



(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 I644677 B

(45)公告日：中華民國 107 (2018) 年 12 月 21 日

(21)申請案號：107102552

(22)申請日：中華民國 107 (2018) 年 01 月 24 日

(51)Int. Cl. : A61K36/00 (2006.01)

A61P35/00 (2006.01)

(71)申請人：張美齡(中華民國) (TW)

臺北市北投區天母西路 132-9 號

黃威翔(中華民國) (TW)

臺北市北投區天母西路 132-9 號

(72)發明人：張美齡(TW)；黃威翔(TW)

(74)代理人：賴國榕

(56)參考文獻：

TW I605818B

CN 102415972A

CN 102925291A

許儷齡、羅思璇、徐照程，六種純露之組成分析及抗氧化活性，弘光學報 71 (2013) : 77-92。

審查人員：陳世芹

申請專利範圍項數：7 項 圖式數：3 共 13 頁

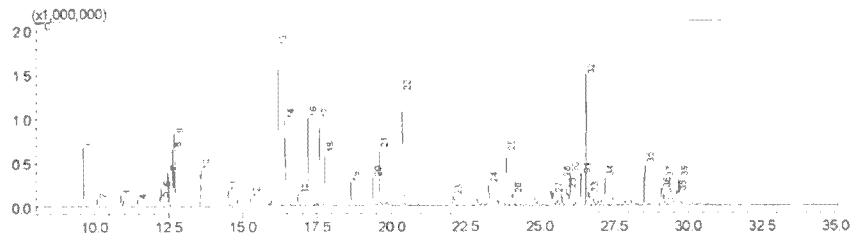
(54)名稱

蒸餾取得組合物於預防心血管疾病之用途

(57)摘要

本發明係提供一種利用天然材料之組合物，該組合物係選自下述植物之萃取物：檜木、牛樟、肖楠、香樟、香茅、山胡椒、肉桂、冷香杉、茶樹、尤加利樹、柳杉以及相思樹，將該等萃取物以一特殊比例混合成一之蒸餾取得組合物，其可應用於預防心血管疾病。

指定代表圖：



Peak	Compound name
1	$\alpha$ -Pinene
2	Camphene
3	Sabinene
4	Myrcene
5	1,4-Cineole
6	$\alpha$ -Terpinene
7	Cymene
8	Limonene
9	1,8-Cineole
10	$\gamma$ -Terpinene
11	$\alpha$ -Terpinolen
12	$\alpha$ -Fenchol
13	Camphor
14	Citronellal
15	Borneol
16	Terpinen-4-ol
17	$\alpha$ -Terpineol
18	(-)-Myrtenol
19	Citronellol
20	Nerol

Peak	Compound name
21	cis-Myrtenol
22	Safrole
23	$\alpha$ -Terpinyl acetate
24	$\beta$ -Elemene
25	$\alpha$ -Cedrene
26	$\beta$ -Cedrene
27	$\alpha$ -Amorphene
28	$\beta$ -Selinene
29	$\gamma$ -2-Cadinene
30	$\alpha$ -Muurolene
31	$\gamma$ -Cadinene
32	$\delta$ -Cadinene
33	$\beta$ -Cadinene
34	$\alpha$ -Elemol
35	Cedrol
36	$\alpha$ -Cubebene
37	$\gamma$ -Eudesmol
38	$\beta$ -Eudesmol
39	tau-Muurolol

第 1 圖



I644677

## 【發明摘要】

【中文發明名稱】 蒸餾取得組合物於預防心血管疾病之用途

【中文】

本發明係提供一種利用天然材料之組合物，該組合物係選自下述植物之萃取物：檜木、牛樟、尚楠、香樟、香茅、山胡椒、肉桂、冷香杉、茶樹、尤加利樹、柳杉以及相思樹，將該等萃取物以一特殊比例混合成一之蒸餾取得組合物，其可應用於預防心血管疾病。

