

發明專利說明書

※申請案號：094122377

※IPC 分類：A61K

一、發明名稱：

用以治療及/或預防過敏性疾之精油

ESSENTIAL OILS FOR TREATING AND/OR PREVENTING ALLERGIC DISEASE

二、中文發明摘要：

本發明提供預防及/或治療過敏性疾之傳統中草藥之精油和精油組合物。此等精油和精油組合物可經調配成溶液、乳霜、乳液、油膏或固體棒，並局部投藥。

三、英文發明摘要：

The present invention provides the essential oil and the essential oil composition of traditional Chinese herbal medicine to prevent and/or treat allergic disease. The essential oil and the essential oil composition can be formulated as a solution, a cream, a lotion, ointment, or a solid stick, and applied topically.

四、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：

五、本案若有化學式時，請揭示最能顯示發明特徵的化學式：

六、發明說明：

【發明所屬之技術領域】

[0001] 本發明係關於用以治療及/或預防過敏性疾之草藥之新用途及組合物。

【先前技術】

[0002] 過敏症係指身體對特定外來物質發動攻擊之任何症狀。人類會因食物、化學物品、植物、動物和各種空氣中的物質而引發過敏反應。對人具過敏性之物質稱之為過敏原。過敏症係被定義為因暴露於特定抗原(過敏原)而引起之過敏或過度免疫，且對於隨後暴露於該抗原/過敏原中之反應明顯增加者。過敏性疾之徵狀，例如：過敏性鼻炎(花粉症)、過敏性皮膚炎和過敏性氣喘，可肇因於各種異位性(atopic)過敏原，例如：牧草、樹木、雜草、動物皮屑、昆蟲、黴菌、藥物和化學物品。舉例言之，過敏性鼻炎係一種全球極普遍之過敏性疾並為一種第1型過敏症。過敏性鼻炎係指一種因過敏原而引起之鼻子發炎性病並影響全球數百萬人。過敏性鼻炎之典型徵狀包括：打噴嚏、鼻癢、鼻塞、鼻漏(流鼻水)，常伴隨流眼淚和眼睛癢，和鼻涕倒流。此等過敏性疾係由被稱為免疫球蛋白E，或簡寫為IgE之抗體所調節。可降低IgE值之抗IgE藥物可適用於治療過敏症患者。

[0003] IgE係為免疫球蛋白家族成員之一，其可中介過敏性反應，例如：普遍存在之氣喘、食物過敏、第1型過敏症和家族性靜脈竇發炎。IgE結合於肥大細胞或嗜鹼細胞上。當特定過敏原與結合於肥大細胞或嗜鹼細胞之IgE結合時，IgE可能會交叉鏈結於細胞表面上，造成IgE-抗原交互反應之生理作用。此可能造成組織胺、血清素、肝素、嗜伊紅性白血球及/或白三烯素、C4、D4和E4之趨化因子之釋出，因而導致支氣管平滑肌細胞之延長收縮。此等釋出之物質係為會造成過敏性徵狀之調節劑。

[0004] 免疫抑制劑化合物會誘發免疫反應系統之抑制，習慣上並被應用於過敏性疾之治療。已知可展現免疫抑制劑活性之化合物包括：真菌代謝物環孢菌素A(Cyclosporin A)和被稱為FK506之大環內酯類抗生素(一種由Streptomyces tsukabaensis產生之代謝物)。此等製劑均已被臨床及實驗性應用於移植上以抑制免疫系統並用以治療多種疾病。至於過敏性鼻炎，一些藥劑，例如：抗組織胺、去充血劑、糖皮質類固醇和肥大細胞安定劑，均被用以治療及預防過敏性鼻炎。然而，其並不夠符合需求，因其未能完全有效對抗過敏性鼻炎之鼻塞，且有副作用，例如：由於對中樞神經系統之抑制作用而造成嗜睡、抑鬱和鎮靜(Ju Lih-Ling, The Journal of Pharmacy, Volume 58, 79-86頁, 1999)。反之，非類固醇止痛藥(NSAIDS)亦為極有用之抗發炎藥物。此外，NSAIDS和抗發炎性固醇類製劑具有細胞素生產抑制作用並已被應用於自體免疫疾病上。

