

[19] 中华人民共和国国家知识产权局



[12] 发明专利申请公布说明书

[21] 申请号 200710130738.X

[51] Int. Cl.

A61K 31/56 (2006.01)

A61K 9/20 (2006.01)

A61K 9/48 (2006.01)

A61P 35/00 (2006.01)

[43] 公开日 2008年5月7日

[11] 公开号 CN 101172110A

[22] 申请日 2003.9.2

[21] 申请号 200710130738.X

分案原申请号 03152904.6

[71] 申请人 叶文才

地址 510632 广东省广州市天河区黄埔大道
西 601 号暨大新明湖苑 2 栋 108 房

[72] 发明人 叶文才 范春林 赵守训

[74] 专利代理机构 广州市华学知识产权代理有限公司

代理人 陈燕娴

权利要求书 1 页 说明书 5 页

[54] 发明名称

23-羟基白桦酸在制备治疗或预防肠道肿瘤
药物中的应用

[57] 摘要

本发明公开了 23-羟基白桦酸的新用途, 即 23-羟基白桦酸在制备治疗或预防肠道肿瘤药物中的应用。所述治疗或预防肠道肿瘤的药物是以 23-羟基白桦酸作为活性成分的药物组合物。23-羟基白桦酸安全无毒, 药理作用强, 预示着良好的药用前景, 原料中药白头翁资源丰富、价廉, 制备工艺简单。

- 1、23-羟基白桦酸在制备治疗或预防肠道肿瘤药物中的应用。
- 2、根据权利要求1所述的应用，其特征在于：所述治疗或预防肠道肿瘤的药物是以23-羟基白桦酸作为活性成分的药物组合物。
- 3、根据权利要求2所述的应用，其特征在于：所述23-羟基白桦酸作为活性成分与药学上可接受的赋型剂一起用于制备所述药物组合物，该药物组合物采用本领域的常规方法制备成口服给药的剂型或口服以外给药剂型。
- 4、根据权利要求3所述的应用，其特征在于：所述赋型剂包括稀释剂、湿润剂、润滑剂、填充剂及防腐剂。
- 5、根据权利要求4所述的应用，其特征在于：所述稀释剂为乳糖、淀粉、糊精、微晶纤维素或微粉硅胶，湿润剂为水或体积浓度为50~85%的乙醇。
- 6、根据权利要求3所述的应用，其特征在于：该药物组合物制成胶囊或片剂。

23-羟基白桦酸在制备治疗或预防肠道肿瘤药物中的应用

本申请是分案申请，原申请的申请号是：03152904.6，申请日是：2003年09月02日，发明名称是：23-羟基白桦酸在制备治疗或预防肿瘤和艾滋病药物中的应用。

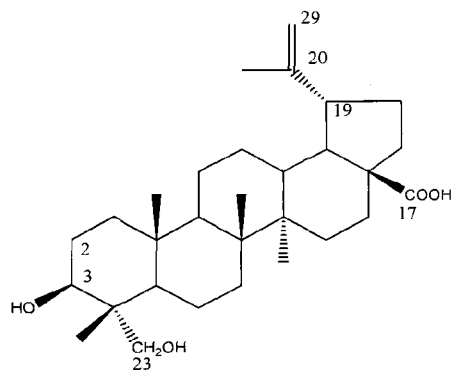
技术领域

本发明涉及23-羟基白桦酸在制备治疗或预防肠道肿瘤药物中的用途。

背景技术

已有文献报道，白桦酸可选择性地杀灭人黑色素瘤细胞[Nature Medicine, 1995; 1(10):1645-1651]；白桦酸及某些衍生物的抗癌活性已经通过用皮下植入小鼠肉瘤180细胞的裸鼠(JP 87, 301, 580)、其体外抑制P338淋巴细胞白血病细胞的生长[Planta Medica, 1988; 511-513]，特别是通过抑制鸟氨酸脱羧酶发生作用(WO 95/04526)等得以证明。中国专利(申请号为99813476.0)公开了新的白桦酸衍生物(对C-2, C-3, C-17, C-20和/或C-29位进行结构修饰)对肿瘤细胞的抑制作用及其在治疗临床癌症中的应用。Lee等(WO 95/04526)公开了白桦酸和二氢白桦酸酰基衍生物具有明显的抗HIV活性。在对C₃-OH、C₁₇-COOH和C₂₀-外亚甲基进行了结构修饰后，发现白桦酸和二氢白桦酸衍生物对急性感染H9淋巴细胞具有抗HIV活性，其EC₅₀值分别小于 $1.7 \times 10^{-5} \mu\text{M}$ 。