【指定代表圖】 第1圖



## 【發明摘要】

【中文發明名稱】 蒸餾取得組合物於預防心血管疾病之用途

【中文】

本發明係提供一種利用天然材料之組合物，該組合物係選自下述植物之萃取物：檜木、牛樟、尚楠、香樟、香茅、山胡椒、肉桂、冷香杉、茶樹、尤加利樹、柳杉以及相思樹，將該等萃取物以一特殊比例混合成一之蒸餾取得組合物，其可應用於預防心血管疾病。

【指定代表圖】 第1圖

## 【發明說明書】

【中文發明名稱】 蒸餾取得組合物於預防心血管疾病之用途

### 【技術領域】

【0001】 本發明係關於一種從植物原料蒸餾所得之萃取組合物，其用於預防心血管疾病。

### 【先前技術】

【0002】 心血管疾病為全球十大死因之首，而心血管疾病包括冠狀動脈症候群、中風、高血壓性心臟病、動脈瘤、心肌病變、心房顫動、心內膜炎、以及周邊動脈阻塞性疾病等等而心血管疾病與發炎反應有著密切的關係。

【0003】 發炎反應是免疫系統針對侵入人體的細菌或病毒啟動的一種正常防禦反應，對人體有保護作用。但是這些免疫細胞反應過劇烈或不正常反應時會產生其他疾病，例如當血管壁上慢性發炎時，會造成粥狀硬化剝落，啟動凝血機制，導致心肌梗塞。在發炎反應時期會刺激巨嗜細胞或組織單核球大量表現，而巨嗜細胞亦會產生大量具殺菌功能的一氧化氮(nitric oxide, NO)，但一氧化氮對細胞具有毒性，會造成組織細胞的損傷。

【0004】 動脈粥樣硬化，是因為油脂累積、內膜增厚而形成粥狀斑塊，使得血管硬化、狹窄、甚至阻塞的病理現象。當粥狀硬化發生在供應心臟的冠狀動脈時，可能導致心絞痛、心肌梗塞、猝死等致命疾病。而發炎現象是造成動脈粥狀硬化的禍首，它會傷害動脈內壁，並造成脂肪斑，然後讓脂肪斑破裂。

無畫線版

【0005】 又，當人體中的低密度脂蛋白(Low-Density Lipoprotein，簡稱LDL)不斷地累積，會在內皮層造成的硬化斑塊持續成長，使得動脈的外層彈性膜膨脹，隨著硬化塊持續增長，動脈無法再向外膨脹時，硬化斑塊會開始向內腔突起，此時硬化斑塊通常會超過血管管徑的40%。在某些情況下，如壓力等因素，可能會導致硬化斑塊破裂，引發血液凝固而形成血栓或血塊。而動脈狹窄、缺乏靈活性，會使得血液難以流動，可能會造成胸痛（穩定性心絞痛）、呼吸急促、心臟病發作等症狀；而腦部及頸部動脈粥狀硬化則會造成缺血性中風。

【0006】 再者，低密度脂蛋白氧化後具有細胞毒性，會啟動血管內皮的發炎反應，令膽固醇的沉積在動脈上，引起動脈硬化，增加心血管疾病發生的機率。

【0007】 發明人於2017年獲得中華民國證書號I605818之專利，其中之組合物係針對抑制腫瘤細胞，而腫瘤細胞的運作機制與心血管疾病有很大的不同。

### 【發明內容】

【0008】 本發明利用中華民國證書號I605818之組合物，為多種植物經專利I407995方法，即灶窯蒸餾法取得之蒸餾純露，經特定比例混合之組合物，係針對降低血管發炎、自由基以及低密度脂蛋白有良好效果，進一步可用於預防或治療心血管疾病。

