



(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 I520739 B

(45)公告日：中華民國 105 (2016) 年 02 月 11 日

(21)申請案號：104114959

(51)Int. Cl. :
A61K31/704 (2006.01)
A61K36/233 (2006.01)
A61L2/16 (2006.01)

(22)申請日：中華民國 102 (2013) 年 06 月 04 日

A61K31/7048 (2006.01)
A61P31/14 (2006.01)
A61L101/56 (2006.01)

(71)申請人：高雄醫學大學 (中華民國) KAOHSIUNG MEDICAL UNIVERSITY (TW)
高雄市三民區十全一路 100 號

(72)發明人：林俊清 LIN, CHUN CHING (TW) ; 林良宗 LIN, LIANG TZUNG (TW) ; 理查德森
克里斯多福 D RICHARDSON, CHRISTOPHER D. (CA) ; 顏銘宏 YEN, MING
HONG (TW) ; 鍾決窈 CHUNG, CHUEH YAO (TW)

(74)代理人：蔡清福；蔡馭理

(56)參考文獻：

CN 1812764A

CN 1957927B

CN 100435809C

CN 100540012C

CN 101062071A

CN 102188372A

祖宁 等，柴胡皂苷的生理作用及临床意义，Chinese Journal of Information on TCM Apr. 2005 Vol.12 No.4.

陳唐麒 等，台灣肝病醫藥產業累積基礎 廠商投入成果可期，生技時代 No. 35,
2004/11/23.

林俊清，勇抗肝炎的高氏柴胡，頁 38-41，科學發展 2003 年 4 月，364 期。

審查人員：李家旭

申請專利範圍項數：6 項 圖式數：10 共 30 頁

(54)名稱

柴胡皂苷製備之醫藥組合物及其製備方法

PHARMACEUTICAL COMPOSITION PREPARED FROM SAIKOSAPONIN AND THE
PREPARATION METHOD THEREOF

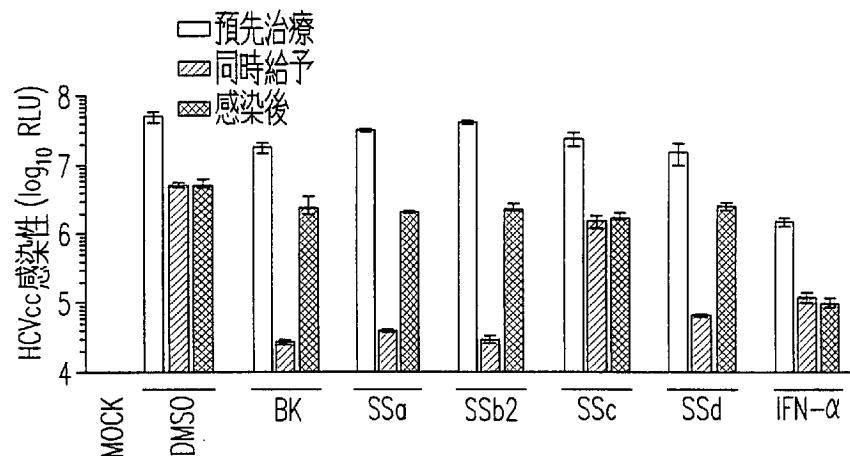
(57)摘要

本發明涉及以柴胡皂苷為主要成分的藥物組合物、其用途及其製備方法，其中該藥物組合物用於預防或治療 C 型肝炎病毒、麻疹病毒、呼吸道融合病毒、水泡性口炎病毒、登革熱病毒及無套膜病毒其中之一的感染。

This invention relates to a pharmaceutical composition having the saikosaponin as a main component, the use of the pharmaceutical composition, as well as the preparation method thereof, wherein the pharmaceutical composition is used for preventing or treating the infection of one virus selected from the hepatitis C virus, the measles virus, the respiratory syncytial virus, the vesicular stomatitis virus, the dengue virus and the non-enveloped viruses.

指定代表圖：

IN
新竹數位



第三圖

公告本

發明摘要

※ 申請案號：104114959 (由102119835分割)

※ 申請日：102.6.4.

※ IPC 分類：

A61K 31/1704 (2006.01)

A61K 31/17048 (2006.01)

A61K 36/233 (2006.01)

A61P 31/14 (2006.01)

A61L 101/56 (2006.01)

A61L 2/16 (2006.01)

【發明名稱】(中文/英文)

柴胡皂苷製備之醫藥組合物及其製備方法

PHARMACEUTICAL COMPOSITION PREPARED FROM SAIKOSAPONIN
AND THE PREPARATION METHOD THEREOF

【中文】

本發明涉及以柴胡皂苷為主要成分的藥物組合物、其用途及其製備方法，其中該藥物組合物用於預防或治療 C 型肝炎病毒、麻疹病毒、呼吸道融合病毒、水泡性口炎病毒、登革熱病毒及無套膜病毒其中之一的感染。

【英文】

This invention relates to a pharmaceutical composition having the saikosaponin as a main component, the use of the pharmaceutical composition, as well as the preparation method thereof, wherein the pharmaceutical composition is used for preventing or treating the infection of one virus selected from the hepatitis C virus, the measles virus, the respiratory syncytial virus, the vesicular stomatitis virus, the dengue virus and the non-enveloped viruses.

【代表圖】

【本案指定代表圖】：第（三）圖。

【本代表圖之符號簡單說明】：

【本案若有化學式時，請揭示最能顯示發明特徵的化學式】：

無

公告本

發明摘要

※ 申請案號：104114959 (由102119835分割)

※ 申請日：102.6.4.

※IPC 分類：

A61K 31/1704 (2006.01)

A61K 31/17048 (2006.01)

A61K 36/233 (2006.01)

A61P 31/14 (2006.01)

A61L 101/56 (2006.01)

A61L 2/16 (2006.01)

【發明名稱】(中文/英文)

柴胡皂苷製備之醫藥組合物及其製備方法

PHARMACEUTICAL COMPOSITION PREPARED FROM SAIKOSAPONIN
AND THE PREPARATION METHOD THEREOF

【中文】

本發明涉及以柴胡皂苷為主要成分的藥物組合物、其用途及其製備方法，其中該藥物組合物用於預防或治療 C 型肝炎病毒、麻疹病毒、呼吸道融合病毒、水泡性口炎病毒、登革熱病毒及無套膜病毒其中之一的感染。

【英文】

This invention relates to a pharmaceutical composition having the saikosaponin as a main component, the use of the pharmaceutical composition, as well as the preparation method thereof, wherein the pharmaceutical composition is used for preventing or treating the infection of one virus selected from the hepatitis C virus, the measles virus, the respiratory syncytial virus, the vesicular stomatitis virus, the dengue virus and the non-enveloped viruses.

【代表圖】

【本案指定代表圖】：第（三）圖。

【本代表圖之符號簡單說明】：

【本案若有化學式時，請揭示最能顯示發明特徵的化學式】：

無

發明專利說明書

(本說明書格式、順序，請勿任意更動)

【發明名稱】(中文/英文)

柴胡皂苷製備之醫藥組合物及其製備方法

PHARMACEUTICAL COMPOSITION PREPARED FROM SAIKOSAPONIN
AND THE PREPARATION METHOD THEREOF

【技術領域】

【0001】 本發明涉及柴胡皂苷對治療及預防病毒感染的用途、包含柴胡皂苷的藥物組合物以及製備該藥物組合物之方法。

【先前技術】

【0002】 全球目前有 1 億七千萬人左右(佔全球人口 2%)感染 C 型肝炎病毒(hepatitis C virus, HCV)，而它所帶來的肝疾病(肝炎、肝硬化及肝癌)是全球嚴重的健康與醫療負擔。目前 C 型肝炎無預防疫苗，而現有的臨床治療藥物干擾素- α (interferon-alpha, IFN- α) + 雷巴威林(ribavirin)對於最普遍的基因型第一型的治療效果並不理想(約 50% 治癒率)且副作用大，更需要龐大的醫療資金，造成許多患者身體無法承受療程及經濟負擔。雖然 2011 年 5 月美國食品藥物管理局(FDA)核准了波普瑞韋(boceprevir)及替拉瑞韋(telaprevir)這兩個新藥，用於治療基因型第一型病毒感染的病人，但其只能與 IFN- α 及 ribavirin 合併使用，不適合單一治療。因此開發 C 型肝炎病毒及其引起的肝病之治療藥物乃是優先考慮的課題。

【0003】 台灣約有五十萬到七十萬人為 C 型肝炎帶原者，雖然在台灣感染 C 型肝炎病毒所引發的肝癌佔 30%，遠遠不如感染 B 型肝炎病毒所造成的肝癌比例(70%)，然而 B 型肝炎疫苗全面實施後已經達到相當高的預防效果。相對的，C 型肝炎病毒的高度變異性在疫苗研發上遭遇到非常大的困難，因此推測未來在台灣 C 型肝炎所引發的肝癌會漸漸取代 B 型肝炎，成為頭號殺手。過去十多年，病毒學家致力於開發更有效的 C 型肝炎非結構蛋白抑制劑以影響病毒複製，以此方法希望能取代或與現有的臨床藥物 IFN- α + ribavirin 合併治療。這樣的抗病毒策略雖使許多 C 型肝炎病人受

惠，然而許多問題隨之出現，如藥物副作用、價格昂貴兩大主要問題。

【0004】 為了研發經濟、有效且副作用少的 C 型肝炎治療藥物，本發明採用本土特有種藥用植物高氏柴胡，利用其中萃取獲得的柴胡皂苷發展一種用於治療或預防病毒感染的方法，並進一步改善柴胡皂苷溶解度不佳的問題，製備一種具有上述用途的藥物組合物，不僅對 C 型肝炎提供另一種藥物治療的選擇，同時也開發台灣本土生藥資源。

【0005】 本案申請人鑑於習知技術中的不足，經過悉心試驗與研究，並一本鍥而不捨之精神，終構思出本案，能夠克服先前技術的不足，以下為本案之簡要說明。

【發明內容】

【0006】 本發明提供一種利用柴胡皂苷製備醫藥組合物的用途，該醫藥組合物用於預防或治療 C 型肝炎病毒、麻疹病毒、呼吸道融合病毒、水泡性口炎病毒、登革熱病毒及無套膜病毒其中之一的感染。本發明期望開發新藥取代或輔助現有臨床藥物(IFN-a/ribavirin)，以達到減少副作用及經濟負擔的效益。同時，本發明提供的醫藥組合物，不僅能作為 C 型肝炎病毒抑制劑，也是廣效性的抗病毒藥物，能應用於多種病毒的預防及治療。

