

(此處由本局於收
文時黏貼條碼)

公 告 本

95年2月0日修(更)正替換頁

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：92137522

※ 申請日期：92年12月30日

※IPC 分類：A61K³⁶/₀₉

一、發明名稱：(中文/英文)

肝炎治療藥物的生產方法及其產品 / A pharmaceutical mixture for hepatitis treatment and its preparation method

二、申請人：(共 1 人)

姓名或名稱：(中文/英文)

財團法人工業技術研究/

INDUSTRIAL TECHNOLOGY RESEARCH INSTITUTE

代表人：(中文/英文)

林信義/LIN, HSIN-I

住居所或營業所地址：(中文/英文)

新竹縣竹東鎮中興路四段一九五號

195 Sec. 4, Chung Hsing Rd. Chutung, Hsinchu, Taiwan 310, R. O. C.

國 籍：(中文/英文)

中華民國

三、發明人：(共 10 人)

姓 名：(中文/英文)

1. 潘一紅/PAN I HORNG
2. 謝右銘/HSIEH YU-MING
3. 邱惜禾/CHIU HSI-HO
4. 彭文煌/PENG WEN-HUANG
5. 謝明村/HSIEH MING TSUEN
6. 黃志傑/HUANG ZHI-JIE
7. 朱朝庭/JU CHAUR-TING

8. 范瑋倫/FAN WEI-LUN
9. 蔡佩宜/TSAI PEI-YI
10. 呂居勳/LU CHU-HSUN

國 籍：(中文/英文)

皆中華民國

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： 年 月 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。

五、中文發明摘要：

本發明為肝炎治療藥物的生產方法及其產品，特別是治療肝病用醫藥組成物及其製備方法，包括下列步驟：粉碎植物後，以水浸潤並煎煮成水萃取液；濃縮水萃液為第一濃縮液；加入酒精使生成沉澱物；取液相層濃縮為第二濃縮液並乾燥之；將上述第二濃縮液流經樹脂塔，再先後以水、水/酒精混合溶液及酒精進行沖提，收集水/酒精混合溶液之沖提液及酒精之沖提液，再混合水/酒精混合溶液沖提液及酒精沖提液，並將混合沖提液濃縮為第三濃縮液，最後乾燥。本發明所使用之植物為山芋麻、芋麻或其同屬之植物。

六、英文發明摘要：

A pharmaceutical mixture for hepatitis treatment and its preparation method are disclosed. The method includes the following steps: pulverize the plants, macerate and decoct the plant with water, concentrate the aqueous extract as the first concentrate; add ethanol to form precipitate, collect and concentrate the liquid phase to form the second concentrate, and dry it; pass the second concentrate through the resin, elute with water, water-ethanol mixture and ethanol, collect and concentrate the water-ethanol and ethanol elution fraction as the third concentrate, and dry it. The plants in the present invention are *Boehmeria frutescens* Thunberg, *Boehmeria nivea* or the nettle family.

七、指定代表圖：

(一)本案指定代表圖為：第 (1) 圖。

(二)本代表圖之元件符號簡單說明：

無

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

九、發明說明：

【發明所屬之技術領域】

本發明係關於一種為肝炎治療藥物的生產方法及其產品，特別是治療肝病用醫藥組成物及其製備方法，尤指一種利用苧麻屬植物做為治療肝病用之醫藥組成物及其製備方法。

【先前技術】

慢性肝病(慢性肝炎、肝硬化及肝癌)是人類健康的天敵，肝病可由其病因分為病毒性肝病、酒精性肝病、藥物或毒性肝病及新陳代謝異常性肝病。全世界目前約有三億五千萬人口為慢性B型肝炎的帶原者，二百七十萬人為慢性C型肝炎之患者。在台灣，肝病也相當猖獗，B型肝炎帶原率約15~20%，而全台灣也有2-4%人口受到C型肝炎病毒感染，因此發展肝炎藥物之市場極大。

目前西醫治療肝病，所使用的治療肝病用醫藥組成物或抗病毒藥物或免疫調節劑等，雖有一定療效，但副作用大且費用昂貴，如治療B型肝炎用的干擾素及Lamivudine等。干擾素在1992年為美國FDA允許使用治療慢性B型肝炎用藥，不但副作用很大，對於B型肝炎亦僅有20%的病人有反應，而Lamivudine在1998年通過FDA認可用來治療B型肝炎，也只有17-33%的病人有反應，而且Lamivudine容易引起B型肝炎病毒之突變，以致降低了治療之效果。

而肝病在中醫的治療上，大多採傳統處方或民間偏方，但常因治愈率低，再現性差(如製程無法有效掌握，無一定之品質管控等)，且常需辨證論治而延誤治療，因此中藥在肝病的治療上往往有瓶頸及盲點。

本發明經深入研究，肯定中草藥在治療肝病上的一定貢獻，也提供了治療肝病之有效組合物及有效治療成分之提取製程技術，在對於因藥物或其它化學性(如酒精性肝病)所引起之肝發炎現象，具有肝保護作用，值得在臨床上作為慢性肝炎患者治療之參考。

坊間使用中藥多將所有藥材以水煎煮方式飲用，但此方法往往無法得到足夠量之活性成分，且某些藥物之活性成分經高溫煎煮後會喪失活性，無法發揮藥效。文獻揭露了許多治療肝病用醫藥組成物製程，但其藥材種類繁多，且以傳統技術生產，無法解決上述問題。因此，有人以有機溶劑萃取中草藥中之活性物質，但所使用之有機溶劑如甲醇、丙酮、氯仿等，對人體毒性相當大，若未徹底去除，並不適用於人體。因此，目前市場上亟須開發一種新的治療肝病之醫藥組合物與製備方法以因應需求。