### 【圖式簡單說明】

【0009】 第1圖為本發明之組合物分分析圖。

【0010】 第2圖為本發明之組合物對發炎細胞存活率影響。

【0011】 第3圖為本發明之組合物對細胞一氧化氮生成量之影響。

**【實施方式】**

**【0012】** 為便於貴審查委員對本案有更進一步的認識與瞭解，茲舉實施例配合圖式，詳細說明如下。

**【0013】 實施例1**

**【0014】** 本發明之一種蒸餾取得組合物於預防或治療心血管疾病之用途，其組合物為中華民國證書號I605818之組合物，該組合物包含下列群體之植物萃取物：檜木、牛樟、尚楠、香樟、香茅、山胡椒、肉桂、冷香杉、茶樹、尤加利樹、柳杉以及相思樹，進一步該等植物之種類為：檜木 (*Chamaecyparis formosensis*)、牛樟 (*Cinnamomum micranthun*)、尚楠 (*T Calocedrus formosana*)、香樟 (*Cinnamomum camphora*)、香茅 (*Cymbopogon nardus*)、山胡椒 (*Litsea cubeba*)、肉桂 (*Cinnamomum zeylanicum*)、冷香杉 (*Taiwan Cunninghamia lanceolata* var.)、茶樹 (*Melaleuca alternifolia*)、尤加利樹 (*Eucalyptus robusta* smith)、柳杉 (*Cryptomeria japonica*) 以及相思樹 (*Acacia confuse*)；將該等植物原料利用分離技術萃取植物之有效成分，其中分離技術可為：蒸餾法、溶劑萃取法、冷壓榨法、二氧化碳超臨界萃取法以及吸收法等。

**【0015】** 進一步說明，本發明之植物萃取物係使用蒸餾法所製得之純露，更進一步說明，係為專利號I407995方法，即為灶窯蒸餾法所製得之純露，使用專利號I407995方法製得之純露其特徵在於：相較於一般純露，其中含有更豐富的化合物組成。

**【0016】** 其中，本發明之植物萃取物係萃取自該等植物之不同部位：檜木、牛樟、尚楠、香樟、冷香杉以及柳杉萃取自木質部；香茅萃取自全草；山胡椒、茶樹以及相思樹萃取自枝葉；肉桂萃取自枝、葉；尤加利樹萃取自枝、葉以及花。

無畫線版

【0017】本發明另利用台灣低中高海拔不同生長植物混合始具備完整療效的原理，進一步將上述植物之純露混合即為該用於預防或治療心血管疾病之蒸餾取得組合物，混合之重量百分比為：檜木純露佔35%~45%、牛樟純露佔5%~15%、尚楠純露佔5%~15%、香樟純露佔3%~13%、香茅純露佔3%~13%、山胡椒純露佔1%~11%、肉桂純露佔1%~11%、冷香杉純露佔1%~10%、茶樹純露佔1%~10%、尤加利樹純露佔1%~10%、柳杉純露佔1%~10%以及相思樹純露佔1%~10%。

【0018】該用於預防或治療心血管疾病之蒸餾取得組合物最佳比例為每100毫升含有：40%重量百分比之檜木純露、10%重量百分比之牛樟純露、10%重量百分比之尚楠純露、8%重量百分比之香樟純露、8%重量百分比之香茅純露、6%重量百分比之山胡椒純露、6%重量百分比之肉桂純露、4%重量百分比之冷香杉純露、2%重量百分比之茶樹純露、2%重量百分比之尤加利樹純露、2%重量百分比之柳杉純露以及2%重量百分比之相思樹純露組合而成。

【0019】 實施例2

【0020】請參閱第1圖所示，於本實施例中，係將本發明之組合物進行GC/MS分析，其中所含之化學成分包括：1,8-Cineole、Camphor、Borneol、Terpinen-4-ol、 $\alpha$ -Terpineol、(-)-Myrtenol、cis-Myrtanol、 $\alpha$ -Pinene、Camphene、Sabinene、Myrcene、1,4-Cineole、 $\alpha$ -Terpinene、Cymene、Limonene、 $\gamma$ -Terpinene、 $\alpha$ -Terinolen、 $\alpha$ -Fenchol、Citronellal、Citronellol、Nerol、Safrole、 $\alpha$ -Terpinyl acetate、 $\beta$ -Elemene、 $\alpha$ -Cedrene、 $\beta$ -Cedrene、 $\alpha$ -Amorphene、 $\beta$ -Selinene、 $\gamma$ -2-Cadinene、 $\alpha$ -Muurolene、 $\gamma$ -Cadinene、 $\delta$ -Cadinene、 $\beta$ -Cadinene、 $\alpha$ -Elemol、Cedrol、 $\alpha$ -Cubebene、 $\gamma$ -Eudesmol、 $\beta$ -Eudesmol、tau-Muurolol。