【0007】 此外，本發明進一步提供一種藥物組合物，包括主要成分柴胡皂苷，以及與該主要成分混合的高分子聚合物。本發明之藥物組合物藉由將藥物奈米化以改善藥物水溶性不佳之間題，提升生物利用率及抗病毒之功效。

【0008】 本發明進一步提供一種製造一藥物組合物的方法，包括下列步驟：將一柴胡皂苷溶解於一有機溶劑中；將含有該柴胡皂苷的該有機溶劑加入一溶液中，該溶液中含有一高分子聚合物；使該柴胡皂苷分散於該高分子聚合物中；以及去除該有機溶劑，以獲得該藥物組合物。

【0009】 本發明證實柴胡皂苷可運用在治療及預防 C 型肝炎病毒感染，亦能防止麻疹病毒、呼吸道融合病毒、水泡性口炎病毒、登革熱病毒及無套膜病毒侵入細胞，具有廣效性病毒抑制劑的效果。本發明也成功地製作柴胡皂苷之奈米劑型，可將其配製於水中，提高生物利用率。除了運

用柴胡皂苷及其奈米製劑作為病毒預防與治療藥物之外，未來亦可將其應用在口罩、手套、防蚊液、洗手乳、乾洗手(消毒劑)與各種清潔用品中，達到抗病毒感染之效果，讓防疫工作變得更容易。

【圖式簡單說明】

【0010】 第一圖(A)為柴胡醇萃取物之高效液相層析(High Performance Liquid Chromatography, HPLC)分析結果。

【0011】 第一圖(B)為柴胡皂苷 SSa 之 HPLC 分析結果。

【0012】 第一圖(C)為柴胡皂苷 SSb2 之 HPLC 分析結果。

【0013】 第一圖(D)為柴胡皂苷 SSc 之 HPLC 分析結果。

【0014】 第一圖(E)為柴胡皂苷 SSd 之 HPLC 分析結果。

【0015】 第二圖(A)為柴胡醇萃取物抑制 C 型肝炎病毒(HCV)感染之效果。

【0016】 第二圖(B)為柴胡皂苷 SSa 抑制 C 型肝炎病毒感染之效果。

【0017】 第二圖(C)為柴胡皂苷 SSb2 抑制 C 型肝炎病毒感染之效果。

【0018】 第二圖(D)為柴胡皂苷 SSc 抑制 C 型肝炎病毒感染之效果。

【0019】 第二圖(E)為柴胡皂苷 SSd 抑制 C 型肝炎病毒感染之效果。

【0020】 第三圖為柴胡醇萃取物及柴胡皂苷 SSa、SSb2、SSc 及 SSd 對 C 型肝炎病毒感染時間點效應。

【0021】 第四圖為柴胡醇萃取物及柴胡皂苷 SSa、SSb2、SSc 及 SSd 之病毒侵入實驗(entry assays)結果。

【0022】 第五圖為柴胡皂苷 SSb2 抑制病毒與細胞結合之結果。

【0023】 第六圖為柴胡皂苷 SSb2 抑制多種不同基因型 C 型肝炎病毒感染之結果。

【0024】 第七圖為柴胡皂苷 SSb2 抑制臨床病人血清中病毒與細胞結合之結果。

【0025】 第八圖(A)為 SSb2 抑制麻疹病毒(measles virus, MV)感染之效果。

【0026】 第八圖(B)為 SSb2 抑制呼吸道融合病毒(respiratory syncytial virus, RSV)感染之效果。

【0027】 第八圖(C)為 SSb2 抑制水泡性口炎病毒(vesicular stomatitis virus, VSV)感染之效果。

【0028】 第八圖(D)為 SSb2 抑制登革熱病毒(dengue virus, DENV)感染之效果。

【0029】 第八圖(E)為 SSb2 抑制呼腸孤病毒(reovirus, RV)感染之效果。

【0030】 第九圖(A)為本發明藥物組合物利用 X 光繞射分析儀(XRD)鑑定結晶性質之結果。

【0031】 第九圖(B)為本發明藥物組合物利用紅外線光譜儀(FTIR)鑑定兩材料之分子間交互作用之結果。

【0032】 第九圖(C)為本發明藥物組合物之溶解度鑑定結果。

【0033】 第十圖(A)為本發明奈米製劑抑制 HCV 感染之效果。

【0034】 第十圖(B)為本發明奈米製劑抑制 DENV 感染之效果。

【實施方式】

【0035】 本發明可由以下的實施例說明而得到，然而本發明之實施並非可由下列實施例而被限制其實施型態，熟習本技藝之人士仍可依據已揭露之實施例的精神推演出其他實施例，該等實施例皆當屬於本發明之範圍。

【0036】 本發明提供一種利用柴胡皂苷製備醫藥組合物的用途，該醫藥組合物用於預防或治療 C 型肝炎病毒、麻疹病毒、呼吸道融合病毒、水泡性口炎病毒、登革熱病毒及無套膜病毒(包括呼腸孤病毒、腸病毒、諾羅病毒、腺病毒)其中之一的感染。

【0037】 本發明中使用的柴胡皂苷萃取自台灣特有種高氏柴胡 (*Bupleurum kaoi*)，為高氏柴胡的醇萃取物，其中包括柴胡皂苷 SSa、SSb2、SSc 及 SSd。應理解的是，本發明所指的醫藥組合物不僅限於高氏柴胡的醇萃取物，也可以是來自其他品種的柴胡、以任何溶劑或任何方式所得之產物(包括合成產物)。另一方面，雖然本發明中分別顯示了柴胡醇萃取物、SSa、SSb2、SSc 及 SSd 的抗病毒活性，但本發明中醫藥組合物可以由柴胡醇萃取物、SSa、SSb2、SSc 及 SSd 或其任意組合組成，例如僅包含 SSb2、

包含 SSa 與 SSb2、或者包含 SSa、SSb2、SSc 及 SSD。

【0038】 為了將柴胡皂苷製備為醫藥組合物，可將本發明柴胡皂苷與藥學可接受載體混合，獲得更具生物利用性的製劑。上述藥學上可接受載體或稱為『賦形劑』、『生物可利用之載體或賦形劑』，係包括溶媒、分散劑、包衣、抗菌或抗真菌劑、保存或延緩吸收劑等任何習知用於製備成劑型之適當化合物。通常此類載體或賦形劑，本身不具備治療疾病之活性，因此將本發明所揭示之柴胡皂苷，搭配藥學上可接受之載體或賦形劑製備為各種劑型時，投予動物或人類不致於造成不良反應、過敏或其它不適當反應。因而本發明所揭示之柴胡皂苷，搭配藥學上可接受之載體或賦形劑，適用於臨床而可達到治療或預防效果。

【0039】 該載體隨各劑型而不同，用於口服投藥之組合物係採用任何一種口服可接受之劑型，其型式包括膠囊、錠劑、片劑、乳化劑、液狀懸浮液、分散劑、溶劑。口服劑型一般所使用之載體，以錠劑為例可為乳糖、玉米澱粉、潤滑劑、硬脂酸鎂等基本添加物。而膠囊使用之稀釋液包括乳糖與乾燥玉米澱粉。製成液狀懸浮液或乳化劑劑型，則將活性物質懸浮或溶解於結合乳化劑或懸浮劑之油狀介面，視需要添加適度之甜味劑、風味劑或色素。

【0040】 依據用途的不同，本發明醫藥組合物可被製造為藥物、消毒液、手套、口罩、乾洗手、洗手乳及防蚊液其中之一。以下將詳細說明本發明醫藥組合物的製備實施例。

【0041】 柴胡活性成分之確認：

【0042】 請參閱第 1 圖(A)至(E)，分別為柴胡醇萃取物、柴胡皂苷 SSa、SSb2、SSc 及 SSD 之 HPLC 分析結果。本發明中使用 HPLC 確認柴胡皂苷 SSa、SSb2、SSc、SSd 皆確實存在於高氏柴胡醇抽萃取物(BK)中，並定量其含量。第 1 圖(A)至(E)中的量化結果如下表一所示。

表一

線性範圍	等式*	r^2	量/8 mg 粗萃取
------	-----	-------	------------

	(μg/ml)			物(μg/ml) [#]
SSa	19.53-312.4	y=1813.5x-18796	0.9963	192.46±2.84
SSb2	7.81-31.24	y=1880.3x-1629	1	13.52±0.87
SSc	9.27-37.08	y=2001.6x-4214	0.9988	20.74±1.17
SSd	78.1-624.8	y=904.73x-1182.2	0.9979	538.79±1.37

*x 為柴胡皂苷的濃度(μg/ml) , y 為峰面積(peak area)。

#粗萃取物被注入三次。

粗萃取物之含量以平均值±SEM 表示。

【0043】 柴胡皂苷具有抑制 C 型肝炎病毒感染之效果：

【0044】 第二圖(A)至(E)為柴胡醇萃取物、柴胡皂苷 SSa、SSb2、SSc 及 SSd 抑制 C 型肝炎病毒(HCV)感染之效果。將柴胡醇萃取物(BK)、柴胡皂苷 SSa、SSb2、SSc 及 SSd 溶解於二甲基亞砜(dimethyl sulfoxide, DMSO)並配製為多種濃度進行抗病毒活性之篩選，發現 BK、SSa、SSb2、SSc、SSd 皆具有抑制細胞培養衍生之 C 型肝炎病毒(HCVcc)基因型 2a 感染的效果，並呈現劑量依賴性。根據以上篩選結果，選擇不對細胞產生毒性且具有抗病毒活性之濃度，繼續進行抗病毒機轉之實驗，例如 BK：50 μg/ml、SSa：8 μM、SSb2：50 μM、SSc：200 μM、SSd：2 μM，以上劑量對病毒蛋白質的抑制率大約為 2 log (100 倍)。下表二為第二圖(A)至(E)之量化結果。

表二

處理	EC ₅₀	CC ₅₀	SI
BK	16.82±1.89 μM	215.4±10.7 μM	12.8
SSa	1.14±0.08 μM	29.62±1.75 μM	26
SSb2	16.13±2.41 μM	740.4±28.35 μM	45.9
SSc	86.12±6.84 μM	716.79±83.17 μM	8.32
SSd	2.8±0.17 μM	23.38±3.14 μM	8.35