本發明人經深入研究發現，苧麻屬植物具有良好之治療肝病之效果。然如前所述，傳統口服煎煮之藥物效果有限，工業上又常以有毒之有機溶劑進行萃取步驟，且其過程常會使活性物質失去活性。因此，目前市場上仍需要一種新的製備方法及苧麻屬植物之萃取物，用以治療肝病，且其產品所包含之有效成分可高於傳統生產製程之產品，保留更多活性物質，具更佳療效，且過程中不使用有毒之有機溶劑，以增加藥物之安全性。

發明人爰因於此，本於積極發明之精神，亟思一種可以解決上述問題之「治療肝病用醫藥組成物及其製備方法」，幾經研究實驗終至完成此項嘉惠世人之發明。

【發明內容】

本發明之主要目的係在提供一種治療肝病用醫藥組成物及其製備方法，俾能提供保護肝臟功能，進而作為慢性肝炎患者之治療藥物。

本發明之另一目的係在提供一種治療肝病用醫藥組成物及其製備方法，俾能有效萃取植物中之活性物質，且不含有毒有機溶劑。

為達成上述之目的，本發明治療肝病用醫藥組成物之製備方法，包括下列步驟：粉碎植物後，以水浸潤並煎煮，形成水萃取液；將水萃液濃縮形成第一濃縮液；加入酒精使第一濃縮液產生沉澱物；以及取液相層，並濃縮形成第二濃縮液，將第二濃縮液乾燥；其中之植物為山芋麻、芋麻或其同屬之植物。

本發明治療肝病用醫藥組成物之製備方法可再進一步，將上述第二濃縮液攪拌均勻後，分離其固相與液相；以及取液相水溶液，使之流經樹脂塔，再先後以水、水/酒精混合溶液及酒精進行沖提，收集水/酒精混合溶液之沖提液及酒精之沖提液；以及混合水/酒精混合溶液沖提液及酒精沖提液，並將混合沖提液濃縮形成第三濃縮液，最後將第三濃縮液乾燥。

本發明亦包括以上述方法製備而得之治療肝病用醫藥組成物，其成分係萃取自山芋麻、芋麻或其同屬之植物。

本發明治療肝病用醫藥組成物及其製備方法中，水浸潤之時間不限，較佳為8-24小時；煎煮步驟更包含將植物複數次煮沸與攪拌步驟，並將每次形成之浸膏收集成為水萃取液；而其第一濃縮液，較佳為濃縮至固含量為1-50%重量百分比之濃縮液；使濃縮液產生沉澱物之酒精，起始濃度較佳為95%重量百分比，較佳之最後濃度為40%~80%重量百分比；而

第二濃縮液之濃度，較佳為濃縮至固含率為5~50%重量百分比之濃縮液。

本發明治療肝病用醫藥組成物之進一步純化製程中，攪拌時間及溫度不限，較佳為0.5~5小時及15~60℃，分離固相與液相之方式不限，較佳係以離心方式分離；所使用之樹脂塔，其中之樹脂種類不限，較佳為大孔吸附樹脂或離子交換樹脂；進行產物沖提之酒精濃度不限，較佳為95~100%酒精；水/酒精混合溶液之水與酒精比例不限，較佳為1：4~4：1；濃縮成之第三濃縮液，且最佳為濃縮至固含率為5~50%重量百分比之濃縮液。

本發明治療肝病用醫藥組成物之製程中，分離固相與液相之方式不限，較佳為以離心方式分離；最後將產物乾燥之乾燥方式不限，較佳為冷凍乾燥、噴霧造粒乾燥或流動床乾燥；本發明製程中並可選擇性地將最終產物乾燥粉碎、造粒並充填膠囊。

由於本發明製程新穎，能提供產業上利用，且確有增進功效，故依法申請發明專利。

【實施方式】

為能讓 貴審查委員能更瞭解本發明之技術內容，特舉數較佳具體實施例說明如下。

實施例1、山苧麻萃取物之製備--JM

先取山苧麻根0.36公斤，加入3.6公斤水，浸泡2小時。之後以100℃煎煮約二小時後，過濾得一煎煮液。再於藥材中加入2.2公斤水，以100℃煎煮約二小時後，過濾得另一煎煮液。將二煎濾液混合，再進行減壓濃縮至0.218kg，測得固含

率為15.3%。經冷凍乾燥後得產物JM共33g。

實施例2、山芋麻萃取物之製備--BMEC-1

取山芋麻根15公斤，加入150公斤水，浸泡8-16小時。以100℃煎煮二小時後，過濾得一煎濾液。藥材隨之再加入150公斤水，再以100℃煎煮二小時後，過濾得二煎濾液。而後將上述兩煎濾液合併得煎煮液266kg，再進行減壓濃縮至8.3kg，測得固含率為17.6%。攪拌濃縮液並使用蠕動幫浦加入15L之95%乙醇進行酒精沈澱。最後使用離心機離心分離酒精沈澱液，收集上清液，經減壓濃縮、冷凍乾燥後得產物BMEC-1，共1.013kg。

實施例3、山芋麻萃取物之製備--BMEC-101

先取山芋麻根95公斤，加入800公斤水，浸泡8~16小時。再以100℃煎煮2小時後，過濾得一煎濾液；之後藥材再加入700公斤水，再以100℃煎煮2小時後，過濾得二煎濾液；將一煎濾液及二煎濾液合併得煎煮液1340kg，再進行減壓濃縮至42kg(第一濃縮液)，測得固含率為25%；隨之攪拌濃縮液並使用蠕動幫浦加入70L之95%乙醇進行酒精沈澱；使用離心機離心分離酒精沈澱液，收集上清液，經減壓濃縮至12.5kg(第二濃縮液)，測得固含率為15%；再將第二濃縮液以離心機離心分離固液相後，收集上清液通過HP20樹脂塔(三菱化學株式會社生產之高多孔性、苯乙烯系之吸附/脫附樹脂)吸附，並以30L之水沖提；以30L之50%酒精(95%酒精/水=1體積/1體積)沖提，得50%酒精沖提液29.1kg。以15L之酒精(95%酒精)沖提，得酒精沖提液12.3kg；收集並合併50%酒精沖提液及酒精沖提

