



(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 I554277 B

(45) 公告日：中華民國 105 (2016) 年 10 月 21 日

(21) 申請案號：101110713

(22) 申請日：中華民國 101 (2012) 年 03 月 28 日

(51) Int. Cl. : A61K36/062 (2006.01)

A61K36/481 (2006.01)

A61P1/16 (2006.01)

A61K125/00 (2006.01)

(71) 申請人：泰宗生物科技股份有限公司 (中華民國) TCM BIOTECH INTERNATIONAL CORP.
(TW)

臺北市內湖區基湖路 35 巷 11 號 7 樓

(72) 發明人：徐煥清 HSU, HUAN CHING (TW)；王雅俊 WANG, YA CHUN (TW)

(74) 代理人：賴經臣；宿希成

(56) 參考文獻：

2010-3-15 科學時報「武漢大學中南醫院揭示黃耆多糖降糖機理」

94 學年度, 陽雅嵐研究論文「黑豆、黃耆、巴西洋菇子實體及以豆科植物為發酵機直之巴西洋菇發酵產物對倉鼠血脂之影響」

2008 年 5 月 19 日發表於香港保健食品協會【冬蟲夏草】養生價值的研究

審查人員：張子威

申請專利範圍項數：5 項 圖式數：6 共 21 頁

(54) 名稱

預防及治療非酒精性脂肪肝之醫藥組成物

PHARMACEUTICAL COMPOSITION FOR PREVENTING AND TREATING NONALCOHOLIC
FATTY LIVER DISEASE

(57) 摘要

本發明係提供一種用於預防及治療肝纖維化或非酒精性脂肪肝之醫藥組成物，包含 50 至 90 重量%之冬蟲夏草菌絲體粉末及 10 至 50 重量%之濃縮黃耆粉。

The present invention provides a pharmaceutical composition for preventing and treating liver fibrosis or nonalcoholic fatty liver disease, comprising 50 to 90% by weight of the *Cordyceps sinensis* mycelium powder, and 10 to 50% by weight of condensed astragalus powder.

指定代表圖：

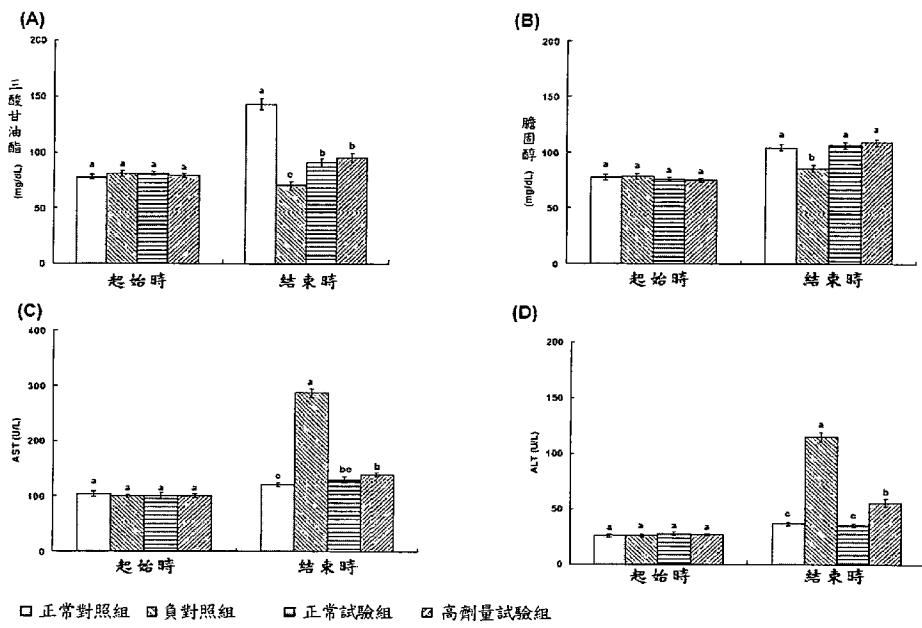


圖 2

公告本

發明專利說明書

103. 2. 25
年 月 日
修正
補充

FEB 25 2014

替換頁

(本說明書格式、順序，請勿任意更動，※記號部分請勿填寫)

※申請案號：101110713

A61K 36/062 (2006.01)

※申請日：101/03/28

※IPC 分類：

A61K 36/481 (2006.01)