[0005] 用於過敏性疾之醫藥製劑已被研發並應用於治療上。然而，因為此等醫藥製劑具有負面作用，故對於由天然產品生產、可長期投藥、高安全性且不會產生不良反應之抗過敏劑有強烈之需求。

【發明內容】

[0006] 本發明之一目的係提供治療及/或預防過敏性疾之組合物，其包含藿香草藥(HOUXIANG HERBA)之精油、羌活草藥(QIANGHUO HERBA)之精油和辛夷草藥(XINYI HERB)之精油，其中HOUXIANG HERBA包含一選自由下列所組成之群組之植物：藿香(*Agastache rugosa*)、廣藿香(*Pogostemon cablin*)、臺灣刺蕊草(*Pogostemon formosanum*)、山冠唇花(*Microtoena delavayi*)、冠唇花(*Microtoena insuavis*)、滇南冠唇花(*Microtoena patchouli*)、鐵軸草(*Teucrium quadrifarium*)、廣防風草(*Epimeredi indica*)和金劍草(*Anisomeles indica*)；QIANGHUO HERBA包含一選自由下列所組成之群組之植物：寬葉羌活(*Notopterygium forbesii*)和羌活(*Notopterygium incisum*)；XINYI HERB包含一選自由下列所組成之群組之植物：望春玉蘭(*Magnolia biondii*)、玉蘭(*Magnolia denudata* Dear.)、淡紫玉蘭(*Magnolia denudata* Desr.)、羅田玉蘭(*Magnolia pilocarpa*)、紫花玉蘭(*Magnolia liliiflora*)、凹葉玉蘭(*Magnolia sargentiana*)、滇藏玉蘭(*Magnolia cempbelli* Hook.)、黃心夜合(*Magnolia martini* Dandy)和武當玉蘭(*Magnolia sprengeri*)。

[0007] 本發明之另一目的係要提供一種治療及/或預防過敏性疾之方法，其包含對患者投予足夠有效量之HOUXIANGHERBA精油以治療及/或預防過敏性疾，其中之HOUXIANG HERBA包含選自由下列所組成之群組之植物：藿香、廣藿香、臺灣刺蕊草、山冠唇花、冠唇花、滇南冠唇花、鐵軸草、廣防風草和金劍草。較佳者，該精油係自藿香取得。

[0008] 本發明之進一步目的係要提供一種治療及/或預防過敏性疾之方法，其包含對患者投予足夠有效量之QIANGHUO HERBA精油以治療及/或預防過敏性疾，其中之QIANGHUO HERBA包含選自由下列所組成之群組之植物：寬葉羌活和羌活。

【實施方式】

[0029] 老鼠細胞株RAW 264.7係購自台灣生物資源保存和研究中心(Bioresources Collection & Research Center, Taiwan)編號為CCRC 60001。將該細胞加至含10%(v/v)牛胎血清(FBS, GibcoBRL)之Dulbecco's Modified Eagle Medium(DMEM, GibcoBRL)中並在37°C之含5% CO₂之CO₂培養器中培養。使細胞生長至90%密度並再以經磷酸鹽緩衝之食鹽水(PBS)加以洗滌。收集細胞並以新鮮DMEM稀釋至適當濃度。

[0030] 將老鼠巨噬細胞以10,000細胞/孔之濃度轉移至一96孔盤內。培養24小時之後，以含100 μg/ml脂多醣(LPS, SIGMA)和100 μg/ml干擾素-γ(INF-γ, GibcoBRL)之培養基加以活化。同時，將不同濃度之草藥精油加入孔中。培養24小時之後，分別取出50 μl之上澄液並放入一96孔盤中。分別將50 μl Griess試劑A(60 mM磺胺溶於3 N HCL中)和50 μl Griess試劑B(4 mM二鹽酸萘基乙二胺)加至該細胞上澄液中並於室溫下反應10分鐘。然後，以微量盤讀取機測定所得之細胞上澄液於500 nm波長處之吸光度。以下列公式計算一氧化氮百分比：%一氧化氮=(樣品吸光度/對照組吸光度)×100%。結果顯示於下列表1中。