【0045】 第三圖為柴胡醇萃取物及柴胡皂苷 SSa、SSb2、SSc 及 SSd 對 C 型肝炎病毒感染時間點效應。首先為探討完整的病毒感染週期，初步依三種不同方式加入病毒與藥物，分別為 1) 藥物作用在細胞 24 小時後移除，再加入病毒，三天後以冷光偵測病毒表現量(pre-treatment)；2) 病毒和藥物同時加入，3 小時後一起移除，三天後以冷光偵測病毒表現量(co-addition)；以及 3) 病毒感染 3 小時後再加入藥物，三天後以冷光偵測病毒表現量(post-infection)。在 co-addition 的實驗中，可觀察到柴胡醇萃取物及 SSa、SSb2、SSd 皆具有良好的抑制作用，證實藥物可干擾病毒感染；而在 pre-treatment 的實驗中，所有的藥物皆無效，因此初步推測藥物的作用並非在保護細胞防止病毒感染；在 post-infection 的結果中，發現所有的藥物皆無效，證實藥物可能並非作用於病毒的複製或轉譯作用階段，而 SSc 只有在藥物持續存在整個病毒感染過程 (throughout) 的實驗中才具有抑制效果(未顯示)。由以上結果可知，柴胡醇萃取物及 SSa、SSb2 及 SSd 的抗病毒機制為抑制 C 型肝炎病毒早期進入細胞的階段。

【0046】 第四圖為柴胡醇萃取物及柴胡皂苷 SSa、SSb2、SSc 及 SSd 之病毒侵入實驗(entry assays)結果。在去活化(inactivation)及附著(attachment)的實驗中觀察到僅有 SSb2 可中和病毒顆粒及抑制病毒附著細胞，而融合(fusion)的實驗中發現柴胡醇萃取物及 SSa 與 SSb2 皆可防止病毒融合，以上的結果可證實柴胡醇萃取物及其活性成分 SSa 與 SSb2 抗病毒的主要機制為侵入抑制(entry inhibition)，可作為病毒侵入抑制劑 (entry inhibitor)。

【0047】 第五圖為柴胡皂苷 SSb2 抑制病毒與細胞結合之結果。在 4°C 下於 Huh-7.5 細胞中加入細胞培養衍生 C 型肝炎病毒或可溶性糖蛋白 E2 (soluble glycoprotein E2, sE2)，並同時以 SSb2 處理，作用 3 小時後，以磷酸鹽緩衝溶液(PBS)洗去 SSb2 及病毒，接著使用抗-E2 抗體與細胞膜上的病毒或糖蛋白作用，最後以酵素免疫分析法(ELISA)偵測病毒量。結果顯示 SSb2 可藉由干擾 HCVcc 及 sE2 與細胞膜的結合而防止病毒侵入。藉由以上的實驗可知，高氏柴胡及其成分作用(SSa, SSb2, SSc, SSd)可做為慢性 C 型肝炎的治療藥物，另外高氏柴胡與 SSa, SSb2, 及 SSd 之作用機制為抑制病

毒早期侵入，因此也具有預防功能，可作為換肝手術時預防病毒入侵新肝臟組織之藥物(消毒用藥)，此特殊用途改善過去 IFN- α + ribavirin 只能用於治療而無法預防的缺點。

【0048】 第六圖為柴胡皂苷 SSb2 抑制多種不同基因型 C 型肝炎病毒感染之結果。如圖所示，以基因型 2b、3a、7a HCVcc 感染 Huh-7.5 細胞並同時加入 SSb2，結果顯示 SSb2 可抑制多種基因型 C 型肝炎病毒的感染。

【0049】 第七圖為柴胡皂苷 SSb2 抑制臨床病人血清中病毒與細胞結合之結果。在 4°C 下於 Huh-7.5 細胞中加入臨床病人血清中的病毒，並同時加入 SSb2，作用 3 小時後，以 PBS 洗去 SSb2 及病毒，接著萃取細胞中的總 RNA，最後以即時聚合酶連鎖反應(qPCR)定量病毒。結果顯示 SSb2 可抑制臨床病人血清中基因型 1a、1b、2a、6 的 C 型肝炎病毒與細胞之結合。量化結果如下表三所示。

表三

基因型	處理	
	DMSO	SSb2
HCVser#1	1a	35103 IU/ml
HCVser#2	1b	32887 IU/ml
HCVser#3	2a	29130 IU/ml
HCVser#4	6	35144 IU/ml

【0050】 合併第六圖與第七圖的實驗結果，本發明證實柴胡皂苷 SSb2 除了可抑制基因型 2a HCVcc 以外，還能夠抑制其他基因型 2b、3a、7a HCVcc 的感染及臨床病人血清的基因型 1a、1b、2a、6 的 C 型肝炎病毒與細胞之結合，可對抗 C 型肝炎病毒高度變異性的特性。由 SSb2 可抑制多種基因型 C 型肝炎病毒之特點，說明柴胡皂苷可改善過去 IFN- α + ribavirin 對於基因型第 1 型 C 型肝炎病毒治療效果不佳的問題，也能改善 boceprevir 及 telaprevir 這兩個新藥除了基因型第 1 型 C 型肝炎病毒以外的其他基因型治療效果皆不好且也不適合單獨治療(只能與 IFN- α + ribavirin 併用)等問

題。

【0051】 柴胡皂苷具有抑制多種病毒感染之效果：

【0052】 第八圖(A)至(E)分別為 SSb2 抑制麻疹病毒(MV)、呼吸道融合病毒(RSV)、水泡性口炎病毒(VSV)、登革熱病毒(DENV)及呼腸孤病毒(RV)感染之效果。量化結果如下表四所示。

表四

	套膜	基因體	CC ₅₀ (μM)	EC ₅₀ (μM)	SI
MV	+	(-)ssRNA	629.18±43.01	59.26±1.22	10.62
RSV	+	(-)ssRNA	985.18±27.98	105.35±1.69	9.35
VSV	+	(-)ssRNA	945.92±25.09	49.82±0.75	18.99
DENV	+	(+)ssRNA	945.92±25.09	30.96±62.94	30.55
RV	-	(+)dsRNA	721.26±62.94	139.03±3.51	5.19

【0053】 由表四可知，這幾種病毒分別屬於不同的類型，結果顯示 SSb2 無論對於 DNA 或 RNA 病毒、單股或雙股基因、有套膜或無套膜(enveloped or non-enveloped)的病毒皆具抑制效果，證實 SSb2 為廣效性抗病毒藥物。根據 SSb2 對於無套膜病毒的抑制效果，可推知其對於腸病毒、諾羅病毒或腺病毒等無套膜病毒也具有抑制作用。本發明中所指的無套膜病毒，除了上述的呼腸孤病毒(RV)、腸病毒、諾羅病毒及腺病毒以外，更可包括本領域熟知的其他無套膜病毒，例如人類乳突病毒及小 RNA 病毒等等。

【0054】 根據 SSb2 抑制多種病毒感染之特性，未來亦可將柴胡皂苷應用在口罩、手套、防蚊液、洗手乳、乾洗手(消毒劑)與各種清潔用品中，讓防疫工作變得更容易。例如將柴胡皂苷添加於防蚊液就可應用於每年夏季在台灣及東南亞等國固定爆發的登革熱疫情；或是根據 SSb2 對於無套膜病毒(如腸病毒、諾羅病毒或腺病毒)也具有抑制作用的特性，可將柴胡皂苷添加於乾洗手液中，解決酒精性乾洗手對於無套膜病毒無消毒效果的問題，使這些全世界流行性病毒爆發的危機獲得良好的改善。

【0055】 由於柴胡皂苷水溶性差，若做為藥物則會發生生物利用率低的問題。柴胡皂苷除了可與前述藥學上可接受載體結合之外，為提高柴胡皂苷的溶解度，本發明利用奈米技術製備一種藥物組合物，以柴胡皂苷為主要成分，將柴胡皂苷與高分子聚合物混合，得到 $< 50 \text{ nm}$ 的奈米粒子。由於本發明的藥物組合物可以液體形式冷藏保存，或以乾粉形式置於冷凍保存，因此可被製造為藥物、消毒液、手套、口罩、乾洗手、洗手乳及防蚊液等多種醫療防護用具及民生用品。

【0056】 另一方面，本發明也提供一種製造一藥物組合物的方法，包括將一柴胡皂苷溶解於一有機溶劑中，將含有該柴胡皂苷的該有機溶劑加入一溶液中，該溶液中含有一高分子聚合物，使該柴胡皂苷分散於該高分子聚合物中，以及去除該有機溶劑，以獲得該藥物組合物。本發明以下實施例以 SSb2 為例，製備 SSb2 之奈米製劑(SSb2-NP)。應了解的是，本發明實施例中提供的製備方法也同樣適用於製備其它柴胡皂苷 SSa、SSc、SSd 或者柴胡醇萃取物的奈米製劑。

【0057】 SSb2 奈米製劑之製備

【0058】 以乳化溶劑擴散法(emulsion solvent diffusion method)進行 SSb2 之分散、摻和反應，可製得 SSb2 奈米化製劑。本製程可以多種高分子聚合物執行，諸如三團聯聚合物(Pluronic® polymer)、聚乙烯醇(polyvinyl alcohol, PVA)、聚乙烯吡咯烷酮(polyvinylpyrrolidone, PVP)等。依據 SSb2 之溶解特性，並以聚乙烯吡咯烷酮為例，本製程先以適量乙醇溶解 SSb2 使成 1 mg/ml 溶液，以適量純淨水溶解聚乙烯吡咯烷酮配製成 35% 水溶液，隨後將 SSb2 溶液注入聚乙烯吡咯烷酮水溶液中，利用超音波促成 SSb2 與聚乙烯吡咯烷酮之分散、摻和反應，再以真空減壓濃縮機除去有機溶媒(本例為乙醇)與部分水分，即可得到初步 SSb2 奈米化製劑。以定性濾紙進行過濾，除去過大顆粒沈澱後，即可得到本例之完整 SSb2 奈米製劑。本製劑可以液體形式置於冷藏，或以乾粉形式置冷凍保藏，後者待使用時以純淨水回復即可。