A61P 1/6 (2006.01)

一、發明名稱：(中文/英文)

A61K 125/00 (2006.01)

預防及治療非酒精性脂肪肝之醫藥組成物

Pharmaceutical composition for preventing and treating
nonalcoholic fatty liver disease

二、中文發明摘要：

本發明係提供一種用於預防及治療肝纖維化或非酒精性
脂肪肝之醫藥組成物，包含 50 至 90 重量%之冬蟲夏草菌絲
體粉末及 10 至 50 重量%之濃縮黃耆粉。

三、英文發明摘要：

The present invention provides a pharmaceutical
composition for preventing and treating liver fibrosis or
nonalcoholic fatty liver disease, comprising 50 to 90% by
weight of the *Cordyceps sinensis* mycelium powder, and 10 to
50% by weight of condensed astragalus powder.

四、指定代表圖：

(一)本案指定代表圖為：第 (2) 圖。

(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

六、發明說明：

【發明所屬之技術領域】

本發明係有關一種用於預防及治療肝纖維化或非酒精性脂肪肝之醫藥組成物，包含 50 至 90 重量%之冬蟲夏草菌絲體及 10 至 50 重量%之黃耆。

【先前技術】

酒精、病毒或化學物質所引起之慢性肝損傷會使肝臟星狀細胞活化且分泌大量膠原蛋白等胞外基質，並使該等胞外基質過度沉積而造成肝纖維化。根據上述致病機制，治療肝纖維化之藥品開發主要係針對抑制胞外基質合成，或促進胞外基質降解等目標，但目前所發現之物質大多具有生物毒性，或會產生強烈的副作用，至今仍未發現在動物模式中有療效者。

非酒精性脂肪肝(nonalcoholic fatty liver disease, NAFLD)為沒有攝取過量酒精病患之肝脂肪含量超過肝臟重量之 5% 以上，這些患者臨床上常伴隨肥胖、糖尿病、高血脂等疾病，而可能引發肝纖維化及肝硬化。目前對於非酒精性脂肪肝之治療係以減重、血糖及血脂之控制，但並無任何藥物被證明可有效治療非酒精性脂肪肝且進一步預防其進展為肝纖維化及肝硬化。

【發明內容】

本發明之目的在於提供一種以中草藥作為預防及治療肝

纖維化或非酒精性脂肪肝之醫藥組成物。本發明之醫藥組成物主要係包含 50 至 90 重量%之冬蟲夏草菌絲體及 10 至 50 重量%之黃耆。

冬蟲夏草 (*Cordyceps sinensis*) 為一種傳統中藥材，具有抗菌、消炎、解熱、鎮靜、促進血管擴張、平喘、抗心律不整、促進新陳代謝、抗老化、抗腫瘤及刺激免疫活性等功效。由於野生冬蟲夏草產量稀少且價格昂貴，本發明所採用之冬蟲夏草係由冬蟲夏草分離純化而得之菌絲體，其包含下列各菌種：中國被毛孢 (*Hirsutella sinensis*)、中國擬青黴 (*Paecilomyces sinensis*)、中國金孢黴 (*Chrysosporium sinensis*)、蟲生簇孢 (*Sporothrix insectorum*)、葡萄穗黴屬 (*Stachybotrys* sp.)、中國彎頸黴 (*Tolyocladium sinensis*)、蝙蝠蛾擬青霉 (*Paecilomyces hepiali*) 及蝙蝠蛾被毛孢 (*Hirsutella hepiali*) 等。

根據本發明之一較佳具體例，該冬蟲夏草菌絲體係為蝙蝠蛾擬青霉菌絲體 (*Paecilomyces hepiali* Chen et Dai mycelia) 經分離培養及發酵，所得之菌絲體再經冷凍或烘乾乾燥以製成粉末，以作為本發明醫藥組成物中主要成分之一。

黃耆 (*Astragalus membranaceus*) 之藥用部分為其根部，具有增強細胞免疫之功能。本發明係採用選自蒙古黃耆 (*Astragalus membranaceus* (Fisch.) Bge. Var. *mongholicus* (Bge.) Hsiao) 或膜莢黃耆 (*Astragalus membranaceus* (Fisch.)