[0031]

表 1

樣品	濃度(µg/ml)	一氧化氮(µM)
空白組		3.5±0.3
LPS(誘導劑)		60±0.5
L-NMMA(正對照組)		25±0.6
望春玉蘭	0.1 µg/ml	40.8±0.4
望春玉蘭	1 µg/ml	37.8±0.2
望春玉蘭	10 µg/ml	33.1±0.3
藿香	0.1 µg/ml	40.8±0.5
藿香	1 µg/ml	33.6±0.4
藿香	10 µg/ml	30.2±0.3
寬葉羌活	0.1 µg/ml	49.7±0.2
寬葉羌活	1 µg/ml	45.5±0.3
寬葉羌活	10 µg/ml	43.1±0.2
望春玉蘭+藿香(體積比1:1)	0.1 µg/ml	35±0.3
望春玉蘭+藿香(體積比1:1)	1 µg/ml	30±0.2
望春玉蘭+藿香(體積比1:1)	10 µg/ml	27±0.1
望春玉蘭+寬葉羌活(體積比1:1)	0.1 µg/ml	38±0.4
望春玉蘭+寬葉羌活(體積比1:1)	1 µg/ml	35±0.3
望春玉蘭+寬葉羌活(體積比1:1)	10 µg/ml	32±0.1

[0032]

望春玉蘭+藿香+寬葉羌活 (體積比1:1:1)	0.1 µg/ml	34±0.2
望春玉蘭+藿香+寬葉羌活 (體積比1:1:1)	1 µg/ml	28±0.3
望春玉蘭+藿香+寬葉羌活 (體積比1:1:1)	10 µg/ml	24±0.2

[0033] 以1:6體積比之比例將抗凝劑「酸-檸檬酸鹽-右旋葡萄糖」(ACD)加至從紐西蘭兔抽出之血液中。將所產生之血液於室溫之下以190 g離心15分鐘。離心之後，取含有富血小板血漿(PRP)之上澄液並加入0.2 M EDTA。將所得之上澄液以1000 g離心1.5分鐘。離心以後，去除含RBC和WBC之沉澱物並再將PRP以1000g離心11分鐘。離心以後，去除上澄液並將血小板沉積物懸浮於無Ca²⁺之Tyrode's緩衝液中(含1 mM Ca²⁺)。於血小板中加入腺苷三磷酸雙磷酸酶並於37°C下置放15分鐘，並再加入EDTA(終濃度為5 mM)並以1000 g離心6分鐘。離心之後，將血小板沉積物再懸浮於無Ca²⁺之Tyrode's緩衝液中(含1 mM Ca²⁺, pH=7.3)並將懸浮液之混濁度調至0.6(約2.5×10⁸個血小板/毫升)。以血小板聚集顏色動力學系統測定混濁度。

[0034] 將0.5 ml血小板懸浮液加至塗矽之測光管內並放入血小板聚集顏色動力學系統內並於37°C下浸泡2分鐘。將草藥精油加入血小板懸浮液內。兩分鐘之後，將PAF加入血小板懸浮液內。連續4分鐘觀察血小板聚集。以下列公式計算聚集比例：聚集比例%=(添加PAF前之吸光度-添加PAF後之吸光度)/(添加PAF前之吸光度-Tyrode's緩衝液之吸光度)×100%以下列公式計算抑制比例：抑制比例%=100%-(樣品之聚集比例/對照組之聚集比例×100%) IC₅₀值顯示於下列表2中。

[0035]

表 2

樣品	IC ₅₀ (mg/ml)
望春玉蘭	41±5.5
藿香	10.5±0.1
寬葉羌活	19.5±1.5
望春玉蘭+藿香(體積比1:1)	9±1
望春玉蘭+寬葉羌活(體積比1:1)	27±3.4
望春玉蘭+藿香+寬葉羌活(體積比1:1:1)	20±2
CV-3988	1.42