23-羟基白桦酸为来源于中药白头翁(*Pulsatilla chinensis*)中的五环三萜类化合物，是中药白头翁的特征性成分，文献[化学学报, 1983; 41(8): 739-745]中已经公开了该化合物的结构，其结构式为：



分子式为 $C_{30}H_{48}O_4$ ，类白色粉状物，分子量472，易溶于氯仿、乙酸乙酯、乙醇等有机溶剂。

本研究小组以前曾报道了23-羟基白桦酸体外和体内抗黑色素瘤作用 [中国肿瘤临床与康复, 2000; 7(1): 5-7], 并对人白血病细胞K-562和HL-60、鳞癌HeLa细胞 [Planta Medica, 2002; 68:183-186; Life Science, 2002; 72:1-9] 及对人胃癌细胞SGC-7901、人卵巢癌细胞Vo [东南大学学报 (医学报), 2001; 20(3): 141-144] 具有明显的抑制作用。但尚未见报道对其它肿瘤细胞及爱滋病病毒的抑制活性。

发明内容

本发明的目的在于提供 23-羟基白桦酸的新用途，即 23-羟基白桦酸在制备治疗或预防肠道肿瘤药物中的应用。

所述治疗或预防肠道肿瘤的药物是以 23-羟基白桦酸作为活性成分的药物组合物。

本发明23-羟基白桦酸可作为活性成分与药学上可接受的赋型剂一起用于制备药物组合物，该药物组合物可以采用本领域的常规方法制备成各种剂型，如胶囊、丸剂、片剂、口服液、颗粒剂、酏剂等口服给药的剂型和注射液等口服以外给药剂型，如针剂等。根据剂型的不同，该药物组合物使用的赋型剂也不同，常用赋型剂包括稀释剂、湿润剂、润滑剂、填充剂、防腐剂等。其中稀释剂为乳糖、淀粉、糊精、微晶纤维素、微粉硅胶等，湿润剂为水和50~85%不同浓度的乙醇。含有本发明23-羟基白桦酸的药物组合物的优选剂型是口服剂，最好为胶囊。给药剂量为20~400mg/人/次，每天1~3次。

本发明涉及的23-羟基白桦酸是这样得到的：将白头翁根粗粉用15~95%的乙醇渗漉或回流提取，过滤，滤液回收至无醇味，然后再加水稀释，过滤，滤液加入盐酸或硫酸调至pH1~3，加热回流10分钟~2小时，得沉淀物，放冷，抽滤或过滤，水洗固体物至中性，低温烘干，得粗品。粗品用乙酸乙酯等有机溶剂进行索氏提取，回收提取液至适量，放置，得类白色粉状的23-羟基白桦酸。

为了验证本发明的有益效果，发明人作了一系列实验：

1、动物急性毒性试验

(1) 口服给药

健康雄性小鼠，体重18~25克，用23-羟基白桦酸水溶液（混悬）灌胃5.0g/kg，连续一周，未见小鼠死亡。

(2) 注射给药

健康雄性小鼠，体重18~25克，用23-羟基白桦酸水溶液进行腹腔注射，连续一周，观察动物死亡情况。23-羟基白桦酸的LD₅₀值为2.13±0.65g/kg。

2、23-羟基白桦酸对几种肠道肿瘤细胞的抑制作用

将1、5、10、20、50、100和200×10⁻⁷mol/L浓度的样品及阳性对照药5-氟脲嘧啶200μl分别作用于含肿瘤细胞的96孔板中（3×10³/孔），培养3天，每孔加入5mg/ml MTT20μl继续培养4小时，轻轻吸去上清液，加入1mmol/L HCl-异丙醇（1：10），用核酸蛋白检测仪于波长750nm下进行检测，经统计学处理，计算出肿瘤细胞生长抑制率并列于表1。