Bge.) 的乾燥根所製成之濃縮黃耆粉，以作為本發明醫藥組成物中另一主要成分，任何其他種類黃耆亦屬於本發明範疇。

本發明醫藥組成物中可進一步包含大棗 (*Zizyphi Sativae*) 濃縮粉，及更進一步包含藥理學上可接受之賦形劑。該賦形劑係可選自磷酸鈣、葡萄糖酸鋅、硬脂酸鎂、二氧化矽及澱粉中之一或多者之組合。

● 本發明之另一目的為提供一種用於製作預防及治療肝纖維化或非酒精性脂肪肝藥劑或保健食品之醫藥組成物，且該藥劑或保健食品可為膠囊、錠劑或散劑等口服製劑形式。

以下將藉由本發明之一較佳具體例詳細說明其實施方式，及其用於預防及治療肝纖維化或非酒精性脂肪肝所達到之優異功效。

【實施方式】

● (製備本發明之醫藥組成物)

本發明之一較佳具體例所採用之冬蟲夏草菌絲體係為蝙蝠蛾擬青霉菌絲體粉末。該蝙蝠蛾擬青霉菌絲體粉末之製備係參照圖 1 之流程圖，該蝙蝠蛾擬青霉菌株係經培養及發酵，所得菌絲體再經冷凍或烘乾乾燥、研磨及過篩以製成粉末。另，黃耆係採用選自蒙古黃耆或膜莢黃耆的乾燥根所製成之市售黃耆濃縮粉末。此外，本發明之醫藥組成物更進一步包含大棗濃縮粉及藥理學上可接受之賦形劑，該賦形劑係

可選自磷酸鈣、葡萄糖酸鋅、硬脂酸鎂、二氧化矽及澱粉中之一或多者之組合。上述組成物較佳係製成膠囊形式，其中所包含各成分及含量如下述：

成分	毫克/膠囊		
蝙蝠蛾擬青霉菌絲體粉末	275	350	450
濃縮黃耆粉	200	125	45
大棗濃縮粉	20	20	-
賦形劑	25	25	25
總計	520	520	520

本發明組成物之人體劑量（70 公斤）係為 3120 毫克/日；大鼠口服劑量依據實驗動物與人體表面積比等效劑量換算比率計算，大鼠 200 公克與 70 公斤人體表面積比值為 0.018，換算 200 公克大鼠劑量為 56.16 毫克/日。以下將以本發明組成物檢測對於預防及治療肝纖維化或非酒精性脂肪肝之功效。

（以硫代乙醯胺（TAA）誘導肝纖維化之保護作用）

將 5 週齡雄性 Wistar 大鼠分成四組，分別處理如下：

組別	投予物質與劑量
正常對照組	注射生理食鹽水，管灌去離子水
負對照組	注射 TAA，管灌去離子水
正常試驗組	注射 TAA，管灌本發明組成物 280.8 毫克/公斤/日
高劑量試驗組	注射 TAA，管灌本發明組成物 1404 毫克/公斤/日

TAA 係以每星期三次注射 100 毫克/公斤，以誘發大鼠之肝纖維化症狀；及以每星期六次分別管灌各組之去離子水、一倍或五倍劑量之本發明組成物，持續八週。

八週後採集血液測定各組大鼠血清中與肝傷害相關之生化指數與血脂，及測定肝組織之脂質含量、細胞激素、膠原蛋白、抗氧化酵素活性及過氧化代謝產物。結果分述如下：

1. 血液生化值與肝臟脂質含量之影響

如圖 2A 及圖 2B 所示，TAA 處理會導致血脂（三酸甘油酯 (TG) 及膽固醇 (TC)）下降，而補充本發明組成物之個體血清中，TG 及 TC 都顯著高於只以 TAA 處理之個體，TC 甚至可恢復至控制組的水準；而肝臟脂質分析結果則顯示補充本發明組成物可有效減少肝臟脂肪之堆積(如表 1 所示)。

表 1

肝臟脂質 (毫克/克肝臟)	處理			
	正常對照組	負對照組	正常試驗組	高劑量試驗組
三酸甘油酯	10.29±0.07b	11.56±0.29a	10.12±0.15b	10.06±0.28b
膽固醇	2.44±0.07c	4.51±0.08a	2.76±0.11b	2.70±0.09b