無畫線版

【0021】 其中檜木純露包括：Camphor、Borneol、 $\alpha$ -Terpineol、(-)-Myrtenol、 $\alpha$ -Pinene、Camphene、Limonene、 $\alpha$ -Terpinyl acetate、 $\alpha$ -Cedrene、 $\beta$ -Selinene、 $\alpha$ -Muurolene、 $\gamma$ -Cadinene、 $\delta$ -Cadinene、 $\alpha$ -Elemol以及Cedrol。

【0022】 牛樟純露係包括：1,4-Cineole以及Safrole。

【0023】 尚楠純露係包括： $\alpha$ -Pinene、Limonene、Camphor、 $\alpha$ -Terpineol、(-)-Myrtenol、 $\beta$ -Elemene、 $\alpha$ -Muurolene、 $\gamma$ -Cadinene以及 $\delta$ -Cadinene。

【0024】 香樟純露係包括：Camphor、Terpinen-4-ol、 $\alpha$ -Terpineol、Limonene、Citronellol以及Safrole。

【0025】 香茅純露係包括：Camphor、Borneol、 $\alpha$ -Terpineol、Limonene、Citronellol、 $\beta$ -Elemene、 $\alpha$ -Cedrene、 $\alpha$ -Muurolene、 $\gamma$ -Cadinene、 $\delta$ -Cadinene、 $\alpha$ -Elemol、Cedrol、 $\gamma$ -Eudesmol以及tau-Muurolol。

【0026】 山胡椒純露係包括：Camphor、Sabinene、Safrole、Terpinen-4-ol、 $\alpha$ -Elemol、 $\alpha$ -Pinene、 $\alpha$ -Terpineol、 $\alpha$ -Terpinyl acetate、 $\beta$ -Elemene、 $\beta$ -Eudesmol、 $\gamma$ -Cadinene、 $\gamma$ -Eudesmol以及 $\delta$ -Cadinene。

【0027】 肉桂純露係包括：(-)-Myrtenol、Camphor、 $\alpha$ -Elemol、 $\alpha$ -Terpineol、 $\beta$ -Elemene、 $\gamma$ -Cadinene以及 $\delta$ -Cadinene。

【0028】 冷香杉純露係包括：Borneol、Camphene、Camphor、Limonene、Myrcene、 $\alpha$ -Cedrene、 $\alpha$ -Fenchol、 $\alpha$ -Pinene、 $\alpha$ -Terinolen、 $\alpha$ -Terpineol、 $\beta$ -Cedrene以及 $\beta$ -Elemene。

【0029】 茶樹純露係包括：1,8-Cineole、Limonene、Sabinene、Terpinen-4-ol、 $\alpha$ -Pinene、 $\alpha$ -Terpinene、 $\alpha$ -Terpineol以及 $\delta$ -Cadinene。

無畫線版

【0030】 尤加利樹純露係包括：(-)-Myrtenol、Limonene、 $\alpha$ -Cedrene、 $\alpha$ -Elemol、 $\alpha$ -Pinene、 $\alpha$ -Terinolen、 $\beta$ -Elemene以及 $\delta$ -Cadinene。

【0031】 柳杉純露係包括：Limonene、Sabinene、 $\alpha$ -Cubebene、 $\alpha$ -Elemol、 $\alpha$ -Muurolene、 $\alpha$ -Pinene、 $\beta$ -Eudesmol、 $\gamma$ -Eudesmol以及 $\delta$ -Cadinene。

【0032】 相思樹純露係包括：(-)-Myrtenol、Camphene以及 $\alpha$ -Terpineol。

【0033】 實施例3

【0034】 於本實施例欲了解本發明之組合物對於造成心血管疾病的細胞發炎、低密度脂蛋白氧化以及自由基是否有抑制效果，因此分別將本發明之組合物針對細胞發炎活性、低密度脂蛋白氧化遲滯時間以及清除DPPH自由基能力進行實驗。