- [0036] 將五十六隻8-10週大，購自台灣台北之國立動物育種實驗室和研究中心(National Laboratory Animal Breeding and Research Center, Taipei, Taiwan)之Balb/c小鼠使用於本實驗中。將小鼠隨機分成8組(7隻小鼠/組)。各組藉由下列之不同程序加以處理：
- [0037] I) PBS組：藉由腹膜內注射使小鼠致敏並以PBS鼻內挑戰法予以攻毒。
- [0038] II) OVA組：藉由腹膜內注射使小鼠致敏並以OVA鼻內挑戰法予以攻毒。
- [0039] III) 望春玉蘭精油組(MB組)：藉由腹膜內注射使小鼠致敏並以OVA鼻內挑戰法予以挑戰，並再以望春玉蘭精油加以治療。
- [0040] IV) 藿香精油組(AR組)：藉由腹膜內注射使小鼠致敏並以OVA鼻內挑戰法予以攻毒，並再以藿香精油加以治療。
- [0041] V) 寬葉羌活精油組(NF組)：藉由腹膜內注射使小鼠致敏並以OVA鼻內挑戰法予以挑戰，並再以寬葉羌活精油加以治療。
- [0042] VI) 望春玉蘭和藿香和寬葉羌活精油組(MAN組)：藉由腹膜內注射使小鼠致敏並以OVA鼻內挑戰法予以挑戰，並再以望春玉蘭和藿香和寬葉羌活精油加以治療。
- [0043] VII) 望春玉蘭和藿香精油組(MA組)：藉由腹膜內注射使小鼠致敏並以OVA鼻內攻毒法予以挑戰，並再以望春玉蘭和藿香精油加以治療。
- [0044] VIII) 望春玉蘭和寬葉羌活精油組(MN組)：藉由腹膜內注射使小鼠致敏並以OVA鼻內挑戰法予以挑戰，並再以望春玉蘭和寬葉羌活精油加以治療。
- [0045] 使用卵白蛋白(OVA, Sigma A-5378)作為過敏原將小鼠致敏，並以硫酸鉀鋁(Sigma A-7167)作為佐劑。OVA和硫酸鉀鋁均溶於PBS緩衝液中。將所得之溶液於第一天、第五天、第十四天和第二十天藉由腹膜內注射投予各小鼠。每隻小鼠均投予0.1 ml之該溶液。
- [0046] 致敏二十一天之後，每日均以溶於PBS緩衝液之OVA溶液(25 mg/ml)藉由鼻內攻毒法對小鼠持續挑戰三週，投藥劑量為20 μ l/小鼠/日。將精油於一密閉並經消毒之具電熱板之隔室中蒸發，並使該箱中充滿精油蒸氣。挑戰十分鐘之後，將小鼠放入箱內30分鐘。
- [0047] 在挑戰之後第21天、第28天、35天和42天診斷小鼠之臨床行為。
- [0048] 圖1顯示小鼠經以OVA鼻內挑戰之後，在10分鐘期間內數到的平均磨鼻次數。結果顯示小鼠經草藥之精油治療之後，平均磨鼻次數明顯減少。
- [0049] 圖2顯示小鼠經以OVA鼻內挑戰之後，在10分鐘期間內數到的平均打噴嚏次數。結果顯示小鼠經草藥之精油治療之後，平均打噴嚏次數明顯減少。
- 【圖式簡單說明】
- [0051] 圖1顯示各試驗組之平均磨鼻次數。
- [0052] 圖2顯示各試驗組之平均打噴嚏次數。
- 【主要元件符號說明】
- [0050]

七、申請專利範圍：

1. 一種用以治療及/或預防過敏性疾疾病之組合物，其包含藿香草藥(HOUXIANG HERBA)精油、羌活草藥(QIANGHUO HERB)精油和辛夷草藥(XINYI HERB)精油，其中藿香草藥包含選自下列群組之植物：藿香、廣藿香、臺灣刺蕊草、山冠唇花、冠唇花、滇南冠唇花、鐵軸草、廣防風草和金劍草；羌活草藥包含選自由寬葉羌活和羌活所組成之群組之植物；及辛