液，經減壓濃縮至1.9kg(第三濃縮液)，測得固含率為21.6%；
 冷凍乾燥後得產物共0.415kg，編號BMEC-101。

實施例4、各製程之純化倍率之比較

請參考表1，自藥材萃取開始，隨各階段部分純化製程之進行，各階段產品之相對收率亦隨之改變，以藥材100%開始，經粗萃取(水草)為JM後，其濃縮倍率為10倍；在經酒精沉澱純化為BMEC-1後，其濃縮倍率達20倍；最後經樹脂吸附純化後的產物BMEC-101，其濃縮倍率則達200倍。

表1：製程純化倍率關係表

產物編號	藥材	JM	BMEC-1	BMEC-101
重量(kg)	100	10	5	0.5
純化倍率	1	10	20	200

實施例5、動物試驗(in vivo)--半乳糖胺(d-galactosamine)誘發急性肝炎(參考藥物組投與guanine)

雄性大白鼠每五隻分成一組，每隻約 200 ± 20 g，實驗時控制組與毒藥組口服投與蒸餾水，藥物組口服投予不同製程生產之藥物或劑量(藥物溶於蒸餾水後投藥)，參考藥物組口服投予guanine(300mg/kg)，投藥劑量均為10ml/kg。

經0.5小時後，除控制組外，各組均進行腹腔注射半乳糖胺(500mg/kg)。半乳糖胺注射後4小時、8小時，各再投藥一次，劑量同上。半乳糖胺注射後24小時，將動物犧牲採血，以

HITACHI 自動分析系統 (model 7050) 搭配UV法，測定血清中 GOT及GPT的活性。

實施例6、動物試驗-- 半乳糖胺誘發急性肝炎(兩組參考藥物組，分別口服投與silymarin及guanine)

隨機將大白鼠每六隻分成一組。實驗前禁食24小時，實驗時控制組與毒藥組口服投與蒸餾水，藥物組口服投與1g/kg，參考藥物組口服投與silymarin (200mg/kg) 與guanine(300mg/kg)，經1小時後，各組腹腔注射半乳糖胺(400mg/kg)，控制組腹腔注射生理食鹽水；半乳糖胺注射後4小時、8小時藥物組及參考藥物組各別再投藥1次，劑量同上；半乳糖胺注射後24小時，將動物以乙醚麻醉，由頸動脈採血，分離血清，將血清於室溫中靜置1小時後，放入離心機內(Backman, GS-6R, 3000rpm)離心10分鐘；測定血清中GOT及GPT的活性。

實施例7、病理組織標本之製備

將半乳糖胺誘發急性肝炎試驗採血完畢之實驗動物，解剖取肝，再由每葉取下約0.5立方公分之肝組織，以10%中性福馬林將肝組織固定一至二週後，再將這些肝組織以脫水滲臘機進行脫水、石臘包埋，包埋後以旋轉式切片機切成約4~5 μ m之肝組織切片。將肝組織切片以Haematoxylin及Eosin染色，於光學顯微鏡下觀察肝組織切片病理變化。

實施例8、實驗結果

在肝臟細胞受到損傷時，肝臟內的酵素會大量釋放到血液

中，使血清中的GOT與GPT值上升。因此可藉由比較山芋麻萃取物處理前後，小鼠血清中GOT與GPT之變化，推測山芋麻萃取物對於肝臟損害之修復影響；並藉由肝重量之比較推測小鼠肝腫脹之情況。其結果如下：

(a)表2顯示山芋麻萃取物(JM)對半乳糖胺誘發急性肝炎之動物影響結果。

表2、山芋麻萃取物(JM)對半乳糖胺誘發急性肝炎之影響

	劑量 (mg/kg)	GOT (U/L)	GPT (U/L)
控制組	--	180.0±24.2	84.8±8.9
半乳糖胺 (Gal)	500	1298.0±57.3	871.2±58.9
Gal+ guanine	300×3	980.0±92.5***	589.6±54.6***
Gal+JM	1000×3	849.6±202.6**	396.0±59.2***

(樣品數=5，數值以平均值±標準差表示，與半乳糖胺組比較 * $p < 0.05$ ，** $p < 0.01$ ，*** $p < 0.001$ ，以群組 t-test 進行分析，GOT與GPT之下降程度達30%或以上，即代表具顯著性的肝臟保護效果)

山芋麻水萃取物(JM)對於半乳糖胺所誘發的血清中高GOT與GPT值，具有明顯之降低作用(GOT與GPT值分別降低達35%及55%)。相較於參考藥物對照組(口服投與guanine，GOT與GPT值分別可降低達24%及32%)，判斷JM對於半乳糖胺所誘發之肝損傷可以有效達到保護或修復之功能。

(b) 表3顯示山苧麻萃取物(BMEC-1)對半乳糖胺誘發急性肝炎之動物影響之結果。

表3、山苧麻萃取物(BMEC-1)對半乳糖胺誘發急性肝炎之影響

	劑量 (mg/kg)	GOT (U/L)	GPT (U/L)
控制組	--	110.4±8.2	39.6±1.3
半乳糖胺 (Gal)	500	1727.6±182.9	1255.2±125.1
Gal+ guanine	300×3	954.8±122.1** *	514.4±78.2** *
Gal+BMEC-1	1000×3	618.4±102.8** *	414.0±67.6** *