【0035】 細胞發炎活性實驗

【0036】 本實驗以脂多醣(lipopolysaccharide，簡稱LPS)誘發小鼠巨噬細胞RAW 264.7(購自BCRC)產生發炎反應，巨噬細胞培養在96孔盤中，細胞數為 $3 \times 10^4$  cell/well，而每孔加入以DMEM培養液配製成100 ng/mL的脂多醣溶液50  $\mu$ L/well，放入37°C、5% CO<sub>2</sub>培養箱，預先誘導細胞發炎1小時。

【0037】 接著以DMEM培養液將本發明之組合物稀釋成0~200  $\mu$ g/mL，加入50  $\mu$ L/well於已被誘導並發炎的巨噬細胞中，接著再放入37°C、5% CO<sub>2</sub>培養箱，培養24小時後進行細胞存活率以及NO產生量分析。

【0038】 本實驗之控制組為沒有透過脂多醣誘發發炎反應的巨噬細胞RAW 264.7，對照組為沒有添加本發明組合物之發炎的巨噬細胞RAW 264.7。

【0039】 細胞存活率分析

無畫線版

【0040】 將細胞上清液全部移至另新的96孔盤中，於原培養盤中加入MTS reagent，100  $\mu\text{L}/\text{well}$ ，置於37°C、5%  $\text{CO}_2$ 培養箱，反應1小時，接著以酵素免疫分析測讀儀(ELISA reader)讀取波長490 nm的吸光值，利用GraphPad Prism 5軟體計算半抑制濃度(50% Inhibition Concentration, 簡稱 $\text{IC}_{50}$ )。

【0041】 細胞一氧化氮生成量測定

【0042】 以DMEM培養液配製 $\text{NaNO}_2$  Standard curve，濃度為100、50、25、12.5、6.25、3.13、1.56以及0  $\mu\text{M}$ ，取80  $\mu\text{L}$ 細胞上清液或 $\text{NaNO}_2$ 加到96孔盤中，再加入80  $\mu\text{L}$  Griess Reagent避光反應10分鐘，以酵素免疫分析測讀儀讀取波長550nm之吸光值，利用 $\text{NaNO}_2$  Standard curve換算細胞一氧化氮產生量並利用GraphPad Prism 5軟體計算 $\text{IC}_{50}$ 。

【0043】 本發明組合物對發炎細胞存活率及一氧化氮生成量之結果請參考表一，顯示以脂多醣誘導發炎模式下，同時以本發明組合物處理細胞24小時後其 $\text{IC}_{50}$ 為100.3  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ；抗發炎活性以一氧化氮生成量為測良指標，顯示本發明之組合物 $\text{IC}_{50}$ 為16.8  $\mu\text{g}/\text{mL}$ 。

【0044】 表一、本發明組合物對發炎細胞存活率以及一氧化氮生成量之影響

本發明組合物 密度(g/mL)	抑制細胞存活之半抑制濃度 ( $\text{IC}_{50}$ ， $\mu\text{g}/\text{mL}$ )	抑制一氧化氮生成之活性 ( $\text{IC}_{50}$ ， $\mu\text{g}/\text{mL}$ )
0.910	100.3	16.8

【0045】 請參閱第2圖所示，顯示本發明之組合物具有抑制發炎細胞存活之功效。

無畫線版

【0046】請參閱第3圖所示，顯示本發明之組合物具有抑制一氧化氮生成之功效。

【0047】低密度脂蛋白氧化遲滯時間實驗

【0048】本實驗採用共軛雙烯生成法，在無抗氧化劑的情況下濃度為50  $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的低密度脂蛋白氧化遲滯時間為2.58小時，而使用本發明之組合物75  $\mu\text{g}/\text{mL}$ 後，其低密度脂蛋白氧化遲滯時間可延長至13.67小時。