表中數據代表平均值±SEM (n=12)，各項測試中平均值標有不同字母者表示差異顯著 ($p < 0.05$)。

2. 肝臟抗氧化能力之影響

測定各組之抗氧化成分與酵素活性，結果如表 2 所示。

表 2

	處理			
	正常對照組	負對照組	正常試驗組	高劑量試驗組
MDA (nmol/mg 蛋白質)	0.45±0.02c	2.38±0.04a	1.62±0.05b	1.63±0.06b
TEAC(nmol/mg 蛋白質)	100.18±3.11a	83.51±3.04b	108.87±3.66a	109.36±4.98a
SOD (單元/mg 蛋白質)	11.12±0.41b	4.35±0.09c	14.15±0.19a	10.64±0.26b
CAT (單元/mg 蛋白質)	19.72±0.39b	17.38±0.36c	20.83±0.43ab	20.97±0.38a
GPx (nmol NADPH 經 氧化/min/mg 蛋白質)	36.16±0.79a	23.54±0.54d	28.21±0.55c	30.71±0.59b

表中數據代表平均值±SEM (n=12)，各項測試中平均值標有不同字母者表示差異顯著 ($p < 0.05$)。

結果顯示補充本發明組成物有顯著降低脂質過氧化產物丙二醛 (malondialdehyde, MDA)、提高總抗氧化能力 (trolox equivalent antioxidant capacity, TEAC)、及提高抗氧化酵素 SOD、CAT、GPx 之活性。

3. 肝臟受損情形之影響

丙胺酸轉胺酶 (alanine transaminase, ALT) 及天冬胺酸轉胺酶 (aspartate transaminase, AST) 係可作為肝臟損傷之指標，結果顯示補充本發明組成物可有效降低血液中 ALT 及 AST (如圖 2C 及圖 2D 所示)，且低劑量之組成物即展現降低 ALT 及 AST 之能力。

腫瘤壞死因子- α (TNF α) 及介白素-1 β (IL1- β) 係受損肝臟細胞分泌之細胞激素，會加劇細胞之傷害，引發強烈發炎反應。檢測結果如表 3 所示，顯示補充本發明組成物可有效

降低 TNF α 與 IL1- β 之含量，表示減緩了肝臟損傷程度。此外，分析肝臟中膠原蛋白，補充本發明組成物亦可顯著降低肝臟中膠原蛋白之含量（表 3）。

表 3

		處理			
		正常對照組	負對照組	正常試驗組	高劑量試驗組
細胞激素 (mg/g 肝臟)	介白素-1 β	3.28 \pm 0.12b	5.03 \pm 0.12a	3.68 \pm 0.20b	3.73 \pm 0.19b
	腫瘤壞死 因子- α	18.40 \pm 0.98c	26.00 \pm 0.85a	22.72 \pm 0.84b	22.02 \pm 0.71b
肝臟膠原蛋白含量 (g/g 肝臟)		0.29 \pm 0.14c	0.43 \pm 0.01a	0.36 \pm 0.01b	0.35 \pm 0.01b

表中數據代表平均值 \pm SEM (n=12)，各項測試中平均值標有不同字母者表示差異顯著 ($p < 0.05$)。

由上述以 TAA 誘導大鼠肝纖維化之模式中，證明本案之醫藥組成物可藉由改善肝臟中脂質代謝、減少脂肪堆積、提高抗氧化能力及減緩因 TAA 造成之肝損傷，且使用低劑量（正常試驗組）即可達到預期效果。

（以四氯化碳引發化學性肝損傷）

將 Spraque-Dawley 大鼠分為五組，分別處理如下：

組別	投予物質與劑量
正常對照組	1 毫升/公斤橄欖油 / 10 毫升/公斤去離子水
負對照組	1 毫升/公斤四氯化碳 / 10 毫升/公斤去離子水
正常試驗組	1 毫升/公斤四氯化碳 / 286.2 毫克/公斤本發明組成物
高劑量試驗組	1 毫升/公斤四氯化碳 / 2862 毫克/公斤本發明組成物
正對照組	1 毫升/公斤四氯化碳 / 200 毫克/公斤水飛薊素 (Silymarin)