(樣品數=5，數值以平均值±標準差表示，與半乳糖胺組比較 * $p < 0.05$ ，** $p < 0.01$ ，*** $p < 0.001$ ，以群組 t-test 進行分析，GOT與GPT之下降程度達30%或以上，即代表具顯著性的肝臟保護效果)

口服投與實施例2製備完成之山苧麻水萃取物(BMEC-1)1000×3 mg/kg後，對於半乳糖胺所誘發的血清中高GOT與GPT值，具有明顯之降低作用(GOT與GPT值分別降低達64%及67%)。相較於參考藥物對照組(口服投與guanine 300×3mg/kg, GOT與GPT值分別可降低達45%及59%)，針對肝臟之保護及修復功能，BMEC-1可有效防止半乳糖胺所誘發之肝損傷。

(c) 表4顯示不同批次之山苧麻萃取物(BMEC-1)及所使用之劑

量對半乳糖胺誘發急性肝炎之動物影響。

為了解實施例2所製備出BMEC-1製程之穩定性，本發明利用實施例2之製程連續生產二批次，除觀察其製程產物之一致性外，並探討由本製程所生產之產物其不同劑量對半乳糖胺誘發急性肝炎之試驗情形，結果如表4所述。

表4、不同批次之山芋麻萃取物(BMEC-1)及所使用之劑量對半乳糖胺誘發急性肝炎之動物影響

批次 1	劑量 (mg/kg)	GOT (U/L)	GPT (U/L)
控制組	--	140.8±11.6	41.2±3.2
半乳糖胺(Gal)	500	2054.8±227.9	1187.6±156.8
Gal+ guanine	300×3	1055.6±150.1***	699.2±103.6***
Gal+BMEC-1	1000×3	887.6±120.1***	478.4±70.4***
Gal+BMEC-1	300×3	1132.4±143.0***	780.8±80.2**
Gal+BMEC-1	100×3	1623.2±165.5**	906.4±73.4*
批次 2	劑量 (mg/kg)	GOT (U/L)	GPT (U/L)
控制組	--	123.6±4.7	32.0±2.8
半乳糖胺(Gal)	500	1872.8±246.6	1137.2±125.4
Gal+ guanine	300×3	1080.0±181.7***	584.0±114.9***
Gal+BMEC-1	1000×3	966.4±151.6***	525.6±101.1***
Gal+BMEC-1	300×3	1238.0±164.1**	646.8±86.5**
Gal+BMEC-1	100×3	1645.2±185.6	995.6±117.7

(樣品數=5，數值以平均值±標準差表示，與半乳糖胺組比較)

* $p < 0.05$ ，** $p < 0.01$ ，*** $p < 0.001$ ，以群組 t-test 進行分析，GOT 與 GPT 之下降程度達 30%或以上，即代表具顯著性的肝臟保護效果)

口服投與(1000×3 mg/kg)由實施例2製程所備製(批次1)之山芋麻萃取物(編號BMEC-1)對於半乳糖胺所誘發的血清中高GOT與GPT值，相較於參考藥物對照組(口服投與guanine 300×3 mg/kg，GOT與GPT值分別可降低達49%及41%)，具有明顯之降GOT與GPT值作用(分別降低達57%及60%)。依此結果判斷，對於肝臟之保護及修復功能方面，山芋麻水萃取後經酒精沉澱後之上清液(BMEC-1)可有效防止半乳糖胺所誘發之肝損傷。

同樣口服投與(1000×3 mg/kg)由實施例2製程所備製(批次2)之山芋麻萃取物(編號BMEC-1)對於半乳糖胺所誘發的血清中高GOT與GPT值，相較於參考藥物對照組(口服投與guanine 300mg×3/kg，GOT與GPT值分別可降低達42%及49%)，同樣具有明顯之降低作用(GOT與GPT值分別降低達48%及54%)。判斷針對於肝臟之保護及修復功能方面，山芋麻水萃取後經酒精沉澱後之上清液(BMEC-1)可有效防止半乳糖胺所誘發之肝損傷。

而在劑量方面，兩批次之樣品之試驗數據均顯示於此護肝之動物試驗模式中，BMEC-1具有劑量反應(三種劑量：100×3 mg/kg，300×3 mg/kg，1000×3 mg/kg)，護肝之效果隨劑量之增加而提高。

(d) 表5顯示再純化製程(實施例3)所製備之山芋麻萃取物(BMEC-101)及所使用之劑量對半乳糖胺誘發急性肝炎之動物影響

為使山苧麻萃取物之活性成分能夠更有效被保留與濃縮，服用劑量可被大幅降低，本發明將實施例2之製程加以修正及改進為實施例3，以開發更純化之活性組合物，並將進行對半乳糖胺誘發急性肝炎之動物試驗，其結果如表5所述。

表5、再純化之山苧麻萃取物(BMEC-101)對半乳糖胺誘發急性肝炎之動物影響

	劑量 (mg/kg)	GOT (U/L)	GPT (U/L)
控制組	--	131.2±2.0	43.6±4.6
半乳糖胺(Gal)	400	528.8±66.3	259.6±42.2
Gal+ guanine	300×3	160.7±33.5**	55.1±19.2*
Gal+ silymarin	200×3	153.8±8.9***	31.1±1.3**
Gal+BMEC-1	500×3	280.9±31.9	150.1±19.8
Gal+BMEC-101	50×3	106.0±3.3***	37.2±4.8**

(樣品數=6，數值以平均值±標準差 *p<0.05，**p<0.01，***p<0.001 與半乳糖胺組相較，於Sheffe's test後進行獨立樣本單變因變異數分析one way ANOVA)