【0049】清除DPPH自由基能力實驗

【0050】本實驗採用化學呈色法，測試去除DPPH自由基最加濃度，其結果顯示，本發明之組合物之濃度為100至150  $\text{mg}/\text{mL}$ 時， $\text{IC}_{50}$ 的效果較佳，由其當本發明之組合物在138.64  $\text{mg}/\text{mL}$ 時， $\text{IC}_{50}$ 能力最佳。

【0051】從前述實驗可知，使用本發明之組合物其濃度在10  $\mu\text{g}/\text{mL}$ 至150  $\text{mg}/\text{mL}$ 範圍時對於降低細胞發炎反應、延遲低密度脂蛋白氧化以及去除自由基之功能有最佳效果，如此，本發明之組合物可降低動脈粥狀硬化，進而降低腦中風以及心血管疾病的產生。

【0052】雖然本發明之組合物與中華民國證書號I605818之組合物相同，但是I605818案是針對抑制腫瘤細胞，本案是在於預防或治療心血管疾病，兩種疾病的作用機制完全不同，從結果來看該組合物在抑制心血管疾病上具有良好的效果。

【0053】上列詳細說明係針對本發明之可行實施例之具體說明，惟該實施例並非用以限制本發明之專利範圍，凡未脫離本發明技藝精神所為之等效實施或變更，均應包含於本案之專利範圍中。

## 【發明申請專利範圍】

【第1項】一種蒸餾取得組合物於製備降低動脈粥狀硬化藥物之用途，其中該組合物係由下列群體植物利用灶窯蒸餾法第一道所得萃取物組成之群組並限定其混合之重量百分比為：檜木純露佔35%~45%、牛樟純露佔5%~15%、尚楠純露佔5%~15%、香樟純露佔3%~13%、香茅純露佔3%~13%、山胡椒純露佔1%~11%、肉桂純露佔1%~11%、冷香杉純露佔1%~10%、茶樹純露佔1%~10%、尤加利樹純露佔1%~10%、柳杉純露佔1%~10%以及相思樹純露佔1%~10%；其中檜木、牛樟、尚楠、香樟、冷香杉以及柳杉萃取自木質部，香茅萃取自全草，山胡椒、茶樹以及相思樹萃取自枝葉，肉桂萃取自枝、葉，尤加利樹萃取自枝、葉以及花。