夷草藥包含選自下列群組之植物：望春玉蘭、玉蘭、淡紫玉蘭、羅田玉蘭、紫花玉蘭、凹葉玉蘭、滇藏玉蘭、黃心夜合和武當玉蘭。

2. 如申請專利範圍第1項之組合物，其中該藿香草藥係為藿香。
3. 如申請專利範圍第1項之組合物，其中該羌活草藥係為寬葉羌活。
4. 如申請專利範圍第1項之組合物，其中該辛夷草藥係為望春玉蘭。
5. 如申請專利範圍第1項之組合物，其中該組合物含有0.5%至99.5%體積比之藿香草藥精油、0.5%至99.5%體積比之羌活草藥精油和0.5%至99.5%體積比之辛夷草藥精油。
6. 如申請專利範圍第1項之組合物，其中該過敏性疾病包括：過敏性鼻炎、過敏性肺炎、過敏性鼻竇炎、過敏性氣喘及過敏性支氣管炎。
7. 如申請專利範圍第1項之組合物，其中該過敏性疾病係為過敏性鼻炎。

八、圖式：

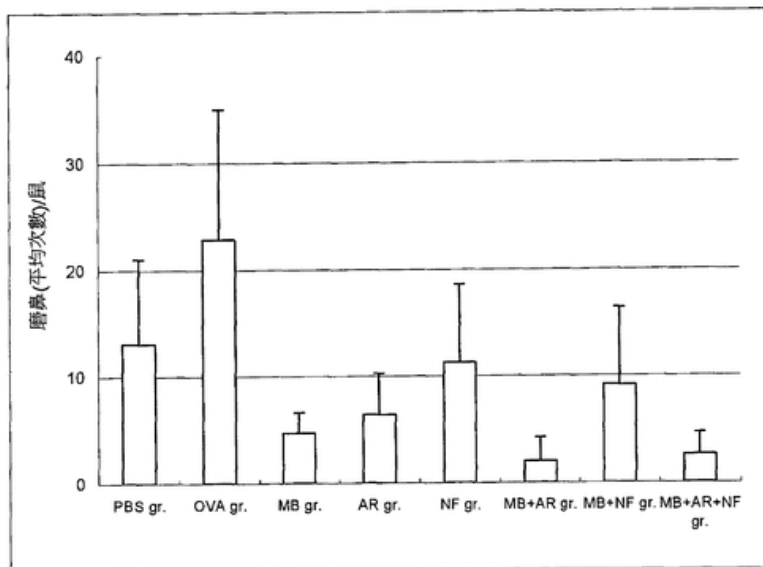


圖 1

圖1

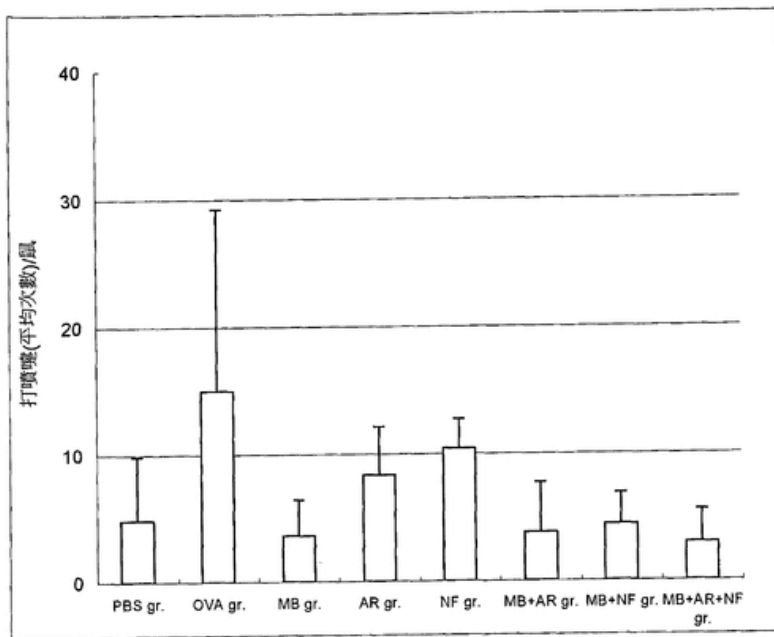


圖2

圖2