口服投與(50×3 mg/kg)由實施例3所備製之山苧麻水萃取後經酒精及樹脂部分純化之產物(BMEC-101)對於半乳糖胺所誘發的血清中高GOT與GPT值，具有明顯之降低作用(GOT與GPT值分別降低達80%及86%)。相較於參考藥物對照組(口服投與guanine 300×3 mg/kg，GOT與GPT值分別可降低達70%及79%；口服投與silymarin 200×3 mg/kg，GOT與GPT值分別可降低達71%及88%)等，顯示本製程實施例3所備製之產物(BMEC-101)，具肝臟之保護及修復功能。且其服用劑量僅為50×3mg/kg，相

較於silymarin的200×3mg/kg, guanine的300×3mg/kg對照組，以及BMEC-1的500×3mg/kg，均顯示BMEC-101具有較silymarin為佳之護肝效果；只要低劑量而能達到的效果，也顯示山芋麻水萃取之活性成分可有效的被保留及濃縮，達到去蕪存菁的效果。

(e)病理組織標本與判讀結果

表6、組織切片判讀報告

	正常	Gal in 200mg/k g	Silymar in 200mg/k g	Guanine 300mg/k g	BMEC-1 500mg/k g	BMEC-101 50mg/kg
細胞發炎 Inflammation	1	3	1	1	2	1
細胞壞死 Necrosis	0	3	0	0	2	0
脂肪變性 Fatty change	0	1	1	1	1	1
氣脹樣變性 Balloon degeneration	0	0	0	0	0	0
膽管增生 Bile duct proliferation	0	3	2	1	2	2
有絲分裂 Mitosis	0	0	0	0	0	0
肝纖維化 Fibrosis	0	2	1	1	1	1

(肝損傷評估：0=未觀測到absent；1=輕微程度trace；2=微弱程度weak；3=溫和程度moderate；4=嚴重程度strong)

(肝纖維化評估： 0=正常；1=有膠原纖維增生，但沒有形成中隔；2=中央靜脈和門脈區二者分隔；3=形成完整的中隔，中間彼此交會，並將肝實質分割成許多節片斷，但中隔尚很薄；4=形成完全的中隔，且中隔變厚，肝硬化)

根據表6與圖1所示，毒藥組之半乳糖胺(Gal)所誘發之肝損傷會造成細胞發炎、細胞壞死與膽管增生的現象(圖1b)，且觀測到有輕度的脂肪變性，與形成中央靜脈和門脈區二者分隔的肝纖維化程度；比較藥物組(BMEC-1如圖1e，BMEC-101如圖1f)、參考藥物組(Silymarin如圖1c，Guanine如圖1d，)及毒藥組(d-Galactosamine如圖1b)，由表6與圖1可知BMEC-101與BMEC-1二者在氣脹樣變性與有絲分裂部分均未被觀測到有損傷之情形；且BMEC-101處理之劑量僅為50mg/kg，相較於silymarin(200mg/kg)與 guanine(300mg/kg)對照組，顯示BMEC-101可能具有較silymarin為佳之護肝效果，同時也顯示活性成分可有效的被保留及濃縮，達到去蕪存菁的效果。在脂肪變性、肝纖維化、細胞發炎、細胞壞死及膽管增生方面，二者同參考藥物組，相較於毒藥組，僅呈現輕微或微弱程度之損害。

由上述結果可得知由本發明所製備出的山芋麻萃取物，對於血清中之GOT與GPT值具有明顯之降低作用，即對於受損害之肝臟具有修復之作用，且其降低比例遠超出傳統水草物，顯示其修復效果良好，遠勝於傳統水草之萃取物；且只要低劑量就能達到修復效果，也顯示山芋麻水草取之活性成分可有效的被保留及濃縮；由此可知本發明之製備方法不僅創新，且可大量萃取出有效物質，並可將有效物質完整保存，使其不致失去活

性。

此外，本發明不以有毒之有機溶劑萃取，僅以醫藥級酒精與水萃取純化植物中之有效物質，對人體無害。且熟習此技術領域者都知道，僅使用酒精難以達到很好的萃取效果；然本發明人經深入研究與多次實驗，發現了能夠得到最大量有效物質所須酒精濃度之準確範圍，且經動物實驗證明其效果確實相當好；此技術之揭示代表了往後不須再用有毒的甲醇、氯仿或丙酮等溶劑，亦可得到對於肝病療效相當好之產物，實為此技術領域之一大突破。同時亦發現濃縮步驟之濃縮物固含率對於提高有效物質比例相當重要，此亦習知技藝中所未曾揭露之技術。

綜上所陳，本案無論就目的，手段及功效，在在顯示其迥異於習知技術之特徵，為治療肝病用醫藥組成物及其製備方法之一大突破，懇請審查委員明察，並祈早日賜予專利，俾嘉惠社會，實感德便。

上述實施例僅係為了方便說明而舉例而已，本發明所主張之權利範圍自應以申請專利範圍所述為準，而非僅限於上述實施例。

【圖式簡單說明】

圖 1 係病理組織標本。

【主要元件符號說明】

無

十、申請專利範圍：

1. 一種治療肝病用醫藥組成物之製備方法，包括下列步驟：

- (a) 將一植物粉碎後，以水浸潤並煎煮，形成一水萃取液；
 - (b) 將該水萃液濃縮形成一固含量為1-50%重量百分比之第一濃縮液；
 - (c) 加入一酒精使該第一濃縮液產生一沉澱物，形成分離之固相與液相，並將該固相與該液相分離，其中該液相之酒精最後濃度達到40-80%重量百分比；以及
 - (d) 取該液相層，並將該液相層濃縮形成一第二濃縮液；
- 其中，該植物為山芋麻 (*Boehmeria nivea*)。

