



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 102406694 A

(43) 申请公布日 2012.04.11

(21) 申请号 201110394016.1

(22) 申请日 2011.12.02

(71) 申请人 安徽省药物研究所

地址 230022 安徽省合肥市包河区黄山路
202号

申请人 阚红卫

(72) 发明人 阚红卫 王吉东 张毅 梁燕

汪春彦 赵蓉 王海青 石静丽

(74) 专利代理机构 安徽省合肥新安专利代理有
限责任公司 34101

代理人 吴启运

(51) Int. Cl.

A61K 36/48 (2006.01)

A61P 35/00 (2006.01)

A61K 125/00 (2006.01)

权利要求书 1 页 说明书 4 页 附图 3 页

(54) 发明名称

中药胡枝子抗肿瘤有效部位及其制备方法和
用途

(57) 摘要

本发明涉及含有抗肿瘤作用的胡枝子提取物有效部位及其制备方法,所述的有效部位选自胡枝子根用乙醇溶液回流提取的提取液回收乙醇后的水溶液中沉淀得到的部位 A、水溶液用乙酸乙酯萃取得到的乙酸乙酯部位 B、再用正丁醇萃取得到的正丁醇部位 C、以及最后水溶液浓缩干燥部位 D 之一及其组合,研究证明上述部位具有治疗血液肿瘤、子宫肌瘤、乳腺癌、卵巢癌。因此,所述有效部位可用于制备抗肿瘤的药物。

1. 一组中药胡枝子抗肿瘤有效部位,其特征是所述的有效部位选自胡枝子根部用质量百分浓度 50-80%乙醇溶液回流提取得到的提取液经回收乙醇后的水溶液沉淀完全后离心分离得到的沉淀部位(A部位)、分离后的水溶液依次分别用乙酸乙酯和正丁醇萃取得到的乙酸乙酯部位(B部位)、正丁醇部位(C部位)、经乙酸乙酯和正丁醇萃取后剩余的水溶液浓缩干燥部位(D部位)之一及其组合。

2. 如权利要求1所述的有效部位,A部位主要含有木脂素和香豆素;B部位主要含有生物碱、萜类、甾醇和游离黄酮;C部位主要含有皂苷和黄酮苷类;D部位主要含有鞣酸和有机酸类。

3. 一种制备如权利要求1所述有效部位的方法,其特征是所述方法包括以下步骤:

以胡枝子根部为原料,用质量百分浓度 50-80%乙醇回流提取 4 次,每次 1.5 小时,提取液合并得 F, F 回收乙醇后的水溶液静置沉淀完全后离心得有效部位沉淀 A, 离心后的水溶液用乙酸乙酯萃取得有效部位 B, 再用正丁醇萃取得有效部位 C, 经两次萃取后的水溶液浓缩干燥得有效部位 D。

4. 权利要求1所述有效部位为活性成分与药学上可接受的载体组成的药物组合物。

5. 权利要求4所述药物组合物可以适合药用的制剂形式存在,这些制剂形式可以是片剂、糖衣片剂、薄膜衣片剂、肠溶衣片剂、缓释片剂、胶囊剂、硬胶囊剂、软胶囊剂、缓释胶囊剂、口服液、合剂、口含剂、颗粒剂、冲剂、丸剂、散剂、膏剂、丹剂、混悬剂、溶液剂、注射剂、粉针剂、冻干粉针剂、栓剂、软膏剂、硬膏剂、霜剂、喷雾剂、滴剂和贴剂。

6. 权利要求1所述活性部位在抗肿瘤药物中的应用。

7. 权利要求4所述组合物在制备抗肿瘤药物中的应用。

中药胡枝子抗肿瘤有效部位及其制备方法和用途

一、技术领域

[0001] 本发明涉及一种植物中草药中的活性部位及其提取方法和用途,具体地说是中药胡枝子抗肿瘤有效部位及其制备方法和用途。

二、背景技术

[0002] 豆科胡枝子属 (*Lespedeza Michx.*) 植物约 60 余种,我国产 26 种,广泛分布于全国各省区;对于胡枝子属植物的药用价值,在民间广为应用,有清热解毒、润肺止咳、利尿消肿、活血止痛、抗炎、抗过敏、抗早孕之功。