以口服方式投藥六週，以每星期三次管餵 1 毫升/公斤之 40% 溶於橄欖油之四氯化碳；及每日管餵各組去離子水、一倍或十倍劑量之本發明組成物及水飛薊素。

1. 血液生化值及分析

六週後採血檢驗下列表 4 中各項肝臟功能。結果顯示投予本發明組成物可降低 AST、ALT 及膽紅素，且增加血清白蛋白含量。

表 4

	AST (U/L)	ALT (U/L)	膽紅素 ($\mu\text{mole/L}$)	血清白蛋白 (g%)
正常對照組	89.7 \pm 25.6	54.8 \pm 9.9	0.1 \pm 0.0	4.9 \pm 0.0
負對照組	725.3 \pm 326.6 **	710.8 \pm 273.5 **	0.6 \pm 0.3 **	4.3 \pm 0.3 **
正常試驗組	90.5 \pm 23.1	46.8 \pm 15.7	0.1 \pm 0.1 **	4.8 \pm 0.2 **
高劑量試驗組	84.2 \pm 13.3	51.2 \pm 3.7	0.1 \pm 0.0 *	4.8 \pm 0.1 **
正對照組	93.0 \pm 16.9	61.8 \pm 11.9	0.2 \pm 0.1 **	4.4 \pm 0.2 **

相較於正常對照組，*代表 $p < 0.05$ ，**代表 $p < 0.01$

2. 抗氧化酵素與蛋白質濃度

檢測肝臟組織中抗氧化分子麩胺基硫 (GSH)、麩胺基硫過氧化酶 (GSH-Px)、麩胺基硫還原酶 (GSH-Rd)、超氧化歧化酶 (SOD) 及過氧化氫酶 (Catalase) 之活性。結果如表 5 所示。

表 5

	GSH ($\mu\text{mole/g}$ 組織)	Catalase (U/mg 蛋 白質)	GSH-Px (U/mg 蛋 白質)	SOD (U/mg 蛋 白質)	GSH-Rd (U/mg 蛋 白質)	蛋白質濃 度(mg/g 組織)
正常對照組 (n=6)	4.7 \pm 0.3	1286 \pm 45.4	8.0 \pm 0.2	12.7 \pm 0.1	81.7 \pm 1.8	94.5 \pm 1.1
負對照組 (n=6)	4.4 \pm 0.2	961 \pm 47.7	5.3 \pm 0.2	4.0 \pm 0.4*	69.5 \pm 0.5	71.8 \pm 1.1
正常試驗組 (n=6)	4.6 \pm 0.2	1245 \pm 13.1 **	7.5 \pm 0.1	8.8 \pm 0.2*	75.8 \pm 1.8	87.3 \pm 2.3
高劑量試驗 組 (n=6)	4.6 \pm 0.1*	1242 \pm 18.0 **	6.0 \pm 0.2	8.3 \pm 0.2*	76.5 \pm 0.5	84.3 \pm 1.0
正對照組 (n=6)	4.5 \pm 0.1*	1203 \pm 55.1	7.3 \pm 0.1*	7.2 \pm 0.2	74.5 \pm 1.4	83.6 \pm 1.9

結果顯示投予本發明組成物後測得 GSH 及 GSH-Px 增加至與正常對照組接近，Catalase 及 SOD 甚至較投予水飛薊素之正對照組為高，蛋白質濃度亦為此相同趨勢。

3. 病理切片

四氯化碳造成之肝損傷由病理切片中可發現肝臟表面粗糙，但投予本發明組成物之大鼠肝組織顯示纖維化的現象輕微，肝小葉變形機率下降。

以 Sirius red 組織染色觀察膠原蛋白在肝組織之分布，以四氯化碳處理之負對照組於肝組織切片顯示膠原蛋白面積增加，且肝小葉有嚴重的肝纖維化。經定量分析結果如表 6 所示，顯示本發明組成物兩種劑量均使肝臟中膠原蛋白減少，具有保護肝臟之作用。

表 6

	比率 (%)
正常對照組 (n=6)	0.81±0.37
負對照組 (n=6)	9.69±4.98
正常試驗組 (n=6)	1.72±0.38
高劑量試驗組 (n=6)	2.52±1.07
正對照組 (n=6)	5.68±4.00

由上述以四氯化碳誘導大鼠肝損傷之模式中，證明本案之醫藥組成物可降低四氯化碳對大鼠肝指數之損傷、增加抗氧化酵素活性與蛋白質濃度，於病理切片及膠原蛋白含量上亦說明可降低肝臟纖維化之現象。

(高油飼料誘導脂肪肝之作用評估)