【0059】 根據本發明實施例中的製備方法，SSb2 是溶解並配置於乙

醇溶液中，然而本領域具通常知識者應可將乙醇溶液置換成其他合適的有機溶劑。

【0060】 以動態光散射技術(PCS)分析製劑粒子大小為 16.57 ± 3.88 nm，另以電子顯微鏡(TEM) 驗證此製劑粒子的大小約 10 nm 左右，與 PCS 顯示一致結果；本製程產率可達 $81.45 \pm 6.14\%$ 。第九圖(A)為本發明藥物組合物利用 X 光繞射分析儀(XRD)鑑定結晶性質之結果。以 X 光繞射分析儀(XRD)鑑定結晶性質，並與不同比例簡單混合製成之各組(physical mixture, PM)相比，可見本例奈米製劑(SSb2-NP)喪失 SSb2 位於 3.7° 之結晶格訊號，由此可知奈米製劑之 SSb2 結晶格消失。第九圖(B)為本發明藥物組合物利用紅外線光譜儀(FTIR)鑑定兩材料之分子間交互作用之結果。以紅外線光譜儀(FTIR)鑑定兩材料之分子間交互作用，由奈米製劑(SSb2-NP)所得圖譜可見羥基位移($3,420\text{ cm}^{-1}$)，位移程度並不同於簡單混合者(SSb2-PM)，顯示分子間交互作用確實發生於本例奈米製劑。兩材料分子間交互作用可解釋奈米製劑之 SSb2 結晶格特性消失的原因，而且有利於增加 SSb2 溶解度。第九圖(C)為本發明藥物組合物之溶解度鑑定結果。本製劑之溶解度性質以溶離試驗鑑定，以一般未經製劑處理之 SSb2 與本例 SSb2 奈米製劑比較，溶離試驗顯示本例奈米製劑對 SSb2 溶解度具顯著增強效果，經由奈米製劑改良，SSb2 於 20 分鐘之內已達約 50% 溶解釋出，並在後續試驗期間可維持釋出趨勢。

【0061】 柴胡皂苷奈米製劑的抗病毒活性

【0062】 第十圖(A)及(B)分別為本發明奈米製劑抑制 HCV 及 DENV 感染之效果。SSb2-NP 的特色為僅以水調製即可進行活性應用，而無需併用其他助溶劑(如 DMSO)。本實驗將 SSb2-NP 與以助溶劑(DMSO)配製的原料藥(SSb2-DMSO)、以水配製的原料藥 SSb2-DW 進行比較，分析其抗病毒效果。結果顯示 SSb2-DW 無論對於 HCV(圖 10A)或 DENV(圖 10B)均完全無法發揮抗病毒效果，而 SSb2-NP 的抗病毒效果幾乎可達到與使用助溶劑(SSb2-DMSO)相近。反映出本發明成功製造出只需配置於水中即能發揮其抗病毒藥效的柴胡皂苷奈米製劑 SSb2-NP，提高柴胡皂苷的生物利用率及

抗病毒用途。

【0063】 實施例

【0064】 1. 一種藥物組合物，包括：

一主要成分，包括一柴胡皂苷；以及

一高分子聚合物，與該主要成分混合。

【0065】 2. 如前述實施例所述的藥物組合物，其中該藥物組合物的大小小於 50 nm。

【0066】 3. 如前述實施例所述的藥物組合物，其中該藥物組合物被製造為藥物、消毒液、手套、口罩、乾洗手、洗手乳及防蚊液其中之一。

【0067】 4. 如前述實施例所述的藥物組合物，其中該高分子聚合物提高該柴胡皂苷之溶解度。

【0068】 5. 如前述實施例所述的藥物組合物，其中該高分子聚合物選自三團聯聚合物(Pluronic® polymer)、聚乙烯醇(polyvinyl alcohol, PVA)、聚乙烯吡咯烷酮(polyvinylpyrrolidone, PVP)所組成群組其中之一。

【0069】 6. 一種製造一藥物組合物的方法，包括：

將一柴胡皂苷溶解於一有機溶劑中；

將含有該柴胡皂苷的該有機溶劑加入一溶液中，該溶液中含有一高分子聚合物；

使該柴胡皂苷分散於該高分子聚合物中；以及

去除該有機溶劑，以獲得該藥物組合物。

【0070】 7. 一種利用一柴胡皂苷製備一醫藥組合物的用途，該醫藥組合物用於預防或治療一 C 型肝炎病毒、一麻疹病毒、一呼吸道融合病毒、一水泡性口炎病毒、一登革熱病毒及一無套膜病毒其中之一的感染，其中該醫藥組合物包括該柴胡皂苷及一高分子聚合物。

【0071】 本發明實屬難能的創新發明，深具產業價值，援依法提出申請。此外，本發明可以由本領域技術人員做任何修改，但不脫離如所附權利要求所要保護的範圍。

I520739

【符號說明】

【0072】 無

申請專利範圍

1. 一種藥物組合物，包括：

一主要成分，包括一柴胡皂苷 SSb2；以及

一高分子聚合物，與該主要成分混合，其中該高分子聚合物選自三團聯
聚合物、聚乙烯醇(polyvinyl alcohol, PVA)、聚乙烯吡咯烷酮
(polyvinylpyrrolidone, PVP)所組成群組其中之一。

2. 如申請專利範圍第 1 項所述的藥物組合物，其中該藥物組合物的大小小
於 50 nm。

3. 如申請專利範圍第 1 項所述的藥物組合物，其中該藥物組合物被製造為
藥物、消毒液、手套、口罩、乾洗手、洗手乳及防蚊液其中之一。

4. 如申請專利範圍第 1 項所述的藥物組合物，其中該高分子聚合物提高該
柴胡皂苷 SSb2 於水溶液中之溶解度。

5. 一種製造一藥物組合物的方法，包括：

將一柴胡皂苷 SSb2 溶解於一有機溶劑中；

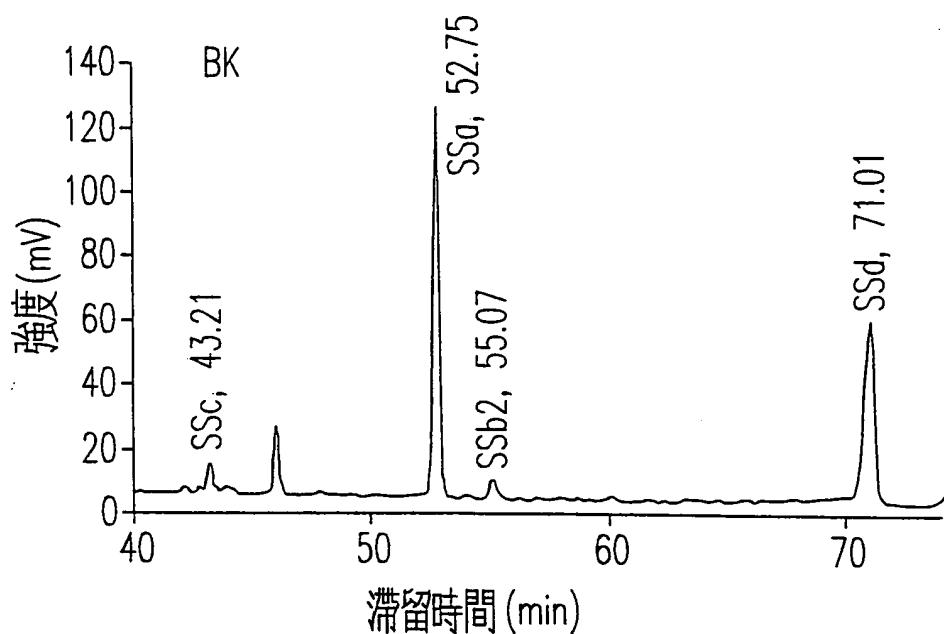
將含有該柴胡皂苷 SSb2 的該有機溶劑加入一溶液中，該溶液中含有
一高分子聚合物，其中該高分子聚合物選自三團聯聚合物、聚乙烯醇
(polyvinyl alcohol, PVA)、聚乙烯吡咯烷酮(polyvinylpyrrolidone, PVP)
所組成群組其中之一；

使該柴胡皂苷 SSb2 分散於該高分子聚合物中；以及
去除該有機溶劑，以獲得該藥物組合物。

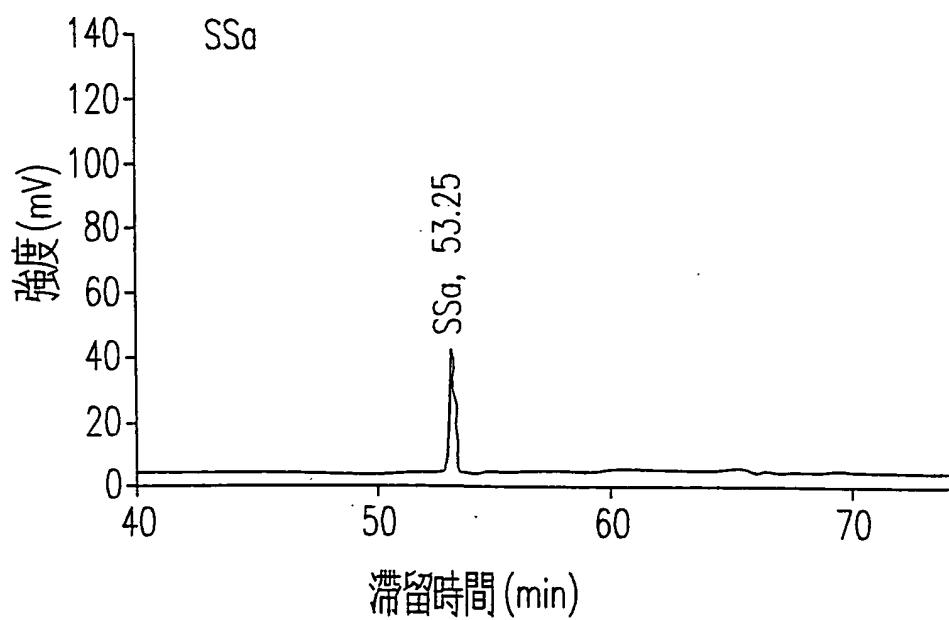
6. 如申請專利範圍第 5 項所述的方法，該醫藥組合物用於預防或治療一 C
型肝炎病毒、一麻疹病毒、一呼吸道融合病毒、一水泡性口炎病毒、一
登革熱病毒及一無套膜病毒其中之一的感染，其中該醫藥組合物包括該
柴胡皂苷及一高分子聚合物。