[0003] 肿瘤是危害人类健康的重大疾病之一,恶性肿瘤的防治已成为医学界所关注的重要课题。

[0004] 近年来,尽管现代医学在肿瘤的治疗方面成绩突出,但也暴露出了严重毒副作用等诸多缺陷,这些缺陷的弥补正是中医药的独到优势所在,这不仅表现在中医药本身直接对抗肿瘤细胞,抑制癌瘤增生,还表现在促进免疫、提高机体自身抵抗力上,正是由于中医药治疗肿瘤有其自身独特的优势,使得中医药在恶性肿瘤的治疗中并不总是单单处于辅助的地位,有时也可以独当一面,起到了它无法替代的作用。如鸦胆子油治疗肺癌、肝癌,蟾酥中提取的华蟾素治疗肝癌疗效肯定,薏米中提取的康莱特也已广泛应用,青黛中提取的靛玉红治疗白血病。

[0005] 胡枝子属植物含黄酮生物碱、萜类、甾醇、有机酸、鞣质等多种化学成分,主要用于治疗感冒发烧、肺热咳嗽、跌打损伤、风湿痹痛、淋症、肾功能不全、遗尿及蛇伤等。目前,尚未见到胡枝子及其有效部位抗肿瘤作用研究和应用方面的报道。

三、发明内容

[0006] 本发明目的之一是,提供一种胡枝子抗肿瘤有效部位及其制备方法。

[0007] 本发明目的之二是,提供一种以所述部位为有效成分的药物组合物。

[0008] 本发明目的之三是,提供所述有效部位在抗肿瘤及相关药物中的应用。

[0009] 本发明利用动物体内外实验筛选,比较不同溶剂所得萃取部位(即有效部位)的抗肿瘤活性,确定了具有抗肿瘤活性的胡枝子有效部位及其制备方法。

[0010] 一组具有抗肿瘤活性的胡枝子有效部位,其特征是所述的有效部位选自胡枝子根部用质量百分浓度 50-80%乙醇溶液回流提取得到的提取液经回收乙醇后的水溶液沉淀完全后离心分离得到的沉淀部位(A部位)、离心分离后的水溶液依次分别用乙酸乙酯和正丁醇萃取得到的乙酸乙酯部位(B部位)和正丁醇部位(C部位)、经乙酸乙酯和正丁醇萃取后剩余水溶液浓缩干燥部位(D部位)之一及其组合。

[0011] A部位主要含有木脂素和香豆素等;B部位主要含有生物碱、萜类、甾醇和游离黄酮等;C部位主要含有皂苷和黄酮苷类等;D部位主要含有鞣酸和有机酸类等。

[0012] 本发明的有效部位可以经过提取、浓缩、干燥、系列萃取得到,其制备方法具体可以采用以下步骤:

[0013] 胡枝子根部,用质量百分浓度 50-80%乙醇回流提取 4 次,每次 1.5 小时,提取液合并得 F。F 回收乙醇后的水溶液静置沉淀,沉淀完全后离心得有效部位沉淀 A,离心后的水溶液用乙酸乙酯萃取得有效部位 B;再用正丁醇萃取得有效部位 C;经两次萃取后的水溶液浓缩干燥得有效部位 D。