以含 60%以上熱量為油脂之高油飼料 (D12492, Research Diets, USA) 飼養 6 週齡之 C57BL/6 小鼠共 18 週，誘發小鼠肥胖；及以含 10%熱量為油脂之正常飼料 (D12450B, Research Diets, USA) 飼養同週齡之 C57BL/6 小鼠作為對照組。

各組分別以每星期五次口服投予無菌水 (10 毫升/公斤) 或本發明組成物 (557 毫克/公斤或 2786 毫克/公斤)，連續十週。每週測量體重，十週後，採集血液測量血清 AST、ALT 及胰島素，並取下肝臟秤重。

餵食正常飼料之空白組的小鼠體重於整個實驗過程中無明顯的變化；餵食高油飼料之對照組的小鼠體重統計上明顯高於空白組。本發明組成物 557 毫克/公斤劑量相較於對照組，並無明顯差異；而以高劑量 2786 毫克/公斤劑量口服的小鼠體重從第 22 天開始下降；第 36 天至 57 天可明顯觀察到小鼠之體重減輕（圖 3）。

本發明組成物以高劑量 2786 毫克/公斤口服八週後，相較於對照組（ 174 ± 46.7 U/L）係降低血清 AST 值（ 73 ± 6.6 U/L）約 58%，尤其是明顯降低血清 ALT 值（ 9 ± 3.7 U/L）約 84%（對照組為 56 ± 13.2 U/L， $p < 0.05$ ）（圖 4A 及圖 4B），具有統計上的差異。

餵食高油飼料小鼠之胰島素（ 9.69 ± 2.04 ng/ml）係高於餵食正常飼料（ 3.55 ± 0.65 ng/ml）2.7 倍，然，以本發明組成物 557 毫克/公斤或 2786 毫克/公斤兩種劑量口服，相較於對照組（ 9.69 ± 2.04 ng/dl），可分別增加 24% 及 36% 胰島素含量（ 12.00 ± 1.83 ng/dl 及 13.17 ± 2.31 ng/dl）（圖 5）。根據文獻記載，分泌胰島素係有助於肝臟功能的保護作用。

餵食高油飼料之小鼠肝臟濕重係高於空白組。本發明組成物 557 毫克/公斤劑量口服十週後，小鼠的肝臟濕重相較於對照組，在統計上無明顯的差異。然而，以本發明組成物 2786 毫克/公斤劑量口服 8 週，小鼠的肝臟濕重相較於對照組約減少 29%（ 1.16 ± 0.1 克 vs. 對照組 1.64 ± 0.1 克）（圖 6）。

本發明係參照較佳具體例及圖式說明如上，其並非用於限制本發明。熟悉本技藝者對上述具體例之內容所作各種修改、省略及變化均屬本發明之範圍。

【圖式簡單說明】

圖 1 為製備本發明蝙蝠蛾擬青霉菌絲體粉末之流程圖。

圖 2 為 TAA 誘導肝纖維化試驗中於四種處理下所測得 (A) 三酸甘油酯、(B) 膽固醇、(C) AST 及 (D) ALT 含量，表中數據為平均值 \pm SEM (n=12)，標示不同字母表示差異顯著 ($p < 0.05$)。

圖 3 為高油飼料誘導脂肪肝試驗中對照組與兩種劑量 (557 及 2786 毫克/公斤) 處理下所測得小鼠體重變化。

圖 4 為高油飼料誘導脂肪肝試驗中於四種處理下所測得 (A) AST 及 (B) ALT 含量。

圖 5 為高油飼料誘導脂肪肝試驗中於四種處理下所測得胰島素含量。

圖 6 為高油飼料誘導脂肪肝試驗中於四種處理下所測得肝臟濕重。

七、申請專利範圍：

1. 一種用於預防及治療非酒精性脂肪肝之醫藥組成物，包含 67.3 至 86.5 重量%之冬蟲夏草菌絲體及 8.6 至 24.0 重量%之黃耆，其中，該冬蟲夏草菌絲體為乾燥粉末形式。

2. 如申請專利範圍第 1 項之醫藥組成物，其中，該冬蟲夏草菌絲體係為蝙蝠蛾擬青霉菌絲體 (*Paecilomyces hepiali* Chen et Dai mycelia)。

3. 如申請專利範圍第 1 項之醫藥組成物，其中，該黃耆係選自蒙古黃耆 (*Astragalus membranaceus* (Fisch.) Bge. Var. *mongholicus* (Bge.) Hsiao) 或膜莢黃耆 (*Astragalus membranaceus* (Fisch.) Bge.) 的乾燥根所製成之濃縮黃耆粉。