2. 如申請專利範圍第1項所述之製備方法，其中該步驟(a)之浸潤為將該植物以水浸潤8-24小時。

3. 如申請專利範圍第1項所述之製備方法，其中該步驟(a)係複數次煮沸與攪拌該植物，並將其每次形成之浸膏收集成為該水萃取液。

4. 如申請專利範圍第1項所述之製備方法，其中該步驟(c)係以離心過濾方式使該固相與該液相分離。

5. 如申請專利範圍第1項所述之製備方法，其中該步驟(d)之濃縮係將該濾液濃縮為固含率為5~50%重量百分比之濃縮液。

6. 如申請專利範圍第1項所述之製備方法，其更包含將最終產物該第二濃縮液乾燥。

7. 如申請專利範圍第6項所述之製備方法，其中該乾燥係以冷凍乾燥或噴霧造粒乾燥或流動床乾燥進行之。

8. 如申請專利範圍第6項所述之製備方法，其更包含將乾燥後之第二濃縮液予以粉碎、造粒並充填膠囊。

9. 一種治療肝病用醫藥組成物之製備方法，包括下列步驟：

(a) 將一植物粉碎後，以水浸潤並煎煮，形成一水萃取液；

(b) 將該水萃液濃縮形成一固含量為1-50%重量百分比之第一濃縮液；

(c) 加入一酒精使該第一濃縮液產生沉澱物，形成分離之固相與液相，並將該固相與該液相分離，其中該液相之酒精最後濃度達到40%~80%重量百分比；

(d) 取該液相層，並將該液相層濃縮形成一固含量為5~50%重量百分比之第二濃縮液；以及

(e) 以吸附/脫附方式純化該第二濃縮液，其中沖提液為水、水/酒精混合液及酒精；

其中，該植物為山芋麻(*Boehmeria nivea*)。

10. 如申請專利範圍第9項所述之製備方法，其中該步驟(a)之浸潤為將該植物以水浸潤8-24小時。

11. 如申請專利範圍第9項所述之製備方法，其中該步驟(a)係複數次煮沸與攪拌該植物，並將其每次形成之浸膏收集成為該水萃取液。

12. 如申請專利範圍第9項所述之製備方法，其中該步驟(c)係以離心過濾方式使該固相與該液相分離。

13. 如申請專利範圍第9項所述之製備方法，其中該步驟(e)係藉由吸附樹脂或離子交換樹脂進行純化。

14. 如申請專利範圍第13項所述之製備方法，其中吸附

樹脂為大孔吸附樹脂。

15. 如申請專利範圍第13項所述之製備方法，其中係以水、水/酒精混合液及酒精依序沖提。

16. 如申請專利範圍第15項所述之製備方法，更進一步包括收集並合併水/酒精混合液之沖提液及酒精之沖提液之步驟。

17. 如申請專利範圍第16項所述之製備方法，更進一步包括將該合併之沖提液濃縮成第三濃縮液之步驟。

18. 如申請專利範圍第17項所述之製備方法，更進一步包括將該第三濃縮液乾燥。

19. 如申請專利範圍第18項所述之製備方法，其中乾燥係以冷凍乾燥或噴霧造粒乾燥或流動床乾燥進行之。

20. 如申請專利範圍第18項所述之製備方法，其更包含將乾燥後之第三濃縮液予以粉碎、造粒並充填膠囊。

21. 一種治療肝病用醫藥組成物，係以下列步驟製備而成：

(a) 將一植物粉碎後，以水浸潤煎煮形成一水萃取液；

(b) 將該水萃液濃縮形成一固含量為1-50%重量百分比之第一濃縮液；

(c) 加入一酒精使該第一濃縮液產生一沉澱物，形成分離之固相與液相，並將該固相與該液相分離，其中該液相之酒精最後濃度達到40%~80%重量百分比；以及

(d) 取該液相層，並將該液相層濃縮形成一第二濃縮液；

其中，該植物為山芋麻 (*Boehmeria nivea*)。

22. 如申請專利範圍第21項所述之治療肝病用醫藥組