[0014] 本发明还提供了所述方法制备的各有效部位的药物组合物。所述药物组合物是以本发明的有效部位为活性成分,与药学上可接受的载体所组成,并以合适的药用制剂存在,这些制剂形式可以是片剂、糖衣片剂、薄膜衣片剂、肠溶衣片剂、缓释片剂、胶囊剂、硬胶囊剂、软胶囊剂、缓释胶囊剂、口服液、合剂、口含剂、颗粒剂、冲剂、丸剂、散剂、膏剂、丹剂、混悬剂、溶液剂、注射剂、粉针剂、冻干粉针剂、栓剂、软膏剂、硬膏剂、霜剂、喷雾剂、滴剂和贴剂。

[0015] 本发明进一步提供了各活性部位在制备治疗和 / 或预防肿瘤药物中的应用。为此进行了相关实验。

四、附图说明

[0016] 附图所示为 A、B、C、D 各部位抗大鼠子宫肌瘤实验病理解剖图。

[0017] 图 1 是正常组,图 2 是模型组,图 3、图 4、图 5 和图 6 依次是 A、B、C、D 有效部位组。

五、具体实施方式

[0018] 以下所列实施列有助于本领域技术人员更好地理解本发明,但不以任何方式限制本发明。

[0019] 实施例 1:

[0020] 胡枝子各有效部位制备方法:

[0021] 胡枝子根部,用质量百分浓度 50-80%乙醇溶液回流提取 4 次,每次 1.5 小时,提取液合并得 F。F 回收乙醇后的水溶液静置沉淀,沉淀完全后离心得沉淀有效部位 A,离心后的水溶液用乙酸乙酯萃取得有效部位 B;再用正丁醇萃取得有效部位 C;剩余的水溶液浓缩干燥得有效部位 D。

[0022] 实施例 2:

[0023] 抗血液肿瘤实验:

[0024] 其代表实验为胡枝子不同有效部位抗小鼠体内 T 淋巴瘤 EL-4 细胞生长。其方法是,将 EL-4 细胞于 C57BL/6 小鼠右腋下行无菌皮下接种,待 EL-4 细胞在小鼠体内稳定传代后,在无菌条件下从腋部皮下剥取肿瘤组织,制成瘤细胞悬液,取上述瘤细胞悬液 0.2mL 接种于 C57BL/6 小鼠右腋部皮下。将接种成瘤小鼠随机分组,分别灌胃给予胡枝子提取的有效部位 A、B、C 和 D 组,分别为 0.7、0.18、0.28、0.95g/kg,连续给药 30 天,计算各给药组小鼠抑瘤率。结果如表 1 所示,胡枝子不同有效部位均可对抗小鼠体内 T 淋巴瘤 EL-4 细胞生长。

[0025] 表 1 胡枝子不同有效部位抗小鼠体内 T 淋巴瘤 EL-4 细胞生长($\bar{X} \pm SD$)

	组别	动物数(只)	剂 量(g/kg)	抑瘤率(%)
	模型	10	等量溶媒	0
[0026]	A	10	0.7	65.2**
	B	10	0.18	39.8*
	C	10	0.28	33.8*
	D	10	0.95	21.2*

[0027] 注：与模型组比较 *P < 0.05, **P < 0.01

[0028] 实施例 3：

[0029] 抗子宫肌瘤实验：以雌、孕激素负荷法建立大鼠实验性子宫肌瘤模型，选用 SD 大鼠，随机分为子宫肌瘤造模组及空白对照组两组。造模组给予肌肉注射苯甲酸雌二醇 0.06mL/只，3 次/周，共 16 周，第 10 周起加黄体酮 0.05mL/只，2 次/周，共 7 周。造模结束后分组灌胃给予胡枝子提取的有效部位 A、B、C 和 D 组，分别为 0.6、0.14、0.23、0.91、2.0g/kg，共 30 天。末次给药后 2 小时，颈椎脱臼方法处死大鼠并取子宫，福尔马林固定并进行 HE 染色后组织形态学观察。平滑肌细胞增生程度评分标准：(-)：子宫肌层未见增厚，未见有炎性浸润，结构正常。(+)：子宫肌层增厚不明显，轻度炎性浸润。(++)：子宫肌层轻度增厚，炎细胞浸润较明显。(+++): 子宫肌层明显增厚，炎细胞浸润较重。如表 2 和下图所示：与模型组相比，各胡枝子有效部位 A、B、C、D 组大鼠的病理增生显著减轻 (P < 0.05 或 P < 0.01)，表明各胡枝子有效部位对子宫肌瘤模型大鼠具有治疗作用。