I520739

圖式

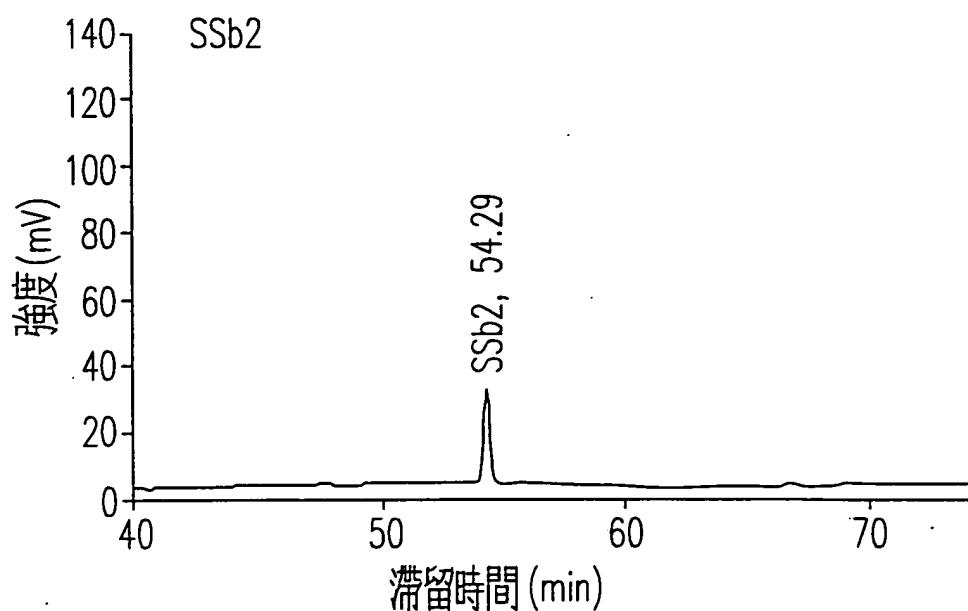


第一圖(A)

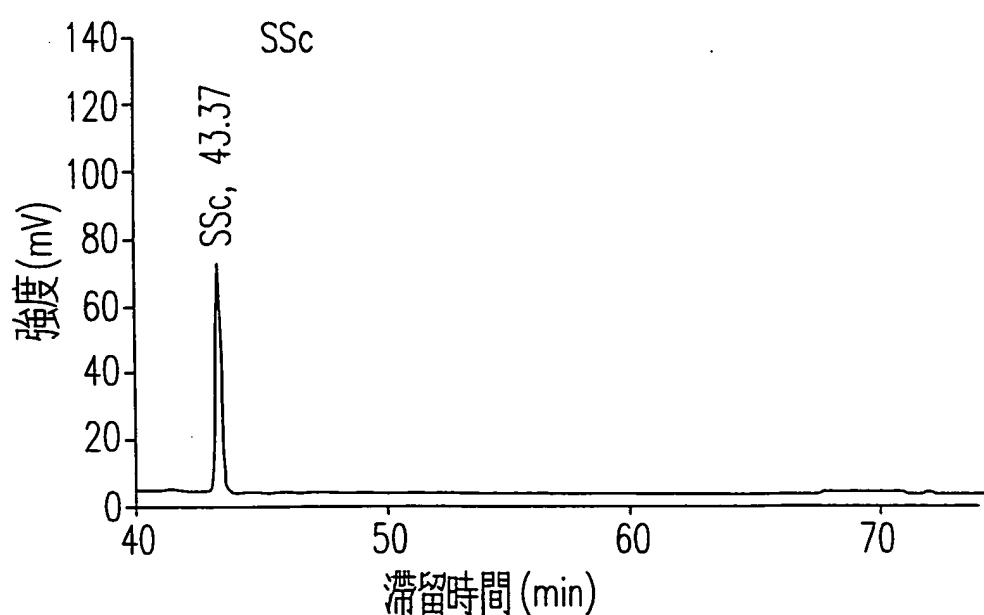


第一圖(B)

I520739

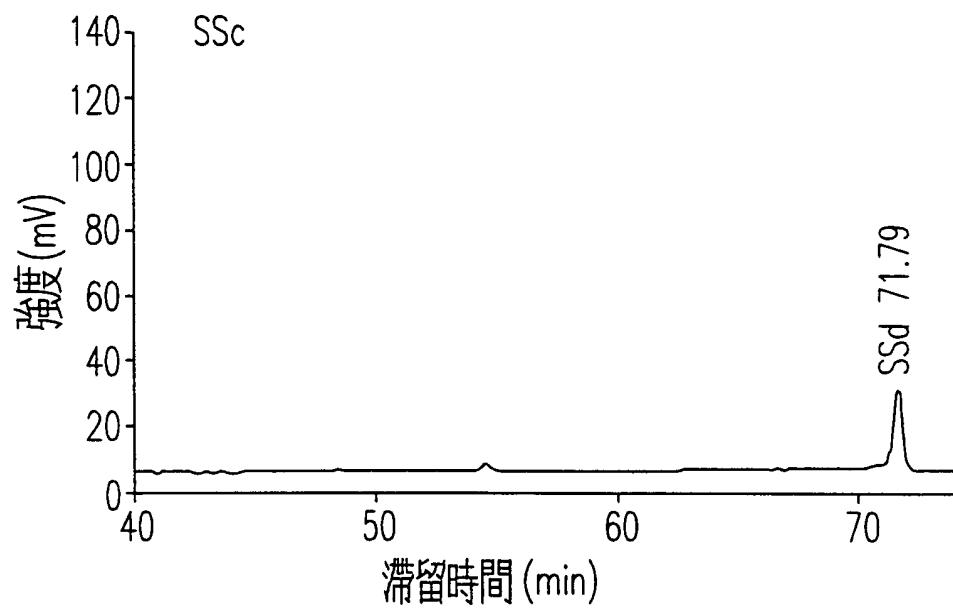


第一圖(C)

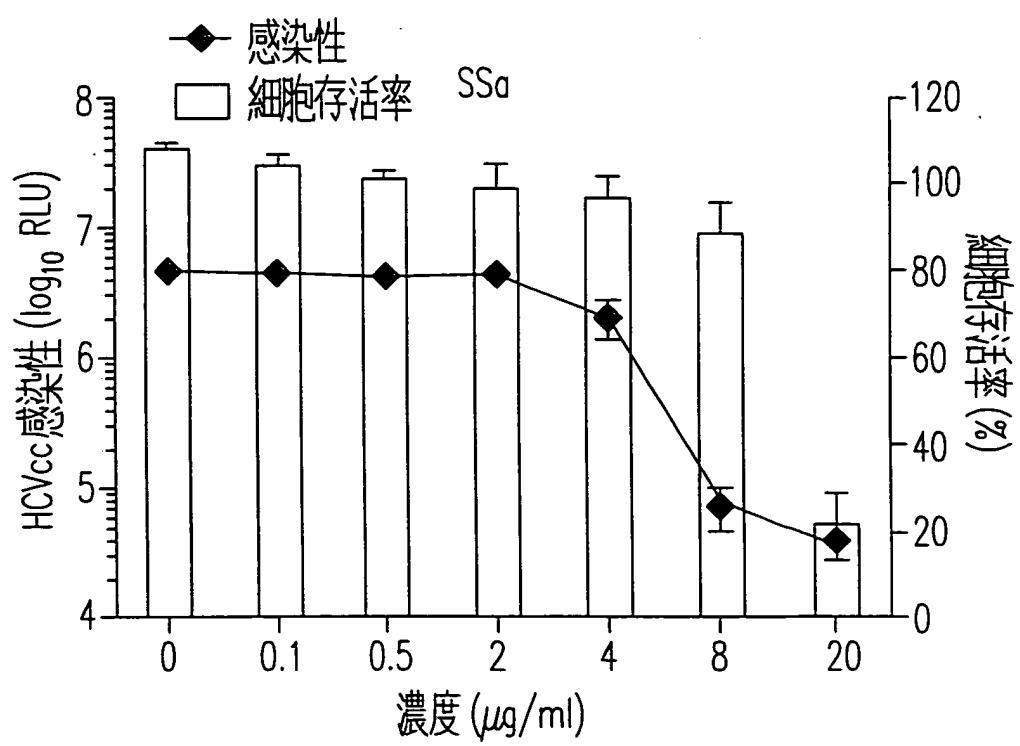
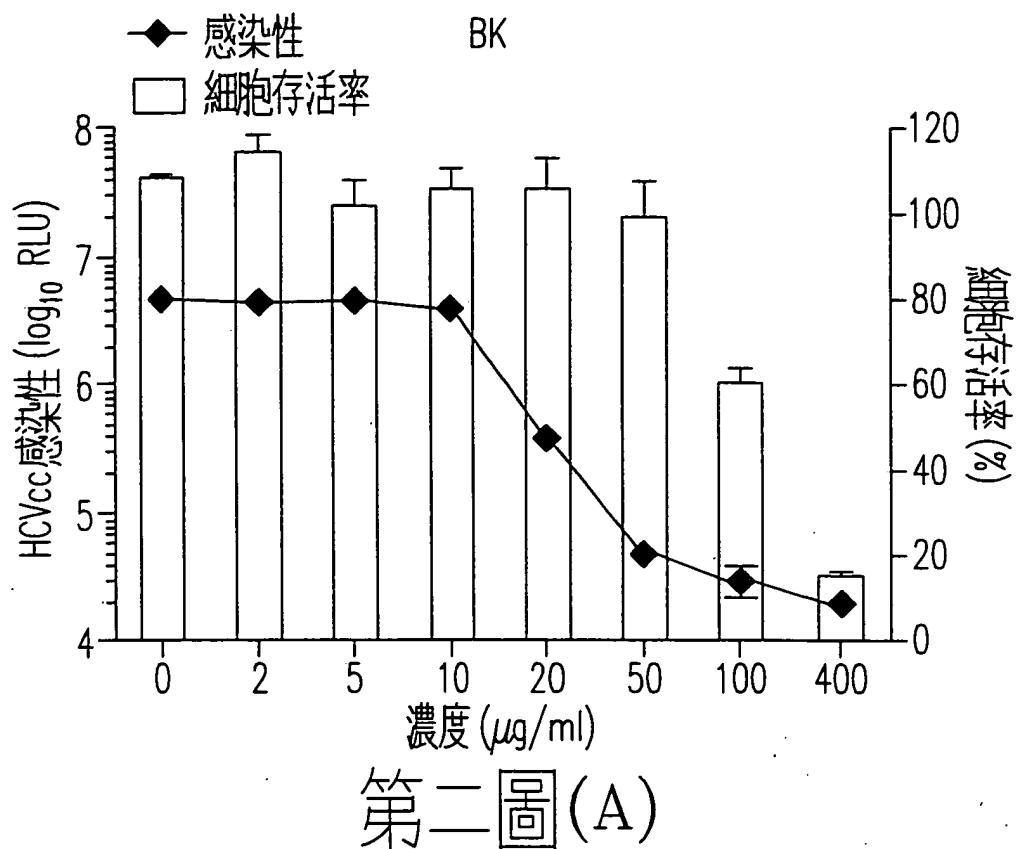


第一圖(D)