4. 如申請專利範圍第 1 項之醫藥組成物，其係用於製作藥劑或保健食品。

5. 如申請專利範圍第 4 項之醫藥組成物，其中，該藥劑或保健食品係為膠囊、錠劑或散劑之口服製劑。

八、圖式：

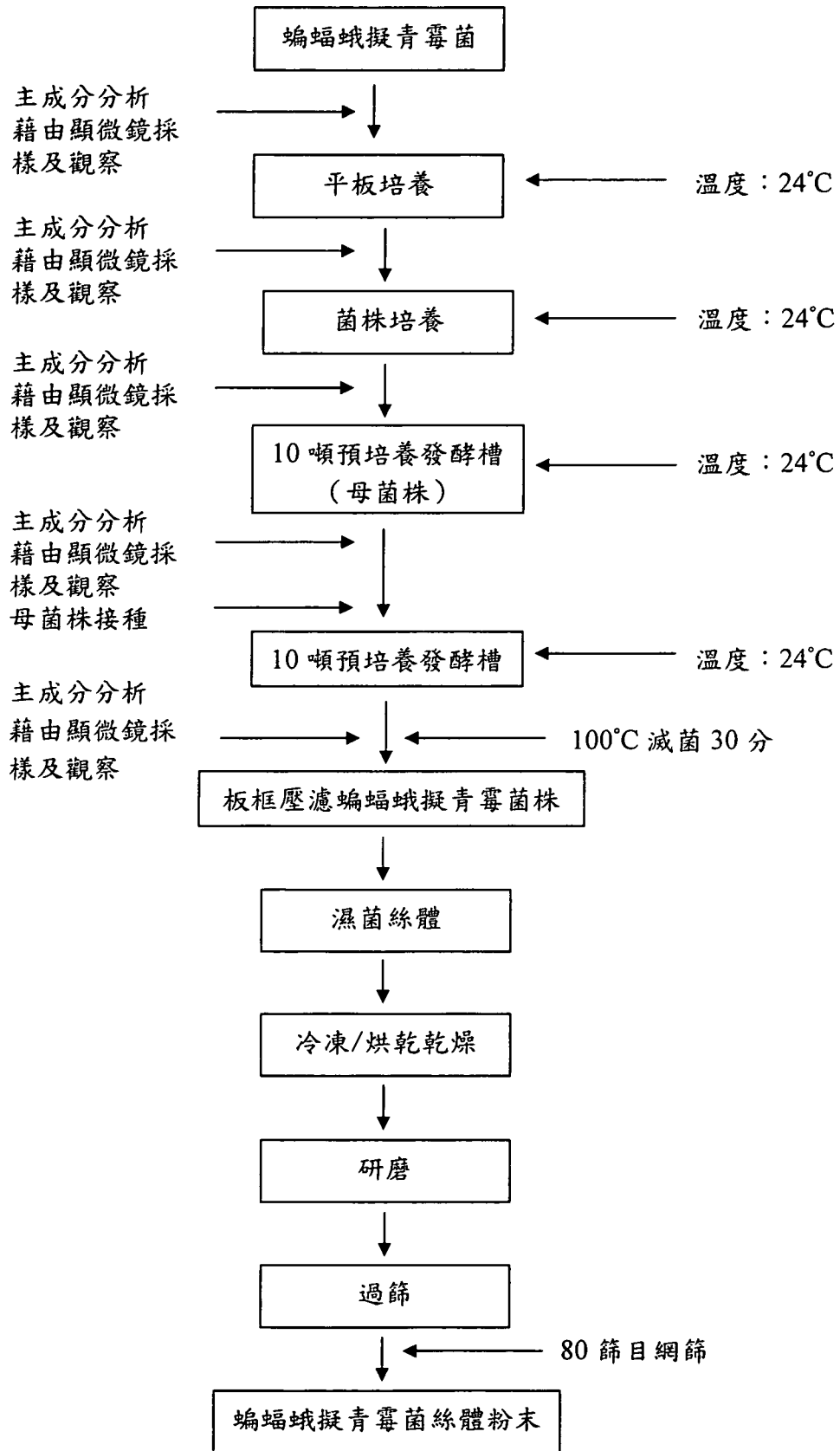


圖 1