[0030] 表 2 胡枝子不同有效部位对子宫肌瘤模型大鼠病理情况的影响

	组别	动物数(只)	剂 量(g/kg)	—	+	++	+++	P
	正常组	10	等量溶媒	8	2			<0.01
[0031]	模型	10	等量溶媒			3	7	
	A	10	0.62		6	4		<0.01
	B	10	0.13		5	3	2	<0.05
	C	10	0.21		5	4	1	<0.05
[0032]	D	10	0.87		7	3		<0.01

[0033] 实施例 4：

[0034] 抗乳腺癌实验：(1) 采用 MTT 法测定胡枝子各有效部位组对乳腺癌细胞生长的抑制作用。取对数生长期的乳腺癌细胞培养 24 小时后加入含不同浓度胡枝子有效部位组培养液，作用 24h 倾去上清液，加入 MTT，4h 后吸去上清液，加入 DMSO；30min 后，用酶标仪 570nm 处测 OD 值。抑制率 (%) = (对照孔 OD 值 - 实验组 OD 值) / 对照孔 OD 值 × 100%。(2) 随机取 50 只雌性小鼠，采用 MA891 细胞悬液皮下注射建立乳腺癌模型后，将接种成瘤小鼠随机分组，分别灌胃给予胡枝子提取的有效部位 A、B、C 和 D 组，分别为 0.7、0.18、0.28、0.95g/kg，连续给药 30 天，计算各给药组小鼠抑瘤率。结果显示，胡枝子有效部位组

A、B、C 和 D 对乳腺癌细胞生长有显著的抑制作用。其有效部位 A、B、C 和 D 组在 0.031mg/ml ~ 0.12mg/ml 剂量时,对乳腺癌细胞生长抑制率分别为 72.7% ~ 89.2%、71.2% ~ 84.5%、63.1% ~ 74.8%、65.7% ~ 77.6% 和 52.9% ~ 81.1%,与对照组相比差异显著 ($P < 0.01$);如表 3 所示,胡枝子不同有效部位均可对抗乳腺癌小鼠体内肿瘤细胞生长 ($P < 0.01$)。

[0035] 表 3 胡枝子不同有效部位抗乳腺癌小鼠体内肿瘤细胞生长($\bar{X} \pm SD$)

组别	动物数(只)	剂 量(g/kg)	抑瘤率(%)
模型	10	等量溶媒	0
A	10	0.7	73.4**
B	10	0.18	45.8**
C	10	0.28	49.3**
D	10	0.95	39.7**

[0037] 注:与模型组比较 ** $P < 0.01$

[0038] 实施例 5:

[0039] 抗卵巢癌实验:选取卵巢癌细胞株 SKOV3,以四甲基偶氮唑盐 (MTT) 比色法观胡枝子有效部位 A、B、C 和 D 组对 SKOV3 的生长抑制作用。最后计算细胞生长抑制率,其值为 $[1 - (\text{加药组细胞 A 值} / \text{对照组细胞 A 值})] \times 100\%$,实验重复三次,取三次均值。以细胞生长抑制率及药物浓度做曲线,求出 IC_{50} 。结果发现,胡枝子有效部位 A、B、C 和 D 对卵巢癌细胞株生长有抑制作用,并且随着其浓度的增加抑制作用增强,其 IC_{50} 如下表 4 所示。

[0040] 表 4 胡枝子不同有效部位对卵巢癌细胞株生长有抑制作用($\bar{X} \pm SD$)