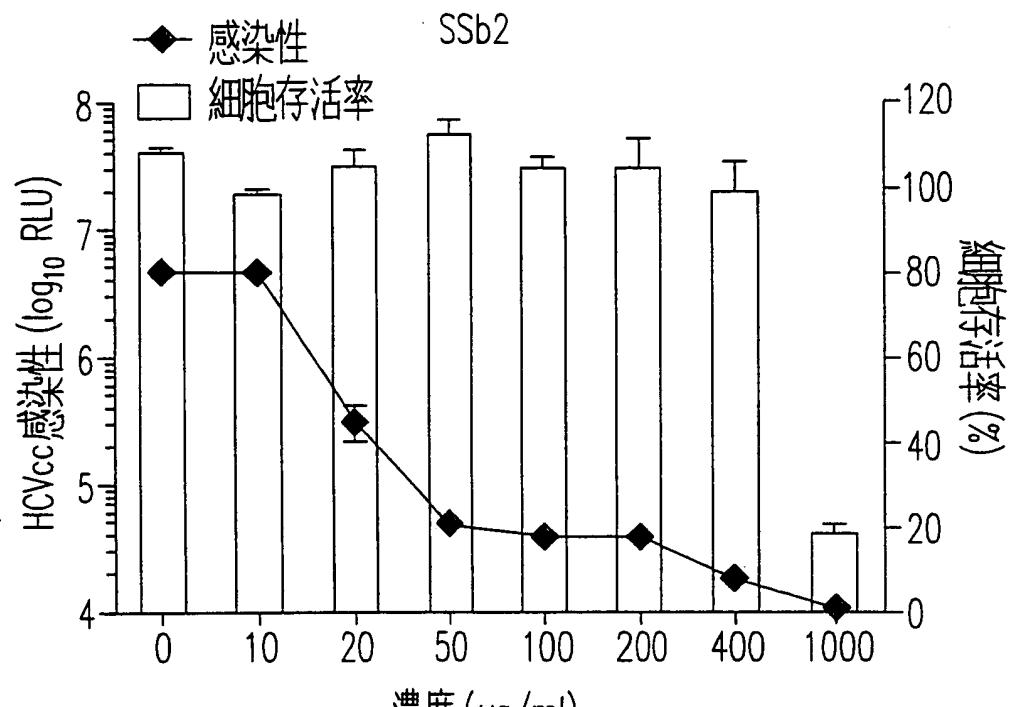
I520739



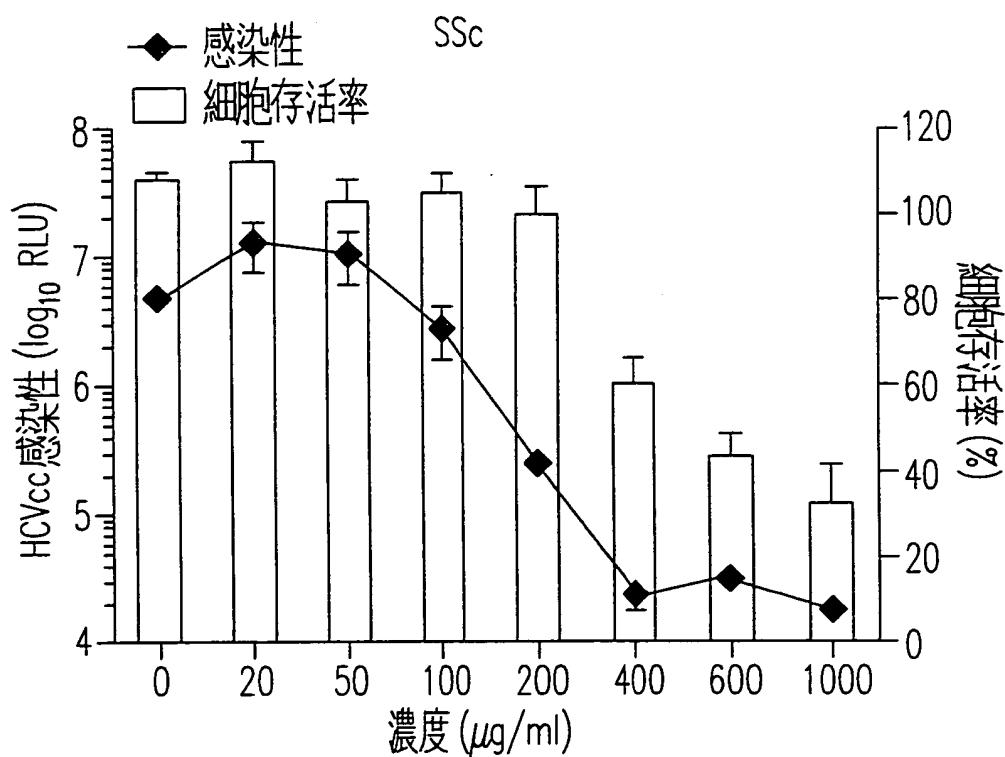
第一圖(E)



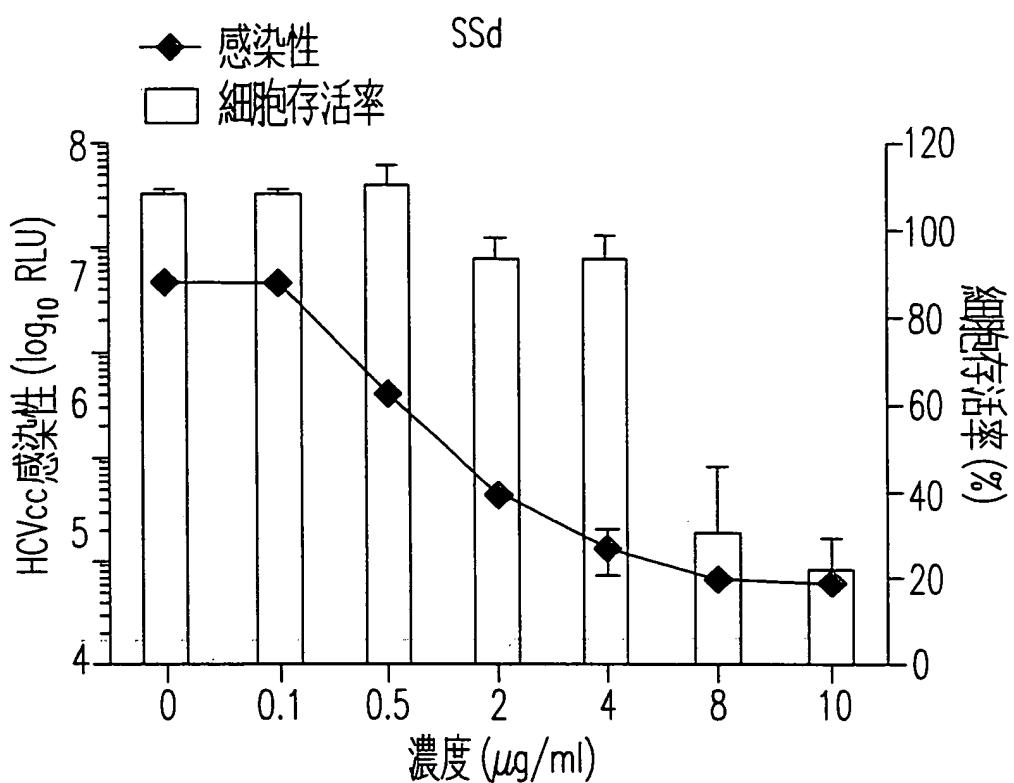
第二圖(B)



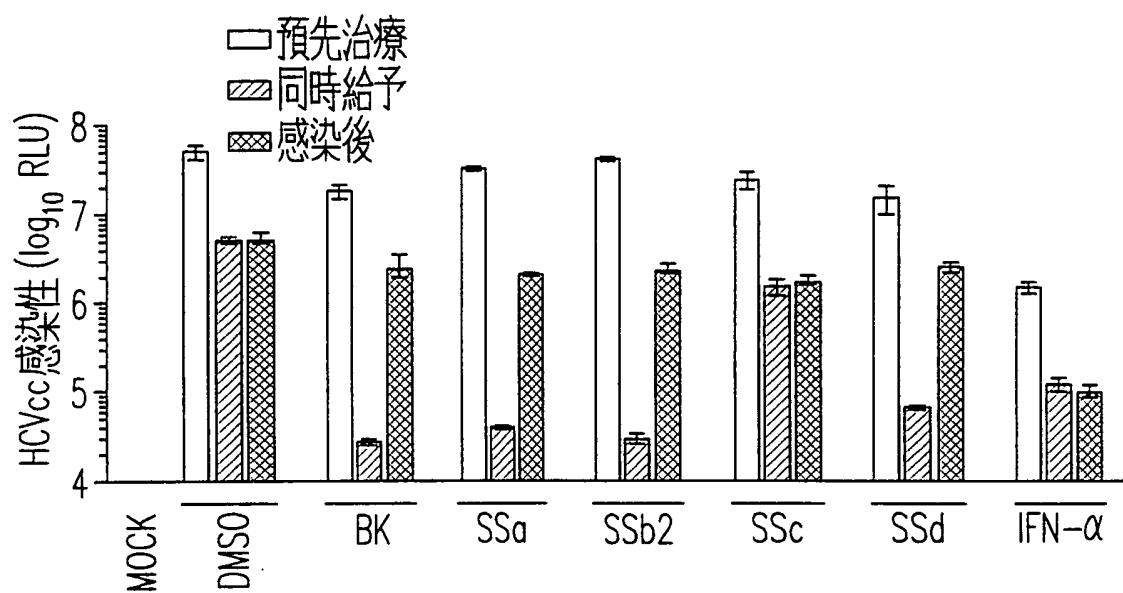
第二圖(C)



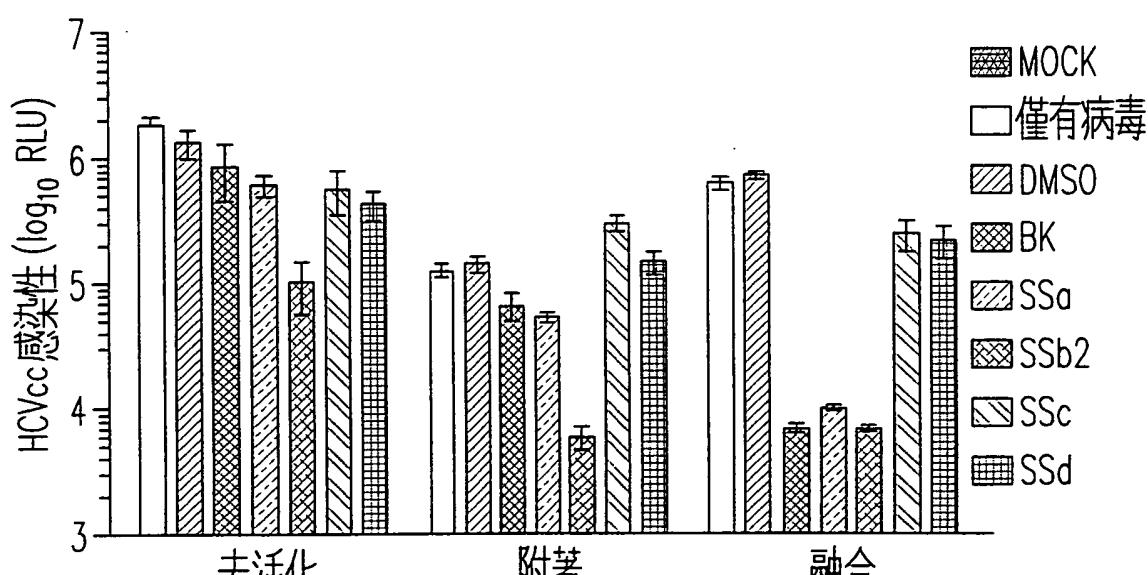
第二圖(D)