表1. 23-羟基白桦酸对几种肠道肿瘤细胞生长的抑制作用（IC₅₀: 10⁻⁷mol/L）

肿瘤细胞株		23-羟基白桦酸	5-氟脲嘧啶*
肠癌细胞	LoVo	34.3	2.0
	HT-29	8.2	8.5
	HCT-116	28.5	7.6

*阳性对照药

3、23-羟基白桦酸对小鼠S-180的抑制作用

在无菌条件下取S-180小鼠的实体肿块，用剪刀剪成小碎块，用玻璃匀浆器加生理盐水磨成匀浆，给每只小鼠皮下接种2.5×10⁶细胞。共分5组，包括空白对照组（生理盐水）、阳性药对照组（5-氟脲嘧啶）、0.02g/kg、

0.10g/kg和0.40g/kg组, 每组20只小鼠, 于接种后24小时灌胃给药, 连续给药10天, 两周后, 摘取实体瘤, 称重。体内抑瘤结果列于表2。

表2. 23-羟基白桦酸对小鼠S-180的抑制作用

组别	给药方案 (g/kg×次数)	给药前动 物重量(g)	给药后动 物重量(g)	瘤重(g)±SD	抑瘤率 (%)
空白对照组	0.1ml/10g×5	20.6	27.6	3.04±0.84	
5-氟脲嘧啶	0.025×5	20.4	26.6	1.18±0.44**	61.4
23-羟基白 桦酸	0.02×5	20.6	27.2	2.22±0.54*	27.4
	0.10×5	20.5	27.0	1.52±0.52**	50.3
	0.40×5	20.5	26.9	0.84±0.18**	83.3

与空白对照组比较: *P<0.05; **P<0.01

从以上结果, 可以得出本发明的优点在于:

(1)、本发明对已知化合物23-羟基白桦酸发掘了新的医疗用途, 开拓了一个新的应用领域。

(2)、本发明的23-羟基白桦酸安全无毒, 药理作用强, 预示着良好的药用前景。

(3)、本发明的物质原料中药白头翁资源丰富、价廉, 制备工艺简单。

下面将描述本发明的实施例, 但本发明的内容完全全部局限于此。

具体实施方式

实施例1: 称取白头翁根干燥粗粉1.0kg, 用3000ml的15%乙醇渗漉, 合并乙醇渗漉液, 减压回收至无醇味, 过滤, 滤液用盐酸调至pH2, 加热30分钟, 得沉淀物, 放冷, 过滤, 水洗, 干燥, 得粗品。粗品用乙酸乙酯索氏回流, 回流液浓缩至适量, 放置, 抽滤, 得23-羟基白桦酸38.2g。

实施例2: 称取白头翁根干燥粗粉1.0kg, 用3000ml的60%乙醇渗漉, 合并乙醇渗漉液, 减压回收至无醇味, 过滤, 滤液用盐酸调至pH2, 加热30分钟, 得沉淀物, 放冷, 过滤, 水洗, 干燥, 得粗品。粗品用乙酸乙酯索氏回流, 回流液浓缩至适量, 放置, 抽滤, 得23-羟基白桦酸51.0g。

实施例3: 称取白头翁根干燥粗粉1.0kg, 用3000ml的95%乙醇渗漉, 合并提取液, 减压回收至无醇味, 过滤, 滤液用盐酸调至pH2, 加热30分钟, 得沉淀物, 放冷, 过滤, 水洗, 干燥, 得粗品。粗品用乙酸乙酯索氏回流, 回流液浓缩至适量, 放置, 抽滤, 得23-羟基白桦酸45.6g。

实施例4：取本发明的23-羟基白桦酸20mg和微粉硅胶280mg，充分混合均匀，过筛，加入适量的硬脂酸镁，混匀，用干法造粒机制粒，过筛，筛取40-80目之间的颗粒，装入胶囊，每粒装0.3g。

实施例5：按照实施例4所述方法制备胶囊，不同的是使用400mg本发明的23-羟基白桦酸、100mg微粉硅胶和适量的硬脂酸镁，每粒胶囊装0.5g。

实施例6：按本技术领域技术人员公知的方法制备23-羟基白桦酸的片剂，其中所述片剂按实际需要制成含20~200mg的23-羟基白桦酸。取本发明的23-羟基白桦酸150g、微粉硅胶420g、无水乳糖380g、氧化硅30g，混合30分钟后，再筛入200g硬脂酸镁，继续混匀，最后用12/32英寸标准凹冲压成片。