组别	A	B	C	D
$IC_{50}(\mu\text{g/ml})$	11.46 ± 0.13	17.47 ± 0.27	21.33 ± 0.21	24.59 ± 0.25

[0042] 实施例 6:

[0043] 胡枝子有效部位的制剂加工(片剂制备),胡枝子有效部位 A300mg,淀粉 100mg,淀粉浆 10% 适量,硬脂酸镁 1%,将胡枝子有效部位 A 和淀粉混匀,以 10% 淀粉浆制粒、干燥整粒,加入 1% 硬脂酸镁混匀,压片即得。

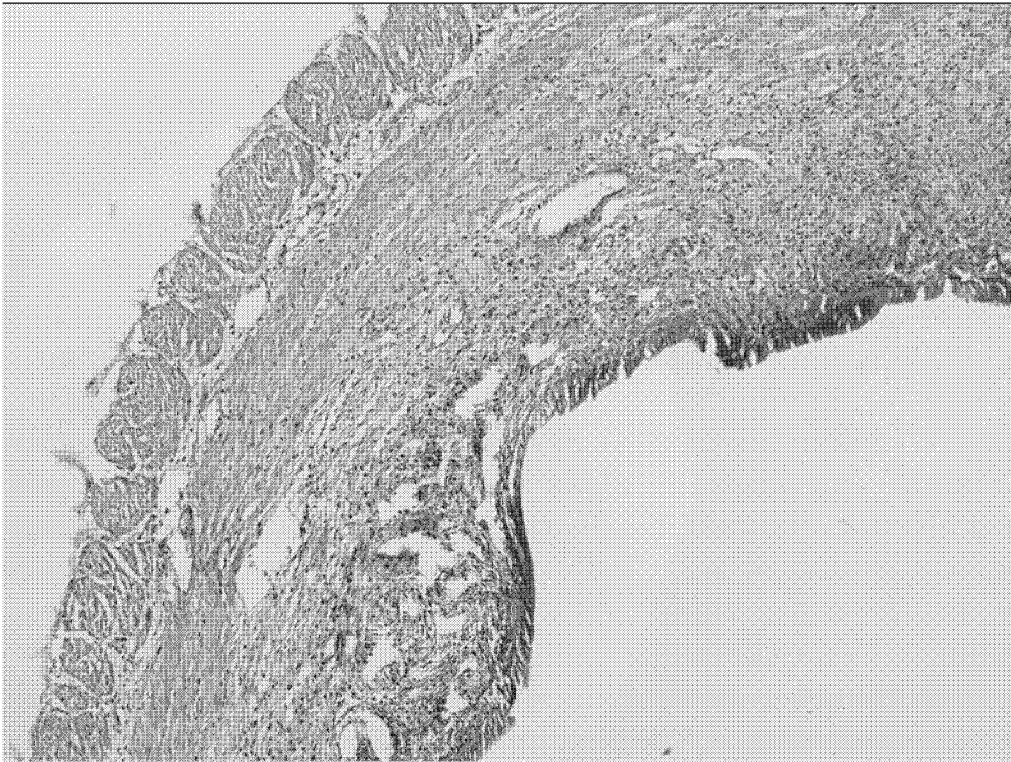