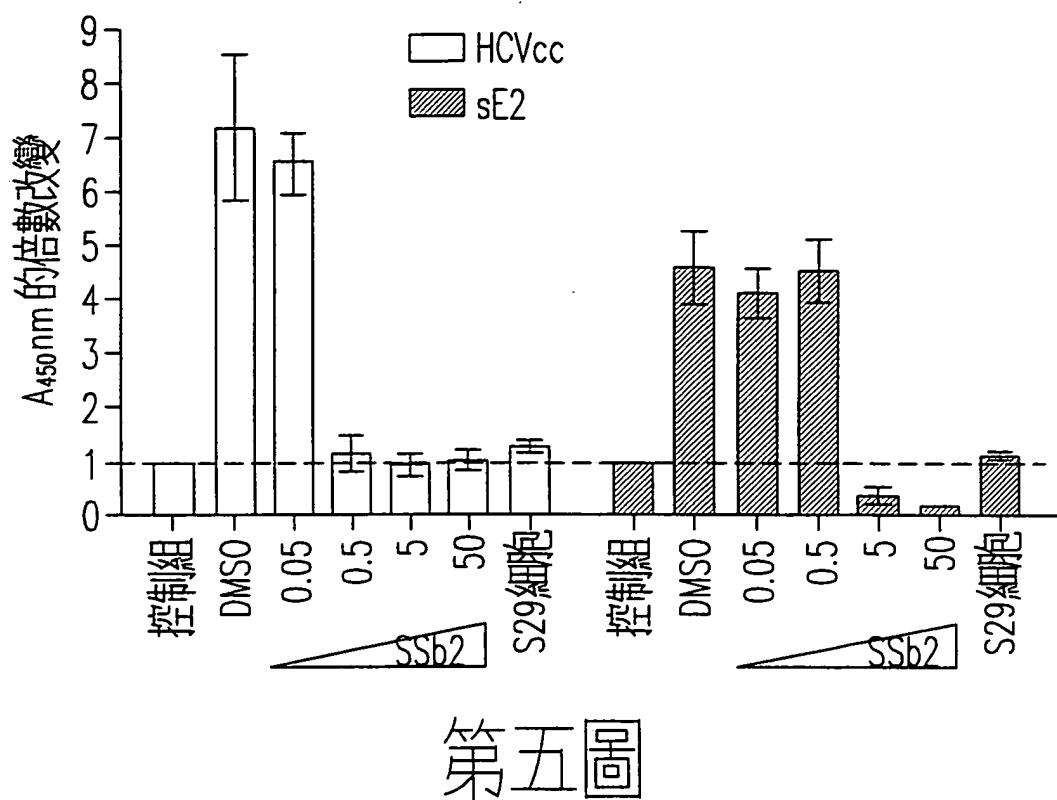
第二圖(E)