【第2項】如申請專利範圍第1項所述之蒸餾取得組合物於製備降低動脈粥狀硬化藥物之用途，其中該組合物係可用於降低細胞發炎反應。

【第3項】如申請專利範圍第2項所述之蒸餾取得組合物於製備降低動脈粥狀硬化藥物之用途，其中該組合物使用濃度範圍為10 µg/mL至150 mg/ml。

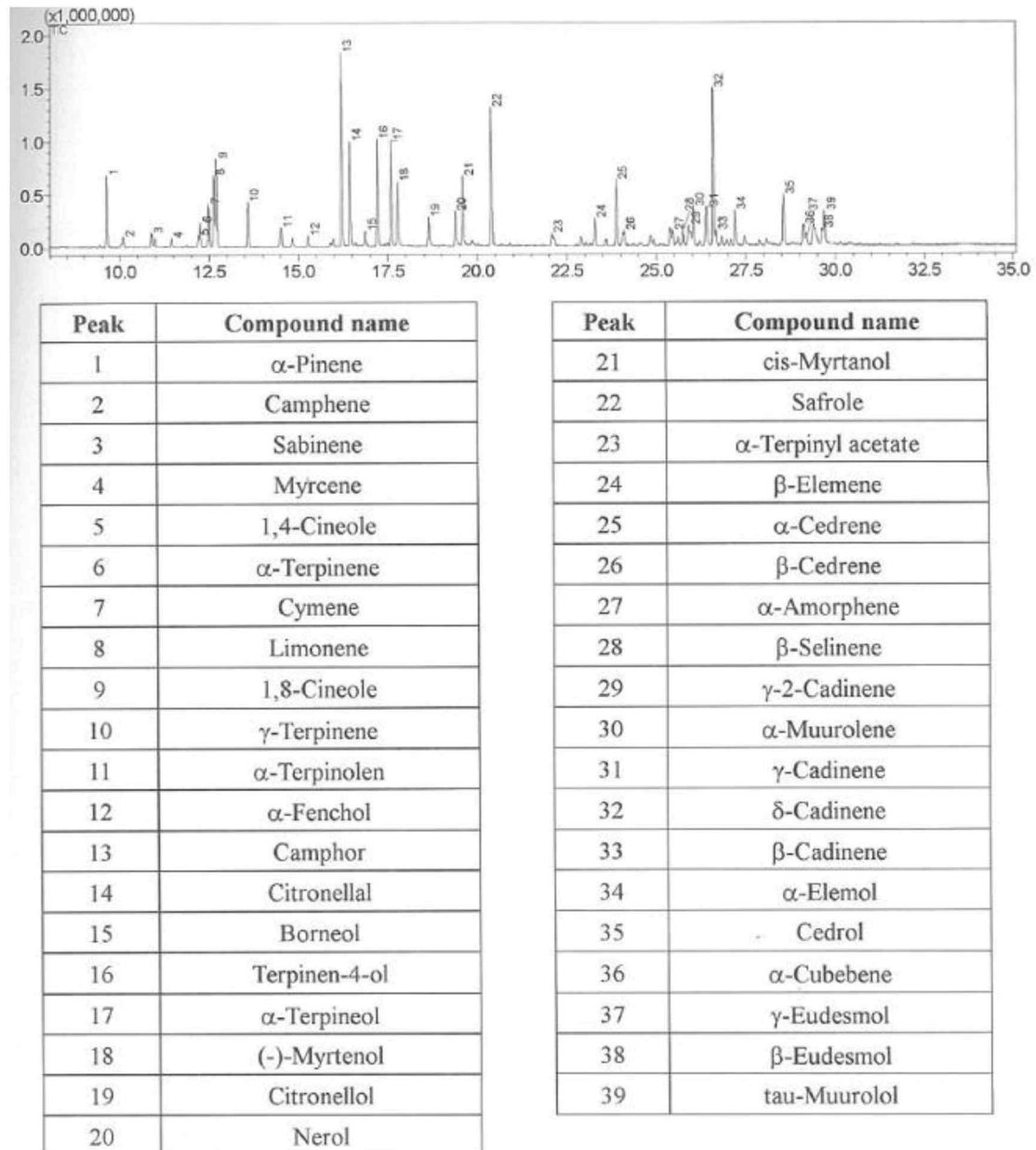
【第4項】如申請專利範圍第1項所述之蒸餾取得組合物於製備降低動脈粥狀硬化藥物之用途，其中該組合物係可用於延遲低密度脂蛋白氧化。