图 1

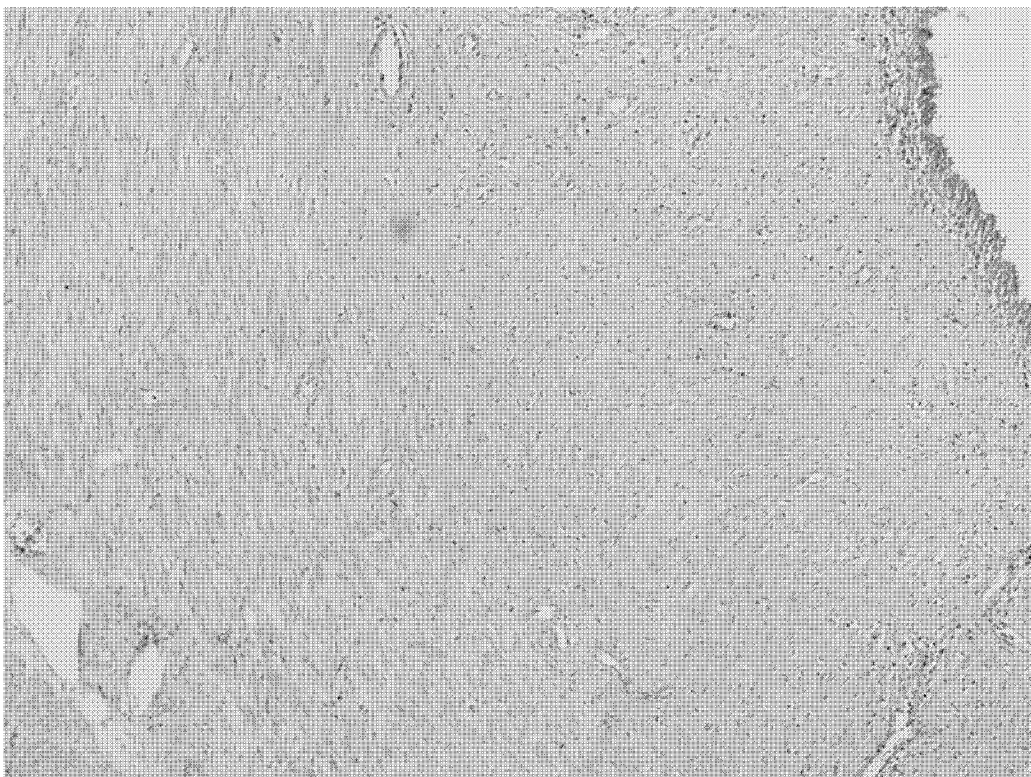


图 2

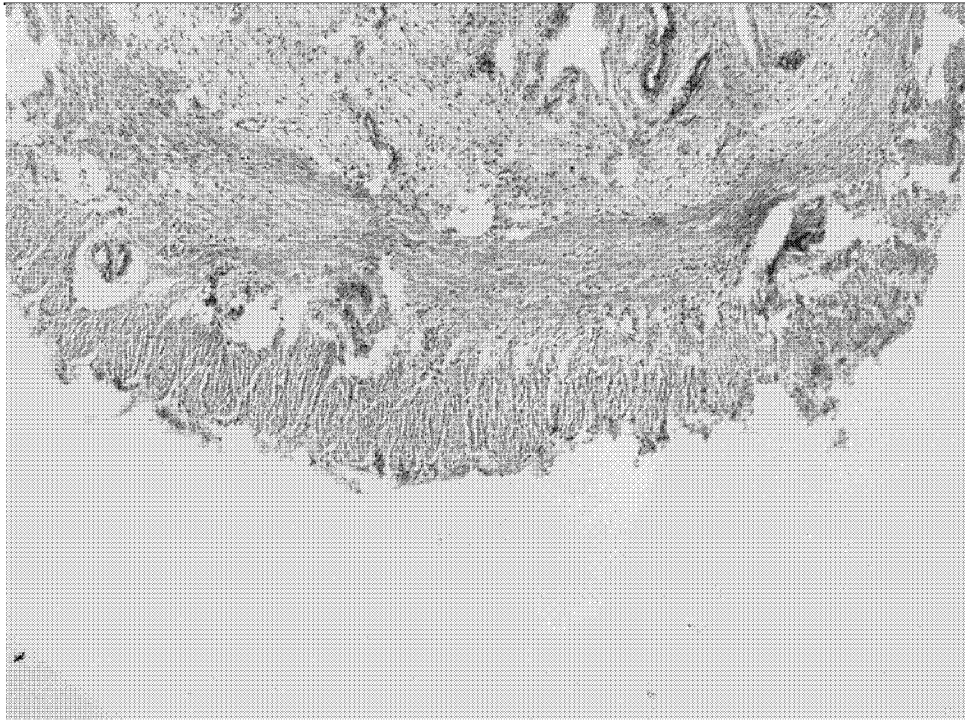


图 3