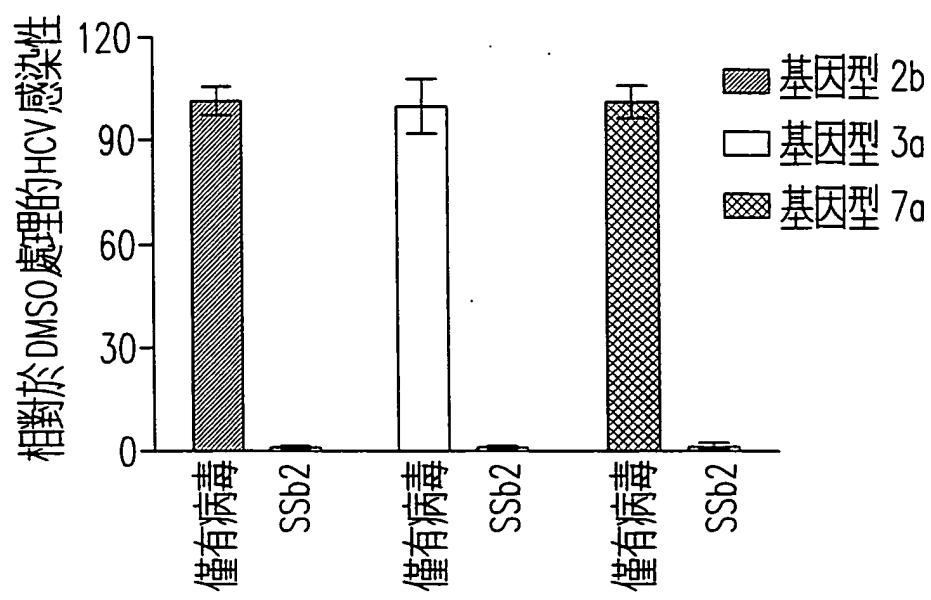
第三圖



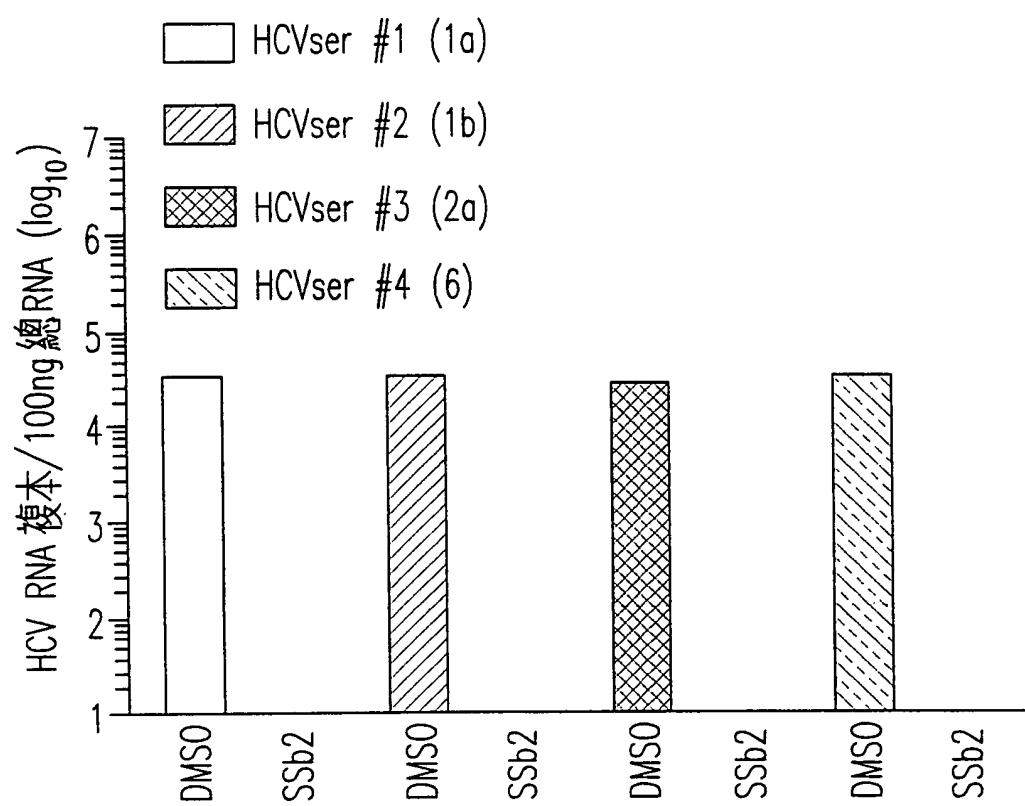
第四圖



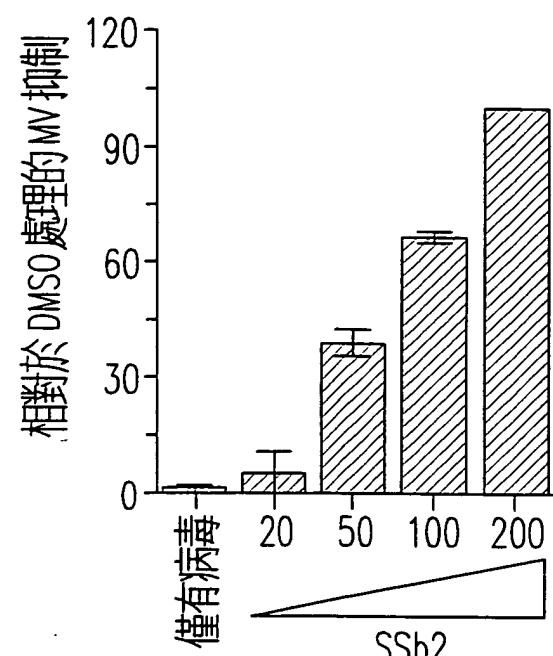
第五圖



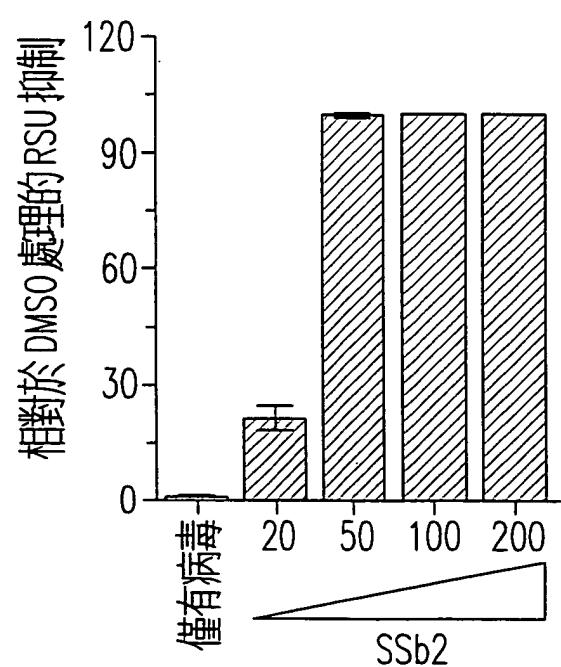
第六圖



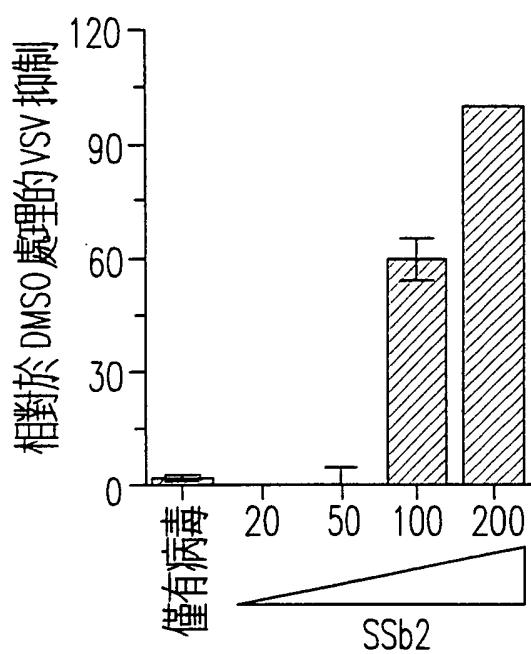
第十四回



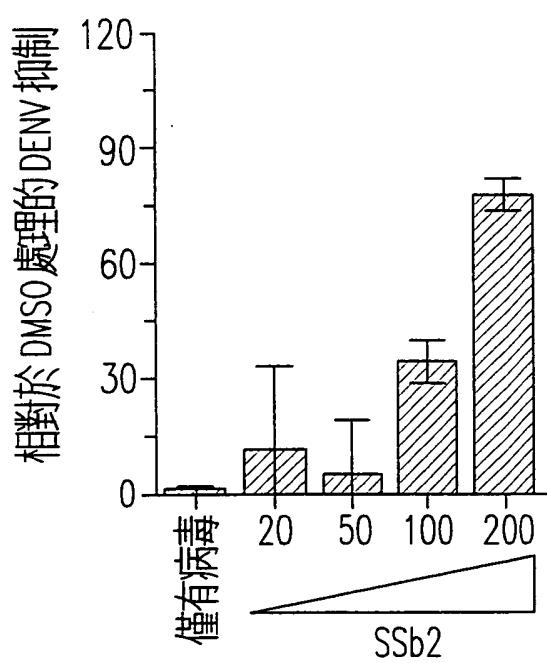
第八圖(A)



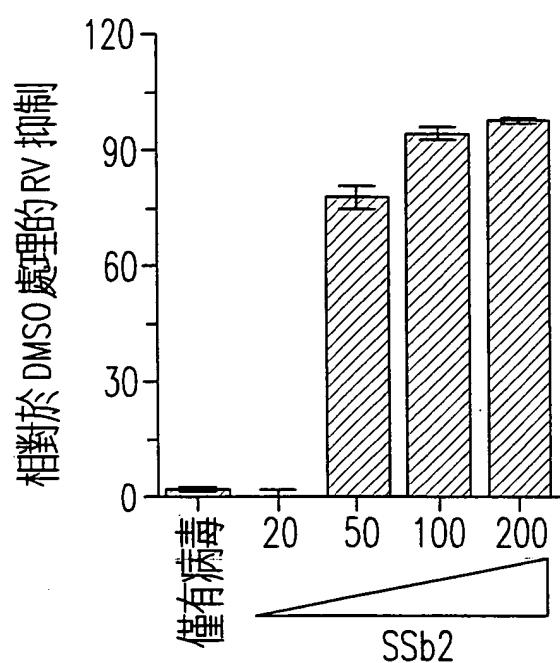
第八圖(B)



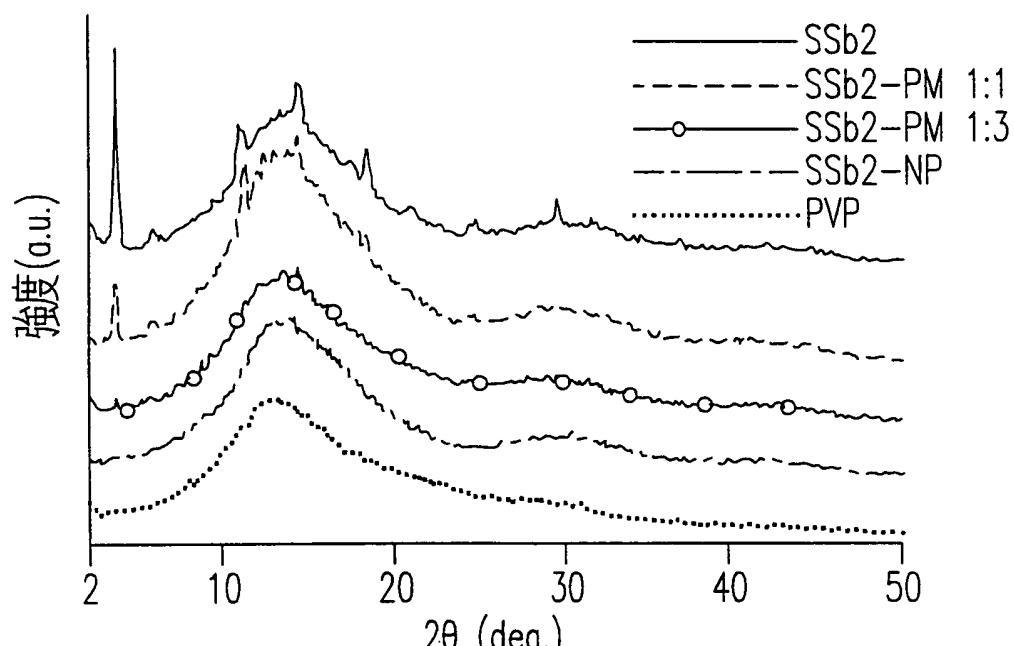
第八圖(C)



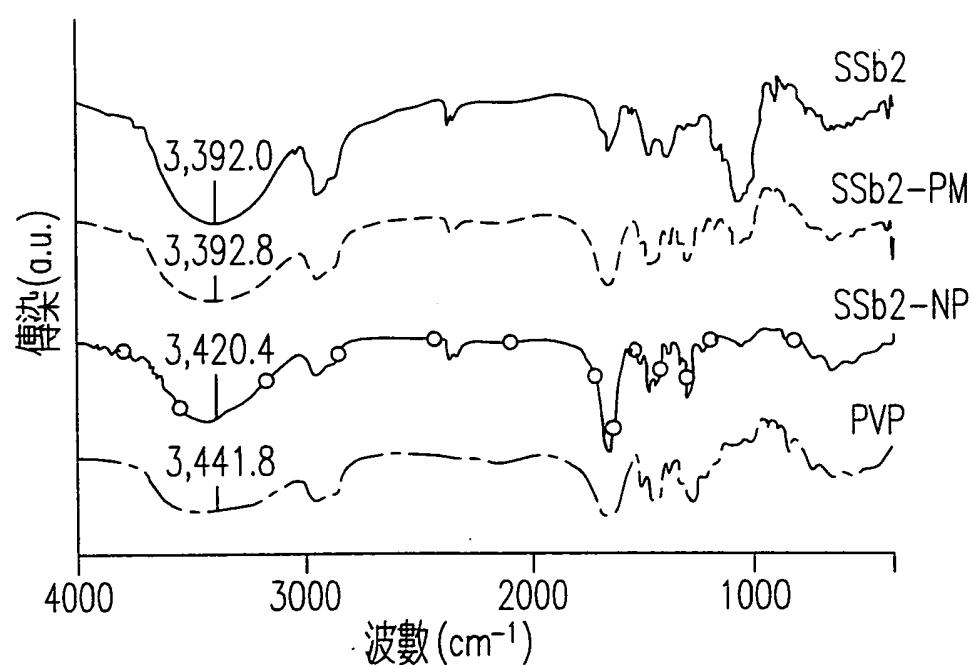
第八圖(D)



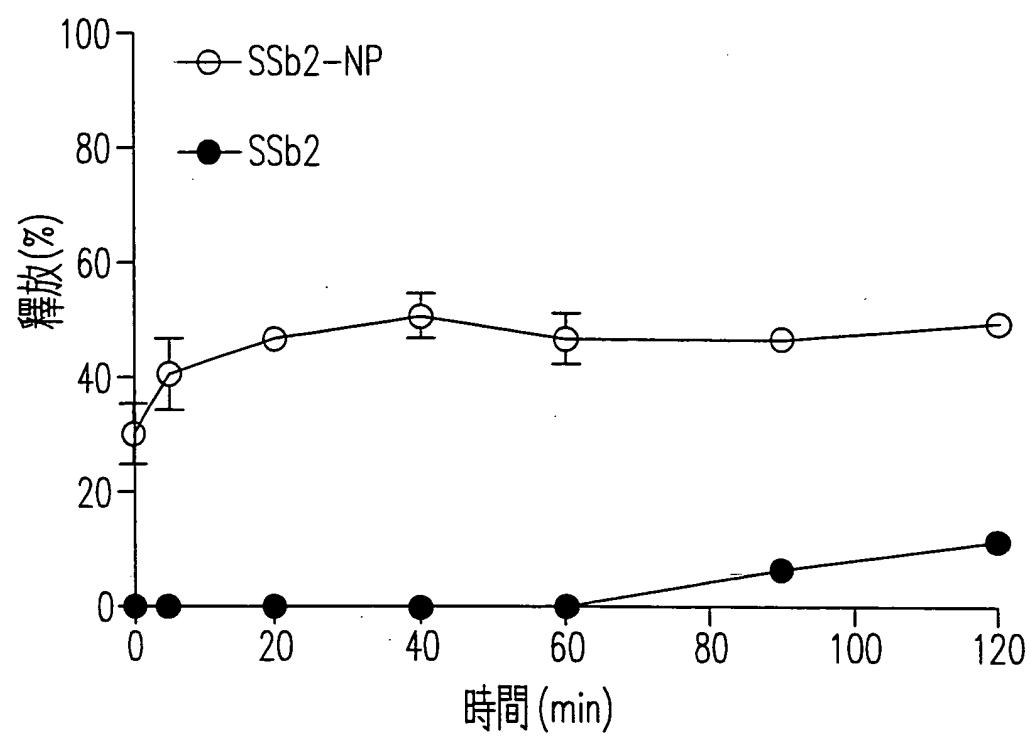
第八圖(E)



第九圖(A)



第九圖(B)



第九圖(C)