【第5項】如申請專利範圍第4項所述之蒸餾取得組合物於製備降低動脈粥狀硬化藥物之用途，其中該組合物使用濃度範圍為10 µg/mL至150 mg/ml。

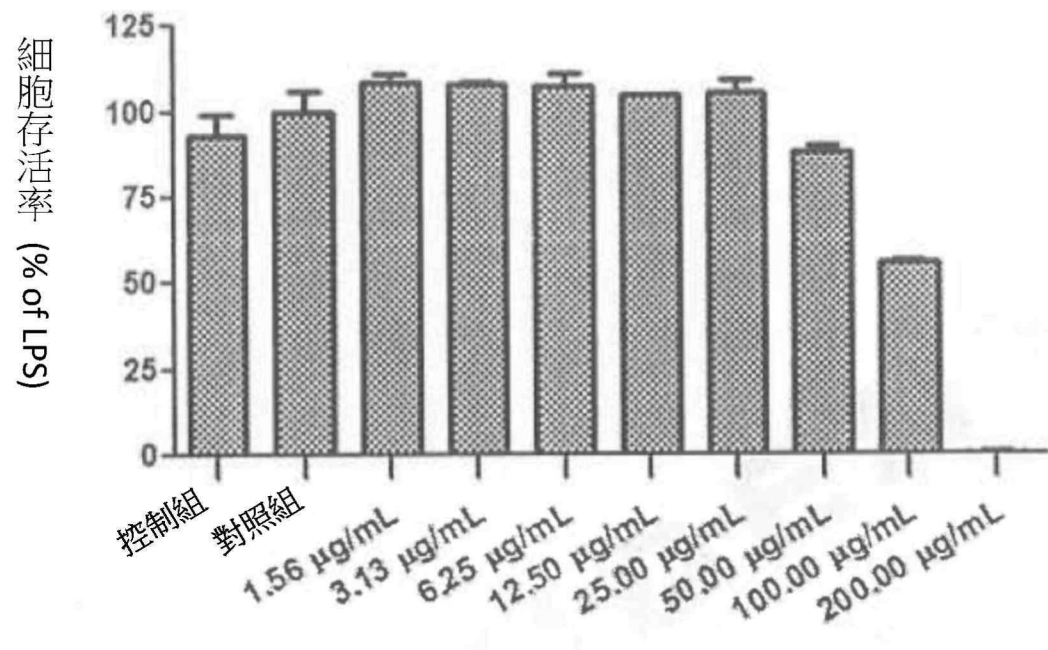
【第6項】如申請專利範圍第1項所述之蒸餾取得組合物於製備降低動脈粥狀硬化藥物之用途，其中該組合物係可用於去除自由基。

【第7項】如申請專利範圍第6項所述之蒸餾取得組合物於製備降低動脈粥狀硬化藥物之用途，其中該組合物使用濃度範圍為10 µg/mL至150 mg/ml。

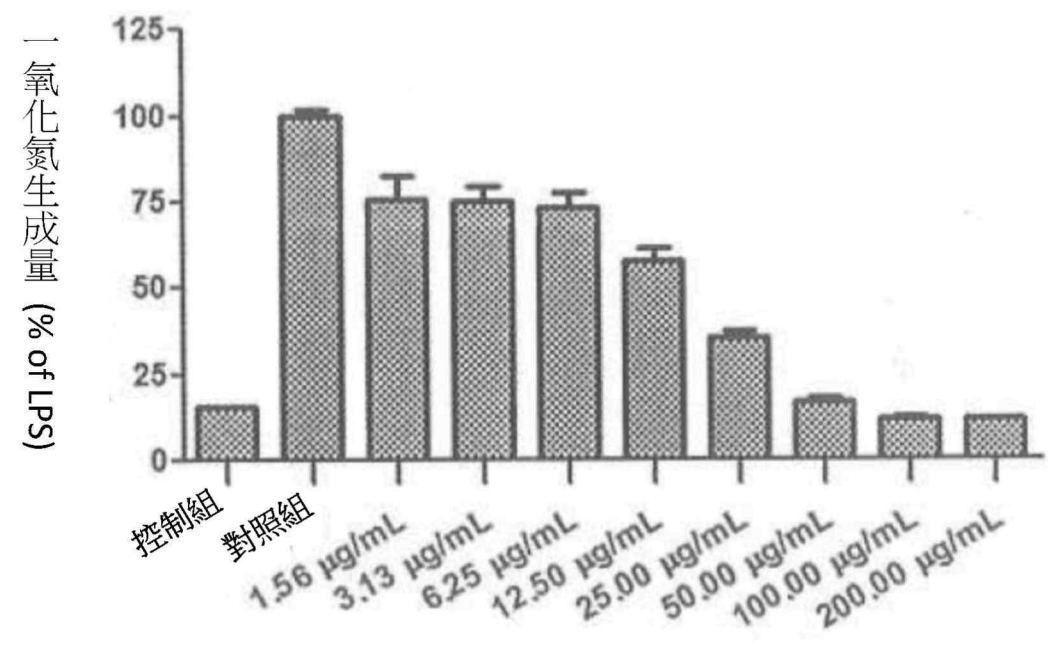
## 【發明圖式】



第 1 圖



第 2 圖



第 3 圖