成物，其中該步驟(a)之浸潤為將該植物以水浸潤8至24小時。

23. 如申請專利範圍第21項所述之治療肝病用醫藥組成物，其中該步驟(a)係復數次煮沸與攪拌該植物，並將其每次形成之浸膏收其成為該水萃取液。

24. 如申請專利範圍第21項所述之治療肝病用醫藥組成物，其中該步驟(c)係以離心過濾方式使該固相與該液相分離。

25. 如申請專利範圍第21項所述之治療肝病用醫藥組成物，其中該步驟(d)之濃縮係將該濾液濃縮為固含量為5~50%重量百分比之濃縮液。

26. 如申請專利範圍第21項所述之治療肝病用醫藥組成物，其中更包括該第二濃縮液乾燥。

27. 如申請專利範圍第26項所述之治療肝病用醫藥組成物，其中該乾燥係以冷凍乾燥或噴霧造粒乾燥或流動床乾燥進行之。

28. 如申請專利範圍第26項所述之治療肝病用醫藥組成物，其更包含將乾燥後之第二濃縮液予以粉碎、造粒並填充膠囊。

29. 一種治療肝病用醫藥組成物，係以下列步驟製備而成者：

(a) 將一種植物粉碎後，以水浸潤並煎煮，形成一水萃取液；

(b) 將該水萃液濃縮形成一固含量為1-50%重量百分比之第一濃縮液；

(c) 加入一酒精使該第一濃縮液產生沈澱物，形成分離之固相與液相，並將該固相與該液相分離，其中該液相之酒

精最後濃度達到40-80%重量百分比；

(d) 取該液相層，並將該液相層濃縮形成一固含量為5-50%重量百分比之第二濃縮液；以及

(e) 以吸附/脫附方式純化該第二濃縮液，其中沖提液為水、水/酒精混合液及酒精；

其中，該植物為山芋麻(*Boehmeria nivea*)。

30. 如申請專利範圍第29項所述之治療肝病用醫藥組成物，其中該步驟(a)之浸潤為將該植物以水浸潤8-24小時。

31. 如申請專利範圍第29項所述之治療肝病用醫藥組成物，其中該步驟(a)係複數次煮沸與攪拌該植物，並將其每次形成之浸膏收集成為該水萃取液。

32. 如申請專利範圍第29項所述之治療肝病用醫藥組成物，其中該步驟(c)係以離心過濾方式使該固相與該液相分離。

33. 如申請專利範圍第29項所述之治療肝病用醫藥組成物，其中係藉由吸附樹脂或離子交換樹脂進行純化。

34. 如申請專利範圍第33項所述之治療肝病用醫藥組成物，其中吸附樹脂為大孔吸附樹脂。

35. 如申請專利範圍第33項所述之治療肝病用醫藥組成物，其中係以水、水/酒精混合液及酒精依序沖提。

36. 如申請專利範圍第35項所述之治療肝病用醫藥組成物，更進一步包括收集並合併水/酒精混合液之沖提液及酒精之沖提液之步驟。

37. 如申請專利範圍第36項所述之治療肝病用醫藥組成物，更進一步包括將該合併之沖提液濃縮成第三濃縮液之步驟。

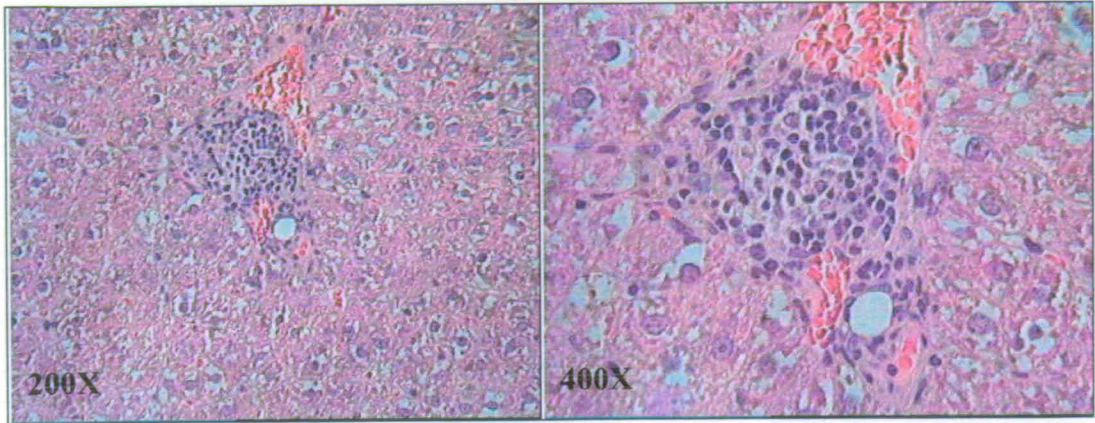
38. 如申請專利範圍第37項所述之治療肝病用醫藥組成物，更進一步包括將該第三濃縮液乾燥並粉碎之步驟。

39. 如申請專利範圍第38項所述之治療肝病用醫藥組成物，其中乾燥係以冷凍乾燥或噴霧造粒乾燥或流動床乾燥進行之。

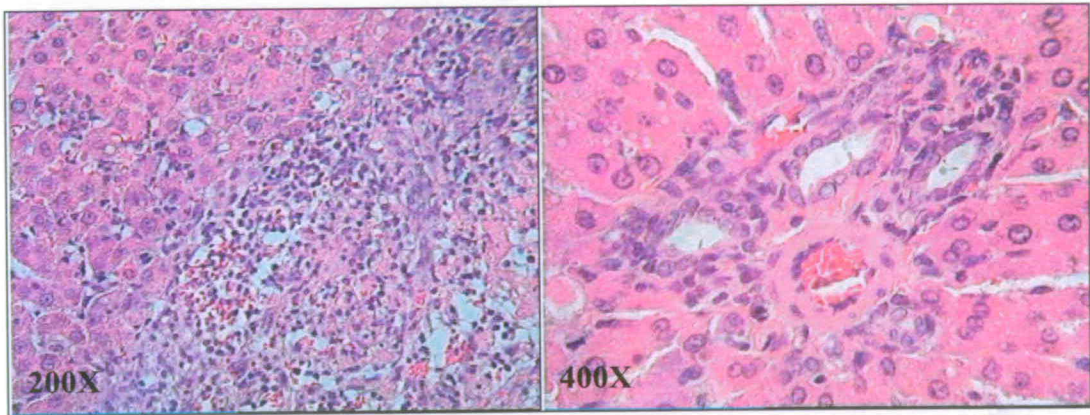
40. 如申請專利範圍第38項所述之治療肝病用醫藥組成物，其更包含將乾燥後之第三濃縮液予以粉碎、造粒並充填膠囊。

十一、圖式：

(a) 控制組



(b) 毒藥組 d-Galactosamine (400mg/kg)



(c) 參考藥物組 Silymarin (200mg/kg)

