{ml}$ ，較佳濃度為100-250 $\mu\text{g}/\text{ml}$ ，視服用者之體質和進展以及其他因素(如用於預防或改善)而有所變動。

本發明之組合物亦可依不同投遞路徑與其他賦形劑或載劑一同使用，惟該等賦形劑或載劑以不影響組合物之活性為前提。

下列實例進一步說明本發明，但非欲限制本發明之範圍，任何熟悉該項技術者所知之替代和改變，均仍涵蓋於本發明之範圍中，而不偏離本發明之精神和目的。

實施方式：

本發明組合物製備實例：

1. 將配方中所需藥材依序以下列重量配比比秤好：黑大豆562.5克、黑木耳187.5克及大棗750克。秤好的藥材放入乾淨的濾布藥袋中，並束緊。
2. 打開提煉機之鍋蓋，放入藥袋。
3. 注入20公升乾淨純水。
4. 蓋上鍋蓋並栓緊所有開關。
5. 啟動電源，設定好溫度與時間(120℃，2小時)
6. 提煉完成後，將提煉完成之藥汁送至包裝機中進行包裝或是進行冷凍乾燥製成乾粉。

材料與方法

1. 藥品

17- α -ethinyl estradiol(EE)(sigma)配法：秤取 45 mg EE 溶於 1ml 95%酒精中，此為原液。加入適量水稀釋，使最終濃度為 0.45 μ g/ml。

本發明組合物凍乾粉末，每包 150ml 有 1 克粉末。成人每天服用 3 包，換算成老鼠 1x 劑量約為每天每隻小鼠需口服 8 mg；10x 劑量則為每天需 80mg。

2. 實驗動物：

由國家實驗動物繁殖及發明中心購得之雌性 ICR 小鼠，體重 20~25 公克，飼養於光照、黑暗各 12 小時，室溫維持在 $25 \pm 1^\circ\text{C}$ ，濕度維持在 $60 \pm 5\%$ ，水分與飼料充分供給之獨立空調的動物房內。本發明中對實驗動物之處理及一切實驗過程，均依據實驗動物委員會之標準章程規範進行。

3. 動物試驗

Odum, J. 等人於 *Reg. Toxicol. Pharmacol.* 25: 176-188(1997) The rodent uterotrophic assay: critical protocol features, studies with nonyl phenols, and comparison with a yeast estrogenicity assay 揭露最常用來分析這些植物性化合物是否具有雌激素的活性，大多使用啮齒類動物的子宮來分析。一般選擇未成熟或卵巢切除的大鼠或

小鼠為實驗動物，並以口服或皮下給予方式來測試化合物是否具有雌激素活性。

以剛斷奶且未成熟之 ICR 母鼠（約 21-24 天）為實驗動物，每組 9 隻小鼠，進行連續 3 天的口服餵食試驗。正控制組為每日口服 EE 10 $\mu\text{g}/\text{kg}$ ，即 0.45 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 餵食 0.2 ml。本發明組合物劑量為每天餵食兩次，每次 0.2 ml（餵食量為 10 ml/kg 體重⁽¹⁾），濃度分別為 1x：20 mg/ml 及 10x：200 mg/ml。在餵食後第 4 天早上將小鼠犧牲，取其子宮（去除脂肪組織）秤重，並以子宮濕重量/總體重的百分比來表示雌激素活性。

4. 結果

將未成熟之 ICR 母鼠，進行連續 3 天的口服餵食試驗後，結果顯示相較於控制組，每日口服 EE 10 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 能明顯增加子宮濕重（圖一， $P<0.1$ ）或子宮濕重與體重的百分比（圖二， $P<0.1$ ）。餵食 10x 本發明組合物雖能增加子宮濕重（圖一），但與控制組間無顯著差異；另以子宮濕重與體重的百分比參數來表示本發明組合物之植物性雌激素活性時，發現餵食 10x 本發明組合物能明顯增加子宮濕重與體重的百分比（圖二， $P<0.1$ ），顯示高濃度本發明組合物具有植物性雌激素活性，然而餵食 1x 本發明組合物其子宮濕重或子宮濕重與體重

的百分比與控制組無顯著差異。

5. 討論

近十年來發現了許多從植物而來的化合物具有結合到雌激素受體的能力，也發展出許多體外試驗系統來偵測或定量天然或合成化合物的雌激素活性(Diel, P., Schmidt, S. Vollmer, G. In vivo test systems for the quantitative and qualitative analysis of the biological activity of phytoestrogens. *J. Chromatography B* 777: 191-202, 2002.)。但是值得注意的是，即使結合多種不同的體外測試系統，但還是不能去預測一個物質在有機體內的作用。在體內，一個物質會處在許多的代謝途徑及內分泌的交互作用之中，因此為了解化合物的藥理作用及其潛在危險性還是必須使用體內測試系統。其中最常用來評估植物性雌激素在體內是否具有雌激素的活性及其作用機制的方法，就是以齧齒類動物的子宮來分析，並以化合物是否能刺激子宮的生長為決定因子。此種子宮分析的方法包括了使用未成熟母鼠、垂體切除過或摘除卵巢的大鼠或小鼠為實驗動物，並以口服或皮下注射方式來測試化合物是否具有雌激素活性。典型的子宮分析為以未成熟的母鼠（21-22 天）或摘除卵巢的成鼠