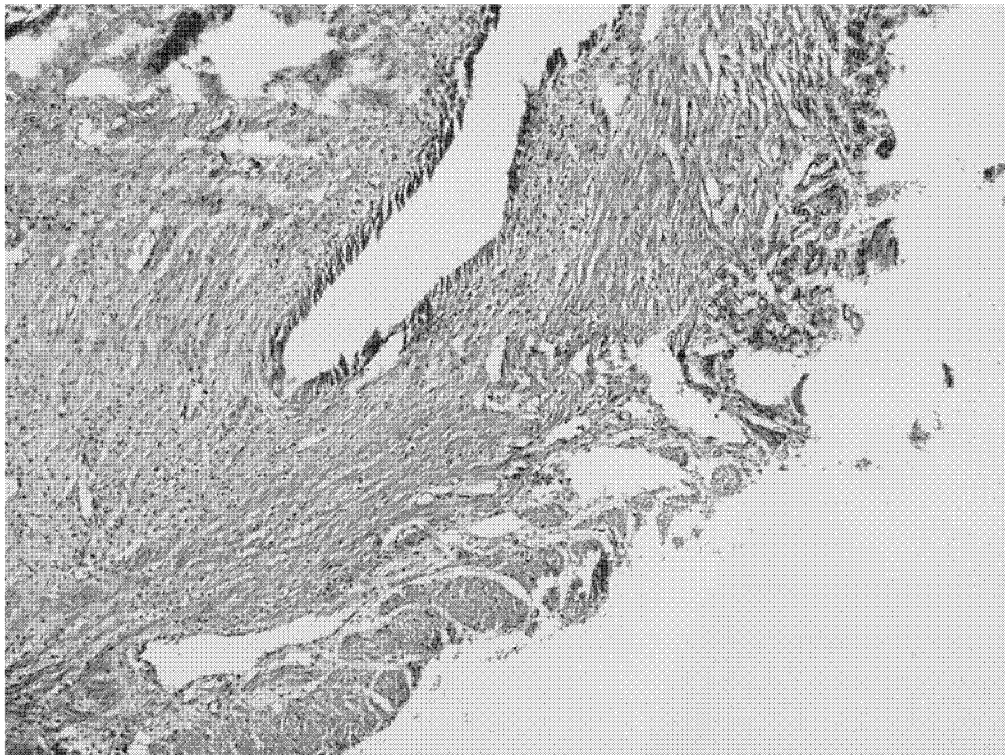


图 4

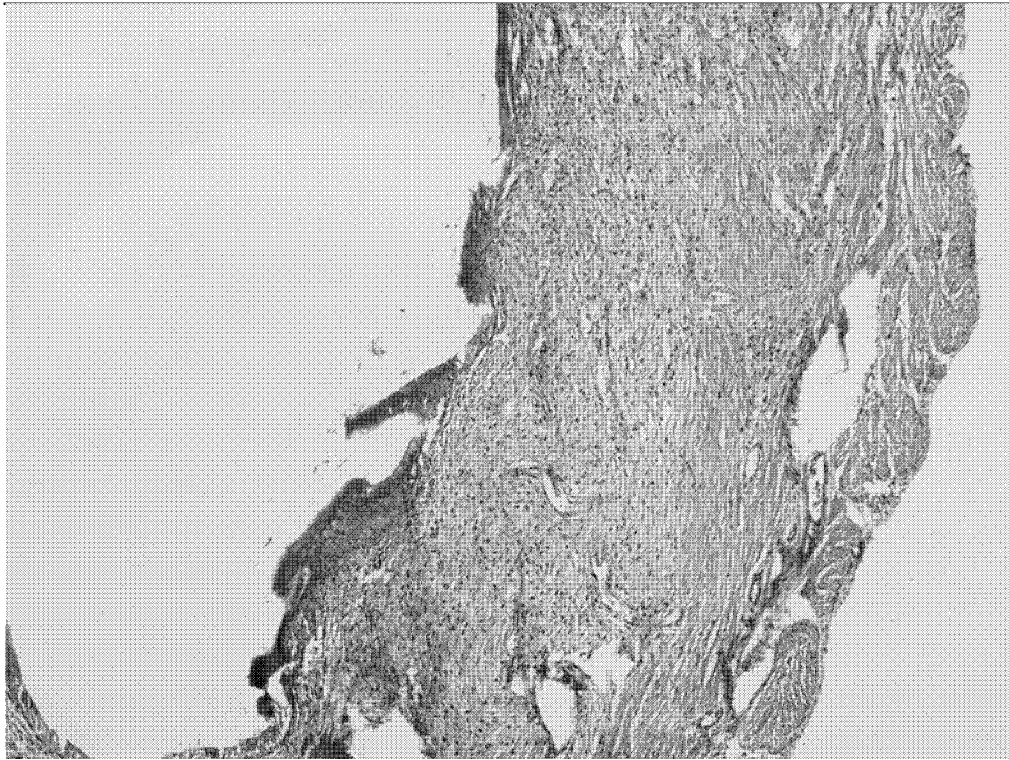


图 5

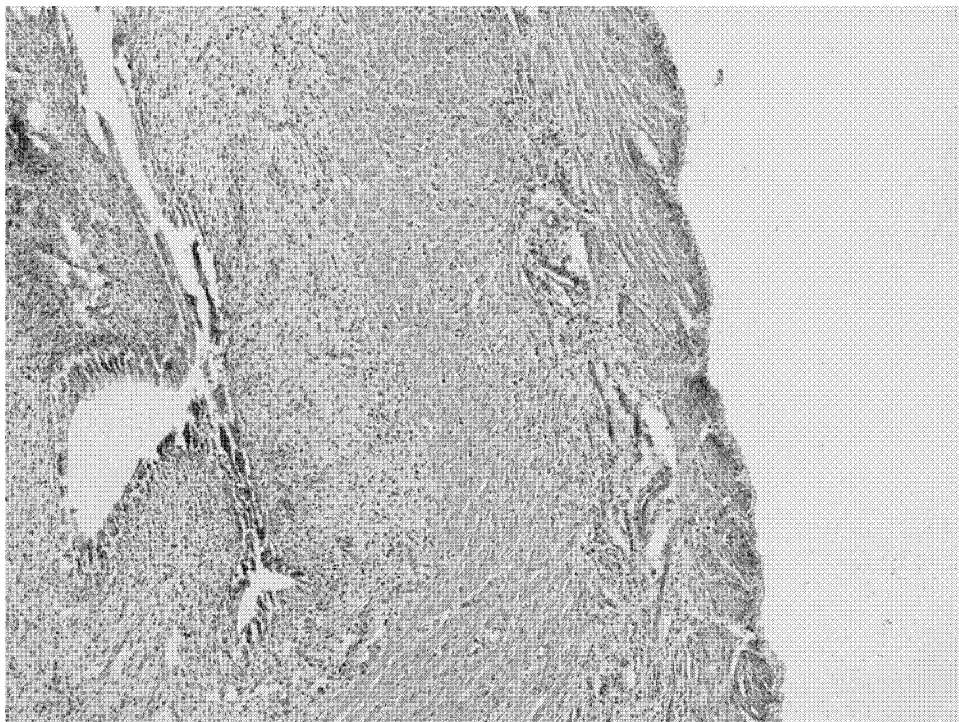


图 6