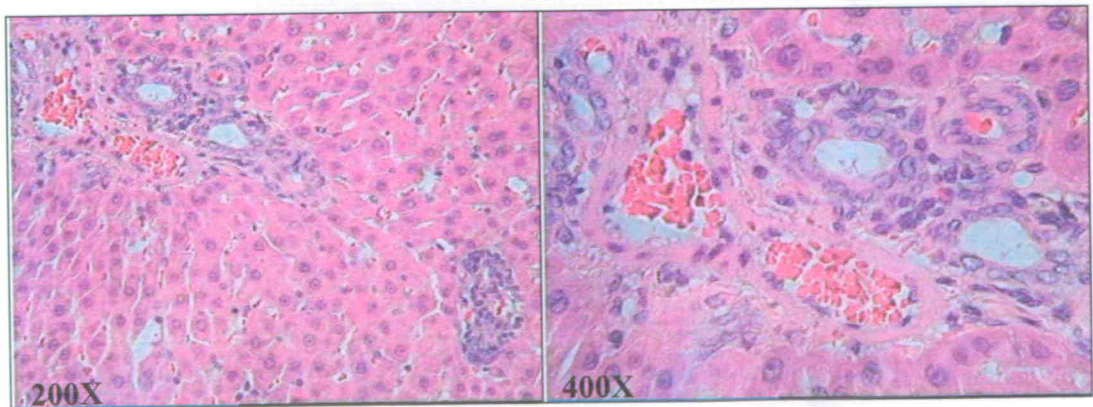
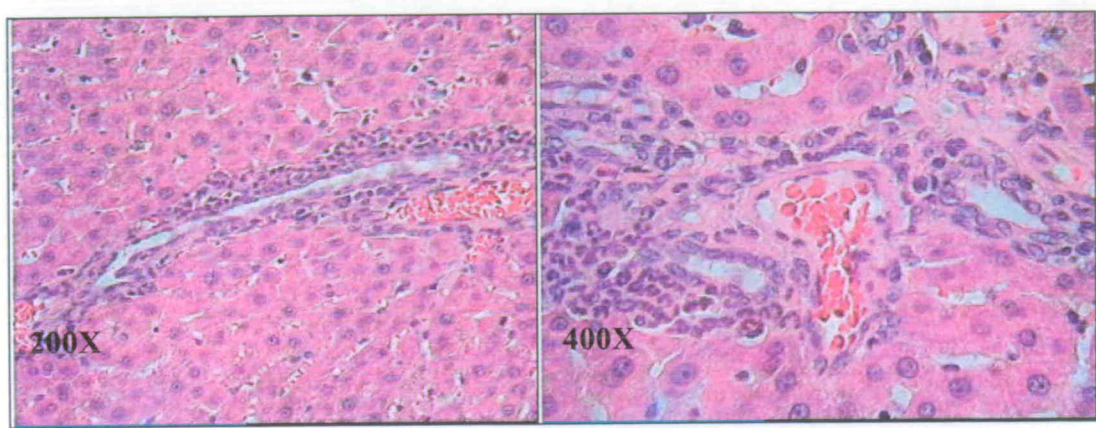
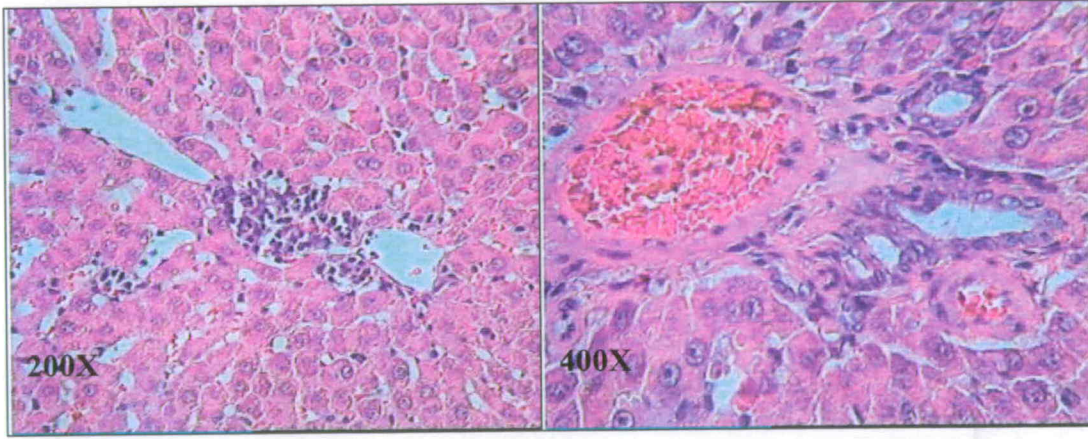


圖 1

(d) 參考藥物組Guanine (300mg/kg)



(e) BMEC-1 (500mg/kg)



(f) BMEC-101 (50mg/kg)

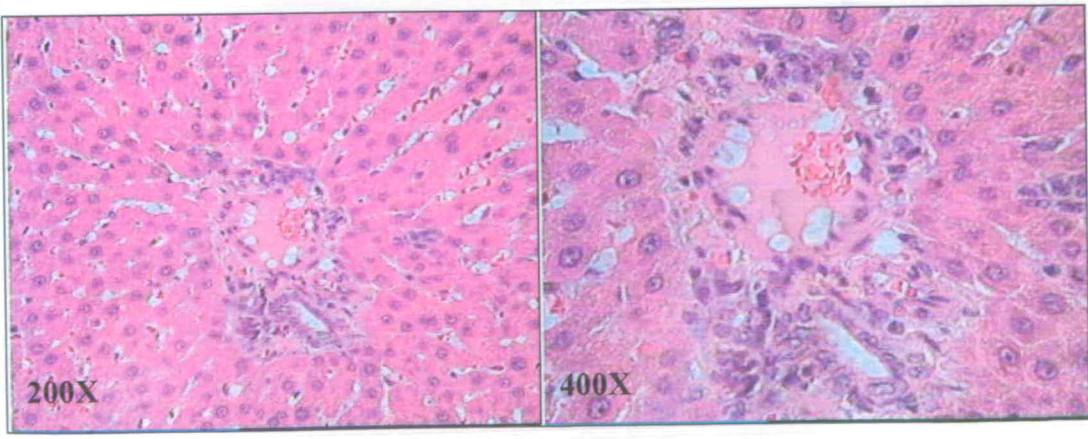


圖 1 (續)