(6-8 週) 給予口服或皮下注射測試的化合物 3 天。第 4 天將老鼠犧牲並取子宮秤重。本發明研究結果顯示，高濃度本發明組合物具有植物性雌激素活性。而動物種類的選擇並不是實驗的關鍵所在，報告指出，無論是大鼠或小鼠，對於各種不同的化合物皆具有相似的靈敏度。K.S. Kang 等人於 Toxicol. Lett. 118(2000)109 指出以未成熟母鼠來評估雌激素活性較摘除子宮的母鼠更為敏感。此外啮齒類動物的子宮分析實驗也可用來測試化合物是否具有拮抗雌激素的功能，即評估測試化合物是否能減少或破壞子宮對雌激素的反應。L.J Black 等人於 J. Clin. Invest. 93(1994)63 及 G.L. Evans 等人於 Endocrinology 137(1996)4139 指出以子宮分析實驗來篩選化合物是否具有雌激素活性時仍有些限制，例如 Raloxifene 藥物雖然不會刺激子宮的生長，但卻在乳腺或骨頭上具有雌激素活性。因此結合形態學、組織學、生化或分子層次上的分析可加強子宮分析試驗的能效。其中最常用來當作組織學上的評估為子宮上皮性細胞的高度。就藥理學及病理學上而言，子宮上皮性細胞的高度是評估化合物是否具有植物性雌激素活性的重要數據。

將未成熟之 ICR 母鼠，進行連續 3 天的口服餵食試驗後，結果顯示餵食高濃度本發明組合物能明顯增加子宮濕重與體重的百分比，顯示高濃度本發明組合物具有植物性雌激素活性，因此停經婦女飲用本發明組合物藉以補充荷爾蒙來減緩更年期症候群。

圖式詳細說明：

以剛斷奶且未成熟之 ICR 母鼠為實驗動物，進行連續 3 天的口服餵食試驗。正控制組為每日口服 EE 10 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 。本發明組合物劑量為每天餵食 1x: 8mg 及 10x: 80mg。在餵食後第 4 天早上將小鼠犧牲，並以子宮濕重 (A) 或子宮濕重/總體重的百分比 (B) 來表示雌激素活性。利用 Kruskal-Wallis H test，並以 Dunnett t Test 作為事後檢定法；*表與控制組比較具顯著差異 ($P < 0.1$)。

圖式簡單說明：

圖一顯示餵食本發明組合物對未成熟 ICR 母鼠之子宮濕重之影響。

圖二顯示餵食本發明組合物對未成熟 ICR 母鼠之子宮濕重/總體重的百分比之影響。

唯以上所述者，僅係本發明部份較佳實例說明，故凡應用本發明說明及申請專利範圍所為之等效方法之

(12)

發明說明續頁

變化，理應包含在本發明之專利範圍內。

肆、中文發明摘要

一種具植物性雌激素活性之組合物，其包含下列重量配比的原料：黑大豆 0.5-30、黑木耳 1.0-10 及大棗 10-40。該組合物可減緩哺乳動物更年期症候群。

伍、英文發明摘要

A composition having phytoestrogenic activity, characterized in that the composition is selected from the group consisting of 0.5-30 by weight of black soy bean, 1.0-10 by weight of wood ear and 10-40 by weight of fructus jujubae. The composition can alleviate menopausal syndrome in mammal.

拾、申請專利範圍

- 1、一種具植物性雌激素活性之組合物，其包含下列重量配比的原料：黑大豆0.5-30、黑木耳1.0-10及大棗10-40。
- 2、根據申請專利範圍第1項之組合物，其特徵在於它是由下列重量配比的原料製成的：黑大豆10-30、黑木耳5-10及大棗20-40。
- 3、根據申請專利範圍第1或2項之組合物，其中黑大豆：黑木耳：大棗之重量比為3:1:4。
- 4、根據申請專利範圍第1或2項之組合物，其呈冷凍乾燥製成乾粉形式。
- 5、根據申請專利範圍第3項之組合物，其呈冷凍乾燥製成乾粉形式。
- 6、根據申請專利範圍第1或2項之組合物，其可減緩哺乳動物更年期症候群。
- 7、根據申請專利範圍第3項之組合物，其可減緩哺乳動物更年期症候群。
- 8、根據申請專利範圍第1或2項之組合物，其可降低因更年期引起尿失禁、陰道乾燥易發炎或性交疼痛等症狀。
- 9、根據申請專利範圍第1或2項之組合物，其可活化成骨細胞、抑制「破骨細胞」及防止停經後骨質的流失等症狀。

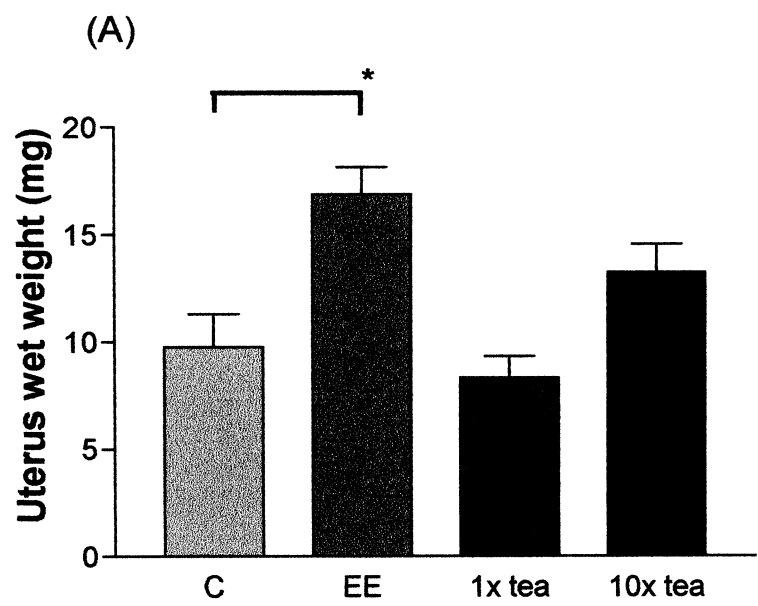
- 10、根據申請專利範圍第1或2項之組合物，其中防止停經後骨質的流失等症狀包括減少脊椎骨折及的髖骨疏鬆。
- 11、根據申請專利範圍第1或2項之組合物，其可預防因更年期引起心血管疾病及降低心血管疾病的發生率。
- 12、根據申請專利範圍第11項之組合物，其預防因更年期引起心血管疾病係藉抑制低密度脂蛋白的氧化而改善內皮血管細胞的功能。
- 13、根據申請專利範圍第11項之組合物，其降低心血管疾病的發生率係藉由降低血液中低密度脂蛋白（LDL）的含量、增加高低密度脂蛋白（HDL）的含量及微降收縮與舒張血壓。
- 14、根據申請專利範圍第1或2項之組合物，其可預防因更年期引起心血管疾病及降低心血管疾病的發生率。
- 15、根據申請專利範圍第1或2項之組合物，其可預防子宮內膜的增厚和乳腺的增生。
- 16、根據申請專利範圍第1或2項之組合物，其具有降低乳癌發生的效果。
- 17、根據申請專利範圍第6項之組合物，其中哺乳動物為人類。
- 18、根據申請專利範圍第1或2項之組合物，其中植物性雌激素活性係以增加子宮濕重與體重的百分

比當作參考指標。

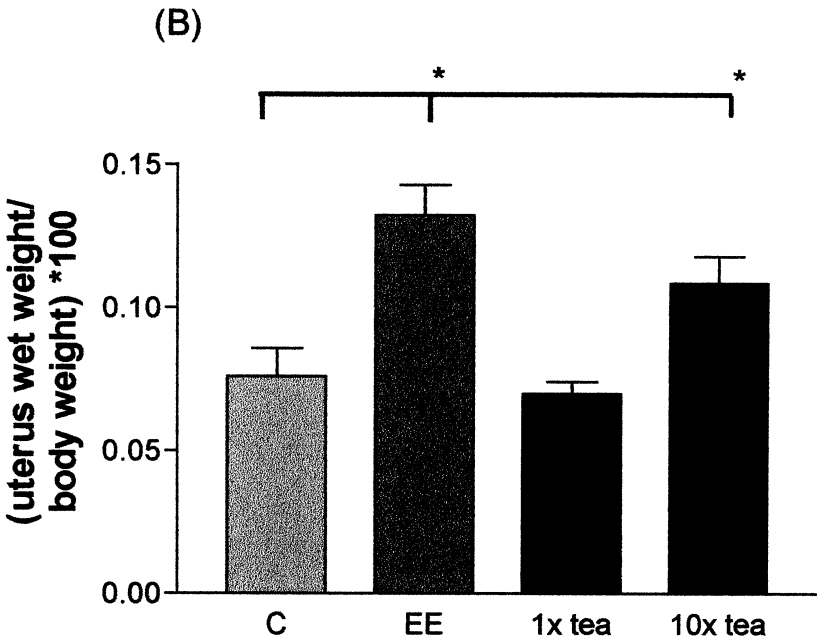
- 19、根據申請專利範圍第1或2項之組合物，其濃度為
100-1000 $\mu\text{g/ml}$ 。
- 20、根據申請專利範圍第19項之組合物，其濃度為
100-250 $\mu\text{g/ml}$ 。

拾壹、圖式

圖一



圖二



陸、(一)、本案指定代表圖為：第一圖

(二)、本代表圖之元件代表符號簡單說明：

* $P < 0.1$, ** $P < 0.05$, *** $P < 0.01$

柒、本案若有化學式時，請揭示最能顯示發明特徵的化學式：